



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
国内外公开发售
国内: 中国邮政集团有限公司
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

COVID-19 专栏

新型冠状病毒炎性因子风暴与房颤的关系

..... 贾茹 尹德春 曲秀芬 649

重症单元危重型新型冠状病毒肺炎患者死亡病例

临床特征及原因分析

..... 胡哲夫 周晨亮 王鑫 严娟娟 徐平英 魏捷 653

新型冠状病毒肺炎 39 例胸部 CT 影像学特征分析

..... 曾春意 吴宗山 贾敏 潘友涛 656

家庭聚集性新型冠状病毒肺炎患者临床特点分析

..... 郭功兵 王官军 梁惠 刘玉全 屈红 张小乔 661

无症状新型冠状病毒肺炎核酸检测 35 d 持续阳性 1 例

..... 郑志林 范正俊 艾俊 周林波 肖元川 孙荣艳 665

论著·临床

沙库巴曲缬沙坦联合芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭

患者的临床疗效观察

..... 李崇耀 张曼 赵鸿斌 袁建才 桑建卫 何志红 孙欣 667

脑膜瘤组织中 miR-190 和 FOXP2 表达及其与患者预后的关系

..... 李雄飞 胡伟 周明安 田少斌 672

神经外科锁孔手术治疗颅内肿瘤患者的效果

及对 TSGF、TNF- α 的影响

..... 刘宇昊 王天男 阴鲁鑫 高文昌 王霄 张桐 678

MT-ATP6 基因突变致 Leigh 综合征一家系研究

..... 刘军 刘芳 682

过敏性哮喘患儿外周血 ORMDL3 mRNA 与 T 细胞亚群

Th1/Th2 失衡的关系

..... 麦朗君 饶雪梅 曾学文 张龙奕 林烈桔 686

不同剂量人免疫球蛋白对川崎病患儿临床疗效、炎症指标及心功能标志物的影响	甄立娜 段晨初 吴晓杰 张腾腾 张中平	691
血清可溶性 CD163 水平与急性化脓性胆囊炎病情严重程度的关系研究	楚振飞 琺然 刘平 施有海 高航	695
双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击疗法对重症紫癜性肾炎患儿免疫功能和肾功能的影响	孙立宁 曾聪灵 郭修枢 钟剑 陈国华	700
替米沙坦联合前列地尔对糖尿病肾病氧化应激、免疫炎症反应及肾功能的影响	黄秀丽 吴艳 喻荷淋 刘阳	705
慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的危险因素及与蛋白质能量消耗状态的相关性	依力米古丽·努尔买买提 帕热旦木·托乎提 李玉芳 穆福娜依·艾尔肯 张丽	709
血清 miR-125b、miR-142-3p 表达与脓毒症预后的关系及其预测价值	徐志育 谢晓红 朱永 周忠义 雷振林	714
黑斑息肉综合征 16 例内镜下息肉特征分析	殷董 任晓阳 卢桂芳 和水祥 殷燕	719
论著·基础		
黄芪多糖通过 TLR4/NF-κB 通路抑制 COPD 大鼠炎症反应诱导的平均血小板体积降低	曹亮 刘建华 冯平 赵建清	723
木豆叶提取物对股骨头坏死大鼠血液流变学及骨髓间充质干细胞分化的影响	赵飞 姚忠军 胡炳炎 刘东	730
罕见病例		
新生儿限制性心肌病 1 例	刘小烨 武珊珊 王炜 李月梅	735
原发乳腺弥漫大 B 细胞淋巴瘤 1 例	黄玉 石印青	736
促甲状腺激素垂体瘤 1 例	吴宸炜 周心禾 郑文文 张杭 郑超	738
综 述		
肺动脉高压基因遗传突变研究进展	崔宇菲 张磊 叶岚	739
木丹颗粒对痛性糖尿病周围神经病变的作用机制研究进展	齐月 冷锦红	743
CD56 在多发性骨髓瘤中的研究进展	张彩霞 张国君	747
IgG4 相关疾病最新研究进展	林丽萍 阮一平 洪富源	750
《疑难病杂志》稿约		755
作者·编者·读者		652,655,666,677,754

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly

Established in June 2002

Volume 19, Number 7

18 July, 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

Coronavirus Disease 2019

The relationship between atrial fibrillation and inflammatory cytokine

storm in SARS-CoV-2 Jia Ru, Yin Dechun, Qu Xiufen 649

Analysis of the cause of death about 2019 novel coronavirus pneumonia in ICU

..... Hu Zhefu, Zhou Chenliang, Wang Xin, et al 653

Analysis of chest CT features of 39 adult patients with COVID-19

..... Zeng Chunyi, Wu Zongshan, Jia Min, et al 656

Clinical features of family clustering coronavirus disease 2019

..... Guo Gongbing, Wang Guanjun, Liang Hui, et al 661

An asymptomatic COVID-19 case with sustained 35-day positive nucleic

acid test Zheng Zhilin, Fan Zhengjun, Ai Jun, et al 665

Original Article: Clinical Research

Clinical observation on the curative effect of sakubatrovalsartan combined

with *Qiliqiangxin* capsule in the treatment of patients with chronic

cardiac failure

..... Li Chongyao, Zhang Man, Zhao Hongbin, et al 667

Expression of miR-190 and FOXP2 in meningiomas and their relationship

with the prognosis of patients

..... Li Xiongfei, Hu Wei, Zhou Ming'an, et al 672

The effect of neurosurgical keyhole surgery in the treatment of intracranial

tumor and its effect on TSGF and TNF- α

..... Liu Yuhao, Wang Tiannan, Yin Luxin, et al 678

Leigh syndrome caused by MT-ATP6 gene mutation: Pedigree study

..... Liu Jun, Liu Fang 682

The relationship between the imbalance of ORMDL3 mRNA and Th1/Th2

in peripheral blood of children with allergic asthma

..... Mai Langjun, Rao Xuemei, Zeng Xuewen, et al 686

Effects of different doses of human immunoglobulin on clinical efficacy , inflammatory index and cardiac function in children with Kawasaki disease	Zhen Lina , Duan Chenchu , Wu Xiaojie , et al	691
Study on the relationship between the level of serum soluble CD163 and the severity of acute suppurative cholecystitis	Chu Zhenfei , Ju Ran , Liu Ping , et al	695
The effect of double plasma exchange combined with methylprednisolone and mycophenolate mofetil on immune function and renal function in children with severe purpura nephritis	Sun Lining , Zeng Congling , Guo Xiushu , et al	700
Effects of telmisartan combined with alprostadil on oxidative stress , immune inflammatory response and renal function in diabetic nephropathy	Huang Xiuli , Wu Yan , Yu Helin , et al	705
Risk factors of cardiovascular disease in patients with chronic renal failure and their relationship with protein and energy consumption	Elimi Guri Nurmumati , Paredamu Tohuti , Li Yufang , et al	709
Relationship between the expression of serum miR-125b and miR-142-3p and the prognosis of sepsis and its predictive value	Xu Zhiyu , Xie Xiaohong , Zhu Yong , et al	714
Analysis of endoscopic polyp characteristics in 16 patients with black spot polyp syndrome	Yin Dong , Ren Xiaoyang , Lu Guifang , et al	719

Original Article ; Basic Research

Astragalus polysaccharides inhibit the decrease of mean platelet volume induced by inflammatory response in COPD rats via TLR4/NF-κB pathway	Cao Liang , Liu Jianhua , Feng Ping , et al	723
Effects of folium cajani on hemorheology and BMSCs differentiation in rats with femoral head necrosis	Zhao Fei , Yao Zhongjun , Hu Bingyan , et al	730

Rare Case Report

Restrictive cardiomyopathy in newborn ; a case report	Liu Xiaoye , Wu Shanshan , Wang Wei , et al	735
Primary breast diffuse large B-cell lymphoma ; a case report	Huang Yu , Shi Yinqing	736
Thyrotrophin secreting pituitary tumors ; a case report	Wu Chenwei , Zhou Xinhe , Zheng Wenwen , et al	738

Review

Progress in genetic mutation of pulmonary hypertension gene	Cui Yufei , Zhang Lei , Ye Lan	739
Research progress of the mechanism of Mudan granule on the peripheral neuropathy of painful diabetes	Qi Yue , Leng Jinhong	743
Progress of CD56 in the treatment of multiple myeloma with bortezomib	Zhang Caixia , Zhang Guojun	747
Recent advances in IgG4-related disease	Lin Liping , Ruan Yiping , Hong Fuyuan	750

新型冠状病毒炎性因子风暴与房颤的关系

贾茹,尹德春综述 曲秀芬审核

基金项目:中国博士后科学基金面上资助项目(2018M631959);黑龙江省博士后基金(LBH-Z18213);哈尔滨医科大学附属第一医院留学归国基金(2018L001)

作者单位:150000 哈尔滨医科大学附属第一医院心血管内科

通信作者:曲秀芬,E-mail:hydxgk@163.com

【摘要】目的 心房颤动与体内的炎症反应状态密切相关。新型冠状病毒 SARS-CoV-2 引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者可快速进展为重症肺炎、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或多器官功能衰竭(MOF),甚至死亡,炎症因子风暴是病情恶化的主要机制之一。病原体入侵人体,激活机体的免疫系统,释放促炎因子,当机体免疫系统失去负反馈调节时,导致炎症因子大量释放,最终引起炎症因子风暴。SARS-CoV-2 病毒与 ACE2 结合,使 Ang II 水平升高,加重炎症反应,这些均促进了心房电重构或结构重构,增加心房颤动的易感性。

【关键词】 心房颤动;新型冠状病毒;炎症因子风暴;炎症反应;心律失常

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.001

The relationship between atrial fibrillation and inflammatory cytokine storm in SARS-CoV-2 Jia Ru, Yin Dechun, Qu Xiufen. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang, Harbin 150000, China

Corresponding author: Qu Xiufen, E-mail: hydxgk@163.com

Funding program: China Postdoctoral Science Foundation Grant (2018M631959); Heilongjiang Postdoctoral Fund (LBH-Z18213); The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University Fund for the Returned Overseas Scholars (2018L001)

【Abstract】 Atrial fibrillation is closely related to the state of inflammation response in the body. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by novel coronavirus which named as sars-cov-2 can rapidly progress to severe pneumonia, acute respiratory distress syndrome (ARDS) or multiple organ failure (MOF), and even death, cytokine storm is one of the main mechanisms for disease progression. The pathogen invades the human body, activates the body's immune system, and releases pro-inflammatory factors. When the body's immune system loses the negative feedback regulation, it leads to the release of a large number of inflammatory cytokines, and finally causes a cytokine storm. SARS-CoV-2 is combined with ACE2, makes the level of Ang II goes up, aggravating the inflammatory response, which promoted the atrial electrical or structure remodeling, increase the susceptibility of atrial fibrillation.

【Key words】 Atrial fibrillation; SARS-CoV-2; Inflammatory cytokine storm; Inflammatory response; Arrhythmia

最近由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)在世界蔓延。大多数患者病情稳定,预后良好,但部分感染患者快速进展为重症肺炎、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或多器官功能衰竭(MOF)并最终死亡。炎症因子风暴是导致病情恶化的主要机制之一,大量炎症因子引起体内严重的炎症反应状态,而炎症反应与心房颤动密切相关。

1 炎症因子风暴概述

炎症因子风暴(又称细胞因子风暴)是一种以全身性炎症反应、高铁蛋白血症、血流动力学不稳定和MOF为特征的临床症状。目前为止,有Toll样受体

(TLRs)、核苷酸寡聚化结构域样受体(NLRs)、视黄酸诱导基因-I样受体(RLRs)、C型凝集素受体(CLRs)等4种模式识别受体参与炎症因子风暴的发生^[1]。当病原微生物进入人体时,激活TLRs,而后激活各种信号介质级联反应,最终使核转录因子 κ B(NF- κ B)诱导多种炎症细胞因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、干扰素调节因子3(IRF3)和激活子蛋白-1(AP-1)等的大量生成^[2],引起机体损伤。多种疾病的进展机制中都有炎症因子风暴的参与,涉及多个系统。因此,不能把炎症因子风暴认定为是一种疾病,它是不同初始损伤的共同终点,其本质是机体免

疫系统功能失调,炎症因子会对其自身的产生起正反馈调节,级联产生大量的炎症因子最终导致机体损伤^[3]。

2 新型冠状病毒中的炎症因子风暴

近期对入院时新冠肺炎感染患者血液的实验室检查发现,大部分患者 C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)及血清铁蛋白增高,淋巴细胞绝对值降低,该结果表明,SARS-CoV-2 可能主要作用于淋巴细胞,尤其是 T 淋巴细胞,病毒颗粒通过呼吸道黏膜传播并感染其他细胞,在体内诱发炎症因子风暴,产生一系列免疫反应,并引起外周白细胞和免疫细胞(如淋巴细胞)的变化^[4]。流式细胞术分析发现,外周血 CD4⁺和 CD8⁺细胞的数量大大减少,而其状态却被过度激活,CD4⁺T 细胞中具有高度促炎效应的 CCR4⁺、CCR6⁺、Th17 细胞增加,此外,发现 CD8⁺T 细胞有高浓度的细胞毒性颗粒^[5]。T 细胞的过度活化,促炎因子的大量释放,这些都说明了严重的新型冠状病毒肺炎患者体内,出现了炎症因子风暴。并且,与未进入 ICU 的患者相比,ICU 内的危重患者血浆中 IL-2、IL-7、IL-10、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、单核细胞趋化因子(MCP-1)、TNF- α 等细胞因子的水平更高^[6],也证实了这一点。

3 新型冠状病毒增加房颤易感性

Yao 等^[7]研究发现,心肌细胞中 NLRP3 炎症小体在房颤中的作用,通过免疫印迹法评估了阵发性房颤(pAF)和持续性房颤(cAF)患者心房全组织裂解液和心肌细胞中 NLRP3 炎症小体的活性,并建立了表达组成性激活 NLRP3 的心肌细胞特异性敲入(CM-KI)小鼠模型,结果显示,pAF 和 cAF 患者的心房肌细胞中 NLRP3 炎症小体的活性增加,且 NLRP3 的特异性抑制剂 MCC950 可以减弱 CM-KI 小鼠的自发性房性期前收缩和房颤的发生,这项实验证实了炎症反应与房颤息息相关。最近的一项研究,利用正电子发射断层扫描(PET)/计算机断层扫描(CT)检测恶性肿瘤患者心房¹⁸F-氟脱氧葡萄糖(FDG)的摄取,与对照组相比,恶性肿瘤伴房颤的患者,心房 FDG 摄取率增高,且恶性肿瘤伴房颤组中 4 例尸检心脏的病理证实,在 FDG 摄取区域有血管外巨噬细胞和淋巴细胞浸润^[8]。说明心肌局部炎症反应与房颤的发生关系密切,可能通过局部炎症介质的增多,影响心脏电活动,诱发房颤。

SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 的基因组具有较好的序列同源性^[9],通过对 121 例 SARS 患者的研究发现,心动过速是 SARS-CoV 最常见的心血管并发症,并且有 1 例患者出现阵发性房颤^[10]。与 SARS-CoV 相比,人群对 SARS-CoV-2 普遍易感,患有潜在慢性心血管

病者更容易感染 SARS-CoV-2,也更容易出现并发症和危急情况,甚至死亡^[11]。在感染 SARS-CoV-2 患者的临床特征描述中,感染者除了有呼吸系统症状外,16.7% 的患者出现了心律失常^[12],虽然没有提供心律失常的明确分类,但 SARS-CoV-2 有可能通过以下机制,影响心房的电重构或结构重构,增加房颤易感性。

3.1 炎症因子风暴引起心房电重构 在临床研究中曾发现,炎症介质与心房电学性质有关,可以引起心房电重构。有文献报道,物理刺激后 P 波平均持续时间增加,CRP、IL-6、TNF 水平瞬时升高,但心房容积无差异,提示炎症因子的急性改变与心房电传导及 AF 易感性有关^[13]。COVID-19 患者体内 T 细胞过度活化,重症患者短时间内发生炎症因子风暴,IL-2、IL-6、IL-7、IL-10、TNF- α 等炎症因子大量释放,其中多种炎症因子已被证明与房颤的发生发展密切相关。如经 IL-6 预处理的大鼠心房组织,即使轻微的张力也可以导致房颤的发生^[14]。与窦性心律组相比,房颤患者心房组织中 TNF- α 表达水平升高,T 型钙通道亚基 mRNA 表达水平降低,TNF- α 可能凭借通道功能损伤和下调通道蛋白表达的方式,降低心房肌细胞 T 型 Ca²⁺ 电流,参与房颤的发生^[15]。

3.2 心肌损伤 SARS-CoV 主要通过刺突蛋白(S 蛋白)与细胞膜上表达的血管紧张素转换酶 2(ACE2)蛋白结合侵犯人体^[16],与 SARS-CoV 相比,SARS-CoV-2 的 S 蛋白与人类 ACE2 有更强的结合亲和力^[11]。研究发现,ACE2 在心肌细胞及周细胞等心脏细胞中均有表达,且 ACE2 在心脏的表达高于作为该病毒主要靶器官的肺,表明心脏可能存在感染易感性^[17],是 SARS-CoV-2 导致心肌损伤的关键。在疫情初期的 COVID-19 患者临床特征描述中发现,有 12% 的患者出现了急性心肌损伤也证实了这一点^[4]。心房心肌病可由炎症反应引起,重症 COVID-19 患者体内发生炎症因子风暴,强烈的炎症反应状态很可能导致心房心肌病的发生发展^[18]。研究发现,有基础心脏疾病(如高血压、冠心病、心肌病)的患者,在感染 SARS-CoV-2 后,更易发生心肌损伤,使 TnT 水平升高,患者可有更严重的呼吸功能障碍和更低的氧分压^[19],这些基础心脏病本身已经对心脏结构产生影响,而 COVID-19 患者体内严重的炎症反应状态甚至是炎症因子风暴和低氧血症等,都会加重心房心肌病。近期,在对感染者进行的病理解剖中,发现了心肌间质中有少量单个核细胞的炎症浸润^[5],表明 COVID-19 患者存在心肌局部炎症反应,它可以通过多种机制,影响心房重构,诱发房颤。COVID-19 患者发病时最常见的症状是

发热^[4],发热可以使患者心率加快。快速房性心动过速可导致钙超载,介导氧化应激、细胞凋亡、膜功能障碍、能量消耗和低度炎性反应的发生^[20],这些均是导致心房重构、诱导房颤发生的危险因素。而房颤可能是在剂量—反应关系中被触发的,全身受累及感染越严重,房颤的发生率越高^[21]。COVID-19 患者免疫系统过度激活,血清中促炎因子水平升高,并级联释放大量的炎性因子,引起全身性炎性反应,或炎性因子聚集于心房,引起心房心肌病,增加房颤易感性。

3.3 肾素—血管紧张素系统改变 ACE2 是血管紧张素转换酶 (ACE) 的同工酶,裂解血管紧张素 II (Ang II) 产生 Ang (1~7),发挥抗炎和抗重构的作用^[22]。SARS-CoV-2 通过病毒表面的 S 蛋白与 ACE2 结合而入侵人体,使 ACE2 的表达减少,进而导致 Ang II 局部升高。Ang II 可以通过刺激促炎细胞因子 (如 IL-6、IL-8 和 TNF- α) 的产生和直接激活免疫细胞来增加炎性反应,而 TNF- α 、IL-2、血小板源性生长因子 (PDGF) 等细胞因子可以调节钙稳态,引起肺静脉异常触发,缩短心房动作电位持续时间^[13]。经 Ang II 处理的小鼠,依赖 CD11b 和 CD18 整合素,使心房中性粒细胞浸润增加^[23],心房的局部炎性反应,也会导致心房重构,最终引起房颤。Ang II 也是引起纤维化的复杂信号系统之一,尤其是 Ang II 1 型受体,属于主要的促纤维化细胞膜受体,也可以产生活性氧^[24],当 Ang II 局部升高时,促进心房纤维化的发生发展,增加了活性氧的产生,而心房纤维化是导致房颤发生的重要危险因素,活性氧也被认为在心房纤维化和电重构中起着潜在的重要作用,是导致房颤的重要介质^[13,24]。

4 房颤的治疗

4.1 抗炎药物干预治疗 类固醇类药物是临床上常用的抗炎药物,临床试验表明,围手术期内短期应用类固醇后,在房颤消融术后前 3 个月内,类固醇组的早期复发率明显低于对照组^[25]。他汀类药物具有包括抗炎在内的多种作用,一项 Meta 分析结果显示,使用他汀类药物预处理,可以显著降低冠状动脉旁路移植术后房颤的发生率^[26]。秋水仙碱可以缩短炎性反应期,是预防心脏手术术后房颤发生的有效药物^[27]。除此之外,噻唑烷二酮、罗格列酮及醛固酮受体拮抗剂等药物,通过其直接或间接的抗炎作用,可以调节炎症反应与氧化应激,减轻心房重构及纤维化,对房颤产生有利影响,减少房颤的发生^[20]。

4.2 精准治疗 当前,射频消融手术是治疗房颤的重要策略,然而这一过程会引起一定的组织损伤。在传统手术与抗炎药物预防及治疗房颤的基础上,也可以

利用炎性细胞因子的特异性拮抗剂,尝试开展对房颤的精准预防或治疗。例如,在对全身性幼年特发性关节炎 (JIA) 疾病的研究中,发现了细胞因子 IL-1 β 的失调,并成功将 IL-1 受体拮抗剂阿那白滞素应用于治疗,并在随后的临床对照试验中,证实了其有效性^[3]。通过精准抑制导致房颤的主要炎性因子来预防或治疗房颤,是一种治疗房颤的新思路。

5 总结

大量的基础及临床研究表明,房颤与体内的炎性反应状态密切相关。病原体入侵人体,激活机体的免疫系统,释放促炎因子,当机体免疫系统失去负反馈调节时,导致炎性细胞因子大量释放,最终引起炎性因子风暴。体内大量的炎性因子引起全身或心房局部炎性反应,使心房电重构或者结构重构,最终导致房颤。COVID-19 患者体内炎性因子水平高,重症患者体内发生炎性因子风暴,且病理解剖结果证实了患者心肌间质中有少量炎细胞的浸润,SARS-CoV-2 病毒与 ACE2 结合,使 Ang II 水平升高,这些均促进了心房电重构或结构重构,因此应该对 COVID-19 患者进行密切的随访,警惕远期房颤的发生。

参考文献

- [1] Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF, et al. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis [J]. *Semin Immunopathol*, 2017, 39 (5):517-528. DOI: 10.1007/s00281-017-0639-8.
- [2] 陈倩,王瑶,焦方舟,等. 新型冠状病毒肺炎“炎症风暴”的发生机制及干预策略探讨[J/OL]. *中华传染病杂志*, 2020. (2020-02-26). <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182703.htm>. DOI: 10.3760/cma.j.cn311365-20200221-00103.
- [3] Behrens EM, Koretzky GA. Cytokine storm syndrome looking toward the precision medicine era [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69 (6): 1135-1143. DOI: 10.1002/art.40071.
- [4] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10223): 507-513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- [5] Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8 (4): 420-422. DOI: 10.1016/S2213-2600 (20) 30076-X.
- [6] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [7] Yao C, Veleza T, Scott L, et al. Enhanced cardiomyocyte NLRP3 Inflammasome signaling promotes atrial fibrillation [J]. *Circulation*, 2018, 138 (20): 2227-2242. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035202.
- [8] Watanabe E, Miyagawa M, Uetani T, et al. Positron emission tomography/computed tomography detection of increased 18F-fluorode-

- oxyglucose uptake in the cardiac atria of patients with atrial fibrillation[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 283: 171-177. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.10.106.
- [9] Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(3): 457-460. DOI: 10.1007/s11427-020-1637-5.
- [10] Kochi AN, Tagliari AP, Forleo GB, et al. Cardiac and arrhythmic complications in Covid-19 patients[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2020, 31(5): 1003-1008. DOI: 10.1111/jce.14479.
- [11] Yang C, Jin Z. An acute respiratory infection runs into the most common noncommunicable epidemic—COVID-19 and cardiovascular diseases[J]. *JAMA Cardiol*, 2020. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0934.
- [12] Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus - Infected pneumonia in Wuhan, China[J]. *JAMA*, 2020, 232(11): 1061-1069. DOI: 10.1001/jama.2020.1585.
- [13] Hu YF, Chen YJ, Lin YJ, et al. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(4): 230-243. DOI: 10.1038/nrcardio.2015.2.
- [14] Mitrokhin VM, Mladenov M, Kamkin AG. Effects of interleukin-6 on the bio-electric activity of rat atrial tissue under normal conditions and during gradual stretching [J]. *Immunobiology*, 2015, 220(9): 1107-1112. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.05.003.
- [15] Rao F, Xue Y, Wei W, et al. Role of tumour necrosis factor- α in the regulation of T-type calcium channel current in HL-1 cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(7): 706-711. DOI: 10.1111/1440-1681.12585.
- [16] 严雨晨, 赵超, 牛辰, 等. 细胞因子风暴易发因素检测和动态监测利于重症和危重新型冠状病毒肺炎的防控[J/OL]. *中华传染病杂志*, 2020. (2020-02-25). <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182679.htm>. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6680.2020.0010.
- [17] Chen L, Li X, Chen M, et al. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(6): 1097-1100. DOI: 10.1093/cvr/cvaa078.
- [18] Shen MJ, Arora R, Jalife J. Atrial Myopathy[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2019, 4(5): 640-654. DOI: 10.1016/j.jacbs.2019.05.005.
- [19] Guo T, Fan Y, Chen M, et al. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)[J]. *JAMA Cardiol*, 2020. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1017.
- [20] Korantzopoulos P, Letsas KP, Tse G, et al. Inflammation and atrial fibrillation: A comprehensive review[J]. *J Arrhythm*, 2018, 34(4): 394-401. DOI: 10.1002/joa3.12077.
- [21] Gundlund A, Olesen JB, Butt JH, et al. One-year outcomes in atrial fibrillation presenting during infections: a nationwide registry-based study[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(10): 1112-1119. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz873.
- [22] 孙美丽, 杨建民, 孙玉萍, 等. RAS 抑制剂是治疗新型冠状病毒肺炎的可能选择之一[J/OL]. *中华结核和呼吸杂志*, 2020. (2020-02-16). <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1181342.htm>. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.0014.
- [23] Friedrichs K, Adam M, Remane L, et al. Induction of atrial fibrillation by neutrophils critically depends on CD11b/CD18 integrins[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89307. DOI: 10.1371/journal.pone.0089307.
- [24] Nattel S. Molecular and cellular mechanisms of atrial fibrosis in atrial fibrillation[J]. *JACC Clin Electrophysiol*, 2017, 3(5): 425-435. DOI: 10.1016/j.jacep.2017.03.002.
- [25] Kim YR, Nam GB, Han S, et al. The effect of short-term steroid therapy on early recurrence during the blanking period after catheter ablation of atrial fibrillation[J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2015, 8(6): 1366-1372. DOI: 10.1161/CIRCEP.115.002957.
- [26] An J, Shi F, Liu S, et al. Preoperative statins as modifiers of cardiac and inflammatory outcomes following coronary artery bypass graft surgery: A meta-analysis[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2017, 25(6): 958-965. DOI: 10.1093/icvts/ivx172.
- [27] Salih M, Smer A, Charnigo R, et al. Colchicine for prevention of post-cardiac procedure atrial fibrillation: Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 243: 258-262. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.04.022.

(收稿日期: 2020-05-05)

作者 · 编者 · 读者

《疑难病杂志》参考文献引用技巧

本刊参考文献是按照 GB/T 15835-2015《信息与文献 参考文献著录规则》规定的格式进行著录,除传统的项目外,文献末还要求加注数字对象唯一标识码(DOI)信息,近有作者反映查找文章的 DOI 信息困难,造成著录格式不完整、不规范,为帮助作者更好地引用文献,撰写论文,本刊编辑部总结了文献检索的小技巧:登录万方数据网站 <http://www.wanfangdata.com.cn>,检索出想要参考引用的文献,出现该文献相关信息界面,点击文题下方的“□”导出按钮,出现“导出文献列表”,点击其下方的“参考文献格式”,即出现该文献的规范著录格式,包括作者、文题、刊名、年份、卷(期)、起止页码、DOI 等完整信息,即可加以引用。

重症单元危重型新型冠状病毒肺炎患者死亡病例临床特征及原因分析

胡哲夫, 周晨亮, 王鑫, 严娟娟, 徐平英, 魏捷

基金项目: 教育部博士点基金(20130141130010)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院东院重症医学科

通信作者: 周晨亮, E-mail: 54665420@qq.com

【摘要】 2020 年 1 月 13 日—3 月 31 日武汉大学人民医院东院重症医学科(重症单元)共收治 COVID-19 患者 25 例, 其中死亡 5 例, 采集 5 例患者的流行病学史、发病经过、临床症状及体征、实验室检查、影像学表现并进行死因分析。结果发现, 5 例危重型 COVID-19 患者中, 3 例有既往基础疾病, 临床表现典型, 影像学检查示肺部损伤严重。均给予抗生素、抗病毒、糖皮质激素、免疫调理、氧疗等规范治疗, 其中 1 例应用 ECMO。5 例患者均死于急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、呼吸衰竭, 发病至死亡时间(21.80 ± 4.78)d。

【关键词】 新型冠状病毒肺炎, 危重型; 死亡原因; 急性呼吸窘迫综合征; 呼吸衰竭

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.002

Analysis of the cause of death about 2019 novel coronavirus pneumonia in ICU Hu Zhefu, Zhou Chenliang, Wang Xin, Yan Juanjuan, Xu Pingying, Wei Jie. Intensive Care Unit, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Zhou Chenliang, E-mail: 54665420@qq.com

Funding program: Ministry of Education Doctoral Fund(20130141130010)

【Abstract】 Since coronavirus disease 2019 (COVID-19) have breakout in the whole world in December 2019, many COVID-19 patients have been admitted to hospitals all over the world. The spreading speed and scale of the novel coronavirus has never been seen before, and is mainly manifested in the tendency of family aggregation. It can be transmitted through direct contact, droplet and aerosol transmission. From January 13th to March 10th in 2020, 16 COVID-19 patients were admitted to the ICU department, among which 5 death cases were analyzed, discussed and summarized. The epidemiological history, course of onset, clinical symptoms and signs, laboratory examination, imaging manifestations of all patients were collected and the above results were analyzed retrospectively. Severe COVID-19 patients are mostly died of ARDS and respiratory failure. The 2019 new coronavirus affected multiple organs in the body. It is necessary to give timely antibiotics, antiviral, respiratory support, nutritional support and maintain the balance of water electrolytes, and careful nursing. These measures can effectively control the death rate of 2019 novel coronavirus pneumonia.

【Key words】 Coronavirus disease 2019, severe; Cause of death; Acute respiratory distress syndrome; Respiratory failure

2019 年 11 月, 一种新型冠状病毒引起的肺炎于世界范围内开始暴发, 随后科学家从患者身上分离出一种冠状病毒, 对该序列的分析显示该病毒与既往被命名的 6 类人类冠状病毒完全不同(HCoV-OC43, -229E, -NL63, -HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV), 被视为一种全新的 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)^[1]。SARS-CoV-2 具有很强的传染性, 患者主要表现为发热、肌肉酸痛、寒战、咳嗽、疲劳、鼻塞、胸闷和胃肠道症状^[1-3]。WHO 目前认为这是一种罕见的烈性传染

病, 其主要宿主为蝙蝠, 发病机制复杂, 病情来势凶猛, 病死率高, 且各国地区报道的病死率不等。为了更好地预防和诊治新型冠状病毒肺炎并降低病死率, 现将武汉大学人民医院东院中心 ICU 收集的 5 例死亡病例进行分析探讨, 以加深对此病的认识, 报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 2020 年 1 月 13 日—3 月 31 日武汉大学人民医院东院重症医学科(重症单元)收治的 COVID-19 患者 25 例, 均按照《新型冠状病毒感染的肺

炎诊疗方案(试行第五版)》诊断标准确诊为 COVID-19 病例。经治疗后死亡 5 例,其中,男 3 例,女 2 例,男女之比 3:2,年龄 39~83(62.4 ± 16.9)岁,其中 >60 岁 3 例,<60 岁 2 例;职业分布,教师、自由职业、农民各 1 例,退休工人 2 例;发病至入院时间 4~14(8.2 ± 3.6)d;入院到确诊时间 1~5(2.8 ± 1.1)d。

1.2 流行病学资料 5 例 COVID-19 死亡病例中,4 例有明确的 COVID-19 密切接触史,有家庭聚集发病及传染给他人的证据。从接触 COVID-19 患者至出现首次发热症状间隔 4~14 d,平均 8.2 d。

1.3 基础病 本组病例中,3 例患者既往患有高血压病及 2 型糖尿病,其中 1 例患者因心脏停搏于 2015 年行永久性双腔起搏器植入术并患有脑基底动脉瘤病史;其余 2 例患者既往无特殊病史。

1.4 临床特征 5 例首发症状均有发热(100%),最高体温 $38.5 \sim 40.2$ (39.48 ± 0.60) $^{\circ}\text{C}$;畏寒 1 例;均伴有咳嗽,其中干咳 4 例,咯黄脓痰 1 例,咯白痰 1 例。伴有肌肉酸痛 1 例,头痛 1 例;胸闷伴憋气 4 例,呼吸困难 4 例;入院时,呼吸频率 18~50 (30.20 ± 11.63)次/min,心率 89~115(101.80 ± 8.98)次/min。5 例肺部均有湿性啰音。

1.5 实验室检查 入科后查血常规,WBC($4.75 \sim 10$) $\times 10^9/\text{L}$,平均(8.11 ± 2.85) $\times 10^9/\text{L}$;淋巴细胞比例 2.3%~19.6%,平均(7.90 ± 6.19)%;中性粒细胞比例 68.6%~92.6%,平均(85.90 ± 8.98)%;血小板计数($119 \sim 221$) $\times 10^9/\text{L}$,平均(174.4 ± 35.63) $\times 10^9/\text{L}$ 。

1.6 影像学检查 5 例患者入院后,胸部 CT 平扫检查均有异常发现。双肺多发浸润性病变 4 例,其中 2 例处于疾病进展期;单侧多发肺部斑片状阴影者 1 例,左侧多灶病变 1 例,右侧多灶病变 1 例;双颈部一胸壁软组织区积气 1 例,出现双侧胸腔积液 1 例,双侧胸膜增厚 1 例;未见有纵隔气肿患者。

1.7 治疗情况 (1) 抗生素:5 例患者均使用了以覆盖社区获得性肺炎常见病原菌的抗生素联用方案,包括 β -内酰胺类及喹诺酮类药物。(2) 抗病毒药物:患者均按照《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》给予阿比多尔口服 0.2 g,3 次/d。(3) 糖皮质激素:患者入院后经病情评估均接受了甲强龙治疗(每天 40 mg)。(4) 营养支持:患者均采取了营养支持及维持水电解质平衡的综合性治疗措施。(5) 免疫调理:患者均输注了人血丙种球蛋白进行免疫功能调理。(6) 氧疗:本组患者 4 例入院后因氧合指数难以维持直接行气管插管有创呼吸机辅助呼吸,其中有 3 例 PaO_2 上升较显著,低氧血症得到纠正,其中 1 例患

者烦躁,存在人机对抗,氧疗效果欠佳。1 例患者入科后坚决拒绝使用呼吸机,使用鼻导管吸氧及高流量湿化后因氧合指数进行性下降改为无创面罩, SpO_2 持续在 89~95 mmHg 之间,1 d 后 SpO_2 低于 90% 故给予气管插管有创呼吸机支持。其中 1 例患者因病情进展,于治疗期间继发肾功能衰竭、心肌损伤、肝功能异常及凝血功能异常,经评估病情后使用 ECMO,但未能挽救患者的生命。

1.8 转归 ICU 目前累计死亡 5 例,占全科 COVID-19 的 20.0% (5/25),在此期间全科已经有 2 例患者转归出院,仍有 9 例患者在院治疗。发病至死亡时间平均(21.80 ± 4.78)d。5 例最终均死于呼吸循环衰竭,其中 1 例于死亡前 1 d 已出现双侧瞳孔散大,光反射消失,对所有刺激无反应,1 例患者在使用 ECMO 后曾短暂出现右上半身皮肤颜色青紫,考虑南北综合征。

2 讨论

新型冠状病毒肺炎是一种传播力较强、社会危害较大的传染性疾病^[1-3],目前已有研究表明,该病毒除侵犯呼吸系统外,还可能对全身多个脏器及系统包括神经系统、生殖系统、消化系统等造成伤害^[4]。蝙蝠、穿山甲可能为其主要宿主,但有太多未知的野生动物均有可能是其潜在中间宿主。从目前形势来看,该病毒仍处在调查研究中。近期我科收治的患者大多为老年人,考虑到随着年龄的增长,免疫功能和呼吸道防御屏障功能减退,对于外界的抵抗力弱化,当病毒侵犯机体时,若合并感染更易发生呼吸道疾病,甚至发生多脏器功能衰竭的情况,表现出较高的病死率。

对于 COVID-19 患者,早期氧疗并正确使用呼吸机是治疗的关键之一。由于 SARS-CoV-2 可广泛破坏肺泡上皮细胞,大多数患者临床表现为发热、乏力、进行性呼吸困难及顽固性低氧血症,入院后常出现氧合指数难以维持,因此早期氧疗十分关键。从鼻导管吸氧过渡到高流量湿化、无创通气及气管插管有创通气,应遵循相关原则和指南,以尽可能提高患者的氧合指数。个别患者因表现烦躁,不能与呼吸机良好配合,存在人机对抗因而未能达到氧疗目的,此时适度的镇痛镇静疗法不可忽视,例如盐酸右美托咪定(艾贝宁)、得普利麻及咪唑仑达(力月西)的使用可有效降低患者躁动评分,使呼吸频率保持适度范围,从而有效改善氧合。部分患者长期卧床合并免疫功能下降、营养不良、贫血、低蛋白血症等情况导致呼吸肌萎缩,对患者呼吸功能构成严重影响。在使用呼吸机过程中,根据病情动态变化适时调整呼吸机相关参数是一个必不可少的环节,包括氧浓度(FiO_2)、呼气末正压(PEEP)、

压力支持力度(PS)及相关模式的切换等。故正确的使用氧疗,根据患者的实际情况准确地给予呼吸支持达到最大的小潮气量肺保护策略是重要的治疗手段。

由于 COVID-19 属于一种进展性疾病,患者一旦发展为重症肺炎,炎症因子在体内扩散,患者往往会继发感染性休克、酸中毒、低氧血症、二氧化碳潴留及液体失衡,从而进一步加重其他系统损害。当患者存在休克症状,可恰当地使用血管活性药物维持循环。

在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(第五版)》中提到 α -干扰素、洛匹那韦/利托那韦加利巴韦林是推荐方案,而阿比多尔则是第六版指南推荐的经典药物^[5]。除了常规的抗病毒治疗外,免疫调理、营养支持及激素的使用也是一个重要环节。本组 5 例死亡患者入院时均存在发热症状,在使用甲强龙治疗后体温均逐渐恢复正常,但糖皮质激素的使用仍存在争议^[6],因其存在免疫抑制效果可能存在加剧肺炎的情况,因此对于 COVID-19 如何适当的使用激素,包括最佳剂量及使用时间仍需进一步的大样本研究。

ECMO 又称人工心肺,因强大的心肺替代功能广泛应用于临床,主要适用于呼吸循环衰竭患者^[7]。随着体外循环技术的发展,其适应证越来越广泛且精细化,但任何手段都是一把双刃剑,ECMO 带来呼吸循环支持的同时同样存在不可忽视的并发症,例如下肢缺血坏死、血液凝固、感染、大出血等。在 ECMO 运转过程中,由于管路的肝素化,需密切监测 APTT、PT、INR 等指标,观察下肢循环及全身情况,且管路的维护及护理要密切配合。上述病例中有 1 例患者在后期因发展为肺实变导致氧合难以维持,经病情讨论后认为符合 ECMO 的适应证遂采取上机治疗,但病情较严重,呼吸及循环功能难以维持,最终死亡避免。

综上所述,COVID-19 是一个全新的疾病,其危害之大难以评估,与 2003 年的 SARS 相比,该病毒传播力更强,存在较严重的人群聚集性。患者常常表现为急性肺损伤进而发展成顽固性低氧血症及 ARDS,最后发展为呼吸衰竭。此外,该病毒还可侵犯除呼吸系

统以外的脏器和系统。在常规抗病毒、营养支持、维持水电解质平衡、合理使用激素的综合治疗前提下,实施积极有效的小潮气量肺保护通气策略、免疫调理、治疗阶段的细心护理同样不可或缺。然而该病毒潜伏期较长,肺部病变吸收较慢,患者住院周期较长,需要进一步观察随访,人们对该疾病的认识有待于进一步深入及提高。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

胡哲夫:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,进行统计学分析;周晨亮:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王鑫、严娟娟、徐平英、魏捷:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] Kim JY, Choe PG, Oh Y, et al. The first case of 2019 novel coronavirus pneumonia imported into Korea from Wuhan, China: Implication for infection prevention and control measures[J]. J Korean Med Sci, 2020,35(5):e61. DOI: 10.3346/jkms.2020.35.e61.
- [2] 赵文明,宋述慧,陈梅丽,等. 2019 新型冠状病毒信息库[J]. 遗传,2020,42(2):212-221. DOI:10.16288/j. ycz. 20-030.
- [3] Shanmugaraj B, Siri Wattananon K, Wangkanont K, et al. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19)[J]. Asian Pac J Allergy Immunol,2020,38(1):10-18. DOI: 10.12932/AP-200220-0773.
- [4] Su H, Yang M, Wan C, et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China[J]. Kidney Int, 2020, 4: S0085-2538 (20) 30369-0. DOI: 10.1016/j. kint. 2020.04.003.
- [5] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)[EB/d]. [IAZO-02-04]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202001/4294563ed351b43209b31739bd0785e67/files/7a9309111267475a99d4306962c8bf78.pdf>.
- [6] 赵建平,胡轶,杜荣辉,等. 新型冠状病毒肺炎糖皮质激素使用的建议[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020,43(3):183-184. DOI:10.3760/cma.j. issn. 1001-0939. 2020.03.008.
- [7] 邹文艳,黄继红. 小儿体外膜肺氧合与连续肾替代疗法一体化支持的管理体会[J]. 疑难病杂志,2017, 16(5),515-518. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2017.05.021.

(收稿日期:2020-03-12)

作者·编者·读者

欢迎关注《疑难病杂志》微信公众平台

本刊已开通微信公众平台并取得认证,借助该平台可以即时查询本刊简介、阅读稿约、浏览杂志全文或摘要,学习论文写作知识和技巧,并可在微社区进行互动交流。为加强作者、读者和编者之间的联系提供了更为方便快捷的手段,欢迎大家予以关注! 关注方法:扫描中文目次首页的二维码,或直接搜索公众号“疑难病杂志”。

新型冠状病毒肺炎 39 例胸部 CT 影像学特征分析

曾春意, 吴宗山, 贾敏, 潘友涛

作者单位: 237005 安徽省六安市人民医院影像科

通信作者: 曾春意, E-mail: zengchunyi2008@163.com

【摘要】目的 探讨成人新型冠状病毒肺炎(COVID-19)胸部 CT 影像学特征。**方法** 选择 2020 年 1 月 20 日—2 月 9 日安徽省六安市人民医院收治的 39 例成人 COVID-19 患者作为研究对象,对所有患者的胸部 CT 影像资料进行回顾性分析。**结果** 39 例患者首诊时行胸部 CT 检查显示,31 例病程处于早期,8 例处于进展期。经规范治疗后(截至 2020 年 2 月 9 日),16 例病情好转,进入转归期,7 例演变为重型 COVID-19。(1)早期胸部 CT 主要表现:31 例早期患者中,磨玻璃密度影 22 例,磨玻璃密度影伴局部实变 7 例(其中呈“晕征”2 例),无明显异常 2 例。(2)进展期胸部 CT 主要表现:39 例患者复查胸部 CT 时病变均有不同的改变,始终呈磨玻璃样密度影者 11 例,其中边界模糊,内见增粗血管束 1 例,病灶呈扇形或不规则形 10 例,包括 1 例单发大片状和 9 例多发者;磨玻璃密度影伴肺实变影者 25 例,其中 20 例呈不规则形,实变部分见增粗血管束与空气支气管征;肺实变影为主者 3 例,周边少许磨玻璃密度影。(3)吸收期胸部 CT 主要表现:16 例转归期病灶范围缩小、密度减低,边界趋于清晰,可见部分纤维化改变。(4)重症期胸部 CT 主要表现:病变进一步进展,双肺弥漫性实变,其内可见支气管扩张或空气支气管征,双肺大部分受累时呈“白肺”表现。**结论** COVID-19 患者的胸部 CT 影像有其特征性,CT 表现分期有助于 COVID-19 的早期诊断与病情动态评估。

【关键词】 新型冠状病毒;新型冠状病毒肺炎;CT 表现分期;影像学特征;成人

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.003

Analysis of chest CT features of 39 adult patients with COVID-19 Zeng Chunyi, Wu Zongshan, Jia Min, Pan Youtao. Department of Medical Imaging, People's Hospital of Liuan City, Anhui Province, Liuan 237005, China
Corresponding author: Zeng Chunyi, E-mail: zengchunyi2008@163.com

【Abstract】 Objective To study the chest electronic computed tomography imaging features of adult patients with COVID-19, and to provide objective evidence for clinical diagnosis of COVID-19. **Methods** From January 20, 2020 to February 9, 2020, 39 adult patients with COVID-19 who were diagnosed by clinical symptoms, nucleic acid test and imaging were selected as the study subjects, the chest CT images of all patients were analyzed retrospectively. **Results** 31 cases were in early stage and 8 cases were in advanced stage when 39 cases were first examined by chest CT. After a period of standardized treatment in the hospital (as of February 9, 2020), 16 cases were improved, entering the reversion period, 7 cases evolved into heavy COVID-19 (all were transferred to the provincial designated hospital), and the rest were stable. (1) The main manifestations of early chest CT: in 31 patients, 22 cases had ground glass opacity, 7 cases had ground glass opacity with local consolidation, 2 cases had halo sign, 2 cases had no obvious abnormality. 28 cases were fan-shaped or irregular, 7 cases were single, 21 cases were multiple, 3 cases were round-like. (2) The main manifestations of advanced chest CT: 39 patients had some changes when they reexamined the chest CT. There are 11 cases with ground glass density, involved one case of enlarged vascular bundle and ten fan-shaped or irregular cases. In the 10 cases, one was single and large lamellar, but the others were multiple. There were 25 cases of ground glass density shadow with pulmonary consolidation in which 20 cases showed irregular shape, and the consolidation part showed enlarged vascular bundles and Air Bronchi. Pulmonary consolidation was predominant in 3 cases, with a little ground glass density around the lung. (3) The main findings of chest CT at the stage of reversion period: 16 cases of the focus of absorption reduced in scope, density, boundary tends to be clear, some fibrosis changes can be seen. (4) Chest CT findings in severe cases: The lesions were progressive with diffuse consolidation in both lungs, with bronchiectasis or Air Bronchogram, and "White Lung" appearance in most of the lungs. **Conclusion** The chest CT images of patients with COVID-19 have their characteristics, CT staging is helpful to the early diagnosis and dynamic evaluation of COVID-19.

【Key words】 SARS-CoV-2; COVID-19; Computed tomography manifestation staging, Imaging features; Adult

目前新型冠状病毒肺炎正在流行,下呼吸道样本测序分析得出,此次肺炎病原体属于一种新型冠状病毒(SARS-CoV-2),世界卫生组织(WHO)将由该病毒感染引起的肺炎命名为 COVID-19^[1]。COVID-19 具有传染性强、人群普遍易感的特点,经呼吸道飞沫与接触传播是其主要传播途径,此外也可经气溶胶传播^[2]。COVID-19 可引起肺部炎性病变,并可能对肠道、肝脏及神经系统产生一定的损害,老年人及合并慢性基础性疾病的人群在感染 SARS-CoV-2 后容易演变为重型、危重型肺炎,从而增加死亡风险^[3]。因此及早诊断、及早治疗,防止 COVID-19 病情演变至重型、危重型,有利于降低病死率^[4]。胸部电子计算机断层扫描(CT)是各种肺部疾病的首选影像学检查手段,可为大多数肺炎提供足够的客观诊断信息,因此明确 COVID-19 的胸部 CT 影像学特征具有重要临床意义^[5]。为此本研究对 39 例 COVID-19 成人患者的胸部 CT 影像资料进行了分析,并结合相关文献做了归纳总结,旨在进一步提高临床医师对 COVID-19 患者胸部 CT 影像学特征的客观认识,为临床诊疗提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析 2020 年 1 月 20 日—2 月 9 日安徽省六安市人民医院收治的 39 例 COVID-19 患者的临床资料,所有患者均经临床症状、SARS-CoV-2 核酸检测和影像学检查等最后确诊。其中男 29 例,女 10 例,年龄 21~69(43.12±8.47)岁。就诊时临床表现为发热 38 例(97.44%),咳嗽 35 例(89.74%),胸痛 4 例(10.26%),头痛 9 例(23.08%),腹泻 7 例(17.95%),无明显症状 1 例(2.56%)。实验室检查:白细胞计数正常 37 例(94.87%),降低 2 例(5.13%);淋巴细胞计数减少 39 例(100.00%);血清高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平升高 30 例(76.92%),正常 9 例(23.08%)。所有对象均与确诊或疑似 COVID-19 患者有密切接触史。本研究经医院医学伦理委员会同意。

1.2 仪器与方法 CT 机为沈阳东软医疗生产的 Neu-Viz 64 In 型,螺旋容积扫描,管电压 120 kV,电流 150 mA,螺距 1.0,层厚 5.0 mm,1.0 mm 重建层厚,矩阵 512×512。患者佩戴 N95 口罩,进入机房前消毒双手,取仰卧位,深吸气后屏气状态下进行胸部 CT 扫描,范围自胸腔入口至膈肌下缘。间隔 3~6 d 复查 1 次。

1.3 图像分析 由 2 名高年资影像科医生分别单独对所有胸部 CT 图像进行双盲法阅片,分析其胸部 CT 影像学特征,包括病灶分布情况、病灶位置、累及肺叶数目、病灶特点、胸部肺外受累情况等。诊断意见出现

分歧时,由医院“COVID-19 影像诊断专家组”进行确认。

2 结果

根据本研究 39 例 COVID-19 患者胸部 CT 显示病变范围及演变,将其分成早期、进展期和转归期。39 例患者首诊时行胸部 CT 检查显示,其中 31 例病程处于早期,8 例处于进展期。所有患者规范抗病毒、抗感染等对症支持治疗后,截至 2020 年 2 月 9 日,31 例病程处于早期的患者中 15 例病情好转,进入转归期(其中 1 例痊愈出院),3 例演变为重型 COVID-19,进入重症期,其余病情平稳;8 例处于进展期的患者中 1 例病情好转,进入转归期,4 例则演变为重型 COVID-19,进入重症期,其余病情平稳。共计 7 例重型 COVID-19 患者转运至省级定点医院集中救治。

2.1 早期胸部 CT 主要表现 早期 COVID-19 患者多为轻型、普通型,就诊及时,发病时间短,往往症状较轻,或密切接触者 SARS-CoV-2 核酸筛查阳性而无症状者。胸部 CT 主要表现为单发或多发磨玻璃结节状,或片状影,并以多发为主;散发者,以下肺、肺野背侧和靠近胸膜部位多见。边界不清,密度可以很低。肺野内其他区域一般无阳性发现(肺内基础疾病除外),无胸水,一般无明显胸膜增厚。本研究 31 例早期病例中,磨玻璃密度影 22 例,磨玻璃密度影伴局部实变 7 例(其中 2 例呈“晕征”),无明显异常 2 例。28 例病灶呈扇形或不规则形,其中 7 例单发,21 例多发;3 例病灶呈类圆形。纵隔淋巴结肿大与胸腔积液等肺外改变少见,本组仅 1 例出现纵隔淋巴结肿大(淋巴结横径>10 mm),见图 1、2。

2.2 进展期胸部 CT 主要表现 发病至就诊时间较长或治疗效果不理想时,轻型至危重型 COVID-19 患者均可见进展期胸部 CT 征象。此时病灶发展快,较短时间内即会出现范围扩大、数量增多,并逐渐融合,累及双肺多个肺叶和肺段。同时病灶多表现为片状,边界不清,密度不均,可疑有实性病变存在。此外病灶内可观察到空气支气管征和铺路石征,周围血管纹理增粗。本研究中,首诊 31 例早期患者及 8 例进展期患者在第 2 次胸部 CT 复查时病变均有一定改变,其中 31 例首诊早期患者复查时显示病灶增大者 18 例。39 例患者中始终成磨玻璃样密度影者 11 例,其中边界模糊、内见增粗血管束者 1 例,病灶呈扇形或不规则形的有 10 例,包括 1 例单发大片状和 9 例多发者。磨玻璃密度影伴肺实变影者 25 例,其中 20 例呈不规则形,实变部分见增粗血管束与空气支气管征;肺实变影为主者 3 例,周边少许磨玻璃密度影,见图 3、4。

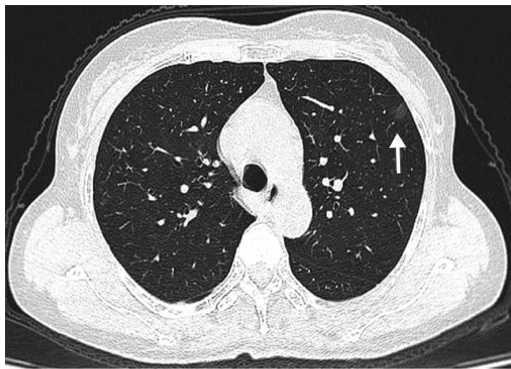


图1 患者,女,61岁,发热、咳嗽5 d,咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测阳性,初查时,仅两上肺外带胸膜下少许小片状影(箭头所示),左上肺病灶 CT 值约 -700 Hu,边界模糊,周围血管纹理形态正常

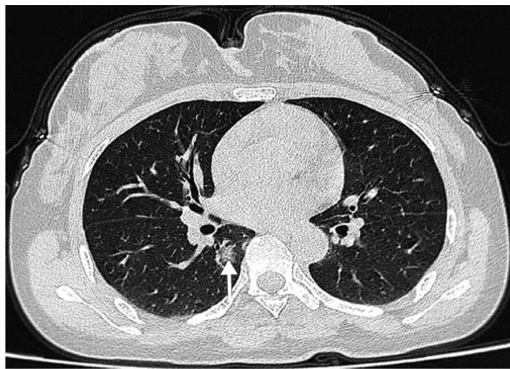


图2 患者,女,45岁,其丈夫为 COVID-19 确诊患者,咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测阳性 4 h 后行胸部 CT 检查,患者无明显不适,右肺下叶内基底段小片状影(箭头所示)

2.3 转归期胸部 CT 主要表现 病灶范围缩小、密度减低,边界趋于清楚,可见部分纤维化改变。但重型或有基础疾病的患者,大多吸收较慢。而轻型、普通型患者,尤其是纯磨玻璃样片状或者结节状病灶,吸收更加明显,甚至完全吸收,见图 5~7。

2.4 重症期胸部 CT 主要表现 病情演变为重型、危重型的患者多合并有基础疾病,表现为呼吸窘迫、低氧血症、呼吸衰竭、休克或合并其他器官衰竭,甚至死亡。本研究 39 例患者中共有 7 例演变为重型 COVID-19,但鉴于笔者所在省份对于确诊患者“分级分类管理”的要求,重型患者需转运至省级定点医院精准救治,故笔者并未有效掌握重症期 COVID-19 患者的胸部 CT 影像资料。据现有文献^[6-7]表明,重症期 COVID-19 患者主要表现为急性呼吸窘迫综合征,病变进一步进展,双肺弥漫性实变,其内可见支气管扩张或空气支气管征,双肺大部分受累时呈“白肺”表现,常见双侧胸膜和叶间胸膜增厚,可伴有少量胸腔积液,呈局部包裹性或游离性积液表现。

3 讨论

COVID-19 是由 β 属 SARS-CoV-2 感染后引发,该冠状病毒有包膜,颗粒呈圆形或椭圆形,常为多形性,直径 60~140 nm,与严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(SARSr-CoV)、中东呼吸综合征相关冠状病毒(MERSr-CoV)相比,其基因特征有明显区别,是目前已知的冠状病毒第 7 个亚型^[8]。研究发现^[9],COVID-19 的传染源可能是中华菊头蝠,穿山甲为潜在中间宿主。流行病学调查显示^[10],COVID-19 的潜伏期一般为 3~7 d,最长不超过 14 d,发热、乏力及干咳是其主要临床表现,部分患者可伴鼻塞、流涕和腹泻等症状。本研究 39 例患者发热 38 例(97.44%),咳嗽 35 例

(89.74%),发热、咳嗽为主要症状。COVID-19 的传染性强,且人群普遍易感,目前尚缺乏特效药,早诊断、



图3 患者,男,53岁,发热、咳嗽5 d,A、B为2020年2月4日行胸部 CT 检查时发现两肺多发片状影,不以肺段分布,边界不清,密度不均,部分实变(箭头所示);C、D为2020年2月7日复查胸部 CT 显示,两肺病灶范围明显扩大且数量增多,病灶多表现为片状,边界不清,密度不均,空洞扩大、数量增多,实性部分增多,并可见空气支气管征(箭头所示)

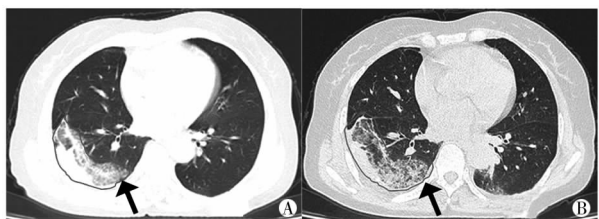


图4 患者,女,56岁,咳嗽、咯痰及发热2 d,经规范治疗4 d后病灶范围增大,胸水增多(箭头所示区域),A为2020年2月4日行胸部 CT 检查时的影像表现,B为2月8日复查胸部 CT 时的影像表现

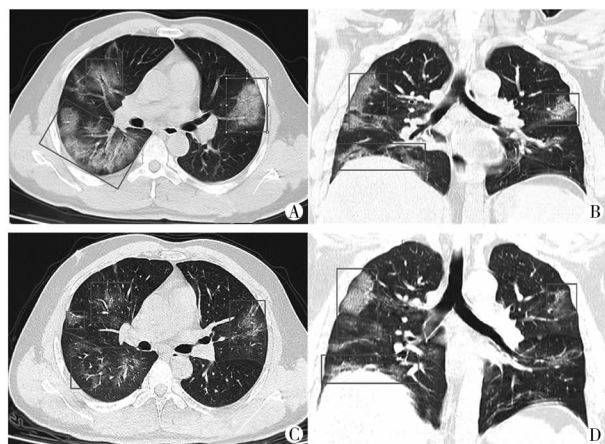


图5 患者,男,42岁,发热、咳嗽1 d, A、B 为初诊时双肺多个肺叶磨玻璃片状影, C、D 为经规范治疗2 d后复查胸部CT,显示两肺病灶范围明显缩小、密度明显减低,边界趋于清楚,且可见到条索状影,提示部分病灶纤维化

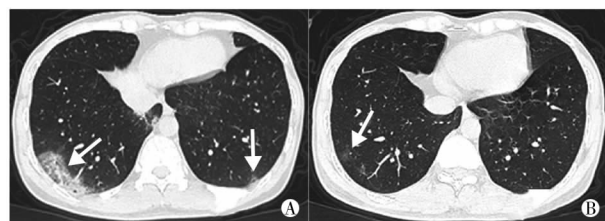


图6 患者,男,38岁,畏寒不适4 d,上腹部疼痛1 d, A 为初诊时两肺下肺背侧毛玻璃片状(右)、结节状(左)病灶(箭头所示), B 为经规范治疗7 d后,右下肺病灶仅剩很少云雾状影(箭头所示),而左下肺毛玻璃状结节影已完全吸收

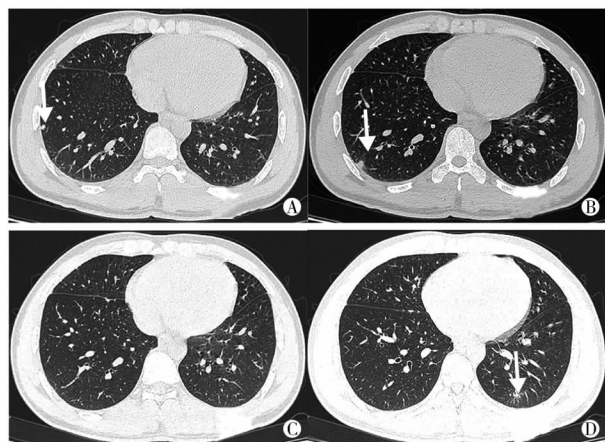


图7 患者,男,29岁,发热、咽部不适2 d,咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测阳性, A、B 为2020年1月26日行胸部CT检查见右肺下叶紧贴胸膜的多发结节(箭头所示),稍大的结节灶CT值约为7 HU; C 为经规范治疗5 d后(2020年2月1日)复查胸部CT显示,右下肺结节已吸收,但左下肺出现毛玻璃片状影(箭头所示); D 为继续治疗12 d后(2020年2月13日)再次复查胸部CT显示,左下肺病灶大部分吸收、部分纤维化(箭头所示)

早隔离、早治疗对于疫情的遏制十分重要。目前 COVID-19 的临床确诊主要依靠的是病毒核酸检测与基因测序,但与之相比,胸部 CT 等影像学检查更快捷、简便,早期即能发现病灶,在病例的筛选及早期诊断方面起着十分重要的作用。COVID-19 的胸部 CT 影像学有其特征性,2020 年 2 月 5 日国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》^[11]将湖北省内疑似病例且具有典型肺炎影像学特征作为 COVID-19 诊断的独立标准。故对于 COVID-19 胸部 CT 征象的正确认识有利于早期确诊,减少漏诊。

COVID-19 的影像表现与严重急性呼吸综合征(SARS)及中东呼吸综合征(MERS)类似,主要影像学特征为肺部磨玻璃影,可伴实变^[12]。胸部 CT 检查处于病程早期的 COVID-19 患者发病至就诊时间多在 1 周内,可见双肺多发病灶,少见单发,并以下肺、肺野背侧和靠近胸膜部位多见;病灶多呈扇形或不规则形,少数呈类圆形;边界不清,密度不均,密度可以很低,磨玻璃样阴影多见;除肺内基础疾病外,肺野内其他区域一般无阳性发现。随着病情演变为进展期,COVID-19 患者胸部 CT 检查可见磨玻璃影范围扩大,逐渐融合并累及双肺多个肺叶与肺段,其内可见支气管血管束增粗、支气管壁增厚;病灶多呈双侧非对称楔形或扇形分布,主要分布于肺底、背侧胸膜下区;肺泡渗出液增多时可见磨玻璃影密度增高;肺实变部分可见增粗血管束与空气支气管征;无肺部基础疾病患者通常无胸腔积液,亦无纵隔或肺门淋巴结肿大。此外病情演变至重症期的 COVID-19 患者多合并有基础疾病,表现为呼吸窘迫、低氧血症、呼吸衰竭、休克或合并其他器官衰竭,甚至死亡,胸部 CT 征象为双肺弥漫性病变呈实变表现,部分呈“白肺”表现,且主要为实变影^[13]。转归期 COVID-19 患者体温下降,肺功能改善,咳嗽减少,胸部 CT 显示病灶范围缩小、密度减低,边界趋于清楚,并可见部分纤维化改变。但重型或有基础疾病的患者,大多吸收较慢。而轻型、普通型患者,尤其是纯磨玻璃样片状或者结节状病灶,吸收更加明显,甚至完全吸收。

尽管 SARS-CoV-2 核酸检测与基因测序是 COVID-19 确诊的关键手段,但核酸检测存在一定的假阴性^[14]。对于病毒核酸检测呈阴性但 CT 影像学具有典型病毒性肺炎表现时仍需加强警惕,尤其是 COVID-19 暴发传播期间,存在部分患者无发热和干咳等症状体征,咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测甚至也为阴性,但胸部 CT 有特征性影像表现,最终仍可被确诊为 COVID-

19. 尽管 COVID-19 的影像表现有其特征性,但与其他类型病毒性肺炎如 SARS、MERS 和巨细胞病毒性肺炎仍具有一定的相似性,因此应做好鉴别诊断,对于符合病毒感染胸部 CT 征象的患者仍需密切结合其临床表现、实验室检查及流行病学史^[15-16]。另外,本研究中有 1 例确诊 COVID-19 患者并无典型的胸部 CT 影像表现,SARS-CoV-2 核酸检测则呈阳性,提示少数患者的胸部 CT 检查可能具有一定的滞后性。也有报道称胸部 CT 检查具有 COVID-19 影像学特征性表现的患者,多次 SARS-CoV-2 核酸检测呈阴性,经数日后最终 SARS-CoV-2 核酸检测呈阳性。故在对 COVID-19 进行诊断时,若出现胸部 CT 征象与 SARS-CoV-2 核酸检查仅有一项为阳性时,应密切监测,反复复查,以减少漏诊^[17-18]。

综上所述,COVID-19 患者的胸部 CT 影像表现有其特征性,提高临床医师对该病毒性肺炎影像学特征的认识有助于 COVID-19 的早诊断、早治疗、早隔离,不仅有利于改善确诊患者的预后,也有益于遏制疫情的蔓延。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

曾春意:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;吴宗山:提出研究思路,分析实验数据;贾敏:实施研究过程,论文审核;潘友涛:资料搜集;进行统计学分析

参考文献

- [1] World Health Organization. WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020 [EB/OL]. [2020-02-11]. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版) [EB/OL]. [2020-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2/files/b218cfef1bc54639af227f922bf6b817.pdf>.
- [3] 中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 145-151. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-6450. 2020. 02. 003.
- [4] World Health Organization. Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected [EB/OL]. [2020-01-25]. <https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel->

coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected-20200125.

- [5] 伍建林,沈晶. 高度重视和科学评价 CT 在新型冠状病毒肺炎诊治中的作用[J]. 大连医科大学学报, 2020, 42(1): 1-4. DOI: 10. 11724/jdmu. 2020. 01. 01.
- [6] 高璐,张静平,杜永浩,等. 输入性新型冠状病毒肺炎的 CT 表现[J/OL]. 西安交通大学学报: 医学版, [2020-02-13]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61. 1399. r. 20200213. 1259. 009. html>.
- [7] 雷子乔,史河水,梁波,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎的影像学检查与感染防控的工作方案[J/OL]. 临床放射学杂志, [2020-02-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx.do> = 10. 13437/j. cnki. jcr. 20200206. 001.
- [8] Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding [J]. Lancet, 2020, 395(10224): 565-574. DOI: 10. 1016/S0140-6736(20): 30251-8.
- [9] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. Lancet, 2020, 395(10223): 499-506. DOI: 10. 1016/S0140-6736(20)30186-5.
- [10] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识[J]. 中国病毒病杂志, 2020, 10(2): 81-87. DOI: 10. 16505/j. 2095-0136. 2020. 0015.
- [11] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版) [EB/OL]. [2020-02-05]. <http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/05/5474791/files/de44557832ad4be1929091dcbcfca891.pdf>.
- [12] 李小虎,潘红利,束晶苇,等. 输入性新型冠状病毒肺炎临床和 CT 特征[J]. 中国医学影像技术, 2020, 36(2): 248-251. DOI: 10. 13929/j. issn. 1003-3289. 2020. 02. 017.
- [13] 沈晶,于晶,鄢英男,等. 家庭群居爆发型新型冠状病毒肺炎的临床与胸部 HRCT 表现[J]. 大连医科大学学报, 2020, 42(1): 32-36. DOI: 10. 11724/jdmu. 2020. 01. 07.
- [14] 里进,叶光明,陈良君,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测假阴性结果原因分析及对策[J/OL]. 中华检验医学杂志, [2020-02-14]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1181137.htm>.
- [15] 刘丽芬,苏秉亮,牛广明,等. 传染性非典型肺炎的 CT 表现及其 CT 动态观察的意义[J]. 中国医学影像技术, 2003, 19(7): 807-809. DOI: 10. 13929/j. 1003-3289. 2003. 07. 009.
- [16] Khan PA, Nousheen BBS, Maryam N, et al. Middle east respiratory syndrome (MERS): A systematic review [J]. Int J Pharm Sci Res, 2018, 9(7): 2616-2625.
- [17] 冯毅,袁连方,郑冲霄,等. CT 与核酸检测在新型冠状病毒肺炎诊断中的应用[J]. 广东医学, 2020, 41(5): 1-4. DOI: 10. 13820/j. cnki. gdx. 20200302.
- [18] 中华医学会检验医学分会. 新型冠状病毒肺炎病毒核酸检测专家共识[J/OL]. 中华医学杂志, 2020, 100(00): E003.

(收稿日期:2020-03-06)

家庭聚集性新型冠状病毒肺炎患者临床特点分析

郭功兵, 王官军, 梁惠, 刘玉全, 屈红, 张小乔

基金项目: 十堰市新冠肺炎应急科研项目(20Y17)

作者单位: 442000 湖北省十堰市太和医院/湖北医药学院附属医院综合医疗科

通信作者: 张小乔, E-mail: little-bridge@126.com

【摘要】目的 初步探讨新型冠状病毒肺炎(COVID-19)家庭聚集性发病的流行病学及临床特点。**方法** 分析湖北省十堰市新冠肺炎第二定点救治医院 2020 年 2 月 3—6 日收治确诊的 6 组家庭聚集性 COVID-19 患者流行病学、临床症状、实验室检查、胸部 CT 检查结果。**结果** 6 组家庭共 26 人, 男 15 人, 女 11 人, 其中 18 人发病, 男 8 例(8/18), 女 10 例(10/18), 女性发病率高于男性; 患者平均年龄(47.28 ± 12.05)岁, 未发病 8 人平均年龄(13.81 ± 10.64)岁, 中老年人更易发病; 发病症状多以发热(12/18)、咳嗽(6/18)为首发症状; 病初患者 WBC、中性粒细胞计数(N)、淋巴细胞计数(L)多正常或偏低 [$(4.55 \pm 1.8) \times 10^9/L$, $(2.74 \pm 1.24) \times 10^9/L$, $(1.39 \pm 0.53) \times 10^9/L$], CRP 多升高(30.96 ± 3.97) $\mu g/ml$; 患者胸部 CT 早期呈现多发小斑片状影及间质改变, 以肺外带明显, 进而发展为双肺多发磨玻璃影、浸润影, 严重者可出现肺实变。**结论** COVID-19 家庭聚集性发病现象明显, 不同性别、年龄发病率有一定差异, 正确掌握家庭聚集性 COVID-19 的临床特点, 有利于早期阻断家庭聚集传播、早发现、早治疗。

【关键词】 家庭聚集性; 新型冠状病毒肺炎; 临床特点

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.004

Clinical features of family clustering coronavirus disease 2019 Guo Gongbing, Wang Guanjun, Liang Hui, Liu Yuquan, Qu Hong, Zhang Xiaoqiao. * Department of Geriatrics, Taihe Hospital of Shiyan, The Affiliated Hospital of Hubei Medical College, Hubei Province, Shiyan 442000, China

Corresponding author: Zhang Xiaoqiao, E-mail: little-bridge@126.com

Funding program: Shiyan City Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Scientific Research Project(20Y17)

【Abstract】Objective To investigate the features of epidemiology, clinical symptoms, leukocytes, CRP, and chest CT of novel coronavirus pneumonia (COVID-19) patients of clustered onset in families. **Methods** To analyze the epidemiology, clinical symptoms, WBC, CRP, and chest CT examination results of 6 groups of family-aggregated COVID-19 patients diagnosed and treated on February 3-6, 2020, Novel Coronary Pneumonia Second Designated Treatment Hospital, Shiyan City, Hubei Province. **Results** Among the 26 families (15 males and 11 females) in 6 groups, 18 were sick, 8 males (8/18) and 10 females (10/18). The incidence of females was higher than that of males; the average age of patients was (47.28 ± 12.05) years old, the average age of 8 people without disease (13.81 ± 10.64) years old, middle-aged and elderly people are more prone to onset; most of the symptoms are fever (11/18), cough (6/18) as the first symptom; WBC, neutrophil count (N), lymphocyte count (L) is usually normal or low [$(4.55 \pm 1.8) \times 10^9/L$, $(2.74 \pm 1.24) \times 10^9/L$, $(1.39 \pm 0.53) \times 10^9/L$]. CRP increased (30.96 ± 3.97) $\mu g/ml$; patients with early chest CT showed multiple small patchy shadows and interstitial changes, with obvious extrapulmonary bands, and then developed multiple ground glass and infiltration shadows of the lungs. Lung consolidation may occur. **Conclusion** The clustering of COVID-19 in families is obvious. There is a certain difference in the incidence of different sexes and ages. Correctly grasping the clinical characteristics of family clustering COVID-19 is helpful to early block the spread of family aggregation, early detection and early treatment.

【Key words】 Family clustering; COVID-19; Clinical characteristics

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)病原经病毒分析检测为 SARS-CoV-2, 其传播速度快、范围广、致病力强, 部分患者存在家庭聚集性发病特点^[1]。本文通过

回顾性分析收治确诊的 6 组家庭临床资料, 初步探讨家庭聚集性 COVID-19 患者发病的临床特点及相关检查结果, 为其防控和诊疗提供参考, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2020 年 2 月 3—6 日十堰市新冠肺炎第二定点救治医院收治的 6 组家庭聚集性确诊 COVID-19 患者家庭成员资料,共计 26 人,男 15 人,女 11 人,年龄 0.5~68(36.98±19.46)岁。其中发病 18 例,男 8 例,女 10 例,年龄 32~68(47.28±12.05)岁。18 例确诊病例均符合国家卫生健康委员会“新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)”,患者取呼吸道标本荧光 RT-PCR 检测新型冠状病毒核酸阳性,并由十堰市 COVID-19 专家组会诊确诊。

1.2 流行病学调查 对 6 组家庭所有成员的基本情况进行调查,主要询问疫区旅游史、COVID-19 接触史,有无发热、咳嗽等呼吸道症状等。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 病毒核酸 RNA 检测:由十堰市疾控中心采用鼻、咽拭子标本经过逆转录—聚合酶链反应(RT-PCR)实施 SARS-CoV-2 病毒核酸检测。

1.3.2 胸部 CT 检查:采用荷兰 Philips Brilliant 64 排 CT 机行胸部 CT。患者均仰卧位,扫描范围自胸腔入口至肋膈角以下,扫描层厚 5 mm,层间隔 5 mm,管电压 120 kV,自动管电流,矩阵 512×512 mm,然后 1.0 cm 薄层重建。观察指标主要包括病变分布、形态、密度、支气管征、小血管变化等。由 2 名经验丰富的胸部影像诊断医师进行,其中 1 名为副高以上职称。

1.3.3 外周血白细胞计数及血清 CRP 检测:外周血白细胞计数及分类采用全自动血液细胞分析仪进行检测。采集静脉血分离血清,CRP 采用全自动生化分析仪进行检测。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流行病学调查结果

家庭 1(A). 成员 3 人,均长期居住十堰,否认武汉居住史、旅游史及新冠肺炎患者接触史。丈夫(A1),61 岁,于 1 月 22 日超市购物后出现咳嗽,28 日行胸部 CT 及咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测确诊为 COVID-19。妻子(A2),55 岁,于 2 月 2 日出现发热,3 日咽拭子病毒核酸检测阴性,而胸部 CT 提示病毒性肺炎,4 日行咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。女儿(A3),32 岁,于 2 月 1 日出现发热伴腹泻,6 日行胸部 CT 提示病毒性肺炎、咽拭子病毒核酸检测确诊为

COVID-19。3 例患者确诊后均转入本定点救治医院。

家庭 2(B). 成员 3 人,丈夫(B1),48 岁,于 2019 年 12 月—2020 年 1 月武汉出差 1 月余,2020 年 1 月 18 日由武汉返回十堰,后其子(B3),6 个月,出现发热、咳嗽,5 d 内就诊 2 家三甲医院行 2 次胸部 CT 及 2 次咽拭子病毒核酸检测,均不支持 COVID-19,按急性上呼吸道感染诊治后症状缓解。B1 于 2 月 2 日健康体检发现病毒性肺炎,进一步行呼吸道病毒核酸检测阳性。妻子(B2),33 岁,2 月 1 日出现发热,6 日行胸部 CT 提示病毒性肺炎,咽拭子病毒核酸检测阳性。2 例患者确诊后均转入本定点救治医院诊治。

家庭 3(C). 成员 6 人,全家长期生活十堰,否认武汉居留史及新冠肺炎患者接触史。丈夫(C1),62 岁,2 月 1 日出现咳嗽,5 日医院行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。妻子(C2),60 岁,1 月 31 日出现发热伴咳嗽,2 月 6 日行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。其儿媳(C3),37 岁,2 月 2 日出现发热,6 日行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。3 例患者确诊后均转本定点救治医院治疗。其子(C4),30 岁,孙子(C5),8 岁,孙女(C6),5 岁,于 2020 年 2 月 5 日起开始分别隔离 2 周,目前均无呼吸道症状,行胸部 CT 未见 COVID-19 相关表现,予以排除,解除隔离。

家庭 4(D). 成员 3 人。妻子(D1),36 岁,2020 年 1 月 18 日参加武汉同学聚会,24 日出现发热伴头晕,2 月 4 日行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。丈夫(D2),39 岁,1 月 28 日出现咳嗽,2 月 5 日行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。2 例患者确诊后转本定点救治医院治疗。其子(D3),8 岁,2 月 4 日母亲确诊后隔离,目前无呼吸道症状,行胸部 CT 未见 COVID-19 表现。

家庭 5(E). 成员 4 人。长期居住十堰,否认武汉居留史及新冠肺炎患者接触史。妻子(E1),39 岁,2 月 1 日出现发热,3 日行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸 RNA 检测确诊 COVID-19,后转本定点救治医院治疗。丈夫(E2),50 岁,旅游公司司机,2 月 3 日因妻子确诊,行健康体检胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。2 例患者确诊后转本定点救治医院治疗。2 个儿子(E3),28 岁,(E4),16 岁,2 月 3 日开始分别隔离,目前无症状,胸部 CT 未见 COVID-19 表现并排除。

家庭 6(F). 成员 7 人。女儿(F6),35 岁,长期居住武汉,1 月 16 日返回十堰,25 日出现发热,31 日行胸部 CT 及咽拭子病毒核酸检测确诊 COVID-19。其

母亲(F2),68岁,1月22日出现发热伴咳嗽,2月1日行胸部CT及咽拭子病毒核酸检测确诊COVID-19。其大儿子(F3),44岁,大儿媳(F4),46岁,1月22日同时出现发热伴咳嗽,2月2日行胸部CT及咽拭子病毒核酸检测确诊COVID-19。二儿子(F5),未婚,40岁,1月27日出现发热,2月4日行胸部CT及咽拭子病毒核酸检测确诊COVID-19。父亲(F1),68岁,2月4日健康体检胸部CT及咽拭子病毒核酸检测确诊COVID-19,6例患者确诊后转入本定点救治医院诊治。孙子(F7),1月31日开始隔离,观察2周无症状,未见COVID-19肺部表现和咽拭子病毒核酸检测阴性并排除。

2.2 临床特征

2.2.1 发病性别、年龄:6组家庭共26人,男15人,发病8人(8/15);女11人,发病10人(10/11),发病率女性高于男性($P < 0.05$)。其中重症1例(男,年龄68岁)。截止2月19日无死亡病例。18例患者中,年龄32~68(47.28 ± 12.05)岁,平均年龄男性(51.5 ± 10.90)岁,女性(43.9 ± 12.39)岁,男女年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$);未发病8例年龄0.5~30(13.81 ± 10.64)岁,发病与未发病者年龄比较差异有统计学意义($P < 0.05$),儿童、青少年不易发病。

2.2.2 病患关系与既往病史:6组家庭中共8对夫妻,除家庭3中儿媳发病、儿子未发病外,其余7对夫妻均发病,夫妻发病率较高,COVID-19是否经性传播还需进一步考证。有高血压、糖尿病、下肢肌间静脉血栓、带状疱疹后遗留神经痛各1例,其他患者既往无慢

性病史。

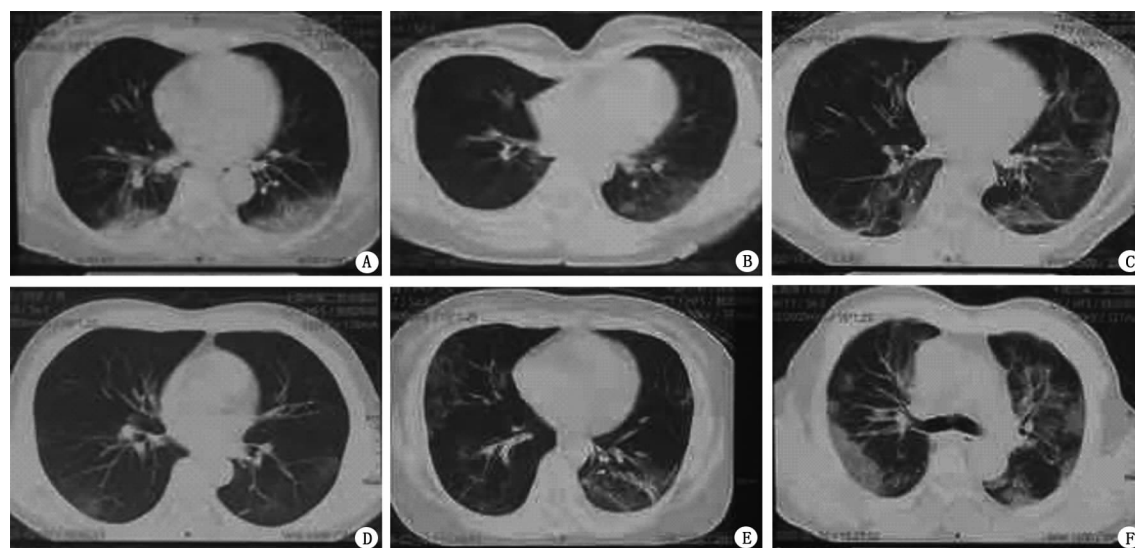
2.2.3 临床症状特点:患者症状多以发热(12例)、咳嗽(7例)为主,其他为发热伴咳嗽(4例)、发热伴头晕(1例)、发热伴腹泻(1例)、咳嗽伴头晕(1例),部分患者无明显临床症状。18例患者出现症状至确诊时间为1~10(5.78 ± 3.08)d。

2.2.4 胸部CT变化:确诊患者均符合以下特点,肺部病变早期呈现多发小斑片状影及间质改变,以肺外带明显;进而发展为双肺多发磨玻璃影、浸润影,严重者可出现肺实变,见图1。

2.2.5 炎性细胞因子变化:患者白细胞数多正常或偏低(4.55 ± 1.80) $\times 10^9/L$,中性粒细胞多偏低(2.74 ± 1.24) $\times 10^9/L$,淋巴细胞亦偏低(1.39 ± 0.53) $\times 10^9/L$,CRP多增高(30.96 ± 3.97)mg/L。

3 讨论

截至2019年,已知有6种冠状病毒会感染人体并引发呼吸系统疾病。其中4种病毒HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63和HCoV-HKU1,感染人体后通常仅引起轻度上呼吸道感染症状,基本预后较好。另外2种病毒分别是2002—2003年发现的严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和2012年发现的中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV),这二者感染人体后主要引起下呼吸道症状,并且症状急剧甚至致命^[2-3]。从2019年12月至今,COVID-19疫情在全球暴发,COVID-19主要通过呼吸道飞沫传播及接触传播,在密闭的环境中,长时间暴露在高浓度气溶胶情况下存在经气溶胶传播的可能,其他传播途径如消化道



注:A. 双肺片状影;B. 双肺多发磨玻璃影;C. 双肺多发磨玻璃影、斑片状、片状影;D. 双肺多发磨玻璃影;E. 双肺多发磨玻璃影、斑片状影;F. 双肺弥漫性病变,肺实质广泛渗出、实变

图1 COVID-19患者胸部CT表现

传播尚待明确。美国确诊的首例 COVID-19 患者虽然以发热、咳嗽等呼吸道症状首发,但在就诊过程中也出现恶心、呕吐的消化道症状,随后在粪便 RT-PCR 检测中证实了 SARS-CoV-2 阳性^[4]。钟南山团队在患者粪便中检出活的 2019-nCoV^[5]。随后,中山大学第三医院也在患者粪便中发现病毒核酸,其中 1 例患者并无腹泻等肠道表现,且 3 例患者在咽拭子核酸检测转阴后,粪便核酸检测仍呈现阳性^[6]。说明粪便中存在活病毒,新型冠状病毒可能通过消化道传播。本研究发现,家庭聚集性发病也证实了气溶胶传播的可能。同时在聚集性发病的家庭中,夫妻同时发病的比例很高,是否存在经性传播还需进一步考证。

本研究发现家庭发病中,性别有差异,女性更易发病,家庭聚集性发病是否具有性别及年龄差异,还需更大样本进一步研究证实。在发病年龄方面,儿童和青少年不易发病。虽然随着疫情蔓延,儿童发病逐渐增多,此前国家卫生健康委员会最新诊疗方案明确说明人群普遍易感,但就整个发病人群报道,儿童发病率仍偏低,儿童可能存在细胞结构或免疫基础上使病毒相对不易感^[7]。家庭聚集性 COVID-19 患者症状以发热、咳嗽为主,可出现头晕、腹泻,这与文献报道一致,其他报道的少见临床表现为鼻塞、流涕、咽痛、乏力、纳差^[8]。

血细胞分类计数作为临床最常规的检查手段,在疾病诊断中具有重要价值,尽管有研究显示以 WBC 计数和细胞分类易受多种生理和病理因素影响,作为鉴别病毒和细菌感染的诊断指标有一定局限性^[9]。但本研究发现,COVID-19 患者白细胞正常或偏低,中性粒细胞计数及淋巴计数正常或减低,与国家卫生健康委员会下发的最新诊治方案相符,在 COVID-19 患者早期诊断和排查方面具有重要价值。CRP 是急性炎症反应时肝脏合成的一种非特异性蛋白质,能激活补体系统,增加白细胞的吞噬作用,刺激淋巴细胞或单核细胞,在细菌感染时发挥重要作用,是一种正相的急性时相反应蛋白,而且不受性别、年龄、贫血、高球蛋白血症、放疗和化疗等因素影响,是临床常用判断细菌感染及其严重程度的指标^[10]。本研究结果显示,COVID-19 患者 CRP 轻度升高,有文献报道,CRP ≤ 50 mg/L 时,有较大可能感染呼吸道病毒^[9],这与本研究一致,在 COVID-19 患者早期诊断中具有重要参考价值。家庭聚集性 COVID-19 患者胸部 CT 均符合以下特点,病例早期呈现多发小斑片状影及间质改变,以肺外带明显。进而发展为双肺多发磨玻璃影、浸润影,严

重者可出现肺实变,与文献报道相一致^[11]。

综上所述,COVID-19 具有家庭聚集性发病现象,家庭聚集性发病患者在性别、年龄、临床表现方面具有一定特点,为临床对 COVID-19 早期防治提供依据。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

郭功兵、梁惠:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王官军:分析试验数据;刘玉全、屈红:论文修改;张小乔:论文修改、论文审核

参考文献

- [1] Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J]. Science China Life Sciences, 2020, 63(3): 457-460. DOI:10.1007/s11427-020-1637-5.
- [2] Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1282: 1-23. DOI:10.1007/978-1-4939-2438-7_1.
- [3] Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses[J]. Trends Microbiol, 2016, 24(6): 490-502. DOI:10.1016/j.tim.2016.03.003.
- [4] Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States[J]. N Engl J Med, 2020, 382(10): 929-936. DOI:10.1056/NEJMoa2001191.
- [5] 中国青年网. 钟南山团队在患者粪便中检出新冠活病毒[N/OL]. [2020-02-13]. http://news.youth.cn/jsxw/202002/t20200213_12195960.htm.
- [6] 杨智炜,李干文,戴小灵,等. 新型冠状病毒肺炎咽拭子转阴但粪便核酸检测仍阳性三例[J/OL]. 中华消化杂志, 2020. [2020-02-14]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1181140.htm>. DOI:10.3760/cma.j.issn.02541432.2020.0002.
- [7] Fang F, Luo XP. Facing the pandemic of 2019 novel coronavirus infections: The pediatric perspectives[J]. Chin J Pediatr, 2020, 58(2): 81-85. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2020.02.001.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎治疗方案(试行第五版修正版)[EB/OL]. (2020-02-04) [2020-02-08]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.
- [9] 杨思恩,顾红岩,崔蓉,等. 外周血白细胞计数、淋巴细胞百分比和 C-反应蛋白与呼吸道病毒检出率的相关性[J/OL]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2018, 12(6): 565-569. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.06.009.
- [10] Zarkesh M, Sedaghat F, Heidarzadeh A, et al. Diagnostic value of IL-6, CRP, WBC, and absolute neutrophil count to predict serious bacterial infection in febrile infants[J]. Acta Med Iran, 2015, 53(7): 408-411.
- [11] 余红妹,李胜兰,邓刚,等. 不同临床类型 COVID-19CT 表现及演变过程[J/OL]. 武汉大学学报:医学版. [2020-03-19]. <https://DOI.org/10.14188/j.1671-8852.2020.0179>.

(收稿日期:2020-03-25)

无症状新型冠状病毒肺炎核酸检测 35 d 持续阳性 1 例

郑志林, 范正俊, 艾俊, 周林波, 肖元川, 孙荣艳

作者单位: 655000 云南省曲靖市第一人民医院

通信作者: 孙荣艳, E-mail: 79168013@qq.com

【关键词】 新型冠状病毒肺炎; 病毒核酸检测; 持续阳性; 病例报告

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.005

患者, 女, 16 岁, 因“新冠病毒核酸检测阳性”入院。2020 年 1 月 23 日患者乘坐高铁自武汉回家, 于 2020 年 2 月 3 日被当地卫生院隔离, 2 月 5 日曲靖市疾控中心咽拭子新型冠状病毒核酸检测阳性收住我院。入院前后患者无任何不适症状。其密切接触的亲友未见发病。入院查体: T 36.5℃, P 69 次/min, R 19 次/min, BP 144/82 mmHg, SpO₂ 97%。2 月 6 日血常规示 WBC $4.7 \times 10^9/L$, N 0.56, 淋巴细胞绝对值 $1.56 \times 10^9/L$, RBC $4.59 \times 10^{12}/L$, Hb 146 g/L, PLT $222 \times 10^9/L$ 。肝功能: 总胆红素 37.5 μmol/L, 间接胆红素 27.40 μmol/L。红细胞沉降率 22.00 mm/h。胸部 CT: 左肺下叶局灶性磨玻璃影(见图 1A)。依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)》, 诊断为新型冠状病毒肺炎轻症。给予洛匹那韦/利托那韦(克力芝)片 500 mg 口服联合 α-干扰素 500 万 U 雾化吸入, 每 12 h 1 次, 抗病毒、防治并发症和中药等治疗。2 月 17 日复查肝功能总胆红素和间接胆红素指标正常。2 月 26 日胸部 CT 示左肺下叶局灶性磨玻璃影已吸收(见图 1B)。CD4⁺ 细胞计数 480 个/μl, 2 次外院检测血清新型冠状病毒特异性 IgM、IgG 抗体均阴性。经省级专家会诊, 依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)》, 最后诊断为新型冠状病毒肺炎普通型恢复期, 2 月 17 日起(治疗后 12 d), 每 48 h 取咽拭子及痰液行 COVID-19 核酸检测, 核酸检测 35 d 持续阳性, 3 月 9 日和 3 月 10 日分别输入 200 ml 新冠肺炎患者康复期血浆治疗。2020 年 3 月 11 日转阴, 出院后每 2 周复查痰液、咽拭子核酸检测, 至 4 月 14 日均为阴性, 临床治愈。

讨论 COVID-19 属于以往医学的未知区域, 但随着相关领域专家地不断研究探索, 终于揭开了它的



注: A. 左肺下叶局灶性磨玻璃影(2020-02-06);
B. 左肺下叶局灶性磨玻璃影已吸收(2020-02-26)

图 1 患者胸部 CT 影像学变化

神秘面纱。国家卫健委联合国家中医药管理局对《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》进行了多次更新。依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[1], 基于流行病学资料, 轻型患者入院前后可无任何临床症状, 仅在 COVID-19 核酸检测时呈阳性表现, 和/或肺部磨玻璃样改变。此类患者往往不属于当前疫情防控筛查、管理的重点对象, 却依然存在传染性, 成为了移动的传染源, 给疫情防控阻击战带来了更大的挑战。通过该患者的救治, 笔者发现咽拭子核酸转阴时间明显早于痰液, 说明单纯进行咽拭子核酸检测, 在疑似患者筛查过程中容易造成疾病漏诊, 治疗过程中咽拭子核酸检测存在复阳的现象, 需要高度警惕。联合咽拭

子及痰液检测可以明显提高检测的准确度及敏感度。但是多数新冠肺炎患者表现为干咳,痰液标本检测困难,对于高危患者有必要行支气管镜获得深部呼吸道分泌物。该患者在胸部 CT 病变吸收后 13 d 后核酸检测方转阴,距首次核酸检测阳性结果长达 35 d。为了避免在此期间造成的疾病传播,依赖咽拭子病毒核酸转阴及 CT 肺部病变的吸收仍不足以让患者解除隔离。

该患者在肺部毛玻璃阴影完全吸收后 12 d 痰液 COVID-19 核酸检测仍然呈阳性,经云南省专家组讨论最后诊断为“新型冠状病毒肺炎普通型恢复期”。根据杨晓明等^[2]推荐,感染后 14 d 内抗 SARS-CoV-2 IgG 抗体滴度低的普通型和重型患者可以选择 COVID-19 的康复期血浆治疗,《新冠肺炎康复者恢复期血浆临床治疗方案(试行第二版)》中建议采用康复者血浆免疫治疗原则上病程不超过 3 周;在病情急性进展期,新冠病毒核酸检测阳性或临床专家判定患者存在病毒血症时应当尽早使用^[3]。该患者在病毒核酸检测阳性第 32、33 天输入恢复期血浆,第 36 d 即出现转阴,说明血浆免疫治疗在新冠肺炎患者康复期仍然有效,可以有效缩短病程、促进机体清除病毒。至于该患者在确诊后 14 d 及 21 d,COVID-19 IgG、IgM 均表现为阴性的原因仍不明确。新型冠状病毒特异性 IgM 抗体多在发病 3~5 d 后呈阳性,IgG 抗体滴度恢复期较急性期增高 4 倍及以上^[1]。该患者 IgM、IgG 的缺失可能与机

体对 COVID-19 病毒缺乏免疫应答有关,也是造成机体长时间携带病毒的重要因素。只有在被动输入高水平的 IgG 中和抗体,提高体液免疫应答后才真正清除了病毒。

目前 SARS-CoV-2 核酸检测靶标主要包含病毒基因组中 3 段保守序列,即开放读码框 1ab (open reading frame 1ab, ORF1ab)、核壳蛋白 (nucleocapsid-protein, N) 基因及包膜蛋白 (envelop, E) 基因^[4]。另外,核酸残片遗留也可能是病毒核酸检测持续阳性的原因,但其机制仍不清楚。其次,如果康复期无症状患者病毒核酸检测持续阳性,是否需要持久抗病毒治疗,需要采取何种治疗措施仍有待商榷。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版) [EB/OL]. [2020-03-11]. <http://www.nhc.gov.cn/zygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [2] 杨晓明,侯继峰. 康复期血浆应用于急性病毒性传染病现状及其治疗新型冠状病毒肺炎前景[J]. 中国生物制品学杂志,2020,33(3):241-245. DOI:10.13200/j.cnki.cjb.003023.
- [3] 国家卫生健康委员会. 新冠肺炎康复者恢复期血浆临床治疗方案(试行第二版) [EB/OL]. [2020-03-11]. <http://www.nhc.gov.cn/zygj/s7658/202003/61d608a7e8bf49fca418a6074c2bf5a2.shtml>.
- [4] Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China[J]. Nature, 2020, 579(7798):265-269. DOI:10.1038/s41586-020-2008-3.

(收稿日期:2020-03-30)

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。

沙库巴曲缬沙坦联合芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭患者的临床疗效观察

李崇耀, 张曼, 赵鸿斌, 袁建才, 桑建卫, 何志红, 孙欣

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(2018252)

作者单位: 050000 石家庄市第一医院

通信作者: 李崇耀, E-mail: lichongyao120@163.com

【摘要】目的 观察沙库巴曲缬沙坦联合芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭患者的临床疗效及安全性。**方法** 选取 2017 年 1 月—2019 年 1 月石家庄市第一医院收治的慢性心力衰竭患者 70 例,按随机数字表法分为 2 组,对照组 35 例,研究组 35 例。2 组患者均给予常规抗心力衰竭治疗,对照组给予沙库巴曲缬沙坦 50 mg 口服,每日 1 次;研究组在对照组基础上加用芪苈强心胶囊 1.2 g 口服,每日 3 次。4 周为 1 个疗程,治疗 2 个疗程后检测心功能血清学指标,包括血清脑钠肽(BNP)、高敏肌钙蛋白(hs-TnT)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIM-1),应用彩色多普勒超声仪检测左心室射血分数(LVEF)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室收缩末期内径(LVESD)、室间隔厚度(IVS)、左房内径(LAD),并进行 6 分钟步行试验(6-MWT)。比较 2 组患者疗效并观察不良反应发生情况。**结果** 研究组总有效率为 82.86%,显著高于对照组的 71.43%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后 2 组患者的血清学标志物 BNP、hs-TnT、MMP-2 等均有显著改善,差异均有统计学意义($P < 0.01$),且研究组各项指标改善均更明显,差异亦有统计学意义($t = 3.275, 6.520, 10.243, P$ 均 = 0.000)。超声心动图检查结果发现,2 组 LVEF 均升高,LVEDD、LVESD、LAD 均下降,而研究组各项指标改善较对照组更明显,差异有统计学意义($t = 3.158, 2.930, 4.002, P$ 均 = 0.000)。治疗后 2 组 6-MWT 距离均显著增加,且研究组优于对照组($t = 3.203, P = 0.007$)。2 组均未发生严重不良反应,轻度不良反应发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 沙库巴曲缬沙坦联合芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭疗效确切,显著改善心功能,且安全性良好。

【关键词】 心力衰竭,慢性;沙库巴曲缬沙坦;芪苈强心胶囊;心功能;超声心动图

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.006

Clinical observation on the curative effect of sakubatrovalsartan combined with *Qiliqiangxin* capsule in the treatment of patients with chronic cardiac failure Li Chongyao, Zhang Man, Zhao Hongbin, Yuan Jiancai, Sang Jianwei, He Zhihong, Sun Xin, First Hospital of Shijiazhuang City, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China

Funding program: Scientific Research Project of Hebei Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (2018252)

Corresponding author: Li Chongyao, E-mail: lichongyao120@163.com

【Abstract】Objective To observe the clinical efficacy and safety of shakubativartan combined with *Qiliqiangxin* capsule in the treatment of patients with chronic cardiac failure. **Methods** 70 patients with chronic heart failure admitted to the first hospital of Shijiazhuang city from January 2017 to January 2019 were selected and randomly divided into two groups, 35 cases in the control group and 35 cases in the study group. Both groups were given conventional anti heart failure treatment, while the control group was given 50 mg of sakubatrovalsartan orally, once a day. The study group was given *Qiliqiangxin* capsule 1.2 g orally on the basis of the control group, 3 times a day. After two courses of treatment, serum brain natriuretic peptide(BNP), high sensitivity troponin(hs-TnT), matrix metalloproteinase-2(MMP-2), tissue inhibitor of metalloproteinase-1(TIM-1) were detected. Left ventricular ejection fraction(LVEF), left ventricular end diastolic diameter(LVEDd), left ventricular end systolic diameter(LVEDD) were measured by color Doppler ultrasound LVESD, IVS, lad and 6-MWT were performed. The curative effect and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The total effective rate of the study group was 82.86%, which was significantly higher than 71.43% of the control group ($P < 0.05$). After treatment, the serum markers BNP, hs-TnT, MMP-2 in the two groups were significantly improved, the differences were statistically significant ($P < 0.01$), and the improvement of each index in the study group was more obvious, and the differences were statistically significant ($t = 3.275, 6.520, 10.243, all P = 0.000$). The results of echocardiography showed that LVEF increased,

LVEDD, LVESD and LAD decreased in both groups, and the improvement of indexes in the study group was more obvious than that in the control group ($t=3.158, 2.930, 4.002$, all $P=0.000$). After treatment, 6-MWT distance in both groups was significantly increased, and the study group was better than the control group ($t=3.203$, $P=0.007$). There was no significant difference in the incidence of mild adverse reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The curative effect of sakubatralsartan combined with *Qiliqiangxin* capsule in the treatment of chronic heart failure is effective and safe.

[Key words] Heart failure, chronic; Sakubatralsartan; *Qiliqiangxin* capsule; Cardiac function; Echocardiography

心力衰竭是各种心脏疾患发展的晚期状态,多由心肌梗死、血流动力学负荷过重、心肌病及炎症反应等原因引起的心肌损伤,导致心脏结构或功能发生不同程度变化,引起心室泵血功能或充盈功能低下^[1]。心力衰竭发病迅速,进展快,病情危重,表现为一系类临床综合征。当前临床上对于慢性收缩性心力衰竭以西药物治疗为主,ACEI/ARB、 β 受体阻滞剂及醛固酮受体拮抗剂(MRA)被视为治疗心力衰竭的“金三角”,虽然能改善患者预后,但是患者再住院率、病死率较高^[2]。心力衰竭属中医“心悸”“喘证”“水肿”等范畴,近年来我国学者将中成药应用在心力衰竭的治疗中,取得了较好的疗效^[3]。既往研究中临床判断指标主要依据患者症状、体征或者尿量变化,对于病情发展不同阶段缺乏有效的识别指标。早期判断病情,预测发展预后,针对各种危险因素给予及时处理,可改善患者转归,提高生活质量,减轻患者及社会经济负担。血清学标志物应用于心力衰竭病情判定,具有检测方便、数据量化、重复性高等特点。沙库巴曲缬沙坦属于全球首个血管紧张素受体—脑啡肽酶抑制剂,能增强心脏保护作用,抑制 RAAS 系统的过度激活^[4];芪苈强心胶囊是一种临床常用中成药,具有益气温阳、活血通络、利水消肿功效^[5-7]。笔者以慢性收缩性心力衰竭患者作为对象,联合应用沙库巴曲缬沙坦与芪苈强心胶囊进行治疗,探讨其临床效果及对心功能指标、血清标志物的影响,总结报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 1 月—2019 年 1 月石家庄市第一医院收治的慢性心力衰竭患者 70 例,所有患者均符合“慢性心力衰竭诊断治疗指南”中的诊断标准^[8]。纳入标准:性别不限,年龄 18~70 岁;根据 NYHA 心功能分级为 II~IV 级;均完善心脏彩超、B 型脑钠肽检测、心电图等检查;临床信息完整,对本研究使用药物无禁忌证。排除标准:伴有严重肝肾功能障碍及内分泌系统疾病,心脏瓣膜病、心包疾病、限制性或肥厚梗阻性心肌病、急性心肌炎等,妊娠期和哺乳期妇女,近半年内服用糖皮质激素的患者。按随机数字表法分为 2 组。研究组 35 例,男 13 例,女 22 例;年龄

22~65(38.5 ± 4.1)岁;病程 1.2~6.8(3.2 ± 0.5)年;心功能 II 级 4 例,III 级 22 例,IV 级 9 例;其中冠心病 12 例,高血压性心脏病 12 例,扩张型心肌病 5 例,风湿性心脏病 6 例。对照组 35 例,男 18 例,女 17 例;年龄 26~66(35.2 ± 3.9)岁;病程 1.1~5.9(3.0 ± 0.5)年;心功能 II 级 4 例,III 级 23 例,IV 级 8 例;其中冠心病 14 例,高血压性心脏病 10 例,扩张型心肌病 6 例,风湿性心脏病 5 例。2 组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会审批通过,全部患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 治疗方法 2 组患者均给予常规抗心力衰竭治疗,包括休息、限盐,洋地黄类强心剂、利尿剂、血管紧张素转换酶抑制剂、 β 受体阻滞剂、螺内酯等,低氧者予面罩或鼻管吸氧。对照组给予沙库巴曲缬沙坦(北京诺华制药有限公司生产),50 mg 口服,每日 1 次。研究组在对照组基础上加用芪苈强心胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司生产)4 粒(1.2 g)口服,每日 3 次。4 周为 1 个疗程,治疗 2 个疗程后进行指标检测和疗效评价,并密切观察全部患者治疗过程中发生的不良反应。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 血清学指标检测:2 组患者分别于治疗前 1 天以及治疗 8 周后采血进行检测。检测当日取晨起空腹肘静脉血 10 ml,以 2 000 r/min 速度离心 11 min,取上清液保存于 -30°C 冰箱中等待检测。采用酶联免疫吸附法检测患者血清脑钠肽(BNP)、高敏肌钙蛋白(hs-TnT)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)水平,试剂盒均购自武汉博士德生物科技有限公司,严格按照操作说明进行检测。

1.3.2 超声心功能指标检查及运动能力测评:心功能指标采用荷兰飞利浦公司生产的彩色多普勒超声诊断仪(iE33 型)进行检查,检测左心室射血分数(LVEF)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室收缩末期内径(LVESD)、室间隔厚度(IVS)、左房内径(LAD)。全部患者行 6 分钟步行试验(6-MWT)评价运动耐力。

1.4 临床疗效判定标准 2 个疗程结束后进行疗效评价。参考《中药新药临床研究指导原则》中标准^[9], 显效: 心力衰竭症状消失, 胸闷、心悸、气喘等临床症状显著好转, 肺部湿啰音基本消失, 心功能改善 2 级及以上; 有效: 胸闷、心悸、气喘等临床症状有所好转, 肺部湿啰音相对减少, 心功能提升 1 级; 无效: 临床症状及体征无显著改善, 心功能无改善甚至较前加重, 死亡。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数 × 100%。

1.5 统计学方法 应用 SAS 5.0 统计学软件对数据进行统计学分析。对符合正态分布或近似正态分布的计量资料, 以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组内治疗前后比较采用配对 t 检验, 不同组间比较采用成组 t 检验; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 均采用卡方检验。均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者临床疗效比较 经过 2 个疗程治疗后, 2 组均无死亡患者, 研究组治疗总有效率为 82.86%, 显著高于对照组的 71.43%, 2 组比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.36, P = 0.027$), 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(%)
对照组	35	15(42.86)	10(28.57)	10(28.57)	71.43
研究组	35	20(57.14)	9(25.72)	6(17.14)	82.86

2.2 2 组患者心功能血清学指标比较 与治疗前比较, 治疗 2 个疗程后 2 组患者的血清学标志物 BNP、hs-TnT、MMP-2 等均有显著改善, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 而研究组各项指标改善均更明显, 优于对照组, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$)。2 组患者 TIMP-1 水平亦有改善, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

2.3 2 组患者心功能指标及运动能力变化比较 与治疗前比较, 治疗 2 个疗程后 2 组患者心功能指标均显著改善, LVEF 升高, LVEDD、LVESD、LAD 下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 且研究组上述各项指标改善较对照组更明显, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 而 2 组患者 IVS 均无显著变化 ($P > 0.05$), 见表 3。治疗后对照组 6-MWT 距离由治疗前的 (190.03 ± 12.35) m 增加为 (288.56 ± 18.30) m, 而研究组则由治疗前的 (189.75 ± 11.40) m 增加为 (455.28 ± 13.51) m, 2 组均较治疗前显著改善, 且研究组改善较对照组更为明显 ($t = 3.203, P = 0.007$)。

2.4 安全性评价 2 组少数患者在治疗过程中出现干咳、头晕、皮疹、心悸等不良反应, 均较轻微, 未予特别干预, 均可自行消失。对照组不良反应总发生率为 11.43%, 研究组总发生率为 8.57%, 2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.500, P = 0.479$), 见表 4。

表 2 2 组患者血清学指标变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	BNP(ng/L)	hs-TnT(ng/L)	MMP-2(μ g/L)	TIMP-1(μ g/L)
对照组 (n=80)	治疗前	687.29 ± 25.34	350.02 ± 22.12	452.35 ± 18.01	3.59 ± 0.05
	治疗后	358.55 ± 23.63	239.53 ± 29.58	291.55 ± 16.27	3.77 ± 0.08
研究组 (n=80)	治疗前	685.86 ± 28.35	339.17 ± 23.05	446.92 ± 17.54	3.60 ± 0.02
	治疗后	260.53 ± 24.90	150.48 ± 17.49	189.04 ± 11.35	3.79 ± 0.03
t/P 对照组内值		3.454/0.000	8.121/0.000	11.245/0.000	1.257/0.750
t/P 研究组内值		5.201/0.000	9.157/0.000	18.759/0.000	1.522/0.631
t/P 治疗后组间值		3.275/0.000	6.520/0.000	10.243/0.000	0.954/0.801

表 3 2 组患者治疗前后血清学指标变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	LVEF(%)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	IVS(mm)	LAD(mm)
对照组 (n=35)	治疗前	35.10 ± 10.52	65.15 ± 11.03	62.14 ± 10.19	11.58 ± 2.89	51.88 ± 4.81
	治疗后	41.01 ± 8.55	59.73 ± 10.27	50.15 ± 10.21	10.00 ± 0.82	38.11 ± 3.80
研究组 (n=35)	治疗前	35.13 ± 10.24	65.32 ± 10.35	61.09 ± 10.10	11.50 ± 1.58	52.20 ± 5.00
	治疗后	52.17 ± 9.34	57.18 ± 9.27	46.33 ± 9.77	9.54 ± 0.73	34.01 ± 2.92
t/P 对照组内值		2.941/0.000	3.596/0.000	4.125/0.000	1.027/0.656	7.091/0.000
t/P 研究组内值		3.956/0.000	4.021/0.000	5.019/0.000	1.133/0.370	7.452/0.000
t/P 疗后组间值		3.158/0.000	2.930/0.000	2.930/0.000	1.025/0.407	4.002/0.000

表 4 2 组患者治疗中不良反应发生情况比较 [例(%)]

组别	例数	干咳	头晕	皮疹	心悸	总发生率(%)
对照组	35	1(2.86)	1(2.86)	2(5.71)	0	11.43
研究组	35	0	1(2.86)	1(2.86)	1(2.86)	8.57

3 讨论

慢性心力衰竭是临床常见病、多发病,由各种心脏疾病发展而来,疾病进程反复缓慢,严重影响患者正常的工作生活质量水平,且患者多合并其他并发症,临床处理比较棘手,导致该疾病残疾率和病死率居高不下^[10-12]。近年来随着全球进入老龄化社会,其发病率呈上升趋势,成为全球重大的卫生经济负担。目前心力衰竭的治疗以西药为主导,且取得了一定临床疗效,经典药物如利尿剂、血管扩张剂、洋地黄制剂、 β 受体阻滞剂等药物,均能够改善慢性心力衰竭患者的临床症状及预后。随着医学科学的进步,现代医学对慢性心力衰竭的治疗观念也逐渐发生转变,其治疗目标不仅要改善患者的临床症状,更重要的是延缓和防止心室重构,提高患者生活质量,延长健康寿命^[13]。中医理论认为,慢性心力衰竭属“心悸”“怔忡”“喘症”“水肿”范畴,《素问·调经论》曰:“夫不得卧,卧则喘者,水气之客也”;《素问·水热邪论》曰:“水病下为跗肿大腹,上为喘呼,不得卧者,标本俱病”,为中医学对心力衰竭的最早论述^[14]。同时也对其病因病机进行了深入讨论,中医理论认为其发病早期以心阳不足、心气亏虚为主,发病中期则为脾阳受损、水湿内停,到疾病后期则为肾阳衰虚、化气不利,因此,慢性心力衰竭的病机为“本虚标实、虚实夹杂”。中医经典中有多种治疗心力衰竭的经典方药,而随着中医药现代化的迅速发展,我国研制开发了多种治疗心力衰竭的中成药。芪苈强心胶囊是以中医脉络学说为指导开发的创新中药,主要由黄芪、人参、附子、丹参、葶苈子、泽泻、玉竹、桂枝、红花、香加皮、陈皮等组成,有心气充、阳气复、脉络通、水肿消之功效,方中黄芪固表补气、托毒排脓、利尿;人参主治元气虚脱证,肺脾心肾气虚证;附子回阳救逆、补火助阳;丹参活血祛瘀,止痛消痞;葶苈子利水消肿;泽泻利水渗湿、泄热、抑菌;桂枝发汗解肌、温通经脉、助阳化气;陈皮行气止痛、健脾和中;香加皮利水消肿、归肝、肾、心经;红花活血祛瘀止痛^[5,7,15],诸药配伍,发挥协同作用,既能益气通阳,以助源头血行鼓动之力而治本,又能活血化瘀,通经活络,疏通血气,标本兼治,共奏良效。

沙库巴曲缬沙坦是一种复合药物,临床上用于左室射血分数降低的慢性心力衰竭患者,降低心血管疾

病病死率和心力衰竭再住院风险,多与其他心力衰竭治疗药物合用,发挥抗心力衰竭作用。其中沙库巴曲作为一种前体药物,在肝脏代谢为有活性的脑啡肽酶抑制剂 LBQ657,抑制脑啡肽酶催化降解脑钠肽^[10];而缬沙坦是一种血管紧张素 II 受体拮抗剂,用于治疗高血压、充血性心力衰竭和心肌梗死。该药能同时调控利钠肽系统和 RAAS 系统,在抑制血管紧张素的同时,能够加强利钠肽水平升高带来的保护作用,其效果明显优于单一成分治疗^[16]。MMP-2 是基质金属蛋白酶家族的成员之一,在慢性心力衰竭患者中的表达量及活性显著增加,可引起胶原网络发生重构,促进心室腔扩大。研究表明 MMP-2 在心室重构的发生、发展过程中发挥了重要作用。而 TIMP-1 是基质金属蛋白酶家族中的一员,低水平的 TIMP-1 会引起心肌基质蛋白酶活性降低,蛋白酶降解过程受到影响,心肌胶原含量下降,最终促使心室形状发生改变^[12]。有效调节 MMP-2、BNP、TIMP-1 水平,可延缓心室重构进程。肌钙蛋白是心肌损伤标志物,其水平能有效反映患者病情变化,并对预后的判定具有一定价值。研究发现,慢性心力衰竭患者经沙库巴曲缬沙坦治疗后,肌钙蛋白 I 水平较基线值显著下降^[17]。BNP 是临床常用的心力衰竭诊断及治疗效果评估指标,其水平随患者病情进展和变化而呈现波动,可作为疗效评价指标反映药物治疗的效果。

本研究中,研究组患者经沙库巴曲缬沙坦和芪苈强心胶囊联合治疗后,取得了较对照组更高的临床疗效,2 组比较差异有统计学意义(82.86% vs. 71.43%, $P < 0.05$),提示中西药物联合可较单独西药治疗取得更好的临床治疗效果。进一步观察血清学指标变化情况,2 组患者血 BNP、hs-TnT、MMP-2 水平均显著下降,而研究组下降程度更明显($P < 0.01$),2 组 TIMP-1 水平均轻度升高,但未形成统计学意义($P > 0.05$),考虑与观察时间较短有关。超声心动图是评估心脏结构和功能的首选方法,可提供关于心腔容积、心室收缩和舒张功能、室壁厚度、瓣膜功能等即时信息,对明确心力衰竭程度、判断病情和指导预后都有重要价值。心力衰竭发生时,超声心动图检查可表现为 LVEF 下降, LVEDD 和 LVESD 显著升高^[18-19]。本研究中,2 组经过治疗后超声心动图指标均有显著改善,LVEF 升高, LVEDD、LVESD、LAD 下降,表明 2 种治疗方案均对改善心功能有较好的疗效,且研究组联合应用中西药物,效果更佳。本研究结果还发现,2 组心功能 IVS 指标虽均有改善,但差异无统计学意义,有待进一步观察分析原因。2 组治疗过程中均有少数患者出现不良反

应,以干咳、头晕、皮疹、心悸为主,但症状均较轻,不影响用药过程,全部患者均顺利完成 2 个疗程,表明其安全性较高。

总之,心力衰竭的治疗是当前临床工作中的重点和热点,如何快速有效的控制症状、逆转心室重构,改善患者生活质量,是广大医师亟需解决的问题^[20-22]。本研究运用沙库巴曲缬沙坦联合芪苈强心胶囊治疗心力衰竭患者,取得了较好的效果,为临床治疗方案的选择提供了新的可能。但本研究纳入病例数较少,且观察时间尚短,未能观察二者联用对心力衰竭患者的长期疗效及对心脏结构的影响,有待下一步开展研究,继续探索。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李崇耀、何志红:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张曼:设计研究思路,分析试验数据,论文审核;赵鸿斌、袁建才:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;桑建卫、孙欣:进行统计学分析,课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 顾东风,黄广勇,何江,等.中国心力衰竭流行病学调查及其患病率[J].中华心血管病杂志,2003,31(1):3-6. DOI:10.3760/j.issn:0253-3758.2003.01.002.
- [2] 吴相君,赵保礼,韩硕龙,等.芪苈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.
- [3] 孙小燕,杨雷,赵东坡,等.自拟参桂保心汤对慢性心力衰竭的疗效及心室重构的影响[J].中国医药导报,2020,17(8):72-75.
- [4] 高扬,栾波,高尧,等.沙库巴曲/缬沙坦治疗慢性心力衰竭的临床观察[J].中国循证心血管医学杂志,2019,11(5):595-597.
- [5] 刘树峰,严晓红,肖敦宏,等.芪苈强心胶囊辅助治疗慢性心力衰竭患者的疗效及其对 NT-proBNP、LVEF 及 Tei 指数的影响[J].疑难病杂志,2017,16(5):505-508,514. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2017.05.019.
- [6] 陈要起,穆金兴,陈洪波,等.芪苈强心胶囊对急性心肌梗死患者 PCI 术后远期心功能及支架内再狭窄的影响[J].疑难病杂志,2018,17(4):334-338. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.04.003.
- [7] 李崇耀,张曼,赵鸿斌,等.桑建卫芪苈强心胶囊辅助治疗慢性心力衰竭患者的临床效果观察[J].临床合理用药,2020,13(4):45-47.
- [8] 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.慢

- 性心力衰竭诊断治疗指南[J].中华心血管病杂志,2007,35(12):1076-1095.
- [9] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则(试行)[M].北京:中国医药科技出版社,2002:48
- [10] 姜一鸣,耿巍,张旗,等.沙库巴曲缬沙坦治疗慢性心力衰竭的临床研究[J].中国循证心血管医学杂志,2020,12(3):349-352.
- [11] Myhre PL, Vaduganathan M, Claggett B, et al. B-Type natriuretic peptide during treatment with sacubitril/valsartan[J]. J Am Coll Cardiol,2019,73(11):1264-1272.
- [12] Linssen GCM, Jaarsma T, Hillege HL, et al. A comparison of the prognostic value of BNP versus NT-proBNP after hospitalisation for heart failure[J]. Neth Heart J,2018,26(10):486-492.
- [13] 程智敏.参附注射液对急性心衰患者心功能、TIMP-1、MMP-3 的影响研究[J].中国处方药,2017,15(2):108-108,109. DOI:10.3969/j.issn.1671-945X.2017.02.075.
- [14] 梁春玲,陈晓杰,刘祖发,等.益气活血、通阳泄浊自拟方辅助治疗冠心病伴颈动脉斑块并慢性心力衰竭效果观察[J].山东医药,2020,60(11):65-67. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2020.11.017.
- [15] 周亮良.通心络胶囊联合芪苈强心胶囊对慢性充血性心力衰竭患者的临床疗效[J].中成药,2020,42(2):534-536. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.02.054.
- [16] 何亚菲,林文华.沙库巴曲缬沙坦在心血管疾病领域的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(6):905-908. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2020.06.009.
- [17] 张文晖.沙库巴曲缬沙坦对射血分数降低的心力衰竭患者心功能的影响[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(89):180.
- [18] 游小毛,游海燕.血清 NT-proBNP、cTnI、MYO、CK-MB 水平与老年慢性心力衰竭患者心功能分级的关系分析[J].中国当代医药,2015,22(30):128-130.
- [19] 黄婕,杜成林,韦方练,等.血清 MMP-13、TIMP-1 表达与慢性心力衰竭心室重构的关系[J].河北医药,2019,41(8):1186-1189. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2019.08.016.
- [20] 张娜,史菲,霍明艳,等.氯沙坦钾联合比索洛尔对慢性心衰患者心功能及外周血内皮祖细胞的影响[J].心血管康复医学杂志,2020,29(1):45-50. DOI:10.3969/j.issn.1008-0074.2020.01.12.
- [21] Beltrán P, Palau P, Domínguez E, et al. Sacubitril/valsartan and short-term changes in the 6-minute walk test: A pilot study[J]. Int J Cardiol,2018,252:136-139.
- [22] 魏海波.比索洛尔与曲美他嗪联合用药方案治疗慢性充血性心力衰竭的临床疗效分析[J].中国医药指南,2017,15(34):145-146.

(收稿日期:2019-10-18)

脑膜瘤组织中 miR-190 和 FOXP2 表达及其与患者预后的关系

李雄飞, 胡伟, 周明安, 田少斌

基金项目: 湖北省卫生和计划生育委员会科研项目(WJ2017MB129)

作者单位: 431700 湖北省天门市第一人民医院神经外科

通信作者: 田少斌, E-mail: 1527541840@qq.com

【摘要】目的 分析脑膜瘤组织中微小 RNA(miR)-190 和叉头框蛋白 P2(FOXP2) 的表达水平及其与患者预后的关系。**方法** 选取 2009 年 8 月—2014 年 10 月湖北省天门市第一人民医院神经外科诊治脑膜瘤患者 108 例作为研究对象, 术中收集患者癌组织及相应癌旁组织(距病灶 > 2 cm)。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测 miR-190 和 FOXP2 mRNA 表达水平, 并采用免疫组织化学染色法检测 FOXP2 蛋白表达水平, 分析其与脑膜瘤患者临床病理特征及预后的关系。**结果** 脑膜瘤组织中 miR-190、FOXP2 mRNA 表达水平均显著低于癌旁组织($t/P = 10.589/0.000, 23.169/0.000$), FOXP2 蛋白阳性表达率低于癌旁组织($\chi^2/P = 17.544/0.000$)。miR-190、FOXP2 蛋白表达水平与 WHO 分级、术前脑干是否水肿有关($\chi^2/P = 9.773/0.002, 11.852/0.000; 14.083/0.000, 18.692/0.000$)。miR-190 高表达亚组、FOXP2 高表达亚组脑膜瘤患者 5 年无瘤生存率均分别显著高于 miR-190 低表达亚组、FOXP2 低表达亚组($\chi^2/P = 10.170/0.001, 11.290/0.001$)。COX 回归分析结果显示, 无放射治疗、术前脑干水肿、部分切除、WHO 分级、miR-190、FOXP2 表达是影响脑膜瘤患者不良预后的危险因素[$OR(95\% CI) = 2.448(1.121 \sim 5.347), 2.731(1.245 \sim 5.989), 2.720(1.284 \sim 5.763), 3.311(1.758 \sim 6.236), 3.537(1.649 \sim 7.587), 3.943(1.823 \sim 8.257)$]。**结论** 脑膜瘤组织中 miR-190、FOXP2 均呈低表达, 二者表达水平与 WHO 分期及 5 年无瘤生存率有关, 可能作为脑膜瘤生物标志物, 对评估脑膜瘤患者预后有一定价值。

【关键词】 脑膜瘤; 微小 RNA-190; 叉头框蛋白 P2; 预后

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.007

Expression of miR-190 and FOXP2 in meningiomas and their relationship with the prognosis of patients Li Xiongfei, Hu Wei, Zhou Ming'an, Tian Shaobin. Department of Neurosurgery, the First People's Hospital of Tianmen City, Hubei Province, Tianmen 431700, China

Corresponding author: Tian Shaobin, E-mail: 1527541840@qq.com

Funding program: Scientific Research Project of Health and Family Planning Commission of Hubei Province (WJ2017MB129)

【Abstract】Objective To investigate the expression levels of microRNA (miR) 190 and forkhead box protein P2 (FOXP2) in meningioma tissues and their relationship with the prognosis of patients. **Methods** From August 2009 to October 2014, 108 patients with meningioma diagnosed and treated by neurosurgery in the First People's Hospital of Tianmen City, Hubei Province were selected as the research objects. During the operation, the patient's cancer tissues and corresponding tissues (> 2 cm from the lesion) were collected. The real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) method was used to detect the mRNA expression levels of miR-190 and FOXP2, and the immunohistochemical staining method was used to detect the FOXP2 protein expression level, and the relationship between the clinical pathological characteristics and prognosis of meningiomas was analyzed. **Results** The expression levels of miR-190 and FOXP2 mRNA in meningiomas were significantly lower than those in adjacent tissues ($t/P = 10.589/0.000, 23.169/0.000$), and the positive expression rate of FOXP2 protein was lower than that in adjacent tissues ($\chi^2/P = 17.544/0.000$). The expression levels of miR-190 and FOXP2 protein were related to WHO classification and whether the brainstem edema was preoperative ($\chi^2/P = 9.773/0.002, 11.852/0.000, 14.083/0.000, 18.692/0.000$). The 5-year tumor-free survival rates of miR-190 high expression subgroup and FOXP2 high expression subgroup were significantly higher than those of miR-190 low expression subgroup and FOXP2 low expression subgroup ($\chi^2/P = 10.170/0.001, 11.290/0.001$). The results of COX regression analysis showed that no radiotherapy, preoperative

brainstem edema, partial resection, WHO classification, miR-190, and FOXP2 expression were risk factors affecting the poor prognosis of meningiomas [*OR* (95% *CI*) = 2.448 (1.121 ~ 5.347), 2.731 (1.245-5.989), 2.720 (1.284-5.763), 3.311 (1.758-6.236), 3.537 (1.649-7.587), 3.943 (1.823-8.257)]. **Conclusion** The expression of miR-190 and FOXP2 were low in meningiomas. The expression levels of both were related to the WHO stage and 5-year tumor-free survival rate. They may be used as biomarkers for meningiomas and have a certain value in evaluating the prognosis of meningiomas.

【Key words】 Meningioma; miR-190; Fork head box protein P2; Prognosis

脑膜瘤发于脑膜及脑膜间隙的中枢神经系统,多为良性,具有生长缓慢、病程长等特点。脑膜瘤在中老年人群发病较高,且女性发病率高于男性。由于外界环境影响,近年来脑膜瘤发病率逐年递增,严重影响人类健康及生活质量。若不能得到有效治疗,脑膜瘤患者易出现复发或肿瘤恶性进展,降低患者生存率^[1]。虽然脑膜瘤影响因素相关研究已较多,但在分子层面探究脑膜瘤患者预后相关因子,对确定治疗方案及改善患者预后仍具有重要意义。有研究表明,微小 RNA (miR)-190 在乳腺癌中表达下调,可抑制乳腺癌的体内外转移,其表达水平与乳腺癌患者预后有关^[2]。宋默等^[3]研究表明,miR-190 在结直肠癌组织中表达水平显著降低,与结直肠癌细胞生长和转移有关,miR-190 在结直肠癌进展中起抑癌作用。研究报道,叉头框蛋白 P2 (FOXP2) 在肝癌组织中表达下调,显著增强癌细胞侵袭性,FOXP2 低表达与总体生存率较差有关^[4]。Chen 等^[5]研究发现,乳腺癌细胞中下调 FOXP2 能促进癌细胞增殖、迁移,FOXP2 表达降低与恶性乳腺癌发生及患者不良预后有关。miR-190 与 FOXP2 表达均与肿瘤内皮间充质转化有关^[6-7],然而二者与脑膜瘤预后的关系尚不清楚。现分析脑膜瘤中 miR-190 与 FOXP2 表达水平,及其与脑膜瘤患者临床病理特征及预后的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2009 年 8 月—2014 年 10 月湖北省天门市第一人民医院神经外科诊治脑膜瘤患者 108 例作为研究对象,其中男 33 例,女 75 例,年龄 31 ~ 79 (58.33 ± 12.57) 岁;病程 10 d ~ 5 年,平均 (2.34 ± 0.72) 年;基础病:高血压、糖尿病 16 例;有脑颅外伤史 23 例;有家族遗传史 10 例。根据世界卫生组织 (WHO) 分类标准^[8]: I 级 (良性) 73 例, II ~ III 级

(非典型性、退行性或恶性) 35 例;按肿瘤直径分类: > 4 cm 60 例, ≤ 4 cm 48 例;按手术切除率分类:全部切除 69 例,部分切除 39 例。本研究已经过医院伦理委员会批准同意,患者及其家属对本研究知情并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①经 MR 诊断确诊为脑膜瘤;②入院治疗前未进行放、化疗者;③临床资料完整。(2) 排除标准:①非首次患肿瘤者;②合并患有其他部位肿瘤者;③患有严重精神疾病者;④心、肾、肝脏功能严重不足者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 样本采集:术中收集脑膜瘤患者癌组织及相应癌旁组织 (距病灶 > 2 cm), 一部分放入液氮中迅速冷冻后立即放入 -80℃ 冰箱保存,用于实时荧光定量 PCR (qRT-PCR); 另一部分经 10% 福尔马林溶液固定,制成 4 μm 厚切片,用于免疫组织化学染色。

1.3.2 qRT-PCR 检测 miR-190、FOXP2 mRNA 相对表达量:使用 RNA 提取试剂盒 (北京百泰克生物技术有限公司) 提取总 RNA 后,经反转录 (试剂盒购自上海康朗生物科技有限公司) 得到 cDNA,使用 7500 Fast 型 qRT-PCR 仪 (美国 ABI 公司) 及 qRT-PCR 试剂盒 (北京宝日医生物技术有限公司) 进行实验。qRT-PCR 20 μl 反应体系如下, SYBR Premix Ex Taq™ (2 ×) 10 μl, ROX Reference Dye (50 ×) 0.4 μl, 上游引物 0.8 μl, 下游引物 0.8 μl, cDNA 2 μl, dH₂O 6 μl。qRT-PCR 反应程序如下: 95℃、30 s, 1 个循环; 95℃、5 s, 63℃、34 s, 40 个循环。一个样品设置 3 次重复,使用 2^{-ΔΔCT} 法计算 miR-190、FOXP2 mRNA 相对表达量。miR-190 以 U6 为内参基因, FOXP2 以 GAPDH 为内参基因。引物由北京宝日医生物技术有限公司合成,见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

转录因子	上游引物	下游引物
miR-190	5'-TGACTCCAAGTACTGGAGGT-3'	5'-TAGCCGCTATACGGAATGG-3'
FOXP2	5'-GAAAGACTTTTCGGAACCAAGA-3'	5'-ACTTTCTTGACAGATGGAGA-3'
U6	5'-CACACGAATATACGGAGGTG-3'	5'-AGCTCCTGAAATCCGTACTC-3'
GAPDH	5'-GAGAGTGCCCACTCTGCCA-3'	5'-CTCAGTGAGCCTCTCTGCT-3'

1.3.3 免疫组织化学染色检测 FOXP2 蛋白表达水平:使用免疫组织化学染色试剂盒(上海优予生物科技有限公司)检测。鼠抗人 FOXP2 多克隆抗体购自亚诺法生技股份有限公司,羊抗鼠二抗购自上海优予生物科技有限公司;严格按照试剂盒说明书进行操作。DM2700 型显微镜(德国徕卡公司)400 倍下观察染色结果,并采集图像资料,镜下选取 6 个视野进行阳性细胞计数。

染色结果判定:细胞核中出现棕黄色或棕褐色颗粒为 FOXP2 蛋白表达阳性细胞。分别根据染色强度和阳性细胞比例记分。(1)染色强度:无色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分。(2)阳性细胞比例:以 $<5\%$ 为 0 分, $\geq 5\%$ 且 $\leq 25\%$ 为 1 分, $>26\%$ 且 $\leq 50\%$ 为 2 分, $>51\%$ 且 $\leq 75\%$ 为 3 分, $>75\%$ 为 4 分。两类记分相乘,0 分为阴性(-),1~4 分为弱阳性(+),5~8 分为阳性(++),9~12 分为强阳性(+++),将阴性(-)、弱阳性(+)定义为 FOXP2 蛋白低表达,阳性(++)、强阳性(+++)定义为 FOXP2 蛋白高表达。

1.4 随访 脑膜瘤患者经手术或放射治疗出院后,以电话或复查形式进行 5 年随访,随访期间主要观察患者是否有不良事件(复发或死亡)发生,分析患者 5 年无瘤生存情况。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,行 Log-rank 检验;采用 Cox 比例风险回归模型分析影响脑膜瘤不良预后的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-190、FOXP2 mRNA 表达水平比较 脑膜瘤组织中 miR-190、FOXP2 mRNA 表达水平均显著低于癌旁组织(P 均 < 0.01),见表 2。

表 2 脑膜瘤组织和癌旁组织 miR-190、FOXP2 mRNA 表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-190/U6	FOXP2/GAPDH
脑膜瘤组织	108	0.64 ± 0.21	0.36 ± 0.11
癌旁组织	108	1.03 ± 0.32	1.01 ± 0.27
t 值		10.589	23.169
P 值		0.000	0.000

2.2 FOXP2 蛋白表达水平比较 FOXP2 蛋白主要在细胞核中表达,脑膜瘤组织中 FOXP2 蛋白阳性表达率显著低于癌旁组织(67.59% vs. 90.74% , $\chi^2 = 17.544$,

$P = 0.000$),见图 1。

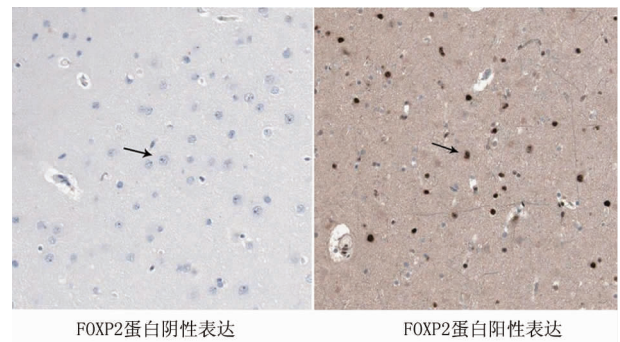


图 1 脑膜瘤组织和癌旁组织中 FOXP2 蛋白染色结果 (免疫组织化学染色, $\times 400$)

2.3 不同临床特征患者 miR-190 mRNA、FOXP2 蛋白表达水平比较 将脑膜瘤组织以 miR-190 表达水平平均数(0.64)和 FOXP2 蛋白免疫组化染色结果分为高表达和低表达亚组。脑膜瘤组织中 miR-190、FOXP2 蛋白高/低表达水平在不同性别、年龄、病程、有无基础病、有无脑颅外伤史、有无家族遗传史、肿瘤直径、手术切除方式及是否接受放射治疗患者中比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而在 WHO 分级、术前脑干是否水肿方面比较,差异有统计学意义(P 均 < 0.01),见表 3。

2.4 miR-190、FOXP2 高/低表达脑膜瘤患者预后比较 Kaplan-Meier 分析结果显示,miR-190 高表达亚组 5 年无瘤生存率为 58.33% ,高于 miR-190 低表达亚组的 28.33% ($\chi^2 = 10.170$, $P = 0.001$);FOXP2 高表达亚组为 72.09% ,高于 FOXP2 低表达亚组的 33.85% ($\chi^2 = 11.290$, $P = 0.001$),见图 2。

2.5 脑膜瘤患者预后影响因素分析 单因素 Cox 回归分析结果显示,性别、年龄、肿瘤直径与脑膜瘤患者预后无关(P 均 > 0.05),无放射治疗、术前脑干水肿、部分切除、WHO 分级高、miR-190 低表达、FOXP2 低表达是影响脑膜瘤患者不良预后危险因素(P 均 < 0.05),见表 4。

3 讨论

日常生活中有害化学物质、放射性照射、机械性颅脑损伤、病毒感染、基因突变等均可能引发脑膜瘤。脑膜瘤早期症状有头痛、视力下降、肢体无力等,随着疾病进展,患者易出现智力下降、癫痫、肢体运动障碍等症状,严重者危及生命^[9-10]。脑膜瘤患者经手术治疗或放射治疗后生存期较长,但肿瘤切除不完全、患者术后情绪差等因素易导致复发或死亡等不良预后^[11-14]。因此,寻找脑膜瘤预后标志物对于有效评估患者预后、提高患者生存率、延长生存时间有一定帮助^[15-16]。

表 3 脑膜瘤组织中 miR-190、FOXP2 高/低表达水平在不同临床特征中的比较 [例(%)]

项 目		例数	miR-190 mRNA		χ^2 值	<i>P</i> 值	FOXP2 蛋白		χ^2 值	<i>P</i> 值
			高表达(<i>n</i> = 48)	低表达(<i>n</i> = 60)			高表达(<i>n</i> = 43)	低表达(<i>n</i> = 65)		
性别	男	33	17(35.42)	16(48.48)	0.962	0.327	10(30.30)	23(69.70)	1.749	0.180
	女	75	31(64.58)	44(58.67)			33(44.00)	42(56.00)		
年龄(岁)	>58	57	22(38.60)	35(61.40)	1.672	0.196	19(33.33)	38(66.67)	2.116	0.146
	≤58	51	26(50.98)	25(49.02)			24(47.06)	27(52.94)		
病程(年)	>2.34	52	21(40.38)	31(59.62)	0.669	0.413	22(42.31)	30(57.69)	0.260	0.610
	≤2.34	56	27(48.21)	29(51.79)			21(37.50)	35(62.50)		
基础病	有	16	6(37.50)	10(62.50)	0.367	0.545	7(43.75)	9(56.25)	0.121	0.728
	无	92	42(45.65)	50(54.35)			36(39.13)	56(60.87)		
脑颅外伤史	有	23	7(30.43)	16(69.57)	2.323	0.127	12(52.17)	11(47.83)	1.863	0.172
	无	85	41(48.24)	44(51.76)			31(36.47)	54(63.53)		
家族遗传史	有	10	3(30.00)	7(70.00)	0.931	0.335	6(60.00)	4(40.00)	1.874	0.171
	无	98	45(45.92)	53(54.08)			37(37.76)	61(62.24)		
肿瘤直径(cm)	>4	60	23(38.33)	37(61.67)	2.042	0.153	26(43.33)	34(56.67)	0.697	0.404
	≤4	48	25(52.08)	23(47.92)			17(35.42)	31(64.58)		
手术切除	全部切除	69	35(50.72)	34(49.28)	3.052	0.081	30(43.48)	39(56.52)	1.070	0.301
	部分切除	39	13(33.33)	26(66.67)			13(33.33)	26(66.67)		
WHO 分级	I	73	40(54.79)	33(45.21)	9.773	0.002	38(52.05)	35(47.95)	14.083	0.000
	Ⅱ ~ Ⅲ	35	8(22.86)	27(77.14)			5(14.29)	30(85.71)		
放射治疗	有	56	29(51.79)	27(48.21)	2.539	0.111	23(41.07)	33(58.93)	0.077	0.782
	无	52	19(36.54)	33(63.46)			20(38.46)	32(61.54)		
术前脑干是否水肿	是	42	10(23.81)	32(76.19)	11.852	0.000	6(14.29)	36(85.71)	18.692	0.000
	否	66	38(57.58)	28(42.42)			37(56.06)	29(43.94)		

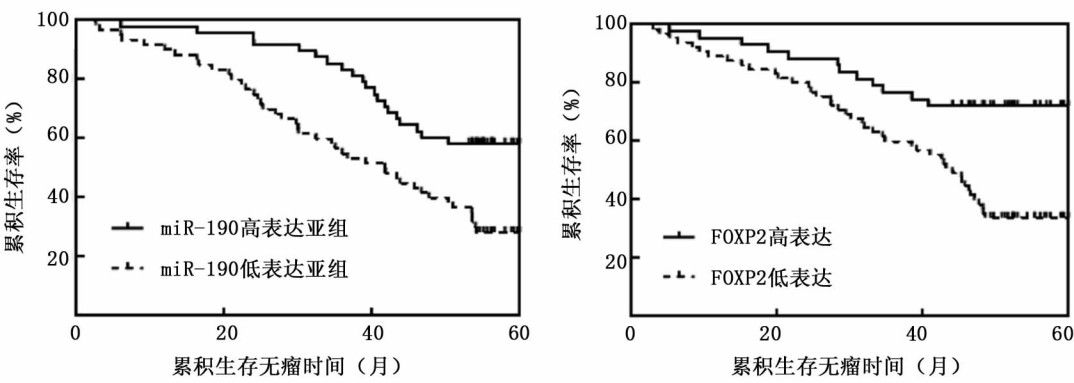


图 2 5 年无瘤生存率分析

表 4 影响脑膜瘤患者预后不良危险因素 Cox 回归分析

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值(95% CI)
性别	0.506	0.524	0.931	0.241	1.658(0.594~4.628)
年龄	0.630	0.456	1.907	0.212	1.877(0.768~4.635)
肿瘤直径	0.561	0.361	2.413	0.203	1.752(0.863~3.557)
放射治疗	0.895	0.398	5.060	0.046	2.448(1.121~5.347)
术前脑干是否水肿	1.004	0.399	6.340	0.031	2.731(1.245~5.989)
切除方式	1.001	0.382	6.862	0.035	2.720(1.284~5.763)
WHO 分级	1.197	0.323	13.739	0.021	3.311(1.758~6.236)
miR-190	1.263	0.390	10.492	0.013	3.537(1.649~7.587)
FOXP2	1.372	0.394	12.125	0.008	3.943(1.823~8.257)

微小 RNA(miRNA)是一种能稳定存在于人体组织和细胞内的短链非编码 RNA,具有调控肿瘤进展功能。研究发现,miR-219 在脑膜瘤组织中低表达,与脑膜瘤患者高复发率显著相关^[17]。非典型性脑膜瘤细胞中 miR-145 表达水平明显低于良性脑膜瘤细胞,过表达 miR-145 可导致癌细胞增殖减少、凋亡增加^[18]。以上研究提示,miRNA 可能参与脑膜瘤进展,且与患者预后有关。Yu 等^[6] 研究报道,miR-190 在肝癌组织中低表达,miR-190 可通过抑制上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),抑制癌细胞迁移和侵袭。本结果显示,miR-190 在脑膜瘤组织中表达水平显著降低,与 Yu 等^[6] 在 miR-190 与肝癌进展关系研究中发现相似,提示 miR-190 下调可能与脑膜瘤发生有关。有研究表明,胃癌细胞中 miR-190 下调,过表达 miR-190 能显著降低胃癌细胞生存能力^[19]。本研究发现,脑膜瘤组织中 miR-190 表达水平与 WHO 分级有关,提示 miR-190 可能参与调控脑膜瘤发展,miR-190 可能通过影响 EMT 过程,抑制肿瘤细胞增殖和侵袭能力,在脑膜瘤发生中起阻碍作用。有研究报道,miR-190 通过靶向 Smad2 下调 TGF- β 诱导的 EMT 过程,抑制乳腺癌体内外转移^[20],提示本研究中 miR-190 可能通过靶向调控 Smad2、TGF- β 等 EMT 上游信号因子表达,参与脑膜瘤进展。Xu 等^[21] 研究表明,miR-190 在前列腺癌组织中显著降低,miR-190 低表达与患者无瘤生存率降低有关。本研究结果中,miR-190 低表达亚组 5 年无瘤生存率显著降低,与 Xu 等^[21] 在前列腺癌组织中研究结果一致,提示 miR-190 表达水平降低可能与肿瘤增殖和迁移能力增加引起的脑膜瘤患者病死率增加有关。

Diao 等^[22] 研究表明,胰腺导管腺癌中 FOXP2 表达下调,与癌细胞增殖和侵袭能力增强有关,可能是胰腺导管腺癌潜在诊断和治疗靶点。FOXP2 在胶质瘤细胞中表达水平明显低于正常星型胶质细胞,上调 FOXP2 可明显降低癌细胞侵袭能力^[23-24]。有研究发现,FOXP2 在结直肠癌组织中低表达,与神经浸润、淋巴结转移及不良预后有关,体外过表达 FOXP2 可显著抑制癌细胞增殖^[25]。本研究结果发现,与癌旁组织相比,脑膜瘤组织 FOXP2 mRNA 表达水平及蛋白阳性表达率明显降低,且 FOXP2 蛋白低表达与脑膜瘤 WHO 分级升高、术前脑干发生水肿有关,与刘揆亮等^[25] 结果一致,提示 FOXP2 低表达可能通过调控脑膜瘤细胞增殖促进脑膜瘤发生发展。FOXP2 在乳腺癌中被证实参与肿瘤进展中 EMT 过程,还与肿瘤细胞 G1/S 转换及增殖有关^[7],因此推测 FOXP2 也可能通过参与

EMT 过程影响调控脑膜瘤进展。有研究报道,乳腺癌组织中 FOXP2 可能诱导了 TGF- β /Smad 信号通路参与的 EMT 过程,导致乳腺癌细胞侵袭和迁移能力增强^[25]。本研究中,FOXP2 低表达也可能通过影响 TGF- β /Smad 等 EMT 上游信号途径激活,促进了脑膜瘤细胞增殖和迁移,参与脑膜瘤进展。本研究还发现,FOXP2 蛋白低表达亚组患者 5 年无瘤生存率明显降低,提示 FOXP2 低表达可能通过促进肿瘤细胞增殖和迁移,影响肿瘤恶性进展,引起 5 年无瘤生存率低等不良预后。有研究表明,是否进行放射治疗、肿瘤是否全部切除、WHO II 级等均可能影响脑膜瘤患者复发、死亡等不良预后发生^[26]。本研究结果显示,术前脑干水肿、WHO II ~ III 级、miR-190 低表达、FOXP2 低表达是影响脑膜瘤患者不良预后的独立危险因素,提示 miR-190 与 FOXP2 可能作为评估脑膜瘤的独立预后标志物,在脑膜瘤治疗过程中应关注 miR-190 与 FOXP2 表达情况,以改进治疗措施,改善患者预后。但本研究仅从表达水平层面分析 miR-190、FOXP2 在脑膜瘤中作用,若要明确相关作用机制,还需进一步进行更深入的实验研究。

综上所述,与癌旁组织相比,脑膜瘤组织中 miR-190、FOXP2 均呈低表达,二者表达水平与 WHO 分级及 5 年无瘤生存率有关,可能作为脑膜瘤生物标志物,在评估脑膜瘤患者预后中有一定价值。但由于本研究样本量较少、研究方法较为基础,具体作用机制尚需进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李雄飞:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;胡伟:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;周明安:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;田少斌:进行统计学分析

参考文献

- [1] Viae AN, Zhang B, Martinez Lage M, et al. Transcriptome signatures associated with meningioma progression[J]. Acta Neuropathol Commun, 2019, 7(1): 67-77. DOI: 10.1186/s40478-019-0690-x.
- [2] Zhao W, Geng D, Li S, et al. LncRNA HOTAIR influences cell growth, migration, invasion, and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer[J]. Cancer Med, 2018, 7(3): 842-855. DOI: 10.1002/cam4.1353.
- [3] 宋默, 刘继攀, 席姗姗, 等. miR-190 的表达下调有利于抑制结直肠癌[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(11): 4432-4437. DOI: 10.13417/j.gab.036.004432.
- [4] Yu Z, Lin X, Tian M, et al. microRNA-196b promotes cell migration and invasion by targeting FOXP2 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2018, 39(2): 731-738. DOI: 10.3892/or.2017.6130.
- [5] Chen M, Sun HF, Li LD, et al. Downregulation of FOXP2 promotes

- breast cancer migration and invasion through TGFβ/SMAD signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15 (6): 8582-8588. DOI: 10.3892/ol.2018.8402.
- [6] Yu Y, Yin W, Yu Z, et al. miR-190 enhances endocrine therapy sensitivity by regulating SOX9 expression in breast cancer[J]. *J Exp Clin Canc Res*, 2019, 38(1): 22-34. DOI: 10.1186/s13046-019-1039-9.
- [7] Qin CX, Yang XQ, Jin GC, et al. LncRNA TSLNC8 inhibits proliferation of breast cancer cell through the miR-214-3p/FOXP2 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2019, 23(19): 8440-8448. DOI: 10.26355/eurrev_201910_19156.
- [8] 苏昌亮, 李丽, 陈小伟, 等. 2016 年 WHO 中枢神经系统肿瘤分类总结[J]. *放射学实践*, 2016, 31(7): 570-579. DOI: 10.13609/j.cnki.1000-0313.2016.07.001.
- [9] 柯超, 林富华, 蒋小兵, 等. 颅内脑膜瘤单中心 845 例临床病理分析[J]. *广东医学*, 2017, 38(24): 3734-3737. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2017.24.008.
- [10] Doi S, Kashiwagi N, Satou T, et al. Pittsburgh compound-B uptake in meningioma with histopathologic correlation[J]. *Clin Nucl Med*, 2019, 44(7): 587-588. DOI: 10.1097/RLU.0000000000002590.
- [11] 王力军, 马久红, 成睿, 等. WHO II 级脑膜瘤术后复发的相关因素分析[J]. *中华神经外科杂志*, 2017, 33(5): 479-483. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2017.05.011.
- [12] Lee JJB, Lee J, Yoon HI, et al. Analysis of patterns of failure and appraisal of postoperative radiation field for grade II-III meningioma[J]. *J Neuro Oncol*, 2019, 144(2): 333-341. DOI: 10.1007/s11060-019-03232-w.
- [13] 黄伟佳, 黄理金, 陈锦华, 等. 不同栓塞材料对富血运脑膜瘤术前介入栓塞的疗效比较[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(5): 442-445. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.05.003.
- [14] 王力军, 成睿, 马久红, 等. II 级脑膜瘤相关研究进展[J]. *中国医药*, 2017, 12(4): 637-640. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2017.04.039.
- [15] 张彪, 夏祥国. MCM2 和 E2F3 在脑膜瘤中的表达及临床意义[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(27): 39-42, 封3.
- [16] 谢彬, 王洪正, 王浩. 脑膜瘤的 MRI 特征与 Ki-67 指数相关性研究[J]. *中国现代医生*, 2019, 57(23): 11-14.
- [17] Galani V, Lampri E, Varouktsi A, et al. Genetic and epigenetic alterations in meningiomas[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2017, 158(1): 119-125. DOI: 10.1016/j.clineuro.2017.05.002.
- [18] Zeng B, Ye H, Chen J, et al. LncRNA TUG1 sponges miR-145 to promote cancer progression and regulate glutamine metabolism via Sirt3/GDH axis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(69): 113650-113661. DOI: 10.18632/oncotarget.21922.
- [19] Wang C, Qiao C. MicroRNA-190b confers radio-sensitivity through negative regulation of Bcl-2 in gastric cancer cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2017, 39(4): 485-490. DOI: 10.1007/s10529-016-2273-2.
- [20] Yu Y, Luo W, Yang ZJ, et al. miR-190 suppresses breast cancer metastasis by regulation of TGF-β-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 70-78. DOI: 10.1186/s12943-018-0818-9.
- [21] Xu S, Wang T, Song W, et al. The inhibitory effects of AR/miR-190a/YB-1 negative feedback loop on prostate cancer and underlying mechanism[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 13528. DOI: 10.1038/srep13528.
- [22] Diao H, Ye Z, Qin R. MiR-23a acts as an oncogene in pancreatic carcinoma by targeting FOXP2[J]. *J Investig Med*, 2018, 66(3): 676-683. DOI: 10.1136/jim-2017-000598.
- [23] 徐然, 仇文进, 陈正新, 等. FOXP2 调控 PI3K/Akt 信号通路抑制胶质瘤的侵袭[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2017, 37(5): 45-49. DOI: 10.7655/NYDXBNS20170508.
- [24] Li H, Xue Y, Ma J, et al. SNHG1 promotes malignant biological behaviors of glioma cells via microRNA-154-5p/miR-376b-3p-FOXP2-KDM5B participating positive feedback loop[J]. *J Exp Clin Canc Res*, 2019, 38(1): 59. DOI: 10.1186/s13046-019-1063-9.
- [25] 刘揆亮, 吴静, 赵晓楠, 等. 转录因子叉头框蛋白 P2 在结直肠癌中的表达及其意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(1): 162. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2017.01.051.
- [26] Jia W, Yu T, An Q, et al. Downregulation of FOXP2 promotes breast cancer migration and invasion through TGFβ/SMAD signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6): 8582-8588. DOI: 10.3892/ol.2018.8402.

(收稿日期: 2020-02-03)

关于对冒用我刊名义进行非法征稿活动的郑重声明

近期发现网上有冒用我刊名义进行非法征稿活动的情况, 我刊为此郑重声明如下: (1) 疑难病杂志社地址设在石家庄, 我社从未委托任何代理机构和个人开展组稿、征稿活动。(2) 根据原国家新闻出版广电总局的有关规定, 一种期刊只能在其出版地设立一个编辑部, 其他任何冒用本刊名义, 在网上进行征稿及组稿的活动, 均属违法行为。(3) 作者来稿, 请直接通过本刊网站或邮箱发至本刊编辑部, 本刊将尽快给予处理, 谨防上当受骗。

电话: 0311-85901735

E-mail: ynbzz@163.com

网址: <http://www.ynbzz.com>

神经外科锁孔手术治疗颅内肿瘤患者的效果及对 TSGF、TNF- α 的影响

刘宇昊, 王天男, 阴鲁鑫, 高文昌, 王胥, 张桐

基金项目: 中国博士后基金(2015M571821)

作者单位: 221000 徐州医科大学(刘宇昊、王天男、王胥、张桐); 221000 徐州医科大学附属医院神经外科(阴鲁鑫、高文昌)

通信作者: 高文昌, E-mail: wyxn41@163.com

【摘要】目的 观察神经外科锁孔手术对颅内肿瘤患者的治疗效果及对肿瘤特异性生长因子(TSGF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。**方法** 选取 2015 年 9 月—2019 年 4 月徐州医科大学附属医院神经外科诊治颅内肿瘤患者 68 例作为研究对象,按照完全随机法分为对照组、观察组各 34 例。对照组予常规治疗+传统开颅手术,观察组予常规治疗+神经外科锁孔手术。比较 2 组患者治疗效果,治疗前后催产素(OT)、精氨酸加压素(AVP)、 β -内啡肽(β -EP)、TSGF、C 反应蛋白(CRP)、X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)及 TNF- α 水平,并进行生活质量评分,记录不良反应。**结果** 观察组总有效率为 91.18%,高于对照组的 67.65% ($\chi^2/P=5.757/0.016$);治疗后观察组 OT、AVP 及 β -EP 水平高于对照组 ($t/P=12.061/0.001, 5.209/0.001, 3.987/0.001$), TSGF、CRP、XIAP 及 TNF- α 水平低于对照组 ($t/P=3.828/0.001, 12.901/0.001, 2.866/0.006, 7.575/0.001$), 认知功能、躯体功能、情绪功能及社会功能评分高于对照组 ($t/P=2.946/0.004, 3.951/0.001, 2.801/0.007, 2.321/0.023$); 观察组并发症发生率为 2.94%, 低于对照组的 17.65% ($\chi^2/P=3.987/0.046$)。**结论** 神经外科锁孔手术对颅内肿瘤患者的治疗效果显著,可降低 TSGF、TNF- α 水平,通过调控 OT、AVP 及 β -EP 水平,改善脑脊液神经肽水平,提升生活质量,临床安全性较高。

【关键词】 神经外科锁孔手术; 地塞米松; 颅内肿瘤; 脑脊液神经肽; 肿瘤特异性生长因子; 肿瘤坏死因子- α

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.008

The effect of neurosurgical keyhole surgery in the treatment of intracranial tumor and its effect on TSGF and TNF- α

Liu Yuhao*, Wang Tiannan, Yin Luxin, Gao Wenchang, Wang Xu, Zhang Tong. * Department of Neurosurgery, Xuzhou Medical University, Jiangsu Province, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Gao Wenchang, E-mail: wyxn41@163.com

Funding program: China Postdoctoral Fund (2015M571821)

【Abstract】Objective To observe the therapeutic effect of neurosurgical keyhole surgery on intracranial tumor and the effect on tumor specific growth factor (TSGF) and tumor necrosis factor α (TNF- α). **Methods** From September 2015 to April 2019, 68 patients with intracranial tumor diagnosed and treated by neurosurgery in Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University were selected as the study object. According to the complete random method, 34 cases were divided into control group and combined group. The control group was given conventional treatment + traditional craniotomy, and the observation group was given conventional treatment + neurosurgery keyhole operation. Before and after treatment, the levels of OT, AVP, EP, TSGF, CRP, XIAP and TNF- α were compared. **Results** The total effective rate of the observation group was 91.18%, higher than 67.65% of the control group ($\chi^2/P=5.757/0.016$). The levels of OT, AVP and β -EP in the observation group were higher than those in the control group ($t/P=12.061/0.001, 5.209/0.001, 3.987/0.001$). The levels of TSGF, CRP, XIAP and TNF- α were lower than those of the control group ($t/P=3.828/0.001, 12.901/0.001, 2.866/0.006, 7.575/0.001$). The scores of cognitive function, physical function, emotional function and social function were higher than those of the control group ($t/P=2.946/0.004, 3.951/0.001, 2.801/0.007, 2.321/0.023$). The incidence of complications in the observation group was 2.94%, lower than that in the control group 17.65% ($\chi^2/P=3.987/0.046$). **Conclusion**

Neurosurgical keyhole surgery combined with dexamethasone has a significant therapeutic effect on patients with intracranial tumors. It can reduce the levels of TSGF and TNF- α . By regulating the levels of OT, AVP and β -EP, it can improve the level of neuropeptide in cerebrospinal fluid, improve the quality of life, and have a high clinical safety.

[Key words] Neurosurgery keyhole surgery; Dexamethasone; Intracranial neoplasms; Cerebrospinal fluid neuropeptide; Tumor specific growth factor; Tumor necrosis factor α

颅内肿瘤是常见、多发的一种神经外科疾病,能够诱发颅内肿瘤的因素有多种,主要包括先天动脉肌层薄弱、动脉硬化及糖尿病等^[1]。当正常组织受到病灶压迫与损害,可致颅内肿瘤、神经功能障碍、癫痫发作越发严重。颅内肿瘤主要包括蝶鞍区的颅咽管瘤、生殖细胞肿瘤、颗粒细胞瘤、淋巴与造血组织肿瘤、转移性肿瘤、外周神经肿瘤等,不及时治疗会对患者的生命安全造成威胁,并导致病情的持续恶化^[2]。神经外科锁孔手术具有神经血管损伤小、并发症少及创伤小等特点,可提高肿瘤治疗效果^[3]。地塞米松能够降低毛细血管的通透性,抑制机体的炎性反应,降低对脑组织的损伤^[4]。现观察神经外科锁孔手术联合地塞米松对颅内肿瘤患者的治疗效果及对 TSGF、TNF- α 的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2015 年 9 月—2019 年 4 月徐州医科大学附属医院神经外科诊治颅内肿瘤患者 68 例作为研究对象,按照完全随机法分为 2 组,各 34 例。对照组男 23 例,女 11 例,年龄 35 ~ 66 (50.5 ± 5.3) 岁;肿瘤直径 2.1 ~ 5.4 (3.8 ± 1.1) cm;肿瘤类型:垂体瘤 4 例,胶质瘤 4 例,动脉瘤 10 例,神经鞘瘤 3 例,脑膜瘤 11 例,其他肿瘤 2 例; Hunt-Hess 分级: I 级 11 例, II 级 9 例, III 级 7 例, IV 级 5 例, V 级 2 例。观察组男 19 例,女 15 例,年龄 36 ~ 64 (50.7 ± 5.1) 岁;肿瘤直径 2.3 ~ 5.4 (3.7 ± 1.3) cm;肿瘤类型:垂体瘤 3 例,胶质瘤 4 例,动脉瘤 11 例,神经鞘瘤 2 例,脑膜瘤 12 例,其他肿瘤 2 例; Hunt-Hess 分级: I 级 12 例, II 级 8 例, III 级 6 例, IV 级 6 例, V 级 2 例。2 组患者性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤类型、Hunt-Hess 分级等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:患者均经 MR、CT 与组织病理学检查确诊为颅内肿瘤患者;未接受化疗与放疗者;主要临床症状为压力升高、视乳头水肿、蛋白升高、恶心呕吐及白细胞升高;且耐受手术,无手术禁忌证。(2) 排除标准:存在心、肺、肝等原发性疾病患者;合并免疫系统疾病患者;合并凝血功能障碍患者;存在认知障碍患者;合并高血压患者。

1.3 治疗方法 2 组患者住院后均给予常规术前准备与全身检查,并予降颅压、脱水、利尿治疗。对照组

在常规治疗的基础上进行传统开颅手术:患者气管插管与全身麻醉后,于病灶最近的皮肤表面作为手术入路,避开皮肤表面血管,做弧形切口 4 ~ 5 cm,正方形骨窗长宽均为 3 cm,使用十字形剪将硬脑膜剪开,在大脑皮质非功能区进行造瘘,病灶切除电凝止血,最后缝合。观察组在常规治疗的基础上进行神经外科锁孔手术:患者全身麻醉后,头部抬高后仰 10 ~ 15°,避开眶上神经在眉弓外侧做皮肤切口,骨钻于颅骨上钻孔,脑室镜经骨钻置入颅内,注意保护患者的神经与血管,在脑室镜(德国蛇牌 AESCULAP 0°,型号 PE184A)的引导下,切除颅内肿瘤,完成后,切口逐层缝合。2 组于术后 1 周内给予地塞米松(广东华南药业集团有限公司)口服,10 mg/d。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 临床疗效评价标准^[5]:显效,CT 检查无颅内无出血、脑水肿等症状,各项指标恢复;有效,CT 检查无颅内出血、无脑水肿,各项指标有所恢复;无效,以上标准均未达到。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数 $\times$ 100%。

1.4.2 脑脊液神经肽水平检测:患者治疗前后均行腰椎穿刺取脑脊液 5 ml,采用放射免疫法检测催产素(OT)、精氨酸加压素(AVP)、 β -内啡肽(β -EP)水平。

1.4.3 肿瘤标志物、X 连锁凋亡抑制蛋白及炎症因子水平检测:患者入院后第 2 天清晨空腹采集肘静脉血 5 ml,置于一次性真空无抗凝剂的采血管中,在 20 ~ 25℃ 环境下凝血 60 min,之后离心分离血清,采用酶联免疫吸附试验检测肿瘤特异性生长因子(TSGF)、C 反应蛋白(CRP)、X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。

1.4.4 生活质量评分^[6]:采用生活质量评价量表进行评估,包括认知功能、躯体功能、情绪功能及社会功能,每项共 100 分,评分越高,生活质量越高。

1.4.5 不良反应发生率:统计 2 组患者治疗后出现颅内积水、肺部感染、头痛及应激溃疡等不良反应。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析处理。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 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,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 组临床疗效比较 治疗后,观察组治疗总有效

率为 91.18%,高于对照组的 67.65%,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 2 组患者疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	34	12(35.30)	11(32.35)	11(32.35)	67.65
观察组	34	21(61.77)	10(29.41)	3(8.82)	91.18
U/χ^2 值		$U=2.861$		$\chi^2=5.757$	
P 值		0.134		0.016	

2.2 2 组治疗前后 OT、AVP 及 β -EP 水平比较 治疗前,2 组患者 OT、AVP 及 β -EP 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,2 组均降低($P<0.05$),且观察组降低幅度小于对照组($P<0.01$),见表 2。

2.3 2 组治疗前后 TSGF、CRP、XIAP 及 TNF- α 水平比较 治疗前,2 组患者 TSGF、CRP、XIAP 及 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($P<0.01$),且观察组均低于对照组($P<0.01$),见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后 TSGF、CRP、XIAP 及 TNF- α 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	TSGF(U/ml)	CRP(mg/L)	XIAP(ng/L)	TNF- α (pg/ml)
对照组 ($n=34$)	治疗前	66.23 $\pm$ 20.15	10.36 $\pm$ 2.86	67.82 $\pm$ 21.35	15.63 $\pm$ 4.85
	治疗后	54.24 $\pm$ 17.34	8.22 $\pm$ 1.15	55.26 $\pm$ 17.52	10.26 $\pm$ 2.34
观察组 ($n=34$)	治疗前	66.35 $\pm$ 20.21	10.38 $\pm$ 2.87	67.84 $\pm$ 21.36	15.65 $\pm$ 4.87
	治疗后	40.25 $\pm$ 12.39	5.36 $\pm$ 0.59	44.72 $\pm$ 12.36	6.89 $\pm$ 1.12
t/P 对照组内值		2.631/0.011	4.074/0.001	2.652/0.001	5.815/0.001
t/P 观察组内值		6.421/0.001	9.991/0.001	5.463/0.001	10.221/0.001
t/P 治疗后组间值		3.828/0.001	12.901/0.001	2.866/0.006	7.575/0.001

表 4 2 组患者治疗前后生活质量评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	时间	认知功能	躯体功能	情绪功能	社会功能
对照组 ($n=34$)	治疗前	61.14 $\pm$ 10.03	56.23 $\pm$ 9.21	63.21 $\pm$ 10.52	64.23 $\pm$ 9.27
	治疗后	82.26 $\pm$ 13.31	80.03 $\pm$ 12.31	81.15 $\pm$ 13.62	85.35 $\pm$ 11.31
观察组 ($n=34$)	治疗前	61.12 $\pm$ 10.01	56.12 $\pm$ 9.19	63.12 $\pm$ 10.44	64.11 $\pm$ 9.21
	治疗后	92.45 $\pm$ 15.15	93.26 $\pm$ 15.16	91.34 $\pm$ 16.26	92.38 $\pm$ 13.56
t/P 对照组内值		7.389/0.001	9.027/0.001	6.078/0.001	8.421/0.001
t/P 观察组内值		10.061/0.001	12.221/0.001	8.516/0.001	10.061/0.001
t/P 治疗后组间值		2.946/0.004	3.951/0.001	2.801/0.007	2.321/0.023

表 5 2 组患者不良反应发生率比较 [例(%)]

组别	例数	颅内积水	肺部感染	头痛	应激溃疡	总发生率(%)
对照组	34	1(2.94)	2(5.88)	2(5.88)	1(2.94)	17.65
观察组	34	0	1(2.94)	0	0	2.94

表 2 2 组患者治疗前后 OT、AVP 及 β -EP 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

组别	时间	OT	AVP	β -EP
对照组 ($n=34$)	治疗前	8.96 $\pm$ 2.34	20.15 $\pm$ 6.52	95.67 $\pm$ 30.52
	治疗后	3.45 $\pm$ 0.53	10.36 $\pm$ 1.42	57.36 $\pm$ 20.31
观察组 ($n=34$)	治疗前	8.98 $\pm$ 2.35	20.18 $\pm$ 5.54	95.69 $\pm$ 30.54
	治疗后	6.22 $\pm$ 1.23	14.27 $\pm$ 4.14	79.52 $\pm$ 25.26
t/P 对照组内值		13.391/0.001	8.555/0.001	6.093/0.001
t/P 观察组内值		6.067/0.001	4.983/0.001	2.379/0.020
t/P 治疗后组间值		12.061/0.001	5.209/0.001	3.987/0.001

2.4 2 组治疗前后生活质量评分比较 治疗前,2 组患者认知功能、躯体功能、情绪功能及社会功能比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,2 组患者生活质量评分均升高($P<0.01$),且观察组均高于对照组($P<0.05$),见表 4。

2.5 2 组不良反应发生率比较 治疗后,观察组不良反应总发生率为 2.94%,低于对照组的 17.65% ($\chi^2=3.987$, $P=0.046$),见表 5。

3 讨论

颅内肿瘤在全身肿瘤中占 10% 左右, 发病率较高, 其发病原因目前尚不明确, 目前的主要因素有遗传因素、病毒、物理因素等^[7]。颅内肿瘤的主要症状为视乳头水肿、呕吐、瘫痪及头痛等, 及时的诊治能够降低肿瘤的恶化, 目前对颅内肿瘤的治疗方法主要是外科手术, 其治疗效果好, 但术后会引发颅神经功能缺失等并发症^[8-9]。颅内肿瘤的增大常出现视觉障碍、呕吐及头痛等症状, 主要是由于颅内压增高, 阻塞脑脊髓液循环通路^[10]。不同区域的颅内肿瘤产生侵犯及压迫, 由于脑组织各部位有其特殊功能, 会导致该区域的神经功能障碍, 如小脑肿瘤可造成平衡失调等^[11]。地塞米松具有抗炎作用, 抑制血管活性物质、炎性介质的释放^[12-13]。神经外科锁孔手术能够减少术中出血量, 止血更加迅速与确切, 有助于手术时间缩短^[14]。

脑脊液神经肽能够参与去甲肾上腺素作用, 具有较强收缩血管的作用, 抑制血管对血管舒张物质的反应, 增强血管对其他血管收缩物质的反应^[15]。本研究结果显示, 观察组治疗后 OT、AVP 及 β -EP 水平高于对照组, 说明神经外科锁孔手术联合地塞米松改善 OT、AVP 及 β -EP 水平效果显著。TSGF 可随肿瘤的形成与增长逐渐释放到外周液, 其是周边毛细血管及恶性肿瘤大量扩增的结果^[16]。相关研究表明^[17], 当机体发生炎症反应时, CRP 呈异常高表达, CRP 是一种急性时相蛋白, 能够反映机体的炎症反应, CRP 与疾病活动性有良好的相关性, 本研究与其保持一致。XI-AP 在肿瘤中通常呈高表达, 是一种细胞内源性凋亡抑制蛋白, 与肿瘤的预后、分化程度有紧密的联系^[18-19]。TNF- α 是具有调节人体炎症反应与免疫反应的细胞因子, 能够促进 T 细胞产生各种反应, 并促进炎症反应加重^[20]。本研究显示, 观察组治疗后 TSGF、CRP、XI-AP 及 TNF- α 水平低于对照组, 说明神经外科锁孔手术联合地塞米松能够显著降低 TSGF、CRP、XIAP 及 TNF- α 水平。本研究中, 观察组治疗后认知功能、躯体功能、情绪功能及社会功能高于对照组, 说明神经外科锁孔手术联合地塞米松能够显著提高颅内肿瘤患者的生活质量^[21]。

本研究结果显示, 观察组治疗总有效率高于对照组, 说明神经外科锁孔手术联合地塞米松对颅内肿瘤的治疗有效率更高。相关研究表明^[22], 神经外科锁孔手术深入视野扩大, 肿瘤位置明确, 在降低患者颅内压的情况下利用显微镜与脑室内的自然缝隙将肿瘤彻底切除。本研究结果指出, 观察组不良反应发生率低于对照组, 说明神经外科锁孔手术联合地塞米松治疗颅

内肿瘤安全性较高。

综上所述, 神经外科锁孔手术联合地塞米松治疗颅内肿瘤患者效果显著, 降低 TSGF、TNF- α 水平, 通过调控 OT、AVP 及 β -EP 水平, 改善脑脊液神经肽水平, 提升生活质量, 临床安全性较高。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘宇昊、王天男: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 阴鲁鑫: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 高文昌: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 王霄: 课题设计, 论文撰写; 张桐: 进行统计学分析

参考文献

- [1] 李姝, 彭宇明, 梁发, 等. 妊娠合并颅内肿瘤患者的围手术期管理[J]. 中华神经外科杂志, 2018, 34(12): 1254-1257. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2018.12.014.
- [2] Singh S, Mulay K, Mittal V. Isolated nonpulsatile enophthalmos in neurofibromatosis: An uncommon entity[J]. Indian J Ophthalmol, 2017, 65(10): 1063-1066. DOI: 10.4103/ijo.IJO_396_17.
- [3] 云亚滨. 神经外科锁孔手术治疗颅内肿瘤的临床疗效观察[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(17): 3859-3860.
- [4] 张宏宇, 陈沫, 于泓, 等. 地塞米松不同给药途径用于急性虹膜睫状体炎的疗效及安全性[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(15): 3714-3716. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.15.036.
- [5] 焦建同, 孙骏, 程超, 等. 血管内介入栓塞合并有颅内肿瘤的动脉瘤的疗效分析[J]. 临床神经外科杂志, 2019, 16(5): 386-389. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7770.2019.05.004.
- [6] 吕昌, 邵敏, 王清. 赋能心理护理干预对颅内肿瘤术后患者负性情绪、生活质量的影响[J]. 中国基层医药, 2019, 26(15): 1909-1911. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2019.15.031.
- [7] 尤金良, 李文鹏, 张显峰. 颅内肿瘤术后非术区硬膜外血肿 2 例[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(12): 123-124. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.12.026.
- [8] Di Rocc C, Samii A, Tamburrini G, et al. Sphenoid dysplasia in neurofibromatosis type 1: A new technique for repair[J]. Childs Nerv Syst, 2017, 33(6): 983-986. DOI: 10.1007/s00381-017-3408-z.
- [9] Naunheim MR, Plotkin SR, Franco RA, et al. Laryngeal manifestations of neurofibromatosis[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2016, 154(3): 494-497. DOI: 10.1177/0194599815626133.
- [10] Aboukais R, Bonne NX, Baroncini M, et al. Management of multiple tumors in neurofibromatosis type 2 patients[J]. Neurochirurgie, 2018, 64(5): 364-369. DOI: 10.1016/j.neuchi.2014.11.012.
- [11] 朱铭强, 董关萍, 吴蔚, 等. 颅内肿瘤术后高血糖高渗综合征 2 例及文献复习[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(23): 1831-1833. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.23.019.
- [12] 玄先法, 王玉新, 张以勤, 等. NLRP3 炎症体在缺血一再灌注急性肾损伤大鼠肾组织的表达及地塞米松干预对其影响[J]. 中国急救医学, 2019, 39(6): 591-596. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2019.06.015.

(下转 685 页)

MT-ATP6 基因突变致 Leigh 综合征一家系研究

刘军, 刘芳

基金项目: 河北省重点研发计划项目——健康医疗与生物医药专项(182777128D)

作者单位: 050082 石家庄, 中国人民解放军联勤保障部队第 980 医院神经内科(刘军), 儿科(刘芳)

通信作者: 刘芳, E-mail: liufanglafy@126.com

【摘要】 Leigh 综合征是与基因突变密切相关的一类线粒体疾病。文章通过回顾一家系中 2 例 Leigh 综合征患者的临床资料及基因检测结果, 寻找可能的致病基因。对先证者及其母亲进行线粒体全基因组测序, 并对其胞兄进行线粒体突变基因验证。结果发现, 先证者及其胞兄血液样本中均检测到编码线粒体 ATP6 蛋白的基因突变 m. 8993T>G(p. L156R), 先证者突变负荷为 97.3%, 其胞兄为 93.7%, 两者临床表型均符合 Leigh 综合征。先证者母亲血液样本中检测到相同的致病性突变, 突变负荷为 62.1%, 表型正常。提示该突变来自母亲, 符合线粒体母系遗传疾病的遗传方式。因此对临床表现疑似 Leigh 综合征的患者应尽早进行基因检测以明确诊断。

【关键词】 ATP6 蛋白基因; Leigh 综合征; 基因突变; 家系分析

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.009

Leigh syndrome caused by MT-ATP6 gene mutation: Pedigree study Liu Jun*, Liu Fang. * Department of Neurology, Department of Pediatrics, the 980th Hospital of the People's Liberation Army Joint Service Support Force, Hebei Province, Shijiazhuang 050082, China

Corresponding author: Liu Fang, E-mail: liufanglafy@126.com

Funding program: Key R & D Project of Hebei Province (Special Project of Health Care and Biomedicine (182777128D))

【Abstract】 Leigh syndrome is a type of mitochondrial disease closely related to gene mutations. By reviewing the clinical data and genetic test results of 2 patients with Leigh syndrome in a family, the article looks for possible pathogenic genes. Sequencing the mitochondrial genome of probands and their mothers, and verifying the mitochondrial mutant genes of their brothers. The results showed that the blood samples of probands and their siblings were detected mutations in the gene encoding mitochondrial ATP6 protein m. 8993T>G (p. L156R), the mutation load of the proband was 97.3%, and its sibling was 93.7%. Both clinical phenotypes are consistent with Leigh syndrome. The same pathogenic mutation was detected in the blood sample of the mother of the proband, the mutation load was 62.1%, and the phenotype was normal. It is suggested that the mutation comes from the mother, which is consistent with the inheritance of mitochondrial maternal genetic diseases. Therefore, patients with suspected Leigh syndrome should undergo genetic testing as soon as possible to confirm the diagnosis.

【Key words】 ATP6 gene; Leigh syndrome; Gene mutation; Pedigree study

Leigh 综合征又称亚急性坏死性脑脊髓病, 是由于线粒体氧化磷酸化缺陷导致的严重神经退行性疾病, 是婴幼儿期和儿童期最常见的一组线粒体综合征, 发生率大约为 1/4 万^[1]。自 Leigh^[2] 1951 年首次报道以来, 已发现 75 种核基因和线粒体基因缺陷与 Leigh 综合征相关, 其中线粒体 DNA(mtDNA) 突变致 Leigh 综合征约占 10%, 核 DNA(nDNA) 突变导致的 Leigh 综合征约占 90%。大多数致病基因编码呼吸链酶复合物和/或丙酮酸脱氢酶复合物的结构蛋白及与其稳定性和活性相关的蛋白。mtDNA 基因突变导致的 Leigh 综合征与呼吸链酶复合物 I、复合物 IV、复合物 V 及联

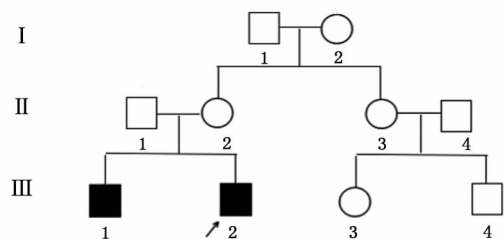
合氧化磷酸化缺陷相关。

迄今为止, 37 种 mtDNA 编码基因中 13 种突变可引起 Leigh 综合征, 其中大多数是编码复合物 I 或 V 亚基的基因, 或者是 mtRNA 的基因。其中编码复合物 I 亚基的 MTND3 和 MTND5 基因及编码复合物 V 亚基的 MTATP6 基因突变是导致 Leigh 综合征最常见的原因, 国内报道较少^[2-7]。现报道同一家系中 2 例 Leigh 综合征患者的临床资料及家系基因分析结果, 并结合文献进行复习, 以提高临床对该疾病的认识。

1 临床资料

先证者, 男, 5.5 个月, 以“惊厥、肌张力增高、嗜

睡、运动发育落后”就诊于我院。患儿孕 38⁺⁴ 周, 出生体质量 3 360 g, 无窒息史。于生后 47 d 出现反应差, 频繁眨眼, 吐沫, 血乳酸 2.94 mmol/L。当地医院视频脑电图显示右侧顶枕区不典型尖波发放, 睡眠期左侧颞区不典型尖波发放, 睡眠期双侧前头部尖形慢波发放, 右侧显著。颅脑超声双侧脑室增宽(左 0.68 cm, 右 0.55 cm); 头颅 MR 平扫示双侧额颞部脑外间隙稍增宽。血氨、同型半胱氨酸、肝肾功能、心肌酶、电解质、脑脊液正常。46 种遗传代谢病筛查: 血氨基酸和酰基肉碱谱分析显示丙氨酸 505.81 $\mu\text{mol/L}$ (正常 < 450 $\mu\text{mol/L}$), 丙酰肉碱 (C3) 5.04 $\mu\text{mol/L}$ (正常 < 5 $\mu\text{mol/L}$), 3-羟基异戊酰肉碱 (C5-OH) 0.78 $\mu\text{mol/L}$ (正常 < 0.7 $\mu\text{mol/L}$), 其余正常。2 周后复查血氨基酸和酰基肉碱谱: 丙氨酸正常, 丙酰肉碱 (C3) 8.31, 尿有机酸分析未发现异常。患者染色体核型分析、Trio 全基因组外显子测序及全基因组拷贝数变异检查未发现异常。父母非近亲婚配, 否认家族遗传病史, 母亲、外祖母、姨妈及姨妈的 2 个孩子表型正常。哥哥为脑瘫患者 (见图 1)。



注: □正常男性 ○正常女性 ■患病男性 ↗先证者

图 1 先证者及其家系图

体格检查: 体质量 7.9 kg, 头围 41 cm, 身长 67.5 cm, 不能注视眼前物品, 不能追视, 听声音有反应, 不能寻找声源, 下肢肌张力高, 手握拳多, 不能竖头, 俯卧不能抬头, 双手不能合于中线, 智龄 1.6 个月,

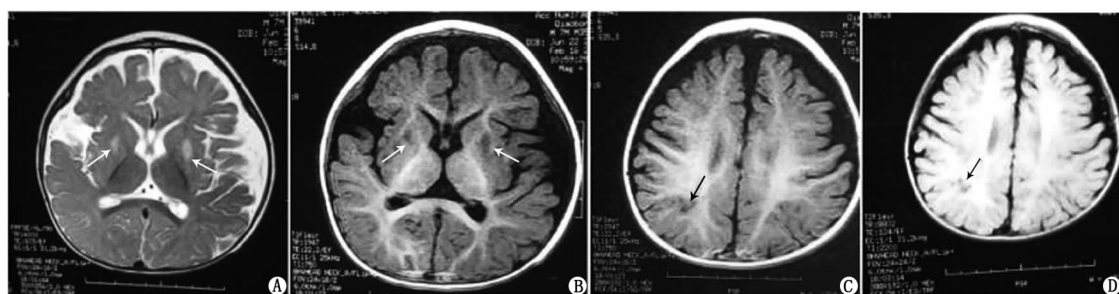
发育商 30.7%, 低智能。在我院门诊口服苯巴比妥抗癫痫治疗。

例 2, 先证者胞兄, 5 岁, 孕 37⁺³ 周, 出生体质量 3 200 g, 因产程长, 羊水 I 度污染, 剖宫产娩出, 否认窒息抢救史, 生后母乳喂养, 6~7 月大发现不能独坐, 喝水容易呛咳。颅脑 MR 检查示双侧豆状核区对称性 T2 序列高信号, T1-Flair 序列低信号。右侧脑室后角旁小片状 T1 序列低信号, T1-Flair 序列低信号 (图 2)。1 岁开始进行运动和语言等康复, 但效果不理想, 1.5 岁会爬, 2.5 岁能走, 5 岁会叫妈妈爸爸。记忆力差, 走路尖足, 核心稳定性差, 感觉统合失调, 5 岁不能自己穿衣服和吃饭, 智力测评严重低下。染色体核型分析、全基因组外显子测序正常, 46 种代谢病筛查未发现异常, 也未能检测到致病性的拷贝数变异。

由于先证者存在严重的运动智力发育落后, 为进一步确诊, 对其家系进行了线粒体基因突变验证。线粒体全基因组测序结果显示, 在先证者血样本中检测到编码线粒体 ATP6 蛋白的基因突变 m. 8993T > G (p. L156R), 该突变为致病突变, 其负荷为 97.3%。其母亲有相同的致病性突变, 突变负荷为 62.1%, 由此证实该突变来自母亲。先证者胞兄 ATP6 蛋白基因突变类型与先证者一致, 其突变负荷为 93.7%。确诊为 Leigh 综合征。

随访: 先证者 6.5 个月大时, 出现四肢肌张力减退, 刺激无反应, 不会哭、笑, 全天嗜睡, 睁眼次数很少, 睁眼费劲, 眼皮抬一下即闭合, 吃奶量显著减少, 不主动吃奶。就诊于当地医院, 患儿间断四肢小抽动, 肺部可闻及大量痰鸣音, 胸片双肺纹理增粗。脑电图广泛异常, 大量尖波。血气分析提示顽固代谢性酸中毒, BE -8 ~ -15 mmol/L, 乳酸 6.63 ~ 10.39 mmol/L。给予呼吸机辅助呼吸, 纠正酸中毒, 抗感染等系列治疗, 5 d 后因呼吸衰竭死亡。

先证者胞兄仍继续接受康复训练但效果不佳, 已



注: A、B 示双侧豆状核区对称性 T2 序列高信号, T1-Flair 序列低信号; C、D 示右侧脑室后角旁小片状 T1 序列低信号, T1-Flair 序列低信号

图 2 例 2 头颅 MR 检查表现

经接受辅酶 Q10、艾地苯醌、维生素 E、硫辛酸、维生素 B₁、维生素 B₂、精氨酸、左旋肉碱治疗,目前生命体征平稳。

2 讨论

1968 年 Hommes 等第一次将 Leigh 综合征与线粒体能量代谢障碍联系在一起^[8]。Leigh 综合征具有复杂的基因型,根据文献报道,Leigh 综合征大约 10% 为母系遗传,由 mtDNA 突变所致。90% 为常染色体隐性遗传和 X 连锁遗传,通过 nDNA 突变遗传^[1]。目前发现至少 7 种 MTATP6 基因错义突变可以导致 Leigh 综合征,包括 8993T > C、8993T > G、9176T > C、9185T > C、8597T > C、9035T > C、8936T > A^[7,9-14]。我国报道的 14 例与 MTATP6 基因突变相关的 Leigh 综合征案例中,突变类型包括 8993T > G、8993T > C、9176T > C 及 9185T > C。本文 2 例突变均为 8993T > G。

基因突变可以改变线粒体功能,如突变 8993T > G 会导致线粒体蛋白质合成受损,影响线粒体的电子传递链复合体亚单位和线粒体能源生产,线粒体功能失调无法产生足够的能量来满足器官功能,临床表现会出现各器官不同程度障碍^[10-12]。

Leigh 综合征临床表现多样,从无症状到严重的神经系统疾病。通常为智力运动发育落后、肌张力障碍、癫痫发作、共济失调、眼科异常(包括眼球震颤和视神经萎缩)等,神经系统以外的病变包括心脏、肝脏、胃肠道和肾小管功能障碍。Leigh 综合征通常婴幼儿期发病,大约 50% 在 3 岁前夭折,常见的死因为呼吸衰竭或心力衰竭^[13-15]。

本例先证者临床表现与 Leigh 报道的极为相似,出生足月,最初发育良好,47 d 时由于肺部感染出现惊厥,血乳酸轻度增高(2.94 mmol/L),遗传代谢筛查一过性表现 C3 和 C5-OH 异常升高,与 2019 年 Larson 等^[12]报道一致,Larson 描述为“模仿羧化酶缺乏状态的酰基肉碱异常”,该结果提示在遗传代谢病筛查出现这种情况时,要除外线粒体病。先证者初次起病时颅脑 MR 没有对称性的脑损害,推测当时出生刚 47 d,属于早期,脑部病变还未完全显现。随后该患儿表现出典型的神经发育倒退,意识由清醒到嗜睡,最后昏迷,患儿没有大的惊厥,只有四肢小的抽动,脑电图由最初轻度异常到广泛异常尖波,死亡前 5 d 多次血气显示难以纠正的代谢性酸中毒,严重的高乳酸血症,死亡时月龄 6.5 个月,以上均与文献报道一致。

先证者胞兄出生后 5 个月正常,从第 6 个月发现运动发育落后,容易呛咳,颅脑 MR 检查显示双侧豆状核区及右侧脑室后角灶性软化灶。给予康复治疗不

佳,5 岁仍不会穿衣,不会自己吃饭,严重智力低下,与文献报道一致。先证者胞兄起病相对比较晚,症状也较弟弟轻,遗传代谢病筛查没有发现一过性 C3 和 C5OH 异常升高,推测与其异常突变的线粒体负荷相对低,疾病相对较轻有关,这也充分显示了该病的表型异质性。

在线粒体疾病中,突变负荷的多少与临床症状密切相关,如在 8993T > G 突变类型中,如突变负荷在 60% 以下可能没有临床症状或轻度色素性视网膜炎,60% ~ 90% 的突变负荷为色素性视网膜炎或神经病—共济失调—色素性视网膜炎综合征,突变负荷大于 90% 以 Leigh 综合征多见^[10-12]。先证者母亲携带致病突变负荷为 62.1%,目前未显示任何不适,未来还需要进一步观察。先证者及其胞兄携带致病突变负荷均超过 90%,先证者为 97.3%,出生 47 d 发病,6.5 个月死亡。胞兄为 93.7%,6 个月时起病,症状表现为严重的智力运动发育迟缓,以上与文献报道一致。

Leigh 综合征目前无特异性治疗方法,维持患者持续性的能量代谢平衡是治疗该病的目标。基础药物治疗包括:(1)清除自由基,如艾地苯醌、辅酶 Q10、维生素 E、硫辛酸、维生素 C 等;(2)降低乳酸,如碳酸氢钠,二甲基甘氨酸;(3)电子转移载体,如艾地苯醌、辅酶 Q10、硫胺、维生素 B₂ 等;(4)能量替代物,如三磷酸腺苷;(5)补充肉碱^[16]。此例先证者在确诊前死亡,其胞兄确诊后接受上述药物治疗,目前病情平稳。

由于该病为母系遗传性疾病,存在阈值效应,母亲传递给子代突变的 mtDNA 水平影响其发病风险,当血液中 mtDNA 突变阈值达到 60% 时,可能出现表型,加上 mtDNA 有高突变率的特点,目前对未发病异质性突变携带者的遗传咨询和产前诊断比较困难。若母亲存在继续生育的意愿,可行的稳妥办法是受精卵胞浆置换技术,不过存在伦理问题,需要相关部门批准。

参考文献

- [1] Lake NJ, Compton AG, Rahman S, et al. Leigh syndrome; One disorder, more than 75 monogenic causes[J]. Ann Neurol, 2016, 79 (2): 190-203. DOI: 10.1002/ana.24551.
- [2] Leigh D. Subacute necrotizing encephalomyelopathy in an infant[J]. Neurol Neurosurg Psychiatry, 1951, 14(3): 216-221. DOI: 10.1136/jnnp.14.3.216.
- [3] 方方, 刘志梅, 方合志, 等. 中国儿童线粒体病的临床特征及分子遗传学研究[J]. 中国科学, 2018, 48(9): 975-985. DOI: 10.1360/N052018-00131.
- [4] 张尧, 孙芳, 孔庆鹏, 等. Leigh 综合征患儿核基因和线粒体基因突变的初步分析[J]. 临床儿科杂志, 2008, 26(12): 1021-1025. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3606.2008.12.006.
- [5] 王丽辉, 郑华城, 杨花芳, 等. 儿童 Leigh 综合征 4 例临床分析

- [J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(2): 111-114. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-3606. 2016. 02. 007.
- [6] Yu XL, Yan CZ, Ji KQ, et al. Clinical, neuroimaging, and pathological analyses of 13 chinese leigh syndrome patients with mitochondrial DNA mutations[J]. Chin Med J (Engl), 2018 131(22): 2705-2727. DOI: 10.4103/0366-6999.245265.
- [7] Wei Y, Cui L, Peng B. Mitochondrial DNA mutations in late-onset Leigh syndrome[J]. Neurol, 2018, 265(10): 2388-2395. DOI: 10.1007/s00415-018-9014-5.
- [8] Hommes FA, Polman HA, Reerink JD. Leigh's encephalomyelopathy: An inborn error of gluconeogenesis [J]. Arch Dis Child, 1968, 43(230): 423 - 426. DOI: 10.1136/adc.43.230.423.
- [9] Weerasinghe CAL, Bui BT, Vu TT, et al. Leigh syndrome T8993C mitochondrial DNA mutation: Heteroplasmy and the first clinical presentation in a Vietnamese family [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5): 6919-6925. DOI: 10.3892/mmr.2018.8670.
- [10] Ng YS, Martikainen MH, Gorman GS, et al. Pathogenic variants in MT-ATP6: A United Kingdom-based mitochondrial disease cohort study[J]. Ann Neurol, 2019, 86(2): 310-315. DOI: 10.1002/ana.25525.
- [11] Sofou K, de Coe IFM, Ostergaard E, et al. Phenotype-genotype correlations in Leigh syndrome: New insights from a multicentre study of 96 patients[J]. J Med Genet, 2018, 55(1): 21-27. DOI: 10.1136/jmedgenet-2017-104891.
- [12] Larson AA, Balasubramanian S, Christodoulou J, et al. Biochemical signatures mimicking multiple carboxylase deficiency in children with mutations in MT-ATP6[J]. Mitochondrion, 2019, 44: 58-64. DOI: 10.1016/j.mito.2018.01.001.
- [13] Tsai JD, Liu CS, Tsao TF, et al. A novel mitochondrial DNA 8597T > C mutation of Leigh syndrome: Report of one case[J]. Pediatr Neonatol, 2012, 53(1): 60-62. DOI: 10.1016/j.pedneo.2011.11.012.
- [14] Angural A, Sharma I, Pandoh P, et al. A case report on a novel MT-ATP6 gene variation in atypical mitochondrial Leigh syndrome associated with bilateral basal ganglia calcifications [J]. Mitochondrion, 2019, 46: 209-213. DOI: 10.1016/j.mito.2018.06.005.
- [15] Lopes T, Coelho M, Bordalo D, et al. Leigh syndrome: a case report with a mitochondrial DNA mutation [J]. Rev Paul Pediatr, 2018, 36(4): 519-523. DOI: 10.1590/1984-0462/2018;36;4;00003.
- [16] 国家卫生健康委医政医管局, 中国罕见病联盟, 北京协和医院. 罕见病诊疗指南 (2019 年版) [EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7659/201902.2019-02-27>.

(收稿日期: 2020 - 01 - 17)

(上接 681 页)

- [13] Patel GC, Phan TN, Maddineni P, et al. Dexamethasone-induced ocular hypertension in mice; Effects of myocilin and route of administration[J]. Am J Pathol, 2017, 187(4): 713-723. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.12.003.
- [14] 肖帮儒. 神经外科锁孔手术治疗颅内肿瘤的临床效果观察[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2015, 18(18): 104-105. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2015.18.079.
- [15] Li W, Sun X, Yuan F, et al. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid procalcitonin in bacterial meningitis patients with empiric antibiotic pretreatment[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(4): 1193-1204. DOI: 10.1128/JCM.02018-16.
- [16] Shao T, Huang J, Zheng Z, et al. SCCA, TSGF, and the long non-coding RNA AC007271.3 are effective biomarkers for diagnosing oral squamous cell carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(1): 26-38. DOI: 10.1159/000489741.
- [17] 樊巍, 郭凯, 吕晶. 血清 CRP、PCT 和 ESR 对骨科患者术后感染的诊断意义的临床研究[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(7): 1186-1189. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2019.07.028.
- [18] Yang WZ, Zhou H, Yan Y. XIAP underlies apoptosis resistance of renal cell carcinoma cells[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 125-130. DOI: 10.3892/mmr.2017.7925.
- [19] 檀碧波, 李勇, 赵群, 等. 胃癌组织中 miR-218 和凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、xIAP、Survivin mRNA 的表达观察[J]. 山东医药, 2018, 58(47): 20-23. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.47.005.
- [20] 熊盛池, 王瑶, 熊利, 等. 西格列汀联合恩格列净治疗难治性糖尿病效果及对血清 IL-4、IL-6 及 TNF- α 水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(16): 3904-3906. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.16.014.
- [21] 车震. 神经外科锁孔手术治疗颅内宽颈动脉瘤破裂的疗效分析[J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(6): 909-911. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2016.06.012.
- [22] 张国清, 刘佰运, 殷金珠, 等. 一侧额颞顶大骨瓣开颅术的应用解剖学研究[J]. 中华神经外科杂志, 2017, 33(8): 838-841. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2017.08.020.

(收稿日期: 2019 - 12 - 27)

过敏性哮喘患儿外周血 ORMDL3 mRNA 与 T 细胞亚群 Th1/Th2 失衡的关系

麦朗君, 饶雪梅, 曾学文, 张龙奕, 林烈桔

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(17A200125)

作者单位: 571700 海南省儋州市人民医院儿科

通信作者: 饶雪梅, E-mail: raoxuemei2018@163.com

【摘要】目的 分析过敏性哮喘患儿外周血中血清类黏蛋白 1 样蛋白 3 (ORMDL3) 基因与辅助性 T 细胞亚群 Th1/Th2 失衡的关系。**方法** 选取 2018 年 3 月—2019 年 10 月海南省儋州市人民医院儿科治疗过敏性哮喘患儿 83 例(哮喘组)为研究对象,选取同期于医院健康体检儿童 76 例作为健康对照组。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测外周血 ORMDL3 mRNA 水平,流式细胞术检测外周血 Th1、Th2 表达水平,检测肺功能指标、嗜酸粒细胞(EOS)、血清免疫球蛋白 E(IgE)水平。Pearson 法分析外周血 ORMDL3 与 Th1/Th2 表达水平相关性,ORMDL3、Th1/Th2 与肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平相关性。Logistic 回归分析影响过敏性哮喘的危险因素。**结果** 哮喘组外周血 ORMDL3 mRNA、Th2、FeNO、EOS、血清 IgE 水平均显著高于健康对照组($t=10.011, 12.712, 7.249, 6.464, 21.940, P$ 均 = 0.000), Th1、Th1/Th2、达峰时间比(TPTEF/TE)、达峰容积比(VPEF/VE)水平显著低于健康对照组($t=5.484, 21.151, 9.796, 9.372, P$ 均 = 0.000); 外周血 ORMDL3 与 Th1/Th2 水平呈负相关($r=-0.587, P<0.05$), 与 TPTEF/TE、VPEF/VE 亦呈负相关($r=-0.563, -0.489, P$ 均 <0.01), 与 FeNO、EOS、血清 IgE 水平呈正相关($r=0.442, 0.516, 0.547, P$ 均 <0.01); Th1/Th2 与 TPTEF/TE、VPEF/VE 呈正相关($r=0.496, 0.537, P$ 均 <0.01), 与 FeNO、EOS、血清 IgE 水平呈负相关($r=-0.642, -0.536, -0.518, P$ 均 <0.01); ORMDL3、血清 IgE 是影响过敏性哮喘发生的危险因素, Th1/Th2 是影响过敏性哮喘发生的保护因素。**结论** 过敏性哮喘患儿外周血辅助性 T 细胞亚群 Th1/Th2 处于失衡状态, 且 T 细胞亚群 Th1/Th2 状态与 ORMDL3 水平密切相关。外周血 ORMDL3、Th1/Th2 在过敏性哮喘发病中有重要作用, 可作为评估过敏性哮喘病情的指标。

【关键词】 哮喘, 过敏性; 血清类黏蛋白 1 样蛋白 3 基因; 辅助性 T 细胞亚群; 儿童

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.010

The relationship between the imbalance of ORMDL3 mRNA and Th1/Th2 in peripheral blood of children with allergic asthma Mai Langjun, Rao Xuemei, Zeng Xuwen, Zhang Longyi, Lin Lieju. Department of Pediatrics, Danzhou People's Hospital, Hainan Province, Danzhou 571700, China

Corresponding author: Rao Xuemei, E-mail: raoxuemei2018@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Health and Family Planning Industry in Hainan Province (17A200125)

【Abstract】Objective To analyze the relationship between the imbalance of serum mucoid-1-like protein-3 (ORMDL3) and helper T cell subsets Th1 / Th2 in children with allergic asthma. **Methods** From March 2018 to October 2019, 83 children with allergic asthma (asthma group) were selected as the study object. 76 healthy children in the same period were selected as the control group. The levels of ORMDL3 mRNA, Th1, Th2, lung function, eosinophils and serum immunoglobulin E (IGE) were measured by flow cytometry. Pearson method was used to analyze the correlation between the expression of ORMDL3 and Th1 / Th2 in peripheral blood, and the correlation between ormdl3, Th1 / Th2 and lung function index, EOS and serum IgE. Logistic regression analysis of the factors affecting allergic asthma. **Results** The levels of ORMDL3 mRNA, Th2, FeNO, EOS and serum IgE in asthma group were significantly higher than those in healthy control group ($t=10.011, 12.712, 7.249, 6.464, 21.940, P=0.000$), and the levels of Th1, Th1/Th2, TPTEF/TE, VPEF/VE were significantly lower than those in healthy control group ($t=5.484, 21.151, 9.796, 9.372, P=0.000$); There was a negative correlation between ORMDL3 and Th1 / Th2 ($r=-0.587, P<0.05$), There was a negative correlation between TPTEF/TE and VPEF/VE ($r=-0.563, -0.489, P<0.01$), and positively correlated with FeNO, EOS, serum IgE levels ($r=0.442, 0.516, 0.547, P<0.01$); Th1/Th2 was positively correlated with TPTEF/TE, VPEF/VE ($r=0.496, 0.537, P<0.01$),

and negatively correlated with FeNO, EOS, serum IgE levels ($r = -0.642, -0.536, -0.518$, all $P < 0.01$); Th1/Th2 was positively correlated with TPTEF/TE, VPEF/VE ($r = 0.496, 0.537$, $P < 0.01$), negatively correlated with FeNO, EOS, IgE ($r = -0.642, -0.536, -0.518$, $P < 0.01$). The risk factors of allergic asthma are ORMDL3 and serum IgE. Th1/Th2 is the protective factor of allergic asthma. **Conclusion** Th1/Th2 of the peripheral blood helper T cell subsets in children with allergic asthma is unbalanced, and the Th1/Th2 of the T cell subsets is closely related to the level of ORMDL3. Peripheral blood ORMDL3 and Th1/Th2 play an important role in the pathogenesis of allergic asthma, which can be used as an index to evaluate the condition of allergic asthma.

【Key words】 Asthma, allergic; Serum mucin-1-like protein-3; Helper T cell subsets; Children

过敏性哮喘是一种常见慢性炎性疾病,主要病理学特征是呼吸道炎症反应和气道重塑,临床表现为咳嗽、喘鸣及呼吸困难,80%以上过敏性哮喘发病起始于儿童时期,因此早期诊断和治疗对于降低过敏性哮喘发病率十分重要^[1-2]。血清类黏蛋白 1 样蛋白 3 (ORMDL3) 基因是 ORMDL 基因家族成员之一,是一种能引起儿童哮喘的易感基因^[3-4],其作用机制是激活 T 淋巴细胞、负性调节神经鞘脂类产生、增加未折叠蛋白反应。该基因在人体多处组织中普遍表达,其中肝脏和外周血淋巴细胞中表达最高^[5]。辅助性 T 细胞 (Th) 与哮喘炎症反应和免疫应答有密切联系,且在儿童哮喘中发挥重要作用^[6]。许多研究表明,辅助性 T 细胞亚群 1/辅助性 T 细胞亚群 2 (Th1/Th2) 状态失衡与哮喘发病密切相关,Th2 参与的嗜酸粒细胞 (EOS) 浸润在哮喘发生的过程中有重要作用^[7-8]。ORMDL、Th1/Th2 与哮喘发病都有一定联系,但目前关于两者在过敏性哮喘患儿外周血中表达水平相关性的研究较少。因此,本研究通过检测过敏性哮喘患儿外周血中 ORMDL3、Th1/Th2 水平,探讨过敏性哮喘患儿外周血 ORMDL3 与 T 细胞亚群 Th1/Th2 失衡的关系,为过敏性哮喘的预防和评估提供重要依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 3 月—2019 年 10 月海南省儋州市人民医院儿科治疗过敏性哮喘患儿 83 例 (哮喘组) 为研究对象,其中男 44 例,女 39 例;年龄 3 ~ 13 (7.38 ± 4.59) 岁;就诊时合并症,鼻炎 16 例,荨麻疹 5 例;病情程度,无症状 8 例,轻症 12 例,中症 36 例,重症 27 例;既往过敏史:鼻炎 16 例,荨麻疹 5 例,药物过敏 2 例;家族遗传史 18 例。选取同期于医院健

康体检儿童 76 例作为对照组,其中男 32 例,女 44 例;年龄 3 ~ 12 (6.79 ± 4.96) 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,符合伦理学要求,受试对象或其家长知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1) 纳入标准:①符合过敏性哮喘诊断标准^[9];②年龄 3 ~ 13 岁;③入组前 1 周末使用抗白三烯、抗组胺类药物;④入组前 4 周无全身糖皮质激素应用。(2) 排除标准:①患其他呼吸系统疾病;②有糖皮质激素和 β_2 受体激动剂过敏史;③有其他心肺疾病及精神异常;④入组前 4 周患呼吸道感染。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 样品采集及保存:于就诊或健康体检当天清晨抽取 2 组儿童空腹外周静脉血 6 ml,其中 4 ml 用于 ORMDL3、Th1/Th2 指标检测;2 ml 离心收集血清,置于 -80℃ 保存,用于 IgE 检测。

1.3.2 外周血 ORMDL3 mRNA 水平检测:以 RNA 提取试剂盒 (北京天根生化有限公司) 提取外周血总 RNA,逆转录试剂盒 (宝生物工程大连有限公司) 反转录获得 cDNA;采用 qRT-PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司,型号 Bio-Rad iQ5) 和 miScript SYBR Green qPCR Kit 试剂盒 (德国 QIAGEN 公司) 对 ORMDL3 进行扩增;qRT-PCR 反应体系共 10 μ l;miScript SYBR Green Mix 5 μ l, cDNA (50 ng/ μ l) 1 μ l,上下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.5 μ l, ddH₂O 3.0 μ l。反应条件:95℃、90 s, 95℃、30 s, 63℃、30 s, 40 个循环;72℃、10 min。ORMDL3 及内参 GAPDH 引物由上海生工生物公司合成,序列见表 1。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法对外周血 ORMDL3 mRNA 表达水平进行定量分析。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基 因	正向引物	反向引物
ORMDL3	5' -GCAAGCGAGGCTGCTAACCCACT-3'	5' -GGGATAAGCACGCTCATCAGGG-3'
GAPDH	5' -AGGTCGGAGTCAACGGAT-3'	5' -TCCTGGAAGATGGTGATG-3'

1.3.3 外周血 Th1/Th2 水平检测: RPMI 1640(不含小牛血清 FBS)培养基等体积稀释外周血 100 μ l,加入刺激剂 10 μ l,37℃、5% CO₂ 培养箱培养 4~6 h。混匀,加入 CD8-PC7 和 CD3-PC5 各 10 μ l,室温下避光孵育 15 min;加入 100 μ l Fix&Perm 破膜剂(美国 Beckman 公司)中的 Reagent 1(即固定液),室温避光孵育 15 min;加入 PBS 3 ml,离心 5 min,弃上清。每管中加入 100 μ l Fix&Perm 中的 Reagent 2(即破膜和溶血液),各管加入 IFN- γ -FITC 单克隆抗体和 IL-4-PE 单克隆抗体(美国 Beckman 公司生产)10 μ l,室温下避光孵育 15 min。每管中加入 PBS 3 ml,离心去除上清;PBS 0.5 ml 重悬细胞,流式细胞仪(美国 BD 公司,型号 FACSCalibur)检测。每个样本每次检测 1×10^4 个细胞。

1.3.4 肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平检测:利用肺功能仪(日本美能公司,型号 AS-507)检测患儿安静睡眠时达峰时间比(TPTEF/TE)、达峰容积比(VPEF/VE);一氧化氮测定仪(广州瑞普医疗科技有限公司,型号 6900)检测呼出气一氧化氮(FeNO);血细胞分析仪(济南童鑫生物科技公司,型号 HB7501)进行分类计数并计算 EOS 百分比;ELISA 试剂盒(上海冠导生物工程有限公司)测定血清 IgE 水平。

1.4 统计学方法 利用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用卡方检验;采用 Pearson 法分析过敏性哮喘患儿 ORMDL3 与 Th1/Th2 水平相关性及两者与肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平相关性;Logistic 回归分析影响过敏性哮喘的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组外周血中 ORMDL3 mRNA、Th1、Th2 表达水平比较 哮喘组外周血中 ORMDL3 mRNA、Th2 表达水平均显著高于对照组($P < 0.01$),Th1、Th1/Th2 水平显著低于对照组($P < 0.01$),见表 2。

2.2 2 组肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平比较 哮喘

组 FeNO、EOS、血清 IgE 水平均显著高于对照组($P < 0.05$),TPTEF/TE、VPEF/VE 显著低于对照组($P < 0.05$),见表 3。

表 2 2 组外周血中 ORMDL3、Th1、Th2 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ORMDL3	Th1(%)	Th2(%)	Th1/Th2
对照组	76	1.00 $\pm$ 0.22	16.78 $\pm$ 5.63	1.69 $\pm$ 0.51	9.83 $\pm$ 2.51
哮喘组	83	2.23 $\pm$ 1.05	12.34 $\pm$ 4.56	3.62 $\pm$ 1.23	3.36 $\pm$ 1.16
t 值		10.011	5.484	12.712	21.151
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 外周血 ORMDL3 mRNA 与 Th1/Th2 水平相关性分析 Pearson 分析结果显示,过敏性哮喘患儿外周血中 ORMDL3 与 Th1/Th2 水平呈负相关($r = -0.587$, $P < 0.05$),见图 1。

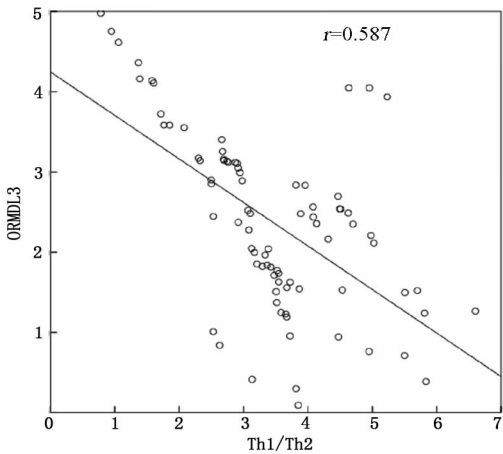


图 1 过敏性哮喘患儿外周血中 ORMDL3 mRNA 与 Th1/Th2 水平相关性

2.4 ORMDL3 mRNA、Th1/Th2 与肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平相关性分析 Pearson 法分析结果显示,过敏性哮喘患儿 ORMDL3 与 TPTEF/TE、VPEF/VE 呈负相关($P < 0.01$),与 FeNO、EOS、血清 IgE 水平呈正相关($P < 0.01$)。Th1/Th2 与 TPTEF/TE、VPEF/VE 呈正相关($P < 0.01$),与 FeNO、EOS、血清 IgE 水平呈负相关($P < 0.01$),见表 4。

表 3 2 组肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	肺功能指标			EOS	血清 IgE
		TPTEF/TE	VPEF/VE	FeNO(ppb)	(%)	(IU/ml)
对照组	76	19.38 $\pm$ 4.21	24.56 $\pm$ 7.43	18.64 $\pm$ 5.17	5.37 $\pm$ 1.19	43.89 $\pm$ 10.35
哮喘组	83	13.55 $\pm$ 3.27	15.26 $\pm$ 4.93	25.38 $\pm$ 6.42	7.36 $\pm$ 2.43	257.76 $\pm$ 84.38
t 值		9.796	9.372	7.249	6.464	21.940
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 过敏性哮喘患儿 ORMDL3、Th1/Th2 与肺功能指标、EOS、血清 IgE 水平相关性分析

指 标		TPTEF/TE	VPEF/VE	FeNO	EOS	血清 IgE
ORMDL3	r 值	-0.563	-0.489	0.442	0.516	0.547
	P 值	0.000	0.001	0.004	0.000	0.000
Th1/Th2	r 值	0.496	0.537	-0.642	-0.536	-0.518
	P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.5 影响过敏性哮喘的多因素 Logistic 回归分析 将是否发生过敏性哮喘作为因变量,以 ORMDL3、Th1/Th2、TPTEF/TE、VPEF/VE、FeNO、EOS、血清 IgE 为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示 ORMDL3、血清 IgE 是影响过敏性哮喘发生的危险因素,Th1/Th2 是影响过敏性哮喘发生的保护因素,见表 5。

表 5 影响过敏性哮喘发生的多因素分析

项目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
ORMDL3	2.15	0.76	8.00	0.000	8.54	5.36 ~ 13.62
Th1/Th2	0.70	0.23	9.26	0.004	0.50	0.32 ~ 0.77
TPTEF/TE	0.73	0.69	1.12	0.073	2.08	0.59 ~ 7.34
VPEF/VE	0.83	0.84	0.98	0.932	2.30	0.48 ~ 10.99
FeNO	1.46	1.58	0.63	0.337	1.59	0.19 ~ 13.26
EOS	0.92	0.89	1.07	0.264	2.51	0.55 ~ 11.42
血清 IgE	1.99	1.05	3.59	0.002	7.35	4.68 ~ 11.54

3 讨 论

过敏性哮喘多发于儿童时期,是哮喘发病初期,其发病特征主要为反复喘息、胸闷、咳嗽、气促^[10-12]。过敏性哮喘发病的外部原因主要有接触变应原、物理化学诱因、冷空气等,而内部原因主要是机体免疫耐受功能受损,致使免疫细胞对自身组织结构破坏,而 T 淋巴细胞在此过程中发挥十分重要的作用^[13-15]。

ORMDL3 是首个被鉴定出的哮喘易感基因,序列高度保守,编码一种跨膜蛋白^[16]。许多过敏原能导致 ORMDL3 基因表达上调,最终导致哮喘发生^[17]。且有研究表明,某些哮喘治疗药物可通过下调 ORMDL3 基因表达达到治疗哮喘的目的^[18]。Kothari 等^[19]研究 17q21 号染色体上与哮喘高度相关的一个基因发现,ORMDL3 表达上调导致气道平滑肌增殖和收缩能力增强,从而提高哮喘患者的气道高反应性,使哮喘加重。本研究中哮喘组外周血中 ORMDL3 表达水平显著高于对照组,提示过敏性哮喘患儿外周血中 ORMDL3 表达水平高于健康儿童,ORMDL3 可能通过在过敏性哮喘患儿外周血中高表达来作用某些哮喘相关基因位点,进一步参与过敏性哮喘发生发展,本研究与 Kothari 等^[19]研究结果基本一致。

Th 在气道慢性变应性炎症反应中发挥重要作用,

而 Th1 和 Th2 分泌细胞因子,彼此相互抑制,Th1/Th2 状态失衡在哮喘发病过程中发挥关键作用^[20]。Th2 分泌的细胞因子可促进血清 IgE 合成、诱导 EOS 前体分化、激活和趋化 EOS。Hwang 等^[21]研究表明,污染物邻苯二甲酸二异壬酯在体外抑制 Th1 极化,增强 Nave CD4⁺ T 细胞 Th2 的极化,且邻苯二甲酸二异壬酯通过产生 IL-4、IL-5、血清 IgE、IgG1,以及减少 IFN- γ 、IgG2A 诱导过敏性哮喘,增加哮喘患者 Caspase-1 和 Caspase-3 的表达,从而证明 Th1/Th2 的失衡能增加过敏性哮喘的发生几率。本研究中哮喘患儿外周血中 Th1、Th2、Th1/Th2 水平与健康儿童比较有显著差异。提示过敏性哮喘患儿外周血中 Th1/Th2 处于失衡状态,而 Th1/Th2 细胞因子活化平衡表现为免疫保护,此时的失衡可能引起机体免疫紊乱并诱发免疫介导的过敏性哮喘。进一步提示哮喘的发作可能与 Th1 亚群功能低下,Th2 亚群功能亢进有关。本研究与张如幸等^[22]研究结果基本一致。

许多研究表明,哮喘患者 ORMDL3、Th1/Th2 与 EOS 水平都具有一定的相关性,两者通过相互作用影响过敏性哮喘患者体内 EOS 水平,最终影响过敏性哮喘的严重程度^[23-24]。本研究结果中哮喘患儿 FeNO、EOS、血清 IgE、TPTEF/TE、VPEF/VE 等肺部指标水平均与健康儿童有较大差异。提示过敏性哮喘患儿呼吸道免疫炎症反应水平相对升高,气道内大量附着黏性液体,患儿小气道阻力上升,肺功能可能受损,导致 TPTEF/TE、VPEF/VE 等指标水平明显下降,与田军等^[25]研究结果基本一致。过敏性哮喘患儿 ORMDL3、Th1/Th2 与 TPTEF/TE、VPEF/VE、FeNO、EOS、血清 IgE 等指标水平均呈现一定的相关性,提示 ORMDL3、Th1/Th2 可能通过相互作用影响过敏性哮喘患儿机体内炎症反应水平,导致患儿气道炎症反应加重,使 TPTEF/TE、VPEF/VE 等指标水平明显异常,进一步影响过敏性哮喘的严重程度。Logistic 回归分析结果显示,ORMDL3、血清 IgE 是影响过敏性哮喘发生的危险因素,Th1/Th2 是影响过敏性哮喘发生的保护因素。提示 ORMDL3、血清 IgE、Th1/Th2 水平高低影响过敏性哮喘发生,且随 ORMDL3、血清 IgE 水平升高及 Th1/Th2 水平降低,过敏性哮喘发生几率升高。

综上所述,过敏性哮喘患儿外周血中 ORMDL3 与 T 细胞亚群 Th1/Th2 水平呈负相关,ORMDL3 在外周血中的表达水平对 Th1/Th2 状态失衡有影响。临床上应密切关注过敏性哮喘患儿外周血中 ORMDL3 mRNA、Th1/Th2 的水平,及时做出诊断及预防。但 ORMDL3 基因的多态性与哮喘发生之间的关系仍需进一步

研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

麦朗君:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;饶雪梅:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;曾学文:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;张龙奕:进行统计学分析;林烈桔:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Ekstedt S, Stenberg H, Tufvesson E, et al. The potential role of CD 16 high CD 62L dim neutrophils in the allergic asthma[J]. *Allergy*, 2019, 74(11):2265-2268. DOI:10.1111/all.13861.
- [2] 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. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.013.
- [3] Löser S, Gregory LG, Zhang Y, et al. Pulmonary ORMDL3 is critical for induction of Alternaria-induced allergic airways disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(5):1496-1507. DOI:10.1016/j.jaci.2016.07.033.
- [4] 郑虹,王威,何昭,等. <3 岁反复喘息患儿外周血血清 ORMDL3 基因在不同临床表型中的表达及其与 IL-17 和 ECP 的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(18):32-37. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2017.18.006.
- [5] Wang XH, Shu J, Jiang CM, et al. Mechanisms and roles by which IRF-3 mediates the regulation of ORMDL3 transcription in respiratory syncytial virus infection[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 87(1):8-17. DOI:10.1016/j.biocel.2017.03.007.
- [6] Zhang D, Wu Y, Sun G. miR-192 suppresses T follicular helper cell differentiation by targeting CXCR5 in childhood asthma[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2018, 78(3):236-242. DOI:10.1080/00365513.2018.1440628.
- [7] Lee SY, Bae CS, Seo JH, et al. Mycoleptodonoides aitchisoni suppresses asthma via Th2 and Th1 cell regulation in an ovalbumin-induced asthma mouse model[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1):11-20. DOI:10.3892/mmr.2017.7901.
- [8] 任志红,赵璇. 呼吸道病毒感染对哮喘患儿 Th1/Th2 细胞因子的影响[J]. *西南国防医药*, 2018, 28(3):234-236. DOI:10.3969/j.issn.1004-0188.2018.03.012.
- [9] 中华医学会变态反应分会呼吸过敏学组(筹),中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 中国过敏性鼻炎哮喘诊治指南(第一版,2019 年)[J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(9):636-655. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578.1426.2019.09.004.
- [10] Kerkhof M, Tran TN, Soriano JB, et al. Healthcare resource use and costs of severe, uncontrolled eosinophilic asthma in the UK general population[J]. *Thorax*, 2018, 73(2):116-124. DOI:10.1136/thoraxjnl-2017-210531.
- [11] 钟洁,陶宁,赵利,等. 过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 表达及与 Th17/Treg 失衡的关系[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(5):462-466,471. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.007.
- [12] 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.
- [13] 施丽泳,曾奕明,陈晓阳,等. 尘螨过敏性哮喘患者治疗前后特异性 IgG4 水平变化及意义[J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(24):1854-1858. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2018.24.003.
- [14] Satia I, Watson R, Scime T, et al. Allergen challenge increases capsaicin-evoked cough responses in patients with allergic asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(3):788-795. DOI:10.1016/j.jaci.2018.11.050.
- [15] 刘英贤,谢燕丕,李惠怡,等. 过敏性哮喘患儿外周血 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白域 4 和血清免疫球蛋白 G4 的水平变化及意义[J]. *中国医药*, 2020, 15(5):685-689. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.05.012.
- [16] 谷亚星,侯沛君,王金荣,等. ORMDL3 和 HLA-DQ 基因多态性及交互作用在儿童肺炎支原体感染相关哮喘中的研究[J]. *国际儿科学杂志*, 2018, 45(6):451-455. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2018.06.010.
- [17] Worgall TS. Sphingolipids, ORMDL3 and asthma: what is the evidence[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2017, 20(2):99-103. DOI:10.1097/MCO.0000000000000349.
- [18] James B, Milstien S, Spiegel S. ORMDL3 and allergic asthma: From physiology to pathology[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(3):634-640. DOI:10.1016/j.jaci.2019.07.023.
- [19] Kothari PH, Qiu W, Croteau-Chonka DC, et al. Role of local CpG DNA methylation in mediating the 17q21 asthma susceptibility gene GSDMB/ORMDL3 sphingolipid biosynthesis regulator 3 (ORMDL3) expression quantitative trait locus[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(6):2282-2286. DOI:10.1016/j.jaci.2017.11.057.
- [20] 汪鑫,罗壮,郑圆圆,等. 慢性阻塞性肺疾病患者血清 IL-33、IFN- γ 表达与 Th1/Th2 平衡失调[J]. *中国临床研究*, 2019, 32(5):624-626. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2019.05.013.
- [21] Hwang YH, Paik MJ, Yee ST. Diisononyl phthalate induces asthma via modulation of Th1/Th2 equilibrium[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 272(1):49-59. DOI:10.1016/j.toxlet.2017.03.014.
- [22] 张如幸,李秀芳. 哮喘患者转化生长因子 β 1 及 Th1/Th2 细胞因子水平变化及意义[J]. *包头医学院学报*, 2019, 35(3):17-19. DOI:10.16833/j.cnki.jbmc.2019.03.008.
- [23] 肖天赐. 定喘汤联合西医常规治疗对过敏性支气管哮喘患者外周血单个核细胞 Th1/Th2 及黏膜免疫功能的影响[J]. *河北中医*, 2017, 39(7):1048-1052. DOI:10.3969/j.issn.1002-2619.2017.07.022.
- [24] 马媛媛,艾合提热木·塔力甫,崔彦杰. 布地奈德福莫特罗吸入剂联合苏黄止咳胶囊治疗咳嗽变异性哮喘的临床效果[J]. *中国医药*, 2018, 13(6):842-845. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2018.06.011.
- [25] 田军,高志刚,沈佩芳,等. 外周血 T 淋巴细胞亚群和维生素 D 水平与婴幼儿反复喘息及哮喘预测指数的关系研究[J]. *当代医学*, 2018, 24(35):7-10. DOI:10.3969/j.issn.1009-4393.2018.35.001.

(收稿日期:2020-01-21)

不同剂量人免疫球蛋白对川崎病患儿临床疗效、炎性指标及心功能标志物的影响

甄立娜, 段晨初, 吴晓杰, 张腾腾, 张中平

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(20180646)

作者单位: 050031 石家庄, 河北省儿童医院呼吸科

通信作者: 张中平, E-mail: lingbohebei@sina.com

【摘要】目的 观察不同剂量人免疫球蛋白静脉注射对川崎病患儿临床疗效、炎性指标及心功能标志物的影响。**方法** 选择 2017 年 4 月—2019 年 3 月河北省儿童医院接受治疗的川崎病患儿 90 例作为研究对象。采用随机数字表法将患儿分为 3 组, 每组 30 例。3 组患儿入院后均给予阿司匹林肠溶片, 在病程第 5 d 开始静脉注射人免疫球蛋白, A 组为 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单剂, B 组为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单剂, C 组为 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连用 5 d。比较 3 组患儿临床疗效、临床症状消失时间、炎性指标、心功能标志物及不良反应。**结果** A 组患儿总有效率为 96.67%, B 组为 93.33%, 均明显高于 C 组的 73.33% ($\chi^2/P=8.907/0.044$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。A 组及 B 组患儿发热、黏膜充血、手足发硬、颈淋巴结肿大消失时间均明显短于 C 组 ($F/P=23.129/0.000, 34.750/0.000, 30.728/0.000, 18.517/0.000$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗后 3 组患儿血清 TNF- α 、CRP 及 IL-6 均显著下降, 且 A 组与 B 组下降幅度均明显大于 C 组 ($F/P=16.243/0.000, 3.193/0.046, 5.262/0.001$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗后 3 组患儿血清 BNP、h-FABP 水平均明显下降, 且 A 组与 B 组下降幅度均明显大于 C 组 ($F/P=6.331/0.003, 4.881/0.010$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。3 组患儿不良反应发生率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 静脉注射人免疫球蛋白 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 与 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单次给药疗效相当, 均优于 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连用 5 d, 可明显提高川崎病患儿疗效, 加速缓解临床症状, 减轻炎性反应, 改善心功能标志物指标。建议剂量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

【关键词】 人免疫球蛋白; 给药方案; 川崎病; 临床疗效; 心功能

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.011

Effects of different doses of human immunoglobulin on clinical efficacy, inflammatory index and cardiac function in children with Kawasaki disease Zhen Lina, Duan Chenchu, Wu Xiaojie, Zhang Tengting, Zhang Zhongping. Department of Respiration, Hebei Children's Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: Zhang Zhongping, E-mail: lingbohebei@sina.com

Funding program: Key Research Projects of Medical Science in Hebei Province (20180646)

【Abstract】Objective To observe the effect of intravenous injection of different doses of human immunoglobulin on the clinical efficacy, inflammatory index and heart function of children with Kawasaki disease. **Methods** 90 children with Kawasaki disease who were treated in Hebei children's Hospital from April 2017 to March 2019 were selected as the study objects. The children were divided into three groups with 30 cases in each group. Three groups were given aspirin enteric coated tablets after admission. At the 5th day of the course of the disease, human immunoglobulin was injected intravenously. Group A was given $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ single dose, group B was given $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ single dose, and group C was given $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ for 5 days. The clinical efficacy, disappearance time of clinical symptoms, inflammatory indexes, cardiac function indexes and adverse reactions of the three groups were compared. **Results** The total effective rate was 96.67% in group A and 93.33% in group B, which were significantly higher than 73.33% in group C ($\chi^2/P=8.907/0.044$). There was no significant difference between group A and group B ($P>0.05$). The disappearance time of fever, mucosal congestion, hand and foot stiffness and cervical lymphadenopathy in group A and B were significantly shorter than that in group C ($F/P=23.129/0.000, 34.750/0.000, 30.728/0.000, 18.517/0.000$). There was no significant difference between group A and group B ($P>0.05$). After treatment, the serum TNF- α , CRP and IL-6 of the three groups were significantly decreased, and

the decreased range of group A and group B was significantly greater than that of group C ($F/P = 16.243/0.000, 3.193/0.046, 5.262/0.001$). There was no significant difference between group A and group B ($P > 0.05$). After treatment, the serum BNP and h-FABP levels of the three groups were significantly decreased, and the decreased range of group A and group B was significantly greater than that of group C ($F/P = 6.331/0.003, 4.881/0.010$). There was no significant difference between group A and group B ($P > 0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions among the three groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Intravenous injection of human immunoglobulin $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ had the same therapeutic effect, which were better than $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ for 5 days. It can obviously improve the therapeutic effect of children with Kawasaki disease, accelerate the relief of clinical symptoms, reduce inflammatory reaction and improve the indexes of heart function. The recommended dose is $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$.

[Key words] Immunomodulator; Dosing regimen; Kawasaki disease; Clinical efficacy; Cardiac function

黏膜皮肤淋巴结综合征为临床常见的以全身血管炎为主要表现的急性发热出疹性儿科疾病,因该病在 1967 年由日本川崎富医师首次报道而称为川崎病^[1-2]。该病多见于 5 岁以下的婴幼儿,成年及 3 个月以下的小儿较为少见,男性发病率明显更高^[3]。川崎病因可引起心肌缺血、冠状动脉瘤、冠状动脉闭塞等严重心血管并发症而受到广泛的关注。目前对于该病的发病机制尚未被完全阐释,多项研究证实川崎病患者血清炎症因子水平明显高于健康人群,且炎症指标水平与冠状动脉损伤程度呈显著正相关,因此对于该病的治疗关键在于尽可能地减轻全身炎症反应,减轻冠状动脉损伤^[4-5]。注射用丙种球蛋白为临床常用的川崎病治疗药物,但目前对于其剂量尚存在一定的争议,现观察不同剂量免疫球蛋白对川崎病患者临床疗效、炎症指标及心功能标志物的影响,以期临床提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2017 年 4 月—2019 年 3 月河北省儿童医院收治川崎病患者 90 例,按随机数字表法分为 3 组,每组 30 例。A 组男 22 例,女 8 例;年龄 $1 \sim 7$ (3.28 ± 1.09) 岁;病程 $2 \sim 9$ (4.18 ± 1.72) d。B 组男 20 例,女 10 例;年龄 $1 \sim 6$ (3.15 ± 1.17) 岁;病程 $2 \sim 8$ (4.09 ± 1.58) d。C 组男 23 例,女 7 例;年龄 $2 \sim 6$ (3.23 ± 1.14) 岁;病程 $1 \sim 7$ (4.11 ± 1.63) d。3 组患儿性别、年龄、病程等一般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通过,全部患儿家属均知情同意,并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1) 纳入标准:符合日本川崎病研究委员会 2002 年修订的第 5 版诊断标准^[6]中的相关诊断;入院前未接受过其他治疗;无心血管器质性病变。(2) 排除标准:对治疗药物过敏者;伴有血液系统疾病者;病程 > 10 d 者;其他发热及出疹性疾病者。

1.3 治疗方法 3 组患儿均由同一组医护人员进行治疗,入院后均给予阿司匹林肠溶片(沈阳奥吉娜药业有限公司生产) 100 mg/kg 口服,分 3 次服用,待体温恢复正常 3 d(或联用 14 d)后给药量改为 $3 \sim 5 \text{ mg/kg}$ 口服,每日 1 次,持续服药至血常规、红细胞沉降率等指标恢复正常。在病程第 5 d 开始给予人免疫球蛋白(山西康宝生物制品股份有限公司生产)静脉注射,A 组为 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单剂,B 组为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单剂,C 组为 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连用 5 d。

1.4 观察指标与方法 (1) 临床症状:记录 3 组患儿发热、黏膜充血、手足发硬、颈淋巴结肿大等症状消失时间;(2) 炎症指标:于治疗前及停止给药后抽取患儿空腹外周静脉血 5 ml,离心留取血清,置 -20°C 中保存待检,采用酶联免疫吸附法检测肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、C 反应蛋白 (CRP) 及白细胞介素 6 (IL-6) (试剂盒购于深圳晶美生物工程有限公司);(3) 心功能标志物指标:上述血清采用酶联免疫吸附法检测脑钠肽 (BNP)、心型脂肪酸结合蛋白 (h-FABP) (试剂盒购于美国 R&D 公司),酶标仪为美国赛默飞世尔公司生产的 Multiskan FC 型酶标仪;(4) 不良反应:记录治疗期间出现的不良反应。

1.5 疗效评价标准^[7] 显效:治疗 5 d 内症状消失,各项实验室指标恢复正常;有效:治疗 5 ~ 8 d 症状消失,实验室指标明显改善;无效:治疗 12 d 后仍有明显症状甚至加重,实验室指标未见改善。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数 $\times 100\%$ 。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。计数资料以频数或率 (%) 表示,比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 F 检验,两两比较采用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组临床疗效比较 A 组总有效率为 96.67%, B

组为 93.33%, 均明显高于 C 组的 73.33% ($\chi^2 = 8.907, P = 0.044$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 3 组患儿临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
A 组	30	18(60.00)	11(36.67)	1(3.33)	96.67
B 组	30	16(53.33)	12(40.00)	2(6.67)	93.33
C 组	30	13(43.33)	9(30.00)	8(26.67)	73.33

2.2 3 组临床症状消失时间比较 A 组及 B 组患儿发热、黏膜充血、手足发硬、颈淋巴结肿大消失时间均明显短于 C 组 ($P < 0.01$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 3 组患儿临床症状消失时间比较 ($\bar{x} \pm s, d$)

组别	例数	发热	黏膜充血	手足发硬	颈淋巴结肿大
A 组	30	1.52 ± 0.41	1.14 ± 0.32	1.38 ± 0.37	1.29 ± 0.37
B 组	30	1.57 ± 0.45	1.19 ± 0.31	1.43 ± 0.42	1.34 ± 0.42
C 组	30	2.27 ± 0.56	1.83 ± 0.43	2.15 ± 0.48	1.93 ± 0.55
F 值		23.129	34.750	30.728	18.517
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 3 组治疗前后炎症指标比较 治疗前 3 组 TNF- α 、CRP 及 IL-6 指标比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后 3 组患儿 TNF- α 、CRP 及 IL-6 指标均显著下降, 且 A 组与 B 组下降幅度均明显大于 C 组 ($P < 0.01$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 3 组患儿治疗前后炎症指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TNF- α (pg/ml)	CRP (mg/L)	IL-6 (pg/ml)
A 组 (n=30)	治疗前	301.78 ± 49.02	82.18 ± 20.17	12.38 ± 2.09
	治疗后	63.05 ± 11.24	6.38 ± 1.87	3.25 ± 1.04
B 组 (n=30)	治疗前	307.15 ± 50.21	81.85 ± 19.64	12.20 ± 2.15
	治疗后	64.21 ± 10.64	6.51 ± 1.89	3.19 ± 1.08
C 组 (n=30)	治疗前	302.19 ± 51.03	82.64 ± 18.94	12.33 ± 2.11
	治疗后	77.60 ± 11.08	7.58 ± 2.27	4.02 ± 1.19
t/P A 组内值		26.000/0.000	20.496/0.000	21.421/0.000
t/P B 组内值		25.926/0.000	20.914/0.000	20.511/0.000
t/P C 组内值		23.557/0.000	21.552/0.000	18.789/0.000
F/P 治疗后组间值		16.243/0.000	3.193/0.046	5.262/0.001

2.4 3 组患儿治疗前后心功能标志物比较 治疗前 3 组患儿 BNP、h-FABP 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后 3 组患者 BNP、h-FABP 水平较治疗前均明显下降, 且 A 组与 B 组下降幅度均明显大于 C 组 ($P < 0.05$), A、B 组比较差异无统计学意义 ($P >$

0.05), 见表 4。

表 4 3 组患儿治疗前后心功能标志物比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	BNP (ng/L)	h-FABP (μ g/L)
A 组 (n=30)	治疗前	512.08 ± 102.64	18.42 ± 3.81
	治疗后	92.71 ± 26.03	8.25 ± 1.94
B 组 (n=30)	治疗前	508.27 ± 110.07	18.29 ± 4.03
	治疗后	89.91 ± 24.17	8.09 ± 2.03
C 组 (n=30)	治疗前	502.73 ± 105.31	18.05 ± 3.94
	治疗后	114.06 ± 34.91	9.63 ± 2.31
t/P A 组内值		21.692/0.000	13.029/0.000
t/P B 组内值		20.334/0.000	12.381/0.000
t/P C 组内值		19.188/0.000	10.098/0.000
F/P 治疗后组间值		6.331/0.003	4.881/0.010

2.5 3 组不良反应比较 A 组患儿出现恶心 1 例 (3.33%); B 组恶心、腹泻各 1 例 (6.06%), C 组腹泻 1 例 (3.33%)。3 组患儿不良反应发生率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

相关调查数据显示, 川崎病发病率近年呈明显上升的趋势, 其发生可能与感染、环境污染、药物等多方面因素有关, 对于该病的治疗目前以阿司匹林联合丙种球蛋白为首选方案^[8-9]。阿司匹林为非甾体类抗炎药, 同时可解热镇痛用于缓解患儿的发热、疼痛等症状, 减缓血管炎性反应进展, 阿司匹林还可抗血小板聚集, 对川崎病继发心血管疾病具有一定的预防作用。丙种球蛋白则可通过调控内皮细胞功能而降低黏附细胞分子、趋化因子等促炎因子的表达; 同时丙种球蛋白还可通过抑制免疫细胞活性、调控巨噬细胞及单核细胞功能、降低 NO 表达而减少 TNF- α 等炎症因子释放, 缓解患者炎症反应, 该药物还含有抗神经生长因子抗体而减少神经肽的释放^[10-12]。

阿司匹林与静脉注射人免疫球蛋白联合使用可起协同作用而增强疗效, 迅速缓解炎症反应, 改善症状, 但对于静脉注射人免疫球蛋白的给药剂量及给药周期目前尚无统一标准, 不同学者就给药方案对患者的影响争议较大。刘欣等^[13]通过研究静脉注射免疫球蛋白的不同治疗方案对儿童川崎病的临床疗效及免疫学效应表明, 人免疫球蛋白 1 g/kg 与 2 g/kg 静脉注射治疗川崎病比较, 不仅可发挥相同的临床治疗作用和免疫调节作用, 而且安全、有效、经济性更高, 值得临床上进一步推广。李明等^[14]通过研究不同剂量人免疫球蛋白静脉注射治疗川崎病疗效比较, 表明人免疫球蛋白 2 g · kg⁻¹ · d⁻¹ 仅用 1 d, 优于 0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹ 连用 5 d。本结果显示, A 组、B 组总有效率及症状改善

情况均优于 C 组,与上述结果基本一致。在 20 世纪 80 年代临床上多选择 $0.4 \sim 0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连用 5 d 的给药方案,该治疗方案有一定疗效,但退热速度较慢,患儿炎性反应缓解不及时可导致冠状动脉损害的发生率升高,随着临床经验的积累,采用 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 治疗方案已被广泛用于临床,此方案与传统方案相比可缩短退热时间,有效控制病情,降低冠状动脉损害的风险,但该方案与传统方案相比给药量并无明显下降^[15]。人免疫球蛋白为人血浆中提取的以 IgG 为主的免疫活性物质,该药物资源有限,价格较高。在保证疗效的前提下降低给药量可使患儿受益,本研究中 A、B 组在疗效及临床症状指标比较均无显著性差异,而 B 组给药量仅为 A 组 50%,可有效降低给药量减轻患儿家庭负担。另外有研究显示,大剂量使用静脉注射人免疫球蛋白可使患者血液黏度上升而增加血栓栓塞的风险,降低给药量可减少该风险^[16]。

心脏及冠状动脉病变是川崎病最重要的并发症之一,对于川崎病血管损伤的机制,大部分学者认为与患儿体内单核/巨噬细胞被激活而释放大量炎性因子,引起内皮细胞凋亡增加有关^[17-18]。因此对于川崎病的治疗降低炎性因子水平、保护心功能是关键。TNF- α 可通过促进 T 细胞产生各种炎性因子而加重炎性反应,对机体炎性反应及免疫调节均具有重要的作用。CRP 为肝脏受炎性介质刺激后分泌的急性时相反应蛋白,在炎性反应初期可明显升高,临床上常用于急性炎性反应的评估。IL-6 为促炎因子的一种,可刺激 T 细胞及 B 细胞的增殖及分化,增加 IL-2 等炎性因子的释放而加重炎性反应^[19-21]。BNP 为心脏内分泌激素的一种,在心脏容量或压力负荷增加时可刺激 BNP 前体基因转录成 mRNA 而加速 BNP 的合成。h-FABP 可与长链脂肪酸结合而为心脏供氧,川崎病心血管损伤患儿出现心肌缺血时将调动脂肪酸提供能量而使 h-FABP 水平升高。上述各项指标可有效反映患儿炎性反应及心功能受损情况,因而选为观察指标^[22]。本结果显示,治疗后 3 组患儿炎性因子与心功能指标水平均显著下降,且 A 组与 B 组下降幅度均明显大于 C 组,可能是有效浓度的静脉注射人免疫球蛋白可中和血液循环中未知毒素或致病微生物,降低淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞上 FC 受体活性而减少免疫细胞的活化,从而降低 TNF- α 等炎性因子水平;同时静脉注射人免疫球蛋白还可激活血小板源生长因子及其血管途径,减少血管免疫性损伤,保护患者心功能,当给药量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 达到最佳疗效,增加药量效果无明显提高^[23]。

综上所述,静脉注射人免疫球蛋白 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单次给药与 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 单次给药疗效相当,均较 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连用 5 d 明显提高川崎病患者疗效,加速缓解发热、黏膜充血、手足发硬、颈淋巴结肿大症状,缓解炎性反应,改善心功能指标。但考虑到减轻治疗经济负担,建议剂量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

甄立娜:课题设计,论文撰写;段晨初:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;吴晓杰:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;张腾腾:进行统计学分析;张中平:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写

参考文献

- [1] Zhu FH, Ang JY. The clinical diagnosis and management of Kawasaki disease: A review and update[J]. Curr Infect Dis Rep, 2016, 18 (10): 32-37. DOI: 10.1007/s11908-016-0538-5.
- [2] Watanabe T, Abe T, Tsukano S. Acute kidney injury occurs only rarely in patients with Kawasaki disease[J]. Pediatr Res, 2017, 82 (6): 890-891. DOI: 10.1038/pr.2017.191.
- [3] Lo JY, Minich LLA, Tani LY, et al. Factors associated with resource utilization and coronary artery dilation in refractory Kawasaki disease (from the Pediatric Health Information System Database) [J]. Am J Cardiol, 2016, 118 (11): 1636-1640. DOI: 10.1016/j.amjcard.2016.08.039.
- [4] Chen KYH, Curtis N, Dahdah N, et al. Kawasaki disease and cardiovascular risk: A comprehensive review of subclinical vascular changes in the longer term [J]. Acta Paediatr, 2016, 105 (7): 752-761. DOI: 10.1111/apa.13367.
- [5] Dionne A, Bakloul M, Manlihot C, et al. Coronary artery bypass grafting and percutaneous coronary intervention after Kawasaki disease: The pediatric canadian series [J]. Pediatr Cardiol, 2017, 38 (1): 36-43. DOI: 10.1007/s00246-016-1480-x.
- [6] Ayusawa M, Sonobe T, Uemura S, et al. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (the 5th revised edition) [J]. Pediatr Int, 2005, 47 (2): 232-234.
- [7] Ishii M, Ueno T, Akagi T, et al. Guideline for catheter intervention in coronary artery lesion in Kawasaki disease [M]. Tokyo: Springer Japan, 2017: 373-382.
- [8] Lo MS, Newburger JW. Role of intravenous immunoglobulin in the treatment of Kawasaki disease [J]. Int J Rheum Dis, 2018, 21 (1): 64-69. DOI: 10.1111/1756-185X.13220.
- [9] Hara T, Nakashima Y, Sakai Y, et al. Kawasaki disease: A matter of innate immunity [J]. Clin Exp Immunol, 2016, 186 (2): 134-143. DOI: 10.1111/cei.12832.
- [10] 胡坚. 川崎病急性期治疗进展 [J]. 中国实用儿科杂志, 2015, 30 (1): 1-4. DOI: 10.7504/ek2015010601.
- [11] 张胜, 梁雪. 川崎病治疗研究进展 [J]. 国际儿科学杂志, 2018, 45 (8): 584-588. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2018.08.003.

(下转 699 页)

血清可溶性 CD163 水平与急性化脓性胆囊炎病情严重程度的关系研究

楚振飞, 琺然, 刘平, 施有海, 高航

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(1708084MH037)

作者单位: 239000 安徽省滁州市第一人民医院急诊外科

通信作者: 琺然, E-mail: 252778803@qq.com

【摘要】目的 分析血清可溶性血红蛋白清道夫受体(sCD163)水平与急性化脓性胆囊炎病情严重程度的关系。**方法** 选取2017年6月—2019年9月滁州市第一人民医院急诊外科诊治急性化脓性胆囊炎患者150例作为研究组,依据病情严重程度分为轻度亚组47例,中度亚组55例,重度亚组48例;同期选取健康体检者100例为健康对照组。比较2组血清sCD163、炎性因子和高迁移率族蛋白B1(HMGB1)水平。利用Pearson分析血清sCD163水平与炎性指标间的相关性,利用多因素Logistic回归分析影响急性化脓性胆囊炎发生的危险因素。**结果** 研究组白细胞、中性粒细胞、血红蛋白、血清总胆红素水平均高于健康对照组($t/P=5.782/0.000, 2.501/0.013, 5.050/0.000, 6.854/0.000$),血清sCD163、CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1水平均高于健康对照组,且随着病情加重,各个指标水平均呈上升趋势,差异均有统计学意义($F/P=97.987/0.000, 117.866/0.000, 30.530/0.000, 25.328/0.000, 22.716/0.000, 77.919/0.000$);血清sCD163水平与CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1均呈正相关($r/P=0.367/0.001, 0.352/0.001, 0.371/0.001, 0.413/0.000, 0.457/0.000$),多因素Logistic回归分析显示,sCD163($OR=1.534, 95\%CI 1.116 \sim 2.107$)、CRP($OR=1.367, 95\%CI 1.013 \sim 1.845$)、IL-6($OR=1.281, 95\%CI 1.024 \sim 1.602$)、IL-1 β ($OR=1.143, 95\%CI 1.004 \sim 1.311$)、TNF- α ($OR=1.216, 95\%CI 1.069 \sim 1.627$)和HMGB1($OR=1.382, 95\%CI 1.131 \sim 1.688$)均为急性化脓性胆囊炎的危险因素。**结论** 急性化脓性胆囊炎患者血清sCD163水平升高,且随着病情加重而上升,可作为判定急性化脓性胆囊炎病情严重程度的指标。

【关键词】 可溶性血红蛋白清道夫受体;急性化脓性胆囊炎;严重程度

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.012

Study on the relationship between the level of serum soluble CD163 and the severity of acute suppurative cholecystitis

Chu Zhenfei, Ju Ran, Liu Ping, Shi Youhai, Gao Hang. Department of Emergency Surgery, Chuzhou First People's Hospital of Anhui Province, Chuzhou 239000, China

Corresponding author: Ju Ran, E-mail: 252778803@qq.com

Funding program: Anhui Natural Science Foundation (1708084MH037)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between serum soluble hemoglobin scavenger receptor (sCD163) and the severity of acute suppurative cholecystitis. **Methods** From June 2017 to September 2019, 150 patients with acute suppurative cholecystitis were selected as the study group. According to the severity of the disease, 47 cases were divided into mild sub group, 55 cases in moderate sub group and 48 cases in severe sub group. At the same time, 100 healthy people were selected as the control group. The serum levels of sCD163, inflammatory factors and HMGB1 were compared between the two groups. Pearson was used to analyze the correlation between serum sCD163 level and inflammatory index. Multivariate logistic regression was used to analyze the risk factors of acute suppurative cholecystitis. **Results** The levels of white blood cells, neutrophils, hemoglobin, and serum total bilirubin in the study group were higher than those in the healthy control group ($t/P=5.782/0.000, 2.501/0.013, 5.050/0.000, 6.854/0.000$), serum sCD163, CRP, The levels of IL-6, IL-1 β , TNF- α , and HMGB1 were higher than those of the healthy control group, and as the disease worsened, the levels of various indicators showed an upward trend, and the differences were statistically significant ($F/P=97.987/0.000, 117.866/0.000, 30.530/0.000, 25.328/0.000, 22.716/0.000, 77.919/0.000$); serum sCD163 levels were positively correlated with CRP, IL-6, IL-1 β , TNF- α , HMGB1 ($r/P=0.367/0.001, 0.352/0.001, 0.371/0.001, 0.413/0.000, 0.457/0.000$). Multivariate logistic regression analysis showed that sCD163 ($OR=1.534, 95\%CI 1.116$ to 2.107), CRP ($OR=1.367, 95\%CI 1.013$

to 1.845), IL-6 ($OR = 1.281$, 95% CI 1.024 to 1.602), IL-1 β ($OR = 1.143$, 95% CI 1.004 to 1.311), TNF- α ($OR = 1.216$, 95% CI 1.069 to 1.627) and HMGB1 ($OR = 1.382$, 95% CI 1.131 to 1.688) are all acute suppurative cholecystitis Risk factors. **Conclusion** The level of serum sCD163 in patients with acute suppurative cholecystitis increased with the aggravation of the disease, which can be used as an index to determine the severity of acute suppurative cholecystitis.

【Key words】 Soluble hemoglobin scavenger receptor; Acute suppurative cholecystitis; Severity

急性胆囊炎是由胆总管阻塞和细菌感染造成的胆囊炎性反应^[1],若未得到及时有效治疗,炎症反应恶化,感染胆囊壁全层,白细胞呈弥漫性感染,进而形成急性化脓性胆囊炎,严重时危及患者生命。据报道,急性化脓性胆囊炎多发生于老年人^[2],由于老年患者常伴有动脉硬化等合并症,在炎症反应期间极易发生胆囊缺血、坏死、穿孔。血清可溶性血红蛋白清道夫受体(sCD163)是一种重要的血清标志物,机体受到感染时,可引起炎症因子释放入血^[3]。近年来,sCD163引起了国内外学者广泛关注。李志强等^[4]研究发现,sCD163水平与心力衰竭严重程度有关,是心力衰竭发病的独立危险因素,可用来作为诊断和监测相关炎症疾病的指标。Suzuki等^[5]研究结果显示,社区获得性肺炎患者血清sCD163水平升高,与疾病严重程度和临床结局有关,提示sCD163可作为新的预后标志物。笔者对sCD163与急性化脓性胆囊炎严重程度的关系进行研究,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2017年6月—2019年9月滁州市第一人民医院急诊外科诊治急性化脓性胆囊炎患者150例作为研究组,其中男83例,女67例,年龄52~69(61.10 ± 6.82)岁;依据病情严重程度^[6]分为轻度亚组47例,中度亚组55例,重度亚组48例。同期选取与患者性别、年龄相匹配的无急性胆囊炎健康体检者100例为健康对照组,其中男54例,女46例,年龄50~68(59.58 ± 6.74)。2组研究对象性别、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审批,患者/家属知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①符合化脓性胆囊炎诊断标准^[6],经腹部B型超声确诊,胆囊直径 ≥ 10 cm,胆囊壁厚度 ≥ 0.5 cm;②右上腹部可触及肿块且阵痛明显;③症状持续时间 > 72 h。(2)排除标准:①全身性免疫性疾病或近期有免疫类/激素类药物服用史;②心、肝、肾等重要器官发生器质性病变;③精神方面疾病。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清sCD163测定:所有患者于入院12 h内、

健康体检者空腹12 h于次日清晨取静脉血5 ml,4℃下离心,上层清液转移至干净EP管中,-20℃保存待测。利用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清sCD163。试剂盒购自上海振誉生物科技有限公司,操作步骤严格按照说明书方法执行。

1.3.2 外周血细胞、血清总胆红素和炎症因子测定:利用7180全自动生化分析仪(日本日立公司)检测血清白细胞、中性粒细胞、血红蛋白、血清总胆红素水平,试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司。用ELISA法检测血清C-反应蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和高迁移率族蛋白B1(HMGB1)水平,试剂盒均购自上海联迈生物工程有限公司,所有操作均按照说明书步骤严格执行。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,2组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,2组间比较采用 χ^2 检验。利用Pearson分析血清sCD163水平与炎症指标间的相关性,多因素Logistic回归分析影响急性化脓性胆囊炎发生的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组临床资料比较 2组受试者性别、年龄、吸烟史、酗酒史、胆结石病史、BMI、收缩压、舒张压比较差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组白细胞、中性粒细胞、血红蛋白、血清总胆红素水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表1。

2.2 2组血清sCD163及炎症指标水平比较 研究组血清sCD163、CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表2。

2.3 各亚组患者血清sCD163及炎症指标水平比较 研究组患者血清sCD163水平、CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1水平随着病情加重均呈上升趋势,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表3。

2.4 血清sCD163水平与炎症指标相关性分析 血清sCD163水平与CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1均呈正相关($P < 0.01$),见表4。

表 1 2 组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组 (<i>n</i> = 100)	研究组 (<i>n</i> = 150)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别(例) 男/女	54/46	83/67	0.043	0.836
年龄(岁)	59.58 ± 6.74	61.10 ± 6.82	1.734	0.084
吸烟史(例)	37(37.0)	42(28.0)	2.249	0.134
酗酒史(例)	21(21.0)	27(18.0)	0.348	0.555
胆结石病史(例)	29(29.0)	53(55.3)	1.092	0.296
BMI(kg/m ²)	23.16 ± 2.17	23.35 ± 2.28	0.658	0.511
收缩压(mmHg)	136.49 ± 23.10	138.16 ± 23.34	0.557	0.578
舒张压(mmHg)	78.84 ± 10.19	80.31 ± 11.27	1.049	0.295
白细胞($\times 10^9$ /L)	10.64 ± 1.63	12.01 ± 1.96	5.782	0.000
中性粒细胞($\times 10^9$ /L)	8.79 ± 1.01	9.12 ± 1.03	2.501	0.013
血红蛋白(g/L)	134.28 ± 21.52	148.71 ± 23.03	5.050	0.000
血清总胆红素(μ mol/L)	17.38 ± 1.02	18.37 ± 1.18	6.854	0.000

表 2 2 组血清 sCD163 水平及炎症指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	健康对照组 (<i>n</i> = 100)	研究组 (<i>n</i> = 150)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
sCD163(mg/L)	20.06 ± 4.47	35.42 ± 6.16	21.447	0.000
CRP(mg/L)	3.64 ± 1.07	6.35 ± 0.89	21.733	0.000
IL-6(pg/ml)	73.48 ± 10.83	89.34 ± 12.47	10.374	0.000
IL-1 β (pg/ml)	13.14 ± 3.24	20.01 ± 5.11	11.935	0.000
TNF- α (pg/ml)	7.39 ± 1.01	9.61 ± 1.03	16.825	0.000
HMGB1(ng/ml)	1.65 ± 0.47	4.87 ± 1.16	26.341	0.000

表 4 血清 sCD163 水平与炎症指标间的相关性分析

指 标	CRP	IL-6	IL-1 β	TNF- α	HMGB1
<i>r</i> 值	0.367	0.352	0.371	0.413	0.457
<i>P</i> 值	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000

2.5 急性化脓性胆囊炎发病危险因素的 Logistic 回归分析 以急性化脓性胆囊炎是否发生为因变量,以 sCD163、CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 HMGB1 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示 sCD163、CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 HMGB1 均为影响急性化脓性胆囊炎发生的危险因素,见表 5。

3 讨 论

急性化脓性胆囊炎是一种临床急腹症,主要特点为发病急骤、病因复杂、诊治困难。由于患者临床表现

表 5 急性化脓性胆囊炎危险因素 Logistic 回归分析

指 标	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
sCD163	0.428	0.162	6.976	0.008	1.534	1.116 ~ 2.107
CRP	0.313	0.153	4.175	0.041	1.367	1.013 ~ 1.845
IL-6	0.248	0.114	4.719	0.029	1.281	1.024 ~ 1.602
IL-1 β	0.137	0.068	4.068	0.044	1.143	1.004 ~ 1.311
TNF- α	0.277	0.107	6.696	0.010	1.216	1.069 ~ 1.627
HMGB1	0.324	0.102	10.061	0.001	1.382	1.131 ~ 1.688

不具特异性,往往影响早期诊断及对病情严重程度的判断,不利于针对性治疗方案的确定,耽误患者病情^[7]。因此,需找到一种可以明确指示急性化脓性胆囊炎严重程度的指标,为临床诊断提供依据。

清道夫受体(SRs)是一种多结构域膜相关蛋白,最初发现其可以识别和内化性改造脂蛋白,如氧化低密度脂蛋白^[8]。随后发现 SRs 在机体生理、病理活动中起关键作用,包括清除病原体,运输脂质,保持体内平衡,具有免疫作用等^[9]。根据 SRs 序列和结构特点,可将 SRs 分为 10 类^[10],其中 I 类 SRs 包括 CD163、类 CD163 同系物、WC1 和 SCART1。CD163 是活化的巨噬细胞和单核细胞表面特异性表达的清道夫受体,参与结合血红蛋白-珠蛋白复合物的形成过程,介导血红蛋白的清除作用,可分为膜性 CD163(mCD163)和可溶性 CD163(sCD163)^[11]。

sCD163 是抗炎性巨噬细胞的特异性标志物^[12],炎症因子刺激巨噬细胞活化,促使单核巨噬细胞由 M0/M1 向 CD163⁺ M2 转化,激活特异性金属蛋白酶,使 mCD163 从单核巨噬细胞表面脱落,sCD163 大量生成,产生促炎作用。苏柳杭等^[13]利用免疫组化法探究动脉粥样硬化斑块 CD163 与肿瘤坏死因子样凋亡弱诱导因子(TWEAK)的表达,细胞实验结果显示,CD163 显著抑制 TWEAK 蛋白的表达,降低核因子 κ B(NF- κ B)水平,提示 CD163 可通过抑制 TWEAK/NF- κ B 途径来阻止动脉粥样硬化形成。Sapa 等^[14]研究 sCD163、降钙素原和新喋呤在 ICU 脓毒症患者中的应用比较,结果发现 sCD163 和新喋呤对脓毒症有较好

表 3 各亚组患者血清 sCD163 及炎症指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	轻度亚组(<i>n</i> = 47)	中度亚组(<i>n</i> = 55)	重度亚组(<i>n</i> = 48)	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
sCD163(mg/L)	26.21 ± 5.54	34.36 ± 6.01 ^a	45.63 ± 8.54 ^{ab}	97.987	0.000
CRP(mg/L)	4.32 ± 1.07	6.89 ± 1.12 ^a	7.72 ± 1.19 ^{ab}	117.866	0.000
IL-6(pg/mL)	76.88 ± 12.61	91.07 ± 14.45 ^a	99.57 ± 15.62 ^{ab}	30.530	0.000
IL-1 β (pg/mL)	16.37 ± 3.64	20.17 ± 4.71 ^a	23.41 ± 5.86 ^{ab}	25.328	0.000
TNF- α (pg/mL)	8.34 ± 1.68	9.51 ± 1.93 ^a	10.97 ± 2.08 ^{ab}	22.716	0.000
HMGB1(ng/mL)	3.16 ± 1.03	4.72 ± 1.42 ^a	6.71 ± 1.64 ^{ab}	77.919	0.000

注:与轻度亚组比较,^a*P* < 0.05;与中度亚组比较,^b*P* < 0.05

的诊断价值。在各种皮肤癌病变中,CD163⁺巨噬细胞是肿瘤浸润性淋巴细胞的主要组成部分,可通过刺激癌特异性基质因子如 POSTN、IL-4、RANKL 等产生多种趋化因子^[15]。研究表明,血清 sCD163 水平在肺炎、类风湿关节炎、肝硬化等疾病中升高,反映疾病炎症因子活性^[16-18]。本研究结果发现,与健康对照组相比,急性化脓性胆囊炎患者血清 sCD163 水平明显升高,且随着患者严重程度加重,sCD163 水平呈上升趋势,提示血清 sCD163 与急性化脓性胆囊炎发病、发展有关。

本研究还探究了其他炎症指标在急性化脓性胆囊炎中的水平。CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 作为机体内重要的炎症因子,可以较为敏感地反映患者体内的炎症反应状态^[19]。这些炎症因子在正常人体内处于低水平,一旦发生急性感染,表达水平明显上升。HMGB1 由巨噬细胞产生,自身可介导刺激人单核细胞产生促炎细胞因子,已逐渐在感染性和无菌性炎症反应信号传导和协调中发挥核心作用^[20]。Aucott 等^[21]研究发现,在建立中枢神经系统炎症反应模型的小鼠体内出现明显血脑屏障破坏,免疫组织化学显示 HMGB1 表达上调,表明细胞 HMGB1 可引起血脑屏障破坏,并激活其他神经炎症成分,阻断 HMGB1 表达可能改善脑卒中和创伤性脑损伤的临床结局。本研究结果显示,急性化脓性胆囊炎患者血清 CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1 水平与健康对照组相比均呈高表达状态,且随患者病情进展而升高,提示急性化脓性胆囊炎患者体内存在炎症反应,各炎症因子的水平变化可体现炎症反应程度,进而对患者病情程度具有一定的预测作用,可能机制为分布于人体各脏器细胞的 HMGB1 在受到细菌感染刺激时,其 B-box 结构域特异性结合炎症因子,炎症反应被激活,进而发挥促炎作用^[22]。

本研究通过 Pearson 相关性分析发现,血清 sCD163 与 CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1 均呈正相关;多因素 Logistic 回归分析显示,血清 sCD163 与急性化脓性胆囊炎的发生独立相关,提示血清 sCD163 是影响急性化脓性胆囊炎发生的独立危险因素,监测其水平对急性化脓性胆囊炎的发生具有一定预测价值。

综上所述,急性化脓性胆囊炎患者血清 sCD163 水平呈高表达,且随着病情加重而呈上升趋势,提示血清 sCD163 水平可作为指示急性化脓性胆囊炎病情严重程度的指标,具有一定的临床价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

楚振飞:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;琺然:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;刘平:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;施有涛:进行统计学分析;高航:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 罗来福, 张新亚. 经皮经肝胆囊穿刺引流联合腹腔镜胆囊切除术治疗高龄急性化脓性胆囊炎[J]. 肝胆外科杂志, 2019, 27(3):214-216. DOI:10.3969/j.issn.1006-4761.2019.03.016.
- [2] 董金良, 梁金荣. 内镜下鼻胆管引流术在老年急性化脓性胆囊炎中的应用[J]. 浙江医学, 2019, 41(11):1187-1190. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.11.2018-1836.
- [3] Rodgaard Hansen S, St George A, Kazankov K, et al. Effects of lifestyle intervention on soluble CD163, a macrophage activation marker, in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2017, 77(7):498-504. DOI:10.1080/00365513.2017.1346823.
- [4] 李志强, 王春燕, 石毅, 等. 慢性心力衰竭患者血红蛋白清道夫受体 CD163 的表达及意义[J]. 岭南心血管病杂志, 2018, 24(1):60-65. DOI:10.3969/j.issn.1007-9688.2018.01.17.
- [5] Suzuki Y, Enomoto Y, Yokomura K, et al. Soluble hemoglobin scavenger receptor CD163 (sCD163) predicts mortality of community-acquired pneumonia[J]. J Infection, 2016, 73(4):375-377. DOI:10.1016/j.jinf.2016.07.004.
- [6] JSHBPS. Tokyo Guidelines 2018: diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2018, 25(1):31-40. DOI:10.1002/jhpb.515.
- [7] 项建斌. 早期腹腔镜胆囊切除术治疗轻中型急性胆囊炎的临床研究[J/OL]. 中华普外科手术学杂志:电子版, 2019, 13(1):54-56. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-3946.2019.01.018.
- [8] Vasquez M, Simoes I, Consuegra-Fernández M, et al. Exploiting scavenger receptors in cancer immunotherapy: Lessons from CD5 and SR-B1[J]. Eur J Immunol, 2017, 47(7):1108-1118. DOI:10.1002/eji.201646903.
- [9] Swystun LL, Ogiwara K, Lai J, et al. The scavenger receptor SCARA5 is an endocytic receptor for von Willebrand factor expressed by littoral cells in the human spleen[J]. J Thromb Haemost, 2019, 17(8):1384-1396. DOI:10.1111/jth.14521.
- [10] Li R, Ma H, Jiang L, et al. The CD163 long-range scavenger receptor cysteine-rich repeat: Expression, purification and X-ray crystallographic characterization[J]. Acta Crystallogr F, 2018, 74(5):322-326. DOI:10.1107/S2053230X18005551.
- [11] 陈容欣, 熊熙, 崔云, 等. CD163 对儿童感染相关性噬血细胞综合征的诊断及预后判断价值[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(3):204-207. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2017.03.010.
- [12] Fujimura T, Sato Y, Tanita K, et al. Serum levels of soluble CD163 and CXCL5 may be predictive markers for immune-related adverse events in patients with advanced melanoma treated with nivolumab: A pilot study[J]. Oncotarget, 2018, 9(21):15542-15551. DOI:10.18632/oncotarget.24509.
- [13] 苏柳杭, 陈炳秀, 李兆恺, 等. CD163/TWEAK 通路对动脉粥样硬化的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(4):679-685.

- DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.04.016.
- [14] Sapa A, Rak A, Jakub M, et al. Diagnostic usefulness of sCD163, procalcitonin & neopterin for sepsis risk assessment in critically ill patients[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2017, 26(1):101-108. DOI:10.17219/acem/63251.
- [15] Fujimura M, Fujimura T, Kakizaki A, et al. Increased serum production of soluble CD163 and CXCL5 in patients with moyamoya disease: Involvement of intrinsic immune reaction in its pathogenesis[J]. *Brain Res*, 2018, 1679(1):39-44. DOI:10.1016/j.brainres.2017.11.013.
- [16] 朱伟东, 张赞华, 马黄钢, 等. 血清 sCD163 对卒中相关性肺炎早期诊断的研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2017, 26(2):223-226. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.02.025.
- [17] 颜宇飞, 陈奇, 李灵筠, 等. 类风湿关节炎患者血清 sCD163 测定的临床价值[J]. *海军医学杂志*, 2019, 40(1):57-59. DOI:10.3969/j.issn.1009-0754.2019.01.019.
- [18] Rainer F, Horvath A, Sandahl TD, et al. Macrophage activation markers sCD163 and mannose receptor predict survival and correlate with markers of gut permeability in patients with liver cirrhosis[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(1):368-369. DOI:10.1016/s0168-8278(17)31080-2.
- [19] Sepehri ZS, Masoomi M, Ruzbehi F, et al. Comparison of serum levels of IL-6, IL-8, TGF- β and TNF- α in coronary artery diseases, stable angina and participants with normal coronary artery[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2018, 64(5):1-6. DOI:10.14715/cmb/2018.64.5.1.
- [20] Khambu B, Huda N, Chen X, et al. HMGB1 promotes ductular reaction and tumorigenesis in autophagy-deficient livers[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(6):2419-2435. DOI:10.1172/JCI91814.
- [21] Aucott H, Lundberg J, Salo H, et al. Neuroinflammation in response to intracerebral injections of different HMGB1 redox isoforms[J]. *J Innate Immun*, 2018, 10(3):215-227. DOI:10.1159/000487056.
- [22] Andersson U, Yang H, Harris H. Extracellular HMGB1 as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(3):263-277. DOI:10.1080/14728222.2018.1439924.

(收稿日期:2020-01-16)

(上接 694 页)

- [12] 赵玉琪. 危重川崎病的诊治研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2019, 46(2):81-83. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2019.02.002.
- [13] 刘欣, 王锦, 徐宝华, 等. 静脉注射免疫球蛋白的不同治疗方案治疗儿童川崎病的临床疗效及免疫学效应[J]. *黑龙江医药*, 2014, 27(5):1120-1122.
- [14] 李明, 严影. 不同剂量静脉注射用人免疫球蛋白治疗川崎病疗效比较[J]. *中国基层医药*, 2014, 21(15):2268-2269. DOI:10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2014.15.013.
- [15] Moon KP, Kim BJ, Lee KJ, et al. Prediction of nonresponsiveness to medium-dose intravenous immunoglobulin (1 g/kg) treatment: An effective and safe schedule of acute treatment for Kawasaki disease[J]. *Korean J Pediatr*, 2016, 59(4):178-182. DOI:10.3345/kjp.2016.59.4.178.
- [16] Tocan V, Inaba A, Kurano T, et al. Severe hemolytic anemia following intravenous immunoglobulin in an infant with Kawasaki disease[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2016, 39(2):100-102. DOI:10.1097/MPH.0000000000000704.
- [17] Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, et al. Acute pericardial effusion representing the TNF- α -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease[J]. *Scand J Rheumatol*, 2015, 44(3):247-252. DOI:10.3109/03009742.2014.956140.
- [18] 张慧玲. 大剂量丙种球蛋白联合阿司匹林治疗川崎病患儿的临床效果[J]. *中国医药*, 2019, 14(4):578-581. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.04.025.
- [19] Nakagama Y, Inuzuka R, Taiyu H, et al. Fever pattern and CRP predict response to rescue therapy in Kawasaki disease[J]. *Pediatr Int*, 2015, 58(3):180-184. DOI:10.1111/ped.12762.
- [20] 乐园, 刘桂英, 赵梓文. 静脉注射免疫球蛋白无反应性川崎病的危险因素分析[J]. *中国医药*, 2018, 13(4):582-586. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2018.04.026.
- [21] 蒋永梅, 陈婷婷, 周开宇, 等. 急性期川崎病患儿血浆 TSP-1、PAF 水平变化及临床意义[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(19):113-116.
- [22] 王晓旭, 王晓楠, 王文超, 等. 川崎病患儿血清脑利钠肽、心型脂肪酸结合蛋白的变化及其与心功能的关系[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2017, 32(9):705-707. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2017.09.017.
- [23] Sharma SD, Chaturvedi K, Saini A, et al. Recurrence of coronary artery lesions after complete regression in a peculiar case of Kawasaki disease[J]. *Cardiol Young*, 2019, 29(5):714-716. DOI:10.1017/S1047951119000453.

(收稿日期:2019-12-02)

双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击疗法对重症紫癜性肾炎患儿免疫功能和肾功能的影响

孙立宁, 曾聪灵, 郭修枢, 钟剑, 陈国华

基金项目: 广东省医学科研基金立项项目(A20183269); 广东省惠州市科技计划项目(20190403)

作者单位: 516000 广东省惠州市第一人民医院儿科

通信作者: 陈国华, E-mail: 55673617@qq.com

【摘要】目的 观察双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击疗法对重症紫癜性肾炎患儿免疫功能及肾功能的影响。**方法** 选择 2015 年 1 月—2018 年 12 月广东省惠州市第一人民医院儿科诊治重症紫癜性肾炎患儿 84 例作为研究对象, 按随机数字表法分为 2 组, 每组 42 例。2 组均进行常规治疗, 对照组在此基础上给予甲泼尼龙联合霉酚酸酯双重冲击疗法治疗, 研究组在对照组基础上联合双重血浆置换治疗。观察 2 组临床疗效、不良反应及治疗前后的免疫学指标和肾功能指标变化。**结果** 研究组总有效率为 95.24%, 高于对照组的 80.95% ($\chi^2/P = 4.086/0.043$)。治疗后 2 组患儿血清 IgA、IgM、IgG、C3、C4、血肌酐 (SCr)、血尿素氮 (BUN)、24h 尿蛋白定量、尿白蛋白 (Alb)、尿 β_2 -微球蛋白 (β_2 -MG) 均较治疗前降低, 且研究组低于对照组 ($t/P = 4.299/0.000, 3.802/0.000, 5.364/0.000, 4.653/0.000, 16.177/0.000, 9.536/0.000, 4.981/0.000, 5.590/0.000, 6.913/0.000, 9.427/0.000$)。2 组胃肠道反应、血压升高、肝功能损害、白细胞减少、反复呼吸道感染发生率比较差异无统计学意义 (P 均 >0.05)。**结论** 双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击疗法可以有效降低重症紫癜性肾炎患儿血清 IgA、IgM、IgG、C3、C4 水平, 纠正患儿机体的免疫紊乱, 促进患儿肾功能恢复, 且安全性良好。

【关键词】 双重血浆置换; 双重冲击疗法; 重症紫癜性肾炎; 免疫功能; 肾功能

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.013

The effect of double plasma exchange combined with methylprednisolone and mycophenolate mofetil on immune function and renal function in children with severe purpura nephritis Sun Lining, Zeng Congling, Guo Xiushu, Zhong Jian, Chen Guohua. Department of Pediatrics, Huizhou First People's Hospital, Guangdong Province, Huizhou 516000, China
Corresponding author: Chen Guohua, E-mail: 55673617@qq.com

Funding program: Guangdong Medical Research Fund Project (A20183269); Huizhou Science and Technology Plan Project (20190403)

【Abstract】Objective To observe the effect of double plasma exchange combined with methylprednisolone and mycophenolate mofetil on immune function and renal function in children with severe purpura nephritis. **Methods** From January 2015 to December 2018, 84 children with severe Henoch Schonlein purpura nephritis were selected as the study object. According to the random number table, the patients were divided into two groups, 42 cases in each group. The control group was treated with methylprednisolone combined with mycophenolate mofetil. The study group was treated with double plasmapheresis on the basis of the control group. The clinical effect, adverse reactions, immunological indexes and renal function indexes before and after treatment were observed. **Results** The total effective rate in the study group was 95.24%, which was higher than that in the control group, 80.95% ($\chi^2/P = 4.086/0.043$). After treatment, serum IgA, IgM, IgG, C3, C4, blood creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), 24h urine protein quantification, urine albumin (Alb), urine β_2 microglobulin (β_2 -MG) Both were lower than before treatment, and the study group was lower than the control group ($t/P = 4.299/0.000, 3.802/0.000, 5.364/0.000, 4.653/0.000, 16.177/0.000, 9.536/0.000, 4.981/0.000, 5.590/0.000, 6.913/0.000, 9.427/0.000$). There was no significant difference in the incidence of gastrointestinal reactions, increased blood pressure, liver function impairment, leukopenia, and repeated respiratory infections between the two groups (all $P > 0.05$). **Conclusion**

Double plasma exchange combined with methylprednisolone and mycophenolate mofetil can effectively reduce the serum

IgA, IgM, IgG, C3, C4 levels in children with severe Henoch Schonlein nephritis, correct the immune disorders of children, promote the recovery of children's renal function, and have good safety.

【Key words】 Double plasma exchange; Double shock therapy; Severe purpura nephritis; Immunological function; Renal function

紫癜性肾炎是过敏性紫癜最严重的并发症之一,是学龄前儿童继发性肾小球肾炎的常见类型^[1]。研究表明^[2],不同病理改变的紫癜性肾炎患儿预后差别较大,因此主张分型治疗,重症紫癜性肾炎患儿可出现肉眼血尿、高血压、大量蛋白尿和肾功能损害等,如不给予及时有效地治疗可发展为终末期肾脏疾病。目前已有报道显示,应用甲泼尼龙联合霉酚酸酯双冲击疗法治疗重症紫癜性肾炎具有显著疗效,但对于部分临床症状较重、病理改变呈弥漫型的患儿给予双冲击疗法疗效欠佳^[3]。双重血浆置换是一种选择性血浆分离的方法,它可以选择性清除血浆中的大分子物质,从而有效地清除血浆中的致病物质。目前国内外均有将双重血浆置换用于自身免疫性疾病治疗的报道,可取得较为满意的疗效^[4-6]。目前国内关于双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双重冲击疗法治疗重症紫癜性肾炎患儿的报道并不多见,因此,现观察双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双重冲击疗法对重症紫癜性肾炎患儿免疫功能及肾功能的影响,旨在为重症紫癜性肾炎患儿的治疗方案选择提供一定参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2015 年 1 月—2018 年 12 月广东省惠州市第一人民医院儿科诊治重症紫癜性肾炎患儿 84 例作为研究对象,按照随机数字表法分为 2 组。研究组 42 例,男 29 例,女 13 例,年龄 6~16 (9.62 ± 1.87) 岁;病程 1~12 (4.56 ± 1.03) 个月;临床表现:血尿 42 例,皮肤紫癜 33 例,关节肿痛 12 例,黑便 8 例;有家族遗传史者 21 例;肾小球病理分级:Ⅲb 级 12 例,Ⅳ级 19 例,Ⅴ级 11 例;免疫分型:IgA 12 例,IgA + IgG 20 例,IgA + IgM 10 例。对照组 42 例,男 28 例,女 14 例,年龄 6~16 (9.74 ± 1.82) 岁;病程 1~12 (4.12 ± 1.35) 个月;临床表现:血尿 42 例,皮肤紫癜 31 例,关节肿痛 13 例,黑便 7 例;有家族遗传史者 22 例;肾小球病理分级:Ⅲb 级 13 例,Ⅳ级 18 例,Ⅴ级 11 例;免疫分型:IgA 12 例,IgA + IgG 19 例,IgA + IgM 11 例。2 组患儿性别、年龄、病程、临床表现、家族遗传史、肾小球病理分级、免疫分型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,患者或家属知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1) 纳入标准:①均符合“儿童常见

肾脏疾病诊治指南—紫癜性肾炎诊治指南(试行)”中重症紫癜性肾炎的诊断标准^[7];②年龄 6~18 岁;③患儿有确切的紫癜病史;④ 24 h 尿蛋白定量检测 > 2.0 g,肾脏活检肾小球病理分级为Ⅲb 以上;⑤无双重血浆置换的禁忌证。(2) 排除标准:①合并严重细菌感染者;②合并活动性病毒感染者;③凝血功能异常或活动性出血者;④正接受激素治疗的患儿。

1.3 治疗方法 2 组患儿均给予抗组胺药物、抗血管脆性药物、钙剂、抗凝等常规治疗。对照组另予甲泼尼龙联合霉酚酸酯双重冲击疗法:甲泼尼龙(天津天药药业股份有限公司生产) $15 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 溶于 5% 葡萄糖溶液 250 ml 中静脉滴注,1 次/d,甲泼尼龙最大剂量为 $1\,000 \text{ mg/d}$,连续 3 d 为 1 个疗程,连续给予 3 个疗程的冲击治疗,每个疗程间隔 7 d;甲泼尼龙 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,分 3 次口服维持治疗,4 周后逐渐减量至 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,隔日顿服,共 6 个月;于治疗开始第 2 周给予霉酚酸酯(上海罗氏制药有限公司生产) 1.5 g/d ,分 2 次口服冲击治疗,服用至少 6 个月;治疗期间鼓励患儿多饮水,并监测血压、肝功能、血细胞变化。研究组在对照组基础上联合双重血浆置换治疗,于冲击治疗后 3~5 d 开始:在局部麻醉下行桡动脉穿刺建立通路,应用日本旭化成 Plasma IQ-20 自动血浆置换仪进行双重血浆置换,体外循环以 100 ml/min 进入 OP08W 血浆分离器(膜面积 0.8 m^2 ,孔径 $0.3 \mu\text{m}$,内径 $330 \mu\text{m}$,厚度 $50 \mu\text{m}$),血液以 30 ml/min 速度流经 EC-20W 血浆分离器(膜面积 2 m^2 ,孔径 $0.02 \mu\text{m}$),血液滤过后再输回体内,当血浆处理总量达到血浆总量 1.5 倍时应补充等量的 5% 白蛋白置换液(新鲜血浆供给充足条件下可考虑补充 200 ml 新鲜血浆),每次治疗时间 2 h,3 d/次,共进行 4 次。2 组均治疗 3 个疗程,并监测不良反应发生情况。

1.4 临床疗效判定标准^[7]: (1) 完全缓解,血尿消失,24 h 尿蛋白定量 $< 150 \text{ mg}$,尿微量蛋白正常,肾功能恢复正常。(2) 部分缓解,血尿好转,24 h 尿蛋白定量及尿微量蛋白下降 50% 以上,但未恢复正常,肾功能接近正常。(3) 无效,血尿、24 h 尿蛋白定量、尿微量蛋白及肾功能无改变甚至加重。总有效率 = (完全缓解 + 部分缓解) / 总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 免疫学指标检测:于治疗前、后采集患儿外周血 5 ml,离心分离血清,应用酶联免疫吸附法检测 IgA、IgM、IgG、C3、C4 水平,试剂盒购自上海君瑞生物技术有限公司,严格按照说明书进行操作。

1.5.2 肾功能相关指标检测:于治疗前、治疗后采血应用日立 5300 全自动生化检测仪测定血肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)水平,24 h 尿蛋白定量,并应用放射免疫法测定尿白蛋白(Alb)、β₂-微球蛋白(β₂-MG),试剂盒购自北方生物技术研究有限公司。

1.5.3 不良反应:记录不良反应发生情况,包括胃肠道反应、血压升高、肝功能损害、白细胞减少、反复呼吸道感染。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 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 χ² 检验;正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,2 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 治疗后,研究组总有效率为 95.24%,显著高于对照组的 80.95% (χ² = 4.086, *P* =

0.043),见表 1。

表 1 2 组临床疗效比较 [例(%)]

组 别	例数	完全缓解	部分缓解	无效	总有效率(%)
对照组	42	14(33.33)	20(47.62)	8(19.05)	80.95
研究组	42	18(42.86)	22(52.38)	2(4.76)	95.24 ^a

注:与对照组总有效率比较,^a*P* < 0.05

2.2 2 组治疗前后免疫学指标比较 治疗前,2 组患儿血清 IgA、IgM、IgG、C3、C4 比较差异无统计学意义(*P* > 0.05);治疗后,2 组均降低(*P* < 0.01),且研究组下降较对照组更显著(*P* < 0.01),见表 2。

2.3 2 组治疗前后肾功能比较 治疗前,2 组患儿血液 SCr、BUN 及 24 h 尿蛋白定量、尿 Alb、尿 β₂-MG 比较差异无统计学意义(*P* > 0.05);治疗后,2 组较治疗前均降低(*P* < 0.01),且研究组显著低于对照组(*P* < 0.01),见表 3。

2.4 不良反应比较 2 组胃肠道反应、血压升高、肝功能损害、白细胞减少、反复呼吸道感染发生率比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 4。

表 2 2 组患儿治疗前后免疫学指标比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组 别	时间	IgA	IgM	IgG	C3	C4
对照组 (<i>n</i> = 42)	治疗前	4.81 ± 0.92	1.85 ± 0.73	12.52 ± 4.35	1.56 ± 0.45	1.01 ± 0.35
	治疗后	2.91 ± 0.92	1.25 ± 0.54	7.56 ± 1.78	0.75 ± 0.32	0.51 ± 0.12
研究组 (<i>n</i> = 42)	治疗前	4.78 ± 0.98	1.88 ± 0.75	12.44 ± 4.32	1.54 ± 0.44	1.03 ± 0.32
	治疗后	2.07 ± 0.87	0.83 ± 0.47	5.54 ± 1.67	0.42 ± 0.33	0.15 ± 0.08
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		10.944/0.000	4.685/0.000	6.416/0.000	10.095/0.000	18.002/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 研究组内值		8.363/0.000	11.341/0.000	16.380/0.000	13.197/0.000	35.644/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		4.299/0.000	3.802/0.000	5.364/0.000	4.653/0.000	16.177/0.000

表 3 2 组患儿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)	24 h 尿蛋白定量(g)	尿 Alb(mg/L)	尿 β ₂ -MG(mg/L)
对照组 (<i>n</i> = 42)	治疗前	189.54 ± 34.95	8.82 ± 1.73	3.95 ± 0.77	335.76 ± 79.44	1.53 ± 0.38
	治疗后	92.45 ± 18.45	5.32 ± 1.07	1.56 ± 0.38	82.45 ± 21.43	0.58 ± 0.13
研究组 (<i>n</i> = 42)	治疗前	183.43 ± 35.54	8.87 ± 1.78	3.98 ± 0.86	343.65 ± 77.23	1.52 ± 0.41
	治疗后	56.65 ± 15.86	4.21 ± 0.97	1.04 ± 0.42	53.43 ± 16.76	0.35 ± 0.09
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		21.566/0.000	13.831/0.000	22.127/0.000	13.091/0.000	13.682/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 研究组内值		44.947/0.000	22.206/0.000	13.140/0.000	18.713/0.000	20.493/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		9.536/0.000	4.981/0.000	5.590/0.000	6.913/0.000	9.427/0.000

表 4 2 组不良反应发生率比较 [例(%)]

组 别	例数	胃肠道反应	血压升高	肝功能损害	白细胞减少	反复呼吸道感染
对照组	42	10(23.81)	7(16.67)	1(2.38)	1(2.38)	7(16.67)
研究组	42	8(19.05)	9(21.43)	2(4.76)	1(2.38)	8(19.05)
χ ² 值		0.283	0.309	0.346	0.000	0.081
<i>P</i> 值		0.595	0.578	0.557	1.000	0.776

3 讨 论

小儿紫癜性肾炎是儿童常见的继发性肾炎,患儿因过敏性紫癜引发免疫复合物沉积于肾脏系膜区,并激活补体反应,导致肾小球系膜增生性改变,肾小球血管通透性升高,常伴有节段性的肾小球毛细血管坏死和新月体形成^[8],因此紫癜性肾炎的本质仍是免疫性肾炎。目前临床上对于小儿紫癜性肾炎主要治疗原则是积极控制免疫性炎症反应,抑制肾小球系膜增生,改善患儿预后,而对于重症紫癜性肾炎则主张应用糖皮质激素联合免疫抑制剂冲击治疗^[9-11]。泼尼龙是临床上常用的糖皮质激素药物,泼尼龙冲击治疗可以有效抑制炎症因子活性,抑制炎症介质释放,并促进淋巴细胞凋亡,减少免疫复合物对肾小球的损伤^[12-13]。霉酚酸酯是嘌呤代谢的选择性抑制剂,具有如下药理作用^[14]:(1)抑制 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖;(2)抑制血液内白细胞向炎症反应位点的募集;(3)降低血管内皮细胞黏附分子的表达;(4)降低肾脏毛细血管内皮细胞和系膜细胞的增殖。由于霉酚酸酯无肾毒性,目前被用于肾脏免疫疾病的治疗和肾移植后排斥反应的预防。刘娜等^[15]报道应用泼尼龙联合霉酚酸酯双冲击治疗重症紫癜性肾炎完全缓解率和总疗效分别为 33% 和 82%,与本研究结果基本相符。

双重血浆置换是一种选择性血液滤过方法,通过不同膜孔径的血浆滤过器将血液中大分子物质清除,并最大限度减少白蛋白的丢失^[16-17]。研究表明,双重血浆置换可以及时中断体内的“免疫风暴”,调节免疫系统功能,改善免疫性肾病患者体液免疫功能^[18]。紫癜性肾炎患儿血液通常处于高凝状态,双重血浆置换可以降低患儿血液中凝血因子及纤维蛋白原,起到缓解疾病的作用。Nickavar 等^[19]报道,应用双重血浆置换治疗重症紫癜性肾炎患儿,经过 9 次血浆置换后患儿肾功能明显提高。Xie 等^[20]报道,应用双重血浆置换治疗重症紫癜性肾炎后,患儿 IgM、IgA 水平显著降低,肾功能明显改善。本研究中研究组应用双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击疗法治疗,结果显示研究组总有效率显著高于对照组,表明双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击疗法治疗重症紫癜性肾炎效果优于单纯双冲击治疗,与 Annamalai 等^[21]报道相符,分析其原因主要与双重血浆置换有效清除患儿体内的免疫复合物,降低肾脏损害有关^[22]。长期应用糖皮质激素治疗可以抑制机体的免疫功能,但易出现不良反应。本研究中严格控制了泼尼龙的维持剂量,将不良反应控制在可控制范围内,2 组不良反应发生比较,双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双冲击

疗法并未增加治疗的不良反应发生率,但研究组患儿的肝功能损害、血压升高、反复呼吸道感染的发生率略有升高,这可能是因为双重置换过程中需要血液离体再回流,不仅清除了免疫复合物,同时使用白蛋白置换液会出现免疫球蛋白的丢失,且白蛋白置换液中没有钾离子,导致置换后血液渗透压改变,再使用免疫抑制剂,导致免疫力下降,因而增加了病菌感染的几率,因此出现肝功能损害和呼吸道反复感染及血压升高的几率增加。

本研究中,治疗后 2 组患儿血清免疫球蛋白和补体水平较治疗前均显著降低,而研究组患儿上述指标的改善情况优于对照组,说明联合疗法有助于改善免疫紊乱。目前有研究证实,IgA、IgM、IgG 形成的免疫复合物沉积及 C3、C4 激活在紫癜性肾炎发病中起到了重要作用^[23-24]。当 IgA、IgM、IgG、C3、C4 沉积于肾小球系膜区、系膜旁区后可以导致肾小球基底膜破坏,并导致肾小球滤过率升高,蛋白质通过肾小球毛细血管引发蛋白尿^[25],而 C3、C4 引发的肾小球基底膜破坏也可以引起 SCr、BUN 升高^[26]。泼尼龙联合霉酚酸酯双冲击治疗可以有效抑制 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖,抑制炎症因子活性,抑制炎症介质释放,因此治疗后患儿血清免疫球蛋白和 C3、C4 降低,而研究组由于联合双重血浆置换,更有效地清除了循环血液中的大分子物质、免疫复合物和补体活化产物,因此治疗后血清免疫球蛋白和 C3、C4 降低更为显著,这也有助于提高临床治疗效果。本研究中治疗后 2 组患儿 SCr、BUN、24 h 尿蛋白定量、尿 Alb、尿 β_2 -MG 较治疗前均显著降低,且研究组显著低于对照组,结果表明,经过治疗后 2 组患儿肾功能均得到改善,而研究组由于双重血浆置换有效清除了炎症介质等,因此肾功能恢复更为显著。本研究由于研究时间有限,选取的样本容量较小,尚未对泼尼龙维持剂量的最优方案及远期预后进行探究,后续将扩大样本量增加随访进行深入探讨。

综上所述,双重血浆置换联合甲泼尼龙、霉酚酸酯双重冲击疗法可以有效降低重症紫癜性肾炎患儿血清 IgA、IgM、IgG、C3、C4 水平,促进患儿肾功能恢复,但鉴于其在一定程度上增加了患儿血压升高、肝功能损害的几率,临床可根据实际情况调整剂量,可作为治疗重症紫癜性肾炎患儿的方案。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

孙立宁:提出研究方向、研究思路,设计研究方案,研究选题,撰写论文;曾聪灵、郭修枢:实施研究过程,数据收集,分析

整理,进行文献调研与整理;钟剑:进行统计学分析;陈国华:设计论文框架,修订论文、论文终审

参考文献

- [1] 杨焕丹,张锐锋,彭倩倩,等.以蛋白尿为主要表现的儿童紫癜性肾炎临床与病理分析[J].江苏医药,2019,45(9):954-956. DOI:10.19460/j.cnki.0253-3685.2019.09.026.
- [2] Delbet JD, Hogan J, Aoun B, et al. Clinical outcomes in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis without crescents[J]. Pediatr Nephrol, 2017, 32(7):1193-1199. DOI:10.1007/s00467-017-3604-9.
- [3] 李志娟,李俊,黄惠梅,等.霉酚酸酯联合糖皮质激素治疗小儿紫癜性肾炎的疗效观察[J].现代生物医学进展,2017,17(26):5177-5180. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.041.
- [4] Sekine A, Hasegawa E, Hiramatsu R, et al. Two types of renovascular lesions in lupus nephritis with clinical thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. Case Rep Nephrol Dial, 2015, 5(3):192-199. DOI:10.1159/000441107.
- [5] 王悦至,梁少嫻,龚德华,等.双重血浆置换治疗狼疮性肾炎伴血栓性微血管病疗效分析[J].中国实用内科杂志,2015,35(6):506-511. DOI:10.7504/nk2015050401.
- [6] 李宇红,邵晓珊,蒋新辉.血浆置换治疗儿童自身免疫性溶血性贫血专家共识解读[J].中华实用儿科临床杂志,2018,33(15):1144-1147. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.15.008.
- [7] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组.儿童常见肾脏疾病诊治循证指南(二):紫癜性肾炎的诊治循证指南(试行)[J].中华儿科杂志,2009,47(12):911-913. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2009.12.007.
- [8] 张晓利,孙昆,吴银,等.环磷酰胺与糖皮质激素双重冲击疗法治疗重症紫癜性肾炎患儿的临床研究[J].疑难病杂志,2016,15(1):40-43. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2016.01.010.
- [9] 林倩.儿童重症紫癜性肾炎的治疗及预后[J].国际儿科学杂志,2019,46(1):10-13. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2019.01.003.
- [10] 卢积坪,李红毅,党若楠,等.裨国维教授治疗儿童过敏性紫癜性肾炎经验[J].中国医药导报,2019,16(36):149-152.
- [11] 陈银凤,高良云,朱晓玲,等.老年过敏性紫癜性肾炎的临床和病理分析[J].中国现代医生,2018,56(36):9-12.
- [12] Koskela M, Jahnukainen T, Endén K, et al. Methylprednisolone or cyclosporine a in the treatment of Henoch-Schönlein nephritis: A nationwide study[J]. Pediatr Nephrol, 2019, 34(8):1447-1456. DOI:10.1007/s00467-019-04238-2.
- [13] 郭宽瑞,周太光,肖洪英.来氟米特治疗紫癜性肾炎的有效性 & 安全性 Meta 分析[J].中国临床研究,2019,32(4):451-456. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2019.04.005.
- [14] Hackl A, Becker JU, Kömer LM, et al. Mycophenolate mofetil following glucocorticoid treatment in Henoch-Schönlein purpura nephritis: The role of early initiation and therapeutic drug monitoring[J]. Pediatr Nephrol, 2018, 33(4):619-629. DOI:10.1007/s00467-017-3846-6.
- [15] 刘娜,马忠正,严慧芳,等.双重血浆置换联合激素与免疫抑制剂治疗儿童重症紫癜性肾炎的临床效果[J].中国当代儿科杂志,2019,21(10):955-959. DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2019.10.001.
- [16] 秦浩,王洋,魏金刚,等.半量血浆置换联合双重血浆分子吸附系统对慢加急性肝衰竭患者炎症反应、免疫功能及肝功能的影响[J].疑难病杂志,2020,19(5):485-489,509. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.012.
- [17] 钟娇霞,颜海峰,霍开明,等.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[J].疑难病杂志,2020,19(1):66-70. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.016.
- [18] 李华荣,陈朝英,涂娟,等.儿童紫癜性肾炎并高尿酸血症的临床及肾脏病理特征[J].中华实用儿科临床杂志,2019,34(15):1166-1170. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2019.15.010.
- [19] Nickavar A, Sadeghian M. Mycophenolate mofetil for the treatment of Henoch-Schönlein purpura nephritis: current knowledge and new concepts[J]. J Nephropathol, 2017, 6(3):103-104. DOI:10.15171/jnp.2017.17.
- [20] Xie X, Lv J, Shi S, et al. Plasma exchange as an adjunctive therapy for crescentic IgA nephropathy[J]. Am J Nephrol, 2016, 44(2):141-149. DOI:10.1159/000448767.
- [21] Annamalai I, Chandramohan G, Srinivasa Prasad ND, et al. Rapidly progressive glomerulonephritis due to anti-glomerular basement membrane disease accompanied by IgA nephropathy: An unusual association[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2017, 28(6):1404-1407. DOI:10.4103/1319-2442.220866.
- [22] 章海涛,谌达程,周敏林,等.双重血浆置换治疗伴血栓性微血管病狼疮性肾炎的临床疗效[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2019,28(3):201-206. DOI:10.3969/j.issn.1006-298X.2019.03.001.
- [23] 唐小琰.双重血浆置换治疗狼疮性肾炎伴血栓性微血管病的临床疗效[J].临床和实验医学杂志,2016,15(14):1423-1425. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2016.14.024.
- [24] 邵雯,周晓霜,李荣山.难治性狼疮性肾炎治疗的研究进展[J].中国医药,2019,14(11):1757-1760. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.11.039.
- [25] 畅晓元,刘岩.儿童紫癜性肾炎的相关因素及血清 IgA/C3 的预测价值分析[J].实用药物与临床,2019,22(9):956-959. DOI:10.14053/j.cnki.pper.201909013.
- [26] 张洪,徐革.急性肾小球肾炎早期肾损伤评估中 CysC、BUN、Scr 检测的意义[J].海南医学院学报,2016,22(5):447-449,452. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20151203.011.

(收稿日期:2020-01-21)

替米沙坦联合前列地尔对糖尿病肾病氧化应激、免疫炎性反应及肾功能的影响

黄秀丽, 吴艳, 喻荷淋, 刘阳

基金项目: 四川省卫生和计划生育科研课题(16PJ521)

作者单位: 629000 遂宁市中心医院内分泌科

通信作者: 吴艳, E-mail: ygqz880@163.com

【摘要】目的 探讨替米沙坦联合前列地尔治疗对糖尿病肾病患者氧化应激、免疫炎性反应及肾功能的影响。**方法** 选择 2018 年 7 月—2019 年 6 月遂宁市中心医院内分泌科收治的糖尿病肾病患者 92 例为研究对象, 采用随机数字表法分为试验组 48 例, 对照组 44 例。对照组给予替米沙坦口服治疗, 试验组给予替米沙坦联合前列地尔治疗。治疗 4 周末, 比较 2 组患者氧化应激、炎性因子、T 淋巴细胞亚群、肾功能、不良反应等指标。**结果** 治疗 4 周后, 试验组糖尿病肾病患者血清 SOD 低于对照组, MDA 高于对照组 ($t/P=4.340/0.023$, $42.917/0.000$); 白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 水平明显低于对照组 ($t/P=8.444/0.000$, $5.896/0.010$, $13.241/0.000$); $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+$ T 细胞及 $CD8^+$ 比例明显高于对照组, $CD8^+$ T 细胞明显低于对照组 ($t=4.753$, 5.573 , 4.020 , 3.049 , P 均 <0.05)。尿素氮 (BUN)、胱抑素 C (CysC) 含量明显低于对照组, 肾小球滤过率 (eGFR) 明显高于对照组 ($t=4.732$, 5.704 , 4.211 , P 均 <0.05)。**结论** 替米沙坦联合前列地尔治疗有助于缓解糖尿病肾病患者氧化应激和炎性反应, 改善细胞免疫功能, 促进肾功能恢复。

【关键词】 糖尿病肾病; 替米沙坦; 前列地尔; 氧化应激; 炎性因子; T 淋巴细胞亚群; 肾功能

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.014

Effects of telmisartan combined with alprostadil on oxidative stress, immune inflammatory response and renal function in diabetic nephropathy Huang Xiuli, Wu Yan, Yu Helin, Liu Yang. Department of Endocrinology, Suining Central Hospital, Sichuan Province, Suining 629000, China

Corresponding author: Wu Yan, E-mail: ygqz880@163.com

Funding program: Health and Family Planning Research Project of Sichuan Province (16PJ521)

【Abstract】Objective To explore the effect of telmisartan combined with alprostadil on oxidative stress, immune inflammatory response and renal function in diabetic nephropathy. **Methods** Ninety-two diabetic nephropathy patients admitted to the Endocrinology Department of Suining Central Hospital from July 2018 to June 2019 were selected as the study objects. 48 patients in the experimental group and 44 patients in the control group were randomly divided into two groups. The control group was treated with telmisartan orally, and the experimental group was treated with telmisartan combined with alprostadil. At the end of 4 weeks, oxidative stress, inflammatory factors, T lymphocyte subsets, renal function and adverse reactions were compared between the two groups. **Result:** After 4 weeks of treatment, the serum SOD and MDA of diabetic nephropathy patients in the experimental group were lower than those in the control group ($t/P=4.340/0.023$, $42.917/0.000$). The levels of IL-6, TNF- α and hs-CRP in the control group were significantly lower than those in the control group ($t/P=8.444/0.000$, $5.896/0.010$, $13.241/0.000$). The proportion of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+$ T cells and $CD8^+$ was significantly higher than that of the control group, and $CD8^+$ T cells were significantly lower than that of the control group ($t=4.753$, 5.573 , 4.020 , 3.049 , $P<0.05$). The contents of bun and CysC were significantly lower than those of the control group, and the glomerular filtration rate (EGFR) was significantly higher than that of the control group ($t=4.732$, 5.704 , 4.211 , $P<0.05$). **Conclusion** Telmisartan combined with alprostadil can alleviate oxidative stress and inflammatory response, improve cellular immune function and promote the recovery of renal function.

【Key words】 Diabetic nephropathy; Telmisartan; Alprostadil; Oxidative stress; Inflammatory factors; T lymphocyte subsets; Renal function

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是因糖尿病引起的慢性肾脏病变,是终末期肾病及相关死亡的主要原因。预防肾功能衰竭是临床治疗的关键,替米沙坦为非肽类血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂,能促进血管扩张、纠正肾小球内高压、预防肾间质纤维化,保护肾脏功能^[1]。前列地尔主要物质为前列腺素 E1,具有靶向性作用于病变组织、拮抗炎性反应、抑制血小板聚集、改善微循环的作用^[2]。二者联合应用对于改善糖尿病肾病肾功能效果值得肯定,但具体作用机制尚不十分清楚。相关研究表明,糖尿病肾病发生发展与氧化应激、慢性炎症浸润、免疫功能受损有关,而免疫功能受损主要表现为细胞免疫功能紊乱^[3-4]。本研究以氧化应激、炎症因素、T 淋巴细胞为切入点,分析替米沙坦联合前列地尔治疗糖尿病肾病的临床疗效及可能作用机制,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 7 月—2019 年 6 月遂宁市中心医院内分泌科收治的糖尿病肾病患者 92 例为研究对象,男 52 例,女 40 例,年龄 42 ~ 70 (55.1 ± 7.2) 岁;糖尿病病程 5 ~ 15 (10.0 ± 1.20) 年;糖尿病肾病病程 3 ~ 15 (8.5 ± 1.2) 月。采用随机数字表法分为试验组 48 例,对照组 44 例。2 组糖尿病肾病患者性别、年龄、糖尿病病程、糖尿病肾病病程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批准,患者或家属均知情同意并签署知情同意书。

表 1 2 组糖尿病肾病患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 (岁)	糖尿病 病程(年)	糖尿病肾病 病程(月)
对照组	44	27/17	54.5 ± 7.2	9.8 ± 1.2	8.3 ± 1.1
试验组	48	25/23	55.6 ± 7.1	10.2 ± 1.4	8.7 ± 1.2
χ^2/t 值		0.805	0.750	1.254	1.345
P 值		0.085	0.114	0.078	0.077

1.2 选择标准 纳入标准:(1)糖尿病符合“中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)”^[5]相关诊断标准;(2)糖尿病肾病符合“中国成人糖尿病肾脏病临床诊断的专家共识”^[6]相关诊断标准;(3)蛋白尿排泄率 20 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ 。排除标准:(1)1 型糖尿病患者;(2)严重心脏、肝脏功能不全者;(3)对本次研究药物过敏者;(4)中途退出者。

1.3 治疗方法 所有患者均接受常规降糖、控制饮食、规律运动等对症治疗。对照组同时给予替米沙坦(四川科伦药业股份有限公司)口服,80 mg/次,1 次/

d。试验组同时给予替米沙坦联合前列地尔治疗,替米沙坦用法同对照组,前列地尔(哈药集团生物工程有限公司)10 μg 加 100 ml 生理盐水,静脉滴注,1 次/d。2 组均连续治疗 4 周。

1.4 观察指标与方法 (1)氧化应激指标检测:治疗前、治疗 4 周末,采集患者空腹静脉血 4 ml,离心取血清,采用分光光度计法检测超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平。(2)炎症因子检测:治疗前、治疗 4 周末,同上取血清,采用酶联免疫吸附法检测血清白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平,采用免疫比浊法检测高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平。(3)细胞免疫功能:治疗前、治疗 4 周末,同上取血清,采用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺,计算 CD4⁺/CD8⁺。(4)肾功能:治疗前,治疗 4 周末,同上取血清,采用酶联免疫吸附法检测尿素氮(BUN)、胱抑素 C(CysC)水平,采用同位素^{99m}Tc^m-DTPA 标记法检测肾小球滤过率(eGFR)。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。符合正态分布计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用配对 t 检验,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用频数或率(%)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 组氧化应激指标比较 治疗前,2 组糖尿病肾病患者血清 SOD、MDA 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与治疗前比较,治疗 4 周末,2 组患者血清 SOD 降低,MDA 升高($P < 0.01$),且试验组糖尿病肾病患者血清 SOD 低于对照组,MDA 高于对照组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 2 组糖尿病肾病患者治疗前后氧化应激反应指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	SOD($\mu\text{g}/\text{ml}$)	MDA(mmol/ml)
对照组 ($n = 44$)	治疗前	91.76 ± 4.65	15.12 ± 2.34
	治疗后	65.45 ± 8.15	25.32 ± 4.65
试验组 ($n = 48$)	治疗前	92.65 ± 3.24	14.65 ± 2.12
	治疗后	58.45 ± 7.32	32.45 ± 1.36
t/P 对照组内值		11.530/0.000	12.997/0.000
t/P 试验组内值		29.600/0.000	48.962/0.000
t/P 治疗后组间值		4.340/0.023	42.917/0.000

2.2 2 组炎症因子比较 治疗前,2 组糖尿病肾病患者血清 IL-6、TNF- α 、hs-CRP 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与治疗前比较,治疗 4 周末,2 组患者血清 IL-6、TNF- α 、hs-CRP 水平明显降低($P < 0.01$),试验组明显低于对照组($P < 0.01$),见表 3。

表 3 2 组糖尿病肾病患者治疗前后血清炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	时间	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	hs-CRP (mg/L)
对照组 (n=44)	治疗前	8.87 $\pm$ 1.32	9.75 $\pm$ 1.32	8.25 $\pm$ 1.20
	治疗后	6.72 $\pm$ 0.96	7.54 $\pm$ 1.21	5.34 $\pm$ 0.75
试验组 (n=48)	治疗前	9.12 $\pm$ 1.20	10.12 $\pm$ 1.45	8.42 $\pm$ 1.12
	治疗后	5.21 $\pm$ 0.75	6.12 $\pm$ 1.10	3.42 $\pm$ 0.64
t/P 对照组内值		8.738/0.000	8.187/0.000	13.641/0.000
t/P 试验组内值		19.143/0.000	15.227/0.000	26.854/0.000
t/P 治疗后组间值		8.444/0.000	5.896/0.010	13.241/0.000

2.3 2 组 T 淋巴细胞亚群比较 治疗前,2 组糖尿病肾病患者 T 淋巴细胞亚群比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与治疗前比较,治疗 4 周末,2 组患者 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 明显升高,CD8⁺ 明显降低 ($P < 0.05$),试验组糖尿病肾病患者 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞明显高于对照组,CD8⁺ 明显低于对照组 ($P < 0.05$),见表 4。

2.4 2 组肾功能比较 治疗前,2 组糖尿病肾病患者 BUN、CysC、eGFR 水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与治疗前比较,治疗 4 周末,2 组患者 BUN、CysC 水平明显降低,eGFR 明显升高 ($P < 0.05$),试验组糖尿病肾病患者 BUN、CysC 水平明显低于对照组,eGFR 明显高于对照组 ($P < 0.05$),见表 5。

表 5 2 组糖尿病肾病患者治疗前后肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	时间	BUN (mmol/L)	CysC (mg/L)	eGFR (ml/min)
对照组 (n=44)	治疗前	6.78 $\pm$ 0.74	1.42 $\pm$ 0.35	92.45 $\pm$ 13.12
	治疗后	5.62 $\pm$ 0.84	1.21 $\pm$ 0.28	102.15 $\pm$ 15.12
试验组 (n=48)	治疗前	6.91 $\pm$ 0.70	1.45 $\pm$ 0.32	91.32 $\pm$ 12.45
	治疗后	4.85 $\pm$ 0.72	0.95 $\pm$ 0.14	113.45 $\pm$ 10.36
t/P 对照组内值		6.873/0.004	3.018/0.030	3.214/0.029
t/P 试验组内值		14.213/0.000	9.918/0.000	9.466/0.000
t/P 治疗后组间值		4.732/0.010	5.704/0.012	4.211/0.021

2.5 2 组不良反应发生情况比较 2 组治疗过程中均无头晕、头痛、胃肠道等不良反应发生。

表 4 2 组糖尿病肾病患者治疗前后 T 淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	时间	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组 (n=44)	治疗前	48.75 $\pm$ 5.10	30.45 $\pm$ 3.5	29.12 $\pm$ 3.52	1.05 $\pm$ 0.32
	治疗后	53.45 $\pm$ 7.12	33.45 $\pm$ 4.56	27.34 $\pm$ 3.53	1.22 $\pm$ 0.36
试验组 (n=48)	治疗前	48.12 $\pm$ 5.32	30.18 $\pm$ 4.24	29.45 $\pm$ 3.45	1.02 $\pm$ 0.36
	治疗后	60.12 $\pm$ 6.34	38.54 $\pm$ 4.20	25.12 $\pm$ 3.45	1.54 $\pm$ 0.40
t/P 对照组内值		3.560/0.026	3.440/0.027	2.368/0.035	2.341/0.036
t/P 试验组内值		10.045/0.000	9.705/0.000	6.149/0.007	6.695/0.005
t/P 治疗后组间值		4.753/0.021	5.573/0.012	3.049/0.032	4.020/0.026

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病三大微血管病变之一,我国 2 型糖尿病罹患糖尿病肾病在 10% ~ 40% 之间,有 1% ~ 6% 糖尿病肾病进展为终末期肾病患者^[7]。微量白蛋白尿是糖尿病肾脏早期症状之一,及时减少控制尿白蛋白排泄率是逆转糖尿病肾脏发展、保护肾脏的关键^[8]。血管紧张素 II 受体拮抗剂是目前循证医学证据支持最多的减少蛋白尿的药物之一,替米沙坦为一种特异性血管紧张素 II 受体拮抗剂,能竞争性结合血管紧张素受体 II (AT1 型),抑制 Ang II 的致病作用^[9];与其他受体拮抗剂比较,具有半衰期长 (24 h)、无蓄积作用的药效动力学特性,可有效降低肾小球内高压、高灌注、高滤过,减少蛋白尿^[10]。但糖尿病肾病患者还伴有血管内皮功能异常、肾小球微循环功能障碍,学者多主张联合其他药物治疗。

前列地尔主要成分为前列腺素 E1,属于细胞磷脂组成成分中多不饱和脂肪酸的氧化产物,其独特的脂微球包裹结构,能靶向作用于病变组织,更好地发挥药理效果^[11]。前列地尔可通过作用于血管平滑肌细胞,达到促进血管扩张、抑制血小板活化、改善血液流变学的目的^[12]。还能作用于交感神经末梢,阻止去甲肾上腺素释放,进而舒张血管平滑肌、增加肾血流量^[13]。也能通过抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统活性,改善肾脏血流动力学状态,保护肾功能^[14]。联合替米沙坦治疗可从不同途径发挥协同作用,提高治疗效果。程艳荣等^[15] 研究报道,前列地尔联合替米沙坦能够改善糖尿病肾病患者肾功能,提高临床疗效。本研究中,试验组糖尿病肾病患者 BUN、CysC 水平明显低于对照组,eGFR 明显高于对照组,支持上述文献观点。

糖尿病肾病发病机制尚未完全阐明,但与氧化应激反应、炎症浸润、免疫功能受损有关^[16-18]。高血糖可通过刺激线粒体呼吸链氧自由基释放等途径,导致肾脏细胞氧化应激损伤。SOD 属于一种自由基清除剂,是反映机体氧自由基的重要指标;MDA 是脂质过

氧化物,是反映机体过氧化强度的指标^[19-20]。糖尿病肾病也是一种炎性反应性疾病,血液中促炎/抗炎因子表达失衡,表现为 IL-6、TNF- α 、hs-CRP 异常升高^[21-22]。前列地尔能够靶向作用于炎症反应部位与病变血管,其脂微球包裹结构可保证药物释放持续稳定,能最大限度地拮抗局部炎症反应^[23]。本研究中,试验组糖尿病肾病患者血清 SOD 低于对照组,MDA 高于对照组,IL-6、TNF- α 、hs-CRP 水平明显低于对照组,与夏莉莉等^[24]、权泽威等^[25]文献报道基本相似。

糖尿病肾病患者红细胞免疫功能、黏附功能减退,伴有血管壁上循环免疫复合物堆积,导致机体细胞免疫功能受损,免疫功能低下^[26-27]。前列地尔也是一种具有广泛生理药理作用的药物,能够增强红细胞柔韧性、调节细胞功能、抑制免疫复合物及免疫损伤^[28-29]。动物实验证明,前列地尔可拮抗糖尿病肾病模型大鼠肾小管上皮细胞凋亡^[30]。刘超等^[31]研究认为,前列地尔具有优化机体免疫功能的作用,能改善糖尿病肾病患者 T 淋巴细胞功能紊乱状态。本研究中,试验组糖尿病肾病患者 CD3⁺、CD4⁺、D4⁺/CD8⁺ 明显高于对照组,CD8⁺ 明显低于对照组,这也是试验组肾功能优于对照组的内在作用机制之一。

本研究结果表明,替米沙坦联合前列地尔有助于改善糖尿病肾病患者肾功能,可能与缓解氧化应激、炎症反应、调节细胞免疫功能等因素有关。本研究的局限性在于仅仅分析了替米沙坦联合前列地尔缓解炎症反应、调节细胞免疫功能的现象,两者通过何种路径、何种机制影响炎症因子、T 淋巴细胞亚群,仍需要更多的基础研究与临床研究去证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

黄秀丽:设计研究方案,论文撰写,论文修改;吴艳:提出研究思路,实施研究过程,分析试验数据,论文审核;喻荷淋:资料搜集整理;刘阳:进行统计学分析

参考文献

- [1] 涂传发,王丽君,顾玲佳,等.雷公藤多苷联合替米沙坦对糖尿病肾病患者肾功能和血流变的影响[J].中华全科医学,2017,15(9):1527-1528,1595. DOI:10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.2017.09.023.
- [2] Li ZC, Cai YZ, Tang ZG, et al. Lipo-prostaglandin E1 improves renal hypoxia evaluated by BOLD-MRI in patients with diabetic kidney disease [J]. Clin Imaging, 2018, 50: 239-242. DOI:10.1016/j.clinimag.2018.04.015.
- [3] Fathy SA, Mohamed MR, Ali MAM, et al. Influence of IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α genetic variants on susceptibility to diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus patients [J]. Biomarkers, 2019, 24(1): 43-55. DOI:10.1080/1354750X.2018.1501761.

- [4] Lu P, Ji X, Wang J, et al. Activity of group 2 innate lymphoid cells is associated with chronic inflammation and dysregulated metabolic homeostasis in type 2 diabetic nephropathy [J]. Scand J Immunol, 2018, 87(2): 99-107. DOI:10.1111/sji.12637.
- [5] 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].中华内分泌代谢杂志,2014,30(10):893-942. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2014.10.020.
- [6] 中华医学会内分泌学分会.中国成人糖尿病肾脏病临床诊断的专家共识[J].中华内分泌代谢杂志,2015,31(5):379-385. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2015.05.001.
- [7] 中华医学会糖尿病分会微血管并发症学组.中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J].中华糖尿病杂志,2019,11(1):15-28. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2019.01.004.
- [8] Ahad A, Raish M, Ahmad A, et al. Development and biological evaluation of vesicles containing bile salt of telmisartan for the treatment of diabetic nephropathy[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(Sup 1):532-539. DOI:10.1080/21691401.2018.1430400.
- [9] 杨茜,徐谷根.苦碟子注射液静滴辅助替米沙坦口服治疗早期糖尿病肾病效果观察[J].山东医药,2017,57(47):90-92. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2017.47.029.
- [10] Agrawal A, Kamila S, Raddy S, et al. Effect of telmisartan on kidney function in patients with chronic kidney disease: an observational study [J]. J Drug Assess, 2016, 5(1): 24-28. DOI:10.1080/21556660.2016.1252380.
- [11] Jia C, Dai C, Bu X, et al. Co-administration of prostaglandin E1 with somatostatin attenuates acute liver damage after massive hepatectomy in rats via inhibition of inflammatory responses, apoptosis and endoplasmic reticulum stress [J]. Int J Mol Med, 2013, 31(2): 416-422. DOI:10.3892/ijmm.2012.1213.
- [12] 李洪清,安桂凤,郭德森,等.以前列地尔为主多因素干预Ⅲ期糖尿病肾病的疗效[J].实用医学杂志,2019,35(12):1996-1999. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2019.12.030.
- [13] 林素珍,蔡蔚斌.前列地尔治疗 2 型糖尿病肾病的疗效及对患者氧化应激水平的影响[J].吉林医学,2019,40(6):1297-1298. DOI:10.36969/j.issn.1004-0412.2019.06.053.
- [14] Wei W, An XR, Jin SJ, et al. Inhibition of insulin resistance by PGE1 via autophagy-dependent FGF21 pathway in diabetic nephropathy [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 9. DOI:10.1038/S41598-017-18427-2.
- [15] 程艳荣,王琳,张麦浪.前列地尔联合替米沙坦对早期糖尿病肾病患者血流变学和肾功能的影响[J].临床医学研究与实践,2017,2(22):21-22. DOI:10.19347/j.cnki.2069-1413.201722010.
- [16] Kou L, Du M, Liu P, et al. Anti-diabetic and anti-nephritic activities of grifola frondosa mycelium polysaccharides in diet-streptozotocin-induced diabetic rats via modulation on oxidative stress [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2019, 187(1): 310-322. DOI:10.1007/s1210-018-2803-6.
- [17] 赵晔,于磊,王秀颖,等.维生素 D3 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[J].疑难病杂志,2020,19(1):36-40. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.009.

慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的危险因素及与蛋白质能量消耗状态的相关性

依力米古丽·努尔买买提, 帕热旦木·托乎提, 李玉芳, 穆福娜依·艾尔肯, 张丽

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年基金(2018D01C188)

作者单位: 830001 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院肾脏疾病中心血液透析一科

通信作者: 李玉芳, E-mail: 827058192@qq.com

【摘要】目的 分析慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的危险因素及与蛋白质能量消耗(PEW)状态的相关性。**方法** 选择 2018 年 1 月—2019 年 1 月新疆医科大学第一附属医院肾脏疾病中心血液透析一科收治的慢性肾功能衰竭患者 220 例作为研究对象, 根据患者预后是否并发心血管疾病为心血管并发症组($n=96$)和无心血管并发症组($n=124$)。比较 2 组患者临床资料差异, 并采用基于多频生物电阻抗技术对患者 PEW 状态指标进行测定。采用多因素 Logistic 回归法对慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的危险因素进行分析; 并采用 Pearson 法对其与慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的相关性进行分析。**结果** 与无心血管并发症组比较, 心血管并发症组患者血清 cTnT、Hcy、CRP、TG、HDL-C、血糖、体脂比例、 $\text{OH} \geq 2\text{L}/\text{OH} < 2\text{L}$ 及 PEW 发生率明显升高, LDL-C 水平、瘦体质量、肌肉质量、体脂质量明显降低($t/\chi^2 = 22.817, 25.880, 48.518, 43.049, 50.728, 117.780, 11.827, 13.468, 39.106, 18.199, 4.108, 6.724, 7.436, P$ 均 < 0.001)。经多因素 Logistic 回归分析显示, cTnT、Hcy、CRP、TG、HDL-C、LDL-C 及 PEW 发生率是慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的独立危险因素。经 Pearson 相关性分析显示, 慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病与瘦体质量、肌肉质量、体脂重量呈负相关, 与体脂比例及 $\text{OH} \geq 2\text{L}/\text{OH} < 2\text{L}$ 水平呈正相关($r/P = -0.653/ < 0.001, -0.756/ < 0.001, -0.569/ < 0.001, 0.698/ < 0.001, 0.383/ 0.012$)。**结论** cTnT、Hcy、CRP、TG、HDL-C、LDL-C 及 PEW 发生率是慢性肾功能衰竭患者并发心血管疾病的危险因素, 且与 PEW 相关指标呈现一定相关性。

【关键词】 肾功能衰竭, 慢性; 心血管并发症; 危险因素; 多频生物电阻抗技术; 蛋白质能量消耗; 相关性

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.015

Risk factors of cardiovascular disease in patients with chronic renal failure and their relationship with protein and energy consumption Elimi Guri Nurmumati, Paredamu Tohtu, Li Yufang, Mufunai Elken, Zhang Li. Department of Hemodialysis, Kidney Disease Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830001, China

Corresponding author: Li Yufang, E-mail: 827058192@qq.com

Funding program: Youth Fund of Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2018D01C188)

【Abstract】Objective To analyze the risk factors of cardiovascular disease in patients with chronic renal failure and the relationship between the risk factors and the state of protein energy consumption (PEW). **Methods** From January 2018 to January 2019, 220 patients with chronic renal failure were selected as the study objects. According to the prognosis of patients with cardiovascular disease, cardiovascular complications group ($n=96$) and non-cardiovascular complications group ($n=124$). The difference of clinical data between the two groups was compared, and the PEW status index was measured based on the multi frequency bioelectrical impedance technology. Multivariate logistic regression was used to analyze the risk factors of cardiovascular disease in patients with chronic renal failure, and Pearson method was used to analyze the correlation between cardiovascular disease in patients with chronic renal failure. **Results** Compared with the group without cardiovascular complications, the incidence of Serum cTnT, Hcy, CRP, TG, HDL-C, blood glucose, body fat ratio, $\text{OH} \geq 2\text{L}/\text{OH} < 2\text{L}$ and PEW in the cardiovascular complications group was significantly higher, and LDL-C was significantly higher. C level, lean body mass, muscle mass and body fat mass decreased significantly ($t/\chi^2 = 22.817, 25.880, 48.518, 43.049, 50.728, 117.780, 11.827, 13.468, 39.106, 18.199, 4.108, 6.724, 7.436, P < 0.001$). Multiple logistic regression analysis showed that the incidence of cTnT, Hcy, CRP, TG, HDL-C, LDL-C and PEW were independent risk factors of cardiovascular disease in patients

with chronic renal failure. Pearson correlation analysis showed that cardiovascular disease in patients with chronic renal failure was negatively correlated with lean body mass, muscle mass and body fat weight, and positively correlated with body fat ratio and $OH \geq 2L/OH < 2L$ level ($r/P = -0.653/ < 0.001$, $-0.756/ < 0.001$, $-0.569/ < 0.001$, $0.698/ < 0.001$, $0.383/ 0.012$). **Conclusion** The incidence of cTnT, Hcy, CRP, TG, HDL-C, LDL-C and PEW are risk factors of cardiovascular disease in patients with chronic renal failure, and they are related to PEW.

【Key words】 Renal failure, chronic; Cardiovascular complications; Risk factors; Multifrequency bioimpedance technology; Protein energy consumption; Correlation

慢性肾功能衰竭(CRF)是临床较为常见的一种临床综合征,由各种慢性肾脏疾病逐渐发展形成,随着病情的进展,患者肾功能会缓慢的减退衰竭,又被临床称之为终末期肾病(ESRD)^[1]。临床研究显示,CRF 患者大都容易出现心血管疾病(CVD),同时 CVD 的发生是影响 CRF 患者预后的重要因素,临床主要以血管病变、瓣膜病变、缺血性心脏病、心脏功能障碍、心肌间质纤维化及左心室肥厚为主^[2]。其中左心室肥厚发生率相对较高,同时,合并 CVD 的患者病死率是普通人群的 15 倍左右,是其预后不良的重要危险因素^[3]。美国一项临床研究显示,对未行肾移植或透析治疗的 CRF 患者随访,合并外周动脉疾病、脑卒中、心力衰竭及冠心病等心血管事件的患者占 45% 左右,同时随着患者肾功能的减退,其心血管事件发生率随之升高^[4]。故临床需要加强对 CRF 合并 CVD 患者认识,从而改善其预后情况。另外,临床调查显示,全球至少 50% 左右的终末期肾病患者并发蛋白质能量消耗(PEW),对患者预后影响较大,增加其病死率和住院率^[5]。万传玲等^[6]研究显示,慢性肾衰竭患者并发心血管疾病与 PEW 状态存在一定相关性。故本研究分析慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的危险因素及与经多频生物电阻抗技术评估的 PEW 状态的相关性,为其临床诊治提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 1 月—2019 年 1 月新疆医科大学第一附属医院肾脏疾病中心血液透析一科收治的慢性肾衰竭患者 220 例作为研究对象,根据患者预后是否并发心血管疾病将其分为心血管并发症组($n=96$)和无心血管并发症组($n=124$)。2 组患者在性别、年龄、BMI 及原发性疾病等方面比较,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,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①参考第 9 版《内科学》中关于肾衰竭的诊断标准^[7],参考国际肾营养和代谢学会制定的关于 PEW 的诊断标准^[8];②患

表 1 2 组患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	心血管并发症组($n=96$)	无心血管并发症组($n=124$)	t/χ^2 值	P 值
男/女(例)	56/40	74/50	0.040	0.841
平均年龄(岁)	45.69 $\pm$ 3.54	45.87 $\pm$ 3.61	0.370	0.356
BMI(kg/m ²)	22.58 $\pm$ 1.03	22.71 $\pm$ 1.14	0.875	0.191
病程(年)	6.58 $\pm$ 1.37	6.75 $\pm$ 1.49	0.869	0.386
DBP(mmHg)	94.25 $\pm$ 2.65	94.58 $\pm$ 3.02	0.847	0.199
SBP(mmHg)	140.03 $\pm$ 5.36	140.52 $\pm$ 5.23	0.682	0.248
原发病[例(%)]				
先天性多囊肾	8(8.33)	12(9.68)	0.118	0.731
痛风性肾病	6(6.25)	9(7.26)	0.087	0.769
糖尿病肾病	33(34.38)	42(33.87)	0.006	0.938
慢性肾盂肾炎	14(14.58)	20(16.13)	0.099	0.753
慢性肾小球肾炎	35(36.46)	41(33.06)	0.276	0.600

者透析时间均在 1 个月以内,透析频率为 2 次/周。(2)排除标准:①合并有急性感染性疾病或肝硬化者;②透析模式改变者;③合并严重多器官功能障碍、休克及脓毒血症者;④妊娠、哺乳期患者;⑤依从性差,中途退出者。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 实验室相关指标检查:于入院后第 2 天清晨抽取患者空腹静脉血 5 ml,离心得到血清,冰箱 -75℃ 条件下保存,待测。采用酶联免疫吸附法测定血清心肌钙蛋白 T(cTnT)、同型半胱氨酸(Hcy)、一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)、C 反应蛋白(CRP),试剂盒购于天津市天硕生物制品有限公司,操作方法按照说明书执行。血清肌酐(Scr)、Hb、血 P 及血 Ca 水平采用全自动生化分析仪(AU5800,贝克曼库尔特)测定。采用葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖(FPG),过氧化物酶法测定血清胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。

1.3.2 PEW 状态相关指标评价^[9]:采用 BCM 仪器(InBody S10,韩国拜斯倍斯)基于多频生物电阻抗技术对受试者 PEW 状态指标进行测定,并对其瘦体质量、肌肉质量、体脂及水负荷进行观察记录。患者容量状态采用 OH 评定,OH < 2 L 为容量正常,OH $\geq$ 2 L 为

容量超负荷。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.00 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用卡方检验;采用 Pearson 法对 PEW 状态与慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的相关性进行分析;采用多因素 Logistic 回归法对慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的危险因素进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组实验室相关指标比较 与无心血管并发症组比较,心血管并发症组患者血清 cTnT、Hcy、CRP、TG、HDL-C、血糖明显升高,LDL-C 水平明显降低($P < 0.01$),见表 2。

表 2 2 组患者实验室相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	心血管并发 症组($n=96$)	无心血管并发 症组($n=124$)	t/χ^2 值	P 值
cTnT(ng/L)	113.05 ± 21.06	65.36 ± 8.74	22.817	<0.001
Hcy(ng/L)	657.21 ± 46.32	532.15 ± 24.13	25.880	<0.001
NO(μ mol/L)	46.52 ± 10.32	45.89 ± 10.25	0.451	0.326
ET-1(ng/L)	162.36 ± 12.32	160.25 ± 12.41	1.255	0.105
CRP(mg/L)	11.25 ± 1.69	3.69 ± 0.35	48.518	<0.001
P(mmol/L)	1.98 ± 0.23	2.03 ± 0.30	1.354	0.089
Ca(mmol/L)	2.15 ± 0.15	2.18 ± 0.16	1.417	0.079
Hb(g/L)	70.36 ± 4.52	70.14 ± 4.62	0.354	0.362
TC(mmol/L)	5.10 ± 0.75	4.98 ± 0.81	1.125	0.131
TG(mmol/L)	2.45 ± 0.29	1.15 ± 0.15	43.049	<0.001
HDL-C(mmol/L)	1.52 ± 0.11	0.87 ± 0.08	50.728	<0.001
LDL-C(mmol/L)	2.15 ± 0.32	2.97 ± 0.34	18.199	<0.001
FPG(mmol/L)	14.52 ± 0.75	5.12 ± 0.42	117.780	<0.001

2.2 2 组 PEW 状态指标比较 与无心血管并发症组患者比较,心血管并发症组患者瘦体质量、肌肉质量、体脂质量明显降低,体脂比例及 $OH \geq 2 L/OH < 2 L$ 明显升高($P < 0.01$),见表 3。

2.3 慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的危险因素 Logistic 回归分析 经多因素 Logistic 回归分析显示,cTnT、Hcy、CRP、TG、HDL-C、LDL-C 及 PEW 发生率是慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的独立危险因素($P < 0.05$),见表 4。

表 4 慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的危险因素 Logistic 回归分析

项 目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
cTnT	0.214	0.099	4.658	0.003	1.073	1.013 ~ 1.561
Hcy	0.579	0.231	5.987	0.028	1.421	1.120 ~ 2.914
CRP	0.230	0.103	8.912	0.040	1.516	1.021 ~ 1.576
TG	0.816	0.409	3.975	0.016	3.986	1.012 ~ 5.055
HDL-C	0.261	0.632	0.156	0.023	1.216	1.064 ~ 1.398
LDL-C	0.063	0.145	2.564	0.024	1.105	1.054 ~ 1.251
FPG	0.065	0.021	9.326	0.211	0.896	0.310 ~ 1.118

2.4 慢性肾衰竭患者并发心血管疾病与 PEW 状态的相关性 经 Pearson 相关性分析显示,慢性肾衰竭患者并发心血管疾病与瘦体质量、肌肉质量、体脂质量呈负相关($r = -0.653$ 、 -0.756 、 -0.569 , P 均 < 0.001),与体脂比例及 $OH \geq 2 L/OH < 2 L$ 水平呈正相关($r = 0.698$ 、 0.383 , $P < 0.001$ 、 0.012)。

3 讨论

多项研究显示,肾透析患者并发 CVD 的病理基础主要有左心室肥厚及动脉粥样硬化^[10-11]。CRF 患者具备引发患者动脉粥样硬化及冠状动脉灌注不良的多种危险因素,同时也具有引发患者发生左心室功能及结构异常等多种危险因素^[12]。主要包含以下几个方面:(1)CRF 患者会引发一定程度的贫血、凝血肝功能障碍及脂代谢紊乱等,这些因素会造成机体代谢及心肌营养障碍,最终造成患者心肌细胞死亡,进而引发左心室代偿性肥厚及扩张,最终导致心功能衰竭等心血管并发症的发生。(2)CRF 患者常并发一定程度的高血压及糖尿病^[13]。本研究结果也提示并发心血管疾病的 CRF 患者血糖、血压水平相对较高。与 Avci 等^[14]研究结果相符合,表明在透析之前 CRF 患者就存在一定的心血管疾病风险。(3)随着肾透析治疗技术的不断进步及广泛开展,促使终末期肾病患者的生存率相对升高,但 CVD 病死率也相对升高。目前临床上尚未有权威性解释说明,但是多项临床研究显示,CRP 等多种生物活性小分子对其具有重要的促进作用^[15]。这可能是由于炎症反应组织中释放的细胞因子,会对肝脏产生刺激,促使其释放 CRP 等急性期蛋白质。CRP 可以促进单核-巨噬系统产生大量的黏

表 3 2 组患者 PEW 指标水平比较

组 别	例数	瘦体质量(kg)	肌肉质量(kg)	体脂质量(kg)	体脂比例(%)	$OH \geq 2L/OH < 2L$ [例(%)]
心血管并发症组	96	36.85 ± 5.63	33.10 ± 6.52	23.05 ± 3.61	41.25 ± 2.14	70(72.92)/26(27.08)
无心血管并发症组	124	39.87 ± 5.23	37.89 ± 3.98	26.78 ± 3.75	37.89 ± 2.05	60(48.39)/64(51.61)
t/χ^2 值		4.108	6.724	7.436	11.827	13.468
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.000

附分子及细胞因子,引发动脉粥样硬化的形成,还可通过补体激活系统,对其血管产生影响,损伤其内皮,形成易损斑块,最终并发缺血性心脏病^[16]。

多项研究显示,Hcy 是 CVD 发生的独立危险因素^[17]。本研究结果也提示,Hcy 参与了 CRF 患者并发 CVD 的过程。Hcy 水平升高的诱发因素尚未清楚,可能是机体代谢抑制、合成增加引起的。Mathew 等^[18]研究显示,CRF 患者高水平的 Hcy 是引发患者发生左心室肥厚及动脉粥样硬化的独立危险因素。Hcy 对于患者血管损伤的机制在于对内皮细胞功能和结构的损伤^[19],可能与以下几个因素有关:(1)基因水平的损伤。Hcy 可造成平滑肌细胞内的相关基因表达升高,诱导平滑肌细胞分裂增殖。(2)致栓作用。Hcy 还可抑制内皮细胞血栓调理蛋白的活性,促使内皮细胞表面的硫酸肝素与抗凝血酶Ⅲ结合减少,降低内皮细胞抗凝活性^[20]。(3)NO 相对或绝对不足。高水平的 Hcy 会一定程度降低 NO 的合成释放,损伤 NO 介导的内皮依赖型血管舒张功能,易造成血栓和血管收缩。(4)在金属离子的影响下,Hcy 会通过产生一定的过氧化氢、羟自由基等,对其血管内皮细胞进行损伤,诱导细胞异常死亡^[21]。肌肉质量、脂肪量及体质量指数等参数是评价 PEW 的重要临床指标^[22]。本研究结果显示,PEW 的发生是 CRF 患者并发 CVD 的危险因素,两者存在一定的相关性。这主要是由于当患者并发 PEW 时,机体存在一定的能量代谢障碍,正常人体体缺乏能量时,主要通过代谢脂肪供能,但对于 CRF 患者,常常表现为瘦体质量和脂肪成比例减少等机体组织的进行性消耗,造成免疫能力下降,促进 CRP 等炎症因子的释放,间接增加 CVD 的发生风险^[23]。

综上所述,cTnT、Hcy、CRP、TG、HDL-C、LDL-C 及 PEW 发生率是慢性肾衰竭患者并发心血管疾病的危险因素,且与经多频生物电阻抗技术评估的 PEW 相关指标呈现一定相关性,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

依力米古丽·努尔买买提、张丽:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;帕热旦木·托乎提、李玉芳:提出研究思路,分析试验数据,进行统计学分析,论文审核;穆福娜依·艾尔肯:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] Zaki MSE. The effect of Hepatitis C Virus infection on cardiovascular complications in end stage kidney disease patients on regular hemodialysis[J]. *Electronic Physician*, 2017, 9(2):3857-3861. DOI:10.19082/3857.
- [2] Kuro OM. Klotho and endocrine fibroblast growth factors; markers of

chronic kidney disease progression and cardiovascular complications[J]. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2019, 34(1):15-21. DOI:10.1093/ndt/gfy126.

- [3] Giardino I, Maria D' Apolito, Brownlee M, et al. Vascular toxicity of urea, a new "old player" in the pathogenesis of chronic renal failure induced cardiovascular diseases[J]. *Turk Pediatri Arsivi*, 2018, 52(4):187-193. DOI: 10.5152/TurkPediatriArs. 2017.6314.
- [4] Nwose EU, Richards RS, Bwititi PT, et al. Prediabetes and cardiovascular complications study (PACCS): International collaboration 4 years' summary and future direction[J]. *BMC Research Notes*, 2017, 10(1):730-735. DOI:10.1186/s13104-017-3017-7.
- [5] Querido S, Quadros Branco P, Sousa HS, et al. Peritoneal dialysis is a reasonable option in patients with cardiovascular disease[J]. *Clinical Nephrology*, 2017, 87(3):111-116. DOI: 10.5414/CN108957.
- [6] 万传玲, 薛蓉, 湛游洋, 等. N-乙酰半胱氨酸保护下给药钆-二乙三胺五乙酸后慢性肾衰大鼠的尿液代谢组学研究[J]. *分析化学*, 2017, 45(9):1271-1277. DOI:10.11895/j.issn.0253.3820.170307.
- [7] 郑淑蓉, 陈琰, 潘敏, 等. 血清可溶性 Klotho 蛋白与维持性血液透析患者心血管疾病及预后的关系[J]. *中华肾脏病杂志*, 2017, 33(4):264-270. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2017.04.004.
- [8] Turcot V, Lu Y, Highland HM, et al. Protein-altering variants associated with body mass index implicate pathways that control energy intake and expenditure in obesity[J]. *Nature Genetics*, 2017, 50(1):26-41. DOI:10.1530/ey.16.11.2.
- [9] Viktoria G, Serena B, Alexa-Braun CA, et al. ANGPTL8 Blockade With a Monoclonal Antibody Promotes Triglyceride Clearance, Energy Expenditure, and Weight Loss in Mice[J]. *Endocrinology*, 2017, 158(5):1252-1259. DOI: 10.1210/en.2016-1894.
- [10] Giorgi AD, Storari A, Forcellini S, et al. Body mass index and metabolic syndrome impact differently on major clinical events in renal transplant patients[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(20):4654-4660. DOI:10.1016/j.jss.2017.11.987.
- [11] Moradi H, Streja E, Vaziri N. ESRD-induced dyslipidemia-Should management of lipid disorders differ in dialysis patients[J]. *Semin Dial*, 2018, 12(8):196-205. DOI:10.1016/j.cqn.2018.06.001.
- [12] Rysz J, Rysz-Gorzynska M, Bartnicki P, et al. Lipoprotein subfractions, uric acid and cardiovascular risk in end-stage renal disease (ESRD) patients[J]. *Current Vascular Pharmacology*, 2017, 15(2):123-134. DOI: 10.2174/1570161114666161021110013.
- [13] Belo L, Rocha S, Valente MJ, et al. Hepsidin and diabetes are independently related with soluble transferrin receptor levels in chronic dialysis patients[J]. *Renal Failure*, 2019, 41(1):662-672. DOI: 10.1080/0886022X.2019.1635893.
- [14] Avci E, Avci GA, Ozelik B, et al. Transforming growth factor beta-1 An important biomarker for developing cardiovascular diseases in chronic renal failure[J]. *Bratislavské Lekárske Listy*, 2017, 118(3):175-178. DOI:10.4149/BLL_2017_035.

- [15] Brown MA, Howatson G, Quin E, et al. Energy intake and energy expenditure of pre-professional female contemporary dancers[J]. PLoS One, 2017, 12 (2): e0171998. DOI: 10.1371/journal.pone.0171998.
- [16] Wang J, Li XB, Huang P, et al. Change of peripheral blood Treg/Th17 in cognitive impairment with chronic renal failure patients[J]. Cellular Physiology & Biochemistry International Journal of Experimental Cellular Physiology Biochemistry & Pharmacology, 2018, 45 (1): 281-290. DOI: 10.1159/000486809.
- [17] Rogan A, McCarthy K, McGregor G, et al. Quality of life measures predict cardiovascular health and physical performance in chronic renal failure patients[J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0183926. DOI: 10.1371/journal.pone.0183926.
- [18] Mathew RO, Gosmanova EO, Sidhu MS. Targeting Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease: Is Primary Prevention with Aspirin Ready for Prime Time[J]. Cardiovascular Drugs & Therapy, 2018, 32(3): 241-243. DOI: 10.1007/s10557-018-6803-0.
- [19] Murahashi T, Kamiyama K, Osato T, et al. Treatment strategy and results of carotid endarterectomy in chronic renal failure patients[J]. No Shinkei Geka, 2017, 45 (2): 127-132. DOI: 10.11477/mf.1436203462.
- [20] Futrakul N, Futrakul P. Improved vascular repair is relevant to enhanced renal function with vasodilators in early stage of chronic kidney disease[J]. Nephron Clinical Practice, 2010, 4(1): 153-157. DOI: 10.2478/abm-2010-0018.
- [21] 陈富华, 李银辉, 张楠, 等. 慢性肾衰竭患者治疗前后血清 CysC, Hcy 及 PTH 水平变化及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17 (3): 460-463. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.03.015.
- [22] Etta PK, Sharma RK, Gupta A. Study of chronic kidney disease-mineral bone disorders in newly detected advanced renal failure patients: A Hospital-based cross-sectional study[J]. Saudi Journal of Kidney Diseases & Transplantation An Official Publication of the Saudi Center for Organ Transplantation Saudi Arabia, 2017, 28(4): 874-885. DOI: 10.4103/0971-4065.101249.
- [23] Sabatino A, Regolisti G, Gandolfi I, et al. Diet and enteral nutrition in patients with chronic kidney disease not on dialysis: A review focusing on fat, fiber and protein intake[J]. Journal of nephrology, 2017, 30(suppl 2): 743-754. DOI: 10.1007/s40620-017-0435-5.

(收稿日期: 2020-02-06)

(上接 708 页)

- [18] 冷伟, 刘春莹, 冯露夷, 等. 补阳还五汤辅助早期糖尿病肾病的疗效及对肾纤维化、氧化应激反应的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(2): 155-158. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.02.012.
- [19] 王凤, 马燕云, 贾运滨, 等. 基于中医治疗的糖尿病肾病与氧化应激相关性的 Meta 分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2019, 20(7): 596-601. DOI: 10.3969/j.issn.1009-587X.2019.07.009.
- [20] 田瑞, 周芸. 三种常用公式对糖尿病肾病合并高血压患者肾小球滤过率估算的准确性比较[J]. 中国医药, 2019, 14(2): 253-255. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2019.02.024.
- [21] Winter L, Wong LA, Jerums G, et al. Use of readily accessible inflammatory markers to predict diabetic kidney disease [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 225. DOI: 10.3389/fendo.2018.00225.
- [22] 任薇, 包蓓艳, 周小帅. 四种指标联合检测对糖尿病肾病早期诊断的临床价值[J]. 中国现代医生, 2019, 57(11): 129-132.
- [23] Luo C, Li T, Zhang C, et al. Therapeutic effect of alprostadil in diabetic nephropathy: possible roles of angiotensin-2 and IL-18 [J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34 (3): 916-928. DOI: 10.1159/000366309.
- [24] 夏莉莉, 汤瑜斌, 邵侃. 前列地尔对糖尿病肾病患者血液流变学、免疫功能及 MDA、SOD、ROS 的影响[J]. 海南医学院学报, 2016, 22 (14): 1528-1531. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20160330.011.
- [25] 权泽威, 孔天宇, 哈利, 等. 前列地尔对老年糖尿病肾病患者氧化应激、炎症因子及血管内皮因子的影响[J]. 实用老年医学, 2018, 32(6): 572-576. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9196.2018.06.020.
- [26] Guo H, Pan C, Chang B, et al. Triptolide improves diabetic nephropathy by regulating th cell balance and macrophage infiltration in rat models of diabetic nephropathy [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2016, 124 (6): 389-398. DOI: 10.1055/s-0042-106083.
- [27] 张丽萍. 左卡尼汀联合前列地尔治疗糖尿病肾病临床疗效及安全性分析[J]. 中国现代医生, 2019, 57(15): 46-48.
- [28] Liu H, Chen HY, Liu WX, et al. Prostaglandin E₂ restrains human Treg cell differentiation via E prostanoïd receptor 2-protein kinase A signaling [J]. Immunol Lett, 2017, 191: 63-72. DOI: 10.1016/j.imlet.2017.09.009.
- [29] 刘海琴, 胡文博, 刘文花, 等. 前列地尔序贯疗法治疗老年早期糖尿病肾病患者对肾功能、炎症水平、免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39 (4): 790-793. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.04.008.
- [30] Mou Y, Zhang Y, Guo C, et al. Integrated treatment of prostaglandin E1 and angiotensin-converting enzyme inhibitor in diabetic kidney disease rats: Possible role of antiapoptosis in renal tubular epithelial cells [J]. DNA Cell Biol, 2018, 37 (2): 133-141. DOI: 10.1089/dna.2017.3690.
- [31] 刘超, 刘彦, 李强, 等. 前列地尔对早期糖尿病肾病患者肾功能、氧化应激及免疫功能的影响[J]. 中华医师杂志, 2017, 19(3): 396-398, 402. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2017.03.020.

(收稿日期: 2020-01-03)

血清 miR-125b、miR-142-3p 表达与脓毒症预后的关系及其预测价值

徐志育, 谢晓红, 朱永, 周忠义, 雷振林

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(1801032034A2004)

作者单位: 570311 海口, 海南省人民医院重症医学科

通信作者: 谢晓红, E-mail: lily4591@163.com

【摘要】目的 分析血清微小 RNA(miR)-125b、miR-142-3p 表达与脓毒症患者预后的关系及其预测价值。**方法** 选择 2017 年 1 月—2019 年 10 月海南省人民医院重症医学科重症监护室(ICU)住院的脓毒症患者 100 例作为脓毒症组,同时选取 ICU 非脓毒症患者 90 例作为对照组,脓毒症患者根据 28 d 预后情况分为存活亚组(63 例)和死亡亚组(37 例)。2 组患者入 ICU 后 24 h 内,进行 APACHE II、SOFA 评分,检测血清 miR-125b、miR-142-3p 表达水平和炎症因子水平。Pearson 法分析 miR-125b 和 miR-142-3p 与炎症因子相关性;受试者工作特征曲线(ROC)评估血清 miR-125b 和 miR-142-3p 对脓毒症患者预后的预测价值。**结果** 脓毒症组患者血清 WBC、CRP、PCT、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平及 miR-125b、miR-142-3p 的表达水平显著高于对照组($t=8.828、5.764、21.790、18.763、35.251、20.490、10.942、14.427$, P 均=0.000);存活亚组患者入院时 APACHE II 评分、SOFA 评分、PCT、TNF- α 、IL-1 β 、miR-125b 和 miR-142-3p 水平均低于死亡亚组($t=8.264、5.564、6.412、25.032、10.943、7.905、7.154$, P 均=0.000);miR-125b 与 APACHE II 评分、SOFA 评分、CRP、PCT、TNF- α 和 IL-6 呈正相关($r/P=0.364/0.006、0.313/0.017、0.398/0.001、0.234/0.028、0.437/0.001、0.204/0.041$),miR-142-3p 与 PCT、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 呈正相关($r/P=0.293/0.021、0.512/0.000、0.344/0.009、0.418/0.000$);血清 miR-125b 表达水平预测脓毒症患者预后的曲线下面积(AUC)为 0.746,最佳临界值为 1.74,敏感度和特异度分别为 79.57% 和 72.26%,约登指数为 0.518;血清 miR-142-3p 预测患者预后的 AUC 为 0.685,最佳临界值为 2.68,敏感度和特异度分别为 68.03% 和 71.15%,约登指数为 0.392。**结论** 脓毒症患者血清 miR-125b 和 miR-142-3p 表达升高,且与不良预后有关,二者均与炎症因子具有一定相关性,其中 miR-125b 对脓毒症患者预后的预测效能较好。

【关键词】 脓毒症;微小 RNA-125b;微小 RNA-142-3p;预后

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.016

Relationship between the expression of serum miR-125b and miR-142-3p and the prognosis of sepsis and its predictive value Xu Zhiyu, Xie Xiaohong, Zhu Yong, Zhou Zhongyi, Lei Zhenlin. Department of Critical Medicine, Hainan People's Hospital, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Xie Xiaohong, E-mail: lily4591@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Health and Family Planning Industry in Hainan Province (1801032034A2004)

【Abstract】Objective To analyze the relationship between the expression of serum microRNA (miR) 125b and miR-142-3p and the prognosis of sepsis patients and their predictive value. **Methods** One hundred patients with sepsis admitted to the Department of Intensive Medicine of the People's Hospital of Hainan Province from January 2017 to October 2019 were selected as the sepsis group. At the same time, 90 patients with non-septic ICU were selected as the control group, and the patients with sepsis were divided into survival subgroup (63 cases) and death subgroup (37 cases) according to the 28-day prognosis. Two groups of patients were scored with APACHE II and SOFA within 24 hours after entering the ICU. Serum miR-125b and miR-142-3p expression levels and inflammatory factor levels were detected. Pearson method was used to analyze the correlation between miR-125b and miR-142-3p and inflammatory factors; the receiver operating characteristic curve (ROC) evaluated the predictive value of serum miR-125b and miR-142-3p in the prognosis of sepsis patients. **Results** Serum levels of WBC, CRP, PCT, TNF- α , IL-6, IL-1 β and expression levels of miR-125b and miR-142-3p in the sepsis group were significantly higher than those in the control group ($t=8.828, 5.764, 21.790, 18.763, 35.251, 20.490, 10.942, 14.427$, $P=0.000$). The APACHE II score, SOFA score, PCT, TNF- α , IL-1 β , miR-125b and miR-142-3p levels of patients in the

survival subgroup were lower than those in the death subgroup ($t = 8.264, 5.564, 6.412, 25.032, 10.943, 7.905, 7.154$), $P = 0.000$); miR-125b was positively correlated with APACHE II score, SOFA score, CRP, PCT, TNF- α and IL-6 ($r/P = 0.364/0.006, 0.313/0.017, 0.398/0.001, 0.234/0.028, 0.437/0.001, 0.204/0.041$), miR-142-3p was positively correlated with PCT, TNF- α , IL-6 and IL-1 β ($r/P = 0.293/0.021, 0.512/0.000, 0.344/0.009, 0.418/0.000$). Serum miR-125b expression level predicts the area under the curve (AUC) of the prognosis of sepsis patients is 0.746, the optimal cut-off value is 1.74, the sensitivity and specificity are 79.57% and 72.26%, and the Youden index is 0.518. Serum miR-142-3p predicted the prognosis of patients with AUC of 0.685, the best cut-off value was 2.68, sensitivity and specificity were 68.03% and 71.15%, and the Youden index was 0.392. **Conclusion** The expression of serum miR-125b and miR-142-3p in patients with sepsis is increased, and is related to poor prognosis. Both of them have a certain correlation with inflammatory factors. Among them, miR-125b has a better predictive effect on the prognosis of patients with sepsis.

【Key words】 Sepsis; microRNA-125b; microRNA 142-3p; Prognosis

脓毒症是一种由感染、创伤等损伤因素引发的全身炎症反应综合征(SIRS)^[1],该综合征在重症医学科(ICU)较为多见,因此 ICU 患者的病死率通常高于其他科室^[2]。目前,关于脓毒症的发病机制尚未完全明确,大多数学者认为其发病的核心为炎症反应失衡^[3],当机体受到创伤、感染等损伤时,机体的各种细胞和体液系统被激活,产生大量的炎症介质,炎症介质又会作用于各种炎症细胞,产生级联放大效应,加重机体的炎症反应,导致全身炎症反应失衡,最终发展成全身多器官功能障碍^[4]。因此,控制全身炎症反应失衡,有助于脓毒症患者的治疗和预后^[5]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类由内源性基因编码的单链 RNA,其长度为 18 ~ 22 个核苷酸,主要通过降解信使 RNA (mRNA) 或抑制翻译过程调控转录后基因表达,从而参与发育、炎症疾病、脓毒症和衰老等过程^[6-7]。研究发现,miR-125b 和 miR-142-3p 与炎症反应密切相关,可以通过多种途径调控炎症因子的表达^[8-9]。因此,现检测患者血清 miR-125b 和 miR-142-3p 的表达,分析其与相关临床指标和实验室指标的关系,及其对脓毒症患者的预后评估价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 1 月—2019 年 10 月海南省人民医院重症医学科重症监护室(ICU)住院的脓毒症患者 100 例作为脓毒症组,其中腹腔感染 34 例,肺部感染 38 例,颅内感染 10 例,泌尿系统感染 18 例。男 43 例,女 57 例,年龄 25 ~ 83 (61.43 $\pm$ 20.52) 岁,急性生理和慢性健康评分量表 (APACHE II) 评分为 (17.22 $\pm$ 7.17) 分,序贯器官衰竭估计评分 (SOFA) 为 (7.25 $\pm$ 3.51) 分。另选取同期于医院 ICU 住院的非脓毒症患者 90 例作为对照组,其中脑出血 35 例,脑梗死 42 例,其他 13 例。男 42 例,女 48 例,年龄 27 ~ 80 (58.92 $\pm$ 18.46) 岁,APACHE II 评分为 (15.96 $\pm$ 5.63) 分,SOFA 评分为 (6.52 $\pm$ 3.75) 分。2 组患者性

别、年龄、APACHE II 评分和 SOFA 评分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,患者或家属对研究知情同意且签署同意书。

1.2 选择标准 (1) 纳入标准:①符合 2016 年美国重症医学会和欧洲重症医学会联合发布的脓毒症 Sepsis3.0 诊断标准^[10];②年龄 > 18 岁。(2) 排除标准:①入院 1 d 内死亡者;②入院前使用激素药物;③合并恶性肿瘤的患者;④患有慢性肝脏疾病、肾脏疾病和自身免疫性疾病的患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 APACHE II、SOFA 评分相关指标检测^[11]:2 组患者进入 ICU 后 24 h 内,根据 APACHE II 的相关计算参数收集体温、血钾、血钠等相应指标的最差值,并计算 APACHE II 评分;按照 SOFA 的相关计算参数收集血小板、多巴胺、胆红素等相应指标的最差值,计算 SOFA 评分。

1.3.2 WBC、PCT 和 CRP 检测:患者进入 ICU 24 h 内采集肘静脉血 10 ml,放置 1 h 后,离心收集上层血清。其中 5 ml 血清使用全自动生化分析仪检测白细胞总数 (WBC)、降钙素原 (PCT) 和 C 反应蛋白 (CRP)。另 5 ml 血清放置于 -80℃ 超低温冰箱保存。

1.3.3 血清炎症因子检测:将储存在超低温冰箱的血清取出,置于室温融化,使用酶联免疫吸附试验法检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β) 和 IL-6,试剂盒均购自 Abcam 公司,所有样品处理和操作严格按照试剂盒说明进行。

1.3.4 血清 miR-125b 和 miR-142-3p 表达检测:使用血清 RNA 提取试剂盒 (Life Technologies 公司) 提取血清总 RNA,使用 Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific 公司) 检测总 RNA 浓度和纯度,采用北京天根生化科技有限公司的 RNA 逆转录试剂盒将提取总 RNA 逆转录成 cDNA。以 cDNA 为模板进行实时荧光

定量 PCR:反应体系 20 μ l, 2 $\times$ qPCR Mix 10 μ l、上下游引物各 2 μ l、cDNA 1 μ l、ddH₂O 7 μ l。反应过程:预变性 95 $^{\circ}$ C、15 min, 72 $^{\circ}$ C、34 s, 94 $^{\circ}$ C、29 s, 60 $^{\circ}$ C、34 s,重复循环 40 次;溶解曲线 72 $^{\circ}$ C、1 min。以 U6 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-125b 和 miR-142-3p 的相对表达量,以表示目的基因表达水平。引物序列见表 1。

表 1 不同基因的引物序列				
基 因	引物序列			
miR-125b	上游引物	5'-ACACTCCAGCTGGG	TCCCTGAGAC-	
		CCTAACTT-3'		
	下游引物	5'-TGTCGTGGAGTCGGCAATTC-3'		
miR-142-3p	上游引物	5'-ACACTCCAGCTGGGTGTAGTGTTC		
		TACTT-3'		
	下游引物	5'-CTCAACTGCTGCTGGAGTCGGCAAT-		
		TCAGTTGAGTCCATAAA-3'		
U6	上游引物	5'-CTCGCTTCGGCAGCACAA-3'		
	下游引物	5'-AACGCTTCACGAATTTTCGT-3'		

1.4 统计学方法 使用 SPSS 21.0 软件和 GraphPad Prism 7.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 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,比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 检验,使用受试者工作特征曲线 (ROC) 评估 miR-125b 和 miR-142-3p 对脓毒症预后的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组临床资料比较 脓毒症组 WBC、CRP、PCT、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、miR-125b 和 miR-142-3p 水平高于对照组 (P 均 < 0.01), 2 组 APACHE II 评分和 SOFA 评分比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05), 见表 2。

表 2 2 组患者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)				
项 目	对照组 ($n = 90$)	脓毒症组 ($n = 100$)	t 值	P 值
APACHE II 评分(分)	15.96 $\pm$ 5.63	17.22 $\pm$ 7.17	1.337	0.183
SOFA 评分(分)	6.25 $\pm$ 3.75	7.25 $\pm$ 3.51	1.898	0.059
WBC ($\times 10^9/L$)	8.73 $\pm$ 1.92	14.87 $\pm$ 6.34	8.828	0.000
CRP (mg/L)	83.21 $\pm$ 47.14	132.88 $\pm$ 68.42	5.764	0.000
PCT (μ g/L)	0.36 $\pm$ 0.17	14.63 $\pm$ 6.21	21.790	0.000
TNF- α (pg/ml)	53.57 $\pm$ 21.42	197.93 $\pm$ 52.41	18.763	0.000
IL-6 (pg/ml)	18.36 $\pm$ 6.75	384.34 $\pm$ 98.27	35.251	0.000
IL-1 β (pg/ml)	4.29 $\pm$ 1.53	17.33 $\pm$ 5.86	20.490	0.000
miR-125b	0.97 $\pm$ 0.33	1.73 $\pm$ 0.58	10.942	0.000
miR-142-3p	1.23 $\pm$ 0.42	2.63 $\pm$ 0.83	14.427	0.000

2.2 脓毒症患者 2 亚组临床资料比较 根据脓毒症

患者 28 d 病死情况将患者分为存活亚组(63 例)和死亡亚组(37 例)。存活亚组患者入院时 APACHE II 评分、SOFA 评分、PCT、TNF- α 、IL-1 β 、miR-125b 和 miR-142-3p 水平均低于死亡亚组 (P 均 < 0.01); 而 2 亚组 WBC、CRP 和 IL-6 水平比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05), 见表 3。

表 3 2 亚组患者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)				
项 目	存活亚组 ($n = 63$)	死亡亚组 ($n = 37$)	t 值	P 值
APACHE II 评分(分)	13.87 $\pm$ 4.22	22.92 $\pm$ 6.74	8.264	0.000
SOFA 评分(分)	5.94 $\pm$ 2.97	9.48 $\pm$ 3.24	5.564	0.000
WBC ($\times 10^9/L$)	15.33 $\pm$ 4.62	14.09 $\pm$ 5.82	1.175	0.243
CRP (mg/L)	127.88 $\pm$ 46.24	141.39 $\pm$ 42.10	1.457	0.148
PCT (μ g/L)	12.52 $\pm$ 4.84	18.22 $\pm$ 3.13	6.412	0.000
TNF- α (pg/ml)	142.58 $\pm$ 26.38	292.17 $\pm$ 32.67	25.032	0.000
IL-6 (pg/ml)	375.84 $\pm$ 63.58	398.81 $\pm$ 47.28	1.908	0.059
IL-1 β (pg/ml)	13.57 $\pm$ 4.25	23.73 $\pm$ 4.86	10.943	0.000
miR-125b	1.53 $\pm$ 0.36	2.07 $\pm$ 0.27	7.905	0.000
miR-142-3p	2.31 $\pm$ 0.44	3.17 $\pm$ 0.46	7.154	0.000

2.3 miR-125b 和 miR-142-3p 与脓毒症相关指标的关系 Pearson 相关性分析显示,miR-125b 与 APACHE II 评分、SOFA 评分、CRP、PCT、TNF- α 和 IL-6 呈正相关 (P 均 < 0.05), 与 WBC 和 IL-1 β 无明显相关性 ($P > 0.05$); miR-142-3p 与 PCT、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 呈正相关 (P 均 < 0.05), 与 APACHE II 评分、SOFA 评分、WBC 和 CRP 无明显相关性 ($P > 0.05$), 见表 4。

表 4 miR-125b 和 miR-142-3p 与脓毒症相关指标的关系				
项 目	miR-125b		miR-142-3p	
	r 值	P 值	r 值	P 值
APACHE II 评分	0.364	0.006	0.125	0.181
SOFA 评分	0.313	0.017	0.111	0.237
WBC	0.039	0.694	0.116	0.209
CRP	0.398	0.001	0.131	0.172
PCT	0.234	0.028	0.293	0.021
TNF- α	0.437	0.001	0.512	0.000
IL-6	0.204	0.041	0.344	0.009
IL-1 β	0.123	0.182	0.418	0.000

2.4 miR-125b 和 miR-142-3p 对脓毒症患者的预后价值 绘制 ROC 曲线评估 miR-125b 和 miR-142-3p 对脓毒症患者预后的预测价值,血清 miR-125b 的 AUC 为 0.746 (95% CI 0.676 ~ 0.817), 最佳临界值为 1.74, 敏感度和特异度分别为 79.57% 和 72.26%, 约登指数为 0.518; 血清 miR-142-3p 的 AUC 为 0.685 (95% CI 0.609 ~ 0.760), 最佳临界值为 2.68, 敏感度和特异度分别为 68.03% 和 71.15%, 约登指数为 0.392, 见图 1。

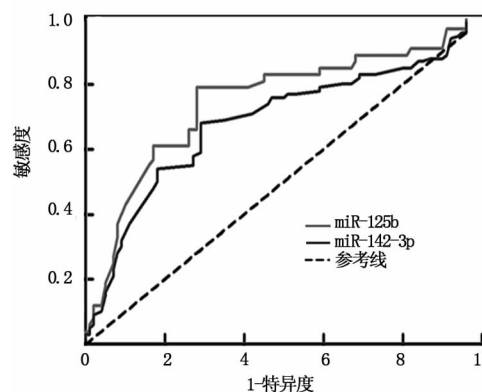


图1 miR-125b 和 miR-142-3p 对脓毒症预测价值的 ROC 曲线分析

3 讨论

脓毒症是 ICU 危重患者死亡的主要原因之一,据统计,全球每年脓毒症新发病例约 3 150 万例,每年死亡例数达到 530 万例^[12]。有学者提出早期预测脓毒症患者死亡风险,及时给予个体化治疗具有十分重要的临床意义^[13]。现有生物标志物如 IL-6、CRP、WBC 和 PCT 是评价感染的指标,但这些指标在一些非感染性疾病中也升高,对于死亡风险的预测能力有限^[14]。近几年研究显示,由于 miR 在血液中的稳定性强,化学结构简单,因此,循环系统中 miR 用作生物标志物的性能可能优于其他血清标志物^[15]。多项研究显示 miR-125b 和 miR-142-3p 是某些炎症性疾病的风险标志物^[8, 9, 16],并且 miR-125b 和 miR-142-3p 参与了脓毒症的发病过程^[17-18],提示 miR-125b 和 miR-142-3p 可能作为脓毒症的死亡风险标志物。

本次研究中,脓毒症组患者血清 WBC、CRP、PCT、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平明显高于对照组,李爱林等^[19]的研究也显示,脓毒症患者血清 CRP 和 PCT 水平高于健康成年人。本研究采用多项炎症因子指标,进一步验证了脓毒症是一种全身炎症反应综合征,机体存在炎症反应失衡^[20],同时也检测了血清中 miR-125b 和 miR-142-3p 表达水平,发现脓毒症组患者血清 miR-125b 和 miR-142-3p 表达水平显著高于对照组,Zhu^[21]的研究也发现,miR-125b 在脓毒症组患者血清中表达水平显著增加,上述研究均提示 miR-125b 和 miR-142-3p 与脓毒症有关。有 miR 测序研究显示,miR-125b 是炎症疾病的潜在标志物^[16],本次研究发现,死亡亚组患者入院时血清 miR-125b 相对表达量高于存活亚组。ROC 曲线结果显示,血清 miR-125b 预测脓毒症患者预后的 AUC 为 0.746,最佳临界值为 1.74,敏感度和特异度分别为 79.57% 和 72.26%,提

示 miR-125b 也可以作为脓毒症患者死亡风险增加的生物标志物。而 Zhu^[21]的研究中血清 miR-125b 预测脓毒症患者预后的 AUC 为 0.658,低于本次研究,可能是患者病情的严重程度不同及基础疾病不同造成的。本研究还发现,死亡亚组患者入院时 APACHE II 评分、SOFA 评分、PCT、TNF- α 和 IL-1 β 水平也显著高于存活亚组,说明病情和感染越严重的患者预后越差。此外,miR-125b 与 APACHE II 评分、SOFA 评分、CRP、PCT、TNF- α 和 IL-6 水平呈正相关,提示 miR-125b 可能是通过多种途径促进机体炎症反应和器官功能障碍,具体机制可能是 miR-125b 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 相互作用,通过调节 p38 MAPK/核转录因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号通路促进炎症因子的释放^[18],因此 miR-125b 与 TNF- α 和 IL-6 呈正相关,以严重炎症反应为特征的脓毒症患者血清 miR-125b 的表达水平也升高。另一方面,脓毒症会诱发多种器官功能障碍和衰竭,而 miR-125b 可以促进心脏纤维化及成纤维细胞转变成肌成纤维细胞,还可以引起急慢性肝功能衰竭^[22-23],因此以多器官功能障碍和衰竭为特征的脓毒症患者血清 miR-125b 表达水平增加。

本次研究还发现,死亡亚组患者入院时血清 miR-142-3p 表达水平高于存活亚组,miR-142-3p 表达与 PCT、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 呈正相关,提示 miR-142-3p 可能参与调控炎症因子的表达,其机制可能与 Sirtuin1 有关,研究显示,miR-142-3p 可通过 Sirtuin1/NF- κ B 信号通路促进炎症因子的释放^[24],脓毒症动物模型研究显示,miR-142-3p 可能通过降低腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC) 的表达促进炎症反应,进而调控 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平^[16],且另外有研究显示,miR-142-3p 可以直接调控 IL-6 的表达水平^[25]。但 miR-142-3p 与 APACHE II 评分、SOFA 评分、WBC、CRP 无明显相关性,说明 miR-142-3p 与脓毒症的关联弱于 miR-125b,经 ROC 曲线评估其预测价值,发现其 AUC、敏感度及特异度均小于 miR-125b,提示 miR-142-3p 表达虽然在脓毒症患者中异常升高,但其预测脓毒症患者预后的价值较 miR-125b 低,这可能是受到样本量及遗传因素的影响造成结果的偏倚。本研究因研究时间有限,尚未进一步探究 miR-125b 和 miR-142-3p 在脓毒症发生发展过程中的机制,后续将扩大样本量并做二者的联合检测以期提高对脓毒症患者预后的预测价值,为临床脓毒症的治疗提供依据。

综上所述,脓毒症患者血清中 miR-125b 和 miR-142-3p 表达升高,且均与不良预后有关,miR-142-3p

表达与 PCT、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 呈正相关,其预测脓毒症患者的价值较低,miR-125b 表达与 APACHE II 评分、SOFA 评分、CRP、PCT、TNF- α 及 IL-6 均呈正相关,其对脓毒症患者预后具有较好的预测价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

徐志育:提出研究思路,实施研究过程,论文撰写;谢晓红:设计研究方案,分析试验数据,论文审核;朱永、周忠义:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;雷振林:进行统计学分析

参考文献

- [1] 干浩庆,张海光.老年脓毒症休克患者血清氨基末端脑钠肽前体、肌钙蛋白 I 水平及其与预后的相关性[J].中国老年学杂志,2019,39(23):5760-5762. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2019.23.037.
- [2] Lekkou A, Mouzaki A, Siagris D, et al. Serum lipid profile, cytokine production, and clinical outcome in patients with severe sepsis[J]. J Crit Care, 2014, 29(5):723-727. DOI: 10.1016/j.jcrc.2014.04.018.
- [3] 刘铭传,李林成,白晓智.脓毒症病理生理及信号转导机制的研究进展[J].中华医院感染学杂志,2019,29(22):3511-3514,3520. DOI:10.11816/cn.ni.2019-186586.
- [4] 夏文芳,李冰玉,林维山,等.脓毒症的治疗进展[J].医学综述,2019,25(11):2169-2175. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2019.11.017.
- [5] Van der Poll T, Van de Veerdonk FL, Scicluna BP, et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets[J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(7):407-420. DOI: 10.1038/nri.2017.36.
- [6] Xiaoyan W, Pais EM, Lan L, et al. MicroRNA-155: a novel armamentarium against inflammatory diseases[J]. Inflammation, 2017, 40(2):708-716. DOI: 10.1007/s10753-016-0488-y.
- [7] 李欢,张红梅. MicroRNA 在中枢神经系统中的作用[J].毒理学杂志,2019,33(4):335-339. DOI: 10.16421/j.cnki.1002-3127.2019.04.015.
- [8] Duroux-Richard I, Roubert C, Ammari M, et al. miR-125b controls monocyte adaptation to inflammation through mitochondrial metabolism and dynamics[J]. Blood, 2016, 128(26):3125-3136. DOI: 10.1182/blood-2016-02-697003.
- [9] Kuhn S, Splith K, Ballschuh C, et al. Mononuclear-cell-derived microparticles attenuate endothelial inflammation by transfer of miR-142-3p in a CD39 dependent manner[J]. Purinergic Signal, 2018, 14(4):423-432. DOI: 10.1007/s11302-018-9624-5.
- [10] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: For the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8):775-787. DOI: 10.1001/jama.2016.0289.
- [11] 刘晓霞,李辉. APACHE II 评分和 SOFA 评分对鲍曼不动杆菌感染患者预后的预测价值比较[J].中国医院药学杂志,2019,39(16):1675-1677,1681. DOI: 10.13286/j.cnki.chinphospa-cy.2019.16.15.
- [12] Bracht H, Hafner S, Wei M. Sepsis update: Definition and epide-

- miology [J]. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2019, 54(1):10-20. DOI: 10.1055/a-0625-5492.
- [13] Benz F, Roy S, Trautwein C, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for sepsis[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(1):1-17. DOI: 10.3390/ijms17010078.
- [14] 李志华,刘宣,葛勤敏,等.脓毒症诊断的生物学标志物的研究进展[J].现代生物医学进展,2016,16(7):1358-1362. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.07.037.
- [15] Wang K, Zhang S, Marzolf B, et al. Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(11):4402-4407. DOI: 10.1073/pnas.0813371106.
- [16] Tiedt S, Prestel M, Malik R, et al. RNA-Seq identifies circulating miR-125a-5p, miR-125b-5p, and miR-143-3p as potential biomarkers for acute ischemic stroke[J]. Circ Res, 2017, 121(8):970-980. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311572.
- [17] Risoe PK, Ryg U, Wang YY, et al. Cecal ligation and puncture sepsis is associated with attenuated expression of adenyl cyclase 9 and increased miR142-3p [J]. Shock, 2011, 36(4):390-395. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31822ec6f.
- [18] Rasheed Z, Rasheed N, Abdulmonem WA, et al. MicroRNA-125b-5p regulates IL-1 β induced inflammatory genes via targeting TRAF6-mediated MAPKs and NF- κ B signaling in human osteoarthritic chondrocytes[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):6882. DOI: 10.1038/s41598-019-42601-3.
- [19] 李爱林,袁鼎山.脓毒症患者血清 CRP、sTREM-1 和 PCT 水平变化及其临床意义研究[J].东南大学学报:医学版,2018,37(4):729-733. DOI:10.3969/j.issn.1671-6264.2018.04.037.
- [20] 李凡旺,鲍明征,徐刚,等.内毒素、降钙素原及白介素-27 在细菌性脓毒症患者诊断中的应用价值[J].疑难病杂志,2016,15(11):1155-1158. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2016.11.015.
- [21] Zhu X. MiR-125b but not miR-125a is upregulated and exhibits a trend to correlate with enhanced disease severity, inflammation, and increased mortality in sepsis patients[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(3):e23094. DOI: 10.1002/jcla.23094.
- [22] Nagpal V, Rai R, Place AT, et al. MiR-125b is critical for fibroblast-to-myofibroblast transition and cardiac fibrosis [J]. Circulation, 2016, 133(3):291-301. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018174.
- [23] Tao YC, Wang ML, Wang M, et al. Quantification of circulating miR-125b-5p predicts survival in chronic hepatitis B patients with acute-on-chronic liver failure[J]. Digest Liver Dis, 2019, 51(3):412-418. DOI: 10.1016/j.dld.2018.08.030.
- [24] Gao J, Wu N, Liu X, et al. MicroRNA-142-3p inhibits cell proliferation and chemoresistance in ovarian cancer via targeting sirtuin 1 [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(6):5205-5214. DOI: 10.3892/etm.2018.6107.
- [25] Sun Y, Varambally S, Maher CA, et al. Targeting of microRNA-142-3p in dendritic cells regulates endotoxin-induced mortality[J]. Blood, 2011, 117(23):6172-6183. DOI: 10.1182/blood-2010-12-325647.

(收稿日期:2020-01-09)

黑斑息肉综合征 16 例内镜下息肉特征分析

殷董,任晓阳,卢桂芳,和水祥,殷燕

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2018KW014)

作者单位: 710068 西安,陕西省人民医院皮肤科(殷董);710061 西安交通大学第一附属医院消化内科(任晓阳、卢桂芳、和水祥、殷燕)

通信作者: 殷燕, E-mail: doctoryinyan@126.com

【摘要】目的 分析黑斑息肉综合征(PJS)患者内镜下消化道息肉的分布、形态、大小、NICE 分型、病理特征及治疗和预后。**方法** 收集 2009 年 7 月—2019 年 6 月西安交通大学第一附属医院收治住院的 PJS 患者 16 例的临床资料进行回顾性分析。**结果** 14 例患者具有口唇色素斑,10 例患者以急性腹痛就诊;所有患者均发现小肠和结肠息肉,其中 12 例患者合并胃息肉;胃息肉以山田 II 型和 III 型常见,结肠息肉以 III 型和 IV 型常见;按照 NICE 分型标准 20.5% (33/161) 结肠息肉为 2 型和 3 型,与病理检查结果比较敏感度、特异度和准确度均较高;PJS 息肉的病理特征包括错构瘤性、腺瘤性、增生性和炎性息肉。PJS 治疗方案采取外科手术联合消化内镜治疗,其中 10 例患者行内镜下息肉切除治疗,包括 APC、电凝电切、EMR、ESD、尼龙绳套扎联合电凝电切等治疗方式,未出现穿孔和出血等并发症,平均随访 5.2 年,无患者在内镜治疗后再接受外科手术,也未发现胃肠道肿瘤发生。**结论** PJS 患者消化道息肉呈多部位多发分布,结肠息肉以亚蒂或有蒂形态为主,NBI 内镜下 NICE 分型有利于识别肿瘤性息肉,积极内镜下息肉切除手术对于预防息肉恶变是安全有效的。

【关键词】 黑斑息肉综合征; 息肉; NICE 分型; 内镜治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.017

Analysis of endoscopic polyp characteristics in 16 patients with black spot polyp syndrome Yin Dong*, Ren Xiaoyang, Lu Guifang, He Shuixiang, Yin Yan. *Department of Dermatology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China

Corresponding author: Yin Yan, E-mail: doctoryinyan@126.com

Funding program: Shaanxi Province Key Research and Development Plan Program(2018KW014)

【Abstract】Objective To analyze the distribution, shape, size, NICE classification, pathological characteristics, treatment and prognosis of polyp of Peutz Jeghers syndrome (PJS) patients who underwent endoscopy exam. **Methods** The clinical data of 16 PJS patients admitted to the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University in recent 10 years were collected and analyzed retrospectively. **Results** 87.5% of the patients had mucocutaneous pigmentation, and 62.5% of the patients go to see a doctor for acute abdominal pain. All of the patients had intestinal and colonic polyps, 75% of the patients also had gastric polyps at the same time. Gastric polyps were common in type II and type III of Yamada classification, and colonic polyps were common in type III and type IV of Yamada classification. 20.5% colonic polyps were classified into type 2 and type 3 according to NICE classification under NBI, which had strong sensitivity and accuracy compared with the pathological results. Pathological characteristics of PJS polyps were including hamartomatous, adenomatous, proliferative and inflammatory polyps. PJS was treated by surgery combined with endoscopic treatment. 62.5% of the patients underwent endoscopic polypectomy, including APC, electrocoagulation, EMR, ESD and nylon rope ligation combined with electrocoagulation. There were not any complications such as perforation and bleeding. The average follow-up period was 5.2 years. No gastrointestinal tumor and surgery had been found in patients after endoscopic polypectomy. **Conclusion** In PJS patients, the gastrointestinal polyps are distributed frequently in multi-segments. Colonic polyps are mainly of Isp or Ip polyps. NICE classification under NBI is helpful to identify tumor polyps. Active endoscopic polypectomy is safe and effective.

【Key words】 Peutz Jeghers syndrome; Polyps; NICE classification; Endoscopic polypectomy

黑斑息肉综合征(PJS)是一种罕见的、以胃肠道多发错构瘤性息肉伴皮肤、黏膜色素沉着为特征的常染色体显性遗传病,致病基因主要为 STK11/LKB1 基因,国外报道发病率为 1/200 000 ~ 1/50 000^[1],国内尚无流行病学调查数据,然而该病发病年龄早,并发症多见,肿瘤倾向高^[2],尤以消化道肿瘤发病率高,因此内镜下消化道息肉特征的识别及治疗对于发现和降低消化道肿瘤的发生具有一定的临床意义。现分析 PJS 患者 16 例的临床资料,以期提高对该病临床表现、内镜下消化道息肉特征识别、治疗及预后的认识,报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 收集 2009 年 7 月—2019 年 6 月西安交通大学第一附属医院诊治 PJS 患者 16 例的临床和病理资料。患者均符合全国遗传性大肠癌协作组提出的 PJS 诊断标准(消化道多发错构瘤性息肉伴皮肤、黏膜色素沉着,可有或无家族史)^[3],其中男 6 例,女 10 例;年龄 21 ~ 35 岁,中位年龄 23 岁。有家族史 12 例,其中 8 例患者的父亲和 4 例患者的母亲诊断为 PJS。

1.2 临床表现 以皮肤黏膜色素过度沉着为首发表现,14 例出现口唇色素斑,表现为 1 ~ 5 mm 的深棕色至黑色改变,见图 1。其中 5 例患者同时合并手指、足趾或下肢色素斑,均为幼年时出现,无瘙痒、疼痛等异常感觉,其余临床表现包括腹痛、腹胀、恶心、呕吐、腹泻、便血、肛周不适等消化道症状,以及乏力、纳差等全身症状。10 例以急性腹痛,4 例以腹泻、便血为主要症状就诊,2 例以发现口唇黑斑就诊。

1.3 实验室检查 所有患者均行血常规、肝肾功能、凝血功能、肿瘤指标等检查,轻中度贫血 12 例,血浆白蛋白轻度降低 6 例,余检验结果未见明显异常。

1.4 消化道息肉内镜下特征 16 例患者共计完成胃镜检查 30 人次,结肠镜检查 46 人次,小肠镜及胶囊胃镜检查 5 人次。消化道息肉是内镜下的最主要表现,所有患者均发现小肠和结肠息肉,其中 12 例患者同时合并胃息肉,见表 1。

胃息肉呈多发散在分布于贲门、胃底、胃体和胃窦,直径为 2 ~ 10 mm,呈丘状、半球状、亚蒂或有蒂息肉,偶见直径为 20 ~ 30 mm 宽基底息肉,见图 2。按照山田分型,胃息肉以 II 型和 III 型息肉更为常见(64.0%)。



图 1 患者表现为口唇黑斑

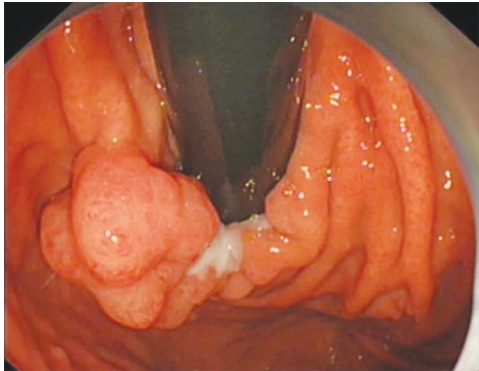


图 2 内镜下胃息肉表现

结肠息肉呈多发散在分布于直肠、乙状结肠、降结肠、横结肠和升结肠。直肠息肉多为小息肉,直径 2 ~ 10 mm,呈丘状或半球状隆起;乙状结肠、降结肠和横结肠息肉直径 5 ~ 25 mm,可见丘状、半球状、亚蒂或长蒂息肉;回盲部和升结肠息肉直径 6 ~ 40 mm,呈半球状、亚蒂、有蒂、广基或侧向发育型息肉,见图 3。按照山田分型,结肠息肉以 III 型和 IV 型息肉更常见(59.0%)。按照 NICE 分型^[4],1 型表现为表面血管缺乏,无明显或均匀一致的深色结构,为错构瘤样或增生样息肉,最为常见(79.5%);2 型表现为表面增粗的棕色血管围绕白色卵圆形或管状结构,为腺瘤样或合

表 1 PJS 患者消化道息肉内镜下特征

组 别	息肉数目(枚)	息肉直径(mm)	山田分型				NICE 分型		
			I 型	II 型	III 型	IV 型	1 型	2 型	3 型
胃十二指肠息肉	75	2 ~ 30	19	27	21	8	0	0	0
小肠息肉	23	2 ~ 10	7	9	3	4	0	0	0
结肠息肉	161	2 ~ 40	28	38	42	53	128	32	1



图3 内镜下结肠息肉表现



图4 内镜下结肠息肉(NICE 2型)表现

并低级别上皮内瘤变息肉(19.9%),见图4;3型表面结构扭曲或消失,部分区域血管明显扭曲或消失(0.6%)。与病理检查结果比较,NICE分型诊断肿瘤型息肉的敏感度为86.9%,特异度为97.3%,准确度为94.9%。

小肠息肉是PJS的主要表现,11例患者因肠套叠或肠梗阻行外科手术时发现小肠巨大息肉,5例患者行胶囊胃镜或小肠镜检查发现多发直径约2~10 mm半球状息肉。

1.5 病理组织学检查 病理组织学检查提示错构瘤性息肉是主要的病理类型(58.6%),其余病理类型包含腺瘤性息肉、炎性息肉、增生性息肉,其中4例腺瘤性息肉伴低级别上皮内瘤变,1例升结肠错构瘤样息肉伴多灶癌变、中分化黏液腺癌浸润。

1.6 诊断与鉴别诊断 2例患者误诊为家族性结肠息肉,所有患者经胃肠镜活检或外科手术病理组织学检测确诊。(1)家族性结肠息肉病:表现为结直肠多发腺瘤性息肉,数目通常大于100枚,小肠一般无病变,无皮肤黏膜色素沉着,内镜和病理可鉴别;(2)幼年性息肉病:主要表现为结直肠多发错构瘤性息肉,可伴有其他先天性异常,无皮肤黏膜色素沉着,内镜和病理可鉴别。

1.7 治疗与转归

1.7.1 消化道息肉内镜下治疗:内镜下消化道息肉微创治疗10例,平均每例患者完成3.4次治疗,共计切除胃肠道息肉259枚,包括内镜黏膜下剥离(ESD)治疗3枚,内镜下黏膜切除术(EMR)治疗52枚,电凝电切或联合尼龙绳治疗87枚,氩等离子凝固术(APC)治疗117枚,平均每次内镜下治疗7.6枚息肉,无出血、穿孔等并发症发生。治疗原则采取分批次,首选NICE 2型、直径>5 mm息肉进行切除。侧向发育型息肉采取ESD方式,宽基底、短粗蒂息肉采取EMR方式,长蒂息肉采取电凝电切或联合治疗模式,<5 mm息肉采取APC治疗方式。治疗周期按照初始1~3个月短期集中治疗,后按年复查治疗模式。

1.7.2 消化道息肉外科手术:16例患者共住院治疗56次,平均每例患者住院3.5次。12例患者接受外科手术,10例因肠套叠/肠梗阻行部分肠道切除术,其中1例行卵巢性索间质肿瘤根治术;1例因横结肠乙状结肠癌行结肠癌根治术。

1.7.3 随访及预后:16例患者中,1例患者就诊时已确诊结肠低分化腺癌,术后1年死亡,该例患者从发现肠梗阻首次就诊到发现结肠癌共计23年;其余15例均定期医院复查,平均无瘤生存期达9.3年。

2 讨论

PJS是一种临床罕见疾病,国内报道较少,且多为个案报道^[5-6],该病发病年龄轻,病程迁延,并发症多,有发生恶性肿瘤倾向,尤以消化道肿瘤发病率高,因此,有必要对其临床特征,特别是内镜下消化道息肉特征和治疗手段进行研究总结,以加深认识,提高临床诊治能力。本研究回顾性分析16例PJS患者的临床资料。首次诊断为PJS中位年龄为23岁,14例患者以腹部症状为首发症状就诊,10例患者以急性腹痛就诊,考虑合并肠套叠/肠梗阻并实施外科肠道切除术,4例患者以慢性腹泻、便血就诊,2例患者以发现口唇黑斑就诊。

皮肤黏膜黑斑和消化道息肉是PJS两大特征性表现。Beggs等^[7]报道95%的患者合并皮肤黏膜黑斑,婴幼儿时期即可出现,成年后可能部分消退,段福孝等^[8]发现71.2%患者在3岁前即出现黑斑,96.0%的患者在10岁以前即出现黑斑,提示黑斑可作为PJS的首发症状,在本研究中,14例患者合并口唇、手指、足趾黑斑,然而仅有2例患者以黑斑为首发症状就诊,推测可能与患者及其家属的忽视,医生对PJS危害性认知不足,以及本研究以住院确诊PJS患者为研究对象,而未纳入门诊PJS患者,存在选择偏倚有关。

消化道息肉是PJS的重要特征,在本研究中,所有

患者均合并结肠和小肠息肉,4 例患者未发现胃息肉。比较消化道不同部位息肉特征发现,上消化道多见直径小于 10 mm 的息肉,形态以山田Ⅱ型和Ⅲ型为主,偶见大小超过 20 mm 的广基息肉。下消化道息肉中,左半结肠以直径 5~25 mm 息肉为主,右半结肠和小肠则可见直径超过 40 mm 甚至达 100 mm 巨大息肉,以山田Ⅲ型和Ⅳ型为主。息肉病理提示错构瘤性息肉是 PJS 息肉的主要病理特征,除此之外,还存在腺瘤性、增生性、炎性等多种病理类型,其中 1 例患者合并结肠黏液腺癌。因此,对发现具有口唇黑斑的疑似 PJS 患者进行胃肠道检查,尤其是针对小肠的胶囊内镜或小肠镜检查及结肠镜检查对于明确 PJS 诊断和判断梗阻风险非常重要。

与普通人群相比,PJS 患者具有较高的肿瘤风险,其中消化道肿瘤是最常见的肿瘤类型,且与年龄呈正相关^[9]。研究认为,PJS 息肉存在错构瘤—腺瘤—癌变的进阶通路,因此腺瘤的识别和治疗对于预防 PJS 消化道肿瘤具有重要意义^[10]。本研究中,分析腺瘤的内镜特征发现,腺瘤在结肠呈散在分布,大小为 4~25 mm,山田分型各型均有,白光内镜下与其他类型息肉不易鉴别。与白光内镜相比,NBI 内镜显示黏膜表面血管和微细结构更清晰,NICE 分型即通过辨别病灶的色泽、微血管和表面结构,将结肠息肉分为 3 型,1 型考虑为非肿瘤性息肉,包括错构瘤性、增生性和炎性息肉,2 型和 3 型考虑为肿瘤性息肉,包括腺瘤、黏膜内癌和黏膜下癌。在本研究中采用 NICE 分型标准进行鉴别,与病理检查结果比较,NICE 分型诊断肿瘤性息肉的敏感度、特异度和准确度均较强,提示基于 NBI 内镜下的 NICE 分型在 PJS 息肉内镜诊断中的应用有利于提高肿瘤性息肉的诊断率。Cheng 等^[11]研究也发现,与白光内镜相比,基于 NBI 放大技术的 SANO 分型可以显著提高 PJS 患者肠道肿瘤性息肉诊断的敏感度,与病理诊断一致性高,从而通过内镜下或外科手术治疗,达到预防和早期治疗的目的。

PJS 息肉除恶变风险外,还可以引起便血、腹泻、腹痛、贫血等症状,巨大息肉可导致肠套叠或肠梗阻。Beggs 等^[7]报道 33% 患者在 10 岁前,55% 的患者在 20 岁前即可出现腹部症状,Van 等^[12]研究报道 69% 的患者至少会出现 1 次肠套叠,而其中 92.5% 的肠套叠需要外科手术干预,贾燕等^[13]研究也发现 39% 的患者需要外科手术干预。在本研究中发现,直径超过 40 mm 息肉多见于小肠和右半结肠,而 62.5% 患者因肠套叠或肠梗阻行腹部外科手术,因此对 PJS 患者胃肠道息肉,尤其是小肠和盲升结肠重点进行监测和治

疗,可能有助于减少因息肉引起的急性肠套叠或肠梗阻等严重并发症。

PJS 息肉治疗以解除消化道症状和防治息肉恶变为目标,采取内镜下治疗和外科手术 2 种途径^[14-15],在本研究中 12 例患者因肠梗阻或息肉恶变行外科手术治疗,10 例(包括部分术后)患者选择内镜下治疗预防息肉恶变和解决消化道症状。内镜下治疗采取 ESD、EMR、电凝电切和 APC 等多种方式联合治疗,未出现出血或穿孔等并发症,平均随访 5.2 年,无患者在内镜治疗后再接受外科手术,也未发现胃肠道肿瘤。Latchford 等^[15]回顾性分析了 48 个家系 63 例 PJS 患者,采取胃肠镜筛查联合镜下和外科手术治疗方案,随访了其中 39 例患者平均 10 年左右时间,未出现需急诊外科手术情况,也未发现 1 例消化道肿瘤。王石林等^[16]分析了 71 例接受内镜联合外科手术 PJS 患者,认为内镜治疗特别是双气囊小肠镜下的息肉切除术免除了部分患者的开腹手术或至少延长了开腹手术的手术间隔。鉴于内镜筛查和治疗在 PJS 患者早期治疗中的作用,欧洲儿科胃肠病学、肝病学和营养协会建议,无症状的 PJS 患者至少在 8 岁之前需进行胃肠道息肉筛查,如有症状,须更早进行筛查^[3]。在本研究中,无论是在内科首诊 PJS,还是在外科术后确诊 PJS 再开展内镜筛查治疗,所有患者均未再接受进一步外科手术或发现消化道肿瘤,提示内镜的筛查和治疗对于 PJS 患者,无论何时开展都是获益的。

综上所述,PJS 是一种临床罕见病,皮肤黏膜黑斑是早期识别的重要特征,消化道息肉是产生临床症状或发生恶变的潜在风险,息肉呈多部位多发分布,形态以亚蒂或有蒂为主,NICE 分型有利于识别肿瘤性息肉,积极内镜下息肉切除对于预防息肉恶变是安全有效的。本研究通过对 PJS 患者内镜下胃肠道息肉特征和治疗方案的分析,有助于提高对该病的认知,对于发现和降低息肉恶变和并发症的发生具有一定的临床意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

殷董:资料搜集整理,数据分析,论文撰写;任晓阳、卢桂芳:资料搜集整理,资料分析;和水祥:设计研究方案;殷燕:课题设计,论文撰写,论文修改

参考文献

- [1] Monahan KJ, Bradshaw N, Dolwani S, et al. Guidelines for the management of hereditary colorectal cancer from the British Society of Gastroenterology (BSG)/Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland (ACPGBI)/United Kingdom Cancer Genetics Group (UKCGG) [J]. Gut, 2020, 69(3):411-444. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319915.

(下转 729 页)

黄芪多糖通过 TLR4/NF- κ B 通路抑制 COPD 大鼠炎症反应诱导的平均血小板体积降低

曹亮, 刘建华, 冯平, 赵建清

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目(20160035)

作者单位: 075061 张家口, 河北北方学院附属第一医院呼吸科

通信作者: 赵建清, E-mail: jq.zhao66@163.com

【摘要】目的 观察 TLR4/NF- κ B 信号通路在黄芪多糖抑制慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠炎症反应中的作用,以及炎症因子与平均血小板体积(MPV)的关系。**方法** 2019 年 12 月—2020 年 2 月于河北北方学院附属第一医院进行实验,60 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为 6 组,空白对照组,模型组,黄芪多糖 400、600、800 mg/kg 组和泼尼松(6 mg/kg)组,各 10 只。除空白对照组外,其余各组给予大鼠气管灌注脂多糖(LPS)与吸烟建立 COPD 模型。黄芪多糖组与泼尼松组于灌注 LPS 或吸烟前灌胃给药。第 29 天后全自动血液分析仪测定大鼠血浆 MPV 水平;取大鼠肺组织,ELISA 法测定 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 水平,Western-blot 测定 TLR4、NF- κ B 蛋白水平,实时荧光定量 PCR 测定 IL-1 β 、IL-8、TNF- α mRNA 表达水平;股骨取骨髓巨核细胞瑞氏染色,观察细胞形态并计算全片巨核细胞数和产板巨核细胞数。人巨核细胞株 Meg-01 细胞分为 6 组:对照组、黄芪多糖组、IL-1 β 组、IL-8 组、TNF- α 组、TPO 组,各组在相应条件下孵育 24 h 后,流式细胞仪测定各组细胞 CD41、GPIIb 的表达。**结果** 与空白对照组比较,模型组 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 、TLR4、NF- κ B 蛋白水平显著提高,IL-1 β 、IL-8、TNF- α mRNA 水平表达显著提高,产板巨核细胞数量、MPV 显著降低(P 均 <0.05)。与模型组比较,黄芪多糖各组和泼尼松组 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 、TLR4、NF- κ B 蛋白水平显著降低,IL-1 β 、IL-8、TNF- α mRNA 水平表达显著降低,产板巨核细胞数显著增加,MPV 显著升高(P 均 <0.05)。当黄芪多糖为 800 mg/kg 时各指标改善程度与泼尼松组无显著差异($P > 0.05$)。与对照组比较,IL-1 β 组、IL-8 组、TNF- α 组 Meg-01 细胞 CD41、GPIIb 的表达显著下调,黄芪多糖组 CD41、GPIIb 的表达无明显差异($P > 0.05$)。**结论** 黄芪多糖通过抑制 TLR4/NF- κ B 通路减轻 COPD 大鼠炎症反应并使 MPV 升高,COPD 随炎症反应强度的增加巨核细胞成熟与分化能力降低,导致 MPV 下降,检测 MPV 水平可有效评估 COPD 炎症反应的严重程度。

【关键词】 黄芪多糖;慢性阻塞性肺疾病;TLR4/NF- κ B 通路;平均血小板体积;骨髓巨核细胞

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.018

Astragalus polysaccharides inhibit the decrease of mean platelet volume induced by inflammatory response in COPD rats via TLR4/NF- κ B pathway Cao Liang, Liu Jianhua, Feng Ping, Zhao Jianqing. Department of Respiratory, the First Affiliated Hospital to Hebei North College, Hebei Province, Zhangjiakou 075061, China

Corresponding author: Zhao Jianqing, E-mail: jq.zhao66@163.com

Funding program: Hebei Province Medical Science Research Key Project(20160035)

【Abstract】Objective To explore the role of TLR4/NF- κ B signaling pathway in astragalus polysaccharide(APS) inhibition of inflammatory response in COPD rats, and the relationship between inflammatory factors with mean platelet volume. **Methods** 60 SPF male SD rats were randomly divided into 6 groups, namely, normal control group, model group, APS 400, 600, 800 mg/kg group and prednisone (6 mg/kg) group. In addition to the blank control group, other groups were given LPS and cigarette smoke to establish COPD model. APS groups and prednisone group were administrated before given LPS or smoke. At the 29th day, plasma MPV of rats was analyzed by automatic blood analyzer; lung tissues of rats were taken, and the expression levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α were determined by ELISA; TLR4 and NF- κ B protein were determined by Western blot; the mRNA expression levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α were determined by real-time quantitative PCR. In addition, bone marrow megakaryocytes were collected from femur, Wright's staining was performed to observe the cell morphology and calculate the number of megakaryocyte and the number of thrombocytogenic megakaryocyte. Human megakaryocyte Meg-01 cells were divided into 6 groups: control group, APS group, IL-1 β group, IL-8 group, TNF- α group, TPO group. After being incubated for 24h in each culture media, the expressions of CD41 and GPIIb were measured by flow cytometry. **Results** Compared with

blank control group, the protein levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α , TLR4, NF- κ B in the model group were significantly increased, and the mRNA levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α were significantly increased. The number of bone marrow thrombocytogenic megakaryocytes and MPV decreased significantly. Compared with model group, the protein levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α , TLR4, NF- κ B in APS groups and prednisone group were significantly decreased, and the mRNA levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α were significantly decreased. The number of bone marrow thrombocytogenic megakaryocytes and MPV significantly increased. When the level of APS went up to 800 mg/kg, there was no significant difference among previous results with prednisone group. Compared with control group, the expression of CD41 and GPIIb in the Meg-01 cells of the IL-1 β group, IL-8 group, TNF- α group were significantly down-regulated, while the expression of CD41 and GPIIb in APS group was not significantly various. **Conclusion** Astragalus polysaccharide can alleviate the inflammatory response of COPD rats and increase the MPV by inhibiting TLR4/NF- κ B pathway. With the increase of inflammatory response, the maturation and differentiation ability of megakaryocytes decrease, leading to the decrease of MPV. The severity of COPD inflammatory response can be effectively assessed by MPV determination.

【Key words】 Astragalus polysaccharide; Chronic obstructive pulmonary disease; TLR4/NF- κ B pathway; Mean platelet volume; Megakaryocyte

平均血小板体积 (MPV) 是检测血小板活化的替代指标^[1]。前炎性因子和急时相反应物产生过多可通过干扰巨核细胞功能, 使骨髓释放出小体积血小板。慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 是由多种炎性细胞、炎性介质及细胞因子介导的慢性炎性反应性疾病, COPD 急性加重 (AECOPD) 是导致患者住院治疗 and 死亡的重要原因之一。以往研究发现^[2], AECOPD 恢复期患者 MPV 减小, 且减小程度与 AECOPD 病情严重程度相关。黄芪多糖 (APS) 是中药黄芪的主要活性成分之一, 对肺组织炎性反应损伤有保护作用^[3]。ASP 对抑制 COPD 炎性反应的研究尚不多见, 现分析 ASP 抗炎程度与 MPV 变化的关系, 为 MPV 能够有效评估 COPD 病情严重程度提供依据, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 实验动物: SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 8 周龄, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 购自河北省实验动物中心, 许可证号: SCKK (冀) 2013-1-003。大鼠自由进食饮水, 适应性饲养 1 周, 平均温度 25 $^{\circ}$ C, 相对湿度 65% ~ 70%, 光照 12 h。(2) 药物与试剂: 乌拉坦 (购自上海化学试剂厂)、青霉素 (购自东北制药公司)、链霉素 (购自山东鲁抗制药股份有限公司), RPMI-1640 培养基 (购自上海联硕生物科技有限公司), ELISA 试剂盒 (购自上海信帆生物有限公司), 人巨核细胞株 Meg-01 细胞 (购自上海一研生物科技有限公司)。(3) 仪器: 台式高速离心机 (购自长沙湘锐离心机有限公司, 型号 TG22-WS)、全自动血液分析仪 (购自厦门海菲生物技术有限公司, 型号 BC-3300CT)、医用生物显微镜 (购自云南远锦光学仪器有限公司, 型号 XSB)、LQS 酶标仪 (购自北京中西远大科技有限公司, 型号 SP21-318C)、凝胶成像仪 (购自上海嘉鹏科技有限公司, 型号 ZF-288)。

1.2 实验方法 2019 年 12 月—2020 年 2 月于河北北方学院附属第一医院实验室进行实验。

1.2.1 COPD 模型大鼠制备与分组: 60 只大鼠随机数字表法分为 6 组, 即空白对照组, 模型组, 黄芪多糖 400、600、800 mg/kg 组和泼尼松 (6 mg/kg) 组, 每组 10 只。COPD 大鼠造模方法参考文献 [4]: 于第 1 日、14 日实施麻醉后经气管注入脂多糖 (LPS, 1 g/L) 200 μ l, 第 2 ~ 28 日 (不含第 14 日) 置于密封的烟室中, 每日吸入香烟烟雾 (含焦油 19 mg、尼古丁 1.2 mg) 1 次, 每次持续吸入 30 min。黄芪多糖各组与泼尼松组每天注入脂多糖或吸烟前给予不同剂量黄芪多糖及泼尼松灌胃; 空白对照组、模型组平行给予生理盐水灌胃。胸部 X 线摄片出现两侧膈肌下降、肋间隙增宽、肺野透亮度增加, 表明 COPD 大鼠造模成功^[5]。

1.2.2 骨髓巨核细胞培养与分组: 为进一步明确黄芪多糖促进骨髓巨核细胞成熟的作用是直接的, 亦或是间接的, 因此另取人巨核细胞株 Meg-01 细胞进行实验, 以促血小板生成素 (TPO) 为阳性对照, 观察黄芪多糖能否直接促进大鼠骨髓巨核细胞的成熟。从液氮罐中取出具有晚期成熟性状的人巨核细胞株 Meg-01 细胞 (购自美国 ATCC 公司), 置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中快速解冻, 然后加 PBS 于室温下 1 000 r/min 离心 5 min, PBS 重悬洗涤细胞 3 次并离心除去 PBS, 细胞用改良 RPMI-1640 培养基 (含 10% 小牛血清、青霉素和链霉素各 100 U/ml) 重悬, 轻轻吹打至单细胞悬液, 再移至培养皿中置于 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中常规培养。将细胞悬液转移到离心管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 沉淀用新鲜培养基吹打成细胞悬液后进行分皿, 加培养基到合适密度传代细胞, 选取对数生长期的细胞进行实验。根据实验需要, 将对数期的 Meg-01 细胞分

为 6 组^[6]。(1)对照组:含 10% 胎牛血清的伊思柯夫改良培养液(IMDM)培养基。(2)黄芪多糖组:黄芪多糖 100 mg/L + IMDM 培养基。(3)白介素 1 β (IL-1 β)组:IL-1 β 20 μ g/L + IMDM 培养基。(4)白介素 8(IL-8)组:IL-8 20 μ g/L + IMDM 培养基。(5)肿瘤坏死因子 α (TNF- α)组:TNF- α 20 μ g/L + IMDM 培养基。(6)TPO 组:TPO 50 μ g/L + IMDM 培养基。Meg-01 细胞以 1×10^5 /ml 的密度接种于 24 孔板,加入相应培养液,5% CO₂、37℃ 细胞培养箱中培养 24 h。

1.2.3 大鼠骨髓巨核细胞采集与形态观察:将大鼠脱臼处死,迅速剥离双侧股骨,剪断股骨两端,在培养皿中用装有 PBS 洗液的 1ml 注射器,向骨髓腔内快速推入,反复冲洗骨髓细胞,直至股骨外观呈白色时骨髓全部冲出。用 1 ml 空针头将含有骨髓的液体过滤至离心管中,2 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,取下层骨髓沉淀迅速涂片。风干后瑞氏染色 5 min,流水冲洗,室温晾干。每张骨髓片以直径 6 mm 范围内细胞数目为基准,光镜下观察并计算全片巨核细胞数和产板巨核细胞数。

1.2.4 大鼠 MPV 测量:对每只大鼠使用尾尖采血法取血液 2 ml,固定动物并析出鼠尾,将鼠尾在 45℃ 温水中浸泡数分钟,也可用二甲苯等化学药物涂擦,使局部血管扩张。将鼠尾擦干,剪去尾尖,血自尾尖流出,让血液滴入盛器或直接用移液器吸取。将血液于抗凝管中,采用 BC 3000CT 全自动血液分析仪(深圳迈瑞)测量血样中 MPV。

1.2.5 大鼠血清炎症因子检测:大鼠腹腔注射 25% 乌拉坦麻醉,腹主动脉采血 8 ml,1 500 r/min 离心 20 min,取血清。以酶标仪检测血清 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 水平,严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作。

1.2.6 Western-blot 检测肺组织中 Toll 样受体 4 (TLR4)、核因子- κ B (NF- κ B)蛋白表达:获取大鼠肺组织细胞,用 PBS 洗涤 3 次,用试剂盒提取蛋白后,采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳分离,分离的蛋白在 200 mA 下转膜至 PVDF 膜上。转膜完成后,4℃ 下用 5% 脱脂牛奶封闭膜过夜,一抗(1:1 000 TLR4,1:1 500 NF- κ B,1:1 000 β -actin)4℃ 孵育过夜,洗膜后换 HRP 标记 II 抗室温孵育 2 h。将漂洗后的膜放入干净的皿中,暗室中吸取等量发光试剂 A 液与 B 液并混匀,然后均匀浇注在 PVDF 膜蛋白面上,数秒后用凝胶成像仪分析,Image J 软件分析 TLR4、NF- κ B 灰度值。

1.2.7 实时荧光定量 PCR 检测肺组织中炎症因子 mRNA 表达:按照 Trizol 试剂说明书要求提取总 RNA

并通过逆转录—聚合酶链反应逆转录为 cDNA,使用 RT-PCR 仪进行扩增,以 GAPDH 为内参检测肺组织中 IL-1 β 、IL-8、TNF- α mRNA 的相对水平。所有引物均由上海生工生物技术公司合成,见表 1。检测结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对表达分析。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因名称	引物序列
IL-1 β	上游 5'-ATAAGTGTGCAACTCTC-3'
	下游 5'-GCTCATTCCTTACCCAT-3'
IL-8	上游 5'-AGCACCTAGCTGCCAAA-3'
	下游 5'-GCTCATTCCTTACCCAG-3'
TNF- α	上游 5'-GCCTGCCACCACCAACT-3'
	下游 5'-GACCTCCTAGCTGCTAGC-3'
GAPDH	上游 5'-AATGCATCCTGCCACCACCAACTGC-3'
	下游 5'-GGAGGCCATGTAGTAGCCATGAGGTC-3'

1.2.8 血小板膜糖蛋白 CD41(CD41)、血小板膜糖蛋白 I ba (GPIba)表达的测定:收集 Meg-01 细胞,1 000 r/min 离心 5 min,PBS 洗涤细胞并调整细胞浓度为 1.0×10^6 /ml。取细胞悬液各 20 μ l,PE-anti-human CD41 试剂 1:10 稀释后加入到细胞悬液中,37℃ 温箱中孵育 30 min,加 PBS 至 400 μ l,流式细胞仪检测 CD41 的表达。另取细胞悬液各 50 μ l,加入 SE-2 抗体 2 μ g/ml 于 37℃ 温箱中孵育 30 min,山羊抗小鼠 IgG (H + L)FITC 试剂 1:200 稀释后加入细胞悬液中,轻轻混匀,37℃ 温箱中孵育 30 min 后加 PBS 至 400 μ l,流式细胞仪检测 GPIba。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析处理。正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组比较采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠表现特点比较 空白对照组大鼠精神状态良好,饮食、呼吸正常;模型组大鼠精神不振、反应迟钝,食欲降低、体质消瘦,伴有咳嗽、哮鸣音、痰鸣音等呼吸系统表现;泼尼松组大鼠精神状态、呼吸、饮食均得到改善;各黄芪多糖组随剂量升高,大鼠病情缓解更加明显,800 mg/kg 时改善最为显著。

2.2 各组大鼠骨髓巨核细胞及 MPV 比较 与空白对照组比较,模型组大鼠骨髓巨核细胞总数显著增加,产板巨核细胞数量显著降低,MPV 显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较,黄芪多糖各组和泼尼松组大鼠巨核细胞总数减少、产板巨核细胞数显著增加,MPV 显著升高($F = 12.086, 13.051, 18.265, P < 0.001$)。与泼尼松组比较,黄芪多糖 800 mg/kg 组产板巨核细胞数、

MPV 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1、表 2。

2.3 各组大鼠血清炎症因子表达量比较 与空白对照组比较, 模型组 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 含量显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 黄芪多糖各组组和泼尼松组 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 显著降低 ($F = 15.028, 14.581, 16.082, P$ 均 < 0.001)。与泼尼松组比较, 黄芪多糖 800 mg/kg 组血清炎症因子水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

2.4 各组大鼠肺组织 TLR4、NF- κ B 蛋白水平比较 与空白对照组比较, 模型组 TLR4、NF- κ B 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 黄芪多糖各组组和泼尼松组 TLR4、NF- κ B 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$); 与泼尼松组比较, 黄芪多糖 800 mg/kg 组

TLR4、NF- κ B 蛋白的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 2。

表 3 各组大鼠血清炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	IL-1 β	IL-8	TNF- α
空白对照组	8.62 $\pm$ 1.90	237.07 $\pm$ 17.49	47.28 $\pm$ 3.85
模型组	18.75 $\pm$ 1.68 ^a	414.95 $\pm$ 22.61 ^a	116.50 $\pm$ 4.85 ^a
泼尼松组	8.86 $\pm$ 1.89 ^b	247.70 $\pm$ 20.57 ^b	50.80 $\pm$ 2.27 ^b
黄芪多糖 400 mg/kg 组	15.51 $\pm$ 2.54 ^b	373.08 $\pm$ 17.21 ^b	101.47 $\pm$ 4.15 ^b
黄芪多糖 600 mg/kg 组	11.40 $\pm$ 2.69 ^b	320.64 $\pm$ 18.63 ^b	76.93 $\pm$ 5.47 ^b
黄芪多糖 800 mg/kg 组	9.15 $\pm$ 2.70 ^{bc}	268.83 $\pm$ 14.66 ^{bc}	58.24 $\pm$ 4.36 ^{bc}
F 值	15.028	14.581	16.082
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与泼尼松组比较, ^c $P > 0.05$

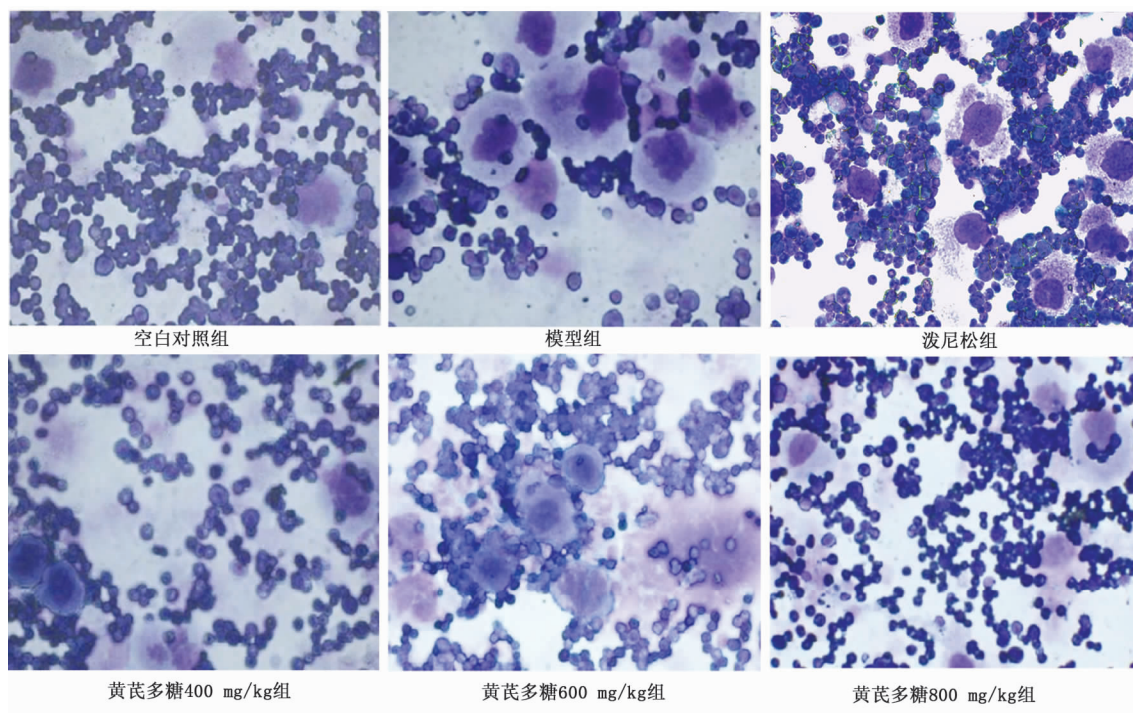


图 1 各组大鼠骨髓巨核细胞形态(钙盐染色, $\times 400$)

表 2 各组大鼠骨髓巨核细胞及 MPV 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	巨核细胞总数(个/mm ²)	产板巨核细胞数(个/mm ²)	MPV(fl)
空白对照组	10	54.20 $\pm$ 3.68	16.20 $\pm$ 2.55	7.67 $\pm$ 0.49
模型组	10	85.60 $\pm$ 6.09 ^a	2.50 $\pm$ 0.63 ^a	6.21 $\pm$ 0.55 ^a
泼尼松组	10	58.70 $\pm$ 5.16 ^b	15.30 $\pm$ 3.05 ^b	7.52 $\pm$ 0.38 ^b
黄芪多糖 400 mg/kg 组	10	71.90 $\pm$ 5.39 ^b	5.70 $\pm$ 2.56 ^b	6.48 $\pm$ 0.40 ^b
黄芪多糖 600 mg/kg 组	10	66.02 $\pm$ 3.66 ^b	10.80 $\pm$ 2.53 ^b	7.02 $\pm$ 0.36 ^b
黄芪多糖 800 mg/kg 组	10	61.11 $\pm$ 4.97 ^{bc}	14.70 $\pm$ 2.91 ^{bc}	7.22 $\pm$ 0.41 ^{bc}
F 值		12.086	13.051	18.265
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与泼尼松组比较, ^c $P > 0.05$

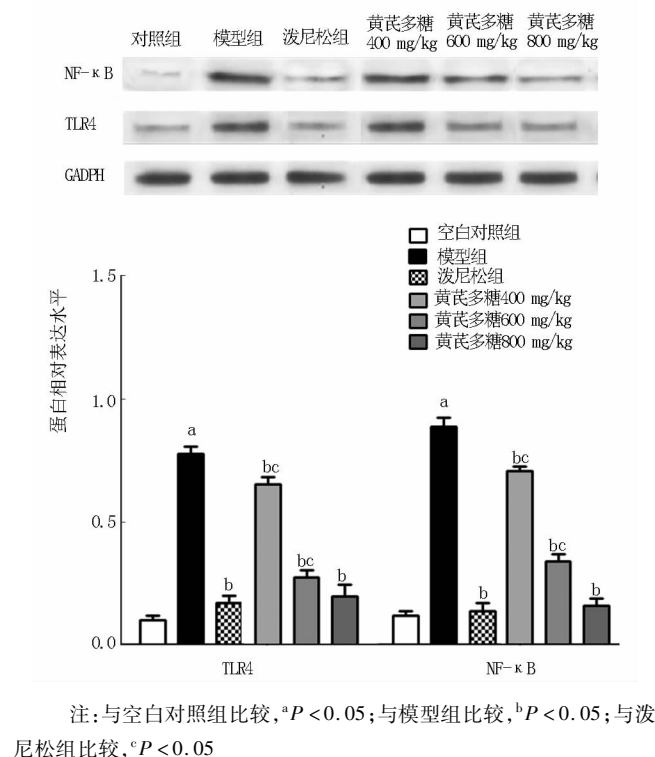


图2 各组大鼠肺组织 TLR4/NF-κB 信号通路蛋白表达比较

2.5 各组大鼠肺组织 IL-1β、IL-8、TNF-α mRNA 表达量比较 与空白对照组比较,模型组 IL-1β、IL-8、TNF-α mRNA 表达显著增加 ($P < 0.05$)。与模型组比较,黄芪多糖各组 and 泼尼松组 IL-1β、IL-8、TNF-α mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$)。与泼尼松组比较,黄芪多糖 800 mg/kg 组 IL-1β、IL-8、TNF-α mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 3。

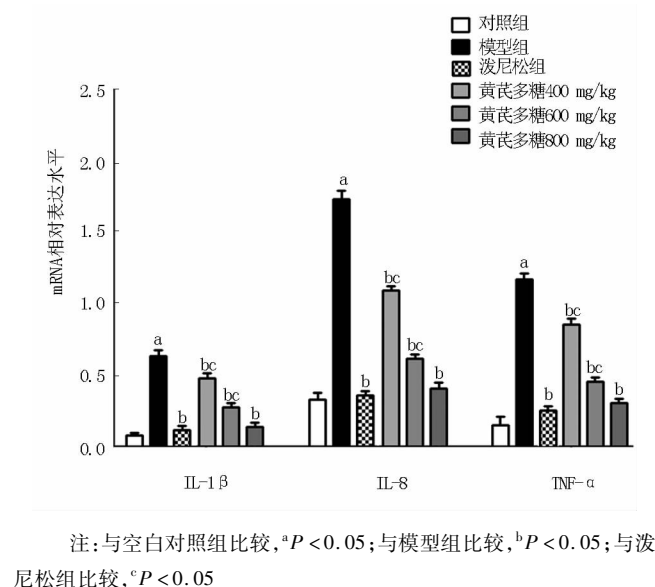


图3 各组大鼠肺组织 IL-1β、IL-8、TNF-α mRNA 表达比较

2.6 人巨核细胞株 Meg-01 分化标记物 CD41、GPIIb/IIIa 表达量比较 与对照组比较,IL-1β 组、IL-8 组、TNF-α 组巨核系 Meg-01 细胞 CD41、GPIIb/IIIa 的表达显著下调,其中 TNF-α 下调幅度最大 ($F = 21.620$, $P < 0.001$);TPO 组巨核系 Meg-01 细胞 CD41、GPIIb/IIIa 的表达上调 ($F = 15.231$, $P < 0.001$);与对照组比较,黄芪多糖组细胞 CD41、GPIIb/IIIa 的表达差异无统计学意义 ($t = 0.869$, $P = 0.123$),见图 4。

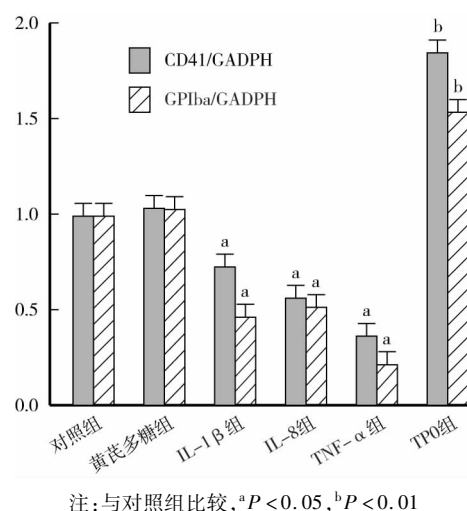


图4 各组 Meg-01 巨核细胞 CD41、GPIIb/IIIa 的表达

3 讨论

平均血小板体积 (MPV) 是反映血小板活化程度的指标,在急性心肌梗死、高胆固醇血症、糖尿病、高血压和阻塞性睡眠呼吸暂停综合征等具有指导意义,已成为国内外研究的热点^[7-9]。由于 MPV 的变化可反映感染、炎症反应、免疫等慢性病严重程度^[10-11],近年来 MPV 评估 COPD 病情严重程度的研究也逐渐增多^[12]。COPD 患者由于肺血管收缩、血流减慢,常存在缺氧、感染、酸中毒等症状,大量中性粒细胞和巨噬细胞聚集,使局部及全身炎症反应水平加重^[13-16]。

肺主呼吸,朝百脉,汇聚气血。气虚、血瘀是引发肺病的重要病理基础,肺气亏虚是 COPD 病机之本。黄芪补气升阳、利水消肿,其主要活性成分之一黄芪多糖,具有调节机体免疫功能、抑制细胞分泌炎症因子的作用^[17],对 LPS 诱导的炎症反应有明显抑制作用^[18]。为探究黄芪多糖对 COPD 的改善作用,分别给予 COPD 大鼠黄芪多糖 400、600、800 mg/kg 灌胃,以泼尼松为阳性药对照,结果发现与模型组比较,给予黄芪多糖各组大鼠相关炎症因子 IL-1β、IL-8、TNF-α 及 TLR4/NF-κB 通路关键蛋白水平显著降低。

IL-8、TNF-α 在 COPD 炎症反应进程中发挥着重

要作用^[19-20],是气道炎性因子网络的重要组成部分。IL-1 β 作为前炎性介质因子,一方面能够激活免疫细胞,介导 T、B 细胞活化、增殖与分化;另一方面促进中性粒细胞溶体酶的释放,产生大量氧自由基,促进 IL-1、IL-6 等炎性介质释放,加重炎性反应。在 COPD 气道及全身炎性反应中,IL-1 β 、IL-8、TNF- α 基因转录与表达受上游 NF- κ B 核转录因子的调节^[21]。齐咏^[22]、孙雪皎等^[23]研究发现,稳定期重度 COPD 患者血清 IL-8、TNF- α 、NF- κ B 表达显著高于空白对照组。生理条件下,NF- κ B 主要以 p65/p50 二聚体形式存在细胞质中与抑制蛋白 I- κ B α 结合成无活性的三聚体。当细胞受到外界刺激,I- κ B 激酶被激活后,使 I- κ B α 被磷酸化后发生泛素化而被蛋白酶体降解。由于 I- κ B α 对 p65/p50 二聚体抑制作用解除,p65/p50 二聚体 NLS 暴露而被转入核内,激活下游炎性基因。

为进一步明确黄芪多糖是否直接对骨髓巨核细胞有直接促成熟作用,取人巨核细胞株 Meg-01 细胞株进行实验,以 TPO 为阳性对照,CD41 和 GP I ba 表达水平作为观察指标。TPO 是调节巨核细胞分化和生成血小板的关键因子^[24]。CD41 被认为是巨核细胞或血小板特有的标志^[25];GP I ba 是巨核细胞向血小板分化过程中,血小板表面逐渐增加的糖蛋白,对参与血小板黏附等生理功能起重要作用,对 GP I ba 表达分析有助于识别巨核细胞的分化程度^[26]。结果表明黄芪多糖先抑制炎性因子的表达,炎性因子再促进骨髓巨核细胞的成熟,表明如何有效抑制炎性因子是未来治疗 COPD 的重要研究方向,同时炎性因子表达水平也是将黄芪多糖运用于临床时评估疗效的重要指标。

综上所述,黄芪多糖通过抑制 TLR4/NF- κ B 通路减轻 COPD 大鼠炎性反应并使 MPV 升高,而 MPV 随着炎性反应剧烈程度的增加而降低,通过 MPV 可有效评估 COPD 炎性反应的严重程度。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

曹亮:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;刘建华:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;冯平、赵建清:课题设计,进行统计学分析

参考文献

- [1] Chen YT, Yang CC, Lin KC, et al. Preactivated and disaggregated shape-changed platelets protect kidney against from ischemia-reperfusion injury in rat through attenuating inflammation reaction [J]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2019, 13 (12): 2155-2168. DOI: 10.1002/term.2960.
- [2] 曹亮,赵建清,钱海红,等. 静脉血平均血小板体积对慢性阻塞性肺疾病急性加重恢复期患者的诊断价值[J]. *山东医药*, 2018, 58 (17): 72-74. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2018. 17. 023.

- [3] Kataoka T, Mifune Y, Inui A, et al. Combined therapy with platelet rich plasma and basic fibroblast growth factor in the early healing of rotator cuff tear in a rat model [J]. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 2019, 28 (11): e389-e389. DOI: 10.1016/j. jse. 2019. 09. 003.
- [4] 陈愉生,陈小燕,陈正伟,等. 单纯烟雾暴露建立慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的方法学研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2016, 24 (10): 58-62. DOI: 10.3969/j. issn. 1008-5971. 2016. 10. 016.
- [5] 陈天明,卢青,李仁翔. 氨茶碱对慢阻肺模型大鼠炎症因子及免疫功能的影响[J]. *实用药物与临床*, 2017, 20 (8): 872-875. DOI: 10.14053/j. cnki. ppcr. 201708003.
- [6] 肖彬,徐月,何涵,等. 黄芪多糖对粒单核系造血细胞的抗凋亡作用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2013, 21 (5): 1243-1247. DOI: 10.7534/j. issn. 1009-2137. 2013. 05. 032.
- [7] 陈一竹,张俊峰. 平均血小板体积与心血管疾病的关系[J]. *国际心血管病杂志*, 2014, 41 (5): 294-296. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-6583. 2014. 05. 005.
- [8] Nguyen MVC, Baillet A, Romand X, et al. Prealbumin, platelet factor 4 and S100A12 combination at baseline predicts good response to TNF alpha inhibitors in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2019, 86 (2): 195-201. DOI: 10.1016/j. jbspin. 2018. 05. 006.
- [9] Cafaro G, Bartoloni E, Alunno A, et al. Platelets: a potential target for rheumatoid arthritis treatment [J]. *Expert Review of Clinical Immunology*, 2019, 15 (1): 1-3. DOI: 10.1080/1744666X. 2019. 1544071.
- [10] Banerjee S, Kumar A, Ganguly S, et al. A comparative analysis of Mean Platelet Volume in COPD patients vs. healthy controls [J]. *Iosr J Dental Med Sci*, 2016, 15 (9): 146-150. DOI: 10.9790/0853-150902146150.
- [11] Alahdab Y, Abacar K, Karakaya G, et al. Mean platelet volume as an inflammatory marker in inflammatory bowel disease [J]. *J Crohn Colitis*, 2015, 9: S130. DOI: 10.4103/1687-8426.176772.
- [12] 张雅君. 血小板平均容积在老年慢性阻塞性肺疾病患者中的临床应用价值[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33 (4): 770-771. DOI: 10.3969/j. issn. 1005-9202. 2013. 04. 013.
- [13] 徐瑞娥,李凤珍,邵建平,等. 血清 1,3- β -D-葡聚糖、半乳糖胺聚糖检测联合胸部 CT 检查对 COPD 合并侵袭性肺曲霉感染的诊断价值[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (10): 997-1001. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 10. 006.
- [14] 亓玉心,杨文平,周玉法,等. 低碳水化合物营养支持对急性加重期 COPD 患者血气分析、呼吸功能及炎性因子的影响[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (12): 1225-1230. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 12. 009.
- [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] 符瑜,吴少敏,卢海兰,等. 噻托溴铵联合沙美特罗/丙酸氟替卡松治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期患者的临床效果[J]. *中国医药*, 2019, 14 (2): 208-211. DOI: 10.3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 02. 012.
- [17] Zhang B, Zeng MN, Li M, et al. Protopine protects mice against

- LPS-induced acute kidney injury by inhibiting apoptosis and inflammation via the TLR4 signaling pathway [J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2019, 25 (1): 15. DOI: 10.3390/molecules25010015.
- [18] 孙腾,徐坡.大剂量生黄芪对慢性阻塞性肺病患者呼吸肌肌力及预后的影响[J].*陕西中医*,2015,36(6):660-662. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7369.2015.06.010.
- [19] Zhang JW, Zheng YL, Luo Y, et al. Curcumin inhibits LPS-induced neuroinflammation by promoting microglial M2 polarization via TREM2/TLR4/NF- κ B pathways in BV2 cells[J]. *Molecular Immunology*, 2019, 116(1): 29-37. DOI: 10.1016/j.molimm.2019.09.020.
- [20] Hancock M. Appraisal of clinical practice guideline: COPD-X Australian and New Zealand guidelines for the diagnosis and management of chronic obstructive pulmonary disease: 2017 update[J]. *Journal of Physiotherapy*, 2018, 64(4): 271. DOI: 10.1016/j.jphys.2018.07.009.
- [21] Rom O, Avezov K, Aizenbud D, et al. Cigarette smoking and inflammation revisited[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2013, 187(1): 5-10. DOI: 10.1016/j.resp.2013.01.013.
- [22] 齐咏,刘青锋,尚俊依,等.慢性阻塞性肺疾病大鼠骨骼肌过氧化
- 物酶体增生物激活受体 γ 辅激活因子-1 α 表达对线粒体合成的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(2): 367-369. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.02.054.
- [23] 孙雪皎,陈慧,杨朝生,等.小剂量茶碱联合布地奈德/福莫特罗对 COPD 患者外周血炎症因子及核转录因子- κ B 的影响[J]. *广东医学*, 2017, 38(24): 3848-3850. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2017.24.038.
- [24] 姚辉,邓林红,欧阳明星.基质黏附强度调控血小板生长因子诱导的大鼠气道平滑肌细胞中 Fyn 激酶活性[J]. *生物医学工程研究*, 2019, 38(4): 381-386. DOI: 10.19529/j.cnki.1672-6278.2019.04.01.
- [25] Liu Y, Wei JL, Zhao YP, et al. Follistatin-like protein 1 promotes inflammatory reactions in nucleus pulposus cells by interacting with the MAPK and NF κ B signaling pathways [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 43023-43034. DOI: 10.18632/oncotarget.17400.
- [26] Chen L, Liu ZH. Downregulation of FSTL1 attenuates the inflammation injury during *Streptococcus pneumoniae* infection by inhibiting the NLRP3 and TLR4/NF κ B signaling pathway [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2019, 20(6): 5345-5352. DOI: 10.3892/mmr.2019.10752.

(收稿日期:2019-09-12)

(上接 722 页)

- [2] Latchford A, Cohen S, Auth M, et al. Management of Peutz-Jeghers syndrome in children and adolescents: A position paper from the ESPGHAN polyposis working group[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2019, 68(3): 442-452. DOI: 10.1097/MPG.0000000000002248.
- [3] 李晓芬,袁琰,张苏展.中国人遗传性大肠癌综合征的特征及诊疗规范[J]. *中国癌症杂志*, 2015, 25(11): 841-848. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2015.11.001.
- [4] Tanaka S, Sano Y. Aim to unify the narrow band imaging (NBI) magnifying classification for colorectal tumors: current status in Japan from a summary of the consensus symposium in the 79th annual meeting of the Japan gastroenterological endoscopy society [J]. *Dig Endosc*, 2011, 23(Suppl 1): 131-139. DOI: 10.1111/j.1443-1661.2011.01106.x.
- [5] 黄娟,赵培伟,黄敏捷,等.黑斑息肉综合征 4 例临床特点及 STK11 基因检测[J]. *临床儿科杂志*, 2018, 36(2): 142-160. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3606.2018.02.013.
- [6] 王辉,孟松,李超,等.黑斑息肉综合征的诊治分析[J]. *普通外科杂志*, 2015, 24(3): 449-451. DOI: 10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.029.
- [7] Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF, et al. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut*. 2010 Jul;59(7):975-986. DOI: 10.1136/gut.2009.198499.
- [8] 段福孝,顾国利,杨海瑞,等. Peutz-Jeghers 综合征的临床病理学特征和亚型分型初探: 附 295 例临床报道[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2018, 25(7): 800-806. DOI: 10.7507/1007-9424.201801077.
- [9] Chen HY, Jin XW, Li BR, et al. Cancer risk in patients with Peutz-Jeghers syndrome: A retrospective cohort study of 336 cases [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6): DOI: 10.1177/1010428317705131.
- [10] Ma H, Brosens LAA, Offerhaus GJA, et al. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer [J]. *Pathology*, 2018, 50(1): 49-59. DOI: 10.1016/j.pathol.2017.09.004.
- [11] Cheng W, Liu H, Gu Z, et al. Narrow-band imaging endoscopy is advantageous over conventional white light endoscopy for the diagnosis and treatment of children with Peutz-Jeghers syndrome [J]. *Medicine*, 2017, 96(19): e6671. DOI: 10.1097/MD.0000000000006671.
- [12] Van Lier MG, Mathus-Vliegen EM, Wagner A, et al. High cumulative risk of intussusception in patients with Peutz-Jeghers syndrome: Time to update surveillance guidelines [J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106(5): 940-945. DOI: 10.1038/ajg.2010.473.
- [13] 贾燕,傅豪,李娜,等.46 例黑斑息肉综合征的诊治[J]. *中南大学学报医学版*, 2018, 43(12): 1323-1327. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2018.12.007.
- [14] 唐海双,张冰冰,张晶.消化道错构瘤性息肉的最新研究进展[J]. *中华消化内镜杂志*, 2018, 35(8): 606-608. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2018.08.020.
- [15] Latchford AR, Neale K, Phillips RK, et al. Peutz-Jeghers syndrome: Intriguing suggestion of gastrointestinal cancer prevention from surveillance [J]. *Dis Colon Rectum*, 2011, 54(12): 1547-1551. DOI: 10.1097/DCR.0b013e318233a11f.
- [16] 王石林,顾国利,魏学明,等. Peutz-Jeghers 综合征临床综合治疗模式初探(附 71 例报道) [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2012, 19(5): 502-506.

(收稿日期:2020-01-22)

木豆叶提取物对股骨头坏死大鼠血液流变学及骨髓间充质干细胞分化的影响

赵飞,姚忠军,胡炳炎,刘东

基金项目:湖北省自然科学基金项目(HBSY20180210)

作者单位:442000 湖北省十堰市太和医院手外、足踝、显微骨科

通信作者:姚忠军,E-mail:a1980we12@163.com

【摘要】目的 观察木豆叶提取物对股骨头坏死大鼠血液流变学及骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化的影响。**方法** 2017年10月—2018年12月于湖北省十堰市太和医院生物医学研究所进行实验,将50只SPF级雄性SD大鼠按随机数字表法均分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,各10只,后4组大鼠采用大肠杆菌脂多糖(40 $\mu\text{g}/\text{kg}$)与甲基强的松龙(20 mg/kg)建立激素性股骨头坏死大鼠模型;而后低剂量组、中剂量组、高剂量组分别采用不同剂量木豆叶提取物(0.48 g/kg 、0.96 g/kg 、1.44 g/kg)连续干预4周。观察各组大鼠血液流变学、凝血功能及坏死股骨头修复情况;分离各组股骨头坏死大鼠 BMSCs,采用不同浓度含木豆叶血清处理 BMSCs 1周,观察三酰甘油(TG)、碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(BGP)活性、钙化结节面积。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠全血低切黏度、全血中切黏度、全血高切黏度、血浆黏度均升高($P < 0.01$),凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)均降低($P < 0.01$);与模型组比较,低剂量组、中剂量组、高剂量组大鼠全血低切黏度、全血中切黏度、全血高切黏度、血浆黏度均降低,PT、APTT、TT均升高(P 均 < 0.05)。对照组股骨头软骨细胞排列有序且骨小梁完整,模型组股骨头软骨细胞排列紊乱、骨小梁变窄、坏死细胞增多,木豆叶低剂量组、中剂量组、高剂量组股骨头软骨细胞损伤程度较模型组明显减轻。体外 BMSCs 实验结果显示,与对照组比较,低剂量亚组、中剂量亚组、高剂量亚组 BMSCs 中 TG 水平降低($F/P = 58.108/0.000$),ALP、BGP 活性与钙化结节面积增加($F/P = 20.140/0.000, 18.914/0.000, 19.659/0.000$)。**结论** 木豆叶提取物对激素性股骨头坏死大鼠血液流变学、股骨头坏死修复有一定的改善作用,可能与调节血液黏度、凝血功能及 BMSCs 向成骨分化能力有关。

【关键词】 股骨头坏死;木豆叶提取物;血液流变学;骨髓间充质干细胞;成骨分化

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.019

Effects of folium cajani on hemorheology and BMSCs differentiation in rats with femoral head necrosis Zhao Fei, Yao Zhongjun, Hu Bingyan, Liu Dong. Department of Surgical, Foot-Ankle and Micro-Orthopedics, Taihe Hospital, Shiyan 442000, China

Corresponding author: Yao Zhongjun, E-mail: a1980we12@163.com

Funding program: Hubei Province Natural Science Foundation Project (HBSY20180210)

【Abstract】 Objective To observe the effects of folium cajani (FC) on hemorheology and BMSCs differentiation in rats with femoral head necrosis. **Methods** During the period from October 2017 to December 2018 at Biomedicine Institute of Taihe Hospital, Hubei Shiyan, 50 SPF male SD rats were randomly averagely divided into control group, model group, low-dose group, middle-dose group and high-dose group. Except control group, schlerichia coli lipopolysaccharide (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and methylprednisolone (20 mg/kg) were applied to establish rat models of hormonal femoral head necrosis. The low-dose, middle-dose and high-dose groups were continuously intervened with FC extract of different doses (0.48 g/kg , 0.96 g/kg , 1.44 g/kg) for 4 weeks. The hemorheology, coagulation function and necrotic femoral repair in each group were observed. The rat models of femoral head necrosis were prepared by the above method. Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) in rats with femoral head necrosis in each group were isolated. BMSCs were treated with serum of different concentrations which contained FC for 1 week. The triglyceride (TG), alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (BGP) activity and calcified nodule area were observed. **Results** Compared with control group, whole blood low-shear, middle-shear and high-shear viscosity, and plasma viscosity were increased in model group, low-dose group, middle-dose group and high-dose group ($P < 0.01$), while

prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) and thrombin time (TT) were all decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, whole blood low-shear, middle-shear and high-shear viscosity, and plasma viscosity were decreased in low-dose group, middle-dose group and high-dose group, while PT, APTT and TT were all increased ($P < 0.05$). The femoral head chondrocytes in control group were arranged in order, and trabecular bone was complete. The arrangement of femoral head chondrocytes in model group was disordered, trabecular bone was narrowed, necrotic cells was increased. The femoral head chondrocyte damage in low-dose, middle-dose and high-dose group was significantly milder than that in model group. The results of BMSCs in vitro test showed that compared with blank group, TG content of BMSCs was decreased in low-dose, middle-dose and high-dose subgroups ($F/P = 58.108/0.000$), while ALP, BGP activity and calcified nodule area were increased ($F/P = 20.140/0.000, 18.914/0.000, 19.659/0.000$). **Conclusion** There are certain improvement effects of FC on hemorheology and femoral head necrosis repair in rats with hormonal femoral head necrosis, which may be related to regulating blood viscosity, coagulation function and BMSCs osteogenic differentiation ability.

【Key words】 Femoral head necrosis; Folium cajani; Hemorheology; Osteogenic differentiation of BMSCs; Osteogenic differentiation

股骨头坏死是骨科常见且难治性疾病,30~50 岁人群的发病率较高^[1],病情进展速度快,若未及时治疗,可在短短几年内发展为股骨塌陷或髋关节继发性骨性关节炎,只能采取髋关节置换术救治,但髋关节置换术费用较高^[2]。目前对股骨头坏死发病机制认识尚未清楚,导致其治疗难度大且疗效不明显^[3],既往研究显示,中医治疗股骨头坏死具有一定的疗效且安全性好^[4,5]。木豆叶是豆科木豆属植物木豆的茎叶,具有消肿解毒的功效,对股骨头缺血性坏死有显著预防作用^[6]。股骨头坏死危险因素较多,包括使用糖皮质激素、系统性红斑狼疮、关节移位及酗酒等^[7]。本研究通过构建激素性股骨头坏死大鼠,观察木豆叶提取物对股骨头坏死大鼠血液流变学及骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化的影响,为临床木豆叶提取物治疗股骨头坏死提供实验依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)动物:SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只,4 周龄,体质量(190 ± 20)g,购于中山大学东校区实验动物中心[SCXK(粤)2016-0029],SPF 级饲养环境常规饲养,培育室温度 20~25℃,湿度 50%~55%,进行人工光照(12 h/昼、12 h/夜),大鼠全天自由饮水。(2)药物与试剂:甲基强的松龙(美国 Target Molecule Corp 公司),木豆叶提取物采用通络生骨胶囊,购于浙江海正药业股份有限公司。大肠杆菌脂多糖(美国 Sigma 公司),三酰甘油(中国上海朗顿生物科技有限公司),碱性磷酸酶(ALP)试剂盒、大鼠骨钙素(BGP)ELISA 试剂盒(中国上海恒斐生物科技有限公司)。(3)仪器:冷冻离心机(5702R 型,德国 Eppendorf 公司),轮盘式切片机(RM2016 型,德国 LEICA 公司),多功能酶标仪(EnVision 型,英国珀金埃尔默公司),显微镜(LV-150N 型,日本 NIKON 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠模型制备及干预:2017 年 10 月—2018 年 12 月于湖北省十堰市太和医院生物医学研究所进行实验。大鼠适应性饲养 1 周,随机数字表法分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 10 只,参考文献[8]将后 4 组大鼠用于激素性股骨头坏死动物模型制备:大鼠尾静脉注射大肠杆菌脂多糖 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$,1 次/d,连续注射 2 d,末次注射后次日予甲基强的松龙 20 mg/kg 臀肌注射,1 次/d,连续注射 3 d;对照组大鼠注射等剂量的生理盐水。在建模的同时,低剂量组、中剂量组、高剂量组分别给予通络生骨胶囊混悬液 0.48、0.96、1.44 g/kg 灌胃干预,1 次/d,对照组等体积的生理盐水灌胃,均连续干预 4 周。大鼠股骨头肉眼可见软骨面存在缺损,坏死面显露并且髓腔内存在脂肪堆积等变化^[9],表明模型制备成功。

1.2.2 BMSCs 分离培养:各组大鼠麻醉处死,于无菌条件下分离股骨与胫骨,去除附着肌肉组织,去掉两端干骺端,采用 10% PBS、IMDM 培养基冲洗骨髓腔至发白,收集洗涤液,无菌网过滤,其中液体培养于 6 孔板中,37℃、5% CO_2 培养箱中静置培养,3 d 更换 1 次培养基,当细胞铺满近 80% 时,进行传代培养,取第 3 代 BMSCs 用于分化实验。同时取对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组大鼠干预结束后 2 h 的心脏血 3 ml,于 4℃ 离心收集上层血清,−20℃ 保存备用。

1.2.3 BMSCs 分化干预:将第 3 代 BMSCs 分为空白组、处理组。处理组分为 3 个亚组,分别为低剂量亚组、中剂量亚组、高剂量亚组,每组 6 个复孔,重复 3 次,其中培养基中分别加入 1.2.2 所述的含药血清,空白组不做药物处理,参考文献[10]中的方法,连续干预 1 周。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 血液黏度及凝血指标检测:于大鼠给药干预结束后 2 h,1% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 腹腔注射麻醉,采取心脏血 3 ml 置于含有肝素的抗凝管中备测,采用全自动分析仪检测全血黏度、血浆黏度,凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、凝血酶时间 (TT)。

1.3.2 骨组织病理学观察:药物连续干预 4 周后,麻醉处死各组大鼠,切开皮肤,分离肌肉组织,暴露关节囊,取出右侧股骨头并置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,用于苏木精—伊红 (HE) 染色,进行病理学观察。

1.3.3 TG、ALP、BGP 检测:各组含药血清干预结束后,收集 BMSCs 细胞,1 000 r/min 离心 10 min,PBS 洗涤细胞 3 次,沉淀细胞并收集,裂解细胞,3 000 r/min 离心 30 min,收集上清液,按照 TG、ALP、BGP 试剂盒说明书进行操作。

1.3.4 钙化结节面积检测:采用硝酸银染色观察各组钙化结节情况,BMSCs 分化干预结束后,弃培养液,PBS 洗涤 3 次,4% 多聚甲醛固定 10 min,5% 硫代硫酸钠作用 30 min,再用蒸馏水漂洗 3 次,1% 硝酸银 UV 染色 30 min,蒸馏水冲洗掉黑色物质,5% 硫代硫酸钠作用 2 min,1% 中性红复染 10 min,蒸馏水漂洗,在 Polaroid DMC II 图像分析仪下进行钙化结节面积观察。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据分析处理。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,若各组数据均满足正态分布且方差齐,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,非正态分布且方差不齐者则采用非参数 Mann-Whitney *U* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血液流变学指标比较 与对照组比较,模型组大鼠全血低切黏度、全血中切黏度、全血高切黏度、血浆黏度均增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,低剂量组、中剂量组、高剂量组均降低 ($P < 0.05$);随着木豆叶浓度增加,低剂量组、中剂量组、高剂量组大鼠血液

黏度逐渐降低,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05),见表 1。

2.2 各组凝血功能比较 与对照组比较,模型组大鼠 PT、APTT、TT 均降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,低剂量组、中剂量组、高剂量组均升高 ($P < 0.05$);随着木豆叶浓度增加,低剂量组、中剂量组、高剂量组凝血时间逐渐增加 (P 均 < 0.05),见表 2。

表 2 各组大鼠凝血功能指标比较 ($\bar{x} \pm s, s$)

组别	<i>n</i>	PT	APTT	TT
对照组	10	13.68 $\pm$ 0.74	37.20 $\pm$ 1.66	21.68 $\pm$ 2.01
模型组	10	9.02 $\pm$ 0.86 ^a	19.12 $\pm$ 1.37 ^a	12.76 $\pm$ 1.13 ^a
低剂量组	10	10.20 $\pm$ 0.93 ^b	23.65 $\pm$ 1.48 ^b	14.55 $\pm$ 1.07 ^b
中剂量组	10	11.16 $\pm$ 1.04 ^b	28.97 $\pm$ 1.73 ^b	16.74 $\pm$ 1.18 ^b
高剂量组	10	12.79 $\pm$ 0.83 ^b	34.52 $\pm$ 1.97 ^b	19.83 $\pm$ 1.30 ^b
<i>F/P</i> 值		43.317/0.000	203.949/0.000	70.761/0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

2.3 各组骨组织病理学比较 对照组大鼠股骨头软骨细胞排列有序,骨小梁完整,空骨陷窝较少,未见细胞坏死。模型组大鼠股骨头软骨细胞排列紊乱且肥大,骨小梁变窄,有空骨陷窝,脂肪细胞变大,可见明显坏死细胞。低剂量组、中剂量组及高剂量组大鼠股骨头损伤情况得到改善,其中高剂量组大鼠股骨头改善状况更明显,见图 1。

2.4 BMSCs 分化比较 与空白组比较,处理组 (低剂量亚组、中剂量亚组、高剂量亚组) 的 BGP 水平、钙化结节面积及 ALP 活性升高,TG 水平降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);随着木豆叶含药血清浓度增加,BGP 水平、钙化结节面积及 ALP 活性也逐渐升高,TG 水平逐渐降低 ($P < 0.05$),见表 3。

3 讨论

股骨头坏死属于退行性、破坏性骨病,其病程时间长且致残率较高,严重影响患者日常生活。目前对股骨头坏死的发病机制尚未明确,但普遍接受血管内凝

表 1 各组大鼠血液流变学指标比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mPa} \cdot \text{s}$)

组别	<i>n</i>	全血低切黏度	全血中切黏度	全血高切黏度	血浆黏度
对照组	10	9.42 $\pm$ 0.54	6.53 $\pm$ 0.42	5.01 $\pm$ 0.42	1.62 $\pm$ 0.13
模型组	10	14.66 $\pm$ 0.84 ^a	8.72 $\pm$ 0.54 ^a	6.68 $\pm$ 0.40 ^a	2.44 $\pm$ 0.10 ^a
低剂量组	10	13.02 $\pm$ 0.63 ^b	8.14 $\pm$ 0.56 ^b	6.22 $\pm$ 0.43 ^b	2.11 $\pm$ 0.22 ^b
中剂量组	10	11.82 $\pm$ 0.71 ^b	7.59 $\pm$ 0.53 ^b	5.81 $\pm$ 0.41 ^b	1.93 $\pm$ 0.16 ^b
高剂量组	10	10.55 $\pm$ 0.69 ^b	7.01 $\pm$ 0.41 ^b	5.42 $\pm$ 0.40 ^b	1.78 $\pm$ 0.14 ^b
<i>F/P</i> 值		88.716/0.000	30.870/0.000	25.006/0.000	41.548/0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

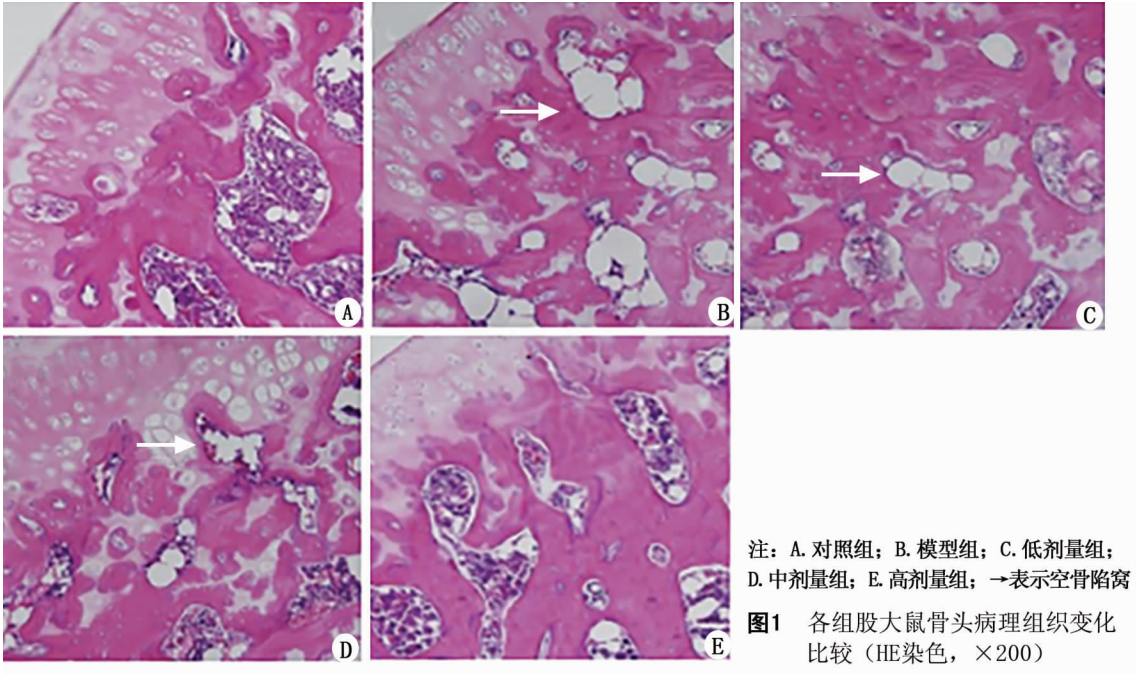


表 3 各组大鼠 BMSCs 分化情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	BGP($\mu\text{g/L}$)	钙化结节面积(mm^2)	TG($\mu\text{g/ml}$)	ALP(U/ml)
空白组	6	214. 31 $\pm$ 13. 25	32. 11 $\pm$ 3. 04	2. 89 $\pm$ 0. 21	129. 62 $\pm$ 8. 64
处理组					
低剂量亚组	6	233. 67 $\pm$ 12. 34	36. 25 $\pm$ 2. 65	2. 11 $\pm$ 0. 23	141. 65 $\pm$ 9. 44
中剂量亚组	6	250. 41 $\pm$ 13. 36	40. 21 $\pm$ 3. 44	1. 83 $\pm$ 0. 16	155. 99 $\pm$ 9. 62
高剂量亚组	6	269. 84 $\pm$ 14. 32	45. 83 $\pm$ 3. 69	1. 52 $\pm$ 0. 14	168. 27 $\pm$ 9. 03
F/P 值		18. 914/0. 000	19. 659/0. 000	58. 108/0. 000	20. 140/0. 000

血学说、脂代谢紊乱学说、细胞凋亡学说及激素毒性作用等,尽管各种学说的侧重点不一,但最终都会影响骨微循环^[10]。本研究结果发现,与对照组大鼠比较,激素性股骨头坏死大鼠全血黏度呈现出升高状态,而PT、APTT、TT降低,由此表明激素性股骨头坏死大鼠体内表现出高凝状态。高凝状态、高游离脂肪酸会加快血管内皮损伤,使血管局部凝血加重,促使软骨下微循环障碍、血栓形成,升高骨内压、减少血流量,引起缺血缺氧,最终形成股骨头坏死^[11-12]。本研究发现通过木豆叶提取物干预后可以明显降低激素性股骨头坏死大鼠全血黏度,并且还可以延长PT、APTT、TT时间,可能是因为木豆叶本身具有消肿止痛、活血化瘀等作用,改善激素性股骨头坏死大鼠的血循环状态,从而改善激素性股骨头坏死大鼠高凝状态。

经过对激素性股骨头坏死大鼠股骨头病理检查发现染色,股骨头表现出坏死、骨小梁空骨陷窝、骨细胞坏死、脂肪细胞增大等病理症状,而经过木豆叶提取物干预处理可以改善上述病理症状,并且随着作用浓度的增加改善程度越明显。有研究显示^[13],由木豆叶单

味药组成的通络生骨胶囊可以促进新西兰兔激素性股骨头坏死修复,减少股骨头坏死的发生率,本研究结果也支持其观点。中医认为气血在股骨滋养、骨质正常形态及其功能的维持中具有重要作用,木豆叶不仅具有活血化瘀的功效,还具有抗炎、抗肿瘤、降血脂、抗骨质疏松等作用,化学成分主要有黄酮类、芪类、甾醇、儿茶酚、水杨酸等^[14-15],其中木豆叶芪类通过影响胆固醇逆向转运实现对胆固醇代谢的调节作用及血管保护作用,木豆叶黄酮类还可以促进新生骨钙的沉积及磷含量,增强对股骨头坏死部分的修复作用,此外,木豆叶中还含有甾醇、儿茶酚、水杨酸等物质,但能否对激素性股骨头坏死有改善作用,还需要进一步研究。由此表明,木豆叶提取物对激素性股骨头坏死有改善作用,推测可能与影响骨钙沉积或BMSCs分化有关。

本研究通过激素性股骨头坏死大鼠模型制备BMSCs,经含木豆叶提取物血清干预后,BMSCs中TG水平减低,而ALP活力、骨钙素水平、钙化结节面积明显升高。BMSCs起源于骨髓成体干细胞,具有增殖、多向分化功能,经不同诱导因素刺激可以分化成神经细

胞、肝细胞、软骨细胞、成骨细胞等^[16]。BMSCs 具有向成骨分化、成脂分化的能力,脂肪细胞主要特点为合成并存储 TG,所以 TG 可以反映 BMSCs 成脂分化情况。ALP 是 BMSCs 向成骨细胞分化的早期重要指标,ALP 活性也直接反映 BMSCs 向成骨细胞分化的能力。BMSCs 向成骨细胞分化的最终表现为钙化,钙化结节可以反映最终钙化情况。刘长河等^[17]研究显示,木豆叶提取物可以较好改善维甲酸诱导的大鼠骨质疏松,增加股骨、椎骨的骨钙水平。本研究结果也发现,大量激素作用可以促进 BMSCs 脂肪代谢紊乱、分化异常,血液的黏稠度增加,血脂水平异常升高,血栓形成引起栓塞,导致股骨头供血不足,从而引起骨细胞坏死。木豆叶提取物对 BMSCs 成骨分化有促进作用,可能是提高了 BMSCs 的应激性及自我保护,抑制 BMSCs 凋亡,还有可能是通过影响 MAPK 途径^[18],但其中的具体作用机制还需要进一步研究。

综上所述,木豆叶提取物对激素性股骨头坏死大鼠的血液黏度、凝血功能有一定的改善作用,可能通过增强 BMSCs 向成骨分化能力,促进激素性股骨头坏死大鼠股骨头坏死修复。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

赵飞:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;姚忠军:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;胡炳炎:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;刘东:进行统计学分析课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 洪志楠,何伟,魏秋实,等. 股骨头坏死物理治疗的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志,2017,25(23):2160-2164. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2017.23.11.
- [2] 孟乘飞,蔡贤华,刘曦明,等. 全膝关节置换术对单侧股骨头坏死骨盆倾斜的影响[J]. 中国矫形外科杂志,2018,26(19):1765-1769. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.19.07.
- [3] 何伟,李博宁. 李同生名老中医治疗股骨头坏死经验浅析[J]. 时珍国医国药,2016,27(1):207-209. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2016.01.082.
- [4] 何伟,洪郭驹,张庆文,等. 非创伤性股骨头坏死中医辨病相关古籍文献内容评析[J]. 时珍国医国药,2016,27(3):659-660. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2016.03.055.
- [5] 郭中华,都帅刚,张仲博,等. 大活络丸加减治疗股骨头坏死痰瘀阻络证的疗效及安全性[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(13):172-177. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20181214.
- [6] 鲁超,周永春,王智耀,等. 通络生骨方治疗激素性股骨头坏死的回顾性临床研究[J]. 西部中医药,2016,29(9):99-102. DOI: 10.3969/j.issn.1004-6852.2016.09.030.
- [7] 中国医师协会骨科医师分会显微修复工作委员会,中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组,中华医学会骨科分会显微修复学组. 成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J]. 中华骨科杂志,2016,36(15):945-954. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2016.15.001.
- [8] 张琳,汪轩,张成龙,等. 激素性股骨头坏死大鼠模型内毒素剂量的优选[J]. 中成药,2016,38(11):2462-2465. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2016.11.031.
- [9] Ikemura S, Yamamoto T, Motomura G, et al. Cytochrome P4503A activity affects the gender difference in the development of steroid-induced osteonecrosis in rabbits[J]. Int J Exp Pathol, 2014, 95(2): 147-152. DOI: 10.1111/iep.12060.
- [10] 谭旭仪,李刚,高书图,等. 股骨头坏死愈后含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞凋亡的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(3):146-149. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2015030146.
- [11] 陈俊名,岳辰,范亚楠,等. 股骨头坏死动物造模研究进展[J]. 中国医药导报,2020,17(9):25-28.
- [12] 魏伟,沈计荣. 干细胞移植治疗股骨头骨坏死研究进展[J]. 中国现代医生,2019,57(3):164-168.
- [13] 陈达. 通络生骨胶囊促进激素性股骨头坏死修复的机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2016,27(3):351-356. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9783.2016.03.009.
- [14] 张嫩玲,蔡佳仲,胡英杰,等. 木豆叶的化学成分研究[J]. 中药材,2017,40(5):1116-1118. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2017.05.025.
- [15] Das S, Hussain N, Gogoi B, et al. Vermicompost and farm yard manure improves food quality, anti-oxidant and anti-bacterial potential of *Cajanus cajan* (L, Mill sp.) leaves[J]. J Sci Food Agric, 2016, 97(3): 956-966. DOI: 10.1002/jsfa.7820.
- [16] Lin H, Sohn J, Shen H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing[J]. Biomaterials, 2019, 203: 96-110. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.06.026.
- [17] 刘长河,李华妮,葛文静,等. 木豆叶提取物对维甲酸所致大鼠骨质疏松的药效学研究[J]. 中药新药与临床药理,2017,28(6):734-738. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.06.007.
- [18] 马春涛,曾意荣,曾建春,等. 木豆叶对激素干预后的骨髓间充质干细胞的蛋白质组学研究[J]. 中药新药与临床药理,2013,24(4):351-355. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.007.

(收稿日期:2019-12-25)

新生儿限制性心肌病 1 例

刘小烨, 武珊珊, 王炜, 李月梅

作者单位: 050000 河北医科大学(刘小烨); 河北医科大学第二医院小儿内科(武珊珊、王炜、李月梅)

通信作者: 刘小烨, E-mail: liuxiaoye868@163.com

【关键词】 限制性心肌病; 新生儿; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.020

患儿,男,10 d,足月剖宫产娩出,出生体质量 3 400 g,主因反应差 7 d,呼吸困难半天入院。无家族史。入院查体:BP 50/30 mmHg,反应差,皮肤发花,口周发绀,呼吸困难,三凹征阳性,经皮血氧饱和度不能维持 85% 以上,心率 176 次/min,心音低钝,四肢肌张力低,末梢凉。血气分析 pH 7.04,PCO₂ 53 mmHg,PO₂ 44 mmHg,Lac 13.1 mmol/L,HCO₃⁻ 11.5 mmol/L,BE -16.3 mmol/L,Hb 112 g/L, SaO₂ 55%; B 型钠尿肽前体 > 35 000 pg/ml,AST 137.8 U/L,ALT 14.1 U/L,cTnI 18.29 ng/ml,血钾 6.25 mmol/L,血糖 12.9 mmol/L。心电图示阵发性室上性心动过速。心脏超声:双房扩大,左室收缩功能减低(LVEF 46.9%),左室舒张功能减低(限制性充盈),同时伴有二尖瓣轻一中度关闭不全,三尖瓣轻度关闭不全,肺动脉收缩压增高,少量心包积液。诊断:(1)限制性心肌病;(2)心力衰竭;(3)心源性休克。入院后立即给予呼吸机辅助支持,抗感染、扩充血容量、纠正酸中毒、血管活性药物改善心功能及对症支持治疗,住院后患儿病情进一步加重,出现肺出血,凝血功能障碍,PT 24.7 s,APTT 43.5 s,Fib 1.00 g/L,FDP 92.21 mg/L,D-二聚体 14.42 μg/ml,给予调整呼吸机参数,补充凝血因子等对症支持治疗,患儿于入院第 5 天病情逐渐平稳,反应及呼吸好转,心率恢复正常,复查心脏超声:双房仍扩大,左室收缩功能较前好转(LVEF 55.8%),左室舒张功能减低(Ⅲ级,限制性充盈);入院第 9 天复查心脏超声:双房大小恢复正常,左室舒张功能仍减低,左室收缩功能正常(LVEF 60.43%),继续口服药物治疗,生后 3 个月、6 个月复查,患儿生长发育正常,心脏超声检查仅存在左室舒张功能减低。

讨论 限制性心肌病(restrictive cardiomyopathy,RCM)是临床上一种比较少见的心肌病^[1],其主要特征为单侧或双侧心室舒张功能严重受损,导致心室充盈压增高而心脏收缩功能正常或仅轻度受损^[2]。本病多发生于热带和温带地区,我国有散发病例报道。RCM 起病缓慢,疾病早期患儿机体代偿可无任何临床症状,因此在儿童中发病罕见,国内文献检索仅有 40 余例发病的报道^[3-5],而经 PubMed 检索新生儿限制性心肌病仅有 2 例报道^[6-7],国内尚未见相关报道。

限制性心肌病的临床表现与受累心室和病变的严重程度有关,无特异性,目前尚没有公认的诊断标准,心内膜活检可以

确诊但临床应用价值有限^[8]。RCM 诊断主要依靠临床表现、实验室检查及辅助检查综合判断。而超声心动图检查被认为是诊断 RCM 最重要的手段^[9],其典型表现为右心室和左心室的射血分数及心室容积正常,而单侧或双侧心室充盈受限,舒张期容积缩小,常伴有双房增大。超声心动图对诊断限制型心肌病的敏感度为 93%,特异度为 88%^[10]。本例患儿出生后早期出现典型的临床表现,即心力衰竭、心源性休克、心律失常;实验室检查 B 型钠尿肽前体及 cTn I 显著增高,同时结合超声心动图检查限制性心肌病诊断明确。此患儿早期发病,考虑与肺部感染导致心功能障碍有关,Le Van Quyen 等^[6]报道 1 例新生儿生后 17 d 发病,考虑与柯萨奇 B4 病毒感染有关。随着患儿治疗好转,心力衰竭、心律失常等纠正,患儿出院时仅超声心动图显示左室舒张功能受限,而无临床症状。

限制型心肌病是心肌病中预后最差的一种,尤其是儿童阶段发病者,病死率高,主要与心脏舒张功能受损程度有关。目前尚无有效的治疗药物,主要以对症支持治疗为主。Ding 等^[5]提出儿茶素可改善 TNNI3 基因突变诱导的 RCM 患儿心室舒张功能,但由于纳入 16 例患儿中接受儿茶素治疗仅 5 例,疗效尚需进一步确认。总之,目前针对 RCM 的药物治疗效果都不确切,而心脏移植被认为是惟一能提高 RCM 生存率的治疗方案。分子克隆和基因重组技术有可能给心肌病患者提供新方向。本例患儿出院后仍口服药物改善心功能,并定期随访超声心动图,密切监测心功能,以期能改善患儿预后。

参考文献

- [1] Pereira NL, Grogan M, Dec GW. Spectrum of restrictive and infiltrative cardiomyopathies; Part 1 of 2-Part Series[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(10):1130-1148. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.01.016.
- [2] Rammos A, Meladinis V, Vovas G, et al. Restrictive cardiomyopathies: The importance of noninvasive cardiac imaging modalities in diagnosis and treatment-s systematic review[J]. Radiol Res Pract, 2017, 2017:2874902. DOI: 10.1155/2017/2874902.
- [3] 程估,潘永祜. 小儿限制性心肌病合并房性心动过速 1 例[J]. 临床荟萃, 2009, 24(2):158.
- [4] 刘颖,袁越,张永兰. 小儿限制性心肌病的诊断与治疗(附 30 例报告)[J]. 北京医学, 2005, 27(7):414-416. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9713.2005.07.010.

- [5] Ding WH, Han L, Xiao YY, et al. Role of whole-exome sequencing in phenotype classification and clinical treatment of pediatric restrictive cardiomyopathy[J]. Clin Med J(Engl), 2017, 130(23):2823-2828. DOI: 10.4103/0366-6999.219150.
- [6] Le Van Quyen P, Desprez P, Livolsi A, et al. Peculiar clinical presentation of coxsackievirus B4 infection: Neonatal restrictive cardiomyopathy[J]. AJP Rep, 2017, 7(2):e124-e126. DOI: 10.1055/s-0037-1601352.
- [7] Sekar P, Hornberger LK, Smallhorn JS. A case of restrictive cardiomyopathy presenting in fetal life with an isolated pericardial effusion[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2010, 35(3):369-372. DOI: 10.1002/uog.7510.
- [8] Muchtar E, Blauwet LA, Gertz MA. Restrictive cardiomyopathy: Genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy[J]. Circ Res, 2017, 121(7):819-837. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.
- [9] Costache II, Buburuz AM, Crisu D, et al. The role of echocardiography and ⁹⁹mTc-HDP scintigraphy in non-invasive diagnosis of cardiac amyloidosis: A case series and literature review[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(38):e17256. DOI: 10.1097/MD.00000000000017256.
- [10] 王福军, 石翔, 罗亚雄. 限制型心肌病的研究进展[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2016, 4(3):1-4, 8.

(收稿日期:2019-12-06)

罕见病例

原发乳腺弥漫大 B 细胞淋巴瘤 1 例

黄玉, 石印青

作者单位: 037009 大同大学医学院(黄玉); 山西省大同市第三人民医院乳腺血管外科(石印青)

通信作者: 石印青, E-mail: 503712831@qq.com

【关键词】 原发乳腺淋巴瘤; 弥漫大 B 细胞性淋巴瘤; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.021

患者, 女, 79 岁, 因“发现右乳肿物 1 d”于 2019 年 7 月 24 日入院。1 d 前患者无明显诱因发现右乳有一约红枣大小肿物, 伴疼痛, 外院乳腺彩色超声示: 右乳外上象限探及低回声结节, 大小约 3.8 cm × 2.2 cm, 边界清, 形态规则, 内回声不均。BI-RADS 4a 级, 右侧腋窝淋巴结肿大, 为进一步治疗收住院。育 1 子 2 女, 已绝经, 既往史、个人史和家族史无特殊。右侧乳头外上象限可触及一大约 4.0 cm × 3.0 cm 肿物, 质硬, 表面光滑, 边界不清, 形态不规则, 活动度一般, 触痛阳性, 与皮肤及基底无明显粘连, 无酒窝征及橘皮样改变, 余查体正常。入院后查胸部 CT 平扫提示左肺下叶及右肺中叶纤维化灶, 右侧乳腺团块病变, 恶性病变可能大; 头颅 MR 平扫、全身骨扫描 SPECT 及其他检查均无特殊。由于患者本人及家属拒绝行肿物穿刺活检术, 于 8 月 4 日在全麻下行右侧乳腺肿物切除术, 术中探查可见约 5.0 cm × 4.5 cm × 1.8 cm 肿物, 呈不规则类圆形, 位于乳腺腺体内, 术中快速冰冻结合肉眼及镜下形态不排除淋巴来源的淋巴瘤或分化不确定的肿瘤。遂再次行右侧乳腺肿物扩大切除术, 切除物大体标本见图 1A。术后病理示: (右侧) 乳腺结合形态学及免疫组化支持非霍奇金淋巴瘤, 弥漫大 B 细胞淋巴瘤(图 1B)。免疫组化: 瘤细胞 CD3(-), CD20(弥漫+), PaX-5(+), CD21(弱+), CD23(-), CD10(-), Bcl-2(>70%+), Bcl-6(弱+), Mum-1(+), C-myc(10%+), Ki-67(80%~90%+), ER(-), PR(-), GCDFP-15(-), GATA3(-)。术后送右乳肿物二次扩大切除物未见肿瘤细胞。结合病理结果诊断为原发乳腺弥漫大 B 细胞淋巴瘤。综合考虑患者个体情况欠佳, 患者本人及家属拒绝术后放化疗。

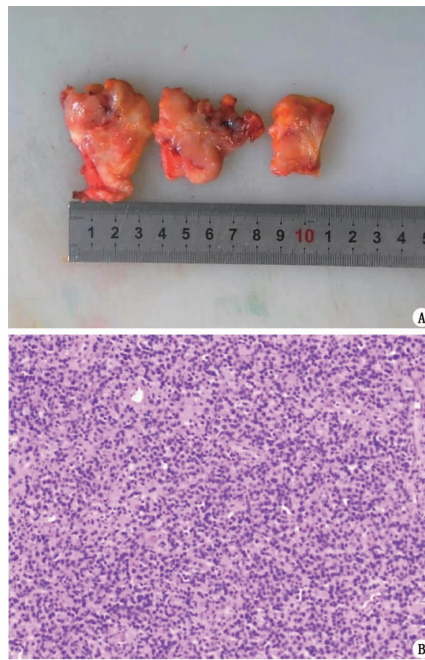


图 1 患者右乳切除肿物及术后病理(HE 染色, ×100)

讨论 原发乳腺淋巴瘤(primary breast lymphoma, PBL)绝大多数初诊时以肿块为主要临床表现, 缺乏典型性, 与乳腺癌、乳腺炎性疾病等有相似的临床及影像学表现。由于该病罕见, 关于其流行病学、预后及其生物学行为等信息仍不清楚, 因此, 几乎无前瞻性的证据来指导临床医生选择最优的治疗方案。PBL 有多种组织学亚型, 原发乳腺弥漫大 B 细胞淋巴瘤

(primary breast diffuse large B-cell lymphoma, PB-DLBCL)是最常见的亚型,50%以上 CD20⁺ [1],恶性度较高,进展迅速,尤其容易在乳腺和中枢神经系统复发转移 [2-3]。通过系统综合治疗是可能治愈的,5 年生存率达 75%~80% [4-5]。本研究就本例 PB-DLBCL 患者进行探讨,以期提高对该类疾病的认识。

研究显示,女性几乎是唯一的发病人群 [2-4],很少有男性,这表明性激素在原发性乳腺淋巴瘤的发病机制中可能发挥重要作用。发病年龄范围比较广,可以发生在任何年龄段 [5]。典型特征是无痛性单侧乳腺肿块,右侧乳腺受累多见,而且以外上象限为主 [4-6],本病例病灶在右乳外上象限,与文献报道一致。仅有不到 5% 的病例累及双侧,双侧乳腺受累可能提示预后不良 [7-8]。临床表现多以无痛性乳腺肿块为首发症状,肿块大小不一,个别患者可有肿块疼痛并伴随发热、盗汗、体质量减轻等全身症状,几乎没有皮肤红肿、橘皮样改变、乳头凹陷或溢液等,可累及同侧腋窝淋巴结,因此初诊时难以与乳腺癌鉴别。PBL 诊断方法包括影像学检查(乳腺 X 线摄影、超声造影、MR 和 PET 等)、细针穿刺细胞学检查、手术切除活检及彩色超声引导下粗针穿刺活检等。目前该病诊断金标准仍然是病理诊断。PB-DLBCL 的临床分期和分级严格参照 1972 年 Wiseman 等提出的标准 [9],准确的诊断对于这类恶性肿瘤的分级、分期至关重要,对后期监测复发、随访等也有帮助。

PB-DLBCL 的治疗方法主要包括化疗、手术和放疗等综合治疗,但最佳的治疗模式仍在探索中。化疗是治疗结节性及其他结外非霍奇金淋巴瘤的主要手段,化疗的选择应根据组织学亚型、疾病范围及患者的具体情况而定。手术仅作为诊断用途,而非治疗手段,所有诊断为 PB-DLBCL 患者,乳腺切除术对提高 PB-DLBCL 患者生存率和减少复发风险无益 [5]。淋巴结转移情况决定了放疗和化疗的最佳治疗模式,也决定了患者的预后。放射治疗的主要作用是继化疗后巩固治疗,可降低局部复发率,放疗的靶区通常包括患侧乳腺、胸壁、腋窝,对侧乳腺是否常规放疗尚存在争议。研究显示,绝大多数 PB-DLBCL 选择的是 DLBCL 标准化疗方案 CHOP/R-CHOP 方案 [2-3,5],其他化疗方案还包括 R-CODOX-M/R-IVAC、EPOCH、DICE 等,这些方案是否优于 R-CHOP 还有待进一步研究。考虑本患者 79 岁高龄,机体情况欠佳,患者家属拒绝行放化疗,术后未进行任何抗肿瘤治疗。国内学者对于 PB-DLBCL 相关研究显示 [10-11],经上述综合治疗后疗效均较好,而且接受治疗的这些患者中最大年龄 77 岁,所以在选择治疗策略时考虑患者的个体化状况是极其必要的。本例患者预后情况还在进一步随访之中。由于目前绝大多数是小规模回顾性研究,因此,PB-DLBCL 复发模式在所有研究中并不一致,临床医生对 PB-DLBCL 患者常规使用预防性中枢神经系统治疗尚无共识,探索其中枢复发的高危因素对是否进行中枢预防更具指导意义。

PB-DLBCL 的总生存率(OS)和疾病无进展生存期(PFS)呈上升趋势,这可能是由于综合治疗方法的改进,尤其是随着快速发展的针对 CD20⁺ B 细胞淋巴瘤靶向治疗的出现,比如利妥昔单抗,进一步提高了 PB-DLBCL 患者的生存期 [3,5],由此表明利妥昔单抗能改善 PB-DLBCL 患者的预后,因此,临床上学者普

遍认为在 PB-DLBCL 系统化疗中联合应用利妥昔单抗。

此例 PB-DLBCL, PB-DLBCL 临床表现和影像学均不典型,和乳腺癌难以鉴别,早期诊断主要是依靠先进的影像学技术、准确的组织病理学检查和免疫组化分析,而正确的临床分期和分级对于选择最佳的治疗模式至关重要。目前虽然在系统性化疗基础上联合手术或放疗为普遍的治疗方法,但其标准的一线治疗模式尚未达成共识。有待多中心大样本的前瞻性研究,从而为临床医生提供全面可靠的治疗建议和指南。

参考文献

- [1] Hu S, Song Y, Sun X, et al. Primary breast diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: Therapeutic strategies and patterns of failure[J]. Cancer Sci, 2018, 109(12): 3943-3952. DOI: 10. 1111/cas. 13828.
- [2] Thomas A, Link BK, Altekruze S, et al. Primary breast lymphoma in the United States: 1975-2013[J]. J Natl Cancer Inst, 2017, 109(6): djw294. DOI: 10. 1093/jnci/djw294.
- [3] Wadhwa A, Senebottarath K. Primary lymphoma of the breast: A case series[J]. Radiol Case Rep, 2018, 13(4): 815-821. DOI: 10. 1016/j. radcr. 2018. 04. 009.
- [4] Harb OA, Balata SA, Ashour H, et al. Primary diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma of the breast-A case report and review of the literature[J]. Radiol Case Rep, 2018, 14(1): 22-27. DOI: 10. 1016/j. radcr. 2018. 09. 004.
- [5] Jia Y, Sun C, Liu Z, et al. Primary breast diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study from 1975 to 2014[J]. Oncotarget, 2017, 9(3): 3956-3967. DOI: 10. 18632/oncotarget. 23285.
- [6] Matsubayashi RN, Iwasaki H, Iwakuma N, et al. Methotrexate (MTX)-associated malignant lymphoma of the bilateral breast: imaging features in comparison to other nipple-areolar tumors[J]. Clin Imaging, 2019, 53: 120-125. DOI: 10. 1016/j. clinimag. 2018. 10. 004.
- [7] Ludmir EB, Milgrom SA, Pinnix CC, et al. Primary breast diffuse large B-cell lymphoma: treatment strategies and patterns of failure[J]. Leuk Lymphoma, 2018, 59(12): 2896-2903. DOI: 10. 1080/10428194. 2018. 1460825.
- [8] Liu PP, Wang KF, Jin JT, et al. Role of radiation therapy in primary breast diffuse large B-cell lymphoma in the Rituximab era: a SEER database analysis[J]. Cancer Med, 2018, 7(5): 1845-1851. DOI: 10. 1002/cam4. 1457.
- [9] Wiseman C, Liao KT. Primary lymphoma of the breast[J]. Cancer, 1972, 29(6): 1705-1712. DOI: 10. 1002/1097-0142(197206)29: 6<1705::aid-cnrc2820290640>3.0.co;2-i.
- [10] 姚宛芝, 冯薇臻, 欧阳楚桐, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值对早期原发乳腺弥漫大 B 细胞淋巴瘤的临床特征及预后的影响[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(5): 402-408. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-0904. 2019. 05. 004.
- [11] 李鑫, 周帆帆, 武晓龙, 等. 21 例原发乳腺弥漫大 B 细胞淋巴瘤的临床分析[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(21): 1086-1090. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-8179. 2018. 21. 080.

(收稿日期: 2019-09-07)

促甲状腺激素垂体瘤 1 例

吴宸炜, 周心禾, 郑文文, 张杭, 郑超

作者单位: 325000 温州医科大学附属第二医院内分泌科

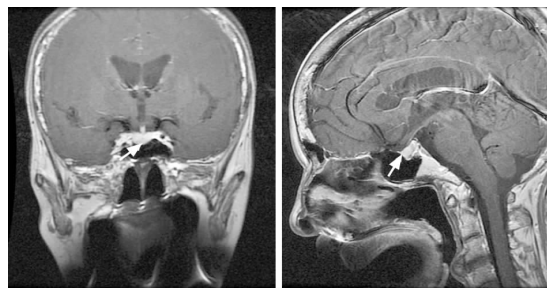
通信作者: 郑超, E-mail: Wallbb_1022@163.com

【关键词】 促甲状腺激素垂体瘤; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.022

患者, 女, 50 岁, 因“肢体抖动 10 余年, 心悸 1 个月”入院。患者于 2009 年无明显诱因出现肢体抖动, 伴易饥多食, 怕热多汗, 烦躁易怒, 于外院诊断为“甲状腺功能亢进”, 抗甲状腺功能亢进药物治疗 1 年后自觉无明显改善, 自行停药。10 年来多次于外院就诊, 抗甲状腺功能亢进药物治疗均无明显改善。1 个月前患者活动后胸闷心悸、头晕头痛、怕热出汗、烦躁易怒, 至我院查血清游离三碘甲腺原氨酸 (FT₃) > 20.00 pg/ml, 血清游离甲状腺素 (FT₄) 8.70 ng/dl, 促甲状腺激素 (TSH) 5.979 μIU/ml, 促甲状腺素受体抗体 (TRAB) < 0.30 IU/L; 甲状腺 SPECT 示甲状腺弥漫性肿大, 甲状腺摄碘率示甲状腺摄碘功能增高, 拟“甲状腺功能亢进”收入院。查体: 双眼轻度外突, 结膜无充血水肿, 双眼能闭合, 无上视、下视活动障碍, 无辐辏不良。双侧甲状腺 II 度肿大, 质地中等, 未闻及血管杂音, 无硬结、压痛。余无特殊。入院后测激素水平: TSH 4.833 μIU/ml, FT₃ > 20.00 pg/ml, FT₄ 7.66 ng/dl。后行奥曲肽抑制试验示血 TSH、FT₃ 及 FT₄ 较前下降, 垂体 MR 增强显示垂体下陷伴垂体前叶右侧份异常信号 (图 1), 后转至外科行经鼻垂体切除术。术后病理活检示: 促甲状腺激素垂体瘤 (TSH 瘤), CK (+), CAM5.2 (+), CgA (+), Syn (+), CD56 (+), Ki-67 (2% +), EMA (-), P53 (少量 +), NSE (+)。术后患者 FT₃ 及 FT₄ 水平恢复正常, 但出现垂体功能减退, 予波尼松龙、去氨加压素替代治疗。术后 2 个月随访时 FT₃ (5.55 pg/ml) 及 FT₄ (2.18 ng/dl) 水平升高, 仍需密切随访观察术后发生甲状腺功能亢进或仅仅是甲状腺炎所致暂时性 FT₃ 及 FT₄ 水平升高。

讨论 TSH 瘤是一种临床上少见的功能性垂体腺瘤, 占垂体腺瘤的 1% ~ 2%^[1], 多为良性肿瘤。多数患者以甲状腺毒症为首表现, 常常被误诊为 Graves 病而接受不恰当的治疗, 但通过甲状腺功能检查结果即可鉴别。TSH 瘤特点为中枢性甲状腺功能亢进, 即 FT₃、FT₄ 升高而 TSH 未受抑制^[2,3], 需进一步与甲状腺激素不敏感综合征 (RTH) 相鉴别以避免不恰当的治疗。TSH 瘤与 RTH 共同表现为 FT₃、FT₄ 升高而 TSH 水平不受抑制, 且两者血 TSH 水平或 FT₃、FT₄ 水平无明显差异, 无法通过激素水平的高低而区分^[3]。TSH 瘤患者多有甲状腺功能亢进的临床表现及体征, 因其肿瘤细胞同时分泌血清糖蛋白激素 α 亚单位 (α-GSU), 且分泌量大于 TSH, 故 α-GSU、α-GSU/



冠状位

矢状位

注: 垂体右侧份稍大, 垂体高约 7 mm, 右侧鞍底稍下陷, 可见大小约 6 mm × 3 mm 条片状无强化区

图 1 术前垂体 MR 增强表现

TSH 比值升高, 且性激素结合球蛋白 (SHBG) 水平升高。RTH 为常染色体显性遗传性疾病, 是甲状腺激素受体 β 基因突变的结果。患者多有家族史, 其血 α-GSU、SHBG 水平正常。TSH 瘤的确诊手段包括 T₃ 抑制试验、TRH 兴奋试验、奥曲肽抑制试验及垂体 MR。T₃ 抑制试验禁用于老年及伴心脏疾病患者, 现多用 TRH 兴奋试验及奥曲肽抑制试验。约 96% 的 TSH 瘤患者对 TRH 兴奋试验不敏感, 而 97% 的 RTH 患者敏感^[4]。几乎所有 TSH 瘤患者应用生长抑素类似物后其 FT₃、FT₄ 水平显著下降。垂体 MR 发现垂体部位的改变也强烈支持 TSH 瘤的诊断。当奥曲肽抑制试验阳性及垂体 MR 提示垂体部位肿物时即可诊断 TSH 瘤^[3]。

TSH 瘤的治疗包括手术治疗、药物治疗及放射治疗。药物治疗包括生长抑素受体类似物、多巴胺激动剂, 放射治疗包括传统二维放疗及立体定向放射治疗等。目前其一线治疗为手术治疗, 40% ~ 60% 患者手术治疗有效^[4]。但因其临床表现与 Grave 病类似, 多数患者误诊为 Graves 病而接受抗甲状腺药物治疗, 约 30% 的患者接受过¹³¹I 治疗或甲状腺切除术^[3]。而 TSH 瘤患者接受这些治疗方案后, 肿瘤体积将增大, 为手术完全切除肿瘤增加难度^[2]。Beck-Peccoz 等^[5]报道在未经抗甲状腺药物治疗的 TSH 瘤患者中 34% 为微腺瘤, 而接受抗甲状腺药物治疗后仅 19% 为微腺瘤。因多数患者既往接受抗甲状腺功能亢进治疗, 约 80% 的患者在确诊 TSH 瘤时腺瘤表现为大腺瘤

(下转 746 页)

肺动脉高压基因遗传突变研究进展

崔宇菲, 张磊综述 叶岚审校

作者单位: 300000 天津医科大学第二医院心血管内科

通信作者: 叶岚, E-mail: yelan_22@hotmail.com

【摘 要】 肺动脉高压(PAH)是一种罕见的血管疾病,肺动脉高压的病理生理机制复杂,其发生发展受环境因素和遗传因素影响。近些年,在肺动脉高压遗传因素的研究中,越来越多的异常基因被发现;随着对基因机制的研究不断进展,相关的靶向治疗也为肺动脉高压诊治提供了新的思路与新选择。

【关键词】 肺动脉高压;基因突变;靶向治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.023

Progress in genetic mutation of pulmonary hypertension gene Cui Yufei, Zhang Lei, Ye Lan. Department of Cardiovascular Medicine, Tianjin Medical University Second Hospital, Tianjin 300000, China

Corresponding author: Ye Lan, E-mail: yelan_22@hotmail.com

【Abstract】 Pulmonary hypertension (PAH) is a rare vascular disease. The pathophysiology of PAH is complex. Its occurrence and development are affected by environmental factors and genetic factors. In recent years, more and more abnormal genes have been found in the study of genetic factors of pulmonary hypertension. With the development of gene mechanism, targeted therapy also provides new ideas and new options for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension.

【Key words】 Pulmonary arterial hypertension; Gene mutation; Targeted therapy

肺动脉高压(PAH)是一种罕见的血管疾病,可表现为运动无力或晕厥、呼吸困难和右心室肥大。普通人群中肺动脉高压患病率约1%。在我国排除左心疾病和肺部疾病后,肺动脉高压以先天性心脏病相关肺动脉高压、特发性肺动脉高压(IPAH)和结缔组织病相关肺动脉高压(CTD-PAH)较常见;既往临床上将PAH定义为静息时肺动脉平均压力 ≥ 25 mmHg,左心房压正常。在2019年,该定义已修改为平均肺动脉压力 > 20 mmHg,左心房压力正常,肺血管阻力 ≥ 3 Wood单位^[1]。PAH的病理生理机制复杂,环境和遗传因素影响其发生发展;肺动脉高压是遗传基因突变、表观遗传因素及环境因素共同作用的结果;多种血管活性分子、多种离子通道、多条信号通路在肺血管重构中发挥重要调节作用^[2]。PAH包括IPAH、遗传性肺动脉高压(HPAH)和相关性肺动脉高压(APAH)。本文将着重综述基因(BMPR2、BMP9、ACVRL1、SMAD1、SMAD3、SMAD4、SMAD9、CAV1、KCNK3、ATP13A3、SOX17、AQP1、EIF2AK4、ABCC8、TBX4、GDF2等)突变在遗传性肺动脉高压中的作用机制研究进展,旨在探讨PAH的遗传病因及对今后基因筛查和基因相关治疗策略的影响。

1 BMPR2 突变

骨形成蛋白Ⅱ型受体(BMPR2)是转化生长因子- β (TGF- β)受体超家族成员骨成型蛋白(BMP)的受体蛋白,基因位于2q33.1-33.2(2号染色体长臂3区3带),含13个外显子。BMPR2突变占有PAH患者的25%^[3],成为肺动脉高压最重要的基因突变之一。BMP信号转导是通过质膜上配体结合BMPR2和激酶1样激活素受体(ACVRL1,也称为ALK1),激活下游蛋白实现的^[4]。研究确定BMPR2突变占有PAH家族病史患者的53%~86%。PAH的BMPR2特异性变异是导致氨基酸置换的错义突变,错义突变广泛分布在BMPR2外显子上,但大多数位于关键的功能域内,特别是外显子2~3编码的配体结合域和功能上由外显子6~9和11编码的高度保守催化激酶区域^[5]。BMPR2单倍剂量不足是遗传性PAH的主要分子机制。在BMPR2下游,他克莫司(FK506)通过结合BMP信号抑制剂FK结合蛋白,逆转了PAH肺动脉内皮细胞功能失调的BMPR2信号转导^[6];有临床试验证实,低剂量FK506对PAH的安全性和耐受性较好^[7]。

2 BMP9 突变

对一项独立的病例对照研究进行外显子组基因负

荷分析,总纳入 331 例 IPAH 患者和 10 508 例对照者。研究人员进行功能评估以分析基因突变对蛋白质生物合成和功能的影响。编码人骨形态蛋白 9 (BMP9) 基因被确定为一个新的遗传基因位点。BMP9 中罕见编码突变发生在 6.7% 的病例中,功能研究表明,BMP9 突变导致肺动脉内皮细胞中 BMP9 分泌减少和抗凋亡能力受损^[8]。我国也有研究显示,BMP9 的罕见有害变异与 IPAH 的发病呈强相关性,BMP9 突变携带者体内活性 BMP9 减少,BMP9 突变可以影响 BMP9 的合成、分泌、转录后加工及对 ACVRL1 通道的活化能力。BMP9 可能是 IPAH 新的致病基因^[9]。

3 ACVRL1 突变

遗传性出血性毛细血管扩张 (HHT) 是一种遗传性血管疾病,激酶 1 样激活素受体 (ACVRL1) 是 TGF- β 1 型受体的一种。HHT 为常染色体显性遗传,对伴有 PAH 的 HHT 患者基因进行研究,ACVRL1 基因和内皮素 (ENG) 基因变异可能与 PAH 的发生存在关联。ENG 基因突变可导致 HHT1 型,ACVRL1 基因突变可导致 HHT2 型。对 HHT 合并 IPAH 家系进行研究发现,ACVRL1 突变可导致 HHT 患者合并 IPAH。目前已经发现 54 种可导致 2 型 HHT 的 ACVRL1 突变,其中 13 种突变 (占 24%) 可导致 PAH 的发生^[10]。HHT 的 ACVRL1 突变可以发生在基因全区域内,但是致 PAH 发病的基因突变基本局限于激酶活性区域。绝大多数 ACVRL1 突变是错义突变,其中大约 89% 包含在重要的催化域内,提示致病性高^[5]。

4 SMAD 家族基因突变

SMAD 家族是 TGF- β 受体激酶的重要效应分子,有实验证实 SMAD9 基因突变明显影响了 SMAD 转录活性;相比之下,SMAD1 和 SMAD4 基因缺陷引起的转录激活抑制作用较轻^[11]。最近研究显示,SMAD3 缺失在 PAH 中表现出一种新的病理机制,可促进血管细胞增殖,并通过心肌蛋白相关转录因子 (myocardin-related transcription factor, MRTF) 解除抑制人类肺血管平滑肌细胞 (huPASCs) 的肥大^[12]。

5 CAV1 突变

小窝蛋白 (caveolin 1, CAV1) 首次被发现是通过三代家族中 4 例 PAH 患者的外显子组测序,因此认为 CAV1 的变异与 PAH 发病有关。目前发现的突变都隐藏在 CAV1 的末端外显子中。已有研究表明,由于突变蛋白在内质网中,导致腔内合成作用明显受损^[13]。CAV1 基因在肺动脉高压中的作用机制逐渐被发现,有试验提示内皮细胞中富含 CAV-1 的细胞外泡脱落进入循环中引起 CAV1 减少,导致 TGF- β 信号异

常,引起血管重构及肺动脉高压。此外,CAV1 突变 (c. 474delA) 导致 SMAD1、SMAD5 和 SMAD8 过度磷酸化,因此导致 CAV1 的抗增殖功能降低^[14]。有试验证实了骨髓间充质干细胞 (rBMSCs) 突变的 CAV-1 (Cav1^{F92A}) 基因对 PAH 平滑肌细胞表型转换的影响。Cav1^{F92A} 增加 NO 浓度,提高细胞黏附、细胞生存能力,增加了抗炎细胞因子白介素-4 (IL-4)、IL-10,但降低炎症细胞因子 IL-1 α 、干扰素- γ (IFN- γ) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达。Cav1^{F92A} 基因修饰的 rBMSCs (Cav1^{F92A} gene modified rBMSCs, rBMSCs/Cav1^{F92A}) 激活 NO/cGMP 通路,恢复细胞形态,抑制细胞迁移。试验认为 rBMSCs/Cav1^{F92A} 可抑制细胞的迁移,促进细胞的形态恢复。rBMSCs/Cav1^{F92A} 可用于肺动脉高压的治疗^[15]。rBMSC/Cav1^{F92A} 细胞可以激活 eNOS/NO/sGC/cGMP/PKG-1 信号通路,上调 Mst1 表达,改善肺组织内的氧化应激状态并抑制自噬激活,从而缓解 PAH 大鼠肺部血管重构^[16]。

6 KCNK3 突变

PH 敏感性钾离子通道蛋白基因 (KCNK3 基因) 突变与 PAH 相关。相关研究显示,KCNK3 突变导致钾离子通道蛋白功能丧失,引起细胞膜去极化导致肺血管收缩,通过抑制凋亡导致肺血管重构和肺血管增殖,与肺动脉高压发病相关。Ma 等^[17] 在 2013 年发现 6 种 KCNK3 突变,并证实了均为有害突变且与 PAH 发病相关。试验表明突变导致通道功能丧失,可能导致静息膜电位去极化。磷脂酶抑制剂处理后逆转了细胞内外钾通道的电流减少。研究表明,细胞中 cAMP 浓度升高可以提高 KCNK3 的活性,从而达到治疗肺动脉高压的作用。在临床研究中,曲前列环素可以提高细胞 cAMP 浓度从而激活 KCNK3 活性。内皮素 1 抑制 KCNK3 的活性,使用 Rho 激酶 (Rho associated kinase, ROCK) 抑制剂可以减弱这一抑制作用。

7 ATP13A3 突变

与阳离子运输通道相关的 ATP 酶 13A3 (ATP13A3) 是参与离子通道运输的 ATPases 亚家族 P5B 的成员,在血管细胞中高度表达,并且参与 PAH 的发生^[18]。在 PAH 中鉴定出的多个 ATP13A3 突变都聚集在催化磷酸化结构域内,这表明可能对蛋白质功能产生重要影响。在一项干扰素 β (IFN- β) 治疗 PAH 的研究中显示,ATP13A3 的变异可能引起肺动脉高压易感性^[19]。

8 SOX17 突变

SOX17 在血管生成过程 (包括动静脉分化和肺微血管系统的发育) 中是至关重要的,PAH 存在 SOX17

靶基因中罕见有害变异的过度表达,表明该途径在 PAH 病因学中的关键作用^[20]。SOX17 依赖于 β 联蛋白的结合来激活靶基因的转录。一项全外显子测序研究表明,SOX17 突变是 PAH 相关性先天性心脏病的主要危险因素^[21]。在 0.7% 的 IPAH 患者和 3.2% 的 PAH 相关性先天性心脏病患者中检测到可能的致病变异。一项对日本 HPAH 或 IPAH 患者进行的类似研究确定了另外 3 个 SOX17 变异体^[22]。

9 AQP1 突变

肺动脉平滑肌细胞(PASMCs)的迁移和增殖是肺动脉重塑进而造成肺动脉高压的主要病理基础。水通道蛋白 1(AQP1)具有促进上皮细胞、内皮细胞迁移的作用。有试验表明,缺氧可促进 AQP1 在肺动脉内的表达^[23],AQP1 可通过 β 联蛋白对 PASMCs 的增殖和迁移进行调节。AQP1 水平的升高通过上调 β 联蛋白,导致 MYC 原癌基因蛋白和 cyclinD1 的表达而促进 PASMC 的增殖和迁移^[24]。全基因组基因负荷测试通过比较 PAH 患者和对照个体之间的变异频率来鉴定新的基因变异,检测出 ATP13A3、AQP1 和 SOX17 中罕见有害变异的统计学显著富集,AQP1 和 SOX17 突变携带者在诊断时年龄较小,推测 PAH 发病较早,为定向治疗发展提供了新的靶点^[25]。

10 常染色体隐性 PAH 的突变

目前肺动脉高压临床分类中,肺静脉闭塞性疾病(PVOD)和肺毛细血管瘤病(PCH)属于 PAH 亚组,PVOD 和 PCH 均为常染色体隐性遗传病。在对 PVOD 进行的外显子序列测定中,致病基因 EIF2AK4 在所有分析的家系($n=5$)和 25% 散发性疾病($n=20$)中均被检出^[26]。同时,Best 等^[27]在遗传性和散发性 PCH 中独立检测到双等位基因 EIF2AK4 突变。EIF2AK4 的发现有助于 PAH、PVOD 和 PCH 的鉴别诊断。一项研究进一步证实了 EIF2AK4 突变在临床 PAH 患者中的致病作用,该研究发现了 9 例具有双等位基因的 EIF2AK4 变异。而且,携带有 EIF2AK4 突变的 PAH 患者年龄较小且其生存率降低。我国也报道了 2 例 EIF2AK4 基因检测阳性并且诊断为肺静脉闭塞病的案例^[28]。

11 ABCC8/TBX4/GDF2 突变

对 BMPR2 或 ACVRL1 基因突变阴性的 PAH 患者中发现了一个新的 ABCC8 基因变异^[29]。在成纤维细胞样细胞系中鉴定出 ABCC8 变体的表达降低了 ATP 敏感性钾通道的功能,进一步表明 ABCC 可能是 PAH 的有害突变。用选择性 ABCC8 激活剂二氮嗪对这些细胞的处理可使通道功能恢复到正常水平。在 155 例

儿童期 PAH 和 257 例成人期 PAH 患者中进行了全外显子组测序分析表明,与成年发作的 IPAH 队列相比,儿童期发作的 IPAH 样本组中发现 TBX4(编码 T-box 转录因子)的可能致病等位基因^[30]。血浆生长分化因子 2(GDF2)编码 BMP9,它是 BMPR2 的主要配体 ACVRL1 受体复合物和内皮细胞迁移及生长的有效抑制剂。研究表明,GDF2 突变会导致 BMP9 功能丧失,这些突变导致 BMP9 和 BMP10 水平降低。这些发现支持增强 PAH 中 BMP9 或 BMP10 信号传导的治疗策略^[31]。

综上所述,自从引入大规模并行测序技术以来,PAH 的遗传学已得到迅速发展,该技术支持同时评估多个基因的基因组变异。BMP 信号的失调仍然是 PAH 发展的主要危险因素,而 BMPR2 单倍体剂量功能不足作为疾病的主要分子机制,正在发展为靶向治疗方案。持续的基因发现及对新发现基因的突变筛选在未来将有可能实现分子检测 PAH。目前研究强调了在将基础遗传学研究转化为潜在治疗模式方面取得的巨大进展。虽然目前直接纠正潜在突变仍然具有挑战性,但基因编辑技术的快速发展使肺血管内的靶向突变纠正成为可能。

参考文献

- [1] Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, et al. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension[J]. Eur Respir J, 2019, 53 (1): 1801913. DOI: 10.1183/13993003.01913-2018.
- [2] 沈节艳,庄琦.2018 中国肺高血压诊断和治疗指南解读[J].中国循环杂志,2019,34(S1):115-119. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2019.增刊.027.
- [3] Limsuwan A, Choubtum L, Wattanasirichaigoon D. 5'UTR repeat polymorphisms of the BMPR2 gene in children with pulmonary hypertension associated with congenital heart disease[J]. Heart, Lung and Circulation, 2012, 22 (3): 204-210. DOI: 10.1016/j.hlc.2012.09.004.
- [4] Rigueur D, Brugger S, Anbarchian T, et al. The type I BMP receptor ACVRL1/ALK2 is required for chondrogenesis during development[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2015, 30 (4): 733-741. DOI: 10.1002/jbmr.2385.
- [5] Machado RD, Southgate L, Eichstaedt CA, et al. Pulmonary arterial hypertension: A current perspective on established and emerging molecular genetic defects[J]. Human Mutation, 2015, 36 (12): 1113-1127. DOI: 10.1002/humu.22904.
- [6] Spiekerkoetter E, Tian X, Cai J, et al. FK506 activates BMPR2, rescues endothelial dysfunction, and reverses pulmonary hypertension[J]. J Clin Invest, 2013, 123 (8): 3600-3613. DOI: 10.1172/JCI65592.
- [7] Spiekerkoetter E, Sung YK, Sudheendra D, et al. Randomised placebo-controlled safety and tolerability trial of FK506 (tacrolimus) for

- pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2017, 50 (3): 1602449. DOI:10.1183/13993003.02449-2016.
- [8] Wang XJ, Lian TY, Jiang X, et al. Germline BMP9 mutation causes idiopathic pulmonary arterial hypertension[J]. *Eur Respir J*, 2019, 53(3):1801609. DOI:10.1183/13993003.01609-2018.
- [9] 连天宇. 全外显子组测序发现特发性肺动脉高压新致病基因 BMP9 的研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2019.
- [10] Sitbon O, Channick R, Chin KM, et al. Selexipag for the treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373 (26): 2522-2533. DOI:10.1056/nejmoa1503184.
- [11] Nasim MT, Ogo T, Ahmed M, et al. Molecular genetic characterization of SMAD signaling molecules in pulmonary arterial hypertension [J]. *Hum Mutat*, 2011, 32 (12): 1385-1389. DOI:10.1002/humu.21605.
- [12] Zabini D, Granton E, Hu Y, et al. Loss of SMAD3 promotes vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension via MRTF disinhibition[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197 (2): 244-260. DOI:10.1164/rccm.201702-0386OC.
- [13] Copeland CA, Han B, Tiwari A, et al. A disease-associated frameshift mutation in caveolin-1 disrupts caveolae formation and function through introduction of a de novo ER retention signal[J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28 (22): 3095-3111. DOI: 10.1091/mbc. e17-06-0421.
- [14] Marsboom G, Chen Z, Yuan Y, et al. Aberrant caveolin-1-mediated Smad signaling and proliferation identified by analysis of adenine 474 deletion mutation (c.474delA) in patient fibroblasts: A new perspective on the mechanism of pulmonary hypertension[J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28 (9): 1177-1185. DOI:10.1091/mbc. e16-06-0380.
- [15] Yu W, Chen H, Yang H, et al. Dissecting molecular mechanisms underlying pulmonary vascular smooth muscle cell dedifferentiation in pulmonary hypertension: Role of mutated caveolin-1 (Cav1^{P92A})-bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Heart Lung and Circulation*, 2019, 28 (10): 1587-1597. DOI:10.1016/j.hlc.2018.08.002.
- [16] 于万成. Cav1F92A 基因修饰的骨髓间充质干细胞改善肺动脉高压模型大鼠肺血管重塑的机制[D]. 济南:山东大学, 2019.
- [17] Ma L, Roman-Campos D, Austin ED, et al. A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension[J]. *New England Journal of Medicine*, 2013, 369 (22): 2161-2162. DOI:10.1056/nejmc1311060.
- [18] 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.
- [19] Lerche M, Eichstaedt CA, Hinderhofer K, et al. Mutually reinforcing effects of genetic variants and interferon- β 1a therapy for pulmonary arterial hypertension development in multiple sclerosis patients[J]. *Pulm Circ*, 2019, 9 (3): 2045894019872192. DOI: 10.1177/2045894019872192.
- [20] Lee SH, Lee S, Yang H, et al. Notch pathway targets proangiogenic regulator Sox17 to restrict angiogenesis[J]. *Circ Res*, 2014, 115 (2): 215-226. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.115.303142.
- [21] Zhu N, Welch CL, Wang J, et al. Rare variants in SOX17 are associated with pulmonary arterial hypertension with congenital heart disease[J]. *Genome Med*, 2018, 10 (1): 56. DOI: 10.1186/s13073-018-0566-x.
- [22] Hiraide T, Kataoka M, Suzuki H, et al. SOX17 mutations in Japanese patients with pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198 (9): 1231-1233. DOI: 10.1164/rccm.201804-0766le.
- [23] Schuoler C, Haider TJ, Leuenberger C, et al. Aquaporin 1 controls the functional phenotype of pulmonary smooth muscle cells in hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112 (3): 30. DOI:10.1007/s00395-017-0620-7.
- [24] Yun X, Jiang H, Lai N, et al. Aquaporin 1-mediated changes in pulmonary arterial smooth muscle cell migration and proliferation involve β -catenin[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313 (5): L889-L898. DOI:10.1152/ajplung.00247.2016.
- [25] Gräf S, Haimel M, Bleda M, et al. Identification of rare sequence variation underlying heritable pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 1416. DOI: 10.1038/s41467-018-03672-4.
- [26] Eyries M, Montani D, Girerd B, et al. EIF2AK4 mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension[J]. *Nat Genet*, 2014, 46 (1): 65-69. DOI:10.1038/ng.2844.
- [27] Best DH, Sumner KL, Austin ED, et al. EIF2AK4 mutations in pulmonary capillary hemangiomatosis[J]. *Chest*, 2014, 145 (2): 231-236. DOI:10.1378/chest.13-2366.
- [28] 胡世能. 两例肺静脉闭塞病的病例报告及文献回顾[D]. 杭州:浙江大学, 2017.
- [29] Bohnen MS, Ma L, Zhu N, et al. Loss-of-function ABCC8 mutations in pulmonary arterial hypertension[J]. *Circ Genom Precis Med*, 2018, 11 (10): e002087. DOI:10.1161/circgen.118.002087.
- [30] Kerstjens-Frederikse WS, Bongers EM, Roofthoof MT, et al. TBX4 mutations (small patella syndrome) are associated with childhood-onset pulmonary arterial hypertension[J]. *J Med Genet*, 2013, 50 (8): 500-506. DOI:10.1136/jmedgenet-2012-101152.
- [31] Hodgson J, Swietlik EM, Salmon RM, et al. Characterization of GDF2 mutations and levels of BMP9 and BMP10 in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201 (5): 575-585. DOI:10.1164/rccm.201906-1141OC.

(收稿日期:2020-01-15)

木丹颗粒对痛性糖尿病周围神经病变的作用机制研究进展

齐月综述 冷锦红审校

基金项目: 国家自然科学基金项目(81072912); 辽宁省自然科学基金指导计划项目(2017010131-301); 辽宁中医药大学校级课题(2016xj04)

作者单位: 110032 沈阳, 辽宁中医药大学附属医院内分泌科

通信作者: 齐月, E-mail: 18102456659@163.com

【摘 要】 痛性糖尿病周围神经病变(PDPN)是糖尿病慢性并发症,其发病机制比较复杂,目前在治疗上无明确疗效的西药。木丹颗粒是益气活血、通络止痛的代表中药复方制剂,在临床上可以从多角度对 PDPN 起治疗和保护作用。文章就木丹颗粒对 PDPN 的作用机制及临床疗效做一综述,以期对 PDPN 的防治策略提供一定依据。

【关键词】 痛性糖尿病周围神经病变;木丹颗粒;作用机制

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.024

Research progress of the mechanism of Mudan granule on the peripheral neuropathy of painful diabetes Qi Yue, Leng Jinhong. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Liaoning Province, Shenyang 110032, China

Corresponding author: Qi Yue, E-mail: 18102456659@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81072912); Liaoning Natural Science Foundation Guidance Plan Project (201701013301)

【Abstract】 Painful diabetic peripheral neuropathy (PDPN) is a chronic complication of diabetes mellitus. Its pathogenesis is complex. At present, there is no clear therapeutic effect of Western medicine. Mudan granule is a representative compound preparation of traditional Chinese medicine for Invigorating Qi, promoting blood circulation and relieving pain. It can treat and protect PDPN from many aspects. In this paper, the mechanism and clinical effect of Mudan granules on PDPN were reviewed, in order to provide some basis for the prevention and treatment strategy of PDPN.

【Key words】 Painful diabetic peripheral neuropathy; Mudan granule; Intervention study

痛性糖尿病周围神经病变(painful diabetic peripheral neuropathy, PDPN)是糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)的一种临床表现,是糖尿病常见的慢性神经并发症,属于中医痹症范畴,辨证多认为气虚与血瘀互相胶结而成。木丹颗粒是益气活血、通络止痛的代表性药物,精选黄芪、三七、丹参、元胡等九味中药,依据中医理论和现代药理,从病理学改变的诸多方面严密配伍而成,是临床上第一个治疗 DPN 疗效明确的创新性中成药,充分发挥中药多靶向、多途径作用,目前已经写入中医治疗 PDPN 临床路径之中。现就近年木丹颗粒对 PDPN 作用机制的研究进行综述,以期更好地指导临床。

1 痛性糖尿病周围神经病变的概述

DPN 在糖尿病患者中患病率达 47% ~ 91%,其中

PDPN 占 13% ~ 26%^[1]。PDPN 是临床上糖尿病患者出现慢性疼痛的常见病因,也是 DPN 早期的临床表现之一,严重影响患者生活质量,甚至导致截肢、感染、致死等严重后果。

PDPN 发病隐匿,病情进展相对缓慢,起初无不适症状,一旦出现症状,表示周围神经发生了不可逆转的病理性损害。其临床表现多样,常见的有肢体或躯干对称性麻木、烧灼感、疼痛、冰凉、感觉减退等,下午或夜间加重,以痛觉过敏、触痛、自发痛为神经病理性疼痛特征。然而,目前其发病机制尚不完全清楚,大多数认为是多种致病因素共同参与其发生和进展,可能与氧化应激、非酶糖基化、离子通道、小胶质细胞和巨噬细胞活化、代谢紊乱、神经营养因子缺乏、炎症反应等密切相关^[2-3]。

目前临床上尚无确切疗效的治疗方法,必须采取综合的治疗措施。西医认为,PDPN 的治疗在控制血糖基础上,可以采用改善微循环、醛糖还原酶抑制剂、抗氧化、离子通道抑制剂、营养神经、三环类抗抑郁药物、阿片类止痛药、抗癫痫药等^[4]。但是,PDPN 患者即使采用上述药物,疼痛依旧无法缓解。目前糖尿病周围神经病变所引起的疼痛是世界上治疗疼痛领域里的难题之一,单纯依靠现代医学治疗方法存在局限性,因此充分发挥中医药优势,可采取中西医结合治疗。

2 木丹颗粒干预 PDPN 的实验研究

2.1 对神经传导速度的影响 木丹颗粒可以加快糖尿病大鼠神经传导速度。PDPN 初期出现小髓神经纤维缺失,随着病情的进展,出现大髓神经纤维的髓鞘受损,损伤神经元,减慢神经传导速度。杨文强等^[5]研究发现,木丹颗粒对糖尿病大鼠神经传导速度有显著增加的作用。陈慧晓等^[6]实验证实,糖尿病大鼠给予木丹颗粒和硫辛酸治疗 12 周后,神经传导速度明显优于硫辛酸组。

2.2 对神经形态学的影响 木丹颗粒对糖尿病大鼠神经有一定的保护作用。神经损伤后是否能够得到及时修复,在 PDPN 发生发展中极为重要。李莹莹等^[7]研究发现,木丹颗粒干预后,STZ 诱导糖尿病大鼠背根神经节凋亡细胞阳性率小于模型组,同时背根神经节形态结构损伤程度小于模型组。杨文强等^[5]实验证实,木丹颗粒可以改善糖尿病大鼠足迹步态参数 PL,使表皮内神经纤维的数量与形态及周围神经的病理损害得到改善,优于甲钴胺。

2.3 对代谢及氧化应激的影响 大量研究结果均证实,PDPN 的发病机制与代谢紊乱有关。代谢紊乱包括高血糖激活了多元醇通路,导致山梨醇积聚,Na⁺-K⁺-ATP 酶活性降低,而糖基化终末产物增多,神经微血管损伤,血清 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平升高,致痛物质 β-内啡肽(beta endorphin, β-EP)水平减低等。李长辉等^[8]证实,木丹颗粒能够降低 PDPN 大鼠血清中 5-HT 水平,升高 β-EP 水平,且控制 5-HT 的水平优于苯妥英钠。郝宏铮^[9]研究发现,木丹颗粒可促使色氨酸水平升高,使胆酸、丙氨酸水平降低。陈慧晓等^[6]研究发现,木丹颗粒能够干预糖尿病大鼠坐骨神经动力相关蛋白 1 表达,减少细胞凋亡,并降低氧化应激水平。李莹莹等^[10]研究证实,木丹颗粒能降低糖尿病大鼠脊髓组织中丙二醛(MDA)水平,提高谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)水平,发挥其抗氧化作用。

2.4 对信号通道的影响 齐月等^[11-12]研究结果表

明,木丹颗粒上调 PDPN 大鼠 kv7.3 蛋白 mRNA 表达,下调钙离子通道蛋白 mRNA 表达。李莹莹等^[13]实验证明,木丹颗粒能抑制糖尿病大鼠背根神经节线粒体中 Cytcd 蛋白释放、降低血清中 p38MAPK 水平、抑制背根神经节中 p38MAPK 磷酸化,下调 Bax 的表达,上调背根神经节中 Bcl-2 的表达。

3 木丹颗粒治疗 PDPN 的临床研究

3.1 改善临床症状,提高临床总有效率 尹礼松^[14]选取 40 例 PDPN 患者,随机分为甲钴胺组和木丹颗粒组,各 20 例,治疗后,木丹颗粒组患者肢体麻木、感觉障碍、反射灵敏度的症状积分明显低于甲钴胺组,总有效率 95%。郭洪彦^[15]将 83 例 PDPN 患者,分为腺苷钴胺组(40 例)和木丹颗粒组(43 例),治疗后木丹颗粒组主观症状问卷评分(TSS)、多伦多临床评分系统(TCSS)评分低于腺苷钴胺组。王立娜等^[16]将 82 例 PDPN 患者分为贝前列素钠组和木丹颗粒组,治疗后,木丹颗粒组密歇根糖尿病神经病变评分量表(MDNS)和密歇根神经病变筛查量表(MNSI)评分明显降低。赵丹^[17]将 100 例 PDPN 患者随机分为胰激肽原酶组和木丹颗粒组,治疗 8 周后木丹颗粒组神经症状改善更明显,总有效率 92.00%。

3.2 加快感觉及运动神经传导速度 戚纪周等^[18]选择 112 例 PDPN 患者,以随机数字表法分为木丹颗粒组和甲钴胺组(各 56 例),治疗 12 周后证实木丹颗粒组神经传导速度改善显著。写亚强^[19]将 52 例 PDPN 患者分成卡马西平组和木丹颗粒组,4 周后木丹颗粒组正中神经、胫神经 MNCV、SNCV 评分高于卡马西平组。田卫^[20]选择 67 例 PDPN 患者,随机分为木丹颗粒组(35 例)与依帕司他组(32 例),治疗 4 周后,木丹颗粒组腓总神经 SMCV、MNCV 明显加快。王晶等^[21]观察到 PDPN 患者采用红景天乳膏联合木丹颗粒治疗后,足部感觉震动阈值(VPT)明显下降,而 NCV 明显升高。俎青等^[22]将 96 例 PDPN 患者,分为前列地尔组和木丹颗粒组,各 48 例,治疗 4 周后,木丹颗粒组肢体灼烧感、麻木、疼痛感觉异常评分显著降低,而腓总神经、胫神经感觉及运动神经传导速度明显升高。

3.3 改善糖脂代谢 李俊等^[23]研究发现,治疗后木丹颗粒组患者三酰甘油(TG)和血小板聚集度均明显低于对照组。姚丽琴^[24]观察到木丹颗粒组患者空腹血糖(FPG)、餐后 2 小时血糖(2 hPG)、糖化血红蛋白水平均显著低于对照组。张懋等^[25]将 48 例 PDPN 患者,分为观察组(木丹颗粒联合胞磷胆碱钠胶囊)25 例,对照组(木丹颗粒联合甲钴胺)23 例,结果证实观察组治疗 PDPN 在促进神经细胞及髓鞘卵磷脂合成的

同时可改善血液微循环障碍。徐涛等^[26]将 50 例 PD-PN 患者,随机分为甲钴胺组和木丹颗粒组,各 25 例,治疗 12 周后,木丹颗粒组血浆纤维蛋白原明显降低。闻宝华等^[27]将 96 例 PDPN 患者随机分为甲钴胺组、硫辛酸组、木丹颗粒组,各 32 例,治疗 10 d 后,木丹颗粒组 FPG、2 hPG、总胆固醇、TG、低密度脂蛋白胆固醇显著降低,高密度脂蛋白胆固醇显著升高。

3.4 降低氧化应激和炎症反应 饶小娟等^[28]选取 100 例 PDPN 患者,随机分为硫辛酸组和木丹颗粒组,各 50 例,结果证实木丹颗粒组血清中同型半胱氨酸水平显著降低。郜惠平^[29]选取 200 例 PDPN 患者,随机分为对照组(硫辛酸、甲钴胺)和观察组(加木丹颗粒),各 100 例,治疗后观察组高敏 C 反应蛋白、SOD 水平明显优于对照组。周梅清^[30]将 80 例 PDPN 患者随机分为木丹颗粒组和加巴喷丁组,治疗后发现前者能够明显提高中医证候改善率,显著改善 SOD、MDA 水平。

4 小结与展望

木丹颗粒治疗 PDPN 不仅在临床上疗效确切,而且在动物实验上也证实了其对神经组织结构及功能具有保护作用。但是目前仍存在问题,首先,在临床研究上随机试验不多,样本量偏小,无法提供充分的循证医学证据,期待日后进行大样本、多中心、前瞻性的研究;其次,针对其作用机制的实验研究深度不够,可以从信号通路等多角度、多环节深入探讨木丹颗粒治疗 PDPN 的机制;最后,木丹颗粒是复方中药制剂,对于组方中的中药有效成分及成分之间的相互作用研究尚缺乏。进一步深入研究及探索木丹颗粒,以便为痛性糖尿病周围神经病变寻求更加有效的治疗措施。

参考文献

- [1] Majdinasab N, Kaveyani H, Azizi M. A comparative double-blind randomized study on the effectiveness of Duloxetine and Gabapentin on painful diabetic peripheral polyneuropathy[J]. Drug Design, Development and Therapy, 2019, 17(13): 1985-1992. DOI: 10. 2147/ DDDT. S185995.
- [2] Muralaeddharan A, Ummer VS, Maiya AG, et al. Low level laser therapy for the patients with painful diabetic peripheral neuropathy[J]. Diabetes Metab Syndr, 2019, 13(4): 2667-2670. DOI: 10. 1016/j. dsx. 2019. 07. 035.
- [3] 李婷,陈旭辉,张玥,等. 糖尿病周围神经病变及痛性糖尿病神经病变机制新方向[J]. 中国疼痛医学杂志, 2019, 25(9): 643-647. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-9852. 2019. 09. 002.
- [4] 吴小芬,罗晓红,侯红斌,等. 痛性糖尿病周围神经病变的药物治疗进展[J]. 西北国防医学杂志, 2019, 40(3): 190-194. DOI: 10. 16021/j. cnki. 1007-8622. 2019. 03. 013.
- [5] 杨文强,于炎冰,徐晓利,等. 木丹颗粒对实验性大鼠糖尿病周围神经病变的疗效研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(12):

- 1099-1102. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2015. 12. 012.
- [6] 陈慧晓,杨俊朋,梁萌萌,等. 成药木丹颗粒对糖尿病大鼠坐骨神经干预作用的观察[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(4): 359-362. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2017. 04. 015.
- [7] 李莹莹,于世家. 木丹颗粒对 STZ 诱导糖尿病大鼠背根神经节神经元细胞凋亡的影响[J]. 西部中医药, 2016, 29(6): 16-18. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-6852. 2016. 06. 006.
- [8] 李长辉,于世家. 木丹颗粒对糖尿病大鼠血清致痛物质 5-HT、 β -EP 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(5): 25-27. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-070X. 2012. 05. 005. 025. 03.
- [9] 郝宏铮. 木丹颗粒干预糖尿病周围神经病变代谢组学研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2016.
- [10] 李莹莹,于世家. 木丹颗粒对糖尿病大鼠脊髓组织氧化水平的影响[J]. 医学综述, 2016, 22(10): 2070-2073. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-2084. 2016. 10. 060.
- [11] 齐月,于世家. 木丹颗粒对痛性糖尿病周围神经病变大鼠 kv7. 3 基因表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(3): 552-554. DOI: 10. 13193/j. issn. 1673-7717. 2015. 03. 011.
- [12] 齐月,于世家,岳志军. 木丹颗粒对痛性糖尿病周围神经病变大鼠钙通道基因表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4): 774-776. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-0805. 2015. 04. 003.
- [13] 李莹莹,于世家. 木丹颗粒对糖尿病大鼠背根神经节中活化的 Caspase-3、Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响[J]. 中医药导报, 2016, 22(13): 14-16. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-6852. 2016. 13. 026.
- [14] 尹礼松. 木丹颗粒联合甲钴胺片对糖尿病周围神经病变治疗的效果[J]. 中外医学研究, 2019, 17(17): 60-61. DOI: 10. 14033/j. cnki. cfmr. 2019. 17. 024.
- [15] 郭洪彦. 木丹颗粒联合腺苷钴胺治疗 2 型糖尿病患者痛性远端对称性多发性神经病变的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(4): 776-778. DOI: 10. 13192/j. issn. 1000-1719. 2019. 04. 034.
- [16] 王立娜,杜娟,董明,等. 木丹颗粒联合贝前列素钠、依帕司他治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2354-2357. DOI: 10. 13192/j. issn. 1000-1719. 2019. 11. 033.
- [17] 赵丹. 木丹颗粒联合胰激肽原酶治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(2): 343-345. DOI: 10. 13192/j. issn. 1000-1719. 2019. 02. 041.
- [18] 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.
- [19] 写亚强. 木丹颗粒联合甲钴胺、卡马西平治疗痛性糖尿病周围神经病变疗效比较[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(10): 2131-2133. DOI: 10. 13192/j. issn. 1000-1719. 2018. 10. 037.
- [20] 田卫. 木丹颗粒联用常规西药治疗糖尿病周围神经病变对患者疗效及心电图影响分析[J]. 中医临床研究, 2019, 11(5): 74-76. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-7860. 2019. 05. 030.
- [21] 王晶,傅松波,郭潇,等. 红景天乳膏联合木丹颗粒治疗 2 型糖尿病周围神经病变临床研究[J]. 新中医, 2019, 51(10): 143-147. DOI: 10. 13457/j. cnki. jncm. 2019. 10. 041.
- [22] 昝青,徐炳欣. 木丹颗粒联合前列地尔对糖尿病周围神经病变患者下肢神经传导速度的影响[J]. 中国合理用药探索, 2019, 16(10): 12-14. DOI: 10. 3969/j. issn. 2096-3327. 2019. 10. 004.

- [23] 李俊,范芳伟,涂妍. 木丹颗粒治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效及其安全性[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(9): 70-71. DOI: 10. 15887/j. cnki. 13-1389/r. 2019. 09. 032.
- [24] 姚丽琴. 木丹颗粒在糖尿病周围神经病变气虚血瘀证中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2018, 22(15): 104-106. DOI: 10. 7619/jcmp. 2018. 15. 029.
- [25] 张懋,王钧刚,杨永祥,等. 木丹颗粒联合胞磷胆碱钠胶囊治疗糖尿病周围神经病变疗效观察[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(10): 872-874. DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2016. 10. 009.
- [26] 徐涛,郝丽梅,张焱,等. 木丹颗粒联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效[J]. 世界中医药, 2017, 12(2): 266-268. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-7202. 2017. 02. 007.
- [27] 闻宝华,沈山梅. 不同方案治疗糖尿病周围神经病变的疗效比较

[J]. 湖南师范大学学报:医学版, 2018, 15(3): 81-84. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-016X. 2018. 03. 024.

- [28] 饶小娟,吴毓敏. 木丹颗粒联合 α -硫辛酸治疗糖尿病周围神经病变疗效观察[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(4): 370-373. DOI: 10. 12083/SYSJ. 2019. 04. 121.
- [29] 邵惠平. 木丹颗粒联合硫辛酸、甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变[J]. 实用中西医结合临床, 2018, 18(2): 19-21. DOI: 10. 13638/j. issn. 1671-4040. 2018. 02. 010.
- [30] 周梅清. 木丹颗粒联合甲钴胺、加巴喷丁治疗痛性糖尿病周围神经病变的疗效分析[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(11): 2317-2319. DOI: 10. 13192/j. issn. 1000-1719. 2016. 11. 029.

(收稿日期: 2019-11-15)

(上接 738 页)

或侵袭性腺瘤^[2-3], 难以通过单纯手术治疗而痊愈, 现多选择手术治疗辅以药物或放射治疗。目前已有报道将生长抑素类似物作为手术前后的辅助治疗^[6]。术前短期应用奥曲肽可抑制 TSH 分泌, 使甲状腺激素水平恢复正常, 缩小患者肿瘤体积, 且无明显不良反应^[7-8], 以减少手术风险, 增加手术成功率, 尤其是避免术后发生甲状腺危象。Fujio 等^[9]曾报道患者因术前 FT₃、FT₄ 未控制而导致术后出现甲状腺危象。

手术治疗的最常见并发症是术后垂体功能减退。Gatto 等^[4]比较了性别、年龄及肿瘤大小相匹配的生长激素腺瘤患者与 TSH 瘤患者, 发现 TSH 瘤患者术后垂体功能减退的几率显著高于生长激素腺瘤的患者。Kirkman 等^[10]评估了 32 例 TSH 瘤患者, 术后垂体功能减退发生几率高。患者术后平均随访时间约 6.7 年, 16% 患者需甲状腺素替代治疗, 22% 需睾酮替代治疗, 28% 需氢化可的松替代治疗, 3% 需去氨加压素及 3% 需生长激素替代治疗。考虑手术风险及术后并发症, 部分报道将生长抑素类似物作为 TSH 瘤的单一治疗, 患者随访过程中发现甲状腺亢进症状缓解, 血清 TSH、FT₃、FT₄ 较前明显下降、肿瘤体积缩小, 且没有因药物不良反应而停药。但是这类报道尚属少数, 同时由于昂贵的费用及长达数年的治疗时间, 生长抑素类似物尚无法替代手术作为 TSH 瘤的一线治疗^[11]。

参考文献

- [1] van Varsseveld NC, Bisschop PH, Biermasz NR, et al. A long-term follow-up study of eighteen patients with hyrotrophin-secreting pituitary adenomas[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2014, 80(3): 395-402. DOI: 10. 1111/cen. 12290.
- [2] Clarke MJ, Erickson D, Castro MR, et al. Thyroid-stimulating pituitary adenomas[J]. Journal of Neurosurgery, 2008, 109(1): 17-22. DOI: 10. 3171/JNS/2008/109/7/0017.
- [3] Beck-Peccoz P, Persani L, Mannavola D, et al. Pituitary tumours: TSH-secreting adenomas[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2009, 23(5): 597-606. DOI: 10. 1016/j. beem. 2009. 05.

006.

- [4] Gatto F, Grasso LF, Nazzari E, et al. Clinical outcome and evidence of high rate post-surgical anterior hypopituitarism in a cohort of TSH-secreting adenoma patients: might somatostatin analogs have a role as first-line therapy[J]. Pituitary, 2015, 18(5): 583-591. DOI: 10. 1007/s11102-014-0611-8.
- [5] Beck-Peccoz P, Persani L. Medical management of thyrotrophin-secreting pituitary adenomas[J]. Pituitary, 2002, 5(2): 83-88. DOI: 10. 1023/A: 1022360414062.
- [6] Mousiolis AC, Rapti E, Grammatiki M, et al. Somatostatin analogue treatment of a TSH-secreting adenoma presenting with accelerated bone metabolism and a pericardial effusion: A case report[J]. Medicine, 2016, 95(2): e2358. DOI: 10. 1097/MD. 0000000000002358.
- [7] Yu B, Zhang Z, Song H, et al. Clinical Importance of Somatostatin Receptor 2 (SSTR2) and Somatostatin Receptor 5 (SSTR5) Expression in Thyrotrophin Producing Pituitary Adenoma (TSHoma)[J]. Med sci Monit, 2017, 23: 1947-1955. DOI: 10. 12659/msm. 903377.
- [8] Fukuhara N, Horiguchi K, Nishioka H, et al. Short-term preoperative octreotide treatment for TSH-secreting pituitary adenoma[J]. Endocrine Journal, 2015, 62(1): 21-27. DOI: 10. 1507/endocrj. EJ14-0118.
- [9] Fujio S, Ashari, Habu M, et al. Thyroid storm induced by TSH-secreting pituitary adenoma: a case report[J]. Endocr J, 2014, 61(11): 1131-1136. DOI: 10. 1507/endocrj. ej14-0278.
- [10] Kirkman MA, Jaunmuktane Z, Brandner S, et al. Active and silent thyroid-stimulating hormone-expressing pituitary adenomas: presenting symptoms, treatment, outcomes, and recurrence[J]. World Neurosurg, 2014, 82(6): 1224-1231. DOI: 10. 1016/j. wneu. 2014. 03. 031.
- [11] 母义明. 垂体瘤诊治进展[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(7): 576-582. DOI: 10. 11855/j. issn. 0577-7402. 2017. 07. 01.

(收稿日期: 2019-05-29)

CD56 在多发性骨髓瘤中的研究进展

张彩霞综述 张国君审校

作者单位: 110000 沈阳, 中国医科大学附属盛京医院血液内科

通信作者: 张国君, E-mail: zhanggj@sj-hospital.org

【摘 要】 多发性骨髓瘤为一种浆细胞恶性增殖性疾病, 是血液系统第二大恶性肿瘤。细胞表面抗原 CD56 在多发性骨髓瘤细胞表面表达, 其对多发性骨髓瘤患者的预后意义仍存在较大争议。文章简要介绍 CD56 的发现及在多发性骨髓瘤中的表达, 并对 CD56 在多发性骨髓瘤中的预后意义进行讨论, 从而指导多发性骨髓瘤的诊断及预后。

【关键词】 多发性骨髓瘤; CD56; 预后; 综述

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.025

Progress of CD56 in the treatment of multiple myeloma with bortezomib. Zhang Caixia, Zhang Guojun. Department of Hematology, Affiliated ShengJing Hospital of Chinese Medical Sciences University, Shenyang 110000, China

Corresponding author: Zhang Guojun, E-mail: zhanggj@sj-hospital.org

【Abstract】 Multiple myeloma is a malignant proliferative disease of plasma cells and is the second largest malignant tumor in the blood system. The expression of cell surface antigen CD56 on the surface of multiple myeloma cells is still controversial for the prognostic significance of multiple myeloma patients. This article briefly introduces the discovery of CD56 and its expression in multiple myeloma by consulting relevant literatures, and discusses the prognostic significance of CD56 in multiple myeloma, so as to guide the diagnosis and prognosis of multiple myeloma.

【Key words】 Multiple myeloma; CD56; Prognosis; Review

多发性骨髓瘤是异常浆细胞恶性增殖并分泌单克隆免疫球蛋白或其片段, 浸润骨髓及相关器官引起一系列临床症状的疾病, 发病率占血液系统恶性肿瘤的 10%^[1]。目前, 多发性骨髓瘤主要通过瘤细胞比例、血/尿 M 蛋白及“CRAB”症状(血钙增高、肾功能损害、贫血、骨病)等进一步确诊。骨髓中瘤细胞分布不均及患者临床表现不典型均可能会影响多发性骨髓瘤的诊断, 流式细胞术可准确、客观、有效地识别瘤细胞表面免疫表型特点, 为多发性骨髓瘤的诊断及预后提供指导意义^[2]。CD56 在多发性骨髓瘤细胞表面的表达情况引起重视, 国内外进行了 CD56 对多发性骨髓瘤预后意义的相关研究, 但仍未得出确切结论^[3], 本文对 CD56 在多发性骨髓瘤中的研究进展进行综述。

1 CD56 的起源及表达

白细胞分化抗原 CD56 是一种跨膜免疫球蛋白, 分子量为 140 kDa, 属于 NCAM 亚型^[4], 参与细胞的生长和迁移。1990 年 Van Camp 等首次通过免疫组织化学分析和流式细胞术描述了多发性骨髓瘤患者浆细胞 CD56 表达强阳性^[5]。在造血系统中, CD56 一般表达

于 NK 细胞及 CD4⁺/CD8⁺T 细胞表面, 而不表达于外周淋巴细胞、单核细胞、粒细胞及 CD34⁺造血干细胞上^[6]。正常浆细胞表面几乎不表达 CD56, 多发性骨髓瘤瘤细胞表面 CD56 的阳性率明显升高, 为 70% ~ 80%^[4,7], 且幼稚浆细胞比成熟浆细胞更易出现 CD56 表达^[8], 因而 CD56 的表达往往提示恶性浆细胞。

2 CD56 在多发性骨髓瘤中的作用

75% 的多发性骨髓瘤患者浆细胞表面表达 CD56^[6-7]。CD56 作为神经细胞黏附分子, 与骨髓瘤细胞向骨髓基质定位相关, CD56 通过锚定骨髓瘤细胞限制其向髓外侵袭介导瘤细胞的归巢, 对骨髓瘤细胞在骨髓中生长发挥作用, 而缺乏 CD56 表达的骨髓瘤细胞更容易迁移至髓外生长^[9-11]。有研究认为, 人巨细胞病毒感染瘤细胞后会下调细胞表面 CD56 表达水平, 骨髓瘤患者中 CD56 缺失会导致基质金属蛋白酶-9(MMP-9)分泌增加^[12-13], 可降解基质中各种蛋白成分, 破坏瘤细胞侵袭的组织学环境, 从而降解基底膜导致骨髓瘤细胞向髓外侵袭, 促进骨髓瘤细胞的侵袭和转移^[7,14]。CD56 缺失的骨髓瘤细胞更易发生髓外转

移,且 CD56 的表达与血浆细胞数呈负相关,提示 CD56⁻的骨髓瘤患者预后可能更差^[11]。

CD56⁻的多发性骨髓瘤细胞可通过 PI3K/Akt 途径被白介素-6(IL-6)激活促进细胞增殖:IL-6 可磷酸化 Akt,上调和下调 CD56⁻的骨髓瘤细胞中细胞周期蛋白 D1 和蛋白 P21 的表达,促进瘤细胞增殖;胰岛素样生长因子(IGF-1)磷酸化 Akt,激活 CD56⁺骨髓瘤细胞表达细胞周期蛋白 D1,促进细胞增殖,而 IL-6 对 CD56⁺的多发性骨髓瘤无作用^[15]。IL-6 作为 CD56 缺失多发性骨髓瘤细胞的促生长因子,在 CD56⁺和 CD56⁻的多发性骨髓瘤患者预后差异中可能发挥重要作用,而 IGF-1 是否可促进 CD56⁻的骨髓瘤细胞转化为 CD56⁺的骨髓瘤细胞尚待进一步研究。

此外,转录因子也与多发性骨髓瘤细胞表面 CD56 的表达及对患者的预后相关。转录因子 SOX4 的基因表达可能诱导多发性骨髓瘤细胞表面 CD56 的表达^[16]。Damgaard 等^[17]则发现,转录因子 BTBD3、PAX5、RUNX1、MMSET 及细胞周期蛋白 D1 与多发性骨髓瘤细胞表面 CD56 表达呈正相关,参与疾病的进展、增殖和抗凋亡,进而影响患者的预后。

3 CD56 在多发性骨髓瘤中的意义

3.1 CD56 表达与多发性骨髓瘤预后及相关影响因素

目前 CD56 在多发性骨髓瘤中的表达与疾病预后意义的研究存在争议。理论上,CD56 缺失的瘤细胞侵袭性更强,因而生存期更短。邱荃等^[10]在研究中也发现,CD56⁺患者的 PFS 及 OS 均较 CD56 阴性患者有统计学意义。然而有学者认为 CD56⁺患者与 CD56⁻患者的 OS 及 PFS 无明显差异($P > 0.05$)^[3,18]。

有学者提出不同 CD56 表达患者的预后差异与多发性骨髓瘤的治疗方式有关,硼替佐米治疗可能改善 CD56⁻表达的 MM 患者预后。Fan 等^[13]在 160 例初诊 MM 患者的研究中认为,CD56⁺的患者 OS 较 CD56⁻患者长($P = 0.013$),而 PFS 无明显差异($P = 0.159$);非硼替佐米治疗组,CD56 的表达与 OS 相关,而硼替佐米组 CD56 的表达与 OS 及 PFS 无关,验证了上述观点。而其他学者对采用硼替佐米治疗的多发性骨髓瘤患者研究,发现 CD56⁺患者较 CD56⁻患者预后更好^[7,19]。因此经硼替佐米治疗的多发性骨髓瘤患者预后与 CD56 表达是否相关目前无法确定。Matevz 等^[7]在对 110 例骨髓瘤患者进行分析发现,硼替佐米联合化疗不能克服 CD56 缺失的负面影响,而经过 ASCT 的 MM 患者 CD56 的表达与疾病的 PFS 及 OS 均无关。

也有研究提出在多发性骨髓瘤的治疗过程中,CD56 的表达可上调或者下调^[20]。13 例 CD56 表达阴

性的 MM 患者,经化疗达到缓解后有 9 例患者 CD56⁻表达转为 CD56⁺表达^[4]。CD56 的表达下降对骨髓瘤患者的预后意义仍不明确^[9,21]。进一步分析骨髓瘤细胞表面 CD56 的表达在治疗前后的改变与疾病预后的关系,或许可进一步明确 CD56 在 MM 患者中表达的临床意义。

3.2 CD56 表达与多发性骨髓瘤不良反应的关系 多发性骨髓瘤临床表现为 CRAB,即高钙血症、肾功能不全、贫血、骨病。有研究认为 CD56 的表达与 MM 患者的血清 β_2 -微球蛋白、血肌酐、骨髓浆细胞百分比、M 蛋白亚型及肾衰竭无显著关系^[4,19]。Ceran 等^[11]则发现 CD56⁻组患者血肌酐和 β_2 -微球蛋白水平较高,血小板数较低($P > 0.05$),但这些差异均无统计学意义。CD56 导致成骨细胞功能下降而在溶骨过程中发挥作用,因而 CD56⁻表达的患者溶骨性破坏发生相对较少。

3.3 CD56 表达与多发性骨髓瘤染色体的关系 多发性骨髓瘤患者往往伴发异常染色体核型。赵晓红等^[20]提出 CD56⁺的多发性骨髓瘤患者合并染色体异常核型如 1q21+ 扩增和 del(13q14.3)的发生率高于 CD56 阴性的多发性骨髓瘤患者,差异具有统计学意义($P < 0.05$),而 IgH、del(13q14)及 del(17p)等异常核型未见明显统计学差异。在多发性骨髓瘤细胞中,CD56 的表达下调与 t(11;14)易位具有显著的相关性,也进一步证实 t(11;14)易位的骨髓瘤细胞更易侵袭浸润外周^[22]。

4 抗 CD56 抗体在多发性骨髓瘤中的应用

CD56 是一种参与细胞与细胞或细胞与基质之间黏附作用的糖蛋白,其细胞外结构域 N 端具有 5 个 IgG 样结构域,参与 CD56 的黏附作用;CD56 近膜端有 2 个纤连蛋白 III 型结构域,介导下游蛋白的信号转导。氯氟托珠单抗 HuN901 是一种人源化 CD56 抗体,与 DM1(高效的细胞毒性药物衍生物)偶联后形成的 HuN901-DM1,选择性作用于 CD56⁺的骨髓瘤细胞 IgG 样结构域,降低 CD56 的表达,促进 CD56⁺的 MM 细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用^[4,23]。氯氟托珠单抗美尔坦新(IMGN9901)是 HuN901 的抗体-药物结合物(ADC),在一期临床研究中证实具有长期的安全性和有效性,CD56 抗体在瘤细胞内的高亲和力是该类抗体治疗起效的重要因素,也为多发性骨髓瘤治疗提供了新的方向^[24-25]。

5 小结

多发性骨髓瘤是血液系统常见的恶性肿瘤,临床可通过流式细胞术检测浆细胞表面的 CD56 表达水平。理论上认为 CD56⁺的多发性骨髓瘤细胞预后更

好,然而经过相关研究,CD56 在瘤细胞表面的表达对多发性骨髓瘤患者的预后是否有意义仍无法明确。硼替佐米治疗或 ASCT 可能影响 CD56 的作用进而影响多发性骨髓瘤患者预后,但相关研究尚不足,且作用机制不明,仍需继续进行大量相关研究以进一步指导疾病的预后和治疗。CD56 在骨髓瘤细胞表面表达阳性率较高,因而抗 CD56 抗体对多发性骨髓瘤患者的长期生存可能具有积极意义,目前已有相关药物进行临床试验获得一定的成果,期待其应用于临床延长患者的寿命及提高患者的生命质量。

参考文献

- [1] Vincent RS. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. American Journal of Hematology, 2018, 93(8):1091-1110. DOI:10.1002/ajh.25117.
- [2] Yavasoglu I, Sargin G, Kadikoylu G, et al. Immunohistochemical evaluation of CD20 expression in patients with multiple myeloma[J]. Revista Brasileira De Hematologiae Hemoterapia, 2015, 37(1):34-37. DOI:10.1016/j.bjhh.2014.11.013.
- [3] 林阳, 万岁桂, 夏长青, 等. CD56-多发性骨髓瘤患者临床特征及预后分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(4):220-225. DOI:1006-1703(2013)04-0220-06.
- [4] Pan Y, Wang H, Tao Q, et al. Absence of both CD56 and CD117 expression on malignant plasma cells is related with a poor prognosis in patients with newly diagnosed multiple myeloma[J]. Leuk Res, 2016, 40(11):77-82. DOI:10.1016/j.leukres.2015.11.003.
- [5] Harrington AM, Hari P, Kroft SH. Utility of CD56 immunohistochemical studies in follow-up of plasma cell myeloma[J]. Am J Clin Pathol, 2009, 132(1):60-66. DOI:10.1309/AJCP0P7TQ3VHHKPC.
- [6] 蔡小慧, 刘波, 王林纤, 等. 多发性骨髓瘤的免疫表型分析及预后价值的研究[J]. 实用预防医学, 2016, 23(10):1202-1204. DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.016.
- [7] Matevz S, Barbara S, Vesna Z, et al. CD56 expression is an important prognostic factor in multiple myeloma even with bortezomib induction[J]. Acta Haematologica, 2018, 139(4):228-234. DOI:10.1159/000489483.
- [8] 杨佳, 杨波, 张丽, 等. 多发性骨髓瘤细胞形态分型与流式细胞术检测抗原表达相关性研究[J/OL]. 中华细胞与干细胞杂志:电子版, 2012, 2(2):24-27. DOI:10.7666/d.y2127178.
- [9] 郭娟, 常春康, 苏基滢, 等. 应用流式细胞术评估多发性骨髓瘤预后的研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(4):1178-1182. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2014.04.056.
- [10] 邱荃, 朱平, 王茫桔, 等. 初诊多发性骨髓瘤患者 CD56 和 CD19 表达与染色体核型及预后的关系[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(4):1071-1078. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2016.04.021.
- [11] Ceran F, Falay M, Dagdas S, et al. The assessment of CD56 and CD117 expressions at the time of the diagnosis in multiple myeloma patients[J]. Turk J Haematol, 2017, 34(3):226-232. DOI:10.4274/tjh.2016.0394.
- [12] 邹靖云. 128 例多发性骨髓瘤患者生存及预后因素分析[D]. 苏州:苏州大学, 2019.

- [13] Fan QY, Wang Y, Mi JQ. Study on the efficacy of bortezomib on CD56 negative multiple myeloma patients[J]. Journal Of Shanghai Jiao Tong University: Medical Science, 2016, 36(10):1445-1450. DOI:10.3969/j.issn.1674-8115.2016.10.009.
- [14] 黄垚, 刘焯. CD56, CD117 在多发性骨髓瘤中的表达及其与临床病理特征的相关性[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(4):530-533. DOI:10.3969/j.issn.1001-5930.2019.04.003.
- [15] Sahara N, Takeshita A, Ono T, et al. Role for interleukin-6 and insulin-like growth factor-I via PI3-K/Akt pathway in the proliferation of CD56⁻ and CD56⁺ multiple myeloma cells[J]. Experimental Hematology, 2006, 34(6):736-744. DOI:10.1016/j.exphem.2006.02.012.
- [16] Iqbal MS, Otsuyama KI, Shamsasenjan K, et al. CD56 expression in human myeloma cells derived from the neurogenic gene expression: possible role of the SRY-HMG box gene, SOX4[J]. International Journal of Hematology, 2010, 91(2):267-275. DOI:10.1007/s12185-009-0474-3.
- [17] Damgaard T, Knudsen LM, Dahl IM, et al. Regulation of the CD56 promoter and its association with proliferation, anti-apoptosis and clinical factors in multiple myeloma[J]. Leuk Lymphoma, 2009, 50(2):236-246. DOI:10.1080/10428190802699332.
- [18] 程薇, 李玉龙, 黄洲风, 等. 血清免疫固定电泳分型结合流式细胞术免疫表型分析在诊断多发性骨髓瘤中的作用[J]. 广东医学, 2018, 39(2):265-268. DOI:10.3969/j.issn.1001-9448.2018.02.025.
- [19] 李诗雅, 马艳萍. 65 例多发性骨髓瘤患者免疫表型特点及预后因素分析[D]. 太原:山西医科大学, 2016.
- [20] 赵晓红, 周仲昊, 王晨, 等. CD56 和 CD117 浆细胞免疫表型与多发性骨髓瘤患者染色体核型和预后的研究[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(3):519-523. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2018.03.026.
- [21] 罗文丰, 邹兴立, 杨竹. 流式细胞术检测多发性骨髓瘤中骨髓细胞表面免疫表型的价值[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2017, 24(8):957-959. DOI:10.13455/j.cnki.cjcor.2017.08.17.
- [22] An G, Xu Y, Shi L, et al. t(11;14) multiple myeloma: A subtype associated with distinct immunological features, immunophenotypic characteristics but divergent outcome[J]. Leukemia Research, 2013, 37(10):1251-1257. DOI:10.1016/j.leukres.2013.06.020.
- [23] Allegra A, Penna G, Alonci A, et al. Monoclonal antibodies: potential new therapeutic treatment against multiple myeloma[J]. European Journal of Haematology, 2013, 90(6):441-468. DOI:10.1111/ejh.12107.
- [24] Feng Y, Wang Y, Zhu Z, et al. Differential killing of CD56-expressing cells by drug-conjugated human antibodies targeting membrane-distal and membrane-proximal Non-overlapping epitopes[J]. uAbs, 2016, 8(4):799-810. DOI:10.1080/19420862.2016.1155014.
- [25] Ailawadhi S, Kelly KR, Vescio RA, et al. A phase I study to assess the safety and pharmacokinetics of single-agent lorvotuzumab mertansine (IMGN901) in patients with relapsed and/or refractory CD56-positive multiple myeloma[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2019, 19(1):29-34. DOI:10.1016/j.clml.2018.08.018.

(收稿日期:2020-02-12)

IgG4 相关疾病最新研究进展

林丽萍, 阮一平综述 洪富源审校

基金项目: 福建省临床重点专科建设项目(2017739)

作者单位: 350001 福州, 福建省立医院肾内科

通信作者: 洪富源, E-mail: hongdoc@163.com

【摘 要】 IgG4 相关疾病(IgG4-RD)是一种病因不明的慢性纤维炎性疾病。近年对其发病机制的研究不断取得新进展,包括浆细胞和 T 细胞亚群在疾病发生发展中可能发挥的作用。IgG4-RD 可有多脏器受累,临床表现因受累器官而各异。目前,诊断仍依赖于临床和组织病理学证据,但新型生物学标志物及新近发现的多种自身抗原为未来 IgG4-RD 的诊治提供了新的方向。IgG4-RD 的主要治疗药物是糖皮质激素,而利妥昔单抗作为二线药物越来越受人们重视。复发或难治性病例较为常见,因此有必要对疾病的活动性进行监测。文章对 IgG4-RD 的发病机制、临床表现、诊断与治疗等方面的研究进展作一综述。

【关键词】 IgG4 相关疾病;发病机制;临床特点;综述

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.026

Recent advances in IgG4-related disease Lin Liping, Ruan Yiping, Hong Fuyuan. Department of Nephrology, Fujian Provincial Hospital, Fujian 350001, China

Corresponding author: Hong Fuyuan, E-mail: hongdoc@163.com

Funding program: Fujian Province Clinical Key Specialty Construction Project(2017739)

【Abstract】 IgG4-related disease (IgG4-RD) is a chronic fibroinflammatory disease of unknown etiology. In recent years, new progress has been made in its pathogenesis, including the possible role of plasma cells and T cell subsets in its occurrence and development. IgG4-RD involves multiple organs with various clinical manifestations. To date, diagnosis of IgG4-RD rely on clinical and histopathological evidence. However, new biological markers and newly discovered autoantigens have led to novel insights about diagnosis of this disease. Glucocorticoids remains to be the first-line approach. Nevertheless, rituximab, as the glucocorticoid-sparing agent, attracts more attention. As recurrent and refractory cases are common, it is necessary to monitor the activity of disease. This paper reviews the progress in pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis and treatment of IgG4-related disease.

【Key words】 IgG4-related disease; Pathogenesis; Clinical characteristics; Review

IgG4 相关疾病(IgG4-RD)可有多器官、多系统受累,最常见累及胰腺、肾脏、泪腺、唾液腺和腹膜后,部分病例可有自发缓解。其特征为病变组织淋巴细胞、浆细胞浸润和纤维化。通常可检测到患者血清 IgG4 水平显著升高,但也可见于其他疾病如肿瘤、哮喘、过敏和 Castleman 病等,过度强调血清 IgG4 水平在诊断中的意义可能导致误诊率增高。由于其表现与肿瘤相似,常常需要与恶性肿瘤鉴别。该病的病理特征是大量淋巴细胞和 IgG4 阳性浆细胞浸润,并伴有席纹状纤维化、阻塞性静脉炎、嗜酸性粒细胞浸润。目前对 IgG4-RD 的发病机制尚缺乏足够的了解。通常认为 B 细胞和 T 细胞在疾病发生过程中起至关重要的作用,但具体机制仍有待进一步阐明。此外,免疫系统的其

他成分也参与发病的病理生理学过程。本文就 IgG4 相关疾病最新研究进展进行综述。

1 IgG4-RD 的流行病学

由于 IgG4-RD 近十几年才被认识且与其他疾病鉴别困难,因此对疾病流行情况的认识仍然有限。IgG4-RD 多发于中老年男性,最近一项多中心横断面研究中亚洲患者的诊断平均年龄为 57.7 岁^[1]。而在一项纳入 25 例儿童 IgG4-RD 的病例分析中,女性占轻度优势(64%)^[2]。目前尚不清楚性别差异产生的原因。

2 IgG4-RD 的发病机制

2.1 B 细胞 利妥昔单抗可通过诱导 B 细胞耗竭治疗 IgG4-RD,提示 B 细胞参与了 IgG4-RD 发病的病理

生理学过程。研究发现,循环中 $CD19^+ CD20^- CD27^+ CD38^+$ 浆母细胞水平异常增高^[3]。幼稚的 $CD20^+$ 前体细胞亲和力成熟后形成浆母细胞,IgG4-RD 患者外周血中扩增的浆母细胞大量活化为长寿或短寿浆细胞并产生过量 IgG4。血液中浆母细胞的浓度与疾病活动密切相关,经利妥昔单抗诱导缓解后急剧下降,并在复发期间再次升高。即使在血清 IgG4 浓度正常的 IgG4-RD 患者中,也可检测到循环浆母细胞计数升高。因此,外周血浆母细胞或可作为指导疾病治疗和监测的生物标志物^[4]。

2.2 T 细胞 由于 IgG4-RD 患者特异性疾病发生率较普通人群高,且可观察到 Th2 细胞因子如白介素(IL)-4、IL-5 和 IL-13 等的异常分泌,因此通常认为 Th2 免疫应答在 IgG4-RD 发病中起至关重要的作用。但是有研究表明,Th2 细胞水平异常仅见于具有特异性病史的 IgG4-RD 患者,而在没有特异性病史的患者中无此现象,提示 Th2 细胞在 IgG4-RD 发病机制中或许并不重要^[5]。早期的研究提示 Treg 细胞可能通过 IL-10 和 TGF- β 参与 IgG4-RD 损伤中的 IgG4 类转换和纤维化^[6]。但到目前为止仍无 Treg 细胞参与 IgG4-RD 发病过程的直接证据。

Tfh 细胞可协助 B 细胞形成淋巴滤泡的生发中心,并促进 B 细胞类别转换。越来越多的证据显示,循环 Tfh 细胞在 IgG4-RD 中的作用。IgG4-RD 患者外周血 Tfh2 细胞水平升高,其浓度与疾病活动性、外周血浆细胞的浓度和血清 IgG4 水平相关。另外,Tfh1 细胞水平异常与疾病活动性相关,但与血清 IgG4 水平无关^[7-9]。而有学者从 IgG4 相关性泪腺炎和干性腺炎的患者下颌下腺分离的病变 Tfh 细胞高表达 Bcl-6 和活化标志物(如 PD-1 和 ICOS),并能有效协同 B 细胞产生 IgG4,提示病变组织浸润的 Tfh 细胞同样在 IgG4-RD 的发病机制中发挥重要作用^[10]。

最新的研究显示,PD-1^{hi} CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞与 IgG4-RD 临床表现相关。PD-1^{hi} CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞是一种新近定义的 T 细胞亚群,具有 Tfh 类细胞特征,可能通过分泌趋化因子 CXCL13 与 Tfh 细胞和 B 细胞等淋巴细胞协同参与炎症反应发生及免疫反应过程^[11]。PD-1^{hi} CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞水平与 IgG4 和可溶性 IL-2 受体的血清水平及 IgG4-RD 患者的受累器官数量呈正相关,并随着糖皮质激素治疗后血清 IgG4 水平的降低而降低,该细胞频繁表达 GZMA 可能与细胞毒性有关^[12-13]。

2.3 浆细胞样树突细胞 IgG4 相关自身免疫性胰腺炎小鼠模型提示,浆细胞样树突细胞(plasmacytoid

dendritic cells, pDC)可能通过 IFN- α 介导的信号转导增强浆细胞产生 IgG4 抗体的能力^[14],后续的研究还表明 pDC 产生大量的 IL-33,通过抗 ST2 Ab 阻断 IL-33 信号传导可减轻胰腺炎性反应和纤维化。这些研究提示 pDC 可能通过 IFN-IL-33 轴在 AIP 的慢性纤维炎性反应中起关键作用^[15-16]。

3 IgG4-RD 的临床表现

IgG4-RD 无特异性的临床症状及体征,主要表现为全身非特异症状及组织器官占位性病变^[17-18]。炎症浸润和纤维化可能导致组织或器官功能障碍,并可因局部阻塞或压迫出现并发症。疾病早期多因临床表现非特异而被误诊、漏诊。该病可累及任何器官且常为多器官同时受累。最常见的受累器官是肝、胆、胰系统,其次是唾液腺^[19-21]。IgG4 相关的自身免疫性胰腺炎常表现为梗阻性黄疸,由器官肿胀和胰管压迫引起^[22-23]。胆道受累被称为 IgG4 硬化性胆管炎(IgG4-SC),可伴或不伴炎症反应性假瘤,多累及较大的胆管(例如肝外、肝门和肝门周围的导管),表现为胆管壁增厚、胆道狭窄,需与其他形式的胆管炎和胆管癌鉴别^[24]。IgG4-RD 的肾受累最具代表性的表现为富含浆细胞的间质性肾炎,病灶可为单发或多发。最近的进展表明,IgG4 阳性浆细胞浸润的炎症反应不仅限于肾实质,还可累及肾囊外部、中型动脉(如大叶动脉)周围、神经周围及肾盂^[25]。较之女性,男性患者出现症状及诊断较晚,头颈部疾病发生率更低,但更易发生腹膜后纤维化^[1]。国内的分析也表示,女性患者中更为常见过敏史、米库利兹病和甲状腺疾病,而男性患者中更常见自身免疫性胰腺炎、硬化性胆管炎和腹膜后纤维化^[26-27]。总体上女性患者更容易出现浅表器官受累,而男性患者更多见内脏器官受累。病程通常为亚急性,部分病例为影像学检查时偶然发现。许多患者有过敏性疾病史,可观察到外周嗜酸性粒细胞增多。

4 IgG4-RD 与恶性肿瘤

IgG4-RD 与恶性肿瘤之间可能存在关联。一项回顾性研究表明,IgG4-RD 患者恶性肿瘤的发生率较普通人群高出 2.5 倍。前列腺癌是 IgG4-RD 病例组和对照组中最常见的恶性肿瘤。淋巴瘤在 IgG4-RD 合并恶性肿瘤人群中占 19%,而在对照人群中仅为 4%^[28]。有学者在自身免疫性胰腺炎(AIP)患者的癌症组织中发现大量 IgG4 阳性的浆细胞浸润^[29]。最近一项分析表示,AIP 发病可能与胰腺外器官(例如胃、肺和前列腺)癌症有关。尚不明确 AIP 患者胰腺外癌症的发生是否与 IgG4-RD 相关的慢性炎症反应有关,研究还探讨了 1 型 AIP 是否作为副肿瘤综合征发生,

该观点有待前瞻性研究进一步论证^[30]。

5 IgG4-RD 的诊断

IgG4-RD 诊断困难,尚无统一诊断标准,日本 IgG4-RD 研究小组于 2011 年提出了 IgG4-RD 的综合诊断标准(CDC),目前仍为大多数临床医生所采用^[31],2017 年日本再次提出了器官特异性 IgG4-RD 诊断标准,包括自身免疫性胰腺炎、硬化性胆管炎、肾、肺和眼眶、器官特异诊断标准,该诊断标准综合考虑了临床、血清学、影像学和组织病理学表现,但是仍存在敏感度、特异度不足等问题^[32]。一项中国 IgG4-RD 人群的研究显示,血清 IgG4 > 135 mg/dl 的敏感度和特异度分别为 86% 和 77%^[33]。另一项荟萃分析中,血清 IgG4 水平为 135 ~ 144 mg/dl 时敏感度和特异度分别为 87.2% 和 86.4%^[34]。

近年新的生物学标志物不断取得进展。一项回顾性研究显示,血清 IgG2 > 5.3 g/L 对眼眶 IgG4-RD 的敏感度和特异度分别为 80.0% 和 91.7%。联合血清和组织 IgG4 和 IgG2 可能作为诊断 IgG4-RD 新的指标^[35]。血清可溶性 IL-2 受体(serum soluble IL-2 receptor, sIL2R)反映 T 细胞的活化水平,Handa 等^[36]的研究提示,sIL2R 水平与 IgG4-RD 炎性反应过程相关,可用于监测疾病活动性和预测糖皮质激素治疗反应。趋化因子配体 18 (chemokine ccmotif ligand 18, CCL18)由先天免疫系统的抗原呈递细胞组成表达,IgG4-RD 患者 CCL18 水平明显升高,且与受累器官数量有关,该指标不仅反映疾病活动性和治疗反应,还与 IgG4-RD 纤维化严重程度相关^[37]。IgG4-RD 自身抗原如层粘连蛋白 511、半乳糖凝集素 1、抗增殖蛋白、膜联蛋白 A11 等的发现为 IgG4-RD 诊断提供了新思路^[38-40]。

6 IgG4-RD 的治疗

并非所有确诊的 IgG4-RD 患者都需要积极的医疗干预,一些病例(如无症状的淋巴结肿大或下颌下腺轻度肿大)存在自发缓解,无需治疗。对于有症状的、疾病处于活动状态的患者均应考虑治疗,尤其是胰腺、胆道、主动脉、纵隔、肾脏、腹膜后和肠系膜受累时应给予积极治疗^[41]。治疗反应性主要决定于纤维化程度,疾病长期活动未控制、纤维化严重的患者疗效较差。大多数患者对糖皮质激素敏感。治疗反应通常在 2 ~ 4 周内开始出现,通常建议至少治疗 3 ~ 6 个月。以伯明翰血管炎活动性评分为模型开发出 IgG4-RD 反应指数,于 2018 年经国际多学科研究认为,其可作为一种有效且可靠的疾病活动评估工具,可用于评估治疗反应^[42-43]。

糖皮质激素是 IgG4 相关疾病治疗的一线药物。目前临床上多采用日本提出的治疗建议,起始剂量 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,持续 2 ~ 4 周减量,每 1 ~ 2 周减 5 ~ 10 mg/d,减至 2.5 ~ 5 mg/d 维持不超过 3 年^[31]。糖皮质激素单一疗法的缓解率为 97%,但完全缓解率为 65%^[44],停药后可能复发,但实际的复发率尚不清楚。一项前瞻性、随机、安慰剂对照研究中,2 组均使用泼尼松龙诱导缓解,其中 19 例患者于第 26 周撤药,而 30 例患者维持治疗 3 年。结果显示,维持治疗组的复发率显著降低,其中 30 例患者中有 7 例(23.3%)复发,而停药组 19 例中有 11 例(57.9%)复发($P = 0.011$)^[45]。提示与完全停药相比,糖皮质激素维持治疗与较低的复发率相关。

对于激素治疗耐药及不耐受不良反应的患者,利妥昔单抗是重要的替代治疗方法。该药通过靶向 B 细胞降低外周血 IgG4、成浆细胞的浓度^[46]。一项前瞻性研究中,利妥昔单抗治疗缓解率达 77%,随访 6 个月未观察到疾病复发^[47]。此外,免疫抑制剂也可做为激素替代治疗,包括甲氨蝶呤、硫唑嘌呤、霉酚酸酯、6-巯基嘌呤和环磷酰胺,但至今仍缺乏足够证据^[31]。

7 小结

IgG4-RD 临床表现非特异且多样化,诊断和治疗仍是亟待解决的难题。对疾病发病机制,包括 T 细胞亚群的病理生理学作用仍需要更深入探索。新型生物学标志物及自身抗原发现或可有助于提高诊断率。靶向治疗逐渐受到临床重视但尚需更多证据验证。

参考文献

- [1] Wallace ZS, Zhang Y, Perugino CA, et al. Clinical phenotypes of IgG4-related disease: An analysis of two international cross-sectional cohorts[J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(3):406-412. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214603.
- [2] Karim F, Loeffen J, Bramer W, et al. IgG4-related disease: A systematic review of this unrecognized disease in pediatrics[J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2016, 14(1):18. DOI: 10.1186/s12969-016-0079-3.
- [3] Mattoo H, Mahajan VS, Della-Torre E, et al. De novo oligoclonal expansions of circulating plasmablasts in active and relapsing IgG4-related disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(3):679-687. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.03.034.
- [4] Wallace ZS, Mattoo H, Carruthers M, et al. Plasmablasts as a biomarker for IgG4-related disease, independent of serum IgG4 concentrations[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases: A Journal of Clinical Rheumatology and Connective Tissue Research*, 2015, 74(1):190-195. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-205233.
- [5] Mattoo H, Della-Torre E, Mahajan VS, et al. Circulating Th2 memory cells in IgG4-related disease are restricted to a defined subset of subjects with atopy[J]. *Allergy*, 2014, 69(3):399-402. DOI: 10.

- 1111/all. 12342.
- [6] Akiyama M, Suzuki K, Kassai Y, et al. Resolution of elevated circulating regulatory T cells by corticosteroids in patients with IgG4-related dacryoadenitis and sialoadenitis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(4):430-432. DOI: 10.1111/1756-185X.12725.
- [7] Akiyama M, Yasuoka H, Yamaoka K, et al. Enhanced IgG4 production by follicular helper 2 T cells and the involvement of follicular helper 1 T cells in the pathogenesis of IgG4-related disease[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18:167. DOI: 10.1186/s13075-016-1064-4.
- [8] Chen Y, Lin W, Yang H, et al. Aberrant expansion and function of follicular helper T cell subsets in IgG4-related disease[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2018, 70(11):1853-1865. DOI:10.1002/art.40556.
- [9] Akiyama M, Suzuki K, Yamaoka K, et al. Number of circulating follicular helper 2 T cells correlates with IgG4 and interleukin-4 levels and plasmablast numbers in IgG4-related disease[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(9):2476-2481. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-205233.
- [10] Kamekura R, Takano K, Yamamoto M, et al. Cutting edge: A critical role of lesional T follicular helper cells in the pathogenesis of IgG4-related disease[J]. *J Immunol*, 2017, 199(8):2624-2629. DOI:10.4049/jimmunol.1601507.
- [11] Filer A, Massarotti EM, Ykerk VPB, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis[J]. *Nature*, 2017, 542(7629):110-114. DOI: 10.1038/nature20810.
- [12] Kamekura R, Takahashi H, Ichimiya S. New insights into IgG4-related disease: emerging new CD4⁺ T-cell subsets[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2019, 31(1):9-15. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000558.
- [13] Kamekura R, Yamamoto M, Takano K, et al. Circulating PD-1⁺ CXCR5⁺CD4⁺ T cells underlying the immunological mechanisms of IgG4-related disease[J]. *Rheumatol Adv Pract*, 2018, 2(2):rky043. DOI: 10.1093/rap/rky043.
- [14] Arai Y, Yamashita K, Kuriyama K, et al. Plasmacytoid dendritic cell activation and IFN- α production are prominent features of murine autoimmune pancreatitis and human IgG4-Related autoimmune pancreatitis[J]. *J Immunol*, 2015, 195(7):3033-3044. DOI: 10.4049/jimmunol.1500971.
- [15] Yoshikawa T, Watanabe T, Minaga K, et al. Cytokines produced by innate immune cells in IgG4-related disease[J]. *Mod Rheumatol*, 2019, 29(2):219-225. DOI: 10.4049/jimmunol.1700060.
- [16] Watanabe T, Yamashita K, Arai Y, et al. Chronic fibro-inflammatory responses in autoimmune pancreatitis depend on IFN- α and IL-33 produced by plasmacytoid dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2017, 198(10):3886-3896. DOI:10.1080/14397595.2018.1536364.
- [17] 刘英贤, 谢燕丕, 李惠怡, 等. 过敏性哮喘患儿外周血 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白域 4 和血清免疫球蛋白 G4 的水平变化及意义[J]. *中国医药*, 2020, 15(5):685-689. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.05.012.
- [18] 吴超, 陈建军, 王凤英, 等. IgG4 相关性疾病 21 例临床分析[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(9):947-949. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.09.020.
- [19] 陈锡燕, 朱芸, 李明, 等. IgG4 相关性疾病研究进展[J]. *中国现代医生*, 2015, (16):152-156.
- [20] 刘寅, 庄谊, 演欣, 等. IgG4 相关性淋巴结合并急性淋巴细胞白血血 1 例并文献复习[J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(11):1164-1165. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2017.11.024.
- [21] 刘松涛, 刘燕敏, 黄云丽, 等. IgG4 相关性疾病 6 例分析及文献复习[J]. *疑难病杂志*, 2016, 15(4):416-420. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2016.04.023.
- [22] Okazaki K, Uchida K. Current perspectives on autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease[J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2018, 94(10):412-427. DOI: 10.2183/pjab.94.027.
- [23] 周卿, 林苏, 林烨鸿, 等. 血清免疫球蛋白(Ig)G4 在非 IgG4 相关性肝胆疾病中的表达[J]. *中华肝脏病杂志*, 2020, 28(2):152-154. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2020.02.010.
- [24] Lee HE, Zhang L. Immunoglobulin G4-related hepatobiliary disease[J]. *Semin Diagn Pathol*, 2019, 36(6):423-433. DOI: 10.1053/j.semdp.2019.07.007.
- [25] Kawano M, Saeki T, Nakashima H. IgG4-related kidney disease and retroperitoneal fibrosis: An update[J]. *Mod Rheumatol*, 2019, 29(2):231-239. DOI: 10.1080/14397595.2018.1554321.
- [26] Wang L, Zhang P, Zhang X, et al. Sex disparities in clinical characteristics and prognosis of immunoglobulin G4-related disease: A prospective study of 403 patients[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2019, 58(5):820-830. DOI:10.1093/rheumatology/key397.
- [27] 秦晓怡, 林锦镛, 杨顺海. IgG4 相关性眼病的病理诊断研究进展[J]. *中华眼视光学与视觉科学杂志*, 2020, 22(2):94-97. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2020.02.003.
- [28] Wallace ZS, Wallace CJ, Lu N, et al. Association of IgG4-related disease with history of malignancy[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(9):2283-2289. DOI: 10.1002/art.39773.
- [29] Schneider A, Hirth M, Münch M, et al. Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis: A single-center experience from Germany[J]. *Digestion*, 2017, 95(2):172-180. DOI: 10.1159/000455963.
- [30] Okamoto A, Watanabe T, Kamata K, et al. Recent updates on the relationship between cancer and autoimmune pancreatitis[J]. *Intern Med*, 2019, 58(11):1533-1539. DOI: 10.2169/internalmedicine.2210-18.
- [31] Khosroshahi A, Wallace ZS, Crowe JL, et al. International consensus guidance statement on the management and treatment of IgG4-related disease[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(7):1688-1699. DOI: 10.1002/art.39132.
- [32] Umehara H, Okazaki K, Nakamura T, et al. Current approach to the diagnosis of IgG4-related disease - Combination of comprehensive diagnostic and organ-specific criteria[J]. *Mod Rheumatol*, 2017, 27(3):381-391. DOI: 10.1080/14397595.2017.1290911.
- [33] Yu KH, Chan TM, Tsai PH, et al. Diagnostic performance of serum IgG4 levels in patients with IgG4-related disease[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(41):e1707. DOI: 10.1097/MD.0000000000001707.
- [34] Hao M, Liu M, Fan G, et al. Diagnostic value of serum IgG4 for IgG4-related disease: A PRISMA-compliant systematic review and

- meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95 (21): e3785. DOI: 10.1097/MD.0000000000003785.
- [35] Chan A, Mudhar H, Shen SY, et al. Serum IgG2 and tissue IgG2 plasma cell elevation in orbital IgG4-related disease (IgG4-RD): Potential use in IgG4-RD assessment[J]. Br J Ophthalmol, 2017, 101(11):1576-1582. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2017-310148.
- [36] Handa T, Matsui S, Yoshifuji H, et al. Serum soluble interleukin-2 receptor as a biomarker in immunoglobulin G4-related disease[J]. Mod Rheumatol, 2018, 28(5):838-844. DOI: 10.1080/14397595.2017.1416739.
- [37] Kawashiri SY, Origuchi T, Umeda M, et al. Association of serum levels of fibrosis-related biomarkers with disease activity in patients with IgG4-related disease[J]. Arthritis Res Ther, 2018, 20(1): 277. DOI: 10.1186/s13075-018-1777-7.
- [38] Salah A, Yoshifuji H, Ito S, et al. High expression of galectin-3 in patients with IgG4-Related disease: A proteomic approach[J]. Patholog Res Int, 2017, 2017: 9312142. DOI: 10.1155/2017/9312142.
- [39] Hubers LM, Vos H, Schuurman AR, et al. Annexin A11 is targeted by IgG4 and IgG1 autoantibodies in IgG4-related disease[J]. Gut, 2018, 67(4):728-735. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314548.
- [40] Umehara H, Okazaki K, Kawano M, et al. The front line of research into immunoglobulin G4-related disease - Do autoantibodies cause immunoglobulin G4-related disease[J]. Mod Rheumatol, 2019, 29(2):214-218. DOI: 10.1080/14397595.2018.1558519.
- [41] Tang J, Cai S, Ye C, et al. Biomarkers in IgG4-related disease: A systematic review[J]. Semin Arthritis Rheum, 2020, 50(2): 354-359. DOI:10.1016/j.semarthrit.2019.06.018.
- [42] Wallace ZS, Khosroshahi A, Carruthers MD, et al. An international multispecialty validation study of the IgG4-related disease responder index[J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2018, 70(11):1671-1678. DOI: 10.1002/acr.23543.
- [43] Carruthers MN, Stone JH, Deshpande V, et al. Development of an IgG4-RD responder index[J]. Int J Rheumatol, 2012, 2012: 259408. DOI: 10.1155/2012/259408.
- [44] Brito-Zerón P, Kostov B, Bosch X, et al. Therapeutic approach to IgG4-related disease: A systematic review[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(26):e4002. DOI:10.1097/MD.0000000000004002.
- [45] Goyal J, Barkin JA, Barkin JS. Randomised controlled trial of long-term maintenance corticosteroid therapy in patients with autoimmune pancreatitis[J]. Gut, 2018, 67(3):591. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312049.
- [46] Khosroshahi A, Carruthers MN, Deshpande V, et al. Rituximab for the treatment of IgG4-related disease: lessons from 10 consecutive patients[J]. Medicine (Baltimore), 2012, 91(1):57-66. DOI: 10.1097/MD.0b013e3182431ef6.
- [47] Rituximab for IgG4-related disease: a prospective, open-label trial[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(6):1171-1177. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206605.

(收稿日期:2020-02-17)

撰写医学论文主体部分的要求

- 前言** 概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据、研究方法、预期结果和意义等。仅提供与研究主题紧密相关的参考文献，切忌写成文献综述。不要涉及本研究中的数据或结论。一般以 200~300 个汉字为宜，占全文字数的 5% 左右。
- 方法** 描述研究对象（人或实验动物，包括对照组）的选择及其基本情况，以及研究所采用的方法（包括分组方法）。实验研究的论文常写成“材料与与方法”，临床研究论文常写成“资料与方法”。临床试验研究还应说明试验程序是否经所在单位或地区伦理学相关机构的批准，研究对象是否知情同意并签署知情同意书。
 - 观察对象**：观察对象为患者，需注明病例和对照者来源、选择标准、一般情况、观察指标和疗效判断标准等。研究对象为实验动物，需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。
 - 研究方法**：详述新创的方法及改良方法的改进之处，以备他人重复。采用他人方法，应以引用文献的方式给出方法的出处，无须详细描述。
 - 药品与试剂**：药品及化学试剂使用通用名称，并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位、生产时间及给药途径。
 - 仪器、设备**：应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述工作原理。
 - 统计学处理**：描述统计学方法及其选择依据，并说明所使用的统计学软件。
- 结果** “结果”是指实验所得数据、观察记录，经过综合分析和统计学处理的结果，而不是原始数据，更不是原始记录。按逻辑顺序在正文的文字、表格和图中描述所获得的结果。结果的叙述应实事求是，简洁明了，数据准确，层次清楚，逻辑严谨，不应与讨论内容相混淆。应着重总结重要的研究成果。以数据反映结果时，应注意不能只描述导数（如百分数），还应同时给出据以计算导数的绝对数。一般应对所得数据进行统计学处理，并给出具体的统计值，例如： $t = 2.85$, $P < 0.01$ 。
- 讨论** “讨论”是对研究结果的科学解释与评价，是研究所形成的科学理论。着重讨论研究结果的创新之处及从中导出的结论，包括理论意义、实际应用价值、局限性，及其对进一步研究的启示。如果不能导出结论，也可通过讨论，提出建议、设想、改进意见或待解决的问题等。应将本研究结果与其他有关的研究相比较，并将本研究结论与目的联系起来讨论，并列出具体的参考文献。不必重复已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不应列入图或表。

《疑难病杂志》稿约

本刊是报道疑难病症的综合性医学学术期刊,国家卫生健康委员会主管,中国医师协会主办。本刊系中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊),美国《化学文摘(CA)》、波兰《哥白尼索引(IC)》、日本科学技术振兴机构数据库(JST)来源期刊,国内外公开发行。本刊面向全国、注重临床、讲究实用、荟萃精华,坚持理论与实践相结合、普及与提高相结合、中西医相结合的办刊宗旨,积极倡导“百花齐放、百家争鸣”。本刊实行同行审稿制,设有述评、论著、络病论坛、诊疗技术、综述讲座、信息荟萃、名医精粹、临床病例(理)讨论、疑难病例析评、罕见病例、误诊误治分析、继续教育园地、会议纪要、争鸣与讨论、读者来信、书评(或书讯)等栏目。欢迎踊跃投稿。

1 投稿要求

1.1 稿件基本要求 来稿应具先进性、科学性、导向性和实用性。要求资料真实、数据可靠、论点明确、结构严谨、文字精炼。论著类(临床研究、实验研究)、综述等一般 6 000 字左右为宜(包括摘要、参考文献),临床经验类一般 4 000 字左右为宜(包括摘要、参考文献),病例报告类(罕见病例、误诊误治分析)一般不超过 2 000 字(包括参考文献)。

1.2 单位推荐信 来稿须附单位推荐信,应注明对稿件的审评意见以及无一稿两投、不涉及保密及署名无争议等项。

1.3 作者信息 来稿请标明第一作者的姓名、最高学历、职称及工作单位。多作者可指定一名通信作者。来稿首页必须注明与编辑部联系的通信作者的姓名及其详细通讯地址、固定电话、移动电话和 E-mail。

1.4 基金项目 论文所涉及的课题若取得国家或部、省级基金资助或属攻关项目,请脚注于文题页作者署名下方,如:“基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870765)”,并请附基金证明复印件,可优先刊登。

1.5 快审通道 本刊为具有创新性科研成果或国内首报论文开辟“快审通道”,提供快速同行审稿。如果作者希望来稿进入“快审通道”,请提供关于论文创新性说明和查新报告。符合标准经快速审核同意后,即给予刊出。

1.6 稿件处理 作者在接到回执满 30 个工作日未收到稿件处理通知,视为退稿。本刊不退文稿,请作者自留底稿,但原始照片将寄还作者。来稿一律文责自负。根据《著作权法》,本刊对决定刊用的文稿可做文字修改、删节,凡有涉及原意的修改则提请作者考虑。退修稿一律采用电子邮箱发送作者,作者修改稿首页须注明稿件编号,以 Word 格式发回。修改稿逾 1 个月不返回本编辑部者,视为自动撤稿。

1.7 相关费用 稿件经审阅确认刊载后需按通知数额付版面费,版面费可由作者单位从科研经费或其他经费中支付。稿件刊登后酌致稿酬(已含其他形式出版稿酬),赠当期杂志 2 册。

1.8 投稿方式 本刊只接受电子投稿,将稿件发至电子邮箱(ynbzz@163.com)或登录本刊网址(<http://tougao.ynbzz.com>)进行投稿。内文图片必须提供原始图片或发送电子邮件(TIF 或 JPG 格式),不能用复印件,不接受纸质稿件。

1.9 著作权 来稿决定刊用后,全部作者签署“版权转让协议”,将著作权专有许可使用权和独家代理权授予疑难病杂志社。未经疑难病杂志社书面许可,不得再授权他人以任何形式汇编、转载、出版本文的任何部分。

2 撰稿要求

2.1 题名 力求简明、醒目,反映出文章的主题。除公知公用者外,尽量不用外文缩略语。中文题名一般不宜超过 20 个汉字,英文题名不宜超过 10 个实词。中、英文题名含义应一致。

2.2 作者署名 作者应具备以下条件:(1)参与选题和设计,或参与资料分析与解释;(2)起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容;(3)能按编辑部的修改意见进行核修,对学术问题进行解答,并最终同意论文发表;(4)除了负责本人的研究贡献外,同意对研究工作各方面的诚信问题负责。仅参与获得资金或收集资料者不能列为作者,仅对科研小组进行一般管理也不宜列为作者。作者姓名在题名下按序排列,排序应在投稿前由全体作者共同讨论确定,投稿后不应再作改动,确需改动时必须出示单位证明以及所有作者亲笔签名的署名无异议的书面证明。所有作者的单位名称(包括科室)及邮政编码脚注于文题下方。作者从事专业应与稿件内容一致,特殊情况应做出说明。

2.3 摘要 论著类需附中、英文结构式摘要,摘要必须包括目的、方法、结果(应给出主要数据、检验值)及结论 4 部分,各部分冠以相应的标题,一般 200~250 个汉字。综述需附中、英文指示性摘要,一般 50~100 个汉字。采用第三人称撰写,不用“本文”等主语。英文摘要前需列出英文题名、作者姓名(汉语拼音,姓和名字的首字母大写,汉字名中间不加连字符)、第一作者单位名称、所在城市名、邮政编码和国名。作者应全部列出;不属同一单位时,在第一作者姓名右上角加“*”,同时在单位名称首字母左上角加“*”,例如:Lin Xianyan*, Wu Jianping, Qin Jiong. * Department of Pediatrics, First Hospital, Peking University, Beijing 100034, China。通信作者以“Corresponding author”表示。

2.4 关键词 论文需标引 2~5 个关键词。请尽量使用中国医学科学院医学信息研究所翻译的最新版本《医学主题词表(MeSH)》和中国中医科学院中医信息研究所编写的《中医药学主题词表》内所列的词。必要时,可采用习惯用的专业术语(自由词),并排列于最后。关键词中的英文缩写应按 MeSH 还原为全称。各词之间用分号(;)隔开。

2.5 临床试验注册号 逐步实施临床试验注册制度,注册号应是从 WHO 认证的一级临床试验注册中心获得的全球唯一的注册号。以“临床试验注册”(Trial registration)为标题,写出注册机构名称和注册号。

2.6 正文层次 用阿拉伯数字表示层次序号,如 1、1.1、1.1.1……序号顶格,段落内连排的序号用(1)、(2)、(3)……。

2.7 医学伦理问题及知情同意 须遵循医学伦理基本原则。当论文的主体是以人为研究对象时,作者应说明其遵循的程序是否符合负责人体试验伦理委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制订的伦理学标准。提供该委员会的批准文件(批准文号著录

于论文中),并注明受试对象或其亲属是否签署知情同意书。

2.8 统计学 (1)统计学符号:按 GB/T 3358.1—2009《统计学词汇及符号第 1 部分:一般统计术语与用于概率的术语》的有关规定书写,统计符号一律用斜体。(2)资料的表达与描述:用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表达近似服从正态分布的计量资料,用中位数和四分位数表达呈偏态分布的计量资料或生存时间资料;用频数和构成比(%)表达计数资料或等级资料。(3)统计学分析方法选择:对于近似服从正态分布的计量资料,可采用 t 检验、方差分析等统计方法;对于呈偏态分布的计量资料,可采用秩和检验;若考虑协变量的影响,可采用协方差分析。对计数资料可采用卡方检验或秩和检验,有分层因素或其他影响因素时,可采用 CMH 卡方检验。对生存时间资料可采用生存分析。分析指标之间的相关性时,可采用单因素相关分析。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型;对具有重复实验数据检验回归分析资料,可采用重复测量资料分析方法,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多因素分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。对于诊断试验可采用一致性分析、ROC 曲线分析。

2.9 名词术语 以全国自然科学技术名词审定委员会审定公布、科学出版社出版的《医学名词》和相关学科的名词为准,暂未公布者仍以人民卫生出版社编的《英汉医学词汇》为准。药物名称应使用中国药典委员会编写的最新版《中国药典》《中国药品通用名称》中的名称,不用商品名。冠以外国人名体的征、病名、试验、综合征等,人名可以用中译文,但人名后不加“氏”(单字名除外,例如福氏杆菌);也可以用外文,但人名后不加“'s”,例如: Babinski 征。

2.10 缩略语 题名一般不用缩略语。在摘要及正文中首次出现缩略语时应给出其中文全称,在圆括号内写出缩略语,如室性心动过速(室速),急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)。不超过 4 个汉字的名词一般不使用缩略语,以免影响文章的可读性。西文缩略语不拆开转行。

2.11 表和图 每个表、图应有序号和言简意赅的题目。本刊采用三横线表(顶线、表头线及底线),若有合计或统计学处理(如 F 值、 P 值等),则在该项上面加一条分界细横线;要合理安排纵标目和横标目,并将数据的含义表达清楚;表内数据要求同一指标保留的小数位数相同,一般按标准差的 1/3 确定有效位数。图不宜过大,最大宽度半栏图不超过 7.5 cm,通栏图不超过 17.0 cm,高与宽的比例应掌握在 5:7 左右。线条图用制图软件绘制,图的类型应与资料性质匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则。照片图要求有良好的清晰度和对比度。图中需标注的符号(包括箭头)请直接标在图片上。若刊用人像,应征得本人的书面同意,并遮盖其能被辨认出系何人的部位。大体标本照片在图内应有尺度标记。组织(病理)学照片要求注明染色方法和放大倍数。引用已发表的图须注明出处,并附版权所有人同意使用该图的书面材料。

2.12 计量单位 执行 GB 3100-3102—1993《量和单位》中有量、单位和符号的规定及其书写规则并以单位符号表示,具体使用参照中华医学会杂志社编辑的《法定计量单位在医学上的应用》(北京:人民军医出版社)。量的符号一律用斜体字。

2.13 数字 执行 GB/T 15835—2011《出版物上数字用法》。公历世纪、年代、年、月、日、时刻和计数、计量均用阿拉伯数字。小数点前或后 ≥ 4 位数字时,每 3 位一组,组间空 1/4 个汉字空,如:“71329.476,56”应写成“71 329.476 56”。但序数词和年份、页数、部队番号、仪表型号、标准号不分节。百分数的范围和偏差,前一个数字的百分符号不能省略,如:5%~95% 不能写成 5~95%,(50.2 $\pm$ 0.6)% 不能写成 50.2 $\pm$ 0.6%。附带尺寸单位的数值相乘,按下列方式书写:4 cm $\times$ 3 cm $\times$ 5 cm,不能写成 4 $\times$ 3 $\times$ 5 cm³。

2.14 利益冲突声明 作者需陈述是否在研究过程中或得到的研究结果受到了某机构或厂商的影响,置于正文末、参考文献前。

2.15 作者贡献声明 投稿时要注明每位作者在研究和论文产生过程中的贡献。著录于正文末、参考文献前。

2.16 参考文献 按 GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出。参考文献中的作者列出第 1~3 名,超过 3 名时,后加“等”或其他与之相应的文字。外文期刊名称用缩写,以 Index Medicus 的格式为准;中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页。期刊文献末尽量加注数字对象唯一标识符(Digital Object Unique Identifier, DOI)。参考文献必须由作者与其原文核对无误。尽量引用近期国内外有影响的期刊,如包括本刊在内的“中国科技核心期刊”的文献。举例:

期刊文献

- [1] 程国涛,袁劲松,余开湖,等. 中枢神经细胞瘤的影像学表现及其临床价值[J]. 疑难病杂志,2014,13(1):42-45. DOI:10.3969/J.issn.1671-6450.2014.01.015.
- [2] Ludke AR, Mosele F, Caron-Lienert R, et al. Modulation of monocrotaline-induced cor pulmonale by grape juice[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2010, 55(1):89-95. DOI:10.1097/FJC.0b013e3181c87a9d.

图书文献

- [3] 俞茂华,杨永年,叶红英. 糖皮质激素的内科临床应用[M]//陈灏珠,林果为,王吉耀. 实用内科学. 14 版. 北京:人民卫生出版社,2013:1191-1197.
- [4] Bonow RO. Guidelines for infective endocarditis[M]//Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, et al. A Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Science, 2011:1558-1560.

电子文献

- [5] Cohen J. HIV Treatment as Prevention [J/OL]. Science, 2011, 334(6063):1628[2011-11-23]. <http://www.sciencemag.org/content/334/6063/1628.summary>. DOI: 10.1126/science.334.6063.1628.

报纸文献

- [6] 陈敏华. 中晚期肝癌射频消融治疗[N]. 中国医学论坛报, 2011-06-30(B2).