

例 PCR 检测显示阳性, 作者认为可能和上述原因有关, 因而 PCR 法在判断愈后方面有所不足。此外, 对 175 例 UU-培养阳性患者进行临床规范治疗后再次采集标本, 按原方法进行复检, 与 UU 培养结果作比较, UU-SAT 拭子标本的检测灵敏度为 97.8%(44/45), 特异度为 99.2%(129/130); UU-SAT 尿液标本的检测灵敏度为 93.3%(42/45), 特异度为 98.5%(128/130); 在复查时发现, 虽然经过了规范的治疗但仍有 45 例患者标本检测结果阳性, 作者认为这可能和患者对药物治疗的个体差异、耐药性或针对特殊人群的治疗方案有关, 具体原因有待探讨。

需要强调的是, 现在认为 UU 也是正常人泌尿生殖道中寄居的微生物之一, UU 检测阳性并不完全表示泌尿生殖感染, 只提示泌尿生殖道 UU 的存在, 诊断还需与患者的临床症状相结合。

综上所述, 实时荧光核酸恒温扩增检测技术作为新一代的核酸检测技术在临床实验室生殖道 UU 检测中, 既具备了 PCR 的高灵敏度和高特异度, 又具有很好的判断预后效果, 同时又可采用尿液作为检测标本, 方便患者及医务人员, 适合临床实验室泌尿生殖道患者 UU 的检测, 是值得推广的一种检测方法。

参考文献

[1] 周璐, 蔡筠, 谢建生. 实时荧光核酸恒温扩增技术在不孕育龄妇女病原体检测中的应用研究[J]. 医药前沿, 2013, 7(21):55-56.

[2] 朱燕. 解脲支原体感染与输卵管妊娠的关系分析[J]. 当代医学, 2008, 14(20):84285.

[3] 张颖, 赵琼珍, 李彦奇, 等. 不孕不育人群生殖支原体感染情况研究及疗效评估[J]. 新疆医学, 2015(12):1771-1773.

• 临床研究 •

[4] Miron ND, Socolov D, Mare M, et al. Bacteriological agents which play a role in the development of infertility [J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2013, 60(1):41-53.

[5] Diaz N, Dessì D, Dessole S, et al. Rapid detection of coinfections by *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* by a new multiplex polymerase chain reaction[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 67(1):30-36.

[6] 李林海, 陈丽丹, 刘文婷, 等. 实时荧光核酸恒温扩增技术和液体培养法检测解脲脲原体的比较[J]. 生物技术通讯, 2013, 24(2):251-253.

[7] Lowe P, Oloughin P, Evans, et al. Comparison of the genprobe APTMA Combo-assay to the AMPLICOR CT/NG assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine samples from Australian men and women[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(18):2619-2621.

[8] 成松, 刘成永, 周冬青, 等. 实时荧光核酸恒温扩增检测技术在胸腔积液结核分枝杆菌检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(18):2697-2698.

[9] 顾伟鸣, 杨阳, 吴磊, 等. 实时荧光核酸恒温扩增检测技术检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4):271-272.

[10] 李林海, 何宇玲, 石玉玲, 等. 实时荧光定量 PCR 检测泌尿生殖道患者尿液解脲脲原体[J]. 热带医学杂志, 2012, 12(1):57-59.

[11] 霍虹, 王清涛, 李金明. 沙眼衣原体聚合酶链反应检测研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(11):1038-1040.

(收稿日期:2016-06-15 修回日期:2016-09-05)

急性胰腺炎 miR-216a 的临床表达及其在胰腺炎诊断中的临床意义

李 毅

(汉江水利水电(集团)有限责任公司汉江医院, 武汉 442799)

摘 要:目的 探讨急性胰腺炎 miR-216a 的表达与其在胰腺炎诊断中的临床意义。**方法** 选取 2014 年 5 月至 2015 年 10 月该院收治的急性胰腺炎患者 30 例作为 A 组, 30 例伴有血淀粉酶升高的非急性胰腺炎患者作为 B 组, 选取同期到该院体检的健康者 30 例作为 C 组, RNA 抽提各组研究对象的血浆标本, 并采用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)对所有标本的 miR-216a 进行检测分析。**结果** A 组患者的外周血细胞 miR-216a 表达明显高于 C 组($P<0.05$)。而 B 组患的 miR-216a 和 C 组相比则差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 急性胰腺炎患者的外周血细胞 miR-216a 表达水平升高, 可以作为急性胰腺炎临床诊断的一项重要生物标志物, 在急性胰腺炎患者的临床治疗中具有较高的临床价值。

关键词:急性胰腺炎; miR-216a; 临床诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3350-03

急性胰腺炎(AP)主要是因为患者体内的胰酶被多种病因于胰腺内激活, 进而导致患者的胰腺局部出炎性反应, 常伴随或者不伴随其他器官功能变化疾病, 该疾病病发后如果得不到及时有效的治疗, 很可能会发展为重症胰腺炎, 给患者的生命带来威胁^[1-2]。当前, 临床上诊断 AP 主要有腹膜炎的具体体征、麻痹性肠梗阻的实际表现、血性腹水情况、腹水淀粉酶上升情况及影像学检测等, 但是这些诊断效果并不显著^[3-4]。近年来, 经过临床医学深入研究 AP 发病机制后, 发现胰腺炎患者

胰腺组织中的蛋白表达会发生变化, 而且在蛋白表达调节时, miRNA 又起着至关重要的作用, 并且认为 miR-216 持续升高是胰腺高特异性 miRNA 之一^[5-6]。本文主要就 AP miR-216a 的表达与其在胰腺炎诊断中的临床意义进行分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 5 月至 2015 年 10 月本院收治的 AP 患者 30 例作为 A 组, 男 17 例, 女 13 例, 平均年龄

(36.20±8.53)岁;30 例伴有血淀粉酶升高的非 AP 患者作为 B 组,男 20 例,女 10 例,平均年龄(38.10±6.61)岁;选取同期到本院健康体检者 30 例作为 C 组,其中男 15 例,女 15 例,平均年龄(37.30±6.28)岁。3 组研究对象在年龄、性别等一般资料方面,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 抽提试剂选用血清 RNA,实时使用的荧光定量 PCR 试剂盒由 TaKaRa 公司制造;U6 与 miR-216a 特异性检测的引物由上海英俊公司提供;7500 的实时荧光定量 PCR 仪由 ABI 公司制造,DU800 型分光光度计由 Beckman 公司生产。

1.3 方法 (1)采用实时定量荧光 PCR 检测所有人员的外周血细胞 miR-216a 的表达,采集其抗凝外周静脉血 2 mL,进行 12 000 r/min 离心,离心时间 10 min,把细胞组织成分内的血浆分离。每个血浆标本提取 200 μ L,然后加入到 5 pmol/L 的 cel-miR-39 5 μ L 中,再加 20 μ L 的醋酸 5 mol/L 和 750 μ L 的抽提 TRI Reagent RNA,依据 TRI Reagent 的标准步骤开始,待抽取的 RNA 以 40 μ L 无核酸酶水溶解之后,将其置放在-80 $^{\circ}$ C 的环境中。2 μ L 抽提得到的 RNA 运用 TaqMan miRNA Reverse Transcription Kit 以反转方式进行记录,使用 miR-216a 和 U6 自身的特异性开始引物反转录,U6 则可以作为内参基因。(2)提取反转产物 2 μ L,并当作模板,使用 TaqMan Universal Master Mix II 试剂盒,检测实时定量荧光 PCR 的实际水平,反应条件为:95 $^{\circ}$ C 1 min、95 $^{\circ}$ C 10 s 及 58 $^{\circ}$ C 30 s,总共有 45 次循环。对不同类型的标本,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值对比分析,当 ΔC_t 等于作为目的 Ct 值再减掉内参基因的 Ct 值, $\Delta\Delta C_t$ 则等于标本 ΔC_t 再减掉正常 ΔC_t 。 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的数值是胰腺炎血浆内 miRNA 正常血浆倍数的主要反映。(3)测量出脂肪酶和淀粉酶,血淀粉酶浓度应用自动分析仪进行检测,脂肪酶的浓度则采用罗氏公司生产的 Cobas-mira 检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组研究对象的外周血淀粉酶与酯酶的变化比较 A 组血浆中的酯酶水平为(43.62±1.26)U/L、B 组为(40.13±1.96)U/L、C 组为(10.62±1.52)U/L,A 组血浆中的淀粉酶为(31.26±2.95)U/L、B 组为(27.65±2.95)U/L、C 组为(9.65±1.37)U/L;A 组淀粉酶和酯酶水平明显高于 B 组与 C 组,差异有统计学意义($P<0.05$),而 B 组与 C 组的外周血淀粉酶与酯酶水平则无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 3 组研究对象的外周血 miR-216a 变化 A 组患者的外周血 miR-216a 值为 5.054 明显高于 B 组的 2.761 与 C 组的 2.648,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 运用 ROC 曲线对 miR-216a 在胰腺炎诊断的价值进行统计和分析 ROC 曲线证实 miR-216a 能够作为该疾病诊断的一个重要指标,区分出胰腺炎患者与健康者,当中效果最为明显的截断值,可以由 MedCalc 软件自行生成,miR-216a 最终的曲线下面积确认为 0.892,最佳的截断值则可确认为 1.832 5,敏感性为 85.25%,特异性为 87.08%。

3 讨 论

AP 在临床上非常多见,是一种危急重症,患者发病之后,很快便会出现休克、代谢性酸中毒及多器官功能衰竭等多种临床,病死率极高。目前,这种疾病的主要发病原因还未得到明

确。临床上对 AP 患者进行诊断,多数是观察 AP 患者的临床症状或者对其血液进行检测,再对其腹膜炎体征进行比较,观察其是否有显著的麻痹性肠梗阻现象;血性腹水、腹水淀粉酶是否呈现上升状态及 B 超和 CT 检查胰腺是否肿胀^[7-8]。近年来,经过相关人员的深入研究,miR-216a 表达成为了 AP 诊断中的另一个诊断指标。

miRNA 属于内源性质的非编码调控单链分子 RNA,长度多在 18~25 个核苷酸。miRNA 表达异常是导致人类疾病的一个重要因素,主要是因为 miRNA 在不同的组织中,其特异性 miRNA 的表达谱也会存在一定的差异,这就表示 miRNA 能够作为人体疾病诊断的一个重要指标。AP 患者发病时,其胰腺组织蛋白表达谱会出现较大的变化,而 miRNA 正是基因表达调控中最常用的一种方法,在人体基因表达调控中有着至关重要的作用。相关研究显示,miR-216a 在人体胰腺组织内,属于一个高特异性表达的 miRNA 物质^[9]。研究显示,AP 患者血浆中的脂肪酶和淀粉酶水平均会有不同程度的增加,而血浆 miR-216a 在胰腺炎血浆内的表达量也会持续上升。证明了 miR-216a 可以作为 AP 患者临床诊断的一项重要生物标志物。王一飞等^[10]对 miR-216a 在 AP 血浆中特异性高表达情况进行了研究,该项研究选取了 18 例血浆淀粉酶增高的急性阑尾炎患者血液进行检测,结果发现脂肪酶与淀粉酶明显高于健康者,而 miR-216a 则无明显差异。

相关研究结果显示,经过血浆 miR-216a 的检测,并将其作为 AP 患者的临床诊断工具,其敏感性与特异性都比较高^[11]。虽然可以将其作为临床诊断的重要标志,但是想要让生物标记物也真正意义上应用到临床诊断中,还需要实现以下几个方面的目标:扩大标本数量,深入研究 miR-216a 有关的表达特性;通过前瞻性的实验研究和发现更多的血浆 miRNA 标志物等,均是提高 AP 诊断水平的重要内容^[12-13]。

本研究结果显示,A 组患者的 miR-216a 表达明显高于 B 组与 C 组($P<0.05$),但是 B 组与 C 组差异无统计学意义($P>0.05$)。由此可见,AP 患者的外周血细胞 miR-216a 水平升高,可以作为 AP 临床诊断的一项重要生物标志物,在 AP 的临床诊断中具有较高的应用价值。

参考文献

- [1] 王春全,陈景祥,杨进军,等. miR-216a 在急性胰腺炎患者外周血的表达及临床意义[J]. 免疫学杂志,2013,29(1): 47-49.
- [2] 秦学军. 血清淀粉酶和脂肪酶联合测定在急性胰腺炎诊断中的意义[J]. 中国实用医药,2013,8(7):44-45.
- [3] 彭红芬,张东友,马志娟,等. CT、MRI 在急性胰腺炎诊断中的价值对比研究[J]. 实用医学杂志,2013,29(10): 1649-1651.
- [4] 覃月秋,廖品琥,王超,等. 重症急性胰腺炎患者外周血单核细胞 HLA-DR 的表达及其临床意义[J]. 免疫学杂志,2013,29(7):606-610.
- [5] 叶进军,戴璟瑜. 胰腺炎微循环障碍加重过程中血管内皮生长因子的表达及意义[J]. 中国现代普通外科进展,2012,15(9):679-682.
- [6] 侯宝华,简志祥,崔鹏,等. miR-216a 在胰腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 南方医科大学学报,2012,32(11): 1628-1631.
- [7] 吴金雁,金士毛,王小云,等. 急性胰腺炎相关 microRNA

研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2014, 34(6): 386-388.

[8] 黄坚, 张光波, 何广胜, 等. 可溶性 B7-H2 在早期急性胰腺炎严重程度判定中的应用及其临床意义[J]. 中国实用内科杂志, 2015, 35(3): 236-238.

[9] 田学昌, 刘吉盛, 曲畅, 等. 联合检验血清淀粉酶、脂肪酶与 C 反应蛋白在急性胰腺炎早期诊断中价值[J]. 现代仪器与医疗, 2015, 21(2): 76-78.

[10] 王一飞, 马保金, 蔡端, 等. 高迁移率族蛋白 B-1 在急性胰腺炎大鼠中的表达[J]. 上海医学, 2015, 38(5): 434-437.

[11] 徐建, 宿冬远, 刘绍田, 等. 施他宁联合乌司他丁治疗重症急性胰腺炎的疗效及其对免疫功能、sTREM-1 和 sB7-1 的影响[J]. 实用药物与临床, 2016, 19(4): 442-446.

[12] 宁易平. 急性胰腺炎患者检测血清 PCT 和 CRP 的临床意义[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2014, 22(7): 384-386.

[13] 张宝安, 范永新, 史成文. 急性胰腺炎血清降钙素原、肿瘤坏死因子 α 及白介素 8 的变化及意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2013, 16(12): 991-993.

(收稿日期: 2016-06-02 修回日期: 2016-08-22)

• 临床研究 •

幽门螺杆菌与蛋白激酶 C 在胃癌及癌前病变基因突变中的作用

王政书¹, 胥传海²

(1. 江苏省盐城市盐都区中西医结合医院检验科 224021; 2. 江苏省盐城市第一人民医院病理科 224001)

摘要:目的 探究幽门螺杆菌(Hp)与蛋白激酶 C(PKC)在胃癌及其癌前病变基因突变中的临床效果。方法 将 2013 年 2 月至 2016 年 2 月盐城市盐都区中西医结合医院收治的 150 例胃镜疑诊早期胃癌患者作为观察对象, 对全部患者的临床资料进行分析, 采用免疫组织化学法检测 PKC, 采用病理染色法与快速尿素酶检测 Hp 感染, 采用免疫组织化学法检测突变型 p53 基因表达及增殖细胞核抗原(PCNA)。结果 150 例胃镜疑诊早期胃癌患者中, 发生 Hp 感染患者 115 例(76.67%); PCNA 增殖水平主要为(41.82±25.73)%。150 例胃镜疑诊早期胃癌患者中, 有 3 例患者在处理的过程中发生脱片现在难以判断结果, 其余 147 例胃癌患者中阳性染色 92 例(62.59%)。结论 从慢性胃炎发展为肠上皮化生、不典型增生, 一直到胃癌的发展过程中, 一般存在 PKC 表达水平升高、突变型 p53 基因表达及 PCNA 高表达异常增强。p53 蛋白可以当作早期监测肠化生等高危人群或者胃癌发生的指标。

关键词:放大色素内镜; 诊断; 早期胃癌; 癌前病变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.047 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)23-3352-02

胃癌是一种临床中常见与多发的恶性肿瘤, 已经成为世界上第 2 大致死性肿瘤, 其具有较高的病死率, 且生存率较低, 对患者的身心健康及生活质量产生了非常严重的威胁^[1]。因此, 临床中及时地采取有效措施对胃癌及其癌前病变进行诊断与治疗具有至关重要的作用。最近几年, 相关研究指出采用黏膜下切除术治疗早期胃癌, 其 5~10 年存活率可以达到 99%, 但是进展期 5~10 年存活率仅为 50%左右^[2]。本研究中将 2013 年 2 月至 2016 年 2 月盐城市盐都区中西医结合医院收治的 150 例胃镜疑诊早期胃癌患者作为观察对象, 意在探究幽门螺杆菌(Hp)与蛋白激酶 C(PKC)在胃癌及其癌前病变基因突变中的临床效果, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2013 年 2 月至 2016 年 2 月盐城市盐都区中西医结合医院收治的 150 例胃镜疑诊早期胃癌患者作为观察对象, 其中男 79 例, 女 71 例, 年龄 34~78 岁, 平均(58.6±2.4)岁; 全部患者都为单发且行黏膜下切除术后完整病理活检及单纯活检钳活检。患者在进行胃镜检查时的临床表现主要是黑便、呕吐、消瘦、上腹部饱胀、呕血、粪潜血阳性及上腹部疼痛等。全部患者的基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法 切片烘干, 在 37℃ 环境下保存过夜; 上架后, 采用二甲苯实施脱蜡处理, 每次 15 min, 持续 3 次^[3]。柠檬酸缓冲液先预热 3 min, 热度维持在 92~98℃, 切片进入, 采用低档加热, 每次 5 min, 持续 2 次, 热度维持在 92~98℃, 在室温下将

柠檬酸缓冲液放置 20 min, 更换为 PBS 缓冲液先预热 2 min, 持续 3 次; 加入 I 抗, 放置在湿盒内 4℃ 环境下过夜; PBS 缓冲液先预热 5 min, 持续 3 次; 加入 II 抗, 在室温下放置湿盒中 45 min; DBA 显色 5~20 min 后终止染色, 再选择苏木素复染, 最后封片。此外, 采用免疫组化法检测 PKC, 采用病理染色法与快速尿素酶检测 Hp 感染, 采用免疫组织化学法检测突变型 p53 基因表达及增殖细胞核抗原(PCNA)^[4]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS15.0 进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验; 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

150 例胃镜疑诊早期胃癌患者中, 发生 Hp 感染患者 115 例, 其检出率为 76.67%。细胞增殖状态通过 PCNA 当作关键的评价指标, 其 PCNA 增殖水平主要为(41.82±25.73)%。150 例胃镜疑诊早期胃癌患者中, 有 3 例患者在处理的过程中因发生脱片难以判断结果, 其余 147 例胃癌患者中阳性染色 92 例(62.59%)。

3 讨论

针对胃癌发病率高及病死率高等特点, 临床中及早地采取有效措施对胃癌患者进行诊断及治疗对于患者 5 年生存率具有至关重要的作用。其中, 世界卫生组织对于早期胃癌的定义主要指的是局限于黏膜下层及黏膜的胃癌, 不管是否存在淋巴结转移^[5]。在临床中, 患者接受早期胃癌根治术以后的 5 年生存率可以达到 90%, 但是若为进展期患者, 其 5 年生存率大概