

中性粒细胞胞外诱捕网在转移性恶性胸腔积液中的表达及临床意义

宋银丹 褚央映 陈捷

余姚市人民医院检验科，浙江余姚，315400；

摘要:目的：探讨中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)在转移性恶性胸腔积液(MPE)中的表达及临床意义。方法：选取良性和恶性胸腔积液患者各40例作为研究对象，对胸腔积液中的NETs主要标志物，即组织蛋白酶G(CG)和髓过氧化物酶(MPO)的含量进行了测定。结果：恶性胸腔积液患者的CG水平、MPO的水平显著高于良性胸腔积液组，两者之间的差异有统计学意义($P<0.01$)。ROC曲线分析中，CG、MPO含量的测定对于转移性恶性胸腔积液诊断具有较重要价值。结论 中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)的检测在转移性恶性胸腔积液的诊断和鉴别诊断方面具有一定的辅助临床价值。

关键词:中性粒细胞胞外诱捕网；胸腔积液；组织蛋白酶G；髓过氧化物酶(MPO)

DOI:10.69979/3029-2808.24.7.007

转移性恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)多发生于恶性肿瘤终末期，为原发肿瘤向胸膜腔内转移所致胸腔积液。最常见引起MPE的是肺癌，其中最常见的病理类型是肺腺癌，其5年生存率仅约为2%、中位生存期约为8个月^[1]。有创的胸腔镜检查是目前诊断MPE的最佳方法，敏感度达90-95%，特异度100%^[2]，但胸腔镜等各种组织学活检对患者损伤度较大，费用昂贵、风险较大、并发症较多，病人不容易接受。当前有越来越多研究证据表明，NETs能够促进肿瘤的发展与转移^[3-5]。本研究旨在通过对胸腔积液中NETs主要标志物组织蛋白酶G(CG)、髓过氧化物酶(MPO)的测定，探讨它们在不同性质胸腔积液的改变及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2023年5月份至2024年5月份期间我院诊断和治疗的40例恶性胸腔积液病人为研究对象，男27例，女13例，平均年龄为(62.3±18.1)岁，包括肺腺癌24人，恶性淋巴瘤6人，胃癌3人，乳腺癌4人，恶性间皮瘤3人。同时选取良性胸腔积液患者40例作为对照组，其中男28例，女12例，平均年龄(61.5±17.2)岁。所有患者入组均经过临床、影像及细胞学检查或组织病理学检查(脱落细胞学检查、闭式胸膜活检、经纤维支气管镜检查、经胃镜检查、肿瘤局部穿刺和淋巴结穿刺检查)的确诊。两组患者的年龄、性别差异无统计

学意义($P>0.05$)，具有可比性。

1.2 方法

采集全部研究对象入院时临床医师行胸腔穿刺术所提取的胸腔积液样本，并选取第2管胸腔积液作为被检测对象。每次留取胸腔积液10ml置于黄色硅胶真空管内，即刻送出。以速度3000转/min，离心15min，取上清液1ml置于-30℃冷库待测。测定胸腔积液中的CG和MPO浓度时，我们采用了酶联免疫吸附试验(ELISA)方法，并严格按照说明书的指导进行操作。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0软件包分析数据，计数资料以率(%)表示，而计量数据则以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示，对于符合正态分布的两组数据，我们采用t检验进行比较，而对于非正态分布的两组数据，使用Mann-Whitney U检验进行比较， $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

1. 在两组患者中，恶性胸腔积液组的组织蛋白酶G(CG)和髓过氧化物酶(MPO)水平明显超过良性胸腔积液组，差异有统计学意义($P<0.01$) (见表1)。

表1 2组患者的CG、MPO水平比较

组别	CG(pg/ml)	MPO (ng/ml)
恶性胸腔积液组	51.43±29.13	6.22±5.45
良性胸腔积液组	34.79±15.26	2.28±1.59

t 值	3.19	4.37
P 值	<0.01	<0.01

2. 利用 ROC 曲线来分析组织蛋白酶 G (CG) 和髓过氧化物酶 (MPO) 的水平, 评估其在恶性胸腔积液诊断中的价值, 利用受试者工作曲线 (ROC) 分析 CG、MPO 诊断恶性胸腔积液价值检验效能, 分析结果显示, 在胸腔积液标本中, CG: 曲线下面积 (AUC) 为 0.78 (95% CI 为 0.68~0.88, $P<0.01$); MPO: 曲线下面积 (AUC) 为 0.82 (95% CI 为 0.73~0.91, $P<0.01$) (见图 1)。

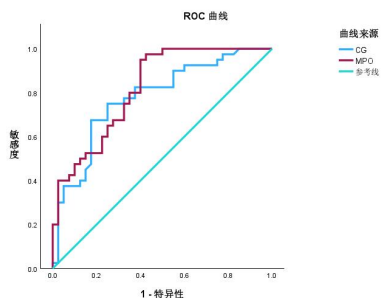


图 1 基于 ROC 曲线分析 CG 及 MPO 对 MPE 的诊断能力

3 讨论

中性粒细胞作为机体对抗病原体的第一道防线, 在非特异性细胞免疫系统中发挥着至关重要的角色, 2004 年, Brinkmann 等人首次提出了中性粒细胞的胞外消灭病原体的方式, 并将其命名为中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs)^[6]。NETs 由中性粒细胞死亡后释放其内部物质形成的, 这种死亡方式与细胞凋亡和坏死有所不同, 这种独特的死亡机制被命名为 NETosis^[7]。NETs 不仅是一种用于捕捉和消灭原核微生物的防御机制, 还在多种人类疾病的形成过程中发挥了作用, 涵盖了血栓生成、痛风以及胆结石等疾病等^[8]。从 2009 年起, 研究人员开始深入探讨 NETs 与肿瘤之间的联系。在肺癌的小鼠体内, 观察到肿瘤组织内有与肿瘤相关的中性粒细胞和细胞外染色质的累积, 提示了 NETs 可能在肿瘤组织中有所存在^[9]。Demers^[10]等发现肿瘤细胞可诱导中性粒细胞生成 NETs, 进而促进生成肿瘤相关性血栓 (cancer-associated thrombosis, CAT)。日益增多的研究证据表明, NETs 能够通过促使肿瘤细胞离开原发部位、分解细胞外的基质、捕捉循环中的肿瘤细胞、促进上皮细胞的间质化以及加速血管的形成, 从而对肿瘤的远程转移产生影响^[11]。而近年来关于中性粒细胞胞外诱捕网在转移性恶性胸腔积液中表达情况的研究较少。

本研究的数据显示, 在胸腔积液标本中, 恶性胸腔积液组患者的 NETs 主要标志物即组织蛋白酶 G (CG) 和髓过氧化物酶 (MPO) 的水平, 明显高于良性胸腔积液患者, 这种差异具有统计学意义 ($P<0.01$), 表明 CG 和 MPO 在区分良性和恶性胸腔积液的诊断中具有一定的临床价值。通过 ROC 曲线的分析, 恶性胸腔积液 CG 和 MPO 分别为 0.79 和 0.82, AUC 的范围在 0.7~0.9, 因此, 其对于恶性胸腔积液的确诊具有一定的价值。

综上所述, NETs 主要标志物如组织蛋白酶 G (CG)、髓过氧化物酶 (MPO) 的水平检测, 在区分良性和恶性胸腔积液方面具有一定的临床应用价值。鉴于这项研究是一个单一中心的研究, 并且样本量相对有限, 相关的研究成果还需要进一步的深入研究和验证。

参考文献

- [1]Howlander, N, Noone, AM, Krapcho, M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2012.
- [2]Li J, Smyth P, Flavin R, et al. Comparison of miRNA expression patterns using total RNA extracted from matched samples of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) cells and snap frozen cells. BMC Biotechnol [J]. 2007 Jun 29; 7:36.
- [3]Cools-Lartigue J, Spicer J, Najmeh S, et al. Neutrophil extracellular traps in cancer progression. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(21): 4179-4194.
- [4]Spicer JD, McDonald B, Cools-Lartigue JJ, et al. Neutrophils promote liver metastasis via Mac-1-mediated interactions with circulating tumor cells. Cancer Res, 2012, 72(16): 3919-3927.
- [5]Cools-Lartigue J, Spicer J, McDonald B, et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. J Clin Invest, 2013, 123(8): 3446-3458.
- [6]Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria [J]. Science, 2004, 303(5663): 1532-1535.
- [7]Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracel-

llular traps. J Cell Biol,2007,176(2):231-241.

[8]Munoz LE, Boeltz S, Bilyy R, et al. Neutrophil extracellular traps initiate gallstone formation[J]. Immunity, 2019,51(3): 443-450.e4.

[9]Ho-Tin-Noé B, Carbo C, Demers M, et al. Innate immune cells induce hemorrhage in tumors during thrombocytopenia. Am J Pathol,2009,175(4):1699-1708.

[10]Demer M, Wagner DD. Neutrophil extracellular

ar traps: A new link to cancer-associated thrombosis and potential implications for tumor progression. Oncoimmunology,2013,2(2):2162-4011, e22946.

[11]徐亦鸣, 应可净. 中性粒细胞胞外诱捕网与肿瘤相关研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版),2020,49(1): 107-112.

基金项目:余姚市医疗卫生科技计划项目(2023YYB01)

作者简介:宋银丹(1983—),女,汉族,浙江余姚人,硕士,主治医师,主要从事临床检验学研究。