

脑出血术后脑脊液中食管癌相关基因4和S100B蛋白表达水平与GCS评分及Barthel指数的相关性研究

陈博^a, 朱娜^b, 徐翠香^c, 黄晓燕^c, 汪玲果^d (陕西省人民医院 a. 神经外科; b. 科研处; c. 中心实验室 陕西省感染与免疫重点实验室; d. 医务处, 西安 710068)

摘要: 目的 探讨脑出血 (intracerebral hemorrhage, ICH) 患者术后脑脊液 (CSF) 中食管癌相关基因4 (ECRG4) 与S100钙结合蛋白B (S100B) 表达水平与格拉斯哥昏迷评分 (Glasgow coma scale, GCS) 和巴氏指数 (barthel index, BI) 的相关性, 及其在脑出血患者术后神经功能康复中的临床应用价值。方法 选择2017年1月~2019年12月入住陕西省人民医院神经外科治疗的基底节区 ICH 患者30例, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测10例对照组、10例腰大池引流组和10例腰椎穿刺组患者 ICH 术后 ECRG4 与 S100B 蛋白水平, 进行 GCS 和 BI 评分, 并进行相关性分析。结果 术后7天时, 对照组 ECRG4 ($1.14 \pm 0.39 \text{ pg/ml}$) 低于引流组 ($15.50 \pm 0.28 \text{ pg/ml}$) 和穿刺组 ($10.71 \pm 0.89 \text{ pg/ml}$), 对照组 S100B ($0.550 \pm 0.310 \text{ ng/ml}$) 水平高于引流组 ($0.154 \pm 0.025 \text{ ng/ml}$) 与穿刺组 ($0.192 \pm 0.030 \text{ ng/ml}$), 引流组两者表达水平与穿刺组比较, 差异均有统计学意义 ($t=11.630, 28.120$, 均 $P < 0.05$)。术后7天时, 引流组与穿刺组 GCS ($11.62 \pm 1.71, 10.19 \pm 1.41$) 及 BI ($43.24 \pm 10.05, 40.64 \pm 10.10$) 评分均高于对照组 (GCS: 7.07 ± 1.43 , BI: 21.73 ± 6.45), 差异具有统计学意义 ($t=7.466, 4.180, P < 0.05$)。结论 ECRG4 与 S100B 蛋白在脑出血患者脑脊液中的变化趋势与 GCS 和 BI 评分具有相关性, 两者联合检测, 有助于调整治疗方案, 从而降低患者神经功能障碍的发生, 改善预后。

关键词: 脑出血; 食管癌相关基因4; S100钙结合蛋白B; 脑脊液

中图分类号: R651.11; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 02-011-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.003

Expression Level of Esophageal Cancer-Related Gene 4 and S100B Protein in Cerebrospinal Fluid after Intracerebral Hemorrhage and Its Correlation with GCS Score and Barthel Index

CHEN Bo^a, ZHU Na^b, XU Cui-xiang^c, HUANG Xiao-yan^c, WANG Ling-guo^d

(a. Department of Neurosurgery; b. Scientific Research Division Department; c. Central Laboratory, Shaanxi Provincial Key Laboratory of Infection and Immune Diseases; d. Department of Medical Affairs, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the expression levels of ECRG4 and S100B protein in CSF and Glasgow coma scale (GCS), barthel index (BI) in patients with intracerebral hemorrhage (ICH) after operation, and its clinical application value in the rehabilitation of neurological function after operation of cerebral hemorrhage. **Methods** The levels of ECRG4 and S100B protein were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 10 cases of control group, 10 cases of lumbar cistern drainage group and 10 cases of lumbar puncture group. GCS and BI scores were performed, and the correlation was analyzed. **Results** On day 7 after operation, ECRG4 in control group ($1.14 \pm 0.39 \text{ pg/ml}$) was lower than that in drainage group ($15.50 \pm 0.28 \text{ pg/ml}$) and puncture group ($10.71 \pm 0.89 \text{ pg/ml}$), S100B in control group ($0.550 \pm 0.310 \text{ ng/ml}$) was higher than that in drainage group ($0.154 \pm 0.025 \text{ ng/ml}$) and in puncture group ($0.192 \pm 0.030 \text{ ng/ml}$), and there was significant difference among the groups ($t = 11.630, 28.120, P < 0.05$). The GCS and BI of drainage group ($11.62 \pm 1.71, 10.19 \pm 1.41$) and puncture group ($43.24 \pm 10.05, 40.64 \pm 10.10$) were significantly higher than those of control group (GCS: 7.07 ± 1.43 , BI: 21.73 ± 6.45), the difference was statistically significant ($t = 7.466, 4.180, P < 0.05$). **Conclusion** The change trend of ECRG4 and S100B protein in cerebrospinal fluid of patients with intracerebral hemorrhage were positively correlated with GCS and BI. The combined detection of two indicators is helpful to adjust the treatment plan, so as to reduce the occurrence

基金项目: 国家自然科学基金 (81271341), 陕西省卫计委联合攻关项目 [2016B004]。

作者简介: 陈博 (1979-), 男, 博士, 副主任医师, 主要研究方向为中枢神经系统损伤, E-mail: 13213424@qq.com。

通讯作者: 汪玲果 (1971-), 女, 学士, 主管护师, 主要研究方向为神经损伤与康复, E-mail: 119275360@qq.com。

of neurological dysfunction and improve the prognosis.

Keywords: intracerebral hemorrhage; esophageal cancer-related gene 4(ECRG4); S100B; cerebrospinal fluid

脑出血 (intracerebral hemorrhage, ICH) 是中枢神经系统常见病和多发病, 因其高发病率、高复发率、高死亡率和致残率严重危害人类健康。ICH 可造成严重的神经功能障碍, 因其机制复杂且尚不完全明确, 是治疗与研究的难点与重点^[1]。本课题组前期研究发现, ICH 后患者病情轻重程度、功能预后与其脑脊液中食管癌相关基因 4 (esophageal cancer-related gene 4, ECRG4) 和钙结合蛋白 B (S100B) 水平有关^[2]。本研究通过探讨 ICH 患者脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中 ECRG4 与 S100B 蛋白水平变化情况, 分析其与格拉斯哥昏迷评分 (Glasgow coma score, GCS) 及 Barthel 指数 (Barthel index, BI) 的相关性, 为 ICH 后神经功能恢复提供新的辅助诊断途径及其机制研究提供实验依据, 为快速诊断和鉴别诊断提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 选择 2017 年 1 月~2019 年 12 月在陕西省人民医院神经外科治疗的基底节区 ICH 患者 30 例, 其中男性 20 例, 女性 10 例, 年龄 38~72 岁, 平均 52.30 ± 6.42 岁, 均为自发性脑出血, 入院时间在出血后 2~6h。GCS 评分 3~8 分, 平均 GCS 4.67 ± 1.36 分。

1.1.2 所有患者随机分为: 对照组 ($n=10$): 术后 7d 给予腰椎穿刺术; 引流组 ($n=10$): 术后 1 天给予腰大池置管术并持续引流 CSF; 穿刺组 ($n=10$): 术后 1 天、7 天给予腰椎穿刺术。引流组及穿刺组在相应时间段内取等量 CSF 备用, 对照组在术后 7 天相应时间段行腰椎穿刺术留取等量 CSF 备用。各组相应时间段均给予 GCS 和 BI 评分。

1.1.3 纳入标准: GCS ≤ 8 分; 均急诊头颅 CT 平扫及 CTA 检查确诊为自发性基底节区 ICH; 对所有检查治疗均签署知情同意书; 均接受开颅颅内血肿清除术者。

1.1.4 排除标准: 动脉瘤性、动脉畸形性 ICH, 伴有血液系统疾病者; 有腰大池置管及腰椎穿刺术禁忌症者; 肝、肾功能障碍者; 伴有其他中枢神经系

统疾病者; 入院时有吸入性肺炎疾病者。

1.2 仪器与试剂 ECRG4 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司, S100B 蛋白试剂盒购自武汉明德生物科技股份有限公司。严格按照试剂盒使用说明书操作。

1.3 方法

1.3.1 常规气管插管全身麻醉, 幕上开颅, 行颅内血肿清除术及去骨瓣减压术。

1.3.2 术后给予脱水降颅压、神经营养、改善循环等对症支持治疗。术后常规心电监护, 相应时间段内给予内环境指标检测, 尤其对患者血氧饱和度、心率、脉压、瞳孔大小、神经系统阳性体征及 GCS 评分进行观察分析, 及时调整治疗方案。

1.3.3 对照组患者常规治疗术后第 7 天行腰椎穿刺术; 引流组于术后第 1 天, 行腰大池置管持续引流脑脊液; 穿刺组于术后第 1 天开始给予腰椎穿刺术, 并在相应时间段保存脑脊液备用。

1.3.4 观察引流组和穿刺组围术期脑脊液 ECRG4, S100B 水平及 GCS, BI 评分。采集术后第 1 天和第 7 天的 CSF 3ml, 离心分离 ($3\ 000\text{r}/\text{min}$, 时间 5min) CSF 上清液, 并置于 -80°C 冻存, ELISA 方法测定。GCS: 术后第 1 天和第 7 天评估, GCS 评分范围 3~15 分, 得分高则患者恢复良好; BI 评分: 评分范围 0~100 分, 其中分值高则患者日常生活能力高。

1.4 统计学分析 采用 SPSS17.0 统计学软件对实验数据进行统计分析, 计数资料以率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验; 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ECRG4 和 S100B 蛋白水平比较 见表 1。术后第 1 天时引流组与穿刺组 ECRG4 和 S100B 水平对比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 术后第 7 天时引流组 ECRG4 水平高于引流组与穿刺组, 引流组 S100B 表达水平低于对照组和穿刺组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各组术后 ECRG4 和 S100B 蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组 ($n=10$)	引流组 ($n=10$)	穿刺组 ($n=10$)	t	P
术后第 1 天	ECGR (pg/ml)	-	0.560 ± 0.870	0.368	0.801
	S100 (ng/ml)	-	0.283 ± 0.034	0.253	0.714
术后第 7 天	ECGR (pg/ml)	1.14 ± 0.39	15.50 ± 0.28	11.630	0.000
	S100 (ng/ml)	0.550 ± 0.310	0.154 ± 0.025	28.120	0.000

2.2 GCS, BI 评分比较 见表 2。术后第 1 天时各组 GCS, BI 评分对比, 差异无统计学意义 ($P >$

0.05); 术后 7 天时, 引流组与穿刺组 GCS, BI 均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表2 各组术后 GCS 和 BI 评分 ($\bar{x} \pm s$)

类别		对照组 (n=10)	引流组 (n=10)	穿刺组 (n=10)	t	P
术后第1天	GCS	4.01 ± 0.51	5.06 ± 0.53	5.10 ± 0.63	0.316	0.761
	BI	10.51 ± 8.93	12.54 ± 9.03	11.34 ± 9.14	0.035	0.914
术后第7天	GCS	7.07 ± 1.43	11.62 ± 1.71	10.19 ± 1.41	7.466	0.000
	BI	21.73 ± 6.45	43.24 ± 10.05	40.64 ± 10.10	4.180	0.000

3 讨论

ICH 后的一系列病理生理过程, 造成对脑组织的二次创伤, 目前认为主要与组织水肿、细胞自噬与凋亡、血肿周围毒性与自由基损害关系密切。ICH 后即刻造成的微环境变化^[3-4], 直接影响神经细胞的生长, 又在 ICH 的基础上, 引起伴发疾病和相应症状, 进而促进脑组织的损伤和神经功能缺失, 尤其老年患者可引起认知功能障碍^[5]。因其机制复杂, 是神经内外科研究的重点与热点。

ECRG4 在食道癌研究中被首次发现并关注^[6]。ECRG4 的独特之处在于其细胞因子样功能模式和表观遗传调控的基因表达模式, 该基因可以在激活后从细胞膜上释放出来, 并在液体活检中检测到, 因此在医学检测中具有巨大潜力^[7-8]。脑内正常生理状态下, 脉络丛中表达程度最高^[9-10], 在脑外伤的研究^[7,11]中则发现 ECRG4 在脉络丛组织中表达有相应变化。笔者前期的研究证实^[12]ECRG4 的表达可以反映脉络丛对于外部损伤的反应能力和程度, 参与了脉络丛上皮细胞对损伤的反应过程。ECRG4 在 CSF 中的变化程度和趋势或许可以作为脑内环境对损伤的应激反应和对 ICH 预后的判定指标之一。有研究发现, ICH 患者病情轻重程度、死亡率和预后与其外周血 S100B 蛋白水平有关^[13]。24 h 内高水平的 S100B 与血肿体积、早期神经功能恶化和不可逆的神经功能损伤呈正相关^[14]。S100B 在神经胶质细胞损伤时, 被大量释放^[15-16], 具有特异性。

CSF 是充满颅腔、椎管腔的无色透明液体, 内含浓度不等的化学成分, 对中枢神经系统起缓冲、保护、运输代谢产物和稳定调节颅内压的作用。临床常用的 CSF 检测主要为细胞学检测、生化成分和免疫成分测定及病原菌的培养等, 此类检测项目的特点是标本周转时间长且结果不典型。因此建立检测快速、敏感度高且特异度强的检查技术非常重要。CSF 酶学和基因检测不受蛋白总量、糖含量及细胞数的影响; 主要与细胞坏死程度和细胞膜的损伤状况有关。因此, CSF 相关补充实验室检查对于中枢神经系统疾病的治疗及预后有重要意义^[17-18]。

ICH 导致血脑屏障及细胞膜通透性破坏, 相应的细胞因子随之释放入细胞间隙, 使血性 CSF 酸

中毒, 通过 CSF 循环对脉络丛造成损伤, 进而影响 CSF 的分泌和细胞变性, 影响神经功能恢复^[19]。本研究显示, ICH 术后早期给予患者腰大池置管引流术和腰椎穿刺术, GCS 与 BI 均高于未进行此类治疗的患者, 提示此类方法利于患者促醒和神经功能恢复, 且腰大池置管引流术效果优于腰椎穿刺术 ($P < 0.05$)。ECRG4 水平越高、S100B 水平越低, 相应 GCS 和 BI 分值越高 ($P < 0.05$), 提示 CSF 中 ECRG4 与 S100B 水平和预后相关。表明 ECRG4 与 S100B 水平可以在一定程度上反映脑出血后神经损伤的严重程度, 对于患者评估病情和预后具有一定的参考价值。

本研究通过观察 ICH 术后患者 CSF 中 ECRG4 和 S100B 的表达变化, 与 GCS 评分和 BI 指数进行相关性分析, 认为在脑出血术后, 应早期进行腰椎穿刺术和腰大池置管引流术, 且后者效果明显优于前者, 避免脑积水等并发症的发生, 尤其适用于危重患者, 利于观察颅内微环境和压力变化趋势, 易于调控, 结合临床表现和实验室相关检查, 及时调整治疗方案, 使患者最大程度的获益。

参考文献:

- [1] 《脑出血后脑水肿管理专家共识》专家组. 脑出血后脑水肿管理专家共识 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25(8): 1-6.
Expert Group of Expert Consensus on Management for Cerebral Edema Caused by Intracerebral Hemorrhage. Expert consensus on management for cerebral edema caused by intracerebral hemorrhage [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2017, 25(8): 1-6.
- [2] 朱娜, 陈博, 张小艳, 等. 血清 S100B 蛋白对闭合性颅脑损伤患者诊断及预后临床价值的研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(5): 59-61.
ZHU Na, CHEN Bo, ZHANG Xiaoyan, et al. Clinical value of serum S100 beta protein in the diagnosis and prognosis of patients with closed craniocerebral injury [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(5): 59-61.
- [3] 陈斌, 成宜军, 陈正鸿, 等. 脑出血后神经细胞死亡机制的研究进展 [J]. 中国脑血管病杂志, 2018, 15(3): 153-156.
CHEN Bin, CHENG Yijun, CHEN Zhenghong, et al. Research progress of neural cell death after intracerebral hemorrhage [J]. Chinese Journal of

- Cerebrovascular Disease, 2018, 15 (3): 153-156
- [4] DORSCHNER R A, LEE J, COHEN O, et al. ECRG4 regulates neutrophil recruitment and CD44 expression during the inflammatory response to injury[J]. Science Advances, 2020, 6(11): eaay 0518.
- [5] 王丽丽, 张宁, 赵迎春, 等. 老年急性脑出血并发癫痫患者血清 HP, SOD, MDA 水平表达及其与认知功能损害的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2): 108-111.
- WANG Lili, ZHANG Ning, ZHAO Yingchun, et al. Study on the correlation between serum haptoglobin, superoxide dismutase and malondialdehyde in elderly patients with epilepsy after acute cerebral hemorrhage and their correlation with cognitive impairment [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(2): 108-111.
- [6] 苏涛, 刘海玲, 陆士新, 等. 人食管癌相关集团 cDNA 片段的克隆与初步鉴定 [J]. 中华肿瘤杂志, 1998, 20(4): 254-257.
- SU Tao, LIU Hailing, LU Shixin, et al. Cloning and identification of cDNA fragments related to human esophageal cancer [J]. Chin J Oncol, 1998, 20(4): 254-257.
- [7] QIN Xin, ZHANG Ping. ECRG4: a new potential target in precision medicine [J]. Frontiers of Medicine, 2019, 13(5): 540-546.
- [8] LIANG Xin, GAO Jiangang, WANG Quan, et al. ECRG4 represses cell proliferation and invasiveness via NFIC/OGN/NF- κ B signaling pathway in bladder cancer [J]. Frontiers In Genetics, 2020, 11: 846.
- [9] Allen Spinal Cord Atlas [Internet]. Seattle (WA): Allen Institute for Brain Science [Z]. 2009. <http://mousespinal.brain-map.org>.
- [10] MAGDALENO S, JENSEN P, BRUMWELL C L, et al. BGEM: an in situ hybridization database of gene expression in the embryonic and adult mouse nervous system [J]. PLoS Biology, 2006, 4(4): e86.
- [11] GONZALEZ A M, PODVIN S, LIN S Y, et al. EcrG4 expression and its product augurin in the choroid plexus: impact on fetal brain development, cerebrospinal fluid homeostasis and neuroprogenitor cell response to CNS injury [J]. Fluids and Barriers of CNS, 2011, 8(1): 1-17. DOI: 10.1186/2045-8118-8-6.
- [12] 陈博, 缪星宇, 师蔚. 脑血疏对脑出血大鼠脉络丛上皮细胞中食管癌相关基因 4 表达的影响 [J]. 中国医药, 2016, 11(11): 1713-1717.
- CHEN Bo, MIAO Xingyu, SHI Wei. Effect of naoxueshu on the expression of esophageal cancer related gene 4 in choroid plexus epithelial cells in intracerebral hemorrhage rats [J]. Chinese Medicine, 2016, 11 (11): 1713-1717.
- [13] 周海航, 张李涛, 沈建国, 等. 重型颅脑损伤患者血清 S100B, IL-6 与颅内压力变化的相关性研究 [J]. 中华全科医学, 2017, 15(4): 574-576.
- ZHOU Haihang, ZHANG Litao, SHEN Jianguo, et al. Correlation between serum S100B and IL-6 levels and intracranial pressure in patients with severe craniocerebral injury [J]. Chinese Journal of General Medicine, 2017, 15 (4): 574-576.
- [14] FERRETE-ARAUJO A M, RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ A, EGEA-GUERRERO J J, et al. Brain injury biomarker behavior in spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. World Neurosurgery, 2019, 132: e496-e505.
- [15] DELGADO P, ALVAREZ SABIN J, SANTAMARINA E, et al. Plasma S100B level after acute spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. Stroke, 2006, 37(11): 2837-2839.
- [16] 邱治春, 王恩任. 早期高压氧治疗对中重型颅脑损伤患者临床预后及血清 NSE, S100B 的影响 [J]. 临床外科杂志, 2018, 26(7): 504-506.
- QIU Zhichun, WANG Enren. Effect of early hyperbaric oxygen therapy on the clinical prognosis of patients with moderate to severe brain injury and their serum NSE, S100B [J]. Journal of Clinical Surgery, 2018, 26 (7): 504-506.
- [17] FERREIRA A. Diagnostic value of creatine kinase activity in canine cerebrospinal fluid [J]. Canadian Veterinary Journal, 2016, 57(10): 1081-1086.
- [18] 刘辰庚, 梁巍, 王培昌. 成年人脑脊液 CK, ACT, LDH 和 GPx 活性检测对脑血管病的鉴别诊断价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33 (5): 4-7.
- LIU Chengeng, LIANG Wei, WANG Peichang. Differential diagnostic value of CK, AST, LDH and GPx activity in adults cerebrospinal fluid of cerebrovascular diseases [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(5): 4-7.
- [19] DEMIRCI T, AYDIN M D, CAGLAR O, et al. First definition of burned choroid plexus in acidic cerebrospinal fluid - filled brain ventricles during subarachnoid hemorrhage: Experimental study [J]. Neuro-pathology, 2020, 40(3): 251-260.

收稿日期: 2020-08-12

修回日期: 2021-02-08

(上接第10页)

- [13] PICKERING J W, MCMILLIN G A, GEDGE F, et al. Flow cytometric assay for genotyping cytochrome p450 2C9 and 2C19: comparison with a microelectronic DNA array [J]. American Journal of Pharmacogenomics, 2004, 4(3): 199-207.
- [14] MARZILIANO N, NOTARANGELO M F, CEREDA M, et al. Rapid and portable, lab-on-chip, point-of-care genotyping for evaluating clopidogrel metabolism [J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 451(Pt B): 240-246.
- [15] 陈载鑫, 何丹, 谢岭平, 等. 两种聚合酶在等位基因特异性引物延伸法检测 SNP 中的应用比较 [J]. 泰山医学院学报, 2019, 40 (11): 817-820.
- CHEN Zaixin, HE Dan, XIE Lingping, et al. Comparison of two polymerases in allele-specific primer extension assay for SNP detection [J]. Journal of Taishan Medical College, 2019, 40(11): 817-820.

收稿日期: 2020-09-02

修回日期: 2020-11-28