

重症肌无力患儿血清 YKL-40 水平变化及临床意义

段海燕¹, 张 华¹, 杨 波²

(1. 西安医学院第一附属医院儿科, 西安 710077; 2. 杨凌朝阳医院儿科, 陕西咸阳 712100)

摘要:目的 观察重症肌无力 (myasthenia gravis, MG) 患儿血清 YKL-40 水平变化情况, 探讨其临床意义。方法 收集 2017 年 1 月~2020 年 10 月在西安医学院第一附属医院治疗的 42 例 MG 患儿及 50 例对照组儿童血液样本。采用 ELISA 法检测比较各组血清 YKL-40 水平, 分析血清 YKL-40 水平与定量重症肌无力 (QMG) 评分的相关性, 探讨 MG 患儿血清 YKL-40 水平对病情严重程度的评估价值。结果 MG 患儿血清 YKL-40 水平显著高于对照组 (83.35 ± 15.26 ng/ml vs 47.75 ± 7.45 ng/ml), 差异有统计学意义 ($Z=7.823$, $P < 0.001$), 全身型 (II a 型 + II b 型) 患儿血清 YKL-40 水平高于眼肌型 (I 型) 患儿, 差异有统计学意义 ($t=2.214$, $P < 0.05$), 急性期患儿血清 YKL-40 水平明显高于缓解期患儿 (83.35 ± 17.05 ng/ml vs 78.98 ± 17.63 ng/ml), 差异有统计学意义 ($t=7.324$, $P < 0.001$)。MG 患儿血清 YKL-40 水平与 QMG 评分呈正相关关系 ($r=0.616$, $P < 0.001$)。多元线性回归分析结果显示血清 YKL-40 水平是 MG 患儿 QMG 评分的独立影响因素 ($\beta=0.659$, $P < 0.001$)。ROC 曲线分析结果显示血清 YKL-40 预测高四分位 QMG 评分的曲线下面积为 0.828 (0.703, 0.953)。结论 MG 患儿血清 YKL-40 水平升高, 可能与 MG 急性起病及病情严重程度相关。

关键词: 儿童; 重症肌无力; YKL-40; 定量重症肌无力评分

中图分类号: R746.1; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 01-186-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.01.038

Changes of Serum YKL-40 Level in Children with Myasthenia Gravis and Its Clinical Significance

DUAN Hai-yan¹, ZHANG Hua¹, YANG Bo²

(1. Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an 710077, China; 2. Department of Pediatrics, Yangling Chaoyang Hospital, Shaanxi Xianyang 712100, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of serum YKL-40 level in children with myasthenia gravis (MG) and its clinical significance. **Methods** 42 MG children and 50 healthy children treated in the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical College from January 2017 to October 2020 were recruited in this study. ELISA was used to detect serum levels of YKL-40. Analyzed the correlation between serum YKL-40 level and quantitative myasthenia gravis (QMG) score and explored the value of serum YKL-40 level in evaluating the severity of MG in children. **Results** The serum YKL-40 level of MG children was significantly higher than that of control group (83.35 ± 15.26 ng/ml vs 47.75 ± 7.45 ng/ml), the difference was statistically significant ($Z=7.823$, $P < 0.001$), the serum YKL-40 level of children with systemic type was significantly higher than that of children with eye muscle type, the difference was statistically significant ($t=2.214$, $P=0.033$), and the serum YKL-40 level of children with acute stage was significantly higher than that of children with remission stage (83.35 ± 17.05 ng/ml vs 78.98 ± 17.63 ng/ml), the difference was statistically significant ($t=7.324$, $P < 0.001$). Pearson correlation analysis showed that serum YKL-40 level was significantly positively related to QMG score ($r = 0.616$, $P < 0.001$). Multivariate regression analysis showed that serum YKL-40 was an independent influencing factor of QMG score for MG children ($\beta=0.659$, $P < 0.001$). Based on the ROC curve, the area under the ROC curve was 0.828 (0.703, 0.953) of serum YKL-40 in prediction of highest quartile of QMG score. **Conclusion** Serum YKL-40 was highly expressed in MG children, and may be related to the acute onset and severity of MG.

Keywords: children; myasthenia gravis; YKL-40; quantitative myasthenia gravis score

重症肌无力 (myasthenia gravis, MG) 是一种累及神经-肌肉接头突触, 导致传递功能障碍的自身免疫性疾病^[1-2]。MG 在各年龄段均可发病, 儿童 MG 病例中以眼肌型多见, 危象发生率及病死率相

对较低, 但如若诊治不及时, 部分患者可进展为全身型肌无力^[3]。YKL-40 是近年来关注较多的急性时相蛋白, 广泛参与炎症、细胞增殖、迁移、分化等病理生理过程^[4-6]。目前, 已有多项研究结果表

作者简介: 段海燕 (1983-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 儿科呼吸系统疾病, E-mail: xiandhyxian@163.com。

通讯作者: 杨波 (1978-), 男, 本科, 副主任医师, E-mail: yangbosnn@163.com。

明 YKL-40 可能与系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、银屑病等自身免疫性疾病的急性发作密切相关^[7-9]。然而, YKL-40 在 MG 发病过程中的作用目前鲜有研究报道。故本研究拟通过检测比较 MG 患儿与健康儿童血清 YKL-40 水平, 分析 YKL-40 与 MG 患儿临床特征和病情严重程度关系, 试探讨 YKL-40 在 MG 发生发展中的作用, 为临床提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2017 年 1 月~2020 年 10 月在西安医学院第一附属医院儿科住院治疗的 42 例 MG 患儿纳入研究, 其中男童 21 例, 女童 21 例, 年龄 1~15 岁, 平均年龄 6.67 ± 3.96 岁。MG 诊断标准参照中华医学会神经病学分会神经免疫学组等制定的《中国重症肌无力诊断和治疗指南 2015》^[10], 并排除其他自身免疫性疾病、肿瘤性疾病、严重肝肾功能障碍及感染性疾病等。50 例对照组儿童均选自同期于我院门诊处理的手外伤患儿, 其中男童 28 例, 女童 22 例, 年龄 2~14 岁, 平均年龄 7.46 ± 3.70 岁。两组患儿性别 ($\chi^2=0.330$, $P=0.566$)、年龄 ($t=0.992$, $P=0.324$) 差异均无统计学意义。

1.2 仪器和试剂 ELISA 试剂盒 (EK0974) 购自武汉博士德生物技术有限公司, 酶标仪 (Multiskan FC 型) 购自美国赛默飞公司。

1.3 方法

1.3.1 血清 YKL-40 检测: MG 患儿分别于治疗前和治疗缓解后两次采集清晨空腹时外周静脉血, 1 500 r/min 离心 5 min, 留取上清液置于 -80°C 冰箱保存备用。采用 ELISA 法测定血清 YKL-40 浓度, 具体操作按照试剂盒说明进行。每例患儿样本检测 3 次, 取平均值进行统计分析。

1.3.2 定量重症肌无力 (quantitative myasthenia gravis, QMG) 评分: MG 患儿于治疗前采用 QMG 评分系统对患儿的病情严重程度进行评分, 每例患儿至少由 2 名医师独立进行打分, 对于计分不同的项目需经讨论以确定最终得分。

1.3.3 其他参数采集: 详细记录患儿性别、年龄 (≥ 6 岁 / < 6 岁)、改良的 Osseman 分型 [I 型 (眼肌型)、II a 型 (轻度全身型)、II b 型 (中度全身型)、III 型 (暴发型)、IV 型 (晚期严重全身型)]、胸腺状态 (异常 / 正常)、血清乙酰胆碱受体抗体 (阳性 / 阴性) 和重复神经电刺激 (异常 / 正常) 等, 并以此将 MG 患儿分为不同亚组进行比较。

1.3.4 治疗方法: 参照《中国重症肌无力诊断和治疗指南 2015》^[10], 结合患儿病情, 给予胆碱酯酶抑制剂及糖皮质激素等药物治疗, 3 例患儿接受胸腺切除手术治疗。

1.4 统计学分析 本研究采用 SPSS19.0 统计软件

进行分析处理, 计量资料根据数据特征组间比较用方差分析、独立样本 t 检验、配对样本 t 检验或非参数秩和检验; 计数资料组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 直线相关分析和多元线性回归分析法。评估 YKL-40 对 MG 病情程度的预测价值采用 ROC 分析法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MG 组与对照组血清 YKL-40 水平比较 MG 组血清 YKL-40 水平显著高于对照组血清 (83.35 ± 15.26 ng/ml vs 47.75 ± 7.45 ng/ml), 差异具有统计学意义 ($Z=7.823$, $P < 0.001$)。

2.2 不同亚组 MG 患儿急性期血清 YKL-40 水平比较 见表 1。按照性别、发病年龄、改良的 Osseman 分型、胸腺状态、血清乙酰胆碱受体抗体、重复神经电刺激及疾病活动状态将 MG 组分为不同亚组, 全身型 (II a 型 + II b 型) 患儿血清 YKL-40 水平高于眼肌型 (I 型) 患儿 ($t=2.214$, $P < 0.05$), 余不同亚组间 MG 患儿血清 YKL-40 水平差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

表 1 不同亚组 MG 患儿急性期血清 YKL-40 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

类 别	<i>n</i>	YKL-40	<i>t/F</i>	<i>P</i>
性别	女	21 82.92 ± 16.95	0.161	0.873
	男	21 83.78 ± 17.56		
发病年龄 (岁)	≤ 6	23 85.38 ± 16.14	0.845	0.403
	> 6	19 80.90 ± 18.23		
改良 Osseman 分型	I 型	30 78.04 ± 14.91	6.970	0.003
	II a 型	8 93.93 ± 15.93		
	II b 型	4 102.05 ± 13.61		
	III 型 + IV 型	0 -		
胸腺状态	异常	19 85.51 ± 20.16	0.740	0.463
	正常	23 81.57 ± 14.21		
乙酰胆碱受体抗体	阳性	27 82.75 ± 16.22	0.303	0.763
	阴性	15 84.43 ± 19.00		
重复神经电刺激	异常	10 82.92 ± 22.50	0.090	0.928
	正常	32 83.49 ± 15.41		

2.3 治疗前后 MG 患儿血清 YKL-40 水平变化 治疗前和缓解后患儿血清 YKL-40 水平分别为 83.35 ± 17.05 ng/ml 和 78.98 ± 17.63 ng/ml, 两者比较差异具有统计学意义 ($t=7.324$, $P < 0.001$)。

2.4 急性期血清 YKL-40 水平与 QMG 评分的关系 见表 2。Pearson 直线相关分析结果显示 MG 患儿血清 YKL-40 水平与 QMG 评分呈正相关性 ($r=0.616$, $P < 0.001$)。采用多元线性回归分析,

校正性别、发病年龄、临床分型、胸腺状态、乙酰胆碱受体抗体及重复神经电刺激等后, MG 患儿血清 YKL-40 水平仍是其 QMG 评分的独立影响因素 ($\text{Beta}=0.659$, $P < 0.001$)。

表 2 多元线性回归分析结果

变量	非标准回归系数		标准回归系数	<i>t</i>	<i>P</i>
	β	S.E.	Beta		
性别	0.709	0.970	0.114	0.731	0.470
发病年龄	-0.002	0.106	-0.002	-0.017	0.987
临床分型	0.818	0.995	0.119	0.822	0.417
胸腺状态	-0.262	0.862	-0.042	-0.304	0.763
乙酰胆碱受体抗体	0.147	0.856	0.023	0.172	0.864
重复神经电刺激	1.494	1.085	0.204	1.377	0.177
YKL-40	0.122	0.026	0.659	4.714	< 0.001

2.5 急性期血清 YKL-40 水平对病情严重程度的评估价值 将 42 例 MG 患儿按照急性期 QMG 评分四分位数进行分层, 分数愈高, 代表病情愈重, 高四分位 QMG 评分病例即为本组病情严重的患儿。见图 1, 绘制 MG 患儿急性期血清 YKL-40 预测高四分位 QMG 评分的 ROC 曲线, AUC 为 0.828 (0.703, 0.953), 根据约登指数最大原则, cut-off 值为 85.03ng/L, 敏感度和特异度分别为 90.0% 和 75.0%。

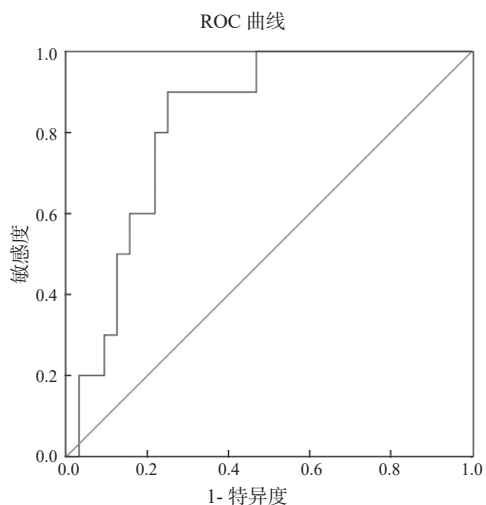


图 1 血清 YKL-40 水平预测高四分位 QMG 评分的 ROC 曲线

3 讨论

YKL-40, 又名几丁质酶 3 样蛋白 1、人软骨糖蛋白 -39, 是一种分泌型糖蛋白, 其生物学功能复杂多样。早期研究中, 多位学者认为 YKL-40 可能是一种潜在肿瘤标志物, 其在多种恶性肿瘤组织中表达均显著升高, 并对肿瘤患者预后具有较高的预测价值^[4]。此后, 大量研究结果显示 YKL-40 还是

一种急性时相蛋白, 可通过介导多种炎症因子表达, 与慢性阻塞性肺疾病、哮喘、急性冠脉综合征等疾病的发生发展密切相关^[5-6,11]。近年来, 不断有研究报告 YKL-40 与多种自身免疫性疾病的急性活动及病情严重程度相关。朴雪梅等^[12] 研究结果显示原发性舍格伦综合征患者血清 YKL-40 水平与唇腺淋巴细胞灶数呈正相关, 并可作为患者病情活动度的生物学标记物。KONG 等^[13] 发现银屑病患者血清 YKL-40 水平显著上升, 且患者病程、皮损面积和严重程度指数值均与血清 YKL-40 水平相关。同时, 在多种神经系统自身免疫性疾病中, YKL-40 也表现出相似特征。QI 等^[14] 发现视神经脊髓炎患者脑脊液 YKL-40 水平显著升高, 且其升高水平与病情严重程度密切相关。OLDONI 等^[15-16] 研究结果显示多发性硬化症患者外周血和脑脊液中 YKL-40 浓度均明显增加, 并与患者扩展残疾状况评分量表评分呈正相关, YKL-40 可作为预测疾病活动和预后的生物标志物。

然而, YKL-40 参与自身免疫性疾病的具体分子机制目前尚未明确, YKL-40 究竟是仅作为急性时相反应蛋白的一员, 伴随疾病进展而发生的非特异性表达变化, 还是作为信号通路中的关键因子, 促进疾病急性期进展, 抑或是直接参与机体免疫功能调节, 仍有待继续深入研究。目前研究认为 YKL-40 参与机体免疫功能调节的可能机制包括:

① YKL-40 可作为一种自身抗原, 直接诱导 T 细胞介导自身免疫反应^[17]; ② YKL-40 可负性调节补体 C4 表达, 导致补体系统缺陷及功能障碍, 诱导自身免疫性疾病发病^[18]; ③ YKL-40 参与 Fas/FasL 系统介导的淋巴细胞凋亡, 与免疫耐受密切相关^[19]。

本研究结果显示 MG 急性期患儿血清 YKL-40 水平明显高于缓解期患儿, 且 YKL-40 与 MG 患儿病情严重程度相关, 全身型患儿血清 YKL-40 水平显著高于眼肌型患儿, 血清 YKL-40 水平与 QMG 评分呈正相关性, 在校正性别、年龄等因素后, 多元线性回归分析结果仍显示血清 YKL-40 是 MG 患儿 QMG 评分的独立影响因素。这些结果有力支持本研究的前期推测, 即血清 YKL-40 可反映 MG 疾病活动状态和病情严重程度。最后, 本研究采用 ROC 分析法评估 YKL-40 对高四分位 QMG 评分的预测价值, AUC 为 0.828, 敏感度和特异度分别为 90.0% 和 75.0%, 再次表明血清 YKL-40 对疾病严重程度有较好预测价值。

此外, 乙酰胆碱受体抗体阳性作为目前临床诊断 MG 的重要参考指标, 然而本研究结果未发现乙酰胆碱受体抗体与 YKL-40 血清水平之间存在明确相关性。笔者分析认为该结果一方面反映了两者

在MG疾病中的作用不一致,前者是MG的发病机制之一,与病程无关,而后者更倾向是一种疾病急性期的非特异性标记物;另一方面也可能与本组病例类型有关,本组眼肌型MG患儿占71.43%(30/42),轻度全身型和中度全身型MG患儿各仅有8例(19.05%)和4例(9.52%),且无重度全身型MG患儿纳入研究,故无法继续深入按MG临床分型对乙酰胆碱受体抗体与YKL-40血清水平的相关性进行分层分析。

综上所述,本研究发现MG患儿血清YKL-40水平显著升高,并于患儿病情程度呈正相关性,有可能成为MG患者早期诊断及病情严重程度评估的新指标。本研究的不足之处:首先,MG的人群发病率相对较低,作为一项单中心研究,本研究仅纳入42例MG患儿,所得到的研究结果可能与真实世界存在偏差,期待后续更大样本量的多中心研究结果加以验证;其次,YKL-40生物学功能复杂,影响因素众多,虽在病例筛选过程中排除了并发其他自身免疫性疾病、肿瘤性疾病、感染性疾病及严重肝肾功能障碍的患儿,但仍可能存在其他因素影响血清YKL-40水平;最后,本研究缺少随访,YKL-40与患儿缓解、复发及长期预后的关系有待继续完善。

参考文献:

- [1] WOLFE G I, KAMINSKI H J, ABAN I B, et al. Long-term effect of thymectomy plus prednisone versus prednisone alone in patients with non-thymomatous myasthenia gravis: 2-year extension of the MGTX randomised trial[J]. The Lancet Neurology, 2019, 18(3): 259-268.
- [2] 刘挺挺,李虎,马伟,等.重症肌无力患者外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值和血小板/淋巴细胞比值的临床意义[J].现代检验医学杂志,2016,31(1):65-68.
LIU Tingting, LI Hu, MA Wei, et al. Clinical significance of neutrophils/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio of peripheral blood in patients with myasthenia gravis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(1):65-68.
- [3] 杨倩.儿童重症肌无力相关血清抗体检测的研究进展[J].国际儿科学杂志,2020,47(4):263-266.
YANG Qian. Progress in detection of serum antibodies related to myasthenia gravis in children[J]. International Journal of Pediatrics, 2020, 47(4):263-266.
- [4] CHEN I M, JOHANSEN A Z, DEHLENDORFF C, et al. Prognostic value of combined detection of serum IL-6, YKL-40, and C-reactive protein in patients with unresectable pancreatic cancer[J]. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2020, 29(1): 176-184.
- [5] SALOMON J, MATUSIAK Ł, NOWICKA-SUSZKO D, et al. Chitinase-3-like protein 1 (YKL-40) is a new biomarker of inflammation in psoriasis[J]. Mediators of Inflammation, 2017, 2017(5): 9538451.
- [6] VEGA A, SANCHEZ-NIÑO M D, ORTIZ A, et al. The new marker YKL-40, a molecule related to inflammation, is associated with cardiovascular events in stable haemodialysis patients[J]. Clinical Kidney Journal, 2020, 13(2): 172-178.
- [7] BRAHE C H, DEHLENDORFF C, ØSTERGAARD M, et al. Circulating serum interleukin-6, serum chitinase-3-like protein-1, and plasma vascular endothelial growth factor are not predictive for remission and radiographic progression in patients with early rheumatoid arthritis: post-hoc explorative and validation studies based on the CIMESTRA and OPERA trials[J]. Scandinavian Journal of Rheumatology, 2018, 47(4): 259-269.
- [8] JAFARI-NAKHJAVANI M R, GHORBANI-HAGHJO A, BAGHERZADEH-NOBARI B, et al. Serum YKL-40 levels and disease characteristics in patients with rheumatoid arthritis[J]. Caspian Journal of Internal Medicine, 2019, 10(1): 92-97.
- [9] BARAN A, MYSLIWIEC H, SZTERLING-JAWOROWSKA M, et al. Serum YKL-40 as a potential biomarker of inflammation in psoriasis[J]. Journal of Dermatological Treatment, 2018, 29(1): 19-23.
- [10] 中华医学会神经病学分会神经免疫学组,中国免疫学会神经免疫学分会.中国重症肌无力诊断和治疗指南2015[J].中华神经科杂志,2015,48(11):934-940.
Neuroimmunology Group, Chinese Society of Neurology, Chinese Medical Association, Neuroimmunology Branch of Chinese Society of Immunology. Guidelines for the diagnosis and treatment of myasthenia gravis in China (2015)[J]. Chinese Journal of Neurology, 2015, 48(11): 934-940.
- [11] JANG Y Y, PARK H J, CHUNG H L. Serum YKL-40 levels may help distinguish exacerbation of post-infectious bronchiolitis obliterans from acute bronchiolitis in young children[J]. European Journal of Pediatrics, 2017, 176(7): 971-978.
- [12] 朴雪梅,薛鸾,吴香香,等.原发性干燥综合征患者血清YKL-40检测及其意义[J].中国免疫学杂志,2014,30(4):520-522.
PU Xuemei, XUE Luan, WU Xiangxiang, et al. Serum YKL-40 determination in primary Sjogren's Syndrome and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Immunology, 2014, 30(4):520-522.
- [13] KONG Yi, ZHANG Suhan, SU Xin, et al. Serum levels of YKL-40 are increased in patients with psoriasis: a meta-analysis[J]. Postgraduate Medicine, 2019, 131(6): 405-412.
- [14] QI Yuan, CHOU Lisha, ZHANG Linjie, et al. Increased cerebrospinal fluid YKL-40 levels are associated with disease severity of neuromyelitis optica spectrum disorders[J]. Multiple Sclerosis and Related Disorders, 2020, 45: 102395.
- [15] OLDONI E, SMETS I, MALLANTS K, et al. CHIT1 at diagnosis reflects long-term multiple sclerosis disease activity[J]. Annals of Neurology, 2020, 87(4): 633-645.