

## TAT、PIC、TM、t-PAIC 四种分子标志物 在弥散性血管内凝血早期诊断中的价值

蒋冬雪, 翟志敏

(安徽医科大学第二附属医院血液科, 安徽合肥 230601)

**摘要:** **目的** 探讨分子标志物凝血酶-抗凝血酶复合物(thrombin-antithrombin complex, TAT)、血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)、纤溶酶- $\alpha$ 2 纤溶酶抑制剂复合物( $\alpha$ 2-plamininhibitor-plasmin complex, PIC)、组织型纤溶酶原激活剂-抑制剂复合物(tissue plasminogen activator inhibitor complex, t-PAIC)在弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)中的早期诊断价值。**方法** 纳入 233 例有出血倾向或血栓患者的临床病例资料, 根据 2017 年版中国 DIC 诊断积分系统(CDSS), 分为显性 DIC 组、前 DIC 组和非 DIC 组, 采用新的自动化技术检测实验室指标, 包括 TAT、TM、PIC、t-PAIC, 比较各组间实验室指标的差异, 评估其在 DIC 早期诊断中的价值。**结果** 在显性 DIC 患者中, TAT、TM、PIC 水平显著高于非 DIC 患者, t-PAIC 在两组中无统计学意义; 在前 DIC 患者中, TAT、TM、PIC、t-PAIC 水平显著高于非 DIC 患者; ROC 曲线显示, TAT、TM、PIC 及 t-PAIC 联合诊断曲线下面积为 0.887, 联合凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、D-二聚体(D-dimer, D-D)可达最大曲线下面积为 0.933。**结论** TAT、TM、PIC 及 t-PAIC 联合检测可提高 DIC 早期诊断率, 为临床早期干预和治疗提供最佳时机。

**关键词:** 弥散性血管内凝血; 凝血酶-抗凝血酶复合物; 血栓调节蛋白; 纤溶酶- $\alpha$ 2 纤溶酶抑制剂复合物; 组织型纤溶酶原激活剂-抑制剂复合物

**中图分类号:** R554.8      **文献标识码:** A      doi: 10.3969/j.issn.0253-2778.2020.04.012

**引用格式:** 蒋冬雪, 翟志敏. TAT、PIC、TM、t-PAIC 四种分子标志物在弥散性血管内凝血早期诊断中的价值[J]. 中国科学技术大学学报, 2020, 50(4): 474-478.  
JIANG Dongxue, ZHAI Zhimin. The value of coagulation molecular markers TAT, PIC, TM and t-PAIC in early diagnosis of DIC[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2020, 50(4): 474-478.

### The value of coagulation molecular markers TAT, PIC, TM and t-PAIC in early diagnosis of DIC

JIANG Dongxue, ZHAI Zhimin

(Department of Hematology, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

**Abstract: Objective** To explore the clinical significance of thrombin molecular marker in disseminated intravascular coagulation (DIC), which include thrombin-antithrombin complex (TAT), thrombomodulin

收稿日期: 2019-11-26; 修回日期: 2020-04-20

基金项目: 安徽省高校自然科学研究重大项目(KJ2014Z017)资助。

作者简介: 蒋冬雪, 女, 1994 年生, 硕士生, 研究方向: 内科学(血液系病)。E-mail: 2320966607@qq.com

通讯作者: 翟志敏, 博士/教授。E-mail: zzzm889@163.com

(TM), plasmin-antiplasmin inhibitor complex ( $\alpha$ 2-plamininhibitor-plasmin complex, PIC) and tissue plasminogen activator inhibitor complex (t-PAIC). **Methods** This study included 233 patients with bleeding tendency or thrombosis, according to the 2017 edition of the Chinese disseminated intravascular coagulation diagnostic score system (CDSS), who were divided into the dominant DIC group, pre-DIC group and non-DIC group. The differences in laboratory indicators between groups were compared, and its value in the early diagnosis of DIC was evaluated. The molecular markers were measured by qualitative chemiluminescence enzyme immunoassay performed on HISCL automated analyzers. All patients with suspected DIC were followed for 7 days to screen for development of overt-DIC. **Results** In patients with overt-DIC, TAT, TM, PIC were significantly higher than those in non-DIC patients, and t-PAIC was statistically insignificant between the overt-DIC and non-DIC groups. TAT, TM, PIC, t-PAIC levels were significantly higher in patients with pre-DIC than in non-DIC patients. The AUC shows that the combined diagnostic curve of TAT, TM, PIC, and t-PAIC is 0.887, and AUC combined PT, APTT, and D-D is 0.933. **Conclusions** The combination of TAT, TM, PIC and t-PAIC can improve the early diagnosis rate of DIC and provide optimal timing for early clinical intervention and treatment.

**Key words:** disseminated intravascular coagulation (DIC); thrombin-antithrombin complex (TAT); thrombomodulin (TM);  $\alpha$ 2-plamininhibitor-plasmin complex (PIC); tissue plasminogen activator inhibitor complex(t-PAIC)

## 0 引言

弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC) 是在许多疾病基础上, 致病因素损伤微血管体系, 导致凝血活化, 全身微血管形成、凝血因子大量消耗并继发纤溶亢进, 引起以出血及微循环衰竭为特征的临床综合征。最常见的潜在疾病包括重症感染、肿瘤、病理产科、手术/外伤等<sup>[1]</sup>。临床诊断 DIC 主要依赖于原发病的基础上, 伴有出血或血栓形成和(或)多器官功能衰竭, 加之血小板计数(platelet count, PLT)进行性减少、纤维蛋白原(fibrinogen, Fg)减少、纤维蛋白原降解物(fibrinogen degradation products, FDP)及 D-二聚体(D-dimer, D-D)升高。典型的 DIC 诊断并不困难, 但往往发展至中晚期<sup>[2]</sup>, 且死亡率高, 故早期诊断 DIC 对早期治疗及改善预后至关重要<sup>[3-4]</sup>。

虽然国内外有众多 DIC 诊断指南, 但是标准不一, 这意味着需要继续开展研究, 对新的实验室指标进行验证以进一步提高诊断 DIC 的敏感度和特异性。有研究报道表明, 在发生 DIC 前后, 凝血酶-抗凝血酶复合物(thrombin-antithrombin complex, TAT)和纤溶酶- $\alpha$ 2 纤溶酶抑制剂复合物( $\alpha$ 2-plamininhibitor-plasmin complex, PIC)的血浆水平显著增加, 血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)和组织型纤溶酶原激活剂-抑制剂复合物

(tissue plasminogen activator inhibitor complex, t-PAIC)在器官衰竭或预后不良的 DIC 患者中显著升高<sup>[5-8]</sup>。DIC 是凝血系统、纤溶系统及血管内皮系统相关的多因素相互作用的结果, 以往的研究多评价单分子标记物的价值, 而将四种分子标志物联合应用在 DIC 的早期诊断价值尚不清楚。在前人单个指标研究的基础上, 我们采用新的自动化技术检测 TM、TAT、PIC、t-PAIC 的血浆水平, 综合评价其对 DIC 的早期诊断价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集安徽医科大学第二附属医院 2017 年 4 月 1 日至 2019 年 3 月 31 日期间有出血倾向或血栓的患者 233 例。纳入标准包括存在易引起 DIC 的基础疾病, 伴有以下至少 1 项指标异常: 血小板计数(PLT) $<100 \times 10^9/L$ , 凝血酶原时间延长(PT) $\geq 3 s$  或部分激活的凝血活酶时间(APTT) $\geq 10 s$ , 纤维蛋白原(Fg) $<1.0 g/L$ , D-二聚体 $\geq 5 mg/L$ 。排除标准包括肝素诱导的血小板减少症、血栓性血小板减少性紫癜(TTP)、抗磷脂综合征(APS)、严重肝病以及接受过抗凝剂治疗的患者。根据 2017 年版中国 DIC 积分系统(CDSS)诊断标准计算 DIC 积分。在抽血后一周内出现显性 DIC, 诊断为前 DIC<sup>[18]</sup>。

## 1.2 实验方法

TAT、PIC、TM、t-PAIC 在 HISCL 自动分析仪上使用酶促化学发光原理进行检测,在一定的体外环境中,通过采用生物素化的抗体和被检样本中的物质进行特异性的抗原抗体结合反应,再与链霉素化的磁微粒结合,进行脱磁清洗分离后,添加 ALP 标记的单克隆抗体再次与磁珠上的待检测物质发生特异性抗原抗体反应,之后再行脱磁清洗分离后加入缓冲液和高敏发光底物 CDP-Star,在 ALP 的催化下发光,测定其发光强度,计算待检样本中该物质的含量.检测分别使用了日本 HISCL 800 TM 检测试剂盒,日本 HISCL 800 TAT 检测试剂盒,日本 HISCL 800 t-PAIC 检测试剂盒和日本 HISCL 800 PIC 检测试剂盒.

## 1.3 统计学分析

组间比较采用非参数检验(Mann-Whitney U 检验).Spearman 秩相关分析用于分析这些标记物的血浆水平与 DIC 评分的相关性.采用接受者操作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC 曲线),计算基线时每个研究变量的 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC),以明确 DIC 诊断的

意义,计算最佳 cut-off 值,以最大灵敏度及特异度之和,计算阳性预测值和阴性预测值. $p < 0.05$  具有统计学意义.统计学分析使用 IBM SPSS 21.0 进行.

## 2 结果

在本研究所有符合入组条件的患者中,血液恶性肿瘤(不包括急性早幼粒细胞白血病,即 M3)所占比例最高,其次是重症感染、急性早幼粒细胞白血病、实体肿瘤等,这些基础病可能是导致患者出凝血异常或诱发 DIC 的主要原因,其具体分布和患者基本临床特征如表 1 所示.

根据 DIC 诊断标准以及 2017 年中国 DIC 诊断积分系统,本研究入组的 233 例临床考虑为 DIC 可能的患者中,29 例确诊为显性 DIC,25 例诊断为前 DIC,其他 179 例未达到 DIC 诊断标准.将此三类患者归为三组并进行比较和分析,结果如表 2 所示.从表 2 可以看出,年龄与性别三组患者无明显统计学差异,但 TAT、TM、PIC 及 t-PAIC 的水平无论是在 DIC 组、还是在前 DIC 组均显著高于非 DIC 组,而 DIC 组和前 DIC 组之间无显著性差异.

表 1 所有入组患者基础疾病的分布情况及基本临床特征

Tab. 1 Clinical conditions and distribution of underlying diseases of the patients

临床疾病	病例数(占比)	平均年龄(年龄区间)/岁	性别(男:女)
血液恶性肿瘤(不含 M3)	91(39.1%)	50(32~60.5)	47:44
重症感染	34(14.6%)	57(44~64)	18:16
急性早幼粒细胞白血病	12(5.1%)	39(28~44)	4:8
实体肿瘤	11(4.7%)	58(50~65)	7:4
外伤/手术	9(3.9%)	48(36~55.25)	6:3
其他	76(32.6%)	40(23~57.75)	41:35

表 2 DIC、前 DIC 和非 DIC 组患者 TAT、TM、PIC 及 t-PAIC 四种分子标志物比较

Tab. 2 Comparison of TAT, TM, PIC and t-PAIC of the DIC, pre-DIC and non-DIC groups

	显性 DIC	前 DIC	非 DIC
平均年龄(年龄区间)/岁	48(32~69)	54(42~53)	56(44~68)
性别(男:女)	18:11	19:6	94:85
TAT	28.4(14.7~62.6)	40.8(25.5~93.9)	7.8(3.5~15.3)*#
TM	17.8(12.1~69.1)	21.4(10.7~28.7)	11.7(8.0~19.0)****#
PIC	3.980(1.207~9.525)	6.136(3.187~9.278)	1.034(0.454~1.959)*#
t-PAIC	12.2(7.3~24.0)	18.6(17.1~28.4)	9.1(5.9~17.0)***#

[注] \*,和显性 DIC 组相比  $p < 0.001$ ; \*\*,和显性 DIC 组相比  $p < 0.05$ ; #,和前 DIC 组相比  $p < 0.001$ ,###,和前 DIC 组相比  $p < 0.05$ .

通过 ROC 曲线分析对每个分子标记物诊断 DIC 进行评估(图 1),根据敏感度曲线和 1-特异度曲线之间的交叉点确定 cut-off 值,在四个分子标记物中,最小的 AUC 是 t-PAIC 为 0.636,最大的

AUC 是 TAT 为 0.837.当应用这四种分子标记物组合时,AUC 增加到 0.887,敏感度为 96.2%,特异度为 64.2%(表 3).而应用四种分子标记物同时联合 D-D、PT、APTT 时,可获得最大 AUC 为 0.933(图 1).

表 3 分子标志物在 DIC 组和非 DIC 组的诊断价值

Tab. 3 Diagnostic efficiency of the molecular markers in patients with DIC and non-DIC

	AUC	cut-off 值	敏感度	特异度	PPV	NPV	OR 值
TAT	0.837	18.85	76.9%	81.6%	54.5%	92.2%	15.4
TM	0.666	16.45	63.5%	67.6%	35.8%	86.5%	3.57
PIC	0.789	2.705	73.1%	84.4%	57.4%	91.4%	14.34
t-PAIC	0.636	6.95	84.6%	38.5%	28.4%	90.1%	3.62
TAT+TM+PIC+t-PAIC	0.887	—	96.2%	64.2%	43.3%	98.3%	46.26

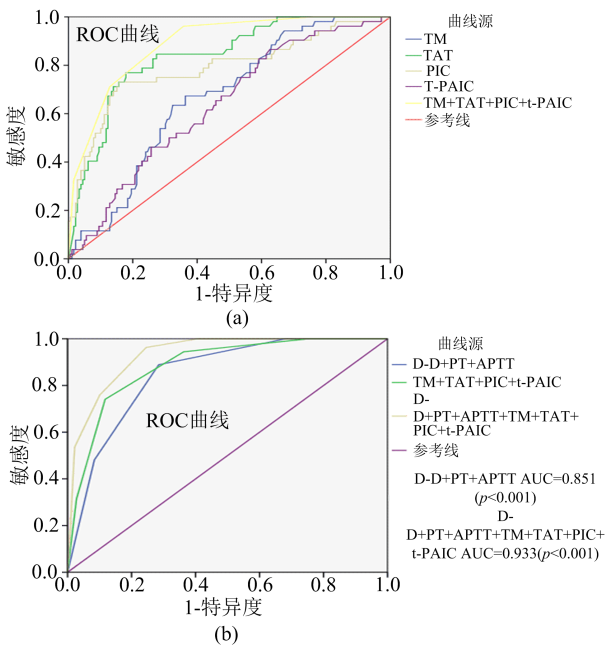


图 1 DIC 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC analysis of DIC

采用 ROC 曲线分析(图 2)还显示在前-DIC 患者四种分子标志物联合应用时 AUC 为 0.912,当引入传统出凝血指标 PT、APTT、D-D 联合使用后,AUC 可提高到 0.958.

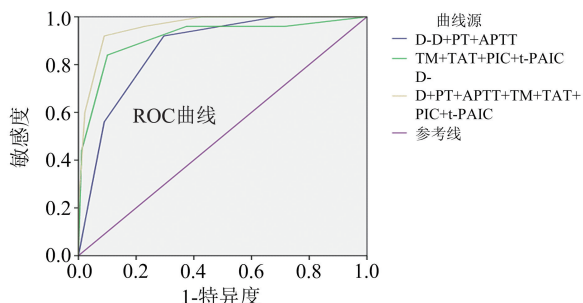


图 2 前 DIC 的 ROC 曲线

Fig. 2 ROC analysis of pre-DIC

### 3 讨论

DIC 的发生发展极其复杂,血管内皮细胞、凝血系统、抗凝系统及纤溶系统均参与这一过程[9].目前 DIC 尚无一致的诊断标准,国际应用较广泛的诊断标准有日本卫生福利部标准(JMHW)[10]、国际血栓与止血协会标准(ISTH)[11]及日本急诊医学学会标准(JAAM)[12],但这三个标准诊断的准确性和实用性仍存在广泛争议.中国早在对 1986 年就首次提出了 DIC 的诊断标准,之后进行不断改进和完善,并建立了中国 DIC 诊断积分系统(CDSS)[1].常用的实验室指标包括血小板计数(PLT)、PT、APTT、D-D 等均不适合单独诊断 DIC,因为缺乏特定的分子标记,使用评分系统显示各指标在 DIC 不同时期的变化,对诊断 DIC 尤为重要[13].有研究表明,一些全身凝血因子检测如 PT、APTT、PLT 主要反映消耗和合成受损的结果,而不是持续性凝血障碍[14-15],其在 DIC 患者中变化缓慢,不利于监测,早期诊断价值有限,故需更敏感或特殊的分子标志物. DIC 是一些潜在疾病的严重并发症,和预后不良、器官衰竭和高死亡率相关.早期治疗 DIC 和治疗前-DIC 均可改善预后.虽然诊断早期 DIC 对预后极其重要,但是诊断标准仍待确定[16-17].

结果表明,本研究中发生 DIC 最常见的基础疾病是血液恶性肿瘤,其次是重症感染、实体肿瘤. Fg 属急性期反应蛋白,尽管持续消耗,但在血浆中的水平仍可在正常范围. Fg 水平在约在 57% DIC 患者处于正常水平[19],仅在极为严重的 DIC 患者存在低 Fg 血症,其敏感性仅为 28%,故 Fg 对早期 DIC 诊断价值较小. AUC 及敏感性、特异性等结果显示分子标志物对诊断 DIC 有一定价值,但单一标记物应用价值有限,四种标记物联合应用的 AUC、敏感性及特异性明显优于单一标志物. ROC 曲线 AUC 显

示,四种出凝血分子标志物联合诊断有一定的临床价值,联合 D-D、PT、APTT 联合诊断面积为 0.933。此前因检测方法的局限性使其临床应用受到限制,目前使用自动化分析仪,可以在实验室中快速检测,检测量大,灵敏度高。但是本研究有潜在的局限性,由于没有诊断弥漫性血管内凝血的金标准,我们采用 CDSS 积分系统作为标准,且样本量偏少,需扩大样本量验证该结果的临床价值。

## 4 结论

本文研究发现,TAT、TM、PIC、t-PAIC 可用于早期诊断 DIC,四种指标联合应用较单一指标更有价值,联合 CDSS 积分系统可大大提高 DIC 的早期诊断率,为临床早期干预和治疗提供最佳时机。

### 参考文献(References)

- [1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 弥散性血管内凝血诊断中国专家共识(2017年版)[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(5): 361-363.  
Thrombosis and Hemostasis Group, Hematology Society. Consensus of Chinese experts on diagnosis of disseminated intravascular coagulation (version 2017) [J]. Chinese Journal of Hematology, 2017, 38(5): 361-363.
- [2] 彭作辉. 弥散性血管内凝血前期诊断[J]. 中国实用内科杂志(临床版), 2000, 20(6): 338-342.
- [3] TAGAMI T, MATSUI H, HORIGUCHI H, et al. Recombinant human soluble thrombomodulin and mortality in severe pneumonia patients with sepsis-associated disseminated intravascular coagulation: An observational nationwide study [J]. Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH, 2015, 13(1): 31-40.
- [4] KURYLISYRN-MOSKAL A, ZARZYCKI W, DUBICKI A, et al. Clinical usefulness of videocapillaroscopy and selected endothelial cell activation markers in people with Type 1 diabetes mellitus complicated by microangiopathy[J]. Adv Med Sci, 2017, 62(2): 368-373.
- [5] WADA H, MINAMIKAWA K, WAKITA Y, et al. Increased vascular endothelial cell markers in patients with disseminated intravascular coagulation[J]. Am J Hematol, 1993, 44(2): 85-88.
- [6] LIN S M, WANG Y M, LIN H C, et al. Serum thrombomodulin level relates to the clinical course of disseminated intravascular coagulation, multiorgan dysfunction syndrome, and mortality in patients with sepsis[J]. Crit Care Med, 2008, 36(3): 683-689.
- [7] ASAKURA H, JOKAJI H, SATIO M, et al. Changes in plasma levels of tissue-plasminogen activator/inhibitor complex and active plasminogen activator inhibitor in patients with disseminated intravascular coagulation[J]. Am J Hematol, 1991, 36(3): 176-183.
- [8] IKEDA M, KAN-NO H, HAYASHI M, et al. Predicting perioperative venous thromboembolism in Japanese gynecological patients[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89206.
- [9] VERSTAAETE M, ZOLDHELYE P. Novel antithrombotic drugs in development[J]. Drugs, 1995, 49(6): 856-884.
- [10] KOBAYASHI N, MAEKAWA T, TAKADA M, et al. Criteria for diagnosis of DIC based on the analysis of clinical and laboratory findings in 345 DIC patients collected by the Research Committee on DIC in Japan [J]. Bibl Haematol, 1983(49): 265-275.
- [11] TAYLOR F J, TOH C H, HOOTS W K, et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation [J]. Thromb Haemost, 2001, 86(5): 1327-1330.
- [12] GANDO S, SAITOH D, OGURA H, et al. Natural history of disseminated intravascular coagulation diagnosed based on the newly established diagnostic criteria for critically ill patients: Results of a multicenter, prospective survey[J]. Crit Care Med, 2008, 36(1): 145-150.
- [13] WADA H, THACHIL J, DI NISIO M, et al. Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines [J]. J Thromb Haemost, 2013; DOI: 10.1111/jth.12155.
- [14] KINASEWITZ G T, ZEIN J G, LEE G L, et al. Prognostic value of a simple evolving disseminated intravascular coagulation score in patients with severe sepsis[J]. Crit Care Med, 2005, 33: 2214-2221.
- [15] DHAINAUT J F, SHORR A F, MACIAS W L, et al. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: Relationship with mortality and organ failure[J]. Crit Care Med, 2005, 33: 341-348.
- [16] EGI M, MORIMATSU H, WIEDERMANN C J, et al. Non-overt disseminated intravascular coagulation scoring for critically ill patients: The impact of antithrombin levels [J]. Thromb Haemost, 2009, 101: 696-705.
- [17] WADA H, HATADA T, OKAMOTO K, et al. Modified non-overt DIC diagnostic criteria predict the early phase of overt-DIC[J]. Am J Hematol, 2010, 85: 691-694.
- [18] WADA H, MATSUMOTO T, YAMASHITA Y. Disseminated intravascular coagulation: Testing and diagnosis[J]. Clin Chim Acta, 2014, 436: 130-134.
- [19] 胡豫, 王雅丹. 英国 DIC 诊疗指南解读[J]. 国际输血及血液学杂志, 2010, 33(2): 181-184.