

溃疡性结肠炎患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平检测的临床研究

朱 玉^{1,2}, 赵孝文¹, 丁 浩¹, 刘晓昌¹, 梅 俏¹, 许建明¹

摘要 目的 探讨溃疡性结肠炎(UC)患者粪便中钙卫蛋白(Cal)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)、髓过氧化物酶(MPO)水平检测的临床意义。方法 选择 UC 患者和正常对照者各 50 例,测定 UC 患者和正常对照者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平。结果 UC 活动期患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平显著高于缓解期患者和正常对照者,UC 患者活动期轻中重度各组粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平与 DAI 评分显著相关($P < 0.05$)。结论 粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平可作为 UC 患者疾病活动性评估的指标。

关键词 钙卫蛋白;基质金属蛋白酶9;髓过氧化物酶;粪便;溃疡性结肠炎

中图分类号 R 574.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)06-0847-04

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一类慢性特发性肠道炎症性疾病,准确评估 UC 的活动性有助于制定正确的治疗方案。目前评估肠道炎症最可靠的方法仍是内镜活组织检查,其有侵入性,患者依从性较差;因此需要探讨简单和客观评估肠道炎

症的方法。研究^[1]显示,粪便中炎症标志物可用于 UC 活动性的判断。UC 患者肠道炎症过程中伴随大量中性粒细胞浸润。钙卫蛋白(calprotectin, Cal)来源于中性粒细胞,粪便中 Cal 水平可以判断 UC 患者疾病活动性和预测复发^[2]。基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)主要由结肠上皮细胞和中性粒细胞释放,研究^[3]显示结肠炎症区域周围及中性粒细胞表面 MMP-9 高表达,可能参与结肠炎的上皮损伤过程。髓过氧化物酶(myelo-peroxidase, MPO)在中性粒细胞嗜天青颗粒中表达,研究^[4]显示在日常监测 UC 患者病情方面,粪便 MPO 水平检测能够成为内镜和组织学检查的客观补充。该研究拟通过检测活动期不同程度 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平,探讨粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平检测作为 UC 患者疾病活动性评估的临床意义。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择临床确诊的 50 例 UC 住院患者为 UC 组,其中男 33 例,女 17 例,年龄 15~73 (40.42 ± 14.81) 岁。诊断标准依据 2012 年我国炎症性肠病诊断共识意见^[5]。UC 临床严重程度分级依据 Troulove and Witts 标准,疾病活动性依据 Mayo 评分标准计算 DAI,分为缓解期 3 例和活动期 47 例,其中轻度 21 例,中度 23 例,重度 3 例。选择经体检均正常,近 1 个月无胃肠道症状的 50 例正常人

2015-04-29 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1308085MH146);杨森科学研究委员会中国分会研究基金(编号:2012JRCC 消化 02)

作者单位:¹ 安徽医科大学第一附属医院消化内科,合肥 230022

² 蚌埠医学院第一附属医院消化内科,蚌埠 233004

作者简介:朱 玉,女,主治医师,硕士研究生;

梅 俏,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail:meiqiao@hotmail.com

to analyze the accuracy of FibroScan in the diagnosis of liver fibrosis in CHB patients. The relationships of LSM and biochemical markers were also analyzed. **Results** Compared with pathological examinations, FibroScan value was closely related with liver fibrosis ($P < 0.05$). One-way ANOVA analysis indicated that AST, ALP, PLT and PT% were related with LSM value. ROC curve indicated the AUCs were all above 0.95 for CHB patients with liver fibrosis stages S2~S4 and the cut-off values were 6.0, 9.75 and 14.2 kPa, respectively. Bivariate analysis indicated LSM value was related to up-regulated transaminase ($P < 0.05$). ROC curve revealed the cut-off values of stage S1~S2 was 6.25 and 15.3 kPa for stage S3~S4 in CHB patients with transaminase abnormality. **Conclusion** FibroScan is valuable for the diagnosis of liver fibrosis in CHB patients, but limited by transaminase abnormality.

Key words FibroScan, liver fibrosis, chronic hepatitis B

群为正常对照组,年龄 16~65 (38.27 ± 14.21) 岁。

1.2 标本收集 UC 患者入院第 1 天留取粪便 5~10 g 于 -20℃ 冰箱保存。粪便 Cal、MMP-9、MPO 水平检测前将粪便标本解冻平衡至室温,取粪便放入试管中称重,计算出粪便含量,按 1:50 (质量/容积) 比例加入生理盐水,充分振荡 20 min 混匀后,取 1 ml 匀浆,1 000 r/min 离心 20 min,取上清液 0.5 ml 检测。

1.3 检测方法 采用 ELISA 法测定粪便 Cal 和 MMP-9 水平,采用分光光度法测定粪便 MPO 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,运用 *t* 检验、方差分析及相关分析等统计学方法。

2 结果

2.1 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平与临床特征的关联分析 UC 组患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平均高于正常对照组 ($P < 0.01$),见表 1。活动期 UC 患者轻中重度各组粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平比较差异有统计学意义,见表 2。

表 1 粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平比较 ($n=50 \bar{x} \pm s$)

项目	正常对照组	UC 组	<i>t</i> 值
Cal (μg/g)	14.00 ± 3.11	177.23 ± 39.43**	29.18
MMP-9 (ng/ml)	3.07 ± 1.47	20.58 ± 7.87**	15.47
MPO (U/ml)	0.08 ± 0.04	1.00 ± 0.30**	21.17

与正常对照组比较: ** $P < 0.01$

2.2 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平与 UC 疾病活动性的相关分析 将 UC 患者进行 DAI 评分,与 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平进行相关性分析。结果显示,UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平与 DAI 评分显著相关 ($r = 0.81$, $P < 0.01$; $r = 0.48$, $P < 0.01$; $r = 0.32$, $P < 0.05$),表明粪便 Cal、MMP-9、MPO 水平与 UC 患者疾病活动性呈正相关性。

2.3 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平相关分析 UC 患者粪便中 Cal 水平与 MMP-9 水平有相

关性 ($r = 0.43$, $P < 0.01$),与 MPO 水平有相关性 ($r = 0.24$); UC 患者粪便中 MMP-9 水平与 MPO 水平有相关性 ($r = 0.24$)。

3 讨论

UC 是一类肠道慢性炎症性疾病,内镜检查直接观察病变部位和确定病变范围,是判定肠道病变活动的金标准,但因侵入性不易被患者接受。各种实验室检查如 ESR、CRP 等常用于评价肠道炎症,但缺乏特异性。为更好的评估疾病活动,粪便中检测炎症标志物成为临床研究的热点。

UC 患者肠黏膜屏障在肠道炎症时发生改变,激活的中性粒细胞通过损伤的肠黏膜屏障进入肠腔,可以在粪便中被检测到;因此,粪便中中性粒细胞衍生蛋白常被用于评估肠道炎症。粪便中性粒细胞衍生蛋白包括 Cal、MMP-9、MPO 等蛋白。这些粪便标志物直接反映肠道炎症程度,用于肠道炎症活动性的评估、肠道炎症复发的预测及药物治疗效果的判定。

Cal 来源于中性粒细胞,有抗蛋白酶的活性,在粪便中稳定,不被肠腔和粪便中的细菌及蛋白酶所降解。1992 Roseth 年建立粪便检测 Cal 的方法,并发现炎症性肠病 (IBD) 患者粪便中 Cal 水平明显升高。此后粪便中 Cal 水平作为 UC 活动性评估和复发预测的价值被研究。研究^[6]显示粪便中 Cal 水平与内镜疾病活动评分显著相关,UC 患者粪便中 Cal 水平以 250 μg/g 为临界值时,预测肠黏膜炎症活动的敏感度和特异度分别为 71% 和 100%,提示粪便中 Cal 水平对评估 UC 患者内镜下疾病活动和缓解有临床指导意义。Schoepfer et al^[7]对 228 例 UC 患者研究显示较其他实验室指标 (CRP、PLT 等),粪便 Cal 水平与内镜疾病活动相关性最紧密 ($r = 0.821$),粪便 Cal 是能够描述不同内镜活动程度的唯一指标 ($P < 0.001$),粪便 Cal 水平取 57 μg/g 为临界值时,检测内镜活动疾病的敏感度和特异度分

表 2 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平与临床特征的关联比较 ($\bar{x} \pm s$)

UC 患者	<i>n</i>	Cal (μg/g)	MMP-9 (ng/ml)	MPO (U/ml)
缓解期	3	146.60 ± 6.69	13.56 ± 2.70	0.53 ± 0.34
活动期	47	179.19 ± 39.86 ^{##}	21.03 ± 7.89 ^{##}	1.03 ± 0.28 ^{##}
轻度	21	153.93 ± 10.24	16.98 ± 6.37	0.93 ± 0.35
中度	23	190.01 ± 35.73**	23.48 ± 7.42**	1.08 ± 0.17*
重度	3	272.99 ± 14.67**	30.60 ± 6.26**	1.04 ± 0.04*

与缓解期 UC 比较: ^{##} $P < 0.01$; 与轻度比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

别是91%和90% ,提示粪便 Cal 是一个非侵入性监测 UC 患者疾病活动的有用指标。Nancey et al^[8]应用 ELISA 法测定结果显示临床和内镜活动期 IBD 患者粪便 Cal 水平与非活动期水平差异有显著性;活动期 UC 患者粪便 Cal 水平与内镜评分显著相关($r=0.75$ $P<0.0001$) ,取 $250\text{ }\mu\text{g/g}$ 为临界值时 ,预测内镜下活动的准确度为88% ,高于 CRP。本研究显示 UC 患者粪便中 Cal 水平较正常健康者明显升高 ,并随着疾病严重程度的增加发生变化;重度活动期患者水平最高 ,并且与评价疾病活动性的指标 DAI 评分显著相关 ,证实粪便 Cal 可以成为评价 UC 疾病活动性的指标。

MMP-9 是一种明胶酶 ,参与降解细胞外基质 ,从而引起组织或器官损伤如溃疡。测定肠黏膜组织中 MMP-9 活性来评估 UC 患者临床疾病活动性已有研究。近年 Lakatos et al^[9]免疫组织化学法测定显示 UC 患者肠黏膜 MMP-9 表达显著增高 ,不同严重程度组表达差异显著($P<0.005$) ,基因表达芯片数据及 RT-PCR 结果显示重度活动期 UC 患者表达显著增高($P<0.001$) ,提示 UC 患者肠黏膜 MMP-9 表达上调与严重度相关 ,其增高提示活动期 UC 存在重度黏膜损伤。粪便来源于肠道 ,检查方便 ,近年来关于粪便 MMP-9 检测的研究引起关注。Kolho et al^[10]研究显示活动期 IBD 患者粪便中 MMP-9 水平显著升高 ,并且 UC 患者粪便中 MMP 水平显著高于局限性肠炎 CD 患者。Annaházi et al^[11]研究显示 MMP-9 取 0.245 ng/mL 为临界值时 ,其判断 UC 临床疾病活动性的敏感度、特异度分别为 85.1%、99.9%。杨婷等^[12]研究显示 UC 患者粪便中 MMP-9 水平与 UC 患者 Mayo 评分($P<0.001$)、内镜分级($P<0.001$)和 CRP 水平($P=0.002$)明显相关。本研究显示 UC 患者粪便中 MMP-9 升高 ,且活动期不同严重程度粪便 MMP 水平改变有显著差异 ,并与另一个评价疾病活动性的指标粪便 Cal 有很好的相关性 ,因此是又一个评价疾病活动性的有用的粪便标志物。

MPO 系中性粒细胞释放的另一种蛋白 ,中性粒细胞被激活后通过脱颗粒作用释放 MPO 到细胞外或吞噬小体内 ,催化 H_2O_2 生成一系列具有生物学效应的活性氧分子 ,造成组织损伤。因此粪便中 MPO 水平可能间接的反映肠道炎症情况。Wagner et al^[13]对 38 例复发型 IBD 患者的研究显示活动期粪便中 MPO 水平升高 ,并通过 4 周、8 周治疗前后对比 ,得出粪便中 MPO 水平可以用来判定治疗效果。

Masoodi et al^[14]对 37 例 UC 研究显示活动期 UC 患者粪便中 MPO 水平高于正常对照组 ,并且与疾病活动度评分显著相关。后 Masoodi et al^[15]再次研究显示 UC 患者粪便 MPO 水平高于正常对照组($P<0.001$) ,内镜表现重度活动 UC 患者粪便 MPO 水平高于轻度活动 UC 患者($P=0.02$) ,但与内镜下病变范围和组织炎症分级无显著相关 ,随访 27 例 UC 患者治疗后粪便 MPO 水平显著下降($P=0.002$)。本研究 UC 患者粪便中 MPO 水平增高 ,不同临床严重程度 UC 患者粪便中 MPO 水平有显著差异 ,与 DAI 评分显著相关。因此 ,粪便中 MPO 水平检测可以用来评估 UC 患者疾病活动性。

粪便标本易取 ,检查方便 ,相对于结肠镜检查 UC 患者更易接受 ,并可反复进行检测 ,动态观察肠道炎症变化;本研究证明检测 UC 患者粪便中 Cal、MMP-9、MPO 水平的方法的可行性。

参考文献

- [1] Kopylov U , Rosenfeld G , Bressler B , et al. Clinical utility of fecal biomarkers for the diagnosis and management of inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis* 2014 ,20(4):742-56.
- [2] Judd T A , Day A S , Lemberg D A , et al. Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease[J]. *J Gastroenterol Hepatol* 2011 ,26(10):1493-9.
- [3] Lakatos G , Hritz I , Varga M Z , et al. The impact of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in inflammatory bowel diseases[J]. *Dig Dis* 2012 ,30(3):289-95.
- [4] Peterson C G , Sangfelt P , Wagner M , et al. Fecal levels of leukocyte markers reflect disease activity in patients with ulcerative colitis[J]. *Scand J Clin Lab Invest* 2007 ,67(8):810-20.
- [5] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012 年 广州) [J]. *中华内科杂志* 2012 ,51(10):818-31.
- [6] D'Haens G , Ferrante M , Vermeire S , et al. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis* 2012 ,18(12):2218-24.
- [7] Schoepfer A M , Beglinger C , Straumann A , et al. Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index , C-reactive protein , platelets , hemoglobin , and blood leukocytes[J]. *Inflamm Bowel Dis* 2013 ,19(2):332-41.
- [8] Nancey S , Boschetti G , Moussata D , et al. Neopterin is a novel reliable fecal marker as accurate as calprotectin for predicting endoscopic disease activity in patients with inflammatory bowel diseases[J]. *Inflamm Bowel Dis* 2013 ,19(5):1043-52.
- [9] Lakatos G , Sipos F , Miheller P , et al. The behavior of matrix metalloproteinase-9 in lymphocytic colitis , collagenous colitis and ulcerative colitis[J]. *Pathol Oncol Res* 2012 ,18(1):85-91.

(下转第 854 页)

M2 ,M3 ($P < 0.05$) . There were no complications in group M2. The occurrence of nausea ,vomiting ,pruritus ,respiratory depression was significantly decreased in S1 ,M1 ,M2 ,M3 than S2 ($P < 0.05$) . Compared with S1 ,the occurrence of nausea and vomiting was significantly decreased in M2 ,M3 ($P < 0.05$) . The occurrence of respiratory depression in M3 Group was significantly higher than M2 group ($P < 0.05$) . The occurrence of hypotension in M3 Group was significantly higher than other groups ($P < 0.05$) . **Conclusion** Sufentanil 2 $\mu\text{g/kg}$ plus Dex 2 $\mu\text{g/kg}$ has better satisfactory analgesia effect and less side effect. It is a better compound for orthopaedic.

Key words dexmedetomidine ;sufentanil ;postoperative analgesia ;patient-controlled intravenous analgesia ;effect

(上接第 849 页)

- [10] Kolho K L , Sipponen T , Valtonen E , et al. Fecal calprotectin , MMP-9 , and human beta-defensin-2 levels in pediatric inflammatory bowel disease [J]. *Int J Colorectal Dis* ,2014 ,29 (1) :43 – 50.
- [11] Annaházi A , Molnár T , Farkas K , et al. Fecal MMP-9: a new noninvasive differential diagnostic and activity marker in ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis* ,2013 ,19 (2) :316 – 20.
- [12] 杨 婷 ,金妙玲. 粪便 MMP-9 对溃疡性结肠炎诊断价值的分析 [J]. *中国卫生检验杂志* . 2014 ,24 (8) :1140 – 2.
- [13] Wagner M , Peterson C G , Ridefelt P , et al. Fecal markers of inflammation used as surrogate markers for treatment outcome in relapsing inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol* , 2008 ,14 (36) :5584 – 9.
- [14] Masoodi I , Kochhar R , Dutta U , et al. Fecal lactoferrin , myeloperoxidase and serum C-reactive are effective biomarkers in the assessment of disease activity and severity in patients with idiopathic ulcerative colitis [J]. *J Gastroenterol Hepatol* ,2009 ,24 (11) :1768 – 74.
- [15] Masoodi I , Kochhar R , Dutta U , et al. Evaluation of fecal myeloperoxidase as a biomarker of disease activity and severity in ulcerative colitis [J]. *Dig Dis Sci* ,2012 ,57 (5) :1336 – 40.

Clinical studies of detection of fecal calprotectin ,matrix metalloproteinase 9 ,myeloperoxidase in ulcerative colitis

Zhu Yu^{1 2} , Zhao Xiaowen¹ , Ding Hao¹ , et al

(¹Dept of Gastroenterology ,The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230022 ;

²Dept of Gastroenterology ,The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College ,Bengbu 233004)

Abstract Objective To investigate and discuss the clinical significance of detecting the level of fecal calprotectin (Cal) , matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) ,myelo-peroxidase (MPO) in patients with ulcerative colitis (UC) .

Methods To measure the level of fecal Cal ,MMP-9 ,MPO in 50 patients with UC before and after treatment and the level in 50 healthy controls. **Results** The level of fecal Cal ,MMP-9 ,MPO in active UC was significantly higher than the level in remission UC and healthy controls ;the difference of the level of fecal Cal ,MMP-9 ,MPO in different clinical severity groups of mild grade , moderate grade , severe grade was statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$) . The level of fecal Cal ,MMP-9 ,MPO also showed significant correlation with DAI in UC ($P < 0.05$) .

Conclusion The level of fecal Cal ,MMP-9 ,MPO can be used as fecal makers for judging activity in UC.

Key words calprotectin ; matrix metalloproteinase-9 ; myeloperoxidase ; fecal ; ulcerative colitis