

know publications & media pvt ltd, 2014, 7 (2): 177.

[14] Nandwani R, Krishnan M G, Chandrakar S K, et al. Role and accuracy of rapid on-site evaluation of ct: guided fine needle

aspiration cytology of thoracic lesions [J]. Journal of Evolution of Medical & Dental Sciences, 2014, 3 (23): 6526-6538.

• 临床研究 •

慢性乙型肝炎病毒感染患者血清 sPD-1 检测的临床意义

福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院消化内科 (福州 350001) 黄雪平 王明霞 江丽凤¹ 陆玉萍 林志辉²

【摘要】 目的 探讨血清中可溶性程序性死亡因子-1 (sPD-1) 在慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染患者中检测的临床意义。**方法** 选择我院就诊的慢性 HBV 感染非肝癌患者 41 例 (慢性 HBV 感染组) 和乙型肝炎性肝癌 (HCC) 患者 59 例 (HCC 组), 采用 ELISA 技术检测两组血清 sPD-1 的水平。比较 sPD-1 在慢性 HBV 感染组和 HCC 组之间及 HCC 组肝癌手术前后差异, 分析慢性 HBV 感染患者 sPD-1 水平与性别、年龄、抗病毒治疗等因素的关系。**结果** 慢性 HBV 感染患者血清 sPD-1 为 94.0 (85.0, 128.0) pg/mL, 而乙型肝炎性肝癌患者血清 sPD-1 为 28 (9.0, 44.5) pg/mL, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。sPD-1 在肝癌与 HBV 感染非肝癌患者之间具有明显鉴别作用, 其截断值为 63 pg/mL (AUC: 0.916, $P < 0.001$)。肝癌患者 sPD-1 水平从切除前的 106 (43, 120) pg/mL 下降至切除后 2 天的 91 (34, 100) pg/mL, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。慢性 HBV 感染抗病毒组 sPD-1 水平 [(111.37 ± 59.13) pg/mL] 明显低于未抗病毒组 [(306.09 ± 59.13) pg/mL], 差异有统计学意义 ($P = 0.025$)。慢性 HBV 感染 sPD-1 水平与年龄呈负相关 ($r = -0.82$, $P < 0.05$), 与性别等其他因素无明显关联 ($P > 0.05$)。**结论** sPD-1 在慢性 HBV 感染和肝癌的发生中可能发挥了一定的作用; 监测血清 sPD-1 值, 可能有助于预测乙型肝炎性肝癌的发生, 对肝癌有鉴别诊断的价值。

【关键词】 可溶性程序性死亡因子-1; 乙型肝炎; 肝癌; 抗病毒

【中图分类号】 R512.6⁺2 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2022)03-0008-04

Detection and clinical significance of soluble programmed death factor-1 in patients with chronic viral hepatitis

B HUANG Xueping, WANG Mingxia, JIANG Lifeng, LU Yuping, LIN Zhihui. Department of digestive internal medicine, Fujian Provincial Hospital, Provincial Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350001, China

【Abstract】 Objective To investigate the clinical significance of serum soluble programmed death-1 (sPD-1) detection in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** A total of 41 patients with chronic HBV infection without liver cancer (chronic HBV infection group) and 59 patients with HBV-induced hepatic carcinoma (HCC group) who were treated in our hospital were selected, and the serum sPD-1 levels in the two groups were detected by ELISA. sPD-1 of chronic HBV infection group and HCC group, as well as that before and after surgery in HCC group were compared, and the relationship between sPD-1 level and gender, age, antiviral therapy and other factors in patients with chronic HBV infection was analyzed. **Results** The serum sPD-1 of patients with chronic HBV infection was 94.0 (85.0, 128.0) pg/mL, while the serum sPD-1 of patients with HCC was 28 (9.0, 44.5) pg/mL, the difference was statistically significant ($P < 0.001$). sPD-1 has a distinct role in discriminating between HCC and HBV-infected non-HCC patients, with a cut-off value of 63 pg/mL (AUC: 0.916, $P < 0.001$). The level of sPD-1 in patients with HCC decreased from 106 (43, 120) pg/mL before resection to 91 (34, 100) pg/mL two days after resection, and the difference was statistically significant ($P < 0.001$). The level of sPD-1 in the antiviral group of chronic HBV infection (111.37 ± 59.13) pg/mL was significantly lower than that in the non-antiviral group (306.09 ± 59.13) pg/mL, and the difference was statistically significant ($P = 0.025$). The level of sPD-1 in chronic HBV infection was negatively correlated with age ($r = -0.82$, $P < 0.05$), and had no significant correlation with other factors such as gender ($P > 0.05$). **Conclusion** sPD-1 may play a certain role in the occurrence of chronic HBV infection and HCC. Monitoring serum sPD-1

基金项目: 福建医科大学启航基金 (2016QH108)

1 中山大学附属第五医院医保科; 2 通信作者, Email: 491589958@qq.com

value may help to predict the occurrence of HCC and has the value of differential diagnosis of HCC.

【Key words】soluble programmed death factor-1; hepatitis B; hepatocellular carcinoma; antiviral

乙型病毒性肝炎 (hepatitis B virus, HBV) 呈世界性流行, 世界卫生组织统计全球约 20 亿人曾感染 HBV, 其中 2.4 亿人为慢性 HBV 感染者^[1]。每年约 65 万人死于 HBV 感染所致的肝功能衰竭、肝硬化和肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)^[2]。程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 及其配体 (programmed death ligand-1, PD-L1) 信号通路是 B7/CD28 家族新成员, 该信号通路被认为与肿瘤免疫逃逸、慢性病毒感染等疾病密切相关^[3-4]。机体除了 T 细胞上膜结合型的 PD-1, 还有可溶性 PD-1 (soluble PD-1, sPD-1) 的存在。然而对于机体中 sPD-1 的产生及生理功能等尚未明确。本研究旨在探讨血清中可溶性程序性死亡因子-1 (sPD-1) 在慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染患者中检测的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 选择 2018 年 1—12 月于我院就诊的慢性 HBV 感染患者 41 例和乙型肝炎性肝癌患者 59 例。慢性 HBV 感染组患者男 45 例, 女 14 例, 年龄 48~65 (57.5±11.23) 岁。HCC 组患者男 28 例、女 13 例, 年龄 49~65 (56.5±12.89) 岁。两组患者的性别、年龄差异无统计学意义。HBsAg 和 (或) HBV DNA 阳性 6 个月以上判定为慢性 HBV 感染^[5]。乙型肝炎性肝癌的诊断基于肝组织病理检查结合血管造影、超声、CT 或 MRI, 并且 HBsAg、HBeAg 或 anti-HBe、anti-HBc 6 个月以上血清阳性^[6]。肝纤维化测定应用 FibroTouch-FT3000 (天津海斯凯尔医学技术公司) 测定。排除标准: 乙型肝炎性肝癌患者在入组前经任何手术、放化疗、微创及免疫治疗。本研究获得福建省立医院伦理委员会批准 (批件号 K2016-10-031), 所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法: 采用 ELISA 技术检测样本血清中 sPD-1 的水平, 每位患者常规静脉穿刺时取 10 mL 血置入 EDTA 管中, 将全血在 4℃ 3 000 rpm 条件下离心 10 min, 分离为血清和细胞部分, 血清在 -80℃ 恒温保存。血清中 sPD-1 浓度的测定采用酶联免疫吸附法试剂盒 (上海西唐生物公司, 生产批号: 1812181) 测定, 按照产家说明书进行。比较 sPD-1 在慢性 HBV 感染组和 HCC 组之间及肝癌手术前后差异, 分析慢性 HBV 感染患者 sPD-1 水平与性别、年龄、抗病毒治疗等临床指标的关系。

1.3 统计学分析: 采用软件 R 4.0 进行统计学分析。若计量资料满足正态分布, 使用均数±标准差进行统计描述, 两组间比较采用成组 *t* 检验; 若计量资料不满足正态分布, 使用中位数和四分位间距进行统计描述, 两组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。计数资料采用频数和百分比进行统计描述, 组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性 HBV 感染和乙型肝炎性肝癌患者血清 sPD-1 水平比较: 慢性 HBV 感染患者血清 sPD-1 为 94.0 (85.0, 128.0) pg/mL, 而乙型肝炎性肝癌患者血清 sPD-1 为 28 (9.0, 44.5) pg/mL, 差异有统计学意义 ($z = 55.8$, $P < 0.001$)。鉴于与慢性乙型肝炎患者相比, 乙型肝炎性肝癌患者 sPD-1 水平明显下降, 绘制 ROC 曲线, 评价血清 sPD-1 对慢性 HBV 感染与肝癌的鉴别作用。sPD-1 在 HCC 与 HBV 感染之间具有明显的鉴别作用, 其截断值为 63 pg/mL (AUC: 0.916, $P < 0.001$, 图 1)。

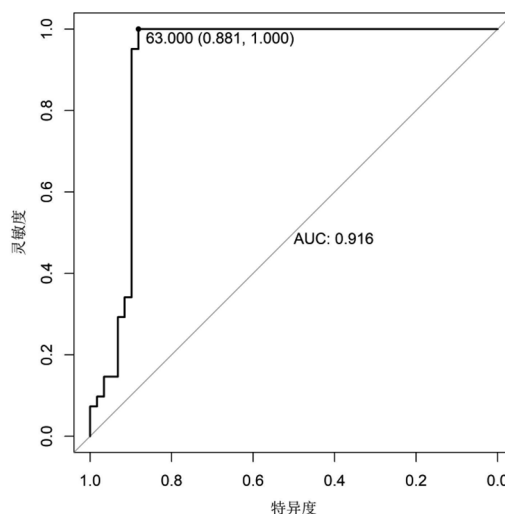


图 1 sPD-1 鉴别慢性乙型肝炎和乙型肝炎性肝癌患者 ROC 曲线

2.2 手术切除肿瘤对乙型肝炎性肝癌患者血清 sPD-1 影响: 纳入 33 例乙型肝炎性肝癌患者, 收集肿瘤切除前和术后 2 天的血清标本, 检测 sPD-1 水平。sPD-1 水平从切除前的 106 (43, 120) pg/mL 下降至切除后 2 天的 91 (34, 100) pg/mL, 差异

有统计学意义 ($t=3.71$, $P<0.001$)。

2.3 慢性 HBV 感染患者 sPD-1 水平亚组分析: 抗病毒组 sPD-1 水平为 90.75 (85.00, 109.00) pg/mL, 未抗病毒组 sPD-1 水平为 124.00 (104.50, 459.00) pg/mL, 经 Wilcoxon 秩和检验, 差异有统计学意义 ($z=2.25$, $P=0.024$)。而不同性别 [男: 95.50 (86.75, 152) pg/mL; 女: 94.00 (84.00, 106.00) pg/mL]、HBeAg 阳性及阴性 [阳性: 99.00 (87.50, 163.00) pg/mL; 阴性: 91.00 (82.75, 105.75) pg/mL] 患者之间 sPD-1 水平差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.4 慢性乙型肝炎患者 sPD-1 水平及其他临床指标间的相关性: 慢性乙型肝炎病毒感染 sPD-1 水平与年龄呈显著负相关 ($r=-0.82$, $P<0.05$), 与无创肝纤维化测定值、乙肝年限等均无明显相关性 (P 均 >0.05)。

3 讨论

程序性死亡受体-1 及其配体 (PD-1/PD-L1) 分子是肿瘤免疫逃逸及免疫耐受过程中的关键性因素。虽然 PD-L1 的表达已被初步检测, 但该检测预测准确性较低^[7]。此外, PD-L1 的表达检测需要有创的过程来获得肿瘤组织。血清 sPD-1 通过调节 PD-1 作用于慢性感染和肿瘤的免疫应答功能^[8]。目前鲜有对于 sPD-1 在慢性乙型肝炎及乙型肝炎性肝癌患者的水平和作用的研究。本文结果提示, 乙型肝炎性肝癌患者血清中 sPD-1 表达较慢性乙型肝炎患者明显下降, 可以预测乙型肝炎性肝癌发生, 这与范德环等^[9]研究的结果一致。可能原因是 sPD-1 表达下降使其对 PD-1/PDL1 信号途径封闭作用减弱, 从而诱导特异性细胞毒性 T 淋巴细胞凋亡, 促使肝癌细胞逃避机体免疫识别和免疫清除。另外本研究对比手术切除前后 sPD-1 变化, 发现肝癌肿瘤切除后 sPD-1 明显下降。因此, 基于血清 sPD-1 水平与乙型肝炎性肝癌密切相关, 推测血清 sPD-1 具有成为无创预测乙型肝炎性肝癌发生及手术疗效的生物标志物的潜力。

核苷(酸)类似物是目前抗 HBV 治疗的主要药物之一, 可以通过直接抑制 HBV 复制, 减少病毒载量发挥作用, 但其治疗过程中机体 HBV 特异性免疫的变化尚不清楚。本文结果提示, HBV 患者抗病毒治疗伴随着 sPD-1 表达的下降, 可能抗病毒促进 sPD-1 封闭 PD-1/PD-Ls 负性信号途径, sPD-1 消耗增多血浆水平下降。因此抗病毒治疗中可伴随着 CD4⁺T 细胞活性增加, 促进肿瘤细胞凋

亡。另有研究报道慢性乙型肝炎免疫耐受期 sPD-1 水平显著低于非免疫耐受期^[9]。当 ALT 处于低水平时候, sPD-1 是预测是否适合抗病毒治疗的独立因素^[10]。另一项长达 20 年的队列研究^[10]纳入 2 903 例男性慢性乙型肝炎患者, 结果发现血浆中 sPD-1 水平升高有助于维持高病毒载量 4 年甚至更长时间, 且在 HBV 基因 C 型中作用更明显。因此, 推测 sPD-1 可作为早期乙肝抗病毒治疗的预测因子, 使患者获益。

当然血清中也存在可溶性程序性死亡因子配体-1 (soluble programmed death ligand-1, sPD-L1) 因子, 本研究没有联合检测 sPD-L1, 可溶形式存在的分子 sPD1 与 sPD-L1 的存在使得 PD-1/PD-L1 通路无论是组成还是功能都更加复杂多变, 他们可能参与维持免疫系统的稳定性, 也参与介导了免疫相关疾病。总之机体免疫系统与肿瘤或病毒之间、系统内部之间错综复杂、相互协调平衡。

本研究存在一些不足, 没有进一步研究抗病毒过程中 sPD1 动态变化对抗病毒治疗效果的预测意义; PD-1 存在肿瘤异质性, 本研究样本量偏少, 因此需要更大样本多中心临床研究进一步验证本研究的结论。

参考文献

- [1] Ott JJ, Stevens G A, Groeger J, et al. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity [J]. Vaccine, 2012, 30 (12): 2212-2219.
- [2] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. Lancet, 2012, 380 (9859): 2095-2128.
- [3] Ohaegbulam K C, Assal A, Lazar-Molnar E, et al. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway [J]. Trends Mol Med, 2015, 21 (1): 24-33.
- [4] La X, Zhang F, Li Y, et al. Upregulation of PD-1 on CD4 (+) CD25 (+) T cells is associated with immunosuppression in liver of mice infected with Echinococcus multilocularis [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 26 (2): 357-366.
- [5] 段雪飞. 中国《慢性乙型肝炎防治指南(2015版)》要点解读 [J]. 中华全科医师杂志, 2016, 15 (6): 409-412.
- [6] Duan S, Zhang G, Han Q, et al. CTLA-4 exon 1 +49 polymorphism alone and in a haplotype with -318 promoter polymorphism may confer susceptibility to chronic HBV infection in Chinese Han patients [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38 (8): 5125-5132.
- [7] Mohammadzadeh S, Khanahmad H, Esmaeil N, et al. Produ-

cing Soluble Human Programmed Cell Death Protein-1: A Natural Supporter for CD4+ T Cell Cytotoxicity and Tumor Cells Apoptosis [J]. Iran J Biotechnol, 2019, 17 (4): e2104.

- [8] Onlamoon N, Rogers K, Mayne A E, et al. Soluble PD-1 rescues the proliferative response of simian immunodeficiency virus-specific CD4 and CD8 T cells during chronic infection [J]. Immunology, 2008, 124 (2): 277-293.

[9] 范德环, 张学光, 奚沁华, 等. 人可溶性 PD-1 在肝病患者血清中表达检测及临床意义 [J]. 免疫学杂志, 2015, 31 (9): 799-802.

- [10] Zhou L, Li X, Huang X, et al. Soluble programmed death-1 is a useful indicator for inflammatory and fibrosis severity in chronic hepatitis B [J]. J Viral Hepat, 2019, 26 (7): 795-802.

• 临床研究 •

早产儿视网膜病变与血小板参数的相关性研究

福建医科大学附属福州儿童医院 (福州 350005) 陈森华 章丽燕 罗银珠 刘惠敏 陈玉华 何浓浓 马笑影¹

【摘要】 目的 分析早产儿视网膜病变与血小板参数的相关性。**方法** 选择我院新生儿重症监护病房收治的出生胎龄 ≤ 32 周的早产儿 175 例, 依据眼底镜筛查结果分为早产儿视网膜病变 (ROP) 组和无早产儿视网膜病变 (非 ROP) 组, 其中 ROP 组 66 例, 胎龄 28.5 (27.43~29.75) 周, 出生体质量 1 100 (917.5~1 362.5) g, 轻度患儿 34 例, 重度患儿 32 例; 非 ROP 组 109 例, 胎龄 30.71 (29.14~31.43) 周, 出生体质量 1 480 (1 195~1 700) g。回顾性分析两组早产儿母亲妊娠期情况、生后 2 个阶段血小板参数、早产儿基本资料、并发症及治疗措施等指标。**结果** 单因素回归分析显示出生胎龄、辅助生殖技术、新生儿窒息、出生体质量、呼吸暂停、咖啡因、支气管肺发育不良 (BPD)、糖皮质激素、败血症、2 个阶段血小板计数、血小板分布宽度和血小板质量指数、总用氧时间、酸中毒、红细胞和血小板输注与 ROP 相关 ($P < 0.05$); 而母亲年龄、不良孕产史、分娩方式、胎盘早剥/植入、胎膜早破、羊水、宫内窘迫、妊娠糖尿病、妊娠期高血压、子痫前期/子痫、使用激素促胎肺成熟、双胎/多胎、两个阶段的血小板平均体积与 ROP 无明显相关性 ($P > 0.05$)。多因素分析结果显示酸中毒、出生胎龄、生后 1 周血小板分布宽度和生后 1 周血小板质量指数与 ROP 相关 ($P < 0.05$)。**结论** 酸中毒、生后 1 周血小板分布宽度较大, 生后 1 周血小板质量指数较小, 出生胎龄小是 ROP 发生的独立危险因素。

【关键词】 早产儿; 早产儿视网膜病变; 血小板参数; 危险因素

【中图分类号】 R722.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2022)03-0011-06

Study of platelet indices in preterm infants with retinopathy of prematurity CHEN Senhua, ZHANG Liyan, LUO Yinzhua, LIU Huimin, CHEN Yuhua, HE Nongnong, MA Xiaoying. The Affiliated Fuzhou Children Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350005, China

【Abstract】 Objective To determine the relationship between the retinopathy of prematurity (ROP) in preterm infants and platelet parameters. **Methods** A total of 175 preterm infants [gestational age (GA) ≤ 32 weeks] in the neonatal intensive care unit of our hospital were included, they were divided into ROP group and non-ROP group, according to the results of ophthalmoscope screening, 66 preterm infants in the ROP group with the GA was [28.5 (27.43-29.75)] weeks, the birth weight (BW) was 1 100 (917.5-1 362.5) g, among them 34 children with mild ROP, 32 children with severe ROP; 109 preterm infants in non-ROP group, the GA was [30.71 (29.14-31.43)] weeks, the BW was [1 480 (1 195-1 700)] g. The indexes about maternal pregnancy data, platelet parameters at two postnatal stages, basic informations of preterm infants, complications and therapeutic management were analyzed retrospectively. **Results** Univariate regression analysis showed that the GA, assisted reproductive technique, neonatal asphyxia, BW, apnea, caffeine use, bronchopulmonary dysplasia (BPD), glucocorticoid use, sepsis, platelet count (PLT) with platelet distribution width (PDW) and platelet mass index (PMI) at two stages, total oxygen time, acidosis, red blood cell transfusions and platelet transfusions were correlated with ROP ($P < 0.05$). And there were no significant relationship with ROP in maternal age, adverse gestational history, delivery mode, placental ab-

基金项目: 福州市 2019 年市级临床重点专科建设项目 (201912007)

¹ 通信作者