



**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

**协 办**  
河北以岭医药研究院

**编 辑**  
疑难病杂志编辑委员会

**顾 问**  
吴咸中 陈可冀 王正国 王永炎  
张 运 李春岩 张伯礼 邱蔚六  
郭应禄 葛均波 李 恩 于金明

**总编辑**  
吴以岭

**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**  
国内外公开发售  
国内: 中国邮政集团有限公司  
河北省分公司  
国外: 中国国际图书贸易集团  
有限公司  
(北京 399 信箱, 100044)  
代号: DK 13017

**订 购**  
全国各地邮电局  
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 12.00 元 全年 144.00 元

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

2020 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

### 全民健康助力全面小康

着力提升老龄人群认知障碍与痴呆防控水平 ..... 吕佩源 757

### 糖尿病专题

2 型糖尿病患者胰岛素抵抗与外周血单个核细胞 miR-181a、  
miR-9 的关系 ..... 李伟 李霞 徐杰 白小岗 白婷 760

高通量血液透析联合百令胶囊对糖尿病肾病血液透析患者氧化应激、  
微炎性状态及生存质量的影响  
..... 崔俊 亢宁苏 周春霞 陆建勋 郑露 764

利拉鲁肽联合短期胰岛素强化治疗初诊肥胖 2 型  
糖尿病患者疗效及对炎性因子的影响  
..... 张洁 董闪闪 陈志花 贾新菊 吕晓静 周慧敏 769

硫辛酸对 2 型糖尿病肾病患者氧化应激、足细胞指标  
和炎性因子水平的影响  
..... 李敬 樊星 高燕 张丽敏 杜伟轩 王倩 774

达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并  
OSAS 疗效及安全性的 Meta 分析  
..... 卢琳 何杰 李培培 李小燕 余觅 张维 肖秋红 孙建 778

### 络病论坛

芪蒯强心胶囊辅治陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者对心功能、  
肾功能及预后的影响  
..... 陈要起 穆金兴 李延鑫 李雪霞 曹亚冰 齐丽平  
朱凌凌 刘爱民 785

### 论著·临床

皮质下缺血性脑小血管病患者认知功能障碍  
及其与外周血同型半胱氨酸相关性  
..... 曹丽 张璐 张玉琴 陈长春 吴晓宇 791

青年女性肝豆状核变性患者驱铜治疗前后性激素水平变化  
..... 高伟明 王文斌 胡文彬 陈林 王佳炜 朱玉龙 朱凌  
童广安 严彦 吴君霞 795

COPD 急性加重期细菌感染对 Th17/Treg 平衡及炎症因子水平的影响	侯英宇 刘晨阳 张丹梅 杨敏	799
DC-CIK 免疫疗法联合放化疗治疗中晚期非小细胞肺癌疗效观察	陆婉玲 李小龙 党亚正 赵宏亮 程才 乔松	804
胸腔镜肺叶切除术治疗非小细胞肺癌对术后炎症因子及应激水平的影响	蔡杰飞 张诗杰 李伟 张宪 李寒	808
HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 在 HBV 相关肝细胞癌组织中的表达及对预后的影响	曾东 冯艳玲 郑叶 杨月香 石雨涵	813
超声造影与增强 MR、增强 CT 诊断 MDT 肝脏肿瘤 108 例的价值比较	姜霞 戎月 李丽 王晓娜 薛红元	819
基于癌症基因组图谱和 Oncomine 数据库膀胱尿路上皮癌生物信息学分析	瞿根义 汤乘 徐勇 柳成孟 阳光 段红桃 向茂林	823
单节段脊柱退行性疾病患者应用后路腰椎椎体间植骨融合术治疗的临床效果	王磊 麻松 朱继超 崔维	828
家族遗传性 STING 相关的婴儿期发病血管病 1 例	张蕾 田利远	832
论著·基础		
沉默 Rbfox1 对癫痫模型大鼠海马神经细胞生物学行为的影响及机制研究	冯磊 解利平 张海平 束坤	835
麝香乌龙丸对 S1P 诱导血管内皮细胞通透性的调控作用	马炜秀 王志文 袁强 张爱国 曹颖	839
罕见见病例		
隐源性多灶性溃疡性狭窄性小肠炎 1 例并文献复习	热依汉古丽·艾则孜 叶梅 江从庆 周娟 肖书渊 梅列军 胡安妮 李瑾	845
脾炎性假瘤样滤泡树突细胞肉瘤 1 例并文献复习	袁子雄 陈淮	847
综 述		
基质金属蛋白酶-10 与动脉粥样硬化的关系研究进展	阮姗 丛树艳	849
可逆性后部脑病综合征在儿童肾脏性疾病中的最新研究进展	童桂霞 张洪霞	853
自身免疫性脑炎精神症状特点的研究进展	胡倩 王建秀	856
结直肠癌肿瘤标志物的临床应用研究进展	江经斌 刘琦	860
作者·编者·读者		777,784,803,848

期刊基本参数: CN13-1316/R \* 2002 \* m \* A4 \* 112 \* zh \* P \* ¥12.00 \* 4 500 \* 25 \* 2020-08

本期责任编辑: 赵建逸 英文编辑: 马晓海

# CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly      Established in June 2002      Volume 19, Number 8      18 August, 2020

## Responsible Institution

National Health Commission of  
the People's Republic of China

## Sponsor

Chinese Medical Doctor Association

## Co-organizer

Hebei Yiling Medical Academy

## Editing

Editorial Board of Chinese Journal of Difficult  
and Complicated Cases

## Adviser

WU Xianzhong CHEN Keji WANG Zhengguo  
WANG Yongyan ZHANG Yun LI Chunyan  
ZHANG Boli QIU Weiliu GUO Yinglu  
GE Junbo LI En YU Jinming

## Editor-in-Chief

WU Yiling

## 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  
P. O. Box 399, Beijing 100044, China  
Code No. DK 13017

## Overseas Price

\$ 12.00 per issue; \$ 144.00 a year

## CSSN

ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2020 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 editori-  
al board, unless clearly specified.

## CONTENTS

### Diabetes Mellitus Research

**Relationships between insulin resistance and miR-181a, miR-9 in peripheral  
blood mononuclear cells in type 2 diabetes mellitus**

..... Li Wei, Li Xia, Xu Jie, et al 760

**Effect of high throughput hemodialysis combined with *Bailing* capsules on  
oxidative stress response, microinflammation and life quality of  
hemodialysis patients with diabetic nephropathy**

..... Cui Jun, Kang Ningsu, Zhou Chunxia, et al 764

**Effect of liraglutide combined with short-term intensive insulin therapy on  
newly diagnosed obese type 2 diabetes mellitus and its influence on  
inflammatory factors**

..... Zhang Jie, Dong Shanshan, Chen Zhihua, et al 769

**The effect of lipoic acid on the level of oxidative stress, podocyte and  
inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetic nephropathy**

..... Li Jing, Fan Xing, Gao Yan, et al 774

**Meta-analysis of efficacy and safety of dapagliflozin combined with metformin  
in the treatment of obese type 2 diabetes mellitus with obstructive sleep  
apnea syndrome**

..... Lu Lin, He Jie, Li Peipei, et al 778

### Collateral Disease Forum

**Effect of *Qiliqiangxin* capsule on heart function, renal function and prognosis  
in patients with old myocardial infarction and heart failure**

..... Chen Yaoqi, Mu Jinxing, Li Yanxin, et al 785

### Original Article: Clinical Research

**Cognitive dysfunction and its correlation with peripheral blood homocysteine  
in patients with subcortical ischemic cerebrovascular disease**

..... Cao Li, Zhang Lu, Zhang Yuqin, et al 791

**Changes of sex hormone levels in young women with Wilson's disease before  
and after copper removal treatment**

..... Gao Weiming, Wang Wenbin, Hu Wenbin, et al 795

Effect of bacterial infection on Th17 / Treg balance and inflammatory factors in acute exacerbation of COPD	Hou Yingyu, Liu Chenyang, Zhang Danmei, et al	799
DC-CIK immunotherapy combined with chemoradiotherapy in the treatment of advanced non-small cell lung cancer	Lu Wanling, Li Xiaolong, Dang Yazheng, et al	804
Effects of thoracoscopic lobectomy on inflammatory factors and stress levels in patients with non-small cell lung cancer	Cai Jiefei, Zhang Shijie, Li Wei, et al	808
Expression of HOTAIR, Snail and Wnt3a in HBV related hepatocellular carcinoma and their influence on prognosis	Zeng Dong, Feng Yanling, Zheng Ye, et al	813
Comparison of the value of contrast-enhanced ultrasound, enhanced MR and enhanced CT in the diagnosis of 108 cases of liver tumors	Jiang Xia, Rong Yue, Li Li, et al	819
Bioinformatics analysis of bladder urothelial carcinoma based on cancer genome map and oncomine database	Qu Genyi, Tang Cheng, Xu Yong, et al	823
The clinical effect of posterior lumbar intervertebral fusion and its effect on Harris score in patients with single segment degenerative spinal disease	Wang Lei, Ma Song, Zhu Jichao, et al	828
A case of infantile vascular disease associated with familial genetic STING	Zhang Lei, Tian Liyuan	832
Original Article; Basic Research		
The effect and mechanism of Rbfox 1 silencing on the biological behavior of hippocampal neurons in epileptic rats	Feng Lei, Xie Liping, Zhang Haiping, et al	835
Regulation of Shexiangwulong pill on permeability of vascular endothelial cells induced by S1P	Ma Weixiu, Wang Zhiwen, Yuan Qiang, et al	839
Rare Case Report		
Cryptogenic multifocal ulcerous stenosing enteritis; a case report and literature review	Reyihanguli Aizezi, Ye Mei, Jiang Congqing, et al	845
Spleen inflammatory pseudotumor like follicular dendritic cell sarcoma; a case report and literature review	Yuan Zixiong, Chen Huai	847
Review		
Research progress on the relationship between matrix metalloproteinase-10 and atherosclerosis	Ruan Shan, Cong Shuyan	849
Recent research progress of reversible posterior encephalopathy syndrome in children with renal diseases	Tong Guixia, Zhang Hongxia	853
Research progress on characteristics of psychiatric symptoms in autoimmune encephalitis	Hu Qian, Wang Jianxiu	856
Clinical application of tumor markers in colorectal cancer	Jiang Jingbin, Liu Qi	860

# 着力提升老龄人群认知障碍与痴呆防控水平

吕佩源

基金项目: 河北省高层次人才资助项目(6833452); 河北省政府资助临床医学优秀人才和基础课题研究项目(2015-361003-8)

作者单位: 050051 石家庄, 河北省人民医院神经内科

通信作者: 吕佩源, E-mail: peiyuanlu@163.com

【关键词】 老龄人群; 认知障碍; 痴呆; 防控

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.001

我国是世界上人口最多的国家,且已经步入了老龄化社会,据统计,目前老年人口占 17.9%<sup>[1]</sup>,各种疾病的患病率呈上升趋势。老龄化给社会带来了诸多难题,认知障碍和痴呆便是其中之一。面临着严峻的形势,给社会、家庭和患者本人带来了沉重负担,所以成为社会和医学界关注的热点问题,本文就当前国内外认知障碍和痴呆面临的形势予以探讨,以期引起医学界和广大公众的重视,同时更加有效地防控此类疾病。

## 1 认知障碍与痴呆现状和面临的形势

认知障碍泛指各种原因导致的大脑认知功能损害,包括记忆、语言、视空间、执行、计算和理解判断能力等方面下降,可有上述几项认知功能中的一项或多项受损,若影响个体的日常或社会能力时,可诊断为痴呆<sup>[2]</sup>。值得提及的是,近年来轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)越来越被人们所重视,它是指认知功能进行性减退,尚未影响到日常生活能力,未达到痴呆的诊断标准<sup>[3]</sup>。痴呆是指认知功能损害已导致患者日常生活能力、学习能力、工作能力及社会交往能力明显减退的综合征。

研究表明,除 MCI 之外,主观认知功能下降(subjective cognitive decline, SCD)也是阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的危险因素<sup>[4]</sup>,是 AD 早期防治的重要关口,SCD 发展为痴呆的风险明显高于非 SCD 人群,应该引起足够重视,50%~80% 的 70 岁及以上老年人中有 SCD。同时数据显示<sup>[5]</sup>,年龄在 45 岁及以上美国人中有 11% 报告主观认知下降,但其中 54% 的报告者未再寻求医学帮助,社会应提高人群对疾病的认知,使主观感受到自己认知能力持续性下降的老年人能够主动尽早于专科门诊寻求医学评估和帮助。

老年期痴呆有多种类型,但最重要的有 AD 和血管性认知障碍(vascular cognitive impairment, VCI)两大

类。其中 AD 是老年人最常见的认知障碍疾病,占有类型痴呆的 50%~70%<sup>[6]</sup>。在 60 岁以后,AD 的发病率每 10 年约增高 1 倍。2018 年国际 AD 协会数据显示<sup>[7]</sup>,全球痴呆患病人数高达 5 000 万,预计到 2050 年,痴呆患病人数将增加 2 倍,高达 1.52 亿人,会对全球社会和家庭经济都造成极大的负担。西方国家中,在 65 岁及以上老年人群中痴呆占 4%~8%<sup>[8]</sup>。在美国,预计 65 岁及以上年龄的人数将从 2020 年的 5 600 万增长到 2050 年的 8 800 万,2020 年,65 岁及以上的老年人中 AD 患者将达到 580 万,其中 80% 的人年龄在 75 岁以上<sup>[5]</sup>。在过去 30 年中,我国痴呆的患病率显著增加,65 岁及以上老年人中痴呆的患病率为 5.14%,其类型主要为 AD 和血管性痴呆(vascular dementia, VaD),患病率分别为 3.21%、1.50%,MCI 整体患病率为 20.8%,推算目前有痴呆患者超过 1 000 万, MCI 患者 3 100 万,卒中后痴呆患者 950 万<sup>[8]</sup>,总计 5 000 多万痴呆与认知障碍人群。目前,我国 AD 患者约 1 450 万,预计到 2050 年,患病人数将超过 2 000 万,80 岁以上老人 AD 患病率将达到 30%<sup>[9]</sup>。

引起老年人认知障碍和痴呆的第二大类疾病是 VCI,它包括脑梗死、脑出血等多种显性脑血管病和脑白质病变等非显性脑血管病及其危险因素如高血压、糖尿病、心房纤颤等导致的认知功能障碍,涉及至少一个认知域受损的临床综合征。VCI 发病率仅次于 AD,其发展到中、晚期为 VaD。全球研究数据显示<sup>[2]</sup>,VaD 随年龄增加发病率亦呈现明显正相关增长,在 60~69 岁、70~79 岁、80~89 岁及 90 岁以上的人群患病率分别为 40/万、105/万、235/万和 548/万。我国 65 岁及以上老年人 MCI 患者中脑血管病和血管危险因素所致的 MCI 占有 MCI 的 42.0%,VaD 患病率为 1.50%<sup>[10]</sup>,VaD 占痴呆患者的 15%~20%<sup>[6]</sup>。

近年来,脑小血管病备受关注,它是与年龄密切相关、并导致高发认知障碍的一组疾病,目前公认的有 6 个亚型:腔隙性脑梗死、脑微出血、脑白质病变、微小梗死、扩大的血管周围间隙和小血管病变继发的脑萎缩,脑小血管病引起的认知功能障碍占血管性痴呆的 36% ~ 67%<sup>[11]</sup>。

另外,VCI 还与卒中后认知障碍(post-stroke cognitive impairment, PSCI)有着密切关系,是指脑梗死或脑出血等卒中后出现的认知功能障碍,分为 PSCI 非痴呆(post-stroke cognitive impairment no dementia, PSCIND)和卒中后痴呆(post-stroke dementia, PSD) 2 个亚组。在我国,20% ~ 80% 的急性缺血性脑卒中患者出现认知损害<sup>[12]</sup>。卒中患病率为 1 114.8/10 万,年发病率为 246.8/10 万,病死率为 114.8/10 万,其中约 1/3 的严重卒中患者 1 年内出现痴呆,明显高于轻型卒中(8%)和 TIA(5%)患者<sup>[13-14]</sup>。PSCI 的总体患病率高达 80.97%,其中 PSCIND 患者占 48.91%, PSD 占 32.05%,与国际上 PSCI 研究报道的发病率差异较大(19.3% ~ 96%)。PSD 患者的病死率较非痴呆的卒中患者显著增高,PSD 患者 5 年生存率仅为 39%,明显低于同龄未出现痴呆的卒中患者(75%)<sup>[15]</sup>。

综上可见,面对我国老年期痴呆 2 个主要类型的严峻形势不容乐观。

## 2 认知障碍与痴呆疾病带来的社会和家庭负担

认知障碍与痴呆已成为老年人群致死和致残的主要疾病之一,老年人口的增多导致老年变性病尤其是痴呆的增多。痴呆患者病程长、合并症多,且需要长期护理,给患者、家庭和社会带来沉重的经济和护理负担。

众所周知,AD 患者主要症状表现为 ABC 症候群,即:日常生活能力受损(activity, A)、精神症状和行为改变(behavior, B)和认知功能障碍(cognition, C)<sup>[16]</sup>。具体按病程发生、发展经过来说:(1)认知功能障碍是最早出现的症状,如出现遗忘、学习新信息能力受损、命名找词困难、语法或句法错误、语言连贯性和逻辑性受损,出现理解困难、书写错误等沟通障碍,不愿与外界交流、执行功能障碍、推理及处理复杂任务能力受损、需更长时间完成常规任务,工作中出现失误、在熟悉的地方迷路、不会辨别时钟及不能识别面孔或常见物品等症状;(2)随着认知障碍的不断加重,患者会陆续出现精神症状和行为改变,包括淡漠、易激惹、抑郁焦虑、幻觉妄想、激越、游荡、尾随等精神异常的行为;(3)到疾病发展到晚期,患者将出现日常生活能力受损,包括如厕、进食、穿脱衣、梳洗、行走、洗澡、使用电话、购物、备餐、做家务、洗衣、独自搭公交车、遵医嘱药

和经济自理等日常活动受损,独立生活能力下降,甚至完全不能自理。

以上疾病的发生发展,给患者本人带来了身体及心理的沉重负担;对患者的家庭及照料者来说,轻度患者尚有一定的独立生活能力,只需照料者部分帮助,家庭或会雇用钟点工或其他照护者,或选择子女轮流照护,对于中、重度认知障碍患者,因患者独立生活能力明显下降,可能需要照料者全天候照护,对痴呆患者,照料者面临着压力大、负担重、抑郁倾向高的现状。

在我国,痴呆患者对每个家庭来说都是沉重的负担,这不仅仅因为药物,更重要的是护理,约 90% 的患者与家人同住,家庭照料者无法正常上班<sup>[9]</sup>,随着患者症状的恶化,照料者情绪压力、沮丧感增加,更容易出现焦虑和抑郁,出现新的健康问题或导致原有疾病加重,因就业中断等多种原因出现收入和财政危机,这给家庭带来了沉重的经济负担和护理负担。中国的痴呆相关费用正在迅速增长<sup>[17]</sup>,2015 年调查显示,我国每例 AD 患者每年花费约合 11.8 万元人民币,所有 AD 患者每年总花费约为 10 399 亿元,是 2006 年国际 AD 报告估计花费的 5.95 倍,每年痴呆总费用占国内生产总值的 1.47%,与全球痴呆费用占比(1.19%)相比,中国痴呆的经济负担高于全球平均水平<sup>[9]</sup>,表明中国痴呆费用对我国乃至全球是一项沉重的经济负担。若不积极有效防控该类疾病,加之我国社会老龄化日益显著,认知障碍与痴呆将给我国经济社会和全民健康带来沉重的负担。

## 3 认知障碍与痴呆防控策略建议

面对老年人群认知障碍与痴呆疾病严峻形势及其带来的危害,需要全社会多方面共同努力,预防为主,关口前移,进行积极防控,提高老年人健康水平和生活质量。

3.1 政府应加大财政政策支持 不断加大公益活动力度,通过电视、广播、报纸等多种形式,不断完善社区卫生中心和三级医疗体系的建设工作,加强老年社交网络的宣传教育,普及认知障碍与痴呆相关知识,介绍关于脑健康和脑保护的策略,提高老年人群对认知障碍与痴呆疾病的认识。

3.2 社区和基层医疗机构应积极开展认知功能健康教育和功能训练 社区卫生中心和基层医疗站通过媒体、互联网和社区义诊等途径加强对老年人的认知障碍和痴呆相关知识科普宣传工作,开展社区健康教育,强化健康教育效果,注重认知功能方面的训练,推动认知障碍患者认知功能的提升,同时积极开展社区筛查,通过社区干预和社区转诊提高人群对该病的防控

水平。

3.3 老年人树立科学健康的生活方式 积极鼓励老年人,特别是有 AD 家族史和高血压、糖尿病、高血脂、心脏病、高同型半胱氨酸血症和颈动脉重度狭窄的高危人群,应加强社会交往、丰富老年人的社交网络,倡导健康生活方式,参加棋牌书画、音乐、舞蹈等各种类型增智益智活动;积极参与社区培训,通过多媒体等途径了解认知障碍与痴呆疾病相关知识,积极改善老年人生活环境,保持老年人好的睡眠卫生,提升照护能力;减少老年认知障碍甚至老年痴呆的发生,从而减轻认知障碍等问题所带来家庭的照料负担,同时照料者可积极寻求社区及政府支持。

除此之外,还要强调科学、健康的生活方式干预,地中海饮食结构能够降低 AD 和认知衰退的风险<sup>[18]</sup>;体育锻炼增加运动量有益于大脑神经的发生及脑血管健康,从而降低认知障碍风险<sup>[10]</sup>;戒烟限酒、心理健康均可通过提高认知功能损害临床症状的阈值<sup>[19]</sup>,缓解脑损伤致认知障碍的发生。

积极控制以上危险因素的综合防控,需要牢记健康的“五大基石”:合理膳食,适量运动,戒烟限酒,心理平衡,良好睡眠。行为决定健康,健康的生活方式是远离疾病的强大盾牌。只有坚持健康的行为,才能拥有健康的身体,这些不仅有效的降低卒中的发生,而且能明显减少 VCI 的发生。

3.4 加强照料者的管理和支持 使照料者了解更多的痴呆知识,同时积极构建老年认知障碍及痴呆分级照护体系,制定有效的应对策略,建立相应的医疗保障系统和社会支持网络,提供多元化的照顾需求<sup>[16]</sup>,减轻照料者及家庭负担,使照料者能正常工作可能为政府当务之急。

总之,随着我国老龄化社会的到来,认知障碍和痴呆的防治任务任重而道远,也是“健康中国”重要的战略任务之一,这需要政府、社会、患者本人、家庭和照料者等多方面共同努力,做到多管齐下、多策并举,实现预防在先、防治结合、关口前移,由此为实现全民健康、助力小康社会发展共同努力,做出积极贡献!

#### 参考文献

- [1] 贾建平,龚敏.“认知单元”是适合我国认知障碍疾病临床实践的诊疗模式[J]. 中华医学杂志,2020,100(9):645-647. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2020.09.002.
- [2] 李晋磊,金平阅,王紫娟,等.城市社区老人生活方式与社交网络对认知障碍的影响[J]. 中华健康管理学杂志,2019,13(3):220-223. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-0815.2019.03.008.
- [3] Chukwujama O, Gormley N. Mild cognitive impairment[J]. N Engl J Med,2011,365(14):1358. DOI: 10.1056/NEJMc1108238.
- [4] Jessen F, Amariglio RE, Buckley RF, et al. The characterisation of

- subjective cognitive decline[J]. Lancet Neurol,2020,19(3):271-278. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30368-0.
- [5] Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's Disease Facts and Figures [J]. Alzheimers Dement,2020. DOI:10.1002/alz.12068.
- [6] 中国痴呆与认知障碍诊治指南写作组. 2018 中国痴呆与认知障碍指南(一)[J]. 中华医学杂志,2018,98(13):965-970. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.13.003.
- [7] World Alzheimer Report. The state of the art of dementia research: New frontiers[EB/OL]. [2018-09-21]. <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018>.
- [8] Jia J, Wang F, Wei C, et al. The prevalence of dementia in urban and rural areas of China[J]. Alzheimers Dement,2014,10(1):19. DOI: 10.1016/j.jalz.2013.01.012.
- [9] Jia J, Wei C, Chen S, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide[J]. Alzheimers Dement,2018,14(4):483-491. DOI: 10.1016/j.jalz.2017.12.006.
- [10] 中国医师协会神经内科分会认知障碍专业委员会. 2019 年中国血管性认知障碍诊治指南[J]. 中华医学杂志,2019,99(35):2737-2744. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.35.005.
- [11] 中华医学会老年医学分会老年神经病学组,脑小血管病认知功能障碍诊疗指南中国撰写专家组. 脑小血管病相关认知功能障碍中国诊疗指南[J]. 中华老年医学杂志,2019,38(4):345-354. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2019.04.001.
- [12] Ding MY, Xu Y, Wang YZ, et al. Predictors of cognitive impairment after stroke: a prospective stroke cohort study[J]. J Alzheimers Dis, 2019,71(4):1139-1151. DOI:10.3233/JAD-190382.
- [13] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480687 adults[J]. Circulation,2017,135(8):759-771. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025250.
- [14] Iadecola C, Duering M, Hachinski V, et al. Vascular cognitive impairment and dementia: JACC Scientific Expert Panel[J]. J Am Coll Cardiol, 2019,73(25):3326-3344. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.04.034.
- [15] 中国卒中学会卒中后认知障碍研究圆桌会议专家组. 中国卒中后认知障碍防治研究专家共识[J]. 中国卒中杂志,2020,15(2):158-166. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2020.02.010.
- [16] 中国老年医学学会认知障碍分会认知障碍患者照料及管理专家共识撰写组. 阿尔茨海默病患者日常生活能力和精神行为症状及认知功能全面管理中国专家共识(2019)[J]. 中华老年医学杂志,2020,39(1):1-8. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2020.01.001.
- [17] Prince M, Wimo A, Guerchet M, et al. World Alzheimer Report 2015. London: Alzheimer's Disease International.
- [18] Nikolaos S, Jose AL, Nicole S, et al. Physical activity, diet, and risk of Alzheimer disease[J]. JAMA,2009,302(6):627-37. DOI: 10.1001/jama.2009.1144.
- [19] Brayne C, Ince PG, Keage HAD, et al. Education, the brain and dementia: neuroprotection or compensation[J]. Brain,2010,133(8):2210-2216. DOI:10.1093/brain/awq185.

(收稿日期:2020-07-16)

## 2 型糖尿病患者胰岛素抵抗与外周血单个核细胞 miR-181a、miR-9 的关系

李伟, 李霞, 徐杰, 白小岗, 白婷

基金项目: 陕西省卫生健康科研基金项目(2018C013)

作者单位: 716000 延安大学附属医院内分泌代谢科

通信作者: 徐杰, E-mail: 182144502@qq.com

**【摘要】目的** 分析 2 型糖尿病患者外周血单个核细胞(PBMC)中微小 RNA-181a(miR-181a)、微小 RNA-9(miR-9)的表达及其与胰岛素抵抗的关系。**方法** 选取 2018 年 12 月—2019 年 12 月延安大学附属医院内分泌代谢科诊治 2 型糖尿病患者 97 例作为观察组,常规体检者 93 例作为健康对照组。比较 2 组空腹胰岛素(FINS)及胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2hPG)、糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)及 PBMC 中 miR-181a、miR-9 的表达差异,并分析 2 型糖尿病患者胰岛素抵抗与上述相关指标的相关性。**结果** 观察组 FINS、HOMA-IR、FPG、2 hPG 及 HbA<sub>1c</sub>水平均明显高于健康对照组( $t=17.808, 14.601, 14.182, 14.744, 17.154, P$  均=0.000);观察组 PBMC 中 miR-181a、miR-9 的表达量均明显高于健康对照组( $t=10.476, 24.113, P$  均=0.000);Pearson 法分析显示,在 2 型糖尿病患者中,HOMA-IR 与 miR-181a、miR-9 表达均呈正相关( $r=0.413, 0.464, P$  均=0.000);Logistic 回归分析显示,BMI、2hPG、HbA<sub>1c</sub>、miR-181a 及 miR-9 表达均是 2 型糖尿病患者发生胰岛素抵抗的危险因素[ $OR(95\% CI)=1.97(1.47 \sim 2.63), 1.99(1.37 \sim 2.88), 2.31(1.42 \sim 3.77), 2.72(1.58 \sim 4.69), 2.53(1.66 \sim 3.87)$ ]。**结论** miR-181a、miR-9 在 2 型糖尿病患者外周血 PBMC 中表达上调,且二者均与 HOMA-IR 呈正相关。

**【关键词】** 糖尿病, 2 型;胰岛素抵抗;外周血单个核细胞;微小 RNA-181a;微小 RNA-9

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.002

**Relationships between insulin resistance and miR-181a, miR-9 in peripheral blood mononuclear cells in type 2 diabetes mellitus** Li Wei, Li Xia, Xu Jie, Bai Xiaogang, Bai Ting. Department of Endocrinology and Metabolism, Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi, Yan'an 716000, China

Corresponding author: Xu Jie, E-mail: 182144502@qq.com

Funding program: Shaanxi Province Health Science and Technology Foundation(2018C013)

**【Abstract】 Objective** To study the expressions of microRNA-181a (miR-181a) and microRNA-9 (miR-9) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of type 2 diabetes mellitus and their relationships with insulin resistance. **Methods**

From December 2018 to December 2019, 97 patients with type 2 diabetes diagnosed and treated by the Department of Endocrinology and Metabolism of the Yan'an University Affiliated Hospital were selected as the observation group, and 93 normal healthy people who had routine physical examination in the same period were selected as the control group. The FINS and HOMA-IR, FPG, 2hPG, HbA<sub>1c</sub> and kidney functions, and the expressions of miR-181a and miR-9 in PBMC were compared between the two groups, and the relationship between insulin resistance and the related indexes was analyzed. **Results** The levels of FINS, HOMA-IR, serum FPG 2hPG and HbA<sub>1c</sub> in the observation group were significantly higher than those in the control group( $t=17.808, 14.601, 14.182, 14.744, 17.154, P=0.000$ ); The expressions of miR-181a and miR-9 in PBMC of the observation group were significantly higher than those of the control group( $t=10.476, 24.113, P=0.000$ ); Pearson analysis showed that HOMA-IR was positively correlated with the expressions of miR-181a and miR-9 in PBMC of patients with type 2 diabetes ( $r=0.413, 0.464, P=0.000$ ); Logistic regression analysis showed that BMI, 2hPG, HbA<sub>1c</sub>, miR-181a expression and miR-9 expression were risk factors of insulin resis[ $OR(95\% CI)=1.97(1.47 \sim 2.63), 1.99(1.37 \sim 2.88), 2.31(1.42 \sim 3.77), 2.72(1.58 \sim 4.69), 2.53(1.66 \sim 3.87)$ ]. **Conclusion** The expressions of miR-181a and miR-9 are up-regulated in peripheral blood PBMC of type 2 diabetic patients, and both of them are positively correlated with HOMA-IR.

**【Key words】** Diabetes mellitus, type 2; Insulin resistance; PBMC; MicroRNA-181a; MicroRNA-9



糖尿病是由多种病因引发的代谢性疾病,其特点为慢性高血糖,并伴有胰岛素分泌或作用缺失,诱发蛋白质、糖和脂肪代谢紊乱<sup>[1]</sup>。胰岛素抵抗、胰岛  $\beta$  细胞功能障碍是 2 型糖尿病病理基础<sup>[2]</sup>。微小 RNA (miRNA) 在 2 型糖尿病中可参与胰岛细胞的发育、糖代谢及并发症等过程。已有报道称,miRNA 在胰岛素主要效应器官如脂肪细胞、肝、骨骼肌等中过表达可导致胰岛素抵抗<sup>[3]</sup>。微小 RNA-181a (microRNA-181a, miR-181a) 可调节功能蛋白的表达及信号通路,参与细胞多项生理活动。研究表明,miR-181a 在多种疾病及肿瘤中异常表达,参与疾病或肿瘤的发生发展<sup>[4]</sup>。微小 RNA-9 (microRNA-9, miR-9) 在多种人类疾病中表达异常,如 miR-9 在肝癌患者血清外泌体中表达水平低于正常供体<sup>[5]</sup>。miR-181a、miR-9 在 2 型糖尿病中对胰岛素抵抗的作用少见报道,现分析 2 型糖尿病患者外周血单个核细胞 (PBMC) 中 miR-181a、miR-9 表达及其与胰岛素抵抗的关系,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 12 月—2019 年 12 月延安大学附属医院内分泌代谢科诊治 2 型糖尿病患者 97 例作为观察组,其中男 50 例,女 47 例,平均年龄 ( $46.73 \pm 10.25$ ) 岁;平均体质指数 (BMI) ( $24.78 \pm 3.23$ )  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;平均收缩压 ( $127.82 \pm 12.13$ ) mmHg,平均舒张压 ( $78.24 \pm 10.63$ ) mmHg;有糖尿病家族病史 32 例,高血压 21 例,饮酒 26 例,有吸烟史 38 例。选取同一时间在医院进行常规体检的健康者 93 例作为健康对照组,其中男 47 例,女 46 例,平均年龄 ( $45.36 \pm 10.57$ ) 岁,平均 BMI ( $23.54 \pm 2.65$ )  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;平均收缩压 ( $125.36 \pm 11.78$ ) mmHg,平均舒张压 ( $77.81 \pm 10.32$ ) mmHg;饮酒 23 例,有吸烟史 34 例。2 组受试者的性别、年龄、收缩压、舒张压、饮酒及有吸烟史者比例比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),观察组 BMI 高于健康对照组 ( $P < 0.05$ )。本研究经延安大学附属医院伦理委员会批准,所有受试者及家属知情且签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合《中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版)》中关于 2 型糖尿病的诊断标准<sup>[6]</sup>;②病程在 1 年以内;③未接受降糖治疗者。(2) 排除标准:①患有恶性肿瘤者;②近期外伤者;③合并肝、肾等疾病者;④急性慢性感染性疾病者。

1.3 观测指标与方法 患者入院翌日清晨、体检者当日取其空腹外周静脉血 7 ml,保存于真空抗凝采血管中;其中 2 ml 血液离心得血浆存于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱,检测生化指标,另外 5 ml 血液用于提取 PBMC。并采集所

有受试对象餐后 2 h 的静脉血 2 ml,用于检测餐后 2 小时血糖 (2hPG)。

1.3.1 空腹胰岛素 (FINS) 及胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR):采用微粒子化学发光法测定 FINS,采用稳态模型计算 HOMA-IR 值,计算公式:  $\text{HOMA-IR} = \text{FPG} \times \text{FINS} / 22.5$ 。

1.3.2 空腹血糖 (FPG)、2 hPG、糖化血红蛋白 ( $\text{HbA}_{1c}$ ) 测定:采用全自动生化分析仪 (BS-360E 型,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 测定 FPG、2 hPG,采用多功能全定量金标检测仪 (NO202M 型,济南奥诺生物工程有限公司) 检测  $\text{HbA}_{1c}$ 。

1.3.3 PBMC 制备:上述血液 5 ml 加入等量 PBS 缓冲液 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司],混合均匀后加入装有淋巴细胞分离液的离心管中,离心收集白膜层细胞,移至新离心管中,PBS 重悬洗涤,再以 Ficoll 密度梯度离心法离心留取管底部的细胞团块即为 PBMC。将 PBMC 加入 TRIzol (日本 TaKaRa 公司) 1 ml 进行裂解,  $-80^\circ\text{C}$  保存,用于提取 RNA。

1.3.4 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 测定 miR-181a、miR-9 表达检测:从  $-80^\circ\text{C}$  取出 PBMC 样本,严格按 TRIzol 试剂说明书提取总 RNA,检测 RNA 纯度及完整度;严格按照逆转录试剂盒 (北京天根生化有限公司) 说明书将 RNA 逆转录为 cDNA,产物置于  $-20^\circ\text{C}$  保存。qRT-PCR 反应 (反应体系 20  $\mu\text{l}$ ):cDNA 模板 2  $\mu\text{l}$ ,  $2 \times \text{SYBR Green PCR Master Mix}$  10  $\mu\text{l}$ ,上下游引物各 1  $\mu\text{l}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  6  $\mu\text{l}$ ,各个样本设置 3 次平行。根据目的基因设计相应的上下游引物,均以 U6 为内参,序列见表 1。反应条件:  $95^\circ\text{C}$  30 s,  $95^\circ\text{C}$  10 s,  $60^\circ\text{C}$  20 s, 35 个循环,在 qRT-PCR 仪 [型号: MiniAmp, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司] 上进行反应。根据各样本的平均 Ct 值,采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法计算 miR-181a、miR-9 的相对表达量。

表 1 miR-181a、miR-9 及内参基因 U6 的引物序列

引物	序列
miR-181a	F 5'-CGCCTCGAGCCCAATATATGTTAATCTCTTACC-3'
	R 5'-GCGCGCTCGACTTTTAAATAAATTTTACTTGCTA-3'
miR-9	F 5'-GGGTCTTTTGTTATCTAGC-3'
	R 5'-TGCGTGTCTGGAGTC-3'
U6	F 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'
	R 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA-3'

1.4 统计学方法 使用 SPSS 24.0 统计软件对数据进行分析。正态分布计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料用频数或率 (%)

表示,比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 法进行相关性分析;采用 Logistic 多因素回归分析危险因素。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 FINS 及 HOMA-IR 水平比较 观察组 FINS 及 HOMA-IR 水平 $[(12.78 \pm 3.86) \mu\text{IU/L}, 4.85 \pm 2.37]$ 均明显高于健康对照组 $[(5.43 \pm 0.99) \mu\text{IU/L}, 1.23 \pm 0.32]$ ,差异有统计学意义( $t = 17.808, 14.601$ ,  $P$  均 = 0.000)。

2.2 2 组 FPG、2 hPG、HbA<sub>1c</sub> 水平比较 观察组 FPG、2hPG、HbA<sub>1c</sub> 水平均明显高于健康对照组( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 2 组血糖、HbA<sub>1c</sub> 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	例数	FPG (mmol/L)	2hPG (mmol/L)	HbA <sub>1c</sub> (%)
健康对照组	93	4.88 ± 0.96	6.68 ± 0.84	5.16 ± 0.57
观察组	97	8.17 ± 2.03	12.61 ± 3.79	9.06 ± 2.12
$t$ 值		14.182	14.744	17.154
$P$ 值		0.000	0.000	0.000

2.3 PBMC 中 miR-181a、miR-9 表达比较 观察组 PBMC 中 miR-181a、miR-9 的表达量 $(2.07 \pm 0.65, 4.25 \pm 1.06)$ 均明显高于健康对照组 $(1.24 \pm 0.41, 1.37 \pm 0.46)$ ,差异有统计学意义( $t = 10.476, 24.113$ ,  $P$  均 = 0.000)。

2.4 HOMA-IR 与 PBMC 中 miR-181a、miR-9 表达的相关性 2 型糖尿病患者 PBMC 中 HOMA-IR 与 miR-181a、miR-9 表达均呈正相关( $r = 0.413, 0.464$ ,  $P$  均 = 0.000)。

2.5 影响 2 型糖尿病患者 HOMA-IR 的多因素分析 将 2 型糖尿病患者 HOMA-IR 值作为因变量,以 BMI、FPG、2 hPG、HbA<sub>1c</sub> 水平及 miR-181a、miR-9 表达作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,BMI、2 hPG、HbA<sub>1c</sub>、miR-181a 及 miR-9 表达均是 2 型糖尿病患者发生胰岛素抵抗的危险因素。见表 4。

## 3 讨 论

糖尿病与心血管疾病、肿瘤并列为三大非传染性慢性疾病,患病人数逐年攀升。糖尿病可分为 1 型糖尿病、2 型糖尿病、妊娠糖尿病及其他特殊类型糖尿病,其中 2 型糖尿病最为常见<sup>[7]</sup>。2 型糖尿病具有隐匿性,多数由于出现并发症被确诊,病程较长,严重者可致残或死亡,对患者生活质量带来极大影响<sup>[8]</sup>。2 型糖尿病是慢性进展性疾病,随着病程进展,胰岛  $\beta$  细胞功能减退,补充胰岛素是控制 2 型糖尿病患者高血糖的有效手段<sup>[9]</sup>。本研究分析 2 组受试者的一般资料,发现观察组的 BMI、FPG、2hPG、HbA<sub>1c</sub> 水平均明显高于健康对照组,提示 2 型糖尿病患者的多项指标表达异常,影响患者的多种功能。胰岛素抵抗是胰岛素作用的组织、靶器官对胰岛素的反应性降低或丧失而造成的临床病理表现,由多种疾病共同引发,但发病机制尚不明确<sup>[10]</sup>。胰岛素抵抗在 2 型糖尿病的发生发展中发挥重要作用,容易诱发糖脂代谢紊乱;同时也存在于肥胖、高血压、高血脂等代谢疾病中影响疾病进程<sup>[11-12]</sup>。胰岛素抵抗主要发生在肝脏及外周组织(肌肉、脂肪)中,可表现为胰岛素抑制肝糖原输出的能力减弱或骨骼肌、脂肪组织储存利用葡萄糖发生障碍<sup>[13-14]</sup>。在 2 型糖尿病患者中,约 80% 患者伴随胰岛素抵抗,因此临床上对于 2 型糖尿病的治疗集中于控制血糖和改善胰岛素抵抗两个方面<sup>[15-16]</sup>。比较 2 组 FINS 及 HOMA-IR 水平,发现观察组 FINS 及 HOMA-IR 水平均明显高于健康对照组,提示 2 型糖尿病患者存在胰岛素抵抗现象。

miRNA 是由 20 ~ 24 个核苷酸组成的单链 RNA,对大多数的编码基因有调控作用,可作为多种疾病的生物标志物<sup>[17]</sup>。miRNA 可调控多种内源性因子的合成和释放,从而影响机体内葡萄糖的摄取、储存及利用等过程,在 2 型糖尿病中发挥重要调节作用<sup>[18]</sup>。miR-181a 为 miR-181 家族成员,位于人染色体 1q32.1 处,其 5' 端存在一段非常保守序列。miR-181a 在机体能

表 4 影响 2 型糖尿病患者 HOMA-IR 的多因素分析

影响因素	B 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
BMI	0.68	0.29	5.36	0.004	1.97	1.47 ~ 2.63
FPG	0.25	0.31	0.63	0.426	1.28	0.70 ~ 2.35
2 hPG	0.69	0.19	13.12	0.000	1.99	1.37 ~ 2.88
HbA <sub>1c</sub>	0.84	0.25	11.22	0.001	2.31	1.42 ~ 3.77
miR-181a	1.00	0.37	7.03	0.000	2.72	1.58 ~ 4.69
miR-9	0.93	0.32	8.45	0.000	2.53	1.66 ~ 3.87

量代谢异常组织中表达上调,在代谢疾病中发挥调控作用<sup>[19]</sup>。Lozano-Bartolomé 等<sup>[20]</sup>研究表明,miR-181a 在糖尿病患者的脂肪组织中异常表达,改变患者对胰岛素的敏感性,其过表达可抑制 TNF- $\alpha$  诱导的胰岛素抵抗。本研究结果中观察组 miR-181a 表达水平高于健康对照组,提示 miR-181a 参与 2 型糖尿病的发生发展并呈高表达,猜测 miR-181a 参与机体能量代谢机制,其高表达或与糖尿病诱发脂肪代谢紊乱有关;由于糖尿病患者长期处于代谢失调状态,体内炎性反应较高或可诱导体内发生胰岛素抵抗,miR-181a 高表达可能通过调节胰岛素敏感性抑制机体的胰岛素抵抗状态。

miR-9 位于人 15 号染色体处,可调节人体内血糖水平。Guo 等<sup>[21]</sup>发现,miR-9 在高脂饮食组小鼠血清中呈高表达,miR-9 及其靶基因 OC-2 可影响胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 对胰岛  $\beta$  细胞的调节功能,进而影响胰岛素基因表达及胰岛素分泌。Jafarian 等<sup>[22]</sup>认为沉默 miR-9 会增加胰岛素产生细胞中的 OC-2 蛋白,抗 miR-9 处理对人骨髓间充质干细胞分化、葡萄糖调节方式以及胰岛素分泌有协同作用,人骨髓间充质干细胞通过抗-miR-9 生成胰岛素生产细胞。本研究结果中观察组 miR-9 表达水平高于健康对照组,提示 miR-9 参与 2 型糖尿病的发生发展并呈高表达,研究猜测 miR-9 可通过调节胰岛  $\beta$  细胞影响胰岛素分泌,同时抗 miR-9 处理可能促进胰岛素分泌,而 2 型糖尿病患者胰岛素分泌失常,猜测 miR-9 或与胰岛素生产细胞相关。

Pearson 法分析结果显示,2 型糖尿病患者 HOMA-IR 与 PBMC 中 miR-181a 表达及 miR-9 表达均呈正相关,提示 miR-181a 表达及 miR-9 表达可参与胰岛素抵抗的发生发展,两者间可能存在某种共同作用机制或靶标调节机体胰岛素抵抗情况。对影响 2 型糖尿病患者 HOMA-IR 的因素进行分析,结果显示 BMI、2hPG、HbA<sub>1c</sub>、miR-181a 及 miR-9 表达均是 2 型糖尿病患者胰岛素抵抗的危险因素,提示下调 miR-181a 表达及 miR-9 表达可能会降低 2 型糖尿病发生胰岛素抵抗的几率。

综上所述,miR-181a、miR-9 在 2 型糖尿病患者 PBMC 中表达上调,且二者均与 HOMA-IR 呈正相关,表明二者可能参与胰岛素抵抗的发展进程。但由于本研究样本量少,结果可能具有局限性,miR-181a、miR-9 对 2 型糖尿病胰岛素抵抗的作用机制及其在临床中的应用价值,仍需扩大样本量进一步验证。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

## 作者贡献声明

李伟:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李霞:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;徐杰:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;白小岗:进行统计学分析;白婷:课题设计,论文撰写

## 参考文献

- [1] Jensen MH, Dethlefsen C, Hejlesen O, et al. Association of severe hypoglycemia with mortality for people with diabetes mellitus during a 20-year follow-up in Denmark: a cohort study [J]. Acta Diabetol, 2020, 57 (5): 549-558. DOI: 10. 1007/s00592-019-01447-x.
- [2] Mu J, Xin G, Zhang B, et al. Beneficial effects of Aronia melanocarpa berry extract on hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats [J]. J Food Sci, 2020, 85 (4): 1307-1318. DOI: 10. 1111/1750-3841. 15109.
- [3] 贺朝晖, 许春容, 黄家虎, 等. miRNA 对 2 型糖尿病胰岛  $\beta$  细胞功能与胰岛素抵抗的调节作用及机制研究进展 [J]. 广东医学, 2019, 40 (21): 2973-2978. DOI: 10. 13820/j. cnki. gdx. 20191207.
- [4] 周杰, 郑远明, 沈宗坤, 等. MiR-181a 和 miR-181b 靶向调控 FUT1 对结直肠癌进展的影响 [J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41 (11): 841-846. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-9158. 2018. 11. 011.
- [5] Tang J, Li Y, Liu K, et al. Exosomal miR-9-3p suppresses HBCF-5 expression and is a functional biomarker in hepatocellular carcinoma [J]. Minerva Medica, 2018, 109 (1): 15-23. DOI: 10. 23736/S0026-4806. 17. 05167-9.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10 (1): 4-67. DOI: 10. 19538/j. nk2018040108.
- [7] 裴晓霞, 郭立新. 糖尿病分型的若干问题探讨 [J]. 中华糖尿病杂志, 2019, 11 (6): 379-383. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2019. 06. 003.
- [8] Knyahnytska Y, Williams C, Dale C, et al. Changing the conversation: diabetes management in adults with severe mental illnesses and type 2 diabetes [J]. Can J Diabetes, 2018, 42 (6): 595-602. DOI: 10. 1016/j. cjcd. 2018. 02. 001.
- [9] 王利, 杨亚峰. 新诊断 2 型糖尿病患者胰岛素强化治疗后应用不同药物治疗方案临床疗效对比研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27 (10): 728-731. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2019. 10. 002.
- [10] Yee HY, 杨晶晶, 万毅刚, 等. 胰岛素抵抗的分子机制及中药的干预作用 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44 (7): 1289-1294. DOI: 10. 19540/j. cnki. cjcm. 20181105. 003.
- [11] Yan QQ, Lei ZB, Zhi ZM, et al. Combined influence of insulin resistance and inflammatory biomarkers on type 2 diabetes: a population-based prospective Cohort study of Inner Mongolians in China [J]. Biomed Environ Sci, 2018, 31 (4): 300-305. DOI: 10. 3967/bes2018. 038.
- [12] 刘晶晶, 卢丽, 胡凤琪, 等. 红花黄色素对早期 2 型糖尿病肾病患者胰岛素抵抗和血液高凝状态的影响 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18 (8): 805-808. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 08. 012.

(下转 773 页)

# 高通量血液透析联合百令胶囊对糖尿病肾病血液透析患者氧化应激、微炎性状态及生存质量的影响

崔俊, 亢宁苏, 周春霞, 陆建勋, 郑露

基金项目: 江苏省自然科学基金青年科技人才专项资金资助项目 (BK20162512)

作者单位: 226000 江苏省南通市第三人民医院肾内科

通信作者: 郑露, E-mail: ntzl9@163.com

**【摘要】目的** 观察高通量血液透析联合百令胶囊对糖尿病肾病血液透析患者氧化应激、微炎性状态及生存质量的影响。**方法** 选择 2018 年 1—12 月江苏省南通市第三人民医院肾内科收治糖尿病肾病血液透析患者 100 例作为研究对象。按照随机数字表法分为低透组 (33 例, 低通量血液透析治疗)、高透组 (33 例, 高通量血液透析治疗) 及联合组 (34 例, 高通量血液透析联合百令胶囊治疗), 3 组均治疗 8 周。比较 3 组治疗后的不良心血管事件发生情况和随访 1 年的生存情况, 检测并比较 3 组患者治疗前后血清总蛋白 (TP)、前白蛋白 (PA)、白蛋白 (ALB)、过氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、白介素-6 (IL-6) 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平。**结果** 联合组的不良心血管事件发生率明显低于低透组和高透组 ( $\chi^2/P=9.738/0.021$ ), 随访 1 年生存率明显高于低透组和高透组 ( $\chi^2/P=11.315/0.018$ )。治疗后, 3 组患者血清 TP、PA、ALB、SOD、GSH-Px 水平均高于治疗前, 血清 MDA 水平均低于治疗前, 且低透组、高透组、联合组上述指标的改善情况依次提高/降低 ( $F/P=22.994/0.000, 156.545/0.000, 36.512/0.000, 23.607/0.000, 158.202/0.000, 23.245/0.000$ ); 高透组及联合组血清 hs-CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平较治疗前降低, 而低透组上述指标较治疗前升高, 3 组治疗后比较差异有统计学意义 ( $F/P=388.173/0.000, 121.384/0.000, 194.367/0.000$ )。**结论** 高通量血液透析联合百令胶囊治疗有助于改善糖尿病肾病血液透析患者的预后, 能够降低不良心血管事件发生率并提高其短期生存率, 提高生存质量, 减轻糖尿病肾病血液透析患者体内的氧化应激反应和微炎性状态。

**【关键词】** 糖尿病肾病; 血液透析; 高通量; 百令胶囊; 氧化应激; 微炎性反应; 生存质量

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.003

**Effect of high throughput hemodialysis combined with Bailing capsules on oxidative stress response, microinflammation and life quality of hemodialysis patients with diabetic nephropathy** Cui Jun, Kang Ningsu, Zhou Chunxia, Lu Jianxun, Zheng Lu. Department of Nephrology, Nantong Third People's Hospital, Jiangsu Province, Nantong 226000, China

Corresponding author: Zheng Lu, E-mail: ntzl9@163.com

Funding program: Jiangsu Provincial Natural Science Foundation Special Fund For Young Scientific and Technological Talents (BK20162512)

**【Abstract】Objective** To observe the effect of high throughput hemodialysis combined with Bailing capsules on oxidative stress response, microinflammation and life quality of hemodialysis patients with diabetic nephropathy. **Methods** 100 hemodialysis patients with diabetic nephropathy who were admitted to Department of Nephrology in Nantong Third People's Hospital of Jiangsu Province from January 2018 to December 2019 were selected as research object, which divided into the low throughput hemodialysis group (33 cases, treated with low throughput hemodialysis), high throughput hemodialysis group (33 cases, treated with high throughput hemodialysis) and high throughput hemodialysis combined with Bailing capsules group (34 cases, treated with high throughput hemodialysis combined with Bailing capsules). The three groups were treated for 8 weeks. The incidence of adverse cardiovascular events and 1-year follow up survival were compared among the three groups. The levels of serum total protein (TP), prealbumin (PA), albumin (ALB), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), hypersensitive C reactive protein (hs-CRP), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) of the three groups before and after treatment were compared. The cardiovascular event rates and survival rates followed up for 1 year of the three groups after treatment were compared. **Results** The cardiovascular event rate of

the high throughput hemodialysis combined with Bailing capsules group after treatment were significantly lower than that of the low throughput hemodialysis group and high throughput hemodialysis group ( $\chi^2/P=9.738/0.021$ ), the survival rate followed up for 1 year were significantly higher than that of the low throughput hemodialysis group and high throughput hemodialysis group ( $\chi^2/P=11.315/0.018$ ). After treatment, The levels of serum TP, PA, ALB, SOD, GSH-Px of the three groups were higher than those before treatment, the levels of serum MDA of the three groups after treatment were lower than those before treatment, and the improvement of the above indicators had been improved in turn at low throughput hemodialysis group, high throughput hemodialysis group and high throughput hemodialysis combined with bailing capsules group ( $F/P=22.994/0.000, 156.545/0.000, 36.512/0.000, 23.607/0.000, 158.202/0.000, 23.245/0.000$ ). There were overall significant differences at levels of serum hs-CRP, IL-6, TNF- $\alpha$  in the three groups after treatment ( $F/P=388.173/0.000, 121.384/0.000, 194.367/0.000$ ). **Conclusion** High throughput hemodialysis combined with *Bailing* capsules in the treatment of hemodialysis patients with diabetic nephropathy can help to improve their prognosis, it can reduce the cardiovascular event rates and improve their short term survival rate, improve the quality of life, it can reduce the hemodialysis patients with diabetic nephropathy of oxidative stress response and microinflammation.

**【Key words】** Diabetic nephropathy; Hemodialysis; High throughput; *Bailing* capsules; Oxidative stress response; Microinflammation; Quality of life

糖尿病肾病是糖尿病的最常见并发症,病情进展快,发展至终末期肾衰竭后只能进行维持性血液透析<sup>[1]</sup>。血液透析是利用半渗透膜将血液中多余的水分及大、中分子物质清除,保持体液酸碱平衡,维持肾脏功能<sup>[2]</sup>。常规的血液透析为低通量血液透析,所用透析器为低通量透析器,有较小的超滤系数,能够清除机体内分子量较小的炎性因子和小分子毒素物质,对于 C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等中、大分子物质清除效果较差<sup>[3]</sup>。高通量血液透析应用高通量滤器,其滤器的膜壁较薄、膜孔径较大,能够让不同大小的分子和物质通过,还具有超滤和反超滤的作用,能够对小分子毒素物质有彻底的清除作用,对中、大分子的清除率也较低通量血液透析提高 10 倍以上,是一种高效的血液净化措施<sup>[4]</sup>。研究表明,血液透析会导致糖尿病肾病患者体内处于微炎性状态,氧化应激反应加重,影响预后<sup>[5]</sup>。百令胶囊是冬虫夏草的发酵菌粉,内含丰富的虫草多糖、虫草酸、核苷酸、氨基酸等多种物质,有助于机体脂质和蛋白质紊乱的改善,有抗炎和抗氧化的作用<sup>[6]</sup>。鉴于此,现观察高通量血液透析联合百令胶囊对糖尿病肾病血液透析患者氧化应激、微炎性状态及生存质量的影响,以期对临床治疗糖尿病肾病血液透析方案的选择提供参考,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2018 年 1—12 月江苏省南通市第三人民医院肾内科收治糖尿病肾病血液透析患者 100 例作为研究对象。按照随机数字表法分为低通量透析组 33 例(低透组)、高通量透析组 33 例(高透组)及高通量透析联合百令胶囊组 34 例(联合组)。低透

组男 18 例,女 15 例,年龄 30~72( $52.06 \pm 8.11$ )岁;血液透析病程 6~30( $18.30 \pm 2.11$ )个月;糖尿病病程 10~16( $14.02 \pm 1.81$ )年;1 型糖尿病 2 例,2 型糖尿病 31 例;并发症:冠心病 8 例,心力衰竭 5 例,高血压 10 例,肾病综合征 11 例。高透组男 20 例,女 13 例,年龄 30~75( $54.15 \pm 7.28$ )岁;血液透析病程 6~28( $19.44 \pm 2.52$ )个月;糖尿病病程 10~15( $12.81 \pm 1.55$ )年;1 型糖尿病 3 例,2 型糖尿病 30 例;并发症:冠心病 10 例,心力衰竭 6 例,高血压 10 例,肾病综合征 12 例。联合组男 19 例,女 15 例,年龄 30~70( $53.36 \pm 8.20$ )岁;血液透析病程 6~31( $20.02 \pm 3.18$ )个月;糖尿病病程 10~17( $13.97 \pm 2.05$ )年;1 型糖尿病 4 例,2 型糖尿病 30 例;并发症:冠心病 9 例,心力衰竭 7 例,高血压 10 例,肾病综合征 14 例。3 组一般资料比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①糖尿病肾病的诊断标准符合《中国肾脏病学》中的相关规定<sup>[7]</sup>;②已进行维持性血液透析 6 个月以上;③在终末期肾衰竭期,肾小球滤过率 $<15$  ml/min;④年龄 $\geq 18$  岁。(2)排除标准:①非糖尿病性的肾损害患者;②入组前 1 个月出现过急性冠状动脉综合征、心力衰竭等急性心血管事件患者;③伴有恶性肿瘤的患者;④入组前 3 个月内接受过输血的患者;⑤伴有肝、肾等其他器质性疾病患者;⑥精神障碍患者。

1.3 治疗方法 低透组给予低通量血液透析,应用贝恩医疗设备(广州)有限公司生产的 16P 型血液透析

仪,透析面积为  $1.3 \text{ m}^2$ ,聚醚砜膜,超滤系数为  $8.5 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ,4 h/次,3 次/周;高通量血液透析,应用贝恩医疗设备(广州)有限公司生产的 20H 型血液透析仪,透析面积为  $1.4 \text{ m}^2$ ,中空聚酰胺膜,超滤系数为  $40.0 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ,4 h/次,3 次/周;联合组在高通量血液透析治疗的基础上给予百令胶囊(杭州中美华东制药有限公司)2.0 g/次口服,3 次/d。3 组均治疗 8 周。

#### 1.4 观察指标与方法

1.4.1 预后评价:记录并比较 3 组治疗后的不良心血管事件发生率和随访 1 年的生存率。

1.4.2 营养指标检测:治疗前后采集患者清晨空腹肘静脉血 5 ml,离心获得血清,置于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱中保存备用;采用双抗夹心酶联免疫吸附法检测血清总蛋白(TP)、前白蛋白(PA)、白蛋白(ALB),检测试剂盒购自上海雅吉生物科技有限公司。

1.4.3 氧化应激指标检测:上述血清采用双抗夹心酶联免疫吸附法检测过氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),检测试剂盒购自南京森贝伽生物科技有限公司。

1.4.4 炎症指标检测:上述血清采用双抗夹心酶联免疫吸附法检测高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白介素-6(IL-6)及 TNF- $\alpha$  水平,检测试剂盒购自南京金益柏生物科技有限公司。

1.5 统计学方法 使用 SPSS 24.0 软件处理试验数据。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验;正态分布计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,2 组比较采用  $t$  检验,多组比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组预后情况比较 不良心血管事件发生率比较,联合组  $<$  高通组  $<$  低透组,而随访 1 年生存率比较,联合组  $>$  高通组  $>$  低透组,差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组预后情况比较 [例(%)]

组别	例数	不良心血管事件发生率	随访 1 年生存率
低透组	33	19(57.58)	21(63.64)
高通组	33	13(39.39)	26(78.79)
联合组	34	6(17.65)	33(97.06)
$\chi^2$ 值		9.738	11.315
$P$ 值		0.021	0.018

2.2 各组治疗前后营养指标比较 治疗前,3 组血清 TP、PA 及 ALB 水平比较,差异无统计学意义( $P >$

0.05);治疗后,3 组各指标均高于治疗前,且联合组  $>$  高通组  $>$  低透组( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 2。

表 2 3 组患者治疗前后营养状况指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	TP(g/L)	PA(mg/L)	ALB(g/L)
低透组 ( $n=33$ )	治疗前	62.29 $\pm$ 7.15	211.15 $\pm$ 14.19	28.22 $\pm$ 3.10
	治疗后	70.36 $\pm$ 8.85	247.43 $\pm$ 18.11	33.06 $\pm$ 3.44
高通组 ( $n=33$ )	治疗前	62.40 $\pm$ 8.33	209.22 $\pm$ 18.48	29.06 $\pm$ 4.23
	治疗后	77.20 $\pm$ 9.11	282.25 $\pm$ 19.04	37.78 $\pm$ 4.61
联合组 ( $n=34$ )	治疗前	62.33 $\pm$ 7.57	208.59 $\pm$ 15.52	28.84 $\pm$ 3.52
	治疗后	85.86 $\pm$ 10.11	323.26 $\pm$ 22.17	42.41 $\pm$ 5.18
$t/P$ 低透组内值		4.075/0.000	9.059/0.000	6.004/0.000
$t/P$ 高通组内值		6.887/0.000	15.811/0.000	8.006/0.000
$t/P$ 联合组内值		10.863/0.000	21.326/0.000	12.634/0.000
$F/P$ 治疗后组间值		22.994/0.000	156.545/0.000	36.512/0.000

2.3 各组治疗前后氧化应激指标比较 治疗前,3 组血清 SOD、MDA、GSH-Px 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗后 3 组血清 SOD、GSH-Px 水平均高于治疗前,血清 MDA 水平低于治疗前,且血清 SOD、GSH-Px 水平联合组  $>$  高通组  $>$  低透组( $P$  均  $< 0.01$ ),血清 MDA 水平联合组  $<$  高通组  $<$  低透组( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 3。

表 3 3 组患者治疗前后氧化应激指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	SOD(uIU/L)	MDA(nmol/L)	GSH-Px(IU/L)
低透组 ( $n=33$ )	治疗前	48.40 $\pm$ 4.29	5.78 $\pm$ 1.04	189.35 $\pm$ 6.56
	治疗后	57.54 $\pm$ 6.39	5.14 $\pm$ 0.68	210.06 $\pm$ 8.86
高通组 ( $n=33$ )	治疗前	49.11 $\pm$ 5.06	5.76 $\pm$ 0.98	191.22 $\pm$ 7.34
	治疗后	64.62 $\pm$ 9.05	4.72 $\pm$ 0.45	221.14 $\pm$ 9.03
联合组 ( $n=34$ )	治疗前	50.03 $\pm$ 4.78	5.79 $\pm$ 1.07	190.04 $\pm$ 6.84
	治疗后	71.12 $\pm$ 10.15	4.30 $\pm$ 0.32	249.43 $\pm$ 10.11
$t/P$ 低透组内值		6.822/0.000	2.959/0.002	10.792/0.000
$t/P$ 高通组内值		8.593/0.000	5.540/0.000	14.770/0.000
$t/P$ 联合组内值		10.961/0.000	7.779/0.000	28.370/0.000
$F/P$ 治疗后组间值		23.607/0.000	23.245/0.000	158.202/0.000

2.4 各组治疗前后炎症因子水平比较 治疗前,3 组血清 hs-CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗后高通组及联合组血清 hs-CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平均低于治疗前( $P < 0.01$ ),而低透组较治疗前均升高( $P < 0.01$ ),并且血清 hs-CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较,联合组  $<$  高通组  $<$  低透组( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 4。

## 3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病危害最大的一种并发症,主要表现为蛋白尿,随病情的加重会导致肾功能不全,肾损害逐渐加重会出现尿毒症,对患者的生命构成极大的威胁<sup>[8]</sup>。糖尿病肾病属于全身微血管疾病,其发生

表 4 3 组患者治疗前后炎症因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	时间	hs-CRP(mg/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- $\alpha$ (ng/L)
低透组 (n=33)	治疗前	9.80 $\pm$ 1.40	24.59 $\pm$ 3.32	53.80 $\pm$ 11.33
	治疗后	11.63 $\pm$ 1.25	28.63 $\pm$ 2.88	62.62 $\pm$ 8.15
高透组 (n=33)	治疗前	9.78 $\pm$ 1.36	25.61 $\pm$ 3.64	54.83 $\pm$ 13.50
	治疗后	6.20 $\pm$ 1.14	19.14 $\pm$ 4.75	36.03 $\pm$ 7.84
联合组 (n=34)	治疗前	10.11 $\pm$ 1.42	24.58 $\pm$ 3.77	52.71 $\pm$ 14.27
	治疗后	4.12 $\pm$ 1.01	14.30 $\pm$ 3.61	29.43 $\pm$ 5.60
t/P 低透组内值		5.601/0.000	5.280/0.000	3.630/0.000
t/P 高透组内值		11.589/0.000	6.211/0.000	6.918/0.000
t/P 联合组内值		20.044/0.000	11.484/0.000	8.855/0.000
F/P 治疗后组间值		388.173/0.000	121.384/0.000	194.367/0.000

发展与遗传、高血糖、高血压等多种因素有关<sup>[9]</sup>。血液透析是治疗终末期糖尿病肾病的常用方法,其中高通量血液透析有高扩散性、高通过性的特点,相比低通量血液透析,其对中、大分子的清除能力更强<sup>[10]</sup>。研究表明,糖尿病肾病血液透析患者的预期寿命要低于其他血液透析患者,这与糖尿病肾病患者体内存在氧化应激和微炎性状态有关,而血液透析还会加重机体的氧化应激反应和炎性反应<sup>[11-13]</sup>。因此,控制氧化应激反应和微炎性反应对于糖尿病肾病血液透析患者预后的改善有重要意义。中医认为,糖尿病肾病属于“关格”“水肿”等范畴,是由于多种因素导致脾肾亏虚,从而影响脏腑气机,致使浊毒、瘀血、水湿等蕴于体内,毒邪又会影晌脾、肺、肾之正气,致使虚虚实实之弊,故治疗应以健脾益肾、排毒化湿为宜<sup>[14]</sup>。百令胶囊是经现代制药工艺制备而成的虫草制剂,其具有补肺肾、益精气的作用<sup>[15]</sup>。本研究观察高通量血液透析联合百令胶囊对糖尿病肾病血液透析患者氧化应激、微炎性状态及生存质量的影响,以期为临床治疗终末期糖尿病肾病患者提供新的指导思路。

本结果显示,联合组的不良心血管事件发生率明显降低,随访 1 年生存率明显升高,经高通量透析联合百令胶囊治疗后患者血清 TP、PA 及 ALB 水平均升高,提示高通量血液透析联合百令胶囊治疗终末期糖尿病肾病患者的预后较好,能够降低心血管事件发生率,改善营养状态,提高生存质量,既往研究显示,高通量血液透析相较于低通量血液透析有更大的孔径,能够获得更纯的透析液,有更好的生物相容性,同时还有对流、吸附等物理作用,可提高对中、大分子毒素的清除能力,本研究与此结论相一致<sup>[16]</sup>。现代药理学研究表明,百令胶囊能够抑制肾小管的纤维化,对肾小管间质有一定的保护作用,从而有助于改善肾功能<sup>[17]</sup>。百令胶囊治疗糖尿病肾病从以下 3 方面发挥作用:(1)抑制肾小球代偿性肥大和肾小球系膜细胞的增殖;

(2)抑制醛糖还原酶的活性,从而抑制山梨醇的堆积,防止影响细胞功能;(3)减轻糖尿病肾病的高滤过和肾小球内压力,防止肾小球的硬化<sup>[18]</sup>,因此,高通量血液透析联合百令胶囊对糖尿病肾病患者的预后优于单纯低通量血液透析和高通量血液透析。本研究还发现,联合组治疗后血清 SOD、GSH-Px、MDA 水平的改善情况均优于低透组和高透组,提示高通量血液透析联合百令胶囊治疗糖尿病肾病血液透析患者,能够明显减轻氧化应激反应。氧化应激是机体的一种防御机制,在正常人体内其处于较低的状态,发挥对机体的保护作用,而在病理状态下,氧化应激会导致细胞膜表面和脂质的过氧化,引发核酸、蛋白质损伤,还与体内炎性因子相互影响,加重病情<sup>[19-21]</sup>。百令胶囊有助于机体内自由基和过氧化脂质的清除,减轻过氧化物酶对细胞膜的损伤,从而提高肾脏的抗氧化能力,另外,百令胶囊的水溶性较低,通过胆汁排泄,只有少量经肠壁通过肠道排泄,不易蓄积在血浆中,对肾脏的损伤较小,有较好的安全性<sup>[22-23]</sup>。炎性反应参与糖尿病肾病的发生发展,另外中性粒细胞、巨噬细胞等炎性细胞还会进入肾脏,从而加重糖尿病肾病的炎性反应<sup>[24-25]</sup>。本结果显示,联合组治疗后血清 hs-CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平均明显低于低透组和高透组,提示高通量血液透析联合百令胶囊治疗糖尿病肾病患者,能够明显减轻微炎性状态,这是因为高通量血液透析相比于低通量血液透析对炎性因子的清除率较高,从而能够改善透析患者的微炎性状态;而低透组治疗后血清 hs-CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平反而升高,与既往研究发现低通量血液透析亦能缓解患者微炎性状态的结果不同<sup>[26]</sup>,这可能是因为本研究选取的研究对象是已进行维持性血液透析 6 个月以上的患者,之前的透析治疗对机体的炎性状态已有所影响,而低通量血液透析对上述炎性因子的清除效果又不如高通量血液透析,从而出现炎性因子暂时升高的现象。联合组在高通量透析基础上服用百令胶囊,其能够提高残余的肾小球滤过率,改善机体的蛋白质代谢,从而降低血清炎性因子水平<sup>[27]</sup>,因此联合治疗对炎性反应的缓解效果更为明显。

综上所述,高通量血液透析联合百令胶囊治疗糖尿病肾病患者的预后情况令人满意,能够降低心血管事件发生率,提高短期生存率,减轻氧化应激反应和微炎性状态,同时还可改善营养状况,有助于提高患者的生活质量。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明



崔俊:提出研究思路,实施研究过程,论文撰写;亢宁苏、周春霞:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;陆建勋:进行统计学分析;郑露:设计研究方案,分析试验数据,论文审核

## 参考文献

- [1] 范婷, 杨晓晖, 李怡, 等. 糖尿病肾病的中医临床研究进展[J]. 北京中医药, 2019, 38(10):1036-1041. DOI:10.16025/j.1674-1307.2019.10.026.
- [2] 芮艳霞. 60 岁及以上维持性血液透析患者临床指标评价[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(24):6042-6046. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2019.24.046.
- [3] 邹海湛. 低通量血液透析与血液透析滤过对维持性血液透析患者尿毒症毒素的清除效果比较[J]. 慢性病学杂志, 2019, 20(8):1240-1242. DOI:10.16440/j.cnki.1674-8166.2019.08.037.
- [4] 易佳佳, 余彩华. 高通量血液透析和血液灌流联合血液透析在治疗终末期糖尿病肾病中的临床疗效分析[J]. 中国医药指南, 2019, 17(6):103-104. DOI:10.15912/j.cnki.gocm.2019.06.089.
- [5] 马志宏, 胡文博, 贾顺莲, 等. 高通量与低通量血液透析对糖尿病肾病透析患者氧化应激、细胞免疫功能和微炎性状态的影响[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(30):5963-5966. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2017.30.037.
- [6] 扈瑞春, 徐国庆, 任彦芳, 等. 百令胶囊联合辛伐他汀改善糖尿病肾病微炎性状态临床研究[J]. 中国药业, 2018, 27(20):73-75. DOI:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.20.024.
- [7] 黎磊石. 中国肾脏病学[M]. 北京:人民军医出版社, 2008:640-645.
- [8] Shao DR, Zhou Y. Efficacy of dialysis for the treatment of patients with diabetic nephropathy: Study protocol[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(47):e17923. DOI:10.1097/MD.00000000000017923.
- [9] Roux M, Perret C, Feigerlova E, et al. Plasma levels of hsa-miR-152-3p are associated with diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. Nephrol Dial Transplant, 2018, 33(12):2201-2207. DOI:10.1093/ndt/gfx367.
- [10] 韦振忠, 宋雪霞, 廖红霞, 等. 血液透析加血液灌流对终末期糖尿病肾病患者骨密度以及 anti-ox-LDL-Ab 水平的影响[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(9):900-904. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.09.009.
- [11] 谢平. 高通量血液透析对糖尿病肾病患者的微炎症与氧化应激相关因子的作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(5):462-464. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2016.05.020.
- [12] 张彤, 凌宏威, 应长江, 等. 沙格列汀联合缬沙坦对早期 2 型糖尿病肾病患者炎症指标与肾功能的影响[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(4):353-357. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.04.007.
- [13] 黄秀丽, 吴艳, 喻荷淋, 等. 替米沙坦联合前列地尔对糖尿病肾病氧化应激、免疫炎性反应及肾功能的影响[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(7):705-708, 713. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.014.
- [14] 谢静, 方朝晖. 中医药治疗糖尿病肾病最新研究进展[J]. 中医药临床杂志, 2019, 12(11):2024-2027. DOI:10.16448/j.cjtem.2019.0588.
- [15] 黄雅兰, 黄国东, 蔡林坤, 等. 百令胶囊联合 RAAS 阻断剂治疗早期糖尿病肾病疗效和安全性的系统评价[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6):1290-1297. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2019.06.002.
- [16] 何婉霞, 朱冠男. 高通量血液透析联合丹参多酚酸盐注射液对糖尿病肾病患者氧化应激及微炎性状态的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(11):1207-1210. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2019.11.018.
- [17] 杨洪梅, 张康羿, 胡勤锦, 等. 百令胶囊联合丹参多酚酸盐对糖尿病肾病患者血管内皮功能及氧化应激情况影响分析[J]. 世界中医药, 2018, 13(11):2815-2818, 2822. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.11.038.
- [18] 李钟, 张光明, 郑莎, 等. 百令胶囊联合厄贝沙坦对糖尿病肾病患者氧化应激、炎症反应及免疫功能的影响[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(9):670-673. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20190322.004.
- [19] Yanowsky-Escatell FG, Andrade Sierra J, Pazarín-Villasenor L, et al. The role of dietary antioxidants on oxidative stress in diabetic nephropathy[J]. Iran J Kidney Dis, 2020, 14(2):81-94.
- [20] 赵晔, 王磊, 王秀颖, 等. 维生素 D3 治疗糖尿病肾病患者的疗效及肾组织细胞损伤与 ROS、AOPP、SOD 的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(1):36-40. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.009.
- [21] 管青聪, 柯沙沙, 徐芳, 等. 瑞舒伐他汀联合羧苯磺酸钙治疗Ⅲ期和Ⅳ期糖尿病肾病的临床效果[J]. 中国医药, 2019, 14(8):1181-1184. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.08.015.
- [22] 陈天华, 王长江, 彭惠, 等. 百令胶囊对维持性血液透析患者氧化应激及炎症状态的影响[J]. 临床肾脏病杂志, 2017, 17(6):376-378. DOI:10.3969/j.issn.1671-2390.2017.06.012.
- [23] 孙胜奎, 范银燕, 左丽娜, 等. 百令胶囊结合丹参多酚酸盐对糖尿病肾病Ⅳ期老年患者肾功能和血糖情况影响分析[J]. 世界中医药, 2019, 14(9):2400-2403. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.09.039.
- [24] 任艳珠, 孙艳艳. 微炎症与营养不良在糖尿病肾病进展中作用的研究新进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(80):369-370. DOI:10.19613/j.cnki.1671-3141.2019.80.226.
- [25] 马莹, 白婧, 常月. 2 型糖尿病患者血清微小 RNA-31 表达与肾病并发症及机体炎症水平的关系[J]. 中国医药, 2020, 15(5):712-715. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.05.018.
- [26] 高楠. 高通量血液透析对糖尿病肾病患者炎症因子及免疫功能的影响[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(5):510-513. DOI:10.3969/j.issn.1671-2587.2019.05.019.
- [27] 韦记伟. 百令胶囊联合大剂量雷米普利对早期糖尿病肾病患者肾功能及血糖控制的影响[J]. 医学理论与实践, 2019, 32(21):3465-3466. DOI:10.19381/j.issn.1001-7585.2019.21.030.

(收稿日期:2020-02-18)



# 利拉鲁肽联合短期胰岛素强化治疗初诊肥胖 2 型糖尿病患者疗效及对炎症因子的影响

张洁,董闪闪,陈志花,贾新菊,吕晓静,周慧敏

基金项目: 河北省卫健委重点科技研究计划项目(20170501)

作者单位: 050031 石家庄,河北医科大学第一医院内分泌科

通信作者: 吕晓静, E-mail: lvxiaojing2009@sina.com

**【摘要】目的** 观察利拉鲁肽联合短期胰岛素强化治疗在初诊肥胖 2 型糖尿病患者中的降糖疗效,以及对炎症因子的影响。**方法** 选取 2017 年 7 月—2018 年 6 月在河北医科大学第一医院内分泌科初诊肥胖 2 型糖尿病患者 80 例,随机数字表法分为 2 组各 40 例,观察组在胰岛素强化治疗联合二甲双胍的基础上联用利拉鲁肽,对照组予以胰岛素强化治疗联合二甲双胍,治疗 4 周后,比较 2 组治疗前后 BMI、腰围、内脏脂肪面积、血糖、血糖波动、血糖达标时间、胰岛素用量以及肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )、白介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素 6(IL-6)等指标变化。**结果** 与对照组治疗后比较,观察组 BMI、腰围、内脏脂肪面积明显减少( $t/P=2.710/0.001, 3.560/0.001, 3.561/0.001$ );空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 hPG)、日间血糖平均绝对差(MODD)、平均血糖波动幅度(MAGE)均明显减低( $t/P=3.564/0.001, 3.316/0.002, 4.765/0.000, 3.559/0.001$ );血糖达标时间缩短,胰岛素用量减少( $t/P=4.899/0.000, 4.825/0.000$ );炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 显著降低( $t/P=2.468/0.024, 2.493/0.012, 2.688/0.008$ )。**结论** 初诊肥胖 2 型糖尿病患者在胰岛素强化治疗的基础上联用利拉鲁肽,可促使血糖尽快达标,减少胰岛素用量,降低炎症因子水平。

**【关键词】** 利拉鲁肽;胰岛素强化治疗;短期;糖尿病,2 型;肥胖;炎症因子

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.004

**Effect of liraglutide combined with short-term intensive insulin therapy on newly diagnosed obese type 2 diabetes mellitus and its influence on inflammatory factors** Zhang Jie, Dong Shanshan, Chen Zhihua, Jia Xinju, Lyu Xiaojing, Zhou Huimin. Department of Endocrinology, The First Hospital of Hebei Medical University, Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: Lyu Xiaojing, E-mail: lvxiaojing2009@sina.com

Funding program: Key Scientific and Technological Research Project of Hebei Health Commission (20170501)

**【Abstract】Objective** To observe the hypoglycemic effect of liraglutide combined with short-term intensive insulin therapy in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes mellitus and its influence on inflammatory factors. **Methods** From July 2017 to June 2018, 80 newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes in the Department of Endocrinology, the first Hospital of Hebei Medical University were selected. The patients were randomly divided into two groups with 40 cases in each group. The observation group was given liraglutide on the basis of intensive insulin therapy combined with metformin. The control group was given intensive insulin therapy combined with metformin. After 4 weeks of treatment, the changes of BMI, waist circumference, visceral fat area, blood glucose, blood glucose fluctuation, blood glucose reaching the standard time, insulin dosage, tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL-1 $\beta$ , IL-6) were compared between the two groups before and after treatment. **Results** After treatment, compared with the control group, BMI, waist circumference, visceral fat area of the observation group were significantly reduced( $t/P=2.710/0.001, 3.560/0.001, 3.561/0.001$ ), fasting blood glucose(FPG), postprandial 2-hour blood glucose 2 hPG, MODD and MAGE were significantly decreased ( $t/P=3.564/0.001, 3.316/0.002, 4.765/0.000, 3.559/0.001$ ), the time of blood glucose reaching the standard was shortened, the dosage of insulin was decreased( $t/P=4.899/0.000, 4.825/0.000$ ), and the inflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 were significantly decreased( $t/P=2.468/0.024, 2.493/0.012, 2.688/0.008$ ). **Conclusions** The combination of liraglutide and intensive insulin therapy in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes can promote blood glucose to reach the standard as soon as possible, reduce the dosage of insulin and reduce the level of inflammatory factors.

**【Key words】** Liraglutide; Intensive insulin therapy, short term; Diabetes mellitus, type 2; Obesity; Inflammatory factor

随着我国老龄化社会的到来,2 型糖尿病及肥胖患病率逐年上升。2013 年全国调查 2 型糖尿病的患病率高达 10.4%,2015 年《中国居民营养与慢性病状况报告》显示,全国 18 岁以上成人的肥胖率为 11.9%<sup>[1]</sup>。在超重和肥胖的人群中,糖尿病患病率分别为 12.8% 和 18.5%,2 型糖尿病和肥胖的共存使糖尿病的治疗变得尤为复杂。对于初诊伴有明显高血糖的 2 型糖尿病患者,糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)>9.0% 或空腹血糖(FPG)>11.1 mmol/L,在“2 型糖尿病短期胰岛素强化治疗临床专家指导意见”<sup>[2]</sup>明确指出,需要短期胰岛素强化治疗改善血糖。而肥胖的 2 型糖尿病患者多伴有胰岛素抵抗,建议联合使用至少 1 种可降低体质量的其他降糖药物,如二甲双胍、GLP-1 受体激动剂<sup>[3]</sup>。目前,更多的研究集中于短期胰岛素强化治疗后选择 GLP-1 受体激动剂。本研究针对初诊的肥胖 2 型糖尿病患者,起始短期胰岛素强化联用利拉鲁肽,观察对血糖变化、血糖波动、胰岛素用量、血糖达标时间等临床疗效及炎症因子的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 7 月—2018 年 6 月河北医科大学第一医院内分泌科收治初诊肥胖 2 型糖尿病患者 80 例,随机数字表法分为对照组和观察组,每组 40 例。2 组患者临床资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①符合 2017 版“中国 2 型糖尿病防治指南”中 2 型糖尿病诊断标准<sup>[4]</sup>,且 HbA<sub>1c</sub>≥9.0% 和/或 FPG≥11.1 mmol/L;②年龄均>18 岁且<60 岁;③体质指数(BMI)≥28 kg/m<sup>2</sup>,腰围:男性≥90 cm,女性≥85 cm;④病程在 12 个月之内,未应用任何降血糖药物。(2)排除标准:①存在糖尿病酮症酸中毒、高血糖高渗状态、乳酸酸中毒、感染等糖尿病急性并发症;②严重肝、肾功能损害和心脑血管疾病;③ 1 型糖尿病、妊娠糖尿病、继发性糖尿病;④合并甲状腺疾病;⑤存在胃肠道疾病,如慢性胰腺炎、消化性溃疡、消化不良等;⑥近 3 个月用过影响血糖的药物。

1.3 治疗方法 患者入院后均进行糖尿病教育及医学营养、运动宣教,对照组予二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司生产)联合胰岛素(3 餐前皮下注射门冬胰岛素,睡前皮下注射地特胰岛素,丹麦诺和诺德公司生产)治疗,二甲双胍 1.5 g/d 口服,分 3 次服用;胰岛素初始每日总量(IU)=体质量(kg)×(0.4~0.5)(IU/kg),地特胰岛素占全天总量的 40%~60%,余下部分按 1/3、1/3、1/3 比例分配到三餐前注射门冬胰岛素。观察组在二甲双胍联合胰岛素的基础上给予利拉鲁肽(丹麦诺和诺德公司生产)0.6 mg 皮下注射,1 次/d(1 周后无不良反应,加量至 1.2 mg 皮下注射,1 次/d)。治疗期间监测 3 餐前及 3 餐后 2 hPG、睡前血糖,根据 3 餐后 2 hPG 调整 3 餐前门冬胰岛素剂量,根

表 1 2 组患者基线资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	对照组( $n=40$ )	观察组( $n=40$ )	$\chi^2/t$ 值	$P$ 值
男/女[例(%)]	23(57.50)/17(42.50)	22(55.00)/18(45.00)	0.124	0.650
年龄(岁)	41.38±10.85	40.69±9.21	0.734	0.442
病程(月)	8.5±4.1	9.0±3.9	0.432	0.790
血糖				
FPG(mmol/L)	13.67±1.21	14.35±0.96	1.124	0.251
2 hPG(mmol/L)	19.98±2.97	18.23±3.35	1.015	0.311
HbA <sub>1c</sub> (%)	12.08±2.07	11.23±1.24	1.291	0.214
机体指标				
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	28.2±5.3	29.3±4.2	0.972	0.388
腰围(cm)	95.76±6.67	98.15±7.29	1.138	0.270
内脏脂肪面积(cm <sup>2</sup> )	174.69±19.23	175.12±17.88	1.001	0.347
就诊原因[例(%)]				
有症状就诊	13(32.50)	12(30.00)	0.622	0.433
健康体检	18(45.00)	20(50.00)	0.856	0.355
其他疾病就诊	9(22.50)	8(20.00)	0.974	0.346
合并症[例(%)]				
高血压	9(22.50)	10(25.00)	0.426	0.531
高血脂	13(32.50)	14(35.00)	0.799	0.402
高尿酸血症	2(5.00)	3(7.50)	1.055	0.338
家族史[例(%)]	3(7.50)	4(10.00)	0.429	0.510

据 FPG 调整地特胰岛素的剂量,直至血糖达标,治疗疗程均为 4 周。

#### 1.4 观察指标与方法

1.4.1 机体生物学指标:于入院时、治疗 4 周后记录患者腰围、身高、体质量,计算 BMI,测定内脏脂肪面积(使用欧姆龙健康医疗株式会社的 HDS-2000 型内脏脂肪测量装置)。

1.4.2 血糖及血糖波动指标检测:患者入院时禁食 12 h,翌日晨起空腹采取肘静脉血 10 ml,分离血清待测。HbA<sub>1c</sub>采用西门子 DCA Vantage2000 及其相应的测定试剂盒(免疫比浊法)检测,FPG、2 hPG 以葡萄糖氧化酶法采用贝克曼库尔特公司生产的 Synchrom Lx20 全自动生化分析仪测定。治疗期间每日监测 3 餐前及 3 餐后 2 hPG、睡前血糖,必要时加测夜间 00:00、03:00 血糖,使用三诺血糖仪监测;依据中华医学会内分泌学会制定的 2017 版“糖尿病患者血糖波动管理专家共识”及患者的空腹血糖、餐后血糖等数据计算 2 组治疗前后平均血糖波动幅度(MAGE),日间血糖平均绝对差(MODD)等指标<sup>[5-6]</sup>。记录 2 组患者血糖达标时间,以 FPG、2 hPG 皆达标的时间为准,血糖达标标准:FPG 4.4 ~ 7.0 mmol/L,2 hPG < 10.0 mmol/L;治疗 4 周后,记录 2 组患者的胰岛素用量。

1.4.3 炎症因子检测:于治疗前、治疗后 4 周留取患者翌日空腹静脉血 10 ml,离心留取血清 -80℃ 保存。采用酶联免疫法检测血清炎症因子白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF-α)、IL-1β,试剂盒购自南京建成生物工程研究所,严格按照试剂盒要求进行操作。

1.4.4 不良反应:强化治疗期间记录患者低血糖发生次数(血糖≤3.9 mmol/L 为低血糖、血糖≤2.8 mmol/L 为严重低血糖)。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组内治疗前后比较采用配对 *t* 检验,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采

用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组治疗前后机体生物学指标比较 与治疗前比较,对照组治疗后 BMI、腰围、内脏脂肪面积无明显变化( $P > 0.05$ ),观察组各项指标均下降,且低于对照组( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后 BMI、腰围及内脏脂肪面积比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	时间	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	腰围(cm)	内脏脂肪面积(cm <sup>2</sup> )
对照组 ( <i>n</i> = 40)	治疗前	28.2 ± 5.3	95.76 ± 6.67	174.69 ± 19.23
	治疗后	27.6 ± 4.9	93.45 ± 7.14	172.52 ± 19.56
观察组 ( <i>n</i> = 40)	治疗前	29.3 ± 4.2	98.15 ± 7.29	175.12 ± 17.88
	治疗后	25.5 ± 2.8	88.32 ± 2.09	155.37 ± 8.06
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		1.112/0.326	0.534/0.537	0.432/0.758
<i>t</i> / <i>P</i> 观察组内值		3.313/0.002	2.711/0.005	3.325/0.002
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		2.710/0.009	3.560/0.001	3.561/0.001

2.2 2 组治疗前后血糖指标比较 治疗前,2 组 FPG、2 hPG、MODD、MAGE 比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗后,2 组上述指标均下降,且观察组较对照组下降更显著( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 3。

2.3 2 组血糖达标时间及胰岛素用量比较 观察组血糖达标时间短于对照组,胰岛素用量少于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 4。

表 4 2 组患者血糖达标时间、胰岛素用量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	例数	达标时间(d)	胰岛素用量(IU · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> )
观察组	40	6.9 ± 0.3	0.57 ± 0.12
对照组	40	8.6 ± 0.4	0.62 ± 0.14
<i>t</i> / <i>P</i> 值		4.899/0.000	4.825/0.000

2.4 2 组治疗前后炎症因子水平比较 治疗前,2 组 TNF-α、IL-1β、IL-6 比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗后,对照组无变化,观察组下降,而且观察组低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 5。

表 3 2 组患者治疗前后血糖及血糖波动性指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组 别	时间	FPG	2 hPG	MODD	MAGE
对照组 ( <i>n</i> = 40)	治疗前	13.67 ± 1.21	19.98 ± 2.97	5.03 ± 2.33	6.43 ± 2.14
	治疗后	7.26 ± 1.43	8.16 ± 3.24	3.76 ± 0.83	4.63 ± 1.49
观察组 ( <i>n</i> = 40)	治疗前	14.35 ± 0.96	18.23 ± 3.35	5.62 ± 2.08	6.98 ± 1.24
	治疗后	5.91 ± 1.24	6.23 ± 2.35	1.15 ± 0.97	2.78 ± 1.54
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		3.314/0.002	3.567/0.001	3.135/0.003	2.903/0.009
<i>t</i> / <i>P</i> 观察组内值		3.562/0.001	3.558/0.001	4.478/0.000	3.314/0.002
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		3.564/0.001	3.316/0.002	4.765/0.000	3.559/0.001

表 5 2 组患者治疗前后 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 比较 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/ml)

组别	时间	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6
对照组 (n=40)	治疗前	78.6 $\pm$ 19.4	24.5 $\pm$ 3.8	692.1 $\pm$ 50.3
	治疗后	75.1 $\pm$ 18.5	23.8 $\pm$ 4.2	652.5 $\pm$ 60.2
观察组 (n=40)	治疗前	82.5 $\pm$ 16.7	23.5 $\pm$ 4.9	665.9 $\pm$ 48.5
	治疗后	55.9 $\pm$ 12.6	13.1 $\pm$ 2.1	322.8 $\pm$ 69.6
t/P 对照组内值		1.291/0.233	1.288/0.246	1.292/0.232
t/P 观察组内值		2.563/0.015	2.560/0.016	2.775/0.006
t/P 治疗后组间值		2.408/0.024	2.493/0.012	2.688/0.008

2.5 2 组患者不良反应比较 观察组发生轻度低血糖 3 例,对照组发生轻度低血糖 6 例,2 组比较差异无统计学意义。

### 3 讨论

胰岛素强化治疗是强化血糖控制的重要方法之一,短期胰岛素强化治疗具有快速控制血糖、减轻高糖毒性的作用,而且在糖尿病早期可明显改善胰岛  $\beta$  细胞功能,延缓糖尿病进展及糖尿病并发症进程<sup>[7]</sup>。但接受胰岛素强化治疗的患者血糖波动及低血糖发生率明显升高<sup>[8]</sup>。与血糖持续升高相比较,血糖波动性的增加更易引起活性氧、活性氮自由基的形成,引起  $\beta$  细胞氧化应激损伤及凋亡增加。回顾性队列研究显示,对于病程越早的 2 型糖尿病患者,利拉鲁肽改善  $\beta$  细胞功能程度越好,降糖减重效果越显著<sup>[9]</sup>。笔者早期的研究证实<sup>[10]</sup>,病程长、血糖控制不佳的患者加用利拉鲁肽后,血糖波动指标 MAGE、MODD 逐渐下降。基于上述理论基础,本研究对于初诊的肥胖 HbA<sub>1c</sub> > 9.0% 的 2 型糖尿病患者,在起始胰岛素强化治疗时联合利拉鲁肽降血糖。结果证实,无论是否加用利拉鲁肽,胰岛素短期强化治疗均能够使 FPG、2 hPG 血糖下降,但 2 组比较,观察组血糖、MODD、MAGE 下降更明显,低血糖发生率更低,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),显示出利拉鲁肽独特的平稳控糖优势,与其促进人体分泌胰岛素,抑制餐后胰高血糖素的分泌密不可分。这种特殊的双激素调节机制,成为该药改善血糖波动的重要证据。与此同时,早期胰岛素强化联用利拉鲁肽治疗,明显缩短血糖达标时间,减少胰岛素剂量,从而增加患者的依从性,避免长期大剂量外源性胰岛素导致的体质量增加。

2 型糖尿病合并肥胖的患者,胰岛素抵抗更为严重,这类患者的治疗难度也相应增加<sup>[11]</sup>。与单纯肥胖患者相比,2 型糖尿病合并肥胖患者减重并维持体质量更加困难。而内脏脂肪增加可能是肥胖患者发生胰岛素抵抗的主要原因。随着内脏脂肪增加,相应增加起始胰岛素的剂量,显著增加心血管疾病风险。胰高血糖素样肽受体激动剂利拉鲁肽是一类新型的降血糖

药物,在不引起低血糖的情况下,有效控制血糖,又可通过激活胃壁的 GLP-1 受体,延缓胃排空,并且激活下丘脑中枢的 GLP-1 受体,减少食欲和主动进食,从而降低体质量<sup>[12]</sup>。真实世界研究显示,利拉鲁肽治疗 2 年,可显著降低 T2DM 腰围。本研究周期为 4 周,已经显现出利拉鲁肽减轻体质量、缩小腰围、减少内脏脂肪面积的优势,主要与其增加促脂肪分解因子表达,抑制促脂肪合成因子表达有关<sup>[13-14]</sup>。

此外,内脏脂肪堆积释放大量脂肪因子和细胞因子,形成局部和全身的炎症反应<sup>[15]</sup>。已有越来越多的研究证实,初诊 2 型糖尿病伴肥胖患者的机体 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 ASAA 等炎症因子呈上升趋势<sup>[16]</sup>,而炎症反应状态通过多条信号通路导致胰岛素抵抗,增加心血管风险。本研究中,治疗初期给予利拉鲁肽治疗,患者的炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  较对照组明显下降,考虑主要有以下原因:(1)核转录因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 的活化是细胞内主要的炎症信号,可诱导促炎因子及酶的转录来增加活性氧生成,促进炎症反应,利拉鲁肽可通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路而影响炎症反应下游因子,减少炎症因子的生成<sup>[17]</sup>;(2)内脏型肥胖人群内脏脂肪细胞增大会导致其分泌过多的瘦素、TNF- $\alpha$ 、IL-6,加重体内的炎症反应状态。利拉鲁肽可增加棕色脂肪产热,促使白色脂肪棕色化,有助于减少内脏脂肪,减轻体质量,还可改善内脏脂肪分布,缓解内脏脂肪沉积所致胰岛素抵抗,达到调控血糖、体质量的目的<sup>[18-19]</sup>,从而有助于减轻体内炎症反应。由此可见,早期应用利拉鲁肽,通过减少内脏脂肪面积,有力地减轻了炎症反应,有利于糖尿病病情的控制。

综上所述,对于肥胖、血糖较高的初诊 2 型糖尿病患者,利拉鲁肽联合短期胰岛素强化治疗,具有明显提高临床疗效、减少内脏脂肪面积、降低体内炎症反应水平等多重作用。临床有效性与安全性并重,值得推广应用。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

张洁:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;董闪闪、周慧敏:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;陈志花:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;贾新菊:进行统计学分析;吕晓静:课题设计,论文撰写

**参考文献**

- [1] 国家卫生计生委疾病预防控制局. 中国居民营养与慢性病状况报告(2015 年)[M]. 北京:人民卫生出版社. 2015.
- [2] 李延兵,马建华,母义明,等. 2 型糖尿病短期胰岛素强化治疗临床专家指导意见[J]. 药品评价,2017,14(9):5-12. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-2809. 2017. 09. 001.
- [3] 中华医学会内分泌学分会. 中国 2 型糖尿病合并肥胖综合管理专家共识[J]. 药品评价,2016,13(17):5-12. DOI: 10.3969/j.

- issn. 1672-2809. 2016. 17. 001.
- [4] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 2017 版 [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1): 4-67. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2018. 01. 003.
- [5] 中华医学会内分泌学分会. 糖尿病患者血糖波动管理专家共识 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 3(8): 633-636. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1000-6699. 2017. 08. 002.
- [6] Suh S, Kim JH. Glycemic variability: How do measure it and why is it important [J]. Diabetes Metab, 2015, 39(4): 273-282. DOI: 10. 4093/dmj. 2015. 39. 4. 273.
- [7] Sorli C, Heile MK. Identifying and meeting the challenges of insulin therapy in type 2 diabetes [J]. Multidiscip Healthc, 2014, 7: 267-282. DOI: 10. 2147/JMDH. S64084.
- [8] Reznik Y, Cohen O. Insulin pump for 2 type diabetes: Use and misuse of continuous subcutaneous insulin infusion in type 2 diabetes [J]. Diabetes Care, 2013, 36(Suppl 2): S219-S225. DOI: 10. 2337/dcS13-2027.
- [9] Kondo Y, Satoh S, Osada UN, et al. Early liraglutide treatment improves B-cell function in patients with type 2 diabetes a retrospective cohort study [J]. Endocr J, 2015, 62(11): 971-980. DOI: 10. 1507/endocrj. EJ15-0206.
- [10] 张洁, 赵媛媛, 周慧敏, 等. 利拉鲁肽对血糖控制不佳的 2 型糖尿病患者胰岛 B 细胞功能及血糖波动的影响 [J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(6): 527-529. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2015. 06. 013.
- [11] 孙英东, 马凯. Ghrelin 与肥胖, 胰岛素抵抗和 2 型糖尿病的研究进展 [J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(7): 666-669. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2017. 07. 020.
- [12] Nauck M, Rizzo M, Johnson A, et al. One-Daily liraglutide versus lixisenatide as add-on to metformin in type 2 diabetes: A 26-week randomized controlled clinical trial [J]. Diabetes Care, 2016, 39(9): 1501-1509. DOI: 10. 2337/dc15-2479.
- [13] El Bekay R, Coin-Araguez L, Fernández-García D, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 on the differentiation and metabolism of human adipocytes [J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(11): 1820-1834. DOI: 10. 1111/bph. 13481.
- [14] Shao Y, Yuan G, Zhang J, et al. Liraglutide reduces lipogenic signals in visceral adipose db/db mice with AMPK activation and Akt suppression [J]. Des Devel Ther, 2015, 18(9): 1177-1184. DOI: 10. 2147/DDDT. S79175.
- [15] Janochova K, Michal H, Marek B, et al. Visceral fat and insulin resistance- What we know [J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2019, 163(1): 19-27. DOI: 10. 5750/bp. 2018. 062.
- [16] 蒙光义, 王冬晓, 庞家莲, 等. 利拉鲁肽联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病的疗效观察 [J]. 中国药房, 2015, 26(5): 658-661. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-0408. 2015. 05. 29.
- [17] 郑坤杰, 耿建林, 刘晴晴, 等. 胰岛素治疗初诊肥胖 T2DM 患者联用利拉鲁肽对微炎症及  $\beta$  细胞功能的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(20): 4917-4620. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2019. 20. 012.
- [18] Lingvay I, Desouza CV, Lalic KS, et al. A 26-week randomized controlled trial of semaglutide once daily versus liraglutide and placebo in patients with type 2 diabetes suboptimally controlled on diet and exercise with or without metformin [J]. Diabetes Care, 2018, 41(19): 1926-1937. DOI: 10. 2337/dc17-2381.
- [19] Billings LK, Doshi A, Gouet D, et al. Efficacy and safety of IDegLira versus Basal-Bolus insulin therapy in patients with type 2 diabetes uncontrolled on metformin and basal insulin: the DUAL VII randomized clinical [J]. Diabetes Care, 2018, 41(5): 1009-1016. DOI: 10. 2337/dc17-1114.

(收稿日期: 2020 - 03 - 27)

(上接 763 页)

- [13] 乔雪松, 牛燕媚, 傅力. Sestrin2/3 在有氧运动改善骨骼肌胰岛素抵抗中的作用研究进展 [J]. 中国运动医学杂志, 2019, 38(9): 806-808. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-6710. 2019. 09. 011.
- [14] 王玺, 郭春英, 李冬梅, 等. 乌司他丁辅助胰岛素强化治疗糖尿病酮症酸中毒患者的疗效及其对血清  $\beta$ -HB 和硫酸素水平的影响 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19(2): 142-146. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 02. 008.
- [15] 谭晓娟, 王慧, 张瑞. 新诊断合并糖尿病酮症酸中毒的 1 型糖尿病和 2 型糖尿病患者临床特征比较 [J]. 中国医药, 2020, 15(2): 235-238. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2020. 02. 018.
- [16] 周广举, 崔佳乐, 李宜臻, 等. 胰岛素短期强化治疗后不同治疗方案对 2 型糖尿病患者血糖控制水平及其相关指标的影响 [J]. 中国医药, 2019, 14(12): 1813-1817. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 12. 013.
- [17] 李露露, 蒲实, 范秋灵, 等. 糖尿病肾病患者循环 miRNA 表达谱的分析 [J]. 中国医科大学学报, 2019, 48(8): 694-698. DOI: 10. 12007/j. issn. 0258-4646. 2019. 08. 005.
- [18] Petrica L, Pusztai AM, Vlad M, et al. MiRNA expression is associated with clinical variables related to vascular remodeling in the kidney and the brain in type 2 diabetes mellitus patients [J]. Endocr Res, 2020, 45(2): 119-130. DOI: 10. 1080/07435800. 2019. 1690505.
- [19] 胡际东, 温丽, 郭珍, 等. 血清 miR-181b 及 miR-210 在妊娠期高血压疾病中表达及与炎性细胞因子的相关性 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(3): 241-244. DOI: 10. 13507/j. issn. 1674-3474. 2019. 03. 010.
- [20] Lozano-Bartolomé J, Llauroad G, Manel PO, et al. Altered expression of miR-181a-5p and miR-23a-3p is associated with obesity and TNF- $\alpha$ -induced insulin resistance [J]. TJ Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(4): 1447-1458. DOI: 10. 1210/jc. 2017-01909.
- [21] Guo C, Sun YQ, Li Q, et al. MiR-7, miR-9 and miR-375 contribute to effect of Exendin-4 on pancreatic  $\beta$ -cells in high-fat-diet-fed mice [J]. Clin Invest Med, 2018, 41(1): 16-24. DOI: 10. 25011/cim. v41i1. 29459.
- [22] Jafarian A, Taghikani M, Abroun S, et al. The generation of insulin producing cells from human mesenchymal stem cells by MiR-375 and Anti-MiR-9 [J]. PLoS One, 2015, 10(6): 650-664. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0128650.

(收稿日期: 2020 - 04 - 26)

# 硫辛酸对 2 型糖尿病肾病患者氧化应激、足细胞指标和炎症因子水平的影响

李敬, 樊星, 高燕, 张丽敏, 杜伟轩, 王倩

作者单位: 071000 保定, 河北大学附属医院肾内二科

通信作者: 樊星, E-mail: fanxing81@163.com

**【摘要】目的** 观察 2 型糖尿病肾病患者应用硫辛酸治疗后氧化应激和足细胞标志蛋白(PCX)、明胶酶相关载脂蛋白(NGAI)、足细胞裂孔膜蛋白(nephrin)水平的变化。**方法** 选取 2016 年 3 月—2019 年 3 月河北大学附属医院肾内二科诊治 2 型糖尿病肾病患者 80 例作为研究对象,应用奇、偶数法分为 2 组。对照组 40 例予常规药物方案治疗,观察组 40 例在对照组治疗方案基础上予以硫辛酸治疗,比较 2 组 PCX、NGAI、nephrin 水平以及肾功能指标、氧化应激指标、炎症因子水平差异。**结果** 治疗后,观察组血清肌酐(Scr)和尿蛋白排泄率(UAER)低于对照组( $t=5.583, 19.738, P$  均=0.000);F2-异前列腺素类化合物(PGF2)、丙二醛(MDA)、硝基酪氨酸(NT)水平低于对照组( $t=29.316, 35.976, 9.125, P$  均=0.000);治疗后 2 组 PCX 和 nephrin 均升高,NGAI 均降低,且观察组升高/降低幅度大于对照组( $t=4.339, 8.102, 13.440, P$  均=0.000);治疗后 2 组高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-6(IL-6)水平均降低,且观察组低于对照组( $t=6.010, 8.751, 3.835, P$  均=0.000)。**结论** 2 型糖尿病肾病患者在接受常规方案治疗的同时辅以硫辛酸治疗,能够促进肾功能恢复,减轻氧化应激反应、炎症反应及足细胞损伤,效果显著。

**【关键词】** 2 型糖尿病肾病;硫辛酸;氧化应激反应;足细胞标志蛋白;明胶酶相关载脂蛋白;足细胞裂孔膜蛋白

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.005

**The effect of lipoic acid on the level of oxidative stress, podocyte and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetic nephropathy** Li Jing, Fan Xing, Gao Yan, Zhang Limin, Du Weixuan, Wang Qian. Department of Nephrology, Affiliated Hospital of Hebei University, Hebei Province, Baoding 071000, China

Corresponding author: Fan Xing, E-mail: fanxing81@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the changes of oxidative stress, podocyte marker protein (PCX), gelatinase related apolipoprotein and podocyte hiatal membrane protein in patients with type 2 diabetic nephropathy after treatment with lipoic acid. **Methods** From March 2016 to March 2019, 80 patients with type 2 diabetic nephropathy were selected as the research objects. They were divided into two groups by odd and even number method. 40 cases in the control group were treated with conventional drug regimen. 40 cases in the observation group were treated with lipoic acid on the basis of the control group. The levels of PCX, gelatinase related apolipoprotein, podocyte pore membrane protein, renal function indexes, oxidative stress indexes and inflammatory factors were compared between the two groups. **Results** After treatment, the serum creatinine and urinary albumin excretion rates of the observation group were lower than those of the control group ( $t=5.583, 19.738, P=0.000$ ), and the levels of F2 isoprostanes, MDA and NT in the observation group were lower than those in the control group ( $t=29.316, 35.976, 9.125, all P=0.000$ ). After treatment, PCX and podocyte pore membrane protein increased and gelatinase related apolipoprotein decreased in both groups, and the increase / decrease range of observation group was greater than that of control group ( $t=4.339, 8.102, 13.440, all P=0.000$ ). After treatment, the levels of high-sensitivity C-reactive protein, tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin-6 in the two groups were decreased, and the observation group was lower than the control group ( $t=6.010, 8.751, 3.835, all P=0.000$ ). **Conclusion** Patients with type 2 diabetic nephropathy received conventional treatment combined with lipoic acid treatment, which can promote the recovery of renal function, reduce oxidative stress reaction, inflammatory response and podocyte damage, with significant effect.

**【Key words】** Type 2 diabetic nephropathy; Lipoic acid; Oxidative stress; Podocyte marker protein; Gelatinase related apolipoproteins; Podocyte pore membrane protein expression

近年来,伴随我国居民生活水平提高及老龄化人口数量的增加,临床上各种慢性病的发病率有明显增加并呈年轻化的趋势,严重威胁公众健康<sup>[1]</sup>。糖尿病肾病作为 2 型糖尿病最为常见的并发症之一,其发生率也明显增加,且高病死率、高致残率的特点已经受到普遍关注<sup>[2]</sup>。2 型糖尿病肾病的发生与肾小球血流动力学紊乱、脂质代谢紊乱、细胞因子产生增多等诸多因素均有关。而最新研究表明<sup>[3-4]</sup>,氧化应激反应在 2 型糖尿病肾病的发生、发展中发挥重要作用,是糖尿病肾病各病理环节的共同改变,伴随氧化应激反应的增强,肾小球损伤会明显加重。基于此,现观察应用硫辛酸治疗 2 型糖尿病肾病患者的效果,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 3 月—2019 年 3 月河北大学附属医院肾内二科诊治 2 型糖尿病肾病患者 80 例作为研究对象,应用奇、偶数法分为对照组(常规药物方案治疗)和观察组(常规药物方案+硫辛酸治疗)各 40 例;患者均满足中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组 DN 防治专家共识中 2 型糖尿病肾病诊断标准<sup>[5]</sup>;排除伴发精神疾病、慢性肾小球肾炎、高血压肾病等。观察组男 23 例,女 17 例,年龄 57~75 (66.1±5.9)岁;病程 5~20(7.7±2.3)年;有家族遗传史 29 例;并发症:高血压 9 例,周围神经病变 7 例,视网膜病变 5 例,皮肤化脓性感染 4 例,白内障 3 例,冠心病 2 例;糖化血红蛋白 8~15 (10.5±1.4)%;体质指数 24~30 (25.1±3.9) kg/m<sup>2</sup>。对照组男 25 例,女 15 例,年龄 56~76(66.3±5.8)岁;病程 4~22 (7.9±2.2)年;有家族遗传史 30 例;并发症:高血压 11 例,周围神经病变 8 例,视网膜病变 3 例,皮肤化脓性感染 2 例,白内障 1 例,冠心病 1 例,动脉硬化 1 例;糖化血红蛋白 7~14(10.3±1.5)%;体质指数 25~32 (25.7±3.7) kg/m<sup>2</sup>。2 组患者性别、年龄、病程、并发症等临床资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 治疗方法 2 组患者均予常规药物方案进行治疗:调整饮食、指导患者进行适宜运动、胰岛素强化降糖、控制血压等。观察组患者另予硫辛酸注射液(南京新百药业有限公司生产)600 mg 静脉滴注,每天 1 次,2 周为 1 个治疗周期。

1.3 观察指标与方法 治疗前后翌日清晨抽取患者空腹肘静脉血 5 ml,离心取血清待检。(1)肾功能指标:血清肌酐(SCr)和尿白蛋白排泄率(UAER)应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测;(2)氧化应激指标:F2-

异前列腺素类化合物(PGF2)、丙二醛(MDA)、硝基酪氨酸(NT)采用 ELISA 方法检测;(3)足细胞标志蛋白(PCX)、明胶酶相关载脂蛋白(NGAI)及足细胞裂孔膜蛋白(nephrin)水平采用 ELISA 方法检测<sup>[6]</sup>;(4)炎症因子:采用免疫散射比浊法检测高敏 C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-6(IL-6)水平。试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,由医院检验科负责全部指标检测且整个检测过程严格执行说明书要求。

1.4 统计学方法 运用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学处理。正态分布计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用卡方检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组治疗前后肾功能指标比较 治疗前 2 组 SCr 和 UAER 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),治疗后 2 组各指标均降低,且观察组低于对照组( $P<0.01$ ),见表 1。

表 1 2 组患者治疗前后肾功能指标比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	时间	SCr (mmol/L)	UAER (mg/24 h)
对照组 ( $n=40$ )	治疗前	105.10±16.03	798.09±25.50
	治疗后	92.24±18.93	670.40±42.01
观察组 ( $n=40$ )	治疗前	104.51±14.82	802.33±12.25
	治疗后	70.91±15.02	511.12±28.98
$t/P$ 对照组内值		2.037/0.044	1.975/0.049
$t/P$ 观察组内值		2.858/0.003	2.511/0.020
$t/P$ 治后组间值		5.583/0.000	19.738/0.000

2.2 2 组治疗前后血清氧化应激指标水平比较 治疗前 2 组 PGF2、MDA、NT 水平比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );治疗后 2 组氧化应激各指标均降低,且观察组降低幅度较对照组更显著( $P<0.01$ ),见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后氧化应激指标水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ , U/L)

组别	时间	PGF2	MDA	NT
对照组 ( $n=40$ )	治疗前	52.55±4.38	76.38±4.36	50.47±11.37
	治疗后	34.56±2.60	58.91±4.42	34.58±6.01
观察组 ( $n=40$ )	治疗前	53.55±2.41	77.25±3.36	49.53±11.40
	治疗后	18.50±2.29	14.62±6.41	22.56±5.77
$t/P$ 对照组内值		10.452/0.005	11.452/0.001	8.965/0.000
$t/P$ 观察组内值		6.443/0.001	6.523/0.001	6.477/0.001
$t/P$ 治疗组后组间值		29.316/0.000	35.976/0.000	9.125/0.000

2.3 2 组治疗前后血清 PCX、NGAI、nephrin 水平比较 治疗前 2 组 PCX、NGAI、nephrin 表达水平比较差异

无统计学意义( $P>0.05$ );治疗后 2 组 PCX 和 nephrin 均升高,NGAI 均降低,且观察组升高/降低幅度大于对照组( $P<0.01$ ),见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后 PCX、NGAI、nephrin 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml)

组别	时间	PCX	NGAI	nephrin
对照组 ( $n=40$ )	治疗前	119.02 $\pm$ 11.40	249.65 $\pm$ 31.33	76.98 $\pm$ 14.50
	治疗后	153.65 $\pm$ 28.95	185.44 $\pm$ 21.01	97.88 $\pm$ 14.52
观察组 ( $n=40$ )	治疗前	121.50 $\pm$ 10.42	250.45 $\pm$ 31.44	77.26 $\pm$ 13.35
	治疗后	180.55 $\pm$ 26.45	122.45 $\pm$ 20.91	136.52 $\pm$ 26.44
$t/P$ 对照组内值		2.823/0.005	3.098/0.001	3.376/0.000
$t/P$ 观察组内值		3.443/0.001	2.523/0.001	3.417/0.001
$t/P$ 治疗后组间值		4.339/0.000	13.440/0.000	8.102/0.000

2.4 2 组治疗前后血清炎性因子水平比较 治疗前,2 组 hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );治疗后 2 组各指标均降低,且观察组低于对照组( $P<0.05$ ),见表 4。

表 4 2 组患者治疗前后炎性因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	hs-CRP (mg/L)	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL-6 (ng/L)
对照组 ( $n=40$ )	治疗前	4.41 $\pm$ 1.79	18.66 $\pm$ 4.77	7.43 $\pm$ 4.33
	治疗后	3.72 $\pm$ 1.45	14.31 $\pm$ 3.96	6.79 $\pm$ 3.80
观察组 ( $n=40$ )	治疗前	4.50 $\pm$ 1.75	18.60 $\pm$ 4.65	7.24 $\pm$ 4.26
	治疗后	2.44 $\pm$ 1.30	11.31 $\pm$ 2.46	4.15 $\pm$ 2.81
$t/P$ 对照组内值		2.559/0.014	1.996/0.047	2.186/0.039
$t/P$ 观察组内值		2.489/0.025	2.549/0.016	2.561/0.013
$t/P$ 治疗后组间值		6.010/0.000	8.751/0.000	3.835/0.000

### 3 讨论

近年来,2 型糖尿病肾病的发病率有明显增加的趋势,严重威胁公众健康。伴随我国医疗技术发展和进步,临床对 2 型糖尿病肾病的发病机制研究越来越透彻,最新报道显示,氧化应激反应在 2 型糖尿病肾病的发生、发展中发挥重要作用,是糖尿病肾病各病理环节的共同改变<sup>[7-8]</sup>。高敏 C 反应蛋白是由肝脏产生并且分泌的一种急性反应蛋白,其参与机体内各种免疫及炎症反应,大量临床报道显示,其水平高低和 2 型糖尿病患者的病情之间存在一定的相关性<sup>[9-10]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$  是由单核巨噬细胞产生的多功能炎性细胞因子,其能够通过协助激活机体免疫细胞,促进炎性细胞聚集黏附,扩张患者微血管等方式来诱发体内各种炎症反应的发生,而且有报道指出,高敏 C 反应蛋白和肿瘤坏死因子- $\alpha$  都与糖尿病患者尿蛋白量存在一定正相关性<sup>[11-12]</sup>。氧化应激是自由基在体内发生的负面作用,伴随体内自由基数量的增加,抗氧化保护作

用会明显减弱,二者一旦失衡则会发生氧化应激反应,损伤机体组织细胞,严重时甚至会诱发胰岛素抵抗<sup>[13-15]</sup>。国内大量研究报道指出<sup>[16-19]</sup>,抗氧化剂不仅能够降低自由基的产生,提高患者机体的抗氧化能力,预防和减少氧化应激带来的各种损伤,还能够增强患者机体内胰岛素的敏感性,防止患者病情进展,预防和减少 2 型糖尿病各种并发症的发生。本研究显示,治疗前 2 组患者肾功能指标、氧化应激反应指标、炎症反应指标及足细胞标志蛋白、明胶酶相关载脂蛋白、足细胞裂孔膜蛋白等水平比较差异无统计学意义;治疗后观察组患者 SCr、UAFR、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平和对照组相比明显降低( $P<0.05$ ),而且治疗后 2 组患者的 PGF2、NT、MDA、PCX 水平较治疗前均有改善,且观察组较对照组改善幅度更显著( $P<0.05$ )。硫辛酸是临床常用的强效抗氧化剂,其水溶性和脂溶性较好,用药后能够达到多种细胞和组织部位并发挥相应作用<sup>[20-21]</sup>。氧化应激反应中,氧自由基作用于细胞器和生物膜后会产生 F2-异前列腺素类化合物、NT、MDA 等产物,因此临床常将上述指标水平作为氧化应激反应程度评估指标。本研究中各种氧化应激反应指标较治疗前明显改善,且观察组改善更显著,说明硫辛酸具有明显改善糖尿病肾病患者氧化应激反应的作用<sup>[22-23]</sup>。足细胞是一种高分化细胞,其足突之间由多种蛋白质如 PCX、nephrin 连接形成的复合体维持足细胞正常的形态和功能,并发挥肾小球滤过屏障功能,一旦受到氧自由基的损伤,肾小球膜的完整性被破坏,肾滤过功能会受到严重损伤。NGAI、nephrin 属于一种分泌性蛋白,其能够减轻足细胞损伤程度,保护肾小球的屏障功能<sup>[24-26]</sup>。

总之,2 型糖尿病肾病患者在接受常规方案治疗的同时辅以硫辛酸治疗,能够在一定程度上促进肾功能恢复,减轻氧化应激反应、炎症反应及足细胞损伤,效果显著,值得临床推广。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

李敬:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;樊星:论文审核修改;高燕、张丽敏、杜伟轩、王倩:实施研究过程,资料收集,分析试验数据,统计分析

**参考文献**

- [1] 屈春梅,陈书梅,张又之,等.  $\alpha$ -硫辛酸对糖尿病肾病患者氧化应激、血管内皮及肾功能的影响[J]. 海南医学院学报,2018,24(2):165-168. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20180105.027.
- [2] 张铭予.  $\alpha$ -硫辛酸对 2 型糖尿病肾病患者血清 TNFR1 浓度和尿 PCX 排泄的影响[D]. 太原:山西医科大学,2016.
- [3] 董闪闪,刘璠,李奉,等. 硫辛酸对糖尿病肾病Ⅲ期患者 PCX 和



- VEGF 的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(5): 77-81. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2018. 10. 009.
- [4] Carracher AM, Marathe PH, Close KL. International diabetes federation 2017[J]. Journal of Diabetes, 2018, 10(5): 353-356. DOI: 10. 1111/1753-0407. 12644.
- [5] 李君玲, 仝小林. 早期诊断 2 型糖尿病肾病指标[C]. 第五届国际中医糖尿病大会暨国际中医药糖尿病临床研究联盟成立大会论文集. 2011: 198-203.
- [6] 董闪闪, 刘璠, 郭玉卿, 等. 硫辛酸对早期糖尿病肾病患者尿足细胞标志蛋白和血浆血管内皮生长因子的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2016, 35(7): 487-491. DOI: 10. 14109/j. cnki. xyylc. 2016. 07. 008.
- [7] 项红秀. 羟苯磺酸钙分散片联合  $\alpha$ -硫辛酸治疗糖尿病肾病Ⅳ期患者临床疗效及安全性评价[J]. 河北医药, 2017, 10(5): 738-739, 743. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-7386. 2017. 05. 028.
- [8] 杨庆平, 钟国庆, 王翼华, 等. 硫辛酸联合羟苯磺酸钙治疗糖尿病肾病的疗效及安全性评价[J]. 中国合理用药探索, 2017, 14(10): 54-57. DOI: 10. 3969/j. issn. 2096-3327. 2017. 10. 018.
- [9] 马莹, 白婧, 常月. 2 型糖尿病患者血清微小 RNA-31 表达与肾病并发症及机体炎症水平的关系[J]. 中国医药, 2020, 15(5): 712-715. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2020. 05. 018.
- [10] 田瑞, 周芸. 三种常用公式对糖尿病肾病合并高血压患者肾小球滤过率估算的准确性比较[J]. 中国医药, 2019, 14(2): 253-255. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 02. 024.
- [11] 冷伟, 刘春莹, 冯露夷, 等. 补阳还五汤辅助早期糖尿病肾病的疗效及对肾纤维化、氧化应激反应的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(2): 155-158. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 02. 012.
- [12] 赵艳红, 李红梅, 孙阳. 高通量血液透析联合海昆肾喜对糖尿病肾病患者氧化应激及微炎症状态的影响[J]. 中国医药导报, 2020, 17(4): 98-101, 109.
- [13] 王卫民. 不同剂量  $\alpha$ -硫辛酸对合并大血管病变的 2 型糖尿病患者血糖和 C 反应蛋白的影响[J]. 中国综合临床, 2016, 32(6): 533-536. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1008-6315. 2016. 06. 017.
- [14] 周敏.  $\alpha$ -硫辛酸对糖尿病肾病患者尿 PCX 及 VEGF 的影响[J]. 实用糖尿病杂志, 2017, 13(2): 41-42. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-8982. 2017. 05. 015.
- [15] Zhu YL, Ding H, Fan PL, et al. Predicting the maturity of haemodialysis arteriovenous fistulas with colour Doppler ultrasound: A single-centre study from China[J]. Clinical Radiology, 2016, 71(6): 576-582. DOI: 10. 14109/j. cnki. xyylc. 2016. 07. 008.
- [16] 李晓娟, 梁艳. 早期糖尿病肾病患者应用硫辛酸治疗对其氧化应激反应及微量白蛋白排泄机制的影响[J]. 中国病案, 2018, 19(9): 104-106. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-2566. 2018. 09. 037.
- [17] 张铭予, 黄涛, 吉晓琴, 等.  $\alpha$ -硫辛酸对 2 型糖尿病肾病患者血清肿瘤坏死因子受体 1 浓度和 PCX 排泄的影响[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(5): 685-687. DOI: 10. 11655/zgywylc. 2016. 05. 029.
- [18] Iida N, Seo Y, Sai S, et al. Clinical implications of intrarenal hemodynamic evaluation by doppler ultrasonography in heart failure[J]. JACC: Heart Failure, 2016, 4(8): 674-682. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2016. 17. 005.
- [19] 孙彦国, 陈奕名. 抗氧化剂  $\alpha$  硫辛酸对早期糖尿病肾病微量白蛋白尿排泄率的影响及相关性分析[J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 30(12): 1356-1357, 1616. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-8849. 2016. 25. 035.
- [20] 徐小君.  $\alpha$ -硫辛酸治疗早期糖尿病肾病对尿微量白蛋白排泄率和血浆内皮素-1 的影响[J]. 现代实用医学, 2016, 28(3): 340-342. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-0800. 2016. 03. 031.
- [21] 刘晶晶, 卢丽, 胡凤琪, 等. 红花黄色素对早期 2 型糖尿病肾病患者胰岛素抵抗和血液高凝状态的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(8): 805-808. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 08. 012.
- [22] 曾锦辉, 罗芳涛, 林鹭平, 等.  $\alpha$  硫辛酸联合贝那普利对早期糖尿病肾病患者尿微量白蛋白排泄率与血清超敏 C 反应蛋白水平的影响[J]. 中国药师, 2016, 19(8): 1497-1499. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-049X. 2016. 08. 020.
- [23] 李明, 门敏, 李楠, 等.  $\alpha$ -硫辛酸联合达格列净对 2 型糖尿病患者糖脂代谢和氧化应激的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(9): 872-876. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 09. 003.
- [24] 孟天宇, 王颜刚. 硫辛酸对老年 2 型糖尿病肾病患者足细胞标志蛋白、明胶酶相关载脂蛋白、足细胞裂孔膜蛋白表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(16): 3925-3927. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2019. 16. 020.
- [25] 时黛, 凌珑, 查兵兵, 等. 硫辛酸联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病的效果[J]. 中国继续医学教育, 2018, 10(21): 120-121. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-9308. 2018. 21. 061.
- [26] He X, Hu X, Ma X, et al. Elevated serum fibroblast growth factor 23 levels as an indicator of lower extremity atherosclerotic disease in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Cardiovascular Diabetology, 2017, 16(1): 77. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-8054. 2017. 06. 029.

(收稿日期: 2020-03-31)

作者 · 编者 · 读者

## 欢迎关注《疑难病杂志》微信公众平台

本刊已开通微信公众平台并取得认证, 借助该平台可以即时查询本刊简介、阅读稿约、浏览杂志全文或摘要, 学习论文写作知识和技巧, 并可在微社区进行互动交流。为加强作者、读者和编者之间的联系提供了更为方便快捷的手段, 欢迎大家予以关注! 关注方法: 扫描中文目次首页的二维码, 或直接搜索公众号“疑难病杂志”。

# 达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 疗效及安全性的 Meta 分析

卢琳, 何杰, 李培培, 李小燕, 余觅, 张维, 肖秋红, 孙建

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81600388)

作者单位: 610500 成都医学院第一附属医院呼吸与危重症医学科

通信作者: 何杰, E-mail: 157110097@qq.com

**【摘要】目的** 系统评价达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(OSAS)疗效及安全性。**方法** 计算机检索 PubMed、Cochrane Library、Embase、Web of science、万方数据库、维普数据库、中国学术期刊全文数据库(CNKI),检索时限为 2012 年 1 月 1 日—2019 年 11 月 8 日,搜索所有关于达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的文献。由 2 位研究者按照纳入和排除标准对文献进行筛选,并加以资料提取及方法学质量评价,采用 Revman5.2 软件进行 Meta 分析。**结果** 共纳入 11 篇随机对照试验文献,包括 533 例 2 型糖尿病合并 OSAS 患者。Meta 分析结果显示,试验组 BMI 低于对照组( $SMD = -1.49, 95\% CI -2.05 \sim -0.93, P < 0.01$ ),试验组稳态模型评估胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)也低于对照组( $SMD = -2.42, 95\% CI -3.15 \sim -1.68, P < 0.01$ );试验组呼吸暂停低通气指数(AHI)和嗜睡量表评分(ESS)均低于对照组( $SMD = -3.28, 95\% CI -4.58 \sim -1.99, P < 0.01$ ; $SMD = -1.02, 95\% CI -1.44 \sim -0.59, P < 0.01$ ),试验组睡眠最低血氧饱和度高于对照组( $SMD = 0.75, 95\% CI 0.28 \sim 1.21, P = 0.002$ );2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义( $OR = 1.17, 95\% CI 0.60 \sim 2.28, P = 0.660$ )。**结论** 达格列净联合二甲双胍能有效降低肥胖 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的 BMI、HOMA-IR,改善睡眠质量,不良反应少。

**【关键词】** 达格列净;二甲双胍;肥胖;糖尿病 2 型;阻塞性睡眠呼吸暂停综合征;Meta 分析

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.006

**Meta-analysis of efficacy and safety of dapagliflozin combined with metformin in the treatment of obese type 2 diabetes mellitus with obstructive sleep apnea syndrome** Lu Lin, He Jie, Li Peipei, Li Xiaoyan, Yu Mi, Zhang Wei, Xiao QiuHong, Sun Jian. Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Sichuan Province, Chengdu 610500, China

Corresponding author, He Jie, E-mail: 157110097@qq.com

**【Abstract】Objective** To systematically evaluate the efficacy and safety of dapagliflozin combined with metformin in the treatment of obese type 2 diabetes mellitus complicated with obstructive sleep apnea syndrome. **Methods** We searched PubMed, Cochrane Library, EMBASE, web of science, Wanfang database, VIP database, and CNKI. The retrieval time is from January 1, 2012 to November 8, 2019. Objective to search for all the literatures on the treatment of obese type 2 diabetes mellitus complicated with obstructive sleep apnea syndrome by using dapagliflozin combined with metformin. Two researchers screened the literatures according to the inclusion and exclusion criteria, extracted the data and evaluated the methodological quality. The meta-analysis was performed by Revman 5.2 software. **Results** A total of 11 randomized controlled trials were included, including 533 patients with type 2 diabetes mellitus complicated with obstructive sleep apnea syndrome. The results of meta-analysis showed that BMI of experimental group was lower than that of control group( $SMD = -1.49, 95\% CI -2.05 \sim -0.93, P < 0.01$ ). HOMA-IR of the experimental group was also lower than that of the control group ( $SMD = -2.42, 95\% CI -3.15 \sim -1.68, P < 0.01$ ). The apnea hypopnea index (AHI) and sleepiness scale score (ESS) of the experimental group were lower than those of the control group ( $SMD = -3.28, 95\% CI -4.58 \sim -1.99, P < 0.01$ ; $SMD = -1.02, 95\% CI -1.44 \sim -0.59, P < 0.01$ ). The lowest sleep oxygen saturation of the experimental group was higher than that of the control group ( $SMD = 0.75, 95\% CI 0.28 \sim 1.21, P = 0.002$ ). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ( $OR = 1.17, 95\% CI 0.60 \sim 2.28, P = 0.660$ ). **Conclusion** Dapagliflozin combined with

metformin can effectively reduce BMI and HOMA IR of obese type 2 diabetes mellitus complicated with obstructive sleep apnea syndrome, improve sleep quality and have fewer adverse reactions.

**【Key words】** Dapagliflozin; Metformin; Obesity; Diabetes mellitus, type 2; Obstructive sleep apnea syndrome; Meta-analysis

随着生活水平的提高,人们的生活方式和饮食结构的改变,糖尿病发病率呈现出逐年增高的趋势,其中 2 型糖尿病占糖尿病总人数的 95% ~ 97%,严重危害着人类的生命健康<sup>[1-3]</sup>。研究表明,大约 80% 的 2 型糖尿病患者都存在着超重或肥胖症<sup>[4]</sup>,肥胖症的发生是联系 2 型糖尿病和阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 (obstructive sleep apnea syndrome, OSAS) 的重要环节,三者相互联系,彼此影响,临床上患者常同时出现上述 3 种疾病<sup>[5]</sup>。近年来,OSAS 合并 2 型糖尿病的肥胖患者成为了国内外研究的热点,Sweed 等<sup>[6]</sup>研究表明,OSAS、2 型糖尿病和肥胖症在发病的分子机制上有着诸多共同点,如脂类代谢紊乱、应激、胰岛素抵抗等。对于 OSAS 合并 2 型糖尿病的肥胖患者,虽然传统的口服降糖药联合胰岛素治疗可以有效降低血糖,但也同时增加了患者的体质量,从而进一步加重了阻塞性睡眠呼吸暂停的程度,未能有效降低发生心脑血管意外的风险。钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT-2) 抑制剂达格列净除能有效降低肾脏对葡萄糖的重吸收外,还具有减轻体质量、调节血压、改善高血脂等作用<sup>[7]</sup>。不少研究针对 OSAS 合并 2 型糖尿病的肥胖患者使用达格列净联合二甲双胍进行治疗,部分结果表明,达格列净联合二甲双胍不仅降低血糖和减轻体质量,也改善了患者的通气功能<sup>[8]</sup>;但也有研究表明,该治疗方案未使得 OSAS 合并 2 型糖尿病的肥胖患者获益,反而增加了肾功能损伤的风险<sup>[9]</sup>。因单个研究的纳入患者数量相对较少,结论有待进一步验证,并且目前暂无达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 的 Meta 分析文章。因此,本研究采用 Meta 分析的方法评价达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 患者的疗效和安全性,旨在为此类疾病的合理用药提供一定的循证参考,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准 (1) 研究类型:国内外公开发表的关于达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 的随机对照试验。语种仅限于中、英文。(2) 研究对象:已确诊的 2 型糖尿病合并 OSAS 的肥胖患者。肥胖症诊断标准根据“中国成人超重和肥胖症预防控制指南”<sup>[10]</sup>;2 型糖尿病诊断标准采用“中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版)”<sup>[11]</sup>;OSAS 的诊断

标准参照“成人阻塞性睡眠呼吸暂停基层诊疗指南 (2018 年)”<sup>[12]</sup>;年龄 > 18 岁,性别无限制。(3) 干预措施:试验组患者给予达格列净联合二甲双胍治疗;对照组患者给予格列美脲 + 二甲双胍或二甲双胍 + 胰岛素或二甲双胍治疗,药物剂量和疗程不限。(4) 结局指标:① BMI;② HOMA-IR;③ 呼吸暂停低通气指数 (AHI);④ 嗜睡量表评分 (ESS);⑤ 睡眠最低血氧饱和度;⑥ 不良反应发生情况,如低血糖、消化道症状、肝肾功能损伤等。(5) 排除标准:① 无法获得摘要或全文;② 无法提取相关数据的文献,综述、会议论文等;③ 重复发表的研究。

1.2 文献检索策略 计算机检索 PubMed、Cochrane Library、EMbase、Web of science、万方数据库、维普数据库、CNKI。检索时限为 2012 年 1 月 1 日—2019 年 11 月 8 日。中文检索词为“达格列净”“肥胖”“二甲双胍”“2 型糖尿病”“阻塞性睡眠呼吸暂停综合征”;英文检索词为“Dapagliflozin”“Melbine”“Obesity”“T2DM”“OSAS”。

1.3 文献筛选及数据提取 2 名研究人员通过仔细核对筛选标准,独立地对筛选文献的题目、摘要和全文进行阅读,以确定该文献是否符合纳入标准。当意见出现不统一时,经筛选者双方讨论解决,若仍有争议,请第三名研究人员进行协商解决。确定好最终纳入文献后,由另 2 位研究成员再次仔细阅读纳入文献,提取数据,内容包括:(1) 纳入研究的第一作者、发表年份、患者基本信息;(2) 干预措施、疗程、随访时间等;(3) 偏倚风险评价的关键要素;(4) 所涉及的结局指标和结果测量数据等。

1.4 文献质量评价 参照 Cochrane 系统评价手册评价纳入研究的质量评估方法<sup>[13]</sup>。评价项目有 6 个方面:随机方法的选择是否正确;研究实施是否采用分配隐藏;研究结果的测量者是否采用盲法;结局数据是否完整;是否选择性报告研究结果;有无其他偏倚。针对每一个研究,作出偏倚分级,A 级:上述 6 个方面评价标准均满足,存在偏倚的可能性最小;B 级:其中任一条或多条质量评价标准仅部分满足,存在中等程度偏倚可能性;C 级:其中任一条或多条质量评价标准完全不满足,可能存在高度偏倚性。

1.5 统计学方法 采用 Cochrane 协作网提供的 Rev-

Man 5.2 软件对提取的数据进行 Meta 分析。对研究间的异质性行  $\chi^2$  检验:若各个研究间存在统计学异质性( $P < 0.10, I^2 > 50\%$ )则采用随机效应模型;反之,采用固定效应模型;如果研究的临床异质性明显存在,则仅做描述性研究。本研究中连续性变量的比较采用加权均数差(WMD)或者标准化均数差(SMD)表示效应量。不良事件发生率的比较采用比值比(OR)表示效应量,区间估算均采用 95% 置信区间(CI)。

2 结 果

2.1 文献检索结果及文献评分 初检后获得相关文献 148 篇,包括 125 篇中文文献和 23 篇英文文献;通过阅读文章题目和摘要后,排除重复发表文献、动物实验、会议论文等不符合纳入标准的文献,初步纳入 15 篇文献;阅读全文后最终纳入 11 篇已发表的随机对照试验类型的文献<sup>[8, 14-23]</sup>。共纳入 533 例 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者,全部患者均有不同程度的肥胖症。纳入研究的基本特征及文献质量等级见表 1。

2.2 Meta 分析结果

2.2.1 BMI 控制情况比较:9 个研究比较了达格列净

联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 患者的 BMI 指标。各个纳入研究结果间存在一定的统计学异质性( $P < 0.01, I^2 = 83\%$ ),采用随机效应模型进行合并分析。Meta 分析结果显示,试验组控制 BMI 优于对照组,其差异有统计学意义( $SMD = -1.49, 95\% CI -2.05 \sim -0.93, P < 0.01$ ),见图 1。

2.2.2 HOMA-IR 改善情况比较:6 个研究比较了达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 患者的 HOMA-IR。各个纳入研究结果间存在一定的统计学异质性( $P < 0.01, I^2 = 83\%$ ),采用随机效应模型进行合并分析。Meta 分析结果显示,试验组 HOMA-IR 优于对照组,其差异有统计学意义( $SMD = -2.42, 95\% CI -3.15 \sim -1.68, P < 0.01$ ),见图 2。

2.2.3 AHI 改善情况比较:有 9 项研究报道了达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 患者的 AHI 情况。各个纳入研究结果间存在一定的统计学异质性( $P < 0.01, I^2 = 95\%$ ),采用随机效应模型进行合并分析。Meta 分析结果显示,试验组控制 AHI 优于对照组,其差异有统计学意义( $SMD = -3.28, 95\% CI -4.58 \sim -1.99, P < 0.01$ ),见图 3。

表 1 纳入研究基本信息

作者	发表年份	例数 (试验组/对照组)	性别 (男/女)	年龄 (岁)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	干预措施		疗程	质量等级	结局指标
						试验组	对照组			
Tang <sup>[8]</sup>	2019	18/18	16/20	56.10 ± 7.21	28.17 ± 1.21	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	6 月	A	123456
Lin <sup>[14]</sup>	2015	25/28	30/23	58.20 ± 7.80	30.02 ± 0.94	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	12 月	A	13456
侯小丽 <sup>[15]</sup>	2018	40/40	52/28	48.00 ± 6.20	29.50 ± 4.20	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	6 月	B	123456
黄崇林 <sup>[16]</sup>	2019	42/42	49/35	70.05 ± 4.02	30.25 ± 1.04	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 胰岛素	3 月	B	234
李 伟 <sup>[17]</sup>	2015	10/10	13/7	44.32 ± 12.80	35.76 ± 4.73	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	3 月	B	123456
任志秀 <sup>[18]</sup>	2018	18/15	20/13	54.32 ± 11.84	31.20 ± 2.60	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 胰岛素	12 月	B	13456
谭 冰 <sup>[19]</sup>	2018	32/30	32/30	60.20 ± 5.80	28.20 ± 4.30	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	4 月	B	1
岳建芳 <sup>[20]</sup>	2017	20/20	20/20	49.05 ± 5.18	29.50 ± 0.60	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	10 月	B	1236
周琼兰 <sup>[21]</sup>	2018	30/30	39/21	57.30 ± 8.10	28.30 ± 1.70	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	4 月	B	12346
汤凤莲 <sup>[22]</sup>	2017	15/15	20/10	50.41 ± 5.11	29.32 ± 1.24	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍	4 月	B	1
刘艳杰 <sup>[23]</sup>	2017	10/26	31/5	50.02 ± 8.20	28.84 ± 2.58	达格列净 + 二甲双胍	二甲双胍 + 格列美脲	6 月	B	346

注:结局指标中,1. BMI 控制情况;2. HOMA-IR 改善情况;3. AHI 改善情况;4. 睡眠最低血氧饱和度;5. ESS 评分;6. 不良事件

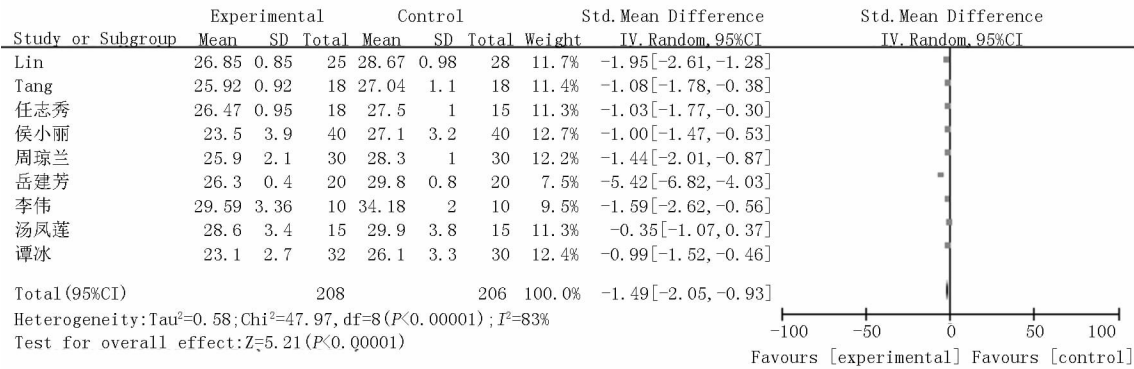


图 1 试验组与对照组 BMI 控制情况森林图

2.2.4 睡眠最低血氧饱和度比较:有 8 项研究报道了患者的睡眠最低血氧饱和度情况。各个纳入研究结果间存在一定的统计学异质性( $P < 0.01, I^2 = 78\%$ ),采用随机效应模型进行合并分析。Meta 分析结果显示,试验组睡眠最低血氧饱和度高于对照组,其差异有统计学意义( $SMD = 0.75, 95\% CI 0.28 \sim 1.21, P = 0.002$ ),见图 4。

2.2.5 ESS 评分比较:有 5 项研究报道了患者的 ESS 评分。各个纳入研究结果间存在一定的统计学异质性

( $P < 0.01, I^2 = 51\%$ ),采用随机效应模型进行合并分析。Meta 分析结果显示,试验组 ESS 评分低于对照组,其差异有统计学意义( $SMD = -1.02, 95\% CI -1.44 \sim -0.59, P < 0.01$ ),见图 5。

2.2.6 不良事件发生情况比较:8 项研究报道了达格列净联合二甲双胍治疗方法的不良事件。2 组不良事件发生率比较差异无统计学意义( $OR = 1.17, 95\% CI 0.60 \sim 2.28, P = 0.66$ ),见图 6。

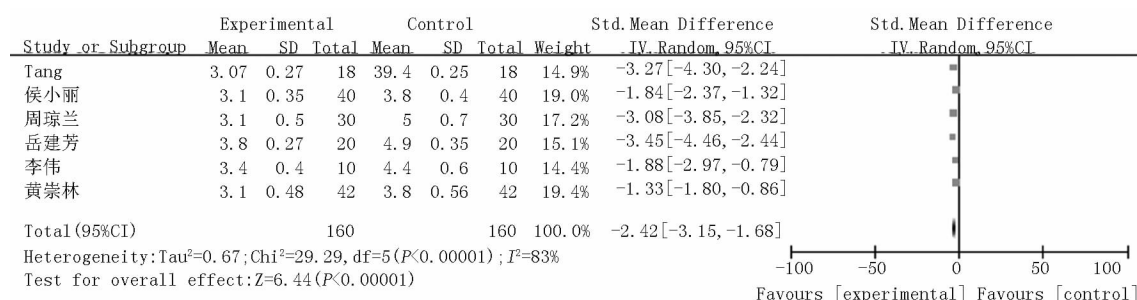


图2 试验组和对照组 HOMA-IR 改善情况森林图

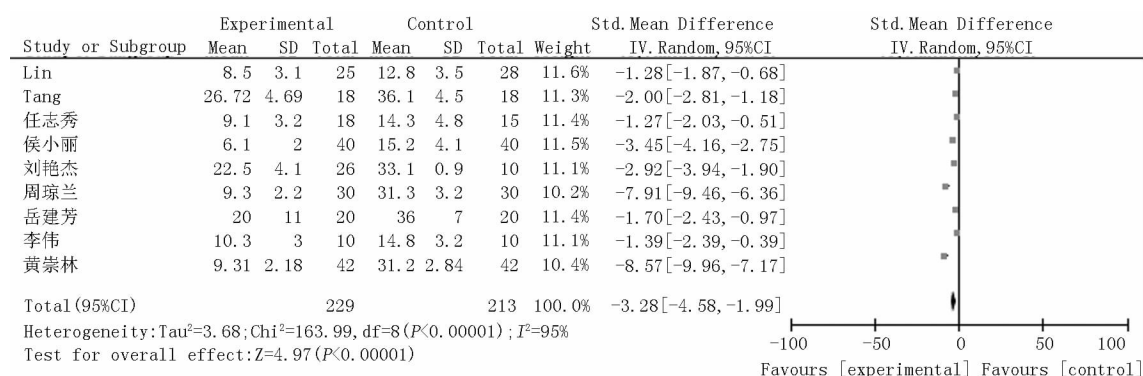


图3 试验组和对照组 AHI 改善情况森林图

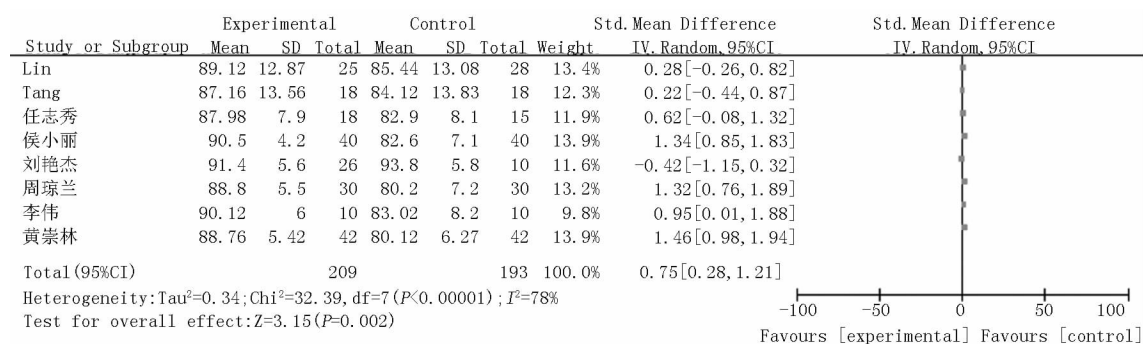


图4 试验组与对照组睡眠最低血氧饱和度比较森林图

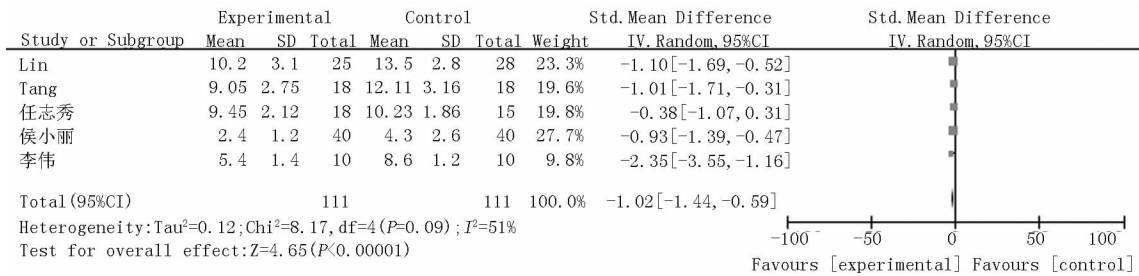


图 5 试验组与对照组 ESS 评分比较森林图

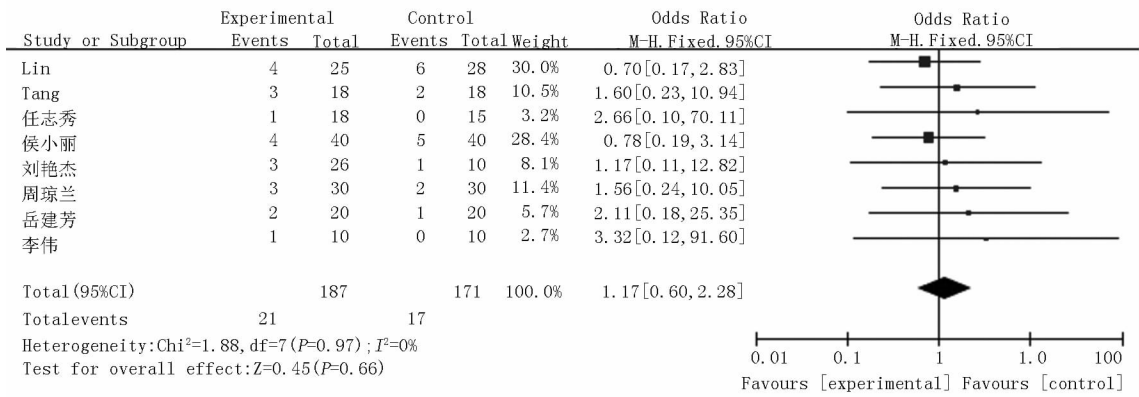


图 6 试验组和对照组不良反应发生率比较森林图

2.2.7 发表偏倚分析:为反映纳入研究的发表偏倚情况,对所纳入文献进行漏斗图分析,其结果显示纳入研究的 RCT 散点图基本对称分布于有效线的两侧,图形呈漏斗状,说明发表偏倚较小,见图 7。

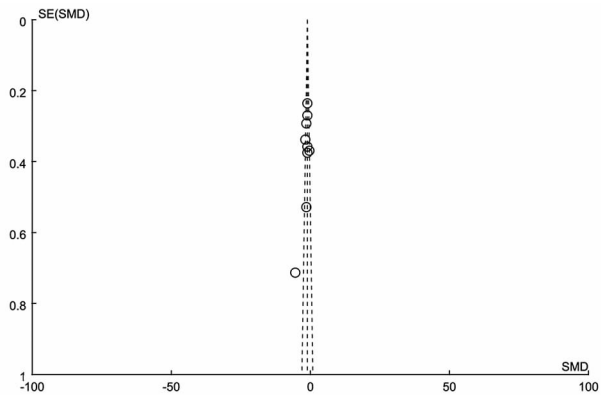


图 7 纳入研究文献发表偏倚漏斗图

### 3 讨论

2 型糖尿病与 OSAS 都属于常见的慢性疾病,均是导致心、脑血管事件的危险因素,并且这两种疾病并发的几率很高,其发病机制和治理措施越来越受到研究者的重视<sup>[24]</sup>。肥胖症被视为并发 2 型糖尿病及 OSAS 的根源,肥胖、2 型糖尿病、OSAS 这 3 种疾病相互损

伤,相互影响,导致人体内分泌功能严重紊乱,并形成恶性循环<sup>[25]</sup>。Sawada 等<sup>[26]</sup>研究表明,减轻体质量对 2 型糖尿病和 OSAS 均有明显改善,但传统的生活饮食干预和胰岛素降血糖的减重效果常常不理想。SGLT-2 抑制剂达格列净是一类新型降糖药,美国临床内分泌专家协会和美国内分泌协会在 2016 年发布的“2 型糖尿病综合管理指南”指出,达格列净可以有效改善血糖水平、降低体质量及控制血压,可以单独或者联合其他降糖药物使用<sup>[27]</sup>。二甲双胍作为 2 型糖尿病常用药物,且对 2 型糖尿病患者减重方面发挥作用,其疗效及安全性较好。周琼兰等<sup>[21]</sup>研究在二甲双胍的基础上加用达格列净治疗 2 型糖尿病合并 OSAS 的肥胖患者,发现这类患者的体质量明显下降,睡眠时通气功能也得到改善。但达格列净上市时间不久,对于达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 的研究分散且无一致性的结论,因此,通过 Meta 分析及系统评价的方法初步探讨达格列净联合二甲双胍的应用价值。

本研究结果显示,达格列净联合二甲双胍可以显著降低 2 型糖尿病合并 OSAS 的 BMI;同时,试验组 HOMA-IR 也低于对照组;在改善睡眠质量指标方面,试验组呼吸暂停低通气指数、嗜睡量表评分均低于对照组,睡眠最低血氧饱和度高于对照组;不良反应率方

面,2 组不良反应发生率无明显差异。上述结果表明,达格列净联合二甲双胍不仅可以有效控制血糖及降低体质量,还能较好地改善患者通气功能和睡眠质量。既往有研究指出<sup>[28]</sup>,虽然二甲双胍也有减轻患者体质量的作用,但单用二甲双胍并不能有效改善此类患者 AHI。因此,推测达格列净在改善 2 型糖尿病合并 OSAS 肥胖患者 AHI 发挥着主要作用。

达格列净改善 2 型糖尿病合并 OSAS 肥胖患者的睡眠质量,分析其原因可能有以下几点:(1) BMI 的有效下降可能是其中的一个重要原因,肥胖会导致脂肪堆积于患者的咽部及下颌周围,患者平卧时,这些脂肪组织受到重力影响会使患者上气道部分塌陷,形成狭窄,同时,胸壁和腹部的脂肪组织增多也会影响患者呼吸运动,导致气道阻力增加。达格列净和二甲双胍都有减轻体质量的作用,两者联合更进一步地促进脂肪组织分解,降低气道阻力,改善 OSAS 症状。(2) 达格列净的药物机制可以选择性阻断 SGLT-2,抑制葡萄糖在肾脏的重吸收,促进机体尿糖排泄,在此过程会产生渗透性利尿的效果,研究证明利尿治疗可以降低 OSAS 患者的 AHI<sup>[29]</sup>。(3) 达格列净可以增加葡萄糖的排泄,减少肝糖原异生,减轻高糖对胰岛  $\beta$  细胞的毒性,使具有潜在功能的胰岛  $\beta$  细胞得到保护<sup>[30-31]</sup>。人体尿液排出每克葡萄糖消耗约  $1.6 \times 10^4$  J 能量,这种能量的消耗可有效控制体质量,增加肝脏和外周组织的胰岛素敏感性,减轻胰岛素抵抗<sup>[32]</sup>。而目前研究普遍认为,胰岛素抵抗与阻塞性睡眠呼吸暂停综合征密切相关,其机制涉及到全身炎症反应、脂肪细胞因子变化、自由基形成、氧化应激反应等因素<sup>[33]</sup>。本研究结果显示,达格列净联合二甲双胍治疗的 OSAS 患者 HOMA-IR 明显降低,同时 AHI 和最低血氧饱和度均得到明显改善,可能与达格列净改善了胰岛素抵抗有关,但达格列净与胰岛素抵抗的关系及改善 OSAS 的分子机制有待更进一步进行基础实验加以验证。

本次研究存在以下局限性:(1) 部分纳入文献质量较低,纳入 11 项研究中,有 2 项研究提及随机化方法,2 项研究实现了分配隐藏,可能导致选择性偏倚风险增加;(2) 由于达格列净上市时间较短,纳入研究的患者数量相对较少,且纳入的患者来源有 10 篇文献均为中国人,因此结论可能存在一定的不稳定性和地域性,需谨慎对待;(3) 该研究未对患者进行分层亚组分析,如 OSAS 的严重程度、分级、吸氧状况等,这些因素可能对患者的生存造成一定影响,最终导致部分研究分析的异质性较高,仍需进行更大样本、更多不同人群的临床研究以获得更加严谨的数据。

综上所述,达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征有较好的临床疗效,能有效改善 OSAS 患者的通气功能和睡眠质量,且不良反应少,值得临床推广。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

卢琳、何杰:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李培培、李小燕:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;余觅、张维:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;肖秋红:进行统计学分析;孙建:课题设计,论文撰写

**参考文献**

- [1] Goto A, Yamaji T, Sawada N, et al. Diabetes and cancer risk: A Mendelian randomization study[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(3): 712-719. DOI: 10.1002/ijc.32310.
- [2] Walker AR, Waites BT, Caughey AB. The impact of extremes of maternal age on maternal and neonatal pregnancy outcomes in women with pregestational diabetes mellitus [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2020, 33(3): 437-441. DOI: 10.1080/14767058.
- [3] Furman BL, Candasamy M, Bhattamisra SK, et al. Reduction of blood glucose by plant extracts and their use in the treatment of diabetes mellitus; discrepancies in effectiveness between animal and human studies [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 247: 112264. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112264.
- [4] Boese EA, Tollefson MR, Schnieders MJ, et al. Novel intragenic PAX6 deletion in a pedigree with aniridia, morbid obesity, and diabetes [J]. *Curr Eye Res*, 2020, 45(1): 91-96. DOI: 10.1080/02713683.2019.1649704.
- [5] Guo C, Zhou Q, Zhang D, et al. Association of total sedentary behaviour and television viewing with risk of overweight/obesity, type 2 diabetes and hypertension: A dose-response meta-analysis [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2020, 22(1): 79-90. DOI: 10.1111/dom.13867.
- [6] Sweed RA, Hassan S, ElWahab NHA, et al. Comorbidities associated with obstructive sleep apnea: A retrospective Egyptian study on 244 patients [J]. *Sleep Breath*, 2019, 23(4): 1079-1085. DOI: 10.1007/s11325-019-01783-w.
- [7] Shao SC, Chang KC, Chien RN, et al. Effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors on serum alanine aminotransferase levels in people with type 2 diabetes: A multi-institutional cohort study [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2020, 22(1): 128-134. DOI: 10.1111/dom.13875.
- [8] Tang Y, Sun Q, Bai XY, et al. Effect of dapagliflozin on obstructive sleep apnea in patients with type 2 diabetes: A preliminary study [J]. *Nutr Diabetes*, 2019, 9(1): 32. DOI: 10.1038/s41387-019-0098-5.
- [9] Williams SM, Eleftheriadou A, Alam U, et al. Cardiac autonomic neuropathy in obesity, the metabolic syndrome and prediabetes: A narrative review [J]. *Diabetes Ther*, 2019, 10(6): 1995-2021. DOI: 10.1007/s13300-019-00693-0.
- [10] 中国肥胖问题工作组. 中国成人超重与肥胖症预防与控制指南(节录)[J]. *营养学报*, 2004, 26(1): 1-4. DOI: 10.3321/j.issn:

- 0512-7955. 2004. 01. 001.
- [11] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1): 4-67. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2018. 01. 003.
  - [12] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会. 成人阻塞性睡眠呼吸暂停基层诊疗指南(2018 年) [J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(1): 21-29. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1671-7368. 2019. 01. 008.
  - [13] 屈云, 何俐, 刘鸣. Cochrane 系统评价的基本方法 [J]. 中国临床康复, 2003, 7(4): 532-533, 536. DOI: 10. 3321/j. issn: 1673-8225. 2003. 04. 003.
  - [14] Lin D, Rein L, Tarima S, et al. The relationship between metformin and obstructive sleep apnea [J]. J Sleep Med Disord, 2015, 2(4): 1027.
  - [15] 侯小丽, 吴述光, 郭悦鹏. 艾塞那肽治疗肥胖 2 型糖尿病并发阻塞性睡眠呼吸暂停综合征疗效观察 [J]. 新乡医学院学报, 2018, 35(1): 50-53. DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2018. 01. 012
  - [16] 黄崇林. 老年呼吸系统疾病合并 2 型糖尿病患者的临床治疗分析 [J]. 糖尿病新世界, 2019, 22(9): 43-44. DOI:10. 16658/j. cnki. 1672-4062. 2019. 09. 043.
  - [17] 李伟, 张勤, 袁南兵. 利拉鲁肽治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征伴肥胖的早发 2 型糖尿病临床观察 [J]. 中国药业, 2015, 24(12): 58-59, 60.
  - [18] 任志秀, 陈晓玲. 二甲双胍与糖尿病患者阻塞性睡眠呼吸暂停的相关性分析 [J]. 山西医药杂志, 2018, 47(11): 1321-1323. DOI:10. 3969/j. issn. 0253-9926. 2018. 11. 038.
  - [19] 谭冰, 吴格怡, 陈旭亮, 等. 二甲双胍对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征合并糖尿病患者治疗效果观察 [J]. 中外医学研究, 2018, 16(9): 36-38. DOI:10. 14033/j. cnki. cfmr. 2018. 9. 018.
  - [20] 岳建芳, 韩圣虎, 吴琼. 二甲双胍治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征并肥胖患者的效果研究 [J]. 中国医药, 2017, 8(4): 480-481. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1673-4777. 2013. 04. 019.
  - [21] 周琼兰, 张敏, 孙勤, 等. 达格列净联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的疗效研究 [J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(6): 154-157. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-6170. 2018. 06. 049.
  - [22] 汤凤莲, 周燕. 睡眠呼吸暂停低通气综合征动物模型的研究 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 32(9): 1981-1984. DOI:10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2017. 09. 106.
  - [23] 刘艳杰, 赫双令, 卢冠男. 二甲双胍对 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者呼吸暂停及低氧血症的影响 [J]. 中国地方病防治杂志, 2017, 32(10): 1136-1137.
  - [24] Greco C, Spallone V. Obstructive sleep apnoea syndrome and diabetes. Fortuitous association or interaction [J]. Curr Diabetes Rev, 2015, 12(2): 129-155. DOI: 10. 2174/1573399811666150319112611.
  - [25] Li M, Li X, Lu Y. Obstructive sleep apnea syndrome and metabolic diseases [J]. Endocrinology, 2018, 159(7): 2670-2675. DOI: 10. 1210/en. 2018-00248.
  - [26] Sawada K, Karashima S, Kometani M, et al. Effect of sodium glucose cotransporter 2 inhibitors on obstructive sleep apnea in patients with type 2 diabetes [J]. Endocr J, 2018, 65(4): 461-467. DOI: 10. 1507/endocrj. EJ17-0440.
  - [27] Yao J, Wang H, Yin X, et al. The association between self-efficacy and self-management behaviors among Chinese patients with type 2 diabetes [J]. PLoS One, 2019, 14(11): e0224869. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0224869.
  - [28] 王小清, 胡文, 蔡菁菁. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征对肾脏损伤的研究进展 [J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 2019, 27(6): 475-479. DOI: 10. 16542/j. cnki. issn. 1007-4856. 2019. 06. 022.
  - [29] Ferrannini E, Baldi S, Frias JP, et al. Hormone-substrate changes with exenatide plus dapagliflozin versus each drug alone: The randomized, active-controlled DURATION-8 study [J]. Diabetes Obes Metab, 2020, 22(1): 99-106. DOI: 10. 1111/dom. 13870.
  - [30] 吴玉文, 邓浩华, 孙家忠, 等. 达格列净联合双歧杆菌三联活菌胶囊治疗 2 型糖尿病患者对糖脂代谢和肠道菌群的影响 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(9): 882-886. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 09. 005.
  - [31] 李明, 门敏, 李楠, 等.  $\alpha$ -硫辛酸联合达格列净对 2 型糖尿病患者糖脂代谢和氧化应激的影响 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(9): 872-876. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 09. 003.
  - [32] McGill JB, Subramanian S. Safety of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors [J]. Am J Cardiol, 2019, 124 (Suppl 1): S45-S52. DOI: 10. 1016/j. amjcard. 2019. 10. 029.
  - [33] Archontogeorgis K, Papanas N, Rizos EC, et al. Reduced serum vitamin D levels are associated with insulin resistance in patients with obstructive sleep apnea syndrome [J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(5): 154. DOI: 10. 3390/medicina55050174.

(收稿日期: 2019-12-09)

## 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。(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, 请直接通过本刊网站或邮箱发至本刊编辑部, 本刊将尽快给予处理, 谨防上当受骗。

电话: 0311-85901735

E-mail: ynbzz@163.com

网址: <http://www.ynbzz.com>



# 芪苈强心胶囊辅治陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者对心功能、肾功能及预后的影响

陈要起, 穆金兴, 李延鑫, 李雪霞, 曹亚冰, 齐丽平, 朱凌凌, 刘爱民

作者单位: 054000 河北省邢台市第三医院心内科

通信作者: 齐丽平, E-mail: 285605145@ qq. com

**【摘要】目的** 观察芪苈强心胶囊辅治陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者对心功能、肾功能及预后的影响。**方法** 选择 2016 年 8 月—2019 年 4 月邢台市第三医院心内科诊治的陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者 102 例作为研究对象, 采用随机数字表法分为观察组和对照组各 51 例。对照组患者依据指南给予常规治疗; 观察组在对照组基础上加用芪苈强心胶囊, 均治疗 6 个月。比较 2 组疗效; 治疗前后血清白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、总抗氧化能力 (TAC)、丙二醛 (MDA)、一氧化氮 (NO)、血管紧张素 II (Ang II)、醛固酮、肾功能指标、心功能指标、6 分钟步行试验 (6MWT)、氨基末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 浓度。**结果** 治疗 6 个月后观察组总有效率明显高于对照组 (92.16% vs. 70.59%,  $\chi^2/P = 7.662/0.006$ ); 治疗 6 个月后 2 组 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MMP-9、MDA、Ang II、醛固酮、LVEDD、E/E'、NT-proBNP 均较治疗前降低, 且观察组降低较对照组更显著 ( $t/P = 7.048/0.000$ 、 $10.373/0.000$ 、 $2.813/0.007$ 、 $6.737/0.000$ 、 $2.252/0.021$ 、 $5.083/0.000$ 、 $1.991/0.048$ 、 $2.825/0.005$ 、 $5.133/0.000$ ); 2 组患者 TAC、NO、LVEF、SV、6MWT 均高于治疗前, 且观察组升高较对照组更显著 ( $t/P = 3.891/0.000$ 、 $3.488/0.000$ 、 $2.202/0.027$ 、 $3.051/0.003$ 、 $4.939/0.000$ ); 治疗后观察组 BUN、SCr、UA 较对照组明显减低, eGFR 较对照组明显升高 ( $t/P = 2.593/0.013$ 、 $1.991/0.048$ 、 $2.831/0.005$ 、 $1.995/0.047$ )。**结论** 芪苈强心胶囊可进一步改善陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者的心功能及预后, 同时对心力衰竭患者肾功能具有保护作用。

**【关键词】** 芪苈强心胶囊; 陈旧性心肌梗死; 心力衰竭; 心功能; 炎症因子; 氧化应激; 肾功能; 预后

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.007

**Effect of Qiliqiangxin capsule on heart function, renal function and prognosis in patients with old myocardial infarction and heart failure** Chen Yaoqi, Mu Jinxing, Li Yanxin, Li Xuexia, Cao Yabing, Qi Liping, Zhu Lingling, Liu Aimin.

Department of Cardiology, Xingtai Third Hospital, Xingtai 054000, China

Corresponding author: Qi Liping, E-mail: 285605145@ qq. com

**【Abstract】Objective** To observe the effect of Qiliqiangxin capsule on heart function, renal function and prognosis in patients with old myocardial infarction and heart failure. **Methods** From August 2016 to April 2019, 102 patients with old myocardial infarction and heart failure diagnosed and treated in the Cardiology Department of Xingtai Third hospital were selected as the study object. The patients were divided into observation group and control group by random number table. Patients in the control group were given routine treatment according to the guidelines. The observation group was treated with Qiliqiangxin capsule on the basis of the control group for 6 months. Before and after treatment, serum IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9, TAC, MDA, NO, Ang II, aldosterone, renal function, cardiac function, 6MWT, NT-proBNP concentration were compared. **Results** After 6 months of treatment, the total effective rate of the observation group was significantly higher (92.16% vs. 70.59%,  $\chi^2/P = 7.662/0.006$ ). After 6 months of treatment, IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9, MDA, Ang II, aldosterone, LVEDD, E/E', and NT-proBNP of the 2 groups were lower than before treatment, and the decrease in the observation group was more obvious ( $t/P = 7.048/0.000$ ,  $10.373/0.000$ ,  $2.813/0.007$ ,  $6.737/0.000$ ,  $2.252/0.021$ ,  $5.083/0.000$ ,  $1.991/0.048$ ,  $2.825/0.005$ ,  $5.133/0.000$ ). The TAC, NO, LVEF, SV, and 6MWT of patients in both groups were higher than before treatment, and the observation group was significantly higher than control group ( $3.891/0.000$ ,  $3.488/0.000$ ,  $2.202/0.027$ ,  $3.051/0.003$ ,  $4.939/0.000$ ). After treatment, BUN, SCr and UA in the observation group were significantly decreased, and eGFR was significantly increased ( $t/P = 2.593/0.013$ ,  $1.991/0.048$ ,  $2.831/0.005$ ,  $1.995/0.047$ ). **Conclusion** Qiliqiangxin capsule can further improve the cardiac function and prognosis of patients with old myocardial infarction

and heart failure, and has protective effect on renal function of patients with heart failure.

**【Key words】** Qiliqiangxin capsule; Old myocardial infarction; Cardiac function; Inflammatory cytokines; Oxidative stress; Renal function; Prognosis

近年来我国急性心肌梗死患者逐年增多,随着急诊经皮冠状动脉介入(PCI)等治疗的广泛应用,急性心肌梗死病死率得到一定程度的控制,因此陈旧性心肌梗死患者逐渐增多<sup>[1]</sup>。心肌梗死发生后随着心室重构,坏死心肌、损伤心肌逐渐由纤维组织代替最终导致心功能降低、引发心力衰竭,因此陈旧性心肌梗死合并心力衰竭患者数量众多<sup>[2]</sup>。治疗心力衰竭,目前常给予利尿、扩血管等治疗,尽管改善了心力衰竭症状,但不能完全抑制激活的肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RASS)、炎性反应等,导致患者活动耐力差、症状反复发作。心力衰竭后由于心排血量下降、肾脏灌注不足,以及体内 RASS、炎性反应系统激活、利尿剂应用等诱发肾功能损伤,肾功能损伤后可使病情进一步恶化,心力衰竭患者预后更差<sup>[3]</sup>。如何进一步改善陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者的预后、保护其肾功能具有重要的临床意义,现观察芪苈强心胶囊治疗陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者疗效及对心功能、肾功能的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选取 2016 年 8 月—2019 年 4 月邢台市第三医院心内科诊治陈旧性心肌梗死伴心力衰竭患者 102 例为研究对象,采用随机数字表法分为观察组 51 例和对照组 51 例。观察组男 33 例,女 18 例,年龄 46~77(63.16±11.57)岁, BMI 21.5~32.4(24.82±6.51)kg/m<sup>2</sup>;合并症:糖尿病 27 例,高血压 20 例,高血脂 21 例;既往史:吸烟 29 例,PCI 病史 30 例,冠状动脉搭桥(CABG)病史 5 例,药物保守治疗 16 例;罪犯血管:前降支 33 例,右冠状动脉 10 例,回旋支 8 例;心肌梗死时间 0.8~2.0(1.42±0.53)年;美国纽约心脏病协会(NYHA)心功能分级:Ⅲ级 34 例,Ⅳ级 17 例;服用地高辛 14 例,β受体阻滞剂 45 例,ACEI/ARB 47 例,螺内酯 49 例。对照组男 31 例,女 20 例,年龄 45~76(62.85±11.73)岁, BMI 21.9~32.5(25.31±7.03)kg/m<sup>2</sup>;合并症:糖尿病 30 例,高血压 19 例,高血脂 20 例;既往史:吸烟 27 例,PCI 病史 31 例,CABG 病史 6 例,药物保守治疗 14 例;罪犯血管:前降支 31 例,右冠状动脉 10 例,回旋支 10 例;心肌梗死时间 0.8~2.2(1.50±0.55)年;NYHA 心功能分级:Ⅲ级 32 例,Ⅳ级 19 例;服用地高辛 16 例,β受体阻滞剂 47 例,ACEI/ARB 46 例,螺内酯 47 例。2 组患者基本资料比

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,患者或家属知情同意并签署知情同意书。

**1.2 选择标准** 患者诊断均符合“中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014”相关标准<sup>[4]</sup>。(1)入选标准:①陈旧性心肌梗死病史>6 个月;②经入院查体、心脏彩色超声、NT-proBNP 检查等诊断为心力衰竭。(2)排除标准:①心肌梗死病史≤6 个月;②入院前因本次发病已服用其他中成药物、强心药物治疗者;③存在难治性心力衰竭或终末期心力衰竭患者;④出现心源性休克、消化道出血、严重肝肾功能障碍、凝血功能障碍、合并存在肿瘤等。

**1.3 治疗方法** 患者均依据 2014 年中国心力衰竭诊断和治疗指南进行规范治疗。对照组仅给予常规治疗,观察组在对照组的基础上加用芪苈强心胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司)4 粒口服,3 次/d。2 组均治疗 6 个月,治疗期间均给予限盐限水、心脏功能康复锻炼,患者治疗、随访均由同一团队完成。

## 1.4 观察指标与方法

**1.4.1 血液相关指标测定:**所有患者于治疗前后经肘静脉采血 5 ml,经离心后留取血清待测。(1)血清炎症因子:以 BIOBASE2000 型全自动酶免分析系统(山东博科生物产业有限公司生产),采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清炎症因子(IL-6、TNF-α、MMP-9),试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司;(2)氧化应激指标:采用硫代巴比妥酸法试剂盒测定丙二醛(MDA)水平,采用比色法试剂盒测定总抗氧化能力(TAC),试剂盒由南京建成生物研究所提供;(3)NO、血管紧张素 II(Ang II)、醛固酮:采用 ELISA 检测血清 NO 浓度,试剂盒由生工生物工程(上海)股份有限公司提供;采用放射免疫法测定 Ang II、醛固酮水平,试剂盒由上海江莱生物科技有限公司提供;(4)NT-proBNP:采用胶体金免疫层析法检测 NT-proBNP,试剂盒由北京乐普医疗科技有限责任公司提供;(5)肾功能:采用瑞士罗氏 Cobas C702 全自动生化分析仪检测尿素氮、肌酐、尿酸,根据检测指标由改良的 MDRD 公式计算肾小球滤过率。所有操作步骤均严格按照试剂盒说明书进行。

**1.4.2 心脏彩色超声检查:**治疗前后采用 EPIQ5 型心脏彩色超声仪(Philips 公司生产,探头频率 2.0~

4.0 MHz),受试者取左侧卧位、休息 10 min 后行心脏彩色超声检查,取横位四腔心切面,M 型彩色多普勒于左心室腱索水平为标准测量区记录左心室射血分数(LVEF)、左心室舒张末内径(LVEDD);采用主动脉瓣口面积×时间速度积分计算出每搏输出量(SV);采用脉冲多普勒测得舒张早期二尖瓣口血流速度(E)、舒张晚期二尖瓣口血流速度(A),计算 E/A 比值,转换为组织多普勒显像,测量舒张早期二尖瓣环运动速度(E'),计算 E'/E 比值。所有检查由同一超声医师完成。

1.4.3 6 min 步行试验(6MWT):测试前患者端坐位休息 10 min,在平直走廊内尽可能快的行走,测定 6 min 步行距离。

1.5 疗效判定标准:根据“中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014”疗效标准<sup>[4]</sup>制定。显效:心力衰竭达到明显或完全缓解的标准,心功能改善 2 级以上;有效:患者症状和体征有所减轻,心功能改善 1 级;无效:患者心功能无改善或症状、体征无改善或加重。总有效率=(显效+有效)/总例数×100%。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学处理。符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验;不符合正态分布的计量资料以中位数和四分位间距表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 观察组总有效率为 92.16%,显著高于对照组的 70.59%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 2 组患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	51	10(19.61)	26(50.98)	15(29.41)	70.59
观察组	51	18(35.29)	29(56.86)	4(7.84)	92.16
<i>U</i> / $\chi^2$ 值		<i>U</i> = 2.908		$\chi^2$ = 7.662	
<i>P</i> 值		0.004		0.006	

2.2 2 组血清炎症因子水平比较 治疗前 2 组患者血清炎症因子水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗 6 个月后 2 组均下降,且观察组下降较对照组明显( $P < 0.01$ ),见表 2。

2.3 2 组氧化应激指标水平比较 治疗前 2 组患者氧化应激指标水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗 6 个月后 2 组 TAC 升高、MDA 降低,差异

均有统计学意义( $P < 0.01$ ),且观察组改变较对照组更明显( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 2 2 组患者治疗前后血清炎症因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	时间	IL-6	TNF- $\alpha$	MMP-9
对照组 ( <i>n</i> = 51)	治疗前	11.43 ± 2.26	62.57 ± 12.36	494.26 ± 105.38
	治疗后	5.33 ± 1.12	38.68 ± 7.33	341.17 ± 83.45
观察组 ( <i>n</i> = 51)	治疗前	11.85 ± 2.47	63.24 ± 11.85	488.47 ± 104.52
	治疗后	3.96 ± 0.82	25.49 ± 5.36	296.62 ± 76.35
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		17.271/0.000	11.873/0.000	8.133/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 观察组内值		21.650/0.000	20.728/0.000	10.585/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		7.048/0.000	10.373/0.000	2.813/0.007

表 3 2 组患者治疗前后氧化应激指标水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	TAC (U/ml)	MDA ( $\mu$ mol/L)
对照组 ( <i>n</i> = 51)	治疗前	18.35 ± 7.69	13.55 ± 5.51
	治疗后	28.39 ± 9.62	8.22 ± 2.05
观察组 ( <i>n</i> = 51)	治疗前	18.86 ± 7.47	13.16 ± 4.83
	治疗后	35.62 ± 9.14	5.95 ± 1.26
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		5.822/0.000	6.475/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 观察组内值		10.140/0.000	10.315/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		3.891/0.000	6.737/0.000

2.4 2 组 NO、Ang II、醛固酮水平比较 治疗前 2 组 NO、Ang II、醛固酮水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗 6 个月后 2 组 NO 升高,Ang II、醛固酮均降低,且观察组改变较对照组更明显( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 4 2 组患者治疗前后 NO、Ang II、醛固酮水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	NO (mmol/L)	Ang II (ng/L)	醛固酮 (ng/L)
对照组 ( <i>n</i> = 51)	治疗前	71.66 ± 18.82	136.59 ± 33.77	202.52 ± 47.44
	治疗后	91.43 ± 25.29	124.34 ± 27.46	172.73 ± 37.85
观察组 ( <i>n</i> = 51)	治疗前	72.31 ± 18.27	135.47 ± 34.27	203.63 ± 48.36
	治疗后	109.45 ± 26.87	112.45 ± 25.85	136.68 ± 33.66
<i>t</i> / <i>P</i> 对照组内值		4.479/0.000	2.010/0.038	3.506/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 观察组内值		8.163/0.000	3.830/0.000	8.115/0.000
<i>t</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		3.488/0.000	2.252/0.021	5.083/0.000

2.5 2 组肾功能指标水平比较 治疗前 2 组肾功能指标水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗 6 个月后观察组 BUN、SCr、eGFR 变化不明显( $P > 0.05$ ),仅 UA 升高( $P < 0.05$ );而对照组 BUN、SCr、UA 均升高( $P < 0.01$ ),eGFR 降低( $P < 0.01$ );2 组间比较,观察组 BUN、SCr、UA 较对照组低、eGFR 较对照组高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 5。

2.6 2 组心功能指标比较 治疗前 2 组心脏超声结果比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗 6 个月后

2 组 LVEF、SV 均升高 ( $P < 0.01$ ), LVEDD、E/E' 均下降 ( $P < 0.05$ ), 且观察组改变较对照组更明显 ( $P < 0.05$ ), 见表 6。

2.7 2 组 6MWT、NT-proBNP 比较 治疗前 2 组 6MWT、NT-proBNP 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 治疗 6 个月后 2 组 6MWT 升高、NT-proBNP 降低 ( $P < 0.01$ ), 且观察组改变较对照组更明显 ( $P < 0.01$ ), 见表 7。

表 7 2 组患者治疗前后 6MWT、NT-proBNP 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	6MWT (m)	NT-proBNP (pg/ml)
对照组 (n=51)	治疗前	230.55 ± 40.76	3 394.26 ± 435.94
	治疗后	352.58 ± 76.29	591.55 ± 100.45
观察组 (n=51)	治疗前	227.48 ± 39.57	3 388.47 ± 424.52
	治疗后	430.52 ± 82.94	491.37 ± 96.63
t/P 对照组内值		10.075/0.000	44.741/0.000
t/P 观察组内值		15.779/0.000	47.521/0.000
t/P 治疗后组间值		4.939/0.000	5.133/0.000

### 3 讨论

炎症反应是心力衰竭发生的重要病理生理机制之一, 在心力衰竭早期即出现并伴随整个病程, 炎症因子可诱导炎症反应加剧, 促进心功能损伤、加快心室重构, 心室重构又进一步激活炎症反应、加速心力衰竭进展, 因此, 炎症因子水平可用于评估心力衰竭预后, 减轻炎症反应有助于改善心力衰竭预后, 心肌梗死发生后由于细胞坏死、凋亡等诱导 TNF- $\alpha$ 、MMP-9、IL-6 等炎症因子增多<sup>[5]</sup>。TNF- $\alpha$  高水平表达对心肌收缩兴奋

过程中的  $\beta$  受体及  $\text{Ca}^{2+}$  活动产生影响, 从而损伤心肌的收缩能力, 还可以引起胞外基质增加及心肌细胞重构<sup>[6]</sup>。MMP-9 通过特异性地降解胶原蛋白和基底膜, 在心室重构、心力衰竭发生中具有重要作用<sup>[7]</sup>。IL-6 可通过参与激活交感神经系统和肾素-血管紧张素系统, 抑制心肌细胞的兴奋收缩偶联, 加重心室重构, 导致心排出量减少<sup>[8]</sup>。报道指出<sup>[7]</sup>, 氧化应激、内皮细胞障碍同样参与了心力衰竭的发生、发展, 心肌细胞损伤后可触发氧化应激系统活化, 促进内皮细胞损伤, 使心功能受损, 因此降低氧化应激反应、改善内皮细胞功能可改善心力衰竭预后。NO 是由血管内皮细胞分泌的主要保护因子之一, 其水平升高可舒张血管, 减低外周阻力、改善局部血流灌注降低心肌损害, 心肌梗死患者由于血管内皮细胞损伤造成 NO 分泌量减少, 进而对心肌梗死患者预后造成不利影响<sup>[9]</sup>。MDA 反映过氧化物程度、心肌细胞受自由基损伤程度, TAC 反映机体抗氧化能力。本研究结果证实, 经过治疗后 2 组患者炎症因子、MDA 水平降低, 同时 TAC、NO 水平升高, 但观察组上述改变更加明显, 不仅证实炎症反应、氧化应激、内皮细胞功能与心力衰竭发展密切相关, 还提示控制炎症反应可进一步减轻氧化应激反应、改善血管内皮细胞功能, 最终逆转心室重构、改善心力衰竭预后, 与 Sanders-van Wijk 等<sup>[10]</sup>研究结果一致。E/E' 是近年来评估左心室充盈压和左心室舒张功能的指标, LVEF、SV 被认为是左心室收缩功能的重要指标, 与心肌梗死患者 LVEDD 等心室重构密切相关<sup>[11]</sup>。NT-

表 5 2 组患者治疗前后肾功能指标水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	BUN (mmol/L)	Scr ( $\mu\text{mol/L}$ )	eGFR ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$ )	UA ( $\mu\text{mol/L}$ )
对照组 (n=51)	治疗前	7.65 ± 1.28	84.45 ± 18.58	97.83 ± 19.56	379.53 ± 57.22
	治疗后	9.18 ± 1.81	97.52 ± 20.62	86.11 ± 19.85	433.83 ± 63.35
观察组 (n=51)	治疗前	7.82 ± 1.35	86.52 ± 17.37	97.36 ± 18.35	376.47 ± 54.37
	治疗后	8.31 ± 1.57	89.73 ± 18.85	93.44 ± 17.17	399.61 ± 58.64
t/P 对照组内值		4.929/0.000	3.363/0.002	3.003/0.003	4.543/0.000
t/P 观察组内值		1.690/0.053	0.894/0.415	1.137/0.078	2.067/0.033
t/P 治疗后组间值		2.593/0.013	1.991/0.048	1.995/0.047	2.831/0.005

表 6 2 组患者治疗前后心功能指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	LVEF (%)	LVEDD (mm)	E/E'	SV (ml/min)
对照组 (n=51)	治疗前	39.33 ± 8.42	52.85 ± 10.74	16.75 ± 5.74	44.23 ± 10.15
	治疗后	44.35 ± 9.13	47.58 ± 9.28	14.37 ± 4.46	56.49 ± 11.76
观察组 (n=51)	治疗前	38.29 ± 7.85	53.23 ± 10.55	16.59 ± 5.85	43.57 ± 9.43
	治疗后	48.44 ± 9.62	43.84 ± 9.69	12.12 ± 3.53	63.85 ± 12.59
t/P 对照组内值		2.887/0.004	2.652/0.009	2.338/0.018	5.636/0.000
t/P 观察组内值		5.838/0.000	4.681/0.000	4.672/0.000	9.207/0.000
t/P 治疗后组间值		2.202/0.027	1.991/0.048	2.825/0.005	3.051/0.003

proBNP 是心力衰竭严重程度及治疗效果的监测指标,水平越高表示心肌损伤越严重。本研究证实,治疗后 2 组患者心脏超声指标、临床疗效及 6MWT 结果均得以改善,NT-proBNP 下降也提示了心肌损伤的改善,其中观察组改善更明显,提示芪苈强心胶囊可通过抑制炎症反应、清除氧自由基、改善内皮细胞功能等机制逆转心室重构、改善心功能,心肌损伤减轻、内皮细胞功能改善可进一步减少炎症因子的分泌及氧化应激产物的清除,从而进一步改善心力衰竭患者预后、提高患者运动耐量。另外,本研究表明,观察组患者治疗后 LVEF、SV 明显升高,NT-proBNP 明显下降,同时 E/E' 改善也较明显,提示芪苈强心胶囊不仅可以改善收缩功能,还可改善舒张功能,这与以往研究结果相似<sup>[7,9]</sup>。

RASS 活化是心力衰竭的重要病理生理机制之一,可导致 Ang II 激活、醛固酮释放增加、心脏负荷增加、心室重塑加重<sup>[12]</sup>。Ang II 可通过血管紧张素受体作用于心脏成纤维细胞,增加胶原的合成导致心肌纤维化;同时,Ang II 可增加醛固酮受体密度,而醛固酮也可增加血管紧张素 II 受体密度,提高心肌细胞对 Ang II 的结合力,增强其致心肌纤维化的生物效应。另外,醛固酮也可导致组织胶原沉积、心肌纤维化<sup>[13]</sup>。有研究证实,炎症反应可诱发氧化应激、激活 RAAS 及交感神经系统,三者形成恶性循环,使心、肾功能持续恶化<sup>[14]</sup>,心力衰竭时由于心脏功能减退,心排血量减少、体循环淤血,引起肾脏低灌注、肾脏淤血,最终导致肾功能不全,肾功能不全时可使机体血容量增加、水钠潴留,诱发心力衰竭加重,进一步激活 RAAS,损伤心功能,二者之间相互影响,被称为心肾综合征<sup>[15]</sup>。肾功能损伤时可促进炎症因子释放增加,氧化应激产物生产增多,加重肾功能、心功能损伤,eGFR 被认为与患者心功能水平呈负相关<sup>[16]</sup>。心力衰竭治疗中利尿剂具有重要地位,长期使用利尿剂治疗一方面可引起肾髓质细胞脱水、缺血,诱发肾功能损伤,另一方面可进一步激活 RASS、导致氧化应激产物增加。另外,利尿剂可引起尿酸升高,而高尿酸血症可引起炎症反应、氧化应激、内皮功能障碍等,进一步损伤心肾功能<sup>[17-18]</sup>。有研究显示<sup>[19]</sup>,通过加强抗炎、清除氧自由基、改善内皮细胞功能,可减少肾功能损伤。本研究表明,治疗后观察组心功能指标改善优于对照组,结合血液指标的改变提示芪苈强心胶囊通过抑制 RASS 活化,降低机体 Ang II、醛固酮水平,从而抑制和逆转心室重构,这与以往研究结果一致<sup>[20-21]</sup>。另外,本研究结果提示,经治疗后对照组肌酐、尿素氮、尿酸较前

升高,eGFR 较前轻度下降,提示长期使用利尿剂及心力衰竭自身导致的内分泌机制异常可诱发肾功能损伤。观察组肾功能指标中除 UA 较治疗前升高外,其余指标较治疗前改变无统计学意义,并且观察组肾功能指标较对照组明显好转,提示芪苈强心胶囊对心力衰竭患者肾功能存在保护作用,考虑其机制为长期心力衰竭诱发机体 RASS 激活、炎症反应增加、氧化应激加剧,而芪苈强心胶囊可通过抑制上述体内异常反应,提升机体内 NO 水平,从而改善肾髓质、肾小管内皮细胞功能,与刘凌汐等<sup>[22]</sup>研究结果一致。针对观察组患者 UA 水平较治疗前升高,除了考虑利尿剂的应用导致细胞外液减少引发尿酸排泄下降,还考虑与本研究观察周期较短、尚未完全改善心力衰竭患者心肾功能,以及本研究样本量较小相关,未来将作进一步观察研究阐明此现象。

芪苈强心胶囊是以络病理论为基础研制的中成药,由附子、黄芪、人参、丹参、葶苈子、泽泻、红花、陈皮、玉竹、香加皮、桂枝等组成,具有活血通络、益气温阳等功效。李强等<sup>[23]</sup>发现,芪苈强心胶囊可降低 RASS 兴奋性,阻断多种内源性神经内分泌和细胞因子的激活,从而控制心力衰竭、抑制心肌重构、延缓心功能恶化。研究表明<sup>[24]</sup>,芪苈强心胶囊通过抑制炎症反应、清除氧自由基等保护心肌。通过调节  $\text{Ca}^{2+}$  通道,减少  $\text{Ca}^{2+}$  内流等导致的  $\text{Ca}^{2+}$  超载,从而可以减弱心肌收缩、抑制心肌肥厚的发生<sup>[25]</sup>。临床试验也已证实,芪苈强心胶囊可以改善心室重构、改善心功能,进而降低 LVEDD、提高 LVEF<sup>[26]</sup>。本研究结果证实了芪苈强心胶囊具有抑制炎症反应、抑制 RASS、清除氧化应激产物、改善内皮细胞功能等作用,不仅可改善心力衰竭患者心室重塑、改善心功能及预后,还可减少心肾综合征发生,保护其肾功能。

综上,芪苈强心胶囊可进一步改善心力衰竭患者预后,减少心肾综合征发生,值得临床应用。本研究尚未考虑患者个体利尿剂用量情况等因素的影响。另外,本研究存在样本量小、观察期限相对较短等不足,尚且需要组织大规模、多中心的随机对照试验进一步证实。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

陈要起、穆金兴:提出研究思路,设计研究方案,论文修改,论文撰写;李延鑫、李雪霞、曹亚冰:实施研究过程,资料搜集整理,分析试验数据,统计学分析;齐丽平、朱凌凌、刘爱民:提出研究思路,设计研究方案,论文审核

**参考文献**

[1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.中国心血管病报告 2017 概要

- [J]. 中国循环杂志, 2018, 33(1): 1-8. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2018.01.001.
- [2] 吴福建. 坎地沙坦联合贝那普利对陈旧性心肌梗死合并心力衰竭患者内皮功能及血流动力学的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2017, 39(9): 1905-1908. DOI: 10.16050/j.cnki.issn.1674-6309.2017.09.031.
- [3] 张德龙, 宋金玲, 王世峰, 等. 慢性心力衰竭患者肾功能指标水平及其与心功能的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(4): 343-346. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.04.005.
- [4] 中华医学会心血管病分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(2): 3-10. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2014.02.004.
- [5] Hamzic Mehmedbasic A. Inflammatory cytokines as risk factors for mortality after acute cardiac events[J]. Med Arch, 2016, 70(4): 252-255. DOI:10.5455/medarh.2016.70.252-255.
- [6] Groot HE, Hartman MH, Gu YL, et al. Soluble interleukin 6 receptor levels are associated with reduced myocardial reperfusion after percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction[J]. Cytokine, 2015, 73(2): 207-212. DOI: 10.1016/j.cyto.2015.02.004.
- [7] 党亚南, 孙婧, 赵沱, 等. 瑞舒伐他汀辅治慢性心力衰竭患者对心功能及血液炎症因子、氧化应激指标的影响[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(11): 1093-1096. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2017.11.004.
- [8] 程冕, 严金华, 翟茂才, 等. 盐酸曲美他嗪对老年慢性心力衰竭患者疗效及血清 BNP 和 IL-6 水平的影响[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(9): 865-868. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.09.001.
- [9] 邓少雄, 黄文森, 郭南鸥, 等. 重组人 B 型利钠肽对急性前壁心肌梗死经皮冠状动脉介入治疗术后醛固酮水平及内皮功能的影响[J]. 中国循环杂志, 2014, 29(2): 107-110. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2014.02.008.
- [10] Sanders-van Wijk S, van Empel V, Davarzani N, et al. Circulating biomarker of distinct pathophysiological pathways in heart failure with preserved vs. reduced left ventricular ejection fraction[J]. Eur J Heart Fail, 2015, 17(10): 1006-1014. DOI:10.1002/ehf.414.
- [11] Matsushita K, Minamishima T, Goda A, et al. Comparison of the reliability of E/EM to estimate pulmonary capillary wedge pressure in heart failure patients with preserved ejection fraction versus those with reduced ejection fraction[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2015, 31(8): 1497-1502. DOI:10.1007/s10554-015-0718-7.
- [12] Bartekova M, Radosinska J, Jelemensky M, et al. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease[J]. Heart Fail Rev, 2018, 23(5): 733-758. DOI:10.1007/s10471-018-9716-x.
- [13] 刘宇. 冠脉介入对冠心病急性心肌梗死患者血浆 B 型钠利肽水平及对心室重塑的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(1): 34-36. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2016.01.012.
- [14] Buglioni A, Burnett JC. Pathophysiology and the cardiorenal connection in heart failure. Circulating hormones: biomarkers or mediators[J]. Clin Chim Acta, 2015, 443: 3-8. DOI:10.1016/j.cca.2014.10.027.
- [15] 李晶, 李毅, 王效增, 等. 心功能不全对糖尿病合并肾功能不全患者发生对比剂所致急性肾功能损害的影响[J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(9): 727-732. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2015.09.08.
- [16] 邹宁, 庞晓, 曹慧. 慢性心力衰竭合并肾损害患者血清白介素 1、白介素 6 水平的变化及临床意义[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(7): 710-714.
- [17] 郭卿, 张晶, 李东霞, 等. 托伐普坦对老年急性失代偿心力衰竭伴轻中度肾功能不全患者心肾功能的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(8): 793-796. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2019.08.003.
- [18] Pellicori P, Cleland JG, Zhang J, et al. Cardiac dysfunction, congestion and loop diuretics: their relationship to prognosis in heart failure[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2016, 30(6): 599-609. DOI: 10.1007/s10557-016-6697-7.
- [19] 吉苏珍, 韩雅玲, 荆全民, 等. 瑞舒伐他汀对糖尿病合并轻、中度肾功能不全患者 PCI 术后 LDL-C 水平及心血管事件发生的影响[J]. 解放军医学杂志, 2014, 39(4): 259-264. DOI:10.11855/j.issn.0577-7402.2014.04.02.
- [20] Veverka A, Jolly JL. Recent advances in the secondary prevention of coronary heart disease[J]. Expert Review of Cardiovascular Therapy, 2014, 2(6): 877-889. DOI:10.1586/14779072.2.6.877.
- [21] 耿涛, 戴仕鹏, 张建刚, 等. 螺内酯对收缩性心力衰竭伴轻度肾功能不全患者的有效性和安全性研究[J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(1): 13-17. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2016.01.004.
- [22] 刘凌汐, 吴智慧, 朱晓刚. 芪苈强心胶囊辅治慢性肾功能不全伴心力衰竭的疗效观察[J]. 疑难病杂志, 2014, 13(4): 342-344. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2014.04.004.
- [23] 李强, 郭状波, 黎庆梅, 等. 芪苈强心胶囊对冠心病合并心力衰竭患者血清脂联素水平及心功能的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(6): 1119-1122. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2014.06.028.
- [24] 钱玉红, 李争, 王敏, 等. 芪苈强心胶囊对阿霉素所致心力衰竭大鼠氧化损伤的影响[J]. 疑难病杂志, 2014, 13(6): 625-633. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2014.06.025.
- [25] 周明敏, 党松, 王晞, 等. 芪苈强心对心梗后兔心功能及心肌电生理的影响[J]. 中国医药导报, 2015, 12(9): 14-16.
- [26] 陈要起, 穆金兴, 陈洪波, 等. 芪苈强心胶囊对急性心肌梗死患者 PCI 术后远期心功能及支架内再狭窄的影响[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(4): 334-338. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.04.003.

(收稿日期: 2020-01-17)

# 皮质下缺血性脑小血管病患者认知功能障碍及其与外周血同型半胱氨酸相关性

曹丽, 张璐, 张玉琴, 陈长春, 吴晓宇

作者单位: 230001 合肥, 安徽省第二人民医院神经内科

通信作者: 吴晓宇, E-mail: xyzaabce@163.com

**【摘要】目的** 分析皮质下缺血性脑小血管病患者认知功能障碍及其与外周血同型半胱氨酸(Hcy)的相关性。**方法** 选择 2017 年 3 月—2019 年 3 月安徽省第二人民医院神经内科治疗的皮质下缺血性脑小血管病患者 137 例作为研究对象, 根据认知损害情况将其分成认知损害组(A 组,  $n=65$ )、认知正常组(B 组,  $n=72$ )。另选择同期于医院健康体检者 60 例作为对照组(C 组)。对 3 组研究对象的临床资料进行分析。**结果** 3 组研究对象在 MMSE 总分、CAMCOG-C 总分、CAMCOG-C 亚项中注意和运用评分比较, 差异均有统计学意义( $F/P=86.335/ <0.001$ 、 $8.385/0.001$ 、 $13.049/ <0.01$ 、 $14.104/ <0.001$ ); 3 组血清 Hcy 水平比较差异有统计学意义( $F/P=146.218/ <0.001$ ); Pearson 相关性分析结果显示, 皮质下缺血性脑小血管病患者血清 Hcy 水平与 MMSE 评分、CAMCOG-C 评分、CAMCOG-C 亚项注意及运用评分均呈负相关( $r/P=-0.397/0.038$ 、 $-0.382/0.046$ 、 $-0.514/0.024$ 、 $-0.569/0.028$ )。ROC 曲线分析结果显示, 血清 Hcy 水平诊断皮质下缺血性脑小血管病患者认知功能障碍的 AUC 为 0.822 (95% CI 0.753 ~ 0.878,  $P < 0.01$ ), Hcy 截断值 22.57  $\mu\text{mol/L}$ , 敏感度为 77.33%, 特异度为 76.83%, 约登指数 0.542。**结论** 皮质下缺血性脑小血管病患者血清 Hcy 水平与认知功能障碍显著相关, Hcy 的检测有助于认知功能障碍高危人群的早期筛查。

**【关键词】** 皮质下缺血性脑小血管病; 认知功能障碍; 同型半胱氨酸; MMSE 评分; CAMCOG-C 评分

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.008

**Cognitive dysfunction and its correlation with peripheral blood homocysteine in patients with subcortical ischemic cerebrovascular disease** Cao Li, Zhang Lu, Zhang Yuqin, Chen Changchun, Wu Xiaoyu. Department of Neurology, Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei 230001, China

Corresponding author: Wu Xiaoyu, E-mail: xyzaabce@163.com

**【Abstract】Objective** To analyze the relationship between cognitive impairment and peripheral blood homocysteine (Hcy) in patients with subcortical ischemic cerebrovascular disease. **Methods** From March 2017 to March 2019, 137 patients with subcortical ischemic cerebrovascular disease treated in the Department of Neurology of the Second People's Hospital of Anhui Province were selected as the research objects. According to the cognitive impairment, they were divided into cognitive impairment group ( $n=65$ ) and cognitive normal group ( $n=72$ ). Another 60 healthy people in the same period were selected as the control group. The clinical data of the three groups were analyzed. **Results** There were statistically significant differences in the total score MMSE, CAMCOG-C and attention and application score of CAMCOG-C ( $F/P=86.335/ <0.001$ 、 $8.385/0.001$ 、 $13.049/ <0.01$ 、 $14.104/ <0.001$ ). There was significant difference in serum Hcy level among the three groups ( $F/P=146.218/ <0.001$ ). Pearson correlation analysis showed that serum Hcy level was negatively correlated with MMSE score, CAMCOG-C score, attention and application score of CAMCOG-C ( $r/P=-0.397/0.038$ 、 $-0.382/0.046$ 、 $-0.514/0.024$ 、 $-0.569/0.028$ ). ROC curve analysis showed that the AUC of serum Hcy level in the diagnosis of cognitive impairment in patients with subcortical ischemic cerebrovascular disease was 0.822 (95% CI 0.753-0.878,  $P < 0.01$ ), the cut-off value of Hcy was 22.57  $\mu\text{mol/L}$ , the sensitivity was 77.33%, the specificity was 76.83%, and the Youden index was 0.542. **Conclusion** The level of serum Hcy in patients with subcortical ischemic cerebrovascular disease is significantly correlated with cognitive dysfunction. The detection of Hcy is helpful for early screening of high-risk groups of cognitive dysfunction.

**【Key words】** Subcortical ischemic cerebral small vessel disease; Cognitive dysfunction; Homocysteine; MMSE score; CAMCOG-C score

脑血管疾病为多种病因所致的脑供血动脉血栓形成或闭塞,导致相应的脑组织坏死性疾病,多发病急,且常常遗留不同程度的神经功能缺损症状<sup>[1-2]</sup>。血管性认知功能损害(VCI)是缺血性脑卒中所致神经功能缺损症状之一,是导致老年人群认知功能损害的第二大常见原因,其危害性逐渐受到临床工作者的重视。近年来,随着磁共振技术的应用,皮质下缺血性脑小血管病(SIVD)所致的认知功能损伤也引起了临床工作者的关注,并且认为相对急性缺血性脑卒中,SIVD 所致的 VCI 更为常见<sup>[3-4]</sup>。目前临床上对于 SIVD 的认知仍较有限,明确诊断也主要依赖于影像学。寻找一些与该病发生、发展相关的生物学指标,对于该病的诊疗有着重要的意义。血同型半胱氨酸(Hcy)在近年来逐渐受到相关工作者的注意,相关研究显示<sup>[5-6]</sup>,Hcy 可能是 VCI 的独立危险因素。提示 Hcy 可能与 SIVD 认知损害相关。基于此,现分析 SIVD 所致认知损害与血清 Hcy 的相关性,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 3 月—2019 年 3 月安徽省第二人民医院神经内科治疗的 SIVD 患者 137 例作为研究对象,依据简易精神状态量表(MMSE)、日常生活量表(ADC)将 SIVD 患者分成认知功能障碍(A 组,  $n=65$ )和认知功能正常(B 组,  $n=72$ )2 组;另选择同期医院健康体检者 60 例作为对照组(C 组)。3 组性别、年龄比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,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年龄 60~80 岁;②经影像学检查证实存在 SIVD 的表现,包括脑白质疏松、腔隙性梗死等;③符合认知损害判定标准;④本次研究前未应用影响相关生物学指标水平变化的药物。(2)排除标准:①中重度焦虑、抑郁患者;②伴有其他脏器系统严重疾病的患者;③其他可能引起认知功能损害的疾病,如阿尔茨海默病、额颞叶痴呆、路易体痴呆、多发性硬化、颅内占位等;④近 3 个月内有急性脑血管事件患者;⑤认知功能评定困难的患者;⑥临床资料不完整的患者。

## 1.3 观察指标与方法

1.3.1 临床资料收集:详细询问、收集、整理 3 组研究对象的性别、年龄、身高、受教育情况、既往病史(吸烟饮酒史、高血压史、糖尿病史、冠心病史等)、血糖等。

1.3.2 认知功能评定:(1)使用 MMSE 评定整体认知功能情况<sup>[7]</sup>。总分 30 分,得分越低认知功能障碍越严重。27~30 分为正常,21~26 分为轻度认知功能障碍,

10~20 分为中度认知功能障碍,0~9 分为重度认知功能障碍。(2)应用剑桥老年认知量表中文版(CAMCOG-C)对不同认知区域功能评定<sup>[8]</sup>,包括定向力、语言(包括语言理解和语言表达)、记忆(包括近记忆、远记忆和学习记忆)、执行、注意、思维、计算及知觉 8 个方面,总分 0~100 分,某一认知区域分值越小,表示该认知区域功能障碍越严重。

1.3.3 血清 Hcy 检测:健康者于体检当日、患者于入院后第 2 天清晨空腹采集外周静脉血液 3 ml,离心分离血清,于  $-20^{\circ}\text{C}$  下保存待检。使用全自动免疫发光分析仪(美国雅培 i-2000 型)以荧光偏振免疫法进行检测,试剂盒为仪器配套试剂,由检验科专业人员严格遵循《临床检验操作规程》中的相关操作进行检验。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析处理。符合正态分布和方差齐性的计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组比较采用方差分析(组间两两比较使用 Dunnett- $t$  检验);计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;使用 Pearson 相关性分析进行各指标之间的相关性分析,利用受试者工作特征曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)分析血清 Hcy 的诊断效能。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3 组基本资料比较 3 组研究对象在性别、年龄、糖尿病、高脂血症病史、饮酒、受教育年限、血糖等方面比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );A 组、B 组的高血压史及吸烟史比例高于 C 组( $P<0.01$ ),A、B 组病程比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组基本资料比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

项目	C 组 ( $n=60$ )	A 组 ( $n=65$ )	B 组 ( $n=72$ )	$\chi^2/F$ 值	$P$ 值
男/女(例)	33/27	36/29	40/32	0.004	0.998
年龄(岁)	67.1 $\pm$ 5.2	70.2 $\pm$ 8.3	68.4 $\pm$ 9.5	2.517	0.083
病程(年)	—	2.5 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.4	0.271	0.786
基础病(例)					
高血压	24	52	51	23.800	<0.001
糖尿病	18	28	31	2.292	0.224
高脂血症	33	43	47	2.046	0.360
吸烟史(例)	13	39	37	12.859	<0.001
饮酒史(例)	12	17	14	1.070	0.586
教育年限(年)	6.3 $\pm$ 1.7	6.1 $\pm$ 1.5	6.0 $\pm$ 1.5	0.409	0.665
血糖(mmol/L)	6.0 $\pm$ 2.6	6.6 $\pm$ 2.1	6.3 $\pm$ 1.9	1.268	0.284

2.2 3 组认知功能评定及血清 Hcy 水平比较 A 组 MMSE 评分、CAMCOG-C 总分及 CAMCOG-C 亚项注意功能评分均低于 B 组和 C 组( $P<0.05$ ),A 组 CAMCOG-C 亚项运用功能评分低于 C 组( $P<0.05$ )。血清 Hcy 水平



比较, A 组 > B 组 > C 组 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 见表 2。

2.3 血清 Hcy 水平与其他指标的相关性 SIVD 患者血清 Hcy 水平与 MMSE 评分、CAMCOG-C 总分、注意及运用功能评分均呈负相关 ( $r/P = -0.397/0.038$ 、 $-0.382/0.046$ 、 $-0.514/0.024$ 、 $-0.569/0.028$ )。

2.4 血清 Hcy 水平对 SIVD 患者认知功能障碍的诊断效能 血清 Hcy 水平诊断 SIVD 患者认知功能障碍的 AUC 为 0.822 (95% CI 0.753 ~ 0.878), 截断值为 22.57  $\mu\text{mol/L}$ , 敏感度为 77.33%, 特异度为 76.83%, 约登指数 0.542, 见图 1。

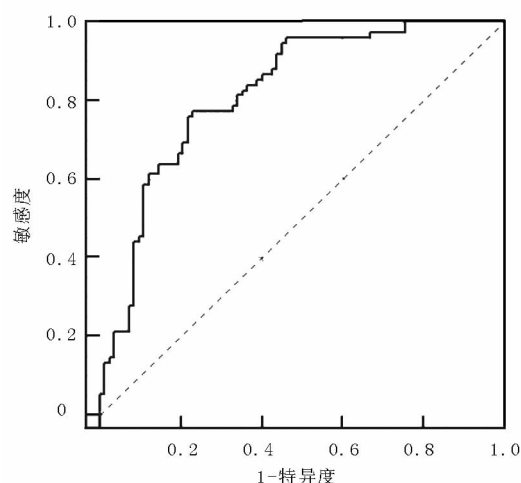


图 1 血清 Hcy 水平对 SIVD 患者认知功能障碍的诊断 ROC 曲线

### 3 讨论

痴呆是老年人群中常见疾病之一, 相关统计显示,

全球到 2020 年可高达 4 200 万例以上, 严重威胁老年群体的生命健康, 也给社会带来严重的负担<sup>[9-10]</sup>。近些年来研究数据显示, 血管性痴呆已成为继阿尔茨海默病之后的第二大致痴呆因素, 受到了临床研究人员的广泛关注<sup>[11-12]</sup>。SIVD 是众多脑血管病中重要的一个亚群, 临床上除表现出假性延髓麻痹、小便失禁、步态异常等, 还会出现认知功能损害, 并进展为痴呆。

随着人口老龄化加剧, 脑小血管病的发病率也呈逐年上升趋势。SIVD 导致皮质下小血管慢性缺血, 出现闭塞或不完全闭塞, 在头颅影像学上表现为腔隙性脑梗死及脑白质脱髓鞘, 引起皮质—皮质下特别是前额叶—基底节环路受损, 从而导致认知功能损害的发生<sup>[13]</sup>。SIVD 由于起病隐匿、进展缓慢, 早期不易察觉, 因此在疾病早期常难以引起患者及家属注意, 也难以引起部分临床医师的足够重视, 部分患者在就诊时症状已较为突出, 神经损害已难以逆转。由于血管性认知损害具有可治性, 因此相对于其他类型的认知功能损害, 早期识别尤为重要, 有助于及早进行干预, 从而延缓病情进展甚至阻止痴呆的发生。

Hcy 为动脉粥样硬化的致病因素, 于 1969 年首次提出, 之后其在脑血管病发生、发展中的作用被广泛关注。众多研究显示<sup>[14-16]</sup>, Hcy 为脑血管病、痴呆的独立危险因素。基于此, 本研究主要探究 Hcy 检测在 SIVD 所致认知功能障碍早期诊断中的价值。已有研究表明<sup>[17-18]</sup>, Hcy 对血管性认知功能的影响可能表现在以下方面: (1) 直接、间接引起血管内皮损伤、激活血小板, 导致腔隙性脑梗死的发生; (2) 增强氧化应激、促进血管平滑肌细胞增殖, 导致脑内小动脉硬化, 造成脑

表 2 3 组认知功能评分及血清 Hcy 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)

指标	C 组 ( $n = 60$ )	A 组 ( $n = 65$ )	B 组 ( $n = 72$ )	F 值	P 值
MMSE	27.40 $\pm$ 1.47	21.15 $\pm$ 1.98 <sup>a</sup>	26.35 $\pm$ 1.34 <sup>b</sup>	86.335	<0.001
CAMCOG-C	93.10 $\pm$ 5.14	87.30 $\pm$ 5.14 <sup>a</sup>	93.50 $\pm$ 5.66 <sup>b</sup>	8.385	0.001
定向	9.80 $\pm$ 0.41	9.25 $\pm$ 1.02	9.65 $\pm$ 0.68	2.783	0.070
语言	27.55 $\pm$ 1.36	26.45 $\pm$ 1.57	27.20 $\pm$ 1.74	2.588	0.084
语言理解	8.85 $\pm$ 0.37	8.60 $\pm$ 5.60	8.65 $\pm$ 0.67	0.103	0.902
语言表达	18.70 $\pm$ 1.30	17.85 $\pm$ 1.18	18.55 $\pm$ 1.57	2.220	0.118
记忆	22.10 $\pm$ 2.45	20.50 $\pm$ 3.12	22.40 $\pm$ 2.58	2.795	0.070
远记忆	5.75 $\pm$ 0.55	5.55 $\pm$ 1.00	5.30 $\pm$ 1.13	2.934	0.061
近记忆	3.65 $\pm$ 0.59	3.45 $\pm$ 0.95	3.70 $\pm$ 0.66	0.629	0.537
学习记忆	12.70 $\pm$ 2.16	12.00 $\pm$ 2.29	13.40 $\pm$ 2.21	1.988	0.146
注意	6.85 $\pm$ 0.49	6.00 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	6.90 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	13.049	<0.001
运用	11.30 $\pm$ 0.21	10.25 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>	10.85 $\pm$ 1.42 <sup>b</sup>	14.104	<0.001
计算	2.00 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.22	2.00 $\pm$ 0.00	1.000	0.374
思维	5.55 $\pm$ 1.85	5.80 $\pm$ 1.94	6.60 $\pm$ 1.51	1.916	0.156
知觉	7.95 $\pm$ 1.36	7.15 $\pm$ 1.23	7.35 $\pm$ 1.18	2.194	0.121
Hcy ( $\mu\text{mol/L}$ )	11.50 $\pm$ 3.60	24.60 $\pm$ 5.10 <sup>a</sup>	18.70 $\pm$ 4.30 <sup>b</sup>	146.218	<0.001

注: 与 C 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 A 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

白质慢性缺血脱髓鞘;腔隙性脑梗死及脑白质脱髓鞘导致前额叶—基底节环路的受损,进而影响认知功能;(3)诱导海马体神经细胞凋亡,促进脑组织  $\beta$  淀粉样变性,造成认知功能障碍。因此,通过对血液中 Hcy 水平的检测,有助于脑小血管疾病的诊断及预后评估。

本结果显示,SIVD 患者的血清 Hcy 水平明显高于对照组,且认知功能损害者较认知功能正常者更高,表明血清 Hcy 检测在 SIVD 所致认知功能损害中的诊断价值。这与文献报道的 SIVD 患者血清 Hcy 水平高于健康人群的结论一致<sup>[19]</sup>。分析导致这种结果的原因为:Hcy 为富含硫基的非必需氨基酸,为甲硫氨酸代谢循环的重要中间产物,位于甲硫氨酸再甲基化途径及转硫化途径的交点,需在叶酸(FA)、VitB<sub>6</sub>、VitB<sub>12</sub>作为辅酶下,参与代谢。而 SIVD 患者上述辅酶被抑制或活性下降,从而使 Hcy 无法被代谢,而引起高 Hcy 血症。本研究相关性分析结果显示,SIVD 患者的血清 Hcy 水平同 MMSE 评分、CAMCOG-C 总分、执行及注意功能均呈现出明显的负相关,进一步肯定了血清 Hcy 水平对 SIVD 患者认知功能的影响。这说明 SIVD 患者的认知功能障碍与 Hcy 水平密切相关。分析可能的原因为:SIVD 患者血清 Hcy 可直接或间接作用于血管内皮及凝血系统,引起缺血性脑血管疾病,诱导海马神经元凋亡,促进  $\beta$ -淀粉样变性、谷氨酸的神经细胞毒性,从而导致血管性认知功能障碍。ROC 曲线结果表明,血清 Hcy 水平诊断 SIVD 患者认知功能障碍的 AUC 为 0.822,敏感度为 77.33%,特异度为 76.83%,进一步提示血清 Hcy 水平在 SIVD 患者认知功能障碍早期诊断中有一定的应用价值,值得进一步研究。

综上所述,SIVD 患者血清 Hcy 水平明显高于正常人群,特别是认知功能障碍患者上升幅度更大,对其水平的检测有助于认知功能障碍患者的早期诊断。但本次研究中也很多不足之处:(1)所取样本量少,研究结果的可靠性值得证实,需要以后进一步增大样本量加以验证;(2)本研究所涉及的生物学指标较少,无法更好反映患者机体内变化情况,需要在今后工作中进一步探究。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

曹丽:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张璐、张玉琴:实施研究过程;陈长春:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;吴晓宇:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改,进行统计学分析

## 参考文献

- [1] 田婷,关智媛,石正洪,等.复发性缺血性脑卒中的危险因素、严重程度及短期预后分析[J].中国康复理论与实践,2016,22(2):172-177. DOI:10.3969/j.issn.1006-9771.2016.02.011.
- [2] 王班,关天嘉,尤莉莉,等.我国缺血性脑卒中残疾情况及其影响因素分析[J].中国全科医学,2016,19(2):216-219. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2016.02.019.
- [3] 沈春子,吴有丽,周霞,等.皮质下缺血性血管病患者平均血小板体积水平变化及其意义[J].安徽医科大学学报,2017,52(2):240-244. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.02.020.
- [4] 糜建华,卢东,赵薇,等.微出血对脑小血管病早期认知障碍的作用机制研究[J].上海交通大学学报:医学版,2017,37(12):1644-1649. DOI:10.3969/j.issn.1674-8115.2017.12.011.
- [5] 刘莹莹,刘晶晶,王定森,等.脑卒中后合并血管性认知功能障碍与血清 A $\beta$ 1-42、HCY 和 Tau 蛋白水平的关系[J].四川医学,2018,39(6):689-692. DOI:10.16252/j.cnki.issn1004-0501-2018.06.023.
- [6] Xie Y, Feng H, Peng S, et al. Association of plasma homocysteine, vitamin B<sub>12</sub> and folate levels with cognitive function in Parkinson's disease: A meta-analysis[J]. Neurosci Lett, 2017, 636: 190-195. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.11.007.
- [7] 曹丽,姚明,董屹,等.不同亚型轻度认知功能损害患者的神经心理学特征[J].中华神经科杂志,2012,45(2):90-95. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2012.02.005.
- [8] 丁苗苗,丁清,宋莹莹. MoCA/MMSE 及 CAMCOG-C 在老年糖尿病患者认知功能评价中的应用[J].现代医学,2017,45(2):264-267. DOI:10.3969/j.issn.1671-7562.2017.02.022.
- [9] 欧阳雁玲,尹尚菁.我国老年痴呆流行现状及防治策略研究[J].中国软科学,2019,(6):50-58. DOI:10.3969/j.issn.1002-9753.2019.06.005.
- [10] Kosmidis MH, Vlachos GS, Anastasiou CA, et al. Dementia prevalence in Greece The Hellenic Longitudinal Investigation of Aging and Diet (HELIAD) [J]. Alzheimer Disease & Associated Disorders, 2019,32(3):232-239. DOI:10.1097/WAD.0000000000000249.
- [11] 欧春影,李传玲,安晓雷,等.脑卒中后血管性认知功能障碍的危险因素分析及发病风险预测[J].山东医药,2019,59(20):68-71. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2019.20.019.
- [12] 郭丰,闵连秋.血管性认知功能障碍与常规检查的相关性分析[J].中国现代医学杂志,2019,29(4):88-93. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2019.04.019.
- [13] Hinton KE, Lahey BB, Villalta-Gil V, et al. Right fronto-subcortical white matter microstructure predicts cognitive control ability on the Go/No-go task in a community sample [J]. Front Hum Neurosci, 2018,12:127. DOI: 10.3389/fnhum.2018.00127.
- [14] 蔡颖源,徐慧颖,陆小伟,等.高血浆高半胱氨酸和脂蛋白相关磷脂酶 A2 水平与痴呆的相关性[J].国际脑血管病杂志,2017,25(4):342-346. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2017.04.007.
- [15] 于群涛,孔敏,巴茂文,等.帕金森病患者认知功能障碍与同型半胱氨酸的相关性研究[J].中华老年心脑血管病杂志,2018,20(6):631-634. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2018.06.019.

# 青年女性肝豆状核变性患者驱铜治疗前后性激素水平变化

高伟明, 王文斌, 胡文彬, 陈林, 王佳炜, 朱玉龙, 朱凌, 童广安, 严彦, 吴君霞

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81473535); 安徽中医药大学科研项目基金资助(2014lckf02016)

作者单位: 230061 安徽中医药大学神经病学研究所附属医院神经内科(高伟明、王文斌、胡文彬、陈林、王佳炜、朱玉龙、朱凌、童广安、严彦、吴君霞); 安徽中医药大学神经病学研究所(胡文彬)

通信作者: 胡文彬, E-mail: hwbzhx@163.com

**【摘要】目的** 观察青年女性肝豆状核变性(WD)患者驱铜治疗前后性激素水平的变化。**方法** 收集 2014 年 6 月—2017 年 12 月安徽中医药大学神经病学研究所附属医院神经内科诊治青年女性 WD 患者 33 例作为病例组, 另选择 30 例健康者作为健康对照组, 病例组患者先后予以二巯丙磺酸钠及青霉胺驱铜, 采用放射免疫法测定病例组驱铜前后及健康对照组血清性激素水平, 比较 2 组性激素水平的变化。**结果** 与健康对照组比较, WD 病例组整个治疗过程雌二醇( $E_2$ )、促黄体生成素(LH)、孕酮(PGN)、睾酮(TTE)、泌乳素(PRL)均升高, 卵泡刺激素(FSH)均降低( $P < 0.05$ ); 与驱铜治疗前比较, 短期驱铜后  $E_2$ 、FSH、LH、PGN 均升高, TTE、PRL 降低( $P < 0.05$ ); 与短期驱铜治疗后比较, 驱铜治疗 1 年后  $E_2$ 、LH、PGN 降低( $P < 0.01$ )。治疗中未出现严重不良反应。**结论** 青年女性 WD 患者有多项性激素水平异常, 长期、有效的驱铜治疗, 能够使其显著改善。

**【关键词】** Wilson 病; 性激素; 二巯丙磺酸钠; 青年女性

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.009

## Changes of sex hormone levels in young women with Wilson's disease before and after copper removal treatment

Gao Weiming\*, Wang Wenbin, Hu Wenbin, Chen Lin, Wang Jiawei, Zhu Yulong, Zhu Ling, Tong Guang'an, Yan Yan, Wu Junxia. \*Affiliated Hospital of Institute of Neurology, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China  
Corresponding author: Hu Wenbin, E-mail: hwbzhx@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81473535); Scientific Research Project Fund of Anhui University of Traditional Chinese Medicine (2014lckf02016)

**【Abstract】Objective** To observe the changes of sex hormone levels in young women with Wilson's disease (WD) before and after copper removal. **Methods** From June 2014 to December 2017, 33 young female patients with WD were selected as case group. Another 30 healthy subjects were selected as the control group. The patients in the case group were given sodium Dimercaptopropanesulfonate and penicillamine successively. Radioimmunoassay was used to measure the serum sex hormone levels of the two groups before and after copper removal. **Results** Compared with the healthy control group, estradiol ( $E_2$ ), luteinizing hormone (LH), progesterone (PGN), testosterone (TTE) and prolactin (PRL) were all increased, while follicle stimulating hormone (FSH) was decreased ( $P < 0.05$ ) in the WD case group during the whole treatment process; compared with the before copper removal treatment,  $E_2$ , FSH, LH and PGN were all increased, TTE and PRL were decreased ( $P < 0.05$ ) after short-term copper removal; Compared with the short-term treatment,  $E_2$ , LH and PGN decreased 1 year later ( $P < 0.01$ ). There were no serious adverse reactions in the treatment. **Conclusion** There are many abnormal sex hormone levels in young women with WD. Long term and effective copper removal treatment can significantly improve it.

**【Key words】** Wilson's disease; Sex hormone; Sodium dimercaptopropane sulfonate; Young women

肝豆状核变性(Wilson's disease, WD)是较为罕见的常染色体隐性遗传铜代谢障碍性疾病,其特征是肝细胞胆道铜排泄缺陷导致体内铜积累,由于铜离子在

组织脏器(肝脏、脑、肾脏、角膜)中沉积,患者可出现肝脏损害(严重时肝硬化)、肾脏损害(血尿或蛋白尿)、神经或精神症状等临床表现,疾病晚期可危及生

命<sup>[1-2]</sup>。临床发现部分青年女性 WD 患者伴有月经紊乱,异常妊娠如流产、死胎、不孕等症状<sup>[3]</sup>,予以规范驱铜等治疗后,部分患者月经紊乱可恢复正常,并能正常生育<sup>[4]</sup>。现以健康青年女性为对照,比较青年女性 WD 治疗前后的血清性激素水平,并讨论相关机制,报道如下。

## 1 资料及方法

1.1 临床资料 选择 2014 年 6 月—2017 年 12 月安徽中医药大学神经病学研究所附属医院神经内科诊治 WD 女性患者 33 例为病例组,平均年龄 18 ~ 39 (24.77 ± 4.68) 岁;病程 0.5 ~ 3 年,中位病程 1.6 年;均无基础疾病及合并症;有家族史(同胞患有 WD)患者 5 例;临床以肝脏损害为主的肝型患者 12 例,以锥体外系症状为主的脑型患者 21 例,月经不规则 28 例,异常妊娠 8 例。患者依治疗时间不同分为 3 个时段:首次就诊时(33 例)为治疗前;住院期间完成二巯丙磺酸钠驱铜 8 个疗程者(31 例)为短期驱铜;治疗 1 年后(29 例)为驱铜 1 年后。选取健康青年女性 30 例为健康对照组,年龄 18 ~ 40 (25.32 ± 5.61) 岁,均身体健康,无基础疾病。2 组受试者年龄比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①WD 患者均符合 2012 年欧洲肝病协会 WD 诊断指南中的诊断标准<sup>[5]</sup>;②年龄 18 ~ 40 岁;③未接受过长期、系统的药物驱铜治疗。(2)排除标准:①病例年龄 < 18 岁且 > 40 岁者;②存在严重基础病及合并症者。

1.3 驱铜治疗 病例组均为首次就诊未经系统驱铜治疗的患者,即为此病驱铜初始阶段,使用二巯丙磺酸钠(DMPS,上海禾木丰制药有限公司)以 20 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 静脉滴注治疗,具体用药方法:将 20 mg/kg DMPS 注射液加入 5% 葡萄糖注射液 500 ml 中缓慢静脉滴注(结合患者年龄、体质、耐受性、24 h 尿铜量等方面因素可适当调整剂量),驱铜治疗 6 d,间歇期 2 d(补充钙、锌等微量元素),每疗程时间为 8 d,驱铜 8 个疗程(2 个月),期间监测 24 h 尿铜,如小于 640 μg/d,停用 DMPS<sup>[6]</sup>。院外予以青霉胺(PCA,上海信谊制药有限公司)20 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>,分 3 次口服驱铜,辅以葡萄糖酸锌 1 680 mg/d,分 3 次口服(维持治疗阶段),维持治疗 1 年后需再次评估病情(依据服药情况、血清游离铜、24 h 尿铜等),必要时再次予以 DMPS 驱铜巩固治疗。

## 1.4 观测指标与方法

1.4.1 血标本采集:为避免不同阶段激素水平的干扰,采集标本均选用受试者月经第 2 天(基础性激素水平)的静脉血样,于清晨空腹采集肘静脉血约 2 ml,

静置 30 min,高速离心后取血清备用。

1.4.2 性激素检查:采用 Roche Diagnostics GmbH 公司生产的 Cabas e411 型电化学发光分析仪及其配套试剂盒,以电化学发光法检测驱铜治疗前、短期驱铜后及驱铜 1 年后的性激素水平,包括雌二醇(E<sub>2</sub>)、卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)、孕酮(PGN)、睾酮(TTE)、泌乳素(PRL)。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组比较采用 *t* 检验,多组比较采用单因素方差分析,多组间两两比较用 LSD-*t* 检验法;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 治疗病例剔除 在治疗观察期间,由于部分患者住院时间较短、中断治疗等原因导致临床资料不完整,在短期驱铜后及治疗 1 年后各有 2 例患者因不符合纳入标准,予以剔除。

2.2 临床疗效比较 病例组驱铜治疗前性激素水平分泌正常者 63.6% (21/33),驱铜治疗 1 年后患者性激素水平分泌正常者增加至 82.8% (24/29),但 2 者比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.836, P = 0.092$ )。本组患者治疗前有月经不规则 28 例,异常妊娠 8 例;经短期驱铜治疗月经逐渐规则 2 例,驱铜 1 年后 20 例患者月经逐渐规则,2 例患者顺利妊娠。

2.3 2 组性激素比较 与健康对照组比较,病例组各时段 E<sub>2</sub>、LH、PGN、TTE、PRL 均升高,FSH 均降低( $P < 0.05$ );与驱铜治疗前比较,病例组短期驱铜后 E<sub>2</sub>、FSH、LH、PGN 均升高,TTE、PRL 降低( $P < 0.05$ );与短期驱铜后比较,驱铜 1 年后 E<sub>2</sub>、LH、PGN 均降低( $P < 0.01$ ),其他指标比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

2.4 不良反应 使用二巯丙磺酸钠静脉滴注过程中仅出现恶心、呕吐等轻微药物不良反应 3 例,皮肤过敏 1 例;服用青霉胺期间无明显不良反应。

## 3 讨论

周期性变化是女性生殖系统最显著的生理特征。正常月经周期中,在 FSH 和少量 LH 相互作用下,使 E<sub>2</sub> 水平提升,卵泡进而发育成熟。当 LH 水平上升至峰值时,就会出现排卵情况,直到黄体形成,促进血液中 E<sub>2</sub>、PGN 水平的提升<sup>[7]</sup>。LH、FSH 水平达到峰值 24 h 后,就会呈现出逐渐下降趋势。但是当卵子未经受精时,黄体会不断萎缩,这在一定程度上也会影响 E<sub>2</sub>、PGN 水平,使其也随之不断下降,直到下一个月经

表 1 2 组性激素水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时段	例数	E <sub>2</sub> (pmol/L)	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	PGN (nmol/L)	TTE (nmol/L)	PRL (μg/L)
对照组		30	116.8 ± 39.4	6.195 ± 1.718	6.297 ± 2.043	2.022 ± 0.903	0.785 ± 0.352	20.39 ± 11.44
病例组	治疗前	33	346.2 ± 125.5 <sup>a</sup>	4.011 ± 2.034 <sup>a</sup>	6.966 ± 2.514 <sup>a</sup>	4.135 ± 2.791 <sup>a</sup>	1.525 ± 1.336 <sup>a</sup>	27.89 ± 12.49 <sup>a</sup>
	短期驱铜后	31	427.4 ± 225.0 <sup>b</sup>	4.761 ± 2.703 <sup>b</sup>	7.200 ± 4.354 <sup>b</sup>	4.888 ± 4.132 <sup>b</sup>	1.327 ± 0.877 <sup>b</sup>	24.31 ± 10.20 <sup>b</sup>
	驱铜 1 年后	29	253.4 ± 87.37 <sup>c</sup>	4.145 ± 1.576	6.328 ± 1.359 <sup>c</sup>	2.820 ± 1.322 <sup>c</sup>	1.047 ± 0.467	23.59 ± 7.620
	F/P 值		28.313/0.000	7.147/0.000	7.790/0.048	7.228/0.000	4.140/0.008	2.622/0.034

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与治疗前比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与短期驱铜后比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

周期。下丘脑作为人体内分泌系统的最高中枢,它分泌各种促激素释放激素,通过其支配垂体分泌各种生理激素。同时脑垂体又分泌各种促激素来控制相应器官激素的分泌释放。女性月经周期及性激素的分泌均受下丘脑—垂体—卵巢轴神经内分泌网络的功能调节<sup>[8]</sup>,其中任何一个环节出现异常均可引发相应的生育问题。

铜作为人体必需的微量元素之一,对生育、机体代谢、生长发育同样起着非常重要的作用。但遗传或环境因素所致的铜在体内缺乏或过度蓄积均会导致铜代谢相关酶的功能紊乱,从而导致机体正常功能发生改变。本研究发现,青年女性 WD 患者较健康青年女性 E<sub>2</sub>、LH、PGN、TTE、PRL 偏高,FSH 偏低,由此可见其为多项性激素指标的紊乱,并非单一激素水平异常导致。黄妙灵等<sup>[9]</sup>认为,月经紊乱可能与铜累积于垂体所致内分泌紊乱有关。赵连旭等<sup>[10]</sup>曾报道 13 例 WD 女性性激素水平变化,FSH 存在不同程度的降低,与本次研究结果基本一致,并对其中 10 例患者行促性腺激素释放激素(GnRH)试验发现,WD 患者腺垂体对外源性 GnRH 的刺激反应迟钝,认为 WD 患者垂体、性腺细胞中部分酶的活性降低,使激素分泌功能降低。Labella 等<sup>[11]</sup>研究发现,铜可使多种性激素水平的分泌增加 10 ~ 15 倍,并认为可能与铜等对脑垂体的直接刺激有关。本研究发现驱铜治疗前青年女性 WD 患者的性激素血清学指标与健康对照组比较,E<sub>2</sub>、LH、PGN、TTE、PRL 显著升高,考虑 WD 患者因铜在脑内蓄积,可能影响垂体功能,进而导致上述激素释放增加。另有学者认为<sup>[12]</sup>,由于铜离子在 WD 患者生育系统的异常沉积,影响了 WD 患者性器官的正常发育,此外铜离子在患者卵巢器官组织的异常过度沉积,可能会直接干扰脱氢酶等相关酶的活性,造成 FSH 降低,而 FSH 和少量 LH 相互作用是排卵及月经周期的重要因素。另外肝脏损害影响雌激素灭活、肾脏排泄甾体激素功能下降等均是造成 E<sub>2</sub> 水平上升的重要因素,E<sub>2</sub> 水平过高又影响凝血因子 II、VII、IX、X 的合成,造成机体凝血纤溶系统紊乱,加重月经紊乱<sup>[13-14]</sup>。

重金属螯合剂驱铜治疗是 WD 的首选方案,二巯丙磺钠注射液对铜、铅及汞等重金属有显著的络合、促排和解毒作用,常以 5 ~ 20 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 静脉滴注治疗 WD 患者,具有安全性好、起效迅速及疗效满意的优点,可作为此类患者的静脉驱铜治疗首选药物<sup>[15]</sup>。青霉胺能与沉积在组织的铜结合形成可溶性复合物由尿排出,为口服药物治疗 WD 的首选药物<sup>[16]</sup>。但重金属螯合剂的不良反应较多,使用期间需注意监测血常规、肝肾功能等指标<sup>[17-19]</sup>。本研究中经短期驱铜治疗上述激素异常无明显改善,但经过 1 年时间系统正规驱铜治疗后 E<sub>2</sub>、LH、PGN、TTE、PRL 偏高,FSH 偏低等均有不同程度的改善,并且部分患者月经紊乱的症状亦有所改善。考虑原因可能与 WD 多为慢性进行性疾病、组织修复周期较长、治疗周期长、治疗显效较慢等因素有关,其作用机制可能是由于驱铜治疗后,体内铜水平减少,下丘脑、垂体及卵巢等组织损伤得以修复,促进了 WD 患者下丘脑—垂体—卵巢轴功能的恢复,从而改善了脑垂体及卵巢酶的分泌,有利于青年期女性 WD 患者性激素释放,同时肝脏对雌激素灭活功能增强及肾脏排泄甾体激素功能的改善等因素对性激素水平改善也有帮助,最终使部分青年期女性 WD 患者月经紊乱及不孕不育问题得到改善。而具体机制还需要后续研究证实。

近年来,甲状腺激素水平与女性不孕不育之间的关系一直备受关注<sup>[20]</sup>。当甲状腺调节轴及其分泌的相关激素发生变化时,可对性腺调节轴及卵巢分泌功能产生影响,从而导致性激素水平发生相应的改变,通常表现为对 LH、FSH、PRL 有显著的影响,而对 PGN、E<sub>2</sub>、TTE 影响较小<sup>[21]</sup>,继而出现生育障碍相关的临床症状,多表现为卵泡数目减少或成熟障碍、月经紊乱或停经、不孕、死胎、流产等<sup>[22]</sup>。本研究发现,青年 WD 患者存在多项性激素异常的同时也有甲状腺激素水平的明显异常。甲状腺调节轴及相关激素的变化对青年 WD 患者月经及生育等产生的影响,需进一步研究。

综上,铜在组织内的大量沉积,包括下丘脑、垂体、卵巢、子宫等生殖系统的各个部位,甚至肝脏和肾脏均

影响了女性 WD 患者的性激素分泌、释放、排泄等,检查可见多种性激素分泌异常,经长期、有效驱铜治疗,随着组织内铜的减少和组织逐渐修复,性激素水平可得以改善。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

高伟明、王文斌:实施研究过程,资料搜集整理,论文撰写;胡文彬、王佳炜:设计研究方案,论文审核,论文修改;陈林、童广安:选择课题,进行统计学分析;朱玉龙、朱凌:研究构思,数据获取;严彦、吴君霞:提出研究思路,分析试验数据

## 参考文献

- [1] 杨任民,韩咏竹,胡纪源,等.肝豆状核变性[M].北京:人民卫生出版社,2015:200-205.
- [2] Czlonkowska A, Litwin T, Dziezyc K, et al. Characteristics of a newly diagnosed Polish cohort of patients with neurological manifestations of Wilson disease evaluated with the Unified Wilson's Disease Rating Scale[J]. BMC Neurology, 2018, 18(1):34. DOI:10.1186/s12883-018-1039-y.
- [3] Xie JJ, Wu ZY. Wilson's disease in China[J]. Neuroscience Bulletin, 2017, 33(3):323-330. DOI:10.1007/s12264-017-0107-4.
- [4] 吴昊,张佳荣,徐先明.肝豆状核变性合并妊娠 7 例分析[J].现代妇产科进展,2017,26(9):699-703. DOI:10.13283/j.cnki.xdfckjz.2017.09.010.
- [5] Ofliver EAF. EASL clinical practice guidelines: Wilson's disease[J]. Journal of Hepatology, 2012, 56(3):671-685. DOI:10.1016/j.jhep.2011.11.007.
- [6] 胡纪源,吴君霞,何志超,等.二巯基丙磺酸钠驱铜治疗对肝豆状核变性铜代谢的影响[J].放射免疫学杂志,2001,14(1):1-2. DOI:10.3969/j.issn.1008-9810.2001.01.001.
- [7] 张治文.性激素检验在不孕症诊断中的应用分析[J].中国医药指南,2016,14(18):10-11. DOI:10.3969/j.issn.1006-6845.2016.49.036.
- [8] Maggi R, Cariboni AM, Montagnani Marelli M, et al. GnRH and GnRH receptors in the pathophysiology of the human female reproductive system[J]. Human Reproduction Update, 2015, 22(3):59-65. DOI:10.1093/humupd/dmv059.
- [9] 黄妙灵,马洪明.以闭经为首发症状的肝豆状核变性 1 例[J].广东医学,2016,37(11):1748. DOI:10.13820/j.cnki.gdxy.2016.11.043.
- [10] 赵连旭,杨任民.女性肝豆状核变性下丘脑-垂体-卵巢轴功能研究[J].中华神经科杂志,2000,33(6):349-351. DOI:10.3760/j.issn:1006-7876.2000.06.008.

- [11] LaBella F, Dular R, Vivian S, et al. Pituitary hormone releasing or inhibiting activity of metal ions present in hypothalamic extracts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1973, 52(3):786-791. DOI:10.1016/0006-291X(73)91006-1.
- [12] 周会,汪瀚,李祥.肝豆状核变性生育期女性合并相关妇科疾病临床研究[J].中医药临床杂志,2018,30(6):296-304. DOI:10.16448/j.cjcm.2018.0306.
- [13] 何望生,杨文明.肝豆状核变性所致垂体功能减退症 1 例[J].中医药临床杂志,2014,26(11):1192-1193. DOI:CNKI:SUN:AHLC.O.2014-11-049.
- [14] Frikha R, Abdelmoula NB, Rebai T. Wilson disease, genotype and infertility: Is there a correlation [J]. Endocrine, 2013, 44(1):266-267. DOI:10.1007/s12020-012-9872-z.
- [15] 赖莎,李华超,洪燕萍,等.二巯丙磺酸钠超说明书治疗肝豆状核变性的安全性分析[J].今日药学,2018,28(4):252-255. DOI:10.12048/j.issn.1674-229X.2018.04.010.
- [16] 危智盛,黄叶青,洪铭范,等.青霉胺治疗 Wilson 病致症状加重相关的高危因素分析[J].实用医学杂志,2016,32(6):919-922. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2016.06.016.
- [17] Zhang Y, Wang D, Wei W, et al. Wilson's disease combined with systemic lupus erythematosus: A case report and literature review [J]. BMC Neurology, 2018, 18(1):85-87. DOI:10.1186/s12883-018-1085-5.
- [18] Gupta P, Choksi M, Goel A, et al. Maintenance zinc therapy after initial penicillamine chelation to treat symptomatic hepatic Wilson's disease in resource constrained setting[J]. Indian Journal of Gastroenterology, 2018, 37(3):209-214. DOI:10.1007/s12664-018-0829-x.
- [19] Seessle J, Gotthardt DN. Concomitant immune-related events in Wilson disease: Implications for monitoring chelator therapy[J]. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2016, 39(1):125-130. DOI:10.1007/s10545-015-9866-0.
- [20] Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, et al. 2017 guidelines of the American thyroid association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum[J]. Thyroid, 2017, 27(3):315-389. DOI:10.1089/thy.2016.0457.
- [21] 尹树慧,赵文龙,曹海霞.女性甲状腺功能异常者血清性激素水平的变化分析[J].中国现代医药杂志,2017,19(3):61-63. DOI:10.3969/j.issn.1672-9463.2017.03.018.
- [22] 杨菁,倪媛,孙伟.甲状腺功能及其相关疾病与女性生殖关系的研究进展[J].中国性科学,2016,25(4):141-144. DOI:10.3969/j.issn.1672-1993.2016.04.046.

(收稿日期:2019-12-20)

(上接 794 页)

- [16] 秦迎辉.同型半胱氨酸与常见神经系统疾病的研究进展[J].医学综述,2016,22(11):2106-2110. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2016.11.008.
- [17] 吴雪梅.血浆 Hcy、CysC 与腔隙性脑梗死及认知功能的相关性[J].中国老年学杂志,2017,37(16):3971-3972. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2017.16.028.
- [18] Li M, Zhang P, Wei H, et al. Hydrogen sulfide ameliorates homocys-

teine-induced cognitive dysfunction by inhibition of reactive aldehydes involving upregulation of ALDH2[J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2017, 20(4):305-315. DOI:10.1093/ijnp/pyw103.

- [19] 陆冰,潘晓东,周林赞,等.老年高血压患者同型半胱氨酸水平与脑白质病变分级及认知功能的相关性研究[J].中华老年医学杂志,2019,38(3):251-254. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2019.03.007.

(收稿日期:2020-02-12)

# COPD 急性加重期细菌感染对 Th17/Treg 平衡及炎症因子水平的影响

侯英宇, 刘晨阳, 张丹梅, 杨敏

作者单位: 150079 哈尔滨, 武警黑龙江总队医院内二科

通信作者: 侯英宇, E-mail: houyyu1688@163.com

**【摘要】目的** 探讨慢性阻塞性肺疾病(COPD)急性加重期患者发生细菌感染对辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞(Th17/Treg)平衡及炎症因子水平的影响。**方法** 收集武警黑龙江总队医院内科 2017 年 6 月—2019 年 6 月确诊为下呼吸道感染细菌感染的 COPD 患者 118 例作为研究对象,根据其肺功能及临床症状分为 COPD 加重期组( $n=62$ )、COPD 稳定期组( $n=56$ ),另随机选择 60 例肺功能正常的健康体检者作为健康对照组( $n=60$ )。对患者下呼吸道痰液标本中病原进行鉴定;对患者外周血中的 Th17、Treg 细胞数量及血清 IL-17、IL-22、TGF- $\beta$ 1 水平进行检测。**结果** 62 例急性加重期患者痰液标本共分离出病原 65 株,其中革兰阴性菌 44 株(67.69%),革兰阳性菌 21 株(32.31%)。加重期组、稳定期组 FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>/Pred、FVC、FEV<sub>1</sub>/FVC 均低于健康对照组( $P<0.01$ ),而加重期组上述指标均低于稳定期组( $P<0.01$ )。加重期组 Th17 高于健康对照组,加重期组、稳定期组 Treg 均低于、Th17/Treg 均高于健康对照组,加重期组 Th17、Th17/Treg 高于稳定期组, Treg 低于稳定期组,差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。加重期组、稳定期组 IL-17、IL-22、TGF- $\beta$ 1 均高于健康对照组,加重期组均高于稳定期组,差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。ROC 分析结果表明, Th17、Treg 及 Th17/Treg 水平诊断 COPD 患者急性加重期发生细菌感染 AUC 分别为 0.835、0.795、0.811( $P<0.05$ )。**结论** 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者发生细菌感染伴明显 Th17/Treg 失衡及炎症因子水平变化,可作为免疫治疗的靶点。

**【关键词】** 慢性阻塞性肺疾病;急性加重期;细菌感染;辅助性 T 细胞 17;调节性 T 细胞;诊断价值

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.010

**Effect of bacterial infection on Th17 / Treg balance and inflammatory factors in acute exacerbation of COPD** Hou Yingyu, Liu Chenyang, Zhang Danmei, Yang Min. The Second Department of Internal Medicine, General Hospital of Heilongjiang Armed Police Force, Harbin 150079, China

Corresponding author: Hou Yingyu, E-mail: houyyu1688@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of bacterial infection on the balance of helper T cell 17/regulatory T cell (Th17/Treg) and the level of inflammatory factors in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease(COPD). **Methods** 118 COPD patients with lower respiratory tract bacterial infection from June 2017 to June 2019 in Heilongjiang General Armed Police Hospital were collected and divided into exacerbation group ( $n=62$ ) and stable COPD group ( $n=56$ ) according to their pulmonary function and clinical symptoms. Another 60 healthy patients with normal pulmonary function were randomly selected as healthy control group ( $n=60$ ). The pathogens in sputum samples of lower respiratory tract were identified, the number of Th17 and Treg cells in peripheral blood and the levels of IL-17, IL-22, TGF- $\beta$ 1 in serum were detected. **Results** A total of 65 pathogens were isolated from sputum samples of 62 patients with acute exacerbation, of which 44 (67.69%) were gram negative and 21 (32.31%) were gram positive. FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/PRED, FVC and FEV<sub>1</sub>/FVC in the exacerbation group and the stable phase group were lower than those in the healthy control group ( $P<0.01$ ), while the above indexes in the aggravation group were lower than those in the stable phase group ( $P<0.01$ ); Th17 in the aggravation group was higher than that in the healthy control group, and the Treg in the aggravating and stable phase groups was lower than that in the healthy control group, and the Th17 and Th17/Treg in the aggravation group were higher than those in the stable stage group, and the Treg in the aggravating stage was lower than that in the stable stage The differences were statistically significant ( $P<0.01$ ); the levels of IL-17, IL-22, TGF- $\beta$ 1 in the exacerbation group and the stable phase group were higher than those in the healthy control group, and the levels of IL-17, IL-22, TGF- $\beta$ 1 in the exacerbation group were higher than those in

the stable stage group ( $P < 0.01$ ). The results of ROC analysis showed that the AUC of Th17, Treg and Th17 / Treg were 0.835, 0.795, 0.811 respectively ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Bacterial infection with obvious imbalance of Th17 / Treg and changes of inflammatory factors in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pneumonia can be used as a target of immunotherapy.

**【Key words】** Chronic obstructive pulmonary disease; Acute exacerbation; Bacterial infection; Helper T cell 17; Regulatory T cell; Diagnostic value

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是由气道阻塞和肺实质被破坏而引起的以进行性气道炎性反应和不可逆气流受限为主要特征的肺部疾病<sup>[1-2]</sup>。COPD 的急性加重(acute exacerbation of COPD, AECOPD)会导致患者出现呼吸困难、咳嗽和咯痰等临床症状,降低患者的呼吸功能,对疾病进展和预后产生不良影响,同时,其发作频率和严重程度加重与 COPD 患者的病死率增加有关<sup>[3-5]</sup>。预计到 2021 年, AECOPD 将成为全球第三大死因<sup>[6]</sup>。感染、常年接触烟雾和空气污染是导致 AECOPD 发生的主要原因,其中细菌感染的因素高达 70%<sup>[7]</sup>。研究表明, AECOPD 患者免疫功能障碍与免疫抑制细胞数量或功能的改变及效应 T 细胞的功能障碍有关,机体固有免疫及适应性免疫的抑制导致抗病原机制功能障碍,使 AECOPD 患者肺部微环境发生持续性的炎性反应并增加疾病的严重程度<sup>[8]</sup>。辅助性 CD4<sup>+</sup> T 细胞(包括 Th1、Th17)细胞和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是近年来受到广泛研究的免疫细胞,其平衡失调是导致机体发生持续性炎性反应和免疫抑制的重要原因,同时伴随多种炎性因子水平的变化<sup>[9-10]</sup>。本研究通过对 AECOPD 患者外周血 Th17/Treg 及炎性因子水平改变进行研究,旨在为该病的免疫功能障碍研究及免疫靶向治疗药物开发提供依据,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2017 年 6 月—2019 年 6 月武警黑龙江总队医院内科确诊为下呼吸道感染 COPD 患者 118 例作为研究对象。纳入标准:(1) COPD 的诊断标准参考《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)》<sup>[11]</sup>中的规定,相关病原菌的诊断参考《医院感染诊断标准(试行)》<sup>[12]</sup>中的规定;(2)临床资料完整,数据完整。排除标准:(1)合并肺结核、病毒性肝炎患者;(2)患有高血压、心脏病及其他严重器官病变者;(3)合并恶性肿瘤患者。根据其肺功能及临床症状分为 2 组:加重期组( $n = 62$ ),临床症状表现为呼气迅速加重,咯痰量增加,痰中带脓;其中男 44 例,女 18 例,年龄( $60.83 \pm 4.12$ )岁;病程( $9.71 \pm 2.61$ )年,吸烟指数( $602.51 \pm 52.87$ )支年。稳定期组

( $n = 56$ ),病情稳定,控制良好;其中男 40 例,女 16 例,年龄( $60.51 \pm 3.96$ )岁;病程( $8.94 \pm 2.25$ )年,吸烟指数( $563.38 \pm 49.35$ )支年。另随机选择同期医院健康体检者 60 例作为健康对照组,其中男 46 例,女 14 例,年龄( $61.10 \pm 4.29$ )岁,吸烟指数( $326.54 \pm 39.21$ )支年。3 组研究对象在性别、年龄比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );加重期组、稳定期组 COPD 患者吸烟指数、病程差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但吸烟指数均大于健康对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。本研究经医院医学伦理委员会审核通过,全部受试者均知情同意并签署知情同意书。

## 1.2 检测指标与方法

1.2.1 肺功能检测:按照肺功能检查操作规范对 COPD 患者进行常规检测,主要检测指标包括:第 1 秒用力呼气容积( $FEV_1$ )、 $FEV_1$ 占预计值百分比( $FEV_1$  Pred%)、用力肺活量(FVC)、第 1 秒用力呼气容积/用力肺活量( $FEV_1/FVC$ )。

1.2.2 微生物病原学鉴定:参照《临床检验操作规程》<sup>[13]</sup>中的规定,采用 VITEK-2 全自动微生物鉴定系统对送检痰液标本中的微生物进行病原鉴定。

1.2.3 Th17、Treg 细胞数量及 IL-17、IL-22 水平检测:采集患者空腹静脉血 3 ml,加入淋巴细胞分离液后梯度离心得到外周血单个核淋巴细胞(PBMCs),随后采用流式细胞术对患者外周血中的 Th17、Treg 细胞数量进行检测,由软件自动得出其结果。血清 IL-17、IL-22 水平检测采用 ELISA 法,均按照试剂盒说明书中规定的步骤进行。

1.4 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行分析。符合正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较采用  $F$  检验,2 组比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料以频数或率(%)表示,采用  $\chi^2$  检验;多组分级资料比较采用 Kruskal Wallis 检验,诊断价值分析采用受试者工作特征曲线(ROC)进行评价。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 COPD 患者急性加重期病原分布 62 例急性加重期患者痰液标本共分离出病原 65 株,其中革兰阴性



44 株,占 67.69%,包括铜绿假单胞菌 18 例,肺炎克雷伯菌 11 例,大肠埃希菌 9 例,其他细菌 6 例;革兰阳性菌 21 株,占 32.31%,包括金黄色葡萄球菌 8 例,肺炎链球菌 7 例,其他细菌 6 例。

2.2 3 组肺功能指标比较 加重期组、稳定期组 FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>/Pred、FVC、FEV<sub>1</sub>/FVC 均低于健康对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ );加重期组 FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>/Pred、FVC、FEV<sub>1</sub>/FVC 均低于稳定期组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 1。

2.3 3 组血清 Th17、Treg 细胞水平改变比较 加重期组 Th17 水平高于健康对照组( $P < 0.01$ ),稳定期组与健康对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ );加重期组、稳定期组 Treg 均低于、Th17/Treg 均高于健康对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ );加重期组 Th17、Th17/Treg 高于稳定期组,Treg 低于稳定期组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 3 组血清 Th17、Treg 细胞水平改变比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Th17	Treg	Th17/Treg
健康对照组	60	1.28 ± 0.35	12.84 ± 1.01	9.97 ± 2.60
稳定期组	56	1.30 ± 0.36	10.61 ± 0.51 <sup>a</sup>	12.25 ± 2.64 <sup>a</sup>
加重期组	62	3.15 ± 0.39 <sup>ab</sup>	7.51 ± 0.42 <sup>ab</sup>	41.94 ± 6.21 <sup>ab</sup>
F 值		517.763	898.109	1 078.966
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与稳定期组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

2.4 3 组血清炎性因子改变比较 加重期组、稳定期组 IL-17、IL-22、TGF-β1 均高于健康对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ );加重期组 IL-17、IL-22、TGF-β1 均高于稳定期组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 1 3 组肺功能指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	FEV <sub>1</sub> (L)	FEV <sub>1</sub> /Pred(%)	FVC(L)	FEV <sub>1</sub> /FVC(%)
健康对照组	60	3.16 ± 0.33	105.21 ± 10.57	3.45 ± 0.35	91.94 ± 9.12
稳定期组	56	1.28 ± 0.20 <sup>a</sup>	47.51 ± 6.28 <sup>a</sup>	2.24 ± 0.31 <sup>a</sup>	60.16 ± 7.24 <sup>a</sup>
加重期组	62	1.18 ± 0.11 <sup>ab</sup>	38.84 ± 4.19 <sup>ab</sup>	1.91 ± 0.24 <sup>ab</sup>	39.52 ± 4.21 <sup>ab</sup>
F 值		1 390.959	1 391.647	433.088	836.405
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与稳定期组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

表 4 外周血 Th17、Treg 细胞水平对 COPD 患者急性加重期细菌感染诊断价值分析

指标	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	曲线下面积(AUC)	95% CI	P 值
Th17	82.25	83.26	0.66	0.835	0.821 ~ 0.860	<0.001
Treg	76.24	80.55	0.57	0.795	0.774 ~ 0.812	0.024
Th17/Treg	80.12	76.12	0.56	0.811	0.801 ~ 0.830	0.021

表 3 3 组血清炎性因子改变研究 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	例数	IL-17	IL-22	TGF-β1
健康对照组	60	6.12 ± 2.12	4.57 ± 1.95	61.52 ± 23.49
稳定期组	56	18.84 ± 10.24 <sup>a</sup>	10.12 ± 3.42 <sup>a</sup>	596.87 ± 214.36 <sup>a</sup>
加重期组	62	56.25 ± 21.15 <sup>ab</sup>	18.15 ± 5.25 <sup>ab</sup>	1 084.24 ± 384.52 <sup>ab</sup>
F 值		215.955	195.437	241.080
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与稳定期组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

2.5 外周血 Th17、Treg 细胞水平对 COPD 患者急性加重期细菌感染诊断价值分析 ROC 分析结果表明, Th17、Treg 及 Th17/Treg 水平对 COPD 患者急性加重期发生细菌感染具有良好的诊断价值(AUC 均 > 0.75,  $P$  均 < 0.05),见表 4。

### 3 讨论

细菌感染是导致 COPD 患者急性加重的主要原因,由于抗菌药物的广泛使用,不同地区、医院之间病原分布可能存在差异,了解其分布变化对医生抗感染治疗的合理用药和减少菌株耐药的出现具有重要的价值。本研究结果显示,AECOPD 发生细菌感染以革兰阴性菌感染为主,这与已有的报道一致<sup>[14-17]</sup>。AECOPD 患者往往伴随着常年的香烟烟雾对肺部和呼吸道的长期刺激,使得呼吸道上皮细胞化生,增加了 COPD 疾病期间的黏膜炎性反应,也影响了机体对微生物的免疫反应。动物模型实验结果表明<sup>[18]</sup>,香烟烟雾暴露产生的 T 细胞可能具有致病性,将接触香烟烟雾小鼠产生的 T 细胞转移到重组激活基因 2(Rag-2)缺陷型小鼠中可以诱导肺气肿表型,而与随后的受体小鼠吸烟无关。本研究结果中 COPD 稳定期组和加重期组吸烟指数明显高于健康对照组,提示常年大量的吸烟习惯是导致 AECOPD 的直接原因。

T 淋巴细胞是 COPD 中炎症反应的关键成分, Th17 细胞是最近描述的效应 T 细胞亚群, 主要分泌包括 IL-17、IL-22、TGF- $\beta$ 1 在内的多种细胞因子, 几种炎症因子与自身免疫性疾病的发病机制有紧密联系。IL-17 是一种促炎性细胞因子, 其家族由 6 个成员组成, 但抗菌活性主要与 IL-17A、IL-17F 和 IL-17A / F 异二聚体成员有关<sup>[19-20]</sup>。IL-17 可通过趋化因子 CXCL8 和 CCL20 的分泌来调节炎症反应细胞 (包括嗜中性粒细胞和淋巴细胞) 向炎症反应组织的募集<sup>[21]</sup>。此外, IL-17 对大多数实质细胞具有影响, 包括表达 IL-17 受体的巨噬细胞和树突状细胞 (DC), 并且 IL-17 介导的信号传导诱导靶细胞产生各种炎症介质, 例如 TNF- $\alpha$  和 IL-6<sup>[22-23]</sup>。此外, IL-17 在鼠肺上皮细胞中的过表达会导致单核细胞积聚并产生黏液, IL-17 转基因小鼠诱导了许多趋化因子和 MMP-9 的表达<sup>[24]</sup>。在香烟烟雾引起的肺气肿动物模型中, 暴露于慢性烟雾的小鼠在 BAL 中具有明显更高的 IL-17 和 IFN- $\gamma$  产生细胞数量。相比之下, COPD 患者和对照组的痰中 IL-17 水平无明显差异<sup>[25]</sup>。Th17 细胞还产生 IL-22, IL-22 与类风湿性关节炎和牛皮癣等慢性炎症性疾病有关, 并且在宿主防御肺部细胞外细菌感染中起重要作用<sup>[26]</sup>。研究表明, COPD 患者支气管上皮细胞中 IL-22 阳性细胞的数量增加, 在细菌感染期间, IL-22 与 IL-17A 协同作用以诱导抗菌肽和趋化因子的产生<sup>[27]</sup>。在 COPD 患者或鼠肺气肿模型中, 肺细胞 CD4 或 CD8 T 细胞的扩增具有寡克隆性, 戒烟之后, 这种反应仍然持续。对 T 细胞受体 (TCR) 的分析也揭示了 COPD 患者肺部 CD4 T 细胞的寡克隆性。这些研究表明, 由抗原特异性 T 细胞向肺部募集所介导的细胞免疫可能在 COPD 的发病机制中起关键作用<sup>[28-30]</sup>。

目前没有直接证据表明 Th17/Treg 参与了 COPD 患者发生的气道阻塞, 但是大多数临床研究表明, COPD 中 Th17 细胞数量和细胞因子水平与对照组相比明显更高<sup>[31-32]</sup>。由于小鼠的最大呼气流量的测量较为困难, 有学者使用了对甲胆碱吸入后的抵抗力的测量作为 FEV<sub>1</sub> 在小鼠模型中的替代指标, 以评估小鼠实验模型中的气道阻塞, 结果表明, COPD 患者气道对吸入的甲胆碱反应频繁, 并且与气道阻塞有关<sup>[33]</sup>, 同时不同的鼠模型均显示气道高反应性的发展呈 IL-17A 依赖性, 这与暴露于香烟中的 COPD 小鼠的组织学结果一致<sup>[34]</sup>, 从而证实了 IL-17 可参与 COPD 的高气道反应。此外, 在 COPD 患者的痰液中也观察到 IL-17A 浓度与中性粒细胞计数呈正相关, IL-17A 对于暴露于香烟烟雾中的小鼠小气道纤维化和炎症反应至关

重要, 这表明该细胞因子在 COPD 期间对气道阻塞具有促进作用<sup>[35]</sup>。这些实验数据表明, 发生持续性炎症反应的肺部组织通过免疫细胞产生的 Th17 细胞因子及中性粒细胞的募集而参与了 COPD 患者气道阻塞的发展, 从而导致了 AECOPD 的发生。本研究结果还显示了外周血 Th17/Treg 细胞水平对 COPD 患者急性加重期细菌感染具有一定的诊断价值, 由于病例数相对较少, 各统计结果可能存在一定的偏倚, 机体 Th17/Treg 平衡作为 COPD 患者免疫靶向的治疗仍有待进一步研究。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

侯英宇:设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 刘晨阳:提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 张丹梅:实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 杨敏:进行统计学分析

**参考文献**

- [1] Xie S, Wang K, Zhang W, et al. Immunodeficiency in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Inflammation*, 2018, 41 (5): 1582-1589.
- [2] 封敏, 黄晓颖, 王佩芳, et al. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者病毒感染分析及对气道炎症的影响 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28 (16): 2477-2480.
- [3] 王国郢, 苏春晓, 魏丽莎, 等. 心力衰竭患者合并 COPD 急性发作期肺部感染病原菌与影响因素分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29 (3): 362-364.
- [4] Guarascio AJ, Ray SM, Finch CK, et al. The clinical and economic burden of chronic obstructive pulmonary disease in the USA [J]. *Clinicoecon Outcomes Res*, 2013, 32 (5): 235-245.
- [5] Adeboye D, Chua S, Lee C, et al. Global and regional estimates of COPD prevalence: systematic review and meta-analysis [J]. *J Glob Health*, 2015, 5: 020415.
- [6] Pauwels RA, Rabe KF. Burden and clinical features of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *Lancet*, 2006, 364: 613-620.
- [7] Perotin JM, Dury S, Renois F, et al. Detection of multiple viral and bacterial infections in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: a pilot prospective study [J]. *J Med Virol*, 2013, 85 (5): 866-873.
- [8] Lugade AA, Bogner PN. Cigarette smoke exposure exacerbates lung inflammation and compromises immunity to bacterial infection [J]. *Journal of Immunology*, 2014, 192 (38): 5226-5235.
- [9] Rovina N, Koutsoukou A, Koulouris NG. Inflammation and immune response in COPD: where do we stand [J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 413735.
- [10] Rathore JS, Wang Y. Protective role of Th17 cells in pulmonary infection [J]. *Vaccine*, 2016, 34 (16): 1504-1514.
- [11] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南 (2013 年修订版) [J/OL]. *中国医学前沿杂志: 电子版*, 2014, 6 (2): 67-80.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准 (试行) [J]. *中华医*

- 学杂志,2001,81(5):314-320.
- [13] 尚红,王毓三,申子瑜. 临床检验操作规程[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:629-790.
- [14] 滕鸿,李岱,钱小毛,等. 慢性阻塞性肺病患者痰培养革兰阴性菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(23):5758-5760.
- [15] 徐瑞娥,李凤珍,邵建平,等. 血清 1,3- $\beta$ -D-葡聚糖、半乳甘露聚糖检测联合胸部 CT 检查对 COPD 合并侵袭性肺曲霉感染的诊断价值[J]. 疑难病杂志,2019,18(10):997-1001. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 10. 006.
- [16] 宋雨,杨伟,王洁好,等. 血浆 N 末端脑钠肽前体对老年慢性阻塞性肺疾病预后的评估作用[J]. 疑难病杂志,2018,17(1):1-4. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 01. 001.
- [17] 朱彦秋,代福恒,侯海龙,等. 甲泼尼龙联合布地奈德雾化吸入对 AECOPD 患者炎症因子及免疫功能的影响[J]. 疑难病杂志,2020,19(2):122-126. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 02. 004.
- [18] Motz GT, Eppert BL, Wesselkamper SC, et al. Chronic cigarette smoke exposure generates pathogenic T cells capable of driving COPD-like disease in Rag2<sup>-/-</sup> mice [J]. Am J Respir Crit Care Med,2010,181(11):1223-1233.
- [19] Pappu R, Rutz S, Ouyang W. Regulation of epithelial immunity by IL-17 family cytokines [J]. Trends Immunol,2012,33(4):343-349.
- [20] 符瑜,吴少敏,卢海兰,等. 噻托溴铵联合沙美特罗/丙酸氟替卡松治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期患者的临床效果[J]. 中国医药,2019,14(2):208-211. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 02. 012.
- [21] Jones CE, Chan K. Interleukin-17 stimulates the expression of interleukin-8, growth-related oncogene- $\alpha$ , and granulocyte-colony-stimulating factor by human airway epithelial cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2002,26(6):748-753.
- [22] Kao CY, Huang F, Chen Y, et al. Up-regulation of CC chemokine ligand 20 expression in human airway epithelium by IL-17 through a JAK-independent but MEK/NF- $\kappa$ B-dependent signaling pathway [J]. J Immunol,2005,175(10):6676-6685.
- [23] 贾晓佳. 莫西沙星溶液雾化吸入治疗慢性阻塞性肺疾病合并 II 型呼吸衰竭的效果及对机体相关指标的影响[J]. 中国医药,2019,14(7):984-987. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 07. 007.
- [24] Chen Y, Thai P, Zhao YH, et al. Stimulation of airway mucin gene expression by interleukin (IL)-17 through IL-6 paracrine/autocrine loop [J]. J Biol Chem,2003,278(19):17036-17043.
- [25] Barczyk A, Pierzchala W, Sozaska E. Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine [J]. Respir Med,2003,97(6):726-733.
- [26] Sabat R, Ouyang W, Wolk K. Therapeutic opportunities of the IL-22-IL-22R1 system [J]. Nat Rev Drug Discov,2014,13(1):21-38.
- [27] Hodge S, Hodge G, Nairn J, et al. Increased airway granzyme b and perforin in current and ex-smoking COPD subjects [J]. COPD,2006,3(4):179-187.
- [28] Motz GT, Eppert BL, Sun G, et al. Persistence of lung CD8 T cell oligoclonal expansions upon smoking cessation in a mouse model of cigarette smoke-induced emphysema [J]. J Immunol,2008,181(25):8036-8043.
- [29] 沈慧,费晓云,顾晓花. 血清 VEGF、bFGF 水平与慢性阻塞性肺疾病患者肺动脉高压的关系[J]. 中国医药导报,2019,16(26):125-128.
- [30] 陈建波,曹磊,蔡丽婷,等. 布地奈德联合异丙托溴铵雾化吸入对慢性阻塞性肺疾病患者肺功能、炎症和血气指标的影响[J]. 中国医药科学,2020,10(8):70-73.
- [31] Xu WH, Hu XL, Liu XF, et al. Peripheral Tc17 and Tc17/interferon- $\gamma$  cells are increased and associated with lung function in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin Med J,2016,129(10):909-916.
- [32] Zhang JC, Chen G, Chen L, et al. TGF- $\beta$ /BAMBI pathway dysfunction contributes to peripheral Th17/Treg imbalance in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Sci Rep,2016,6:31911.
- [33] van den Berge M, Vonk JM, Gosman M, et al. Clinical and inflammatory determinants of bronchial hyperresponsiveness in COPD [J]. Eur Respir J,2012,40(11):1098-1105.
- [34] Chen K, Pociask DA, McAleer JP, et al. IL-17RA is required for CCL2 expression, macrophage recruitment, and emphysema in response to cigarette smoke [J]. PLoS One,2011,6:e20333.
- [35] Harrison OJ, Foley J, Bolognese BJ, et al. Airway infiltration of CD4<sup>+</sup> CCR6<sup>+</sup> Th17 type cells associated with chronic cigarette smoke induced airspace enlargement [J]. Immunol Lett,2008,121(1):13-21.

(收稿日期:2020-01-10)

作者·编者·读者

## 《疑难病杂志》参考文献引用技巧

本刊参考文献是按照 GB/T 15835-2015《信息与文献 参考文献著录规则》规定的格式进行著录,除传统的项目外,文献末还要求加注数字对象唯一标识码(DOI)信息,近来有作者反映查找文章的 DOI 信息困难,造成著录格式不完整、不规范,为帮助作者更好地引用文献,撰写论文,本刊编辑部总结了文献检索的小技巧:登录万方数据网站 <http://www.wanfangdata.com.cn>,检索出想要参考引用的文献,出现该文献相关信息界面,点击文题下方的“□”导出按钮,出现“导出文献列表”,点击其下方的“参考文献格式”,即出现该文献的规范著录格式,包括作者、文题、刊名、年份、卷(期)、起止页码、DOI 等完整信息,即可加以引用。

# DC-CIK 免疫疗法联合放化疗治疗中晚期非小细胞肺癌疗效观察

陆婉玲, 李小龙, 党亚正, 赵宏亮, 程才, 乔松

基金项目: 陕西省科学技术研究发展计划项目(S2016YFSF0564)

作者单位: 710054 西安, 中国人民解放军空军军医大学 986 医院肿瘤科

通信作者: 陆婉玲, E-mail: zxl0138@163.com

**【摘要】目的** 观察联合 DC-CIK 免疫疗法与放化疗治疗中晚期非小细胞肺癌(NSCLC)的疗效。**方法** 选取 2016 年 4 月—2018 年 4 月中国人民解放军空军军医大学 986 医院肿瘤科诊治的中晚期 NSCLC 患者 69 例为研究对象,按随机数字表法分成 2 组。对照组 35 例,选择同步放化疗治疗;研究组 34 例,选择同步放化疗联合免疫疗法治疗。比较 2 组治疗 1 个月后的近期疗效,治疗前后免疫功能和生活质量,以及不良反应发生情况。**结果** 研究组治疗总有效率明显高于对照组(88.23% vs. 57.14%,  $\chi^2 = 9.685$ ,  $P = 0.003$ );治疗后,研究组的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 和 NK 水平均高于对照组( $t/P = 16.384/0.000$ 、14.283/0.000、7.043/0.006、4.482/0.014、10.135/0.002);研究组生活质量提高率为 88.23%,高于对照组的 57.14% ( $\chi^2 = 21.684$ ,  $P = 0.000$ );研究组发热和粒细胞减少发生率低于对照组( $\chi^2/P = 5.662/0.009$ , 5.053/0.010)。**结论** 生物免疫疗法联合放化疗治疗中晚期 NSCLC 的疗效较好,能明显提高患者的免疫水平,改善生活质量。

**【关键词】** DC-CIK 免疫疗法;放化疗;非小细胞肺癌;疗效;生活质量

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.011

## DC-CIK immunotherapy combined with chemoradiotherapy in the treatment of advanced non-small cell lung cancer

Lu Wanling, Li Xiaolong, Dang Yazheng, Zhao Hongliang, Cheng Cai, Qiao Song. Department of Oncology, 986 Hospital, PLA Air Force Military Medical University, Shaanxi Province, Xi'an 710054, China

Corresponding author: Lu Wanling, E-mail: zxl0138@163.com

Funding program: Scientific and Technological Research and Development Program of Shaanxi Province (S2016YFSF0564)

**【Abstract】 Objective** To observe the efficacy of DC CIK immunotherapy combined with radiotherapy and chemotherapy in the treatment of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** From April 2016 to April 2018, 69 patients with advanced NSCLC diagnosed and treated in the Department of Oncology, 986 hospital, Military Medical University of the people's Liberation Army were selected as the research objects, and they were randomly divided into two groups. 35 cases in the control group were treated with concurrent chemoradiotherapy; 34 cases in the study group were treated with concurrent chemoradiotherapy combined with immunotherapy. The short-term efficacy, immune function, quality of life and adverse reactions were compared between the two groups after 1 month of treatment. **Results** The total effective rate of the study group was significantly higher than that of the control group (88.23% vs. 57.14%,  $\chi^2 = 9.685$ ,  $P = 0.003$ ). After treatment, the levels of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and NK in the study group were higher than those in the control group ( $t/P = 16.384/0.000$ , 14.283/0.000, 7.043/0.006, 4.482/0.014, 10.135/0.002). The improvement rate of quality of life in the study group was 88.23%, higher than 57.14% in the control group ( $\chi^2 = 21.684$ ,  $P = 0.000$ ). The incidence of fever and neutropenia in the study group was lower than that in the control group ( $\chi^2/P = 5.662/0.009$ , 5.053/0.010). **Conclusion** Biological immunotherapy combined with radiotherapy and chemotherapy is effective in the treatment of advanced NSCLC, which can significantly improve the immune level of patients and improve the quality of life.

**【Key words】** DC-CIK immunotherapy; Radiotherapy and chemotherapy; Advanced non-small cell lung cancer; Therapeutic effect; Quality of life

非小细胞肺癌(NSCLC)患者确诊时多已为中晚期,错过了手术根治治疗的最佳时机,放化疗为其主要治疗手段<sup>[1]</sup>。虽然放化疗治疗有一定的疗效,可以延长患者生存期,但同时也降低了患者机体免疫功能,带来诸多不良反应,对患者的生活质量影响较大<sup>[2]</sup>。随着医学技术的进步及对肿瘤免疫研究的深入,树突状细胞诱发的杀伤细胞(DC-CIK)治疗为一种肿瘤生物免疫治疗,以其抗肿瘤生长能力强和不良反应少的特点逐渐应用到肿瘤疾病的联合治疗中<sup>[3]</sup>。现以 DC-CIK 免疫疗法联合放化疗治疗中晚期 NSCLC,并观察治疗前后患者免疫功能水平和生活质量的变化,旨在更进一步全面分析该方案在中晚期 NSCLC 中的应用效果,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 4 月—2018 年 4 月中国人民解放军空军军医大学 986 医院肿瘤科诊治的中晚期 NSCLC 患者 69 例为研究对象,按随机数字表法分成 2 组,对照组 35 例,研究组 34 例。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①处于ⅢA~Ⅳ临床分期;②有可测量病灶;③预计生存期在 6 个月以上;④KPS 评分<sup>[4]</sup>在 60 分以上。(2)排除标准:①患有不可控制的传染病;②处于妊娠期或哺乳期;③内脏器官严重功能不全者;④对生物免疫制剂过敏及正在使用者;⑤精神异常,无自主意识者。

1.3 治疗方法 对照组:行同步放化疗治疗,使用直线加速器(PRECISE 型,瑞士医科达公司生产)6mV-X 线三维适形照射技术进行放疗,2 Gy/d,5 次/周,总照射剂量控制在 50~60 Gy。化疗前给予抗过敏和预防性止吐处理,均行 DP 方案化疗:第 1 天给予多西他赛(山东齐鲁制药有限公司生产)75 mg/m<sup>2</sup> 静脉滴注,第 1~4 天给予顺铂(山东齐鲁制药有限公司生产)75 mg/m<sup>2</sup> 静脉滴注,28 d 为 1 周期,与放疗同步治疗 2 周期,放疗结束后间隔 4 周,再继续进行 4 周期的 DP 方案巩固化疗。研究组:行同步放化疗联合 DC-CIK 免疫疗法治疗。放化疗方法同对照组,化疗前抽取患者外周血 100 ml(抗凝),采用血细胞分离机分离采集单个核细胞行 DC 和 CIK 培养<sup>[5]</sup>,培养 7 d 收集成熟的 DC 和 CIK,按 1:100 混合再培养 7 d,期间进行无菌试验检测,确认结果为阴性,且保证细胞存活率在 95% 以上。从第 2 周期化疗开始 DC-CIK 治疗,于每次化疗前 2 周进行 DC-CIK 混合悬液(每次回输 1×10<sup>9</sup> 个)静脉回输,共 5 次。

### 1.4 观察指标与方法

1.4.1 免疫功能相关指标检测:治疗前和治疗结束后,抽取患者外周血 4 ml,抗凝,梯度离心获取单个核细胞,分别加入相应抗体混匀,避光孵育(15 min)和 PBS 液洗涤(2 次)后重悬细胞于 NovoCyte 流式细胞仪检测(上海然哲仪器设备有限公司),分别检测 T 淋巴细胞亚群中 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 和 NK 细胞的表型和百分率。

1.4.2 生活质量评分<sup>[7]</sup>:治疗前和治疗结束后,依据 KPS 评分标准对患者近期生活质量进行评价,KPS 评分百分制,从正常(无症状)至死亡共 10 个分级,以 100~0 分计:改善,KPS 评分升高≥10 分;稳定,KPS 评分升高或降低幅度<10 分;恶化,KPS 评分下降≥10 分。提高率=改善率+稳定率。

1.4.3 不良反应发生情况:放疗损伤依据美国放射治疗肿瘤协作组对急性放射损伤的分级标准进行评价<sup>[8]</sup>;化疗毒性反应依据美国国立癌症研究所常见不良反应标准 4.0 版<sup>[9]</sup>进行评价;生物免疫治疗过程中和结束后观察患者有无过敏、发热等不良反应。

1.5 近期疗效评价标准 治疗 1 个月后,CT 检查肿瘤病灶变化,采用实体瘤疗效评价标准(RECIST)<sup>[6]</sup>评价。完全缓解,病灶完全消失,未发现新病灶,持续 4 周以上时间;部分缓解,病灶最长径总和减少 30% 以上,持续 4 周以上时间;疾病稳定,病灶最长径总和减少低于 30%,或增加低于 20%;疾病发展,病灶最长径总和增加 20% 以上,或出现新病灶。以(完全缓解+部分缓解)/总例数×100% 表示疾病治疗有效率,以(完全缓解+部分缓解+疾病稳定)/总例数×100% 表示疾病治疗控制率。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件统计处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验,等级资料采用秩和检验;计量资料以均数±标准差表示,组内、组间比较分别采用配对 *t* 检验和独立样本 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组临床资料比较 2 组患者的性别、年龄、病程、病理类型和临床分期等资料比较差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

2.2 2 组近期疗效比较 2 组患者疾病治疗控制率比较差异无统计学意义(*P*>0.05),研究组治疗总有效率明显高于对照组(*P*<0.01),见表 2。

2.3 2 组免疫功能指标比较 治疗前 2 组 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 和 NK 细胞比例比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);与治疗前比较,治疗后,对照组除 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 降低不明显外(*P*>0.05),其余指

标均降低( $P < 0.05$ ),而研究组各指标均升高,且高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 3。

2.4 2 组生活质量比较 治疗后,研究组生活质量提高率为 88.23%,高于对照组的 57.14%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 4。

表 4 2 组患者治疗后生活质量比较 [例(%)]

组别	例数	改善	稳定	恶化	提高率(%)
对照组	35	8(22.85)	12(34.29)	15(42.86)	57.14
研究组	34	19(55.88)	11(32.35)	4(11.77)	88.23
$U/\chi^2$ 值			9.963		21.684
$P$ 值			0.002		0.000

2.5 2 组不良反应比较 不良反应主要为发热、粒细胞减少、放射性肺炎、胃肠道反应和放射性食管炎。其中研究组发热和粒细胞减少发生率低于对照组( $P <$

0.01),2 组间放射性肺炎、胃肠道反应、放射性食管炎发生率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 5。

### 3 讨论

随着肿瘤治疗决策中对免疫学及分子生物学的深入研究,生物免疫治疗已成为肿瘤治疗领域的研究热点,其中 DC-CIK 是最具发展前景的免疫细胞。生物免疫疗法可有效杀死肿瘤细胞,抑制肿瘤转移和生长,且具有高效、不良反应小等特点。DC-CIK 细胞治疗主要应用疾病包括肾癌、胰腺癌、胃肠道肿瘤、乳腺癌和非小细胞肺癌等。以往研究发现,DC-CIK 细胞经体外培养后回输患者体内可提高体内 CD3、CD4 和 Th1 等细胞因子水平<sup>[10]</sup>。CIK 细胞免疫疗法可清除残余病灶,直接杀伤肿瘤细胞,不损害机体免疫系统,能改善患者生活质量。

肺癌是最常见的恶性肿瘤,其中 80% 以上为

表 1 2 组患者临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	男/女(例)	年龄(岁)	病程(月)	病理类型[例(%)]			临床分期[例(%)]		
					腺癌	鳞癌	其他	ⅢA	ⅢB	Ⅳ
对照组	35	15/10	56.88 ± 7.7	6.89 ± 1.23	17(48.57)	12(34.29)	6(17.14)	14(40.00)	11(31.43)	10(28.57)
研究组	34	13/11	57.19 ± 7.59	6.94 ± 1.37	19(55.88)	10(29.41)	5(14.71)	13(38.24)	10(29.41)	11(32.35)
$t/\chi^2/Z$ 值		0.041	0.168	0.160	0.317	0.264	0.215		0.231	
$P$ 值		0.837	0.867	0.874	0.562	0.603	0.637		0.622	

表 2 2 组患者近期疗效比较 [例(%)]

组别	例数	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病发展	总有效率(%)	控制率(%)
对照组	35	9(25.71)	12(34.29)	11(31.43)	3(8.57)	60.00	91.43
研究组	34	12(35.29)	16(47.06)	4(11.77)	2(5.88)	82.35	94.12
$U/\chi^2$ 值			$U = 5.994$			$\chi^2 = 9.685$	$\chi^2 = 0.231$
$P$ 值			0.014			0.003	0.622

表 3 治疗前后 2 组患者免疫功能各指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	CD3 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	NK(%)
对照组 ( $n = 35$ )	治疗前	58.97 ± 6.43	30.64 ± 7.35	29.07 ± 6.76	1.08 ± 0.47	13.31 ± 4.52
	治疗后	51.62 ± 5.89	24.79 ± 5.74	25.36 ± 5.89	0.93 ± 0.46	9.72 ± 5.39
研究组 ( $n = 34$ )	治疗前	59.24 ± 6.61	30.81 ± 7.26	28.92 ± 6.68	1.11 ± 0.45	14.62 ± 4.63
	治疗后	68.83 ± 6.27	38.83 ± 7.05	34.16 ± 6.87	1.55 ± 0.48	19.33 ± 5.07
$t/P$ 对照组内值		13.532/0.000	6.529/0.007	5.631/0.009	0.057/0.476	5.027/0.010
$t/P$ 研究组内值		7.656/0.005	6.746/0.007	6.017/0.008	3.745/0.016	5.627/0.009
$t/P$ 治疗后组间值		16.384/0.000	14.283/0.000	7.043/0.006	4.482/0.014	10.135/0.002

表 5 2 组患者治疗期间的不良反应情况比较 [例(%)]

组别	例数	发热	粒细胞减少	放射性肺炎	胃肠道反应	放射性食管炎
对照组	35	11(31.43)	22(62.86)	11(31.43)	11(31.43)	12(34.29)
研究组	34	3(8.82)	14(41.18)	9(26.47)	5(14.71)	9(26.47)
$\chi^2$ 值		5.662	5.053	1.023	3.127	1.464
$P$ 值		0.009	0.010	0.087	0.077	0.075

NSCLC,其确诊时的肿瘤分期较晚,且患者年龄偏高。放化疗为失去手术指征和不愿手术治疗的中晚期 NSCLC 患者主要治疗手段,可有效控制疾病进展,但同时会降低患者免疫功能,影响生活质量。控制疾病进展、减轻症状和提高生活质量是中晚期肿瘤治疗的主要目的<sup>[11]</sup>。鉴于此,本研究将 DC-CIK 免疫疗法与放化疗联合用于中晚期 NSCLC 治疗中,同时观察了患者治疗前后的免疫功能水平和生活质量变化,旨在全面分析该方案治疗中晚期 NSCLC 的临床效果。

DC 是功能强大的抗原提呈细胞,通过向初始 T 淋巴细胞提呈抗原,激活获得性免疫系统<sup>[12]</sup>。CIK 是人体外周血单个核细胞体外扩增出的异质性细胞群体,兼具 NK 细胞非主要组织相容性复合体限制性杀伤肿瘤的优点和 T 淋巴细胞强大的抗肿瘤活性,能通过自身的细胞毒作用杀伤肿瘤细胞,还可分泌多种细胞因子来杀伤肿瘤细胞<sup>[13]</sup>。两者混合共培养后回输至患者体内,可促进 DC 成熟,分泌共刺激分子与细胞因子,活化 CIK,增加增殖倍数,提高对肿瘤细胞杀伤性;促进抗原特异性 T 细胞增殖,发挥对肿瘤的长期免疫监视作用。DC-CIK 免疫疗法在肾癌、胃癌、肝癌等恶性肿瘤疾病治疗中均表现出较好的应用效果<sup>[14-16]</sup>。

本研究肯定了同步放化疗治疗对 NSCLC 进展控制的效果,也表明了 DC-CIK 免疫疗法显著的抗肿瘤作用。可能是由于 DC-CIK 具有较好的肿瘤细胞杀伤作用,联合放化疗可提高疗效,且 DC-CIK 具有区别于放化疗对肿瘤细胞的 0 级杀伤作用,能较好地清除放化疗后的微小残留病灶,进一步提高治疗效果。人体外周血淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 和 NK 细胞等是反映人体免疫功能的常用指标,在肿瘤的形成、进展中产生的可溶性免疫抑制因子会抑制 CD4<sup>+</sup> 形成,降低 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值和减少 NK 细胞<sup>[17]</sup>。本研究发现,联合 DC-CIK 免疫疗法治疗能提高患者机体免疫功能。对结果分析认为 DC-CIK 启动了机体自身免疫并分泌各种细胞免疫因子,弥补了放化疗对机体免疫功能的损伤。本研究对生活质量和不良反应进行分析发现,联合 DC-CIK 免疫疗法治疗能明显改善患者生活质量,且安全性较高。可能是由于 DC-CIK 具有靶向杀伤肿瘤细胞不损伤正常细胞的特性,不会对骨髓造血和胃肠道造成伤害;另外对化疗敏感性的提高,也一定程度降低了化疗药物的不良反应。对患者生活质量的改善,可能得益于临床效果和机体免疫功能的提高,患者疾病症状减轻;DC-CIK 分泌的多种因子具有一定的镇痛和催眠作用,也有利于生活质量的改善<sup>[18]</sup>。

综上所述,放化疗联合 DC-CIK 免疫疗法治疗中晚期 NSCLC 的疗效较好,能明显提高患者的免疫功能,改善生活质量。但本研究纳入的病例数较少,未对患者远期的预后情况进行随访。未来将扩大样本量,延长随访时间,作进一步深入研究。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

陆婉玲、李小龙:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写和修改;党亚正:提出研究思路,分析试验数据;赵宏亮:实施研究过程,资料搜集整理;程才、乔松:实施研究过程,进行统计学分析

**参考文献**

- [1] Fregard S, Bonanno L, Guarneri V, et al. Therapeutic perspective for brain metastases in non-oncogene addicted non-small cell lung cancer (NSCLC): Towards a less dismal future[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2018, 128: 19-29. DOI: 10. 1016/j. critrevonc. 2018. 05. 013.
- [2] Reck M, Rodriguezabreu D, Robinson A, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2016, 375 (19): 1823-1833. DOI: 10. 1056/NEJMoa1606774.
- [3] Borghaei H, Pazares L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2015, 373 (17): 1627-1639. DOI: 10. 1056/NEJMoa1507643.
- [4] Evers PD, Logan JE, Sills V, et al. Karnofsky performance status predicts overall survival, cancer-specific survival, and progression-free survival following radical cystectomy for urothelial carcinoma [J]. World J Urol, 2014, 32(2): 385-391. DOI: 10. 1007/s00345-013-1110-7.
- [5] Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial [J]. Lancet, 2017, 389 (10066): 255-265. DOI: 10. 1016/S0140-6736(16)32517-X.
- [6] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2): 228-227. DOI: 10. 1016/S1359-6349(09)70018-7.
- [7] Rades D, Bolm L, Kaesmann L, et al. Karnofsky performance score is predictive of survival after palliative irradiation of metastatic bile duct cancer [J]. Anticancer Research, 2017, 37 (2): 949-952. DOI: 10. 21873/anticancer. 12500.
- [8] Hartford AC, Palisca MG, Eichler TJ, et al. American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ASTRO) and American College of Radiology (ACR) practice guidelines for Intensity-Modulated Radiation Therapy (IMRT) [J]. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2009, 73(1): 9-14. DOI: 10. 1016/j. ijrobp. 2008. 04. 049.

(下转 827 页)

# 胸腔镜肺叶切除术治疗非小细胞肺癌对术后炎症因子及应激水平的影响

蔡杰飞, 张诗杰, 李伟, 张宪, 李寒

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(20170983)

作者单位: 050051 石家庄市第二医院心胸外科(蔡杰飞、李伟、张宪、李寒); 100034 北京大学第一医院胸外科(张诗杰)

通信作者: 蔡杰飞, E-mail: 15303119685@163.com

**【摘要】目的** 比较 3D 和 2D 胸腔镜肺叶切除术对非小细胞肺癌患者炎症因子和应激水平的影响。**方法** 选择 2016 年 1 月—2019 年 6 月在石家庄市第二医院接受肺叶切除术非小细胞肺癌患者 100 例,按照随机数字表法分为 2 组各 50 例,3D 组实施 3D 电视胸腔镜手术,2D 组实施 2D 电视胸腔镜手术,患者均实施肺叶切除术。观测 2 组患者围术期指标,手术前后炎症因子(CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8)及应激水平(ACTH、P 物质、生长激素、皮质醇)变化比较,评估近期预后及安全性指标。**结果** 3D 组患者手术时间、术中出血量、胸腔引流量、住院时间均优于 2D 组,差异有统计学意义( $t=2.585/3.380/2.580/3.100, P$  均  $<0.01$ );胸腔引流时间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。2 组术后 1 d CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 均升高,术后 3 d 较术后 1 d 下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。3D 组较 2D 组术后 1 d、3 d 炎症因子水平低,差异均有统计学意义(术后 1 d:  $t=3.229/5.120/12.153/2.574, P$  均  $<0.01$ ; 术后 3 d:  $t=8.496/4.045/2.404/12.781, P$  均  $<0.01$ )。2 组术后 ACTH、P 物质、生长激素、皮质醇水平均升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),2D 组升高较 3D 组更加明显(术后 1 d:  $t=2.343/3.195/2.692/2.258, P$  均  $<0.05$ ; 术后 3 d:  $t=2.577/11.627/2.237/2.198, P$  均  $<0.05$ )。患者术后随访 3 个月,无死亡且无严重不良反应。**结论** 与 2D 组相比,3D 胸腔镜肺叶切除术治疗非小细胞肺癌,可以改善围术期指标,明显减轻术后炎症反应和应激反应,对机体损伤较小。

**【关键词】** 非小细胞肺癌;肺叶切除术;胸腔镜;炎症因子;应激

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.012

**Effects of thoracoscopic lobectomy on inflammatory factors and stress levels in patients with non-small cell lung cancer** Cai Jiefei, Zhang Shijie, Li Wei, Zhang Xian, Li Han. Department of Cardiothoracic Surgery, Shijiazhuang Second Hospital, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Cai Jiefei, E-mail: 15303119685@163.com

Funding program: Medical Science Research Key Program of Hebei Province(20170983)

**【Abstract】Objective** To compare the effects of 3D and 2D thoracoscopic lobectomy on inflammatory factors and stress levels in patients with NSCLC. **Methods** From January 2016 to June 2019, 100 patients with non-small cell lung cancer underwent lobectomy in Shijiazhuang second hospital. According to the random number table, 50 cases were divided into two groups. 3D video-assisted thoracoscopy was performed in 3D group, 2D video-assisted thoracoscopy was performed in 2D group, and lobectomy was performed in all patients. The perioperative indexes, inflammatory factors (CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) and stress levels (ACTH, substance P, growth hormone, cortisol) were observed before and after operation, and the short-term prognosis and safety indexes were evaluated. **Results** The operation time, intraoperative bleeding volume, thoracic drainage volume and hospitalization time of 3D group were better than those of 2D group, the difference was statistically significant ( $t=2.585, 3.380, 2.580, 3.100, P$ 均  $<0.01$ ); there was no statistically significant difference in thoracic drainage time ( $P>0.05$ ). CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8 were all increased in the two groups on the first day after operation, and decreased on the third day after operation compared with that on the first day after operation ( $P<0.05$ ). The level of inflammatory factors in 3D group was lower than that in 2D group on the 1st and 3rd day after operation, the difference was statistically significant ( $t=3.229, 5.120, 12.153, 2.574, P$ 均  $<0.01$ ;  $t=8.496, 4.045, 2.404, t=12.781, P$ 均  $<0.01$ ). The levels of ACTH, substance P, growth hormone and cortisol in the two groups increased significantly ( $P<0.05$ ). The level of ACTH, substance P, growth hormone and cortisol in the 2D group was higher than that in the 3D group (1 d:  $t=2.343, 3.195,$



2.692, 2.258,  $P < 0.05$ ; 3 d:  $t = 2.577, 11.627, 2.237, 2.198, P < 0.05$ ). The patients were followed up for 3 months without death and serious adverse reactions. **Conclusion** Compared with 2D group, 3D thorascopic lobectomy can improve the perioperative indexes, reduce the postoperative inflammatory response and stress response, and cause less damage to the body.

**【Key words】** Lung cancer; Lobectomy; Thorascopic; Inflammatory factors; Stress response

研究显示,肺癌已经成为我国城镇人口发病率最高的恶性肿瘤,并且以每年 2% 的速度在增长<sup>[1]</sup>。非小细胞肺癌是一种较为常见的肺癌,约占肺癌总数的 4/5,主要包括腺癌、鳞癌及大细胞癌。其生长分裂较慢,扩散转移较晚,多数患者在发现时具备手术治疗条件。手术治疗仍然是目前临床有效的治疗方法,腔镜治疗具有微创、出血少、术后恢复快等优点,被广泛应用于肺癌治疗<sup>[2-3]</sup>。3D 腔镜技术在传统腔镜治疗的基础上,将开胸手术的视野展现在术者面前,更符合视觉习惯,也使得操作更加精细、安全,同时降低了技术难度<sup>[4-5]</sup>。但癌症本身会影响患者的免疫功能,手术创伤更加重了免疫功能的下降,手术及其带来的并发症等有可能促进肿瘤的转移或复发<sup>[6]</sup>,选择对患者机体影响更小的手术可以更大程度促进康复,对患者有重大意义。本研究通过对 100 例肺癌患者的研究,进一步探讨 3D 与 2D 胸腔镜在肺叶切除术中对患者术后炎症和应激水平的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选择 2016 年 1 月—2019 年 6 月在石家庄市第二医院接受肺叶切除术非小细胞肺癌患者 100 例作为研究对象,诊断标准执行卫生部肺癌诊疗指南(2011 年版)。入选标准:(1)年龄  $\leq 70$  岁;(2)经病理学检查确诊为非小细胞肺癌;(3)术前检查符合手术适应证;(4)术前 6 个月内无外科手术史,术前 1 年内无胸部手术史;(5)患者同意手术方式,并配合研究。排除标准:(1)全身感染性疾病者;(2)严重肝、肾功能异常者;(3)内分泌系统疾病及风湿免疫疾病者。按照随机数字表法分为 3D 组和 2D 组各 50 例。2 组患者性别、年龄、BMI、肿瘤分期、肿瘤大小、切除范围等基础资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理学审查通过,所有患者均知情同意并签署知情同意书。

**1.2 手术方法** 全部患者由同一组术者进行手术。患者健侧卧位,单侧通气。采用双腔气管插管全身麻醉。采用德国卡尔史托斯公司生产的全高清 2D、3D 电视胸腔镜系统及 Olympus 高清 3D 电视胸腔镜系统进行手术。(1)3D 组:连接 3D 设备,调暗手术室内灯光,所有术者佩戴 3D 偏振眼镜进行手术。采用单孔

胸腔镜操作。于患侧腋前线第 4 肋间做 3~4 cm 切口作为胸腔镜观察孔及操作孔,电刀切开胸壁和肋间肌肉,刺破壁层胸膜,置入 trocar 和胸腔镜<sup>[7]</sup>。探查胸腔内部,确定病变位置。按照肺上叶在第 4 肋间,肺下叶在第 5 肋间的原则(视情况肺上叶亦可选择第 3 肋间)做切口<sup>[8]</sup>,长 3~5 cm,进吸引器和电凝钩或超声刀,钝性分离组织。采用解剖性肺叶切除,结扎相应动静脉,以内镜切割缝合器切断,切断气管,缝合残端。内镜血管锁闭合小血管。将切除的肺叶装入手套内于操作孔取出。右侧胸腔清扫 2、4、7、9、10、11 组淋巴结,左侧清扫 4、5、6、7、9、10、11 组淋巴结。留置引流管。(2)2D 组:手术不连接 3D 设备,术者无须佩戴 3D 偏振眼镜,取患侧腋前线第 4 或第 5 肋间做约 4 cm 切口为主操作孔,同侧腋后线第 7、8 肋间 1.5 cm 为光源口,肩胛下角线 7、8 肋间 1.5 cm 为辅助操作口。在 2D 胸腔镜下进行胸腔探查和相关组织游离切除。2 组均不使用肋骨牵开器,淋巴结清扫范围一致,均为左侧 4、5、6、7、8、9、10 组在内的淋巴结,右侧 2、4、7、8、9、10 组在内的淋巴结。

## 1.3 观察指标与方法

**1.3.1 围术期指标观察:**观察患者手术时间、术中出血量、术后引流量、胸腔引流时间、住院时间等指标。

**1.3.2 血清炎症指标检测:**所有入选患者分别于首次治疗前 1 d、治疗后 1 d、治疗后 3 d 采晨起空腹外周静脉血 8 ml,以 2 000 r/min 速度离心处理分离血清,其中 5 ml 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定炎症因子 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 水平。

**1.3.3 应激指标测定:**上述血清 3 ml,皮质醇采用化学发光法测定,促肾上腺皮质激素(ACTH)和生长激素采用酶联免疫吸附法测定,P 物质采用人 P 物质(SP)检测试剂盒测定。

**1.3.4 近期预后及安全性指标:**随访 3 个月,观察患者术后并发症及肿瘤复发情况。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 22.0 统计软件,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,多组间比较采用方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 2 组患者基础资料比较 2 组患者性别、年龄、BMI、肿瘤分期、肿瘤大小、切除范围等基础资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

2.2 2 组患者围术期指标比较 3D 组患者手术时间、术中出血量、胸腔引流量、住院时间均优于 2D 组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );胸腔引流时间 2 组差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

2.3 2 组血清炎性因子水平比较 2 组术前 CRP、

TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );术后均升高,术后 3 d 较术后 1 d 下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。3D 组较 2D 组术后 1 d、3 d 炎性因子水平低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

2.4 2 组血清应激水平比较 2 组术前 ACTH、P 物质、生长激素、皮质醇水平比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),术后均升高,2D 组升高更明显,2 组术后 1 d、3 d 组间差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 4。

表 1 2 组患者基础资料比较

组别	例数	性别(例)		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	年龄(岁)	肿瘤分期[例(%)]			肿瘤大小 (cm)	切除范围[例(%)]				
		男	女			I	II	III		右肺上叶	右肺下叶	右肺中叶	左肺上叶	左肺下叶
3D 组	50	33	17	57.37 $\pm$ 7.23	21.5 $\pm$ 3.2	21(42.0)	23(46.0)	6(12.0)	3.4 $\pm$ 1.2	13(26.0)	12(24.0)	4(8.0)	10(20.0)	11(22.0)
2D 组	50	35	15	58.54 $\pm$ 7.06	22.3 $\pm$ 3.1	19(38.0)	24(48.0)	7(14.0)	3.6 $\pm$ 1.3	14(28.0)	12(24.0)	5(10.0)	9(18.0)	10(20.0)
$t/\chi^2$ 值		0.184		0.819	1.270	0.045			0.799	0.050				
$P$ 值		0.668		0.415	0.207	0.906			0.426	0.993				

表 2 2 组患者围术期指标比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	手术时间(min)	术中出血量(ml)	胸腔引流量(ml)	胸腔引流时间(d)	住院时间(d)
3D 组	50	176.28 $\pm$ 35.57	104.34 $\pm$ 28.53	546.98 $\pm$ 60.54	3.04 $\pm$ 0.34	8.26 $\pm$ 0.67
2D 组	50	194.69 $\pm$ 35.64	124.75 $\pm$ 31.77	578.71 $\pm$ 62.42	3.25 $\pm$ 0.32	8.64 $\pm$ 0.55
$t$ 值		2.585	3.380	2.580	1.212	3.100
$P$ 值		0.011	0.001	0.011	0.228	0.003

表 3 2 组患者血清炎性因子水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	时间	CRP(mg/L)	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL-6(pg/L)	IL-8(pg/L)
3D 组 ( $n=50$ )	术前	5.32 $\pm$ 0.87	35.45 $\pm$ 4.04	7.65 $\pm$ 2.46	64.22 $\pm$ 7.16
	术后 1 d	27.78 $\pm$ 2.84	182.75 $\pm$ 14.56	24.56 $\pm$ 9.04	118.36 $\pm$ 10.95
	术后 3 d	16.56 $\pm$ 1.55	136.56 $\pm$ 18.86	17.36 $\pm$ 8.16	87.48 $\pm$ 6.84
2D 组 ( $n=50$ )	术前	5.63 $\pm$ 0.85	36.56 $\pm$ 3.90	7.86 $\pm$ 2.37	65.94 $\pm$ 7.42
	术后 1 d	29.64 $\pm$ 2.92	198.25 $\pm$ 13.75	28.52 $\pm$ 9.35	124.42 $\pm$ 12.54
	术后 3 d	19.46 $\pm$ 1.85	154.87 $\pm$ 25.86	21.45 $\pm$ 8.84	106.45 $\pm$ 7.96
$F/P$ 3D 组内值		1685.2/ $<0.001$	1457.75/ $<0.001$	69.97/ $<0.001$	507.64/ $<0.001$
$F/P$ 2D 组内值		1719.18/ $<0.001$	902.58/ $<0.001$	96.60/ $<0.001$	488.25/ $<0.001$
$t/P$ 术后 1 d 组间值		3.229/0.002	5.120/ $<0.001$	12.153/0.034	2.574/0.012
$t/P$ 术后 3 d 组间值		8.496/0.001	4.045/ $<0.001$	2.404/0.018	12.781/ $<0.001$

表 4 2 组患者血清应激水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	时间	ACTH(ng/ml)	P 物质( $\mu$ g/ml)	生长激素(ng/ml)	皮质醇(ng/ml)
3D 组 ( $n=50$ )	术前	3.42 $\pm$ 0.92	5.34 $\pm$ 1.05	1.39 $\pm$ 0.97	73.54 $\pm$ 19.68
	术后 1 d	3.45 $\pm$ 0.88	11.63 $\pm$ 1.27	1.89 $\pm$ 0.66	86.15 $\pm$ 21.96
	术后 3 d	3.91 $\pm$ 1.10	12.77 $\pm$ 1.30	1.58 $\pm$ 0.60	93.52 $\pm$ 24.44
2D 组 ( $n=50$ )	术前	3.38 $\pm$ 0.93	5.68 $\pm$ 0.98	1.40 $\pm$ 0.97	75.65 $\pm$ 18.57
	术后 1 d	3.86 $\pm$ 0.87	13.62 $\pm$ 1.36	2.24 $\pm$ 0.64	95.85 $\pm$ 20.98
	术后 3 d	4.41 $\pm$ 0.82	15.84 $\pm$ 1.34	1.88 $\pm$ 0.66	104.95 $\pm$ 27.47
$F/P$ 3D 组内值		3.997/0.020	545.175/ $<0.001$	5.502/0.005	10.439/ $<0.001$
$F/P$ 2D 组内值		17.368/ $<0.001$	929.290/ $<0.001$	14.915/ $<0.001$	21.910/ $<0.001$
$t/P$ 术后 1 d 组间值		2.343/0.021	3.195/0.002	2.692/0.008	2.258/0.026
$t/P$ 术后 3 d 组间值		2.577/0.012	11.627/ $P<0.001$	2.237/0.019	2.198/0.030

2.4 近期预后及安全性指标 全部患者术后随访 3 个月,无死亡病例,均未出现肺不张、出血、支气管胸膜瘘、胸腔包裹性积液、乳糜胸、食管吻合口瘘等并发症,无复发、转移情况。

### 3 讨论

随着临床诊断技术的发展及人民健康意识的提高,肺癌检出率逐年提高,越来越多的肺癌患者早期即可发现。腔镜治疗肺癌是目前主要的治疗方法,较传统开胸手术有明显优势<sup>[9-10]</sup>。主要有以下几点:无需开胸,减少了术后排痰不畅、胸痛等并发症,呼吸道清洁度显著提高,进一步降低肺部并发症的发生;胸腔镜可以将放大的胸腔图像呈现于显示屏,有助于组织辨别和手术操作,减少误操作,提高手术效率;切口小,保留肋骨完整性,对胸部肌肉损伤小,无需切开及加压撑开局部组织,有利于患者尤其是老年患者的术后恢复。近年来,微创技术迅速发展,胸腔镜的应用已逐步成熟,手术效果与传统开胸手术相比具有明显优势。胸腔镜手术是用内镜器械完成胸部某些手术,全程在监视器显示下进行,只需切开几个很小的切口即可完成复杂的手术。随着相关技术的迅速发展,胸腔镜的视野更加开阔,影像更加清晰。3D 图像技术的应用实现了图像的立体化,更加符合视觉习惯。

胸腔镜治疗需要在全麻状态下实施,手术过程中长时间单肺机械通气,切割、牵拉等造成的直接损伤,手术麻醉及术后发生的低血压,失血,微血管的改变等均造成间接损伤,同时更高层次的组织损伤将导致更高水平的炎性介质和细胞因子释放,最终驱动体内的免疫、代谢和激素过程,从而导致应激反应<sup>[11-13]</sup>。这些过程导致葡萄糖代谢改变、蛋白质分解代谢和激素失调等。应激激素的靶组织遍布全身,这种机制可以帮助机体增强抵抗力,提高对外界刺激的应对能力。但长期而高水平的应激反应容易造成病理性改变,患者出现紧张、焦虑等负面情绪,以及物质代谢的异常<sup>[14]</sup>,不利于患者术后恢复。其中 ACTH 属于儿茶酚胺类物质,主要影响心率、心输出量,改变脑血流<sup>[15-16]</sup>。皮质醇属于糖皮质激素,常用作评价机体应激反应强弱,机体创伤后血液中水平显著升高,可以增强糖原异生,升高血糖,形成负氮平衡,对炎性介质有抑制作用等<sup>[17-18]</sup>。生长激素可以促进促炎细胞因子分泌。本研究结果显示,术后 2 组患者应激水平均升高,但是 3D 组较 2D 组患者反应较轻,说明对患者创伤较小。本研究证实 3D 组术中出血量较少,手术时间短,与前期研究相符<sup>[19]</sup>,考虑与 3D 组视野好,放大效果好,便于手术操作有关。

CRP 是一种急性时相蛋白,数小时即可升高。有研究证实其可以预测需要机械通气的慢性阻塞性肺疾病急性发作期患者的病死率<sup>[20-22]</sup>。TNF- $\alpha$  是在炎症早期由巨噬细胞分泌的小分子蛋白,可以激活白细胞和血小板,诱导产生 IL-6 等炎症因子。IL-8 是由巨噬细胞和上皮细胞等分泌的趋化因子,通过对中性粒细胞的趋化作用进行炎症反应的调节。本研究选择上述炎症因子评价炎症反应水平。结果显示,2 组术后炎症因子水平均不同程度升高,提示手术会引起机体炎症反应,但是 3D 组明显较 2D 组炎症反应轻,提示其对机体损伤较小。适度的低水平炎症反应有利于机体修复,但过度炎症反应会造成机体损害,不利于恢复。

3D 模式手术具有三维视野,可以实现术者更加精确的深度感知。组织呈现更加清晰,分离、切割时可以更加快速、精准,更大程度上避免对预保留组织的损伤,避免伤及血管<sup>[23-25]</sup>。从而实现更加安全、精确的手术效果,且缩短手术时间。

本研究显示,3D 胸腔镜手术术中出血更少,手术时间更短,胸腔引流量更少,住院时间更短,炎症反应和应激反应水平更低,更加有利于肺癌患者的术后恢复。但是现阶段仍然有其缺点:手术需要连接专门的设备,为手术和技术交流带来不便;术者要配戴特制的眼镜,操作不便;长时间操作容易引起术者眩晕、不适;手术费用较 2D 昂贵<sup>[26]</sup>。裸眼 3D 的出现将会在一定程度上解决这些问题<sup>[27-28]</sup>。3D 胸腔镜手术操作中的注意事项:镜头的快速移动容易造成视觉不适,术者出现眩晕、视野模糊,当需要改变方向或远近距离时操作尽量稳、慢;当画面浑浊时注意擦洗,保持画面清晰可以预防早出现的眩晕和视觉疲劳。3D 胸腔镜术前准备较 2D 长,在实际手术时,视觉的适应性较 2D 长,但在缝合、结扎等精细操作时具有明显优势<sup>[29]</sup>。

综上所述,3D 胸腔镜进行肺叶切除术具有明显的组织空间关系呈现,可以取得较 2D 腔镜更好的手术相关指标,明显降低机体炎性和应激反应,有利于术后恢复。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

蔡杰飞:设计研究方案,实施研究过程,统计分析,设计论文框架,论文撰写,论文修改;张诗杰:资料搜集整理,参与统计学分析;李伟:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;张宪:实施研究过程,资料搜集整理;李寒:课题设计,参与论文修改

**参考文献**

- [1] 赵飞,邬艺渊,张帆,等.两种肺叶切除术式对 I~II 期非小细胞肺癌患者围术期临床指标、炎症程度及并发症的影响[J].河北医药,2016,38(18):2745-2747. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.

2016. 18. 006.
- [2] 朱晓明,魏立,务森. 胸腔镜和开放性肺叶切除对高龄非小细胞肺癌患者术后应激反应和呼吸功能的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(2): 237-240. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-4992. 2019. 02. 014.
- [3] 邓海青,杜正隆,凌毅,等. 全胸腔镜与辅助小切口胸腔镜肺癌切除手术效果比较[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(21): 3398-3400. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-4992. 2016. 21. 014.
- [4] Gonzalez-Rivas D,Paradela M,Fernandez R,et al. Uniportal video-assisted thoracoscopic lobectomy: Two years of experience[J]. The Annals of Thoracic Surgery, 2013, 95(2): 426-432. DOI: 10. 1016/j. athoracsur. 2012. 10. 070.
- [5] 乔文亮,周建华,刘法兵,等. 3D 胸腔镜系统在胸部微创手术中的初步应用[J]. 中国癌症杂志, 2015, 25(4): 305-310. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-3969. 2015. 04. 011.
- [6] 郑威,黄杰. 胸腔镜肺叶切除术对非小细胞肺癌患者炎症因子及免疫功能的影响[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(2): 295-298. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5930. 2017. 02. 037.
- [7] 刘煜,宋雪冰,张午临. 单操作孔完全胸腔镜与传统三孔胸腔镜治疗肺癌的疗效比较[J]. 中国微创外科杂志, 2018, 18(3): 205-208. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-6604. 2018. 03. 004.
- [8] 王大伟,杨飞,张娟,等. 全胸腔镜肺叶切除术治疗合并 COPD 非小细胞肺癌高龄患者疗效观察[J]. 河北医药, 2019, 41(23): 3567-3570. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-7386. 2019. 23. 011.
- [9] Park SY, Kim DJ, Mo Nam C, et al. Clinical and economic benefits associated with the use of powered and tissue-specific endoscopic staplers among the patients undergoing thoracoscopic lobectomy for lung cancer[J]. Journal of Medical Economics, 2019, 22(12): 1274-1280. DOI: 10. 1080/13696998. 2019. 1634081.
- [10] 王辉斌,李丹峰,孙江涛,等. 胸腔镜与开放肺叶切除手术对患者机体应激创伤反应、T 淋巴细胞亚群及肺功能的影响[J]. 实用医院临床杂志, 2017, 14(4): 124-127. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-6170. 2017. 04. 036.
- [11] 何建行. 裸眼 3D 显示系统在腔镜手术中的应用[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(10): 1537-1539. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5725. 2017. 10. 001.
- [12] 赵新,韩鲁军,张森,等. 气管镜下二氧化碳冷冻活组织检查及消融治疗非小细胞肺癌所致阻塞性肺不张的疗效[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(2): 132-136. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 02. 006.
- [13] 邓超,谭建军,蔡祖艾,等. 前程三维适形放疗与后程调强放疗+含紫杉醇方案治疗晚期非小细胞肺癌患者的疗效观察[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(7): 678-681. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 07. 008.
- [14] Amit S, Giovanna P, Candice B, et al. Cortisol response to stress as a predictor for suicidal ideation in youth[J]. Journal of Affective Disorders, 2019, 257(1): 10-16. DOI: 10. 1016/j. jad. 2019. 06. 053.
- [15] 马金芳,王丽娜,平军辉,等. 老年抑郁患者 GRmRNA、ACTH 和皮质醇的表达及与病情严重程度的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(22): 5485-5487. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2018. 22. 045.
- [16] 郭燕,马骞,刘朝兴,等. 养正消积胶囊辅助三维适形调强放疗治疗老年非小细胞肺癌患者疗效及对 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(8): 800-804. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 08. 011.
- [17] Nasr F, Martina S, Ally Y, et al. Sex-specific contribution of DHEA-cortisol ratio to prefrontal-hippocampal structural development, cognitive abilities and personality traits[J]. Journal of Neuroendocrinology, 2018, 31(2): e12682. DOI: 10. 1111/jne. 12682.
- [18] 邓兰,彭国林,江摩,等. 鸦胆子油乳联合 GP 化疗方案对非小细胞肺癌患者疗效及免疫功能的影响[J]. 中国医药导报, 2019, 16(8): 112-115.
- [19] 蔡杰飞,赵维彩,魏云炜,等. 3D 和 2D 高清胸腔镜肺叶切除手术的应用比较[J]. 河北医药, 2018, 40(18): 2790-2793. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-7386. 2018. 18. 016.
- [20] Sneha A, Pawan T, Randeep G, et al. Acute phase proteins as predictors of survival in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease requiring mechanical ventilation[J]. COPD, 2020, 17(1): 22-28. DOI: 10. 1080/15412555. 2019. 1698019.
- [21] 庞波,董明霞,李娟,等. 吉西他滨联合顺铂治疗方案治疗中晚期非小细胞肺癌合并矽肺患者的近期效果和不良反应观察[J]. 中国医药, 2019, 14(4): 522-525. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 04. 011.
- [22] 肖瑶,朱光发,张颖,等. 外周血活性循环肿瘤细胞与非小细胞肺癌患者临床特征的相关性及其临床意义[J]. 中国医药, 2019, 14(4): 526-529. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2019. 04. 012.
- [23] 张建,梁贵友,刘达兴,等. 3D 全胸腔镜不停跳房间隔缺损修补术 CUSUM 学习曲线分析[J]. 中国内镜杂志, 2018, 24(9): 11-16. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-1989. 2018. 09. 003.
- [24] Helander EM, Webb MP, Menard B, et al. Metabolic and the surgical stress response considerations to improve postoperative recovery[J]. Current Pain and Headache Reports, 2019, 23(5): 33. DOI: 10. 1007/s11916-019-0770-4.
- [25] 严会志,张军,林称意,等. 3D 与 2D 模式下电视胸腔镜食管癌根治术的近期疗效比较[J]. 内蒙古医科大学学报, 2018, 40(6): 635-638. DOI: 10. 16343/j. cnki. issn. 2095-512x. 2018. 06. 027.
- [26] Little JP, Loch-Wilkinson TJ, Sundberg A, et al. Quantifying anterior chest wall deformity in adolescent idiopathic scoliosis: Correlation with other deformity measures and effects of anterior thoracoscopic scoliosis surgery[J]. Spine Deformity, 2019, 7(3): 436-444. DOI: 10. 1016/j. jsdpd. 2018. 09. 069.
- [27] 黄可南,丁新宇,陈子豪,等. 裸眼 3D 胸腔镜与 2D 胸腔镜在微创食管癌根治术中的临床对比研究[J/OL]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2020, 27(4): 441-445. DOI: 10. 7507/1007-4848. 201905057.
- [28] Huang W, Liu J, Liang W, et al. Outcome and safety of radical resection in non-small cell lung cancer patients via glasses-free 3-dimensional video-assisted thoracoscope versus 2-dimensional video-assisted thoracoscope[J]. Surgical Innovation, 2018, 25(2): 121-127. DOI: 10. 1177/1553350617754102.
- [29] 耿国军,于修义,姜杰,等. 胸腔镜手术 3D 与 2D 模式下治疗孤立性肺结节的病例对照研究[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2015, 22(7): 664-667. DOI: 10. 7507/1007-4848. 20150169.

# HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 在 HBV 相关肝细胞癌组织中的表达及对预后的影响

曾东,冯艳玲,郑叶,杨月香,石雨涵

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会科研课题(20174Y0065)

作者单位:201508 复旦大学附属上海市公共卫生临床中心病理科

通信作者:冯艳玲, E-mail: jhg2k7@163.com

**【摘要】目的** 观察 HOX 转录反义 RNA (HOTAIR)、锌指转录因子(Snail)和 Wnt3a 在乙型肝炎病毒(HBV)相关肝细胞癌(HCC)中的表达及其对患者预后的影响。**方法** 收集 2012 年 6 月—2014 年 12 月于复旦大学附属上海市公共卫生临床中心病理科手术切除并经病理确诊的 HBV 相关肝细胞癌组织样本 82 份和正常肝组织样本 35 份,收集相关临床资料,采用 qRT-PCR 检测 HOTAIR,免疫组织化学检测 Snail 和 Wnt3a,分析三者与临床病理学特征、预后相关因素的关系。**结果** HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 在 HBV 相关肝细胞癌组织中的阳性表达率显著高于正常肝组织( $\chi^2=46.582, 37.861, 46.896, P$  均  $=0.000$ )。HOTAIR 在患者不同 TNM 分期、组织分化程度、淋巴结转移及肿瘤直径方面比较,差异均有统计学意义( $\chi^2/P=11.267/0.001, 14.858/0.001, 6.165/0.013, 7.736/0.005$ ); Snail 在不同 TNM 分期和淋巴结转移方面比较,差异均有统计学意义( $\chi^2/P=16.125/0.000, 4.086/0.043$ ); Wnt3a 在不同 TNM 分期、组织分化程度及肿瘤直径方面比较,差异均有统计学意义( $\chi^2/P=9.208/0.002, 32.377/0.000, 7.360/0.007$ )。HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 的表达在 HBV 相关肝细胞癌组织中均呈正相关(HOTAIR 与 Snail:  $r/P=0.281/0.011$ , HOTAIR 与 Wnt3a:  $r/P=0.296/0.007$ , Snail 与 Wnt3a:  $r/P=0.285/0.009$ )。除 TNM 分期高、组织分化程度低、淋巴结转移及肿瘤直径大以外, HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 高表达也是影响 HBV 相关肝细胞癌预后的危险因素( $P$  均  $<0.05$ )。HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 阳性患者的 5 年生存率均显著低于阴性患者( $\chi^2/P=5.380/0.020, 5.937/0.015, 5.385/0.020$ )。**结论** HBV 相关肝细胞癌中 HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 均高表达且互为显著正相关性,参与癌症的恶性进展,是导致患者预后不良的关键风险因素。

**【关键词】** HBV 相关肝细胞癌;HOX 转录反义 RNA;锌指转录因子;Wnt3a;预后

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.013

## Expression of HOTAIR, Snail and Wnt3a in HBV related hepatocellular carcinoma and their influence on prognosis

Zeng Dong, Feng Yanling, Zheng Ye, Yang Yuexiang, Shi Yuhuan. Department of Pathology, Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University, Shanghai 201508, China

Corresponding author: Feng Yanling, E-mail: jhg2k7@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Shanghai Health and Family Planning Commission (20174Y0065)

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of Hox antisense RNA (HOTAIR), zinc finger transcription factor (snail) and Wnt3a in hepatitis B virus (HBV) - associated hepatocellular carcinoma (HCC) and their impact on the prognosis of patients. **Methods** From June 2012 to December 2014, 82 samples of HBV related hepatocellular carcinoma and 35 normal liver tissues were collected from the Pathology Department of Shanghai Public Health Clinical Center affiliated to Fudan University. The clinical data were collected, HOTAIR was detected by qRT-PCR, snail and Wnt3a were detected by immunohistochemistry. The relationship between the three factors and clinicopathological features and prognosis was analyzed. **Results**

The positive expression rates of HOTAIR, snail and Wnt3a in HBV related HCC tissues were significantly higher than those in normal liver tissues ( $\chi^2=46.582, 37.861, 46.896$ , all  $P=0.000$ ). HOTAIR was significantly different in TNM stage, tissue differentiation, lymph node metastasis and tumor diameter ( $\chi^2/P=11.267/0.001, 14.858/0.001, 6.165/0.013, 7.736/0.005$ ). Snail had significant difference in TNM stage and lymph node metastasis ( $\chi^2/P=16.125/0.000, 4.086/0.043$ ). There were significant differences in TNM staging, tissue differentiation and tumor diameter ( $\chi^2/P=9.208/0.002, 32.377/0.000, 7.360/0.007$ ). The expressions of HOTAIR, snail and Wnt3a were positively correlated in HBV related

HCC (HOTAIR-Snail:  $r/P=0.281/0.011$ , HOTAIR-Wnt3a:  $r/P=0.296/0.007$ , snail-Wnt3a:  $r/P=0.285/0.009$ ). In addition to high TNM stage, low degree of tissue differentiation, lymph node metastasis and large tumor diameter, the high expression of HOTAIR, Snail and Wnt3a were also risk factors for the prognosis of HBV related hepatocellular carcinoma ( $P<0.05$ ). The 5-year survival rates of HOTAIR, Snail and Wnt3a positive patients were significantly lower than those of negative patients ( $\chi^2/P=5.380/0.020$ ,  $5.937/0.015$ ,  $5.385/0.020$ ). **Conclusion** HOTAIR, Snail and Wnt3a are highly expressed in HBV related hepatocellular carcinoma, and they are positively correlated with each other. They are the key risk factors for poor prognosis of patients.

**【Key words】** HBV related hepatocellular carcinoma; Hox antisense RNA; Snail; Wnt3a; Prognosis

肝细胞癌(HCC)已成为全球常见的恶性肿瘤之一,其发病隐匿,初期临床症状和体征不典型,早期不易发现,往往延误最佳治疗时机;此外由于该病侵袭转移性强而导致预后极差,因此具有较高的发病率和病死率。乙型肝炎病毒(HBV)慢性感染被广泛认为是导致 HCC 发生的主要高危因素之一,我国 80% 的肝癌患者合并 HBV 感染,HBV 感染患者较正常人群发生肝癌的几率更高<sup>[1]</sup>。作为首个被发现的通过反式作用调控下游基因表达的长链非编码 RNA (Lnc RNA),HOX 转录反义 RNA (HOTAIR)已被证实胃癌、乳腺癌及非小细胞肺癌等多种癌症中表达明显上调,且其高表达与肿瘤耐药、增殖、侵袭及转移密切相关<sup>[2-4]</sup>。作为锌指蛋白超家族成员之一,锌指转录因子(Snail)对上皮间叶表型转化(EMT)具有强大的诱导能力,近年来在肿瘤转移中的作用越来越被重视<sup>[5-6]</sup>。Wnt3a 是 Wnt 信号传导通路的关键分子,在胚胎发育、造血、组织再生及细胞增殖分化等生物学过程中发挥关键作用,也在多种肿瘤中异常活化并发挥重要作用<sup>[7-8]</sup>。目前,关于 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 通路蛋白在 HBV 相关肝细胞癌组织中的表达及对预后的意义报道较为少见。因此,本研究通过检测 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 通路蛋白在 HBV 相关 HCC 组织中的表达及其与临床病理特征的关系,旨在探讨三者与 HBV 相关 HCC 发生发展过程中的作用及其对预后的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 收集 2012 年 6 月—2014 年 12 月于复旦大学附属上海市公共卫生临床中心病理科经手术切除并经病理确诊的 HBV 相关肝细胞癌组织样本 82 份,患者血清乙型肝炎表面抗原(HBsAg)为阳性,甲型、丙型、丁型及戊型肝炎病毒均为阴性;术前增强 CT 和腹部 B 型超声均明确诊断为原发性 HCC,且未接受任何抗癌治疗;术后病理组织学确诊为 HCC;不合并其他疾病,无器质性疾病和既往恶性肿瘤史。82 例中男 66 例,女 16 例,年龄 36~75 (53.82±9.47) 岁, >

50 岁 49 例,≤50 岁 33 例;淋巴结转移 25 例,无淋巴结转移 57 例;肿瘤直径: >5 cm 44 例,≤5 cm 38 例;丙氨酸氨基转移酶(ALT): 升高 >2 倍 17 例,≤2 倍 65 例;甲胎蛋白: <400 μg/L 63 例,≥400 μg/L 19 例;TNM 分期: I~II 期 27 例,III~IV 期 55 例;分化程度:低分化 21 例,中分化 49 例,高分化 12 例;E 抗原:阳性 11 例,阴性 71 例;未行抗乙型肝炎病毒治疗者 72 例,行抗乙型肝炎病毒治疗者 10 例。另外选择同期于医院经手术切除的正常肝组织样本 35 份,患者无肝炎史,且血清甲型、丙型、丁型及戊型肝炎病毒等检测均为阴性;临床症状结合腹部 CT 和 B 型超声等诊断为肝脏良性血管瘤或肝内胆管多发结石,且术后经病理组织学证实;正常肝组织样本为病变旁组织;不合并其他疾病,且无既往病史。其中男 28 例,女 7 例,年龄 35~75 (54.13±9.52) 岁, >50 岁 21 例,≤50 岁 14 例;因肝脏良性血管瘤切除 8 例,因肝内胆管多发结石切除 27 例。

## 1.2 观测指标与方法

**1.2.1 qRT-PCR 法检测 HOTAIR:** 将收集的 HBV 相关肝细胞癌组织和正常肝组织,采用 Trizol (TaKaRa 公司)法提取各组织中总 RNA 并进行浓度测定,之后采用试剂盒 Trans Script mi RNA First-Strand c DNA Synthesis Super Mix (北京全式金生物技术有限公司)对提取的总 RNA 进行反转录以获取 cDNA,将得到的 cDNA 作为模板,采用 Trans Start Top Green q PCR super Mix (北京全式金生物技术有限公司)进行实时定量逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR),检测 HOTAIR 在 HBV 相关肝细胞癌组织和正常肝组织中的表达,引物序列:上游 5'-GGTAGAAAAAGCAACCACGAAGC-3',下游 5'-ACATAAACCTCTGTCTGTGAGTGCC-3';同时以微管蛋白(TUBULIN)作为内参基因,引物序列:上游 5'-TGGCTCTGGCTTCACCTCACTC-3',下游 5'-TCGAC-CACGGCTGTAGACACC-3';每个样本均重复 3 次,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 HOTAIR 的相对表达量。以大于正常肝组织中 HOTAIR 相对表达量平均值 2 倍判为阳性。



1.2.2 免疫组织化学检测 Snail 和 Wnt3a 蛋白:用 4% 中性甲醛溶液将收集的肝组织样本固定后,依次进行脱水、透明及石蜡包埋,再连续切成 5  $\mu\text{m}$  厚的切片,置入二甲苯中脱蜡处理,然后经梯度乙醇浸泡水化及 3 mol/L 尿素消化,之后采用枸橼酸钠溶液修复抗原,3% 双氧水室温下孵育 10 min 后封闭,弃封闭液,分别加入适量稀释好的一抗 Anti-SNAIL 抗体(山羊多克隆抗体 to SNAIL, Abcam 公司)和 Anti-Wnt3a 抗体(兔多克隆抗体 to Wnt3a, Abcam 公司),置于 4℃ 冰箱孵育过夜,次日取出,复温后加磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗干净,再分别加入适量稀释好的二抗驴抗山羊 IgG H&L (HRP)(Abcam 公司)和山羊抗兔 IgG H&L (HRP)(Abcam 公司),室温孵育 30 min, PBS 洗涤干净。加适量二氨基联苯胺(DAB 显色试剂盒,北京中杉金桥生物技术有限公司)用于显色,作用 5 min 后加去离子水以使反应终止,苏木素复染后,加 1% 盐酸酒精进行分化,之后用自来水清洗并经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,干燥后封片,镜检观察。

病理切片需由 2 位资深专业的病理科医师盲评。在每张切片上随机选取 5 个高倍镜视野,每个视野随机对 200 个细胞进行计数,阳性表达为细胞出现棕黄色或黄色颗粒,最终以组织样本中阳性细胞染色强度及其所占比例对染色结果进行综合评定。染色强度计分按照无着色、淡黄色、棕黄色及棕褐色顺序分别计 0 分、1 分、2 分、3 分。阳性细胞数计分按照无阳性细胞、阳性细胞 < 25%、阳性细胞 26% ~ 50%、阳性细胞 51% ~ 75%、阳性细胞 > 75% 分别计 0 分、1 分、2 分、3 分及 4 分。以上 2 项计分相加后  $\geq 3$  分判为阳性。

1.2.3 随访预后:HBV 相关肝细胞癌患者手术后安排专门人员定期进行门诊或电话随访,随访终点为患者死亡时间或 2019 年 12 月 20 日。建议患者至少每 3 个月于医院行甲胎蛋白、肝脏 MR 或增强 CT、肝功能、乙型肝炎表面抗原、E 抗原及血清 HBV DNA 检查,必要时可行骨扫描或病灶穿刺病理检查。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验;3 种蛋白在 HBV 相关 HCC 组织中表达的相关性分析采用 Spearman 秩相关检验;组间生存率比较采用 GraphPad Prism 软件的 Log-rank (Mantel-Cox) 检验;生存曲线采用 Kaplan-Meier 绘制;Cox 回归比例风险模型分析影响患者的预后因素。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 在 HBV 相关 HCC 组织

中的表达 HBV 相关肝细胞癌组织中 HOTAIR 相对表达量的平均值为  $(9.85 \pm 0.87)$ , 正常肝组织中为  $(4.69 \pm 0.42)$ , 二者比较差异有统计学意义( $t/P = 33.406/0.000$ );HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 在 HBV 相关肝细胞癌组织中的阳性表达率分别为 85.37%、78.05% 及 89.02%, 在正常肝组织中分别为 20.00%、17.14% 及 25.71%, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 46.582$ 、37.861、46.896,  $P$  均  $< 0.01$ ), 见图 1, 表 1。

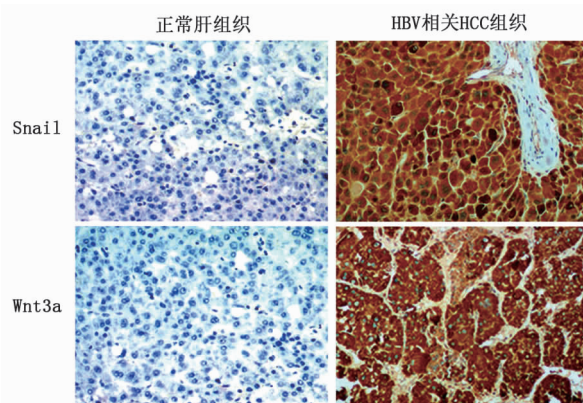


图 1 Snail 和 Wnt3a 蛋白在 HBV 相关 HCC 组织和正常肝组织中的表达

2.2 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 在不同临床病理特征患者中的表达 HBV 相关肝细胞癌组织中 HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 的表达在不同性别、年龄、E 抗原、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、有无行抗乙肝病毒治疗及甲胎蛋白水平方面比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。HOTAIR 在患者不同 TNM 分期、组织分化程度、淋巴结转移及肿瘤直径方面比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );Snail 在不同 TNM 分期和淋巴结转移方面比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );Wnt3a 在不同 TNM 分期、组织分化程度及肿瘤直径方面比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), 见表 2。

2.3 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 在 HBV 相关 HCC 组织中表达的相关性 Spearman 相关性分析显示, HBV 相关肝细胞癌组织中 HOTAIR 的表达与 Snail、Wnt3a 的表达呈正相关( $r/P = 0.281/0.011$ 、 $0.296/0.007$ ), Snail 与 Wnt3a 的表达呈正相关( $r/P = 0.285/0.009$ )。

2.4 Cox 比例风险回归模型分析 HBV 相关 HCC 临床预后的影响因素 结果显示, TNM 分期高、组织分化程度低、淋巴结转移、肿瘤直径大, HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 高表达是影响 HBV 相关肝细胞癌预后的危险因素( $P < 0.05$ ), 见表 3。

### 2.5 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 表达与 HBV 相关肝细

表 1 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 蛋白表达的阳性率比较 [例(%)]

组 织	n	HOTAIR		Snail		Wnt3a	
		-	+	-	+	-	+
HBV 相关 HCC 组织	82	12(14.63)	70(85.37)	18(21.95)	64(78.05)	9(10.98)	73(89.02)
正常肝组织	35	28(80.00)	7(20.00)	29(82.86)	6(17.14)	26(74.29)	9(25.71)
$\chi^2$ 值		46.582		37.861		46.896	
P 值		0.000		0.000		0.000	

表 2 82 例 HBV 相关 HCC 患者中 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 表达在不同临床病理特征中表达比较 [例(%)]

项目	例数	HOTAIR				Snail				Wnt3a			
		-	+	$\chi^2$ 值	P 值	-	+	$\chi^2$ 值	P 值	-	+	$\chi^2$ 值	P 值
性别				0.037	0.788			2.805	0.094			1.230	0.267
男	66	10(15.15)	56(84.85)			12(18.18)	54(81.82)			6(9.09)	60(90.91)		
女	16	2(12.50)	14(87.50)			6(37.50)	10(62.50)			3(18.75)	13(81.25)		
年龄(岁)				0.279	0.597			0.018	0.894			0.201	0.654
≤50	33	4(12.12)	29(87.88)			7(21.21)	26(78.79)			3(9.09)	30(90.91)		
>50	49	8(16.33)	41(83.67)			11(22.45)	38(77.55)			6(12.24)	43(87.76)		
E 抗原				1.624	0.202			0.105	0.745			0.046	0.830
阳性	11	3(27.27)	8(72.73)			2(18.18)	9(81.82)			1(9.09)	10(90.91)		
阴性	71	9(12.68)	62(87.32)			16(22.54)	55(77.46)			8(11.27)	63(88.73)		
ALT								0.031	0.859			3.459	0.063
≤2 倍	65	7(10.77)	58(89.23)	3.749	0.053	14(21.54)	51(78.46)			5(7.69)	60(92.31)		
>2 倍	17	5(29.41)	12(70.59)			4(23.53)	13(76.47)			4(23.53)	13(76.47)		
抗乙肝病毒治疗				0.263	0.608			0.431	0.512			0.011	0.916
是	10	2(20.00)	8(80.00)			3(30.00)	7(70.00)			1(10.00)	9(90.00)		
否	72	10(13.89)	62(86.11)			15(20.83)	57(79.17)			8(11.11)	64(88.89)		
甲胎蛋白(μg/L)				0.026	0.871			0.548	0.459			0.826	0.363
<400	63	9(14.29)	54(85.71)			15(23.81)	48(76.19)			8(12.70)	55(87.30)		
≥400	19	3(15.79)	16(84.21)			3(15.79)	16(84.21)			1(5.26)	18(94.74)		
TNM 分期				11.267	0.001			16.125	0.000			9.208	0.002
I~II	27	9(33.33)	18(66.67)			13(48.15)	14(51.85)			7(25.93)	20(74.07)		
III~IV	55	3(5.45)	52(94.55)			5(9.09)	50(90.91)			2(3.64)	53(96.36)		
组织分化				14.858	0.001			0.245	0.885			32.377	0.000
低	21	3(14.29)	18(85.71)			5(23.81)	16(76.19)			1(4.76)	20(95.24)		
中	49	3(6.12)	46(93.88)			11(22.45)	38(77.55)			1(2.04)	48(97.96)		
高	12	6(50.00)	6(50.00)			2(16.67)	10(83.33)			7(58.33)	5(41.67)		
淋巴结转移				6.165	0.013			4.086	0.043			0.326	0.568
是	25	0	25(100.00)			2(8.00)	23(92.00)			2(8.00)	23(92.00)		
否	57	12(21.05)	45(78.95)			16(28.07)	41(71.93)			7(12.28)	50(87.72)		
肿瘤直径				7.736	0.005			0.033	0.855			7.360	0.007
≤5 cm	38	10(26.32)	28(73.68)			8(21.05)	30(78.95)			8(21.05)	30(78.95)		
>5 cm	44	2(4.55)	42(95.45)			10(22.73)	34(77.27)			1(2.27)	43(97.73)		

表 3 Cox 比例风险回归模型分析 HBV 相关

HCC 临床预后的影响因素

变量	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值(95% CI)
TNM 分期	1.758	0.934	2.285	0.018	3.624(2.425~4.781)
组织分化	0.625	0.518	1.032	0.041	1.736(1.167~2.352)
淋巴结转移	0.843	0.706	1.264	0.013	2.557(1.579~3.023)
肿瘤直径	1.421	0.685	2.037	0.026	4.718(3.654~5.592)
HOTAIR 表达	0.865	0.749	1.453	0.000	2.165(1.083~3.247)
Snail 表达	0.936	0.817	2.172	0.009	3.323(2.247~4.636)
Wnt3a 表达	1.542	0.692	3.291	0.013	1.946(1.315~2.874)

注:自变量赋值:TNM 分期:Ⅲ+Ⅳ=1,Ⅰ+Ⅱ=0;组织分化:低、中=1,高=0;淋巴结转移:是=1,否=0;肿瘤直径:>5 cm=1,≤5cm=0;HOTAIR 表达:阳性=1,阴性=0;Snail 表达:阳性=1,阴性=0;Wnt3a 表达:阳性=1,阴性=0

胞癌患者的生存分析 HBV 相关肝细胞癌 82 例患者 5 年总生存率为 52.44%。HOTAIR、Snail、Wnt3a 阳性患者的 5 年生存率显著低于其阴性患者(47.14% vs. 83.33%、45.31% vs. 77.78%、47.95% vs. 88.89%) ( $\chi^2/P=5.380/0.020, 5.937/0.015, 5.385/0.020$ ), 见图 2。

3 讨 论

目前,肝细胞癌的治疗以手术为主,辅助其他治疗,尽管治疗方法较多,但仅能使患者生存期有限延长,预后效果并不理想。基因突变、染色体变异、表观遗传学改变及多种信号传导通路异常调节均参与肝细



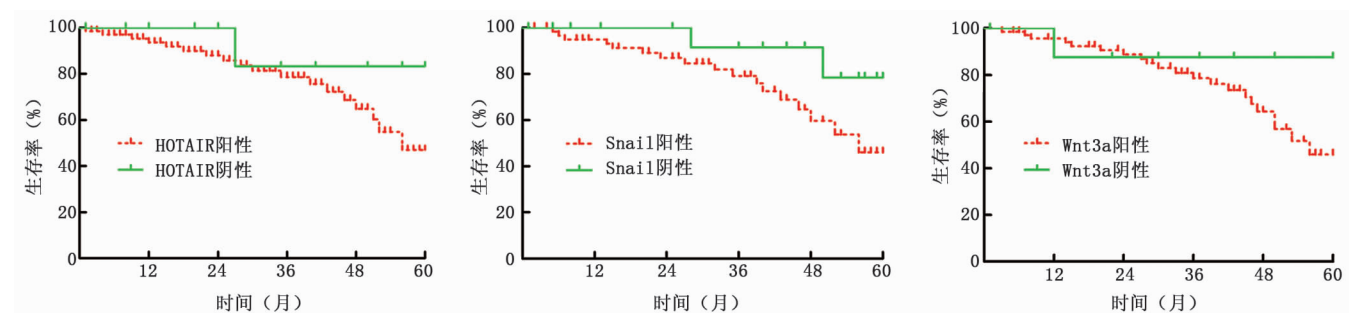


图2 HOTAIR、Snail 和 Wnt3a 表达与 HBV 相关 HCC 患者的生存分析

胞癌的发生发展,是一个复杂的多阶段过程<sup>[9]</sup>。乙型肝炎病毒 X 蛋白 (HBx) 由 HBV 基因组最小的开放式阅读框架 X 基因 (X-ORF) 编码,作为一种反式作用因子不直接结合 DNA,而是将多种细胞的基因启动子激活以干扰基因转录和表达,进而影响细胞分化、增殖及细胞信号转导途径<sup>[10]</sup>。HBV 侵染宿主是通过将自身基因组整合到宿主肝细胞基因组中并表达 HBx 蛋白,最新研究表明,HBx 蛋白对肝细胞癌侵袭转移及恶性转化具有促进作用,且可通过诱导肝癌细胞发生 EMT、促进细胞外基质降解及干扰癌细胞间的黏附连接等途径完成<sup>[11]</sup>。

位于人类染色体 12q13.13 区域的 HOTAIR 不编码蛋白质,但可编码 2.2 kb 长链非编码 RNA 分子,通过改变染色质状态,反式调控下游靶基因表达。早期文献报道,敲除 HOTAIR 对胃癌细胞的增殖、侵袭具有抑制作用,胃癌细胞在体内的致癌性被有效降低,过表达 HOTAIR 则使肿瘤细胞的恶性潜能显著增加<sup>[12-13]</sup>。Troiano 等<sup>[14]</sup> 研究显示,喉鳞状细胞癌中 HOTAIR 呈高表达,且与肿瘤细胞的生长关系密切。转录抑制子超家族成员中的锌指转录因子 Snail,可结合上皮钙黏素 (E-cadherin, E-cad) 启动子区的 E-box 连接基序,以对 E-cad 转录表达发挥抑制作用,从而诱导 EMT 的发生。位于染色体 17q21 上的 Wnt3a 是 Wnt 经典通路的关键信号分子,经磷脂酰肌醇蛋白多糖-3 和硫酸酯酶-2 激活后,对肝癌细胞增殖和裸鼠皮下移植瘤的生长具有促进作用<sup>[15]</sup>。本研究显示,HBV 相关肝细胞癌组织中 HOTAIR 相对表达量显著高于正常肝组织 ( $P < 0.05$ )。HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 在 HBV 相关肝细胞癌组织中的阳性表达率显著高于正常肝组织 ( $P < 0.05$ )。该结果与以往研究报道一致<sup>[16]</sup>。HBV 相关肝细胞癌组织中 HOTAIR、Snail、Wnt3a 的表达,两两之间互为显著性正相关 ( $P$  均  $< 0.05$ )。细胞实验表明,在人类卵巢癌细胞中,过表达 HOTAIR 可通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路诱导卵巢癌的发生和抗

药性<sup>[17]</sup>。模型实验显示,HOTAIR 通过介导 Wnt/ $\beta$ -catenin 对 MMP-13 的调控参与软骨损伤发病<sup>[18]</sup>。Battistelli 等<sup>[19]</sup> 发现,上皮间叶表型转化过程中抑制因子 Snail 是通过 HOTAIR 将 EZH2 招募至特定基因组位点的。肺癌细胞系中敲除 Zeb1 和 Snail1 后,E-cad mRNA 水平增加,侵袭性降低;敲除  $\beta$ -catenin 后使 E-cad 升高,Zeb1 和 Snail1 降低,进而使肺癌的侵袭性被抑制,表明 Wnt 信号通路通过 Snail1 和 Zeb1 调控肺癌骨转移<sup>[20]</sup>。以上资料均证实 HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 之间在多种疾病中具有直接或间接的正相关性,与本研究结果相符。

本研究结果表明,HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 均与 HBV 相关肝细胞癌的恶性生物学行为关系密切。Snail 对 EMT 具有强大的诱导能力,因此极易促进淋巴结转移,从而使其恶性程度增加,TNM 分期升高。异常活化的 Wnt3a 对肝癌细胞的增殖和分化发挥重要作用,因此,Wnt3a 与 TNM 分期、组织分化程度及肿瘤直径有关。HOTAIR 易与 miRNA、靶基因形成竞争性内源 RNA 网络,通过影响多条通路的基因表达以使该通路被激活,从而促进肿瘤细胞的增殖转移等生物学过程,因此,HOTAIR 与 TNM 分期、组织分化程度、淋巴结转移及肿瘤直径有关。该结果与 HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 的生物学作用相符<sup>[21]</sup>。Cox 比例风险模型分析结果显示,除 TNM 分期高、组织分化程度低、淋巴结转移、肿瘤直径大外,HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 高表达也是影响 HBV 相关肝细胞癌预后的关键风险因素 ( $P < 0.05$ )。本研究所选 82 例 HBV 相关肝细胞癌患者 5 年总生存率为 52.44%,HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 阳性患者的 5 年生存率均显著低于阴性患者 ( $P < 0.05$ )。以上结果证实,HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 不仅参与 HBV 相关肝细胞癌的发生发展,还严重影响患者的临床预后,降低患者生存率。

综上,HBV 相关肝细胞癌中 HOTAIR、Snail 及 Wnt3a 均高表达且互为显著正相关性,不仅参与癌症

的恶性进展,还是导致患者预后不良的关键风险因素。尽管三者之间的相互作用机制复杂,目前尚不完全清楚,但对 HBV 相关肝细胞癌的诊治具有重要的潜在价值,今后将深入研究其详细作用机制,为开发针对特定靶点的拮抗剂以有效对抗 HBV 相关肝细胞癌奠定新的基础。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

曾东:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;冯艳玲:课题设计,论文撰写;郑叶、杨月香:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;石雨涵:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改,统计学分析

**参考文献**

- [1] Zhao N, Wang C, Lai C, et al. Downregulation of BRAF activated nonprotein coding RNA in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Oncology Letters*, 2018, 15 (5): 7794-7798. DOI:10.3892/ol.2018.8327.
- [2] Zhao W, Geng D, Li S, et al. LncRNA HOTAIR influences cell growth, migration, invasion, and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer [J]. *Cancer Medicine*, 2018, 7(3): 842-855. DOI:10.1002/cam4.1353.
- [3] 徐勇超, 黄涛, 唐礼恭, 等. HOX 转录反义 RNA 在胃癌组织的表达及其机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36 (10): 1844-1846. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.10.033.
- [4] 李欣, 侯敢, 黄迪南. 长链非编码 RNA HOTAIR 在宫颈癌中的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(4): 173-176, 134. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.04.042.
- [5] Campbell K, Lebreton G, Franch-Marro X, et al. Differential roles of the Drosophila EMT-inducing transcription factors Snail and Serpent in driving primary tumour growth [J]. *PLoS Genetics*, 2018, 14(2): e1007167. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007167.
- [6] 朱婷, 步大成, 张英轶, 等. 结直肠癌组织 Snail、pim-3、E-cadherin 和 Her-2 的表达及与预后的关系[J]. *局解手术学杂志*, 2019, 28 (10): 778-781. DOI:10.11659/jjssx.02E019010.
- [7] Moon YH, Lim W, Jeong BC. Transmembrane protein 64 modulates prostate tumor progression by regulating Wnt3a secretion[J]. *Oncology letters*, 2019, 18(1): 283-290. DOI:10.3892/ol.2019.10324.
- [8] 郭玉霞, 马利国, 陈递林, 等. Wnt 信号通路成分相关因子在卵巢癌中的表达以及临床预后价值[J]. *山西医药杂志*, 2018, 47 (13): 1518-1521. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2018.13.008.
- [9] Tao X, Zuo Q, Ruan H, et al. Argininosuccinate synthase 1 suppresses cancer cell invasion by inhibiting STAT3 pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2019, 51(3): 263-276. DOI: 10.1093/abbs/gmz005.
- [10] Marcon PDS, Tovo CV, Kliemann DA, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease due to hepatitis B or C and coinfecting with the human immunodeficiency virus;

A retrospective cohort study[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2018, 24(5): 613-622. DOI:10.3748/wjg.v24.i5.613.

- [11] Luo HM, Zhao SZ, Li C, et al. Preoperative platelet-albumin - bilirubin grades predict the prognosis of patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma after liver resection [J]. *Medicine*, 2018, 97 (12): e0226. DOI: 10.1097/MD.00000000000010226.
- [12] Fagoonee S, Durazzo M. HOTAIR and gastric cancer: A lesson from two meta-analyses [J]. *Panminerva Medica*, 2017, 59 (3): 201-202. DOI:10.23736/S0031-0808.17.03333-X.
- [13] 吴谢慧, 赖铭裕, 姜丹, 等. 长链非编码 RNA-HOTAIR 对胃癌 SGC-7901 细胞增殖凋亡的影响及可能机制[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35 (11): 1763-1768. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2019.11.015.
- [14] Troiano G, Caponio VCA, Boldrup L, et al. Expression of the long non-coding RNA HOTAIR as a prognostic factor in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (42): 73029-73036. DOI: 10.18632/oncotarget.20373.
- [15] Xu M, Hu J, Zhou B, et al. TRIM29 prevents hepatocellular carcinoma progression by inhibiting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2019, 51 (1): 68-77. DOI: 10.1093/abbs/gmy151.
- [16] Sakurai Y, Kubota N, Takamoto I, et al. Role of insulin receptor substrates in the progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 5387. DOI: 10.1038/s41598-017-03299-3.
- [17] Li J, Yang S, Su N, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR leads to chemoresistance by activating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in human ovarian cancer [J]. *Tumor Biology*, 2015, 36 (11): 2057-2065. DOI:10.1007/s13277-015-3998-6.
- [18] Zhou W, He X, Chen Z, et al. LncRNA HOTAIR-mediated Wnt/ $\beta$ -catenin network modeling to predict and validate therapeutic targets for cartilage damage [J]. *BMC Bioinformatics*, 2019, 20(1): 412. DOI:10.1186/s12859-019-2981-4.
- [19] Battistelli C, Cicchini C, Santangelo L, et al. The Snail repressor recruits EZH2 to specific genomic sites through the enrollment of the lncRNA HOTAIR in epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Oncogene*, 2017, 36(7): 942-955. DOI:10.1038/onc.2016.260.
- [20] You J, Li M, Tan Y, et al. Snail1-expressing cancer-associated fibroblasts induce lung cancer cell epithelial-mesenchymal transition through miR-33b [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(70): 114769-114786. DOI:10.18632/oncotarget.23082.
- [21] Yang Y, Zhang N, Zhu J, et al. Downregulated connexin32 promotes EMT through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway by targeting Snail expression in hepatocellular carcinoma [J]. *International Journal of Oncology*, 2017, 50 (6): 1977-1988. DOI: 10.3892/ijo.2017.3985.

(收稿日期: 2020-02-06)

# 超声造影与增强 MR、增强 CT 诊断 MDT 肝脏肿瘤 108 例的价值比较

姜霞,戎月,李丽,王晓娜,薛红元

作者单位: 050000 石家庄,河北省人民医院超声科

通信作者: 薛红元, E-mail: hbsrmyjx@163.com

**【摘要】目的** 比较超声造影与增强 MR、增强 CT 在肝脏肿瘤诊断中的价值。**方法** 选取 2016 年 9 月—2018 年 12 月河北省人民医院经多学科诊疗团队(MDT)讨论的 108 例肝脏占位患者,经手术或穿刺病理证实,比较超声造影、增强 MR、增强 CT 诊断肝脏肿瘤的敏感度、特异度,以及 3 种影像学检查与病理结果的一致性。**结果** 108 例患者中,56 例行超声造影与增强 MR 检查,其中肝细胞癌(HCC)34 例,胆管细胞癌(ICC)9 例,肝转移癌 12 例,增生结节 1 例,超声造影诊断的敏感度、特异度与增强 MR 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。52 例行超声造影与增强 CT 检查,其中 HCC 31 例,ICC 2 例,肝转移癌 16 例,增生结节 1 例,神经内分泌肿瘤 1 例,肝脓肿 1 例,超声造影诊断敏感度、特异度与增强 CT 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。超声造影及增强 MR 与病理诊断 HCC、ICC、肝转移癌的 Kappa 值分别为 0.77 与 0.87,0.42 与 0.65,0.77 与 0.90;超声造影及增强 CT 与病理诊断 HCC、肝转移癌的 Kappa 值分别为 0.77 与 0.45,0.96 与 0.82。**结论** 超声造影对肝脏肿瘤具有较高的诊断价值,与增强 MR、增强 CT 敏感度及特异度比较差异无统计学意义,与病理诊断具有较高的一致性。

**【关键词】** 肝脏肿瘤;超声造影;增强磁共振;增强 CT;诊断

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.014

**Comparison of the value of contrast-enhanced ultrasound, enhanced MR and enhanced CT in the diagnosis of 108 cases of liver tumors** Jiang Xia, Rong Yue, Li Li, Wang Xiaona, Xue Hongyuan. Department of Ultrasonography, Hebei General Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Xue Hongyuan, E-mail: hbsrmyjx@163.com

**【Abstract】Objective** To compare the value of contrast-enhanced ultrasound, contrast-enhanced MR and enhanced CT in the diagnosis of liver tumors. **Methods** One hundred and eight cases of liver space occupying patients discussed by MDT in Hebei Provincial People's Hospital from September 2016 to December 2018 were selected and confirmed by operation or puncture pathology. The sensitivity and specificity of contrast-enhanced ultrasound, enhanced MR and enhanced CT in the diagnosis of liver tumor were compared, and the consistency of three imaging examinations with pathological results was also compared. **Results** Of the 108 patients, 56 underwent contrast-enhanced ultrasound and enhanced Mr. There were 34 cases of hepatocellular carcinoma (HCC), 9 cases of cholangiocarcinoma (ICC), 12 cases of liver metastasis and 1 case of hyperplastic nodules. There was no significant difference in sensitivity and specificity between contrast-enhanced ultrasound and contrast-enhanced MR ( $P>0.05$ ). Contrast enhanced ultrasound and enhanced CT were performed in 52 cases. There were 31 cases of HCC, 2 cases of ICC, 16 cases of liver metastases, 1 case of proliferative nodule, 1 case of neuroendocrine tumor and 1 case of liver abscess. There was no significant difference in sensitivity and specificity between contrast-enhanced ultrasound and enhanced CT ( $P>0.05$ ). The kappa values of contrast-enhanced ultrasound, enhanced MR and pathological diagnosis of HCC, ICC and liver metastases were 0.77 and 0.87, 0.42 and 0.65, 0.77 and 0.90, respectively. The kappa values of contrast-enhanced ultrasound, enhanced CT and pathology were 0.77 and 0.45, 0.96 and 0.82, respectively. **Conclusion** Compared with contrast-enhanced MR and enhanced CT, CEUS has no significant difference in sensitivity and specificity, and has high consistency with pathological diagnosis.

**【Key words】** Hepatocellular carcinoma; Contrast enhanced ultrasound; Enhanced MR; Enhanced CT; Diagnosis

近年来超声造影为鉴别良恶性病变、观察组织血供等方面发挥了非常重要的价值,在心血管、甲状腺、乳腺、肝脏、胃肠道等较多疾病领域得到广泛应用<sup>[1]</sup>。常规超声检查常用于肝脏肿瘤的早期筛查和早期监测<sup>[2]</sup>,而临床对于肝脏肿瘤更多依赖于 CT 或 MR 的诊断。随着超声造影技术的发展,在分辨肝实质回声差异,显示肿瘤内部血管及微循环灌注等方面均有很大提升,提高了超声检查对于肝脏肿瘤定性的诊断价值<sup>[3]</sup>。为探究超声造影对肝脏肿瘤的诊断价值,本研究比较了超声造影与增强 MR、增强 CT 的诊断效能,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2016 年 9 月—2018 年 12 月河北省人民医院经多学科诊疗团队(multi-disciplinary team, MDT)讨论的超声造影病例共 108 例,56 例病灶行超声造影和增强 MR 检查,52 例病灶行超声造影和增强 CT 检查,其中男 81 例,女 27 例,年龄 37~86 (60.08±9.67)岁。病灶直径 26.25~78.25 mm,中位数 40.00 mm。入选标准:(1)经 MDT 讨论的肝脏占位性病变量者;(2)增强 MR、增强 CT 与超声造影检查在 1 周内进行;(3)排除对造影剂过敏者。

### 1.2 检查方法

1.2.1 超声检查方法:使用 PHILIPS EPIQ7 彩色多普勒超声诊断仪,凸阵探头频率为 3~5 MHz。患者空腹,在超声造影检查前,先向患者及家属交代超声造影的适应证及禁忌证,了解超声造影剂的不良反应,并签署知情同意书。应用 Bracco 公司的声诺维(SonoVue)超声造影剂,用生理盐水 5 ml 配成 5 ms/ml 的六氟化硫微泡悬浮液,造影时抽出 2.4 ml 经肘部浅静脉注入,随之用 5 ml 生理盐水冲注。嘱患者控制呼吸幅度,按下计时器,观察 6 min,并存储全程实时动态图。若患者呼吸配合不好或图像显示不清晰,可二次推注造影剂。整个造影过程分为 3 个时期:动脉期 10~30 s,门脉期 30~120 s,延迟期 180~360 s。实时观察肿瘤超声造影的特征。

1.2.2 增强 CT 检查方法:采用 64 排 GE 螺旋 CT。嘱患者在进行检查前空腹,先行 CT 平扫,然后行多期增强扫描,层厚为 0.5 cm,层距为 0.5 cm。对比剂选用碘海醇。患者取仰卧位,先行常规 CT 平扫,扫描部位为肝脏。随后应用高压注射器以 3~4 ml/s 的速率将碘海醇(碘含量 46.36%)经肘静脉团注入 80 ml,注入造影剂后 24~26 s 开始动脉期扫描,45~60 s 门脉期扫描,120~180 s 延迟期扫描。

1.2.3 增强 MR 检查方法:选用 Siemens 3.0T 超导磁

共振扫描仪,采用 T<sub>1</sub>WI、T<sub>2</sub>WI 及脂肪抑制 T2 加权序列进行分析。患者空腹、取仰卧位,应用体部线圈。对比剂选用 15 ml 钆喷酸二甲基葡胺(Gd-DTPA),采用高压注射器经肘静脉注入,注射速度为 2 ml/s,注射剂量为 15 ml,注射后延迟 5~10 s 开始采集动脉期图像,1 min 后采集门脉期图像,3~5 min 采集延迟期图像。

1.3 图像分析 肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC):超声造影示动脉期均匀或不均匀高增强,门脉期或延迟期低增强;增强 CT 与增强 MR,表现出“快进快退”的特征。转移性肝癌:结合病史超声造影示动脉期均匀或不均匀快速高增强,门脉期及延迟期快速廓清呈低增强;增强 MR 动脉期呈环形或结节状强化,门脉期及延迟期强化程度减低;增强 CT 延迟期边缘强化明显呈“牛眼征”特征。胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC):超声造影示动脉期呈环状高增强向内填充,门脉期及延迟期低增强;增强 MR 示动脉期强化不明显,门脉期及延迟期轻度强化,较肝实质强化程度低。以上为典型病灶的图像诊断,对于不典型病灶的诊断由 2~3 名经验丰富的副主任及以上医师经过协商,取得一致结论。所有图像均行双盲分析,反复分析观察,最终得出结论。

1.4 观察指标 (1)各种检查的结果以手术或穿刺病理结果作为诊断金标准进行比较;(2)计算并比较 3 种检查肝脏肿瘤诊断的敏感度、特异度,用 Kappa 检验行一致性检验。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 21.0 统计学软件处理数据。计数资料用频数或率(%)表示,采用配对  $\chi^2$  检验;使用 Kappa 检验对超声造影、增强 MR、增强 CT 与病理结果行一致性检验,0.6≤Kappa≤1.0 表示一致性较好,0.4≤Kappa<0.6 表示一致性尚可;Kappa<0.4 表示一致性较差。 $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3 种检查对不同肝脏肿瘤诊断的敏感度、特异度比较 56 例病灶均行超声造影与增强 MR 检查,病理结果示 HCC 34 例(超声造影诊断出 32 例,增强 MR 诊断出 32 例),ICC 9 例(超声造影诊断出 4 例,增强 MR 诊断出 6 例),肝转移癌 12 例(超声造影诊断出 9 例,增强 MR 诊断出 12 例),增生结节 1 例。超声造影诊断 HCC 的敏感度、特异度分别与增强 MR 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );超声造影诊断 ICC 的敏感度、特异度与增强 MR 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );超声造影诊断肝转移癌的敏感度、特异度与增强 MR 比较差异亦无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 超声造影与增强 MR 对肝肿瘤的诊断结果比较

项 目	HCC		肝转移癌		ICC	
	敏感度(%)	特异度(%)	敏感度(%)	特异度(%)	敏感度(%)	特异度(%)
超声造影	94.1	81.8	75.0	97.7	44.4	93.6
增强 MR	94.1	95.4	100.0	95.5	66.7	95.7
$\chi^2$ 值	0.250	0.250	1.333	0.000	0.000	0.000
P 值	0.625	0.625	0.250	1.000	1.000	1.000

52 例均行超声造影与增强 CT 检查,病理结果示 HCC 31 例(超声造影诊断出 26 例,增强 CT 诊断出 18 例),ICC 2 例(超声造影诊断出 1 例,增强 CT 诊断出 0 例),肝转移癌 16 例(超声造影诊断出 16 例,增强 CT 诊断出 14 例),增生结节 1 例,神经内分泌肿瘤 1 例,肝脓肿 1 例,超声造影诊断 HCC 的敏感度、特异度与增强 CT 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );超声造影诊断肝转移癌的敏感度、特异度与增强 CT 比较差异亦无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 超声造影与增强 CT 对肝肿瘤的诊断结果比较

项 目	HCC		肝转移癌	
	敏感度(%)	特异度(%)	敏感度(%)	特异度(%)
超声造影	83.9	95.2	100.0	97.2
增强 CT	58.1	90.5	87.5	94.4
$\chi^2$ 值	3.500	0.000	0.500	0.000
P 值	0.057	1.000	0.500	1.000

2.2 诊断一致性检验 将 3 种影像学检查分别与病理结果行 Kappa 一致性检验,56 例病灶行超声造影及增强 MR 检查,与病理学诊断为 HCC、ICC、肝转移癌行一致性检验的 Kappa 值分别为 0.77 与 0.87,0.42 与 0.65,0.77 与 0.90;52 例病灶行超声造影及增强 CT 检查,与病理诊断为 HCC、肝转移癌的 Kappa 值分别为 0.77 与 0.45,0.96 与 0.82。结果显示超声造影诊断 HCC、肝转移癌与病理结果诊断一致性较好。

### 3 讨 论

近来随着肝癌多学科诊疗团队(MDT)的开展,各学科互相交流与多种影像学检查共同诊断肝脏肿瘤<sup>[4]</sup>。超声造影具有方便操作、性价比高,又凭借其实时显示病灶内血流灌注状态及血流动力学变化等优点,在肝肿瘤良恶性的诊断方面发挥着重要作用<sup>[5-6]</sup>,对于增强 CT 或 MR 预定时间内可能不会出现的非常早期或晚期的病灶,超声造影也可以发现。在多次实践中超声造影对肝脏肿瘤诊断的提示意义及其与后期病理对照的一致性使得超声造影得到广泛关注。

有学者对超声造影与增强 MR 进行对比研究表明,二者诊断 HCC 的正确率相当,差异无统计学意

义<sup>[7-8]</sup>,本研究与之相符。本研究中超声造影对 HCC 的诊断敏感度、特异度均高于增强 CT,与以往研究相一致<sup>[9-11]</sup>。超声造影与病理学诊断一致性高于增强 CT,这一结果表明超声造影对 HCC 的诊断价值较高,既可以避免患者接触过多的 X 线,又可应用于 CT 造影剂过敏者。肝转移癌恶性度极高,预后较差,超声造影诊断肝转移癌与增强 MR、增强 CT 敏感度相当<sup>[12-15]</sup>。本研究中超声造影诊断肝转移癌的敏感度高于增强 CT,逊于增强 MR,但特异度均高于二者,与病理学诊断肝转移癌的一致性也较高,表明超声造影对肝转移癌具有较高的诊断价值。ICC 是一种原发于肝内胆管二级分支以上胆管上皮细胞的恶性肿瘤,恶性度高,预后差,早期诊断对改善 ICC 患者预后有很大的意义<sup>[16-17]</sup>。目前国内外有关 ICC 的超声造影与其他影像学的对比诊断报道较少<sup>[18]</sup>。本研究中只比较了超声造影与增强 MR 对 ICC 的诊断,结果显示增强 MR 诊断 ICC 的敏感度及特异度较超声造影高,但差异无统计学意义,表明超声造影对 ICC 具有一定的诊断意义,但由于 ICC 的超声造影表现具有不典型性,今后仍需要提高对 ICC 的诊断价值。因样本量不足,超声造影与增强 CT 对诊断 ICC 的比较仍需进一步研究。

超声造影在肝脏肿瘤的诊断有着不逊于增强 MR 的价值,2012 年美国肝病研究学会(American Association for the Study of Liver Disease, AASLD)指南中已经推荐超声造影作为 HCC 的主要检查手段<sup>[19]</sup>。目前超声造影对肝脏肿瘤的定性诊断在临床上已经有较多研究,但是与增强 MR 和增强 CT 比较研究尚不多。超声造影具有独特的优势,但也存在局限性:(1)一次只能检查一个病灶,需要补加造影剂方可进行其他病灶的诊断;(2)对于肥胖患者、胃肠气体多、病灶位于膈顶部等声窗不好的病灶,超声造影易漏诊<sup>[20-21]</sup>。本研究的局限性在于影像学诊断与医生诊断水平具有相关性;其次样本量较少,今后将增加病例数继续研究。

综上,超声造影对肝脏肿瘤,尤其是 HCC、肝转移癌的诊断价值较高,与增强 MR、增强 CT 比较差异无统计学意义,与病理结果有良好的一致性,且与其他影

像学比较更有实时动态观察、不良反应小、价格低廉等优点<sup>[22-23]</sup>,表明超声造影具有更大的优势,今后应更加广泛的应用于临床。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

姜霞:设计研究方案,研究流程,论文撰写;戎月:实施研究过程,分析试验数据,论文撰写;李丽:实施研究过程,论文修改;王晓娜:实施研究过程,论文撰写;薛红元:提出研究思路,实施试验过程,论文修改,论文终审

**参考文献**

- [1] 谢晓燕,陈瑜君. 超声造影的创新性应用[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35 (11): 1601-1603. DOI: 10.13929/j.1003-3289.201906037.
- [2] 彭彦辉. 肝癌多学科综合诊疗学[M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 2017:12-13.
- [3] 李玲,程国涛,余后强. 超声造影和 CT/MRI 增强检查在肝内局灶性病损诊断中的比较[J]. 湖北科技学院学报, 2013, 27 (2): 112-115. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0635.2013.02.007.
- [4] 葛宁灵. 肝细胞癌多学科团队(MDT)协作诊疗模式的重要性[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2018, 27(6):605-608. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2018.06.002.
- [5] 薛红元,姜紫韵,赵荣梅,等. 超声造影在甲状腺结节良恶性诊断中的诊断价值[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(12): 1366-1369. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.12.016.
- [6] Chen MH, Wu W. Value of contrast-enhanced ultrasound in early diagnosis of liver cancer and radiofrequency ablation treatment [J]. J Clin Hepatol, 2017, 33 (7): 1211-1213. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2017.07.002.
- [7] Kawada N, Ohkawa K, Tanaka S, et al. Improved diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma with gadolinium ethoxybenzyl diethylene triamine pentaacetic acid-enhanced magnetic resonance imaging and Sonazoid contrast-enhanced ultrasonography[J]. Hepatol Res, 2010, 40 (9): 930-936. DOI: 10.1111/j.1872-034X.2010.00697.x.
- [8] Alaboudy A, Inoue T, Hatanaka K, et al. Usefulness of combination of imaging modalities in the diagnosis of hepatocellular carcinoma using Sonazoid-enhanced ultrasound, Gadolinium Diethylene-Triamine-Pentaacetic acid-enhanced magnetic resonance imaging, and contrast-enhanced computed tomography[J]. Oncology, 2011, 81 (suppl 1): 66-72. DOI: 10.1159/000333264.
- [9] Seitz K, Strobel D, Bernatik T, et al. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) for the characterization of focal liver lesions: prospective comparison in clinical practice: CEUS vs. CT (DEGUM multicenter trial). Parts of this manuscript were presented at the Ultrasound Dreiländertreffen 2008, Davos [J]. Ultraschall Med, 2009, 30(4):383-389. DOI: 10.1055/s-0028-1109673.
- [10] 张宏春,耿喆. 增强 CT 扫描与超声造影对肝脏占位性病变的临床诊断价值比较[J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(6): 696-699. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2016.06.014.
- [11] Jin C, Zhang XY, Li JW, et al. Impact of tumor size and cirrhotic background for differentiating HCC and ICC with CEUS: does it matter for patients undergoing hepatectomy [J]. Oncotarget, 2017, 8 (48): 83698-83711. DOI: 10.18632/oncotarget.19624.
- [12] 王立,李敏,黄冬花,等. 超声造影与增强 CT 检查诊断原发性肝癌的价值比较研究[J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(5): 627-628. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2017.05.037.
- [13] 曹佳颖,毛枫,董怡,等. 动态三维超声造影定量分析在肝局灶性病变中的初步应用[J]. 中华超声影像学杂志, 2017, 56 (11): 988-991. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1004-4477.2017.11.016.
- [14] Tohme S, Yazdani HO, Alkhafaji AB, et al. Neutrophil extracellular traps promote the development and progression of liver metastases after surgical stress [J]. Cancer Research, 2016, 76 (6): 1367-1380. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1591.
- [15] Piscaglia F, Corradi F, Mancini M, et al. Real time contrast enhanced ultrasonography in detection of liver metastases from gastrointestinal cancer[J]. BMC Cancer, 2007, 7: 171. DOI: 10.1186/1472-2407-7-171.
- [16] 范方裕,周柱玉,辛艳芬. 超声造影及增强 CT 检查对肝转移瘤的诊断价值分析[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2019, 17(8): 107-109. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2019.08.032.
- [17] 王妍. 肝内胆管细胞癌患者超声造影表现特征分析[J]. 影像研究与医学应用, 2019, 3(1): 253-254. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3807.2019.01.172.
- [18] Lee KB. Histopathology of a benign bile duct lesion in the liver: Morphologie mimicker or precursor of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Clinical&Molecular Hepatology, 2016, 22(3): 400-405. DOI:10.3350/cmh.2016.0105.
- [19] Barreiros AP, Piscaglia F, Dietrich CF. Contrast enhanced ultrasound for the diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC): Comments on AASLD guidelines[J]. J Hepatol, 2012, 57(4): 930-932. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.018.
- [20] 齐宝文,吕娟,张利. 血清学指标联合超声造影时间-强度曲线对肝脏肿瘤良恶性的鉴别诊断价值[J]. 中国医药, 2019, 14(10): 1527-1530. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.10.021.
- [21] 王曦,程朋,何芬. 超声造影引导下微波消融在常规超声显示困难小肝癌中的应用[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(8): 1697-1701. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.08.021.
- [22] Ryu SW, Bok GH, Jang JY, et al. Clinically useful diagnostic tool of contrast enhanced ultrasonography for focal liver masses: Comparison to computed tomography and magnetic resonance imaging[J]. Gut and Liver, 2014, 8(3):292-297. DOI: 10.5009/gnl.2014.8.3.292.
- [23] 帕成周. 肝功能评价指标的临床应用进展[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(6):640-643. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.06.026.

(收稿日期:2019-12-16)

# 基于癌症基因组图谱和 Oncomine 数据库膀胱尿路上皮癌生物信息学分析

瞿根义, 汤乘, 徐勇, 柳成孟, 阳光, 段红桃, 向茂林

基金项目: 湖南省科技创新计划项目 (S2018SFYJJS0466); 株洲市科技计划项目 (2019-001)

作者单位: 412007 中南大学湘雅医学院附属株洲医院泌尿外科

通信作者: 柳成孟, E-mail: liuchengmeng1949@126.com

**【摘要】目的** 通过癌症基因组图谱 (TCGA) 和 Oncomine 数据库深入挖掘膀胱尿路上皮癌发生的关键基因。**方法** 从 TCGA 数据库中下载膀胱尿路上皮癌 RNA 测序数据, 利用 R 软件对膀胱尿路上皮癌与癌旁正常组织进行比较, 获取差异表达基因, 结合用于基因注释、可视化和集成发现的数据库 (DAVID) 和功能蛋白协作网络 (STRING) 中的在线生物信息学工具, 对差异表达基因进行功能富集分析和调控网络分析, 并构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 进一步利用 Cytoscape 软件中的 Cytohubba 进行关键 (Hub) 基因筛选。通过 Oncomine 数据库对 Hub 基因进行 Meta 分析, 获取关键基因。**结果** 共筛选出膀胱尿路上皮癌差异表达基因 1 650 个, 其中表达上调基因 565 个, 表达下调基因 1 085 个, 通过分析后获取 PPI 网络中前 10 位 Hub 基因, 分别是 GNG7、GNG11、BDKRB2、BDKRB1、NMUR1、NPSR1、CHRM5、TACR2、TAC1 和 TACR1。通过 Oncomine 数据库对 Hub 基因进行 Meta 分析, 最终获得 1 个关键基因为 TACR1。**结论** 基于 TCGA 和 Oncomine 数据库, 获取膀胱尿路上皮癌关键基因 TACR1, 将为膀胱尿路上皮癌诊断、治疗及预后的研究提供新的思路。

**【关键词】** 癌症基因组图谱数据库; Oncomine 数据库; 膀胱尿路上皮癌; 生物信息学分析; 关键基因

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.015

**Bioinformatics analysis of bladder urothelial carcinoma based on cancer genome map and oncomine database** Qu Genyi, Tang Cheng, Xu Yong, Liu Chengmeng, Yang Guang, Duan Hongtao, Xiang Maolin. Department of Urology, The Affiliated Zhuzhou Hospital Xiangya Medical College CSU, Zhuzhou 412007, China

Corresponding author: Liu Chengmeng, E-mail: liuchengmeng1949@126.com

Funding program: Hunan province science and technology innovation program (S2018SFYJJS0466); Zhuzhou science and technology program (2019-001)

**【Abstract】Objective** Through the cancer genome map (TCGA) and oncomine database, the key genes of bladder urothelial carcinoma were further explored. **Methods** RNA sequencing data of bladder urothelial carcinoma were downloaded from TCGA database. R software was used to compare bladder urothelial carcinoma with normal tissue adjacent to carcinoma. The differentially expressed genes were obtained. Combining the database for gene annotation, visualization and integrated discovery (David) and online bioinformatics tools in the functional protein collaboration network (string), the functional enrichment analysis and regulatory network analysis of differentially expressed genes were carried out, and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed. The key genes were screened by using cytohubba in the software of Cytoscape. Meta-analysis of hub gene was carried out through oncomine database to obtain key genes. **Results** A total of 1 650 differentially expressed genes were screened. There were 565 up-regulated genes and 1 085 down regulated genes. The top 10 hub genes in PPI network were obtained after analysis. They are GNG7, GNG11, BDKRB2, BDKRB1, NMUR1, NPSR1, CHRM5, TACR2, TAC1 and TACR1. Finally, a key gene, TACR1 was obtained by meta-analysis of hub gene by oncomine database. **Conclusion** Based on TCGA and oncomine database, TACR1, the key gene of bladder urothelial carcinoma, will provide a new idea for the diagnosis, treatment and prognosis of bladder urothelial carcinoma.

**【Key words】** TCGA database; Oncomine database; Bladder urothelial carcinoma; Bioinformatics analysis; Key genes



膀胱癌是泌尿系统常见的疾病之一,其发病率呈逐年上升趋势,全世界每年超过 43 万例患者被诊断为膀胱癌,并有 16.5 万例患者死于膀胱癌<sup>[1]</sup>。在中国,膀胱癌的发病率为 7.68/10 万,在泌尿系肿瘤发病率中居首<sup>[2]</sup>。膀胱尿路上皮癌是膀胱癌最主要的类型,目前最主要的治疗方式是手术切除,但术后易反复、预后差且缺乏有效的生物标志物,对于膀胱尿路上皮癌具体的发生、发展机制也尚不清楚。因此,寻求膀胱尿路上皮癌有效预防和控制复发的方案一直是研究的热点。生物信息学是将计算机技术和分子生物学相结合的技术,为基因的研究提供了明确的方向,可揭示大量生物信息。癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA) 和 Oncomine 数据库作为当前世界上最大的肿瘤基因芯片数据库,具有大样本和丰富临床数据的优势。本研究通过 TCGA 和 Oncomine 数据库深入挖掘膀胱尿路上皮癌差异表达基因,进行差异基因 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析,制作蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,筛选关键基因(Hub gene),并且进一步通过 Oncomine 数据库进行 Meta 分析,以挖掘膀胱尿路上皮癌发生发展的关键基因,为膀胱尿路上皮癌的靶向精准治疗提供研究基础,报道如下。

## 1 材料和方法

1.1 材料 登陆 TCGA 数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)网站下载公开的膀胱尿路上皮癌转录组数据,其中膀胱尿路上皮癌样本 414 例,正常癌旁组织 19 例。

### 1.2 方法

1.2.1 获取差异基因:应用 R 语言软件(3.5.3 版本)中的 edgeR 软件包对数据进行标准化及差异表达分析,筛选  $\log_2FC$  绝对值  $> 1.5$ , 错误发现率(FDR)  $< 0.05$  的基因为表达差异基因。ggplot2 软件包对数据进行图形可视化。

1.2.2 差异表达基因的 GO 富集分析和 KEGG 富集分析:通过 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对筛选的显著差异基因进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义,应用 R 语言软件及相应的 clusterProfiler 包进行注释及可视化。

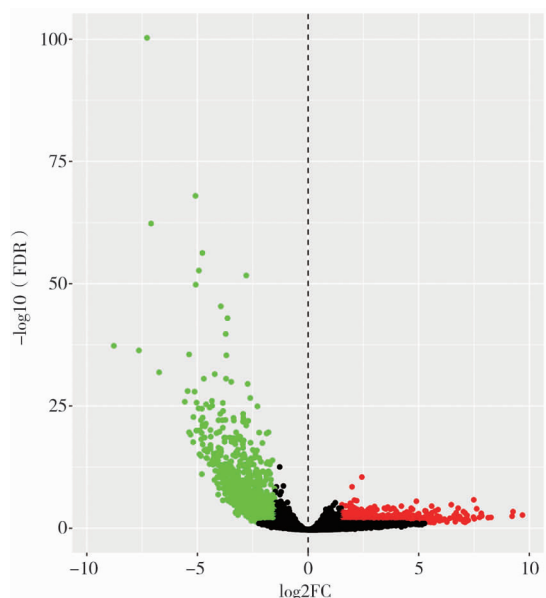
1.2.3 差异表达基因的 PPI 网络分析:STRING 数据库(<https://string-db.org/>)用于识别已知和预测 PPI<sup>[3]</sup>。使用 STRING 对差异表达基因进行分析并构建 PPI 网络,使用 Cytoscape 软件中的 Cytohubba 筛选 PPI 网络中的前 10 位 Hub 基因。

1.2.4 Oncomine 数据库提取 Hub 基因在膀胱尿路上皮癌中的表达数据并进行 Meta 分析:在 Oncomine 数

据库中(<https://www.oncomine.org>)进行检索。检索条件:(1) Gene: hub 基因名;(2) Analysis Type: Cancer vs. Normal Analysis;(3) Cancer Type: Bladder urothelial carcinoma;(4) THRESHOLD BY: P-VALUE  $< 0.0001$ , FOLD CHANGE  $> 2$ , GENE RANK = Top 10%。获取 Oncomine 数据库中 Hub 基因与膀胱尿路上皮癌的相关数据,并以  $P < 0.05$  筛选数据进一步进行 Meta 分析。

## 2 结果

2.1 膀胱尿路上皮癌差异表达基因筛选 从 TCGA 数据库下载膀胱尿路上皮癌转录组数据,其中膀胱尿路上皮癌样本 414 例,正常癌旁组织 19 例。对数据进行归一化、对数化,将没有对应基因注释信息的探针和重复的探针去掉,最终得到 18 768 个基因,433 个样本的表达谱。通过 edgeR 软件包,以  $\log_2FC$  绝对值  $> 1.5$ , FDR  $< 0.05$  为差异表达基因筛选条件,共筛选出膀胱尿路上皮癌差异表达基因 1 650 个,其中表达上调基因 565 个,表达下调基因 1 085 个,并绘制基因火山图,见图 1。



注:红点表示上调基因;绿点表示下调基因;黑点表示无显著差异的基因

图 1 膀胱尿路上皮癌及癌旁正常组织差异表达基因火山图

2.2 差异表达基因的 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析 通过 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析筛选差异表达基因的生物学功能,在 GO 富集分析中包括生物学过程(biological process, BP)、细胞组成(cell composition, CC)和分子功能(molecular function, MF),在 BP 中差异基因主要富集于钙离子跨膜转运、细胞外基质组织和 RNA 聚合酶 II 启动子转录的负调控,在



CC 中差异基因主要富集于细胞外区域、细胞外空间和质膜,在 MF 中差异基因主要富集于转录激活子活性、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区域序列特异性结合和序列特异性 DNA 结合。在 KEGG 通路分析中主要富集于 cGMP-PKG 信号通路、钙信号通路和神经活性配体-受体相互作用。见表 1、表 2 和图 2。

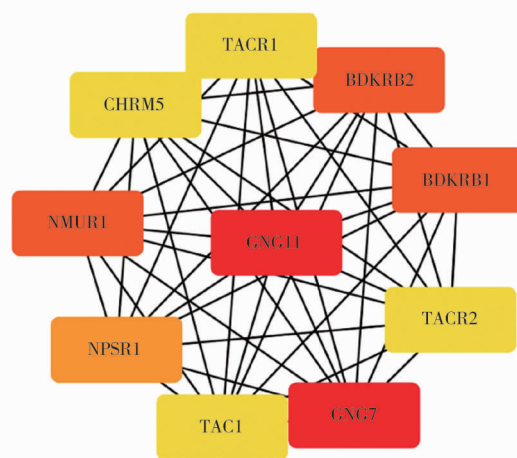
**表 1** 膀胱尿路上皮癌差异表达基因 GO 富集分析

分类	条目	描述	数量	<i>P</i> 值
BP	GO:0006936	muscle contraction	30	8.51E-06
BP	GO:0030198	extracellular matrix organization	43	8.86E-06
BP	GO:0008016	regulation of heart contraction	14	6.21E-04
BP	GO:0007517	muscle organ development	24	8.44E-04
BP	GO:0070588	calcium ion transmembrane transport	27	0.005
BP	GO:0071805	Potassium ion transmembrane transport	27	0.007
BP	GO:0000122	negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	94	0.009
CC	GO:0005576	extracellular region	234	7.05E-16
CC	GO:0030018	Z disc	39	1.06E-10
CC	GO:0005615	extracellular space	184	4.58E-09
CC	GO:0031012	extracellular matrix	59	5.65E-07
CC	GO:0005578	proteinaceous extracellular matrix	55	7.88E-07
CC	GO:0042383	sarcolemma	27	3.19E-06
CC	GO:0000786	nucleosome	26	1.44E-04
CC	GO:0005886	plasma membrane	415	0.002
CC	GO:0009986	cell surface	76	0.008
MF	GO:0008201	heparin binding	39	1.68E-06
MF	GO:0001077	transcriptional activator activity, RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding	47	2.76E-05
MF	GO:0043565	sequence-specific DNA binding	74	0.003

表2 膀胱尿路上皮癌差异表达基因  
KEGG 通路富集分析

分类	条目	描述	数量	<i>P</i> 值
KEGG	hsa04022	cGMP-PKG signaling pathway	40	3.02E-07
KEGG	hsa04020	Calcium signaling pathway	40	1.43E-05
KEGG	hsa05414	Dilated cardiomyopathy	25	4.65E-05
KEGG	hsa05410	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	23	2.24E-04
KEGG	hsa04921	Oxytocin signaling pathway	31	0.005
KEGG	hsa05034	Alcoholism	34	0.008
KEGG	hsa04080	Neuroactive ligand-receptor interaction	46	0.008
KEGG	hsa04270	Vascular smooth muscle contraction	26	0.009

2.3 差异表达基因的 PPI 网络分析 通过 STRING 数据库对差异表达基因构建 PPI 网络,应用 Cytoscape 软件中的 Cytohubba 筛选 PPI 网络中连接程度前 10 位 Hub 基因,分别为:GNG7、GNG11、BDKRB2、BDKRB1、NMUR1、NPSR1、CHRM5、TACR2、TAC1、TACR1,见图 3。



注:红色、橘色、橘黄色、黄色代表关联程度依次递减

图3 PPI网络筛选的前10位Hub基因

2.4 Oncomine 数据库 Hub 基因分析及 Meta 分析  
获取 Oncomine 数据库中 Hub 基因与膀胱尿路上皮癌的相关数据,并以  $P < 0.05$  筛选数据进一步进行 Meta 分析,获得 1 个关键基因为 TACR1,其在 3 个分析研究间的比较显示过表达,见图 4。

中位排名	<i>P</i> 值	基因名
2650.0	0.004	TACR1

1	2	3

Legend

注：1.浸润性膀胱尿路上皮癌 vs. 正常组织  
Lee Bladder, J Clin Oncol, 2010

2.浅表膀胱尿路上皮癌 vs. 正常组织  
Lee Bladder, J Clin Oncol, 2010

3.浅表膀胱尿路上皮癌 vs. 正常组织  
Sanchez · Carbayo Bladder 2, J Clin Oncol, 2006

1 5 10 25 25 10 5 1 为无法测量

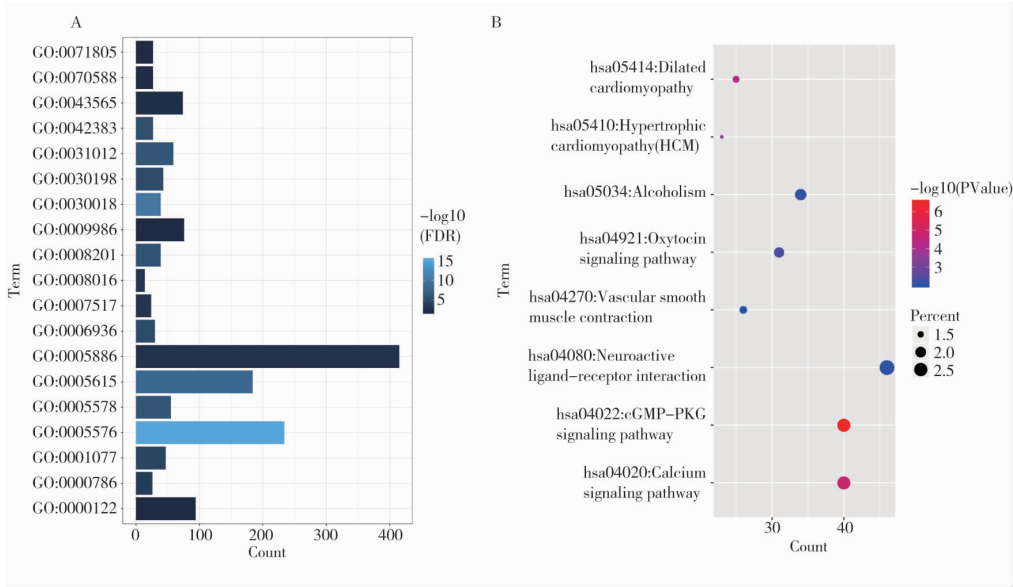
%

基因的排名是综合了每个研究分析中该基因的中位排名，  
基因的*P*值是中位排序分析的*P*值

图4 TACR1在膀胱尿路上皮癌组织中的表达

### 3 讨论

膀胱癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一,其中膀胱尿路上皮癌是膀胱癌最主要的类型,膀胱尿路上皮癌具有发病率高、易复发和预后差等特征,其发生发展是一个复杂的过程,参与肿瘤发生发展及转移的调控因子众多,但其具体机制目前仍不清楚,另外对于膀胱尿路上皮癌发生发展及生存预后缺乏有效的肿瘤标志



注:A. GO 富集分析;B. KEGG 通路富集分析

图 2 差异基因富集可视化结果

物。因此进一步研究膀胱尿路上皮癌具体的发生发展机制,挖掘有效的生物标志物对膀胱尿路上皮癌的诊断治疗及预后评估具有重要的临床意义。

癌症基因组图谱(TCGA)是由美国癌症中心和美国人类基因组研究中心在 2006 年共同发起的项目,主要利用高通量测序技术建成的一个综合的、多维的癌症地图,大大提高了对癌症发生、诊断和治疗的理解,以及对癌症发病机制的认识<sup>[4]</sup>。传统的分子生物学实验仅能同时研究少数几个基因的功能,而生物信息学是将计算机技术和分子生物学相结合的技术,通过对 TCGA 数据库的挖掘揭示大量生物信息。

本研究利用生物信息学技术,通过从 TCGA 下载的膀胱尿路上皮癌基因组数据进行挖掘,共挖掘出膀胱尿路上皮癌差异表达基因 1 650 个,其中表达上调基因 565 个,表达下调基因 1 085 个。用 DAVID 在线工具对差异基因进行功能富集分析,结果发现,在 BP 中差异基因主要富集于肌肉收缩、细胞外基质组织和 RNA 聚合酶 II 启动子转录的负调控,在 CC 中差异基因主要富集于细胞外区域、细胞外空间和质膜,在 MF 中差异基因主要富集于转录激活子活性、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区域序列特异性结合和序列特异性 DNA 结合。进一步通过 STRING 数据库对膀胱尿路上皮癌差异表达基因构建 PPI 网络,结果发现这些基因编码的蛋白调节点主要集中在 GNG7、GNG11、BDKRB2、BDKRB1、NMUR1、NPSR1、CHRM5、TACR2、TAC1、TACR1 等 10 个基因。进一步对 Oncomine 数据库挖掘并进行 Meta 分析,发现 TACR1 为膀胱尿路上

皮癌发生发展的关键基因<sup>[5-6]</sup>。

TACR1 基因编码的蛋白为截短型神经激肽 1 受体(neurokinin 1 receptor,NK1R),NK1R 属于 G 蛋白偶联受体,同 P 物质(SP)的结合能力最强,是 SP 的偏嗜性受体<sup>[7]</sup>。研究显示,NK1R 在疾病和健康状态下的功能特点表明其可作为疾病治疗的靶点<sup>[8-9]</sup>。速激肽中 SP 结合 NK1R 后可调控肿瘤细胞的增殖、侵袭和血管生成等生物学过程,且应用 NK1R 拮抗剂可特异性抑制肿瘤细胞的增殖侵袭<sup>[10-11]</sup>。研究也证实,SP 通过激活并结合 NK1R 发挥生物学效应的通路是抗肿瘤的独立靶点<sup>[12]</sup>。其中在胃癌、结肠癌和乳腺癌中 NK1R 均出现显著高表达<sup>[13-15]</sup>,并且 NK1R 表达与乳腺癌的浸润转移呈负相关,SP 的表达与乳腺癌的浸润转移呈正相关。进一步研究显示,SP-NK1R 可作为乳腺癌诊断治疗的新靶点<sup>[14]</sup>。目前多项研究证实,NK1R 通过调节肿瘤的增殖侵袭参与肿瘤的发生发展,其中在 Oncomine 数据库中进行 Meta 分析显示,NK1R 的靶基因 TACR1 在膀胱尿路上皮癌中出现显著高表达,但目前其在膀胱尿路上皮癌中的机制尚未阐明,对 SP-NK1R 进行进一步研究,对膀胱尿路上皮癌发生发展机制将会有更多的发现。

本研究致力于挖掘膀胱尿路上皮癌发生发展关键的基因,共发现 1 650 个差异表达基因和 1 个关键基因 TACR1,可能参与调控膀胱尿路上皮癌的发生发展,但是,仍需要进一步的研究来阐明 TACR1 在膀胱尿路上皮癌发生发展机制中的具体生物学功能,为膀胱尿路上皮癌的治疗提供新的线索和方向。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

瞿根义:实施研究过程,论文撰写;汤乘:实施研究过程,资料搜集整理;徐勇、柳成孟:提出研究方向、研究思路,研究选题;阳光、段红桃:统计学分析,论文修改;向茂林:数据获取

**参考文献**

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-386. DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [2] Pang C, Guan Y, Li H, et al. Urologic cancer in China [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2016, 46(6): 497-501. DOI:10.1093/jjco/hyw034.
- [3] Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607-D613. DOI: 10.1093/nar/gky1131.
- [4] Weinstein JN, Collisson EA, Mills GB, et al. The cancer genome atlas pan-cancer analysis project [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(10): 1113-1120. DOI:10.1038/ng.2764.
- [5] Lee JS, Leem SH, Lee SY, et al. Expression signature of E2F1 and its associated genes predict superficial to invasive progression of bladder tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(16): 2660-2667. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.0977.
- [6] Sanchez-carbayo M, Socci ND, Lozano J, et al. Defining molecular profiles of poor outcome in patients with invasive bladder cancer using oligonucleotide microarrays [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(5): 778-789. DOI:10.1200/JCO.2005.03.2375.
- [7] Schank JR, Heilig M. Substance P and the neurokinin-1 receptor: The new CRF [J]. *Int Rev Neurobiol*, 2017, 13(6): 151-175. DOI:10.1016/bs.irm.2017.06.008.
- [8] Cordier D, Gerber A, Kluba C, et al. Expression of different neuro-

kinin-1 receptor (NK1R) isoforms in glioblastoma multiforme: potential implications for targeted therapy [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2014, 29(5): 221-226. DOI:10.1089/cbr.2013.1588.

- [9] Munoz M, Rosso M, Robles-frias MJ, et al. The NK-1 receptor is expressed in human melanoma and is involved in the antitumor action of the NK-1 receptor antagonist aprepitant on melanoma cell lines [J]. *Lab Invest*, 2010, 90(8): 1259-1269. DOI:10.1038/labinvest.2010.92.
- [10] Lang K, Drell TLT, Lindecke A, et al. Induction of a metastatogenic tumor cell type by neurotransmitters and its pharmacological inhibition by established drugs [J]. *Int J Cancer*, 2004, 112(2): 231-238. DOI:10.1002/ijc.20410.
- [11] Schoppe J, Ehrenmann J, Klenk C, et al. Crystal structures of the human neurokinin 1 receptor in complex with clinically used antagonists [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 17-25. DOI:10.1038/s41467-018-07939-8.
- [12] Munoz M, Rosso M, Covenas R. The NK-1 receptor: A new target in cancer therapy [J]. *Curr Drug Targets*, 2011, 12(6): 909-921. DOI:10.1038/s41467-018-07939-8.
- [13] Rosso M, Robles-frias MJ, Covenas R, et al. The NK-1 receptor is expressed in human primary gastric and colon adenocarcinomas and is involved in the antitumor action of L-733,060 and the mitogenic action of substance P on human gastrointestinal cancer cell lines [J]. *Tumour Biol*, 2008, 29(4): 245-254. DOI: 10.1159/000152942.
- [14] 周云丽,付正,李金萍,等. P 物质及其受体在乳腺癌中的表达和临床意义 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2014, 34(11): 874-880. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-5101.2014.11.015.
- [15] Garnier A, Vykoukal J, Hubertus J, et al. Targeting the neurokinin-1 receptor inhibits growth of human colon cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(1): 151-160. DOI:10.3892/ijo.2015.3016.

(收稿日期:2020-02-18)

(上接 807 页)

- [9] NCI. Common terminology criteria for adverse events v4.0 (CTCAE) [S]. 2009.
- [10] Shi B, Sun A, Zhang X. Influence of different ex vivo cell culture methods on the proliferation and anti-tumor activity of cytokine-induced killer cells from gastric cancer patients [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:2657-2672. DOI:10.2147/OTT.S162281.
- [11] Shien K, Papadimitrakopoulou VA, Wistuba II. Predictive biomarkers of response to PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer [J]. *Lung*, 2016, 99:79-87. DOI:10.1016/j.lungcan.2016.06.016.
- [12] 宋佳,尹月,王丹,等. 树突状细胞在自身免疫性疾病中的作用 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(5):708-712. DOI: CNKI:SUN:XBFM.0.2015-05-033.
- [13] Mansfield AS, Aubry MC, Moser JC, et al. Temporal and spatial discordance of programmed cell death-ligand 1 expression and lymphocyte tumor infiltration between paired primary lesions and brain metastases in lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(10):1953-

1958. DOI:10.1093/annonc/mdw289.

- [14] 吴迪,付立业,李妍,等. 自体抗原负载 DC 联合 CIK 对肾癌免疫治疗的实验研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(24):3919-3923. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2017.24.001.
- [15] Mansfield AS, Ren H, Sutor S, et al. Contraction of T cells richness in lung cancer brain metastases [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2171. DOI:10.1038/s41598-018-20622-8.
- [16] 贾蓓,刘建宁,张岁,等. DC-CIK 对肝癌患者免疫平衡的影响及临床疗效研究 [J]. *河北医科大学学报*, 2016, 37(4):440-444. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2016.04.017.
- [17] 张红旭,韩枫,黄金岳,等. 恶性肿瘤患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞活性与抗菌药物使用相关性 [J]. *中国药物警戒*, 2016, 13(11):645-650. DOI:10.3969/j.issn.1672-8629.2016.11.002.
- [18] 蔡俊霞,谭洁,王彬,等. DC-CIK 治疗 43 例晚期非小细胞肺癌的近期疗效观察 [J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(1):67-70. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2014.01.20.

(收稿日期:2020-02-13)

# 单节段脊柱退行性疾病患者应用后路腰椎椎体间植骨融合术治疗的临床效果

王磊, 麻松, 朱继超, 崔维

基金项目: 首都卫生发展科研专项项目(首发 2016-1-4096)

作者单位: 100070 首都医科大学附属北京天坛医院脊柱外科

通信作者: 崔维, E-mail: cuicui0903@163.com

**【摘要】目的** 探究单节段脊柱退行性疾病患者应用后路腰椎椎体间植骨融合术治疗的临床效果。**方法** 选取 2017 年 10 月—2019 年 1 月首都医科大学附属北京天坛医院脊柱外科收治的单节段脊柱退行性疾病患者 96 例。按随机数字表法分为研究组与对照组, 每组 48 例。对照组采用开放经椎间孔腰椎椎体间融合术治疗; 研究组采取后路腰椎椎体间植骨融合术治疗。比较 2 组围术期临床指标, 手术前后 VAS 与 JOA 评分, 评估临床疗效。**结果** 研究组手术优良率 93.8%, 高于对照组的 72.9%, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.031, P = 0.018$ ); 研究组手术时间、术中出血量、术后下床活动时间、住院时间及并发症各项围术期临床指标水平均优于对照组( $t = 3.510, 17.667, 23.064, 39.239, \chi^2 = 4.800, P < 0.05$ ); 研究组术后 1 周 VAS 评分低于对照组, 而 JOA 评分高于对照组( $t = 8.675, 3.312, P < 0.05$ ); 研究组生活质量评分高于对照组( $t = 14.818, P < 0.01$ ), 2 组 Brantigan 评分  $\geq 3$  分占比及植骨融合率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 对单节段脊柱退行性疾病患者采用后路腰椎椎体间植骨融合治疗, 有助于临床指标的显著改善, 降低患者术后疼痛, 临床疗效得到显著提升, 利于改善其生活质量水平, 临床应用价值较高。

**【关键词】** 单节段脊柱; 退行性疾病; 后路腰椎椎体间植骨融合术; 临床效果

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.016

**The clinical effect of posterior lumbar intervertebral fusion and its effect on Harris score in patients with single segment degenerative spinal disease** Wang Lei, Ma Song, Zhu Jichao, Cui Wei. Department of Spine Surgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China

Corresponding author: Cui Wei, E-mail: cuicui0903@163.com

Funding program: Capital Health Development Science and Technology Special Program(2016-1-4096)

**【Abstract】Objective** To investigate the clinical effect of posterior lumbar intervertebral fusion in patients with single segment degenerative spinal disease and its effect on Harris score **Methods** Ninety-six cases of single segment degenerative spinal disease from October 2017 to January 2019 were selected for this experiment. According to different surgical methods, they are divided into study group and control group. The control group was treated with open transforaminal lumbar interbody fusion; the research group was treated with posterior lumbar interbody fusion. The perioperative clinical indicators, VAS and JOA scores before and after operation, follow-up results and clinical efficacy were compared between the two groups. **Results**

The excellent and good rate of operation in the study group was 93.8% higher than that in the control group 72.9%, and the difference was statistically significant ( $\chi^2 = 5.031, P = 0.018$ ); the operation time, intraoperative blood loss, postoperative time to get out of bed, hospital stay and the perioperative clinical indicators of complications were lower than those of the control group ( $t = 3.510, t = 17.667, t = 23.064, t = 39.239, \chi^2 = 4.800, P < 0.05$ ); the VAS score of the study group was lower than 1 week after operation The control group, and the JOA score was higher than the control group ( $t = 8.675, 3.312, P < 0.05$ ); the quality of life score of the study group was higher than the control group ( $t = 14.818, P < 0.01$ ), the average follow-up time and bone graft fusion of the two groups There was no significant difference in the rate ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion** The use of posterior lumbar interbody fusion for the treatment of single-segment spinal degenerative diseases can help to significantly improve the clinical indicators, reduce postoperative pain, and improve the clinical efficacy and bone graft fusion rate. To improve its quality of life, the clinical application value is high.

**【Key words】** Single segment of spine; Degenerative diseases; The posterior lumbar intervertebral bone fusion

腰椎退行性病变是由于椎旁组织、关节突关节、椎间盘退变,引发坐骨神经痛、腰痛等一系列临床症状的疾病<sup>[1]</sup>。腰椎退行性病变严重降低患者的生活质量,对患者的工作带来极大影响<sup>[2]</sup>。目前治疗腰椎退行性病变应用广泛的手术方式是腰椎融合术,经椎间孔入路腰椎椎间植骨融合术和后路腰椎椎体间植骨融合术是常用的方法<sup>[3]</sup>。根据目前研究结果显示,后路腰椎椎体间植骨融合术治疗可以有效提升患者的生活质量及临床疗效等。现针对单节段脊柱退行性疾病患者采取后路腰椎椎体间植骨融合术治疗效果,总结报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 10 月—2019 年 1 月首都医科大学附属北京天坛医院脊柱外科收治的单节段脊柱退行性疾病患者 96 例。按随机数字表法分为研究组与对照组,各 48 例。其中研究组男 21 例,女 27 例,年龄 38 ~ 73 (57.7 ± 10.6) 岁;病程 4 个月 ~ 6 年,平均 (2.9 ± 0.5) 年;病变节段: L<sub>4-5</sub> 者 31 例, L<sub>5</sub> ~ S<sub>1</sub> 者 17 例。对照组男 19 例,女 29 例,年龄 41 ~ 75 (57.9 ± 10.8) 岁;病程 6 个月 ~ 7 年,平均 (3.1 ± 0.6) 年;病变节段: L<sub>4-5</sub> 者 32 例, L<sub>5</sub> ~ S<sub>1</sub> 者 16 例。2 组患者的一般资料比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经过医院伦理委员会批准,患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 纳入标准: (1) 存在腰腿疼痛伴或不伴双侧或单侧下肢间歇性跛行及下肢麻木等症状者; (2) 经保守治疗 3 个月以上无效果者; (3) 所选患者均符合中国医师协会骨科医师分会中有关脊柱手术诊疗标准<sup>[4]</sup>。排除标准<sup>[5]</sup>: (1) 双下肢同时存在神经根症状的患者; (2) 2 级以上腰椎出现退行性滑脱或腰椎峡部裂合并出现滑脱的患者; (3) 并发骨质疏松的患者。

1.3 手术方法 2 组患者在进行手术治疗前均需进行影像学检查,拍摄脊柱正侧位及动力位的 X 线摄片,并进行 CT 和 MR 检查。

1.3.1 研究组采用单侧后路腰椎椎体间植骨融合术: 患者取俯卧位,麻醉成功后,对病变节段使用 C 型臂 X 线机进行透视,依次切开皮肤、皮下组织、腰背筋膜,暴露椎旁肌并向两侧分离至关节突外缘,椎弓根螺钉定位并置入,螺钉位置透视确定满意后,将病变间隙的棘间韧带和棘上韧带切断,根据病变范围咬除增生的关节突、部分黄韧带,咬除上位椎体双侧椎板,扩大患侧侧隐窝,保护好硬膜囊、神经根,行神经根管减压并向对侧牵拉,用髓核钳摘除纤维环切开后退变的椎间盘组织,刮除剩余髓核和软骨终板,处理并冲洗椎间隙。

连接预弯棒安装钉尾,将碎骨置入,椎间隙置入填充好碎骨的椎间融合器,使上下椎体终板与椎间融合器紧密接触,拧紧螺帽,腰椎生理弧度、内固定物位置经再次透视检查满意后仔细止血、反复冲洗伤口,放置负压引流管 1 根,缝合切口。

1.3.2 对照组采用开放经椎间孔腰椎椎体间融合术: 患者取俯卧位,麻醉成功后,对病变节段使用 C 型臂 X 线机进行透视,依次切开皮肤、皮下组织、剥离双侧椎旁肌,将关节突、两侧椎板充分暴露,将椎弓根螺钉置入,螺钉位置透视确定满意后,术侧部分关节突及黄韧带咬除,外方纤维环充分暴露并切开,经椎间孔牵拉硬膜囊、神经根,用刮匙、铰刀刮除软骨终板,摘除髓核,处理并冲洗椎间隙。椎间前 1/3 处放入自体骨颗粒并适当压紧,放入填充好碎骨型号相符的椎间融合器,链接钛棒,腰椎生理性前凸后锁紧钉尾螺帽,固定位置满意后准备植骨床,对椎板、对侧小关节突去质化,植入碎骨粒完成植骨融合。仔细止血,冲洗伤口,探查减压彻底后,放置负压引流管 1 根,缝合切口。

2 组患者术后 6 个月内避免过度弯腰负重及重体力劳动,给予 3 个月支具保护,术后 3 d 佩戴支具下床活动,术后 48 ~ 72 h 拔除引流管,酌情给予激素及脱水剂 5 ~ 7 d,辅以神经营养药,术后常规预防性应用抗生素 1 d。

## 1.4 观察指标与方法

1.4.1 围术期临床指标: 主要包括手术时间、术中出血量、术后下床活动时间、住院时间及不良反应出现情况。

1.4.2 视觉疼痛模拟量表 (VAS) 评分与日本骨科协会评估 (JOA) 评分<sup>[6-7]</sup>: 其中, VAS 分值 0 ~ 10 分, 10 分最痛, 0 分无痛, 患者评分越高, 疼痛感越强烈。JOA 总分 29 分, 从主观症状、临床体征、日常活动受限度、膀胱功能等方面进行综合评价, 患者评分越低, 功能障碍情况越严重。

1.4.3 随访情况: 主要包括 Brantigan 评分及生活质量评分, 其中 Brantigan 评分主要对患者腰椎 CT 融合程度进行判定, 若患者椎间隙上下部分并未连接, 存在高度丢失与植骨吸收状况则为 0 分; 上下部分未连接, 但其骨量与术后即刻比较相对较多则记为 1 分; 上下连接在一般以上, 但仍存在相对较多的透光线则记为 2 分; 融合情况良好但具有少量透光线存在则记为 3 分; 若完全融合则记为 4 分。评分 ≥ 3 分则为融合。而生活质量则主要通过对患者认知、角色、社会及躯体功能等方面进行判定, 总分为 100 分, 分值越高则表明其生活质量状况越好。

**1.5 疗效判定标准** 手术后 3 个月评价疗效。优:患者腰部功能活动基本恢复正常,临床症状得到明显改善,经 X 线检测椎体间融合情况较好;良:经治疗后存在下肢轻度麻木或者轻微腰痛,经 X 线检测其椎体间存在部分融合;差:患者疼痛情况仍存在甚至伴有加重趋势,且经 X 线检查显示椎体间未存在融合情况。优良率=(优+良)/总例数 $\times 100\%$ 。

**1.6 统计学方法** 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析。计数资料用频数或率(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 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  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 2 组临床疗效比较** 研究组手术优良率 93.8%, 高于对照组的 72.9%, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.031, P = 0.018$ ), 见表 1。

表 1 2 组患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	优	良	差	优良率(%)
对照组	48	11(22.9)	24(50.0)	13(27.1)	72.9
研究组	48	20(41.7)	25(52.1)	3(6.2)	93.8

**2.2 2 组围术期临床指标比较** 研究组手术时间、术中出血量、术后下床活动时间、住院时间均短于/少于对照组( $P < 0.01$ ), 见表 2。研究组围术期发生并发症 4 例(8.3%), 其中椎间隙感染 1 例, 手术切口红肿渗液 3 例; 对照组发生并发症 12 例(25.0%), 其中椎间隙感染 3 例, 手术切口红肿渗液 9 例, 2 组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.3 2 组手术前后 VAS 与 JOA 评分比较** 2 组术后 1 周 VAS 评分低于术前, JOA 评分高于术前( $P < 0.01$ ), 研究组术后 1 周 VAS 评分低于对照组, 而 JOA

评分高于对照组( $P < 0.05$ ), 见表 3。

表 3 2 组患者手术前后 VAS 与 JOA 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)

组别	时间	VAS 评分	JOA 评分
对照组 ( $n = 48$ )	手术前	6.0 $\pm$ 0.7	14.5 $\pm$ 4.6
	术后 1 周	3.1 $\pm$ 1.0	20.3 $\pm$ 2.9
研究组 ( $n = 48$ )	手术前	6.1 $\pm$ 0.6	13.9 $\pm$ 4.3
	术后 1 周	1.7 $\pm$ 0.5	22.4 $\pm$ 3.3
$t/P$ 对照组内值		16.460/ <0.001	7.390/ <0.001
$t/P$ 研究组内值		39.031/ <0.001	10.865/ <0.001
$t/P$ 术后组间值		8.675/ <0.001	3.312/ 0.018

**2.4 2 组随访结果比较** 2 组随访时间 3~6 个月, 平均随访时间(4.5  $\pm$  1.0)个月。研究组生活质量评分高于对照组( $P < 0.01$ ), 2 组 Brantigan 评分 $\geq 3$ 分比例、植骨融合率比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 4。

## 3 讨论

随着科技的日益发展及医疗水平技术的提升, 在临床上已经出现的诸多针对单节段脊柱退行性疾病的治疗方案。其中, 对患者采取后路腰椎椎体间植骨融合术治疗的方案在临床实践中显示出了较强的有效性和安全性<sup>[8-9]</sup>。后路腰椎椎体间植骨融合术能有效保证患者在免疫排斥方面的安全性和可行性。在手术操作过程中也为患者在术后减压做出了相应的操作调整。在原有常规手术固定的基础上进行改革创新, 对患者腰部的固定更具有科学有效性<sup>[10-11]</sup>。有利于患者后期的康复治疗, 对患者的治疗总疗效有显著提高。充分体现了后路腰椎椎体间植骨融合术在治疗单节段退行性疾病中的优越性及临床应用的必要性。较之常规手术治疗方案的固定, 后路腰椎椎体间植骨融合术应用骨质填充固定的办法, 大大提高了对于患者手术

表 2 2 组患者围术期临床指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	手术时间(min)	术中出血量(ml)	术后下床活动时间(d)	住院时间(d)	并发症[例(%)]
对照组	48	146.1 $\pm$ 28.7	270.0 $\pm$ 30.3	5.2 $\pm$ 0.6	13.2 $\pm$ 1.0	12(25.0)
研究组	48	125.1 $\pm$ 29.9	158.1 $\pm$ 22.5	2.6 $\pm$ 0.5	7.1 $\pm$ 0.4	4(8.3)
$t/\chi^2$ 值		3.510	25.583	23.064	39.239	4.800
$P$ 值		0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.028

表 4 2 组随访结果比较

组别	例数	Brantigan 评分 $\geq 3$ 分[例(%)]	植骨融合率[例(%)]	生活质量评分( $\bar{x} \pm s$ , 分)
对照组	48	41(85.4)	43(89.6)	74.3 $\pm$ 3.1
研究组	48	44(91.7)	45(93.8)	84.3 $\pm$ 3.5
$t/\chi^2$ 值		0.924	0.545	14.818
$P$ 值		0.336	0.460	<0.001



腰部的固定,并且不用对患者进行双侧固定就可以实现较常规方法更加牢固的稳定性,既节省资源还能有效减少患者的疼痛。另外,在进行后路腰椎椎体间植骨融合术治疗时,不需要对患者腰部组织进行剥离操作<sup>[12-13]</sup>。因此,后路腰椎椎体间植骨融合术可以达到最大减压的效果,并且在手术的操作过程中,可以适当减少甚至不需要对患者进行椎管内操作,还能有效缩短手术操作的时间,有效降低手术中出血量,减少不必要的医疗费用,为患者减少治疗费用。

本研究显示,研究组各项围术期临床指标均低于对照组( $P < 0.05$ );研究组术后 1 周 VAS 评分低于对照组,而 JOA 评分高于对照组( $P < 0.05$ )。说明对单节段脊柱退行性疾病患者采用后路腰椎椎体间植骨融合治疗,有助于改善其围术期临床指标,疼痛情况显著降低,腰椎功能得到显著提高。其疼痛情况显著降低,分析原因可能为在经扩张通道将肌肉间隙撑开的过程中,并未将肌纤维的排列顺序打乱,因此术后肌纤维之间并不容易形成相应的瘢痕组织,从而促使患者术后腰背部疼痛情况显著减轻。

经过对 2 组随访结果及临床疗效的对比显示,研究组生活质量评分高于对照组( $P < 0.05$ ),2 组植骨融合率则无显著差异( $P > 0.05$ );研究组优良率高于对照组( $P < 0.05$ )。说明采用后路腰椎椎体间植骨融合治疗能够提升单节段脊柱退行性疾病患者的生活质量水平,临床疗效得到提高。

决定治疗效果的关键要素是适应证的正确选择,目前认为后路腰椎椎体间植骨融合术主要适用于部分腰椎椎体后缘离断患者;伴有神经症状的Ⅱ度以上的腰椎滑脱;椎间盘源性下腰痛;广泛腰椎管狭窄;复发性腰椎间盘突出;腰椎节段性不稳<sup>[14-15]</sup>。经椎间孔腰椎椎体间融合术是在后路腰椎椎体间植骨融合术基础之上演变及改进的,具有自身特点的同时又具有后路腰椎椎体间植骨融合术类似的适应证,但对于腰椎管明显狭窄的患者应谨慎使用,更适用于突出的极外侧型腰椎间盘突出症患者。经椎间孔腰椎椎体间融合术存在减压不彻底和对侧神经根松解困难而影响疗效。且病程较长、突出较大的患者,神经根可能与突出物粘连较重,术中需仔细分离神经根和硬膜外组织,有限的操作空间,可能需要增加椎板咬除面积,而延长手术时间、加大手术难度。

综上所述,对单节段脊柱退行性疾病患者采用后路腰椎椎体间植骨融合治疗,有助于临床指标的显著改善,降低患者术后疼痛,临床疗效得到显著提升,利于改善其生活质量水平,临床应用价值较高。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

王磊:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;麻松:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;朱继超:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析;崔维:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

**参考文献**

- [1] 钟远鸣,付拴虎,李智斐,等. 单双侧椎弓根螺钉内固定并后路腰椎体间融合修复腰椎退行性疾病的系统评价[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(9):1353-1360. DOI: 10.3969/j. issn. 2095-4344. 2016. 09. 020.
- [2] 唐永超,梁德,陈博来,等. 骨水泥钉道强化与否治疗伴骨质疏松的单节段腰椎退行性疾病的临床对照研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 67(12):1092-1098. DOI: 10.3969/j. issn. 1004-406X. 2017. 12. 06.
- [3] Hayashi K, Matsumura A, Konishi S, et al. Clinical outcomes of posterior lumbar interbody fusion for patients 80 years of age and older with lumbar degenerative disease: Minimum 2 years' follow-up [J]. Global Spine Journal, 2016, 6(7):665-672. DOI:10.1055/s-0036-1578806.
- [4] 中国医师协会骨科医师分会,中国医师协会骨科医师分会《成人急性胸腰段脊柱脊髓损伤循证临床诊疗指南》编辑委员会. 中国医师协会骨科医师分会骨科循证临床诊疗指南:成人急性下颈段脊柱脊髓损伤循证临床诊疗指南[J]. 中华外科杂志, 2018, 56(1):5-9. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0529-5815. 2018. 01. 003.
- [5] 邱皓,卢曼鹏,董靖,等. 经后路椎体次全切除、钛网植骨及椎弓根螺钉置入内固定修复胸、腰椎爆裂骨折或合并脱位[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(53):7932-7938. DOI: 10.3969/j. issn. 2095-4344. 2016. 53. 004.
- [6] Cho JH, Joo YS, Lim C, et al. Effect of 1-or 2-level posterior lumbar interbody fusion on global sagittal balance[J]. Spine Journal Official Journal of the North American Spine Society, 2017, 17(12):78-79. DOI: 10.1016/j. spine. 2017. 05. 029.
- [7] 杨佳宁,陈宾,宋有鑫,等. MIS-TLIF 下单纯椎间植骨融合与椎间 Cage 融合治疗腰椎间盘突出症疗效对比研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(8):1048-1051. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-8348. 2017. 08. 013.
- [8] 焦云龙,潘玉林,郭小伟,等. 后路病灶清除仿生骨支撑植骨融合内固定术治疗胸腰椎结核的疗效分析[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 27(8):692-698. DOI: 10.3969/j. issn. 1004-406X. 2017. 08. 04.
- [9] 刘威,盛伟斌,张健,等. 颈椎间盘置换及前路椎间融合治疗单节段颈椎间盘突出症:谁更多影响邻近节段发生退变[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(4):504-510. DOI: 10.3969/j. issn. 2095-4344. 2016. 04. 009.
- [10] Tachibana N, Kawamura N, Kobayashi D, et al. The preventive effect of dynamic stabilization against adjacent segment degeneration after posterior lumbar interbody fusion[J]. Spine, 2016, 42(1):25-27. DOI: 10.1097/BRS.0000000000001654.

(下转 844 页)

# 家族遗传性 STING 相关的婴儿期发病血管病 1 例

张蕾, 田利远

作者单位: 050031 石家庄, 河北医科大学附属河北省儿童医院呼吸一科

通信作者: 张蕾, E-mail: 63466514@qq.com

**【摘要】** STING 相关的婴儿期发病血管病 (SAVI) 是 2014 年新报道的一种血管病/炎综合征, 是由于编码 STING 的 TMEM173 基因发生突变, 使得 STING 持续活化, 最终导致自身炎性综合征。临床症状包括间质性肺病、反复发热、关节炎、皮疹、坏疽等。该病目前尚无特效治疗药物, 有待于进一步研究。文章报道 1 例家族遗传性 SAVI 的临床表现及基因突变特点并结合相关文献进行分析。

**【关键词】** STING 相关婴儿期发病血管病, 家族遗传性; TMEM173 基因; 间质性肺疾病

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.017

**A case of infantile vascular disease associated with familial genetic STING** Zhang Lei, Tian Liyuan. Department of Pulmonology, Hebei Children's Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: Zhang Lei, E-mail: 63466514@qq.com

**【Abstract】** The STING related infantile vascular disease (SAVI) is a newly reported vascular disease / inflammatory syndrome in 2014. It is caused by the mutation of tmem173 gene encoding sting, which makes sting continuously activated and eventually leads to autoimmune inflammatory syndrome. Clinical symptoms include interstitial lung disease, recurrent fever, arthritis, rash, gangrene, etc. At present, there is no specific drug for this disease. This paper reports the clinical manifestations and gene mutation characteristics of a family hereditary SAVI, and analyzes the related literature.

**【Key words】** STING associated vasculopathy with onset in infancy, familial; TMEM173 gene; Interstitial lung disease

STING 是干扰素基因刺激蛋白, STING 相关的婴儿期发病血管病 (STING-associated vasculopathy with onset in infancy, SAVI) 是由编码 STING 的 TMEM173 基因突变引发的一系列临床症状, 其中包括间质性肺疾病、皮疹、关节炎等。国内对该病报道罕见, 且无家族遗传性病例报告。现报道笔者医院收治的 1 例经基因检查诊断明确的家族遗传性 SAVI 病例。

## 1 临床资料

先证者, 男, 9 岁, 主因“活动后气促、咳嗽 8 年余, 关节疼痛 4 个月, 加重 3 d”于 2016 年 5 月 19 日入院。患儿于 1 岁开始走路后, 家属发现患儿与同龄儿相比, 活动耐力差, 于活动后容易出现气促、咳嗽, 干咳为主, 痰不多, 无喘息, 无咯血, 营养状态中等, 曾就诊于当地医院, 查 X 线胸片示支气管肺炎, 给予对症治疗 (具体用药家属不能详述) 共 40 余天。患儿病情无明显改善。家属未再进一步诊治。8 年内患儿仍有活动后气促, 活动耐力差, 间断咳嗽, 偶诉有胸闷症状, 全身间断出现散在淡红色皮疹, 无长期发热。入院前 4 个月患

儿无明显诱因出现关节疼痛, 为游走性, 累及双侧膝关节、腕关节、指 (趾) 间关节, 双手中指近端关节肿胀, 曾就诊当地诊所, 给予“口服麝香风湿胶囊、贞芪扶正颗粒、风痛片、泼尼松片”治疗, 疼痛稍缓解。入院前 3 d 患儿关节疼痛加重, 伴跛行, 咳嗽次数较平时增多, 伴胸闷、气短, 就诊当地县医院查类风湿因子 47.9 IU/ml, ESR 75 mm/h; X 线胸片示间质性肺炎、右侧胸膜炎。为进一步治疗转诊我院。患儿系第 1 胎第 1 产, 足月顺产, 出生体质量 4.6 kg, 母孕期无异常, 出生时无缺氧、窒息史。其父亲自 10 余岁时即有气短、胸闷、咳嗽症状, 无长期低热、盗汗, 不能从事重体力劳动, 曾间断治疗, 症状无明显好转 (入院后其父亲测经皮血液氧饱和度 93%)。母亲身体健康。

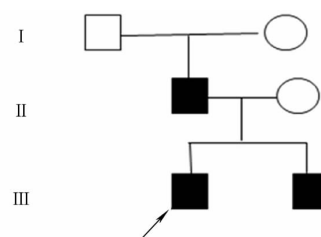
查体: T 36.9℃, R 34 次/min, P 80 次/min, BP 106/60 mmHg。裸氧状态下测经皮血氧饱和度 95%, 神清, 精神反应可, 全身可见散在淡红色斑丘疹, 有卡瘢, 鼻翼两侧面颊部可见暗褐色斑疹, 呼吸稍促, 无鼻扇, 三凹征阴性。双肺呼吸音粗, 未闻及干湿性啰音,



心脏未闻及杂音,肝脾不大。四肢末梢发绀,呈杵状指(趾),双手中指近端关节肿胀,活动时疼痛;右足第 1、2 跖骨处有压痛,活动障碍,足背动脉搏动好。

实验室检查:血 WBC  $8.7 \times 10^9/L$ , L 46.1%, N 49.1%, Hb 124 g/L, PLT  $400 \times 10^9/L$ , CRP 13.1 mg/L。类风湿因子、ASO 正常;ESR 41mm/h;补体 C3 正常,补体 C4 0.62 g/L;自身抗体、抗核抗体、抗角蛋白抗体、抗平滑肌基底膜抗体均阴性。血管炎四项:抗中性粒细胞胞浆抗体(pANCA)阳性,余阴性。总淋巴细胞分析大致正常。肺功能:肺活量占预计值 47%,用力肺活量(FVC)占预计值 44.7%,第一秒用力呼气容积(FEV<sub>1</sub>)占预计值 50%,FEV<sub>1</sub>/FVC 94%,提示限制性通气功能障碍。呼出气一氧化氮测定 14.4 ppb。胸部 CT:双肺间质性改变,双肺多发囊性变,小叶中心型肺气肿改变,纵隔及腋下小淋巴结影,双侧胸膜增厚,右侧为著,少量胸腔积液不排除。支气管镜检查:左右主支气管及其分支开口通畅,位置形态正常,双侧支气管黏膜稍充血,左舌、左下叶前段支气管灌洗时见黏膜粗糙、苍白,有少量白色絮状分泌物吸出,通气尚可,未见异物。腕关节超声:双侧腕关节结构及血流未见明显异常。

留取患儿及其父母血液标本进行基因检测,检测结果提示患儿携带的 TMEM173 基因 c. 824C > T(p. R281Q)杂合突变,突变来源于患儿父亲,为常染色体显性遗传(图 1)。确诊为 STING 相关婴儿期起病血管病,伴有间质性肺疾病及关节症状、皮疹。患儿口服托法替尼治疗 6 个月,但临床症状无明显好转,自行停药。随访至今,患儿仍有间断咳嗽、关节疼痛症状,活动耐力减低。患儿父亲已因该病去世。患儿弟弟亦行相关基因检查,结果提示存在同位点基因突变,胸部 CT 亦提示间质性肺病改变,但目前尚无特殊临床症状,仍在随访中。家系图见图 2。



注:□正常男性;○正常女性;■男性患者;↗先证者

图 2 患儿家系图

## 2 讨论

婴儿期起病的 STING 相关血管病是 2014 年新报道的一种血管病/炎综合征,属于自身炎症性疾病,是由编码 STING 的 TMEM173 基因发生突变,导致 STING 基因功能增强性突变,使得 STING 持续活化,促进炎症因子的持续释放,IFN 产生不断增多,最终导致自身炎症综合征<sup>[1]</sup>。

cGAS—cGAMP—STING 信号转导通路是 SAVI 发生的关键,也是近年自身免疫性疾病或自身炎症性疾病研究的热点。干扰素基因刺激蛋白 STING,是胞浆 DNA 激活免疫反应的关键蛋白,但它本身并不能识别 DNA,需经过环状核酸分子激活<sup>[2]</sup>。环鸟苷酸—腺苷酸合成酶(cGAS)是 2013 年新发现的一种细胞内 DNA 感受器<sup>[3]</sup>,cGAS 激活后催化三磷酸腺苷(ATP)和三磷酸鸟苷(GTP),合成环鸟苷酸—腺苷酸(cGAMP)。STING 受到 cGAMP 刺激后被激活,诱导 I 型干扰素和炎症因子的表达<sup>[4-5]</sup>。

SAVI 临床症状可出现皮疹、坏疽、毛细血管扩张、反复发热、间质性肺病、关节炎、T 细胞减少等<sup>[1]</sup>,其中肺部症状起病隐匿,容易被忽视,主要表现为呼吸急促、活动受限。胸部 CT 检查多见间质性肺炎改变。鉴于 SAVI 的发病机制,目前认为 SAVI 属于 I 型干扰素病<sup>[6]</sup>,目前已知多种基因突变可导致 I 型干扰素

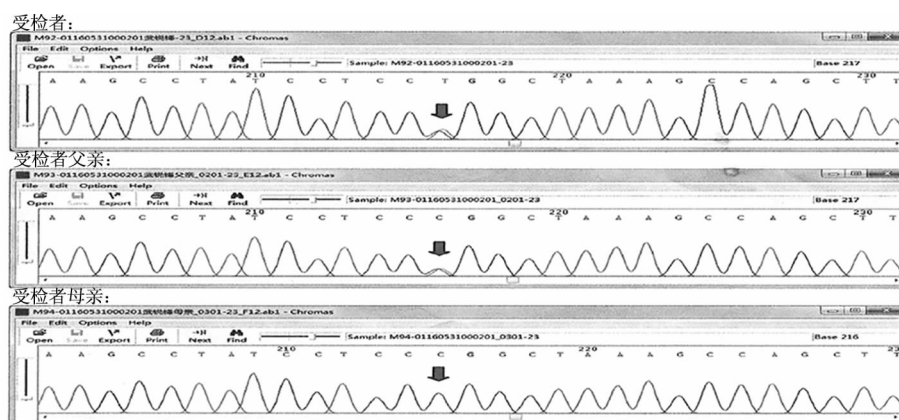


图 1 SAVI 患儿及其父母基因测序图

病,典型病例如 Aicardi-Goutieres (AGS) 综合征,主要表现为严重智力与运动发育迟缓、肌张力障碍、获得性小头畸形、冻疮等,头颅影像学提示颅内多发钙化、脑白质发育不良及脑萎缩<sup>[7]</sup>。SAVI 与其他 I 型干扰素病不同的是,它是目前惟一已知的以肺部受累为主要表现的 I 型干扰素病<sup>[8]</sup>,研究者发现 STING 广泛表达于血管内皮细胞、II 型肺泡细胞和支气管上皮和肺泡巨噬细胞,STING 引起的功能障碍导致血管闭塞同时激活局部巨噬细胞和肺泡上皮细胞<sup>[9]</sup>,肺活检的典型特征是 II 型肺泡上皮细胞增生、淋巴细胞浸润和间质纤维化<sup>[10]</sup>。

检索文献,目前国内已报道该病 5 例<sup>[11-13]</sup>,主要表现为反复咳嗽伴活动耐力下降,伴有杵状指。肺功能提示限制性通气功能障碍伴弥散功能减低;肺部高分辨 CT 提示符合间质性肺炎,并局限性肺气肿、肺大泡形成。其中有 3 例患儿间质性肺疾病并发弥漫性肺泡出血。肺活检病理:肺泡腔扩张,其内见大量泡沫状组织细胞聚集,伴 II 型上皮细胞增生,与 Jeremiah 等<sup>[10]</sup>报道一致。以上 5 例患儿基因检查结果均提示 TMEM173 基因杂合新生突变 (c. 463G > A, p. V155M)。本例患儿主要表现与国内外多数病例报道表现一致。总结国内病例,发现所有病例均以间质性肺炎为首发并且是最主要的症状。目前已知常见引起间质性肺疾病的基因突变包括表面活性蛋白 B 基因 (SFTPB)、表面活性蛋白 C 基因 (SFTPC)、三磷酸腺苷结合盒转运子 A3 (ABCA3) 和甲状腺转录因子 1 的基因突变等<sup>[14]</sup>。但对于 TMEM173 基因突变报道较少。目前国内报道的 SAVI 均为新发突变 (c. 463G > A, p. V155M)。本研究为国内首例报道家族遗传性突变,致病基因 TMEM173 基因 c. 824C > T (p. R281Q) 杂合突变,突变来源于父亲。

张岩等<sup>[11]</sup>总结国内外文献报道,发现糖皮质激素治疗 SAVI 疗效欠佳,可用于鉴别自身免疫性疾病。鉴于 SAVI 发病机制,Janus 激酶抑制剂可能有利于阻断 I 型 IFN 信号传导。鲁昔洛替尼 (ruxolitinib) 和巴里替尼 (baricitinib) 都是 JAK1 和 JAK2 抑制剂,而托法替尼 (tofacitinib) 是 JAK3 抑制剂,在较小程度上是 JAK2 抑制剂。因此鲁昔洛替尼和巴里替尼治疗 SAVI 的疗效优于托法替尼<sup>[8]</sup>。但该类药物尚处于临床研究阶段,有待于更多的临床数据证实其疗效。

总之,SAVI 以间质性肺炎为主要表现,可伴有皮疹、关节疼痛等症状,肺部影像学以多发囊性病变为特点,基因检查可最终确诊,可有家族遗传性。目前尚无特效药物治疗,需进一步研究。

## 参考文献

- [1] Liu Y, Jesus AA, Marrero B, et al. Activated STING in a vascular and pulmonary syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371 (6): 507-518. DOI: 10.1056/NEJMoal312625.
- [2] Diner EJ, Burdette DL, Wilson SC, et al. The innate immune DNA sensor cGAS produces a noncanonical cyclic dinucleotide that activates human STING [J]. *Cell Rep*, 2013, 3 (5): 1355-1361. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.05.009.
- [3] Wu J, Sun L, Chen X, et al. Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA [J]. *Science*, 2013, 339 (6121): 826-830. DOI: 10.1126/science.1229963.
- [4] Zhang X, Shi H, Wu J, et al. Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING [J]. *Mol Cell*, 2013, 51 (2): 226-235. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.05.022.
- [5] 季晓丽, 张毓川, 陈玮. IRF3 在抗病毒固有免疫应答中的作用及调控机制 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35 (18): 2289-2294. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2019.18.023.
- [6] Eleftheriou D, Brogan PA. Genetic interferonopathies: An overview [J]. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2017, 31 (4): 441-459. DOI: 10.1016/j.berh.2017.12.002.
- [7] 田小娟, 代丽芳, 方方, 等. IFIH1 基因突变致 Aicardi-Goutières 综合征 1 例并文献复习 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2019, 34 (7): 549-551. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2019.07.018.
- [8] Patel S, Jin L. TMEM173 variants and potential importance to human biology and disease [J]. *Genes and Immunity*, 2019, 20 (1): 82-89. DOI: 10.1038/s41435-018-0029-9.
- [9] Clarke SL, Pellowe EJ, de Jesus AA, et al. Interstitial lung disease caused by STING-associated vasculopathy with onset in infancy [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194 (5): 639-642. DOI: 10.1164/rccm.201510-2102LE.
- [10] Jeremiah N, Neven B, Gentili M, et al. Inherited STING-activating mutation underlies a familial inflammatory syndrome with lupus-like manifestations [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124 (12): 5516-5520. DOI: 10.1172/JCI79100.
- [11] 张岩, 闫秀丽, 孟晨, 等. 干扰素基因刺激蛋白相关婴儿期发病血管病变 1 例并文献复习 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2019, 14 (3): 196-200. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5501.2019.03.007.
- [12] 于仲勋, 钟林庆, 宋红梅, 等. 干扰素基因刺激蛋白相关婴儿期发病的血管病一例 [J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56 (3): 179-185. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2018.03.005.
- [13] Tang XL, Xu H, Zhou CJ, et al. STING-associated vasculopathy with onset in infancy in three children with new clinical aspect and unsatisfactory therapeutic responses to tofacitinib [J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2020, 40 (1): 114-122. DOI: 10.1007/s10875-019-00690-9.
- [14] 刘秀云. 与间质性肺疾病发病相关的基因缺陷类型 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2018, 33 (4): 267-272. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.04.007.

# 沉默 Rbfox1 对癫痫模型大鼠海马神经细胞生物学行为的影响及机制研究

冯磊, 解利平, 张海平, 束坤

基金项目: 陕西省西安市医疗卫生科研项目(201766984)

作者单位: 710000 西安, 西电集团医院神经外科

通信作者: 束坤, E-mail: fbzsnk@163.com

**【摘要】目的** 研究沉默结合 RNA 的 Fox1 基因(Rbfox1)对癫痫模型大鼠海马神经细胞生物学行为的影响及其机制。**方法** 2019 年 8 月—10 月于西电集团医院神经外科实验室进行实验, 选择 SD 健康雄性大鼠 60 只, 随机选取其中 15 只作为空白对照组, 其余 45 只建立癫痫模型, 按随机数字表法分为模型组、过表达组、沉默组各 15 只, 构建 Rbfox1 过表达、沉默慢病毒载体, 行慢病毒滴定, 比较 4 组大鼠海马神经细胞增殖、凋亡情况及其 Akt/mTOR 通路蛋白表达量。**结果** 大鼠不同时间点海马神经细胞凋亡率比较, 过表达组 > 模型组 > 沉默组 ( $F/P = 17.500/0.001$ 、 $7.217/0.001$ 、 $5.243/0.001$ ), 增殖率比较, 过表达组 < 模型组 < 沉默组 ( $F/P = 37.165/0.001$ 、 $23.632/0.001$ 、 $3.651/0.001$ ), 大鼠海马组织 p-p38、p-JNK、p-ERK、Bax、Bim 比较, 过表达组 > 模型组 > 沉默组, Bcl-2 比较, 过表达组 < 模型组 < 沉默组 ( $F/P = 53.319/0.001$ 、 $19.523/0.001$ 、 $9.580/0.001$ 、 $3.550/0.001$ 、 $8.107/0.001$ 、 $4.770/0.001$ )。**结论** 沉默 Rbfox1 基因可抑制海马神经细胞凋亡, 促进海马神经细胞增殖, 其作用机制可能与调控 MAPK 通路相关。

**【关键词】** 结合 RNA 的 Fox1 基因; 癫痫; 海马神经细胞; 细胞生物学行为

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.018

## The effect and mechanism of Rbfox 1 silencing on the biological behavior of hippocampal neurons in epileptic rats

Feng Lei, Xie Liping, Zhang Haiping, Shu Kun. Department of Neurosurgery, Xidian Group Hospital, Shaanxi Province, Xi'an 710000, China

Corresponding author: Shu Kun, E-mail: fbzsnk@163.com

Funding program: Medical and Health Research Project of Xi'an City, Shaanxi Province (201766984)

**【Abstract】Objective** To study the effect and mechanism of rfox 1 gene silencing on the biological behavior of hippocampal neurons in epileptic rats. **Methods** From August to October 2019, the experiment was carried out in Neurosurgery Laboratory of Xidian Group Hospital, and 60 SD healthy male rats were selected. Fifteen of them were randomly selected as the blank control group, and the other 45 were randomly divided into model group, over expression group and silence group. Construction of rbfox 1 over expression, silencing lentivirus vector, lentivirus titration. The proliferation and apoptosis of hippocampal neurons and the expression of Akt/mTOR pathway protein in the four groups were compared. **Results** Compared the apoptosis rate of hippocampal neurons at different time points in rats, overexpression group > model group > silence group ( $F/P = 17.500/0.001$ ,  $7.217/0.001$ ,  $5.243/0.001$ ), proliferation rate was compared, overexpression group < model group < silence group ( $F/P = 37.165/0.001$ ,  $23.632/0.001$ ,  $3.651/0.001$ ). Compared with p38, p-JNK, p-ERK, Bax and Bim in hippocampus of rats, overexpression group > model group > silence group; compared with Bcl-2, overexpression group < model group < silence group ( $F/P = 53.319/0.001$ ,  $19.523/0.001$ ,  $9.580/0.001$ ,  $3.550/0.001$ ,  $8.107/0.001$ ,  $4.770/0.001$ ). **Conclusion** Rbfox1 gene silencing can inhibit the apoptosis of hippocampal neurons and promote the proliferation of hippocampal neurons. The mechanism may be related to the regulation of MAPK pathway.

**【Key words】** Fox1 gene binding RNA; Epilepsy; Hippocampal neurons; Cellular biological behavior

癫痫是因大脑神经元出现突发性异常放电所引发的脑部功能障碍类疾病, 其临床表现为自主神经、意识、精神障碍及发作性运动<sup>[1]</sup>。海马区是中枢神经系

统内对癫痫发生最为敏感的脑区, 在癫痫发生后会导致海马神经细胞发生坏死或凋亡, 且癫痫发作后对大脑所产生的损伤受海马神经元凋亡的影响, 因此通过

抑制海马神经元凋亡可修复神经元损伤<sup>[2]</sup>。沉默结合 RNA 的 Fox1 基因 (Rbfox1) 在临床上又被称为 A2BP1, 参与神经系统发育过程, 可同时调节神经元兴奋和参与转录过程, Rbfox1 基因突变与智力发育迟滞、癫痫相关<sup>[3]</sup>。本研究分析沉默 Rbfox1 基因对癫痫模型大鼠海马神经细胞生物学行为的影响及其机制, 为临床癫痫治疗提供新方向, 报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料 (1) 动物: SD 健康雄性大鼠 (SPF 级) 60 只 (由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供), 体质量 220 ~ 240 g, 饲养温度 22 ~ 25℃, 室内湿度 35% ~ 40%, 饲养室定时进行紫外线照射消毒。统一喂给标准饲料, 允许自由活动, 饲养时间为 1 周。本实验获得医院伦理委员会批准。(2) 试剂: 氯化锂 (上海源叶生物科技有限公司)、匹罗卡品 (上海熹恒生物科技有限公司)、硫酸阿托品 (华中药业股份有限公司)、戊巴比妥 (上海上药新亚药业有限公司); 大鼠抗小鼠 p-p38 抗体 (北京华夏远洋科技有限公司), 大鼠抗小鼠 p-JNK 抗体 (厦门嘉慧生物科技有限公司); 大鼠抗小鼠 p-Erk 抗体 (厦门研科生物技术有限公司), 兔抗大鼠 Bax 抗体, 兔抗大鼠 Bcl-2 抗体 (武汉菲恩生物科技有限公司), 兔抗人 Bim 抗体 (上海振誉生物科技有限公司)。(3) 仪器: 光学显微镜 (美国 Ted Pella)。

1.2 实验方法 2019 年 8 月—10 月于西电集团医院神经外科实验室进行实验。

1.2.1 慢病毒载体构建: Rbfox1 表达沉默的慢病毒载体构建、大鼠 Rbfox1 序列查找及设计由上海 GeneChem 公司完成, 重组 Rbfox1 过表达病毒载体 (Lentiviral-mediated-Rbfox1)、Rbfox1 沉默载体 (Lentiviral-mediated-Rbfox1-RNAi) 由上海 GeneChem 公司合成, 并经测序验证后行慢病毒载体构建, 病毒滴度为  $10^8$  TU/ml, 在制备完成后将重组慢病毒载体在温度为 -80℃ 下保存。

1.2.2 建模及分组: 随机选取 60 只大鼠中 15 只作为空白对照组, 其余大鼠均参照陈姝璇等<sup>[4]</sup> 研究中运用氯化锂—匹罗卡品化学点燃制备癫痫模型, 将氯化锂 3 mEq/kg (125 mg/kg) 注射于大鼠腹腔, 之后 18 ~ 24 h 将硫酸阿托品 1 mg/kg 注射于大鼠腹腔, 在此 0.5 h 后以匹罗卡品首次剂量 30 mg/kg 注射于大鼠腹腔, 0.5 h 后观察大鼠是否出现 IV 级以上癫痫发作, 若无可每隔 0.5 h 腹腔注射匹罗卡品 10 mg/kg, 直至大鼠出现 IV 级以上无明显间歇的癫痫持续状态。将建模成功的癫痫大鼠模型按随机数字表法分为模型组、过表达组、沉默组各 15 只, 在无菌环境下将所制备的 Rb-

fox1 过表达病毒载体重组慢病毒悬液 10  $\mu$ l 注射于过表达组大鼠海马区, Rbfox1 沉默载体重组慢病毒悬液 10  $\mu$ l 注射于沉默组大鼠海马区, 正常对照组和模型组不做处理。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 大鼠海马神经元病理变化: 在慢病毒转染 1 周后观察大鼠海马神经元病理变化。随机选取各组大鼠 1 只, 腹腔注射 3.0% 戊巴比妥 80 mg/kg 麻醉, 迅速取大鼠脑组织, 分离海马组织制作标本, 使用 4% 多聚甲醛固定, 常温下使用 15% EDTA 脱钙, 脱水后进行石蜡包埋, 制作厚 3  $\mu$ m 组织切片, 行 HE 染色, 以光学显微镜观察大鼠海马神经元病理变化。

1.3.2 大鼠海马神经细胞增殖/凋亡情况检测: 在慢病毒转染 1 周后检测大鼠海马神经细胞增殖/凋亡情况。选取每组大鼠 7 只腹腔注射 3.0% 戊巴比妥 80 mg/kg 麻醉, 迅速取脑组织, 分离海马组织, 运用酶消化法采集大鼠海马神经细胞, 加入 PBS 制备成单细胞悬液, 调整细胞数为  $1 \times 10^6$  个/ml。采用 MTT 比色法检测大鼠 24、48、72 h 时海马神经细胞增殖能力, 增殖率 = (细胞组 OD 值/参照值 - 1)  $\times$  100%, 计算大鼠海马神经细胞增殖率。采用流式细胞仪检测大鼠 24、48、72 h 时海马神经细胞凋亡情况。

1.3.3 大鼠海马组织中 MAPK 通路蛋白表达检测: 在慢病毒转染 1 周后检测大鼠海马组织 MAPK 通路蛋白表达情况。4 组各剩余 7 只大鼠均腹腔注射 3.0% 戊巴比妥 80 mg/kg 麻醉处死, 迅速取脑组织, 分离海马组织在液氮中保存、待用, 采用 Western-blot 法检测大鼠海马组织中 MAPK 通路蛋白 p-p38、p-JNK、p-Erk 及下游调控蛋白 Bax、Bcl-2、Bim 表达量, 内参蛋白设置为 GAPDH。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析处理。正态分布的计量资料采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用  $F$  检验, 2 组间比较采用独立样本  $t$  检验。  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 4 组大鼠海马神经元病理变化比较 空白对照组大鼠脑皮质、颗粒细胞、齿状回锥体细胞排列轮廓清晰、紧密, 胞核呈圆形或椭圆形, 核仁清晰, 染色质均匀, 胞浆透明, 周围有大量胶质细胞分布; 模型组大鼠海马神经元排列紊乱, 细胞发生破裂、膨胀, 尼氏小体减少; 过表达组大鼠海马神经元细胞排列较为紊乱, 细胞水肿显著增大, 细胞间距加大; 沉默组大鼠海马神经元细胞无水肿, 细胞间距变小, 排列整齐, 尼氏小体增加, 神经元存活数目增多, 见图 1。

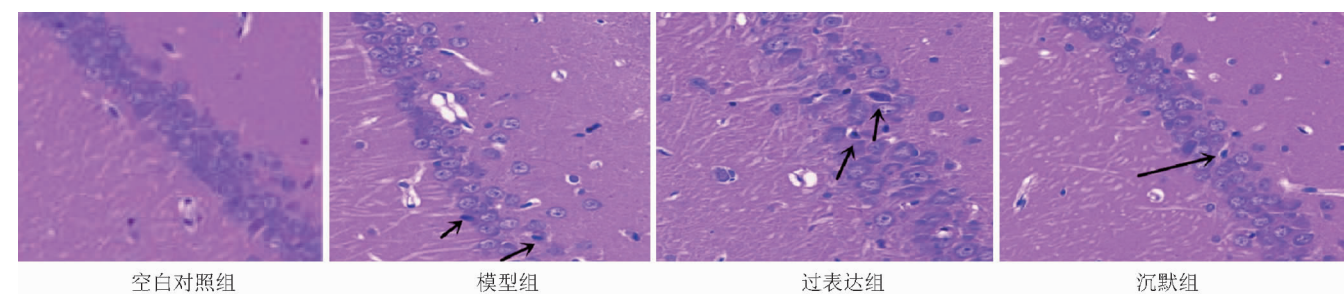


图 1 4 组大鼠海马神经元病理变化情况 (HE 染色, ×400)

2.2 4 组大鼠海马神经细胞凋亡率比较 模型组不同时间点大鼠海马神经细胞凋亡率高于空白对照组 ( $P < 0.01$ ), 且过表达组 > 模型组 > 沉默组 ( $P < 0.01$ ), 见表 1。

表 1 4 组大鼠海马神经细胞凋亡率比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组 别	<i>n</i>	24 h	48 h	72 h
空白对照组	7	10.23 ± 1.25	10.16 ± 1.23	10.24 ± 1.03
模型组	7	24.56 ± 1.01	25.46 ± 2.49	26.57 ± 3.52
过表达组	7	33.16 ± 2.46	41.15 ± 6.79	58.67 ± 4.28
沉默组	7	18.57 ± 1.42	14.68 ± 2.16	12.39 ± 1.26
<i>F</i> 值		17.500	7.217	5.243
<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001

2.3 4 组大鼠海马神经细胞增殖率比较 模型组不同时间点大鼠海马神经细胞增殖率低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 且过表达组 < 模型组 < 沉默组 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 4 组大鼠海马神经细胞增殖率比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组 别	<i>n</i>	24 h	48 h	72 h
空白对照组	7	59.68 ± 3.14	60.96 ± 3.16	60.35 ± 1.20
模型组	7	24.58 ± 1.62	23.46 ± 2.52	22.32 ± 1.43
过表达组	7	20.14 ± 0.58	16.48 ± 0.56	10.12 ± 0.32
沉默组	7	28.46 ± 1.12	35.46 ± 2.89	57.67 ± 1.45
<i>F</i> 值		37.165	23.632	3.651
<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001

2.4 4 组大鼠海马组织中 MAPK 通路蛋白表达量比

较 模型组大鼠海马组织 p-p38、p-JNK、p-Erk、Bax、Bim 蛋白高于空白对照组, Bcl-2 蛋白低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), p-p38、p-JNK、p-Erk、Bax、Bim 蛋白表达比较, 过表达组 > 模型组 > 沉默组, Bcl-2 蛋白过表达组 < 模型组 < 沉默组 ( $P < 0.01$ ), 见表 3。

### 3 讨 论

癫痫的发生与中枢神经系统感染、遗传、脑卒中等因素相关<sup>[1]</sup>。但目前临床上对于影响癫痫大鼠海马神经细胞生物学行为的机制尚不完全明确, 随着对癫痫发病机制的研究不断深入, 目前认为癫痫的发生与多种基因有关, 如 KCNT1 基因、PRRT2 基因、DEPDC5 基因等。在本研究中通过沉默 Rbfox1 基因, 分析沉默基因对癫痫模型大鼠海马神经细胞生物学行为的影响, 为临床研究癫痫提供新方向。

Rbfox1 基因大小为 1 694 246 bp, 主要位于 16p13.3, 可影响神经元兴奋, 因此临床研究认为<sup>[5-6]</sup>, Rbfox1 基因可能与癫痫的发生相关。选择性剪接以不同的结合方式与外显子连接, 可影响神经发育, 改善脑部功能, 参与多种神经系统性疾病的发生。研究认为<sup>[7-9]</sup>, Rbfox1 基因可通过与外显子两翼的内含子中 (U)GCAUG 序列选择性结合, 影响神经系统选择性剪接作用。目前研究发现<sup>[10-12]</sup>, Rbfox1 基因所调控的靶基因包括上皮特异性纤维母细胞生长因子、纤连蛋白基因、GABRB3、GAD2、GABA-A 受体  $\gamma 2$  的基因等, 其所编码的蛋白质可与微管结合蛋白、激动蛋白等参与细胞构架、迁移、变形过程。Lal 等<sup>[13]</sup> 研究认为,

表 3 4 组大鼠海马组织中 MAPK 通路蛋白表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	<i>n</i>	p-p38	p-JNK	p-Erk	Bax	Bcl-2	Bim
空白对照组	7	0.13 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.49 ± 0.05	0.10 ± 0.02	1.12 ± 0.06	0.09 ± 0.02
模型组	7	0.43 ± 0.06	0.53 ± 0.10	0.96 ± 0.10	0.35 ± 0.06	0.65 ± 0.05	0.58 ± 0.03
过表达组	7	0.68 ± 0.09	0.86 ± 0.02	1.25 ± 0.09	0.76 ± 0.10	0.30 ± 0.02	0.83 ± 0.08
沉默组	7	0.32 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.62 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.99 ± 0.09	0.20 ± 0.05
<i>F</i> 值		53.319	19.523	9.580	3.550	4.770	8.107
<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

Rbfox1 基因外显子缺失会增加特发性全身性癫痫的风险。临床研究发现<sup>[14]</sup>, Rbfox1 基因参与顽固性癫痫的发生, 且经动物实验发现, Rbfox1 基因在神经元中呈上升趋势。相关研究表明<sup>[15]</sup>, 当癫痫发生后可诱发神经元死亡, 表现为神经细胞凋亡, 根据神经细胞凋亡现象可间接反映癫痫的疾病发作程度。本研究构建 Rbfox1 基因过表达和沉默慢病毒载体, 检测 Rbfox1 基因沉默和过表达对癫痫大鼠海马神经细胞增殖、凋亡的影响, 结果显示, 与 Rbfox1 基因过表达相比, Rbfox1 基因沉默的大鼠海马神经细胞凋亡率较低, 海马神经细胞增殖率较高, 且基因沉默的大鼠海马神经细胞凋亡率与增殖率在 72 h 时与空白对照组差异无统计学意义, 此结果提示 Rbfox1 基因在癫痫大鼠中高表达, 可通过沉默其表达修复受损神经细胞, 抑制海马神经细胞凋亡, 进而改善癫痫症状。

MAPK 信号通路参与神经系统疾病的发生发展, 临床可通过抑制 MAPK 通路蛋白异常表达而减轻神经细胞损伤, MAPK 信号通路起主要调控的信号转导路径包括 p38 通路和 JNK 通路, 参与细胞生物学行为。聂荔等<sup>[16]</sup>探究沉默 MAPK 通路对大鼠癫痫持续状态引起海马神经元损伤的保护作用, 其研究证实, 抑制 MAPK 通路可修复海马神经元损伤, 抑制海马神经元凋亡。本研究发现, 沉默 Rbfox1 基因可利于癫痫大鼠海马神经细胞增殖, 抑制凋亡, 为进一步明确沉默 Rbfox1 基因影响海马神经细胞的机制, 采用 Western-blot 法检测 4 组大鼠海马组织中 MAPK 通路蛋白表达量, 结果显示, 沉默 Rbfox1 基因的大鼠海马组织中 MAPK 通路蛋白表达量显著降低, 且与空白对照组比较差异无统计学意义, 此结果提示, 沉默 Rbfox1 可能通过作用于 MAPK 通路发挥其调控海马神经细胞生物学行为的目的。但目前并无沉默 Rbfox1 基因与 MAPK 通路调控癫痫大鼠海马神经系统生物学行为的研究, 因此本研究结果还需后续实验进一步证实。

综上所述, 沉默 Rbfox1 基因可抑制海马神经细胞凋亡, 促进海马神经细胞增殖, 其作用机制可能与调控 MAPK 通路相关。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

冯磊:设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 解利平:实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 张海平:提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 束坤:进行统计学分析

**参考文献**

[1] 齐霜, 郑舒畅, 余建东, 等. 抗癫痫药物加重癫痫发作的现状 & 机制研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(7): 745-749. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2019.07.019.

- [2] 张婷, 岳伟. 癫痫患者认知功能障碍影响因素的研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(7): 674-677. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2019.07.005.
- [3] Lal D, Pernhorst K, Klein KM, et al. Extending the phenotypic spectrum of RBFOX1 deletions: Sporadic focal epilepsy[J]. Epilepsia, 2015, 56(9): e129-133. DOI:10.1111/epi.13076.
- [4] 陈姝璇, 王丽琨, 伍国锋. 应用 2 种方法建立大鼠癫痫模型对比研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(1): 29-32. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2017.01.009.
- [5] 邓家营, 赵快乐. 选择性剪接基因 RBFOX1 在食管鳞癌中的研究[J]. 中国癌症杂志, 2015, 25(6): 400-407. DOI:10.3969/j.issn.1007-3969.2015.06.001.
- [6] Wamsley B, Jaglin XH, Favuzzi E, et al. Rbfox1 mediates cell-type-specific splicing in cortical interneurons[J]. Neuron, 2018, 100(4): 846-859, e7. DOI:10.1016/j.neuron.2018.09.026.
- [7] Faisal M, Büsche G, Schlue J, et al. RNA-binding protein (RBFOX1) inherited polymorphism rs8051518 is not associated with splice factor mutations in myelodysplastic syndromes and myeloproliferative neoplasms[J]. Ann Hematol, 2019, 98(5): 1297-1299. DOI:10.1007/s00277-018-3478-3.
- [8] Gu L, Bok D, Yu F, et al. Downregulation of splicing regulator RBFOX1 compromises visual depth perception[J]. PLoS One, 2018, 13(7): e0200417. DOI:10.1007/s00277-018-3478-3.
- [9] Lee JA, Damianov A, Lin CH, et al. Cytoplasmic rbfox1 regulates the expression of synaptic and autism-related genes[J]. Neuron, 2016, 89(1): 113-128. DOI:10.1016/j.neuron.2015.11.025.
- [10] Vuong CK, Wei W, Lee JA, et al. Rbfox1 regulates synaptic transmission through the inhibitory neuron-specific vSNARE vamp1[J]. Neuron, 2018, 98(1): 127-141, e7. DOI:10.1016/j.neuron.2018.03.008.
- [11] Sellier C, Cerro-Herreros E, Blatter M, et al. rbFOX1/MBNL1 competition for CCUG RNA repeats binding contributes to myotonic dystrophy type 1/type 2 differences[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2009. DOI:10.1038/s41467-018-04370-x.
- [12] Wen M, Yan Y, Yan N, et al. Upregulation of RBFOX1 in the malformed cortex of patients with intractable epilepsy and in cultured rat neurons[J]. Int J Mol Med, 2015, 35(3): 597-606. DOI:10.3892/ijmm.2015.2061.
- [13] Lal D, Trucks H, Moller RS, et al. Rare exonic deletions of the RBFOX1 gene increase risk of idiopathic generalized epilepsy[J]. Epilepsia, 2013, 54(2): 265-271. DOI:10.1111/epi.12084.
- [14] Tomassoni-Ardori F, Fulgenzi G, Becker J, et al. Rbfox1 up-regulation impairs BDNF-dependent hippocampal LTP by dysregulating TrkB isoform expression levels[J]. Elife, 2019, 8: e49673. DOI:10.7554/eLife.49673.
- [15] 金泽, 曹晓婷, 王春英, 等. 穴位埋线对癫痫大鼠海马神经细胞凋亡及氨基酸的影响[J]. 上海针灸杂志, 2016, 35(2): 218-222. DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2016.02.0218.
- [16] 聂荔, 慕丽娟, 王浩, 等. 抑制 MAPK 通路对大鼠癫痫持续状态引起海马神经元损伤的保护作用[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(11): 1405-1407, 1410. DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.11.002.

(收稿日期: 2019-11-01)



# 麝香乌龙丸对 S1P 诱导血管内皮细胞通透性的调控作用

马炜秀, 王志文, 袁强, 张爱国, 曹颖

基金项目: 河北省自然科学基金项目(H2017209157); 2015 年政府资助省级临床医学优秀人才基金项目(361036); 华北理工大学博士科研启动项目(35755599)

作者单位: 063210 河北唐山, 华北理工大学中医学院(马炜秀、曹颖); 063000 河北唐山, 华北理工大学附属医院中西医结合科(王志文、袁强、张爱国)

通信作者: 曹颖, E-mail: couny02@163.com

**【摘要】目的** 通过 1-磷酸鞘氨醇(S1P)诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC), 观察麝香乌龙丸提取物对 HUVEC 通透性的调控作用, 及其保护血管屏障、减轻类风湿性关节炎(RA)滑膜炎性反应的可能机制。**方法** 2018 年 8 月—2019 年 11 月于华北理工大学中医学院实验室进行实验。以 S1P 10  $\mu\text{mol/L}$  诱导 HUVEC 细胞建立血管内皮高通透性模型。将 HUVEC 分为对照组、S1P 诱导组及麝香乌龙丸提取物组(药物组), 后 2 组分别给予 S1P 10  $\mu\text{mol/L}$ 、S1P 10  $\mu\text{mol/L}$  + 麝香乌龙丸提取物干预。比较 3 组 HUVEC 通透性变化及连接蛋白的表达。**结果** S1P 诱导组血管内皮通透性较对照组增高( $t/P=9.180/0.001$ ), 药物组血管内皮通透性较 S1P 诱导组降低( $t/P=4.206/0.014$ )。与对照组比较, S1P 诱导组 ZO-1, claudin-5, occludin 蛋白表达减少( $t/P=7.393/0.002, 15.437/0.000, 15.808/0.000$ ), 与 S1P 诱导组比较, 药物组 3 种蛋白表达均增加( $t/P=6.586/0.003, 3.554/0.024, 2.971/0.041$ )。**结论** 麝香乌龙丸提取物可以通过上调 ZO-1, claudin-5 及 occludin 表达, 对高浓度 S1P 诱导的 HUVEC 通透性增加起到明显抑制作用。

**【关键词】** 麝香乌龙丸; 类风湿性关节炎; 人脐静脉内皮细胞; 血管内皮细胞通透性

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.019

**Regulation of Shexiangwulong pill on permeability of vascular endothelial cells induced by S1P** Ma Weixiu\*, Wang Zhiwen, Yuan Qiang, Zhang Aiguo, Cao Ying. \* North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China  
Corresponding author: Cao Ying, E-mail: couny02@163.com

**Funding program:** Hebei Provincial Natural Science Foundation Project (H2017209157); Government-Funded Provincial Clinical Medicine Excellent Talents Fund Project (361036); North China University of Science and Technology Doctoral Research Start Project (35755599)

**【Abstract】Objective** By inducing human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) with sphingosine 1 phosphate (S1P), the regulation of Shexiangwulong Pill extract on HUVEC permeability was observed, and the possible mechanism of protecting blood vessel barrier and alleviating synovitis reaction of rheumatoid arthritis (RA) was discussed. **Method** From August 2018 to November 2019, the experiment was conducted in the laboratory of College of traditional Chinese medicine, North China University of technology. HUVEC cells were induced by S1P 10  $\mu\text{mol/L}$  to establish a high permeability model of vascular endothelium. HUVEC was divided into control group, S1P induction group and Shexiangwulong Pill extract group (drug group). The latter two groups were given S1P 10  $\mu\text{mol/L}$ , S1P 10  $\mu\text{mol/L}$  + Shexiangwulong Pill extract intervention respectively. The permeability of HUVEC and the expression of connexin in three groups were compared. **Result** Compared with the control group, the vascular endothelial permeability in S1P group was higher ( $t/P=9.180/0.001$ ), while that in drug group was lower ( $t/P=4.206/0.014$ ). Compared with the control group, the expression of Zo-1, claudin-5 and occludin in the S1P induced group decreased ( $t/P=7.393/0.002, 15.437/0.000, 15.808/0.000$ ). Compared with the S1P induced group, the expression of three proteins in the drug group increased ( $t/P=6.586/0.003, 3.554/0.024, 2.971/0.041$ ). **Conclusion** The extract of Shexiangwulong Pill can significantly inhibit the increase of HUVEC permeability induced by high concentration of S1P by up regulating the expression of Zo-1, claudin-5 and occludin.

**【Key words】** Shexiangwulong pill; Rheumatoid arthritis; Human umbilical vein endothelial cells; Vascular endothelial cell permeability

类风湿性关节炎(RA)是一种以滑膜病变为主的自身免疫疾病,表现为滑膜组织增生及血管翳生成,继而侵蚀破坏关节<sup>[1]</sup>。研究表明,RA患者滑膜液中1-磷酸鞘氨醇(S1P)浓度远超过生理浓度<sup>[2]</sup>。高浓度S1P与血管内皮细胞表面的受体结合,减弱了内皮细胞间的连接,增加了血管通透性,损害了血管屏障功能<sup>[3]</sup>。RA新生血管内皮细胞排列不整齐,血管通透性增加,炎性细胞浸润增多,不仅加重滑膜炎性反应,同时侵蚀软骨。由此可见,血管内皮高通透性与RA的持续炎性反应和软骨损伤有着密不可分的关系,增强血管内皮细胞屏障功能,有利于减弱滑膜组织的炎性反应。本研究通过S1P诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC),建立血管内皮高通透性模型,观察麝香乌龙丸对HUVEC通透性及连接蛋白的影响,以及其保护血管屏障减轻RA滑膜炎性反应的可能机制,报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** (1)细胞株:人脐静脉内皮细胞(HUVEC)购于上海中乔新舟生物科技有限公司。(2)药物与试剂:麝香乌龙丸(成分:人工麝香、全蝎、地龙、制川乌、黑豆)委托颈复康药业集团有限公司生产,每粒(100±5)mg。用水提法进行药物粗提物的提取:将高速粉碎后的麝香乌龙丸,按一定比例加入蒸馏水,37℃搅拌浸泡过夜,37℃下超声80 Hz提取30 min,离心取上清液冷冻干燥得麝香乌龙丸提取物,无菌过滤后于-20℃保存备用。S1P试剂(英国Abcam公司),RPMI-1640培养基(美国Gibco公司),胎牛血清(德国Cegrogen公司),Trypsin-EDTA胰蛋白酶消化液(美国Gibco公司);CCK8试剂盒(日本同仁化学研究所),FITC-BSA(大连美仑生物技术有限公司),荧光二抗Alexa Fluor 488标记的山羊抗兔IgG(英国Abcam公司),β-肌动蛋白(β-actin)抗体(北京博奥森生物技术有限公司),Claudin-5兔多克隆抗体(英国Abcam公司),ZO-1兔多克隆抗体(美国Gene Tex公司),Occludin兔多克隆抗体(英国Abcam公司)。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养:**2018年8月—2019年11月于华北理工大学中医学院实验室进行实验。HUVEC用含10% FBS的RPMI-1640培养基培养,1~2 d换液1次,每2~3 d传代1次,传代培养至对数生长期备用。

**1.2.2 实验分组:**实验分为3组。(1)对照组:HU-

VEC用含10% FBS的RPMI-1640培养基于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养24 h;(2)S1P诱导组:含10% FBS的RPMI-1640培养基培养HUVEC 24 h后,去掉培养基,PBS冲洗2次,用含S1P 10 μmol/L的RPMI-1640培养基干预30 min;(3)药物组:麝香乌龙丸160 μg/ml提取物、10% FBS的RPMI-1640培养基培养HUVEC 24 h,去掉原培养基,PBS冲洗2次,用含S1P 10 μmol/L的RPMI-1640培养基干预30 min。

## 1.3 观测指标与方法

**1.3.1 CCK8实验检测 HUVEC增殖抑制率:**将HUVEC接种于96孔培养板,当细胞长至80%左右时,用无血清培养基同步24 h。分别加入RPMI-1640培养基及浓度为80、160、320 μg/ml麝香乌龙丸提取物的RPMI-1640培养基,培养24 h,去除原培养基。每孔加入CCK-8 10 μl、RPMI-1640培养基90 μl,继续培养2 h,将酶标仪设置于450 nm波长处,检测OD值。细胞抑制率(%)=[(对照组OD值-实验组OD值)/(对照组OD值-空白组OD值)]×100%,其中,对照组为含HUVEC的培养基+CCK8,实验组为含HUVEC的培养基+CCK8+麝香乌龙丸提取物,空白组为不含HUVEC的培养基+CCK8,实验重复3次,取平均值。

**1.3.2 Transwell小室测定 HUVEC细胞相对通透性:**Transwell小室的上室加入HUVEC悬液,每孔为1×10<sup>5</sup>个/cm<sup>2</sup>,5% CO<sub>2</sub>,37℃孵育箱培养,待细胞融合成单层后,按上述实验分组处理各组细胞。上室中加入浓度为0.25 g/L的FITC-BSA 100 μl,下室中加入RPMI-1640无血清培养基600 μl,继续培养1 h。在每个Transwell下室取100 μl培养基置于新96孔板中,荧光酶标仪测定荧光强度。通过以下公式计算滤过率,滤过率(%)=(C<sub>下室</sub>×V<sub>下室</sub>/C<sub>上室</sub>×V<sub>上室</sub>)×100%。C为收集液体的FITC-BSA质量浓度,V为液体的体积。实验重复3次,取平均值。

**1.3.3 连接蛋白免疫荧光染色观察:**将HUVEC接种于盖玻片上,待细胞融合成单层,换成空白RPMI-1640培养基培养24 h,待HUVEC细胞同步化以后,分组处理HUVEC细胞。干预完成后,PBS冲洗3次,4%多聚甲醛固定30 min,PBS洗3次,1% BSA封闭30 min,分别加入一抗ZO-1(1:100)、occludin(1:200)、claudin-5(1:200),4℃孵育过夜。PBS洗3次,加入荧光二抗(1:100),37℃避光孵育2 h,PBS洗3次,加入DAPI后室温避光孵育10 min,PBS洗3次,滴入防淬



灭溶液,于荧光显微镜下进行观察拍照。

**1.3.4 蛋白免疫印迹法 (Western-blot) 检测连接蛋白:**取生长状态良好的 HUVEC 细胞,按上述实验分组处理内皮细胞,用 PBS 洗涤后加入 RIPA 裂解液,混匀,冰上裂解 30 min 后,4℃ 离心收集上清液。BCA 试剂盒测蛋白浓度,常规 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜、封闭 2 h,一抗 ZO-1 (1:500)、occludin (1:1 000)、claudin-5 (1:1 000),4℃ 孵育过夜,二抗 (1:4 000) 室温孵育 1 h,化学发光法 (ECL) 显色。以  $\beta$ -actin 为内参,进行细胞间蛋白表达的差异比较,并以 Image J 软件对条带灰度值进行分析。实验重复 3 次,取平均值。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 统计学软件处理实验数据。正态分布计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,2 组间比较采用  $t$  检验,多组数据比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组 HUVEC 细胞增殖抑制率比较** 麝香乌龙丸提取物 80、160、320  $\mu\text{g/ml}$  抑制率分别为  $(1.114 \pm 1.483)\%$ 、 $(8.694 \pm 0.129)\%$ 、 $(14.839 \pm 0.563)\%$ 。不同浓度药物组与对照组比较,80  $\mu\text{g/ml}$  时差异无统计学意义 ( $t = 1.301, P = 0.263$ ),160、320  $\mu\text{g/ml}$  时比较差异均有统计学意义 ( $t = 116.852、45.636, P$  均 =

0.000),160  $\mu\text{g/ml}$  与 320  $\mu\text{g/ml}$  比较差异亦有统计学意义 ( $t = 18.422, P = 0.002$ )。因此,本实验选取麝香乌龙丸 160  $\mu\text{g/ml}$  提取物作为后续实验的干预浓度。

**2.2 3 组 HUVEC 细胞通透性比较** 3 组 FITC-BSA 滤过率分别为  $(10.832 \pm 0.837)\%$ 、 $(21.002 \pm 1.727)\%$ 、 $(16.671 \pm 0.452)\%$ 。与对照组比较,S1P 诱导组细胞 FITC-BSA 滤过率升高 ( $t = 9.180, P = 0.001$ )。与 S1P 诱导组比较,药物组 FITC-BSA 滤过率降低 ( $t = 4.206, P = 0.014$ )。

**2.3 3 组免疫荧光检测细胞连接蛋白表达比较** 荧光显微镜下观察,对照组 HUVEC 细胞的 ZO-1、claudin-5 及 occludin 蛋白主要分布于细胞边缘,排列良好,荧光强;S1P 诱导组 3 种蛋白表达减少,甚至缺失;药物组 3 种蛋白表达较 S1P 诱导组明显增加,见图 1、2、3。

**2.4 3 组 Western-blot 检测细胞连接蛋白表达比较** 与对照组比较,S1P 诱导组细胞 ZO-1、claudin-5 及 occludin 蛋白表达明显减少 ( $t/P = 7.393/0.002、15.437/0.000、15.808/0.000$ ),而药物组较 S1P 诱导组 3 种蛋白表达上调,差异均有统计学意义 ( $t/P = 6.586/0.003、3.554/0.024、2.971/0.041$ ),见图 4、表 1。

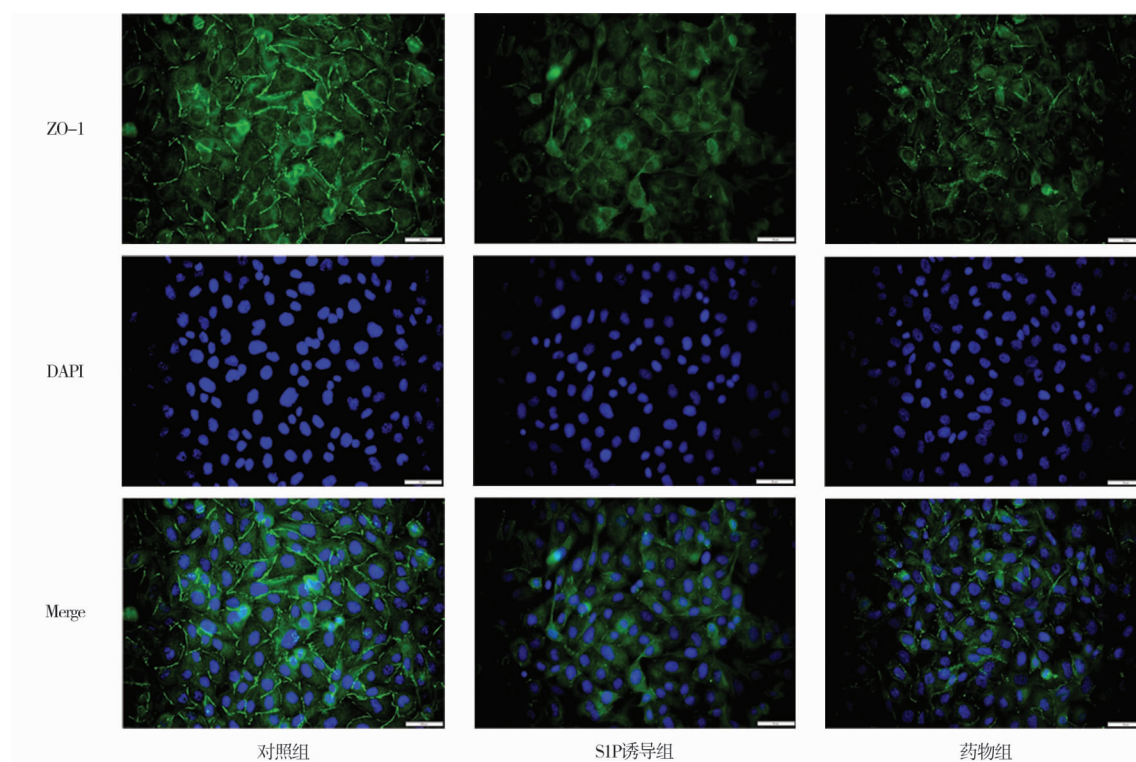


图 1 3 组细胞 ZO-1 的免疫荧光表达比较 (免疫荧光染色,  $\times 400$ )

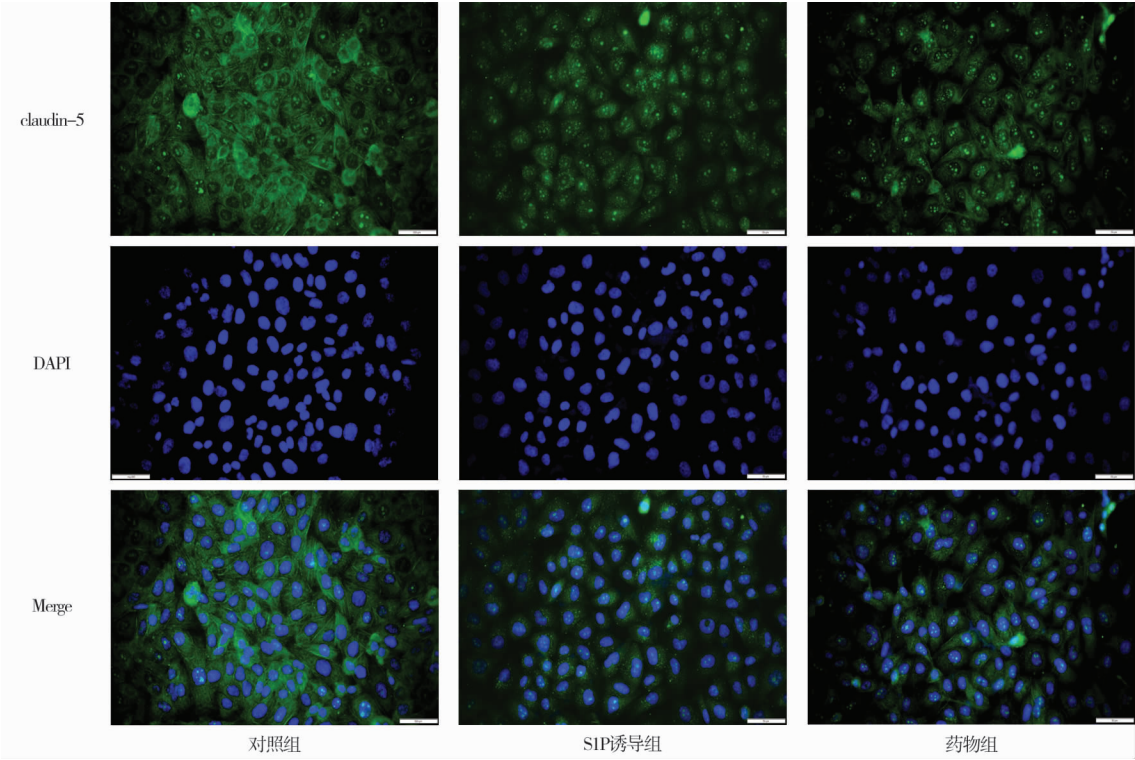


图 2 3 组细胞 claudin-5 的免疫荧光表达比较(免疫荧光染色, ×400)

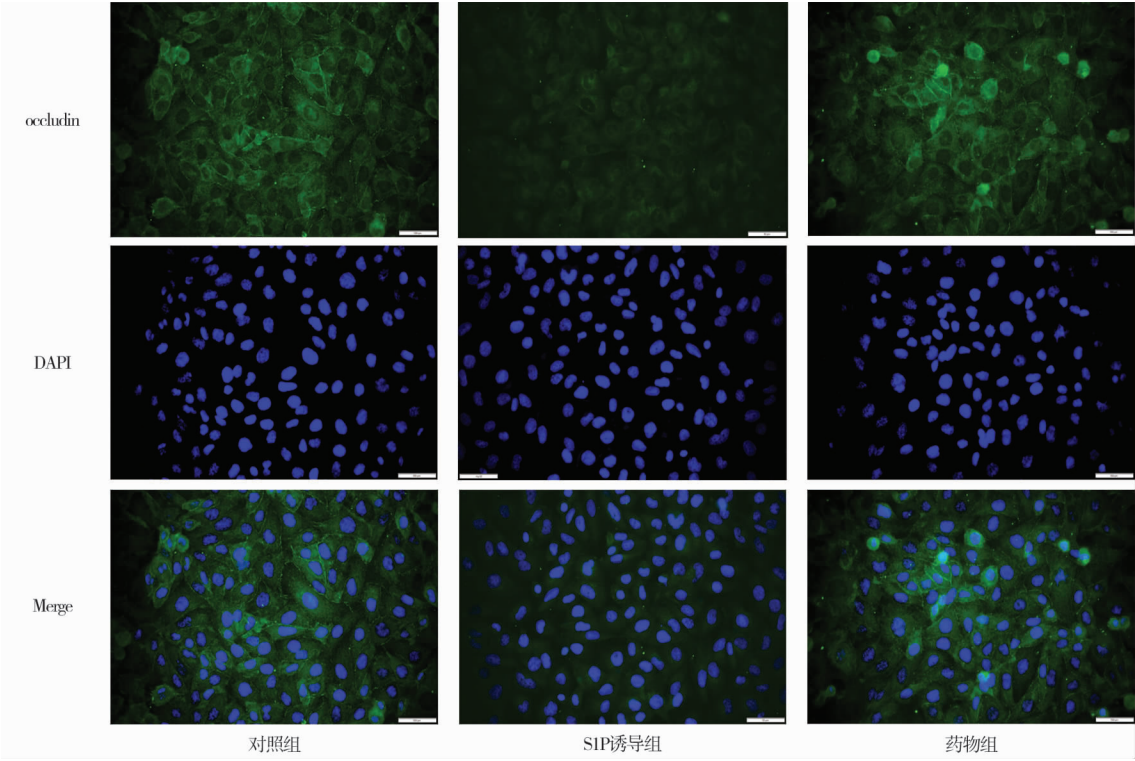


图 3 3 组细胞 occludin 的免疫荧光表达比较(免疫荧光染色, ×400)

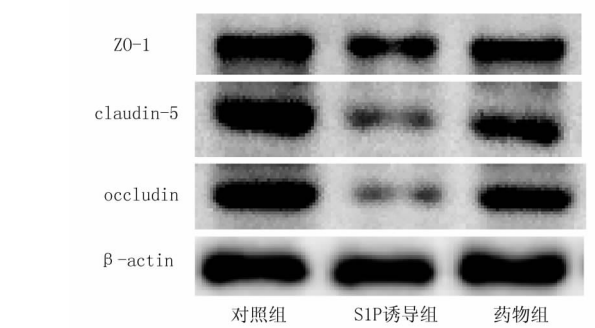


图 4 3 组细胞连接蛋白表达比较

表 1 3 组 HUVEC 细胞连接蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	ZO-1	claudin-5	occludin
对照组	0.459 ± 0.035	0.482 ± 0.036	0.502 ± 0.037
S1P 诱导组	0.298 ± 0.013	0.129 ± 0.016	0.082 ± 0.028
药物组	0.355 ± 0.008	0.203 ± 0.032	0.236 ± 0.085
F/P 值	40.296/0.000	119.145/0.000	43.068/0.000

### 3 讨 论

RA 是一种全身炎性反应性自身免疫疾病。表现为滑膜细胞增生,伴随血管新生及炎性反应浸润。滑膜病变的初期病理特征为血管扩张,扩张的血管提供充足的氧气及营养支持,并促进炎性反应浸润,导致关节滑膜结构异常<sup>[4-6]</sup>。同时滑膜组织中增生的血管结构发生改变,内皮细胞排列不规则,增加血管通透性,炎细胞浸润,加重滑膜炎性反应。RA 的促炎状态与内皮屏障功能有关,Atehortúa 等<sup>[7]</sup>提出,炎性反应主要影响中小型血管(微血管系统),内皮屏障功能异常是 RA 发病机制的重要组成部分,在炎性反应中,血管活性物质和促炎介质会引起血管通透性增加和血管损伤。由此可见,血管屏障功能异常、通透性增加在 RA 发展过程中起到了重要作用。

内皮间的紧密连接和连接蛋白的黏附特性决定细胞连接的通透性。其中紧密连接为组织结构完整性起到重要作用。紧密连接是由膜相关蛋白和不同类型的跨膜蛋白组成的,如 ZO-1、claudin-5 及 occludin 蛋白,这些蛋白将细胞膜与细胞骨架相连接,能够调节血管内皮屏障功能<sup>[8-9]</sup>。ZO-1 在调控内皮细胞屏障功能和形成中发挥重要作用,是调控细胞连接形成的重要组成部分,并且介导肌动蛋白细胞骨架的重组以形成功能性内皮连接<sup>[10]</sup>。occludin 和 claudins 做为紧密连接蛋白复合物,是跨膜蛋白的关键组成部分,参与了内皮屏障功能调控<sup>[11]</sup>。claudin-5 是 claudins 家族的蛋白质成员,参与内皮紧密连接的必需膜蛋白,是内皮细胞功能障碍和紧密连接活性的指标<sup>[12]</sup>,其表达过少或者

重新分布,与内皮细胞的高通透性有关。由此可见,细胞连接的稳定是确保血管内皮屏障功能正常的基础。

有研究发现,RA 患者滑膜炎性因子持续浸润与 S1P 水平升高有着密不可分的关系<sup>[2]</sup>。S1P 是一种广泛存在于真核细胞中的鞘磷脂信号分子,主要来源于红细胞及血管内皮细胞。S1P 与 5 种 G 蛋白(S1P<sub>1-5</sub>受体)结合,激活多种细胞内信号通路,导致不同的生物学效应,包括调节细胞屏障、细胞迁移、炎性反应因子和黏附分子的表达、血管再生等,是滑膜微血管结构异常的重要原因所在。已有研究表明,高浓度的 S1P 通过激活 S1PR2,进而激活 RhoA/RhoA 通路,引起 F-actin 蛋白表达紊乱,并且使 ZO-1 发生解体,从而导致细胞间连接破坏,内皮屏障功能障碍<sup>[3]</sup>。由此可以看出,RA 滑膜液中高浓度 S1P 可能是导致滑膜微血管内皮细胞连接减弱和血管内皮通透性增高的原因之一。本研究也证实高浓度 S1P 能诱导 HUVEC 细胞的高通透性,与上述文献的研究结果一致,并进一步证实高浓度 S1P 处理后的 HUVEC 细胞间连接蛋白明显减少,说明 HUVEC 通透性的增高与 ZO-1、claudin-5 及 occludin 3 种蛋白表达的减少有关。

麝香乌龙丸用于治疗 RA 有多年的临床实践,且临床疗效确切<sup>[13]</sup>。以往研究表明,麝香乌龙丸可降低 RA 患者体内 IL-18、FKN/CX3CL1 表达<sup>[14]</sup>。动物实验表明,麝香乌龙丸可改善佐剂性关节炎(RA)大鼠滑膜炎性反应发生及血管翳产生,可能与减少 RA 大鼠滑膜 HIF-1α、MMP-2 的表达水平有关<sup>[15]</sup>。麝香乌龙丸能够抑制滑膜组织增生,减少炎性细胞浸润,减轻软骨和骨的损坏,并且能通过上调 VE-cadherin 和 ZO-1 表达改善胶原诱导性关节炎(CIA)小鼠血管新生<sup>[16]</sup>。由此可见,麝香乌龙丸治疗 RA 的作用可能与麝香乌龙丸对血管内皮屏障的保护有关。因此本研究以 HUVEC 细胞连接为切入点,模拟 RA 关节中血管内皮细胞高浓度 S1P 的生存环境,探讨麝香乌龙丸对血管内皮屏障功能的保护作用。结果表明,经麝香乌龙丸预处理后,暴露于高浓度 S1P 下的 HUVEC 通透性明显降低。说明麝香乌龙丸对于高浓度 S1P 诱导的 HUVEC 通透性增强具有很好的保护作用,而这一作用主要与上调 HUVEC 中 ZO-1、claudin-5 及 occludin 蛋白表达有关。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

马炜秀:实施研究过程,统计学分析,论文撰写;王志文:课题设计,论文审核;袁强、张爱国:课题设计,统计分析及文献整理;曹颖:课题设计,论文修改及审核



## 参考文献

- [1] 田新平, 曾小峰. 依托指南, 规范类风湿性关节炎的诊治, 贯彻达标治疗[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(4): 240-241. DOI: 10.3760/cma.j. issn. 0578-1426. 2018. 04. 003.
- [2] Choi HS, Kim KH, Jin S, et al. Decreased expression of sphingosine-1-phosphate receptor 1 in the blood leukocyte of rheumatoid arthritis patients[J]. Immune Netw, 2018, 18(5): e39. DOI: 10.4110/in.2018.18.e39.
- [3] Li Q, Chen B, Zeng C, et al. Differential activation of receptors and signal pathways upon stimulation by different doses of sphingosine-1-phosphate in endothelial cells[J]. Experimental Physiology, 2015, 100(1): 95-107. DOI: 10.1113/expphysiol.2014.082149.
- [4] Yamaguchi K, Sudo H, Imai K. Vascular endothelial growth factor signaling in VE-cadherin expression and tube-like formation by rheumatoid arthritic synovial fibroblast-like cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 508(2): 405-409. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.11.116.
- [5] Gavrilu BI, Ciofu C, Stoica V. Biomarkers in Rheumatoid Arthritis, what is new [J]. Journal of Medicine & Life, 2016, 9(2): 144-148.
- [6] Chen Z, Wang HQ, Xia Y, et al. Therapeutic potential of mesenchymal cell-derived miRNA-150-5p-expressing exosomes in rheumatoid arthritis mediated by the modulation of MMP14 and VEGF[J]. Journal of Immunology, 2018, 201(8): 2472-2482. DOI: 10.4049/jimmunol.1800304.
- [7] Atehortúa L, Rojas M, Vásquez GM, et al. Endothelial alterations in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: Potential effect of monocyte interaction[J]. Mediators of Inflammation, 2017, 2017: 9680729. DOI: 10.1155/2017/9680729.
- [8] Balda MS, Matter K. Tight junctions as regulators of tissue remodeling[J]. Current Opinion in Cell Biology, 2016, 42: 94-101. DOI: 10.1016/j.ceb.2016.05.006.
- [9] Radeva MY, Waschke J. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier[J]. Acta Physiologica, 2017, 222(1): e12860. DOI: 10.1111/apha.12860.
- [10] Tornavaca O, Chia M, Dufton N, et al. ZO-1 controls endothelial adherens junctions, cell-cell tension, angiogenesis, and barrier formation[J]. The Journal of Cell Biology, 2015, 208(6): 821-838. DOI: 10.1083/jcb.201404140.
- [11] Volksdorf T, Heilmann J, Eming SA, et al. Tight junction proteins claudin-1 and occludin are important for cutaneous wound healing [J]. The American Journal of Pathology, 2017, 187(6): 1301-1312. DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.02.006.
- [12] Li TF, Wu HY, Wang YR, et al. Molecular signaling underlying bulleyaconitine A (BAA)-induced microglial expression of prodynorphin[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 1-17. DOI: 10.1038/srep45056.
- [13] 王志文, 王松松, 崔建美, 等. 麝香乌龙丸对 RA 患者外周血 miR-146a、miR-130 及 miR-223 表达水平的影响[J]. 中成药, 2017, 39(11): 2255-2258. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-1528. 2017. 11. 006.
- [14] 王志文, 任晨晖, 袁强, 等. 麝香乌龙丸治疗寒湿痹阻型类风湿性关节炎的临床疗效[J]. 中成药, 2016, 38(9): 1910-1914. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-1528. 2016. 09. 007.
- [15] 孟凡双, 王志文, 仲伟静, 等. 麝香乌龙丸对大鼠佐剂性关节炎滑膜病变及 HIF-1 $\alpha$ 、MMP-2 表达水平的影响[J]. 河南中医, 2016, 36(2): 224-226. DOI: 10.16367/j. issn. 1003-5028. 2016. 02. 0100.
- [16] Zhang ZZ, Cao Y, Yuan Q, et al. Shexiang-Wulong Pills attenuate rheumatoid arthritis by alleviating inflammation in a mouse model of collagen-induced arthritis[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019, 2019: 1-9. DOI: 10.1155/2019/5308405.

(收稿日期: 2020-02-03)

(上接 831 页)

- [11] 江泽华, 张学利, 朱如森, 等. 颈前路间盘切除植骨融合钛板内固定和颈后路单开门椎管成形治疗多节段脊髓型颈椎病: 重建后的稳定性[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(27): 4306-4311. DOI: 10.3969/j. issn. 2095-4344. 2017. 27. 008.
- [12] Zhang Y, Shan JL, Liu XM, et al. Comparison of the dynesys dynamic stabilization system and posterior lumbar interbody fusion for lumbar degenerative disease [J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0148071. DOI: 10.1371/journal.pone.0148071.
- [13] 桂吉柳, 吴天亮, 林志祥, 等. 三维 CT 导航辅助下经椎间孔椎体间融合术治疗腰椎间盘突出症的临床疗效及安全性[J]. 山东医药, 2017, 57(17): 85-87. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 17. 030.
- [14] 张宏其, 王龙杰, 唐明星, 等. 单纯后路、单纯前路或前后联合入路治疗成人胸椎结核的中期疗效分析[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(11): 651-661. DOI: 10.3760/cma.j. issn. 0253-2352. 2016. 11. 001.
- [15] Cai Y, Luo J, Huang J, et al. Interspinous spacers versus posterior lumbar interbody fusion for degenerative lumbar spinal diseases: A meta-analysis of prospective studies[J]. International Orthopaedics, 2016, 40(6): 1135-1142. DOI: 10.1007/s00264-016-3139-x.

(收稿日期: 2020-04-07)

# 隐源性多灶性溃疡性狭窄性小肠炎 1 例并文献复习

热依汉古丽·艾则孜, 叶梅, 江从庆, 周娟, 肖书渊, 梅列军, 胡安妮, 李瑾

作者单位: 430071 武汉大学医学部(热依汉古丽·艾则孜、胡安妮); 武汉大学中南医院消化内科/湖北省肠病临床研究中心(叶梅、周娟、李瑾), 结直肠外科(江从庆), 病理科(肖书渊), 放射科(梅列军)

通信作者: 李瑾, E-mail: 15071178164@163.com

【关键词】 隐源性多灶性溃疡性狭窄性小肠炎; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.020

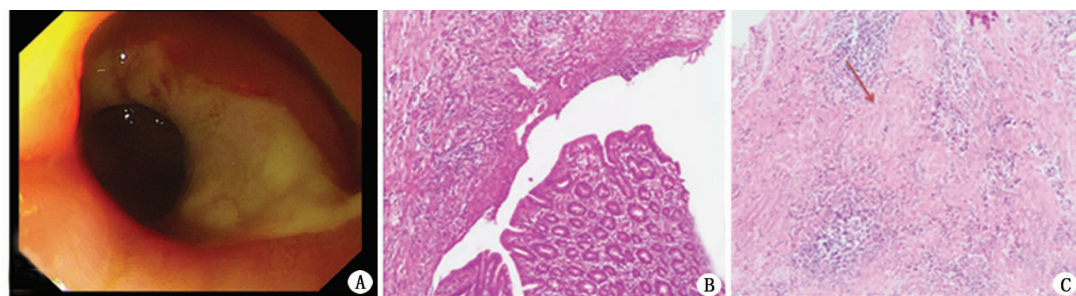
患者, 男, 43 岁。因“间断性腹痛 10 余年, 间断黑便 3 年余”于 2018 年 11 月入院。患者于 10 余年前无明显诱因出现腹痛, 呈间断性上腹部隐痛, 伴反酸, 面色苍白、乏力, 诊断为贫血, 间断给予输注成分血等对症支持治疗。3 年余前开始间断出现血黑便, 2~3 次/d, 伴大便不成形, 无咯血、呕血, 无低热、盗汗、消瘦等症状。2015 年 11 月外院胶囊内镜提示: 小肠黏膜散在片状溃疡, 溃疡边界清楚, 表面覆白苔及污秽物, 周边黏膜充血水肿, 肠腔变窄, 散在糜烂, 散在片状充血水肿; 病灶间断分布, 病灶与病灶之间黏膜正常。考虑小肠溃疡并出血, 服用复方谷氨酰胺和云南白药, 1 年余后患者自觉腹痛较前缓解, 但黑便、乏力、面色苍白仍无改善。2017 年自行停用上述药物后腹痛再次加重, 疼痛部位和性质与以前相似, 未予以重视。2018 年曾考虑“结肠炎”(具体不详)服用美沙拉嗪和复方谷氨酰胺, 服用 1 年后腹痛较前好转, 但仍间断黑便, 伴乏力、面色苍白, 遂来我院就诊。否认其他慢性疾病史及家族史。无长期服用非甾体类抗炎药(NSAIDs)史。

入院查体: T 36.5℃, P 77 次/min, R 20 次/min, BP 122/62 mmHg。患者神清, 精神可, 贫血貌, 全身皮肤黏膜无黄染, 浅表淋巴结未及肿大, 双肺呼吸音清, 未及干湿啰音, HR 77 次/min, 律齐, 各瓣膜区均未及明显病理性杂音, 腹平软, 无压痛及反跳痛, 肝脾肋下未及, 双侧肾区无叩痛, 双下肢无水肿, 其余未见明显异常。实验室检查: Hb 59.4 g/L, 铁蛋白 4.87 ng/ml, 血清铁 5.8 μmol/L, 总铁结合力 66.8 μmol/L。肝功能: 白蛋白 34.2 g/L, CRP、ESR 正常。巨细胞病毒、EB 病毒检测, PPD 试验, 炎

性肠病测定抗体均阴性。入院后给予输注红细胞、补铁、营养支持治疗, 后复查 Hb 96.0 g/L, 白蛋白(ALB) 39.4 g/L。小肠镜: 经肛进镜, 插入回肠末端距回盲瓣约 3.0 m 处, 见环周巨大溃疡, 表面覆黄厚苔, 周边黏膜充血水肿, 肠腔狭窄, 内镜不能通过(图 1A)。因 24 小时后胶囊内镜未排出, 腹部平片示胶囊滞留, 转结直肠外科行剖腹探查+小肠部分切除术。术中所见: 距 Treitz 韧带约 270、300 cm 回肠可见 2 处明显病变, 局部肠壁增厚, 表面呈灰色。小肠系膜可见数枚明显肿大淋巴结。病理结果: 多处肠腔狭窄伴回肠浅溃疡, 镜下可见黏膜下层纤维化, 局部浆膜层下血管闭锁, 动脉纤维与平滑肌异生, 固有肌层局部变性(图 1B、C)。符合隐源性多灶性溃疡性狭窄性肠炎(CMUSE)诊断。

术后予以禁食、补液、营养支持治疗, 病情稳定后出院继续口服铁剂, 1 个月后来院复查, 患者精神好, 无明显腹痛、黑便、乏力等症状, 大便潜血阴性, 嘱患者定期来院随访。

**讨论** CMUSE 是一种罕见的小肠慢性疾病, 1964 年由 Debray 等<sup>[1]</sup>命名。1968 年日本学者报道了 1 例临床特征与 CMUSE 相似的病例, 命名为慢性非特异性多发性溃疡性小肠病(CNSU)<sup>[2]</sup>。CNSU 和 CMUSE 是否为同一个疾病或属于同一疾病谱系目前尚无定论, 但多数学者认为二者为同一疾病<sup>[3]</sup>。CMUSE 的病因及发病机制尚不明确, 可能涉及免疫紊乱、纤维组织过度形成、胶原降解障碍、血管炎、基因突变等多个环节。Chagnon 等<sup>[4]</sup>根据 CMUSE 糖皮质激素治疗有效推测自身免疫系统异常可能是发病的主要原因。Kohoutov 等<sup>[5]</sup>提出纤维组织过度



注: A. 小肠镜下表现; B. 回肠病理检查示浅溃疡, 非特异性炎性细胞浸润(HE 染色, ×100); C. 回肠溃疡部位见黏膜下层明显纤维化表现(HE 染色, ×200)

图 1 患者小肠镜及病理组织学表现

形成是 CMUSE 发病的重要环节,小肠胶原蛋白降解障碍在 CMUSE 的发病机制中起重要作用。

CMUSE 为慢性病程,反复发作。其临床表现为肠梗阻、贫血、消化道出血、腹痛、恶心、呕吐、腹泻等<sup>[6]</sup>。大部分患者粪便潜血阳性,血常规提示贫血。部分患者伴有低蛋白血症,ESR、CRP 等炎症指标正常,少数增高<sup>[7]</sup>。腹部立位平片、小肠 CT、小肠 MR 及全消化道造影等影像学检查可发现肠梗阻、肠壁增厚、肠腔狭窄等病变,但对该病的诊断价值有限。胶囊内镜和小肠镜在 CMUSE 诊断中起重要作用。CMUSE 内镜下主要表现为多发浅表性溃疡,形态多样,可出现环形、纵行、线性溃疡,病变融合处可出现地图样溃疡表现,溃疡间黏膜表现正常<sup>[6]</sup>。一般伴有数量不等的肠腔狭窄,严重者可出现内镜不能通过。CMUSE 病变狭窄及溃疡性病变主要分布于空肠和回肠,回肠多见<sup>[8]</sup>。CMUSE 大体标本表现为小肠多发溃疡及狭窄。CMUSE 镜下组织学改变为仅限于黏膜及黏膜下层的浅表溃疡,可见中性粒细胞、浆细胞、淋巴细胞等炎性细胞浸润,部分患者可见胶原纤维沉积,纤维化和炎性浸润可达到深层组织,无透壁炎性反应,部分患者伴有血管改变,但未见明显血管炎的表现<sup>[6,9]</sup>。此例患者镜下组织学改变符合 CMUSE,溃疡部位见黏膜下层纤维化,也可见血管闭塞表现。

CMUSE 是排他性诊断,目前无统一的诊断标准。2001 年 Perlemuter 等<sup>[10]</sup>提出了 CMUSE 的诊断要点:(1)不明原因的小肠狭窄和梗阻;(2)局限于黏膜及黏膜下层的浅表溃疡;(3)慢性病程,反复发作,尤其术后易复发;(4)ESR、CRP 等炎症指标正常;(5)激素治疗有效;(6)并除外其他小肠溃疡性疾病。陈丹等<sup>[7]</sup>建议有手术病理结果者为确诊病例,无手术病理但临床、影像及内镜表现典型者为疑诊病例。此例患者符合 Perlemuter 提出的 CMUSE 诊断要点,且有手术标本及术后病理支持,因此,可以作为确诊病例。

本病需要与其他可累及小肠的疾病鉴别,包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)、非甾体类抗炎药(NSAIDs)相关性肠病、肠结核、淋巴瘤等。仅累及小肠的 CD 是 CMUSE 重要的鉴别诊断之一。与 CD 相比,CMUSE 炎症指标通常正常,内镜下无鹅卵石样改变,病理无巨细胞肉芽肿或裂隙样溃疡,无透壁性炎性反应或溃疡,无肠穿孔、瘘管或脓肿形成,肠外表现少,无全身炎性反应<sup>[6]</sup>。此例患者否认长期口服 NSAIDs 史,术后标本病理切片未见克罗恩病与淋巴瘤表现,故支持 CMUSE 的诊断。

CMUSE 的治疗包括药物治疗、营养、手术及内镜下治疗。药物治疗首选系统性糖皮质激素治疗,但是容易出现激素依赖,也有部分患者出现激素抵抗。有文献报道部分联合使用或激素减停过程中加用如甲氨喋呤、沙利度胺、硫唑嘌呤等免疫抑制剂,但是具体疗效尚不明确,而 5-氨基水杨酸对本病无效<sup>[6-7]</sup>。文献报道 1 例使用 TNF- $\alpha$  单抗(英夫利昔)诱导缓解<sup>[11]</sup>。肠外或肠内营养及补铁治疗短期可改善症状,但随着患者恢复进食,黏膜溃疡、贫血及低蛋白血症很快复发<sup>[8]</sup>。小肠纤维性狭窄最初是经手术切除治疗。由于 CMUSE 尚未建立有效的标准治疗策略,即使手术后也可复发小肠溃疡,甚至小肠狭窄复发需要再行手术治疗。近年来有文献报道可以在内镜

下经气囊扩张解除小肠狭窄<sup>[5,10]</sup>。CMSUE 的预后尚不清楚,由于本病发病率低,目前 CMUSE 是否会增加肿瘤及其他疾病风险尚不清楚。有报道 1 例患者死于支气管肺炎及败血症<sup>[5]</sup>。

综上所述, CMSUE 是一种罕见的、容易复发的小肠多发狭窄性溃疡性疾病。临床上对于反复肠梗阻、消化道出血、贫血、炎症指标不高的患者应考虑本病的可能。小肠镜对该病诊断价值较高。诊断该病需要排除其他导致小肠溃疡狭窄的病变,尤其 CD。治疗首选激素,其他治疗包括营养支持、内镜球囊扩张术及外科手术等。

## 参考文献

- [1] Debray C, Besancon F, Hardouin JP, et al. Cryptogenetic plurifocal ulcerative stenosing enteritis [J]. Arch Mal Appar Dig Mal Nutr, 1964, 53:193-206.
- [2] Matsumoto T, Iida M, Matsui T, et al. Chronic nonspecific multiple ulcers of the small intestine: A proposal of the entity from Japanese gastroenterologists to Western enteroscopists [J]. Gastrointestinal Endoscopy, 2007, 66(3):S99-S107. DOI:10.1016/j.gie.2007.01.004.
- [3] 张萍, 孙桦, 张烨, 等. 儿童隐源性多灶性溃疡性狭窄性小肠炎 1 例并文献复习 [J]. 中国循证儿科杂志, 2018, 13(3):210-214. DOI:10.3969/j.issn.1673-5501.2018.03.011.
- [4] Chagnon JP, Devars DMJ, Marche C, et al. Multifocal cryptogenetic stenosing enteritis: An autonomous entity [J]. Gastroenterol Clin Biol, 1984, 8(11):808-813.
- [5] Kohoutová D, Bures J, Tycová V, et al. Severe cryptogenic multifocal ulcerous stenosing enteritis. A report of three cases and review of the literature [J]. Acta Medica (Hradec Kralove), 2010, 53(1):25-29. DOI:10.14712/18059694.2016.59.
- [6] Kohoutová D, Bártošová J, Tachecí I, et al. Cryptogenic multifocal ulcerous stenosing enteritis: A review of the literature [J]. Gastroenterology Research and Practice, 2013, 2013:1-7. DOI:10.1155/2013/918031.
- [7] 陈丹, 钱家鸣, 吴东. 隐源性多灶性溃疡性狭窄性小肠炎 [J]. 中华内科杂志, 2017, 56(8):621-623. DOI:10.3969/j.issn.1673-5501.2018.03.011.
- [8] Esaki M, Umeno J, Kitazono T, et al. Clinicopathologic features of chronic nonspecific multiple ulcers of the small intestine [J]. Clinical Journal of Gastroenterology, 2015, 8(2):57-62. DOI:10.1007/s12328-015-0559-x.
- [9] Setaffly L, Osuna MJM, Plieschnegger W, et al. Cryptogenic multifocal ulcerous stenosing enteritis (CMUSE), and neuromuscular and vascular hamartoma (NMVH): two sides of the same coin [J]. Endoscopy, 2015, 47(4):345. DOI:10.1055/s-0034-1390798.
- [10] Perlemuter G, Guillemin L, Legman P, et al. Cryptogenetic multifocal ulcerous stenosing enteritis: An atypical type of vasculitis or a disease mimicking vasculitis [J]. Gut, 2001, 48(3):333-338. DOI:10.1136/gut.48.3.333.
- [11] Heiko DS. Infliximab induces remission in cryptogenic multifocal ulcerous stenosing enteritis: First case [J]. World Journal of Gastroenterology, 2013, 19(10):1661-1664. DOI:10.3748/wjg.v19.i10.1661.

(收稿日期:2020-01-06)

## 脾炎性假瘤样滤泡树突细胞肉瘤 1 例并文献复习

袁子雄, 陈淮

作者单位: 510800 广州医科大学(袁子雄); 510120 广州医科大学附属第一医院放射科(陈淮)

通信作者: 陈淮, E-mail: chenhuai1977@163.com

【关键词】 炎性假瘤样滤泡树突细胞肉瘤; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.021

患者,男,61岁,因“无明显诱因左上腹部胀痛1周”入院。无阵发性绞痛,大小便正常,近期体质量无明显变化,家族中无类似患者。查体:腹平坦,未见明显的胃肠型和肠道蠕动波,腹软,全腹部无压痛及反跳痛,腹部未触及明显肿块,肠鸣音正常。B型超声示脾内低回声团块,大小约8.2 cm×7.0 cm,以低回声为主,其内回声分布不均质,外形尚光整,周围未见明显的声晕,其内血流丰富,提示脾内实性占位。全腹部增强CT示脾脏内可见一类圆形低密度肿块,大小约6.3 cm×5.2 cm,边界清晰,动脉期可见脾内肿物边缘轻度强化,静脉期及延迟期进一步强化,中央可见低密度无强化区(图1)。实验室检查:血浆D-二聚体0.56 mg/L,血清肿瘤标志物(AFP、CEA、CA125及CA19-9)均为阴性。完善术前准备后于肝胆外科行腹腔镜下脾切除术,术中见脾脏偏上极一直径约8 cm肿瘤,腹腔内无腹水,腹腔光滑无结节。术后病理:脾呈灰黄灰红色,大小约14 cm×14 cm×4.5 cm,呈破碎组织。免疫组化示:CD21(+),CD23(+),SMA(+),Desmin(+),Ki-67 梭形细胞<1%(+),CD35(-),CD3(+),CD20(+),CD5(+),CD79a(+),CD31(+),EGR(+),ALK(-),EBER(+)(图2)。结合HE染色及免疫病理,诊断炎性假瘤样滤泡树突细胞肉瘤。术后9 d患者痊愈出院,出院后定期随访,术后10个月未见肿瘤复发。

**讨论** 脾炎性假瘤样滤泡树突细胞肉瘤(inflammatory pseudotumor like follicular dendritic cell sarcoma, IPT-like FDCS)是一种十分罕见的恶性肿瘤,发病机制尚不清楚,主要来源于树突细胞并具备部分炎性假瘤的临床组织学和病理特征<sup>[1]</sup>。

IPT-like FDCS的发病率女性高于男性,发病年龄分布广泛,一般发生在腹腔内各个脏器,好发于肝脏及脾脏,常合并EB病毒(EBV)感染。绝大多数患者为单发病灶,部分患者出现腹胀、腹痛、消瘦、发热等非特异性症状,部分患者全身无明显特异性临床表现,多为体检或影像学检查偶然发现<sup>[2-3]</sup>。本例脾脏FDCS患者为老年男性,单发病灶,以左上腹胀痛就诊,符合文献报道。有文献报道FDCS肿瘤体积常较大,肿瘤平均直径约10.2 cm<sup>[4]</sup>,本例为单发巨块型,发生于脾脏IPT-like FDCS超声常表现为混合性回声团,肿块内无明显血流信号<sup>[5]</sup>,而本例患者B型超声检查提示巨大低回声团块,内部信号不均匀,但本病例肿块内见丰富血流信号,此点与文献不符。本例

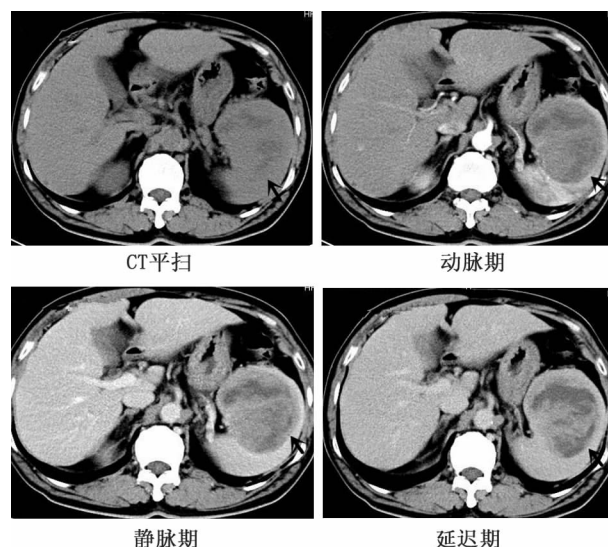
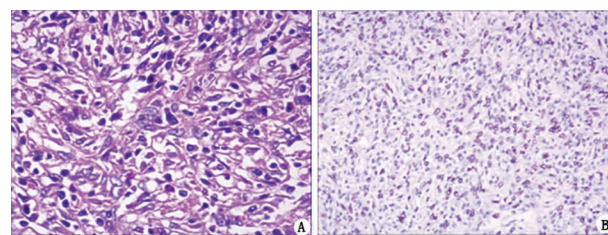


图1 患者腹部增强CT影像表现



注:A. IPT-like FDCS 细胞呈梭形、圆形、卵圆形,偶见多核、巨核细胞(HE染色,×200);B. EBER 阳性(DAB染色,×100)

图2 患者脾脏病理检查结果

患者CT平扫呈低密度、边界清楚的肿块,肿瘤密度明显不均匀,实性部分平扫CT值34 Hu。增强扫描动脉期肿瘤外周带最先出现均匀强化,CT值55 Hu,较平扫增加20 Hu,门脉期肿瘤呈渐进性持续强化,中央坏死出血区不强化,实性部分CT值62 Hu,延迟期可见肿瘤实性部分持续强化,未见明显减低,CT值67 Hu。该肿块CT增强扫描“快进慢出”的强化方式符合文献报道<sup>[4,6]</sup>。结合其影像表现,笔者认为肿瘤边界清晰及体积较大与IPT-like FDCS生物学行为相对惰性有关,符合低度恶性



肿瘤。由于肿瘤体积较大,低密度无强化区及超声不均匀回声的表现与肿瘤坏死关系密切。而肿瘤的强化模式和超声表现提示肿瘤可能是血管丰富的,肿瘤细胞的增殖分布及与细胞基质环境的相互作用可能与强化模式有一定关系,有待更多病理影像学对照研究及更多病例提供佐证。

本病需与其他脾脏疾病鉴别。脾血管瘤是脾脏最常见的良性肿瘤,临床常无明显症状,多为体检发现。CT 扫描常表现为边界清晰的等或低密度肿块,增强扫描强化特点常表现为“快进慢出”。脾血管瘤体积常较小,部分可见钙化及囊变,可作为鉴别诊断的辅助依据<sup>[7]</sup>。脾血管肉瘤 CT 增强扫描亦可以出现类似强化方式,CT 检查常见远隔脏器转移和淋巴结肿大<sup>[8]</sup>。另外脾内血管成分丰富的脾血管淋巴管瘤也具有类似的强化方式,血管及淋巴管 2 种成分所占比例决定了肿瘤的影像表现,血管成分较多时其影像表现常类似于脾血管瘤<sup>[9]</sup>。目前国内外关于脾 IPT-like FDCS 的病例报道较少,尤其缺乏对影像学特点的详细描述,需要更多病例进行进一步总结归纳。

IPT-like FDCS 的诊断主要依靠组织形态学检查和免疫组织化学染色检测。绝大部分的 IPT-like FDCS 表达一种或一种以上的 FDC 标志物,其中最常用的是 CD21、CD23、CD35,可作为一线标志物抗体。关于 Ki-67 阳性率表达观点不一,有文献指出,在 IPT-like FDCS 中其表达百分比为 20% ~ 30%。另外 EB 病毒编码的小 mRNA (EBER) 原位杂交或 EBV 检测是诊断 IPT-like FDCS 的重要标准。本例脾 IPT-like FDCS 患者以上 FDC 标志物及 EBER 检测均为阳性表达,符合文献报道<sup>[10-12]</sup>。

综上所述,脾 IPT-like FDCS 多无特异性临床表现,当成年人脾脏 CT 出现边界清楚、体积较大的低密度肿块影,增强 CT 表现为“快进慢出”的强化方式,且 FDC 标记和 EBER 阳性者,应考虑脾 IPT-like FDCS 的可能。

## 参考文献

- [1] Martins PN, Reddy S, Martins AB, et al. Follicular dendritic cell sarcoma of the liver: Unusual presentation of a rare tumor and literature review[J]. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 2011, 10(4): 443-445. DOI: 10.1016/s1499-3872(11)60076-3.
- [2] Van Baeten C, Van Dorpe J. Splenic Epstein-Barr virus - associated inflammatory pseudotumor[J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2017, 141(5): 722-727. DOI: 10.5858/arpa.2016-

0283-RS.

- [3] Li XQ, Cheuk W, Lam PW, et al. Inflammatory pseudotumor-like follicular dendritic cell tumor of liver and spleen granulomatous and eosinophil-rich variants mimicking inflammatory or infective lesions[J]. *American Journal of Surgical Pathology*, 2014, 38(5): 646-653. DOI: 10.1097/PAS.000000000000170.
- [4] Li J, Geng ZJ, Xie CM, et al. Computer tomography imaging findings of abdominal follicular dendritic cell sarcoma[J]. *Medicine*, 2016, 95(1): e2404. DOI: 10.1097/md.0000000000002404.
- [5] Kiryu S, Takeuchi K, Shibahara J, et al. Epstein-Barr virus-positive inflammatory pseudotumour and inflammatory pseudotumour-like follicular dendritic cell tumour[J]. *The British Journal of Radiology*, 2009, 82(976): e67-e71. DOI: 10.1259/bjr/66918927.
- [6] Rao L, Yang Z, Wang X, et al. Imaging findings of inflammatory pseudotumor-like follicular dendritic cell tumor of spleen[J]. *Clinical Nuclear Medicine*, 2013, 39(4): e286-289. DOI: 10.1097/RLU.0b013e3182952bfe.
- [7] 钱民, 李小荣, 邓杰航, 等. 动态 CT 增强扫描对脾血管瘤的诊断价值分析[J]. *临床放射学杂志*, 2014, 33(11): 1683-1686.
- [8] 蒋诚诚, 滕跃, 董凤林, 等. 原发性脾血管肉瘤的 CT 和超声及病理对照研究[J]. *放射学实践*, 2017, 32(6): 639-642. DOI: 10.13609/j.cnki.1000-0313.2017.06.020.
- [9] 童成文, 罗小琴, 兰姗. 脾脏血管淋巴管瘤一例[J]. *临床放射学杂志*, 2015, 34(6): 168. DOI: CNKI: SUN: LCFS. 0.2015-06-046.
- [10] 吴友莉, 吴峰, 杨岚, 等. 肝脏/脾脏炎性假瘤样滤泡树突状细胞肉瘤七例临床病理特征及预后[J]. *中华病理学杂志*, 2018, 47(2): 114-118. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2018.02.007.
- [11] 杜耀, 李卫平, 徐红星, 等. 脾脏炎性假瘤样滤泡树突状细胞肿瘤的临床特征分析[J]. *中华普通外科杂志*, 2018, 33(11): 958-959. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2018.11.018.
- [12] Percorella I, Okello TR, Ciardi G, et al. Follicular dendritic cell sarcoma of the head and neck. Literature review and report of the tonsil occurrence in a Ugandan patient[J]. *Pathologica*, 2017, 109(2): 120-125.

(收稿日期: 2019-11-27)

## 关于参考文献标注和著录的要求

本刊参考文献著录实施 GB/T7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》按照参考文献在正文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。正文指明原始文献作者姓名时,序号标注于作者姓名右上角;正文未指明作者或非原始文献作者时,序号标注于文末右上角;正文直接述及文献序号将之作为语句的组成部分时,不用角码标注,例如:手术方法按参考文献[8]。图中引用参考文献,按其在全文中出现的顺序编号,在图的说明或注释中予以标注,图中不应出现引文标注。表中引用参考文献,按其在全文中出现的顺序编号依次标注;或在表中单列一栏说明文献来源,该栏应列出文献第一作者姓名,在姓名右上角标注文献角码。

参考文献表应按正文引用先后顺序用阿拉伯数字加方括号排列于文后,参考文献著录项目要齐全。同一文献作者不超过 3 位者全部著录;超过 3 位者只列前 3 位,后依文种加“等”的文字。文后参考文献表中,中文期刊用全称;外文期刊采用缩写形式,以《Index Medicus》中的缩写式为准。

引用参考文献应是作者亲自审读过的、近 5 年内的国内外有影响力的期刊文献,尽量少引图书著作;每条参考文献应标注数据对象唯一标识符(DOI);在引用参考文献要避免只引国内文献或只引国外文献的倾向。



# 基质金属蛋白酶-10 与动脉粥样硬化的关系研究进展

阮珊综述 丛树艳审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81371271)

作者单位: 110004 沈阳, 中国医科大学附属盛京医院老年病房(阮珊), 神经内科(丛树艳)

通信作者: 丛树艳, E-mail: congshuyan@ hotmail. com

**【摘 要】** 基质金属蛋白酶(MMPs)是一个蛋白水解酶家族,可降解细胞外基质,在动脉粥样硬化形成及斑块的易损性改变中,MMPs 起到关键性作用。近年来已证明 MMP-10 对动脉粥样硬化有促进作用,并与斑块的不稳定及破裂有关,参与了血管系统疾病的发生发展,从而导致临床上心脑血管事件的发生。文章对 MMP-10 与动脉粥样硬化的关系进展作一综述。

**【关键词】** 基质金属蛋白酶-10;动脉粥样硬化;研究进展

**【DOI】** 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2020. 08. 022

**Research progress on the relationship between matrix metalloproteinase-10 and atherosclerosis** Ruan Shan\*, Cong Shuyan. \* Department of Gerontology and Geriatrics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China Corresponding author. Cong Shuyan, E-mail: congshuyan@ hotmail. com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81371271)

**【Abstract】** Matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of proteolytic enzymes, which can degrade extracellular matrix. MMPs play a key role in the formation of atherosclerosis and plaque vulnerability. In recent years, it has been proved that MMP-10 can promote atherosclerosis, and it is related to the instability and rupture of plaques, and participate in the occurrence and development of vascular system diseases, which leads to the occurrence of clinical cardiovascular and cerebrovascular events. This article reviews the relationship between MMP-10 and atherosclerosis.

**【Key words】** Matrix metalloproteinase 10; Atherosclerosis; Research progress

动脉粥样硬化是缺血性血管疾病的共同病理生理基础。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一组锌离子依赖性内肽酶,在体内主要降解细胞外基质(ECM),参与结缔组织的降解和重建、炎症反应和缺血缺氧损伤等。目前诸多研究发现,MMPs 与动脉粥样硬化的血管基质重建和不稳定斑块及其破裂有着密切关系。MMP-10 属于一种基质溶解素,其可以降解胶原蛋白、凝胶、层粘连蛋白等构成 ECM 的重要成分,也可以通过激活其他基质金属蛋白酶发挥作用。本文对其相关研究进展进行简单概述。

## 1 动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(AS)是一种血脂异常及血管壁成分改变的动脉疾病。主要累及大中动脉,特别发生在心、脑、肾等器官,可引起缺血性改变。目前关于动脉粥样硬化的发病机制有多种学说。包括炎症反应学说、内皮细胞损伤学说、同型半胱氨酸学说、免疫学说、感染学说等。关于炎症反应学说,有研究证实肿瘤坏

死因子可促进低密度脂蛋白(LDL)在血管内皮的聚集,加速 AS 的生成<sup>[1]</sup>。对于同型半胱氨酸学说有研究表明,同型半胱氨酸水平与 T 淋巴细胞亚群存在一定的相关性。非 H 型高血压患者的 CD4<sup>+</sup>T 细胞百分比高于 H 型患者,而 CD4<sup>+</sup>T 细胞的百分比与同型半胱氨酸呈负相关<sup>[2]</sup>。感染学说中,Evani 等<sup>[3]</sup>认为感染引起的物理变化可导致单核细胞与内皮细胞相互作用的改变,从而引发动脉粥样硬化。对于内皮损伤学说,实验证实慢性间歇性缺氧可导致冠状动脉内皮损伤及血管舒张功能障碍,这可能与内皮素及其受体表达增加有关<sup>[4]</sup>。典型的动脉粥样斑块由粥样核心和纤维帽组成。动脉粥样硬化的发展涉及到一系列的炎症反应和蛋白水解活动。血管基质的重建包括基质成分的合成与降解。在动脉粥样硬化形成的过程中,细胞外基质合成与降解的比率并不相同,并且在疾病的不同阶段也有所不同。在病变的初级阶段,基质降解;在斑块形成期,基质的合成大于分解,可引起管腔狭

窄;随着病变的发展,细胞外基质的降解又可使斑块对机械外力的抵抗作用减弱,发生斑块破裂。因此动脉粥样硬化形成及发展的过程也是细胞外基质重建的过程,而在这些过程中 MMPs 发挥了重要的作用。目前认为基质的降解主要是由 MMPs 来完成的,MMPs 能够降解细胞外所有基质成分,有研究发现动脉硬化斑块中 MMP 蛋白及活性明显升高,MMPs 升高可降解纤维帽中的胶原纤维,易导致纤维帽变薄,甚至破裂。研究表明,动脉粥样硬化斑块中,多种 MMP、ADAM-9 和 ADAM-15、中性粒细胞弹性蛋白酶、纤溶系统蛋白和组织蛋白酶(K、S 和 V)的表达和活性增加。这些酶的主要来源是内皮细胞(EC)、血管平滑肌细胞(VSMC)和巨噬细胞<sup>[5]</sup>。间质胶原作为斑块纤维帽的主要成分,其降解需要间质胶原酶(MMP-1、-8、-13)及明胶酶(MMP-2、-9)对胶原蛋白 I 和 III 的水解<sup>[6]</sup>。人类动脉粥样硬化斑块中也观察到 MMP-3(基质分解素 1)和 MMP-14(MT-MMP-1)的表达。

## 2 MMP-10 概述

MMP-10 由染色体 11q22.3 编码的 475 个氨基酸组成,含有 2 个锌离子结合区域。由具有同源性的 10 个外显子和 9 个内含子组成。MMP-10 属于基质溶解素的一种,其可以降解胶原蛋白、凝胶、层粘连蛋白等构成 ECM 的重要成分,也可以通过激活其他的基质金属蛋白酶如 MMP-1、MMP-7、MMP-8 和 MMP-9 等发挥作用,从而形成瀑布效应<sup>[7]</sup>。当前关于 MMP-10 的研究在肿瘤领域较多。MMP-10 在肺癌、前列腺癌及早期的膀胱移行细胞癌中呈现高表达。与其他基质金属蛋白酶不同,MMP-10 与肿瘤的侵犯或肿瘤的临床病理特征不相关<sup>[8-9]</sup>。MMP-10 在创伤愈合时血管病理生理学的研究目前报道较少。以往研究表明,组蛋白脱乙酰 7(HDAC7)在血管内皮早期胚胎发育期间特异性表达,它通过抑制 MMP-10 的表达维持血管完整性,从而防止细胞外基质的降解。通过破坏小鼠中的 HDAC7 基因,造成血管扩张和破裂从而胚胎死亡。HDAC7 通过肌细胞增强因子 2(MEF2),来抑制鼠 MMP-10 基因的转录。在人脐静脉内皮细胞的培养中,通过腺病毒介导的 MMP-10 异常表达可使内皮细胞的管腔形成能力受损;抑制 TIMP1 和 MMP-10 表达的效果与抑制 HDAC7 表达的效果相似,这表明 MMP-10 和 TIMP1 可能参与血管完整性调节<sup>[10]</sup>。这些结果提示,MMP-10 和 TIMP1 基因的遗传变异可能有助于腹主动脉瘤的发病,这类血管疾病的特点是出现慢性炎症反应、细胞外基质血管破坏性重构和血管平滑肌细胞的损耗<sup>[11]</sup>。近年来,有学者研究发现凝血酶能够

促进 MMP-10 表达,这一作用是通过激活蛋白酶激活受体-1(PAR-1)的机制来完成的<sup>[12]</sup>。研究者采用荧光素酶实验证实,位于 MMP-10 转录起始位点上游 500 bp 的序列可介导凝血酶对 MMP-10 转录的促进作用。其中位于 MMP-10 启动子近侧区域的 AP-1 位点被认为是凝血酶诱导 MMP-10 转录的重要位点。

## 3 MMP-10 与动脉粥样硬化

目前有研究证明,MMP-10 在动脉粥样硬化病变的易破裂部位可由损伤或炎症反应刺激产生<sup>[13-15]</sup>,其血清 MMP-10 水平升高与临床和亚临床动脉粥样硬化相关<sup>[13,16-17]</sup>。且 MMP-10 缺乏可延缓动脉粥样硬化进展和斑块钙化<sup>[18]</sup>。Koenig 等研究证实,炎症反应既可促进动脉粥样硬化的发生,又可导致动脉血栓形成甚至闭塞。有尸检结果证实,动脉粥样硬化斑块形成过程中存在炎症反应。进一步研究证实,血管的炎症反应在动脉粥样硬化血栓性并发症的发生、发展中起到重要作用<sup>[19]</sup>。炎症反应加剧了生物标志物的表达,如 C 反应蛋白(CRP)等,其对心血管疾病的发展提供重要的信息。CRP 是冠心病、脑卒中、血管性疾病死亡重要的独立预测因素<sup>[20]</sup>。近 10 年的研究发现,CRP 不仅是炎症反应标志物,还可能直接参与动脉粥样硬化发生、发展过程;反之,CRP 又可导致炎症反应加剧<sup>[21-22]</sup>。有学者研究证实,CRP 可以介导 MMP-1 和 MMP-10 在 mRNA 和蛋白表达水平而不影响其他 MMPs(MMP-2,-3,-7,-8,-9,-11,-12,-13)的表达水平<sup>[13]</sup>。在 MAPK 介导的信号转导通路中,p38MAPK 和 c-Jun 氨基端激酶有可能是 CRP 对上皮细胞和其他细胞产生 MMP-1 和 MMP-10 调节的主要通路<sup>[13,23]</sup>。通常来说,基质金属蛋白酶一般在靠近纤维帽的巨噬细胞核和平滑肌细胞的共存区域大量表达。在对 15 例接受颈动脉内膜切除术(狭窄程度 > 75%)的患者血管切片进行免疫组织化学分析,结果发现在动脉粥样硬化的斑块处有 MMP-10 的表达,而且在呈强染色的巨噬细胞和内皮细胞中都发现了 CRP。然而,这一现象在乳腺动脉中少见。MMP-10 和 CRP 存在的区域含有大量巨噬细胞,这一区域以往被认为是斑块易于破裂的部位。

## 4 MMP-10 与动脉粥样硬化性疾病

4.1 MMP-10 与动脉粥样硬化性脑梗死 动脉粥样硬化性脑梗死是中老年人的常见病与多发病,占脑血管疾病的 80%。具有发病率高、致残率高和病死率高的“三高”特点,目前在世界和我国都属于三大死亡原因之一。其病死率约占所有疾病的 10%,存活者中有 50% ~ 70% 遗留不同程度的后遗症,给社会和家庭带

来了沉重的负担<sup>[7]</sup>。目前有研究表明, MMP-10 能够显著提高脑缺血部位神经元的数量, 而这一现象在正常的脑组织中没有被发现<sup>[24]</sup>。与大多数金属基质蛋白酶不同, MMP-10 可通过提高纤维蛋白的溶解作用有效降低实验性脑卒中的脑梗死面积, 其中这一机制是通过凝血酶激活的纤溶抑制剂失活介导完成的<sup>[25]</sup>。除此之外, MMP-10 的血清蛋白水平与一些缺血性脑梗死的危险因素, 如颈动脉内膜中层厚度、颈动脉斑块的出现、炎性反应的标志物及吸烟状况等有着紧密的联系<sup>[16, 22, 26]</sup>。由于 MMPs 具有重要生物学作用, MMPs 的基因多态性与疾病之间的关系受到普遍重视。目前关于 MMP-10 的基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死的研究, 有学者选定了 2 个位于编码区的 SNP 位点 rs1743595 和 rs17293607。其中 rs1743595 导致 MMP-10 编码区第 1 外显子的第 4 密码子亮氨酸被缬氨酸所替代, 而 rs17293607 使 MMP-10 编码区第 2 外显子的第 65 个密码子甘氨酸被精氨酸所替代。不过通过这一实验未发现其与缺血性脑梗死存在直接关联<sup>[27]</sup>。目前有实验研究证实, MMP-10 可单独或联合组织纤溶酶抑制剂一起促进在脑血管病中的保护机制<sup>[28]</sup>。在血栓栓塞性缺血性卒中模型中, 与单独使用组织纤溶酶原激活剂(tPA)相比, tPA 联合 10 mg/kg 的 MMP-10 可显著降低梗死面积。此外, 在 MMP-10 存在的情况下, tPA 剂量减少 10 倍对梗死面积的影响与 tPA + MMP-10 全剂量组相同( $P > 0.05$ ), 且没有增加出血风险。体外数据显示, MMP-10 降低 tPA 内皮通透性。此外, tPA/MMP-10 联合使用改善了 tPA 的神经元兴奋性毒性, 因此 tPA/MMP-10 联合应用可能是缺血性脑卒中溶栓治疗新策略, 可通过减少炎症反应显著减轻缺血性脑损伤, 保护脑血管免受损伤<sup>[29]</sup>。目前有研究证明, MMP-10 可在小鼠糖尿病模型中有效促进溶栓<sup>[30]</sup>。这为临床治疗缺血性脑梗死提供了新的思路。

**4.2 MMP-10 与动脉粥样硬化性心脏病** 目前研究证实, 在具有心血管危险因素的无症状患者中, 有较高 CRP 水平( $CRP > 3 \text{ mg/L}$ )并且有高心血管病风险的患者具有较高的血浆 MMP-1 和 MMP-10 水平, 并且伴有颈动脉内膜中层厚度的增厚(IMT)<sup>[22, 31]</sup>。血清 MMP-10 水平的升高与全身性炎症标志物、颈动脉 IMT 增加, 以及无临床心血管疾病受试者存在的颈动脉斑块相关联。这种关联与传统的动脉粥样硬化的危险因素、炎症标志物[纤维蛋白原、血清 hs-CRP 和血管性血友病因子(vWF)]和药物治疗无关<sup>[16]</sup>。表明持续的炎症标志物和全身蛋白水解活化与亚临床动脉粥样硬化之间存在密切关系, 并且以往数据显示, CRP 的

升高也预示着冠状动脉疾病患者的复发不稳定性和死亡事件<sup>[32]</sup>。

## 5 总结与展望

动脉粥样硬化是全身动脉粥样硬化的组成部分, 在动脉粥样硬化基础上, 斑块破裂及血栓形成是缺血性血管病发病过程中最重要的病因之一。动脉粥样硬化的形成机制复杂多样, 通过研究发现 MMP-10 是动脉粥样硬化血管基质重建新的生物标志物, 可以为临床早期发现不稳定粥样斑块和预防缺血性疾病的发生创造条件。

## 参考文献

- [1] Zhang Y, Yang X, Bian F, et al. TNF- $\alpha$  promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: Crosstalk between NF- $\kappa$ B and PPAR- $\gamma$ [J]. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, 2014, 72: 85-94. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.02.012.
- [2] Xu H, Zheng H, Huang J, et al. T-cell subsets are associated with serum homocysteine concentration in patients with essential hypertension[J]. *Clinical & Experimental Hypertension*, 2017, 39(4): 377-381. DOI: 10.1080/10641963.2016.1267189
- [3] Evani SJ, Ramasubramanian AK. Biophysical regulation of Chlamydia pneumoniae-infected monocyte recruitment to atherosclerotic foci[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 19058. DOI: 10.1038/srep19058.
- [4] Wang JW, Li AY, Guo QH, et al. Endothelin - 1 and ET receptors impair left ventricular function by mediated coronary arteries dysfunction in chronic intermittent hypoxia rats[J]. *Physiological Reports*, 2017, 5(1): e13050. DOI: 10.14814/phy2.13050.
- [5] Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly[J]. *Circulation Research*, 2002, 90(3): 251-262. DOI: 10.1161/res.90.3.251.
- [6] Libby P. Perplexity of plaque proteinases [J]. *Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology*, 2006, 26(10): 2181-2182. DOI: 10.1161/01.ATV.0000240249.88921.d8.
- [7] Hájová E. Matrix metalloproteinases: their biological functions and clinical implications[J]. *Bratislavské Lekárske Listy*, 2005, 106(3): 127-132.
- [8] Seargent JM, Loadman PM, Martin SW, et al. Expression of matrix metalloproteinase-10 in human bladder transitional cell carcinoma [J]. *Urology*, 2005, 65(4): 815-820. DOI: 10.1016/j.urolgy.2004.11.016.
- [9] Gill JH, Kirwan IG, Seargent JM, et al. MMP-10 is overexpressed, proteolytically active, and a potential target for therapeutic intervention in human lung carcinomas[J]. *Neoplasia*, 2004, 6(6): 777-785. DOI: 10.1593/neo.04283.
- [10] Chang S, Young BD, Li S, et al. Histone deacetylase 7 maintains vascular integrity by repressing matrix metalloproteinase 10 [J]. *Cell*, 2006, 126(2): 321-334. DOI: 10.1016/j.cell.2006.05.040.
- [11] Ogata T, Shibamura H, Tromp G, et al. Genetic analysis of poly-

- morphisms in biologically relevant candidate genes in patients with abdominal aortic aneurysms[J]. *Journal of Vascular Surgery*, 2005, 41(6): 1036-1042. DOI: 10.1016/j.jvs.2005.02.020.
- [12] Orbe J, Rodríguez JA, Calvayrac O, et al. Matrix metalloproteinase-10 is upregulated by thrombin in endothelial cells and increased in patients with enhanced thrombin generation[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2009, 29(12): 2109-2116. DOI:10.1161/ATVBAHA.109.194589.
- [13] Montero I, Orbe J, Varo N, et al. C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: Implications for clinical and subclinical atherosclerosis[J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2006, 47(7):1369-1378. DOI: 10.1016/j.jacc.2005.10.070.
- [14] Orbe J, Rodríguez JA, Calvayrac O, et al. Matrix metalloproteinase-10 is upregulated by thrombin in endothelial cells and increased in patients with enhanced thrombin generation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(12):2109-2116. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.194589.
- [15] Bobadilla M, Súnz N, Rodríguez JA, et al. MMP-10 is required for efficient muscle regeneration in mouse models of injury and muscular dystrophy[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(2): 447-461. DOI: 10.1002/stem.1553.
- [16] Orbe J, Montero I, Rodríguez JA, et al. Independent association of matrix metalloproteinase-10, cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis[J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007, 5(1):91-97. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.02276.x.
- [17] Coll B, Rodríguez JA, Craver L, et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-10 are associated with the severity of atherosclerosis in patients with chronic kidney disease[J]. *Kidney International*, 2010, 78(12):1275-1280. DOI: 10.1038/ki.2010.329.
- [18] Purroy A, Roncal C, Orbe J, et al. Matrix metalloproteinase-10 deficiency delays atherosclerosis progression and plaque calcification. [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 278:124-134. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.09.022.
- [19] Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2002, 105(9): 1135-1143. DOI: 10.1007/s00059-004-2634-9.
- [20] Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention[J]. *Circulation*, 2003, 107(3): 363-369. DOI:10.1161/01.CIR.0000053730.47739.3C.
- [21] Cao JJ, Thach C, Manolio TA, et al. C-reactive protein, carotid intima-media thickness, and incidence of ischemic stroke in the elderly the cardiovascular health study[J]. *Circulation*, 2003, 108(2): 166-170. DOI:10.1016/j.accreview.2003.09.013.
- [22] 谢良麒, 王宪. C 反应蛋白与动脉粥样硬化[J]. *生理科学进展*, 2004, 35(2): 113-118. DOI: 10.3760/j.issn:0253-3758.2004.08.034.
- [23] Williams TN, Zhang CX, Game BA, et al. C-reactive protein stimulates MMP-1 expression in U937 histiocytes through FcγRII and extracellular signal-regulated kinase pathway: an implication of CRP involvement in plaque destabilization[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2004, 24(1): 61-66. DOI: 10.1161/01.ATV.0000104014.24367.16.
- [24] Cuadrado E, Rosell A, Penalba A, et al. Vascular MMP-9/TIMP-2 and neuronal MMP-10 up-regulation in human brain after stroke: A combined laser microdissection and protein array study[J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(6): 3191-3197. DOI: 10.1021/pr801012x.
- [25] Orbe J, Barrenetxe J, Rodríguez JA, et al. Matrix metalloproteinase-10 effectively reduces infarct size in experimental stroke by enhancing fibrinolysis via a thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor-mediated mechanism clinical perspective[J]. *Circulation*, 2011, 124(25): 2909-2919. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.047100.
- [26] Páramo JA, Belouqui O, Rodríguez JA, et al. Association between matrix metalloproteinase-10 concentration and smoking in individuals without cardiovascular disease[J]. *Revista Espanola De Cardiología (English Edition)*, 2008, 61(12): 1267-1273. DOI: 10.1016/s1885-5857(09)60054-2.
- [27] Zhu F, Jin XP, Zhu M, et al. Matrix metalloproteinase 10 gene polymorphism and atherothrombotic cerebral infarction risk in a Han Chinese population[J]. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2013, 6(7): 567. DOI: 10.1155/2013/254940.
- [28] Roncal C, de Lizarrondo SM, Salicio A, et al. New thrombolytic strategy providing neuroprotection in experimental ischemic stroke: MMP10 alone or in combination with tPA[J]. *Cardiovascular Research*, 2017, 113(10):1219-1229. DOI: 10.1093/cvr/cvx069.
- [29] Orbe J, Roncal C, Rodríguez JA, et al. P218tPA in combination with MMP-10 a new effective strategy for thrombolysis in ischemic stroke with neuroprotective effect[J]. *Cardiovascular Research*, 2014, 103(suppl\_1): S38-S39. DOI: 10.1093/cvr/cvu082.151.
- [30] Navarro-Oviedo M, Roncal C, Salicio A, et al. MMP10 promotes efficient thrombolysis after ischemic stroke in mice with induced diabetes[J]. *Translational Stroke Research*, 2019, 10(4):389-401. DOI: 10.1007/s12975-018-0652-9.
- [31] Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2003, 107(3): 499-511. DOI:10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45.
- [32] Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability[J]. *Circulation*, 1999, 99(7): 855-860. DOI: 10.1161/01.CIR.99.7.855.

(收稿日期:2020-02-01)

# 可逆性后部脑病综合征在儿童肾脏性疾病中的最新研究进展

童桂霞综述 张洪霞审核

作者单位: 250022 济南, 山东大学齐鲁儿童医院肾脏风湿免疫科

通信作者: 张洪霞, E-mail: 1036579519@qq.com

**【摘 要】** 可逆性后部脑病综合征(PRES)是一种临床神经影像学综合征,临床表现为癫痫、头痛、意识障碍和视觉障碍,主要影像学改变以双侧大脑半球后部白质对称性受累为特征性表现。最常见的危险因素为高血压、肾脏疾病和钙调神经磷酸酶抑制剂等。PRES 的确切发病机制仍不清楚,目前主要有脑血流灌注突破学说、血管内皮细胞受损学说。PRES 的治疗包括控制血压,治疗癫痫,以及减少或停用钙调神经磷酸酶抑制剂。大多数病例预后良好,临床和影像学异常可恢复正常。但是一些严重病例如合并急性脑出血者,常遗留后遗症,甚至导致死亡。早期识别、积极治疗具有十分重要的意义。

**【关键词】** 可逆性后部脑病综合征;肾脏疾病;儿童;综述

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.023

**Recent research progress of reversible posterior encephalopathy syndrome in children with renal diseases** Tong Guixia, Zhang Hongxia. Qilu Children's Hospital of Shandong University, Ji'nan 250022, China

Corresponding author: Zhang Hongxia, E-mail: 1036579519@qq.com

**【Abstract】** Reversible posterior encephalopathy syndrome (PRES) is a kind of clinical neuroimaging syndrome. Its clinical manifestations are epilepsy, headache, disturbance of consciousness and visual impairment. The main imaging changes are symmetrical involvement of the posterior white matter of bilateral cerebral hemispheres. The most common risk factors were hypertension, kidney disease and calcineurin inhibitors. The exact pathogenesis of pres is still unclear. At present, there are mainly cerebral blood perfusion breakthrough theory and vascular endothelial cell damage theory. Treatment of pres includes controlling blood pressure, treating epilepsy, and reducing or stopping calcineurin inhibitors. The prognosis of most cases is good, and the clinical and imaging abnormalities can return to normal. But some serious cases, such as those with acute cerebral hemorrhage, often leave sequelae, even lead to death. Early identification and active treatment are of great significance.

**【Key words】** Posterior reversible encephalopathy syndrome; Kidney disease; Children; Review

可逆性后部脑病综合征(PRES)由 Hinchey 等<sup>[1]</sup>于 1996 年首次报道,是一种由多种病因引起的以中枢神经系统受损为主的临床影像学综合征,临床表现以头痛、意识障碍、视觉障碍和惊厥发作为主,影像学以双侧大脑半球后部白质对称性受累为特征性表现。它通常是一种可逆性疾病,经积极治疗后大多数患者的临床症状、影像学改变可完全恢复正常。该病的病因较为广谱,儿童最常见的发病因素是肾脏疾病、高血压等基础疾病,以及应用钙调神经磷酸酶抑制剂。因肾脏疾病与高血压有较为密切的联系,故有肾脏基础疾病的患儿发生 PRES 的几率更大。据报道,小儿肾性高血压的发病率为 4%~9%<sup>[2-4]</sup>。近几年随着研究水

平的提高,认为该病可以同时累及大脑白质及灰质。而对于一些神经系统损害较严重的病例,可能会遗留后遗症,甚至危及患者生命。故早期诊断、及时治疗对改善预后具有极其重要的意义。现将 PRES 在儿童肾脏病的最新研究进展进行综述,以期提高临床医生的早期认识和诊断水平,及时治疗,改善预后。

## 1 病因及发病机制

1.1 病因 儿童 PRES 的病因多种多样,包括存在原发性及继发性肾病、高血压、再生障碍性贫血、急性白血病、地中海贫血、非霍奇金淋巴瘤、淋巴组织细胞增多症、自身免疫性淋巴增生综合征等基础疾病<sup>[5-6]</sup>。也有过敏性紫癜、系统性狼疮红斑相关的 PRES 病例报

道,其中以高血压最为常见<sup>[7-9]</sup>。Yamanda 等<sup>[3]</sup>发现高血压持续时间或严重程度与 PRES 患者的神经症状和神经影像学表现之间无明显相关性。PRES 的触发因素是血压急性升高,而不是高血压持续时间长。因肾病综合征(NS)经常合并高血压,故肾病综合征合并 PRES 的发病率较高。儿童其他易导致 PRES 的肾脏疾病,包括急性肾小球肾炎、溶血性尿毒综合征、狼疮性肾炎、紫癜性肾炎、肾功能不全或终末期肾疾病(ESRD)等。低镁血症、低胆固醇血症、大剂量甲泼尼龙、非甾体抗炎药、钙调神经磷酸酶抑制剂、人体免疫缺陷病毒感染等也可导致 PRES<sup>[10-12]</sup>。

**1.2 发病机制** PRES 的确切发病机制仍不清楚,目前主要有两种学说:脑血流灌注突破学说和血管内皮细胞受损学说<sup>[5,13]</sup>。(1)脑血流灌注突破学说:正常情况下,脑血流量通过收缩血管调节以维持足够的组织灌注,同时避免颅内高压,可使脑血流维持相对稳定。血压急剧升高时会导致脑血管过度舒张,当超出脑血管自动调节上限时,血脑屏障受到破坏,进而导致蛋白质和液体渗出,发生多区域的脑间质水肿。由于脑后循环中参与自动调节机制的交感神经分布较少,血管张力低,故椎—基底动脉系统供血的脑实质更易发病。脑白质主要由神经纤维细胞的髓鞘纤维、小动脉和毛细血管构成,且组织结构较疏松,因此渗出液更容易滞留在白质。(2)血管内皮细胞受损学说:高血压并不是 PRES 的必要条件,而是由于某种因素对脑内毛细血管内皮细胞产生毒性反应,直接或间接导致血脑屏障结构和功能破坏,从而形成血管源性脑水肿。对正在使用免疫抑制性药物及细胞毒性药物的患者而言,该病的发生可能与多数药物的细胞毒性有关,这些药物产生的细胞毒性物质,可以促进内皮素、前列腺素和血栓烷 A2 的释放及调节,直接或间接损伤血管内皮细胞而引起血脑屏障的通透性增加,导致脑水肿。

## 2 临床表现

儿童 PRES 通常急性或亚急性起病,常见症状有癫痫发作、头痛、恶心、呕吐、意识障碍、精神行为异常、视觉障碍。90% 以上的 PRES 患儿最常见的症状为癫痫<sup>[14]</sup>。癫痫发作可为首发症状,通常先为部分性发作,继而出现全面性发作,多数患者有多次发作,也有只发作一次者,但是癫痫持续状态者较少。视觉症状可以表现为视物模糊、视野缺损、偏盲或皮质盲、视幻觉等。还有一些病例可出现局灶性神经症状如偏瘫、病理征阳性、腱反射亢进、感觉障碍<sup>[15]</sup>。脊髓受累是 PRES 的一种罕见症状<sup>[8]</sup>。上述症状可只出现 1 种或

数种同时出现,这些症状大多经过积极治疗后几周内可缓解。尽管上述症状具有可逆性,但在没有早期认识和积极治疗的情况下,也可能会出现永久性的神经损害,如脑出血。

## 3 影像学特点

PRES 患儿的头颅 CT 表现为后顶叶及枕叶双侧对称性的低密度影,其能够检测颅内出血,并适用于重症患者。然而,它对 PRES 的检查敏感度有限,尤其是在急性期。目前认为磁共振(MRI)是 PRES 诊断的重要依据。头颅 MR T<sub>1</sub>WI 上为等或低信号灶,T<sub>2</sub>WI 上为高信号灶。FLAIR 序列对病灶的显示优于 T<sub>2</sub>WI,尤其对早期微小的局部病变。PRES 最常见的神经影像学异常是大脑半球后部白质水肿,特别是双侧顶枕叶,距状沟和旁中央枕叶结构通常不受累。脑水肿多为双侧,且为非对称性<sup>[16]</sup>。常见 3 种改变:(1)全半球分水岭模式,额叶、顶叶和枕叶的线性受累,主要是沿着分水岭分布;(2)额叶上沟型,主要累及额叶;(3)顶叶—枕叶型,典型的后叶病变占优势。非典型受累部位包括脑干、小脑、基底节、丘脑、内囊和胼胝体<sup>[17]</sup>。PRES 可有非典型表现,如细胞毒性水肿在 MR 的 DWI 序列呈高信号,ADC 呈低信号,常表现为大面积水肿带中出现小范围弥散受限,提示伴有不可逆的结构损伤,可与脑梗死相鉴别,还可以预测 PRES 的预后<sup>[18]</sup>。所以可先用 DWI 检测病灶,然后用 ADC 成像评价扩散状态。

## 4 诊断与鉴别诊断

**4.1 诊断** PRES 的诊断标准<sup>[9]</sup>:(1)存在已知可能的基础疾病或致病危险因素;(2)急性或亚急性起病,出现不同程度的头痛、抽搐、精神状态改变、视觉障碍等典型临床表现;(3)影像学显示双侧大脑半球后部白质为主的血管源性水肿改变;(4)经积极合理的治疗其临床症状及影像学可逆转;(5)排除其他可能的脑白质病变。

**4.2 鉴别诊断** PRES 主要与以下疾病相鉴别:(1)病毒性脑炎,该病以发热为主,病灶多累及大脑皮质额颞叶,脑脊液细胞数增多,蛋白定量升高。(2)脑梗死,该病多累及小脑上动脉及大脑后动脉,临床主要表现为锥体束征和颅神经受累,DWI 呈高信号,ADC 呈低信号,且该病预后差,易留有永久的脑软化灶,导致不可逆的后遗症。(3)假性脑肿瘤,是颅内压增高的一种特发性疾病,其症状与 PRES 相似,包括头痛、恶心、视觉障碍等。(4)中枢神经系统白血病,该病发生于白血病的患儿,病程中出现颅内压增高的症状及体征,如颅神经麻痹、偏瘫、截瘫、抽搐、精神异常等,脑脊

液检查可找到白血病细胞。(5) 静脉窦血栓形成和硬膜下、脑内或蛛网膜下腔出血,上述疾病都可出现头痛、癫痫、意识减退和局部神经症状。(6) 基底动脉血栓形成,可表现为进行性神经功能缺损,并可导致四肢轻瘫、昏迷或闭锁综合征。(7) 中枢神经系统血管炎,可出现与 PRES 相似的症状,但 MR 常表现为弥漫性,以及许多临床和影像学特征不可逆转。(8) 自身免疫性脑炎与代谢性脑病(包括桥脑中央髓鞘溶解)、尿毒症或药物毒性(例如环孢素 A)也可有类似症状。

## 5 治疗和预后

该病目前尚无特异性治疗方法,而肾脏疾病合并 PRES 患者,其发病机制可能是高血压、原发病、治疗药物不良反应等多种因素作用的结果,因此,需要综合分析疾病的临床表现、实验室检查和药物治疗情况,从而找出可能的致病因素并制定正确的治疗方案<sup>[19]</sup>。积极控制高血压可防止疾病恶化,但要尽量避免血压波动幅度过大,过度或快速的血压降低会诱发脑血管意外,平均血压应降低 25%<sup>[11]</sup>。静脉注射降压药是首选,目前已在临床应用的包括尼卡地平、拉贝洛尔、硝普钠等药物。对于癫痫发作的患儿应尽早控制症状,避免加重脑水肿。若发展为癫痫持续状态,应使用静脉抗惊厥药物治疗;多数患儿在症状好转后可停用抗癫痫药物,无需长期维持,但少数病例可遗留病灶导致反复癫痫发作而需长期治疗。此外, PRES 患儿应停用激素、免疫抑制剂等相关药物<sup>[20]</sup>。

经过及时有效的治疗后,多数患者症状、体征显著改善,影像学检查原病灶完全或大部分消失。但也有些出现永久性的神经功能缺损和脑梗死病例,有报道显示,20 例患有 PRES 的肾脏疾病儿童中有 2 例出现了长期脑损伤(发育迟缓)<sup>[4]</sup>。后期出现慢性神经损伤、慢性癫痫、复发性 PRES 或轻微的神经功能缺损亦有报道<sup>[15]</sup>。说明对 PRES 患者进行长期随访十分必要,包括在短期内表现出临床和影像学改变完全恢复正常者。

## 6 结 论

儿童 PRES 是由多种病因导致的一种临床神经影像学综合征。其临床表现并不特异,多表现为癫痫发作、意识障碍、头痛等。所有患有肾病、高血压或应用免疫抑制治疗的儿童,如果出现突发性神经系统疾病,应怀疑有 PRES。目前认为头颅 MR 是首选的检查方法,对高度怀疑的病例,应尽早行 MR 检查以明确诊断。诊断明确后应及时给予对症支持治疗,若不及时治疗,可能会出现严重的神经并发症。因此,早期认识 PRES 并进行合理的治疗对预防严重的神经后遗症具

有重要意义。

## 参考文献

- [1] Hinchey J,Chaves C,Appignani B,et al. A reversible posterior leukoencephalopathy syndrome[J]. N Engl J Med,1996,334(8): 494-500. DOI:10. 1056/NEJM199606273342613.
- [2] Gavrilovici C, Miron I, Voroneanu L,et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome in children with kidney disease[J]. Int Urol Nephrol, 2017, 49 (10): 1793-1800. DOI 10. 1007/s11255-017-1684-x.
- [3] Yamada A, Ueda N. Age and gender may affect posterior reversible encephalopathy syndrome in renal disease [J]. Pediatr Nephrol, 2012, 27(2):277-283. DOI: 10. 1007/s00467-011-1974-y.
- [4] Ishikura K,Hamasaki Y,Sakai T,et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome in children with kidney diseases[J]. Pediatr Nephrol,2012,27(3):375-384. DOI:10. 1007/s00467-011-1873-2.
- [5] Shankar J,Banfield J. Posterior reversible encephalopathy syndrome: A review[J]. Can Assoc Radiol J,2017,68(2):147-153. DOI:10. 1016/j. car. 2016. 08. 005.
- [6] Toledano M,Fugate JE. Posterior reversible encephalopathy in the intensive care unit[J]. Handb Clin Neurol,2017,141: 467-483. DOI: 10. 16/B978-0-444-63599-0. 00026-0.
- [7] Fugate JE, Rabinstein AA. Posterior reversible encephalopathy syndrome: Clinical and radiological manifestations, pathophysiology, and outstanding questions [J]. Lancet Neurol, 2015, 14(9): 914-925. DOI:10. 1016/S1474-4422 (15)0011-8.
- [8] El-Naggari MA, Al-Nabhani D, El-Nour I, et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome in two Omani children with underlying renal diseases[J]. Sult Qaboos Univ Med, 2015,15(3):424-428. DOI:10. 18295/SQUMJ. 2015. 15. 03. 020.
- [9] Myint ZW, Sen JM, Watts NL, et al. Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome during regorafenib treatment: A case report and literature review of reversible posterior leukoencephalopathy syndrome associated with multikinase inhibitors [J]. Clin Colorectal Cancer,2014, 13 (2): 127-130. DOI: 10. 1016/j. clcc. 2013. 12. 003.
- [10] Popkirovs S, Figgea F, Schlegelu U, et al. Tertiary hyperparathyroidism presenting as posterior reversible encephalopathy syndrome [J]. Neurology, 2016, 86 (7): 695-696. DOI: 10. 1212/WNL. 0000000000002378.
- [11] Ribeiro BN, Salata TM, Borges RS, et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome following immunoglobulin therapy in a patient with Miller-Fisher syndrome[J]. Radiol Bras,2016,49(1): 58-59. DOI:10. 1590/0100-3984. 2015. 0129.
- [12] Grelat M, Debaut JB, Sautreaux JL. Posterior reversible encephalopathy syndrome after depletive lumbar puncture: A case report[J]. J Med Case Rep,2014,8: 261. DOI:10. 1186/1752-1947-8-261.
- [13] Fischer M, Schmutzhard E. Posterior reversible encephalopathy syndrome [J]. Med Klin Intensivmed Notfmed, 2016, 111 (5): 417-424. DOI:10. 1007/s00063. 016-0175-7.

(下转 859 页)

# 自身免疫性脑炎精神症状特点的研究进展

胡倩综述 王建秀审校

基金项目: 黑龙江省博士后科研启动基金项目(LBH-Q14132)

作者单位: 150000 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科

通信作者: 王建秀, E-mail: ytb19711231@163.com

**【摘 要】** 自身免疫性脑炎(AE)是一种涉及中枢神经系统的免疫介导性疾病,根据不同的抗体可分为不同的亚型。精神症状是 AE 常见的临床表现。近年来,随着对提高 AE 早期诊断率的深入研究,越来越多的学者开始重视 AE 精神症状特点。AE 患者可表现有突出的精神症状,部分患者可以精神症状起病,不易与精神科疾病鉴别,而增加了早期诊断的难度。因此,文章对 AE 精神症状特点的研究进展进行综述。

**【关键词】** 自身免疫性脑炎;精神症状;抗体

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.024

**Research progress on characteristics of psychiatric symptoms in autoimmune encephalitis** Hu Qian, Wang Jianxiu. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Province, Harbin 150000, China  
Corresponding author: Wang Jianxiu, E-mail: ytb19711231@163.com

**Funding program:** Heilongjiang Province Postdoctoral Research Start-up Fund Project

**【Abstract】** Autoimmune encephalitis (AE) is an immune-mediated disease involving the central nervous system. According to different antibodies, they can be divided into different subtypes. Mental symptoms are the common clinical manifestations of AE. In recent years, with the in-depth study of improving the early diagnosis rate of AE, more and more scholars began to pay attention to the characteristics of the psychiatric symptoms of AE. Patients with AE can show prominent mental symptoms, and some patients can have mental symptoms, which is difficult to distinguish from psychiatric diseases, which increases the difficulty of early diagnosis. Therefore, this paper reviews the research progress of the characteristics of AE mental symptoms.

**【Key words】** Autoimmune encephalitis; Mental symptoms; Antibody

自身免疫性脑炎(AE)是一种涉及中枢神经系统的免疫介导性疾病。精神症状是 AE 常见的临床表现,有学者在研究中发现,约 60% 的 AE 患者可表现有精神症状,其中 1/3 的患者最先就诊于精神科<sup>[1]</sup>,因此很多患者可能被诊断为精神疾病,得不到及时有效的治疗。精神症状作为 AE 常见、甚至首发症状,及早识别对于 AE 的早期诊断具有重要的意义,患者可得到及时有效治疗,从而获得良好预后。

## 1 自身免疫性脑炎概述

AE 是一种以特异性自身抗体的脑部炎性反应为特征的中枢神经系统疾病。常见临床表现有精神症状、癫痫、运动障碍等<sup>[2]</sup>。AE 是可以明确诊断并治疗的一组疾病,治疗时机影响预后,但早期鉴别仍需要不断完善,因此增强对 AE 的症状识别能力尤为重要。精神症状是指反常的精神行为表现,它表现在人们精

神活动的各方面,并通过人的外显行为表现出来,如穿衣打扮、言语行为、神情表现及书写表达等。在 AE 的发病初期,精神症状较为常见,包括幻觉、行为异常、情绪改变等。有文献报道的第一例 AE 是 1960 年由 Bri-erley 等提出, Dalmau 等确定了多种针对突触抗原的自身抗体是 AE 的生物标志物,并据此定义了 AE 的不同亚群<sup>[3]</sup>。AE 的临床表现多种多样,可表现为相对轻微或隐匿的认知功能损害,也可为复杂的神经系统受损症状。现有的诊断标准主要依赖抗体测试和对免疫疗法的反应。

## 2 自身免疫性脑炎精神症状特点

根据不同的抗神经元抗体和相应的临床综合征, AE 主要分为 3 种类型<sup>[4]</sup>: (1) 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)脑炎,是临床最常见的类型; (2) 边缘性脑炎,抗富含亮氨酸的胶质瘤灭活蛋白 1 (LGII) 抗



体、抗  $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噻唑丙酸受体 (AMPA) 抗体、抗接触蛋白相关蛋白 2 (CASPR2) 抗体、抗  $\gamma$ -氨基丁酸 B 型受体 (GABABR) 抗体脑炎等符合此类型; (3) 其他 AE 综合征, 包括抗  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型受体 (GABAAR) 抗体、抗代谢性谷氨酸受体 5 (mGluR5) 抗体、抗多巴胺 2 型受体 (D2R) 抗体脑炎等。AE 根据不同的抗体分为不同的亚型, 不同亚型 AE 具有各自的精神症状特点。

**2.1 抗 NMDAR 脑炎** 抗 NMDAR 脑炎已被普遍认为是一种延迟诊断性脑炎, 精神症状常先于神经系统症状出现, 从而导致部分患者早期诊断延误。有文献报道, 该亚型患者常见于年轻女性, 80% ~ 90% 的年轻女性患者精神症状可最先出现, 其中 70% ~ 80% 曾首诊于精神科, 60% 的患者最终被收入精神病院治疗<sup>[3]</sup>。这些患者往往无明确的精神科疾病, 也没有明确的精神刺激因素, 有些患者甚至疾病全程仅表现为精神症状, 而没有神经系统受损的其他表现及头部影像学异常。同时研究者还发现, 部分既往诊断有精神病史的患者, 给予抗精神病药物治疗后, 症状无法得到显著改善, 经进一步完善检查, 最终确诊为抗 NMDAR 脑炎<sup>[5]</sup>。

研究证明, 针对 NMDA 受体的 NR1、NR2 亚基所产生的自身免疫反应, 是引起抗 NMDAR 脑炎的主要原因。这些受体高度表达于前脑、边缘系统及下丘脑。在抗 NMDAR 脑炎中, 抗体选择性结合 NMDA 受体, 导致突触后树突状细胞表面的 NMDA 受体发生快速选择性的缺失, 上述部位 NMDA 受体活性降低而导致精神症状的产生<sup>[6]</sup>。

抗 NMDAR 脑炎的精神症状常表现为多种症状的组合, 且可以作为首发症状出现。可表现为躁动、妄想、幻听、幻视、行为异常、睡眠障碍、抑郁、焦虑、思维混乱、记忆力减退等<sup>[7]</sup>。多数学者认为患者的精神症状表现为突出的兴奋性症状, 且常伴有异常的行为与幻觉。但目前关于抗 NMDAR 脑炎精神症状特点的研究结果, 仍存在争议。

已有许多研究成果表明, 精神运动性兴奋是最主要的临床表现, 且有研究通过 NPI-Q 评估, 在确诊的抗 NMDAR 脑炎患者中发现, 精神运动性兴奋、欣快和去抑制的存在是主要的神经精神病学表现<sup>[8]</sup>。Sarkis 等<sup>[9]</sup>对 544 例患者进行了分析, 其中最常见的表现是躁动, 其次是以异常的行为和视听幻觉为主的精神症状等, 且表现有躁动的患者以儿童患者为主。而国内有研究表明, 在抗 NMDAR 脑炎发病的第 1 周, 常见精神症状为感觉异常和失眠, 激越冲动表现多见于第 2 ~

3 周<sup>[10]</sup>。

## 2.2 边缘性脑炎

**2.2.1 抗 LGI1 抗体脑炎:** LGI1 在海马区密集表达, 不仅参与调节大脑兴奋性, 还有助于记忆的形成, 对人类大脑边缘系统功能的正常运行有着重要作用<sup>[11]</sup>。因此, 当 LGI1 受到免疫系统攻击时, 也会出现边缘系统受损的精神症状。抗 LGI1 抗体脑炎也是 AE 常见的亚型之一, 多见于男性。据统计, 该亚型患者的精神症状, 可见记忆障碍、情绪改变、淡漠、去抑制、强迫行为、易冲动、幻觉、睡眠障碍、被迫害妄想等<sup>[12-13]</sup>。

Hye<sup>[14]</sup>报道 1 例患者, 以躁动、情绪不稳起病, 后出现记忆力减退就诊, 最终确诊为抗 LGI1 抗体脑炎。Jang 等<sup>[15]</sup>报道 10 例抗 LGI1 抗体脑炎患者中, 曾有 6 例因突出的精神症状最先就诊于精神科。有研究发现, 短期记忆障碍、幻觉、情绪改变在抗 LGI1 抗体脑炎患者中普遍存在<sup>[16]</sup>。在 Jang 等<sup>[15]</sup>的研究中, 表现有精神障碍的抗 LGI1 抗体脑炎患者, 均有情绪改变, 最常见症状为抑郁, 其次还可见焦虑、易怒、自我伤害行为。

因此, 抗 LGI1 抗体脑炎也可表现有突出的精神症状, 且部分患者可以精神症状起病, 加强对抗 LGI1 抗体脑炎精神症状的研究有助于早期诊治。

**2.2.2 抗 AMPAR 抗体脑炎:** 研究发现, AMPA 型谷氨酸受体多表达于海马、小脑、基底神经节, 介导大脑中大部分快速兴奋性突触传递, 对记忆和学习有重要作用<sup>[17]</sup>。当免疫反应破坏 AMPA 型谷氨酸受体时, 谷氨酸能信号的功能障碍会导致边缘系统受损并出现相应的精神症状。

抗 AMPAR 抗体脑炎较为少见, 也可表现为精神症状, 如抑郁、焦虑、行为异常、幻觉、躁狂、思维混乱等。部分患者可出现明显的记忆减退, 特别是顺行性遗忘, 既可以出现于癫痫后, 也可以是病程中的惟一症状<sup>[18]</sup>。Laurido-Soto 等<sup>[17]</sup>曾报道 1 例既往健康的患者, 以记忆减退、行为异常等精神症状起病, 病程后期才开始出现其他神经系统受损表现。

因此, 以精神症状起病, 包括精神症状作为惟一症状的患者, 医生应完善检查, 避免漏诊抗 AMPAR 抗体脑炎。

**2.2.3 抗 CASPR2 抗体脑炎:** 抗 CASPR2 抗体脑炎多见于男性, 常见的临床表现可有明显的边缘系统症状, 可出现记忆障碍、抑郁、迫害妄想、兴奋、幻觉、睡眠障碍、行为异常等症状<sup>[19-20]</sup>。

CASPR2 是一种细胞黏附分子, 可以在中枢和外周神经系统的轴突上表达<sup>[21]</sup>。最近一项研究表明, 边

缘叶脑炎患者脑脊液(CSF)的抗 CASPR2 抗体在突触前与海马抑制性中间神经元结合,产生破坏抑制性突触的作用<sup>[19]</sup>,因此,抗 CASPR2 抗体相关脑炎会表现出明显的边缘叶症状,即精神症状。

有研究报道以精神障碍起病的抗 CASPR2 抗体脑炎患者,表现为短期记忆障碍和逐渐加重的思维混乱<sup>[22]</sup>。但关于抗 CASPR2 抗体脑炎精神症状的研究,仅限于病例报道分析。

**2.2.4 抗 GABABR 抗体脑炎:**早期研究发现,啮齿类动物的 GABABR 信号的紊乱会导致记忆障碍和情绪变化。深入的研究证明,人类与啮齿类动物的表现基本一致。GABABR 在大脑中广泛存在,主要见于海马、丘脑、小脑<sup>[23]</sup>。因此,当 GABABR 受到免疫攻击时会出现边缘系统受损的精神症状。

抗 GABABR 抗体脑炎患者主要表现为癫痫发作,精神症状常见于癫痫后,部分患者也可以精神症状起病。抗 GABABR 抗体脑炎患者的精神症状可表现为严重的记忆功能障碍和思维混乱,还会出现偏执和行为改变、认知障碍、幻觉和焦虑等症状<sup>[24-26]</sup>,极少数患者以完全性短期记忆丧失为突出表现。关于精神症状的发病率,各报道并不相近。Lin 等<sup>[27]</sup>对 28 例抗 GABABR 抗体脑炎患者的研究发现,2 例以精神症状为首发症状,分别表现为行为异常和记忆减退。国内也有相关报道,在 5 例该亚型患者中,2 例以记忆减退起病,1 例在癫痫后出现情绪变化和行为异常<sup>[28]</sup>。

**2.3 其他 AE 综合征** 抗 GABAAR 抗体脑炎较上述几种亚型更为少见,其精神症状可能是首发症状,也可以出现在癫痫后。可以出现幻视、幻味、情绪低落、焦虑、行为异常等症状<sup>[29-30]</sup>。抗 mGluR5 抗体脑炎的精神症状可以作为首发症状出现,并在病程中逐渐加重,也可以是患者惟一的症状表现。可见幻觉、焦虑、性格改变、逐渐记忆丧失、怪异行为、恐惧、被害妄想等<sup>[31]</sup>。抗 D2R 抗体脑炎的患者发病时可表现为多动、焦虑、幻觉、情绪不稳、精神错乱等精神症状<sup>[32]</sup>。据报道,该亚型也可仅表现为精神症状<sup>[33]</sup>。

### 3 小结

综上所述,目前国内外关于 AE 的研究表明,精神症状是 AE 重要的临床表现,精神症状的出现对于 AE 的早期鉴别诊断具有重要的意义。但关于精神症状的特点目前的研究尚不充分,缺乏大样本研究及共识性的结论。因此临床医生要注重完善对患者精神症状的收集及分析,避免漏诊误诊 AE。

### 参考文献

[1] Herken J, Prüss H. Red flags: Clinical signs for identifying autoim-

mune encephalitis in psychiatric patients[J]. *Frontiers in Psychiatry*, 2017, 8;25. DOI: 10.3389/fpsyt.2017.00025.

- [2] Dutra LA, Abrantes F, Toso FF, et al. Autoimmune encephalitis: A review of diagnosis and treatment[J]. *Arquivos De Neuro-Psiquiatria*, 2018, 76(1):41-49. DOI: 10.1590/0004-282X20170176.
- [3] Honnorat J, Plazat LO. Autoimmune encephalitis and psychiatric disorders[J]. *Revue Neurologique*, 2018, 174(4):228-236. DOI: 10.1016/j.neurol.2017.11.004.
- [4] 中华医学会神经病学分会. 中国自身免疫性脑炎诊治专家共识[J]. *中华神经科杂志*, 2017, 50(2):91-98. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2017.02.004.
- [5] Giné Servén E, Boix Quintana E, Guanyabens Buscà N, et al. Considerations of psychotic symptomatology in anti-NMDA encephalitis: Similarity to cycloid psychosis[J]. *Clinical Case Reports*, 2019, 7(12):2456-2461. DOI: 10.1002/ccr3.2522.
- [6] Gulyayeva NA, Massie MJ, Duhamel KN. Anti-NMDA receptor encephalitis: psychiatric presentation and diagnostic challenges from psychosomatic medicine perspective[J]. *Palliative and Supportive Care*, 2014, 12(2):159-163. DOI: 10.1017/S1478951513000515.
- [7] Liu J, Amugoda C, Chini Foroush N, et al. Anti-NMDAR encephalitis: Higher suspicion needed for earlier diagnosis (case report, literature review and diagnostic criteria) [J]. *Case Reports in Neurological Medicine*, 2019, 2019: 7476254. DOI: 10.1155/2019/7476254.
- [8] Restrepo-Martinez M, Ramirez-Bermudez J, Bayliss L, et al. Characterisation and outcome of neuropsychiatric symptoms in patients with anti-NMDAR encephalitis[J]. *Acta Neuropsychiatrica*, 2020, 32(2):92-98. DOI: 10.1017/neu.2019.46.
- [9] Sarkis RA, Coffey MJ, Cooper JJ, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: A review of psychiatric phenotypes and management considerations: A report of the American neuropsychiatric association committee on research[J]. *Journal of Neuropsychiatry & Clinical Neurosciences*, 2019, 31(2):137-142. DOI: 10.1176/appi.neuropsych.18010005.
- [10] 何笑笑, 薄琳, 关鸿志, 等. 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎精神症状特点[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2019, 45(1):37-41. DOI:10.3969/j.issn.1002-0152.
- [11] Navalli D, Mutalik NR, Jayalakshmi G. Leucine-rich glioma-inactivated protein 1 antibody-positive limbic encephalitis in a patient with adenocarcinoma of prostate: A case report[J]. *Annals of Indian Academy Neurology*, 2019, 22(1):121-122. DOI: 10.4103/aian.AIAN\_377\_18.
- [12] Messelmani M, Fekih-Mrissa N, Zaouali J, et al. Limbic encephalitis associated with leucine-rich glioma-inactivated 1 antibodies[J]. *Annals of Saudi Medicine*, 2015, 35(1):76-79. DOI: 10.5144/0256-4947.2015.76.
- [13] Szots M, Marton A, Kover F, et al. Natural course of LGII encephalitis: 3-5 years of follow-up without immunotherapy[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2014, 343(1-2):198-202. DOI: 10.1016/j.jns.2014.05.048.
- [14] Hye Y. A case of anti-leucine-rich glioma-inactivated 1 antibody-mediated limbic encephalitis[J]. *Internal Medicine Journal*, 2019, 49

- (7):932-933. DOI: 10.1111/imj.14338.
- [15] Jang Y, Lee ST, Lim JA, et al. Psychiatric symptoms delay the diagnosis of anti-LGI1 encephalitis[J]. Journal of Neuroimmunology, 2018,317:8-14. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2018.02.005.
- [16] Li W, Wu S, Meng Q, et al. Clinical characteristics and short-term prognosis of LGI1 antibody encephalitis: A retrospective case study[J]. BMC Neurology, 2018, 18(1):96. DOI: 10.1186/s12883-018-1099-z.
- [17] Laurido-Soto O, Brier MR, Simon LE, et al. Patient characteristics and outcome associations in AMPA receptor encephalitis[J]. Journal of Neurology, 2019,266(2):450-460. DOI: 10.1007/s00415-018-9153-8.
- [18] Joubert B, Kerschen P, Zekeridou A, et al. Clinical spectrum of encephalitis associated with antibodies against the  $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic acid receptor case series and review of the literature[J]. JAMA Neurology, 2015,72(10):1163-1169. DOI: 10.1001/jamaneurol.2015.1715.
- [19] Joubert B, Saint Martin M, Noraz N, et al. Characterization of a sub-type of autoimmune encephalitis with anti-contactin-associated protein-like 2 antibodies in the cerebrospinal fluid, prominent limbic symptoms, and seizures[J]. JAMA Neurology, 2016,73(9):1115-1124. DOI: 10.1001/jamaneurol.2016.1585.
- [20] Lancaster E, Huijbers MG, Bar V, et al. Investigations of caspr2, an autoantigen of encephalitis and neuromyotonia[J]. Ann Neurol, 2011,69(2):303-311. DOI: 10.1002/ana.22297.
- [21] Patterson KR, Dalmau J, Lancaster E. Mechanisms of Caspr2 antibodies in autoimmune encephalitis and neuromyotonia[J]. Annals of Neurology, 2018,83(1):40-51. DOI: 10.1002/ana.25120.
- [22] Boyko M, Au KLK, Casault C, et al. Systematic review of the clinical spectrum of CASPR2 antibody syndrome[J]. Journal of Neurology, 2020,267(4):1137-1146. DOI: 10.1007/s00415-019-09686-2.
- [23] Lancaster E, Lai M, Peng X, et al. Antibodies to the GABA(B) receptor in limbic encephalitis with seizures: Case series and characterisation of the antigen[J]. The Lancet Neurology, 2010,9(1):67-76. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70324-2.
- [24] Loftspring MC, Landsness E, Wooliscroft L. GABAB encephalitis: A fifty-two-year-old man with seizures, dysautonomia, and acute heart failure[J]. Case Reports in Neurological Medicine, 2015,2015:1-4. DOI: 10.1155/2015/812035.
- [25] Zeng W, Cao L, Zheng J, et al. Clinical characteristics and long-term follow-up of seven cases of anti-GABABR encephalitis in patients of Han Chinese descent[J]. Neurology Science, 2020,41(2):373-378. DOI: 10.1007/s10072-019-04095-9.
- [26] Szots M, Blaasbjerg M, Kondziella D, et al. Four cases of GABAB receptor encephalitis[J]. Ideggyogyaszati Szemle, 2016,69(7-8):281-287. DOI: 10.18071/isz.69.0281.
- [27] Lin J, Li C, Li A, et al. Encephalitis with antibodies against the GABAB receptor: High mortality and risk factors[J]. Frontiers in Neurology, 2019,10:1030. DOI: 10.3389/fneur.2019.01030.
- [28] 姜颖, 罗昌菊. 抗  $\gamma$ -氨基丁酸 B 受体抗体脑炎 5 例报道并文献复习[J]. 疑难病杂志, 2017,16(11):1149-1151. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2017.11.018.
- [29] Pettingill P, Kramer HB, Coebergh JA, et al. Antibodies to GABAA receptor  $\alpha$ 1 and  $\gamma$ 2 subunits: clinical and serologic characterization[J]. Neurology, 2015, 84(12):1233-1241. DOI:10.1212/WNL.0000000000001326.
- [30] Spatola M, Petit-Pedrol M, Simabukuro MM, et al. Investigations in GABAA receptor antibody-associated encephalitis[J]. Neurology, 2017,88(11):1012-1020. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003713.
- [31] Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Titulaer MJ, et al. Antibodies to metabotropic glutamate receptor 5 in the Ophelia syndrome[J]. Neurology, 2011, 77(18):1698-1701. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182364a44.
- [32] Dale RC, Merheb V, Pillai S, et al. Antibodies to surface dopamine-2 receptor in autoimmune movement and psychiatric disorders[J]. Brain, 2012,135(Pt 11):3453-3468. DOI: 10.1093/brain/aww256.
- [33] Pathmanandavel K, Starling J, Merheb V, et al. Antibodies to surface dopamine-2 receptor and N-methyl-D-aspartate receptor in the first episode of acute psychosis in children[J]. Biological Psychiatry, 2015,77(6):537-547. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.07.014.

(收稿日期:2020-03-10)

(上接 855 页)

- [14] Khan RB, Sadighi ZS, Zabrowski J, et al. Imaging patterns and outcome of posterior reversible encephalopathy syndrome during childhood cancer treatment[J]. Pediatrics Blood Cancer, 2016, 63(3):523-526. DOI:10.1002/pbc.25790.
- [15] Schusse CM, Peterson AL, Caplan JP. Posterior reversible encephalopathy syndrome[J]. Psychosomatics, 2013, 54(3):205-211. DOI:10.1016/j.psych.2013.01.014.
- [16] Gao B, Lyn C, Lerner A, et al. Controversy of posterior reversible encephalopathy syndrome: What have we learnt in the last 20 years[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2018,89(1):14-20. DOI:10.1136/jnnp-2017-316225.
- [17] Aracki-Trenkic A, Stojanov D, Trenkic M, et al. Atypical presentation of posterior reversible encephalopathy syndrome: Clinical and radiological characteristics in eclamptic patients[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2016,16(3):180-186. DOI:10.17305/bjbm.2016.1201.
- [18] Li Y, Gor D, Walicki D, et al. Spectrum and potential pathogenesis of reversible posterior leukoencephalopathy syndrome[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2012, 21(8):873-882. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.09.010.
- [19] Giussani A, Ardissino G, Belingheri M, et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome after kidney transplantation in pediatric recipients: Two cases[J]. Pediatr Transplant, 2016, 20(1):68-71. DOI:10.1111/petr.12640.
- [20] 马明圣, 宋红梅, 王长燕, 等. 儿童系统性红斑狼疮合并脑后期可逆性脑病综合征 4 例并文献复习[J]. 中国循证儿科杂志, 2016, 11(1):56-60. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5501.2016.01.014.

(收稿日期:2020-02-26)

# 结直肠癌肿瘤标志物的临床应用研究进展

江经斌综述 刘琦审校

作者单位: 550025 贵阳, 贵州医科大学(江经斌); 550004 贵阳, 贵州医科大学附属医院消化内科(刘琦)

通信作者: 刘琦, E-mail: gyqiliu6071@sina.com

**【摘要】** 结直肠癌是最常见的消化道肿瘤之一, 早期临床症状不明显, 发现时往往是中晚期, 其发病率及死亡率均位于所有常见肿瘤的前 5 位。结直肠癌的早期诊断对降低结直肠癌的发病率和病死率、提高 5 年生存率至关重要。肿瘤标志物检测是结直肠癌早期筛查及辅助诊断的重要手段。文章对结直肠癌相关肿瘤标志物的临床应用情况及最新研究进展进行综述。

**【关键词】** 结直肠癌; 肿瘤标志物; 早期诊断; 联合检测; 临床应用

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.025

**Clinical application of tumor markers in colorectal cancer** Jiang Jingbin\*, Liu Qi. \* Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang 550025, China

Corresponding author: Liu Qi, E-mail: gyqiliu6071@sina.com

**【Abstract】** Colorectal cancer is one of the most common digestive tract cancers. Its early clinical symptoms are not obvious. It is often found in the middle and late stages. The incidence rate and mortality rate are all the top 5 in all the common tumors. Early diagnosis of colorectal cancer is of great importance in reducing the incidence rate and mortality of colorectal cancer and improving the 5-year survival rate. Detection of tumor markers is an important means of early screening and auxiliary diagnosis of colorectal cancer. This article reviews the clinical application and the latest research progress of colorectal cancer related tumor markers.

**【Key words】** Colorectal cancer; Oncology serum markers; Early diagnosis; Combined detection; Clinical application

2018 年世界癌症统计指出<sup>[1]</sup>, 36 种常见癌症中, 结直肠癌新发病例超过 180 万, 约占总癌症新发病例的 10.2%, 排名第 3; 死亡病例数约为 88 万, 约占总癌症死亡病例的 9.2%, 排名第 2。全球 185 个国家或地区中, 中国的恶性肿瘤发病率、死亡率位居中等偏上水平。2015 年我国癌症调查数据显示<sup>[2]</sup>, 结直肠癌新发病例约 38.8 万, 死亡病例数约 18.7 万, 均排名前 5。最近 10 年, 我国结直肠癌发病率及病死率均呈上升趋势<sup>[3]</sup>, 已成为危害人民健康的突出问题。

结直肠癌病死率高的原因是早期临床症状不明显, 发现时常是中晚期, 据报道, 早期诊断的结直肠癌患者 5 年生存率约为 90%, 而晚期诊断的患者 5 年生存率下降至 5%~10%<sup>[4]</sup>。因高效筛查手段的应用, 美国结直肠癌发病率及病死率均呈下降趋势, 且 5 年生存率明显上升<sup>[5]</sup>, 可见结直肠癌早期筛查及诊断对结直肠癌防治工作的重要性。目前广泛应用的筛查方法包括粪便检测、影像学检查、内镜检查及肿瘤标志物检测等, 其中粪便检测特异性不高, 影像学检查费用

昂贵, 内镜检查依从性差, 而肿瘤标志物的有效性、经济性及安全性可以提高筛查的整体接受度, 是结直肠癌筛查的重要手段<sup>[6]</sup>。

肿瘤标志物是正常组织不存在或仅少量存在, 或仅见于胚胎组织, 因肿瘤相关基因表达上调或机体对肿瘤组织反应产生的, 在肿瘤组织中大量存在的代谢产物。肿瘤标志物存在于细胞、组织、体液及排泄物中, 可被定量或定性检测, 提示肿瘤细胞的增殖分化。除了结直肠癌的早期筛查及辅助诊断, 肿瘤标志物在判断预后、选择治疗方案、预测疗效及监测复发等方面均有应用价值<sup>[7]</sup>。本文对传统肿瘤标志物临床应用的最新进展及新肿瘤标志物的最新研究进行综述。

## 1 现有肿瘤标志物及其临床应用

目前, 临床与结直肠癌相关的常用肿瘤标志物包括癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原 19-9 (carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)、糖类抗原 242 (CA242)、糖类抗原 72-4 (CA72-4)、糖类抗原 50 (CA50) 等。CEA 是结直肠癌最重要的肿瘤标志物,

在结直肠癌的诊断和监测等方面的应用及研究已经比较成熟。CA19-9 是消化道恶性肿瘤的重要标志物,主要用于评估预后及监测复发。我国最新结直肠癌诊疗指南将 CEA 及 CA19-9 列为推荐的辅助诊断指标<sup>[8]</sup>。对于部分 CEA 不升高的结直肠癌患者,CA72-4、CA50、CA242 等肿瘤标志物也有一定的应用价值<sup>[7]</sup>。

肿瘤标志物单独检测时,对肿瘤的敏感度或特异度不够高,应用存在局限性,同时测定多个肿瘤标志物可以提高诊断准确率<sup>[9]</sup>。喻茂文<sup>[10]</sup>对 192 例经术后病理确诊的结直肠癌患者进行的一项病例对照研究显示,术前血清 CA125、CA19-9、CEA 及 CYFRA-21-1 单项检测诊断结直肠癌的敏感度分别为 70.65%、68.48%、69.56% 及 72.83%,特异度分别为 68.47%、67.39%、63.04% 及 70.65%,诊断准确率 93.47%、90.22%、84.78% 及 91.30%,联合检测 CA125、CA19-9、CEA、CYFRA21-1 的敏感度为 91.30%,特异度为 93.47%,诊断准确率 96.96%,表明虽然单一肿瘤标志物有一定的诊断准确率,但联合检测可将诊断准确率进一步提高,还可以弥补单项指标敏感度或特异度不高的缺陷,明显降低漏诊率及误诊率,对于结直肠癌的诊断具有重要的临床价值及应用前景。

目前结直肠癌肿瘤标志物联合检测的研究已成为国内外的一大研究热点,但具体组合形式及其应用范围尚无定论。曾龙飞<sup>[11]</sup>对 231 例结肠癌患者的血清 CEA、CA19-9、CA72-4、CA125、CA242 和 TuM2-PK 水平研究发现,联合检测的敏感度、特异度和诊断准确率高于单项检测;通过建立 Logistic 回归-ROC 曲线模型发现,联合检测 2 项标志物,CA19-9 及 TuM2-PK 组合的诊断效能最高;联合检测 3 项血清肿瘤标志物,CEA、CA19-9 及 TuM2-PK 组合的诊断效能最高;联合检测 4 项标志物,CEA、CA72-4、TuM2-PK 及 CA19-9 组合的诊断效能最高,但与 CEA、CA19-9 及 TuM2-PK 组合的诊断效能相当。Yang 等<sup>[12]</sup>研究发现,对于结直肠癌患者,CEA、CA19-9、COX-2 联合检测可弥补单项检测的不足,提高诊断的准确率;联合检测可提高 I、II 期结直肠癌诊断的敏感度和特异度,会降低 III、IV 期结直肠癌诊断的敏感度和特异度,提示 CEA、CA19-9 和 COX-2 联合检测更适用于结直肠癌早期诊断。马运宾<sup>[13]</sup>对 158 例结肠癌伴肝转移患者的 CEA、CA19-9、CA50、AFP、TPS 进行检测发现,CEA、CA19-9、CA50 升高与结直肠癌发生肝转移显著相关,是结直肠癌肝转移的独立预测因素,联合检测对预测结直肠癌肝转移的敏感度及特异度均优于单项检测。这些研究证实,相比单项检测,肿瘤标志物的联合检测在结直肠

癌的筛查、诊断、判断预后等方面更具指导意义及应用价值,且不同组合形式可能有不同的应用价值。

## 2 新标志物的探索和应用

### 2.1 蛋白类肿瘤标志物

2.1.1 环氧化酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2):环氧化酶(COX)是合成前列腺素(prostaglandin, PG)的关键酶,有 2 种同工酶,其中 COX-2 在正常组织中几乎不表达,但通过炎症因子、生长因子及癌基因等的诱导在结直肠癌组织中大量表达,COX-2 表达的上调可抑制肿瘤细胞凋亡、促进血管形成及抑制机体免疫等,在结直肠癌的发生中起着重要的作用<sup>[14]</sup>。最新研究指出,COX-2 的表达与结直肠癌的分化程度、临床分期及预后无相关性,COX-2 作为结直肠癌肿瘤标志物的诊断价值已被证实<sup>[15-16]</sup>。研究显示<sup>[12]</sup>,血清 COX-2 水平诊断结直肠癌的敏感度、特异度均优于 CEA,诊断准确率与 CA19-9 相当,血清 COX-2 水平可明显提高联合检测的敏感度及诊断准确率。

2.1.2 内皮细胞特异性分子 1(endothelial cell specific molecule-1, ESM-1): ESM-1 是内皮细胞分泌的一种限制性皮肤硫酸蛋白多糖,通过促进肿瘤细胞生长、增殖、迁移和促进肿瘤血管形成,在结直肠癌发生、发展中起重要作用<sup>[17]</sup>。Jiang 等<sup>[18]</sup>发现结直肠癌患者血清 ESM-1 水平明显高于健康志愿者,ESM-1 与结直肠癌的组织分化低、肿瘤浸润达肌层、伴淋巴结转移和高 TNM 分期显著相关,且高 ESM-1 患者的总生存率更低,提示 ESM-1 可作为判断结直肠癌预后的肿瘤生物标志物。最新研究显示,ESM-1 对结直肠癌的诊断效率高于 CEA 及 CA19-9,且 ESM-1 与结直肠癌晚期(TNM 分期 III、IV 期)风险相关,对结直肠癌的诊断和分期有重要的应用价值<sup>[19]</sup>。

2.1.3 肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(tumor type M2 pyruvate kinase, TuM2-PK):丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)是糖酵解途径中的关键酶之一,其 M2 型的二聚体形式主要存在于肿瘤组织,被称为肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK),TuM2-PK 的表达使肿瘤细胞在氧气充足时仍以糖酵解为主要代谢途径,而持续有氧糖酵解促进了肿瘤细胞的生长和转移<sup>[20]</sup>。杨刚等<sup>[21]</sup>研究发现,血浆 TuM2-PK 在截断值为 25.9 U/ml 时,诊断结直肠癌的敏感度及诊断效能高于 CEA、CA19-9 及 CA72-4,特异度仅次于 CA19-9,且 TuM2-PK 可提高联合检测的敏感度及特异度,对结直肠癌的诊断有重要意义。已有研究证实<sup>[22]</sup>,包含 TuM2-PK 在内的多种糖酵解相关蛋白与癌症预后不良显著相关,提示 TuM2-PK 可辅助判断预后。此外,TuM2-PK 可在粪便

中被检测到,粪便 TuM2-PK 阳性对结直肠癌及结直肠癌前病变均有较高的敏感度及诊断准确率<sup>[23]</sup>。联合检测粪便 TuM2-PK 可明显提高粪便潜血诊断结直肠癌的敏感度、特异度及准确率<sup>[24]</sup>。一项对结肠黏液中 24 种肿瘤标志物的定量分析指出<sup>[25]</sup>,TuM2-PK 是对结直肠癌敏感度、特异度及诊断效能最高的 4 种肿瘤标志物之一。这些研究表明 TuM2-PK 在结直肠癌早期筛查的重要价值及广阔前景。

**2.1.4 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs):**MMPs 是一类锌依赖的内源性肽酶,可介导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)及血管壁的蛋白降解和重构,在肿瘤细胞增殖、血管生成、侵袭和迁移及免疫逃逸等过程中发挥重要作用<sup>[26]</sup>。多项研究证实,MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13、MMP-14 等多种 MMPs 在结直肠癌组织中高表达,与结直肠癌的低分化、浸润深度超过肌层、伴淋巴结转移及 TNM 分期晚相关<sup>[27-31]</sup>。部分血清 MMPs 水平的相关研究也得到了类似的结果<sup>[32-33]</sup>,提示血清 MMPs 水平可用于了解结直肠癌的浸润情况、淋巴结转移情况、临床分期及评估预后。此外,粪便 MMP-9 检测对结直肠癌的筛查表现出了较好的敏感度、特异度及诊断准确率<sup>[23,34]</sup>,是结直肠癌无创筛查的一个极具潜力的肿瘤标志物。

**2.1.5 基质金属蛋白酶抑制物-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1):**TIMPs 是 MMPs 的内源性抑制剂,其中 TIMP-1 除了抑制 MMPs 的功能外,还有刺激生长、抑制凋亡及参与恶性细胞转化等生物活性<sup>[35]</sup>。研究发现,TIMP-1 在结直肠癌组织及与结直肠癌侵袭性相关的肌成纤维细胞中的表达明显高于正常结直肠组织,提示 TIMP-1 表达的上调与结直肠癌的侵袭及转移有关。一项 Meta 分析指出<sup>[36]</sup>,血清 TIMP-1 水平对诊断结直肠癌有较好的敏感度、特异度及诊断准确率,可作为诊断结直肠癌的肿瘤标志物。研究指出<sup>[33,37]</sup>,血清 TIMP-1 水平升高与结直肠癌肝转移、肺转移相关,与预后不良相关。此外,最新研究表明,类似 TuM2-PK,粪便 TIMP-1 水平对结直肠癌的筛查具有重要价值<sup>[25]</sup>。

**2.2 基因类肿瘤标志物** 结直肠癌的增殖、分化、浸润及转移是环境与遗传等多因素共同作用形成的多阶段、多基因改变的复杂过程,包括癌基因的激活、突变和抑癌基因的失活及信号转导通路的异常<sup>[38]</sup>。随着分子生物学的进步,结直肠癌的诊断和治疗已经进入分子分型水平,临床主要检测 RAS、BRAF、微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)、P53、APC、c-myc 等。目前对结直肠癌患者进行基因检测主要用途是进

行分型、指导靶向药物选择和判断预后。随着研究的进一步深入,突变基因作为肿瘤标志物在结直肠癌筛查、早期诊断、辅助分期等方面具有极大的研究前景。

**2.2.1 KRAS、NRAS、BRAF V600 基因:**在结直肠癌的发生、发展中,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)信号通路及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路起着重要的作用,而 KRAS、NRAS 和 BRAF 基因是 EGFR/MAPK 信号通路上的关键基因,与结直肠癌的发生、发展、治疗及预后等各个环节密不可分<sup>[39]</sup>。国内外指南均推荐结直肠癌患者进行 KRAS/NRAS/BRAF 基因突变检测<sup>[8,40]</sup>。目前临床上 RAS 和 BRAF 的检测除了指导靶向药物(抗 EGFR 单抗)的选择,还可用于预后的判断。王子元等<sup>[41]</sup>对 110 例结直肠癌患者的组织学样本研究发现,KRAS 基因突变率为 45.4%,NRAS 基因突变率为 6.3%,BRAF V600 基因突变率为 2.7%;结合病理资料显示,KRAS 基因突变率与患者的淋巴结转移显著相关;BRAF 基因突变率与右半结肠癌显著相关。Taieb 等<sup>[42]</sup>对 3 934 例Ⅲ期结直肠癌患者的研究发现,KRAS 或 BRAF 突变的患者,术后复发时间、复发后生存时间和总生存时间更短,KRAS、BRAF 突变为结直肠癌术后复发、复发后生存和总生存时间变差的独立预测指标。随着研究的深入,KRAS、NRAS、BRAF V600 作为分子标志物在结直肠癌的早期筛查,协助诊断及分期,判断疗效和评估预后等方面具有巨大的潜力。

**2.2.2 磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚单位  $\alpha$  (phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA) 基因:**PIK3CA 基因编码的磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3Ks)是 EGFR 下游 PI3K/Akt 通路的关键激酶,PIK3CA 基因突变在结直肠癌的发生和发展中起着关键作用<sup>[43]</sup>。研究显示,15%~20% 的结直肠癌(CRCs)存在 PIK3CA 外显子 9 或 20 的激活突变,使 PIK3CA 成为结直肠癌中最常见的突变基因之一<sup>[44]</sup>。研究表明,PIK3CA 基因突变与结直肠癌组织学分级低、临床分期晚、预后差有关,且 PIK3CA 基因突变促进了对结直肠癌一线化疗方案(如 FOLFOX 和 FOLFORI)的耐药<sup>[45-46]</sup>。但最新一项 Meta 分析显示<sup>[47]</sup>,PIK3CA 基因突变与结直肠癌分化情况、临床分期及远处转移等影响预后的因素无关。PIK3CA 基因突变对结直肠癌的临床分期及预后的预测作用仍有争议,但其作为结直肠癌治疗靶点及预测耐药的肿瘤标志物,对结直肠癌患者的治疗有着重要的影响。

此外,MSI、P53、APC、c-myc、Runx3、miRNA 等对

结直肠癌的早期筛查,协助诊断及分期,选择治疗方案,判断疗效和评估预后等方面的价值正在被广泛研究。随着分子生物学的进步及研究的深入,基因突变检测作为结直肠癌的肿瘤标志物有着广阔的发展前景和应用价值。

### 3 总结

肿瘤标志物在结直肠癌的人群筛查、早期诊断、辅助分期及制定治疗方案、判断预后及疗效、监测复发及转移等方面具有重要的临床应用价值。随着分子生物学的研究进展,更多肿瘤标志物被发现,但受限于实验水平、检测费用等,新肿瘤标志物的临床应用尚未成熟,其应用价值有待进一步研究证实。此外,突变基因的检测除了作为结直肠癌患者化疗方案的选择提供重要依据,也正成为结直肠癌早期筛查的重要手段。目前临床上常用的肿瘤标志物以血清标志物为主,其单独检测的敏感度和特异度不高,临床应用存在局限性,肿瘤标志物联合检测已成为结直肠癌的早期筛查、诊断、分期、治疗、预后及监测等临床工作环节的重要方法。随着新标志物的成熟和推广,早发现、早诊断及早治疗将大大降低结直肠癌的病死率。

### 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6):394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [2] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1):19-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.008.
- [3] Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality[J]. Gut, 2017, 66(4):683-691. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
- [4] Lee PY, Chin SF, Low TY, et al. Probing the colorectal cancer proteome for biomarkers: Current status and perspectives[J]. J Proteomics, 2018, 187:93-105. DOI: 10.1016/j.jprot.2018.06.014.
- [5] Henley SJ, Ward EM, Scott S, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, part I: National cancer statistics[J]. Cancer, 2020, 126(10):2225-2249. DOI: 10.1002/encr.32802.
- [6] Bresalier RS, Grady WM, Markowitz SD, et al. Biomarkers for early detection of colorectal cancer: The early detection research network, a framework for clinical translation[J/OL]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2020. <https://cebp.aacrjournals.org/content/early/2020/04/16/1055-9965.EPI-20-0234>. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-20-0234.
- [7] Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, et al. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update[J]. Int J Cancer, 2014, 134(11):2513-2522. DOI: 10.1002/ijc.28384.
- [8] 国家卫生计生委医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结

- 直肠癌诊疗规范(2017 年版)[J/OL]. 中华普通外科学文献:电子版, 2018, 12(3):145-159. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2018.03.001.
- [9] 龚信建, 林晓春. 电化学发光法检测消化道肿瘤 5 项标志物的诊断试验与评价[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(17):2565-2567, 2570. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.17.026.
- [10] 喻茂文. CYFRA-21、CA125、CA19-9、CEA 联合检测在结直肠癌的诊断中的价值研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(6):907-910. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2018.06.039.
- [11] 曾龙飞. 六种血清肿瘤标志物对结肠癌的的诊断价值研究[D]. 泸州:西南医科大学, 2017.
- [12] Yang W, Luo Y, Hu S, et al. Value of combined detection of serum carcino-embryonic antigen, carbohydrate antigen 19-9 and cyclooxygenase-2 in the diagnosis of colorectal cancer[J]. Oncol Lett, 2018, 16(2):1551-1556. DOI: 10.3892/ol.2018.8792.
- [13] 马运宾. 术前多种血清肿瘤标志物联合检测在结直肠癌肝转移预测中的应用研究[D]. 北京:北京协和医学院/中国医学科学院/清华大学医学部/北京协和医学院中国医学科学院, 2018.
- [14] Liu Y, Sun H, Hu M, et al. The role of cyclooxygenase-2 in colorectal carcinogenesis[J]. Clin Colorectal Cancer, 2017, 16(3):165-172. DOI: 10.1016/j.clcc.2016.09.012.
- [15] Du P, Xu B, Zhang D, et al. Hierarchical investigating the predictive value of p53, COX2, EGFR, nm23 in the post-operative patients with colorectal carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(1):954-966. DOI: 10.18632/oncotarget.13512.
- [16] Batista WR, Santos G, Vital FMR, et al. Immunoeexpression of TS, p53, COX2, EGFR, MSH6 and MLH1 biomarkers and its correlation with degree of differentiation, tumor staging and prognostic factors in colorectal adenocarcinoma: A retrospective longitudinal study[J]. Sao Paulo Med J, 2019, 137(1):33-38. DOI: 10.1590/1516-3180.2018.0270071218.
- [17] Li C, Geng H, Ji L, et al. ESM-1: A novel tumor biomaker and its research advances[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2019, 19(14):1687-1694. DOI: 10.2174/1871520619666190705151542.
- [18] Jiang H, Fu XG, Chen YT. Serum level of endothelial cell-specific molecule-1 and prognosis of colorectal cancer[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2):5519-5526. DOI:10.4238/2015.May.25.3.
- [19] 李世龙, 张宝, 宋扬, 等. 血清 ESM-1 和 CEA 及 CA199 检测对结直肠癌诊断价值探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 26(15):1119-1123. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2019.15.012.
- [20] Zahra K, Dey T, Ashish, et al. Pyruvate kinase M2 and cancer: The role of PKM2 in promoting tumorigenesis[J/OL]. Front Oncol, 2020. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00159/full>. DOI: 10.3389/fonc.2020.00159.
- [21] 杨刚, 唐丽娟. 血清 TuM2-PK、CEA、CA19-9 和 CA72-4 对结肠癌的筛查价值[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(1):35-36, 39. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.01.012.
- [22] Yu M, Chen S, Hong W, et al. Prognostic role of glycolysis for cancer outcome: Evidence from 86 studies[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(4):967-999. DOI: 10.1007/s00432-019-02847-w.
- [23] Rutka M, Bor R, Bálint A, et al. Diagnostic accuracy of five different fecal markers for the detection of precancerous and cancerous le-



- sions of the colorectum [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 2492081. DOI: 10.1155/2016/2492081.
- [24] Zaccaro C, Saracino IM, Fiorini G, et al. Power of screening tests for colorectal cancer enhanced by high levels of M2-PK in addition to FOBT[J]. *Intern Emerg Med*, 2017, 12(3):333-339. DOI: 10.1007/s11739-017-1610-3.
- [25] Loktionov A, Soubieries A, Bandaletova T, et al. Colorectal cancer detection by biomarker quantification in noninvasively collected colorectal mucus; Preliminary comparison of 24 protein biomarkers[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 31(10):1220-1227. DOI: 10.1097/MEG.0000000000001535.
- [26] Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2017, 147: 1-73. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
- [27] 杨立平, 李晓峰, 秦伟, 等. 结直肠癌组织中 Survivin、MMP-2、nm23-H1 及 VEGF 的表达及临床意义[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(19):4819-4821. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2017.19.058.
- [28] 蒋炳林, 何永亮, 陈开蓉. MMP3、THBS2、COL10A1 和 miR-1229 对早期结直肠癌的诊断价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(6):994-999. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.06.024.
- [29] 王鑫, 王钊, 李元春, 等. 热休克蛋白 70 及基质金属蛋白酶-7 和 EHD2 蛋白在结直肠癌组织中的表达及意义[J]. *新乡医学院学报*, 2019, 36(5):443-447. DOI:10.7683/xyxyxb.2019.05.010.
- [30] 邹永锋, 劳学军, 温明博, 等. 生长抑制因子 2 和基质金属蛋白酶-13 表达与结直肠癌临床病理特征的关系[J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(5):414-417. DOI:10.7683/xyxyxb.2016.05.019.
- [31] 荣玮, 徐晨, 李雪松, 等. 结直肠癌 Visfatin、MMP-14 的表达及意义[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(4):738-741. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2020.04.021.
- [32] Simi P, Tuomisto A, Tervahartiala T, et al. High-serum MMP-8 levels are associated with decreased survival and systemic inflammation in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2018, 119(2):213-219. DOI: 10.1038/s41416-018-0136-4.
- [33] Vocka M, Langer D, Fryba V, et al. Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Int J Biol Markers*, 2019, 34(3):292-301. DOI: 10.1177/1724600819866202.
- [34] Annahúzi A, Abrahám S, Farkas K, et al. A pilot study on faecal MMP-9: A new noninvasive diagnostic marker of colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(7):787-792. DOI: 10.1038/bjc.2016.31.
- [35] Grünwald B, Schoeps B, Krüger A. Recognizing the molecular multifunctionality and interactome of TIMP-1[J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(1):6-19. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.08.006.
- [36] Meng C, Yin X, Liu J, et al. TIMP-1 is a novel serum biomarker for the diagnosis of colorectal cancer: A meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(11):e0207039. DOI: 10.1371/journal.pone.0207039.
- [37] Camilla B, Ines BL, Tuomas K, et al. Serum MMP-8 and TIMP-1 predict prognosis in colorectal cancer[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1):679. DOI:10.1186/s12885-018-4589-x.
- [38] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2019, 394(10207):1467-1480. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
- [39] Koveitypour Z, Panahi F, Vakilian M, et al. Signaling pathways involved in colorectal cancer progression[J/OL]. *Cell Biosci*, 2019, 9:97. <https://cellandbioscience.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13578-019-0361-4>. DOI:10.1186/s13578-019-0361-4.
- [40] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(4):359-369. DOI:10.6004/jnccn.2018.0021.
- [41] 王子元, 梁婷玉, 陈佳, 等. 结肠直肠癌 KRAS、NRAS、BRAF 基因突变及其与临床病理特征、p53 蛋白表达间相关性研究[J]. *诊断学理论与实践*, 2018, 17(6):687-693. DOI:10.16150/j.1671-2870.2018.06.012.
- [42] Taieb J, Malicot KL, Shi Q, et al. Prognostic value of BRAF and KRAS mutations in MSI and MSS stage III colon cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2017, 109(5):djw272. DOI: 10.1093/jnci/djw272.
- [43] Li W, Qiu T, Dong L, et al. Prevalence and characteristics of PIK3CA mutation in mismatch repair-deficient colorectal cancer[J]. *J Cancer*, 2020, 11(13):3827-3833. DOI: 10.7150/jca.37437.
- [44] Cathomas G. PIK3CA in colorectal cancer[J]. *Front Oncol*, 2014, 4:35. DOI: 10.3389/fonc.2014.00035.
- [45] Wang Q, Shi YL, Zhou K, et al. PIK3CA mutations confer resistance to first-line chemotherapy in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(7):739. DOI: 10.1038/s41419-018-0776-6.
- [46] 啜东宇, 林大鹏, 陈玉泽, 等. XELOX 新辅助化疗用于局部进展期低位直肠癌的效果及对癌基因表达的影响[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(5):486-488, 497. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.05.013.
- [47] Jin J, Shi Y, Zhang S, et al. PIK3CA mutation and clinicopathological features of colorectal cancer: A systematic review and Meta-Analysis[J]. *Acta Oncol*, 2020, 59(1):66-74. DOI: 10.1080/0284186X.2019.1664764.

(收稿日期:2020-03-08)