

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.05.001

新生儿坏死性小肠结肠炎肠组织炎性浸润和血中常规炎性指标的相关性研究*

党晓平¹, 胡小剑^{2△}, 张 岚³, 孟远翠¹, 杨 粉¹, 张东平¹, 吴新婷¹, 郑玲芳¹

西安医学院第二附属医院:1. 新生儿科;2. 泌尿外科, 陕西西安 710038;

3. 西安交通大学第二附属医院新生儿科, 陕西西安 710004

摘要:目的 探讨新生儿坏死性小肠结肠炎(NEC)中肠组织炎性浸润程度和血中常见炎性指标的关系, 寻找判断手术时机的最佳炎性指标。方法 收集西安医学院第二附属医院和西安交通大学第二附属医院新生儿科 NEC 患儿 95 例, 采取手术治疗的 42 例患儿为手术组, 采取保守治疗的 53 例患儿为对照组。切除的肠组织标本常规行病理检查, 记录 2 组患儿常规炎性指标[白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、降钙素原(PCT)及 C 反应蛋白(CRP)]水平。根据肠组织炎性浸润程度评分结果, 将手术组分为轻度组、重度组, 分析 2 组中炎性指标的差异, 对差异有统计学意义的炎性指标进行 Spearman 秩相关分析, 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析、判断肠组织炎性浸润程度所对应炎性指标的最佳临界值。结果 手术组患儿 WBC、PLT 水平低于对照组, CRP、PCT 水平高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。手术后患儿 WBC、PLT、PCT 水平较术前降低, CRP 水平较术前升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。轻度组中 $PLT \geq 90.0 \times 10^9/L$ 、 $PCT < 15.0 \text{ ng/mL}$ 的患儿比例高于重度组, 而轻度组中 $PLT < 90.0 \times 10^9/L$ 、 $PCT \geq 15.0 \text{ ng/mL}$ 的患儿比例低于重度组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。PCT 水平与炎性浸润程度呈正相关($r = 0.54, P < 0.05$), PLT 水平与炎性浸润程度呈负相关($r = -0.49, P < 0.05$)。当 PLT、PCT 的最佳临界值分别为 $93.2 \times 10^9/L$ 、 15.5 ng/mL 时, PLT 预测肠组织炎性浸润程度的曲线下面积(AUC)为 0.876(95%CI: 0.765~0.903), 灵敏度和特异度分别为 100.0%、92.3%; PCT 预测肠组织炎性浸润程度的 AUC 为 0.927(95%CI: 0.835~0.963), 灵敏度和特异度分别为 100.0%、93.4%。结论 NEC 的发生、发展过程中存在感染, PLT 和 PCT 更能反映肠组织炎性浸润的程度, 可以间接预测手术时机。

关键词:新生儿坏死性小肠结肠炎; 肠组织病理检查; 常规炎性指标

中图法分类号: R722.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)05-0577-05

Study on the correlation between intestinal tissue inflammatory infiltration and blood conventional inflammation index of neonatal necrotizing enterocolitis*

DANG Xiaoping¹, HU Xiaojian^{2△}, ZHANG Lan³, MENG Yuancui¹,
YANG Fen¹, ZHANG Dongping¹, WU Xinting¹, ZHENG Lingfang¹

1. Department of Neonatology; 2. Department of Urology Surgery, Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shaanxi 710038, China; 3. Department of Neonatology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710004, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the degree of inflammatory infiltration of midgut tissue in neonatal necrotizing enterocolitis (NEC) and common inflammatory indexes in the blood, and to find the best inflammatory index for judging the timing of surgery. **Methods** A total of 95 children with NEC in the Department of Neonatology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College and Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University were collected. Forty-two cases of children with surgical treatment were the operation group, and fifty-three cases of children with conservative treatment were the control group. The excised intestinal tissue specimens were routinely examined by pathology, and conventional inflammatory indexes [white blood cell count (WBC), platelet count (PLT), procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP)] were recorded in the two groups. According to the scoring results of the degree of intestinal tissue inflammatory infiltration, the surgical group was divided into mild group and severe group. The difference of in-

* 基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2018SF-083)。

作者简介: 党晓平, 女, 主治医师, 从事新生儿消化系统危急重症方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 19084943@qq.com。

本文引用格式: 党晓平, 胡小剑, 张岚, 等. 新生儿坏死性小肠结肠炎肠组织炎性浸润和血中常规炎性指标的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(5): 577-581.

flammatory indexes between the two groups was analyzed. Spearman rank correlation analysis was performed on the inflammatory indexes with statistical significance. The receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to determine the best critical value of the inflammatory index corresponding to the degree of inflammatory infiltration of intestinal tissue. **Results** The levels of WBC and PLT in the operation group were lower than those in the control group, the levels of CRP and PCT were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of WBC, PLT and PCT in children after surgery were lower than before surgery, the level of CRP was higher than before surgery, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The proportion of children with $PLT \geq 90.0 \times 10^9/L$ and $PCT < 15.0 \text{ ng/mL}$ in the mild group was higher than those in the severe group, while the proportion of children with $PLT < 90.0 \times 10^9/L$ and $PCT \geq 15.0 \text{ ng/mL}$ in the mild group was lower than that in the severe group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The level of PCT was positively correlated with the degree of inflammatory infiltration ($r = 0.54, P < 0.05$), and the level of PLT was negatively correlated with the degree of inflammatory infiltration ($r = -0.49, P < 0.05$). When the optimal cut-off values of PLT and PCT were $93.2 \times 10^9/L$ and 15.5 ng/mL , the area under the ROC curve (AUC) of PLT to predict the degree of inflammatory infiltration of intestinal tissue was 0.876 ($95\%CI: 0.765-0.903$), the sensitivity and specificity were 100.0% and 92.3% respectively. The AUC of PCT to predict the degree of inflammatory infiltration of intestinal tissue was 0.927 ($95\%CI: 0.835-0.963$), and the sensitivity and specificity were 100.0% and 93.4% respectively. **Conclusion** There are infections in the occurrence and development of NEC. PLT and PCT can better reflect the degree of inflammatory infiltration of intestinal tissue, and can indirectly predict the timing of surgery.

Key words: neonatal necrotizing enterocolitis; intestinal tissue pathological examination; conventional inflammation index

新生儿坏死性小肠结肠炎(NEC)是新生儿尤其是早产儿消化系统方面的一大医学难题,其机制尚未阐明,肠壁炎性浸润是国内外学者公认的原因之一^[1-2]。该病早期症状不典型,但发展迅速。国外研究报道 NEC 患儿中 $20\% \sim 40\%$ 需要外科手术治疗^[3]。目前,对 NEC 相关的危险因素研究较多,但对预测 NEC 发生及进展的相关临床指标报道较少。目前国内外报道较多的是炎症存在于 NEC 中,对 NEC 的早期标志物研究也较多,如肠型脂肪酸结合蛋白等,但临床未普及。NEC 进展迅速,目前临床能做到的是,对于 BELL-NEC 分期标准中 I、II 期患儿均给予第三代头孢菌素、氨苄西林联合甲硝唑等保守治疗,预防 NEC 的发生及进展,并在治疗过程中严密监测炎性指标,根据炎性指标的情况判断是否需要从保守治疗尽早转手术治疗,降低肠穿孔、腹膜炎和休克等并发症的发生率。本研究旨在寻找该指标,以期能更好地服务于临床。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择西安医学院第二附属医院与西安交通大学第二附属医院新生儿科 2018 年 1 月至 2019 年 8 月收治的 NEC 患儿 95 例为研究对象,其中采用手术治疗的 42 例患儿为手术组,采用保守治疗的 53 例患儿为对照组。2 组患儿性别,发生窒息、肺炎及其母亲妊娠并发子痫和合并糖尿病的比例等一般临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有

可比性,见表 1。患儿家属知晓本研究,并签署知情同意书。手术组患儿根据 NEC 手术相对及绝对指征^[4]行手术治疗,手术后肠组织标本经监护人签署知情同意后常规送病理检查,并对病理检查情况进行肠组织炎性浸润程度评分,依据评分将手术组患儿分为轻度组(评分 < 3 分)、重度组(评分 ≥ 3 分)。

1.2 方法

1.2.1 肠组织炎性浸润程度评分 肠组织 HE 染色后在光镜下观察肠组织形态学改变,根据肠组织固有层分离,中性粒细胞浸润,绒毛脱落、坏死,血管扩张,以及间质水肿情况,由病理科资深医师双人复核下参照 NADLER 等^[5]和 CAPLAN 等^[6]报道的标准进行肠组织炎性浸润程度评分,评分标准:0 分,正常无损;1 分,轻微黏膜固有层分离;2 分,重度黏膜固有层分离,和(或)黏膜下层和肌肉层水肿;3 分,严重黏膜固有层分离,黏膜下层和肌肉层水肿,局部绒毛脱落;4 分,肠绒毛消失伴肠坏死。肠组织炎性浸润程度评分 ≥ 2 分确定为 NEC。

1.2.1 观察指标 观察并记录 2 组患儿整个病程中白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、C 反应蛋白(CRP)及降钙素原(PCT)炎性指标水平。炎性指标的界限值:(1)WBC $> 25.0 \times 10^9/L$ 或 $< 5.0 \times 10^9/L$ 提示存在感染;(2)PLT $< 100.0 \times 10^9/L$,提示血小板减少;(3)CRP $\leq 5.0 \text{ mg/L}$ 为阴性, $> 5.0 \text{ mg/L}$ 为阳性;(4)PCT $< 0.5 \text{ ng/mL}$ 为阴性, $> 2.0 \text{ ng/mL}$ 提示

出现重症脓毒血症或脓毒性休克^{[7]341-342}, 0.5~2.0 ng/mL 则需结合患者的临床结果进行分析。WBC、PLT、CRP 采用迈瑞生物的 BC-7500 及配套试剂检测, PCT 采用基蛋生物的 Getein 1100 及配套试剂检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件对数据进行分析处理。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态分布且方差齐性的计量资料组间比较采用 t 检验; 计数资料以频数、率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。双变量非正态分布的等级资料的相关性分析采用

Spearman 秩相关; 将差异有统计学意义的炎性指标采用受试者工作特征 (ROC) 曲线及曲线下面积 (AUC) 分析最佳临界点, 以评估肠组织炎性浸润程度明显时所对应的炎性指标的最佳临界值, 并计算约登指数。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患儿临床一般资料比较 2 组患儿胎龄、出生体质量和新生儿高胆红素血症发生率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 2 组患儿一般临床资料比较

组别	<i>n</i>	母亲并发子痫 [<i>n</i> (%)]	母亲合并糖尿病 [<i>n</i> (%)]	胎龄 ($\bar{x} \pm s$, 周)	出生体重 ($\bar{x} \pm s$, g)	男 [<i>n</i> (%)]	肺炎 [<i>n</i> (%)]	窒息 [<i>n</i> (%)]	新生儿高胆红素 血症[<i>n</i> (%)]
手术组	42	13(30.9)	23(54.7)	30±3	1135±43	25(59.5)	16(38.0)	17(40.4)	31(73.8)
对照组	53	21(39.6)	26(49.0)	35±4	2146±58	30(56.6)	19(35.8)	15(28.3)	20(37.7)
χ^2/t		6.3	5.4	13.2	12.6	6.8	7.2	8.9	14.6
<i>P</i>		0.06	0.08	0.01	0.03	0.10	0.06	0.06	0.02

2.2 2 组患儿炎性指标水平比较 手术组患儿 WBC、PLT 水平低于对照组, CRP、PCT 水平高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 2 组炎性指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	WBC ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)	CRP (mg/L)	PCT (ng/mL)
手术组	42	5.3±1.1	90.0±4.6	20.6±3.1	16.9±2.1
对照组	53	8.5±1.3	213.0±5.1	14.7±1.3	8.6±0.1
<i>t</i>		6.96	13.02	6.84	11.23
<i>P</i>		0.02	0.01	0.03	0.01

2.3 手术组患儿手术前后炎性指标水平比较 手术后患儿 WBC、PLT、PCT 水平较手术前降低, CRP 水平较手术前升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 不同水平炎性指标的手术患儿在轻度组、重度组中的分布情况比较 不同水平 WBC、CRP 的手术患儿在轻度组、重度组中的分布比例比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 轻度组中 $PLT \geq 90.0 \times 10^9/L$ 、

$PCT < 15.0 \text{ ng/mL}$ 的患儿比例高于重度组, 而轻度组中 $PLT < 90.0 \times 10^9/L$ 、 $PCT \geq 15.0 \text{ ng/mL}$ 的患儿比例低于重度组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4。

2.5 炎性指标与肠组织炎性浸润程度的相关性 选择手术患儿在轻度组和重度组中分布差异有统计学意义的炎性指标 (PLT 和 PCT), 采用 Spearman 秩相关分析这些指标与肠组织炎性浸润程度的相关性可见, PCT 水平与炎性浸润程度呈正相关 ($r = 0.54, P < 0.05$), PLT 水平与炎性浸润程度呈负相关 ($r = -0.49, P < 0.05$), 见表 5。

表 3 手术前后手术组患儿炎性指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

时间	<i>n</i>	WBC ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)	CRP (mg/L)	PCT (ng/mL)
手术前	42	5.3±1.1	90.0±4.6	20.6±3.1	16.9±2.1
手术后	42	4.6±2.3	82.1±3.6	22.3±2.6	15.6±1.8
<i>t</i>		6.53	9.26	6.84	8.51
<i>P</i>		0.04	0.01	0.03	0.02

表 4 轻度组和重度组不同水平炎性指标的分布情况比较[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9/L$)		PLT($\times 10^9/L$)		CRP(mg/L)		PCT(ng/mL)	
		>25.0 或 <5.0	5.0~25.0	≥ 90.0	<90.0	≥ 20.0	<20.0	≥ 15.0	<15.0
轻度组	29	27(93.1)	2(6.9)	24(82.8)	5(17.2)	22(75.9)	7(24.1)	21(72.4)	8(27.6)
重度组	13	13(100.0)	0(0.0)	2(15.4)	11(84.6)	10(76.9)	3(23.1)	13(100.0)	0(0.0)
χ^2		4.36	4.78	9.96	9.87	5.12	4.51	10.96	9.56
<i>P</i>		0.08	0.07	0.02	0.02	0.06	0.07	0.01	0.02

2.6 PLT 和 PCT 对肠组织炎性浸润程度的预测价值 当 PLT、PCT 的最佳临界值分别为 $93.2 \times 10^9/L$ 、 15.5 ng/mL 时,PLT 预测肠组织炎性浸润程度的 AUC 为 $0.876(95\%CI:0.765 \sim 0.903)$,灵敏度和特异度分别为 100.0% 、 92.3% ;PCT 预测肠组织炎性浸润程度的 AUC 为 $0.927(95\%CI:0.835 \sim 0.963)$,灵敏度和特异度分别为 100.0% 、 93.4% 。见表 6、

图 1。

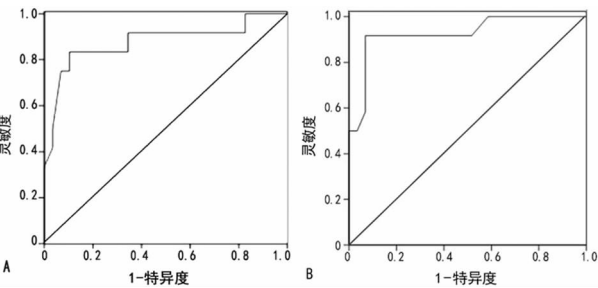
表 5 PCT 和 PLT 水平与 NEC 肠组织炎性浸润程度的相关性分析

指标	<i>r</i>	<i>P</i>
PCT	0.54	<0.05
PLT	-0.49	<0.05

表 6 PCT 和 PLT 对 NEC 炎性浸润程度的预测价值

指标	AUC	<i>P</i>	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	最佳临界值
PLT	0.876	0.031	0.765~0.903	100.0	92.3	0.92	$93.2 \times 10^{12}/L$
PCT	0.927	0.036	0.835~0.963	100.0	93.4	0.93	15.5 ng/mL

注:约登指数=灵敏度+特异度-1。



注:A、B 分别为 PLT、PCT 的 ROC 曲线。

图 1 PLT 和 PCT 预测肠组织炎性浸润程度的 ROC 曲线

3 讨 论

NEC 是常见的新生儿消化道急症,病因尚不完全明确,新生儿肠道黏膜屏障发育不成熟、微血流灌注失衡、肠道菌群异位定植、肠黏膜免疫应激性增高都是致病因素,迄今为止,仍不知是何种因素居主导地位,但肠道黏膜受损,细菌入侵这一观点国内外学者已达成共识^[2,8]。参照《实用新生儿学》^[7]478-482 BELL-NEC 分期标准Ⅰ、Ⅱ期均给予保守治疗,当达到Ⅲ期时根据手术相对及绝对指征,选择继续保守治疗或急诊剖腹探查治疗。目前临床缺乏生物学指标去更好地评判手术时机,防止肠穿孔、休克、死亡的发生。

临床常发现 NEC 合并新生儿高胆红素血症的概率明显升高,与本研究结果一致,或许因为全身感染诱发红细胞破坏过多,皮肤黄染明显,也可能因为 NEC 常常合并败血症,而新生儿高胆红素血症往往是新生儿败血症的首发临床表现,这在文献^[8]中有报道。在对基础疾病的研究中还发现,手术组患儿胎龄及出生体质量与对照组有差异,这与郑泽兵等^[9]报道的小胎龄及低出生体质量增加手术治疗的风险一致。手术组炎性指标异常程度较对照组更为明显,可见炎症可加重疾病严重程度,4 个常规炎性指标均有异常,但何种指标更具有意义,值得继续研究。手术后患儿炎性指标的恶化,与文献^[10-11]报道一致,可能与手术打击,机体产生应激反应有关,也可能与 NEC 细菌感染产生的炎症级联反应导致炎性指标异常程度增

加,也可能因手术后负责产生免疫球蛋白的 B 细胞数目较手术前升高,致体液免疫成分在手术后进一步升高,提示机体处于感染的急性期,故手术后炎性指标异常程度较手术前更为明显。

WBC 是最常见的炎性指标,但在新生儿这个特殊年龄阶段,其波动范围较大,目前认为新生儿 $WBC > 25 \times 10^9/L$ 或 $< 5 \times 10^9/L$ 均提示重度感染,在评判感染中较敏感,但对区分细菌或病毒感染及评判感染程度时欠佳^[12]。本研究发现,NEC 患儿中 WBC 明显异常,但相关性分析发现,WBC 的异常情况与肠道炎性浸润程度的相关性不强,可能因 WBC 受胎龄、日龄及免疫等多方面因素的影响,反映细菌感染的特异度欠佳有关。CRP 是肝脏合成的急性时相反应蛋白,可在炎症反应后 6~8 h 升高,48~72 h 达高峰,在特异性及非特异性炎症反应中均可升高^[13],合并有心血管系统疾病或病毒感染时亦可升高,故灵敏度高,特异度稍差。本研究发现,手术组 CRP 水平升高明显,但 CRP 与肠组织炎性浸润的严重程度无相关性,可能与 NEC 患儿常合并循环障碍,进而刺激肝脏加速分泌 CRP,或因 NEC 患儿在感染状态中,能量消耗过多,体内正常细胞氧化代谢障碍,肝脏等脏器供能减少,刺激 CRP 过多分泌有关。PCT 由甲状腺合成,是反映机体感染的一项敏感指标,当感染时,体内的炎性细胞可以在毒素作用下产生 PCT,2 h 内可升高,6 h 达高峰,8~24 h 保持高水平状态^[14]。PCT 本质是一种蛋白质,在体内受到细菌入侵时升高,而过敏或病毒入侵时基本无改变或改变不大,故常用于评判感染程度,尤其是应用于重症感染患者中,文献^[15]报道通过监测 PCT 的改变可以判断重症感染患者的预后,这与本研究结果一致。PCT 是反映 NEC 肠组织炎性浸润程度的良好指标,最佳临界值为 15.5 ng/mL ,如继续升高,可能提示肠壁接近坏死,需要及时手术干预。PLT 是 NEC 进展的另外一个重要客观指标,在发生严重感染时,血小板穿越血管壁,被内皮

细胞隔离,并被不可逆地激活、破坏,不再回到循环池中,同时,在炎症发生过程中,体内的凝血系统被激活,发生弥散性血管内凝血(DIC),PLT 进一步减少^[16]。MINER 等^[17]发现 NEC Ⅲ期患儿的 PLT 明显低于Ⅱ期患儿($P<0.001$)。黄艳等^[18]发现 PLT 降低与 NEC 不良预后直接相关,并得出 PLT 在预后不良患儿中的最佳临界值为 $95.5\times10^9/L$,PLT 持续下降,往往提示预后不良,也有文献^[19]报道 PLT 降低是 NEC 的独立危险因素,甚至有研究提出 PLT 下降是 NEC 手术介入治疗的指征^[20]。本研究也发现,PLT 与肠组织炎性浸润程度呈负相关,其中 PLT 的降低可能与肠道黏膜受损,黏膜下出血、微循环障碍,发生 DIC 有关。还有学者研究发现,血小板活化因子参与 NEC 的发生^[21],故 PLT 的下降可能与 NEC 患儿回肠末端血小板活化因子分泌增多有关,血小板活化因子与相应受体结合激活多条传导通路,导致炎症介质释放增加,肠道黏膜受损,进一步加重血小板活化因子的释放,加重血小板聚集,血管通透性增加,导致 PLT 下降。

本研究表明,对于小胎龄儿、低出生体质量患儿,突然皮肤黄染加重且伴有腹胀的新生儿,需要高度警惕 NEC 的发生。炎症参与了 NEC 的发生、发展过程,临床常规监测的炎性指标中 PLT 和 PCT 的变化更能反映肠组织的炎性浸润程度,动态监测 PLT 和 PCT 更能明确疾病的严重性。在保守治疗时,若 PLT 低于 $93.2\times10^9/L$ 、PCT 高于 15.5 ng/mL ,则患儿可能需要手术治疗。但本研究样本量较少,得出的 PCT 及 PLT 最佳临界值可能不能直接指导临床,仍需要大样本对最佳临界值进行探讨。

参考文献

[1] 张岚,白铂亮,王莉,等. SIRT 信号通路在新生儿坏死性小肠结肠炎肠组织中的表达研究[J]. 海南医学院学报, 2019,25(8):578-582.

[2] NEU J, WALKER W A. Necrotizing enterocolitis[J]. N Engl J Med, 2011,364(3):255-264.

[3] ZHANG H Y, WANG F, FENG J X. Intestinal microcirculatory dysfunction and neonatal necrotizing enterocolitis [J]. Chin Med J(Engl), 2013,126(9):1771-1778.

[4] 唐维兵,刘翔,耿其明,等. 新生儿坏死性小肠结肠炎的手术指征探讨[J]. 中华小儿外科杂志, 2015,36(2):100-104.

[5] NADLER E P, DICKINSON E, KNISELY A, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis[J]. J Surg Res 2000,92(1):71-77.

[6] CAPLAN M S, JILLING T. Neonatal necrotizing entero-

colitis: possible role of probiotic supplementation [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2000,30(suppl 2):S18-S22.

[7] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[8] 林锦. 新生儿坏死性小肠结肠炎发病机制研究进展[J]. 现代实用医学, 2013,25(11):1204-1207.

[9] 郑泽兵,刘远梅,张帆,等. 降钙素原、白细胞介素 6、C 反应蛋白在新生儿坏死性小肠结肠炎手术时机选择中的应用研究[J]. 临床小儿外科杂志, 2019,18(5):361-367.

[10] ZHANG H, CHEN J P, Wang Y, et al. Predictive factors and clinical practice profile for strictures post-necrotising enterocolitis[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(10): e6273.

[11] 孙静,李彦媚,陈慧敏,等. 新生儿坏死性小肠结肠炎回肠造口术后细胞和体液免疫水平的改变[J]. 中华小儿外科杂志, 2019,40(2):127-131.

[12] 刁志英,刘天鉴,钱爱民,等. 降钙素原、C 反应蛋白及白细胞计数在诊断新生儿感染中的应用价值[J]. 实用临床医药杂志, 2019,23(4):84-86.

[13] GILFILLAN M, BHANDARI V. Biomarkers for the diagnosis of neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis: Clinical practice guidelines[J]. Early Hum Dev, 2017, 105:25-33.

[14] CHERNYSHOV S, ALEXEEV M, RYBAKOV E, et al. Risk factors and inflammatory predictors for anastomotic leakage following total mesorectal excision with defunctioning stoma[J]. Pol Przegl Chir, 2018,90(3):31-36.

[15] 陈美芳,陈春玲,叶灵燕,等. 降钙素原变化率在重症肺炎中的诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(7):993-996.

[16] 焦建成,余加林. 血小板计数与新生儿败血症预后关系分析[J]. 重庆医学, 2010,39(15):1970-1972.

[17] MINER C A, FULLMER S, EGGETT D L, et al. Factors affecting the severity of necrotizing enterocolitis [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2013,26(17):1715-1719.

[18] 黄艳,梁小琴,张敏,等. 新生儿坏死性小肠结肠炎检测指标与预后的相关性分析[J]. 国际儿科学杂志, 2018,45(7):567-571.

[19] 黄艳,梁小琴,张敏,等. 新生儿坏死性小肠结肠炎不良预后危险因素分析[J]. 中华新生儿科杂志, 2018,33(5):368-371.

[20] 高利华,王杨,汪莉. 新生儿坏死性小肠结肠炎手术介入治疗的相关性分析[J]. 西北国防医学杂志, 2018,39(6):382-385.

[21] 余胜华,吕志宝. 血小板活化因子在新生儿坏死性小肠结肠炎发病中的作用[J]. 中华小儿外科杂志, 2017,38(6):475-479.

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 05. 002

免疫固定电泳在多发性骨髓瘤辅助诊断中的临床价值^{*}

翟 妮¹, 王昌敏^{2△}

1. 新疆医科大学研究生学院, 新疆乌鲁木齐 830054; 2. 新疆维吾尔自治区
人民医院临床检验中心, 新疆乌鲁木齐 830001

摘 要:目的 探讨血清免疫固定电泳在多发性骨髓瘤(MM)的辅助诊断与治疗中的临床价值。方法 以 2017 年 1 月至 2019 年 10 月就诊于新疆维吾尔自治区人民医院的 74 例 MM 患者作为研究对象, 分别取血清进行免疫固定电泳与蛋白电泳, 收集两种电泳方法的 M 蛋白检测结果并进行统计学处理。结果 74 例 MM 患者中, 血清蛋白电泳检出 M 蛋白 51 例(68. 9%), 免疫固定电泳检出 72 例(97. 3%), 其中 IgG 型 47 例(63. 5%), IgA 型 15 例(20. 3%), IgM 型 4 例(5. 4%), 轻链型 6 例(8. 1%), 血清免疫固定电泳 M 蛋白检出率高于血清蛋白电泳($P<0. 05$)。结论 血清免疫固定电泳能够快速、便捷而又准确地对 MM 进行诊断及分型, 具有重要的临床价值, 应将其作为 MM 常规的检测方法之一。

关键词:多发性骨髓瘤; 免疫固定电泳; 血清蛋白电泳; M 蛋白

中图法分类号: R733. 3 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2021)05-0582-04

Clinical value of immunofixation electrophoresis in auxiliary diagnosis of multiple myeloma^{*}

ZHAI Ni¹, WANG Changmin^{2△}

1. Graduate School of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xingjiang 830054, China;
2. Clinical Laboratory Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous
Region, Urumqi, Xingjiang 830001, China

Abstract: Objective To investigate the clinical value of serum immunofixation electrophoresis in the auxiliary diagnosis and treatment of multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 74 patients with MM who were admitted to the People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous region from January 2017 to October 2019 were selected as the research subjects, their serum samples were collected for immunofixation electrophoresis and protein electrophoresis respectively, and the M protein detection results of the two electrophoresis methods were collected and statistically analyzed. **Results** Among 74 patients with MM, 51 cases (68. 9%) were detected M protein by serum protein electrophoresis, 72 cases (97. 3%) were detected M protein by immunofixation electrophoresis, including 47 cases (63. 5%) of IgG type, 15 cases (20. 3%) of IgA type, 4 cases (5. 4%) of IgM type and 6 cases (8. 1%) of light chain type. The detection rate of M protein in serum immunofixation electrophoresis was higher than that of serum protein electrophoresis ($P<0. 05$). **Conclusion** Serum immunofixation electrophoresis can quickly, conveniently and accurately diagnose and classify MM, and has important clinical value, it should be used as one of the routine detection methods for MM.

Key words: multiple myeloma; immunofixation electrophoresis; serum protein electrophoresis; M protein

多发性骨髓瘤(MM)是一种浆细胞的克隆性恶性肿瘤, 是常见的血液系统疾病, 以恶性浆细胞在患者的骨髓组织中的克隆性增殖、积聚和对相关终末器官的损害为特征^[1]。骨髓瘤细胞在患者骨髓内进行克隆性增殖, 导致患者骨骼的破坏。骨髓瘤细胞会分泌大量单克隆免疫球蛋白, 即 M 蛋白, 使正常的免疫球蛋白的合成受到抑制, 患者就诊时常出现贫血、

感染、淀粉样变性、肾功能不全、高黏滞微循环障碍综合征等症^[2]。其症状多无特异性, 部分患者初次就诊时因各种不同的临床表现造成漏诊及误诊。目前我国, MM 发病的年龄大多为 50~60 岁, 男女比例大约为 3: 2^[3], 发病率也在逐年上升, 而且目前尚无彻底治愈, 严重影响了骨髓瘤患者的日常生活和生存情况。因此, MM 的早期诊断、鉴别诊断对治疗具

^{*} 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2016D01C106)。

作者简介: 翟妮, 女, 医师, 主要从事临床生化与分子生物学方面的研究。△ 通信作者, E-mail: wcm224@126. com。

本文引用格式: 翟妮, 王昌敏. 免疫固定电泳在多发性骨髓瘤辅助诊断中的临床价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(5): 582-584.

有非常重要的临床意义。目前诊断 MM 的重要辅助检测手段和方法有血清蛋白电泳、免疫固定电泳、骨骼影像学检查等多种辅助技术^[4]。本研究采用血清蛋白电泳和免疫固定电泳检测 MM 患者血清,分析检测结果,探讨血清蛋白电泳和免疫固定电泳检测在 MM 辅助诊断中的重要性及临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月到 2019 年 10 月就診于新疆维吾尔自治区人民医院的 MM 患者 74 例为研究对象,严格参照《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2015 年修订)》的诊断标准收集病例^[5]。74 例患者中,男 42 例,女 32 例;年龄为 40~76 岁,平均(59.6±11.8)岁。

1.2 方法 采用法国 Sebia 公司的 Hydrasys 型琼脂糖凝胶电泳仪和配套试剂盒进行检测,并用配套的处理系统进行处理。

1.2.1 血清蛋白电泳 取患者空腹静脉血 5 mL,以 3 500 r/min 离心 5 min,分离血清,避免使用溶血、脂血标本。向加样梳孔内加入 10 μL 血清标本,将加样梳放入加湿保存仓 5 min。取出 Hydragel 胶片,在控温板的下方铺好胶片后,将加样梳放入运送器进行血清蛋白琼脂糖凝胶电泳。电泳结束后取出干燥的胶片,使用氨基黑进行胶片的染色及脱色处理,待胶片彻底烘干后使用光密度仪对胶片在 570 nm 条件下进行扫描,并用配套的软件进行分析^[6]。

1.2.2 血清免疫固定电泳 吸取离心后的血清 10 μL 至加样梳内,将加样后的加样梳放入加湿保存仓 5 min 左右后即可进行电泳。在安装好加样模板后,在凝胶表面的泳道上分别加入固定液、抗 γ 重链抗血

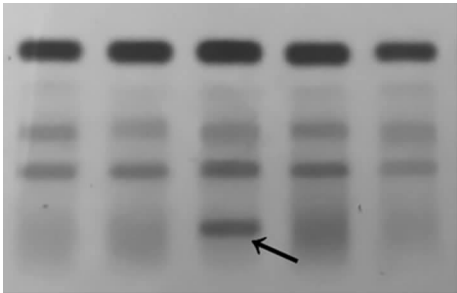
清、抗 α 重链抗血清、抗 μ 重链抗血清、抗 κ 轻链抗血清、抗 λ 轻链抗血清进行免疫固定。胶片干燥后进行着色、脱色和最终干燥处理,使用光密度计扫描胶片并分析结果。

1.3 观察指标 观察并比较 74 例患者血清免疫固定电泳和血清蛋白电泳的 M 蛋白的检出率,统计血清免疫固定电泳的分型情况。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行分析,计数资料用频数、率表示,数据比较采用 χ² 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

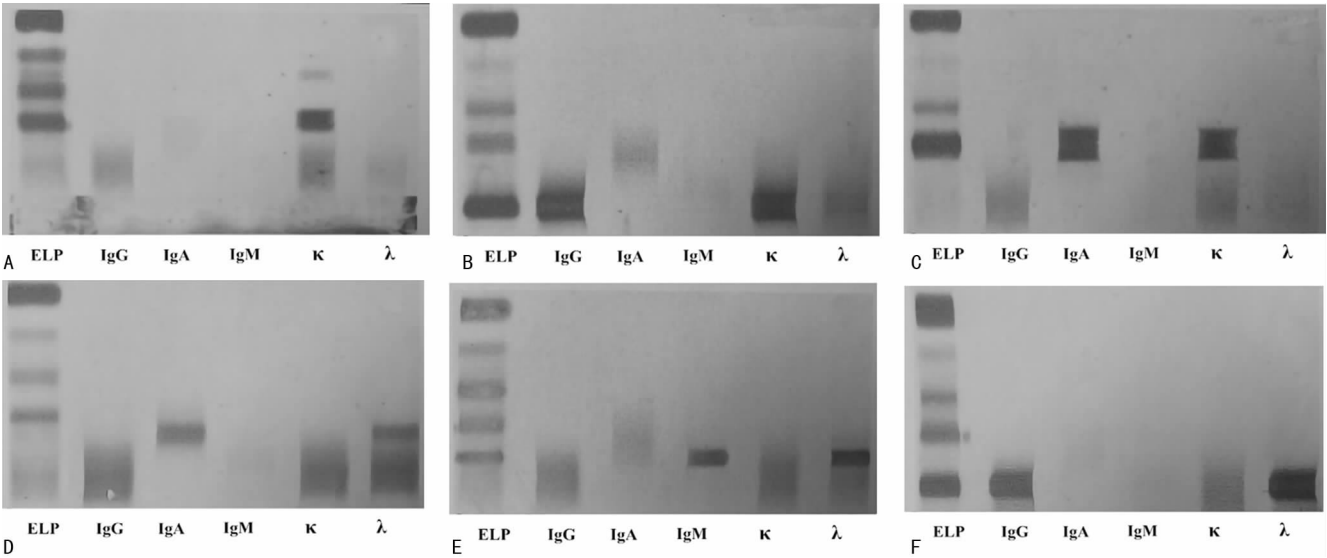
2.1 血清蛋白电泳结果 在 74 例 MM 患者中,有 51 例通过血清蛋白电泳检测出 M 蛋白,其中 M 蛋白多出现在 γ 球蛋白区,也出现于 α 球蛋白区或 β 与 γ 球蛋白区之间。见图 1。



注:箭头所示为 γ 球蛋白区出现浓集的 M 蛋白条带。

图 1 MM 患者血清蛋白电泳图谱

2.2 血清免疫固定电泳结果 74 例 MM 患者中有 72 例患者通过血清免疫固定电泳检测出 M 蛋白,见图 2。检测出的 72 例 MM 患者血清免疫固定电泳 M 蛋白分型结果见表 1。



注:A、B、C、D、E、F 表示血清免疫固定电泳结果分别为 κ 型、IgG-κ 型、IgA-κ 型、IgA-λ 型、IgM-λ 型、IgG-λ 型 M 蛋白。

图 2 MM 患者血清免疫固定电泳图谱

2.3 两种电泳方式 M 蛋白检出结果比较 血清免疫固定电泳 M 蛋白检出率(97.3%)高于血清蛋白电

泳 M 蛋白检出率(68.9%),差异有统计学意义(P<0.05)。见表 2。

表 1 74 例 MM 患者血清 M 蛋白免疫固定电泳结果				
电泳结果	n	κ 链(n)	λ 链(n)	构成比(%)
M 蛋白阴性	2	—	—	2.7
M 蛋白阳性	72	30	42	97.3
IgG 型	47	18	29	63.5
IgA 型	15	7	8	20.3
IgM 型	4	3	1	5.4
轻链型	6	2	4	8.1

注:—表示无数据。

表 2 两种电泳方法 M 蛋白的检出率比较				
电泳方式	n	M 蛋白阳性 (n)	M 蛋白阴性 (n)	检出率 (%)
血清蛋白电泳	74	51	23	68.9
免疫固定电泳	74	72	2	97.3

3 讨 论

MM 是一种细胞遗传学异质性的浆细胞恶性增殖性疾病,恶变的浆细胞株进行克隆性增生,分泌大量的某种异常的免疫球蛋白(M 蛋白),使得正常免疫球蛋白相应减少^[7]。MM 的病因可能是机体正常免疫功能缺陷导致骨髓微环境发生改变,以及大量细胞因子对骨髓基质细胞产生异常作用,致使克隆发生选择性扩增。同时,骨髓瘤细胞克隆后分泌大量破骨细胞活化因子激活破骨细胞,引起溶骨性损伤和浸润性受损,抑制了骨髓正常造血功能,从而引起骨痛、贫血、乏力等临床症状^[8]。由于 MM 临床发病缓慢,早期大多表现为骨痛、贫血、红细胞沉降率增快等多种不典型临床症状,且骨髓细胞的形态学检查很难将其与浆细胞白血病区分开来,免疫球蛋白的增加也不能与诸如巨球蛋白血症等疾病区分开来,故容易误诊或漏诊。患者病情一旦加重或发展到晚期,易出现出血、肾衰竭等危象。因此,MM 的早期诊断极为重要,通常依据临床症状、免疫球蛋白定量和骨髓细胞形态学检查等结果来诊断。血清蛋白电泳及免疫固定电泳是目前测定 M 蛋白的主要方法。血清蛋白电泳可以更好地获得血浆蛋白整体的图谱,能够检测 M 蛋白是否存在(α 至 γ 球蛋白区间出现 M 条带),但是通过血清蛋白电泳难以很好地区分 β 球蛋白区与 γ 球蛋白区出现的急性时相反应蛋白或脂蛋白急剧增加时所引起的峰型,需要通过免疫固定电泳进行确认^[9]。免疫固定电泳技术将区带电泳结果和抗原-抗体反应相结合,是目前最广泛的应用于鉴别 M 蛋白的方法之一^[10]。此技术用于分析样品中的特异性抗原,具有较高的检出灵敏度和特异度,对 MM 和恶性单克隆免疫球蛋白血症中异常免疫球蛋白的早期诊断、分型有重要意义^[11]。免疫固定电泳可以用于直接判断 M 蛋白的类型,特别是在 IgA、轻链型 MM 的早

期诊断中,免疫固定电泳对单克隆免疫球蛋白的早期检出率明显地要优于血清蛋白电泳^[12],此技术对单克隆免疫球蛋白检测的灵敏度较高^[13],能够早期检测出含量非常少的单克隆免疫球蛋白成分,用于疾病的早期诊断和指导治疗效果好。

本研究 74 例 MM 患者中,血清蛋白电泳检出 M 蛋白 51 例(68.9%),免疫固定电泳检出 72 例(97.3%),其中 IgG 型 47 例(63.5%),IgA 型 15 例(20.3%),IgM 型 4 例(5.4%),轻链型 6 例(8.1%),可见血清免疫固定电泳的 M 蛋白检出率高于血清蛋白电泳($P<0.05$),其对 M 蛋白的分型也具有十分重要的临床意义。不同免疫球蛋白分型的 MM 所表现的临床症状不尽相同,治疗方案也有所不同。因此,免疫固定电泳对于 MM 的早期诊断和治疗具有重要的临床价值。

综上所述,免疫固定电泳是 MM 诊断的重要检查方法,相比于骨髓细胞形态学、免疫球蛋白定量、血清蛋白电泳等检测方法,其能够快速、便捷而又准确地对 MM 进行诊断及分型,为 MM 的早期诊断提供及时、准确的实验室依据,具有重要的临床价值,应将其作为 MM 常规的检测方法之一。

参考文献

[1]

RAJKUMAR S V,DIMOPOULOS M A,PALUMBO A, et al. International myeloma working group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma[J]. Lancet Oncol,2014,15(12):E538-E548.

[2]

金炜,管俊,陈家楠,等.多发性骨髓瘤骨病发病机制及治疗的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2018,12(11):630-634.

[3]

林晓燕,周建锋,张鹏.血管性血友病因子抗原、D-二聚体在多发性骨髓瘤中的意义[J]. 中国热带医学,2015,15(9):1129-1131.

[4]

王艳,王喆,王东旭.血清免疫固定电泳、血清蛋白电泳、免疫球蛋白定量对多发性骨髓瘤的临床诊断价值[J]. 首都食品与医药,2017,24(8):136-137.

[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(2015 年修订)[J]. 中华内科杂志,2015,54(12):1066-1070.

[6]

黄前川,艾翠芳,孟慧,等.用免疫球蛋白重/轻链对比值发现同一泳带 IgG-κ 和 IgM-κ 双 M 蛋白血症 1 例[J]. 临床检验杂志,2018,36(1):31-33.

[7]

LAHUERTA J J,MARTINEZ-LOPEZ J,SERNA J D,et al. Remission status defined by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients[J]. Br J Haematol,2000,109(2):438-446.

[8]

鲁家才,田小龙,唐小勇.血清免疫固定电泳检测在临床中的运用价值[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2017,30(3):476-477.

(下转第 588 页)

性。随着国产试剂研发的投入,市场上已经出现了与进口试剂质量相当的国产试剂^[18-19],甚至部分国产试剂已经优于部分进口试剂^[20]。国产试剂相对于进口试剂而言,具有检测设备开放、所需样本量小、价格低廉等优势,更容易被患者和临床医生所接受。但是国产试剂普遍面临着仪器设备的自动化程度较低、低值的重复性较差等缺点,这些都需要在下一步的研发中进行完善。

参考文献

[1] 中国疾病预防控制中心. 2018 年第 3 季度全国艾滋病性病疫情[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(11): 1075.

[2] 李敬云. HIV 早期感染诊断方法与运用[J]. 传染病信息, 2007, 20(6): 352-356.

[3] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2015 年修订版)[J]. 中国病毒杂志, 2016, 6(6): 401-427.

[4] 张岭, 蒋岩, 潘品良. HIV-1 病毒载量检测常用技术及研究进展[J]. 传染病信息, 2015, 28(6): 352-356.

[5] 潘品良, 蒋岩. HIV-1 病毒载量测定及质量保证指南(试行)[S]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2008: 13-16.

[6] 邹静波. 某国产 HIV-1 病毒载量检测试剂盒的临床应用性能评估[J]. 中国艾滋病性病, 2017, 23(2): 94-97.

[7] VANWALSCAPPEL B, RATO S, PEREZ-OLMEDA M, et al. Genetic and phenotypic of sequential vpu alleles from HIV-infected IFN-treated patients [J]. Virology, 2015, 500: 247-258.

[8] 尚红. 中国艾滋病流行和检测及治疗现状与发展趋势[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(10): 1088-1090.

[9] COHEN M S, CHEN Y Q, MACAULEY M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy[J]. N Engl J Med, 2011, 365(6): 493-505.

[10] UNAIDS. 90-90-90-An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic[EB/OL]. [2020-05-20]. [http://catalogue.safaiids.net/publications/90-90-90-ambitious-](http://catalogue.safaiids.net/publications/90-90-90-ambitious-treatment-target-help-end-aids-epidemic)

[treatment-target-help-end-aids-epidemic](http://catalogue.safaiids.net/publications/90-90-90-ambitious-treatment-target-help-end-aids-epidemic).

[11] MURPHY D G, COTE L, FAUVEL M, et al. Multicenter comparison of Roche Cobas Amplicor Monitor version1. 5, Organon Teknike NucliSens QT with extractor, and Bayer Quantiplex version3. 0 for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(11): 4034-4041.

[12] 李梅, 王静. 某国产 HIV-1 核酸定量检测试剂盒的应用性能评估[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(16): 2220-2225.

[13] 孙国清, 闫江舟, 薛秀娟, 等. 国内某人类缺陷病毒 I 型(HIV-1)核酸检测试剂盒的自动化应用性能评估[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(18): 3054-3055.

[14] 丁莉莎, 陈曦, 熊晓燕, 等. 一种新型国产试剂检测 HIV-1 病毒载量[J]. 实用预防医学, 2014, 21(1): 19-21.

[15] 李繁, 蒋岩, 王天怡, 等. 某种人类免疫缺陷病毒 1 型核酸定量检测试剂盒的性能评估[J]. 中华疾病控制杂志, 2013, 17(7): 605-608.

[16] 钟平. HIV 分子流行病学研究与实践进展[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2019, 4(3): 137-144.

[17] LI K, OU W D, FENG Y, et al. Near full-length genomic characterization of a novel HIV type 1 recombinant form (CRF01_AE/B) Identified from Anhui, China[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2018, 34(12): 1100-1105.

[18] 李剑军, 方宁烨, 邓月琴, 等. 一种国产 HIV-1 病毒载量试剂与进口试剂的对比研究[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(2): 199-201.

[19] 蔡侃儒, 程林, 陈伟梅, 等. 两种 HIV-1RNA 定量检测方法的临床对比研究[J]. 中国艾滋病性病, 2019, 25(1): 18-21.

[20] 李繁, 蒋岩, 屈然, 等. 两种 HIV-1 核酸定量检测试剂盒 V2.0 的对比研究[J]. 中国艾滋病性病, 2014, 20(3): 146-148.

(收稿日期: 2020-05-25 修回日期: 2020-12-27)

(上接第 584 页)

[9] 冉学兵. 免疫固定电泳对诊断多发性骨髓瘤的临床价值[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(2): 87-88.

[10] 严湘红. 免疫固定电泳技术及临床应用进展[J]. 医学临床研究, 2018, 35(4): 713-715.

[11] MISRA A, MISHRA J, CHANDRAMOHAN, J. et al. Old but still relevant: high resolution electrophoresis and immunofixation in multiple myeloma[J] Indian J Hematol Blood Transfus, 2016, 32(1): 10-17.

[12] 李小燕, 周铁成, 程晓东. 血清免疫固定电泳和血清游离轻链检测在辅助诊断多发性骨髓瘤中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9): 1139-1141.

[13] TRACY E, ANDREWS D M, CONSTANTIN M A, et al. Differences identified between serum and urine immunofixation electrophoresis[J]. Clin Chim Acta, 2015, 439(1): 68-70.

(收稿日期: 2020-03-07 修回日期: 2020-12-28)