

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.11.011

论著 · 临床研究

肠型脂肪酸结合蛋白检测在足月新生儿 坏死性小肠炎中的临床意义

皇甫春荣 李平 田云粉

(云南省第一人民医院儿科, 云南 昆明 650034)

[摘要] **目的** 探讨肠型脂肪酸结合蛋白(I-FABP)在足月新生儿坏死性小肠炎(NEC)中的临床应用价值。**方法** 2012年2月至2014年1月确诊为NEC的41例足月新生儿为病例组,其中Ⅰ期患儿24例,Ⅱ~Ⅲ期患儿17例;同期确诊为非消化系统疾病的62例患儿为对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组患儿血清I-FABP和C反应蛋白(CRP)水平。采用受试者工作特征曲线(ROC)对I-FABP诊断NEC进行评估。**结果** 病例组不同分级患儿血清I-FABP水平均显著高于对照组(均 $P<0.05$),且Ⅱ~Ⅲ期组显著高于Ⅰ期患儿($P<0.05$);I-FABP血清标志物ROC曲线下面积(AUC)为0.85(95%CI: 0.78~0.92),最佳诊断截点值为2.25 ng/mL,该截点值下诊断NEC的敏感性为80.49%,特异性为70.19%。病例组与对照组患儿血清CRP水平差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 血清I-FABP在NEC患儿早期(Ⅰ期)已显著升高,并与病情严重程度存在相关性,可作为诊断NEC的参考指标。[中国当代儿科杂志, 2014, 16(11): 1125-1128]

[关键词] 肠型脂肪酸结合蛋白;坏死性小肠炎;新生儿

Clinical significance of serum intestinal fatty acid-binding protein in full-term infants with necrotizing enterocolitis

HUANG-FU Chun-Rong, LI Ping, TIAN Yun-Fen. Department of Pediatrics, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650034, China (Li P, Email: lipingkh96@sina.cn)

Abstract: Objective To evaluate the clinical value of intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) in full-term newborn infants with necrotizing enterocolitis (NEC). **Methods** Forty-one full-term infants with a confirmed diagnosis of NEC from February 2012 to January 2014 were recruited as case group (stage I: 24 cases; stage II-III: 17 cases). Sixty-two children diagnosed with non-digestive diseases in the same period were recruited as the control group. Serum levels of I-FABP and C-reactive protein (CRP) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The diagnostic value of I-FABP for NEC was assessed using the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Stage I and stage II-III cases in the case group had significantly higher serum I-FABP levels than the control group ($P<0.05$), and stage II-III cases had significantly higher serum I-FABP levels than stage I cases ($P<0.05$). The area under the ROC curve for serum I-FABP was 0.85 (95% CI: 0.78-0.92), with the optimal cut-off point of 2.25 ng/mL. Under this cut-off point, the sensitivity and specificity were 80.49% and 70.19%, respectively. There was no significant difference in serum CRP level between the case and control groups ($P>0.05$). **Conclusions** In newborn infants with NEC, serum I-FABP level increases significantly in stage I, and it is correlated with the disease severity. Therefore, serum I-FABP can be used as a biomarker for the diagnosis of NEC. [Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(11): 1125-1128]

Key words: Intestinal fatty acid-binding protein; Necrotizing enterocolitis; Newborn infant

[收稿日期] 2014-04-30; [接受日期] 2014-07-17

[基金项目] 云南省应用基础研究计划项目(2012FB204)。

[作者简介] 皇甫春荣,男,本科,主治医师。

[通信作者] 李平,男,副主任医师。

急性坏死性小肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 是一种局限于小肠的急性出血性坏死性炎症, 为小肠缺血性疾病, 是儿科常见的急腹症之一^[1]。其确切发病机制目前仍不十分清楚, 可能与感染、早产、新生儿缺氧等因素有关。早期患儿临床表现多不典型, 以肠缺血症状表现为主, 诊断主要依靠患儿临床表现和主治医师临床经验, 因此常常导致患儿漏诊^[2-4]。晚期患儿症状加重, 出现肠坏死、穿孔, 预后较差。因此, 探寻 NEC 早期诊断的血清学标志物, 为 NEC 患儿早期诊断提供重要依据, 提高患儿早期确诊率显得尤为重要^[1]。肠型脂肪酸结合蛋白 (intestinal fatty acid binding protein, I-FABP) 是由小肠单层柱状上皮细胞分泌的一种水溶性蛋白质, 仅存在于胃肠道黏膜, 具有较好的组织来源特异性^[5]。已有研究显示 I-FABP 在肠缺血性疾病患者体内显著升高^[1]。NEC 多在胎龄偏小的早产儿中发病, 足月儿 NEC 一般仅见于有缺氧窒息或先心病的新生儿, NEC 在两种人群中的病因和发病机制不同, 为此我们选择足月新生儿为研究对象, 采用病例-对照研究的方法探讨 I-FABP 在 NEC 足月新生患儿血清中的表达及其作为血清学标志物的临床应用价值^[5]。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2012 年 2 月至 2014 年 1 月我院收治的 NEC 患儿 41 例 (病例组) 及非消化系统疾病患儿 62 例 (对照组) 为研究对象。病例组所有患儿均经诊断标准^[6]确诊, 且根据 Bell 分级分为 NEC I 期 ($n=17$) 和 II ~ III 期 ($n=24$)。NEC 诊断不明确者, 合并其他消化系统疾病患儿 (如腹泻、中

毒性巨结肠等), 合并其他亚种感染性疾病患儿, HIV 及其他传染性疾病患儿均予以排除。本研究经我院医学伦理委员会审阅、批准, 所有患儿家属均签署知情同意书, 自愿加入该临床研究。

1.2 研究方法

两组患儿于明确诊断后抽取头皮或上肢静脉血 2 mL, 室温放置 2 h 后置入离心管中, 2000 转/min 离心 10 min, 吸取上层血清置于 EP 管中, 并保存在 -80°C 冰箱中待测。

应用酶联免疫吸附法对两组血清 I-FABP 和 C 反应蛋白 (CRP) 进行定量检测, 试剂盒购自上海酶联生物研究所。将置于 -80°C 的两组血清于 4°C 下解冻后, 根据试剂盒操作说明对样品进行处理, 在加终止液后 15 min 以内上机检测。选取 450 nm 波长测量各样本的光密度 (A 值), 以标准物的浓度为纵坐标, A 值为横坐标, 绘出标准曲线, 根据样品的 A 值由标准曲线查出相应的浓度, 再乘以稀释倍数得出各样本中 I-FABP 和 CRP 浓度。

1.3 统计学分析

应用 GraphPad 5.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用受试者工作特征曲线 (AUC) 分析 I-FABP 对 NEC 的诊断价值。

2 结果

2.1 患儿一般情况

病例组与对照组患儿胎龄、体重、采样日龄、WBC 计数、血小板计数等指标差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 见表 1。

表 1 两组患儿临床一般情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	胎龄 (周)	体重 (g)	采样日龄 (d)	WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	血小板 ($\times 10^9/\text{L}$)
对照组	62	38.0 ± 2.3	2921 ± 589	5.4 ± 1.5	10.6 ± 2.7	260 ± 59
病例组						
I 期	24	38.1 ± 2.1	2903 ± 602	5.0 ± 1.6	9.8 ± 2.3	262 ± 61
II ~ III 期	17	37.8 ± 2.1	2889 ± 569	5.2 ± 1.2	10.2 ± 2.3	254 ± 50
F 值		0.09	0.02	0.64	0.76	0.10
P 值		0.92	0.98	0.53	0.47	0.90

2.2 各组患儿血清 I-FABP 水平比较

3组患儿血清 I-FABP 水平比较差异有统计学意义 ($F=37.12$, $P<0.05$)。病例 I 期组和病例 II ~ III 期组患儿血清 I-FABP 水平分别为 3.0 ± 1.1 ng/mL 和 6.0 ± 3.5 ng/mL, 均显著高于对照组 (2.0 ± 1.1 ng/mL) (均 $P<0.05$), 且病例 II ~ III 期组血清 I-FABP 水平显著高于病例 I 期组 ($P<0.05$)。

2.3 各组患儿血清 CRP 水平比较

对照组、病例 I 期组和病例 II ~ III 期组患儿血清 CRP 水平分别为 4.0 ± 1.8 mg/L、 4.3 ± 2.5 mg/L 和 4.6 ± 2.6 mg/L, 3组患儿血清 CRP 水平比较差异无统计学意义 ($F=0.94$, $P>0.05$)。

2.4 I-FABP 血清标志物的应用价值

应用 I-FABP 作为诊断 NEC 的血清标志物, ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.85 (95% CI: 0.78~0.92), 最佳截点值为 2.25 ng/mL, 该截点值下诊断 NEC 的敏感性为 80.49%, 特异性为 70.19%, 见图 1。

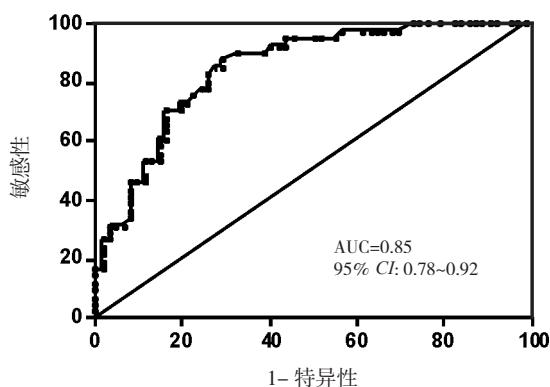


图1 I-FABP 诊断 NEC 的 ROC 曲线

3 讨论

NEC 目前确切发病率及其发病机制并不十分清楚^[1,7]。可能与患儿缺氧感染及遗传因素有关^[8]。NEC 患儿早期症状多不典型, 晚期因肠道缺血、坏死、穿孔而引起的急性腹膜炎症状, 常常危及患儿生命, 且预后较差。因此, 探寻 NEC 诊断及评估病情严重程度的血清学生物标志物是其研究热点。目前常用于诊断及评估 NEC 患儿病情严重程度的指标有血 WBC 计数、血清 CRP 及血小板计数等反映相关反应炎症严重程度的指标。有研究显示, 血清 WBC 及 CRP 水平在一定程度上反

映了患儿体内炎症反应的严重程度, 可作为判断病情及预后的指标^[1,9]。但亦有研究显示, NEC 患儿与正常儿童相比 WBC 计数及血清 CRP 差别不大, 无法提供诊断及 NEC 严重程度参考价值^[10]。Reisinger 等^[11]的研究显示, 患儿血小板计数可作为诊断 NEC 的重要参考指标, 随着患儿 NEC 病情严重程度发展, 患儿血小板计数显著下降。在本研究中, 血清 WBC 计数、血小板计数及血清 CRP 水平在病例组与对照组中差异无统计学意义, 且与患儿病情严重程度无相关性, 因而单纯检测 NEC 患儿 WBC 及 CRP 水平并不能为患儿的诊断及病情严重提供可靠信息。分析原因可能与本研究纳入的研究对象为足月患儿有关, 因为早产儿和足月儿 NEC 发病机制并不相同。这可能是导致与 Reisinger 等^[11]的研究结果不一致的重要原因。

I-FABP 是由小肠单层柱状上皮细胞分泌的一种水溶性蛋白质, 仅存在于胃肠道黏膜, 具有较好的组织来源特异性^[12-13]。编码 I-FABP 的基因位于人 4 号染色体长臂 28 带 31 区, 由 4 个外显子和 3 个内含子组成, 长度约为 3400 bp。其编码的蛋白 I-FABP 由 131 个氨基酸残基组成, 相对分子量为 1.5 kD。已有研究显示, I-FABP 的表达与脂代谢存在相关性, 肠道中脂肪酸摄取较多的部位其表达峰度增高, 而在脂肪酸摄取少的部位其表达水平较低^[14]。同时, I-FABP 表达存在组织特异性, 在小儿小肠及结肠黏膜微绒毛顶端及陷窝表皮细胞中 I-FABP 分泌表达能力较强, 而在成人仅在胃和十二指肠分泌表达较为丰富。肠道缺血性病变累及肠黏膜上皮细胞后, 刺激小肠单层柱状上皮细胞分泌 I-FABP, 并通过门静脉系统运输到外周血中。因此, I-FABP 理论上可作为诊断 NEC 的血清学标志物。但关于 I-FABP 与 NEC 的相关性研究并不多, Thuijls 等^[15]的研究发现, NEC 患儿在发病早期已有血清 I-FABP 的升高, 同时其升高水平与患儿病情的严重程度存在相关性。在本研究中发现 NEC 组患儿外周血中 I-FABP 水平显著高于对照组, 且晚期组 NEC 患儿 I-FABP 水平高于早期组, 说明 NEC 病情严重程度与血清 I-FABP 呈相关性, 其可作为 NEC 病情严重程度的指标, 与 Thuijls 等^[15]的研究结论基本一致。同时我们应用 ROC 曲线评估 I-FABP 作为 NEC 诊断生物学标志物的临床应用价值, 结果发现应用 I-FABP 作为

诊断 NEC 的血清标志物, ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.85 (95%CI: 0.78~0.92), 最佳截点值为 2.25 ng/mL, 该截点值下诊断 NEC 的敏感性为 80.49%, 特异性为 70.19%, 诊断的敏感性和特异性均较高。ROC 曲线可作为评价诊断实验的有效方法, 根据 Swets^[16] 报道, ROC 面积在 0.5 以下时无诊断价值; 面积在 (0.5~0.7) 时有较低的准确性; ROC 面积在 (0.7~0.9) 时有较高的准确性; 面积在 0.9 以上时准确性最高。本结果显示以 I-FABP 作为诊断 NEC 的指标, ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.85, 提示其诊断效能较高^[17]。

但本研究为单中心的诊断试验, 病例组与对照组纳入患儿例数相对较少, 可能无法代表所有 NEC 患儿的 I-FABP 水平及临床特征, 同时对受试者及研究者未施加盲法。这些缺陷可能对研究结论产生一定的影响, 因而在有条件的情况下应加大入组患儿例数, 进行多中心的前瞻性临床研究, 为 I-FABP 作为 NEC 诊断及评估病情严重程度的血清标志物提供更为可靠的依据。

[参 考 文 献]

- [1] 王雪莲, 陈超. 新生儿坏死性小肠结肠炎的病因及危险因素研究进展 [J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(5): 340-344.
- [2] 王会苹, 张宽. 新生儿坏死性小肠结肠炎早期 X 线表现分析 [J]. 实用医学杂志, 2011, 27(3): 455-456.
- [3] 秦嘉丽. 新生儿坏死性小肠结肠炎诊断进展 [J]. 重庆医学, 2012, 41(19): 1991-1993.
- [4] 余珍珠, 黄惠君, 刘晓红, 等. 新生儿坏死性小肠结肠炎 80 例临床分析 [J]. 中华围产医学杂志, 2014, 17(1): 55-57.
- [5] 秦嘉丽, 韦红, 李禄全, 等. 血清肠型脂肪酸结合蛋白在诊断新生儿坏死性小肠结肠炎中的意义 [J]. 中华小儿外科杂志, 2013, 34(8): 590-594.
- [6] Walsh MC, Kliegman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis: a practitioner's perspective [J]. *Pediatr Rev*, 1988, 9(7): 219-226.
- [7] De Plaen IG. Inflammatory signaling in necrotizing enterocolitis [J]. *Clin Perinatol*, 2013, 40(1): 109-124.
- [8] Moore JE. Newer monitoring techniques to determine the risk of necrotizing enterocolitis [J]. *Clin Perinatol*, 2013, 40(1): 125-134.
- [9] 李晶, 周伟. 新生儿坏死性小肠结肠炎的生物标志物研究进展 [J]. 中华围产医学杂志, 2014, 17(2): 135-139.
- [10] 马少春, 阿爽. C 反应蛋白测定在坏死性小肠结肠炎中的应用 [J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(1): 58-59.
- [11] Reisinger KW, Kramer BW, Van der Zee DC, et al. Non-invasive serum amyloid A (SAA) measurement and plasma platelets for accurate prediction of surgical intervention in severe necrotizing enterocolitis (NEC) [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90834.
- [12] 赵海东, 田晓峰, 郭健, 等. 肠型脂肪酸结合蛋白对肠缺血早期诊断的意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2004, 13(7): 513-516.
- [13] 王家胜, 杨强. 肠型脂肪酸结合蛋白研究进展 [J]. 世界科技研究与发展, 2012, 34(4): 611-612, 620.
- [14] 傅益永, 韦红. 肠型脂肪酸结合蛋白在早期诊断小儿肠缺血性疾病中的研究进展 [J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(19): 1531-1533.
- [15] Thuijls G, Derikx JP, van Wijck K, et al. Non-invasive markers for early diagnosis and determination of the severity of necrotizing enterocolitis [J]. *Ann Surg*, 2010, 251(6): 1174-1180.
- [16] Swets JA. ROC analysis applied to the evaluation of medical imaging techniques [J]. *Invest Radiol*, 1979, 14(2): 109-121.
- [17] 王祖芳, 李桂军. ROC 曲线分析卵泡刺激素及黄体生成素辅助诊断女童性早熟的价值 [J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(6): 441-444.

(本文编辑: 万静)