



主 管
中华人民共和国国家
卫生健康委员会

主 办
中国医师协会

编 辑
疑难病杂志编辑委员会

顾 问
王永炎 张 运 李春岩 张伯礼
葛均波 于金明 张英泽 刘 良
王 琦 丛 斌 黄璐琦 李佃贵

名誉总编辑
吴以岭

总编辑
贾振华

社长 主编
马 智

出 版
疑难病杂志社
050035 石家庄市天山大街 238 号
电话(传真):(0311)85901735
E-mail: ynbzz@163. com
网址: http://www. ynbzz. com

印 刷
石家庄市汇昌印刷有限公司

发行范围
国内外公开发行
国内: 中国邮政集团有限公司
河北省报刊发行局
海外总发行: 中国国际图书贸易
集团有限公司
海外发行代号: M6888

订 购
全国各地邮政局(所)
邮发代号: 18-187
网址: http://bk. 11185. cn

零 售
疑难病杂志编辑部

广告发布登记号
石高新 13010120190001 号

定 价
每期 20.00 元 全年 240.00 元

中国标准连续出版物号
ISSN 1671-6450
CN 13-1316/R

2023 年版权归疑难病杂志社所有

本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会
的观点, 除非特别声明; 未经本刊编辑部
许可, 不得任意转载和摘编; 本刊如有印
刷问题, 请向本社调换

目 次

肿瘤防治专题

基于 SEER 数据库的小细胞肺癌肝转移患者临床特征 及预后分析	聂莉萍 潘战宇 姜战胜 杨银莉	1009
Hb、Alb 及 PLR 与壶腹周围癌患者胰十二指肠切除术后 并发症及临床预后的关系分析	杨为中 丁烁 李云玖 苏展 车金辉	1016
膀胱癌电切术后凝血功能状态与术后静脉血栓栓塞症 及局部淋巴结转移的相关性	吕炜超 雷晓航 王通通 王鸿洲 张建国	1021
非肌层浸润膀胱癌组织中核糖核酸结合蛋白 15 及泛素特异性肽酶 24 表达的临床预后意义	何丹 石艳宏 王峥 张晓炜 王冠杰	1027
乳腺癌化疗患者核素门控心肌灌注纹理特征及其对 心肌损害的早期预测价值	巴雅 刘立水 祖拉亚提·库尔班 谢彬 娜姿·伊力哈木 姚娟	1032
同步推量放疗治疗乳腺癌骨转移疗效及对骨痛程度、PSA、 NGF 水平的影响	刘晓静 冯常福 许在华 夏扬	1039
TOP2A 联合 miR-21 检测在宫颈癌病情及预后评估中的价值	万晶晶 姚莉 李梦琳 甘艳玲 汪晶	1045
溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 1 在宫颈癌中的表达及临床意义	陈韩 杨江怡 陈华 韩锋	1051
急性髓系白血病患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达及临床意义	王婧妍 黄彬涛 高大 李慧婷 韩东海	1056
MR、DWI 鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤的价值分析	赵思 宗园 张可 冯颖颖	1061

论著·临床

血清外泌体和肺泡灌洗液 miR-155 及 BMAL1 基因在男性 COPD 合并失眠症患者中的 表达及与失眠的相关性	穆清爽 刘顺 热依拉·牙合甫 杨新玲	1067
老年脓毒症相关性脑病患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达及对临床预后评价	李雪莲 冷凌涵 张丽涓 向相 宋家志 陈陶江 韩强 王平	1072
血清 Asprosin、miR-206、IMA 在多囊卵巢综合征患者中的表达及临床意义	欧慧慧 胡新 李婧 张畅	1078
特发性血小板减少性紫癜患儿血清 PTX3、SDC-1 水平及临床意义	王文娟 李琛 宫经新 刘朝阳 朱翠敏 刘娜娜 刘秀芬	1084

论著·基础

益母草碱调节 Akt/MDM2/p53 信号通路对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响	黄超 方兴刚 陈璐 陈汉玉 陈曾凤	1090
--	-------------------	------

罕见病例

中枢神经系统瘤样脱髓鞘病变 1 例并文献复习	常树艺 葛亚楠 张惠 蒋欣 吕佩源 董艳红	1098
新生儿腹膜后寄生胎 1 例并文献复习	杜青 金祝 郑泽兵 汤成艳 黄露 刘远梅	1100

综 述

中医药调节肠道菌群治疗 2 型糖尿病研究进展	孙玲玲 高怀林	1102
神经元特异性烯醇化酶在中枢神经系统损伤中的应用研究进展	齐洪武 曾维俊 刘岩松 赵彩霞	1106
三结构域蛋白 21 在肝细胞癌发生发展中的作用研究进展	陈颖 董卫国	1111
肠上皮化生癌变相关分子标志物的研究进展	庞丽兴 陆才金 颜新	1116

作者·编者·读者		1015、1115
----------------	--	-----------

期刊基本参数: CN13 - 1316/R * 2002 * m * A4 * 112 * zh * P * ¥20.00 * 1 500 * 21 * 2023 - 10

本期责任编辑: 孙治安 英文编辑: 马晓海

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 22, Number 10 18 October, 2023

Responsible Institution
National Health Commission of
the People's Republic of China

Sponsor
Chinese Medical Doctor Association

Editing
Editorial Board of Chinese Journal of Difficult
and Complicated Cases

Adviser
Wang Yongyan Zhang Yun Li Chunyan
Zhang Boli Ge Junbo Yu Jinming
Zhang Yingze Liu Liang Wang Qi
Cong Bin Huang Luqi Li Dianguai

Honorary Editor-in-Chief
Wu Yiling

Editor-in-Chief
Jia Zhenhua

Managing Director
Ma Zhi

Publishing
Publishing House of Chinese Journal of
Difficult and Complicated Cases
238 Tianshan Street, Shijiazhuang
050035, China
Tel(Fax): (0311) 85901735
E-mail: ynbzz@163.com
http://www.ynbzz.com

Printing
Shijiazhuang Huichang Printing House

Overseas Distributor
China International Book
Trading Corporation
Code No. M6888

Overseas Price
\$ 20.00 per issue; \$ 240.00 a year

CSSN
ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2023 by Publishing House of Chinese
Journal of Difficult and Complicated Cases

All articles published represent the opinions of the
authors, do not reflect the official policy of the editor-
ial board, unless clearly specified.

CONTENTS	
Cancer Prevention and Treatment	
Clinical characteristics and prognosis analysis of liver metastasis in small cell lung cancer patients based on SEER database	
.....	Nie Liping, Pan Zhanyu, Jiang Zhansheng, et al 1009
Analysis of the relationship between Hb, Alb, and PLR with postoperative complications and clinical prognosis after pancreaticoduodenectomy	
.....	Yang Weizhong, Ding Shuo, Li Yunjiu, et al 1016
Correlation of coagulation function with postoperative venous thromboembolism and local lymph node metastasis after electroresection for bladder cancer	
.....	Lyu Weichao, Lei Xiaohang, Wang Tongtong, et al 1021
Clinical prognostic significance of expression of ribonucleic acid binding protein 15 and ubiquitin specific peptidase 24 in non muscle invasive bladder cancer	
.....	He Dan, Shi Yanhong, Wang Zheng, et al 1027
Characteristics of radionuclide gated myocardial perfusion texture in patients with breast cancer undergoing chemotherapy and its early predictive value for myocardial damage	
.....	Ba Ya, Liu Lishui, Zulayati Kuerban, et al 1032
The effect of synchronous dose radiotherapy on bone metastasis of breast cancer and its influence on bone pain, PSA and NGF levels	
.....	Liu Xiaojing, Feng Changfu, Xu Zaihua, et al 1039
The value of TOP2A combined with miR-21 detection in evaluating the condition and prognosis of cervical cancer	
.....	Wan Jingjing, Yao Li, Li Menglin, et al 1045
Expression and clinical significance of lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 in cervical cancer	
.....	Chen Han, Yang Jiangyi, Chen Hua, et al 1051

The expression and clinical significance of serum LncRNA XIST and miR-196b in patients with acute myeloid leukemia	
.....	<i>Wang Jingyan, Huang Bintao, Gao Da, et al</i> 1056
Value analysis of MR and DWI in differential diagnosis of benign and malignant superficial soft tissue tumors	
.....	<i>Zhao Si, Zong Yuan, Zhang Ke, et al</i> 1061
Original Artical;Clinical Research	
The expression levels of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid in male COPD patients with insomnia and their correlation with insomnia	
.....	<i>Mu Qingshuang, Liu Shun, Ruila Yahefu, et al</i> 1067
The expression of serum extracellular vesicles LncNEAT1 and LncSOX2OT in elderly patients with sepsis related encephalopathy and their clinical prognostic evaluation	
.....	<i>Li Xuelian, Leng Linghan, Zhang Lijian, et al</i> 1072
The expression and clinical significance of serum Asposin, miR-206, and IMA in patients with polycystic ovary syndrome	
.....	<i>Ou Huihui, Hu Xin, Li Jing, et al</i> 1078
The levels and clinical significance of serum PTX3 and SDC-1 in children with idiopathic thrombocytopenic purpura	
.....	<i>Wang Wenjuan, Li Chen, Gong Jingxin, et al</i> 1084
Original Article;Basic Research	
The effect of Leonurine regulation on the Akt/MDM2/p53 signaling pathway on the malignant biological behavior of glioma cells	
.....	<i>Huang Chao, Fang Xinggang, Chen Lu, et al</i> 1090
Rare Case Report	
A case of central nervous system tumor like demyelinating lesion and literature review	
.....	<i>Chang Shuyi, Ge Yanan, Zhang Hui, et al</i> 1098
A case of neonatal retroperitoneal parasitic fetus and literature review	
.....	<i>Du Qing, Jin Zhu, Zheng Zebing, et al</i> 1100
Review	
Research progress of traditional Chinese medicine in regulating intestinal flora in the treatment of type 2 diabetes mellitu	
.....	<i>Sun Lingling Gao Huailin</i> 1102
Research progress of clinical application of neuron specific enolase in central nervous system injury	
.....	<i>Qi Hongwu, Zeng Weijun, Liu Yansong, et al</i> 1106
Research progress on the role of tripartite motif containing protein 21 in the development of hepatocellular carcinoma	
.....	<i>Chen Ying, Dong Weiguo</i> 1111
Research progress of molecules markers related to intestinal metaplasia-gastric cancer	
.....	<i>Pang Lixing, Lu Caijin, Yan Xin</i> 1116

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 001

肿瘤防治专题

基于 SEER 数据库的小细胞肺癌肝转移患者临床特征及预后分析

聂莉萍, 潘战宇, 姜战胜, 杨银莉

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82274607); 天津市卫生健康科技资助项目(ZC20169)

作者单位: 301617 天津中医药大学(聂莉萍); 300060 天津医科大学肿瘤医院中西医结合科(潘战宇、姜战胜、杨银莉)

通信作者: 潘战宇, E-mail: s0010027@163. com



【摘 要】 目的 基于 SEER 数据库分析小细胞肺癌(SCLC) 肝转移(LM) 患者的临床特征及预后相关因素。

方法 使用美国监测、流行病学和结局数据库(SEER 数据库) 搜集 2010—2015 年诊断为小细胞肺癌的患者, 采用美国癌症联合委员会(AJCC) 第七版肺癌分期系统对病例进行肿瘤 TNM 分期, 排除转移器官不明、生存时间未知、种族情况不明等患者, 最终筛选出小细胞肺癌患者共 26 041 例, 其中肝转移患者 6 937 例, 其他远处转移患者 6 247 例, 比较有无肝转移患者临床资料; 采用 Kaplan-Meier(KM) 法及 Log rank 检验比较 SCLC 有无肝转移患者总体生存率(OS) 及 SCLC 肝转移患者特异生存率, COX 风险模型评估小细胞肺癌肝转移患者独立预后因素, 并分析不同治疗方式对患者生存时间的影响。结果 小细胞肺癌患者肝转移发生率为 26. 63%, 占有 SCLC 远处转移患者的 52. 6%; 有无肝转移患者的性别、是否放疗、存活状态、原发部位及是否手术、诊断年份、T 分期、N 分期、中位生存时间等比较差异有统计学意义($P < 0. 05$); KM 分析发现, SCLC 肝转移患者肿瘤特异生存率、总生存率低于无肝转移患者($P < 0. 01$), SCLC 肝转移患者肿瘤特异生存率、总生存率低于其他远处转移患者($P < 0. 01$); COX 分析发现, 影响 SCLC 伴 LM 生存时间的独立危险因素有性别、年龄、放疗、化疗及 T、N 分期, 以及有无脑、骨、肺内转移。放疗及化疗能显著改善 SCLC 肝转移患者的预后, 但原发部位手术治疗对患者总体生存率的影响无统计学意义($P > 0. 05$)。结论 SCLC 患者肝转移的生存率低并且因性别和年龄而异, SCLC 肝转移较 SCLC 其他远处转移患者预后更差, 不同的 T、N 分期 SCLC 肝转移患者的预后显著不同, 放疗和化疗对肝转移患者的总生存率有益。

【关键词】 小细胞肺癌; 肝转移; SEER 数据库; 临床特征; 预后

【中图分类号】 R734. 2

【文献标识码】 A

Clinical characteristics and prognosis analysis of liver metastasis in small cell lung cancer patients based on SEER database

Nie Liping*, Pan Zhanyu, Jiang Zhansheng, Yang Yinli. * Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301600, China

Corresponding author: Pan Zhanyu, E-mail: s0010027@163. com

Funding program: General Program of the National Natural Science Foundation of China (82274607); Tianjin Health Science and Technology Support Project (ZC20169)

【Abstract】 **Objective** To analyze the clinical characteristics and prognostic factors of small cell lung cancer (SCLC)

with liver metastasis (LM) based on the SEER database. **Methods** Patients diagnosed with small cell lung cancer were collected from 2010 to 2015 using the United States Surveillance, Epidemiology, and Outcome Database (SEER database), and used the American Joint Commission on Cancer (AJCC) 7th edition lung cancer staging system to perform tumor TNM staging on the cases. Patients with unknown metastatic organs, survival time, and race were excluded, and a total of 26 041 patients with small cell lung cancer were ultimately screened, including 6 937 patients with liver metastasis, there were 6 247 other patients with distant metastasis, and clinical data of patients with or without liver metastasis were compared. The Kaplan Meier(KM) method and Log rank test were used to compare the overall survival rate (OS) and specific survival rate of patients with and without liver metastasis from SCLC. The COX risk model was used to evaluate independent prognostic factors in patients with liver metastasis from small cell lung cancer, and the impact of different treatment methods on patient survival time was analyzed. **Results** The incidence of liver metastasis in small cell lung cancer patients is 26.63%, ac-

counting for 52.6% of all SCLC patients with distant metastasis. There were statistically significant differences in gender, radiation therapy, survival status, primary site and surgery, year of diagnosis, T stage, N stage, and median survival time among patients with or without liver metastasis ($P<0.05$). KM analysis found that the tumor specific survival rate and overall survival rate of patients with SCLC liver metastasis were lower than those without liver metastasis ($P<0.05$), while the tumor specific survival rate and overall survival rate of patients with SCLC liver metastasis were lower than those of other distant metastasis patients ($P<0.01$). COX analysis found that independent risk factors affecting the survival time of SCLC with LM include age, gender, radiation therapy, chemotherapy, and T, N staging, as well as the presence or absence of brain, bone, and lung metastases. Radiotherapy and chemotherapy can significantly improve the prognosis of patients with SCLC liver metastasis, but the impact of surgical treatment at the primary site on the overall survival rate of patients was not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** The survival rate of SCLC patients with liver metastasis is low and varies depending on age and gender. The prognosis of SCLC liver metastasis is worse than other distant metastasis patients. The prognosis of SCLC liver metastasis patients in different T and N stages is significantly different. Radiotherapy and chemotherapy are beneficial for the overall survival rate of liver metastasis patients.

【Key words】 Small cell lung cancer; Liver metastasis; SEER database; Clinical characteristics; Prognosis

肺癌是全世界癌症死亡的主要原因,小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC) 约占所有肺癌的 15%, 每年导致 20 多万人死亡,其特点是增殖率极高,极易发生早期转移,预后差,5 年生存率低于 20%,小细胞肺癌患者在诊断时近 70% 已经转移,其中,与非小细胞肺癌 (non small cell lung cancer, NSCLC) 相比, SCLC 患者更容易发生肝转移,肝转移占有 SCLC 转移的 20% ~ 30%^[1-3]。肝转移的 SCLC 患者致死率高,极大地缩短了患者的生存期。肺癌肝转移可导致胆管阻塞并影响肝功能,导致 SCLC 患者晚期生活质量低,医疗费用高,给患者及家属带来了极大的负担^[4]。目前关于小细胞肺癌肝转移的生存率分析的研究较少,本研究进一步探索了 SCLC 患者肝转移的临床特征,分析影响预后的相关因素,为临床治疗和预防小细胞肺癌伴肝转移提供依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 数据筛选 本研究使用 SEERStat 软件,从 SEER 数据库中[使用的数据库名称 Incidence-SEER Research Plus Data, 17 Registries, nov 2021 Sub (2000—2019)]筛选出 2010—2015 年诊断的小细胞肺癌患者 (SCLC 的 ICD-03 代码为 8002、8041 ~ 8045) 36 924 例。排除非原发肺癌 3 151 例、生存时间未知 96 例及生存时间 < 1 个月患者 5 456 例、转移器官不明患者 2 160 例、种族未知患者 20 例,共筛选出原发性小细胞肺癌患者 26 041 例 (肝转移患者 6 937 例占 26.6%, 无肝转移患者 19 104 例占 73.4%)。在无肝转移的患者中,无远处转移患者 12 857 例,其他远处转移患者 6 247 例,肝转移患者约占有 SCLC 伴远处转移患者的 52.6%,随访截止时间为 2019 年 12 月 31 日,见图 1。

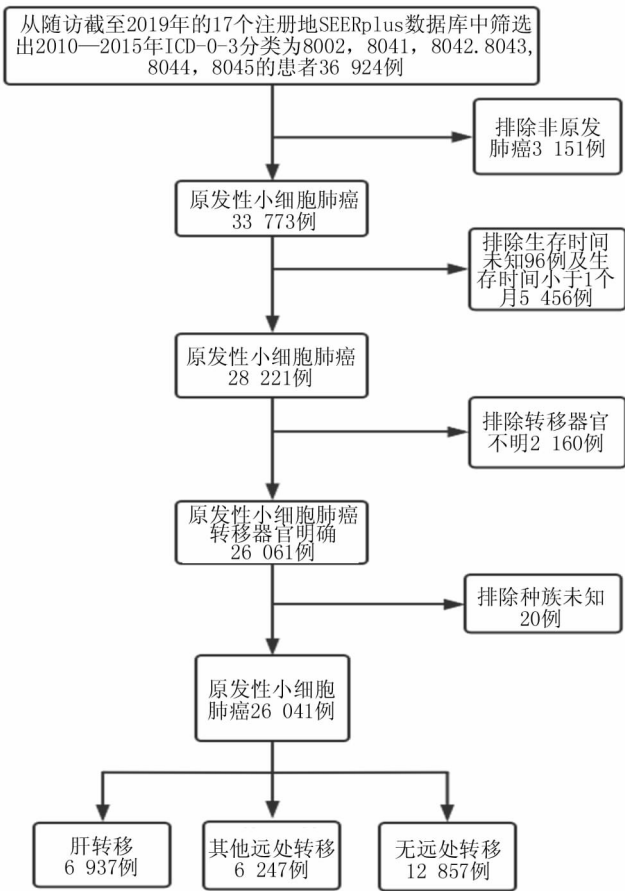


图 1 SEER 数据库筛选流程

Fig. 1 SEER database screening process

1.2 诊断、纳入、排除标准 诊断标准:病理诊断为小细胞肺癌;纳入标准:男女不限,年龄不限,2010—2015 年 SEER 数据库诊断为小细胞肺癌即可;排除标准:非原发肺癌、生存时间未知及生存时间 < 1 个月、转移器官不明、种族未知患者。

1.3 统计学方法 使用 SPSS 21.0 软件进行数据统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier(KM)法及 Log rank 检验比较有无肝转移患者总体生存率(OS)及肝转移 SCLC 患者特异生存率;COX 比例风险模型评估小细胞肺癌肝转移患者独立预后因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SCLC 肝转移患者临床特征统计 本研究共纳入 26 041 例患者,其中肝转移(LM)患者 6 937 例发生率 26.6%: 男性(52.28%)略高于女性(47.72%)($P < 0.001$);来源于肺上叶(43.95%)LM 比例最高($P < 0.001$);绝大部分 LM 患者未采取手术治疗(99.34%)且未采取放疗(65.04%),而未发生肝转移的 SCLC 患者大部分采取了放射治疗(60.81%)($P < 0.001$);SCLC 肝转移患者 2013—2015 年发生率(52.01%)略高

于 2010—2012 年(47.99%)($P = 0.019$);肝转移患者 T0、T1、T2、T3、T4、Tx 占比分别占 1.21%、8.24%、21.09%、19.30%、33.59%、16.56%;不同淋巴结转移分期中,LM 患者 N2 期比例最高(56.35%)($P < 0.001$);年龄及化疗在 SCLC 有无肝转移的分布比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 SCLC 肝转移患者累计生存率的 KM 分析 对有无肝转移 SCLC 进行 KM 分析,累计生存函数发现肝转移 SCLC 患者生存率明显低于无肝转移 SCLC 患者($P < 0.01$),小细胞肺癌特异生存率分析同样提示肝转移 SCLC 患者生存率显著低于无肝转移患者($P < 0.01$)。SCLC 肝转移患者较其他远处转移(骨、脑、肺内)的患者在肿瘤特异生存率、总生存率上均降低。LM 患者的中位 OS(6 个月)低于其他远处转移患者(7 个月),见表 2、图 2。

2.3 SCLC 肝转移患者预后 Cox 危险因素分析 以

表 1 小细胞肺癌患者有/无肝转移临床特征分析 [例(%)]
Tab.1 Clinical characteristics analysis of small cell lung cancer patients with/without liver metastasis

项 目		肝转移(<i>n</i> = 6 937)	无肝转移(<i>n</i> = 19 104)	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别	男	3 627(52.28)	9 170(48.00)	37.378	<0.001
	女	3 310(47.72)	9 934(52.00)		
年龄	≤60 岁	1 830(26.38)	4 808(25.17)	6.988	0.072
	>60 岁	5 107(73.62)	14 296(74.83)		
放疗	是	2 425(34.96)	11 617(60.81)	1 368.865	<0.001
	否	4 512(65.04)	7 487(39.19)		
化疗	是	5 525(79.65)	15 061(78.84)	2.009	0.156
	否	1 412(20.35)	4 043(21.16)		
存活状态	死亡	6 880(99.18)	17 618(92.22)	441.851	<0.001
	生存	57(0.82)	1 486(7.78)		
原发部位	主支气管	759(10.94)	1 963(10.28)	86.779	<0.001
	肺上叶	3 049(43.95)	9 229(48.31)		
	肺中叶	225(3.24)	797(4.17)		
	肺下叶	1 451(20.92)	3 933(20.59)		
	重叠部分	100(1.44)	226(1.18)		
	其他肺组织	1 353(19.50)	2 956(15.47)		
		1 353(19.50)	2 956(15.47)		
原发部位手术	否	6 891(99.34)	18 214(95.34)	234.467	<0.001
	是	46(0.66)	890(4.66)		
诊断年份	2010—2012 年	3 329(47.99)	9 483(49.64)	5.542	0.019
	2013—2015 年	3 608(52.01)	9 621(50.36)		
T 分期	T0	84(1.21)	218(1.14)	282.247	<0.001
	T1	572(8.24)	2 773(14.52)		
	T2	1 463(21.09)	4 460(23.35)		
	T3	1 339(19.30)	3 595(18.82)		
	T4	2 330(33.59)	5 856(30.65)		
	Tx	1 149(16.56)	2 202(11.53)		
		1 149(16.56)	2 202(11.53)		
N 分期	N0	687(9.90)	3 540(18.53)	385.314	<0.001
	N1	428(6.17)	1 538(8.05)		
	N2	3 909(56.35)	9 729(50.93)		
	N3	1 553(22.39)	3 754(19.65)		
	Nx	360(5.19)	543(2.84)		
		360(5.19)	543(2.84)		

表 2 SCLC 肝转移患者单因素 KM 分析

Tab. 2 Single factor KM analysis of patients with SCLC liver metastasis

变 量		1 年 OS (%)	2 年 OS (%)	χ^2 值	P 值
性别	男	13.80	2.20	28.452	<0.001
	女	18.80	3.50		
年龄	≤60 岁	19.30	3.60	46.274	<0.001
	>60 岁	14.90	2.50		
诊断年份	2010—2012 年	16.90	3.00	2.470	0.116
	2013—2015 年	15.50	2.70		
原发部位手术	否	16.10	2.80	1.115	0.291
	是	19.60	4.30		
原发部位	主支气管	18.70	2.50	12.968	0.024
	肺上叶	16.90	3.10		
	肺中叶	17.00	3.60		
	肺下叶	15.50	2.70		
	重叠部分	13.00	1.00		
其他肺组织	是	13.80	2.60	127.415	<0.001
	否	13.40	2.00		
化疗	是	19.20	3.30	1 352.605	<0.001
	否	4.40	1.00		
骨转移	是	14.00	2.20	11.172	0.001
	否	17.80	3.40		
脑转移	是	12.10	1.40	52.071	<0.001
	否	17.10	3.20		
肺内转移	是	13.10	1.40	26.387	<0.001
	否	16.90	3.20		
T 分期	T0、T1	20.00	4.70	17.345	0.002
	T2	17.70	2.70		
	T3	13.00	2.60		
	T4	16.00	2.40		
	Tx	16.10	3.10		
N 分期	N0	19.50	4.50	13.718	0.008
	N1	17.10	4.00		
	N2	15.40	2.40		
	N3	17.20	2.80		
	Nx	12.20	2.50		

SCLC 肝转移患者预后为因变量,以 KM 分析结果中主要的 $P<0.05$ 项目为自变量,进行多因素 COX 分析,结果显示,男性、年龄 >60 岁、未放疗、未化疗、T 和 N 分期高、伴有脑/骨/肺内转移是 SCLC 患者的独立危险因素,见表 3。

2.4 不同治疗方式影响 SCLC 肝转移患者预后的 KM 分析 针对 SCLC 肝转移患者,采用 KM 分析不同治疗方式对患者生存时间的影响,发现放疗及化疗能显著改善患者的预后,放疗与否中位生存率(8 个月 vs. 6 个月),化疗与否中位生存率(8 个月 vs. 2 个月)比较差异有统计学意义(P 均 <0.001),而原发部位手术对患者的预后影响无统计学意义(7 个月 vs. 6 个月)($P=0.291$),生存函数见图 3。

3 讨 论

与非小细胞肺癌相比,小细胞肺癌发生肝转移的概率显著提高^[5],多份病例报道提示,小细胞肺癌伴肝转移会导致爆发性肝衰竭,甚至肝转移瘤破裂等影响患者寿命的严重并发症,尤其是化疗后更常见^[6-9],这也许是肝转移患者预后差的主要原因,临床应在患者化疗后密切关注患者的肝功能及症状变化。肝转移也降低了 SCLC 患者对免疫治疗的获益^[10],这也许是小细胞肺癌肝转移治疗的难点。一项回顾性研究结果发现,性别,种族,T、N 分期是小细胞肺癌患者发生肝转移独立的风险因素,并建立了经验证的列线图用来量化小细胞肺癌患者肝转移风险,这与本研究结果一致^[11]。针对小细胞肺癌的预后分析,有相关的回顾性分析提示人口学特征、AJCC 分期、治疗、转移、肿瘤大小等是预后的主要影响因素^[12],这均与本研究结果相符。在治疗方面,有研究提示安洛替尼能增加 SCLC 发生 LM 患者的无进展生存率,安洛替尼联合中药鸦胆子油可能具有更好的效果^[4,13],并且在化疗中添加免疫检查点抑制剂可显著改善患者的 OS^[14],射频消

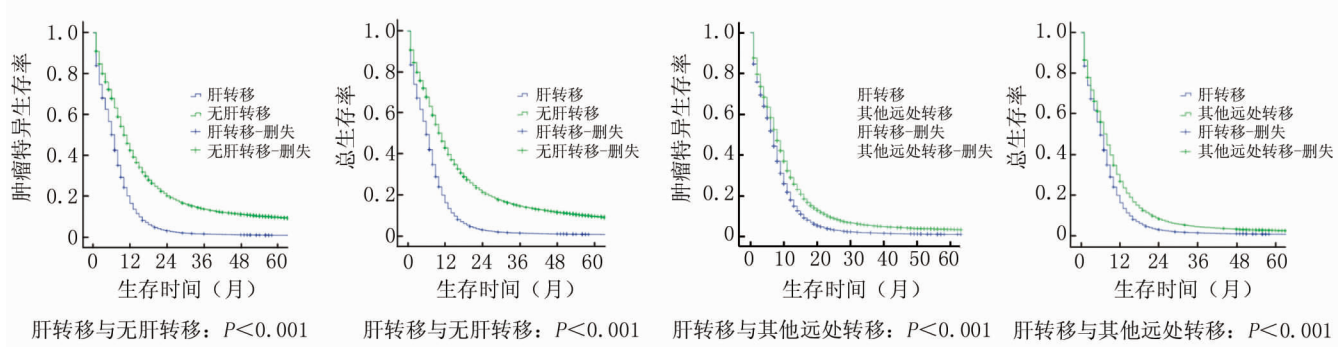


图 2 有无肝转移 SCLC 及肝转移和其他 SCLC 远处转移总生存率分析

Fig. 2 Analysis of the OS rate of SCLC with or without liver metastasis and distant metastasis between liver metastasis and other SCLCs

表 3 影响小细胞肺癌肝转移 OS 的多因素 COX 分析

Tab. 3 Cox analysis of multiple factors affecting OS in liver metastasis of small cell lung cancer

变 量		β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR (95% CI)
性别	女					1
	男	0.148	0.025	34.793	<0.001	1.160 (1.104 ~ 1.218)
年龄	≤60 岁					1
	>60 岁	0.121	0.028	18.097	<0.001	1.129 (1.067 ~ 1.193)
放疗	是					1
	否	0.256	0.028	84.501	<0.001	1.292 (1.223 ~ 1.364)
化疗	是					1
	否	0.981	0.032	940.148	<0.001	2.666 (2.504 ~ 2.838)
T 分期	T0、T1			17.056	0.002	1
	T2	0.087	0.048	3.348	0.067	1.091 (0.994 ~ 1.198)
	T3	0.167	0.049	11.708	0.001	1.181 (1.074 ~ 1.300)
	T4	0.132	0.046	8.362	0.004	1.141 (1.043 ~ 1.248)
	Tx	0.043	0.050	0.729	0.393	1.044 (0.946 ~ 1.152)
N 分期	N0			16.457	0.002	1
	N1	0.089	0.062	2.041	0.153	1.093 (0.967 ~ 1.235)
	N2	0.163	0.042	14.844	<0.001	1.177 (1.083 ~ 1.279)
	N3	0.120	0.047	6.439	0.011	1.127 (1.028 ~ 1.237)
	Nx	0.164	0.067	5.945	0.015	1.178 (1.033 ~ 1.343)
脑转移	否					1
	是	0.103	0.025	17.099	<0.001	1.108 (1.056 ~ 1.164)
骨转移	否					1
	是	0.324	0.034	92.251	<0.001	1.382 (1.294 ~ 1.477)
肺内转移	否					1
	是	0.083	0.031	7.158	0.007	1.086 (1.022 ~ 1.154)

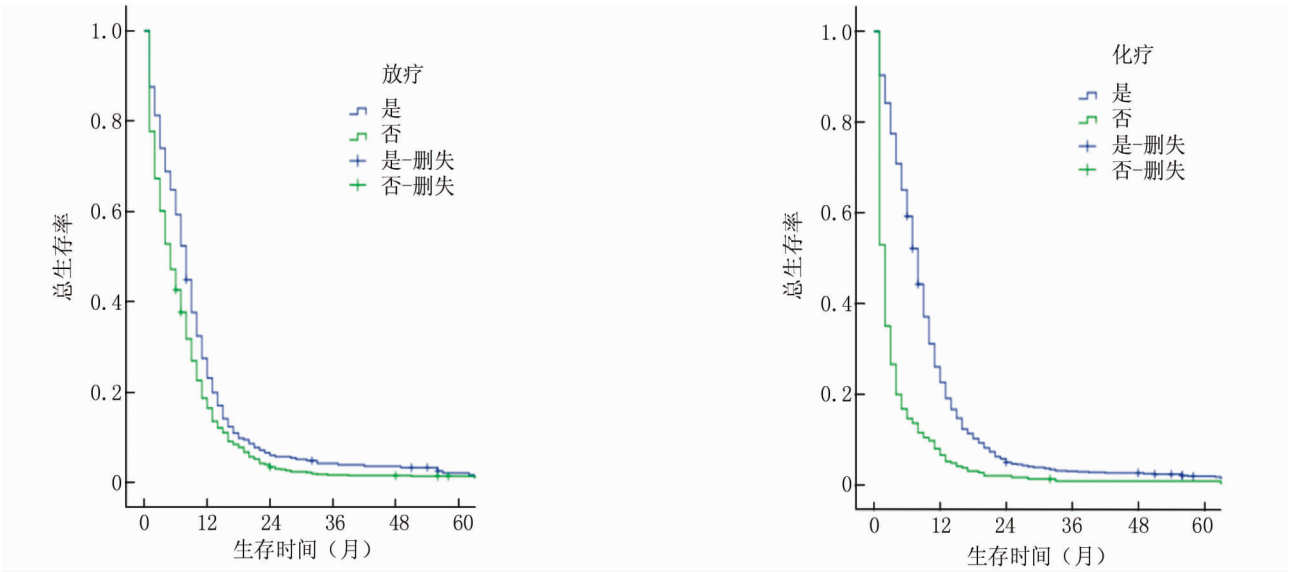


图 3 放疗与化疗对 SCLC 肝转移患者总生存率的影响

Fig. 3 The impact of radiotherapy and chemotherapy on the overall survival rate of patients with SCLC liver metastasis

融联合全身化疗可延长患者的总生存期,在临床中应重视射频消融对 SCLC 肝转移患者的获益^[15];小剂量依托泊苷联合顺铂用于 SCLC LM 中对患者肝功能有一定的改善作用^[16-17],在化疗失败后,可换用伊立替

康联合洛铂方案治疗^[18];肝动脉灌注化疗对改善患者的生活质量可能起着积极作用^[19];靶向多西他赛-PLA 纳米粒同时抑制小细胞肺癌的肿瘤生长和肝转移^[20],均证明化疗及放疗对 SCLC LM 患者的获益。

在诊断方面,血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)水平被证明可用于鉴别 SCLC 患者有无肝转移的诊断指标,如果 SCLC 患者的 NSE 水平超过 $44.6 \mu\text{g/L}$,则应检查肝转移^[21],不过应需更多证据进一步证明;癌胚抗原(CEA)是小细胞肺癌肝转移的独立预后因素^[22-24];如果怀疑 SCLC 患者出现了肝转移,即使 CT 检查中没发现肝脏转移灶,也可通过颈静脉肝活检进行组织学诊断^[25];关于肿瘤相关指标对 SCLC 患者发生肝转移的影响,目前研究尚不足,本研究缺乏这方面的探讨,与数据库资料缺乏有关。关于 SCLC 患者出现肝转移的机制研究,目前发现可能与巨噬细胞刺激蛋白影响器官微环境有关^[26],也可能与癌细胞中的 Dll4-notch 信号通路调节 NF- κ B 信号通路有关^[27];目前针对相关的研究尚不足,需更多的基础研究来阐明相关机制。目前国内尚没有类似的肿瘤大型数据库,本研究分析的相关数据尚需进一步国内临床数据支持。

综上所述,本研究基于大量的临床样本,分析了小细胞肺癌患者发生肝转移的危险因素及影响小细胞肺癌肝转移患者预后的独立危险因素,为临床预防小细胞肺癌患者发生肝转移及治疗小细胞肺癌肝转移患者提供一定的参考。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

聂莉萍:数据提取、处理、分析,论文撰写;潘战宇、姜战胜:选择课题,提出研究方向;杨银莉:论文修改

参考文献

- [1] Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, et al. Small-cell lung cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1): 3. DOI: 10. 1038/s41572-020-00235-0.
- [2] Ko J, Winslow MM, Sage J. Mechanisms of small cell lung cancer metastasis[J]. EMBO Mol Med, 2021, 13(1): e13122. DOI: 10. 15252/emmm. 202013122.
- [3] Abdelhamid K, Kakourou A, Degrauwe N, et al. Small-cell lung cancer; management and novelties[J]. Rev Med Suisse, 2020, 16(695): 1079-1085.
- [4] Cheng Y, Wang Q, Li K, et al. Anlotinib for patients with small cell lung cancer and baseline liver metastases: A post hoc analysis of the ALTER 1202 trial[J]. Cancer Med, 2022, 11(4): 1081-1087. DOI: 10. 1002/cam4. 4507.
- [5] Kagohashi K, Satoh H, Ishikawa H, et al. Liver metastasis at the time of initial diagnosis of lung cancer[J]. Med Oncol, 2003, 20(1): 25-28. DOI: 10. 1385/MO;20;1:25.
- [6] Goto Y, Tobino K, Yoshimine K, et al. An autopsy case of ruptured liver metastases from small cell lung cancer: A case report and literature review[J]. Respir Med Case Rep, 2020, 30: 101039. DOI: 10. 1016/j. rmcr. 2020. 101039.
- [7] Kamijo S, Hasuike S, Nakamura K, et al. Acute liver failure due to severe hepatic metastasis of small-cell lung cancer producing adrenocorticotrophic hormone complicating ectopic cushing syndrome[J]. Intern Med, 2019, 58(20): 2977-2982. DOI: 10. 2169/internalmedicine. 1976-18.
- [8] Miyaaki H, Ichikawa T, Taura N, et al. Diffuse liver metastasis of small cell lung cancer causing marked hepatomegaly and fulminant hepatic failure[J]. Intern Med, 2010, 49(14): 1383-1386. DOI: 10. 2169/internalmedicine. 49. 3296.
- [9] Ihara N, Yashiro N, Kinoshita T, et al. Diffuse intrasinusoidal liver metastasis of small cell lung cancer causing fulminant hepatic failure: CT findings-a case report[J]. Radiat Med, 2001, 19(5): 275-277.
- [10] Xia H, Zhang W, Zhang Y, et al. Liver metastases and the efficacy of immune checkpoint inhibitors in advanced lung cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. Front Oncol, 2022, 12: 978069. DOI: 10. 3389/fonc. 2022. 978069.
- [11] Lu YJ, Yang Y, Yuan YH, et al. A novel nomogram based on SEER database for the prediction of liver metastasis in patients with small-cell lung cancer[J]. Ann Palliat Med, 2020, 9(5): 3123-3137. DOI: 10. 21037/apm-20-886.
- [12] 王蓉, 申涇浣, 谢书阳, 等. 不同年龄组小细胞肺癌的临床特征与预后影响因素分析[J]. 中国医院统计, 2022, 29(4): 246-252, 256. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5253. 2022. 04. 002.
- [13] Peng S, Dong W, Chu Q, et al. Traditional chinese medicine Brucea javanica oil enhances the efficacy of anlotinib in a mouse model of liver-metastasis of small-cell lung cancer[J]. In Vivo, 2021, 35(3): 1437-1441. DOI: 10. 21873/in vivo. 12395.
- [14] Chen CR, Qi WX, Liu T, et al. Efficacy of addition immune checkpoint inhibitors to chemotherapy as first-line treatment for small cell lung cancer patients with liver or brain metastases: A systematic review and meta-analysis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2022, 26(16): 5857-5867. DOI: 10. 26355/eurrev_202208_29525. d.
- [15] 孙基峰, 罗婧, 徐利明, 等. 广泛期小细胞肺癌肝转移治疗模式探讨[J]. 天津医科大学学报, 2019, 25(6): 577-580.
- [16] 刘成林. 小剂量依托泊苷联合顺铂用于小细胞肺癌肝转移中对患者肝功能的改善作用[J]. 肝脏, 2014, 19(7): 559-561. DOI: 10. 14000/j. cnki. issn. 1008-1704. 2014. 07. 027.
- [17] 穆铁军, 李广庆, 何彦辉. 小剂量 EP 方案治疗小细胞肺癌肝转移合并严重肝功能异常患者的疗效观察[J]. 中国药物应用与监测, 2013, 10(5): 252-254.
- [18] 陈琰, 黄平, 张相杰, 等. 伊立替康联合洛铂对依托泊苷方案化疗失败小细胞肺癌肝转移患者的疗效及安全性评价[J]. 河北医药, 2016, 38(20): 3098-3100. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-7386. 2016. 20. 014.
- [19] Tokito T, Ichiki M, Sakata S, et al. A case of small cell lung cancer (extensive disease) with liver metastasis acquiring stable disease by hepatic arterial infusion chemotherapy[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2010, 37(3): 495-497.
- [20] Liang Z, Yang N, Jiang Y, et al. Targeting docetaxel-PLA nanoparti-

cles simultaneously inhibit tumor growth and liver metastases of small cell lung cancer[J]. Int J Pharm, 2015, 494(1):337-345. DOI:10.1016/j.ijpharm. 2015. 08. 042.

[21] Kanemoto K, Satoh H, Ishikawa H, et al. Neurone-specific enolase and liver metastasis in small cell lung cancer[J]. Clin Oncol (R Coll Radiol), 2006, 18(6):505. DOI: 10. 1016/j. clon. 2006. 03. 017.

[22] 李龙,郑振东,刘渤娜,等. 生物免疫疗法联合放疗对小细胞肺癌患者肿瘤标志物及 T 淋巴细胞亚群水平的影响[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(3):237-240. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 03. 005.

[23] 王宁军,马银杰,高业博,等. 盐酸安罗替尼二线治疗老年小细胞肺癌的有效性和安全性观察[J]. 中国医药, 2021, 16(9):1325-1328. DOI:10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 09. 011.

[24] Yang X, Wang D, Yang Z, et al. CEA is an independent prognostic indicator that is associated with reduced survival and liver metastases in SCLC[J]. Cell Biochem Biophys, 2011, 59(2):113-119. DOI: 10. 1007/s12013-010-9121-0.

[25] Mishima S, Nozaki Y, Mikami S, et al. Diffuse liver metastasis of small-cell lung cancer presenting as acute liver failure and diagnosed by transjugular liver biopsy: A rare case in whom nodular lesions were detected by enhanced ct examination[J]. Case Rep Gastroenterol, 2015, 9(1):81-87. DOI:10. 1159/000381140.

[26] Sato S, Hanibuchi M, Kuramoto T, et al. Macrophage stimulating protein promotes liver metastases of small cell lung cancer cells by affecting the organ microenvironment[J]. Clin Exp Metastasis, 2013, 30(3):333-344. DOI:10. 1007/s10585-012-9540-y.

[27] Kuramoto T, Goto H, Mitsuhashi A, et al. DLL4-Fc, an inhibitor of DLL4-notch signaling, suppresses liver metastasis of small cell lung cancer cells through the downregulation of the NF-κB activity[J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(12):2578-2587. DOI: 10. 1158/1535-7163. MCT-12-0640.

(收稿日期:2023-04-27)

作者 · 编者 · 读者

撰写医学论文主体部分的要求

1 前言 概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据、研究方法、预期结果和意义等。仅提供与研究主题紧密相关的参考文献,切忌写成文献综述。不要涉及本研究中的数据或结论。一般以 200~300 个汉字为宜,占全文字数的 5% 左右。

2 方法 描述研究对象(人或实验动物,包括对照组)的选择及其基本情况,以及研究所采用的方法(包括分组方法)。实验研究的论文常写成“材料与方法”,临床研究论文常写成“资料与方法”。临床试验研究还应说明试验程序是否经所在单位或地区伦理学相关机构的批准,研究对象是否知情同意并签署知情同意书。

2.1 观察对象:观察对象为患者,需注明病例和对照者来源、选择标准、一般情况、观察指标和疗效判断标准等。研究对象为实验动物,需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。

2.2 研究方法:详述新创的方法及改良方法的改进之处,以备他人重复。采用他人方法,应以引用文献的方式给出方法的出处,无须详细描述。

2.3 药品与试剂:药品及化学试剂使用通用名称,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位、生产时间及给药途径。

2.4 仪器、设备:应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述工作原理。

2.5 统计学处理:描述统计学方法及其选择依据,并说明所使用的统计学软件。

3 结果 “结果”是指实验所得数据、观察记录,经过综合分析和统计学处理的结果,而不是原始数据,更不是原始记录。按逻辑顺序在正文的文字、表格和图中描述所获得的结果。结果的叙述应实事求是,简洁明了,数据准确,层次清楚,逻辑严谨,不应与讨论内容相混淆。应着重总结重要的研究结果。以数据反映结果时,应注意不能只描述导数(如百分数),还应同时给出据以计算导数的绝对数。一般应对所得数据进行统计学处理,并给出具体的统计值,例如: $t = 2.85, P < 0.01$ 。

4 讨论 “讨论”是对研究结果的科学解释与评价,是研究所形成的科学理论。着重讨论研究结果的创新之处及从中导出的结论,包括理论意义、实际应用价值、局限性,及其对进一步研究的启示。如果不能导出结论,也可通过讨论,提出建议、设想、改进意见或待解决的问题等。应将本研究结果与其他有关的研究相比较,并将本研究结论与目的联系起来讨论,并列出相关参考文献。不必重述已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不应列入图或表。

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 002

肿瘤防治专题

Hb、Alb 及 PLR 与壶腹周围癌患者胰十二指肠切除术术后并发症及临床预后的关系分析

杨为中, 丁烁, 李云玖, 苏展, 车金辉

基金项目: 2019 年江苏省高等学校自然科学研究面上项目 (19KJB360012)

作者单位: 221000 徐州市肿瘤医院肝胆胰外科

通信作者: 李云玖, E-mail: 63644114@qq.com



【摘要】目的 分析血红蛋白(Hb)、白蛋白(Alb)、血小板与淋巴细胞比值(PLR)与壶腹周围癌(VPC)患者胰十二指肠切除术(PD)术后并发症及临床预后的关系。**方法** 选取2019年1月—2022年1月徐州市肿瘤医院肝胆胰外科行PD治疗的VPC患者102例为研究对象。术后根据是否发生并发症分为发生组38例和未发生组64例,同时对所有患者均随访1年(失访3例),根据随访结果将患者分为预后不良亚组35例和预后良好亚组64例,比较各组患者Hb、Alb、PLR水平。采用Spearman相关性分析VPC患者Hb、Alb、PLR水平与术后并发症、预后的相关性;Logistic回归分析影响行PD治疗的VPC患者预后的危险因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析Hb、Alb、PLR水平对患者预后不良的预测价值。**结果** 发生组患者Hb、Alb水平低于未发生组,PLR水平高于未发生组($t/P = 6.454 / <0.001$, $20.333 / <0.001$, $30.371 / <0.001$);预后不良亚组患者Hb、Alb水平低于预后良好亚组,PLR水平高于预后良好亚组($t/P = 11.701 / <0.001$, $26.741 / <0.001$, $31.135 / <0.001$)。Spearman相关性分析显示,Hb、Alb与行PD治疗的VPC患者术后并发症呈负相关,PLR水平与术后并发症呈正相关($r/P = -0.354 / 0.002$, $-0.472 / <0.001$, $0.513 / <0.001$)。Hb、Alb与VPC患者PD治疗发生预后不良呈负相关,PLR水平与发生预后不良呈正相关($r/P = -0.326 / 0.003$, $-0.453 / <0.001$, $0.501 / <0.001$)。Logistic回归分析显示,Hb低、Alb低、PLR高水平均是影响行PD治疗的VPC患者发生预后不良的危险因素[OR(95% CI) = 2.100(1.046 ~ 3.154)、2.784(1.352 ~ 4.217)、3.463(1.498 ~ 5.427)]。ROC曲线显示,Hb低、Alb低、PLR高及三者联合预测患者发生预后不良的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.724、0.781、0.801、0.867,三者联合的AUC显著高于单项预测($Z/P = 5.071 / 0.006$, $5.687 / 0.001$, $6.021 / <0.001$)。**结论** 术前Hb、Alb、PLR水平异常与VPC患者PD术后发生并发症及预后的关系密切,且是影响预后不良的危险因素,三者联合检测对预后不良具有较高的预测价值。

【关键词】 壶腹周围癌;胰十二指肠切除术;血红蛋白;白蛋白;血小板与淋巴细胞比值;预后**【中图分类号】** R735.9**【文献标识码】** A

Analysis of the relationship between Hb, Alb, and PLR with postoperative complications and clinical prognosis after pancreaticoduodenectomy Yang Weizhong, Ding Shuo, Li Yunjiu, Su Zhan, Che Jinhui. Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Xuzhou Cancer Hospital, Jiangsu Province, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Li Yunjiu, E-mail: 63644114@qq.com

Funding program: 2019 Jiangsu Province Higher Education Natural Science Research General Project (19KJB360012)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between hemoglobin (Hb), albumin (Alb), platelet to lymphocyte ratio (PLR), postoperative complications and clinical prognosis of pancreaticoduodenectomy (PD). **Methods** From January 2019 to January 2022, 102 patients with perianapillary carcinoma (VPC) who underwent PD treatment in Hepatobiliary and Pancreatic Surgery Department of Xuzhou Cancer Hospital were selected as the study subjects. After surgery, patients were divided into an occurrence group of 38 cases and a nonoccurrence group of 64 cases based on the occurrence of complications. All patients were followed up for 1 year. According to the follow-up results, patients were divided into a poor prognosis subgroup of 35 cases and a good prognosis subgroup of 64 cases. The Hb, Alb, and PLR levels of patients in each group were compared. Use Spearman correlation analysis to investigate the correlation between Hb, Alb, PLR levels, postoperative complications, and prognosis in VPC patients; Logistic regression analysis of risk factors affecting the prognosis of VPC patients undergoing PD treatment; Draw a receiver operating characteristic curve (ROC) to analyze the predictive value

of Hb, Alb, and PLR levels on poor patient prognosis. **Results** The Hb and Alb levels of patients in the occurrence group were lower than those in the nonoccurrence group, while the PLR levels were higher than those in the nonoccurrence group ($t/P=6.454/ <0.001$, $20.333/ <0.001$, $30.371/ <0.001$); The Hb and Alb levels in patients with poor prognosis subgroup were lower than those in patients with good prognosis subgroup, while PLR levels were higher than those in patients with good prognosis subgroup ($t/P=11.701/ <0.001$, $26.741/ <0.001$, $31.135/ <0.001$). Spearman correlation analysis showed that Hb and Alb were negatively correlated with postoperative complications in VPC patients undergoing PD treatment, while PLR levels were positively correlated with postoperative complications ($r/P= -0.354/0.002$, $-0.472/ <0.001$, $0.513/ <0.001$). Hb and Alb are negatively correlated with poor prognosis of PD treatment in VPC patients, while PLR levels are positively correlated with poor prognosis ($r/P= -0.326/0.003$, $-0.453/ <0.001$, $0.501/ <0.001$). Logistic regression analysis showed that low Hb, low Alb, and high PLR were average risk factors for poor prognosis in VPC patients undergoing PD treatment [$OR(95\% CI)=2.100(1.046-3.154)$, $2.784(1.352-4.217)$, $3.463(1.498-5.427)$]. The Receiver operating characteristic showed that the area under the Receiver operating characteristic (AUC) predicted by low Hb, low Alb, high PLR and the combination of the three was 0.724, 0.781, 0.801, 0.867, respectively, and the AUC of the combination of the three was higher than the single prediction ($Z/P=5.071/0.006$, $5.687/0.001$, $6.021/ <0.001$). **Conclusion** The abnormal levels of preoperative Hb, Alb, and PLR are closely related to the postoperative complications and prognosis of VPC patients with PD, and are risk factors that affect the poor prognosis of VPC patients after PD surgery. The combined detection of these indicators has high predictive value for the poor prognosis of VPC patients after PD surgery.

【Key words】 Periapillary carcinoma; Pancreaticoduodenectomy; Hemoglobin; Albumin; Platelet lymphocyte ratio; Prognosis

壶腹周围癌(vater ampulla carcinoma, VPC)是常见的消化道肿瘤,多发于 40 ~ 70 岁的人群中^[1]。目前,临床上主要采用胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)治疗壶腹周围癌,该术式是壶腹周围癌获得根治的主要途径之一^[2]。但 PD 需要切除和吻合的脏器较多,术后易出现感染、胸腹腔积液、胰瘘、胆漏等并发症,影响患者的术后恢复情况及预后^[3-5]。鉴于此,寻找到能准确评估 VPC 患者 PD 术后并发症及预后的判断指标具有重要意义。血红蛋白(hemoglobin, Hb)、白蛋白(albumin, Alb)、血小板与淋巴细胞比值(plateletlymphocyte ratio, PLR)与恶性肿瘤的发生发展关系密切^[6-8]。故本研究以行 PD 治疗的 VPC 患者为研究对象,旨在探究 Hb、Alb、PLR 水平与上述患者并发症及预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 1 月—2022 年 1 月徐州市肿瘤医院肝胆胰外科行 PD 治疗的壶腹周围癌患者 102 例为研究对象,其中男 52 例,女 50 例,年龄 40 ~ 75 (59.76 ± 13.78) 岁。术后根据是否发生并发症分为发生组 38 例和未发生组 64 例;对患者均随访 1 年,根据患者预后情况分为预后不良亚组和预后良好亚组。本研究已经获得医院伦理委员会批准(HZYLLKY202002805),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①均符合 VPC 的诊断标准^[9],并经病理诊断证实;②均行 PD 治疗。

(2) 排除标准:①术前接受化疗、放疗等其他治疗方法;②合并严重的呼吸循环系统疾病;③合并严重肝肾功能障碍;④合并其他恶性肿瘤;⑤合并感染性疾病;⑥合并严重心脏病、高血压等基础病,不能耐受外科手术治疗者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 Hb、Alb、PLR 水平检测:术前抽取患者空腹外周静脉血 4 ml,采用全自动生化分析仪(济南鑫润医疗设备有限公司,型号 BK-600)检测 Alb 水平,采用全自动血常规分析仪(济南爱来宝仪器设备有限公司,型号 TEK8530)检测 Hb、血小板计数、淋巴细胞计数水平,根据血小板计数、淋巴细胞计数计算 PLR。

1.3.2 术后并发症观察及随访:术后住院期间出现胰瘘、胆漏、感染、胃瘫、胸腹腔积液等并发症的患者纳入发生组,反之纳入未发生组。对患者均随访 1 年,截止时间 2023 年 1 月,以患者发生转移、复发以及死亡为终点事件,将发生终点事件者纳入预后不良亚组,反之纳入预后良好亚组。102 例患者在随访过程中失访 3 例,失访率为 2.94% (3/102),99 例患者得到随访,发生预后不良 35 例(35.35%)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性采用 Spearman 相关性分析;Logistic 多因素回归分析影响 PD 治疗的 VPC 患者预后的危险因素;受试者工作特征曲线

(ROC) 评估 Hb、Alb、PLR 水平对行 PD 治疗的 VPC 患者发生预后不良的预测效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 VPC 患者 PD 术后并发症发生情况 102 例患者中发生并发症 38 例 (37.25%)，其中胰瘘 3 例 (2.94%)，胆漏 4 例 (3.92%)，感染 15 例 (14.71%)，胃瘫 4 例 (3.92%)，胸腹腔积液 12 例 (11.76%)。

2.2 2 组 Hb、Alb、PLR 水平比较 发生组患者 Hb、Alb 水平低于未发生组，PLR 水平高于未发生组 (P 均 < 0.01)，见表 1。

表 1 未发生组与发生组 Hb、Alb、PLR 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.1 Comparison of Hb, Alb, and PLR levels between the non occurrence group and the occurrence group

组 别	例数	Hb(g/L)	Alb(g/L)	PLR
未发生组	64	112.39 ± 11.31	39.41 ± 2.46	169.37 ± 21.45
发生组	38	98.39 ± 9.24	29.36 ± 2.35	312.57 ± 25.48
t 值		6.454	20.333	30.371
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 2 亚组患者 Hb、Alb、PLR 水平比较 预后不良亚组患者 Hb、Alb 水平低于预后良好亚组 ($P < 0.01$)，PLR 水平高于预后良好亚组 ($P < 0.01$)，见表 2。

表 2 预后良好亚组与预后不良亚组患者 Hb、Alb、PLR 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.2 Comparison of Hb, Alb, and PLR levels between patients with good and poor prognosis subgroups

组 别	例数	Hb(g/L)	Alb(g/L)	PLR
预后良好亚组	64	112.69 ± 10.43	39.87 ± 2.27	164.39 ± 22.37
预后不良亚组	35	89.36 ± 7.42	27.36 ± 2.14	313.05 ± 24.84
t 值		11.701	26.741	31.135
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 Hb、Alb、PLR 水平与 VPC 患者 PD 术后并发症、预后的相关性 Spearman 相关性分析显示，Hb、Alb 与 VPC 患者 PD 术后发生并发症呈负相关 ($r = -0.354$ 、 -0.472 ， $P = 0.002$ 、 < 0.001)，PLR 水平与术后并发症呈正相关 ($r = 0.513$ ， $P < 0.001$)。Hb、Alb 与 VPC 患者 PD 治疗预后不良呈负相关 ($r = -0.326$ 、 -0.453 ， $P = 0.003$ 、 < 0.001)，PLR 水平与预后不良呈正相关 ($r = 0.501$ ， $P < 0.001$)。

2.5 预后良好亚组与预后不良亚组患者临床资料比较 2 亚组患者性别、年龄、BMI、合并基础病 (糖尿病、高血压、心脏病)、手术时间、术中出血量、肛门排

气时间、住院时间、分化程度、肿瘤直径、脉管侵犯、引流液淀粉酶比较，差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)，见表 3。

表 3 预后良好亚组与预后不良亚组患者基线资料比较
Tab.3 Comparison of baseline data between patients with good and poor prognosis subgroups

项 目	预后良好亚组 ($n = 64$)	预后不良亚组 ($n = 35$)	χ^2/t 值	P 值
性别[例(%)]	男 31(48.44)	18(51.43)	0.081	0.776
	女 33(51.56)	17(48.57)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	59.45 ± 12.78	59.86 ± 13.45	0.150	0.881
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.76 ± 2.58	23.65 ± 2.42	0.207	0.836
糖尿病[例(%)]	16(25.00)	10(28.57)	0.149	0.699
高血压[例(%)]	7(10.94)	5(14.29)	0.059	0.808
心脏病[例(%)]	4(6.25)	3(8.57)	0.186	0.667
手术时间($\bar{x} \pm s$, min)	416.57 ± 89.75	423.58 ± 86.37	0.376	0.707
术中出血量($\bar{x} \pm s$, ml)	398.75 ± 92.46	405.75 ± 90.24	0.363	0.717
肛门排气时间($\bar{x} \pm s$, d)	2.41 ± 0.78	2.65 ± 0.85	1.418	0.159
住院时间($\bar{x} \pm s$, d)	14.21 ± 3.16	14.57 ± 3.25	0.536	0.593
分化程度	低分化 13(20.31)	8(22.86)	0.088	0.767
[例(%)]	中高分化 51(79.69)	27(77.14)		
肿瘤直径($\bar{x} \pm s$, cm)	2.32 ± 0.29	2.41 ± 0.34	1.388	0.168
脉管侵犯[例(%)]	26(68.42)	16(45.71)	0.240	0.624
引流液淀粉酶	>200 IU/L 34(53.13)	21(60.00)	0.433	0.510
[例(%)]	≤200 IU/L 30(46.87)	14(40.00)		

2.6 VPC 患者 PD 治疗预后的危险因素分析 以 VPC 患者 PD 治疗预后 (预后不良 = 1，预后良好 = 0) 为因变量，以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量，进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示，Hb 低、Alb 低、PLR 高水平均是影响行 PD 治疗的 VPC 患者预后不良的危险因素 ($P < 0.01$)，见表 4。

表 4 多因素分析行 PD 治疗的 VPC 患者预后的危险因素
Tab.4 Risk factors for prognosis of VPC patients undergoing PD treatment through multivariate analysis

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
Hb 低	0.742	0.246	9.098	<0.001	2.100	1.046 ~ 3.154
Alb 低	1.024	0.276	13.765	<0.001	2.784	1.352 ~ 4.217
PLR 高	1.242	0.318	15.254	<0.001	3.463	1.498 ~ 5.427

2.7 Hb、Alb、PLR 对 VPC 患者 PD 治疗预后不良的预测价值 绘制 Hb、Alb、PLR 预测 VPC 患者 PD 治疗预后不良的 ROC 曲线，并计算曲线下面积 (AUC)，结果显示，Hb、Alb、PLR 及三者联合预测 VPC 患者 PD 治疗预后不良的 AUC 分别为 0.724、0.781、0.801、0.867，三者联合的 AUC 高于单项预测 ($Z/P = 5.071/0.006$ 、 $5.687/0.001$ 、 $6.021/ < 0.001$)，见图 1、表 5。

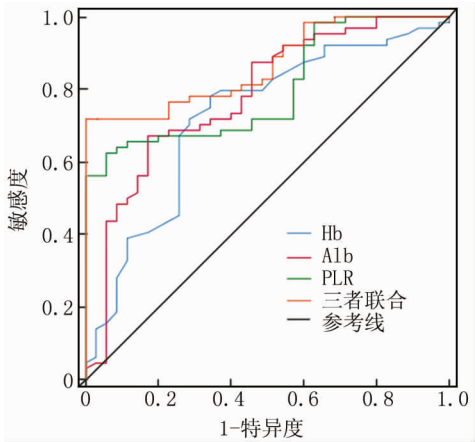


图 1 Hb、Alb、PLR 预测行 PD 治疗的 VPC 患者预后不良的 ROC 曲线
Fig. 1 Hb, Alb, PLR predict the poor prognosis of VPC patients treated with PD Receiver operating characteristic

表 5 Hb、Alb、PLR 对 VPC 患者 PD 治疗预后不良的预测价值
Tab. 5 Predictive value of Hb, Alb, and PLR for poor prognosis of PD treatment in VPC patients

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
Hb 低	96.32 g/L	0.724	0.616 ~ 0.831	0.781	0.657	0.438
Alb 低	34.02 g/L	0.781	0.684 ~ 0.878	0.672	0.829	0.501
PLR 高	286.85	0.801	0.715 ~ 0.886	0.641	0.886	0.527
三者联合		0.867	0.799 ~ 0.935	0.719	0.953	0.672

3 讨 论

PD 是治疗 VPC 的常用术式,术中采用降落伞式吻合的方式充分暴露吻合处,每一针都在直视下做到准确可靠,减少对吻合口处组织的损伤,同时术中采用空肠残端造瘘,可有效减少胆漏、胰瘘等并发症的发生风险^[10]。本研究结果显示,患者术后胆漏、胰瘘的发生率分别为 2.94%、3.92%,本研究结果与上述观点一致,但 PD 术式因消化道重建多、手术步骤复杂、涉及脏器范围广,导致术后其他并发症发生率仍较高。本研究结果显示,102 例患者术后并发症,总发生率为 37.25% (38/102)。因此,寻找一种可靠的方式评估 VPC 患者 PD 术后并发症具有重要的临床意义。此外,因 VPC 患者术后易发生复发和转移,导致预后欠佳,故现阶段临床上在寻找一种安全有效的方式预测患者预后,以期制定个性化治疗方案,提高预后^[11]。

现有研究表明^[12-13],营养状态、炎症反应情况对恶性肿瘤根治术后并发症及预后具有重要影响,尤其对消化道恶性肿瘤来说其预后更易受上述机制的影响。王珂等^[14]证实 Hb 在结直肠癌患者术后呈下降趋势,术前 Hb 水平是影响结直肠癌患者预后的独立

危险因素。杨耀国等^[15]发现术前 Hb 水平与腹主动脉搏患者术后并发症的发生关系密切。本研究结果显示,Hb 水平与 VPC 患者 PD 术后并发症及预后不良关系密切,且是影响 VPC 患者预后不良的独立危险因素。Hb 水平较低表明患者机体营养状态差,不利于机体功能的恢复,且易导致机体免疫功能低下,不能很好地抵抗外界对机体的刺激,故低 Hb 水平的肿瘤患者术后更易发生并发症^[6]。低 Hb 水平的肿瘤患者肿瘤细胞克隆具有更强的生物学侵袭性,导致此类患者更易发生转移,从而导致不良预后^[16]。

孙丙亮等^[17]研究显示,术前 Alb 水平较高是影响肾癌合并静脉癌栓患者术后并发症发生的保护因素,这表明术前 Alb 水平越低,患者术后并发症发生风险越高。朱士杰等^[18]报道证实了术前 Alb 水平越低,宫颈癌患者预后越差。本研究结果显示,Alb 水平与 VPC 患者 PD 术后并发症及预后不良关系密切,且是影响 VPC 患者预后不良的独立危险因素。这表明 Alb 水平越低,VPC 患者术后并发症及预后不良发生风险就越高。其原因可能在于 Alb 水平低下,表明机体营养状态不佳,防御功能下降,机体恢复能力下降,对外界刺激因素的抵抗能力差,从而导致并发症的发生风险升高。此外,Alb 是负性急性期蛋白质,故其水平低下表明患者机体炎症反应状态增加,增加术后并发症及预后不良的发生风险^[19]。

相关研究表明^[20-21],PLR 水平与多种恶性肿瘤的病理特征关系密切,且对多种恶性肿瘤的预后具有较高的预测价值,如宫颈癌、胃癌等。但关于 PLR 水平与 VPC 患者术后并发症及预后的关系研究较少。本研究对此进行观察,结果显示,PLR 水平的异常升高与 VPC 患者术后并发症及预后不良的关系密切。其原因可能在于 PLR 是反映机体炎症反应状态的标志物,为血小板计数与淋巴细胞计数比值,其水平异常升高表明术前机体炎症反应程度加重,增加术后并发症发生风险^[22]。此外,PLR 水平升高表明机体内血小板水平明显升高,而血小板对肿瘤的转移及趋化因子的释放起着促进作用,并可激活肿瘤细胞,诱导癌细胞的增殖,为肿瘤新生血管的形成提供有利条件,进而可增加肿瘤患者死亡风险^[23]。

本研究结果还显示,Hb、Alb、PLR 联合检测预测行 PD 治疗的 VPC 患者发生预后不良的 AUC、特异度分别为 0.867、0.953,均高于血清 Hb、Alb、PLR 水平单独预测。提示 Hb、Alb、PLR 水平联合检测对 VPC 患者 PD 术后发生预后不良具有较高的预测价值。分析原因:Hb 降低表明患者机体营养状态不佳,免疫功能

下降,肿瘤细胞的侵袭能力更强,更易促进细胞移行。Alb 水平降低表明体内炎症反应程度较高,营养状态差,不利于患者预后。PLR 水平升高可刺激肿瘤细胞,诱导期释放更多的血管活性物质,为细胞的转移提供有利条件。这 3 种指标联合检测能从多方面反映患者自身身体情况,故联合检测更能准确评估行 PD 术治疗的 VPC 患者预后。

综上所述,术前 Hb、Alb、PLR 水平异常与 VPC 患者 PD 术后发生并发症及预后的关系密切,且是影响 VPC 患者 PD 术后发生预后不良的危险因素,上述指标联合检测对 VPC 患者 PD 术后预后不良具有较高的预测价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨为中、丁烁:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李云玖、苏晨:实施研究过程,资料搜集整理,参与撰写,论文修改;车金辉:进行统计学分析

参考文献

- [1] Matsui S, Yamamoto Y, Okamura Y, et al. The prognostic relevance of preoperative CEA and CA19-9 for ampulla of vater carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2022, 42 (6) : 3169-3176. DOI: 10. 21873/anticancer. 15806.
- [2] Shimizu Y, Ashida R, Sugiura T, et al. Prognostic impact of indicators of systemic inflammation and the nutritional status of patients with resected carcinoma of the ampulla of vater: A single-center retrospective study[J]. *World J Surg*, 2022, 46 (1) : 246-258. DOI: 10. 1007/s00268-021-06346-3.
- [3] Meng H, Wang S, Liu J, et al. Laparoscopic pancreaticoduodenectomy with transanal specimen extraction for periampullary tumors[J]. *Ann Surg*, 2022, 275 (3) : e596-e598. DOI: 10. 1097/SLA. 0000000000004886.
- [4] Ma MJ, Cheng H, Chen YS, et al. Laparoscopic pancreaticoduodenectomy with portal or superior mesenteric vein resection and reconstruction for pancreatic cancer: A single-center experience[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2023, 22 (2) : 147-153. DOI: 10. 1016/j. hbp. 2023. 01. 004.
- [5] Yang Y, Fu X, Zhu S, et al. Vater's ampullary carcinoma increases the risk of clinically relevant postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy: A retrospective and propensity score-matched analysis[J]. *BMC Gastroenterol*, 2022, 22 (1) : 51. DOI: 10. 1186/s12876-022-02128-w.
- [6] Zhang M, Guo Y, Zhang X, et al. Nutritional risk screening in malignant tumors: A study of 375 cancer inpatients[J]. *Support Care Cancer*, 2022, 30 (10) : 8333-8337. DOI: 10. 1007/s00520-022-07242-9.
- [7] Fang L, Yan FH, Liu C, et al. Systemic inflammatory biomarkers, especially fibrinogen to albumin ratio, predict prognosis in patients with pancreatic cancer[J]. *Cancer Res Treat*, 2021, 53 (1) : 131-139. DOI: 10. 4143/crt. 2020. 330.

- [8] Li H, Liu Q, Liang S, et al. Circulating tumor cells and neutrophil-lymphocyte ratio are predictive markers for metastatic colorectal cancer patients[J]. *Transl Cancer Res*, 2021, 10 (1) : 288-297. DOI: 10. 21037/tcr-20-2032.
- [9] Adsay NV, Bagci P, Tajiri T, et al. Pathologic staging of pancreatic, ampullary, biliary, and gallbladder cancers: Pitfalls and practical limitations of the current AJCC/UICC TNM staging system and opportunities for improvement[J]. *Semin Diagn Pathol*, 2012, 29 (3) : 127-141. DOI: 10. 1053/j. semdp. 2012. 08. 010.
- [10] Min EK, Hong SS, Kim JS, et al. Surgical outcomes and comparative analysis of transduodenal ampullectomy and pancreaticoduodenectomy: A single-center study[J]. *Ann Surg Oncol*, 2022, 29 (4) : 2429-2440. DOI: 10. 1245/s10434-021-11190-9.
- [11] Dembinski J, Yoh T, Aussilhou B, et al. The long-term outcomes of laparoscopic versus open pancreatoduodenectomy for ampullary carcinoma showed similar survival: A case-matched comparative study[J]. *Surg Endosc*, 2022, 36 (7) : 4732-4740. DOI: 10. 1007/s00464-021-08813-3.
- [12] Carrato A, Cerezo L, Feliu J, et al. Clinical nutrition as part of the treatment pathway of pancreatic cancer patients: An expert consensus[J]. *Clin Transl Oncol*, 2022, 24 (1) : 112-126. DOI: 10. 1007/s12094-021-02674-x.
- [13] Sun X, He X, Zhang Y, et al. Inflammatory cell-derived CXCL3 promotes pancreatic cancer metastasis through a novel myofibroblast-hijacked cancer escape mechanism[J]. *Gut*, 2022, 71 (1) : 129-147. DOI: 10. 1136/gutjnl-2020-322744.
- [14] 王珂, 张波, 杨莹, 等. II ~ IV 期结直肠癌患者手术前后血浆白蛋白、血红蛋白及血清 C 反应蛋白水平变化及与预后的相关性分析[J]. *实用医院临床杂志*, 2019, 16 (3) : 8-12. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-6170. 2019. 03. 003.
- Wang K, Zhang B, Yang Y, et al. Changes in levels of plasma albumin, hemoglobin and serum C-reaction protein in patients with stage II ~ IV colorectal cancer before and after operation and their correlation with prognosis[J]. *Pract J Clin Med*, 2019, 16 (3) : 8-12. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-6170. 2019. 03. 003.
- [15] 杨耀国, 陈忠, 寇镭, 等. 腹主动脉瘤腔内修复术后并发症相关危险因素研究[J]. *中国实用外科杂志*, 2021, 41 (6) : 700-705. DOI: 10. 19538/j. ejps. issn1005-2208. 2021. 06. 15.
- Yang YG, Chen Z, Kou L, et al. Risk factors of complications after endovascular repair for abdominal aortic aneurysm[J]. *Chin J Pract Surg*, 2021, 41 (6) : 700-705. DOI: 10. 19538/j. ejps. issn1005-2208. 2021. 06. 15.
- [16] 朱子毓, 李凤科, 汪亦民, 等. 血清白蛋白联合血红蛋白评分对近端胃癌患者预后的评估价值[J]. *中华普通外科杂志*, 2019, 34 (4) : 310-314. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1007-631X. 2019. 04. 006.
- Zhu ZY, Li FK, Wang YM, et al. The prognostic value of serum albumin and hemoglobin in patients with proximal gastric cancer[J]. *Chin J Gen Surg*, 2019, 34 (4) : 310-314. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1007-631X. 2019. 04. 006.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 003

肿瘤防治专题

膀胱癌电切术后凝血功能状态与术后静脉血栓栓塞症及局部淋巴结转移的相关性

吕炜超, 雷晓航, 王通通, 王鸿渊, 张建国

基金项目: 河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20200943)

作者单位: 471003 河南洛阳, 河南科技大学临床医学院/河南科技大学第一附属医院新区医院泌尿外科

通信作者: 张建国, E-mail: jgzhang@126. com



【摘要】目的 分析膀胱癌电切术后凝血功能指标变化及其与术后静脉血栓栓塞症(VTE)、局部淋巴结转移相关性。**方法** 选取2020年1月—2022年10月河南科技大学第一附属医院新区医院泌尿外科收治膀胱癌患者145例为研究对象,统计腹腔镜下根治性膀胱癌电切术后3个月内VTE发生(非VTE组117组,VTE组28例)、局部淋巴结转移情况,并比较其术后3d凝血功能指标[D-二聚体(D-D)、血小板计数(PLT)、凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(Fib)、活化部分凝血活酶时间(APTT)]。Logistic回归分析术后VTE发生的影响因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析凝血功能指标对术后VTE发生的预测价值。Spearman相关系数分析术后凝血功能指标与局部淋巴结转移相关性。**结果** 膀胱癌患者145例VTE发生率为19.31%(28/145),局部淋巴结转移发生率为15.17%(22/145);VTE发生者年龄、糖尿病发生率、手术时间与术后D-D、PLT、Fib、APTT显著高于未发生者 $[\chi^2(t)/P = 4.390 / <0.001, 8.332 / 0.004, 6.029 / <0.001, 8.146 / <0.001, 3.350 / 0.001, 6.265 / <0.001, 2.921 / 0.004]$;局部淋巴结转移发生者术后D-D、PLT、Fib、APTT高于未发生者 $(t = 10.664, 4.300, 7.827, 5.114, P$ 均 $<0.001)$,其与局部淋巴结转移呈正相关 $(r = 0.412, 0.371, 0.386, 0.403, P$ 均 $<0.001)$,而TT、PT与局部淋巴结转移无相关性 $(r/P = 0.191 / 0.413, 0.201 / 0.365)$ 。合并糖尿病、手术时间与术后D-D、PLT、Fib、APTT升高为术后VTE发生的独立危险因素 $[OR(95\%CI) = 2.879(1.267 \sim 6.543), 3.155(1.381 \sim 7.209), 4.565(2.013 \sim 10.354), 3.653(1.576 \sim 8.467), 3.926(1.652 \sim 9.331), 3.396(1.469 \sim 7.853)]$;术后D-D、PLT、Fib、APTT联合预测术后VTE发生的AUC大于各指标单独预测 $(Z/P = 2.945 / 0.003, 1.994 / 0.046, 2.011 / 0.042, 3.186 / 0.001)$ 。**结论** 膀胱癌电切术后凝血功能异常,术后D-D、PLT、Fib、APTT与VTE及局部淋巴结转移密切相关,联合检测其水平对术后VTE发生具有一定预测价值。

【关键词】 膀胱癌;静脉血栓栓塞症;淋巴结转移;凝血功能;血小板计数

【中图分类号】 R364.1⁺5;R737.14

【文献标识码】 A

Correlation of coagulation function with postoperative venous thromboembolism and local lymph node metastasis after electroresection for bladder cancer Lyu Weichao, Lei Xiaohang, Wang Tongtong, Wang Hongyuan, Zhang Jianguo.

School of Clinical Medicine, Henan University of Science and Technology/Department of Urology, New Area Hospital of the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Henan Province, Luoyang 471003, China

Corresponding author: Zhang Jianguo, E-mail: jgzhang@126. com

Funding program: Henan Medical Science and Technology Research Program (Joint Construction) Project (LHGJ20200943)

【Abstract】Objective To analyze the changes of coagulation function after resection of bladder cancer and its correlation with postoperative venous thromboembolism (VTE) and local lymph node metastasis. **Methods** From January 2020 to October 2022, 145 patients with bladder cancer who were admitted to the Department of Urology of the New Area Hospital of the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology were selected as the study subjects. The incidence of VTE (117 patients in the non VTE group, 28 patients in the VTE group) and local lymph node metastasis within 3 months after laparoscopic radical resection of bladder cancer were counted, and the coagulation function indicators (D-dimer (D-D), platelet count (PLT), thrombin time (TT) Prothrombin time (PT), fibrinogen (FIB), activated partial thromboplastin time (APTT). Logistic regression analysis is used to analyze the influencing factors of postoperative VTE, and the predictive value of coagulation function indicators on postoperative VTE occurrence is analyzed using the receiver operating

characteristic curve (ROC). Spearman correlation coefficient analysis showed the correlation between postoperative coagulation function indicators and local lymph node metastasis. **Results** The incidence of VTE in 145 patients with bladder cancer was 19.31% (28/145), and the incidence of local lymph node metastasis was 15.17% (22/145). Age, incidence of diabetes, operation time and postoperative D-D, PLT, Fib, APTT of VTE patients were significantly higher than those of non VTE patients [$\chi^2(t)/P=4.390/ <0.001, 8.332/0.004, 6.029/ <0.001, 8.146/ <0.001, 3.350/0.001, 6.265/ <0.001, 2.921/0.004$. The postoperative D-D, PLT, FIB, and APTT levels in patients with local lymph node metastasis were higher than those without ($t = 10.664, 4.300, 7.827, 5.114, P<0.001$), and they were positively correlated with local lymph node metastasis ($r=0.412, 0.371, 0.386, 0.403, P<0.001$), while TT and PT were not correlated with local lymph node metastasis ($r/P=0.191/0.413, 0.201/0.365$). Diabetes, operation time, and postoperative elevation of D-D, PLT, Fib, APTT were independent risk factors for VTE [$OR(95\% CI)=2.879(1.267-6.543), 3.155(1.381-7.209), 4.565(2.013-10.354), 3.653(1.576-8.467), 3.926(1.652-9.331), 3.396(1.469-7.853)$]. The AUC predicted by the combination of postoperative D-D, PLT, FIB, and APTT for postoperative VTE was greater than that predicted by each indicator alone ($Z/P=2.945/0.003, 1.994/0.046, 2.011/0.042, 3.186/0.001$). **Conclusion** The coagulation function of patients with bladder cancer after electric resection is abnormal. Postoperative D-D, PLT, Fib, APTT are closely related to VTE and local lymph node metastasis. Joint detection of their levels has certain predictive value for the occurrence of VTE after operation.

【Key words】 Bladder cancer; Venous thromboembolism; Lymph node metastasis; Coagulation function; Platelet count

膀胱癌是临床常见恶性肿瘤,临床常以手术为主要治疗方式,但术中失血失液、术后禁食禁饮可促使血液呈高凝状态,引起凝血功能异常^[1-2]。手术操作可能引起血管壁损伤,静脉血管中血液异常凝结,促使血管呈完全/不完全堵塞,形成一种静脉回流障碍性疾病,即称为静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE),研究显示膀胱癌患者术后 VTE 发生率为 4% ~ 20%,其致死率高达 17% ~ 25%^[3-4]。凝血功能异常可诱导组织因子激活凝血系统,增加深静脉血栓形成风险^[5-6]。凝血功能异常与肿瘤发生发展密切相关,但其与术后 VTE、淋巴结转移相关性尚未完全阐明。现比较膀胱癌电切术后发生与未发生 VTE、局部淋巴结转移患者凝血功能指标水平,并分析其与 VTE、局部淋巴结转移相关性及其对术后 VTE 发生的预测效能,为临床预防术后 VTE 发生提供参考依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1 月—2022 年 10 月河南科技大学第一附属医院新区医院泌尿外科收治膀胱癌患者 145 例为研究对象,均行腹腔镜下根治性膀胱癌电切术,以术后 3 个月是否发生 VTE 分为 VTE 组 28 例,非 VTE 组 117 例。VTE 组患者年龄、合并糖尿病发生率、手术时间高于非 VTE 组患者($P < 0.01$),其他资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准(202001126),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:符合膀胱癌诊断标准^[7],且经病理诊断证实;初诊者;符合膀胱癌电切

表 1 非 VTE 组与 VTE 组膀胱癌患者临床资料比较
Tab. 1 Comparison of clinical data between non VTE group and VTE group patients

项 目	非 VTE 组 (<i>n</i> = 117)	VTE 组 (<i>n</i> = 28)	χ^2/U 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]	男 86(73.50)	20(71.43)	0.050	0.824
	女 31(26.50)	8(28.57)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	57.49 \pm 6.27	63.15 \pm 5.48	4.390	<0.001
文化水平 初中及以下	68(58.12)	15(53.57)	0.499	0.779
[例(%)] 高中及中专	34(29.06)	8(28.57)		
	大专及以上 15(12.82)	5(17.86)		
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.19 \pm 1.94	23.41 \pm 1.86	0.543	0.588
吸烟史[例(%)]	20(17.09)	6(21.43)	0.288	0.591
饮酒史[例(%)]	15(12.82)	4(14.29)	0.043	0.836
合并症 高血压	16(13.68)	5(17.86)	0.319	0.572
[例(%)] 糖尿病	10(8.55)	8(28.57)	8.332	0.004
	高血脂症 9(7.69)	3(10.71)	0.272	0.602
临床分期 T1-T2	70(59.83)	15(53.57)	0.365	0.546
[例(%)] T3-T4	47(40.17)	13(46.43)		
肿瘤数目 单发	90(76.92)	20(71.43)	0.372	0.542
[例(%)] 多发	27(23.08)	8(28.57)		
肿瘤直径 ≤ 3 cm	62(52.99)	13(46.43)	0.390	0.532
[例(%)] > 3 cm	55(47.01)	15(53.57)		
手术时间($\bar{x} \pm s$, min)	270.69 \pm 18.72	295.13 \pm 21.46	6.029	<0.001
术中出血量($\bar{x} \pm s$, ml)	405.41 \pm 33.58	418.95 \pm 36.27	1.887	0.061
淋巴结转移[例(%)]	29(24.79)	8(28.57)	0.170	0.680

术指征者;未合并出血性疾病者;美国麻醉医师协会(ASA)I~Ⅲ级。(2)排除标准:术前已发生 VTE 或远处转移者;伴有血液系统疾病者;合并下肢瘫痪、骨折者;术前凝血功能、肝肾功能异常者;长期阿片药物滥用史者;既往 VTE 病史者;因其他疾病正在使用抗凝药物治疗者;合并其他恶性肿瘤者;合并血栓性疾病者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 凝血功能指标检测:术后 3 d 分别抽取研究对象空腹肘静脉血 5 ml,常规离心后留取血清待测。采用 CS1300 全自动凝血分析仪(上海聚慕医疗器械有限公司)检测血清 D-二聚体(D-D)、纤维蛋白原(Fib)水平及凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT);采用 BC6700 全自动五分类血细胞分析仪(上海继圣医疗器械有限公司)检测血小板计数(PLT)。

1.3.2 VTE 发生情况:术后以门诊复查方式随访 3 个月,统计随访期内 VTE 发生情况,符合 VTE 诊断标准^[8],且经影像学检查确诊。

1.3.3 局部淋巴结转移情况:统计随访期内局部淋巴结转移情况,采用飞利浦 CT-TWIN 螺旋 CT(上海涵飞医疗器械有限公司)检查淋巴结转移,扫描范围为髂嵴至腹腔底部,以淋巴结直径>10 mm 定义为局部淋巴结转移^[9]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,等级资料采用 Ridit 检验(*U*);相关性分析采用 Spearman 相关系数分析法;采用多因素 Logistic 回归分析术后 VTE 发生的危险因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线评价凝血功能指标对术后 VTE 发生的预测效能。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VTE 发生及局部淋巴结转移情况 膀胱癌患者 145 例,腹腔镜下根治性膀胱癌电切术后 3 个月内发生 VTE 28 例(19.31%),其中下肢深静脉血栓形成 19 例,肺栓塞 9 例;局部淋巴结转移 22 例(15.17%),未发生局部淋巴结转移 123 例。

2.2 2 组凝血功能指标比较 VTE 组患者术后 3 d D-D、PLT、Fib、APTT 高于非 VTE 组患者(*P*<0.01)。TT、TP 2 组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 2。

2.3 不同局部淋巴结转移患者凝血功能指标比较 发生局部淋巴结转移患者术后 D-D、PLT、Fib、APTT 高

于未发生局部淋巴结转移患者(*P*<0.01),而未发生局部淋巴结转移者与发生局部淋巴结转移者 TT、PT 比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 3。

表 3 不同局部淋巴结转移患者凝血功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 3 Comparison of coagulation function indicators in patients with different local lymph node metastases

项 目	未发生局部淋巴结转移(<i>n</i> = 123)	发生局部淋巴结转移(<i>n</i> = 22)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
D-D(μg/L)	2.45 ± 0.26	3.12 ± 0.33	10.664	<0.001
PLT(×10 ⁹ /L)	224.68 ± 41.22	265.41 ± 39.15	4.300	<0.001
TT(s)	17.26 ± 2.91	16.15 ± 2.63	1.670	0.097
PT(s)	12.48 ± 1.14	12.50 ± 1.12	0.076	0.940
Fib(g/L)	4.00 ± 0.31	4.57 ± 0.34	7.827	<0.001
APTT(s)	32.04 ± 2.51	35.12 ± 3.08	5.114	<0.001

2.4 凝血功能指标与局部淋巴结转移的相关性 术后 D-D、PLT、Fib、APTT 与局部淋巴结转移呈正相关(*r*=0.412、0.371、0.386、0.403, *P* 均<0.001)。而 TT、PT 与局部淋巴结转移无相关性(*r*/*P*=0.191/0.413、0.201/0.365)。

2.5 术后 VTE 发生的多因素 Logistic 回归分析 以膀胱癌患者电切术后是否发生 VTE(赋值:是为“1”,否为“0”)为因变量,以上述结果中 *P*<0.05 项目(连续变量,原值代入)为自变量,进行多因素 Logistics 回归分析,结果显示,合并糖尿病、手术时间长及术后高 D-D、PLT、Fib、APTT 水平均为膀胱癌患者电切术后 VTE 发生的独立危险因素(*P*<0.01),见表 4。

表 4 膀胱癌患者电切术后 VTE 发生的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4 Multifactor Logistic regression analysis of VTE in patients with bladder cancer after electrotomy

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
年龄高	0.046	0.116	0.155	0.413	1.047	0.512 ~ 2.140
合并糖尿病	1.058	0.354	8.924	<0.001	2.879	1.267 ~ 6.543
手术时间长	1.149	0.381	9.096	<0.001	3.155	1.381 ~ 7.209
高 D-D	1.518	0.432	12.356	<0.001	4.565	2.013 ~ 10.354
高 PLT	1.296	0.359	13.023	<0.001	3.653	1.576 ~ 8.467
高 Fib	1.368	0.426	10.307	<0.001	3.926	1.652 ~ 9.331
高 APTT	1.223	0.339	13.010	<0.001	3.396	1.469 ~ 7.853

表 2 非 VTE 组与 VTE 组膀胱癌患者术后 3 d 凝血功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of coagulation function indicators between non VTE group and VTE group patients at 3 days after surgery							
组 别	例数	D-D(μg/L)	PLT(×10 ⁹ /L)	TT(s)	PT(s)	Fib(g/L)	APTT(s)
非 VTE 组	117	2.46 ± 0.28	225.43 ± 40.19	17.13 ± 2.86	12.34 ± 1.09	4.01 ± 0.29	31.85 ± 2.43
VTE 组	28	2.95 ± 0.31	253.56 ± 38.71	16.29 ± 2.71	12.61 ± 1.15	4.40 ± 0.32	33.41 ± 2.96
<i>t</i> 值		8.146	3.350	1.410	1.165	6.265	2.921
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.161	0.246	<0.001	0.004

2.6 凝血功能指标预测膀胱癌患者电切术后发生 VTE 的价值 绘制凝血功能指标预测膀胱癌患者电切术后发生 VTE 的价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示,D-D、PLT、Fib、APTT 及四者联合预测术后发生 VTE 的 AUC 分别为 0.752、0.833、0.829、0.742、0.932,联合预测的 AUC 大于各指标单独预测的 AUC ($Z/P = 2.945/0.003$ 、 $1.994/0.046$ 、 $2.011/0.042$ 、 $3.186/0.001$),见表 5、图 1。

表 5 凝血功能指标预测膀胱癌患者电切术后发生 VTE 的价值比较

Tab.5 Comparison of the value of coagulation function indicators in predicting VTE in patients with bladder cancer after electric resection

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
D-D	2.76 μg/L	0.752	0.673 ~ 0.820	0.857	0.598	0.455
PLT	$245.21 \times 10^9/L$	0.833	0.763 ~ 0.890	0.678	0.829	0.508
Fib	4.29 g/L	0.829	0.758 ~ 0.887	0.714	0.855	0.569
APTT	32.36 s	0.742	0.662 ~ 0.811	0.857	0.616	0.473
联合预测		0.932	0.878 ~ 0.967	0.821	0.889	0.710

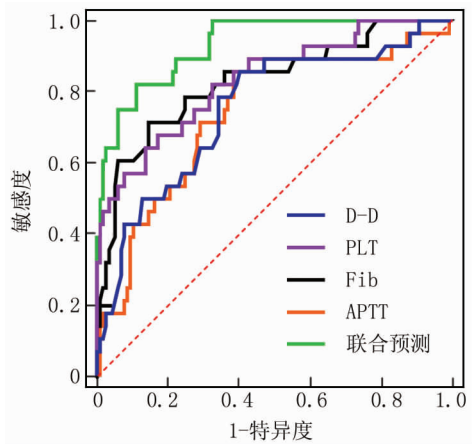


图 1 凝血功能指标预测术后 VTE 的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of postoperative VTE predicted by coagulation function indicators

3 讨 论

膀胱癌 VTE 发生机制与血小板活化、纤溶—抗凝系统失衡、白细胞激活有关,若治疗不及时可引起瘀滞性溃疡,严重时可引起血栓脱落^[10-12]。本研究结果显示,145 例膀胱癌患者 VTE 发生率为 19.31%,与既往研究结果相似^[13],提示膀胱癌电切术后 VTE 病情较重,因而探究术后 VTE 相关预测标志物具有重要意义。

VTE 形成是内皮细胞、血小板、可溶性凝血因子相互作用结果,D-D 可反映血管内纤维蛋白溶解功能,

且与术后 VTE 发生率呈正相关^[14-15]。本结果显示,VTE 发生者术后 D-D 水平高于未发生者,且经 Logistic 回归分析证实术后 D-D 水平升高是 VTE 发生的独立危险因素,提示 D-D 高水平可增加术后 VTE 发生风险。这可能是由于 D-D 水平升高可激活细胞表面组织因子,触发凝血级联反应,促使血液处于高凝状态,诱导血小板聚集,促使血栓形成^[16-17]。临床医师在术中应精细化血管保护,合理选择止血方式,并密切关注术后 D-D 水平,以降低 VTE 发生风险。肿瘤进展过程中炎症因子水平升高,可促进异源性巨核细胞成熟,增加 PLT 生成量^[18-20]。血栓形成是肿瘤常见并发症,而 Fib 水平升高是血栓形成的危险因素^[21-23]。本究结果显示,VTE 发生者术后 PLT、Fib 水平高于未发生者,且 PLT、Fib 水平升高可增加 VTE 发生风险。APTT 可反映机体出血情况,且与血栓形成有关^[24-25]。本结果显示,VTE 发生者术后 APTT 高于未发生者,且术后 APTT 为 VTE 发生的独立危险因素,可能与电切术后膀胱癌患者血液中抗凝物质增加、外源性凝血途径激活程度有关。此外,本研究经 Logistic 回归分析显示合并糖尿病、手术时间长为 VTE 发生的独立危险因素。本结果与既往研究相似^[26],提示糖尿病患者体内处于高凝状态,促使血液黏度升高。本结果发现 VTE 发生者手术时间较长,这与既往研究结果相似^[27],其原因可能为较长手术时间促使患者长时间制动,可增加 VTE 发生风险。同时本研究发现术后 D-D、PLT、Fib、APTT 联合预测术后 VTE 发生的 AUC 大于各指标单独预测,提示联合检测 D-D、PLT、Fib、APTT 对术后 VTE 发生具有一定预测价值。

局部淋巴结转移是膀胱癌的主要转移途径,在淋巴结转移情况下,凝血系统激活、纤维蛋白溶解,可增加 D-D 生成量,其与肿瘤转移密切相关^[28]。本研究结果显示,局部淋巴结转移发生者术后 D-D 水平高于未发生者,且与局部淋巴结转移呈正相关,提示伴有局部淋巴结转移的膀胱癌患者体内凝血功能异常状态加重。PLT 可降解肿瘤周围组织、释放颗粒蛋白,促使肿瘤细胞转移,并可与前列腺素相互作用,增加血管通透性,增强血小板聚集、黏附能力,促进肿瘤细胞增殖形成转移灶^[29]。本研究结果显示,局部淋巴结转移发生者术后 PLT 高于未发生者。其机制可能为血小板与肿瘤细胞结合形成血栓,可分泌转化生长因子,刺激血小板生成多种因子,促使肿瘤细胞增殖分裂、血管生成,进而促进肿瘤转移。Fib 可激活凝血系统,促进内皮生长因子生成组织因子,进而参与淋巴结转移过程^[30]。APTT 变化与肿瘤细胞转移密切相关^[31]。本

结果显示,局部淋巴结转移发生者术后 Fib、APTT 高于未发生者,且 Fib、APTT 与局部淋巴结转移呈正相关。分析其原因可能为 PLT 可破坏机体凝血、抗凝系统动态平衡,促使 Fib 水平升高,Fib 可转变为纤维蛋白,参与肿瘤生长浸润、转移过程;Fib、PLT 共同作用可促使肿瘤细胞浸润、转移至正常组织,此过程消耗大量凝血因子,致使 APTT 延长。

综上所述,膀胱癌电切术后发生 VTE、局部淋巴结转移者 D-D、PLT、Fib、APTT 升高,均为术后 VTE 发生的独立危险因素,且与局部淋巴结转移呈正相关,联合检测其水平预测术后 VTE 发生具有临床应用价值,临床应加强术后抗凝药物应用,监测术后凝血功能状态,以降低 VTE 发生风险。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

吕炜超、雷晓航:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王通通、王鸿渊:提出研究思路,实施研究过程,分析试验数据,论文审核;张建国:课题设计,统计学分析,论文撰写

参考文献

- [1] Duan F, Mei C, Yang L, et al. Vitamin K2 promotes PI3K/AKT/HIF-1 α -mediated glycolysis that leads to AMPK-dependent autophagic cell death in bladder cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 7714-7724. DOI:10.1038/s41598-020-64880-x.
- [2] John A, Günes C, Bolenz C, et al. Bladder cancer-derived interleukin-1 converts the vascular endothelium into a pro-inflammatory and pro-coagulatory surface[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 1178-1188. DOI:10.1186/s12885-020-07548-z.
- [3] Abdullah O, Parashar D, Mustafa IJ, et al. Venous thromboembolism rate in patients with bladder cancer according to the type of treatment: A systematic review[J]. *Cureus*, 2022, 14(3): e22945-e22955. DOI:10.7759/cureus.22945.
- [4] Garas SN, McAlpine K, Ross J, et al. Venous thromboembolism risk in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2022, 40(8): 1-7. DOI:10.1016/j.urolonc.2022.04.006.
- [5] Chakra MA, Azoulai D, Moussa M, et al. The prognostic role of pre-cystectomy thrombocytosis in invasive bladder cancer[J]. *Int Urol Nephrol*, 2022, 54(12): 3153-3161. DOI: 10.1007/s11255-022-03346-7.
- [6] Li X, Shu K, Zhou J, et al. Preoperative plasma fibrinogen and D-dimer as prognostic biomarkers for Non-Muscle-Invasive bladder cancer[J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2020, 18(1): 11-19. DOI:10.1016/j.clgc.2019.10.025.
- [7] 陈莉, 汪涌, 祝广峰, 等. 2020 年欧洲泌尿协会肌层浸润性膀胱癌诊断和治疗指南概要[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2020, 25(11): 1025-1029. DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2020.11.017.
- Chen L, Wang Y, Zhu GF, et al. Summary of European Urological Association guidelines for diagnosis and treatment of myometrial invasive bladder cancer in 2020[J]. *Journal of Modern Urology*, 2020, 25(11): 1025-1029. DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2020.11.017.
- [8] 中华医学会外科学分会血管外科学组. 深静脉血栓形成的诊断

- 和治疗指南(第三版)[J]. *中华普通外科杂志*, 2017, 32(9): 807-812. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2017.09.032.
- Group of Vascular surgery, Branch of Surgery, Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of deep vein thrombosis (third edition)[J]. *Chin J Gen Surg*, 2017, 32(9): 807-812. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2017.09.032.
- [9] 李卓, 祖雄兵, 齐范, 等. 血管内皮生长因子 C 联合 CT 诊断膀胱癌淋巴结转移的意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(27): 3392-3395. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2011.27.016.
- Li Z, Zu XB, Qi F, et al. VEGF-C associated with CT in the diagnosis of lymph node metastasis of bladder carcinoma[J]. *Chin J Modern Med*, 2011, 21(27): 3392-3395. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2011.27.016.
- [10] Liu Y, Xiong S, Liu S, et al. Analysis of gene expression in bladder cancer: Possible involvement of mitosis and complement and coagulation cascades signaling pathway[J]. *J Comput Biol*, 2020, 27(6): 987-998. DOI:10.1089/cmb.2019.0237.
- [11] Brennan K, Karim S, Doiron RC, et al. Venous thromboembolism and peri-operative chemotherapy for Muscle-Invasive bladder cancer: A population-based study[J]. *Bladder Cancer*, 2018, 4(4): 419-428. DOI:10.3233/BLC-180184.
- [12] Gao J, Shi Y, Zhou D, et al. Sarcopenia as an independent predictor for venous thromboembolism events in bladder cancer patients undergoing radical cystectomy[J]. *Support Care Cancer*, 2022, 30(2): 1191-1198. DOI:10.1007/s00520-021-06423-2.
- [13] 李悦, 孙晓芳, 马宁, 等. 恶性肿瘤围术期发生静脉血栓栓塞症患者的临床特征[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(3): 286-288. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2020.03.018.
- Li Y, Sun XF, Ma N, et al. Clinical features of venous thrombosis in perioperative period in patients with malignant tumors[J]. *J Chinese Prac Diag Therapy*, 2020, 34(3): 286-288. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2020.03.018.
- [14] Wang YH, Qiu H, He XL, et al. Prevention of venous thromboembolism after resection of primary liver cancer with low molecular weight heparin and its association with P-selectin, lysosomal granule glycoprotein, platelet activating factor and plasma D-dimer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(14): 4657-4662. DOI:10.26355/eur-rev_201807_15525.
- [15] Qi Y, Hu X, Chen J, et al. Identification of molecular markers for pre-thrombotic state: Validation in the rabbits with tibia fracture or lung cancer[J]. *Transl Cancer Res*, 2019, 8(6): 2316-2327. DOI:10.21037/tcr.2019.09.44.
- [16] Dong H, Liang X, Gao Y, et al. Postoperative venous thromboembolism after surgery for stage IA non-small-cell lung cancer: A single-center, prospective cohort study[J]. *Thorac Cancer*, 2022, 13(9): 1258-1266. DOI:10.1111/1759-7714.14373.
- [17] Qi Y, Hu X, Chen J, et al. The risk factors of VTE and survival prognosis of patients with malignant cancer: Implication for nursing and treatment[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2020, 26(1): 53-63. DOI:10.1177/1076029620971053.
- [18] Napolitano M, Saccullo G, Marietta M, et al. Platelet cut-off for anti-coagulant therapy in thrombocytopenic patients with blood cancer and venous thromboembolism: An expert consensus[J]. *Blood Transfus*,

- 2019, 17(3):171-180. DOI:10.2450/2018.0143-18.
- [19] A-Lai GH, Zhu YK, Li G, et al. Preoperative thromboprophylactic administration of low-molecular-weight-heparin significantly decreased the risk of intraoperative bleeding compared with heparin in patients undergoing video-assisted lobectomy for lung cancer[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(5):90-100. DOI:10.21037/atm.2019.01.22.
- [20] Jakubowska K, Koda M, Grudzińska M, et al. Monocyte-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor in peripheral whole blood samples of colorectal cancer patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(31):4639-4655. DOI:10.3748/wjg.v26.i31.4639.
- [21] Li C, Li J, Li S, et al. Prognostic significance of inflammatory markers LMR, PLR, MPV, Fib in intermediate-and high-risk papillary thyroid carcinoma[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13(1):984157-984167. DOI:10.3389/fendo.2022.984157.
- [22] Xing X, Zhang Y, Wang Y, et al. NLR in combination with plasma Fib and RDW is a useful predictor for the diagnosis of early gastric cancer[J]. *Asian J Surg*, 2023, 46(5):2219-2220. DOI:10.1016/j.asjsur.2022.11.110.
- [23] Li X, Zheng J, Yan M, et al. The significance of fibrinogen in combination with the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting the prognosis of patients with gastric cancer[J]. *Cancer Manag Res*, 2022, 14(1):2313-2321. DOI:10.2147/CMAR.S374978.
- [24] Chou SC, Pai CH, Lin SW, et al. Incidence and risk factors for venous thromboembolism in a cohort of Taiwanese patients with lung, gastric, pancreatic cancers or lymphoma[J]. *J Formos Med Assoc*, 2022, 121(1):360-366. DOI:10.1016/j.jfma.2021.04.025.
- [25] 林玲, 吕静. 基于 Caprini 风险评估的快速康复外科对胸腔镜肺癌切除术后患者围手术期高凝状态及静脉血栓栓塞症的预防作用[J]. *实用医院临床杂志*, 2022, 19(5):6-9. DOI:10.3969/j.issn.1672-6170.2022.05.002.
- Lin L, Lyu J. Preventive effect of fast rehabilitation surgery based on Caprini risk assessment on patients with perioperative hypercoagulability and venous thromboembolism after thoracoscopic lung cancer resection[J]. *Prac J Clin Med*, 2022, 19(5):6-9. DOI:10.3969/j.issn.1672-6170.2022.05.002.
- [26] Hinton W, Nemeth B, de Lusignan S, et al. Effect of type 1 diabetes and type 2 diabetes on the risk of venous thromboembolism[J]. *Diabet Med*, 2021, 38(5):e14452-e14462. DOI:10.1111/dme.14452.
- [27] 杨兴国, 李辉, 于磊, 等. 胸腺恶性肿瘤术后静脉血栓栓塞症的影响因素分析[J]. *中国肺癌杂志*, 2021, 24(7):497-502. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2021.101.22.
- Yang XG, Li H, Yu L, et al. Analysis of influencing factors for postoperative venous thromboembolism of thymic malignancies[J]. *Chinese J Lung Cancer*, 2021, 24(7):497-502. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2021.101.22.
- [28] Guo J, Gao Y, Gong Z, et al. Plasma D-Dimer level correlates with age, metastasis, recurrence, tumor-node-metastasis classification (TNM), and treatment of non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 1(2):9623571-962367. DOI:10.1155/2021/9623571.
- [29] Catal O, Ozer B, Sit M. Prediction of lymph node metastasis in colon cancer via platelet to lymphocyte ratio and platelet count[J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2020, 30(3):250-253. DOI:10.29271/jcpsp.2020.03.250.
- [30] Hou C, Jiang F, Ma H, et al. Prognostic role of preoperative platelet, fibrinogen, and D-dimer levels in patients with non-small cell lung cancer: A multicenter prospective study[J]. *Thorac Cancer*, 2019, 10(2):304-311. DOI:10.1111/1759-7714.12956.
- [31] Chen H, Yang R, Yu X, et al. Establishment of a preoperative laboratory panel to identify lymph node metastasis in superficial esophageal cancer[J]. *J Cancer*, 2022, 13(7):2238-2245. DOI:10.7150/jca.71114.
- (收稿日期:2023-06-03)

(上接 1020 页)

- [17] 孙丙亮, 许珍真, 胡晓, 等. 肾癌合并静脉血栓患者术后并发症预测模型构建[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2021, 42(11):1184-1190. DOI:10.3760/ema.j.cn321761-20210508-00414.
- Sun BL, Xu ZZ, Hu X, et al. Establishment of a predictive model for postoperative complications in renal cell carcinoma patients with venous thrombus[J]. *Int J Anesth Resus*, 2021, 42(11):1184-1190. DOI:10.3760/ema.j.cn321761-20210508-00414.
- [18] 朱士杰, 陈红舟, 周晓. 白蛋白, 总蛋白, 血红蛋白在宫颈癌患者中检测的临床意义及对预后的影响[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(3):335-337.
- [19] Funamizu N, Sogabe K, Shine M, et al. Association between the preoperative C-reactive protein-to-albumin ratio and the risk for postoperative pancreatic fistula following distal pancreatectomy for pancreatic cancer[J]. *Nutrients*, 2022, 14(24):5277. DOI:10.3390/nu14245277.
- [20] 王孟君, 李国鑫, 张娟. 宫颈癌根治术前患者的 NLR、PLR、LMR、RDW 水平变化及临床意义[J]. *海南医学*, 2021, 32(22):2884-2886. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2021.22.008.
- Wang MJ, Li GX, Zhang J. Changes and clinical significance of neutrophil/lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio, monocyte/lymphocyte and red blood cell distribution width levels before radical hysterectomy for cervical cancer[J]. *Hannan Med J*, 2021, 32(22):2884-2886. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2021.22.008.
- [21] 李昂庆, 徐阿曼. 术前血小板与淋巴细胞比值、淋巴细胞与单核细胞比值与胃癌病人预后的关系[J]. *安徽医药*, 2021, 25(8):1651-1655. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.041.
- Li AQ, Xu AM. A ssociation between PLR, LMR and prognosis of patients with gastric cancer[J]. *Anhui Med Pharmaceut J*, 2021, 25(8):1651-1655. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.041.
- [22] Romano L, Giuliani A, Tomarelli C, et al. Impact of preoperative neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios on long-term survival in patients with operable pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Med Princ Pract*, 2022, 31(6):586-594. DOI:10.1159/000527360.
- [23] Huang H, Sun J, Jiang Z, et al. Risk factors and prognostic index model for pancreatic cancer[J]. *Gland Surg*, 2022, 11(1):186-195. DOI:10.21037/gs-21-848.
- (收稿日期:2023-04-19)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 004

肿瘤防治专题

非肌层浸润膀胱癌组织中核糖核酸结合蛋白 15 及泛素特异性肽酶 24 表达的临床预后意义

何丹, 石艳宏, 王峥, 张晓炜, 王冠杰



基金项目: 陕西省卫生健康科研基金项目(2019D0104)

作者单位: 710043 西安市中心医院病理科(何丹), 肿瘤科(王峥、张晓炜、王冠杰); 712000 咸阳市中心医院病理科(石艳宏)

通信作者: 石艳宏, E-mail: shiyanhong198612@163.com

【摘要】目的 研究非肌层浸润膀胱癌(NMIBC)组织中核糖核酸结合蛋白 15(RBM15)、泛素特异性肽酶 24(USP24)蛋白表达及与临床预后的关系。**方法** 选取 2018 年 1 月—2020 年 1 月西安市中心医院肿瘤科诊治 NMIBC 患者 90 例为研究对象。应用免疫组化法检测癌及癌旁组织中 RBM15、USP24 蛋白表达;比较不同临床病理特征 NMIBC 患者 RBM15、USP24 蛋白表达差异;Spearman 秩相关分析膀胱癌组织中 RBM15 与 USP24 蛋白表达的相关性。随访 3 年,应用 Kaplan-Meier 曲线分析(Log-Rank 检验)RBM15、USP24 蛋白表达对无进展生存预后的影响;多因素 COX 模型分析 NMIBC 患者无进展生存预后的影响因素。**结果** 膀胱癌组织中 RBM15、USP24 蛋白阳性率分别为 66.67% (60/90)、74.44% (67/90), 高于癌旁组织 6.67% (6/90)、11.11% (10/90), 差异有统计学意义($\chi^2 = 69.761, 73.739, P$ 均 < 0.001)。NMIBC 癌组织中 RBM15 与 USP24 表达呈正相关($r = 0.716, P < 0.001$)。NMIBC 癌组织中 RBM15、USP24 阳性率在肿瘤分期 T1 期、病理分级高级别中分别高于肿瘤分期 Ta/Tis 期、病理分级低级($\chi^2/P = 11.903/0.001, 10.866/0.001; 17.457/ < 0.001, 11.433/0.001$)。RBM15 阳性组和阴性组 3 年无进展生存率分别为 45.00% (27/60) 和 90.00% (27/30)。USP24 阳性组和阴性组 3 年无进展生存率分别为 50.75% (34/67) 和 86.96% (20/23)。RBM15 阳性组、USP24 阳性组累积无进展生存率明显低于 RBM15 阴性组、USP24 阴性组($\chi^2/P = 8.057/0.005, 15.379/ < 0.001$)。COX 模型分析结果表明,肿瘤分期 T1 期、病理分级高级别、RBM15 阳性、USP24 阳性是影响 NMIBC 患者无进展生存期的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.614(1.227 ~ 2.214), 1.917(1.319 ~ 2.799), 1.839(1.228 ~ 2.753), 1.744(1.245 ~ 2.443)]。**结论** NMIBC 癌组织中 RBM15、USP24 表达均升高,两者与肿瘤分期及病理分级有关,是影响 NMIBC 患者无进展生存期的独立危险因素。

【关键词】 膀胱癌, 非肌层浸润; 核糖核酸结合蛋白 15; 泛素特异性肽酶 24; 无进展生存; 预后

【中图分类号】 R737.14

【文献标识码】 A

Clinical prognostic significance of expression of ribonucleic acid binding protein 15 and ubiquitin specific peptidase 24 in non muscle invasive bladder cancer He Dan*, Shi Yanhong, Wang Zheng, Zhang Xiaowei, Wang Guan jie. * Department of Pathology, Xi'an Central Hospital, Shaanxi Province, Xi'an 712000, China

Corresponding author: Shi Yanhong, E-mail: shiyanhong198612@163.com

Funding program: Shaanxi Provincial Health Research Fund Project (2019D0104)

【Abstract】 Objective To study the expression of ribonucleic acid binding protein 15 (RBM15) and ubiquitin specific peptidase 24 (USP24) in non muscle invasive bladder cancer (NMIBC) and their relationship with clinical prognosis. **Methods** Ninety patients with NMIBC diagnosed and treated in the Oncology Department of Xi'an Central Hospital from January 2018 to January 2020 were selected as the research subjects. Immunohistochemical method was used to detect the expression of RBM15 and USP24 proteins in cancer and adjacent tissues. Compare the differences in protein expression of RBM15 and USP24 in NMIBC patients with different clinical and pathological characteristics. Spearman rank correlation analysis was used to analyze the correlation between RBM15 and USP24 protein expression in bladder cancer tissues. Follow up for 3 years and use Kaplan Meier curve analysis (Log Rank test) to investigate the impact of RBM15 and USP24 protein expression on the prognosis of progression free survival. Multivariate COX model analysis of the influencing factors of progression free survival prognosis in NMIBC patients. **Results** The positive rates of RBM15 and USP24 protein in bladder cancer tissues were 66.67% (60/90) and 74.44% (67/90), respectively, higher than that in adjacent tissues 6.67% (6/90) and 11.11% (10/90), with a statistically significant difference ($\chi^2 = 69.761, 73.739$, both $P < 0.001$). There is a positive correlation

between the expression of RBM15 and USP24 in NMIBC cancer tissue ($r=0.716$, $P<0.001$). The positive rates of RBM15 and USP24 in NMIBC cancer tissue were higher in tumor stage T1 and higher in pathological grading than in tumor stage Ta/tis and lower in pathological grading, respectively ($\chi^2/P=11.903/0.001$, $10.866/0.001$; $17.457/<0.001$, $11.433/0.001$). The 3-year progression free survival rates of the RBM15 positive group and the negative group were 45.00% (27/60) and 90.00% (27/30), respectively. The 3-year progression free survival rates of the USP24 positive and negative groups were 50.75% (34/67) and 86.96% (20/23), respectively. The cumulative progression free survival rate of RBM15 positive group and USP24 positive group was significantly lower than that of RBM15 negative group and USP24 negative group ($\chi^2/P=8.057/0.005$, $15.379/<0.001$). The COX model analysis results showed that tumor stage T1, high pathological grade, RBM15 positive, and USP24 positive were independent risk factors affecting the progression free survival of NMIBC patients [$OR(95\% CI)$ = 1.614 (1.227 – 2.214), 1.917 (1.319 – 2.799), 1.839 (1.228 – 2.753), 1.744 (1.245 – 2.443)]. **Conclusion** The expression of RBM15 and USP24 is elevated in NMIBC cancer tissue, which is related to tumor staging and pathological grading, and is an independent risk factor affecting the progression free survival of NMIBC patients.

【Key words】 Bladder cancer, non muscle invasive; Ribonucleic acid binding protein 15; Ubiquitin specific peptidase 24; Progression-free survival; Prognosis

非肌层浸润膀胱癌 (non muscle invasive bladder cancer, NMIBC) 是最常见的膀胱癌类型, 治疗手段包括手术、灌注化疗等, 但肿瘤术后极易复发^[1-2]。寻找能够反映患者预后的肿瘤标志物, 具有重要临床意义。核糖核酸结合蛋白 15 (RNA binding motif protein 15, RBM15) 是一种甲基转移酶, 参与 mRNA N6-甲基腺苷修饰 (N6-methyladenosine, m6A)。研究发现, RBM15 在鼻咽癌、肾癌等肿瘤中表达增加能促进肿瘤免疫抑制微环境形成, 导致肿瘤侵袭和转移^[3-4]。泛素特异性肽酶 24 (ubiquitin specific peptidase 24, USP24) 属于半胱氨酸蛋白酶家族成员, 能够与底物蛋白上的泛素分子结合, 发挥去泛素酶活性^[5]。另有研究发现, 肺癌、急性淋巴细胞白血病等肿瘤中 USP24 的过度表达能抑制肿瘤细胞凋亡, 发挥肿瘤促进作用^[6-7]。本研究通过检测膀胱癌组织中 RBM15、USP24 的表达, 探讨两者的临床意义, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 1 月—2020 年 1 月西安市中心医院肿瘤科诊治 NMIBC 患者 90 例为研究对象, 男 52 例, 女 38 例, 年龄 33 ~ 79 (63.17 ± 4.78) 岁; 有吸烟史 40 例; 肿瘤数目: 单发 63 例, 多发 27 例; 肿瘤分期: T1 期 50 例, Ta/Tis 期 40 例; 病理分级: 低级别尿路上皮癌 47 例, 高级别尿路上皮癌 43 例; 肿瘤大小: >3 cm 者 29 例, ≤3 cm 者 61 例。本研究获得医院伦理委员会审核批准通过 (2017MJ076), 患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①患者均接受经尿道膀胱肿瘤电切, 经术后病理明确诊断为 NMIBC; ②首次诊治, 术前未接受其他治疗; ③临床资料和随访资料完整。(2) 排除标准: ①合并其他器官恶性肿瘤;

②合并严重肝肾功能障碍; ③合并严重尿道狭窄、脊柱畸形及凝血功能障碍等经尿道手术禁忌证者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 膀胱癌组织 USP24、RBM15 蛋白表达: 术中留取膀胱癌组织和癌旁组织, 10% 中性甲醛固定后, 常规石蜡包埋切片, 常规进行免疫组化染色。USP24 兔单克隆抗体购于英国 Abcam 公司 (货号 ab129064)。RBM15 兔多克隆抗体购自美国 CST 公司 (货号 60386)。组织标本梯度酒精脱水后中性树脂包埋, 切片置于显微镜下 (日本 Olympus 公司, 型号 DX31, ×200), 观察染色情况, 每张切片随机选取 5 个视野, 肿瘤细胞中出现棕褐色染色为阳性表达, 浅黄色或无着色为阴性表达。根据膀胱癌组织 RBM15、USP24 蛋白表达, 分为 RBM15 阳性组 ($n=60$) 和阴性组 ($n=30$) 以及 USP24 阳性组 ($n=67$) 和阴性组 ($n=23$)。

1.3.2 术后随访: 病理确诊膀胱癌后每 3 个月电话或门诊随访 1 次, 随访内容为肿瘤复发进展及患者生存情况, 随访终点为 2023 年 2 月 1 日。肿瘤进展定义为肿瘤发生复发、转移或发生肿瘤相关死亡。无进展生存时间 (progression free survival, PFS) 定义为自确诊之日起至肿瘤复发、转移或肿瘤相关死亡的间隔时间。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析处理。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 相关性分析采用 Spearman 秩相关分析; 生存分析采用 Kaplan-Meier 分析 (Log-rank 检验); 单因素及多因素 COX 回归分析影响膀胱癌患者预后的因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NMIBC 癌及癌旁组织中 RBM15、USP24 表达

RBM15 蛋白棕黄色阳性染色位于细胞核,USP24 棕褐色阳性染色位于细胞膜和细胞浆。膀胱癌组织中 RBM15、USP24 阳性率分别为 66.67% (60/90) 和 74.44% (67/90),高于癌旁组织中 RBM15、USP24 阳性率 6.67% (6/90)、11.11% (10/90),差异均有统计学意义($\chi^2=69.761$ 、 73.739 , P 均 <0.001),见图 1。

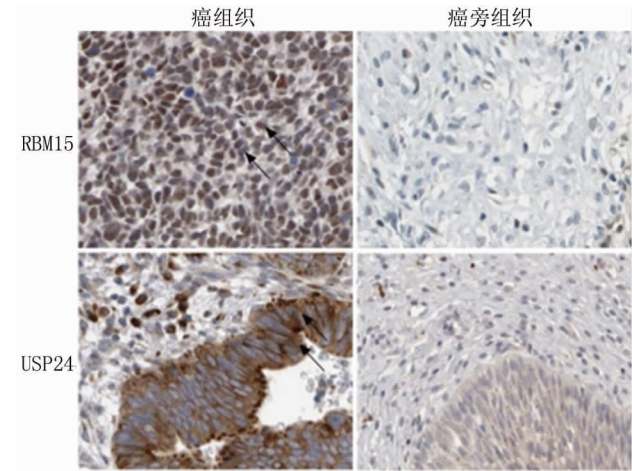


图 1 NMIBC 癌组织及癌旁组织中 RBM15、USP24 蛋白表达比较(免疫组织化学染色,×200)

Fig. 1 Expression of RBM15 and USP24 proteins in NMIBC cancer tissue and adjacent tissues (immunohistochemical staining, × 200)

2.2 NMIBC 癌组织中 RBM15 与 USP24 表达的相关性

Spearman 秩相关分析显示,NMIBC 癌组织中 RBM15 与 USP24 表达呈显著正相关($r=0.716$, $P<0.001$)。

2.3 RBM15、USP24 表达在不同临床病理特征中的差异比较

NMIBC 癌组织中 RBM15、USP24 阳性率在肿

瘤分期 T1 期、病理分级高级别中分别高于肿瘤分期 Ta/Tis 期及病理分级低级别(P 均 <0.001),而在其他临床病理特征中比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.4 RBM15、USP24 表达对 NMIBC 患者无进展生存预后的影响 随访期间,发生肿瘤进展 36 例,3 年无进展生存率为 60.00% (54/90)。RBM15 阳性组和阴性组 3 年无进展生存率分别为 45.00% (27/60)、90.00% (27/30)。USP24 阳性组和阴性组 3 年无进展生存率分别为 50.75% (34/67)、86.96% (20/23)。RBM15 阳性组、USP24 阳性组累积无进展生存率明显低于 RBM15 阴性组、USP24 阴性组(Log Rank $\chi^2=8.057$ 、 15.379 , $P=0.005$ 、 <0.001),见图 2。

2.5 影响 NMIBC 患者无进展生存预后的多因素 COX 回归分析 以 NMIBC 患者是否发生肿瘤进展为因变量(1 = 发生,0 = 未发生),以上述结果中 $P<0.05$ 项目为自变量进行多因素 COX 回归分析,结果显示:病理分级高级别、肿瘤分期 T1 期、RBM15 阳性、USP24 阳性是影响 NMIBC 患者无进展生存预后的独立危险因素($P<0.01$),见表 2。

表 2 影响 NMIBC 患者无进展生存预后的多因素 COX 回归分析

Tab. 2 Multivariate COX regression analysis on the prognosis of progression free survival in NMIBC patients						
因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
病理分级高级别	0.651	0.191	11.617	<0.001	1.917	1.319 ~ 2.799
肿瘤分期 T1 期	0.479	0.140	11.706	<0.001	1.614	1.227 ~ 2.214
RBM15 阳性	0.609	0.206	8.740	<0.001	1.839	1.228 ~ 2.753
USP24 阳性	0.556	0.172	10.449	<0.001	1.744	1.245 ~ 2.443

表 1 RBM15、USP24 蛋白表达在不同临床病理参数中比较 [例(%)]

Tab. 1 Comparison of RBM15 and USP24 protein expression in different clinical pathological parameters

项 目	例数	RBM15 阳性	χ^2 值	P 值	USP24 阳性	χ^2 值	P 值
性别	男	52	38 (73.08)	2.277	42 (80.77)	2.590	0.108
	女	38	22 (57.89)				
年龄(岁)	<60	32	19 (59.38)	1.188	23 (71.88)	0.172	0.678
	≥60	58	41 (70.69)				
吸烟史	有	40	30 (75.00)	2.250	32 (80.00)	1.168	0.280
	无	50	30 (60.00)				
病理分级	低级别	47	22 (46.81)	17.457	28 (59.57)	11.433	0.001
	高级别	43	38 (88.37)				
肿瘤大小	≤3 cm	61	39 (63.93)	0.636	45 (73.77)	0.045	0.832
	>3 cm	29	21 (72.41)				
肿瘤数目	多发	27	20 (74.07)	0.952	21 (77.78)	0.225	0.635
	单发	63	40 (63.49)				
肿瘤分期	Ta/Tis	40	19 (47.50)	11.903	23 (57.50)	10.866	0.001
	T1	50	41 (82.00)				

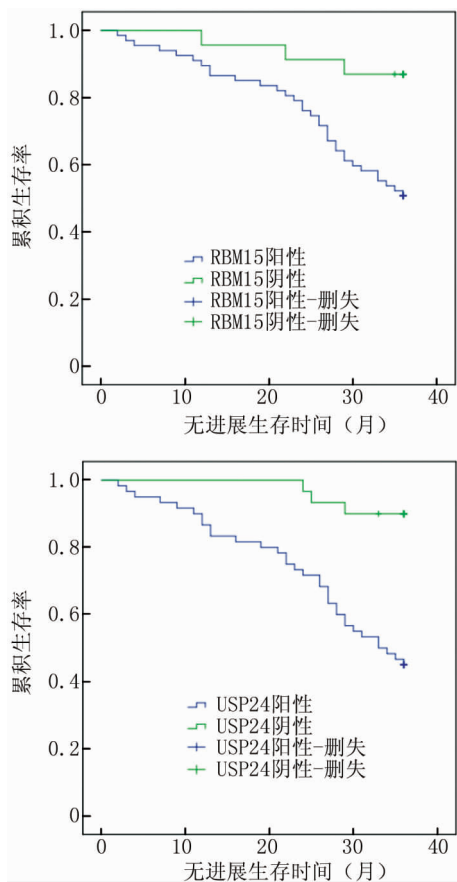


图2 Kaplan-Meier 曲线分析 RBM15、USP24 表达对 NMIBC 患者无进展生存预后的影响

Fig.2 Kaplan-Meier curve analysis of the impact of RBM15 and USP24 expression on the prognosis of progression free survival in NMIBC patients

3 讨论

膀胱癌是全球第十大常见恶性肿瘤,我国每年新发病例达 8.2 万例,发病率为 5.8/10 万,严重威胁我国人民健康^[8]。NMIBC 是最常见的膀胱癌类型,其发生是一个多因素、多步骤的过程,吸烟、环境中有害物质及遗传等因素均是重要的致病因素。目前 NMIBC 的治疗以手术、化疗及免疫治疗为主,但由于 NMIBC 具有较高的异质性,且术中难以彻底切除微小肿瘤病灶,术后可发生肿瘤复发转移,导致患者死亡^[9]。深入研究 NMIBC 发生发展的机制,寻找能够评估 NMIBC 患者预后的分子标志物,有利于选择相应的治疗方案及随访方案,改善高危患者的临床预后。

m6A 修饰是 mRNA 中腺嘌呤的第 6 位氨基发生甲基化的修饰方式^[10]。RBM15 作为一种甲基转移酶,是 m6A 修饰的书写者,能够调控癌基因 mRNA 的表达,在肿瘤干细胞更新分化、免疫调节及药物敏感性

等的调节中,发挥重要的生物学作用^[11-12]。本研究发现,NMIBC 癌组织中 RBM15 表达升高,提示 RBM15 参与 NMIBC 的肿瘤发生过程。NMIBC 中 RBM15 表达升高可能与非编码 RNA 的表达调控有关。有学者报道,环状 RNA CTNNB1 能够与 RBM15 相互作用,增加 RBM15 蛋白稳定性,RBM15 通过 m6A 修饰促进己糖激酶 2、葡萄糖-6-磷酸异构酶的表达,促进肿瘤细胞无氧糖酵解,促进肿瘤恶性进展^[13]。此外,亦有学者发现,肾癌肿瘤细胞中 EP300/CBP 复合体能够诱导 RBM15 基因启动子的组蛋白 3 乙酰化修饰,转录水平促进 RBM15 基因的表达^[4]。本研究中,RBM15 表达与 NMIBC 不良临床病理特征有关,提示 RBM15 促进 NMIBC 的肿瘤进展。分析其机制,可能是 RBM15 的表达影响肿瘤微环境中免疫细胞的浸润。有学者报道,膀胱癌组织中 RBM15 的表达升高能够促进髓源性抑制细胞、粒细胞的浸润,并能够促进 T 淋巴细胞表面程序性死亡因子 1 的表达,从而诱导肿瘤细胞的免疫逃逸的发生,导致患者不良预后^[14]。Zeng 等^[4]报道,肾癌中 RBM15 的表达上调能够促进肿瘤细胞中 CXCL11 趋化因子配体 11 的分泌,促进肿瘤相关巨噬细胞浸润和 M2 型极化,继而增强肿瘤细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭等恶性潜能。本研究中,RBM15 阳性 NMIBC 患者无进展生存预后较差,表明 RBM15 是新的 NMIBC 预后相关肿瘤标志物。笔者分析,RBM15 作为一种 m6A 修饰中的关键因子,其可能通过促进肿瘤干性、肿瘤抑制免疫微环境的形成,增强肿瘤细胞对化疗药物、免疫检查点抑制剂治疗的抵抗性,增加 NMIBC 患者肿瘤局部复发进展的风险^[15]。另外,RBM15 阳性表达的肿瘤细胞增殖和迁移能力显著增强,经尿道膀胱肿瘤电切术中病灶难以彻底清除,病灶周围微小转移病灶不易被发现,造成术后肿瘤复发^[3]。临床医生可根据膀胱癌组织中 RBM15 蛋白表达,对患者临床预后进行评估,对于高危复发进展的患者予以积极化疗及随访,以改善患者临床预后。

USP24 基因位于 1p32.3,编码蛋白是一种去泛素酶,可以特异性识别并去除靶蛋白中的泛素分子,在蛋白质水平参与炎症反应、恶性肿瘤及帕金森病等多种疾病的病理生理学过程^[3]。研究发现,肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤中 USP24 的表达上调通过调控 DNA 损伤修复相关基因的表达,促进肿瘤的恶性增殖和转移,导致肿瘤进展^[16]。本研究中,NMIBC 中 USP24 表达升高,提示 USP24 参与 NMIBC 的肿瘤发生过程。USP24 表达升高的机制与 USP24 基因的单核苷酸多态性有关。有学者报道,肿瘤基因组中 USP24 的单核苷酸多

态性发生改变, RNA 编辑异常引起突变体 930C/T 和 7656T/C 的比例显著增加, USP24-930T 和 USP24-7656C 通过增加 RNA 稳定性增加 USP24 表达水平^[17]。本研究中, USP24 与 NMIBC 不良临床病理特征有关, 提示 USP24 参与促进 NMIBC 的肿瘤进展。分析其原因, 可能与 USP24 能够诱导 NMIBC 中免疫抑制微环境形成有关。研究发现, USP24 的表达上调能够稳定 p300 蛋白, 增加肿瘤细胞内核因子 κ B 的水平, 诱导肺癌细胞中白介素-6 的表达, 进而促进单核巨噬细胞向 M2 型极化, 形成免疫抑制微环境, 导致肿瘤细胞发生免疫逃逸, 促进肿瘤进展^[18]。此外, USP24 可通过促进表皮生长因子受体 Ser1616、Ser2047 位点的磷酸化激活, 增加肿瘤细胞内 Bax 和 p300 水平, 促进细胞周期 G1/S 的转换, 促进肿瘤细胞增殖, 抑制肿瘤细胞凋亡, 导致肿瘤进展^[19]。本研究中, USP24 阳性表达是影响 NMIBC 患者无进展生存预后的独立危险因素, 提示检测 USP24 表达有助于评估 NMIBC 患者的临床预后。其原因可能与 USP24 影响化疗的敏感性有关。有研究表明, USP24 能够与损伤特异性 DNA 结合蛋白 2 结合, 抑制其泛素化蛋白酶体途径降解, 进而促进 DNA 损伤修复, 增强对化疗药物抵抗性^[20-21]。尚有学者在急性淋巴细胞白血病中, 应用 WP1130 直接靶向结合 USP24, 抑制 USP24 及下游髓样细胞白血病-1 的表达, 干扰线粒体跨膜电位, 诱导肿瘤细胞凋亡^[7]。因此, NMIBC 中 USP24 的表达参与促进 NMIBC 肿瘤的发生发展, 是 NMIBC 预后相关肿瘤标志物, 以 USP24 为靶点的治疗可能是潜在的 NMIBC 治疗方案。本研究中, RBM15 与 USP24 表达呈显著正相关, 提示两者可能存在协同的作用关系。有学者发现, 肿瘤中 USP24 与 RBM15 具有较强的相关性, USP24 可通过增加 RBM15 蛋白的稳定性, 促进癌细胞的恶性增殖和侵袭^[22]。但 NMIBC 中两者的具体作用机制有待今后进行深入的实验研究。

综上所述, NMIBC 癌组织中 RBM15、USP24 表达均升高, 两者表达与肿瘤分期、病理分级有关, 共同参与膀胱癌的疾病进展。癌组织中 RBM15、USP24 阳性表达 NMIBC 患者无进展生存预后较差, 是影响患者无进展生存预后的独立危险因素。本研究尚存在一定的不足之处, 一方面本研究样本量有限, 未能对 NMIBC 患者不同类型进行分层分析, 有待今后扩大样本含量进一步研究; 另一方面, 本研究未能对 RBM15、USP24 在 NMIBC 中具体作用机制进行研究, 有待今后进行深入探索。

利益冲突:所有作者均声明无利益冲突

作者贡献声明

何丹:设计研究方案, 实施研究过程, 数据获取, 论文撰写; 石艳宏:实施研究过程, 资料搜集整理; 王峥:分析试验数据, 论文审核; 张晓炜:进行统计学分析; 王冠杰:论文撰写, 论文修改

参考文献

- [1] Richters A, Aben K, Kiemeny L. The global burden of urinary bladder cancer: An update[J]. World J Urol, 2020, 38(8): 1895-1904. DOI:10.1007/s00345-019-02984-4.
- [2] Cao R, Yuan L, Ma B, et al. An EMT-related gene signature for the prognosis of human bladder cancer[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(1): 605-617. DOI:10.1111/jcmm.14767.
- [3] Wang X, Tian L, Li Y, et al. RBM15 facilitates laryngeal squamous cell carcinoma progression by regulating TMBIM6 stability through IGF2BP3 dependent[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 80. DOI:10.1186/s13046-021-01871-4.
- [4] Zeng X, Chen K, Li L, et al. Epigenetic activation of RBM15 promotes clear cell renal cell carcinoma growth, metastasis and macrophage infiltration by regulating the m6A modification of CXCL11[J]. Free Radic Biol Med, 2022, 184: 135-147. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.031.
- [5] Bedekovics T, Hussain S, Zhang Y, et al. USP24 is a cancer-associated ubiquitin hydrolase, novel tumor suppressor, and chromosome instability gene deleted in neuroblastoma[J]. Cancer Res, 2021, 81(5): 1321-1331. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-20-1777.
- [6] Wang SA, Young MJ, Jeng WY, et al. USP24 stabilizes bromodomain containing proteins to promote lung cancer malignancy[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 20870. DOI:10.1038/s41598-020-78000-2.
- [7] Luo H, Jing B, Xia Y, et al. WP1130 reveals USP24 as a novel target in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Cancer Cell Int, 2019, 19: 56. DOI:10.1186/s12935-019-0773-6.
- [8] 李辉章, 郑荣寿, 杜灵彬, 等. 中国膀胱癌流行现状与趋势分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(3): 293-298. DOI:10.3760/cma.j.cn112152-20200421-00362.
- [9] Li HZ, Zheng RS, Du LB, et al. Bladder cancer incidence, mortality and temporal trends in China[J]. Chinese Journal of Oncology, 2021, 43(3): 293-298. DOI:10.3760/cma.j.cn112152-20200421-00362.
- [9] 彭磊, 蒙春杨, 李金泽, 等. 吉西他滨较丝裂霉素治疗 TURBT 后非肌层浸润性膀胱癌的复发率低、毒副作用小: 基于随机对照试验的荟萃分析[J]. 中国全科医学, 2021, 24(23): 2978-2984. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.201.
- [10] Peng L, Meng CY, Li JZ, et al. Gemcitabine has a lower recurrence rate and less side effects than mitomycin for non-muscular invasive bladder cancer after TURBT: A Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. China General Practice, 2021, 24(23): 2978-2984. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.201.
- [10] 宋美燕, 王磊, 张丽, 等. m6A 修饰及其在胚胎发育过程中的生物学功能[J]. 生命的化学, 2020, 40(7): 1009-1016. DOI: 10.13488/j.smhx.20200118.
- Song MY, Wang L, Zhang L, et al. m6A and its biological function in embryonic development[J]. Chemistry of Life, 2020, 40(7): 1009-1016. DOI:10.13488/j.smhx.20200118.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.005

肿瘤防治专题

乳腺癌化疗患者核素门控心肌灌注纹理特征及其对心肌损害的早期预测价值

巴雅, 刘立水, 祖拉亚提·库尔班, 谢彬, 娜姿·伊力哈木, 姚娟



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81960339)

作者单位: 830011 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院核医学科(巴雅、刘立水、祖拉亚提·库尔班、谢彬、娜姿·伊力哈木),

影像中心(姚娟)

通信作者: 姚娟, E-mail: 6555320@qq.com

【摘要】目的 分析乳腺癌化疗患者核素门控心肌灌注纹理特征及其在早期预警蒽环类药物化疗后心肌损害的价值。方法 纳入 2021 年 1 月—2022 年 2 月新疆医科大学第一附属医院核医学科接受蒽环类药物规律化疗的乳腺癌患者 122 例, 于化疗 1 疗程结束后采用 SPECT 和超声心动图检测患者心功能和心肌细胞活力状态, 通过纹理分析提取心肌的 40 个纹理特征; 随访 1 年, 根据心脏毒性评价指标评估患者化疗后心肌损害情况, 据此分为心肌损害组和无心肌损害组。比较 2 组患者临床资料, 采用 Logistic 回归分析乳腺癌化疗后心肌损害的独立影响因素; 使用 R 语言软件绘制列线图模型, 绘制校正曲线、ROC 曲线评估模型在早期预测乳腺癌化疗后心肌损害的内部效能。结果 随访 1 年, 失访 7 例, 剩余 115 例患者中出现 35 例不同程度的心脏毒性(心肌损害组), 余 80 例为无心肌损害组。心肌损害组化疗 1 疗程后 SPECT 指标中的相位标准差(SD)、相位直方图带宽(BW)高于无心肌损害组($t/P = 2.418/0.017, 2.304/0.023$); 纹理分析中心肌损害组 Energy、Total energy、Contrast 值高于无心肌损害组($t = 8.003, 6.178, 4.911, P$ 均 < 0.001); 多因素 Logistic 回归分析显示, SD、BW、Energy、Contrast 升高为乳腺癌化疗后心肌损害的危险因素[$OR(95\% CI) = 1.480(1.027 \sim 2.134), 1.615(1.191 \sim 2.191), 5.953(2.247 \sim 15.766), 1.041(1.018 \sim 1.065)$]; 以独立相关因素构建乳腺癌化疗后心肌损害的早期预测列线图模型得出 C-指数为 0.915(95% CI 0.889 ~ 0.984), 校正曲线与理想曲线走形接近; 列线图模型的 ROC 曲线分析显示, 早期评估乳腺癌化疗后心肌损害的 AUC 为 0.924, 敏感度为 0.886、特异度为 0.838。结论 早期核素门控成像心肌灌注的纹理特征能够预测乳腺癌蒽环类药物化疗后心肌损害, 对于指导临床早期进行心肌保护, 调整治疗方案具有重要意义。

【关键词】 乳腺癌; 心肌损害; 蒽环类药物; 核素门控成像; 纹理分析

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

Characteristics of radionuclide gated myocardial perfusion texture in patients with breast cancer undergoing chemotherapy and its early predictive value for myocardial damage Ba Ya*, Liu Lishui, Zulayati Kuerban, Xie Bin, Nazi Yilihamu, Yao Juan.

* Department of Nuclear Medicine, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang Province, Urumqi 830011, China

Corresponding author: Yao Juan, E-mail: 6555320@qq.com

Funding program: National Natural Science Foundation Project (81960339)

【Abstract】Objective To analyze the characteristics of radionuclide gated myocardial perfusion texture in patients with breast cancer undergoing chemotherapy and its value in early warning of myocardial damage after anthracycline chemotherapy. Methods One hundred and twenty-two patients with breast cancer who received regular chemotherapy with anthracyclines in the Nuclear Medicine Department of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from January 2021 to February 2022 were included. After one course of chemotherapy, SPECT and echocardiography were used to detect the patients' cardiac function and myocardial cell viability, and 40 texture features of myocardium were extracted through texture analysis; Follow up for 1 year, evaluate the myocardial damage of patients after chemotherapy based on cardiac toxicity evaluation indicators, and divide them into myocardial damage group and no myocardial damage group based on this. The clinical data of the two groups were compared, and the independent influencing factors of myocardial damage after chemotherapy for breast cancer were analyzed by Logistic regression; Use R language software to draw nomogram model, draw correction curve and ROC curve to evaluate the internal efficacy of the model in early prediction of myocardial damage after

chemotherapy for breast cancer. **Results** Following up for one year, 7 cases were lost, and out of the remaining 115 patients, 35 showed varying degrees of cardiac toxicity, namely 35 in the myocardial injury group and 80 in the non-myocardial injury group. The phase standard deviation (SD) and phase histogram bandwidth (BW) of SPECT indicators in the myocardial injury group after one course of chemotherapy were higher than those in the non-myocardial injury group ($t/P=2.418/0.017, 2.304/0.023$). The energy, total energy, and contrast values of the myocardial damage group in texture analysis were higher than those of the non-myocardial damage group ($t=8.003, 6.178, 4.911, P<0.001$). Multivariate logistic regression analysis showed that increased SD, BW, Energy and Contrast were risk factors for myocardial damage after chemotherapy in breast cancer [OR (95% CI) = 1.480 (1.027 – 2.134), 1.615 (1.191 – 2.191), 5.953 (2.247 – 15.766), 1.041 (1.018 – 1.065)]; The nomogram model for early prediction of myocardial damage after chemotherapy for breast cancer was constructed based on independent related factors. The C-index was 0.915 (95% CI 0.889 – 0.984), and the correction curve was close to the ideal curve; ROC curve analysis of nomogram model showed that AUC for early assessment of myocardial damage after chemotherapy for breast cancer was 0.924, sensitivity was 0.886, and specificity was 0.838. **Conclusion** The texture features of myocardial perfusion in early radionuclide gated imaging can predict myocardial damage after anthracycline chemotherapy for breast cancer, which is of great significance for guiding clinical early myocardial protection and adjusting treatment plans.

[Key words] Breast cancer; Myocardial damage; Anthracyclines; Nuclide gated imaging; Texture analysis

蒽环类药物组成的化疗方案是乳腺癌综合治疗的主要手段之一,该类药物的心脏毒性也是目前临床研究的热点问题。研究表明^[1],在乳腺癌的治疗过程中,与非蒽环类药物相比,蒽环类药物导致的心脏毒性风险可增加 5.4 倍,由此导致心因性死亡风险增加 4 倍。蒽环类药物所致的心脏毒性反应多数情况下在用药 1 年内产生,早期评估蒽环类药物对心肌的损害对于指导临床调整治疗方案具有重要意义。目前业内缺乏针对蒽环类药物导致急性或亚急性心脏毒性反应的早期可靠数据。近年来研究表明^[2-3],核素门控心肌灌注成像(gated myocardial perfusion imaging, GMPI)能够通过测定乳腺癌患者化疗前后心肌细胞及心脏各项指标的变化参数来分析药物对心脏的毒性反应。但这些指标多用于化疗后的随访,对于早期预警存在局限性。纹理分析(texture analysis, TA)是一种通过提取特定组织的扫描图像获得特征性数据并进行分析的图像后处理方式,被广泛应用于肿瘤的诊断、鉴别诊断中^[4]。近年来纹理分析也逐渐用于心肌损害的评估领域,用于预警急性、亚急性心肌梗死^[5]。为了分析 GMPI 技术和纹理分析获得的数据是否可以用于乳腺癌蒽环类药物化疗后心肌损害的早期评估,笔者进行了此项研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 纳入 2021 年 1 月—2022 年 2 月新疆医科大学第一附属医院核医学科接受蒽环类药物规律化疗的乳腺癌患者 122 例(随访 1 年,失访 7 例),均为女性,年龄(45.71 ± 9.72)岁。依据有无心脏毒性分为心肌损害组($n=35$)和无心肌损害组($n=80$)。2 组患者的临床资料比较差异均无统计学意义($P>$

0.05),具有可比性,见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(K202112-12),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 无心肌损害组与心肌损害组乳腺癌患者临床资料比较
Tab.1 Comparison of clinical data between patients without myocardial damage and those with myocardial damage

项 目	无心肌损害组 ($n=80$)	心肌损害组 ($n=35$)	t/χ^2 值	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	45.31 ± 8.57	45.29 ± 7.84	0.012	0.991
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.45 ± 3.02	23.41 ± 2.77	0.067	0.947
肿瘤直径($\bar{x} \pm s$, cm)	3.41 ± 1.66	3.44 ± 1.58	0.090	0.928
组织学分型				
[例(%)]				
导管癌	53(66.25)	23(65.71)	0.057	0.972
小叶癌	8(10.00)	4(11.43)		
黏液腺癌	19(23.75)	8(22.86)		
免疫组化类型				
ER/PR 阳性	53(66.25)	23(65.71)	0.003	0.955
HER-2 阳性	55(68.75)	24(68.57)	0.039	0.841
TNM 分期[例(%)]				
Ⅱ期	35(43.75)	15(42.86)	0.008	0.929
Ⅲ期	45(56.25)	20(57.14)		
ECOG 评分				
[例(%)]				
0 分	55(68.75)	24(68.57)	0.002	0.999
1 分	18(22.50)	8(22.86)		
2 分	7(8.75)	3(8.57)		
病程($\bar{x} \pm s$, 月)	7.92 ± 3.34	7.94 ± 2.97	0.051	0.906
基础疾病				
[例(%)]				
高血压病	8(10.00)	4(11.43)	0.132	0.922
糖尿病	7(8.75)	33(8.57)	0.839	0.657
肾功能不全	8(10.00)	4(11.43)	0.426	0.808
家族史	19(23.75)	8(22.86)	0.444	0.725

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①乳腺癌患者均符合《中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2019 年版)》^[6]中的诊断标准;②TNM 分期为ⅡA ~ ⅢB 期;③接受至少 6 个周期的含蒽环类药物的化疗方案;④年龄 18 ~ 65 岁;⑤临床资料完整;(2)排除标准:①合

并其他恶性肿瘤病史;②存在心功能不全或器质性心脏病者;③既往接受过蒽环类药物治疗者;④无法坚持随访者。

1.3 治疗方法 患者在行乳腺癌根治术后接受 ACT 方案化疗:多柔比星(浙江海正药业股份有限公司)60 mg/m² 静脉滴注,第 1 天+环磷酰胺(山西振东泰盛制药有限公司)600 mg/m² 静脉滴注,第 1 天,序贯治疗多西他赛(江苏恒瑞医药股份有限公司)100 mg/m² 静脉滴注,第 1 天。21 d 为 1 个疗程,连续 6 个疗程。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 心功能指标检测:于化疗 1 疗程后以彩色多普勒超声检测仪(飞利浦 HD7)、S5-1 探头,频率 5 Hz,检测左心室舒张末期容积(left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左心室收缩末期容积(left ventricular end-systolic volume, LVESV)、左室长轴切面测量左房内径(left atrial diameter, LAD)、主动脉内径(aortic inner diameter, AO)和左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。

1.4.2 SPECT 检测:检查前嘱患者空腹 6~12 h,仰卧位,通过肘静脉注入 800 MBq 显像剂(上海科欣医药有限公司);采用双探头单光子发射计算机化断层显像(SPECT)仪(Siemens 公司,德国,型号 Symbia T16)进行检测,具体参数如下:矩阵 128×128,平行孔低能高分辨准直器,速度 53 s/帧,8 帧/心动周期;迭代法获取心脏水平、垂直、矢状位 CT 图像;通过门控 SPECT 分析重建后的断层图像;获取指标:高峰充盈率(peak filling rate, PFR)、相位标准差(standard deviation, SD)、熵、相位直方图带宽(band width, BW)指标;每项指标检测均由 2 名主治医师职称以上的核医学医生共同评估。

1.4.3 纹理分析:采用软件 ITK-SNAP 勾画左心室舒张末期心肌图像,感兴趣区域包括左心室心肌中层、心内膜、心外膜;在 Pyradiomics 软件上选取 40 个心肌纹理特征,其中包含 5 个一阶统计量和 9 个灰度共生矩阵特征。

1.4.4 随访情况:按照欧洲心脏协会关于心脏毒性指标的评价标准^[7]进行评估,心肌损害包括以下任意一

条:(1)LVEF 水平较前次水平下降>10%;(2)肌钙蛋白(cTnT)>0.03 μg/L;(3)心电图出现明显的特征性改变。心肌损害的评价时间点为每次化疗周期结束后,整个化疗周期结束后每 3 个月进行一次门诊随访,复查心脏彩色超声、心电图、肌钙蛋白。随访时间截至 2023 年 3 月 31 日。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件对数据进行处理。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验或秩和检验;采用 Logistic 回归方程分析乳腺癌化疗后心肌损害的影响因素;使用 R 语言建立列线图模型,计算 C-指数,绘制校准曲线,受试者工作特征(ROC)曲线评估模型早期预测心肌损害的价值。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组心功能比较 化疗 1 疗程后,2 组心功能指标 LVEF、LVEDV、LVESV、LAD、AO 比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 2。

2.2 2 组 SPECT 指标比较 化疗 1 疗程后,心肌损害组 SPECT 指标中的 SD、BW 高于无心肌损害组(*P*<0.05),PFR(EDV/s)、熵比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 3。

2.3 2 组心肌纹理分析特征比较 纹理分析中心肌损害组 Energy、Total energy、Contrast 值高于无心肌损害组(*P*<0.01),其余项目比较差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 4。

2.4 乳腺癌化疗后心肌损害的相关因素分析 以乳腺癌化疗后心肌损害为因变量,以上述结果中 *P*<0.05 项目为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,SD、BW、Energy、Contrast 升高为乳腺癌化疗后心肌损害危险因素(*P*<0.05),见表 5。

2.5 乳腺癌化疗后心肌损害的列线图模型构建 以影响因素构建乳腺癌化疗后心肌损害早期预测的列线图模型,总分 0~180 分,对应发生心肌损害的概率为 0.05~0.99。经过计算得出 C-指数为 0.915(95% CI 0.889~0.984),且模型校准曲线与理想曲线接近,见图 1、2。

表 2 无心肌损害组与心肌损害组乳腺癌患者心功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of cardiac function between patients without myocardial damage and those with myocardial damage						
组 别	例数	LVEF(%)	LVEDV(ml)	LVESV(ml)	LAD(mm)	AO(mm)
无心肌损害组	80	69.81±6.47	72.89±12.37	23.03±6.79	30.38±5.11	26.51±4.25
心肌损害组	35	69.73±6.41	73.22±14.46	22.88±7.02	30.59±4.86	26.43±3.57
<i>t</i> 值		0.061	0.125	0.108	0.206	0.097
<i>P</i> 值		0.951	0.901	0.914	0.837	0.923

表 3 无心肌损害组与心肌损害组乳腺癌患者 SPECT 指标比较 (x̄ ± s)

Tab. 3 Comparison of SPECT indicators between patients without myocardial damage and those with myocardial damage					
组 别	例数	PFR (EDV/s)	SD(°)	熵(%)	BW(°)
无心肌损害组	80	2.64 ± 0.54	8.77 ± 2.14	35.72 ± 5.19	29.32 ± 8.43
心肌损害组	35	2.66 ± 0.68	9.86 ± 2.41	35.64 ± 5.52	33.43 ± 9.61
t 值		0.169	2.418	0.075	2.304
P 值		0.866	0.017	0.941	0.023

表 4 无心肌损害组与心肌损害组乳腺癌患者心肌纹理分析特征比较 (x̄ ± s)

Tab. 4

Comparison of myocardial texture analysis characteristics between patients without myocardial damage and those with myocardial damage

类 型	纹理分析特征	无心肌损害组 ($n=80$)		心肌损害组 ($n=35$)		t 值	P 值
一阶统计量	Energy ($\times 10^8$)	4.46 \pm	0.78	5.75 \pm	0.83	8.003	<0.001
	Total energy	10.12 \pm	2.25	12.96 \pm	2.31	6.178	<0.001
	mean absolute deviation	54.39 \pm	8.92	54.41 \pm	7.79	0.011	0.991
	Entropy	5.28 \pm	0.38	5.31 \pm	0.29	0.417	0.678
	Variance	5 799.39 \pm	1 423.45	5 725.44 \pm	1 331.75	0.261	0.794
共生矩阵特征	Contrast	99.81 \pm	35.67	135.53 \pm	36.39	4.911	<0.001
	Imc1	-0.57 \pm	0.08	-0.54 \pm	0.09	1.781	0.077
	Imc2	0.996 \pm	0.004	0.997 \pm	0.002	1.402	0.164
	Idm	0.16 \pm	0.04	0.15 \pm	0.03	1.324	0.188
	Inverse difference	0.23 \pm	0.03	0.24 \pm	0.05	1.327	0.187
	Inverse Variance	0.14 \pm	0.03	0.15 \pm	0.03	1.645	0.103
	Difference average	8.42 \pm	0.84	8.37 \pm	0.71	0.307	0.759
	Difference entropy	4.27 \pm	0.29	4.25 \pm	0.27	0.347	0.729
	Joint entropy	7.54 \pm	0.36	7.53 \pm	0.41	0.131	0.896

表 5 Logistic 回归分析乳腺癌化疗后心肌损害的相关因素

Tab. 5 Logistic regression analysis of related factors of myocardial damage after chemotherapy for breast cancer						
相关指标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常量	-25.530	5.115	24.910	<0.001	<0.001	
SD	0.392	0.187	4.419	0.036	1.480	1.027 ~ 2.134
BW	0.480	0.155	9.529	0.002	1.615	1.191 ~ 2.191
Energy	1.784	0.497	12.885	<0.001	5.953	2.247 ~ 15.766
Total energy	0.058	0.047	1.526	0.217	1.060	0.966 ~ 1.163
Contrast	0.040	0.011	12.478	<0.001	1.041	1.018 ~ 1.065

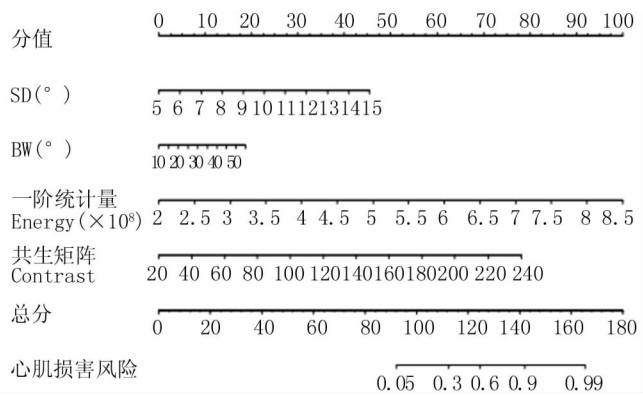


图 1 评估心肌损害的列线图模型

Fig. 1 A column chart model for evaluating myocardial damage

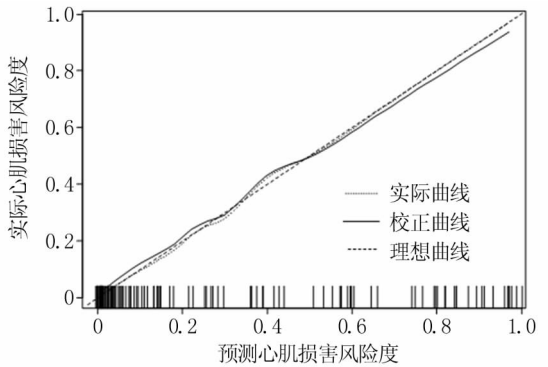


图 2 列线图模型的内部校正曲线

Fig. 2 Internal correction curve of the column chart model

2.6 列线图模型早期预测乳腺癌化疗后心肌损害效能分析 ROC 曲线分析显示,列线图模型在早期预测乳腺癌化疗后心肌损害的曲线下面积 (AUC) 为 0.924,敏感度为 0.886,特异度为 0.838,见图 3。

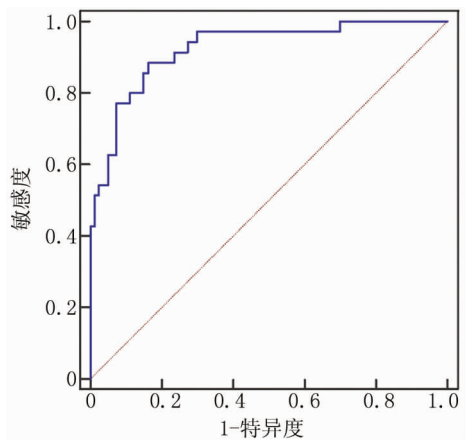


图 3 列线图模型早期预测乳腺癌化疗后心肌损害效能的 ROC 曲线

Fig.3 ROC curve of nomogram model for early prediction of myocardial damage efficacy after chemotherapy for breast cancer

3 讨论

蒽环类化疗药物是目前乳腺癌术后辅助化疗的主要药物。蒽环类药物在体内的作用机制是通过阻止癌细胞 mRNA 合成、抑制 DNA 复制,达到阻止肿瘤细胞分裂、增殖的目的。目前蒽环类药物导致心脏损伤的机制尚不明确,研究表明^[8],蒽环类药物在体内通过非酶途径与心肌细胞内的磷脂产生具有高亲和力的蒽环-铁螯合物,导致心肌细胞损伤。蒽环类药物的心脏毒性被认为是不可逆的,且这种心肌损伤往往呈现进展性^[9],严重影响患者的生命安全。早期识别蒽环类药物对心肌细胞的毒性作用,针对性地应用保护心肌药物,对于改善患者预后意义重大。目前临床上早期评估蒽环类药物导致心肌损害的方式不多,也缺乏特异性。有研究指出^[10],GMPI 在早期评估心肌损害方面具有较高的敏感度和准确度。GMPI 指标能够通过监测左心室收缩舒张的同步性达到比超声心动图指标更早的提示心肌损害。最近有研究表明^[11],纹理分析在鉴别心脏 CT 图像中的正常心肌和梗死灶心肌方面具有良好的可行性和鉴别力。蒽环类化疗药物导致的心脏毒性早期可能无法通过评估心脏功能或组织学肉眼改变来识别,这种细微的心肌细胞组织学变化可通过高通量放射组学特征来发现^[12],纹理分析就是一种分析这种组织学特征的手段。

本结果显示,心肌损害组 SPECT 指标中的 SD、BW 高于无心肌损害组,纹理分析指标 Energy、Total energy、contrast 值高于无心肌损害组,经过多因素 Logistic 回归分析显示,SD、BW、Energy、Contrast 与乳腺癌化疗后心肌损害独立相关;研究表明^[13],BW 表示 95% 范围的左心室相位分布,SD 则代表相位分布角度的标准差,这 2 个指标代表了左心室收缩同步性,数值越小说明收缩同步性越好,相反则越差。相关研究表明^[14],在扩张性心肌病患者中,左心室的 BW 和 SD 值显著增大。受损害的心肌细胞会出现平滑肌等纤维组织增生,心肌灰度减低、密度不均匀,内部纹理变化无规律,在纹理分析上体现为反差 (Contrast) 增大。相关研究表明^[15],不稳定性心绞痛或者急性心肌梗死早期受损心肌通过纹理分析可发现这种反差增大。同样利用 MR 进行纹理分析急性缺血性脑卒中的脑组织也会发现,对于缺血半暗带的脑组织这种反差也会增大^[16]。Energy 代表能量,动物模型显示^[17],Energy 值与心肌纤维化程度相关。一项研究健康人群心肌 MR 纹理分析发现^[18],年龄越大,心肌组织的 Energy 值越大,该研究指出随着年龄的增加,心肌细胞的三酰甘油含量增加,心肌逐渐出现弥漫性纤维化。

通过 Logistic 回归分析得出的独立相关因素建立列线图模型,ROC 曲线分析显示,列线图模型在早期预测乳腺癌化疗后心肌损害的 AUC 为 0.924,敏感度为 0.886,特异度为 0.838。这就为临床早期发现蒽环类药物化疗所致的心肌损害提供了科学参考依据,为早期应用保护心肌药物提供了科学证据。TA 作为一种计算方法能够提取信息并量化相邻元素中的不均匀性,以及评估肉眼无法辨别的细微结构变化。以往 TA 主要用于预测肿瘤进展、评估治疗反应和预后^[19]。国外有研究表明^[20],基于心肌¹⁸F-FDG 的 TA 不仅可用于诊断心肌纤维化,而且在预测心肌纤维化的主要不良心血管事件时,除了传统的¹⁸F-FDG 参数外,还增加了预后价值。此外,TA 不仅应用于缺血性心肌病的研究,而且也应用于非缺血性心肌病。近年来,许多研究在心脏病管理中使用 SPECT 纹理分析已经取得了一定的成果^[21-22]。国外有研究证实^[23],SPECT/CT 的 TA 在不同的图像采集和重建方案中具有良好的重复性和再现性。

综上所述,通过早期核素门控成像心肌灌注纹理特征能够预测乳腺癌蒽环类药物化疗后心肌损害,对于指导临床早期进行心肌保护,调整治疗方案具有重要意义。但本研究限于样本量较少,这对在临床上广泛推广是不利的,后期还需要增大样本量进一步增加

本研究的可信性;另外,TA 的定量可能受到部分体积的影响,没有测量区域壁厚的差异,以与 TA 进行比较/相关性分析,后期还需在这一方面加以研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

巴雅:研究设计、资料收集、论文撰写;刘立水:数据统计;祖拉亚提·库尔班、谢彬:论文撰写;娜姿·伊力哈木:病历资料收集整理;姚娟:论文审核,整体逻辑框架修订

参考文献

- [1] 呼改凤,付海霞,马继芳,等. 蒽环类药物对早期乳腺癌术后患者心脏毒性影响的临床研究[J]. 中华心血管病杂志,2018,46(12): 987-992. DOI:10.3760/cma.j. issn. 0253-3758. 2018. 12. 011.
Hu GF, Fu HX, Ma JF, et al. Clinical study on the effect of anthracyclines on cardiotoxicity in patients with early breast cancer after surgery [J]. Chinese Journal of Cardiovascular Disease, 2018, 46 (12): 987-992. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3758. 2018. 12. 011.
- [2] 布热比古力·阿布力米提,付真彦. 乳腺癌药物治疗与心肌损伤[J]. 心血管病学进展,2020,41(8):802-805. DOI:10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.08.005.
Buebigoli Ablimiti, Fu ZY. Drug treatment of breast cancer and myocardial injury[J]. Advances in Cardiology, 2020, 41 (8): 802-805. DOI:10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.08.005.
- [3] Zito C, Manganaro R, Cusmà Piccione M, et al. Anthracyclines and regional myocardial damage in breast cancer patients. A multicentre study from the Working Group on Drug Cardiotoxicity and Cardioprotection, Italian Society of Cardiology (SIC)[J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2021, 22(4):406-415. DOI:10.1093/ehjci/jeaa339.
- [4] Ansund J, Mijwel S, Bolam KA, et al. High intensity exercise during breast cancer chemotherapy-effects on long-term myocardial damage and physical capacity-data from the OptiTrain RCT[J]. Cardiooncology, 2021, 7(1):7. DOI:10.1186/s40959-021-00091-1.
- [5] 张明多,南楠,周渊,等. 基于冠状动脉 CT 血管成像心肌纹理评估心肌缺血价值的研究[J]. 心肺血管病杂志,2022,41(4):354-358,390. DOI:10.3969/j.issn.1007-5062.2022.04.005.
Zhang MD, Nan N, Zhou Y, et al. Evaluation of myocardial ischemia value based on myocardial texture of coronary CT angiography [J]. Journal of cardiopulmonary vascular disease, 2022, 41 (4): 354-358, 390. DOI:10.3969/j. issn. 1007-5062. 2022. 04. 005.
- [6] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2019 年版)[J]. 中国癌症杂志,2019,29(8):56-127. DOI:CNKI:SUN;ZGAZ. 0. 2019-08-011.
Breast cancer Professional Committee of China anticancer association Guidelines and specifications for breast cancer diagnosis and treatment of China anticancer association (2019 version) [J]. Chinese Journal of Cancer, 2019, 29(8):56-127. DOI: CNKI; SUN; ZGAZ. 0. 2019-08-011.
- [7] Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Munoz D, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines; the Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. Eur Heart J, 2016, 37(36):2768-2801. DOI:10.1093/eurheartj/ehw211. "

- [8] 曹司琪,陈勇,杨菲,等. 左心室心肌做功在乳腺癌患者蒽环类化疗药物心脏毒性评价中的应用价值[J]. 中华老年多器官疾病杂志,2021,20(5):337-342. DOI:10.11915/j.issn.1671-5403.2021.05.070.
Cao SQ, Chen Y, Yang F, et al. The application value of left ventricular myocardial work in the evaluation of anthracycline chemotherapeutic drugs' cardiotoxicity in breast cancer patients [J]. Chinese Journal of Multiple Organ Disease in the Elderly, 2021, 20 (5): 337-342. DOI:10.11915/j. issn. 1671-5403. 2021. 05. 070.
- [9] 刘柳,左洋萍,赵亚西,等. 超声心动图评价蒽环类药物化疗后无症状乳腺癌患者慢性右心室功能变化[J]. 川北医学院学报,2022,37(7):919-923. DOI:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.07.023.
Liu L, Zuo YP, Zhao YX, et al. Echocardiographic evaluation of chronic right ventricular function in asymptomatic breast cancer patients after anthracycline chemotherapy [J]. Journal of North Sichuan Medical College, 2022, 37 (7): 919-923. DOI:10.3969/j. issn. 1005-3697. 2022. 07. 023.
- [10] Bai C, Meng F, Feng P, et al. Application effect and evaluation of two-dimensional speckle tracking imaging on myocardial damage in patients with malignant lymphoma treated with anthracyclines[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021(10):6355047. DOI:10.1155/2021/6355047.
- [11] Wang C, Ma Y, Liu Y, et al. Texture analysis of SPECT myocardial perfusion provides prognostic value for dilated cardiomyopathy[J]. J Nucl Cardiol, 2022, 22(34):110-119. DOI:10.1007/s12350-022-03006-4.
- [12] 程赛楠,张红梅,赵心明. 磁共振成像评价乳腺癌治疗相关心肌损伤的研究进展[J]. 中华心血管病杂志,2020,48(11):985-989. DOI:10.3760/cma.j.cn112148-20200622-00503.
Cheng SN, Zhang HM, Zhao XM. Research progress of magnetic resonance imaging in the evaluation of breast cancer treatment-related myocardial injury [J]. Chinese Journal of cardiovascular disease, 2020, 48 (11): 985-989. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112148-20200622-00503.
- [13] 鹿存芝,吴倩,王亚楠,等. 核素门控心肌灌注显像对乳腺癌化疗后心肌损害的早期诊断价值分析[J]. 现代生物医学进展,2022,22(18):3528-3533. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2022.18.024.
Lu CZ, Wu Q, Wang YN, et al. Analysis of the early diagnostic value of nuclide gated myocardial perfusion imaging for myocardial damage after chemotherapy in breast cancer [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2022, 22 (18): 3528-3533. DOI:10.13241/j. cnki. pmb. 2022. 18. 024.
- [14] 席笑迎,张宗耀,张利霞,等. 新型心肌灌注显像药物⁹⁹Tc^m-3SPboroxime 的 SPECT 显像实验研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志,2020,1(2):69-74. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2020.02.002.
Xi XY, Zhang ZY, Zhang LX, et al. Experimental study on SPECT imaging of ⁹⁹Tc^m-3spboroxime, a new myocardial perfusion imaging drug[J]. Chinese Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2020, 1 (2): 69-74. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-2848. 2020. 02. 002.
- [15] 谷珊珊,卢洁,陈刚. 心肌灌注显像半定量分析对不同缺血程度老年冠状动脉粥样硬化性心脏病的诊断价值[J]. 首都医科大学

- 学报, 2021, 42 (1) : 26-30. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-7795. 2021. 01. 005.
- Gu SS, Lu J, Chen G. Diagnostic value of semi quantitative analysis of myocardial perfusion imaging for coronary atherosclerotic heart disease in elderly patients with different degrees of ischemia [J]. Journal of Capital Medical University, 2021, 42 (1) : 26-30 DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-7795. 2021. 01. 005.
- [16] Zhang TY, An DA, Zhou H, et al. Texture analysis of native T1 images as a novel method for non-invasive assessment of heart failure with preserved ejection fraction in end-stage renal disease patients[J]. Eur Radiol, 2023, 33 (3) : 2027-2038. DOI: 10. 1007/s00330-022-09177-5.
- [17] Espinasse M, Pitre-Champagnat S, Charmettant B, et al. CT texture analysis challenges: Influence of acquisition and reconstruction parameters; A Comprehensive Review [J]. Diagnostics (Basel), 2020, 10 (5) : 334-341. DOI: 10. 3390/diagnostics10050258.
- [18] 伍希, 唐露, 邓巧, 等. MRI 纹理分析预测心肌淀粉样变有无延迟强化的价值初探[J]. 磁共振成像, 2021, 12 (12) : 6-11. DOI: 10. 12015/issn. 1674-8034. 2021. 12. 002.
- Wu X, Tang L, Deng Q, et al. Value of MRI texture analysis in predicting delayed enhancement of myocardial amyloidosis [J]. Magnetic Resonance Imaging, 2021, 12 (12) : 6-11. DOI: 10. 12015/issn. 1674-8034. 2021. 12. 002.
- [19] 罗锦文, 王梦龙, 戴子扬, 等. 基于 CT 纹理分析在鉴别结直肠癌旁肿瘤沉积与转移淋巴结中的价值[J]. 临床放射学杂志, 2021, 40 (3) : 528-535.
- Luo JW, Wang ML, Dai ZY, et al. The value of CT texture analysis in differentiating tumor deposits and metastatic lymph nodes adjacent to colorectal cancer [J]. Journal of Clinical Radiology, 2021, 40 (3) : 528-535.
- [20] Bergler-Klein J. Myocardial damage in anthracyclines and breast cancer: Take a look at the Bull's eye [J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2021, 22 (4) : 416-417. DOI: 10. 1093/ehjci/jeab020.
- [21] 汪伶俐, 田武国, 赵健洁, 等. lncRNA NRON 靶向 miR-185-5 p 调节乳腺癌细胞化疗耐药性的机制研究[J]. 疑难病杂志, 2022, 21 (10) : 1088-1095. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 016.
- Wang LL, Tian WG, Zhao JJ, et al. Mechanism of lncRNA NRON targeting miR-185-5p regulating chemoresistance of breast cancer cells [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (10) : 1088-1095. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 016.
- [22] Zeydanli T, Kilic HK. Performance of quantitative CT texture analysis in differentiation of gastric tumors [J]. Jpn J Radiol, 2022, 40 (1) : 56-65. DOI: 10. 1007/s11604-021-01181-x.
- [23] Crimi F, Zanon C, Cabrelle G, et al. Contrast-Enhanced CT texture analysis in colon cancer: Correlation with genetic markers [J]. Tomography, 2022, 8 (5) : 2193-2201. DOI: 10. 3390/tomography8050184.
- (收稿日期: 2023-06-01)
-
- (上接 1031 页)
- [11] 王茹, 柯岩, 韦荣飞, 等. RBM15 结合促进 RNA 内含子或外显子滞留[J]. 生物化学与生物物理进展, 2021, 48 (6) : 667-676. DOI: 10. 16476/j. pibb. 2021. 0028.
- Wang R, Ke Y, Wei RF, et al. RBM15 promotes intron or exon retention [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2021, 48 (6) : 667-676. DOI: 10. 16476/j. pibb. 2021. 0028.
- [12] Zhu C, Li K, Jiang M, et al. RBM5-AS1 promotes radioresistance in medulloblastoma through stabilization of SIRT6 protein [J]. Acta Neuropathol Commun, 2021, 9 (1) : 123. DOI: 10. 1186/s40478-021-01218-2.
- [13] Yang F, Liu Y, Xiao J, et al. Circ-CTNNB1 drives aerobic glycolysis and osteosarcoma progression via m6A modification through interacting with RBM15 [J]. Cell Prolif, 2023, 56 (1) : e13344. DOI: 10. 1111/cpr. 13344.
- [14] Wu J, Wang X, Xu H, et al. Bioinformatics analysis of the correlation between m6A RNA methylation regulators and the immune infiltration and prognosis of bladder cancer [J]. Ann Transl Med, 2022, 10 (24) : 1386. DOI: 10. 21037/atm-22-5993.
- [15] Li R, Yin YH, Ji XL, et al. Pan-cancer prognostic, immunity, stemness, and anticancer drug sensitivity characterization of N6-methyladenosine RNA modification regulators in human cancers [J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 644620. DOI: 10. 3389/fmolb. 2021. 644620.
- [16] 顾锦, 史伟峰. 泛素特异性蛋白酶 24 的作用机制及研究进展[J]. 临床检验杂志, 2020, 38 (1) : 41-43. DOI: 10. 13602/j. cnki. jcls. 2020. 01. 11.
- Gu J, Shi WF. The mechanism of action and research progress of ubiquitin specific protease 24 [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2020, 38 (1) : 41-43. DOI: 10. 13602/j. cnki. jcls. 2020. 01. 11.
2020. 01. 11.
- [17] Wang YC, Wang SA, Chen PH, et al. Variants of ubiquitin-specific peptidase 24 play a crucial role in lung cancer malignancy [J]. Oncogene, 2016, 35 (28) : 3669-3680. DOI: 10. 1038/ncr. 2015. 432.
- [18] Wang YC, Wu YS, Hung CY, et al. USP24 induces IL-6 in tumor-associated microenvironment by stabilizing p300 and β -TrCP and promotes cancer malignancy [J]. Nat Commun, 2018, 9 (1) : 3996. DOI: 10. 1038/s41467-018-06178-1.
- [19] Wang SA, Wang YC, Chuang YP, et al. EGF-mediated inhibition of ubiquitin-specific peptidase 24 expression has a crucial role in tumorigenesis [J]. Oncogene, 2017, 36 (21) : 2930-2945. DOI: 10. 1038/ncr. 2016. 445.
- [20] 黄勇, 易发现, 任超, 等. AK092375 通过膀胱癌 GLUT3 的表达对 NF- κ B/TCS2/mTOR 信号通路相关因子的影响 [J]. 疑难病杂志, 2022, 21 (2) : 192-197. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 02. 017.
- Huang Y, Yi FX, Ren C, et al. Effects of AK092375 on NF κ B/TCS2/mTOR signaling pathway related factors through the expression of GLUT3 in bladder cancer [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (2) : 192-197. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 02. 017.
- [21] Zhang Y, Mandemaker IK, Matsumoto S, et al. USP44 stabilizes DDB2 to facilitate nucleotide excision repair and prevent tumors [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 663411. DOI: 10. 3389/fcell. 2021. 663411.
- [22] Zhao Z, Ju Q, Ji J, et al. N6-methyladenosine methylation regulator RBM15 is a potential prognostic biomarker and promotes cell proliferation in pancreatic adenocarcinoma [J]. Front Mol Biosci, 2022, 9: 842833. DOI: 10. 3389/fmolb. 2022. 842833.
- (收稿日期: 2023-06-18)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 006

肿瘤防治专题

同步推量放疗治疗乳腺癌骨转移疗效及对骨痛程度、PSA、NGF 水平的影响

刘晓静,冯常福,许在华,夏扬

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C213)

作者单位: 835000 新疆伊犁哈萨克自治州友谊医院放疗科

通信作者: 刘晓静, E-mail: bodil2015@163. com



【摘要】目的 观察同步推量放疗治疗乳腺癌骨转移患者的效果。**方法** 选取 2019 年 12 月—2022 年 3 月伊犁哈萨克自治州友谊医院放疗科收治乳腺癌骨转移患者 92 例,采用区组随机分组法分为观察组、对照组,各 46 例。对照组实施常规放疗,观察组实施同步推量放疗。统计放疗 5 周治疗效果及肿瘤靶区(GTV)、临床靶区(CTV)、计划靶区(PTV)实际放疗剂量,记录心脏及肺部照射剂量 10 Gy、20 Gy 的部位体积百分比;比较放疗前后骨痛程度、血清前列腺特异抗原(PSA)及神经生长因子(NGF)水平;统计不良反应发生情况,调查 3 个月后溶骨病灶修复情况。**结果** 观察组疾病控制率高于对照组(93.48% vs. 78.26%, $\chi^2/P=4.390/0.036$);观察组 GTV 剂量高于对照组,PTV 剂量低于对照组($t/P=4.932/ <0.001$, 4.494/ <0.001);观察组心脏、肺部受照 20 Gy 体积小于对照组($t/P=2.975/0.004$, 4.969/ <0.001);放疗 3 周观察组骨痛程度较对照组轻($Z/P=2.285/0.022$);放疗 3 周、5 周 2 组血清 PSA、NGF 水平低于放疗前,且放疗 5 周水平低于放疗 3 周,观察组水平低于对照组($F/P=13.746/ <0.001$, 11.942/ 0.002);观察组放射性损伤总体发生率低于对照组($\chi^2/P=4.483/0.034$);观察组溶骨病灶修复率高于对照组($\chi^2/P=4.089/0.043$)。**结论** 同步推量放疗治疗乳腺癌骨转移患者具有良好效果,可提高局部抗肿瘤效果,减少危及器官照射剂量,加快骨痛症状缓解,促进骨质钙化,安全性高。

【关键词】 乳腺癌;骨转移;同步推量放疗;骨痛程度;前列腺特异性抗原;神经生长因子

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

The effect of synchronous dose radiotherapy on bone metastasis of breast cancer and its influence on bone pain, PSA and NGF levels Liu Xiaojing, Feng Changfu, Xu Zaihua, Xia Yang. Department of Radiotherapy, Friendship Hospital of Ili Kazak Autonomous Prefecture, Xinjiang Province, Ili 835000, China

Corresponding author: Liu Xiaojing, E-mail: bodil2015@163. com

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region(2019D01C213)

【Abstract】 Objective To observe the effect of synchronous push radiotherapy on bone metastasis of breast cancer. **Methods** From December 2019 to March 2022, 92 patients with bone metastases from breast cancer were treated in the Department of Radiotherapy, Friendship Hospital, Ili Kazak Autonomous Prefecture. They were randomly divided into an observation group and a control group, with 46 cases in each group. The control group received routine radiotherapy, while the observation group received synchronous push dose radiotherapy. Calculate the 5-week treatment effect of radiotherapy, as well as the actual radiation dose to the tumor target area (GTV), clinical target area (CTV), and planned target area (PTV). Record the volume percentage of the 10 Gy and 20 Gy cardiac and pulmonary radiation doses; Compare the degree of bone pain, serum prostate specific antigen (PSA), and nerve growth factor (NGF) levels before and after radiotherapy; Count the occurrence of adverse reactions and investigate the repair of osteolytic lesions after 3 months. **Results** The disease control rate in the observation group was higher than that in the control group (93.48% vs. 78.26%, $\chi^2/P=4.390/0.036$). The GTV dose in the observation group was higher than that in the control group, while the PTV dose was lower than that in the control group ($t/P=4.932/ <0.001$, 4.494/ <0.001). The volume of the heart and lungs exposed to 20 Gy of radiation in the observation group was significantly smaller than that in the control group ($t/P=2.975/0.004$, 4.969/ <0.001). The degree of bone pain in the observation group after 3 weeks of radiotherapy was milder than that in the control group ($Z/P=2.285/0.022$). The levels of serum PSA and NGF in the two groups after 3 weeks and 5 weeks of radiotherapy were lower than be-

fore radiotherapy, and the levels after 5 weeks of radiotherapy were lower than those after 3 weeks of radiotherapy. The levels in the observation group were lower than those in the control group ($F/P=13.746/ <0.001, 11.942/0.002$); The overall incidence of radiation damage in the observation group is lower than that in the control group ($\chi^2/P=4.483/0.034$). The repair rate of osteolytic lesions in the observation group was higher than that in the control group ($\chi^2/P=4.089/0.043$).**Conclusion**

Synchronous dose radiotherapy for bone metastasis of breast cancer has a good effect, which can improve the local anti-tumor effect, reduce the radiation dose endangering organs, accelerate the relief of bone pain symptoms, promote bone calcification, and has high safety.

【Key words】 Breast cancer; Bone metastasis; Concurrent boost radiation; Bone pain severity; Prostate specific antigen; Nerve growth factor

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤。2021 年发表的一项研究显示,乳腺癌发生骨转移的概率为 31.6%,其次是肺癌 25.9%,而女性群体中发生骨转移的首要病因即是乳腺癌,占比达 50.4%,远超排在第 2 位的肺癌(24%)^[1]。乳腺肿瘤细胞的趋化及迁移、肿瘤炎性微环境促使骨转移发生,加快破骨细胞分化成熟,出现溶骨性骨质破坏,造成明显骨痛症状^[2]。目前放疗是治疗乳腺癌骨转移、缓解骨痛的重要方案,且近年来发展迅速,不同形式放疗方案逐渐取代常规放疗并在临床中广泛应用。同步推量放疗是指在同一照射野内对各靶区同时进行不同剂量的照射,与常规放疗方式相比,可增加肿瘤靶区照射剂量,减少周围正常组织照射剂量,最大程度提高肿瘤控制效果,降低对周围正常组织的影响^[3]。但目前临床关于同步推量放疗应用于乳腺癌骨转移的相关研究较少,其具体效果缺乏数据支持。基于此,本研究选取笔者医院乳腺癌骨转移患者,以分析同步推量放疗的临床价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 12 月—2022 年 3 月伊犁哈萨克自治州友谊医院放疗科收治乳腺癌骨转移患者 92 例,采用区组随机分组法分为观察组、对照组,各 46 例。观察组年龄 35~64 岁,体质量 41~75 kg;对照组年龄 32~65 岁,体质量 43~77 kg。2 组年龄、体质量、无骨转移时间、T 分期、腋窝淋巴结转移数目、骨转移病灶部位、骨转移病灶部位、骨转移数目、受累椎体数目、雌激素受体阳性比率、孕激素受体阳性比率、表皮生长因子受体-2 阳性比率、内分泌治疗比率、靶向治疗比率等资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(K20191121124),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:符合乳腺癌及骨转移诊断标准^[4-5];乳腺癌术后首次出现骨转移,经全身骨显像、磁共振成像、CT 检查可见骨转移典型影像学改变,存在明确骨转移灶;均为溶骨性骨转移;距末

次化疗时间 2~4 周;合并骨痛症状;卡氏评分(Karnofsky performance status, KPS) > 70 分,预估生存期 > 6 个月。(2)排除标准:经脑转移或其他内脏转移后发生骨转移;确诊乳腺癌后未经手术治疗;乳房假体植入史;合并病理性骨折、骨代谢性疾病;经骨质破坏相关治疗;肾功能异常;血清钙水平 ≥ 3 mmol/L;合并心肌炎、肺炎。

1.3 治疗方法 常规营养支持,预防病理性骨折,给予双膦酸盐延缓骨破坏,根据三阶梯治疗原则进行止痛。选择性对胸椎、腰椎、骨盆负重骨及疼痛显著的部位进行放疗,热塑胶模具将患者固定在放疗专用体板上,将患者负重骨及疼痛显著的部位作为放疗靶区中心,并在热塑胶模具上标记投影,模拟机下 CT 定位,双手置于两侧,头部常规固定,行 CT 增强扫描,层厚 3 mm,扫描范围包含原发肿瘤区与骨转移区,将扫描所得图像上传至计划系统做好局部放疗方案,分别勾勒肿瘤靶区(gross tumor volume, GTV)、临床靶区(clinical target volume, CTV)、计划靶区(planning target volume, PTV),其中 GTV 为肿瘤原发病灶及骨转移灶淋巴结,CTV 为 GTV 淋巴结引流区,PTV 在 CTV 基础上外扩 0.5 cm,靶区边界根据乳房大小、肿瘤及转移灶位置、手术情况进行综合界定。设野原则:椎体转移,取俯卧位后野照射,上下界均外放一个椎体,左右界为椎体边缘约 1 cm;其他部位,若边界清楚则病灶边缘外放约 2 cm,边界模糊则外放 3 cm,采取前后对穿野或单野照射,临近多发灶尽量包含在相同照射野中,浅表灶则增加 1~3 cm 组织补充膜。(1)对照组实施常规放疗,放疗靶区均给予剂量 2.0 Gy/次,5 次/周;放疗 5 周后根据肿瘤退缩情况进行缩野,继续放疗 1~2 周,对高度怀疑存在残留或复发病灶采用瘤床电子线补量 10 Gy。(2)观察组实施同步推量放疗:GTV 剂量 2.2 Gy/次、CTV 剂量 2.0 Gy/次、PTV 剂量 1.8 Gy/次,5 次/周,共 5 周。所有计划剂量均归一至 95% 靶区体积达到处方剂量要求,对心脏附近照射应以电子线辅助减少照射剂量。

表 1 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between the control group and the observation group

项 目		对照组 (n = 46)	观察组 (n = 46)	χ^2/t 值	P 值
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)		48.91 \pm 7.05	50.39 \pm 6.72	1.031	0.306
体质量 ($\bar{x} \pm s$, kg)		61.26 \pm 7.58	59.37 \pm 7.24	1.223	0.225
无骨转移时间[例(%)]	<24 个月	27(58.70)	24(52.17)	0.396	0.529
	\geq 24 个月	19(41.30)	22(47.83)		
T 分期[例(%)]	T2	35(76.09)	32(69.57)	0.494	0.482
	T3 ~ T4	11(23.91)	14(30.43)		
腋窝淋巴结转移数目[例(%)]	<10 枚	20(43.48)	17(36.96)	0.407	0.524
	\geq 10 枚	26(56.52)	29(63.04)		
骨转移病灶部位[例(%)]*	胸骨	13(24.07)	16(28.57)	0.286	0.593
	胸椎	12(26.09)	14(30.43)	0.215	0.643
	腰椎	6(13.04)	7(15.22)	0.090	0.765
	骨盆	13(24.07)	11(19.64)	0.151	0.698
	肢体	10(18.52)	8(14.29)	0.360	0.549
骨转移数目[例(%)]	单发	40(86.96)	38(82.61)	0.337	0.562
	多发	6(13.04)	8(17.39)		
受累椎体数目[例(%)]	单一椎体	14(30.43)	15(32.61)	0.050	0.822
	多椎体	2(4.35)	3(6.52)	<0.001	1.000
雌激素受体阳性比率[例(%)]		16(34.78)	17(36.96)	0.047	0.828
孕激素受体阳性比率[例(%)]		17(36.96)	15(32.61)	0.192	0.662
表皮生长因子受体-2 阳性比率[例(%)]		10(21.74)	9(19.57)	0.066	0.797
内分泌治疗比率[例(%)]		33(71.74)	32(69.57)	0.052	0.819
靶向治疗比率[例(%)]		10(21.74)	9(19.57)	0.066	0.797

注：* 观察组骨转移病灶总数为 56 枚,对照组骨转移病灶总数为 54 枚。

雌激素受体阳性、孕激素受体阳性、表皮生长因子受体-2 阳性患者同期进行内分泌治疗和/或靶向治疗。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 治疗效果:放疗 5 周时参考实体瘤临床疗效评价标准^[6]评估治疗效果。完全缓解 (complete remission, CR):骨转移病灶完全消失,持续时间 \geq 4 周;部分缓解 (partial remission, PR):骨转移病灶最大径之和缩小 \geq 30%但病灶未完全消失,持续时间 \geq 4 周;疾病稳定 (stable disease, SD):骨转移病灶最大径之和减少<30%或增加<20%,持续时间 \geq 4 周;疾病进展 (progressive disease, PD):骨转移病灶最大径之和增加 \geq 20%,持续时间 \geq 4 周。疾病控制率 = (CR + PR + SD)/总例数 \times 100%。

1.4.2 靶区剂量:比较 2 组放疗 5 周时 PTV、CTV、GTV 靶区实际放疗剂量。

1.4.3 心脏及肺部受照体积:分别比较心脏及肺部照射剂量 10 Gy、20 Gy 的部位体积百分比。处方剂量约束条件为 95% ~ 105%,计划剂量同侧肺部照射体积<20%,对侧肺部照射体积<10%,心脏最大照射剂量<35 Gy。

1.4.4 骨痛程度:以疼痛数字化评估量表 (NRS) 进行判定,共 0 ~ 10 分,分值越高表明疼痛越严重,指导患

者选择可代表自身疼痛的数字,其中 1 ~ 3 分表示轻度疼痛,4 ~ 6 分表示中度疼痛,7 ~ 10 分表示重度疼痛,评估时间为放疗前、放疗 3 周、放疗 5 周。

1.4.5 肿瘤标志物检测:放疗前、放疗 3 周、放疗 5 周,抽取患者空腹肘静脉血 3 ml,离心留取血清低温保存,以钰博生物科技有限公司双抗体夹心法试剂盒检测血清前列腺特异抗原 (prostate specific antigen, PSA) 水平,以赫澎 (上海) 生物科技有限公司酶联免疫法试剂盒检测血清神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 水平。

1.4.6 不良反应:参考《美国国立癌症研究所常规毒性判定标准》^[7]比较 2 组不良反应,包括皮肤反应、骨髓抑制、咽部疼痛、消化道反应、放射性损伤等。

1.4.7 溶骨病灶修复情况:随访 3 个月,比较溶骨病灶完全钙化及部分钙化情况,其中完全钙化为溶骨性病灶完全修复,部分钙化为溶骨性病灶修复原有溶骨面积的 50% 以上,均采用常规 X 线及 ECT 扫描半定量分析结果进行判定。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,不同时间比较采用重复测量方差分析;计数资料以频数或率 (%) 表示,组间比较采用

χ^2 检验,等级资料采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组治疗效果比较 治疗 5 周后,观察组疾病控制率为 93.48%,高于对照组的 78.26%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者治疗效果比较 [例(%)]

Tab.2 Comparison of treatment effects between the control group and the observation group

组 别	例数	CR	PR	SD	PD	疾病控制率 (%)
对照组	46	0	11(23.91)	25(54.35)	10(21.74)	78.26
观察组	46	0	19(41.31)	24(52.17)	3(6.52)	93.48
U/χ^2 值				$U = 2.092$		$\chi^2 = 4.390$
P 值				0.036		0.036

2.2 2 组靶区剂量比较 2 组 CTV 剂量比较差异无统计学意义($P > 0.05$),观察组 GTV 剂量高于对照组,PTV 剂量低于对照组($P < 0.01$),见表 3。

表 3 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者不同靶区剂量比较 ($\bar{x} \pm s$, Gy)

Tab.3 Comparison of doses in different target areas between the control group and the observation group

组 别	例数	GTV	CTV	PTV
对照组	46	51.32 \pm 3.08	50.44 \pm 4.21	49.21 \pm 3.43
观察组	46	54.27 \pm 2.64	51.27 \pm 3.35	46.16 \pm 3.07
t 值		4.932	1.046	4.494
P 值		<0.001	0.298	<0.001

2.3 2 组心脏及肺部受照剂量体积比较 2 组心脏及肺部受照 10 Gy 剂量体积比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组心脏及肺部受照 20 Gy 体积小于对照组($P < 0.01$),见表 4。

表 4 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者心脏及肺部受照剂量体积比较 ($\bar{x} \pm s$, %)

Tab.4 Comparison of cardiac and pulmonary radiation dose-volume between the control group and the observation group

组 别	例数	心脏		肺部	
		10 Gy	20 Gy	10 Gy	20 Gy
对照组	46	31.33 \pm 2.65	9.28 \pm 1.95	26.53 \pm 3.05	12.09 \pm 1.92
观察组	46	30.52 \pm 2.78	8.11 \pm 1.82	25.44 \pm 2.86	10.24 \pm 1.64
t 值		1.430	2.975	1.768	4.969
P 值		0.156	0.004	0.080	<0.001

2.4 2 组放疗前后骨痛程度比较 放疗 3 周观察组骨痛程度较对照组轻($Z/P = 2.285/0.022$),放疗前、放疗 5 周 2 组骨痛程度比较差异无统计学意义($Z/P = 0.349/0.727$ 、1.201/0.230),见表 5。

表 5 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者骨痛程度比较 [例(%)]

Tab.5 Comparison of bone pain levels between the control group and the observation group

组 别	时间	轻度	中度	重度
对照组 ($n = 46$)	放疗前	9(19.57)	17(36.96)	20(43.48)
	放疗 3 周	11(23.91)	23(50.00)	12(26.09)
	放疗 5 周	25(54.35)	12(26.09)	9(19.56)
观察组 ($n = 46$)	放疗前	7(15.22)	18(39.13)	21(45.65)
	放疗 3 周	24(52.17)	14(30.44)	8(17.39)
	放疗 5 周	31(67.39)	10(21.74)	5(10.87)
Z/P 对照组内值		1.366/ 0.172	1.548/ 0.122	0.105/0.916
Z/P 观察组内值		3.659/ <0.001	4.805/ <0.001	1.303/0.193

2.5 2 组放疗前后肿瘤标志物比较 与放疗前比较,放疗 3 周、5 周 2 组血清 PSA、NGF 水平降低,且放疗 5 周低于放疗 3 周($P < 0.05$),观察组血清 PSA、NGF 水平平均低于对照组($P < 0.05$),见表 6。

表 6 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者肿瘤标志物指标比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Tab.6 Comparison of tumor marker indicators between the control group and the observation group

组 别	时间	PSA	NGF
对照组 ($n = 46$)	放疗前	523.86 \pm 82.47	664.82 \pm 93.05
	放疗 3 周	406.57 \pm 77.13	506.37 \pm 79.21
	放疗 5 周	330.56 \pm 72.49	401.37 \pm 74.63
观察组 ($n = 46$)	放疗前	552.48 \pm 91.32	692.38 \pm 84.19
	放疗 3 周	352.05 \pm 70.69	458.72 \pm 75.56
	放疗 5 周	269.81 \pm 68.44	349.43 \pm 68.22
F/P 对照组内值		72.332/ <0.001	118.086/ <0.001
F/P 观察组内值		161.572/ <0.001	242.408/ <0.001
F/P 放疗后组间值		13.746/ <0.001	11.942/ 0.002

2.6 2 组不良反应比较 观察组放射性损伤总体发生率低于对照组($P < 0.05$)。2 组骨髓抑制、胃肠道反应、皮肤反应、咽部疼痛总体发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 7。

2.7 溶骨病灶修复率比较 随访 3 个月,观察组完全钙化 1 例,部分钙化 13 例;对照组未见完全钙化病例,部分钙化 6 例。观察组溶骨病灶修复率为 30.43% (14/46),高于对照组的 13.04% (6/46),差异有统计学意义($\chi^2 = 4.089$, $P = 0.043$)。

表 7 对照组与观察组乳腺癌骨转移患者不良反应发生率比较 [例(%)]

Tab.7 Comparison of adverse reaction rates between the control group and the observation group

组 别	级别	骨髓抑制	胃肠道反应	皮肤反应	咽部疼痛	放射性损伤
对照组 (n = 46)	1 ~ 2 级	19(41.30)	7(15.22)	38(82.61)	10(21.74)	22(47.83)
	3 ~ 4 级	1(2.17)	0	7(15.22)	3(6.52)	2(4.35)
	总计	20(43.48)	7(15.22)	45(97.83)	13(28.26)	24(52.17)
观察组 (n = 46)	1 ~ 2 级	14(30.43)	8(17.39)	39(84.78)	9(19.57)	13(28.26)
	3 ~ 4 级	2(4.35)	1(2.17)	4(8.70)	2(4.35)	1(2.17)
	总计	16(34.78)	9(19.57)	43(93.48)	11(23.91)	14(30.43)
χ^2/P 值		0.730/0.393	0.303/0.582	0.261/0.609	0.226/0.635	4.483/0.034

3 讨 论

骨转移在乳腺癌患者中较常见,约占乳腺癌远处转移患者的 75%,可伴有高血钙、病理性骨折、骨痛等症状^[8]。放疗是乳腺癌骨转移的传统治疗方案,具有较好止痛效果,且能防止椎体骨转移,结合双膦酸盐、止痛、营养支持等进行综合干预是临床主要治疗方案。但常规放疗存在一定局限性,主要为:(1)为保护周围正常组织需严格限制放疗剂量;(2)靶区剂量均衡导致放疗后需进行缩野加量,延长总治疗时间。因此,探究更有效、安全的放疗方式具有重要意义。

同步推量放疗可调节不同靶区剂量强度,在确保肿瘤病灶照射剂量的同时最大程度降低对周围正常组织的影响,且放疗周期结束后无需进行缩野加量,有助于缩短治疗时间、减轻经济负担,与常规放疗相比具有明显优势^[9]。有学者将同步推量放疗应用于食管鳞癌患者,发现同步推量放疗可有效提高疾病缓解率,延长中位生存期^[10]。本研究将同步推量放疗应用于乳腺癌骨转移患者,结果显示观察组疾病控制率明显更高;统计放疗 5 周时不同靶区剂量,发现观察组 GTV 剂量更高、PTV 剂量更低,说明通过针对性调整不同靶区剂量有助于提高疾病控制率。本研究进一步发现,放疗 3 周、5 周 2 组血清 PSA、NGF 水平持续下降,且观察组下降幅度更大。PSA 在女性体内主要存在于乳腺、卵巢等依赖激素调控的组织,乳腺癌组织病变导致孕激素、雌激素水平提高,并结合受体调节 PSA 基因转录,促使激素应答效应分子 PSA 大量分泌,导致其在血清中呈高表达状态^[11-12]。血清 PSA 水平提高可刺激细胞生长,促使生成肿瘤血管,为肿瘤细胞生长、转移提供有利环境^[13]。NGF 具有促进乳腺癌细胞转录、增殖作用,可提高下游生长因子活性,介导细胞磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路,激活癌细胞 DNA 上游转录启动因子,提高远处转移风险^[14-15]。同时 NGF 能通过影响肿瘤组织表面蛋白的糖蛋白配体活性起到抑制肿瘤细胞间黏附作用,有助于减少肿瘤细胞转移难度^[16]。PSA、NGF 均可作为乳腺癌骨转移

患者肿瘤标志物,上述结果表明同步推量放疗有助于进一步增强抗肿瘤效果。放疗主要通过高能放射线杀灭肿瘤细胞,提高肿瘤病灶及转移灶照射剂量有助于增强放疗抗肿瘤效果;同步推量放疗在临床应用中可解决常规放疗剂量分布均匀的缺陷,在控制正常组织损伤基础上加强病灶控制,对提高放疗效果有积极作用^[17-18]。

骨转移是导致晚期肿瘤患者骨痛的最主要因素,骨转移后肿瘤细胞种植生长于骨骼,提高破骨细胞活性,造成溶骨性破坏,且肿瘤在侵犯骨膜及周围组织时会分泌肿瘤坏死因子、乳酸、前列腺素等疼痛递质,出现疼痛感^[19-20]。本研究发现,放疗 5 周 2 组骨痛程度无明显差异,而放疗 3 周观察组骨痛程度较对照组更轻,提示同步推量放疗有助于加快疼痛缓解。骨转移患者疼痛主要是由于肿瘤细胞转移至骨骼后诱发溶骨反应所致,通过放疗可有效杀灭肿瘤细胞,抑制溶骨反应释放的疼痛化学介质,从而减轻骨痛症状;而同步推量放疗可进一步加强局部肿瘤控制效果,有助于缩短骨痛控制时间^[21-23]。进一步分析发现,观察组心脏及肺部受照 20 Gy 体积小于对照组,且放射性损伤发生率更低,这说明同步推量放疗可通过减少危及器官照射体积以达到降低放射性损伤的目的,提示与常规放疗相比具有更高安全性。

本研究进一步统计了放疗后溶骨病灶钙化情况,既往研究中关于此方面的数据较少,结果显示观察组溶骨病灶修复率高于对照组。一般认为,放疗对溶骨性骨质破坏无直接修复作用,骨转移患者多通过双膦酸盐延缓骨破坏、预防骨不良事件,其效果已在多项研究中得到证实^[24-26]。本研究结果表明放疗对促进骨质修复有积极作用,其原因可能在于放疗可有效杀灭肿瘤细胞,抑制肿瘤细胞造成的溶骨性破坏,与双膦酸盐联合应用具有协同效果,有助于增强其骨质修复作用,而同步推量放疗可在常规放疗基础上进一步增强抗肿瘤效果,以促进受损骨质钙化。需指出的是,本研究随访时间较短、所选病例偏少,关于同步推量放疗对

溶骨病灶修复的远期效果,仍需临床多中心选取病例进行长期随访研究。

综上,同步推量放疗可解决常规放疗靶区剂量均匀的缺陷,有助于针对性调整照射剂量,应用于乳腺癌骨转移患者可提高疾病控制率,促进骨痛症状缓解,降低肿瘤标志物水平,加快溶骨性病灶钙化,减少放射性损伤。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘晓静:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;冯常福:分析试验数据,进行统计学分析;许在华、夏扬:实施研究过程,资料搜集整理

参考文献

- [1] Ruiz-Alva SK, Cortes-Cerda R, Mora-Ríos FG, et al. Tumors that cause bone metastases[J]. Acta Ortop Mex, 2021, 35(2): 201-205.
- [2] Li Y, Zhang H, Zhao Y, et al. A mandatory role of nuclear PAK4-LI-FR axis in breast-to-bone metastasis of ER α -positive breast cancer cells[J]. Oncogene, 2019, 38(6): 808-821. DOI: 10. 1038/s41388-018-0456-0.
- [3] Huang JH, Wu XX, Lin X, et al. Evaluation of fixed-jaw IMRT and tangential partial-VMAT radiotherapy plans for synchronous bilateral breast cancer irradiation based on a dosimetric study[J]. J Appl Clin Med Phys, 2019, 20(9): 31-41. DOI: 10. 1002/acm2. 12688.
- [4] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [5] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [6] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [7] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [8] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [9] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [10] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [11] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [12] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [13] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [14] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [15] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.
- [16] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9): 695-759. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2017. 09. 004.

杂志, 2020, 27(2): 191-198. DOI: 10. 3872/j. issn. 1007-385x. 2020. 02. 014.

Chen F. Prognostic factors related to bone metastasis of breast cancer[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2020, 27(2): 191-198. DOI: 10. 3872/j. issn. 1007-385x. 2020. 02. 014.

- [9] Kwak YK, Lee SW, Kay CS, et al. Intensity-modulated radiotherapy reduces gastrointestinal toxicity in pelvic radiation therapy with moderate dose[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183339. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0183339.
- [10] 张振, 盛立军, 韩春燕, 等. 同步加量调强放射治疗食管鳞癌 31 例临床疗效观察[J]. 山东医药, 2019, 59(22): 66-68. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2019. 22. 019.
- [11] Zhang Z, Sheng LJ, Han CY, et al. Clinical efficacy observation of synchronized dose modulated radiation therapy for 31 cases of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Shandong Medical Journal, 2019, 59(22): 66-68. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2019. 22. 019.
- [12] Srinivasan S, Stephens C, Wilson E, et al. Prostate cancer risk-associated single-nucleotide polymorphism affects prostate-specific antigen glycosylation and its function[J]. Clin Chem, 2019, 65(1): e1-e9. DOI: 10. 1373/clinchem. 2018. 295790.
- [13] 吴静, 汪贤云, 田晓燕, 等. 前列腺特异性抗原密度在 PI-RADS v2 评分 3 分患者中的应用价值[J]. 实用放射学杂志, 2021, 37(2): 271-274. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-1671. 2021. 02. 024.
- [14] Wu J, Wang XY, Tian XY, et al. The application value of prostate specific antigen density in patients with PI-RADS v2 score of 3[J]. Journal of Practical Radiology, 2021, 37(2): 271-274. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-1671. 2021. 02. 024.
- [15] Teoh JY, Yuen SK, Tsu JH, et al. The performance characteristics of prostate-specific antigen and prostate-specific antigen density in Chinese men[J]. Asian J Androl, 2017, 19(1): 113-116. DOI: 10. 4103/1008-682X. 167103.
- [16] 王文慧, 温媛媛, 陈豪. 血清神经生长因子及细胞免疫水平在乳腺癌中的表达及其与临床病理特征的相关性[J]. 中国医药导报, 2020, 17(11): 88-92.
- [17] Wang WH, Wen YY, Chen H. Expression of serum nerve growth factor and cellular immune level in breast cancer and their correlation with clinicopathological characteristics[J]. China Medical Journal, 2020, 17(11): 88-92.
- [18] Tan Z, Kang T, Zhang X, et al. Nerve growth factor prevents arsenic-induced toxicity in PC12 cells through the AKT/GSK-3 β /NFAT pathway[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 4726-4738. DOI: 10. 1002/jcp. 27255.
- [19] 廖柳清, 唐艳青, 钟荣德, 等. 血清 NGF、MT-1E 水平变化与乳腺癌病理学特征的关系[J]. 山东医药, 2019, 59(2): 70-72. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2019. 02. 020.
- [20] Liao LQ, Tang YQ, Zhong RD, et al. The relationship between the changes of serum NGF and MT-1E levels and the pathological characteristics of breast cancer[J]. Shandong Medical Journal, 2019, 59(2): 70-72. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2019. 02. 020.

(下转 1050 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.007

肿瘤防治专题

TOP2A 联合 miR-21 检测在宫颈癌病情及预后评估中的价值

万晶晶, 姚莉, 李梦琳, 甘艳玲, 汪晶

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(WJ2019A265)

作者单位: 430000 武汉, 武汉市第三医院产科(万晶晶、姚莉、李梦琳、甘艳玲); 430060 武汉大学人民医院妇产科(汪晶)

通信作者: 汪晶, E-mail: kivi2008@163.com



【摘要】目的 分析拓扑异构酶 II α (TOP2A) 联合 miR-21 检测在宫颈癌病情及预后评估中的价值。**方法** 选择 2015 年 1 月—2016 年 12 月武汉市第三医院和武汉大学人民医院妇产科诊治的宫颈癌患者 (CVC 组) 80 例及宫颈良性疾病患者 (CON 组) 45 例为研究对象, 采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 CVC 组和 CON 组宫颈组织中 TOP2A 及 miR-21 表达, 比较 CVC 组不同临床病理因素中肿瘤组织 TOP2A 及 miR-21 表达的差异; 分析 TOP2A、miR-21 表达与生存期的关系。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 TOP2A 及 miR-21 预测宫颈癌 1 年预后不良的价值; 多因素 Logistic 回归分析宫颈癌死亡的危险因素。**结果** CVC 组患者肿瘤组织 TOP2A 及 miR-21 表达均显著高于癌旁组织及 CON 组 ($F/P = 83.181 / < 0.001, 106.861 / < 0.001$)。分化程度低分化、组织学分级 G3、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 、有淋巴结转移及 FIGO 分期 III + IV 期患者 TOP2A 及 miR-21 表达高于分化程度中—高分化、组织学分级 G1 + G2、肌层浸润深度 $< 1/2$ 、无淋巴结转移及 I + II 期患者 (TOP2A: $t/P = 15.341 / < 0.001, 9.687 / < 0.001, 18.459 / < 0.001, 9.812 / < 0.001, 21.722 / < 0.001$; miR-21: $t/P = 9.052 / < 0.001, 10.441 / < 0.001, 17.391 / < 0.001, 8.457 / < 0.001, 18.236 / < 0.001$)。CVC 组宫颈癌 TOP2A ≥ 1.82 且 miR-21 ≥ 1.36 患者中位生存期低于 TOP2A < 1.82 或 miR-21 < 1.36 患者 (Logrank = 8.645, $P = 0.003$)。TOP2A、miR-21 及二者联合预测宫颈癌 1 年预后不良的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.815、0.831、0.927, 二者联合的 AUC 最大 ($Z/P = 2.542 / 0.018, 2.218 / 0.021$)。分化程度低分化、组织学分级 G3、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 、有淋巴结转移、FIGO 分期 III + IV 期、TOP2A 表达 ≥ 1.82 、miR-21 表达 ≥ 1.36 为宫颈癌死亡的独立危险因素 [$OR (95\% CI) = 1.978 (1.134 \sim 5.792), 2.085 (1.027 \sim 5.092), 2.252 (1.131 \sim 4.877), 3.425 (1.361 \sim 5.082), 4.297 (1.245 \sim 6.138), 2.654 (1.189 \sim 6.712), 2.512 (1.182 \sim 5.956)$]。**结论** 宫颈癌患者肿瘤组织 TOP2A 及 miR-21 表达显著升高, 与分化程度、组织学分级、肌层浸润深度、淋巴结转移、FIGO 分期相关, 可作为宫颈癌病情及预后评估的标志物。TOP2A 联合 miR-21 检测可显著提高预测宫颈癌预后不良的价值。

【关键词】 宫颈癌; 拓扑异构酶 II α ; miR-21; 病情; 预后; 临床价值

【中图分类号】 R737.33

【文献标识码】 A

The value of TOP2A combined with miR-21 detection in evaluating the condition and prognosis of cervical cancer

Wan Jingjing*, Yao Li, Li Menglin, Gan Yanling, Wang Jing. * Department of Obstetrics, Wuhan Third Hospital, Hubei Province, Wuhan 430000, China

Corresponding author: Wang Jing, E-mail: kivi2008@163.com

Funding program: Natural Science Foundation of Hubei Province (WJ2019A265)

【Abstract】Objective To analyze the value of Topoisomerase II α (TOP2A) combined with miR-21 detection in evaluating the condition and prognosis of cervical cancer. **Methods** Eighty cervical cancer patients (CVC group) and 45 cervical benign disease patients (CON group) who were diagnosed and treated in the Obstetrics and Gynecology Department of Wuhan Third Hospital and Wuhan University People's Hospital from January 2015 to December 2016 were selected as the research subjects. Real time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of TOP2A and miR-21 in cervical tissues of the CVC group and CON group, and to compare the differences in tumor tissue TOP2A and miR-21 expression in different clinical and pathological factors in the CVC group. Analyze the relationship between TOP2A, miR-21 expression and survival. The value of using ROC curves to analyze TOP2A and miR-21 in predicting 1-year poor prognosis of cervical cancer; Multivariate logistic regression analysis of risk factors for cervical cancer death. **Results** The

expression of TOP2A and miR-21 in tumor tissues of patients in the CVC group was significantly higher than that in adjacent cancer tissues and the CON group ($F/P=83.181/ <0.001$, $106.861/ <0.001$). The expression of TOP2A and miR-21 in patients with low differentiation, histological grade G3, depth of muscle infiltration $\geq 1/2$, lymph node metastasis, and stage III + IV was significantly higher than that in patients with medium to high differentiation, histological grade G1 + G2, and depth of muscle infiltration $<1/2$ Patients without lymph node metastasis and stage I + II (TOP2A: $t/P=15.341/ <0.001$, $9.687/ <0.001$, $18.459/ <0.001$, $9.812/ <0.001$, $21.722/ <0.001$; miR-21: $t/P=9.052/ <0.001$, $10.441/ <0.001$, $17.391/ <0.001$, $8.457/ <0.001$, $18.236/ <0.001$). The median survival of patients with cervical cancer TOP2A ≥ 1.82 and miR-21 ≥ 1.36 in the CVC group was lower than that of patients with TOP2A <1.82 or miR-21 <1.36 (Log rank = 8.645, $P=0.003$). The area under the curve (AUC) of TOP2A, miR-21, and their combination for predicting 1-year poor prognosis of cervical cancer were 0.815, 0.831, and 0.927, respectively. The combination of the two had the highest AUC ($Z/P=2.542/0.018$, $2.218/0.021$). Low differentiation, histological grade G3, depth of muscle infiltration $\geq 1/2$, lymph node metastasis, FIGO stage III + IV, TOP2A expression ≥ 1.82 , miR-21 expression ≥ 1.36 are independent risk factors for cervical cancer death [$OR(95\% CI)=1.978 (1.134 - 5.792)$, $2.085 (1.027 - 5.092)$, $2.252 (1.131 - 4.877)$, $3.425 (1.361 - 5.082)$, $4.297 (1.245 - 6.138)$, $2.654 (1.189 - 6.712)$, $2.512 (1.182 - 5.956)$].

Conclusion

The expression of TOP2A and miR-21 in tumor tissue of cervical cancer patients is significantly increased, which is related to the degree of differentiation, histological grading, depth of muscle invasion, lymph node metastasis, and FIGO staging. It can be used as a biomarker for evaluating the condition and prognosis of cervical cancer. The combination of TOP2A and miR-21 detection can significantly improve the predictive value of poor prognosis in cervical cancer.

【Key words】 Cervical cancer; Topoisomerase II α ; Micro RNA-21; Disease condition; Prognosis; Clinical value

宫颈癌(cervical cancer)的发病机制与癌基因及微小 RNA(miRNA)等表达异常有关,越来越多的研究证实癌基因与 miRNA 可作为宫颈癌病情及预后评估的标志物,其敏感度及特异度高于传统的肿瘤标志物及 FIGO 分期^[1-2]。拓扑异构酶 II α (topoisomerase II α , TOP2A)在 DNA 分裂、修复重组、转录等过程中具有调节 DNA 拓扑结构功能,研究发现宫颈癌患者 TOP2A 表达显著升高且与临床病理因素相关^[3]。miR-21 具有调控肿瘤细胞增殖、迁移及侵袭等恶性生物学行为,研究发现 miR-21 在宫颈癌中表达显著升高^[4]。目前 TOP2A 及 miR-21 在宫颈癌病情及预后评估中的临床价值尚无相关研究。因此,现分析 TOP2A 联合 miR-21 在宫颈癌病情及预后评估中的价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性收集 2015 年 1 月—2016 年 12 月武汉市第三医院和武汉大学人民医院妇产科诊治的宫颈癌患者 80 例为 CVC 组,另选择同期宫颈良性疾病(包括宫颈息肉、慢性宫颈炎等)患者 45 例为对照组(CON 组)。2 组患者在年龄、病程、卡氏评分、体质指数(BMI)、高血压、糖尿病、家族史、宫颈炎、HPV 感染等方面比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05),具有可比性,见表 1,本研究经医院医学伦理委员会审核批准(2015011),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①经影像学、宫颈活检或手术病理组织学检查确诊;②首次诊治,既往

表 1 CVC 组与 CON 组患者临床资料比较
Tab. 1 Comparison of clinical data between CVC group and CON group patients

项 目	CON 组 ($n=45$)	CVC 组 ($n=80$)	χ^2/t 值	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	58.31 \pm 7.72	58.14 \pm 7.53	0.120	0.905
病程($\bar{x} \pm s$, 年)	0.52 \pm 0.16	0.54 \pm 0.15	0.699	0.486
卡氏评分($\bar{x} \pm s$, 分)	94.27 \pm 5.33	94.19 \pm 5.24	0.081	0.935
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	24.19 \pm 4.74	24.25 \pm 4.63	0.069	0.945
高血压[例(%)]	20(44.44)	29(36.25)	0.504	0.478
糖尿病[例(%)]	9(20.00)	18(22.50)	0.009	0.921
家族史[例(%)]	6(13.33)	11(13.75)	0.043	0.836
宫颈炎[例(%)]	40(88.89)	68(85.00)	0.114	0.730
HPV 感染[例(%)]	34(75.56)	60(75.00)	0.022	0.883

无宫颈癌病史且未行手术、放疗、化疗及靶向药物等治疗;③卡氏评分 ≥ 70 分,预计生存期 ≥ 3 个月,临床资料完整。(2)排除标准:合并其他肿瘤、严重心脑血管病及子宫继发性良恶性肿瘤、精神神经疾病等。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 miR-21、TOP2A 表达检测:CVC 组患者取肿瘤组织及癌旁组织,CON 组患者取宫颈组织。采用实时荧光定量 PCR(real-time fluorescent quantitative PCR, qRT-PCR)法检测宫颈癌肿瘤组织、癌旁组织、宫颈组织 miR-21 及 TOP2A 表达,其中 miR-21 上游引物序列为 5'-GCTTATCAGACTGATGTTG-3',下游引物序列为 5'-GAACATGTCTGCGTATCTC-3';TOP2A 上游引物序列为 5'-CTAGTTAATGCTGCGGACAACA-3',下游引物序列为 5'-CATTTGACCCACCTGTCACTT-3'。提取

各组组织总 RNA 纯化并定量,逆转录成 cDNA 后行 PCR 扩增(大连宝生物工程公司),反应体系为 25 μ l,反应条件为:45℃ 孵育 15 min,95℃ 预变性 1 min;55℃ 退火 1 min,68℃ 延伸扩增 1 min,30 个循环,最后一轮 72℃ 反应 5 min。TOP2A 选择 GAPDH 为内参,miR-21 选择 U6 为内参,分别采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 TOP2A、miR-21 相对表达量。qRT-PCR 相关试剂购自大连宝生物工程公司,PCR 仪器购自美国 ABI 公司(型号 HT9700)。

1.3.2 预后随访:CVC 组宫颈癌患者每 3 个月电话或门诊随访 1 次,内容包括:生存质量、肿瘤标志物、治疗状况及生存状况。随访时间至 2023 年 4 月(随访终点)。统计患者 1 年预后(死亡、复发、进展、继发严重并发症定义为预后不良)、总生存期及预后终点事件(死亡或存活)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行数据的处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 TOP2A 及 miR-21 预测宫颈癌患者 1 年预后不良的效能;多因素 Logistic 回归分析宫颈癌死亡的危险因素;Kaplan-Meier 法分析 TOP2A 及 miR-21 表达与生存期的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 TOP2A 及 miR-21 表达比较 CVC 组患者肿瘤组织 TOP2A 及 miR-21 表达均显著高于癌旁组织及 CON 组($P < 0.01$)。癌旁组织与 CON 组 TOP2A 及

miR-21 表达差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 CON 组和 CVC 组 TOP2A 及 miR-21 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Comparison of TOP2A and miR-21 expression between CON group and CVC group

组 别	例数	TOP2A 表达	miR-21 表达
CON 组	45	1.12 \pm 0.29	0.72 \pm 0.31
癌旁组织	80	1.14 \pm 0.35	0.73 \pm 0.28
肿瘤组织	80	1.82 \pm 0.43	1.36 \pm 0.32
F 值		83.181	106.861
P 值		<0.001	<0.001

2.2 TOP2A 及 miR-21 表达在不同临床/病理因素中差异比较 CVC 组肿瘤组织 TOP2A 及 miR-21 表达在年龄、HPV 感染及病理类型方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$),分化程度低分化、组织学分级 G3、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 、有淋巴结转移及 III + IV 期患者 TOP2A 及 miR-21 表达显著高于分化程度中—高分化、组织学分级 G1 + G2、肌层浸润深度 $< 1/2$ 、无淋巴结转移及 I + II 期患者($P < 0.05$),见表 3。

2.3 预后情况 CVC 组宫颈癌患者随访至终点(2023 年 4 月)死亡 52 例,存活 28 例;疾病进展(包括复发)56 例;继发直肠阴道漏 12 例、膀胱阴道漏 9 例、IV 度骨髓抑制 25 例、IV 度肝肾功能损伤 21 例。

2.4 TOP2A、miR-21 与宫颈癌生存期关系 CVC 组宫颈癌 TOP2A ≥ 1.82 且 miR-21 ≥ 1.36 患者中位生存期(31.4 \pm 5.5)个月低于 TOP2A < 1.82 或 miR-21 < 1.36 患者(39.6 \pm 6.2)个月(Logrank = 8.645, $P = 0.003$)。

表 3 宫颈癌肿瘤组织 TOP2A 及 miR-21 表达与临床病理因素的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Relationship between the expression of TOP2A and miR-21 in cervical cancer tumor tissue and clinical pathological factors								
项 目		例数	TOP2A 表达	t 值	P 值	miR-21 表达	t 值	P 值
年龄	≥ 60 岁	35	1.91 \pm 0.52	1.193	0.237	1.42 \pm 0.41	1.324	0.208
	< 60 岁	45	1.79 \pm 0.38			1.28 \pm 0.36		
HPV 感染	有	60	1.82 \pm 0.39	0.094	0.926	1.27 \pm 0.42	1.313	0.193
	无	20	1.84 \pm 0.42			1.41 \pm 0.39		
病理类型	鳞癌	62	1.81 \pm 0.51	0.148	0.882	1.31 \pm 0.32	0.765	0.446
	其他	18	1.83 \pm 0.48			1.38 \pm 0.41		
分化程度	中—高分化	50	1.15 \pm 0.24	15.341	<0.001	0.94 \pm 0.23	9.052	<0.001
	低分化	30	2.46 \pm 0.52			1.65 \pm 0.47		
组织学分级	G1 + G2	48	1.25 \pm 0.31	9.687	<0.001	0.87 \pm 0.21	10.441	<0.001
	G3	32	2.24 \pm 0.52			1.73 \pm 0.42		
肌层浸润深度	$< 1/2$	54	1.18 \pm 0.33	18.459	<0.001	0.84 \pm 0.27	17.391	<0.001
	$\geq 1/2$	26	2.36 \pm 0.57			1.78 \pm 0.51		
淋巴结转移	无	30	1.29 \pm 0.32	9.812	<0.001	0.97 \pm 0.23	8.457	<0.001
	有	50	2.25 \pm 0.44			1.59 \pm 0.43		
FIGO 分期	I + II 期	34	0.98 \pm 0.25	21.722	<0.001	0.71 \pm 0.21	18.236	<0.001
	III + IV 期	46	2.41 \pm 0.54			1.85 \pm 0.46		

2.5 TOP2A 及 miR-21 预测宫颈癌 1 年预后不良效能分析 绘制 TOP2A 及 miR-21 预测宫颈癌 1 年预后不良 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示, TOP2A、miR-21 及二者联合预测宫颈癌 1 年预后不良的 AUC 分别为 0.815、0.831、0.927,二者联合的 AUC 最大 ($Z/P = 2.542/0.018$ 、 $2.218/0.021$),见表 4、图 1。

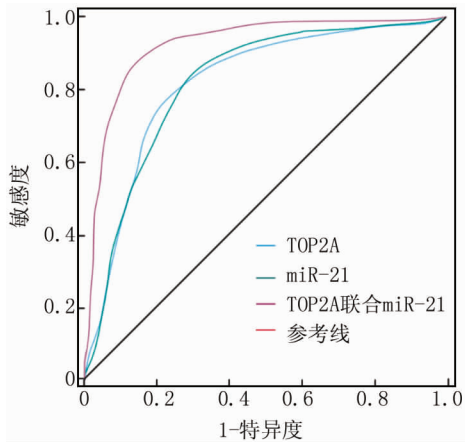


图 1 TOP2A、miR-21 预测宫颈癌 1 年预后不良 ROC 曲线
Fig. 1 ROC curve of TOP2A and miR-21 predicting 1-year poor prognosis in cervical cancer

表 4 TOP2A 及 miR-21 预测宫颈癌 1 年预后不良效能比较
Tab. 4 Comparison of the efficacy of TOP2A and miR-21 in predicting 1-year poor prognosis of cervical cancer

变 量	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
TOP2A	1.97	0.815	0.724 ~ 0.988	0.812	0.802	0.614
miR-21	1.52	0.831	0.703 ~ 0.892	0.821	0.817	0.638
二者联合		0.927	0.424 ~ 0.659	0.935	0.947	0.882

2.6 宫颈癌患者死亡危险因素分析 以宫颈癌患者是否死亡为因变量(赋值:是为“1”;否为“0”),以表 3 中 $P < 0.05$ 项目为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,分化程度低分化、组织学分级 G3、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 、有淋巴结转移、FIGO 分期 III + IV 期、TOP2A 表达 ≥ 1.82 、miR-21 表达 ≥ 1.36 为宫颈癌死亡的独立危险因素($P < 0.05$),见表 5。

3 讨 论

TOP2A 识别 DNA 结构后形成复合物可打断并重新连接 DNA 双链,在 DNA 分裂、修复重组、转录等生理过程中具有调节 DNA 拓扑结构功能^[5]。TOP2A 在肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭及上皮间质转化等恶性生物学行为中具有重要作用,在宫颈癌等多种恶性

表 5 宫颈癌患者死亡危险因素 Logistic 回归分析
Tab. 5 Logistic regression analysis of risk factors for death in cervical cancer patients

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
分化程度低分化	0.682	0.072	4.215	0.039	1.978	1.134 ~ 5.792
组织学分级 G3	0.735	0.101	4.765	0.035	2.085	1.027 ~ 5.092
肌层浸润深度 $\geq 1/2$	0.812	0.145	5.462	0.032	2.252	1.131 ~ 4.877
有淋巴结转移	1.231	0.217	5.518	0.031	3.425	1.361 ~ 5.082
FIGO 分期 III + IV 期	1.458	0.219	5.791	0.027	4.297	1.245 ~ 6.138
TOP2A 表达 ≥ 1.82	0.976	0.162	6.046	0.021	2.654	1.189 ~ 6.712
miR-21 表达 ≥ 1.36	0.921	0.214	7.248	0.013	2.512	1.182 ~ 5.956

肿瘤中表达上调且与其恶性程度及 FIGO 分期相关^[3]。TOP2A 自身或作为其他基因调节靶标参与宫颈癌发生、发展及转归^[6-7]。研究发现 TOP2A 基因可通过靶向调控 PI3K/AKT 等信号通路调控宫颈癌细胞迁移及侵袭^[8]。生物信息学分析发现宫颈癌组织 TOP2A 基因 mRNA 及蛋白表达均显著上调,与宫颈癌恶性程度及 FIGO 分期相关, TOP2A 基因高表达宫颈癌患者预后及生存期差于低表达患者^[9-10]。基于目前的研究进展推测 TOP2A 在宫颈癌病情及预后评估中可能具有重要价值,可作为宫颈癌病情及预后评估的标志物。本研究中,宫颈癌患者肿瘤组织 TOP2A 表达显著高于癌旁组织及宫颈良性疾病患者,证实 TOP2A 基因与宫颈癌发病机制存在关联。本研究进一步研究发现 TOP2A 表达与分化程度、组织学分级、肌层浸润深度、淋巴结转移、FIGO 分期、生存期及死亡风险密切相关,表明 TOP2A 可作为宫颈癌病情及预后评估的标志物。

miRNA 为内源性非编码单链 RNA,主要是通过降解 mRNA 或抑制蛋白质翻译来调控转录后基因表达,在细胞增殖、凋亡、上皮间质转化等多种生物学过程中发挥重要作用^[11-14]。研究发现,miRNA 表达异常与宫颈癌发生与发展有关,宫颈癌患者可检测到 miRNA 表达异常,在宫颈癌病情及预后评估、临床诊疗中具有重要作用^[15-16]。miR-21 可通过多种机制调控细胞增殖、迁移及侵袭等恶性生物学行为,在多种恶性肿瘤发病机制、病情及预后评估中具有重要价值^[17-20]。研究发现 miR-21 与宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭相关^[21]。miR-21 与局部进展期宫颈癌放疗不敏感相关^[22]。越来越多的研究发现 miR-21 在宫颈癌患者中表达显著升高,且与病情及预后相关^[23-24]。本研究中,宫颈癌患者肿瘤组织 miR-21 表达显著高于癌旁组织及宫颈良性疾病患者,表明 miR-21 与宫颈癌发病机制相关。进一步研究发现 miR-21 表达与分化程度、组织学分级、肌层浸润深度、淋巴结转移及 FIGO 分期、生存期

及死亡风险密切相关,表明 miR-21 在宫颈癌病情及预后评估中具有重要价值。

目前宫颈癌病情及预后评估常用的方法包括肿瘤标志物、影像学检查及 FIGO 分期等,前者存在敏感度及特异度低等缺点(目前报道的敏感度及特异度均在 0.6~0.8),后者存在受检查者主观因素影响大、可重复性及普适性差等缺点,尤其不适用于无法取得明确病理分期患者,故探讨新型高效安全的基因水平标志物更具有临床价值^[25-26]。随着对宫颈癌发病机制的深入研究及基因检测水平的提高,基因水平的标志物可能在宫颈癌病情及预后评估中具有更高的敏感度及特异度,具有检测快捷方便等优点^[27-28]。本研究中 TOP2A、miR-21 预测宫颈癌 1 年预后不良的 AUC、敏感度及特异度高于目前报道的分化程度、组织学分级、肌层浸润深度、淋巴结转移及 FIGO 分期,尤其是 TOP2A 联合 miR-21 检测时 AUC、敏感度及特异度显著升高,表明 TOP2A 联合 miR-21 检测在宫颈癌病情及预后评估中的临床价值高于传统的检测指标。

综上所述,宫颈癌患者 TOP2A 及 miR-21 表达显著升高,与分化程度、组织学分级、肌层浸润深度、淋巴结转移、FIGO 分期相关,可作为宫颈癌病情及预后评估的标志物。TOP2A 联合 miR-21 检测可显著提高预测宫颈癌预后不良的敏感度及特异度。值得注意的是,本研究中 TOP2A 及 miR-21 依赖于病理标本的检测仍存在普适性差等缺点,不依赖于病理标本的血清学 TOP2A 及 miR-21 可能更具有临床价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

万晶晶、甘艳玲:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;姚莉:进行统计学分析;李梦琳:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;汪晶:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写

参考文献

- [1] Aftab M, Poojary SS, Seshan V, et al. Urine miRNA signature as a potential non-invasive diagnostic and prognostic biomarker in cervical cancer[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10323. DOI: 10. 1038/s41598-021-89388-w.
- [2] 张文莉,王彩丽,冯彩霞,等. 宫颈鳞癌组织中 miR-448、KDM2B 表达水平与术后复发的相关性研究[J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(4): 350-355. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 04. 004.
- [3] Zuberi Z, Mremi A, Chilongola JO, et al. Expression analysis of p16 and TOP2A protein biomarkers in cervical cancer lesions and their correlation with clinico-histopathological characteristics in a referral hospital, Tanzania[J]. *PLoS One*, 2021, 16(10): e0259096. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0259096.
- [4] Yang J, Yan Z, Wang Y, et al. Association study of relationships of polymorphisms in the miR-21, miR-26b, miR-221/222 and miR-126 genes with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer[J].

- BMC Cancer*, 2021, 21(1): 997. DOI: 10. 1186/s12885-021-08743-2.
- [5] Uusküla-Reimand L, Wilson MD. Untangling the roles of TOP2A and TOP2B in transcription and cancer[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(44): eadd4920. DOI: 10. 1126/sciadv. add4920.
- [6] Khaled DM, Elshakre ME, Noamaan MA, et al. A computational qsar, molecular docking and in vitro cytotoxicity study of novel thiouracil-based drugs with anticancer activity against human-DNA topoisomerase II[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 23-34. DOI: 10. 3390/ijms231911799.
- [7] Del Moral-Hernández O, Hernández-Sotelo D, Alarcón-Romero L, et al. TOP2A/MCM2, p16 (INK4a), and cyclin E1 expression in liquid-based cytology: Abiomarkers panel for progression risk of cervical premalignant lesions[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 39-46. DOI: 10. 1186/s12885-020-07740-1.
- [8] Wang B, Shen Y, Zou Y, et al. TOP2A promotes cell migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer via activating the PI3K/AKT signaling[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12(5): 3807-3814. DOI: 10. 2147/CMAR. S240577.
- [9] Zhao Q, Li H, Zhu L, et al. Bioinformatics analysis shows that TOP2A functions as a key candidate gene in the progression of cervical cancer[J]. *Biomed Rep*, 2020, 13(4): 21-44. DOI: 10. 3892/br. 2020. 1328.
- [10] 李瑞, 应彦祺, 张文艺, 等. 宫颈癌关键基因及其机制的生物信息学分析[J]. *医学研究杂志*, 2022, 51(6): 134-139. DOI: 10. 11969/j. issn. 1673-548X. 2022. 06. 029.
- [11] 赵芳, 马德勇, 王婷婷, 等. 宫颈液基细胞学 p16 及其联合高危 HPV 检测在宫颈癌和癌前病变筛查中的诊断价值[J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(4): 390-394, 401. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 04. 010.
- [12] 张春瑜, 努尔孜燕·力提甫, 吾尼其古丽·沙塔尔, 等. 长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 16 在宫颈癌组织中的表达及临床意义[J]. *中国医药*, 2021, 16(10): 1507-1510. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 10. 017.
- [13] 苑飞艳, 张新民, 陈明珠, 等. 基于 TCGA 数据筛选潜在的宫颈癌 miRNA 预后标志物[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2022, 14(12): 81-85, 115. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4020. 2022. 12. 20.
- [14] 杨思雨, 姜淮芜, 姚晖, 等. 胃癌患者血清 miR-369, miR-1323 水平及其临床意义[J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(5): 474-478, 493. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 05. 006.
- [15] 葛尧, 周源, 李鸿博, 等. 外泌体及外泌体 miRNA 在宫颈癌中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(9): 1710-1715. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-4992. 2022. 09. 039.
- [16] 黄纪君, 陈小华. miRNA 在宫颈癌诊断中的应用价值[J]. *检验医学与临床*, 2023, 20(10): 1459-1462. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 10. 027.
- [17] 胡立宏, 潘雪峰, 关佳恒, 等. 结直肠癌患者血清 miR-21-5p、miR-377-3p 表达与 Wnt/ β -catenin 信号通路和预后的关系分析[J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(4): 383-389. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 04. 009.
- [18] 张琳琳, 黄仲萍, 陈樑, 等. 彩色超声联合血浆 miR-191、miR-21 测定对上皮性卵巢癌的诊断效能[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(11): 1133-1137. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 11. 012.

- [19] 刘子瑜,熊春秋,黄飞凤,等. 宫颈癌患者血液炎症标志物水平变化及其临床意义[J]. 中国临床新医学, 2022, 15 (10): 985-989. DOI:10.3969/j. issn. 1674-3806. 2022. 10. 18.
- [20] 马焱,尹骏,马尔克亚 o 卡马力拜克,等. 内质网膜蛋白复合物亚单位 6 调控细胞增殖和凋亡对宫颈癌 Hela 细胞放射线敏感性的影响[J]. 中国医药, 2022, 17 (10): 1534-1537. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2022. 10. 021.
- [21] 刘洋,廖婧,卢又汇,等. miR-21 负向调控宫颈癌 HeLa 细胞株中 hTERT 的表达[J]. 昆明医科大学学报, 2021, 42 (3): 23-28. DOI:10.12259/j. issn. 2095-610X. S20210307.
- [22] 林冬红,何红玉. 中晚期宫颈癌患者放疗前后血清 miR-21 miR-34a 及 miR-200a 的变化及意义[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38 (10): 1890-1894. DOI:10.19829/j. zgfybj. issn. 1001-4411. 2023. 10. 038.
- [23] Liu M, Wang W, Chen H, et al. miR-9, miR-21, miR-27b, and miR-34a expression in HPV16/58/52-infected cervical cancer[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020 (2): 2474235. DOI:10.1155/2020/2474235.
- [24] Zamani S, Hosseini SM, Sohrabi A. miR-21 and miR-29-a: Potential molecular biomarkers for HPV genotypes and cervical cancer detection[J]. Microna, 2020, 9 (4): 271-275. DOI:10.2174/2211536609666191115110015.
- [25] Zamani S, Sohrabi A, Hosseini SM, et al. Deregulation of miR-21 and miR-29a in cervical cancer related to HPV infection[J]. Microna, 2019, 8 (2): 110-115. DOI:10.2174/2211536607666181017124349.
- [26] Ruan F, Wang YF, Chai Y. Diagnostic values of miR-21, miR-124, and M-CSF in patients with early cervical cancer[J]. Technol Cancer Res Treat, 2020, 19 (10): 33-47. DOI:10.1177/1533033820914983.
- [27] Rotman J, den Otter L, Bleeker M, et al. PD-L1 and PD-L2 expression in cervical cancer: Regulation and biomarker potential[J]. Front Immunol, 2020, 11 (7): 596825. DOI:10.3389/fimmu. 2020. 596825.
- [28] Zhao K, Yi Y, Ma Z, et al. INHBA is a prognostic biomarker and correlated with immune cell infiltration in cervical cancer[J]. Front Genet, 2021, 12 (4): 705512. DOI:10.3389/fgene. 2021. 705512.

(收稿日期: 2023-07-02)

(上接 1044 页)

- [17] 林红霞,刘小平,邓铤. 帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗和长春瑞滨治疗老年人表皮生长因子受体 2 阳性转移性乳腺癌的临床效果[J]. 中国医药, 2022, 17 (3): 345-348. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2022. 03. 006.
- Lin HX, Liu XP, Deng C. Clinical effect of pertuzumab combined with trastuzumab and vinorelbine on the treatment of elderly human epidermal growth factor receptor-2 positive metastatic breast cancer[J]. China Medicine, 2022, 17 (3): 345-348. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2022. 03. 006.
- [18] 刘淑娟,刘梦莹,陈一涛,等. 乳腺癌患者紫杉类药物所致神经病理性疼痛与血清 IL-6 水平的相关性研究[J]. 中国临床新医学, 2022, 15 (11): 1012-1016. DOI:10.3969/j. issn. 1674-3806. 2022. 11. 03.
- Liu SJ, Liu MY, Chen YT, et al. A study on the correlation between serum level of IL-6 and neuropathic pain caused by the treatment of taxanes in breast cancer patients[J]. Chinese Journal of New Clinical Medicine, 2022, 15 (11): 1012-1016. DOI:10.3969/j. issn. 1674-3806. 2022. 11. 03.
- [19] 朱云,吴东娟,马帅军,等. 外周血 PD-1、PD-L1 表达与肾细胞癌骨转移的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2022, 21 (5): 497-501. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 05. 011.
- Zhu Y, Wu DJ, Ma SJ, et al. Correlation analysis between the expression of PD-1 and PD-L1 in peripheral blood and bone metastasis of renal cell carcinoma[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (5): 497-501. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 05. 011.
- [20] Kelekis A, Cornelis FH, Tutton S, et al. Metastatic osseous pain control: Bone ablation and cementoplasty[J]. Semin Intervent Radiol, 2017, 34 (4): 328-336. DOI:10.1055/s-0037-1608747.
- [21] 霍斌亮,田有伏,祝旭龙,等. 女性血清 sIL-6R、JAK2、STAT3 水平与乳腺癌发生的关联性[J]. 疑难病杂志, 2022, 21 (6): 576-581. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 06. 005.
- Huo BL, Tian YF, Zhu XL, et al. Correlation between serum sIL-6R, JAK2, STAT3 levels and breast cancer in women[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (6): 576-581. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 06. 005.
- [22] 王亮,黄琰菁,娄娜娜,等. HIF-1 α 参与调控三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞化疗耐药及体内外增殖的机制研究[J]. 疑难病杂志, 2021, 20 (10): 997-1002. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 006.
- Wang L, Huang YJ, Lou NN, et al. HIF-1 α participates in the regulation of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cell chemotherapy resistance and the mechanism of in vitro and in vivo proliferation[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20 (10): 997-1002. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 006.
- [23] 王丽娟. 大分割放疗治疗恶性肿瘤骨转移癌痛的效果[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35 (3): 475-478. DOI:10.3969/j. issn. 1001-5930. 2020. 03. 036.
- Wang LJ. The effect of large segment radiotherapy on the treatment of malignant tumor bone metastasis and cancer pain[J]. Journal of Practical Cancer, 2020, 35 (3): 475-478. DOI:10.3969/j. issn. 1001-5930. 2020. 03. 036.
- [24] Fernández R, Eppard E, Lehnert W, et al. Evaluation of safety and dosimetry of 177Lu-DOTA-ZOL for therapy of bone metastases[J]. J Nucl Med, 2021, 62 (8): 1126-1132. DOI:10.2967/jnumed. 120. 255851.
- [25] 辛天星,郑凯文,刘兆喆,等. 化疗联合复方苦参注射液、双膦酸盐治疗中晚期非小细胞肺癌骨转移疼痛临床疗效研究[J]. 实用药物与临床, 2021, 24 (10): 907-910. DOI:10.14053/j. cnki. pper. 202110009.
- Xin TX, Zheng KW, Liu ZZ, et al. Clinical efficacy of chemotherapy combined with compound sophora flavescens injection and bisphosphonate in the treatment of bone metastasis pain in advanced non-small cell lung cancer[J]. Practical Drugs and Clinical, 2021, 24 (10): 907-910. DOI:10.14053/j. cnki. pper. 202110009.
- [26] Bal O, Oksuzoglu B, Dogan M, et al. Long-term outcomes of prolonged bisphosphonates more than 2 years in bone metastatic breast cancer: Risk vs benefit[J]. Ir J Med Sci, 2020, 189 (3): 805-810. DOI:10.1007/s11845-019-02120-6.

(收稿日期: 2023-04-26)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.008

肿瘤防治专题

溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 1 在宫颈癌中的表达及临床意义

陈韩, 杨江怡, 陈华, 韩锋

基金项目: 海南省自然科学基金资助项目(821MS0779)

作者单位: 570102 海南医学院第一附属医院检验科(陈韩、杨江怡、韩锋), 妇科(陈华)

通信作者: 韩锋, E-mail: wm65911012@163.com



【摘要】目的 探讨溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 1 (LPCAT1) 在宫颈癌中的表达及其临床意义。方法 选取 2012 年 1 月 1 日—2022 年 12 月 31 日海南医学院第一附属医院妇科手术治疗宫颈癌患者 163 例作为观察组, 另选取同期因患子宫平滑肌瘤施行全子宫切除术患者 77 例作为对照组。采用免疫组织化学法检测 LPCAT1 蛋白在宫颈癌组织和正常宫颈组织中的表达水平, 比较 LPCAT1 蛋白水平在不同宫颈癌患者临床病理特征中的差异, 运用 Kaplan-Meier 法分析 LPCAT1 蛋白表达与宫颈癌患者术后预后的关系, Cox 回归模型分析宫颈癌术后预后的影响因素。结果 宫颈癌组织中 LPCAT1 蛋白高表达率显著高于正常宫颈组织($\chi^2 = 18.509, P < 0.001$); FIGO 分期 III ~ IV 期、浸润深度 $> 1/2$ 肌层、淋巴结转移、中高分化宫颈癌患者 LPCAT1 蛋白高表达率高于 FIGO 分期 I ~ II 期、浸润深度 $\leq 1/2$ 肌层、无淋巴结转移、低分化者($\chi^2/P = 5.501/0.019, 20.463/ < 0.001, 5.979/0.014, 21.675/ < 0.001$); LPCAT1 蛋白高表达者总生存率显著低于低表达者($\chi^2 = 4.791, P = 0.029$); FIGO 分期 III ~ IV 期、肿瘤浸润深度 $> 1/2$ 肌层、淋巴结转移、中高分化和 LPCAT1 蛋白高表达均为宫颈癌患者术后预后的独立危险因素 [$HR(95\% CI) = 1.564(1.284 \sim 2.122), 1.376(1.069 \sim 1.972), 2.439(1.300 \sim 3.950), 2.690(2.049 \sim 3.699), 1.302(1.068 \sim 1.590)$]。结论 LPCAT1 蛋白在宫颈癌组织中呈现高表达, 且其高表达可提示宫颈癌患者术后预后不良。LPCAT1 蛋白可能具有作为宫颈癌早期诊断和预后预测生物标志物的潜能。

【关键词】 宫颈癌; 溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 1; 表达; 预后; 免疫组织化学

【中图分类号】 R737.33

【文献标识码】 A

Expression and clinical significance of lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 in cervical cancer Chen Han*, Yang Jiangyi, Chen Hua, Han Feng. * Department of Laboratory, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570102, China

Corresponding author: Han Feng, E-mail: wm65911012@163.com

Funding program: Hainan Provincial Natural Science Foundation of China (821MS0779)

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression and clinical significance of lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (LPCAT1) in cervical cancer. **Methods** One hundred and sixty-three patients with cervical cancer who underwent gynecological surgery at the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College from January 1, 2012 to December 31, 2022 were selected as the observation group, and 77 patients who underwent total hysterectomy for uterine leiomyoma during the same period were selected as the control group. Immunohistochemical method was used to detect the expression level of LPCAT1 protein in cervical cancer tissue and normal cervical tissue, and the differences in clinical pathological characteristics of different cervical cancer patients were compared. Kaplan Meier method was used to analyze the relationship between LPCAT1 protein expression and postoperative prognosis of cervical cancer patients. Cox regression model was used to analyze the influencing factors of postoperative prognosis of cervical cancer patients. **Results** The high expression rate of LPCAT1 protein in cervical cancer tissue is significantly higher than that in normal cervical tissue ($\chi^2 = 18.509, P < 0.001$); High expression of LPCAT1 protein in cervical cancer tissues with FIGO stage III-IV, infiltration depth $> 1/2$ muscle layer, lymph node metastasis, high differentiation in tissues higher than FIGO stage I-II, infiltration depth $\leq 1/2$ muscle layer, no lymph node metastasis, and low differentiation ($\chi^2/P = 5.501/0.019, 20.463/ < 0.001, 5.979/0.014, 21.675/ < 0.001$). The overall survival rate of individuals with high expression of LPCAT1 protein is significantly lower than those with low expression ($\chi^2 = 4.791,$

$P=0.029$); FIGO staging stages III-IV, tumor infiltration depth $>1/2$ muscle layer, lymph node metastasis, medium to high differentiation, and high expression of LPCAT1 protein are independent risk factors for postoperative prognosis of cervical cancer patients [$HR(95\% CI)=1.564 (1.284-2.122), 1.376 (1.069-1.972), 2.439 (1.300-3.950), 2.690 (2.049-3.699), 1.302 (1.068-1.590)$]. **Conclusion** The LPCAT1 protein is highly expressed in cervical cancer tissue, and its high expression can indicate poor postoperative prognosis in cervical cancer patients. LPCAT1 protein may have the potential as a biomarker for early diagnosis and prognosis prediction of cervical cancer.

[Key words] Cervical cancer; Lysophosphatidylcholine acyltransferase; Expression; Prognosis; Immunohistochemistry

宫颈癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一。GLOBOCAN2020 全球癌症统计数据报告显示,2020 年全球约 60.4 万宫颈癌新发病例和 34.2 万死亡病例^[1-2]。2020 年我国宫颈癌新发病例约 11 万例,死亡病例约 6 万例^[3]。目前宫颈癌较为理想的治疗模式是手术切除配合术后同步放疗、化疗,但是宫颈癌早期症状不明显,确诊时通常已处于中晚期,贻误了最佳的手术治疗时机,且患者预后往往较差^[4-5]。溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 1 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 1, LPCAT1) 是一种重要的磷脂酰基代谢酶,主要功能为介导磷脂代谢过程 Land's 循环中溶血磷脂酰胆碱的再乙酰化,生成饱和磷脂酰胆碱 (PC)^[6]。胆碱代谢产物的变化是细胞癌变的一个重要特征,而 PC 是肿瘤细胞较正常细胞改变最为明显的磷脂。可见,磷脂酰胆碱的代谢异常与肿瘤的发生发展密切相关^[7-8]。LPCAT1 作为合成磷脂酰胆碱的关键酶在多种恶性肿瘤中表达显著上升,如肺癌、子宫内膜癌、前列腺癌、乳腺癌、肝癌等^[9-13]。然而,关于 LPCAT1 蛋白在宫颈癌中的表达情况及其与患者预后的关系相关报道较少。因此,现分析不同 LPCAT1 蛋白表达的宫颈癌患者临床病理特征和预后的差异,以期对宫颈癌的早期诊断和临床治疗提供新思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2012 年 1 月 1 日—2022 年 12 月 31 日海南医学院第一附属医院妇科手术治疗宫颈癌患者 163 例作为观察组,年龄 (50.37 ± 12.88) 岁;肿瘤直径 ≤ 4 cm 者 71 例, >4 cm 者 92 例;参考国际妇产科联盟 (FIGO) 分期标准^[14]: I ~ II 期 110 例, III ~ IV 期 53 例;主要的组织病理类型为鳞癌 133 例 (81.6%);子宫肌层浸润深度 $>1/2$ 肌层 72 例 (44.2%);发生盆腔淋巴结转移 77 例 (47.2%);组织分化程度为低分化 88 例,中高分化 75 例;HPV 感染阳性率为 74.8% (122/163)。另选取同期因患子宫平滑肌瘤施行全子宫切除术患者 77 例作为对照组,年龄 (52.93 ± 13.56) 岁。2 组患者年龄比较差异无统计学意义 ($t=1.413, P=0.159$)。本研究已经获得医院伦理委员会

批准 (HYFY20230258), 患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ① 无生育需求, 主要术式为广泛子宫切除加盆腔淋巴结清扫术; ② 手术切除标本经病理组织活检证实为宫颈癌^[15]; ③ 术前未接受放疗、化疗和靶向治疗等抗肿瘤治疗。(2) 排除标准: ① 合并其他恶性肿瘤; ② 合并心、肺、肝、肾等严重影响患者生存的疾病; ③ 临床资料不完整、随访不依从。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 免疫组化法检测 LPCAT1 蛋白表达: 收集观察组患者手术切除宫颈癌组织以及对照组患者手术切除正常宫颈组织, 经 10% 福尔马林溶液固定、常规石蜡包埋, 4 μm 厚连续切片。二甲苯脱蜡、乙醇梯度水化后采用免疫组化 SP 法对切片进行染色。3% 过氧化氢溶液浸泡后在柠檬酸溶液中修复抗原, PBS 缓冲液漂洗后加入 10% 山羊血清室温下封闭 20 min。将 1:200 稀释的 LPCAT4 一抗 (购自英国 Abcam 公司) 滴加至切片上, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日 PBS 冲洗后将二抗 (购自北京中杉金桥生物技术有限公司) 滴加至切片上室温孵育 30 min。PBS 清洗后 DAB 显色、苏木精复染。常规乙醇梯度脱水后二甲苯固定、中性树脂封片, 显微镜 (型号 CX23BGUV, 购自日本 Olympus 公司) 下观察并摄片。

1.3.2 随访: 依据《宫颈癌诊疗规范》^[15] 推荐的随访方法, 采用门诊复查或电话随访, 第 1 年和第 2 年每 3 个月随访 1 次, 以后每 6 个月随访 1 次, 随访截至 2023 年 5 月 31 日。总生存期 (overall survival, OS) 是指患者接受手术治疗当日至任何原因死亡或失访的时间^[16]。

1.4 结果判定 参照二级计分法对免疫组化结果进行判定, 即总评分 = 阳性细胞百分比 \times 细胞染色强度。以细胞膜和/或细胞质呈现棕黄色或棕褐色判定为 LPCAT1 蛋白表达阳性。阳性细胞百分比 $\leq 5\%$ 计 0 分, 6% ~ 25% 计 1 分, 26% ~ 50% 计 2 分, 51% ~ 75% 计 3 分, $>75\%$ 计 4 分; 细胞染色强度呈无色、浅黄色、

棕黄色、棕褐色分别计 0、1、2、3 分。上述两者乘积 0 分为阴性,1~4 分为弱阳性,5~8 分为阳性,9~12 分为强阳性,其中阴性和弱阳性认定为 LPCAT1 蛋白低表达,阳性和强阳性认定为高表达^[17]。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,2 组间比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法和 Log-rank 检验比较不同 LPCAT1 表达水平的宫颈癌患者术后 OS 的差异,并利用 Cox 回归模型分析宫颈癌术后预后的影响因素。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

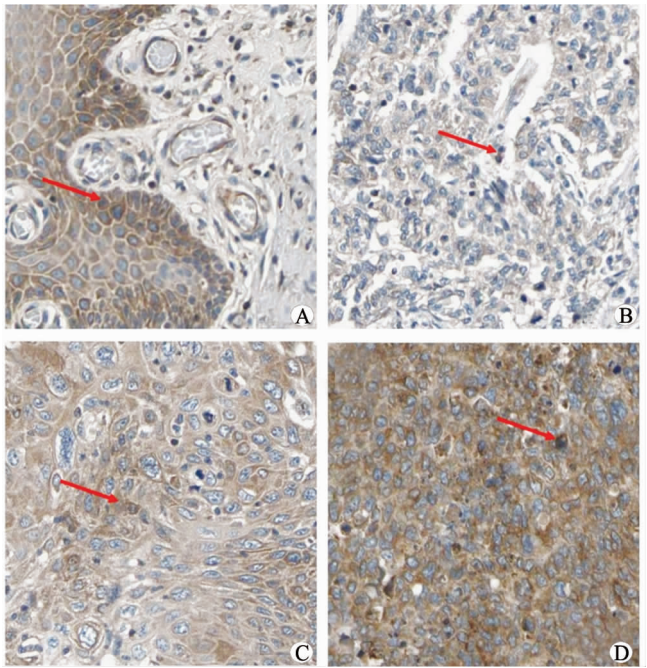
2 结果

2.1 宫颈癌组织和正常宫颈组织中 LPCAT1 蛋白表达比较 宫颈癌组织和正常宫颈组织中 LPCAT1 蛋白表达见图 1;宫颈癌组织中 LPCAT1 蛋白高表达率为 50.9% (83/163),高于正常宫颈组织中的 21.3% (16/75) ($\chi^2 = 18.509, P < 0.001$)。

2.2 LPCAT1 表达水平在宫颈癌患者不同临床病理特征中差异比较 FIGO 分期Ⅲ~Ⅳ期、浸润深度 > 1/2 肌层、淋巴结转移、中高分化宫颈癌患者 LPCAT1 蛋白高表达率高于 FIGO 分期Ⅰ~Ⅱ期、≤1/2 肌层、无淋巴结转移、低分化者 (*P* < 0.05),而在不同年龄、肿瘤直径、组织病理类型和 HPV 感染中比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05),见表 1。

2.3 LPCAT1 蛋白表达与宫颈癌患者术后预后的关系 163 例宫颈癌患者中位生存时间为 67.73 个月,1、3 和 5 年总生存率分别为 87.4%、60.5% 和 49.1%。

83 例 LPCAT1 蛋白高表达者中位生存时间为 36.10 个月,低于 80 例低表达者中位生存时间 95.30 个月 ($\chi^2 = 4.791, P = 0.029$),见图 2。



注:A.正常宫颈组织中 LPCAT1 蛋白阳性表达;B.宫颈癌组织中 LPCAT1 蛋白弱阳性表达;C.宫颈癌组织中 LPCAT1 蛋白阳性表达;D.宫颈癌组织中 LPCAT1 蛋白强阳性表达。

图 1 LPCAT1 蛋白在宫颈癌组织和正常宫颈组织中的表达情况 (SP 染色, ×400)

Fig. 1 Expression of LPCAT1 protein in cervical cancer tissue and normal cervical tissue (SP staining, × 400)

表 1 LPCAT1 表达水平在宫颈癌患者不同临床病理特征中差异比较 [例(%)]

Tab. 1 Comparison of LPCAT1 expression levels in different clinical and pathological characteristics of cervical cancer patients						
项 目		例数	LPCAT1 高表达 (n = 83)	LPCAT1 低表达 (n = 80)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	≤50	79	39(47.0)	40(50.0)	0.148	0.700
	>50	84	44(53.0)	40(50.0)		
肿瘤直径(cm)	≤4	71	33(39.8)	38(47.5)	0.993	0.319
	>4	92	50(60.2)	42(52.5)		
FIGO 分期	Ⅰ~Ⅱ期	110	49(59.0)	61(76.2)	5.501	0.019
	Ⅲ~Ⅳ期	53	34(41.0)	19(23.8)		
组织病理类型	鳞癌	133	65(78.3)	68(85.0)	1.213	0.271
	腺癌	30	18(21.7)	12(15.0)		
肿瘤浸润深度	≤1/2 肌层	91	32(38.6)	59(73.8)	20.463	<0.001
	>1/2 肌层	72	51(61.4)	21(26.2)		
淋巴结转移	否	86	36(43.4)	50(62.5)	5.979	0.014
	是	77	47(56.6)	30(37.5)		
组织分化程度	低分化	88	30(36.1)	58(72.5)	21.675	<0.001
	中高分化	75	53(63.9)	22(27.5)		
HPV 感染	无	41	19(22.9)	22(27.5)	0.460	0.498
	有	122	64(77.1)	58(72.5)		

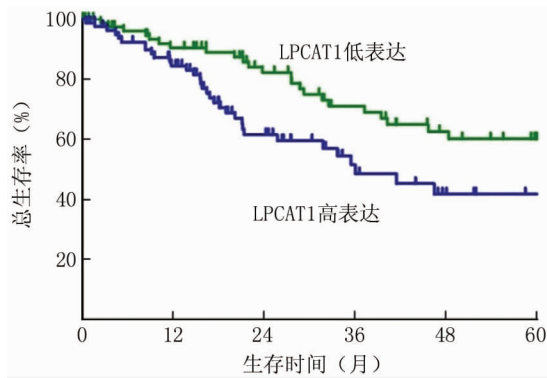


图2 LPCAT1 蛋白表达与宫颈癌患者术后预后的关系

Fig.2 Relationship between LPCAT1 protein expression and post-operative prognosis of cervical cancer patients

2.4 宫颈癌患者术后预后影响因素 Cox 回归分析

以宫颈癌患者术后生存为因变量,以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示 FIGO 分期Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤浸润深度 $> 1/2$ 肌层、淋巴结转移、中高分化和 LPCAT1 蛋白高表达均为宫颈癌患者术后预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$),见表 2。

表2 宫颈癌患者术后预后影响因素 Cox 回归分析

Tab.2 Cox regression analysis of influencing factors on postoperative prognosis of cervical cancer patients

指 标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR(95% CI)
FIGO 分期Ⅲ~Ⅳ期	0.173	0.051	4.662	0.013	1.564 (1.284 ~ 2.122)
浸润深度 $> 1/2$ 肌层	0.041	0.020	4.250	0.039	1.376 (1.069 ~ 1.972)
淋巴结转移	0.892	0.321	7.718	0.005	2.439 (1.300 ~ 3.950)
中高分化程度	0.536	0.291	3.837	0.041	2.690 (2.049 ~ 3.699)
LPCAT1 蛋白高表达	0.264	0.102	6.764	0.009	1.302 (1.068 ~ 1.590)

3 讨 论

LPCAT1 属于 1-酰基甘油-3-磷酸酰基转移酶 (1-acylglycerol-3-phosphate acyltransferases, AGPATs) 家族,是一种具有 4 个保守结构域的Ⅱ型跨膜蛋白,定位于细胞的脂滴、内质网和高尔基体内^[18]。LPCAT1 通过将脂肪酰基链结合到磷脂酰胆碱中来催化溶血磷脂酰胆碱转化为磷脂酰胆碱,这种磷脂代谢反应一方面可为肿瘤细胞增殖提供更多的生物来源,另一方面可调节细胞内磷脂组分和脂滴含量,影响细胞膜性结构及信号通路传导^[6,19]。多项研究表明 LPCAT1 催化的溶血磷脂酰胆碱向磷脂酰胆碱的转化是肿瘤进展的原因^[10,20]。

LPCAT1 表达上调可促进肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移,而其表达下调可诱导细胞周期阻滞于 G0/G1 期

从而抑制肿瘤细胞生长^[9]。本研究发现宫颈癌组织中 LPCAT1 蛋白高表达率显著高于正常宫颈组织。前期细胞实验证实敲低 LPCAT1 可显著抑制宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭,同时显著诱导细胞凋亡。LPCAT1 沉默可显著降低宫颈癌细胞中白介素-6 (IL-6)、p-Janus 激酶 2 (JAK2) 和磷酸化信号转导和转录激活因子 3 (p-STAT3) 的表达水平^[21]。类似地,在具有 LPCAT1 缺失的宫颈癌细胞中,IL-6/STAT3 靶基因的表达水平也被显著下调^[19]。添加重组 IL-6 后可消除由敲低 LPCAT1 引起的功能变化,抑制宫颈癌细胞的增殖和上皮间质转化过程^[21]。此外,动物实验结果证实 LPCAT1 缺失可有效降低异种移植小鼠模型的肿瘤生长速率和体内肺转移^[22]。Tao 等^[23]发现 LPCAT1 通过介导 SREBP-1/EGFR/PI3K 信号通路调节细胞内的胆固醇代谢,进而促进食管癌细胞的迁移和侵袭。

本研究发现,LPCAT1 蛋白高表达的宫颈癌患者总生存率显著低于低表达者,与前期研究发现类似,例如刘小小等^[24]发现 LPCAT1 mRNA 低表达的非小细胞肺癌患者总生存率明显高于高表达者;He 等^[13]检测了 3 715 例肝癌组织和 3 105 例非肝癌组织发现,肝癌组织标本中 LPCAT1 蛋白表达水平显著增加,且 LPCAT1 高表达与总生存状况恶化相关,是肝癌预后不良的危险因素 ($HR = 2.21$)。

综上所述,LPCAT1 蛋白在宫颈癌组织中呈现高表达水平,其表达水平上升与 FIGO 分期Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤浸润深度 $> 1/2$ 肌层、淋巴结转移、中高分化程度呈正相关,同时亦是宫颈癌患者术后预后不良的独立危险因素,提示 LPCAT1 蛋白可能是宫颈癌早期诊断的潜在生物标志物和治疗靶标。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈韩:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;杨江怡:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;陈华:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;韩锋:论文审核,论文修改,论文终审

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71 (3) :209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] Singh D, Vignat J, Lorenzoni V, et al. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: A baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative[J]. Lancet Glob Health, 2023, 11 (2) :e197-e206. DOI:10.1016/S2214-109X(22)00501-0.
- [3] Yuan M, Zhao X, Wang H, et al. Trend in cervical cancer incidence and mortality rates in China, 2006-2030: A bayesian age-period-co-

- hort modeling study[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2023, 32(6):825-833. DOI:10.1158/1055-9965.EPI-22-0674.
- [4] Monk BJ, Enomoto T, Kast WM, et al. Integration of immunotherapy into treatment of cervical cancer: Recent data and ongoing trials[J]. *Cancer Treat Rev*, 2022, 106: 102385. DOI: 10.1016/j.ctrv.2022.102385.
- [5] Boon SS, Luk HY, Xiao C, et al. Review of the standard and advanced screening, staging systems and treatment modalities for cervical cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(12):2913. DOI: 10.3390/cancers14122913.
- [6] 赵天轶, 刘志铭, 姜洁. LPCATs 在肿瘤中的作用研究进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2021, 36(3):284-288. DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2021.060.
- Zhao TY, Liu ZM, Jiang J. The research progress on LPCAT1 in cancer[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2021, 36(3):284-288. DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2021.060.
- [7] Law SH, Chan ML, Marathe GK, et al. An updated review of lysophosphatidylcholine metabolism in human diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5):1149. DOI:10.3390/ijms20051149.
- [8] Saito RF, Andrade LNS, Bustos SO, et al. Phosphatidylcholine-derived lipid mediators: The crosstalk between cancer cells and immune cells[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:768606. DOI:10.3389/fimmu.2022.768606.
- [9] Wei C, Dong X, Lu H, et al. LPCAT1 promotes brain metastasis of lung adenocarcinoma by up-regulating PI3K/AKT/MYC pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):95. DOI:10.1186/s13046-019-1092-4.
- [10] Zhao T, Sun R, Ma X, et al. Overexpression of LPCAT1 enhances endometrial cancer stemness and metastasis by changing lipid components and activating the TGF/ β -Smad2/3 signaling pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2022, 54(7):904-916. DOI:10.3724/abbs.2022076.
- [11] Han C, Yu G, Mao Y, et al. LPCAT1 enhances castration resistant prostate cancer progression via increased mRNA synthesis and PAF production[J]. *PLoS One*, 2020, 15(11):e0240801. DOI: 10.1371/journal.pone.0240801.
- [12] Zhang H, Zheng Y. LPCAT1 is transcriptionally regulated by FOXA1 to promote breast cancer progression and paclitaxel resistance[J]. *Oncol Lett*, 2023, 25(4):134. DOI:10.3892/ol.2023.13720.
- [13] He RQ, Li JD, Du XF, et al. LPCAT1 overexpression promotes the progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):442. DOI:10.1186/s12935-021-02130-4.
- [14] Meinhold-Heerlein I, Fotopoulou C, Harter P, et al. Statement by the Kommission Ovar of the AGO: The New FIGO and WHO Classifications of Ovarian, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Cancer[J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2015, 75(10):1021-1027. DOI: 10.1055/s-0035-1558079.
- [15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 宫颈癌诊疗规范(2018年版)[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2020, 6(3):33-43. DOI: 10.12151/JMCM.2020.03-06.
- National Health Commission of the People's Republic of China. Protocol of Diagnosis and Treatment of Cervical Cancer (2018 edition)[J]. *Journal of Multidisciplinary Cancer Management: Electronic Version*, 2020, 6(3):33-43. DOI:10.12151/JMCM.2020.03-06.
- [16] 张豪亭, 杨银涛, 马宇杰, 等. 细胞骨架相关蛋白 4 在肾透明细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *中国癌症防治杂志*, 2023, 15(2):190-195. DOI:10.3969/j.issn.1674-5671.2023.02.12.
- Zhang HT, Yang YT, Ma YJ, et al. Expression of cytoskeleton-associated protein 4 in clear cell renal cell carcinoma and its clinical significance[J]. *Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment*, 2023, 15(2):190-195. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2023.02.12.
- [17] 余凤, 李良, 李鸿雁, 等. 非小细胞肺癌组织中 miR-605-5p、TNFAIP3 表达水平及临床意义[J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(7):673-678, 685. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.07.001.
- Yu F, Li L, Li HY, et al. The expression levels and clinical significance of miR-605-5p and TNFAIP3 in non-small cell lung cancer tissues[J]. *Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases*, 2023, 22(7):673-678, 685. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.07.001.
- [18] Wang B, Tontonoz P. Phospholipid remodeling in physiology and disease[J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81:165-188. DOI:10.1146/annurev-physiol-020518-114444.
- [19] 郭艳玲, 张保祯, 宝莹娜. LPCAT1 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. *内蒙古医科大学学报*, 2023, 45(1):91-94, 100. DOI:10.16343/j.cnki.issn.2095-512x.2023.01.002.
- Guo YL, Zhang BZ, Bao YN. Research progress on LPCAT1 in malignant tumors[J]. *Journal of Inner Mongolia Medical University*, 2023, 45(1):91-94, 100. DOI:10.16343/j.cnki.issn.2095-512x.2023.01.002.
- [20] Du Y, Wang Q, Zhang X, et al. Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 upregulation and concomitant phospholipid alterations in clear cell renal cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):66. DOI:10.1186/s13046-017-0525-1.
- [21] Gao F, Chen J, Zhang T, et al. LPCAT1 functions as an oncogene in cervical cancer through mediating JAK2/STAT3 signaling[J]. *Exp Cell Res*, 2022, 421(1):113360. DOI:10.1016/j.yexcr.2022.113360.
- [22] Ding J, Ding X, Leng Z. LPCAT1 promotes gefitinib resistance via upregulation of the EGFR/PI3K/AKT signaling pathway in lung adenocarcinoma[J]. *J Cancer*, 2022, 13(6):1837-1847. DOI: 10.7150/jca.66126.
- [23] Tao M, Luo J, Gu T, et al. LPCAT1 reprogramming cholesterol metabolism promotes the progression of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(9):845. DOI:10.1038/s41419-021-04132-6.
- [24] 刘小小, 陈秀红, 吕梦, 等. 非小细胞肺癌组织中溶血卵磷脂胆碱酰基转移酶 1 表达与临床病理特征及预后的关系[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(6):572-575. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2021.06.007.
- Liu XX, Chen XH, Lyu M, et al. Relationship of lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 with clinicopathological characteristics and prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Chinese Practical Diagnosis and Therapy*, 2021, 35(6):572-575. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2021.06.007.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.009

肿瘤防治专题

急性髓系白血病患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达及临床意义

王婧妍, 黄彬涛, 高大, 李慧婷, 韩东海



基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2023LHMS08015); 内蒙古医科大学面上项目(YKD2022MS014)

作者单位: 010010 呼和浩特, 内蒙古医科大学附属医院血液内科

通信作者: 黄彬涛, E-mail: huangbintao1979@sina.com

【摘要】目的 分析急性髓系白血病(AML)患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达与临床病理特征以及预后的关系。**方法** 选取 2016 年 3 月—2020 年 3 月内蒙古医科大学附属医院血液内科收治 AML 患者 88 例为 AML 组, 同期医院健康体检志愿者 41 例为健康对照组。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)法检测血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达。比较不同临床病理特征 AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达差异, 分析 LncRNA XIST 与 miR-196b 之间相关性以及 LncRNA XIST、miR-196b 与 AML 患者预后的关系。**结果** AML 组血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达高于健康对照组($t/P = 12.820 / < 0.001$, $14.405 / < 0.001$)。NCCN 分级高危、髓外浸润、白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$ 的 AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达显著高于 NCCN 分级低中危、无髓外浸润、白细胞计数 $< 10 \times 10^9/L$ 的 AML 患者(LncRNA XIST: $t/P = 8.410 / < 0.001$, $5.830 / < 0.001$, $5.430 / < 0.001$; miR-196b: $t/P = 7.261 / < 0.001$, $5.658 / < 0.001$, $10.329 / < 0.001$)。AML 患者血清 LncRNA XIST 与 miR-196b 表达呈正相关($r/P = 0.423 / < 0.001$)。高 LncRNA XIST 表达、高 miR-196b 表达 AML 患者 OS 率低于低 LncRNA XIST 表达、低 miR-196b 表达($\chi^2/P = 12.290 / < 0.001$, $5.413 / 0.012$)。Cox 回归分析显示, NCCN 分级高危、髓外浸润、白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$ 、高 LncRNA XIST 表达、高 miR-196b 表达是影响 AML 患者预后不良的危险因素[OR(95% CI) = 1.881(1.201 ~ 2.947)、1.540(1.113 ~ 2.133)、1.484(1.180 ~ 1.767)、1.655(1.172 ~ 2.337)、1.508(1.171 ~ 1.942)]。**结论** AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达均增高, 且与 AML 恶性临床病理特征以及不良预后的发生有关。

【关键词】 急性髓系白血病; 临床病理; 预后; 微小核糖核酸; 长链非编码核糖核酸**【中图分类号】** R733.71 **【文献标识码】** A

The expression and clinical significance of serum LncRNA XIST and miR-196b in patients with acute myeloid leukemia Wang Jingyan, Huang Bintao, Gao Da, Li Huiping, Han Donghai. Department of Hematology, Inner Mongolia Medical University Affiliated Hospital, Inner Mongolia, Hohhot 010010, China

Corresponding author: Huang Bintao, E-mail: huangbintao1979@sina.com

Funding program: Natural Science Foundation of Inner Mongolia (2023LHMS08015); General Project of Inner Mongolia Medical University (YKD2022MS014)

【Abstract】Objective To investigate the relationship between the expression of serum LncRNA XIST and miR-196b, clinical pathological features, and prognosis in patients with acute myeloid leukemia (AML). **Methods** A total of 88 AML patients admitted to the Hematology Department of Inner Mongolia Medical University Affiliated Hospital from March 2016 to March 2020 were selected as the AML group, while 41 health examination volunteers from the hospital during the same period were selected as the healthy control group. Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect the expression of serum LncRNA XIST and miR-196b. Compare the expression differences of serum LncRNA XIST and miR-196b in AML patients with different clinical and pathological characteristics, analyze the correlation between LncRNA XIST and miR-196b, and the relationship between LncRNA XIST and miR-196b and the prognosis of AML patients. **Results** The expression of serum LncRNA XIST and miR-196b in the AML group was higher than that in the control group ($t/P = 12.820 / < 0.001$, $14.405 / < 0.001$). The expression of serum LncRNA XIST and miR-196b in AML patients with NCCN grading high-risk, extramedullary infiltration, white blood cell count $\geq 10 \times 10^9/L$ is higher than that in NCCN grading with low to medium risk, no extramedullary infiltration, and white blood cell count $< 10 \times 10^9/L$ AML patients

(LncRNA XIST: $t/P=8.410/ <0.001$, $5.830/ <0.001$, $5.430/ <0.001$; miR-196b: $t/P=7.261/ <0.001$, $5.658/ <0.001$, $10.329/ <0.001$). There is a positive correlation between serum LncRNA XIST and miR-196b expression in AML patients ($r/P=0.423/ <0.001$). The OS rate of AML patients with high LncRNA XIST expression and high miR-196b expression is lower than that of low LncRNA XIST expression and low miR-196b expression ($\chi^2/P=12.290/ <0.001$, $5.413/0.012$). Cox regression analysis showed high risk of NCCN grading, extramedullary infiltration, and white blood cell count $\geq 10 \times 10^9/L$, high LncRNA XIST expression, and high miR-196b expression are risk factors for poor prognosis in AML patients [$OR (95\% CI) = 1.881 (1.201 - 2.947)$, $1.540 (1.113 - 2.133)$, $1.484 (1.180 - 1.767)$, $1.655 (1.172 - 2.337)$, and $1.508 (1.171 - 1.942)$]. **Conclusion** The expression of LncRNA XIST and miR-196b in serum of AML patients is increased, which is related to the malignant clinical and pathological characteristics of AML and the occurrence of adverse prognosis.

【Key words】 Acute myeloid leukemia; Clinicopathology; Prognosis; Micro ribonucleic acid; Long noncoding RNA

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是最常见的一种侵袭性恶性血液肿瘤,起源于产生血细胞的骨髓细胞异常增殖,尽管 AML 的治疗技术不断改进,但随着疾病的发展 AML 细胞迅速进入血液甚至转移到淋巴结和脾脏、肝脏、脑等人体重要器官,导致预后不良,长期生存率偏低^[1]。微小核糖核酸(microRNAs)和长链非编码核糖核酸(long noncoding RNA, LncRNAs)可影响蛋白质合成,调节抑癌或致癌基因表达,在 AML 癌症生物学中发挥关键作用^[2]。长链非编码 RNA X 染色体失活特异性转录因子(LncRNA XIST)是一种致癌基因,在非小细胞肺癌、甲状腺癌等恶性肿瘤中过表达,促使癌细胞增殖侵袭和对化疗耐药^[3,4]。miR-196b 也是一种致癌基因,在非小细胞肺癌、卵巢癌等实体肿瘤中高表达,可增强癌细胞的迁移和浸润,与预后不良显著相关^[5,6]。现分析血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达与 AML 患者临床病理特征以及预后的关系,旨在为临床病情分析和预后评估提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 3 月—2020 年 3 月内蒙古医科大学附属医院血液内科收治的 AML 患者 88 例为 AML 组,男 59 例,女 29 例;年龄: <50 岁 55 例, ≥ 50 岁 33 例;AML 分型:M2、M3 62 例,M4、M5 26 例;NCCN 分级:低中危 46 例,高危 42 例;髓外浸润 21 例;骨髓原始细胞比 $\geq 50\%$ 63 例, $<50\%$ 25 例;白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$ 31 例, $<10 \times 10^9/L$ 57 例。另选择同期于医院体检中心体检的健康志愿者 41 例为健康对照组,男 23 例,女 18 例,年龄 <50 岁 26 例, ≥ 50 岁 15 例。2 组性别和年龄比较差异无统计学意义,具有可比性($P>0.05$)。本研究已经获得医院伦理委员会批准(S. 2016029),受试者及其家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①经细胞形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学分型确诊为

AML;②临床资料完整;③定期接受随访。(2)排除标准:①其他类型白血病或血液肿瘤,比如急性淋巴细胞白血病、骨髓增生异常综合征、真性红细胞增多症等;②入组前接受抗肿瘤治疗;③合并严重肝肾功能障碍和心肺疾病;④合并自身免疫性疾病、感染性疾病。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 LncRNA XIST、miR-196b 表达检测:AML 患者入组次日(健康对照组体检当日)采集空腹外周静脉血 3 ml 注入干燥试管,取血液凝固后上层液离心,取上层液 -80°C 保存待检。取血清样本采用血液 RNA 分离试剂盒(美国赛默飞公司)按照说明书提取总 RNA,琼脂糖凝胶电泳选取吸光值 260/280 在 1.8 ~ 2.0 的总 RNA,采用 RT-qPCR 试剂盒(美国 Promega 公司)将总 RNA 逆转录为 cDNA。Real-Time qPCR 试剂盒(德国 QIAGEN 公司),7500 实时 PCR 系统(美国 Applied Biosystems 公司)定量检测 LncRNA XIST、miR-196b 表达。引物序列:LncRNA XIST,正向,5'-AATGACTGCCACTGCTGGG-3',反向,5'-GTGTAGGTGCTTCCCCAAGG-3';miR-196b,正向,5'-TAGGTACCACTT-TATCCCGTTTACCA-3',反向,5'-ATCTCGAGGCAGG-GAGAGAGGAATAA-3';U6,正向,5'-CTCGCTTCG-GCAGACA-3',反向,5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。反应条件: 95°C 15 min, 94°C 15 s, 55°C 30 s, 70°C 30 s,共 40 个循环。反应体系:Power SYBR® Green PCR Master Mix 2.5 μl , cDNA 2 μl (12.5 ng) 特异引物, RNase-Free ddH₂O 21 μl 。以 U6 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法检测 LncRNA-XIST、miR-196b 相对表达量。

1.3.2 随访:AML 患者出院后均定期电话随访以及门诊复查,第 1 年每 3 个月复查 1 次,之后每 6 个月复查 1 次,随访截至 2023 年 3 月。记录患者生存情况,总生存期(OS)定义为自诊断到因任何原因死亡或最后一次随访的时间。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.00 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较

采用独立样本 t 检验;Pearson 相关分析 LncRNA XIST 与 miR-196b 之间相关性;Kaplan-Meier 和 Log-Rank 检验不同 LncRNA XIST、miR-196b 表达 AML 患者生存率的差异;COX 回归分析影响 AML 患者预后的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达比较
AML 组血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

表 1 AML 组和健康对照组血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of serum LncRNA XIST and miR-196b expression between AML group and healthy control group				
组 别	例数	LncRNA XIST	miR-196b	
健康对照组	41	2.12 \pm 0.63	1.12 \pm 0.45	
AML 组	88	5.23 \pm 1.49	3.65 \pm 1.08	
t 值		12.820	14.405	
P 值		<0.001	<0.001	

2.2 不同病理特征 AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达比较 NCCN 分级高危、髓外浸润、白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$ 的 AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达高于 NCCN 分级低中危、无髓外浸润、白细胞计数 $< 10 \times 10^9/L$ 的 AML 患者($P < 0.01$),不同性别、年龄、AML 分型、骨髓原始细胞比例 AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 LncRNA XIST 与 miR-196b 的相关性分析 AML 患者血清 LncRNA XIST 与 miR-196b 表达呈正相关($r = 0.423, P < 0.001$)。

2.4 不同 LncRNA XIST、miR-196b 表达 AML 患者生存分析 中位随访 51(36~72)个月,随访期间死亡 55 例,存活 33 例。高 LncRNA XIST 表达($\geq 5.23, 45$ 例)、高 miR-196b 表达($\geq 3.65, 46$ 例) AML 患者 OS 率分别为 24.44%、28.26%,分别低于低 LncRNA XIST 表达($< 5.23, 43$ 例)、低 miR-196b 表达($< 3.65, 42$ 例)的 51.16%、47.62%,差异均有统计学意义(Log-Rank $\chi^2/P = 12.290 / < 0.001, 5.413 / 0.012$),见图 1。

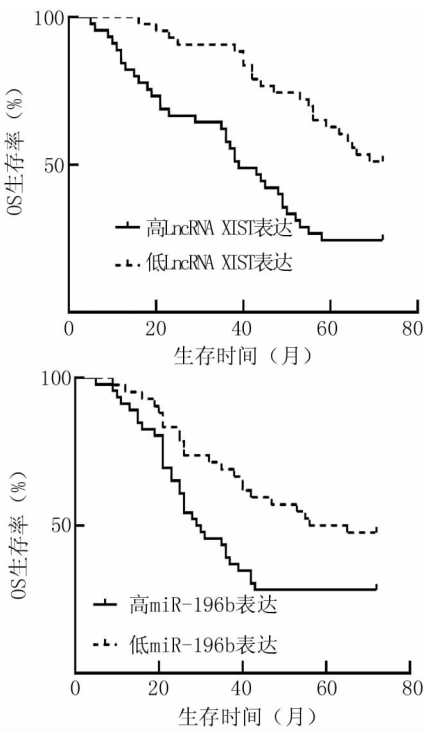


图 1 不同 LncRNA XIST、miR-196b 表达 AML 患者生存曲线
Fig.1 Survival curve of AML patients with different LncRNA XIST and miR-196b expressions

表 2 不同病理特征 AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)						
Tab.2 Comparison of serum LncRNA XIST and miR-196b expression in AML patients with different pathological characteristics						
项 目		例数	LncRNA XIST	t/P 值	miR-196b	t/P 值
性别	男	59	5.29 \pm 1.36	0.564/0.574	3.70 \pm 0.89	0.681/0.498
	女	29	5.11 \pm 1.50		3.55 \pm 1.12	
年龄	<50 岁	55	5.19 \pm 1.43	0.369/0.713	3.52 \pm 1.21	1.507/0.135
	≥ 50 岁	33	5.30 \pm 1.21		3.87 \pm 0.72	
AML 分型	M2、M3	62	5.29 \pm 1.09	0.777/0.439	3.75 \pm 1.02	1.414/0.161
	M4、M5	26	5.09 \pm 1.13		3.41 \pm 1.05	
NCCN 分级	低中危	46	4.63 \pm 0.73	8.410/ <0.001	3.22 \pm 0.69	7.261/ <0.001
	高危	42	5.89 \pm 0.67		4.12 \pm 0.43	
髓外浸润	有	21	5.92 \pm 0.53	5.830/ <0.001	4.23 \pm 0.41	5.658/ <0.001
	无	67	5.01 \pm 0.65		3.47 \pm 0.57	
骨髓原始细胞比例	<50%	25	5.16 \pm 1.13	0.433/0.666	3.52 \pm 1.06	0.828/0.410
	$\geq 50\%$	63	5.26 \pm 0.91		3.70 \pm 0.86	
白细胞计数	< $10 \times 10^9/L$	57	4.93 \pm 0.72	5.430/ <0.001	3.31 \pm 0.45	10.329/ <0.001
	$\geq 10 \times 10^9/L$	31	5.79 \pm 0.69		4.28 \pm 0.36	

2.5 影响 AML 患者预后的多因素 COX 回归分析

以 AML 患者预后为因变量(赋值:0 = 存活,1 = 死亡),以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量,进行 AML 患者预后的多因素 COX 回归分析,结果显示:NCCN 分级高危、髓外浸润、白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$ 、高 LncRNA XIST 表达、高 miR-196b 表达是影响 AML 患者预后不良的危险因素($P < 0.01$),见表 3。

表 3 影响 AML 患者预后的多因素 COX 回归分析

Tab. 3 COX regression analysis of multiple factors affecting the prognosis of AML patients

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR(95% CI)
常数项	10.658	2.452	18.893	<0.001	-
NCCN 分级高危	0.632	0.229	7.617	0.001	1.881(1.201 ~ 2.947)
髓外浸润	0.432	0.166	6.773	0.002	1.540(1.113 ~ 2.133)
WBC $\geq 10 \times 10^9/L$	0.395	0.117	11.398	<0.001	1.484(1.180 ~ 1.767)
LncRNA XIST 高	0.504	0.176	8.200	<0.001	1.655(1.172 ~ 2.337)
miR-196b 高	0.411	0.129	10.151	<0.001	1.508(1.171 ~ 1.942)

3 讨 论

AML 是一种遗传、表观遗传和临床异质性疾病,其特征是骨髓和外周血中未成熟髓系细胞的积累和扩增,导致正常造血功能的失败。AML 的发生与复杂多变的基因突变有关,使其在分子特征、发病机制、临床表现等方面具有很大的异质性^[7]。LncRNA 是长度超过 200 个核苷酸且缺乏有意义的开放阅读框的非编码 RNA,参与基因表达的表观遗传调控,在骨髓细胞分化和成熟中发挥重要作用,参与正常造血和 AML 的发生^[8]。miRNAs 是一种约有 22 个核苷酸的小 RNA,通过调控表观遗传改变、转录因子或癌蛋白改变等参与 AML 的发病过程^[9]。

本研究发现,AML 患者血清中 LncRNA XIST 表达较健康对照组显著上调,且 LncRNA XIST 过表达与 NCCN 分级高危、髓外浸润、白细胞计数增加、低生存率有关,可见 LncRNA XIST 在 AML 中发挥促癌基因作用。Wang 等^[10]也发现 AML 骨髓细胞中 LncRNA XIST 表达上调,沉默 LncRNA XIST 可抑制细胞活性和对化疗耐药。LncRNA XIST 是最早被发现的 LncRNA 之一,主要负责 X 染色体失活,雄性和雌性性染色体之间剂量补偿的进化过程,LncRNA XIST 可招募染色质修饰酶参与染色质结构的调控,从而导致 LncRNA XIST 调控的致癌或抑癌基因的表达发生变化,参与癌症发生过程^[11]。研究显示 LncRNA XIST 在结直肠癌、肺癌、口腔癌中表达增高^[12-14],下调 LncRNA XIST 表达可显著抑制癌细胞增殖、迁移和侵袭,诱导其凋

亡。分析 LncRNA XIST 参与 AML 的机制:首先,LncRNA XIST 通过靶向抑制其下游基因 miR-29a 表达上调髓细胞增生原癌基因,增加 AML 细胞活力,促进其增殖^[14]。其次,组蛋白去乙酰化酶(HDAC1)作为表观遗传调控因子,在肿瘤发生发展中发挥重要作用,HDAC1 表达上调可导致 AML 癌细胞侵袭和迁移,LncRNA XIST 可通过海绵化 miR-34a 在 AML 细胞中上调 HDAC1 表达,促使 AML 细胞增殖^[15]。可见 LncRNA XIST 过表达有助于 AML 细胞增殖,导致 AML 病情恶性进展和不良预后的发生。

本研究发现,miR-196b 在 AML 患者中表达上调,miR-196b 高表达与 NCCN 分级高危、髓外浸润、白细胞计数增加、低生存率有关,miR-196b 高表达可能促使 AML 恶性进展和预后不良。Xu 等^[16]研究也显示 miR-196b 过表达与儿童 AML 总生存率较低之间存在显著关联。miR-196b 属于 miR-196 家族,位于染色体 7p15.2 上,在食管癌、非小细胞肺癌中过表达^[17-18],可促进癌细胞增殖、细胞侵袭、淋巴结转移并阻断癌细胞凋亡,导致癌细胞对化疗和放疗耐药。分析 miR-196b 参与 AML 的机制:首先,CDKN1B(p27kip1)是 miR-196b 的直接靶点,miR-196b 通过靶向抑制 p27Kip1 的表达减少白血病潜伏期和白血病干细胞数量增加,拮抗 miR-196b 活性则增加 p27Kip1 表达抑制 AML 细胞增殖和生长^[19]。其次,TLR 信号通路激活可诱导免疫刺激反应,抑制造血干细胞的恶性克隆和增殖^[20],miR-196b 直接靶向 TLR 先天免疫信号通路及其通路中的细胞因子等抑制 TLR 信号传导,维持 AML 细胞未成熟状态,恶性增殖和存活^[21-22]。由此可见 miR-196b 在 AML 可能发挥促癌基因作用,导致 AML 恶性进展。

在恶性肿瘤发生和进展过程中,LncRNAs 可通过靶向 microRNAs 调控抑癌或促癌基因表达,影响细胞增殖和凋亡,本研究相关性分析表明 LncRNA XIST 与 miR-196b 表达呈正相关,研究显示 miR-196b 是 LncRNA XIST 的下游靶点,LncRNA XIST 调控 miR-196b 的表达^[23],因此推测 LncRNA XIST 与 miR-196b 之间可能存在相互作用机制,两者过表达协同促使 AML 细胞恶性增殖,导致 AML 预后不良的发生。

综上,AML 患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达均增高,高 LncRNA XIST、miR-196b 表达与 AML 恶性生物学行为以及不良预后的发生有关。LncRNA XIST 可能通过调控 miR-196b 表达促使 AML 恶性进展。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王婧妍:设计研究方案、研究流程,数据收集,实施研究过程,撰写论文;黄彬涛:提出研究方向、研究思路、研究选题,分析试验数据;高大:提出研究思路,论文审核;李慧婷:数据收集,分析整理;韩东海:数据收集,修订论文,论文终审

参考文献

[1] 陈晓奉,王蒙,李忠玉,等. Venetoclax 联合化疗治疗复发/难治性急性髓系白血病的临床研究[J]. 中国全科医学,2022,25(8):957-962. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2022.02.005.
Chen XF, Wang M, Li ZY, et al. Clinical study of Venetoclax combined with chemotherapy in the treatment of relapsed/refractory acute myeloid leukemia[J]. Chinese Journal of General Medicine, 2022, 25(8):957-962. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2022.02.005.

[2] Li H, Bi K, Feng S, et al. MiR-140 targets lncRNA DNAJC3-AS1 to suppress cell proliferation in acute myeloid leukemia[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2022, 14(1):e2022005. DOI:10.4084/MJHID.2022.005.

[3] Liu J, Yao L, Zhang M, et al. Downregulation of lncRNA-XIST inhibited development of non-small cell lung cancer by activating miR-335/SOD2/ROS signal pathway mediated pyroptotic cell death[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(18):7830-7846. DOI:10.18632/aging.102291.

[4] Liu H, Deng H, Zhao Y, et al. lncRNA XIST/miR-34a axis modulates the cell proliferation and tumor growth of thyroid cancer through MET-PI3K-AKT signaling[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):279. DOI:10.1186/s13046-018-0950-9.

[5] Li H, Feng C, Shi S. miR-196b promotes lung cancer cell migration and invasion through the targeting of GATA6[J]. Oncol Lett, 2018, 16(1):247-252. DOI:10.3892/ol.2018.8671.

[6] Li Y, Li J, Liu Z, et al. High expression of miR-196b predicts poor prognosis in patients with ovarian cancer[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13:9797-9806. DOI:10.2147/OTT.S254942.

[7] Cheng Y, Su Y, Wang S, et al. Identification of circRNA-lncRNA-miRNA-mRNA competitive endogenous RNA Network as novel prognostic markers for acute myeloid leukemia[J]. Genes (Basel), 2020, 11(8):868. DOI:10.3390/genes11080868.

[8] Li P, Li J, Wen F, et al. A novel cuproptosis-related lncRNA signature: Prognostic and therapeutic value for acute myeloid leukemia[J]. Front Oncol, 2022, 12:966920. DOI:10.3389/fonc.2022.966920.

[9] Xin X, Xu Z, Wei J, et al. MiR-376a-3p increases cell apoptosis in acute myeloid leukemia by targeting MTIX[J]. Cancer Biol Ther, 2022, 23(1):234-242. DOI:10.1080/15384047.2022.2054243.

[10] Wang C, Li L, Li M, et al. Silencing long non-coding RNA XIST suppresses drug resistance in acute myeloid leukemia through down-regulation of MYC by elevating microRNA-29a expression[J]. Mol Med, 2020, 26(1):114. DOI:10.1186/s10020-020-00229-4.

[11] Liu H, Wang D, Kan S, et al. The role of lncRNAs and XIST in oral cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10:826650. DOI:10.3389/fcell.2022.826650.

[12] Chen S, Shen X. Long noncoding RNAs: Functions and mechanisms

in colon cancer[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1):167. DOI:10.1186/s12943-020-01287-2.

[13] Liu JH, Li C, Cao L, et al. Cucurbitacin B regulates lung cancer cell proliferation and apoptosis via inhibiting the IL-6/STAT3 pathway through the lncRNA XIST/miR-let-7c axis[J]. Pharm Biol, 2022, 60(1):154-162. DOI:10.1080/13880209.2021.2016866.

[14] Tao B, Wang D, Yang S, et al. Cucurbitacin B Inhibits cell proliferation by regulating X-Inactive specific transcript expression in tongue cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11:651648. DOI:10.3389/fonc.2021.651648.

[15] Wen C, Lu X, Sun Y, et al. Naringenin induces the cell apoptosis of acute myeloid leukemia cells by regulating the lncRNA XIST/miR-34a/HDAC1 signaling[J]. Heliyon, 2023, 9(5):e15826. DOI:10.1016/j.heliyon.2023.e15826.

[16] Xu L, Guo Y, Yan W, et al. High level of miR-196b at newly diagnosed pediatric acute myeloid leukemia predicts a poor outcome[J]. EXCLI J, 2017, 16:197-209. DOI:10.17179/excli2016-707.

[17] Chen C, Ma Z, Jiang H. EMT participates in the regulation of exosomes secretion and function in esophageal cancer cells[J]. Technol Cancer Res Treat, 2021, 20:15330338211033077. DOI:10.1177/15330338211033077.

[18] Liang G, Meng W, Huang X, et al. miR-196b-5p-mediated downregulation of TSPAN12 and GATA6 promotes tumor progression in non-small cell lung cancer[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(8):4347-4357. DOI:10.1073/pnas.1917531117.

[19] Meyer SE, Muench DE, Rogers AM, et al. miR-196b target screen reveals mechanisms maintaining leukemia stemness with therapeutic potential[J]. J Exp Med, 2018, 215(8):2115-2136. DOI:10.1084/jem.20171312.

[20] Ignatz-Hoover JJ, Wang H, Moreton SA, et al. The role of TLR8 signaling in acute myeloid leukemia differentiation[J]. Leukemia, 2015, 29(4):918-926. DOI:10.1038/leu.2014.293.

[21] 罗婷,刘丽,饶琦,等.血清 miR-214、miR-143 在急性髓系白血病中的表达水平及与疾病复发的关系[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(2):155-160. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.02.008.
Luo T, Liu L, Rao Q, et al. The expression level of serum miR-214 and miR-143 in acute myeloid leukemia and their relationship with disease re-currence[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2023, 22(2):155-160. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.02.008.

[22] Gamlen HA, Romer-Seibert JS, Lawler ME, et al. miR-196b-TLR7/8 signaling axis regulates innate immune signaling and myeloid maturation in DNMT3A-Mutant AML[J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(20):4574-4586. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-22-1598.

[23] 刘军,郑慧敏,丁洋洋,等. lncRNA XIST 在急性髓系白血病中的表达及其临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(9):1439-1443. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.09.022.
Liu J, Zheng HM, Ding YY, et al. Expression of lncRNA XIST in acute myeloid leukemia and its clinical significance[J]. Journal of Anhui Medical University, 2019, 54(9):1439-1443. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.09.022.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 010

肿瘤防治专题

MR、DWI 鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤的价值分析

赵思, 宗园, 张可, 冯颖颖

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20221714)

作者单位: 050000 石家庄市人民医院影像中心

通信作者: 赵思, E-mail: 15903112056@163. com



【摘 要】 目的 探讨磁共振成像(MR)、弥散加权磁共振成像(DWI)鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤的价值。方法 选取 2021 年 6 月—2022 年 6 月石家庄市人民医院收治的经病理证实的浅表软组织肿瘤患者 80 例作为研究对象,其中良性肿瘤组 50 例,恶性肿瘤组 30 例。所有患者行常规 MR 扫描和 DWI 检查,比较良性肿瘤组和恶性肿瘤组的 MR 影像学特征,比较 2 组最大强化率(ER_{max})、最大上升斜率($Slope_{max}$)和表观弥散系数(ADC)值,受试者工作特征曲线(ROC)分析 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 鉴别良恶性软组织肿瘤的效能。结果 良性肿瘤组和恶性肿瘤组在 MR 检查中肿瘤大小、肿瘤边界、肿瘤信号、侵袭性、强化方式比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。MR、DWI 及 MR 结合 DWI 诊断恶性肿瘤的符合率分别为 66.7%、73.3%、83.3%;MR、DWI 及 MR 结合 DWI 诊断良性肿瘤的符合率分别为 76.0%、80.0%、88.0%,MR 结合 DWI 检测均高于 MR、DWI 单项检测($Z = 3.208, 3.412, P < 0.05$)。良性肿瘤组 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 值低于恶性肿瘤组,ADC 值高于恶性肿瘤组($t/P = 6.711 / < 0.001, 4.220 / < 0.001, 12.959 / < 0.001$); ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 及三者联合诊断鉴别良恶性软组织肿瘤的 AUC 值为 0.827、0.744、0.768、0.933,三者联合高于单项检测($Z/P = 4.212 / < 0.001, 3.451 / < 0.001, 3.425 / < 0.001$)。结论 MR、DWI 参数有助于鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤,联合 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 值可提高诊断的准确性。

【关键词】 良恶性浅表软组织肿瘤;磁共振成像;弥散加权磁共振成像;诊断

【中图分类号】 R730.44

【文献标识码】 A

Value analysis of MR and DWI in differential diagnosis of benign and malignant superficial soft tissue tumors Zhao Si, Zong Yuan, Zhang Ke, Feng Yingying. Department of Imaging, Shijiazhuang People's Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Zhao Si, E-mail: 15903112056@163. com

Funding program: Hebei Medical Science Research Project Plan (20221714)

【Abstract】 **Objective** To explore the value of magnetic resonance imaging (MR) and diffusion weighted magnetic resonance imaging (DWI) in the differential diagnosis of benign and malignant superficial soft tissue tumors. **Methods** Eighty patients with pathologically confirmed superficial soft tissue tumors admitted to Shijiazhuang People's Hospital from June 2021 to June 2022 were selected as the study subjects, including 50 cases in the benign tumor group and 30 cases in the malignant tumor group. All patients underwent routine MR scanning and DWI examination to compare the MR imaging features of the benign and malignant tumor groups. The maximum enhancement rate (ER_{max}), maximum slope of increase ($Slope_{max}$), and apparent diffusion coefficient (ADC) values were compared between the two groups. The efficacy of subject operating characteristic curve (ROC) analysis of ER_{max} , $Slope_{max}$, and ADC in distinguishing benign and malignant soft tissue tumors was also evaluated. **Results** There were statistically significant differences in tumor size, tumor boundary, tumor signal, invasiveness, and enhancement mode between the benign tumor group and the malignant tumor group in MR examination ($P < 0.05$). The coincidence rates of MR, DWI, and MR combined with DWI in diagnosing malignant tumors were 66.7%, 73.3%, and 83.3%, respectively. The coincidence rates of MR, DWI, and MR combined with DWI in diagnosing benign tumors were 76.0%, 80.0%, and 88.0%, respectively. MR combined with DWI detection was higher than MR and DWI single detection ($Z = 3.208, 3.412, P < 0.05$). The ER_{max} and $Slope_{max}$ values in the benign tumor group were lower than those in the malignant tumor group, while the ADC values were higher than those in the malignant tumor group ($t/P = 6.711 / <$

0.001, 4.220/ <0.001 , 12.959/ <0.001); The AUC values of ER_{max} , $Slope_{max}$, ADC, and their combination in the diagnosis and differentiation of benign and malignant soft tissue tumors were 0.827, 0.744, 0.768, and 0.933, which were higher than those of single detection ($Z/P=4.212/ <0.001 , 3.451/ <0.001 , 3.425/ <0.001). **Conclusion** MR and DWI parameters are helpful in the differential diagnosis of benign and malignant superficial soft tissue tumors, and the combination of ER_{max} , $Slope_{max}$, and ADC values can improve the accuracy of diagnosis.$

【Key words】 Benign and malignant superficial soft tissue tumors; Magnetic resonance imaging; Diffusion weighted magnetic resonance imaging; Diagnosis

浅表软组织肿瘤是位于皮肤、皮下组织等部位的体表肿块,其成分复杂,种类繁多,术前诊断相对困难^[1]。在临床诊疗中,多数浅表软组织肿瘤为良性,经手术切除后患者预后良好,但恶性浅表软组织肿瘤侵袭性高、浸润速度快,临床上以扩大切除为原则,部分患者预后较差^[2]。因此良恶性软组织肿瘤的鉴别诊断对于手术方案和术后辅助放化疗的选择具有重要意义。活检常用于术前诊断,但肿瘤异质性导致活检存在取样不准确、创伤等缺点。常规磁共振成像(magnetic resonance, MR)组织分辨率高,但由于软组织肿瘤成分复杂且种类繁多,导致影像特征存在重叠,术前定性诊断困难^[3]。随着近年来影像学技术的发展,弥散加权磁共振成像(diffusion-weighted magnetic resonance imaging, DWI)等新技术应用于临床,为软组织肿块的性质鉴别提供了新方法^[4]。DWI是功能磁共振的成像技术之一,可提供肿瘤细胞内细胞性质的定性和定量评估,被广泛应用于前列腺、肝脏、乳腺等疾病的影像学诊断^[5]。本研究旨在探讨MR、DWI鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2021年6月—2022年6月在石家庄市人民医院影像科行MR、DWI检查的浅表软组织肿瘤患者80例作为研究组,检查后均经病理确诊肿瘤性质。其中男42例,女38例,年龄18~80(48.22 ± 3.12)岁;BMI 16~26(22.35 ± 2.25) kg/m²。经穿刺活检病理证实10例,经手术病理证实70例。恶性肿瘤30例(恶性肿瘤组),包括滑膜肉瘤10例,平滑肌肉瘤8例,纤维肉瘤4例,梭形细胞肉瘤2例,黏液性纤维肉瘤2例,恶性神经鞘瘤2例,横纹肌肉瘤2例。良性肿瘤50例(良性肿瘤组),包括血管瘤14例,腱鞘巨细胞瘤10例,神经鞘瘤10例,弹力纤维瘤6例,平滑肌瘤4例,骨化性肌炎4例,脂肪瘤2例。本研究经医院伦理委员会批准([2021]第130号),患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①MR检查前未接受穿刺活检及手术治疗者;②MR检查后行手术或

穿刺活检,有明确病理结果;③临床资料齐全者。(2)排除标准:①既往有血管病变,存在肢体血管狭窄者;②MR检查前接受过放化疗及手术治疗者;③图像质量差;④有其他部位全身性恶性肿瘤者;⑤MR提示完全囊性病变者;⑥肿物过大,单屏幕无法完全显示者;⑦临床资料缺失者等。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 MR扫描:使用磁共振扫描仪(美国GE公司,型号:Signa HDx 3.0T)对患者患病部位进行轴位、冠状及矢状面扫描,扫描参数:T1WI的TE设为12 ms, TR 400 ms, FOV 380×380 mm,层距1 mm,层厚5 mm; T2WI的TE设为80 ms, TR 3 300 ms, FOV 380 mm×380 mm,层距1 mm,层厚5 mm。选择轴位进行动态增强扫描,经静脉团注对比剂钆喷酸葡胺(Gd-DTPA),注射剂量0.1 mmol/kg,流速2.5 ml/s,在第二个时相扫描时同时注射。采用三维脂肪抑制快速扰相梯度回波T1WI序列,扫描参数:TE 1.25 ms, TR 3.75 ms, FOV 180 mm×180 mm,层厚2.0 mm,扫描层数根据肿瘤大小设定,采集时间20 s,采集13~25时相,采集时间5 min。后行增强扫描,T1WI的TE设为12 ms, TR 440 ms, FOV 380 mm×380 mm,层距1 mm,层厚5 mm。将所有动态增强扫描数据传至工作站,观察病灶强化情况,在病灶最强区域放置感兴趣区,得到病灶的时间—信号强度曲线。通过增强前信号强度(enhanced pre-signal strength, SI_{pre})、增强后信号强度(enhanced signal strength, SI_{max})、最大信号强度的时间间隔,计算最大强化率(maximum enhancement rate, ER_{max})和最大上升斜率(maximum rising slope, $Slope_{max}$)。

1.3.2 DWI扫描:将扩散敏感系数设为500 s/mm², TE 45 ms, TR 6 000 ms,层距1 mm,层厚5 mm, FOV 380 mm×380 mm,行增强扫描时,经肘静脉注射造影剂,TE设为2.0 ms, TR 5.0 ms,层厚5 mm, FOV 380 mm×380 mm。根据T1WI、T2WI观察并记录软组织肿瘤的大小、形态、信号等,处理扩散加权成像的数据,选取病变实质的最大层面及病变范围的最大层面作为感兴趣区,测量病变区表观弥散系数(apparent

dispersion coefficient, ADC) 值, 测量时避开出血、坏死、液化等信号区, 连续测量病灶的 3 个层面, 每个平面测量 5 次, 取平均值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较采用独立样本 χ^2 检验; 符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 使用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 单独及联合检测的曲线下面积 (AUC)、灵敏度、特异度和约登指数。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 良恶性软组织肿瘤 MR 图像表现 良性软组织肿瘤多为均匀强化、无肿瘤侵袭性, 见图 1; 恶性软组织肿瘤多为不均匀强化、具有侵袭性, 见图 2。

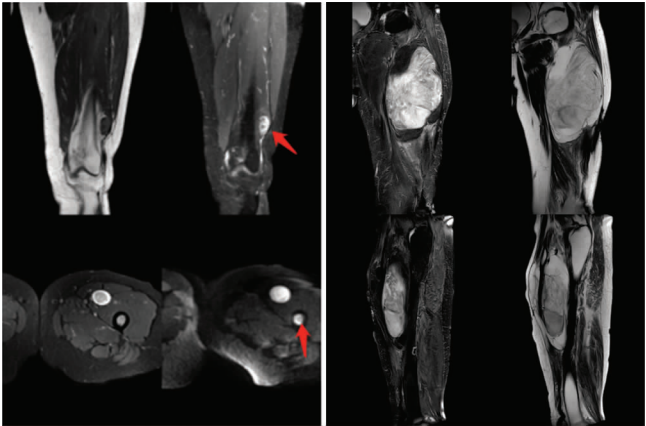


图 1 良性软组织肿瘤 MR 图像 Fig. 1 MR images of benign soft tissue tumors

图 2 恶性软组织肿瘤 MR 图像 Fig. 2 MR images of malignant soft tissue tumors

2.2 良恶性软组织肿瘤 DWI 图像表现 良性软组织肿瘤病灶较小、肿瘤边界清晰、T2WI 信号均匀、不具有肿瘤侵袭性、多为均匀强化, 见图 3; 恶性软组织肿瘤病灶较大、肿瘤边界不清晰、T2WI 信号不均匀、具有肿瘤侵袭性、多为不均匀强化, 见图 4。

2.3 良恶性软组织肿瘤在 MR 中的影像特征比较 良性肿瘤组和恶性肿瘤组肿瘤大小、强化方式、肿瘤侵袭性比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 肿瘤形态、边缘、信号比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

2.4 良恶性软组织肿瘤在 DWI 中的影像特征比较 良性肿瘤组和恶性肿瘤组肿瘤大小、肿瘤边界、肿瘤信号、侵袭性、强化方式比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 瘤周水肿比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

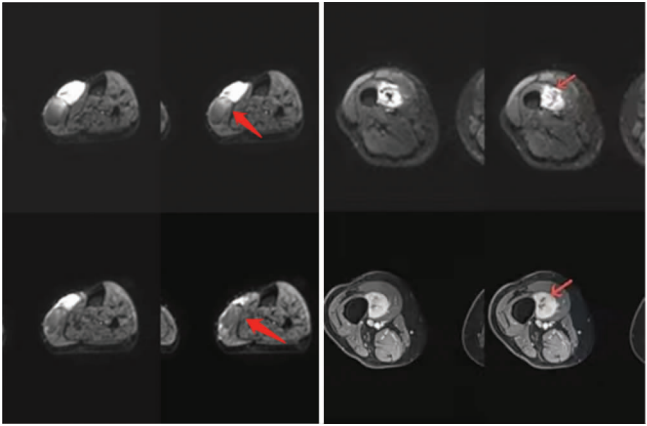


图 3 良性软组织肿瘤 DWI 图像 Fig. 3 DWI images of benign soft tissue tumors

图 4 恶性软组织肿瘤 DWI 图像 Fig. 4 DWI images of malignant soft tissue tumors

表 1 良恶性软组织肿瘤在 MR 中的影像特征比较 [例 (%)]

Tab. 1 Comparison of imaging features of benign and malignant soft tissue tumors in MR imaging

病变特征	良性肿瘤组 (n = 50)	恶性肿瘤组 (n = 30)	χ^2 值	P 值
肿瘤大小 (cm ²)			10.243	0.001
< 25	35 (70.00)	10 (33.33)		
≥ 25	15 (30.00)	20 (66.67)		
肿瘤形态			0.213	0.644
圆形或类圆形	26 (52.00)	14 (46.67)		
不规则形	24 (48.00)	16 (53.33)		
边缘			2.872	0.090
清晰	36 (72.00)	16 (53.33)		
模糊	14 (28.00)	14 (46.67)		
信号			0.478	0.489
T1 低信号	40 (80.00)	22 (73.33)		
T1 高或稍高信号	10 (20.00)	8 (26.67)		
T2 低信号	0	0	11.270	0.051
T2 高或稍高信号	50 (100.00)	30 (100.00)		
强化方式			6.963	0.008
不均匀明显强化	15 (30.00)	18 (60.00)		
均匀强化	35 (70.00)	12 (40.00)		
肿瘤侵袭性			30.561	< 0.001
有	10 (20.00)	25 (83.33)		
无	40 (80.00)	5 (16.67)		

2.5 MR、DWI 及二者联合诊断良恶性软组织肿瘤 经病理学检查, 恶性肿瘤 30 例, 良性肿瘤 50 例。MR、DWI 及 MR 结合 DWI 诊断恶性肿瘤的符合率分别为 66.7% (20/30)、73.3% (22/30)、83.3% (25/30); MR、DWI 及 MR 结合 DWI 诊断良性肿瘤的符合率分别为 76.0% (38/50)、80.0% (40/50)、88.0% (44/50), MR 结合 DWI 检测均高于 MR、DWI 单项检测 ($Z = 3.208, 3.412, P < 0.05$), 见表 3。

表 2 良恶性软组织肿瘤在 DWI 中的影像特征比较 [例(%)]

Tab. 2 Comparison of imaging features between benign and malignant soft tissue tumors in DWI

病变特征	良性肿瘤组 (n = 50)	恶性肿瘤组 (n = 30)	χ^2 值	P 值
肿瘤大小 (cm ²)			22.222	<0.001
< 25	40 (80.00)	8 (26.67)		
≥ 25	10 (20.00)	22 (73.33)		
肿瘤边界			5.333	0.021
清晰	30 (60.00)	10 (33.33)		
不清晰	20 (40.00)	20 (66.67)		
T2WI 信号			5.884	0.015
均匀	12 (24.00)	1 (3.33)		
不均匀	38 (76.00)	29 (96.67)		
侵袭性			30.561	<0.001
有	10 (20.00)	25 (83.33)		
无	40 (80.00)	5 (16.67)		
强化方式			22.222	<0.001
均匀	40 (80.00)	8 (26.67)		
不均匀	10 (20.00)	22 (73.33)		
瘤周水肿			3.008	0.083
有	20 (40.00)	18 (60.00)		
无	30 (60.00)	12 (40.00)		

表 3 MR、DWI 及二者联合诊断良恶性软组织肿瘤 [例(%)]

Tab. 3 MR, DWI, and their combined diagnosis of benign and malignant soft tissue tumors

影像诊断	结果	病理检查		总计
		恶性 (n = 30)	良性 (n = 50)	
MR	恶性	20 (66.7)	12 (24.0)	32 (40.00)
	良性	10 (33.3)	38 (76.0)	48 (60.00)
DWI	恶性	22 (73.3)	10 (20.0)	32 (40.00)
	良性	8 (26.7)	40 (80.0)	48 (60.00)
MR 结合 DWI	恶性	25 (83.3)	6 (12.0)	31 (38.75)
	良性	5 (16.7)	44 (88.0)	49 (61.25)

2.6 良恶性软组织肿瘤 MR、DWI 定量参数比较 良性肿瘤组 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 值低于恶性肿瘤组,ADC 值高于恶性肿瘤组 ($P < 0.01$),见表 4。

表 4 2 组 MR、DWI 定量参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of quantitative parameters of MR and DWI between two groups

参数	良性肿瘤组 (n = 50)	恶性肿瘤组 (n = 30)	t 值	P 值
ER_{max} (%)	260.86 ± 103.47	477.20 ± 185.26	6.711	<0.001
$Slope_{max}$ (%)	14.65 ± 5.53	20.08 ± 5.64	4.220	<0.001
ADC (mm ² /s)	1.75 ± 0.32	0.93 ± 0.17	12.959	<0.001

2.7 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 鉴别良恶性软组织肿瘤的效能 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 联合诊断鉴别良恶性软组织肿瘤的 AUC 值显著高于单项指标检测 ($Z/P =$

4.212/ <0.001, 3.451/ <0.001, 3.425/ <0.001),见表 5、图 5。

表 5 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 鉴别良恶性软组织肿瘤的效能

Tab. 5 Efficiency of ER_{max} , $Slope_{max}$, and ADC in distinguishing benign and malignant soft tissue tumors

项 目	cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
ER_{max}	321.23%	0.827 *	0.726 ~ 0.902	0.800	0.760	0.560
$Slope_{max}$	18.34%	0.744 *	0.635 ~ 0.835	0.867	0.540	0.407
ADC	1.37 mm ² /s	0.768 *	0.660 ~ 0.855	0.767	0.840	0.607
联合检测		0.933	0.854 ~ 0.977	0.967	0.780	0.747

注:与联合检测 AUC 比较, * $P < 0.05$ 。

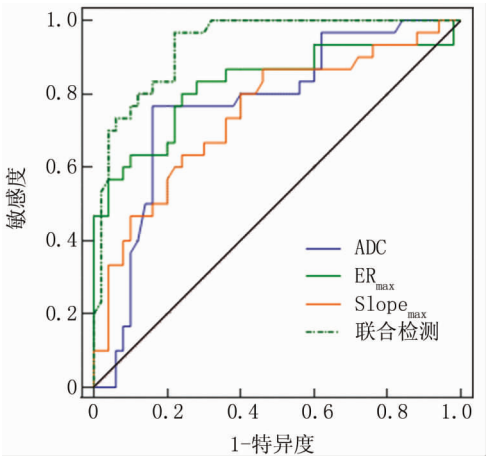


图 5 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 鉴别良恶性软组织肿瘤的 ROC 曲线

Fig. 5 ROC curve for distinguishing benign and malignant soft tissue tumors using ER_{max} , $Slope_{max}$, and ADC

3 讨论

软组织肿瘤是一类来源于纤维、脂肪、淋巴管等结缔组织的肿瘤,具有多种组织学特性,其中以良性最为多见^[6]。恶性软组织肿瘤由于恶性程度较高、侵袭速度较快,预后凶险,临床以扩大切除为原则。外科手术是治疗软组织肿瘤的主要方式,肿瘤部位、肿瘤大小、肿瘤与临近组织结构的关系对手术方案选择非常重要,肿瘤良恶性鉴别具有重要意义^[7]。影像学可通过包络整个肿瘤感兴趣体积,提取肿瘤内形态、异质性等特征,全面可靠地评估肿瘤,进而提高影像诊断疾病的准确度和对预后的预测价值^[8]。常规超声波检查是诊断软组织肿瘤的常用方法,其通过测定肿物的大小、形态、回声及血流信号等判断肿瘤的良恶性,但其评估肿瘤良恶性的准确度不高^[9]。CT 具有较高的空间分辨率和密度分辨率,可清晰显示皮下组织、血管、皮肤等部位的肿瘤,但由于很多软组织肿瘤缺乏 CT

值特异性,仅靠 CT 定性诊断的价值亦不高^[10]。

本研究结果中,MR 影像特征中,良性软组织肿瘤病灶较小、多为均匀强化、无肿瘤侵袭性,恶性软组织肿瘤病灶较大、多为不均匀强化、具有侵袭性,良性肿瘤组和恶性肿瘤组肿瘤大小、强化方式、肿瘤侵袭性差异均有统计学意义($P < 0.05$),肿瘤形态、边缘、信号差异无统计学意义($P > 0.05$);DWI 影像特征中,良性软线织肿瘤病灶较小、肿瘤边界清晰、T2WI 信号均匀、不具有肿瘤侵袭性、多为均匀强化,恶性肿瘤病灶较大、肿瘤边界不清晰、T2WI 信号不均匀、具有肿瘤侵袭性、多为不均匀强化,良性肿瘤组和恶性肿瘤组肿瘤大小、肿瘤边界、肿瘤信号、侵袭性、强化方式差异均有统计学意义($P < 0.05$),MR、DWI 及 MR 结合 DWI 诊断良性肿瘤的符合率分别为 76.0%、80.0%、88.0%,诊断恶性肿瘤的符合率分别为 66.7%、73.3%、83.3%,MR 结合 DWI 诊断均高于单项检测($P < 0.05$),与既往文献报道相符^[11]。常规 MR 的成像清晰,组织分辨率较高,其可提供肿瘤位置、大小、边界、肿瘤与周围神经血管的关系等信息,可诊断多数良性软组织肿瘤,但对于非特异性征象的良恶性肿瘤鉴别存在困难。动态增强 MR 通过半定量或定量分析,可评估肿瘤血液灌注情况,反映肿瘤组织血管的功能状态^[12]。恶性肿瘤生长旺盛,可诱导毛细血管生长,瘤体早期灌注效应明显,对比剂向外间隙渗出快,而良性肿瘤供养的血管较少,对比剂灌注效应不明显。动态增强 MR 通过分析肿瘤的时间—信号强度曲线和 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 值等参数,在鉴别良恶性软组织肿瘤方面有重要价值。如何将传统影像学技术和影像学新技术结合,帮助临床评估软组织肿瘤的性质成为相关研究的重要方向。另外有研究显示^[13],良性肿瘤与恶性肿瘤的肿瘤边缘差异有统计学意义,但本研究 MR 影像特征中二者差异无统计学意义,分析原因可能与本研究样本量较少有关,还需扩大样本量深入探讨。

本研究结果还显示,ADC 鉴别良恶性软组织肿瘤的 AUC 值、敏感度、特异度分别为 0.768、0.767、0.840,单独诊断价值不高。将 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 三者联合鉴别诊断软组织肿瘤的良恶性,结果显示 AUC 值为 0.933,高于单项检测,提示 MR 联合 DWI 鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤的价值较高。DWI 是一种基于水分子微观运动,反映水分子扩散运动快慢的技术,扩散是水分子根据不同温度进行的随机运动,组织水分子扩散可反映细胞密度较低的坏死组织和细胞密度较高的肿瘤组织,ADC 值是 DWI 的定量指标,反映活体组织的细胞密度^[14]。DWI 目前已用于鉴别诊断

早期脑梗死和颅内囊性肿瘤,最近一些研究使用 ADC 值鉴别软组织肿瘤的良恶性,但结论不一。陈东等^[15]研究显示,良性肿瘤和恶性肿瘤的真性扩散系数差异具有统计学意义。而罗乐凯等^[16]研究显示良性肿瘤和恶性肿瘤的 ADC 值有重合,无法进行鉴别诊断。本研究为得到高质量的 ADC 图,将扩散敏感系数设为 500 s/mm^2 。感兴趣区(ROI)的选择是图像分析的关键,软组织肿瘤往往包括出血、钙化、坏死等组织,ROI 应选择信号均匀的肿瘤实体部分。细胞大小和数目、肿瘤坏死和出血、血管灌注以及细胞外间隙均是影响 DWI 信号和 ADC 值的因素。细胞数目密集、体积较大、排列紧密均会限制水分子的扩散,进而影响 ADC 值^[17-18]。本研究在勾画 ROI 时,避开了肿瘤坏死、囊变、黏液变区域,这可能会与既往研究结果不同,有待未来扩大样本量进一步分析黏液类肿瘤亚组^[19-20]。笔者认为应选择合适的 ROI 评估软组织肿瘤的异质性,选择肿瘤部位明显的实性区域的 ADC 值,准确反映瘤体水分子扩散受限情况。

综上,MR、DWI 有助于鉴别诊断良恶性浅表软组织肿瘤,联合 ER_{max} 、 $Slope_{max}$ 、ADC 值参数可提高诊断的准确性。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

赵思:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;宗园:设计研究思路,分析试验数据;张可:资料收集整理;冯颖颖:进行统计学分析,修改论文

参考文献

- [1] 朱宪增,唐芳勇. MRI 动态增强与扩散加权成像在乳腺肿瘤良恶性病变鉴别诊断中的效果分析[J]. 中国临床实用医学,2017,8(1):14-16. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-8799.2017.01.004. Zhu XZ,Tang FY. Effect of dynamic MRI enhancement and diffusion-weighted imaging in differential diagnosis of benign and malignant breast tumors [J]. China Clin Prac Med,2017,8(1):14-16. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-8799.2017.01.004.
- [2] 陈涛,樊建中,吴彩云,等. 成人原发前纵隔恶性肿瘤的多模态成像影像表现及其应用价值[J]. 河北医科大学学报,2020,41(10):1227-1230. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2020.10.025. Chen T,Fan JZ,Wu CY,et al. Multimodal imaging of primary anterior mediastinal malignant tumor in adults and its application value[J]. J Hebei Med Unive,2020,41(10):1227-1230. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2020.10.025.
- [3] 詹茸婷,陈兵,王晓东,等. 动态增强 MRI 联合 DWI 对非肿块型乳腺癌与肉芽肿性乳腺炎的鉴别诊断价值[J]. 磁共振成像,2018,9(12):948-952. DOI:10.12015/issn.1674-8034.2018.12.012. Zhan RT,Chen B,Wang XD,et al. Value of dynamic enhanced MRI combined with DWI in differential diagnosis of non-mass breast cancer and granulomatous mastitis[J]. Mag Reson Imag,2018,9(12):

- 948-952. DOI:10.12015/issn.1674-8034.2018.12.012.
- [4] 图爽,徐哲,于丽华,等. MRI 动态增强成像联合 DWI 鉴别诊断乳腺肿瘤良恶性临床分析[J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27 (18): 69-70. DOI:10.3969/j. issn. 1006-6586. 2019. 15. 032.
- Tu S, Xu Z, Yu LH, et al. Clinical analysis of differential diagnosis of benign and malignant breast tumors by dynamic enhanced MRI imaging combined with DWI[J]. Chi Med Dev Inform, 2021, 27 (18): 69-70. DOI:10.3969/j. issn. 1006-6586. 2019. 15. 032.
- [5] 罗旭东. MRI 动态增强成像联合 DWI 鉴别诊断乳腺肿瘤良恶性的价值[J]. 国际医药卫生导报, 2019, 25 (13): 2096-2099. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1007-1245. 2019. 13. 026.
- Luo XD. Value of MRI dynamic enhanced imaging combined with DWI in differential diagnosis of benign and malignant breast tumors[J]. Internat Med Heal Rev, 2019, 25 (13): 2096-2099. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1007-1245. 2019. 13. 026.
- [6] 冯静,卢占斌,曲红卫,等. DCE-MRI 联合 DWI 在鉴别诊断卵巢良恶性肿瘤中的应用价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2019, 17 (11): 90-93. DOI:CNKI;SUN;CTMR. 0. 2019-11-029.
- Feng J, Lu ZB, Qu HW, et al. Application value of DCE-MRI combined with DWI in differential diagnosis of benign and malignant ovarian tumors[J]. Chi J CT MRI, 2019, 17 (11): 90-93. DOI: CNKI;SUN;CTMR. 0. 2019-11-029.
- [7] Marwa R, Tarek R, Mohamed K, et al. The diagnostic value of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in characterization of musculoskeletal soft tissue tumors[J]. Egy J Rad NucMed, 2018, 49 (2): 400-407. DOI:10.1016/j. ejrm. 2018. 01. 014.
- [8] Allam KE, Elkhalek YIA, Hassan HGEMA, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in differentiation between different vertebral lesions using ADC mapping as a quantitative assessment tool[J]. Egy J Rad Nuc Med, 2022, 53 (1): 155-158. DOI:10.1186/s43055-022-00827-8.
- [9] 程庚哲,班秀丽,李海传,等. 腹部磁共振弥散加权成像(DWI)技术在对肝脏良、恶性肿瘤鉴别中的价值[J]. 影像研究与医学应用, 2018 (14): 91-92. DOI: 10.3969/j. issn. 1674-9308. 2017. 02. 043.
- Cheng GZ, Ban XL, Li HC, et al. Value of abdominal magnetic resonance diffusion weighted imaging (DWI) in differentiating benign and malignant liver tumors[J]. Imag Resear Med Applic, 2018 (14): 91-92. DOI:10.3969/j. issn. 1674-9308. 2017. 02. 043.
- [10] 苏林强,吕海蓉,高燕军,等. 3.0T MRI 常规平扫, DWI 及 IVIM 扫描在良恶性肺结节鉴别中的应用价值[J]. 临床医学研究与实践, 2020, 5 (20): 132-134. DOI: 10.19347/j. cnki. 2096-1413. 202020049.
- Su LQ, Lyu HR, Gao YJ, et al. Application value of 3.0T MRI routine plain scan, DWI and IVIM scanning in differentiating benign and malignant pulmonary nodules[J]. Cli Med Resear Pract, 2020, 5 (20): 132-134. DOI:10.19347/j. cnki. 2096-1413. 202020049.
- [11] 迪丽拜尔·玉奴司,曹勇,阿克班. 多层螺旋 CT 和 MRI 扩散加权成像对四肢软组织肿瘤的诊断效果评价[J]. 中国医学装备, 2019, 16 (7): 99-102. DOI: 10.3969/J. ISSN. 1672-8270. 2019. 07. 023.
- Dilibaier Y, Cao Y, Akeban. Evaluation of diffusion-weighted multi-slice spiral CT and MRI in the diagnosis of soft tissue tumors in extremities[J]. Chin Med Equi, 2019, 16 (7): 99-102. DOI:10.3969/J. ISSN. 1672-8270. 2019. 07. 023.
- [12] 冯茜茜,韩福刚,肖燕,等. 基于磁共振常规序列的纹理分析在鉴别四肢软组织肿瘤良恶性中的应用价值[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2021, 27 (4): 313-317. DOI:10.3969/j. issn. 1006-5741. 2021. 04. 008.
- Feng QQ, Han FG, Xiao Y, et al. Application value of texture analysis based on conventional magnetic resonance sequences in differentiating benign and malignant soft tissue tumors of limbs[J]. Chin J Med Comp Imag, 2021, 27 (4): 313-317. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-5741. 2021. 04. 008.
- [13] 明洁,黎星,汪湍. 3.0 T 磁共振扩散加权成像(DWI)序列扫描鉴别诊断良恶性肝脏肿瘤的临床价值[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7 (99): 142-143. DOI: CNKI; SUN; ZYCX. 0. 2020-13-033.
- Ming J, Li X, Wang R. Clinical value of 3.0T magnetic resonance diffusion-weighted imaging (DWI) sequence scanning in differential diagnosis of benign and malignant liver tumors[J]. Elect J Cli Med Liter, 2020, 7 (99): 142-143. DOI: CNKI; SUN; ZYCX. 0. 2020-13-033.
- [14] 龙猛,李道伟,张野. MRI 扩散加权成像与多层螺旋 CT 对四肢软组织肿瘤的诊断价值对比[J]. 航空航天医学杂志, 2020, 31 (2): 192-194. DOI:CNKI;SUN;HKHT. 0. 2020-02-03.
- [15] 陈东,史彬,郑明雪,等. ADC 值联合基于 T2WI 脂肪抑制图像的纹理特征预测软组织良恶性肿瘤的价值[J]. 中华放射学杂志, 2021, 55 (3): 282-287. DOI: 10.3760/cma. j. cn112149-20200330-00479.
- Chen D, Shi B, Zheng MX, et al. Value of ADC value combined with texture features of T2WI fat inhibition image in predicting benign and malignant soft tissue tumors[J]. Chin J Rad, 2021, 55 (3): 282-287. DOI:10.3760/cma. j. cn112149-20200330-00479.
- [16] 罗乐凯,任翠萍,程敬亮,等. 磁共振成像及其表观扩散系数对长管状骨肉瘤和尤文肉瘤的鉴别诊断效能[J]. 山东医药, 2019, 59 (12): 74-77. DOI:CNKI;SUN;SDYY. 0. 2019-12-021.
- [17] Blair RJR, Zhang R. Recent neuro-imaging findings with respect to conduct disorder, callous-unemotional traits and psychopathy[J]. Curr Opin Psychiatry, 2020, 33 (1): 45-50. DOI:10.1097/YCO. 0000000000000559.
- [18] Horvat N, Carlos Tavares Rocha C, Clemente Oliveira B, et al. MRI of rectal cancer: Tumor staging, imaging techniques, and management[J]. Radiographics, 2019, 39 (2): 367-387. DOI:10.1148/r. 2019180114.
- [19] 陈运奎,王录兵,黄勇. 磁共振成像对老年骨质疏松及骨转移瘤所致脊柱椎体压缩性骨折的鉴别诊断价值[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39 (1): 133-135. DOI:10.3969/j. issn. 1005-9202. 2019. 01. 048.
- [20] 马德晶,逯峰,邹雪雪,等. IVIM-DWI 辅助 DCE-MRI 对良、恶性乳腺非肿块样强化病变的鉴别诊断价值[J]. 放射学实践, 2019, 34 (12): 1337-1342. DOI: 10.13609/j. cnki. 1000-0313. 2019. 12. 012.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 011

论著 · 临床

血清外泌体和肺泡灌洗液 miR-155 及 BMAL1 基因在男性 COPD 合并失眠症患者中的表达及与失眠的相关性

穆清爽, 刘顺, 热依拉·牙合甫, 杨新玲



基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2021D01C371)

作者单位: 830063 乌鲁木齐, 新疆医科大学第二附属医院干部一科/新疆神经系统疾病研究重点实验室(穆清爽、刘顺、热依拉·牙合甫), 神经内科/新疆神经系统疾病研究重点实验室(杨新玲)

通信作者: 杨新玲, E-mail: poplar862@Sohu.com

【摘要】目的 探究 miR-155 及脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1 基因(BMAL1 mRNA)在男性慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并失眠症患者中表达水平及与失眠的相关性。**方法** 选取 2021 年 6 月—2023 年 4 月新疆医科大学第二附属医院神经内科诊治急性发作伴失眠的男性 COPD 患者 60 例作为观察组, 另外选取同期急性发作非失眠的男性 COPD 患者 60 例作为对照组。收集 2 组患者血清外泌体及肺泡灌洗液上清标本, 检测并比较标本中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 转录水平差异。通过 Spearman 相关性分析、二元 Logistic 回归分析筛选 COPD 患者发生失眠的危险因素。通过受试者工作特征曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)评价各危险因素对发生失眠的预测价值。**结果** 观察组患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平均显著高于对照组($t/P = 3.457 / <0.001, 4.147 / <0.001, 4.471 / <0.001, 4.336 / <0.001$)。相关性分析及二元 Logistic 回归分析表明血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平升高均是 COPD 患者发生失眠的危险因素[$OR(95\% CI) = 1.578(1.061 \sim 2.123), 1.955(1.208 \sim 3.164), 2.476(1.430 \sim 4.287), 2.574(1.357 \sim 4.885)$], 其中血清外泌体和肺泡灌洗液上清 miR-155、BMAL1 mRNA 及四者联合预测 COPD 患者失眠症发生的 AUC 分别为 0.679、0.706、0.719、0.733 和 0.839, 其中四项联合的预测价值最高($Z = 2.932, 2.771, 2.693, 2.553, P$ 均 <0.001)。**结论** COPD 患者血清外泌体及肺泡灌洗液中 miR-155 及 BMAL1 水平升高与失眠症的发生显著相关, 提示 miR-155 及 BMAL1 基因可能参与 COPD 相关性失眠的发生、发展过程。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病; 失眠症; miR-155; 脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1; 男性

【中图分类号】 R563; R256.23

【文献标识码】 A

The expression levels of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid in male COPD patients with insomnia and their correlation with insomnia Mu Qingshuang*, Liu Shun, Ruila Yahefu, Yang Xinling.

* Department of the First Cadre, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Key Laboratory of Nervous System Disease, Xinjiang Province, Urumqi 830063, China

Corresponding author: Yang Xinling, E-mail: poplar862@Sohu.com

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2021D01C371)

【Abstract】Objective To explore the expression levels of miR-155 and similar protein 1 (BMAL1) of aromatic hydrocarbon receptor nuclear transporters in brain and muscle tissue in male patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) complicated with insomnia and its correlation with insomnia. **Methods** Sixty male COPD patients diagnosed and treated in the Neurology Department of the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from June 2021 to April 2023 were selected as the observation group. In addition, 60 male COPD patients with acute episodes of non-insomnia during the same period were selected as the control group. Collect serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant samples from two groups of patients, and detect and compare the differences in miR-155 and BMAL1 mRNA transcription levels in the samples. Screening the risk factors for insomnia in COPD patients through Spearman correlation analysis and binary logistic regression analysis. Evaluate the predictive value of various risk factors on the occurrence of insomnia through the receiver operating curve (ROC) and area under the curve (AUC). **Results** The expression levels of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant of the observation group were sig-

nificantly higher than those in the control group ($t/P=3.457/ <0.001, 4.147/ <0.001, 4.471/ <0.001, 4.336/ <0.001$). Correlation analysis and binary logistic regression analysis showed that elevated levels of miR-155 and BMAL1 mRNA expression in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant were risk factors for insomnia in COPD patients [$OR(95\% CI) = 1.578 (1.061 - 2.123), 1.955 (1.208 - 3.164), 2.476 (1.430 - 4.287), 2.574 (1.357 - 4.885)$], The AUC of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant for predicting the occurrence of insomnia in COPD patients was 0.679, 0.706, 0.719, 0.733 and 0.839, the combination of the four factors has the highest value ($Z = 2.932, 2.771, 2.693, 2.553, P < 0.01$). **Conclusion** The elevated levels of miR-155 and BMAL1 in the serum exosomes and alveolar lavage fluid of COPD patients are significantly correlated with the occurrence of insomnia, suggesting that miR-155 and BMAL1 may be involved in the occurrence and development of COPD related insomnia, providing potential targets for further exploration of the neuropathological mechanisms of insomnia in COPD patients in the future.

【Key words】 Chronic obstructive pulmonary disease; Insomnia; Micro RNA-155; Similar protein 1; Male

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种进行性呼吸道疾病,被认为是全世界最严重的呼吸系统疾病之一^[1]。COPD 的具体发病机制尚不清楚,主要治疗方法是改善 COPD 患者的症状,但不能延缓病情进展或降低病死率^[2]。因此,需要对 COPD 的发病机制不断进行新的探索以更好地提高 COPD 预后。目前研究发现多种微小核糖体核苷酸 (micro RNA, miR) 参与并影响了呼吸系统疾病的发生发展过程,其中 miR-155 在肺癌、急性肺损伤、肺炎等疾病中均扮演重要角色^[3]。除了呼吸系统症状及肺功能水平降低外, COPD 患者大多伴有不同程度睡眠障碍。以往流行病学调查发现 COPD 患者出现失眠的概率为 35% ~ 77%^[4]。合并失眠症的 COPD 患者更易产生焦虑、抑郁等负性情绪,日常生活及治疗效果也会受到严重影响。关于 COPD 患者失眠症的发生发展机制尚不明晰,其中“生物钟”学说得到国内外广泛认可。生物钟是机体一种内源性的调控系统,与人类睡眠质量、睡眠时间及时节律密切相关^[5]。以往研究发现生物钟相关调节基因众多,其中脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1 (brain and muscle arnt-like protein1, BMAL1) 基因与失眠的出现具有紧密联系^[6]。但 miR-155 及 BMAL1 mRNA 在 COPD 伴失眠的患者中表达特征尚不明晰。基于此,现分析 miR-155 及 BMAL1 mRNA 在 COPD 合并失眠症患者中的表达水平及与失眠的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 6 月—2023 年 4 月新疆医科大学第二附属医院神经内科诊治急性发作伴失眠的 COPD 患者 60 例作为观察组,另外选取同期急性发作非失眠的 COPD 患者 60 例作为对照组。观察组:年龄 (53.97 ± 3.42) 岁;体质量指数 (BMI) (23.27 ± 2.77) kg/m^2 ; COPD 病程 (14.56 ± 4.22) 年;每日吸烟 (13.62 ± 2.05) 支,吸烟史 (10.17 ± 1.96) 年;合并高

血压 28 例、合并糖尿病 31 例; COPD 分级: I 级 10 例, II 级 20 例, III 级 21 例, IV 级 9 例。对照组:年龄 (53.98 ± 3.96) 岁; BMI (23.80 ± 2.59) kg/m^2 ; COPD 病程 (14.56 ± 4.22) 年;每日吸烟 (13.07 ± 2.20) 支,吸烟史 (10.68 ± 1.76) 年;合并高血压 28 例、合并糖尿病 31 例; COPD 分级: I 级 11 例, II 级 21 例, III 级 20 例, IV 级 8 例。2 组患者临床资料比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准 (K20210526-08),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合 2021 年 GOLD 指南中气流严重程度分级为 2 级 (中度) 的 COPD 急性发作诊断标准^[7]; ②符合《失眠症中医临床实践指南 (WHO/WPO)》中失眠的诊断标准且为首次诊断失眠症^[8]; ③年龄 ≥ 45 岁的男性; ④有明确、长期吸烟史。(2) 排除标准: ①COPD 发病前出现失眠症状与表现者; ②合并严重心、肝、肾功能障碍及心血管病、糖尿病等; ③合并哮喘、肺气肿及其他呼吸系统疾病; ④药物滥用者 (尼古丁滥用除外); ⑤合并睡眠呼吸暂停与其他睡眠障碍。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 样品采集及保存: 患者入院时采集空腹外周血 10 ml,于室温下离心留取上层血清,通过外泌体提取试剂盒 (北京爱必信生物科技有限公司生产,货号 abs50035) 提取血清中外泌体并经 BM-21AWY 透射电子显微镜 (赛默医疗科技有限公司,型号 BBF-4) 确认,形态呈杯口状,直径 40 ~ 150 nm。将提取好的外泌体及血清冻存于 -80°C 冰箱中待后续检测。于患者入院第 3 天行支气管镜 (徐州益柯达电子科技有限公司) 肺泡灌洗术。将气管镜嵌入右肺或左肺上叶舌段的一个亚段,注入 37°C 的生理盐水 120 ml,采集研究对象的第 2 瓶肺灌洗回收液约 50 ml;经四层纱布过滤去除黏液和不溶性粉尘颗粒, 4°C 保存,分装后高速离心,留

取上清 -80℃ 冻存待测。

1.3.2 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平的检测: 上述血清外泌体和肺泡灌洗液上清采用 qRT-PCR 法检测 miR-155 和 BMAL1 mRNA 表达水平。使用 TR-Izol 试剂(美国 Invitrogen 公司生产,货号 15596026)提取血清外泌体及肺泡上清液样本中总 RNA,使用反转录试剂盒(北京索莱宝科技有限公司生产,货号 RP1105))将提取的总 RNA 反转录为 cDNA 文库,所有步骤均严格按照试剂盒说明书进行操作。应用朗基 Q2000B-实时荧光定量 PCR 仪(苏州阿尔法生物实验器材有限公司生产)及天根生化科技(北京)有限公司生产的多重 PCR 扩增试剂盒(货号 KT109)对 miR-155、BMAL1 及 GAPDH 内参进行扩增,引物序列由生物工程(上海)股份有限公司合成,见表 1。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)采用德国 QIAGEN 公司生产的 miScript SYBR Green PCR Kit 试剂盒,qRT-PCR 每孔反应体系为 20 μl,包括样本 cDNA 2 μl、miScript SYBR Green Mix 10 μl、正向、反向引物(10 μmol/L)各 0.8 μl、ddH₂O 为 6.4 μl。qRT-PCR 反应体系设置为 95℃ 5 min,95℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,采集信号,共设置 45 个循环。每份样品均设置 3 个重复孔,通过 2^{-ΔΔCT}法计算患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 的相对表达水平。

表 1 目标基因及内参基因引物序列

Tab. 1 Primer sequences of target genes and internal reference genes

引物	引物方向	序列
miR-155	正向	5'-TGGAACAAATTGCTGCCGTG-3'
	反向	5'-AGGTTGAACATCCCACTGACC-3'
BMAL1	正向	5'-TGCCACCAATCCATACACAG-3'
	反向	5'-TCGGTCACATCCTACGACAA-3'
GAPDH	正向	5'-ATTTGGCTACAGCAACAGGGTG-3'
	反向	5'-TGGTTGAGCACAGGGTACTTTA-3'

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 Student-*t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;血清外泌体及肺泡上清液中 miR-155、BMAL1 mRNA 水平与失眠症的相关性采用 Spearman 相关性检验及二元 Logistic 回归检验进行分析,并通过受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)及曲线下面积(area under the curve,AUC)判断各指标对 COPD 患者失眠症发生的预测价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清外泌体、肺泡灌洗液 miR-155 与 BMAL1 mRNA 水平比较 观察组患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平均高于对照组(*P* < 0.01),见表 2。

表 2 2 组 COPD 患者血清外泌体及肺泡灌洗液上清中 miR-155、BMAL1 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of miR-155 and BMAL1 mRNA levels in serum exosomes and alveolar lavage fluid supernatant of two groups of COPD patients

组别	例数	血清外泌体		肺泡灌洗液上清	
		miR-155	BMAL1 mRNA	miR-155	BMAL1 mRNA
对照组	60	3.45 ± 1.07	2.84 ± 0.85	2.31 ± 0.75	2.00 ± 0.58
观察组	60	4.19 ± 1.27	3.56 ± 1.04	3.00 ± 0.93	2.57 ± 0.83
<i>t</i> 值		3.457	4.147	4.471	4.336
<i>P</i> 值		0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 miR-155、BMAL1 mRNA 水平与失眠症的相关性分析 将发生失眠症赋值 = 1,未发生失眠症赋值 = 0,通过 Spearman 相关性分析发现 COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 水平与失眠症的发生均存在显著正相关性(*P* < 0.01),见表 3。

表 3 COPD 患者 miR-155、BMAL1 mRNA 水平与失眠症的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis between miR-155, BMAL1 mRNA levels and insomnia in COPD patients

观察指标	血清外泌体		肺泡灌洗液上清	
	miR-155	BMAL1 mRNA	miR-155	BMAL1 mRNA
<i>r</i> 值	0.310	0.357	0.379	0.404
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 COPD 患者失眠症的危险多因素二元 Logistic 回归分析 以 COPD 患者是否发生失眠症为因变量,以 COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 水平为自变量,进行二元 Logistic 回归分析,结果表明:COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 水平增高均是发生失眠症的独立危险因素(*P* < 0.05),见表 4。

2.4 miR-155 及 BMAL1 mRNA 预测 COPD 患者失眠症发生的价值分析 绘制 miR-155 及 BMAL1 mRNA 预测 COPD 患者失眠症发生的价值 ROC 曲线,并计算 AUC,结果显示:COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 独立及四项联合预测失

表 4 Logistic 回归分析影响 COPD 患者预后的危险因素

Tab. 4 Logistic regression analysis of risk factors affecting the prognosis of COPD patients

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
血清外泌体					
miR-155 高	0.357	0.202	3.108	0.048	1.578(1.061~2.123)
BMAL1 mRNA 高	0.67	0.246	7.441	0.006	1.955(1.208~3.164)
肺泡灌洗液上清					
miR-155 高	0.907	0.280	10.476	0.001	2.476(1.430~4.287)
BMAL1 mRNA 高	0.946	0.327	8.370	0.004	2.574(1.357~4.885)

眠症发生的 AUC 分别为 0.679、0.706、0.719、0.733、0.839,四项联合优于各自单独预测效能($Z=2.932$ 、2.771、2.693、2.553, P 均 <0.001),见表5、图1。

表 5 miR-155 及 BMAL1 mRNA 预测 COPD 患者失眠症发生的价值比较

Tab. 5 Comparison of the value of miR-155 and BMAL1 mRNA in predicting the occurrence of insomnia in COPD patients

变 量	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
血清外泌体						
miR-155	4.570	0.679	0.583~0.775	0.933	0.433	0.367
BMAL1 mRNA	3.095	0.706	0.614~0.799	0.617	0.733	0.350
肺泡灌洗液上清						
miR-155	3.285	0.719	0.627~0.810	0.950	0.450	0.400
BMAL1 mRNA	2.465	0.733	0.640~0.826	0.867	0.617	0.483
四项联合	0.536	0.839	0.765~0.914	0.867	0.733	0.600

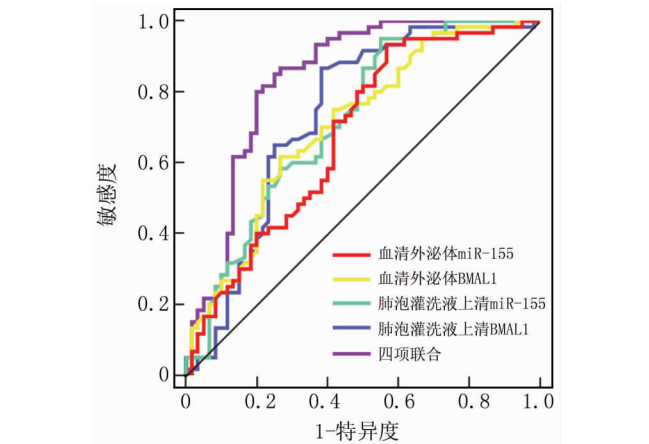


图 1 miR-155 及 BMAL1 mRNA 对 COPD 患者失眠症发生的预测价值 ROC 曲线

Fig. 1 ROC of the predictive value of miR-155 and BMAL1 mRNA in the occurrence of insomnia in COPD patients

3 讨 论

COPD 是一种以持续气流受限为特征的进行性呼吸系统疾病。空气污染加重、吸烟时间增加、吸烟量增

多等因素均会导致 COPD 发病率及严重程度增高,严重影响患者生命健康及日常生活,也为家庭和社会带来沉重的医疗和经济负担^[9]。除了严重的呼吸系统症状和肺功能进行性降低外,COPD 患者普遍存在不同严重程度的睡眠障碍。关于 COPD 患者失眠症发生的具体机制尚不明晰,可能与患者夜间症状加重、持续负性情绪、反复憋喘等相关^[10]。尽管临床不断提高对于 COPD 患者睡眠质量的关注及干预,但效果仍不理想。因此,及早预测 COPD 患者是否会发生失眠并在疾病早期进行对症治疗及药物干预可能更有利于阻止 COPD 病情加重及合并症的出现。而寻找特异度高、预测效能大的指标也逐渐成为该领域的研究热点^[11-13]。

miRNA 在 COPD 等呼吸系统疾病的发生发展过程中扮演重要角色。其中,miR-155 作为一种多功能 miRNA,在免疫激活、炎症反应、心血管疾病及呼吸系统疾病中均发挥一定作用^[14]。以往研究发现,miR-155 可通过调节多种 miRNAs 及促炎性细胞因子的表达间接参与并调节哮喘、肺炎、肺结核、肺癌等多种肺部疾病^[15]。此外,有研究发现老年 COPD 患者血清 miR-155 表达水平显著增高,且急性加重期的患者增高幅度更明显,提示血清 miR-155 水平与 COPD 的严重程度存在相关性^[16]。由于 miR-155 大多参与并调节不同疾病的炎症反应过程,因此其在 COPD 中的作用可能也与调控炎症因子水平相关。睡眠节律相关基因是调控人体睡眠—觉醒活动的主要基因,也被称为生物钟相关性基因。人类的生物钟系统结构较为复杂,主要由视上核交叉(suprachiasmatic nucleus, SCN)和附属的外周生物钟系统组成^[17]。目前国内外研究确认的生物钟基因成分包括 Clock、BMAL1、Cry1、Cry2、Per1、Per2 及 Per3 等^[18-19]。以往研究发现,在睡眠剥夺的小鼠模型中,SCN 组织内 BMAL1 基因、蛋白水平均显著升高,提示了 BMAL1 与失眠发生的相关性^[20]。本研究发现,合并失眠症的 COPD 患者无论血清外泌体还是肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 的表达水平均显著较高,且经过统计学分析及建模发现 miR-155 及 BMAL1 对于预测 COPD 患者失眠发生均具有较好的效能。分析原因,miR-155 参与 COPD 患者失眠发生的过程可能与促进肺脏及气道持续性炎症反应水平增高有关。miR-155 在血清及肺泡灌洗液中表达水平增高导致局部促炎性细胞因子分泌增加、抑炎性细胞因子减少,加重了 COPD 患者气道反应性及炎症反应微环境,进而导致患者症状加重并影响睡眠^[21]。BMAL1 基因作为 SCN 中 2 类兴奋性调节基因,不论其转录水平还是蛋白表达增高均可能引起

神经兴奋性增强,从而导致患者入睡困难、睡眠质量降低及睡眠时间减少,而持续性的神经兴奋增强必然导致失眠症的发生。同时,COPD 患者由于症状加重或夜间急性发作导致正常睡眠终止,这种由于疾病本身引起的昼夜节律紊乱也可能反向导致 BMAL1 基因表达的失衡。此外,BMAL1 基因作为重要的生物钟基因,可调控生命周期和器官衰老的多种途径,当 BMAL1 表达紊乱时,可能导致 COPD 患者肺部炎症反应水平增高、中性粒细胞浸润加重及气道上皮细胞、肺内皮细胞等多种细胞代谢及再生紊乱^[22]。

本研究也存在一定局限性。由于受到实际医疗条件及伦理学的要求限制,无法直接检测入组患者脑部或 SCN 组织中 miR-155 及 BMAL1 的转录水平特征。其次,在多种生物钟相关基因中,仅选择了最具有代表性、与失眠发生相关性较显著的 BMAL1 基因作为主要观察指标,Cry、Per 等基因在合并失眠症 COPD 患者体内表达水平变化仍未可知。基于以上不足,后续将收集相关标本并筛选其他可能与 COPD 患者失眠发生相关的潜在靶点基因。尽管如此,本研究发现 COPD 患者血清外泌体及肺泡灌洗液中 miR-155 及 BMAL1 水平升高与失眠症的发生显著相关,提示 miR-155 及 BMAL1 可能参与 COPD 相关性失眠的发生、发展过程,为未来进一步探究 COPD 患者失眠的神经病理机制提供潜在靶点。

利益冲突:所有作者均声明无利益冲突

作者贡献声明

穆清爽:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;刘顺:实施研究过程,分析试验数据;热依拉·牙合甫:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改,进行统计学分析;杨新玲:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 李蕊楠,康黎,周玉玲,等.老年 COPD 患者肺康复研究进展[J].中国老年保健医学,2021,19(4):111-113,116. DOI:10.3969/j.issn.1672-2671.2021.04.033.
Li RN,Kang L,Zhou YL,et al. Advances in pulmonary rehabilitation in elderly patients with COPD [J]. Chinese Geriatrics Medicine, 2021,19 (4): 111-113, 116. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-2671. 2021. 04. 033.
- [2] 马则胜.慢性阻塞性肺疾病药物治疗研究[J].医学信息,2020,33(2):47-49. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.02.013.
Ma ZS. Study on drug treatment of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Medical Information,2020,33(2):47-49. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.02.013.
- [3] 武国英,高笑宇,杨琼,等.miRNA 在 COPD 发病机制中的研究进展[J].内蒙古医学杂志,2022,54(9):1077-1081. DOI:10.16096/J.cnki.nmgyxzz.2022.54.09.014.
Wu GY,Gao XY,Yang Q,et al. Research progress of miRNA in the

- pathogenesis of COPD [J]. Inner Mongolia Medical Journal,2022,54(9):1077-1081. DOI:10.16096/J.cnki.nmgyxzz.2022.54.09.014.
- [4] 刘娟,龚桂姿,袁子璇,等.COPD 病人睡眠障碍评估工具及影响因素的研究进展[J].全科护理,2023,21(12):1628-1631. DOI:10.12104/j.issn.1674-4748.2023.12.010.
Liu J,Gong GZ,Yuan ZX,et al. Research progress on assessment tools and influencing factors of sleep disorders in patients with COPD[J]. General Practice Nursing, 2023, 21 (12): 1628-1631. DOI: 10. 12104/j. issn. 1674-4748. 2023. 12. 010.
- [5] 裴璋琦,曹国定,崔涛,等.失眠症的神经生物学机制研究进展[J].中国医药导刊,2020,22(11):794-799.
Pei YQ,Cao GD,Cui T,et al. Research progress on neurobiological mechanism of insomnia [J]. China Medical Guide,2020,22(11):794-799.
- [6] 王钧左,陈励,张斌,等.时钟基因 Bmal1 在昼夜节律行为调节中的研究进展[J].军事医学,2019,43(4):301-304. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2019.04.012.
Wang JZ,Chen L,Zhang B,et al. Research progress of clock gene Bmal1 in the regulation of circadian rhythm behavior [J]. Military Medicine,2019,43(4):301-304. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2019.04.012.
- [7] 李正欢,张晓云,陈杨,等.基于 2021 年 GOLD《COPD 诊断、治疗与预防全球策略》解析慢性阻塞性肺疾病稳定期非药物管理策略[J].中国全科医学,2022,25(2):131-138. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.310.
Li ZH,Zhang XY,Chen Y,et al. Analysis of non-drug management strategies for stable chronic obstructive pulmonary disease based on GOLD's Global Strategy for COPD diagnosis,treatment and Prevention in 2021 [J]. Chinese General Medicine,2022,25(2):131-138. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.310.
- [8] 中国中医科学院失眠症中医临床实践指南课题组.失眠症中医临床实践指南(WHO/WPO)[J].世界睡眠医学杂志,2016,3(1):8-25.
Research Group of Clinical practice Guide for Insomnia of traditional Chinese Medicine Academy of traditional Chinese Medicine. Clinical practice Guide of Insomnia in traditional Chinese Medicine (WHO/WPO) [J]. World Journal of Sleep Medicine,2016,3(1):8-25.
- [9] Erhabor GE,Adeniyi B,Arawomo AO,et al. Acute exacerbation of COPD: Clinical perspectives and literature review [J]. West Afr J Med,2021,38(11):1129-1142.
- [10] Budhiraja R,Parthasarathy S,Budhiraja P,et al. Insomnia in patients with COPD [J]. Sleep, 2012, 35 (3): 369-375. DOI: 10. 5665/sleep. 1698.
- [11] 刁鑫,贾艳云,潘双,等.吸烟慢性阻塞性肺疾病患者 EOS、CRP、MUC5AC 水平变化与肺功能的关系[J].疑难病杂志,2022,21(4):377-382. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.009.
Diao X,Jiao YY,Pan S,et al. The relationship between changes of EOS, CRP, MUC5AC levels and pulmonary function in smoking COPD patients[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022,21(4):377-382. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.009.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.012

论著·临床

老年脓毒症相关性脑病患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达及对临床预后评价

李雪莲, 冷凌涵, 张丽涓, 向相, 宋家志, 陈陶江, 韩强, 王平



基金项目: 四川省医学科研课题项目 (S20089)

作者单位: 611130 成都, 成都中医药大学附属第五人民医院重症医学科

通信作者: 王平, E-mail: 511189735@qq.com

【摘要】目的 分析老年脓毒症相关性脑病 (SAE) 患者血清外泌体长链非编码 RNA 核富含丰富的转录本 1 (LncNEAT1)、长链非编码 RNA SRY 盒转录因子 2 重叠转录本 (LncSOX2OT) 的表达及对临床预后意义。**方法** 选择 2020 年 2 月—2022 年 2 月就诊于成都中医药大学附属第五人民医院重症医学科的老年 SAE 患者 96 例为 SAE 组, 根据 28 d 内生存状态再分为生存亚组 ($n=50$) 和死亡亚组 ($n=46$), 以同期诊治的无 SAE 的脓毒症患者 60 例为非 SAE 组。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测血清外泌体中 LncNEAT1、LncSOX2OT 的表达水平。多因素 Logistic 回归分析老年 SAE 患者预后的影响因素。受试者工作特征曲线 (ROC) 分析血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 对老年 SAE 患者预后的诊断价值。**结果** SAE 组血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 的相对表达高于非 SAE 组 ($t/P=16.726/ <0.001, 21.803/ <0.001$)。死亡亚组 SAE 患者 C 反应蛋白、降钙素原、神经元特异性烯醇化酶、APACHE II 评分、SOFA 评分、LncNEAT1、LncSOX2OT 均高于生存亚组 ($t/P=14.197/ <0.001, 4.535/ <0.001, 19.253/ <0.001, 8.442/ <0.001, 5.670/ <0.001, 9.861/ <0.001, 6.931/ <0.001$)。SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈正相关 ($r/P=0.812/ <0.001, 0.761/ <0.001, 0.833/ <0.001, 0.598/ <0.001$)。降钙素原高、C 反应蛋白高、神经元特异性烯醇化酶高、APACHE II 评分高、SOFA 评分高、LncNEAT1 高及 LncSOX2OT 高是影响 SAE 患者 28 d 生存预后的独立危险因素 [$OR(95\% CI)=1.459(1.195 \sim 1.782), 1.464(1.164 \sim 1.841), 1.334(1.086 \sim 1.639), 1.644(1.223 \sim 2.210), 1.779(1.295 \sim 2.444), 1.347(1.050 \sim 1.728), 1.578(1.122 \sim 2.219)$]。血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 二者联合预测 SAE 患者 28 d 生存预后诊断的 AUC 为 0.914, 高于单项指标的 0.846、0.834 ($Z/P=3.864/ <0.001, 3.915/ <0.001$)。**结论** 老年 SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达升高, 是影响老年 SAE 患者预后的独立危险因素, 并对老年 SAE 患者生存预后具有较高的评估价值。

【关键词】 脓毒症相关性脑病; 长链非编码 RNA 核富含丰富的转录本 1; SRY 盒转录因子 2 重叠转录本; 外泌体; 预后; 老年人

【中图分类号】 R639;742

【文献标识码】 A

The expression of serum extracellular vesicles LncNEAT1 and LncSOX2OT in elderly patients with sepsis related encephalopathy and their clinical prognostic evaluation Li Xuelian, Leng Linghan, Zhang Lijian, Xiang Xiang, Song Jiazhi, Chen Taojiang, Han Qiang, Wang Ping. Department of Critical Care Medicine, The Fifth People's Hospital Affiliated to Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Sichuan Province, Chengdu 611130, China

Corresponding author: Wang Ping, E-mail: 511189735@qq.com

Funding program: Sichuan Medical Research Project (S20089)

【Abstract】 Objective To analyze the expression of abundant transcript 1 (LncNEAT1) and long chain non coding RNA SRY box transcription factor 2 overlapping transcript 2 (LncSOX2OT) in serum extracellular vesicles of elderly sepsis associated encephalopathy (SAE) patients and their clinical prognostic significance. **Methods** Ninety-six elderly SAE patients who visited the Intensive Care Department of the Fifth People's Hospital Affiliated to Chengdu University of Traditional Chinese Medicine from February 2020 to February 2022 were selected as the SAE group. They were further divided into survival subgroups ($n=50$) and death subgroups ($n=46$) based on their survival status within 28 days. 60 sepsis patients without SAE who were diagnosed and treated during the same period were selected as the non-SAE group. Real time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of LncNEAT1 and LncSOX2OT in serum

extracellular vesicles. Multivariate logistic regression analysis of prognostic factors in elderly SAE patients. The diagnostic value of receiver operating characteristic curve (ROC) analysis of serum exosomes LncNEAT1 and LncSOX2OT in the prognosis of elderly SAE patients. **Results** The relative expression of serum extracellular vesicles LncNEAT1 and LncSOX2OT in the SAE group was higher than that in the non SAE group ($t/P=16.726/ <0.001$, $21.803/ <0.001$). C-reactive protein, procalcitonin, neuron specific enolase, APACHE II score, SOFA score, LncNEAT1, LncSOX2OT in the death subgroup of SAE patients were higher than those in the survival subgroup ($t/P=14.197/ <0.001$, $4.535/ <0.001$, $19.253/ <0.001$, $8.442/ <0.001$, $5.670/ <0.001$, $9.861/ <0.001$, $6.931/ <0.001$). The serum exosomes LncNEAT1 and LncSOX2OT in SAE patients were positively correlated with APACHE II score and SOFA score ($r/P=0.812/ <0.001$, $0.761/ <0.001$, $0.833/ <0.001$, $0.598/ <0.001$). High levels of procalcitonin, C-reactive protein, neuron specific enolase, APACHE II, SOFA, LncNEAT1, and LncSOX2OT are independent risk factors affecting the 28 day survival prognosis of SAE patients [$OR(95\% CI)=1.459(1.195-1.782)$, $1.464(1.164-1.841)$, $1.334(1.086-1.639)$, $1.644(1.223-2.210)$, $1.779(1.295-2.444)$, $1.347(1.050-1.728)$, $1.578(1.122-2.219)$]. The combined prediction of serum extracellular vesicles LncNEAT1 and LncSOX2OT for 28 day survival prognosis in SAE patients had an AUC of 0.914, which was higher than the single indicator of 0.846 and 0.834 ($Z/P=3.864/ <0.001$, $3.915/ <0.001$). **Conclusion** The increased expression of serum extracellular vesicles LncNEAT1 and LncSOX2OT in elderly SAE patients is an independent risk factor affecting the prognosis of elderly SAE patients, and has high evaluation value for the survival and prognosis of elderly SAE patients.

【Key words】 Sepsis related encephalopathy; Long chain non-coding RNA nuclei are rich in transcript 1; SRY box transcription factor 2 overlapping transcrip; Exosomes; Prognosis; Elderly

脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy, SAE)是继发于中枢神经系统以外的感染引起的弥漫性脑功能损伤,病死率较高^[1-2]。寻找能够评估SAE预后的生物标志物具有重要临床意义。外泌体是直径为30~150 nm小囊泡,包含蛋白、脂质及RNA等^[3]。长链非编码RNA核富含丰富的转录本1(long noncoding RNA nuclear-enriched abundant transcript 1, lncNEAT1)能够调节神经元棘突密度,参与SAE的疾病进展^[4-5]。长链非编码RNA SRY盒转录因子2重叠转录本(long noncoding RNA SOX2 overlapping transcript, LncSOX2OT)是调节性别决定区Y框蛋白2(sex determining region Y-box2, SOX2)的非编码RNA,可导致脓症患者心肌细胞线粒体功能障碍的发生^[6]。目前SAE患者血清外泌体LncNEAT1、LncSOX2OT表达尚不清楚,本研究通过检测SAE患者血清外泌体LncNEAT1、LncSOX2OT的表达,分析两者与生存预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2020年2月—2022年2月就诊于成都中医药大学附属第五人民医院重症医学科的老SAE患者96例为SAE组,男51例,女45例,年龄(71.95 ± 6.04)岁;体质量指数(21.07 ± 2.76) kg/m²;受教育年限(4.61 ± 1.85)年;合并症:高血压史31例,糖尿病史17例;感染部位:肺部感染42例,尿路感染19例,血液感染22例,腹腔感染13例;根据SAE患者28 d内生存状态将SAE组再分为生存亚组($n=50$)和死亡亚组($n=46$)。以同期诊治的无SAE的脓

毒症患者60例为非SAE组,男33例,女27例,年龄(70.78 ± 5.96)岁;体质量指数(21.18 ± 2.72) kg/m²;受教育年限(4.69 ± 1.91)年;合并症:高血压20例,糖尿病10例;感染部位:肺部感染30例,尿路感染13例,血液感染10例,腹腔感染7例。SAE组和非SAE组患者性别、年龄、体质量指数、受教育年限、高血压史、糖尿病史及感染部位比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会审核通过(2019SF-106),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①脓毒症诊断符合脓毒症3.0诊断标准^[7];②SAE诊断排除药物效应、电解质紊乱、代谢紊乱及脑膜炎、脑炎等原发性中枢神经系统病理状态及非感染性全身炎性反应等引起的认知功能障碍,表现为谵妄,注意力,定向力障碍和书写能力等受损;③临床资料完整。(2)排除标准:①合并颅脑感染、脑血管疾病、脑占位性疾病、阿尔茨海默病及癫痫等颅内病变;②肝性脑病、肺性脑病、肾性脑病等其他器官功能障碍继发的意识障碍;③甲状腺危象,甲状腺功能减退及糖尿病并发症等能够引起意识障碍的内分泌与代谢性疾病;④水电解质紊乱、精神疾病及药物中毒等引起的意识障碍;⑤妊娠、哺乳期女性。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清外泌体LncNEAT1、LncSOX2OT的相对表达量检测:患者入院后次日留取清晨空腹肘静脉血5 ml,室温静置1 h,2 500 r/min离心10 min,留取上层

血清。利用外泌体 RNA 分离提取试剂盒(购自北京百奥莱博公司,货号 BTN180807)提取血清外泌体,取血清 0.5 ml 加入外泌体分离试剂 0.1 ml,4℃ 室温孵育 30 min,离心去上清,加入缓冲液 0.2 ml 重悬。加入外泌体核酸提取溶液 A 0.6 ml,混匀后静置 3 min,加入溶液 B 0.7 ml,混匀后离心加入溶液 C 1 ml,离心取上清后加入无酶水重悬外泌体总 RNA 0.2 ml。逆转录为 cDNA 后,采用荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司,型号 ABI7500)检测血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 的相对表达量,实时荧光定量 PCR 试剂盒购自北京索莱宝公司,货号 SR1110。引物由华大公司设计合成。PCR 总反应体系 20 μ l:模板 0.5 μ l,2 \times SYBR Green Premix 10 μ l,正反向引物各 1 μ l,无酶水 7.5 μ l。反应程序:94℃ 预变性 5 min、95℃ 变性 30 s、62℃ 退火 30 s、70℃ 延伸 30 s,变性退火延伸共 35 个循环。引物序列:LncNEAT1 正向序列 5'-ACGGGCA-CACATCAAGCATA-3'、反向序列 5'-AGCCTCAGC-CCCCTATACAA-3'; LncSOX2OT 正向序列 5'-GGGCTCTGTGGTCAAGTCCG-3'、反向序列 5'-CGCTCT-GGTAGTCTGGGC-3'; GAPDH 正向序列 5'-TGAGGC-CGGTGCTGAGTATGTCG-3'; 反向序列:5'-CCA-CAGTCTTCTGGGTGGCAGTG-3'。2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法对血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 的相对表达量进行定量分析。

1.3.2 SAE 严重程度评估:对 96 例 SAE 患者应用急性生理学与慢性健康状况评价 II (acute physiology and chronic health evaluation II,APACHE II)进行评分,范围 0~72 分,分值越高,病情越重。根据入院 24 h 内呼吸系统、血液系统、肝脏系统等 6 个系统的相应参数,进行序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment,SOFA 评分),范围 0~24 分,分值越高,病情越重。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态性分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;Pearson 相关系数分析血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达与临床指标的相关性;采用 Logistic 回归多因素分析影响 SAE 患者 28 d 生存预后的因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 对 SAE 患者 28 d 生存预后的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 亚组临床资料比较 死亡亚组 SAE 患者 C 反

应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、APACHE II 评分、SOFA 评分高于生存亚组(P 均 < 0.01),其他资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 生存亚组与死亡亚组 SAE 患者临床资料比较

Tab.1 Comparison of clinical data between survival subgroup and death subgroup

项 目	生存亚组 ($n=50$)	死亡亚组 ($n=46$)	t/χ^2 值	P 值
男性[例(%)]	27(54.00)	24(52.17)	0.032	0.858
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	71.69 \pm 5.98	72.23 \pm 6.12	0.437	0.663
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)	20.96 \pm 2.65	21.19 \pm 2.74	0.418	0.677
受教育年限($\bar{x} \pm s$,年)	4.66 \pm 1.79	4.75 \pm 1.88	0.240	0.811
合并高血压[例(%)]	15(30.00)	16(34.78)	0.299	0.584
合并糖尿病[例(%)]	8(16.00)	9(19.56)	0.209	0.648
感染部位			0.058	0.996
[例(%)] 肺部	22(44.00)	20(43.48)		
尿路	10(20.00)	9(19.57)		
血液	11(22.00)	11(23.91)		
腹腔	7(14.00)	6(13.04)		
CRP($\bar{x} \pm s$,mg/L)	60.14 \pm 8.27	90.31 \pm 12.31	14.197	<0.001
PCT($\bar{x} \pm s$,ng/L)	15.19 \pm 2.17	17.25 \pm 2.28	4.535	<0.001
WBC($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9$ /L)	19.11 \pm 3.64	20.24 \pm 3.79	1.490	0.140
NSE($\bar{x} \pm s$, μ g/L)	7.56 \pm 1.22	13.56 \pm 1.80	19.253	<0.001
APACHE II 评分($\bar{x} \pm s$,分)	26.14 \pm 3.41	32.37 \pm 3.82	8.442	<0.001
SOFA 评分($\bar{x} \pm s$,分)	10.20 \pm 2.83	13.54 \pm 2.94	5.670	<0.001

2.2 SAE 组和非 SAE 组血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达比较 SAE 组血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 相对表达量分别为(2.45 \pm 0.65)、(3.02 \pm 0.74),明显高于非 SAE 组的(0.93 \pm 0.34)、(0.85 \pm 0.27)($t=16.726,21.803,P$ 均 < 0.001)。

2.3 2 亚组血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达比较 生存亚组血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 相对表达量分别为(1.82 \pm 0.59)、(2.52 \pm 0.69),明显低于死亡亚组(3.13 \pm 0.71)、(3.56 \pm 0.78)($t=9.861,6.931,P$ 均 < 0.001)。

2.4 血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达与 APACHE II 评分、SOFA 评分相关性分析 Pearson 相关系数分析结果显示,SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈明显正相关($r=0.812,0.761,0.833,0.598,P$ 均 < 0.001)。

2.5 SAE 患者 28 d 生存预后的多因素 Logistic 回归分析 以 SAE 患者 28 d 生存预后为因变量(死亡 = 1,生存 = 0),以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,降钙素原高、C 反应蛋白高、神经元特异性烯醇化酶高、APACHE II 评

分高、SOFA 评分高、LncNEAT1 高及 LncSOX2OT 高是影响 SAE 患者 28 d 生存预后的独立危险因素 ($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 影响 SAE 患者 28 d 生存预后的多因素 Logistic 回归分析
Tab. 2 Multivariate logistic regression analysis on the 28 day survival prognosis of SAE patients

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
PCT 高	0.378	0.102	13.734	<0.001	1.459 (1.195 ~ 1.782)
CRP 高	0.381	0.117	10.604	<0.001	1.464 (1.164 ~ 1.841)
NSE 高	0.288	0.105	7.523	<0.001	1.334 (1.086 ~ 1.639)
APACHEⅡ评分高	0.497	0.151	10.833	<0.001	1.644 (1.223 ~ 2.210)
SOFA 评分高	0.576	0.162	12.642	<0.001	1.779 (1.295 ~ 2.444)
LncNEAT1 高	0.298	0.127	5.506	<0.001	1.347 (1.050 ~ 1.728)
LncSOX2OT 高	0.456	0.174	6.868	<0.001	1.578 (1.122 ~ 2.219)

2.6 血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 对 SAE 患者 28 d 生存预后的评估价值 绘制血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 对 SAE 患者 28 d 生存预后的评估价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示,血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 及二者联合对 SAE 患者 28 d 生存预后诊断的 AUC 分别为 0.846、0.834、0.914,二者联合高于单项指标检测 ($Z = 3.864$ 、 3.915 , P 均 <0.001), 见表 3、图 1。

表 3 血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 对 SAE 患者 28 d 生存预后的评估价值

Tab. 3 Evaluation value of serum extracellular vesicles LncNEAT1 and LncSOX2OT for the 28 day survival prognosis of SAE patients

指 标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
LncNEAT1	3.24	0.846	0.792 ~ 0.889	0.702	0.825	0.527
LncSOX2OT	3.63	0.834	0.783 ~ 0.867	0.698	0.862	0.560
二者联合		0.914	0.863 ~ 0.964	0.904	0.813	0.717

3 讨 论

SAE 是脓毒症常见的并发症,患者致残率、致死率较高^[8]。SAE 缺乏典型的临床表现,目前无特异性生物标志物及影像学改变,其诊断过程仍为排除性诊断。目前认为 SAE 的发生与神经炎症反应、血脑屏障功能障碍及氨基酸和神经递质异常有关^[9]。虽然炎症反应及中枢神经系统损伤标志物如降钙素原、神经元特异性烯醇化酶等标志物一定程度上能够反映 SAE 患者病情程度,但在评估 SAE 患者预后方面仍存在敏感度及特异度不高等缺点,临床应用价值有限^[10]。深入研究 SAE 疾病机制,寻找能够评估 SAE 预后的生物标志物,有利于 SAE 的早期诊治,降低 SAE 死亡率。

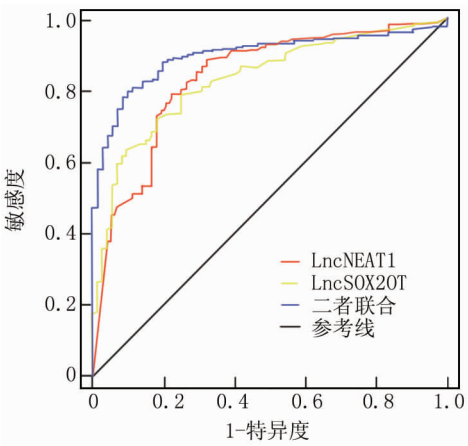


图 1 血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 及联合对 SAE 患者 28 d 生存预后的评估价值 ROC 曲线
Fig. 1 ROC of serum extracellular vesicles LncNEAT1, LncSOX2OT, and their combination on the 28 day survival prognosis of SAE patients

外泌体是细胞释放的直径在几十纳米到几百纳米不等的磷脂双分子层细胞外囊泡,能够使核酸、蛋白等分子进行细胞间通讯^[3]。近年来发现,脓毒症患者血清外泌体中的核酸及蛋白等内容物可通过促进细胞死亡,参与 SAE 疾病的发生发展,是潜在的生物标志物^[4]。LncNEAT1 是近年来发现的新的非编码 RNA,其能够加重脓毒症患者炎症反应感染程度,导致多器官功能衰竭,是新的预后相关生物标志物^[11]。本研究,SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1 水平升高,与 SAE 病情程度有关,提示 LncNEAT1 参与脓毒症患者 SAE 的疾病发生和发展。SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1 升高与患者机体炎症反应程度较重有关。研究表明,肿瘤坏死因子 α 、白介素 1 β 等促炎细胞因子能够诱导单核巨噬细胞中 LncNEAT1 的表达上调, LncNEAT1 能够以外泌体形式分泌到细胞外,进一步发挥促炎的生物效应^[11]。此外, LncNEAT1 的水平升高能够使神经细胞和脑微血管内皮细胞功能出现障碍,加重 SAE 患者病情严重程度。研究发现,脓毒症小鼠血清外泌体中 LncNEAT1 表达升高,其作为分子海绵结合微小 RNA-9-5p,上调转铁蛋白受体基因的表达,促进脑微血管内皮细胞株 bEnd. 3 细胞的铁死亡的发生,导致 SAE 疾病的发生发展^[12]。尚有研究表明,脓毒症小鼠神经细胞中 LncNEAT1 表达明显增加, LncNEAT1 能够直接与血红蛋白 β 亚单位相互作用,抑制突触后密度蛋白 95,降低神经元树突棘密度,导致神经元功能障碍^[5]。本研究中,血清外泌体 LncNEAT1 升高是 SAE 患者不良生存预后的独立危险因素,提示

检测 SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1 水平有助于评估患者临床预后。分析其原因,一方面可能是 LncNEAT1 的表达能够加重患者机体炎性反应程度,促进 SAE 患者病情进展。研究发现,在脂多糖诱导的脓毒症小鼠模型中,LncNEAT1 的表达上调能够激活微小 RNA-31-5p/POU 结构域 2 类转录因子 1 通路,促进小鼠腹腔巨噬细胞 RAW264.7 释放大量白介素 1β 、肿瘤坏死因子 α 等促炎细胞因子,加重脓毒症疾病严重程度^[13]。另一方面,LncNEAT1 还能够通过激活心肌细胞中 Toll 样受体 2/核因子 κ B 信号通路,促进脂多糖诱导的脓毒症小鼠心肌细胞凋亡,增加脓毒症小鼠死亡率^[14]。

LncSOX2OT 编码基因位于人类 3 号染色体,表达于发育中大脑皮质,参与调节神经干细胞的增殖和分化,与恶性肿瘤、中枢神经系统疾病的发生发展有关^[15-16]。近年来发现,LncSOX2OT 的异常表达上调能够抑制细胞间黏附分子 1 的表达,促进人心肌细胞 AC16 的氧化应激反应和炎性反应损伤,促进心肌细胞凋亡^[17]。本研究中,SAE 患者血清外泌体 LncSOX2OT 升高,与病情程度呈正相关,表明 LncSOX2OT 促进 SAE 的疾病进展。LncSOX2OT 的表达升高可能与 rs9839776 位点的单核苷酸多态性有关,rs9839776 位点 CC 等位基因人群脓毒症发生率显著高于 TT 等位基因^[18]。研究发现,脂多糖诱导的脓毒症动物模型中,LncSOX2OT 的表达上调能够抑制 SOX2 的表达,促进线粒体分裂蛋白 Drp1 的表达升高,引起线粒体功能障碍,过度氧化应激及炎性反应导致认知功能障碍及 SAE 的发生^[6, 19]。本研究证实,血清外泌体 LncSOX2OT 水平能够评估 SAE 患者的生存预后。其原因可能是 LncSOX2OT 能加重 SAE 患者病情严重程度,导致患者不良预后。有学者利用盲肠结扎穿孔术建立 C57BL/6J 雄性小鼠脓毒症模型中发现,LncSOX2OT 基因敲除可通过下调 SOX2 表达抑制脓毒症诱导的小鼠海马神经元凋亡,改善小鼠认知功能的损伤,抑制 LncSOX2OT/SOX2 信号通路可能是治疗或预防脓毒症相关性脑病神经退行性变的有效方法^[20]。笔者进一步绘制 ROC 曲线,发现血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 联合检测对 SAE 患者生存预后具有较高的评估价值,诊断的敏感度和特异度分别为 0.904,0.813。临床医生可根据血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 水平对 SAE 患者的预后进行评估,及早进行干预治疗,从而改善 SAE 患者的预后。

综上所述,老年 SAE 患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 水平升高,两者表达与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈正相关,均参与 SAE 的疾病进展。血清

外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 水平升高是影响 SAE 患者 28 d 生存预后的独立危险因素,两项联合对 SAE 患者 28 d 生存预后具有较高的预测价值。本研究也存在不足,本研究随访时间有限,未能对血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 水平在评估 SAE 患者长期认知功能障碍中的临床价值进行深入研究,有待今后设计前瞻性多中心临床试验进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李雪莲:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;冷凌涵:实施研究过程,资料搜集整理;张丽涓:进行统计学分析;向相:课题设计,论文撰写;宋家志:核对、整理资料,检查数据;陈陶江:论文审核,论文修改;韩强:参与研究设计和试验过程;王平:提出研究思路,分析试验数据

参考文献

- [1] Purcarea A, Sovaila S. Sepsis, a 2020 review for the internist [J]. Rom J Intern Med, 2020, 58 (3): 129-137. DOI: 10. 2478/rjim-2020-0012.
- [2] Tauber SC, Djukic M, Gossner J, et al. Sepsis-associated encephalopathy and septic encephalitis: An update [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2021, 19 (2): 215-231. DOI: 10. 1080/14787210. 2020. 1812384.
- [3] 陈雯雯,甘忠桥,秦建华. 微流控技术在外泌体分离分析中的研究进展 [J]. 色谱, 2021, 39 (9): 968-980. DOI: 10. 3724/SP. J. 1123. 2021. 07005.
- Chen WW, Gan ZQ, Qin JH. Research progress of microfluidics technology in the separation and analysis of exosomes [J]. Chromatography, 2021, 39 (9): 968-980. DOI: 10. 3724/SP. J. 1123. 2021. 07005.
- [4] Hashemian SM, Pourhanifeh MH, Fadaei S, et al. Non-coding RNAs and exosomes; Their role in the pathogenesis of sepsis [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 21 (7): 51-74. DOI: 10. 1016/j. omt. 2020. 05. 012.
- [5] Wu Y, Li P, Liu L, et al. lncRNA Neat1 regulates neuronal dysfunction post-sepsis via stabilization of hemoglobin subunit beta [J]. Mol Ther, 2022, 30 (7): 2618-2632. DOI: 10. 1016/j. ymthe. 2022. 03. 011.
- [6] Chen M, Guan Y, Li A, et al. LncRNA SOX2OT mediates mitochondrial dysfunction in septic cardiomyopathy [J]. DNA Cell Biol, 2019, 38 (11): 1197-1206. DOI: 10. 1089/dna. 2019. 4839.
- [7] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10. 1001/jama. 2016. 0287.
- [8] 汪浪,张智琪,沈雪,等. 老年脓毒症患者临床特征及预后影响因素 [J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21 (4): 377-383. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20222021.
- Wang L, Zhang ZQ, Shen X, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of elderly sepsis patients [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2022, 21 (4): 377-383. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20222021.
- [9] 储靖,蒋毅,于泳浩,等. 对乙酰氨基酚对小鼠脓毒症相关性脑病的影响及其与铁死亡的关系 [J]. 中华麻醉学杂志, 2021, 41 (3): 335-338. DOI: 10. 3760/cma. j. cn131073. 20201113. 00319.
- Chu J, Jiang Y, Yu YH, et al. The effect of Paracetamol on sepsis related encephalopathy in mice and its relationship with Ferroptosis [J]. Chinese Journal of Anesthesiology, 2021, 41 (3): 335-338.

- DOI:10.3760/cma.j.cn131073.20201113.00319.
- [10] 李晓亮,谢江帆,叶向阳,等. 脑缺血缺氧性损伤标志物在烧伤脓毒症患者脓毒症相关性脑病早期诊断中的价值[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2022, 38 (1): 21-28. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211006-00346.
 - Li XL, Xie JF, Ye XY, et al. The value of markers of hypoxic ischemic injury in the early diagnosis of sepsis related encephalopathy in burn sepsis patients [J]. Chinese Journal of Burns and Wound Repair, 2022, 38 (1): 21-28. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211006-00346.
 - [11] He F, Zhang C, Huang Q. Long noncoding RNA nuclear enriched abundant transcript 1/miRNA-124 axis correlates with increased disease risk, elevated inflammation, deteriorative disease condition, and predicts decreased survival of sepsis [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(32): 16470-16481. DOI: 10.1097/MD.00000000000016470.
 - [12] Wei XB, Jiang WQ, Zeng JH, et al. Exosome-derived lncRNA NEAT1 exacerbates sepsis-associated encephalopathy by promoting ferroptosis through regulating miR-9-5p/TFRC and GOT1 axis [J]. Mol Neurobiol, 2022, 59(3): 1954-1969. DOI: 10.1007/s12035-022-02738-1.
 - [13] Yang Y, Xue J, Qin L, et al. LncRNA NEAT1 promotes inflammatory response in sepsis via the miR-31-5p/POU2F1 axis [J]. Inflammation, 2021, 44(4): 1518-1528. DOI: 10.1007/s10753-021-01436-9.
 - [14] Wang SM, Liu GQ, Xian HB, et al. LncRNA NEAT1 alleviates sepsis-induced myocardial injury by regulating the TLR2/NF- κ B signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(11): 4898-4907. DOI: 10.26355/eurrev_201906_18078.
 - [15] Li Z, Jiang P, Li J, et al. Tumor-derived exosomal lnc-Sox2ot promotes EMT and stemness by acting as a ceRNA in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Oncogene, 2018, 37(28): 3822-3838. DOI: 10.1038/s41388-018-0237-9.
 - [16] Knauss JL, Miao N, Kim SN, et al. Long noncoding RNA Sox2ot and transcription factor YY1 co-regulate the differentiation of cortical neural progenitors by repressing Sox2 [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(8): 799-804. DOI: 10.1038/s41419-018-0840-2.
 - [17] Zhu W, Peng F, Cui X, et al. LncRNA SOX2OT facilitates LPS-induced inflammatory injury by regulating intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) via sponging miR-215-5p [J]. Clin Immunol, 2022, 238(9): 1090-1096. DOI: 10.1016/j.clim.2022.109006.
 - [18] Wu Z, Yu Y, Fu L, et al. LncRNA SOX2OT rs9839776 polymorphism reduces sepsis susceptibility in southern Chinese children [J]. J Inflamm Res, 2020, 13(7): 1095-1101. DOI: 10.2147/JIR.S281760.
 - [19] Xiao Z, Zhang X, Li G, et al. Tibial fracture surgery in elderly mice caused postoperative neurocognitive disorder via SOX2OT lncRNA in the hippocampus [J]. Mol Brain, 2023, 16(1): 36-44. DOI: 10.1186/s13041-023-01024-y.
 - [20] Yin J, Shen Y, Si Y, et al. Knockdown of long non-coding RNA SOX2OT downregulates SOX2 to improve hippocampal neurogenesis and cognitive function in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 320-328. DOI: 10.1186/s12974-020-01970-7.

(收稿日期: 2023-06-07)

(上接 1071 页)

- [12] 苏睿, 张丽艳, 高志利, 等. 急性加重期慢性阻塞性肺疾病患者血清 CXCL10 和 CXCL11 水平变化及临床意义 [J]. 疑难病杂志, 2022, 21(4): 383-388. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.010.
- Su R, Zhang LY, Gao ZL, et al. Changes and clinical significance of serum CXCL10 and CXCL11 levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease during acute exacerbation [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21(4): 383-388. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.010.
- [13] 荆晶, 李凤森, 徐丹, 等. 益气固表丸对烟熏联合脂多糖诱导的慢性阻塞性肺疾病模型大鼠树突状细胞免疫功能的调节作用 [J]. 中国医药, 2022, 17(11): 1712-1717. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2022.11.025.
- Jing J, Li FS, Xu D, et al. Regulatory effect of Yiqi Gubiao pill on immune function of dendritic cell in model rats with chronic obstructive pulmonary disease induced by smoke combined with lipopolysaccharide [J]. China Medicine, 2022, 17(11): 1712-1717. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2022.11.025.
- [14] Zhu M, Ye M, Wang J, et al. Construction of potential miRNA-mRNA regulatory network in COPD plasma by bioinformatics analysis [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2020, 15: 2135-2145. DOI: 10.2147/COPD.S255262.
- [15] Jiang K, Yang J, Guo S, et al. Peripheral circulating Exosome-Mediated delivery of miR-155 as a novel mechanism for acute lung inflammation [J]. Mol Ther, 2019, 27(10): 1758-1771. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.07.003.
- [16] De Smet EG, Van Eeckhoutte HP, Avila Cobos F, et al. The role of miR-155 in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and COPD [J]. Mucosal Immunol, 2020, 13(3): 423-436. DOI: 10.1038/s41385-019-0241-6.
- [17] Zisapel N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation [J]. Br J Pharmacol, 2018, 175(16): 3190-3199. DOI: 10.1111/bph.14116.
- [18] 李果, 陈小兵, 李刚, 等. 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白与基质金属蛋白酶 9 在不同时期 COPD 患者外周血中的表达变化及意义 [J]. 中国临床新医学, 2021, 14(7): 685-690. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3806.2021.07.10.
- Li G, Chen XB, Li G, et al. Expression changes of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and matrix metalloproteinase-9 in peripheral blood of patients with COPD at different stages and their significances [J]. Chinese Journal of New Clinical Medicine, 2022, 17(11): 1712-1717. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2022.11.025.
- [19] Zielinski MR, Gibbons AJ. Neuroinflammation, Sleep, and Circadian Rhythms [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 853096. DOI: 10.3389/fcimb.2022.853096.
- [20] Patke A, Murphy PJ, Onat OE, et al. Mutation of the human circadian clock Gene CRY1 in familial delayed sleep phase disorder [J]. Cell, 2017, 169(2): 203-215. e13. DOI: 10.1016/j.cell.2017.03.027.
- [21] Climent M, Viggiani G, Chen YW, et al. MicroRNA and ROS crosstalk in cardiac and pulmonary diseases [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4370. DOI: 10.3390/ijms21124370.
- [22] Hu Y, He T, Zhu J, et al. The link between circadian clock genes and autophagy in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 2689600. DOI: 10.1155/2021/2689600.

(收稿日期: 2023-06-16)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.013

论著·临床

血清 Asprosin、miR-206、IMA 在多囊卵巢综合征患者中的表达及临床意义

欧慧慧, 胡新, 李婧, 张畅

作者单位: 266000 山东省青岛市市立医院生殖医学科(欧慧慧、张畅), 妇科(胡新、李婧)

通信作者: 李婧, E-mail: 373716745@qq.com



【摘要】目的 探讨血清白脂素(Asprosin)、微小 RNA-206(miR-206)、缺血修饰白蛋白(IMA) 在多囊卵巢综合征(PCOS)患者中的表达及临床意义。**方法** 选取 2019 年 6 月—2022 年 6 月青岛市市立医院收治的 PCOS 患者 120 例为病例组,根据体质指数(BMI)分为超重/肥胖亚组和体质质量正常亚组,再根据胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)分为胰岛素抵抗(IR)亚组和非 IR 亚组,另选同期健康体检育龄妇女 60 例为健康对照组。检测并比较各组血清 Asprosin、miR-206、IMA 表达水平及与各指标的相关性,多因素 Logistic 回归分析 PCOS 患者发生 IR 的危险因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析各指标对 PCOS 发生 IR 的预测价值。**结果** 病例组 BMI、HOMA-IR、总胆固醇、三酰甘油、黄体生成素、卵泡刺激素、睾酮、hs-CRP、Asprosin、IMA 高于健康对照组,miR-206 低于健康对照组($t = 2.029, 9.850, 5.568, 12.664, 7.221, 8.900, 6.973, 9.876, 9.876, 16.038, 35.177, P$ 均 < 0.05)。超重/肥胖亚组 PCOS 患者 Asprosin、IMA 高于体质质量正常亚组($t = 4.399, 3.054, P$ 均 < 0.01),miR-206 低于体质质量正常亚组($t = 2.916, P < 0.05$)。IR 亚组 PCOS 患者 Asprosin、IMA 高于非 IR 亚组,miR-206 低于非 IR 亚组($t = 5.467, 3.514, 10.158, P < 0.01$)。Asprosin 与 BMI、HOMA-IR、总胆固醇、三酰甘油呈正相关($r = 0.425, 0.524, 0.405, 0.423, P < 0.01$),miR-206 与 HOMA-IR、Asprosin、IMA 呈负相关($r = -0.332, -0.415, -0.433, P < 0.001$),IMA 与 HOMA-IR、Asprosin 呈正相关($r = 0.624, 0.394, P < 0.05$)。Asprosin 高、miR-206 低、IMA 高是影响 PCOS 发生 IR 的危险因素[$OR(95\% CI) = 2.385 (1.191 \sim 4.722), 3.367 (1.580 \sim 7.175), 2.153 (1.053 \sim 4.404)$],各指标分别及联合预测 PCOS 发生 IR 的曲线下面积(AUC)为 0.761、0.894、0.667、0.918,联合预测的 AUC 高于 Asprosin、IMA($Z = 3.831, 4.663, P < 0.01$)。**结论** Asprosin、IMA 在 PCOS 患者血清中异常高表达,miR-206 异常低表达,三者表达与 IR 程度有关,可能参与 PCOS 患者 IR 的发生发展,对预测 PCOS 患者发生 IR 具有一定价值。

【关键词】 多囊卵巢综合征;白脂素;微小 RNA-206;缺血修饰白蛋白;胰岛素抵抗指数**【中图分类号】** R711.75**【文献标识码】** A

The expression and clinical significance of serum Asprosin, miR-206, and IMA in patients with polycystic ovary syndrome Ou Huihui, Hu Xin, Li Jing, Zhang Chang. Department of Reproductive Medicine, Qingdao Hospital, University of Health and Rehabilitation Sciences (Qingdao Municipal Hospital), Shandong Province, Qingdao 266000, China

Corresponding author: Li Jing, E-mail: 373716745@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the expression and clinical significance of serum albumin (Asprosin), microRNA-206 (miR-206), and ischemic modified albumin (IMA) in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods** One hundred and twenty PCOS patients admitted to Qingdao Municipal Hospital from June 2019 to June 2022 were selected as the case group. They were divided into overweight/obese subgroups and normal subgroups based on body mass index (BMI), and insulin resistance (IR) subgroups and non IR subgroups based on insulin resistance index (HOMA-IR). Additionally, 60 healthy women of childbearing age during the same period were selected as the healthy control group. Detect and compare the expression levels of Asprosin, miR-206, and IMA in serum of each group, and their correlation with various indicators. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the risk factors for IR in PCOS patients. The receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the predictive value of each indicator on the occurrence of IR in PCOS. **Results** The BMI, HOMA-IR, total cholesterol, triacylglycerol, Luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, testosterone, hs CRP, Asprosin, IMA in the case group were higher than those in the healthy control group, and miR-206 was lower than that in the healthy control group ($t = 2.029, 9.850, 5.568, 12.664, 7.221, 8.900, 6.973, 9.876, 9.876, 16.038, 35.177,$

all $P < 0.05$). The Asprosin and IMA levels in PCOS patients in the overweight/obesity subgroup were higher than those in the normal body mass subgroup ($t = 4.399, 3.054, P < 0.01$). The Asprosin and IMA levels in the IR subgroup of PCOS patients were higher than those in the non-IR subgroup, while miR-206 levels were lower than those in the non-IR subgroup ($t = 5.467, 3.514, 10.158, P < 0.01$). Asprosin was positively correlated with BMI, HOMA-IR, total cholesterol, and triglycerides ($r = 0.425, 0.524, 0.405, 0.423, P < 0.01$), miR-206 was negatively correlated with HOMA-IR, Asprosin, and IMA ($r = -0.332, -0.415, -0.433, P < 0.001$), and IMA was positively correlated with HOMA-IR, Asprosin ($r = 0.624, 0.394, P < 0.05$). High Asprosin, low miR-206, and high IMA are risk factors for the occurrence of IR in PCOS [OR (95% CI) = 2.385 (1.191 - 4.722), 3.367 (1.580 - 7.175), 2.153 (1.053 - 4.404)]. The area under the curve (AUC) for predicting IR in PCOS were 0.761, 0.894, 0.667, and 0.918, respectively, and jointly predicted AUC was higher than Asprosin and IMA ($Z = 3.831, 4.663, P < 0.01$). **Conclusion** Asprosin and IMA are abnormally high expressed in the serum of PCOS patients, while miR-206 is abnormally low expressed. Their expression is related to the degree of IR and may be involved in the occurrence and development of IR in PCOS patients, which has certain value in predicting the occurrence of IR in PCOS patients.

【Key words】 Polycystic ovary syndrome; Asprosin; MicroRNA-206; Ischemia-modified albumin; Insulin resistance index

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是以雄性激素过高、胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)、内分泌失调造成卵巢异常改变的常见病, 常见于育龄女性^[1]。有研究认为^[2], 大约有 4% 的女性会患 PCOS, 表现为月经紊乱、多毛、肥胖, 还容易影响生育力, 对患者家庭生活造成严重伤害。PCOS 病因尚不清楚, 多认为与代谢、环境、遗传有关。脂肪组织作为机体最大内分泌组织, 可分泌参与 PCOS 发生发展的脂肪因子, 如白脂素 (Asprosin) 可调节 IR, 与糖尿病、肥胖疾病有关^[3]。研究认为^[4], PCOS 缺血介导的炎症反应和氧化应激是 PCOS 发生发展的关键, 微小 RNA-206 (micro RNA-206, miR-206) 作为 miRNA 家族重要成员, 其表达与 IR 关系密切; 缺血修饰白蛋白 (ischemia-modified albumin, IMA) 是组织缺血的敏感标志物, 可反映不同疾病活动状态, 在 PCOS 患者中可反映机体氧化应激^[5]。但由于目前 Asprosin、miR-206、IMA 三者 in PCOS 患者中的研究相对较少, 对 PCOS 患者发生 IR 与三者间的关系不明确, 因此, 本研究通过对 PCOS 患者血清 Asprosin、miR-206、IMA 及逆行检测, 旨在分析血清 Asprosin、miR-206、IMA 在 PCOS 患者中的表达变化和意义, 为 PCOS 的可能病理生理变化提供参考依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 6 月—2022 年 6 月青岛市市立医院收治的 PCOS 患者 120 例为病例组, 另选同期健康体检孕龄妇女 60 例为健康对照组。根据 BMI 将 PCOS 患者分为超重/肥胖亚组 ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) 68 例、体质量正常亚组 ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) 52 例; 再根据胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 将 PCOS 患者分为 IR 亚组 ($HOMA-IR \geq 2.69$) 73 例、非 IR 亚组 ($HOMA-IR < 2.69$)

47 例。本研究经医院伦理委员会批准 (2019 审字第 077 号), 入选者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合《多囊卵巢综合征中国诊疗指南》中 PCOS 的诊断标准^[6], 青春期、生育期症状: 月经异常、多毛、不孕; 中老年症状为糖尿病、心血管疾病、高血脂症状; 超声下显示卵巢有直径 2 ~ 9 mm 卵泡 12 个以上, 卵巢体积增大超过 10 cm^3 ; 血清激素检查显示卵泡刺激素正常或偏低, 黄体生成素、雌二醇升高。②患者近期无感染, 3 个月内未使用避孕、降脂、降糖药。③患者均为育龄已婚妇女, 年龄 18 ~ 40 岁。(2) 排除标准: ①存在严重精神类、免疫系统疾病患者。②合并肝肾、心血管疾病及导致雄性激素分泌增多、月经异常的疾病患者, 如库欣综合征、卵泡膜细胞增殖症、功能性下丘脑性闭经、甲状腺疾病等。③存在恶性肿瘤者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 Asprosin、IMA 表达水平检测: 研究对象均于月经周期第 5 ~ 8 d 抽取清晨空腹外周静脉血 5 ml, 闭经患者静脉血抽取时间不限, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 采用上海臻科生物人 Asprosin Elisa 试剂盒、人 IMA Elisa 试剂盒检测血清 Asprosin、IMA, 操作步骤严格按照试剂盒说明书。

1.3.2 血清 miR-206 表达水平检测: 采用美国 Invitrogen 公司 Trizol reagent RNA 提取试剂盒, 提取总 RNA, 采用美国 ABI 公司 7500 型荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 仪, 应用实时聚合酶链式反应 (RT-PCR) 法检测血清 miR-206 表达水平, 以 U6 为内参, RNA 催化合成采用 cDNA: PrimerScript™ RT 试剂盒, RNA 扩增采用 SYBR Premix Ex Taq™ qRT-PCR 试剂盒, miR-

206 正向引物:5'-ATCCAGTGCCTGTCGTG-3';反向引物:5'-TGCTTGGAATGTAAGGAAG-3';U6 正向引物:5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3';反向引物:5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3';反应条件为:95℃ 5 min 预变性,95℃ 15 s 变性,60℃ 30 s 退火,72℃ 10 s 延伸,共 40 个循环,以 U6 为 miR-206 内参,采用 2^{-ΔΔCt}法计算 miR-206 表达水平,ΔΔCt = ΔCt 实验组标本 - ΔCt 健康对照组标本。

1.3.3 血糖、血脂检测:鱼跃血糖仪 580 检测空腹血糖(FPG),上海化邦生物人空腹胰岛素 Elisa 试剂盒检测 FINS,根据空腹血糖×空腹胰岛素/22.5 计算稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostatic model insulin resistance index,HOMA-IR);采用西门子全自动生化分析仪 Viva-proE 检测总胆固醇、三酰甘油。

1.3.4 性激素检测:采用西门子全自动生化分析仪(Viva-proE)检测雌二醇、催乳素、黄体生成素、卵泡刺激素、睾酮等。

1.3.5 血肌酐(SCr)、hs-CRP 检测:采用西门子全自动生化分析仪(Viva-proE)检测 SCr,上海初态生物人高敏 C 反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein,hs-CRP)ELISA 试剂盒检测 hs-CRP。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 统计分析软件。符合正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布计量资料经对数转换服从正态分布,2 组比较用独立样本 *t* 检验;计数资料用频数或率(%)表示,比较用 χ^2 检验;采用 Pearson 进行相关性分析;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 Asprosin、miR-206、IMA 对 PCOS 发生 IR 的预测价值。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组和健康对照组临床资料比较 病例组 BMI、HOMA-IR、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、黄体生成素、卵泡刺激素、睾酮、hs-CRP、Asprosin、IMA 高于健康对照组,miR-206 低于健康对照组(*P* < 0.05),其他资料比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 1。

2.2 病例组不同 BMI 患者血清 Asprosin、miR-206、IMA 比较 超重/肥胖亚组 PCOS 患者血清 Asprosin、IMA 高于体质质量正常亚组(*P* < 0.01),miR-206 低于体质质量正常亚组,见表 2。

2.3 病例组不同 HOMA-IR 患者血清 Asprosin、miR-206、IMA 比较 IR 亚组 PCOS 患者血清 Asprosin、IMA 高于非 IR 亚组,miR-206 低于非 RI 亚组(*P* < 0.01),见表 3。

2.4 血清 Asprosin、miR-206、IMA 与各指标间的相关性分析 Asprosin 与 BMI、HOMA-IR、总胆固醇、三酰

表 1 健康对照组、病例组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of clinical data between healthy control group and case group

项 目	健康对照组 (<i>n</i> = 60)	病例组 (<i>n</i> = 120)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	28.53 ± 4.26	28.65 ± 4.22	0.179	0.858
BMI(kg/m ²)	24.42 ± 3.43	25.65 ± 4.02	2.029	0.044
舒张压(mmHg)	83.21 ± 3.42	84.26 ± 3.67	1.850	0.066
收缩压(mmHg)	124.85 ± 4.67	125.68 ± 5.33	1.025	0.307
心率(次/min)	71.96 ± 4.08	73.25 ± 4.36	1.911	0.058
HOMA-IR(%)	1.86 ± 0.62	3.51 ± 1.22	9.850	<0.001
总胆固醇(mmol/L)	4.01 ± 0.61	4.67 ± 0.81	5.568	<0.001
三酰甘油(mmol/L)	0.88 ± 0.32	1.96 ± 0.62	12.664	<0.001
血肌酐(μmol/L)	83.25 ± 10.64	82.61 ± 10.25	0.390	0.697
雌二醇(pmol/L)	182.28 ± 40.65	188.55 ± 43.36	0.933	0.352
催乳素(IU/L)	16.84 ± 11.26	17.93 ± 12.18	1.645	0.102
黄体生成素(mU/L)	4.51 ± 2.26	7.34 ± 2.58	7.221	<0.001
卵泡刺激素(mU/L)	4.26 ± 1.02	6.32 ± 1.64	8.900	<0.001
睾酮(ng/L)	60.62 ± 8.70	72.71 ± 11.93	6.973	<0.001
hs-CRP(mg/L)	0.83 ± 0.14	2.81 ± 0.71	9.876	<0.001
Asprosin(μg/L)	1.43 ± 0.62	2.65 ± 0.85	9.876	<0.001
miR-206	0.92 ± 0.11	0.38 ± 0.09	35.177	<0.001
IMA(U/ml)	43.25 ± 10.42	75.18 ± 13.54	16.038	<0.001

表 2 病例组不同 BMI 患者血清 Asprosin、miR-206、IMA 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum Asprosin, miR-206, and IMA in different BMI patients in the case group

组 别	例数	Asprosin(μg/L)	miR-206	IMA(U/ml)
体质质量正常亚组	52	2.35 ± 0.65	0.35 ± 0.09	71.25 ± 12.53
超重/肥胖亚组	68	3.01 ± 0.92	0.31 ± 0.06	78.53 ± 13.24
<i>t</i> 值		4.399	2.916	3.054
<i>P</i> 值		<0.001	0.004	0.003

表 3 病例组不同 HOMA-IR 患者血清 Asprosin、miR-206、IMA 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum Asprosin, miR-206, and IMA in different HOMA-IR patients in the case group

组 别	例数	Asprosin(μg/L)	miR-206	IMA(U/ml)
非 IR 亚组	47	2.15 ± 0.73	0.43 ± 0.09	70.33 ± 11.62
IR 亚组	73	3.02 ± 0.92	0.30 ± 0.05	78.65 ± 13.28
<i>t</i> 值		5.467	10.158	3.514
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.001

甘油呈正相关(*P* < 0.01),miR-206 与 HOMA-IR、Asprosin 呈负相关(*P* < 0.01),IMA 与 HOMA-IR、Asprosin 呈正相关,与 miR-206 呈负相关(*P* < 0.01),见表 4。

2.5 影响 PCOS 发生 IR 的多因素 Logistic 回归分析 以 PCOS 患者是否发生 IR 为因变量(1 = 是,0 = 否),以血清 Asprosin、miR-206、IMA 连续变量为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,血清 As-

prosin、IMA 高表达水平、miR-206 低表达水平是影响 PCOS 发生 IR 的危险因素($P < 0.05$),见表 5。

表 4 血清 Asprosin、miR-206、IMA 与各指标间的相关性分析
Tab. 4 Correlation analysis between serum Asprosin, miR-206, IMA and various indicators

指 标	Asprosin		miR-206		IMA	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
BMI	0.425	<0.001	0.215	0.086	0.153	0.324
HOMA-IR	0.524	<0.001	-0.332	<0.001	0.624	<0.001
总胆固醇	0.405	0.001	0.167	0.252	0.143	0.311
三酰甘油	0.423	<0.001	0.087	0.536	0.135	0.325
hs-CRP	0.201	0.186	0.198	0.193	0.205	0.185
Asprosin	-	-	-0.415	<0.001	0.394	0.035
miR-206	-0.415	<0.001	-	-	-0.433	<0.001
IMA	0.394	0.035	-0.433	<0.001	-	-

表 5 影响 PCOS 发生 IR 的多因素 Logistic 回归分析
Tab. 5 Multivariate logistic regression analysis on the occurrence of IR in PCOS

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
Asprosin 高	0.869	0.354	6.026	0.014	2.385	1.191 ~ 4.722
miR-206 低	1.214	0.386	9.892	0.002	3.367	1.580 ~ 7.175
IMA 高	0.767	0.365	4.416	0.036	2.153	1.053 ~ 4.404

2.6 血清 Asprosin、miR-206、IMA 及联合对 PCOS 发生 IR 的预测价值分析 血清 Asprosin、miR-206、IMA 及联合预测 PCOS 发生 IR 的 AUC 为 0.761、0.894、0.667、0.918,联合预测的 AUC 高于血清 Asprosin、IMA($Z = 3.831、4.663, P < 0.01$),见表 6、图 1。

表 6 血清 Asprosin、miR-206、IMA 及三者联合对 PCOS 发生 IR 的预测价值分析

Tab. 6 Analysis of the predictive value of serum Asprosin, miR-206, IMA, and their combination for the occurrence of IR in PCOS

项 目	cut-off 值	AUC	敏感度	特异度	约登指数
Asprosin	>2.27	0.761	0.740	0.660	0.399
miR-206	<0.36	0.894	0.918	0.808	0.726
IMA	>81.77	0.667	0.397	0.894	0.291
三者联合		0.918	0.973	0.787	0.760

3 讨 论

PCOS 是一种多病因、多表现的女性独特疾病,发病机制复杂,临床症状表现也极不均匀,对生育功能影响极大,是育龄女性不孕常见原因,PCOS 发生率约为 8.25%,不孕率约 27.8%^[7-8]。目前 PCOS 治疗缺乏有效治愈方案,常以对症治疗为主。PCOS 患者多数合并 IR,IR 可能是 PCOS 病情进展的重要因素^[9]。

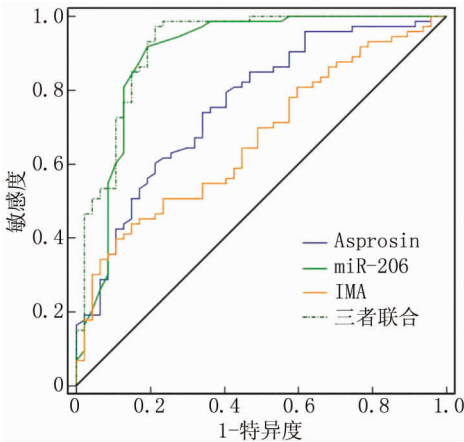


图 1 血清 Asprosin、miR-206、IMA 预测 PCOS 发生 IR 的 ROC 曲线
Fig. 1 Receiver operating characteristic of serum Asprosin, miR-206 and IMA predicting IR in PCOS

Asprosin 是由哺乳动物白色脂肪组织产生的一种与肝脏葡萄糖释放有关的空腹诱导的糖原蛋白激素,由 140 个氨基酸组成,分子量 30 kDa,是反映葡萄糖稳态、胰岛素抵抗、肥胖状态等异常代谢性疾病的有效生物标志物,机体正常状态下在血液中的含量极少,禁食后表达水平会升高,但进食后其浓度恢复正常,因此,认为 Asprosin 可能参与胰岛素调节^[10]。Alan 等^[11]研究表示,Asprosin 表达水平升高与 IR 的 PCOS 有一定相关性,可作用于下丘脑调节患者食欲和体质量。miRNAs 是一种类似于 siRNA 的单链 RNA,由高等真核生物基因组编码,在细胞生长、发育、凋亡、肿瘤形成过程的调节中起多种作用,miRNA 在血液中表达稳定,易于检测,该分子的发现和深入探究为临床疾病的诊疗提供了新思路。miR-206 位于人体染色体 6p12.2 上,在心肌组织、骨骼、肿瘤形成中具有调节作用^[12]。研究表示^[13],miR-206 的表达可能会受胰岛素调节,控制卵巢颗粒细胞凋亡,参与 PCOS 的发病。IMA 是一种较为理想的新型缺血标志物,可反映机体氧化应激反应程度,在一些心血管疾病的早诊断、指导治疗中有重要意义。国外学者 Guven 等^[14]首次报道 PCOS 患者中存在血清 IMA 升高情况,PCOS 患者由于糖脂代谢异常、胰岛素抵抗,使患者机体处于氧化应激状态。卵泡内分泌微环境存在氧化、抗氧化动态平衡,当机体处于氧化应激时,卵泡局部微环境氧化、抗氧化动态失衡,卵母细胞发育、成熟受损,无法正常排卵,出现月经少、闭经、不孕等 PCOS 的表现,因此,PCOS 不单是一种妇科疾病,还是复杂、多种因素参与的内分泌紊乱疾病^[15]。

本研究中,PCOS 患者 BMI、HOMA-IR、总胆固醇、三酰甘油、黄体生成素、卵泡刺激素、睾酮、hs-CRP、Asprosin、IMA 均高于健康对照组,miR-206 表达水平低于健康对照组,表明 PCOS 可能与上述指标有关,超重肥胖是 PCOS 常见特征,同时本身为代谢类疾病,存在糖脂代谢异常,虽然超重/肥胖并未纳入 PCOS 诊断标准,但在 PCOS 患者中,50%~70% 伴有超重/肥胖。IR 是 PCOS 的发病机制之一,IR 可提高 17 α 羟化酶活性,促进卵泡膜细胞合成雄激素,引发高雄激素血症,进而影响胰岛素介导的葡萄糖代谢能力,加重机体 IR 程度,导致恶性循环;IR 的存在可影响窦卵泡发育,增加流产风险,降低生育力,同时 IR 与超重/肥胖相互促进,两者共同存在 PCOS 的发生发展中起重要作用^[16]。PCOS 激素失衡导致总胆固醇、三酰甘油升高,与 IR 有关,其中激素睾酮作为 PCOS 患者体内活性最高的雄激素,对卵巢颗粒细胞的分化影响较严重,可导致卵泡发育停滞,影响生育力。研究认为^[17],氧化应激是造成 PCOS 患者体内雄激素升高的重要原因。hs-CRP 由 PCOS 慢性炎症反应引起,可增高心血管疾病、糖尿病风险,袁芬等^[18] 研究显示,PCOS 患者中 BMI、hs-CRP、睾酮、黄体生成素、IMA 均高于正常健康体检者,hs-CRP 与 IMA 无相关性,其水平升高的原因可能与 PCOS 患者超重/肥胖有关,与本研究结果相符。Asprosin 可影响机体体质量,作为增进食欲激素,其表达水平高说明患者食欲高,缺乏 Asprosin 可导致食欲减退,患者出现消瘦情况,因此,本研究结果中 Asprosin 在超重/肥胖 PCOS 患者中的表达水平较高,同时 IR 亚组 PCOS 患者 Asprosin 较高,高表达水平是影响 PCOS 发生 IR 的危险因素,提示 Asprosin 与 PCOS 患者 BMI、IR 有关。Alan 等^[11] 研究显示,RI 组和超重/肥胖 PCOS 患者 Asprosin 水平较高,Asprosin 与 PCOS 患者的 BMI、IR 密切相关。Wang 等^[19] 研究提示 Asprosin 在肥胖儿童中的表达水平较高,与 HOMA-IR 呈正相关。另有研究表示^[20],减肥术后患者血清 Asprosin 表达水平较术前低,说明 BMI 与 Asprosin 有关。本研究结果显示,超重/肥胖 PCOS 患者血清 IMA 表达水平较高,高表达水平是影响 PCOS 发生 IR 的危险因素,与欧英霞等^[21] 研究结果一致。miR-206 可通过促进胰岛素信号减少葡萄糖产生,本研究结果发现,在超重/肥胖和 IR 亚组 PCOS 患者中血清 miR-206 表达水平较低,低表达水平是影响 PCOS 发生 IR 的危险因素,提示 miR-206 与 IR 有关,桑敏等^[22] 研究显示,miR-206 与 PCOS 患者 BMI 呈负相关,刘彩霞等^[23] 研究显示,miR-206 在 PCOS 不孕患者中表达水平较低,经治

疗后药物通过改善葡萄糖代谢、IR 调节 miR-206,使 miR-206 表达水平上升。经 Pearson 相关性分析显示,血清 Asprosin 与 BMI、总胆固醇、三酰甘油、HOMA-IR 呈正相关,miR-206 与 HOMA-IR、Asprosin 呈负相关,IMA 与 HOMA-IR、Asprosin 呈正相关,与 miR-206 呈负相关,与以往研究结果相符^[24-25]。白爱红等^[13] 研究显示,miR-206 与 HOMA-IR 呈负相关,与本研究结果一致。

褚冉等^[26] 研究提示,Asprosin 在胰岛素调节中扮演重要角色,通过血糖、胰岛素影响 PCOS 的发生进展,由于 PCOS 存在 IR 导致 Asprosin 水平升高,但具体机制不明,仍需进一步深入研究。进一步研究发现 Asprosin 预测 PCOS 发生 IR 的 AUC 为 0.761,与本研究结果一致。本研究经 ROC 曲线分析显示,Asprosin、miR-206、IMA 及三者联合预测 PCOS 发生 IR 的 AUC 为 0.761、0.894、0.667、0.918,三者联合预测的 AUC 高于 Asprosin 和 IMA,提示联合检测有助于提高 PCOS 发生 IR 的预测价值。但由于本研究样本量较小,对于 Asprosin、miR-206、IMA 与 PCOS 发生 IR 的机制未进行详细分析,需临床进一步研究。

综上所述,血清 Asprosin、IMA 在 PCOS 中呈高表达,miR-206 呈低表达,与 IR 有关,对预测 PCOS 患者发生 IR 具有一定价值,可作为 PCOS 发生 IR 的预测指标。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

欧慧慧:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;胡新:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;李婧:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;张畅:进行统计学分析及课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 翁瑞文,刘义,张蔚,等.多囊卵巢综合征患者雄激素与糖代谢指标的关系研究[J].中国全科医学,2022,25(32):4046-4051. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0633.
- Weng RW, Liu Y, Zhang W, et al. Relationship between androgens and glucose metabolism index in patients with polycystic ovary syndrome[J]. China General Medicine, 2022, 25(32):4046-4051. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0633.
- [2] 孙艳华,邵莹.益母草颗粒联合炔雌醇环丙孕酮对多囊卵巢综合征伴不孕患者性激素水平及排卵率的影响[J].中国药物与临床,2020,20(18):3041-3043. DOI:10.11655/zgywylc2020.18.023.
- Sun YH, Shao Y. Effect of motherwort granules combined with ethinyl estradiol cypoterone on sex hormone levels and ovulation rate in patients with polycystic ovary syndrome with infertility[J]. Chinese Remedies & Clinics, 2020, 20(18):3041-3043. DOI:10.11655/zgywylc2020.18.023.

- [3] 王晓艳,魏枫,王玮,等.血清 Asprosin,Spexin 水平与 2 型糖尿病并内脏型肥胖的相关性研究[J].中国全科医学,2021,24(36):4623-4627. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.02.052.
Wang XY,Wei F,Wang W,et al. Correlation of serum Asprosin and Spexin levels with type 2 diabetes mellitus and visceral obesity[J]. Chinese General Practice, 2021, 24 (36) : 4623-4627. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.02.052.
- [4] 孙林,王海燕,王美仙,等.多囊卵巢综合征患者胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞分泌功能与氧化应激的相关性研究[J].现代生物医学进展,2019,19(24):4780-4784. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.042.
Sun L,Wang HY,Wang MX,et al. Correlation of insulin resistance and pancreatic β -cell secretion function with oxidative stress in patients with polycystic ovary syndrome[J]. Advances in Modern Biomedicine,2019,19(24):4780-4784. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.042.
- [5] 岳静,王丽娜,杨蕊,等.多囊卵巢综合征患者血清 HSP70,IMA 水平的变化及与性激素和氧化应激的相关性研究[J].现代生物医学进展,2020,20(1):63-67. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.013.
Yue J,Wang LN,Yang R,et al. Changes of serum HSP70,IMA levels in patients with polycystic ovary syndrome and correlation with sex hormones and oxidative stress[J]. Modern Biomedical Advances, 2020,20(1):63-67. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.013.
- [6] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组.多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J].中华妇产科杂志,2018,53(1):2-6. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2018.01.002.
Endocrinology Group and Guidelines Expert Group of the Chinese Society of Obstetrics and Gynecology. Chinese guidelines for the treatment of polycystic ovary syndrome[J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2018, 53 (1) : 2-6. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2018. 01. 002.
- [7] 李威,陈静,匡洪影,等. PCOS 卵巢局部胰岛素信号通路异常对卵巢细胞生殖内分泌功能的影响[J].医学研究杂志,2020,49(1):13-17. DOI:10.11969/j.issn.1673-548X.2020.01.004.
Li W,Chen J,Kuang HY,et al. Effects of local insulin signaling pathway abnormalities in PCOS ovaries on the reproductive endocrine function of ovarian cells[J]. Journal of Medical Research,2020,49(1):13-17. DOI:10.11969/j.issn.1673-548X.2020.01.004.
- [8] Kajal R,Arushi S,Vipasha G,et al. Role of genomic DNA methylation in PCOS pathogenesis: A systematic review and meta-analysis involving case-controlled clinical studies[J]. Molecular Human Reproduction,2022,5(8):24-31. 10.1093/molehr/gaac024.
- [9] 丁凤娟,万彦伶,郝翠芳. PCOS 患者胰岛素抵抗与肥胖对 IVF 结局的影响[J].生殖医学杂志,2019,28(5):462-468. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2019.05.003.
Ding FJ,Wan YL,Hao CF. Impact of insulin resistance and obesity on IVF outcomes in patients with PCOS[J]. Journal of Reproductive Medicine,2019,28(5):462-468. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2019.05.003.
- [10] 谭雪净,王敏,康玉蓉,等.肥胖儿童血清 Asprosin 水平及其与糖脂代谢的相关性研究[J].中国妇幼保健研究,2021,32(6):793-797. DOI:10.3969/j.issn.1673-5293.2021.06.004.
Tan XJ,Wang M,Kang YR,et al. Serum Asprosin levels and its correlation with glucolipid metabolism in obese children[J]. China Maternal and Child Health Research,2021,32(6):793-797. DOI:10.3969/j.issn.1673-5293.2021.06.004.
- [11] Alan M,Gurlek B,Yilmaz A,et al. Asprosin: A novel peptide hormone related to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome[J]. Gynecological Endocrinology the Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology,2019,35(3):220-223. DOI:10.1080/09513590.2018.1512967
- [12] 许琳婉,刘革力,荀茜,等. UHRF1 通过 miR-206 调控 ER α 表达促进甲状腺乳头状癌细胞增殖,侵袭和迁移[J].中国细胞生物学学报,2020,42(2):248-255. DOI:10.11844/cjcb.2020.02.0010
Xu LW,Liu GL,Gou X,et al. UHRF1 regulates ER α expression through miR-206 to promote proliferation, invasion and migration of papillary thyroid cancer cells[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2020,42(2):248-255. DOI:10.11844/cjcb.2020.02.0010.
- [13] 白爱红,付秀虹,李荣香,等.多囊卵巢综合征患者血清 miR-206 和 IGF-1 的表达水平及临床意义[J].中国妇幼保健,2019,34(1):139-142. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.01.46.
Bai AH,Fu XH,Li RX,et al. Expression levels and clinical significance of serum miR-206 and IGF-1 in patients with polycystic ovary syndrome[J]. China Maternal and Child Health Care,2019,34(1):139-142. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.01.46.
- [14] Guven S,Karahan S C,Bayram C,et al. Elevated concentrations of serum ischaemia-modified albumin in PCOS, a novel ischaemia marker of coronary artery disease[J]. Reprod Biomed Online,2009,19(4):493-500. DOI:10.1016/j.rbmo.2009.05.012.
- [15] 梅忆媛,谢青贞.多囊卵巢综合征合并代谢紊乱的炎症机制[J].中国计划生育和妇产科,2021,13(4):20-23. DOI:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.04.06.
Mei YY,Xie QZ. Inflammatory mechanisms in polycystic ovary syndrome combined with metabolic disorders[J]. Chinese Family Planning and Obstetrics and Gynecology,2021,13(4):20-23. DOI:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.04.06.
- [16] 杜亮,张弦,张冰斐,等. PCOS 患者血清瘦素与性激素,胰岛素抵抗相关性研究[J].河北医药,2021,43(19):2941-2947. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2021.19.014.
Du L,Zhang S,Zhang BF,et al. Correlation of serum leptin with sex hormones and insulin resistance in patients with PCOS[J]. Hebei Medicine,2021,43(19):2941-2947. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2021.19.014.
- [17] 张晓婷,王军. PCOS 不孕症患者卵巢超声特征,性激素水平及氧化应激损伤指标分析[J].中国计划生育学杂志,2020,28(8):1282-1284. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2020.08.033.
Zhang XT,Wang J. Analysis of ovarian ultrasound characteristics, sex hormone levels and oxidative stress damage indicators in patients with PCOS infertility[J]. Chinese Journal of Family Planning,2020,28(8):1282-1284. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2020.08.033.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 014

论著 · 临床

特发性血小板减少性紫癜患儿血清 PTX3、SDC-1 水平及临床意义

王文娟, 李琛, 宫经新, 刘朝阳, 朱翠敏, 刘娜娜, 刘秀芬

基金项目: 河北省 2023 年度医学科学研究课题计划项目 (20232130)

作者单位: 061000 河北省沧州市中心医院儿内科

通信作者: 李琛, E-mail: licenwk_123@163.com



【摘要】目的 探究特发性血小板减少性紫癜 (ITP) 患儿血清正五聚蛋白 3 (PTX3)、多配体蛋白聚糖 1 (SDC-1) 水平及临床意义。方法 选取 2021 年 10 月—2022 年 10 月沧州市中心医院儿内科收治的 ITP 患儿 95 例为研究组; 同期医院体检的健康儿童 100 例作为健康对照组。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测 2 组血清 PTX3、SDC-1 水平; 采用 Pearson 相关分析血清 PTX3、SDC-1 水平的相关性; Logistic 回归模型分析 ITP 患儿预后的相关影响因素; 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 PTX3、SDC-1 水平对 ITP 的诊断价值和预后预测价值。结果 与健康对照组比较, 研究组 ITP 患儿血小板计数 (PLT) 水平显著下降, 血清 PTX3、SDC-1 水平显著升高 ($t/P = 76.639 / < 0.001$ 、 $8.868 / < 0.001$ 、 $8.483 / < 0.001$)。与预后良好亚组比较, 预后不良亚组 ITP 患儿血清 PTX3、SDC-1 水平显著升高 ($t/P = 8.313 / < 0.001$ 、 $7.851 / < 0.001$)。Pearson 相关分析显示, ITP 患儿血清 PTX3 与 SDC-1 水平呈正相关 ($r/P = 0.700 / < 0.001$)。血清 PTX3、SDC-1 及二者联合诊断 ITP 的 AUC 分别为 0.801、0.849、0.861, 二者联合优于血清 PTX3 单独诊断 ($Z = 2.708, P = 0.007$)。血清 PTX3、SDC-1 及二者联合预测 ITP 患儿预后的 AUC 分别为 0.790、0.907、0.918, 二者联合优于血清 PTX3 单独预测 ($Z = 2.245, P = 0.025$)。Logistic 回归分析显示, 血清 PTX3、SDC-1 水平高是 ITP 患儿发生不良预后的危险因素 [$OR(95\% CI) = 5.463(3.193 \sim 9.347)$ 、 $13.486(10.473 \sim 17.366)$]。结论 ITP 患儿血清 PTX3、SDC-1 水平升高, 对 ITP 诊断和预后评估具有重要临床意义。

【关键词】 特发性血小板减少性紫癜; 正五聚蛋白 3; 多配体蛋白聚糖 1; 诊断; 预后

【中图分类号】 R558⁺.2 【文献标识码】 A

The levels and clinical significance of serum PTX3 and SDC-1 in children with idiopathic thrombocytopenic purpura

Wang Wenjuan, Li Chen, Gong Jingxin, Liu Chaoyang, Zhu Cuimin, Liu Nana, Liu Xiufen. Department of Pediatrics, Cangzhou Central Hospital, Hebei Province, Cangzhou 061000, China

Corresponding author: Li Chen, E-mail: licenwk_123@163.com

Funding program: Hebei Province 2023 Medical Science Research Project Plan Project (20232130)

【Abstract】 Objective To investigate the levels and clinical significance of serum positive pentameric protein 3 (PTX3) and multi ligand proteoglycan 1 (SDC-1) in children with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). Methods Ninety-five children with ITP admitted to the Department of Pediatrics at Cangzhou Central Hospital from October 2021 to October 2022 were selected as the study group; 100 healthy children who underwent physical examination at the same hospital were selected as the healthy control group. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of serum PTX3 and SDC-1 in two groups. Pearson correlation analysis was used to investigate the correlation between serum PTX3 and SDC-1 levels. Logistic regression model was used to analyze the relevant influencing factors of prognosis in children with ITP; The diagnostic value and prognostic predictive value of serum PTX3 and SDC-1 levels in ITP were analyzed using the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. Results Compared with the healthy control group, the study group showed a decrease in platelet count (PLT) levels and a significant increase in serum PTX3 and SDC-1 levels in ITP patients ($t/P = 76.639 / < 0.001$, $8.868 / < 0.001$, $8.483 / < 0.001$). Compared with the subgroup with good prognosis, the serum PTX3 and SDC-1 levels in the subgroup with poor prognosis ITP were significantly increased ($t/P = 8.313 / < 0.001$, $7.851 / < 0.001$). Pearson correlation analysis showed a positive correlation between serum PTX3 and SDC-1 levels in children

with ITP ($r/P=0.700/ <0.001$). The AUC of serum PTX3, SDC-1, and their combination in diagnosing ITP were 0.801, 0.849, and 0.861, respectively. The combination of the two was superior to serum PTX3 alone in diagnosing ITP ($Z = 2.708, P = 0.007$). The AUC of serum PTX3, SDC-1, and their combination in predicting the prognosis of children with ITP were 0.790, 0.907, and 0.918, respectively. The combination of the two was better than serum PTX3 alone in predicting prognosis ($Z = 2.245, P=0.025$). Logistic regression analysis showed that high levels of serum PTX3 and SDC-1 were risk factors for poor prognosis in children with ITP [$OR(95\% CI) = 5.463 (3.193 - 9.347), 13.486 (10.473 - 17.366)$]. **Conclusion** The elevated levels of serum PTX3 and SDC-1 in children with ITP have important clinical significance for the diagnosis and prognosis prediction of ITP.

【Key words】 Idiopathic thrombocytopenic purpura; Positive pentameric protein 3; Syndecan-1; Diagnosis; Prognosis

特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) 是常见的出血性疾病, 是免疫系统功能异常引发血小板过度破坏所致, 目前其致病因素尚不明确^[1]。ITP 好发于儿童时期, 患者主要出现血小板减少、自发性出血、骨髓巨核细胞发育成熟障碍等病症^[2-3]。寻找准确、灵敏诊断和预测 ITP 患者预后的生物标志物对提高 ITP 诊断效率和预后具有重要的临床意义。正五聚蛋白 3 (pentraxin-3, PTX3) 能够与多种可溶性受体配体相结合, 参与血管重塑、炎症反应、免疫防御等多种生物学过程^[4-5]。研究发现, 其在免疫相关疾病如过敏性紫癜、心血管疾病、脓毒血症等疾病中表达均升高^[6-8]。多配体蛋白聚糖 1 (syndecan-1, SDC-1) 是内皮细胞上表达的一种主要核心蛋白, 在病理刺激下, 内皮细胞出现损伤, 血清 SDC-1 水平升高, 且与内皮功能障碍、心血管疾病、血管损伤等疾病密切相关^[9-10]。然而, 目前 PTX3、SDC-1 在 ITP 中的报道较为少见, 现检测 ITP 患者血清 PTX3、SDC-1 的表达, 分析其临床意义, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 10 月—2022 年 10 月沧州市中心医院儿内科收治的 ITP 患儿 95 例为研究组, 男 55 例, 女 40 例, 年龄 1~14 (6.20 ± 1.43) 岁。同期医院体检的健康儿童 100 例为健康对照组, 男 50 例, 女 50 例, 年龄 1~12 (6.30 ± 1.28) 岁。2 组男女比例、年龄、BMI、WBC 等比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与健康对照组比较, 研究组 ITP 患者的 PLT 水平显著下降 ($P < 0.01$), 见表 1。本研究经医院医学伦理委员会批准 (2022-0528), 全部受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①患儿符合《儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗规范 (2019 年版)》中 ITP 的诊断标准^[11]; ②首次发病; ③入组前未进行任何方式的治疗; ④具有完整临床病理资料。(2) 排除标准: ①既往有血栓病史或凝血功能障碍; ②合并严

重感染; ③继发性血小板减少性疾病; ④先天发育不全或畸形; ⑤既往有自身免疫性疾病、内分泌性疾病或其他血液系统疾病史; ⑥合并恶性肿瘤者; ⑦精神性疾病或认知功能障碍; ⑧存在心、肝、肾等重要器官功能性障碍者。

表 1 健康对照组与研究组临床资料比较
Tab. 1 Comparison of clinical data between the healthy control group and the research group

项 目	健康对照组 (<i>n</i> = 100)	研究组 (<i>n</i> = 95)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
男/女 (例)	50/50	55/40	1.222	0.269
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	6.30 ± 1.28	6.20 ± 1.43	0.515	0.607
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	14.23 ± 1.50	14.55 ± 1.64	1.423	0.156
WBC ($\bar{x} \pm s$, × 10 ⁹ /L)	8.89 ± 1.36	9.14 ± 1.22	1.349	0.179
PLT ($\bar{x} \pm s$, × 10 ⁹ /L)	196.84 ± 22.34	19.56 ± 3.10	76.639	<0.001

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 PTX3、SDC-1 检测: 患儿确诊后/健康对照组儿童于体检当日空腹抽取静脉血 2 ml, 离心留取上层血清, 用 EP 管分装, 保存在 -80℃ 下, 待检。采用 Elx800 型酶标仪 (购自美国 BIO-TEK 公司), 以 ELISA 法检测 PTX3 (试剂盒购自武汉优尔生物科技有限公司)、SDC-1 (试剂盒购自美国 R&D Systems 公司) 水平。

1.3.2 随访: ITP 患儿治疗后均通过电话或门诊接受 2 个月的规律随访, 依据《血液病诊断及治疗标准》进行疗效评估^[12]。显效: 患儿 PLT 恢复到正常值, 未出现出血现象, 2 个月内未复发。有效: 患儿 PLT 恢复至 50 × 10⁹/L 以上或升幅大于 30 × 10⁹/L, 出血现象消失, 2 个月内未复发。缓解: 患儿 PLT 升幅不足 30 × 10⁹/L, 出血现象减轻; 无效: 未达到显效、有效和缓解标准者。将治疗显效与有效的患儿定义为预后良好亚组 60 例, 将治疗缓解或无效的患儿定义为预后不良亚组 35 例。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计学软件进行

数据统计和分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;Pearson 相关分析血清 PTX3、SDC-1 水平的相关性;多因素 Logistic 回归分析 ITP 患儿预后的影响因素;使用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 PTX3、SDC-1 水平对 ITP 患儿的诊断价值和预后评估价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 PTX3、SDC-1 水平比较 与健康对照组比较,研究组 ITP 患者血清 PTX3、SDC-1 水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 2 健康对照组与研究组血清 PTX3、SDC-1 水平的比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab.2 Comparison of serum PTX3 and SDC-1 levels between the healthy control group and the study group

组 别	例数	PTX3	SDC-1
健康对照组	100	8.35 \pm 1.76	2.38 \pm 0.94
研究组	95	11.26 \pm 2.74	4.06 \pm 1.73
t 值		8.868	8.483
P 值		<0.001	<0.001

2.2 2 亚组血清 PTX3、SDC-1 水平的比较 与预后良好亚组比较,预后不良亚组 ITP 患者血清 PTX3、SDC-1 水平均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 3 预后良好亚组与预后不良亚组 ITP 患儿血清 PTX3、SDC-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab.3 Comparison of serum PTX3 and SDC-1 levels in ITP patients with good and poor prognosis subgroups

组 别	例数	PTX3	SDC-1
预后良好亚组	60	9.32 \pm 1.83	2.86 \pm 1.03
预后不良亚组	35	14.59 \pm 4.30	6.12 \pm 2.93
t 值		8.313	7.851
P 值		<0.001	<0.001

2.3 ITP 患儿血清 PTX3、SDC-1 水平的相关性 Pearson 相关分析显示,ITP 患儿血清 PTX3、SDC-1 水平呈正相关($r = 0.700, P < 0.001$)。

2.4 血清 PTX3、SDC-1 水平诊断 ITP 价值分析 绘制 PTX3、SDC-1 水平诊断 ITP 价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 PTX3、SDC-1 水平与二者联合诊断 ITP 的 AUC 分别为 0.801、0.849、0.861,二者联合优于 PTX3 单独诊断($Z = 2.708, P =$

0.007),与 SDC-1 单独诊断的 AUC 比较差异无统计学意义($Z = 0.922, P = 0.356$),见表 4、图 1。

表 4 血清 PTX3、SDC-1 水平对 ITP 诊断价值的分析

Tab.4 Analysis of the diagnostic value of serum PTX3 and SDC-1 levels for ITP

变 量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
PTX3	10.01 $\mu\text{g/L}$	0.801	0.738 ~ 0.855	0.726	0.830	0.556
SDC-1	3.59 $\mu\text{g/L}$	0.849	0.791 ~ 0.896	0.663	0.920	0.583
二者联合		0.861	0.805 ~ 0.907	0.644	0.960	0.604

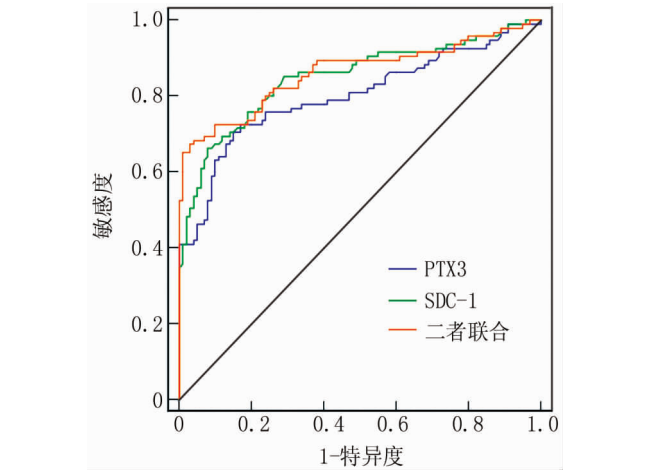


图 1 血清 PTX3、SDC-1 水平对 ITP 诊断价值的 ROC 曲线
Fig.1 ROC curve of PTX3 and SDC-1 levels for the diagnostic value of ITP

2.5 血清 PTX3、SDC-1 水平预测 ITP 预后的价值分析 绘制 PTX3、SDC-1 水平预测 ITP 预后的 ROC 曲线,并计算 AUC,结果显示:血清 PTX3、SDC-1 水平与二者联合预测 ITP 患儿预后的 AUC 分别为 0.790、0.907、0.918,二者联合优于 PTX3 单独预测($Z = 2.245, P = 0.025$),与 SDC-1 单独预测预后的 AUC 比较差异无统计学意义($Z = 0.579, P = 0.563$),见表 5、图 2。

表 5 血清 PTX3、SDC-1 水平预测 ITP 患儿预后价值分析

Tab.5 Analysis of the prognostic value of serum PTX3 and SDC-1 levels in predicting ITP in children

变 量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
PTX3	11.53 $\mu\text{g/L}$	0.790	0.695 ~ 0.867	0.743	0.833	0.576
SDC-1	4.94 $\mu\text{g/L}$	0.907	0.830 ~ 0.957	0.771	0.922	0.693
二者联合		0.918	0.843 ~ 0.964	0.900	0.800	0.700

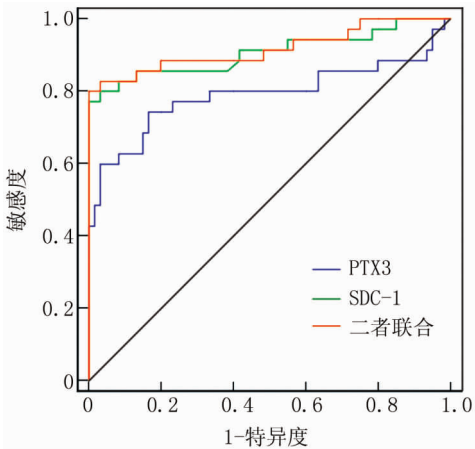


图 2 血清 PTX3、SDC-1 水平预测 ITP 患儿预后价值的 ROC 曲线

Fig. 2 ROC curve for predicting the prognostic value of PTX3 and SDC-1 levels in children with ITP

2.6 Logistic 回归模型分析血清 PTX3、SDC-1 水平对 ITP 患儿预后的影响 以 ITP 患者是否发生不良预后为因变量,以血清 PTX3、SDC-1 水平(实测值)为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,血清 PTX3、SDC-1 高水平是 ITP 患儿发生不良预后的危险因素($P < 0.01$),见表 6。

表 6 多因素 Logistic 回归分析血清 PTX3、SDC-1 水平对 ITP 患儿预后的影响

Tab. 6 Multivariate logistic regression analysis of the impact of serum PTX3 and SDC-1 levels on the prognosis of children with ITP

影响因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
PTX3 高	1.698	0.274	38.404	<0.001	5.463	3.193 ~ 9.347
SDC-1 高	2.602	0.129	406.742	<0.001	13.486	10.473 ~ 17.366

3 讨论

ITP 是儿童时期常见的出血性疾病,该疾病发病率高、治愈后复发率高,患儿临床主要出现皮肤紫癜、血小板减少、自发性出血的症状,部分患儿还可能合并腹痛、关节痛、肾脏损伤等并发症,严重威胁着患儿的身体健康和生命安全,给家庭和社会带来经济负担^[13-14]。ITP 的发病机制与原因较为复杂,目前尚未明确,较多研究者认为 ITP 是抗血小板抗体异常导致单核巨噬系统对血小板造成破坏和损伤,使血小板数量骤减,机体凝血功能障碍,出现自发性出血所致^[15]。临床针对 ITP 主要采用注射糖皮质激素、免疫抑制剂等进行对症治疗,提升患儿的血小板数量,这些治疗手

段可以缓解临床症状,但长期用药或突然停药可能会导致许多严重不良反应,影响治疗效果,预后不佳^[16]。因此,寻找能够准确、灵敏诊断和预测 ITP 患者预后的生物标志物对提高 ITP 诊断效率,降低患儿病死率、改善患儿预后具有重要意义。本研究发现,与健康对照组比较,研究组 ITP 患儿血清中 PLT 水平显著下降,说明 ITP 患儿的 PLT 数量降低,机体的凝血功能出现障碍,可能会导致自发性出血。

PTX3 属于进化中高度保守的正五聚蛋白家族,其由 8 个亚基、381 个氨基酸组成,有 1 个 N 端结构域和 1 个 C 端结构域^[17]。研究显示,PTX3 在免疫性、炎症性疾病中发挥着重要作用,能调节炎症反应、参与免疫过程、清除凋亡细胞等^[18]。周彬等^[7]研究发现与健康对照组比较,紫癜性肾炎患儿血清 PTX3 水平显著升高,且与肾功能损伤呈正相关,经吗替麦考酚酯和泼尼松联合治疗后,PTX3 水平得到一定改善。许汉斌等^[19]研究发现 PTX3 水平在小儿过敏性紫癜中异常升高,且与过敏性紫癜患儿发生紫癜性肾炎关系密切,对病情监测有重要的作用。本研究结果显示,与健康对照组比较,研究组 ITP 患儿血清 PTX3 水平显著升高,这与相关文献的发现一致;而与预后良好亚组比较,预后不良亚组 ITP 患儿血清 PTX3 水平显著升高。这说明 PTX3 可能参与 ITP 病情的发生发展,对 ITP 进展和不良预后具有促进作用,其水平升高能反映患 ITP 和预后不佳的可能性增加。

SDC-1 是在内皮细胞表达的一种主要核心蛋白,分子量为 85 kD,可以通过细胞外段硫酸乙酰肝素链与其他因子结合,参与细胞间的信号传导,在心血管疾病、血管损伤、肿瘤等疾病中发挥重要调节作用^[20]。刘文涛等^[21]研究发现川崎病合并冠状动脉病变患儿血清 SDC-1 水平升高,高水平的 SDC-1 可能加重川崎病冠状动脉病变的进程。贾鑫焱^[22]研究发现过敏性紫癜患者血清 SDC-1 水平显著升高,且 SDC-1 是过敏性紫癜的独立危险因素,其可能是早期诊断过敏性紫癜的生物标志物。在本研究中,与健康对照组比较,研究组 ITP 患儿血清 SDC-1 水平升高;与预后良好亚组比较,预后不良亚组 ITP 患儿血清 SDC-1 水平显著升高。这说明 SDC-1 与 ITP 的发展和预后密切相关,其水平升高可能促进病情发展和不良预后的发生。

Pearson 相关分析显示,ITP 患儿血清 PTX3 与 SDC-1 水平呈正相关,而 Logistic 回归分析结果显示血清 PTX3、SDC-1 高水平是 ITP 患儿发生不良预后的危险因素。这些结果提示 PTX3、SDC-1 可能通过正反馈

调节共同影响 ITP 的发生发展。本研究 ROC 曲线分析显示,血清 PTX3、SDC-1 及二者联合诊断 ITP 的 AUC 分别为 0.801、0.849、0.861,二者联合优于血清 PTX3 单独诊断,表明二者联合检测对 ITP 具有一定诊断价值;同样,二者联合优于血清 PTX3 单独预测 ITP 患儿不良预后,表明二者联合检测对预测 ITP 患儿预后具有一定价值。临床医生应密切关注患儿血清 PTX3、SDC-1 水平,及时进行治疗,改善患儿预后。

综上所述,ITP 患儿血清 PTX3、SDC-1 水平升高,可能是 ITP 诊断和预后评估的生物标志物,对于 ITP 的诊断和预后具有重要的临床意义。然而,本研究还存在不足之处,PTX3、SDC-1 在 ITP 其他方面的应用价值还尚未明确,还需进一步设计实验进行研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王文娟、李琛、宫经新:科研设计,文章撰写、修改;刘朝阳、朱翠敏:数据整理及统计学分析;刘娜娜,刘秀芬:文章审阅、修改

参考文献

- [1] 田雪皎,吕星星.特发性血小板减少性紫癜患儿预后影响因素分析[J].临床医学工程,2022,29(6):875-876. DOI:10.3969/j.issn.1674-4659.2022.06.0875.
- Tian XJ, Lyu XX. Analysis of prognostic factors in children with immune thrombocytopenic purpura [J]. Clinical Medical Engineering, 2022, 29 (6): 875-876. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4659. 2022. 06. 0875.
- [2] Harmon P, Cojocari E, Mader CL, et al. Nurses best practices for the management of thrombotic thrombocytopenic purpura [J]. Transfus Apher Sci, 2018, 57 (3): 437-444. DOI: 10. 1016/j. transci. 2018. 05. 001.
- [3] 段婷婷,王莉,潘蕊,等.临床护理路径在特发性血小板减少性紫癜中的应用价值[J].西南医科大学学报,2023,46(2):171-174. DOI:10.3969/j.issn.2096-3351.2023.02.017.
- Duan TT, Wang L, Pan R, et al. The application value of clinical nursing pathway in Immune thrombocytopenic purpura [J]. Journal of Southwest Medical University, 2023, 46 (2): 171-174. DOI: 10. 3969/j. issn. 2096-3351. 2023. 02. 017.
- [4] Wu Q, Cao F, Tao J, et al. Pentraxin 3: A promising therapeutic target for autoimmune diseases [J]. Autoimmun Rev, 2020, 19 (12): 102-133. DOI: 10. 1016/j. autrev. 2020. 102584.
- [5] Octavius GS, Muljono MP, Budiputri CL. Serum pentraxin-3 in diagnosing acute appendicitis in patients with acute abdominal pain: A systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy [J]. Surgery, 2023, 173 (5): 1122-1128. DOI: 10. 1016/j. surg. 2023. 01. 007.
- [6] Deng Z, Yang Z, Ma X, et al. Urinary metal and metalloid biomarker study of Henoch-Schonlein purpura nephritis using inductively coupled plasma orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry [J].

- Talanta, 2018, 178 (1): 728-735. DOI: 10. 1016/j. talanta. 2017. 10. 013.
- [7] 周彬,党小宁,傅忠国,等.紫癜性肾炎患儿血清 PTX3、IgA/C3 水平变化及与肾功能损伤的相关性 [J]. 武警医学, 2021, 32 (3): 193-196. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-3594. 2021. 03. 003.
- Zhou B, Dang XN, Fu ZG, et al. Changes in serum PTX3 and IgA/C3 levels in children with purpura nephritis and their correlation with renal function damage [J]. Armed Police Medical Journal, 2021, 32 (3): 193-196 DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-3594. 2021. 03. 003.
- [8] 刘鑫,杨达胜.正五聚蛋白 3 在儿童过敏性紫癜中的临床意义 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2018, 10 (6): 513-516. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3865. 2018. 06. 017.
- Liu X, Yang DS. The clinical significance of pentameric protein 3 in children with allergic purpura [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2018, 10 (6): 513-516. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3865. 2018. 06. 017.
- [9] Wernly B, Fuernau G, Masyuk M, et al. Syndecan-1 predicts outcome in patients with st-segment elevation infarction independent from infarct-related myocardial injury [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 183-190. DOI: 10. 1038/s41598-019-54937-x.
- [10] Suzuki K, Okada H, Sumi K, et al. Syndecan-1 as a severity biomarker for patients with trauma [J]. Front Med (Lausanne), 2022, 9 (1): 985-996. DOI: 10. 3389/fmed. 2022. 985955.
- [11] 国家卫生健康委.儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗规范(2019 年版) [J]. 全科医学临床与教育, 2019, 17 (12): 1059-1062. DOI: 10. 13558/j. cnki. issn1672-3686. 2019. 012. 002.
- National Health Commission. Diagnosis and treatment guidelines for primary immune thrombocytopenia in children (2019 Edition) [J]. Clinical and Education of General Practitioners, 2019, 17 (12): 1059-1062. DOI: 10. 13558/j. cnki. issn1672-3686. 2019. 02. 002.
- [12] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准 [M]. 北京:科学出版社, 2007:172-176.
- [13] 刘欣欣,焦艳冬,于丽娜.观察小儿特发性血小板减少性紫癜的针对性护理干预措施 [J]. 中外女性健康研究, 2022 (7): 160-161.
- Liu XX, Jiao YD, Yu LN. To observe the targeted nursing intervention measures for children with Immune thrombocytopenic purpura [J]. Chinese and Foreign Women's Health Research, 2022 (7): 160-161.
- [14] Onisai M, Vladareanu AM, Spinu A, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) - new era for an old disease [J]. Rom J Intern Med, 2019, 57 (4): 273-283. DOI: 10. 2478/rjim-2019-0014.
- [15] DeSouza S, Angelini D. Updated guidelines for immune thrombocytopenic purpura: Expanded management options [J]. Cleve Clin J Med, 2021, 88 (12): 664-668. DOI: 10. 3949/ccjm. 88a. 20201.
- [16] 李冬梅.综合护理干预在特发性血小板减少性紫癜中的应用效果 [J]. 中国实用医药, 2019, 14 (18): 178-180. DOI: 10. 14163/j. cnki. 11-5547/r. 2019. 18. 102.
- Li DM. Effect of comprehensive nursing intervention in Immune thrombocytopenic purpura [J]. Chinese Practical Medicine, 2019, 14 (18): 178-180. DOI: 10. 14163/j. cnki. 11-5547/r. 2019. 18. 102.
- [17] 彭婉君,赵彬彬,武婧,等.可溶性识别分子 PTX3 的研究进

- 展[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(1): 115-121. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2020. 01. 020.
- Peng WJ, Zhao BB, Wu J, et al. Research progress on soluble recognition molecule PTX3 [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2020, 30 (1): 115-121. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2020. 01. 020.
- [18] Trojnar E, Józsi M, Szabó Z, et al. Elevated systemic pentraxin-3 is associated with complement consumption in the acute phase of thrombotic microangiopathies [J]. Front Immunol, 2019, 10(1): 240-256. DOI: 10. 3389/fimmu. 2019. 00240.
- [19] 许汉斌, 陈少全, 许长胜, 等. FDP、PTX3 联合 TLR9 检测在小儿过敏性紫癜临床诊断、病情监测中的应用研究 [J]. 解放军医药杂志, 2021, 33 (12): 64-67. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-140X. 2021. 12. 015.
- Xu HB, Chen SQ, Xu CS, et al. The application of FDP, PTX3 combined with TLR9 detection in the clinical diagnosis and condition monitoring of pediatric allergic purpura [J]. Journal of Medicine of the People's Liberation Army, 2021, 33 (12): 64-67. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-140X. 2021. 12. 015.
- [20] Soliman NA, Yussif SM, Shebl AM. Syndecan-1 could be added to hormonal receptors and HER2/neu in routine assessment of invasive breast carcinoma, relation of its expression to prognosis and clinicopathological parameters [J]. Pathol Res Pract, 2019, 215 (5): 977-982. DOI: 10. 1016/j. prp. 2019. 02. 003.
- [21] 刘文涛, 陈艳新, 张立春, 等. 川崎病合并冠状动脉病变患儿血清 SDC-1、ANXA1 与炎症反应、凝血功能和内皮功能的关系及危险因素 [J]. 疑难病杂志, 2021, 20 (6): 545-549. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 06. 002.
- Liu WT, Chen YX, Zhang LC, et al. The relationship and risk factors of serum SDC-1 and ANXA1 with inflammatory response, coagulation function, and endothelial function in children with Kawasaki disease complicated with coronary artery disease [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20 (6): 545-549. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 06. 002.
- [22] 贾鑫淼. 血清 syndecan-1 在儿童过敏性紫癜早期诊断和分型预测中的价值 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- (收稿日期: 2023-06-14)
- (上接 1083 页)
- [18] 袁芬, 吴群群. 血清缺血修饰白蛋白在多囊卵巢综合征患者中的变化及临床意义 [J]. 中国医师进修杂志, 2020, 43 (4): 309-312. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115455-20191108-00900.
- Yuan F, Wu QQ. Changes in serum ischemia-modified albumin in patients with polycystic ovary syndrome and its clinical significance [J]. Chinese Journal of Continuing Medical Education, 2020, 43 (4): 309-312. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115455-20191108-00900.
- [19] Wang M, Yin C, Wang L, et al. Serum Asprosin concentrations are increased and associated with insulin resistance in children with obesity [J]. Ann Nutr Metab, 2019, 75 (4): 205-212. DOI: 10. 1159/000503808.
- [20] Wang CY, Lin TA, Liu KH, et al. Serum asprosin levels and bariatric surgery outcomes in obese adults [J]. Int J Obes (Lond), 2019, 43 (5): 1019-1025. DOI: 10. 1038/s41366-018-0248-1.
- [21] 欧英霞, 杨盼, 龙玲, 等. 多囊卵巢综合征患者血清 IMA, HIF1 α , Vaspins, IGF-1 水平与性激素、糖脂代谢及胰岛素抵抗的关系研究 [J]. 现代生物医学进展, 2021, 21 (14): 2773-2777. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2021. 14. 037.
- Ou YX, Yang P, Long L, et al. Relationship between serum IMA, HIF1 α , Vaspins, IGF-1 levels and sex hormones, glucose and lipid metabolism and insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome [J]. Advances in Modern Biomedicine, 2021, 21 (14): 2773-2777. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2021. 14. 037.
- [22] 桑敏, 周智. miR-206 的表达与多囊卵巢综合征患者内分泌代谢的相关性研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2022, 56 (5): 504-507. DOI: 10. 20010/j. issn. 1000-1905. 2022. 05. 0504.
- Sang M, Zhou Z. Correlation of miR-206 expression with endocrine metabolism in patients with polycystic ovary syndrome [J]. Journal of Harbin Medical University, 2022, 56 (5): 504-507. DOI: 10. 20010/j. issn. 1000-1905. 2022. 05. 0504.
- [23] 刘彩霞, 李利荣, 赵晓利. 疏肝解郁逐瘀汤联合枸橼酸氯米芬胶囊对肝郁气滞型多囊卵巢综合征不孕症患者卵巢微循环及 miR-26b, miR-206 表达的影响 [J]. 临床医学研究与实践, 2022, 7 (25): 114-116. DOI: 10. 19347/j. cnki. 2096-1413. 202225032.
- Liu CX, Li LR, Zhao XL. Effect of combining liver detoxification and blood stasis removal soup with clomiphene citrate capsule on ovarian microcirculation and miR-26b, miR-206 expression in infertility patients with liver depression and qi stagnation type polycystic ovary syndrome [J]. Clinical Medicine Research and Practice, 2022, 7 (25): 114-116. DOI: 10. 19347/j. cnki. 2096-1413. 202225032.
- [24] 李春竹, 邢川. 多囊卵巢综合征的遗传学研究进展 [J]. 疑难病杂志, 2021, 20 (1): 103-106. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 01. 023.
- Li CZ, Xing C. Research progress on genetics of polycystic ovary syndrome [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20 (1): 103-106. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 01. 023.
- [25] 刘瑶. Asprosin, CTRP3 在多囊卵巢综合征患者血清中的表达及其临床意义 [J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29 (1): 85-89. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2022. 01. 018.
- Liu Y. Expression of Asprosin, CTRP3 in the serum of patients with polycystic ovary syndrome and its clinical significance [J]. Marker Immunoassay and Clinical, 2022, 29 (1): 85-89. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2022. 01. 018.
- [26] 褚冉, 梁毓. 多囊卵巢综合征患者血清脂肪因子 Asprosin, apelin-13 表达及与胰岛素抵抗关系 [J]. 中国计划生育学杂志, 2022, 30 (4): 846-850. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8189. 2022. 04. 026.
- Chu R, Liang Y. Serum adipokines Asprosin, apelin-13 expression and relationship with insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome [J]. Chinese Journal of Family Planning, 2022, 30 (4): 846-850. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8189. 2022. 04. 026.
- (收稿日期: 2023-03-07)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.015

论著·基础

益母草碱调节 Akt/MDM2/p53 信号通路对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响

黄超, 方兴刚, 陈璐, 陈汉玉, 陈曾凤



基金项目: 2022 年度湖北省教育厅科学研究计划指导性项目(B2022131)

作者单位: 442000 湖北省十堰市太和医院/湖北医药学院附属医院中西医结合科

通信作者: 方兴刚, E-mail: 957336859@qq.com

【摘要】目的 观察益母草碱调节蛋白激酶 B(Akt)/双微体同源基因 2(MDM2)/p53 信号通路对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响。**方法** 2022 年 3—9 月于湖北省十堰市太和医院实验室进行实验。采用 CCK-8 法测定不同浓度(0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mmol/L)益母草碱处理的小鼠脑胶质瘤细胞 GL261 存活率并筛选出其最佳作用浓度。体外培养 GL261 细胞并随机分为对照组、益母草碱组、益母草碱 + SC79(Akt 激活剂)组,以益母草碱 1.6 mmol/L 和 5 μ mol/L 的 SC79 分组处理后,采用蛋白免疫印记法检测各组细胞 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达;采用 CCK-8 法、流式细胞术、细胞划痕实验和 Transwell 实验分别检测各组细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭情况。构建颅内胶质瘤小鼠模型 30 只并随机分为对照组、益母草碱低剂量组、益母草碱中剂量组、益母草碱高剂量组及益母草碱高剂量 + SC79 组,分组处理后以 TUNEL 染色检测各组小鼠颅内胶质瘤细胞凋亡情况;以免疫印记法检测各组胶质瘤组织 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达。**结果** (1)细胞实验:与对照组比较,益母草碱组细胞凋亡率、p53 蛋白表达显著升高($P < 0.05$),存活率、迁移率、侵袭数、p-Akt/Akt 与 p-MDM2/MDM2 降低($P < 0.05$);与益母草碱组比较,益母草碱 + SC79 组细胞凋亡率、p53 蛋白表达降低($P < 0.05$),存活率、迁移率、侵袭数、p-Akt/Akt 与 p-MDM2/MDM2 升高($P < 0.05$)。(2)动物实验:与对照组比较,益母草碱组胶质瘤组织细胞凋亡率、p53 蛋白表达升高($t/P = 20.076 / < 0.001$ 、 $7.486 / < 0.001$),p-Akt/Akt 与 p-MDM2/MDM2 降低($t/P = 11.769 / < 0.001$ 、 $7.579 / < 0.001$);与益母草碱组比较,益母草碱 + SC79 组胶质瘤组织细胞凋亡率、p53 蛋白表达降低($t/P = 18.328 / < 0.001$ 、 $7.359 / < 0.001$),p-Akt/Akt 与 p-MDM2/MDM2 升高($t/P = 9.640 / < 0.001$ 、 $5.529 / < 0.001$)。**结论** 益母草碱可通过抑制 Akt/MDM2/p53 信号而抑制脑胶质瘤细胞增殖、迁移、侵袭及在小鼠体内生长,并诱导其凋亡,最终抑制其恶性进展。

【关键词】 脑胶质瘤;益母草碱;Akt/MDM2/p53;恶性生物学行为;小鼠

【中图分类号】 R739.41 **【文献标识码】** A

The effect of Leonurine regulation on the Akt/MDM2/p53 signaling pathway on the malignant biological behavior of glioma cells Huang Chao, Fang Xinggang, Chen Lu, Chen Hanyu, Chen Zengfeng. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Taihe Hospital/Affiliated Hospital of Hubei University of Medicine, Hubei Province, Shiyan 442000, China

Corresponding author: Fang Xinggang, E-mail: 957336859@qq.com

Funding program: Guiding Project of Scientific Research Plan of Hubei Provincial Department of Education in 2022 (B2022131)

【Abstract】 Objective To observe the effect of Leonurine regulated protein kinase B(Akt)/bimicrosomal homologous gene 2(MDM2)/p53 signaling pathway on the malignant biological behavior of glioma cells. **Methods** The experiment was conducted in the laboratory of Taihe Hospital in Shiyan City, Hubei Province from March to September 2022. The CCK-8 method was used to determine the survival rate of mouse glioma cells GL261 treated with Leonurine at different concentrations (0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mmol/L) and screen for their optimal concentration of action. GL261 cells were cultured in vitro and randomly divided into control group, Leonurine group, and Leonurine + SC79 (Akt activator) group, with 1.6 mmol/L Leonurine and 5 μ mol/L SC79 after grouping, protein immunoblotting was used to detect the expression of Akt/MDM2/p53 pathway related proteins in each group of cells; CCK-8 method, flow cytometry, cell scratch assay, and Transwell assay

were used to detect the proliferation, apoptosis, migration, and invasion of cells in each group. 30 intracranial glioma mouse models were constructed and randomly divided into a control group, a low-dose group of Leonurine, a medium dose group of Leonurine, a high-dose group of Leonurine, and a high-dose + SC79 group of Leonurine. After grouping, the apoptosis of intracranial glioma cells in each group of mice was detected using TUNEL staining; Immunoblotting was used to detect the expression of Akt/MDM2/p53 pathway related proteins in glioma tissues of each group. **Results** (1) Cell experiment: Compared with the control group, the Leonurine group showed an increase in cell apoptosis rate and p53 protein expression ($P < 0.05$), while survival rate, migration rate, invasion number, p-Akt/Akt, and p-MDM2/MDM2 decreased ($P < 0.05$). Compared with the Leonurine group, the Leonurine + SC79 group showed a decrease in cell apoptosis rate and p53 protein expression ($P < 0.05$), while survival rate, migration rate, invasion number, p-Akt/Akt, and p-MDM2/MDM2 increased ($P < 0.05$). (2) Animal experiment: Compared with the control group, the Leonurine group showed an increase in cell apoptosis rate and p53 protein expression in glioma tissue ($t/P = 20.076 / < 0.001, 7.486 / < 0.001$), while p-Akt/Akt and p-MDM2/MDM2 decreased ($t/P = 11.769 / < 0.001, 7.579 / < 0.001$); Compared with the Leonurine group, the Leonurine + SC79 group showed a decrease in cell apoptosis rate and p53 protein expression in glioma tissue ($t/P = 18.328 / < 0.001, 7.359 / < 0.001$), while p-Akt/Akt and p-MDM2/MDM2 increased ($t/P = 9.640 / < 0.001, 5.529 / < 0.001$). **Conclusion** Leonurine can inhibit the proliferation, migration, invasion, and growth of glioma cells in mice by inhibiting Akt/MDM2/p53 signaling, and induce apoptosis, ultimately inhibiting their malignant progression.

[Key words] Glioma; Leonurine; Akt/MDM2/p53; Malignant biological behavior; Mice

脑胶质瘤是常见的颅内恶性肿瘤,约占全部颅内肿瘤的 50%,在儿童恶性肿瘤中排第二位,临床疗效差,积极开发改进其治疗技术有重要临床价值^[1-2]。蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/双微体同源基因 2 (mouse double minute 2, MDM2)/p53 通路与癌症的发生、恶性进展关系密切,使该信号失活可抑制肝癌、口腔鳞状细胞癌细胞的恶性进展^[3-4],还可抑制神经胶质瘤细胞的增殖、体内生长和运动,延缓神经胶质瘤的发生及恶性进展^[5-6];由此可知 Akt/MDM2/p53 是脑胶质瘤的重要治疗靶点。益母草碱是自中药益母草中分离出的一种抗肿瘤化合物,在前列腺癌、急性髓细胞白血病中均发挥抗癌活性,且抑制 Akt 信号激活是益母草碱发挥抗癌活性的机制之一^[7-8]。因而预测益母草碱可能通过调节 Akt/MDM2/p53 信号通路而介导脑胶质瘤细胞的恶性生物学行为。本研究通过体外培养小鼠脑胶质瘤细胞 GL261 并构建其颅内胶质瘤小鼠模型,对此预测进行验证分析,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 实验动物:雄性 C57BL/6 小鼠 (SPF 级, 7 ~ 8 周龄, 体质量 19 ~ 22 g) 购自武汉有度生物科技有限公司,生产许可证号 SCXK (鄂) 2015-0025, 动物饲养及实验操作符合《实验动物管理条例》;GL261 小鼠胶质瘤细胞购自上海雅吉生物科技有限公司。(2) 试药、试剂: SC79 (Akt 激活剂, 批号 20220806) 购自上海碧云天生物公司; 益母草碱 (批号 111823-201704) 购自安徽新星药物开发有限责任公司; 兔抗小鼠 p-Akt、Akt、p-MDM2、MDM2、p53、Ki67 及甘油醛-

3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 一抗、辣根过氧化物酶标记 (horseradish peroxidase, HRP) 驴抗兔二抗、膜联蛋白 V (Annexin V)-异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC)/碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 细胞凋亡检测试剂盒、结晶紫染色液、免疫组织化学试剂盒、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司; CCK-8 细胞活力检测试剂盒购自赫澎 (上海) 生物科技有限公司。(3) 仪器、设备: JMB-SA 全波长酶标仪购自上海精若科学仪器有限公司; FACS Calibur 全自动流式细胞仪购自上海佐明机械设备有限公司; PH-3DMC 倒置生物显微镜购自微特视界科技 (深圳) 有限公司; HS-4080 全自动冰冻切片机购自山东欧莱博医疗器械有限公司; PowerPac HV 电泳与转印设备电源、Trans-Blot® 小型蛋白转印槽、Mini-PROTEAN Tetra 小型蛋白垂直电泳槽购自美国伯乐公司。

1.2 细胞实验方法 2022 年 3—9 月于湖北省十堰市太和医院实验室进行实验。

1.2.1 筛选益母草碱对 GL261 细胞的最佳药物作用浓度: 解冻复苏购买的冻存小鼠脑胶质瘤细胞 GL261, 以 DMEM 培养基 (含 10% 胎牛血清 + 1% 双抗) 培养, 传代后接种在 96 孔板培养 (1×10^4 个/孔), 细胞进入对数生长期后分别以 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mmol/L 浓度益母草碱处理 24 h^[9], 以 0 mmol/L 益母草碱处理细胞做对照组, 同时以不接种细胞的培养孔做空白对照组, 每孔细胞加入 CCK-8 试剂 20 μ l 孵育 1.5 h 后, 按 CCK-8 细胞活力检测试剂盒说明书指导测定各组

细胞吸光度,按下式算出各组细胞存活率:存活率 = (益母草碱处理组吸光度 - 空白对照组吸光度) / (0 mmol/L 益母草碱处理组吸光度 - 空白对照组吸光度) × 100%。

1.2.2 分组处理细胞并采集标本:GL261 细胞传代后接种在 12 孔板 (2.5×10^5 个/孔),随机分为对照组、益母草碱组、益母草碱 + SC79 组,细胞进入对数生长期后分组进行处理:益母草碱组细胞以终浓度益母草碱 1.6 mmol/L 处理,益母草碱 + SC79 组细胞以终浓度 1.6 mmol/L 益母草碱和终浓度 5.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 SC79 联合处理^[10],对照组细胞不做处理,24 h 后收集各组细胞备用。

1.2.3 蛋白免疫印记法检测各组 GL261 细胞 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达情况:以 RIPA 裂解液分别提取 1.2.2 中收集的各组 GL261 细胞总蛋白,测出其浓度后沸水浴内加热变性,每组取出 25 μg 行电泳实验后电转,将其按分子量大小分离后移到硝酸纤维素膜上,封闭其非特异抗原后分别孵育兔抗小鼠 p-Akt (1:1 000)、Akt (1:1 000)、p-MDM2 (1:1 000)、MDM2 (1:1 000)、p53 (1:2 000)、GAPDH (1:2 000) 一抗,洗膜后孵育 HRP 标记驴抗兔二抗 (1:2 000) 进行抗原抗体反应,洗膜后以化学发光法显影,采集各组蛋白条带图像后以 Image J 软件定量其灰度值,按下式算出其相对表达:待测蛋白相对表达 = 待测蛋白灰度值 / 内参 GAPDH 蛋白灰度值。

1.2.4 CCK-8 法检测各组 GL261 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭情况:GL261 细胞传代接种在 96 孔板并按照 1.2.2 中方法分组处理 24 h,采用 CCK-8 法检测各组细胞存活率,具体方法见 1.2.1。

1.2.4.1 流式细胞术检测各组 GL261 细胞凋亡 GL261 细胞传代接种在 12 孔板并按照 1.2.2 中方法分组处理 24 h,收集各组细胞以磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤后计数,每组取 5×10^5 个细胞用 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒按其说明指导行 FITC 及 PI 双染,洗涤后置于流式细胞仪内检测各组细胞凋亡率。

1.2.4.2 细胞划痕实验检测各组 GL261 细胞迁移 GL261 细胞传代接种在 12 孔板并按照 1.2.2 中方法分组处理 24 h,收集各组细胞 PBS 洗涤、计数后每组取 5×10^6 个细胞接种在 24 孔板培养 10 h,于每孔中央划一条直线后除去划痕内细胞,以倒置生物显微镜拍照后以 Image J 软件定量各组细胞划痕面积 S0h,继续培养 24 h 后再次拍照后定量各组划痕面积 S24h,按下式计算各组细胞迁移率:迁移率 (%) = (S0h -

S24h) / S0h × 100%。

1.2.4.3 Transwell 实验检测各组 GL261 细胞侵袭:GL261 细胞传代接种在 12 孔板并按照 1.2.2 中方法分组处理 24 h,收集各组细胞 PBS 洗涤、以不含胎牛血清的 DMEM 培养基重悬计数后,每组取 5×10^6 个细胞接种在以基质胶包被的 24 孔 Transwell 板上并同时于下室中加入 DMEM 培养基 (含 10% 胎牛血清 + 1% 双抗),培养 24 h 后取下室细胞洗涤、固定、行结晶紫染色、洗涤,以倒置生物显微镜拍照后以 Image J 软件定量各组侵袭到下室的细胞数量,即为各组细胞侵袭数。

1.3 动物实验方法

1.3.1 构建颅内胶质瘤小鼠模型并筛选其益母草碱最佳作用剂量:参考文献[11]构建颅内胶质瘤小鼠模型,取对数生长期的 GL261 细胞,计数后制成密度为 $2 \times 10^5/\mu\text{l}$ 的单细胞悬液,以 4% 戊巴比妥钠 (0.01 ml/g) 腹腔注射麻醉小鼠后俯卧固定在脑立体定位仪上,头顶去毛备皮后分离暴露颅骨,定位矢状缝右 2 mm、前囟前 1 mm 处开骨窗,于小鼠右侧脑尾状核区接种上述细胞悬液 5 μl ,进针深至硬脑膜下 3 mm,缓慢注射后留针 3 min,然后缓慢拔针并缝合伤口,消毒后继续饲养,共造模 33 只,死亡 3 只,成功 30 只,随机数字表法分为对照组、益母草碱低剂量组、益母草碱中剂量组、益母草碱高剂量组、益母草碱高剂量 + SC79 组,每组 6 只,益母草碱低剂量组、益母草碱中剂量组、益母草碱高剂量组小鼠分别以 90、180、360 ng/g 益母草碱 (于造模后 1 d 开始处理,以生理盐水溶解制为 9、18、36 ng/ μl 的药液,灌胃 10 $\mu\text{l/g}$,1 次/d) 灌胃^[12-13];同时腹腔注射生理盐水 10 $\mu\text{l/g}$ (于造模后 2 周开始处理,1 次/d);益母草碱高剂量 + SC79 组小鼠以益母草碱 360 ng/g (于造模后 1 d 开始处理,以生理盐水溶解制为 36 ng/ μl 药液,灌胃 10 $\mu\text{l/g}$,1 次/d) 灌胃,同时腹腔注射 SC79 40 $\mu\text{g/g}$ (于造模后 2 周开始处理,以生理盐水溶解制为 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的药液,注射 10 $\mu\text{l/g}$,1 次/d)^[14],至造模后 3 周给药结束。

1.3.2 小鼠颅内胶质瘤细胞增殖:给药结束 24 h 后颈椎脱臼处死各组小鼠,剪下头颅并解剖取出大脑内胶质瘤组织,OCT 包埋后速冻成块,全自动冰冻切片机切片,复温后置于预冷丙酮内固定,以 3% 过氧化氢酶、兔源抗小鼠 Ki67 一抗依次孵育后,采用免疫组织化学试剂盒按其说明指导行免疫组化染色,封片后以倒置生物显微镜采集任意 6 个视野图片,采用 Image J 软件定量各组 Ki67 阳性细胞数和总细胞数后按下式计算其 Ki67 阳性率:Ki67 阳性率 = Ki67 阳性细胞数 /

总细胞数 × 100%。

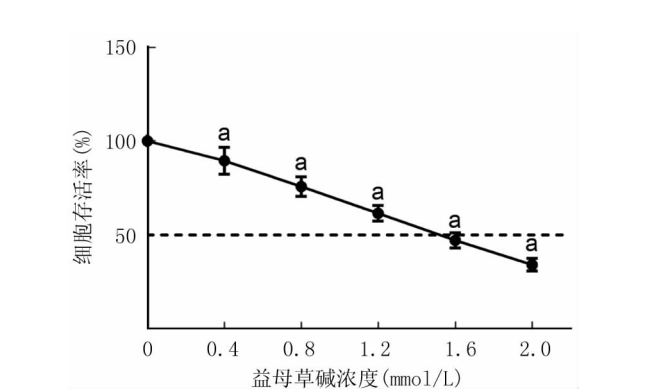
1.3.3 小鼠颅内胶质瘤细胞凋亡情况检测:按 1.3.1 中方法构建颅内胶质瘤小鼠模型 18 只,随机数字表法分为对照组、益母草碱组、益母草碱 + SC79 组,每组 6 只,以 360 ng/g 益母草碱和 40 μg/g 的 SC79 分组处理,具体给药方式见 1.3.3,给药结束 24 h 后颈椎脱臼处死各组小鼠,取脑内胶质瘤组织 0.4 g 置液氮内备用,剩余胶质瘤组织按 1.3.3 中方法做冰冻切片、复温、固定,用 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒按其说明指导行 TUNEL 染色,封片后以倒置生物显微镜采集任意 6 个视野图片,采用 Image J 软件定量各组凋亡细胞数和总细胞数后按下式计算其凋亡率:凋亡率 = 凋亡细胞数/总细胞数 × 100%。

1.3.4 检测各组小鼠颅内胶质瘤组织 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达:取出 1.3.1 中各组小鼠胶质瘤组织分别提取其中总蛋白,进行免疫印迹实验检测其中 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较行 LSD-*t* 检验;偏态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

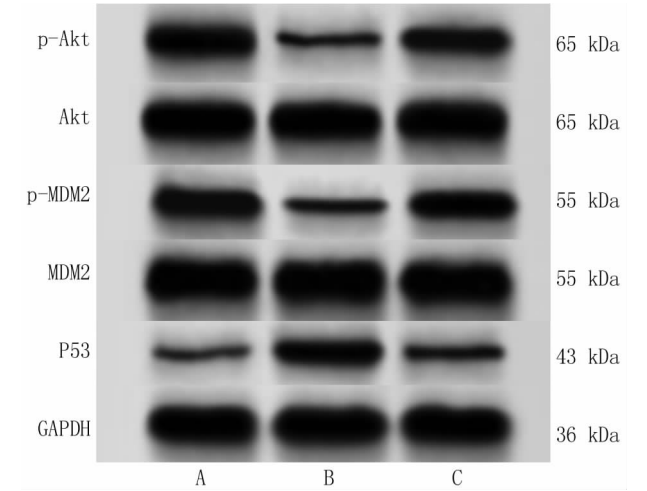
2.1 不同浓度益母草碱对 GL261 细胞增殖的影响比较 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mmol/L 的益母草碱均可抑制 GL261 细胞增殖,且抑制作用随益母草碱浓度的升高而增强(后续研究选择接近 IC50 值的 1.6 mmol/L 益母草碱),见图 1。



注:与 0 mmol/L 的益母草碱比较,^a $P < 0.05$ 。

图 1 不同浓度的益母草碱对 GL261 细胞存活率的影响
Fig. 1 Effect of different concentrations of Leonurus alkaloids on the survival rate of GL261 cells

2.2 益母草碱对 GL261 细胞 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白的影响比较 与对照组比较,益母草碱组细胞 p-Akt/Akt、p-MDM2/MDM2 降低 ($P < 0.05$), p53 蛋白表达升高 ($P < 0.05$);与益母草碱组比较,益母草碱 + SC79 组细胞 p-Akt/Akt、p-MDM2/MDM2 升高 ($P < 0.05$), p53 蛋白表达降低 ($P < 0.05$),见图 2、表 1。



注:A. 对照组;B. 益母草碱组;C. 益母草碱 + SC79 组。

图 2 蛋白免疫印迹检测各组 GL261 细胞 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达

Fig. 2 Protein immunoblotting detection of Akt/MDM2/p53 pathway related protein expression in GL261 cells in each group

表 1 各组 GL261 细胞 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白相对表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Relative expression of Akt/MDM2/p53 pathway related proteins in GL261 cells of each group

组 别	<i>n</i>	p-Akt/Akt	p-MDM2/MDM2	p53/GAPDH
对照组	6	0.78 ± 0.14	0.83 ± 0.15	0.19 ± 0.04
益母草碱组	6	0.24 ± 0.06 ^a	0.27 ± 0.03 ^a	0.67 ± 0.09 ^a
益母草碱 + SC79 组	6	0.72 ± 0.12 ^b	0.77 ± 0.16 ^b	0.22 ± 0.05 ^b
<i>F</i> 值		41.936	34.727	106.672
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与益母草碱组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 益母草碱对 GL261 细胞增殖、凋亡、迁移与侵袭的影响比较 与对照组比较,益母草碱组细胞存活率、迁移率与侵袭数降低 ($P < 0.05$),凋亡率升高 ($P < 0.05$);与益母草碱组比较,益母草碱 + SC79 组细胞存活率、迁移率与侵袭数升高 ($P < 0.05$),凋亡率降低 ($P < 0.05$),见图 3、图 4、图 5、表 2。

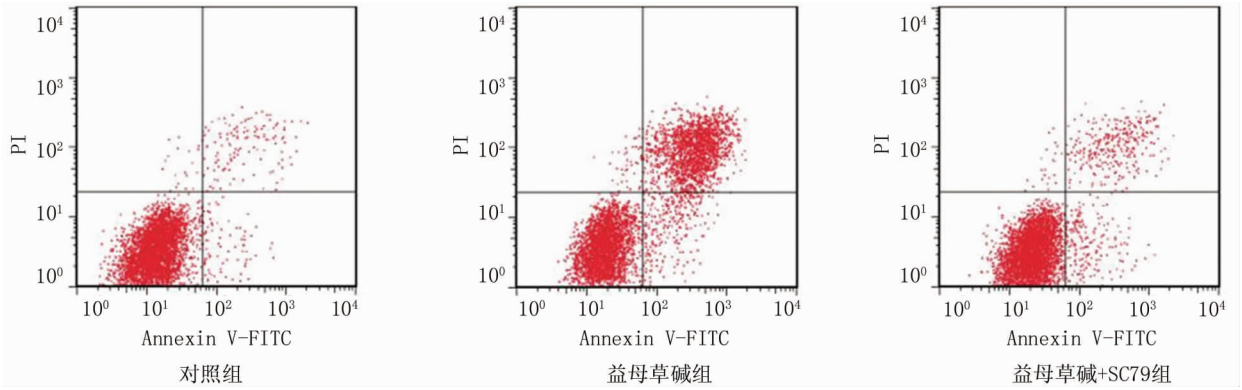


图 3 流式细胞术检测各组 GL261 细胞凋亡

Fig. 3 Flow cytometry detection of GL261 cell apoptosis in each group

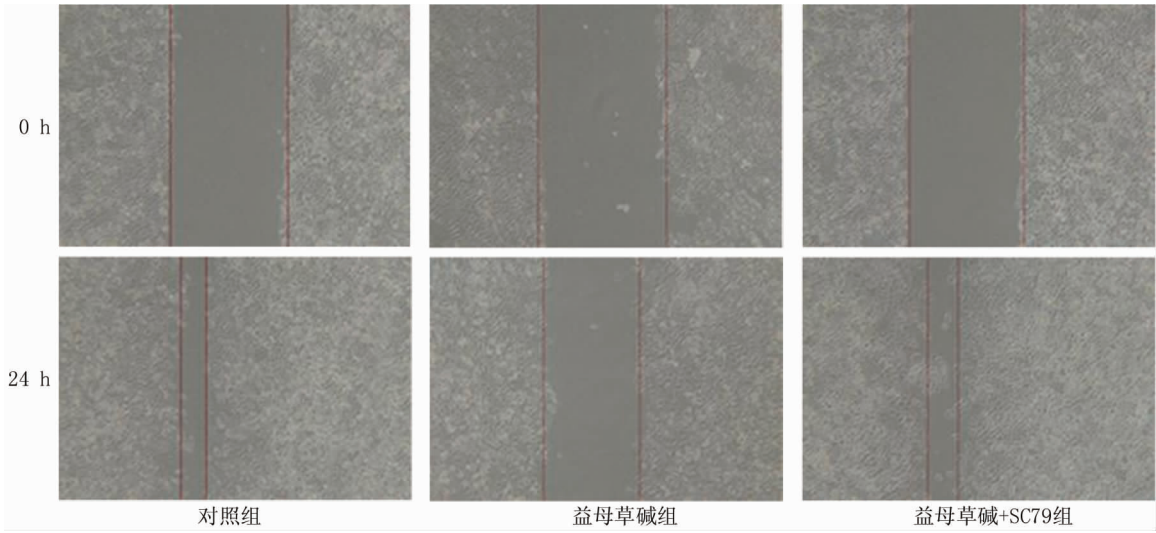


图 4 划痕实验检测各组 GL261 细胞迁移(×200)

Fig. 4 Scratch experiment detection of GL261 cell migration in each group(×200)

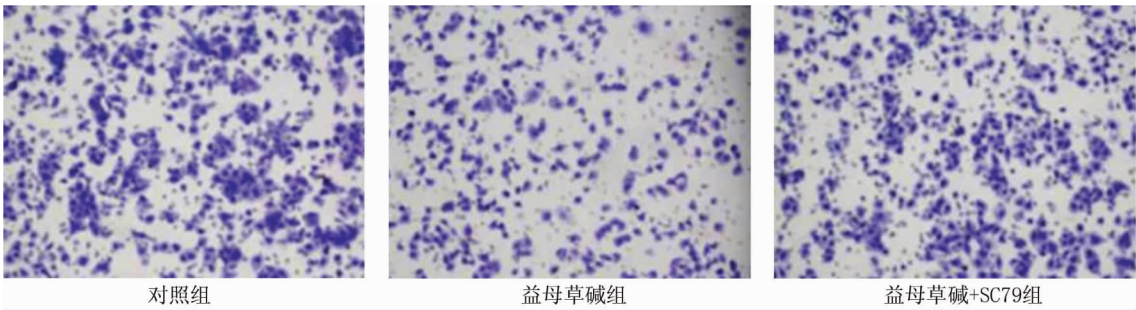


图 5 Transwell 实验检测各组 GL261 细胞侵袭(结晶紫染色, ×200)

Fig. 5 Transwell experiment detection of GL261 cell invasion in each group (crystal violet staining, ×200)

2.4 不同剂量益母草碱对小鼠颅内胶质瘤细胞增殖的影响比较 与对照组小鼠颅内胶质瘤 Ki67 阳性率 (65.42 ± 8.83) % 比较, 益母草碱低剂量组 (50.14 ± 4.41) %、益母草碱中剂量组 (34.89 ± 3.63) %、益母草碱高剂量组 (19.87 ± 2.04) % 均降低, 并呈剂量依赖性 ($F/P = 57.126 / < 0.001$); 与益母草碱组比较, 益

母草碱 + SC79 组 (59.26 ± 8.12)% 升高 ($t/P = 16.050/ <0.001$), 见图 6。

2.5 益母草碱对小鼠颅内胶质瘤细胞凋亡的影响比较 与对照组小鼠颅内胶质瘤组织细胞凋亡率(5.16 ± 0.87)% 比较, 益母草碱组(40.52 ± 7.13)% 显著升高 ($t/P = 20.076/ <0.001$); 与益母草碱组比较, 益母草碱 + SC79 组 (8.24 ± 2.06)% 显著降低 ($t/P = 18.328/ <0.001$), 见图 7。

2.6 益母草碱对小鼠颅内胶质瘤组织 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白的影响比较 与对照组比较, 益母草碱组胶质瘤组织 p-Akt/Akt、p-MDM2/MDM2 降低 ($P < 0.05$), p53 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与益母草碱组比较, 益母草碱 + SC79 组胶质瘤组织 p-Akt/Akt、

p-MDM2/MDM2 升高 ($P < 0.05$), p53 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 8、表 3。

表 3 各组小鼠颅内胶质瘤组织 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白相对表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of relative expression of Akt/MDM2/p53 pathway related proteins in intracranial glioma tissues of mice in each group

组 别	n	p-Akt/Akt	p-MDM2/MDM2	p53/GAPDH
对照组	6	0.59 ± 0.10	0.66 ± 0.14	0.33 ± 0.06
益母草碱组	6	0.10 ± 0.02 ^a	0.20 ± 0.05 ^a	0.74 ± 0.13 ^a
益母草碱 + SC79 组	6	0.54 ± 0.11 ^b	0.60 ± 0.17 ^b	0.36 ± 0.04 ^b
F 值		58.160	22.071	42.543
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

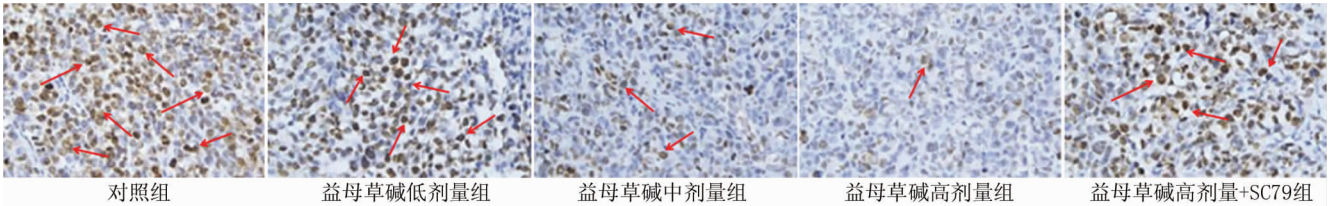
注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与益母草碱组比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 2 各组 GL261 细胞存活率、凋亡率、迁移率与侵袭数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Survival rate, apoptosis rate, migration rate, and invasion number of GL261 cells in each group

组 别	n	存活率(%)	凋亡率(%)	迁移率(%)	细胞侵袭数(个)
对照组	6	100.00 ± 0.00	1.21 ± 0.22	86.22 ± 14.35	264.65 ± 43.68
益母草碱组	6	48.02 ± 6.13 ^a	51.27 ± 8.16 ^a	23.31 ± 3.29 ^a	89.36 ± 15.32 ^a
益母草碱 + SC79 组	6	92.14 ± 15.68 ^b	3.47 ± 1.08 ^b	78.03 ± 16.63 ^b	237.48 ± 50.26 ^b
F 值		49.855	212.209	42.686	34.316
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

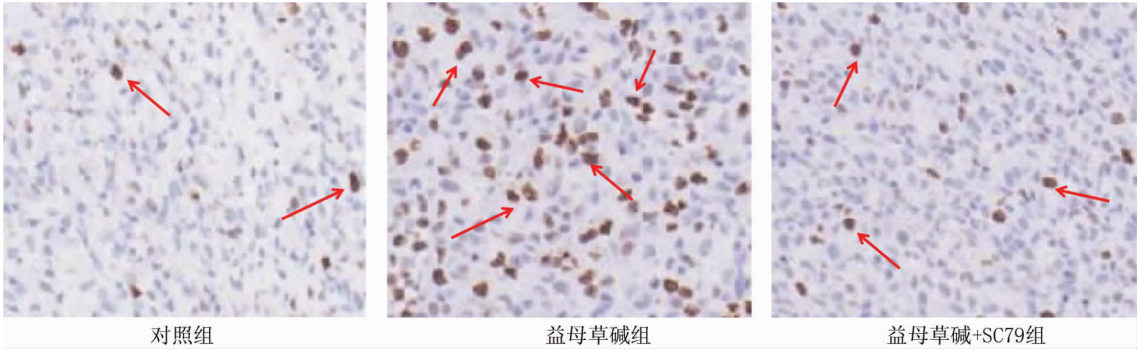
注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与益母草碱组比较, ^b $P < 0.05$ 。



注: 红色箭头表示 Ki67 阳性染色的细胞。

图 6 各组小鼠颅内胶质瘤 Ki67 表达比较(免疫组化染色, ×200)

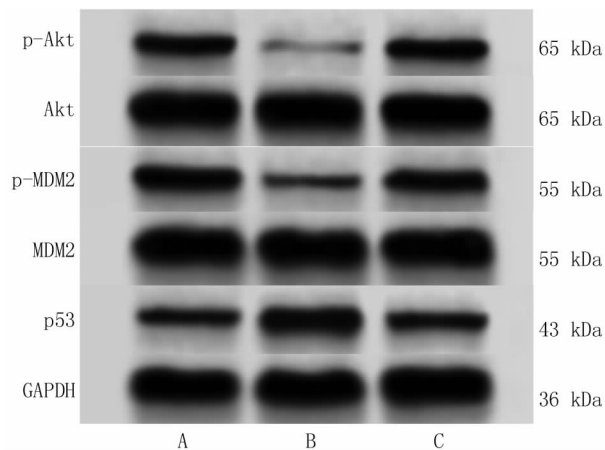
Fig. 6 Ki67 expression in intracranial gliomas of mice in each group (immunohistochemical staining, ×200)



注: 红色箭头表示 TUNEL 阳性染色的凋亡细胞。

图 7 各组小鼠颅内胶质瘤组织细胞凋亡率比较(TUNEL 染色, ×200)

Fig. 7 Apoptosis rate of intracranial glioma tissue cells in each group of mice (TUNEL staining, ×200)



注:A. 对照组;B. 益母草碱组;C. 益母草碱 + SC79 组。

图 8 蛋白免疫印迹检测各组小鼠颅内胶质瘤组织 Akt/MDM2/p53 通路相关蛋白表达比较

Fig. 8 Protein immunoblotting detection of Akt/MDM2/p53 pathway related protein expression in intracranial glioma tissues of mice in each group

3 讨论

胶质细胞瘤为浸润性生长,与正常脑组织界限不明显,手术治疗难以完全切除,临床中会辅助进行放疗、化疗,虽可延缓病情进展,但复发率高并伴随较大不良反应,因而仍需积极开发新型治疗策略^[15-16]。益母草是我国广泛应用的传统药物,具有较强的抗癌活性^[17]。益母草碱是益母草主要活性成分,研究显示,益母草碱可呈时间和剂量依赖性的方式抑制宫颈癌细胞生长、增殖,并可增强其对顺铂的敏感性^[9];在前列腺癌中,益母草碱可通过促使前列腺癌细胞周期阻滞和凋亡来减轻其恶性生物学行为^[7]。在本研究中,以 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mmol/L 益母草碱处理 GL261 细胞均可抑制其增殖,且抑制作用随益母草碱浓度的升高而增强,以 1.6 mmol/L 益母草碱处理 GL261 细胞可升高其凋亡率,并降低其存活率、迁移率、侵袭数,表明益母草碱可抑制脑胶质瘤细胞增殖、迁移、侵袭并促使其凋亡。体内实验显示,90、180、360 ng/g 的益母草碱可降低小鼠胶质瘤组织中 Ki67 阳性表达并呈剂量依赖性,以 360 ng/g 的益母草碱处理颅内胶质瘤模型小鼠可升高胶质瘤组织细胞凋亡率,证实益母草碱可抑制脑胶质瘤细胞在小鼠颅内增殖并诱导其凋亡,揭示益母草碱可减弱脑胶质瘤细胞在体内外增殖活性及促使其凋亡,并可抑制其体外迁移及侵袭,对脑胶质瘤发挥明显抗癌功效。

Akt/MDM2/p53 信号通路可通过调控氧化应激、细胞衰老、DNA 损伤等介导癌症的发生发展^[18]。Akt

磷酸化可促进转录因子 MDM2 的稳定和核易位,从而引发随后的泛素化和肿瘤抑制因子 p53 的降解^[19-20]。据报道,增强 Akt 和 MDM2 磷酸化可降低 p53 表达,驱动致癌物诱导的肺癌、乳头状瘤和肝细胞癌等恶性肿瘤发生^[21]。Zhao 等^[22]发现 Akt/MDM2/p53 参与介导杜鹃酮对肺癌的抗肿瘤过程,Akt 激活剂 SC79 可逆转杜鹃酮对肺癌细胞的抗增殖、促凋亡和促细胞周期阻滞效应。Wang 等^[6]研究证实抑制胶质瘤细胞中的 Akt/MDM2/p53 信号转导可降低胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力。此外,Zhuang 等^[8]发现益母草碱在抑制急性髓细胞白血病细胞增殖生长过程中可抑制 Akt 信号激活。本研究结果显示,以 1.6 mmol/L 益母草碱处理 GL261 细胞及其颅内胶质瘤模型小鼠可降低 p-Akt/Akt、p-MDM2/MDM2 并升高 p53 蛋白表达;因而推测益母草碱减轻脑胶质瘤细胞恶性生物学行为可能是通过促使 Akt/MDM2/p53 信号失活实现的。为了验证此推测,本研究以益母草碱和 Akt 激活剂 SC79 联合处理 GL261 细胞及其颅内胶质瘤模型小鼠,结果显示 SC79 可减弱益母草碱对脑胶质瘤细胞增殖、体内生长、迁移、侵袭的抑制作用,消除其对细胞凋亡的促进作用,最终逆转其对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的减轻作用,揭示益母草碱对脑胶质瘤细胞发挥抗癌功效是通过抑制 Akt/MDM2/p53 激活实现的。

综上所述,益母草碱可抑制脑胶质瘤细胞增殖、体内生长、迁移与侵袭,促使其在体内外凋亡,抑制 Akt/MDM2/p53 信号可能是其发挥抗肿瘤作用的机制。本研究证实了益母草碱可作为治疗脑胶质瘤的候选药物,并为其临床应用推广提供了科学依据,有利于开发更有效的脑胶质瘤治疗技术。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

黄超:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;方兴刚:提出研究思路,实施研究过程,分析试验数据,论文修改;陈璐:提出研究思路,分析试验数据,资料搜集整理,论文审核;陈汉玉、陈曾凤:统计学分析,论文修改,论文审核

参考文献

- [1] Li G, Li L, Li Y, et al. An MRI radiomics approach to predict survival and tumour-infiltrating macrophages in gliomas [J]. Brain, 2022, 145 (3): 1151-1161. DOI: 10. 1093/brain/awab340.
- [2] Sioutas G, Nikova A, Birbilis T. Risk factors for pediatric glioma [J]. Folia Med (Plovdiv), 2022, 64 (4): 566-571. DOI: 10. 3897/folmed. . e64431.
- [3] Qi J, Li J, Bie B, et al. miR-3,178 contributes to the therapeutic action of baicalein against hepatocellular carcinoma cells via modulating HDAC10 [J]. Phytother Res, 2023, 37 (1): 295-309. DOI: 10. 1002/ptr. 7613.

- [4] Mohanty S, Mohapatra P, Shriwas O, et al. CRISPR-based kinome-screening revealed MINK1 as a druggable player to rewire 5FU-resistance in OSCC through AKT/MDM2/p53 axis [J]. *Oncogene*, 2022, 41(45):4929-4940. DOI:10.1038/s41388-022-02475-8.
- [5] Acharya S, Chatterjee S, Chaudhuri S, et al. Akt phosphorylation orchestrates T11TS mediated cell cycle arrest in glioma cells [J]. *Cancer Invest*, 2021, 39(10):854-870. DOI:10.1080/07357907.2021.1986060.
- [6] Wang C, Tu H, Yang L, et al. FOXN3 inhibits cell proliferation and invasion via modulating the AKT/MDM2/p53 axis in human glioma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(17):21587-21598. DOI: 10.18632/aging.203499.
- [7] Liang B, Cui S, Zou S. Leonurine suppresses prostate cancer growth in vitro and in vivo by regulating miR-18a-5p/SLC40A1 axis [J]. *Chin J Physiol*, 2022, 65(6):319-327. DOI: 10.4103/0304-4920.365459.
- [8] Zhuang Q, Ruan L, Jin T, et al. Anti-leukaemia effects of leonurine in vitro and in vivo [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2021, 40(5):397-407. DOI:10.4149/gpb_2021018.
- [9] Lin M, Pan C, Xu W, et al. Leonurine promotes cisplatin sensitivity in human cervical cancer cells through increasing apoptosis and inhibiting drug-resistant proteins [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14:1885-1895. DOI:10.2147/DDDT.S252112.
- [10] Hu D, Meng RY, Nguyen TV, et al. Inhibition of colorectal cancer tumorigenesis by ursolic acid and doxorubicin is mediated by targeting the Akt signaling pathway and activating the Hippo signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2023, 27(1):11-28. DOI:10.3892/mmr.2022.12898.
- [11] 杨学智, 沈红, 李群, 等. 干扰肿瘤相关巨噬细胞的 P2X4 受体表达可抑制胶质瘤细胞的迁移和侵袭 [J]. *南方医科大学学报*, 2022, 42(5):658-664. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2022.05.05.
Yang XZ, Shen H, Li Q, et al. Interfering the expression of P2X4 receptor in tumor-associated macrophages can inhibit the migration and invasion of glioma cells [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2022, 42(5):658-664. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2022.05.05.
- [12] 刘丹, 李志斌, 钟世寿, 等. 益母草冲剂对Ⅲ-Ⅳ期宫颈癌放疗患者近期疗效及毒副反应的影响 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(8):1256-1259. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2018.08.027.
Liu D, Li ZB, Zhong SS, et al. Effect of Leonurus infusion on short-term curative effect and toxicity of patients with Stage Ⅲ-Ⅳ Cervical cancer radiotherapy [J]. *Modern Oncology Medicine*, 2018, 26(8):1256-1259. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2018.08.027.
- [13] 朱子聪, 边雨, 高陆, 等. 益母草颗粒 HPLC 指纹图谱及 4 个指标成分含量研究 [J]. *中国药房*, 2022, 33(5):586-591. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.05.13.
Zhu ZC, Bian Y, Gao L, et al. HPLC fingerprint and contents of 4 index components of Leonurus granules [J]. *Chinese Pharmacy*, 2022, 33(5):586-591. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.05.13.
- [14] Ni RJ, Gao TH, Wang YY, et al. Chronic lithium treatment ameliorates ketamine-induced mania-like behavior via the PI3K-AKT signaling pathway [J]. *Zool Res*, 2022, 43(6):989-1004. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2022.278.
- [15] Miller JJ. Targeting IDH-Mutant Glioma [J]. *Neurotherapeutics*, 2022, 19(6):1724-1732. DOI:10.1007/s13311-022-01238-3.
- [16] 段升强, 乔建新, 徐新文, 等. 脑胶质瘤组织中 miR-4744、RIOK2 表达及其对患者预后的预测价值 [J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(6):613-619. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.010.
Duan SQ, Qiao JX, Xu XW, et al. Expression of miR-4744 and RIOK2 in brain glioma and their prognostic value in patients with glioma [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2023, 22(6):613-619. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.010.
- [17] Lee J, Kim C, Lee H, et al. Inhibitory effects of standardized leonurus japonicus extract and its bioactive leonurine on TNF- α -induced muscle atrophy in L6 myotubes [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(12):1896-1904. DOI:10.4014/jmb.2005.05023.
- [18] 于雅勤, 沈加熙, 张虹. 梔子苷对结直肠癌细胞增殖和凋亡及 Akt/MDM2/p53 通路的影响 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2022, 32(1):5-10. DOI:10.1360/zc1998-28-4-366.
Yu YQ, Shen JX, Zhang H. Effects of gardenoside on proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells and Akt/MDM2/p53 pathway [J]. *Zhejiang Journal of Integrated Chinese and Western Medicine*, 2022, 32(1):5-10. DOI: 10.1360/zc1998-28-4-366.
- [19] 艾孜提艾力·艾海提, 艾克拜尔·买买提, 木合布力·阿布力孜. 一种新型 α -甲基查尔酮的制备、抗宫颈瘤活性及对 Akt-MDM2-p53 信号通路的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(7):1399-1400. DOI:10.1360/zc2002-32-3-256.
Aizitai A, Eikbel M, Muhebli A. Preparation of a novel α -methylchalcone, its anti-cervical cancer activity and its effect on Akt-MDM2-p53 signaling pathway [J]. *Chinese Pharmacology Bulletin*, 2023, 39(7):1399-1400. DOI: 10.1360/zc2002-32-3-256.
- [20] 苏瑞, 李循, 王书恒, 等. Hes1 调控 AKT-MDM2-p53-PTEN 通路的一种物理机制 [J]. *原子与分子物理学报*, 2024, 41(5):131-140. DOI:10.19855/j.1000-0364.2024.056002.
Su R, Li X, Wang SH, et al. A physical mechanism of Hes1 regulating AKT-MDM2-p53-PTEN pathway [J]. *Chinese Journal of Atomic and Molecular Physics*, 2024, 41(5):131-140. DOI: 10.19855/j.1000-0364.2024.056002.
- [21] Chibaya L, Karim B, Zhang H, et al. Mdm2 phosphorylation by Akt regulates the p53 response to oxidative stress to promote cell proliferation and tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(4):e2003193118. DOI:10.1073/pnas.2003193118.
- [22] Zhao Y, Cai J, Shi K, et al. Germacrone induces lung cancer cell apoptosis and cell cycle arrest via the Akt/MDM2/p53 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6):452-460. DOI: 10.3892/mmr.2021.12091.

(收稿日期:2023-05-05)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 016

罕见病例

中枢神经系统瘤样脱髓鞘病变 1 例并文献复习

常树艺,葛亚楠,张惠,蒋欣,吕佩源,董艳红



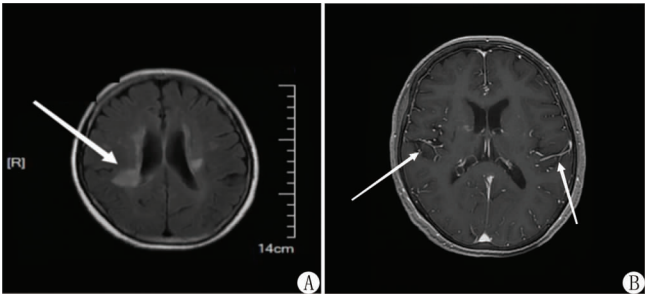
基金项目: 河北省自然科学基金 (H2020307042)
作者单位: 050051 石家庄,河北省人民医院神经内三科/河北省脑网络与认知障碍疾病重点实验室(常树艺、葛亚楠、张惠、蒋欣、吕佩源、董艳红); 063000 唐山,华北理工大学研究生院(常树艺); 075000 张家口,河北北方学院研究生院(葛亚楠、张惠)
通信作者: 董艳红, E-mail: d_yanhongniu@163.com

【摘要】 报道 1 例中枢神经系统瘤样脱髓鞘病变患者临床资料,并进行文献复习。
【关键词】 中枢神经系统炎性脱髓鞘疾病; 诊断; 治疗
【中图分类号】 R744.5 【文献标识码】 B

A case of central nervous system tumor like demyelinating lesion and literature review Chang Shuyi*, Ge Yanan, Zhang Hui, Jiang Xin, Lyu Peiyuan, Dong Yanhong. * Department of Neurology III, Hebei Provincial People's Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050051, China
Funding program: Natural Science Foundation of Hebei Province (H2020307042); Key Laboratory of Brain Network and Cognitive Disorders in Hebei Province
Corresponding author: Dong Yanhong, E-mail: d_yanhongniu@163.com

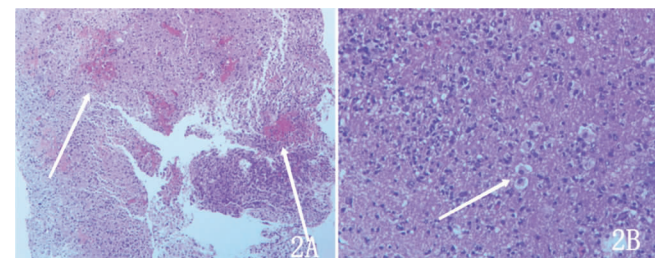
【Abstract】 Report the clinical data of a patient with central nervous system tumor like demyelinating lesion and review the literature.
【Key words】 Inflammatory demyelinating disease of the central nervous system; Diagnosis; Treatment

患者,女,69 岁,主因“双下肢无力 1 个月余”于 2022 年 9 月 6 日入院。既往有动脉粥样硬化型脑梗死病史 20 余年,未遗留后遗症。7 月 15 日于外院查头颅 MR (图 1A) 提示双侧脑室旁白质区脱髓鞘改变,双额顶叶异常信号;头颅 DWI + MRA 提示右基底节区、双脑室旁、右顶叶小圆形 DWI 高信号,双额顶交界区、右顶叶环形 DWI 高信号。入院后查体:左下肢 5 级,右下肢肌力 5 级,余神经系统查体未见明显异常。头颅 SPGR 序列 + 脑膜 CUBE 序列增强扫描 (图 1B): 双额叶脑表面线样强化信号。右侧颅内病变活检示 (图 2): 少许白质结构,偶见个别神经元,部分白质崩解,髓鞘脱失 (MBP -),胶质细胞增生 (GFAP +, Olig-2 +),较多顿挫性核分裂,大量泡沫细胞浸润 (CD68 +),血管周围淋巴套袖形成,并见少量中性粒细胞浸润,结合免疫组化染色,符合炎性脱髓鞘。免疫组化染色: GFAP (+), Vimentin (+), CD34 (血管 +), CD68 (+)。特殊染色: PAS (-), PASM (-)。腰椎穿刺: 压力 170 mmH₂O。脑脊液常规、生化、细胞学、抗酸墨汁染色未见明显异常。血清及脑脊液自身抗体及副肿瘤综合征自身抗体检测均阴性。依据颅内病理检查结果可确诊为中枢神经系统瘤样脱髓鞘病变。住院期间以小剂量激素治疗,2022 年 9 月 15 日出院时右下肢无力较前好转,双下肢肌力均为 5 级。患者出院后一直应用甲泼尼龙 4 mg/d,于 2023 年 3 月 6 日行头颅 MR 复查,提示双额叶炎性脱髓鞘范围较前缩小,且未出现其他新发症状。



注: A. 头颅 MR T2W2 FLAIR 序列可见侧脑室旁斑片状高信号影, 边界清晰; B. 增强 MR 可见双侧额叶线状强化。
图 1 患者头部 MR 影像学表现

讨论 中枢神经系统瘤样脱髓鞘病变 (tumefactive demyelinating lesions, TDLs) 是一种由相关免疫介导的特殊类型的特发性炎性脱髓鞘疾病。TDLs 发病机制复杂, 首发症状多样, 可表现为头痛、眼痛、认知功能减退, 常被误诊为中枢神经系统肿瘤^[1]。Jain 等^[2] 对 TDLs 患者进行了脑脊液寡克隆带 (oligoclonal band, OB) 测定, TDLs 患者存在 OB 升高的比率明显高于多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 患者, 因此推测 TDLs 可能是一种相对独立的疾病。目前国内关于 TDLs 的发病率统计尚无确切数据, 其发病率约为 MS 的 0.1% ~ 0.3%, 年发病率为 0.3/10 万, 急性或亚急性起病, 发病平均年龄为 35 岁, 以中青



注:A.胶质细胞增生,顿挫性核分裂(HE染色,×100);B.淋巴套袖形成(HE染色,×400)。

图2 患者颅内病变活检病理表现

年为主,儿童发病罕见,但也有研究认为 TDLs 在任何年龄段均有出现。由于其诊断较为复杂,易与其他疾病混淆,导致 TDLs 的诊断率较低^[3]。

目前临床对 TDLs 仍以影像学、脑脊液及血清抗体检测为主要诊断依据。影像学检查可见患者头颅 MR 中,T1W1、T2W2 及 FLAIR 序列病灶均为长信号影,DWI 中可见侧脑室旁高信号影,呈现出斑片状、环形、开环征,与中枢神经淋巴瘤患者相比,TDLs 患者的 DWI 显示病变密度更高且随时间变化不明显^[4]。这些特殊的影像学表现均对 TDLs 诊断具有一定提示作用。增强 MR 还可以提示疾病演变的时期,在急性期 MR 强化多呈现斑片状或结节样,随病情的进展逐渐转化为开环样、花环样或火焰状,并且显影逐渐变淡,在本病例中可见到明显的斑片样、结节样及环样强化,但未见到开口朝向灰质的特征性开环样强化,这可能与患者正处于急性期相关^[5]。

脑组织活检是公认的 TDLs 诊断金标准,但由于其结果易受到激素及取材位置的影响,临床应用并不常见。在 HE 染色中可观察到部分区域组织疏松,髓鞘丢失、炎性细胞浸润及 T 细胞浸润,病灶中心及血管周围存在泡沫样吞噬细胞浸润,轴索相对保留,并形成淋巴套袖^[6]。在本例患者中可看到血管周围淋巴套袖形成和炎性细胞浸润的表现。免疫组化可见不同程度星形胶质细胞增生,CD3、CD8、CD68 阳性。部分可见 Creutzfeldt-Peters 细胞,此细胞是 TDLs 的特征性表现,因其表现巨型薄壁的星形胶质细胞,与分裂中的星形胶质细胞类似,常被误诊为胶质瘤细胞^[7]。

TDLs 对糖皮质激素治疗敏感,目前作为急性期的一线用药,可缓解患者的大部分临床症状,缩小颅内病灶大小。若大剂量的激素无法缓解病情,可酌情使用血浆置换。对于儿童患者,静脉注射免疫球蛋白也有一定的效果,但此种治疗方法是否对成人有效,尚无明确定论^[8]。对于难治型或病情危重患者,可联合使用免疫抑制剂,如利妥昔单抗,在 2 周左右亦可使患者病情达到稳定状态。对于复发型的 TDLs 患者,可行疾病修正治疗(disease modifying therapy, DMT)。Sánchez 等^[9]报道了 5 例使用芬戈莫德治疗 MS 的患者,在其停药后均出现了病情恶化及合并 TDLs,这可能与 T 淋巴细胞中 S1P1 受体过表达而引起的超免疫反应相关,而在停用芬戈莫德等药物前使用小剂量糖皮质激素作为衔接,可有效降低病情恶化的风险。

TDLs 一般预后良好,病死率较低,多数患者发展为 MS。

Sánchez 等^[10]研究表明经病理诊断为 TDLs 的患者中,约有 50% 最终确诊为 MS,平均转换时间为 8 个月。但有研究表明,TDLs 合并 MS 的患者,相比于单纯 MS 患者而言,预后较好,出现临床症状恶化的几率较低,这可能与 TDLs 具有一定炎症反应的特点,从而使患者对激素药物的反应效果更佳相关^[11]。

TDLs 的临床表现不具有明显特异性,易与其他疾病相混淆。因此在临床表现不典型时,应尽早行影像学检查及病理活检,以免误诊漏诊,延误患者病情。

参考文献

- [1] Miyaue N, Yamanishi Y, Tada S, et al. A case of ADEM-like presentation with anti-MOG antibody following tumefactive demyelinating lesion[J]. Multiple Sclerosis and Related Disorders, 2019, 31: 62-64. DOI:10.1016/j.msard.2019.03.018.
- [2] Jain RS, Khan I, Kandelwal K, et al. Tumefactive demyelinating lesions (TDLs): A case series of clinicoradiological features[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2017, 162: 91-94. DOI: 10.1016/j.clineuro.2017.09.013.
- [3] Algahtani H, Shirah B, Alassiri A. Tumefactive demyelinating lesions: A comprehensive review[J]. Mult Scler Relat Disord, 2017, 14: 72-79. DOI:10.1016/j.msard.2017.04.003.
- [4] Sun C, Han J, Lin Y, et al. Neuroimaging and clinicopathological differences between tumefactive demyelinating lesions and sentinel lesions of primary central nervous system lymphoma[J]. Front Immunol, 2022, 13: 986473. DOI:10.3389/fimmu.2022.986473.
- [5] Preziosa P, Martinelli V, Moiola L, et al. Dynamic pattern of clinical and MRI findings in a tumefactive demyelinating lesion: A case report[J]. Journal of The Neurological Sciences, 2016, 361: 184-186. DOI:10.1016/j.jns.2015.12.039.
- [6] Tremblay MA, Villanueva-Meyer JE, Cha S, et al. Clinical and imaging correlation in patients with pathologically confirmed tumefactive demyelinating lesions[J]. Neurol Sci, 2017, 381: 83-87. DOI: 10.1016/j.jns.2017.08.015.
- [7] Vakrakou AG, Brinia ME, Svolaki I, et al. Immunopathology of tumefactive demyelinating lesions-From idiopathic to drug-related cases[J]. Front Neurol, 2022, 13: 868525. DOI:10.3389/fneur.2022.868525.
- [8] Ferrara G, Petrillo MG, Giani T, et al. Clinical use and molecular action of corticosteroids in the pediatric age[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2): 444. DOI:10.3390/ijms20020444.
- [9] Sánchez P, Meca-Lallana V, Vivancos J. Tumefactive multiple sclerosis lesions associated with fingolimod treatment: Report of 5 cases[J]. Multiple Sclerosis and Related Disorders, 2018, 25: 95-98. DOI: 10.1016/j.msard.2018.07.001.
- [10] Sánchez P, Meca-Lallana V, Barbosa A, et al. Tumefactive demyelinating lesions of 15 patients: Clinico-radiological features, management and review of the literature[J]. Neurol Sci, 2017, 381: 32-38. DOI:10.1016/j.jns.2017.08.005.
- [11] Brod SA, Lindsey JW, Nelson F. Tumefactive demyelination: Clinical outcomes, lesion evolution and treatments[J]. Mult Scler J Exp Transl Clin, 2019, 5(2): 2055217319855755. DOI:10.1177/2055217319855755.

(收稿日期:2023-03-09)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 017

罕见病病例

新生儿腹膜后寄生胎 1 例并文献复习

杜青, 金祝, 郑泽兵, 汤成艳, 黄露, 刘远梅

作者单位: 563000 遵义医科大学附属医院儿童医院/贵州省儿童医院小儿外科

通信作者: 刘远梅, E-mail: yuanmei116@aliyun. com



【摘要】 报道 1 例新生儿腹膜后寄生胎患者的临床资料, 并进行文献复习。

【关键词】 寄生胎, 新生儿腹膜后; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R726

【文献标识码】 B

A case of neonatal retroperitoneal parasitic fetus and literature review Du Qing, Jin Zhu, Zheng Zebing, Tang Chengyan, Huang Lu, Liu Yuanmei. Department of Pediatric Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University; Guizhou Children's Hospital, Guizhou Province, Zunyi 563000, China

Corresponding author: Liu Yuanmei, E-mail: yuanmei116@aliyun. com

【Abstract】 Report the clinical data of a case of neonatal retroperitoneal parasitic fetus and review the literature.

【Key words】 Fetus-in-fetu, neonatal retroperitoneal; Diagnosis; Treatment

患儿, 男, 25 d, 因发现腹腔占位于 2022 年 1 月 18 日入院。既往患儿祖母有双胞胎妊娠史。患儿母亲孕 6 个月彩色超声定期产检, 发现胎儿腹腔有一占位性病变, 产检考虑先天性腹膜后囊性病变或畸胎瘤可能, 于围产医学科及小儿外科门诊就诊, 建议定期规律产检至预产期内, 再次彩色超声提示: 患儿腹内占位未明显进行性增大, 寄生胎或畸胎瘤等可能。产妇于妊娠 38⁺2 周顺产, 患儿生后无窒息, 皮肤色红, Apgar 评分 9 分, 正常哺乳无腹胀、呕吐, 大小便正常。入院查体: T 36.8℃, HR 138 次/min, R 26 次/min。反应尚可, 神清, 无消瘦, 腹部稍膨隆, 腹软, 于上腹部深压触诊扪及 9.0 cm × 7.0 cm × 6.0 cm 大小包块, 实性感, 较固定, 无压痛及肌紧张, 肝脾未触及, 肠鸣音 5 次/min。腹部 CT (图 1): 上中腹部腹膜后见椭圆形混杂密度团块, 大小 9.6 cm × 8.5 cm × 6.3 cm, 内见骨质、软组织、脂肪、水样密度影, 骨性结构构成脊柱、四肢形态; 增强扫描部分实性成分似轻度强化, 病变位于双肾、腹主动脉及下腔静脉前方, 紧贴肝脏、胃、脾脏, 门静脉、肠系膜上静脉紧贴肿块右缘走行, 上中腹部腹膜后占位性病变, 系寄生胎。肿瘤标志物: AFP 3 000.0 μg/L。排除相关禁忌证, 取上腹部横切口行剖腹探查术, 术中见 (图 2~3): 肿块来源于腹膜后, 包膜完整, 囊实性, 大小 12.0 cm × 10.0 cm × 9.0 cm, 压迫肠系膜动静脉, 与腹膜后组织粘连致密, 滋养血管来源于肠系膜上动脉; 于横结肠下方切开横结肠系膜, 暴露腹膜后肿块边缘, 结扎肿块滋养血管, 沿肿块包膜钝性分离, 完整切除肿块, 手术完毕后剖开肿块见羊膜包裹一成形胎儿, 脐带可见, 约 3 个月胎龄大小, 四肢、脊柱均可见。术后病理 (图 4): 送检肿块内可见皮肤、胰腺、肠管、软骨等结缔组织, 符合寄生胎。术后随访至今, 查 AFP 7.20 μg/L, 患儿未见复发, 生长发育正常。



图 1 CT 示腹膜后混杂密度团块, 见脊柱、四肢形态

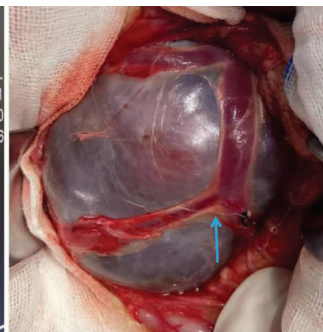


图 2 术中示肿块包膜完整, 囊实性, 滋养血管包绕

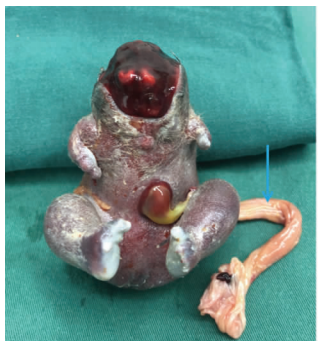


图 3 囊膜切开见一成形胎儿, 脐带可见, 约 3 个月胎龄大小, 四肢、脊柱均可见

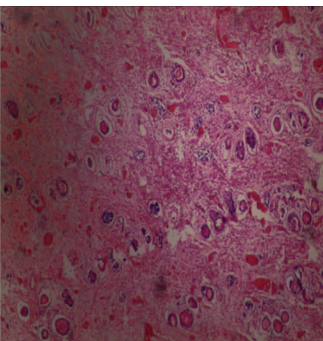


图 4 肿块镜检见结缔组织成份 (HE 染色, ×100)

讨论 寄生胎 (fetus-in-fetu, FIF) 又称胎中胎, 是一种胚胎发育异常形成的罕见先天性疾病, 发病率约为 1/50 万^[1], 根据其寄生覆着部位分为内寄生胎和外寄生胎。内寄生胎胎外包裹有一层纤维囊壁膜, 囊内有液体、发育缺如或发育停滞的

胎块,且寄生胎有一支血管蒂与宿主血管相连接;而外寄生胎则是覆着于胎儿体表,男女发病率无明显差异^[2-3]。FIF 寄生部位通常以腹膜后和腹腔最多见^[1,4],也有发生在骶尾部、胸部、阴囊、口腔等部位的报道^[5-7]。本例其母亲孕期产检彩色超声发现,提示其为腹腔或腹膜后寄生胎或畸胎瘤可能,未明确定性,且患儿祖母遗传双胞胎产育史,患儿手术后明确为寄生胎,且脐部有支血管与宿主相连,因而本例为内寄生胎,较罕见,与文献报道相符。

FIF 的临床表现主要与寄生的部位有关,表现为占位压迫效应,多以内寄生胎表现更为突出,以腹胀、呕吐、腹部肿块、肠梗阻及黄疸等出现。从影像学分析上看,FIF 和畸胎瘤影像表现特征相似,有时难以鉴别;FIF 在影像上可见成形的四肢及脊柱,畸胎瘤则是散在的不规则钙化灶;CT 检查有助于 FIF 和畸胎瘤鉴别,因 CT 具有辐射风险性,适用于手术前的诊断^[8];超声有无创、无辐射、操作简单方便等优点,是 FIF 首选检查,但产前诊断率不足 20%^[5]。FIF 常发育成形或发育缺如成胎块,有学者指出 MR 检查可以鉴别 FIF 与宿主周围脏器、血管及软组织的关系,更有利于手术方案的制定及选择^[5]。

对于 FIF 的诊断,至少需以下特征之一^[1,3]:(1)有完整的纤维囊包裹;(2)胎块表面有部分或完全的皮肤覆盖;(3)与宿主有相连血管;(4)具有可识别的解剖结构,不一定有阶段性脊柱轴骨。由于产前诊断率较低,FIF 还需与神经母细胞瘤、胎儿胎粪性囊肿等疾病相鉴别^[9-10],但是,FIF 最终的确诊需病理检查,病检可发现发育成熟或不成熟的器官组织^[4]。

对于 FIF,产妇孕期管理及早期诊断非常重要,若合并严重畸形、染色体异常及严重并发症,预后差,产妇应早期终止妊娠。产妇分娩方式的选择取决于产前影像学的诊断,若肿块较小,腹腔内或腹膜后肿块小于 5 cm,且胎儿体质量小于或符合胎龄的,可选择经阴道自然分娩^[11-12];反之,FIF 形态不规则、肿块较大、外生形,且胎儿体质量大于胎龄和颈部、胸腔、口腔内等寄生位置异常时^[13],为保证胎儿的出生安全,应到产科、新生儿科、儿外科专业实力较强的医院行剖宫产。

FIF 的治疗方式是早期手术,若无明显压迫症状,可在婴儿足月后行手术较为安全;但如果肿块较大,影响婴儿生命,手术时机可不必局限于年龄,有文献报道,右上腹部 FIF 与胆道粘连引起胆道穿孔可导致婴儿死亡^[14],故更应早期手术;若寄生于胸腔、颈部等部位严重威胁婴儿生命体征,应急诊手术解除病变,术后转新生儿进一步监护治疗。手术分为微创手术或开腹手术,术前影像学检查对于手术方式的选择有重要作用,若囊性成分占 50% 以上 FIF 可选择腹腔镜微创手术^[6,15],可在微创下针穿刺抽出囊性液体,增大操作空间,利于手术分离切除囊膜及肿块。无论采用何种手术方式,应仔细解剖分离周围重要血管,完整切除囊膜及寄生胎。绝大部分 FIF 为良性,预后良好,因宿主血清 AFP 和母体血清含量有同时升高的报道^[5,8],所以 FIF 切除术后 AFP 和人绒毛膜促性腺激素作为随访观察和确定恶性 FIF 复发的关键依据。本例患儿术前影像提示位于腹膜后,肿块巨大,术中肠系膜血管相连,选择开腹手术,完整切除囊膜及寄生胎,术后随访至今,复查 AFP 和人绒毛膜促性腺

激素位于正常范围,患儿生长发育良好。

综上,FIF 虽罕见,但只要经过合理的临床孕产前管理,同时需产科、儿外科、影像科、麻醉科、护理团队多学科合作,产前、产时、产后良好的精准治疗,会给 FIF 患儿带来良好的预后。

参考文献

- [1] Sun RC, Cheng LS, Shah RH, et al. Case report: The medical and surgical management of an infant with extreme prematurity and fetus-in-fetu [J]. *Front Surg*, 2022, 9: 856837. DOI: 10. 3389/fsurg. 2022. 856837.
- [2] 任杰,陈斯娜,安海. 寄生胎的诊治进展[J]. *疑难病杂志*, 2014, 13 (12): 1314-1316. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2014. 12. 035.
- [3] 徐兵,孙传成. 联体寄生胎 3 例报告及文献复习[J]. *疑难病杂志*, 2011, 10 (4): 273-274. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2011. 04. 011.
- [4] 马紫瑜,刘爱军,谢晓丽,等. 腹膜后寄生胎 1 例及文献复习[J]. *诊断病理学杂志*, 2022, 29 (11): 1093-1094. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-8096. 2022. 11. 035.
- [5] 杨玲,宋文英,郑明明,等. 新生儿骶尾部寄生胎一例并文献复习[J]. *中华新生儿科杂志*, 2021, 36 (1): 46-50. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2096-2932. 2021. 01. 010.
- [6] 程伶熙,杨星海,林松,等. 腹膜后寄生胎 7 例及文献回顾[J]. *临床小儿外科杂志*, 2021, 20 (10): 956-961. DOI: 10. 12260/lexewkz. 2021. 10. 012.
- [7] Heitman EA, Thomas JC, Maller VV, et al. Scrotal fetus in fetu in a newborn: A rare case report [J]. *Urology*, 2022, 166: 241-245. DOI: 10. 1016/j. urology. 2022. 05. 016.
- [8] Lu T, Ma J, Yang X. A rare case of fetus in fetu in the sacrococcygeal region: CT and MRI findings [J]. *BMC Pediatrics*, 2021, 21 (1): 575. DOI: 10. 1186/s12887-021-03063-7.
- [9] Denney JM, Stanley C, Armstrong LA, et al. Fetus in fetu in lieu of a sacrococcygeal teratoma: A case illuminating the utility of serial prenatal sonographic examinations in diagnosis [J]. *J Ultrasound Med*, 2017, 36 (2): 453-455. DOI: 10. 7863/ultra. 16. 02040.
- [10] 王丽华,耿琛琛,于先强. 腹腔内罕见同卵多体寄生胎产前产后 1 例[J]. *中国超声医学杂志*, 2017, 33 (4): 3. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-0101. 2017. 04. 040.
- [11] Madakshira MG, Kakkar N, Menon P. Partial " fetus-in-fetu " [J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2018, 61 (4): 626-627. DOI: 10. 4103/IJPM. IJPM_143_18.
- [12] Cingel V, Durdik S, Babala J, et al. Fetus in fetu from newborn's mediastinum: Case report and a review of literature [J]. *Surg Radiol Anat*, 2012, 34 (3): 197-202. DOI: 10. 1007/s00276-011-0868-9.
- [13] Tran MN, Landin MD, Blackwood BP, et al. Fetus in fetu-a case report with a variant host anastomosis [J]. *Am Surg*, 2016, 82 (9): 759-762.
- [14] Taher HMA, Abdellatif M, Wishahy AMK, et al. Fetus in fetu: Lessons learned from a large multicenter cohort study [J]. *Eur J Pediatric Surg*, 2020, 30 (4): 343-349. DOI: 10. 1055/s-0039-1698765.
- [15] 李炳,陈卫兵,王寿青,等. 腹腔镜辅助下经扩大的脐孔切除新生儿寄生胎一例[J]. *中华小儿外科杂志*, 2013, 34 (5): 400. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3006. 2013. 05. 023.

(收稿日期:2023-05-26)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 018

综 述

中医药调节肠道菌群治疗 2 型糖尿病研究进展

孙玲玲综述 高怀林审校



基金项目: 河北省重点研发计划项目(223777155D); 河北省中医药管理局科研计划项目(2023179)

作者单位: 450046 郑州, 河南中医药大学(孙玲玲); 050090 石家庄, 河北以岭医院内分泌科(高怀林)

通信作者: 高怀林, E-mail: gaohuailin@126. com

【摘 要】 糖尿病是一种严重的糖代谢异常疾病, 其中 2 型糖尿病是由多种复杂原因引起胰岛素分泌相对缺乏、胰岛素敏感性下降, 表现为血糖升高及蛋白质、脂质代谢异常, 随着病程的发展会伴随多种并发症。现代药理研究表明, 肠道微生态环境失调可通过多种通路影响糖脂正常代谢, 导致肥胖、甚至是胰岛素抵抗, 因此, 2 型糖尿病的发生发展与肠道微生态有着密切联系。中医药基于辨证论治原则, 通过抑制肠道致病菌, 促进益生菌, 调节肠道菌群结构, 积极调节肠道微环境恢复平衡, 防治 2 型糖尿病。文章就近年来中医药调节肠道菌群治疗 2 型糖尿病的相关文献进行整理, 对其研究进展和治疗方法进行综述。

【关键词】 2 型糖尿病; 肠道菌群; 中医药; 研究进展

【中图分类号】 R587. 1 【文献标识码】 A

Research progress of traditional Chinese medicine in regulating intestinal flora in the treatment of type 2 diabetes mellitu Sun Lingling*, Gao Huailin. * Henan University of Traditional Chinese Medicine, Henan Province, Zhengzhou 450046, China

Corresponding author: Gao Huailin, E-mail: gaohuailin@126. com

Funding program: Key R&D Plan Projects in Hebei Province(223777155D); Hebei Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine Research Program Project(2023179)

【Abstract】 Diabetes is a serious disorder of glucose metabolism, in which type 2 diabetes is caused by a variety of complex causes of relative lack of insulin secretion and decreased insulin sensitivity. It is characterized by elevated blood glucose, abnormal glucose protein metabolism and abnormal lipid metabolism, which will be accompanied by a variety of complications with the development of the course of the disease. Modern pharmacological studies have shown that intestinal microecological environment disorders can affect the normal metabolism of glucose and lipids through a variety of pathways, leading to obesity and even insulin resistance. Therefore, the occurrence and development of type 2 diabetes is closely related to intestinal microecology. Based on the principle of syndrome differentiation and treatment, traditional Chinese medicine can prevent and treat type 2 diabetes by inhibiting intestinal pathogenic bacteria, promoting probiotics, regulating the structure of intestinal flora, and actively regulating intestinal microenvironment to restore balance. In this paper, based on the relevant literature on the treatment of this disease in recent years, the research progress and treatment methods of traditional Chinese medicine are summarized as follows.

【Key words】 Type 2 diabetes mellitus; Intestinal flora; Traditional Chinese medicine; Research progress

糖尿病是一种表现为糖代谢异常的慢性疾病, 以胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能受损为特征^[1]。糖尿病发病率及致死率高, 对人类生命健康有着严重的威胁, 在致死率排名中, 糖尿病在恶性肿瘤、心脑血管疾病之后, 位居第三, 因此被称为“第三杀手”^[2]。2 型糖尿病具体的发病机制目前尚未明确, 但其发病率近年来在我国呈现逐步增长的态势。2019 年国际糖尿病联合会(IDF)对全球糖尿病患病率进行预测, 数据表明, 全球糖尿病患者人数在 2045 年将进一步攀升, 总人数将高达 7 亿, 而其中 2 型糖尿病患者的比例约占总数的 90%, 我国糖尿病患病

率将位居全球首位^[3]。人体不同区域都存在微生物生态系统, 超过 70% 的微生物群生活在胃肠道中, 而这些微生物群被称为“第二套基因组”, 其与机体中许多疾病都有着密切关系, 影响着人体各个系统, 具有极大临床研究价值^[4]。近年来很多现代药理研究表明, 肠道菌群可以通过产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)、调节胆汁酸、引发慢性炎症反应等方式影响人体糖脂代谢及平衡状态, 进一步导致肥胖、胰岛素敏感性降低、甚至是糖尿病, 因此, 肠道微环境的平衡与 2 型糖尿病的发生发展有着密切联系, 肠道菌群被认为是未来治疗 2 型糖尿病

的新靶点^[5]。

1 肠道菌群与 2 型糖尿病

目前肠道菌群被认为是参与人体代谢的一个独立的器官,越来越多的证据表明,肠道微生态环境状态是否平衡与 2 型糖尿病密切相关^[6]。近期研究发现,通过调节肠道微生物,可以改善代谢功能障碍患者的胰岛素敏感性^[7]。研究者对比分析了 42 项研究认为,在大约一半的 2 型糖尿病患者的微生物组中,拟杆菌、双歧杆菌、玫瑰尿、粪杆菌和嗜黏蛋白阿克曼菌中至少有一个减少,而肠道菌群在炎症反应的调节、肠道通透性、葡萄糖的代谢等方面均有影响,其中双歧杆菌、拟杆菌、放线菌与 2 型糖尿病关系密切^[8]。研究显示与健康人对比,在 2 型糖尿病患者的肠道中,厚壁菌门丰度有所增加,而拟杆菌门丰度相对减少。研究表明,拟杆菌与厚壁菌的比率与 OGTT 测定的血浆葡萄糖值呈显著正相关^[9]。马红梅等^[10]通过观察 2 型糖尿病患者肠道菌群的特征发现 2 型糖尿病患者有肠道菌群失调,而肠道中的柔嫩梭菌属、乳酸菌属和双歧杆菌属与糖代谢存在相关性。Hwang 等^[11]发现,在饮食诱导肥胖小鼠的肠道菌群中,厚壁菌与拟杆菌的比例上升,厚壁菌可引起过度的热量摄入,影响人体糖脂代谢和基因表达,导致低水平炎症反应,导致 2 型糖尿病的发生发展。Gou 等^[12]选择与 2 型糖尿病相关的肠道微生物构建了微生物组风险评分 (MRS),通过研究发现 MRS 与葡萄糖增量呈正相关,证明了肠道微生物的紊乱会引起糖脂代谢异常,从而进一步对 2 型糖尿病的发生发展产生影响。

2 肠道菌群参与 2 型糖尿病发病机制

肠道菌群主要通过一些代谢产物参与 2 型糖尿病的发生发展,如短链脂肪酸、内毒素及胆汁酸 (BAs) 等。短链脂肪酸是肠道菌群的重要代谢产物之一,肠道菌群将小肠内的代谢物经发酵而形成短链脂肪酸,其主要成分包括乙酸、丙酸和丁酸等,由 1~6 个碳原子组成,具有调节代谢、免疫及细胞增殖等作用^[13]。作为肠道微生物群的发酵产物,短链脂肪酸可与肠道内分泌细胞的 G 蛋白偶联受体 Gpr41 结合促进肠道激素肽 PYY 分泌,抑制肠道活动亢进状态;还可以和 Gpr43 结合促进 GLP-1 的分泌,GLP-1 可减缓胃排空和肠道运输,有助于能量吸收,继而调节血糖水平,刺激胰岛素分泌,改善胰岛素敏感性^[14-15]。肠道菌群失调可以引发代谢性内毒素血症,其机制是肠道菌群失调会对肠道天然的机械屏障产生影响,菌群结构的改变使肠道黏膜受损,而天然屏障作用减弱使人体内的代谢废物因肠道通透性增加而更易进入血液。代谢性内毒素血症是通过与免疫细胞表面受体结合,刺激白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等引发慢性低水平炎症反应的促炎因子的表达,进而导致肥胖、胰岛素抵抗及糖尿病^[16]。脂多糖 (LPS) 在代谢性内毒素血症中有着关键作用,研究表明,在肠道菌群引起胰岛素抵抗的过程中,LPS 起着重要作用,LPS 含量在 T2DM 患者的血液中较正常人显著增多^[17]。胆汁酸可以促进营养吸收,是调节脂质和能量代谢的核受体的内源性配体^[18]。食物被摄入时,BAs 被释放到小肠中帮助消化和吸收膳食脂肪,肠道中的 BAs 在回肠中被重吸收以返回肝脏进行再分泌,BAs 的循环是维持全身葡萄糖、脂质和能量稳态以防止高血糖,血脂异常和肥胖的重要生

理机制^[19]。肠道菌群参与了 BAs 的合成与代谢,并发挥着重要的作用。BAs 可与相关信号分子核受体法尼醇 X 受体 (FXR) 和 G 蛋白偶联胆汁酸受体 5 (TGR5) 相结合,参与维持机体糖脂代谢,刺激 PYY 和 GLP-1 的表达,控制血糖水平^[20]。

3 基于肠道菌群的中医药治疗 2 型糖尿病

古代医家早已有关于粪便治疗疾病的记载,其中人粪入药最早见于《五十二病方》。金汁,又名“粪清”,叶天士在《温热论》中记载:“营分受热……若加烦躁、大便不通,金汁亦可加入”,以此常用金汁来治疗热入营血之证。晋代医家葛洪的《肘后备急方》中记载:“绞粪汁,饮数合至一二升,谓之黄龙汤,陈久者佳”。李时珍《本草纲目》记载:“粪清,苦、寒,治天行热狂热疾、中毒、恶疮、热毒、湿毒,大解五脏实热,饭和作丸,清痰,消食积,降阴火”,详细列举了粪清的功效。现代研究发现金汁可通过提高脂多糖来增加小鼠肠道内有益菌的丰度^[21]。目前多项研究结果表明,通过中药、针灸、推拿等方式可以改善肠道菌群结构从而防治糖尿病,中医药对肠道微环境的调节是多靶点、多层次的协同作用,其主要机制在于降低有害菌的丰度、促进有益菌的生长,激活相关信号通路及基因表达,改善胰岛素抵抗。

3.1 中药单体及提取物

中药中的有效成分多在消化道中与肠道菌群产生相互作用,改善肠道菌群结构,调节血糖。张竞男等^[22]发现,黄芪中的黄芪多糖可以提高高脂饮食小鼠拟杆菌门/厚壁菌门比例,增加双歧杆菌的丰度,调节小鼠肠道菌群状态,改善肠道微环境,抑制 LPS 诱导的肠道炎症反应。高文静等^[23]将黄芪 VLN 灌药给 db/db 糖尿病小鼠,发现黄芪 VLN 显著改善了小鼠肠道菌群失调,降低有害菌相对丰度,黄芪 VLN 可能通过调节肠道菌群中厚壁菌门/拟杆菌门的比例来降低 db/db 糖尿病小鼠的血糖。小檗碱是黄连的主要成分,现代研究证明其在改善血糖、血脂、胰岛素抵抗等方面有重要作用。武雪扬等^[24]通过大量研究发现,小檗碱可能通过调节肠道菌群从而影响 SCFAs,激活 AMPK 信号通路,抑制 NADPH 氧化酶活性,影响血糖水平。张君诚^[25]研究发现,知母多糖可以降低 db/db 小鼠厚壁菌门/拟杆菌门比例,显著改善小鼠肠道菌群结构,知母多糖中的 AABP-1B 和 AABP-2B 可以增加小鼠肠道中双歧杆菌、乳酸菌、嗜黏蛋白阿克曼菌等菌群丰度,进而降低血糖水平。Yan 等^[26]证明,知母提取物可以帮助促进有益菌的生长并抑制有害菌,恢复肠道微环境平衡,同时可以触发过氧化物酶 PRDX4 的基因表达,促进胰腺细胞再生并恢复胰岛细胞功能。白藜芦醇可增加肥胖小鼠的肠道菌群丰度,增加肠道中乳酸杆菌、双歧杆菌丰度,降低血糖、炎症因子,改善胰岛素抵抗^[27]。麦冬皂苷中的活性成分麦冬皂苷 D 可以调节高脂饲养小鼠的肠道菌群,调控厚壁菌门和拟杆菌门丰度,改善其血脂水平^[28]。水苏糖是地黄主要的活性成分之一,康颖等^[29]发现,水苏糖可降低艰难梭菌感染 (CDI) 小鼠肠道内艰难梭菌含量,增加小鼠拟杆菌门、厚壁菌门的相对丰度,改变小鼠肠道菌群结构。姜黄素是从中药姜黄中提取的多酚类物质,朱艳娟^[30]等研究发现,姜黄素可通过激活胰岛素信号通路磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt),促进葡萄糖转运蛋白 (GLUT4) 向细胞膜转位,增加骨骼肌葡萄糖摄取,从而改善胰

胰岛素抵抗。大黄酸是大黄、何首乌等中草药的主要成分,郑舟琴^[31]研究发现大黄酸可丰富肠道菌群 OTUs,增加血浆活性 GLP-1 的浓度及肠道有益菌的相对丰度,逆转拟杆菌与厚壁菌的比例,证明了大黄酸可能是通过改善肠道菌群结构从而发挥降糖作用。

3.2 中药复方 Chen 等^[32]发现,半夏泻心汤可以降低乳酸杆菌、肠杆菌等肠道菌的丰度,降低厚壁菌/拟杆菌的比例,减少血清中 IL-6 和 TNF- α 炎症因子。刘玲等^[33]对比发现,七味白术散治疗后患者肠道内属水平上的拟杆菌和普雷沃氏菌增加,拟普雷沃菌属水平下降,结果表明,七味白术散可有效调节脾虚湿困型肥胖症患者肠道菌群,改善糖脂代谢。张秀婷等^[34]使用七味白术散对 2 型糖尿病大鼠进行 4 周干预,结果发现,七味白术散可增加多种短链脂肪酸产生菌的丰度,抑制病原菌生长,改善胰岛素抵抗。聂可馨等^[35]通过使用乌梅丸悬浮液对肥胖小鼠进行 4 周灌胃,结果发现乌梅丸悬浮液可以减轻模型组小鼠白色脂肪组织的体积、改善纤维化,刺激棕色脂肪组织的生成与活性,治疗肥胖症;并使用 16S rRNA 高通量测序发现乌梅丸组肥胖小鼠的厚壁菌门与拟杆菌门比率较模型组显著下降。厚壁菌门/拟杆菌门比率被证明可以调节短链脂肪酸水平,抑制慢性炎症反应,促进 GLP-1 的分泌,改善胰岛素抵抗^[36]。杨茂艺等^[37]研究发现,与对照组比较,肠道菌群的变化对半夏泻心汤具有依赖性,半夏泻心汤可以提高 T2DM 模型大鼠肠道菌群的多样性及肠道有益菌的丰度,诱导肠道菌群结构变化,有助于改善 T2DM 模型大鼠的胰岛功能,从而降低血糖水平。姜广坤等^[38]研究发现,连梅汤可显著提高 db/db 糖尿病小鼠肠道菌群中拟杆菌的丰度,降低厚壁杆菌的丰度,对小鼠的血糖具有调节作用。何文娇等^[39]采用 16S rDNA 检测黄连解毒汤对 db/db 小鼠肠道菌群的影响,与模型组比较,黄连解毒汤组肠道菌群的门和属水平均发生变化,有益菌明显增加,可通过减轻肠道内炎症反应调整小鼠的肠道内微生态平衡。丘文龙等^[40]的研究结果显示,生脉散组 2 型糖尿病大鼠的 SCFAs 含量及厚壁菌门、拟杆菌门、疣微菌门的丰度显著高于正常组,生脉散改善糖脂代谢的机制可能与调节体内肠道菌群的结构有关。

3.3 中医外治法 目前中医外治法对于改善 2 型糖尿病肠道菌群的研究较少,现有的文献主要以针灸、推拿调节肠道菌群失调的改善为主。陈新华^[41]通过使用“调脏通络”电针对 2 型糖尿病小鼠进行针刺治疗,结果发现模型小鼠在电针干预后肠道菌群的丰度、有益菌及多样性提高,有害菌减少,体质量及血糖状况有明显改善,证实了电针干预对 2 型糖尿病小鼠的肠道菌群及血糖有调节作用。王紫欣^[42]通过对 2 型糖尿病患者进行针刺干预后,发现经针刺治疗后患者肠道内的革兰阳性菌减少,如厚壁菌门、梭菌属、肠球菌属等;增加了拟杆菌门和双歧杆菌的丰度,拟杆菌门与厚壁菌门比例升高;调节了参与短链脂肪酸生成的菌群丰度。证实了针刺对于治疗 2 型糖尿病患者肠道菌群紊乱的有效性。司原成^[43]通过 16S rDNA 检测肥胖小鼠模型肠道菌群序列变化,发现肥胖小鼠模型体内厚壁菌门显著高于正常组,拟杆菌门显著低于正常组。在经过针灸干预后,优势菌种拟杆菌门与厚壁菌门的比例显著提高,肠道菌群

失调得到改善,进一步证实了针刺对肠道菌群的调节作用。温静怡等^[44]以“温阳化浊”为法对肥胖小鼠的中脘穴、天枢穴、神阙穴、关元穴进行艾灸干预,观察艾灸干预后肥胖小鼠的肠道菌群结构的改变,发现干预后的肥胖小鼠肠道菌群中双歧杆菌、乳酸菌等有益菌丰度有明显提高,而炎症相关的 Delta-变形菌数量减少,因此表明通过艾灸干预对肠道菌群具有积极的调节作用。桑佳佳等^[45]运用“健脾化浊”推拿法对“脾虚浊滞证”的 2 型糖尿病患者进行推拿治疗,发现可有效减轻患者糖代谢紊乱及肠道菌群紊乱。

4 不足与展望

目前较为公认的肠道菌群失调诱发 2 型糖尿病的发生机制主要围绕在短链脂肪酸理论、胆汁酸理论、内毒素理论等。这些发病机制多体现在药物治疗、手术治疗和饮食运动治疗等方面,目前的治疗方案均是通过增加肠道有益菌如短链脂肪酸、促进胆汁酸代谢、降低肠道通透性、减轻机体低水平炎症反应、刺激肠道激素分泌的作用机制,从而改善胰岛素抵抗,达到治疗糖尿病的目的,但这些新型的肠道菌群治疗方法应用于临床具有一定局限性,肠道菌群的复杂性、新型治疗方法循证医学和临床研究大数据的缺乏,都需要进一步探索和研究。研究表明,肠道菌群紊乱与糖尿病的发生有密切的关系。中药复方的协同作用可通过对肠道菌群多靶点的调节从而影响短链脂肪酸水平,促进糖脂代谢,抑制慢性炎症反应,改善胰岛素抵抗。在调节肠道菌群治疗 2 型糖尿病方面,中医药彰显其在临床治疗上不良反应低、疗效持久的显著优势。中医药调节肠道菌群多靶点、多途径的作用机制,为临床治疗 2 型糖尿病提供了一个新思路、新方向,对于干预、预防糖尿病及其并发症的发生有着极大的研究价值。因此,深入研究中医药治疗 2 型糖尿病肠道菌群失调的作用机制,并进行临床方面研究,值得探索和挖掘。但是近年来中药材市场质量参差不齐,缺乏统一管理标准,且中药治疗主观性强,临床观察数据缺乏、临床有效率评价不一。因此,加快建立和完善中医药标准化工作,提高临床疗效刻不容缓。

参考文献

- [1] Sikilidis AK, Maykish A. The gut microbiome and type 2 diabetes mellitus: Discussing a complex relationship[J]. Biomedicines, 2020, 8(1): 8. DOI: 10.3390/biomedicines8010008.
- [2] Doyle-Delgado K, Chamberlain JJ, Shubbrook JH, et al. Pharmacologic approaches to glycemic treatment of type 2 diabetes: Synopsis of the 2020 American Diabetes Association's standards of medical care in diabetes clinical guideline[J]. Annals of Internal Medicine, 2020, 173(10): 813-821. DOI: 10.7326/M20-2470.
- [3] Sinclair A, Saeedi P, Kaundal A, et al. Diabetes and global ageing among 65-99-year-old adults: Findings from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2020, 162: 108078. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108078.
- [4] 迟斌, 齐海宇, 阴赫宏. 肠道微生态与 2 型糖尿病的关系[J]. 中国医刊, 2019, 54(6): 585-588. DOI: CNKI: SUN: ZGYI. 0. 2019-06-002.
- [5] 牟荣菲, 王绵, 刘瑞红, 等. 肠道菌群与 2 型糖尿病相关性的研究

- 进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2022, 30(8): 636-640. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2022. 08. 017.
- [6] Ma Q, Li Y, Li P, et al. Research progress in the relationship between type 2 diabetes mellitus and intestinal flora[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 117: 109138. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2019. 109138.
- [7] Mocanu V, Zhang Z, Deehan E, et al. A16 Fiber supplementation differentially modulates responses to fecal microbial transplantation in patients with metabolic syndrome and severe obesity: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial[J]. Journal of the Canadian Association of Gastroenterology, 2021, 4 (Supplement_1): 20-21. DOI: 10. 1093/jcag/gwab002. 015.
- [8] Gurung M, Li Z, You H, et al. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology[J]. EBioMedicine, 2020, 51: 102590. DOI: 10. 1016/j. ebiom. 2019. 11. 051.
- [9] 阿荣, 张洁. 肠道菌群失调与糖尿病相关性的研究进展[J]. 中国当代医药, 2023, 30(13): 43-49. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4721. 2023. 13. 011.
- [10] 马红梅, 董铁军, 刘妍, 等. 2 型糖尿病患者肠道菌群的特征及变化分析[J]. 糖尿病新世界, 2020, 23(2): 49-50. DOI: 10. 16658/j. cnki. 1672-4062. 2020. 02. 049.
- [11] Hwang I, Park YJ, Kim YR, et al. Alteration of gut microbiota by vancomycin and bacitracin improves insulin resistance via glucagon-like peptide 1 in diet-induced obesity[J]. The FASEB Journal, 2015, 29(6): 2397-2411. DOI: 10. 1096/fj. 14-265983.
- [12] Gou W, Ling CW, He Y, et al. Interpretable machine learning framework reveals robust gut microbiome features associated with type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2021, 44(2): 358-366. DOI: 10. 2337/dc20-1536.
- [13] 李翠茹, 彭买姣, 谭周进. 肠道菌群相关短链脂肪酸的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2022, 30(13): 562-570.
- [14] Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2015, 11(10): 577-591. DOI: 10. 1038/nrendo. 2015. 128.
- [15] Drucker DJ. Mechanisms of action and therapeutic application of glucagon-like peptide-1[J]. Cell metabolism, 2018, 27(4): 740-756. DOI: 10. 1016/j. cmet. 2018. 03. 001.
- [16] 臧宇琪, 郭杰. 基于内毒素血症学说探讨肠道菌群紊乱导致 2 型糖尿病的发病机制[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(63): 85-86. DOI: 10. 19613/j. cnki. 1671-3141. 2019. 63. 044.
- [17] Yuan JH, Xie QS, Chen GC, et al. Impaired intestinal barrier function in type 2 diabetic patients measured by serum LPS, Zonulin, and IFABP[J]. J Diabetes Complications, 2021, 35(2): 107766. DOI: 10. 1016/j. jdiacomp. 2020. 107766.
- [18] 周舒婕, 杨阳, 柯亭羽. 肠道菌群-胆汁酸轴与 2 型糖尿病关系的研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(6): 1180-1185. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-2084. 2022. 06. 025.
- [19] Chiang JYL, Ferrell JM. Bile acids as metabolic regulators and nutrient sensors[J]. Annual Review of Nutrition, 2019, 39: 175. DOI: 10. 1146/annurev-nutr-082018-124344.
- [20] Swann JR, Want EJ, Geier FM, et al. Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108 (supplement_1): 4523-4530. DOI: 10. 1073/pnas. 1006734107.
- [21] 田良, 童昕, 许建峰, 等. 金汁对脂多糖诱导脓毒症小鼠肠道微生态的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(5): 505-510, 517. DOI: 10. 13381/j. cnki. cjm. 202205002.
- [22] 张竞男, 苑红, 马春丽, 等. 黄芪多糖通过调节肠道菌群抑制高脂饮食小鼠肠道炎症反应[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(4): 19-24. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-1689. 2022. 04. 003.
- [23] 高文静, 侯敏, 陈潇潇, 等. 黄芪囊泡样纳米颗粒通过调节肠道菌群降低 db/db 糖尿病小鼠血糖的作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(14): 111-118. DOI: 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20211556.
- [24] 武雪扬, 崔德芝. 黄连素调节肠道菌群治疗 2 型糖尿病的机制研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(12): 1467-1470. DOI: 10. 13381/j. cnki. cjm. 202212019.
- [25] 陈君诚. 知母多糖的结构鉴定、降血糖机制及其对肠道菌群的影响[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [26] Yan D, Fan P, Sun W, et al. Anemarrhena asphodeloides modulates gut microbiota and restores pancreatic function in diabetic rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 133: 110954. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2020. 110954.
- [27] 赵航, 马慧娟, 树林一, 等. 白藜芦醇在胰岛素抵抗、糖尿病中的研究进展[J]. 医学研究杂志, 2019, 48(3): 150-154. DOI: 10. 11969/j. issn. 1673-548X. 2019. 03. 034.
- [28] 陈奕瀚, 张雅心, 江伟豪, 等. 麦冬皂苷 D 对高脂饲养 ApoE^{-/-}小鼠血脂及肠道菌群的影响[J]. 中草药, 2020, 51(13): 3501-3508.
- [29] 康颖, 李先平, 宋利琼, 等. 水苏糖对艰难梭菌在小鼠肠道内定植与菌群的影响[J]. 疾病监测, 2020, 35(3): 256-263. DOI: 10. 3784/j. issn. 1003-9961. 2020. 03. 017.
- [30] 朱艳娟, 程静丽, 高忠爱, 等. 姜黄素促进骨骼肌 GLUT4 转位改善糖尿病大鼠胰岛素抵抗[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(2): 143-148. DOI: 10. 3760/cma. j. cn311282-20200322-00198.
- [31] 郑舟琴. 基于 2 型糖尿病肠道菌群结构特点分析大黄酸的降糖作用[D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- [32] Chen J, Zhang LK, Gu WC, et al. Effect of Banxia Xiexin Decoction on intestinal flora of mice with ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate[J]. China Journal of Chinese Materia, 2021, 46(11): 2871-2880. DOI: 10. 19540/j. cnki. ejcmm. 20210119. 401.
- [33] 刘玲, 陆西宛, 何珂, 等. 七味白术散对脾虚湿困型肥胖症患者脂质代谢及肠道菌群的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(23): 2082-2086. DOI: 10. 13288/j. 11-2166/r. 2020. 23. 013.
- [34] 张秀婷, 郭良清, 祝然然, 等. 基于肠道菌群探讨七味白术散改善 2 型糖尿病胰岛素抵抗机制的研究[J]. 中医临床研究, 2023, 15(16): 62-67. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-7860. 2023. 16. 012.
- [35] 聂可馨, 赵炎, 苏浩, 等. 乌梅丸对肥胖小鼠肠道菌群结构的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(8): 796-802. DOI: 10. 13286/j. 1001-5213. 2021. 08. 05.
- [36] Magne F, Gotteland M, Gauthier L, et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients[J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1474. DOI: 10. 3390/nu12051474.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.019

综 述

神经元特异性烯醇化酶在中枢神经系统损伤中的应用研究进展

齐洪武, 曾维俊, 刘岩松综述 赵彩霞审校

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展计划项目(201200753)

作者单位: 050082 石家庄, 中国人民解放军联勤保障部队第九八〇医院神经外科(齐洪武、曾维俊、刘岩松), 药剂科(赵彩霞)

通信作者: 赵彩霞, E-mail: zhaocx2005@163.com



【摘 要】 神经元特异性烯醇化酶是糖酵解烯醇化酶中酸性最强的同工酶, 存在于神经元和神经内分泌细胞的细胞质中, 在某些神经系统事件中可能起到神经炎性反应和神经保护的双重作用。神经元特异性烯醇化酶可作为中枢神经系统损伤性疾病特征性的生物标志物, 并在评估此类疾病的严重程度及预后结局方面具有重要作用, 文章对其在神经系统损伤中的应用进展进行综述。

【关键词】 神经元特异性烯醇化酶; 中枢神经系统损伤; 生物标志物; 诊断; 预后评估

【中图分类号】 R741.05 【文献标识码】 A

Research progress of clinical application of neuron specific enolase in central nervous system injury Qi Hongwu*, Zeng Weijun, Liu Yansong, Zhao Caixia. * Department of Neurosurgery, The 980th Hospital of the PLA Joint Logistics Support Force, Hebei Province, Shijiazhuang 050082, China

Corresponding author: Zhao Caixia, E-mail: zhaocx2005@163.com

Funding program: Scientific Technology Research and Development Plan Project of Shijiazhuang (201200753)

【Abstract】 Neuron specific enolase(NSE) is the most acidic isozyme in Glycolysis Enolase, which exists in the cytoplasm of neurons and neuroendocrine cells and play a dual role in neuroinflammation and neuroprotection in some nervous system events. NES has been suggested as a characteristic biomarker of central nervous system injury and stoke, and plays an important role in evaluating the severity and prognosis of such diseases.

【Key words】 Neuron specific enolase; Central nervous system injury; Biomarkers; Diagnosis; Prognosis evaluation

神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)是一种存在于神经元和神经内分泌细胞中的酸性蛋白酶^[1], 由 Moore 和 McGregor 于 1965 年首次描述, 是糖酵解烯醇化酶的一种分子量为 78 kDa 的二聚体同工酶, 主要存在于神经元的细胞质中, 参与慢速轴浆运输。NSE 被证明同时具有破坏性和保护作用, 有研究表明它积极参与神经炎性反应、神经变性和神经保护^[2]; 同时 NSE 还被认为缺血性脑损伤、创伤性脑损伤、脑卒中、心脏骤停后缺氧脑病、急性脊髓损伤等疾病的生物标志物。文章对 NSE 在中枢神经系统损伤早期诊断或疾病严重程度及预后评估中的作用进行综述。

1 NSE 的分子生物学基础

NSE 又称 γ - γ 烯醇化酶、 γ -烯醇化酶或人烯醇化酶 2, 是烯醇化酶的 3 种同工酶形式之一^[3]。NSE 参与糖酵解途径, 将 2-磷酸甘油酸转化为磷酸烯醇式丙酮酸。另外 2 种同工酶形式是 α - α 烯醇化酶或称非神经元性烯醇化酶(nonneuronal enolase, NNE)、以及 β - β 烯醇化酶或称肌肉特异性烯醇化酶(muscle-specific enolase, MSE), 这 3 种同工酶在健康生物体中具有

特定的分布模式。NNE 亚型在胎儿和成年哺乳动物组织中最丰富, 而 MSE 亚型仅限于骨骼肌, NSE 存在于神经元起源的细胞中^[4]。

NSE 的编码基因名为烯醇化酶 2(enolase 2, ENO2), 位于 12 号染色体上, 它由 11 个编码外显子组成, 跨度超过 9 213 个核苷酸。NNE 和 MSE 的基因分别位于 1 号和 17 号染色体上。形成 3 个同工酶的每个亚基(α 、 β 或 γ)的蛋白质链由位于不同人类染色体上的 3 个不同基因编码^[5]。NSE 的活性形式为二聚体, 由 2 个非共价连接的亚基组成, 它可以作为由 2 个 γ 亚基组成的同二聚体存在, 称为 γ - γ 烯醇化酶, 也可以作为由 α 和 γ 亚基组成的异二聚体存在。 γ 亚基是一个由 433 个氨基酸组成的肽, 分子量约为 39 kDa; α 亚基的分子量为 48 kDa, 蛋白质长度为 434 个氨基酸残基。 γ - γ 亚型是神经元的典型特征, 而异二聚体 α - γ 亚型存在于星形胶质细胞和小胶质细胞中^[6]。

2 NSE 的功能

NSE 在广泛的中枢神经系统神经元中具有神经营养特性, 可以通过激活磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3 激酶(phosphatidylinosi-

tol-4,5-bisphosphate 3-kinase, PI3K) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路来控制神经元的存活、分化和轴突再生^[7]。此功能是通过该酶 C 端结构域的 PDZ 基序与 γ -1 syntrophin 结合介导的,从而使 NSE 易位到细胞膜上,这对其神经营养活性至关重要。同时可通过不同刺激如炎性介质、 β 淀粉样蛋白 (amyloid- β , A β) 沉积、Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 依赖模式等促进进程^[8]。 γ -烯醇化酶激活 PI3K 还可调节 RhoA 激酶, RhoA 激酶影响肌动蛋白细胞骨架重组、诱导神经突生长和神经元细胞生长停滞,这一过程对于 NSE 参与神经炎性反应也很重要,因为它导致小胶质细胞的激活^[9]。近年来已发现 NSE 在癌症保护、肿瘤生长和细胞迁移中的作用,肿瘤细胞中 NSE 水平的增加是对应激条件下癌细胞高能量需求的反应,信号通路的激活被认为促进了癌症的扩散和生长^[10]。然而, NSE 在这些过程中发挥作用的确切机制尚未完全阐明。

3 NSE 在中枢神经系统损伤中的应用

3.1 NSE 与创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) Moza-fari 等^[11]研究发现 NSE 水平在诊断轻度头部外伤所致脑损伤时的受试者工作特征 (ROC) 曲线下面积为 0.992。此外,以 6.97 $\mu\text{g/L}$ 为阈值,检测脑损伤的敏感度为 0.936,特异度为 1.000。这种高度准确的诊断生物标志物可推荐用于评估儿童轻度 TBI。中度至重度 TBI 常伴有弥漫性轴索损伤 (diffuse axonal injury, DAI),考虑到计算机断层扫描检查对微出血和轴突损伤的敏感性低,在急性期使用常规诊断方法难以识别 DAI。一项研究发现,入院时的血清 NSE 水平与入院格拉斯哥昏迷评分 (Glasgow coma scale, GCS) 比值 (NSE level to admission GCS score ratio, NGR) 可作为中度至重度 TBI 患者 DAI 的独立预测指标,NGR 较高的 TBI 患者更有可能遭受不利的神经学结果^[12]。Slavoaca 等^[13]评估了蛋白质生物标志物 S100 和 NSE 与损伤后 10 d 和 90 d 的神经认知状态之间的相关性,在 62 例中重度 TBI 患者中,受伤后 4 h 和 72 h 进行 2 种生物标志物测试,并通过一系列神经认知测试对患者进行评估。结果表明,伤后 4h 的 NSE 与中短期神经心理学结果之间存在显著相关性,建议使用该生物标志物来筛选认知功能障碍风险较高的患者。一项前瞻性研究发现, GCS 评分 ≤ 5 分、损伤严重程度评分 (ISS) 评分 > 25 分、多脏器功能障碍综合征及 S100B、NSE、环孢素 A (cyclophilin A, CypA) 水平升高是影响重度 TBI 合并谵妄及多发伤转出 ICU 患者预后的独立危险因素^[14]。因此 NSE 可能是一种敏感而准确的工具,不仅可以评价 TBI 患者的严重程度和预后,也可以使临床医师更准确地筛查无神经系统体征的颅脑创伤患者。

3.2 NSE 与脑卒中 脑卒中是脑血管发生破裂或意外阻塞而导致的急性脑损伤,包括出血性和缺血性卒中。研究发现出血性脑卒中患者的血肿直接压迫周围脑组织,血肿内的炎性物质开始释放,继出现缺血缺氧,造成神经元损伤甚至坏死,细胞膜通透性增加, NSE 透过血脑屏障进入血液^[15]。一项回顾性研究探讨了 NSE 水平与高血压脑出血 (hypertensive cerebral hemorrhage, HICH) 患者颅内压之间的关系,回顾分析了 83 例 HICH

患者的临床资料,所有患者均行有创颅内压探头置入术进行颅内压实时监测。结果发现 NSE 水平与颅内高压的发生密切相关,血清 NSE 的水平越高,颅内压越高,对于判断 HICH 患者是否需要实施开颅血肿清除术具有指导意义^[16]。缺血性脑卒中本质上是由于短时间或长时间的缺氧和缺血导致内皮细胞死亡和血脑屏障损伤,损伤脑组织释放的胞质内容物可以穿过血脑屏障,故测定血清 NSE 水平可能是预测此类脑损伤预后的一种方法^[17]。Kurakina 等^[18]研究发现脑卒中发病后 48 h 内患者血浆 NSE 水平与缺血灶体积呈正相关 ($r = 0.49, P = 0.003$),与神经系统症状的严重程度呈正相关 ($r = 0.33, P = 0.02$)。急性疾病期 NSE 低于 2 $\mu\text{g/L}$ 是脑卒中发作后 12 ~ 14 d 神经功能良好结果的预测指标。Arca 等^[19]发现症状性新生儿动脉缺血性卒中 (neonatal arterial ischaemic stroke, NAIS) 新生儿脑脊液 NSE (cerebrospinal fluid neuron-specific enolase, cNSE) 水平与梗死的动脉分布、梗死体积和结局相关联。与大脑中动脉 (middle cerebral artery, MCA)-M2-M3-M4 区域的病例相比,多灶性 NAIS 和 NAIS 位于 MCA-M1 动脉区域的新生儿显示出更高的 cNSE 水平。cNSE 水平与相对梗死体积之间存在显著相关性,与发育良好的婴儿相比,具有不良后果的症状性 NAIS 婴儿的 cNSE 值更高。cNSE 值高于 55 $\mu\text{g/L}$ 婴儿的不良结果优势比 (odds ratio, OR) 值为 6.48。cNSE 水平是 NAIS 潜在的早期预后生物标志物。总体来说,在急性脑卒中中的早期阶段, NSE 水平的测定较其他诸如影像学检查更为方便和经济,能够较好地评估脑卒中中的严重程度、警示颅内高压以及预测结局。

3.3 NSE 与脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) SCI 是常见的中枢神经系统疾病,患者常常产生神经功能缺失以及肢体功能障碍,具有高病死率、高致残率、预后差的特点。SCI 进行性病理变化包括复杂的分子级联反应,脊髓神经元和神经胶质细胞被破坏,细胞表面烯醇化酶激活纤溶酶原,纤溶酶原是血清中作为无活性酶原存在的丝氨酸蛋白酶,通过组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, tPA) 或尿激酶纤溶酶原激活剂 (urokinase plasminogen activator, uPA) 转化为活性纤溶酶,并降解细胞外基质 (Extracellular matrix, ECM) 蛋白,然后纤溶蛋白降解纤维连接蛋白,穿透内皮,激活基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)^[20]。细胞表面烯醇化酶也影响 MMPs, MMP-2 和 MMP-9 在炎症反应过程中发挥重要作用,可以帮助将炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 加工成其生物活性形式,这反过来可能进一步增强炎症反应^[21]。MMPs 在促炎微环境的产生和维持中发挥重要作用,促炎微环境上调 NSE,促进 ECM 降解,加重缺血性神经病理。因此,针对 ECM 降解和进行性神经炎性反应的治疗方法可以通过抑制 NSE 来达成^[22]。NSE 对免疫细胞应答、神经元和胶质细胞的下调可能是抑制 SCI 继发性神经炎性反应的新途径,因此可以靶向烯醇化酶来限制 SCI 后 ECM 和 MMP 介导的损伤。

3.4 NSE 与心脏骤停后脑损伤 检测血液中的脑源性标记物可能是最直接和最明显的量化心脏骤停后脑损伤的方法, NSE 是欧洲复苏委员会 (European Resuscitation Council, ERC) 和欧洲危重病医学会 (European Society of Intensive Care Medicine,

ESICM)目前惟一推荐的标记物^[23]。Reuter 等^[24]对连续接受静脉—动脉体外膜肺氧合技术(vnoarterial extracorporeal membranous oxygenation, VA-ECMO)治疗的难治性心源性休克和院内难治性心脏骤停成年患者进行了研究,发现第 3 d 血清 NSE 浓度升高与短期病死率及不良功能结果独立相关。在接受头颅 CT 检查的患者亚组中,与未患脑卒中的患者相比,诊断为脑卒中患者的 NSE 浓度显著升高。一项关于血清 NSE 水平预测心脏骤停后长期不良神经预后的研究,对 368 例心脏骤停复苏患者 2~6 个月的神经系统结果根据脑功能分类(cerebral performance category, CPC)量表进行分析,结果发现 NSE 阈值在 48 h > 101 $\mu\text{g/L}$ 和在 72 h > 80 $\mu\text{g/L}$ 时,预测不良神经系统结果的假阳性率 $\leq 2\%$ 。而按照最近欧洲复苏委员会(ERC)建议的 48 h 和/或 72 h > 60 $\mu\text{g/L}$ 的阈值,则产生了 4.3% 的假阳性率(95% CI 0.9%~7.4%)^[25]。Kang 等^[26]比较了血清 NSE (serum neuron-specific enolase, sNSE)、cNSE 和脑脊液 S100B (cerebrospinal fluid S100 calcium-binding protein B, cS100B) 在院外心脏骤停(out-of-hospital cardiac arrest, OHCA)幸存者中的预后表现,这项前瞻性观察研究入组了 45 例患者,每 24h 采集一次样本,直至自主循环恢复后 72h。在所有时间点,神经功能不良结果组的 sNSE、cNSE 和 cS100B 显著高于良好结果组。不良结果组的 cNSE 和 cS100B 随时间显著增加(基线与 24、48 和 72 h)。sNSE 在 24、48 和 72 h 的灵敏度显著低于 cNSE 或 cS100B。cNSE 和 cS100B 与 0 假阳性率(false-positive rate, FPR)相关的敏感性在基线时分别为 66.6% 和 45.5%、24h 分别为 80.0% 和 80.0%、48h 分别为 84.2% 和 94.7%、72 h (FPR, 5.0%) 分别为 88.2% 和 94.1%。其结论为高 cNSE 和 cS100B 是 OHCA 幸存者神经系统预后不良的强有力预测因素。脑损伤是心脏停搏后神经系统预后不良以及死亡的最主要原因,评估心脏停搏患者能否恢复脑功能是临床决定后续治疗、判断预后的重要手段,目前尚无公认评估心肺复苏术预后标准的 NSE 标本留取时间以及 NSE 阈值。

3.5 NSE 与心血管术后脑损伤 Kimura 等^[27]采用中低温循环联合顺行性脑灌注,分别对 37 例和 23 例患者进行了全弓置换和半弓置换。测量手术前和手术后 1 d 抽取的静脉血样本中的血清 NSE 水平。根据神经损伤的严重程度分为无神经功能障碍($n=48$)、暂时性神经功能障碍($n=5$)、永久性神经功能障碍($n=7$)。通过计算机断层扫描或磁共振成像估计脑卒中的程度。研究发现血清 NSE 水平是胸主动脉手术后不良神经系统结局和脑卒中程度的重要预测因子。但也有研究发现 NSE 不是心血管手术对先天性心脏缺陷儿童神经发育模式影响的可靠神经标志物^[28]。由于 NSE 评估心血管术后脑损伤病情及预后的特异性不高,所以难以独立进行评价,需与其他指标联合。

3.6 NSE 与一氧化碳中毒后并发症 迟发性神经精神后遗症(delayed neuropsychiatric sequelae, DNS)是一氧化碳中毒(carbon monoxide poisoning, COP)的主要并发症,可由炎症反应引起,炎症反应是心脏骤停和卒中时神经元损伤的一种机制。NSE 被认为是急性 COP 中 DNS 的预测因子,临床上早期识别

急性 COP 患者是否经历 DNS 对后续治疗至关重要^[29]。Nah 等^[30]研究发现 48 h 时间点的 NSE 水平 > 20.98 $\mu\text{g/L}$ 可作为 DNS 的独立预测因子。Xu 等^[31]探讨了 NSE 基因多态性与急性一氧化碳中毒后迟发性脑病(delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning, DEACMP)的关系,结果表明 rs2071419 和 rs3213434 是 DEACMP 的易感位点, NSE rs2071419 的 C 等位基因和 rs3213434 的 T 等位基因以及单倍型 GGTTTC 和 CCTTTC 可能是 DEACMP 的危险因素。在临床急救的过程中,能够反映中毒患者脑损伤程度的特异度及敏感度生化指标至关重要,血清 NSE 浓度变化可以反映患者中毒严重程度及预后,同时指导临床治疗,尤其对于 COP 并发症具有较高的临床实用价值。

3.7 NSE 与其他神经系统疾病 神经退行性疾病的病理过程导致神经变性并诱导神经胶质细胞活化,导致促炎性细胞因子(IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6)的分泌。反应性星形胶质细胞还分泌甲壳质酶蛋白 40(chitinase protein 40, YKL-40),刺激细胞迁移,从而维持慢性炎症反应^[32]。另外活化的神经胶质细胞通过释放炎性细胞因子来促进神经变性,充当反馈回路。相反,脑脊液中 NSE 的易位和释放是由于神经元变性引起的,并可能诱导炎性细胞因子的释放^[33]。Lee 等^[34]的研究前瞻性纳入了 48 例短暂性全面遗忘症(transient global amnesia, TGA)患者,分析了血清 NSE 水平升高和正常患者之间临床特征的差异。在 48 例 TGA 患者中,16 例患者(33.3%)的血清 NSE 水平升高(25.0 $\mu\text{g/L} \pm 11.5 \mu\text{g/L}$),而 32 例患者(66.7%)的血清 NSE 水平正常(12.8 $\mu\text{g/L} \pm 2.1 \mu\text{g/L}$)。血清 NSE 水平升高的患者比血清 NSE 水平正常的患者表现出更严重的认知障碍。血清 NSE 水平在有和没有认知障碍的患者之间显示出相对较高的区分度,曲线下面积(AUC)为 0.684,在临界值为 17.3 $\mu\text{g/L}$ 时具有 0.800 的敏感度和 0.744 的特异度。表明神经元细胞功能障碍可能与 TGA 发病机制有关,此外它可能与认知障碍有关。血清 NSE 与癫痫发作的时间、频率以及发作后的认知功能有关^[35]。Hanin 等^[36]研究脑损伤生物标志物 NSE 和 S100B 是否可以反映脑电图活动并有助于评估癫痫发作风险,结果发现只有 NSE 水平与脑电图评分呈正相关, NSE 水平高于 17 $\mu\text{g/L}$ 的患者与癫痫发作相关,另外 NSE 水平增加超过 15% 与患者的癫痫发作复发相关。 β 螺旋蛋白相关性神经变性病(Beta-propeller protein-associated neurodegeneration, BPAN)是神经变性与脑组织铁沉积的一种遗传性神经变性病,其典型特征是儿童期非进行性整体发育迟缓和癫痫发作,随后在青春期或成年早期出现进行性神经功能衰退,伴有帕金森病和痴呆症^[37]。研究发现血清 NSE 水平可能是儿童 BPAN 的诊断生物标志物,但在识别儿童期后患有 BPAN 的患者方面价值较低^[38]。帕金森病(Parkinson's disease, PD)和路易体痴呆(dementia with Lewy bodies, DLB)是常见的神经退行性疾病,tau 蛋白、磷酸化 tau 蛋白(phosphorylated tau, p-tau)和 NSE 的脑脊液水平可用于区分 PD/DLB 和非 PD/DLB^[39]。脑脊液 NSE 水平在肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)中升高,并可有效区分 ALS 和脊髓型颈椎病(cervical spondylotic myelopathy, CSM)^[40]。脑

脊液中 NSE 和 S100 含量的联合检测可用于鉴别诊断合并无菌性脑膜炎或化脓性脑膜炎的川崎病(Kawasaki disease, KD), KD 合并无菌性脑膜炎比合并化脓性脑膜炎患儿的 S100 蛋白和 NSE 水平低^[41]。

4 小结与展望

目前对中枢神经系统损伤患者的预后主要基于行为评估、神经电生理评估、神经影像学 and 临床经验。然而,评估者的主观判断可能会干扰行为评估和临床经验,神经电生理检查易受临床药物干扰,因此,中枢神经系统损伤的预测需要全面的评估。NSE 水平变化和中枢神经系统损伤关系密切,检测 NSE 水平在判断中枢神经系统损伤程度、鉴别诊断、评估预后等方面有很大的临床应用前景,然而由于采集样本的时间点不同、人群异质性以及缺乏长期数据,目前尚无统一和标准化的方案,有待进一步开展研究深入探究。

参考文献

- [1] Kishore J, Shaikh F, Zubairi AM, et al. Evaluation of serum neuron specific enolase levels among patients with primary and secondary burning mouth syndrome[J]. Cephalalgia, 2022, 42 (2): 119-127. DOI: 10.1177/03331024211046613.
- [2] Ye W, Tang Y, Dong X, et al. Predictive value and correlation of neuron-specific enolase for prognosis in patients with coma: A systematic review and meta-analysis[J]. Eur Neurol, 2020, 83 (6): 555-565. DOI: 10.1159/000509801.
- [3] Dichev V, Kazakova M, Sarafian V. Ykl-40 and neuron-specific enolase in neurodegeneration and neuroinflammation[J]. Rev Neuroscience, 2020, 31 (5): 539-553. DOI: 10.1515/revneuro-2019-0100.
- [4] Sun L, Shao Q. Expression changes and clinical significance of serum neuron-specific enolase and squamous cell carcinoma antigen in lung cancer patients after radiotherapy[J]. Clinics, 2023, 78: 100135. DOI: 10.1016/j.clinsp.2022.100135.
- [5] Baroni S, Rapisarda A, Gentili V, et al. CSF neuron-specific enolase as a biomarker of neurovascular conflict severity in drug-resistant trigeminal neuralgia: A prospective study in patients submitted to microvascular decompression[J]. Neurol Sci, 2022, 44 (4): 1319-1325. DOI: 10.1007/s10072-022-06573-z.
- [6] Kim HB, Yang JH, Lee YH. Are serial neuron-specific enolase levels associated with neurologic outcome of ecpr patients: A retrospective multicenter observational study[J]. Am J Emerg Med, 2023, 69: 58-64. DOI: 10.1016/j.ajem.2023.03.047.
- [7] Yukimoto R, Nishida N, Hata T, et al. Specific activation of glycolytic enzyme enolase 2 in brv600e-mutated colorectal cancer[J]. Cancer Sci, 2021, 112 (7): 2884-2894. DOI: 10.1111/cas.14929.
- [8] Tang X, Ke J, Chen F, et al. Hypoxic preconditioned mesenchymal stem cells ameliorate rat brain injury after cardiopulmonary resuscitation by suppressing neuronal pyroptosis[J]. J Cell Mol Med, 2023, 27 (13): 1836-1858. DOI: 10.1111/jcmm.17782.
- [9] Haque A, Polcyn R, Matzelle D, et al. New insights into the role of neuron-specific enolase in neuro-inflammation, neurodegeneration, and neuroprotection[J]. Brain Sci, 2018, 8 (2): 33. DOI: 10.3390/brainsci8020033.
- [10] Zha Z, Li D, Zhang P, et al. Neuron specific enolase promotes tumor

- metastasis by activating the wnt/ β -catenin pathway in small cell lung cancer[J]. Transl Oncol, 2021, 14 (4): 101039. DOI: 10.1016/j.tranon.2021.101039.
- [11] Mozafari J, Motamed H, Hanafi MG, et al. The diagnostic value of neuron-specific enolase in children with mild blunt trauma requiring cranial ct scan[J]. Open Access Emerg Med, 2020, 12: 1-5. DOI: 10.2147/OAEM.S223179.
- [12] Chen W, Wang G, Yao C, et al. The ratio of serum neuron-specific enolase level to admission glasgow coma scale score is associated with diffuse axonal injury in patients with moderate to severe traumatic brain injury[J]. Front Neurol, 2022, 13: 887818. DOI: 10.3389/fneur.2022.887818.
- [13] Slavoaca D, Birle C, Stan A, et al. Prediction of neurocognitive outcome after moderate-severe traumatic brain injury using serum neuron-specific enolase and s100 biomarkers[J]. J Med Life, 2020, 13 (3): 306-313. DOI: 10.25122/jml-2020-0147.
- [14] Gao Y, Duan J, Ji H, et al. Levels of s100 calcium binding protein b (S100B), neuron-specific enolase (NSE), and cyclophilin A (cypA) in the serum of patients with severe craniocerebral injury and multiple injuries combined with delirium transferred from the ICU and their prognostic value[J]. Ann Palliat Med, 2021, 10 (3): 3371-3378. DOI: 10.21037/apm-21-424.
- [15] Nasution I, Bangun S. Relationship between neuron-specific enolase serum levels with lesion volume and clinical outcome in acute stroke patients[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2022, 10 (B): 324-329. DOI: 10.3889/oamjms.2022.8431.
- [16] 方曙平, 江敦清, 吴秀娟, 等. 血清 NSE 水平与高血压脑出血颅内压的相关性研究[J]. 临床神经外科杂志, 2022, 19(3): 333-336. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7770.2022.03.018.
- [17] Huang Y, Wang Z, Huang ZX, et al. Biomarkers and the outcomes of ischemic stroke[J]. Front Mol Neurosci, 2023, 16: 1171101. DOI: 10.3389/fnmol.2023.1171101.
- [18] Kurakina AS, Semenova TN, Guzanova EV, et al. Prognostic value of investigating neuron-specific enolase in patients with ischemic stroke[J]. Sovrem Tehnol Med, 2021, 13 (2): 68-72. DOI: 10.17691/stm2021.13.2.08.
- [19] Arca G, Arnaez J, Agut T, et al. Neuron-specific enolase is correlated with lesion topology, relative infarct volume and outcome of symptomatic nais[J]. Arch Dis Child-Fetal, 2019, 105 (2): 132-137. DOI: 10.1136/archdischild-2018-316680.
- [20] Dolma S, Kumar H. Neutrophil, extracellular matrix components, and their interlinked action in promoting secondary pathogenesis after spinal cord injury[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58 (9): 4652-4665. DOI: 10.1007/s12035-021-02443-5.
- [21] Shams R, Banik NL, Haque A. Implications of enolase in the rankl-mediated osteoclast activity following spinal cord injury[J]. Biocell, 2021, 45 (6): 1453-1457. DOI: 10.32604/biocell.2021.017659.
- [22] McCoy HM, Polcyn R, Banik NL, et al. Regulation of enolase activation to promote neural protection and regeneration in spinal cord injury[J]. Neural Regen Res, 2023, 18 (7): 1457-1462. DOI: 10.4103/1673-5374.361539.
- [23] Sharma K, John M, Zhang S, et al. Serum neuron-specific enolase thresholds for predicting postcardiac arrest outcome: A systematic re-

- view and meta-analysis[J]. *Neurology*, 2021, 98 (1): e62-e72. DOI: 10.1212/WNL.00000000000012967.
- [24] Reuter J, Peoc'h K, Bouadma L, et al. Neuron-specific enolase levels in adults under venoarterial extracorporeal membrane oxygenation [J]. *Crit Care Explor*, 2020, 2 (10): e0239. DOI: 10.1097/CCE.0000000000000239.
- [25] Lissner Östlund E, Levin H, Nielsen N, et al. Neuron-specific enolase and long-term neurological outcome after OHCA-a validation study [J]. *Resuscitation*, 2021, 168: 206-213. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2021.09.001.
- [26] Kang C, Jeong W, Park JS, et al. Comparison of prognostic performance between neuron-specific enolase and s100 calcium-binding protein b obtained from the cerebrospinal fluid of out-of-hospital cardiac arrest survivors who underwent targeted temperature management [J]. *J Clin Med*, 2021, 10 (7): 1531. DOI: 10.3390/jcm10071531.
- [27] Kimura F, Kadohama T, Kitahara H, et al. Serum neuron-specific enolase level as predictor of neurologic outcome after aortic surgery [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 68 (4): 282-290. DOI: 10.1055/s-0038-1677511.
- [28] Chiperi LE, Tecar C, Toganel R. Neuromarkers which can predict neurodevelopmental impairment among children with congenital heart defects after cardiac surgery: A systematic literature review [J]. *Dev Neurorehabil*, 2023, 26 (3): 206-215. DOI: 10.1080/17518423.2023.2166618.
- [29] Abdel Salam ME, Elawady EH, Khater AS, et al. Neuropsychiatric sequelae of acute carbon monoxide poisoning: the predictive role of neuron specific enolase and glial fibrillary acidic protein [J]. *Neurotoxicology*, 2021, 85: 115-120. DOI: 10.1016/j.neuro.2021.05.003.
- [30] Nah S, Choi S, Kim GW, et al. Prediction of delayed neuropsychiatric sequelae after carbon monoxide poisoning via serial determination of serum neuron-specific enolase levels [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40 (12_suppl): S339-S346. DOI: 10.1177/09603271211043475.
- [31] Xu L, Liu X, Zhao J, et al. Association between neuron-specific enolase gene polymorphism and delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning [J]. *Behav Neurol*, 2020, 2020: 8819210. DOI: 10.1155/2020/8819210.
- [32] Baldacci F, Lista S, Palermo G, et al. The neuroinflammatory biomarker ykl-40 for neurodegenerative diseases: Advances in development [J]. *Expert Rev Proteomic*, 2019, 16 (7): 593-600. DOI: 10.1080/14789450.2019.1628643.
- [33] Hao Y, Liu X, Zhu R. Neurodegeneration and glial activation related csf biomarker as the diagnosis of alzheimer's disease: A systematic review and an updated meta-analysis [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2022, 19 (1): 32-46. DOI: 10.2174/1567205018666211208142702.
- [34] Lee DA, Jun KR, Kim HC, et al. Significance of serum neuron-specific enolase in transient global amnesia [J]. *J Clin Neurosci*, 2021, 89: 15-19. DOI: 10.1016/j.jocn.2021.04.012.
- [35] Zhang Y, Zhang S, Ji Y, et al. Relationship of serum atpase activity and the levels of neuron-specific enolase, s100b and b-cell lymphoma/leukemia-2 with cognitive function after epileptic seizure [J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9 (5): 3366-3372. DOI: 10.21037/apm-20-1494.
- [36] Hanin A, Demeret S, Denis JA, et al. Serum neuron-specific enolase: A new tool for seizure risk monitoring after status epilepticus [J]. *Eur J Neurol*, 2021, 29 (3): 883-889. DOI: 10.1111/ene.15154.
- [37] Wilson JL, Gregory A, Kurian MA, et al. Consensus clinical management guideline for beta-propeller protein-associated neurodegeneration [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2021, 63 (12): 1402-1409. DOI: 10.1111/dmcn.14980.
- [38] Hirano S, Suzuki Y, Ikeda T, et al. Time course of serum neuron-specific enolase levels from infancy to early adulthood in a female patient with beta-propeller protein-associated neurodegeneration [J]. *Am J Med Genet A*, 2023, 191 (5): 1384-1387. DOI: 10.1002/ajmg.a.63135.
- [39] Katayama T, Sawada J, Kikuchi-Takeguchi S, et al. cerebrospinal fluid levels of alpha-synuclein, amyloid β , tau, phosphorylated tau, and neuron-specific enolase in patients with parkinson's disease, dementia with lewy bodies or other neurological disorders: Their relationships with cognition and nuclear medicine imaging findings [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 715: 134564. DOI: 10.1016/j.neulet.2019.134564.
- [40] Tsukahara A, Hosokawa T, Nishioka D, et al. Neuron-specific enolase level is a useful biomarker for distinguishing amyotrophic lateral sclerosis from cervical spondylotic myelopathy [J]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1): 22827. DOI: 10.1038/s41598-021-02310-2.
- [41] Wang J, Chen S, Wang X, et al. Value of NSE and s100 protein of kawasaki disease with aseptic meningitis in infant [J]. *Open Life Sci*, 2019, 14: 358-362. DOI: 10.1515/biol-2019-0040.

(收稿日期: 2023-07-22)

(上接 1105 页)

- [37] 杨茂艺, 胡志鹏, 岳仁宋, 等. 半夏泻心汤通过调控“肠道菌群-宿主”代谢对 2 型糖尿病大鼠胰岛功能的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(4): 2025-2032.
- [38] 姜广坤, 牛雯颖, 张文妮, 等. 连梅汤对糖尿病模型小鼠血糖和肠道菌群的影响 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(5): 1953-1961.
- [39] 何文娇, 胡甜, 石晶晶, 等. 基于 16S rDNA 技术研究黄连解毒汤对 db/db 糖尿病小鼠肠道菌群的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(8): 5024-5028.
- [40] 丘文龙, 彭瑜威, 杨心怡, 等. 生脉散对 2 型糖尿病模型大鼠脂代谢和肠道菌群的影响 [J]. *广东医科大学学报*, 2023, 41(2): 127-131, 158.
- [41] 陈新华. “调脏通络”电针对糖尿病小鼠肠道菌群影响的研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2019.
- [42] 王紫欣. 针刺疗法对 2 型糖尿病患者疗效和肠道菌群影响的观察 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [43] 司原成. 健脾益气针法对肥胖鼠肠道菌群及肠黏膜 TLRs/ TRAF6 信号通路的调控研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [44] 温静怡. 艾灸疗法对肥胖大鼠肠道菌群影响的研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2019.
- [45] 桑佳佳, 陶琦, 郝峰, 等. “健脾化浊”推拿法对 2 型糖尿病患者糖代谢和肠道菌群的影响 [J]. *中医药临床杂志*, 2023, 35(1): 155-160. DOI: 10.16448/j.cjtem.2023.0135.

(收稿日期: 2023-06-07)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.020

综 述

三结构域蛋白 21 在肝细胞癌发生发展中的作用研究进展

陈颖综述 董卫国审校



基金项目: 湖北省重点研发计划项目(2020BCA066)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科(陈颖、董卫国);武汉大学人民医院中心实验室(陈颖)

通信作者: 董卫国, E-mail: dongweigu@whu.edu.cn

【摘 要】 肝细胞癌(HCC)是原发性肝癌的最主要病理类型,其发病率与病死率高,疾病负担大。同时 HCC 风险因素众多,发病机制复杂,至今仍未得到清晰阐述。三结构域蛋白 21(TRIM21)是一类含有高度保守结构域蛋白家族中的一员,具有 E3 泛素连接酶活性,参与蛋白质的泛素化修饰并致其被降解。而 TRIM21 在 HCC 中发挥作用则主要基于 TRIM21 的泛素化修饰功能。TRIM21 在 HCC 组织细胞中的表达水平存在差异,并与 HCC 患者的疾病分期、分化程度、预后等有关。现就 TRIM21 在 HCC 中的作用研究进展作一综述。

【关键词】 肝细胞癌;三结构域蛋白 21;E3 泛素连接酶;差异表达;作用机制

【中图分类号】 R 【文献标识码】 A

Research progress on the role of tripartite motif containing protein 21 in the development of hepatocellular carcinoma

Chen Ying*, Dong Weiguo. * Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China; Central Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Dong Weiguo, E-mail: dongweigu@whu.edu.cn

Funding program: Key R&D Plan Projects in Hubei Province(2020BCA066)

【Abstract】 Hepatocellular carcinoma (HCC) is the predominant pathological type of primary liver cancer, with a high morbidity and mortality rate and also brings society high disease burden. At the same time, the risk factors for HCC are numerous and the pathogenesis is complex which are still not clearly understood. Tripartite motif containing protein 21 (TRIM21) is a member of a family of highly conserved structural domain proteins with E3 ubiquitin ligase activity, which are involved in ubiquitination modification and degradation of proteins. The expression level of TRIM21 in HCC cells varies. TRIM21 is also associated with the disease stage, differentiation and prognosis of HCC patients. In conclusion, TRIM21 plays a complex and important role in HCC, therefore, this paper reviews the progress of research on the role of TRIM21 in HCC.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Tripartite motif containing protein 21; E3 ubiquitin ligase; Differential expressions; Mechanism

原发性肝癌在世界范围内发病率与病死率居高不下,是全球第 6 大常见的癌症,也是癌症死亡的第 3 大原因^[1]。在我国,原发性肝癌是第 4 位常见恶性肿瘤和第 2 位肿瘤致死病因^[2]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最多发的类型,占比高达 75%~85%^[1]。HCC 的发病机制复杂、异质性强,肝炎病毒感染、酒精或非酒精性脂肪性肝病、黄曲霉毒素、遗传诱发因素等均与 HCC 发生发展密切相关。对于符合特定条件的患者,手术切除是最佳的治疗手段,但手术后也伴随着极大复发可能。鉴于疾病复杂性及个体差异,目前临床推荐多学科参与,制订个体化的综合治疗方案^[3]。

诸多研究表明,三结构域蛋白 21(tripartite motif containing protein 21, TRIM21)与系统性红斑狼疮及干燥综合征等自身免疫性疾病相关,其在特异性与非特异性抗病毒感染中也发挥了

关键性作用^[4-5]。近年来,TRIM21 在恶性肿瘤发生发展中的作用也备受重视。如 TRIM21 参与诸多恶性肿瘤的发生、增殖、凋亡、侵袭和转移过程,包括乳腺癌、鼻咽癌、肺癌、肾癌等^[6-9]。现阶段的研究提示以 TRIM21 为靶点的治疗方式有望在癌症的临床实践中得以应用。近年来,研究发现 TRIM21 在 HCC 中也扮演着复杂且重要的角色,但目前国内尚无较全面的描述,故本文对 TRIM21 在 HCC 发生发展中作用的研究进展进行系统综述。

1 TRIM21 的结构与功能

TRIM21 属于 TRIM 家族的成员,编码该蛋白的基因位于 11 号染色体上,在细胞质和细胞核均有表达。TRIM21 蛋白氨基端包含 TRIM 家族蛋白特征保守的 RING、B-box 和 Coiled-coil 结构域,其羧基端则为 PRYSPRY 结构域。RING 结构域具有

E3 泛素连接酶活性^[10]; B-box(在 TRIM21 中为 1 个 B-box2)结构域或能调节由 RING 介导的泛素化以及与其他蛋白质的相互作用^[11]; Coiled-coil 结构域参与 TRIM21 同源二聚体的形成,进而促进 RING 结构域 E3 连接酶的底物识别与泛素化过程^[12]; PRYSPRY 结构域能介导蛋白质及 RNA 的各种底物分子的识别^[13]。蛋白质的泛素化修饰由酶促级联反应完成。泛素在 ATP 依赖性反应中被 E1 酶激活并在 C 末端与 E1 形成硫酯键,然后转移到 E2 酶的半胱氨酸活性位点上形成 E2-Ub 硫酯中间体。E3 连接酶与 E2-Ub 硫酯和底物结合,催化泛素从 E2 的活性位点半胱氨酸转移到底物赖氨酸残基或 N 末端。RING 结构域是真核生物中重要的 E3 泛素连接酶,泛素化的蛋白接着被引导入蛋白酶体并被降解,从而抑制蛋白的活性^[14]。现有研究证实 TRIM21 发挥各种功能很大程度上基于其 E3 泛素连接酶活性。

2 TRIM21 在 HCC 中的表达

2.1 表达增加 有学者在人类蛋白质图谱网站中对相关免疫组织化学图像进行比较,得出人类 HCC 组织 TRIM21 的蛋白质表达水平高于正常组织的结论^[15]。类似的,通过 TCGA 数据库及人类蛋白质图谱数据库分析,结果显示 HCC 组织较正常肝组织 TRIM21 表达升高,差异有统计学意义。与正常人肝细胞系 MIHA 相比,TRIM21 在 Hep3B 中表达增高^[16]。Wang 等^[17]将 49 个 HCC 样本作为病例组,29 个癌旁组织和 20 个肝血管瘤组织的队列作为对照,进行了 TRIM21 免疫组织化学染色,发现 TRIM21 蛋白水平在 HCC 组织中明显高于来自肝血管瘤或癌旁的非恶性肝组织。

2.2 表达减少 相反地,亦有研究通过基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)中的高通量数据,得出 TRIM21 在 HCC 组织中表达降低的结论^[18]。相较正常人肝细胞系 MIHA, TRIM21 在 HepG2、Huh7 和 SK-Hep-1 中 mRNA 水平降低^[16]。Ding 等^[18]用免疫组织化学染色的方法检测了 TRIM21 在 70 个肝癌组织样本(61 例 HCC 和 9 例胆管细胞癌)和 10 个非肿瘤性肝组织样本中的表达,发现正常肝组织中强阳性或中度阳性样本的百分比显著高于肿瘤组织。在人 HCC 细胞系 SMMC7721、Huh7、Bel-7402、PLC、LM3、97L、97H 中,TRIM21 的蛋白表达低于正常肝细胞系 L02。

HCC 组织中 TRIM21 的表达水平是否较正常肝组织升高,不同的研究通过在线数据库分析、肝癌细胞系与临床样本收集检测的方式得出了不同的结论。基于数据库中的分析存在着不同的研究在不同时间节点选取不同的数据库进行进一步分析的差异。而收集临床样本进行检测的过程中也存在着纳入与排除标准不同,收集样本的数量、来源、人种、性别、分期等因素的差异。无论是收集到的在线数据库中的样本或临床收集样本都需要样本具有代表性才能更好地推论 TRIM21 在 HCC 总体中表达的变化情况。基础研究中针对肝癌细胞系与正常肝细胞系进行 TRIM21 表达量的检测也与细胞系的类型密切相关。

3 TRIM21 差异表达与 HCC 的联系

在细胞和动物模型中进行 TRIM21 表达的敲除或者敲低,

所引起的 HCC 调节也存在两个截然相反的效应。实验诱导产生的 HCC 模型中,TRIM21 敲除小鼠相较野生型小鼠诱导模型,其肝损伤更严重并且产生了更多的癌结节^[19]。实验性敲低 97H 及 LM3 细胞系中 TRIM21 的表达可增强 HCC 细胞的体外侵袭能力;裸鼠尾静脉注射 siTRIM21 LM3 细胞可增强其肺转移能力^[20]。此外,李涛等^[21]通过 siRNA 干扰肝癌细胞系中 TRIM21 的表达,发现 TRIM21 表达降低可促进细胞的增殖。同样的,Ding 等^[18]研究显示 HepG2 和 LM3 细胞中 TRIM21 的沉默可促进 HCC 细胞的增殖、集落形成、迁移和癌细胞抗凋亡。相反地,有研究提示小鼠 TRIM21 敲除可抑制二乙基亚硝胺/苯巴比妥诱导下的 HCC 发展^[17]。

TRIM21 表达水平的高低与 HCC 疾病进展及预后的关系在不同的研究中也未得到一致的结论。有研究认为 TRIM21 的 mRNA 表达水平与 HCC 的个体癌症分期和肿瘤恶性程度呈正相关。然而,进一步分析显示 TRIM21 的 mRNA 表达与 HCC 患者的预后相关性没有统计学意义^[15]。而另有研究指出,TRIM21 高表达患者较低表达患者预后更差^[16]。另一项研究认为 TRIM21 的高表达与疾病进展及较差的总生存期呈正相关,但与无病生存期无关^[22]。但是,Ding 等^[18]的研究分析了 GEO 数据库的相关数据,结果提示 TRIM21 高表达肿瘤比 TRIM21 低表达肿瘤具有更好的预后。研究证明抑制代偿性 NRF2 升高可增强双硫仑/Cu 诱导的铁死亡对 HCC 细胞的攻击,从而促进双硫仑/Cu 和索拉非尼协同作用的细胞毒性^[22]。Nrf2 还受到 Quiescin 巯基氧化酶 1 抑制,协同增强索拉非尼诱导的铁死亡^[23]。在 HepG2 细胞系中的研究表明,P62 表达水平的上调与肝癌细胞对索拉非尼的敏感性降低有关^[24]。由此猜测,TRIM21 对 P62-Keap1-Nrf2 途径的抑制作用可能增强索拉非尼治疗的敏感性。此外,明确 HCC 中 TRIM21 差异表达有助于 TRIM21 在 HCC 诊断中的应用。Wang 等^[17]比较了 TRIM21 与临床常用的 HCC 生物标志物甲胎蛋白的诊断能力,发现在受试者工作特征曲线中,TRIM21 的曲线下面积(AUC = 0.798)高于甲胎蛋白(AUC = 0.756)。有趣的是,TRIM21 基因多态性也与 HCC 相关,并可用于评估 HCC 患者的远处转移。Lee 等^[25]分析了来自 1 196 例正常对照组和 394 例 HCC 患者的 TRIM21 基因的两个单核苷酸多态性:rs4144331 和 rs915956,发现拥有 TRIM21 rs915956 A 等位基因的年轻患者(<65 岁)和有吸烟史且携带 rs4144331 的 T 等位基因的患者患 HCC 的风险均增加。

TRIM21 参与 HCC 发生发展的多个环节,明确 TRIM21 在 HCC 发生发展中的作用机制对 HCC 临床诊断、治疗、预后判断有潜在的价值,甚至可发现 HCC 治疗的新靶点,进而补充现有治疗方案。

4 TRIM21 在 HCC 中的作用机制

4.1 p62-Keap1-Nrf2 途径 有研究报道 TRIM21 利用其泛素 E3 连接酶活性调节 p62-Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(Kelch like-ECH-associated protein 1, Keap1) - 核因子红系 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2 - related factor 2, Nrf2)途径,从而促进 HCC 发生。体内外实验均证明 TRIM21 敲除可防止氧化性肝损伤从而减少 HCC 的发生发展^[17]。

Nrf2 在维持细胞内稳态以适应性地响应外源化合物和氧化应激中占据着重要的角色^[26]。处于稳态时,Keap1 与细胞质中的 Nrf2 相互作用并促进 Keap1 依赖的泛素化,继而使 Nrf2 在蛋白酶体中被降解而维持在较低水平,即 Keap1 是 Nrf2 的负调节因子。在氧化应激情况下,Keap1 对 Nrf2 的抑制作用主要受到经典与非经典途径的负调控,Nrf2 较稳态时表达增加^[27]。(1)经典途径:Keap1 的半胱氨酸残基被氧化并诱导其构象变化,这种蛋白修饰阻止 Keap1 对 Nrf2 的泛素化,更多的 Nrf2 转移到细胞核中。(2)非经典途径:SQSTM1/p62(简称 p62)具有 ETGE 基序的蛋白质,磷酸化的 p62 与 Keap1 亲和力增高,竞争 Keap1-Nrf2 结合,从而阻断 Keap1 依赖的 Nrf2 泛素化。Nrf2 正调节 p62 基因表达,构成正反馈环路。通过上述途径,更多的 Nrf2 发生核易位并与抗氧化反应原件(antioxidant response element, ARE)结合,激活抗氧化反应相关基因的转录^[28]。TRIM21 在蛋白质毒性应激和氧化应激诱导下利用其 PRYSPRY 结构域直接与 p62 相互作用并通过 K63 键在赖氨酸 K7 处泛素化 p62,进而阻碍 p62 的寡聚化及与 Keap1 的结合,抑制 p62-Keap1-Nrf2 抗氧化应激途径^[29],从而增加细胞氧化损伤并诱发 HCC。

最近的研究已经确定了 Nrf2 的许多功能,超出了其氧化还原调节能力,其中就包括其在癌症发生发展中的复杂作用^[30]。p62 的缺失促进了 L-Atg5/Tsc1 双基因敲除鼠中肝脏肿瘤的进展。Nrf2 敲除能够加强肝细胞的增殖,改善双基因敲除小鼠的代谢重编程和存活,而不会形成肿瘤^[31]。在二乙基亚硝胺诱导的大鼠肝癌模型中,在 HCC 发展过程中 Nrf2 靶向基因的表达逐渐增加,Nrf2 同 Keap1 与肌动蛋白细胞骨架的相互作用在 HCC 结节内被破坏^[32]。有研究表明,TRIM21 和 p62 之间的关联可被升高的 RPRD1A 竞争性地中断,随后抑制 p62 的泛素化,稳定 Nrf2,进一步促进 HCC 的进展^[33]。一项在大鼠中的研究提示 Nrf2 在肝癌发生的早期会发生突变或者激活,这在后续肝癌的进展中发挥关键作用^[34]。

与氧化应激反应类似,p62-Keap1-Nrf2 抗氧化途径在 HCC 发生发展中的作用复杂,与具体病理生理环境相关,是一把双刃剑,同时在疾病的不同阶段有不同的促癌机制^[35]。基于 p62-Keap1-Nrf2 抗氧化途径多样的调节效应,以及 HCC 发病机制的高度复杂性与异质性,需要更多的相关研究来明确 TRIM21 利用该途径对 HCC 发挥的作用。

4.2 抗 HBV 途径

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是 HCC 的重要危险因素。TRIM21 能够抑制病毒的复制,从而减少由病毒性肝炎发展而来的 HCC。HBV 病毒 DNA 复制过程中,TRIM21 可结合 HBx 蛋白发挥其 E3 泛素连接酶活性使得相关蛋白降解,从而抑制病毒复制与 HCC 发生发展^[36]。HBx 是由 HBV DNA 开放阅读框 X 编码的一种调节蛋白,是通过蛋白质间相互作用控制细胞和病毒的启动子和增强子来驱动 HBV 病毒感染的。此外,HBx 还在 HCC 中扮演重要角色,通过调节 HCC 标志物以维持增殖信号转导,逃避生长抑制,促进免疫逃逸和永生性复制,辅助参与肿瘤引发的炎症反应,触发侵袭和转移,促进血管生成,诱导基因组不稳定,防止细胞凋

亡和扰乱细胞能量代谢来影响下游细胞机制^[37]。HBV 感染早期,特异性抗体尚未形成,TRIM21 可以与 HBx 直接结合,促进 HBx 降解^[36]。特异性抗体形成之后,抗体包被病毒并进入细胞质,TRIM21 的 PRYSPRY 结构域结合抗体的 Fc 段,从而介导 HBx 蛋白质降解^[38]。除了泛素化降解 HBx 蛋白之外,有研究表明 TRIM21 可以结合 HBV DNA 聚合酶并参与泛素化降解,进一步抑制病毒复制活性^[39]。

综上所述,TRIM21 通过介导 HBV 复制所需的 HBx 蛋白以及 HBV DNA 聚合酶的泛素化降解以抑制 HBV 的复制。同时,HBx 在 HCC 进程中发挥多种多样的作用,促进 HCC 发生发展。TRIM21 通过抗 HBV 途径对 HCC 起到抑癌因子的作用。

4.3 其他途径

HCC 的危险因素众多,发病机制复杂,TRIM21 在其他通路中泛素化降解相关蛋白,从而发挥调节作用。Wang 等^[40]报道,胰腺祖细胞分化和增殖因子与 RIPK1 相互作用,通过募集 TRIM21 促进了 RIPK1 k63 相关的泛素化,促进了 RIPK1 和 NF- κ B 信号的激活,从而抑制 HCC。一项研究利用免疫共沉淀测定表明 TRIM21 能够与 β -连环蛋白相互结合,TRIM21 通过促进 β -连环蛋白的泛素化和降解来抑制 β -连环蛋白的核易位,继而抑制 HCC 细胞的侵袭^[20]。另一项研究提示乙酰辅酶 A 乙酰转移酶 1 (acetyl-CoA acetyltransferase 1, ACAT1)使甘油磷酸-O-酰基转移酶(glyceronephosphate O-acyltransferase, GNPAT)在 K128 位点乙酰化,抑制 TRIM21 介导的 GNPAT 泛素化和降解。更多稳定的 GNPAT 加速抑制 TRIM21 介导的脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FASN)降解并促进脂质代谢^[41]。实验证明,shRNA 介导的 ACAT1 消融和 GNPAT 乙酰化缺失可抑制裸鼠异种移植和二乙基亚硝胺/四氯化碳诱导的小鼠 HCC 中的脂质代谢和肿瘤进展。此外,联合 ACAT1 抑制剂与索拉非尼给药可显著延缓小鼠肿瘤的形成^[41]。类似地,李涛等^[21]认为 TRIM21 通过下调自噬相关蛋白 4B (autophagy-related protein 4B, ATG4B)影响细胞周期,进而抑制 HCC 细胞增殖。

5 小结与展望

TRIM21 具有泛素连接酶 E3 活性,参与蛋白质泛素化降解,影响蛋白生物活性,从而发挥复杂的调节作用。在不同的研究中,HCC 中 TRIM21 的表达水平无统一结论,但更多的研究认为 HCC 中 TRIM21 表达增加。这可能与不同研究之间所检索的在线数据库以及纳入研究的病例数和患者特征存在差异有关。增加病例数,根据患者特征进行分组分析与合理设置对照或能得出信度与效度更高的结论。TRIM21 对 HCC 调控结果也存在争议。TRIM21 通过对 p62-Keap1-Nrf2 途径负调节以对氧化应激反应,但氧化应激本身在癌症中就拥有着双面效应,在导致 HCC 中,TRIM21 通过此途径引发相反的调节作用。此外,TRIM21 能够加速 HBx 和 HBV DNA 聚合酶降解,抑制 HBV 复制与发挥其他抗 HCC 作用。 β -连环蛋白、ATG4B、GNPAT 和 FASN 等在 HCC 发生发展中发挥重要作用的蛋白质的泛素化也由 TRIM21 介导,最终抑制 HCC 发生发展。HCC 的发病机制复杂,患者间异质性强,TRIM21 在不同病因导致的 HCC 及不同阶段有不同的表现,这可能是导致结论不一致的重要因

素。TRIM21 与 HCC 之间关系错综复杂,想要清晰描绘 TRIM21 在 HCC 中的作用网络并应用于临床需要展开更多更全面而深入的研究。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3):209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990—2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. The Lancet, 2019, 394(10204):1145-1158. DOI:10.1016/S0140-6736(19)30427-1.
- [3] Vogel A, Meyer T, Sapisochin G, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2022, 400(10360):1345-1362. DOI:10.1016/S0140-6736(22)01200-4.
- [4] Jones EL, Laidlaw SM, Dustin LB. TRIM21/Ro52 - Roles in innate immunity and autoimmune disease [J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12:738473. DOI:10.3389/fimmu.2021.738473.
- [5] Kiss L, James LC. The molecular mechanisms that drive intracellular neutralization by the antibody-receptor and RING E3 ligase TRIM21 [J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2022, 126:99-107. DOI:10.1016/j.semcdb.2021.11.005.
- [6] Su X, Feng C, Wang S, et al. The noncoding RNAs SNORD50A and SNORD50B-mediated TRIM21-GMPs interaction promotes the growth of p53 wild-type breast cancers by degrading p53 [J]. Cell Death & Differentiation, 2021, 28(8):2450-2464. DOI:10.1038/s41418-021-00762-7.
- [7] Zhao Y, Li W, Li Q, et al. WIPI-1 inhibits metastasis and tumour growth via the WIPI-1-TRIM21 axis and MYC regulation in nasopharyngeal carcinoma[J]. Oral Oncology, 2021, 122:105576. DOI:10.1016/j.oraloncology.2021.105576.
- [8] Liu Q, Sheng Z, Cheng C, et al. Anesthetic propofol promotes tumor metastasis in lungs via GABAAR-Dependent TRIM21 modulation of Src expression[J]. Advanced Science, 2021, 8(18):2102079. DOI:10.1002/advs.202102079.
- [9] Chen X, Yong H, Chen M, et al. TRIM21 attenuates renal carcinoma lipogenesis and malignancy by regulating SREBF1 protein stability[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1):34. DOI:10.1186/s13046-022-02583-z.
- [10] Kiss L, Clift D, Renner N, et al. RING domains act as both substrate and enzyme in a catalytic arrangement to drive self-anchored ubiquitination[J]. Nature Communications, 2021, 12(1):1220. DOI:10.1038/s41467-021-21443-6.
- [11] Wallenhammar A, Anandapadamanaban M, Lemak A, et al. Solution NMR structure of the TRIM21 B-box2 and identification of residues involved in its interaction with the RING domain [J]. PLoS One, 2017, 12(7):e181551. DOI:10.1371/journal.pone.0181551.
- [12] Sanchez JG, Okreglicka K, Chandrasekaran V, et al. The tripartite motif coiled-coil is an elongated antiparallel hairpin dimer[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(7):2494-2499. DOI:10.1073/pnas.1318962111.
- [13] Woo J, Suh H, Park S, et al. Structural basis for protein recognition by B30.2/SPRY domains [J]. Molecular Cell, 2006, 24(6):967-976. DOI:10.1016/j.molcel.2006.11.009.
- [14] Berndsen CE, Wolberger C. New insights into ubiquitin E3 ligase mechanism [J]. Nat Struct Mol Biol, 2014, 21(4):301-307. DOI:10.1038/nsmb.2780.
- [15] Qi Z, Yan F, Chen D, et al. Identification of prognostic biomarkers and correlations with immune infiltrates among cGAS-STING in hepatocellular carcinoma [J]. Bioscience Reports, 2020, 40(10):BSR20202603. DOI:10.1042/BSR20202603.
- [16] Dai W, Wang J, Wang Z, et al. Comprehensive analysis of the prognostic values of the trim family in hepatocellular carcinoma [J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11:767644. DOI:10.3389/fonc.2021.767644.
- [17] Wang F, Zhang Y, Shen J, et al. The ubiquitin E3 ligase TRIM21 promotes hepatocarcinogenesis by suppressing the p62-Keap1-Nrf2 antioxidant pathway [J]. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology, 2021, 11(5):1369-1385. DOI:10.1016/j.jcmgh.2021.01.007.
- [18] Ding Q, He D, He K, et al. Downregulation of TRIM21 contributes to hepatocellular carcinoma carcinogenesis and indicates poor prognosis of cancers [J]. Tumor Biology, 2015, 36(11):8761-8772. DOI:10.1007/s13277-015-3572-2.
- [19] Kara-Ali G, Imerzoukene G, Eugénio MS, et al. Poster abstracts [J]. Hepatology, 2021, 74(S1):157-1288. DOI:10.1002/hep.32188.
- [20] 张志红, 朱真如, 盛海龙, 等. TRIM21 可抑制肝癌细胞的侵袭能力:基于泛素化途径降解 β -catenin [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(1):55-62. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2022.01.06.
- [21] 李涛, 陈岑曦, 孙梁博, 等. 三结构域蛋白 21 通过下调自噬相关蛋白 4B 抑制肝细胞癌细胞增殖的实验研究 [J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(9):815-822. DOI:10.16016/j.1000-5404.201811167.
- [22] Ren X, Li Y, Zhou Y, et al. Overcoming the compensatory elevation of NRF2 renders hepatocellular carcinoma cells more vulnerable to disulfiram/copper-induced ferroptosis [J]. Redox Biology, 2021, 46:102122. DOI:10.1016/j.redox.2021.102122.
- [23] Sun J, Zhou C, Zhao Y, et al. Quiescin sulfhydryl oxidase 1 promotes sorafenib-induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma by driving EGFR endosomal trafficking and inhibiting NRF2 activation [J]. Redox Biology, 2021, 41:101942. DOI:10.1016/j.redox.2021.101942.
- [24] Pan J, Lu C, Jun W, et al. The up-regulation of P62 levels is associated with resistance of sorafenib in hepatocarcinoma cells [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(7):2622-2630.
- [25] Lee H, Chien Y, Chiang W, et al. Analysis of TRIM21 genetic variants on the clinicopathologic characteristics of patients with hepatocellular carcinoma [J]. Processes, 2021, 9(3):495. DOI:10.3390/pr9030495.
- [26] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 2018, 1865(5):721-733. DOI:10.1016/j.bbamer.2018.02.010.
- [27] Silva-Islas CA, Maldonado PD. Canonical and non-canonical mecha-

- nisms of Nrf2 activation [J]. Pharmacological Research, 2018, 134: 92-99. DOI:10. 1016/j. phrs. 2018. 06. 013.
- [28] He F, Ru X, Wen T. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (13): 4777. DOI:10. 3390/ijms21134777.
- [29] Pan J, Sun Y, Jiang Y, et al. TRIM21 ubiquitylates SQSTM1/p62 and suppresses protein sequestration to regulate redox homeostasis [J]. Molecular Cell, 2016, 61 (5): 720-733. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2016. 02. 007.
- [30] Rojo De La Vega M, Chapman E, Zhang DD. NRF2 and the Hallmarks of Cancer [J]. Cancer cell, 2018, 34 (1): 21-43. DOI: 10. 1016/j. ccell. 2018. 03. 022.
- [31] Chao X, Wang S, Fulte S, et al. Hepatocytic p62 suppresses ductular reaction and tumorigenesis in mouse livers with mTORC1 activation and defective autophagy [J]. Journal of Hepatology, 2022, 76 (3): 639-651. DOI:10. 1016/j. jhep. 2021. 10. 014.
- [32] Guerrero-Escalera D, Alarcón-Sánchez BR, Arellanes-Robledo J, et al. Comparative subcellular localization of NRF2 and KEAP1 during the hepatocellular carcinoma development in vivo [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 2022, 1869 (5): 119222. DOI:10. 1016/j. bbamer. 2022. 119222.
- [33] Feng X, Jiang T, Yang C, et al. RPRD1A stabilizes NRF2 and aggravates HCC progression through competing with p62 for TRIM21 binding [J]. Cell Death & Disease, 2022, 13 (1): 6. DOI: 10. 1038/s41419-021-04447-4.
- [34] Orrù C, Szydłowska M, Taguchi K, et al. Genetic inactivation of Nrf2 prevents clonal expansion of initiated cells in a nutritional model of rat hepatocarcinogenesis [J]. Journal of Hepatology, 2018, 69 (3): 635-643. DOI:10. 1016/j. jhep. 2018. 05. 010.
- [35] Orrù C, Perra A, Kowalik MA, et al. Distinct mechanisms are responsible for Nrf2-Keap1 pathway activation at different stages of rat hepatocarcinogenesis [J]. Cancers, 2020, 12 (8): 2305. DOI: 10. 3390/cancers12082305.
- [36] Song Y, Li M, Wang Y, et al. E3 ubiquitin ligase TRIM21 restricts hepatitis B virus replication by targeting HBx for proteasomal degradation [J]. Antiviral Research, 2021, 192: 105107. DOI:10. 1016/j. antiviral. 2021. 105107.
- [37] Sivasudhan E, Blake N, Lu Z, et al. Hepatitis B viral protein HBx and the molecular mechanisms modulating the hallmarks of hepatocellular carcinoma: A comprehensive review [J]. Cells, 2022, 11 (4): 741. DOI:10. 3390/cells11040741.
- [38] Zhang J, Xiong H, Cao J, et al. A cell-penetrating whole molecule antibody targeting intracellular HBx suppresses hepatitis B virus via TRIM21-dependent pathway [J]. Theranostics, 2018, 8 (2): 549-562. DOI:10. 7150/thno. 20047.
- [39] Mu T, Zhao X, Zhu Y, et al. The E3 ubiquitin ligase TRIM21 promotes HBV DNA polymerase degradation [J]. Viruses, 2020, 12 (3): 346. DOI:10. 3390/v12030346.
- [40] Wang YK, Ma N, Xu S, et al. PDPF suppresses the development of hepatocellular carcinoma through TRIM21-mediated ubiquitination of RIPK1 [J]. Cell Rep, 2023, 42 (4): 112340. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2023. 112340.
- [41] Gu L, Zhu Y, Lin X, et al. Stabilization of FASN by ACAT1-mediated GNPAT acetylation promotes lipid metabolism and hepatocarcinogenesis [J]. Oncogene, 2020, 39 (11): 2437-2449. DOI: 10. 1038/s41388-020-1156-0.

(收稿日期:2023 - 06 - 27)

作者 · 编者 · 读者

关于对冒用我刊名义进行非法征稿活动的郑重声明

近期发现网上有冒用我刊名义进行非法征稿活动的情况,我刊为此郑重声明如下:(1)疑难病杂志社地址设在石家庄,我社从未委托任何代理机构和个人开展组稿、征稿活动,任何打着我刊名义进行收稿活动的个人或机构均属非法。(2)根据原国家新闻出版广电总局的有关规定,一种期刊只能在其出版地设立一个编辑部,其他任何冒用本刊名义,在网上进行征稿及组稿的活动,均属违法行为。(3)作者来稿,请直接通过本刊投稿网址进行投稿,禁止发给个人,收稿后本刊将尽快给予处理,谨防上当受骗。

联系电话: 0311-85901735, 邮箱: ynbzz@163.com

投稿网址: <https://ynbz.cbpt.cnki.net>

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 021

综 述

肠上皮化生癌变相关分子标志物的研究进展

庞丽兴, 陆才金综述 颜新审校



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82060740); 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹课题(Z-A20221188, Z20190717); 南宁市科技局课题(zc20203002)

作者单位: 530000 广西医科大学第三附属医院/南宁市第二人民医院消化内科

通信作者: 颜新, E-mail: 260801979@ qq. com

【摘 要】 肠上皮化生与胃癌密切相关, 在胃癌的发病机制中起着重要作用, 甚至被认为是肠型胃癌发生的惟一条件。早期识别肠上皮化生癌变的危险分层患者, 对胃癌的早诊断、早治疗发挥重要作用。目前肠化生进展癌变的过程与 P53、OLFM4、SOX2、CDX2、Bcl-2 基因、HER-2、VEGF、MUC2、端粒酶逆转录酶、DNA 甲基化等相关分子因素密切相关。文章探讨肠上皮化生癌变的相关分子进展, 筛选肠上皮化生癌变的分子标志物, 有助于早期胃癌的诊断及治疗。

【关键词】 肠上皮化生; 胃癌; 分子标志物

【中图分类号】 R574; R734.2 【文献标识码】 A

Research progress of molecules markers related to intestinal metaplasia-gastric cancer Pang Lixing, Lu Caijin, Yan Xin. Third Affiliated Hospital of Guangxi Medical University/Department of Gastroenterology, Nanning Second People's Hospital, Guangxi Province, Nanning 530000, China

Corresponding author: Yan Xin, E-mail: 260801979@ qq. com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82060740); Self-funded Project of Health Commission of Guangxi Zhuang Autonomous Region (Z-A20221188, Z20190717); Project of Science and Technology Bureau of Nanning City (zc20203002)

【Abstract】 The gastric cancer is one of the malignant tumors with high mortality in our country. The lack of early diagnostic detection markers, inefficient prognostic histological indicators, limited therapeutic methods and molecular markers of effective targeted therapy are the reasons for the low 5-year survival rate. Intestinal metaplasia plays an important role in the pathogenesis of gastric cancer, and is even considered to be the only condition for the occurrence of intestinal gastric cancer. Early identification of risk stratified patients with intestinal metaplasia plays an important role in early diagnosis of gastric cancer. At present, the intestinal metaplasia progressed to gastric carcinoma is closely related to P53, OLFM4, SOX2, CDX2, Bcl-2 gene, HERB-2, VEGF, MUC2, telomeres, DNA methylation and other related molecular factors. we discuss the molecular progress of intestinal metaplasia and screening the molecular markers, That will be helpful for the diagnosis and treatment of early gastric cancer.

【Key words】 Intestinal metaplasia; Gastric cancer; Molecular markers

胃肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)是指肠型腺上皮细胞替代胃黏膜上皮的病理改变, 目前被公认为胃的癌前病变。尽管每年仅少数 IM 患者具有癌变的风险, 但与肠上皮化生密切相关的肠型胃癌却是胃癌(gastric cancer, GC)的最常见表达形式。因此, 对于所有肠上皮化生患者, 均需进行长期随访。内镜筛查仍是公认的筛查及随访早期胃癌及胃肠上皮化生的首选方法, 然而目前国内外并没有明确的肠上皮化生内镜随访标准及病理分类效用共识, 如何对于 IM 进展的危险分层患者进行个体化的内镜监测是亟待解决的问题。近年来关于多种基因和细胞分子与肠上皮化生癌变分子机制的研究进

展, 有助筛选出肠上皮化生癌变的分子标志物, 对肠上皮化生可能出现 GC 的患者进行早期预测、干预以及随访等发挥重要作用。文章就该领域研究的热点分子标志物作一综述。

1 抑癌基因蛋白——P53

一般认为 P53 点突变是胃黏膜肠上皮化生癌变过程中的一个重要因素。P53 基因突变引起细胞生长和分化的调节机制失控, 细胞出现持续分裂而引起癌变。国内外已有较多关于 P53 突变与 IM、GC 的研究。研究指出 P53 蛋白水平在正常胃黏膜—肠上皮化生—胃癌进展过程中随着疾病进展而增加。TP53 突变在 IM 和胃癌中经常被检测到^[1]。数据表明, 突变的

TP53 在早期胃癌(I~II 期)病例中的检出率为 64.46%。突变 P53 蛋白的表达与 Lauren 分级、淋巴结浸润和癌细胞浸润血管直接相关^[2]。但也有研究表明,TP53 突变在肠上皮化生细胞中较少被发现,而在胃癌中很容易被检测到^[3]。P53 蛋白在不完全性大肠型肠化的表达强度>不完全性小肠型肠化,提示其表达与肠上皮化生的类型有关。而不完全型大肠型肠化生与胃癌关系更密切,是一种真正的癌前病变^[4],提示 P53 有可能成为预测肠上皮化生癌变及早期胃癌的分子标志物。

2 肿瘤干细胞——人类嗅素蛋白 4(OLFM4)

肿瘤干细胞是肿瘤细胞具有强大分化潜能及自我更新能力的根源,也是肿瘤起源、进展、预后和耐药的重要因素。研究认为肿瘤复发和转移多数由于残留的肿瘤干细胞在局部或远处存活,并进一步分化繁殖引起,从而影响手术效果。Van der Flier 等^[5]研究发现胃肿瘤干细胞中 Lgr5 表达阳性,其表达阳性与胃肿瘤的发生、进展为癌密切相关,而 OLFM4(olfactomedin 4)可作为 Lgr5 阳性胃干细胞特异性标志物。OLFM4 也称为人类嗅素蛋白 4,由人类 13 号染色体(13q14.3)通过转录、编码 510 个氨基酸形成的蛋白产物^[6],其含有一个由 250 个氨基酸构成的 Olfactomedin 结构域,分子量约为 64 kD,是嗅觉介导素蛋白家族的一员。它是一类分泌性细胞外基质糖蛋白,其分布广泛,被发现部分分布于线粒体、细胞核,部分分布于细胞质和胞膜,是近年来新发现一种胃癌高特异表达基因^[7]。在胃癌细胞中,OLFM4 的致癌作用可通过调整细胞周期促进增殖,调节细胞黏附影响肿瘤细胞侵袭转移、调整免疫功能、抗细胞凋亡等多种方法影响肿瘤的发生发展^[7],同时,OLFM4 与多个信号通路有关,如 NF-KB、Wnt-B-catenin、Notch 等信号通路^[8]。OLFM4 蛋白主要于食管、胃、胰腺、结肠、胆囊等部位的肿瘤高表达,在其他部位很少表达,因此也常被用于消化道肿瘤的研究。国内研究发现 OLFM4 蛋白在 I 期和 II 期以及高分化的胃癌组织中高表达,而在分化低、转移灶和中晚期肿瘤组织中低表达水平,同时,低表达患者较高表达的预后效果差^[9],这与国外研究基本一致^[10-11]。OLFM4 蛋白在肠型胃癌及癌前病变的肠上皮化生组织中均高表达。提示肠上皮化生进展为肠型胃癌可能伴随着肿瘤干细胞的转化。同时 Jang 等^[11]研究指出,OLFM4 表达在正常胃黏膜中缺失,在肠化组织中及癌组织中增加,而且出现于胃肿瘤另一分子标志物 CDX2 表达之前。Oue 等^[10]研究指出,联合检查血清 OLFM4 和 Reg4 可提高检出胃癌的敏感度和特异度,以上均提示 OLFM4 可能作为早期发现肠上皮化生癌变的分子标志物。

3 HMG 盒转录因子(SOX2)、肠特异性转录因子(CDX2)

SOX2 以转录因子形式特异结合 DNA 序列,调控组织的增殖发育、细胞分化方向,在肺癌、乳腺癌、胃癌等多种肿瘤的发生、发展中扮演重要作用。近年来,越来越多的研究发现,胃癌的发生、进展及预后与 SOX2 的异常表达相关。孙丹等^[12]实验表明,SOX2 在正常胃组织、肠上皮化生组织和异形增生组织中均较胃癌组织中高表达($P < 0.05$),表达阳性率分别为 89.02%、76.38%、71.01%、64.98%。而在胃肠混合型胃癌及肠型胃癌中低表达。在弥漫型胃癌(71.54%)表达显著高于肠

型胃癌(58.25%),认为 SOX2 对胃表型的维持起重要作用,可能与弥漫型胃癌的发生关系更为密切。CDX2 为肠特异性转录因子,在胚胎发育时期即被检测出,参与肠细胞增殖、分化、黏附及维持肠表型。CDX2 在正常情况下只在人小肠及结肠黏膜上皮表达,而不在胃黏膜上皮中表达,石森等^[13]研究发现中 CDX2 在慢性胃炎、IM 和胃癌组织的表达率分别为 6.7%、46.0% 和 26.7%,IM 和胃癌组织中 CDX2 表达较胃炎组织中表达显著升高。同时随着 IM 患者肠化生程度加重 CDX2 表达加强,提示其可能与胃黏膜上皮化生的进展以及肠型胃癌的发生有关。CDX2 是一个抑癌基因,在胃癌组织中高表达患者的预后较低表达好,上调的 CDX2 表达能抑制肿瘤的发展^[14]。消化道检测发现 SOX2 和 CDX2 表达呈现负相关,SOX2 在正常的食管和胃上皮细胞中表达阳性,而 CDX2 表达阴性。CDX2 在小肠和大肠上皮细胞中表达阳性,而 SOX2 表达阴性^[15]。在胃癌尤其是肠型胃癌中 CDX2 则显著升高而 SOX2 基本不表达,说明肠上皮化生及胃癌的发生发展及组织分型可能是 SOX2 与 CDX2 共同参与及决定的结果^[15]。随着研究的深入,很多学者认为 CDX2 是肠上皮化生及癌变的早期敏感和特异性指标。

4 细胞增殖凋亡异常——Bcl-2 基因

Bcl-2 是目前研究较为广泛的与凋亡有关的癌基因,Tsujimoto 等^[16]最早在滤泡性非霍奇金细胞淋巴瘤患者发现 Bcl-2 基因,并命名为 B 淋巴细胞瘤/白血病-2,定位于 18q21 染色体,编码 239 个氨基酸的蛋白质(Bcl-2 α ,分子量 26 kD)和 205 个氨基酸的蛋白质(Bcl-2 β ,分子量 22 kD)。参与抑制细胞凋亡。而凋亡受损现在被认为是肿瘤发生的关键步骤。细胞是否应该存活或死亡很大程度上取决于 Bcl-2 家族的抗凋亡和促凋亡调节因子^[17]。研究发现 Bcl-2 在正常胃黏膜中的腺颈部和胃小凹细胞等增殖状态的细胞内弱表达,提示 Bcl-2 可能对增殖细胞进行生理保护作用使其免于凋亡,促进其分化成熟,调控正常胃黏膜细胞凋亡,而 Bcl-2 表达上调可延长肿瘤细胞存活时间^[18]。国内学者研究胃癌及癌前病变 Bcl-2 的表达情况^[19],发现由正常—浅表性胃炎—萎缩性胃炎—肠上皮化生—不典型增生—胃癌,在肠上皮化生之前,细胞凋亡指数逐级别显著增加,而之后,细胞凋亡指数则明显减少。细胞凋亡指数在不典型增生与胃癌之间无显著差异,Bcl-2 蛋白却逐级显著增高,说明在肠上皮化生以后,细胞凋亡调控异常与 Bcl-2 密切相关,应从肠化开始进行临床防治。朱玉侠等^[20]研究发现,Bcl-2 在慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异形增生、胃癌组的阳性表达率分别为 54.44%、62.03%、80.00%、82.30%,胃癌组 Bcl-2 阳性和异形增生组的表达阳性率均显著高于慢性萎缩性胃炎组和伴肠上皮化生组。说明胃癌发展过程中的早期即可出现 Bcl-2 过表达,过表达的 Bcl-2 蛋白可抑制胃癌细胞凋亡,促进其发生发展。同时,Bcl-2 表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移无关,推断 Bcl-2 可能与癌变前期过程有关,与肿瘤进展无关。Bcl-2 可作为监测胃黏膜早期癌变的重要指标,但 Bcl-2 与胃癌分型的关系仍存在争议。有学者认为 Bcl-2 蛋白在肠型胃癌的表达与弥漫性胃癌的表达有差异^[21],另有学者却认为两者无明显差异^[22],仍需进一步研究。

5 生长因子与受体表达异常——HER2、VEGF

HER2 是 Slamon 等^[23]在 1987 年研究乳腺癌时发现的原癌基因,在肾癌、乳腺癌、肺癌、胶质细胞等存在高表达或异常表达,HER2 的致癌活性主要是由于基因扩增。研究发现 7.3% ~ 20% 的进展期胃癌存在 HER2 过表达或扩增^[24]。HER2 在早期胃癌亦存在 HER2 基因扩增,提示 HER2 基因扩增可能参与早期胃癌的肿瘤进展^[25]。HER2 在正常组织中表达阴性或弱表达,在被激活后参与 PI3K/AKT、MAPK、NF- κ B、MMPs、VEGF 等多条信号通路,抑制细胞凋亡、改变细胞周期、调整宿主免疫力、诱导肿瘤血管形成和生长,促进肿瘤的发生发展,增加侵袭力^[26]。研究表明,HER2 在肠上皮化生组织中过表达^[27],从 IM 组到胃癌组,HER2 表达阳性率上升,提示其与肠上皮化生及胃癌的形成有关。血管内皮生长因子(VEGF)是目前研究中被认为刺激肿瘤血管生长从而导致肿瘤发展和转移的关键因素^[28],VEGF 可以提供血液促进肿瘤过度生长,上调血管内皮 VEGF 受体水平促进血管新生,介导不成熟的树突细胞引起免疫逃逸^[28-29]。VEGF 在正常胃组织、肠上皮化生、不典型增生以及胃癌中不断升高。在胃癌组织中较正常胃组织、肠上皮化生组织显著增高,均预示着肿瘤发生过程中血管生成发生了早期转换^[30],提示检测 VEGF 有助于对胃黏膜癌前病变的进展、早期胃癌的筛查及诊断。

6 黏蛋白 2(MUC2) 基因

黏蛋白 2(mucin2, MUC2) 基因由 Gum 等在 1989 年于小肠 cDNA 库发现,定位于染色体 11q15.5 上,可编码分泌型 MUC2 黏蛋白。MUC 黏蛋白是一类分子质量 $>200 \times 10^3$ 的糖基化蛋白质,在胃肠道、呼吸道、生殖道等上皮的细胞中具有润滑和保护上皮细胞的作用。此蛋白在胃肠道杯状细胞丰富表达,是肠型上皮细胞分化的主要标志之一^[31]。杨嘉力等^[32]研究表明,MUC2 黏蛋白在浅表性胃炎中不表达,在肠上皮化生组织中表达阳性率最高,在上皮内瘤变组织中表达也较高,提示胃黏膜肠上皮化生与 MUC2 蛋白异常表达有关及 MUC2 可能参与了肠上皮化生癌变的过程。杨玉霞等^[33]认为,胃黏液蛋白(MUC5AC 和 MUC6)的表达降低和 MUC2 的新生表达阳性的表达模式出现在幽门螺旋杆菌感染的癌前病变及胃癌个体中,提示 MUC2 可能是可靠的早期检测幽门螺旋杆菌感染引起癌前病变及胃癌的标志物。MUC2 的表达与胃癌的分化程度及肿瘤转移有一定的相关性,MUC2 阳性表达以高中分化居多,在淋巴结转移的胃癌中呈低表达,无淋巴结转移的胃癌中高表达,是胃癌预后良好的标志^[34]。但亦有研究认为^[35],MUC2 表达与淋巴结转移、临床分期和胃癌的分型之间无关,肠化内 MUC2 蛋白与肠化分型无关,而肠化分型与肠化癌变关系密切。笔者认为 MUC2 能否作为肠上皮化生发生发展、早期癌变的分子标志物仍需进一步大样本研究。

7 人端粒酶逆转录酶(hTERT)

端粒酶由人端粒酶 RNA、端粒酶相关蛋白和人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT) 三部分组成,与其他两部分相比,hTERT 更依赖于端粒酶活性并发挥限速作用调节端粒,端粒酶活性与细胞无限增殖紧密相关,在肿

瘤发生、发展中具有重要作用^[36]。因 hTERT 表达高低水平基本与端粒酶活性一致,目前检测端粒酶活性的指标常以 hTERT 表达水平衡量^[36]。贺晓慧等^[37]研究表明,hTERT 在癌旁肠上皮化生组的表达阳性率显著高于非癌旁肠上皮化生组,阳性率分别为 51.52%、10.81%。而且癌旁肠化组织阳性对应的癌灶也是阳性,癌灶阴性者其癌旁肠化亦均是阴性,提示肠上皮化生伴 hTERT 阳性者患癌的危险性增高。在胃黏膜癌变过程中,随着肠上皮化生及癌变程度加重,hTERT 和端粒酶的表达强度均加重。hTERT 在正常黏膜、慢性胃炎、肠上皮化生和肠型胃癌中的表达持续升高^[38]。hTERT 可通过激活 NF- κ B 信号通路从而促进 CDX2 的表达,影响胃黏膜的肠化生的发生发展及癌变^[39]。随着研究的进一步深入,hTERT 作为肠上皮化生癌变的一个标志物可能具有广阔的应用前景。

8 DNA 甲基化(DNA methylation)

DNA 的启动子甲基化较基因突变在肿瘤的中更易出现,是肿瘤中普遍存在的现象。甲基化常发生于富含核苷酸区域 5' CpG 岛,引起抑癌基因沉默,是细胞恶化的重要步骤。肿瘤细胞的增殖失控也与 DNA 修复、细胞周期调控、凋亡、转录调控基和信号通路调控等基因的甲基化有关。而且,癌变早期经常出现异常启动子甲基化,因此,CpG 岛的甲基化可能成为预测早癌前病变进展及早期肿瘤的分子标志物。p16 基因被认为是仅次于 TP53 的第二重要的肿瘤抑制基因。它具有与细胞周期蛋白抑制相关的生物学特性,并具有相应的抗增殖和肿瘤抑制活性^[40]。

国内研究发现,p16 基因甲基化较 C-myc 及 hMLH1 在肠上皮化生、轻中重度异型增生、胃癌组的发生率均升高,其中在肠上皮化生发生率为 40.38%,在胃癌发生率高达 93.75%。而且随着病理严重程度的递增^[41]。国外研究也发现 p16 甲基化在萎缩性胃炎、肠上皮化生、不典型增生的发生率较浅表性胃炎升高,以不典型增生发生率最高^[42]。此外,Niu 等^[43]研究发现,SOX2 基因启动子区甲基化阳性率在轻度胃炎、轻度肠上皮化生及中重度肠上皮化生组逐步上升,而 CDX2 基因启动子去甲基化阳性率在 3 组阳性率逐步下降,二者属于负相关关系。同时,CDX2 启动子在 IM 和胃肿瘤中都是去甲基化状态^[44],提示 CDX2 去甲基化可能在肠上皮发生、发展为胃癌过程中发挥重要作用。提示上述基因 DNA 甲基化对于肠上皮化生癌变的预测及早期胃癌的诊断有重要意义。

综上所述,肠上皮化生的演化及癌变过程中有多种基因蛋白参与细胞凋亡、增殖及血管生成从而对 IM 的发生、进展、癌变及预后等,相应的指标表达异常具有一定的警示价值。目前临床常用的用于评估肠上皮化生增殖程度、恶性转化预警指标如 CDX2、P53、MUC2、HER2 等,特异性较高,但各指标之间缺乏大样本临床对比分析数据,目前仍未作为常规的肠上皮化生早期癌变的检测手段。其余指标临床运用相对较少,基本停留在科研方面,可能与指标的敏感度、特异度仍有争议及缺乏大样本的临床研究有关。肠上皮化生属癌前疾病,特别是不完全型大肠上皮化生容易向恶性转化,应积极寻找最具临床意义、结果更可靠、诊断价值更高分子生物学指标监控 IM 进展的危

险分层患者,提高对肠上皮化生病理特征的认识,积极预防及减少其癌变从而降低 GC 患者的发病率,提高生存率。

参考文献

- [1] Hnatyszyn A, Szalata M, Skrzypczak-Zielinska M, et al. DNA variants in helicobacter pylori infected patients with chronic gastritis, dysplasia and gastric cancer[J]. Adv Med Sci,2019,64(1):79-84. DOI: 10.1016/j. advms. 2018. 12. 002.
- [2] Li F, Li S, Wang X, et al. To investigate the prognostic factors of stage I-II gastric cancer based on P53 mutation and tumor budding[J]. Pathology Research and Practice, 2022,240:154195. DOI: 10.1016/j. prp. 2022. 154195.
- [3] Huang KK, Ramnarayanan K, Zhu F, et al. Genomic and epigenomic profiling of high-risk intestinal metaplasia reveals molecular determinants of progression to gastric cancer[J]. Cancer Cell, 2018, 33(1):137-150, e5. DOI:10.1016/j. ccell. 2017. 11. 018.
- [4] Battista S, Ambrosio MR, Limarzi F, et al. Molecular alterations in gastric preneoplastic lesions and early gastric cancer[J]. Int J Mol Sci,2021,22(13). DOI: 10.3390/ijms22136652.
- [5] Van der Flier LG, Haegebarth A, Stange DE, et al. OLFM4 is a robust marker for stem cells in human intestine and marks a subset of colorectal cancer cells[J]. Gastroenterology, 2009,137(1):15-17. DOI:10.1053/j. gastro. 2009. 05. 035.
- [6] Zhang J, Liu WL, Tang DC, et al. Identification and characterization of a novel member of olfactomedin-related protein family, hGC-1, expressed during myeloid lineage development[J]. Gene,2002,283(1-2):83-93. DOI:10.1016/s0378-1119(01)00763-6.
- [7] Liu W, Rodgers GP. Olfactomedin 4 expression and functions in innate immunity, inflammation, and cancer[J]. Cancer Metastasis Reviews, 2016,35(2):201-212.
- [8] Wang XY, Chen SH, Zhang YN, et al. Olfactomedin-4 in digestive diseases: A mini-review[J]. World Journal of Gastroenterology, 2018,24(17):1881-1887. DOI: 10.1007/s10555-016-9624-2.
- [9] 赵骏杰. OLFM4 蛋白表达与胃癌临床病理特征及预后的关系[D]. 上海:复旦大学, 2014.
- [10] Oue N, Sentani K, Noguchi T, et al. Serum olfactomedin 4 (GW112, hGC-1) in combination with Reg IV is a highly sensitive biomarker for gastric cancer patients[J]. International Journal of Cancer, 2009,125(10):2383-2392. DOI: 10.1002/ijc. 24624.
- [11] Jang BG, Lee BL, Kim WH. Olfactomedin-related proteins 4 (OLFM4) expression is involved in early gastric carcinogenesis and of prognostic significance in advanced gastric cancer[J]. Virchows Archiv, 2015, 467(3):285-294. DOI: 10.1007/s00428-015-1793-9.
- [12] 孙丹,武洋,辛彦,等. Sox2 和 Cdx2 基因编码蛋白在胃癌及其癌前病变中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学,2016,24(10):1585-1591. DOI:10.3969/j. issn. 1672-4992. 2016. 10. 024.
- [13] 石森,孙妮娜,刘彩芳,等. FXR 和 CDX2 在胃黏膜肠化生及胃癌中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2020,28(6):967-972 DOI:10.3969/j. issn. 1672-4992. 2020. 06. 020.
- [14] Hao Y, Liu BL, Liang Y, et al. Further prognostic stratification of intestinal type of gastric adenocarcinoma by CDX2 expression pattern[J]. Human Pathology, 2022,131:61-67. DOI: 10.1016/j. humpath. 2022. 11. 005.
- [15] 孙妮娜,刘彩芳,石森,等. SOX2/CDX2/HNF4 α 与胃癌相关性的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2019,27(24):4475-4480. DOI: 10.1016/j. humpath. 2022. 11. 005.
- [16] Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of the structure, transcripts, and protein products of Bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1986, 83(14):5214-5218. DOI: 10.1073/ pnas. 83. 14. 5214.
- [17] Yuan Z, Dewson G, Czabotar PE, et al. VDAC2 and the BCL-2 family of proteins[J]. Biochemical Society Transactions, 2021,49(6):2787-2795. DOI: 10.1042/bst20210753.
- [18] 乌新林,冯立民,王占民,等. p53、Bcl-2、c-erbB-2 在胃癌及癌前病变中表达的意义[J]. 中国现代普通外科进展,2005,8(1):37-39,42. DOI:10.3969/j. issn. 1009-9905. 2005. 01. 014.
- [19] 卫华,赵子龙. 细胞凋亡与 Bcl-2 蛋白的关系及两者在胃癌发生中的作用[J]. 临床医学研究与实践,2018,3(29):81-83. DOI: 10.19347/j. cnki. 2096-1413. 201829038
- [20] Wei H, Zhao ZL, Relationship between apoptosis and Bcl-2 protein and their effects in gastric carcinogenesis[J], Clinical Research and Practice, 2018, 3(29):81-83. DOI: 10.19347/j. cnki. 2096-1413. 201829038.
- [21] 朱玉侠,赵明星,姜登鸽,等. 抑癌基因 p53、凋亡抑制基因 Bcl-2、促凋亡基因 Bax 在胃癌及癌前病变中的表达[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2016,25(9):1040-1043. DOI:10.3969/j. issn. 1006-5709. 2016. 09. 019.
- [22] Zhu YX, Zhao MX, Jiang DG, et al. Expression of tumor suppressor gene p53, apoptosis-suppressing gene Bcl-2, pro-apoptotic gene Bax in gastric cancer and precancerous lesions[J], Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2016,25(9):1040-1043. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-5709. 2016. 09. 019.
- [23] Gryko M, Pryczynicz A, Zareba K, et al. The expression of Bcl-2 and BID in gastric cancer cells[J]. Journal of Immunology Research, 2014,2014:953203. DOI: 10.1155/2014/953203.
- [24] Singh S, Bhat MY, Sathe G, et al. Proteomic signatures of diffuse and intestinal subtypes of gastric cancer[J]. Cancers, 2021,13(23):5930. DOI: 10.3390/cancers13235930.
- [25] Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene[J]. Science (New York, NY), 1987,235(4785):177-182. DOI: 10.1126/science. 3798106.
- [26] Abrahao-Machado LF, Scapulatempo-Neto C. HER2 testing in gastric cancer: An update[J]. World Journal of Gastroenterology, 2016,22(19):4619-4625. DOI: 10.3748/wjg. v22. i19. 4619.
- [27] Kanayama K, Imai H, Usugi E, et al. Association of HER2 gene

- amplification and tumor progression in early gastric cancer[J]. Virchows Archiv, 2018, 473 (5): 559-565. DOI: 10. 1007/s00428-018-2433-y.
- [26] 和水祥, 张丹, 禄韶英. 胃癌的分子机制及靶向诊断研究进展[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2016, 37 (4): 461-472. DOI: 10. 7652/jdyxb201604001.
- He SX, Zhang D, Lu SY, Advances in research on molecular mechanisms and target diagnosis of gastric cancer[J], Journal of Xi'an Jiaotong University: Medical Edition, 2016, 37 (4): 461-472. DOI: 10. 7652/jdyxb201604001.
- [27] Seo JY, Jin EH, Jo HJ, et al. Clinicopathologic and molecular features associated with patient age in gastric cancer[J]. World Journal of Gastroenterology, 2015, 21 (22): 6905-6913. DOI: 10. 3748/wjg. v21. i22. 6905.
- [28] 臧志意, 魏小东. GOLPH3 与 VEGF 在肺腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中国临床新医学, 2021, 14 (9): 915-920. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3806. 2021. 09. 16.
- Zang ZY, Wei XD, Expressions of GOLPH3 and VEGF in lung adenocarcinoma and their clinical significances[J], Chinese Journal of New Clinical Medicine, 2021, 14 (9): 915-920. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3806. 2021. 09. 16.
- [29] Nowak-Sliwinski P, van Beijnum JR, Griffioen CJ, et al. Proinflammatory activity of VEGF-targeted treatment through reversal of tumor endothelial cell anergy[J]. Angiogenesis, 2022. DOI: 10. 1007/s10456-022-09863-4.
- [30] 穆桂芳, 周利克, 陈文军, 等. VEGF 和突变型 p53 在胃癌组织表达及意义[J]. 中国免疫学杂志, 2016, (1): 90-91. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-484X. 2016. 01. 019.
- Mu GF, Zhou LK, Chen WJ, VEGF and mutant p53 expression in gastric carcinoma and significance[J], Chinese Journal of Immunology, 2016, (1): 90-91. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-484X. 2016. 01. 019.
- [31] Battista S, Ambrosio MR, Limarzi F, et al. Molecular alterations in gastric preneoplastic lesions and early gastric cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22 (13). DOI: 10. 3390/ijms22136652.
- [32] 杨嘉力, 王振, 刘飞, 等. CDX2 MUC2 在胃黏膜肠上皮化生组织中的表达情况及其临床意义研究[J]. 中国临床新医学, 2022, 15 (2): 120-123. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3806. 2022. 02. 06.
- Yang JL, Wang Z, Liu F, et al. A study on the expressions of CDX2 and MUC2 in gastric intestinal metaplasia tissues and their clinical significances[J], Chinese Journal of New Clinical Medicine, 2022, 15 (2): 120-123. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3806. 2022. 02. 06.
- [33] 杨玉霞, 马丽莉, 高燕, 等. Hp 感染与胃癌及胃癌前病变组织 MUC2、MUC5AC、MUC6、CD10 表达的关系[J]. 中华医院感染学杂志. 2022, 32 (5): 721-725. DOI: 10. 11816/cn. ni. 2022-210601.
- Yang YX, Ma LL, Gao Y, et al. Relationship between Hp infection and expression of MUC2, MUC5AC, MUC6 and CD10 in gastric cancer and precancerous lesion tissues[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2022, 32 (5): 721-725. DOI: 10. 11816/cn. ni. 2022-210601.
- [34] İlhan Ö, Han U, Önal B, et al. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma[J]. The Turkish Journal of Gastroenterology, 2010, 21 (4): 345-352. DOI: 10. 4318/tjg. 2010. 0119.
- [35] 汪荣泉, 房殿春, 刘为纹. 胃癌及癌前病变组织中 MUC2 基因的表达[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8 (3): 285-288 DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-3079. 2000. 03. 012.
- Wang RQ, Fang DC, Liu WW, MUC2 gene expression in gastric cancer and preneoplastic lesion tissues[J], World Chinese Journal of Digestology, 2000, 8 (3): 285-288 DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-3079. 2000. 03. 012.
- [36] Yasukawa, M. Y. Ando, T. Yamashita, et al. CDK1 dependent phosphorylation of hTERT contributes to cancer progression[J]. Nat Commun, 2020, 11 (1): 1557. DOI: 10. 1038/s41467-020-15289-7.
- [37] 贺晓慧, 王润田, 张波, 等. 人端粒酶逆转录酶在胃癌及其癌前病变中的表达[J]. 北京大学学报: 医学版, 2002, 34 (6): 672-675 DOI: 10. 3321/j. issn: 1671-167X. 2002. 06. 008
- He XH, Huang RT, Zhang B, Expression and the significance of telomerase reverse transcriptase in gastric carcinomas and precancerous lesions[J], Journal of Peking University: Health Sciences, 2002, 34 (6): 672-675 DOI: 10. 3321/j. issn: 1671-167X. 2002. 06. 008.
- [38] Leal MF, Calcagno DQ, Khayat AS, et al. hTERT and TP53 deregulation in intestinal-type gastric carcinogenesis in non-human primates[J]. Clinical and Experimental Medicine, 2013, 13 (3): 221-224. DOI: 10. 1007/s10238-012-0195-4.
- [39] Chen BJ, Zeng S, Xie R, et al. hTERT promotes gastric intestinal metaplasia by upregulating CDX2 via NF- κ B signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8 (16): 26969-26978. DOI: 10. 18632/oncotarget. 15926.
- [40] Spagnol LW, Poletini J, Silveira DA, et al. P16 gene promoter methylation is associated with oncogenesis and progression of gastric carcinomas: A systematic review and meta-analysis[J]. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2022, 180: 103843. DOI: 10. 1016/j. critrevonc. 2022. 103843.
- [41] 胡美庆, 陶茂根, 胡建生. 胃癌前病变不同阶段胃黏膜 DNA 甲基化表达分析及临床意义[J]. 浙江临床医学, 2017, 19 (7): 1211-1212.
- Hu Mq, Tao Mg, Hu JS. Analysis and clinical significance of DNA methylation in gastric mucosa at different stages of gastric cancer prelesions [J]. Zhejiang Clinical Medicine, 2017, 19 (7): 1211-1212.
- [42] Dong CX, Deng DJ, Pan KF, et al. Promoter methylation of p16 associated with Helicobacter pylori infection in precancerous gastric lesions: a population-based study[J]. International Journal of Cancer, 2009, 124 (2): 434-439. DOI: 10. 1002/ijc. 23891.
- [43] Niu H, Jia Y, Li T, et al. SOX2 Inhibition promotes promoter demethylation of CDX2 to facilitate gastric intestinal metaplasia[J]. Dig Dis Sci, 2017, 62 (1): 124-132. DOI: 10. 1007/s10620-016-4361-5.
- [44] Kim HJ, Seo EH, Bae DH, et al. Methylation of the CDX2 promoter in helicobacter pylori-infected gastric mucosa increases with age and its rapid demethylation in gastric tumors is associated with upregulated gene expression[J]. Carcinogenesis, 2020, 41 (10): 1341-1352. DOI: 10. 1093/carcin/bgaa083.