

## • 短篇论著 •

## 2 型糖尿病患者血清 S100A12、sRAGE 与颈动脉内膜中层厚度的相关性研究\*

赵郁松, 梅笑雪<sup>△</sup>

扬州大学附属医院内分泌科, 江苏扬州 225000

**摘要:**目的 探究 2 型糖尿病患者血清 S100 钙结合蛋白 A12(S100A12)、可溶性晚期糖基化终产物受体(sRAGE)水平情况,并分析二者与颈动脉内膜中层厚度(CIMT)的相关性。方法 选取 2018 年 6 月至 2020 年 12 月该院收治的 2 型糖尿病患者 116 例为研究对象,根据 CIMT 将 2 型糖尿病患者分为 CIMT 正常组(51 例)和 CIMT 增厚组(65 例),另将 CIMT 增厚组分为 CIMT 初级增厚组(37 例)和颈动脉斑块组(28 例);另选取同期 70 例在该院体检健康者为对照组。采用酶联免疫吸附试验测定血清 S100A12、sRAGE 水平,采用 Spearman 分析血清 S100A12、sRAGE 与 CIMT 的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析影响 2 型糖尿病患者 CIMT 增厚的独立危险因素。结果 与对照组相比,CIMT 增厚组、CIMT 正常组体质量指数、空腹血糖、血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平、血清 S100A12 水平较高( $P < 0.05$ ),血清 sRAGE 水平较低( $P < 0.05$ ),与 CIMT 正常组相比,CIMT 增厚组空腹血糖、血清 LDL-C 水平、血清 S100A12 水平较高( $P < 0.05$ ),血清 sRAGE 水平较低( $P < 0.05$ );与 CIMT 初级增厚组相比,颈动脉斑块组血清 S100A12 水平较高( $P < 0.05$ ),血清 sRAGE 水平较低( $P < 0.05$ );Spearman 相关性分析显示,2 型糖尿病患者血清 S100A12 水平与 CIMT 呈正相关( $P < 0.05$ );血清 sRAGE 水平与 CIMT 呈负相关( $P < 0.05$ )。多因素 Logistic 分析结果显示,S100A12 水平升高、sRAGE 水平降低是 2 型糖尿病 CIMT 增厚的独立危险因素( $P < 0.05$ )。结论 2 型糖尿病患者血清 S100A12 水平上升、sRAGE 水平下降是 CIMT 增厚和颈动脉斑块发生风险因素。

**关键词:**2 型糖尿病; S100 钙结合蛋白 A12; 可溶性晚期糖基化终产物受体; 颈动脉内膜中层厚度; 动脉粥样硬化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.09.025

文章编号:1673-4130(2022)09-1138-04

中图法分类号:R446.6

文献标志码:A

2 型糖尿病是一种慢性疾病,以糖代谢紊乱为主要特征。大血管病变易导致 2 型糖尿病患者病死率增高,而动脉粥样硬化是其主要病理基础<sup>[1]</sup>。颈动脉是全身动脉粥样硬化的窗口,颈动脉内膜中层厚度(CIMT)是临幊上判断动脉粥样硬化的标志。动脉粥样硬化的发生机制尚不明确,有研究认为,动脉粥样硬化与炎性反应、血管内皮损伤密切相关<sup>[2]</sup>。S100 钙结合蛋白 A12(S100A12)是 S100 钙结合蛋白家族的一员。S100A12 主要表达于单核巨噬细胞和中性粒细胞中,可影响钙离子的结合状态,参与体内多种炎性反应<sup>[3]</sup>。吕晓佟等<sup>[4]</sup>研究发现,急性心肌梗死患者血清中 S100A12 水平明显升高,且 S100A12 与冠状动脉病变支数呈正相关。晚期糖基化终产物受体(RAGE)是免疫球蛋白超家族受体成员之一,可与不同配体结合发挥不同的病理作用。可溶性 RAGE(sRAGE)抑制细胞表面 RAGE 和其他 RAGE-配体受体的结合,可减轻 RAGE 诱导的炎性反应<sup>[5]</sup>。LIM 等<sup>[6]</sup>研究发现,sRAGE 可通过结合 S100 钙结合蛋白

配体来调控核因子 κB(NF-κB)信号传导通路。目前 S100A12 和 sRAGE 在 2 型糖尿病大血管病中的作用鲜有报道。基于此,本研究将分析血清 S100A12 和 sRAGE 与 2 型糖尿病患者 CIMT 的相关性,以期为 2 型糖尿病大血管病防治提供理论依据。现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 6 月至 2020 年 12 月该院收治的 2 型糖尿病患者 116 例为观察组,其中男 54 例,女 62 例;年龄 35~75 岁,平均(56.17±11.42)岁。纳入标准:(1)符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)》<sup>[7]</sup>;(2)在本院接受 CIMT 测量;(3)愿意配合此研究。排除标准:(1)合并糖尿病酮症酸中毒;(2)合并恶性肿瘤或严重肝、肾疾病;(3)合并内分泌疾病(生长激素分泌异常、甲状腺异常疾病、肾上腺疾病);(4)有严重感染。另外选取同期 70 例在本院体检健康者为对照组,其中男 34 例,女 36 例;年龄 35~75 岁,平均(56.88±11.04)岁。本研究受试者均知情

\* 基金项目:江苏省卫生和计划生育委员会科研项目(Z2017018)。

△ 通信作者,E-mail:xxmeil@yzu.edu.cn。

本文引用格式:赵郁松,梅笑雪. 2 型糖尿病患者血清 S100A12、sRAGE 与颈动脉内膜中层厚度的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(9):1138-1141.

同意并签署知情同意书,且本研究经本院伦理委员会批准同意。

**1.2 检测指标** 收集所有研究对象体质质量指数(BMI)、空腹血糖、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC),并收集患者糖尿病病程。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 在所有研究对象清晨空腹时取静脉血3~4 mL,在室温状态下静置20 min,离心,留上清液装于无RNA酶的EP管中,存放于-80 °C冰箱中,待测。

**1.3.2 检测血清中S100A12、sRAGE水平** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清S100A12、sRAGE水平,分别按照S100A12 ELISA试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司)、sRAGE ELISA试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司)说明书指示进行操作。

**1.4 CIMT测量** 受试者去枕仰卧,颈后仰,头偏向外侧,由同一医师操作,用8~10 Hz探头分别检测双侧颈总动脉、颈总动脉分叉部、颈内动脉颅外段的CIMT,计算以上部位的CIMT平均值。荷兰飞利浦HD-15型彩色多普勒超声诊断仪测定CIMT。根据《中国高血压防治指南2010》<sup>[8]</sup>,定义CIMT≥0.9

mm为内膜增厚,将观察组分为CIMT正常组(CIMT<0.9 mm)51例,CIMT增厚组(CIMT≥0.9 mm)65例。依据CIMT将CIMT增厚组进一步分为CIMT初级增厚组(0.9 mm≤CIMT<1.3 mm)37例和颈动脉斑块组(CIMT≥1.3 mm)28例。

**1.5 统计学处理** 采用SPSS 25.0软件进行数据处理及统计分析,计数资料用频数或百分率表示,采用 $\chi^2$ 检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较行单因素方差分析,多组间两两比较行SNK-q检验,两组间比较采用独立样本t检验;采用Spearman分析血清S100A12、sRAGE与CIMT相关性;将结果中差异有统计学意义的因素纳入多因素Logistic回归模型,以确定影响2型糖尿病CIMT增厚的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 各组临床资料比较** 对照组、CIMT正常组、CIMT增厚组性别、年龄、HDL-C、TC、TG水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与对照组比较,CIMT增厚组、CIMT正常组BMI、空腹血糖、血清LDL-C水平较高( $P < 0.05$ );与CIMT正常组比较,CIMT增厚组空腹血糖、血清LDL-C水平较高( $P < 0.05$ ),病程较长( $P < 0.05$ ),见表1。

表1 各组患者临床资料比较( $n/n$ 或 $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	病程(年)	空腹血糖(mmol/L)
CIMT增厚组	65	30/35	56.82±11.37	23.46±2.29 <sup>a</sup>	10.09±2.53	10.95±1.19 <sup>ab</sup>
CIMT正常组	51	24/27	55.92±11.69	23.18±2.26 <sup>a</sup>	7.64±1.96	9.44±1.12 <sup>a</sup>
对照组	70	34/36	56.88±11.04	20.95±1.16	—	5.76±0.64
F/t/ $\chi^2$		0.081	0.125	33.579	5.701	483.407
P		0.960	0.882	<0.001	<0.001	<0.001
组别	n	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	
CIMT增厚组	65	3.67±0.79 <sup>ab</sup>	1.12±0.33	5.12±1.45	2.98±0.99	
CIMT正常组	51	3.06±0.69 <sup>a</sup>	1.19±0.32	4.98±1.32	2.78±0.88	
对照组	70	2.48±0.66	1.24±0.29	4.72±1.02	2.63±0.75	
F/t/ $\chi^2$		46.557	2.493	1.734	2.702	
P		<0.001	0.085	0.180	0.070	

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与CIMT正常组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.2 各组血清S100A12、sRAGE水平比较** 与对照组比较,CIMT增厚组、CIMT正常组血清S100A12水平较高( $P < 0.05$ ),血清sRAGE水平较低( $P < 0.05$ );与CIMT正常组比较,CIMT增厚组血清S100A12水平较高( $P < 0.05$ ),血清sRAGE水平较低( $P < 0.05$ ),见表2。

**2.3 CIMT增厚患者血清S100A12、sRAGE水平比较** 与CIMT初级增厚组比较,颈动脉斑块组血清S100A12水平较高( $P < 0.05$ ),血清sRAGE水平较低( $P < 0.05$ ),见表3。

**2.4 2型糖尿病患者血清S100A12、sRAGE与CIMT的相关性分析** Spearman相关性分析结果显示

示,2型糖尿病患者血清S100A12水平与CIMT呈正相关( $r = 0.506, P < 0.05$ );血清sRAGE水平与CIMT呈负相关( $r = -0.518, P < 0.05$ )。

表2 各组血清S100A12、sRAGE水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	S100A12(ng/mL)	sRAGE(pg/mL)
CIMT增厚组	65	148.72±29.82 <sup>ab</sup>	736.59±165.18 <sup>ab</sup>
CIMT正常组	51	46.64±9.75 <sup>a</sup>	902.68±214.51 <sup>a</sup>
对照组	70	16.28±3.62	997.64±249.43
F		924.951	25.583
P		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与CIMT正常组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 两组血清 S100A12、sRAGE 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	S100A12(ng/mL)	sRAGE(pg/mL)
颈动脉斑块组	28	159.72±32.82	633.66±158.65
CIMT 初级增厚组	37	129.67±27.64	822.49±217.59
t		4.003	3.875
P		<0.001	<0.001

**2.5 影响 2 型糖尿病 CIMT 增厚的多因素 Logistic 回归分析** 以 2 型糖尿病 CIMT 厚度为因变量, 将单因素分析中差异有统计学意义的变量纳入多因素结果中进行分析, 分析结果显示, S100A12 水平升高、sRAGE 水平降低是影响 2 型糖尿病 CIMT 增厚的独立危险因素( $P < 0.05$ ), 见表 4。

表 4 影响 2 型糖尿病 CIMT 增厚的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	P	OR	95%CI
BMI 升高	0.244	0.228	1.143	0.285	1.276	0.816~1.995
病程延长	0.268	0.234	1.309	0.252	1.037	0.826~2.067
空腹血糖升高	0.167	0.212	0.622	0.430	1.182	0.780~1.791
LDL-C 升高	0.274	0.219	1.572	0.209	1.316	0.857~2.021
S100A12 升高	0.748	0.197	14.257	<0.001	2.104	1.430~3.095
sRAGE 降低	0.748	0.206	13.205	<0.001	2.114	1.412~3.165

### 3 讨 论

2 型糖尿病患者机体长期处于高糖环境, 导致患者大血管及微血管损伤, 增加了患者发生大血管疾病的风险<sup>[9]</sup>。临幊上有研究提示, 2 型糖尿病患者多数合并动脉粥样硬化, 最终可能导致冠心病和脑卒中发生, 严重影响患者生活质量, 且炎性反应、血管内皮损伤均可导致动脉粥样硬化发生<sup>[10]</sup>。

S100A12 又称为 RAGE 结合蛋白。S100A12 表达上调可参与激活炎性细胞, 促使炎性细胞迁移、趋化, 逐渐加剧动脉粥样硬化过程中的血管炎症<sup>[11]</sup>。有研究报道, S100A12A 促进动脉粥样硬化<sup>[12]</sup>。TONDERA 等<sup>[13]</sup>用荧光放射实验证明, S100A12 可与 CD36 结合, 并将 CD36 募集到细胞膜上, 从而调控动脉粥样硬化形成。本研究发现, 对照组、CIMT 正常组、CIMT 增厚组血清 S100A12 水平依次升高, 颈动脉斑块组血清 S100A12 水平明显高于 CIMT 初级增厚组, 提示 S100A12 可能参与了颈动脉粥样硬化过程, 进一步探讨发现 2 型糖尿病患者血清 S100A12 水平与 CIMT 呈正相关, 经多因素 Logistic 回归分析证实 S100A12 水平升高是 2 型糖尿病 CIMT 增厚的独立危险因素, 提示 S100A12 可能与颈动脉粥样硬化具有密切关系, 具有作为临幊上早期判断颈动脉粥样硬化发生、发展的生物指标的潜力。另外, SCICALI 等<sup>[14]</sup>研究发现, 高胆固醇血症患者血浆中 S100A12 水平明显高于非高胆固醇血症患者。本研究发现,

CIMT 增厚组血清 LDL-C 水平高于 CIMT 正常组, 猜测 S100A12 促进 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化过程可能与 LDL-C 水平升高有关。

RAGE 表达于内皮细胞、血管平滑肌细胞和单核细胞中。RAGE 可与 S100 家族蛋白、高级糖基化终产物(AGE)结合, 调控炎症信号转导从而参与血管内皮损伤引起的动脉粥样硬化, sRAGE 可阻止 RAGE 激活 AGE, 减轻炎症损伤, 延缓动脉粥样硬化<sup>[15]</sup>。有文献报道, 血浆中高水平 sRAGE 可降低 CIMT 增厚速度, 该过程中 sRAGE 阻止 RAGE 与配体结合, 抑制促炎细胞因子的产生、白细胞活化、迁移和组织浸润<sup>[16]</sup>。本研究发现, 对照组、CIMT 正常组、CIMT 增厚组血清 sRAGE 水平依次降低, 颈动脉斑块组血清 sRAGE 水平明显低于 CIMT 初级增厚组, 提示血清 sRAGE 水平可能对颈动脉粥样硬化过程有影响, 综合上述研究猜测高水平 sRAGE 在机体中可能通过结合 S100A12 等配体, 减轻炎症损伤, 延缓颈动脉粥样硬化, 患者血清中 sRAGE 水平降低, 无法阻止颈动脉粥样硬化发生, 致使 2 型糖尿病患者表现出 CIMT 增厚。进一步研究发现, 2 型糖尿病患者血清 sRAGE 水平与 CIMT 呈负相关, 经多因素 Logistic 回归分析证实, sRAGE 水平降低是 2 型糖尿病 CIMT 增厚的独立危险因素, 提示血清 sRAGE 可能是颈动脉粥样硬化发生的相关因素, 血清 sRAGE 水平降低可能促使颈动脉粥样硬化发生。

综上所述, 血清 S100A12 与 2 型糖尿病患者 CIMT 呈正相关, sRAGE 与 2 型糖尿病患者 CIMT 呈负相关, 血清 S100A12 水平升高、sRAGE 水平降低是 2 型糖尿病患者 CIMT 增厚的独立危险因素。本研究为临幊上阐明 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化发生机制奠定基础, 但血清 S100A12、sRAGE 与 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化发生的作用机制尚未明确, 仍需进一步深入研究。

### 参考文献

- 陆迪菲,白歌,马晓伟,等. 内皮源性一氧化氮合酶及与糖尿病关系的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27(5): 397-400.
- 刘平,崔公让. 不同程度颈动脉粥样硬化老年患者 T 淋巴细胞分化亚群、炎症水平与血管内皮功能关联性分析[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(11): 976-983.
- FAROKHZADIAN J, MANGOLIAN S P, BAGHERI V. S100A12-CD36 axis: a novel player in the pathogenesis of atherosclerosis? [J]. Cytokine, 2019, 122(1): 1-3.
- 吕晓佟,刘鑫,王雪,等. AMI 患者血清 S100A12 水平与冠状动脉病变严重程度的关系[J]. 临床心血管病杂志, 2018, 34(6): 588-592.
- RODRÍGUEZ-MORTERA R, LUEVANO-CONTRERAS C, SOLÓRIO-MEZA S, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products and its correlation with vascular damage in adolescents with obesity[J]. Horm Res Paediatr,

- 2019, 92(1): 28-35.
- [6] LIM S, LEE M E, JEONG J, et al. sRAGE attenuates angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy by inhibiting RAGE-NF- $\kappa$ B-NLRP3 activation [J]. Inflamm Res, 2018, 67(8): 691-701.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版) [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(10): 447-498.
- [8] 刘力生. 中国高血压防治指南 2010 [J]. 中华高血压杂志, 2011, 39(1): 701-734.
- [9] 陈毅光, 刘纳岗, 李雯翀, 等. 血浆 PRA、CTRP3 水平与 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化的关系 [J]. 山东医药, 2020, 60(34): 29-33.
- [10] 赵银娇, 姚柳, 张栩, 等. Omega-3 多不饱和脂肪酸代谢产物的动脉粥样硬化拮抗机制 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(6): 461-467.
- [11] ZHANG Z, HAN N, SHEN Y. S100A12 promotes inflammation and cell apoptosis in sepsis-induced ARDS via activation of NLRP3 inflammasome signaling [J]. Mol Immunol, 2020, 122(1): 38-48.
- [12] 钟翔, 王群, 刘季春. S100 蛋白与动脉粥样硬化研究进展  
· 短篇论著 ·
- [13] TONDERA C, LAUBE M, PIETZSCH J. Insights into binding of S100 proteins to scavenger receptors: class B scavenger receptor CD36 binds S100A12 with high affinity [J]. Amino Acids, 2017, 49(1): 183-191.
- [14] SCICALI R, DI PINO A, URBANO F, et al. Analysis of S100A12 plasma levels in hyperlipidemic subjects with or without familial hypercholesterolemia [J]. Acta Diabetol, 2019, 56(8): 899-906.
- [15] 陈杏兰, 李胜男, 陈少凤, 等. S100A8/A9 和 S100A12 与动脉粥样硬化关系的研究进展 [J]. 海南医学, 2020, 31(5): 647-652.
- [16] GRAUEN L H, MARINKOVIC G, NILSSON P M, et al. High plasma sRAGE (soluble receptor for advanced glycation end products) is associated with slower carotid intima-media thickness progression and lower risk for first-time coronary events and mortality [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(1): 925-933.

(收稿日期:2021-09-10 修回日期:2021-12-31)

## 过敏性鼻炎患者外周血 CDCA5、HLA-DPB1、IL-23 水平差异及意义研究<sup>\*</sup>

黄辉<sup>1</sup>, 蒋劲松<sup>1</sup>, 周明朗<sup>1</sup>, 代国胜<sup>1</sup>, 冀庆军<sup>1</sup>, 何苗<sup>1</sup>, 柴伟<sup>1</sup>, 孙敬武<sup>2△</sup>

1. 亳州市人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 安徽亳州 236800; 2. 中国科学技术大学附属第一医院/安徽省立医院, 安徽合肥 230032

**摘要:** 目的 探讨细胞分裂周期相关蛋白 5(CDCA5)、人类白细胞抗原基因(HLA-DPB1)在过敏性鼻炎(AR)患者中的差异表达及细胞白细胞介素-23(IL-23)差异表达, 寻找与 AR 发生的相关性。方法 以 52 例 AR 患者为病例组, 以及 36 例健康体检者为对照组。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测 CDCA5 表达水平。对 HLA-DPB1 基因分型检测 AR 的关系。检测 IL-23 水平差异及与免疫球蛋白 E(IgE)水平变化的相关性。根据 AR 患病的严重程度, 检测与 CDCA5、IL-23、IgE 水平变化的关系。结果 与体检健康者比较, CDCA5 基因在 AR 患者中表达水平升高( $P < 0.05$ ); CDCA5 高表达组患 AR 的概率明显高于 CDCA5 低表达组( $P < 0.05$ )。病例组和对照组检测出 HLA-DPB1 等位基因 8 种, 基因频率最高的为 HLA-DPB1 \* 0501。HLA-DPB1 \* 0502 和 HLA-DPB1 \* 040101 基因型在病例组中的频率高于对照组( $P < 0.05$ )。病例组血清 IL-23、IgE 水平均高于对照组( $P < 0.05$ ), 经过 Pearson 相关性分析, IL-23 与 IgE 呈正相关( $P < 0.05$ )。AR 重度患者 CDCA5 mRNA 相对表达水平、IL-23、IgE 水平高于轻、中度患者( $P < 0.05$ )。结论 AR 外周血 CDCA5、HLA-DPB1、IL-23 表达水平与对照组有显著差异, 这可能与 AR 疾病发生相关。

**关键词:** 过敏性鼻炎; 细胞分裂周期相关蛋白 5; 人类白细胞抗原基因; 白细胞介素-23**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.09.026**文章编号:** 1673-4130(2022)09-1141-05

过敏性鼻炎(AR)是临床中较为常见的严重变态

反应性鼻炎, 一般情况下 AR 多指外界刺激机体后导

<sup>\*</sup> 基金项目: 安徽省重点研究和开发计划项目(1804h08020278)。<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 67488702@qq.com。

本文引用格式: 黄辉, 蒋劲松, 周明朗, 等. 过敏性鼻炎患者外周血 CDCA5、HLA-DPB1、IL-23 水平差异及意义研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(9): 1141-1145.

致机体出现过敏原感应性增高的应激反应,在临床中主要表现为鼻黏膜病变<sup>[1]</sup>。有研究指出,AR 的临床发病率呈现明显上升趋势,且临床中多表现为鼻塞、鼻炎及连续性喷嚏<sup>[2]</sup>。虽然 AR 对患者生命无法造成威胁,但由于其根治难度大且反复发作,严重影响患者生活质量<sup>[3]</sup>。因此,寻找 AR 患者发病的影响因素,对其制订针对性干预措施以降低 AR 发病率和改善患者临床症状具有重要意义。有研究表明,多类细胞及因子参与 AR 的发展,其中一类细胞的失衡为主要因素,这类细胞有嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞等,由于这类细胞产生的炎性因子,导致呼吸道慢性炎症发生<sup>[4]</sup>。有研究发现,细胞分裂周期相关蛋白 5(CDCA5)在哮喘患者表达水平增高<sup>[5]</sup>,但 CDCA5 表达水平与 AR 关系鲜见报道。人类白细胞抗原(HLA)是人类免疫系统的重要组成部分,具有高度的多态性,是免疫遗传学研究的重要组成部分。早期研究显示,HLA 基因多态性与 AR 发病有一定相关性<sup>[6]</sup>。细胞白细胞介素-23(IL-23)在 Th17 细胞的分化中具有重要作用,IL-23-Th17 与多种疾病的发生相关,如关节炎、鼻窦炎、鼻息肉等<sup>[7-10]</sup>,但目前关于 IL-23 水平与 AR 的研究报道较少。笔者选取 AR 患者和健康者外周血单个核细胞,进行 CDCA5、HLA-DPB1 差异表达基因分析及 IL-23 血清水平差异分析,以期探讨外周血 CDCA5、HLA-DPB1、IL-23 表达水平与 AR 发病的相关性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集亳州市人民医院耳鼻喉科 AR 患者 52 例作为病例组,其中男 33 例,女 19 例;年龄 22~63 岁;鼻炎病程 2~10 年;伴哮喘 13 例;有 AR 家族史 15 例;工作环境:室内 28 例,室外 24 例。另选取同期 36 例体检健康者作为对照组,其中男 22 例,女 14 例;年龄 20~60 岁;工作环境:室内 21 例,室外 15 例。两组年龄、性别、工作环境比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。纳入标准:(1)病例组:由亳州市人民医院医生根据《变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年,天津)》<sup>[11]</sup>AR 诊断标准确诊为 AR 患者;(2)对照组:无呼吸道相关疾病,无过敏性疾病如鼻窦炎、皮炎等。排除标准:存在糖尿病、肝肾功能不全、免疫缺陷疾病或营养不良。根据《变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年,天津)》<sup>[11]</sup>将患者分为轻度组(间断性鼻痒、打喷嚏 3~5 个/次)、中度组(鼻痒频繁但能忍受,打喷嚏>5~10 个/次,出现间断性鼻塞)、重度组(出现蚊行感鼻痒,打喷嚏>10 个/次,鼻子堵塞严重)。

## 1.2 方法

**1.2.1 外周血淋巴细胞分离** 取 2 mL 外周血,新鲜肝素抗凝血加入等体积磷酸盐缓冲液混匀后,滴加细胞分离液,使用离心机 2 000 r/min,离心 20 min。管内层次分明,第 2 层为淋巴细胞层,取出第 2 层加入

生理盐水混匀后,离心 20 min,得到淋巴细胞。

**1.2.2 实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测 CDCA5 mRNA 相对表达水平** 提取细胞总 RNA 并进行反转录为 cDNA,按照试剂盒操作说明进行,所需引物序列为:CDCA5 上游引物 5'-CTC CAA ACT CAC CGA GGT CC-3', CDCA5 下游引物 5'-GCA GCT TCA AAC TCG GCA TT-3';GAPDH 上游引物 5'-CCT GCA CCA CCA ACT GCT TA-3', GAPDH 下游引物 5'-AGT GAT GGC ATG GAC TGT GG-3'。每个样本 3 个复孔,并绘制溶解曲线,计算  $\Delta CT$  值。

**1.2.3 HLA-DPB1 基因分型** 取血液 2 mL,用试剂盒提取样品基因组 DNA。PCR-SBT 为主的分型方法对 HLA-DPB1 基因进行 DNA 序列测定和等位基因分型。DPB1 序列特异性引物是参考文献[12]的方法设计合成的。

**1.2.4 血清 IL-23 及 IgE 检测** 通过双抗体夹心-酶联免疫吸附试验对血清 IL-23 水平进行测定。通过酶联免疫吸附试验检测 IgE 水平,根据操作说明进行检测。

**1.3 统计学处理** 本研究采用 SPSS22.0 软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验,计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。相关性分析采用 Pearson 相关性分析,影响因素采用 Logistic 回归分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 两组 CDCA5 mRNA 相对表达水平比较** 对照组 CDCA5 mRNA 相对表达水平为  $1.25 \pm 0.12$ ,病例组为  $1.62 \pm 0.16$ ,两组比较差异有统计学意义( $t=2.49, P<0.05$ ),见图 1。进一步以 CDCA5 mRNA 相对表达水平的中位数为界值,分析 CDCA5 mRNA 相对表达水平高低不同者患 AR 的概率,结果显示,CDCA5 高表达组患 AR 的比例为 95.4%,明显高于 CDCA5 低表达组(5.89%)( $P<0.05$ )。

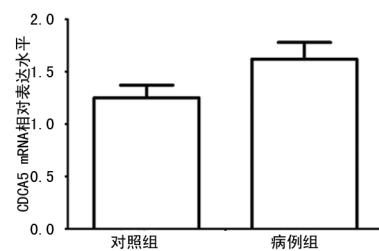


图 1 两组 CDCA5 相对表达水平比较

**2.2 两组 HLA-DPB1 基因分型比较** 检测 020102、0202、040101、0501、0502、0602、0901、13010902 8 种 HLA-DPB1 等位基因,检测结果符合 Hadry-Weinberg 平衡。HLA-DPB1 \* 0502 和 HLA-DPB1 \* 040101 在病例组和对照组中频率比较差异有统计学意义( $\chi^2=6.63, P<0.05$ ),见表 1。经 Logistic 回归分析发现,HLA-DPB1 \* 040101 基因( $OR = 0.48$ ,

95%CI = 0.300~1.555)、HLA-DPB1 \* 0502 基因 (OR = 0.57, 95%CI = 0.040~0.934) 提升了患 AR

的风险。

表 1 HLA-DPB1 等位基因分布比较[n(%)]

组别	n	020102	0202	040101	0501	0502	0602	0901	13010902
病例组	52	2(3.8)	1(1.9)	10(19.2)	18(34.6)	14(26.9)	1(1.9)	1(1.9)	2(3.8)
对照组	36	5(13.9)	2(5.6)	1(2.8)	20(55.6)	2(5.6)	3(8.3)	0(0.0)	4(11.1)
$\chi^2$		2.930	0.852	5.265	3.802	6.529	2.015	0.700	1.767
P		0.087	0.356	0.022	0.051	0.011	0.156	0.403	0.184

**2.3 两组血清 IL-23 和 IgE 水平比较** 与对照组比较,病例组 IL-23、IgE 水平升高( $P < 0.05$ )。见表 2。AR 患者血清 IL-23 水平和血清总 IgE 水平呈正相关( $r = 0.479, P < 0.001$ ),见图 2。

表 2 两组血清 IL-23 和 IgE 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	IL-23(pg/mL)	IgE(kU/L)
病例组	52	79.82 ± 26.54	148.69 ± 45.48
对照组	36	14.66 ± 4.74	92.83 ± 15.47
t		17.34	8.19
P		<0.01	<0.01

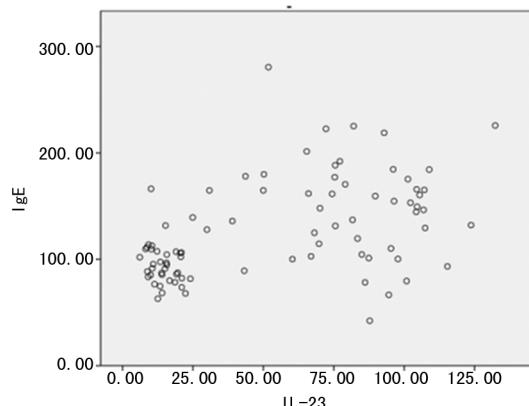


图 2 IL-23 与 IgE 相关性散点图

**2.4 不同程度 AR 患者 CDCA5 mRNA 相对表达水平及 IL-23、IgE 水平比较** 重度组 CDCA5 mRNA 相对表达水平、IL-23 及 IgE 水平高于中度组和轻度组, 中度组 CDCA5 mRNA 相对表达水平、IL-23 及 IgE 水平高于轻度组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 不同程度 AR 患者 CDCA5 mRNA 相对表达水平、IL-23 及 IgE 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	CDCA5 mRNA	IL-23(pg/mL)	IgE(KU/L)
轻度组	15	0.80 ± 0.26 <sup>ab</sup>	46.69 ± 17.42 <sup>ab</sup>	95.17 ± 21.55 <sup>ab</sup>
中度组	25	1.69 ± 2.63 <sup>a</sup>	85.10 ± 9.90 <sup>a</sup>	152.89 ± 14.95 <sup>a</sup>
重度组	12	2.49 ± 0.31	110.23 ± 9.11	206.83 ± 29.66
F		128.56	92.07	95.44
P		<0.01	<0.01	<0.01

注:与重度组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与中度组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

AR 是一种炎症疾病, 它是由 IgE 介导的鼻黏膜病变。有研究发现, AR 患者机体炎性反应水平升高<sup>[13]</sup>。AR 临床症状以闭塞、连续性喷嚏和鼻痒为主, 病情严重时会累及周围组织器官, 对患者造成严重影响<sup>[14]</sup>。分子生物学研究发现, 某些基因的不同等位基因与 AR 发展相关联, 但由于 AR 发病受家族遗传及环境等诸多因素影响<sup>[15]</sup>, 研究者还不能得出普遍性结论。因此, 本研究探讨 CDCA5、HLA-DPB1 差异表达及 IL-23 血清水平差异与 AR 发病的相关性十分有意义。

CDCA5 属于细胞分裂周期相关家族蛋白的一员。CDCA5 是细胞分裂周期中染色单体分离与结合所必需的一种调节因子。CDCA5 保证了细胞减数分裂与有丝分裂中染色体有序分离, 在 DNA 修复中起重要作用。有研究发现, CDCA5 与乳腺癌、胃癌等肿瘤发生及疾病预后相关<sup>[16-17]</sup>。有研究发现, CDCA5 与哮喘有关, 在哮喘患者中 CDCA5 表达水平明显升高<sup>[5]</sup>, 而 AR 与哮喘两类疾病在发病机制病理改变中有很大程度相似。在 AR 发病过程中存在广泛的淋巴细胞增殖和分化, 但 CDCA5 在调节 AR 炎性反应中发挥的作用需进一步研究分析。笔者发现, 与体检健康者比较, AR 患者的外周血淋巴细胞中 CDCA5 mRNA 相对表达水平升高, 说明 CDCA5 表达水平可能与 AR 发生相关。笔者进一步比较 CDCA5 mRNA 相对表达水平与 AR 发生的概率发现, CDCA5 mRNA 高表达者患 AR 的比例明显高于 CDCA5 mRNA 低表达者。以上结果说明 CDCA5 可能与 AR 的发生密切相关, 相关分子调控机制还需进一步研究。

近年来有研究者发现, HLA 基因在免疫性疾病中发挥了重要作用, 其与哮喘、过敏性皮炎都存在一定关系<sup>[6]</sup>。也有研究报道显示, HLA 基因与鼻息肉发病的相关性, 发现 HLA 基因是鼻息肉发病的易感基因与保护基因<sup>[18]</sup>, 但目前关于 HLA 基因与 AR 的研究较少。有学者研究韩国人 HLA-DPB1 与哮喘可能相关, HLA-DPB1 \* 0301 是哮喘伴阿司匹林耐受不良的一项易感标志物<sup>[19]</sup>。本研究结果显示, 病例组与

对照组检测出 8 种等位基因, 频率最高的等位基因为 HLA-DPB1 \* 0501, 在病例组和对照组中的频率分别为 34.6% 和 55.6%。孙筱放等<sup>[20]</sup>进行了 HLA-DPB1 基因 DNA 分型的检测, 检测出 12 种等位基因, 其中频率最高等位基因为 HLA-DPB1 \* 0501(基因频率 37.4%)。最高频率基因型与本研究一致, 本研究只检测出 8 种基因型, 推测是由于此次选取的样本太小及其余等位基因在人群中占比较低。笔者比较病例组与对照组各等位基因频率, 共发现有 HLA-DPB1 \* 0502 与 HLA-DPB1 \* 040101, 在组间差异明显, 经过 Logistic 回归分析有 HLA-DPB1 \* 040101 基因( $OR = 0.48, 95\% CI = 0.300 \sim 1.555$ )、HLA-DPB1 \* 0502 基因( $OR = 0.57, 95\% CI = 0.040 \sim 0.934$ )提升了患 AR 的风险。

部分研究者根据“IgE 依赖性机制学说”, 认为 IgE 与 AR 患病相关, IgE 通过肥大细胞脱颗粒分泌出多种炎性介质, 引发鼻黏膜炎症<sup>[7]</sup>。IL-23 是 IL-12 细胞因子家族的成员, 它除了具有与 IL-12 相同的 p40 亚基外, 还具有一个 IL-12 没有的 p19 亚基<sup>[8]</sup>。IL-23 主要产生于活化的巨噬细胞, 其参与 T 淋巴细胞、抗原提呈细胞分泌免疫因子, 对免疫相关功能起调节作用, 与人体诸多自身免疫疾病有关联<sup>[9-10]</sup>。有研究表明, 大鼠敲除 IL-23 基因后, 机体免疫受损, 机体内抗原提呈刺激 T 淋巴细胞分泌炎症因子的能力下降明显<sup>[21]</sup>。本研究结果表示, AR 患者 IL-23 水平升高, 且 IL-23 与 IgE 呈正相关, 这表明 IL-23 可能是触发 IgE 介导 I 型过敏反应产生的调节因子。提示 IL-23 与 AR 发病密切相关, 具体机制有待后续研究。本研究结果显示, AR 重度患者 CDCA5 mRNA 相对表达水平、IL-23、IgE 水平高于 AR 轻、中度患者。猜测 IL-23 可能通过调节 JAK/STAT3 信号途径, 抑制相关凋亡因子表达, 引起嗜酸性粒细胞的聚集浸润, 从而参与 AR 的发展。IL-23 作用于嗜酸性粒细胞促进其凋亡, 当 IL-23 水平降低时嗜酸性粒细胞凋亡延迟从而导致 AR 病情加重。这也表明了 CDCA5、IL-23 与 AR 疾病的发展有关, 这可能成为判断 AR 疾病走向的预测性指标, 若要运用于临床, 后续还需补充大量试验证明。

综上所述, CDCA5、HLA-DPB1 基因及血清 IL-23 水平可能在 AR 的发生与发展过程中发挥关键作用, 相关分子调控机制还需进一步研究。CDCA5、HLA-DPB1、IL-23 可能作为评价 AR 疾病进展的预测分子, 并作为治疗和预防 AR 的潜在分子靶标。

## 参考文献

- [1] 龙彤, 宋鹏, 梁山. 白芷乳剂对过敏性鼻炎小鼠血清细胞因子及鼻黏膜中 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 现代免疫学, 2020, 40(5): 402-407.
- [2] 哈再古丽·贾汉, 冯娟. 血清 miR-375、IgG4 表达在过敏性鼻炎中的临床意义[J]. 中华保健医学杂志, 2020, 22(4): 372-374.
- [3] 徐穷. 过敏性鼻炎患者血清 IgE 及相关细胞因子水平变化及意义[J]. 中国医学文摘(耳鼻咽喉科学), 2020, 35(4): 243-245.
- [4] MIMS J W. Asthma: definitions and pathophysiology [J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2018, 5(1): 2-6.
- [5] 王麒淇, 张旭, 王向东, 等. 过敏性鼻炎伴哮喘综合征患者细胞分裂周期相关蛋白 5 基因表达和临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2019, 26(8): 441-444.
- [6] 杜鹃, 姚新生, 于红松. HLA 基因与常见自身免疫病相关性研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(1): 118-122.
- [7] 韩玲, 李颖, 王晓飞, 等. 白细胞介素-23 受体基因多态性与变应性鼻炎易感性的相关性研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24(4): 346-349.
- [8] NGRISH C L, CHEN Y, BLUMENSCHINE W M, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation[J]. J Exp Med, 2019, 201(2): 233-240.
- [9] GHILARDI N, KOAVIN N, CHEN Q, et al. Compromised humoral and delayed-type hypersensitivity responses in IL-23 deficient mice[J]. J Immunol, 2019, 172(5): 2827-2833.
- [10] 陈代波, 周光耀. 小针刀联合药物治疗鼻息肉的临床疗效及对患者 IgE、IL-23 水平的影响[J]. 四川中医, 2021, 39(3): 152-155.
- [11] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志病辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年, 天津)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 51(1): 6-24.
- [12] 鲍自谦, 钟艳平, 全湛柔, 等. 中国南方汉族人群 HLA-DPA1、DPB1 及-DQA1 基因多态性的研究[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(6): 535-538.
- [13] MAY J R, DOLEN W K. Management of allergic rhinitis: a review for the community pharmacist[J]. Clin Ther, 2017, 39(12): 2410-2419.
- [14] MELTZER E O. Allergic rhinitis: burden of illness, quality of life, comorbidities, and control[J]. Immunol Allerg Clin North Am, 2016, 36(2): 235-248.
- [15] 何勇, 徐博怀, 汤继元, 等. 表面活性蛋白 A 单核苷酸基因多态性与过敏性鼻炎皮下特异性免疫治疗疗效相关性分析[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(6): 733-738.
- [16] 高鑫, 张淑芳. 细胞分裂周期相关蛋白促肿瘤作用的研究进展[J]. 解放军医学院学报, 2019, 40(9): 1-4.
- [17] CHANG I W, LIN V C, HE H L, et al. CDCA5 overexpression is an indicator of poor prognosis in patients with urothelial carcinomas of the upper urinary tract and urinary bladder[J]. Am J Transl Res, 2015, 7(4): 710-722.
- [18] ZHAI L, SUN Y, TANG L, et al. Polymorphism between loci for human leukocyte antigens DR and DQ in patients with nasal polyps[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2007,

- 116(1):66-68.
- [19] 邹华,高伟,田鹏,等.慢性鼻窦炎伴鼻息肉与 HLA-DPB1、DQB1 基因相关性研究[J].中国免疫学杂志,2011,27(10):899-902.
- [20] 孙筱放,黎青,孙逸平,等.中国广东汉族群体 HLA II 类基因多态性的研究[J].广州医学院报,1998,8(5):48.

## • 短篇论著 •

- [21] GHILARDI N, KLJAVIN N, CHEN Q, et al. Compromised humoral and delayed-type hypersensitivity responses in IL-23-deficient mice[J]. J Immunol, 2004, 172(5): 2827-2833.

(收稿日期:2021-09-12 修回日期:2022-01-18)

## VEGF、S-100P 及 clusterin 在腱鞘巨细胞瘤中的表达情况及临床意义

潘 媚<sup>1</sup>,巫 娟<sup>1</sup>,陈金蓉<sup>2</sup>

1. 四川省骨科医院病理科,四川成都 610041;2. 成都 416 医院病理科,四川成都 610051

**摘要:**目的 探讨血管内皮生长因子(VEGF)、钙结合蛋白 100(S-100P)及丛生蛋白(clusterin)在腱鞘巨细胞瘤中的表达情况及临床意义。方法 以 2018 年 8 月至 2021 年 2 月在四川省骨科医院就诊的腱鞘巨细胞瘤患者 72 例作为观察组,另选择同期在成都市 416 医院行健康体检的良性纤维病变者 72 例作为对照组,应用免疫组织化学法检测 VEGF、S-100P 及 clusterin 水平,并比较不同病理特征患者之间的差异。结果 观察组 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平明显高于对照组( $P < 0.05$ );不同性别、年龄、肿瘤部位患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );不同局限性、包膜及肿瘤最大径患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。通过相关性分析,患者的 VEGF、S-100P 及 clusterin 水平与疾病的局限性、包膜及肿瘤最大径呈正相关( $r = 0.321 \sim 0.852, P < 0.05$ )。结论 腱鞘巨细胞瘤与 VEGF、S-100P 及 clusterin 的表达相关,VEGF、S-100P 及 clusterin 可能与腱鞘巨细胞瘤的包膜不完整及弥漫等病理特征有一定关系。

**关键词:**腱鞘巨细胞瘤; 血管内皮生长因子; 钙结合蛋白 100; 丛生蛋白; 病理特征; 相关性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.09.027

**文章编号:**1673-4130(2022)09-1145-03

**中图法分类号:**R446.6

**文献标志码:**A

腱鞘巨细胞瘤是临床较为常见的四肢肿物,其主要起源于腱鞘及肌腱之间的滑囊细胞,疾病进展较为缓慢,多为良性<sup>[1]</sup>。有研究者将腱鞘巨细胞瘤作为炎性反应性疾病<sup>[2]</sup>。而在 2013 年世界卫生组织将其称之为纤维组织细胞性肿瘤<sup>[3]</sup>。钙结合蛋白 100 (S100P)通过对钙离子依赖性信号通路的介导作用,影响肿瘤细胞的增殖与分化。血管内皮生长因子 (VEGF)可通过调控局部病灶部位的肿瘤组织的新生血管,进一步对肿瘤细胞的浸润作用进行调控<sup>[4]</sup>。丛生蛋白(clusterin)又名睾酮抑制性前列腺信使-2,其与恶性肿瘤疾病的相关研究较多,但是与腱鞘巨细胞瘤的研究较少<sup>[5]</sup>。本研究主要通过腱鞘巨细胞瘤的免疫组织化学法研究及 VEGF、S-100P 及 clusterin 的表达规律对患者病理类型的诊断进行分析,为临床诊断提供科学依据。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究为前瞻性研究,以 2018 年 8 月至 2021 年 2 月在四川省骨科医院就诊的腱鞘巨细胞瘤患者 72 例作为观察组,其中男 23 例,女 49 例;年龄 24~65 岁,平均( $40.00 \pm 11.14$ )岁;体质量指

( $24.85 \pm 2.69$ )kg/m<sup>2</sup>;手足关节部位 29 例,膝关节 31 例,踝关节 12 例;局限型 51 例,弥漫型 21 例;完整包膜 29 例,不完整包膜 43 例。另选择同期成都 416 医院行健康体检的良性纤维病变者 72 例作为对照组,其中男 27 例,女 45 例;年龄 24~65 岁,平均( $40.44 \pm 11.61$ )岁;体质量指数( $24.66 \pm 2.62$ )kg/m<sup>2</sup>。两组一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。所有患者均签署知情同意书,并经伦理委员会论证通过。

观察组纳入标准:(1)符合腱鞘巨细胞瘤诊断标准<sup>[6]</sup>;(2)入组前未进行抗肿瘤治疗;(3)签署知情同意书。排除标准:(1)严重心脏、肝、肾功能障碍;(2)中途退出本研究。

**1.2 研究方法** 分别对观察组及对照组的病变组织进行采集,采用 10% 中性甲醛水溶液固定,常规脱水,石蜡包埋后进行连续切片,切片的厚度设定为 4 μm,采用 pH 6.0 的柠檬酸修复液对石蜡切片进行脱蜡及脱水,采用高压加热法对抗原进行修复。分别采用 1:100 的 VEGF、S-100P 及 clusterin 抗体进行滴加,在 4 °C 下进行孵育过夜,采用多聚物酶标二抗进行滴

加后,在37℃下孵育45 min,采用DAB进行显色,苏木精进行复染。细胞浆内出现棕黄色或棕褐色颗粒物即为VEGF、S-100P及clusterin阳性。采用染色强度及阳性细胞的二级计数法对VEGF、S-100P及clusterin进行评分,无染色则为0分,淡黄色则为1分,黄褐色则为2分,深褐色则为3分。阳性细胞数目比例为<10%则为0分,10%~25%则为1分,>25%~50%则为2分,>50%~100%则为3分。染色强度及染色比例的评分乘积可作为以上蛋白表达程度的评价依据,<6分以下为低表达,≥6分则为高表达<sup>[7]</sup>。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 两组患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较** 分别对观察组及对照组 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平进行分析。

**1.3.2 不同病理特征患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较** 分别对不同病灶部位、性别、年龄、病变程度、包膜完整性患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平进行比较。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS16.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Spearman 相关性分析对 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平与局限性、包膜及肿瘤最大径的相关性进行分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 两组 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较** 观察组 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平明显高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 两组 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较

组别	n	VEGF	S-100P	clusterin
观察组	72	3.27±1.21	4.62±0.87	4.42±1.03
对照组	72	1.44±0.81	1.02±0.48	0.88±0.22
t		10.664	7.833	28.520
P		<0.001	<0.001	<0.001

**2.2 不同病理特征患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较** 不同性别、年龄、肿瘤部位患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );不同局限性、包膜及肿瘤最大径患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

**2.3 相关性分析** 通过相关性分析,患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 与疾病局限性、包膜及肿瘤最大径呈正相关( $r=0.321\sim0.852$ ),见表 3。

表 2 不同病理特征患者 VEGF、S-100P 及 clusterin 相对表达水平比较

组别	n	VEGF	S-100P	clusterin
性别				
男	49	3.33±1.21	4.60±1.81	4.47±1.15
女	23	3.14±0.87	4.66±1.48	4.31±1.27
t		1.082	0.218	0.792
P		0.281	0.828	0.429
年龄(岁)				
≥45	50	3.42±1.53	4.55±1.22	4.51±1.23
<45	20	2.95±1.52	4.77±1.33	4.23±1.16
t		1.849	1.034	1.405
P		0.067	0.303	0.162
肿瘤部位				
手足	29	3.26±1.02	4.45±1.03	4.44±1.16
踝部	12	3.22±1.22	4.65±0.33	4.60±1.24
膝关节	31	3.32±1.63	4.77±2.16	4.33±1.16
F		0.236	0.412	0.562
P		0.526	0.410	0.369
局限性				
局限型	51	2.18±1.21	2.51±0.88	2.94±0.27
弥漫型	21	5.92±1.82	9.74±1.53	8.01±2.17
t		8.662	20.315	10.673
P		<0.001	<0.001	<0.001
包膜				
完整	29	2.88±1.57	2.56±1.33	2.55±1.17
不完整	43	3.53±1.28	6.01±1.22	5.68±1.25
t		2.723	16.220	15.512
P		0.007	<0.001	<0.001
肿瘤最大径(cm)				
≥2.8	29	3.51±1.02	5.02±1.03	5.55±1.02
<2.8	43	3.11±1.22	4.35±1.12	3.66±1.15
t		2.134	3.736	10.433
P		0.035	<0.001	<0.001

表 3 相关性分析

指标	VEGF	S-100P	clusterin
局限性			
r	0.459	0.523	0.623
P	<0.001	<0.001	<0.001
包膜			
r	0.521	0.520	0.852
P	<0.001	<0.001	<0.001
肿瘤最大径			
r	0.417	0.852	0.321
P	<0.001	<0.001	<0.001

### 3 讨 论

腱鞘巨细胞瘤主要是起源于腱鞘及关节滑膜层的良性病变,好发于手指、足部的腱鞘滑膜组织及小关节。有研究报道指出,腱鞘巨细胞瘤也可发生于臀部、腕部及肩部<sup>[8]</sup>。腱鞘巨细胞瘤高发于 30~50 岁,女性患者发病率明显高于男性。在疾病进展中,肿瘤生长速度较为缓慢,结节的大小在多年内可维持在一定大小。2013 年世界卫生组织将其定义在纤维组织细胞瘤范畴<sup>[9]</sup>。目前,按照肿瘤生长方式,可以将其分为局限型及弥漫型两种类型。局限型腱鞘巨细胞瘤主要发生在手部及腕关节,其比例可达 65%~89%<sup>[9-10]</sup>。在手部病变部位中,主要以食指及中指作为主要病灶部位,而膝关节等下肢部位的腱鞘巨细胞瘤发病较少。

VEGF 主要位于机体 6 号染色体中,通过基因编码形成 VEGF 蛋白,可与血管内皮细胞特异性结合,促进血管生长因子形成<sup>[7]</sup>。本研究中,观察组 VEGF 相对表达水平明显高于对照组,且随着肿瘤最大径增大及局限性改变,VEGF 相对表达水平明显上升。在疾病的进展中,当突破包膜及局限性降低时,肿瘤细胞的增殖需要获取较多的氧气及营养物质,新生的毛细血管代偿性增多,但是在新生毛细血管的形成过程中,由于受到局部病灶部位的肿瘤细胞及炎性细胞的双重影响,病灶部位的血管内皮功能发生明显紊乱,进一步造成内皮细胞特异性表达 VEGF<sup>[11]</sup>。而局部病灶部位的血管密度分析虽然可以在一定程度上反映局部病灶部位的血管形成情况,但是其对病灶部位的采样具有明显依赖性。S-100P 在肿瘤细胞的异常表达与患者肿瘤细胞的生长、浸润及转移密切相关<sup>[10]</sup>。本研究中,观察组 S100P 相对表达水平较对照组明显升高,且不同局限性、包膜及肿瘤最大径患者 S-100P 相对表达水平比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。有研究报道认为,腱鞘巨细胞瘤患者组织中基因启动子区域的甲基化状态与患者的浸润程度及临床分型存在一定相关性,局部病灶部位的甲基化状态情况越高,患者的浸润程度及临床分型严重程度越高<sup>[12]</sup>。clusterin 是从睾丸液体中分离得到,在多种肿瘤组织中呈现较高表达水平,同时在组织重建、结构重建、扩膜转运对巨噬细胞具有趋化作用,在一定程度上促进了肿瘤细胞进展。在本研究中,虽然腱鞘巨细胞瘤不是恶性肿瘤,多数为良性肿瘤,但是观察组 clusterin 相对表达水平明显高于对照组,且 clusterin 与疾病的局限性、包膜及肿瘤最大径呈正相关,说明 clusterin 在腱鞘巨细胞瘤的疾病进展中发挥重

要作用。

综上所述,腱鞘巨细胞瘤与 VEGF、S-100P 及 clusterin 表达可能相关,VEGF、S-100P 及 clusterin 与腱鞘巨细胞瘤的包膜不完整弥漫型、局限性、肿瘤最大径等病理特征可能存在一定关系。

### 参考文献

- [1] 林奕城,袁勇,郭立,等.膝关节髌下脂肪垫占位性病变的 MRI 表现[J].临床放射学杂志,2021,40(4):771-775.
- [2] 魏石.富于巨细胞的骨病变[J].中华病理学杂志,2021,50(3):277-281.
- [3] BYERS J, YIN H, RYTTING H, et al. PD-L1 expression in angiomyoid fibrous histiocytoma[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):2183.
- [4] 马世伟,吕丰.改良菱形皮瓣修复手指肿瘤切除术后遗留软组织缺损创面[J].中华手外科杂志,2020,36(6):478-479.
- [5] 徐小丽,王娟,张娜,等.超声在局限型腱鞘巨细胞瘤诊断中的应用价值[J].中国超声医学杂志,2020,36(11):1031-1034.
- [6] ZENG P, ZHANG A, SONG L, et al. Giant cell tumour of the tendon sheath of the spine: clinical features and imaging findings[J]. Insights Imag, 2021, 12(1):98-104.
- [7] WANG J, DU Z, YANG R, et al. Surgical strategy of pediatric benign sacral tumors[J]. J Pediatr Orthop, 2021, 41(4):227-235.
- [8] CRIM J, DYROFF S L, STENSBY J D, et al. Limited usefulness of classic MR findings in the diagnosis of tenosynovial giant cell tumor[J]. Skeletal Radiol, 2021, 50(8):1585-1591.
- [9] LAMIAA H, OSSAMA A, MAZEN K, et al. Osteoclast-like giant cells: focus on entities relevant to dermatopathology and underlying pathogenesis[J]. Am J Dermatopathol, 2021, 43(3):163-173.
- [10] ZHURAKIVSKA K, TROIANO G, MONTELLA M, et al. Oral health and molecular aspects of malignant fibrous histiocytoma patients: a systematic review of the literature[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(4):1426.
- [11] SHIBAYAMA H, MATSUI Y, KAWAMURA D, et al. Fibroma of tendon sheath of the hand in a 3-year-old boy: a case report[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2020, 21(1):732.
- [12] HÜSEYİN B Ç, SİBEL K, ENGIN E, et al. Tenosynovial giant cell tumor in the hand: experience with 173 cases [J]. J Hand Surg Asian Pac Vol, 2020, 25(2):158-163.

## 管理·教学

西格玛质量管理方法在凝血室全程质量管理工作中的应用<sup>\*</sup>禚金花, 刘振军, 尚文静, 庄学伟<sup>△</sup>

山东省立第三医院检验科, 山东济南 250031

**摘要:**目的 运用西格玛质量管理方法, 对凝血检验全过程的质量控制指标进行分析, 实现凝血检验的质量改进。**方法** 利用公式  $\text{Sigma}(\sigma) = (\text{TEa}\% - |\text{Bias}\%|)/\text{CV}\%$  计算检验中每个检测项目的  $\sigma$  值, 以国家标准 WS/T 641-2018 为指导, 按照西格玛规则图, 确定凝血室不同项目质量目标指数及确定个性化质量控制规则。利用标本合格率、危急值及时通知率、标本周转时间达标率、检验报告合格率评估检验全过程的性能。**结果** 凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原、凝血酶时间 4 个项目的  $\sigma$  值由改进前的 5.4、4.1、4.6、6.4 分别提高到 5.8、4.8、5.2、6.7; 标本合格率、危急值及时通知率、TAT 达标率、检验报告合格率 4 项指标的  $\sigma$  值由之前的 4.38、3.78、2.40、3.63 改进为 5.05、4.31、3.08、4.00。**结论** 西格玛方法用于凝血室质量管理可使实验室质量评价标准化, 便于发现和解决问题, 提高实验室质量水平, 实现检验全过程的质量改进。

**关键词:**西格玛; 质量管理; 质量目标; 质量改进

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.09.028

**文章编号:**1673-4130(2022)09-1148-03

**中图法分类号:**R446.9

**文献标志码:**B

检验质量是临床实验室的核心, 室内质量控制是保证实验室质量的前提, 质量目标是衡量实验室全过程的重要内容<sup>[1-2]</sup>。为满足临床对实验室的需要, 适应国家和国际对临床实验室评审要求, 实验室在质量管理上不断探索前进。目前, 越来越多的实验室使用“Westgard 西格玛规则”(以下称西格玛方法)<sup>[3]</sup>, 它将精密度、正确度及质量目标联系起来, 帮助实验室正确地选择室内质量控制规则和每批质量控制测定值个数, 而且其具有实用、易操作的特点也得到越来越多实验室的认可<sup>[4]</sup>。2020 年本院凝血室从旧实验室搬到新实验室, 为评估凝血室搬迁前后的检验前、中、后阶段及全过程的运行情况, 本文对 2019 年与 2020 年同时期的检验全过程的质量指标进行分析, 探讨西格玛方法评估实验室质量控制及质量改进的有效性, 为西格玛方法在凝血室全程质量管理的应用提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** 使用的凝血分析仪为 Sysmex 生产的 CS 5100; 试剂及质量控制品的生产厂家均为上海太阳生物有限公司, 校准品为 Sysmex 原装定标品。

**1.2 评估项目** 凝血室开展的常规项目, 分别为凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)。

## 1.3 方法

**1.3.1 计算 Sigma( $\sigma$ )值** 采用公式  $\sigma = (\text{TEa}\% - |\text{Bias}\%|)/\text{CV}\%$  计算每个检测项目的  $\sigma$  值<sup>[5]</sup>, TEa% 采用国家卫健委临检中心室间质量评价(EQA)的允许总误差, CV% 来于凝血室 2019 年 5—10 月室内质量控制数据的加权 CV, |Bias%| 来源于 2019 年度国家卫健委临检中心 EQA 结果分析, 由于室内质量控制采用双水平, 因此 |Bias%| 采用 EQA 水平与该项目的室内质量控制水平接近的数值, 如此计算后, 每个项目得到 2 个  $\sigma$  值, 按照更加严格的标准选择较低的  $\sigma$  值, 作为该项目性能评价及改进的依据。采用同样的方法计算改进后 2020 年 5—10 月各项目的  $\sigma$  值。 $\sigma$  评价标准为:  $\sigma \geq 6$  为世界级;  $5 \leq \sigma < 6$  为优秀;  $4 \leq \sigma < 5$  为良好;  $3 \leq \sigma < 4$  为临界;  $2 \leq \sigma < 3$  为欠佳;  $\sigma < 2$  则为不可接受<sup>[6]</sup>。

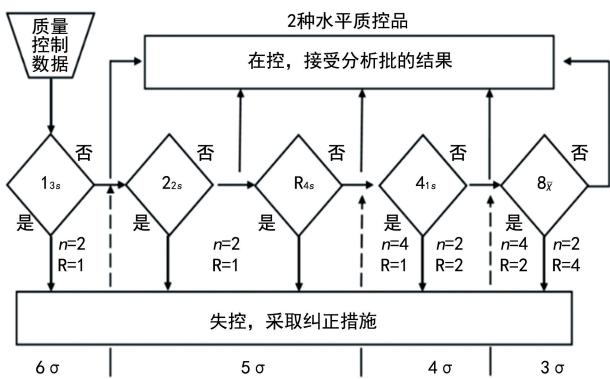
**1.3.2 计算质量目标指数及确定个性化质量控制规则** 采用公式质量目标指数(QGI) =  $|\text{Bias}\%| / (1.5 \times \text{CV}\%)$ , 计算 QGI<sup>[7]</sup>, QGI 与  $\sigma$  值结合可以为质量改进指明方向。当  $\text{QGI} < 0.8$ , 提示 CV% 较大, 要优先改进精密度; 当  $\text{QGI} > 1.2$ , 提示 Bias% 值较大, 要优先改进正确度; 当  $\text{QGI} = 0.8 \sim 1.2$  时, 提示正确度和精密度均需改进<sup>[8]</sup>。当  $\sigma \geq 6$  时, 表示质量以达到世界级, 无需进行质量改进。以《临床检验定量测定室内质量控制: WS/T 641-2018》<sup>[9]</sup> 为指导, 根据西格玛规则图, 确定实验室不同项目的质量控制规则

\* 基金项目: 科技部国家重点研发计划(2019YFF0216502)。

△ 通信作者, E-mail:akesdu@126.com。

本文引用格式: 禚金花, 刘振军, 尚文静, 等. 西格玛质量管理方法在凝血室全程质量管理工作中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(9):1148-1150.

及批数。见图 1。



注：n 代表每批质量控制测定结果个数，R 代表批数。

图 1 2 种水平质量控制品的西格玛规则

#### 1.4 统计检验全程质量指标

**1.4.1** 通过实验室信息系统(LIS)数据统计 2019 年 5—10 月检验科凝血室住院患者的实验数据, 按下列公式计算各项质量指标<sup>[2]</sup>, 以百万次的缺陷率(DPM)计: 标本合格率(合格标本数/总标本数×10<sup>6</sup>)、危急值及时通知率(标准为发现 PT>30 s、APTT>30 s、FIB<1.0 mg/L 时应 20 min 内通知临

床)、标本周转时间(TAT)达标率(从接收标本到报告时间<120 min)、检验报告合格率(报告发出后无再修改的情况)。由于凝血室在卫生健康委员会的 EQA 结果中每年都是满分, 因此不作为本次分析改进的目标。

**1.4.2 数据处理** 使用 Minitab17.0 软件将 DPM 数值换算成  $\sigma$  值。

#### 2 结 果

**2.1** 2019 年凝血 4 项两种水平质量控制处的  $\sigma$  值、QGI 及改进方向 4 个项目的平均  $\sigma$  值为 5.12, PT 为优秀, APTT、FIB 为良好。TT 为优秀, 不作为下一年的改进项目。见表 1。

**2.2** 2020 年凝血 4 项  $\sigma$  值、QGI 对凝血室的质量控制规则重新设定, 改进质量并运行 1 年后, 2020 年凝血室  $\sigma$  值及 QGI 见表 2。结果表明, PT、APTT、FIB 的  $\sigma$  值分别由 5.4、4.1、4.6 提高至 5.8、4.8、5.2, PT、FIB 为优秀, APTT 为良好; FIB 按照新的质量控制方案进行室内质量控制并持续改进, PT、APTT 的质量控制方案没有改变。

表 1 2019 年凝血 4 项的  $\sigma$  值、QGI 及改进方向

项目	TEa %	CV %	Bias	$\sigma$	质量控制方案	QGI	改进方向
PT	15	2.611	1.000	5.4	1-3s/2-2s/R4s,n=2,R=1	0.26	优先改进精密度
APTT	15	2.859	3.220	4.1	1-3s/2-2s/R4s/4-1s,n=2,R=2	0.75	优先改进精密度
FIB	20	3.635	3.213	4.6	1-3s/2-2s/R4s/4-1s,n=2,R=2	0.59	优先改进精密度
TT	20	2.530	3.740	6.4	1-3s,n=2,R=1	0.98	—

注: —表示无数据。

表 2 2020 年凝血 3 项的  $\sigma$  值、QGI 及改进方向

项目	TEa %	CV %	Bias	$\sigma$	质量控制方案	QGI	改进方向
PT	15	2.725	1.930	5.8	1-3s/2-2s/R4s,n=2,R=1	0.47	优先改进精密度
APTT	15	2.812	1.620	4.8	1-3s/2-2s/R4s/4-1s,n=2,R=2	0.38	优先改进精密度
FIB	20	3.474	1.003	5.2	1-3s/2-2s/R4s,n=2,R=1	0.18	优先改进精密度

**2.3 2019 年和 2020 年检验全过程的质量指标的  $\sigma$  值比较** 对改进前后检验全过程的质量指标  $\sigma$  值评估, 见表 3。

表 3 2019 年和 2020 年检验全过程的质量指标  $\sigma$  值比较

年份	标本	危急值及时	TAT	检验报告
	合格率	通知率	达标率	
2019 年	4.38	3.78	2.40	3.63
2020 年	5.05	4.31	3.08	4.00

#### 3 讨 论

西格玛方法最先在工业中应用, 其对企业的质量管理及经济效益方面产生了巨大的影响, 近些年在医

疗领域的影响正在逐渐加大<sup>[10]</sup>。西格玛方法应用于临床实验室全程质量控制时, 它不仅可以与 Westgard 多规则进行联合使用以改进室内质量控制, 还可以应用于检验前、中、后各个环节, 涉及标本采集、运送、前处理、分析、审核、报告等多个环节, 具有标准统一、客观、易操作等优点<sup>[11]</sup>。传统评价方法通常从信息系统获取数字以百分数表示, 而且这些百分数通常都在 90% 以上, 缺乏统一的判定标准, 容易产生主观性, 使人对性能评价过于乐观, 不能发现问题。而应用西格玛方法可以克服这些缺点, 能更直观、有效地对检验全过程进行评价。

本研究对凝血 4 项的室内质量控制应用西格玛方法进行评估, 项目的精密度采用日常积累的加权

CV 获得,能够比较真实而全面地反映实验室水平, *Bias* 是反映准确度的指标<sup>[12]</sup>,本次偏移采用室间质评结果,因此西格玛方法评估兼顾了精密度和准确度,每个项目选择较低的  $\sigma$  值,这样的标准更严格,评价更加客观,能更加真实地反映该项目的性能。针对 2019 年需要改进精密度的 3 个项目(PT、APTT、FIB),凝血室分别从人、机、料、法、环 5 个方面进行了全面整改。采取多方面措施,比如请厂家工程师对仪器的使用维护保养进行全面培训;检测设备定期维护校准,确保仪器状态良好;修订标准操作程序(SOP)文件,反复培训考核,确保每一位员工都彻底掌握,并严格按照规程进行操作;对试剂、校准品实行电子化管理,严格做好试剂更换批号后性能的验证工作;严格控制实验室环境,确保环境条件符合要求等。经过 1 年的改进,PT、APTT、FIB、TT 的  $\sigma$  值均有所提高。

本次检验全过程的质量指标选择标本合格率、危急值及时通知率、TAT 达标率、检验报告合格率 4 个方面对检验前、中、后阶段进行评价和改进。检验前标本不合格原因中血液凝固及抽血量不足的占比最大,主要原因为夜班护士多数比较年轻,对此类问题认识不够,针对此类问题采取的解决方案为检验科联合护理部对护理人员进行标本采集的培训,坚持每月汇总,针对问题进行每月培训,对错误率高发的科室及个人重点教育培训。检验后的质量指标选择危急值及时通知率,危急值管理是医院等级评审的重要内容,针对危急值通报不及时情况的改进措施有:(1)医务部组织各临床科室与检验科共同修订危急值报告制度;(2)改进 LIS,通过系统报警提示、电话报告、短信通知等多种方式为临床发送危急值;(3)对员工进行培训,加深对危急值重要性的认识,系统提示后及时发送危急值报告。针对检验全程 TAT 达标率的主要问题采取的改进措施包括对仪器及时进行预防性保养减少仪器故障导致的报告时间延迟、工作人员弹性排班(早班时间提前)、与护理部及转运中心沟通,缩短检验前的标本转运时间等。检验报告合格率反映的报告发出后不再修改的情况,科室开发 LIS,对每一份更改的报告都需要在系统中填写说明,每月对更改原因进行汇总分析,采取相应的改进措施,相关人员再培训学习后,持续改进,不断提高检验报告的合格率。经过多方面努力,标本合格率、危急值及时通知率、TAT 达标率和检验报告合格率的  $\sigma$  值分别由

4.38、3.78、2.40、3.63 相应的提高到 5.05、4.31、3.08、4.00,其中 TAT 达标率还有较大的改进空间,因此该指标被纳入了下一年度的 PDCA 改进计划。

综上所述,运用西格玛方法对凝血检验进行全程质量管理,适应于检验前、中、后多个环节,且评价标准规范、统一,便于实验室克服主观性,及时发现问题、提出解决方案,进而实现质量改进,提高实验室质量水平。因此,西格玛方法是较理想的临床实验室质量管理方法。

## 参考文献

- [1] 费阳,康凤凤,王薇,等. 2015 年全国临床检验质量指标室间评价[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(6):433-437.
- [2] 李润青,宫丽君,王腾蛟,等. 西格玛方法在临床生化检验质量管理中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2017,40(9):727-732.
- [3] 章晓燕,王薇,赵海建,等. ISO15189:2012 与西格玛级别[J]. 临床检验杂志,2015,33(11):846-848.
- [4] 费阳,王薇,王治国. 临床检验室内质量控制规则设计新工具:Westgard 西格玛规则[J]. 现代检验医学杂志,2015,30(1):149-152.
- [5] 张路,王薇,王治国. 临床检验质量管理中西格玛度量的评估[J]. 临床检验杂志,2015,33(10):724-728.
- [6] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:275-278.
- [7] 刘倩,杨伏猛,姚丽,等. 六西格玛在凝血项目质量控制方面的应用及改进[J]. 国际医药卫生导报,2020,26(13):1854-1857.
- [8] 王晟,段小勇,刘兴态. WS/T641—2018 在血液分析项目质量改进中的应用[J]. 检验医学,2021,36(2):225-228.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床检验定量测定室内质量控制:WS/T 641-2018[S]. 北京:中国标准出版社,2018.
- [10] PANDE P S, NEUMAN R P, CABANAGH R R. The six sigma way: how GE, motorola, and other top companies are honing their performance[M]. New York: McGraw-Hill, 2000:5.
- [11] 李园园,李萍,黄亨建. 应用西格玛理论评价临床实验室检验性能及设计质控方案[J]. 中国医疗器械信息,2007,13(6):9-11.
- [12] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2014:159.

(收稿日期:2021-11-02 修回日期:2022-03-08)

## • 个案分析 •

## 实验室确诊 1 例少见肺诺卡菌病的案例分析及文献回顾

张 星,曾 裕,韩宏艳,邓 昆<sup>△</sup>

重庆医科大学附属第三医院检验科,重庆 401120

**关键词:** 圣乔治教堂诺卡菌; 肺内感染; 基质辅助激光解吸电离时间飞行质谱; 16S rDNA 基因测序**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.09.029**文章编号:** 1673-4130(2022)09-1151-02**中图法分类号:** R446.5**文献标志码:** C

诺卡菌为临床少见病原菌,其可导致免疫功能低下者感染,引起化脓性肺部感染、溃疡和多发性瘘管,也可扩散到其他器官,引起脑脓肿、腹膜炎等<sup>[1]</sup>。从环境中吸入诺卡菌考虑是感染该菌的主要方式。有研究表明,诺卡菌也可导致免疫功能正常患者感染,在免疫低下或非免疫低下的情况下,肺部均是感染诺卡菌的主要靶器官<sup>[2]</sup>。诺卡菌病临床表现不典型,这也加大了临床对诺卡菌病的诊断难度<sup>[3]</sup>。本研究从肺部感染患者痰液中分离到诺卡菌,从病例分析、菌种鉴定方面进行如下报道,希望能提高微生物检验工作人员对该菌的认识,以提高其检出率,同时降低临床不常见菌的漏诊率。

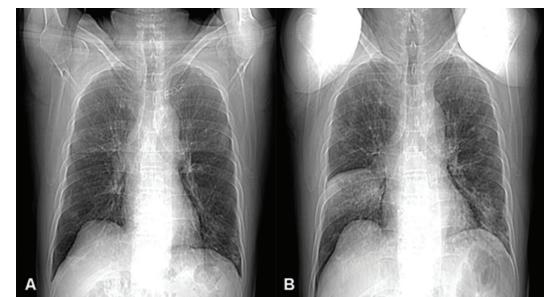
**1 临床资料**

患者,男,65岁,因在受凉后反复出现咳嗽、咳痰、气促入院。胸部CT提示双肺散在感染性病变,见图1A。入院后给予抗感染、抗真菌、化痰、平喘等积极对症治疗1周后无效,患者出现咯血症状,体温38.5℃,白细胞计数 $18.35 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞计数 $16.33 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞百分比89.0%,全程C反应蛋白222.98 mg/L。复查胸部CT提示,右肺中叶感染性病变较之前进一步增大,见图1B。平常健康情况差,有高血压(最高血压160/92 mm Hg)、糖尿病病史十余年、冠心病病史十余年,1年前行冠状动脉支架植入术。入院查体:血压130/96 mm Hg,心率齐,各瓣膜听诊区未闻及杂音,双肺呼吸音粗,可闻及少许湿啰音及哮鸣音。入院诊断:(1)肺部感染;(2)高血压2级(极高危);(3)2型糖尿病;(4)冠状动脉性心脏病、冠状动脉支架植入后。为进一步明确诊断持续送患者痰标本做痰涂片及培养检查。

**2 微生物学检查**

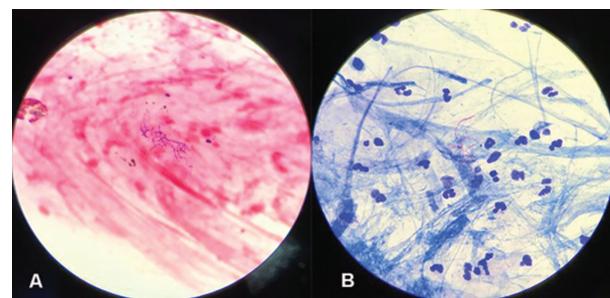
痰涂片革兰染色见革兰阳性杆菌,粗细长短不一,着色不均成虚线样的菌体,见图2A。痰涂片弱抗酸染色找到抗酸阳性的菌体,见图2B。血平板35℃培养48、72及96 h,见表面干燥有皱褶样凸起菌落生长,见图3。由于菌落在生理盐水中难以研磨开,使生

化(梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统)鉴定失败。基质辅助激光解吸电离时间飞行质谱鉴定结果为圣乔治教堂诺卡菌,置信度为29( $\geq 25$ ),结果可信,但置信度不高。进一步将菌落做16s rDNA基因测序进行菌种鉴定(Sangon Biotech co., Ltd., Shanghai, China),测序结果为“Nocardia cyriacigeorgica(圣乔治教堂诺卡菌)”,与质谱结果相符。确诊后临床予以泰能+复方磺胺甲噁唑片抗感染,多索茶碱解痉平喘,吸入乙酰半胱氨酸雾化,卡络磺止血。治疗2 d后,加用利奈唑胺600 mg每12 h联合抗诺卡菌,并加用胸腺肽及丙种球蛋白增强免疫。治疗1周后停用泰能、利奈唑胺,换用舒普深3 g每8 h抗感染,联合复方磺胺甲噁唑片1600 mg每日4次抗诺卡菌。治疗3周后,患者炎性指标下降,病灶吸收,患者病情好转出院。



注:A 可见双肺散在斑片状模糊影;B 双肺多发斑片影、条索影,右肺中叶大片状高密度影。

图 1 胸部 CT 结果

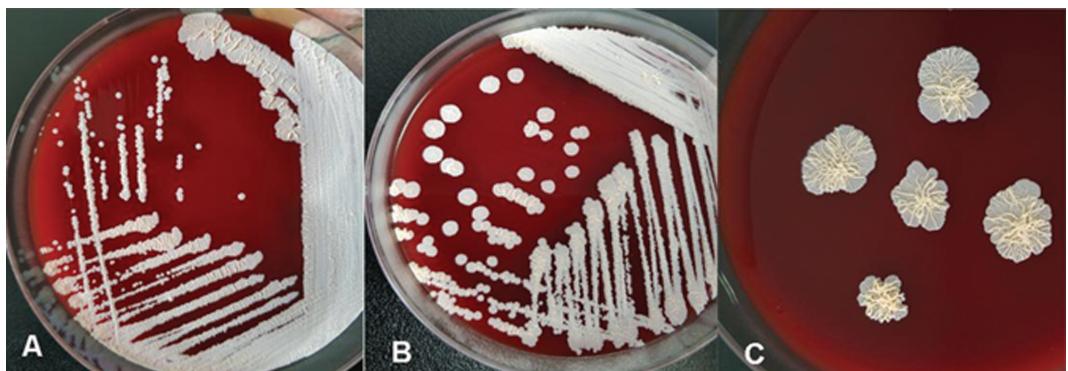


注:A 为革兰染色;B 为弱抗酸染色。

图 2 痰涂片染色( $\times 1000$ )

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:dengkun@hospital.cqmu.edu.cn。

本文引用格式:张星,曾祺,韩宏艳,等.实验室确诊1例少见肺诺卡菌病的案例分析及文献回顾[J].国际检验医学杂志,2022,43(9):1151-1152.



注:A 为血平板 35 ℃ 培养 48 h,B 为血平板 35 ℃ 培养 72 h,C 为血平板 35 ℃ 培养 96 h。

图 3 菌落形态

### 3 讨 论

圣乔治教堂诺卡菌引起的肺诺卡菌病病情发展迅速,实验室对该菌的快速诊断对于临床积极的治疗尤为重要。但以下情况将导致诺卡菌实验室检出困难:第一,痰涂片检查时,制片太厚、染液冲洗不干净,均会干扰镜检时对菌体的观察。微生物室工作人员严谨的工作态度对降低临床不常见细菌感染的检出及治疗有重要意义。第二,痰培养菌落的生长受呼吸道其他优势菌生长的掩盖导致诺卡菌不易被检出。选择适当的培养基可有助于诺卡菌属的生长和抑制杂菌的生长<sup>[4]</sup>。

基质辅助激光解吸电离时间飞行质谱在诺卡菌的鉴定中发挥越来越重要的作用。基质辅助激光解吸电离时间飞行质谱是根据不同微生物蛋白质的核质比差异,将单个菌株的质谱图谱与数据库中的质谱图谱进行比较,从而得到鉴定结果。质谱的快速鉴定为疾病的诊断和患者的康复提供了很大的帮助<sup>[5-8]</sup>。

有研究对质谱与 16s rDNA 测序在诺卡菌鉴定中的一致性做了评估<sup>[9]</sup>,该研究表明,质谱对少见诺卡菌的鉴定存在一定的局限性,主要是因为数据库缺少足够数量的临床菌株图谱,而准确地鉴定还需依赖于生物分子学的方法。但目前 16s rDNA 基因测序仍是鉴定诺卡菌的首选方法。

诺卡菌属对多种抗菌药物均耐药,仅对复方磺胺甲噁唑、阿米卡星、亚胺培南、利奈唑胺及氟喹诺酮敏感。但目前已有对复方磺胺甲噁唑耐药的诺卡菌株出现<sup>[10]</sup>。有条件的实验室可做 E-test 试条,并根据美国临床实验室标准化协会建议进行结果解释<sup>[11]</sup>。

### 参考文献

- [1] MARAKI S,PANAGIOTAKI E,TSOPANIDIS D,et al. Nocardia cyriacigeorgica pleural empyema in an immunocompromised patient [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2006,56(3):333-335.
- [2] STEINBRINK J,LEAVENS J,KAUFFMAN C A,et al. Manifestations and outcomes of Nocardia infections com-
- parison of immunocompromised and nonimmunocompromised adult patients[J]. Medicine, 2018,97(40):e12436.
- [3] ROSMAN Y,GROSSMAN E,KELLER N,et al. Nocardiosis:a 15-year experience in a tertiary medical center in Israel[J]. Eur J Intern Med, 2013,24(6):552-557.
- [4] BROWN-ELLIOTT B A,BROWN J M,CONVILLE P S,et al. Clinical and laboratory features of the Nocardia spp. based on current molecular taxonomy[J]. Clin Microbiol Rev,2006,19(2):259-282.
- [5] MELLMANN A,CLOUD J L,ANDREES S,et al. Evaluation of RIDOM, MicroSeq, and GenBank services in the molecular identification of Nocardia species[J]. Int J Med Microbiol, 2003,293(5):359-370.
- [6] MCTAGGART L R,CHEN Y,POOPALARAJAH R,et al. Incubation time and culture media impact success of identification of Nocardia spp. by MALDI-ToF mass spectrometry[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2018, 92 (4): 270-274.
- [7] YARBROUGH M L,LAINHART W,BURNHAM C D. Identification of Nocardia, Strep-tomyces, and Tsukamurella using MALDI-TOF MS with the bruker biotyper [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2017,89(2):92-97.
- [8] GIRARD V,MAILLER S,POLSINELLI S,et al. Routine identification of Nocardia species by MALDI-TOF mass spectrometry [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2017, 87 (1):7-10.
- [9] 黄磊,张艺. 诺卡菌分子鉴定方法的研究进展[J]. 检验医学与临床,2018,15(18):2814-2817.
- [10] HUANG L,CHEN X C,XU H,et al. Clinical features,identification,antimicrobial resistance patterns of Nocardia species in China:2009—2017[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2019,94(2):165-172.
- [11] GLUPCZYNSKI Y,BERHIN C,JANSSENS M,et al. Determination of antimicrobial susceptibility patterns of Nocardia spp. from clinical specimens by Etest[J]. Clin Microbiol Infect, 2006,12(9):905-912.

(收稿日期:2021-10-03 修回日期:2021-12-31)