

ulin resistance, aldosterone, and calcium homeostasis [J]. J Clin Hypertens, 2019, 21(5):624-626.

[17] SAVITRI A I, ZUITHOFF P, BROWNE J L, et al. Does pre-pregnancy BMI determine blood pressure during pregnancy: a prospective cohort study [J]. BMJ Open, 2016, 6(8):e011626.

[18] LEWANDOWSKA M, WIECKOWSKA B, SAJDAK S, et al. Pre-pregnancy obesity vs. other risk factors in probability models of preeclampsia and gestational hypertension [J]. Nutrients, 2020, 12(9):2681.

[19] GAL E, DOLENSEK J, STOZER A, et al. Mechanisms of

• 短篇论著 •

post-pancreatitis diabetes mellitus and cystic fibrosis-related diabetes: a review of preclinical studies [J]. Front Endocrinol, 2021, 12:715043.

[20] ZHAN F, CHEN J, YAN H, et al. Association of serum amylase activity and the copy number variation of AMY1/2A/2B with metabolic syndrome in Chinese adults [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2021, 14:4705-4714.

(收稿日期:2022-08-20 修回日期:2022-12-08)

## 血清基质金属蛋白酶-13 联合血小板因子-4 与 miR-29 检测 在多发性骨髓瘤中的临床价值\*

孔繁林<sup>1</sup>, 吴建伟<sup>1</sup>, 侯学伶<sup>2</sup>, 路博<sup>1</sup>, 刘振腾<sup>1</sup>, 米盼盼<sup>1</sup>, 朱军<sup>1</sup>, 樊国峰<sup>1△</sup>  
河北中石油中心医院:1. 骨科;2. 检验科, 河北廊坊 065000

**摘要:**目的 探讨血清基质金属蛋白酶-13(MMP-13)联合血小板第 4 因子(PF4)、微小 RNA-29(miR-29)在多发性骨髓瘤(MM)中的临床价值。方法 收集 2018 年 2 月至 2020 年 1 月于本院确诊并治疗的 MM 患者 80 例作为病例组,另外选取同期本院体检健康者 80 例作为对照组。根据患者治疗后的效果,又将病例组患者分为难治组(32 例)和缓解组(48 例)。比较各组人群 MMP-13、PF4 和 miR-29 水平。利用受试者工作特征(ROC)曲线对三者单项及联合诊断 MM 的临床价值进行分析。结果 病例组血清 MMP-13 和 miR-29 水平高于对照组,而病例组血清 PF4 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗前,缓解组患者血清 MMP-13 和 miR-29 水平均低于难治组,缓解组患者血清 PF4 水平高于难治组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。缓解组治疗后血清 MMP-13 和 miR-29 水平较治疗前均降低,缓解组治疗后血清 PF4 水平较治疗前增高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗后,缓解组患者血清 MMP-13 和 miR-29 水平均低于难治组,而缓解组患者血清 PF4 水平高于难治组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 联合检测用于区分 MM 患者与健康者的 AUC 为 0.924(95%CI:0.868~0.979,  $P < 0.001$ ),灵敏度为 82.5%,特异度为 94.6%;血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 联合检测用于区分缓解组与难治组的 AUC 为 0.889(95%CI:0.822~0.971,  $P < 0.001$ ),灵敏度为 90.7%,特异度为 77.4%。结论 血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 在 MM 诊断及疗效评估中的具有一定价值。

**关键词:**多发性骨髓瘤; 基质金属蛋白酶-13; 血小板第 4 因子; 微小 RNA

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.025

**中图法分类号:**R446.11

**文章编号:**1673-4130(2023)04-0503-04

**文献标志码:**A

多发性骨髓瘤(MM)为恶性浆细胞病,其肿瘤细胞来自于骨髓中内的浆细胞。MM的特点是骨髓浆细胞发生异常增生并伴随着轻链或单克隆的免疫球蛋白过量的产生。然而,因早期 MM 患者的症状并不典型,而肾病、风湿或淋巴瘤等疾病又可造成反应性浆细胞的增加,干扰了临床诊断<sup>[1-2]</sup>;其次,目前诊断 MM 主要依靠骨髓细胞学相关的检查,但病灶呈局灶性分布,单部位骨髓穿刺常常不能明确诊断,另外,骨髓穿刺操作的有创性导致部分患者并不太愿意接受检查而错过了早期的临床诊断。因此,临床上急需找寻一类特异度、灵敏度更高的诊断标志物,以提高

MM 患者的诊疗质量。基质金属蛋白酶-13(MMP-13)是将细胞外基质水解的一类蛋白水解酶,用于调节肿瘤细胞的生长及转移过程。血小板第 4 因子(PF4)是由血小板 α 颗粒合成的一种特异性蛋白质。近年发现,PF4 通过抑制人血管内皮祖细胞的生长和迁移,进而在 MM 发病过程中起到抑制血管新生作用,对 MM 起抑制作用<sup>[3]</sup>。微小 RNA(miRNA)是一类长度约为 22 核苷酸的非编码 RNA,通过调控表观遗传参与人体的各类生理病理,并关系到肿瘤发展及转移等。近年来研究发现 miR-29 与 MM 的发生、发展密切相关<sup>[4]</sup>。本研究旨在探讨血清 MMP-13、PF4

\* 基金项目:廊坊市科技技术局项目(2017013044);国家重点基础研究发展计划(“973”计划项目)2015CB755402。

△ 通信作者, E-mail:403081181@qq.com。

和 miR-29 在 MM 鉴别诊断和疗效评估中的价值。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 将 2018 年 2 月至 2020 年 1 月于本院确诊并治疗的 MM 患者 80 例纳入研究作为病例组,所有患者的诊断均符合《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2017 年修订)》<sup>[5]</sup>。患者治疗方法:地塞米松+硼替佐米+环磷酰胺治疗,28 d 为 1 个治疗周期,每例患者经 4 个治疗周期,患者每隔 1 周到血液内科门诊进行随访。根据欧洲血液和骨髓移植组对患者的疗效评价<sup>[6]</sup>,分为完全缓解(cCR)、接近完全缓解(nCR)、部分缓解(PR)、微小缓解(MR)、无变化(NC)、病情进展(PD)等几个等级,并根据患者治疗后的具体疗效,将疗效并未达到 PR 等级的患者纳入难治组(32 例),疗效到达了 PR 或者以上的患者纳入缓解组(48 例)。同期选取本院体检健康者 80 例作为对照组。纳入者均意识清楚,能够正常的实施语言表达,可以和调查人员实施正常的沟通交流。排除标准:(1)入院前在其他的医院实施免疫治疗或者放疗者;(2)急性慢性感染、甲状腺疾病、其他脏器肿瘤者。本研究的开展经医院伦理委员会批准。纳入研究者均自愿参加本研究。

#### 1.2 方法

**1.2.1 临床资料与标本的采集** 由研究人员将患者的性别、年龄、体质量指数(BMI)等基本信息进行记录,BMI=体重/身高<sup>2</sup>(kg/m<sup>2</sup>)。采用促凝血管将禁食 10 h 以上的 MM 患者治疗前、4 个治疗周期结束后和入院体检健康者的静脉血标本 5 mL 收集起来。收集的标本在 1 h 内于 4 °C、3 500×g 离心 10 min,收集上层血清,并放在-80 °C 冰箱中保存待测。

**1.2.2 血清 MMP-13 与 PF4 水平的检测** 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 MMP-13 和 PF4 水平,试剂盒购自南京基蛋生物科技有限公司,严格按试剂盒内说明书中的步骤进行操作。血清 MMP-13 和 PF4 检测的批内和批间变异系数均小于 5%,提示此次实验操作具有很好的精确度和重复性。

**1.2.3 血清 miR-29 表达水平的检测** 血清总 RNA 的提取依据血液 RNA 提取试剂盒(购自 Biotek 公司)内的说明书步骤实施。取上述方式提取的 RNA,使用反转录试剂盒(购自 Takara 公司)将其反转录成 cDNA,之后采用实时荧光定量 PCR(qPCR),依据 SYBR GREEN 试剂盒中的说明书进行操作。反应条件:95 °C 条件下进行 5 min 变性;95 °C 30 s,63 °C 30 s,72 °C 30 s,循环 45 次。各组均设置检测复孔 3 个。内参基因采用 GAPDH。引物序列如下,miR-29, F: 5'-AATCCTTTATGTGACCAGAA-3', R: 5'-CTCCTTTGTTGAATCCAT-3'; GAPDH, F: 5'-AGAAGG CTGGGGCTCATTTG-3', R: 5'-GCAGGAGGCATTGCTGATGAT-3'。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法对 miR-29 的相对表达水平进行计算。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS19.0 的软件进行数据

分析。符合正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。计数资料采用例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析和计算血清 MMP-13、PF4、miR-29 水平单项及联合用于判别的曲线下面积(AUC)及其 95%置信区间(CI)。P<0.05 为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 两组临床基本信息及血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 水平比较** 病例组血清 MMP-13 和 miR-29 水平高于对照组,而病例组血清 PF4 水平低于对照组,差异均具有统计学意义(P<0.05),见表 1。

表 1 两组临床基本信息及血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 水平比较 [ $\bar{x} \pm s$  或 *n*(%)]

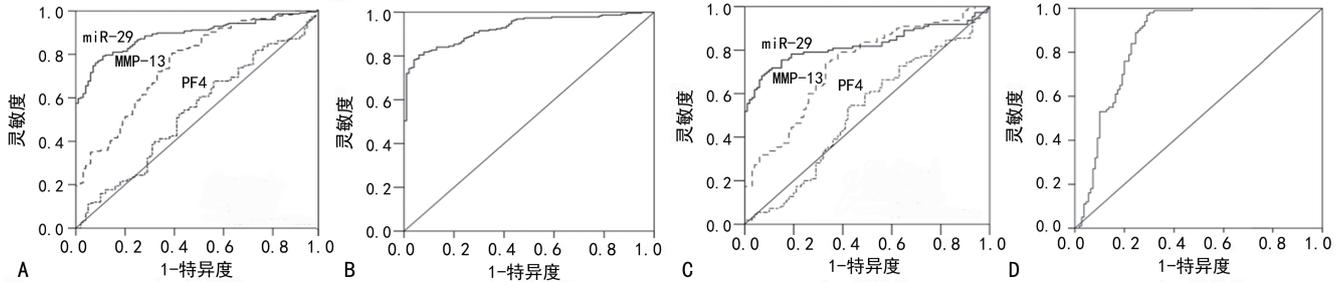
项目	病例组 (n=80)	对照组 (n=80)	t/χ <sup>2</sup>	P
年龄(岁)	55.2±5.0	54.3±4.7	1.643	0.526
男性	50(62.5)	48(60.0)	1.604	0.412
吸烟史	37(46.3)	39(48.8)	1.118	0.696
饮酒史	25(31.3)	23(28.8)	1.537	0.346
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.3±2.1	24.0±1.9	1.311	0.308
MMP-13(pg/mL)	61.4±11.3	21.3±5.9	3.892	<0.001
PF4(g/L)	18.3±3.2	31.0±6.4	4.553	<0.001
miR-29	16.3±4.1	4.2±1.7	5.208	<0.001

**2.2 MM 患者化疗前后血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 水平比较** 与治疗前相比,治疗后患者 PF4 水平增高,MMP-13 和 miR-29 水平降低(P<0.05)。治疗前,缓解组患者血清 MMP-13 和 miR-29 水平均低于难治组,缓解组患者血清 PF4 水平高于难治组,差异均有统计学意义(P<0.05);缓解组治疗后血清 MMP-13 和 miR-29 水平较治疗前均降低,缓解组治疗后血清 PF4 水平较治疗前增高,差异均有统计学意义(P<0.05),见表 2。

**2.3 血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 在 MM 鉴别诊断和疗效评估的 ROC 分析** ROC 曲线分析显示:血清 miR-29 区分 MM 患者与健康者的 AUC 为 0.913(95%CI:0.855~0.971,P<0.001),诊断界值为 12.4,灵敏度为 84.1%,特异度为 90.8%;血清 MMP-13 区分 MM 患者与健康者的 AUC 为 0.802(95%CI:0.742~0.863,P<0.001),诊断界值为 46.6 pg/mL,灵敏度为 81.2%,特异度为 62.2%。血清 PF4 区分 MM 患者与健康者的 AUC 为 0.602(95%CI:0.542~0.663,P=0.005),诊断界值为 22.6 μg/L,灵敏度为 61.2%,特异度为 52.2%。血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 联合检测用于区分 MM 患者与健康者的 AUC 为 0.924(95%CI:0.868~0.979,P<0.001),灵敏度为 82.5%,特异度为 94.6%。见图 1。

血清 miR-29 区分缓解组与难治组的 AUC 为 0.874(95%CI:0.773~0.965,  $P < 0.001$ ), 诊断界值为 16.2, 灵敏度为 78.3%, 特异度为 81.7%; 血清 MMP-13 区分缓解组与难治组的 AUC 为 0.824(95%CI:0.781~0.866,  $P < 0.001$ ), 诊断界值为 60.6 pg/mL, 灵敏度为 83.8%, 特异度为 60.3%; 血

清 PF4 区分缓解组与难治组的 AUC 为 0.534(95%CI:0.481~0.606,  $P = 0.012$ ), 诊断界值为 18.6  $\mu\text{g/L}$ , 灵敏度为 63.8%, 特异度为 50.3%; 联合检测血清 MMP-13、PF4 和 miR-29 用于区分缓解组与难治组的 AUC 为 0.889(95%CI:0.822~0.971,  $P < 0.001$ ), 灵敏度 90.7%, 特异度 77.4%。见图 1。



注:A为MMP-13、PF4和miR-29单项用于诊断MM的ROC曲线;B为MMP-13、PF4和miR-29联合检测用于诊断MM的ROC曲线;C为MMP-13、PF4和miR-29单项用于区分缓解组与难治组的ROC曲线;D为联合检测MMP-13、PF4和miR-29用于区分缓解组与难治组的ROC曲线。

图1 ROC曲线分析血清MMP-13、PF4和miR-29在MM诊断和疗效评估中的价值

表2 80例MM患者化疗前后血清MMP-13、PF4、miR-29水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	MMP-13(pg/mL)	PF4( $\mu\text{g/L}$ )	miR-29( $\mu\text{g/L}$ )
难治组				
治疗前	32	65.3 $\pm$ 11.4	15.2 $\pm$ 2.4	20.1 $\pm$ 4.5
治疗后	32	63.4 $\pm$ 10.9	16.5 $\pm$ 2.2	19.9 $\pm$ 4.0
缓解组				
治疗前	48	55.6 $\pm$ 10.8 <sup>b</sup>	20.5 $\pm$ 3.9 <sup>b</sup>	14.7 $\pm$ 3.6 <sup>b</sup>
治疗后	48	30.3 $\pm$ 9.1 <sup>a</sup>	25.2 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>	10.1 $\pm$ 2.9 <sup>a</sup>

注:与缓解组治疗前相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与难治组治疗前相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

JIAN等<sup>[7]</sup>通过对淋巴瘤细胞系中MMP-13基因的检测,发现与正常淋巴瘤细胞株相比MMP-13基因显著上调,且与肿瘤调控因子-信号转导和转录激活因子3的活性呈正相关。PF4是近年发现的重要的抑癌基因。LIANG等<sup>[8]</sup>指出,将过表达PF4基因的慢病毒转染接受异种骨髓移植的骨髓瘤小鼠后,免疫染色显示骨髓瘤细胞凋亡和血管生成受到抑制,该实验在骨髓瘤小鼠模型中证实了PF4的肿瘤生长抑制作用。miR-29是一种新型的基因调控因子,能在转录后水平抑制靶基因的表达或蛋白质翻译。KOLLINEROVA等<sup>[9]</sup>通过体外培养MM细胞株,观察到上调miR-29可显著降低MM细胞株的增殖能力与迁移能力。

本研究发现,MM患者血清MMP-13与miR-29水平均显著高于对照组( $P < 0.05$ ),而PF4水平显著低于对照组( $P < 0.05$ ),这一结果与前期有关MM的体内和机制研究相符合<sup>[3,8-9]</sup>,提示MM患者体内MMP-13、miR-29与PF4的异常表达可能参与MM疾病进程。在评估患者治疗疗效时,本研究结果显

示:治疗前,缓解组患者血清MMP-13和miR-29水平均低于难治组( $P < 0.05$ ),缓解组患者血清PF4水平高于难治组( $P < 0.05$ )。出现这一结果表明血清MMP-13、miR-29与PF4这三个指标在MM病情更加凶险的患者中变化更为显著,在提示患者预后更差方面具有较高的价值。缓解组治疗后血清MMP-13和miR-29水平较治疗前均降低,缓解组治疗后血清PF4水平较治疗前增高,这一结果提示血清MMP-13、miR-29与PF4水平在MM患者接受治疗并取得良好疗效时会有所好转,提示患者预后较好。值得注意的是,难治组患者治疗前与治疗后血清MMP-13、PF4和miR-29水平的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),出现这一结果的原因可能为难治组MM患者在经过4个周期化疗后病情并未得到有效控制,这一结果也进一步提示血清MMP-13、PF4和miR-29在辅助评估患者疗效中具有一定价值。ROC曲线分析显示:血清MMP-13、PF4和miR-29联合检测用于区分MM患者及其疗效的灵敏度、特异度均高于单项诊断,提示三者联合诊断MM及用于疗效评估的效果较好。然而,本研究仍存在下面的不足:(1)本研究所纳入的患者全部为本院患者,这可能会使研究结果产生某些偏倚,今后需采用多中心的队列研究进一步分析结果;(2)本研究纳入80例MM患者,纳入的病例数并不多,后期需要扩大样本量来进一步证实血清MMP-13、PF4和miR-29检测对MM患者的临床价值。

综上所述,血清MMP-13、PF4和miR-29对MM诊断及疗效评估具有潜在的价值,有望为MM的诊疗提供新的途径与思路。

### 参考文献

[1] 杨新宏,杨晓峰,张晨晰,等.血清 $\kappa/\lambda$ 轻链比值在多发性

- 骨髓瘤合并肾功能不全与肾功能不全患者中的鉴别诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(9): 900-902.
- [2] MALAER J D, MATHEW P A. CS1 (SLAMF7, CD319) is an effective immunotherapeutic target for multiple myeloma[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(8): 1637-1641.
- [3] 杨龙江. 血小板因子 4 及其 17-70 肽段在多发骨髓瘤中的作用及机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [4] JIANG Y, LUAN Y, CHANG H, et al. The diagnostic and prognostic value of plasma microRNA-125b-5p in patients with multiple myeloma[J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 4001-4007.
- [5] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2017 年修订)[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(11): 866-870.
- [6] SCHRIEBER J R, HARI P N, AHN K W, et al. Hispanics have the lowest stem cell transplant utilization rate for autologous hematopoietic cell transplantation for multiple myeloma in the United States: a CIBMTR report [J]. Cancer, 2017, 123(16): 3141-3149.
- [7] JIAN J, PANG Y, YAN H H, et al. Platelet factor 4 is produced by subsets of myeloid cells in premetastatic lung and inhibits tumor metastasis[J]. Oncotarget, 2017, 8(17): 27725-27739.
- [8] LIANG P, CHENG S H, CHENG C K, et al. Platelet factor 4 induces cell apoptosis by inhibition of STAT3 via up-regulation of SOCS3 expression in multiple myeloma [J]. Haematologica, 2013, 98(2): 288-295.
- [9] KOLLINEROVA S, VASSANELLI S, MODRIANSKY M. The role of miR-29 family members in malignant hematopoiesis[J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2014, 158(4): 489-501.
- (收稿日期: 2022-09-02 修回日期: 2022-12-20)

## • 短篇论著 •

## miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎治疗中的变化与应用\*

蒋斐斐, 孙丽芹, 李亚楠

安徽省亳州市人民医院儿科, 安徽亳州 236800

**摘要:**目的 探讨微小 RNA-223(miR-223)、Toll 样受体 2(TLR2)在新生儿感染性肺炎治疗前后的表达情况及在诊断中价值。方法 将 2018 年 5 月至 2021 年 3 月于该院治疗的新生儿感染性肺炎患儿 67 例作为观察组;另外,选取同期于该院进行体检的健康新生儿 51 例作为对照组。观察组均给予常规对症支持治疗,治疗 7 d 后评估其效果。采用实时荧光定量 PCR 法测定 miR-223 表达水平;采用流式细胞仪测定 TLR2 水平;采用酶联免疫吸附法测定白细胞介素-6(IL-6)水平;采用全自动荧光免疫分析仪测定降钙素原(PCT)水平;利用 Pearson 进行相关性分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎中诊断价值。结果 观察组 miR-223、TLR2、IL-6 及 PCT 水平均高于对照组( $P < 0.05$ );观察组治疗 7 d 后 miR-223、TLR2、IL-6 及 PCT 水平均低于治疗前( $P < 0.05$ ),但与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );Pearson 相关性分析显示:miR-223 与 TLR2、IL-6、PCT 水平呈正相关( $r = 0.492, 0.489, 0.503, P < 0.05$ ),TLR2 与 IL-6、PCT 水平也呈正相关( $r = 0.465, 0.542, P < 0.05$ )。miR-223、TLR2 联合检测用于新生儿感染性肺炎诊断的灵敏度与特异度高于 miR-223、TLR2 单项检测( $P < 0.05$ )。结论 miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎中呈高表达,治疗后水平下降,并与 IL-6、PCT 水平呈正相关,且二者联合测定具有较高的灵敏度与特异度,能为临床治疗和诊断提供参考依据。

**关键词:**微小 RNA-223; Toll 样受体 2; 新生儿; 感染性肺炎

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.026

**中图分类号:**R446.11

**文章编号:**1673-4130(2023)04-0506-04

**文献标志码:**A

新生儿感染性肺炎是指新生儿在宫内、分娩过程中或出生后吸入胎粪、羊水、胃内容物等,或是娩出后感染细菌、病毒等病原体,导致的肺部炎症病理改变<sup>[1]</sup>。临床上,根据新生儿感染性肺炎病因可分为吸入性肺炎与感染性肺炎两种<sup>[1]</sup>,且不同类型肺炎发病机制、临床表现差异不明显,导致临床诊疗难度较大。临床上以新生儿感染性肺炎更为常见<sup>[2-3]</sup>,故本研究选择新生儿感染性肺炎进行研究。病原学检查是新

生儿感染性肺炎常用的诊断“金标准”,能指导临床治疗,但是该诊断方法所需时间长<sup>[4-5]</sup>。微小 RNA(miRNA)是一类高度保守的非编码核苷酸,与机体免疫功能存在明显的差异性。外周血 miR-223 在肺炎患儿中呈高表达,能作为肺炎早期诊断指标之一,用于评估患儿病情严重程度<sup>[6]</sup>。Toll 样受体 2(TLR2)是 Toll 家族成员之一,在人体中具有广泛的作用,可识别不同类型病原微生物抗原成分,但是该指标在新

\* 基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021a027)。