

联合 SCUBE1、D-二聚体在急性肺血栓栓塞症诊断中的应用

程弯弯,孔君,杨雪,洪娇,金宇,解卫平,王虹*

南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症学科,江苏 南京 210029

[摘要] **目的:**比较急性肺血栓栓塞症(acute pulmonary thromboembolism, APTE)患者和健康受试者血浆信号肽-CUB-表皮生长因子结构域包含蛋白1[signal peptide-CUB(complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1)-EGF(epidermal growth factor)domain-containing protein 1, SCUBE1]水平的差异,评估 SCUBE1 联合血浆 D-二聚体在 APTE 中的诊断价值。**方法:**选择 31 例经 CT 肺动脉造影(computed tomographic pulmonary angiography, CTPA)确诊的 APTE 患者作为实验组,19 例健康受试者作为对照组,分别检测实验组和对照组血浆 SCUBE1 的水平,并采用曼-惠特尼秩和检验比较两组人群血浆 SCUBE1 的水平。利用受试者工作曲线分析并比较 SCUBE1、D-二聚体单独及两者联合应用对 APTE 的诊断价值。**结果:**APTE 组患者 SCUBE1 明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);SCUBE1 诊断 APTE 的最佳界值为 8.09 ng/mL,敏感性为 87.10%,特异性为 68.42%;SCUBE1 联合 D-二聚体诊断 APTE 的敏感性为 81.48%,特异性为 88.37%。**结论:**SCUBE1 联合 D-二聚有助于 APTE 的早期诊断。

[关键词] 急性肺血栓栓塞症;SCUBE1;D-二聚体

[中图分类号] R563.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)09-1229-05

doi:10.7655/NYDXBNS20180912

Value of SCUBE1 combined D-dimer in the diagnosis of acute pulmonary thromboembolism

Cheng Wanwan, Kong Jun, Yang Xue, Hong Jiao, Jin Yu, Xie Weiping, Wang Hong*

Department of Pulmonary and Clinical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** The goal of this study was to compare the signal peptide-CUB(complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1)-EGF(epidermal growth factor)domain-containing protein 1(SCUBE1) levels between acute pulmonary thromboembolism(APTE)patients and healthy subjects and also investigate the value of SCUBE1 combined D-dimer in the diagnosis of APTE. **Methods:** Thirty-one patients diagnosed with APTE using computed tomographic pulmonary angiography(CTPA)were included in the study as the experimental group. A control group of 19 age-matched, healthy volunteers served as a reference for biochemical parameters. The levels of SCUBE1 from serum in the experimental and control groups were measured, and the Mann-Whitney rank plasma test was used to compare the levels of SCUBE1 in the two groups. The receiver operating curve(ROC)was used to analyze and compare the diagnostic value of SCUBE1, D-dimer for APTE and the combined diagnostic value of both. **Results:** SCUBE1 levels were significantly higher in the patients with APTE($P < 0.001$). The best cut-off value of SCUBE1 in the diagnosis of APTE was 8.09 ng/mL. The sensitivity of diagnosis of APTE was 87.10% and the specificity was 68.42%. The sensitivity of SCUBE1 combined with D-dimer to diagnose APTE was 81.48%, and the specificity was 88.37%. **Conclusion:** SCUBE1 combined D-dimer assist in the diagnosis of APTE.

[Key words] acute pulmonary thromboembolism; SCUBE1; D-dimer

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(09):1229-1233]

[基金项目] 国家科技重大专项(2018ZX10722301-002);江苏省卫生厅重点项目(H201601);江苏省临床医学研究中心支撑体系建设(BL2014084)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hongwang@njmu.edu.cn

急性肺血栓栓塞症(acute pulmonary thromboembolism, APTE)是一种常见且严重威胁人类生命的疾病。APTE起病急、病死率高,是临床上猝死的常见原因。有研究发现,住院死亡患者中,每10例中就有1例死于APTE^[1]。目前临床上常检测D-二聚体作为APTE的初筛手段,对于D-二聚体升高者

考虑进一步行CT肺动脉造影(computed tomographic pulmonary angiography, CTPA)。然而尽管D-二聚体诊断APTE敏感性高,但D-二聚体水平受多种因素干扰,比如高龄、感染、肿瘤、手术、外伤、妊娠、是否有深静脉血栓病史等,因此造成D-二聚体诊断APTE的特异性不高,易导致患者误诊,接受不必要的检查,浪费医疗资源^[2]。因此寻找其他生物标志物或者联合应用几种标志物对疑似APTE患者进行初筛尤为重要。信号肽-CUB-表皮生长因子结构域包含蛋白1 [signal peptide-CUB (complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1)-EGF (epidermal growth factor) domain-containing protein 1, SCUBE1] 是一种活化的血小板表面表达和分泌的糖蛋白,能够促进血小板间的相互作用,支持血小板基质的黏附。其血浆水平可能与血小板活化有关,进一步提示可能有急性血栓栓塞症的存在。本研究通过检测APTE患者和健康人群血浆SCUBE1水平的差异,探讨SCUBE1在APTE诊断中的价值,重点研究SCUBE1联合D-二聚体在APTE早期诊断的应用价值。

1 对象和方法

1.1 对象

南京医科大学第一附属医院2017年11月—2018年1月31例确诊APTE的患者为APTE组,男15例,女16例,年龄18~85岁,平均年龄(60.8 ± 16.6)岁;所有患者均经CTPA确诊,符合2014版欧洲心脏病学会(European Society of Cardiology, ESC)《急性肺血栓栓塞症诊断治疗指南》^[3];选取同期年龄、性别比相匹配的19例健康受试者为健康对照组,其中男9例,女10例,年龄39~77岁,平均年龄(59.1 ± 9.0)岁。两组在年龄和性别上差异无统计学意义($P > 0.05$)。研究排除标准为:急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS);急性心肌梗死;急性缺血性脑血管疾病;外周动脉疾病或其他缺血性疾病如肠系膜缺血;晚期肝、肾衰竭和心力衰竭;年龄18岁以下;变态反应性疾病;特发性心肌病;严重心脏瓣膜疾病;恶性肿瘤;血液或风湿疾病。排除标准适用于所有受试者,包括试验组和对照组。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集患者的一般临床资料,包括性别、年龄、主要症状(呼吸困难、胸痛、晕厥、咯血、气促、心动过速、发绀、下肢肿胀)、体格检查(心率、血压)、心电图情况(右束支传导阻滞、S₁Q_mT_m征、T波倒置、ST

段改变、窦性心动过速等)、心脏二维超声情况(肺动脉收缩压、左室射血分数等)、下肢静脉超声(静脉血栓部位及血流阻塞程度)、简化版Wells评分、D-二聚体、N端前脑钠肽(n-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNT)、心肌标志物等。

1.2.2 SCUBE1测定

患者一经确诊APTE后立即抽静脉血3 mL,离心,分离血浆标本于-80 °C冰箱冻存留备化验。同期健康受试者体检时同样采静脉血3 mL,离心,分离血浆标本于-80 °C冰箱冻存等待同时检测。参照相关文献^[4],应用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(CS-BE15005h,武汉华美生物工程有限公司)测定血浆SCUBE1值。用酶标仪在450 nm波长测定标本吸光度,结果以ng/mL表示,最小检测浓度为0.16 ng/mL。

1.2.3 APTE患者分组

参照2014年ESC中APTE诊断治疗指南^[3],依据临床表现、右心功能不全征象、心肌损伤标志物,将31例确诊的APTE患者进行危险分层,分为高危、中高危、中低危、低危4个亚组。

1.3 统计学方法

采用SPSS22.0统计软件进行统计分析。通过受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)取得最佳诊断界值(cut-off value)。定量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据用K-S检验是否符合正态分布,不符合正态分布的采用曼-惠特尼秩和检验,组间比较采用非参数比较。SCUBE1联合D-二聚体对APTE的诊断价值通过串联试验分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 APTE组、健康对照组临床资料分析

本组患者临床症状:气短或呼吸困难(67.7%),咳嗽(19.4%)、晕厥(6.5%)、咯血(3.2%)、胸痛(12.9%)、发热(3.2%),无患者出现典型的“胸痛、呼吸困难、咯血”三联征。心电图表现:3例APTE患者心电图大致正常,异常心电图检出率为90%,表现为经典S₁Q_mT_m征仅为10.7%,最多见的心电图变化是胸前导联T波倒置(42.9%),其次为窦性心动过速(35.7%),ST段改变(17.9%),房性心律失常(9.7%),右束支传导阻滞(7.1%)。APTE组和健康对照组相关临床资料见表1。

2.2 血浆SCUBE1测定结果

APTE组血浆SCUBE1水平(11.37 ± 3.14)ng/mL明显高于健康对照组(7.51 ± 2.17)ng/mL,差异有统

表1 APTE患者、健康对照组临床资料

Table 1 Clinical data of patients with APTE and healthy controls

指标	APTE组	健康对照组	P值
年龄(岁)	60.8 ± 16.6	59.1 ± 9.0	> 0.05
性别[n(%)]			> 0.05
男	15(48.4)	9(47.4)	
女	16(51.6)	10(52.6)	
DVT体征[n(%)]	3(9.7)	—	
体格检查			
心率(次/min)	95 ± 21	88 ± 7	> 0.05
收缩压(mmHg)	120 ± 22	119 ± 14	> 0.05
舒张压(mmHg)	73 ± 16	75 ± 8	> 0.05
简化版Wells评分(分)	3 ± 1	—	
心脏二维超声*			
肺动脉压力[n(%)]			
正常(<40 mmHg)	14(63.6)	—	
异常(≥40 mmHg)	8(36.4)	—	
左室射血分数EF(%)	64 ± 2	—	
下肢深静脉血栓[n(%)]			
有	12(38.7)	—	
无	19(61.3)	—	
D-二聚体(mg/L)	2.4 ± 2.0	0.8 ± 0.7	< 0.05
心肌标记物[n(%)]			
cTnT阳性	15(48.4)	—	
cTnI阳性	2(6.5)	—	
NT-proBNP阳性[n(%)]	20(64.5)	—	

*仅22例APTE患者行心脏二维超声检查,其余9例未检。

计学意义($P < 0.001$)。

2.3 APTE各亚组SCUBE1水平比较

根据上述危险分层,患者分为低危3例,中低危14例,中高危9例,高危5例,患者血浆SCUBE1均数水平:高危组 > 中高危组 > 中低危组 > 低危组,但各亚组SCUBE1水平比较,差异无统计学意义($P=0.647$,表2)。

2.4 血浆SCUBE1、D-二聚体对APTE的诊断价值

SCUBE1诊断APTE ROC曲线下面积(AUC)为

表2 APTE各亚组SCUBE1水平比较

Table 2 Comparison of SCUBE1 levels in each APTE subgroup

组别	n	SCUBE1 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)
高危组	5	12.85 ± 4.39
中高危组	9	11.75 ± 3.17
中低危组	14	10.88 ± 2.59
低危组	3	10.02 ± 3.86

0.845(95%CI:0.714~0.931),最佳界值为8.09 ng/mL,此时SCUBE1诊断APTE的敏感性为87.10%,特异性为68.42%(图1)。D-二聚体用于诊断APTE的AUC为0.824(95%CI:0.691~0.917),最佳界值为0.57 mg/L,此时D-二聚体诊断APTE的敏感性为93.55%,特异性为63.16%。SCUBE1联合D-二聚体诊断APTE的敏感性为81.48%,特异性为88.37%。SCUBE1诊断APTE的敏感性低于D-二聚体,但特异性高于D-二聚体(图1)。SCUBE1联合D-二聚体较单独应用D-二聚体诊断APTE的特异性明显提高($P < 0.05$)。

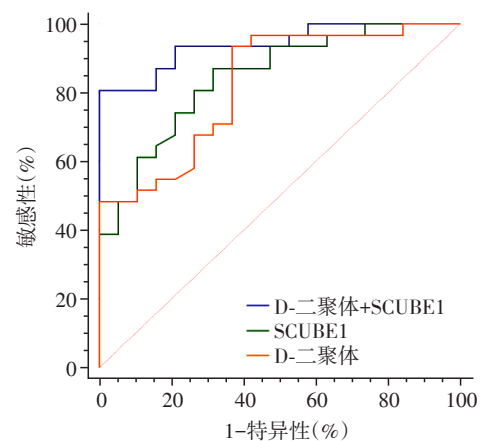


图1 SCUBE1、D-二聚体单独及两者联合诊断APTE的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of APTE diagnosis by SCUBE1 and D-dimer respectively or jointly

3 讨论

随着越来越多临床医生对APTE认识的提高、人口老龄化加剧、慢性病患者的生存期延长(特别是肿瘤患者),使得APTE发病率日益增高。APTE临床症状缺乏特异性,国外研究表明呼吸困难是最常见的临床表现,约占50%,其次为胸膜炎性胸痛(39%)、咳嗽(23%)、胸骨后胸痛(15%)、发热(10%)、咯血(8%)、晕厥(6%)^[3]。本组资料显示APTE患者中,表现为气短或呼吸困难者占67.7%,咳嗽(19.4%),晕厥(6.5%),与既往研究结果相似。但咯血(3.2%)、胸痛(12.9%)发生率低于既往报道^[5],且无患者出现典型的“胸痛、呼吸困难、咯血”三联征。心电图检查可作为APTE诊断的辅助检查。本组资料中,异常心电图检出率为90%,最多见的心电图变化是胸前导联T波倒置(42.9%),研究表明T波倒置≥7个导联是预测APTE患者早期并发症的独立危险因素^[6]。但APTE患者心电图改变缺乏特

异性,既往认为APTE经典心电图表现为 $S_1Q_3T_3$,而本组患者中检出率仅为10.7%。故仅依靠心电图不能排除APTE诊断,其主要作用是辅助鉴别APTE和其他心血管疾病^[7]。

目前临床上确诊APTE需行经典肺动脉造影、CTPA、放射性核素通气/灌注成像、磁共振肺血管造影(magnetic resonance pulmonary angiography, MRPA)等特殊影像学检查。经典肺动脉造影是APTE诊断的“金标准”,然而对于存在血流动力学变化的高危患者,肺动脉造影会增加患者的死亡风险^[8],同时其有创性、费用昂贵及设备要求均限制了其在临床的广泛应用。CTPA常用来替代经典的肺动脉造影检查,但其对段以下肺动脉栓塞诊断的敏感性欠佳,且仍存在放射线暴露、增加医疗成本等缺陷,不适合用于对人群的初筛^[9-10]。放射性核素通气/灌注成像对人体有放射性,且检查时间长,患者一般难以耐受^[11]。磁共振肺血管造影检查耗时、大多数急性重症患者无法完成^[3]。因此,对疑似APTE的患者进行简单、有效的筛查尤为重要。

D-二聚体是目前临床上常用的APTE早期初筛指标,其对于诊断APTE有较高的敏感性,但特异性差。既往研究显示,随着年龄的增长,D-二聚体对疑似APTE患者诊断的特异性逐渐下降^[12]。有研究表明,使用年龄校正过的D-二聚体(如果年龄 >50 岁,年龄 $\times 10 \mu\text{g/L}$),代替 $500 \mu\text{g/L}$ 临界值,排除肺栓塞(pulmonary embolism, PE)的可能性由6.4%升至29.7%,没有其他假阴性发现^[2]。因此,在2014 ESC指南中,对于年龄 >50 岁者,将D-二聚体诊断界值设定为年龄 $\times 10 \mu\text{g/L}$ 。此变化使得D-二聚体对APTE的排除诊断价值得到了更合理的应用。尽管如此,单独使用D-二聚体排除APTE仍存在一定假阴性结果。近年来许多临床研究推荐^[2],临床评分结合D-二聚体用于APTE初步筛查。目前比较公认的有Wells评分、Geneva评分、Revised Geneva等评分系统。Wells评分是临床上应用最广泛的评分方法,采用三分类法或二分类法均显示了较好的临床评估能力^[13]。2014 ESC指南中指出,对不伴有休克或低血压疑似APTE患者,血浆D-二聚体联合临床可能性评估应作为APTE首要的诊断策略。对于年龄 >50 岁的个体而言,D-二聚体阳性界值需要按年龄进行校正。APTE临床可能性为中到低度、或APTE可能性小的患者可以通过D-二聚体进行进一步筛查,如果D-二聚体阳性,需要进一步行CTPA检查。本研究中,D-二聚体诊断APTE的敏感性为93.55%,

但特异性较低,为63.16%,与既往研究相符^[14]。因此,迫切需要联合应用其他生物标志物来提高APTE诊断的特异性。

SCUBE1作为表皮生长因子超家族成员之一,是分泌在细胞表面的一种蛋白。研究证实SCUBE1主要来源于血小板,存储在血小板 α -颗粒中,一旦血小板活化后分泌到细胞表面,暴露在血小板表面的SCUBE1分解成小分子可溶性片段并释放入血^[15]。同时SCUBE1在血管内皮细胞也有表达^[16],并参与了内皮细胞的缺血-再灌注损伤修复过程^[17]。Dai等^[18]发现,SCUBE1在ACS、急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)患者中升高,而在慢性冠状动脉病变中并不升高。综上所述,SCUBE1作为一种新的血小板内皮细胞黏附分子,可用于急性血栓栓塞性疾病的早期诊断^[19]。APTE是血栓形成的终末事件,血浆SCUBE1水平升高往往提示体内血栓形成,故可能对早期诊断APTE有重要价值。先前Turkmen等^[4]研究发现SCUBE1在PE患者中显著高于健康对照组,且诊断PE的敏感度为91%,特异度为82%。随后Dirican等^[20]研究再次证实PE组血清SCUBE1水平高于非PE患者及健康人,临界值为 0.49 ng/mL ,且诊断PE的敏感度为100.0%,特异度为64.0%。尚无研究探讨SCUBE1在中国人群APTE中的诊断价值。本研究首次发现在APTE患者血浆中SCUBE1表达水平显著升高,且对于APTE的早期诊断具有较高的敏感性(87.10%)和特异性(68.42%),特别是联合D-二聚体可进一步提高诊断APTE的特异性。本研究结果虽然与Turkmen^[4]、Dirican等^[20]的研究报道相一致,但SCUBE1水平存在差异,考虑与所用样本及检测试剂盒不同有关。国内研究发现血浆SCUBE1水平在少数民族(哈萨克族)与汉族之间存在差异,反映种族差异也是造成SCUBE1表达水平不同的可能原因^[21]。本研究中APTE各亚组间SCUBE1水平的比较差异虽无统计学意义,但SCUBE1均数水平高危组 $>$ 中危组 $>$ 低危组,结合其反映血小板活化水平的特性,提示SCUBE1可能对APTE的疗效和预后存在一定预测价值,但需要进一步扩大样本量,并监测治疗前后不同时间点的SCUBE1水平予以证实。

综上所述,SCUBE1有助于APTE的早期诊断,其诊断APTE的敏感性低于D-二聚体,但特异性明显高于D-二聚体,联合应用SCUBE1、D-二聚体检测可进一步提高APTE诊断的特异性,减少漏诊、误诊,降低病死率。但由于本研究所纳入的样本量较

小,且缺乏长期随访数据,因而对于SCUBE1在APTE中的确切诊断价值尚需大规模的前瞻性临床试验来进一步验证。

[参考文献]

- [1] 米玉红. 急性肺栓塞研究现状及研究热点[J]. 中华急诊医学杂志, 2015, 24(2): 133-138
- [2] Righini M, Van Es J, Den Exter PL, et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study [J]. JAMA, 2014, 311(11): 1117-1124
- [3] Konstantinides S, Torbicki A, Agnelli G, et al. 2014 ESC guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism [J]. Eur Heart J, 2015, 68(1): 64
- [4] Turkmen S, Sahin A, Gunaydin M, et al. The value of signal peptide - CUB - EGF domain - containing protein - 1 (SCUBE1) in the diagnosis of pulmonary embolism: a preliminary study [J]. Acad Emerg Med, 2015, 22(8): 922-926
- [5] Bajaj N, Bozarth AL, Guillot J, et al. Clinical features in patients with pulmonary embolism at a community hospital: analysis of 4 years of data [J]. J Thromb Thrombolysis, 2014, 37(3): 287-292
- [6] Kosuge M, Kimura K, Ishikawa T, et al. Prognostic significance of inverted T waves in patients with acute pulmonary embolism [J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 47(4): 322A
- [7] Kukla P, Dlugopolski R, Krupa E, et al. The value of ECG parameters in estimating myocardial injury and establishing prognosis in patients with acute pulmonary embolism [J]. Kardiol Pol, 2011, 69(9): 933-939
- [8] Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: the task force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. Eur Heart J, 2008, 29(18): 2276-2315
- [9] Carrier M, Righini M, Wells P, et al. Subsegmental pulmonary embolism diagnosed by computed tomography: incidence and clinical implications. a systematic review and meta-analysis of the management outcome studies [J]. Blood, 2009, 114(22): 1538
- [10] Stein PD, Goodman LR, Hull RD, et al. Diagnosis and management of isolated subsegmental pulmonary embolism; review and assessment of the options [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2012, 18(1): 20-26
- [11] Schembri GP, Smart R. Radiation dosimetry and safety issues in the investigation of pulmonary embolism [J]. Semin Nucl Med, 2010, 40(6): 442-454
- [12] Mirshahi S, Soria C, Kouchakji BA, et al. New combinational assay using soluble fibrin and D-dimer determinations: a promising strategy for identifying patients with suspected venous thromboembolism [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92379
- [13] Chagnon I, Bounameaux H, Aujesky D, et al. Comparison of two clinical prediction rules and implicit assessment among patients with suspected pulmonary embolism [J]. Am J Med, 2002, 113(4): 269-275
- [14] Kucher N, Goldhaber SZ. Cardiac biomarkers for risk stratification of patients with acute pulmonary embolism [J]. Circulation, 2003, 108(18): 2191-2194
- [15] Tu CF, Su YH, Huang YN, et al. Localization and characterization of a novel secreted protein SCUBE1 in human platelets [J]. Cardiovasc Res, 2006, 71(3): 486-495
- [16] Yang RB, Ng CK, Wasserman SM, et al. Identification of a novel family of cell-surface proteins expressed in human vascular endothelium [J]. J Biol Chem, 2002, 277(48): 46364-46373
- [17] Zhuang JL, Deane JA, Yang RB, et al. SCUBE1, a novel developmental gene involved in renal regeneration and repair [J]. Nephrol Dial Transplant, 2010, 25(5): 1421-1428
- [18] Dai DF, Thajeb P, Tu CF, et al. Plasma concentration of SCUBE1, a novel platelet protein, is elevated in patients with acute coronary syndrome and ischemic stroke [J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51(22): 2173-2180
- [19] Wu MY, Lin YC, Liao WJ, et al. Inhibition of the plasma SCUBE1, a novel platelet adhesive protein, protects mice against thrombosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(7): 1390
- [20] Dirican N, Duman A, Saglam G, et al. The diagnostic significance of signal peptide - complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1 - epidermal growth factor domain - containing protein-1 levels in pulmonary embolism [J]. Ann Thorac Med, 2016, 11(4): 277-282
- [21] 王美方. 血浆SCUBE1水平与新疆哈萨克族、达斡尔族、汉族原发性高血压的相关研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015

[收稿日期] 2018-03-30