

- of Gleason score discrepancies between needle biopsy and radical prostatectomy[J]. *Eur Urol*, 2008, 53(4): 767–775
- 9 Cazares LH, Drake RR, Esquela – Kirscher A, *et al.* Molecular pathology of prostate cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2010, 9(1–6): 441–459
- 10 Gofrit ON, Zorn KC, Taxy JB, *et al.* Predicting the risk of patients with biopsy Gleason score 6 to harbor a higher grade cancer[J]. *J Urol*, 2007, 178(5): 1925–1928
- 11 邓晓俊, 郎根强, 章益峰, 等. PSAD 在 PSA 4~10ng 患者前列腺癌诊断中的价值[J]. 现代泌尿外科杂志, 2012, 1: 58–60
- 12 计国义, 王伟华, 赵微, 等. PSA、PSAD、f/tPSA 在早期前列腺癌诊断作用的研究[J]. 中国实验诊断学, 2009, 1: 100–102
- 13 Tang P, Du W, Xie K, *et al.* Transition zone PSA density improves the prostate cancer detection rate both in PSA 4.0–10.0 and 10.1–20.0 ng/ml in Chinese men[J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(6): 744–748
- 14 Matsuda T, Saika K. Comparison of time trends in prostate cancer incidence (1973–2002) in Asia, from cancer incidence in five continents, Vols IV–IX[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2009, 39(7): 468–469
- 15 Na R, Wu Y, Xu J, *et al.* Age – specific prostate specific antigen cutoffs for guiding biopsy decision in Chinese population[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67585
- 16 Tang P, Jin XL, Uhlman M, *et al.* Prostate volume as an independent predictor of prostate cancer in men with PSA of 10–50 ng ml(–1)[J]. *Asian J Androl*, 2013, 15(3): 409–412
- 17 Heidenreich A, Bastian P J, Bellmunt J, *et al.* EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent – update 2013[J]. *Eur Urol*, 2014, 65(1): 124–137
- 18 Kosaka T, Mizuno R, Shinojima T, *et al.* The implications of prostate – specific antigen density to predict clinically significant prostate cancer in men ≤ 50 years[J]. *Am J Clin Exp Urol*, 2014, 2(4): 332–336
- 19 Corcoran NM, Casey RG, Hong MK, *et al.* The ability of prostate – specific antigen (PSA) density to predict an upgrade in Gleason score between initial prostate biopsy and prostatectomy diminishes with increasing tumour grade due to reduced PSA secretion per unit tumour volume[J]. *BJU Int*, 2012, 110(1): 36–42
- 20 Sfoungaristos S, Katafigiotis I, Perimenis P. The role of PSA density to predict a pathological tumour upgrade between needle biopsy and radical prostatectomy for low risk clinical prostate cancer in the modified Gleason system era[J]. *Can Urol Assoc J*, 2013, 7(11–12): E722–E727
- 21 Peltola MT, Niemela P, Vaisanen V, *et al.* Intact and internally cleaved free prostate – specific antigen in patients with prostate cancer with different pathologic stages and grades[J]. *Urology*, 2011, 77(4): 1009 e1–e8

(收稿日期:2015–06–26)

(修回日期:2015–07–13)

吸烟者血浆可溶性蛋白 C 受体测定的临床意义及影响因素分析

屠春平 蔡云祥 邢铭芬 徐鸿斌

摘 要 **目的** 测定吸烟者血浆可溶性蛋白 C 受体(sEPCR)水平,探讨其临床意义及影响 sEPCR 的相关因素。**方法** 测定 643 例健康人员血浆 sEPCR 和蛋白 C(PC)浓度和凝血因子Ⅷ和 V(FⅧ:C 和 FV:C)以及 D–二聚体(D–D)水平,并调查其年龄、吸烟和戒烟、吸烟剂量等情况,分为吸烟组和不吸烟组。**结果** 吸烟组 sEPCR、FⅧ:C、FV:C 和 D–D 水平均显著高于不吸烟组(P 均 = 0.000)。吸烟组 sEPCR 浓度与 FⅧ:C、FV:C 和 D–D 水平均呈较高程度正相关($P < 0.01$)。在吸烟与不吸烟组、不同吸烟年限组以及不同吸烟剂量组中,sEPCR 浓度均随年龄段增大而增加(P 均 < 0.01)。不同年龄段中,吸烟组和高剂量组 sEPCR 浓度分别显著高于不吸烟组和低剂量组(P 均 < 0.05)。在不同年龄段组和不同性别组中,sEPCR 浓度均随吸烟年限增加而增高(P 均 < 0.05);不同年限吸烟者中,男性组与女性组之间 sEPCR 浓度差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 吸烟者血栓风险增高可能与血浆 sEPCR 水平升高有关,烟龄、年龄和吸烟剂量是影响吸烟者血浆 sEPCR 水平的重要因素。

关键词 吸烟 可溶性蛋白 C 受体 烟龄 年龄 吸烟剂量

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.02.031

Clinical Significance of the Plasma Soluble Endothelial Protein C Receptor Measurement and the Relative Influencing Factors in Cigarettes Smoking. Tu Chunping, Cai Yunxiang, Xing Mingfen, *et al.* Nanxun People's Hospital, Zhejiang 313009, China

作者单位:313009 湖州市南浔人民医院检验科(屠春平、邢铭芬、徐鸿斌);313000 湖州市第一人民医院检验科(蔡云祥)

Abstract Objective To measure the levels of plasma soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) in cigarettes smoking, and to explore its clinical significance and the influencing factors of cigarettes smoking on sEPCR. **Methods** Plasma sEPCR, coagulating factor VIII, V procoagulant activities (FVIII:C, FV:C) and D-dimer (D-D) level were measured in 643 healthy participants. The status of age, cigarettes smoking and smoking quitting, and smoking dose were conveyed. Then all participants were assigned two groups: group cigarettes smoking and group non-cigarettes smoking. **Results** Levels of sEPCR, FVIII:C, FV:C, and D-D in group cigarettes smoking were significantly higher than that in group non-cigarettes smoking ($P=0.000$). The sEPCR level was more closely related to that of FVIII:C, FV:C and D-D ($P<0.01$). In both group cigarettes smoking and non-cigarettes smoking, groups of different smoking durations, and groups of different smoking dose, sEPCR levels were remarkably elevated with increased age intervals ($P<0.01$). For all smokers of different age intervals, sEPCR levels in group of cigarettes smoking and group of high dose smoking were significantly higher than those in group of non-cigarettes smoking and group of low dose smoking, respectively ($P<0.05$). In groups of different age intervals, and groups of male and female, sEPCR levels were elevated with increased smoking durations ($P<0.05$). In different smoking durations, there was no statistical difference in sEPCR levels between male and female ($P>0.05$). **Conclusion** High risk of thrombosis in cigarettes smokers is probably related to elevated plasma sEPCR levels, and smoking duration, age and smoking dose are the important factors to influence sEPCR levels.

Key words Cigarettes smoking; Soluble endothelial protein C receptor; Smoking duration; Age; Smoking dose

膜联接内皮细胞蛋白 C 受体(soluble endothelial protein C receptor, EPCR)参与蛋白 C(PC)活化从而具有抗凝作用,而内皮细胞损伤导致循环可溶性 EPCR(sEPCR)浓度升高是血栓形成的危险因素^[1]。因此,sEPCR 是反映血管内皮细胞损伤和血栓风险的敏感标志物^[2]。研究表明,吸烟可导致血管内皮细胞损伤,从而对动脉血栓性疾病的发生具有促进作用^[3]。但吸烟对血浆 sEPCR 的影响和二者之间关系以及吸烟影响 sEPCR 水平的相关因素则不太清楚。因此,笔者通过测定吸烟与不吸烟者血浆 sEPCR 和相关指标水平,以探讨吸烟对 sEPCR 的影响及相关因素。

资料与方法

1. 研究对象:从 2014 年 5 月~10 月在湖州市第一人民医院进行健康体检人员中随机筛选 643 例作为研究对象。其中,吸烟者 356 例,包括男性 271 例,女性 85 例,年龄 30~74 岁,平均年龄 41.8 ± 20.3 岁,吸烟年限半年到 33 年;不吸烟者 287 例,包括男性 209 例,女性 79 例,年龄 30~72 岁,平均年龄 43.2 ± 21.5 岁。健康体检者符合以下入选标准:①经问诊排除明确的早发心血管病家族史;②经查体及辅助检查(心电图、心脏彩超、血糖、血脂),排除临床心脑血管病、高血压、肥胖、血糖异常及脂代谢异常;③1 周内未使用影响血管活性和凝血功能的药物。本试验已征得体检者知情同意。

2. 主要仪器和试剂:sEPCR 和 PC ELISA 试剂盒(上海太阳生物科技有限公司),Sysmex 公司 CA-7000 型全自动血凝仪及配套凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)试剂及乏 FVIII、FV 血浆,D-二聚体(D-D)定量测定试剂,BIO-RAD 酶

标仪 680 型酶标仪。

3. 方法:(1)吸烟状态调查:通过问卷访谈的方式调查相关人员吸烟状态,包括是否吸烟、吸烟年限、每日吸烟量、戒烟时间、每天平均吸烟量等,定义吸烟者与不吸烟者:吸烟者为从开始吸烟到调查时累计吸烟达到 100 支,调查时正在吸烟并且每日至少吸 1 支烟者;不吸烟者为从未吸烟或者调查时戒烟超过 1 个月以上者;低剂量吸烟组,吸烟指数 ≤ 200 支年,高剂量吸烟组,吸烟指数 > 200 支年(吸烟指数=每天吸烟支数 $\times$ 吸烟年限,根据本受试者为 30~74 岁健康人群的实际情况,高、低剂量吸烟组以 200 支年为界限)。(2)样本采集与测定:采集体检人员空腹静脉血,以枸橼酸三钠 1:9 抗凝,1500g 离心 10min 分离血浆,置 -70°C 保存,最终根据体检结果留存符合要求样本,以 37°C 水复融血浆,分别用 sEPCR 和 PC ELISA 试剂盒测定血浆 sEPCR 和 PC 浓度,以 Sysmex CA-7000 全自动血凝仪测定血浆凝血因子 VIII 和 V 活性(FVIII:C 和 FV:C,%)以及 D-二聚体浓度(D-D, ng/ml)。

4. 统计学方法:应用 SPSS 17.0 统计软件,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示,多组间比较采用方差分析和 q 检验,两组间比较采用成组 t 检验,相关性分析采用 Pearson 法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 吸烟组与不吸烟组各指标结果:两组年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。吸烟组血浆 sEPCR、FVIII:C、FV:C 和 D-D 水平均显著高于不吸烟组(P 均 $= 0.000$),两组间 PC 浓度差异无统计学意义($P>0.05$),详见表 1。

表 1 吸烟组与不吸烟组 sEPCR 水平比较

分组	<i>n</i>	sEPCR (ng/ml)	PC (μg/ml)	FVⅢ : C (%)	FV : C (%)	D - D (ng/ml)
不吸烟组	287	137.0 ± 13.4	6.11 ± 0.98	98.3 ± 12.2	85.5 ± 15.2	356.6 ± 42.2
吸烟组	356	158.2 ± 19.2	5.77 ± 1.12	121.4 ± 14.4	102.2 ± 14.3	503.4 ± 87.6
<i>t</i>		14.221	1.610	15.331	12.010	21.225
<i>P</i>		0.000	0.085	0.000	0.000	0.000

2. 吸烟组 sEPCR 浓度与各指标的相关性分析结果:sEPCR 浓度与 FⅢ:C、FV:C 和 D-D 水平均呈高度正相关(相关系数 *r* 分别为 0.712、0.677 和 0.833, *P* = 0.000),而与 PC 无明显相关性(*r* = 0.0572, *P* > 0.05)。

3. 各年龄段吸烟与不吸烟者 sEPCR 结果:各年龄段中,吸烟组血浆 sEPCR 浓度均显著高于不吸烟组(*P* = 0.000),40~55 岁吸烟和不吸烟者 sEPCR 浓度均显著高于 30~40 岁者,而 ≥55 岁吸烟和不吸烟者 sEPCR 浓度均显著高于 40~55 岁者(*P* 均 < 0.01),详见表 2。

4. 不同年龄段的不同吸烟年限和不同吸烟剂量者 sEPCR 结果:各年龄段中,吸烟 1~5 年者 sEPCR

表 2 不同年龄段吸烟与不吸烟者 sEPCR 浓度比较

年龄(岁)	<i>n</i>	不吸烟组 (ng/ml)	吸烟组 (ng/ml)
30~40	35	124.0 ± 12.5	138.7 ± 17.2 [*]
40~55	61	141.1 ± 13.2 [▲]	161.5 ± 15.8 ^{*▲}
≥55	75	159.2 ± 13.0 [△]	188.4 ± 17.1 ^{*△}

与不吸烟组比较, ^{*}*P* = 0.000;与 30~40 岁比较, [▲]*P* < 0.01;与 40~55 岁比较, [△]*P* < 0.01

浓度均显著高于 ≤1 年者,吸烟 >5 年者 sEPCR 浓度也显著高于 1~5 年,高剂量组 sEPCR 浓度均显著高于低剂量组(*P* 均 < 0.05)。不同吸烟年限各组 and 不同吸烟剂量组中,40~55 岁者 sEPCR 浓度均显著高于 30~40 岁者,而 ≥55 岁 sEPCR 浓度均显著高于 40~55 岁者(*P* 均 < 0.05),详见表 3。

表 3 不同吸烟年限组中不同年龄段的 sEPCR 浓度比较

组别	30~40 岁		40~55 岁		≥55 岁	
	<i>n</i>	sEPCR (ng/ml)	<i>n</i>	sEPCR (ng/ml)	<i>n</i>	sEPCR (ng/ml)
吸烟年限(年)						
≤1	30	130.2 ± 11.2	12	145.2 ± 13.7 [*]	10	165.3 ± 15.9 [#]
1~5	48	141.5 ± 11.5 [▲]	21	158.3 ± 13.2 ^{▲*}	20	181.0 ± 16.0 ^{▲#}
>5	42	153.0 ± 10.7 [△]	28	170.9 ± 13.8 ^{△*}	45	196.2 ± 17.8 ^{△#}
吸烟剂量						
低剂量组	50	133.1 ± 10.5	28	153.4 ± 13.0 [*]	19	173.5 ± 15.1 [#]
高剂量组	70	149.6 ± 11.0 [▼]	33	168.4 ± 13.7 ^{▼*}	55	196.5 ± 16.2 ^{▼#}

与 ≤1 年组比较, [▲]*P* < 0.05;与 1~5 年组比较, [△]*P* < 0.05;与低剂量组比较, [▼]*P* = 0.000;与 30~40 岁者比较, ^{*}*P* < 0.05;与 40~55 岁者比较, [#]*P* < 0.05

5. 不同性别吸烟组 sEPCR 结果:不同年限吸烟者中,男性组与女性组之间 sEPCR 浓度差异均无统计学意义(*P* > 0.05);在女性组和男性组中,吸烟 1~

5 年者 sEPCR 浓度均显著高于 ≤1 年者,吸烟 >5 年者 sEPCR 浓度也显著高于 1~5 年(*P* 均 < 0.05),详见表 4。

表 4 不同吸烟年限的男性组与女性组 sEPCR 浓度比较

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	≤1 年		1~5 年		>5 年	
			<i>n</i>	ng/ml	<i>n</i>	ng/ml	<i>n</i>	ng/ml
女性组	85	38.5 ± 16.9	12	138.6 ± 13.1	32	150.5 ± 13.7 [*]	41	169.5 ± 16.2 [#]
男性组	271	40.2 ± 20.3	40	141.0 ± 14.5	57	156.5 ± 14.6 [*]	74	176.9 ± 17.0 [#]
<i>t</i>		1.338		1.245		1.423		1.555
<i>P</i>		0.258		0.301		0.248		0.111

与 ≤1 年者比较, ^{*}*P* < 0.05;与 1~5 年者比较, [#]*P* < 0.05

讨 论

PC 系统在人体中具有重要抗凝作用,而 PC 和 EPCR 是最重要的成分。EPCR 是近 10 年被发现并获得成功克隆表达的一个新的内皮细胞受体,PC 通过与 EPCR 结合,并在凝血酶-凝血酶调节蛋白作用下迅速活化成活化 PC(APC)并显著增强抗凝效果,从而灭活 FⅧa 和 FⅤa 而达到抗凝作用^[4]。sEPCR 可通过抑制 PC 的活化,从而抑制 APC 对凝血因子 V a 和Ⅷa 的灭活作用,而使血液呈现高凝状态,使血栓风险增加^[2]。因而,sEPCR 与 PC 具有相反的作用,其对血栓形成有促进作用。

EPCR 天然存在于内皮细胞,因此在血管内皮细胞损伤时,必然导致血浆 sEPCR 浓度升高,从而成为血管损伤的标志物。尼古丁可直接引起内皮细胞损伤,导致内皮下成分暴露和脱落、促进血小板黏附聚集、引起慢性炎症反应等,从而增强血管事件的发生风险,因而吸烟是心血管疾病的独立危险因素^[5]。本研究显示,吸烟组 sEPCR、FⅧ和 FⅤ活性以及 D-D 水平均明显高于不吸烟组,但两组 PC 浓度和年龄差异并不明显;这表明两组间 sEPCR、FⅧ、FⅤ和 D-D 水平的差异可能与年龄无关,其水平升高主要是吸烟所致,而吸烟对 PC 浓度则没有明显影响。结果中,sEPCR 浓度与 FⅧ、FⅤ和 D-D 水平均呈高度正相关而与 PC 浓度相关性很低,这进一步表明 sEPCR 浓度升高与 FⅧ、FⅤ和 D-D 水平升高呈现高度一致,提示 sEPCR 浓度升高预示着血栓风险增高。以上结果表明,吸烟可血管内皮细胞损伤使循环 sEPCR 浓度升高,可因 APC 产生显著减少,从而使机体灭活 FⅧa 和 FⅤa 能力降低而使血液处于高凝状态,引起 D-D 水平升高。而吸烟可导致血浆内皮素增高,参与粥样硬化的早期过程^[6]。因而 sEPCR 可能与内皮素等因素共同参与了吸烟导致的动脉粥样硬化过程。因此,sEPCR 浓度升高可能是吸烟者血栓风险增高的主要原因。

心脑血管疾病的病理基础是动脉粥样硬化及所致的血管内皮细胞损伤^[7]。吸烟导致血管内皮细胞损伤可能跟多种因素有关。流行病学研究表明,心脑血管疾病发生率随年龄增长而升高^[5,8]。本研究在吸烟组和不吸烟组中、不同烟龄的人群中以及不同吸烟剂量者中,sEPCR 浓度均随年龄增加而呈升高趋势,这表明在吸烟与不吸烟、烟龄长短以及吸烟剂量大小不同的人群中,年龄升高都对其血管内皮细胞功能产生重要影响,从而导致 sEPCR 浓度升高。在所

有同年龄段人群中,吸烟组 sEPCR 浓度均明显高于不吸烟组,并且其浓度也随烟龄增加而升高,而且高剂量吸烟者其浓度也明显高于低剂量吸烟者,这进一步表明在排除年龄因素后,吸烟可导致血管内皮细胞损伤,而烟龄增加以及吸烟剂量增加均可明显引起 sEPCR 浓度升高。流行病学调查显示,男性心脑血管疾病发生率显著高于女性人群^[8]。

本研究中,不同吸烟年限的男性组与女性组之间 sEPCR 浓度差异无统计学意义,而两组年龄差异较小,结合前述随年龄增加吸烟组 sEPCR 水平也显著升高,从而表明性别不是影响吸烟者 sEPCR 的因素,而年龄差异可对 sEPCR 水平产生明显影响。结果还显示,随吸烟者烟龄增加,男性组和女性组 sEPCR 浓度均明显升高;鉴于烟龄为吸烟剂量的基本要素,烟龄增加可能也导致吸烟剂量增加,这也更进一步提示烟龄是影响吸烟者血浆 sEPCR 水平的重要因素。以上结果显示,性别因素对 sEPCR 水平影响较小,烟龄、年龄和吸烟剂量是影响 sEPCR 浓度的重要因素,烟龄越长、年龄越大、吸烟剂量大的吸烟者其血管内皮细胞损伤程度可能更高,而及早戒烟或减少吸烟可能有助于血管内皮细胞功能恢复。

综上所述,吸烟使血栓风险增高可能与血浆 sEPCR 水平升高有关,烟龄、年龄和吸烟剂量是影响吸烟者血浆 sEPCR 水平的重要因素。

参考文献

- 樊芳芳,胡晓芸,扈丽娟,等. 辛伐他汀对香烟烟雾提取物诱导的人脐静脉内皮细胞表达 sEPCR 和 mEPCR 的影响[J]. 中国病理生理杂志,2012,28(4):727-729
- Esmon CT. The discovery of the endothelial cell protein Creceptor[J]. J Thromb Haemost,2010,8(1):2-5
- 刘永欣,吕妍琨,孙云,等. 不同剂量吸烟对健康男性动脉弹性和内皮功能的影响[J]. 中国全科医学杂志,2011,14(7B):2271-2272
- Bouwens EA, Mosnier LO. EPCR encryption induces cellular APC resistance[J]. Blood, 2012,119(12):2703-2705
- 胡圆圆,叶山东. 吸烟与 2 型糖尿病血管并发症[J]. 国际病理科学与临床杂志,2011,31(1):64-68
- 柴晓红,李保,王敬萍,等. 吸烟者内皮素-1 基因 Lys198Asn 多态性与冠心病关系的研究[J]. 中国分子心脏病学杂志,2013,13(3):526-528
- 龙盼,张俊峰. 血管内皮功能障碍与动脉粥样硬化[J]. 国际心血管病杂志,2011,38(2):79-81
- 刘泽霖,贺石林,李家增. 血栓性疾病的诊断与治疗[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2006:4-7

(收稿日期:2015-06-14)

(修回日期:2015-07-06)