



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
国内外公开发行
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

防控糖尿病助力全面小康社会建设 陈璐璐 865

神经系统疾病

缺血性脑卒中后认知功能障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达
与认知功能的关系及其预测价值
..... 刘欣 吉智 李毓新 刘利宁 惠晶 869

血清和肽素、MMP-9 水平对动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者手术
治疗预后的预测价值
..... 彭浩 陈健龙 刘朝晖 蔡仁端 王义彪 874

依达拉奉对脑缺血再灌注损伤患者神经功能、氧化应激
和炎性反应的影响
..... 杨帆 白抚生 尤林 支立君 韩昱 谢欣 880

血钙变化通过内质网应激途径加重颅脑外伤患者
神经损伤的临床研究 张鹏 王增亮 王瑞 王坚 884

介入栓塞术治疗颅内动脉瘤的疗效及对患者
血清 NF-κB、ICAM-1、MMP-9 水平的影响
..... 席东海 徐全华 田斌 张睿 王磊波 杨华 888

神经节苷脂联合临床康复路径对急性脑梗死患者临床疗效、
认知功能及神经功能的影响 秦锐 谢宏斌 苏茜 892

重型颅脑外伤昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的
危险因素分析
..... 叶富跃 杨堃 王子珍 马春阳 陈政刚 潘琪 吴然 896

高原地区颅脑损伤患儿血清 HIF-1α、miR-210 水平
与继发性癫痫的关系
..... 汪生毅 孙小红 李海栋 李佩章 王岁英 李玉鹏 900

甲状腺功能亢进症相关性烟雾病临床病例分析
..... 岑礼燕 黄兰珠 魏丽玲 906

论著·临床

- 免疫肠内营养治疗对急性应激患者肠道耐受性、炎性因子的影响
..... 欧阳洋 施荣 王庆 王文清 周丹 909
- 可溶性 HLA-G 和 Toll 样受体 2、Rta 基因在传染性单核细胞增多症中的表达及相关性分析
..... 韩红满 秦伟 左立辉 刘贵敏 李四强 913
- 肝上皮炎血管内皮瘤临床特征分析 刘清 么立萍 谢华红 杨玉萍 王小娟 917
- Carney 综合征 1 例家系调查并文献复习 邵千慧 柳乾龙 童睿 姚涓川 崔巍 921
- 儿童骨肉瘤预后因素及列线图的构建 易鹏 徐雄峰 姚佳炜 邱波 926
- 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者不同纤维支气管镜插管方法的临床效果观察
..... 张丽伟 董文泽 贾倩倩 杨晓春 孙海军 刘莉 931
- miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 在子痫前期发生中的作用及机制研究
..... 周俏苗 汪洪林 岑慧 肖美芳 黄海燕 许晶 施蕾 936

论著·基础

- 川续断皂苷 VI 经 ATF6 通路对 H9c2 心肌细胞氧化应激和凋亡的保护作用
..... 冯海斌 张巍 李琴 柴巧英 韩继如 李娟 940
- 不同浓度黄连素对乳腺癌 T47D 细胞生物学特性的影响
..... 刘亚江 冯金华 邹琼燕 黄文超 李佳艳 945

罕见病例

- 腹膜后原发性黏液性囊腺瘤 1 例 刘序 丁洪亮 陈贵进 周祥武 王乐霄 950
- MOG 抗体相关性脑脊髓炎 1 例并文献复习 陈阳 武兵 张玉花 951
- 老年 Abernethy 畸形致肝性脑病 1 例 孟祥柱 康婷 钱伟 孙宏 郑泽琪 953

综述

- 超声成像新技术在高血压心脏病中的研究进展 李会英 贾坤 赵浩天 薛红元 954
- 睡眠剥夺在认知功能障碍发病中的作用机制研究进展 刘旭珂 侯家保 夏中元 958
- 宫颈癌肉瘤的研究进展 刘宁 叶红 963
- 维生素 D 与早产儿肺部疾病关系研究进展 王炜 刘小辉 李月梅 968

- 作者·编者·读者 935

期刊基本参数: CN13-1316/R * 2002 * m * A4 * 112 * zh * P * ¥12.00 * 4 500 * 26 * 2020-09

本期责任编辑: 孙治安 英文编辑: 马晓海

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 19, Number 9 18 September, 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

Neural System Disease

The relationship between serum miR-132 and miR-135 expression and

cognitive function in patients with cognitive dysfunction after

ischemic stroke and its predictive value

..... Liu Xin, Ji Zhi, Li Yuxin, et al 869

Predictive value of serum copeptin and MMP-9 levels on surgical treatment

of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage

..... Peng Hao, Chen Jianlong, Liu Chaohui, et al 874

Effects of edaravone on neurological function, oxidative stress and inflammatory

response in patients with cerebral ischemia-reperfusion injury

..... Yang Fan, Bai Fusheng, You Lin, et al 880

Clinical study on the changes of serum calcium aggravate nerve injury in

patients with traumatic brain injury through endoplasmic reticulum stress

..... Zhang Peng, Wang Zengliang, Wang Rui, et al 884

Effect of interventional embolization on serum levels of NF- κ B, ICAM-1 and

MMP-9 in patients with intracranial aneurysms

..... Xi Donghai, Xu Quanhua, Tian Bin, et al 888

Effects of ganglioside combined with clinical rehabilitation pathway on clinical

efficacy, cognitive function and neurological function in patients with

acute cerebral infarction

..... Qin Rui, Xie Hongbin, Su Qian 892

Risk factors of nosocomial infection of lower respiratory tract in comatose

patients with severe craniocerebral trauma after tracheotomy

..... Ye Fuyue, Yang Kun, Wang Zizhen, et al 896

Relationship between serum HIF-1 α , miR-210 levels and secondary epilepsy

in children with craniocerebral injury at high altitude

..... Wang Shengyi, Sun Xiaohong, Li Haidong, et al 900

Analysis of 6 cases of hyperthyroidism associated moyamoya disease

..... Cen Liyan, Huang Lanzhu, Wei Liling 906

Original Article : Clinical Research

- Effects of immunoenteral nutrition on intestinal tolerance and inflammatory factors in patients with acute stress *Ouyang Yang, Shi Rong, Wang Qing, et al* 909
- Expression and correlation analysis of soluble HLA-G, Toll like receptor 2 and Rta gene in infectious mononucleosis *Han Hongman, Qin Wei, Zuo Lihui, et al* 913
- Clinical features of hepatic epithelioid hemangioendothelioma *Liu Qing, Yao Liping, Xie Huahong, et al* 917
- Carney complex: family investigation of a case and literature review *Tai Qianhui, Liu Qianlong, Tong Rui, et al* 921
- Prognostic factors of osteosarcoma in children and the construction of Nomogram *Yi Peng, Xu Xiongfeng, Yao Jiawei, et al* 926
- Clinical effect of different fiberoptic bronchoscopy intubation methods in patients with obstructive sleep apnea syndrome *Zhang Liwei, Dong Wenzhe, Jia Qianqian, et al* 931
- The role and mechanism of miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p in the development of preeclampsia *Zhou Qiaomiao, Wang Honglin, Cen Hui, et al* 936

Original Article : Basic Research

- Protective effects of *Dipsacus asper* saponin VI on oxidative stress and apoptosis of H9c2 cardiomyocytes via ATF6 pathway *Feng Haibin, Zhang Wei, Li Qin, et al* 940
- Effects of berberine with different concentrations on biological characteristics of breast cancer cell line T47D *Liu Yajiang, Feng Jinhua, Zou Qiongyan, et al* 945

Rare Case Report

- Retroperitoneal primary mucinous cystadenoma: a case report *Liu Xu, Ding Hongliang, Chen Guijin, et al* 950
- MOG antibody associated encephalomyelitis: a case report and literature review *Chen Yang, Wu Bing, Zhang Yuhua* 951
- Abernethy malformation induced hepatoencephalopathy: an elderly case report *Meng Xiangzhu, Kang Ting, Qian Wei, et al* 953

Review

- Research progress of new ultrasound imaging technology in hypertensive heart disease *Li Huiying, Jia Kun, Zhao Haotian, et al* 954
- Research progress on the mechanism of sleep deprivation in the pathogenesis of cognitive dysfunction *Liu Xuke, Hou Jiabao, Xia Zhongyuan* 958
- Research progress of cervical carcinosarcoma *Liu Ning, Ye Hong* 963
- Relationship between vitamin D and lung diseases in preterm infants *Wang Wei, Liu Xiaoye, Li Yuemei* 968

防控糖尿病助力全面小康社会建设

陈璐璐

作者单位: 430022 武汉, 华中科技大学同济医学院附属协和医院内分泌科

【关键词】 糖尿病; 防控; 全民健康; 全面小康

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.001

我国始终把国民健康放在优先发展的战略地位,“没有全民健康,就没有全面小康”“人民健康是民族昌盛和国家富强的重要标志”。根据国家健康发展的总体要求,2017 年国务院办公厅发布《中国防治慢性病中长期规划(2017—2025 年)》,糖尿病同心脑血管疾病、癌症、慢性呼吸系统疾病、口腔疾病,以及内分泌、肾脏、骨骼、神经等疾病并列被该规划纳入其中^[1]。2019 年 7 月 9 日,国务院成立健康中国行动推进委员会,并印发《健康中国行动(2019—2030 年)》,其中包含 15 个专项,糖尿病的防治首次被列入专项行动中,同时和糖尿病防治相关的专项行动就有 3 个^[2]。足以证明政府及全社会对糖尿病防治的高度重视,也说明糖尿病防控是建设全民健康、全面小康社会的重要保障之一。

1 糖尿病防控面临的严峻形势

随着我国人口老龄化与生活方式的变化,糖尿病从少见病变成一个流行病^[3]。2020 年 4 月 28 日,英国医学杂志(BMJ)发表了英国医科大学滕卫平教授团队进行的中国大陆 2015—2017 年 31 个省市 75 880 名 18 岁以上的大型糖尿病流行病学调查,依据《2019 年美国糖尿病协会糖尿病医学诊疗标准》,中国成人总糖尿病、自报糖尿病、新诊断糖尿病和糖尿病前期的患病率分别为 12.8%、6.0%、6.8% 和 35.2%^[4]。这次调查,对我国糖尿病发展趋势得出以下几条结论:(1)再次验证了中国是世界第一糖尿病大国。2019 年国际糖尿病联盟(IDF)发布了最新全球糖尿病地图(第 9 版),全球最多的 3 个国家分别是中国、印度和美国,糖尿病患者数量分别为 1.164 亿、7 700 万和 3 100 万^[5]。而这次的流行病学数据要高于 IDF 的数据,显示中国大陆糖尿病总数为 1.298 亿,其中男性 7 040 万人,女性 5 940 万人。(2)根据 IDF 2019 最新报告,2019 全球约有 4.63 亿成人患糖尿病,中国糖尿病人数占全世界总糖尿病的 25%。也就是说全球糖尿病

人群聚集在一起,每 4 个人中就有 1 个中国糖尿病患者。(3)目前,中国的糖尿病患病率在继续增高,没有出现拐点,甚至还没有平台期出现的迹象。而美国糖尿病早在 2008 年报道就已经出现糖尿病发病率的平台期和拐点,表明中国糖尿病是一个尚未被有效解决的重大公共卫生问题。(4)糖尿病前期人群巨大,它们是未来糖尿病发病的“蓄水池”,只有对这个庞大的前期人群进行有效的管控才能真正有效遏制糖尿病的不断攀升。(5)虽然较 2013 年国民糖尿病知晓率从 36.5% 上升到 43.3%,治疗率从 32% 上升到 49%,但是整个社会的防控任务仍然十分艰巨。

2 糖尿病对健康和社会的危害

糖尿病常常易伴发多个慢性非传染性疾病,如高血压、高血脂、肥胖、心脑血管病、恶性肿瘤等。并且糖尿病的大小血管并发症也是患者致死、致残的主要因素^[3]。此外,此次新冠病毒肺炎暴发期间的数据显示,糖尿病是新冠病毒肺炎患者的主要基础疾病之一,是导致新冠病毒肺炎患者不良结局的重要因素^[6-7]。

心血管疾病(CVD)的最主要原因是动脉粥样硬化,由其所致的动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)包括冠状动脉疾病、缺血性卒中及外周动脉疾病。糖尿病患者血脂异常的特点是致动脉粥样硬化的脂质谱的异常。因此,糖尿病也是 ASCVD 的独立危险因素。Einarson 等^[8]系统分析了 57 篇文献中的 4 549 481 例 T2DM 患者(平均年龄 63.6 岁,平均糖尿病病程 10.4 年),合并 CVD 的患者占 32.2%。Lautsch 等^[9]对英国临床实践研究数据库中的 148 803 例 T2DM 患者(平均年龄 65 岁)进行分析显示,35.4% 的患者已有 CVD。我国的“3B”研究显示,在门诊 T2DM 患者(平均年龄 62.6 岁)中,14.6% 合并 CVD(不包括脑血管疾病和外周血管疾病),10.1% 合并脑血管疾病^[10]。Framingham 队列研究显示,糖尿病人群发生 CVD 的风

险约为非糖尿病人群的 2.5 倍^[11]。中国 Kadoorie 生物样本库协作组的资料显示,糖尿病人群心血管死亡风险为非糖尿病人群的 2.1 倍,心血管死亡占中国糖尿病人群总死因的 43.2%^[12]。

慢性肾脏病(CKD)是糖尿病另一个重要的合并症。美国的一项研究显示,T2DM 人群中 CKD 患病率约为 25%,而非糖尿病人群中则仅为 5.3%^[13]。另有研究显示,在 T2DM 患者中,微量或大量白蛋白尿的年发生率约为 8%,估算的肾小球滤过率(eGFR) < 60 ml · min⁻¹ · 1.73 m⁻² 的年发生率为 2% ~ 4%,终末期肾病(ESKD)的年发生率为 0.04% ~ 1.80%^[14]。国内的一项研究显示,27.1% 的 T2DM 患者合并 CKD^[15]。自 2011 年起,糖尿病相关的 CKD 已超过肾小球肾炎成为中国 CKD 住院的首要原因。中国 Kadoorie 生物样本库协作组的资料显示,糖尿病人群 CKD 死亡风险为非糖尿病人群的 13.1 倍,CKD 占中国糖尿病人群总死因的 5.2%^[12]。

足部问题是导致糖尿病患者伤残的一个重要原因。糖尿病患者出现糖尿病足的终生风险可能高达 25%^[16]。通常可识别出潜在可预防的糖尿病足的始发事件中,最常见为引起皮肤损伤的微小创伤。严重的糖尿病足往往可能需要截肢,糖尿病足截肢仅次于外伤所致的截肢。担心截肢致残是多数患者放弃治疗的原因,而早期识别和治疗可预防大多数糖尿病患者的截肢。尤其是对糖尿病患者下肢的神经和血管进行系统性筛查和足部的仔细检查,可能会大幅减少因足部问题而引起的伤残。

视网膜病变是糖尿病患者另一个致残的原因。糖尿病患者的致盲率是一般人群的 25 倍。而且,糖尿病性视网膜病变(DR)是中年患者最常见的致盲原因,每年在美国造成至少 12 000 例新发致盲^[17]。DR 引起的视力丧失可能继发于黄斑水肿(累及黄斑的视网膜增厚和水肿)、新生血管出血、视网膜脱离或新生血管性青光眼。绝大多数发生 DR 的患者直到病程极晚期才出现症状,此时进行治疗可能为时太晚。因此,定期筛查糖尿病患者视网膜疾病十分重要。

糖尿病患者由于高糖等原因削弱了机体的免疫功能,这些患者易出现各种感染。一项配对队列研究采用了加拿大某个基于电子病历的监测系统,发现在控制了潜在混杂因素后,与 11 066 例匹配的对照者相比,1 779 例糖尿病患者(22% 在使用胰岛素)中任何感染的几率都更高^[18]。糖尿病与皮肤、软组织感染尤其相关,其次是泌尿生殖系统、胃肠道和呼吸道感染。另一项回顾性队列研究采用了英格兰某个大型的初级

保健数据库,发现相比于年龄、性别和实践相匹配的对照者(11 696 例与 1 型糖尿病患者匹配,191 822 例与 2 型糖尿病患者匹配),糖尿病患者的各种感染发病率更高^[19]。1 型糖尿病患者中,骨和关节感染、心内膜炎、脑膜炎和脓毒症的风险最高。2 型糖尿病患者中,骨和关节感染、假丝酵母菌病、脓毒症和蜂窝织炎的风险最高。2020 年新型冠状病毒全球肆虐,糖尿病患者患上新冠肺炎更易发展至严重的并发症,进入重症监护病房(ICU),住院时间更长或因 COVID-19 死亡^[6-7]。在中国,糖尿病患者(主要是 2 型糖尿病)的病死率为 7.3%,而总体病死率为 2.3%。在美国的一项回顾性研究中,糖尿病或未控制良好的高血糖患者的病死率为 28.8%,而无糖尿病的病死率为 6.2%。在英国的一项人群队列研究的初步报告中,2 型糖尿病患者的总死亡率为 260.6/10 万,而总人口中的死亡率为 38.8/10 万^[6]。

3 糖尿病综合防控助力全面小康社会建设的理论基础:“共同土壤”理论和“共病”理论

1988 年国外学者 Reaven 首次提出了著名的 X-综合征(代谢综合征)^[20]。其标准是:(1)胰岛素靶器官/组织,主要是肝、脂肪和骨骼肌对胰岛素刺激的葡萄糖摄取和利用产生了抵抗;(2)糖耐量减低(IGT);(3)高胰岛素血症;(4)极低密度脂蛋白—胆固醇(vLDL-C)水平升高;(5)高密度脂蛋白—胆固醇(HDL-C)值降低;(6)高血压。1995 年 Stern 在 Reaven 的 X-综合征基础上,创立了非传染性慢性疾病(NCCD)发生发展的“共同土壤”理论,即 NCCD 的主要成分和危险因素(RFs)几乎都来自以胰岛素抵抗(IR)为主的“共同土壤”中,都是从“IR 土壤”中生长出来的“毒草”。并共同构成了胰岛素抵抗综合征(IRS)^[21]。而 IRS 的几乎每个组分都涉及到机体营养素及生物活性物质代谢和多个系统组织器官,故完全符合人是统一有机整体自然法则。它们既是独立疾病又相互紧密相关,互为因果,相互促进。因此,IRS 是以 IR 为主线将它们紧密地串联在一起,该理论成为临床医学发展史上的一个“里程碑”,并为 IRS 的干预提供了综合有效防控理论,从根本上抛弃了单打一的“头痛医头,足痛医足”的狭隘防控观点。这与糖尿病的经典病理生理机制(胰岛素抵抗、胰岛素分泌不足)是高度吻合的。类似的“共病”理论由美国教授 Feinstein 于 1970 年提出,世界卫生组织(WHO)于 2008 年将共病定义为共存于同一患者的 2 种或 2 种以上的慢性病且持续 6 个月或更长时间,这一概念被后续的大多数国内外学者所采用。糖尿病患者也常合并代谢综

合征的一个或多个组分的临床表现,如高血压、血脂异常、肥胖症等。糖尿病“三级预防”和综合管理的理念也同 IRS 的综合防控理论一脉相承。

4 糖尿病综合防控对助力全面小康社会建设的意义

糖尿病防控中的有三级预防目标。一级预防目标,是控制糖尿病的危险因素,预防糖尿病的发生;二级预防的目标,是早发现、早诊断和早治疗糖尿病患者,在已诊断的患者中预防糖尿病并发症的发生;三级预防的目标是,延缓已发生的糖尿病并发症的进展,降低致残率和病死率,并改善患者的生存质量^[3]。

4.1 糖尿病防控的经济意义 《中国防治慢性病中长期规划(2017—2025 年)》中制定了具体的目标,到 2025 年,慢性病危险因素得到有效控制,实现全人群全生命周期健康管理,力争 30~70 岁人群因心脑血管疾病、癌症、慢性呼吸系统疾病和糖尿病导致的过早死亡率较 2015 年降低 20%。逐步提高居民健康期望寿命,有效控制慢性病疾病负担^[1]。据世界卫生组织统计,2005—2015 年,中国由于糖尿病及相关心血管疾病导致的经济损失达到 5 577 亿美元,其中 80% 用于糖尿病并发症治疗。来自国际糖尿病联盟的最新数据显示,2017 年 20~79 岁糖尿病患者数量排名前 10 位的国家中,医疗费用支出中国仅次于美国,居第二位^[22]。从糖尿病的防控来看,2013 年我国归因于高血糖的死亡例数是 62.19 万,归因于高血糖的标化死亡率为 48.64/10 万。高血糖造成的伤残损失寿命年和早死损失寿命年分别为 875.15 万人年和 1 163.76 万人年^[23]。因此,该目标如果能够达成,在 2025 年过早死亡率下降 20%,相当于减少逾百万人年的寿命损失,可以节约大量的治疗费用,减轻社会医疗开支。

4.2 糖尿病防控的统筹意义 在《中国防治慢性病中长期规划(2017—2025 年)》中强调要坚持统筹协调。统筹各方资源,健全政府主导、部门协作、动员社会、全民参与的慢性病综合防治机制,将健康融入所有政策,调动社会和个人参与防控的积极性,营造有利于慢性病防控的社会环境。我国糖尿病防控的主要模式有下列几种,它们涉及慢病管理的全链条,且各自框架相对完善,绝大多数有行政保证。

4.2.1 依托社区卫生服务中心的综合管理模式:这种模式是中国目前的主要模式。社区卫生服务中心通过体检、门诊等方法筛查出辖区内的糖尿病患者,对愿意接受管理的糖尿病患者建立专项档案,并按照规范要求开展定期的随访,如发现危急情况或血糖经常控制不好的患者,建议转诊上级医院。患者管理由经过专业培训的人员(全科医生、护士、公共卫生医生)负

责,管理内容包括健康教育、生活方式干预、治疗建议和评估等。

4.2.2 综合医院参与的糖尿病防控模式:这种模式的管理主体为综合医院。在综合医院成立糖尿病指导中心,设有糖尿病专科门诊(咨询门诊),以糖尿病专科医生、专职护士为主体参与患者管理,专职护士在解答患者咨询、引导患者就医及住院治疗和院内健康教育等方面发挥重要作用。综合医院通过门诊发现患者,对患者进行门诊或住院治疗并开展健康教育。

4.2.3 社区—医院一体化的糖尿病防控模式:该模式是社区卫生服务中心与一些综合医院开展合作,把在社区控制不好的糖尿病患者转诊到综合医院接受进一步治疗,并在治疗控制后回归社区进行管理。

4.2.4 患者自我管理的糖尿病防控模式:患者自我管理的糖尿病防控模式指医生与患者一起管理疾病的管理模式,医生通过对患者进行健康教育,使其掌握一定的糖尿病防控知识,在医生的帮助下,患者自我监测血糖并开展饮食、运动等非药物干预。

4.2.5 疾控中心或卫健委组织参与的糖尿病防控模式:疾控中心参与的模式是指各级疾控中心对社区卫生服务中心开展的糖尿病患者管理起统领全局作用,负责制定管理规范及质量控制并开展考核。

4.3 糖尿病防控的科学意义 《中国防治慢性病中长期规划(2017—2025 年)》中提到增强科技支撑,推动科技成果转化和适宜技术应用。系统加强慢性病防控科研布局,推进相关科研项目。进一步加强国家临床医学研究中心和协同创新网络建设,完善重大慢性病研究体系。以信息、生物和医学科技融合发展为引领,加强慢性病防控基础研究、应用研究和转化医学研究。统筹优势力量,推进慢性病致病因素、发病机制、预防干预、诊疗康复、医疗器械、新型疫苗和创新药物等研究,重点突破精准医疗、“互联网+”健康医疗、大数据等应用的关键技术,支持基因检测等新技术、新产品在慢性病防控领域推广应用。

糖尿病的相关研究除了遵从科学研究的规律外,还需要针对国内外与糖尿病防控相关的学术和政策环境的变化与时俱进,更好地发挥研究的时效性和实用性。近年来,糖尿病的防控策略和防控手段在国内外发生重大变化,也对糖尿病相关的研究,特别是转化医学研究提出了新的需求。随着我国医改的深入,政府对糖尿病分级诊疗的推进和对糖尿病基层防控的强化亟需通过转化医学研究,将国内外已经建立的有效的糖尿病分级诊疗模式转化为适合我国不同地域、不同医疗发展水平的“本地化模式”来保证糖尿病分级诊

疗的可落实性、有效性和可持续性发展。此外,也需要大量的转化医学研究将国外和我国高层医疗机构已经建立的疾病诊疗路径转化为适合于不同基层医疗机构的疾病诊疗手段^[24]。

糖尿病防控作为国家慢病管理中长期计划的一部分,是助力我国全面小康建设的重要组成部分。糖尿病及其危险因素和并发症的“共病”管理具有科学理论基础。管理好糖尿病对于患者、社会具有良好的经济效应,政府统筹改革是良好的切入点,对健康中国建设具有积极的推动作用。因此,有效防控糖尿病的高发将是助力全面小康社会建设的强有力抓手,需要全社会重视和投入^[25]。

参考文献

- [1] 国务院办公厅. 中国防治慢性病中长期规划(2017—2025 年) [EB/OL]. [2020-07-22]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2017/content_5174509.htm.
- [2] 健康中国行动推进委员会. 健康中国行动(2019—2030 年) [EB/OL]. [2020-07-22]. http://www.gov.cn/xinwen/2019-07/15/content_5409694.htm.
- [3] 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/ema. j. issn. 1674-5809. 2018. 01. 003.
- [4] Li YZ, Teng D, Shi XG, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross pal study [J]. BMJ, 2020, 369: m997. DOI: 10. 1136/bmj. m997.
- [5] Internationl diatetes federation. IDF Diabetes Atlas 2019 [EB/OL]. [2020-07-22]. <https://diabetesatlas.org/en/resources/>.
- [6] Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study [J]. Lancet, 2020, 395(10229): 1054-1062.
- [7] Huiqing Li, Lulu Chen, Juan Zheng, et al. Newly diagnosed diabetes is associated with a higher risk of mortality than known diabetes in hospitalized patients with COVID-19 [J]. Diabetes Obesity and Metabolism, 2020. DOI: 10. 1111/dom. 14099.
- [8] Einarson TR, Acs A, Ludwig C, et al. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 20072017 [J]. Cardiovasc Diabetol, 2018, 17(1): 83. DOI: 10. 1186/s1293301807286.
- [9] Lautsch D, Wang T, Yang L, et al. Prevalence of established cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus in the UK [J]. Diabetes Ther, 2019, 10(6): 21312137. DOI: 10. 1007/s13300019006989.
- [10] Ji L, Hu D, Pan C, et al. Primacy of the 3B approach to control risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes patients [J]. Am J Med, 2013, 126(10): 925. e11925. e22. DOI: 10. 1016/j. amjmed. 2013. 02. 035.
- [11] Franco OH, Steyerberg EW, Hu FB, et al. Associations of diabetes mellitus with total life expectancy and life expectancy with and without cardiovascular disease [J]. Arch Intern Med, 2007, 167(11): 11451151. DOI: 10. 1001/archinte. 167. 11. 1145.
- [12] Bragg F, Holmes MV, Iona A, et al. Association between diabetes and causespecific mortality in rural and urban areas of China [J]. JAMA, 2017, 317(3): 280289. DOI: 10. 1001/jama. 2016. 19720.
- [13] Zelnick LR, Weiss NS, Kestenbaum BR, et al. Diabetes and CKD in the United States population, 20092014 [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017, 12(12): 19841990. DOI: 10. 2215/CJN. 03700417.
- [14] Koye DN, Shaw JE, Reid CM, et al. Incidence of chronic kidney disease among people with diabetes: a systematic review of observational studies [J]. Diabet Med, 2017, 34(7): 887901. DOI: 10. 1111/dme. 13324.
- [15] Guo K, Zhang L, Zhao F, et al. Prevalence of chronic kidney disease and associated factors in Chinese individuals with type 2 diabetes: crosssectional study [J]. J Diabetes Complications, 2016, 30(5): 803810. DOI: 10. 1016/j. jdiacomp. 2016. 03. 020.
- [16] Boulton AJ, Armstrong DG, Albert SF, et al. Comprehensive foot examination and risk assessment: a report of the task force of the foot care interest group of the American Diabetes Association, with endorsement by the American Association of Clinical Endocrinologists [J]. Diabetes Care, 2008, 31(8): 1679-1685. DOI: 10. 2337/dc08-9021.
- [17] Frank RN. Diabetic retinopathy [J]. N Engl J Med, 2004, 350(1): 48-58. DOI: 10. 1056/NEJMr021678.
- [18] Abu-Ashour W, Twells LK, Valcour JE, Gamble JM. Diabetes and the occurrence of infection in primary care: a matched cohort study [J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 67. DOI: 10. 1186/s12879-018-2975-2.
- [19] Carey IM, Critchley JA, DeWilde S, et al. Risk of infection in type 1 and type 2 diabetes compared with the general population: A matched cohort study [J]. Diabetes Care, 2018, 41(3): 513-521. DOI: 10. 2337/dcl7-2131.
- [20] Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease [J]. Diabetes, 1988, 37(12): 1595-1607.
- [21] Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease: The “common soil” hypothesis [J]. Diabetes, 1995, 44(4): 369-374. DOI: 10. 2337/diab. 44. 4. 369.
- [22] 潘锋. 医防融合, 切实提升基层糖尿病管理水平——访中华医学会糖尿病学分会主任委员贾伟平教授 [J]. 中国当代医药, 2019, 26(11): 1-3. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4721. 2019. 11. 002.
- [23] 赵艳芳, 王卓群, 杨静, 等. 1990 与 2013 年中国归因于高血糖的疾病负担分析 [J]. 中华预防医学杂志, 2016, 50(9): 769-775. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-9624. 2016. 09. 005.
- [24] 陈荣, 张根长, 胡丹标. 糖尿病防控的进展及对策 [J]. 中国公共卫生管理, 2018, 34(6): 779-782. DOI: 10. 19568/j. cnki. 23-1318. 2018. 06. 016.
- [25] 纪立农. 糖尿病防治研究与与时俱进、砥砺前行 [J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(1): 1. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6187. 2017. 01. 001.

缺血性脑卒中后认知功能障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达与认知功能的关系及其预测价值

刘欣, 吉智, 李毓新, 刘利宁, 惠晶

基金项目: 陕西省卫生健康科研项目(2018C0326)

作者单位: 710038 西安医学院第二附属医院神经内科

通信作者: 吉智, E-mail: closeji@126.com

【摘要】目的 分析缺血性脑卒中(IS)后认知功能障碍患者血清微小核糖核酸(miR)-132、miR-135 表达与认知功能的关系及其预测 IS 后认知功能障碍的价值。**方法** 选取 2017 年 2 月—2020 年 3 月西安医学院第二附属医院神经内科诊治 IS 患者 147 例,根据是否发生认知功能障碍将其分为障碍组(60 例)和非障碍组(87 例)。根据简易智能精神状态检查量表(MMSE)评分将障碍组患者分为轻度亚组(19 例)、中度亚组(27 例)、重度亚组(14 例)。采用实时荧光定量 PCR 检测血清 miR-132、miR-135 表达,酶联免疫吸附试验检测血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)、S-100 钙结合蛋白 β (S-100 β)水平,蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评估认知功能受损情况。比较组间和亚组间患者血清 miR-132、miR-135 表达差异,分析 miR-132、miR-135 与 IS 后认知功能障碍患者血清 NSE、S-100 β 、MoCA 评分相关性,以及 miR-132、miR-135、联合 miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的价值。**结果** 障碍组患者血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100 β 水平及 MoCA 评分均低于非障碍组($t/P = 12.204/0.000, 19.014/0.000, 8.219/0.000, 19.592/0.000, 9.927/0.000$),且各指标均随患者认知功能受损程度增加而降低($F/P = 16.136/0.000, 40.541/0.000, 10.215/0.000, 98.403/0.000, 11.475/0.000$)。IS 后认知障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达均与血清 NSE、S-100 β 水平及 MoCA 评分呈正相关(miR-132: $r = 0.680, 0.644, 0.751$; miR-135: $r = 0.517, 0.503, 0.698, P$ 均 $= 0.000$)。受试者工作特征(ROC)曲线分析显示,血清 miR-132、miR-135、联合 miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的曲线下面积(AUC)分别为 0.667、0.657、0.902,敏感度分别为 71.67%、63.33%、90.00%,特异度分别为 74.71%、70.11%、93.10%。**结论** IS 后认知功能障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达均降低,miR-132、miR-135 表达与认知功能障碍、神经损伤程度均存在一定关系,可以作为评估 IS 后认知功能受损程度的辅助指标。

【关键词】 脑卒中, 缺血性; 认知功能; 微小核糖核酸-132; 微小核糖核酸-135; 预测价值

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.002

The relationship between serum miR-132 and miR-135 expression and cognitive function in patients with cognitive dysfunction after ischemic stroke and its predictive value Liu Xin, Ji Zhi, Li Yuxin, Liu Lining, Hui Jing. Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Shaanxi Province, Xi'an 710038, China

Corresponding author: Ji Zhi, E-mail: closeji@126.com

Funding program: Health Research Project of Shaanxi Province (2018C0326)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between the expression of serum microribonucleic acid (miR)-132 and miR-135 and cognitive function in patients with cognitive dysfunction after ischemic stroke (IS) and its value in predicting cognitive dysfunction after IS. **Methods** From February 2017 to March 2020, 147 patients with IS diagnosed and treated in the Department of Neurology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, were divided into disorder group (60 cases) and non-disorder group (87 cases) according to whether cognitive dysfunction occurred. According to the Mini Mental State Examination Scale (MMSE) score, the patients in the disorder group were divided into mild subgroup (19 cases), moderate subgroup (27 cases), and severe subgroup (14 cases). Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect serum miR-132 and miR-135 expression, enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum neuron-specific enolase (NSE) and S100 calcium-binding protein β (S-100 β) levels, and Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA) was used for evaluation. Impaired cognitive function. The differences in serum miR-132 and miR-135 expression between groups and subgroups were compared, and the correlation between miR-132 and miR-135 and the serum NSE, S-100 β , and MoCA scores of patients with cognitive dysfunction after IS was analyzed, and miR-132, miR-135, combined with miR-132 + miR-135 were

used to predict post-IS recognition. Know the value of dysfunction. **Results** The serum levels of miR-132, miR-135, NSE, S-100 β and MoCA scores in the disorder group were lower than those in the non-disorder group ($t/P = 12.204/0.000, 19.014/0.000, 8.219/0.000, 19.592/0.000, 9.927/0.000$), and all indicators were all lower. As the degree of cognitive impairment increases, it decreases ($F/P = 16.136/0.000, 40.541/0.000, 10.215/0.000, 98.403/0.000, 11.475/0.000$). The expressions of serum miR-132 and miR-135 in patients with cognitive impairment after IS were positively correlated with serum NSE, S-100 β levels and MoCA score (miR-132: $r = 0.680, 0.644, 0.751$; miR-135: $r = 0.517, 0.503, 0.698, P = 0.000$). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum miR-132, miR-135, and miR-132 + miR-135 combined to predict cognitive dysfunction after IS were 0.667, 0.657, and 0.902, respectively, and the sensitivity was 71.67%, 63.33%, 90.00%, the specificity is 74.71%, 70.11%, 93.10%, respectively. **Conclusion** The expression of miR-132 and miR-135 in the serum of patients with cognitive dysfunction after IS decreased. The expression of miR-132 and miR-135 has a certain relationship with the degree of cognitive dysfunction and nerve damage, which can be used as auxiliary indicators to assess the degree of cognitive impairment after IS.

【Key words】 Stroke, ischemic; Cognitive function; microRNA 132; microRNA 135; Predict value

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是全球常见的致死致残性疾病,多见于中老年人,随着我国社会老龄化进程加重,IS 发病率逐渐增加^[1], IS 后认知功能障碍属于卒中后异常心理行为,认知功能障碍会延缓神经功能恢复,随着年龄增长和疾病进展可转变为痴呆,严重影响患者工作和生活^[2]。目前 IS 后认知功能障碍发病机制尚不明确,给疾病早期诊断带来一定困难,探讨 IS 后认知功能障碍相关分子机制有助于其预防、早期诊断和治疗。微小核糖核酸(microRNA, miR)在脑组织表达丰富,可调节转录后蛋白表达,在神经发生、重塑、突触形成方面发挥重要作用,可能在神经系统疾病中扮演至关重要的角色^[3]。miR-132 是大脑中主要的微小 RNA,参与神经元可塑性、树突生长调控和学习记忆过程,其表达异常与神经退行性疾病有关^[4]。miR-135 是参与肿瘤细胞增殖、侵袭的类癌基因,近期研究发现 miR-135 参与靶基因与特定神经递质/神经调节信号转导、神经营养因子表达、突触形成,并可调节焦虑相关的行为^[5]。现分析 IS 后认知功能障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达与认知功能的关系,以及其预测认知功能障碍的价值,以期临床诊治提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 2 月—2020 年 3 月西安医学院第二附属医院神经内科诊治 IS 患者 147 例,根据是否发生认知功能障碍将其分为障碍组(60 例)和非障碍组(87 例)。障碍组男 35 例,女 25 例,年龄 61~75(68.25 \pm 3.26)岁;基础疾病:高血压 35 例,糖尿病 40 例,高脂血症 29 例;受教育年限 9~13(9.25 \pm 2.26)年;病程 2~7(5.01 \pm 1.35)个月;临床分期:恢复期 41 例,后遗症期 19 例;合并症:冠心病 29 例,心律失常 12 例,肺炎 16 例;既往治疗史:静脉

溶栓 21 例,介入治疗 17 例,单纯药物治疗 22 例;有脑卒中遗传史 13 例。非障碍组男 51 例,女 36 例,年龄 60~74(65.04 \pm 3.19)岁;基础疾病:高血压 32 例,糖尿病 41 例,高脂血症 30 例;受教育年限 9~15(11.31 \pm 3.52)年;病程 3~8(5.12 \pm 1.35)个月;临床分期:恢复期 52 例,后遗症期 35 例;合并症:冠心病 31 例,心律失常 19 例,肺炎 23 例;既往治疗史:静脉溶栓 29 例,介入治疗 23 例,单纯药物治疗 35 例;有脑卒中遗传史 19 例。2 组性别、既往治疗史、临床分期及合并症比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。障碍组年龄、合并高血压比例、合并糖尿病比例高于非障碍组($P < 0.05$),受教育年限低于非障碍组($P < 0.05$)。本研究获得医院伦理委员会批准,患者家属均知情同意并签署同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①经头颅 MR 或 CT 诊断 IS,符合“中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014”诊断标准^[6];②IS 前无认知功能障碍;③初中以上文化程度。(2)排除标准:①颅脑外伤、颅内占位性病、脑出血、脑血管畸形等患者;②生命体征不平稳者,合并恶性肿瘤,难以控制的慢性内科疾病严重并发症;③卒中后抑郁、失语、严重精神疾病等影响各种量表评定者;④其他原因引起的认知功能障碍。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-132、miR-135 检测:2 组均于入院次日晨采集空腹肘静脉血 6 ml,注入不含抗凝剂的无菌试管,4 $^{\circ}$ C、离心取血清分装于 2 支 EP 管置于 -80 $^{\circ}$ C 超低温冰箱(Thermo Fisher 公司)保存。取 1 支样本加入 TRIzol(美国 Invitrogen 公司)提取总 RNA,ND-1000 紫外分光光度计(NanoDrop 公司)检测 RNA 纯度和完整性。取总 RNA 20 μ g,采用 M-MLV 逆转录酶(Epicentre 公司)将 RNA 逆转录为 cDNA,反应体系 20

μl; 反应条件: 15℃ 30 min、45℃ 30 min、85℃ 5 min 灭活。CFX96 实时荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad)检测血清 miR-132、miR-135 表达; qRT-PCR 流程: 将 cDNA 样品分别加入 qRT-PCR 反应体系, 反应液配制如下, PCR 0.4 μl 引物 F (10 μmol/L)、0.4 μl PCR 引物 R (10 μmol/L)、PCR 缓冲液 1 μl (10 ×)、dNTP 1 μl (2.5 mmol/L)、氯化镁溶液 0.6 μl、Taq 聚合酶 0.5 U、ROX Reference Dye 0.2 μl、荧光染料 Syber greenI 2.5 μmol/L, 加水至 8 μl。反应条件: 95℃ 变性 15 s, 65℃ 退火 20 s; 75℃ 延伸 15 s, 共 40 个循环。引物购自金城医学检验中心, 序列如下。miR-132 上游: 5'-GC-CGATAACAGTCTACAGC-3', 下游: 5'-CAGTGCAGGG TCCGAGG-3'; miR-135 上游: 5'-ACAUAGGAAUAAAA GCCAUATT-3', 下游: 5'-CUAUGCCUUUUUAUUCUUAU-GUGA-3'; U6 上游: 5'-GCTTCCGCAGCACATATACTA-AAAT-3', 下游: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGCAT-3'。扩增反应结束后进行熔解曲线分析, 共做 3 次平行试验。以 U6 snRNA 为内参, 2^{-ΔΔCt} 计算 miR-132、miR-135 相对表达量。

1.3.2 血清 NSE、S-100β 蛋白检测: 取另一支样本采用意大利 BIOBASE2000 型全自动酶免分析仪, 以酶联免疫吸附试验检测血清神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、S-100 钙结合蛋白 β (S-100β) 水平, 试剂盒购自上海贝西生物制剂公司, 操作严格按其说明书进行。

1.3.3 认知功能评估: (1) 应用中文版 MoCA^[7] 评估患者认知功能, 该量表共 8 个领域 (视空间执行、命名、定向、记忆、注意力、抽象、延迟回忆、语言), 11 个条目 (视空间执行: 交替连线、复制立方体、画钟; 语言: 复述、语言流畅性, 其余各领域各 1 个条目), 满分 30 分, 评分越低认知功能越低, < 26 分为异常。(2)

应用简易智能精神状态检查量表 (MMSE)^[8] 从定向、回忆、计算、语言、复述、执行功能与命名等 7 项评估, 回答正确 1 分, 错误或不知道 0 分, 满分 30 分, 评分越低认知功能越低, < 26 分为异常。根据 MMSE 评分将认知功能障碍患者 60 例分为轻度亚组 19 例 (MMSE 评分 20 ~ 25 分)、中度亚组 27 例 (MMSE 评分 11 ~ 19 分)、重度亚组 14 例 (MMSE 评分 ≤ 10 分)^[9]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组比较采用单因素方差分析, 多组间两两对比采用 LSD-*t* 检验, 2 组间比较采用独立样本 *t* 检验。计数资料以频数或率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验; 采用 Spearman 秩相关分析变量之间相关性, 以受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 miR-132、miR-135 及联合 miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的价值。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分比较 障碍组患者血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分均低于非障碍组 (P < 0.01), 见表 1。

2.2 认知功能障碍患者各亚组血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分比较 血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分比较, 轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组 (P 均 < 0.01), 见表 2。

2.3 血清 miR-132、miR-135 表达与血清 NSE、S-100β 水平、MoCA 评分的相关性 Spearman 秩相关分析显示, IS 后认知障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达均与血清 NSE、S-100β 水平、MoCA 评分呈正相关 (r = 0.680、0.644、0.751、0.517、0.503、0.698, P 均 = 0.000)。

表 1 2 组患者血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-132	miR-135	NSE (μg/L)	S-100β (μg/L)	MoCA 评分 (分)
非障碍组	87	1.21 ± 0.35	1.75 ± 0.47	16.25 ± 5.75	0.92 ± 0.17	26.51 ± 3.56
障碍组	60	0.61 ± 0.18	0.55 ± 0.16	9.51 ± 3.24	0.45 ± 0.09	21.35 ± 2.26
<i>t</i> 值		12.204	19.014	8.219	19.592	9.927
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 障碍组各亚组患者血清 miR-132、miR-135、NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-132	miR-135	NSE (μg/L)	S-100β (μg/L)	MoCA 评分 (分)
轻度亚组	19	0.82 ± 0.32	0.75 ± 0.21	11.51 ± 3.24	0.69 ± 0.12	23.11 ± 2.13
中度亚组	27	0.63 ± 0.27	0.51 ± 0.06	9.25 ± 2.75	0.41 ± 0.10	21.15 ± 2.65
重度亚组	14	0.29 ± 0.15	0.36 ± 0.05	7.30 ± 1.31	0.20 ± 0.07	19.35 ± 1.35
<i>F</i> 值		16.136	40.541	10.215	98.403	11.475
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.4 血清 miR-132、miR-135、miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的价值 ROC 曲线分析显示,miR-132、miR-135、miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.667、0.657、0.902,miR-135、miR-132 最佳截断值 (cut-off) 分别为 0.72、0.69,miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的 AUC 最大 ($Z = 2.956/3.052, P$ 均 < 0.05), 见表 3、图 1。

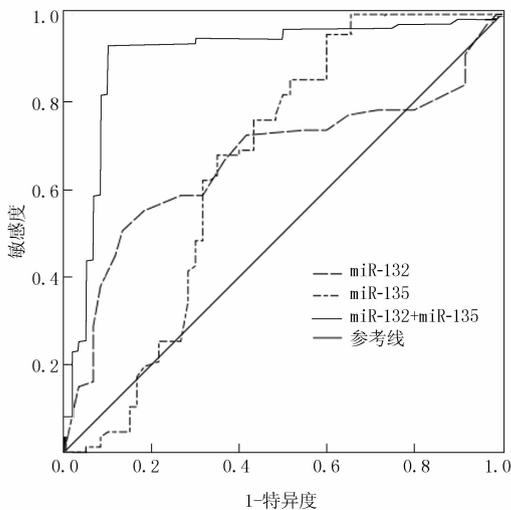


图 1 血清 miR-132、miR-135、联合 miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的 ROC 曲线

3 讨论

脑卒中是导致认知功能障碍的主要原因,反复发作的脑卒中可增加认知功能障碍患病率和认知功能受损程度^[10-11],另外年龄、教育程度、高血压、糖尿病、高脂血症、吸烟与 IS 后认知功能障碍的发生也有密切关系。目前 IS 后认知功能障碍发病机制尚不清楚,炎症反应、免疫、氧化应激、谷氨酸兴奋毒性、Ca²⁺ 超载等均涉及 IS 后认知功能障碍的发病过程,而脑卒中引起海马、白质等关键部位病变是认知功能障碍发病的解剖学机制^[12-13]。miRNAs 在脑组织尤其是海马组织中表达较丰富,参与神经系统各类信号通路基因调控,具有调控神经细胞分化、增殖、凋亡作用,参与学习、记忆等过程^[3]。miR-132 定位于染色体 17p13.3,在脑组织尤

其是海马区高表达,具有调控多种蛋白表达,突触形态结构变化和功能作用,参与突触可塑性、学习、记忆等多种神经生理过程^[14]。miR-132 表达异常与阿尔茨海默病、精神分裂症、帕金森病等多种神经系统疾病有关^[15-16]。认知功能障碍的发生与海马区神经元数量减少、形态异常均有关,推测 miR-132 可能参与 IS 后认知功能障碍的发生过程。本研究发现,血清 miR-132 表达与 IS 后认知功能障碍的发生和进展均有关,动物研究显示^[17],痴呆小鼠模型中 miR-132 表达下调。miR-132 参与 IS 后认知功能障碍的作用机制为:(1)miR-132 表达缺失可促使肌醇 1,4,5-三磷酸三激酶 B (ITPKB) 上调,激活 ERK1/2 信号通路,增加重组人 β 分泌酶活性,促使 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 产生沉积及 Tau 蛋白磷酸化,从而加速神经细胞凋亡坏死,最终导致认知功能受损,提示 miR-132/ITPKB 通路可能参与认知功能障碍发生的病理过程^[17]。(2)miR-132 表达缺失可能上调神经退化相关蛋白质,如细胞周期蛋白依赖性激酶 5、线粒体动力相关蛋白 1 等,并通过直接调控神经元一氧化氮合酶,促使一氧化氮产生,进而诱导 Tau 蛋白磷酸化参与认知功能障碍发病过程^[18]。(3)miR-132 可调控神经环路—突触可塑性,改善 IS 后痴呆大鼠行为学特征^[2],以上结果说明 miR-132 缺乏可能导致 IS 后认知功能的下降。

miR-135 是非编码微小单链 RNA,在人体内结合于靶基因 miRNA 3' 端非翻译区,通过抑制 Wnt 信号通路 APC 基因表达促使细胞凋亡,抑制细胞增殖,参与胰腺癌、乳腺癌、胃癌等多种恶性肿瘤发病^[19-22]。近期研究发现,miR-135 可抑制突触核蛋白水平,发挥神经保护作用,miR-135 是大脑对运动反应的第一个非编码 RNA 调控因子,对防止脑组织病理性老化有促进作用^[23]。miR-135 是轴突生长和皮质神经元迁移的有效刺激因子,miR-135 受轴突生长和再生的内在抑制因子 Kruppel 样因子 4 (KLF4) 调节,沉默 KLF4 可发挥 miR-135 神经保护作用,miR-135 通过 miR-135—KLF4 通路参与神经调节过程。miR-135 通过抑制 KLF4 促进成年小鼠视神经损伤后视网膜神经节细胞轴突再生^[24]。本结果提示,miR-135 与 IS 后认知功能

表 3 血清 miR-132、miR-135、联合 miR-132 + miR-135 预测 IS 后认知功能障碍的效能

指标	AUC 值(95% CI)	cut-off 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数
miR-132	0.667(0.579 ~ 0.756)	0.72	71.67	74.71	0.46
miR-135	0.657(0.557 ~ 0.756)	0.69	63.33	70.11	0.33
miR-132 + miR-135	0.902(0.843 ~ 0.960)	-	90.00	93.10	0.83

障碍的发生和进展均有关。但是 miR-135 在 IS 后认知功能障碍中的作用机制尚不清楚,目前相关报道并不多见,推测可能为:miR-135 通过调控下游因子肌醇 1,4,5-三磷酸腺苷受体 1、肌醇聚磷酸酯 4-磷酸酯酶 I 型的表达,增加小鼠齿状回神经前体细胞增殖,使神经发生增加^[23],因此 miR-135 表达缺失可能导致神经前体细胞凋亡,神经元功能破坏,进而引起认知功能障碍。NSE、S-100β 是脑损伤相关细胞因子,在神经元损伤后即从星形胶质细胞内释放进入脑脊液并经血脑屏障入血,能敏感反映脑损伤情况。MoCA 是评估认知功能的常用量表,其评分随认知功能受损程度加重而降低。本研究相关性分析结果显示,miR-132、miR-135 表达均与血清 NSE、S-100β 水平及 MoCA 评分呈正相关,表明 IS 后认知功能障碍的发生可能与神经受损有关,由于目前缺乏 miR-132、miR-135 与 NSE、S-100β 作用机制研究,其间关联机制尚不清楚。ROC 曲线分析结果显示,miR-132、miR-135 对 IS 后认知功能障碍的发生有一定预测价值,联合 miR-132、miR-135 可大大提高预测的准确性,提示 miR-132、miR-135 表达均降低时,IS 患者认知功能受损程度更重,发生认知障碍的可能性越大,对临床诊断具有警示作用。

综上所述,血清 miR-132、miR-135 表达降低与 IS 后认知功能障碍发生、神经损伤程度均存在一定关系,可以为临床 IS 后认知功能受损程度评估提供一定参考。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘欣:提出研究方向、设计研究方案、起草论文;吉智:修订论文,论文终审;李毓新:实施研究过程、数据收集、分析整理;刘利宁、惠晶:进行文献调研与整理

参考文献

[1] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: Results from a nationwide population-based survey of 480 687 adults[J]. *Circulation*, 2017, 135(8):759-771. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025250.

[2] 曹喏,徐凡叶,金亚娟,等.针刺联合黄连温胆汤治疗脑卒中后轻度认知功能障碍的临床疗效研究[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(27):5327-5330. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2017.27.032.

[3] Swarbrick S, Wragg N, Ghosh S, et al. Systematic review of miRNA as biomarkers in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(9):6156-6167. DOI:10.1007/s12035-019-1500-y.

[4] Hadar A, Milanese E, Walczak M, et al. SIRT1, miR-132 and miR-212 link human longevity to Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):8465. DOI:10.1038/s41598-018-26547-6.

[5] Murphy CP, Singewald N. Role of microRNAs in anxiety and anxiety-related disorders[J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2019, 42:185-

219. DOI:10.1007/7854_2019_109.

[6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4):246-257. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2015.04.002.

[7] 那祖克,玉素甫.蒙特利尔认知评估量表不同版本的介绍[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2010, 10(5):516-519. DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2010.05.028.

[8] 周小炫,谢敏,陶静,等.简易智能精神状态检查量表的研究和应用[J]. *中国康复医学杂志*, 2016, 31(6):694-696,706. DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.06.019.

[9] 田金洲,解恒革,秦斌,等.中国简短认知测试在痴呆诊断中的应用指南[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(37):2945-2959. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.37.001.

[10] 林荫,罗海东,刘向来,等.卒中后抑郁患者血清 BDNF 水平变化的临床意义[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(1):39-43. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.01.010.

[11] 左书浩,宋春旺,朱习会,等. Trevo 支架取栓对缺血性脑卒中患者血清 Vaspin、NSE、血液流变学及认知功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(10):986-990. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.10.004.

[12] 黄宏亮,杨莉莉,黄崑,等.脑卒中患者血清 PARK7、LPA 和 D-D 水平与颈动脉粥样硬化及神经缺损程度的关系[J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(8):776-779,783. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2017.08.006.

[13] 陈渊,钟维章,李吕力,等.前循环症状性颅内动脉狭窄患者支架成形术联合药物治疗的有效性安全性[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(3):224-227. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.03.003.

[14] Aten S, Hansen KF, Snider K, et al. miR-132 couples the circadian clock to daily rhythms of neuronal plasticity and cognition[J]. *Learn Mem*, 2018, 25(5):214-229. DOI:10.1101/lm.047191.117.

[15] Miller BH, Zeier Z, Xi L, et al. MicroRNA-132 dysregulation in schizophrenia has implications for both neurodevelopment and adult brain function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(8):3125-3130. DOI:10.1073/pnas.1113793109.

[16] Yang Z, Li T, Li S, et al. Altered expression levels of microRNA-132 and Nurrl in peripheral blood of Parkinson's disease: Potential disease biomarkers[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(5):2243-2249. DOI:10.1021/acscchemneuro.8b00460.

[17] Salta E, Sierksma A, Vanden Eynden E, et al. miR-132 loss de-represses ITPKB and aggravates amyloid and TAU pathology in Alzheimer's brain[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(9):1005-1018. DOI:10.15252/emmm.201606520.

[18] Wang Y, Veremeyko T, Wong AH, et al. Downregulation of miR-132/212 impairs S-nitrosylation balance and induces tau phosphorylation in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 51:156-166. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2016.12.015.

[19] Zhang Y, Ren S, Yuan F, et al. miR-135 promotes proliferation and stemness of oesophageal squamous cell carcinoma by targeting RERGL1[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup2):1210-1219. DOI:10.1080/21691401.2018.1483379.

血清和肽素、MMP-9 水平对动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者手术治疗预后的预测价值

彭浩, 陈健龙, 刘朝晖, 蔡仁端, 王义彪

基金项目: 海南省科技发展计划资助项目(ZDYF2018114)

作者单位: 570311 海口, 海南省人民医院/海南医学院附属海南医院神经外科

通信作者: 王义彪, E-mail: wyb2767@126.com

【摘要】目的 分析血清和肽素(copeptin)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)水平与动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aSAH)患者手术治疗转归的关系及其预测价值。**方法** 选择2017年2月—2019年2月海南省人民医院神经外科收治的aSAH患者107例,均接受手术治疗,根据术后转归情况将患者分为转归不良组(33例)和转归良好组(74例)。比较2组患者临床资料及血清和肽素、MMP-9水平。多元Logistic回归分析影响aSAH患者术后转归不良的危险因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清和肽素、MMP-9预测aSAH患者术后转归的价值。**结果** 转归不良组WFNS分级Ⅲ~Ⅴ级、Hunt-Hess分级Ⅲ~Ⅴ级、改良Fisher分级Ⅲ~Ⅴ级、并发迟发性脑缺血、并发脑出血、入院至手术时间 ≥ 72 h的患者比例及入院收缩压、血清和肽素、MMP-9水平高于转归良好组($\chi^2/t/P=6.119/0.013, 5.316/0.021, 10.019/0.002, 5.455/0.020, 4.503/0.034, 4.093/0.043, 6.737/0.000, 15.256/0.000, 10.767/0.000$)。多元Logistic回归分析结果显示,Hunt-Hess分级Ⅲ~Ⅴ级、并发迟发性脑缺血、入院至手术时间 ≥ 72 h及血清和肽素、MMP-9水平升高是影响aSAH患者术后转归不良的危险因素[1.582(95%CI 1.113~2.249)、1.857(95%CI 1.192~2.894)、1.670(95%CI 1.117~2.497)、2.547(95%CI 1.524~4.258)、3.102(95%CI 1.659~5.800), P 均 < 0.05]。ROC分析结果显示,血清和肽素、MMP-9水平、MMP-9联合和肽素预测aSAH患者术后转归不良的曲线下面积(AUC)为0.734、0.703、0.954,灵敏度分别为66.67%、81.82%、90.91%,特异度分别为71.62%、50.00%、93.24%,约登指数分别为0.383、0.318、0.841。**结论** Hunt-Hess分级Ⅲ~Ⅴ级、并发迟发性脑缺血、入院至手术时间 ≥ 72 h及血清和肽素、MMP-9水平升高与aSAH患者术后转归不良密切相关,血清和肽素、MMP-9可作为aSAH患者术后转归预测的辅助血清学指标。

【关键词】 和肽素;基质金属蛋白酶-9;动脉瘤性蛛网膜下腔出血;术后转归;预测价值

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.003

Predictive value of serum copeptin and MMP-9 levels on surgical treatment of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage Peng Hao, Chen Jianlong, Liu Chaohui, Cai Renrui, Wang Yibiao. Department of Neurosurgery, Hainan People's Hospital/Hainan Hospital Affiliated to Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Wang Yibiao, E-mail: wyb2767@126.com

Funding program: Science and Technology Development Program of Hainan Province (ZDYF2018114)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between serum copeptin and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels and the prognosis of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). **Methods** A total of 107 patients with aSAH admitted to the Department of Neurosurgery of Hainan Provincial People's Hospital from February 2017 to February 2019 were selected. All patients received surgical treatment. According to the postoperative outcomes, the patients were divided into poor outcome group (33 cases) and good outcome group (74 cases). The clinical data, serum copeptin and MMP-9 levels were compared between the two groups. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the risk factors of poor outcome in patients with aSAH. Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the value of serum copeptin and MMP-9 in predicting the postoperative outcome of patients with aSAH. **Results** The proportion of patients in the poor outcome group with WFNS grade Ⅲ - Ⅴ, Hunt Hess grade Ⅲ - Ⅴ, modified Fisher grade Ⅲ - Ⅴ, complicated with delayed cerebral ischemia, complicated with cerebral hemorrhage, and the time from hospital admission to operation ≥ 72 hours and The levels of admission systolic blood pressure, serum and copeptin, and MMP-9 were higher than those in the good outcome group ($\chi^2/t/P=6.119/0.013, 5.316/0.021, 10.019/0.002, 5.455/0.020, 4.503/0.034, 4.093/0.043, 6.737/$

0.000, 15.256/0.000, 10.767/0.000). The results of multiple logistic regression analysis showed that Hunt Hess grade III - V, complicated delayed cerebral ischemia, time from hospital admission to operation ≥ 72 h, and elevated serum levels of copeptin and MMP-9 affect the poor postoperative outcome of aSAH patients Risk factors of [1.582 (95% CI 1.113 - 2.249), 1.857 (95% CI 1.192 - 2.894), 1.670 (95% CI 1.117 - 2.497), 2.547 (95% CI 1.524 - 4.258), 3.102 (95% CI 1.659 - 5.800)], all $P < 0.05$]. ROC analysis results showed that the area under the curve (AUC) of serum and copeptin, MMP-9 levels, MMP-9 combination and copeptin predicting poor postoperative outcome of aSAH patients were 0.734, 0.703, 0.954, and the sensitivity was 66.67%, 81.82%, 90.91%, specificity is 71.62%, 50.00%, 93.24%, and Youden index are 0.383, 0.318, 0.841, respectively. **Conclusion** Hunt Hess grade III - V, delayed cerebral ischemia, time from admission to operation ≥ 72 h, and elevated serum copeptin and MMP-9 levels were closely related to the poor prognosis of aSAH patients. Serum copeptin and MMP-9 can be used as auxiliary serological indicators to predict the prognosis of aSAH patients.

【Key words】 Copeptin; Metalloproteinase-9; Aneurysmal subarachnoid hemorrhage; Postoperative outcome; Predictive value

动脉瘤性蛛网膜下腔出血 (aneurysmal subarachnoid hemorrhage, aSAH) 是危及生命的脑血管疾病,具有极高致死率,10% ~ 25% 患者死于住院前,仅 30% 可恢复生活自理^[1]。血管介入和动脉瘤夹闭术是治疗 aSAH 的重要手段,虽然手术治疗水平不断提高,但是患者术后转归仍不容乐观。术后脑出血、脑血管疾病、迟发性脑缺血、脑积水等均可影响手术治疗转归,增加病死率^[2]。目前缺少 aSAH 预后有效预测指标,WFNS 分级、Hunt-Hess 分级、改良 Fisher 分级评估存在主观性强的弊端,寻找与 aSAH 预后相关的敏感生物学指标成为临床研究的热点。脑血管病变应激反应可引起抗利尿激素增高,和肽素 (copeptin) 作为一种新的内源性应激标志物,位于抗利尿激素原 C 末端,在体内分布稳定,对脑血管疾病预后具有一定预测价值^[3]。基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 又称胶原酶 B,是 MMPs 家族中最重要的成员之一,与动脉瘤形成、破裂密切相关,并参与脑血管痉挛发生过程^[4]。本研究通过分析血清和肽素、MMP-9 与 aSAH 术后转归的关系,以期对 aSAH 患者术后转归不良的预测提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 2 月—2019 年 2 月海南省人民医院神经外科收治 aSAH 患者 107 例,根据术后转归情况以改良 Rankin 量表 (mRS) 评分^[5] ≤ 2 分为转归良好组 74 例, mRS 评分 > 2 分为转归不良组 33 例。本研究获得医院伦理委员会批准,患者或其家属均知情同意签署同意书,诊疗过程严格遵循伦理学原则,保障患者隐私和安全。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①颅脑 CT 和 MR 提示出血灶,符合 2015 版“中国蛛网膜下腔出血诊治指南”中诊断标准^[6];②发病至入院时间小于 48 h;③接受血管介入或开颅动脉瘤夹闭术治疗,手术顺利,未

出现术中死亡。(2) 排除标准:①颅脑外伤、高血压导致的脑出血;②烟雾病、动静脉畸形、假性动脉瘤;③合并颅内感染、全身感染、心血管疾病、肝肾功能障碍者;④入院 48 h 内死亡或发生脑疝患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集: 收集患者性别、年龄、体质指数 (BMI)、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病、高脂血症、冠心病、发病至入院时间、入院收缩压和舒张压、动脉瘤位置、动脉瘤直径、入院 Hunt-Hess 分级、改良 Fisher 分级、世界神经外科医师联盟委员会的蛛网膜下腔出血 (WFNS) 分级、手术方式、入院至手术时间、术后并发症 (迟发性脑缺血、脑出血、脑血管痉挛、脑积水、肺部感染)。吸烟史定义为每日吸烟 ≥ 3 支,连续超过 1 年;饮酒史定义为每日饮酒 > 100 g,超过 1 年。Hunt-Hess 分级^[7]: I 级,无或轻度症状;II 级,头痛,颈强直,动眼神经等脑神经麻痹;III 级,意识障碍、嗜睡或躁动不安,伴轻度脑症状;IV 级,浅昏迷、偏瘫,早期去脑强直,植物神经紊乱;V 级,深昏迷、去脑强直,濒危状态。改良 Fisher 分级^[8]: I 级,基底池出血;II 级,周边脑池或侧裂池出血;III 级,广泛蛛网膜下腔出血伴脑实质内血肿;IV 级,基底池、周边脑池、侧裂池大量积血。WFNS 分级^[9]: I 级,格拉斯哥昏迷评分 (glasgow coma score, GCS) 15 分,无神经功能障碍;II 级, GCS 评分 13 ~ 14 分,无神经功能障碍;III 级, GCS 评分 13 ~ 14 分,有神经功能障碍;IV 级, GCS 评分 8 ~ 12 分,有或无神经功能障碍;V 级, GCS 评分 3 ~ 7 分,有或无神经功能障碍。迟发性脑缺血诊断标准^[10]: ①aSAH 发病 4 d 后出现意识下降、失语、偏盲、偏瘫加重等神经功能缺损症状,持续时间 > 1 h;②复查颅内 CT 或 MR 发现新梗死灶,并排除再出血灶、脑积水和脑水肿等。

1.3.2 血清和肽素、MMP-9 检测: 患者入院 24 h 内采集空腹肘静脉血 3 ~ 5 ml,待血液凝固后取上层液于

EP 管,置于 TDZ4-WS 低速自动平衡离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司)4℃条件下离心取上清液,保存于-80℃超低温冰箱(Thermo Fisher 公司)。采用意大利 BIOBASE2000 型全自动酶免分析仪,以酶联免疫吸附试验检测血清 MMP-9 和肽素水平,试剂盒购自美国 Epitope Diagnostics 公司。

1.3.3 术后转归及判断:所有患者术后均随访 6 个月,采用 mRS 评估患者临床转归,0 分无功能受限和遗留症状,1 分有症状、无明显功能障碍,2 分轻度残疾、但生活能自理,3 分中度残疾,4 分中重度残疾,5 分重度残疾。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。计量资料呈正态分布并具方差齐性,以均数±标准差表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;Logistic 多元逐步回归分析影响 aSAH 手术治疗转归的危险因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清和肽素、MMP-9 水平对 aSAH 手术治疗转归的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床资料比较 2 组性别、年龄、BMI、发病至入院时间、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病、高脂血症、冠心病、动脉瘤位置、动脉瘤直径、术后并发肺部感染、并发脑血管痉挛、并发脑积水、手术方式、入院舒张压比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。转归不良组 WFNS 分级 III ~ V 级、Hunt-Hess 分级 III ~ V 级、改良 Fisher 分级 III ~ V 级、并发迟发性脑缺血、并发脑出血、入院至手术时间 ≥ 72 h 占比、入院收缩压水平高于转归良好组($P < 0.05$),见表 1。

2.2 2 组血清和肽素、MMP-9 水平比较 转归不良组血清和肽素、MMP-9 水平高于转归良好组($P < 0.01$),见表 2。

表 2 2 组患者血清和肽素、MMP-9 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	和肽素 (ng/ml)	MMP-9 ($\mu\text{g/L}$)
转归良好组	33	0.83 ± 0.21	13.02 ± 2.17
转归不良组	74	1.98 ± 0.57	19.05 ± 3.57
<i>t</i> / <i>P</i> 值		15.256/0.000	10.767/0.000

表 1 2 组患者临床资料比较

项目	转归不良组($n=33$)	转归良好组($n=74$)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别(男/女)	19/14	38/36	0.355	0.551
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	63.19 ± 6.34	62.73 ± 6.73	0.332	0.740
BMI (kg/m^2)	25.16 ± 3.49	25.71 ± 4.10	0.670	0.505
发病至入院时间($\bar{x} \pm s$, h)	3.15 ± 0.74	3.32 ± 0.67	1.173	0.243
吸烟史 [例(%)]	20(60.61)	41(55.41)	0.252	0.616
饮酒史 [例(%)]	17(51.52)	30(40.54)	1.116	0.291
基础疾病 [例(%)]				
高血压	21(63.64)	36(48.65)	2.059	0.151
糖尿病	23(69.70)	39(52.70)	2.705	0.100
高脂血症	16(48.48)	31(41.89)	0.403	0.526
冠心病	8(24.24)	16(21.62)	0.090	0.764
动脉瘤位置(①/②/③)	13/11/9	32/27/15	0.643	0.725
动脉瘤直径(①/②/③)	12/15/6	32/25/17	1.338	0.512
WFNS 分级(III ~ V) [例(%)]	21(63.64)	28(37.84)	6.119	0.013
Hunt-Hess 分级(III ~ V) [例(%)]	18(54.55)	23(31.08)	5.316	0.021
改良 Fisher 分级(III ~ V) [例(%)]	22(66.67)	25(33.78)	10.019	0.002
术后并发症 [例(%)]				
迟发性脑缺血	9(27.27)	6(8.11)	5.455	0.020
脑出血	12(36.36)	13(15.57)	4.503	0.034
脑血管痉挛	7(21.21)	10(13.51)	1.012	0.314
脑积水	2(6.06)	5(6.76)	0.083	0.773
肺部感染	3(9.09)	9(12.16)	0.018	0.894
手术方式(血管介入/开颅夹闭)	15/18	31/43	0.118	0.731
入院至手术时间(< 72 h/ ≥ 72 h)	15/18	49/25	4.093	0.043
入院收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	162.35 ± 15.34	142.43 ± 10.92	6.737	0.000
入院舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	76.25 ± 6.59	77.12 ± 6.82	0.616	0.539

注:动脉瘤位置①/②/③为颈内动脉/前交通动脉/大脑中动脉;动脉瘤直径①/②/③为 ≤ 5 mm/6 ~ 15 mm/ > 15 mm

2.3 Logistic 回归分析影响 aSAH 手术治疗转归不良的危险因素 以 aSAH 术后转归不良为因变量, WFNS 分级、Hunt-Hess 分级、改良 Fisher 分级、并发迟发性脑缺血、并发脑出血、入院至手术时间、入院收缩压、血清和肽素、MMP-9 水平为自变量, 建立 Logistic 回归模型, 最终结果: 入院至手术时间 ≥ 72 h、Hunt-Hess 分级 III ~ V 级、并发迟发性脑缺血、血清和肽素、MMP-9 水平升高是 aSAH 术后转归不良的独立危险因素 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 血清和肽素、MMP-9 对 aSAH 手术治疗转归不良的预测价值 ROC 分析血清和肽素、MMP-9、和肽素 + MMP-9 联合预测 aSAH 手术治疗转归不良的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.734、0.703、0.954, 见图 1。血清和肽素、MMP-9 最佳截断值 (cut-off) 分别为 1.35 ng/ml、16.11 $\mu\text{g/L}$, 血清和肽素 + MMP-9 预测 aSAH 手术治疗转归不良的敏感度、特异度、约登指数均优于血清和肽素、MMP-9 单项检测, 和肽素 + MMP-9 预测 aSAH 手术治疗转归不良的价值最大, 见表 4。

3 讨论

aSAH 是常见的致死、致残类脑血管疾病, aSAH 仅占全部脑卒中类型的一小部分, 但死亡人数占全世界脑卒中死亡人数的 50% 左右^[11], 尽管多数患者在 aSAH 后可恢复到良好的功能状态, 但残余症状仍然多见, 严重影响患者日常生活, 可见探寻一种与 aSAH 术后转归密切相关的内源性标志物, 对预测患者预后、疾病严重程度评估、指导临床治疗均具有重要的意义。

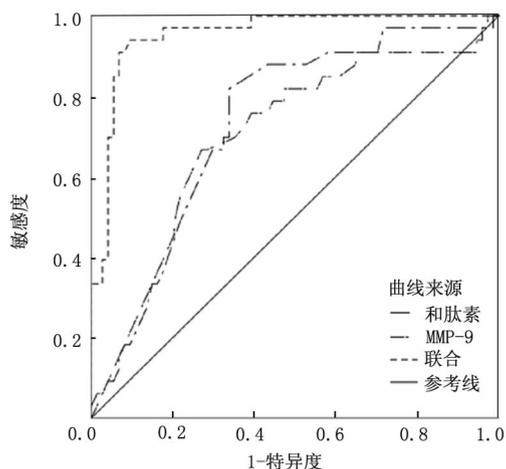


图 1 和肽素、MMP-9、和肽素 + MMP-9 预测 aSAH 术后转归不良的 ROC 曲线

和肽素是精氨酸加压素前体 C-末端的糖基化多肽, 由神经垂体分泌, 参与精氨酸加压素的形成和成熟。精氨酸加压素具有升高血压、收缩血管、抗利尿循环等作用, 在脑血管系统稳态维持和发病机制中扮演重要角色。和肽素与精氨酸加压素为加压素原分解产物, 两者具有相同病理生理作用, 和肽素与精氨酸加压素水平明显相关, 且比精氨酸加压素更稳定, 被证实与急性抬高型心肌梗死、冠心病冠状动脉病变严重程度、感染性疾病等均有密切关系^[12-14]。近年来有研究显示, 血清和肽素水平在脑梗死、颅内出血和蛛网膜下腔出血患者中明显升高, 血清和肽素水平与美国国立卫

表 3 影响 aSAH 手术治疗转归不良的危险因素 Logistic 回归分析

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR (95% CI)
WFNS 分级	0.326	0.261	1.560	0.143	0.385 (0.263 ~ 0.958)
Hunt-Hess 分级 III ~ V 级	0.459	0.180	6.524	0.010	1.582 (1.113 ~ 2.249)
改良 Fisher 分级	0.406	0.234	3.010	0.095	0.501 (0.352 ~ 0.813)
并发迟发性脑缺血	0.619	0.226	7.481	0.006	1.857 (1.192 ~ 2.894)
入院至手术时间 ≥ 72 h	0.513	0.205	6.248	0.012	1.670 (1.117 ~ 2.497)
并发脑出血	0.462	0.295	2.453	0.101	0.587 (0.130 ~ 0.846)
入院收缩压	0.359	0.215	2.788	0.072	0.432 (0.201 ~ 0.637)
和肽素 (升高)	0.935	0.262	12.719	0.000	2.547 (1.524 ~ 4.258)
MMP-9 (升高)	1.132	0.319	12.571	0.000	3.102 (1.659 ~ 5.800)

注: 转归: 0 = 转归良好, 1 = 转归不良; WFNS 分级: 0 = I ~ II 级, 1 = III ~ V 级; Hunt-Hess 分级: 0 = I ~ II 级, 1 = III ~ V 级; 改良 Fisher 分级: 0 = I ~ II 级, 1 = III ~ V 级; 并发迟发性脑缺血: 0 = 否, 1 = 是; 并发脑出血: 0 = 否, 1 = 是; 入院至手术时间: 0 = < 72 h, 1 = ≥ 72 h

表 4 血清和肽素、MMP-9 预测 aSAH 手术治疗转归的效能分析

指标	AUC 值	cut-off 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数
和肽素	0.734	1.35 ng/ml	66.67	71.62	0.383
MMP-9	0.703	16.11 $\mu\text{g/L}$	81.82	50.00	0.318
和肽素 + MMP-9	0.954	—	90.91	93.24	0.841

生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale, NIHSS)评分、Hunt-Hess 分级呈正相关^[15]。本研究发现, aSAH 术后转归不良组血清和肽素水平高于转归良好组, 血清和肽素水平升高是 aSAH 术后转归不良的危险因素, 这与国外一项荟萃分析显示外周血高和肽素水平与脑出血患者高病死率独立相关的结论相符^[16], 说明和肽素参与 aSAH 术后病情的进展, 可能的机制为 aSAH 术后再出血、迟发性缺血等严重并发症导致机体应激反应加剧, 刺激精氨酸加压素和肽素分泌增加, 精氨酸加压素发挥收缩脑血管作用引起血管痉挛, 发生急性脑缺血和出血事件。

MMP-9 是参与细胞外基质降解的重要酶之一, 参与胚胎发育、血管生成、骨骼发育、伤口愈合、细胞迁移等多种生理过程, 在卒中、脑缺血再灌注损伤机制中发挥重要作用^[17]。近年来研究发现, MMP-9 参与动脉瘤形成、进展和破裂过程, 平滑肌细胞丢失和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)破坏是动脉瘤组织学特征之一, 血管中 MMPs(MMP-3、MMP-9、MMP-14)及其底物在维持动脉形态和功能方面发挥着重要作用, MMPs 表达异常可导致动脉结构改变, 发生动脉扩张和动脉瘤^[18-20]。本研究发现, aSAH 术后转归不良组血清 MMP-9 水平高于转归良好组, 多元 Logistic 回归分析证实, MMP-9 升高是 aSAH 手术治疗转归不良的独立危险因素, MMP-9 水平每升高 1 $\mu\text{g/L}$, 转归不良风险将增加 3.102 倍。涂汉明^[21]发现蛛网膜下腔出血后 48 h 内血浆和脑脊液中 MMP-9 水平与迟发性脑缺血的发生独立相关。也有研究指出 MMP-9 过度表达与神经兴奋性毒性、神经元损伤凋亡、血脑屏障损伤相关脑积水及脑出血有关^[22], 李安定等^[23]发现脑血管痉挛与不良预后有关, 而本研究尚未发现不同转归患者并发脑血管痉挛的差异, 这可能是研究中对不良预后的判定依据不同, 且本研究并未对合并脑血管痉挛进行分级所致。MMP-9 参与 aSAH 术后转归不良的机制为: 金属蛋白酶抑制剂与 MMPs 平衡在 ECM 重构中起着重要作用, ECM 代谢异常引起的血管重构导致蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛。研究表明, 大鼠蛛网膜下腔出血模型中 MMP-9 表达明显升高, MMP-9 可能通过促进血管平滑肌收缩参与脑血管痉挛发病过程^[24]。脑缺血缺氧产生大量氧自由基和活性氧物质, 导致 ECM 蛋白损伤, MMP-9 表达升高, 增加细胞外基质降解, MMP-9 活性增加有助于血脑屏障分解和开放, 导致脑积水和出血, 加重 aSAH 术后病情恶化。

本研究 ROC 分析结果显示, 血清和肽素、MMP-9 预测 aSAH 术后转归不良均具有一定价值, 说明监测

血清和肽素、MMP-9 水平有助于早期预测 aSAH 术后转归不良风险, 为临床早期预防提供指导。黄锐等^[25]报道, 和肽素是预测 aSAH 后脑血管痉挛和迟发性缺血性神经功能缺损的精氨酸加压素替代性标志物。然而和肽素、MMP-9 均存在敏感度或特异度偏低的弊端, MMP-9 联合和肽素明显提高预测 aSAH 术后转归的效能, 提示同时存在和肽素、MMP-9 升高的 aSAH 患者术后不良转归风险较单独和肽素、MMP-9 升高患者更大, 临床对于此类患者应谨慎选择手术方案, 避免应用增加脑血管痉挛、脑出血或脑缺血风险的干预措施。

本研究多元 Logistic 回归分析结果显示, 并发迟发性脑缺血、入院至手术时间 ≥ 72 h、Hunt-Hess III ~ V 级是 aSAH 术后转归不良的独立危险因素。相关报道同样指出迟发性脑缺血是 aSAH 的严重并发症, 主要由脑血管痉挛引起, 是 aSAH 患者死亡和不良预后的最主要原因^[26]。早期手术可避免术前再出血, 改善 aSAH 患者预后, Hunt-Hess III ~ V 级患者即便经过术前严格手术评估, 术后仍然有较高的再出血和脑血管痉挛风险, 病死率高, 因此对于高水平和肽素、MMP-9、并发迟发性脑缺血、入院至手术时间 ≥ 72 h、Hunt-Hess III ~ V 级患者临床应建立高危预警机制, 加强病情监测和临床干预以降低不良转归风险。

综上, 血清和肽素、MMP-9 水平升高与 aSAH 患者术后转归不良密切相关, 可作为 aSAH 患者术后转归预测的辅助生物学指标。通过抑制和肽素、MMP-9 水平可能使患者获得良好转归, 为 aSAH 治疗提供新的方向。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

彭浩: 研究构思, 选择课题, 实施研究过程, 论文撰写; 陈健龙、刘朝晖: 实施研究过程, 资料搜集整理, 参与撰写; 蔡仁端: 数据获取, 统计学分析; 王义彪: 提出研究思路, 课题设计, 分析试验数据, 论文审核, 论文修改

参考文献

- [1] Smetana KS, Buschur PL, Owusu-Guha J, et al. Pharmacologic management of cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Crit Care Nurs Q, 2020, 43(2): 138-156. DOI: 10.1097/CNQ.000000000000299.
- [2] Luo YG, Han B, Sun TW, et al. The association between serum adipocyte fatty acid-binding protein and 3-month disability outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 66. DOI: 10.1186/s12974-020-01743-2.
- [3] 刘时华, 钟平, 汪国胜, 等. 血清和肽素水平与急性缺血性卒中患者转归的相关性[J]. 国际脑血管病杂志, 2016, 24(10): 872-876. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2016.10.002.
- [4] Wang L, Gao Z. Expression of MMP-9 and IL-6 in patients with subarachnoid hemorrhage and the clinical significance[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(2): 1510-1514. DOI: 10.3892/etm.2017.5553.

- [5] Dewilde S, Annemans L, Peeters A, et al. Modified Rankin scale as a determinant of direct medical costs after stroke [J]. *Int J Stroke*, 2017, 12(4): 392-400. DOI: 10.1177/1747493017691984.
- [6] 中华医学会神经病学分会. 中国蛛网膜下腔出血诊治指南 2015 [J]. *中华神经外科杂志*, 2016, 49(3): 182-191. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2016.03.003.
- [7] 王玉社, 王勇, 陈航, 等. 蛛网膜下腔出血患者 Hunt-Hess 分级与血清脑钠肽的关系 [J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(9): 2129-2131. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.09.020.
- [8] 常谦, 刘俊, 岑键昌. 改良 Fisher 分级与破裂动脉瘤患者症状性脑血管痉挛的关系 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2012, 20(7): 1209-1210. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2012.07.076.
- [9] Aggarwal A, Dhandapani S, Praneeth K, et al. Comparative evaluation of H&H and WFNS grading scales with modified H&H (sans systemic disease): A study on 1000 patients with subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurosurg Rev*, 2018, 41(1): 241-247. DOI: 10.1007/s10143-017-0843-y.
- [10] 漆凌骏, 黄志坚, 罗业涛, 等. 血栓弹力图预测 aSAH 后发生迟发性脑缺血的应用价值 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44(3): 129-133. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2018.03.001.
- [11] Chen J, Li M, Zhu X, et al. Atorvastatin reduces cerebral vasospasm and infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage in elderly Chinese adults [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(3): 2939-2951. DOI: 10.18632/aging.102788.
- [12] 张浩, 任国庆, 孙文文, 等. 检测和肽素及肌钙蛋白 I 对急性非 ST 段抬高型心肌梗死的早期诊断价值 [J]. *实用医学杂志*, 2014, 30(19): 3096-3098, 3099. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2014.19.021.
- [13] 孙怡芸, 张放, 梁晓倩, 等. NT-proBNP、hs-CRP、和肽素联合用于 ACS 患者心功能评定的临床价值 [J]. *河北医药*, 2019, 41(10): 1561-1563, 1568. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2019.10.031.
- [14] Czupryna P, Moniuszko-Malinowska A, Garkowski A, et al. Usefulness of copeptin as a potential biomarker in TBE [J]. *Biomarkers*, 2017, 22(3-4): 321-325. DOI: 10.1080/1354750X.2016.1264999.
- [15] 张立, 艾妮. 醒脑静注射液对急性脑梗死患者血清 Copeptin、NT-proBNP 水平及 NIHSS 评分的影响 [J]. *河北医药*, 2016, 38(14): 2149-2151. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2016.14.019.
- [16] Zhang R, Liu J, Zhang Y, et al. Association between circulating copeptin level and mortality risk in patients with intracerebral hemorrhage: A systemic review and Meta-analysis [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(1): 169-174. DOI: 10.1007/s12035-015-9626-z.
- [17] 叶祖森, 程建华, 叶强, 等. MMP-9 血清水平及启动子 C-1562T 基因与缺血性脑卒中侧支循环的关系 [J]. *心脑血管病防治*, 2018, 18(3): 196-199, 204. DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2018.03.007.
- [18] Kapoor C, Vaidya S, Wadhwan V, et al. Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs) [J]. *J Cancer Res Ther*, 2016, 12(1): 28-35. DOI: 10.4103/0973-1482.157337.
- [19] 高俊华, 李务荣, 郑博文, 等. 以颅内蛛网膜下腔出血为表现的脊髓硬脊膜动静脉瘘 4 例分析 [J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(3): 286-289. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.03.017.
- [20] 朱辉, 许超, 邢明尧, 等. 脑出血患者脑脊液中 IL-6、TNF- α 含量与脑水肿、神经损害程度的相关性研究 [J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(12): 1316-1319. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.12.005.
- [21] 涂汉明. 蛛网膜下腔出血后迟发性脑血管痉挛患者血浆和脑脊液中神经肽 Y 的临床研究 [J]. *中国医师杂志*, 2009, 11(1): 117-119. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2009.01.048.
- [22] Triglia T, Mezzapasa A, Martin JC, et al. Early matrix metalloproteinase-9 concentration in the first 48 h after aneurysmal subarachnoidhaemorrhage predicts delayed cerebral ischaemia: An observational study [J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2016, 33(9): 662-669. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000494.
- [23] 李定安, 薛延华, 李晶, 等. 临界关闭压与动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者脑血管痉挛、迟发性脑缺血和转归的相关性 [J]. *国际脑血管病杂志*, 2018, 26(1): 26-31. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2018.01.005.
- [24] 党宝齐, 陈罡, 王中, 等. 大鼠蛛网膜下腔出血后 MMP-9 在基底动脉壁中的表达变化 [J]. *卒中与神经疾病*, 2011, 18(5): 275-278, 305. DOI: 10.3969/j.issn.1007-0478.2011.05.005.
- [25] 黄锐, 李越汉. Copeptin 在动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者血浆中的水平测定 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2015, 18(8): 48-49. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2015.08.027.
- [26] 陈磊, 王翔毅, 朱玉德, 等. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者 vWF、GMP-140 及 ADAMTS13 的表达水平及临床意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(19): 3720-3724. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.19.027.

(收稿日期: 2020-02-26)

(上接 873 页)

- [20] Yang Y, Ishak Gabra MB, Hanse EA, et al. MiR-135 suppresses glycolysis and promotes pancreatic cancer cell adaptation to metabolic stress by targeting phosphofructokinase-1 [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 809. DOI: 10.1038/s41467-019-08759-0.
- [21] Jiang D, Zhou B, Xiong Y, et al. miR-135 regulated breast cancer proliferation and epithelial-mesenchymal transition acts by the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(4): 1623-1634. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4081.
- [22] Yin L, Xu G, Zhu Y, et al. Expression of miR-23a and miR-135 and tumor markers in gastric cancer patients and the significance in diagnosis [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(6): 5853-5858. DOI: 10.3892/ol.2019.10943.
- [23] Pons-Espinal M, Gasperini C, Marzi MJ, et al. MiR-135a-5p is critical for exercise-induced adult neurogenesis [J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 12(6): 1298-1312. DOI: 10.1016/j.stemcr.2019.04.020.
- [24] Van Battum EY, Verhagen MG, Vangoor VR, et al. An image-based miRNA screen identifies miRNA-135s as regulators of CNS axon growth and regeneration by targeting Krüppel-like factor 4 [J]. *J Neurosci*, 2018, 38(3): 613-630. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0662-17.2017.

(收稿日期: 2020-06-05)

依达拉奉对脑缺血再灌注损伤患者神经功能、氧化应激和炎症反应的影响

杨帆, 白抚生, 尤林, 支立君, 韩昱, 谢欣

作者单位: 110000 沈阳, 辽宁省金秋医院神经内科

通信作者: 谢欣, E-mail: 1968266456@qq.com

【摘要】目的 观察依达拉奉对脑缺血再灌注损伤患者神经功能、氧化应激和炎症反应的影响。**方法** 选择 2017 年 9 月—2019 年 9 月辽宁省金秋医院神经内科治疗脑缺血再灌注损伤患者 170 例作为研究对象, 随机数字表法分成观察组(85 例)和对照组(85 例)。对照组患者行常规治疗方案, 观察组患者在对照组基础上加用依达拉奉治疗。治疗 2 周后, 比较 2 组治疗效果及治疗前后神经功能(NIHSS、ADL 评分)、氧化应激(血清 MDA、SOD)和炎症反应因子(TNF- α 、IL-6、NSE、S-100 β)蛋白水平变化。**结果** 治疗后, 观察组患者的总有效率为 94.1%, 高于对照组的 80.0% ($\chi^2 = 7.518, P = 0.006$); NIHSS 评分低于对照组, ADL 评分高于对照组 ($t = 9.427, 7.603, P < 0.01$); 血清 MDA 水平低于对照组, SOD 水平高于对照组 ($t = 14.660, 18.524, P$ 均 < 0.01); 血清 TNF- α 、IL-6 水平低于对照组 ($t = 12.369, 9.333, P$ 均 < 0.01); 血清 NSE、S-100 β 蛋白水平低于对照组 ($t = 13.110, 6.185, P$ 均 < 0.01)。**结论** 依达拉奉应用于脑缺血再灌注损伤治疗中能够提高患者治疗效果, 改善神经功能, 控制炎症反应, 改善患者预后。

【关键词】 依达拉奉; 脑缺血再灌注损伤; 神经功能; 炎症介质

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.004

Effects of edaravone on neurological function, oxidative stress and inflammatory response in patients with cerebral ischemia-reperfusion injury Yang Fan, Bai Fusheng, You Lin, Zhi Lijun, Han Yu, Xie Xin. Department of Neurology, Jinqiu Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110000, China

Corresponding author: Xie Xin, E-mail: 1968266456@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of edaravone on neurological function, oxidative stress and inflammatory response in patients with cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** One hundred and seventy patients with cerebral ischemia-reperfusion injury treated in Department of Neurology, Jinqiu Hospital of Liaoning Province from September 2017 to September 2019 were selected as the research objects and randomly divided into observation group (85 cases) and control group (85 cases). Patients in the control group were treated with routine treatment, while patients in the observation group were treated with edaravone on the basis of the control group. After 2-week treatment, the therapeutic effect, neural function (NIHSS, ADL score), oxidative stress (serum MDA, SOD), inflammatory factors (TNF- α , IL-6, NSE, S-100 β protein) levels before and after treatment were compared between the two groups. **Results** After treatment, the total effective rate of the observation group was 94.1%, which was higher than 80.0% of the control group ($\chi^2 = 7.518, P = 0.006$). The NIHSS score was lower than the control group, and the ADL score was higher than the control group ($t = 9.427, 7.603, P < 0.01$). The serum MDA level was lower than the control group, and the SOD level was higher than the control group ($t = 14.660, 18.524, P < 0.01$). Serum levels of TNF- α and IL-6 were lower than those of the control group ($t = 12.369, 9.333, P < 0.01$). Serum NSE and S-100 β protein levels were lower than those of the control group ($t = 13.110, 6.185, P < 0.01$). **Conclusion** Edaravone used in the treatment of cerebral ischemia-reperfusion injury can improve the therapeutic effect, improve neurological function, control inflammatory reaction and improve the prognosis of patients.

【Key words】 Edaravone; Cerebral ischemia reperfusion injury; Neural function; Inflammatory mediator

脑缺血为临床上常见的脑血管系统疾病, 具有较大的危害性, 严重威胁着人们的生命健康安全。目前, 临床上在脑缺血疾病的治疗中主要采用溶栓联合神经

保护的治疗措施, 但脑缺血再灌注损伤的防治为临床治疗难点, 目前尚无安全、可靠的针对性药物应用, 为医务工作者所广泛关注。因此, 有效的脑缺血再灌注

损伤防治方法的研究显得十分重要。对于脑缺血患者,其恢复血液供应后的脑缺血再灌注损伤,发生机制较为复杂,目前尚未完全清楚,可能与氧化应激反应、炎症反应及能量代谢异常等多种因素有关,病因复杂,治疗难度较大^[1-3]。基于此,现观察依达拉奉治疗脑缺血再灌注损伤的效果,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 9 月—2019 年 9 月辽宁省金秋医院神经内科治疗脑缺血再灌注损伤患者 170 例作为研究对象,发病时间均在 12 h 以内,均为 ASA II ~ III 级,使用随机数字表法分为观察组(85 例)和对照组(85 例)。观察组男 53 例,女 32 例,年龄 46 ~ 78 (60.7 ± 8.6) 岁;合并症:高血压 29 例,糖尿病 25 例,冠心病 22 例;对照组男 50 例,女 35 例,年龄 48 ~ 75 (61.9 ± 11.0) 岁;合并症:高血压 30 例,糖尿病 23 例,冠心病 23 例。2 组患者性别、年龄及合并症等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通过,患者家属签署知情同意书,同意参与本次研究。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:经医学影像检查结合临床症状、体征确诊为脑缺血再灌注损伤的患者。(2) 排除标准:①伴有其他较为严重的心、脑、肝、肾等疾病的患者;②相关检查显示存在出血倾向、活动性出血等情况的患者;③伴有免疫系统疾病、恶性肿瘤等疾病的患者;④伴有凝血功能异常的患者;⑤治疗依从性差的患者;⑥临床资料不完整的患者。

1.3 治疗方法 对照组行临床常规治疗方案:阿司匹林肠溶片(拜耳公司生产)0.1 g 口服,奥扎格雷钠(丹东制药公司生产)80 mg 溶解于 0.9% 氯化钠注射液 250 ml 中静脉滴注,每天 1 次,1 周为 1 个疗程,连续治疗 2 个疗程。观察组在对照组常规治疗基础上,加用依达拉奉(国药集团国瑞药业公司生产)30 mg 溶解于 0.9% 氯化钠注射液 100 ml 中静脉滴注,每天 2 次,1 周为 1 个疗程,连续治疗 2 个疗程。2 组在治疗结束后进行评分。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 NIHSS、ADL 评分:使用 NIHSS 量表和日常生活能力评定量表(ADL)进行评定。其中 NIHSS 量表

包括对意识、语言、运动、感觉、共济运动、眼球运动、视野等方面的评判,评分为 0 ~ 42 分,分数越高,神经缺损程度越严重。ADL 量表系日常生活力量表,能够反映被试者的日常生活能力,该表共包含 10 项检查内容,总分为 100 分,分值越高,则表明患者的自理能力越强,神经功能损伤情况越低。

1.4.2 血清 MDA、SOD 测定:治疗前后清晨空腹采集患者肘静脉血 6 ml,离心分离血清,置冰箱冷冻待测。以硫代巴比妥酸法检测丙二醛(MDA),酶联免疫吸附法(ELISA)检测超氧化物歧化酶(SOD),试剂盒购自雅培公司(美国),由检验科专业人员严格按照操作说明进行操作。

1.4.3 血清 TNF- α 及 IL-6 测定:上述血清以 ELISA 法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6),试剂盒购自罗氏公司,由检验科专业人员严格按照操作说明进行操作。

1.4.4 血清 NSE 及 S-100 β 蛋白水平检测:上述血清以 ELISA 法检测血清特异性烯醇化酶(NSE)、S-100 β 蛋白水平,试剂盒购自罗氏公司,由检验科专业人员严格按照操作说明进行操作。

1.5 临床治疗效果评价^[4] 依据美国国立卫生院神经功能缺损量表(NIHSS)评分评定。治愈,治疗后患者的 NIHSS 评分下降幅度 $\geq 91\%$;显效,NIHSS 评分下降幅度 46% ~ 90%;有效,NIHSS 评分下降幅度 18% ~ 45%;无效,NIHSS 评分下降幅度 $< 18\%$,甚至有所上升。总有效率 = (治愈 + 显效 + 有效) / 总例数 $\times 100\%$ 。

1.6 统计学方法 使用 SPSS 22.0 软件对数据进行处理分析。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行两独立样本 t 检验,治疗前后比较行配对 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验/Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 治疗 2 周后,观察组患者总有效率为 94.1%,高于对照组患者的 80.0% ($\chi^2 = 7.518, P = 0.006$),见表 1。

2.2 2 组治疗前后 NIHSS、ADL 评分比较 治疗前,2

表 1 2 组临床治疗效果比较 [例(%)]

组别	例数	治愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	85	21(24.7)	28(32.9)	19(22.4)	17(20.0)	80.0
观察组	85	40(47.1)	24(28.2)	16(18.8)	5(5.9)	94.1 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$

组 NIHSS 评分、ADL 评分比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后, 2 组 NIHSS 评分降低, ADL 评分升高, 且观察组降低/升高幅度大于对照组 (P 均 < 0.01), 见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后 NIHSS、ADL 评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	时间	NIHSS 评分	ADL 评分
对照组 ($n=85$)	治疗前	30.8 ± 5.9	50.7 ± 9.4
	治疗后	17.7 ± 5.0	64.5 ± 11.8
观察组 ($n=85$)	治疗前	30.3 ± 6.2	51.3 ± 8.9
	治疗后	11.4 ± 3.6	79.1 ± 13.2
t/P 对照组内值		15.617/0.000	8.433/0.000
t/P 观察组内值		24.305/0.000	16.099/0.000
t/P 治疗后组间值		9.427/0.000	7.603/0.000

2.3 2 组治疗前后血清 MDA、SOD 比较 治疗前, 2 组血清 MDA、SOD 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 2 周后, 2 组血清 MDA 水平降低, 血清 SOD 水平升高, 且观察组降低/升高幅度大于对照组 (P 均 < 0.01), 见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后血清 MDA、SOD 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	MDA (nmol/gpro)	SOD (U/mgpro)
对照组 ($n=85$)	治疗前	8.0 ± 1.3	6.4 ± 1.9
	治疗后	5.7 ± 1.8	11.2 ± 2.6
观察组 ($n=85$)	治疗前	8.2 ± 1.5	6.6 ± 1.7
	治疗后	2.5 ± 0.9	19.8 ± 3.4
t/P 对照组内值		9.550/0.000	13.742/0.000
t/P 观察组内值		30.042/0.000	32.015/0.000
t/P 治疗后组间值		14.660/0.000	18.524/0.000

2.4 2 组治疗前后血清 TNF- α 及 IL-6 比较 治疗前, 2 组血清 TNF- α 、IL-6 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 2 周后, 2 组血清 TNF- α 、IL-6 水平均降低, 且观察组低于对照组 (P 均 < 0.01), 见表 4。

表 4 2 组患者治疗前后血清 TNF- α 及 IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	时间	TNF- α	IL-6
对照组 ($n=85$)	治疗前	3.9 ± 1.3	16.6 ± 3.2
	治疗后	3.0 ± 0.6	13.5 ± 1.8
观察组 ($n=85$)	治疗前	4.2 ± 0.7	17.1 ± 3.6
	治疗后	2.1 ± 0.3	10.7 ± 2.1
t/P 对照组内值		5.795/0.000	7.784/0.000
t/P 观察组内值		25.422/0.000	14.158/0.000
t/P 治疗后组间值		12.369/0.000	9.333/0.000

2.5 2 组治疗前后血清 NSE、S-100 β 蛋白水平比较 治疗前, 2 组血清 NSE、S-100 β 蛋白水平比较差异无统

计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 2 周后, 2 组血清 NSE、S-100 β 蛋白水平均降低, 且观察组低于对照组 (P 均 < 0.01), 见表 5。

表 5 2 组患者治疗前后血清 NSE、S-100 β 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	时间	NSE	S-100 β 蛋白
对照组 ($n=85$)	治疗前	25.9 ± 5.8	1.3 ± 0.5
	治疗后	17.6 ± 3.5	1.0 ± 0.4
观察组 ($n=85$)	治疗前	26.2 ± 6.1	1.4 ± 0.3
	治疗后	11.4 ± 2.6	0.7 ± 0.2
t/P 对照组内值		11.296/0.000	4.320/0.000
t/P 观察组内值		20.578/0.000	17.899/0.000
t/P 治疗后组间值		13.110/0.000	6.185/0.000

3 讨论

脑缺血为临床常见疾病, 具有极高的致残率、致死率, 即使患者得到及时救治, 往往还会伴随着一定的运动功能障碍, 社会危害性巨大。目前针对脑缺血患者的临床治疗, 早期静脉溶栓应用广泛, 该手段的实施有助于患者血管再通, 但血管再通也可能导致再灌注损伤的发生, 影响患者预后, 造成严重不良后果。虽然脑缺血再灌注有助于患者脑细胞功能的恢复, 缓解病情, 但同时也可能加重缺血脑细胞的损伤程度, 甚至引起多器官、组织的损伤^[5-7]。目前, 临床上对脑缺血再灌注损伤发生机制的认识较为有限, 且无可靠的药物应用, 因此, 对其治疗方法的研究尤为迫切。

依达拉奉为临床上广泛应用的一种自由基清除药物, 自 2004 年上市后为临床所广泛应用, 具有一定的脑保护作用, 有助于患者脑组织神经损伤的缓解^[8-9]。基于此, 本研究探究了依达拉奉在脑缺血再灌注损伤治疗中的价值, 结果显示, 观察组患者治疗后, 其 NIHSS 评分明显低于对照组, 且 ADL 评分明显高于对照组, 表明依达拉奉有助于降低脑缺血再灌注损伤患者治疗过程中的神经功能损伤程度, 提高其生活质量, 究其原因可能与依达拉奉清除自由基的作用有关, 该作用有助于氧化应激反应的控制, 从而缓解患者脑组织的损伤, 促进神经功能恢复。本研究观察了 2 组患者治疗前后氧化应激指标 MDA、SOD 水平的变化, 结果显示, 观察组患者治疗后的血清 MDA 水平明显低于对照组, 血清 SOD 水平明显高于对照组, 证实依达拉奉清除自由基作用对改善脑缺血再灌注损伤患者神经功能的价值。MDA 为体内氧化产物, 其水平上升会增加细胞毒性, SOD 则为抗氧化物, 其水平上升有助于细胞、组织的保护^[10-11], 本研究中, 观察组患者治疗后 SOD 上升, MDA 下降, 表明了依达拉奉改善机体抗氧

化水平的价值,有助于脑组织的保护。

依达拉奉亦有助于机体炎性反应的控制,而炎性反应在脑缺血再灌注损伤的发生、发展中也扮演着重要的角色^[12-13]。当脑缺血发生时,机体内可通过多种途径促进炎性细胞的快速活化,释放大量的炎性介质,如 TNF- α 、IL-6 等,同时黏附因子等亦会明显上升^[14-15],引起白细胞的聚集、浸润,导致血管堵塞,且白细胞还会释放自由基,导致内皮损伤,加重病情^[16-18]。由此可见,对患者治疗前后炎性介质水平的比较,有助于治疗效果判断。基于此,本研究以血清 TNF- α 、IL-6 水平的变化,来观察依达拉奉对于患者炎性反应的影响,结果显示,观察组患者治疗后的血清 TNF- α 、IL-6 水平明显低于对照组,肯定了依达拉奉在脑缺血再灌注损伤患者炎性反应控制中的价值,可能与依达拉奉能够抑制白三烯的作用有关,从而降低体内炎性介质的释放,改善患者病情^[19]。

对于脑缺血患者,由于血管内皮细胞的坏死,会导致血脑屏障异常,从而使脑组织中的一些物质释放入血,对其水平检测有助于脑损伤诊疗及病情严重程度判断,常见的生物指标如 NSE、S-100 β 蛋白等有助于脑损伤患者的评估^[20-21]。正常情况下 NSE 位于神经细胞内,但脑缺血等脑组织损伤患者则会出现 NSE 释放入血的情况,致使血液循环中的 NSE 水平明显上升,有助于患者病情的判断。S-100 β 蛋白在体内具有多种功能,参与细胞增生、凋亡之中,通常无法透过血脑屏障,但脑缺血等脑组织损伤患者,由于血脑屏障异常,血液循环中会出现 S-100 β 蛋白水平明显上升的情况,对其检测有助于脑损伤评估。基于此,本研究观察了患者治疗前后 NSE、S-100 β 蛋白水平的变化,结果显示,观察组患者治疗后的血清 NSE、S-100 β 蛋白水平明显低于对照组,表明依达拉奉的应用能够降低 NSE、S-100 β 蛋白水平,有助于脑组织的保护、再灌注损伤程度的减轻,有着积极的临床意义。

综上所述,依达拉奉应用于脑缺血再灌注损伤患者治疗中能够提高临床治疗效果,改善神经功能和氧化应激,控制炎性反应,改善患者预后。但本研究中也存在着不足之处:(1)样本量较少,研究结果的可靠性值得证实,需增大样本量加以验证;(2)所选指标种类较少,可引入其他相关指标加以研究,进一步探究该药具体的作用机制。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨帆:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;白托生、尤林:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;支立君:实施研究

过程,资料搜集整理,论文修改;韩昱:进行统计学分析;谢欣:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 郎丰山,黄云霞,薛云,等. 脑缺血再灌注损伤病理生理机制研究进展[J]. 食品与药品, 2018, 20(4): 312-316. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-979X. 2018. 04. 020.
- [2] 刘玉梅,谢露. MAPK 通路及脑缺血再灌注损伤发生、发展及治疗关系的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(48): 100-103. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 48. 035.
- [3] Chen J, Yang C, Xu X, et al. The effect of focal cerebral ischemia-reperfusion injury on TLR4 and NF- κ B signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 897-903. DOI: 10. 3892/etm. 2017. 5463.
- [4] 施红杰,王记记,赵沧海,等. 早期急性脑梗死患者血清 MMP-9、TIMP-1 水平的动态变化及其与 NIHSS 评分的相关性研究[J]. 热带医学杂志, 2015, 15(4): 503-506, 538.
- [5] Lou Z, Wang AP, Duan XM, et al. Upregulation of NOX2 and NOX4 mediated by TGF- β signaling pathway exacerbates cerebral ischemia/reperfusion oxidative stress injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(5): 2103-2113. DOI: 10. 1159/000489450.
- [6] 王浩,郭红刚,楼琦,等. 半胱氨酰白三烯受体拮抗剂对全脑缺血再灌注慢性损伤的作用[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2018, 47(1): 19-26. DOI: 10. 3785/j. issn. 1008-9292. 2018. 02. 03.
- [7] 赵培,朱金墙,梁钰彬,等. 肿瘤坏死因子- α 在脑缺血再灌注炎症损伤中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(14): 3628-3630. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2017. 14. 109.
- [8] 吴建波,杨刚. 高压氧联合尼莫地平及依达拉奉治疗重型颅脑损伤患者的安全性及有效性研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(3): 329-330, 334. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2017. 03. 013.
- [9] 戈蕾,赵玉晓,常永霞,等. 依达拉奉联合 rTMS 对脑梗死患者自由基及神经功能的影响[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(4): 504-506. DOI: 10. 13210/j. cnki. jhmu. 20161205. 006.
- [10] 黄驰文,黄锦庆,张柏林,等. 依达拉奉注射液治疗颅内动脉瘤夹闭术后早期脑缺血患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(3): 199-202. DOI: 10. 13699/j. cnki. 1001-6821. 2017. 03. 002.
- [11] 乔雨林,向文强,王磊,等. 依达拉奉应用于 rt-PA 静脉溶栓治疗急性脑梗死患者中对氧化应激表达及 ACA、ET-1 和 D-二聚体水平的影响[J]. 脑与神经疾病杂志, 2019, 27(10): 607-610.
- [12] 虞舒蓓,林淑. 依达拉奉对脂多糖激活的 BV-2 小胶质细胞中促炎细胞因子的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(12): 1244-1246. DOI: 10. 13699/j. cnki. 1001-6821. 2019. 12. 006.
- [13] 焦琳娜,郭艺华. 丁苯酞联合依达拉奉对血管性痴呆患者颅内动脉血流动力学及血清炎性因子的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(10): 1237-1240, 1244. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-484X. 2019. 10. 018.
- [14] 相建峰,陈亮,王征,等. 奥拉西坦通过 Wnt/ β -catenin 减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的实验研究[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(10): 1051-1055, 封 3. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 10. 019.
- [15] 向都. 热休克蛋白保护缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(4): 428-432. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 04. 025.

血钙变化通过内质网应激途径加重颅脑外伤患者神经损伤的临床研究

张鹏, 王增亮, 王瑞, 王坚

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2017D01C102)

作者单位: 830049 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院急救创伤中心创伤重症医学科(张鹏、王瑞、王坚), 神经外科
(王增亮)

通信作者: 王增亮, E-mail: zhanglu6824@163.com

【摘要】目的 探讨颅脑外伤患者血钙变化是否通过内质网应激途径加重脑损伤。**方法** 选取 2017 年 9 月—2019 年 10 月新疆医科大学第一附属医院急救创伤中心创伤重症医学科及神经外科收治颅脑外伤患者 138 例, 根据病情分为轻度组 56 例、中度组 49 例、重度组 33 例。比较 3 组患者血钙水平、神经损伤标志物、单胺类神经递质、坏死脑组织中内质网应激途径相关蛋白水平的差异, 并采用 Pearson 检验分析颅脑外伤患者血钙水平与上述 3 类指标的相关性。**结果** 随颅脑外伤程度加重, 血钙水平下降 ($F/P = 73.984/0.000$), 血清 MBP、NSE、S100B 水平增加 ($F/P = 146.139/0.000, 127.464/0.000, 91.497/0.000$); 血清 Glu、Asp 水平增加, Gly、GABA 水平降低 ($F/P = 103.137/0.000, 108.540/0.000, 110.022/0.000, 110.287/0.000$); 坏死脑组织中 P-eIF2 α 阳性表达率增加, GADD34 阳性表达率下降 ($F/P = 363.203/0.000, 127.693/0.000$)。颅脑外伤患者血钙水平与神经损伤标志物 MBP、NSE、S100B 水平呈负相关 ($r = -0.498, -0.672, -0.574, P$ 均 < 0.05); 与单胺类神经递质 GLU、Asp 水平呈负相关, 与 Gly、GABA 水平呈正相关 ($r = -0.661, -0.548, 0.499, 0.621, P$ 均 < 0.05); 与脑组织中内质网应激途径相关蛋白 P-eIF2 α 的阳性表达率呈负相关, 与 GADD34 的阳性表达率呈正相关 ($r = -0.712, 0.657, P$ 均 < 0.05)。**结论** 颅脑外伤患者血钙水平较低, 可能是导致患者脑损伤加重的原因, 内质网应激途径是其发挥作用的机制之一。

【关键词】 颅脑外伤; 血钙; 神经损伤; 单胺类神经递质; 内质网应激途径相关蛋白

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.005

Clinical study on the changes of serum calcium aggravate nerve injury in patients with traumatic brain injury through endoplasmic reticulum stress Zhang Peng, Wang Zengliang, Wang Rui, Wang Jian. Department of Trauma and Critical Medicine, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang Province, Urumqi 830049, China

Corresponding author: Zhang Peng, E-mail: zhanglu6824@163.com

Funding program: Natural Science Foundation Program of Xinjiang(2017D01C102)

【Abstract】 Objective To investigate whether the changes of serum calcium in patients with traumatic brain injury aggravate brain injury through endoplasmic reticulum stress. **Methods** From September 2017 to October 2019, 138 patients with craniocerebral trauma were selected from the Department of Trauma Critical Medicine and Neurosurgery of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University. The patients were divided into mild group (56 cases), moderate group (49 cases) and severe group (33 cases). The levels of serum calcium, nerve injury markers, monoamine neurotransmitters and endoplasmic reticulum stress pathway related proteins in necrotic brain tissue were compared among the three groups, and the correlation between serum calcium level and the above three indexes was analyzed by Pearson test. **Result:** As the degree of craniocerebral trauma worsened, blood calcium levels decreased ($F/P = 73.984/0.000$), and serum MBP, NSE, and S100B levels increased ($F/P = 146.139/0.000, 127.464/0.000, 91.497/0.000$). Serum Glu and Asp levels increased, and Gly and GABA levels decreased ($F/P = 103.137/0.000, 108.540/0.000, 110.022/0.000, 110.287/0.000$). The positive expression rate of P-eIF2 α in necrotic brain tissue increased, and the positive expression rate of GADD34 decreased ($F/P = 363.203/0.000, 127.693/0.000$). Serum calcium levels in patients with craniocerebral trauma are negatively correlated with neural damage markers(MBP, NSE, and S100B) levels ($r = -0.498, -0.672, -0.574, all P < 0.05$); it is negatively correlated with monoamine neurotransmitter(GLU and Asp) levels, and positively with Gly and GABA levels Correlation ($r = -0.661, -0.548, 0.499, 0.621, all P < 0.05$). There was a negative correlation with the positive expression rate of brain

tissue endoplasmic reticulum stress pathway protein P-eIF2 α , and a positive correlation with the positive expression rate of GADD34 ($r = -0.712, 0.657$, both $P < 0.05$). **Conclusion** The low level of serum calcium in patients with traumatic brain injury may be the reason for the aggravation of brain injury. Endoplasmic reticulum stress pathway is one of its mechanisms.

【Key words】 Craniocerebral trauma; Serum calcium; Nerve damage; Monoamine neurotransmitter; Endoplasmic reticulum stress pathway

颅脑外伤是脑组织遭受打击引发的一系列病理变化过程,随交通意外事故等发生率升高,颅脑外伤发生率逐年上升,给患者及家人带来巨大痛苦^[1-2]。颅脑外伤患者伴随着不同程度的脑组织损坏,明确脑损伤进展的核心因素并进行积极干预是保护神经功能、改善治疗结局的关键所在。已有研究指出^[3],升高机体血钙水平有助于优化脑出血患者的病情,同时减少相关并发症发生,推测血钙水平异常在脑损伤性疾病的发生发展中扮演重要角色。目前关于颅脑损伤后血钙水平变化在其病情进展中扮演的角色及具体机制研究较少,基于此,现观察颅脑外伤患者血钙变化对脑神经损伤的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 9 月—2019 年 10 月新疆医科大学第一附属医院急救创伤中心创伤重症医学科及神经外科收治颅脑外伤患者 138 例,根据格拉斯哥昏迷评分(GCS)及伤后原发性昏迷时间长短分为 3 组:轻度组 56 例,中度组 49 例,重度组 33 例。轻度组男 31 例,女 25 例,年龄 32 ~ 59 (40.28 ± 7.31) 岁;体质指数(BMI)21 ~ 25 (23.74 ± 1.20) kg/m²;发病至入院时间 1 ~ 5 (2.04 ± 0.76) h;致伤原因:交通意外 24 例,坠落伤 22 例,其他 10 例。中度组男 29 例,女 20 例,年龄 23 ~ 64 (40.09 ± 6.88) 岁;BMI 22 ~ 26 (24.01 ± 1.32) kg/m²;发病至入院时间 1 ~ 6 (2.10 ± 0.84) h;致伤原因:交通意外 21 例,坠落伤 22 例,其他 6 例。重度组男 19 例,女 14 例,年龄 25 ~ 71 (39.96 ± 7.11) 岁;BMI 21 ~ 27 (23.60 ± 1.15) kg/m²;发病至入院时间 1 ~ 4 (2.03 ± 0.71) h;致伤原因:交通意外 13 例,坠落伤 14 例,其他 6 例。3 组患者的基础资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①具有明确的颅脑外伤史,经头颅 CT 或磁共振(MR)确定颅脑损伤;②既往无脑梗死、脑出血、脑炎、脑外伤病史;③入院至急诊手术时间间隔 < 4 h。(2)排除标准:①合并阿尔茨海默病、帕金森病等神经系统疾病;②合并甲状旁腺

亢进等影响钙磷代谢的疾病;③合并颅脑肿瘤。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血钙水平检测:留取 3 组研究对象入院时的外周静脉血 5 ml,分离血清并经贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪测定。

1.3.2 脑神经指标检测:上述血清标本采用放射免疫法测定神经损伤标志物,包括髓鞘碱性蛋白(MBP)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、S100B 蛋白(S100B);单胺类神经递质谷氨酸(Glu)、门冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)、 γ -氨基丁酸(GABA)的水平。

1.3.3 内质网应激途径相关蛋白检测:3 组研究对象均行急诊外科手术,术中留取坏死脑组织标本,采用免疫组织化学法测定磷酸化的真核翻译起始因子 2 α (P-eIF2 α)、生长停滞与 DNA 损害可诱导蛋白 34(GADD34)表达。组织切片在普通显微镜下显示细胞浆染色棕褐色或棕黄色为阳性,随机选取 5 个视野并拍照,分析各组 P-eIF2 α 、GADD34 的光密度值并取平均值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件分析数据。符合正态分布计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;各指标间的相关性采用 Pearson 相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患者血钙水平比较 随颅脑外伤程度加重血钙水平进一步下降,轻度组(2.03 ± 0.28) mmol/L > 中度组(1.76 ± 0.22) mmol/L > 重度组(1.39 ± 0.19) mmol/L,3 组间比较差异均有统计学意义($F/P = 73.984/0.000$)。

2.2 3 组患者血清脑神经损伤标志物比较 随颅脑外伤程度加重 MBP、NSE、S100B 水平进一步增加,3 组间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

2.3 3 组患者血清单胺类神经递质水平比较 随颅脑外伤程度加重,Glu、Asp 水平增加,Gly、GABA 水平降低,3 组间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 2 3 组患者血清单胺类神经递质水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)

组别	例数	Glu	Asp	Gly	GABA
轻度组	56	38.42 ± 4.09	20.71 ± 2.85	89.64 ± 10.13	30.88 ± 4.07
中度组	49	43.17 ± 5.78 ^a	25.96 ± 3.47 ^a	72.17 ± 9.05 ^a	23.46 ± 3.51 ^a
重度组	33	55.69 ± 7.04 ^{ab}	32.10 ± 4.58 ^{ab}	60.37 ± 8.22 ^{ab}	19.75 ± 2.88 ^{ab}
F/P 值		103.137/0.000	108.540/0.000	110.022/0.000	110.287/0.000

注:与轻度组比较,^a $P < 0.01$;与中度组比较,^b $P < 0.01$

2.4 3 组患者脑组织内质网应激途径相关蛋白水平比较 随颅脑外伤程度加重,P-eIF2 α 阳性表达率增加,GADD34 阳性表达率下降,组间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 1 3 组患者血清神经损伤标志物水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MBP (ng/ml)	NSE (ng/ml)	S100B (pg/ml)
轻度组	56	7.93 ± 0.86	15.38 ± 1.76	495.37 ± 58.22
中度组	49	9.12 ± 0.98 ^a	17.05 ± 1.98 ^a	570.19 ± 73.12 ^a
重度组	33	12.15 ± 1.64 ^{ab}	22.64 ± 2.73 ^{ab}	699.45 ± 78.05 ^{ab}
F/P 值		146.139/0.000	127.464/0.000	91.497/0.000

注:与轻度组比较,^a $P < 0.01$;与中度组比较,^b $P < 0.01$

表 3 3 组患者脑组织中内质网应激途径相关蛋白阳性表达率情况比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	P-eIF2 α	GADD34
轻度组	56	24.85 ± 3.11	51.40 ± 6.58
中度组	49	37.59 ± 4.36 ^a	40.77 ± 5.81 ^a
重度组	33	51.07 ± 6.28 ^{ab}	31.29 ± 4.35 ^{ab}
F/P 值		363.203/0.000	127.693/0.000

注:与轻度组比较,^a $P < 0.01$;与中度组比较,^b $P < 0.01$

2.5 相关性分析 Pearson 检验显示,颅脑外伤患者血钙水平与神经损伤标志物 MBP、NSE、S100B 水平呈负相关($r = -0.498$ 、 -0.672 、 -0.574 , P 均 < 0.05);与单胺类神经递质 Glu、Asp 水平呈负相关,与 Gly、GABA 水平呈正相关($r = -0.661$ 、 -0.548 、 0.499 、 0.621 , P 均 < 0.05);与内质网应激途径相关蛋白 P-eIF2 α 的阳性表达率呈负相关,与 GADD34 的阳性表达率呈正相关($r = -0.712$ 、 0.657 , P 均 < 0.05)。

3 讨论

目前有不少颅脑外伤患者并发急性心脏骤停,与脑损伤发生后患者血钙水平的急剧变化、心脏搏动动力缺乏等密切相关^[4-5]。血钙水平变化是否存在,其对患者脑损伤进展是否也产生重要影响,尚未有明确定论。本研究检测不同严重程度的颅脑外伤患者血钙水平发现,随颅脑损伤程度加重患者血钙水平下降,明确了颅脑外伤患者的“钙缺乏”现象且推测持续性血钙水平下降参与脑损伤进展。

检测血清中与神经功能直接相关的指标可用于评估颅脑外伤患者的脑损伤严重程度,不同研究发现 MBP、NSE、S100B 表达高于脑炎或者缺氧患者,被认为是脑损伤的标志物分子^[6-8]。本研究随颅脑外伤程度加重上述神经损伤标志物的血清水平增加,且与患者血钙水平呈负相关,说明患者血钙缺乏程度与脑损伤严重程度直接相关。单胺类神经递质是另一敏感反映患者神经功能的指标,其中 Glu、Asp 属于兴奋性氨基酸,其过度释放将增加神经元钠离子内流并导致细胞肿胀坏死,对神经元具有毒性作用^[9-10]; Gly、GABA 属于抑制性氨基酸,生理状态下与兴奋性氨基酸水平保持动态平衡,两者功能相互制衡并维持神经元功能形态稳定,脑损伤发生后 Gly、GABA 表达减少并导致兴奋性氨基酸相对占优势,进一步加剧脑损伤^[11-13]。本研究中随患者颅脑外伤程度加重,其血清 Glu、Asp 水平增加, Gly、GABA 水平下降,与客观现实吻合,且 Glu、Asp 水平与血钙水平呈负相关, Gly、GABA 水平与血钙水平呈正相关,说明钙缺乏程度与颅脑外伤患者的单胺类神经递质紊乱程度密切相关,持续低血钙可能通过影响神经递质表达来影响病情,但其具体直接作用途径有待后续细胞实验进一步明确。

低血钙对颅脑外伤患者神经功能的负面作用机制未明。内质网在钙离子储存、调节及蛋白质合成等生命活动中扮演重要角色,缺血缺氧反应均可诱发内质网应激并促使其标志蛋白 P-eIF2 α 大量表达,转录内质网相关凋亡基因,使蛋白质合成受阻,促使神经元凋亡^[14-15]。GADD34 属于细胞周期蛋白,参与内质网应激蛋白质合成受阻后的再启动,对维持细胞活力具有重要意义^[16-18]。本研究中随颅脑损伤程度加重,损伤脑组织中 P-eIF2 α 阳性表达率上升, GADD34 阳性表达率下降,且患者钙缺乏程度与上述蛋白质表达率的变化幅度直接相关,说明低血钙通过内质网应激途径导致颅脑外伤患者神经损伤进展。

总之,颅脑外伤患者存在明显低血钙,是导致神经损伤进展的重要原因之一,可能通过内质网应激途径导致神经元损伤及凋亡。关于低血钙对神经元具体功能及活性的影响,有待后续研究进一步明确。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张鹏:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王增亮、王瑞:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王坚:资料搜集整理,论文修改,进行统计学分析

参考文献

[1] Han C, Yang Y, Ruan S, et al. The predictive value of serum p-CREB level on secondary cognitive impairment in patients with mild-to-moderate craniocerebral trauma [J]. *Neurosurg Rev*, 2019, 42 (3):715-720. DOI: 10.1007/s10143-018-01072-2.

[2] Du X, Dong B, Li C, et al. Dynamic changes of α -melanocyte-stimulating hormone levels in the serum of patients with craniocerebral trauma [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14 (3): 2511-2516. DOI: 10.3892/etm.2017.4793.

[3] 李智. 高血压并发脑出血尼卡地平治疗期间血钙和血肌酐水平的变化及意义 [J]. *北方药学*, 2018, 15 (6): 72-73. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8351.2018.06.057.

[4] Reinier K, Uy-Evanado A, Rusinaru C, et al. In reply-serum calcium and risk of sudden cardiac arrest in the general population [J]. *Mayo Clin Proc*, 2018, 93(3): 392-393. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.12.021.

[5] Husain A, Simpson Jr RJ, Joodi G. Serum calcium and risk of sudden cardiac arrest in the general population [J]. *Mayo Clin Proc*, 2018, 93(3): 392. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.12.022.

[6] Park DW, Park SH, Hwang SK. Serial measurement of S100B and NSE in pediatric traumatic brain injury [J]. *Childs Nerv Syst*, 2019, 35(2): 343-348. DOI: 10.1007/s00381-018-3955-y.

[7] Masaoka N, Nakajima Y, Morooka M, et al. The impact of intrauterine infection on fetal brain damage assessed by S100B protein concentrations in umbilical cord arteries [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29(15): 2464-2469. DOI: 10.3109/14767058.2015.1087501.

[8] Catli G, Anik A, Acar S, et al. Brain injury markers: S100 calcium-binding protein B, neuron-specific enolase and glial fibrillary acidic protein in children with diabetic ketoacidosis [J]. *Pediatr Diabetes*, 2018, 19(5): 1000-1006. DOI: 10.1111/pedi.12667.

[9] 贺仕清, 邹云龙, 雷北平. 高压氧对脑外伤大鼠脑内兴奋性氨基酸水平的影响 [J/CD]. *中华神经创伤外科电子杂志*, 2016, 2(5): 289-292. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-9141.2016.05.007.

[10] 庄帝钱, 赵芳, 李耀武. 血清胶质纤维酸性蛋白与兴奋性氨基酸在脑瘫早期诊断中的价值及机制研究 [J]. *中国综合临床*, 2017, 33 (3): 265-268. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6315.2017.03.017.

[11] Wilke S, List J, Mekle R, et al. No effect of anodal transcranial direct current stimulation on gamma-aminobutyric acid levels in patients with recurrent mild traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2017, 34(2): 281-290. DOI: 10.1089/neu.2016.4399.

[12] Antkowiak B, Rudolph U. New insights in the systemic and molecular underpinnings of general anesthetic actions mediated by γ -aminobutyric acid A receptors [J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2016, 29 (4): 447-453. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000358.

[13] Schneider BL, Ghodoussi F, Charlton JL, et al. Increased cortical gamma-aminobutyric acid precedes incomplete extinction of conditioned fear and increased hippocampal excitatory tone in a mouse model of mild traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2016, 33 (17): 1614-1624. DOI: 10.1089/neu.2015.4190.

[14] Li Z, Zhang L, Gao M, et al. Endoplasmic reticulum stress triggers Xanthoangelol-induced protective autophagy via activation of JNK/c-Jun Axis in hepatocellular carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 8. DOI: 10.1186/s13046-018-1012-z.

[15] Silachev DN, Plotnikov EY, Babenko VA, et al. Protection of neurovascular unit cells with lithium chloride and sodium valproate prevents brain damage in neonatal ischemia/hypoxia [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2016, 160(3): 313-318. DOI: 10.1007/s10517-016-3159-y.

[16] Lee JE, Morrison W, Hollien J. Hairy and enhancer of split 1 (HES1) protects cells from endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through repression of GADD34 [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(16): 5947-5955. DOI: 10.3109/10715762.2016.1169403.

[17] Krokowski D, Guan BJ, Wu J, et al. GADD34 function in protein trafficking promotes adaptation to hyperosmotic stress in human corneal cells [J]. *Cell Rep*, 2017, 21 (10): 2895-2910. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.11.027.

[18] Goh CW, Lee IC, Sundaram JR, et al. Chronic oxidative stress promotes GADD34-mediated phosphorylation of the TAR DNA-binding protein TDP-43, a modification linked to neurodegeneration [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (1): 163-176. DOI: 10.1074/jbc.M117.814111.

(收稿日期: 2020-04-16)

(上接 883 页)

[16] 廖兵尧, 王恩任. 炎症标志物与蛛网膜下腔出血后迟发性脑缺血 [J]. *国际脑血管病杂志*, 2018, 26 (4): 311-315. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2018.04.014.

[17] 张思然, 李成檀, 杨怡, 等. 氧化应激、炎症和自噬在脑缺血损伤中作用机制及治疗策略 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2018, 32 (8): 651-660. DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2018.08.009.

[18] 胡挺, 孙瑞, 黄菲虹, 等. 缺血性卒中的炎症机制 [J]. *国际脑血管病杂志*, 2019, 27 (1): 63-68. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2019.01.011.

[19] Song Y, Bei Y, Xiao Y, et al. Edaravone, a free radical scavenger,

protects neuronal cells' mitochondria from ischemia by inactivating another new critical factor of the 5-lipoxygenase pathway affecting the arachidonic acid metabolism [J]. *Brain Res*, 2018, 1690: 96-104. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.03.006.

[20] 袁晓帆, 王建红, 王多姿, 等. 神经元特异性烯醇化酶、S100 B 蛋白在脑缺血损伤中的研究进展 [J]. *实用医院临床杂志*, 2019, 16 (6): 237-239. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6170.2019.06.076.

[21] 姚绍鑫, 王健. 乌司他丁注射液对缺血性脑卒中患者介入术后神经保护功能及 S-100 β 蛋白表达影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2017, 33 (22): 2219-2221. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2017.22.002.

(收稿日期: 2020-03-27)

介入栓塞术治疗颅内动脉瘤的疗效及对患者血清 NF- κ B、ICAM-1、MMP-9 水平的影响

席东海, 徐全华, 田斌, 张睿, 王磊波, 杨华

基金项目: 毕节市科学技术项目(2014-51 号)

作者单位: 551700 贵州省毕节市第一人民医院神经外科(席东海、徐全华、田斌、张睿、王磊波); 550001 贵阳, 贵州医科大学附属医院神经外科(杨华)

通信作者: 杨华, E-mail: yhmed153@163.com

【摘要】目的 观察介入栓塞术治疗颅内动脉瘤的疗效及对患者血清核因子- κ B(NF- κ B)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)水平的影响。**方法** 选择 2016 年 3 月—2019 年 12 月毕节市第一人民医院神经外科收治的颅内动脉瘤患者 116 例作为研究对象,按照随机数字表法分为对照组和观察组各 58 例。对照组患者给予开颅夹闭术治疗,观察组患者给予介入栓塞术治疗,术后随访 3 个月。比较 2 组患者临床疗效、围手术期指标,治疗前后血清 NF- κ B、ICAM-1、MMP-9、神经功能、生活质量水平变化及术后并发症。**结果** 观察组临床疗效明显优于对照组($Z=3.156, P=0.001$),术中出血量、手术时间、住院时间均显著低于/短于对照组($t/P=50.078/ <0.001, 28.886/ <0.001, 11.866/ <0.001$)。与治疗前比较,治疗后 2 组患者血清 NF- κ B、ICAM-1、MMP-9 水平及神经功能评分均明显降低,生活活动能力评分明显升高,且观察组改善较对照组更显著($t/P=19.412/ <0.001, 10.702/ <0.001, 17.417/ <0.001, 5.639/ <0.001, 10.382/ <0.001$)。观察组并发症发生率明显低于对照组($\chi^2/P=4.921/0.027$)。**结论** 介入栓塞术可以有效降低颅内动脉瘤患者神经功能损伤,提高生活活动能力,改善其血清 NF- κ B、ICAM-1 及 MMP-9 水平,效果显著。

【关键词】 颅内动脉瘤;介入栓塞术;开颅夹闭术;核因子- κ B;细胞间黏附分子-1;基质金属蛋白酶-9

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.006

Effect of interventional embolization on serum levels of NF- κ B, ICAM-1 and MMP-9 in patients with intracranial aneurysms Xi Donghai*, Xu Quanhua, Tian Bin, Zhang Rui, Wang Leibo, Yang Hua. *Department of Neurosurgery, the First People's Hospital of Bijie City, Guizhou Province, Bijie 551700, China

Corresponding author: Yang Hua, E-mail: yhmed153@163.com

Funding program: Bijie Science and Technology Project (2014-51)

【Abstract】 Objective To observe the effect of interventional embolization in the treatment of intracranial aneurysms and its effect on serum levels of nuclear factor kappa B (NF- κ B), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). **Methods** One hundred and sixteen patients with intracranial aneurysms admitted to the Department of Neurosurgery of the First People's Hospital of Bijie City from March 2016 to December 2019 were selected as the research objects, and they were randomly divided into the control group and the observation group with 58 cases in each group. The control group was treated with craniotomy and clipping, and the observation group was treated with interventional embolization. The patients were followed up for 3 months. The clinical efficacy, perioperative indicators, changes of serum NF- κ B, ICAM-1, MMP-9, nerve function, quality of life and postoperative complications were compared between the two groups. **Results** The clinical efficacy of the observation group was significantly higher than that of the control group ($Z=3.156, P=0.001$), and intraoperative blood loss, operation time, and hospital stay were lower/shorter than that of the control group ($t/P=50.078/ <0.001, 28.886/ <0.001, 11.866/ <0.001$). Compared with before treatment, after treatment, the serum NF- κ B, ICAM-1, MMP-9 levels and neurological function scores of the two groups of patients were significantly reduced, and the life activity score was significantly increased, and the observation group improved more significantly than the control group ($t/P=19.412/ <0.001, 10.702/ <0.001, 17.417/ <0.001, 5.639/ <0.001, 10.382/ <0.001$). The incidence of complications in the observation group was significantly lower than that in the control group ($\chi^2/P=4.921/0.027$). **Conclusion**

Interventional embolization can effectively reduce the nerve function injury, improve the activity of life, and improve the serum levels of NF-κB, ICAM-1 and MMP-9 in patients with intracranial aneurysms.

【Key words】 Intracranial aneurysm; Interventional embolization; Craniotomy and clipping; NF-κB; ICAM-1; MMP-9

颅内动脉瘤是由于患者脑动脉内腔出现不同程度扩大,造成的一种位于动脉管壁的瘤状突出,临床主要表现为昏迷、神经症状、颈部和腰背部疼痛等^[1],具有较高的致残率和病死率^[2]。研究显示,核因子-κB(NF-κB)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在颅内动脉瘤的发生发展过程中起着重要的作用,对其进行检测对颅内动脉瘤的诊断治疗具有重要的临床意义。目前临床通常采用手术的方式对脑动脉瘤进行治疗,其中介入栓塞术和开颅夹闭术均具有改善患者症状、缓解病情的效果^[3]。虽然开颅夹闭术有效,但并发症多、创伤大,预后恢复效果相对较差。而近年来随着微创理念的引入,以及血管内栓塞技术和血管造影技术的不断发展,血管介入术被广泛应用于临床^[4]。现观察介入栓塞术治疗颅内动脉瘤的疗效及其对患者血清 NF-κB、ICAM-1 及 MMP-9 水平的影响,为临床诊治提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2016 年 3 月—2019 年 12 月毕节市第一人民医院神经外科收治的颅内动脉瘤患者 116 例作为研究对象,按照随机数字表法分为对照组和观察组各 58 例。2 组患者的性别、年龄、病灶部位、Hunt-Hess 分级等比较,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审核批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 2 组患者临床资料比较 [例(%)]

项 目	对照组($n=58$)	观察组($n=58$)	t/χ^2 值	P 值
男/女(例)	28/30	26/32	0.139	0.710
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	51.36 ± 4.59	51.51 ± 4.65	0.175	0.431
病灶部位				
前交通动脉	18(31.04)	20(34.48)	0.157	0.692
后交通动脉	20(34.48)	17(29.31)	0.357	0.550
后循环动脉	12(20.69)	14(24.14)	0.198	0.656
其他	8(13.79)	7(12.07)	0.077	0.782
Hunt-Hess 分级			0.142	0.756
I ~ II 级	33(56.90)	35(60.34)		
III ~ IV 级	25(43.10)	23(39.66)		

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合颅内动脉瘤的诊断标准^[5];②确诊至接受手术的时间不超过 3 d;③均具有相应手术适应证;④临床资料完整者。(2) 排除标准:①合并严重的心、肝、肾功能障碍者;②存在精神系统疾病者;③凝血功能障碍者;④合并全身感染

性疾病及免疫系统疾病者;⑤合并其他肿瘤者;⑥合并肌肉骨骼系统疾病、脑血管畸形、脑外伤及脑梗死者;⑦依从性差,中途退出者。

1.3 治疗方法 2 组患者均给予脑脊液引流、脑血管痉挛与再出血预防、降颅压等常规治疗。对照组患者进行开颅夹闭术治疗^[6];观察组给予介入栓塞术治疗^[7];术前检查、麻醉等准备工作同对照组,之后采用 Seldenger 技术对患者右侧股动脉进行穿刺,并将 6F 动脉鞘放入其中,导引管插入,并将其头部放于颈内动脉,同时在微导丝的作用下,将微导管置入,在 DSA 辅助下于动脉瘤合适位置插入微导管头,并根据肿瘤情况选用合适的弹簧圈进行栓塞操作,如果患者为夹层动脉瘤或者动脉瘤较为巨大,可以选择 Rimording 技术进行栓塞操作,在动脉瘤造影无显影后,将导管拔出,术后局部加压包扎穿刺点,并给予低分子肝素 5 000 U/12 h 皮下注射。术后随访 3 个月。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 围手术期指标:观察记录 2 组患者术中出血量、手术时间、住院时间等。

1.4.2 血清 NF-κB、ICAM-1 及 MMP-9 水平测定:于治疗前后翌日清晨抽取患者空腹静脉血 5 ml,离心分离得到血清,冰箱 -75℃ 条件下保存,待测。采用酶联免疫吸附法测定血清 NF-κB、ICAM-1 及 MMP-9 水平,试剂盒购于海西唐生物科技有限公司,操作方法严格按照说明书执行。

1.4.3 神经功能评分^[8]:采用 NIHSS 评分对患者治疗前后的神经功能恢复程度进行评定,其内容主要包括意识、语言、面肌、水平凝视功能、步行能力、手肌力、下肢肌力及上肢肌力 8 个方面,总得分越高,神经功能损伤越严重。

1.4.4 生活活动能力评定^[9]:参考改良版 Barthel 指数量表对患者日常生活活动能力进行评定,包括洗澡、修饰、进食、用厕、穿衣、大便控制、小便控制、上下楼梯、床椅转移、平地行走、坐轮椅等项目,每个项目分为 5 级,总分 100 分,生活完全依赖 ≤ 20 分;重度功能障碍,生活依赖明显为 21 ~ 40 分;中度功能障碍,生活需要帮助为 41 ~ 59 分;生活基本自理 ≥ 60 分;正常为 100 分。

1.4.5 并发症记录:观察记录 2 组患者术后动脉瘤破裂、脑积水、颅内感染、血管痉挛和脑水肿发生情况。

1.5 疗效评价标准 采用 Hunt-Hess 分级对 2 组患者治疗前后临床效果进行评价。患者大脑强直,处于深度昏迷,为 V 级;患者表现为中重度偏侧不全麻痹和神经功能障碍,为 IV 级;神经功能轻度损伤,同时伴有嗜睡、意识模糊症状,为 III 级;伴有中重度的头痛和颈项强直,颅神经麻痹,为 II 级;术后伴有轻度的颈项强直或无明显临床症状发生,为 I 级。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 20.00 软件对数据进行统计学处理分析。正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较行卡方检验,等级资料行秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 术后 3 个月,观察组 I ~ II 级 14 例(24.14%)高于对照组 5 例(8.62%),观察组 III ~ V 级 44 例(75.86%)低于对照组 53 例(91.38%),2 组临床疗效比较差异有统计学意义($Z = 3.156, P = 0.001$),见表 2。

表 2 2 组患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	I 级	II 级	III 级	IV 级	V 级
对照组	58	2(3.45)	3(5.17)	8(13.79)	10(17.24)	35(60.34)
观察组	58	5(8.62)	9(15.52)	12(20.69)	9(15.52)	23(39.66)

2.2 2 组围手术期指标比较 观察组患者术中出血量、手术时间及住院时间均明显低于/短于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 3 2 组患者围手术期指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	术中出血量(ml)	手术时间(min)	住院时间(d)
对照组	58	278.98 ± 34.26	241.65 ± 21.63	21.36 ± 3.49
观察组	58	51.52 ± 4.78	143.26 ± 14.32	14.32 ± 2.87
<i>t</i> 值		50.078	28.886	11.866
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 2 组治疗前后血清 NF- κ B、ICAM-1 及 MMP-9 水平比较 与治疗前比较,治疗 3 个月后 2 组患者血清 NF- κ B、ICAM-1 及 MMP-9 水平均明显降低,且观察组降低较对照组更显著($P < 0.01$),见表 4。

2.4 2 组治疗前后神经功能及生活质量水平比较 与治疗前比较,治疗 3 个月后 2 组患者神经功能评分明显降低,生活活动能力评分明显升高,且观察组改善较对照组更显著($P < 0.01$),见表 5。

2.5 并发症比较 观察组患者并发颅内感染、脑水肿各 1 例,总发生率为 3.45%,对照组发生动脉瘤破裂、

血管痉挛各 1 例,脑积水、脑水肿各 2 例,颅内感染 3 例,总发生率为 15.52%,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.921, P = 0.027$)。

表 4 2 组患者治疗前后血清 NF- κ B、ICAM-1 及 MMP-9 水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	NF- κ B (ng/L)	ICAM-1	MMP-9 (μ mol/L)
对照组 (<i>n</i> = 58)	治疗前	2.87 ± 0.25	851.36 ± 65.38	24.59 ± 3.21
	治疗后	1.48 ± 0.14	541.36 ± 45.69	18.65 ± 2.15
观察组 (<i>n</i> = 58)	治疗前	2.91 ± 0.23	853.14 ± 63.28	24.62 ± 3.15
	治疗后	1.01 ± 0.12	459.87 ± 35.71	12.41 ± 1.68
<i>t/P</i> 对照组内值		36.945/ <0.001	29.297/ <0.001	11.709/ <0.001
<i>t/P</i> 观察组内值		55.778/ <0.001	41.220/ <0.001	26.047/ <0.001
<i>t/P</i> 疗后组间值		19.412/ <0.001	10.702/ <0.001	17.417/ <0.001

表 5 2 组患者治疗前后神经功能及生活质量水平比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

组别	时间	神经功能	生活活动能力
对照组 (<i>n</i> = 58)	治疗前	13.74 ± 3.48	31.25 ± 6.74
	治疗后	8.62 ± 2.15	62.58 ± 5.98
观察组 (<i>n</i> = 58)	治疗前	13.81 ± 3.51	31.34 ± 6.51
	治疗后	6.51 ± 1.87	74.51 ± 6.39
<i>t/P</i> 对照组内值		9.532/ <0.001	26.481/ <0.001
<i>t/P</i> 观察组内值		13.979/ <0.001	36.041/ <0.001
<i>t/P</i> 治疗组间值		5.639/ <0.001	10.382/ <0.001

3 讨论

动脉瘤夹闭术可以对颅内血肿和蛛网膜下腔出血进行有效清除,避免动脉瘤的再次破裂,有效改善其血管痉挛情况^[10]。但手术过程中需要进行开颅操作,可能会引起一定的蛛网膜出血,手术操作步骤相对较为复杂,严重影响治疗效果^[11]。而血管介入栓塞术具有安全率高、恢复快、成功率高及创伤小的优点,同时对脑组织损伤也相对较小^[12]。本研究结果显示,介入栓塞术患者术中出血量较少,手术时间也相对较短,表明介入手术操作简单,创伤小,更有利于患者术后恢复。本研究结果显示,观察组患者的神经功能改善更为显著,这可能是由于介入栓塞术是一种微创手术,对其脑部组织损伤相对较小,术后恢复相对较快。因此观察组患者并发症较少,疗效更好^[13]。开颅夹闭术容易引起脑动脉痉挛及血管破裂,外加术中的牵拉和压迫操作,对脑组织产生一定损伤,术后并发症相对较多。而介入栓塞术是微创手术,创伤较小,血管不易破裂,蛛网膜下腔出血现象相对较少。另外,患者受颅内压和脑水肿影响相对较少,可预防蛛网膜下腔出血引发的病理变化,脑血管痉挛发生率降低^[14-15]。

颅内动脉瘤的发生发展与其动脉壁血流切应力关

系较为密切,而临床上各种动脉性疾病的病理学特征和发病机制为机体动脉壁慢性炎性反应的形成^[16]。动脉壁长期经受异常血流切应力的作用,会导致慢性炎性反应的形成,促进颅内动脉瘤的形成和恶化,而 NF-κB 在其形成过程中起着重要的作用。NF-κB 是一种重要的细胞因子,在细胞凋亡、免疫及炎性反应等方面起着重要的作用,可以对巨噬细胞和淋巴细胞产生诱导作用,使其产生趋化因子、细胞因子、黏附分子等炎性相关的酶类,对炎性反应过程产生调控作用^[17-18]。颅内动脉瘤初期激活的 NF-κB,对下游基因的表达具有一定促进作用,诱导血管壁细胞和平滑肌细胞的分泌,损伤动脉血管壁。基质金属蛋白酶可以对细胞外基质中的锌和钙依赖性蛋白溶解酶产生破坏,并通过对细胞外基质的非胶原蛋白、胶原蛋白和弹性蛋白进行降解,从而参与细胞外基质重构,破坏动脉血管壁^[19]。MMP-9 由巨噬细胞和上皮细胞产生,动脉瘤患者血清 MMP-9 呈现高水平表达,可进一步破坏细胞外基质,而细胞外基质又是形成血管壁的重要组成部分,本研究结果显示,观察组患者血清 NF-κB 和 MMP-9 水平明显降低^[20]。ICAM-1 是一种存在于神经细胞、血管内皮细胞的黏附分子,可以对细胞与细胞外基质之间及细胞之间的黏附起到一定介导作用,增强机体防御功能,但血清水平升高会加速中性粒细胞、白细胞及单核细胞的大量积聚,损伤血管内皮,加速动脉粥样硬化的形成,增加动脉瘤形成及其破裂的风险^[21-22]。本研究结果显示,观察组患者上述血清指标改善更显著,这也证实了介入栓塞术可有效阻止动脉瘤的发生和发展过程,效果显著,有利于患者的预后恢复。

综上所述,介入栓塞术可以有效降低患者神经功能损伤,提高生活活动能力,改善其血清 NF-κB、ICAM-1 及 MMP-9 水平,效果显著,具有一定的临床应用价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

席东海:提出研究方向、研究思路,研究选题,论文撰写;徐全华:设计研究方案、研究流程;田斌:分析试验数据;张睿:进行文献调研与整理,论文修改;王磊波:进行统计学分析,设计论文框架;杨华:实施研究过程,资料搜集整理,论文审核

参考文献

[1] Syta-Krzyzanowska A, Jarocka-Karpowicz I, Kochanowicz J, et al. F2-isoprostanes and F4-neuroprostanes as markers of intracranial aneurysm development [J]. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2018, 27(5) :673-680. DOI:10.17219/acem/68634.

[2] Hernández-Durán S, Mielke D, Rohde V, et al. The application of the unruptured intracranial aneurysm treatment score: A retrospec-

tive, single-center study [J]. *Neurosurgical Review*, 2018, 41(4) : 1021-1028. DOI:10.1007/s10143-018-0944-2.

[3] Bjrkman J, Frsen J, Thtinen O, et al. Aneurysm size is the strongest risk factor for intracranial aneurysm growth in the eastern Finnish population [J]. *Neurosurgery*, 2018, 84(5) :1098-1103. DOI: 10.1093/neuros/nyy161.

[4] Ygard ST, Yvind E, Angelika S, et al. Prerupture intracranial aneurysm morphology in predicting risk of rupture: A matched case-control study [J]. *Neurosurgery*, 2019, 84(1) : 132-140. DOI: 10.1093/neuros/nyy010.

[5] 王志刚,丁璇. 颅内动脉瘤 [J]. *山东医药*, 2004, 44(30) :64-65. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2004.30.057

[6] 高亦深,张彩红,王凯. 不同手术方式治疗小脑后下动脉动脉瘤的临床疗效 [J]. *中华神经外科杂志*, 2020, 36(2) :173-176. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2020.02.013.

[7] 陶子荣. 我国脑卒中患者临床神经功能缺损评分标准信度、效度及敏感度的评价 [J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30(3) :283-285. DOI:10.3724/SP. J. 1008.2009.00283.

[8] Kume Y, Fujita T, Fukushima S, et al. Intracranial mycotic aneurysm is associated with cerebral bleeding post-valve surgery for infective endocarditis [J]. *Interactive Cardiovascular & Thoracic Surgery*, 2018, 27(5) :635-641. DOI:10.1093/icvts/ivy126.

[9] Shintai K, Matsubara N, Izumi T. High-resolution cone beam CT for evaluation of vascular channel in intracranial partial thrombosed aneurysm [J]. *Nagoya Journal of Medical Science*, 2018, 80(2) : 279-284. DOI:10.18999/nagjms.80.2.279.

[10] Zhao J, Lin H, Summers R, et al. Current treatment strategies for intracranial aneurysms [J]. *Angiology*, 2018, 69(1) :17-30. DOI: 10.1177/000319717700503.

[11] Nan L, Christof K, Shiyue C, et al. Relationship between aneurysm wall enhancement in vessel wall magnetic resonance imaging and rupture risk of unruptured intracranial aneurysms [J]. *Neurosurgery*, 2019, 84(6) :E385-E391. DOI:10.1093/neuros/nyy310.

[12] Cho SH, Lee JY, Ryu KH, et al. Diagnosis of cerebral aneurysm via magnetic resonance angiography screening: Emphasis on legal responsibility increases false positive rate [J]. *Neurointervention*, 2018, 13(1) :48-53. DOI:10.5469/neuroint.2018.13.1.48.

[13] Eskey CJ, Meyers PM, Nguyen TN, et al. Indications for the performance of intracranial endovascular neurointerventional procedures: A scientific statement from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2018, 137(21) :e661-e689. DOI:10.1161/CIR.0000000000000567.

[14] Jabbarli R, Dinger TF, Oppong MD, et al. Risk factors for and clinical consequences of multiple intracranial aneurysms: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Stroke*, 2018, 49(4) :848-855. DOI:10.1161/STROKEAHA.117.020342.

[15] Bhogal P, Almatter M, Hellstern V, et al. The combined use of intraluminal and intrasaccular flow diversion for the treatment of intracranial aneurysms: Report of 25 cases [J]. *Neurointervention*, 2018, 13(1) :20-31. DOI:10.5469/neuroint.2018.13.1.20.

神经节苷脂联合临床康复路径对急性脑梗死患者临床疗效、认知功能及神经功能的影响

秦锐, 谢宏斌, 苏茜

基金项目: 陕西省社科发展科技攻关项目(2016SF-413)

作者单位: 723000 陕西省汉中市中心医院/市中医院康复医学科

通信作者: 谢宏斌, E-mail: 331072414@qq.com

【摘要】目的 探讨急性脑梗死患者应用神经节苷脂联合临床康复路径治疗对神经功能重建的影响。**方法** 选择 2017 年 5 月—2018 年 11 月陕西省汉中市中心医院/市中医院康复医学科收治急性脑梗死患者 82 例作为研究对象, 随机数字表法分为对照组(41 例)与研究组(41 例), 对照组患者常规西医治疗联合临床康复路径治疗, 研究组在此基础上联合神经节苷脂治疗。治疗 2 周后比较 2 组临床疗效, 治疗前后患者生活能力评分、神经功能缺损评分, 炎性因子水平、神经生长相关因子水平, 并观察 2 组患者不良反应发生情况。**结果** 研究组患者总有效率高于对照组(90.24% vs. 75.61%, $\chi^2/P = 14.098/0.000$), 治疗后 2 组患者 Barthel 指数、NIHSS 评分、血清 TNF- α 、MMP-9、IL-6 及 NGF、GAP-43、BDNF 水平均较治疗前改善, 且研究组患者改善程度优于对照组($t/P = 12.965/0.000, 15.372/0.000, 16.303/0.000, 6.044/0.000, 29.971/0.000, 7.165/0.000, 11.220/0.000, 9.119/0.000$), 2 组患者不良反应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 神经节苷脂联合临床康复路径可有效提高急性脑梗死患者的治疗效果, 减轻炎性反应, 促进神经功能恢复, 且安全性高。

【关键词】 脑梗死, 急性; 神经节苷脂; 临床康复路径; 神经功能

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.007

Effects of ganglioside combined with clinical rehabilitation pathway on clinical efficacy, cognitive function and neurological function in patients with acute cerebral infarction Qin Rui, Xie Hongbin, Su Qian. Department of Rehabilitation Medicine, Hanzhong Central Hospital, Shaanxi Province, Hanzhong 723000, China

Corresponding author: Xie Hongbin, E-mail: 331072414@qq.com

Funding program: Shaanxi Province Social Science and Technology Development Project (2016SF-413)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of ganglioside combined with clinical rehabilitation pathway on nerve function reconstruction in patients with acute cerebral infarction. **Method** Eighty-two patients with acute cerebral infarction admitted to Rehabilitation Medicine Department of Hanzhong Central Hospital/Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine in Shaanxi Province from May 2017 to November 2018 were selected as the research objects. The patients were randomly divided into control group (41 cases) and study group (41 cases). The control group was treated with conventional western medicine combined with clinical rehabilitation pathway. The study group was treated with ganglioside on this basis. After 2 weeks of treatment, the clinical efficacy, living ability score, neurological deficit score, inflammatory factor level and nerve growth related factor level were compared between the two groups before and after treatment. **Result** The total effective rate of the study group was higher than that of the control group (90.24% vs. 75.61%, $\chi^2/P = 14.098 / 0.000$). After treatment, Barthel index, NIHSS score, serum TNF- α , MMP-9, IL-6, NGF, GAP-43 and BDNF levels in the two groups were improved compared with those before treatment, and the improvement degree of the study group was better than that of the control group ($t/P = 12.965/0.000, 15.372/0.000, 16.303/0.000, 6.044/0.000, 29.971/0.000, 7.165/0.000, 11.220/0.000, 9.119 / 0.000$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Ganglioside combined with clinical rehabilitation pathway can effectively improve the treatment effect of patients with acute cerebral infarction, reduce inflammatory reaction, promote the recovery of nerve function, and has high safety.

【Key words】 Cerebral infarction, acute; Gangliosides; Early rehabilitation training; Nerve function

急性脑梗死是临床上常见的脑血管疾病,主要是因脑组织血液循环发生障碍,供血不足而引发的不可逆损伤,具有较高的病死率及致残率,主要临床表现为意识障碍、肢体功能障碍、语言障碍等,严重影响患者生活质量^[1]。近年来,急性脑梗死的发病率呈逐年上升趋势,已经成为威胁老年人群生命安全的主要疾病之一,若在发病早期给予及时有效的治疗则可有助于改善患者预后^[2]。目前临床上对于急性脑梗死患者的治疗在于神经功能的重建,而常规抗氧化、抗血小板等基础治疗疗效欠佳,因此寻找一种安全有效的治疗方法一直是临床学者关注的重点^[3]。据相关研究显示,当人体发生脑缺氧或者脑缺血时,脑内的神经节苷脂水平会显著降低,因此在治疗急性脑梗死时应补充外源性神经节苷脂,以降低神经元的凋亡^[4]。现观察急性脑梗死患者应用神经节苷脂联合临床康复路径治疗对神经功能重建的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 5 月—2018 年 11 月陕西省汉中市中心医院/市中医医院康复医学科收治急性脑梗死患者 82 例作为研究对象,采用随机数字表法分为研究组($n=41$)与对照组($n=41$)。研究组男 26 例,女 15 例,年龄 54~79(64.19 ± 4.38)岁;发病时间 5~21(13.29 ± 2.49)h;吸烟史 13 例,酗酒史 18 例;合并症:高血压 17 例,高血脂 19 例,高血糖 8 例,风湿性心脏病 14 例;既往治疗史 23 例,家族遗传史 18 例。对照组男 24 例,女 17 例,年龄 52~76(63.98 ± 4.19)岁;发病时间 4~22(13.19 ± 2.33)h;吸烟史 12 例,酗酒史 18 例;合并症:高血压 16 例,高血脂 18 例,高血糖 9 例,风湿性心脏病 15 例;既往治疗史 22 例,家族遗传史 19 例。2 组均表现为突发的言语不利、失语、饮水呛咳、失算、空间定向力下降、中枢性面瘫、单眼或者双眼黑蒙、感觉障碍等症状。2 组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会审核批准,患者家属对本研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①发病到入院接受治疗时间 <48 h,均为早期患者;②均符合急性脑梗死的诊断标准^[5];③入院前未接受其他治疗。(2)排除标准:①伴有凝血功能障碍的患者;②伴有恶性肿瘤的患者;③伴外伤所致脑损伤史者;④伴严重肝肾功能障碍者。

1.3 治疗方法 患者入院后均给予脱水、降压、抗血小板凝集、营养脑细胞等常规治疗。对照组在上述基础上根据患者的病情,进行包括药物管理训练、健康教

育、症状识别训练、生活技能和社交技能训练等临床康复路径。研究组患者在对照组基础上给予神经节苷脂(北京赛升药业股份有限公司生产)60 ml 加入 0.9% 氯化钠注射液 250 ml 静脉滴注,时间 30 min,2 次/d。2 组患者均治疗 2 周。

1.4 临床疗效评价标准^[6] 基本痊愈:病残程度 0 级,治疗后患者神经功能缺损评分较治疗前降低 90%~100%;显著进步:病残程度 1~3 级,神经功能缺损评分较治疗前降低 45%~89%;进步:病残程度 4~6 级,神经功能缺损评分降低 17%~44%;无效:神经功能缺损程度降低 $<17%$ 。总有效率=(基本痊愈+显著进步+进步)/总例数 $\times 100%$ 。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 生活能力评分、神经功能缺损评分^[7]:于治疗前后使用 Barthel 指数、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)对患者生活能力、神经功能缺损程度进行评价,其中 Barthel 指数总分为 100 分,分值越高,说明生活能力越好;NIHSS 总分 42 分,分值越高说明神经功能缺损越严重。

1.5.2 血清炎症因子水平检测:于治疗前后抽取患者空腹肘静脉血 5 ml,离心取血清,应用奥地利公司提供的 Bioelisa ELX-800 型酶标仪,以酶联免疫吸附法检测血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)水平。

1.5.3 血清神经生长相关因子检测:上述血清以酶联免疫吸附法检测血清脑源性神经营养因子(BDNF)、神经生长相关蛋白-43(GAP-43)、神经生长因子(NGF)水平。

1.5.4 观察不良反应:观察 2 组患者在治疗期间皮疹、恶心呕吐、转氨酶升高、肝肾功能损伤发生情况。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,组内比较采用配对 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 研究组总有效率为 90.24%,高于对照组的 75.61%($\chi^2 = 14.098, P = 0.000$),见表 1。

2.2 2 组治疗前后 Barthel 指数、NIHSS 评分比较 治疗前,2 组 Barthel 指数、NIHSS 评分比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗 2 周后,2 组患者 Barthel 指数评分升高,NIHSS 评分降低,且研究组改善程度优于对照组($P<0.01$),见表 2。

表 1 2 组患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	基本痊愈	显著进步	进步	无效	总有效率(%)
对照组	41	14(34.15)	11(26.83)	6(14.63)	10(24.39)	75.61
研究组	41	19(46.34)	10(24.39)	8(19.51)	4(9.76)	90.24 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$

表 2 2 组患者治疗前后 Barthel 指数、NIHSS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	时间	Barthel 指数	NIHSS
对照组 ($n = 41$)	治疗前	45.29 ± 1.85	20.19 ± 1.62
	治疗后	56.37 ± 2.04	17.65 ± 1.02
研究组 ($n = 41$)	治疗前	45.32 ± 1.73	20.42 ± 1.87
	治疗后	62.43 ± 2.19	14.32 ± 0.94
t/P 对照组内值		17.895/0.000	8.634/0.000
t/P 研究组内值		19.631/0.000	20.584/0.000
t/P 治后组间值		12.965/0.000	15.372/0.000

2.3 2 组治疗前后血清炎症因子水平比较 治疗前,2 组患者 TNF- α 、MMP-9、IL-6 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 2 周后,2 组上述指标均下降($P < 0.01$),且研究组低于对照组($P < 0.01$),见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TNF- α (ng/L)	MMP-9(μ g/L)	IL-6(μ g/L)
对照组 ($n = 41$)	治疗前	48.39 ± 3.29	299.09 ± 61.94	60.27 ± 5.14
	治疗后	25.32 ± 2.41	234.18 ± 55.32	39.04 ± 3.19
研究组 ($n = 41$)	治疗前	48.17 ± 3.21	296.74 ± 63.33	60.19 ± 4.78
	治疗后	17.08 ± 2.16	168.52 ± 42.18	21.06 ± 2.14
t/P 对照组内值		36.735/0.000	60.837/0.000	31.687/0.000
t/P 研究组内值		51.452/0.000	10.790/0.000	47.842/0.000
t/P 治疗后组间值		16.303/0.000	6.044/0.000	29.971/0.000

2.4 2 组治疗前后血清神经生长因子水平比较 治疗前,2 组神经生长相关因子水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 2 周后,2 组患者 NGF、BDNF 水平升高,GAP-43 水平降低($P < 0.01$),且研究组改善幅度大于对照组($P < 0.01$),见表 4。

表 4 2 组患者治疗前后神经生长相关因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	NGF(pg/ml)	GAP-43(ng/L)	BDNF(ng/ml)
对照组 ($n = 41$)	治疗前	105.42 ± 18.52	1 898.52 ± 209.47	3.69 ± 0.52
	治疗后	124.19 ± 17.93	1 671.29 ± 183.46	4.94 ± 0.67
研究组 ($n = 41$)	治疗前	107.19 ± 15.23	1 874.12 ± 200.45	3.74 ± 0.48
	治疗后	151.29 ± 16.28	1 253.72 ± 152.33	6.03 ± 0.37
t/P 对照组内值		38.625/0.000	73.642/0.000	5.364/0.000
t/P 研究组内值		49.258/0.000	83.654/0.000	7.381/0.000
t/P 治疗后组间值		7.165/0.000	11.220/0.000	9.119/0.000

2.5 2 组不良反应比较 治疗期间,研究组患者出现

皮疹、转氨酶轻度升高、恶心、呕吐各 1 例,不良反应发生率为 9.76%;对照组患者出现皮疹 1 例,恶心呕吐 2 例,不良反应发生率为 7.32%,2 组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.918, P = 0.176$)。

3 讨论

脑梗死是由多种因素引发脑血管堵塞,进而导致脑部出现局部供血中断或血流减少,使脑组织发生缺氧、缺血性坏死,最终引发血管供应区神经症状和脑功能损害的一种临床疾病,具有发病率、致残率及致死率高等特点^[8]。虽然大部分患者在经过治疗后能够进入恢复期,且生命体征稳定,但是均存在一定程度的神经功能损伤^[9]。因此有效促进恢复期急性脑梗死患者的神经功能恢复一直是临床工作者关注的重点。以往抗氧自由基、抗血小板、降糖及降压等常规治疗对急性脑梗死患者的神经功能恢复效果欠佳,因此还需要配合其他治疗来提高临床疗效。

本研究中研究组患者应用神经节苷脂联合临床康复路径治疗可有效提高急性脑梗死患者的治疗效果。神经节苷脂主要存在于哺乳动物的神经细胞内,其能够有效促进神经细胞的重塑,对特异性钙离子的内流具有抑制作用,能够缓解脑组织水肿,使受损脑组织的血流量增加,并能够对兴奋性氨基酸的释放进行抑制,使其神经毒性降低,并能够使神经生长因子抑制凋亡的作用增强^[10]。康复训练能够促进患者全身血液循环,而神经节苷脂能够通过血脑屏障,使脑组织局部血流增加,改善脑组织缺氧、缺血情况,内外兼治,因此使治疗效果提高。既往报道显示^[11],康复护理路径联合神经节苷脂钠可以明显改善缺氧缺血性脑病(HIE)患儿的智力和运动功能发育水平,与本次研究促进患者神经细胞恢复效果大致相当。

TNF- α 、MMP-9、IL-6 均是炎症反应指标,其中 TNF- α 能够参与脑缺血的过程,IL-6 能够促进白细胞趋化因子的释放,导致大量自由基的产生,引发脑细胞的死亡,MMP-9 可降解动脉粥样硬化斑块中的纤维蛋白原,降低斑块稳定性,致使斑块容易发生破裂,引发脑梗死^[12]。本结果显示,神经节苷脂治疗急性脑梗死能够有效减轻炎症反应,主要是因为神经节苷脂能够有效清除自由基,从而减轻自由基对脑组织的损伤,因

此炎症反应减轻^[13]。NGF、GAP-43 及 BDNF 均是神经生长相关因子,其中 NGF、BDNF 能够保护因脑缺血而造成的神经损伤,GAP-43 则会在神经元受到损伤后进入血液^[14]。神经节苷脂对急性脑梗死的神经功能恢复具有较好的促进作用,主要是因为神经节苷脂能够使神经生长因子活性增强,促进新的神经网络形成,使脑神经的修复加快,因此促进了神经功能的恢复^[15]。2 组患者不良反应发生率无显著差异,说明联用神经节苷脂治疗并不会增加不良反应的发生,安全性较高。

综上所述,神经节苷脂联合临床康复路径可有效提高急性脑梗死患者的治疗效果,促进神经功能恢复,减轻炎症反应,提高患者生活能力,安全性高。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

秦锐:搜集资料,实验研究及论文撰写;谢宏斌:搜集资料;苏茜:论文审核

参考文献

[1] Truijen J, Rasmussen LS, Kim YS, et al. Cerebral autoregulatory performance and the cerebrovascular response to head-of-bed positioning in acute ischaemic stroke[J]. *Eur J Neurol*, 2018, 25(11):1365-1371, e116-e117. DOI: 10.1111/ene.13737.

[2] Fandy TE, Abdallah I, Khayat M, et al. In vitro characterization of transport and metabolism of the alkaloids: vincamine, vinpocetine and eburnamonine[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 77(2):259-267. DOI: 10.1007/s00280-015-2924-3.

[3] 陈祖平. 康复疗法联合银杏叶注射液对脑梗死患者生活能力的影响[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2015, 18(24):57-58. DOI:10.3969/j.issn.1673-5110.2015.24.034.

[4] 顾群. 依达拉奉联合神经节苷脂治疗老年急性脑梗死的临床疗效及安全性评价[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(12):1079-1081. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2015.12.001.

[5] 中华神经科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. *中华神经科杂志*, 1996, 29(6):379-381.

[6] 陈琪, 李国强, 李惊涛. 神经节苷脂联合长春西汀治疗方案对急性脑梗死患者康复期神经功能重建的影响[J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(22):2673-2676. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20160814.013.

[7] 邱玲. 依达拉奉联合神经节苷脂治疗急性脑梗死对神经功能及血流变学的影响[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2015, 18(24):55-56. DOI:10.3969/j.issn.1673-5110.2015.24.033.

[8] 王锦华, 陈强, 汪东良. 老年急性脑梗死患者依达拉奉联合神经节苷脂治疗的临床效果及对炎症因子的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 25(10):2179-2181. DOI: 10.11816/cn.ni.2015-150353.

[9] Gioia LC, Kate M, Sivakumar L, et al. Early rivaroxaban use after cardioembolic stroke may not result in hemorrhagic transformation: A prospective magnetic resonance imaging study [J]. *Stroke*, 2016, 47(7):1917-1919. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013491.

[10] Hafez S, Abdelsaid M, El-Shafey S, et al. Matrix metalloproteinase 3 exacerbates hemorrhagic transformation and worsens functional outcomes in hyperglycemic stroke [J]. *Stroke*, 2016, 47(3):843-851. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013283.

[11] 王大平, 李琳, 尹纪来. 检测血清同型半胱氨酸和 C 反应蛋白对急性脑梗死患者的临床诊断价值[J]. *中国医药*, 2020, 15(4):565-568. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.04.020.

[12] Chen L, Yang Q, Ding R, et al. Carotid thickness and atherosclerotic plaque stability, serum inflammation, serum MMP-2 and MMP-9 were associated with acute cerebral infarction [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6):5253-5257. DOI: 10.3892/etm.2018.6868.

[13] 张立军, 赵洁, 郝新斌. 静脉溶栓桥接动脉取栓治疗急性脑梗死临床疗效分析[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(1):17-20. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.005.

[14] Pendharkar AV, Levy SL, Ho AL, et al. Optogenetic modulation in stroke recovery [J]. *Neurosurg Focus*, 2016, 40(5):E6. DOI: 10.3171/2016.2.FOCUS163.

[15] 邹蔷薇, 王惠婕, 何欣, 等. 局部亚低温联合丁苯酞注射液治疗对急性脑梗死患者细胞凋亡及斑块稳定性的影响[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(11):1099-1102, 1107. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.11.005.

(收稿日期:2020-02-18)

(上接 891 页)

[16] 苏优勒, 张占普, 窦长武, 等. 血管内介入栓塞与开颅手术夹闭治疗破裂颅内动脉瘤的疗效及安全性比较[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(5):455-458, 463. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.05.006.

[17] 张杰, 王恩任, 张列, 等. 尼莫地平在脑动脉瘤手术中的应用价值[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(1):42-45. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.01.011.

[18] 郑津, 胡学斌, 赵洪洋, 等. 血管介入栓塞治疗时机对颅内动脉瘤患者并发症及神经功能的影响[J]. *中国医药*, 2018, 13(2):219-223. DOI:10.3760/ema.j.issn.1673-4777.2018.02.015.

[19] Elzbieta P, Joanna S, Karol W, et al. NF-κB-mediated inflammation in the pathogenesis of intracranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage. Does autophagy play a role [J]. *International Journal of*

Molecular Sciences, 2018, 19(4):1245-1253. DOI: 10.3390/ijms19041245.

[20] Alg VS, Ke X, Grieve J, et al. Association of functional MMP-2 gene variant with intracranial aneurysms: case-control genetic association study and meta-analysis [J]. *British Journal of Neurosurgery*, 2018, 32(3):255-259. DOI:10.1080/02688697.2018.1427213.

[21] 黄孝宇. 单核细胞趋化蛋白-1 细胞间黏附分子-1 及核转录因子-κpα 在颅内动脉瘤中的表达及临床意义[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2019, 22(10):1074-1080. DOI:10.12083/SYSJ.2019.10.142.

[22] Zhou G, Zhu Y, Yin Y, et al. Author correction: Association of wall shear stress with intracranial aneurysm rupture: systematic review and Meta-analysis [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):5244-5251. DOI:10.1038/s41598-018-23445-9.

(收稿日期:2020-04-17)

重型颅脑外伤昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的危险因素分析

叶富跃, 杨堃, 王子珍, 马春阳, 陈政刚, 潘琪, 吴然

基金项目: 海南省重点研发计划(第一批)项目(ZDYF2019129)

作者单位: 570102 海口, 海南医学院第一附属医院神经外科

通信作者: 杨堃, E-mail: chbyk1379@163.com

【摘要】目的 探讨重型颅脑外伤(sTBI)昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的危险因素。**方法** 回顾性分析 2018 年 1 月—2019 年 6 月在海南医学院第一附属医院神经外科接受气管切开治疗的 sTBI 昏迷患者 104 例, 参照“成人下呼吸道感染诊治指南”中的相关标准对下呼吸道医院感染情况进行诊断, 采集患者信息, 分析 sTBI 患者发生下呼吸道医院感染的影响因素, 进行多因素 Logistic 回归分析。**结果** 104 例患者中发生下呼吸道医院感染 27 例, 感染率为 25.96%。27 例下呼吸道医院感染患者共分离出病原菌 36 株, 其中 G⁻ 菌 27 株(75.00%), G⁺ 菌 5 株(13.89%), 真菌 4 株(11.11%)。多因素 Logistic 回归分析结果表明, 年龄 ≥ 60 岁、有吸烟史、患糖尿病、使用糖皮质激素、气管切开时间 ≥ 7 d、ICU 入住时间 ≥ 7 d 为 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的危险因素, 入院时 GCS 评分 ≥ 5 分为保护因素。**结论** sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染发生率较高, 主要以 G⁻ 菌感染为主, 患者下呼吸道医院感染率受年龄等多种因素的影响, 临床上应针对易感菌及影响因素制订应对措施以降低感染率。

【关键词】 颅脑外伤, 重型; 气管切开; 下呼吸道医院感染; 多因素分析

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.008

Risk factors of nosocomial infection of lower respiratory tract in comatose patients with severe craniocerebral trauma after tracheotomy Ye Fuyue, Yang Kun, Wang Zizhen, Ma Chunyang, Chen Zhenggang, Pan Qi, Wu Ran. Department of

Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570102, China

Funding program: Hainan Key R & D Plan (the First Batch) Project (ZDYF2019129)

【Abstract】 Objective To investigate the risk factors of nosocomial infection of lower respiratory tract after tracheotomy in comatose patients with severe craniocerebral trauma (sTBI). **Methods** From January 2018 to June 2019, 104 patients with sTBI coma who underwent tracheotomy in the Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, were retrospectively analyzed. According to the relevant standards of "adult lower respiratory tract infection diagnosis and treatment guide", the hospital infection of lower respiratory tract was diagnosed. The influencing factors of nosocomial infection of lower respiratory tract in sTBI patients were analyzed by multivariate logistic regression analysis. **Results** Among 104 patients, 27 cases had lower respiratory tract nosocomial infection, the infection rate was 25.96%. A total of 36 pathogens were isolated from 27 patients with nosocomial infection of lower respiratory tract, including 27 strains of G⁻ bacteria (75.00%), 5 strains of G⁺ bacteria (13.89%) and 4 strains of fungi (11.11%). Multivariate logistic regression analysis showed that age ≥ 60 years old, smoking history, diabetes mellitus, glucocorticoid use, tracheotomy time ≥ 7 days, ICU stay time ≥ 7 days were risk factors for nosocomial infection of lower respiratory tract in sTBI comatose patients after tracheotomy, and GCS score ≥ 5 at admission was protective factor. **Conclusion** The incidence of nosocomial infection of lower respiratory tract in sTBI comatose patients after tracheotomy is relatively high, mainly G⁻ bacteria infection. The hospital infection rate of patients with lower respiratory tract is affected by many factors such as age. In order to reduce the infection rate, it is necessary to formulate countermeasures according to the susceptible bacteria and influencing factors.

【Key words】 Craniocerebral injury, severe; Tracheotomy; Lower respiratory tract infection; Multivariate analysis

重型颅脑外伤(severe traumatic brain injury, sTBI)患者多伴有不同程度的昏迷, 可对咳嗽反射造成抑制

而致呼吸道分泌物无法有效排出, 引起急性呼吸道梗阻, 因而大部分 sTBI 患者需行气管切开建立人工气道

以维持呼吸^[1-2]。但气管切开术改善患者通气功能的同时,可导致患者下呼吸道医院感染的风险明显上升,尤其是 sTBI 患者因病情严重,自身免疫力较低,机体处于应激状态、住院时间长等原因导致其发生下呼吸道医院感染的风险远高于普通患者^[3]。下呼吸道感染可严重影响病情恢复,甚至引起呼吸衰竭而危及患者生命,因此有必要理清其影响因素,对各因素加以控制^[4]。本研究旨在通过分析 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的危险因素,以期为此类患者的临床治疗提供参考依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2018 年 1 月—2019 年 6 月在海南医学院第一附属医院神经外科接受气管切开治疗的 sTBI 昏迷患者 104 例。纳入标准:(1)有明确的头部外伤史,GCS 评分为 3~8 分;(2)经头颅 CT 检查证实为颅脑外伤;(3)由同一组医护人员行气管切开术,并参照美国神经外科医师协会发布的“重型颅脑损伤诊治指南(第 4 版)”进行规范化治疗^[5];(4)发病至手术时间在 12 h 以内。排除标准:(1)入院时下呼吸道感染者;(2)入院 48 h 内转院或因病情严重在 48 h 内死亡者;(3)高血压脑出血、颅内动静脉畸形等非外伤性脑出血患者;(4)病历资料记录不全者;(5)妊娠及哺乳期女性;(6)肺挫伤患者。

1.2 下呼吸道感染诊断标准 参照“成人下呼吸道感染诊治指南”^[6]中的相关标准:(1)气管切开时间超过 48 h;(2)气道内分泌物增加或有脓痰,经气道分泌物培养出病原菌;(3)白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$,中性粒细胞百分率 $> 70\%$;(4)发热;(5)肺部出现实体体征或湿啰音,CT 检查显示炎性病变的肺部阴影。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 临床资料收集:采集患者信息,包括性别、年龄、BMI、饮酒史、吸烟史、发病至手术时间、肺部基础病(慢性阻塞性肺疾病、肺气肿、支气管哮喘等)、入院时格拉斯哥昏迷(GCS)评分、糖尿病史、糖皮质激素使用情况、抗生素使用情况、呼吸机使用情况、气管切开时间、湿化气道操作、术后床头抬高情况、鼻饲情况、ICU 入住时间。

1.3.2 呼吸道分泌物培养:在气管切开后 3 d、7 d 分别采集患者咽部及下呼吸道分泌物在巧克力平板(5% CO₂, 35℃)、麦康凯平板、厌氧血平板下培养 24 h,培养平板均购自上海依赫生物科技有限公司,采用法国梅里埃公司生产的 VITEK-32 全自动菌种鉴定仪对培养结果进行鉴定,质控菌金黄色葡萄球菌 ATCC 29213、大肠埃希菌 ATCC 25922 及铜绿假单胞

菌 ATCC 27853 均由中国工业菌种保藏所提供。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析。一般资料及病原菌分布情况采用描述性统计,单因素分析行 χ^2 检验,多因素分析行 Logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 sTBI 患者临床资料 104 例 sTBI 患者中共发生下呼吸道医院感染 27 例,感染率为 25.96%。其中男 61 例,女 43 例;年龄 < 60 岁 71 例, ≥ 60 岁 33 例;BMI 指数 $< 24 \text{ kg/m}^2$ 59 例, $\geq 24 \text{ kg/m}^2$ 45 例;有饮酒史 47 例;有吸烟史 44 例;发病至手术时间 $< 3 \text{ h}$ 29 例, $3 \sim 6 \text{ h}$ 54 例, $7 \sim 12 \text{ h}$ 21 例;有肺部基础病 17 例(其中支气管哮喘 5 例,慢性阻塞性肺疾病 9 例,肺气肿 3 例);入院时 GCS 评分 < 5 分 45 例, ≥ 5 分 59 例;高血压 32 例;糖尿病 20 例;使用糖皮质激素 75 例;使用抗生素 86 例;使用呼吸机 95 例;气管切开时间 $< 7 \text{ d}$ 28 例, $\geq 7 \text{ d}$ 76 例;有湿化气道操作 85 例;术后床头抬高 25 例;ICU 入住时间 $< 7 \text{ d}$ 59 例, $\geq 7 \text{ d}$ 45 例。

2.2 下呼吸道医院感染患者病原菌分布情况 27 例下呼吸道医院感染患者共分离出病原菌 36 株,其中 G 菌 27 株(75.00%),包括鲍曼不动杆菌 9 株,肺炎克雷伯杆菌 6 株,洋葱伯克霍尔德菌 5 株,铜绿假单胞杆菌 4 株,其他 3 株;G⁺ 菌 5 株(13.89%),其中金黄色葡萄球菌 2 株,肺炎链球菌 2 株,纹带棒杆菌 1 株;真菌 4 株(11.11%),其中白色念珠菌 3 株,光滑念珠菌 1 株。

2.3 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的单因素分析 sTBI 昏迷患者性别、饮酒史、发病至手术时间、高血压病史、呼吸机使用、湿化气道操作、术后床头抬高等不同情况的气管切开后下呼吸道医院感染发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。患者年龄、BMI 指数、吸烟史、肺部基础病、入院时 GCS 评分、糖尿病史、糖皮质激素使用、抗生素使用、气管切开时间及 ICU 入住时间等不同的下呼吸道感染率差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.4 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的多因素分析 以单因素分析中具有显著差异的因素为自变量,下呼吸道感染情况为因变量,采用似然比前进法筛选变量,行多因素非条件 Logistic 回归分析,各因素赋值见表 2。结果显示年龄 ≥ 60 岁、有吸烟史、糖尿病、使用糖皮质激素、气管切开时间 $\geq 7 \text{ d}$ 、ICU 入住时间 $\geq 7 \text{ d}$ 为 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的危险因素,入院时 GCS 评分 ≥ 5 分为保护因素,见表 3。

表 1 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道

医院感染的单因素分析 [例(%)]

项 目	例数 (n=104)	医院感染 (n=27)	χ^2 值	P 值
性别	男 61 女 43	15(24.59) 12(27.91)	0.144	0.704
年龄(岁)	<60 ≥60	14(19.72) 13(39.39)	4.537	0.033
BMI 指数(kg/m ²)	<24 ≥24	10(16.95) 17(37.78)	8.170	0.004
饮酒史	无 57 有 47	14(24.56) 13(27.66)	0.129	0.720
吸烟史	无 60 有 44	10(16.67) 17(38.64)	6.374	0.012
发病至手术时间(h)	<3 3~6 7~12	5(17.24) 18(33.33) 4(19.05)	3.196	0.202
肺部基础病	无 87 有 17	19(21.84) 8(47.06)	4.706	0.030
入院时 GCS 评分(分)	<5 ≥5	17(37.78) 10(16.95)	5.762	0.016
高血压	无 72 有 32	16(22.22) 11(34.38)	1.702	0.192
糖尿病	无 84 有 20	18(21.43) 9(45.00)	4.952	0.026
使用糖皮质激素	无 29 有 75	3(10.34) 24(32.00)	5.012	0.024
使用抗生素	无 18 有 86	8(44.44) 19(22.09)	3.869	0.049
使用呼吸机	无 9 有 95	2(22.22) 25(26.32)	0.040	0.841
气管切开时间(d)	<7 ≥7	1(3.57) 26(34.21)	9.993	0.002
湿化气道操作	无 19 有 85	7(36.84) 20(23.53)	1.432	0.231
术后床头抬高	无 79 有 25	20(25.32) 7(28.00)	0.071	0.790
ICU 入住时间(d)	<7 ≥7	9(15.25) 18(40.00)	8.132	0.004

表 2 各因素赋值情况

变量	赋值
X1 年龄(岁)	<60=0, ≥60=1
X2 BMI 指数(kg/m ²)	<24=0, ≥24=1
X3 吸烟史	无=0, 有=1
X4 肺部基础病	无=0, 有=1
X5 入院时 GCS 评分(分)	<5=0, ≥5=1
X6 糖尿病	无=0, 有=1
X7 糖皮质激素使用情况	无=0, 有=1
X8 抗生素使用情况	无=0, 有=1
X9 气管切开时间(d)	<7=0, ≥7=1
X10 ICU 入住时间(d)	<7=0, ≥7=1
Y 下呼吸道感染情况	无=0, 有=1

3 讨 论

随着经济的发展,交通事故等意外的发生率明显上升,数据显示国内每年颅脑损伤发病人数约为 60 万,有 10 万人因此死亡^[7]。sTBI 病情危重,常伴有颅骨骨折、广泛脑挫裂伤等严重创伤而致患者容易出现神经系统阳性体征及生命体征的改变,可引起意识障碍而使咳嗽反射减弱或消失,抑制吞咽反射而导致患者无法自主排除呼吸道分泌物^[8-9]。各种分泌物及呕吐物被误吸入呼吸道可引起气道受阻导致缺氧而加重脑水肿,严重者可致死亡,因此行气管切开术以建立人工气道并保持呼吸道通畅是抢救患者的关键步骤。但气管切开导致气道直接对外界开放,使其正常的防御功能被破坏,并且气管切开为创伤性操作,可引起气道内应激性炎症反应的发生而增加分泌物,气道内分泌物黏稠不易咳出可增加继发感染的风险^[10-12]。行气管切开者病情较为危重,多伴有脏器功能衰竭且自身免疫功能较差,为院内感染的高发人群,因此对 sTBI 昏迷患者行气管切开后下呼吸道医院感染影响因素及致病菌分布情况进行分析对于提高患者救治成功率具有重要的意义^[13-15]。

表 3 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道医院感染的多因素分析

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄 ≥ 60 岁	1.703	0.537	4.063	0.015	1.816	1.351 ~ 2.204
BMI ≥ 24 kg/m ²	1.196	0.131	1.852	0.226	1.193	0.704 ~ 1.358
有吸烟史	1.608	0.297	3.181	0.046	1.506	1.164 ~ 1.993
有肺部基础疾病	1.206	0.142	1.908	0.213	1.212	0.688 ~ 1.517
入院时 GCS 评分 ≥ 5 分	-1.294	0.078	4.204	0.013	0.607	0.313 ~ 0.796
有糖尿病	1.857	0.623	6.426	0.000	1.907	1.604 ~ 2.479
使用糖皮质激素	1.718	0.544	4.609	0.010	1.840	1.403 ~ 2.504
使用抗生素	-1.682	0.038	1.185	0.357	0.873	0.633 ~ 1.247
气管切开时间 ≥ 7 d	1.523	0.205	4.827	0.006	1.451	1.123 ~ 1.894
ICU 入住时间 ≥ 7 d	1.904	0.710	8.836	0.000	2.103	1.656 ~ 2.743

本研究中 104 例患者发生下呼吸道感染 27 例,感染率为 25.96%,27 例下呼吸道感染患者共分离出病原菌 36 株,其中 G 菌为主,与相关研究结果相一致^[16]。鲍曼不动杆菌占比最高,该菌为严格需氧、非乳糖发酵条件致病菌,可引起菌血症、肺炎、脑膜炎等疾病,近年因抗生素滥用导致其产生耐药性而出现多重耐药鲍曼不动杆菌^[17];其次为肺炎克雷伯杆菌,该菌在呼吸道及肠道中常见,同样为条件致病菌,在患者免疫力低下时可经呼吸道进入肺内而引起肺大叶或小叶融合性实变,因上述菌群均有不同程度的耐药性,因此在制订治疗及预防措施时应慎重选择药物^[18]。同时 G⁺ 菌与真菌在 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道感染医院感染的比例虽然不高,但在治疗过程同样应该引起重视,避免出现疏漏而增加患者感染风险。

多因素分析结果显示,年龄 ≥ 60 岁、有吸烟史、糖尿病、使用糖皮质激素、气管切开时间 ≥ 7 d、ICU 入住时间 ≥ 7 d 为 sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道感染医院感染的危险因素,入院时 GCS 评分 ≥ 5 分为保护因素。(1) 随着年龄的增加患者感染风险增加,患者下呼吸道感染的致病菌以条件致病菌占多数,老年患者多伴有基础疾病,自身免疫力较低,再加上颅脑外伤及气管切开等侵入性操作,导致患者免疫功能进一步受损而增加条件致病菌感染的风险。同时从生理结构上,老年患者因气道纤毛运动下降,咳嗽反应迟缓而使痰液清理困难。(2) 有吸烟史患者下呼吸道感染风险更高,可能是烟草中含有大量的醛类、尼古丁类等毒性及刺激性物质,长期接触可致机体抵抗力下降,对条件致病菌抑制能力降低而增加下呼吸道感染医院感染的风险。另外有研究发现,长期吸烟可造成人体气道细菌密度、数量及种类的改变而增加下呼吸道感染医院感染的风险^[19]。(3) 糖尿病患者体内血糖水平长期过高,使其出现生物化学代谢紊乱而引起机体防御机制缺陷,加上血糖水平过高给细菌繁殖提供了便利条件,另外糖尿病还可引起体内蛋白质分解代谢加快、合成下降,使机体气道创伤修复功能减弱而增加医院感染的风险^[20]。(4) sTBI 患者病情较为严重,为帮助患者度过病情危重期,临床上多给予糖皮质激素治疗,但糖皮质激素为免疫抑制剂,大剂量使用后可致机体免疫功能受损而增加医院感染风险^[21]。(5) 气管切开时间及 ICU 入住时间的延长意味着患者在高危环境中的暴露时间也相应延长,病原微生物入侵风险增加是必然的,因此在患者病情得到控制后应尽可能地缩短气管切开及 ICU 入住时间^[22-23]。(6) GCS 评分为临床常用的昏迷程度评定指标,其分数越低患者病情越严重,入院时

GCS 评分 ≥ 5 分说明昏迷程度较低,是保护因素;GCS < 5 分时患者容易出现呼吸中枢抑制而需进行机械通气,同时患者呼吸功能下降而不利病原菌的排出,增加医院感染风险^[24]。

综上所述,sTBI 昏迷患者气管切开后下呼吸道感染发生率较高,主要以 G 菌感染为主,患者下呼吸道感染率受年龄等多种因素的影响,临床上应针对易感菌及影响因素制订应对措施以降低感染率。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

叶富跃、杨莹:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王子珍、马春阳:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;陈政刚:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;潘琪:进行统计学分析;吴然:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Jenkins R, Morris NA, Haac B, et al. Inpatient complications predict tracheostomy better than admission variables after traumatic brain injury[J]. *Neurocrit Care*, 2019, 30(2): 387-393. DOI:10.1007/s12028-018-0624-7.
- [2] Lu W, Wu T, Cui P, et al. Timing of tracheotomy in patients with severe traumatic brain injury[J]. *J Craniofac Surg*, 2019, 30(7): 2168-2170. DOI:10.1097/SCS.00000000000005721.
- [3] Carney N, Totten AM, O'Reilly C, et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury[J]. *Neurosurgery*, 2017, 80(1): 6-15. DOI:10.1089/neu.2007.9997.
- [4] Su X, Li Z, Wang M, et al. The protective effect of different airway humidification liquids to lung after tracheotomy in traumatic brain injury: The role of pulmonary surfactant protein-a (sp-a)[J]. *Gene*, 2016, 577(1): 89-95. DOI:10.1016/j.gene.2015.11.024.
- [5] 同济大学上海市第十人民医院神经外科第四版重型颅脑损伤救治指南翻译组. 重型颅脑损伤救治指南(第4版)[J/CD]. *中华神经创伤外科电子杂志*, 2016, 2(5): F01. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-9141.2016.05.101.
- [6] 陈闰江,柳涛,蔡柏嵩. 解读2011年成人下呼吸道感染的诊治指南(概述)[J]. *国际呼吸杂志*, 2012, 32(16): 1201-1206. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2012.016.001.
- [7] Emami P, Czorlich P, Fritzsche FS, et al. Impact of glasgow coma scale score and pupil parameters on mortality rate and outcome in pediatric and adult severe traumatic brain injury: A retrospective, multicenter cohort study[J]. *J Neurosurg*, 2017, 126(3): 760-767. DOI: 10.3171/2016.1.JNS152385.
- [8] Cohn EC, Robertson TS, Scott SA, et al. Extubation failure and tracheostomy placement in children with acute neurocritical illness[J]. *Neurocrit Care*, 2018, 28(1): 83-92. DOI:10.1007/s12028-017-0429-0.
- [9] Baron DM, Hochrieser H, Metnitz PGH, et al. Tracheostomy is associated with decreased hospital mortality after moderate or severe isolated traumatic brain injury[J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2016, 128(11-12): 397-403. DOI:10.1007/s00508-016-1004-y.

高原地区颅脑损伤患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 水平与继发性癫痫的关系

汪生毅, 孙小红, 李海栋, 李佩章, 王岁英, 李玉鹏

基金项目: 青海省卫生计生委课题指导性计划项目(2017-wjzdx-29)

作者单位: 810000 西宁, 青海省妇女儿童医院脑外科

通信作者: 李玉鹏, E-mail: 31789507@qq.com

【摘要】目的 分析缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、微小 RNA-210(miR-210)在高原地区颅脑损伤患儿血清中的表达及其与颅脑损伤后继发性癫痫(SE)的关系。**方法** 选择 2016 年 1 月—2019 年 2 月青海省妇女儿童医院收治高原地区颅脑损伤患儿 236 例作为研究对象,根据随访后是否发生癫痫分为 SE 组($n=52$)与无 SE 组($n=184$)。采用实时荧光定量 PCR 法(qRT-PCR)检测受试者血清 HIF-1 α 、miR-210 表达水平;分析 HIF-1 α 、miR-210 表达与颅脑损伤并发继发性癫痫患儿临床参数的关系;Logistic 回归分析影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的危险因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析 HIF-1 α 、miR-210 对颅脑损伤患儿继发性癫痫的预测价值。**结果** SE 组患儿 HIF-1 α 、miR-210 表达水平明显高于无 SE 组($t/P=14.544/0.000, 11.876/0.000$);继发性癫痫患儿 HIF-1 α 、miR-210 高表达者与低表达者比较,GCS 评分均降低($t/P=9.264/0.000, 9.763/0.000$),惊厥发作 ≥ 6 次比例均增加($\chi^2/P=4.294/0.038, 9.253/0.002$);继发性癫痫患儿 HIF-1 α 与 miR-210 呈正相关($r/P=0.671/0.000$),HIF-1 α 、miR-210 表达与 GCS 评分呈负相关($r=-0.571, -0.608, P$ 均 $=0.000$),HIF-1 α 、miR-210 表达与惊厥发作 ≥ 6 次呈正相关($r=0.635, 0.691, P$ 均 $=0.000$);Logistic 多因素回归结果显示,GCS 评分低、惊厥发作次数 ≥ 6 次、合并颅内血肿、合并蛛网膜下腔出血、HIF-1 α 高表达、miR-210 高表达是影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的独立危险因素;HIF-1 α 对颅脑损伤患儿继发性癫痫预测的 AUC 为 0.874,最佳截断值为 1.48,敏感度为 75.67%,特异度为 86.75%,约登指数为 0.624;miR-210 对颅脑损伤患儿继发性癫痫预测的 AUC 为 0.856,最佳截断值为 1.43,敏感度为 73.08%,特异度为 88.05%,约登指数为 0.611。**结论** 高原地区颅脑损伤继发性癫痫患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 表达升高,是影响颅脑损伤后继发性癫痫的危险因素,对脑损伤后继发性癫痫具有一定的预测价值。

【关键词】 颅脑损伤;继发性癫痫;缺氧诱导因子;微小 RNA-210;相关性

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.009

Relationship between serum HIF-1 α , miR-210 levels and secondary epilepsy in children with craniocerebral injury at high altitude Wang Shengyi, Sun Xiaohong, Li Haidong, Li Peizhang, Wang Suiying, Li Yupeng. Department of Brain Surgery, Qinghai Women and Children's Hospital, Qinghai Province, Xining 810000, China

Corresponding author: Li Yupeng, E-mail: 31789507@qq.com

Funding program: Project Guidance Plan of Qinghai Health and Family Planning Commission (2017-wjzdx-29)

【Abstract】Objective To analyze the expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and microRNA-210 (miR-210) in serum of children with craniocerebral injury at high altitude and their relationship with secondary epilepsy (SE) after craniocerebral injury. **Methods** A total of 236 children with craniocerebral injury at high altitude in Qinghai Women's and Children's Hospital from January 2016 to February 2019 were selected as the research objects. They were divided into se group ($n=52$) and non se group ($n=184$) according to whether epilepsy occurred after follow-up. Real time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the levels of serum HIF-1 α and miR-210; the relationship between the expression of HIF-1 α and miR-210 and the clinical parameters of children with brain injury complicated with secondary epilepsy was analyzed; the risk factors of secondary epilepsy in children with brain injury were analyzed by logistic regression; Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the predictive value of HIF-1 α and miR-210 for secondary epilepsy in children with craniocerebral injury. **Results** The expression levels of HIF-1 α and miR-210 in the SE group were significantly higher than those in the no SE group ($t/P=14.544/0.000, 11.876/0.000$). Children with secondary epilepsy had high

expression of HIF-1 α and miR-210 and low expression of GCS score decreased ($t/P=9.264/0.000, 9.763/0.000$), and the proportion of seizures ≥ 6 increased ($\chi^2/P=4.294/0.038, 9.253/0.002$). HIF-1 α and miR-210 in children with secondary epilepsy were positively correlated ($r/P=0.671/0.000$), and the expression of HIF-1 α and miR-210 was negatively correlated with GCS score ($r=-0.571, -0.608, P=0.000$). The expression of HIF-1 α and miR-210 was positively correlated with ≥ 6 seizures ($r=0.635, 0.691, P=0.000$). Logistic regression results showed that low GCS score, convulsive seizures ≥ 6 times, intracranial hematoma, subarachnoid hemorrhage, high expression of HIF-1 α , and high expression of miR-210 affect secondary epilepsy in children with craniocerebral injury Independent risk factors. The predicted AUC of HIF-1 α for secondary epilepsy in children with brain injury was 0.874, the best cutoff value was 1.48, the sensitivity was 75.67%, the specificity was 86.75%, and the Youden index was 0.624. The predicted AUC of miR-210 for secondary epilepsy in children with craniocerebral injury was 0.856, the best cut-off value was 1.43, sensitivity was 73.08%, specificity was 88.05%, and Youden index was 0.611. **Conclusion** The increased expression of HIF-1 α and miR-210 in serum of children with secondary epilepsy after craniocerebral injury in plateau area is a risk factor for secondary epilepsy after brain injury, which has a certain predictive value for secondary epilepsy after brain injury.

【Key words】 Brain injury; Secondary epilepsy; Hypoxia inducible factor; microRNA 210; Correlation

高原地区低压、低氧环境严重影响心肺、神经系统功能,当出现颅脑损伤后,缺氧所导致的脑病理损伤加重,进一步加重病情,研究发现高原地区颅脑损伤发生率明显高于平原地区^[1]。颅脑损伤后会引发一系列并发症,继发性癫痫(secondary epilepsy, SE)是颅脑损伤的并发症之一,病程较长,发展缓慢,其发生率为2%~40%,严重影响患者生活质量。颅脑损伤后 SE 的发生机制较复杂,目前尚无统一定论^[2]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是缺氧条件下发挥作用的特异性转录因子,研究证实脑组织缺氧后,组织中 HIF-1 α 水平升高对脑组织具有一定的保护作用^[3-4]。微小 RNA-210(miR-210)主要存在于缺氧细胞及组织中,研究发现缺血缺氧脑损伤后,脑组织 miR-210 表达上调,可促进血管再生^[5]。然而 HIF-1 α 、miR-210 水平与颅脑损伤后 SE 的关系,目前尚不明确。现对高原地区颅脑损伤患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 表达进行检测,并分析两者与颅脑损伤后 SE 的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2016 年 1 月—2019 年 2 月青海省妇女儿童医院收治高原地区颅脑损伤患儿 236 例作为研究对象,根据是否发生 SE 分为 SE 组(52 例)与无 SE 组(184 例)。SE 组男 34 例,女 18 例,年龄 5~13(5.65 \pm 1.27)岁;格拉斯哥昏迷(GCS)评分(12.07 \pm 1.42)分;惊厥发作次数 <6 次 18 例, ≥ 6 次 34 例;损伤原因:击打伤 6 例,挤压伤 8 例,撞击伤 12 例,摔伤 21 例,其他复合伤 5 例;损伤类型:开放性损伤 31 例,闭合性损伤 21 例;损伤部位:额叶 19 例,其他部位 33 例;合并脑挫裂伤 35 例,颅内血肿 21 例,颅骨骨折 30 例,蛛网膜下腔出血 23 例。无 SE 组男 113 例,女 71 例,年龄 4~13(6.02 \pm 1.31)岁;GCS 评分

(13.53 \pm 1.24)分;惊厥发作次数 <6 次 124 例, ≥ 6 次 60 例;损伤原因:击打伤 23 例,挤压伤 29 例,撞击伤 42 例,摔伤 76 例,其他复合伤 14 例;损伤类型:开放性损伤 77 例,闭合性损伤 107 例;损伤部位:额叶 75 例,其他部位 109 例;合并脑挫裂伤 62 例,颅内血肿 20 例,颅骨骨折 25 例,蛛网膜下腔出血 31 例。2 组患儿性别、年龄、损伤原因、损伤部位比较,差异无统计学意义($P>0.05$);而 GCS 评分^[6]、惊厥发作次数、损伤类型、合并脑挫裂伤、颅内血肿、颅骨骨折、蛛网膜下腔出血比较差异具有统计学意义($t=8.915, \chi^2=18.173, 5.156, 18.921, 24.604, 44.124, 17.228, P$ 均=0.000)。以 HIF-1 α 表达量中位值 1.77 和 miR-210 表达量中位值 1.64 将患儿分为低表达亚组与高表达亚组。本研究经医院伦理委员会批准,患儿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 ≤ 13 岁;②经临床、影像学等检查确诊为脑损伤;③患儿住院期间临床资料完整。(2)排除标准:①合并脑炎如麻疹脑炎、化脓性脑膜炎;②中枢神经系统感染;③先天性脑血管畸形或脑发育异常造成的癫痫;④癫痫家族史;⑤颅脑损伤前有癫痫病史。

1.3 血清 HIF-1 α 、miR-210 水平检测 患儿入院后采集空腹外周静脉血 3 ml,离心收集上层血清,在 -20°C 冰箱内保存备用。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测血清 HIF-1 α 、miR-210 水平。采用 Trizol 试剂(北京百奥莱博科技有限公司)提取血清中总 RNA,参照逆转录试剂盒(杭州主诺生物技术有限公司)将 RNA 反转录为 cDNA,反应体系为 20 μl ;2 倍反应缓冲液 2 μl ,MgCl₂ 4 μl ,OligodT 引物 1 μl ,AMV Reverse transcriptase 0.6 μl ,RNA 抑制剂 0.5 μl ,RNA 1

μl , 灭菌水 $10.9 \mu\text{l}$ 。反应程序为 42°C 温育 1 h, 95°C 热激 5 min, 4°C 保存 10 min, 反应结束后, 收集 cDNA, 进行 qRT-PCR 反应, 使用 iQ5 Real Time 型 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)进行 PCR 扩增(PCR 扩增试剂盒购自生工生物工程上海股份有限公司)及熔解曲线分析。配制反应体系 $50 \mu\text{l}$: 反应缓冲液 $5 \mu\text{l}$, Taq 酶 $0.5 \mu\text{l}$, dNTP $4 \mu\text{l}$, Pmix $2.5 \mu\text{l}$, 上下游引物分别为 $1 \mu\text{l}$, 灭菌水 $36 \mu\text{l}$ 。扩增条件: 94°C 预变性 5 min, 随后 94°C 变性 30 s, 60°C 退火 30 s, 进行 35 个循环。HIF-1 α 以 β -actin 作为内参, miR-210 以 U6 作为内参, 引物由生工生物工程上海股份有限公司合成, 引物序列见表 1。采取 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法定量评估 HIF-1 α 、miR-210 相对表达量。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计处理。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较行 χ^2 检验; Pearson 相关性分析 HIF-1 α 、miR-210 间的关系; 采用 Logistic 回归分析影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的危险因素, 利用受试者工作特征曲线(ROC)分析 HIF-1 α 、miR-210 对颅脑损伤患儿继发性癫痫的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 HIF-1 α 、miR-210 引物序列

基因	正向引物	反向引物
HIF-1 α	5'-TCGACACAGCCTGGATATGA-3'	5'-CGGCTGCGGCCAGCAAAGTT-3'
miR-210	5'-CGTGTGAGAGCGGCTGAAA-3'	5'-TATGGTTGTTCTCGTCTCCTTCT-3'
β -actin	5'-CTGGAACGGTGAAGGTGACA-3'	5'-AAGGGAAGTCTGAAACAATGAG-3'
U6	5'-GCTTCGGCAGCACATATATA-3'	5'-CGCTTCACGAATTCGCTGTGT-3'

表 3 不同临床参数 SE 患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 表达的比较

临床参数	HIF-1 α		$t/\chi^2/P$ 值	miR-210		$t/\chi^2/P$ 值
	低表达($n=19$)	高表达($n=33$)		低表达($n=20$)	高表达($n=32$)	
GCS 评分($\bar{x} \pm s$, 分)	13.07 \pm 0.74	11.18 \pm 0.69	9.264/0.000	13.41 \pm 0.86	11.25 \pm 0.72	9.763/0.000
惊厥发作次数[例(%)]			4.294/0.038			9.253/0.002
<6 次	10(52.63)	8(24.24)		12(60.00)	6(18.75)	
≥ 6 次	9(47.37)	25(75.76)		8(40.00)	26(81.25)	
损伤类型[例(%)]			0.964/0.326			0.288/0.592
开放性损伤	13(68.42)	18(54.55)		11(55.00)	20(62.50)	
闭合性损伤	6(31.58)	15(45.45)		9(45.00)	12(37.50)	
合并症[例(%)]						
脑挫裂伤	13(68.42)	22(66.67)	0.017/0.897	11(55.00)	24(75.00)	2.237/0.135
颅内血肿	8(42.11)	13(39.39)	0.037/0.848	9(45.00)	12(37.50)	0.288/0.592
颅骨骨折	12(63.16)	18(54.55)	0.366/0.545	14(70.00)	16(50.00)	2.017/0.156
蛛网膜下腔出血	8(42.11)	15(45.45)	0.055/0.815	7(35.00)	16(50.00)	1.123/0.289

2 结果

2.1 2 组血清 HIF-1 α 、miR-210 水平比较 SE 组患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 表达明显高于无 SE 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 2 组患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HIF-1 α	miR-210
无 SE 组	184	1.06 \pm 0.24	1.08 \pm 0.27
SE 组	52	1.72 \pm 0.42	1.61 \pm 0.33
t 值		14.544	11.876
P 值		0.000	0.000

2.2 SE 组患儿血清 HIF-1 α 、miR-210 在不同临床参数中表达比较 SE 患儿 HIF-1 α 、miR-210 高表达者较 低表达者 GCS 评分降低、惊厥发作 ≥ 6 次比例增加($P < 0.05$), 与损伤类型、合并症比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 3。

2.3 SE 患儿 HIF-1 α 、miR-210 相关性分析 Pearson 相关性分析发现, SE 患儿 HIF-1 α 与 miR-210 呈正相关($r = 0.671, P = 0.000$), HIF-1 α 、miR-210 与 GCS 评分呈负相关($r = -0.571, -0.608, P$ 均 = 0.000), 与惊厥发作 ≥ 6 次均呈正相关($r = 0.635, 0.691, P$ 均 = 0.000)。

2.4 影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的危险因素 将颅脑损伤患儿发生继发性癫痫为因变量,以 GCS 评分、惊厥发作次数、损伤类型、合并症、HIF-1 α 、miR-210 作为自变量进行 Logistic 多因素回归分析,结果显示 GCS 评分低、惊厥发作次数 ≥ 6 次、合并颅内血肿、合并蛛网膜下腔出血、HIF-1 α 高表达、miR-210 高表达是影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的独立危险因素,见表 4。

2.5 HIF-1 α 、miR-210 在颅脑损伤患儿继发性癫痫中的预测价值 HIF-1 α 对颅脑损伤患儿继发性癫痫预测的 AUC 为 0.874(95% CI 0.823 ~ 0.928),最佳截断值为 1.48,敏感度为 75.67%,特异度为 86.75%,约登指数为 0.624;miR-210 对颅脑损伤患儿继发性癫痫预测的 AUC 为 0.856(95% CI 0.804 ~ 0.898),最佳截断值为 1.43,敏感度为 73.08%,特异度为 88.05%,约登指数为 0.611,见图 1。

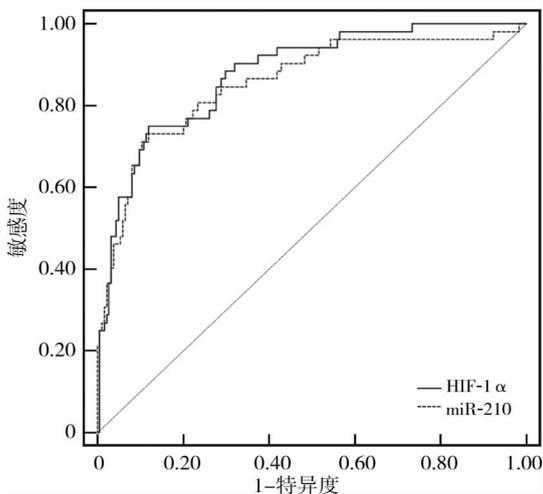


图 1 ROC 分析 HIF-1 α 、miR-210 在颅脑损伤患儿继发性癫痫中的预测价值

3 讨论

继发性癫痫又称获得性癫痫,患者由于神经元异

常放电造成中枢神经功能暂时失常,常见的致病原因主要有颅脑损伤、颅内感染、颅内肿瘤等^[7]。SE 发生机制较复杂,目前尚未完全明确。颅脑损伤后可导致脑出血、脑挫裂伤,进而引发脑部缺血缺氧,使大脑神经元异常放电从而引发癫痫,因此颅脑损伤程度严重者发生继发性癫痫的风险较高。本研究发现,SE 组患儿 GCS 评分低于无 SE 组,GCS 评分低是影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的独立危险因素,提示颅脑损伤程度越高,发生继发性癫痫风险越高。以往研究发现,穿透性颅脑损伤患者发生癫痫的风险较高^[8]。本研究结果显示,与无 SE 组相比,SE 组患儿开放性颅脑损伤比例较高,但与继发性癫痫无关,说明虽然开放性颅脑损伤患儿继发性癫痫发生率较高,但并不是影响继发性癫痫的独立危险因素,可能因纳入患儿数量不多导致。既往研究发现,多次惊厥是 SE 发生的危险因素之一^[9],本研究结果显示,惊厥发作次数 ≥ 6 次是颅脑损伤患儿继发性癫痫的危险因素,与既往研究相一致,提示频发惊厥的颅脑损伤患儿发生继发性癫痫的风险较高。此外,研究显示合并颅内血肿、蛛网膜下腔出血也是影响继发性癫痫发生的危险因素,临床针对此类患儿应高度重视,采取有效措施预防治疗,以降低其发生率。

HIF-1 α 为缺氧状态下产生的活性转录因子。以往研究发现,脑损伤发生后脑组织中 HIF-1 α 表达明显升高,且 HIF-1 α 分泌至血液中,使血清中 HIF-1 α 表达上调,激活下游靶基因的转录,上调血管内皮生长因子(VEGF)或其他因子表达,促进受损血管修复,加速新生血管形成,发挥对脑组织的保护作用^[10]。此外研究发现,颅脑损伤后脑组织中 HIF-1 α 表达显著升高,且 6 h 内维持较高水平,可上调神经细胞对缺氧的耐受性^[11]。Li 等^[12]研究发现,HIF-1 α 可通过介导 Notch 信号参与急性癫痫发生,阻断该通路后可下调 HIF-1 α ,降低癫痫发生率。Yang 等^[13]研究发现,硒诱导的

表 4 Logistic 回归分析影响颅脑损伤患儿继发性癫痫的危险因素

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
GCS 评分	0.512	0.239	4.571	0.009	1.668	1.426 ~ 1.952
惊厥发作次数	0.405	0.225	3.240	0.032	1.499	1.364 ~ 1.648
损伤类型	0.058	0.124	0.218	0.649	1.092	0.874 ~ 1.286
合并脑挫裂伤	0.046	0.131	0.123	0.716	0.955	0.615 ~ 1.482
合并颅内血肿	0.491	0.319	2.369	0.041	1.635	1.373 ~ 1.946
合并颅骨骨折	0.097	0.129	0.565	0.407	1.102	0.751 ~ 1.617
合并蛛网膜下腔出血	0.565	0.256	4.871	0.004	1.759	1.569 ~ 1.973
HIF-1 α	0.454	0.236	3.700	0.028	1.574	1.346 ~ 1.841
miR-210	0.444	0.213	4.345	0.023	1.559	1.364 ~ 1.782

癫痫过程中, HIF-1 α 可通过肿瘤坏死因子- α 途径造成神经细胞死亡。以上研究均表明 HIF-1 α 与脑损伤及癫痫的发生有关, 然而 HIF-1 α 与脑损伤后继发癫痫的关系, 目前尚不明确。本研究发现与无 SE 组相比, SE 组患儿血清 HIF-1 α 表达显著升高, 进一步发现其与 GCS 评分呈负相关、与惊厥发作次数呈正相关, 表明脑损伤程度越高, 惊厥发作次数越多, 则 HIF-1 α 表达越高, 提示 HIF-1 α 参与颅脑损伤后继发性癫痫发生过程。ROC 分析发现 HIF-1 α 对颅脑损伤患儿继发性癫痫预测的 AUC 为 0.874, 最佳截断值为 1.48, 敏感度为 75.67%, 特异度为 86.75%, 约登指数为 0.624, 提示 HIF-1 α 对颅脑损伤患儿继发性癫痫具有一定的预测价值。

大量研究证实, miRNA 异常表达与脑部疾病的发生有关, Feng 等^[14] 研究发现, 缺血再灌注大鼠脑组织中 miR-301a 显著升高。Wang 等^[15] 研究发现, 脑梗死大鼠脑组织中 miR-155-5p 表达明显升高, 抑制 miR-155-5p 可增强脑细胞活力。以上研究均表明 miRNA 与脑部疾病的发生明显有关。miR-210 是与缺氧有关的 miRNA, 与组织缺氧/缺血、肿瘤及炎症反应的发生有关。Wang 等^[16] 研究发现, 脑梗死患者血清 miR-210 表达显著升高。Liu 等^[17] 研究发现, miR-210 在胶质母细胞瘤中表达下调, 且与患者预后不良有关, 进一步研究发现 miR-210 通过靶向脑源性神经营养因子 (BDNF) 抑制胶质母细胞瘤细胞的迁移、侵袭。然而目前 miR-210 与颅脑损伤的关系尚不明确。本研究发现与无 SE 组相比, SE 组患儿血清 miR-210 表达显著升高, 且与 GCS 评分呈负相关, 与惊厥发作次数呈正相关, 提示血清 miR-210 表达水平的增加与颅脑损伤后继发性癫痫发生有关。ROC 分析发现, miR-210 对颅脑损伤患儿继发性癫痫预测的 AUC 为 0.856, 最佳截断值为 1.43, 敏感度为 73.08%, 特异度为 88.05%, 约登指数为 0.611。提示 miR-210 在颅脑损伤患儿继发性癫痫中具有一定的预测价值, 有可能作为此类患儿诊断标志物。研究发现 miR-210 可通过靶基因参与细胞增殖、凋亡、血管生成等过程, HIF-1 α 可结合 miR-210 转录位点上游的低氧反应元件, 进而调节 miR-210 表达^[18]。Wang 等^[19] 研究发现, 上调 HIF-1 α /miR-210 信号通路, 可减轻低氧性脑损伤大鼠细胞凋亡及线粒体能量代谢紊乱。Liu 等^[20] 研究发现, miR-210 通过靶向 HIF-1 α 保护肾细胞免受缺氧诱导的凋亡。本研究发现 miR-210 与 HIF-1 α 呈明显正相关, 推测在颅脑损伤时患儿脑组织出现缺血缺氧, miR-210 表达升高, 造成 HIF-1 α 表达增加, 使脑组织对缺血环境产生适应

性变化。

综上所述, 在颅脑损伤患儿血清中 miR-210、HIF-1 α 表达的增加与继发性癫痫发生有关, 可作为判断颅脑损伤继发性癫痫的潜在生物学标志物。然而本研究仅初步探究两者的相关性, 具体机制尚不清楚, 仍需后续深入探究, 以期对疾病的诊疗提供充分的理论基础。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

汪生毅: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 孙小红: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 李海栋: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 李佩章: 进行统计学分析; 王岁英、李玉鹏: 课题设计, 论文撰写

参考文献

- [1] 巩生辉, 何云凌, 赵名, 等. 亚甲蓝对高原低氧脑损伤的保护作用研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2018, 25(2): 108-112. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2963.2018.02.007.
- [2] 谷培栋, 张世耀, 张立芳. 拉莫三嗪联合醒脑静对创伤性颅脑损伤继发性癫痫患者神经功能、认知能力的影响[J]. 中国药业, 2019, 28(3): 71-73. DOI: 10.3969/j.issn.1006-4931.2019.03.023.
- [3] Rattner A, Williams J, Nathans J. Roles of HIFs and VEGF in angiogenesis in the retina and brain[J]. J Clin Invest, 2019, 130(8): 3807-3820. DOI: 10.1172/JCI126655.
- [4] Liu Y, Ran H, Xiao Y, et al. Knockdown of HIF-1 α impairs post-ischemic vascular reconstruction in the brain via deficient homing and sprouting bmEPCs[J]. Brain Pathol, 2018, 28(6): 860-874. DOI: 10.1111/bpa.12628.
- [5] Ma Q, Dasgupta C, Li Y, et al. MicroRNA-210 downregulates ISCU and induces mitochondrial dysfunction and neuronal death in neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(8): 5608-5625. DOI: 10.1007/s12035-019-1491-8.
- [6] Nik A, Sheikh-Andalibi MS, Ehsaei MR, et al. The efficacy of Glasgow Coma Scale (GCS) Score and Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II for predicting hospital mortality of ICU patients with acute traumatic brain injury[J]. Bull Emerg Trauma, 2018, 6(2): 141-145. DOI: 10.29252/beat-060208.
- [7] Foster MT, Das K, May P, et al. Motor cortex relocation after complete anatomical hemispherectomy for intractable epilepsy secondary to Rasmussen's encephalitis[J]. Brit J Neurosurg, 2019, 33(2): 234-236. DOI: 10.1080/02688697.2018.1549316.
- [8] 肖远流, 陈宗梅, 秦锡祥, 等. 成人首次非诱发性癫痫发作复发相关因素分析[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2018, 44(5): 257-260. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2018.05.001.
- [9] 张华, 张建国, 胡文瀚, 等. 幕上脑膜瘤继发性癫痫的危险因素分析及手术治疗效果[J]. 中华神经外科杂志, 2018, 34(12): 1192-1196. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2018.12.002.
- [10] 柏文华, 疏佳萍, 戴王娟, 等. 抑制低氧诱导因子 1 α 分解对早产儿脑损伤模型中血管生成的影响[J]. 东南大学学报: 医学版, 2019, 38(2): 265-268. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2019.02.010.
- [11] Hirayama Y, Koizumi S. Hypoxia-independent mechanisms of HIF-

- 1 α expression in astrocytes after ischemic preconditioning[J]. *Glia*, 2017, 65(3):523-530. DOI: 10.1002/glia.23109.
- [12] Li Y, Wu L, Yu M, et al. HIF-1 α is critical for the activation of notch signaling in neurogenesis during acute epilepsy[J]. *Neuroscience*, 2018, 394(12):206-219. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.10.037.
- [13] Yang J, He F, Meng Q, et al. Inhibiting HIF-1 α decreases expression of TNF- α and Caspase-3 in specific brain regions exposed kainic acid-induced status epilepticus[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(1):75-82. DOI: 10.1159/000438610.
- [14] Feng T, Han BH, Yang GL, et al. Neuroprotective influence of miR-301a inhibition in experimental cerebral ischemia/reperfusion rat models through targeting NDRG2[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 68(1):144-152. DOI: 10.1007/s12031-019-01293-0.
- [15] Wang D, Wang L, Bai L, et al. Effects of inhibition of miR-155-5p in neural stem cell subarachnoid transplant on rats with cerebral infarction[J]. *Hum Gene Ther Method*, 2019, 30(5):184-193. DOI: 10.1089/hum.2019.118.
- [16] Wang J, Zhang Y, Xu F. Function and mechanism of microRNA-210 in acute cerebral infarction[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2):1263-1268. DOI: 10.3892/etm.2017.5577.
- [17] Liu S, Jiang T, Zhong Y, et al. miR-210 inhibits cell migration and invasion by targeting the brain-derived neurotrophic factor in glioblastoma[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(7):11375-11382. DOI: 10.1002/jcb.28414.
- [18] Karshovska E, Wei Y, Subramanian P, et al. HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α) promotes macrophage necroptosis by regulating miR-210 and miR-383[J]. *Arterioscl Throm Vas*, 2020, 40(3):629-633. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313290.
- [19] Wang X, Hou Y, Li Q, et al. *Rhodiola crenulata* attenuates apoptosis and mitochondrial energy metabolism disorder in rats with hypobaric hypoxia-induced brain injury by regulating the HIF-1 α /microRNA 210/ISCUI/2 (COX10) signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 241(9):1801-1812. DOI: 10.1016/j.jep.2019.03.028.
- [20] Liu LL, Li D, He YL, et al. miR-210 protects renal cell against hypoxia-induced apoptosis by targeting HIF-1 alpha[J]. *Mol Med*, 2017, 23(1):258-271. DOI: 10.2119/molmed.2017.00013.

(收稿日期:2020-05-09)

(上接 899 页)

- [10] Zhu X, Wang J, Huang Y, et al. Successful treatment of a case of intracranial infection caused by carbapenem-resistant klebsiella pneumonia after craniocerebral operation in patient with severe traumatic brain injury[J]. *Nanosci Nanotech Let*, 2018, 10(3):447-450. DOI:10.1166/nnl.2018.2667.
- [11] 李方,木塔里甫·买合木提,麦提依明·托合提,等.重度颅脑外伤患者颅内血肿清除术后急性肾功能不全的危险因素分析[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(9):900-903, 909. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.09.009.
- [12] 李宝,王志军,邢笑源,等.创伤性颅脑损伤患者外周血 sTREM-1、MIP-1 α 水平及与预后的关系[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(12):1221-1224, 1230. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.12.008.
- [13] Hamele M, Stockmann C, Cirulis M, et al. Ventilator-associated pneumonia in pediatric traumatic brain injury[J]. *J Neurotraum*, 2016, 33(9):832-839. DOI:10.1089/neu.2015.4004.
- [14] 刘健羽,王永谦,王维平.重型颅脑损伤患者中性粒细胞与淋巴细胞比值动态变化及预后模型的构建[J]. *中国医药*, 2019, 14(11):1656-1660. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2019.11.015.
- [15] 王娜,刘春丽,邓爱平,等.颅脑损伤患者高凝血状态与炎性因子水平和 NF- κ B 活性关系分析[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(10):1117-1121. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.10.009.
- [16] Farrell D, Bendo AA. Perioperative management of severe traumatic brain injury: what is new[J]. *Current Anesthesiology Reports*, 2018, 8(3):279-289. DOI:10.1007/s40140-018-0286-1.
- [17] Esnault P, Nguyen C, Bordes J, et al. Early-onset ventilator-associated pneumonia in patients with severe traumatic brain injury: incidence, risk factors, and consequences in cerebral oxygenation and outcome[J]. *Neurocrit Care*, 2017, 27(2):187-198. DOI:10.1007/s12028-017-0397-4.
- [18] Asehounne K, Mrozek S, Perrigault PF, et al. A multi-faceted strategy to reduce ventilation-associated mortality in brain-injured patients. The BI-VILI project: A nationwide quality improvement project[J]. *Intens Care Med*, 2017, 43(7):957-970. DOI:10.1007/s00134-017-4764-6.
- [19] Oujamaa L, Francony G, Boucheix P, et al. Dynamics of clinical recovery during the early phase of rehabilitation in patients with severe traumatic and non-traumatic brain injury[J]. *Brain Injury*, 2017, 31(11):1463-1468. DOI: 10.1080/02699052.2017.1376759.
- [20] Wells AJ, Hutchinson PJA. The management of traumatic brain injury[J]. *Surgery (Oxford)*, 2018, 36(11):613-620. DOI:10.1016/j.mpsur.2018.09.007.
- [21] Burton JM, Morozova OM. Calming the storm: dysautonomia for the pediatrician[J]. *Curr Probl Pediatr Ad*, 2017, 47(7):145-150. DOI:10.1016/j.cpped.2017.06.009.
- [22] Liu X, Zou N, Zhu D, et al. Influencing factors analysis and modeling of hospital-acquired infection in elderly patients[J]. *J Comb Optim*, 2019, 37(1):248-270. DOI:10.1007/s10878-017-0222-1.
- [23] Cinotti R, Demeure-dit-Latte D, Mahe PJ, et al. Impact of a quality improvement program on the neurological outcome of patients with traumatic spinal cord injury: A before-after mono-centric study[J]. *J Neurotraum*, 2019, 36(24):3338-3346. DOI: 10.1089/neu.2018.6298.
- [24] Dhamapurkar SK, Wilson BA, Rose A, et al. Does a regular wessex head injury matrix assessment identify early signs of infections in people with prolonged disorders of consciousness[J]. *Brain Injury*, 2018, 32(9):1103-1109. DOI: 10.1080/02699052.2018.1484165.

(收稿日期:2020-02-26)

甲状腺功能亢进症相关性烟雾病临床病例分析

岑礼燕, 黄兰珠, 魏丽玲

作者单位: 529300 广东省开平市中心医院神经内科

通信作者: 魏丽玲, E-mail: 554194761@qq.com

【摘要】 分析 2008 年 1 月—2018 年 10 月开平市中心医院神经内科收治以脑梗死为首表现的甲状腺功能亢进症相关性烟雾病患者 6 例的临床资料, 其中男 1 例, 女 5 例, 年龄 20~40 岁, 中位年龄 29.8 岁。既往有甲状腺功能亢进症病史 2 例, 住院期间确诊甲状腺功能亢进症 4 例。临床表现为肢体乏力 4 例, 失语 1 例, 口角歪斜伴言语含糊 1 例; 头部 MR 均提示急性脑梗死; 头部血管检查示双侧颈内动脉系统末端狭窄、大脑中动脉近端狭窄 5 例, 大脑前动脉近端狭窄 2 例, 3 例可见形成异常烟雾状血管团。6 例患者均予抗血小板、降脂、规范严格的抗甲状腺功能亢进症药物等治疗, 其中 3 例患者在外院行颅内血管搭桥重建术。随访 6 个月, 6 例患者神经功能明显改善。随访 2 年, 3 例药物及手术治疗的患者未见再发脑卒中, 仅药物治疗的 3 例患者中有 2 例复发脑卒中。提示在临床工作中对于中青年尤其是女性不明原因的缺血性脑卒中患者, 在常规进行 MRA 等无创血管筛查的同时亦应常规行甲状腺功能筛查, 可做到早发现, 早诊断, 早治疗。

【关键词】 甲状腺功能亢进症; 烟雾病; 脑梗死

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.010

Analysis of 6 cases of hyperthyroidism associated moyamoya disease Cen Liyan, Huang Lanzhu, Wei Liling. Department of Neurology, Kaiping Central Hospital, Guangdong Province, Kaiping 529300, China

Corresponding author: Wei Liling, E-mail: 554194761@qq.com

【Abstract】 Analyzed the clinical data of 6 patients with hyperthyroidism associated moyamoya disease treated in the Department of Neurology of Kaiping Central Hospital from January 2008 to October 2018. There were 1 male and 5 female, aged 20-40 years, with a median of 29.8 years. Two patients had a history of hyperthyroidism, and 4 patients were diagnosed with hyperthyroidism during hospitalization. The clinical manifestations were limb weakness in 4 cases, aphasia in 1 case, angular deviation with speech ambiguity in 1 case; head MR showed acute cerebral infarction; head vascular examination showed 5 cases of bilateral internal carotid artery system stenosis, 5 cases of proximal middle cerebral artery stenosis, 2 cases of proximal anterior cerebral artery stenosis, 3 cases of abnormal smog like vascular mass. All 6 patients were treated with antiplatelet, lipid-lowering and standard anti hyperthyroidism drugs. Among them, 3 patients underwent extracranial and extracranial vascular bypass reconstruction. During the follow-up of 6 months, the neurological function of 6 patients improved significantly. During the follow-up of 2 years, there was no recurrence of stroke in 3 patients treated with drugs and surgery, and 2 of the 3 patients with drug treatment only had recurrent stroke. It is suggested that in clinical work, for young and middle-aged patients with ischemic stroke of unknown origin, routine non-invasive vascular screening such as MRA and thyroid function screening should be carried out at the same time, so as to achieve early detection, early diagnosis and early treatment.

【Key words】 Hyperthyroidism; Moyamoya disease; Cerebral infarction

烟雾病(moyamoya disease, MMD)是一种病因不明,以双侧颈内动脉末端及大脑前动脉、大脑中动脉起始部慢性进行性狭窄或闭塞为特征,并继发颅底异常血管网形成的一种脑血管疾病。甲状腺功能亢进症(甲亢)是甲状腺组织增生、产生和分泌甲状腺素过多所引起的一组临床综合征。1991年首次报道甲状腺功能亢进症合并MMD的案例,随着MRA及CTA等无

创筛查手段的广泛应用,此类临床报道逐渐增多,均提示MMD与甲状腺功能亢进症存在联系,但非常罕见。本文分析2008年1月—2018年10月开平市中心医院神经内科收治以脑梗死为首表现的甲状腺功能亢进症相关性烟雾病6例的临床及随访资料,并结合相关文献进行复习,以期提高医务人员对本病的认识,报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 6 例甲亢相关性 MMD 中男 1 例,女 5 例,年龄 20~40 岁,中位年龄 29.8 岁;发病时间 1 h~5 d;既往史:1 例男性有甲状腺功能亢进症病史,自行停药,1 例女性持续药物治疗;6 例均无高血压、糖尿病、高脂血症、系统性红斑狼疮、干燥综合征及吸烟史等;家族遗传史中仅 1 例男性患者母亲有甲状腺功能亢进症病史,已行甲状腺切除术治疗。发病诱因:情绪激动 1 例,发热 1 例,无明显诱因 4 例。

1.2 临床表现 肢体乏力 4 例,失语 1 例,口角歪斜伴言语含糊 1 例,突眼 2 例,心悸、多汗、饥饿、消瘦 3 例,双手震颤 1 例。患者以肢体乏力、言语含糊、口角歪斜、失语、肢体麻木等缺血性表现收入院。

1.3 实验室检查 甲状腺功能五项检查:4 例患者 FT₃、FT₄ 均升高,TSH 明显下降,A-TG 及 A-TPO 亦升高;1 例 FT₃ 升高,FT₄ 正常,TSH 下降,A-TG 及 A-TPO 升高;1 例甲状腺功能五项均正常(服用抗甲状腺功能亢进症药物)。红细胞沉降率、抗链球菌溶血素 O、类风湿因子、乙肝五项、风湿 13 项、梅毒抗体、抗心磷脂抗体、血管炎三项、钩端螺旋体抗体检查均阴性。

1.4 影像学检查 甲状腺彩色超声检查:3 例甲状腺体积增大并弥漫性回声改变,血流信号丰富;2 例患者甲状腺未增大,回声相对均匀,血流信号增加;1 例患者甲状腺可见多发结节,血流信号增加。6 例患者头颅 MR + DWI 均提示急性脑梗死。6 例患者中 DSA 确诊烟雾病 3 例,MRA 确诊 3 例。头部血管影像检查提示:双侧颈内动脉末端合并大脑前及大脑中动脉近端狭窄 1 例,双侧颈内动脉末端合并大脑中动脉近端狭窄 3 例,双侧大脑前及大脑中动脉近端狭窄 2 例,3 例可见形成异常烟雾状血管团。

1.5 治疗及预后 6 例患者入院后均予抗血小板聚集、降脂、规范严格的抗甲状腺功能亢进症药物等治疗;其中 3 例患者在外院行血管重建术。随访 0.5 年,6 例患者神经功能明显改善。1 年后门诊复查甲状腺彩色超声:3 例甲状腺体积稍增大,实质回声增粗,血流信号减少;1 例甲状腺体积正常,血流信号正常;1 例甲状腺多发结节,未见增大,血流信号正常。3 例手术治疗患者 1 年后复查数字减影血管造影(DSA)提示颅内大量血管代偿。但内科治疗患者中 1 例头颅 MR 可见新发脑梗死,MRA 提示颅底烟雾团减少,颈内动脉末端狭窄较前加重。余 2 例患者头颅 MR + 磁共振血管造影(MRA)影像同前。随访 2 年,3 例药物及手术治疗的未见复发脑卒中,仅药物治疗的 3 例患者中有 2 例复发脑卒中。

2 讨论

2.1 发病机制 2012 年日本烟雾病指南明确提出甲状腺功能亢进症是 MMD 的基础疾病或致病因素之一^[1]。大多数认为与遗传、免疫及血流动力学异常等有关。(1)遗传:有证据表明 MMD 和甲状腺功能亢进症均有遗传倾向,Tokimura 等^[2]报道 1 对母女均患烟雾病合并甲状腺功能亢进症,认为遗传因素可能为两者的发病机制之一。但本研究仅发现 1 例男性患者母亲有甲状腺功能亢进症史,也未能发现遗传在发病中起相关作用,这可能与忽略对入院病例直系亲属进行详细的病史及相关检查追踪相关。(2)免疫异常:2018 年 Ahn 等^[3]研究认为,TPOAb 升高和甲状腺功能亢进可能在成人 MMD 合并缺血性卒中起重要作用,本研究有 5 例 A-TG 及 A-TPO 升高,与以往研究相一致^[4];Ohba 等^[5]报道 1 例有甲状腺功能亢进症病史的女性 MMD 患者,在甲状腺功能亢进症治疗 2 年后出现了偏瘫,当时查甲状腺功能处于低下状态,而本研究中 1 例女性在使用抗甲亢药后甲状腺功能正常,但仍出现了缺血性卒中,由此看来,尽管极少部分病例的甲状腺功能未处于毒症期,但动脉壁发生炎性变化被认为是甲状腺功能亢进症合并 MMD 出现缺血性卒中的一个环节。(3)血流动力学异常:本研究中 5 例患者在发生缺血事件时均处于甲状腺毒症期,考虑甲状腺素水平升高提高了血管对交感神经系统的敏感性,导致动脉血管壁收缩,最终血管狭窄或闭塞。而血流动力学损害导致脑代谢和氧需求量增加,这可能是甲状腺毒症加重 MMD 脑缺血或者发生临床缺血事件的一个可能机制^[6]。而本研究 5 例患者颈内动脉狭窄引起了颈外动脉的血流量代偿,颈外动脉的扩张又刺激甲状腺产生更多的甲状腺激素,由此引发了恶性循环。

2.2 临床表现 甲状腺功能亢进症合并烟雾病患者多为中青年女性,多以缺血性脑血管病为首表现,脑梗死最多,短暂性脑缺血发作次之;另外可表现为头痛、头晕、肌力减退等非特异性症状,脑出血较为少见,有的表现为舞蹈症。本组病例与以往报道一致^[4,7-8]

2.3 影像学表现 本组 3 例头 MRA 可见双侧颅内血管多发狭窄,伴有异常烟雾状血管生成,诊断 MMD;3 例仅看到双侧颅内血管多发狭窄,未见烟雾状血管生成,符合 MMD 改变,经患者同意行 DSA 检查后确诊。MRA 属于一种无创性血管成像技术,用于脑卒中诊断具有安全、简便等优势,为常规脑卒中的首选^[9],但由于 MMD 有不同的分期,加上 MRA 对侧支血管网检出效果不理想。DSA 有分辨率高及减影后无重叠结果干扰等特点,能对颅内血管情况及其不同时期进行清

晰显示,是临床中脑血管疾病诊断的金标准^[10]。

2.4 诊断及鉴别诊断 (1) 诊断:目前国内外尚无统一标准。当患者符合“甲状腺功能亢进症基层诊疗指南”^[11]中 Graves 病诊断标准及“烟雾病和烟雾综合征诊断与治疗中国专家共识”^[12]诊断标准,结合出现缺血性表现可诊断此病。(2) 鉴别诊断:①动脉粥样硬化引起的脑血管狭窄,多见于老年人,常患有高血压、糖尿病、冠心病、高脂血症等,头颅 MR 可见多发小腔隙性梗死或皮质下动脉硬化表现。②免疫介导的血管炎(如多发性结节炎、多发性大动脉炎等),多见于中年人,常引起多系统损害,相关免疫抗体阳性。③钩端螺旋体脑炎,有疫区接触史,有发热、头痛等全身中毒症状及螺旋体抗体阳性的支持。

2.5 治疗方法

2.5.1 内科治疗:目前认为甲状腺功能亢进症合并 MMD 的缺血症状改善与甲状腺功能改善平行。因此治疗甲状腺功能亢进症也十分重要。但临床发现甲状腺功能亢进症患者在接受抗甲状腺药物治疗、突然增加剂量或者放射碘治疗等引起甲状腺水平波动时,脑卒中发生的几率大大增高,因此在进行甲状腺功能亢进症治疗时,应当特别注意平稳地调整甲状腺激素水平。2017 年 Schrooyen 等^[13]报道本病治疗期间进行血浆置换及激素治疗,可以短时间内改善缺血症状,适合于急性期治疗。但由于血浆置换的高风险及激素冲击可能带来不良反应,本组病例未进行血浆置换和激素治疗。

2.5.2 血管重建治疗:国内学者提出血管重建术增加血流是甲状腺功能亢进症合并 MMD 的最佳治疗方法,长期疗效好^[14-15]。但由于对甲状腺功能亢进症未控制和控制不良患者实施血管重建术手术风险较大,因此应该根据甲状腺功能及烟雾病脑缺损程度综合评估手术时机。本组 3 例患者在内科治疗后进行血管重建术,随访 0.5 年神经功能改善明显,1 年后复查 DSA 提示颅内有大量代偿,随访 2 年未有再发卒中事件。

综上,对于甲状腺功能亢进症合并 MMD,大多为个案报道,本组病例由于样本量少,缺乏统计学分析,有待大规模的临床数据荟萃分析。本研究旨在提高广大临床工作者对此病的认识,在临床工作中对于中青年尤其是女性不明原因的缺血性脑卒中患者,在常规进行 MRA 等无创血管筛查的同时亦应常规行甲状腺功能筛查,可做到早发现、早诊断、早治疗。

参考文献

- [1] 任斌,段炼. 2012 年烟雾病(Willis 环自发性闭塞)诊断治疗指南(日本)的解读[J]. 中国脑血管病杂志, 2014, 11(1): 6-9 DOI: 11.3969/j.issn.1672-5921.2014.01.002.
- [2] Tokimura H, Tajitsu K, Takashima H, et al. Familial moyamoya dis-

ease associated with Graves' disease in a mother and daughter. Two case reports[J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2010, 50(8): 668-674. DOI:10.2176/nmc.50.668.

- [3] Ahn JH, Jeon JP, Kim JE, et al. Association of hyperthyroidism and thyroid autoantibodies with moyamoya disease and its stroke event: A population-based case-control study and Meta-analysis[J]. *The Japan Neurosurgical Society*, 2018, 58(3): 210-216. DOI: 10.2176/nmc.oa.2017-0198.
- [4] 周丽娜,詹阿来,吴宗忠,等. 烟雾病合并甲状腺功能亢进症患者 8 例临床分析[J]. *疑难病杂志*, 2015, 14(1): 69-72. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2015.01.021.
- [5] Ohba S, Nakagawa T, Murakami H, et al. Concurrent Graves' disease and intracranial arterial stenosis/occlusion: Special considerations regarding the state of thyroid function, etiology, and treatment[J]. *Neurosurg Rev*, 2011, 34(3): 297-304. DOI: 10.1007/s10143-011-0311-z.
- [6] 陈彬,宋田,张玉梅,等. Graves 病合并颈内动脉狭窄 1 例报道[J]. *中国卒中杂志*, 2018, 7(8): 642-645. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5765.2018.08.009.
- [7] 张丽冉,张俊玲. 烟雾病合并甲状腺功能亢进症 10 例临床分析[J]. *临床神经病学杂志*, 2016, 29(5): 384-386.
- [8] Chen JB, Lei D, He M, et al. Clinical features and disease progression in moyamoya disease patients with Graves disease[J]. *J Neurosurg*, 2015, 123(4): 848-855. DOI: 10.3171/2014.10.JNS141140.
- [9] 徐运. 中国脑血管病影像应用指南的更新[J]. *中华神经科杂志*, 2020, 53(4): 241-243. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20191208-00766.
- [10] Karakama J, Nariai T, Hara S, et al. Unique angiographic appearances of moyamoya disease detected with 3-dimensional rotational digital subtraction angiography imaging showing the hemodynamic status[J]. *Pubmed*, 2018, 27(8): 2147-2157. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.03.006.
- [11] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 甲状腺功能亢进症基层诊疗指南(2019 年)[J]. *中华全科医师杂志*, 2019, 18(12): 1118-1128. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7368.2019.12.002.
- [12] 烟雾病和烟雾综合征诊断与治疗中国专家共识编写组,国家卫生计生委卒中防治专家委员会缺血性卒中外科专业委员会. 烟雾病和烟雾综合征诊断与治疗中国专家共识(2017)[J]. *中华神经外科杂志*, 2017, 33(6): 541-547. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2017.06.001.
- [13] Schrooyen M, Winand R, Glinoeer D. Plasma exchange therapy for severe Graves' ophthalmopathy[J]. *Taylor & Francis*, 2017, 5(2): 765-762. DOI: 10.1159/000180699.
- [14] 洋双军,张玉,侯勇,等. 不同血管重建手术治疗成人烟雾病的疗效分析[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(13): 998-1002. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.13.008.
- [15] 齐辉,尹卫,黄达,等. 烟雾病合并 Graves 病的血管重建术疗效分析[J]. *中国脑血管病杂志*, 2015, 12(5): 250-254. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2015.05.006.

(收稿日期:2020-02-26)

免疫肠内营养治疗对急性应激患者肠道耐受性、炎性因子的影响

欧阳洋, 施荣, 王庆, 王文清, 周丹

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81774057)

作者单位: 200021 上海中医药大学附属曙光医院急诊内科

通信作者: 施荣, E-mail: doctorshi@126.com

【摘要】目的 观察免疫肠内营养对急性应激患者肠道耐受性、炎性因子的影响。**方法** 选取 2018 年 6 月—2019 年 8 月上海中医药大学附属曙光医院急诊内科收治急性应激患者 112 例作为研究对象, 随机数字表法分为 2 组, 每组 56 例。对照组予一般营养治疗, 研究组在对照组基础上给予免疫肠内营养治疗, 疗程均为 7 d。比较治疗前后 2 组患者炎性因子[白细胞(WBC)、淋巴细胞(LY)与 C 反应蛋白(CRP)]、营养指标[血浆总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、前体白蛋白(PA)]、肠道大肠杆菌数的变化情况, 以及患者肠道耐受性(呕吐、腹泻), 治疗后感染、死亡与住院时间。**结果** 治疗 7 天后, 2 组 TP、ALB 水平及 WBC 计数比较差异无统计学的意义($P > 0.05$); 研究组 PA 和 LY 计数高于对照组, 而 CRP 低于对照组($t/P = 5.812/0.000, 2.626/0.010, 10.264/0.000$); 研究组大肠杆菌数明显低于对照组($t/P = 8.657/0.000$)。2 组感染率、住院时间比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 而研究组患者呕吐、腹泻的发生率及病死率显著低于对照组($\chi^2/P = 4.667/0.031, 4.940/0.026$)。**结论** 免疫肠内营养治疗可显著改善急性应激患者的营养不良状态, 减轻炎性反应, 增强肠道的耐受性, 改善肠道菌群失调, 降低病死率。

【关键词】 急性应激; 免疫肠内营养; 耐受性; 炎性因子

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.011

Effects of immunoenteral nutrition on intestinal tolerance and inflammatory factors in patients with acute stress

Ouyang Yang, Shi Rong, Wang Qing, Wang Wenqing, Zhou Dan. Department of Emergency Medicine, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

Corresponding author: Shi Rong, E-mail: doctorshi@126.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81774057)

【Abstract】 Objective To observe the effect of immune enteral nutrition on intestinal tolerance and inflammatory factors in patients with acute stress. **Methods** From June 2018 to August 2019, 112 patients with acute stress admitted to the Department of Emergency Medicine of Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine were selected as the research objects. They were randomly divided into two groups, 56 cases in each group. The control group was given general nutritional treatment, and the study group was given immune enteral nutrition therapy on the basis of the control group, and the course of treatment was 7 days. The changes of inflammatory factors (white blood cell (WBC), lymphocyte (LY), C-reactive protein (CRP), nutritional indicators (total plasma protein (TP), albumin (ALB), prealbumin (PA), intestinal coliform count, intestinal tolerance (vomiting, diarrhea), infection, death and hospitalization time after treatment were compared between the two groups before and after treatment. **Results** After 7 days treatment, there was no significant difference in the levels of TP, ALB and WBC between the two groups ($P > 0.05$); the PA and ly counts in the study group were higher than those in the control group, while CRP was lower than that in the control group ($t/P = 5.812/0.000, 2.626/0.010, 10.264/0.000$). After treatment, the number of Escherichia coli in the study group was significantly lower than that in the control group ($t/P = 8.657 / 0.000$). There was no significant difference in infection rate and hospitalization time between the two groups ($P > 0.05$), but the incidence and mortality of vomiting and diarrhea in the study group were significantly lower than those in the control group ($\chi^2/P = 4.667/0.031, 4.940/0.026$). **Conclusion** Immunoenteral nutrition therapy can significantly improve the malnutrition state of patients with acute stress, reduce the inflammatory reaction, enhance the intestinal tolerance of patients, improve intestinal flora imbalance, and reduce mortality.

【Key words】 Acute stress; Immunity; Enteral nutrition; Tolerance; Inflammatory factor

急性应激反应是指人体在遭受大手术、严重烧伤、重大创伤等强烈应激因素的刺激下,使得机体处于一种自我防御、自我适应的状态,此状态下人体代谢功能增强,营养情况变差^[1]。给予急性应激反应患者一定的肠内营养治疗,能够有效改善患者处于应激状态下的营养不良状态,调节肠内菌群生态,增强肠道的耐受力和免疫力^[2]。然而,对于一部分急性应激患者而言,一般的肠内营养治疗仍不能显著地改善其应激状态下的营养不良、肠道耐受性减弱及肠道免疫力下降等状况^[3]。因此,探索进一步提高肠内营养对急性应激患者临床疗效的途径有其必要性。有研究表明,谷氨酰胺、精氨酸、核苷酸、膳食纤维等免疫肠内营养素可增强急性应激患者的蛋白质合成能力,增强患者的免疫力,改善患者的临床转归与预后^[4]。基于此,现采用免疫肠内营养治疗急性应激患者,观察其对患者肠道耐受性、炎症因子的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 6 月—2019 年 8 月上海中医药大学附属曙光医院急诊内科收治的急性应激患者 112 例,其中呼吸系统疾病患者 34 例,胃肠道疾病患者 48 例,脑部疾病患者 30 例,按随机数字表法将患者分为 2 组,各 56 例。研究组男 30 例,女 26 例,年龄 20~88 (54.34±15.21) 岁;病程 6~10 (8.12±1.42) d;营养正常者 5 例,营养不良者 51 例(营养状态评估采用主观评定法^[5])。对照组男 32 例,女 24 例,年龄 22~86 (54.42±15.35) 岁;病程 6~10 (8.06±1.36) d;营养正常者 3 例,营养不良者 53 例。2 组患者一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会审核通过,且患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:均符合肠道急性应激诊断标准^[1]。(2)排除标准:年龄 18 岁以下;合并甲状腺功能亢进或减退等影响蛋白质合成能力的患者;伴有心、肝、肾等重要器官严重功能障碍者;不能配合本项研究者。

1.3 治疗方法 对照组给予一般的常规营养治疗,每天分早中晚补充 25 kcal/kg 的能量,营养制剂由医院营养科统一配制。研究组在对照组治疗基础上加用肠内营养素谷氨酰胺(武汉大安制药有限公司生产)500 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和精氨酸(精品药业股份有限公司生产)300 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,2 组营养治疗方式均为口服,疗程均为 7 d。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 血浆营养指标检测:于治疗前 1 天和疗程结束

后 1 天取 2 组患者清晨空腹静脉血 5 ml,置于真空抗凝管内,用离心机(德国 Hettich, ROTOFIX32A)3 000 r/min,离心 8 min,取血浆置于 -20℃ 冰箱中保存备用,用溴甲酚绿法检测 2 组血浆总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、前体白蛋白(PA)的水平,试剂盒均购自上海钦诚生物科技有限公司,操作流程均严格参照试剂说明书。

1.4.2 炎症指标检测:于治疗前 1 天和疗程结束后 1 天用流式细胞仪(BD, FACSCalibur)检测 2 组外周静脉血的淋巴细胞(LY)计数、白细胞(WBC)计数,用酶联免疫吸附试验检测外周血清 C 反应蛋白(CRP)的水平,试验试剂盒均购自上海钦诚生物科技有限公司,操作流程均严格参照试剂说明书。

1.4.3 肠道菌群检测:于治疗前后取 2 组患者新鲜粪便约 0.1 g 置于无菌试管,加入生理盐水 10 ml 稀释成混悬液,再将混悬液 50 μl 滴入大肠杆菌培养基中,静置 24 h,记录形成的大肠杆菌菌落数,计数菌落形成单位(CFU)。

1.4.4 记录耐受性和临床转归情况:记录 2 组患者在治疗期间呕吐、腹泻、感染、病死率与住院时间等情况。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 19.0 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,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组治疗前后血浆营养指标比较 治疗后,2 组 TP、ALB、PA 水平较治疗前均升高($P<0.01$),但 2 组 TP、ALB 比较,差异无统计学意义($P>0.05$),仅研究组 PA 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 2 组患者治疗前后营养情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TP(g/L)	ALB(g/L)	PA(mg/L)
对照组 (n=56)	治疗前	59.18±10.88	21.67±6.69	102.37±16.69
	治疗后	62.10±8.42	35.00±4.92	136.80±15.12
研究组 (n=56)	治疗前	59.88±9.18	21.59±6.79	105.18±13.50
	治疗后	64.10±6.22	34.10±5.22	162.70±29.72
t/P 对照组内值		1.588/0.115	112.012/0.000	11.441/0.000
t/P 研究组内值		1.785/0.077	10.931/0.000	13.187/0.000
t/P 治疗后组间值		1.430/0.156	0.940/0.350	5.812/0.000

2.2 2 组治疗前后炎症指标比较 治疗后,2 组 WBC 计数比较差异无统计学意义($P>0.05$),对照组 LY 计数降低,研究组 LY 计数升高,研究组 LY 计数高于对照组,CRP 水平低于对照组,差异均有统计学的意义($P<0.01$),见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后炎症指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	WBC($\times 10^9/L$)	LY($\times 10^9/L$)	CRP(mg/L)
对照组 ($n=56$)	治疗前	8.10 \pm 2.59	1.52 \pm 0.40	173.81 \pm 35.52
	治疗后	8.01 \pm 2.83	1.47 \pm 0.72	82.42 \pm 13.38
研究组 ($n=56$)	治疗前	8.25 \pm 3.83	1.64 \pm 0.54	171.71 \pm 38.42
	治疗后	7.98 \pm 2.72	1.88 \pm 0.92	47.01 \pm 22.08
t/P 对照组内值		0.176/0.861	0.454/0.651	18.018/0.000
t/P 研究组内值		0.430/0.668	1.684/0.095	21.059/0.000
t/P 治疗后组间值		0.057/0.955	2.626/0.010	10.264/0.000

2.3 2 组治疗前后肠道菌群数比较 治疗前后对照组大肠杆菌数比较差异无统计学意义 [(7.379 \pm 0.228)CFU vs. (7.368 \pm 0.225)CFU, $P>0.05$]; 治疗后研究组大肠杆菌数明显低于治疗前 [(7.008 \pm 0.215)CFU vs. (7.487 \pm 0.256)CFU, $t/P=10.722/0.000$], 且研究组低于对照组 ($t/P=8.657/0.000$)。

2.4 2 组肠道耐受性和临床转归比较 研究组患者呕吐、腹泻发生率及病死率低于对照组 ($P<0.05$), 感染率、住院时间低于对照组, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 3。

表 3 2 组肠道耐受性和临床转归情况比较

组别	例数	呕吐腹泻	感染	住院时间(d)	病死
对照组	56	12(21.43)	11(19.64)	13.47 \pm 11.78	9(16.07)
研究组	56	4(7.14)	9(16.07)	10.87 \pm 9.18	2(3.57)
χ^2/t 值		4.667	0.244	1.303	4.940
P 值		0.031	0.622	0.195	0.026

3 讨论

急性应激反应是指人体在大手术、严重烧伤、重大创伤等强烈应激因素的刺激下出现能量需求增加、糖原分解增强、蛋白质分解增强等一系列的代谢紊乱反应, 患者身体的营养元素大量丢失, 导致机体处于营养不良的状态, 免疫力随之下降, 感染并发症随之增高, 严重威胁患者的生命健康^[6]。常规的肠内营养治疗能够补充患者日常的基本能量需求, 为肠黏膜提供屏障功能, 能有效缓解急性应激患者的临床症状, 但由于缺乏必要的免疫调控, 在一部分急性应激患者的治疗中疗效欠佳^[7-10]。免疫肠内营养是一种具有药理学补充作用的营养治疗手段, 它能激活机体免疫系统, 增强机体免疫力和增强机体对有害因素的适应能力, 同时调节肠道菌群和维护肠道屏障功能^[11-13]。随着各种营养治疗手段在临床上的应用不断向纵深发展, 免疫营养因其独有的免疫调节功能而在临床上越来越引起重视, 现已成为临床上治疗重症患者的一项重要手段^[14-16]。常见的免疫肠内营养素有谷氨酰胺、精氨

酸、核苷酸、膳食纤维等, 将其添加于常规的肠内营养中, 能增强患者机体的免疫力。

TP 包括 ALB 和球蛋白, 其中 ALB 为人体血浆蛋白中含量最高的蛋白, 占 TP 的 50%~60%, 由肝脏合成, 在机体发生严重营养不良时, 会影响 ALB 的合成。PA 是 ALB 的前体, 也由肝脏合成, 相比 ALB, PA 分子量更小, 半衰期更短, 对反映机体的营养状态具有更高的灵敏性^[17]。本研究中, 研究组 PA 显著高于对照组, 提示相比常规的肠内营养治疗, 免疫肠内营养能更显著地改善急性应激患者的营养状态。究其原因, 可能是免疫营养素(谷氨酰胺、精氨酸)在给患者提供营养物质的同时, 还能通过调控患者机体的免疫力, 降低患者的应激水平, 改善患者应激状态下的高代谢状态, 从而更为显著地提高了其蛋白水平^[18]。同时, TP、ALB 的敏感度较 PA 低, 治疗过程较短等因素可能造成研究组 TP 和 ALB 水平相对对照组未能显著升高, 延长治疗期可能会使相关证据更为充分。

WBC 计数可反映机体免疫炎症反应情况, 而 LY 则主要反映机体的免疫状态。CRP 是一种在机体受到感染时能快速上升的急性反应蛋白, 由肝细胞合成, 具有激活补体和促进粒细胞及巨噬细胞的吞噬作用, 对反映机体的急性损伤具有极高的敏感度, 与机体炎症反应损伤程度呈正相关^[19]。本研究中, 研究组 LY 计数较对照组显著升高, CRP 水平较对照组显著降低, 且治疗后研究组大肠杆菌数明显低于对照组, 提示相比常规的肠内营养治疗, 免疫肠内营养能更为有效地提高患者的机体免疫力, 显著地减轻急性应激患者的炎症反应损伤程度, 改善菌群失调。探讨其机制, 可能是免疫营养素(谷氨酰胺、精氨酸)能调节机制免疫系统, 下调炎症因子的分泌, 具有抗炎杀菌作用, 同时加强巩固肠道屏障功能, 从而改善患者的肠道菌群失调与临床转归^[20]。同时, 白细胞包含的种类过多, 缺乏特异性, 以及治疗过程较短等因素可能造成研究组的 WBC 计数与对照组无明显差异。

另外, 经治疗后研究组呕吐腹泻的发生率显著低于对照组, 提示免疫肠内营养更为显著地增强了急性应激患者肠道的耐受性, 减轻了患者的临床症状。研究组的病死率显著低于对照组, 表明免疫肠内营养在一定程度上改善了急性应激患者的临床转归与预后。其可能的原因是免疫营养素(谷氨酰胺、精氨酸)能够平衡患者胃肠道 pH, 加强了对胃肠道黏膜的保护, 从而提高肠道耐受性^[21-22]。同时还能够显著减少血液中的毒性代谢产物, 降低磷脂酶 A2 水平, 调节炎症细胞平衡比例, 有效抑制机体的炎症反应损伤, 从而抑制患者病

情的恶化,减少相关并发症的发生,降低病死率^[23]。

综上所述,相比常规的肠内营养疗法,免疫肠内营养疗法能更为显著地改善急性应激患者的营养状态,提高肠道耐受性,减轻炎性反应损伤,改善肠道菌群失调及其临床转归与预后。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

欧阳洋、施荣:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王庆:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王文清:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;周丹:进行统计学分析

参考文献

- [1] Leary CJ, Crocker-Buta S. Rapid effects of elevated stress hormones on male courtship signals suggest a major role for the acute stress response in intra-and intersexual selection[J]. *Functional Ecology*, 2018, 32(5):1214-1226. DOI:10.1111/1365-2435.13054.
- [2] 孙仁华,江荣林,黄曼,等.重症患者早期肠内营养临床实践专家共识[J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30(8):715-721. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.08.001.
- [3] 张斌杰,周丽娜.重度烧伤患者早期应激性高血糖的危险因素及其对预后的影响[J/OL]. *中华损伤与修复杂志:电子版*, 2018, 13(3):189-194. DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2018.03.007.
- [4] 宋歌,李月涛,狄林林,等.免疫肠内营养对重症肺炎患者肠黏膜屏障及免疫功能的影响[J]. *肠外与肠内营养*, 2017, 24(2):86-93. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2017.6.17.
- [5] Singer P, Blaser AR, Berger MM, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit[J]. *Clin Nutr*, 2019, 38(1):48-79. DOI: 10.1016/j.clnu.2018.08.037.
- [6] Wijnands KA, Castermans TM, Hommen MP, et al. Arginine and citrulline and the immune response in sepsis[J]. *Nutrients*, 2015, 7(3):1426-1463. DOI: 10.3390/nu7031426.
- [7] 董聪颖,王甫清,王智浩,等.早期肠内营养对胃穿孔术后患者应激水平的影响[J]. *临床医学研究与实践*, 2017, 2(13):72-74. DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.201713036.
- [8] 李松,邵宏元,张永红,等.重症脑出血患者采用不同营养剂行早期肠内营养支持治疗的临床效果比较[J]. *中国医药*, 2019, 14(3):382-384. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.03.016.
- [9] 王莎莎,方婷,李小红.经鼻高流量氧疗对高血压脑出血术后低氧血症患者的临床疗效及对肠内营养治疗的影响[J]. *中国医药*, 2019, 14(6):895-899. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.06.024.
- [10] 戴晓勇,陈永珍,杨晓英,等.不同早期肠内营养策略对脓毒症合并急性肾功能衰竭 CRRT 治疗患者营养状态及免疫功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(4):378-381, 386. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.04.013.
- [11] Muggia L, Vancurova L, Skaloud P, et al. The symbiotic playground of lichen thalli - a highly flexible photobiont association in rock-inhabiting lichens[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 85(2):313-323. DOI: 10.1111/1574-6941.12120.
- [12] 熊睿,汪晓泊,殷生芝,等.免疫营养素强化的肠内营养治疗对创伤危重患者免疫功能及临床结局的影响[J]. *中国医药*, 2018, 13(1):99-103. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2018.01.027.
- [13] 亓玉心,杨文平,周玉法,等.低碳水化合物营养支持对急性加重期 COPD 患者血气分析、呼吸功能及炎性因子的影响[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(12):1225-1230. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.12.009.
- [14] Williams NC, Killer SC, Svendsen IS, et al. Immune nutrition and exercise: narrative review and practical recommendations[J]. *European Journal of Sport Science*, 2019, 19(1):49-61. DOI: 10.1080/17461391.2018.1490458.
- [15] 秦殊,顾宇丹,费雅雅,等.早期肠内营养和延期肠内营养对重型颅脑外伤患者术后的影响比较[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(8):88-91.
- [16] 裴娜娜,高书杰,李春敏.双歧杆菌四联活菌片联合早期肠内营养治疗重型颅脑损伤的效果[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(8):148-151.
- [17] Venugopalan A, Potunuru UR, Dixit M, et al. Reprint of: effect of fermentation parameters, elicitors and precursors on camptothecin production from the endophyte *Fusarium solani* [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 213(2):311-318. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.05.023.
- [18] Guo ZX, Ge CQ, Han B, et al. Effects of parenteral nutrition of ω -3 polyunsaturated fatty acid, arginine and glutamine on cellular immune status of patients following liver cancer surgery[J]. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, 17(3):507-511. DOI: 10.4314/tjpr.v17i3.17.
- [19] Farkas GJ, Gorgey AS, Dolbow DR, et al. The influence of level of spinal cord injury on adipose tissue and its relationship to inflammatory adipokines and cardiometabolic profiles[J]. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 2018, 41(4):407-415. DOI: 10.1080/10790268.2017.1357104.
- [20] Kanda M, Tanaka C, Murotani K, et al. Efficacy of enteral nutrients containing β -hydroxy- β -methylbutyrate, glutamine, and arginine for the patients with anastomotic leakage after gastrectomy: study protocol of a multicenter phase II clinical trial[J]. *Nagoya Journal of Medical Science*, 2018, 80(3):351-355. DOI: 10.12968/jowc.2015.24.10.478.
- [21] Wu C, Walker GK, Livingston M, et al. Effects of supplemental dietary glutamine and arginine on broiler live performance, blood chemistry, and incidence of white striping and wooden breast[J]. *Meat and Muscle Biology*, 2019, 1(3):65-65. DOI: 10.1021/jf8034012.
- [22] Lin ZY, Han XY, Chen ZH, et al. Label-free non-invasive fluorescent pattern discrimination of thiols and chiral recognition of cysteine enantiomers in biofluids using a bioinspired copolymer - Cu^{2+} hybrid sensor array regulated by pH[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2018, 6(42):6877-6883. DOI: 10.1039/C8TB02353K.
- [23] Bazer FW, Satterfield MC, Song G. Modulation of uterine function by endocrine and paracrine factors in ruminants[J]. *Animal Reproduction (AR)*, 2018, 9(3):305-311. DOI: 10.1210/jcem.81.8.8768866.

(收稿日期:2020-03-29)

可溶性 HLA-G 和 Toll 样受体 2、Rta 基因在传染性单核细胞增多症中的表达及相关性分析

韩红满, 秦伟, 左立辉, 刘贵敏, 李四强

基金项目: 河北省保定市科学技术研究与发展指导计划项目(17ZF273)

作者单位: 071000 河北省保定, 中国人民解放军陆军第八十二集团军医院血液内分泌科

通信作者: 李四强, E-mail: hlqc45@163.com

【摘要】目的 分析可溶性人类白细胞抗原-G(sHLA-G)和 Toll 样受体 2(TLR2)、EB 病毒复制转录激活子(Rta)基因在传染性单核细胞增多症中的表达及相关性。**方法** 选取 2018 年 1 月—2019 年 12 月中国人民解放军陆军第八十二集团军医院血液内分泌科诊治传染性单核细胞增多症患者 80 例作为观察组, 另外选取同期于医院行健康体检的 80 例健康儿童作为健康对照组, 采集健康对照组、观察组(急性期、恢复期)血液样本, 检测 sHLA-G、TLR2、Rta 表达, 并分析三者相关性。**结果** 观察组 sHLA-G 表达水平及 TLR2、Rta mRNA 表达量均高于健康对照组($t/P = 47.670/0.001, 44.640/0.001, 22.700/0.001$)。观察组 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达量末期 > 后期 > 中期 > 前期($F/P = 7.866/0.001, 42.680/0.001, 33.681/0.001$), sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达量急性期均高于恢复期($t/P = 10.390/0.001, 19.880/0.001, 27.000/0.001$)。sHLA-G 与 TLR2、Rta mRNA 之间均呈正相关($r/P = 0.404/0.001, 0.240/0.032$), TLR2 mRNA 与 Rta mRNA 呈正相关($0.271/0.015$)。**结论** sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 在传染性单核细胞增多症中均为异常高表达, 且三者相关, 共同参与该病的发生发展。

【关键词】 可溶性人类白细胞抗原-G; Toll 样受体 2; EB 病毒复制转录激活子; 传染性单核细胞增多症; 相关性

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.012

Expression and correlation analysis of soluble HLA-G, Toll like receptor 2 and Rta gene in infectious mononucleosis

Han Hongman, Qin Wei, Zuo Lihui, Liu Guimin, Li Siqiang. Department of Endocrinology, Hospital of the 82nd Army Group of the Chinese People's Liberation Army, Baoding 071000, China

Corresponding author: Li Siqiang, E-mail: hlqc45@163.com

Funding program: Science and Technology Research and Development Guidance Plan Project of Baoding City, Hebei Province (17ZF273)

【Abstract】Objective To analyze the expression and correlation of soluble human leukocyte antigen G (sHLA-G), Toll like receptor 2 (TLR2) and Epstein Barr virus replication and transcription activator (Rta) gene in infectious mononucleosis. **Methods** From January 2018 to December 2019, 80 cases of children with infectious mononucleosis diagnosed and treated in the Department of Hematology and Endocrinology of the 82nd Group Military Hospital of the People's Liberation Army were selected as the observation group, and 80 healthy children who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as the healthy control group. Blood samples of the healthy control group and the observation group (acute phase and recovery period) were collected to detect sHLA-G. The expression of TLR2 and Rta was analyzed. **Results**

The expression levels of sHLA-G, TLR2 and Rta mRNA in the observation group were higher than those in the healthy control group ($t/P = 47.670/0.001, 44.640/0.001, 22.700/0.001$). In the observation group, the expression of sHLA-G, TLR2 mRNA and Rta mRNA in the late stage > the late stage > the early stage ($F/P = 7.866/0.001, 42.680/0.001, 33.681/0.001$). The expression levels of sHLA-G, TLR2 mRNA and Rta mRNA in the acute phase were higher than those in the recovery stage ($t/P = 10.390/0.001, 19.880/0.001, 27.000/0.001$). sHLA g was positively correlated with TLR2 and Rta ($r/P = 0.404/0.001, 0.240/0.032$), and TLR2 was positively correlated with Rta ($0.271/0.015$). **Conclusion** sHLA-G, TLR2 and Rta are all abnormally high expression in infectious mononucleosis, and they are related to each other and participate in the occurrence and development of infectious mononucleosis.

【Key words】 Soluble HLA-G; Toll like receptor 2; Epstein Barr virus replication activator; Infectious mononucleosis; Correlation

传染性单核细胞增多症属于一种较为常见的感染性疾病,好发于儿童时期,由 EB 病毒(EBV)感染所致的全身免疫异常性疾病,此病主要特征表现为发热、肝、脾、淋巴结肿大、咽颊炎、外周血异型淋巴细胞增多等^[1]。临床研究发现^[2],B 细胞为原发性 EBV 感染的初始靶细胞,当 B 细胞被病毒感染后,会经自身特定抗原表达,之后经病毒基因、病毒编码产物对细胞基因的表达产生影响,最终引发传染性单核细胞增多症。近年来,传染性单核细胞增多症的发病率显著上升,且呈现逐年升高的趋势,但目前对于此病发生的具体机制尚不完全明确^[3]。为寻找早期诊断传染性单核细胞增多症的特异性指标,本研究选取医院收治的传染性单核细胞增多症患者,检测可溶性人类白细胞抗原-G(sHLA-G)、Toll 样受体 2(TLR2)、Rta 的表达,并分析其相关性,明确三者是否参与此病的发生发展,为其诊断提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 1 月—2019 年 12 月中国人民解放军陆军第八十二集团军医院血液内分泌科诊治 EBV 感染所致的传染性单核细胞增多症患者 80 例作为观察组,男 44 例,女 36 例,年龄 2~11(6.3±3.8)岁;病程 3~28(15.5±10)d;病理分期^[4]:前期 25 例,中期 34 例,后期 16 例,末期 5 例。另外选取同期于医院行健康体检的健康儿童 80 例作为健康对照组,男 38 例,女 42 例,年龄 2~12(6.5±4.4)岁。2 组研究对象在性别、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批准,所有研究对象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:观察组符合 EBV 感染传染性单核细胞增多症的诊断标准^[5],临床症状表现为发热、咽炎、扁桃体炎、颈部淋巴结、肝脾肿大;初次发病;外周血异型淋巴细胞阳性、血清嗜异性凝集试验阳性和 EB 阳性;均未接受疾病相关治疗;近半年无病毒感染史、无合并症。(2)排除标准:免疫调节剂使用史者;细胞毒性药物、糖皮质激素类药物滥用史者;免疫缺陷病者;噬血细胞综合征者;其他病毒感染者;精神障碍者;心肺功能不全者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血浆 sHLA-G 检测:采集 2 组研究对象入院次日和观察组患儿进入恢复期清晨空腹静脉血 6 ml EDTA 抗凝,3 ml 离心取血浆,-80℃ 保存备用。采用酶联免疫吸附法检测 sHLA-G 水平,将血浆置于室温后,取出试剂盒,标记酶标板,制作标准品,以 1:2 的稀释液稀释样品;在反应孔上依次加入稀释好的待测血清

及标准品 100 μl/孔,放置 37℃ 恒温孵育箱中湿育 2 h;用专用洗涤液将反应板清洗 3 次后,加入抗体工作液(1:100 倍稀释后)100 μl/孔,置于 37℃ 恒温孵育箱中湿育 45 min;继续清洗反应板 4 次后,在反应孔内加入 TMB 溶液 100 μl/孔,置于 37℃ 恒温孵育箱中湿育 45 min 后在反应孔内加入终止液 100 μl/孔,在酶标仪上读取 A405 吸收值,分析 sHLA-G 水平。

1.3.2 TLR2、Rta mRNA 检测:应用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法,取上述血液 3 ml,采用 Ficoll-Hypaque 密度梯度离心法分离得单个核细胞,提取总 RNA,使用 Takara 逆转录试剂盒行逆转录处理后获得 cDNA,之后使用 Primer 5.0 软件对引物序列进行设计,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算出外周血单个核细胞中 TLR2、Rta 表达量;TLR2 引物序列:上游 5'-ATTGTGCCCATGCTCTTTC-3',下游 5'-CTTCCTGGAGAGGCTGATG-3';Rta 引物序列:上游 5'-AATTTACAGCGGGAGTGTG-3',下游 5'-AGCCCGTCTTCTACCCTGT-3';内参基因 GAPDH 引物序列:上游 5'-AACAGCCTCAAGATCATCAGCAA-3',下游 5'-GACTGTGGTCATGAGTCCTTCCA-3'。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析处理。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组间比较采用独立样本 t 检验;相关性采用 Pearson 相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达比较 观察组 sHLA-G 表达水平、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达量均高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

表 1 2 组受试者 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sHLA-G(U/ml)	TLR2 mRNA	Rta mRNA
健康对照组	80	19.35 ± 1.20	2.13 ± 0.25	1.02 ± 0.10
观察组	80	102.15 ± 15.49	3.56 ± 0.14	1.68 ± 0.24
t 值		47.670	44.640	22.700
P 值		0.001	0.001	0.001

2.2 观察组不同病理分期 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达比较 传染性单核细胞增多症患者 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达量比较,前期 < 中期 < 后期 < 末期,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

2.3 观察组不同临床分期 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达比较 80 例患儿经规范治疗后进入恢复

期,急性期传染性单核细胞增多症患者 sHLA-G 表达水平、TLR2 mRNA、Rta mRNA 表达量均高于恢复期,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 2 观察组不同病理分期 sHLA-G、TLR2、Rta 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sHLA-G(U/ml)	TLR2 mRNA	Rta mRNA
前期	25	100.35 ± 12.25	3.00 ± 0.10	1.57 ± 0.09
中期	34	109.68 ± 5.47 ^a	3.68 ± 0.09 ^a	1.85 ± 0.25 ^a
后期	16	120.14 ± 10.06 ^{ab}	4.02 ± 0.54 ^{ab}	2.00 ± 0.10 ^{ab}
末期	5	138.56 ± 25.46 ^{abc}	4.96 ± 0.28 ^{abc}	2.56 ± 0.09 ^{abc}
F 值		7.866	42.680	33.681
P 值		0.001	0.001	0.001

注:与前期比较,^a $P < 0.05$;与中期比较,^b $P < 0.05$;与后期比较,^c $P < 0.05$

表 3 观察组不同分期 sHLA-G、TLR2、Rta 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sHLA-G(U/ml)	TLR2 mRNA	Rta mRNA
急性期	80	132.25 ± 15.24	4.68 ± 0.72	2.23 ± 0.15
恢复期	80	111.05 ± 10.03	3.05 ± 0.14	1.35 ± 0.25
t 值		10.390	19.880	27.000
P 值		0.001	0.001	0.001

2.4 各指标间相关性分析 Pearson 相关性分析显示,sHLA-G 与 TLR2 mRNA、Rta mRNA 呈正相关($r/P = 0.404/0.001, 0.240/0.032$),TLR2 mRNA 与 Rta mRNA 亦呈正相关($r/P = 0.271/0.015$),见图 1。

3 讨论

传染性单核细胞增多症发生后多数患者均表现为不同程度的免疫功能紊乱现象,人类白细胞抗原 G(HLA-G)属于一种免疫调节因子,主要包括可溶性 HLA-G(sHLA-G)、膜结合型 HLA-G(mHLA-G)2 种表达形式^[6]。研究发现^[7],HLA 与宿主免疫系统免疫应答相关,在此过程中具有重要的意义,HLA-G 属于非经典的主要组织相容性复合体 I 类分子,位于人 6 号染色体短臂上,最早在母胎界面绒毛膜滋养层细胞表

面发现。目前临床上已经证实^[8],HLA-G 具有抑制细胞因子释放、NK 细胞杀伤效应、树突状细胞抗原递呈、TH 细胞辅助功能及 CTL 杀伤作用等功能,且上述功能均与病毒感染细胞免疫逃避相关。目前外周血 sHLA-G 已经用于机体免疫耐受性的诊断中,EBV 感染的传染性单核细胞增多症患者血浆 sHLA-G 水平与外周血淋巴细胞亚群的关系表明,sHLA-G 在传染性单核细胞增多症患者血浆中异常高表达,且与机体免疫相关^[9-10]。基于上述研究,在本研究中分析 sHLA-G 与传染性单核细胞增多症的关系,结果显示,sHLA-G 在传染性单核细胞增多症患者血浆中高表达,且与患儿疾病分期、疾病严重程度相关,提示 sHLA-G 参与传染性单核细胞增多症的发生发展,表现为异常高表达,与上述研究结果保持一致。

机体抗感染免疫的第一道防线为天然免疫,Toll 样受体属于跨膜信号传递受体,为天然免疫模式识别受体的重要组成部分,参与病原微生物识别、天然免疫触发、获得性免疫过程^[11-12]。TLR2 为 Toll 样受体家族成员之一,为机体抗感染免疫反应中最为直接的一种模式识别受体,在所有细胞系中均有表达,存在于细胞表面,且其在 Toll 样受体家族中为识别配体最多的成员^[13-14],EBV 可经其信号转导通路将免疫细胞激活,使其产生过多的炎性因子,参与病理过程。研究发现^[15-16],EBV 衣壳蛋白经 TLR2 配体所诱导的单核细胞-巨噬细胞使 TLR2 异常高表达,激活炎性因子,最终作用于抗 EBV 免疫反应过程。在本研究中进一步证实,TLR2 在传染性单核细胞增多症中高表达,且参与此病的发生发展。孙丹等^[17]在其研究中发现,传染性单核细胞增多症的患儿外周血单核细胞 TLR2 表达显著升高,证实 TLR2 参与传染性单核细胞增多症的发生发展,与本研究结果保持一致。

Rta 是一种 EBV 复制转录激活子,为一种可调控病毒由潜伏期进入裂解期的启动子。Rta 为 BRLF1 基

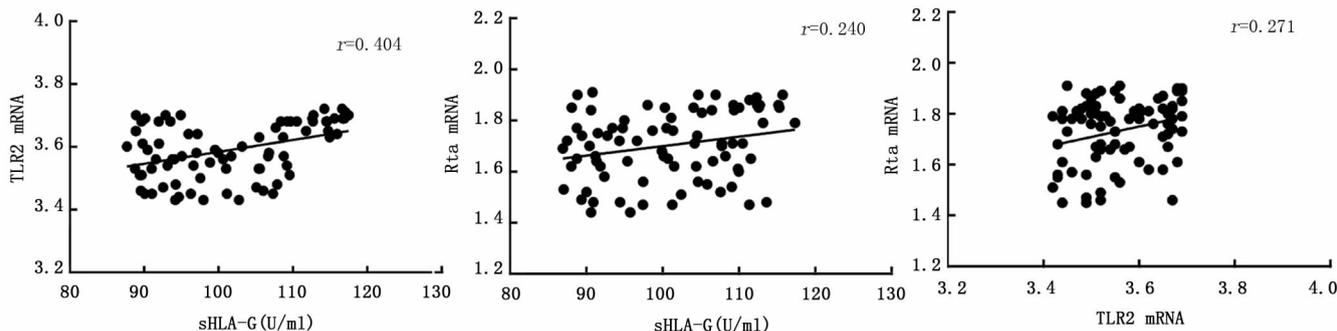


图 1 sHLA-G、TLR2 mRNA、Rta mRNA 之间相关性分析

因的蛋白产物,其组成包括 605 个氨基酸,N 端的 232 个氨基酸为 DNA 的结合区域,与二聚体的形成有关,Rta DNA 结合功能需二聚体形成参与^[18-19]。临床研究显示^[20],Rta 为一种具备序列特异性的 DNA 结合蛋白,可直接与 BMLF1 启动子区域相互作用,促进其表达,也可经间接结合机制发挥其激活作用。本结果证实 Rta 与传染性单核细胞增多症发生相关,Rta 在传染性单核细胞增多症患者血浆中高表达,且与患儿疾病分期、疾病严重程度相关,目前临床上对于 Rta 参与传染性单核细胞增多症的研究较少,且本研究样本量较少,上述结果还需后续研究进一步证实。

另外本研究还对 sHLA-G、TLR2、Rta 三者相关性进行分析,结果发现,三者之间均呈正相关,均在该病中高表达,共同参与该病的发生发展。

综上所述,sHLA-G、TLR2、Rta 在传染性单核细胞增多症中均为异常高表达,且三者相关,共同参与此病的发生发展。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

韩红满:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;秦伟:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;左立辉:进行统计学分析;刘贵敏:课题设计,论文撰写;李四强:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Shephard RJ. Exercise and the athlete with infectious mononucleosis [J]. *Clin J Sport Med*, 2017, 27(2):168-178. DOI: 10.1097/JSM.0000000000000330.
- [2] Ceraulo AS, Bytomski JR. Infectious mononucleosis management in athletes[J]. *Clin Sports Med*, 2019, 38(4):555-561. DOI: 10.1016/j.csm.2019.06.002.
- [3] Pintos Pascual I. Infectious mononucleosis with unusual clinical manifestations[J]. *Med Clin (Barc)*, 2017, 149(1):e3. DOI: 10.1016/j.medcli.2016.09.005.
- [4] 叶东梅,张志伟,刘勇. 传染性单核细胞增多症的病理分期与鉴别诊断[J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(5):421-424. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2019.05.023.
- [5] 陈梅枝,郭爱红. 巨细胞病毒感染致小儿传染性单核细胞增多综合征[J]. *临床医学*, 2011, 31(9):78-79. DOI:10.3969/j.issn.1003-3548.2011.09.047.
- [6] 邓士勇,陈明,王旭东,等. 联合检测 HLA-G、IL-6 在传染性单核细胞增多症患者中的诊断价值[J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(4):1210-1214. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2018.04.044.
- [7] 谢付静,孙红娟,杨亚培,等. 血浆白细胞抗原 G、白细胞介素 10 水平在传染性单核细胞增多症诊断中的价值[J]. *山东医药*, 2017, 57(40):95-96. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2017.40.032.

- [8] Deng SY, Chen M, Wang XD, et al. Diagnostic value of combined detection of HLA-G and IL-6 in children with infectious mononucleosis[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2018, 26(4):1210-1214. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2018.04.044.
- [9] 许惠惠,林爱芬,颜卫华. HLA-G 与病毒感染[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2016, 30(2):244-248. DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2016.02.033.
- [10] 张善虎. 3 项指标联合检测对儿童原发传染性单核细胞增多症的诊断价值[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(1):66-68. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.01.017.
- [11] Van Gent M, Braem SG, de Jong A, et al. Epstein-Barr virus large tegument protein BPLF1 contributes to innate immune evasion through interference with toll-like receptor signaling [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(2):e1003960. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003960.
- [12] Wang Q, Wang ZF, Cao M, et al. Changes of FoxP3, CD4(+) CD25(+) regulatory T cells, TLR2 and TLR9 in children with infectious mononucleosis[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2013, 21(2):469-473. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2013.02.044.
- [13] 王强,王佐凤,曹玫,等. TLR2、TLR9 及 T 细胞亚群在传染性单核细胞增多症患者中的变化及意义[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2013, 18(6):267-271. DOI:10.3969/j.issn.1673-5323.2013.06.007.
- [14] 葛昕,李成荣,王国兵,等. 急性 EB 病毒感染患儿 Toll 样受体的变化[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2013, 28(4):294-297. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2013.04.018.
- [15] 母发光,王强,郑佳,等. TLR2、TLR9 及 CD19、CD23 在儿童传染性单核细胞增多症中的表达及意义[J]. *实用医院临床杂志*, 2017, 14(6):192-195. DOI:10.3969/j.issn.1672-6170.2017.06.060.
- [16] 叶翠燕,苏宝凤. 传染性单核细胞增多症患者外周血淋巴细胞亚群及自然杀伤细胞的变化及临床意义[J]. *中国医药*, 2019, 14(12):1830-1833. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2019.12.017.
- [17] 孙丹,李艳艳,田秀颖,等. IM 患儿外周血单核细胞 TLR2、TLR9 及 CD19⁺、CD23⁺ 表达水平及意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(6):707-709. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.017.
- [18] Hung CC, Kuo CW, Wang WH, et al. Transcriptional activation of Epstein-Barr virus BRLF1 by USF1 and Rta [J]. *J Gen Virol*, 2015, 96(9):2855-2866. DOI:10.1099/jgv.0.000230.
- [19] Germi R, Guigue N, Lupo J, et al. Methylation of Epstein-Barr virus Rta promoter in EBV primary infection, reactivation and lymphoproliferation[J]. *J Med Virol*, 2016, 88(10):1814-1820. DOI: 10.1002/jmv.24524.
- [20] Yang Y, Jia Y, Wang Y, et al. Sequence analysis of EBV immediate-early gene BZLF1 and BRLF1 in lymphomas [J]. *J Med Virol*, 2014, 86(10):1788-1795. DOI:10.1002/jmv.23911.

(收稿日期:2020-02-05)

肝上皮样血管内皮瘤临床特征分析

刘清, 么立萍, 谢华红, 杨玉萍, 王小娟

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81571731)

作者单位: 710032 西安, 空军军医大学西京消化病医院消化内科

通信作者: 王小娟, E-mail: xiaojuan318318@163.com

【摘要】 回顾性分析 2010 年 1 月—2018 年 1 月空军军医大学西京消化病医院消化内科收治经病理确诊为肝上皮样血管内皮瘤患者 6 例的临床表现、影像特征、病理特点及治疗情况。患者主要临床表现为右上腹痛、腹胀、黄疸。肿瘤标志物 AFP、CA19-9、CEA 均正常。CT 多表现为肝脏多发病灶, 紧邻肝包膜下生长, 增强后有向心性强化, 其他征象有“包膜回缩征”“瘤内血管征”“棒棒糖征”等。病理特征表现为肿瘤细胞呈上皮样分化并出现细胞质内血管腔形成。免疫组化检测肿瘤细胞 CD31、CD34、FVIII-Rag 阳性。肝上皮样血管内皮瘤临床表现不典型, 影像学表现多样, 容易误诊, 需经病理检查确诊。

【关键词】 肝肿瘤; 上皮样血管内皮瘤; 病理特征; 临床表现; 诊断

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.013

Clinical features of hepatic epithelioid hemangioendothelioma Liu Qing, Yao Liping, Xie Huahong, Yang Yuping, Wang Xiaojuan. Xijing Hospital of Digestive Diseases, Air Force Military Medical University, Shaanxi Province, Xi'an 710032, China

Corresponding author: Wang Xiaojuan, E-mail: xiaojuan318318@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China(81571731)

【Abstract】 The clinical manifestations, imaging features, pathological features and treatment of 6 patients with hepatic epithelioid hemangioendothelioma admitted to Xijing Digestive Disease Hospital of Air Force Military Medical University from January 2010 to January 2018 were retrospectively analyzed. The main clinical manifestations were right upper abdominal pain, abdominal distension and jaundice. AFP, CA19-9 and CEA were normal. CT showed multiple liver lesions, growing close to the liver capsule, with centripetal enhancement after enhancement. Other signs included "capsule retraction sign", "intratumoral vascular sign" and "Lollipop sign". The pathological features were epithelioid differentiation of tumor cells and formation of cytoplasmic vascular lumen. The tumor cells were positive for CD31, CD34 and f VIII-Rag by immunohistochemistry. The clinical manifestations of hepatic epithelioid hemangioendothelioma are not typical, and the imaging manifestations are diverse. It is easy to be misdiagnosed and should be confirmed by pathological examination.

【Key words】 Liver neoplasm; Epithelioid hemangioendothelioma; Pathology; Clinical characteristic; Diagnosis

肝上皮样血管内皮瘤(HEHE)是一种罕见的血管源性肿瘤,属中度或低度恶性肿瘤,恶性程度介于血管瘤和血管内皮肉瘤之间。1984年Ishak等^[1]首次报道肝上皮样血管内皮瘤,并对32例HEHE的病变特点进行详细的描述。HEHE临床表现不典型,影像学表现多样,为了进一步提高其诊治水平,降低误诊率,现将收集的HEHE患者6例进行综合分析,报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 回顾性分析2010年1月—2018年1月空军军医大学西京消化病医院消化内科收治肝上皮

样血管内皮瘤患者6例的临床资料,均经超声引导下肝占位穿刺活检病理确诊,男4例,女2例,年龄33~69岁,中位数52.5岁,均无家族史及遗传病史。

1.2 临床表现 右上腹痛4例,其中右上腹痛伴全身皮肤黄染、乏力、消瘦1例,腹胀2例。全身皮肤、巩膜黄染、肝大1例,腹部移动性浊音阳性2例,无明显阳性体征3例。

1.3 实验室检查 6例肿瘤标志物AFP、CEA、CA19-9均在正常范围,CA125增高至正常上限4~22倍4例。6例乙肝表面抗原、丙肝抗体均阴性。肝功能异

常 4 例,表现为丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清总胆红素增高至正常上限 1~3 倍,以直接胆红素升高为主,碱性磷酸酶升高至 1~4 倍, γ -谷氨酰基转移酶升高至 1~17 倍。腹水检验为渗出液 3 例,腹水细胞病理均未查见瘤细胞。

1.4 影像学特点 CT 检查 6 例:肝脏占位病变为单发 1 例、多发 5 例,病灶散在分布于肝脏各段,以肝包膜下分布为主,平扫可见病灶呈圆形、类圆形低密度影,部分病灶边界欠清晰,相互融合,中心可见更低密度影(见图 1),中心见小钙化灶 1 例;增强扫描,动脉期呈轻度或中度环形强化,部分病例可见瘤内血管征(见图 2),静脉期及延迟期病灶强化范围向中心进展(见图 3、4),个别病例可见棒棒糖征(见图 5)。腹水征 4 例,伴腹膜及网膜增厚 1 例,伴门静脉高压表现 3 例。全身 PET-CT 检查 2 例:肝内见多发结节影、病灶边缘呈环状葡萄糖代谢轻度增高 1 例,病灶代谢明显增高 1 例(见图 6),双肺野散在多发大小不等的小结节影、边缘清晰、无明显代谢增高 2 例,考虑双肺多发转移瘤。

1.5 病理学特点 6 例均行超声引导下肝占位穿刺活检术。显微镜下可见肿瘤细胞散在浸润性生长,异

型性明显,似形成血管腔,内含单个红细胞,形态提示上皮样血管内皮瘤。免疫组化:肿瘤细胞免疫组化表现为内皮细胞标志物 CD31、CD34 均阳性 6 例, FVIII-Rag 阳性 4 例, COX-2 阳性 2 例, 6 例肿瘤增殖指数 Ki-67 阳性细胞数为 5%~25%。结合病理形态学和免疫组化均提示 HEHE, 其中腹膜穿刺活检病理亦为 HEHE 1 例。

1.6 误诊疾病 6 例中 1 例结合 CT 及 PET-CT 考虑 HEHE 可能;其余 5 例误诊:临床初步诊断为肝转移癌 3 例,胆管细胞癌 1 例,原发性肝癌、肝硬化 1 例。

1.7 治疗与转归 6 例因肝脏多发病变、腹膜转移、肺转移、肝功能异常均未行外科切除手术或肝移植术。2 例因肝功能异常、腹水量大、全身状态差,仅给予对症治疗。采用超声引导下肝脏多发肿瘤微波消融术 1 例,肝动脉栓塞化疗术 1 例, 2 例口服沙利度胺片抑制血管生成,同时免疫组化提示 COX-2(+), 给予口服选择性 COX-2 抑制剂塞来昔布治疗。随访日期截止 2019 年 1 月, 2 例临床症状体征明显,仅给予对症治疗的患者预后差,最终因肝功能衰竭死亡,生存期 0.5~1 年; 5~8 年内带瘤生存 4 例。

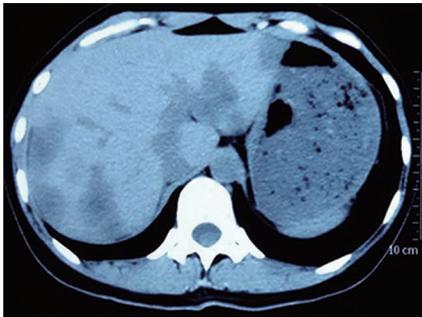


图 1 CT 平扫肝脏可见多发圆形、类圆形低密度影,部分病灶边界欠清晰,相互融合,中心可见更低密度影

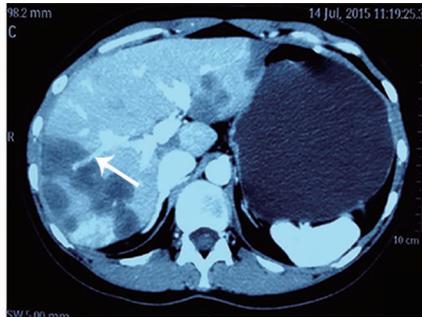


图 2 CT 增强扫描,动脉期肝脏病灶呈轻度或中度环形强化,可见“瘤内血管征”

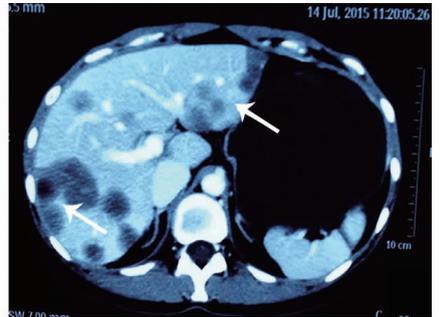


图 3 静脉期肝脏病灶强化范围向中心进展

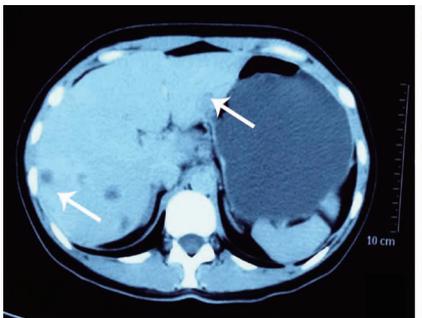


图 4 延迟期肝脏病灶强化范围向中心进展



图 5 肝脏病灶可见“棒棒糖征”

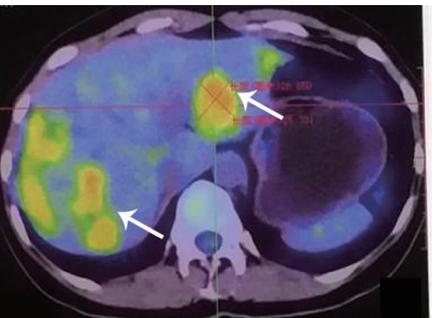


图 6 全身 PET-CT 肝脏见多发病灶呈葡萄糖代谢明显增高

2 讨论

上皮样血管内皮细胞瘤最早于 1982 年由 Treska 等^[2]首先描述并正式命名。其多发生于软组织、肺、骨、脑和小肠等脏器,原发于肝脏的非常罕见,发病率为 1/10 万^[3-4]。

HEHE 病因及发病机制至今尚不清楚,无慢性肝病的基础,故不同于其他性质的肝脏肿瘤。HEHE 生长较缓慢,转移率相对较低,其总体发生率为 27% ~ 45%,最常见出现在肺部(81%)^[4],其他可有区域淋巴结(15.8%)、骨(9%)和脾脏(4.9%)转移^[5]。本组 HEHE 病例首次发病时 1 例伴腹膜转移,2 例伴肺转移。

HEHE 临床表现缺乏特异性,大部分以反复上腹部疼痛就诊,其他还包括恶心、食欲减退、发热、乏力、黄疸和门脉高压等症状,部分可无症状。实验室检查部分可见不同程度肝功能损害,可有丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、血清胆红素、碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰基转移酶不同程度增高,肿瘤标志物 AFP、CEA 和 CA19-9 均在正常范围之内。

HEHE 影像学表现有一定特征性,CT 平扫多表现为多发、大小不等的低密度灶,病灶中心为更低密度,呈“晕环征”,边界不清晰,病灶可以融合成巨块状,中央富血管^[6]。多分布于肝外周区域,延伸到肝包膜。由于肿瘤的纤维基质成分可在周围肝实质中产生一种纤维收缩性反应,使肝包膜皱缩,影像上表现为较为少见的“包膜回缩征”。部分患者伴有多发性小钙化灶。CT 增强扫描表现为由边缘区开始明显强化,以周边强化为主,延迟后肿瘤内部可有造影剂进入,而中心更低密度区无强化或无明显强化,类似肝脏转移瘤的表现。动态增强扫描表现为类似血管瘤的“早出晚归”和“向心性强化”的模式^[7]。Lauffer 等^[8]于 1996 年总结 4 例 HEHE 表现,首次描述了“棒棒糖”征象,其表现为肝内肝静脉或门静脉主干或分支逐渐变细伸向低密度的结节或肿块,止于病灶的边缘,形成类似棒棒糖的征象。其形成的病理学基础为瘤细胞浸润肝窦及门静脉系统,围绕肝静脉、门静脉及小静脉生长,并可使其狭窄闭塞,是肿瘤侵犯血管的晚期表现^[9]。早期病灶包绕血管尚未使管腔完全阻塞,增强扫描特别是门脉期可见病灶内有静脉小分支穿行其中,称为“瘤内血管征”^[10]。“棒棒糖征”与肝细胞肝癌引起的静脉癌栓不同,而类似于血管血栓形成的组织学表现。

HEHE 的 CT 表现为非特异性,多发型 HEHE 易被误诊为转移瘤、血管瘤、血管肉瘤,单发型 HEHE 易被误诊为血管肉瘤、胆管细胞癌。患者有以下特殊表

现需考虑 HEHE 的可能:中青年患者,肝内弥漫性多发病灶,但临床症状体征较少,病程进展缓慢,实验室检查肝功能可有不同程度改变,肿瘤标志物多正常,影像学提示较大并缓慢增长的病灶,多位于外周,注射造影剂后呈外周强化,有病灶融合趋势,有“晕环征”或“靶征”“棒棒糖征”、肿瘤内钙化、“包膜回缩征”、正常肝脏组织代偿性增生、门脉高压表现和脾肿大等^[11-12]。

正电子核素氟(¹⁸F)标记的脱氧葡萄糖—正电子发射计算机断层显像(¹⁸F-FDG PET/CT)对于评估 HEHE 肝内病变鉴别诊断、全身转移、肿瘤复发有重要作用^[13-14]。本组 2 例 PET/CT 可见肝内多个分散的葡萄糖代谢轻度增高或明显增高病灶,余器官形态及代谢均未见异常,患者无肝炎、肝硬化背景,AFP 正常,考虑原发肝脏恶性肿瘤,HEHE 可能性大,双肺野散在多发大小不等的小结节影,边缘清晰,无明显代谢增高,考虑双肺多发转移瘤。

HEHE 通过临床症状、体征、影像学诊断都极为困难,最终明确诊断主要依赖于组织病理学和免疫组织化学。具有细胞内血管腔的上皮样瘤细胞并呈血管内皮标志物染色阳性是 HEHE 病理诊断的 2 个重要特征。HEHE 需与以下疾病鉴别。(1)肝血管瘤:肝血管瘤一般无症状,肿瘤标志物正常,影像学检查无肝外表现,CT 无肝周边区域分布的特点,且不会相互融合,无肝“包膜回缩征”。一般动脉期明显周边强化,与同层主动脉密度一致,随时间推移向中心扩展,延迟扫描后病灶部分或完全呈等信号/密度。而 HEHE 一般动脉期轻至中度强化,延迟后肿瘤实质部分无明显对比剂进入或始终未能填满整个病灶^[15]。(2)肝转移瘤:临床多有原发恶性肿瘤的症状、体征,可有肿瘤标志物如 AFP、CEA、CA19-9 等异常升高,影像学可见肝外原发肿瘤表现,CT 可见“牛眼征”,但极易与 HEHE 的“晕环征”相混淆,若无明确原发肿瘤病史时,“晕环征”如果合并有“包膜皱缩征”“棒棒糖征”或“瘤内血管征”则应首先考虑 HEHE^[16]。(3)胆管细胞癌:临床可有上腹部不适、腹痛、黄疸、肝脏肿大等表现,CA19-9 多增高,CT 可见不同程度的肝内外胆管扩张、胆囊增大、扩张的胆管突然中断,可见块状影。(4)肝血管肉瘤:血管肉瘤恶性程度很高,病程进展较快,常有明显恶性表现的临床体征,肿瘤容易变性,内部易有出血、坏死和囊变,CT 密度多混杂,且多为单发较大病灶伴周围多发小子灶^[6]。免疫组织化学具有内皮细胞标志物,以 CD34、CD31、FVIII-RAg 阳性率最高^[17-18]。本研究 6 例中 CD34、CD31 全部阳性,4 例 FVIII-RAg 阳

性,癌细胞(包括印戒细胞)CD34、Vimentin 和 FVIII-RAg 均呈阴性,可资鉴别。

HEHE 的治疗方法很多,通常有肝切除、肝移植、肝动脉栓塞化疗术、化疗、放疗、抑制肿瘤血管生成^[19-20]。本病罕见,目前尚没有被普遍接受的治疗方案。肝切除是可切除的肝内病变患者的首选治疗^[19],因具有多中心性起源及多结节性生长的特点,一些患者因而丧失手术切除机会。有研究提示肝移植是最常见的治疗方案,肝外累及不是肝移植的绝对禁忌证。Mehrabi 等^[21]报道肝移植(101 例)、肝切除(22 例)、放化疗(6 例)和院外随访监测(70 例)的 5 年生存率分别为 54.5%、75%、30% 和 4.5%。HEHE 的治疗方案选择必须个体化,病灶的进展速度、症状的严重程度,以及对其他治疗方法的反应对决定治疗方案有重要的作用。

综上所述,HEHE 是一种罕见病,临床症状多样,虽然影像学表现有一定特征性,但仍难以鉴别,最终需病理学确诊。目前尚无标准治疗方案,应根据患者的情况、治疗反应、病理表现等进行个体化、综合治疗。

参考文献

- [1] Ishak KG, Sesterhenn IA, Goodman ZD, et al. Epithelioid hemangioendothelioma of the liver: A clinicopathologic and follow-up study of 32 cases [J]. *Hum Pathol*, 1984, 15 (9): 839-852. DOI: 10.1016/s0046-8177(84)80145-8.
- [2] Treska V, Daum O, Svajdler M, et al. Hepatic epithelioid hemangioendothelioma: a rare tumor and diagnostic dilemma [J]. *In Vivo*, 2017, 31 (4): 763-767. DOI: 10.21873/invivo.11128.
- [3] Klinger C, Stuckmann G, Dietrich CF, et al. Contrast-enhanced imaging in hepatic epithelioid hemangioendothelioma: retrospective study of 10 patients [J]. *Z Gastroenterol*, 2019, 57 (6): 753-766. DOI: 10.1055/a-0886-0081.
- [4] 赵桂玖, 王庆兵, 曾蒙芬, 等. 肝上皮样血管内皮瘤的 CT 和 MRI 表现 [J]. *中国临床医学影像杂志*, 2015, 26 (8): 577-580.
- [5] Weiss SW, Enzinger FM. Epithelioid hemangioendothelioma: A vascular tumor often mistaken for a carcinoma [J]. *Cancer*, 1982, 50 (5): 970-981. DOI: 10.1002/1097-0142(19820901)50.
- [6] Makhlof HR, Ishak KG, Goodman ZD. Epithelioid hemangioendothelioma of the liver: A clinicopathologic study of 137 cases [J]. *Cancer*, 1999, 85 (3): 562-582. DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(19990201)85.
- [7] Hertl M, Cosimi AB. Liver transplantation for malignancy [J]. *Oncologist*, 2005, 10 (4): 269-281. DOI: 10.1634/theoncologist.10-4-269.
- [8] Lauffer JM, Zimmermann A, Krahenbuhl L, et al. Epithelioid hemangioendothelioma of the liver. A rare hepatic tumor [J]. *Cancer*, 1996, 78 (11): 2318-2327. DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(19961201)78.
- [9] 黄彬, 蔡权宇, 贾宁阳, 等. 肝上皮样血管内皮瘤的影像特征 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2014, 20 (1): 1-5. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2014.01.001.
- [10] Alomari AI. The lollipop sign: A new cross-sectional sign of hepatic epithelioid hemangioendothelioma [J]. *Eur J Radiol*, 2006, 59 (3): 460-464. DOI: 10.1016/j.ejrad.2006.03.022.
- [11] 孙维高, 卢定友. 单发、多发及弥漫型肝脏上皮样血管内皮瘤的 CT 表现 [J]. *现代医学*, 2017, 45 (4): 471-474. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7562.2017.04.002.
- [12] 赵越, 龙世亮, 田执南, 等. 肝上皮样血管内皮瘤的 CT 与 MRI 特征及病理基础 [J]. *CT 理论与应用研究*, 2015, 24 (4): 563-569. DOI: 10.15953/j.1004-4140.2015.24.04.10.
- [13] Mamone G, Miraglia R. The "Target sign" and the "Lollipop sign" in hepatic epithelioid hemangioendothelioma [J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2019, 44 (4): 1617-1620. DOI: 10.1007/s00261-018-1820-9.
- [14] Gan LU, Chang R, Jin H, et al. Typical CT and MRI signs of hepatic epithelioid hemangioendothelioma [J]. *Oncology Letters*, 2016, 11 (3): 1699-1706. DOI: 10.3892/ol.2016.4149.
- [15] Ozguven S, Kesim S, Oksuzoglu K, et al. ¹⁸F-FDG PET/CT findings of a rare case of diffuse hepatic epithelioid hemangioendothelioma with bone metastases at diagnosis [J]. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*, 2020, 39 (1): 39-40. DOI: 10.1016/j.remnm.2019.05.007.
- [16] Shamim SA, Tripathy S, Mukherjee A, et al. ¹⁸F-FDG PET-CT in monitoring of chemotherapeutic effect in a case of metastatic hepatic epithelioid hemangioendothelioma [J]. *Indian J Nucl Med*, 2017, 32 (3): 237-238. DOI: 10.4103/ijnm.ijnm_171_16.
- [17] Dong K, Wang XX, Feng JL, et al. Pathological characteristics of liver biopsies in eight patients with hepatic epithelioid hemangioendothelioma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8 (9): 11015-11023.
- [18] 陈易华, 王超, 蒋锐, 等. 5 例肝上皮样血管内皮细胞瘤的病理学特点分析 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34 (11): 2356-2359. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.11.017.
- [19] 陈梅桂, 赖清泉. 肝上皮样血管内皮瘤的诊治进展 [J]. *山东医药*, 2018, 58 (41): 86-89. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.41.025.
- [20] 宁周雨, 陈其文, 朱晓燕, 等. 肝脏上皮样血管内皮瘤的影像特点及临床诊治体会 [J]. *中国癌症杂志*, 2016, 26 (12): 1004-1011. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2016.12.007.
- [21] Mehrabi A, Kashfi A, Fonouni H, et al. Primary malignant hepatic epithelioid hemangioendothelioma: A comprehensive review of the literature with emphasis on the surgical therapy [J]. *Cancer*, 2006, 107 (9): 2108-2121. DOI: 10.1002/cncr.22225.

(收稿日期: 2020-03-05)

Carney 综合征 1 例家系调查并文献复习

邵千慧, 柳乾龙, 童睿, 姚涓川, 崔巍

作者单位: 710061 西安交通大学第一附属医院健苑三病区(邵千慧、童睿、姚涓川、崔巍); 710004 西安交通大学第二附属医院小儿外科(柳乾龙)

通信作者: 崔巍, E-mail: doctorweiwei.cui@126.com

【摘要】 Carney 综合征(CNC)是一种罕见的常染色体显性遗传综合征,以皮肤黏膜色素沉着病变,心脏、皮肤的黏液瘤及多发性内分泌肿瘤为特征。我国 CNC 患者平均诊断年龄为(27.81 ± 14.37)岁,男女比例相当,皮肤黏膜色素斑、肾上腺病变所致的非 ACTH 依赖性皮质醇增多症及心脏黏液瘤占比最高;CNC 的每一种病症或肿瘤均需要单独治疗,手术是最主要的治疗方式;由于 CNC 的病变涵盖多个器官系统,随年龄增加临床症状逐步积累显现,密切随访将有助于改善预后。CNC 通常认为是由位于 17q22-24 处编码蛋白激酶 A(PKA)的 R I α 调节亚基(PRKAR1A)基因的失活突变或大量缺失引起的,新近发现 PRKACA 及 PRKACB 基因也与该病相关。我国患者基因检测率偏低,大部分突变位点在国外相关数据库中尚未报道。

【关键词】 Carney 综合征;病例报道;文献复习

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.014

Carney complex: family investigation of a case and literature review Tai Qianhui*, Liu Qianlong, Tong Rui, Yao Juanchuan, Cui Wei. *The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Province, Xi'an 710061, China
Corresponding author: Cui Wei, E-mail: doctorweiwei.cui@126.com

【Abstract】 Objective Carney complex(CNC) is a rare autosomal dominant syndrome characterized by pigmentation of skin mucosa, myxoma of heart and skin and multiple endocrine tumors. The average age of diagnosis of CNC patients in China was (27.81 ± 14.37) years old, and the proportion of male and female was similar. The highest proportion of patients with non ACTH dependent cortisol and cardiac myxoma caused by skin mucosal pigment spots and adrenal lesions was found. Each disease or tumor of CNC needs to be treated separately, and surgery is the most important treatment. As the lesions of CNC cover multiple organ systems, clinical symptoms gradually accumulate and show with age. Close follow-up will help to improve the prognosis. It is generally believed that CNC is caused by inactivation or deletion of the R I α regulatory subunit (Prkar1a) gene, which encodes protein kinase A (PKA) at 17q22-24. Recently, prkaca and prkacb genes are also associated with the disease. Most of the mutation sites have not been reported in foreign databases.

【Key words】 Carney complex; Case report; Literature review

Carney 综合征(Carney complex, CNC)是一种罕见的常染色体显性遗传综合征,其特征是皮肤和黏膜色素沉着病变,心脏、皮肤的黏液瘤及多发性内分泌肿瘤。该病通常认为是由位于 17q22-24 处编码蛋白激酶 A(PKA)的 R I α 调节亚基(PRKAR1A)基因的失活突变或大量缺失引起的,新近发现 PRKACA 及 PRKACB 基因也与该病相关。国内以个案报道为主,为提高对该病的识别与诊治水平,笔者将报道医院收治 CNC 患者 1 例,并进行文献复习。

1 病例资料

患儿,男,3 岁 10 个月,因面部痤疮 1 年,外生殖

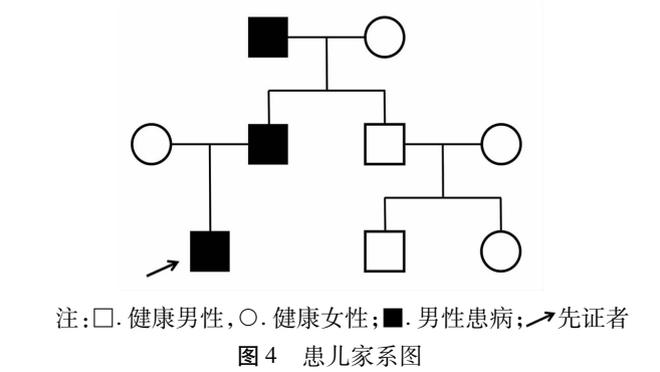
器发育 7 个月,体毛增多 3 个月于 2019 年 7 月入院。体格检查:患儿身高 109 cm,体质量 20 kg,患儿面部、颈部及前胸部痤疮,左侧脸颊有浅褐色色素斑,面部、背部、四肢及会阴部毳毛增多,外生殖器 Tanner 分期 4 期。患儿母亲否认给患儿服用任何糖皮质激素类药物,无长期服药史。入院查血清皮质醇失去正常节律,8 时、16 时及 24 时皮质醇分别为 28.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 25.1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 及 26.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 。小剂量地塞米松抑制试验显示次日 8 时皮质醇未被抑制。采用 3 日法大剂量地塞米松抑制试验,首日 8 时皮质醇为 34.6 $\mu\text{g}/\text{dl}$,血清促肾上腺皮质激素为 2.9 pg/ml ;第三日 8 时皮质醇 47.0

μg/dl,血清促肾上腺皮质激素为 2.1 pg/ml,结果显示皮质醇水平未被抑制反而升高。患儿诊断 ACTH 非依赖性皮质醇增多症。增强 CT 显示左侧肾上腺内侧支软组织结节(图 1),右侧肾上腺未见明显异常。头颅 MR 示垂体增大,垂体形态饱满,高度为 5.6 mm,上缘略膨隆,其内未见明显异常信号影(图 2)。双侧睾丸内 MR 信号不均,T2 内可见略低信号影(图 3)。超声显示双侧睾丸内低回声结节,左侧睾丸内散在强回声光点。甲状腺超声未见明显异常。超声心动图显示心内结构及血流未见明显异常。患者基因检测显示在 chr17:66511508-66551912 区域疑似存在杂合缺失变异。根据临床表现、影像学检查和基因检测,患儿 Carney 综合征诊断明确。患儿于 2019 年 8 月 14 日在全麻下行左侧肾上腺切除术,病理结果显示为“皮质腺瘤”。术后 1 个月半随访,患儿体质量较前下降 1.2 kg,满月脸消失,面部、躯干及四肢毳毛较前减少,面部痤疮较前减轻;复查皮质醇及 ACTH 水平均正常。

家系调查:患儿父亲 32 岁,2017 年 7 月因突发头晕、右侧肢体运动障碍,于外院诊断为“脑梗死”,超声心动图显示左房黏液瘤、主动脉瓣二瓣化,行心房黏液瘤切取及脑梗死介入取栓术。患儿祖父 56 岁,2016 年 6 月因气短就诊于当地医院行超声提示“心脏肿瘤”,行手术治疗,手术及肿瘤性质具体情况不详。2018 年 1 月再次因胸闷气短诊断为右心房黏液瘤,并于全麻体外循环下行微创右房黏液瘤摘除术。患儿一位叔父及其子女无相关症状。家系图见图 4。

2 文献复习

检索有关文献,截至 2019 年 11 月,我国病史完整 CNC 患者共 36 例(包含本例),包含家系 15 个,占报道总数的 71.4%^[1-21]。年龄分布在 3 岁 10 个月~66 岁,平均(27.81 ± 14.37)岁。其中男女患者各 18 例,年龄比较无显著差异(P = 0.812)。提及首发症状的 27 例 CNC 患者中,以皮质醇增多相关症状为首发的最多(11 例),以心脏黏液瘤相关症状为首发的患者数



次之(5 例)。患者的临床表现不一,按器官系统分类,皮肤黏膜色素斑最常见(雀斑痣 22 例,蓝斑 2 例),占报道病例的 66.7%;其次为肾上腺疾病所致的非 ACTH 依赖性皮质醇增多症(15 例)及心脏黏液瘤(15 例),均占 41.7%。典型的临床表现还涉及心外黏液瘤、浅表性血管黏液瘤、皮下结节、颈动脉黏液瘤(8 例),甲状腺病变(6 例),垂体病变(5 例),原发闭经、月经紊乱(5 例),骨质损害(4 例),乳腺导管内乳头状瘤(1 例)。另外,文献中还提到的临床表现有高血压(4 例)、糖尿病(7 例),可能与原发性色素结节性肾上腺皮质病(PPNAD)所致的皮质醇增多症相关;视力损害 4 例,可能为心脏黏液瘤所致脑血管栓塞及垂体瘤等原因导致;身材矮小 2 例,可能与肾上腺病变和睾丸病变相关;低血钾 2 例;神经纤维瘤 1 例。皮肤黏膜色素沉着斑报道为出生时即存在,而其他临床表现随患者的年龄出现时间不一。促使患者就诊的大部分症状出现在 10~30 岁之间,而心脏黏液瘤和皮质醇增多症的发病年龄分布较广,但后者的平均年龄稍小。

病变部位的影像学检查、血清激素水平检测(包括 GH、PRL、糖皮质激素、甲状腺激素等)、地塞米松抑制试验、基因检测对 CNC 的诊断有重要辅助作用。我国 CNC 患者基因检测率为 36.1%,基因突变率为 100%。共检测出基因突变 22 种,其中 PRKAR1A 突变 20 种,见表 1。



图 1 患儿肾上腺增强 CT 表现

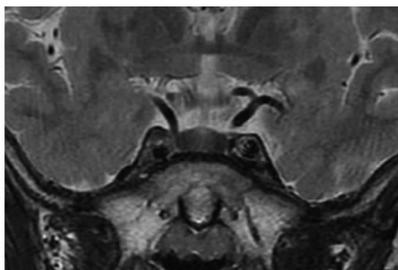


图 2 患儿垂体 MR 表现

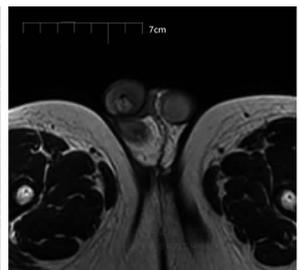


图 3 患儿睾丸 MR 表现

表 1 我国 CNC 患者基因突变情况

编号	基因	染色体位置	cDNA 位置	编号	基因	染色体位置	cDNA 位置
1	PRKAR1A	chr1766511541	c. 1A > G	12	PRKAR1A	chr1766521095-66521096	c. 545-c. 546CG > TT
2	PRKAR1A	chr1766511574	c. 34G > T	13	PRKAR1A	chr1766521099-66521100	c. 549 + 1delG
3	PRKAR1A	chr1766511586	c. 46C > T	14	PRKAR1A	chr1766522025	c. 680A > G
4	PRKAR1A	chr1766511589	c. 49G > T	15	PRKAR1A	chr1766522054	c. 708 + 1G > A
5	PRKAR1A	chr1766518924	c. 205C > T	16	PRKAR1A	chr1766522187	c. 708 + 134_708 + 135insCT
6	PRKAR1A	chr1766519861-66519862	c. 349 5_349 4insT	17	PRKAR1A	chr1766522195	c. 708 + 142A > G
7	PRKAR1A	chr1766519957	c. 440G > A	18	PRKAR1A	chr1766523981	c. 709 209G > A
8	PRKAR1A	chr1766519960-66519961	c. 440 + 4delG	19	PRKAR1A	chr1766524987	c. 770 24G > A
9	PRKAR1A	chr1766519962	c. 440 + 5G > C	20	PRKAR1A	chr1766526027	c. 892-34G > T
10	PRKAR1A	chr1766520206-66520208	c. 491-492delTG	21	RECQL4	chr8145738769	c. 2297-1delG
11	PRKAR1A	chr1766521052	c. 503-1G > A	22	NF1	chr1729686011	c. 8075dupG

36 例患者均以手术治疗为主,针对不同病症辅助以糖皮质激素替代、溴隐亭、抗甲状腺药物等治疗,5 例患者因心脏黏液瘤、肾上腺结节及皮下黏液瘤等慢性进展或复发进行多次手术。患者手术治疗效果确切,仅 8 例进行了随访。

3 讨论

3.1 流行病学 国内外 CNC 发病率尚不明确。国外报道^[22]男女比例为 37%:63%,女性患病比例似乎高于男性,而研究显示 CNC 遵循孟德尔常染色体显性遗传定律,男女性别的比例差异可能是由于男性的睾丸病变影响了其生殖能力,国外统计数据显示男性睾丸病变比例为 75%。我国的案例报道中男女比例相当,值得注意的是,我国男性睾丸病变的比例较低,仅为 16.67%,在罕见病患者基数很小的基础上,受样本量的限制,这种由生育能力造成的患病性别差异可能难以显现。国外报道的诊断年龄中位数为 20 岁,我国 CNC 患者的平均诊断年龄为(27.81 ± 14.37)岁,然而追问病史,患者往往在多年前已经开始出现相关的临床症状。从区域分布来看,我国报道文献来源均分布在医疗水平较发达地区,这说明在医疗水平相对落后地区的医务工作者对该疾病的认识还很不足。

3.2 发病机制 Carney 综合征是 1985 年由 Carney 及其同事系统分析了 Mayo 诊所登记的 40 例患者的临床资料后提出的,他们认为这一组相对罕见的表现同时发生,提示了独立的一种疾病,因而将这些特征综合起来。对家系的研究发现,CNC 符合孟德尔常染色体显性遗传,进而发现了 17 号染色体长臂 2 区 2 带至 4 带(17q22-24)的 PRKAR1A 基因为造成 CNC 的突变位点。美国国立儿童健康与人类发育研究所(NICHHD)对 387 个 Carney 综合征家系的研究中已发现约 117 种 PRKAR1A 突变,其中无义突变、移码突变和剪接位点突变占大多数。突变通过无义介导的 mR-

NA 降解(NMD)等机制引起 PRKAR1A 单倍剂量不足,或产生有缺陷的蛋白产物而致病^[23]。PRKAR1A 基因编码 c-AMP 依赖性蛋白激酶 A(PKA)的 R I α 调节亚基。PRKAR1A 缺陷导致 PKA 的催化亚单位活性不受限制,最终引起细胞增殖和肿瘤形成。

另外,2 号染色体短臂 1 区 6 带(2p16),以及 PRKACA、PRKACB 基因也被发现与 CNC 相关。近年来对心脏黏液瘤的患者研究发现,围产期肌球蛋白(perinatal myosin)可作为发育开关,编码该蛋白的 MYH8 基因的突变可能潜在地影响 PRKAR1A 基因,从而导致心脏肿瘤^[24]。

文献报道大约 70% 的患者存在家族史,有超过 70% 的 CNC 患者携带 PRKAR1A 基因突变,Horvath 等建立了该基因突变的在线数据库(<http://PRKAR1A.nichd.nih.gov>),然而对于 PRKAR1A 基因突变情况在亚洲 CNC 患者中的作用还知之甚少^[11]。我国 CNC 患者仅 36.1% 完成基因检测,而这些患者均检测出 PRKAR1A 基因突变,68.2% 突变在 HGMD 数据库(<http://www.hgmd.cf.ac.uk>)中尚未报道,70% 突变在 PRKAR1A 突变数据库(<http://PRKAR1A.nichd.nih.gov>)中尚未报道,提示 CNC 基因突变可能存在人种的差异。值得注意的是,其中 1 例患者同时检测出 NF1 和 RECQL4 基因突变。NF1 基因编码神经纤维蛋白,是导致 I 型神经纤维瘤病的基因^[11,25]。RECQL4 属于人类 RECQ 解旋酶家族,广泛参与 DNA 的复制和损伤修复,其与多种肿瘤综合征相关^[26]。因而,NF1、RECQL4 基因突变,或其他基因突变在多大程度上参与了 CNC 的发生发展仍有待商榷。综合文献报道,对 CNC 的认识还很不完善,更多 CNC 患者的基因研究有助于揭示这种肿瘤综合征的全面病因。

3.3 临床表现与诊断 国外学者总结了 CNC 患者的症状、体征及家族史,提出主要和次要临床诊断标准,

随后在其基础上制定如下标准^[22,27]:具备主要标准的任意 2 项,或具备 1 项主要标准和 1 项次要标准即可临床诊断。主要标准包括:(1)典型分布的斑点样皮肤色素沉着(唇、结膜及内外眦、阴道及阴茎黏膜);(2)黏液瘤(皮肤和黏膜)或心脏黏液瘤;(3)乳房黏液瘤变性或脂肪抑制技术 MR 证实该病变;(4)PPNAD 或 Liddle 试验中尿糖皮质激素对地塞米松的反常阳性反应;(5)GH 瘤所致的肢端肥大症;(6)大细胞钙化性 Stertoli 细胞肿瘤(LCSCT)或超声证实睾丸典型钙化灶;(7)甲状腺肿瘤(任何年龄)或青春期前超声发现甲状腺多发性低回声结节;(8)沙砾体样色素性神经鞘膜瘤;(9)蓝痣,多发性上皮蓝痣;(10)多发乳腺导管腺瘤;(11)骨软骨黏液瘤。次要标准:(1)一级亲属确诊为 CNC;(2)PRKAR1A 基因的失活突变;(3)PRKACA 或 PRKACB 的致病性突变。我国病例报道显示,咖啡色色素沉着斑或称雀斑痣(lentiginos)所占比例最大(61.1%),与国外报道基本一致(70%~80%)。肾上腺肿瘤尤其是 PPNAD 占比(41.7%)与国外报道相当(25%~60%),心脏黏液瘤占比(41.7%)略高于国外报道(20%~40%)^[22]。我国 CNC 患者出现症状主要分布在 10~30 岁,然而许多患者确诊的年龄往往更晚,这提示患者如果出现上述症状,同时存在家族史,应当考虑到 CNC 的可能。CNC 尚需要与 Carney 三联征相区别,二者可能会在名称上产生混淆,后者是指胃上皮样平滑肌瘤、肾上腺外功能性副神经节瘤和肺多发错构瘤,食管的平滑肌瘤和肾上腺皮质腺瘤也被作为 Carney 三联征的一部分,并且至少有 2 种肿瘤并存,才能诊断^[28]。另外,CNC 还需与其他 2 种与皮肤色素斑相关的类似遗传综合征相鉴别:(1)Peutz-Jeghers 综合征,在嘴唇和口腔黏膜上也有色素沉着斑点,但同时胃肠道有良性错构瘤性息肉。(2)McCune-Albright 综合征,表现为多发性骨纤维异样增殖、非隆起性皮肤褐色色素沉着斑和外周性早熟,且色素斑通常更大也更深^[27]。必要时,突变基因检测对明确诊断有重要意义。

PPNAD 引起的皮质醇增多症相关临床表现是促使我国 CNC 患者就诊的首要原因之一。PPNAD 的确诊通常有赖于病理诊断。对非 ACTH 依赖的皮质醇增多症而影像学检查双侧肾上腺未见明显肿瘤者,应考虑到 PPNAD 的可能。值得指出的是,诊断 PPNAD 须除外非 ACTH 依赖性大结节样肾上腺增生(AIMAH),后者也是库欣综合征的少见病因,典型 CT 表现为双侧肾上腺显著增大伴多发凸出结节,结节大小不一,肾上腺的正常外形可被大结节破坏,结节呈密度均匀的

软组织密度影^[29]。CNC 还需与先天性肾上腺皮质增生症(CAH)相鉴别,后者是因肾上腺皮质激素合成途径中酶缺陷而引起的常染色体隐性遗传病,其中最常见的类型是 21 羟化酶缺乏(21-OHD),单纯男性化型(SV)的 21-OHD 可表现为假性性早熟,阴茎增大和阴囊色素沉着、阴毛发育,且因为 ACTH 增多而出现不同程度的色素沉着,以皮肤皱褶处明显,但 CAH 与 CNC 有本质的不同,CAH 是肾上腺皮质激素的缺乏,而 CNC 则可发生非 ACTH 依赖的皮质醇增多症^[30]。

心脏黏液瘤作为第二大首发症状,其年龄分布跨度大,起病较为隐匿,当患者出现心悸、胸闷等症状时可能并没有引起足够的注意,有些甚至因晕厥、脑梗死就诊才发现心脏黏液瘤;另一方面,心脏黏液瘤行手术治疗后存在复发的可能性,定期复查心脏超声对这类患者来说至关重要。

3.4 治疗与预后 CNC 的每一种病症或肿瘤均需要单独治疗。对于心脏黏液瘤、PPNAD,手术治疗均是最佳治疗方式。GH 垂体肿瘤可应用生长抑素类似物或手术治疗。对于甲状腺结节,如果怀疑恶性推荐首先进行细针穿刺细胞学检查再进一步治疗。CNC 的临床表现谱在同一患者身上完全呈现出来可能需要经历很多年,密切随访将有助于改善预后,CNC 患者最常见的死因可能与心脏黏液瘤的并发症(如脑梗死、心律失常等)、转移性沙砾体型黑色素性神经鞘瘤、胰腺及其他部位的肿瘤相关^[31],因而推荐对已确诊的患者定期进行心脏超声,头颅、脊髓、胸腹部、腹膜后及骨盆的 MR 检查,必要时可检测 GH、IGF-1、PRL 和尿游离皮质醇(UFC),以及甲状腺超声等^[22]。因此,未来的研究应明确发病机制中更加精确的生化改变,以便更好地预防及治疗 CNC。

参考文献

- [1] Wang L, Wang Q, Zhou Y, et al. Recurrent left atrial myxoma in Carney complex: A case report of a familial pedigree[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(12): e0247. DOI: 10.1097/MD.00000000000010247.
- [2] Li S, Duan L, Wang FD, et al. Carney complex: Two case reports and review of literature[J]. *World J Clin Cases*, 2018, 6(14): 800-806. DOI: 10.12998/wjcc.v6.i14.800.
- [3] Guo H, Xu J, Xiong H, et al. Case studies of two related Chinese patients with Carney complex presenting with extensive cardiac myxomas and PRKAR1A gene mutation of c.491_492delTG[J]. *World J Surg Oncol*, 2015, 13: 83. DOI: 10.1186/s12957-015-0470-4.
- [4] Cai XL, Wu J, Luo YY, et al. A novel mutation of PRKAR1A caused Carney complex in a Chinese patient[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2017, 130(24): 3009-3010. DOI: 10.4103/0366-6999.220309.
- [5] Liu QL, Tong DL, Liu GL, et al. Carney complex with PRKAR1A gene mutation: A case report and literature review[J]. *Medicine*

- (Baltimore), 2017, 96 (50): e8999. DOI: 10. 1097/MD. 0000000000008999.
- [6] Yang B, Ma Y, Hua Y, et al. Teaching NeuroImages: Internal carotid artery stenosis due to myxoma in a patient with Carney complex [J]. *Neurology*, 2018, 91 (9): e884-e885. DOI: 10. 1212/WNL. 0000000000006078.
- [7] Fu J, Lai F, Chen Y, et al. A novel splice site mutation of the PRKAR1A gene, C. 440 +5 G > C, in a Chinese family with Carney complex [J]. *J Endocrinol Invest*, 2018, 41 (8): 909-917. DOI: 10. 1007/s40618-017-0817-5.
- [8] Tung SC, Hwang DY, Yang JW, et al. An unusual presentation of Carney complex with diffuse primary pigmented nodular adrenocortical disease on one adrenal gland and a nonpigmented adrenocortical adenoma and focal primary pigmented nodular adrenocortical disease on the other [J]. *Endocr J*, 2012, 59 (9): 823-830. DOI: 10. 1507/endocrj. ej12-0040.
- [9] Tung SC, Wang PW, Huang TL, et al. Carney complex with primary pigmented nodular adrenocortical disease and bilateral papillary thyroid carcinoma occurring 11 years apart: a case report [J]. *Endocrinologist*, 2005, 15 (4): 243-247. DOI: 10. 1097/01. ten. 0000170845. 50695. 27.
- [10] Huang LT, Tsai YS, Kan CD. Teaching NeuroImages: CRAO and silent brain infarcts caused by cardiac myxomas in Carney complex [J]. *Neurology*, 2019, 92 (3): e286-e287. DOI: 10. 1212/WNL. 0000000000006787.
- [11] Sun Y, Chen X, Sun J, et al. A novel inherited mutation in PRKAR1A abrogates preRNA splicing in a Carney complex family [J]. *Can J Cardiol*, 2015, 31 (11): 1393-1401. DOI: 10. 1016/j. cjca. 2015. 05. 018.
- [12] Ma S, Liu W, Zhang A, et al. Identification of a PRKAR1A mutation (c. 491_492delTG) in familial cardiac myxoma: A case report [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (11): e14866. DOI: 10. 1097/MD. 0000000000014866.
- [13] 顾燕云, 陈瑛, 宋怀东, 等. 一例家族性 Carney 综合征临床及分子生物学研究 [J]. *中华内科杂志*, 2004, 43 (10): 764-768. DOI: 10. 3760/j. issn:0578-1426. 2004. 10. 015.
- [14] 施亚雄, 王巧玲, 杜心清, 等. 家族性 Carney 综合征二例 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 1994, 10 (2): 77.
- [15] 王斌, 钱永祥, 狄冬梅, 等. Carney 综合征伴反复心脏黏液瘤 1 例 [J]. *江苏医药*, 2017, 43 (7): 530-531. DOI: 10. 19460/j. cnki. 0253-3685. 2017. 07. 027.
- [16] 邓文海. Carney 综合征一附一例报告 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [17] 刘国强, 冯凯, 曾正陪. 粘液瘤综合征 (Carney complex) 1 例 [C]. *中华医学会 (Chinese Medical Association) 中华医学会第六次全国内分泌学术会议论文汇编*. 2001: 186-187.
- [18] 柳杨, 孙亮亮, 刘彦玲, 等. Carney 综合征家系的基因突变研究 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2013, 29 (7): 579-583. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1000-6699. 2013. 07. 010.
- [19] 高宇明, 陈广瑜. 浅表性血管黏液瘤与 Carney 综合征的从属性探讨 [J]. *临床外科杂志*, 2007, 15 (2): 143. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-6483. 2007. 02. 037.
- [20] Liu CH, Ge YL, Wu NJ, et al. Hyperglycemia and hypokalemia in a 16-year-old overweight female patient misdiagnosed with Cushing syndrome at first and ultimately diagnosed with Carney complex proven by PRKAR1A gene test: A case report and literature review [J]. *Clin Lab*, 2019, 65 (3). DOI: 10. 7754/Clin. Lab. 2018. 180805.
- [21] Guo H, Xiong H, Li Z, et al. Association of Carney complex with an intronic splice site mutation in the PRKAR1A gene [J]. *Horm Metab Res*, 2016, 48 (6): 384-388. DOI: 10. 1055/s-0041-111700.
- [22] Correa R, Salpea P, Stratakis CA. Carney complex: an update [J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 173 (4): M85-97. DOI: 10. 1530/EJE-15-0209.
- [23] Horvath A, Bertherat J, Groussin L, et al. Mutations and polymorphisms in the gene encoding regulatory subunit type 1- α of protein kinase A (PRKAR1A): an update [J]. *Hum Mutat*, 2010, 31 (4): 369-379. DOI: 10. 1002/humu. 21178.
- [24] Wilkes D, McDermott DA, Basson CT. Clinical phenotypes and molecular genetic mechanisms of Carney complex [J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6 (7): 501-508. DOI: 10. 1016/S1470-2045 (05) 70244-8.
- [25] 张启国. 1 型神经纤维瘤病 NF1 基因突变研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2014.
- [26] 梁乐, 唐超智, 赵哲, 等. RECQL4 与肿瘤发生的关系 [J]. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 2014, 42 (5): 116-124.
- [27] Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: Diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86 (9): 4041-4046. DOI: 10. 1210/jcem. 86. 9. 7903.
- [28] 黄爱红, 孙凯, 张敏. Carney 三联征临床病理分析 1 例 [J]. *诊断病理学杂志*, 2019, 26 (8): 544-545. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-8096. 2019. 08. 020.
- [29] 朱丽颖, 宁光. 促肾上腺皮质激素非依赖性肾上腺大结节样增生的研究进展 [J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2012, 32 (3): 366-370. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2012. 03. 028.
- [30] 罗飞宏. 先天性肾上腺皮质增生症诊断治疗进展 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30 (8): 564-569. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-428X. 2015. 08. 002.
- [31] 李智. 2016 版世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类实践解读 II (非胶质源性肿瘤部分) [J]. *广东医学*, 2017, 38 (2): 165-169. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9448. 2017. 02. 001.

(收稿日期: 2020 - 04 - 08)

儿童骨肉瘤预后因素及列线图的构建

易鹏, 徐雄峰, 姚佳炜, 邱波

基金项目: 湖北省科技支撑计划项目(2015BCA316); 湖北省武汉市科技计划项目(2016060101010045)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院骨关节外科

通信作者: 邱波, E-mail: qbtg163@163.com

【摘要】目的 利用 TARGET 数据库提供的临床信息分析儿童骨肉瘤患者的预后因素, 构建生存预后列线图(Nomogram), 并对其预测准确性进行评估。**方法** 从 TARGET 数据库中获得儿童骨肉瘤患者的原始临床数据共 214 例, 首先通过单因素回归分析确定影响骨肉瘤患者生存预后的相关因素, 删除有相关因素空白或缺失的病例, 获得 101 例儿童骨肉瘤患者临床信息的矩阵, 随机将 101 例患者划分为建模组($n = 73$)和验证组($n = 28$)。并通过多因素 Cox 比例风险回归模型分析影响儿童骨肉瘤患者生存预后的独立危险因素。根据筛选的相关因素构建 Nomogram 图。利用一致性指数和校准图对其预测准确性进行评估。**结果** 患者的性别、人种、原发肿瘤部位、手术方式、转移部位及术前化疗后组织坏死率与生存预后有关($P < 0.1$), 其中, 性别、术前化疗后组织坏死率是影响生存预后的独立危险因素($P < 0.05$)。所有相关危险因素均被用于构建 Nomogram 图。对 Nomogram 图预测价值的评估结果显示, 建模组的一致性指数(C 指数)为 0.768(95% CI 0.721 ~ 0.815), 验证组为 0.727(95% CI 0.648 ~ 0.806), C 指数高于美国癌症联合委员会(AJCC)第六版(0.65)、第七版(0.65), 且校正曲线的预测值与真实值显示出良好的一致性。**结论** 利用 TARGET 数据库构建的 Nomogram 图可为儿童骨肉瘤患者提供快速、准确的预后评估。

【关键词】 骨肉瘤; 儿童; 预后因素; 列线图

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.015

Prognostic factors of osteosarcoma in children and the construction of Nomogram Yi Peng, Xu Xiong-feng, Yao Jia-wei, Qiu Bo. Department of Orthopedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Qiu Bo, E-mail: qbtg163@163.com

Funding program: Hubei Province Science and Technology Support Plan Project (2015BCA316); Hubei Province Wuhan Science and Technology Plan Project (2016060101010045)

【Abstract】Objective To analyze the prognostic factors of children with osteosarcoma and construct a nomogram to predict the long term survival rate by using the clinical information provided by TARGET database, and evaluate the accuracy of the prediction model. **Methods** The children's original clinical data of 214 patients with osteosarcoma was collected from the TARGET database. Firstly, through the single factor regression analysis to determine the related factors influencing the survival outcomes for patients with osteosarcoma, delete the related factors of blank or missing cases and get a matrix of 101 cases of children patients with osteosarcoma of clinical information. The 101 patients were divided into model group (70%) and validation group (30%) and the independent risk factors affecting the survival and prognosis of patients were analyzed by a multivariate cox proportional risk regression model. The Nomogram was constructed according to the selected relevant factors. The accuracy was evaluated using the consistency index (C index) and the calibration curves. **Results** The patient's gender, race, primary tumor site, surgical methods, metastatic sites and the rate of tissue necrosis after preoperative chemotherapy were related to survival prognosis ($P < 0.1$), among which gender and rate of tissue necrosis after preoperative chemotherapy were independent risk factors affecting survival prognosis ($P < 0.05$). All relevant risk factors were used to construct the Nomogram. The results of the evaluation of the predictive value of the Nomogram showed that the consistency index (C index) of the modeling group was 0.768 (95% CI 0.721 - 0.815), and that of the verification group was 0.727 (95% CI 0.648 - 0.806), which was statistically higher than the C index values of the following systems: AJCC 6th edition (0.65) and AJCC 7th edition (0.65). The calibration curves showed a high consistency between the predicted value and the real value. **Conclusion** The constructed Nomogram provides a rapid and accurate prognostic assessment for children with osteosarcoma.

【Key words】 Osteosarcoma; Children; Prognostic factors; Nomogram

骨肉瘤是儿童和年轻人中最常见的原发性恶性骨肿瘤,当前治疗策略包括新辅助化疗、手术切除原发性肿瘤及转移灶,并在手术后增加辅助化疗^[1]。在过去 30 年中,尽管各种大型临床试验通过改变化疗药物或调整化疗剂量来改善预后,骨肉瘤的存活率依然不佳^[2-4],局部性骨肉瘤患者 5 年生存率能达到 65% ~ 70%^[5],而转移性骨肉瘤(最常见于肺实质和骨骼远端)患者的生存率很低,仅为 19% ~ 30%^[6-7]。因此,快速且准确的预后评估对儿童骨肉瘤患者的治疗、随访均具有重要意义。到目前为止,已报道的具有预后意义的因素包括性别、年龄、肿瘤部位、大小、临床分期及对术前化疗的反应等^[8],也有研究报道骨肉瘤患者的婚姻状况、社会经济状况与生存预后相关^[9-10],但是仍没有一个系统完善的评价体系来综合纳入这些因素。近年来,很多研究开发出统计预测模型来针对常见癌症类型进行预后评估,列线图(Nomogram)能整合临床中多种预后危险因素,创建一个简单的统计预测图,生成临床事件的数值概率,将结果可视化地展示出来^[11]。本研究旨在评估儿童骨肉瘤患者常见的危险因素与生存预后之间的关系,并开发出可在诊断时使用的骨肉瘤患者预后评分 Nomogram 图,报道如下。

1 资料与方法

1.1 数据来源

本研究数据来源于由 NCI's Office of Cancer Genomics 和 Cancer Therapy Evaluation Program 管理的 TARGET 数据库(<https://ocg.cancer.gov/programs/TARGET>)。TARGET 数据库采用了全面的分子表征技术,以确定驱动儿童难治癌症起始和进展的遗传变化。TARGET 将生成的数据提供给研究团体,旨在确定治疗目标和预后指标,从而可以开发和应用新颖且更有效的治疗策略。本研究数据为 TARGET 数据库骨肉瘤项目,数据记录中包括患者的生存状态、生存时间、性别、年龄、人种、原发肿瘤部位、方位及手术方式、转移部位、术前化疗后组织坏死率等,获取所有病理学诊断为骨肉瘤的临床数据共 214 例,去除含有缺失数据的病例,共 101 例患者被纳入本研究,其中 73 例(72.3%)被随机分为建模组,28 例(27.7%)则被分为验证组。

1.2 观察指标

1.2.1 生存状态及生存时间:

以疾病确诊至最后随访的日期记作总体生存时间,以天为单位。

1.2.2 可能影响骨肉瘤患者生存预后的相关因素:

人口学特征,如性别、年龄、种族、人种;病情特点,原发肿瘤部位、远近及方位,转移部位;治疗情况,手术方式、术前化疗后组织坏死率。

1.3 统计学方法

使用 R 软件 3.6.2 版本进行统计分析,安装并加载“caret、rms、foreign、survival”等软件包,将所有纳入研究的病例随机分为建模组和验证组,采用单因素回归分析对所有可能影响骨肉瘤患者生存预后的因素进行筛选,找出相关因素($P < 0.1$),多因素 Cox 比例风险回归模型分析用于确定建模组数据的独立危险因素,根据相关因素构建 Nomogram 图,采用一致性指数和校准图在建模组和验证组中进行内部验证与外部验证,评价预测模型的准确性。一致性指数即 C 指数的范围在 0.5 ~ 1.0 之间,C 指数越大,代表 Nomogram 图预测价值越高。理想的校正曲线中,预测值与真实值一致性良好,曲线越靠近 45° 理想曲线。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素回归分析

对所有可能影响儿童骨肉瘤患者的预后因素分别进行单因素回归分析,结果显示,除年龄、原发肿瘤位置及方位外,性别、人种(黑人或美籍非裔,美洲印地安人或阿拉斯加原住民)、原发肿瘤部位(上肢,下肢)、手术方式(截肢,保肢)、转移部位及术前化疗后组织坏死率均与骨肉瘤患者的生存预后有关($P < 0.1$),见表 1。

表 1 影响儿童骨肉瘤预后的单因素回归分析 ($\bar{x} \pm s$)

影响因素	HR	95% CI	P 值
年龄(<18 岁)			
≥18 岁	0.751	0.425 ~ 1.326	0.323
性别(女)			
男	1.603	0.985 ~ 2.610	0.057
人种(黑人或美籍非裔)			
亚洲人	1.730	0.669 ~ 4.476	0.258
白种人	1.752	0.741 ~ 4.143	0.201
美洲印地安人或阿拉斯加原住民	5.511	1.546 ~ 19.648	0.009
原发肿瘤部位(上肢)			
下肢	0.439	0.247 ~ 0.781	0.005
轴向	0.678	0.246 ~ 1.866	0.452
原发肿瘤的位置(远端)			
近端	1.202	0.702 ~ 2.058	0.502
原发肿瘤的方位(左侧)			
右侧	1.317	0.778 ~ 2.229	0.305
手术方式(截肢)			
保肢	0.511	0.255 ~ 1.022	0.058
转移部位(未转移)			
仅肺	2.888	1.748 ~ 4.770	<0.001
仅骨	2.108	0.832 ~ 5.339	0.116
肺和骨	7.154	2.140 ~ 23.919	0.001
术前化疗后组织坏死率(<90%)			
≥90%	0.406	0.216 ~ 0.761	0.005

注:括号内为对照

2.2 多因素回归分析

根据单因素分析结果,进一步

进行多因素 Cox 比例风险回归分析,纳入因素包括性别、人种、转移部位、原发肿瘤部位、手术方式及术前化疗后组织坏死率。患者的性别、术前化疗后组织坏死率是影响生存预后的独立危险因素($P < 0.05$)。男性与女性的风险比为 2.941 ($P = 0.024$);术前化疗后组织坏死率 $\geq 90\%$ 与坏死率 $< 90\%$ 的风险比为 0.203 ($P = 0.002$),见表 2。

表 2 影响儿童骨肉瘤预后的多因素 Cox 比例风险回归分析

影响因素	HR	95% CI	P 值
性别(女)			
男	2.941	1.151 ~ 7.511	0.024
人种(黑人或美籍非裔)			
亚洲人	2.368	0.350 ~ 16.003	0.376
白人	1.709	0.278 ~ 10.502	0.563
转移部位(未转移)			
仅肺转移	2.620	0.981 ~ 6.998	0.055
仅骨转移	1.863	0.324 ~ 10.715	0.486
原发肿瘤部位(上肢)			
下肢	0.231	0.049 ~ 1.100	0.066
轴向	5.600	0.529 ~ 59.249	0.152
手术方式(截肢)			
保肢	0.971	0.317 ~ 2.972	0.958
术前化疗后组织坏死率($< 90\%$)			
$\geq 90\%$	0.203	0.074 ~ 0.554	0.002

注:括号内为对照

2.3 构建儿童骨肉瘤患者生存预后的 Nomogram 图
 将基于 Cox 回归分析的相关因素纳入 Nomogram 图中,包括患者的性别、人种、转移部位、原发肿瘤部位、手术方式及术前化疗后组织坏死率($P < 0.1$),其可对儿童骨肉瘤患者的 3 年及 5 年总生存率作出预测,见图 1。

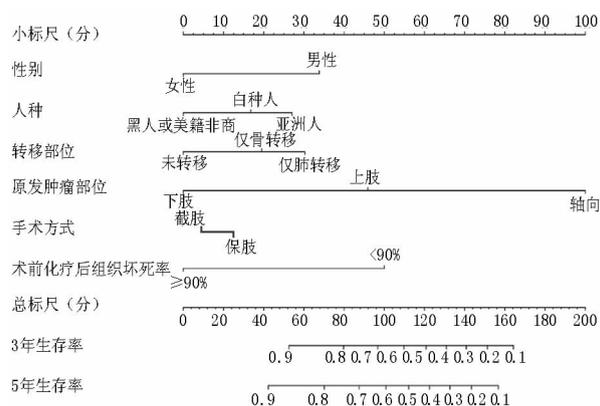


图 1 儿童骨肉瘤患者生存预后 Nomogram 图

2.4 Nomogram 图的验证 建模组的 C 指数为 0.768 (95% CI 0.721 ~ 0.815),验证组为 0.727 (95% CI

0.648 ~ 0.806),C 指数值显著高于:美国癌症联合委员会(AJCC)第七版(0.65)、第六版(0.65)^[12]。3 年和 5 年总生存率的校准图显示预测值与真实值一致性良好,2 组的校正图均接近理想的 45° 曲线,见图 2。

3 讨论

本研究通过对儿童骨肉瘤患者的临床数据进行分析,旨在寻找影响患者生存预后的危险因素,并构建具有良好预测价值的 Nomogram 图,单因素回归分析结果显示,患者的性别、人种、原发肿瘤部位、手术方式、转移部位及术前化疗后组织坏死率为生存率的影响因素。其中,性别、术前化疗后组织坏死率是影响儿童骨肉瘤患者生存预后的独立危险因素,人种与手术方式在多因素 Cox 比例风险回归分析结果中无统计学意义。(1) 性别:本研究将患者的性别与生存时间、生存状态进行单因素回归分析,结果发现性别与预后相关($P = 0.057$),多因素分析结果进一步表明性别为影响预后的独立危险因素($HR = 2.941, 95\% CI = 1.151 \sim 7.511, P = 0.024$)。与以往许多研究结果均一致,Xing 等^[13]的研究表示,在年龄较小的骨肉瘤患者中,女性患者的预后更好;Whelan 等^[14]对 1 067 例局部肢端性骨肉瘤患者进行随机对照试验,结果显示女性的 5 年总生存率为 61%,而男性为 53%。另外,Lim 等^[15]在一项关于骨肉瘤患者并发骨质疏松症的研究中发现,骨肉瘤患者在长期生存期中,男性患儿比女性有更高的骨质疏松症患病率,这或许是男性患儿预后不良的原因之一。(2) 转移部位:关于肿瘤转移及转移部位对骨肉瘤患者生存预后的影响,国内外观点一致,即发生转移,则预后越差^[16-18]。骨肉瘤作为一种最常见的影响儿童、青少年的恶性骨肿瘤,有 15% ~ 20% 的患者在就诊时具有临床可检测的转移灶。肺部是最常见的转移部位,占比超过 85%。单因素和多因素回归分析结果分别显示,肺转移 HR 分别为 2.888 ($P < 0.001$) 和 2.620 ($P = 0.055$),与以往研究结果一致^[8],而骨转移分析结果无统计学意义($P > 0.05$),可能因病例数量过少,实际上发生孤立性骨转移的患者非常少见,因为骨转移通常是多转移性疾病的表现。所谓的多中心或多灶性骨肉瘤是一种特殊且罕见的疾病,其特征是在诊断时多个骨骼病变同时或顺序发生,而没有肺或其他内脏受累,文献报道发病率为 1% ~ 4%^[16]。(3) 原发肿瘤部位:过去研究在将肿瘤的解剖位置作为预后因素来考虑时,大多将其分为轴向(骨盆、脊柱和肋骨)或四肢(上、下肢的长骨和短骨),且结果均提示轴向部位的骨肉瘤预后较四肢差,可能因轴向部位的肿瘤比四肢更容易转移^[19-20]。本研究中

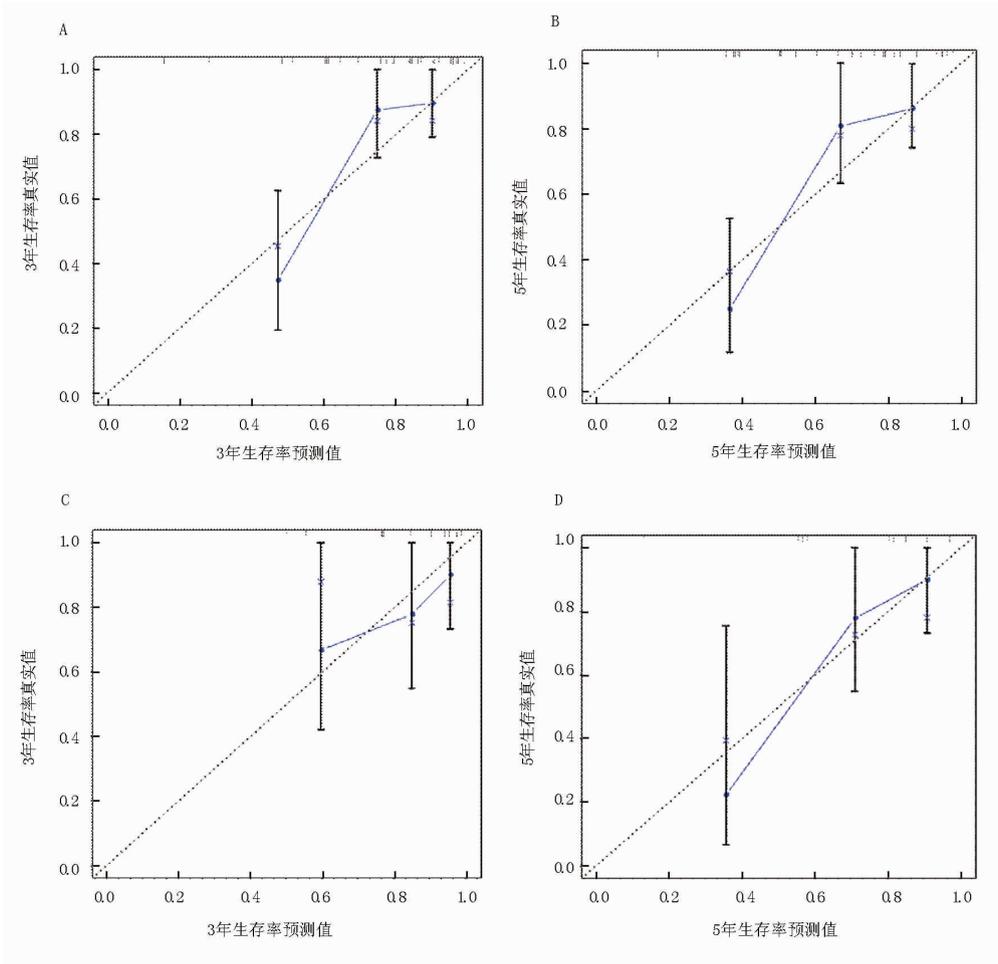


图 2 Nomogram 图预测儿童骨肉瘤患者 3、5 年总生存率的校正曲线(A、B. 建模组,C、D. 验证组)

轴向部位骨肉瘤病例数据过少,单因素分析与多因素分析均显示轴向或四肢部位发生骨肉瘤的风险比差异无统计学意义($P > 0.05$),因此将四肢分为上肢与下肢进行研究,单因素分析结果显示,上肢部位骨肉瘤预后较下肢差($HR = 0.439, 95\% CI 0.247 \sim 0.781, P = 0.005$)。多因素分析再次证实了该结果($HR = 0.231, 95\% CI 0.049 \sim 1.100, P = 0.066$)。过去少有关于上、下肢在骨肉瘤患者预后中的研究,该差异是否有意义且能对预后作出指导值得进一步研究。(4)术前化疗后组织坏死率:单因素分析结果显示,化疗后组织坏死率 $< 90\%$ 的患者生存率明显大于组织坏死率 $\geq 90\%$ 的患者,多因素分析结果进一步表明,化疗后组织坏死率为影响预后的独立危险因素($HR = 0.203, 95\% CI 0.074 \sim 0.554, P = 0.002$),组织坏死率是肿瘤对于术前化疗的组织学反应,国内外大量研究报道认为其是骨肉瘤患者最重要的预后因素^[21-23],在过去的 40 年中,骨肉瘤患者的生存结果有了显著改善,在很大程度上是由于术前化疗的引入,它可以治疗可能发生的微小转移并确保肿瘤缩小,从而促进了肿瘤的手术切

除^[24]。虽然近年来关于骨肉瘤患者生存预后的研究越来越深入,确定的预后因素越来越多,但肿瘤组织学反应仍然是评价骨肉瘤患者治疗及预后的重要指标。

然而,本研究存在一定的局限性,首先,本研究数据来源于儿童肿瘤数据库(TARGET 数据库),病例信息均来自青少年与儿童患者,将年龄作单因素分析时为了未成年组(< 18 岁)和成年组(≥ 18 岁),风险比差异无统计学意义。因此该 Nomogram 图的应用仅限于儿童骨肉瘤患者。其次,辅助化疗治疗骨肉瘤的价值已得到公认,化疗方案无疑对骨肉瘤患者的预后具有重要作用,但 TARGET 数据库未提供患者化疗情况,因此该因素未被纳入研究。

综上所述,本研究构建的 Nomogram 图虽存在一定的局限性,但基本纳入了大多数对骨肉瘤患者预后具有重要意义风险因素,且在建模组与验证组中一致性指数均较高,校正曲线一致性良好。可为临床提供可视化的预测工具,帮助临床医师快速、准确地对儿童骨肉瘤患者的生存预后作出评估,从而更好地指导后续治疗。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

易鹏:提出研究思路,实施研究过程,论文撰写;徐雄峰:资料搜集整理,论文修改;姚佳炜:进行统计学分析;邱波:设计研究方案,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Isakoff MS, Bielack SS, Meltzer P, et al. Osteosarcoma: Current treatment and a collaborative pathway to success[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(27):3029-3035. DOI:10.1200/JCO.2014.59.4895.
- [2] Marina NM, Smeland S, Bielack SS, et al. Comparison of MAPIE versus MAP in patients with a poor response to preoperative chemotherapy for newly diagnosed high-grade osteosarcoma (EURAMOS-1): an open-label, international, randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(10):1396-1408. DOI:10.1016/S1470-2045(16)30214-5.
- [3] Martin-Broto J, Redondo A, Valverde C, et al. Gemcitabine plus sirolimus for relapsed and progressing osteosarcoma patients after standard chemotherapy: A multicenter, single-arm phase II trial of Spanish Group for Research on Sarcoma (GEIS) [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(12):2994-2999. DOI:10.1093/annonc/mdx536.
- [4] Bishop MW, Janeway KA, Gorlick R. Future directions in the treatment of osteosarcoma[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2016, 28(1):26-33. DOI:10.1097/MOP.0000000000000298.
- [5] Meyers PA, Schwartz CL, Krailo M, et al. Osteosarcoma: A randomized, prospective trial of the addition of ifosfamide and/or muramyl tripeptide to cisplatin, doxorubicin, and high-dose methotrexate[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(9):2004-2011. DOI:10.1200/JCO.2005.06.031.
- [6] Meyers PA, Heller G, Healey JH, et al. Osteogenic sarcoma with clinically detectable metastasis at initial presentation[J]. *J Clin Oncol*, 1993, 11(3):449-453. DOI:10.1200/JCO.1993.11.3.449.
- [7] Kager L, Zoubek A, Potechger U, et al. Primary metastatic osteosarcoma: presentation and outcome of patients treated on neoadjuvant Cooperative Osteosarcoma Study Group protocols [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(10):2011-2018. DOI:10.1200/JCO.2003.08.132.
- [8] Bielack SS, Kempf-Bielack B, Delling G, et al. Prognostic factors in high-grade osteosarcoma of the extremities or trunk: An analysis of 1,702 patients treated on neoadjuvant cooperative osteosarcoma study group protocols[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(3):776-790. DOI:10.1200/JCO.2002.20.3.776.
- [9] Qiu S, Tao L, Zhu Y. Marital status and survival in osteosarcoma patients: An analysis of the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) database[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:8190-8203. DOI:10.12659/MSM.918048.
- [10] Nathan SS, Healey JH. Making a case for the socioeconomic determinacy of survival in osteosarcoma[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2013, 471(3):784-791. DOI:10.1007/s11999-012-2575-1.
- [11] Iasonos A, Schrag D, Raj GV, et al. How to build and interpret a nomogram for cancer prognosis[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(8):1364-1370. DOI:10.1200/JCO.2007.12.9791.
- [12] Wang Y, Li J, Xia Y, et al. Prognostic nomogram for intrahepatic cholangiocarcinoma after partial hepatectomy [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(9):1188-1195. DOI:10.1200/JCO.2012.41.5984.
- [13] Xing D, Qasem SA, Owusu K, et al. Changing prognostic factors in osteosarcoma: analysis of 381 cases from two institutions[J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(8):1688-1696. DOI:10.1016/j.humpath.2014.04.010.
- [14] Whelan JS, Jinks RC, McTiernan A, et al. Survival from high-grade localised extremity osteosarcoma: combined results and prognostic factors from three European Osteosarcoma Intergroup randomised controlled trials[J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(6):1607-1616. DOI:10.1093/annonc/mdr491.
- [15] Lim JS, Kim DH, Lee JA, et al. Young age at diagnosis, male sex, and decreased lean mass are risk factors of osteoporosis in long-term survivors of osteosarcoma[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2013, 35(1):54-60. DOI:10.1097/MPH.0b013e318275193b.
- [16] Meazza C, Scanagatta P. Metastatic osteosarcoma: A challenging multidisciplinary treatment[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2016, 16(5):543-556. DOI:10.1586/14737140.2016.1168697.
- [17] Kager L, Zoubek A, Potechger U, et al. Primary metastatic osteosarcoma: presentation and outcome of patients treated on neoadjuvant Cooperative Osteosarcoma Study Group protocols [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(10):2011-2018. DOI:10.1200/JCO.2003.08.132.
- [18] Yasin NF, Abdul RM, Ajit SV. Survival analysis of osteosarcoma patients: A 15-year experience[J]. *J Orthop Surg (Hong Kong)*, 2020, 28(1):615556950. DOI:10.1177/2309499019896662.
- [19] Duchman KR, Gao Y, Miller BJ. Prognostic factors for survival in patients with high-grade osteosarcoma using the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program database[J]. *Cancer Epidemiol*, 2015, 39(4):593-599. DOI:10.1016/j.canep.2015.05.001.
- [20] Pan Y, Chen D, Hu T, et al. Characteristics and prognostic factors of patients with osteosarcoma older than 60 years from the SEER database[J]. *Cancer Control*, 2019, 26(1):1147324157. DOI:10.1177/1073274819888893.
- [21] Harting MT, Lally KP, Andrassy RJ, et al. Age as a prognostic factor for patients with osteosarcoma: an analysis of 438 patients[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(4):561-570. DOI:10.1007/s00432-009-0690-5.
- [22] Miwa S, Takeuchi A, Ikeda H, et al. Prognostic value of histological response to chemotherapy in osteosarcoma patients receiving tumor-bearing frozen autograft [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e71362. DOI:10.1371/journal.pone.0071362.
- [23] Min D, Lin F, Shen Z, et al. Analysis of prognostic factors in 333 Chinese patients with high-grade osteosarcoma treated by multidisciplinary combined therapy[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2013, 9(1):71-79. DOI:10.1111/j.1743-7563.2012.01560.x.
- [24] Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program[J]. *Cancer*, 2009, 115(7):1531-1543. DOI:10.1002/cncr.24121.

(收稿日期:2020-03-10)

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者不同纤维支气管镜插管方法的临床效果观察

张丽伟,董文泽,贾倩倩,杨晓春,孙海军,刘莉

基金项目: 秦皇岛市科技计划资助项目(201805A035)

作者单位: 066000 河北省秦皇岛市第一医院麻醉科

通信作者: 张丽伟, E-mail: 20316513@qq.com

【摘要】目的 观察利多卡因雾化吸入表面麻醉联合舒芬太尼、右美托咪啶清醒镇静下行纤支镜插管在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者困难插管中的临床效果。**方法** 选择 2018 年 12 月—2019 年 11 月于河北省秦皇岛市第一医院经多导睡眠监测仪确诊为阻塞性睡眠呼吸暂停综合征,拟行手术治疗的患者 60 例,随机数字表法分为 2 组,各 30 例。观察组采用利多卡因雾化吸入法表麻联合舒芬太尼、右美托咪啶清醒镇静状态下下行纤支镜插管;对照组采用达克罗宁胶浆含漱并涂抹气管导管下端,联合舒芬太尼、右美托咪啶清醒镇静状态下下行纤支镜插管。记录入室后 5 分钟(T_0)、插管前(T_1)、插管后 1 min(T_2)及 5 min(T_3),拔除气管插管前(T_4)、后 5 min(T_5)的 SBP、DBP、HR、 SpO_2 。分别于 T_0 、 T_2 、 T_4 时,抽取动脉血测定 pH、 PaO_2 、 $PaCO_2$ 。记录插管时间、一次插管成功率及有无呛咳、喉痉挛的发生。**结果** 观察组 SBP、DBP、HR 于 T_2 时与对照组比较均明显下降($P < 0.05$),观察组 SBP、DBP、HR 于 T_4 时与对照组比较均明显升高($P < 0.05$)。观察组 SpO_2 在 T_1 时明显高于对照组($P < 0.05$)。观察组于 T_0 、 T_2 时 PaO_2 明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组插管时间明显短于对照组($P < 0.01$);观察组的呛咳反应发生率明显低于对照组(6.6% vs. 16.7%, $P < 0.05$)。**结论** 利多卡因雾化吸入表面麻醉联合舒芬太尼、右美托咪啶镇静用于阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者纤支镜插管时间短,供氧充分,能够减轻插管时患者的心血管反应。

【关键词】 纤维支气管镜;气管插管;阻塞性睡眠呼吸暂停;困难插管

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.016

Clinical effect of different fiberoptic bronchoscopy intubation methods in patients with obstructive sleep apnea syndrome Zhang Liwei, Dong Wenzhe, Jia Qianqian, Yang Xiaochun, Sun Haijun, Liu Li. Department of Anesthesiology, the First Hospital of Qinhuangdao City, Hebei Province, Qinhuangdao 066000, China

Corresponding author: Zhang Liwei, E-mail: 20316513@qq.com

Funding program: Qinhuangdao Science and Technology Program (201805A035)

【Abstract】 Objective To observe the clinical effect of lidocaine aerosol inhalation combined with sufentanil and dexmedetomidine in difficult intubation of patients with obstructive sleep apnea syndrome in ENT department. **Methods** From December 2018 to November 2019, 60 patients with obstructive sleep apnea syndrome diagnosed by polysomnography in Department of Otorhinolaryngology, Qinhuangdao first hospital, Hebei Province were selected and randomly divided into two groups. The observation group was given lidocaine atomization inhalation combined with sufentanil and dexmedetomidine under conscious sedation, while the control group was given dacroinine mucilage gargling and smearing the lower end of the endotracheal tube, combined with sufentanil and dexmedetomidine under conscious sedation. SBP, DBP, HR and SpO_2 were recorded at 5 minutes (T_0), before intubation (T_1), 1 minute (T_2) and 5 minutes (T_3) after tracheal intubation, and before extubation (T_4) and 5 minutes after tracheal intubation (T_5). At T_0 , T_2 and T_4 , arterial blood was drawn to determine pH, PaO_2 and $PaCO_2$. The intubation time, the success rate of intubation and the occurrence of choking and laryngospasm were recorded. **Methods** Compared with control group, SBP, DBP, HR in the observation group was significantly lower at T_2 ($P < 0.05$), while those parameters washigher at T_4 ($P < 0.05$). SpO_2 in the observation group was significantly higher than that in the control group at T_1 ($P < 0.05$). PaO_2 in the observation group was significantly higher than that in the control group at T_0 and T_2 ($P < 0.05$). The intubation time of the observation group was significantly shorter than that of the control group ($P <$

0.01); the incidence of cough reaction in the observation group was significantly lower than that in the control group (6.6% vs. 16.7%, $P < 0.05$). **Conclusion** Lidocaine aerosol inhalation combined with sufentanil and dexmedetomidine for sedation in patients with obstructive sleep apnea syndrome has short intubation time and sufficient oxygen supply, which can reduce the cardiovascular response of patients during intubation.

【Key words】 Fiberoptic bronchoscopy; Endotracheal intubation; Obstructive sleep apnea; Difficult intubation

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 (obstructive sleep apnea and hyperpnoea syndrome, OSAHS) 又称鼾症, 患者常伴有不同程度的上呼吸道梗阻而导致睡眠时打鼾、憋气、呼吸暂停发作。阻塞性睡眠呼吸暂停综合征手术患者困难气道多见, 全麻诱导时易发生气道梗阻, 为保障患者安全, 经表面麻醉后行清醒插管是常用的插管方法^[1-3]。但此种方法插管成功率较低, 若患者不配合容易造成插管困难, 成为紧急气道, 将威胁患者的生命安全。纤维支气管镜 (简称纤支镜) 可以直视下由口腔或鼻腔进入气管直至各支气管段口, 镜身可以左右旋转, 镜头尖端可以上下 90 度弯曲。目前国内各大医院均把纤支镜应用于困难气道患者的气管插管, 取得了很好的效果, 保障了患者的安全^[4-6]。本研究探讨利多卡因雾化吸入表面麻醉联合舒芬太尼、右美托咪啶镇静用于阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者气管插管的安全性和可行性, 为临床麻醉工作提供参考依据, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2018 年 12 月—2019 年 11 月于河北省秦皇岛市第一医院耳鼻喉科经多导睡眠监测仪确诊为阻塞性睡眠呼吸暂停综合征, 拟行手术患者 60 例, 其中男 46 例, 女 14 例。60 例患者随机数字表法分为观察组和对照组, 每组 30 例。对照组男 24 例, 女 6 例, 年龄 (43.2 ± 2.8) 岁; BMI (34.6 ± 0.3) kg/m²; 其中行 UPPP 术 12 例, 行扁桃体切除术 13 例, 行鼻腔成形术 5 例。观察组男 22 例, 女 8 例, 年龄 (42.6 ± 3.6) 岁; BMI (33.6 ± 0.7) kg/m²; 其中行 UPPP 术 10 例, 行扁桃体切除术 13 例, 行鼻腔成形术 7 例。2 组患者性别、年龄、BMI、手术类型等情况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通过, 所有患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1) 纳入标准: 年龄 26 ~ 68 岁, ASA I ~ II 级, Mallampati 分级 II ~ IV 级, 均符合阻塞性睡眠呼吸暂停综合征诊断。(2) 排除标准: 严重心、肺、脑功能失代偿者; 严重高血压、糖尿病; 胃食管反流病史; 严重心律失常、房室传导阻滞; 有全身麻醉禁忌证患者。

1.3 麻醉方法 患者均经术前评估, 预计存在困难气道, 为保障患者的安全, 患者均于清醒镇静状态下经纤支镜引导行经口气管插管, 插管前保留自主呼吸。所有患者术前常规禁食水, 观察组患者入室前 15 min 予以 2% 利多卡因 (上海禾丰公司生产) 10 ml 加入雾化器 (常州百瑞医疗科技公司生产) 中, 接氧气为动力, 鼓励患者尽量深吸气以使利多卡因气雾尽可能到达各级支气管, 雾化吸入至药物用完, 纤支镜及气管导管下端用无菌石蜡油均匀涂抹; 对照组患者入室前 15 min 予以 1% 达克罗宁胶浆 (江苏扬子江药业集团有限公司生产) 8 ml 含漱, 1 min 后吐出, 并于纤支镜和气管插管前 1/3 表面均匀涂抹 1% 达克罗宁胶浆 2 ml。2 组患者所用气管插管为加强型气管插管。患者入手术室, 建立外周静脉通路, 使用 Mindray-BeneView T5 监护仪监测心率 (HR)、心电图 (ECG)、无创袖带血压 (NIBP)、血氧饱和度 (SpO₂), 同时面罩吸氧 5 min, 流量 2.5 L/min。所有患者采用头高斜坡位, 即保持外耳道水平与胸骨切迹水平齐平, 上肢远离胸廓, 以尽量保持气道通畅。所有患者均静脉泵入负荷剂量的右美托咪啶 (江苏新晨医药有限公司生产) 0.5 μg/kg, 设定 10 min 泵注完毕, 之后静注舒芬太尼 (宜昌人福药业生产) 0.2 μg/kg。2 组患者均于清醒镇静状态下完成纤支镜引导经口气管插管, 所用纤支镜为珠海 MDHAO 医疗技术有限公司生产, 外径为 3.8 mm。待患者 Ramsay 评分 4 分即行气管插管。插管时先放入牙垫于左口角, 纤支镜进入口咽, 前行至会厌下方找到声门, 此时由助手经纤支镜活检孔注入 2% 利多卡因 2 ml 滴注麻醉, 防止声门过度活跃。嘱患者深吸气后顺势把纤支镜插入气管中段, 随即将气管导管插入气管内, 退出纤支镜。插管成功后立即静脉注射咪唑安定 (江苏恩华药业生产) 0.05 mg/kg, 依托咪酯 0.4 mg/kg, 顺式阿曲库铵 0.15 mg/kg, 舒芬太尼 0.3 μg/kg, 打开七氟醚, 行静吸复合加深麻醉。插管期间保持 SpO₂ 92% 以上, 若 SpO₂ < 92%, 则退出纤支镜, 面罩加压给氧, 待 SpO₂ 上升至 98% 以上再重新插管, 若插管超过 2 min 或 3 次插管均不成功则判为插管失败。

1.4 观察指标与方法: (1) 生命体征: 分别记录入室后 5 min (T₀)、插管前 (T₁)、插管后 1 min (T₂) 及 5

min(T_3), 拔除气管插管前(T_4)、后 5 min(T_5)时收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、心率(HR)、血氧饱和度(SpO_2)。(2)血气分析:分别于 T_0 、 T_2 、 T_4 时,抽取动脉血用美国 GEM Premier 3500 血气分析仪测定 pH、 PaO_2 、 $PaCO_2$, 所用试剂盒规格均为 BG/LYTES/GL 600。(3)麻醉情况:记录插管时间(自插管开始计时,至确认插管成功结束的时间),一次插管成功率。记录插管期间患者是否呛咳,有无喉痉挛发生。(4)术后随访:术后 2 h 随访患者对插管过程有无记忆,检查患者口腔黏膜有无损伤,询问患者有无术中知晓。为避免误差,所有操作均由同一位高年资并且技术熟练的麻醉医师来完成,数据采集、术后随访均由对本研究不知情的麻醉医生来完成。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析处理。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用重复测量方差分析,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 组患者不同时点生命体征比较 与 T_0 比较,2 组 SBP、DBP、HR 于 T_1 时均明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$),在 T_2 时明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),至 T_3 呈下降趋势,于 T_4 时明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),至 T_5 时,与 T_0 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 T_0 比较,观察组 SpO_2 在 $T_1 \sim T_5$ 时均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);对照组于 T_1 时明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),在 $T_2 \sim T_5$ 时均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2 组间比较,观察组 SBP、DBP、HR 于 T_2 时与对照组比较均明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),观察组 SBP、DBP、HR 于 T_4 时与对照组比较均明显升

高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组 SpO_2 在 T_1 时明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各时点比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 2 组患者不同时点血气分析指标比较 血气分析结果显示,2 组各时点 pH 值无显著变化,差异无统计学意义($P > 0.05$);2 组 PaO_2 均呈先降低再升高趋势($P < 0.01$),且观察组 PaO_2 于 T_0 、 T_2 时明显高于对照组($P < 0.05$),而 T_4 时差异无统计学意义($P > 0.05$);2 组 $PaCO_2$ 均呈先降低再升高变化趋势,但 2 组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 2 组患者不同时点血气分析指标变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	pH	PaO_2 (mmHg)	$PaCO_2$ (mmHg)
对照组 (n=30)	T_0	7.39 ± 0.23	100.6 ± 11.6	40.2 ± 2.6
	T_2	7.38 ± 0.25	112.5 ± 14.6	30.2 ± 3.8
	T_4	7.39 ± 0.15	232.5 ± 14.6	38.2 ± 4.2
观察组 (n=30)	T_0	7.36 ± 0.28	138.6 ± 12.5 ^a	41.5 ± 3.4
	T_2	7.37 ± 0.56	142.7 ± 14.6 ^a	31.4 ± 4.6
	T_4	7.40 ± 0.46	284.5 ± 24.6	39.2 ± 4.8
F/P 对照组内值		1.566/0.714	15.127/0.000	6.255/0.034
F/P 观察组内值		1.459/0.810	16.287/0.000	5.154/0.022

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$

2.3 2 组患者麻醉插管情况比较 观察组插管时间明显短于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);观察组的呛咳反应发生率(6.6%)明显低于对照组(16.7%),差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组插管过程中纤支镜寻找声门时发生喉痉挛 2 例,立即退出纤支镜,经面罩吸氧,嘱患者深吸气后缓解,再次插管成功。观察组一次插管成功率明显高于对照组($P < 0.05$),喉痉挛发生率明显低于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 组患者均未发生术中知晓和黏膜损伤,见表 3。

表 1 2 组患者不同时点 SBP、DBP、 SpO_2 、HR 变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	指标	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	t/P 值
对照组 (n=30)	SBP	126.3 ± 4.8	102.4 ± 4.3	169.7 ± 7.5	110.7 ± 6.6	126.7 ± 7.3	124.6 ± 4.8	15.24/0.000
	DBP	70.4 ± 8.6	61.4 ± 0.6	99.3 ± 2.6	67.6 ± 5.7	75.4 ± 2.2	77.3 ± 0.3	20.15/0.000
	HR	86.6 ± 2.6	72.2 ± 3.9	99.5 ± 7.8	60.4 ± 6.8	70.6 ± 9.9	88.8 ± 3.2	25.25/0.000
	SpO_2	97.3 ± 1.4	95.5 ± 0.4	98.2 ± 0.5	99.8 ± 0.1	99.7 ± 0.3	99.7 ± 0.3	34.28/0.000
观察组 (n=30)	SBP	122.6 ± 5.7	100.6 ± 5.2	146.7 ± 6.6 ^a	112.5 ± 4.6	140.8 ± 6.2	126.2 ± 2.6	19.30/0.000
	DBP	72.4 ± 6.2	62.3 ± 4.7	89.2 ± 4.8 ^a	66.7 ± 6.8	95.6 ± 0.3 ^a	75.4 ± 0.6	40.33/0.000
	HR	85.8 ± 4.6	70.2 ± 4.8	89.6 ± 6.2 ^a	62.6 ± 4.7	100.5 ± 8.3 ^a	86.7 ± 2.3	28.84/0.000
	SpO_2	97.2 ± 1.5	99.2 ± 0.8 ^a	99.6 ± 0.4	99.8 ± 0.2	98.4 ± 0.3 ^a	99.7 ± 0.3	18.56/0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$

表 3 2 组患者麻醉插管情况比较 [例(%)]

组别	例数	插管时间(s)	一次插管成功率	呛咳反应	喉痉挛
对照组	30	41.6 ± 2.7	25(93.3)	5(16.7)	2(6.7)
观察组	30	35.2 ± 5.6	30(100)	2(6.6)	0
$t/\chi^2/P$ 值		5.639/ <0.001	5.455/0.020	4.050/0.022	0.069/0.150

2.5 2 组患者不良反应比较 2 组患者均顺利完成手术,术后 2 h 随访患者对插管过程均无记忆,围术期未发生低氧血症等严重不良反应,患者均对麻醉过程表示满意。

3 讨论

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者多合并肥胖、扁桃体肥大、颈短等解剖异常,全麻若常规给予镇静镇痛肌松药物诱导后容易导致舌根后移及咽喉软组织松弛,从而造成上呼吸道的梗阻,导致患者低氧血症的发生,严重的低氧血症是麻醉患者死亡的常见原因^[7-10]。因此,术前评估为困难气道的患者,气道管理预案很关键。目前一般选择清醒气管插管,保留自主呼吸,选择清醒镇静表面麻醉,防止可预计困难气道变成急症气道。纤支镜引导清醒插管因直接刺激患者咽喉部神经,容易引起呛咳和应激反应,静脉辅助适当镇静镇痛药物虽然可减轻患者的不适,但仍然会发生呛咳、屏气等不良反应,使插管成功率降低^[11-13]。完善的咽喉及气管的表面麻醉是保证清醒镇静状态下气管插管成功的关键。镇静的理想状态是患者处于镇静、镇痛、遗忘状态,同时又能被唤醒、安静配合的状态。目前通常选用右美托咪啶、咪唑安定等静脉麻醉药物^[2]。

利多卡因是目前临床麻醉应用最多的酰胺类局麻药,起效快、弥散力强、局部麻醉效果较强、安全范围大,从局部消除约需 2 h。孟红霞等^[3]研究发现利多卡因超声雾化产生的雾粒直径小于 5 μm ,患者深吸时可进入各级支气管及肺泡,然后经鼻呼出,这一过程,使得药液与鼻、咽喉、气管及支气管黏膜广泛接触,能够减少气管镜检查时纤支镜通过声门及气道时因刺激引起声门关闭、气道痉挛及其他不良反应。刘扬等^[4]研究发现利多卡因雾化吸入明显降低 ICU 患者非紧急气管插管后血压波动及呛咳反应的发生率。这些研究均表明利多卡因雾化吸入能减轻纤支镜经声门进入主气管的应激反应^[14-16]。本研究中除利多卡因雾化吸入表面麻醉外,并且联合舒芬太尼、右美托咪啶清醒镇静状态下纤支镜插管,取得了更好的效果,患者舒适度、满意度更高。

右美托咪啶是一种高选择性 α_2 肾上腺素受体激动剂,具有镇静、镇痛、抗焦虑作用。有报道右美托咪啶用于清醒气管插管、气管镜检查、胃镜检查等均取得

较好效果^[5-6]。舒芬太尼为强效阿片受体激动药,能够更好地阻断气管插管时咽喉部刺激的传入,从而减轻插管时的心血管反应,血流动力学相对平稳^[17-19]。有研究发现右美托咪啶复合舒芬太尼可有效降低呛咳、循环波动等不良反应。盐酸达克罗宁胶浆是一种新型局部麻醉剂,对黏膜有表面麻醉的效果,且具有穿透力强的特点,能起到润滑效果,一般 2 ~ 10 min 起效,并可维持 2 ~ 4 h,甚至更长^[20-22]。有报道达克罗宁胶浆涂抹气管插管前端能减少术后苏醒期躁动,有效抑制术毕患者的拔管反射^[9,23]。

本研究中,观察组 SBP、DBP、HR 于 T_2 、 T_3 时与对照组比较均明显下降,可见观察组采用利多卡因雾化吸入法表麻,效果优于单纯达克罗宁胶浆涂抹。经雾化,可使利多卡因雾化为 1 ~ 5 μm 的小颗粒,均匀沉积于各级支气管黏膜而达到充分的气道麻醉效果,而单纯达克罗宁胶浆含漱加涂抹,药物不能到达下呼吸道,导致麻醉效果差,其中 2 例患者发生了喉痉挛。观察组 SBP、DBP、HR 于 T_5 时与对照组比较均明显升高,提示达克罗宁胶浆维持时间长,拔管前能够减轻血流动力学波动。阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者多肥胖,氧储备差,耗氧量高。观察组 SpO_2 在 T_1 时明显高于对照组,且血气分析结果显示,观察组于 T_0 、 T_2 时 PaO_2 明显高于对照组,这与观察组雾化时以氧气为驱动力有关,雾化吸入时氧分压高,能够改善患者的缺氧状态,为之后的气管插管提供足够的氧储备,插管期间不至于导致患者血氧饱和度下降。观察组插管时间明显短于对照组,呛咳反应发生率、喉痉挛的发生率亦明显低于对照组,一次插管成功率明显高于对照组,进一步说明观察组的麻醉效果优于对照组。

综上所述,利多卡因雾化吸入表面麻醉联合舒芬太尼、右美托咪啶清醒镇静下行纤支镜插管在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者困难插管中能有效防止插管引起的血流动力学波动,且插管期间氧供充分,有利于保障患者生命安全。相对于对照组,由于达克罗宁胶浆涂抹,拔管前的血流动力学更平稳。本研究提示,可以 2 种局麻方法结合应用,可能为更好的表麻方法,需在以后的临床工作中进一步探索。由于阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者多见于男性患者,本研究男性患者多于女性,故难免存在不足之处,仍需要大样本的研究

来验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张丽伟、董文泽:设计课题方案,实施研究过程,论文撰写;
贾倩倩、杨晓春:资料搜集整理,进行统计学分析;孙海军、刘
莉:实施研究过程,资料搜集整理,修改论文

参考文献

[1] 孙兆楚,邱晓晓,唐晓阳,等. 瑞芬太尼复合丙泊酚或不同剂量右美托咪定在清醒气管插管中的应用[J]. 临床麻醉学杂志, 2015,31(6):555-558.

[2] 于布为,马武华,邓晓明. 困难气道管理指南(2014)[S]. 中国麻醉学指南与专家共识 2014 版,2014:82-88

[3] 孟红霞,韩耀杰. 超声雾化利多卡因在纤支镜术前麻醉的临床观察[J]. 实用医技杂志,2003,15(4):338-339.

[4] 刘扬,王海霞,杨明全. 利多卡因雾化用于 ICU 非紧急气管插管的临床观察[J]. 中国现代药物应用,2016,10(1):180-181. DOI:10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2016.01.142

[5] Sinha SK, Joshiraj B, Chaudhary L, et al. BChaudhary A comparison of dexmedetomidine alone for awake fiberoptic nasotracheal intubation: A randomized controlled study[J]. Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology 2014,30(4):514-519

[6] Dhasmana SC. Nasotracheal fiberoptic intubation: patient comfort, intubating conditions and hemodynamic stability during conscious sedation with different doses of dexmedetomidine[J]. Journal of Maxillofacial and Oral Surgery, 2014, 13(1):53-58. DOI: 10.1007/s12663-012-0469-0

[7] Wang SY, Mei Y, sheng H, et al. Tramadol combined with fentanyl in awake endotracheal intubation[J]. J Thorac Dis, 2013, 5(3):270-277. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.03.10

[8] 魏星,思永玉. 右美托咪啶复合达克罗宁胶浆表麻用于纤支镜引导清醒气管的临床观察[J]. 贵州医药,2016,40(2):60-61

[9] 陈莉蕴,李广明,郑颖,等. 达克罗宁胶浆涂抹气管导管前端对全麻患者苏醒期躁动的影响[J/CD]. 临床医药文献电子杂志, 2018,5(57):14-15. DOI:10.16281/j.cnki.jocml.2018.57.007.

[10] Goneppanavar U, Magazine R, Periyadka-Janardhana B, et al. Intravenous Dexmedetomidine provides superior patient comfort and tolerance compared to intravenous Midazolam in patients undergoing flexi-

ble bronchoscopy[J]. Pulm Med,2015.2015:727530.

[11] 吴隆延,薛庆生. 右美托咪啶复合瑞芬太尼在纤维支气管镜引导下经鼻清醒气管插管中的应用[J]. 临床麻醉学杂志,2013,29(2):166-168.

[12] 王雄,刘伟. 达克罗宁胶浆在困难气道纤维支气管镜引导下经鼻清醒气管插管中的应用[J]. 安徽医药,2018,22(5):968-970.

[13] 张忠勤,叶凤卿,吴耀滨,等. 口服达克罗宁胶浆对扁桃体剥离手术中血流动力学的影响[J]. 广东医学,2016,37(1):1-2. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20160118.016.

[14] 张云飞,陈龙,谭洪婧,等. 舒芬太尼复合右美托咪啶用于纤支镜引导清醒气管插管的对照研究[J]. 重庆医学,2015, 44(1):45-49.

[15] 朱玉梅. 盐酸达克罗宁胶浆对鼻内镜手术患者全麻苏醒期躁动的预防作用[J]. 中国医学创新,2019,16(28):47-51.

[16] 张瑞瑛,吴建华,陈加伟. 瑞芬太尼复合利多卡因雾化吸入用于纤支镜引导下清醒气管插管的效果观察[J]. 海峡药学,2012,24(7):135-136.

[17] 滕永杰,李军,上官王宁,等. 利多卡因雾化吸入用于纤维支气管镜引导清醒气管插管患者的效果观察[J]. 临床麻醉学杂志,2011, 27(4):346-348.

[18] 乔永平,刘轶宁,黄丹青. 右美托咪啶在 ICU 患者纤支镜检查中的应用体会和效果分析[J]. 中国实用医药,2020,15(4):190-191. DOI:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2020.04.088.

[19] 张宁平,张宁丽,刘庆,等. 纤支镜清醒气管插管在鼾症手术中的应用[J]. 云南医药,2019,40(2):173-175.

[20] 高培珍,李海利. 利多卡因雾化吸入复合静脉麻醉在无痛纤支镜检查中的应用分析[J]. 中国处方药,2017,15(4):90-91.

[21] Talbot NP, Farmery AD, Dorrington KL. End-tidal sevoflurane and halothane concentrations during simulated airway occlusion in healthy humans[J]. Anesthesiology,2009,111(2):287-292.

[22] Lee B, Park WK, Yun SY, et al. Insertion depth of nasotracheal tubes sized to fit the nostril: an observational study[J]. J Int Med Res, 2019,47(1):235-243 DOI: 10.1097/ALN.0b013e3181a6d7b.

[23] 徐亚杰,王晓亮,张勇,等. 七氟醚联合纤维支气管镜表面麻醉在困难气道插管中的应用[J]. 临床麻醉学杂志,2019,35(12):1166-1169.

(收稿日期:2020-02-27)

作者 · 编者 · 读者

关于对冒用我刊名义进行非法征稿活动的郑重声明

近期发现网上有冒用我刊名义进行非法征稿活动的情况,我刊为此郑重声明如下:(1)疑难病杂志社地址设在石家庄,我社从未委托任何代理机构和个人开展组稿、征稿活动。(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,均属非法行为。(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

miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 在子痫前期发生中的作用及机制研究

周俏苗,汪洪林,岑慧,肖美芳,黄海燕,许晶,施蕾

基金项目: 海南省自然科学基金面上项目(819MS119)

作者单位: 570000 海口,海南省妇女儿童医学中心妇产科(周俏苗、汪洪林),检验科(肖美芳),细胞实验室(黄海燕),分子实验室(许晶);海南省人民医院产科(岑慧、施蕾)

通信作者: 施蕾, E-mail: 13198907396@163.com

【摘要】目的 探讨 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 在子痫前期发生中的作用及其机制。**方法** 收集 2018 年 7 月—2019 年 8 月海南省妇女儿童医学中心妇产科收治的子痫前期孕妇 30 例(观察组)和健康孕妇 30 例(对照组)的血清及胎盘组织,采用荧光定量 PCR 法检测 2 组血清中 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达情况;采用免疫组织化学方法检测胎盘组织中 E-钙黏蛋白(E-cad)的表达情况。**结果** 观察组血清中 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达明显高于对照组($t/P = 198.035/0.000, 216.658/0.000$);观察组胎盘 E-cad 蛋白表达明显高于对照组($t = 8.207, P = 0.000$)。经 Pearson 相关性分析显示,血清 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达与胎盘中 E-cad 表达均呈现正相关($r/P = 0.531/0.001, 0.543/0.004$)。**结论** 与健康孕妇相比,子痫前期孕妇血清中 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 相对表达量较高,可能通过调控胎盘 E-cad 的表达参与子痫前期发病。

【关键词】 miRNA-26a-5p; miRNA-135a-5p; E-钙黏蛋白; 子痫前期

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.017

The role and mechanism of miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p in the development of preeclampsia Zhou Qiaomiao*

Wang Honglin, Cen Hui, Xiao Meifang, Huang Haiyan, Xu Jing, Shi Lei. *Department of Obstetrics and Gynecology, Hainan Women and Children Medical Center, Haikou 570000, China

Corresponding author: Shi Lei, E-mail: 13198907396@163.com

Funding program: Natural Science Foundation of Hainan Province(819MS119)

【Abstract】 Objective To explore the role and mechanism of miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p in the occurrence of preeclampsia. **Methods** The serum and placental tissues of 30 pregnant women with preeclampsia (observation group) and 30 healthy pregnant women (control group) admitted to the Department of Obstetrics and Gynecology of Hainan Women's and Children's Medical Center from July 2018 to August 2019 were collected by fluorescence quantitative PCR. The expression of miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p in the serum of the two groups was detected by the method; the expression of E-cadherin (E-cad) in the placenta tissue was detected by immunohistochemistry. **Results** The expression of miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p in serum of the observation group was significantly higher than that of the control group ($t/P = 198.035/0.000, 216.658/0.000$); the placental E-cad protein expression of the observation group was significantly higher than that of the control group ($t = 8.207, P = 0.000$). Pearson correlation analysis showed that serum miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p expressions were positively correlated with E-cad expression in the placenta ($r/P = 0.531/0.001, 0.543/0.004$). **Conclusion** Compared with healthy pregnant women, the relative expression of miRNA-26a-5p and miRNA-135a-5p in the serum of pregnant women with preeclampsia is higher, which may be involved in the onset of preeclampsia by regulating the expression of placental E-cad.

【Key words】 miRNA-26a-5p; miRNA-135a-5p; E-cadherin; Preeclampsia

子痫前期(preeclampsia, PE)是临床常见的一种妊娠期并发症,通常发生在妊娠 20~34 周期间^[1]。PE 患者临床主要表现为蛋白尿、高血压及水肿,严重时可

导致昏迷、抽搐及心、肾功能衰竭等症状,并可伴随早产,不仅对孕妇本身的身体健康带来影响,还会影响胎儿的生命健康,严重时需要采取人工流产的方式来终

止妊娠^[2-3]。MicroRNA(miRNA)是一种非编码蛋白质的单链 RNA^[4],目前不少研究表明,miRNA 与 PE 的发生及发展有着密切的关系,而 miRNA-26a-5p 和 miRNA-135a-5p 在子痫前期发生中的研究少见文献报道。本研究通过分析 PE 孕妇血清 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达情况,以期为深入研究 PE 的发生机制提供新的思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 7 月—2019 年 8 月海南省妇女儿童医学中心妇产科收治的手术分娩 PE 孕妇 30 例为观察组,纳入标准:(1)符合 PE 的诊断标准^[5];(2)均为单胎妊娠。排除标准:(1)妊娠期糖尿病患者;(2)原发性高血压患者;(3)其他妊娠期并发症者。选择同期孕周匹配的正常手术分娩孕妇 30 例为对照组。2 组一般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。

表 1 2 组基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组($n=30$)	观察组($n=30$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	29.46 ± 5.47	29.17 ± 5.28	0.209	0.835
BMI(kg/m ²)	28.43 ± 1.18	28.26 ± 1.25	0.542	0.590
产次(次)	1.45 ± 0.57	1.47 ± 0.62	0.130	0.897
文化程度[例(%)]				
初中及以下	4(13.33)	5(16.67)	0.292	0.864
中专及高中	10(33.33)	11(36.67)		
大专及以上	16(53.33)	14(46.67)		

1.2 试剂与仪器 (1)试剂:DNA 提取试剂盒由美国 Promega 公司提供,测序反应试剂由美国 ABI 公司提供,PCR 反应试剂盒由美国 Invitrogen 公司提供,引物由上海博亚生物技术有限公司提供。(2)仪器:切片机(型号:OPJ-1B,天津天利航空机电有限公司)、离心机(型号:5424r,美国 Eppendorf 公司)、酶联免疫检测仪(型号:DG3022,上海医用分析仪器厂生产)、PCR 扩增仪(型号:S100,美国 Bio-Rad 公司)、显微镜(型号:Olympus IX71,日本 OLYMPUS)、电泳仪(型号:Bio-Rad,美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 样本采集:采集研究对象入院当天外周静脉血(禁食 8 h)5 ml,20℃ 下静置 30 min 后,离心机 3 000 rpm 离心 10 min,取上清,置入 -80℃ 冰箱备存。剖宫产胎盘娩出后 5 min 内,取胎盘组织,剪取中央部位组织块(1 cm × 1 cm × 1 cm),无菌生理盐水漂洗,装入 EP 管并置入 -80℃ 冰箱备存。

1.3.2 qRT-PCR 技术检测血清 miRNA-26a-5p、miR-

NA-135a-5p 的表达:取出血清解冻,按照 Trizol 试剂的说明书提取组织总 RNA(纯度比值范围控制:1.8 ~ 2.0),标记 miRNA,进行 miRNA 芯片杂交,并扫描及数据分析。选取 miRNA 芯片结果中的 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 进行荧光定量 PCR 分析,采用反转录试剂盒配置反应混合物,反转录合成环状 DNA,RT-PCR 反应条件为 95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 3 s,60℃ 退火 34 s,40 个循环,相关引物序列由上海生工公司提供(见表 2),每个样品目的基因的 CT 值用内参基因(U6RNA)来进行归一化,获得实验样品和对照样品的 ΔCT 值,目的基因相对 U6 的表达量 = $2^{-\Delta CT}$,最后计算 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 相对表达量 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。

表 2 相关引物序列表

基因名称	序列
miRNA-26a-5p	正向: 5'-ATGTTTCGTGGGTTCAGTAATCCAGGATAGGC-3' 反向: 5'-GCACGGTCCGAGGTATTTCG-3'
miRNA-135a-5p	正向: 5'-ACAGCCTCCATGGGA-3' 反向: 5'-TGGAGTGTGCCGTTTCG-3'

1.3.3 免疫组织化学染色检测胎盘 E-cad 蛋白表达:将胎盘样品采用 4% 多聚甲醛固定,行常规石蜡包埋,切片机切成厚度 5 μm 的切片,常规脱蜡,乙醇梯度浸泡,蒸馏水浸泡 5 min 后加入 3% 过氧化氢溶液 50 μl,20℃ 下孵育 10 min,对内源性过氧化物酶的活性进行阻断,PBS 冲洗 3 次(每次 5 min),加入 50 μl 的一抗(稀释度为 1:300),4℃ 下过夜后,加入二抗(稀释度为 1:500),37℃ 下孵育 15 min,采用 DBA 试剂进行显色,显色后,苏木素复染 2 min,中性树胶封片,采用光学显微镜下观察各视野染色分布、强度和面积。以 PBS 代替一抗,作为阴性对照,以细胞膜或细胞浆出现明显的棕黄色染色颗粒为阳性,无着色或与背景染色一致为阴性。采用 HMIAS-2000 型全自动彩色图像分析系统进行分析,每张切片选取 5 个视野,测定免疫组化染色的平均光密度值(AOD),半定量分析 E-cad 蛋白的表达。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 相关性分析法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达情况比较 观察组血清中 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达明显高于对照组($P < 0.01$),见表 3。

表 3 2 组血清 miRNA-26a-5p、
miRNA-135a-5p 表达情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miRNA-26a-5p	miRNA-135a-5p
对照组	30	0.789 ± 0.012	0.748 ± 0.015
观察组	30	2.613 ± 0.049	2.364 ± 0.038
<i>t</i> 值		198.035	216.658
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.2 2 组胎盘 E-cad 蛋白表达情况比较 2 组 E-cad 蛋白主要表达于绒毛细胞滋养细胞,其中对照组胎盘滋养细胞可见浅棕黄色阳性染色,观察组胎盘滋养细胞可见大量棕褐色阳性染色,见图 1。观察组 E-cad 蛋白 AOD 值(0.153 ± 0.014)明显高于对照组 E-cad 蛋白 AOD 值(0.186 ± 0.017),差异有统计学意义($t = 8.207, P = 0.000$)。

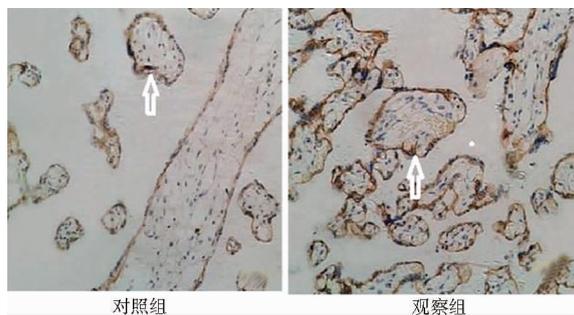


图 1 胎盘中 E-cad 蛋白表达(免疫组化染色, ×200)

2.3 血清 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达与胎盘中 E-cad 表达的相关性 经 Pearson 相关性分析显示,血清 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达与胎盘中 E-cad 表达均呈现正相关($r/P = 0.531/0.001$ 、 $0.543/0.004$)。

3 讨论

随着我国二胎政策的开放,妊娠并发症的发生率也在不断增加,其中妊娠高血压是常见的并发症,包括妊娠期高血压、PE 及子痫等,其中 PE 的发病率呈不断增加的趋势^[6-7]。在全球范围内,PE 的发病率为 5%~8%,其主要特征为血管反应异常,表现为血小板聚集增强、系统性血管阻力升高、内皮细胞功能异常及凝血系统激活等,给孕妇及胎儿均带来严重影响^[8-9]。目前对 PE 的发病机制仍不清楚,对其发病机制有着不同的假说,包括胎盘浅着床、过度炎症反应、胎盘组织血供改变、内皮细胞功能障碍及滋养细胞凋亡等学说^[10]。通常认为胎盘功能异常在 PE 的发生及发展过程中起到重要作用^[11]。

miRNA 是一种调节基因表达关键的因子,通过调

节众多的靶基因,参与机体免疫应答过程,在自身免疫疾病发生及发展中发挥十分重要的作用^[12-13]。miRNA 在机体细胞的正常生长及分化过程中起到重要作用,另外还参与了炎症反应和癌变等病理过程,在肝癌、乳腺癌及直肠癌等恶性肿瘤的发生及发展中发挥重要作用^[14-15]。在妊娠过程中,滋养细胞侵袭过程与肿瘤细胞浸润过程十分相似,近年研究显示,miRNA 在 PE 的发生及发展过程中亦起着重要作用^[16]。miRNA 在血液中稳定存在,可检测患者血清观察其表达情况^[17]。miRNA-26a-5p 在肝癌、膀胱癌、结直肠癌、肺癌及前列腺癌等发病及发展中具有重要作用,通过调控不同的信号转导通路,诱导上皮细胞向间质转化(EMT)而促进癌症的转移^[18]。miRNA-135a-5p 是 miRNA-135 家族的重要成员之一,位于第 3 号染色体,目前被证实与多种恶性肿瘤的发生有着密切关系^[19]。本研究结果显示,miRNA-26a-5p 在观察组血清中的表达量是对照组的 3.34 倍左右,miRNA-135a-5p 在观察组血清中的表达量是对照组的 3.16 倍左右,因此笔者推测,miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 可能参与了 PE 的发生及发展过程。

滋养细胞侵蚀能力障碍与 PE 的发生有着密切关系,其机制可能为胎盘浅着床^[20-22]。滋养细胞的侵蚀能力主要受其表面黏附分子影响^[23]。E-cad 是一种可介导滋养细胞间的黏附分子,其具有同种分子相嗜性,会介导同种细胞间的黏附,在上皮细胞表面有着较广泛的表达,对维持上皮细胞层的完整性与极性有着十分重要的作用^[24-25]。在 PE 患者及正常妊娠胎盘滋养细胞均可见 E-cad 的表达,可作为滋养细胞的标志性蛋白,并随着滋养细胞侵蚀能力的变化而变化,在 EMT 过程中均发挥重要作用^[26]。本研究结果显示,观察组 E-cad 蛋白 AOD 值明显高于对照组($P < 0.01$),说明在 PE 患者胎盘组织中滋养细胞之间的黏附能力较强,滋养细胞不易于迁移,侵蚀能力减弱。经 Pearson 相关性分析显示,血清 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达与胎盘中 E-cad 表达均呈现正相关($P < 0.01$),推测这可能是因为随着 miRNA-26a-5p、miRNA-135a-5p 表达的上调,E-cad 的表达也随之明显上调,miRNA-26a-5p 和 miRNA-135a-5p 通过调控 E-cad 使 EMT 过程受到抑制,阻碍滋养细胞融合成合体滋养细胞,影响母胎屏障;同时使血管重铸无法有效完成,造成胎盘浅着床,最终引发 PE。

综上所述,PE 患者血清中 miRNA-26a-5p 和 miRNA-135a-5p 异常表达可能参与 PE 的发病,两者可能通过 E-cad 调控滋养细胞 EMT 参与 PE 的发病机制。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

周俏茜:提出研究方向、研究思路、研究选题,论文撰写,论文审核;汪洪林:设计研究方案、研究流程;岑慧:分析试验数据;肖美芳:进行文献调研与整理,论文修改;黄海燕:进行统计学分析,设计论文框架;许晶:实施研究过程,资料搜集整理

参考文献

[1] Bibbinsdomingo K, Grossman DC, Curry SJ, et al. Screening for preeclampsia: US preventive services task force recommendation statement[J]. JAMA, 2017, 317(16):1661-1667. DOI: 10.1001/jama.2017.3439.

[2] Malihe NS, Seyed MR, Ishag A, et al. Helicobacter pylori infection and risk of preeclampsia: A systematic review and meta-analysis[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2019, 32(2):324-331. DOI: 10.1080/14767058.2017.1378331.

[3] 徐立新,潘高云,朱张茜,等. 三维斑点追踪技术联合 Tei 指数评价妊娠晚期子痫前期患者的左心室功能[J]. 浙江医学, 2019, 41(16):1727-1730. DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.16.2019-36.

[4] 杨晓伟,张拓伟,闫锦坤. MicroRNA-574-5p 对冠状动脉平滑肌细胞生长的影响及其调控机制[J]. 川北医学院学报, 2019, 34(2):174-177. DOI:10.3969/j.issn.1005-3697.2019.02.03.

[5] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2015)[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(10):721-728. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2015.10.001.

[6] Sun MZ, Fan YL, Hou YY, et al. Preeclampsia and maternal risk of breast cancer: a meta-analysis of cohort studies[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2018, 31(18):2484-2491. DOI: 10.1080/14767058.2017.1342806.

[7] Du L, He F, Kuang L, et al. eNOS/iNOS and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the placentas of patients with preeclampsia[J]. J Hum Hypertens, 2017, 31(1):49-55. DOI: 10.1038/jhh.2016.17.

[8] Ren Y, Jiang Y, Zhang X, et al. Effect of SHH signaling pathway on apoptosis and invasion of trophoblast cells in preeclampsia patients and its mechanism[J]. Journal of Jilin University, 2018, 44(3):510-515. DOI: 10.13481/j.1671-587X.20180310.

[9] Weinberg CR, Shi M, Basso O, et al. Season of conception, smoking, and preeclampsia in Norway[J]. Environmental Health Perspectives, 2017, 125(6):067022. DOI: 10.1289/EHP963.

[10] 王焕萍,武海英,王瑜,等. 子痫前期孕妇胎盘组织中 miR-30d 和 GCM-1 的表达对滋养细胞生物学特性的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(7):476-479. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2019.07.009.

[11] 沈伟卫,吕时铭. 胎盘生长因子:一项预测子痫前期的重要指标[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(11):879-882. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2018.11.018.

[12] Wang K, Gan TY, Li N, et al. Circular RNA mediates cardiomyocyte death via miRNA-dependent upregulation of MTP18 expression[J]. Cell Death & Differentiation, 2017, 24(6):1111-1120. DOI: 10.1038/cdd.2017.61.

[13] Zhang EJ, Xu ZF, Duan WY, et al. Association between polymorphisms in pre-miRNA genes and risk of oral squamous cell cancer in a Chinese population[J]. PLoS One, 2017, 12(6):e0176044. DOI: 10.1371/journal.pone.0176044.

[14] Hua FF, Liu SS, Zhu LH, et al. MiRNA-338-3p regulates cervical cancer cells proliferation by targeting MACC1 through MAPK signaling pathway[J]. European Review for Medical & Pharmacological Sciences, 2017, 21(23):5342-5352. DOI: 10.26355/eurrev_201712_13919.

[15] Lu CJ, Xie ZB, Peng QZ. MiRNA-107 enhances chemosensitivity to paclitaxel by targeting antiapoptotic factor Bcl-w in non small cell lung cancer[J]. American Journal of Cancer Research, 2017, 7(9):1863-1873.

[16] 刘康生,潘峰,茅晓东,等. 环状 RNA 与女性妊娠和妇科相关疾病[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(1):67-72. DOI: 0.3760/cma.j.issn.1009-9158.2019.01.014.

[17] 王全全,吕占云,孙大芳,等. 早发家族性阿尔茨海默病家系患者血清 miRNA 检测及初步分析[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2017, 26(6):554-559. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2017.06.015.

[18] Chen L, Zeng WH, Yang B, et al. Expression of antisense of microRNA-26a-5p in mesenchymal stem cells increases their therapeutic effects against cirrhosis[J]. American Journal of Translational Research, 2017, 9(3):1500-1508.

[19] 刘润奇,高学忠,罗锐娟,等. miRNA-135a-5p 在乳腺癌患者血清中的表达及其临床诊断效能[J]. 癌症进展, 2019, 17(11):1328-1331. DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.11.24.

[20] 黄丽琼,郑波,镇艳芬. Gadd45 α mRNA 和蛋白在子痫前期胎盘组织中表达及转染 siRNA 对滋养细胞侵袭能力及侵袭相关分子的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(16):1736-1739. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2019.16.016.

[21] 李嘉健. 氧化应激作用在子痫前期发病机制中的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(4):417-422. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.04.022.

[22] 王永霞,赵敏. 妊娠期高血压疾病患者产后血压恢复的相关因素分析[J]. 中国医药, 2019, 14(5):760-762. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.05.029.

[23] 吴芹,杨宏毅. ADAM10、Flt-1 及 E-cad 在重度子痫前期胎盘中的表达及临床价值[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(22):4712-4713. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2016.22.40.

[24] 刘静芳,赵丽君,刘国莉,等. ADAM10、E-cad 及 flt-1 在重度子痫前期胎盘中的表达及意义[J]. 中国妇产科临床杂志, 2016, 17(2):147-150. DOI:10.13390/j.issn.1672-1861.2016.02.015.

[25] 朱怡,秦艳,何珏. 血清 miR-15b、miR-29a 和 CysC 在妊娠高血压疾病肾脏损害中的临床诊断价值[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(2):170-174, 179. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.02.014.

[26] 赵二勇,张国正,易莉莎,等. AP-2 α 、E-cadherin、ET-1、vWF 在子痫前期患者中的变化及意义[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(4):66-68, 72. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2016.04.016.

(收稿日期:2020-01-15)

川续断皂苷 VI 经 ATF6 通路对 H9c2 心肌细胞氧化应激和凋亡的保护作用

冯海斌, 张巍, 李琴, 柴巧英, 韩继如, 李娟

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目(20160333)

作者单位: 056002 邯郸市第一医院心内科

通信作者: 李琴, E-mail: fhb206@163.com

【摘要】目的 观察川续断皂苷 VI 经 ATF6 通路对 H9c2 心肌细胞氧化应激和凋亡的保护作用。**方法** 2019 年 6—9 月于邯郸市第一医院实验室进行实验。应用不同条件对 H9c2 细胞培养, 对照组加入无血清 RPMI-1640 培养基, H₂O₂ 组加入终浓度为 200 μmol/L 的 H₂O₂, 川续断皂苷 VI 低、中、高剂量组分别加入终浓度为 25、50、100 μmol/L 的川续断皂苷 VI, 同时给予终浓度为 200 μmol/L 的 H₂O₂, 继续培养 24 h 后检测 H9c2 细胞增殖和凋亡情况, 同时检测 H9c2 细胞内 ROS、LDH、MDA、Bcl-2、Bax、Caspase-3、ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平。**结果** 与对照组比较, H₂O₂ 组 H9c2 细胞凋亡率、ROS、LDH、MDA、Bax 和 Caspase-3 水平升高 ($P < 0.05$), 细胞增殖率、Bcl-2、ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平降低 ($P < 0.05$); 与 H₂O₂ 组比较, 各川续断皂苷 VI 组 H9c2 细胞凋亡率、ROS、LDH、MDA、Bax 和 Caspase-3 水平降低 ($F/P = 23.957/0.000, 132.452/0.000, 85.716/0.000, 30.485/0.000, 15.156/0.023, 15.022/0.025$), 细胞增殖率、Bcl-2、ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平升高 ($F/P = 41.542/0.000, 23.118/0.000, 25.416/0.000, 9.240/0.037, 20.276/0.000$), 且呈剂量依赖性 ($P < 0.05$)。**结论** 川续断皂苷 VI 通过激活 ATF6 通路, 减轻 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化应激和抑制细胞凋亡, 从而发挥心肌保护作用。

【关键词】 川续断皂苷 VI; ATF6 通路; H9c2 心肌细胞; 氧化应激; 细胞凋亡

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.018

Protective effects of Dipsacus asper saponin VI on oxidative stress and apoptosis of H9c2 cardiomyocytes via ATF6 pathway Feng Haibin, Zhang Wei, Li Qin, Chai Qiaoying, Han Jiru, Li Juan. Department of Cardiology, the First Hospital of Handan City, Hebei Province, Handan 056002, China

Corresponding author: Li Qin, E-mail: fhb206@163.com

Funding program: Key Project of Medical Science Research in Hebei Province (20160333)

【Abstract】 Objective To observe the protective effects of Dipsacus asper saponin VI on oxidative stress and apoptosis of H9c2 cardiomyocytes via ATF6 pathway. **Methods** The experiment was carried out in the Laboratory of Handan First Hospital from June to September 2019. H9c2 cells were cultured under different conditions. The control group was added with serum-free RPMI-1640 medium. In H₂O₂ group, H₂O₂ with final concentration of 200 μmol/L was added. In the low, medium and high dose groups, the final concentration of Dipsacus asper saponin VI was 25, 50 and 100 μmol/L, and the final concentration of H₂O₂ was 200 μmol/L. The proliferation and apoptosis of H9c2 cells were detected after 24 hours. The levels of ROS, LDH, MDA, BCL 2, Bax, caspase 3, ATF6, GRP78 and pdia6 in H9c2 cells were detected. **Results** Compared with the control group, the apoptosis rate, ROS, LDH, MDA, Bax and caspase 3 levels of H9c2 cells in H₂O₂ group were increased ($P < 0.05$), while cell proliferation rate, Bcl-2, ATF6, GRP78 and pdia6 levels were decreased ($P < 0.05$). Compared with H₂O₂ group, H9c2 cell apoptosis rate, ROS, LDH, MDA, Bax and caspase 3 levels were decreased ($F/P = 23.957/0.000, 132.452/0.000, 85.716/0.000, 30.485/0.000, 15.156/0.023, 15.022/0.025$), cell proliferation rate and Bcl-2 level were significantly decreased in all groups 2. The levels of ATF6, GRP78 and pdia6 increased in a dose-dependent manner ($F/P = 41.542/0.000, 23.118/0.000, 25.416/0.000, 9.240/0.037, 20.276/0.000$) in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). **Conclusion** Dipsacus asper saponin VI can protect H9c2 cells from oxidative stress and apoptosis induced by H₂O₂ by activating ATF6 pathway.

【Key words】 Dipsacus asper saponin VI; ATF6 pathway; H9c2 cardiomyocytes; Oxidative stress; Apoptosis

氧化应激(OS)是促进细胞凋亡的重要因素,并涉及多种心血管疾病的病理生理,如缺血/再灌注损伤、动脉粥样硬化、心力衰竭和高血压^[1-2]。OS表现为活性氧(ROS)的过度产生,后者破坏细胞的氧化还原平衡和内质网蛋白质折叠环境的稳态,最终导致细胞死亡和器官功能障碍等一系列事件^[3]。要恢复内质网稳态,细胞会激活未折叠的蛋白质反应(UPR)信号通路,这些通路由活化转录因子6(ATF6)、肌醇需求激酶1 α (IRE1 α)和蛋白激酶样内质网激酶(PERK)调节^[4]。因此,每个UPR通路的差异调节可能是治疗心血管疾病的一种治疗策略。研究表明,ATF6的激活可增加内质网驻留蛋白的表达,从而避免错误折叠的蛋白,包括葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、GRP94和蛋白二硫化物异构酶A6(PDIA6)^[5]。此外,ATF6的激活还诱导抗OS基因^[6]。这些研究表明,ATF6对OS具有重要的保护功能。川续断皂苷VI是川续断的主要活性成分,具有抗氧化和抗炎等生物学效应,可以保护新生大鼠心肌细胞免受过氧化氢(H₂O₂)诱导的损伤,但其机制尚不清楚^[7]。因此,本研究探讨川续断皂苷VI对H9c2心肌细胞氧化应激和凋亡的保护作用及机制,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)细胞:H9c2心肌细胞(上海生命科学研究院细胞库)。(2)试剂:川续断皂苷VI(四川省维克奇生物科技有限公司,纯度99.9%);30% H₂O₂(江苏凯基生物技术股份有限公司),胎牛血清和RPMI-1640培养基(美国Invitrogen公司),细胞计数试剂盒8(CCK-8,美国Amresco公司);2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)、乳酸脱氢酶(LDH)和丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所);ECL试剂盒、细胞凋亡检测AnnexinV/PI试剂盒和细胞蛋白抽提试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);聚偏氟乙烯膜(碧云天生物技术研究所);B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2关联蛋白(Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase-3)、ATF6、GRP78、PDIA6和GAPDH抗体(美国Santa Cruz公司);辣根过氧化物酶HRP标记亲和纯化山羊抗小鼠IgG抗体(武汉艾美捷科技有限公司)。(3)仪器:Elite II型CO₂培养箱(美国Thermo Revco公司),S-450D型超声波细胞破碎仪(美国BRANSON公司),HBS-1096B型酶标仪(南京德铁实验设备有限公司),DYCZ-28型BD垂直电泳仪和BD FACSCanto型流式细胞仪(美国BD公司);BioSpectrum型凝胶成像仪(美国UVP公司)。

1.2 细胞培养及实验分组 2019年6—9月于邯郸

市第一医院实验室进行实验。用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液在37℃、5% CO₂下培养H9c2细胞,当细胞融合率达到80%时进行实验。实验分为对照组、H₂O₂组及川续断皂苷VI低、中、高剂量组。对照组加入无血清RPMI-1640培养基,H₂O₂组加入终浓度为200 μ mol/L的H₂O₂,川续断皂苷VI低、中、高剂量组加入终浓度为25、50、100 μ mol/L的川续断皂苷VI,同时给予终浓度为200 μ mol/L的H₂O₂,继续培养24 h后进行相关检测^[8-9]。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 CCK-8法检测H9c2细胞增殖率:将H9c2细胞以 5×10^3 个/孔接种于96孔板中(200 μ l/孔),待细胞融合后,按上述实验方法给予川续断皂苷VI和H₂O₂进行干预20 h,向培养板中加入CCK-8试剂10 μ l,37℃继续培养4 h,用酶标仪在630 nm处测定吸光度值(OD值),计算细胞增殖率(细胞增殖率=实验组OD值/对照组OD值)。

1.3.2 H9c2细胞凋亡率检测:将H9c2细胞以 5×10^4 个/孔接种于6孔板内(3 ml/孔),待细胞融合后,按上述实验方法给予川续断皂苷VI和H₂O₂进行干预24 h,根据细胞凋亡检测AnnexinV/PI试剂盒说明书检测细胞凋亡。

1.3.3 H9c2细胞内ROS、LDH和MDA的测定:将H9c2细胞以 5×10^4 个/孔接种于6孔板内(3 ml/孔),待细胞贴壁后,按上述实验方法给予川续断皂苷VI和H₂O₂进行干预24 h,弃培养基,采用DCFH-DA探针联合酶标仪法检测细胞内ROS水平;接种孔内加入磷酸盐缓冲液2 ml,用超声波细胞破碎仪处理30 s,离心收集上清液,按试剂盒说明书检测细胞中LDH、MDA水平。

1.3.4 H9c2细胞内Bcl-2、Bax、Caspase-3、ATF6、GRP78和PDIA6水平检测:采用Western-blot法检测。将H9c2细胞以 5×10^4 个/孔接种于6孔板内(3 ml/孔),待细胞贴壁后,按上述实验方法干预24 h,弃培养基,根据细胞量加入细胞蛋白抽提液,裂解2 h;离心取上清进行蛋白定量;调整蛋白浓度,加入1/5体积的5 \times Buffer,沸水进行变性,进行电泳(每孔上样量为20 μ g),将印迹转移到聚偏氟乙烯膜上,然后用5%脱脂牛奶在室温下封膜1 h,将膜与Bcl-2(1:200)、Bax(1:400)、Caspase-3(1:300)、ATF6(1:500)、GRP78(1:200)、PDIA6(1:500)和GAPDH(1:5 000)抗体进行孵育,4℃过夜,用TBST缓冲液对膜进行2次冲洗,将膜与辣根过氧化物酶HRP标记山羊抗兔IgG二抗(1:10 000)在室温下孵育30 min。进行显色,采集图像进

行分析。采用 ECL 染液进行显色,然后用 BioSpectrum 型凝胶成像仪定量分析蛋白表达强度,以 GAPDH 表达作为内控。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 H9c2 细胞增殖和凋亡比较 与对照组比较, H₂O₂ 组 H9c2 细胞增殖率降低,凋亡率升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ 组比较,各川续断皂苷 VI 组 H9c2 细胞增殖率升高,凋亡率降低,且呈剂量依赖性,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组 H9c2 细胞增殖和凋亡情况比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	细胞增殖率	细胞凋亡率
对照组	100.00 \pm 8.51	1.10 \pm 0.24
H ₂ O ₂ 组	42.18 \pm 1.56 ^a	4.62 \pm 0.81 ^a
川续断皂苷 VI 低剂量组	60.27 \pm 6.59 ^b	2.53 \pm 0.57 ^b
川续断皂苷 VI 中剂量组	73.18 \pm 5.26 ^{bc}	2.04 \pm 0.28 ^{bc}
川续断皂苷 VI 高剂量组	86.26 \pm 6.17 ^{bed}	1.48 \pm 0.27 ^{bed}
F/P 值	41.542/0.000	23.957/0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 H₂O₂ 组比较,^b $P < 0.05$;与川续断皂苷 VI 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与川续断皂苷 VI 中剂量组比较,^d $P < 0.05$

2.2 各组 H9c2 细胞内 ROS、LDH 和 MDA 水平比较 与对照组比较, H₂O₂ 组 H9c2 细胞内 ROS、LDH 和 MDA 水平均升高 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ 组比较,各川续断皂苷 VI 组 H9c2 细胞内 ROS、LDH 和 MDA 水平均降低,且呈剂量依赖性,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2、图 1。

2.3 各组 H9c2 细胞内 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 水平比较 与对照组比较, H₂O₂ 组 H9c2 细胞内 Bcl-2 水平降低, Bax 和 Caspase-3 水平升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ 组比较,各川续断皂苷 VI 组 H9c2 细胞内 Bcl-2 水平增加, Bax 和 Caspase-3 水平降低,且呈剂量依赖性,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 3、图 2。

2.4 各组 H9c2 细胞内 ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平比较 与对照组比较, H₂O₂ 组 H9c2 细胞内 ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平均降低 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ 组比较,各川续断皂苷 VI 组 H9c2 细胞内 ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平增加,且呈剂量依赖性,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 4、图 3。

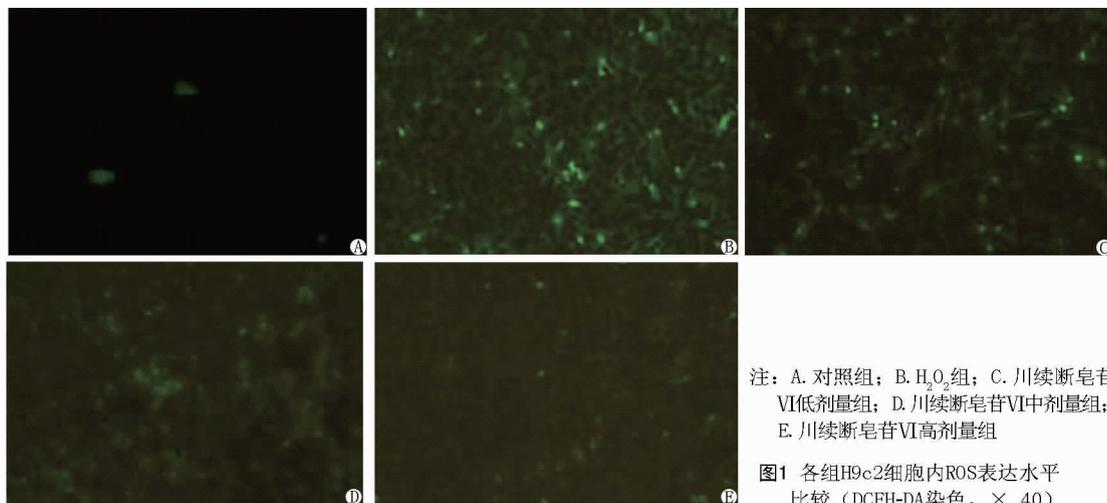
3 讨论

研究表明,川续断皂苷 VI 通过限制脑缺血/再灌注损伤,增加微血管数量并改善脑缺血后的血流发挥神

表 2 各组 H9c2 细胞内 ROS、LDH 和 MDA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

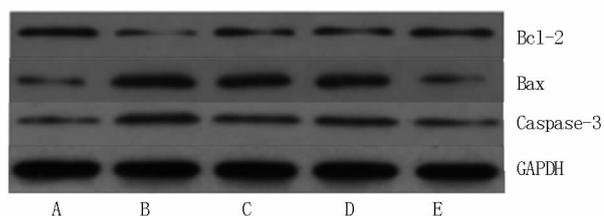
组别	ROS (%)	LDH (U/L)	MDA (nmol/ml)
对照组	100.00 \pm 8.16	201.83 \pm 4.29	2.17 \pm 0.19
H ₂ O ₂ 组	323.59 \pm 21.40 ^a	947.28 \pm 31.03 ^a	6.03 \pm 0.42 ^a
川续断皂苷 VI 低剂量组	252.21 \pm 10.51 ^b	817.62 \pm 55.01 ^b	4.17 \pm 0.51 ^b
川续断皂苷 VI 中剂量组	172.97 \pm 8.47 ^{bc}	662.47 \pm 91.56 ^{bc}	3.43 \pm 0.20 ^{bc}
川续断皂苷 VI 高剂量组	146.29 \pm 13.72 ^{bed}	481.26 \pm 50.74 ^{bed}	2.74 \pm 0.77 ^{bed}
F/P 值	132.452/0.000	85.716/0.000	30.485/0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 H₂O₂ 组比较,^b $P < 0.01$;与川续断皂苷 VI 低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与川续断皂苷 VI 中剂量组比较,^d $P < 0.05$



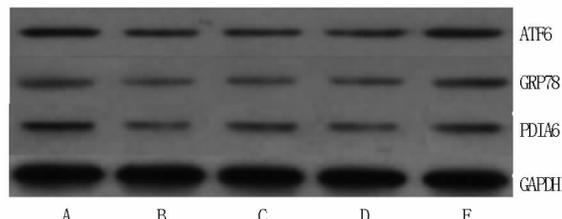
注: A. 对照组; B. H₂O₂ 组; C. 川续断皂苷 VI 低剂量组; D. 川续断皂苷 VI 中剂量组; E. 川续断皂苷 VI 高剂量组

图 1 各组 H9c2 细胞内 ROS 表达水平比较 (DCFH-DA 染色, $\times 40$)



注:A. 对照组;B. H₂O₂ 组;C. 川续断皂苷 VI 低剂量组;
D. 川续断皂苷 VI 中剂量组;E. 川续断皂苷 VI 高剂量组

图 2 各组 H9c2 细胞内 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 的蛋白印迹图



注:A. 对照组;B. H₂O₂ 组;C. 川续断皂苷 VI 低剂量组;
D. 川续断皂苷 VI 中剂量组;E. 川续断皂苷 VI 高剂量组

图 3 各组 H9c2 细胞内 ATF6、GRP78 和 PDIA6 的蛋白印迹图

表 3 各组 H9c2 细胞内 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2	Bax	Caspase-3
对照组	0.67 ± 0.08	0.32 ± 0.06	0.40 ± 0.06
H ₂ O ₂ 组	0.29 ± 0.06 ^a	0.82 ± 0.13 ^a	0.68 ± 0.02 ^a
川续断皂苷 VI 低剂量组	0.35 ± 0.04 ^b	0.71 ± 0.07 ^b	0.62 ± 0.03 ^b
川续断皂苷 VI 中剂量组	0.41 ± 0.03 ^{bc}	0.63 ± 0.10 ^{bc}	0.56 ± 0.05 ^{bc}
川续断皂苷 VI 高剂量组	0.49 ± 0.04 ^{bed}	0.45 ± 0.06 ^{bed}	0.48 ± 0.07 ^{bed}
F/P 值	23.118/0.000	15.156/0.023	15.022/0.025

注:与对照组比较,^a*P* < 0.01;与 H₂O₂ 组比较,^b*P* < 0.05;与川续断皂苷 VI 低剂量组比较,^c*P* < 0.05;与川续断皂苷 VI 中剂量组比较,^d*P* < 0.05

表 4 各组 H9c2 细胞内 ATF6、GRP78 和 PDIA6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ATF6	GRP78	PDIA6
对照组	0.62 ± 0.04	0.20 ± 0.04	0.57 ± 0.06
H ₂ O ₂ 组	0.23 ± 0.03 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.02 ^a
川续断皂苷 VI 低剂量组	0.37 ± 0.07 ^b	0.09 ± 0.02 ^b	0.24 ± 0.10 ^b
川续断皂苷 VI 中剂量组	0.45 ± 0.06 ^{bc}	0.12 ± 0.02 ^{bc}	0.38 ± 0.03 ^{bc}
川续断皂苷 VI 高剂量组	0.54 ± 0.05 ^{bed}	0.16 ± 0.05 ^{bed}	0.45 ± 0.07 ^{bed}
F/P 值	25.416/0.000	9.240/0.037	20.276/0.000

注:与对照组比较,^a*P* < 0.01;与 H₂O₂ 组比较,^b*P* < 0.05;与川续断皂苷 VI 低剂量组比较,^c*P* < 0.05;与川续断皂苷 VI 中剂量组比较,^d*P* < 0.05

经保护作用^[10]。川续断皂苷 VI 还可减轻 H₂O₂ 诱导的 PC12 细胞凋亡和 ROS 水平的增加,并增强局灶性脑缺血大鼠皮质组织中抗氧化酶的活性^[11]。然而,川续断皂苷 VI 对心肌细胞氧化损伤的作用及其机制尚不清楚。H9c2 是源自 BD1X 大鼠心室的克隆细胞系,具有许多心肌的电生理、离子通道和受体等特性^[12]。H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞模型已被广泛用于确定心脏氧化损伤的发病机制及其治疗策略^[13]。本研究单独用 H₂O₂ 处理可以显著增加 H9c2 细胞中 ROS、LDH 和 MDA 水平,用川续断皂苷 VI 处理后能减弱 H₂O₂ 对 H9c2 细胞的损伤,表明川续断皂苷 VI 具有抗氧化作用。

ROS 直接破坏细胞结构、核酸、脂质和蛋白质,并引发一系列事件,加剧细胞损伤,参与了与炎症反应、代谢和凋亡相关的细胞内信号级联。研究发现,ROS 的过度生成会影响内质网的稳态,干扰蛋白质的正确折叠,最终启动内质网应激介导的凋亡通路,加重心肌细胞损伤^[14]。在严重内质网应激条件下,促凋亡的转

录因子 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)被强烈诱导。CHOP 的激活改变了凋亡相关蛋白,如 Bax 和 Bcl-2^[15]。Bcl-2 和 Bax 基因在决定细胞凋亡后的存活或死亡中起主要作用。Caspase-12 是内质网应激诱导凋亡的另一种主要凋亡相关蛋白,其激活间接激活了胞质 Caspase-3,Caspase-3 是诱导细胞死亡的主要效应蛋白酶^[16]。本研究中川续断皂苷 VI 处理抑制了 H₂O₂ 的作用,降低了细胞凋亡率、Bax 和 Caspase-3 水平,增加了细胞增殖率、Bcl-2 水平,表明川续断皂苷 VI 对 H₂O₂ 诱导损伤的保护作用涉及抑制内质网应激介导的细胞凋亡,和上述文献研究一致。

内质网应激最初会触发一个适应性 UPR 过程以恢复内质网稳态,如果内质网应激未能解决,则 UPR 会抑制适应性反应并触发细胞凋亡。3 种 ER 跨膜蛋白,即 ATF6、IRE1a 和 PERK,通过靶向不同的基因来动员 UPR。研究发现,银杏内酯 K 通过激活 IRE1a 信号来保护心脏免受衣霉素诱导的内质网应激^[17];

PERK 激活在 β -淀粉样蛋白诱导的内质网应激下恢复细胞内环境平衡中起重要作用^[18]。与 IRE1a 和 PERK 相反,在心肌缺血/再灌注期间,UPR 的 ATF6 通路在响应 ROS 介导的内质网应激中起主要作用^[19]。在体内和离体模型及培养的心肌细胞中,ATF6 表达上调对缺血/再灌注损伤具有保护作用。使用转基因小鼠模型的研究表明,激活 ATF6 可保护心脏免受缺血/再灌注损伤^[20]。ATF6 激活会结合内质网应激反应元件,导致 ATF6 诱导的内质网蛋白(如 GRP78、GRP94 和 PDIA6)的表达增加^[21]。预先诱导的 GRP78 保护心肌细胞免于 OS 诱导的细胞死亡,并且 H9c2 细胞中 GRP94 过表达减少了应激诱导的细胞死亡;PDIA6 通过增强内质网蛋白折叠,保护心肌细胞免受缺血/再灌注诱导的细胞死亡^[22-23]。此外,对小鼠心脏中 ATF6 基因缺失的研究表明,内源性 ATF6 对缺血/再灌注损伤具有重要的保护作用,因为它是诱导多种抗氧化剂蛋白[如过氧化氢酶(Catalase, CAT)]所必需的。CAT 中和了 ATF6 中大量的 ROS,通过将 H₂O₂ 转化为 O₂ 和水,从而减轻 OS 损伤^[24]。本研究结果显示,川续断皂苷 VI 处理激活了 H₂O₂ 处理的 H9c2 细胞中 ATF6 及其下游基因 GRP78 和 PDIA6 水平升高,表明川续断皂苷 VI 通过 ATF6 通路发挥心肌细胞保护作用。

综上所述,川续断皂苷 VI 通过激活 ATF6 通路,减轻 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化应激和抑制细胞凋亡,从而发挥心肌保护作用,为川续断皂苷 VI 治疗心肌损伤的开发提供理论基础。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

冯海斌:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张巍:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;李琴:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;柴巧英:进行统计学分析;韩继如、李娟:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 毛拓华,刘丹,李竞,等. 利拉鲁肽对高糖培养的 H9c2 心肌细胞氧化应激和内质网应激的影响[J]. 中国药师, 2018, 21(6): 956-959. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2018.06.002.
- [2] Al-Rawi NH, Shahid AM. Oxidative stress, antioxidants, and lipid profile in the serum and saliva of individuals with coronary heart disease: Is there a link with periodontal health [J]. *Minerva Stomatol*, 2017, 66(5): 212-225. DOI:10.23736/S0026-4970.17.04062-6.
- [3] Bhardwaj R, Tandon C, Dhawan DK, et al. Effect of endoplasmic reticulum stress inhibition on hyperoxaluria-induced oxidative stress: Influence on cellular ROS sources [J]. *World J Urol*, 2017, 35(12): 1955-1965. DOI:10.1007/s00345-017-2083-8.
- [4] Arunkumar S, Suhila A, Rachel P, et al. Dynamic changes in complexes of IRE1 α , PERK, and ATF6 α during endoplasmic reticulum

- stress [J]. *Mol Biol Cell*, 2018, 29(11): 1376-1388. DOI:10.1091/mbc.E17-10-0594.
- [5] Sun C, Han C, Jiang Y, et al. Inhibition of GRP78 abrogates radioresistance in oropharyngeal carcinoma cells after EGFR inhibition by cetuximab [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0188932. DOI:10.1371/journal.pone.0188932.
- [6] Tong XX, Wu D, Wang X, et al. Ghrelin protects against cobalt chloride-induced hypoxic injury in cardiac H9c2 cells by inhibiting oxidative stress and inducing autophagy [J]. *Peptides*, 2012, 38(2): 217-227. DOI:10.1016/j.peptides.2012.06.020.
- [7] 田欢,赵锋,李晔,等. 川续断皂苷 VI 的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(5): 226-234. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2018050226.
- [8] 曾志辉,王晓莉,叶艳琼,等. 花旗松素对 H9c2 细胞氧化应激保护作用机制研究 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(15): 1794-1799. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2019.00.006.
- [9] 武密山,赵素芝,任立中,等. 川续断皂苷 VI 诱导大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞方向分化的研究 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(2): 222-226. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2012.02.017.
- [10] 范桂强,张李莉,蒋晓蕊,等. HPLC 法测定六味颈康胶囊中川续断皂苷 VI 的含量 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(2): 263-265. DOI:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.2.022.
- [11] Bharathi Priya L, Baskaran R, Huang CY, et al. Neferine modulates IGF-1R/Nrf2 signaling in doxorubicin treated H9c2 cardiomyoblasts [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 119(2): 1441-1452. DOI:10.1002/jcb.26305.
- [12] Hossein A, Bakhtiari E, Mousavi SH. Protective effect of hibiscus sabdariffa on doxorubicin-induced cytotoxicity in H9c2 cardiomyoblast cells (Spring 2017) [J]. *Iran J Pharm Res*, 2017, 16(2): 708-713. DOI: 10.22037/IJPR.2017.2031.
- [13] 李雪惠,张阳,吉世禹,等. 红参对 H₂O₂ 诱导 H9c2 大鼠心肌细胞氧化应激损伤的保护作用 [J]. 吉林中医药, 2019, 39(6): 772-776. DOI:10.13463/j.cnki.jlzyy.2019.06.020.
- [14] 刘丹,潘连红,金良友,等. 柚皮苷预处理通过抑制内质网应激凋亡途径减轻心肌细胞缺氧/复氧损伤 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 214-218. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2019.02.014.
- [15] Chen QQ, Yuan A, Yang J, et al. Effect of acupuncture on the endoplasmic reticulum stress IRE1-CHOP pathway and the expression levels of Bax and Bcl-2 protein as well as genes in pancreatic tissue of rats with diabetes mellitus [J]. *World J Acupuncture Moxibustion*, 2017, 27(1): 41-46. DOI:10.1016/s1003-5257(17)30098-3.
- [16] 沈雁,王章流,李思. 盐酸小檗碱对内质网应激 caspase-12/caspase-3 信号通路介导的小鼠肠上皮细胞凋亡的影响 [J]. 国际消化病杂志, 2018, 38(5): 327-332. DOI:10.3969/j.issn.1673-534X.2018.05.011.
- [17] Afroze D, Kumar A. ER stress in skeletal muscle remodeling and myopathies [J]. *FEBS J*, 2019, 286(2): 379-398. DOI:10.1111/febs.14358.

(下转 949 页)

不同浓度黄连素对乳腺癌 T47D 细胞生物学特性的影响

刘亚江, 冯金华, 邹琼燕, 黄文超, 李佳艳

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2015JJ4059)

作者单位: 423000 湖南省郴州市第一人民医院医疗集团南院肿瘤 ICU(刘亚江、黄文超、李佳艳), 健康管理中心(冯金华);
410011 长沙, 中南大学湘雅二医院甲乳外科(邹琼燕)

通信作者: 冯金华, E-mail: zilvrensheng@sina.com

【摘要】目的 观察不同浓度黄连素对乳腺癌 T47D 细胞生物学特性的影响。**方法** 2019 年 2—8 月在郴州市第一人民医院进行实验。在 ATCC 细胞库购买乳腺癌细胞株(T47D 细胞), 随机分为 3 组, 乳腺癌组(BC 组) T47D 细胞不做其他处理, 正常培养; 低浓度组(LC 组)将 T47D 细胞与 10 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素溶液混合培养; 高浓度组(HC 组)将 T47D 细胞与 30 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素溶液混合培养。比较 3 组 T47D 细胞凋亡、增殖、侵袭、迁移情况, 并分析不同浓度黄连素对 T47D 细胞生物学特性的影响。**结果** HC 组 T47D 细胞凋亡数量最多, 凋亡率为(61.35 \pm 6.38)%, LC 组为(26.97 \pm 3.75)%, BC 组为(16.57 \pm 2.53%), 3 组比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。HC 组 T47D 细胞增殖数量最少, LC 组居中, BC 组最多(P 均 < 0.01); HC 组 T47D 细胞迁移面积最小, 无细胞区域宽度最大, LC 组居中, BC 组细胞迁移面积最大(P 均 < 0.01); HC 组 T47D 细胞侵袭能力较差, 显微镜下细胞数量少, BC 组显微镜下细胞数量多, 侵袭能力最强, LC 组居中(P 均 < 0.01)。**结论** 黄连素对乳腺癌 T47D 细胞的生长存在抑制作用, 且黄连素浓度越高, 抑制效果越明显。

【关键词】 黄连素; 乳腺癌 T47D 细胞; 生物学特性; 增殖

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.019

Effects of berberine with different concentrations on biological characteristics of breast cancer cell line T47D Liu Yajiang*, Feng Jinhua, Zou Qiongyan, Huang Wenchao, Li Jiayan. *Tumor ICU, Chenzhou First People's Hospital, Hunan Province, Chenzhou 423000, China

Corresponding author: Feng Jinhua, E-mail: zilvrensheng@sina.com

Funding program: Natural Science Foundation of Hunan Province (2015JJ4059)

【Abstract】 Objective To observe the effect of berberine with different concentrations on the biological characteristics of breast cancer cell line T47D. **Methods** The experiment was conducted in the First People's Hospital of Chenzhou from February to August 2019. Methods: T47D cells were purchased from ATCC cell bank and randomly divided into three groups: breast cancer group(BC group) T47D cells were cultured without other treatment; low concentration group(LC group) were mixed with 10 $\mu\text{mol/L}$ berberine solution; high concentration group(HC group) were mixed with T47D cells and 30 $\mu\text{mol/L}$ berberine solution. The apoptosis, proliferation, invasion and migration of T47D cells were compared among the three groups, and the effects of berberine on the biological characteristics of T47D cells were analyzed. **Results** The apoptosis rate of T47D cells in HC group was (61.35 \pm 6.38)%, that of LC group was (26.97 \pm 3.75)%, and that of BC group was (16.57 \pm 2.53%). There were significant differences among the three groups (all $P < 0.01$). The proliferation of T47D cells in HC group was the least, LC group was the middle, and BC group was the most ($P < 0.01$). The invasion ability of T47D cells in HC group was poor, and the number of cells under microscope was small. The number of cells in BC group was more than that in LC group, and the invasion ability was the highest in LC group (all $P < 0.01$). The migration area of T47D cells in HC group was the smallest, the width of cell free area was the largest, LC group was the middle, BC group was the largest ($P < 0.01$). **Conclusion** Berberine can inhibit the growth of breast cancer T47D cells, and the higher the concentration of berberine, the more obvious the inhibitory effect.

【Key words】 Berberine; Breast cancer T47D cells; Biological characteristics; Proliferation

乳腺癌是女性易患的恶性肿瘤之一,不同国家乳腺癌患病人数也不相同,我国乳腺癌患者年龄逐渐下降,比其他国家女性早 10~15 年^[1]。中国属于发病率较低的国家,但是,近年来的增长速度却持续升高^[2]。调查数据显示,我国东部城市的女性发病人数明显多于其他地区^[3]。乳腺癌的病因相当复杂,该病的发生与遗传、环境等多种原因有关^[4],已引起临床及科研人员高度关注,正逐步加深治疗乳腺癌的相关研究。虽然手术治疗及术后的化、放疗发展迅速,对乳腺癌患者作用明显,但仍不能阻碍癌细胞的转移^[5]。乳腺癌的转移、复发严重延缓了患者的康复时间,给治疗增加了很多困难。因此,寻求综合、有效的治疗方案是当今医学研究的热点^[6]。黄连素是黄连抗菌的主要成分,该药物对临床常见疾病有一定治疗效果^[7-8]。实验研究显示,黄连素对常见癌症存在一定抑制作用,但黄连素在乳腺癌中的作用及相关机制仍不清楚^[9]。因此,现对乳腺癌细胞株(T47D 细胞)凋亡、增殖、侵袭、迁移情况进行研究,并观察不同浓度黄连素对 T47D 细胞生物学特性的影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)T47D 细胞:在 ATCC 细胞库购买乳腺癌细胞株(T47D 细胞),随机分为 3 组,乳腺癌组(BC 组)单纯 T47D 细胞不做其他处理,正常培养;低浓度组(LC 组)将 T47D 细胞与 10 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素溶液混合培养;高浓度组(HC 组)将 T47D 细胞与 30 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素溶液混合培养。(2)试剂:黄连素(上海曙灿实业公司),胎牛血清 CCK-8 试剂盒(北京杰辉博高生物公司),磷酸盐缓冲液(PBS)(绍兴市精源仪化贸易中心)。(3)仪器:恒温摇床(成都苏净器材公司,型号 CHA-S 型),离心机(上海继谱电子科技有限公司,型号 LGZ800),荧光显微镜(上海万衡精密仪器有限公司,型号 XSP-BM22AY),读板器(深圳玛雅电玩科技有限公司,型号 VL000D0),Transwell 小室(武汉弗凡科技有限责任公司,型号 PIHT12R48),Guava 流式细胞仪(南京兆坤仪器有限公司,型号 Guava)。

1.2 细胞培养 2019 年 2—8 月在郴州市第一人民医院进行实验。将 T47D 细胞在含有胎牛血清的 DMEM 培育液中培养。当细胞数量增长至 80%~90%时,胰蛋白酶消化、离心、收集、重悬并培养 T47D 细胞。LC 组、HC 组分别将 T47D 细胞与 10 $\mu\text{mol/L}$ 、30 $\mu\text{mol/L}$ 的黄连素溶液混合培养,48 h 后用于检测实验。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 TUNEL 检测 T47D 细胞凋亡:将盖玻片置于 6

孔板内,在 6 孔板中种入 T47D 细胞培养过夜,使 T47D 细胞生长占 70%~80% 培养皿,进行 TUNEL 染色,然后用 20 $\mu\text{g/ml}$ 蛋白酶 K 孵育,用 TdT/dUTP 反应混合物在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h 进行 DNA 片段标记,然后使用 PBS 洗 3 次,用含有 5% 正常山羊血清的封闭缓冲液封闭 1 h,将切片在封闭缓冲液中与兔抗大鼠 SP1 抗体(1:1 000)一起孵育 1 h,在避光、室温条件下孵二抗(1:200)40 min,进一步冲洗后,用盖玻片覆盖切片,切片中加 Vectashield Hard Set 封固涂片样本,标记反应,于荧光显微镜下观察染色结果并拍照。

1.3.2 流式细胞仪检测 T47D 细胞凋亡:增加培养液调整 T47D 细胞密度为 $1.2 \times 10^6/\text{L}$,接种于 6 孔板中,处理 12 h,培养箱中孵育 24 h,采用不含 EDTA 的消化液消化,1 000 r/min 离心 5 min 并收集细胞,4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,弃去上清液,各组分别加入 400 μl 预冷的 $1 \times$ 结合缓冲液,分别加入 5 μl Annexin V-FITC 和 LPI 溶液,混匀细胞,避光孵育 15 min 后,1 h 内上机检测。采用 FC500 流式细胞仪进行分析。

1.3.3 CCK-8 法检测 T47D 细胞增殖:取出转染后的 T47D 细胞,稀释为 $1 \times 10^5/\text{ml}$,置于细胞培养箱中孵育 24 h 后取出,取培养好的 T47D 细胞平铺到 16 孔板中培养。待细胞增长至一定数量后,加入 CCK-8 试剂 10 μl 。37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中培养 4 h 后,于全自动酶标仪(波长 = 450 nm)下检测各孔吸光度 A 值(A = 各孔的 OD 值 - 调零孔的 OD 值)。

1.3.4 细胞划痕法测定 T47D 细胞的迁移能力:取一瓶长满的以对数生长的 T47D 细胞,用含 EDTA 的 0.25% 胰酶消化并收集细胞,加入完全培养基终止消化后,将细胞悬液移至 15 ml 离心管中离心,速度 1 000 r/min,离心 5 min,弃上清液,加入完全培养基 5 ml,用 1 ml 移液枪充分吹打完全后,进行细胞计数,放入 CO_2 培养箱中培养,第 2 天进行模拟罐法负压干预,在长满单层 T47D 细胞的情况下用细胞刮刀垂直培养袋底划痕(细胞刮刀的划痕宽度为 0.5 mm),用 PBS 洗细胞 3 次,洗去划下的细胞,加入无血清培养基并放入模拟罐法负压装置中,之后移至 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养,24 h 后拍照(记为 24 h)。

1.3.5 Transwell 检测 T47D 细胞侵袭:取出转染后的 T47D 细胞,稀释为 $1 \times 10^5/\text{ml}$,在血清培养基中培养 12 h。准备 Transwell 小室,上室铺 ECM 胶,下室加 500 μl 含 10% 血清培养基,静置 4 h,吸出液体,残留液风干。取 200 μl 培养好的细胞接种在迁移室中,24 h 后,取出细胞,乙醇固定,结晶紫溶液染色,显微镜下观察。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析和 LSD-*t* 多重比较; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 TUNEL 法检测 T47D 细胞凋亡数量比较 镜下观察发现, BC 组 T47D 细胞凋亡数量最少, HC 组细胞凋亡数量最多, BC 组细胞凋亡数低于 LC 组 ($t = 7.111, P < 0.01$), LC 组凋亡数低于 HC 组 ($t = 16.852, P < 0.01$), 3 组细胞凋亡数量比较差异有统计学意义 ($F = 336.254, P < 0.01$), 见图 1。

2.2 各组流式细胞仪检测 T47D 细胞凋亡率比较 HC 组 T47D 细胞凋亡数量最多, 凋亡率为 (61.35 ± 6.38)%, LC 组为 (26.97 ± 3.75)%, BC 组为 (16.57 ± 2.53)%。 BC 组细胞凋亡率低于 LC 组 ($t = 7.275, P < 0.01$), LC 组凋亡率低于 HC 组 ($t = 14.697, P < 0.01$), 3 组细胞凋亡率差异有统计学意义 ($F = 264.600, P < 0.01$), 见图 2。

2.3 各组 CCK-8 法检测 T47D 细胞增殖比较 T47D 细胞的增殖数量以 OD 值表示, HC 组 (0.45 ± 0.06) 低于 LC 组 (0.72 ± 0.08) ($t = 8.538, P < 0.01$) 低于 BC 组 (1.12 ± 0.10) ($t = 9.877, P < 0.01$), 3 组细胞增殖数

量比较差异有统计学意义 ($F = 170.582, P < 0.01$)。

2.4 各组细胞划痕法检测 T47D 细胞迁移能力比较

0 h 时 3 组 T47D 细胞均无迁移, 24 h 时 HC 组 T47D 细胞迁移面积最小为 (358.4 ± 37.5) pixel², 无细胞区域宽度最大; LC 组 T47D 细胞迁移面积 (474.9 ± 46.8) pixel² 显著高于 HC 组细胞 ($t = 6.143, P < 0.01$), BC 组 T47D 细胞迁移面积 (543.6 ± 55.7) pixel² 显著高于 LC 组细胞 ($t = 2.986, P = 0.007$), 3 组细胞迁移面积比较差异有统计学意义 ($F = 39.25, P < 0.01$), 见图 3。

2.5 各组 Transwell 法检测 T47D 细胞侵袭能力比较

HC 组 T47D 细胞侵袭能力较差, 显微镜下细胞侵袭数量为 (11.22 ± 0.84) 个; LC 组 T47D 细胞侵袭数量为 (25.36 ± 1.41) 个; BC 组 T47D 细胞侵袭数量为 (46.75 ± 3.18) 个, HC 组细胞侵袭数量少于 LC 组 ($t = 27.246, P < 0.01$), BC 组细胞侵袭数量高于 LC 组 ($t = 19.453, P < 0.01$), 3 组细胞侵袭能力比较差异有统计学意义 ($F = 754.263, P < 0.01$), 见图 4。

3 讨论

乳腺癌发病率已位居妇科癌症首位。近年来, 我国在治疗乳腺癌方面获得了较多的成就, 手术、化疗、内分泌及靶向治疗方式, 在减轻患者痛苦的基础上, 也提高了部分患者 5 ~ 10 年生存率, 但癌细胞转移情况

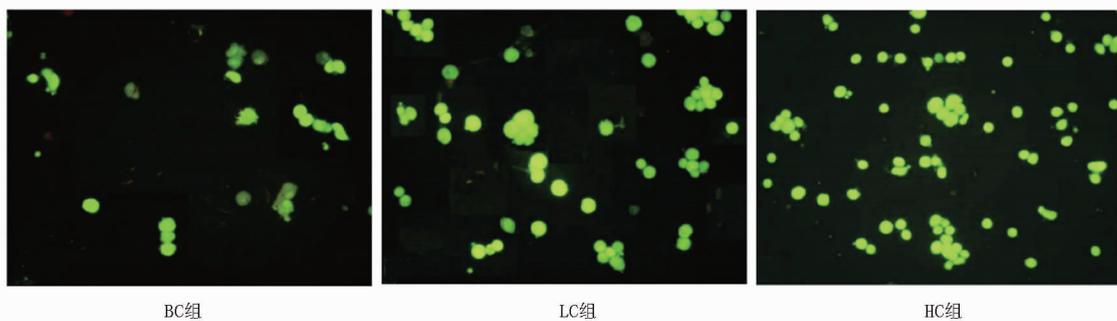


图 1 3 组 TUNEL 检测 T47D 细胞凋亡数量比较 (TUNEL 染色, ×200)

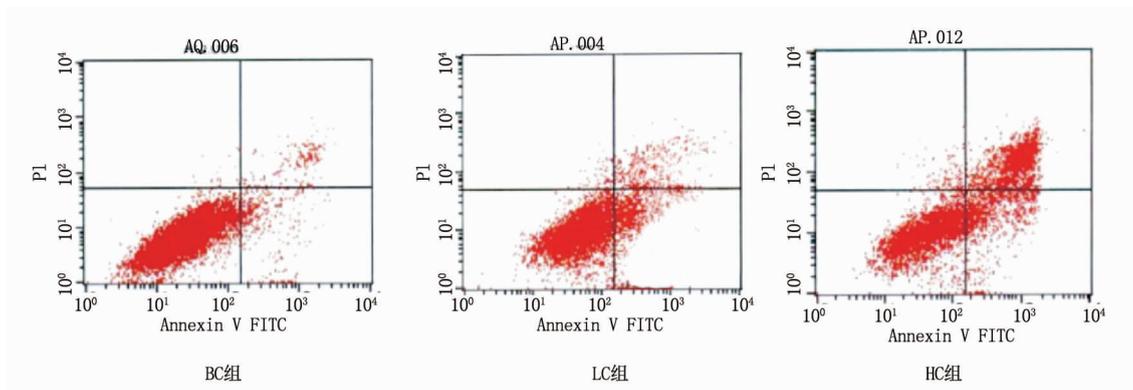


图 2 3 组流式细胞仪检测 T47D 细胞凋亡率比较

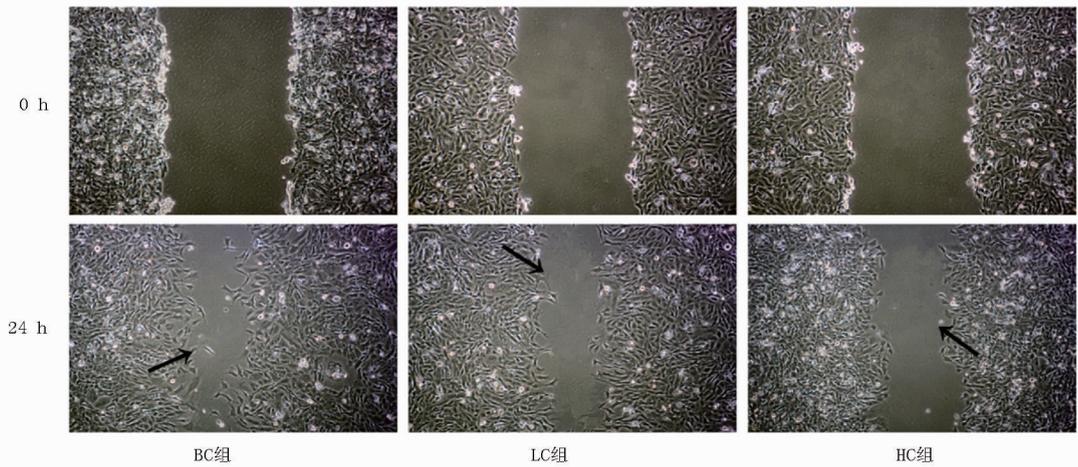


图 3 3 组细胞划痕法 T47D 细胞迁移能力比较

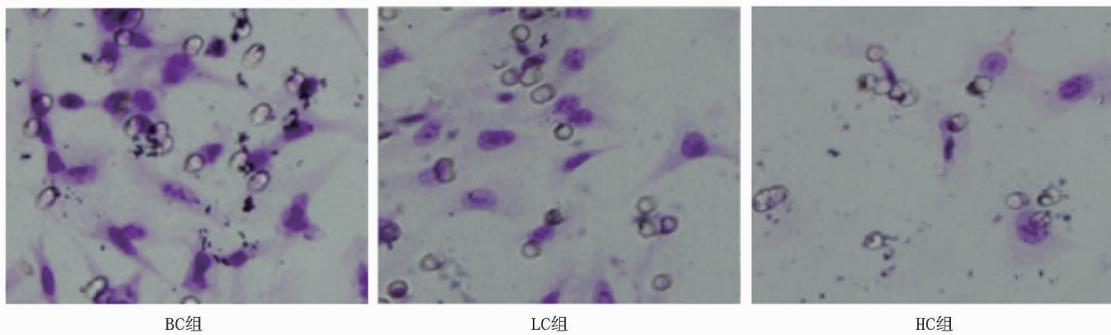


图 4 3 组 Transwell 检测 T47D 细胞侵袭比较(结晶紫溶液染色, ×400)

时有发生,发生率也同样居高不下^[10]。随着临床工作者的不断探索,除常规手术之外的多种治疗手段也得到了应用,但早期乳腺癌的治疗方法仍局限于手术治疗,放疗加化疗的手术患者生存率也开始小幅度提升^[11],但治愈率仍较低,因此,急需寻找更好的药物来治疗乳腺癌。研究显示,黄连素具有氮三角的化学结构,在治疗临床常见疾病中有较显著的效果^[12]。近年来发现,黄连素的药理作用在治疗癌症方面也较为显著,同时,黄连素具有高安全性、有效性和低成本的特点,可广泛应用于临床中癌症的治疗^[13]。

研究发现,显著增加癌细胞中黄连素的含量能抑制卵巢癌细胞的生长。卵巢癌细胞的生长、发育与黄连素有密切关系,并在抑制癌细胞生长、迁移的过程中占主导地位^[14-15]。本研究表明,BC 组 T47D 细胞凋亡率最少,HC 组 T47D 细胞凋亡率最多,HC 组 T47D 细胞凋亡率显著多于 LC 组,LC 组 T47D 细胞凋亡率显著多于 BC 组。HC 组细胞增殖 OD 值显著低于 LC 组,LC 组 T47D 细胞的增殖 OD 显著低于 BC 组。HC 组 T47D 细胞侵袭、迁移数量显著低于 LC 组,LC 组 T47D 细胞侵袭、迁移数量显著低于 BC 组。大量研究发现,黄连素在食管癌的发展过程中有抑制癌细胞的

作用,其高表达还能抑制卵巢癌的增殖和转移能力。黄连素在治疗人体多种系统和器官恶性肿瘤中效果显著,高浓度黄连素可抑制食管癌细胞的生物学行为,发挥抑癌基因的作用^[16-17]。研究表明,增加细胞中黄连素的含量能显著影响细胞的活性,与癌细胞的恶性度关系显著,能使其恶性度显著下降,这与宫颈癌的治疗率及复发率有显著关系,说明在宫颈癌的发展过程中,黄连素的用药浓度占关键作用^[18]。报道显示,在卵巢癌细胞中黄连素高表达能减缓癌细胞的扩散、增殖,且黄连素浓度与抑癌作用呈显著相关性,即黄连素浓度越高,抑制作用越明显,凋亡细胞数量越多^[19-20]。以上多种研究表明,黄连素能够抑制多种临床常见肿瘤,延长患者生存时间,提高患者生存质量,可以通过调节黄连素在癌细胞中的表达含量来达到治疗癌症的目的,为乳腺癌的诊断和治疗发展新方向。

综上所述,黄连素对 T47D 细胞的生长存在抑制作用,且与黄连素的浓度呈正相关,即浓度越高,抑制效果越明显。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘亚江、冯金华:提出选题及研究方向,设计研究方案,获

取数据,实施研究过程,论文撰写;邹琼燕、黄文超:补充研究方向,分析研究数据,修改论文;李佳艳:进行统计学分析,补充数据,论文终审

参考文献

[1] O'Brien N, Maguire TM, O'Donovan N, et al. Mammaglobin A: A promising marker for breast cancer[J]. *Clinical Chemistry*, 2020, 35(8):8-11. DOI: 10.1093/clinchem/48.8.1362.

[2] 刘军,曹苏生,王伟,等.不同手术方式联合新辅助化疗治疗乳腺癌患者的临床疗效对比[J].*现代生物医学进展*, 2017, 17(24):4751-4754. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.24.037.

[3] 纪光伟.精准医疗时代的乳腺癌治疗[J].*实用医学杂志*, 2017, 33(9):1369-1372. DOI: 10.3969/j.issn.10065725.2017.09.002.

[4] Gong XF, Yu AL, Tang J, et al. MicroRNA-630 inhibits breast cancer progression by directly targeting BMI1[J]. *Experimental Cell Research*, 2018, 362(2):378-382. DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.11.039.

[5] 李文斌,汤晗,邹洁雅,等.保留乳头乳晕的乳腺癌改良根治术治疗乳腺癌的安全性[J].*国际肿瘤学杂志*, 2017, 44(1):49-52. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2017.01.013.

[6] 王梅芳,姚晚侠.综合治疗期乳腺癌患者癌因性疲乏的纵向研究[J].*中华现代护理杂志*, 2017, 23(4):466-470. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2907.2017.04.006.

[7] 刘红岗,赖远阳,朱以芳,等.黄连素抗食管癌 EC109 细胞的作用及其机制[J].*临床与病理杂志*, 2017, 37(12):12-14. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.002.

[8] Lin XR, Zhang N. Berberine: Pathways to protect neurons[J]. *Phytotherapy Research*, 2018, 32(4):43-47. DOI: 10.1002/ptr.6107.

[9] Zhu L, Han J, Yuan R, et al. Berberine ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Biological Research*, 2018, 51(1):9-14. DOI: 10.1186/s40659-018-0157-8.

[10] 李洪涛,裴效瑞,窦宗山,等.曲妥珠单抗融合 UL16 结合蛋白 2 激活自然杀伤细胞治疗乳腺癌[J].*中华实验外科杂志*, 2018, 35(1):61-64. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2017.01.022.

[11] 陈建卫,高娟,朱忠辉,等.黄连素对肝癌细胞系 HepG2 细胞体外迁移影响及其机制研究[J].*陕西医学杂志*, 2018, 47(6):185-186. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2018.06.002.

[12] 喻芳芳,张敬美,张世俊,等.黄连素对脂多糖诱导小鼠抑郁样行为及脑内炎症因子的影响[J].*中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28(2):116-118. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2019.02.004.

[13] 赵超前.黄连素对乳腺癌细胞生长、迁移和放射敏感性的影响[J].*中华放射医学与防护杂志*, 2012, 32(1):25-30. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2012.01.006.

[14] Andersson Y, Bergkvist L, Frisell J, et al. Long-term breast cancer survival in relation to the metastatic tumor burden in axillary lymph nodes[J]. *Breast Cancer Research & Treatment*, 2018, 171(2):359-369. DOI: 10.1007/s10549-018-4820-0.

[15] 赵虹,沃立科,胡袁媛,等.黄连素抑制 GRP78 表达促进三阴乳腺癌细胞凋亡的研究[J].*浙江中医药大学学报*, 2019, 43(5):19-24. DOI:10.16466/j.issn1005-5509.2019.05.004.

[16] 孟昭杰,巴雅尔,张明,等.黄连素通过调节 miRNA-146 a 促进乳腺癌细胞凋亡[J].*中国病理生理杂志*, 2016,32(11):47-49. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2016.11.008.

[17] Christian M, Anton B, Martin W, et al. Neopterin Is an Independent Prognostic Variable in Females with Breast Cancer[J]. *Clinical Chemistry*, 2020,35(11):11-14. DOI: 10.1093/clinchem/45.11.1998.

[18] Zhou SH, Wang LH, Yang Q, et al. Systematical analysis of lncRNA-mRNA competing endogenous RNA network in breast cancer subtypes[J]. *Breast Cancer Research & Treatment*, 2018, 169(1):34-36. DOI: 10.1007/s10549-018-4678-1.

[19] Li L, Li X, Huang X, et al. Synergistic anti-cancer effects of nanocarrier loaded with berberine and miRNA 122[J]. *Bioscience Reports*, 2018, 38(3):18-21. DOI: 10.1042/BSR20180311.

[20] Gao XJ, Wang J, Li MQ, et al. Berberine attenuates XRCC1-mediated base excision repair and sensitizes breast cancer cells to the chemotherapeutic drugs[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2019, 45(24):11-14. DOI: 10.1111/jcmm.14560.

(收稿日期:2020-02-03)

(上接 944 页)

[18] Chen J, Zheng G, Guo H, et al. The effect of metformin treatment on endoplasmic reticulum (ER) stress induced by status epilepticus (SE) via the PERK-eIF2 α -CHOP pathway[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2017, 18(1):49-54. DOI:10.17305/bjbm.2017.2044.

[19] Gu LL, Shen ZL, Li YL, et al. Oxymatrine causes hepatotoxicity by promoting the phosphorylation of JNK and induction of endoplasmic reticulum stress mediated by ROS in LO2 cells[J]. *Mol Cells*, 2018, 41(5):401-412. DOI:10.14348/molcells.2018.2180.

[20] Song S, Tan J, Miao Y, et al. Crosstalk of ER stress-mediated autophagy and ER-phagy: Involvement of UPR and the core autophagy machinery[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5):3867-3874. DOI: 10.1002/jcp.26137.

[21] George AK, Behera J, Kelly KE, et al. Exercise mitigates alcohol induced endoplasmic reticulum stress mediated cognitive impairment

through ATF6-Herp signaling[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):5158. DOI:10.1038/s41598-018-23568-z.

[22] Wang Z, Cui R, Wang K. Effects of sevoflurane pretreatment on the apoptosis of rat H9c2 cardiomyocytes and the expression of GRP78[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(3):2818-2823. DOI:10.3892/etm.2018.5799.

[23] Herr I, Sähr H, Zhao Z, et al. MiR-127 and miR-376a act as tumor suppressors by in vivo targeting of COA1 and PDIA6 in giant cell tumor of bone[J]. *Cancer Lett*, 2017, 409:49-55. DOI:10.1016/j.canlet.2017.08.029.

[24] Zhao Q, Zhou L, Liu J, et al. Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility[J]. *Plant Cell Rep*, 2018, 37(5):741-757. DOI:10.1007/s00299-018-2264-y.

(收稿日期:2020-01-04)

腹膜后原发性黏液性囊腺瘤 1 例

刘序, 丁洪亮, 陈贵进, 周祥武, 王乐霄

作者单位: 510030 广州, 中国人民解放军南部战区总医院普通外科

通信作者: 丁洪亮, E-mail: iamadin@126.com

【关键词】黏液性囊腺瘤, 原发性; 诊断; 治疗

【DOI】10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.020

患者, 女, 43 岁, 因体检发现腹膜后囊性肿物 1 月余入院。入院查体: 生命体征平稳, 心肺腹未见明显异常。实验室检查: 血常规、肝肾功能、凝血功能及肿瘤标志物均未见明显异常。腹部 CT: (1) 右侧腹膜后孤立性囊性病灶, 边界清楚, 大小约 10 cm × 8 cm; (2) 盆腔少量积液。于 2019 年 11 月 6 日行腹腔镜下腹膜后肿物切除活检术, 探查见: 升结肠外侧旁沟腹膜后有一椭圆形囊性肿物, 与升结肠及右肾下极毗邻, 肿瘤大小约 12 cm × 8 cm, 内含清亮囊液, 包膜完整, 未见明显周围脏器侵犯, 无明显蒂部, 腹腔内未见明显转移结节及肿大淋巴结。腹膜后肿物石蜡病理: 符合黏液性乳头状囊腺瘤。术后患者恢复良好, 无并发症及明显不良反应发生, 术后 3 d 痊愈出院。术后 3 个月随访患者无特殊不适主诉。

讨论 黏液性囊腺瘤多发生于卵巢、阑尾、胰腺, 偶见于肾、胆囊和肝脏, 发生于腹膜后的黏液性囊腺瘤临床上较为罕见。检索既往相关文献, 对其报道多见于临床病例报道, 尚缺乏大样本的综合性研究。

腹膜后黏液性囊腺瘤多见于女性, 极少见于男性^[1]。其术前诊断较为困难, 当肿块较小时可无明显临床症状, 肿块较大压迫周围脏器时, 产生腹胀、非特异性腹痛、输尿管梗阻等症状, 相当一部分患者在行腹部超声、CT 等检查时偶然发现, 其影像学上通常表现为单发均质性囊性团块。最终确诊需要依靠术后病理诊断。

根据临床病理特征的不同, 可以将腹膜后黏液性肿物分为 3 种类型。(1) 良性黏液性囊腺瘤: 是最常见的类型, 其本质是一种良性的囊性肿瘤, 切除后不易复发^[2]。(2) 交界性黏液性囊腺瘤: 其包膜上皮组织包含柱状上皮和局灶增生柱状上皮, 此类肿瘤类似于卵巢黏液性肿瘤并具有低度恶性潜能^[3]。(3) 恶性黏液性囊腺瘤: 切除后可能出现复发或转移^[4,6]。

关于腹膜后黏液性囊腺瘤的发生机制尚不清楚, 目前主要有来源于异位卵巢组织和多向潜能的间皮组织化生 2 种学说^[7,8], 病理组织学及免疫组化研究发现, 其囊壁上存在与卵巢黏液性囊腺瘤类似的结构, 雌/孕激素受体阳性等可能提示其来源。

腹膜后黏液性囊腺瘤还需与其他以腹膜后黏液性囊肿为临床表现的疾病相鉴别, 如囊性淋巴管瘤、囊性间皮瘤、淋巴瘤、囊性畸胎瘤、输尿管囊肿、寄生虫及其他病原体感染性囊肿

等^[5]。术后必须对囊肿的包膜上皮进行检查和取材, 以明确诊断并除外囊腺瘤癌变^[9]。谨慎而完整地切除囊性肿物是外科治疗的关键, 术中应当避免囊肿破裂和囊液溢出, 以免肿瘤播散和复发。必要时需要结合临床随访和预防性化疗。

在进行腹膜后囊性肿物切除时, 经腹腔镜手术是较理想的选择^[10-11]。原因在于: (1) 腹腔镜手术提供了更清晰的观察视野和更宽阔的操作空间, 便于更好地观察和切除游离肿瘤; (2) 腹腔镜下使用超声刀使操作更加精细, 避免了周围脏器损伤和过多出血; (3) 在腹腔镜下可将囊肿置于标本袋内进行抽吸, 避免囊液溢出, 引起腹腔内种植转移; (4) 通过将抽吸后缩小的囊肿经 trocar 孔取出, 避免了延长手术切口和切口种植转移, 术后切口更加美观, 患者满意度更高。

参考文献

- [1] Barka M, Mallat F, Mabrouk MB, et al. Primary retroperitoneal benign mucinous cystadenoma in a male [J]. *Int J Case Rep Imag*, 2015, 6(4):198-202. DOI:10.5348/ijeri-201533-CR-10494.
- [2] Nam YJ, Kim TN, Kim KH, et al. A case of primary retroperitoneal mucinous cystadenoma arising from the retropancreatic area [J]. *Korean J Gastroenterol*, 2014, 63(3):187-190. DOI:10.4166/kjg.2014.63.3.187.
- [3] Matsubara M, Shiozawa T, Tachibana R, et al. Primary retroperitoneal mucinous cystadenoma of borderline malignancy: A case report and review of the literature [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2005, 24(3):218-223. DOI:10.1097/01.pgp.0000161313.30054.1d.
- [4] Uematsu T, Kitamura H, Iwase M, et al. Ruptured retroperitoneal mucinous cystadenocarcinoma with synchronous gastric carcinoma and a long postoperative survival: Case report [J]. *J Surg Oncol*, 2000, 73(1):26-30. DOI:10.1002/(sici)1096-9098(200001)73:1.
- [5] Kurita T, Nakajima K, Koi C, et al. Management of a primary retroperitoneal mucinous cystadenocarcinoma: Case report [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2014, 35(2):163-166. DOI:10.3233/CBM-140410.
- [6] Wolf B, Kunert C, Horn LC, et al. Management of primary retroperitoneal mucinous tumors: A retrospective Meta-analysis [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(6):1064. DOI:10.1097/IGC.0000000000001013.
- [7] Lee SY, Han WC. Primary retroperitoneal mucinous cystadenoma [J]. *Ann Coloproctol*, 2016, 32(1):33. DOI:10.3393/ac.2016.32.1.

33.
 [8] Yi JI, Cho HJ, Shin OR, et al. Primary retroperitoneal mucinous cystadenoma [J]. ANZ J Surg, 2008, 280 (3): 479-483. DOI: 10.1007/s00404-008-0925-8.
 [9] Subramony C, Habibpour S, Hashimoto LA. Retroperitoneal mucinous cystadenoma [J]. Arch Pathol Lav Med, 2001, 125 (5): 691-694. DOI: 10.1043/0003-9985(2001)125<0691;RMC>2.0.CO;2.

[10] Chen JS, Lee WJ, Chang YJ, et al. Laparoscopic resection of a primary retroperitoneal mucinous cystadenoma; Report of a case [J]. Surg Today, 1998, 28(3): 343-345. DOI: 10.1007/s005950050137.
 [11] 唐光华, 王存川. 经腹腔途径腹腔镜腹膜后粘液性囊腺瘤切除术 1 例报告 [J]. 腹腔镜外科杂志, 2012, 17(1): 62, 73. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6612.2012.01.024.

(收稿日期: 2020-01-15)

罕见病例

MOG 抗体相关性脑脊髓炎 1 例并文献复习

陈阳, 武兵, 张玉花

作者单位: 010065 呼和浩特, 内蒙古自治区国际蒙医医院神经内科
 通信作者: 陈阳, E-mail: chenyangsnys@163.com

【关键词】 髓鞘少突胶质细胞糖蛋白; 免疫球蛋白 G 抗体; 脑脊髓炎; 诊断; 治疗

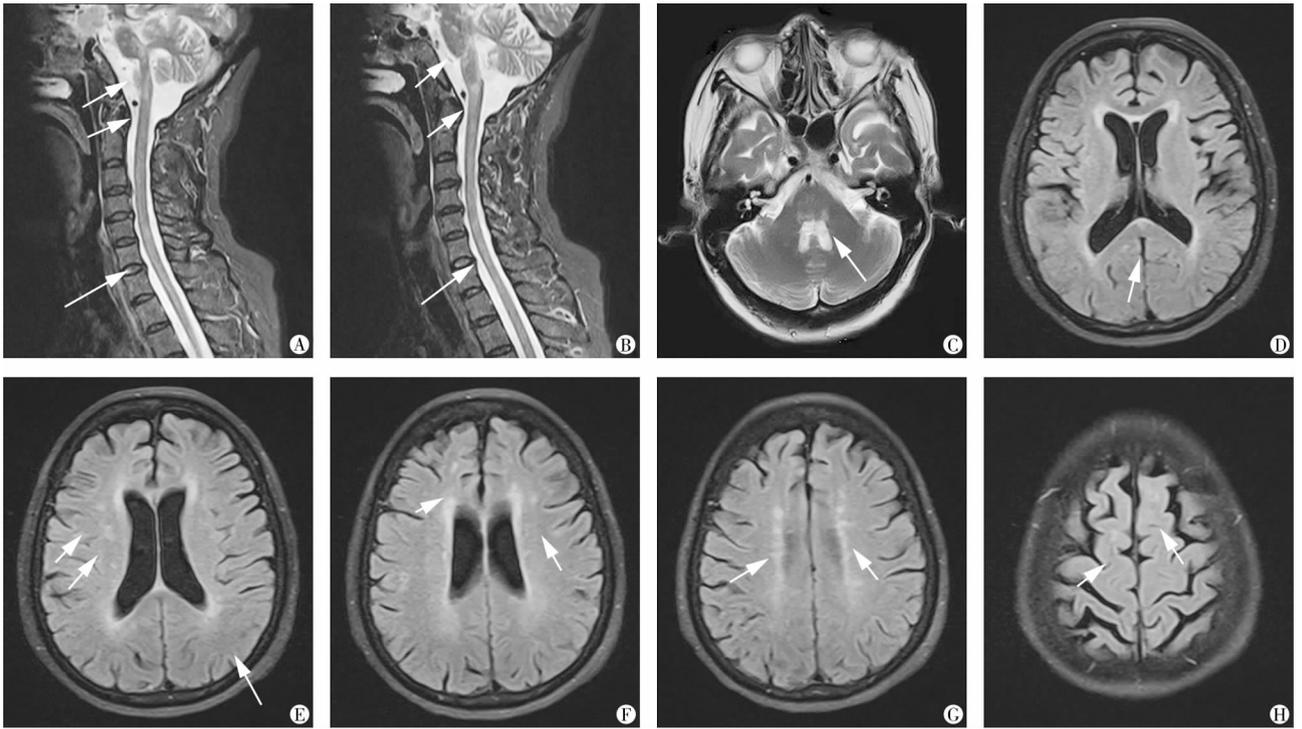
【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.021

患者, 女, 59 岁, 因突发意识不清、四肢屈曲僵硬于 2019 年 6 月 5 日再次住院。患者 6 年前因左耳带状疱疹病毒感染, 左耳流脓, 左眼闭合不全, 口角向右歪斜, 左嘴角流涎, 当地医院治疗后好转 (具体用药不详), 遗留左侧面肌瘫痪。4 年前无明显诱因出现舌僵言语不清, 饮水呛咳, 双下肢力量稍弱。3 年前双下肢无力症状加重, 行走困难, 拖拽感, 未诊治。2017 年 3 月上述症状再次加重, 行走不稳首次住院。既往体弱易感冒, 30 岁时曾患肺结核, 否认高血压、糖尿病、心脏病病史, 无家族遗传病病史。查体: 神志清楚, 构音障碍 (鼻音重), 双眼球内收受限, 双眼向左、向右视可见水平眼震, 左侧额纹浅, 左眼闭合力弱, 左侧鼻唇沟浅, 左侧软腭抬举较右侧低, 双侧咽反射迟钝, 双上肢肌力 5 级, 双下肢肌力 4⁻级, 四肢肌张力适中, 腱反射活跃, 共济运动欠稳准, 四肢病理征阳性。自身免疫性疾病抗核抗体谱: 抗线粒体抗体 M2 型弱阳性 (±), 抗增殖细胞核抗原抗体阳性 (++) , 抗 SS-A 抗体阳性 (+)。脑脊液无色透明, WBC 16 × 10⁶/L, IgG 3.97 mg/dl (正常参考值 0.48 ~ 5.86 mg/dl), 外送血清及脑脊液 AQP4 抗体、寡克隆带、抗 MOG 抗体、抗 MBP 抗体均阴性。颈椎 MR 增强示: 颈 3 ~ 4、4 ~ 5 间盘突出, 脑干、颈髓内异常信号 (图 1A、B)。头颅 MR 增强示: 脑干、胼胝体压部、双侧脑室周围及顶叶多发脑梗死 (图 1C、D、E)。给予甲泼尼龙冲击治疗: 1 000 mg 3 d、500 mg 3 d、240 mg 3 d、120 mg 3 d, 后改为甲泼尼龙片 60 mg 口服, 同时补钾、补钙、护胃等对症治疗, 下肢肌力好转, 偶有饮水呛咳, 出院后药物减量长期维持, 2018 年 12 月自行停药。2019 年 6 月 5 日患者突然出现意识不清, 伴呕吐, 呼之不应, 小便失禁, 四肢屈曲僵硬, 无肢体抽搐, 无双眼上翻, 无口吐白沫, 后患者转醒, 醒后不能回忆当时情况, 自觉讲话舌僵, 双下肢乏力。查体: 左上肢肌力 5 级, 右上肢肌力 5⁻级, 双下肢肌力 4 级。血清抗 MOG 抗体阳性 (1:10) (CBA 法), 脑脊液抗 MOG 抗体阴性。脑电图示各导联见稍

多量低波幅快波及慢波活动, 睁闭眼试验 α 波无反应。头颅 MR 示: 双侧脑室周围及半卵圆中心、顶叶多发缺血灶、腔隙灶 (图 1F、G、H), MRA 未见明显异常。确诊髓鞘少突胶质细胞糖蛋白 (MOG) 抗体相关性脑脊髓炎, 给予免疫球蛋白静脉滴注 5 d, 四肢肌力恢复可, 坚持口服甲泼尼龙片 8 mg 治疗, 病情稳定。

讨论 中枢神经系统髓鞘由少突胶质细胞逐层包绕轴索构成, 髓鞘少突胶质细胞糖蛋白 (myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG) 位于髓鞘最外层少突胶质细胞膜上, 由 245 个氨基酸组成^[1], 仅存在于中枢神经系统 (CNS)。MOG-IgG 相关性脑脊髓炎简称为 MOG 脑脊髓炎 (MOG-EM), 被认为是不同于多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 和 AQP4-IgG 阳性的视神经脊髓炎谱系疾病 (NMOSD) 的一种新疾病。MOG 抗体的致病机制尚不清楚, 有研究表明, MOG 特异性抗体与少突胶质细胞表面抗原结合后释放髓鞘基质蛋白 (MBP), 使髓鞘破坏, 细胞损伤程度取决于抗体水平, 纯化后的 MOG 抗体不仅能够通过典型的免疫球蛋白介导组织破坏, 而且诱导 T 淋巴细胞聚集引起免疫反应增强, 使脱髓鞘加重^[2]。

在成人发病的 MOG 抗体相关疾病中以视神经炎 (optic neuritis, ON) 为主, 多为双侧受累, 典型的影像学特征为视神经在增强扫描中被强化, 80% 患者视交叉前部受到损害^[3], 可超过视神经全长的 50%。而本例患者始终未累及视神经。MOG-EM 影像学特征为不连续的长脊髓中央病灶, 累及腰骶部及圆锥多见, 四脑室周围、小脑中角、胼胝体、丘脑和脑桥病变在 MOG-EM 中更为常见, 16% 的 MOG-EM 患者出现皮质病变, 6% 的患者出现软脑膜强化, 颈髓报道少见。本例患者头颅、颈椎 MR 出现了四脑室周围、胼胝体压部、侧脑室旁、皮质下多发病灶, 脑干及颈髓不连续的长节段病灶。脑脊液寡克隆带阴性的 MS 患者、AQP4 抗体阴性的 NMOSD 患者应行 MOG 抗体检测。有研究表明, 外周血清 MOG 抗体样本的特异性高于脑脊液样



注:A、B. 颈椎 MR 增强序列示脑干、颈髓内异常信号;C. 头颅 MR 的 T₂WI 序列示四脑室周围高信号;D~H. 头颅 MR 的 FLAIR 序列示胼胝体压部、侧脑室周围、皮质下、顶叶多发脱髓鞘病灶

图 1 患者头颈部 MR 影像学表现

本,脑脊液中白细胞可不同程度升高,蛋白偶有升高,糖和氯化物正常。该患者 2 次腰穿,脑脊液蛋白质、糖、氯化物、AQP4 抗体、寡克隆带、抗 MOG 抗体均未见异常,1 次脑脊液白细胞数稍高,第 2 次血清抗 MOG 抗体阳性。

2018 年国际提出 MOG-EM 的诊断和抗体检测的专家共识,诊断标准为:(1)单相或复发性急性视神经炎、脊髓炎、脑干脑炎、脑炎或其任何组合;(2)影像学表现或仅在有视神经炎病史的患者中,电生理视觉诱发电位改变与中枢神经系统脱髓鞘相一致;(3)至少有以下一种情况,明确的 MR 表现、眼底检查、脑脊液变化、临床表现及治疗反应^[4]。MOG-EM 急性期的治疗方法与其他中枢神经系统炎性脱髓鞘疾病类似,静脉滴注甲泼尼龙、免疫球蛋白或血浆置换,病灶消失较快,70%~90% 的患者恢复良好,长期使用糖皮质激素可以降低疾病复发风险,激素突然停用会导致疾病加重和复发风险升高^[4],因此,一些研究倾向于 6 个月以上的激素治疗,并联合其他免疫调节或免疫抑制药物。本例患者第一次应用了糖皮质激素,第二次应用了免疫球蛋白,均得到了显著的疗效。关于疾病的预后,MOG 抗体滴度下降与单相病程相关,滴度持续存在或增高与复发相关^[5]。MOG-EM 的 ON 易复发,在急性期伴有严重的视力丧失,但大多数患者视力恢复良好,严重者亦可功能丧失,需要早期进行免疫治疗。与 AQP4 抗体阳性的 NMOSD 相比,MOG-EM 中癫痫和脑炎的表现更为常见^[6],MOG-EM 预后较好,较少出现运动障碍,康复后 EDSS 评分好。本例患者癫痫发作 1 次,未再发作,完全恢复。结合本例患者提高了对 MOG 抗体阳性疾

病的认识,但确切的病理机制及其预后方面仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Kroepfl JF, Viise LR, Charron AJ, et al. Investigation of myelin/oligodendrocyte glycoprotein membrane topology[J]. J Neurochem, 1996, 67(5):2219-2222. DOI:10.1046/j.1471-4159.1996.67052219.x.
- [2] Zhou D, Srivastava R, Nessler S, et al. Identification of a pathogenic antibody response to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(50):19057-19062. DOI:10.1073/pnas.0607242103.
- [3] Chen JJ, Flanagan EP, Jitrapaikulsan J, et al. Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-positive optic neuritis: clinical characteristics, radiologic clues, and outcome[J]. Am J Ophthalmol, 2018, 195:8-15. DOI:10.1016/j.ajo.2018.07.020.
- [4] Jarius S, Paul F, Aktas O, et al. MOG encephalomyelitis; international recommendations on diagnosis and antibody testing[J]. J Neuroinflamm, 2018, 15(1):134. DOI:10.1186/s12974-018-1144-2.
- [5] Cobo-Calvo A, Ruiz A, Maillart E, et al. Clinical spectrum and prognostic value of CNS MOG autoimmunity in adults: the MOGADOR study[J]. Neurology, 2018, 90(21):e1858-e1869. DOI:10.1212/WNL.0000000000005560.
- [6] Hamid SHM, Whittam D, Saviour M, et al. Seizures and encephalitis in myelin oligodendrocyte glycoprotein IgG disease vs aquaporin 4 IgG disease[J]. JAMA Neurol, 2018, 75(1):65-71. DOI:10.1001/jama-neurol.2017.3196.

(收稿日期:2019-12-04)

老年 Abernethy 畸形致肝性脑病 1 例

孟祥柱, 康婷, 钱伟, 孙宏, 郑泽琪

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目(20192BAB205005)

作者单位: 330006 南昌大学第一附属医院心血管内科

通信作者: 郑泽琪, E-mail: zzzq620712@sina.com

【关键词】 Abernethy 畸形; 意识不清; 肝性脑病; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.022

患者,男,81岁,因突发意识不清1h入院。既往有高血压、房颤病史,否认肝炎病史及服用肝损伤药物史,无毒物接触史,无烟酒等不良嗜好。查体:T 36.9℃,P 74次/min,R 19次/min,BP 150/82 mmHg。心率90次/min,第一心音强弱不等,心律绝对不齐,胸骨左缘4~5肋间可闻及3/6级收缩期杂音,巩膜轻度黄染,余无阳性体征。1个月前外院体检,腹部彩色超声未见明显异常。入院心脏彩色超声示双房增大,三尖瓣关闭不全并大量反流。头颅影像学检查未见异常。肝功能:AST 29U/L,ALT 17U/L,TBil 28.0 μmol/L,DBil 16.0 μmol/L,Alb 33.4 g/L,Glb 28.3 g/L,ALP 114 U/L,γ-GT 61 U/L。HBsAg、HBeAb、HBeAb均阳性,HBV-DNA 1.17 × 10² IU/ml。大便隐血试验(+++)。血常规、甲状腺功能、肿瘤标志物均阴性。

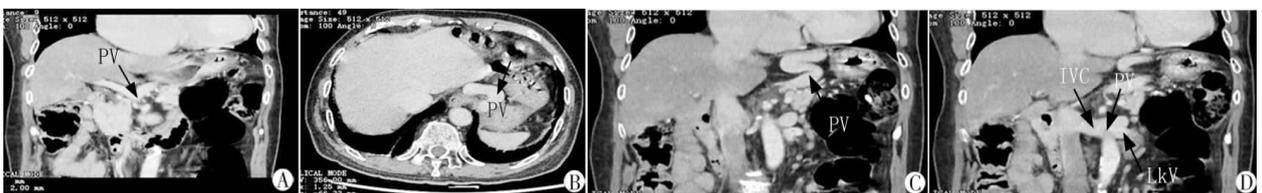
入院给予对症治疗3d后,反复出现意识不清,持续时间不等,偶有颤抖,动脉血气、痴量表均未见明显异常,脑电图示多量弥散性慢活动,后逐渐出现幻觉,胡言乱语,大小便失禁。追问病史,患者家属诉近期给予蛋白粉补充营养。查血氨136.40 μmol/L,腹部增强CT提示门静脉主干远端发出一粗大静脉,迂曲走行,回流入下腔静脉(图1)。确诊为Abernethy畸形(Ⅱ型)。嘱患者低蛋白、低盐、低脂饮食,口服果糖保持大便通畅,静脉滴注门冬氨酸鸟氨酸、多烯磷脂酰胆碱等处理后症状明显好转,复查血氨降低,未再发意识不清,后考虑经济及高龄风险等相关因素准备行内科保守治疗,定期至门诊复查,患者出院随访2个月未见特殊异常。

讨论 Abernethy畸形是一种罕见的先天性门体分流血管畸形,胚胎时期发育异常造成门静脉系统和腔静脉之间形成

异常分流道,导致门静脉的血液直接汇入人体静脉系统。1973年Abernethy对1例死因不明的10月龄女婴尸体解剖时首次发现,1997年被Howard和Davenport命名为Abernethy畸形^[1-2]。本病主要见于儿童,少见于成年人^[3]。根据门静脉血液是否进入肝脏分为2型^[4],Ⅰ型大多数发生于儿童,以女性患者多见,为门静脉缺失,肝脏完全无门静脉血流灌注,常伴有其他先天发育畸形,如多脾、胆道闭塞、肝脏肿瘤、心血管畸形等。Ⅱ型多发生于成年人,以男性患者多见,较Ⅰ型发生率更低,为门静脉血液部分向肝脏灌注,大部分流入下腔静脉,合并其他部位的血管畸形较少见,该例患者为此型。

Abernethy畸形的诊断主要依靠影像学,可通过腹部血管的超声多普勒、DSA、增强CT、MR等检查明确诊断,其特征性表现为门静脉缺如或细小,存在异常门腔静脉分流。Abernethy畸形治疗目前无统一的认识^[5],根据畸形类型及患者具体情况而定。Ⅰ型,肝移植是主要根治方法;Ⅱ型,无症状时可选用内科保守治疗,有明显临床症状,如门体分流致曲张静脉出血、顽固性肝性脑病时,可选择腹腔镜或介入手术关闭异常的门脉分流,分流无法关闭或合并严重并发症时,肝移植是惟一可靠的方法。Abernethy畸形出现并发症时预后不佳,应尽早明确诊断,选择有效的治疗方案,改善患者的生存质量。

该患者以反复意识不清为突出表现,因心血管基础疾病较多,故收入心内科就诊,在排除常见病后仍无法明确诊断,后查血氨及腹部CT才得以确诊,确诊时间较长,可能原因为Abernethy畸形在临床上少见,且该患者既往无类似症状,考虑因长期的门一体分流形成自我调节及适应^[6], (下转962页)



注:A. B. C. 门静脉主干发出的粗大迂曲静脉;D. 门静脉主干远端血流经分流道汇入左肾静脉和下腔静脉内。PV: 门静脉;LRV: 左肾静脉;IVC: 下腔静脉

图1 患者腹部增强CT表现

超声成像新技术在高血压心脏病中的研究进展

李会英, 贾坤, 赵浩天综述 薛红元审校

基金项目: 河北省医学科学研究课题(20200761)

作者单位: 050051 石家庄, 河北省人民医院超声科

通信作者: 李会英, E-mail: yingrongkkk@163.com

【摘要】 高血压是心血管疾病的主要危险因素, 可影响心脏的结构和功能, 甚至引起心力衰竭以至死亡, 早期发现和治疗对于预防心力衰竭及其他心血管疾病至关重要。超声心动图是评价心脏结构和功能最常用的检查方法。近年来出现的超声成像新技术、新方法逐渐应用于临床, 并表现出各自的价值。文章就超声成像新技术在高血压心脏病中的应用研究进展作一综述。

【关键词】 高血压; 心脏病; 超声成像; 新技术

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.023

Research progress of new ultrasound imaging technology in hypertensive heart disease Li Huiying, Jia Kun, Zhao

Haotian, Xue Hongyuan. Department of Ultrasonic Imaging, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Li Huiying, E-mail: yingrongkkk@163.com

Funding program: Medical Science Research Project in Hebei Province (20200761)

【Abstract】 Hypertension is the main risk factor for cardiovascular disease, which can affect the structure and function of the heart, and even cause heart failure and death. Early detection and treatment are essential to prevent heart failure and other cardiovascular diseases. Echocardiography is the most commonly used examination method to evaluate the structure and function of the heart. In recent years, new ultrasound imaging technologies and new methods have been gradually applied in clinical practice and have shown their respective values. This article reviews the application research progress of new ultrasound imaging technology in hypertensive heart disease.

【Key words】 Hypertension; Heart disease; Ultrasound imaging; New technology

心血管疾病是全球范围内死亡和致残的重要原因, 高血压是心血管疾病发病及死亡的主要危险因素^[1], 发病率在我国乃至全球呈不断上升趋势。高血压可影响心脏的结构和功能, 甚至增加猝死风险^[2]。目前我国高血压知晓率和控制率仍处于较低水平。超声心动图评价心脏结构和功能在国内外均已被广泛应用。常规超声可测量心腔大小、室壁厚度, 评估左室舒张及收缩功能。近年来出现的超声成像新技术逐渐应用于临床, Tei 指数为心肌做功指标, 可反映心脏整体功能; 超声背向散射技术能有效评价心肌异常; 组织多普勒超声成像可较好评价左心室舒张功能变化; 实时三维超声成像可准确定量评价房室功能和容积; 斑点追踪成像可定量评价心肌旋转和扭转等特征。本文对超声成像新技术在高血压心脏病中的应用研究进展进行综述。

1 常规超声成像在高血压心脏病中的应用

常规超声是评价心脏结构和功能的基础, 已成为评估心脏最常用的检查手段。M 型超声、二维超声及多普勒超声通过多切面的扫查, 可以从不同角度观测心脏的形态和结构。M 型超声和二维超声通过测量心房心室的径线、室壁的厚度等, 可以评估血压升高患者是否发生房室腔的扩大、室壁的肥厚等心脏构型改变; 计算左心室射血分数、短轴缩短率等可反映左心室的收缩功能。频谱和脉冲多普勒超声通过测量血流频谱各参数可评判左心室的舒张功能。有学者证实, 超声心动图通过测算左心房内径(LAD)、二尖瓣充盈早期的 E 峰/充盈晚期的 A 峰(E/A)、左心室射血分数(LVEF)、左心房内径/主动脉根内径可以较好地诊断高血压患者是否发生左心室肥厚、左心房增大、主动脉扩张、主动脉弹性减退等情况, 并且检出率均高于心电图^[3]。马逸宜等^[4]研究显示, 除了与上述学者相似的结果, 还进一步认为对高血压分期后, 左心室舒张末期

容积(LVEDV)和LAD随着血压的升高而升高,E/A、LVEF则有所降低。Gaudron等^[5]认为室间隔增厚是早期高血压心脏病的超声心动图标志,对于超声心动图无意发现的所有室间隔增厚的患者,都应进行综合的血压评估,包括静息血压和动态血压监测。

常规超声心动图测得的各指标在临床评估高血压心脏病方面已得到较为广泛的应用。M型超声、二维超声与多普勒超声仍是评估高血压心脏病的重要工具。随着超声软件、硬件技术的发展,不断出现新的超声成像技术进一步扩充了心脏超声的检测能力。

2 超声成像新技术在高血压心脏病中的应用

超声成像新技术不单纯从二维角度评价心腔大小、室壁厚度及心脏功能,而是能进一步评价高血压患者心脏总体功能改变,可以获取心肌运动图像,分析高血压患者心脏是否发生心肌病变及病变程度。还能够实时显示心脏的立体结构,定量评价高血压患者左心室旋转及扭转特征等。但超声成像新技术仍存在数据处理复杂,样本量待提高,分辨率及降噪不足等局限性,仍需进一步的成熟及完善。

2.1 心肌做功 Tei 指数 1995 年日本学者 Tei 提出 Tei 指数,是由等容收缩期时间(isovolumetric contraction time, ICT)与等容舒张期时间(IRT)之和除以射血时间(ejection time, ET)所得。该指标为心肌做功指标,可有效评价心脏的整体收缩舒张功能。有研究显示^[6],高血压患者的 Tei 指数较正常者延长,Tei 指数能反映血压正常高值者早期心脏总体功能改变情况,对早期监测预防高血压亚临床心功能损害、逆转心脏功能具有重要意义。Tei 指数获取简便,且受心率变化影响较小,有学者探索发现 Tei 指数能够准确、灵敏地反映高血压状态下小鼠左心室舒张功能降低,且该参数几乎不受小鼠麻醉深度和心率的影响^[7]。Tei 指数能反映高血压患者心脏总体功能改变,对监测预防高血压心功能损害具有一定价值,但该指标的可重复性仍需大样本量的研究。

2.2 背向散射技术 超声波在传播过程中如果遇到的界面远远小于它的波长就会发生散射,若对背向散射进行积分便得出超声背向散射积分(integrated backscatter, IBS)。IBS 以组织声学密度为基础,不同的组织结构因其对超声的散射、反射、吸收和衰减不同,会产生不同的超声表现。当组织病理结构变化达到一定程度时即可引起 IBS 的改变,因此应用该技术可以分析心脏是否发生心肌病变,病变的程度和类型等。

高血压性心脏病患者心肌胶原纤维增多,可引起心肌弥漫性纤维化和左心室肥大。IBS 技术可以评估

高血压患者左心室重构情况,并可指导预后。有研究表明,高血压患者平均背向散射积分周期变化幅度(averaged cyclic variation in integrated backscatter, ACVIB)值显著降低,该学者认为 ACVIB 的降低与心肌功能的减退密切相关,观察左心室心肌 ACVIB 的变化可用于评估高血压患者的左心室功能^[8]。背向散射技术还可用于评估高血压药物治疗后的疗效。Mizuta 等^[9]发现长期缬沙坦药物治疗后,高血压患者已经降低的 ACVIB 和 E/A 比显著提高,认为该药物长期治疗可减轻高血压患者的心肌纤维化并改善舒张功能障碍。心肌背向散射参数的观测能有效评价心肌异常,但有较高的角度依赖性,缺乏一致的结果评判标准,其广泛应用仍需进一步的规范与改进。

2.3 多普勒超声成像 组织多普勒(tissue Doppler imaging, TDI)超声成像是通过检测心肌在运动时产生的较低的频率、较高的振幅信号,得到心肌的局部动态图像而并不获取血流信号,从而测得心肌各节段在同一心动周期沿长轴方向的运动速度。在心脏舒张时,心肌纵向延长、径向变薄、圆周率变长;而收缩时,心肌则产生相反的变化。其中二尖瓣环运动相对不受前负荷状态等血流动力学的影响,常通过测量二尖瓣口舒张早期血流速度 E、二尖瓣环舒张早期运动速度 e' 及二者比值来反映左心室心肌纤维在纵轴方向上的力学变化特征,被认为是评价左心室舒张功能较稳定的指标。左心室舒张功能在高血压早期即可发生变化。Morka 等^[10]研究显示,与常规超声心动图相比,TDI 可以更精确地评估青少年高血压患者左心室舒张功能,在检查过程中将探头放置在二尖瓣环间隔和外侧时,TDI 评估左心室舒张功能障碍更有意义。另有学者应用 TDI 研究儿童青少年原发性高血压患者舒张功能,发现高血压合并左心室肥大患者的 E/e' 高于其他无左心室肥大患者,提出左心室肥厚患者的舒张功能障碍可能更高,而与血压值无明显相关性^[11]。也有学者用该技术研究右心功能,Ifeoluwa 等^[12]联合组织多普勒技术发现,继发于高血压心脏病的心力衰竭患者右心室收缩功能受损。左心室舒张功能检测的金标准是应用心导管测量左心室舒张末压,但由于操作的有创性难以在临床上常规开展。组织多普勒超声成像能够得到较高分辨率的心肌运动图像,测量 e'、E/e' 等参数可以较好的评价左心室舒张功能变化。血流向量(vector flow mapping, VFM)是一种基于彩色多普勒检测血流动力学的超声新技术,可以定量测量血流速度向量^[13],能够动态显示心腔内的血流动力学变化。有学者研究认为,VFM 能够量化心腔内血流状态,测量

的相关参数能够准确评估高血压患者左心室收缩与舒张功能^[14]。

2.4 三维超声成像 目前,临床上主要通过二维超声对高血压患者心脏的结构与功能进行评价,而二维超声只是观察心脏某一个平面的径线、面积与运动等,再通过公式计算出整个心动周期心脏的容积,不能真实反映心脏立体的容积变化。三维超声成像是连续截取不同切面和角度的心脏二维图像,再利用计算机技术重建心脏三维图像,该技术完全根据心脏的实际形状而并非几何假设,因而具有更高的准确性。三维超声成像能够实现对心脏的实际形状立体、全容积显像,无论高血压是否引起左心室重构的变化,都可以对高血压患者的房室容积和功能进行准确评价。Tadic 等^[15]应用二维(2DE)和三维(3DE)超声心动图技术对 213 例不同左心室构型的高血压患者测定左房容积和功能,显示高血压患者左心室构型对左心房功能有显著影响,其中向心性肥厚型与左心房增大有最显著的负相关性。3D 心脏解剖模型超声成像(heart model, HM)是近年发展起来的基于三维超声评估心功能的新技术。HM 是一种基于解剖智能模型的、新的分割算法评价心功能,较之前的三维超声技术更为快速和准确,克服了重复性差、主观性强、分析时间长等局限性。吴伟春等^[16]研究表明,3D-HM 能够准确测量 LVEDV 及 LVEF 值,并且重复性好、客观性强,与 MR 有较好的相关性,是一种值得推荐的测量心脏功能的新方法。另有学者用 3D-HM 技术评价左心房和左心室重构患者左心容量及左心室功能的可行性与重复性,证明 3D-HM 是一项快速、可行的技术,对左心房和左心室重构患者的左心定量具有高度的可重复性^[17]。目前国内外罕见有报道将该技术用于高血压心脏病,相信随着技术的逐步成熟,用于精确评估高血压早期心功能变化是必然的趋势。

2.5 四维超声成像 四维超声成像即实时三维超声成像(RT-3DE),是最近发展起来的一项超声成像新技术,采用三维超声图像加上时间维度参数,可以实时获取三维图像,能够精确提供更细节、深度的超声图像,具有更强的诊断能力。随着超声技术的发展,该技术逐步用于高血压心脏成像。实时三维超声成像能够实时显示心脏的立体结构,并且不受心脏形态的影响,国内外研究表明,实时三维超声成像可以真实地反映心脏的立体结构与功能,与 MR 有较好的相关性^[18]。此外,RT-3DE 比常规超声心动图能更好地识别高血压患者早期 LA 功能的变化。Kanar 等^[19-20]应用 RT-3DE 测定原发性高血压(HT)患者的 LA 容积相关指标,发

现高血压患者的 LA 容量增加,并损害了心房顺应性和收缩力,还进一步表明 LA 容积和功能变化与高血压靶器官损害有关。另有学者探讨实时三维超声心动图评价原发性高血压患者左心室不同构型患者右心室早期结构和功能的变化,证实以向心性肥厚患者右心室结构和功能受损最重,该技术能较准确地评价高血压病患者右心室结构及功能的变化,有较好的临床应用价值^[21]。最新的四维应变技术增加了新的成像参数,可测量心室圆周、面积、径向及纵向的应变,通过追踪心肌组织随时间在三维空间的运动,真实地反映心肌在三维空间的位移,从而更精确地评价心肌形变能力。有研究证实高血压病患者在常规测得 LVEF 在正常参考范围的情况下,左心室整体收缩功能已降低,四维应变成像技术能早期发现高血压病患者左心室整体收缩功能的变化^[22]。二维超声因右心室的不规则新月形结构,增加了测量右心室大小和功能的难度。四维容积定量分析作为一种新兴的超声成像技术,可以在三维立体空间内实时追踪右心室心内膜,从多个层面及角度分析右心室的形态和功能,并可任意旋转重建的立体图像,减小误差,更接近真实的右心室容积。有学者采用四维右心室容积定量分析技术发现,高血压左心室不同重构阶段存在右心室收缩功能异常,该技术为早期评价高血压患者右心室功能提供了新方法^[23]。

2.6 斑点追踪超声成像 斑点追踪超声成像有二维和三维斑点成像。二维斑点追踪成像(two-dimensional speckle tracking imaging, 2D-STI)是在二维超声图像上追踪超声波在反射和散射过程中形成的斑点回声,对追踪的斑点运动轨迹进行对比分析即可获得心肌组织的位移信息,从而定量测量感兴趣区心肌的组织速度、应变、应变率、扭转角度等参数,进而对局部和整体心肌组织的运动情况进行评价。2D-STI 不依赖于多普勒超声原理,因此无角度依赖性,并且准确性优于常规超声。一些研究表明^[24-25],2D-STI 能敏感地发现高血压患者心脏的早期改变,在血压轻度升高、EF 尚保留或未发生左心室重构时也可检测出左心房及左心室运动参数的异常,认为高血压患者的左心室扭转运动异常较构型改变提前出现,为早期评价左心室功能提供了指标。另有学者应用 2D-STI 技术观测妊娠高血压不同孕期孕妇左心室旋转及扭转运动,认为有助于对妊娠高血压患者早期心功能的评价^[26]。但基于二维平面的斑点追踪成像存在“跨平面失追踪”的不足,难以全面反映心肌在三维空间的立体信息,存在一定局限性。由此,产生了三维斑点追踪成像(3D-STI),

该技术是在原有 2D-STI 的基础上,在三维空间内追踪心肌斑点回声的运动轨迹。心肌长短轴方向上的纵径向、圆周及旋转运动构成心脏的复杂运动,3D-STI 通过三维全容积成像获取信息,在不同维度计算心肌运动各参数,能更准确地评价心肌组织的功能改变。有研究显示^[27],3D-STI 在心肌运动应变参数的测量方面与磁共振相当,较二维具有更高的抗干扰能力和准确度。有报道显示^[28],3D-STI 可早期发现高血压患者左心室收缩及舒张功能的变化,能为高血压患者亚临床改变的早期诊治提供客观依据。另有学者应用 3D-STI 技术联合常规超声鉴别心肌淀粉样变、肥厚型心肌病和高血压性心脏病,结果显示左心室纵向收缩功能和同步性及舒张功能在三者中均有所不同^[29]。斑点追踪超声成像可定量评价不同分级及构型高血压患者左心室旋转及扭转特征,为高血压患者的心脏评估提供了一种新的无创检测手段。

3 小结与展望

改善我国高血压疾病负担最重要的是早期诊断,并对心脏损害进行敏感的评估,从而选择最佳干预时机来降低疾病风险。近年来各种无创、快速的心脏成像技术迅速发展,心电图只能发现心脏形态结构的晚期病变,心脏磁共振成像尽管是准确可重复的方法,但由于经济成本及操作时效性等原因,目前不建议常规用于评估高血压心脏病的临床实践^[30]。超声成像新技术联合传统的二维超声成像可敏感地评价高血压患者心腔大小、室壁厚度、心脏收缩舒张功能、房室容积及心肌旋转扭转运动等,不仅有助于高血压患者尽早发现心脏受累,而且对预防和早期治疗高血压病、保护心肌功能有十分重要意义。在临床实践中,应当根据患者不同情况合理搭配应用各项超声技术。相信,随着技术的不断创新超声成像将会在高血压心脏病评估中发挥越来越重要的作用。

参考文献

[1] Rodrigues AP, Gaio V, Kislaya I, et al. Sociodemographic disparities in hypertension prevalence: Results from the first Portuguese National Health Examination Survey[J]. Rev Port Cardiol, 2019, 8(8): 547-555. DOI: 10. 1016/j. repc. 2018. 10. 012.

[2] Saliba LJ, Maffett S. Hypertensive heart disease and besity: A review [J]. Heart Fail Clin, 2019, 15(4): 509-517. DOI: 10. 1016/j. hfc. 2019. 06. 003.

[3] 武小玲. 超声心动图对高血压心脏病的诊断价值[J]. 中华心脏与心律电子杂志, 2019, 7(3): 169-171. DOI: 10. 3877/cma. J. issn. 2095-6568. 2019. 03. 015.

[4] 马逸宜, 蒋燕东, 刘小铭. 超声心动图评价高血压性心脏病患者左心功能的临床意义[J]. 影像研究与医学应用, 2019, 3(16): 223-224.

[5] Gaudron PD, Liu D, Scholz F, et al. The septal bulge--an early echocardiographic sign in hypertensive heart disease[J]. J Am Soc Hypertens, 2016, 10(1): 70-80. DOI: 10. 1016/j. jash. 2015. 11. 006.

[6] 侯永志, 德吉, 李震宇. 组织多普勒 Tei 指数评价血压正常高值者左室功能[J]. 临床超声医学杂志, 2017, 19(12): 844-847. DOI: 10. 16245/j. cnki. issn1008-6978. 2017. 12. 020.

[7] 李昊, 孙莹莹, 陶瑾, 等. Tei 指数在评价高血压诱导的小鼠左室舒张功能减低中的应用[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2018, 2(1): 2368-2371. DOI: 10. 16563/j. cnki. 1671-6272. 2018. 02. 011.

[8] 杨志瑜. 血清脂联素对高血压患者心肌背向散射积分和左室心肌质量的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 8(33): 3846-3848. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2013. 16. 011.

[9] Mizuta Y, Kai H, Mizoguchi M, et al. Long-term treatment with valsartan improved cyclic variation of the myocardial integral backscatter signal and diastolic dysfunction in hypertensive patients: the echocardiographic assessment[J]. Hypertens Res, 2008, 31(10): 1835-1842. DOI: 10. 1291/hypres. 31. 1835.

[10] Morka A, Szydłowski L, Moric-Janiszewska E, et al. Left ventricular diastolic dysfunction assessed by conventional echocardiography and spectral tissue doppler imaging in adolescents with arterial hypertension[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(8): e2820. DOI: 10. 1097/MD. 0000000000002820.

[11] Lee H, Kong YH, Kim KH, et al. Left ventricular hypertrophy and diastolic function in children and adolescents with essential hypertension[J]. Clin Hypertens, 2015, 21: 21. DOI: 10. 1186/s40885-015-0031-8.

[12] Ifeoluwa AA, Adewole AA, Abiodun AM, et al. Right ventricular systolic function in Nigerians with heart failure secondary to hypertensive heart disease[J]. Afr Health Sci, 2019, 19(2): 2130-2139. DOI: 10. 4314/ahs. v19i2. 3.

[13] Akiyama K, Maeda S, Matsuyama T, et al. Vector flow mapping analysis of left ventricular energetic performance in healthy adult volunteers[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2017, 17(1): 21. DOI: 10. 1186/s12872-016-0444-7.

[14] 杨仁翠, 刘典美, 马桂凤, 等. 血流向量技术评估高血压病左室功能的临床应用价值[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(3): 221-225. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 03. 002.

[15] Tadic M, Cuspidi C, Pencic B, et al. The influence of left ventricular geometry on left atrial phasic function in hypertensive patients[J]. Blood Press, 2015, 24(6): 361-368. DOI: 10. 3109/08037051. 2015. 1070563.

[16] 吴伟春, 兰天, 朱振辉, 等. 3D 心脏解剖模型成像对不同心脏病疾病心脏功能的评估价值[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(1): 81-84. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-3614. 2019. 01. 013.

[17] 冯程, 郭瑞强, 陈立新, 等. 三维全自动左心定量技术评价左心房和左心室重构容积变化的初步研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2017, 26(5): 369-373. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1004-4477. 2017. 05. 001.

[18] Mizukoshi K, Takeuchi M, Nagata Y, et al. Normal values of left ventricular mass index assessed by trans-thoracic three-dimensional echocardiography[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2016, 29(1): 51-61. DOI: 10. 1016/j. echo. 2015. 09. 009. (下转 967 页)

睡眠剥夺在认知功能障碍发病中的作用机制研究进展

刘旭珂,侯家保综述 夏中元审校

基金项目:中央高校基本科研业务费专项基金(2042019kf0061)

作者单位:430060 武汉大学人民医院麻醉科

通信作者:夏中元, E-mail: xiazhongyuan2005@aliyun.com

【摘要】 睡眠剥夺(SD)是由于昼夜节律紊乱和睡眠稳态失衡造成的严重睡眠障碍,是当今社会常见问题。许多流行病学和临床研究已将睡眠剥夺与认知功能障碍的发生联系起来,但其相关机制还有待进一步明确。文章就睡眠剥夺在认知功能障碍发病中的作用机制进行综述。

【关键词】 睡眠剥夺;认知功能障碍;作用机制;综述

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.024

Research progress on the mechanism of sleep deprivation in the pathogenesis of cognitive dysfunction Liu Xuke, Hou Jiabao, Xia Zhongyuan. Department of Anesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Xia Zhongyuan, E-mail: xiazhongyuan2005@aliyun.com

Funding program: Basic Scientific Research Foundation of Central Universities (2042019kf0061).

【Abstract】 Sleep deprivation (SD) is a serious sleep disorder caused by circadian rhythm disturbance and sleep homeostasis. It is a common problem in today's society. Many epidemiological and clinical studies have linked sleep deprivation with the occurrence of cognitive dysfunction, but its related mechanisms need to be further clarified. This article reviews the mechanism of sleep deprivation in the pathogenesis of cognitive dysfunction.

【Key words】 Sleep deprivation; Cognitive dysfunction; Mechanism; Review

随着当今社会快速发展和人们生活工作压力不断增高,全世界数百万人每天都在经历睡眠不足,睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)经常发生。睡眠剥夺和认知障碍在老年人中尤为常见,越来越多的证据表明,睡眠和认知功能之间存在潜在的联系,睡眠剥夺会对机体健康产生近期和远期多方面的负面影响,包括增加患肥胖、脑卒中、糖尿病、心血管疾病和永久性认知缺陷等的风险。其中,认知功能损害被认为是睡眠剥夺导致的严重不良后果之一^[1-4]。因此,针对SD与认知障碍的关系及相关机制进行综述,有助于开发新的策略来改善睡眠剥夺对认知的负面影响,并对更深入的科学研究起到一定的启发作用。

1 睡眠与睡眠剥夺

睡眠是维持神经功能正常运转的关键基础,受睡眠稳态和昼夜节律共同调控^[5]。睡眠/觉醒节律是由位于下丘脑内侧的视交叉上核(SCN)驱动,其控制开关涉及多个大脑区域,包括下丘脑前部、基底前脑和下丘脑外侧区。大多数哺乳动物的睡眠由非快速动眼睡眠和快速动眼睡眠2种不同的睡眠形式组成。不同形

式的睡眠对神经功能的维持各不相同,非快速动眼睡眠对促进生长、消除疲劳等具有重要意义,而快速动眼睡眠则侧重于神经系统发育、学习和记忆的形成与维护。充足的睡眠有利于神经系统稳定运转,而睡眠剥夺则损害神经功能^[6]。

随着社会的发展,SD不仅存在于老年群体,更延伸到其他年龄段的人群,成为普遍性的社会问题之一。SD主要与睡眠的时间和类型异常明确相关,包括完全睡眠剥夺(无睡眠),长期睡眠受限及睡眠中断/睡眠碎片。在SD期间,睡眠稳态和昼夜节律相互作用失衡从而增加了睡眠压力,可导致中枢神经系统功能障碍方面的疾病,包括认知功能障碍、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)等^[7],且多数研究认为SD还可加重上述疾病的进展。术前睡眠不足还提高了术后认知功能障碍的发病率,影响愈后,增加家庭和社会负担^[8]。

2 SD与认知功能障碍

认知是人最基本的心理反应,是指人们获取信息,并对信息进行加工处理及应用的过程。它包括感觉、

知觉、记忆、思维、想象和语言等。充足的睡眠对认知的形成与维持发挥重要作用,而睡眠剥夺会损害注意力、记忆力(尤其是短期记忆中的即刻记忆)及执行能力等认知功能。

2.1 流行病学 当前人口老龄化问题形势严峻,这也使得认知功能障碍的发病率一再攀升,其中 AD 是最常见的认知功能障碍疾病,占 60%~70%^[9]。2018 年全球约有 5 千万人患有 AD,WHO 根据 AD 患病率增长趋势估计在 2050 年全球 AD 患病人数可能达到 1.14 亿。然而有睡眠紊乱的人群罹患 AD、认知功能障碍及亚临床型 AD 的风险分别是正常人群的 1.55、1.65 和 3.78 倍^[10]。PD 是发病率仅次于 AD 的第二大认知功能障碍疾病,目前中国 65 岁以上老年人的发病率接近于 2%,并且有逐年增高的趋势,据估计到 2050 年我国 PD 患者的人数将增加至 800 万^[11]。认知功能障碍是 PD 最常见、最重要的非运动症状之一,高达 90% 的 PD 患者会经历各种形式的睡眠剥夺,且相关研究显示,SD 是致使 PD 发病的风险因素且加重 PD 患者的认知功能障碍程度^[12]。还有证据表明,每晚睡眠时间少于或超过正常睡眠时间(6~8 h)的人群中约 50% 出现认知能力减弱的情况^[13]。可见异常的睡眠对认知功能有很大的负面影响。

2.2 SD 对认知功能的损害 急性和亚急性期的中重度创伤性颅脑损伤患者在住院期间会出现严重的 SD 情况(如失眠和睡眠碎片),加重其认知功能损害,延长住院时间,影响愈后^[14]。以往有研究报道,睡眠不足的受试者注意力相对不集中,测试反应更快,错误率也更高^[15]。与人们在警觉和注意等较低级认知领域中相同,SD 对许多更高级别的认知能力也存在有害影响,如 Chen 等^[16]发现 SD 改变了受试者在使用仪器进行任务培训过程中的学习策略,使个人更倾向于习惯性的控制反应,而不是像睡眠足够情况下更倾向于正确的结果。此外,影像学证据显示,睡眠剥夺患者和对照组患者相比,额顶叶控制区、二级感觉处理区和丘脑区出现分散性改变,提示认知功能改变^[17]。还有一项关于急性睡眠剥夺对青年男性军人脑认知功能影响的研究显示,急性睡眠剥夺 12 h 后内隐记忆减退,24 h 后外显记忆减退,36、48 h 后外显及内隐记忆均减退,可见急性睡眠剥夺会阻碍脑认知信息的加工过程,促使外显及内隐记忆消退,且因睡眠剥夺的不同时长对外显及内隐记忆的影响不同^[18]。SD 亦可对啮齿类动物空间参考记忆、空间工作记忆及暗示学习等造成不良影响^[19]。睡眠对包括昆虫在内的无脊椎动物也同样重要,夜间睡眠不足会降低蜜蜂摆尾舞信号的准确

性和成功返回蜂巢的几率,导致果蝇短期和长期记忆缺陷^[20]。明确睡眠与认知功能之间的关系及潜在机制,预防 SD 引起认知功能障碍的发生显得十分重要。

2.3 SD 导致认知功能障碍的相关机制

2.3.1 增强炎症反应:自始至终,SD 与炎症反应和免疫功能有关。中枢神经系统的神经炎症反应在神经退行性疾病(包括 AD、PD 和多发性硬化症等)的神经细胞死亡过程中发挥重要作用。小胶质细胞和星形胶质细胞是中枢神经系统主要的免疫炎症细胞,具有抗原呈递和产生促炎或抗炎因子等多种功能^[21]。SD 通过激活胶质细胞,引发大脑的炎症反应增强,引起炎症因子(C 反应蛋白、白介素-1 β 、白介素-6 和肿瘤坏死因子 α 等)的改变进而损害海马依赖的学习记忆,导致认知功能的下降^[22-24]。临床前研究中报道,SD 引起认知功能障碍组的外周血和不同脑区炎症标志物如白介素-1、白介素-6 和肿瘤坏死因子 α 的升高^[25]。另外王羲凤等^[8]研究显示,术前 SD 可增加老龄小鼠术后认知功能障碍的发生率,其机制与激活海马 Toll 样受体 4 (TLR4)/核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路诱发炎症反应有关。一项 Meta 分析显示^[26]:较短的睡眠时间与较高水平的 C 反应蛋白相关。长时间睡眠的极端情况与较高的 C 反应蛋白和白介素-6 水平也有关。由此可见,SD 诱发炎性反应增强,进而导致认知功能损坏,但睡眠时间减少并不是炎症反应增强惟一的诱导因素,还有待更多深入的研究来解释睡眠时间与炎症反应及认知功能之间的关系。

2.3.2 改变突触可塑性:突触可塑性是指突触的形态和功能可发生改变的特性,包括突触的传递、发育和形态的可塑性。突触生长和突触可塑性对神经回路的形成和成熟至关重要,SD 可改变脑区成熟的神经回路。突触可塑性的改变是认知功能障碍主要的发生机制之一。长时程增强和长时程抑制是突触可塑性的主要表现形式,是中枢神经系统加工和存储信息的主要机制。长时程增强依赖于环腺苷酸(cAMP)和蛋白激酶 A (PKA)途径,对记忆巩固起关键作用。一些证据表明,SD 5h 会造成海马长时程增强减弱,引起环腺苷酸减少^[27]。药物遗传学研究还证明通过特异性提高对 SD 敏感的海马区域神经元的环腺苷酸水平,可以改善 SD 引起的记忆损伤程度。树突棘是中枢神经系统中突触传递的主要部位,突触可塑性与树突棘的数目和形态密切相关。睡眠剥夺通过改变树突棘的数目和形态来影响突触可塑性,最终会影响大脑在认知、情绪和警觉性方面的功能^[28]。大鼠海马 CA1 区是信息处理和存储的重要区域,有关啮齿动物的实验数据表明,睡

眠剥夺后幼年大鼠海马 CA1 区的树突棘密度降低^[29], 经过 5 h 睡眠剥夺的成年小鼠 CA1 区神经元上树突棘数目减少和树突长度显著缩短, 以及海马区长时程增强减弱, 这些结构改变导致神经元连通性减弱甚至丧失, 破坏了海马中信息的正确处理过程^[30]。总而言之, 这些研究表明, SD 会导致长时程增强减弱及树突棘丧失, 进而损害突触可塑性, 影响大脑信息的巩固和储存。

2.3.3 诱导氧化应激:氧化—抗氧化系统失衡是氧化应激产生的主要原因。一旦活性氧和活性氮水平超过最佳水平, 氧化应激就会导致脂质、蛋白质和 DNA 的氧化损伤。大脑中抗氧化剂含量相对较低, 且为了满足对氧气和能量的需求, 还经常发生各种氧化还原反应, 产生自由基^[31]。此外, 中枢神经系统含有大量的不饱和脂肪酸和脂类, 这些脂类和不饱和脂肪酸是氧化应激的已知靶点。海马区是负责学习和记忆的重要区域, 据报道海马区是氧化应激最敏感的区域之一^[32]。睡眠可促进抗氧化机制, 正常情况下, 活性氧和活性氮在体内处于动态平衡, SD 等有害刺激会生成大量自由基, 一旦清除不及时, 这些自由基就会损害神经元, 减少神经元的数量, 诱发细胞毒性, 引起认知功能损伤^[33]。Trivedi 等^[34]研究表明, SD 一晚后, 谷胱甘肽、ATP、半胱氨酸和同型半胱氨酸水平显著降低, 这种氧化还原状态改变普遍存在于多种神经退行性疾病中。硫化氢 (H₂S) 是一种重要的神经保护和调节剂, 在氧化应激中发挥神经保护作用。SD 可通过抑制海马 H₂S 的产生, 并刺激海马过度自噬来损害认知功能^[35]。人参皂苷 Rh2 具有抗氧化性, 有研究表明它逆转了睡眠剥夺对空间记忆和非空间记忆的损害, 可能机制是通过防止 SD 期间血清和大脑的氧化应激损伤来实现的^[33]。这些研究表明睡眠会导致慢性氧化应激, 抗氧化机制失效, 氧化—抗氧化系统失衡, 诱发神经元损害, 造成认知功能障碍。

2.3.4 调控组蛋白乙酰化修饰:表观遗传修饰中的组蛋白乙酰化调节, 已成为基因在初始记忆形成和再巩固过程中的关键调节因素。组蛋白乙酰化修饰调控基因转录和蛋白质合成, 在学习和记忆形成过程中起着重要作用^[36]。最近的证据表明, 快速动眼 SD 改变了昼夜节律基因的表达, 导致组蛋白乙酰转移酶/组蛋白去乙酰化酶活性显著失衡。组蛋白乙酰化稳态失衡引发的转录失调可能导致可塑性和记忆功能的缺陷。Andrabi 等^[37]发现, 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 SAHA 通过上调组蛋白乙酰化来阻止睡眠剥夺介导的表观遗传改变, 从而逆转由睡眠剥夺导致的突触可塑性和记

忆力的损伤。组蛋白去乙酰化酶 2 负性调节海马的突触可塑性, 从而影响记忆形成^[38]。有研究证实, 经历 3 天 SD 的 Wistar 大鼠出现空间记忆障碍, 组蛋白乙酰化水平和组蛋白乙酰基转移酶表达量降低, 组蛋白脱乙酰基酶 2 表达增加。与此同时, SD 还降低了脑源性神经营养因子 (BDNF) 启动子中 H3 和 H4 的乙酰化水平, 从而显著下调 BDNF 的表达并削弱了参与信号传导的关键 BDNF 活性。因此, 组蛋白乙酰化稳态失衡可能是 SD 诱导空间记忆障碍的重要机制之一, 而且抑制组蛋白去乙酰化酶可能对 SD 诱导的空间记忆和海马功能障碍有保护作用^[39]。

2.3.5 诱发神经递质分泌异常:中枢神经系统中, 突触传递最重要的方式是神经化学传递。参与睡眠控制的神经递质是乙酰胆碱、多巴胺、5-羟色胺和一些神经肽。快速动眼 (REM) 睡眠对于巩固记忆至关重要。相对慢波睡眠 (SWS) 来说, REM 睡眠的特点是神经递质乙酰胆碱像清醒时一样高度活跃, 它促进记忆形成中的一些突触可塑性过程。快速动眼时期的 SD, 阻碍了乙酰胆碱与胆碱能受体的结合, 对记忆巩固影响显著^[40]。郭思媛等^[41]研究发现, 不同时长 SD 后大鼠下丘脑内去甲肾上腺素、多巴胺水平均有下降, 且随着 SD 时间延长, 表现出逐渐减少的趋势; 五羟吲哚乙酸水平均有上升, 且 120 h SD 组明显高于正常睡眠组, 五羟色胺水平均有升高, 120 h、144 h 组显著升高。可见, SD 可以使大鼠中枢去甲肾上腺素、多巴胺水平下降, 五羟吲哚乙酸、五羟色胺水平升高, 且随着 SD 时间的延长, 变化更为明显, 这可能是 SD 损害认知功能的原因之一。

3 小结与展望

SD 可对认知功能产生损伤, 目前研究的相关机制多样, 是否有某一或某些机制占主导地位尚不清楚。目前有少数研究证实, 通过运动、药物等干预方法治疗睡眠障碍引起的 SD 可以改善患者的认知功能。在这些机制研究的基础上, 未来的研究有望开发新策略来改善 SD 对认知功能障碍的影响。

参考文献

- [1] Arora T, Taheri S. Is sleep education an effective tool for sleep improvement and minimizing metabolic disturbance and obesity in adolescents[J]. *Sleep Med Rev*, 2017, 36(1): 3-12. DOI:10.1016/j.smrv.2016.08.004.
- [2] Jiang J, Gan Z, Li Y, et al. REM sleep deprivation induces endothelial dysfunction and hypertension in middle-aged rats; Roles of the eNOS/NO/cGMP pathway and supplementation with L-arginine [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182746. DOI: 10.1371/journal.pone.0182746.

- [3] Nir Y, Andrillon T, Marmelshtein A, et al. Selective neuronal lapses precede human cognitive lapses following sleep deprivation[J]. *Nat Med*, 2017, 23(12): 1474-1480. DOI: 10.1038/nm.4433.
- [4] Covassin N, Greene EL, Singh P, et al. Disparities in hypertension among African-Americans; Implications of insufficient sleep[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2018, 20(7): 57. DOI: 10.1007/s11906-018-0855-1.
- [5] Weber F, Dan Y. Circuit-based interrogation of sleep control[J]. *Nature*, 2016, 538(7623): 51-59. DOI: 10.1038/nature19773.
- [6] Scammell TE, Arrigoni E, Lipton JO. Neural circuitry of wakefulness and sleep[J]. *Neuron*, 2017, 93(4): 747-765. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.01.014.
- [7] 孙晓倩. 睡眠剥夺与中枢神经系统疾病关系的研究进展[J]. *天津医科大学学报*, 2018, 24(5): 461-465.
- [8] 王羲凤, 魏根, 张列亮, 等. 术前睡眠剥夺对术后认知功能障碍老龄小鼠海马 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 39(1): 36-39. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2019.01.009.
- [9] Bello-Medina PC, Gonzalez-Franco DA, Vargas-Rodriguez I, et al. Oxidative stress, the immune response, synaptic plasticity, and cognition in transgenic models of Alzheimer disease[J]. *Neurologia*, 2019. DOI: 10.1016/j.nrl.2019.06.002.
- [10] Bubu OM, Brannick M, Mortimer J, et al. Sleep, cognitive impairment, and Alzheimer's disease: A systematic review and Meta-analysis[J]. *Sleep*, 2017, 40(1): zsw032. DOI: 10.1093/sleep/zsw032.
- [11] 董文文, 邱畅, 章文斌. 帕金森病血液生物标志物的研究进展[J]. *临床神经外科杂志*, 2020, 17(1): 113-115, 120. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7770.2020.01.026.
- [12] 郭鹏, 左丽君, 连腾宏, 等. 帕金森病伴发认知功能障碍患者的临床特点及其与睡眠障碍的关系[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2019, 19(1): 17-20. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.01.005.
- [13] Wild CJ, Nichols ES, Battista ME, et al. Dissociable effects of self-reported daily sleep duration on high-level cognitive abilities[J]. *Sleep*, 2018, 41(12): zsy182. DOI: 10.1093/sleep/zsy182.
- [14] Duclos C, Beaugard MP, Bottari C, et al. The impact of poor sleep on cognition and activities of daily living after traumatic brain injury: a review[J]. *Aust Occup Ther J*, 2015, 62(1): 2-12. DOI: 10.1111/1440-1630.12164.
- [15] Lo JC, Chong PL, Ganesan S, et al. Sleep deprivation increases formation of false memory[J]. *J Sleep Res*, 2016, 25(6): 673-682. DOI: 10.1111/jsr.12436.
- [16] Chen J, Liang J, Lin X, et al. Sleep deprivation promotes habitual control over goal-directed control; Behavioral and neuroimaging evidence[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(49): 11979-11992. DOI: 10.1523/jneurosci.1612-17.2017.
- [17] Lowe CJ, Safati A, Hall PA. The neurocognitive consequences of sleep restriction: A meta-analytic review[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 80: 586-604. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2017.07.010.
- [18] 李晨, 刘康, 陈涛. 急性睡眠剥夺时程对青年男性军人脑认知功能的影响[J]. *中国健康心理学杂志*, 2017, 25(2): 195-199. DOI: 10.13342/j.cnki.cjhp.2017.02.011.
- [19] 侯家保, 沈倩妮, 万杏, 等. 急性睡眠剥夺对七氟烷麻醉大鼠学习记忆及海马时钟基因表达的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2018, 27(7): 577-581. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2018.07.001.
- [20] Helfrich-Forster C. Sleep in insects[J]. *Annu Rev Entomol*, 2018, 63(1): 69-86. DOI: 10.1146/annurev-ento-020117-043201.
- [21] Tay TL, Savage JC, Hui CW, et al. Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition[J]. *J Physiol*, 2017, 595(6): 1929-1945. DOI: 10.1113/jp272134.
- [22] Hou J, Shen Q, Wan X, et al. REM sleep deprivation-induced circadian clock gene abnormalities participate in hippocampal-dependent memory impairment by enhancing inflammation in rats undergoing sevoflurane inhalation[J]. *Behav Brain Res*, 2019, 364(2): 167-176. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.01.038.
- [23] Bellesi M, De Vivo L, Chini M, et al. Sleep loss promotes astrocytic phagocytosis and microglial activation in mouse cerebral cortex[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(21): 5263-5273. DOI: 10.1523/jneurosci.3981-16.2017.
- [24] Tso CF, Simon T, Greenlaw AC, et al. Astrocytes regulate daily rhythms in the suprachiasmatic nucleus and behavior[J]. *Curr Biol*, 2017, 27(7): 1055-1061. DOI: 10.1016/j.cub.2017.02.037.
- [25] Atrooz F, Liu H, Kochi C, et al. Early life sleep deprivation: Role of oxido-inflammatory processes[J]. *Neuroscience*, 2019, 406(1): 22-37. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2019.02.021.
- [26] Irwin MR, Olmstead R, Carroll JE. Sleep disturbance, sleep duration, and inflammation: A systematic review and Meta-analysis of cohort studies and experimental sleep deprivation[J]. *Biol Psychiatry*, 2016, 80(1): 40-52. DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.05.014.
- [27] Vecsey CG, Baillie GS, Jaganath D, et al. Sleep deprivation impairs cAMP signalling in the hippocampus[J]. *Nature*, 2009, 461(7267): 1122-1125. DOI: 10.1038/nature08488.
- [28] Raven F, Van Der Zee EA, Meerlo P, et al. The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: Implications for memory and cognitive function[J]. *Sleep Med Rev*, 2018, 39(1): 3-11. DOI: 10.1016/j.smrv.2017.05.002.
- [29] Acosta-Pena E, Camacho-Abrego I, Melgarejo-Gutierrez M, et al. Sleep deprivation induces differential morphological changes in the hippocampus and prefrontal cortex in young and old rats[J]. *Synapse*, 2015, 69(1): 15-25. DOI: 10.1002/syn.21779.
- [30] Havekes R, Park AJ, Tudor JC, et al. Sleep deprivation causes memory deficits by negatively impacting neuronal connectivity in hippocampal area CA1[J]. *Elife*, 2016, 5: e13424. DOI: 10.7554/eLife.13424.
- [31] Atrooz F, Salim S. Sleep deprivation, oxidative stress and inflammation[J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2020, 119: 309-336. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2019.03.001.
- [32] 邹金才, 宋际明, 柯飞雁. 异丙酚和氯化锂缓解氧化应激造成的术后认知功能障碍的分子机制研究[J]. *中医临床研究*, 2019, 11(25): 5-8. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2019.25.

002.

- [33] Lu C, Wang Y, Lv J, et al. Ginsenoside Rh2 reverses sleep deprivation-induced cognitive deficit in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2018, 349: 109-115. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.03.005.
- [34] Trivedi MS, Holger D, Bui AT, et al. Short-term sleep deprivation leads to decreased systemic redox metabolites and altered epigenetic status[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181978. DOI: 10.1371/journal.pone.0181978.
- [35] Yang SQ, Jiang L, Lan F, et al. Inhibited endogenous H₂S generation and excessive autophagy in hippocampus contribute to sleep deprivation-induced cognitive impairment [J]. *Front Psychol*, 2019, 10: 53. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.00053.
- [36] Panikker P, Xu SJ, Zhang H, et al. Restoring tip60 HAT/HDAC2 balance in the neurodegenerative brain relieves epigenetic transcriptional repression and reinstates cognition[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(19): 4569-4583. DOI: 10.1523/jneurosci.2840-17.2018.
- [37] Andrabi M, Andrabi MM, Kunjunn R, et al. Lithium acts to modulate abnormalities at behavioral, cellular, and molecular levels in sleep deprivation-induced mania-like behavior[J]. *Bipolar Disord*, 2020, 22(3): 266-280. DOI: 10.1111/bdi.12838.
- [38] Yamakawa H, Cheng J, Penney J, et al. The transcription factor Sp3 cooperates with HDAC2 to regulate synaptic function and plasticity in neurons[J]. *Cell Rep*, 2017, 20(6): 1319-1334. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.07.044.
- [39] Duan R, Liu X, Wang T, et al. Histone acetylation regulation in sleep deprivation-induced spatial memory impairment [J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(9): 2223-2232. DOI: 10.1007/s11064-016-1937-6.
- [40] Rasch B, Gais S, Born J. Impaired off-line consolidation of motor memories after combined blockade of cholinergic receptors during REM sleep-rich sleep [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(7): 1843-1853. DOI: 10.1038/npp.2009.6.
- [41] 郭思媛, 王旭, 马捷, 等. 不同睡眠剥夺时间对大鼠下丘脑内单胺类神经递质的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(6): 1032-1035. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.06.008.

(收稿日期:2020-04-09)

(上接 953 页)

此次因高蛋白饮食诱发急性起病;该病临床症状多样,可表现为腹痛、便血、鼻出血、双下肢水肿、呕血、性格改变等,该患者无明显肝功能异常或门脉高压等临床表现,故未及时查血氨;患者入院前腹部彩色超声未发现异常,可能受腹腔积气,门静脉分支显像欠佳,图像的分辨率及技术人员水平等影响,检查结果受到一定的限制,从而未能进一步完善相关检查,为后续的诊治带来一定困难。

综上,Abernethy 畸形临床少见,早期可无明显症状,随着疾病的发展或在某些诱因下,症状可表现多样性,其诊断在老年患者中更具挑战性,临床医生对此疾病的认识不足,缺乏诊治经验,漏诊及误诊率较高。通过本例诊治,提醒临床医生在遇到反复意识不清的患者时,一方面即使患者无肝功能异常、肝硬化、肝癌等肝脏疾病或门静脉高压时,也不要忽略肝性脑病的可能性,常规查血氨非常重要;另一方面,少见的门腔异常分流也可导致肝性脑病,接诊医师不能仅局限于常见病而忽略少见病,应拓宽诊断思维,尽早全面地完善相关检查,以免延误诊治。

参考文献

- [1] Lisovsky M, Konstas AA, Misdrabi J, et al. Congenital extrahepatic portosystemic shunts (Abernethy Malformation): A histopathologic evaluation[J]. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2011, 35(9): 1381-1390. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182230ce4.
- [2] Loomba RS, Telega GW, Gudauskas TM. Type 2 Abernethy malformation presenting as a portal vein-coronary sinus fistula[J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2012, 47(5): e25-e31. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.12.031.
- [3] Alonso-Gamarrá E, Parron M, Pérez A, et al. Clinical and radiologic manifestations of congenital extrahepatic portosystemic shunts: A comprehensive review[J]. *Radiographics*, 2011, 31(3): 707-722. DOI: 10.1148/rg.313105070.
- [4] Morgan G, Superina R. Congenital absence of the portal vein: Two cases and a proposed classification system for portosystemic vascular anomalies[J]. *J Pediatr Surg*, 1994, 29(9): 1239-1241. DOI: 10.1016/0022-3468(94)90812-5.
- [5] Witjes CD, Ijzermans JN, Vonk Noordegraaf A, et al. Management strategy after diagnosis of Abernethy malformation: A case report[J]. *J Med Case Rep*, 2012, 6(1): 167. DOI: 10.1186/1752-1947-6-167.
- [6] Grazioli L, Alberti D, Olivetti L, et al. Congenital absence of portal vein with nodular regenerative hyperplasia of the liver[J]. *European Radiology*, 2000, 10(5): 820-825. DOI: 10.1007/s003300051012.

(收稿日期:2019-12-01)

宫颈癌肉瘤的研究进展

刘宁综述 叶红审校

作者单位: 101300 北京市顺义区医院妇科(刘宁);100026 首都医科大学附属北京妇产医院妇科微创中心(叶红)

通信作者: 叶红, E-mail: yehong8812@sina.com

【摘要】 宫颈癌肉瘤主要来源于中肾管残迹,也称恶性中胚叶混合瘤。该病多发生于绝经后女性,虽发病率很低,但恶性程度高,预后差。该病常表现为阴道出血、流液,病变常位于宫颈深部组织,术前很难确诊,因此,术后病理和免疫组化对疾病的诊断起重要作用。目前,还没有统一的治疗方案,但手术仍是治疗的基本原则,术后联合放疗和/或化疗。临床病理分期和治疗方案的选择常与患者预后相关,故提高对宫颈癌肉瘤的认识对临床医生进一步治疗至关重要。文章就宫颈癌肉瘤的发病机制、临床特点、诊断及鉴别诊断、治疗进展作一综述。

【关键词】 宫颈癌肉瘤;中肾管恶性肿瘤;诊断;治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.025

Research progress of cervical carcinosarcoma Liu Ning*, Ye Hong.* Department of Gynecology, Shunyi District Hospital, Beijing 101300, China

Corresponding author: Ye Hong, E-mail: yehong8812@sina.com

【Abstract】 Cervical carcinosarcoma mainly comes from the remnant of mesonephric duct, also known as malignant mesodermal mixed tumor. The disease is mostly postmenopausal women, although the incidence rate is very low, but the degree of malignancy is high, and the prognosis is poor. The disease is often manifested as vaginal bleeding, fluid flow, lesions often located in the deep cervical tissue, it is difficult to make a diagnosis before surgery, therefore, postoperative pathology and immunohistochemistry play an important role in the diagnosis of the disease. At present, there is no unified treatment plan, but surgery is still the basic principle of treatment, postoperative radiotherapy and/or chemotherapy. Clinicopathological stages and treatment options are often related to the prognosis of patients, so it is important for clinicians to improve the understanding of cervical carcinosarcoma for further treatment. This article reviews the pathogenesis, clinical features, diagnosis, differential diagnosis and treatment of cervical carcinosarcoma.

【Key words】 Cervical carcinosarcoma; Malignant mesonephric tumor; Diagnose; Treatment

宫颈癌肉瘤是宫颈癌中极为少见的一种病理类型,约占宫颈恶性肿瘤的 0.005%^[1]。目前关于宫颈癌肉瘤的文献多为个案报道,临床常表现为异常阴道出血和阴道流液,无特异性。病变常位于宫颈深部组织,术前诊断率并不高,但术前影像学检查、宫颈活组织检查仍然对诊断有很重要的作用,明确诊断常需要手术病理和免疫组化。现就宫颈癌肉瘤的发病机制、临床表现、免疫组化标志物、诊断、治疗等方面对该疾病进行综述,以提高对该疾病的认识。

1 宫颈癌肉瘤的发病机制

女性生殖系统的发生及分化是一个复杂的过程,其发育过程主要包括中肾管的退化及副中肾管的分化。在性未分化阶段,每个胚胎中均含有 2 套生殖系统的始基,分别为中肾管和副中肾管,中肾管为男性生

殖系统的始基,副中肾管为女性生殖系统的始基。在性分化阶段,Y 染色体的性决定区蛋白(sex determining region Y gene, SRY)诱导未分化的性腺向睾丸发育,若无 SRY 的作用,则未分化的性腺朝卵巢方向分化^[2-4]。因无睾丸产生的雄激素及抗苗勒氏管激素,副中肾管逐渐分化为双侧输卵管、子宫、宫颈、阴道的上段,中肾管逐渐退化。在少数胚胎发育过程中,中肾管退化不全,继而造成女性生殖系统沿路的病变。

中肾管来源的肿瘤首次在 1973 年由 Probable 等^[5]报道。目前,中肾管残件肿瘤多为个案报道,已有研究报道指出,在女性生殖系统中,中肾管残迹形成的病变较常见于宫颈、阴道上段及阔韧带,较少见于子宫体,中肾管残迹在成年女性中的发生率为 1% ~ 22%,在儿童中的发生率可高达 40%^[6]。宫颈中肾管

良性病变包括中肾管残迹和中肾管增生,多数病例没有明显的临床表现,但因中肾管含有体腔上皮,具有分泌功能,少数患者可于宫颈处形成囊肿,通常可因体检发现盆腔肿块或有压迫症状而就诊,目前,手术切除为中肾管囊肿主要的治疗方式^[7]。

宫颈癌肉瘤是一种由恶性上皮和恶性间质成分混合组成的恶性肿瘤,来源于中肾管残迹或苗勒氏管,也称恶性中胚叶混合瘤(malignant mesodermal mixed tumor, MMT)。根据间质成分来源,癌肉瘤可分为同源性和异源性,同源性癌肉瘤是指起源于正常子宫间质所含有的组织,如子宫内膜间质、纤维组织、平滑肌组织,或支持成分如血管、淋巴组织。异源性肉瘤是指起源于正常子宫间质不具有的组织,如骨骼肌、软骨、横纹肌肉瘤。目前,关于癌肉瘤形成的分子机制有 3 种^[8]:(1)碰撞理论,该理论认为癌和肉瘤组织中均存在单独的克隆,这两种克隆可以相互作用。(2)转换理论,即一种肿瘤细胞可以转换为另一种肿瘤细胞,通常为癌细胞转化或分化为肉瘤细胞。(3)联合理论,即癌和肉瘤组织来源于同一个单克隆,即一个干细胞有多向分化能力,可以分化为癌组织和肉瘤组织。目前转换理论和联合理论较为被接受。

2 宫颈癌肉瘤的临床特点

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤,Bansal 等^[9]通过 SEER 数据库检索了 1988—2005 年宫颈恶性肿瘤的病例。该研究发现,最常见的病理类型为鳞癌,约占 81%,其次为腺癌占 18%,肉瘤仅占 1%。在肉瘤中,最常见的为癌肉瘤,占肉瘤的 40%,腺肉瘤和平滑肌肉瘤各占 21%。目前关于女性生殖系统癌肉瘤的研究多见于子宫体,宫颈癌肉瘤极少见,约占宫颈恶性肿瘤的 0.005%^[1]。有研究表明,1951—2017 年宫颈癌肉瘤仅有 81 例^[10]。

2.1 临床表现 宫颈癌肉瘤具有高度侵袭性,多见于绝经后女性,研究表明,70.2% 患者为绝经期女性,患者平均发病年龄为 61 岁(12~94 岁),同源性癌肉瘤占 59.3%,异源性癌肉瘤占 30.9%。患者最常见的临床表现为阴道出血(68.8%)、异常阴道流液(11.3%)、接触性出血、经量多、盆腔疼痛^[10]。宫颈癌肉瘤亦可由癌前病变进展而来^[11]。多数患者宫颈癌肉瘤的临床表现并无特别,但也有合并其他肿瘤的病例。谢加琼等^[12]报道 1 例宫颈癌肉瘤合并卵巢癌和子宫内膜癌的患者, Kim 等^[13]报道 1 例宫颈癌肉瘤术后并发乳腺癌的病例。另外,目前已有 6 例病例报道了宫颈癌肉瘤合并腺样基底细胞癌(adenoid basal carcinoma, ABC)^[14-16]。极少数患者可无明显的临床表

现, Tseng 等^[17]报道 1 例以下腹部肿瘤破裂为首发临床表现的病例,术后病理提示中肾管来源的癌肉瘤。妇科查体可见阴道血性液体,可伴有恶臭,宫颈糜烂,质硬,肥大,常可见宫颈息肉样赘生物,有触血阳性。

2.2 免疫表型 免疫组化可以提供直接与形态学相关的标记,是组织病理学的重要补充。目前的研究表明,癌肉瘤常见的免疫组化标志物为 CD10、EMA (epithelial membrane antigen)、Vim (vimentin)、calretinin。Kenny 等^[18]报道 8 例中肾管腺癌患者的免疫组化提示,所有患者的 EMA、Vim 均阳性,6 例患者的 CD10 阳性,7 例患者的 calretinin 阳性。另外,近来也有一些新的标志物可以作为中肾管来源肿瘤的标记,配对盒基因家族蛋白(paired box proteins, PAX)中的 PAX2、PAX8 和 GATA3 在中肾管形成及肾脏发育过程中起重要作用^[19-21]。HMGA2 在胚胎组织中表达,是细胞生长、分化、凋亡及恶变的重要调节因子^[22]。PAX2、PAX8、GATA3、HMGA2 均被证实在中肾管来源的恶性肿瘤中有表达。Kenny 等^[18]的研究表明,在 8 例中肾管腺癌患者中,有 7 例患者的 PAX8、HMGA2 阳性。Roma^[23]报道了 2 例生殖道癌肉瘤的案例(病变分别位于宫颈和阴道),2 例患者的 PAX8、PAX2、GATA3 均阳性。Pors 等^[24]对比了中肾管来源的恶性肿瘤、子宫内膜腺癌、宫颈腺癌 PAX8、GATA3 的表达,该研究表明,在 8 例中肾管来源的恶性肿瘤中(1 例病变位于阴道,7 例位于宫颈,其中 3 例为宫颈癌肉瘤),有 7 例 GATA3 表达阳性,所有患者均表达 PAX8。在 585 例子宫内膜癌患者中,GATA3 阳性仅有 35 例,占 6%。在 96 例子宫颈腺癌患者中,GATA3 阳性仅有 6 例。而 PAX8 表达在子宫内膜腺癌、宫颈腺癌中的阳性率分别约为 90%、83%,该临床试验也表明了对于中肾管来源的恶性肿瘤,GATA3 比 PAX8 有更高的敏感度及特异度。此外,WT1 为位于 11 号染色体的肿瘤抑制基因,现有的研究表明,中肾管来源的恶性肿瘤 WT1 均为阴性。另外,多数宫颈中肾管恶性肿瘤患者的 ER 表达也为阴性。在宫颈鳞癌和腺癌中,P16 常表达阳性,P16 表达阳性与 HPV 感染有关。在宫颈癌肉瘤中,P16 也有散在表达^[18,23-25]。Kenny 等^[18]的研究表明,8 例中肾管腺癌患者中,5 例患者 P16 表达阳性,但这些患者均无 HPV 感染。

2.3 HPV 感染与宫颈癌肉瘤的关系 HPV 持续感染是宫颈癌发生的主要因素。99% 宫颈癌组织标本中 HPV 阳性,但 HPV 感染主要与宫颈鳞癌及腺癌的发生有关^[26]。目前 HPV 感染与宫颈癌肉瘤发生的关系并不确定,但部分病例提示宫颈癌肉瘤患者的 HPV 阳

性,如 Grayson 等^[16]首次报道了 8 例宫颈癌肉瘤患者 HPV 均阳性, Takeshima 等^[15]随后报道了宫颈癌肉瘤合并 ABC 的患者 HPV 阳性。此外,另一部分宫颈癌肉瘤病例中并未发现 HPV 感染, Kenny 等^[18]报道了 8 例中肾管来源的恶性肿瘤患者,其 HPV 均为阴性。Gan 等^[27]报道了 3 例宫颈癌肉瘤患者的 HPV 均为阴性, Lin 等^[14]报道的宫颈癌肉瘤合并 ABC、CIN III 级的患者 HPV16、18、31、33 均为阴性。因此 HPV 感染是否是宫颈癌肉瘤的发病因素仍不确定,仍需要进一步的研究证实。

2.4 肿瘤标志物 肿瘤标志物异常可以协助诊断及治疗后的随访。SCCA、CEA、CA125、CA199 在宫颈癌的诊断中有重要的价值^[28-29]。因报道的宫颈癌肉瘤病例均为个案报道,并没有发现该疾病有特异的肿瘤标志物,但 Tseng 等^[17]的病例报道发现宫颈癌肉瘤患者的 CA125、CA199 明显升高, Kim 等^[13]的报道也提示宫颈癌肉瘤患者的 CA125 升高, CEA、SCC 正常。谢加琼等^[12]报道的宫颈癌肉瘤合并卵巢癌、子宫内膜癌病例中 CA125 及 CA199 均明显升高。因此, CA125、CA199 可能对宫颈癌肉瘤有一定的帮助。

3 宫颈癌肉瘤诊断及鉴别诊断

目前的影像学如超声、CT、MR 等可为确定病变的良恶性提供帮助。如超声常提示肿物呈低回声实质性肿块,边界欠清,血供丰富,血流阻力低。CT 发现实质性肿块,这些辅助检查均提示病变恶性可能^[30-31]。另外,患者常于术前行宫颈液基细胞学检查或宫颈组织活检,但因癌肉瘤病变常位于宫颈深部组织,细胞学或宫颈活检常提示非典型细胞^[23],但通常无法确定肉瘤成分,故术前诊断率并不高,有研究表明,约 55.9% 的患者可得到术前准确的病理诊断,癌肉瘤患者术前常被误诊为单纯的上皮来源性癌。故明确诊断常依据术后病理检查和免疫组织化学^[10]。宫颈癌肉瘤需要与以下疾病鉴别:(1)宫颈腺肉瘤:是一种由良性上皮成分和恶性间质组成的一种恶性肿瘤,主要临床表现为异常阴道出血,伴有恶臭味的白带,查体常发现宫颈较肥大,阴道内息肉样团块脱出于宫颈,辅助检查如 B 超、CT、盆腔 MR 常提示恶性变,但确诊仍需要术后病理^[32-33]。(2)子宫体癌肉瘤转移至宫颈:临床表现与原发性的宫颈癌肉瘤相似,也可表现为异常阴道出血,下腹疼痛,腹部肿物,宫颈细胞学异常,查体可触及增大的子宫,辅助检查术前诊断率较低,目前,宫腔镜下活检是诊断子宫癌肉瘤的有效手段^[31,34]。

4 宫颈癌肉瘤的治疗

宫颈癌肉瘤的发生率很低,但恶性程度高,临床预

后差。该疾病常通过淋巴系统转移,常见的转移部位为骨盆、淋巴结、肺、肝脏^[10]。根据 Bansal 等^[9]报道,宫颈鳞癌 I A 期的 5 年生存率为 95%,而宫颈肉瘤(癌肉瘤占 40%,腺肉瘤和平滑肌肉瘤各占 21%,其余为其他类型肉瘤)的 5 年生存率为 80%。I B 期鳞癌的 5 年生存率为 80%,I B 期肉瘤生存率为 67%。III 期鳞癌生存率为 32%,III 期肉瘤生存率为 20%,提示肉瘤的预后较鳞癌差。目前宫颈癌肉瘤的报道均为个案,尚无统一的治疗方案。虽然宫颈中肾管恶性肿瘤极少见,但临床表现出现相对较早,且通常表现为异常阴道出血,故一般较宫体癌肉瘤发现的期别早,预后也较宫体癌肉瘤好。Kimyon-Comert 等^[10]对 81 例宫颈癌肉瘤进行了 Meta 分析发现,宫颈癌肉瘤最常见的 FIGO 分期为 I B 期,约占 53%。在单变量分析中,是否绝经、癌肉瘤病理类型、是否淋巴结转移与患者 2 年无瘤生存率(disease-free survival, DFS)、2 年总存活率(overall survival, OS)无关。但临床病理分期、治疗方式与预后相关。多因素分析发现,宫颈癌肉瘤的临床病理分期是影响复发和死亡的独立因素。同时研究中发现,手术+放疗是对患者预后较好的治疗方案,手术方式为广泛性子官切除+双附件+淋巴结清扫。Kimyon-Comert 等^[10]报道中有 1 例 67 岁宫颈癌肉瘤合并子宫内膜癌的女性,行手术+放疗及化疗(仅一个疗程)后,该患者无瘤生存 60 个月。李荣岗等^[31]报道了 4 例宫颈癌肉瘤患者均行全子宫+双侧附件切除及盆腔淋巴结清扫(I B1、I B2 期各 2 例),3 例术后行局部放疗,1 例行放疗+化疗,其中 1 例于诊断 13 个月后因肿瘤扩散死亡。其余 3 例均获得 5 年生存时间。Gan 等^[27]报道了 3 例宫颈癌肉瘤患者经广泛性子官+双附件+淋巴结清扫,术后 2 例患者为 II B 期,给予放疗,但 2 例患者在 1 年内死亡。另 1 例患者为 I B 期,术后未给予辅助治疗,该患者在 24 个月内未复发。

在 Kimyon-Comert 等^[10]的 Meta 分析中,宫颈癌肉瘤患者的 2 年 DFS、2 年 OS 分别为 49%、60%。I 期、II 期患者的 2 年 DFS 分别为 73%、22%,2 年 OS 分别为 82%、33%,差异有统计学意义。在仅接受放疗的患者中,2 年 OS 为 17%,而仅接受手术的患者 2 年 OS 为 68%,接受手术+放疗+化疗患者 2 年 OS 较仅手术+放疗的 2 年 OS(92% vs. 65%, $P < 0.05$)高。对 I 期患者进行亚组分析发现,仅行手术治疗的患者 2 年 DFS 为 63%,而行手术+放疗的患者,2 年 DFS 可高达 100%。虽然目前对于宫颈癌肉瘤,进行辅助治疗的高危因素并不确定,但是对于恶性程度高的肿瘤

仍推荐放疗和/或化疗^[35-37]。目前,宫颈癌肉瘤仍无统一的治疗原则,但手术+放化疗仍是推荐的治疗方案^[10]。手术结合放化疗可以改善宫颈癌肉瘤患者的生存预后。

综上所述,宫颈癌肉瘤是一种较为罕见,侵袭性强、预后差的恶性肿瘤,HPV感染是否是宫颈癌肉瘤的发病因素仍不确定,临床表现缺乏特异性,CT和MR有助于提高恶性肿瘤的诊断,目前诊断依据术后病理和免疫组化,并没有统一的治疗方案,手术结合放化疗可以改善宫颈癌肉瘤患者的生存预后。因此,仍需要积累病例,尽早发现,进一步制定更完善的治疗方案,提高患者的生存率。

参考文献

- [1] Wright JD, Rosenblum K, Huettner PC, et al. Cervical sarcomas; an analysis of incidence and outcome[J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 99(2):348-351. DOI: 10.1016/j.ygyno.2005.06.021.
- [2] 谢幸,孔北华,段涛. 妇产科学[M]. 9版. 北京:人民卫生出版社,2018:270.
- [3] Cen CH, Chen M, Jiang L, et al. The regulation of gonadal somatic cell differentiation during sex determination in mice[J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2020, 72(1):20-30. DOI:10.13294/j.aps.2019.0083.
- [4] Stévant I, Nef S. Genetic control of gonadal sex determination and development[J]. *Trends Genet*, 2019, 35(5):346-358. DOI:10.1016/j.tig.2019.02.004.
- [5] Probable KM, Scully R. Female adnexal tumor of probable Wolffian origin: A distinct pathologic entity[J]. *Cancer*, 1973, 31(3):671-677. DOI:10.1002/1097-0142(197303)31:33.0.CO;2-K.
- [6] Montalvo N, Redrobán L, Galarza D. Mesonephric adenocarcinoma of the cervix: a case report with a three-year follow-up, lung metastases, and next-generation sequencing analysis[J]. *Diagn Pathol*, 2019, 14(1):71. DOI:10.1186/s13000-019-0847-8.
- [7] 孙建国,邱芳琳,刘俊宝. 宫颈中肾管囊肿1例报道[J]. *中国实验诊断学*, 2019, 23(4):661-662. DOI:10.3969/j.issn.1007-4287.2019.04.031.
- [8] 田江,陈美群. 子宫癌肉瘤的研究进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(24):4470-4473. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2015.24.018.
- [9] Bansal S, Lewin SN, Burke WM, et al. Sarcoma of the cervix: natural history and outcomes[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 118(2):134-138. DOI: 10.1016/j.ygyno.2010.04.021.
- [10] Kimyon-Comert G, Turkmen O, Karalok A, et al. Therapy modalities, prognostic factors, and outcome of the primary cervical carcinosarcoma: Meta-analysis of extremely rare tumor of cervix[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(9):1957-1969. DOI: 10.1097/IGC.0000000000001086.
- [11] Karatasli V, Erkilinc S, Can B, et al. Cervical carcinosarcoma presented in advanced stage after high grade cervical displasia[J]. *J Exp Ther Oncol*, 2019, 13(2):165-167.
- [12] 谢加琼,莫婷,任黔川. 宫颈癌肉瘤合并卵巢癌和子宫内膜癌1例[J]. *实用妇产科杂志*, 2016, 32(8):637-638.
- [13] Kim M, Lee C, Choi H, et al. Carcinosarcoma of the uterine cervix arising from Müllerian ducts[J]. *Obs Gynecol Sci*, 2015, 58(3):251-255. DOI: 10.5468/ogs.2015.58.3.251.
- [14] Lin Y, Chen H, Ye Z, et al. Synchronous carcinosarcoma of the uterine cervix with adenoid basal carcinoma and cervical intraepithelial neoplasia III: A case report and literature review[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(5):570-573. DOI:10.1016/j.prp.2017.02.006.
- [15] Takeshima Y, Amatya VJ, Nakayori F, et al. Co-existent carcinosarcoma and adenoid basal carcinoma of the uterine cervix and correlation with human papillomavirus infection[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2002, 21(2):186-190. DOI: 10.1097/00004347-200204000-00013.
- [16] Grayson W, Taylor LF, Cooper K. Carcinosarcoma of the uterine cervix: A report of eight cases with immunohistochemical analysis and evaluation of human papillomavirus status[J]. *Am J Surg Pathol*, 2001, 25(3):338-347. DOI: 10.1097/0000478-200103000-00008.
- [17] Tseng CE, Chen CH, Chen SJ, et al. Tumor rupture as an initial manifestation of malignant mesonephric mixed tumor: A case report and review of the literature[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(3):1212-1217.
- [18] Kenny SL, McBride HA, Jamison J, et al. Mesonephric adenocarcinomas of the uterine cervix and corpus: HPV-negative neoplasms that are commonly PAX8, CA125, and HMGA2 positive and that may be immunoreactive with TTF1 and hepatocyte nuclear factor 1-β[J]. *Am J Surg Pathol*, 2012, 36(6):799-807. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31824a72c6.
- [19] Grimley E, Dressler GR. Are Pax proteins potential therapeutic targets in kidney disease and cancer[J]. *Kidney Int*, 2018, 94(2):259-267. DOI: 10.1016/j.kint.2018.01.025.
- [20] Ráduly G, Pap Z, Dénes L, et al. The immunoeexpression of aquaporin 1, PAX2, PAX8, connexin 36, connexin 43 in human fetal kidney[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2019, 60(2):437-444.
- [21] Howitt BE, Emori MM, Drapkin R, et al. GATA3 is a sensitive and specific marker of benign and malignant mesonephric lesions in the lower female genital tract[J]. *Am J Surg Pathol*, 2015, 39(10):1411-1419. DOI:10.1097/PAS.0000000000000471.
- [22] Parisi S, Piscitelli S, Passaro F, et al. HMGA proteins in stemness and differentiation of embryonic and adult stem cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(1):E362. DOI:10.3390/ijms21010362.
- [23] Roma AA. Mesonephric carcinosarcoma involving uterine cervix and vagina: report of 2 cases with immunohistochemical positivity for PAX2, PAX8, and GATA-3[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2014, 33(6):624-629. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000088.
- [24] Pors J, Cheng A, Leo JM, et al. A comparison of GATA3, TTF1, CD10, and calretinin in identifying mesonephric and mesonephric-like carcinomas of the gynecologic tract[J]. *Am J Surg Pathol*, 2018, 42(12):1596-1606. DOI:10.1097/PAS.0000000000001142.
- [25] Ribeiro B, Silva R, Dias R, et al. Carcinosarcoma of the uterine cervix: A rare pathological finding originating from mesonephric remnants[J]. *BMJ Case Rep*, 2019, 12(3):e227050. DOI:10.1136/

ber-2018-227050. 26.

[26] Camus C, Vitale S, Loubatier C, et al. Quantification of HPV16 E6/E7 mRNA spliced isoforms viral load as a novel diagnostic tool for improving cervical cancer screening[J]. J Clin Med, 2018, 7(12):530. DOI:10.3390/jcm7120530.

[27] Gan XL, Li JK, Yu TH, et al. High expressions of bcl-2 and survivin, and decreased apoptosis in uterine cervical carcinosarcoma compared to cervical squamous cell carcinoma[J]. Arch Gynecol Obs, 2011, 284(1):175-181. DOI:10.1007/s00404-010-1610-2.

[28] 张瑜. 血清 SCCA、CEA、CA125、CA19-9 联合检测在宫颈癌与癌前病变鉴别诊断中的应用价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(4):675-682. DOI:10.11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2019.04.032.

[29] 王燕翔, 李彧白, 王丽玲, 等. 宫颈癌患者血清 IL-6、CA125、SCCA 的表达水平及其临床意义[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(5):489-492. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2019.05.014.

[30] 王雯雯, 周怀君, 凌静娴, 等. 女性生殖系统恶性中胚叶混合瘤 22 例临床特征分析[J]. 中国妇产科临床杂志, 2019, 20(4):317-320. DOI:10.13390/j. issn. 1672-1861. 2019.04.008.

[31] 李荣岗, 廖悦华, 孙丽霞, 等. 子宫癌肉瘤 4 例临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(6):717-719. DOI:10.13315/j. cnki. cjcep. 2019.06.022.

[32] 代伟娜, 王朋飞, 姚广, 等. 子宫颈腺肉瘤的诊治进展[J]. 肿瘤研究与临床, 2019, 31(8):570-573. DOI:10.3760/cma. j. issn. 1006-9801. 2019.08.016.

[33] 李灿宇, 申爱荣. 宫颈癌肉瘤 1 例[J]. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14(10):960.

[34] 邓波儿, 孔为民. 子宫癌肉瘤的诊治进展[J]. 医学综述, 2017, 23(22):4438-4442. DOI:10.3969/j. issn. 1006-2084. 2017.22.013.

[35] Li Y, Ren H, Wang J. Outcome of adjuvant radiotherapy after total hysterectomy in patients with uterine leiomyosarcoma or carcinosarcoma: a SEER-based study[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1):697. DOI:10.1186/s12885-019-5879-7.

[36] Versluis MAC, Pielsticker C, van der Aa MA, et al. Lymphadenectomy and adjuvant therapy improve survival with uterine carcinosarcoma: A large retrospective cohort study[J]. Oncology, 2018, 95(2):100-108. DOI:10.1159/000488531.

[37] Heinzelmann-Schwarz V, Kind AB, Vetter M, et al. Should MMT still be treated with adjuvant taxane-based combination chemotherapy[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 146(3):695-704. DOI:10.1007/s00432-019-03091-y.

(收稿日期:2020-03-21)

(上接 957 页)

[19] Kanar B, Kanar HS, Karatay A, et al. Relationship between left atrium and hypertensive retinopathy in patients with systemic hypertension: A real-time three-dimensional echocardiography-based study[J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2016, 17(Suppl 2):234-241. DOI:10.1093/ehjci/jew262.002.

[20] Kanar B, Ozben B, Kanar HS, et al. Left atrial volume changes are an early marker of end-organ damage in essential hypertension: A multidisciplinary approach to an old problem[J]. Echocardiography, 2017, 34(12):1895-1902. DOI:10.1111/echo.13710.

[21] 刘妍, 张勇, 王健. 实时三维超声心动图评价原发性高血压病左室不同构型患者的右室结构及功能[J]. 临床超声医学杂志, 2019, 21(9):646-650. DOI:10.3969/j. issn. 1008-6978. 2019.09.003.

[22] 盘梅淑, 张棣, 韦献彬, 等. 四维应变成像技术评价高血压病患者左室整体收缩功能的临床价值[J]. 广西医科大学学报, 2015, 32(3):434-436. DOI:10.16190/j. cnki. 45-1211/r. 2015.03.027.

[23] 李胜男, 郑慧, 智光, 等. 高血压病右心室收缩功能的四维容积定量分析[J]. 中国医学影像学杂志, 2018, 26(3):184-188. DOI:10.3969/j. issn. 1005-5185. 2018.03.006.

[24] Ayoub AM, Keddeas VW, Ali YA, et al. Subclinical LV dysfunction detection using speckle tracking echocardiography in hypertensive patients with preserved LV ejection fraction[J]. Clin Med Insights Cardiol, 2016, 10:85-90. DOI:10.4137/CMC.S38407.

[25] 陈晓沛, 姜志荣, 王小凡, 等. 实时三维超声联合二维斑点追踪成像评价原发性高血压患者左心房功能[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35(6):843-847. DOI:10.13929/j. 1003-3289. 201812047.

[26] 张岩, 肖秀娟, 庞远, 等. 二维斑点追踪成像技术对妊娠高血压不同孕期孕妇心功能改变的临床评价价值[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(5):498-501. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2016.05.016.

[27] Zhou X, Thavendiranathan P, Chen Y, et al. Feasibility of automated three-dimensional rotational mechanics by real-time volume transthoracic echocardiography: Preliminary accuracy and reproducibility data compared with cardiovascular magnetic resonance[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2016, 29(1):62-73. DOI:10.1016/j. echo. 2015.07.027.

[28] 李颖, 丁明岩, 赵含章, 等. 三维斑点追踪成像评价射血分数正常的高血压病患者左室收缩功能[J]. 临床超声医学杂志, 2019, 21(6):414-417. DOI:10.16245/j. cnki. issn1008-6978. 2019.06.006.

[29] 范泽政, 王静, 杨帆, 等. 三维斑点追踪技术在鉴别心脏淀粉样变与肥厚型心肌病和高血压心脏病中的应用[J]. 中国超声医学杂志, 2019, 35(7):604-607. DOI:10.3969/j. issn. 1002-0101. 2019.07.010.

[30] Cuspidi C, Tadic M. Three-dimensional echocardiography: a further step in the evaluation of hypertensive heart disease[J]. Journal of Hypertension, 2018, 36(8):1648-1650. DOI:10.1097/HJH. 0000000000001734.

(收稿日期:2020-03-25)

维生素 D 与早产儿肺部疾病关系研究进展

王炜综述 刘小烨,李月梅审校

作者单位: 050000 石家庄,河北医科大学第二医院小儿内科(王炜、李月梅);河北医科大学(刘小烨)

通信作者: 李月梅, E-mail: dymmyd@163.com

【摘要】 近年研究发现,维生素 D 参与肺的发育、成熟,维生素 D 与肺部疾病的关系成为目前的研究热点。早产儿常见的呼吸系统疾病如呼吸窘迫综合征(NRDS)、支气管肺发育不良(BPD)的发生有可能与维生素 D 缺乏相关,在生命早期进行营养干预,给予孕母及新生儿一定剂量的维生素 D,有可能成为预防和治疗早产儿肺疾病的新途径。文章就维生素 D 与早产儿肺部疾病关系的研究进展作一综述。

【关键词】 维生素 D;早产儿;呼吸窘迫综合征;支气管肺发育不良

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.026

Relationship between vitamin D and lung diseases in preterm infants Wang Wei*, Liu Xiaoye, Li Yuemei. * Department of Pediatrics, Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Li Yuemei, E-mail: dymmyd@163.com

【Abstract】 In recent years, studies have found that vitamin D is involved in the development and maturation of the lung, and the relationship between vitamin D and lung diseases has become a current research hotspot. Common respiratory diseases in premature infants such as respiratory distress syndrome (NRDS) and bronchopulmonary dysplasia (BPD) may be related to vitamin D deficiency. Nutritional interventions should be carried out early in life, and pregnant mothers and newborns should be given a certain dose of vitamins. D, may become a new way to prevent and treat lung diseases in premature infants. This article reviews the research progress of the relationship between vitamin D and lung diseases in premature infants.

【Key words】 Vitamin D; Preterm infants; Respiratory distress syndrome; Bronchopulmonary dysplasia; Review

维生素 D(VD)是具有多种生物学效应的类固醇激素前体,研究发现,维生素 D 在维持肌肉骨骼功能、调节激素分泌、免疫系统功能及调节细胞增殖和分化等方面发挥着重要作用^[1]。维生素 D 缺乏和呼吸系统疾病的关系也日益受到大家的关注,但大多数研究多集中于成人和儿童呼吸系统疾病,且有些报道的数据相互矛盾,特别是在病例控制、流行病学及前瞻性和介入研究方面^[2]。对于早产儿的研究较少,亦没有明确的结论^[3]。目前研究认为,维生素 D 有可能通过调节肺脏细胞的生物功能及免疫功能对早产儿肺部疾病产生重要影响^[4],而在胎儿肺的形成过程中维生素 D 也发挥着重要作用,有可能通过影响细胞的生长和分化而影响胎儿的肺发育^[5]。流行病学研究发现,维生素 D 缺乏与早产儿呼吸窘迫综合征(NRDS)、支气管肺发育不良(BPD)的发生具有相关性^[6]。现就维生素 D 与早产儿肺部疾病的研究进展作一综述。

1 维生素 D 和维生素 D 受体

维生素 D 是一种类固醇衍生物,人类主要通过 2

种途径来获得维生素 D:内源性途径和外源性途径^[7]。内源性维生素 D 是由于人体皮肤中的 7-脱氢胆固醇经日光照射后转化为胆骨化醇,此种维生素 D 为维生素 D₃,人体中大约 80% 维生素 D 来自皮肤产生的维生素 D₃。外源性维生素 D 主要从食物中获得,其中来源于动物的为维生素 D₃,来源于植物的为维生素 D₂,两者的生理作用相同。维生素 D 在体内需要经过 2 次羟化后才能发挥生物学效应。维生素 D₃ 首先在肝脏中由 25-羟化酶羟化为 25(OH)D₃,继而在肾脏中由 1 α -羟化酶(Cyp27b1)进一步羟化为 1,25(OH)₂D₃^[8]。1,25(OH)₂D₃ 是维生素 D 在体内存在的活性形式,但它的半衰期只有 4 h,而 25(OH)D₃ 的半衰期为 15 d,所以通常以血清 25(OH)D₃ 的浓度来评估维生素 D 水平^[9]。正常情况下大部分(85%)1,25(OH)₂D₃ 在维生素 D 结合蛋白转运下,与靶器官的维生素 D 受体(VDR)结合,形成配体-受体复合物而发挥生物学效应。维生素 D 对维持血钙、磷水平的稳定发挥着重要作用。但近年来随着研究的深入,发现维生素 D 主要

的活化酶、灭活酶和受体在体内多种组织细胞中广泛存在,除了小肠、肾脏、骨骼外,还有呼吸道上皮细胞、胎盘、皮肤、乳腺、胰腺、前列腺、结肠肿瘤细胞、单核细胞、巨噬细胞及激活的 T、B 淋巴细胞等^[10-11]。而且人体近 3% 基因组受维生素 D 的调控,提示维生素 D 可能具有非常广泛的生物学作用^[12]。目前维生素 D 缺乏对多器官系统疾病状态的影响已成为研究的活跃领域。维生素 D 在许多疾病中发挥着重要的保护作用,如肺部疾病、癌症、感染、自身免疫性疾病、心血管系统疾病、代谢综合征等。其主要通过炎症抑制、免疫调节、诱导抗菌肽、抗纤维化等多种途径发挥作用^[13]。在某些条件下,研究者已经尝试通过补充维生素 D 来减轻和改善疾病过程。研究同时发现在支气管和肺泡上皮细胞除了存在维生素 D 受体外,还存在高度表达的 1α -羟化酶(Cyp27b1),它可以将 $25(\text{OH})\text{D}_3$ 转化成活性的 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ^[14],提示维生素 D 有可能不通过受体而直接在肺局部发挥作用。

2 维生素 D 与胎肺发育的关系

目前在肺发育和成熟方面,活性维生素 D_3 已经被证实是与肺成熟密切相关的一个旁分泌因子^[15]。有关啮齿类动物的实验室研究表明,维生素 D 主要通过以下几个方面来促进肺成熟:(1)维生素 D 可增加肺泡上皮细胞间质分化物质的表达,增加 II 型肺泡上皮细胞(AT II)的增殖及肺泡间隔的厚度^[16];(2)维生素 D 在肺泡化最活跃的时期可以抑制细胞的凋亡,从而增加肺泡数量^[17];(3)维生素 D 可以促进胎肺 AT II 细胞糖原水平下降,增加肺表面活性物质相关磷脂的合成和表面活性物质的分泌,促进血管内皮细胞增生,从而促进肺泡化的进程^[18];(4)维生素 D 可以抑制肺纤维母细胞的分化和增殖及胶原蛋白的合成从而减轻气道重构^[19];(5)维生素 D 可以上调 VDR 在肺内的表达,而 VDR 的激活可以抑制平滑肌细胞的增生^[20];(6)维生素 D 还能够抑制肺上皮细胞中天冬氨酸蛋白水解酶-3 的活化,从而减轻高氧所诱导的肺上皮细胞凋亡及炎症反应的发生,而这种作用是通过维生素 D 下调 Toll 样受体 4 的活化来实现的^[21]。

动物实验研究发现,孕妇维生素 D 缺乏与胎儿肺发育密切相关。Saadoon 等^[22]认为维生素 D 缺乏可损害气道和肺泡发育,限制肺功能。该研究发现维生素 D 缺乏孕鼠所产幼鼠的气管管径减少,气管软骨的面积和厚度变小,肺泡结构简单化,从而使气道阻力增加,气道和肺泡顺应性降低;而出生后补充维生素 D 可改善肺功能和肺泡数量,但不能改善已经发生的气管狭窄。Chen 等^[23]研究亦发现,维生素 D 缺乏小鼠

肺组织中肺表面活性物质相关蛋白 b(sp-b)和过氧化蛋白 5(Prdx 5)的表达明显降低,而肺中胶原蛋白 I 型(CoLI A1)的产生增多。认为维生素 D 缺乏可能通过降低肺表面活性物质的产生、抗氧化应激能力和促进胶原合成而导致肺泡化后期肺结构和功能的改变。Lykkedegn 等^[24]研究发现,妊娠期维生素 D 缺乏可致大鼠早产、存活时间缩短及血氧饱和度、肺质量及出生体质量均下降,而这又导致大鼠更容易发生呼吸衰竭。临床研究亦发现孕妇维生素 D 缺乏与新生儿呼吸系统疾病有一定的相关性^[25]。以上研究将孕妇维生素 D 缺乏与新生儿出生后肺功能的改变联系起来,为研究维生素 D 与新生儿肺疾病关系提供了理论基础。

3 维生素 D 与 NRDS 及 BPD 的关系

维生素 D 对早期肺发育和新生儿肺部疾病的影响越来越受到大家的关注,然而目前关于维生素 D 对人类胎儿和新生儿肺部疾病影响的证据仍然不多。NRDS 和 BPD 是早产儿的主要肺部并发症。产前应用糖皮质激素,产后早期应用肺表面活性物质和经鼻持续气道正压(NCPAP)或机械通气是现代治疗 NRDS 的重要手段^[26]。尽管治疗技术有了改进,但在极早的早产儿中,NRDS 仍然是一种严重的、高病死率的疾病。而且相当一大部分早产儿可能伴有 BPD,这是一种以肺泡发育受损和炎症反应为特征的慢性炎症反应性肺病^[27]。事实上,在临床实践中,许多早产儿,特别是极低出生体重儿在出生后很长一段时间需要氧气支持。

3.1 维生素 D 与 NRDS 早产及肺表面活性物质(PS)缺乏是引起 NRDS 的重要原因^[28]。胎儿肺发育成熟要经历 5 个阶段:胚胎期、假腺期、微管期、囊泡期及肺泡期。PS 的合成是在微管末期(大概妊娠 24 周时)开始,以后分泌逐渐增多。肺表面活性物质主要由 II 型肺泡上皮细胞(AT II)产生,AT II 细胞与基底膜上方的 AT I 细胞、成纤维细胞及膜下的其他间质细胞直接接触。成纤维细胞被认为是通过旁分泌作用影响 PS 的生物合成。在分娩前,成纤维细胞分泌一种多肽,刺激 AT II 细胞合成表面活性物质的限速酶^[29],围产期肺成熟是一个高度调控的过程,而维生素 D 可通过多种途径促进肺表面活性物质的分泌。Lykkedegn 等^[24]通过动物实验对维生素 D 刺激胎肺成熟的大量研究认为,维生素 D 缺乏或不足是呼吸窘迫综合征的一个常见的、可改变的危险因素,临床研究也支持此观点^[30]。Mohamed-Hegazy 等^[31]认为维生素 D 缺乏是 NRDS 发生的独立危险因素。Gatera 等^[32]亦发现超早产儿呼吸窘迫综合征的发生率明显增高,而高维

生素 D 水平可使呼吸窘迫综合征的风险降低 3.34 倍。Yang 等^[33] 研究认为, 维生素 D 缺乏是否导致 NRDS 发生与胎龄有关, 该研究将早产儿分为 3 组: < 30 周、30 ~ 34 周、> 34 周, 仅观察到胎龄 < 30 周早产儿中 NRDS 组维生素 D 水平显著低于非 NRDS 组。Ustun 等^[34] 亦发现 NRDS 组患儿维生素 D 水平明显低于无 NRDS 组, 但其未对胎龄和维生素 D 及 NRDS 的关系进行更进一步探讨; 同时该研究首次报道了维生素 D 受体 (VDR) 多态性与早产儿 NRDS 的关系。研究发现, 在单因素分析中, 维生素 D 受体的多态性位点 TaqI、ct 和 cc 与 NRDS 的风险增加有关, 而 FokI 位点与 NRDS 无相关性。在多因素 Logistic 回归分析中, 变异 TaqI 基因型增加了 NRDS 的风险。NRDS 组不同 FokI 基因型和 TaqI 基因型血清维生素 D 水平差异无显著性。

3.2 维生素 D 与 BPD 目前, 维生素 D 缺乏和早产儿 BPD 的关系也是大家关注的重点, 但临床证据尚不多见, 且观点并不一致。Yang 等^[33] 将早产儿分为 3 组, < 30 周、30 ~ 34 周、> 34 周, 分别观察 3 组患儿发生 BPD 是否与维生素 D 缺乏有关, 结果显示 BPD 患儿主要集中在胎龄 < 30 周。胎龄 < 30 周和胎龄 30 ~ 34 周 2 组患儿中 BPD 组维生素 D 水平显著低于非 BPD 组, 且维生素 D 浓度与氧支持持续时间有良好的相关性。此外, 死亡患儿的维生素 D 浓度明显低于出院时的存活婴儿。因此认为维生素 D 补充至少对胎龄 < 30 周早产儿有益。Mao 等^[35] 研究发现, BPD 组患儿生后 24 h 维生素 D 水平显著低于非 BPD 组, 补充维生素 D 2 周或 4 周后, BPD 组和非 BPD 组维生素 D 浓度均逐渐升高, 且 2 组之间的维生素 D 浓度相当。BPD 组早产儿生后 2 周、4 周血中维生素 D 水平明显高于 24 h。但未发现维生素 D 缺乏与 BPD 的严重程度相关。而 Kazzi 等^[36] 却发现极低出生体重儿维生素 D 缺乏的程度与 RDS 和 BPD 的严重程度相关。

肺发育不成熟、急性肺损伤和损伤后异常修复是导致 BPD 的 3 个主要环节, 而肺血管的生长和重建是修复的一个重要部分。陈慧等^[16] 应用高氧诱导新生小鼠 BPD 模型, 发现在 BPD 状态下增加维生素 D 供给可增加肺组织质量, 肺组织受损情况减轻; 同时血管内皮生长因子 (VEGF)、VEGF 受体 2 (VEGFR2) mRNA 表达也增多, 且随着维生素 D 浓度的升高, VEGF、VEGFR2 表达量也随之升高。认为高浓度维生素 D 更有助于肺的保护及肺血管的生长。顾廉洁等^[37] 研究也发现, 生命早期予以适量维生素 D 干预, 可能通过上调 VEGF、SP-A、SP-B 等因子的表达而对 BPD 的发

生起到一定的保护作用。维生素 D 缺乏易导致肺部炎症反应, 而炎症反应是 BPD 发生发展的共同病理生理基础, 维生素 D 可能通过炎症细胞因子间接调节 BPD 的发生。例如, Chen 等^[38] 用 $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 处理高氧暴露动物, 可明显降低炎症细胞因子和肿瘤坏死因子 α 的表达, 减少高氧所致的肺损伤。Liu 等^[6] 研究显示, 维生素 D 可通过调控多种免疫细胞, 改变细胞因子如干扰素- γ 的分泌, 影响免疫应答, 从而改善炎症反应诱发 BPD 模型的肺泡发育; 而 Mao 等^[35] 研究认为, 维生素 D 和白细胞介素-10 (IL-10) 参与了 BPD 的发生, 而肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-1 β 、IL-6 等水平在 BPD 组和非 BPD 组没有差异。维生素 D 受体同样参与了 BPD 的发生, 在由脂多糖诱发的急性肺损伤模型中发现, 维生素 D 受体缺乏会降低肺泡上皮细胞防御功能, 而给予维生素 D 治疗则可以保护肺泡上皮细胞的屏障功能并能够减轻脂多糖引起的炎症反应^[39]。Koroglu 等^[40] 还发现维生素 D 结合蛋白或维生素 D 受体的多态性很可能改变 $25(\text{OH})\text{D}_3$ 的生物利用水平, 维生素 D 受体 Fok I 多态性与 BPD 发生风险增加有关。

以上研究结果虽有差异, 但基本上认为低维生素 D 水平有可能通过影响肺结构、肺功能及增加肺部炎症反应而导致 BPD 的发生。然而还有一些研究结论却完全相反。Joung 等^[41] 发现维生素 D 状态与早产儿的肺或其他疾病之间没有任何关联。这一发现与 Fort 等^[42] 的观察结果一致, 认为补充维生素 D 并不能改善 BPD。郑戈^[43] 亦认为新生儿低维生素 D 水平是 NRDS 发生的独立危险因素, 但与新生儿 BPD 的发生无关。总之, 维生素 D 在早产儿 BPD 发生中的作用仍然存在争议, 应进一步行大样本、多中心的 RCT 研究, 以深入探讨维生素 D 在预防和治疗 NRDS 和 BPD 方面的作用。

4 维生素 D 补充

通过对维生素 D 与 NRDS、BPD 关系的研究, 大多数学者认为早产儿常见的呼吸系统疾病如 NRDS、BPD 的发生有可能与维生素 D 缺乏相关。研究发现, 孕母容易发生维生素 D 缺乏, 且孕母维生素 D 和新生儿脐带血维生素 D 水平呈显著正相关, 孕母维生素 D 缺乏可导致新生儿维生素 D 缺乏^[44]。Wang 等^[45] 研究认为, 孕妇维生素 D 缺乏症是新生儿维生素 D 缺乏的独立危险因素, 越来越多的证据表明, 孕妇维生素 D 缺乏可能损害胎儿的生长, 并导致一系列不良妊娠结局, 包括早产、宫内生长迟缓 (IUGR)、小于胎龄儿 (SGA) 和新生儿低出生体质量等; 同时, 由于生后营养等多种

因素的影响,使得早产儿维生素 D 缺乏症也很常见^[46]。鉴于多项动物和临床研究认为维生素 D 缺乏与新生儿 NRDS、BPD 发生相关,建议给孕妇及新生儿合理补充维生素 D,有助于提高孕妇和新生儿的维生素 D 水平并减少新生儿不良结局。但目前给孕妇和新生儿补充何种剂量的维生素 D 可达到最佳的预防效果尚无定论,需进一步临床研究^[47-48]。在生命早期进行营养干预,给予孕妇及新生儿补充一定剂量的维生素 D,有可能成为预防和治疗早产儿肺疾病的一种新途径。

5 维生素 D 安全性

在我国人群中维生素 D 缺乏非常普遍,发生率高达 30%~50%,尤其多见于孕妇及新生儿^[49]。而早产儿出生时维生素 D 不足或缺乏可高达 95.7%^[50]。人体无法自身合成维生素 D,光照减少及摄入量不足则成为维生素 D 缺乏的主要原因。而对于孕妇和早产儿口服补充维生素 D 是改善维生素 D 缺乏的最佳方法。我国建议对于早产儿出生后即应补充维生素 D 800~1 000 IU/d,3 个月后改为 400 IU/d。欧洲内分泌协会临床实践指南认为给予维生素 D 缺乏的婴幼儿每天 2 000 IU 或每周 50 000 IU 维生素 D 制剂,连续应用 6 周,可以显著改善患儿维生素 D 缺乏而且不会导致维生素 D 过量^[50]。按照指南建议给予新生儿维生素 D 制剂是非常安全的,同时由于个体差异存在,为了进一步确保早产儿获得适宜而无毒性的维生素 D,可在应用维生素 D 制剂 2~4 周后监测血清 25(OH)D₃ 水平以指导临床用药。

参考文献

- [1] Papaioannou O, Karamitsakos T, Barbayianni I, et al. Metabolic disorders in chronic lung diseases [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2018, 4:246. DOI: 10.3389/fmed.2017.00246.
- [2] Bouillon R. Extra-skeletal effects of vitamin D[J]. *Front Horm Res*, 2018, 50(1):72-88. DOI: 10.1159/000486072.
- [3] Javier-Cepeda S, Daniel-Zenteno A, Claudia-Fuentes S, et al. Vitamina D y enfermedades respiratorias pediátricas Vitamin D and pediatric respiratory diseases[J]. *Rev Chil Pediatr*, 2019, 90(1):94-101. DOI: 10.32641/rchped.v90i1.747.
- [4] 雷冰,栗文娟,蔡瑞瑞,等.早产儿血清 25-羟维生素 D 和维生素 D 结合蛋白水平与支气管肺发育不良的关系[J]. *中华儿科杂志*, 2019, 34(4):259-263. DOI 10.3760/cma.j.issn.2096-2932.2019.04.004.
- [5] 周勤,姜善雨,邱婷,等.早产儿维生素 D 水平与肺部疾病的关系[J]. *临床儿科杂志*, 2017, 35(12):918-922. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3606.2017.12.010.
- [6] Liu CB, Chen Z, Li W, et al. Vitamin D enhances alveolar development in antenatal lipopolysaccharide-treated rats through the suppression of interferon- γ production [J]. *Front Immunol*, 2018, 8:1923. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01923.
- [7] 高瑞萍,姜晓艳.维生素 D 在慢性肺疾病中的研究进展[J]. *疑难病杂志*, 2015, 14(5):544-546. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2015.05.032.
- [8] Sotunde OF, Laliberte A, Weiler HA. Maternal risk factors and newborn infant vitamin D status: A scoping literature review [J]. *Nutr Res*, 2019, 63:1-20. DOI: 10.1016/j.nutres.2018.11.011.
- [9] Pham H, Rahman A, Majidi A, et al. Acute respiratory tract infection and 25-hydroxyvitamin D concentration: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(17):3020. DOI: 10.3390/ijerph16173020.
- [10] Chen H, Lu R, Zhang YG, et al. Vitamin D receptor deletion leads to the destruction of tight and adherens junctions in lungs [J]. *Tissue Barriers*, 2018, 6(4):1-13. DOI: 10.1080/21688370.2018.1540904.
- [11] 齐丽.维生素 D 与慢性阻塞性肺疾病[J]. *沈阳医学院学报*, 2017, 19(6):524-526. DOI: 10.16753/j.cnki.1008-2344.2017.06.019.
- [12] 李银娟,方秋红.维生素 D 与慢性阻塞性肺病[J]. *现代预防医学*, 2015, 42(23):4273-4275.
- [13] Dai JJ, Liang Y, Li HL, et al. Vitamin D enhances resistance to aspergillus fumigatus in mice via inhibition of excessive autophagy [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(2):381-391.
- [14] Luo J, Liu D, Liu CT. Can vitamin D supplementation in addition to asthma controllers improve clinical outcomes in patients with asthma [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(50):e2185. DOI: 10.1097/MD.0000000000002185.
- [15] Gorman S, Buckley AG, Ling KM, et al. Vitamin D supplementation of initially vitamin D-deficient mice diminishes lung inflammation with limited effects on pulmonary epithelial integrity [J]. *Physiol Rep*, 2017, 5(15):e13371. DOI: 10.14814/phy2.13371.
- [16] 陈慧,陈欣欣,陈剑锋,等.维生素 D 对高氧致新生鼠支气管肺发育不良的肺保护作用[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(7):816-822. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2019.07.11.
- [17] Marshall B, Bennett N, Smith A, et al. PURL: Can vitamin D prevent acute respiratory infections [J]. *J Fam Pract*, 2019, 68(4):230-231.
- [18] Lykkedegn S, Sorensen GL, Beck-Nielsen SS, et al. The impact of vitamin D on fetal and neonatal lung maturation. a systematic review [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(7):L587-602. DOI: 10.1152/ajplung.00117.2014.
- [19] Tzilias V, Bouros E, Barbayianni I, et al. Vitamin D prevents experimental lung fibrosis and predicts survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2019, 55(1):17-24. DOI: 10.1016/j.pupt.2019.01.003.
- [20] 索涛,胡克.维生素 D 对常见呼吸系统疾病的影响[J]. *海南医学*, 2017, 28(15):2516-2519. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2017.15.033.
- [21] Yao L, Shi YY, Zhao XY, et al. Vitamin D attenuates hyper-oxia-induced lung injury through downregulation of Toll-like receptor4 [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(6):1403-1408. DOI: 10.3892/ijmm.2017.2961.

- [22] Saadon A, Ambalavanan N, Zinn K, et al. Effect of prenatal versus postnatal vitamin D deficiency on pulmonary structure and function in mice [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 56 (3) : 383-392. DOI: 10.1165/rcmb.2014-04820C.
- [23] Chen L, Wilson R, Bennett E, et al. Identification of vitamin D sensitive pathways during lung development [J]. *Respir Res*, 2016, 17 (1) : 47. DOI: 10.1186/s12931-016-0362-3.
- [24] Lykkedegn S, Sorensen GL, Beck-Nielsen SS, et al. Vitamin D depletion in pregnancy decreases survival time, Oxygen saturation, lung weight and body weight in preterm rat offspring [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (8) : e0155203. DOI: 10.1371/journal.pone.0155203.
- [25] Tao RX, Meng DH, Li JJ, et al. Current recommended Vitamin D prenatal supplementation and fetal growth; Results from the China-Anhui birth cohort study [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103 (1) : 244-252. DOI: 10.1210/je.2017-00850.
- [26] 茹喜芳, 冯琪. 新生儿呼吸窘迫综合征的防治—欧洲共识指南 2019 版 [J]. *中华新生儿科杂志*, 2019, 34 (3) : 239-240. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2932.2019.03.020.
- [27] Naeem A, Ahmed I, Silveyra P. Bronchopulmonary dysplasia: An update on experimental therapeutics [J]. *Eur Med J (Chelmsf)*, 2019, 4 (1) : 20-29.
- [28] McNicholas BA, Rooney GM, Laffey JG. Lessons to learn from epidemiologic studies in ARDS [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2018, 24 (1) : 41-48. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000473.
- [29] Ruhi N, Lopez-Rodriguez E, Albert K, et al. Surfactant protein B deficiency induced high surface tension: Relationship between alveolar micromechanics, alveolar fluid properties and alveolar epithelial Cell Injury [J]. *Int Mol Sci*, 2019, 20 (17) : E4243. DOI: 10.3390/ijms20174243.
- [30] Fettah ND, Zenciroglu A, Dilli D, et al. Is higher 25-hydroxyvitamin D level preventive for respiratory distress syndrome in preterm infants [J]. *Am J Perinatol*, 2015, 32 (3) : 247-250. DOI: 10.1055/s-0034-1383849.
- [31] Mohamed-Hegazy A, Mohamed-Shinkar D, Refaat-Mohamed N, et al. Association between serum 25 (OH) vitamin D level at birth and respiratory morbidities among preterm neonates [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 31 (20) : 2649-2655. DOI: 10.1080/14767058.2017.1350162.
- [32] Gatera VA, Abdulah R, Musfiroh I, et al. Updates on the status of vitamin D as a risk factor for respiratory distress syndrome [J]. *Adv Pharmacol Sci*, 2018, 30: 8494816. DOI: 10.1155/2018/8494816.
- [33] Yang Y, Feng Y, Chen X, et al. Is there a potential link between vitamin D and pulmonary morbidities in preterm infants [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81 (5) : 482-486. DOI: 10.1016/j.jcma.2017.07.011.
- [34] Ustun N, Eyerci N, Karadag N, et al. Association of vitamin D receptor gene FokI and TaqI polymorphisms and risk of RDS [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 27 (1) : 1-7. DOI: 10.1080/14767058.2019.1582629.
- [35] Mao X, Qiu J, Zhao L, et al. Vitamin D and IL-10 deficiency in preterm neonates with bronchopulmonary dysplasia [J]. *Front Pediatr*, 2018, 6: 246. DOI: 10.3389/fped.2018.00246.
- [36] Kazzi SNJ, Karnati S, Puthuraya S, et al. Vitamin D deficiency and respiratory morbidity among African American very low birth weight infants [J]. *Early Hum Dev*, 2018, 119 (1) : 19-24. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2018.02.013.
- [37] 顾廉洁. 生命早期维生素 D 干预对新生大鼠支气管肺发育不良的影响 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2018: 1-61.
- [38] Chen Y, Li Q, Liu Y, et al. Attenuation of hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats by 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D₃ [J]. *Exp Lung Res*, 2015, 41 (6) : 344-352. DOI: 10.3109/01902148.2015.1039668.
- [39] 顾廉洁, 王珊珊, 郭敏敏, 等. 维生素 A 与维生素 D 在新生儿支气管肺发育不良防治中的研究进展 [J]. *广西医学*, 2018, 40 (6) : 681-684. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2018.06.21.
- [40] Koroglu OA, Onay H, Cakmak B, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia [J]. *Pediatr Res*, 2014, 76 (2) : 171-176. DOI: 10.1038/pr.2014.63.
- [41] Joung KE, Burris HH, Van Marter LJ, et al. Vitamin D and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants [J]. *J Perinatol*, 2016, 36 (10) : 878-882. DOI: 10.1038/jp.2016.115.
- [42] Fort P, Salas AA, Nicola T, et al. A comparison of 3 vitamin D dosing regimens in extremely preterm infants: a randomized controlled trial [J]. *J Pediatr*, 2016, 174: 132-138. DOI: 10.1016/j.jpeds.2016.03.028.
- [43] 郑戈. 新生儿维生素 D 水平影响因素调查及对新生儿的早期影响 [D]. 广州: 南方医科大学, 2018: 1-155.
- [44] Kassai MS, Cafeo FR, Affonso-kaufman FA, et al. Vitamin D plasma concentrations in pregnant women and their preterm newborns [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2018, 18 (1) : 412. DOI: 10.1186/s12884-018-2045-1.
- [45] Wang Y, Li H, Zheng M, et al. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of adverse neonatal outcomes in the Chinese population: A prospective cohort study [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (4) : e0195700. DOI: 10.1371/journal.pone.0195700.
- [46] Munshi UK, Graziano PD, Meunier K, et al. Serum 25 hydroxy vitamin D levels in very low birth weight infants receiving oral vitamin D supplementation [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2018, 66 (4) : 676-679. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001831.
- [47] 余仁强, 陈道桢, 郝小清, 等. 早产儿出生时 25 羟基维生素 D 水平与呼吸窘迫综合征关系分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19 (11) : 1134-1137. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.11.002.
- [48] Panda M, McIntosh J, Chaudhari T, et al. Do maternal vitamin D levels influence vitamin D levels in preterm neonates [J]. *Int Pediatr*, 2019, 2019: 8613414. DOI: 10.1155/2019/8613414.
- [49] 郑双双, 詹建英, 朱冰泉, 等. 中国儿童维生素 D 营养状况流行病学研究进展 [J]. *中华儿科杂志*, 2019, 57 (3) : 232-234. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578.1310.2019.03.017.
- [50] 张俏俏, 刘燕, 姜红. 维生素 D 营养状况与早产儿相关疾病的研究进展 [J]. *中华围产医学杂志*, 2019, 22 (11) : 817-821. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-9408.2019.11.011.