

〔文章编号〕 1007-0893(2021)08-0013-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.08.006

T2DM 合并脓毒症与单核趋化细胞蛋白-1 rs1024611 基因多态性分析

李 艳¹ 何俊冰^{2,3} 陈兰春¹ 陈玉华^{1*}

(1. 深圳市龙岗区人民医院, 广东 深圳 518172; 2. 广东医科大学附属第一医院, 广东 湛江 524011; 3. 揭阳市人民医院, 广东 揭阳 522000)

〔摘要〕 **目的:** 分析 2 型糖尿病 (T2DM) 合并脓毒症与单核趋化细胞蛋白-1 (MCP-1) 启动子区 rs1024611 多态性的相关性。**方法:** 纳入 2017 年 3 月至 2019 年 3 月期间入住深圳市龙岗区人民医院内分泌科、重症医学科和广东医科大学附属第一医院重症医学科的 T2DM 合并脓毒症患者 113 例为 T2DM 合并脓毒症组, 同期入住深圳市龙岗区人民医院和广东医科大学附属第一医院内分泌科的单纯 T2DM 患者 172 例为对照组, 其中 T2DM 合并脓毒症组根据脓毒症严重程度, 划分为 T2DM 合并一般脓毒症、T2DM 合并脓毒性休克两个亚组。收集血样本及相关临床数据。采用焦磷酸测序法对血液的 MCP-1 rs1024611 多态位点进行检测, 采用实时荧光定量聚合酶链反应、酶联免疫吸附法检测血样本 MCP-1 表达情况, 结合患者临床资料分析 MCP-1 rs1024611 多态位点不同基因型与 T2DM 合并脓毒症的关系。**结果:** (1) T2DM 合并脓毒症组 rs1024611 AG/GG 基因型频率明显高于对照组 ($P = 0.004$)。(2) T2DM 合并脓毒症组 rs1024611G 等位基因的频率比例明显高于对照组 ($P = 0.037$)。(3) 亚组分析结果显示, T2DM 合并脓毒性休克组 rs1024611G 等位基因的频率比例明显高于 T2DM 合并一般脓毒症组 ($P = 0.020$)。(4) T2DM 合并脓毒症组 MCP-1 mRNA 表达水平明显高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。在脓毒症亚组中, 脓毒性休克组的 MCP-1 mRNA 表达水平明显高于一般脓毒症组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** MCP-1 基因启动子区多态位点 rs1024611 A > G 可促进 MCP-1 表达, 增加 T2DM 患者脓毒症的发生率和加速疾病进展。**〔关键词〕** 2 型糖尿病; 脓毒症; 单核趋化细胞蛋白 1; 单核苷酸基因多态性
〔中图分类号〕 R 587.1; R 631⁺.2 〔文献标识码〕 A

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 以胰岛素调控葡萄糖代谢能力的下降 (胰岛素抵抗) 伴胰岛 β 细胞功能缺陷所导致的胰岛素分泌减少 (相对减少) 引起的高血糖为特征的代谢性疾病^[1]。感染是糖尿病最常见的并发症, 在胰岛素治疗应用之前, 感染是导致糖尿病患者死亡的主要原因, 现阶段感染仍居糖尿病患者死亡原因的第二位^[2]。脓毒症是一种由感染病原体与宿主免疫系统、炎症反应、凝血反应之间相互作用, 引起机体器官功能损害, 威胁生命的临床综合征^[3]。据研究报道, 脓毒症患者中约有 17% 合并糖尿病^[4], 糖尿病可能是脓毒症的重要并存疾病。

单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1), 是趋化因子 CC 亚家族 (又称 β 亚家族) 成员之一, 主要通过和细胞表面趋化因子受体 4 (CC chemokine receptor 4, CCR4) 和 CCR2 结合, 激活细胞信号转导通路, 在哮喘、慢性阻塞性肺疾病、急性胰腺炎、急性肾损伤、冠心病、糖尿病^[5] 的病理生理机制中发挥重要的作用。MCP-1 基因启动子区 rs1024611 位点 (A/G) 功能基因变异

影响 MCP-1 转录活性, 改变其表达水平, 与脓毒症^[6] 等疾病易感性相关。然而, 目前 MCP-1 单核苷酸多态性与糖尿病合并脓毒症的关系尚不明确。本研究旨在分析 MCP-1 rs1024611 位点 (A/G) 基因多态性与 T2DM 合并脓毒症发病及进展的相关性。

1 资料和方法

1.1 对象与分组

1.1.1 研究对象 本研究采用基于人群的病例-对照的研究方法纳入受试者 285 例。T2DM 合并脓毒症组: 依据《2017 年版美国糖尿病学会糖尿病医学诊疗标准》^[7]、《2016 年国际脓毒症和脓毒性休克管理指南》^[8], 纳入 2017 年 3 月至 2019 年 3 月期间入住深圳市龙岗区人民医院内分泌科、重症医学科和广东医科大学附属第一医院重症医学科的 T2DM 合并脓毒症患者 113 例。对照组: 同期入住深圳市龙岗区人民医院和广东医科大学附属第一医院内分泌科的单纯 T2DM 患者 172 例。排除标准: 合并肿瘤、自身免疫疾

〔收稿日期〕 2021-02-21

〔基金项目〕 深圳市龙岗区科技计划医疗卫生项目资助课题 (20170405184220220)

〔作者简介〕 李艳, 女, 主治医师, 主要研究方向是糖尿病及其慢性并发症。

〔*通信作者〕 陈玉华 (E-mail: pangcyh@126.com; Tel: 13823546234)

病、血液疾病。收集研究对象的一般临床资料：性别、年龄、既往病史、感染部位、感染病原菌、急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (acute physiology and chronic health II, APACHE II) 评分、脓毒症相关性器官功能衰竭评价 (sequential organ failure assessment, SOFA) 评分等, 受试者及家属均知情同意本研究。

1.1.2 分组 根据《2016 年国际脓毒症和脓毒性休克管理指南》中脓毒症 3.0 标准, 将脓毒症组划分为两亚组: 一般脓毒症组 67 例, 感染伴 SOFA 评分 ≥ 2 分; 脓毒性休克组 46 例, 在明确脓毒症的基础上, 伴有持续性低血压, 在充分补充血容量的基础上, 仍需要升压药物以维持平均动脉压 ≥ 65 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 且血清乳酸水平 > 2 mmol \cdot L⁻¹。对照组男 122 例, 女 50 例, 平均年龄 (56.56 \pm 13.5) 岁; T2DM 合并脓毒症组男 78 例, 女 35 例, 平均年龄 (59.37 \pm 16.1) 岁, 两组研究对象的年龄、性别分布比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 目的基因多态位点基因型的检测 采用 SNaPshot 法 (上海天昊生物科技有限公司) 对样本 MCP-1 rs1024611 位点的基因型进行检测。通过 TIANamp 全血 DNA 试剂盒提取血液基因组 DNA, 提取后的 DNA 用凝胶电泳和 Epoch 分光光度计检测其纯度。用 ABI3130xl DNA 基因序列分析仪 (ABI, California, USA) 检测 MCP-1 基因多态性位点的基因型信息, 引物序列如下: rs1024611F, 5'-CTCTCAGCCAGCACTGACCTC-3'; rs1024611R, 5'-CCAATTAGCCCATGGTCACAGA-3'; 用 GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems Co., Ltd., USA) 分析软件进行信息分析, 得出 MCP-1 基因 rs1024611 位点的基因型。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应法检测目的基因表达水平 用 RNA 试剂盒提取外周血单细胞总 RNA, 合成人类 MCP-1、GAPDH 引物 (由上海生工生物公司设计和合成), 采用 10 μ L 的实时荧光定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 体系进行扩增。以 GAPDH 为内参, 采用 2- $\Delta\Delta$ CT 方法分析基因表达差异。检测的引物序列如下: MCP-1 上游引物 5'-CTCGCCTCCAGCATGAAAGT-3', 下游引物 5'-GGTACTGGGGCATTGATTG-3'; GAPDH 上游引物 5'-CTGACTTCAACAGCGACACC-3'; 下游引物 5'-GTGGTCCAGGGGTCTTACTC-3'。

1.3 统计学方法

研究数据使用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。基因型和等位基因频率的偏差由 Hardy-Weinberg 平衡检测评价样本群体的均一性。各组数值变量进行正态性检验, 组间的基因型频率比较用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态分布或非参数数据采用 t 检验或 Mann-Whitney U 检验进行分析。使用 Benjamini-Hochberg 程序对多重假设检

验错误发生率进行检测以及分析, 相对风险度用比值比 (odds ratio, OR) 和 95% 的可信区间 (confidence intervals, CI) 表示。所有统计检验均为双侧概率, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般临床资料比较

T2DM 合并脓毒症组中, 主要感染源是呼吸道、胃肠道和血流感染, 主要病原菌是鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌; 28 d 重症监护室 (intensive care unit, ICU) 死亡率为 29.20%, 见表 1。

表 1 T2DM 合并脓毒症组及其亚组感染部位及病原菌情况 (n(%))

项 目	T2DM 合并脓毒症 (n = 113)	T2DM 合并脓毒症亚组	
		一般脓毒症 (n = 67)	脓毒性休克 (n = 46)
感染部位	147(130.09)	87(129.85)	60(130.44)
呼吸道感染	72(63.72)	42(62.68)	30(65.21)
胃肠道感染	19(16.81)	11(16.42)	8(17.39)
血流感染	17(15.04)	10(14.93)	7(15.22)
尿路感染	10(8.85)	6(8.96)	4(8.70)
中枢神经系统感染	9(7.97)	6(8.96)	3(6.52)
导管相关性感染	6(5.31)	4(5.97)	2(4.35)
其他感染部位	14(12.39)	8(11.94)	6(13.04)
病原菌	109(96.46)	62(92.54)	47(102.17)
鲍曼不动杆菌	28(24.78)	16(23.88)	12(26.09)
大肠埃希菌	13(11.50)	8(11.94)	5(10.87)
肺炎克雷伯菌	11(9.73)	6(8.96)	5(10.87)
金黄色葡萄球菌	10(8.85)	6(8.96)	4(8.70)
白色念珠菌	9(7.96)	5(7.46)	4(8.70)
铜绿假单胞菌	9(7.96)	5(7.46)	4(8.70)
酵母菌	6(5.31)	3(4.48)	3(6.52)
曲霉菌	4(3.54)	2(2.99)	2(4.35)
其他病原菌	19(16.81)	11(16.42)	8(17.39)
28 d ICU 死亡率	33(29.20)	13(19.40)	20(43.48)
APACHE II 评分	-	22.7 \pm 6.4	26.1 \pm 7.2

注: T2DM — 2 型糖尿病; ICU — 重症监护室; APACHE II — 急性生理学及慢性健康状况评分系统 II; 部位感染发生率 = 部位感染发生例数 / 该组患者总数; 病原菌感染率 = 该病原菌感染发生例数 / 该组患者总数; 28 d ICU 死亡率 = 28 天内死亡患者例数 / 该组患者总数

2.2 MCP-1 rs1024611 多态性与 T2DM 合并脓毒症易感性的关系

T2DM 合并脓毒症组和对照组中基因型分布具有明显的统计学差异 ($P = 0.015$)。T2DM 合并脓毒症组 rs1024611 AG/GG 基因型频率明显高于对照组 ($P = 0.004$: AA vs AG+GG)。T2DM 合并脓毒症组 rs1024611G 等位基因的频率比例明显高于对照组 ($P = 0.037$)。亚组分析结果显示, T2DM 合并脓毒性休克组 rs1024611G 等位基因的频率比例明显高于 T2DM 合并一般脓毒症组 ($P = 0.020$), 见表 2。

2.3 MCP-1 rs1024611 多态性与 MCP-1 表达水平的关系

T2DM 合并脓毒症组 MCP-1 mRNA 表达水平明显高于对

对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。在脓毒症亚组中, 脓毒性休克组的 MCP-1 mRNA 表达水平明显高于一般脓毒症组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。T2DM 合并脓毒症组

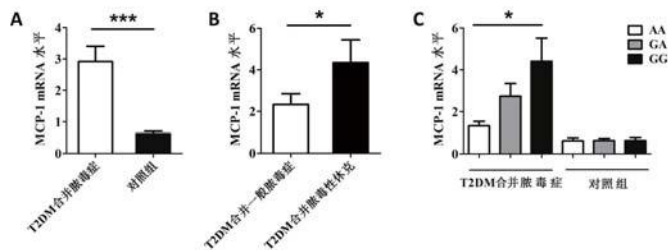
内 GG 基因型的表达量明显高于 AA、GA 基因型, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而对照组中 3 个基因型的 MCP-1 mRNA 表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。

表 2 各组中基因型和等位基因频率分布

(n %)

MCP-1rs1024611	对照组	T2DM 合并脓毒症	P1	P1*	OR(95 % CI)	T2DM 合并一般脓毒症	T2DM 合并脓毒性休克	P2	P2*	OR(95 % CI)
AA	55(32.98)	19(16.81)	0.015	0.030	-	15(22.39)	4(8.70)	-	-	1.00
AG	76(44.18)	64(56.64)	-	-	-	-	-	-	-	-
GG	41(23.84)	30(26.55)	-	-	-	-	-	-	-	-
AA/AG	131(76.16)	83(73.45)	0.605	0.605	1.16(0.67,1.99)	-	-	-	-	-
AG/GG	117(68.02)	94(83.18)	0.004	0.016	0.43(0.24,0.77)	52(77.61)	42(91.30)	0.074	0.074	3.03(0.94,9.82)
A	186(54.07)	102(45.13)	-	-	1.00	69(51.49)	33(35.87)	-	-	1.00
G	158(45.93)	124(54.87)	0.037	0.049	1.43(1.02,2.02)	65(48.51)	59(64.13)	0.020	0.040	1.90(1.10,3.27)

注: T2DM—2 型糖尿病; OR—比值比; 95 % CI—95 % 置信区间; P1* 和 P2*: 用 Benjamini-Hochberg 法所得的校正 P 值; P1: T2DM 合并脓毒症组和对照组对比; P2: 一般脓毒症组和脓毒性休克组比较。基因型频率=拥有该基因型的患者例数 / 该组患者总数; 基因频率=基因个数 / 全部等位基因个数



A: 2 型糖尿病合并脓毒症组和对照组 MCP-1 mRNA 表达水平; B: 一般脓毒症组和脓毒性休克组 MCP-1 mRNA 表达水平; C: 不同 rs1024611 基因型的 T2DM 合并脓毒症患者血浆 MCP-1 表达情况 (* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$)

图 1 T2DM 合并脓毒症组和对照组血 MCP-1 mRNA 表达情况

3 讨论

人类 MCP-1 基因位于染色体 17q11.2-q12, rs1024611 位点位于 MCP-1 基因启动子区 (见封三图 2), 通过影响 MCP-1 的活性来调节单核细胞趋化和内皮激活以及调节炎症进展和促炎细胞因子生成方面发挥着关键作用。MCP-1 多态性与多种炎症性疾病的发生与病程的进展有关。其中 MCP-1 rs1024611GG 基因型的患者, 发生糖尿病足部溃疡的可能性更大^[9]; C 等位基因与帕金森病的发病风险显著相关^[10]; 在亚洲人中, AA 基因型与妇科癌症风险降低有关, 而在欧洲人中, AA 基因型与妇科癌症风险增加有关^[11]。笔者通过前期的研究, 发现 rs1024611 的 AG/GG 基因型和 rs2857656 的 GC/CC 基因型与脓毒症的易感性有关。rs1024611 的 G 等位基因、rs2857656 的 C 等位基因在脓毒症病程进展中可能起作用^[4]。

本研究通过病例-对照的相关性分析, 比较了 T2DM 合并脓毒症组、对照组之间的 MCP-1 rs1024611 位点等位基因频率、基因型频率的差异, 证实了 rs1024611 AG/GG 基因型

频率、G 等位基因频率在促进 T2DM 患者发生脓毒症中发挥作用; rs1024611G 等位基因则在 T2DM 合并一般脓毒症的患者进展为脓毒性休克的过程中扮演重要角色。综上, MCP-1 多态性与 T2DM 合并脓毒症发生和病程进展存在相关性。

本研究存在一定的局限性。(1) 样本量较少可能会影响结论, 接下来需扩大研究对象的样本量, 可以尝试分析 rs1024611 基因型与感染部位、病原菌是否存在关联。

(2) 本研究仅探讨 MCP-1 基因单个位点的多态性与 T2DM 合并脓毒症的关系, 下一步可增加 MCP-1 其他功能性多态位点的检测, 以验证 MCP-1 多态性与 T2DM 合并脓毒症发生、进展、预后的关系。(3) 检测 MCP-1 下游因子表达情况, 有利于对 MCP-1 多态性与 T2DM 合并脓毒症发生进展的内在机制进一步探讨。(4) 未涉及 MCP-1 基因多态性与 T2DM 合并脓毒症药物治疗反应性的研究。

基因多态性与疾病的易感性、临床表现的多样性、药物治疗的反应性息息相关。在人群中开展基因多态性的分析和研究, 有助于预知机体对某种疾病的易感程度, 尽早采取主动预防措施, 并制定个体化的治疗方案, 精准判断预后。未来随着生物信息技术发展, 人类有可能通过基因沉默、置换等技术修复损伤性的单核苷酸, 或将其转换为保护性单核苷酸, 来实现基因水平的精准治疗, 也有望成为后基因组时代下精准医疗的新趋势。

〔参考文献〕

- (1) 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版) (J). 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 317-411.
- (2) Behnke M, Aghdassi SJ, Hansen S, et al. The prevalence of nosocomial infection and antibiotic use in German hospitals (J). Dtsch Arztebl Int, 2017, 114(50): 851-857.

- (3) Markwart R, Saito H, Harder T, et al. Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: a systematic review and meta-analysis (J). Intensive Care Med, 2020, 46(8): 1536-1551.
- (4) He J, Chen Y, Lin Y, et al. Association study of MCP-1 promoter polymorphisms with the susceptibility and progression of sepsis (J). PLoS One, 2017, 12(5): e0176781.
- (5) Yang M, Zhou X, Xu J, et al. Association of serum chemerin and inflammatory factors with type 2 diabetes macroangiopathy and waist-to-stature ratio (J). Bosn J Basic Med Sci, 2019, 19(4): 328-335.
- (6) Hang H, Zhi L, Moomchala S, et al. Hydrogen sulfide acts as an inflammatory mediator in cecal ligation and puncture induced sepsis in mice by up-regulating the production of cytokines and chemokines via NF-kappaB (J). Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 292(4): 960-967.
- (7) American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2017 (J). Diabetes Care, 2017, 40(Suppl1): S1-S135.
- (8) Rhodes A, Laura EE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 (J). Intensive Care Med, 2017, 43(3): 304-377.
- (9) Su N, Zhao N, Wang G, et al. Association of MCP-1 rs1024611 polymorphism with diabetic foot ulcers (J). Medicine (Baltimore), 2018, 97(28): e11232.
- (10) Shen R, Lin S, He L, et al. Corrigendum: Association of Two Polymorphisms in CCL2 With Parkinson's Disease: A Case-Control Study (J). Front Neurol, 2019, 10(4): 35.
- (11) He S, Zhang X. The rs1024611 in the CCL2 gene and risk of gynecological cancer in Asians: a meta-analysis (J). World J Surg Oncol, 2018, 16(1): 34.

(文章编号) 1007-0893(2021)08-0016-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.08.007

XIO 调强放疗计划中两种不同剂量算法的比较

吴煜良 张 纯* 黄军荣 吴伟艺 洪柱坚

(东莞市人民医院, 广东 东莞 523000)

〔摘要〕 **目的:** 比较 XIO 调强放疗计划中两种不同剂量算法的效果。**方法:** 选择 2020 年 1 月 10 日至 2020 年 6 月 30 日来东莞市人民医院接受手术治疗的 10 例宫颈癌患者作为研究对象, 所有患者均接受调强放疗。放疗计划设计过程中, 首先采用快速迭代算法进行剂量计算, 于权重、射野方向等设置条件不改变的基础上变为应用快速傅里叶变换 (FFT) 卷积算法全面优化治疗计划。比较两种不同剂量算法取得的剂量体积直方图 (DVH) 参数、计划时间、计划跳数以及剂量验证通过率等结果。**结果:** 相较于 FFT 卷积算法, 快速迭代算法中的调强放疗计划跳数更少, Gamma 通过率更高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。和快速迭代算法相比, FFT 卷积算法的计划靶体积 1 (PTV1)、PTV2、PTV3 更高, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 相较于 FFT 卷积算法相较而言, 实施快速迭代算法能减少危及器官照射剂量, 减少治疗时间。

〔关键词〕 宫颈癌; 调强放疗; 快速迭代算法; 快速傅里叶变换卷积算法

〔中图分类号〕 R 812; R 737.33 **〔文献标识码〕** B

宫颈癌在临床中比较常见。最近几年, 我国宫颈癌者的发生概率表现出了逐年上涨的势态。放疗为治疗此类疾病的重要方法。相关调查证实, 接近 80% 的宫颈癌患者需

要接受放射治疗。现如今随着我国医学技术的不断进展, 调强放射治疗以及三维适形放射治疗在临床中得以广泛应用^[1]。相较于三维适形放射治疗手段而言, 对患者开展调强

〔收稿日期〕 2021-02-03

〔基金项目〕 广东省东莞市社会科技发展 (一般) 项目资助课题 (2018507150011282)

〔作者简介〕 吴煜良, 男, 副主任技师, 主要研究方向是肿瘤放射物理与放疗技术。

〔* 通信作者〕 张纯 (E-mail: zhangchundg@163.com; Tel: 13580823782)