

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.019

◇临床医学◇

外周血中性粒细胞和淋巴细胞计数比值、血小板平均体积与支气管哮喘的相关性研究

史广林, 马珺, 严伟, 章城晨, 赵焕

作者单位: 南通市第六人民医院呼吸内科, 江苏 南通 226011

通信作者: 赵焕, 男, 副主任医师, 研究方向为呼吸系统疾病基础与临床, E-mail: zhaohuan0525@126.com

基金项目: 南通市卫生和计划生育委员会科研课题计划资助项目(WKZL2018072); 南通市市级科技计划(指导性)项目(JCZ18109)

摘要:目的 探讨中性粒细胞和淋巴细胞计数比值(NLR)及血小板平均体积(MPV)与支气管哮喘病情严重程度的相关性。方法 选取2017年1月至2018年12月在南通市第六人民医院确诊的支气管哮喘病人共162例,按照病情轻重分为稳定组、轻度组、重度组。记录不同组别的性别、年龄等资料及血常规、C反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、最大呼气流量占正常预计值的百分比(PEF%)、哮喘控制测试(ACT)评分。比较三组间MPV、NLR的差异,以及与炎症相关标志物、哮喘控制指标的相关性。结果 除PCT值在轻度组与稳定组间差异无统计学意义($P > 0.05$),随着病人病情加重NLR、MPV、PCT、CRP值重度组高于轻度组及稳定组,轻度组高于稳定组(均 $P < 0.001$)。ACT评分、PEF%值重度组低于轻度组及稳定组,轻度组又低于稳定组(均 $P < 0.001$)。NLR与CRP、PCT($r = 0.430, 0.334, P = 0.013, 0.021$)呈正相关;MPV与CRP、PCT呈正相关($r = 0.243, 0.370, P = 0.009, 0.011$)。NLR与CAT评分、PEF%呈负相关($r = -0.43, -0.37, P = 0.020, 0.019$),MPV与CAT评分、PEF%呈负相关($r = -0.38, -0.29, P = 0.014, 0.030$)。结论 NLR与MPV与气管的炎性水平呈正相关、跟临床症状的指标呈负相关,能够在一定程度上反映病情严重程度,有利于哮喘病人的病情评估。

关键词:哮喘; 中性粒细胞/淋巴细胞计数比值; 血小板平均体积; C反应蛋白质; 降钙素; 相关性

Correlation between NLR, MPV in peripheral blood and bronchial asthma

SHI Guanglin, MA Jun, YAN Wei, ZHANG Chengchen, ZHAO Huan

Author Affiliation: Department of Respiratory Medicine, The Sixth People's Hospital of Nantong, Nantong, Jiangsu 226011, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) and mean platelet volume (MPV) and the severity of bronchial asthma. **Methods** Totally 162 patients with bronchial asthma diagnosed in The Sixth People's Hospital of Nantong from January 2017 to December 2018 were assigned into stable group, mild group and severe group according to the severity of the disease. The data of sex, age and blood routine, C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), Interleukin-8 (IL-8), Interleukin-6 (IL-6), peak expiratory flow (PEF%) and asthma control test (ACT) scores were recorded. The differences in MPV and NLR among the three groups were compared, and the correlation of MPV and NLR with inflammatory markers and asthma control indicators was studied. **Results** Except that no difference was found in PCT value between mild group and stable group ($P > 0.05$), NLR, MPV, PCT and CRP values in severe group were higher than those in mild group and stable group, while the values in mild group were higher than those in stable group (all $P < 0.001$). ACT scores and PEF% in severe group were lower than those in mild group and stable group, while the values in mild group were lower than those in stable group (all $P < 0.001$). NLR was positively correlated with CRP and PCT ($r = 0.430, 0.334, P = 0.013, 0.021$). MPV was positively correlated with CRP and PCT ($r = 0.243, 0.370, P = 0.009, 0.011$). NLR was negatively correlated with CAT score and PEF% ($r = -0.43, -0.37, P = 0.020, 0.019$) and MPV was negatively correlated with CAT score and PEF% ($r = -0.38, -0.29, P = 0.014, 0.030$). **Conclusion** NLR and MPV are positively correlated with the inflammatory level of trachea and negatively correlated with the clinical symptoms, which can reflect the severity of the disease to a certain extent, and is conducive to the assessment of asthma patients.

Key words: Asthma; Neutrophil-lymphocyte ratio; Mean platelet volume; C-reactive protein; Calcitonin; Correlation

随着经济的快速发展和工业化进程的加快,人们的生活方式也发生了显著变化。全球哮喘患病

率逐年上升,这对人类健康构成了重大威胁^[1]。支气管哮喘是一种慢性气管炎症性疾病,炎症在疾病

的发生和发展中起着重要作用^[2]。因此,寻找能够反映哮喘炎症反应的指标,帮助判断哮喘病情和预后的变化,一直是研究热点。及时准确的监测气管炎症水平有助于早期的病情评估及诊疗干预。中性粒细胞和淋巴细胞计数比值(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)是近年来发现的与免疫状态和慢性炎症相关的一项指标。据报道,NLR在多种炎症相关疾病中显著升高,如慢性阻塞性肺疾病(COPD)^[3]、过敏性鼻炎^[4]、慢性肾功能衰竭^[5]等。血小板平均体积(mean platelet volume, MPV)作为血小板活化的主要参数,可以反映巨核细胞的增殖以及血小板生成。多项研究发现 MPV 其在冠心病^[6]、COPD^[7]、溃疡性结肠炎^[8]、慢性病毒性肝炎^[9]等疾病中显著变化,是反应炎症水平的标志物。本研究通过比较不同严重程度哮喘病人的NLR及MPV水平,了解它们之间的相关性,以此来对疾病预后进行判断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2017年1月至2018年12月在南通市第六人民医院确诊的支气管哮喘病人162例,其中门诊诊治的稳定期(包括临床缓解期及慢性持续期)病人50例;住院的急性发作期病人112例,轻中度病人作为轻度组共60例,重度、危重病人归为重度组共52例。纳入标准:支气管哮喘的诊断和分期依据中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《支气管哮喘防治指南(2016年版)》^[6]以及全球哮喘防治倡议(GINA2017版)。排除标准:患有血液系统疾病、肺栓塞、冠心病、慢性肝病、肺结核、慢性肾病、糖尿病、恶性肿瘤、COPD的病人;近1个月内使用全身糖皮质激素治疗和输注血液制品的病人。同时需排除血常规分析发现有贫血(男性血红蛋白 < 120 g/L,女性血红蛋白 < 110 g/L)、红细胞增多(男性红细胞计数 $> 6.0 \times 10^{12}$ /L,女性红细胞计数 $> 5.5 \times 10^{12}$ /L),白细胞计数异常($< 4 \times 10^9$ /L或 $> 10 \times 10^9$ /L)的病人。

1.2 研究方法 记录纳入研究的所有病人的性别、

年龄等基本情况。所有病人于就诊当日抽取静脉血约8 mL,使用血常规专用抗凝管,2 h内送检,全自动血细胞分析仪型号为DxH800。统计中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、MPV,并计算出NLR。同时统计同时期在我院健康体检人群的NLR及MPV。峰流速仪测定肺功能最大呼气流量占正常预计值的百分比(PEF%)。哮喘病人除检测血常规外,检测C反应蛋白(CRP)和降钙素原(PCT);哮喘控制测试问卷(ACT评分)。血清CRP使用全自动生化分析仪进行检测;PCT使用化学发光法来测定。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求,病人或近亲属对研究方案签署知情同意书。

1.3 统计学方法 采用SPSS 20.0软件对数据进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较使用单因素方差分析。分类变量的比较使用百分数进行描述,采用 χ^2 检验。相关性分析使用Pearson相关分析。一般比较采用 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,三组间两两比较,检验水准 $\alpha = 0.05/3 = 0.017$ 。

2 结果

2.1 病人一般资料的比较 稳定组与轻度组、重度组组间性别、年龄等临床资料差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组支气管哮喘年龄、性别比较

组别	例数	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	性别(男/女)/例(%)
稳定组	50	42.7 \pm 11.1	20/30
轻度组	60	40.5 \pm 10.5	25/35
重度组	52	49.5 \pm 10.3	28/24
$F(\chi^2)$ 值		1.853	(2.418)
P 值		0.120	0.299

2.2 各组间NLR、MPV、炎症相关指标、PEF%的比较 随着病人病情加重,重度组的NLR、MPV、PCT、CRP值显著高于轻度组与稳定组(均 $P < 0.001$);轻度组的NLR、MPV、CRP值显著高于稳定组(均 $P < 0.001$),但是PCT值两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。随病情加重ACT评分、PEF%水平逐

表2 各组支气管哮喘NLR、MPV、炎症相关指标、PEF%的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	NLR	MPV/fL	PCT/(μ g/L)	CRP/(mg/L)	ACT/分	PEF%
稳定组	50	2.18 \pm 1.49	10.05 \pm 0.59	0.35 \pm 0.13	5.45 \pm 1.25	19.10 \pm 3.65	80.3 \pm 10.05
轻度组	60	3.21 \pm 1.95 ^a	10.45 \pm 0.61 ^a	0.41 \pm 0.21	25.57 \pm 6.89 ^a	10.25 \pm 2.56 ^a	65.4 \pm 9.57 ^a
重度组	52	9.45 \pm 8.02 ^{ab}	10.87 \pm 0.75 ^{ab}	2.08 \pm 0.41 ^{ab}	50.45 \pm 9.97 ^{ab}	7.16 \pm 1.89 ^{ab}	35.5 \pm 6.58 ^{ab}
F 值		13.57	14.98	2.58	7.89	6.21	4.99
P 值		0.000	0.000	0.13	0.007	0.009	0.013

注: NLR为中性粒细胞和淋巴细胞计数比值,MPV为血小板平均体积,PCT为降钙素原,CRP为C反应蛋白,ACT为哮喘控制测试评分,PEF%为最大呼气流量占正常预计值的百分比。与稳定组比较,^a $P < 0.001$;与轻度组比较,^b $P < 0.001$

渐降低,重度组的ACT评分、PEF%值显著低于轻度组与稳定组(均 $P < 0.001$);轻度组的ACT评分、PEF%值显著低于稳定组(均 $P < 0.001$)。

2.3 哮喘病人炎症相关指标与NLR、MPV的相关性分析 结果显示,NLR与CRP、PCT呈正相关($r = 0.430, 0.334, P = 0.013, 0.021$);MPV与CRP、PCT呈正相关($r = 0.243, 0.370, P = 0.009, 0.011$)。

2.4 哮喘病人临床症状指标与NLR、MPV的相关性分析 结果显示,NLR与CAT评分、PEF%呈负相关($r = -0.43, -0.37, P = 0.020, 0.019$),MPV与CAT评分、PEF%呈负相关($r = -0.38, -0.29, P = 0.014, 0.030$)。

3 讨论

支气管哮喘作为一种慢性气管炎症性疾病,其急性发作时严重程度不一,严重者可在数分钟内出现生命危险,尽早对病情进行恰当的评估并进行干预能够有效减少急性加重的风险^[3]。目前全球哮喘防治倡议,以及包括我国在内的多个国家的哮喘指南均推荐使用ACT评分以及肺功能来评估哮喘严重程度以及评价治疗效果,虽然这些指标与病情的严重程度存在一定相关性,但都不能够直接地反映出气管炎症水平^[6]。并且这些指标对病人的依从性理解能力方面要求较高,主观性强,可操作性不强,不能同步反应治疗效果,敏感性不高,对哮喘急性发作风险的预测价值有限。由于哮喘在病因、发病机制、病理特征上与其他炎症不同,诸如CRP、PCT等反映机体炎症活动程度的标志物,对哮喘气管炎症状态评估均缺乏实用价值,且检测过程繁琐、费用较高。而NLR、MPV结果只需行血常规检查,简单、快速、经济、客观、病人依从性高。近年来,在许多炎症相关疾病的研究中,NLR和MPV与疾病严重程度有关,并能反映疾病炎症水平^[7-11]。

NLR与多种慢性炎症性疾病相关,并且对疾病的预后具有重要意义。中性粒细胞和淋巴细胞在哮喘气管炎症中起着重要作用,但其作用机制不同。中性粒细胞可以分泌多种细胞因子来调节上皮细胞、肥大细胞和巨噬细胞的功能,从而在炎症过程中发挥重要作用。淋巴细胞在免疫调节和免疫应答中起着重要作用。NLR作为炎症的标志物,不但融合了中性粒细胞、淋巴细胞在炎症预测中各自的优点,并且降低了年龄、运动、应激反应等因素的影响。它比单用两种方法具有更准确可靠的预测价值。

MPV与血小板的功能及其活化呈正相关^[12-13]。因此,MPV可以间接表达血小板活化过程中的炎症

水平。单纯使用MPV就可以反映血小板的活化及其生产率^[14]。MPV的检测被认为是血小板活化和功能的一个很好的指标,因为它是廉价、有效和容易获得的。MPV能够反映许多疾病的炎症水平。研究发现,在心血管疾病、外周动脉疾病和脑血管疾病中MPV水平升高^[15-16]。相反,在类风湿性关节炎和溃疡性结肠炎中,MPV水平降低^[17]。一项关于血栓形成的研究表明,低水平的MPV是由高消耗的活化血小板和高炎症反应的大血小板引起的,而在抗炎治疗过程中,它们被逆转了^[18]。本研究发现,MPV在哮喘病人重度组高于轻度组,轻度组高于稳定组,与前期的报道一致。

目前有多种与支气管哮喘相关的生物标志物,例如CRP、PCT,以及ACT评分、肺功能等,均存在一定的优缺点。NLR与MPV与气管的炎症水平呈正相关、跟临床症状的指标负相关,在一定程度上可以反应哮喘病人病情严重程度,并且简单、便捷、廉价、客观,易于在基层医院推广,可广泛的应用于临床。

参考文献

- [1] LOCKSLEY RM. Asthma and allergic inflammation [J]. Cell, 2010, 140(6):777-783.
- [2] LEE H, UM SJ, KIM YS, et al. Association of the neutrophil-to-lymphocyte ratio with lung function and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J/OL]. PLoS One, 2016, 11(6):e0156511. DOI: 10.1371/journal.pone.0156511.
- [3] AHBAP E, SAKACI T, KARA E, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in evaluation of inflammation in end-stage renal disease [J]. Clin Nephrol, 2016, 85(4):199-208.
- [4] WANG RT, LI JY, CAO ZG, et al. Mean platelet volume is decreased during an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Respirology, 2013, 18(8):1244-1248.
- [5] BAI M, XING L, FENG J, et al. Mean platelet volume as a possible marker for monitoring the disease activity in ulcerative colitis [J/OL]. Int J Lab Hematol, 2016, 38(4):e77-e79. DOI: 10.1111/ijlh.12495.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(2016年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(9):675-697.
- [7] BESLI F, ILTER A, GUNGOREN F. The link between mean platelet volume to lymphocyte ratio and complexity of coronary artery disease [J]. Angiology, 2018, 69(4):358-359.
- [8] CHEN X, FANG L, LIN H, et al. The Relationship between Type 2 Diabetes and Platelet Indicators [J]. Iran J Public Health, 2017, 46(9):1211-1216.
- [9] BATEMAN ED, HURD SS, BARNES PJ, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary [J]. Eur Respir J, 2008, 31(1):143-178.

- [10] WIWANITKIT V. Neutrophil to lymphocyte ratio in allergic rhinitis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2016, 273(10):3443.
- [11] OZHAN H, AYDIN M, YAZICI M, et al. Mean platelet volume in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Platelets, 2010, 21(1):29-32.
- [12] WIWANITKIT V. Plateletcrit, mean platelet volume, platelet distribution width: its expected values and correlation with parallel red blood cell parameters[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2004, 10(2):175-178.
- [13] KHANDEKAR MM, KHURANA AS, DESHMUKH SD, et al. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario[J]. J Clin Pathol, 2006, 59(2):146-149.
- [14] SIMPSON JL, SCOTT R, BOYLE MJ, et al. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum[J]. Respirology, 2006, 11(1):54-61.
- [15] MUSCARI A, PUDDU GM, CENNI A, et al. Mean platelet volume (MPV) increase during acute non-lacunar ischemic strokes[J]. Thromb Res, 2009, 123(4):587-591.
- [16] 张强. 探讨心脑血管疾病患者MPV、PDW和RDW检测的临床价值[J]. 吉林医学, 2015, 36(5):916-916.
- [17] TSIARA S, ELISAF M, JAGROOP IA, et al. Platelets as predictors of vascular risk: is there a practical index of platelet activity[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2003, 9(3):177-190.
- [18] GASPARYAN AY, AYZAZYAN L, MIKHAILIDIS DP, et al. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(1):47-58.

(收稿日期:2019-07-04, 修回日期:2019-08-05)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.020

◇ 临床医学 ◇

慢病毒介导酪氨酸激酶受体 A 过表达载体促进神经干细胞增殖和分化的实验研究

邓明¹, 谢萍², 马永刚¹, 周炎¹, 贺斌¹, 陈庆¹, 吴飞¹, 陈忠辉¹, 明江华¹作者单位:¹武汉大学人民医院骨科, 湖北 武汉 430060; ²武汉市第三医院中医科, 湖北 武汉 430060

通信作者: 马永刚, 男, 主任医师, 研究方向为骨科, E-mail: d71514447916@163.com

基金项目: 湖北省自然科学基金面上项目(2019CFB457); 中央高校基本科研业务费专项资金(武汉大学青年教师资助项目)(2042017k0139); 武汉大学医学部创新种子基金培育项目(TFZZ2018027)

摘要: **目的** 探究酪氨酸激酶受体 A (Trk A) 过表达载体对神经干细胞增殖和分化能力的影响。 **方法** 取 SD 大鼠海马组织进行提取神经干细胞, 采用免疫荧光的方法对神经球进行鉴定, 利用 siRNA 技术构建 Trk A 过表达载体, 将培养的神经干细胞分成三组, 空白对照组为未做任何处理的细胞组, 阴性对照组是经空白载体的慢病毒转染的细胞组, 实验组是由 Trk A 的过表达载体构建的慢病毒转染细胞组。 逆转录 PCR (RT-PCR) 检测 Trk A 和神经干细胞分化标志基因 Tuj1, GFAP 和 CNPase 的表达, CCK-8 试剂盒检测各组细胞的增殖率。 **结果** 免疫荧光染色显示神经干细胞细胞球 Nestin (红色荧光), Brud 染色 (绿色荧光) 阳性, 且占细胞量的 90% 以上; 荧光双标染色 (棕色荧光) 显示双染细胞量占总细胞量的 90% 以上, 说明培养的细胞是神经干细胞。 慢病毒滴度的检测结果: Trk A 过表达慢病毒载体转染滴度为 3×10^8 TU/mL。 RT-PCR 结果表明, 空白对照组 (1.09 ± 0.09) 和阴性对照组 (1.11 ± 0.05) 的 Trk A 的 mRNA 相对表达量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 实验组的 Trk A 的 mRNA 相对表达量 (7.12 ± 1.32) 要明显高于空白对照组和阴性对照组 ($P < 0.05$); 神经干细胞分化标志基因 Tuj1, GFAP 和 CNPase 的表达与 Trk A 相同。 CCK-8 试剂盒检测结果表明, 空白对照组、阴性对照组及实验组的细胞增殖率分别为 $(87.92 \pm 9.21)\%$ 、 $(88.22 \pm 9.37)\%$ 、 $(176.01 \pm 11.33)\%$ ($F = 18.082, P < 0.05$), 其中空白对照组和阴性对照组的细胞增殖率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 实验组的细胞增殖率要明显高于空白对照组和阴性对照组 ($P < 0.05$)。 **结论** Trk A 过表达载体可以促进神经元干细胞向神经元细胞, 星型胶质细胞和少突胶质细胞的分化, 并且可以促进神经元干细胞的增殖。

关键词: 受体, Eph 家族; 神经干细胞; 慢病毒属; 转染; 增殖; 分化; 大鼠, Sprague-Dawley

Experimental study on the lentivirus-mediated overexpression vector of tyrosine kinase receptor A promotes proliferation and differentiation of neural stem cells

DENG Ming¹, XIE Ping², MA Yonggang¹, ZHOU Yan¹, HE Bin¹, CHEN Qing¹,
WU Fei¹, CHEN Zhonghui¹, MING Jianghua¹