

联合检测 TM、TAT、PIC、t-PAIC 水平对 DIC 的诊断价值*

林静¹, 孙志鹏², 李娟³, 肖娜娜³, 哈小琴^{3△}

(1. 上海市东方医院南院检验科, 上海 200123; 2. 希森美康医用电子(上海)有限公司学术应用部, 上海 200120; 3. 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院检验科, 甘肃兰州 730050)

摘要:目的 探讨联合检测血浆中血栓调节蛋白(TM)、凝血酶抗凝酶复合物(TAT)、组织型纤溶酶原激活抑制复合物(t-PAIC)、纤溶酶-抗纤溶酶复合物(PIC)水平在弥散性血管内凝血(DIC)诊断中的临床意义。**方法** 选取急诊重症监护室(ICU)的疑似 DIC 患者的 111 例, 根据《弥散性血管内凝血诊断中国专家共识(2017 版)》中的标准, 分为 DIC 组和非 DIC 组。在临床怀疑 DIC 时检测诊断 DIC 相关凝血指标[血浆凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)、血小板(PLT)等]及 TM、TAT、t-PAIC、PIC。比较组间 TM、TAT、t-PAIC、PIC 水平的差异, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 确定诊断切点及诊断效能。**结果** DIC 组的 TM、PIC 和 t-PAIC 值高于非 DIC 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 两组间 TAT 差异无统计学意义($P > 0.05$)。TM、PIC、t-PAIC 值诊断 DIC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.716、0.861、0.819; cut-off 值分别为: 24.950 U/mL、2.836 $\mu\text{g/mL}$ 、13.100 ng/mL; 灵敏度分别为: 60.7%、89.3%、71.4%; 特异度分别为: 81.0%、82.8%、87.9%, 采用联合检测后, 灵敏度和特异度分别为 65.9%、95.7%。**结论** 联合检测血浆中的 TM、t-PAIC 和 PIC 水平等对早期诊断 DIC 具有临床指导意义。

关键词: 弥散性血管内凝血; 血栓调节蛋白; 凝血酶抗凝酶复合物; 组织型纤溶酶原激活抑制复合物; 纤溶酶-抗纤溶酶复合物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.12.002

中图法分类号: R446.11

文章编号: 1673-4130(2019)12-1413-04

文献标识码: A

Value of combined detection of the levels of serum TM, TAT, PIC and t-PAIC for the early diagnosis of disseminated intravascular coagulation*

LIN Jing¹, SUN Zhipeng², LI Juan³, XIAO Nana³, HA Xiaoqin^{3△}

(1. Department of Clinical Laboratory, South Campus of East Hospital, Shanghai 200123, China; 2. Scientific and Application Division, Sysmex Shanghai Ltd., Shanghai 200120, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the 940th Hospital of Joint Logistics Support Force of People's Liberation Army, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To evaluate and analyze the value of combined detection of the levels of serum thrombomodulin (TM), thrombin anticoagulase complex (TAT), tissue plasminogen activation inhibitor complex (t-PAIC), plasminogen antifibrinolytic complex (PIC) for the early diagnosis of disseminated intravascular coagulation (DIC). **Methods** 111 suspected DIC patients admitted to Emergency Intensive Care Unit (ICU) were enrolled. According to Consensus of Chinese Experts on Diagnosis of Disseminated Intravascular Coagulation (Version 2017), the patients were divided into 2 groups: group DIC and group non DIC. Blood was taken when DIC was suspected and then the routine coagulation biomarkers such as plasma prothrombin time (PT), fibrinogen (FIB), D-dimer (D-D) and platelet (PLT) and TM, TAT, t-PAIC, PIC were tested. The difference between groups of these biomarkers was compared, and then the receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to determine the diagnostic cut-off point and diagnostic performance. **Results** The patients in group DIC had higher levels of TM, PIC, t-PAIC in plasma than those of patients in group non DIC. The area under the ROC curve of TM, PIC, t-PAIC were 0.716, 0.861, 0.819, respectively and cut-off values were 24.950 U/mL, 2.836 $\mu\text{g/mL}$, 13.100 ng/mL, respectively and sensitivity was 60.7%, 89.3%,

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81273568)。

作者简介: 林静, 女, 主管技师, 主要从事血栓与止血的研究。△ 通信作者, E-mail: haxiaoqin2013@126.com。

本文引用格式: 林静, 孙志鹏, 李娟, 等. 联合检测 TM、TAT、PIC、t-PAIC 水平对 DIC 的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(12):

71.4%, respectively and specificity was 81.0%, 82.8%, 87.9%, respectively. With the combined detection, the sensitivity and specificity were 65.9% and 95.7% respectively. **Conclusion** Combined detection of TM, PIC, t-PAIC has important clinical for the diagnosis of DIC.

Key words: disseminated intravascular coagulation; thrombomodulin; thrombin-anti-thrombin complex; tissue-type plasminogen activator-plasminogen activator inhibitor complex; plasmin-anti-plasmin

弥散性血管内凝血(DIC),是在许多疾病基础上,致病因素损伤微血管体系,导致凝血活化,全身微血管血栓形成,凝血因子大量消耗并继发纤溶亢进,引起以出血及微循环衰竭为特征的临床综合征^[1]。DIC患者发病的严重程度不一,有的临床症状及体征不明显,甚至实验室检查都很难发现;但有的患者起病急骤,发展迅速,预后极差,病死率可高达 31%~86%^[2-3],这一情况在急诊病房中特别明显。因此,早期、准确的诊断和及时给予正确的治疗措施显得尤为重要^[4-6]。

DIC 的发生常常存在基础疾病,包括严重感染、恶性肿瘤、产科、白血病、创伤和药物等,有研究发现,感染及恶性疾病是产生 DIC 的主要疾病,二者约占 DIC 病因的 2/3^[7]。而感染引起的 DIC 早中期主要为凝血功能激活,抗凝功能和纤溶功能受抑制,后期大量纤维蛋白形成,激活纤溶系统。临床较理想的监测指标应有如下特征:可对 DIC 的发生做早期的预警、对临床进程可进行动态评估、可精确的指导治疗。目前国内外研究者提出了 4 个诊断 DIC 的诊断标准:包括国际血栓与止血协会标准^[1](ISTH)、日本卫生福利部标准^[1](JMHW)、日本急诊医学学会标准^[1](JAAM)和 2017 年 DIC 诊断中国专家共识^[7],都无法满足临床的要求。本研究拟应用新型电化学发光监测即监测代表内皮细胞功能的血栓调节蛋白(TM)和纤溶酶-抗纤溶酶复合物(t-PAIC),代表凝血酶激活的凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT),直接代表纤溶活性的组织型纤溶酶原激活物-纤溶酶原激活抑制复合物(PIC)来辅助诊断 DIC,希望发现这些指标能进一步提高临床的诊断率和指导预后判断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院 2016 年 8 月至 2017 年 12 月收录急诊重症监护室的患者,存在感染的基础疾病,如胰腺炎、脓毒血症,严重创伤等。排除严重血液系统疾病、肿瘤、孕产妇、严重心脏病,自身免疫性疾病、严重肝病、肾病等。本次研究共收录符合标准的患者 111 例,其中男 78 例,女 33 例,年龄 18~86 岁,平均(54.1±14.40)岁。按《弥散性血管内凝血诊断中国专家共识(2017 版)》中的标准^[7],非恶性血液病≥7 分可诊断为 DIC,将患者分成 DIC 组(41 例)和非 DIC 组(70 例)。DIC 组中,男 25 例,女 16 例,年龄中位数为 51.0 岁;非 DIC 组中,男 53 例,女 17 例,年龄中位数为 60.5 岁。两组年龄、性别分布差异无统计学意义

($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 临床医生怀疑 DIC 时采血,0.3 mL 3.2%的柠檬酸钠管抽取 2.7 mL 全血,1:9 抗凝。血液 3 000 r/min 离心 10 min,将上层血浆转移到新离心管,分离血浆于 30 min 内-80 °C 冻存。所有样本 1 次 37 °C 水浴复溶后上机检测。

1.2.2 仪器及试剂 TM、TAT、t-PAIC、PIC 所用仪器为 Sysmex 化学发光仪器 HISCL-5000,试剂为配套化学发光试剂,检测变异系数(CV)值<3%。血浆凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)使用仪器为 Sysmex CS-5100 凝血分析仪,试剂为配套试剂,血小板(PLT)使用仪器为 Sysmex XE-2100 血球分析仪,使用配套试剂。

1.2.3 检测方法 TM、TAT、t-PAIC、PIC 使用化学发光酶免疫测定法,是通过将样本和试剂混匀在一起进行加温,依次发生免疫反应和酶反应。通过计数酶反应中发出的光子计数,迅速地自动测定样本中的待测物的水平。PT、FIB 采用凝固法,即光线照射到血浆和试剂的混合物,浑浊度变化(在纤维蛋白原转变为纤维蛋白时)可通过散射光的变化检测出来,以光度变化到 50%的程度作为凝固终点。D-D 采用免疫比浊法,是特异性抗体致敏的乳胶微粒与待测标本中的相应抗原相遇时发生凝集反应,使反应混合物系统的浊度变小,透射光增强。乳胶凝集程度与被测物的浓度呈正相关,通过与标准曲线比较,可推测出标本中待测物的相对水平。PLT 采用阻抗法检测。

1.3 统计学处理 数据录入及统计使用 IBM SPSS21.0 统计分析软件。数据使用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,两组样本间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。受试者工作特征曲线(ROC 曲线)判断诊断效能,以尤登指数最大处决定检验项目的 cut-off 值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者凝血标志物的情况 DIC 组患者的纤溶标志物 TM、PIC 和 t-PAIC 水平均高于非 DIC 组,差异有统计学意义($P<0.05$);而 TAT 值虽然低于非 DIC 组,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1,图 1。从凝血标志物在各组的分布情况看,DIC 组的 PT 和 D-D 水平高于非 DIC 组,FIB 和 PLT 值低于非 DIC 组,两组差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.2 TM、PIC、t-PAIC 诊断 DIC 的 ROC 曲线相关参数 TM、PIC、t-PAIC 诊断 DIC 的 ROC 曲线相关参

数见表 3。PIC 的灵敏度最高为 89.3%，联合检测后 特异度达到了 95.7%。

表 1 两组患者血清中 TM、TAT、PIC 和 t-PAIC 的水平[M(P₂₅~P₇₅)]

分组	n	TM(U/mL)	TAT(ng/mL)	PIC(μg/mL)	t-PAIC(ng/mL)
非 DIC 组	70	9.5(7.6~19.6)	4.3(2.1~14.9)	1.20(0.775~2.082)	8.7(5.9~11.7)
DIC 组	41	25.8(12.0~42.3)	2.9(0.7~11.0)	8.70(1.278~21.600)	25.0(10.8~36.9)
P		0.00	0.104	0.00	0.00

表 2 两组患者常用指标的结果[M(P₂₅~P₇₅)]

分组	n	PT(s)	FIB(g/L)	PLT(×10 ⁹ /L)	D-D(μg/mL)
非 DIC 组	70	12.6(11.8~14.0)	3.76(2.42~4.64)	174.0(125.0~226.0)	4.28(1.41~7.33)
DIC 组	41	21.8(15.0~31.8)	1.20(0.80~1.40)	25.5(10.5~75.0)	11.25(7.33~26.30)
P		0.00	0.00	0.00	0.00

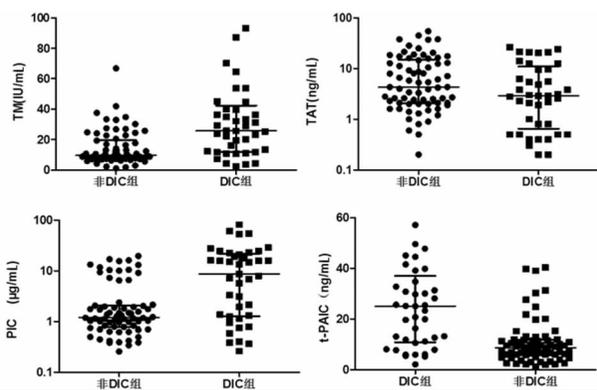


图 1 两组患者血清中 TM、TAT、PIC 和 t-PAIC 的水平

表 3 TM、PIC、t-PAIC 诊断 DIC 的 ROC 曲线相关参数

检测项目	AUC	P	95%置信区间 (CI)	cut-off	灵敏度 (%)	特异度 (%)
TM	0.716	0.001	0.585~0.847	24.950 U/mL	60.7	81.0
PIC	0.861	0.000	0.768~0.954	2.836 μg/mL	89.3	82.8
t-PAIC	0.819	0.000	0.718~0.921	13.100 ng/mL	71.4	87.9
联合检测	0.866	0.000	0.788~0.923	—	65.9	95.7

注:联合检测为 TM、PIC 和 t-PAIC 联合检测, — 表示无数据

3 讨论

DIC 不是一种独立的疾病,是许多疾病共同发展时凝血功能障碍,后期进展可伴随休克、多器官功能衰竭,病死率极高,临床医生需要掌握能快速诊断 DIC 的实验室辅助检查手段,早期发现,早期治疗。现今,尚无单一的特异的 DIC 监测指标,本次研究对 DIC 的判定主要用了多种常规凝血指标进行检测,包括 PLT 计数、PT、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、FIB、D-D 等。据报道,在 DIC 早期 PT 和 APTT 可能处于正常水平,而炎症反应通常可导致 FIB 增加,因此诊断 DIC 的特异度较低^[8-9]。在 DIC 的发生过程受影响的纤溶系统物质有:纤溶酶原、纤溶酶、纤溶酶原激活物[尿激酶型纤溶酶原激活剂 (u-PA)、组织型纤

溶酶原激活剂 (t-PA)]、纤溶酶原激活物抑制物-1 (PAI-1)和 α2-抗纤溶酶^[10]等,但由于半衰期短,很多指标无法直接检测。

严重感染是引发 DIC 最常见的基础疾病,临床和实验资料表明多数 DIC 的发生通过组织因子 (TF) 激活外源性凝血途径实现的^[11-12]。正常情况下,与血液接触的血管内皮细胞和白细胞等不表达 TF,而在感染的病理情况下,内皮细胞作为内毒素的靶细胞,由于释放氧自由基与溶酶而损伤内皮细胞,通过单核细胞和内皮细胞表达和释放 TF,同时还刺激机体产生、释放大炎症因子和细胞因子,诱导 TF、PAI-1 的表达,抑制抗凝物质的活化,抑制纤溶的发生^[13-14]。TM 是内皮细胞表面的凝血酶的受体,抑制凝血酶的活性,增强 PC 的活化性能,该指标是内皮细胞活化的标志。内皮细胞损伤后,将 t-PA 释放到血液,将在肝脏释放到血液中的纤溶酶原转化为纤溶酶,血液中的 t-PA 与生理性抑制因子 PAI-1 迅速 1:1 结合,形成复合物 t-PAIC。本研究发现,DIC 组的 TM 和 t-PAIC 水平高于非 DIC 组,2 个指标均表明内皮细胞损伤,从而刺激 TF 的表达^[12],因此 TM 和 t-PAIC 水平的提高对 DIC 的早期诊断有一定的意义。

TF 的释放激活了外源凝血途径,发生凝血激活,形成凝血酶,将纤维蛋白原转变成纤维蛋白而形成血栓。TAT 是凝血酶与其代表性抑制因子抗凝血酶以 1:1 结合形成的复合物,其升高表明凝血酶产生量多,即处于凝血激活状态,换言之,其正常可以认为凝血没有激活。与孟英等^[15]的研究一致,本研究发现 DIC 组与非 DIC 组的 TAT 差异无统计学意义 (P>0.05),咨询临床发现可能与其使用了肝素抗凝有关,当医生怀疑 DIC 时,尽管没有达到诊断标准,也会预先使用抗凝药物来预防,而这种方法可能导致患者出血增加,希望通过进一步的研究指导医生使用抗凝药物。本次研究因为样本量有限,无法统计未使用抗凝药物时 TAT 的变化情况,期待后续的实验能进一步

研究。

凝血系统激活后,纤溶酶将纤维蛋白和纤维蛋白原降解成 D-D 和纤维蛋白降解产物(FDP),其增高意味着凝血激活、血栓形成,而且血栓发生了溶解,因此可以认为 D-D 和 FDP 为凝血和纤溶同时激活的标志。D-D 虽然是诊断 DIC 的敏感指标,其升高容易受到底物量、血循环、炎症、代谢等因素的影响^[16],很多时候都处于较高水平。而 PIC 是纤溶酶与 $\alpha 2$ 抗纤溶酶 1:1 结合的复合物,只反映纤溶酶的情况,因此根据 PIC 的变化来评价体内纤溶激活程度,希望以后可以指导抗纤溶的治疗。本研究结果显示, DIC 发生时, PIC 水平显著升高,提示纤溶系统激活。

4 结 论

本研究结果表明, TM 和 t-PAIC 水平的升高可以反映早期 DIC 发生时内皮细胞的损伤情况,而 PIC 水平显著升高可以提示机体的纤溶系统被激活,采用 TM、PIC 和 t-PAIC 的联合检测,其特异度可以达到 95.7%, 可以作为较好的 DIC 诊断指标。

参考文献

[1] 胡豫. 2012 版弥散性血管内凝血诊断与治疗中国专家共识解读[J]. 临床血液学杂志, 2013, 26(3): 149-150.

[2] SAKATA Y. DIC associated with acute promyelocyte leukemia[J]. Ryoikibetsu Shokogun Shirizu, 1998, 21 (2): 517-20.

[3] BARBUI T, FALANGA A. Disseminated intravascular coagulation in acute leukemia[J]. Semin Thromb Hemost, 2001, 27(6): 593-604.

[4] CHOUDHRY V P, THAVARAJ V, SARAYA A K. Disseminated intravascular coagulation: diagnosis and current therapy[J]. Indian Pediatr, 1990, 27(3): 280-288.

[5] SAVING K L. Disseminated intravascular coagulation: diagnosis and management [J]. Indian J Pediatr, 1987, 54

(3): 391-402.

[6] BAGLIN T. Disseminated intravascular coagulation: diagnosis and treatment[J]. BMJ, 1996, 312(7032): 683-687.

[7] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 弥散性血管内凝血诊断中国专家共识(2017 版)[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(5): 361-363.

[8] 苏磊, 彭娜, 唐丽群. 脓毒症时弥散性血管内凝血的发病机制与临床进展[J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(4): 345-349.

[9] 袁文浩, 刘汉楚, 曾凌空, 等. 儿童发生 DIC 的血栓弹力图指标变化及其诊断 DIC 的灵敏度和特异度分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(3): 847-852.

[10] 何光风, 李晓明. 弥散性血管内凝血发病机制及诊治进展[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(4): 551-553.

[11] 徐秋萍. 重症感染伴随的凝血功能紊乱[J]. 现代实用医学, 2013, 25(12): 1323-1325.

[12] 阮晓岚, 李胜, 孟详喻, 等. 弥散性血管内凝血诊疗现状: ISTH/SSC 最新共识解读[J]. 中国循证医学杂志, 2015, 15(9): 993-999.

[13] 安友仲. 弥散性血管内凝血实质是内皮细胞重度炎症损伤[J]. 中国实用外科杂志, 2012, 32(11): 887-888.

[14] 程勇前, 赵平. 感染性疾病相关弥漫性血管内凝血诊治进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2010, 4(3): 33154-33155.

[15] 孟英, 刘宁, 薛冰蓉, 等. 应用凝血标志物诊断创伤骨科术后静脉血栓形成的病例对照研究[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(10): 751-755.

[16] WATANABE R, WADA H, MIURA Y, et al. Plasma levels of total plasminogen activator inhibitor-I (PAI-I) and tPA/PAI-1 complex in patients with disseminated intravascular coagulation and thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2001, 7(3): 229-233.

(收稿日期: 2018-12-08 修回日期: 2019-02-19)

(上接第 1412 页)

[19] KWON C H, PARK HYE J H, CHOI Y R, et al. PSMB8 and PBK as potential gastric cancer subtype-specific biomarkers associated with prognosis[J]. Oncotarget, 2016, 7(16): 21454-21468.

[20] OHASHI T, KOMATSU S, ICHIKAWA D, et al. Overexpression of PBK/TOPK relates to tumour malignant potential and poor outcome of gastric carcinoma[J]. Br J Cancer, 2017, 116(2): 218-226.

[21] KANG W, TONG J H, CHAN A W, et al. Targeting ribonucleotide reductase M2 subunit by small interfering RNA exerts anti-oncogenic effects in gastric adenocarcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 31(6): 2579-2586.

[22] KIM Y W, EOM B W, KOOK M C, et al. Clinical implications of proliferation activity in T1 or T2 male gastric

cancer patients[J]. Exp Mol Med, 2015, 47(5): e193.

[23] LU S, ZHOU J S, SUN Y M, et al. The noncoding RNA HOXD-AS1 is a critical regulator of the metastasis and apoptosis phenotype in human hepatocellular carcinoma [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 125.

[24] LAWSON C D, DER C J. Filling GAPS in our knowledge: ARHGAP11A and RACGAP1 act as oncogenes in basal-like breast cancers[J]. Small GTPases, 2018, 9(4): 290-296.

[25] FU A, JACOBS D I, HOFFMAN A E, et al. PIWI-interacting RNA 021285 is involved in breast tumorigenesis-possibly by remodeling the cancer epigenome[J]. Carcinogenesis, 2015, 36(10): 1094-1102.

(收稿日期: 2018-12-22 修回日期: 2019-02-28)