



主 管
中华人民共和国国家
卫生健康委员会

主 办
中国医师协会

编 辑
疑难病杂志编辑委员会

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

名誉总编辑
吴以岭

总编辑
贾振华

社长 主编
马 智

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

印 刷
石家庄市汇昌印刷有限公司

发行范围
国内外公开发行人
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

2021 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

结直肠癌专题

基于生物信息数据研究肿瘤突变负荷在结肠癌中的临床意义
..... 赵栋燕 孙希珍 姚树坤 433

不同部位结直肠癌术后患者生存预后差异分析
..... 王慧 任建琳 张功 张莹瑄 陆鑫熠 吴杏黎 黄人可
靖琳 陈文婷 毛发江 440

DC-CIK 联合化疗对结直肠癌根治术后肝转移患者疗效
及对 TRF1 和 TRF2 表达的影响
..... 朴龙镇 金兰 李滕 胡乌云 梁雪 446

血清 miR-190b、IGF-1 在不同临床分期结直肠癌中的表达及意义
..... 周珩 曹会鲲 胡晓东 张任梓 倪秀茹 450

论著·临床

持续性心房颤动消融前后左心功能的改变及复发相关因素分析
..... 冯天捷 翁思贤 周彬 董潇男 于丰源 华伟 唐闯 456

重型颅脑损伤患者血清 PTX3、IMA 水平与术后脑梗死的相关性
..... 孙姝玲 闫晋琪 郭利涛 陈海燕 樊静群 461

水通道蛋白-4 及相关临床指标与大面积脑梗死并发脑水肿的关系
..... 洪波 常焕显 季晓宇 刘丽艳 孔令胜 赵平 465

血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与特发性
肺纤维化患者肺功能及预后的关系
..... 丁丽丽 蔡暖暖 陈丽瑾 吴海洪 谢甜 470

QPRT、miR-26b-5p 在乳腺癌中表达及其与患者预后的关系
..... 袁南贵 罗雪平 胡玉萍 姚斌 黄伟玲 476

m ⁶ A RNA 甲基化调控因子对甲状腺癌进展及预后的影响	黄甜甜 段碧晗 叶迎春 王硕 高凌	481
脓毒性休克患者短期预后预测模型的构建及评估	郑从波 胡芳宝 王文 窦红杰 林凌 王德强	488
右旋糖酐铁联合 EPO 治疗妊娠期缺铁性贫血疗效及其对 RET、Hepcidin-25 水平的影响	吴进 李慧 肖凯 王芳 吴佳 阳笑	492

论著·基础

大承气汤对大鼠胰腺纤维化的改善作用及 Wnt/ β -catenin 通路的影响	蔡滨 梁晓强 倪效 叶圳 李炯	497
miR-423-5p 调控 TGF- β /Smad 信号通路对肺癌脑转移模型大鼠的干预作用探究	杨成 王光学 张燕飞 管宏新 魏亮 钟春龙 李钦传	502

荟萃分析

麝香通心滴丸联合常规药物治疗慢性心力衰竭疗效的 Meta 分析	权力 张艳达 赵健 任昌振 贺治青 梁春	508
---------------------------------------	----------------------	-----

罕见病例

以脑白质病变为主的水痘—带状疱疹病毒脑炎 1 例	肖伟 张小东 周薇 张鑫 杨飞 屠榕 余巨明	515
肾上腺乳头状淋巴管内血管内皮瘤 2 例并文献复习	易小敏 张杰秀 居小兵 谭若芸	516

综 述

巨噬细胞移动抑制因子与心房颤动的研究进展	李珩 尹德春 曲秀芬	518
超声影像技术在评价颈动脉弹性中的研究进展	张颖 叶玉泉 薛红元	523
新型冠状病毒肺炎(COVID-19)肾脏损伤的机制探讨	瞿转 王惠明	527
内质网应激与 mTOR 信号通路在消化系统肿瘤中的研究进展	吴晓曼 李明 谭诗云	532
胰高血糖素样肽-1 受体激动剂与非酒精性脂肪性肝病研究进展	杨丕坚 夏宁	536

作者·编者·读者		475,514,540
----------------	--	-------------

期刊基本参数: CN13-1316/R * 2002 * m * A4 * 112 * zh * P * ¥12.00 * 5 400 * 22 * 2021-05

本期责任编辑: 马智 英文编辑: 马晓海

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 20, Number 5 18 May, 2021

Responsible Institution

National Health Commission of
the People's Republic of China

Sponsor

Chinese Medical Doctor Association

Editing

Editorial Board of Chinese Journal of Difficult
and Complicated Cases

Adviser

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

Honorary Editor-in-Chief

Wu Yiling

Editor-in-Chief

Jia Zhenhua

Managing Director

Ma Zhi

Publishing

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

Printing

Shijiazhuang Huichang Printing House

Overseas Distributor

China International Book
Trading Corporation
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 2021 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 edi-
torial board, unless clearly specified.

CONTENTS

Colorectal Cancer Research

**Research on the clinical significance of tumor mutation burden in colon cancer
based on bioinformatics data**

..... Zhao Dongyan, Sun Xizhen, Yao Shukun 433

**Analysis of differences in survival and prognosis of postoperative patients with
colorectal cancer in different locations**

..... Wang Hui, Ren Jianlin, Zhang Gong, et al 440

**The effect of DC-CIK combined with chemotherapy on patients with liver
metastases after radical resection of colorectal cancer and its influence
on the expression of TRF1 and TRF2**

..... Piao Longzhen, Jin Lan, Li Teng, et al 446

**The expression and significance of serum miR-190b and IGF1 in different
clinical stages of colorectal cancer**

..... Zhou Heng, Cao Huikun, Hu Xiaodong, et al 450

Original Article: Clinical Research

**Changes of left ventricular function before and after ablation of persistent
atrial fibrillation and analysis of related factors for recurrence**

..... Feng Tianjie, Weng Sixian, Zhou Bin, et al 456

**Correlation between serum PTX3 and IMA levels in patients with severe
head injury and postoperative cerebral infarction**

..... Sun Shuling, Yan Jingqi, Guo Litao, et al 461

**The relationship between aquaporin 4 and related clinical indicators and
large-area cerebral infarction with cerebral edema.**

..... Hong Bo, Chang Huanxian, Ji Xiaoyu, et al 465

**The relationship between serum HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs levels and
pulmonary function and prognosis in patients with idiopathic
pulmonary fibrosis**

..... Ding Lili, Cai Nuannuan, Chen Lijin, et al 470

The expression of QPRT and miR-26b-5p in breast cancer and their relationship with the prognosis of patients	Yuan Nanguì, Luo Xueping, Hu Yuping, et al	476
The impact of m ⁶ A RNA methylation modulators on the progression and clinical prognosis of thyroid carcinoma	Huang Tiantian, Duan Bihan, Ye Yingchun, et al	481
Construction and evaluation of short-term prognosis prediction model for patients with septic shock.	Zheng Congbo, Hu Fangbao, Wang Wen,et al	488
Effect of iron dextran tablets combined with EPO on RET and hepcidin-25 levels in patients with iron deficiency anemia during pregnancy	Wu Jin, Li Hui, Xiao Kai,et al	492
Original Article:Basic Research		
Improvement of <i>Dachengqi</i> decoction on pancreatic fibrosis in rats and influence of Wnt/ β -catenin pathway.	Cai Bin, Liang Xiaoqiang, Ni Xiao, et al	497
The intervention effect of miR-423-5p regulating TGF- β /Smad signal pathway on lung cancer brain metastasis model rats	Yang Cheng, Wang Guangxue, Zhang Yanfei,et al	502
Meta Analysis		
Meta-analysis of the efficacy of <i>Shexiang Tongxin</i> Dripping Pills combined with conventional drugs in the treatment of chronic heart failure	Quan Li, Zhang Yanda, Zhao Jian, et al	508
Rare Case Report		
Varicella – zoster virus encepholopathy with prominent white matter damage;a case report	Xiao Wei,Zhang Xiaodong,Zhou Wei,et al	515
Adrenal papillary intralymphatic angioendothelioma;2 cases report and literatures review	Yi Xiaomin,Zhang Jiexiu,Ju Xiaobing,et al	516
Review		
Research progress of macrophage migration inhibitory factor and atrial fibrillation	Li Heng, Yin Dechun, Qu Xiufen	518
Research progress of ultrasound imaging technology in the evaluation of carotid artery elasticity	Zhang Ying, Ye Yuquan, Xue Hongyuan	523
Study on the mechanism of kidney damage in the new type of coronavirus pneumonia (COVID-19)	Qu Zhuan, Wang Huiming	527
Research progress of endoplasmic reticulum stress and mTOR signaling pathway in digestive system tumors	Wu Xiaoman, Li Ming, Tan Shiyun	532
Research progress of glucagon-like peptide 1 receptor agonist and non-alcoholic fatty liver disease	Yang Pijian, Xia Ning	536

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.001

结直肠癌专题

基于生物信息数据研究肿瘤突变负荷在结肠癌中的临床意义

赵栋燕, 孙希珍, 姚树坤

基金项目: 国家精准医疗研究重点发展计划(2017YFC0910002)

作者单位: 100730 中国医学科学院北京协和医学院(赵栋燕、孙希珍); 100029 中日友好医院消化内科(姚树坤)

通信作者: 姚树坤, E-mail: shukun Yao@126.com

【摘要】目的 研究肿瘤突变负荷(TMB)在结肠癌患者中的临床意义。**方法** 通过癌症基因组图谱获取结肠癌的体细胞突变数据、基因表达数据及相关临床数据, 计算结肠癌患者的 TMB 值并分析 TMB 与总生存率的关系, 对高、低 TMB 组基因表达数据进行基因富集分析, 应用 Wilcoxon 秩和检验分析高 TMB 组与低 TMB 组浸润性免疫细胞占比及免疫检查点分子表达差异。**结果** 高 TMB 组患者总生存率明显低于低 TMB 组($\chi^2 = 5.351, P = 0.021$)。基因富集分析提示, 高 TMB 组在许多免疫相关通路明显富集。高 TMB 组 CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ 记忆性 T 细胞、自然杀伤细胞及 M1 巨噬细胞水平高于低 TMB 组($Z/P = -2.151/0.032, -1.988/0.047, -3.090/0.002, -2.783/0.005$), 调节性 T 细胞、MO 巨噬细胞浸润程度低于低 TMB 组($Z/P = 2.494/0.012, 2.114/0.035$)。高 TMB 组免疫检查点分子表达显著高于低 TMB 组($P < 0.01$)。**结论** 高 TMB 的结肠癌患者预后较差, 并且 TMB 明显影响浸润性免疫细胞及免疫检查点分子的表达。

【关键词】 结肠癌; 肿瘤突变负荷; 免疫浸润; 免疫检查点分子; 预后

【中图分类号】 R735.3+5

【文献标识码】 A

Research on the clinical significance of tumor mutation burden in colon cancer based on bioinformatics data Zhao Dongyan*, Sun Xizhen, Yao Shukun. *Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

Corresponding author: Yao Shukun, E-mail: shukun Yao@126.com

Funding program: National Key Development Plan for Precision Medicine Research (2017YFC0910002)

【Abstract】Objective To study the clinical significance of tumor mutation burden (TMB) in colon cancer patients. **Methods** Obtain somatic mutation data, gene expression data and related clinical data of colon cancer through the Cancer Genome Atlas. Calculate the TMB value of colon cancer patients and analyze the relationship between TMB and overall survival, and perform gene enrichment for high and low TMB gene expression data Set analysis. The Wilcoxon rank sum test was used to analyze the proportion of infiltrating immune cells and the difference in the expression of immune checkpoint molecules between the high TMB group and the low TMB group. **Results** The overall survival rate of patients in the high TMB group was significantly lower than that in the low TMB group ($\chi^2 = 5.351, P = 0.021$). Gene enrichment analysis indicated that the high TMB group was significantly enriched in many immune-related pathways. The levels of CD8⁺ T cells, CD4⁺ memory T cells, natural killer cells and M1 macrophages in the high TMB group were higher than those in the low TMB group ($Z/P = -2.151/0.032, -1.988/0.047, -3.090/0.002, -2.783/0.005$), the degree of infiltration of regulatory T cells and MO macrophages was lower than that of the low TMB group ($Z/P = 2.494/0.012, 2.114/0.035$). The expression of immune checkpoint molecules in the high TMB group was significantly higher than that in the low TMB group ($P < 0.01$). **Conclusion** The prognosis of colon cancer patients with high TMB is poor, and TMB significantly affects the expression of infiltrating immune cells and immune checkpoint molecules.

【Key words】 Colon cancer; Tumor mutational burden; Immune infiltration; Immune checkpoint molecule; Prognosis

结直肠癌是最常见的胃肠道恶性肿瘤之一, 其发病率和病死率都很高^[1]。近年来结肠癌的经济负担

在发展中国家逐渐增长, 预计到 2030 年新发病例将超过 220 万, 死亡人数将达到 110 万^[2]。虽然目前化疗、

手术、靶向治疗、放疗等多种治疗方法可提高结肠癌患者的生存率并减少其复发,但晚期结肠癌患者 5 年生存率仍然很低^[1]。因此,迫切需要新的治疗方法来延长患者的生命。最近在实体肿瘤的治疗策略中,以免疫检查点抑制剂为代表的免疫疗法已成为最有前途的方法之一。美国食品药品监督管理局已经批准免疫检查点抑制剂应用于实体肿瘤的治疗,如结直肠癌、肺癌、黑色素瘤等^[3-4]。然而,由于肿瘤的遗传异质性,仅有小部分患者对免疫治疗呈现阳性反应。因此亟待可靠的生物标志物来预测免疫治疗的疗效。

肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)是指体细胞基因非同义突变的分布密度,即外显子编码区域内每 Mb 碱基中编码错误、碱基替换、基因插入或缺失的总数。目前 TMB 被认为是免疫检查点抑制剂的新型生物标志物,能够预测免疫治疗的疗效^[5]。有研究表明,具有较高突变负荷的肿瘤能够在肿瘤细胞表面募集到更多的新抗原,增加肿瘤的免疫原性,从而提高免疫治疗的疗效^[6]。然而,结肠癌中关于 TMB 的研究较少。因此本研究应用癌症基因组图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)探讨结肠癌的基因突变特征及 TMB 在结肠癌中的临床意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料获取 通过癌症基因组图谱(TCGA)数据库下载结肠癌患者 399 例的体细胞突变数据、基因表达数据及相关的临床数据(<https://portal.gdc.cancer.gov/repository>)。体细胞突变数据经过 VarScan 软件处理,并使用 R 软件(版本 3.6.1)的 maftools 函数包进行特征性分析与可视化。

1.2 TMB 的计算及预后分析 通过基于 JAVA8 平台的 Perl 脚本计算每个样本的 TMB 值,表达为体细胞突变总数/测序区域大小,单位为 mutations/Mb。接着对 TMB 值降序排列,按中位数将所有肿瘤样本分为高 TMB 组及低 TMB 组,根据每个样本的临床数据采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 log-rank 检验分析 TMB 与总生存率的关系。应用 Wilcoxon 秩和检验分析 TMB 值与临床病理参数如性别、年龄、肿瘤分期、体质质量指数(BMI)等的关系。

1.3 基因富集分析 根据 TMB 中位数将基因转录数据分为高低 2 组,通过基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)软件进行 KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)和 GO(gene ontology)富集分析,设定随机组合次数为 1 000 次。当标准化富集分数(NES) > 1、标准化显著性水平(NOM) $P < 0.05$ 和校正多重假设检验(FDR) $q < 0.25$,则认为富集的基

因集有临床意义。

1.4 TMB 与浸润性免疫细胞 基于 RNA-seq 表达数据,本研究使用 CIBERSORT 函数定量分析每个肿瘤样品中 22 种浸润性免疫细胞的丰度,阈值设置为 $P < 0.05$ 。应用 Wilcoxon 秩和检验分析高 TMB 组与低 TMB 组浸润性免疫细胞的占比差异,并通过 vioplot 函数包进行数据可视化,对比分析 2 组之间 CD8⁺ T 细胞、调节性 T 细胞(Treg)、M1 巨噬细胞和自然杀伤细胞(NK 细胞)表面标记的差异,免疫细胞标记从 R&D Systems 获取(<https://www.rndsystems.com/cn/resources/cell-markers/immune-cells>)。

1.5 TMB 与免疫检查点分子 应用 Wilcoxon 秩和检验对比高 TMB 组与低 TMB 组之间免疫检查点分子,包括程序性死亡受体 1(PD-1)、程序性死亡受体配体 1(PD-L1)及细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(CTLA-4)的基因表达差异,应用 Spearman 相关性分析研究 TMB 值与免疫检查点分子表达量之间的关系。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。运用 Wilcoxon 秩和检验分析 2 组之间的差异,采用 Kaplan-Meier 法与 log-rank 检验进行生存分析。应用 R 软件(版本 3.6.1)及 GraphPad Prism 8 进行图像绘制。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌基因突变数据 399 个结肠癌样本中有 398 个样本存在变异,变异数 0 ~ 7 278,中位数 96。错义突变和单核苷酸多态性是最常见的突变类型,突变率最高的单核苷酸变异是 C > T(图 1A)。瀑布图显示突变率最高的前 10 位基因是 APC、TP53、TTN、KRAS、SYNE1、PIK3CA、MUC16、FAT4、ZFHX4、RYR2(图 1B)。

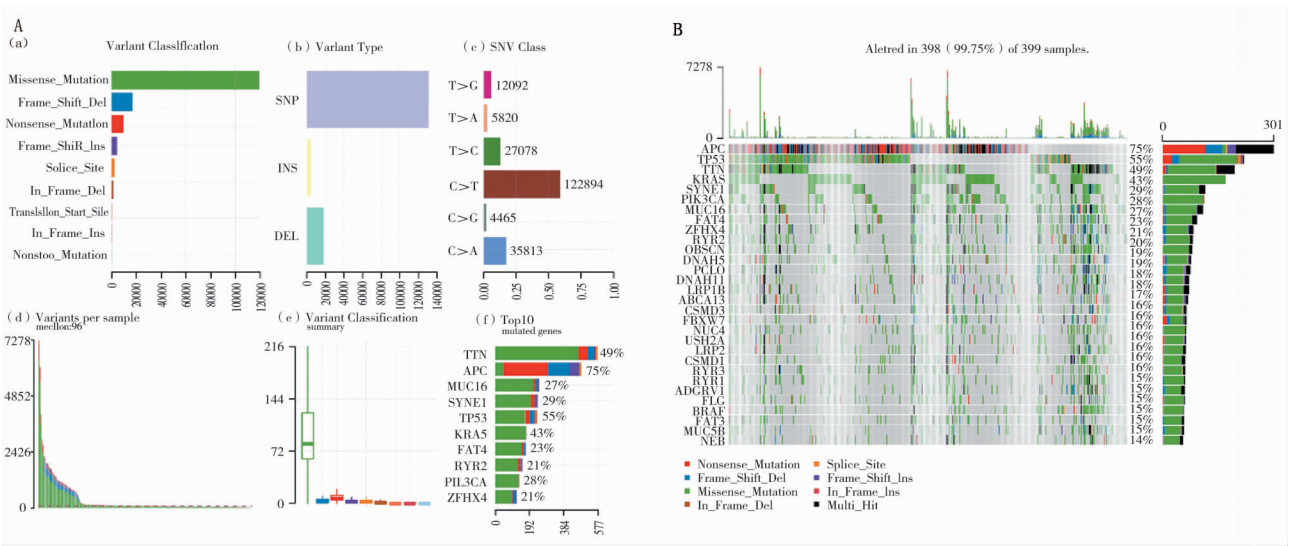
2.2 TMB 在结肠癌中的预后价值 根据 TMB 中位数(3.132 mutations/Mb)将结肠癌样本分为高 TMB 组($n = 207$)和低 TMB 组($n = 192$),通过 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,发现高 TMB 组患者的生存率明显低于低 TMB 组患者($\chi^2 = 5.351, P = 0.021$),高 TMB 组的 5 年生存率为 0.574(95% CI 0.468 ~ 0.703),而低 TMB 组患者的 5 年生存率为 0.632(95% CI 0.507 ~ 0.789)。另外,比较 TMB 在不同亚组间的表达差异,结果发现在年龄 > 65 岁、BMI > 28 kg/m²、肿瘤 TNM 分期 I ~ II 期及无淋巴结和无远处转移的患者中 TMB 表达较高($P < 0.05$),在性别、T 分期中差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 2。

2.3 基因富集分析 GSEA 分析提示共有 18 个 KEGG 通路(图 3A)及 336 个 GO 通路(图 3B,仅展示

前 20 个通路)在高 TMB 组中有不同程度的富集。这些通路及生物过程多与免疫相关:Toll 样受体信号通路、产生 IgA 的肠道免疫网络、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、B 细胞内稳态、淋巴细胞凋亡过程等。

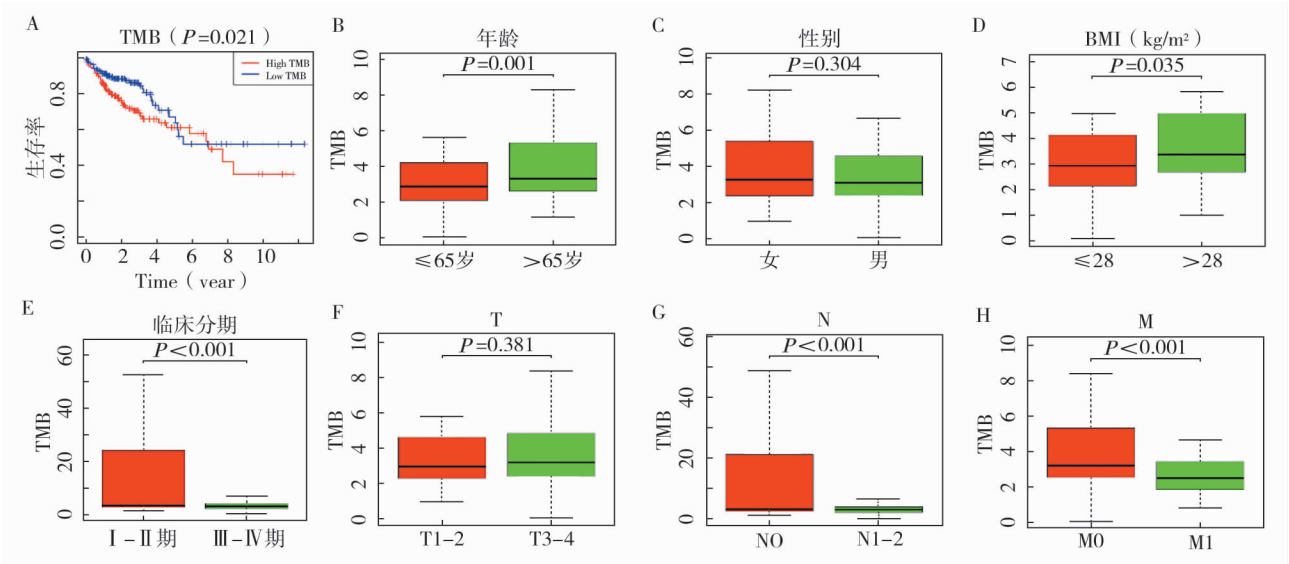
2.4 TMB 与浸润性免疫细胞的关系 高 TMB 组的患者 CD8⁺ T 细胞、活化的 CD4⁺ 记忆性 T 细胞、活化的 NK 细胞及 M1 巨噬细胞的浸润程度明显高于低 TMB 组 ($Z/P = -2.151/0.032, -1.988/0.047, -3.090/0.002, -2.783/0.005$),低 TMB 组 Treg 和 M0 巨噬细胞的浸润程度明显高于高 TMB 组 ($Z/P = -2.494/0.013, -2.114/0.035$),见图 4。为了进一

步验证上述结果,分析了高 TMB 组与低 TMB 组之间免疫细胞表面标记的基因差异,发现 2 组 Treg 的表面标记 FOXP3 与 CCR8 基因表达水平差异无统计学意义 ($Z/P = -0.309/0.757, -0.732/0.464$),M1 巨噬细胞的表面标记 NOS2、CD80 和 CD86 在高 TMB 组明显升高 ($Z/P = -3.006/0.003, -2.710/0.007, -2.167/0.030$),CD8⁺ T 细胞的表面标记 CD8A 在高 TMB 组表达升高 ($Z/P = -3.242/0.001$),NK 细胞的表面标记 KIR3DL1 和 CD7 在高 TMB 组的基因表达水平显著高于低 TMB 组 ($Z/P = -2.085/0.037, -3.498/ <0.001$),见图 5。



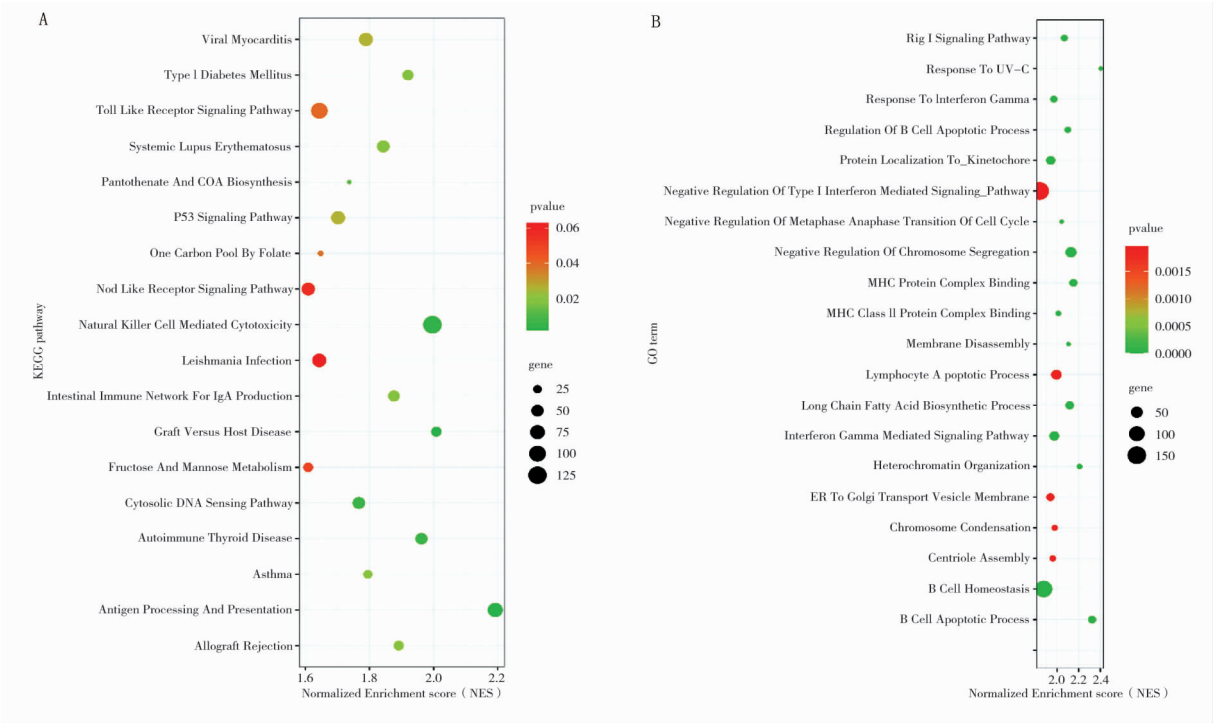
注:A. 突变信息概况;(a). 突变类别;(b). 变异类型;(c). 单核苷酸变异类型;(d). 每个样本的突变数目;(e). 突变类别概况;(f). 十大突变基因;B. 结肠癌前 30 个突变基因的瀑布图;SNV. 单核苷酸变异;SNP. 单核苷酸多态性;INS. 插入;DEL. 缺失

图 1 结肠癌的基因突变全景图



注:A. 结肠癌患者 TMB 与总生存率的关系;B~H. 结肠癌患者 TMB 值与性别、年龄、BMI、临床分期等临床特征的相关性分析

图 2 TMB 在结肠癌中的临床意义



注: A. KEGG 通路; B. GO 通路
图 3 GSEA 分析 TMB 相关的富集基因集

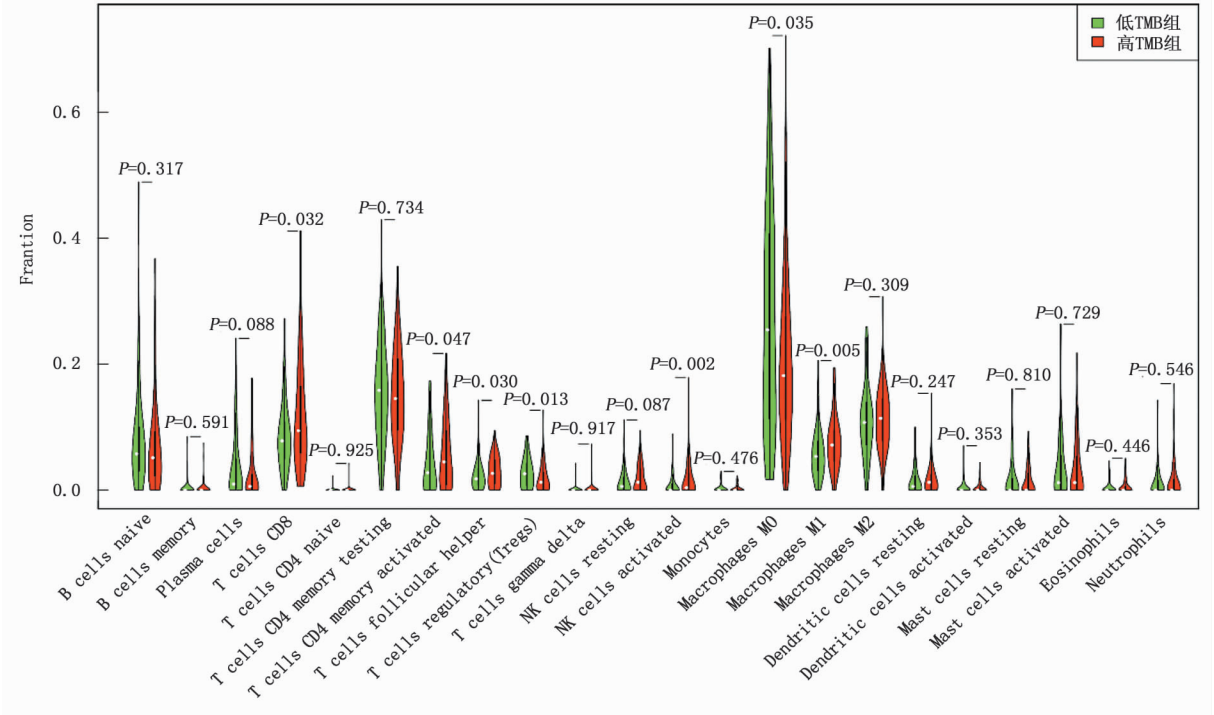


图 4 2 组 22 种浸润性免疫细胞的表达比较

2.5 TMB 与免疫检查点分子的关系 在高 TMB 组中,免疫检查点分子 PD-1、PD-L1 和 CTLA-4 的基因表达水平显著高于低 TMB 组,差异有统计学意义 ($Z/P = -3.489 / < 0.001$, $-4.813 / < 0.001$,

$-3.363 / < 0.001$)。相关分析结果表明,在结肠癌患者中,TMB 值与 PD-1、PD-L1 与 CTLA-4 的基因表达水平均呈正相关 ($r/P = 0.24 / 0.01$, $0.35 / < 0.01$, $0.25 / < 0.01$),但相关性不强,见图 6。

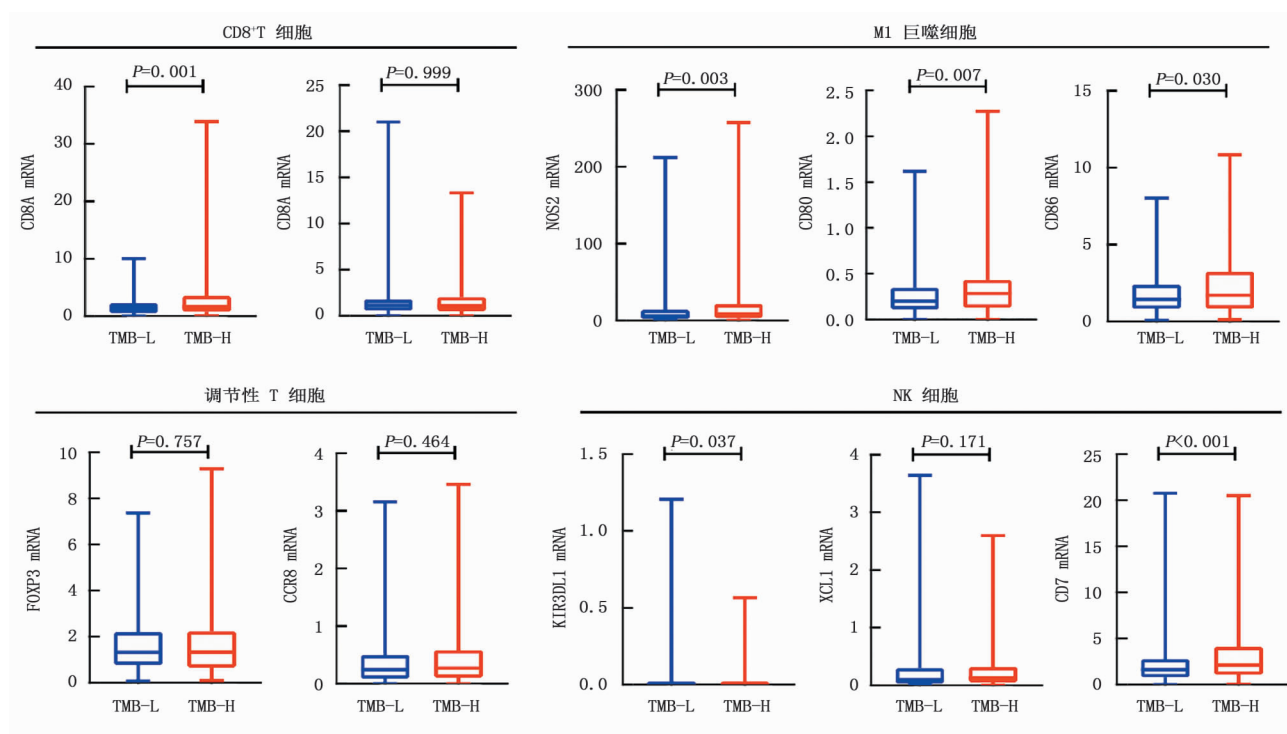
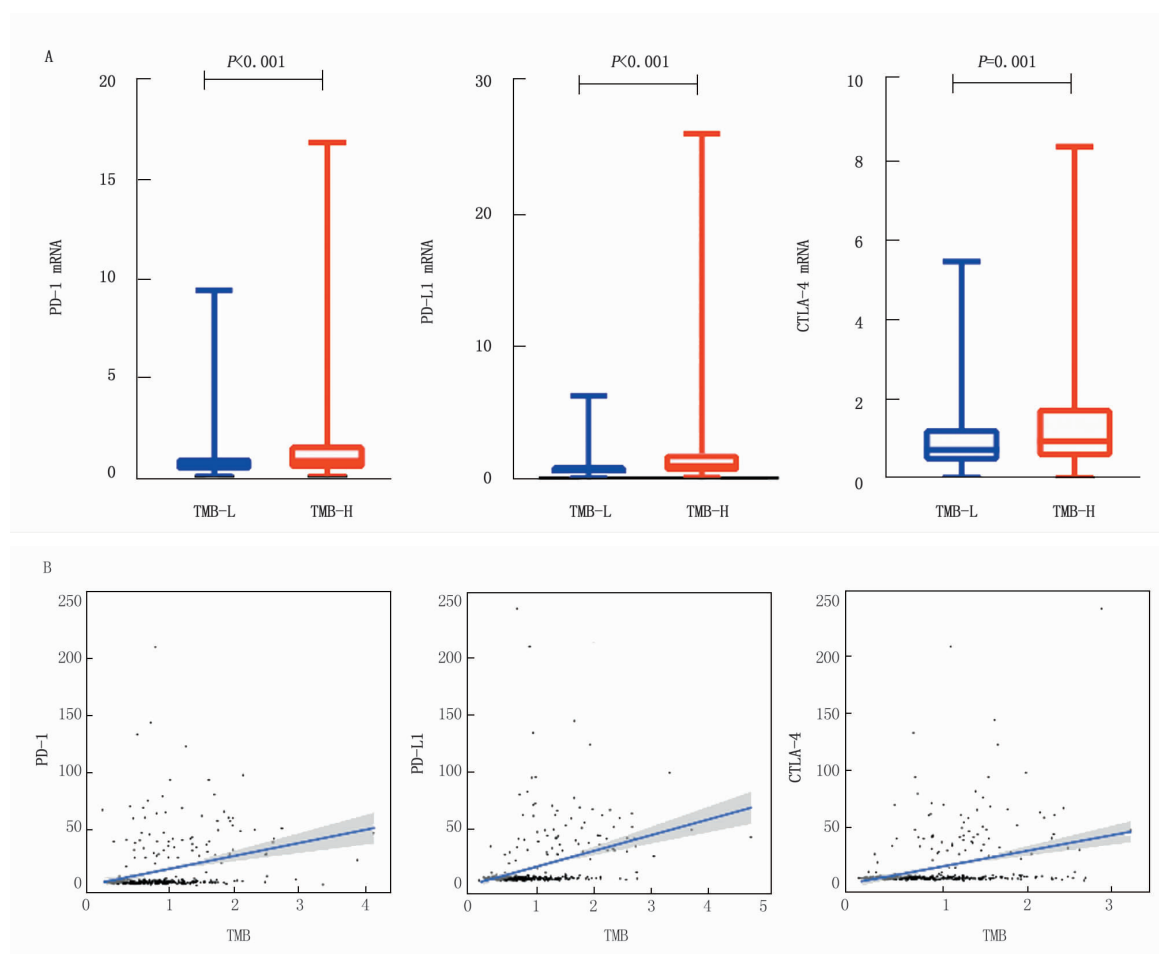


图 5 2 组 CD8⁺ T 细胞、M1 巨噬细胞、调节性 T 细胞和 NK 细胞基因标记的表达差异



注: A. 2 组免疫检查点分子的基因表达差异; B. 结肠癌患者 TMB 与免疫检查点分子的相关性分析

图 6 结肠癌患者 TMB 与免疫检查点分子(PD-1、PD-L1、CTLA-4)的关系

3 讨论

近年来,癌症的治疗策略发生了巨大变化,新型治疗方法包括免疫治疗在内取得了较大成果。随着治疗策略的变化,具有临床可行性的肿瘤生物标志物已经从影像学资料向基因转变。既往研究揭示了几种新型生物标志物用来预测免疫检查点抑制剂的疗效,如 PD-1/PD-L1 表达、错配修复缺陷、肿瘤浸润性淋巴细胞^[7]。随着高通量测序技术的发展,肿瘤突变负荷作为一种可能识别免疫治疗反应的潜在生物学标志物受到了巨大的关注。已有研究证实具有高突变负荷的肿瘤如膀胱癌与肺癌对免疫检查点抑制剂有较好的反应^[4,8]。因此,探索肿瘤突变负荷在结肠癌中发挥的作用及其与临床预后的关系具有重要意义。

在本研究中,笔者发现了错义突变、单核苷酸多态性及 C > T 突变是结肠癌最常见的突变类型,而这些突变类型在肿瘤的发生、发展及预后中发挥着重要作用。突变率最高的前 3 个基因是腺瘤性结肠息肉病基因(APC)、TP53、肌联蛋白(TTN)。APC 与 TP53 均为抑癌基因,其突变可促进结肠腺瘤向结肠癌转变,被认为是结肠癌发生的关键^[9]。TTN 是目前已知最长的基因,已经证实 TTN 与 TMB 表达水平的高低及免疫治疗的反应密切相关^[10]。研究这些高突变的基因在结肠癌中的作用,对于明确结肠癌的发病机制、进展过程有重大意义。

在结肠癌中,TMB 与患者的生存状况及临床病理特征之间的关系尚未明确。笔者以 TMB 的中位数(3.132 mutations/Mb)作为分界线,将结肠癌患者分为高 TMB 组和低 TMB 组,在此基础上发现高 TMB 组的患者预后明显差于低 TMB 组,并且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。另外,笔者分析了不同临床亚组间 TMB 的差异。突变负荷升高不仅多见于高龄肥胖的患者,还见于肿瘤早期、无淋巴结与远处转移的患者。肿瘤早期患者生存期应该较长,但此处却出现相反的结果,这可能与患者接受的治疗措施不同有关,遗憾的是此数据库并未提供每个样本的具体治疗方法。微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)是一种已建立的用来预测免疫治疗效果的生物指标,其特征是错配修复蛋白 MLH1、MSH2、MSH6 和 PMS2 的缺陷。有研究表明,在高 MSI 的结肠癌中,突变负荷越高,患者越容易受益于免疫治疗,患者预后越好^[11]。在一个小样本结肠癌研究中,以 6 mutations/Mb 为临界线划分高低突变组,结果发现高突变负荷组患者化疗效果优于低突变负荷组,生存期延长^[12]。可以看出,在这些研究中,高 TMB 是结肠癌的良好预后因素。笔者的研

究结果与既往研究不同,可能是因为所采取的治疗方法不同。另外,TMB 在不同肿瘤的预后价值也存在着较大的争议。在肾透明细胞癌与前列腺癌研究中,同样以中位数为界线划分高低负荷组,高突变负荷组的患者往往伴随着较差的预后^[13-14];在肝细胞癌患者中,突变负荷对患者的预后没有影响^[15];而在膀胱癌患者中,突变负荷越高则意味着患者生存时间越长^[16]。因此,需要大样本的研究来明确突变负荷在不同肿瘤预后中的影响。

目前,肿瘤突变负荷在结肠癌中的具体调控机制尚不清楚。在基因富集分析的结果中,高突变负荷组的富集通路多与免疫相关。有研究表明,肿瘤细胞的突变负荷表达增加,可促进细胞表面的新抗原积聚,增加其自身免疫原性,从而激活免疫细胞及其介导的抗肿瘤免疫反应^[6]。在肿瘤微环境中,浸润性免疫细胞占很大比例,它们通过释放炎症细胞因子和趋化因子与肿瘤细胞相互作用,驱动癌症的生物学行为。因此,有必要探索突变负荷与肿瘤微环境中免疫细胞的潜在联系。在高 TMB 患者中,CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、NK 细胞及 M1 巨噬细胞的占比显著高于低 TMB 组,其基因标志的表达在 2 组之间差异也具有统计学意义,这些细胞均在抗肿瘤免疫中发挥着重要作用。有研究证实,间质细胞表达的免疫检查点分子 PD-L1 可抑制 CD8⁺ T 细胞,从而促进结肠癌肿瘤细胞的增殖与转移^[17]。CD4⁺ T 细胞是抗肿瘤免疫机制中的重要组成部分,并且与抗原处理过程密切相关,被认为是多种肿瘤的独立预后指标^[18-19]。NK 细胞在高 TMB 组显著增多,而基因富集结果提示高 TMB 组在 NK 细胞介导的细胞毒性通路中明显富集,进一步验证了此结果。巨噬细胞在肿瘤中的作用取决于自身的极化状态。M1 巨噬细胞具有抗肿瘤的特性,而 M2 巨噬细胞则促进肿瘤的增长^[20]。在高 TMB 组患者中,M0 巨噬细胞占比下降,而 M1 巨噬细胞升高,可能的解释是突变负荷升高促进肿瘤细胞释放某些因子诱导 M0 巨噬细胞向 M1 极化。Treg 与多种肿瘤的不良预后相关,能够有效地抑制抗肿瘤免疫反应^[21]。虽然 Treg 在低突变负荷组显著升高,但是其标志基因在 2 组之间却无明显差异,因此 TMB 与 Treg 之间的关系仍需要进一步研究。从上述可知,在高突变负荷的结肠癌患者中,肿瘤微环境呈现出明显的抗肿瘤免疫状态。未来可以从肿瘤微环境入手,进一步探索 TMB 在结肠癌中的作用机制。

本研究还探讨了突变负荷与免疫检查点分子之间的关系。免疫检查点分子是一类能够调控免疫细胞,

在免疫稳态中发挥重要作用的调节蛋白,其中常见的是 PD-1、PD-L1 与 CTLA-4。免疫检查点分子能够抑制免疫细胞特别是 T 细胞的活化及其产生的抗肿瘤反应,从而使肿瘤逃避免疫监视^[22]。在结肠癌中,笔者发现高 TMB 组患者免疫检查点分子 PD-1、PD-L1 与 CTLA-4 的基因表达均明显增高,提示免疫检查点抑制剂应用于这一类患者可能有效地恢复肿瘤微环境的免疫应答,取得良好的治疗效果。既往研究表明,在大多数肿瘤中 PD-L1 表达与突变负荷相互独立^[8]。在结肠癌中,TMB 与免疫检查点分子的基因表达相关性较弱,提示 TMB 在结肠癌中是独立于 PD-L1 的生物标志物。

本研究存在一些不足之处,仅纳入了 TCGA 这一个数据库,没有采用外部数据库如 GEO 数据库(Gene Expression Omnibus database)或其他大样本的队列进行验证;在本研究中,笔者以中位数为临界值区分高低突变负荷组,然而,如何定义突变负荷的高低水平并没有定论。在一项大样本多肿瘤的研究中,研究者将 TMB 分为 3 个亚组:高 TMB 组(占患者总数的 50%)、中 TMB 组(占比 40%)、低 TMB 组(占比 10%)^[23]。另外一项大规模研究中,研究人员将前 20% TMB 的患者定义为高突变负荷组,分析了在多种肿瘤中 TMB 与免疫疗效之间的关系^[24]。TMB 的阈值也会受到其他因素的影响,如肿瘤类型、样本类型、检测方法、样本采集过程等^[22]。单纯地以中位数作为临界来划分高低突变负荷并不十分科学,需要进行关于免疫治疗的大样本临床研究,以患者的疗效作为评判标准来寻找一个能够在临床上进行推广的临界值。另外,笔者分析了 TMB 与浸润性免疫细胞的关系,但并没有进行基础实验在细胞和分子水平探索 TMB 对免疫细胞的调控机制。未来可以从这个方向出发深入研究,可能会为结肠癌的治疗提供新的方向。

综上所述,高 TMB 患者总生存时间短于低 TMB 的患者。突变负荷升高可引起肿瘤微环境中浸润性免疫细胞的成分发生明显变化,并产生抗肿瘤免疫反应。另外,突变负荷表达升高伴随着免疫检查点分子 PD-1、PD-L1 与 CTLA-4 的基因表达增高,这些结果均提示高 TMB 患者更有可能受益于免疫治疗。因此,TMB 有望成为结肠癌预后及免疫治疗的生物标志物,为结肠癌的免疫治疗提供新的研究方向。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

赵栋燕:设计研究方案,统计分析,论文撰写;孙希珍:统计分析,论文修改;姚树坤:课题设计,论文终审

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017[J]. CA: a Cancer Journal for Clinicians, 2017, 67 (1):7-30. DOI: 10.3322/caac.21387.
- [2] Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality[J]. Gut, 2017, 66(4):683-691. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
- [3] Youssef A, Kasso N, Torloni AS, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura due to checkpoint inhibitors[J]. Case Reports in Hematology, 2018, 2018:2464619. DOI: 10.1155/2018/2464619.
- [4] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. Science (New York, NY), 2015, 348(6230):124-128. DOI: 10.1126/science.aaa1348.
- [5] Klebanov N, Artomov M, Goggins WB, et al. Burden of unique and low prevalence somatic mutations correlates with cancer survival[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1):4848. DOI: 10.1038/s41598-019-41015-5.
- [6] Gubin MM, Artyomov MN, Mardis ER, et al. Tumor neoantigens: building a framework for personalized cancer immunotherapy[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2015, 125 (9):3413-3421. DOI: 10.1172/jci80008.
- [7] Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade[J]. Science (New York, NY), 2017, 357 (6349):409-413. DOI: 10.1126/science.aan6733.
- [8] Yu H, Chen Z, Ballman KV, et al. Correlation of PD-L1 expression with tumor mutation burden and gene signatures for prognosis in early-stage squamous cell lung carcinoma[J]. Journal of Thoracic Oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer, 2019, 14 (1):25-36. DOI: 10.1016/j.jtho.2018.09.006.
- [9] Cappell MS. Pathophysiology, clinical presentation, and management of colon cancer[J]. Gastroenterology Clinics of North America, 2008, 37(1):1-24. DOI: 10.1016/j.gtc.2007.12.002.
- [10] Jia Q, Wang J, He N, et al. Titin mutation associated with responsiveness to checkpoint blockades in solid tumors[J]. JCI Insight, 2019, 4(10):e127901. DOI: 10.1172/jci.insight.127901.
- [11] Schrock AB, Ouyang C, Sandhu J, et al. Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer[J]. Annals of Oncology:official journal of the European Society for Medical Oncology, 2019, 30 (7):1096-1103. DOI: 10.1093/annonc/mdz134.
- [12] Pai SG, Carneiro BA, Chae YK, et al. Correlation of tumor mutational burden and treatment outcomes in patients with colorectal cancer[J]. Journal of Gastrointestinal Oncology, 2017, 8(5):858-866. DOI: 10.21037/jgo.2017.06.20.
- [13] Zhang C, Li Z, Qi F, et al. Exploration of the relationships between tumor mutation burden with immune infiltrates in clear cell renal cell carcinoma[J]. Annals of Translational Medicine, 2019, 7(22):648. DOI: 10.21037/atm.2019.10.84.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.002

结直肠癌专题

不同部位结直肠癌术后患者生存预后差异分析

王慧,任建琳,张功,张莹瑄,陆鑫熠,吴杏黎,黄人可,靖琳,陈文婷,毛发江

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81873279);上海市科委医院引导项目(19401935200);上海市卫健委临床专项(201840325);上海中医药大学预算内项目(18LK057)

作者单位: 200071 上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

通信作者: 任建琳, E-mail: renjianlin666@126.com

【摘要】 目的 分析比较左右半结肠癌及直肠癌根治术后患者的生存预后差异及影响因素。**方法** 选取 2004 年 1 月—2016 年 12 月于上海中医药大学附属市中医医院、上海市普陀区中心医院和复旦大学附属肿瘤医院肿瘤科收治的 I ~ III 期结直肠癌根治术后病例 1 028 例,分为右半结肠癌组 243 例、左半结肠癌组 339 例和直肠癌组 446 例,对比 3 组无疾病生存期(DFS)、总生存期(OS)、复发转移率的差异及其影响生存预后因素。**结果** 右半结肠癌组、左半结肠癌组和直肠癌组的中位 DFS 分别为 9.13、16.43 和 52.17 个月,3 组比较差异有统计学意义($\chi^2/P = 167.362/0.000$),中位 OS 分别为 22.93、28.98 和 60.83 个月,3 组比较差异有统计学意义($\chi^2/P = 122.748/0.000$)。复发转移率比较,右半结肠癌组 > 左半结肠癌组 > 直肠癌组($\chi^2/P = 172.251/0.000$)。化疗和中药治疗是 OS 的保护因素,肿瘤部位是影响 OS 的危险因素,右半结肠癌影响总生存期的风险是直肠癌的 2.004 倍(95% CI 1.582 ~ 2.540),左半结肠癌影响 OS 的风险是直肠癌的 1.379 倍(95% CI 1.082 ~ 1.758)。中药治疗是 DFS 的保护因素,肿瘤部位为右半结肠是影响 DFS 的危险因素[OR(95% CI) = 0.794(0.655 ~ 0.961), 1.365(1.098 ~ 1.698)]。**结论** 直肠癌的生存预后明显优于结肠癌,相比左半结肠癌,右半结肠癌患者的生存期更短,复发转移率更高。中药治疗不仅能延长生存期,还能降低结直肠癌术后患者复发转移的风险。

【关键词】 结肠癌;直肠癌;部位;生存期

【中图分类号】 R735.3⁺5;R735.3⁺7

【文献标识码】 A

Analysis of differences in survival and prognosis of postoperative patients with colorectal cancer in different locations

Wang Hui, Ren Jianlin, Zhang Gong, Zhang Yingxuan, Lu Xinyi, Wu Xingli, Huang Renke, Jing Lin, Chen Wenting, Mao Fajiang. Department of Oncology, Shanghai Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Corresponding author: Ren Jianlin, E-mail: renjianlin666@126.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81873279); Hospital Guidance Project of Shanghai Science and Technology Commission (19401935200); Clinical Special Project of Shanghai Health Commission (201840325); Budget Project of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (18LK057)

【Abstract】 Objective To analyze and compare the survival and prognosis of patients with left and right colon cancer and rectal cancer after radical resection and their influencing factors. **Methods** Selected from January 2004 to December 2016, 1028 patients with stage I to III colorectal cancer who were admitted to the Department of Oncology, Shanghai Putuo District Central Hospital, Shanghai Putuo District Central Hospital, and Fudan University Affiliated Tumor Hospital from January 2004 to December 2016. Divided into 243 cases of right colon cancer group, 339 cases of left colon cancer group and 446 cases of rectal cancer group. Compare the differences of the 3 groups in disease-free survival (DFS), overall survival (OS), recurrence and metastasis rate. Factors affecting survival and prognosis. **Results** The median DFS of the right colon cancer group, left colon cancer group, and rectal cancer group were 9.13, 16.43, and 52.17 months, respectively. The difference between the three groups was statistically significant ($\chi^2/P = 167.362/0.000$), and the median OS They were 22.93, 28.98, and 60.83 months, respectively, and the difference between the three groups was statistically significant ($\chi^2/P = 122.748/0.000$). Comparing the recurrence and metastasis rate, right colon cancer group > left colon cancer group > rectal cancer group ($\chi^2/P = 172.251/0.000$). Chemotherapy and traditional Chinese medicine treatment are the protective factors of OS, and the tumor site is the risk factor affecting OS. The risk of right colon cancer affecting overall survival is 2.004 times that of rectal cancer (95% CI 1.582 ~ 2.540). Left colon cancer affecting the total survival risk is 1.379

times that of rectal cancer (95% *CI* 1.082 – 1.758). Traditional Chinese medicine treatment is a protective factor for DFS. The tumor site is the right colon is a risk factor affecting DFS[*OR* (95% *CI*) =0.794 (0.655 – 0.961), 1.365 (1.098 – 1.698)]. **Conclusion** The survival prognosis of rectal cancer is significantly better than that of colon cancer. Compared with left colon cancer, patients with right colon cancer have a shorter survival period and higher recurrence and metastasis rate. Traditional Chinese medicine treatment can not only prolong survival, but also reduce the risk of recurrence and metastasis of colorectal cancer patients after surgery.

【Key words】 Colon cancer; Rectal cancer; Position; Survival

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是世界范围内常见的恶性肿瘤。据 WHO 预计到 2030 年,全球结直肠癌患者将增加 77%,死亡例数增加 80% [1]。解剖学上以脾曲为界将结肠癌分为左半结肠癌 (LSCC) 与右半结肠癌 (RSCC)。许多研究证实[2-4],不同部位的结肠癌其临床症状、生理特点、病理特征、临床治疗及预后方面等均存在较大差异,所以许多学者认为左半结肠癌与右半结肠癌一定程度上可视为 2 种不同的疾病。现分析比较左右半结肠癌及直肠癌的生存预后差异,以及影响生存期的因素,希望能为今后结直肠癌的个体化治疗提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2004 年 1 月—2016 年 12 月于上海中医药大学附属市中医医院、上海市普陀区中心医院和复旦大学附属肿瘤医院肿瘤科收治的 I ~ III 期结直肠癌根治术后患者 1 028 例,以脾曲为界,分为右半结肠癌组 (原发于升结肠、结肠肝曲、横结肠的恶性肿瘤)243 例、左半结肠癌组 (原发于结肠脾曲、降结肠、乙状结肠的恶性肿瘤)339 例和直肠癌组 446 例。3 组性别、年龄及化疗情况比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),其他临床资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

1.2 病例选择标准 (1)诊断标准:病理诊断标准参照“中国结直肠癌诊疗规范”[5]中的相关标准,临床分期标准依据结直肠癌 UICC 的 TNM 分期标准(2017 第八版)[6]。(2)纳入标准: I ~ III 期结直肠癌根治术后患者,具有完整的 TNM 分期和 Dukes 分期信息,有明确的手术时间,中药干预 > 3 个月,西医化疗 > 3 个周期。(3)排除标准:①有明显心、肝、肾或造血功能损害者,或精神病患者、孕妇或哺乳期妇女;②资料不全者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 患者预后情况:对 3 组患者的复发转移率、无疾病生存期 (DFS)、总生存期 (OS) 等进行分析。(1)DFS:从开始观察起至肿瘤复发转移的时间;(2)OS:从首次治疗起至患者死亡或研究截止日期的时间;(3)复发转移率。生存期以月为单位。

表 1 3 组患者临床资料比较 [例(%)]					
临床资料	右半 结肠癌组 (<i>n</i> = 243)	左半 结肠癌组 (<i>n</i> = 339)	直肠 癌组 (<i>n</i> = 446)	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别					
男	107	179	243	7.244	0.027
女	136	160	203		
年龄					
< 70	115	189	278	14.575	0.001
≥ 70	128	150	168		
病理类型					
腺癌	238	329	432	0.702	0.704
非腺癌	5	10	14		
分化程度					
低分化	19	20	27	1.918	0.751
中分化	214	302	393		
高分化	10	17	26		
分期					
I 期	18	32	51	3.165	0.531
II 期	104	136	179		
III 期	121	171	216		
化疗					
无	90	122	129	6.481	0.039
有	153	217	317		
转移情况					
无	114	171	241	9.563	0.480
肝	64	87	114		
肺	19	29	35		
淋巴	11	11	17		
骨	4	4	12		
其他	32	46	38		
基础病					
无	121	172	223	0.062	0.969
糖尿病	39	65	73		
高血压	89	115	162		
冠心病	35	42	49		
脑梗死/出血	20	29	28		
COPD	7	16	24		
中药治疗					
无	100	158	182	3.001	0.223
有	143	181	264		

1.3.2 患者生存期影响因素分析:对左半结肠癌 (LSCC)、右半结肠癌 (RSCC) 和直肠癌 (RC) 患者的生存预后进行差异分析,评价性别、年龄、病理类型、分化程度、分期、肿瘤部位、复发转移、是否化疗和中药治疗

等因素对生存预后的影响。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计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,多组间比较采用方差分析;非正态分布的计量资料以中位数和四分位数 [$M(Q_1, Q_3)$] 描述,组间比较采用秩和检验;计数资料以频数或率 (%) 描述,组间比较采用卡方检验;使用 Log-rank 法对 DFS 和 OS 进行单因素分析,采用 Cox 回归进行 DFS 和 OS 的多因素分析,生存期采用 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组患者预后比较

2.1.1 总体生存率比较:末次随访截止日期为 2019 年 6 月 30 日。3 组患者 1 028 例中,死亡 582 例,失访 78 例。总体生存率:直肠癌组 > 左半结肠癌组 > 右半结肠癌组,3 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。3 组的 1、3、5 年总生存率见表 2。

表 2 3 组总生存率比较 (%)

组 别	例数	1 年生存率	3 年生存率	5 年生存率
右半结肠癌组	243	92.36	77.07	62.58
左半结肠癌组	339	93.26	81.14	69.41
直肠癌组	446	96.08	89.40	83.11

2.1.2 DFS 和 OS 比较:患者中位 DFS 和 OS 比较,直肠癌组 > 左半结肠癌组 > 右半结肠癌组,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),见表 3。

表 3 3 组中位 DFS、OS 比较 [$M(Q_1, Q_3)$, 月]

组 别	例数	中位 DFS	中位 OS
右半结肠癌组	243	9.13 (2.70, 29.22)	22.93 (11.58, 43.89)
左半结肠癌组	339	16.43 (5.47, 45.28)	28.98 (12.57, 54.20)
直肠癌组	446	52.17 (22.39, 60.81)	60.83 (27.02, 72.32)
χ^2/P 值		167.362 / <0.001	122.748 / <0.001

2.1.3 复发转移率比较:3 组比较,右半结肠癌组 (72.0%, 175/243) > 左半结肠癌组 (58.4%, 198/339) > 直肠癌组 (19.6%, 87/446),差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 172.251, P < 0.001$)。

2.2 总生存期的影响因素分析

2.2.1 总生存期单因素分析:左、右半结肠癌及直肠癌患者的 OS 存在差异,可认为肿瘤部位是影响结直肠癌预后的相关因素。将其他可能影响 OS 的 8 个因素(包括性别、年龄、病理类型、分化程度、分期、复发转移、化疗、中药治疗)采用 Log-rank 进行单因素分析,结果提示,除性别、病理类型及分化程度外,其余 5 个因素(包括年龄、分期、复发转移、化疗、中药治疗)对结直肠癌术后患者的 OS 均有显著影响 ($P < 0.05$)。

2.2.2 总生存期危险因素 Cox 回归分析 以肿瘤部位、年龄、分期、复发转移、化疗、中药治疗等 6 个因素为自变量,以 OS 为因变量,进行 Cox 回归分析,结果显示,肿瘤部位、年龄、分期、复发转移、化疗、中药治疗与结直肠癌的总生存期有显著相关性 ($P < 0.05$)。其中,化疗和中药治疗是 OS 的保护因素,可降低死亡风险 33%、61.7%;而肿瘤部位是影响 OS 的危险因素,本研究中以直肠癌组为参照组,根据相对风险值 HR ,右半结肠癌组、左半结肠组影响总生存期的风险分别是直肠癌组的 2.004 倍和 1.379 倍。分期也是总生存期的危险因素,相较 I 期结直肠癌患者,II 期和 III 期患者死亡风险分别增加至 3.369 倍和 4.545 倍。高龄和出现复发转移是影响 OS 的危险因素,见表 4。

2.3 无疾病生存期的影响因素分析

2.3.1 无疾病生存期的单因素分析:复发转移是定义 DFS 的根据,将其他可能影响 DFS 的 7 个因素(包括性别、年龄、病理类型、分化程度、分期、化疗、中药治疗)采用 Log-rank 进行单因素分析,结果提示,除性别、年龄、病理类型及化疗以外,其余 3 个因素(包括

表 4 总生存期的 Cox 回归危险因素分析

变 量		β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR (95% CI)
肿瘤部位	直肠	-	-	33.089	<0.001	1.000
	右半结肠	0.321	0.121	33.084	<0.001	2.004 (1.582, 2.540)
	左半结肠	0.470	0.146	6.738	<0.001	1.379 (1.082, 1.758)
年龄		0.622	0.085	53.651	<0.001	1.864 (1.578, 2.201)
分期	I 期	-	-	48.930	<0.001	1.000
	II 期	1.214	0.234	26.935	<0.001	3.369 (2.129, 5.329)
	III 期	1.245	0.240	26.964	<0.001	4.545 (2.890, 7.150)
复发转移		1.285	0.113	129.371	<0.001	3.614 (2.896, 4.510)
化疗		-0.400	0.111	12.956	<0.001	0.670 (0.539, 0.833)
中药治疗		-0.960	0.106	81.684	<0.001	0.383 (0.311, 0.471)

分化程度、分期、中药治疗)对结直肠癌术后患者的 DFS 均有显著影响($P<0.05$)。

2.3.2 无疾病生存期危险因素 Cox 回归分析:以肿瘤部位、分化程度、分期和中药治疗为自变量,以 DFS 为因变量,进行 Cox 回归分析,结果显示,肿瘤部位、分化程度、分期和中药治疗与结直肠癌 DFS 有显著相关性($P<0.05$)。中药治疗是 DFS 的保护因素,可降低复发转移的风险 20.6%。肿瘤部位为右半结肠是影响 DFS 的危险因素,右半结肠癌术后患者复发转移的风险值是直肠癌的 1.365 倍。左半结肠癌与直肠癌患者 DFS 的差异无统计学意义($P=0.957$)。分化程度和分期均为无疾病生存期的危险因素。根据相对风险值 HR,分化程度越低,分期越晚,则影响 DFS 的风险越高,见表 5。

3 讨论

不同部位的结肠癌因其局部微环境、组织形态学、生理学及代谢特点等不同,发病、症状、肿瘤病理学及分子生物学等多方面存在差异^[7]。Gupta 等^[8]指出,左右半结肠是 2 种不同的器官,其起源于不同的胚胎组织,因此认为左右半结肠癌是 2 种不同的肿瘤。

本研究结果显示,右半结肠癌组、左半结肠癌组和直肠癌组的性别、年龄分布及化疗情况有显著差异($P<0.05$),3 组的男女比例依次为 0.79:1、1.12:1、1.20:1,越靠近直肠,男性发病比例越高;反之越靠近右半结肠,则女性发病比例越高,与目前不少研究结果相符。胡雪娥等^[9]通过回顾性研究发现,左半结肠癌的发病人群以男性为主,右半结肠癌以女性为主,造成这种区别的原因可能与雌激素水平相关,雌激素可影响胆固醇的代谢,从而影响胆汁酸的代谢,当年龄增加,女性体内雌激素水平降低,胆汁酸的次级代谢产物在女性体内随之增加,导致右半结肠更易受到致癌因子的刺激作用,因此右半结肠癌的发病率更高。右半结肠组、左半结肠组和直肠组年龄 ≥ 70 岁的比例依次

为 52.7% (128/243)、44.2% (150/339) 和 37.7% (168/446),可见右半结肠癌的发病年龄高于左半结肠癌,结肠癌的发病年龄高于直肠癌。韦金磊等^[10]对 5 099 例结肠癌患者的资料进行研究,发现老年人在左、右半结肠癌的发病比例分别为 60.3%、75.4%。目前对于 I ~ III 期结直肠癌患者,治疗主要以手术为主,术后进行辅助放化疗、生物治疗及靶向治疗等,治疗方式的选取基于患者病情,肿瘤部位仅是决定方案的因素之一,故对于化疗情况的差异暂不做论述。

本研究结果显示,结直肠癌的生存期与肿瘤部位有显著关系,直肠癌患者的生存期明显高于结肠癌,而右半结肠癌的生存期低于左半结肠癌,与目前大部分关于左右半结肠癌的研究一致。Yahagi 等^[11]通过系统回顾与 Meta 分析对 LSCC、RSCC 两者预后情况展开研究对比,结果发现,结肠癌患者生存预后与肿瘤发生的位置存在一定联系,RSCC 患者的总生存期显著低于 LSCC。右半结肠癌生存期较低的原因目前尚不明确,可能由多重因素导致,如症状出现较晚,恶性程度较高,基因表达等^[12-15]。张海璐等^[16]认为首发症状与结肠癌的病变部位存在一定的关系,左半结肠癌患者主要表现为血便、大便性状及排便习惯改变,而右半结肠癌主要表现为腹部包块、腹痛、腹胀及腹泻,与大多数肠炎、胃肠功能紊乱、便秘等消化道急性症状难以区别,因此 RSCC 早期不易被发现,等到发现时已经是中晚期,生存预后较差。本研究发现,右半结肠癌的复发转移率高于左半结肠癌和直肠癌,高复发转移率也导致了其生存期下降。Park 等^[17]对 1 632 例结肠癌根治术后未见远端转移的 LSCC、RSCC 患者展开研究,同时对比分析了患者自根治术后至局部复发的时间,发现在结肠癌局部复发的时间方面,不同部位间有着显著区别,RSCC 和 LSCC 患者术后 5 年总复发率分别为 8.5% 和 4.1%。

对 OS 和 DFS 的影响因素进行 Cox 回归分析发

表 5 无疾病生存期的 Cox 回归危险因素分析

变量		β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR(95% CI)
肿瘤部位	直肠	-	-	9.402	0.011	1.000
	右半结肠	0.311	0.111	7.862	0.005	1.365(1.098,1.698)
	左半结肠	-0.006	0.117	0.003	0.957	0.994(0.790,1.250)
分化程度	高分化	-	-	7.524	0.012	1.000
	中分化	0.603	0.240	6.317	0.012	1.828(1.142,2.925)
	低分化	0.763	0.284	7.2155	0.007	2.144(1.229,3.741)
分期	I 期			58.417	<0.001	1.000
	II 期	1.479	0.246	36.268	<0.001	4.388(2.712,7.100)
	III 期	1.771	0.243	53.185	<0.001	5.875(3.650,9.456)
中药治疗		-0.231	0.098	5.582	0.018	0.794(0.655,0.961)

现,化疗能延长结直肠癌术后患者的生存期,而中药治疗不仅能延长生存期,还能降低结直肠癌术后患者复发转移的风险^[18-20]。以往研究发现^[21-23],中药复方可显著改善大肠癌患者的生活质量,并且可以提高 OS 和 DFS,减少复发转移,中西医结合治疗效果优于单纯化疗。余清清等^[24]对 363 例化疗后晚期 CRC 患者资料分析发现,中医辨证治疗能够延长晚期 CRC 患者的生存期,而且在疗效方面,兼顾扶正祛邪的中药治疗效果相对明显,有改善预后的作用。分期是影响生存期的危险因素,分期越晚,死亡及出现复发转移的风险越高。高龄和复发转移也增加了死亡的风险,本研究中右半结肠癌组患高龄人数占比及复发转移率均高于其他 2 组,这也可能是造成右半结肠癌患者生存更差的原因。

肿瘤部位是影响患者生存期的风险因素。2016 年 ASCO 会议基于 CALGB/SWOG80405 研究表明,原发于右侧结肠的肿瘤生存预后较左侧结肠差,而在接受化疗联合靶向治疗的 KRAS 基因野生型患者中,左半结肠癌患者从西妥昔单抗治疗中有更明显的获益,而右半结肠癌患者则使用贝伐珠单抗获益更多^[25]。研究左、右半结肠癌及直肠癌生存预后的差异及其影响因素具有重要的意义。近几年,随着研究的深入,临床医师对于不同部位结肠癌的治疗用药有了更多的参照标准。Missiaglia 等^[26]选取了 3 045 例接受 FOLFIRI 辅助化疗的结肠癌患者,研究显示 II 期结肠癌患者中,右半结肠癌获益较左半结肠癌多。在 AIO KRK0104 试验中,一线化疗联合西妥昔单抗治疗 KRAS 野生型的转移性结肠癌患者,结果显示左半结肠癌的总生存期和无进展生存期明显优于右半结肠癌^[27]。可见相同治疗方案对不同部位结直肠癌的疗效是有差异的。

在今后的研究中,仍需要进一步探讨不同部位结直肠癌各方面差异产生的原因,归纳出更有效的个体治疗方案,从而使患者获得更多的生存获益及更好的生活质量。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王慧:设计研究方案、研究流程,进行统计学分析,论文撰写;任建琳:提出研究方向、研究思路,研究选题,论文审核;张功:设计研究方案,分析试验数据,论文修改;张莹瑄、陆鑫熠:进行文献调研与整理,论文修改;吴杏黎、黄人可:进行文献调研与整理,参与统计学分析;靖琳、陈文婷、毛发江:病例资料收集整理

参考文献

- [1] Binefa G,Rodriguez-Moranta F,Teule A,et al. Colorectal cancer: From prevention to personalized medicine[J]. World Journal of

Gastroenterology, 2014, 20 (22): 6786-6808. DOI: 10. 3748/wjg. v20. i22. 6786.

- [2] 冯珊珊,杨博,王安平,等. 不同发病部位结直肠癌患者的临床特点分析[J]. 宁夏医科大学学报,2013,35(5):525-527. DOI: 10. 16050/j. cnki. issn1674-6309. 2013. 05. 032.
- [3] 方胜杰,吕波,陈震宏. 左、右半结肠癌临床病理学特征的差异研究[J]. 浙江医学,2019,41(7):691-693. DOI:10. 12056/j. issn. 1006-2785. 2019. 41. 7. 2017-1240.
- [4] 李秀博,杜洪,王小拍,等. 537 例结肠腺癌患者 KRAS 基因检测结果分析[J]. 中国肿瘤杂志,2018,49(4):7-9. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-8535. 2018. 04. 002.
- [5] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 中国结直肠癌诊疗规范(2015 年版)[J]. 中华外科杂志,2015,53(12):881-894. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 0529-5815. 2015. 12. 001.
- [6] 刘荫华,姚宏伟,周斌,等. 美国肿瘤联合会结直肠癌分期系统(第 8 版)更新解读[J]. 中国实用外科杂志,2017(01):6-9. DOI:10. 19538/j. ejcs. issn1005-2208. 2017. 01. 03.
- [7] Montroni I,Ghignone F,Rosati G,et al. The challenge of education in colorectal cancer surgery: A comparison of early oncological results, morbidity, and mortality between residents and attending surgeons performing an open right colectomy[J]. Journal of Surgical Education, 2014,71(2):254-261. DOI:10. 1016/j. jsurg. 2013. 08. 002.
- [8] Gupta S,Balasubramanian BA,Fu T,et al. Polyps with advanced neoplasia are smaller in the right than in the left colon: Implications for colorectal cancer screening[J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology,2012,10(12):1395-1401, e2. DOI:10. 1016/j. cgh. 2012. 07. 004.
- [9] 胡雪娥,史丽芸,孟春玲,等. 左右半结肠癌生物学特征的差异及常用病理标志的临床意义[J]. 中国临床研究,2018,31(12):1669-1673. DOI:10. 13429/j. cnki. ejcr. 2018. 12. 019.
- [10] 韦金磊,张森. 来自 SEER 数据库的左、右半结肠癌临床病理特点及生存分析[J]. 结直肠肛门外科,2017,23(6):709-715.
- [11] Yahagi M,Okabayashi K,Hasegawa H,et al. The worse prognosis of right-sided compared with left-sided colon cancers: a systematic review and Meta-analysis[J]. J Gastrointest Surg,2016,20(3):648-655. DOI:10. 1007/s11605-015-3026-6.
- [12] 张煌,鲁恒珍,周帅跃,等. 血清微小 RNA-106 b-5 p, RNA-30 a-5 p 水平与结直肠癌患者预后的关系及其诊断价值[J]. 疑难病杂志,2020,19(12):1238-1242,1247. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 12. 013.
- [13] 马骏,张玉英,陈树军,等. 奥沙利铂不同给药方案联合卡培他滨对结直肠癌肝转移患者的疗效及生存率的影响[J]. 中国医药,2020,15(4):593-596. DOI:10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2020. 04. 027.
- [14] 方贤磊,曾丽平,李娜,等. IFN- γ 和 IL-4 在结直肠癌组织中的表达及与临床分期的关系[J]. 中国医药导报,2020,17(32):17-19,28,封 4.
- [15] 杨娟,李亚飞,宋晓燕,等. 血清 CA72-4、CA199 对结直肠癌的诊断价值及与肿瘤进展的关系研究[J]. 现代生物医学进展,2020,20(24):4743-4746. DOI:10. 13241/j. cnki. pm. 2020. 24. 032.
- [16] 张海璐,邓婷,白明,等. 左右半结肠癌临床特点及生存预后的比较[J]. 中国老年学杂志,2014,35(9):2446-2447. DOI:10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2015. 09. 062.

- [17] Park JH, Kim MJ, Park SC, et al. Difference in time to locoregional recurrence between patients with right-sided and left-sided colon cancers [J]. Dis Colon Rectum, 2015, 58 (9): 831-837. DOI: 10.1097/DCR.0000000000000426.
- [18] 姚青林, 王景杰, 李欢, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比率、C 反应蛋白/白蛋白比率、血小板/淋巴细胞比率与结直肠癌患者预后的关系 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19 (6): 595-598, 616. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.06.014.
- [19] 肖慧敏, 柳青峰, 臧辉, 等. miR-17-92 通过靶向抑制 QKI 促进结直肠癌转移 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18 (4): 398-402. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.04.017.
- [20] 刘彦合, 李慧, 叶晓谊, 等. 卡培他滨联合奥沙利铂同步放化疗治疗晚期直肠癌患者的临床效果 [J]. 中国医药, 2019, 14 (4): 566-569. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2019.04.022.
- [21] 陈文婷, 任建琳, 石齐, 等. 中西医结合治疗大肠癌的回溯性研究及对生存预后影响因素的分析 [J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32 (2): 234-238, 242. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtc.2015.02.011.
- [22] 陈文婷, 任建琳, 侯风刚, 等. 健脾补肾复方联合化疗治疗大肠癌患者疗效指标的系统评价 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42 (7): 1162-1166. DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2015.07.004.
- [23] 高晓斌, 武雪亮, 赵轶峰, 等. 结直肠癌组织中 DNA 甲基转移酶-1 和钠氢交换子调节因子 1 的表达、临床意义及相关性 [J]. 中国医药导报, 2020, 17 (2): 20-24.
- [24] 余清清, 侯风刚, 陈旻. 中医辨证结合化疗治疗晚期结直肠癌患者的临床分析 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42 (10): 1925-1927. DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2015.10.042.
- [25] Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F, et al. Impact of primary tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of CALGB/SWOG 80405 (Alliance) [J]. Journal of Clinical Oncology, 2016, 34 (15_suppl): 3504. DOI: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.3504.
- [26] Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features [J]. Ann Oncol, 2014, 25 (10): 1995-2001. DOI: 10.1093/annonc/mdl275.
- [27] von Einem JC, Heinemann V, von Weikersthal LF, et al. Left-sided primary tumors are associated with favorable prognosis in patients with KRAS codon 1213 wild-type metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus chemotherapy: an analysis of the AIO KRK0104 trial [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140 (9): 1607-1614. DOI: 10.1007/s00432-014-1678-3.

(收稿日期: 2020 - 09 - 16)

(上接 439 页)

- [14] Luo C, Chen J, Chen L. Exploration of gene expression profiles and immune microenvironment between high and low tumor mutation burden groups in prostate cancer [J]. International Immunopharmacology, 2020, 86: 106709. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106709.
- [15] 李嵘祺, 曹亚文, 沈粤春, 等. 基于数据挖掘的肝细胞癌肿瘤突变负荷相关性分析 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2020, 26 (1): 32-37. DOI: 10.3760/cma.j.issn.10078118.2020.01.008.
- [16] Lv J, Zhu Y, Ji A, et al. Mining TCGA database for tumor mutation burden and their clinical significance in bladder cancer [J]. Bioscience Reports, 2020, 40 (4): BSR20194337. DOI: 10.1042/bsr20194337.
- [17] O'Malley G, Treacy O, Lynch K, et al. Stromal cell PD-L1 inhibits CD8⁺ T-cell antitumor immune responses and promotes colon cancer [J]. Cancer Immunology Research, 2018, 6 (11): 1426-1441. DOI: 10.1158/2326-6066.Cir-17-0443.
- [18] Hiraoka K, Miyamoto M, Cho Y, et al. Concurrent infiltration by CD8⁺ T cells and CD4⁺ T cells is a favourable prognostic factor in non-small-cell lung carcinoma [J]. British Journal of Cancer, 2006, 94 (2): 275-280. DOI: 10.1038/sj.bjc.6602934.
- [19] Vahidi Y, Faghhi Z, Talei AR, et al. Memory CD4⁽⁺⁾ T cell subsets in tumor draining lymph nodes of breast cancer patients: A focus on T stem cell memory cells [J]. Cellular Oncology (Dordrecht), 2018, 41 (1): 1-11. DOI: 10.1007/s13402-017-0352-6.
- [20] Wu T, Dai Y. Tumor microenvironment and therapeutic response [J]. Cancer Letters, 2017, 387: 61-68. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.01.043.
- [21] Ohue Y, Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target [J]. Cancer Science, 2019, 110 (7): 2080-2089. DOI: 10.1111/cas.14069.
- [22] Büttner R, Longshore JW, López-Ríos F, et al. Implementing TMB measurement in clinical practice: considerations on assay requirements [J]. ESMO Open, 2019, 4 (1): e000442. DOI: 10.1136/esmoopen-2018-000442.
- [23] Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden [J]. Genome Medicine, 2017, 9 (1): 34. DOI: 10.1186/s13073-017-0424-2.
- [24] Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types [J]. Nature Genetics, 2019, 51 (2): 202-206. DOI: 10.1038/s41588-018-0312-8.

(收稿日期: 2020 - 09 - 21)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.003

结直肠癌专题

DC-CIK 联合化疗对结直肠癌根治术后肝转移患者疗效及对 TRF1 和 TRF2 表达的影响

朴龙镇, 金兰, 李滕, 胡乌云, 梁雪

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81160270, 81060166)

作者单位: 133000 延边大学附属医院肿瘤科

通信作者: 朴龙镇, E-mail: plz1978@126.com

【摘要】目的 观察树突状细胞—细胞因子诱导的杀伤细胞(DC-CIK)联合化疗对结直肠癌根治术后肝转移患者疗效及对端粒重复序列结合因子1(TRF1)和TRF2表达的影响。**方法** 选取2014年1月—2015年3月延边大学附属医院肿瘤科收治晚期结直肠癌伴肝转移患者98例,随机数字表法分为对照组(49例)和观察组(49例),对照组采用XELOX方案化疗,观察组在此基础上给予DC-CIK治疗,采用实体瘤疗效评价标准比较2组疗效,比较2组治疗前后免疫功能、肝脏TRF1和TRF2表达水平,以及治疗后生活质量评分,采取Kaplan-Meier对2组生存率进行对比。**结果** 观察组客观缓解率明显高于对照组(67.35% vs. 36.73%, $\chi^2/P = 13.848/0.003$);治疗后,观察组CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平高于对照组,CD8⁺水平低于对照组($t/P = 5.927/0.000, 3.362/0.001, 3.944/0.000, 1.995/0.049$);治疗后,2组TRF1表达上调,且观察组高于对照组,TRF2表达水平下调,且观察组低于对照组($t/P = 16.163/0.000, 17.730/0.000$);观察组生活质量评分中社会功能、情绪功能、认知功能、角色功能、躯体功能、总健康评分等均明显高于对照组($t/P = 8.542/ < 0.001, 13.069/ < 0.001, 12.131/ < 0.001, 10.943/ < 0.001, 9.996/ < 0.001, 10.867/ < 0.001$),生存率亦高于对照组($\chi^2/P = 4.513/0.023$)。**结论** DC-CIK对直肠癌根治术后肝转移患者疗效更优,可提高其免疫功能,调节肝转移病灶处TRF1和TRF2表达水平,提高患者生活质量,值得临床推广应用。

【关键词】 结直肠癌;肝转移;免疫治疗;树突状细胞—细胞因子诱导的杀伤细胞;免疫功能;端粒重复序列结合因子

【中图分类号】 R735.3⁺5;R735.3⁺7

【文献标识码】 A

The effect of DC-CIK combined with chemotherapy on patients with liver metastases after radical resection of colorectal cancer and its influence on the expression of TRF1 and TRF2 Piao Longzhen, Jin Lan, Li Teng, Hu Wuyun, Liang Xue. Department of Oncology, Yanbian University Hospital. Jilin Province, Yanbian 133000, China

Corresponding author: Piao Longzhen, E-mail: plz1978@126.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81160270, 81060166)

【Abstract】 Objective To observe the curative effect of dendritic cell-cytokine-induced killer cell (DC-CIK) combined chemotherapy on patients with liver metastases after radical resection of colorectal cancer and the effect on the expression of telomere repeat binding factor 1 (TRF1) and TRF2. **Methods** From January 2014 to March 2015, 98 patients with advanced colorectal cancer and liver metastases were admitted to the Department of Oncology, Yanbian University Hospital. They were randomly divided into control group (49 cases) and observation group (49 cases), and control group. The XELOX regimen was used for chemotherapy, and the observation group was given DC-CIK treatment on this basis. The efficacy evaluation criteria for solid tumors were used to compare the efficacy of the two groups. The immune function, liver TRF1 and TRF2 expression levels, and quality of life scores after treatment were compared between the two groups before and after treatment. Kaplan-Meier compared the survival rates of the two groups. **Results** The objective remission rate of the observation group was significantly higher than that of the control group (67.35% vs. 36.73%, $\chi^2/P = 13.848/0.003$); after treatment, the CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ levels of the observation group were higher than those of the control group, and the CD8⁺ level was lower than the control group ($t/P = 5.927/0.000, 3.362/0.001, 3.944/0.000, 1.995/0.049$). After treatment, the expression of TRF1 in the two groups was up-regulated, and the observation group was higher than the control group, the expression of TRF2 was down-regulated, and the observation group was lower than the control group ($t/P = 16.163/0.000, 17.730/0.000$). The social function, emotional function, cognitive function, role function, physical function,

and total health score of the observation group's quality of life score were significantly higher than those of the control group ($t/P=8.542/<0.001$, $13.069/<0.001$, $12.131/<0.001$, $10.943/<0.001$, $9.996/<0.001$, $10.867/<0.001$), the survival rate was also higher than that of the control group ($\chi^2/P=4.513/0.023$). **Conclusion** DC-CIK is more effective for patients with liver metastases after radical resection of rectal cancer, can improve their immune function, regulate the expression of TRF1 and TRF2 in liver metastases, and improve the quality of life of patients. It is worthy of clinical application.

【Key words】 Colorectal cancer; Liver metastasis; Immunotherapy; Dendritic cell-cytokine-induced killer cell; Immune function; Telomere repeat binding factor

结直肠癌是临床最常见的恶性肿瘤,具有较高的发病率和病死率,并呈逐年增长趋势,已成为威胁人类健康的杀手之一^[1-2]。结直肠癌根治术是临床上重要治疗手段之一,一般患者预后较好,但约 50% 患者会发生术后转移,其远处转移最常见部位为肝脏,若不采取有效治疗,其 5 年生存率不足 10%,因此提高其生存率,控制肝转移是临床的重大挑战^[3-4]。端粒功能失调是引发癌症的重要分子机制之一,端粒长度与结构的改变在直肠癌根治术后肝转移发生发展过程中具有重要作用^[5]。端粒重复序列结合因子 1 (TRF1) 和 TRF2 对维持端粒的结构及实现其功能具有重要意义^[6]。树突状细胞—细胞因子诱导的杀伤细胞 (DC-CIK) 免疫技术是一种细胞生物免疫治疗方法,是一种新抗肿瘤模式,目前已成为应用最为广泛的生物治疗手段之一^[7]。现对结直肠癌根治术后肝转移患者给予 DC-CIK 联合化疗,观察其疗效及对 TRF1 和 TRF2 表达的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2014 年 1 月—2015 年 3 月延边大学附属医院肿瘤科收治晚期结直肠癌伴肝转移患者 98 例,按随机数字表法分为对照组 (49 例) 和观察组 (49 例),2 组患者性别、年龄、BMI、肿瘤原发部位、肝转移灶大小、数目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。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合结直肠癌的诊断标准^[8];②患者均发生肝转移;③生存期 >8 周,均为单侧病灶。(2) 排除标准:①伴有精神类疾病者;②拒绝配合,依从性极低者。

1.3 治疗方法 对照组患者采用 XELOX 方案 (奥沙利铂 + 卡培他滨) 化疗:奥沙利铂 (江苏恒瑞医药股份有限公司生产) 130 mg/m^2 , d 1;卡培他滨 (江苏恒瑞医药股份有限公司生产) $1 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, 2 次/d, d 1 ~ 21, 21 d 为 1 个周期。观察组在对照组基础上,第 2 次静脉化疗结束后第 7 天连续 3 d 采用静脉回输自体 DC-CIK 细胞,每次输注 $>3 \times 10^9$ 个 DC-CIK 细胞,每

表 1 2 组患者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组 ($n=49$)	观察组 ($n=49$)	t/χ^2 值	P 值
性别 (男/女)	20/29	18/31	0.043	0.836
平均年龄 (岁)	57.56 ± 8.48	57.86 ± 8.75	0.172	0.864
BMI (kg/m^2)	22.76 ± 1.35	22.58 ± 1.47	0.631	0.530
肿瘤原发部位 [例 (%)]				
结肠	28 (57.14)	26 (53.06)	0.441	0.802
直肠	14 (28.57)	17 (34.69)		
直肠乙状结肠交界	7 (14.29)	6 (12.25)		
肝转移灶大小 (cm)	3.69 ± 1.45	3.75 ± 1.58	0.196	0.845
肝转移灶数目 [例 (%)]				
≤ 3 个	28 (57.14)	30 (61.22)	0.042	0.837
> 3 个	21 (42.86)	19 (38.78)		

疗程输注细胞总数 $>1 \times 10^{10}$ 个。回输完毕后,再次使用生理盐水冲管,确保细胞回输数量。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞测定:治疗前后,采集患者空腹肘静脉血 3 ~ 5 ml,分离提取血清,采用流式细胞仪 (美国 BD 公司生产) 测定 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞。

1.4.2 肝脏 TRF1 和 TRF2 表达检测:治疗前及治疗后 1 个月,穿刺患者肝脏活检,采用免疫组化染色法检测肝脏 TRF1 和 TRF2 表达水平,相关试剂由美国 Novus Biologicals 公司提供。显微镜下细胞呈棕黄色则判断为阳性。随机抽取每张切片 4 个视野 (400 倍),计算阳性细胞所占百分比,并进行百分比评分 (PP): 0 分,无阳性细胞;1 分,阳性细胞百分比 $<5\%$; 2 分,阳性细胞百分比 $5\% \sim 20\%$; 3 分,阳性细胞百分比 $>20\%$ 。对染色强度进行评分 (SI): 0 分,无染色;1 分,淡黄色;2 分,棕黄色;3 分,棕褐色。最终计算出免疫反应评分 (IRS) = PP $\times$ SI^[9],分值范围 0 ~ 9 分,得分越高说明阳性表达强度越高。

1.4.3 生活质量评分:治疗后,采用 QLQ-C30 生活质量评分标准 (包括社会、情绪、认知、角色、躯体及总健康状况等 6 个功能性领域) 对 2 组患者术后生活质量进行评价,将各项得分转换为百分制,得分越高说明生活质量越好^[10]。

1.5 临床疗效评价 依据实体瘤疗效评价标准^[11], 分为:完全缓解、部分缓解、疾病稳定和疾病进展,以完全缓解+部分缓解为客观缓解率。

1.6 统计学方法 使用 SPSS 19.0 软件处理数据。符合正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;等级资料采用 U 检验;患者生存情况分析采用 Kaplan-Meier 进行分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 观察组的客观缓解率明显高于对照组 (67.35% vs. 36.73%, $\chi^2 = 13.848, P = 0.003$),见表 2。

表 2 2 组患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病进展
对照组	49	6(12.24)	12(24.49)	13(26.53)	18(36.74)
观察组	49	18(36.73)	15(30.61)	11(22.45)	5(10.20)

2.2 2 组治疗前后 T 淋巴细胞亚群水平比较 治疗前 2 组各 T 细胞亚群水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);与治疗前相比,治疗后,观察组 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 水平升高, $CD8^+$ 水平下降,且观察组各指标优于对照组 ($P < 0.01$),见表 3。

2.3 2 组治疗前后肝脏 TRF1 和 TRF2 表达水平比较 治疗前,2 组 TRF1 和 TRF2 表达水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);治疗后,观察组肝脏 TRF1 表达水平高于治疗前,且高于对照组,TRF2 表达水平低于治疗前,且低于对照组 ($P < 0.01$),见表 4。

表 3 2 组患者治疗前后 T 细胞亚群变化情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	$CD3^+ (%)$	$CD4^+ (%)$	$CD8^+ (%)$	$CD4^+/CD8^+$
对照组 ($n=49$)	治疗前	62.35 ± 3.46	35.36 ± 3.28	27.16 ± 3.22	1.31 ± 0.23
	治疗后	66.17 ± 3.35	36.42 ± 3.46	25.93 ± 3.16	1.49 ± 0.28
观察组 ($n=49$)	治疗前	62.37 ± 3.37	35.17 ± 3.32	27.78 ± 3.18	1.27 ± 0.25
	治疗后	70.26 ± 3.48	38.74 ± 3.37	23.42 ± 3.14	1.62 ± 0.36
t/P 对照组内值		5.552/0.000	1.556/0.123	1.908/0.059	3.477/0.001
t/P 观察组内值		11.401/0.000	5.283/0.000	6.829/0.000	5.590/0.000
t/P 治后组间值		5.927/0.000	3.362/0.001	3.944/0.000	1.995/0.049

表 5 2 组患者治疗后生活质量情况比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

组别	例数	社会功能	情绪功能	认知功能	角色功能	躯体功能	总健康
对照组	49	54.53 ± 3.56	56.83 ± 3.56	59.38 ± 3.67	58.85 ± 3.47	52.26 ± 3.57	52.73 ± 3.38
观察组	49	60.47 ± 3.32	66.47 ± 3.74	68.35 ± 3.65	66.39 ± 3.35	59.48 ± 3.58	60.43 ± 3.63
t 值		8.542	13.069	12.131	10.943	9.996	10.867
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 2 组患者治疗前后肝脏 TRF1 和 TRF2 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

组别	时间	TRF1	TRF2
对照组 ($n=49$)	治疗前	1.58 ± 0.36	4.09 ± 0.45
	治疗后	2.87 ± 0.35	2.98 ± 0.36
观察组 ($n=49$)	治疗前	1.62 ± 0.42	4.07 ± 0.43
	治疗后	4.08 ± 0.39	1.76 ± 0.32
t/P 对照组内值		17.985/0.000	13.483/0.000
t/P 观察组内值		30.045/0.000	30.168/0.000
t/P 治后组间值		16.163/0.000	17.730/0.000

2.4 2 组生活质量评分比较 治疗后,观察组生活质量各项维度评分明显高于对照组 ($P < 0.01$),见表 5。

2.5 2 组生存率比较 随访 5 年,应用 Kaplan-Meier 对 2 组患者进行生存率分析,观察组患者生存率明显高于对照组 ($\chi^2 = 4.513, P = 0.023$),见图 1。

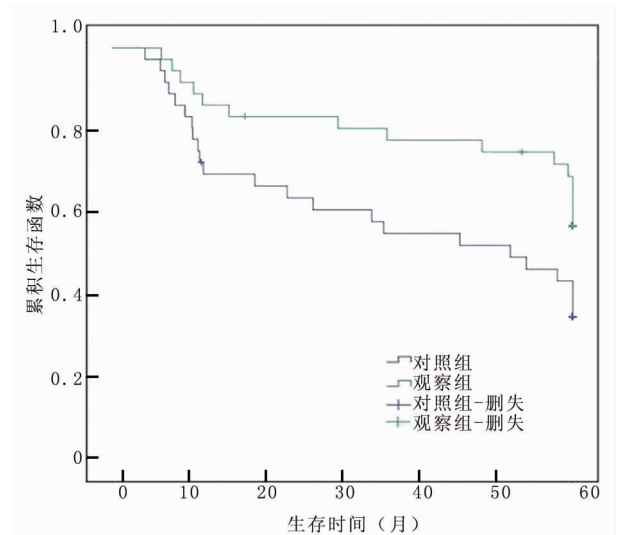


图 1 2 组患者生存率分析

3 讨论

随着我国居民生活习惯的改变及环境污染加重,结直肠癌的患病率不断增长,其发病机制是多种因素协同作用所致,如消化道疾病(幽门螺杆菌感染、溃疡性结肠炎及克罗恩病)、生活习惯(肥胖、药物、吸烟、饮酒及心理精神因素)、饮食(高脂、高蛋白饮食、微量元素摄入)及遗传因素等^[12-13]。手术治疗是早期结直肠癌唯一可以治愈的手段,但 25%~50% 患者根治术后因肝转移而复发,其肝转移的可能机制为根治术后,患者腹腔内损伤的淋巴管和累积的残留微小癌灶进入血液或淋巴液中,从而造成癌细胞的远处转移^[14-16]。常规术后化疗虽然可短时间内抑制肿瘤的生长,但却无法从根本上解决其转移及扩散的问题,且化疗毒副作用导致患者自身免疫力降低,进而导致残存的癌细胞迅速生长,加速病情的发展,因此如何预防、治疗结直肠癌根治术后肝转移成为临床研究的热点。

癌细胞缺少可激活 T 细胞的分子,不被 T 细胞识别,无法启动主动免疫,因此导致结直肠癌在体内发生转移,CIK 细胞可激活 T 细胞因子,完成主动免疫过程^[17-18]。CIK 具有超广的杀瘤谱,对癌细胞的识别能力极强,可增强化疗的敏感性,直接精准的杀伤癌细胞,同时不会影响正常的组织与器官。DC 是目前已知唯一能激活初始性 T 细胞的抗原递呈细胞,其功能最强、最有效,与 CIK 协同作用,可解除部分结直肠癌患者术后 T 细胞的免疫无能,快速有效防止肿瘤局部复发和转移,达到协同抗肿瘤作用。

结直肠癌根治术后肝转移的发生与发展与免疫功能关系密切^[19-20]。CD3⁺ 代表全部 T 淋巴细胞,CD4⁺ 对免疫起正调节作用;CD8⁺ 会破坏并杀伤感染细胞,对 CD4⁺ 具有抑制作用,使免疫功能发生紊乱;CD4⁺/CD8⁺ 可反映机体的细胞免疫状态^[21]。本结果显示,通过 DC-CIK 联合化疗,不仅可直接杀伤癌细胞,还能激活 CD4⁺,同时抑制 CD8⁺ 表达,增强人体免疫能力,有效调动和增强机体自主的抗肿瘤免疫反应。

端粒是存在于真核细胞内,用来稳定细胞染色体功能的一种特殊帽状结构,其长度与细胞癌变相关度高^[22]。TRF1 和 TRF2 是 2 种不同的端粒结合因子,两者广泛参与细胞核 DNA 复制及其损伤修复、维系端粒酶活性和调控端粒长度等生物学活动。TRF1 蛋白可调节端粒长度,且这种调节为负性调节,TRF1 基因可能作为抑癌基因^[23]。TRF2 蛋白对端粒的长度具有正相性,TRF2 基因则具有癌基因活性,可导致机体肿瘤易感性增加^[24]。本结果显示,DC-CIK 联合化疗可将 TRF1 和 TRF2 作为潜在靶点,刺激 TRF1 表达增加,使

细胞内染色体端粒的长度缩短,进而抑制乃至阻止癌细胞的增殖;同时下调 TRF2 表达,阻断其对端粒 DNA 闭环结构的稳定作用,进而导致端粒的长度缩短,促进癌细胞凋亡,从而有效防治结直肠癌根治术后伴肝转移,提高患者的生存质量,并延长其生存期。

综上所述,DC-CIK 对结直肠癌根治术后肝转移具有较好的疗效,可通过调节肝转移病灶处 TRF1 与 TRF2 表达水平,抑制癌细胞生长,延长患者生存时间,值得临床推广应用。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

朴龙镇:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;金兰:图表设计,整理资料;李滕、胡乌云:资料搜集整理,论文修改,查找文献及参考书籍;梁雪:进行统计学分析

参考文献

- [1] Andrew K, George TJ, Hughes SJ, et al. Rectal cancer patients younger than 50 years lack a survival benefit from NCCN guideline-directed treatment for stage II and III disease [J]. *Cancer*, 2018, 124(17):3510-3519. DOI:10.1002/cncr.31527.
- [2] Zhu ZG, Zhao SK, Liu YZ, et al. Risk of secondary rectal cancer and colon cancer after radiotherapy for prostate cancer: a Meta-analysis [J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 2018, 33(9):1149-1158. DOI:10.1007/s00384-018-3114-7.
- [3] 李佩, 鲁祖斌, 严庆波, 等. miR-122 与结直肠癌术后肝转移的关系 [J/OL]. *中华肝脏外科手术学电子杂志*, 2020, 9(4):385-388. DOI:10.3877/cma.j.issn.2095-3232.2020.04.020.
- [4] 彭浩, 何磊, 陶应田, 等. 结直肠癌术后远处转移危险因素分析 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2018, 22(7):758-760. DOI:10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.07.024.
- [5] 崔伟丽, 褚志予, 马红, 等. 肝癌易感性与端粒酶逆转录酶基因多态性的相关性研究 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2018, 21(4):253-256. DOI:10.3969/j.issn.1009-9905.2018.04.001.
- [6] 王萌熙, 于景翠. 端粒重复序列结合因子 1 与人类恶性肿瘤关系研究进展 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(12):1246-1248. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2019.12.028.
- [7] 刘华胜, 时靖, 刘海波, 等. 自体 DC-CIK 细胞联合其它免疫细胞治疗血液系统肿瘤的回顾性研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(3):983-990. DOI:10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2019.03.056.
- [8] 杨静, 朱林敏, 陈兴国. 结直肠癌诊断指标的研究进展 [J]. *检验医学*, 2018, 33(6):572-577. DOI:10.3969/j.issn.1673-8640.2018.06.022.
- [9] 李媛媛, 李宏, 周智辉, 等. Nodal 在宫颈组织标本中的表达及临床意义 [J]. *甘肃科学学报*, 2020, 32(3):46-49. DOI:10.16468/j.cnki.issn 1004-0366.2020.03.009.
- [10] 何俊峰, 张明金, 赵成功, 等. 低、高位肠系膜下动脉结扎治疗直肠癌的手术疗效及术后生命质量比较 [J]. *天津医药*, 2018, 46(4):81-85. DOI:10.11958/20171373.

(下转 455 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.004

结直肠癌专题

血清 miR-190b、IGF-1 在不同临床分期结直肠癌中的表达及意义

周珩, 曹会鲲, 胡晓东, 张任梓, 倪秀茹

基金项目: 北京市科学技术委员会科研计划项目(D181100000513008)

作者单位: 101300 北京中医医院顺义医院外科

通信作者: 周珩, E-mail: zhouheng637@163.com

【摘要】目的 分析不同临床分期结直肠癌患者血清微小 RNA-190b(miR-190b)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)表达水平与结直肠癌患者 3 年预后的关系。**方法** 选取 2013 年 5 月—2017 年 8 月于北京中医医院顺义医院外科诊治的结直肠癌患者 82 例作为结直肠癌组;同期选取健康体检者 87 例作为健康对照组。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测血清 miR-190b 水平,酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清 IGF-1 水平;比较 2 组血清 miR-190b、IGF-1 水平,分析血清 miR-190b、IGF-1 水平与结直肠癌患者临床分期等临床病理特征的关系;Kaplan-Meier 法分析不同血清 miR-190b、IGF-1 水平患者生存率;多因素 Logistic 回归分析影响结直肠癌预后的因素。**结果** 结直肠癌组血清 miR-190b 水平低于健康对照组,IGF-1 水平高于健康对照组($t/P=13.480/0.000$ 、 $7.717/0.000$);血清 miR-190b、IGF-1 表达与性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小无关($P>0.05$),与结直肠癌组织分化程度、淋巴结转移、T 分期、N 分期、M 分期、AJCC 分期有关(miR-190b: $\chi^2/P=5.125/0.024$ 、 $6.136/0.013$ 、 $7.235/0.007$ 、 $4.904/0.027$ 、 $12.863/0.000$ 、 $12.676/0.000$;IGF-1: $\chi^2/P=6.455/0.011$ 、 $7.546/0.006$ 、 $8.275/0.004$ 、 $6.017/0.014$ 、 $8.721/0.003$ 、 $8.531/0.003$)。3 年生存率比较,miR-190b 低表达患者为 36.59%(15/41),低于 miR-190b 高表达患者的 68.29%(28/41);IGF-1 高表达患者为 38.09%(16/42),低于 IGF-1 低表达患者的 67.50%(27/40),差异均有统计学意义($P<0.01$)。血清 miR-190b 低表达、IGF-1 高表达、AJCC 分期高是影响结直肠癌预后的独立危险因素[OR(95%CI)=1.919(1.217~3.025)、2.059(1.541~2.752)、1.859(1.362~2.537)]。**结论** 结直肠癌患者血清 miR-190b 低表达、IGF-1 高表达与临床分期等临床病理特征密切相关,且是影响结直肠癌预后的独立危险因素,可对结直肠癌的病情评价及治疗提供一定理论依据。

【关键词】 结直肠癌;临床分期;微小 RNA-190b;胰岛素样生长因子-1;预后**【中图分类号】** R735.3⁺5;R735.3⁺7**【文献标识码】** A

The expression and significance of serum miR-190b and IGF1 in different clinical stages of colorectal cancer Zhou Heng, Cao Huikun, Hu Xiaodong, Zhang Renzi, Ni Xiuru. Department of Surgery, Shunyi Hospital of Beijing Traditional Chinese Medicine Hospital, Beijing 101300, China

Corresponding author: Zhou Heng, E-mail: zhouheng637@163.com

Funding program: Scientific Research Projects of Beijing Municipal Commission of Science and Technology (D181100000513008)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between the expression levels of serum microRNA190b(miR-190b) and insulin-like growth factor 1(IGF1) and the 3-year prognosis of colorectal cancer patients with different clinical stages.**Methods** Eighty-two patients with colorectal cancer who were diagnosed and treated at the Shunyi Hospital of Beijing Traditional Chinese Medicine Hospital from May 2013 to August 2017 were selected as the colorectal cancer group; 87 healthy patients were selected as the healthy control group during the same period. Real-time fluorescent quantitative PCR(qRT-PCR) method was used to detect serum miR-190b level, and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) method was used to detect serum IGF1 level; serum miR-190b and IGF1 levels were compared between the two groups, and serum miR-190b and IGF1 levels were analyzed with clinical staging of patients with colorectal cancer. The relationship between clinical and pathological characteristics; Kaplan-Meier method to analyze the survival rate of patients with different serum miR-190b and IGF1 levels; multivariate Logistic regression analysis of factors affecting the prognosis of colorectal cancer.**Results** The level of serum miR-190b in the colorectal cancer group was lower than that of the healthy control group, and the level

of IGF1 was higher than that of the healthy control group ($t/P=13.480/0.000, 7.717/0.000$); serum miR-190b and IGF1 expression had nothing to do with gender, age, tumor location, tumor size ($P>0.05$), related to colorectal cancer tissue differentiation, lymph node metastasis, T staging, N staging, M staging, AJCC staging (miR-190b: $\chi^2/P=5.125/0.024, 6.136/0.013, 7.235/0.007, 4.904/0.027, 12.863/0.000, 12.676/0.000$; IGF1: $\chi^2/P=6.455/0.011, 7.546/0.006, 8.275/0.004, 6.017/0.014, 8.721/0.003, 8.531/0.003$). The 3-year survival rate for patients with low miR-190b expression was 36.59% (15/41), which was lower than 68.29% (28/41) for patients with high miR-190b expression, and 38.09% (16/42) for patients with high IGF1 expression, which was lower than that for low IGF1 expression. 67.50% (27/40) of patients, the difference was statistically significant ($P<0.01$). Low serum miR-190b expression, high IGF1 expression, and high AJCC stage are independent risk factors affecting the prognosis of colorectal cancer [$OR(95\% CI)=1.919 (1.217-3.025), 2.059 (1.541-2.752), 1.859 (1.362-2.537)$]. **Conclusion** The low expression of serum miR-190b and the high expression of IGF1 in patients with colorectal cancer are closely related to clinical stage and other clinicopathological characteristics, and are independent risk factors affecting the prognosis of colorectal cancer, which can provide a certain theoretical basis for the evaluation and treatment of colorectal cancer.

[Key words] Colorectal cancer; Clinical stage; microRNA 190b; Insulin-like growth factor 1; Prognosis

结直肠癌是我国常见的恶性肿瘤之一,随着人们生活水平提高、膳食结构改变及人口老龄化的加剧,结直肠癌的发病率和病死率均呈逐年上升的趋势^[1-2]。由于其发病机制尚不十分明确,导致该病早期诊疗存在困难^[3-4]。因此,寻找结直肠癌病情相关诊断指标,以提高其综合治疗效果具有重要的社会意义。微小 RNA-190b (miR-190b) 作为一条在高等动物中高度保守的 miRNA,广泛分布于生物体内,有研究表明,miR-190b 能在结直肠癌中起抑癌基因的作用^[5]。胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 分布于人体各组织,有合成代谢及促进有丝分裂的作用,同时在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用^[6]。但目前关于血清 IGF-1 表达水平与结直肠癌相关性的研究较少,因此,本研究分析结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 水平与临床分期等临床病理特征的关系,以期对疾病的病情评价、治疗及预后改善提供一定参考依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2013 年 5 月—2017 年 8 月于北京中医医院顺义医院外科诊治的结直肠癌患者 82 例作为结直肠癌组,其中男 47 例,女 35 例,年龄 41~82 (61.03±12.26) 岁;肿瘤部位:结肠 36 例,直肠 46 例;肿瘤直径 <5.0 cm 48 例,≥5.0 cm 34 例;组织分化程度:高/中分化 50 例,低分化 32 例;有淋巴结转移 33 例,无淋巴结转移 49 例;T 分期: T1~2 期 34 例, T3~4 期 48 例; N 分期: N0 期 44 例, N1~2 期 38 例; M 分期: M0 期 48 例, M1 期 34 例; AJCC 分期: I~II 期 46 例, III~IV 期 36 例。同期于医院健康体检者 87 例作为健康对照组,男 46 例,女 41 例,年龄 40~83 (60.84±12.37) 岁。2 组性别、年龄比较差异无统计学

意义 ($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,研究对象均为自愿参加并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①经临床病理学检查确诊为结直肠癌者^[7];②临床资料齐全者;③肿瘤远端距离肛缘≤10 cm 者。(2) 排除标准:①有细胞分子靶向治疗史者;②哺乳期、妊娠期妇女;③伴有炎症肠病、家族性息肉病等结肠病变者;④伴有其他严重心、肝、肾等器质性病变者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-190b 表达:健康体检者当天及结直肠癌患者手术第 2 天清晨空腹采集肘静脉血 5 ml,离心 10 min 后收集血清,置于 -80℃ 保存待测。采用 RNA 提取试剂盒(上海恒斐生物科技有限公司生产)提取血清总 RNA,反转录试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司生产)将 RNA 反转录为 cDNA,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。采用 qRT-PCR 仪(美国 ABI 公司,型号 ABI7500)对 miR-190b 及其内参 U6 进行扩增,引物序列见表 1,引物由上海生工生物工程有限公司合成。qRT-PCR 反应体系共 20 μl: cDNA (50 ng/μl) 2 μl, miScript SYBR® Green Mix 10 μl, 正、反引物 (10 μmol/L) 各 0.8 μl, ddH₂O 6.4 μl。反应条件: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40 个循环。每份样品均设 3 个重复孔,采用 2^{-ΔΔCT} 法计算血清 miR-190b 相对表达量。

1.3.2 血清 IGF-1 水平检测:采用 ELISA 法检测血清 IGF-1 水平,操作步骤严格按照试剂盒(上海晶抗生物工程有限公司生产)说明书进行。

1.3.3 随访:采用电话或门诊方式随访 3 年,术后第 1 年每月随访 1 次,术后第 2 年每 3 个月随访 1 次,2 年后每 6 个月随访 1 次。其生存期从手术之日起计

算,随访截至 2020 年 8 月。患者无失访。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法分析结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 表达与患者生存率的关系,多因素 Logistic 回归分析影响结直肠癌预后的因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 miR-190b、IGF-1 水平比较 结直肠癌组血清 miR-190b 水平低于健康对照组,IGF-1 水平高于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 2 2 组受试者血清 miR-190b、IGF-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	例数	miR-190b	IGF-1 (ng/ml)
健康对照组	87	1.00 ± 0.23	139.26 ± 38.31
结直肠癌组	82	0.57 ± 0.18	186.57 ± 41.39
t 值		13.480	7.717
P 值		0.000	0.000

2.2 不同临床病理特征患者血清 miR-190b、IGF-1 水平比较 以结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 水平

平均值(0.57、186.57 ng/ml)为界,miR-190b > 0.57 患者 41 例为高表达,miR-190b ≤ 0.57 患者 41 例为低表达;IGF-1 > 186.57 ng/ml 患者 40 例为高表达,≤ 186.57 ng/ml 患者 42 例为低表达。血清 miR-190b、IGF-1 表达水平在不同性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小患者中比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而在组织分化程度、淋巴结转移中比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.3 不同临床分期结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 水平比较 血清 miR-190b、IGF-1 水平在结直肠癌患者不同临床分期(T 分期、N 分期、M 分期、AJCC 分期)中比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

2.4 结直肠癌患者生存分析 随访 3 年,82 例结直肠癌患者存活 43 例,死亡 39 例。miR-190b 低表达患者 3 年内生存率为 36.59% (15/41),低于 miR-190b 高表达患者的 68.29% (28/41),差异有统计学意义(Log-rank = 7.600, $P = 0.006$);IGF-1 高表达患者 3 年内生存率为 38.09% (16/42),低于 IGF-1 低表达患者的 67.50% (27/40),差异有统计学意义(Log-rank = 9.061, $P = 0.003$),见图 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	正向引物	反向引物
miR-190b	5'-CGGTATCATTTGGCAGTGTCTCGT-3'	5'-GTGCAGGCTCCGAGGTTGA-3'
U6	5'-GCTTCGGCAGACATATACTAAAT-3'	5'-CGCTTCACGAATTGCGTGCAT-3'

表 3 不同临床病理特征结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 水平比较 [例(%)]

项目	例数	miR-190b 低表达 ($n = 41$)	miR-190b 高表达 ($n = 41$)	χ^2 值	P 值	IGF-1 低表达 ($n = 40$)	IGF-1 高表达 ($n = 42$)	χ^2 值	P 值
性别				0.449	0.503			0.171	0.679
女	35	16(45.71)	19(54.29)			18(51.43)	17(48.57)		
男	47	25(53.19)	22(46.81)			22(46.81)	25(53.19)		
年龄				1.222	0.269			0.205	0.650
≥60 岁	43	24(55.81)	19(44.19)			22(51.16)	21(48.84)		
<60 岁	39	17(43.59)	22(56.41)			18(46.15)	21(53.85)		
肿瘤部位				0.198	0.656			2.513	0.113
结肠	36	17(47.22)	19(52.78)			14(38.89)	22(61.11)		
直肠	46	24(52.17)	22(47.83)			26(56.52)	20(43.48)		
肿瘤大小				0.201	0.654			0.069	0.793
<5.0 cm	48	23(47.92)	25(52.08)			24(50.00)	24(50.00)		
≥5.0 cm	34	18(52.94)	16(47.06)			16(47.06)	18(52.94)		
组织分化程度				5.125	0.024			6.455	0.011
高/中分化	50	20(40.00)	30(60.00)			30(60.00)	20(40.00)		
低分化	32	21(65.63)	11(34.37)			10(31.25)	22(68.75)		
淋巴结转移				6.136	0.013			7.546	0.006
无	49	19(38.78)	30(61.22)			30(61.22)	19(38.78)		
有	33	22(66.67)	11(33.33)			10(30.30)	23(69.70)		

2.5 影响结直肠癌预后的多因素 Logistic 回归分析

排除性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小等混杂因素,以血清 miR-190b、血清 IGF-1、组织分化程度、淋巴结转移、T 分期、N 分期、M 分期、AJCC 分期为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,血清 miR-190b 低表达、IGF-1 高表达、AJCC 分期高是影响结直肠癌预后的独立危险因素($P < 0.01$),见表 5。

3 讨论

结直肠癌是目前较为常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率逐年上升,对人类的生命健康和生

量造成了严重的损害^[8-9]。目前通过临床手术及化疗等手段治疗结直肠癌已取得了一定的进展,但其预后仍不十分理想^[10-11]。因此,探寻影响结直肠癌患者预后的因素并对这些因素进行积极干预具有重要的理论和实践意义,且对肿瘤发病机制的研究可能有着重要的指导价值,进而为疾病治疗及预后改善提供可靠的依据。

miR-190b 位于基因 Talin2 的内含子中,在不同物种间较为保守,在多数肿瘤组织中异常表达,且在原发灶肿瘤组织与远端迁移肿瘤组织中表达量差异较

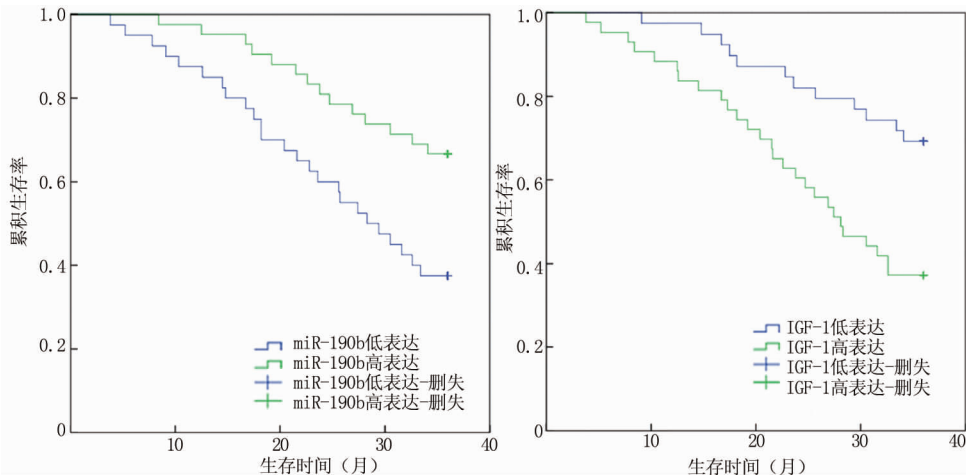


图 1 结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 表达与总生存率的关系

表 4 不同临床分期结直肠癌患者血清 miR-190b、IGF-1 水平比较 [例(%)]

分期	例数	miR-190b 低表达 (n = 41)	miR-190b 高表达 (n = 41)	χ^2 值	P 值	IGF-1 低表达 (n = 40)	IGF-1 高表达 (n = 42)	χ^2 值	P 值
T 分期				7.235	0.007			8.275	0.004
T1 ~ 2	34	11 (32.35)	23 (67.65)			23 (67.65)	11 (32.35)		
T3 ~ 4	48	30 (62.50)	18 (37.50)			17 (35.42)	31 (64.58)		
N 分期				4.904	0.027			6.017	0.014
N0	44	17 (38.64)	27 (61.36)			27 (61.36)	17 (38.64)		
N1 ~ 2	38	24 (63.16)	14 (36.84)			13 (34.21)	25 (65.79)		
M 分期				12.863	0.000			8.721	0.003
M0	48	16 (33.33)	32 (66.67)			30 (62.50)	18 (37.50)		
M1	34	25 (73.53)	9 (26.47)			10 (29.41)	24 (70.59)		
AJCC 分期				12.676	0.000			8.531	0.003
I ~ II	46	15 (32.61)	31 (67.39)			29 (63.04)	17 (36.96)		
III ~ IV	36	26 (72.22)	10 (27.78)			11 (30.56)	25 (69.44)		

表 5 影响结直肠癌预后的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
血清 miR-190b 低表达	0.652	0.426	2.342	0.004	1.919	1.217 ~ 3.025
血清 IGF-1 高表达	0.722	0.491	2.162	0.009	2.059	1.541 ~ 2.752
AJCC 分期	0.620	0.394	2.476	0.002	1.859	1.362 ~ 2.537
组织分化程度高	0.012	0.315	1.993	0.970	1.012	0.545 ~ 1.876
无淋巴结转移	0.102	0.357	0.082	0.775	0.903	0.449 ~ 1.817

大^[12-14]。相关研究表明,miR-190b 可通过负向调节 B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)抑制骨肉瘤细胞与胃癌细胞的增殖,进而控制肿瘤患者病情发展^[15-16]。本研究结果显示,结直肠癌患者血清 miR-190b 水平低于健康人群,与王胜等^[17]研究结果中 miR-190b 表达趋势一致。miR-190b 低表达患者 3 年内生存率低于 miR-190b 高表达患者,且 miR-190b 低表达是影响结直肠癌预后的独立危险因素,提示血清 miR-190b 低表达与结直肠癌的发生、发展及预后有密切联系。推测其可能机制为 miR-190b 可在一定程度上起到抑癌基因的作用,而血清 miR-190b 表达水平降低会导致癌细胞增殖,进而使肿瘤表面的血管形成增加,最终加快了结直肠癌发展速度,加重患者病情,增加不良预后。但有学者通过细胞实验研究显示^[18],miR-190b 在结直肠癌细胞系中的表达显著上调,而下调 miR-190b 可减少结直肠癌细胞的增殖及集落形成和侵袭,此结果与本研究结果截然不同,通过分析发现导致此种现象的原因是由于研究内容不同,临床与实验可能还存在一定的差异,或可能由于纳入样本量较少等原因导致,因此还应加大样本量从不同角度进行深入分析。

IGF-1 是一种多肽类蛋白质,可通过与其受体 IGF-1R 特异性结合,进而激活胰岛素受体底物蛋白通路,促进细胞迁移和增生^[19]。IGF-1 可在正常细胞和肿瘤细胞中均发挥强有丝分裂及促进细胞周期运行的作用^[20]。本研究结果中结直肠癌患者血清 IGF-1 水平高于健康人群,与周玲玲等^[21]研究结果基本一致。IGF-1 高表达患者 3 年内生存率低于 IGF-1 低表达患者,且 IGF-1 高表达是影响结直肠癌预后的独立危险因素,提示血清 IGF-1 可能通过高表达影响结直肠癌病情发展及预后不良,推测 IGF-1 表达水平升高后,增加了与其受体 IGF-1R 结合几率,二者结合后经过细胞内有丝分裂加速细胞周期运行,以促进细胞增生及迁移,进而诱发结直肠癌细胞增殖增生,促进肿瘤发生发展,最终造成患者复发、死亡等不良预后。此外,本研究结果还显示,血清 miR-190b、IGF-1 与结直肠癌临床病理特征均有相关性,且 AJCC 分期是影响结直肠癌预后的独立危险因素,提示血清 miR-190b、IGF-1 水平可能与肿瘤的恶性程度有关,对于 miR-190b 低表达、IGF-1 高表达、AJCC 分期为Ⅲ~Ⅳ期等患者,术后应给予针对性治疗及护理,以改善不良预后。

综上所述,血清 miR-190b、IGF-1 表达水平与结直肠癌患者临床分期等临床病理特征密切相关,可能参与了结直肠癌的发生、发展及复发。血清 miR-190b、IGF-1 有望成为干预结直肠癌的潜在生物学靶点,为

进一步阐明结直肠癌的病理机制提供了实验依据,同时为结直肠癌诊断、治疗方案的确立及预后的改善提供了有利的参考。而本研究还存在诸多不足之处,包括纳入样本量较少,未开展基础实验研究,关于其具体的分子机制尚不明确等,还有待进一步更深入分析。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

周珩:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;曾会鲲:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;胡晓东:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;张任梓:进行统计学分析;倪秀茹:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 吴春晓,顾凯,龚杨明,等. 2015 年中国结直肠癌发病和死亡情况分析[J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(4):241-245. DOI:10.19401/j.cnki.1007-3639.2020.04.001.
- [2] 许俊峰,盛剑秋. 结直肠癌筛查及其进展[J]. 胃肠病学, 2020, 25(1):1-6. DOI:10.3969/j.issn.1008-7125.2020.01.001.
- [3] Weithorn D, Arientyl V, Solsky I, et al. Diagnosis setting and colorectal cancer outcomes: The impact of cancer diagnosis in the emergency department[J]. J Surg Res, 2020, 255(1):164-171. DOI: 10.1016/j.jss.2020.05.005.
- [4] Mocciaro F, Scimeca D, Conte E, et al. Colorectal cancer screening and diagnosis: from desirable excellence to the dark side of clinical reality[J]. Dig Liver Dis, 2020, 52(9):1063-1064. DOI: 10.1016/j.dld.2020.05.008.
- [5] 宋默,刘继攀,席姗姗,等. miR-190 的表达下调有利于抑制结直肠癌[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(11):4432-4437. DOI:10.13417/j.gab.036.004432.
- [6] Hu J, Liu X, Chi J, et al. Expressions of IGF-1, ERK, GLUT4, IRS-1 in metabolic syndrome complicated with colorectal cancer and their associations with the clinical characteristics of CRC[J]. Cancer Biomark, 2018, 24(4):883-891. DOI: 10.3233/CBM-170942.
- [7] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局,中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)[J]. 中华外科杂志, 2018, 56(4):241-258. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.04.001.
- [8] 徐辉,张汝一,姬清华,等. 结直肠癌远处转移患者治疗前 LMR 值与化疗疗效和死亡风险的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(6):76-80. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2018.06.014.
- [9] Gibbs DC, Bostick RM, McCullough ML, et al. Association of pre-diagnostic vitamin D status with mortality among colorectal cancer patients differs by common, inherited vitamin D-binding protein isoforms[J]. Int J Cancer, 2020, 147(10):2725-2734. DOI: 10.1002/ijc.33043.
- [10] Xiong YF, You WX, Hou M, et al. Nomogram integrating genomics with clinicopathological features improves prognosis prediction for colorectal cancer[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(9):1373-1384. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0063.
- [11] Mohammadpour S, Goodarzi HR, Jafarina M, et al. EMAST status

- as a beneficial predictor of fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for Stage II/III colorectal cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235 (4):3604-3611. DOI:10.1002/jcp.29249.
- [12] Xie B, Deng Z, Pan Y, et al. Post-transcriptional regulation DPC4 gene by miR-190 in colorectal cancer cells[J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(4):838-843. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_577_17.
- [13] An NN, Shawn J, Peng JP, et al. Up-regulation of miR-190b promoted growth, invasion, migration and inhibited apoptosis of Wilms' tumor cells by repressing the PTEN expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22 (4):961-969. DOI: 10.26355/eurrev_201802_14377.
- [14] Dai W, He J, Zheng L, et al. miR-148b-3p, miR-190b, and miR-429 regulate cell progression and act as potential biomarkers for breast cancer[J]. *J Breast Cancer*, 2019,22(2):219-236. DOI: 10.4048/jbc.2019.22.e19.
- [15] Kang M, Xia P, Hou T, et al. MicroRNA-190b inhibits tumor cell proliferation and induces apoptosis by regulating Bcl-2 in U2OS osteosarcoma cells[J]. *Pharmazie*, 2017, 72(5):279-282. DOI: 10.1691/ph.2017.6921.
- [16] 肖慧敏,柳青峰,臧辉,等.miR-17-92 通过靶向抑制 QKI 促进结直肠癌转移[J].*疑难病杂志*,2019,18(4):398-402.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.04.017.
- [17] Wang C, Qiao C. MicroRNA-190b confers radio-sensitivity through negative regulation of Bcl-2 in gastric cancer cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2017, 39(4):485-490. DOI: 10.1007/s10529-016-2273-2.
- [18] 王胜,吴英光,何孟胜.血清 miR-200a、miR-190 联合检测在结直肠癌诊断及预后评估中的应用价值[J].*国际消化病杂志*,2019,39(4):286-290. DOI:10.3969/j.issn.1673-534X.2019.04.011.
- [19] 姚青林,王景杰,李欢,等.中性粒细胞/淋巴细胞比率、C 反应蛋白/白蛋白比率、血小板/淋巴细胞比率与结直肠癌患者预后的关系[J].*疑难病杂志*,2020,19(6):595-598,616.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.06.014.
- [20] Zhao Q, Liu C, Cui Q, et al. miR-190b promotes colorectal cancer progression through targeting forkhead box protein P2 [J]. *Exp Ther Med*, 2020,19(1):79-84. DOI: 10.3892/etm.2019.8175.
- [21] 韩悦,宁莉,宗晓龙,等. IGF-1 与 LP 在结直肠癌患者血清中的表达及临床意义[J].*国际生物医学工程杂志*,2019,42(1):45-49. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4181.2019.01.008.
- [22] Hosseini SA, Zand H, Cheraghpour M. The influence of curcumin on the downregulation of MYC, Insulin and IGF-1 receptors: A possible mechanism underlying the anti-growth and anti-migration in chemoresistant colorectal cancer cells[J]. *Medicina*, 2019, 55(4):90-102. DOI: 10.3390/medicina55040090.
- [23] 周玲玲,鞠乐乐,颜玉. 结直肠癌患者手术前后血清 IGF-1 水平变化及临床价值分析[J].*医学信息*,2019,32(4):121-123. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2019.04.039.

(收稿日期:2020-11-30)

(上接 449 页)

- [11] 孙琼,施伟伟,孟静,等.免疫治疗中发生免疫相关不良事件的 23 例晚期实体瘤患者的临床疗效分析[J].*中华微生物学和免疫学杂志*,2020,40(5):382-386. DOI:10.3760/cma.j.cn12309-20200414-00198.
- [12] Clifford R, Govindarajah N, Bowden D, et al. Acid ceramidase as a potential biomarker for locally advanced rectal cancer; Is apoptosis the mechanism [J]. *European Journal of Surgical Oncology*, 2019, 45(11):2214-2231. DOI:10.1016/j.ejso.2019.09.080.
- [13] Huang CY, Chiang SF, Ke TW, et al. Cytosolic high-mobility group box protein 1 (HMGB1) and/or PD-1 + TILs in the tumor microenvironment may be contributing prognostic biomarkers for patients with locally advanced rectal cancer who have undergone neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 2017, 67(4):551-562. DOI:10.1007/s00262-017-2109-5.
- [14] 吴有军,曹志宇,张庆军,等. DC-CIK 对结直肠癌根治术后肝转移患者疗效和循环肿瘤细胞的影响[J].*中国肿瘤生物治疗杂志*,2018,25(1):89-93. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.016.
- [15] 万德森,张苏展,陈玉泽,等.贝伐珠单抗联合以 5-FU 为基础的双药化疗用于结直肠癌仅肝转移患者新辅助治疗:一项多中心单臂研究[J].*实用肿瘤杂志*,2018,33(1):41-46. DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2018.01.007.
- [16] 刘春军,杨哲.芪归胶囊联合甘露聚糖肽片治疗老年晚期直肠癌肝转移 TACE 术后患者的疗效及对免疫功能的影响[J].*现代肿瘤医学*,2018,26(6):902-907. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2018.06.021.
- [17] 陆畅畅,续力云,吴丽萍. HPV-16E7 负载 DC 激活 CIK 细胞增强宫颈癌细胞杀伤效应的研究[J].*浙江医学*,2018,40(24):2633-2636,2650.DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2018.40.24.2018-1915.
- [18] 刘天池,贾为国,赵荣华,等.结直肠癌免疫治疗的现状、挑战和出路[J].*中国肿瘤生物治疗杂志*,2018,25(10):967-978. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.10.001.
- [19] 张泉,邱思芳,赵逵,等.结直肠癌及腺瘤患者 CD4⁺,CD8⁺ 和 CD28⁺ T 淋巴细胞的亚群变化及临床意义[J].*中国癌症杂志*,2018,28(8):22-28. DOI:10.19401/j.cnki.1007-3639.2018.08.003.
- [20] 孙传孔,黄丽,彭友俭.端粒重复序列结合因子 1 和 2 在口腔黏膜癌组织中的表达及临床意义[J].*转化医学杂志*,2019,8(2):102-104. DOI:10.3969/j.issn.2095-3097.2019.02.009.
- [21] Zhou X, Wei W, Duan X, et al. Effect of TRF1 rs3863242 polymorphism on telomere length in omeoate-exposed workers[J]. *J Environ Sci Health B*, 2020, 55 (6): 525-529. DOI: 10.1080/03601234.2020.1728167.
- [22] Chen X, Dong Y, Guo T, et al. N-terminal modified cyclopeptidic mimetics of ApolloTBM as inhibitors of TRF2 [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 30(21):127401. DOI:10.1016/j.bmcl.2020.127401

(收稿日期:2020-11-10)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.005

论著·临床

持续性心房颤动消融前后左心功能的改变及复发相关因素分析

冯天捷, 翁思贤, 周彬, 董潇男, 于丰源, 王伟, 唐闽

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(61527811)

作者单位: 100037 北京阜外医院心律失常中心

通信作者: 唐闽, E-mail: doctortangmin@hotmail.com

【摘要】目的 分析射频消融手术对于持续性心房颤动(房颤)患者左心功能的影响及复发相关因素。**方法** 选取2016年1月—2017年1月北京阜外医院心律失常中心收住持续性房颤接受射频消融治疗的患者60例,根据术后3个月以上随访结果分为房颤复发组(复发组,19例)和窦律维持组(窦律组,41例)。分别比较2组射频消融手术前后的左心功能指标改变,以及复发的危险因素。**结果** 复发组患者较窦律组患者房颤持续时间明显延长,肺静脉隔离(CPVI)+其他消融比例高于窦律组($t=11.257, \chi^2=2.121, P<0.01$);消融后,窦律组血浆NT-proBNP下降高于复发组($t/P=2.988/0.004$);和复发组相比,窦律组左心房内径缩小,左心室内径减小,LVEF增加,6 min步行试验距离增加更为明显,差异具有统计学意义($t=4.543, 9.214, 8.652, 65.325, P<0.01$);Logistic多因素回归分析显示,房颤持续时间($OR=1.23, 95\% CI 1.056 \sim 1.558, P=0.012$)和术前超声心动图左心房内径大小($OR=2.01, 95\% CI 0.928 \sim 4.347, P=0.023$)是消融术后房颤是否复发的预测因素。**结论** 射频消融治疗持续性房颤后能够减少左心房内径和左心室内径,增加左心室射血分数,增加6 min步行试验距离,改善左心功能。术前左心房内径大、房颤持续时间长是持续性房颤射频消融术后复发的危险因素。

【关键词】 心房颤动;持续性;射频消融;危险因素;复发**【中图分类号】** R541.7+5**【文献标识码】** A

Changes of left ventricular function before and after ablation of persistent atrial fibrillation and analysis of related factors for recurrence Feng Tianjie, Weng Sixian, Zhou Bin, Dong Xiaonan, Yu Fengyuan, Hua Wei, Tang Min. Arrhythmia Center, National Center for Cardiovascular Disease and Fuwai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100037, China

Corresponding author: Min Tang, E-mail: doctortangmin@hotmail.com

Funding program: National Nature Science Foundation of China(2016GZ28)

【Abstract】 Objective To analyze the influence of radiofrequency ablation surgery on left ventricular function in patients with persistent atrial fibrillation (atrial fibrillation) and factors related to recurrence. **Methods** From January 2016 to January 2017, 60 patients with persistent atrial fibrillation who received radiofrequency ablation were admitted to the Arrhythmia Center of Beijing Fuwai Hospital. According to the follow-up results of more than 3 months after operation, they were divided into atrial fibrillation recurrence group (recurrence group, 19 cases) and sinus rhythm maintenance group (sinus rhythm group, 41 cases). The changes of left ventricular function indexes before and after radiofrequency ablation and the risk factors of recurrence were compared between the two groups. **Result** The duration of atrial fibrillation in the recurrence group was significantly longer than that in the sinus rhythm group, and the ratio of pulmonary vein isolation (CPVI) + other ablation was higher than that in the sinus rhythm group ($t=11.257, \chi^2=2.121, P<0.01$); after ablation, plasma in the sinus rhythm group The decrease of NT proBNP was higher than that of the recurrence group ($t/P=2.988/0.004$); compared with the recurrence group, the left atrial diameter decreased, the left ventricular diameter decreased, and the LVEF increased. The 6-minute walk test The increase in distance was more significant, and the difference was statistically significant ($t=4.543, 9.214, 8.652, 65.325, P<0.01$); Logistic multivariate regression analysis showed that the duration of atrial fibrillation ($OR=1.23, 95\% CI 1.056 \sim 1.558, P=0.012$) and the left atrium diameter of preoperative echocardiogram ($OR=2.01, 95\% CI 0.928 \sim 4.347, P=0.023$) are the predictors of atrial fibrillation recurrence after ablation. **Conclusion** Radiofrequency ablation for persistent atrial fibrillation can reduce the left atrial diameter and left ventricular diameter, increase the left ventricular ejection fraction, increase the 6-minute walk test distance, and improve left ventricular func-

tion. The large inner diameter of the left atrium and long duration of atrial fibrillation before surgery are risk factors for recurrence after radiofrequency ablation of persistent atrial fibrillation.

【Key words】 Atrial fibrillation,persistent; Radiofrequency ablation; Risk factor; Recurrence

心房颤动(atrial fibrillation, AF)简称房颤,是指规律有序的心房电活动消失,代之以快而无序的颤动波。房颤是临床上常见的心律失常之一,由于心房泵血功能失去了正常的房室顺序传导,增加了血栓栓塞的发生,促进或加重了心力衰竭^[1]。与阵发性房颤比较,不能维持窦性心律的持续性房颤对左心功能的影响更大,同时导致患者活动耐量下降和生活质量减低^[2]。随着研究证实消融肺静脉的异位触发灶可以治愈房颤,众多学者做了大量的研究工作和临床实践,导管消融已经成为部分房颤患者的一线治疗^[3-4]。对持续性房颤患者来说,尽管射频消融术后存在一定的复发率,但消融治疗仍能有效地减低房颤负荷,增加左心功能,同时改善生活质量^[5-6]。本研究旨在分析持续性房颤患者消融术后左心结构和功能的改善,以及持续性房颤消融术后影响复发的相关因素,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 1 月—2017 年 1 月北京阜外医院心律失常中心收住持续性房颤接受射频消融治疗的患者 60 例,男 53 例(88.3%),女 7 例(11.7%),年龄 46~79(68.27±8.03)岁;BMI(28.15±2.53) kg/m²;房颤病程 2~61(25.87±14.54)个月;随访时间 8~16(11.45±1.94)个月;基础疾病包括冠心病 16 例(26.7%),高血压 52 例(86.7%),糖尿病 15 例(25.0%);合并脑血管疾病 5 例(8.3%);CHA₂DS 评分 1~5(3.28±1.91)分;应用 I 类抗心律失常药物 39 例(65.0%),II 类抗心律失常药物 57 例(95.0%),III 类抗心律失常药物 21 例(35.0%),15 例(25.0%)使用抗心律失常药物后能够恢复窦律但不能维持;所有患者均无家族遗传性疾病。持续性房颤定义为心房颤动持续>7 d,需要药物或电击才能转复为窦性心律患者^[2]。由单一术者完成射频消融手术,所有患者均为药物难治性房颤,并且为第一次接受射频消融治疗。根据随访中动态心电图是否存在房颤发作,分为房颤复发组(复发组)19 例和窦律维持组(窦律组)41 例。

1.2 射频消融手术方法 患者术前均接受规范的抗凝治疗,食管超声和左心房 CT 检查确认无心房血栓。经左股静脉穿刺,由 7F 静脉鞘管放置冠状静脉窦电极(Triguy Electrophysiology Catheter, DECA, 十级,惠泰医疗器械股份有限公司),2 次穿刺右股静脉放置房间

隔穿刺鞘(Swartz 鞘,8.5F, L1, 新诺普医疗技术有限公司),2 次穿刺房间隔后分别放置十级环肺静脉标测电极(LASSO 电极 D/F 弯, Biosense Webster Johnson and Johnson company),盐水灌注消融导管(ST 电极 D/F 弯, Biosense Webster Johnson and Johnson company),应用强生公司(Biosense Webster Johnson and Johnson company)Carto 三维电解剖标测系统图像指导,消融部位为肺静脉前庭和左心房交界处,功率 35 W,温度 43℃,生理盐水冲洗流速 15~20 ml,使用环肺静脉左心房线性隔离术实现肺静脉隔离(circumferential pulmonary vein isolation, CPVI),消融终点为肺静脉电位消失,或肺静脉电位传入传出阻滞;如肺静脉隔离仍不能终止房颤,进行 CPVI+其他消融:增加左心房顶部线性消融及二尖瓣峡部消融,仍未终止房颤,根据标测进行其他部位如上腔静脉、左心房嵴部等进行消融;如患者术前合并心房扑动(房扑)或消融术中出现新的房扑,根据情况加行三尖瓣峡部消融及相应的房扑线性消融。患者均在术后随访 6 个月内服用抗心律失常药物,根据房颤复发情况调整抗心律失常药物、改善心功能药物及抗凝药物。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 血浆 BNP、NT-proBNP 检测:入院时及消融后空腹抽取患者静脉血 5 ml,抗凝处理后应用 B 型心钠素测定试剂盒(西门子医学诊断产品有限公司)测定 B 型利钠肽(BNP),应用 B 型氨基端利钠肽原测定试剂盒(西门子医学诊断产品有限公司)测定 N 末端前体脑利钠肽(NT-proBNP)。

1.3.2 心功能相关指标检测:消融前后心脏超声检查左心房内径、左心室舒张末期内径、左心室射血分数、二尖瓣血流情况。所有入选患者中,2 例患者除持续性房颤外,存在房扑的心电图记录。记录患者 6 min 步行试验距离。

1.3.3 随访情况:分别于术后 3、6、12 个月进行随访。随访中患者均接受动态心电图检查了解房颤复发情况。房颤复发的诊断标准为^[7]:术后 3 个月以上,动态心电图记录到超过 30 s 的心房颤动、心房扑动、房性心动过速等房性心律失常。

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±标准差表示,组内比较采用配对样本 *t* 检验,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;将单因素分析中 $P<0.05$ 变量纳入多变量回归模型,采用 Logistic 逐步回归分析评估术前因素对房颤复发的预测价值。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组基线资料比较 与窦律组患者比较,复发组患者房颤持续时间明显延长($P<0.01$),2 组患者接受房颤射频消融的术式也有所差别,窦律组患者以单纯 CPVI 为主,复发组患者多在 CPVI 的基础上进一步行线性消融($P<0.01$),见表 1。

2.2 2 组患者消融前后血浆 BNP、NT-proBNP 比较 消融前,复发组患者血浆 BNP、NT-proBNP 明显高于窦律组;消融后,2 组患者血浆 BNP、NT-proBNP 均明显下降,窦律组血浆 NT-proBNP 低于复发组,差异具有统计学意义($P<0.01$),见表 2。

2.3 2 组患者消融前后心功能相关指标比较 消融后 2 组患者左心房内径、左心室内径较术前均有缩小,LVEF、6 min 步行试验距离较术前均有增加,差异具有统计学意义($P<0.01$);与复发组比较,窦律组左心房内径、左心室内径均减小,LVEF、6 min 步行试验距离均增加,差异具有统计学意义($P<0.01$),见表 3。

表 2 2 组患者消融前后血浆 BNP、NT-proBNP 比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组 别	时间	BNP	NT-proBNP
窦律组 ($n=41$)	消融前	374.24 $\pm$ 212.22	545.62 $\pm$ 266.62
	消融后	218.93 $\pm$ 168.53	323.60 $\pm$ 188.20
复发组 ($n=19$)	消融前	472.74 $\pm$ 287.44	859.53 $\pm$ 584.83
	消融后	280.32 $\pm$ 145.81	483.84 $\pm$ 222.97
t/P 窦律组内值		3.107/0.003	8.006/0.001
t/P 复发组内值		4.711/0.001	4.147/0.001
t/P 治疗后组间值		1.610/0.115	2.988/0.004

表 1 2 组患者基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	窦律组($n=41$)	复发组($n=19$)	t/χ^2 值	P 值
男性[例(%)]	35(85.4)	18(94.7)	1.209	0.414
年龄(岁)	68.46 $\pm$ 7.57	67.84 $\pm$ 9.15	0.819	0.369
BMI(kg/m ²)	27.80 $\pm$ 2.39	28.74 $\pm$ 2.71	1.098	0.299
基础疾病[例(%)]				
高血压	34(82.9)	18(94.7)	1.022	0.416
冠心病	12(29.3)	4(21.1)	0.704	0.745
糖尿病	11(26.8)	4(21.1)	1.081	0.755
TIA/卒中[例(%)]	2(4.9)	3(15.8)	0.724	0.537
CHA2DS 评分(分)	1.34 $\pm$ 0.53	1.37 $\pm$ 0.68	0.862	0.357
房颤持续时间(月)	20.1 $\pm$ 9.10	38.32 $\pm$ 16.43	11.257	0.001
随访时间(月)	11.46 $\pm$ 1.95	11.42 $\pm$ 1.92	0.350	0.272
消融方式[例(%)]			2.121	0.003
CPVI	28(68.3)	5(26.3)		
CPVI + 其他消融	13(31.7)	14(73.7)		
应用药物[例(%)]				
AAD	17(41.5)	9(47.4)	0.405	0.781
ACEI/ARB	26(63.4)	11(57.9)	0.981	0.778
β 受体阻滞剂	26(63.4)	13(68.4)	0.792	0.548

注:BMI. 体质量指数;TIA. 脑卒中;LVEF. 左心室射血分数;CPVI. 环肺静脉隔离;AAD. 抗心律失常药物;ACEI/ARB. 血管紧张素转化酶抑制剂/血管紧张素受体拮抗剂

表 3 2 组患者消融前后心功能相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	时间	左心房内径(mm)	左心室内径(mm)	LVEF(%)	6 min 步行试验(m)
窦律组 ($n=41$)	消融前	39.83 $\pm$ 2.70	47.37 $\pm$ 2.93	58.27 $\pm$ 4.44	385.37 $\pm$ 31.45
	消融后	36.37 $\pm$ 2.08	43.41 $\pm$ 1.91	60.80 $\pm$ 3.09	497.80 $\pm$ 25.32
复发组 ($n=19$)	消融前	43.53 $\pm$ 2.46	46.79 $\pm$ 2.65	59.32 $\pm$ 3.47	395.53 $\pm$ 23.17
	消融后	41.89 $\pm$ 1.99	44.23 $\pm$ 1.85	60.68 $\pm$ 3.07	421.84 $\pm$ 45.98
t/P 窦律组内值		3.837/0.001	4.462/0.001	4.643/0.001	46.468/0.001
t/P 复发组内值		5.746/0.001	3.624/0.001	3.428/0.001	35.332/0.001
t/P 治疗后组间值		4.543/0.001	9.214/0.001	8.652/0.001	65.325/0.001

2.4 房颤复发单因素分析 单因素回归分析显示,房颤持续时间长,术前左心房内径增大,6 min 步行试验距离短,血浆 BNP、NTproBNP 水平高,更为复杂的消融方式(CPVI + 其他消融线)与房颤复发相关,见表 4。

表 4 房颤复发的单因素分析

变 量	r 值	P 值
男性	-0.437	0.628
年龄	0.638	0.799
BMI	0.598	0.790
房颤持续时间	0.957	0.001
术前左心房内径	0.382	0.012
术前左心室内径	0.788	0.872
术前 LVEF	0.379	0.543
高血压	-0.814	0.570
糖尿病	-0.439	0.438
脑卒中	-0.502	0.711
6 min 步行试验	-0.614	0.023
CPVI	0.241	0.066
CPVI + 其他消融	0.621	0.031
BNP	0.383	0.045
NT-proBNP	0.418	0.022

2.5 房颤复发多因素 Logistic 回归分析 以是否复发为因变量,以房颤复发单因素分析中 $P < 0.05$ 指标为自变量,均进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,房颤持续时间($OR = 1.23, 95\% CI 1.056 \sim 1.558, P = 0.012$)和术前超声心动图左心房内径大小($OR = 2.01, 95\% CI 0.928 \sim 4.347, P = 0.023$)是消融术后房颤是否复发的预测因素,见表 5。

表 5 房颤复发多因素 Logistic 回归分析

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值(95% CI)
房颤持续时间	0.173	0.027	6.742	0.012	1.23(1.056 ~ 1.558)
术前左心房内径	0.783	0.302	4.231	0.023	2.01(0.928 ~ 4.347)
6 min 步行试验	0.452	0.042	2.352	0.600	1.01(0.963 ~ 1.068)
CPVI + 其他消融	0.523	0.243	3.425	0.701	1.10(0.742 ~ 1.311)
血浆 BNP	0.612	0.435	4.234	0.688	0.99(0.994 ~ 1.004)
血浆 NT-proBNP	0.902	0.621	2.341	0.618	1.01(0.996 ~ 1.001)

3 讨 论

心房颤动(AF)是临床上最常见的心律失常之一。心悸、胸闷和运动耐量下降是常见的临床症状,转复窦律是房颤心律控制中重要的一环,也是有效控制疾病进程的有效治疗方式之一。研究证实,射频消融治疗对于房颤复律的有效性显著高于药物治疗,且不良反应发生率低于药物治疗^[8]。相比阵发性房颤,持续性房颤的消融治疗对于转复和维持窦律,改善心功能,提

高生活质量理应有更高的获益。但持续性房颤消融后复发仍然影响了部分手术效果。因此了解持续性房颤消融前后左心功能的情况,以及探讨持续性房颤术后复发的危险因素对临床工作有一定的指导意义。

本研究证实,房颤持续时间长是房颤复发的独立危险因素,房颤持续时间越长,解剖发生重构越明显,从超微结构的心房细胞增生纤维化,到宏观表现的左心房增大,同时伴随肾素—血管紧张素—醛固酮系统的激活^[9],高水平的血管紧张素 II 和醛固酮诱发心肌纤维化,左心室射血分数降低;持续性房颤与左心房内径互相影响,而左心房大小在其中起到了中介连接的作用,增大的心房和纤维化的心房肌促使心脏电生理传导进一步紊乱,有利于房颤的发展和持续^[10-12]。从而形成恶性循环。

本研究中,多因素分析证实左心房增大是持续性房颤消融术复发的危险因素。解剖学改变是在结构改变的基础上发生了功能性的病理变化,而这一变化亦与神经内分泌系统相关,其中 NT-proBNP 作为治疗和预后评估的有效生物学指标在指导心功能程度上具有相关意义。本研究显示,NT-proBNP 在窦律组和复发组患者中存在明显的重叠现象,离散程度较大,可能与 NT-proBNP 在反映心脏容量负荷的同时还受到其他非心源性因素如 BMI、性别、年龄等的影响有关。因此尽管消融术后窦律维持组患者 NT-proBNP 的改变较复发组患者有更大的差异,但多个国家的慢性心力衰竭指南中并未将具体的 NT-proBNP 节点作为治疗决策并作出推荐^[13-14]。

房颤导致心房电组织重构,会引起基质改变;持续性房颤患者,基质的改变更加突出,并加重了房颤的维持。CPVI 合并其他消融径线如左心房顶部线、二尖瓣峡部线,以及三尖瓣峡部消融等属于基质改良的术式,对关键的传导峡部施行双向阻滞,并且避免了术后大折返性房速的发生。研究证实,CPVI 联合其他消融径线增加了消融手术的成功率^[15]。既往研究证实,随着消融径线的增加,会加重左心房瘢痕,损伤更多心肌细胞,降低心房节段及心脏整体收缩功能^[16-17],本研究术后 1 年随访中,未见左心功能明显减低。对于持续性房颤患者,联合其他消融径线的 CPVI 术式安全有效,并发症并不多于单纯 CPVI 患者且易于控制,临床综合疗效更好。

本研究中,与术前比较,房颤消融术后所有患者 6 min 步行试验都有所改善,与房颤复发组相比,窦律组改善更加明显。和 NYHA 分级相比,6 min 步行试验降低了医生和患者主观评价,通过量化的次极量运动指标

客观评价患者运动能力及心脏功能状态^[18]。NT-proBNP、LVEF 与 6 min 步行试验最为显著的差别在于,前两者标志着患者在静息状态下的心脏功能水平,未能反映心脏功能的代偿程度^[19]。房颤消融对心功能的改善,即使不能表现为左心室射血分数有意义的升高,但可以通过 6 min 步行试验距离的增加而证实;同时房颤患者消融转复窦律生活质量得到了明显提高。

综上,射频消融对于持续性心房颤动治疗是有效的,能够减少患者消融术前增加的左心房内径,在不同程度上改善左心功能,增加 6 min 步行距离。影响持续性房颤射频消融手术的复发因素包括术前超声心动图左心房内径大小及房颤持续时间。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

冯天捷:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;翁思贤:论文审核;周彬:资料收集整理;董潇男:资料收集整理,分析研究数据;于丰源:研究方案修正,数据分析,统计学分析;华伟:病例资料提供;唐闽:论文修改,课题支持

参考文献

- [1] Hindricks G, Potpara T, Dagres N, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) [J]. Eur Heart J, 2021, 42(5):373-498. DOI:10.1093/eurheartj/ehaa612.
- [2] Camm AJ, Simantirakis E, Goette A, et al. Atrial high-rate episodes and stroke prevention [J]. Europace, 2017, 19(2): 169-179. DOI: 10.1093/europace/euw279.
- [3] Cakins H, Hindricks G, Cappato R, et al. 2017 HRS/EHRA/ECAS/APHRS/SOLAECE expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: Executive summary [J]. Europace, 2018, 20(1): 157-208. DOI:10.1093/europace/eux275.
- [4] Gorenek B, Boriani G, Dan GA, et al. European Heart Rhythm Association (EHRA) position paper on arrhythmia management and device therapies in endocrine disorders, endorsed by Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) and Latin American Heart Rhythm Society (LAHRS) [J]. Europace, 2018, 20(6): 895-896. DOI: 10.1093/europace/euy051.
- [5] Chao TF, Liu CJ, Tuan TC, et al. Lifetime risks, projected numbers, and adverse outcomes in asian patients with atrial fibrillation: A report from the Taiwan Nationwide AF Cohort Study [J]. Chest, 2018, 153(2): 453-466. DOI: 10.1016/j.chest.2017.10.001.
- [6] Zhang Z, Letsas K, Zhang N, et al. Linear ablation following pulmonary vein isolation in patients with atrial fibrillation: A meta-analysis [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2016, 39(6):623-630. DOI: 10.1111/pace.12841.

- [7] 黄从新, 张澍, 黄德嘉, 等. 心房颤动: 目前的认识和治疗建议-2018 [J]. 中华心律失常学杂志, 2018, 22(4): 279-346. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2018.04.002.
- [8] Arbelo E, Aktaa S, Bollmann A, et al. Quality indicators for the care and outcomes of adults with atrial fibrillation [J]. Europace, 2021, 23(4): 494-495. DOI: 10.1093/europace/eaab253.
- [9] Ricci C, Gervasi F, Gaeta M, et al. Physical activity volume in relation to risk of atrial fibrillation. A non-linear meta-regression analysis [J]. Eur J Prev Cardiol, 2018, 25(8): 857-866. DOI: 10.1177/2047487318768026.
- [10] 马彦卓, 侯广道, 汝磊生, 等. 消融指数指导下射频消融术治疗心房颤动的效果研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(5): 7-11. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.05.002.
- [11] 梁宇明, 何燕. 转化生长因子 β /Smads 信号通路激活致心房颤动相关机制的研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2019, 27(5): 117-120. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2019.05.024.
- [12] Zhuang J, Wang Y, Tang K. Association between atrial size and atrial fibrillation recurrence after single circumferential pulmonary vein isolation: a systematic review and meta-analysis of observational studies [J]. Europace, 2012, 14(5): 638-645. DOI: 10.1093/europace/eur364.
- [13] 靳雅琼, 鲁静朝, 刘凡, 等. 血清 OPN、Relaxin、Gal-3 水平与心房颤动患者冷冻消融术后复发的相关性 [J]. 疑难病杂志, 2021, 20(1): 26-30, 36. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.01.006.
- [14] 曹文斋, 殷明钢, 叶秋棠, 等. 心房纤维患者血浆 TAMP, BNP 及心房内径变化的意义 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(6): 541-544. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.001.
- [15] Farmakis D, Chrysoshoou C, Giamouzis G, et al. The management of atrial fibrillation in heart failure: An Expert Panel Consensus [J]. Heart Fail Rev, 2020. DOI: 10.1007/s10741-020-09978-0.
- [16] 蒋超, 蓝迪慧, 何柳, 等. 吸烟状态与阵发性心房颤动患者导管消融术后复发的关系 [J]. 中国医药, 2020, 15(11): 1663-1666. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.11.002.
- [17] Miyazaki S, Kusa S, Hachiya H, et al. Fullfilling current criteria of bidirectional mitral isthmus linear block is necessary but not sufficient for prevention of recurrent peri-mitral atrial tachycardia [J]. Int J Cardiol, 2014, 172(3): e494-497. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.01.057.
- [18] Aune D, Sen A, Schlesinger S, et al. Body mass index, abdominal fatness, fat mass and the risk of atrial fibrillation: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies [J]. Eur J Epidemiol, 2017, 32(3): 181-192. DOI: 10.1007/s10654-017-0232-4.
- [19] Malhotra R, Bakken K, D'Elia E, et al. Cardiopulmonary exercise testing in heart failure [J]. JACC Heart Fail, 2016, 4(8): 607-616. DOI: 10.1016/j.jchf.2016.03.022.

(收稿日期: 2020-09-14)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.006

论著·临床

重型颅脑损伤患者血清 PTX3、IMA 水平与术后脑梗死的相关性

孙姝玲, 闫晋琪, 郭利涛, 陈海燕, 樊静群

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2019SF-216)

作者单位: 710061 西安交通大学第一附属医院重症医学科

通信作者: 郭利涛, E-mail: glt02@163.com

【摘要】目的 观察血清正五聚蛋白 3 (PTX3)、缺血修饰白蛋白 (IMA) 在重型颅脑损伤 (SCCI) 患者中的表达及与患者术后脑梗死 (CI) 的关系。**方法** 选取 2018 年 3 月—2020 年 3 月西安交通大学第一附属医院神经外科收治 SCCI 患者 105 例, 根据患者术后 CI 发生情况分为 CI 组 14 例和非 CI 组 91 例。比较 2 组患者基线资料, 血清 PTX3、IMA 水平, 分析二者与 SCCI 患者术后 CI 的关系。**结果** CI 组患者血清神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、PTX3、IMA 水平高于非 CI 组 ($t=6.959, U=5.028, t=8.152, P$ 均 <0.01); Pearson 相关性检验发现, 血清 PTX3 与 IMA 水平呈正相关 ($r=0.276, P=0.013$); 经 Logistic 回归分析显示, 入院时血清 NSE、PTX3、IMA 过表达均是 SCCI 患者术后 CI 发生的危险因素 [$OR(95\% CI)=3.629(1.733 \sim 7.599), 41.318(2.064 \sim 826.973), 7.902(1.096 \sim 56.960)$], P 均 <0.05]; 绘制 ROC 曲线显示, 血清 PTX3、IMA cut-off 值分别为 $7.57 \mu g/L, 43.33 U/ml$ 时, 二者单独及联合预测 SCCI 患者术后 CI 发生的 AUC 分别为 0.876、0.845、0.921。**结论** 血清 PTX3、IMA 过表达可能提示 SCCI 患者术后 CI 发生高风险, 早期监测对预测术后脑梗死风险及指导干预有重要意义。

【关键词】 重型颅脑损伤; 正五聚蛋白 3; 缺血修饰白蛋白; 脑梗死; 相关性

【中图分类号】 R651.1⁺5; R743.33

【文献标识码】 A

Correlation between serum PTX3 and IMA levels in patients with severe head injury and postoperative cerebral infarction Sun Shuling, Yan Jingqi, Guo Litao, Chen Haiyan, Fan Jingqun. Department of Critical Care, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Province, Xi'an 710061, China

Corresponding author: Guo Litao, E-mail: glt02@163.com

Funding program: Key R & D Projects in Shaanxi Province (2019SF216)

【Abstract】Objective To observe the expression of serum pentraxin 3 (PTX3) and ischemia modified albumin (IMA) in patients with severe head injury (SCCI) and their relationship with postoperative cerebral infarction (CI). **Methods** From March 2018 to March 2020, 105 patients with SCCI were admitted to the Department of Neurosurgery of the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University. According to the postoperative CI, the patients were divided into 14 cases in the CI group and 91 cases in the non-CI group. The baseline data, serum PTX3 and IMA levels of the two groups were compared, and the relationship between the two and postoperative CI of SCCI patients was analyzed. **Results** The levels of serum neuron-specific enolase (NSE), PTX3 and IMA in the CI group were higher than those in the non-CI group ($t=6.959, U=5.028, t=8.152, P<0.01$); Pearson correlation test found that serum PTX3 and IMA levels were positively correlated ($r=0.276, P=0.013$); Logistic regression analysis showed that serum NSE, PTX3, and IMA overexpression at admission were all risk factors for postoperative CI in SCCI patients [$OR(95\% CI)=3.629(1.733 \sim 7.599), 41.318(2.064 \sim 826.973), 7.902(1.096 \sim 56.960)$], $P<0.05$]; drawing ROC curve shows that the cutoff values of the two are $7.57 \mu g/L$ and $43.33 U/ml$ respectively. The AUC of PTX3, IMA alone and combined to predict the occurrence of postoperative CI in SCCI patients were 0.876, 0.845, and 0.921, respectively. **Conclusion** The overexpression of serum PTX3 and IMA may indicate a high risk of postoperative CI in SCCI patients. Early monitoring is of great significance in predicting the risk of postoperative cerebral infarction and guiding intervention.

【Key words】 Severe craniocerebral injury; Pentraxin 3; Ischemia modified albumin; Cerebral infarction; Correlation

重型颅脑损伤(severe craniocerebral injury, SCCI)多见于交通事故、高空坠落、暴力冲击等事件,致残率、致死率较高,紧急抢救、纠正休克是 SCCI 的主要治疗原则。手术是目前治疗 SCCI 的重要方式之一,可在一定程度上降低致残率,挽救患者生命^[1]。但经研究发现,因脑部结构较复杂,SCCI 患者术后易发生相关并发症,如脑梗死(CI),不仅加重原有脑损伤程度,还可能引发新的脑损伤,导致不良预后^[2-3]。因此,寻求可早期预测 SCCI 患者术后 CI 的标志物十分必要。正五聚蛋白 3(PTX3)是一种急性期反应蛋白,与动脉粥样硬化存在一定联系,可反映脑组织炎症反应,是近年评估 CI 患者预后的重要指标^[4-5]。缺血修饰白蛋白(IMA)为钴结合蛋白,是急性缺血事件诊断的重要指标,据报道,一旦发生 SCCI,脑组织缺血缺氧形成微小梗死灶,诱导血清白蛋白氧化修饰,表现为 IMA 水平异常升高^[6]。故推测血清 IMA、PTX3 可能参与 SCCI 的发展,与术后 CI 存在一定联系,但目前关于此类研究较少。基于此,现观察血清 PTX3、IMA 在 SCCI 患者中的表达情况,并分析二者与患者术后 CI 的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 3 月—2020 年 3 月西安交通大学第一附属医院神经外科收治 SCCI 患者 105 例,男 59 例,女 46 例,年龄 23~61(40.73±4.16)岁;致伤原因:交通事故 40 例,坠落伤 23 例,暴力伤 27 例,其他 15 例;损伤部位:额叶 53 例,颞叶 25 例,基底节或其他 27 例;受伤至入院时间 0.2~6(2.16±0.65)h;合并症:高血压 21 例,高血糖 17 例,高脂血症 15 例。依据患者术后是否并发 CI 分为 CI 组 14 例,非 CI 组 91 例,见表 1。本研究经过医学伦理委员会审核批准,患者或家属对研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)SCCI 患者术后 CI 诊断标准:参照“创伤性脑梗死的诊治”^[7]标准:有明确颅脑外伤史;入院时经 CT 检查未发现梗死灶,术后经 CT 检查发现脑部梗死灶,且经数字减影血管造影技术检查确诊脑动脉闭塞,符合上述情况 SCCI 者为术后并发 CI。(2)纳入标准:①符合《现代颅脑损伤学》^[8]中 SCCI 诊断标准,且经影像学检查确诊;②患者伤后格拉斯哥昏迷评分(GCS)^[9]为 6~8 分,生命体征平稳;③患者均于发病 24 h 内在医院接受手术治疗;④无精神疾病。(3)排除标准:①合并其他颅内疾病;②合并脑血管疾病;③伴原发性 CI 患者;④合并免疫性疾病者;⑤合并冠心病、肝衰竭或肾衰竭等重要脏器疾病;

⑥伴凝血功能异常。

1.3 检测指标与方法 患者于入院时采集清晨空腹肘静脉血 3~5 ml,静置后离心(L500-A 型离心机,长沙湘锐离心机有限公司生产)取上清液,置于-80℃环境下保存待检,采用酶联免疫吸附法检测血清 PTX3、神经元特异性烯醇化酶(NSE)水平,试剂盒均由北京金科生物科技有限公司提供;并在 ADVIA 1650 型全自动生化分析仪(德国西门子拜耳公司生产)上采用白蛋白—钴离子结合试验法检测血清 IMA 水平,试剂盒由美国 R&D 公司提供。操作严格遵照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件处理数据。符合正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;不符合正态分布计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;数据间相关性采用一般线性双变量 Pearson 直线相关检验;应用 Logistic 回归分析检验各主要血清标志物对 SCCI 患者术后 CI 的影响;绘制受试者工作特征曲线(ROC),并计算曲线下面积(AUC),以检验血清 PTX3、IMA 预测 SCCI 患者术后 CI 的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组一般资料比较 2 组性别、年龄、致伤原因、损伤部位、受伤至入院时间及合并高血压、高血糖、高脂血症比例等比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 2 组患者临床资料比较 [例(%)]

项 目	非 CI 组 (<i>n</i> = 91)	CI 组 (<i>n</i> = 14)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别 男	51(56.04)	8(57.14)	0.006	0.939
女	40(43.96)	6(42.86)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	40.86 ± 4.27	39.86 ± 4.21	0.817	0.416
致伤原因 交通事故	35(38.46)	5(35.71)	0.077	0.994
坠落伤	20(21.98)	3(21.43)		
暴力伤	23(25.27)	4(28.57)		
其他	13(14.29)	2(14.29)		
损伤部位 额叶	45(49.45)	8(57.14)	0.296	0.862
颞叶	22(24.18)	3(21.43)		
基底节或其他	24(26.37)	3(21.43)		
受伤至入院时间($\bar{x} \pm s$, h)	2.15 ± 0.62	2.20 ± 0.61	0.282	0.779
合并高血压	16(17.58)	5(35.71)	1.489	0.114
合并高血糖	14(15.38)	3(21.43)	0.033	0.568
合并高脂血症	11(12.09)	4(28.57)	0.151	0.101

2.2 2 组血清 NSE、PTX3、IMA 水平比较 CI 组患者

入院时血清 NSE、PTX3、IMA 水平显著高于非 CI 组 ($P<0.01$),见表 2。

2.3 血清 PTX3 与 IMA 水平的相关性 经双变量 Pearson 直线相关性检验显示,SCCI 患者血清 PTX3 与 IMA 水平呈正相关($r=0.276,P=0.013$),见图 1。

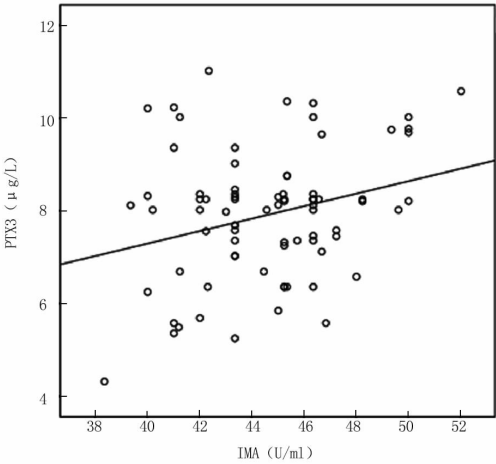


图 1 血清 PTX3、IMA 水平之间的相关性散点图

2.4 影响 SCCI 患者术后 CI 的多因素 Logistic 回归分析 将 SCCI 患者术后 CI 发生情况作为因变量(1 = 发生,0 = 未发生),并将血清 NSE、PTX3、IMA 水平作为自变量,经 Logistic 回归分析显示,入院时血清 PTX3、IMA、NSE 过表达均是 SCCI 患者术后 CI 发生的危险因素($P<0.05$),见表 3。

表 3 影响 SCCI 患者术后 CI 的多因素 Logistic 回归分析						
项目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常量	-118.966	54.872	4.700	0.030	-	-
IMA	2.067	1.008	4.207	0.040	7.902	1.096 ~ 56.960
PTX3	3.721	1.529	5.925	0.015	41.318	2.064 ~ 826.973
NSE	1.289	0.377	11.685	0.001	3.629	1.733 ~ 7.599

表 2 2 组患者血清 NSE、PTX3、IMA 水平比较				
组 别	例数	NSE($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)	PTX3 [$M(Q_1, Q_3), \mu\text{g/L}$]	IMA($\bar{x} \pm s, \text{U/ml}$)
非 CI 组	91	37.52 $\pm$ 3.35	8.02 (6.61, 8.26)	43.69 $\pm$ 2.13
CI 组	14	44.11 $\pm$ 2.92	9.72 (8.25, 10.23)	50.89 $\pm$ 3.19
t/U 值		$t=6.959$	$U=5.028$	$t=8.152$
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 4 入院时血清 PTX3、IMA 单独及联合预测 SCCI 患者术后 CI 发生的价值							
指标	cut-off 值	AUC	95% CI	P 值	特异度	敏感度	约登指数
PTX3	7.57 $\mu\text{g/L}$	0.876	0.787-0.965	<0.001	0.541	0.950	0.491
IMA	43.33 U/ml	0.845	0.745-0.945	<0.001	0.721	0.950	0.801
联合	—	0.921	0.862-0.980	<0.001	0.656	0.950	0.606

2.5 血清 PTX3、IMA 单独及联合预测 SCCI 患者术后 CI 发生的价值分析 绘制 ROC 曲线结果显示,当血清 PTX3、IMA 的 cut-off 值分别为 7.57 $\mu\text{g/L}$ 、43.33 U/ml 时,提示 SCCI 患者术后 CI 发生高风险,且此时血清 PTX3、IMA 单独及联合预测患者术后 CI 发生的 AUC 分别为 0.876、0.845、0.921,均有一定预测价值,见表 4、图 2。

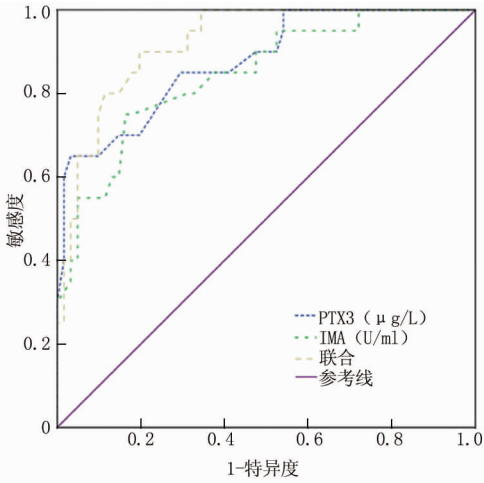


图 2 血清 PTX3、IMA 单独及联合预测 SCCI 患者术后 CI 发生价值的 ROC 曲线图

3 讨 论

SCCI 往往需要手术治疗,可挽救患者生命,但因 SCCI 常引起患者脑组织缺血及缺氧,导致脑组织坏死,出现一系列神经功能障碍,术后可能会发生 CI^[10]。动脉粥样硬化是导致 SCCI 患者术后 CI 发生的主要因素,不易识别,治疗效果不佳,致死率较高^[11-13]。因此,寻求可早期预测 SCCI 患者术后 CI 的标志物至关重要。潘凉泽等^[14]研究发现,60 例 SCCI 患者术后发生 CI 8 例,发生率为 13.33%。本研究 105 例 SCCI 患者中,发生术后 CI 14 例,发生率为 13.33%,与上述研究

结果一致。NSE 是一种神经系统特异性蛋白,机体发生脑损伤或脑出血时,NSE 从细胞质释放到脑脊液中,通过破损血脑屏障进入血液中,使血清 NSE 水平异常升高^[15-16]。研究发现,早期 NSE 水平升高的 SCCI 患者后期神经功能障碍明显,可能会发生病理改变,不利于患者预后^[17]。本研究发现,CI 组患者入院时血清 NSE 水平高于非 CI 组,且血清 NSE 过表达是 SCCI 患者术后 CI 发生的危险因素,说明 NSE 可能与 SCCI 患者术后 CI 有一定关系。但血清 NSE 对 SCCI 患者术后 CI 影响的 OR 风险值低于 PTX3、IMA,指标稳定性欠佳,具体结论仍待证实。

PTX3 在补体激活、病原体识别等过程中具有一定作用,其水平异常升高可破坏多细胞结构,加重中枢神经元损伤,影响脑组织再灌注^[18]。正常情况下,PTX3 不在大脑中表达,但一旦发生脑损伤,兴奋性氨基酸激活,PTX3 在大脑中表达,且血清 PTX3 水平升高,与 SCCI 患者预后存在一定联系^[19-20]。此外,PTX3 在促炎因子及 Toll 样受体刺激下可参与动脉粥样硬化细胞产生,生成的 PTX3 可在一定程度上刺激血管内皮细胞功能,降低动脉斑块稳定性,增加血栓形成风险^[21]。故推测血清 PTX3 可能与 SCCI 患者术后 CI 存在一定关系。IMA 被广泛用于缺血事件诊断中,是一种理想的缺血标志物,可在血液中被检出^[22-23]。2013 年,一项研究报道称,SCCI 时颅内微血管受到冲击,血管内皮脱落,导致脑组织缺血及缺氧,形成梗死灶,导致血清白蛋白氧化修饰,血清 IMA 水平显著升高,且其水平与 SCCI 严重程度呈正相关^[24]。推测血清 IMA 可能参与 SCCI 发展,与术后 CI 存在一定关系。

本结果显示,CI 组患者入院时血清 PTX3、IMA 水平平均高于非 CI 组,Logistic 回归分析发现,入院时血清 PTX3、IMA 过表达均是 SCCI 患者术后 CI 发生的危险因素,这也说明 SCCI 患者血清 PTX3、IMA 过表达与术后 CI 发生存在一定联系。分析其原因可能为,血清 PTX3 可影响机体免疫及血管重塑,PTX3 过表达可导致多细胞结构破坏,对细胞物质转运、信息传递等产生影响,进一步加重 SCCI 患者中枢神经元损伤,影响脑代偿功能、脑组织再灌注等,进而诱发 CI^[25]。而 SCCI 患者处于局部缺氧微环境,氧化应激、炎症反应可导致 IMA 水平升高,随着 IMA 水平不断升高,SCCI 患者脑组织供血供氧不足,血液处于高凝状态,将导致 CI 发生^[26]。但目前关于 IMA、PTX3 与 SCCI 患者术后 CI 关系的具体机制尚未明确。进一步绘制 ROC 曲线发现,SCCI 患者入院时血清 PTX3、IMA 单独及联合预测术后 CI 发生均有一定价值,且当二者 cut-off 值分别为

7.57 $\mu\text{g/L}$ 、43.33 U/ml 时,能够获得最佳预测价值,提示未来可考虑将血清 PTX3、IMA 作为预测 SCCI 患者术后 CI 发生的标志物。此外,本研究还观察血清 PTX3、IMA 之间的关系,发现二者呈正相关,提示 PTX3、IMA 可能互相作用,共同参与 SCCI 患者术后 CI 发生及发展,但目前关于二者在 SCCI 中具体作用机制尚未阐明,具体结论仍需进一步证实。

综上所述,SCCI 患者入院时血清 PTX3、IMA 过表达可能提示术后 CI 发生高风险,临床可考虑早期监测患者血清 PTX3、IMA 水平,对术后 CI 的早期预测及干预方案拟定提供指导。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

孙姝玲:设计研究方案,撰写论文;闫晋琪:筛选病例,采集病历信息,数据分析;郭利涛:提出研究思路,指导研究进行;陈海燕:参与筛选病例及采集病历信息;樊静群:参与筛选病例及数据分析

参考文献

- [1] 王龙珍,贡平.70 例重型颅脑损伤的手术疗效分析[J].西南国防医药,2017,27(5):501-503.DOI: 10.3969/j.issn.1004-0188.2017.05.025.
- [2] Gao L,Smielewski P,Czosnyka M,et al.Early asymmetric cardio-cerebral causality and outcome after severe traumatic brain injury[J].J Neurotrauma,2017,34(19):2743-2752.DOI: 10.1089/neu.2016.4787.
- [3] Wu RH,Ye Y,Ma T,et al.Management of subdural effusion and hydrocephalus following decompressive craniectomy for posttraumatic cerebral infarction in a patient with traumatic brain injury:a case report[J].BMC Surg,2019,19(1):26-29.DOI:10.1186/s12893-019-0489-5.
- [4] 许位,张园园,高敬华,等.急性脑梗死患者血清 sdLDL-C 与 PTX-3 水平与颈动脉粥样硬化斑块性质的关系[J].中风与神经疾病杂志,2019,36(8):704-707.DOI:CNKI:SUN:ZFSJ.0.2019-08-010.
- [5] 李巧思,毕国荣,张海天,等.脑梗死血浆正五聚蛋白 3 的动态改变及与颈动脉不稳定斑块的关系[J].中国神经精神疾病杂志,2017,43(3):129-134.DOI:10.3969/j.issn.1002-0152.2017.03.001.
- [6] 倪娟,王力甚.缺血修饰白蛋白临床研究进展[J].现代医学,2017,45(4):615-618.DOI:10.3969/j.issn.1671-7562.2017.04.039.
- [7] 张金梁,史学芳,吴建梁,等.创伤性脑梗死的诊治[J].中国全科医学,2010,13(18):2016-2018.DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2010.18.022
- [8] 费舟,章翔.现代颅脑损伤学[M].北京:人民军医出版社,2007:210.
- [9] Reith FC, Van den Brande R, Synnot A, et al. The reliability of the Glasgow Coma Scale: a systematic review[J]. Intensive Care Med, 2016, 42(1):3-15.DOI:10.1007/s00134-015-4124-3.
- [10] 邵世珂,樊拥军,仲崇佩,等.中重型颅脑损伤继发脑梗死的危险因素分析[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(S2):80-82.DOI: CNKI:SUN:SYXL.0.2018-S2-035.

(下转 469 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 05. 007

论著 · 临床

水通道蛋白-4 及相关临床指标与大面积脑梗死并发脑水肿的关系

洪波, 常焕显, 季晓宇, 刘丽艳, 孔令胜, 赵平

基金项目: 连云港市科技计划(社会发展)项目(SH1604)

作者单位: 222046 江苏省连云港市东方医院神经内科

通信作者: 刘丽艳, E-mail: huangshanwj0116@163.com

【摘要】目的 研究水通道蛋白-4(AQP-4)及相关临床指标与大面积脑梗死发生脑水肿的关系。方法 选取 2016 年 11 月—2018 年 4 月连云港市市立东方医院神经内科收治的 60 例大面积脑梗死患者纳入研究均给予重组组织型纤溶酶原激活物治疗,依据患者治疗后 24 h 是否发生脑水肿分为脑水肿组($n=27$)和无脑水肿组($n=33$)。对比 2 组性别、年龄、身体质量指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、神经功能缺损评分(NIHSS)、梗死部位、高血压病史、心脏病病史、脑卒中病史、吸烟史、饮酒史及血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血尿酸(BUA)、空腹血糖(FPG)、肌酐(SCr)、AQP-4 水平;通过 ROC 分析 NIHSS、FPG、AQP-4 预测大面积脑梗死发生脑水肿的价值,最后通过多因素 Logistic 回归分析明确大面积脑梗死患者出现脑水肿的危险因素。结果 脑水肿组 NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平显著高于无脑水肿组,差异有统计学意义($t=6.021, 2.857, 8.231, P<0.01$)。经 ROC 分析证实,NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平均能用于大面积脑梗死发生脑水肿的预测,曲线下面积分别为 0.789、0.943、0.849($P<0.05$)。经多因素 Logistic 回归分析证实 NIHSS ≥ 13.915 分, FPG ≥ 8.51 mmol/L, AQP-4 ≥ 0.64 pg/ml 是大面积脑梗死患者出现脑水肿的危险因素($P<0.05$)。结论 NIHSS 评分及 FPG、AQP-4 是大面积脑梗死患者出现脑水肿的危险因素,可用于患者发生脑水肿的预测。

【关键词】 大面积脑梗死;脑水肿;水通道蛋白-4

【中图分类号】 R542.2 【文献标识码】 A

The relationship between aquaporin 4 and related clinical indicators and large-area cerebral infarction with cerebral edema. Hong Bo, Chang Huanxian, Ji Xiaoyu, Liu Liyan, Kong Lingsheng, Zhao Ping. Department of Neurology, Lianyungang Municipal Oriental Hospital, Jiangsu Province, Lianyungang 222046, China

Corresponding author: Liu Liyan, E-mail: huangshanwj0116@163.com

Funding program: Lianyungang Science and Technology Plan (Social Development) Project (SH1604)

【Abstract】Objective To study the relationship between aquaporin 4 (AQP4) and related clinical indicators and cerebral edema in large areas of cerebral infarction. Methods Sixty patients with large-area cerebral infarction were selected into the study and all were treated with recombinant tissue-type plasminogen activator. According to whether the patients had cerebral edema 24 hours after treatment, they were divided into cerebral edema group ($n=27$) and no cerebral edema group ($n=33$). Compare the two groups of gender, age, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), neurological deficit score (NIHSS), infarct location, history of hypertension, history of heart disease, history of stroke, smoking History, drinking history, and serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood uric acid (BUA), fasting blood glucose (FPG), creatinine (SCr), and AQP4 levels; analyze NIHSS by ROC, FPG, AQP4 predict the value of cerebral edema in patients with large-area cerebral infarction, and finally through multivariate logistic regression analysis to clarify the risk factors of cerebral edema in patients with large-area cerebral infarction. Results The NIHSS score and serum FPG and AQP4 levels in the brain edema group were significantly higher than those in the no brain edema group, and the difference was statistically significant ($t=6.021, 2.857, 8.231, P<0.01$). ROC analysis confirmed that the NIHSS score and serum FPG and AQP4 levels can be used to predict cerebral edema in large-scale cerebral infarction, and the areas under the curve are 0.789, 0.943, and 0.849, respectively ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis confirmed that NIHSS ≥ 13.915 points, FPG ≥ 8.51 mmol/L, and AQP4 ≥ 0.64 pg/ml were

risk factors for cerebral edema in patients with large-area cerebral infarction ($P < 0.05$). **Conclusion** NIHSS, FPG, and AQP4 are risk factors for cerebral edema in patients with large-area cerebral infarction, and can be used to predict the occurrence of cerebral edema in patients.

【Key words】 Large area cerebral infarction; Brain edema; Aquaporin 4

大面积脑梗死属于神经内科常见的一种疾病,是因颈动脉主干、大脑动脉主干或皮质支出现完全性卒中而造成的该动脉供血区脑组织坏死、软化,是一种较为严重的脑卒中,具有较高的病死率,经相应治疗后仍会影响患者生活质量^[1]。既往研究发现,大面积脑梗死占脑梗死的 10%~20%,病情凶险,病死率高达 34.4%~80.0%^[2]。脑水肿是脑卒中、缺血性脑病发病及死亡的重要原因,且随着脑水肿的发展对患者的影响愈发严重,因此及早对脑水肿进行预测并及时处理对缓解患者临床症状、改善预后具有重要意义。现阶段颅内压监测、头颅影像学检查是评估颅内水肿的重要方式,但仅能对脑水肿的严重程度进行评估,无法在脑水肿形成之初进行评估,故临床急需寻找其它方式用于脑水肿的早期评估^[3-5]。水通道蛋白-4(Aquaporin-4, AQP-4)是脑组织中表达最多的水通道蛋白,广泛分布于中枢神经系统,可参与脑组织水代谢过程^[6]。本研究对大面积脑梗死发生脑水肿患者的血清 AQP-4 进行观察,探讨 AQP-4 及相关临床指标与大面积脑梗死发生脑水肿的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 11 月—2018 年 4 月连云港市市立东方医院神经内科收治的 60 例大面积脑梗死患者作为研究对象,均常规给予重组组织型纤溶酶原激活物治疗,依据患者治疗后 24 h 是否发生脑水肿分为脑水肿组($n = 27$)和无脑水肿组($n = 33$)。本研究经医院伦理委员会批准(伦理批号 2016-22 号),全部受试者或家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准

1.2.1 纳入标准:(1)参照“脑卒中的分型分期治疗(建议草案)”^[7]诊断为大面积脑梗死,经 MR 检查,定义为梗死灶最大直径 > 5 cm,并同时累及 2 个或 2 个以上脑叶。(2)脑水肿参照“中国急性缺血性脑卒中诊治指南”^[8]中脑梗死后脑水肿相关标准诊断;(2)年龄 18~85 岁。

1.2.2 排除标准:(1)发病至入院时间超过 24 h;(2)行亚低温、手术治疗者;(3)伴有严重的心、肝、肾疾病或恶性肿瘤;(4)病情不稳定要求转院或自动出院者。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 基础资料收集:入院后收集并记录 2 组性别、

年龄、体质指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、神经功能缺损评分(NIHSS)、梗死部位、高血压病史、心脏病病史、脑卒中病史、吸烟史、饮酒史。其中 NIHSS 评分表包含 8 个项目,分别为意识 0~9 分、凝视 0~4 分、面瘫 0~2 分、言语 0~6 分、上肢肌力 0~6 分、手肌力 0~6 分、下肢肌力 0~6 分、步行能力 0~6 分^[9],总计 0~45 分,得分越高患者神经功能缺损越严重。

1.3.2 实验室指标检测:2 组患者入院后抽取肘静脉血 5 ml,以 1 500 r/min 离心 10 min 后送检;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)应用 DPP 型全自动生物化学分析仪,以酶联免疫吸附试验—双抗体夹心法检测,试剂盒由瑞士罗氏公司提供;血尿酸(BUA)以酶法检测,试剂盒由贝克曼公司提供;空腹血糖(FPG)应用日立 7600 型生化分析仪,以葡萄糖氧化酶法检测,试剂盒由 NYCO card 公司提供;肌酐(SCr)、AQP-4 以酶联免疫吸附法检测,试剂盒分别由波音特生物科技(南京)有限公司、上海康朗生物科技有限公司提供。

1.4 统计学方法 选用 SPSS19.0 统计学软件对数据进行处理,符合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,组间比较行 χ^2 检验,通过 ROC 曲线分析 NIHSS、FPG、AQP-4 预测大面积脑梗死发生脑水肿的价值;采取非条件 Logistic 逐步回归分析符合危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大面积脑梗死患者出现脑水肿的单因素分析 2 组性别、年龄、BMI、SBP、DBP、梗死部位、高血压病史、心脏病病史、脑卒中病史、吸烟史、饮酒史及血清 ALT、AST、BUA、SCr 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);脑水肿组 NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平显著高于无脑水肿组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

2.2 NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平预测大面积脑梗死发生脑水肿的 ROC 分析 经 ROC 曲线分析证实,NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平均能用于大面积脑梗死发生脑水肿的预测,曲线下面积(AUC)分别为 0.789、0.943、0.849($P < 0.05$),见表 2、图 1。

表 1 大面积脑梗死患者出现脑水肿的单因素分析 $\bar{x} \pm s$

项目	无脑水肿组 (n=33)	脑水肿组 (n=27)	χ^2/t 值	P 值
男	18(54.55)	17(62.96)	0.433	0.511
女	15(45.45)	10(37.04)		
年龄(岁)	68.27±5.5	68.24±5.45	0.021	0.983
BMI(kg/m ²)	24.45±2.31	24.48±2.30	0.050	0.960
SBP(mmHg)	141.94±10.12	142.76±10.34	0.309	0.758
DBP(mmHg)	88.51±7.52	88.46±7.45	0.026	0.980
NIHSS(分)	12.06±1.55	15.20±2.46	6.021	0.000
梗死部位[例(%)]			3.082	0.079
前循环梗死	20(60.61)	22(81.48)		
后循环梗死	13(39.39)	5(18.52)		
高血压病史[例(%)]	26(78.79)	18(66.67)	1.116	0.291
心脏病病史[例(%)]	13(39.39)	9(33.33)	0.235	0.628
脑卒中病史[例(%)]	9(27.27)	6(22.22)	0.202	0.653
吸烟史[例(%)]	27(81.82)	20(74.07)	0.525	0.469
饮酒史[例(%)]	28(84.85)	24(88.89)	0.210	0.647
ALT(U/L)	25.88±8.57	25.43±8.46	0.204	0.839
AST(U/L)	31.43±8.50	31.46±8.47	0.014	0.989
BUA(μmol/L)	275.05±56.88	274.76±56.19	0.020	0.984
SCr(μmol/L)	81.57±11.50	81.54±11.46	0.010	0.992
FPG(mmol/L)	7.03±2.48	9.24±3.50	2.857	0.006
AQP-4(pg/ml)	0.41±0.14	0.75±0.18	8.231	0.000

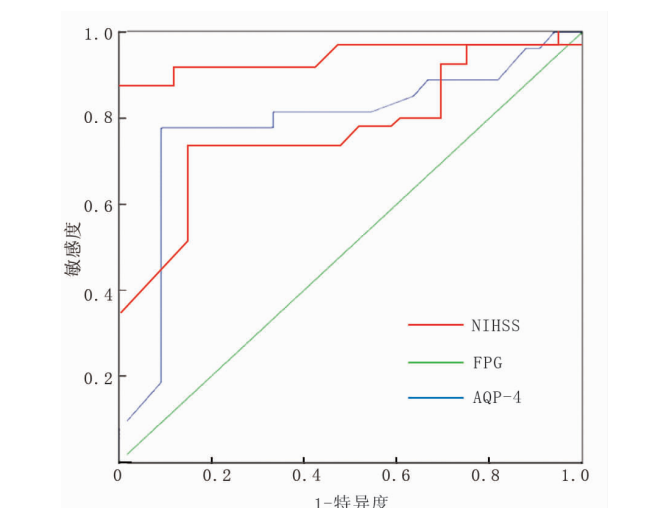


图 1 NIHSS、AQP-4、FPG 预测大面积脑梗死并发脑水肿的 ROC 曲线

表 2 NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平预测大面积脑梗死并发脑水肿的 ROC 分析

指标	cut-off	AUC(95% CI)	P 值	敏感度	特异度	约登指数
NIHSS	13.905 分	0.789(0.656~0.915)	0.000	0.778	0.909	0.687
FPG	8.51 mmol/L	0.943(0.870~1.000)	0.000	0.926	0.636	0.562
AQP-4	0.64 pg/ml	0.849(0.750~0.948)	0.000	0.667	0.879	0.546

表 3 大面积脑梗死患者出现脑水肿的多因素 Logistic 回归分析

因素	量化赋值	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
NIHSS	≥ 13.91 分 = 1, < 13.91 分 = 0	0.363	0.121	9.005	0.003	1.437(1.134~1.821)
FPG	≥ 8.51 mmol/L = 1, < 8.51 mmol/L = 0	1.325	0.562	5.548	0.019	3.761(1.249~11.320)
AQP-4	≥ 0.64 pg/ml = 1, < 0.64 pg/ml = 0	0.633	0.173	13.412	0.000	1.883(1.342~2.640)

2.3 大面积脑梗死患者出现脑水肿的多因素 Logistic 回归分析 将 2 组有差异的指标纳入多因素 Logistic 回归分析,以是否发生脑水肿为因变量,以 NIHSS、FPG、AQP-4 为自变量,行量化赋值,经多因素 Logistic 回归分析证实,NIHSS ≥ 13.91 分,FPG ≥ 8.51 mmol/L,AQP-4 ≥ 0.64 pg/ml 是大面积脑梗死患者出现脑水肿的危险因素($P < 0.05$),见表 3。

3 讨论

大面积脑梗死罹患群体多为糖尿病、高血压等患病人群,发病后常见呕吐、头痛、意识障碍等症状,且发病突然、病死率高^[10-13]。该疾病发病后 5%~15% 的患者于急性期死亡,死亡原因多为肺炎、心力衰竭等,10%~20% 的患者在发病 10 d 内出现二次脑梗死,且病死率更高^[14]。大面积脑梗死发生脑水肿是患者死亡的重要原因之一,虽然临床上已有相应措施对患者的脑水肿情况进行评估并治疗,但常用的方法仅能用于脑水肿形成后,无法在脑水肿形成之初进行评估。因此临床急需寻找一种能够在脑水肿形成早期进行评估的方式。本研究对大面积脑梗死患者的血清 AQP-4 及相关临床指标进行检查,探讨大面积脑梗死发生脑水肿的危险因素,为其临床治疗工作提供相应的指导,使更多患者受益。

本研究结果显示,脑水肿组 NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平显著高于无脑水肿组,提示高 NIHSS 评分及血清 FPG、AQP-4 水平高表达可能是大面积脑梗死患者发生脑水肿的危险因素。在既往的研究中,何瑶^[15]等指出高 NIHSS 评分、糖尿病是脑梗死患者发生脑水肿的危险因素,认为患者体内血糖水平升高会导致脑屏障功能降低、血管内皮细胞代谢紊乱,脑水肿的发生率增加。同时也有研究指出 NIHSS 评分与患者的预后密切相关^[16-17],能够与本次研究结果相互印证。

本研究中大面积脑梗死发生脑水肿患者血清 AQP4 水平呈现出高表达,笔者分析具体原因如下: AQP4 存在于中枢神经系统中,是细胞内外、血管及脑组织间运转结构基础的一部分,可参与脑组织水的代谢过程中,而颅脑损伤患者在急性损伤期会有大量的细胞内容物漏出,出现继发性神经细胞坏死,形成氧自由基清除障碍,并继发一系列的神经中毒炎症反应与水电解质紊乱,此时脑组织内的水含量与脑容积会出现明显的增加^[18-19]。而 AQP4 与细胞内外、血管及脑组织间运转关系密切,并参与脑组织水的代谢中,可因脑组织内的水含量与脑容积增加导致 AQP4 水平上升^[20];同时 AQP4 还能够维持细胞内外水的平衡,当患者出现大面积脑梗死后会导致细胞内容物漏出,这也可能是患者血清 AQP4 水平上升的原因之一。国外学者已针对 AQP4 开展了较多的研究,Verkman 等^[21]发现 AQP4 具有改变细胞膜对水的通透性、维持细胞内外水平衡的作用,MacAulay 等^[22]研究指出 AQP4 与细胞内外、血管、脑组织间运转及水代谢关系密切,受细胞内外、血管、脑组织间运转及水代谢的影响 AQP4 可出现病理性上升,均与本研究结果存在相似之处。

本研究发现,脑水肿组 AQP4 水平显著高于无脑水肿组,可见 AQP4 水平与脑水肿的发生关系密切,可能是患者出现脑水肿的危险因素。大面积脑梗死发病后病情凶险,患者可因脑水肿导致颅内压升高,并导致患者死亡,而 AQP4 广泛存在于神经系统中,如毛细血管、蜘蛛网与软脑膜直接接触的星形胶质细胞,室管膜与脉络膜丛上皮细胞,可因脑水肿的形成或消退呈现出上升或降低趋势^[23]。而本研究中出现脑水肿的大面积脑梗死患者 AQP4 水平明显增高,可能是脑水肿形成后导致的 AQP4 水平上升,与刘超群等^[24]研究结果相一致。同时胡明军等^[25]在一项动物研究中指出,脑损伤会导致脑组织水含量增多,形成脑水肿,此时 AQP4 也随之上升,AQP4 在脑水肿的形成过程中发挥重要作用,与本研究结果相符。

另外,为明确 NIHSS 及 FPG、AQP4 预测大面积脑梗死发生脑水肿的价值及其发生的危险因素,笔者进行 ROC 及多因素 Logistic 回归分析,证实 NIHSS 及 FPG、AQP4 时能够用于患者发生脑水肿的预测,同时 NIHSS ≥ 13.91 分, FPG ≥ 8.51 mmol/L, AQP4 ≥ 0.64 pg/ml 也是大面积脑梗死患者出现脑水肿的危险因素,因此在大面积脑梗死的治疗中应当积极关注血清 AQP4 水平的变化,针对 AQP4 水平高表达的患者应积极治疗,预防脑水肿的发生,以改善患者预后。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

洪波:设计研究方案,实施研究过程,进行统计学分析,论文撰写;常焕显:提出研究思路,课题设计,分析试验数据,论文审核;季晓宇、刘丽艳:实施研究过程,资料收集整理,论文修改;孔令胜、赵平:实施研究过程,资料收集整理

参考文献

- [1] 滕宏伟,周海,周静,等.静脉溶栓与介入溶栓治疗大面积脑梗死的临床疗效比较[J].医学临床研究,2019,36(6):1165-1167.DOI:10.3969/j.issn.1671-7171.2019.06.045.
- [2] 费力,吴海兵,李荣刚,等.去骨瓣减压术治疗恶性大脑中动脉供血区脑梗死效果分析[J].中国全科医学,2015,18(5):549-553.DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2015.05.026.
- [3] 周杰,何光祥,陈玉秋,等.重型颅脑损伤术后无创脑水肿监测的临床应用[J].中国临床神经外科杂志,2015,20(3):144-146.DOI:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.03.005.
- [4] 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.
- [5] 闫振文,郑眉光,李梅.急性脑梗死患者血清补体 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 3 和白细胞介素 6 水平与颈总动脉内膜中层厚度的关系[J].中国医药,2020,15(12):1878-1882.DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.12.015.
- [6] 孙海燕,孙文婷,安国禹,等.黄体酮对大鼠视神经夹伤后视神经节细胞保护作用的研究[J].中国实用眼科杂志,2017,35(8):836-840.DOI:10.3760/j.issn.1006-4443.2017.08.023.
- [7] 黄如训,郭玉璞.脑卒中的分型分期治疗建议草案(全国脑血管病专题研讨会——2000 年广州)[J].临床神经病学杂志,2001,14(1):60-62.DOI:10.3969/j.issn.1004-1648.2001.01.034.
- [8] 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.
- [9] 吕敏,魏小利,袁媛,等.脑卒中伴不同程度抑郁患者的神经功能缺损、日常行为能力及认知功能分析[J].广西医科大学学报,2016,33(4):620-622.DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2016.04.015.
- [10] 秦锐,谢宏斌,苏茜.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[J].疑难病杂志,2020,19(9):892-895.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.007.
- [11] 郑慧,元小冬,张萍淑,等.腔隙性脑梗死患者轻度认知功能损伤的神经电生理特征及临床意义研究[J].实用心脑血管病杂志,2020,28(7):65-70.DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2020.07.013.
- [12] 冯超,金香兰.大面积脑梗死的治疗进展[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,21(3):334-336.DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2019.03.029.
- [13] Xian, W, Min W, Xing Z, et al. Autologous fat used for facial filling can lead to massive cerebral infarction through middle cerebral artery or facial intracranial branches[J]. J Craniofac Surg, 2018, 29(5):1341-1343.DOI:10.1097/SCS.00000000000004625.
- [14] 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.
- [15] 李志亮,李宇瑾,黄燕波.传统治疗方法与尤瑞克林联合替罗非班治疗小分支脑动脉闭塞引发急性脑梗死的疗效对比[J].中国医药科学,2020,10(7):249-252.DOI:10.3969/j.issn.2095-0616.2020.07.072.
- [16] 何瑶,张森,郭晓华.急性脑梗死 rt-PA 溶栓后并发脑水肿相关危险因素分析[J].西北国防医学杂志,2016,37(12):807-809.DOI:10.16021/j.cnki.1007-8622.2016.12.013.
- [17] Wang Y X, Chen Y, Zhang C H, et al. Study on the effect of urinary kallidinogenase after thrombolytic treatment for acute cerebral infarction[J]. Eur Rev Medical Pharmacol Sci, 2015, 19(6):1009-1012.
- [18] Wang C, Yan M, Jiang H, et al. Mechanism of aquaporin 4 (AQP 4) up-regulation in rat cerebral edema under hypobaric hypoxia and the preventative effect of puerarin[J]. Life Sci, 2018, 193:270-281. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.10.021.
- [19] Li L, Wang N, Jin Q, et al. Protection of Tong-Qiao-Huo-Xue decoction against cerebral ischemic injury through reduction blood - brain barrier permeability [J]. Chem Pharm Bull, 2017, 65 (11): 1004-1010. DOI:10.1248/cpb.c17-00267.
- [20] 安宏娜,陈玮,吾红光,等.急性脑梗死患者血清 AQP1、AQP4、VEGF 表达与脑水肿严重程度的关系[J].中国动脉硬化杂志,2019,27(11):41-44. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2019.11.006.
- [21] Verkman AS. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins [J]. J Cell Sci, 2005, 118 (15): 3225-3232. DOI: 10.1242/jcs.02519.
- [22] Macaulay N, Zeuthen T. Water transport between CNS compartments: contributions of aquaporins and cotransporters [J]. Neuroscience, 2010, 168 (4): 941-956. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.09.016.
- [23] 刘性强,孙国柱,王目纲,等.水通道蛋白 4 在不同类型脑水肿中的表达及其作用[J].中华老年心脑血管病杂志,2010,12(9):104-106. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2010.09.029.
- [24] 刘超群,魏麓云. AQP-4 在几种常见类型脑水肿中的表达及其作用[J].现代生物医学进展,2014,14(10):1997-2000. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2014.10.048.
- [25] 胡明军,崔健,王钢,等.重型颅脑损伤患者血清及脑脊液中 AQP-4 水平表达及意义[J].山西医科大学学报,2014,45(2):134-136. DOI:10.3969/J.ISSN.1007-6611.2014.02.016.

(收稿日期:2020-10-16)

(上接 464 页)

- [11] 叶富跃,杨堃,王子珍,等.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[J].疑难病杂志,2020,19(9):896-899,905. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.008.
- [12] 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.
- [13] Su TM, Lan CM, Lee TH, et al. Posttraumatic cerebral infarction after decompressive craniectomy for traumatic brain injury: incidence, risk factors and outcome [J]. Turk Neurosurg, 2017, 28 (4): 20761-20771. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.20761-17.1.
- [14] 潘凉泽,谢延风,詹傲,等.天幕裂孔切开对预防重型颅脑损伤患者术后脑梗死的临床研究[J].创伤外科杂志,2014,16(5):407-410. DOI: CNKI: SUN: CXWK.0.2014-05-009.
- [15] 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.
- [16] 翁建鹏,许永志,林月云.颅脑损伤患者 GCS 评分与血清 S100、神经元特异性烯醇化酶、乳酸、葡萄糖的相关性分析[J].中国卫生检验杂志,2017,27(6):830-832. DOI: CNKI: SUN: ZWJZ.0.2017-06-023.
- [17] Park SH, Hwang SK. Prognostic value of serum levels of S100 calcium-binding protein B, neuron-specific enolase, and interleukin-6 in pediatric patients with traumatic brain injury [J]. World Neurosurg, 2018, 18(6):534-542. DOI:10.1016/j.wneu.2018.06.234.
- [18] Cecilia G, Barbara B, Elena M, et al. PTX3, a humoral pattern recognition molecule, in innate immunity, tissue repair, and cancer [J]. Physiol Rev, 2018, 98(2):623-639. DOI:10.1152/physrev.00016.2017.
- [19] 李方,木塔里甫·买合木提,麦麦提依明·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.
- [20] 胡海杰,张艳.PTX3 与疾病相关性的研究分析[J].西南国防医药,2020,30(5):468-470. DOI:10.3969/j.issn.1004-0188.2020.05.034.
- [21] 姜扬,李晓秋,隋轶,等.急性缺血性脑卒中患者血清 PTX3 水平变化及其与神经功能缺损和近期预后的关系[J].山东医药,2017,57(27):52-54. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2017.27.015.
- [22] Thielmann M, Pasa S, Holst T, et al. Heart-type fatty acid binding protein and ischemia-modified albumin for detection of myocardial infarction after coronary artery bypass graft surgery [J]. Ann Thorac Surg, 2017, 104(1):130-137. DOI:10.1016/j.athoracsurg.2016.10.051.
- [23] 王莹,吴颖,张雯予,等.机械通气时间对重症颅脑损伤患者继发肺部感染病原菌分布及耐药性的影响[J].实用心脑血管病杂志,2020,28(11):124-129. DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2020.11.023.
- [24] 邹国英,任碧琼.颅脑损伤患者早期缺血修饰白蛋白的检测[J].检验医学,2013,28(2):93-96. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2013.02.001.
- [25] 李劈正,郭涛,赵义.血清 PTX3 在脑梗塞患者中的改变及其临床意义[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2017,12(6):514-517. DOI:10.3969/j.issn.1673-6966.2017.06.005.
- [26] 倪娟,王力甚.缺血修饰白蛋白临床研究进展[J].现代医学,2017,45(4):615-618. DOI:10.3969/j.issn.1671-7562.2017.04.039.

(收稿日期:2020-12-21)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.008

论著·临床

血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与特发性肺纤维化患者肺功能及预后的关系

丁丽丽, 蔡暖暖, 陈丽瑾, 吴海洪, 谢甜

基金项目: 2018 年海南省卫生计生行业科研项目(1801032064A2002)

作者单位: 570311 海口, 海南省人民医院呼吸与危重症医学科

通信作者: 吴海洪, E-mail: 7y7y@163.com

【摘要】目的 分析血清高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)、潜在转化生长因子结合蛋白 2 (LTBP2)、晚期糖基化终产物 (AGE)/晚期糖基化终产物可溶性受体 (RAGEs) 与特发性肺纤维化 (IPF) 患者肺功能和预后的关系。**方法** 选取 2017 年 5 月—2018 年 3 月海南省人民医院呼吸与危重症医学科收治 IPF 患者 102 例 (IPF 组), 门诊体检健康者 93 例 (健康对照组), 检测 2 组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs 水平及肺功能 [第 1 秒用力呼气容积 (FEV₁), FEV₁ 与用力肺活量 (FVC) 比值 (FEV₁/FVC)、FEV₁ 占预计值百分数 (FEV₁% pred), 最大自主通气量 (MVV)、最大自主通气量占预计值百分比 (MVV% pred), 肺一氧化碳弥散量 (DLco)], 计算 AGE/RAGEs。分析血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 与肺功能指标相关性。以随访期间 IPF 急性加重、肺并发症、死亡为终点事件, 将患者分为预后良好亚组和预后不良亚组, 分析血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 对 IPF 预后的预测价值。**结果** IPF 组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、AGE/RAGEs 比值高于健康对照组 ($t=37.967, 29.093, 24.705, 80.852, P$ 均 $=0.000$), RAGEs、FEV₁、FEV₁/FVC、FEV₁% pred, MVV、MVV% pred, DLco 低于健康对照组 ($t=33.549, 7.817, 10.826, 10.405, 10.716, 12.649, 17.810, P$ 均 $=0.000$)。IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与 FEV₁、FEV₁/FVC、FEV₁% pred, MVV、MVV% pred, DLco 呈负相关 (P 均 <0.05)。预后不良亚组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、AGE/RAGEs 比值高于预后良好亚组, RAGEs 低于预后良好亚组 ($t=4.222, 11.068, 6.312, 61.610, 3.561, P$ 均 $=0.000$)。受试者工作特征曲线 (ROC) 分析结果显示, 血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 预后的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.744、0.706、0.691, 敏感度分别为 72.30%、69.40%、68.50%, 特异度分别为 75.10%、71.20%、70.30%, 三者联合预测 IPF 预后的 AUC 为 0.802, 敏感度为 81.60%, 特异度为 78.30%, AUC 大于单独检测。**结论** IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平较正常人升高, 高 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 与 IPF 患者肺功能低下和预后不良有关, 可为 IPF 患者预后评估提供参考。

【关键词】 特发性肺纤维化; 高迁移率族蛋白 B1; 潜在转化生长因子结合蛋白 2; 晚期糖基化终产物; 晚期糖基化终产物可溶性受体; 肺功能; 预后

【中图分类号】 R563.9**【文献标识码】** A

The relationship between serum HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs levels and pulmonary function and prognosis in patients with idiopathic pulmonary fibrosis Ding Lili, Cai Nuannuan, Chen Lijin, Wu Haihong, Xie Tian. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Hainan Provincial People's Hospital, Hainan Province, Haikou 570311, China

Funding program: Scientific Research Project of Health and Family Planning Industry of Hainan Province in 2018 (1801032064A2002)

Corresponding author: Wu Haihong, E-mail: 7y7y@163.com

【Abstract】Objective To analyze the relationship between serum high mobility group box 1 (HMGB1), potential transforming growth factor binding protein 2 (LTBP2), advanced glycation end products (age) / soluble receptor for advanced glycation end products (RAGE) and lung function and prognosis in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). **Methods** From May 2017 to March 2018, 102 patients with IPF (IPF group) were admitted to the Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Hainan Province People's Hospital, and 93 healthy patients (healthy control group) were undergone outpatient physical examination. Detect the levels of serum HMGB1, LTBP2, AGE, RAGEs and lung function in the two groups [forced expiratory volume in the first second (FEV₁), ratio of FEV₁ to forced vital capacity (FVC) (FEV₁/FVC), percentage of FEV₁ to predicted value (FEV₁% pred), maximum voluntary ventilation (MVV), maximum voluntary ventilation as a percentage of predicted value (MVV% pred), lung carbon monoxide diffusion (DLco)], calculate AGE/RAGEs. Analyze the

correlation between serum HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs and lung function indicators. With the acute exacerbation of IPF, pulmonary complications, and death as the end points during follow-up, patients were divided into subgroups with good prognosis and subgroups with poor prognosis, and the predictive value of serum HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs on the prognosis of IPF was analyzed. **Results** Serum HMGB1, LTBP2, AGE, AGE/RAGEs ratio in IPF group were higher than healthy control group ($t=37.967, 29.093, 24.705, 80.852, P=0.000$), RAGEs, FEV₁, FEV₁/FVC, FEV₁% pred, MVV, MVV % pred and DLco were lower than the healthy control group ($t=33.549, 7.817, 10.826, 10.405, 10.716, 12.649, 17.810$, all $P=0.000$). Serum HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs levels in IPF patients were negatively correlated with FEV₁, FEV₁/FVC, FEV₁% pred, MVV, MVV% pred, DLco (all $P<0.05$). The serum HMGB1, LTBP2, AGE, AGE/RAGEs ratios of the poor prognosis subgroup were higher than those of the good prognosis subgroup, and RAGEs were lower than the good prognosis subgroup ($t=4.222, 11.068, 6.312, 61.610, 3.561, P=0.000$). The results of receiver operating characteristic curve (ROC) analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum HMGB1, LTBP2, and AGE/RAGEs for predicting the prognosis of IPF were 0.782, 0.683, and 0.696, respectively, and the sensitivities were 72.30%, 69.40%, and 68.50%, respectively. the specificity is 75.10%, 71.20%, 70.30%, the AUC of the three joint predictions of IPF prognosis is 0.802, the sensitivity is 81.60%, the specificity is 78.30%, and the AUC is greater than the single detection. **Conclusion** Serum levels of HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs in IPF patients are higher than those in normal subjects. High HMGB1, LTBP2, AGE/RAGEs are related to low lung function and poor prognosis in IPF patients, which can provide a reference for the prognosis evaluation of IPF patients.

【Key words】 Idiopathic pulmonary fibrosis; High mobility group protein B1; Latent transforming growth factor β binding protein 2; Advanced glycation end product; Receptor of advanced glycation end product soluble; Lung function; Prognosis

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种不明原因导致的进行性肺间质纤维化疾病, 病理特征以弥漫性肺细胞炎、肺泡结构紊乱为主, 患者肺功能呈限制性通气功能障碍, 气体交换下降, 临床缺乏有效的救治手段, 预后极差, 病死率高, 多数患者确诊后 2~5 年内死亡^[1]。了解与 IPF 预后相关指标有助于早期预测患者预后, 改进治疗措施。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein B1, HMGB1) 是人体重要的促炎细胞因子, 近期研究显示, HMGB1 异常激活与肺纤维化发病机制有关^[2]。潜在转化生长因子结合蛋白 2 (latent transforming growth factor β -binding protein-2, LTBP2) 是一种细胞外基质糖蛋白, 在胚胎发生、修复动脉损伤、细胞黏附及弹性纤维凝聚等过程中发挥重要作用, 被认为是纤维化失调相关基因蛋白^[3]。晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end product, AGE) 通过促使细胞外基质分泌, 致纤维化相关细胞因子表达, 参与多种组织纤维化过程, AGE 及其受体 (RAGEs) 参与肺纤维化进程^[4]。现分析 IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 与肺功能和预后的关系, 旨在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 选取 2017 年 5 月—2018 年 3 月海南省人民医院呼吸与危重症医学科收治 IPF 患者 102 例 (IPF 组), 男 62 例, 女 40 例, 年龄 57~73 (64.51 $\pm$ 5.57) 岁; 病程 6~25 (15.41 $\pm$ 2.81) 个月; 合并呼吸

衰竭 21 例; 体质指数 (BMI) 20.41~28.12 (24.84 $\pm$ 3.01) kg/m²; 吸烟史 46 例, 饮酒史 38 例; 改良版英国医学研究会呼吸困难量表 (MMRC) 分级^[5]: 2 级 38 例, 3 级 41 例, 4 级 23 例; 有 IPF 家族史 19 例; 均无明显诱因。另选择门诊体检健康者 93 例为健康对照组, 均排除肺部感染、全身系统性疾病, 男 43 例, 女 50 例, 年龄 57~75 (64.68 $\pm$ 5.43) 岁; BMI 20.76~27.83 (24.06 $\pm$ 2.97) kg/m²; 吸烟史 21 例, 饮酒史 28 例。2 组受试者年龄、BMI、饮酒史比例比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), IPF 组男性、吸烟史比例高于健康对照组 ($P<0.05$)。本研究获得医院伦理委员会批准, 受试者或其直系亲属均知晓本研究目的及内容并签署同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合“特发性肺纤维化诊断和治疗中国专家共识”诊断标准^[6]; ②首次确诊 IPF; ③无肺部外伤史、结核史。(2) 排除标准: ①合并支气管扩张、肺部感染、肺气肿、肺癌者; ②合并其他系统严重功能障碍; ③IPF 急性加重; ④不配合随访, 失访者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs 检测: IPF 患者入院 24 h 内、健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 3~5 ml, TDZ4-WS 低速自动平衡离心机 (长沙湘智离心机仪器有限公司) 离心取血清保存于 -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 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs 水平,试剂盒购自美国 Epitope Diagnostics 公司,计算 AGE/RAGEs 比值。

1.3.2 肺功能指标检测:以 Master Screen 肺功能仪检测第 1 秒用力呼气容积(FEV_1)和用力肺活量(FVC),计算 FEV_1/FVC 、 FEV_1 占预计值百分数($FEV_1\%$ pred),1 min 最大自主通气量(MVV)、最大自主通气量占预计值百分比($MVV\%$ pred)、肺一氧化碳弥散量(DLco),上述指标测量 3 次,取最大值。

1.3.3 预后情况:所有 IPF 患者均采用电话或微信随访,随访至 2020 年 3 月,确诊时间为起点,随访截止时间为终点。统计随访期间 IPF 急性加重、肺并发症(肺动脉高压、肺气肿、呼吸衰竭等)、死亡事件发生情况,发生以上情况患者归为预后不良亚组,未发生者归为预后良好亚组。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。符合正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。Pearson 相关系数描述各变量之间相关性,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 患者预后的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs、AGE/RAGEs 水平比较 IPF 组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、

AGE/RAGEs 比值高于健康对照组($P < 0.01$),RAGEs 低于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

2.2 2 组肺功能指标比较 IPF 组 FEV_1 、 FEV_1/FVC 、 $FEV_1\%$ pred、MVV、 $MVV\%$ pred、DLco 低于健康对照组($P < 0.01$),见表 2。

2.3 IPF 患者 2 亚组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs、AGE/RAGEs 水平比较 截止末次随访,IPF 患者发生 IPF 急性加重 18 例,肺动脉高压 12 例,肺气肿 15 例,呼吸衰竭 3 例,死亡 2 例。预后不良亚组血清 HMGB1、LTBP2、AGE、AGE/RAGEs 比值高于预后良好亚组($P < 0.05$),RAGEs 低于预后良好亚组($P < 0.01$),见表 3。

2.4 IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与肺功能相关性 IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与 FEV_1 、 FEV_1/FVC 、 $FEV_1\%$ pred、MVV、 $MVV\%$ pred、DLco 呈负相关($P < 0.05$),见表 4。

表 4 IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与肺功能相关性

指标	HMGB1		LTBP2		AGE/RAGEs	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
FEV_1	-0.592	0.005	-0.642	0.000	-0.569	0.000
FEV_1/FVC	-0.564	0.007	-0.535	0.017	-0.412	0.003
$FEV_1\%$ pred	-0.506	0.030	-0.613	0.002	-0.384	0.020
MVV	-0.612	0.003	-0.538	0.015	-0.413	0.008
$MVV\%$ pred	-0.819	0.000	-0.637	0.000	-0.333	0.004
DLco	-0.795	0.000	-0.801	0.000	-0.535	0.000

表 1 2 组受试者血清 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs、AGE/RAGEs 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 ($\mu\text{g/L}$)	LTBP2 (ng/ml)	AGE (pg/ml)	RAGEs (pg/ml)	AGE/RAGEs (%)
健康对照组	93	32.15 $\pm$ 6.58	5.12 $\pm$ 1.84	10.24 $\pm$ 2.35	1436.35 $\pm$ 243.16	0.71 $\pm$ 0.26
IPF 组	102	112.26 $\pm$ 19.35	16.32 $\pm$ 3.27	22.35 $\pm$ 4.16	524.67 $\pm$ 102.34	4.26 $\pm$ 0.35
t 值		37.967	29.093	24.705	33.549	80.852
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 2 组受试者肺功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FEV_1 (L)	FEV_1/FVC (%)	$FEV_1\%$ pred (%)	MVV (L/min)	$MVV\%$ pred (%)	DLco (%)
健康对照组	93	2.05 $\pm$ 0.89	73.56 $\pm$ 8.46	75.35 $\pm$ 8.46	85.35 $\pm$ 12.04	85.46 $\pm$ 8.65	79.24 $\pm$ 6.35
IPF 组	102	1.32 $\pm$ 0.31	61.42 $\pm$ 7.19	64.24 $\pm$ 6.35	68.28 $\pm$ 10.19	71.42 $\pm$ 6.81	66.31 $\pm$ 3.47
t 值		7.817	10.826	10.405	10.716	12.649	17.810
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 2 亚组患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE、RAGEs、AGE/RAGEs 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 ($\mu\text{g/L}$)	LTBP2 (ng/ml)	AGE (pg/ml)	RAGEs (pg/ml)	AGE/RAGEs (%)
预后不良亚组	50	121.26 $\pm$ 23.64	21.42 $\pm$ 5.72	25.05 $\pm$ 5.19	485.10 $\pm$ 95.26	5.16 $\pm$ 0.18
预后良好亚组	52	103.61 $\pm$ 18.34	11.42 $\pm$ 3.06	19.75 $\pm$ 3.06	562.72 $\pm$ 122.58	3.51 $\pm$ 0.06
t 值		4.222	11.068	6.312	3.561	61.610
P 值		0.000	0.000	0.000	0.001	0.000

2.5 血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 预后的效能 ROC 分析血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 预后的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.744 (95% CI 0.576 ~ 0.960)、0.706 (95% CI 0.547 ~ 0.911)、0.691 (95% CI 0.490 ~ 0.975), 联合血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 可提高对 IPF 预后的预测效能, AUC 为 0.802 (95% CI 0.664 ~ 0.969), 大于血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 单独预测, 见图 1。血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 预后的 Cut-off 值、AUC、敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值见表 5。

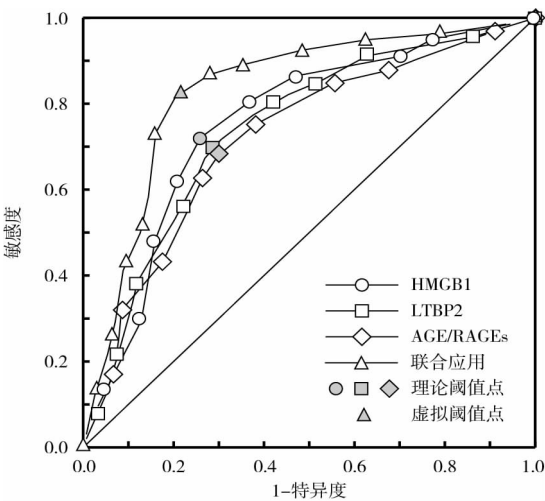


图 1 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 预后的 ROC 分析

3 讨论

IPF 是一种慢性、进行性、纤维化性肺部疾病, 全球范围约 300 万 IPF 患者, 发病率随年龄升高显著增加^[7]。由于肺正常组织被细胞外基质取代, 肺泡结构破坏, 肺顺应性下降, 气体交换中断, 患者可逐渐出现呼吸衰竭和死亡^[8-10]。IPF 病因和发病机制尚不清楚, 目前公认的机制包括反复的肺泡上皮损伤, 转换生长因子 (transforming growth factor, TGF)、血小板衍生生长因子、碱性成纤维细胞生长因子等促纤维化细胞因子的调节, 成纤维细胞活化和增殖, 成纤维细胞向肌成纤维细胞分化, 导致细胞外基质蛋白过量产生, 发生异常纤维化。

与肺纤维化相关的分子生物标志物可能反映疾病活动度, 有望为 IPF 早期诊断、预后评估、个性化治疗提供参考^[11-12]。目前缺乏 IPF 预后评估的有效方法和指标, 肺部 CT 在 IPF 诊断中具有一定价值, 但无法早期发现 IPF 微小病变, 对预后评估价值不大, 血清学指标无创, 可重复检测, 在 IPF 预后评估中颇具前景。

HMGB1 是一种 DNA 结合蛋白, 通过与 DNA 结合发挥调节基因转录、稳定细胞结构等生理功能, 当细胞损伤时炎性介质被激活, HMGB1 通过活化主动分泌或坏死细胞被动释放形式从细胞核中进入外周血循环, 发挥刺激炎症反应、趋化、调节免疫应答、代谢等功能^[13-15]。Chirico 等^[16]报道, 血清 HMGB1 水平在肺纤维化患者中明显升高, 并且 HMGB1 水平越高, 肺功能下降越快。本研究结果表明, IPF 患者血清 HMGB1 水平显著升高, 而肺通气和弥散功能指标降低, 说明血清 HMGB1 水平能够反映 IPF 肺功能实质损害进展。本研究通过随访发现, IPF 预后不良者血清 HMGB1 水平高于预后良好者, 提示 HMGB1 可作为 IPF 预后评估的潜在生物学指标。HMGB1 参与 IPF 的机制可能为: HMGB1 通过与晚期糖基化终产物受体、Toll 样受体结合激活核因子- κ B 通路, 诱导氧化应激反应, 加剧炎症反应, 介导肺损伤过程^[17]。动物研究显示, 敲除 HMGB1 后, 致纤维化因子 TGF 诱导的小鼠肺纤维化模型平滑肌肌动蛋白、I 型胶原蛋白表达受到抑制, HMGB1 表达受 miR-627 调控, miR-627 通过与 HMGB1 的 3' 未翻译区结合抑制 HMGB1 表达, miR-627/HMGB1/NF- κ B/TGF- β_1 信号通路参与肺纤维化进程^[18]。

LTBP2 是 TGF 小分子结合蛋白, 在肺、皮肤和大血管中表达, 作为 TGF- β 潜在复合物在细胞黏附、损伤修复、弹性纤维凝聚等病理生理过程中发挥重要作用, 参与多个器官纤维化或组织重塑^[19]。LTBP2 在肺纤维化中的作用机制尚不明确, 本研究发现, IPF 患者血清 LTBP2 水平升高, LTBP2 与肺通气和弥散功能指标呈负相关, 说明 LTBP2 表达与 IPF 肺功能恶性进展有关。Enomoto 等^[20]报道显示, 肺纤维化组织中 LTBP2 表达上调, IPF 急性加重时增生间质平滑肌细胞

表 5 血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 预后的效能

指标	Cut-off 值	AUC (95% CI)	敏感度	特异度	约登指数
HMGB1	112 μ g/L	0.744 (0.576 ~ 0.960)	0.723	0.751	0.474
LTBP2	18 ng/ml	0.706 (0.547 ~ 0.911)	0.694	0.712	0.406
AGE/RAGEs	4.2 %	0.691 (0.490 ~ 0.975)	0.685	0.703	0.388
三者联合	-	0.802 (0.664 ~ 0.969)	0.816	0.783	0.599

和非成纤维细胞灶肌纤维母细胞 LTBP2 表达进一步升高,LTBP2 与 IPF 患者 FVC 呈负相关,可预测 IPF 患者呼吸事件相关死亡风险。本研究发现,LTBP2 在 IPF 不同预后患者中差异显著,说明 LTBP2 可作为 IPF 患者预后的预测因子。一项体外研究显示,LTBP2 通过与纤颤蛋白 1 结合与 LTBP1 竞争,间接参与了促纤维化生长因子的存储和激活^[21]。LTBP2 可直接上调 TGF- β 1 表达,诱导成纤维细胞增殖,成纤维细胞与纤维连接蛋白黏附,导致肺纤维化^[22]。提示 LTBP2 可作为 IPF 持续纤维化和急性加重的风险指标。

RAGE 是一种免疫球蛋白超家族蛋白,在肺组织中高表达,通过细胞外基质(extracellular matrix,ECM)跨膜区直接分泌到 ECM,参与维持肺泡结构、I 型肺泡细胞的生存发育和分化。AGE 是还原糖单糖与蛋白游离氨基非酶反应的产物,通过作用于细胞和 ECM 蛋白交联信号通路促使创面异常愈合,改变胶原纤维理化性质和组织硬度^[23]。RAGE 与 AGE 结合后阻断 AGE 细胞信号通路,减弱 RAGE 作用,AGE/RAGE 信号通路参与上皮间质转化过程^[24]。本研究结果显示,IPF 患者中存在 AGE/RAGEs 失衡,AGE 水平升高,RAGEs 降低,提示 RAGE 作用受到抑制。本研究结果表明,AGE/RAGEs 与肺功能同样存在显著相关性,AGE/RAGEs 过度增高可能导致 IPF 持续肺纤维化和肺功能下降进程。RAGE 可阻断 TGF- β 诱导的 Smad2、ERK 和 JNK 信号激活,抑制上皮-间质转化进程^[4],提示 RAGE 表达缺失可能介导上皮-间质转化过程,导致纤维化。HMGB1 作为 RAGE 配体,通过激活磷酸化的丝分裂原活化蛋白激酶 1/2、磷酸化的胞外信号调节激酶 1/2 和 pc-Jun 信号通路,刺激肝脏星状细胞迁移,通过 RAGE 信号上调 I 型胶原表达和沉积,促使肝纤维化进程^[25]。各种病理生理条件下肺组织 RAGE 及其配体 AGE、HMGB1 相互作用,介导了炎症反应和氧化应激反应,导致了 IPF、急性肺损伤、囊性纤维化的发生^[26]。

ROC 分析结果显示,血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 预测 IPF 患者预后均具有一定价值,联合 3 项指标可提高预测准确性,其预测的敏感度和特异度均较高,提示三者联合检测可以较为准确地评估 IPF 患者预后。

综上,IPF 患者血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平升高,高 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 水平与 IPF 患者肺功能低下有关。血清 HMGB1、LTBP2、AGE/RAGEs 持续升高可能导致 IPF 病情进展,可为 IPF 患者预后评估提供参考。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

丁丽丽:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;蔡暖暖、陈丽瑾:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;吴海洪:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;谢甜:进行统计学分析

参考文献

- [1] Xaubet A, Ancochea J, Molina-Molina M. Idiopathic pulmonary fibrosis. Fibrosis pulmonar idiopática [J]. Med Clin (Barc), 2017, 148(4):170-175.DOI:10.1016/j.medcli.2016.11.004.
- [2] Zhang L, Ji Y, Kang Z, et al. Protocatechuic aldehyde ameliorates experimental pulmonary fibrosis by modulating HMGB1/RAGE pathway [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 283(1):50-56.DOI:10.1016/j.taap.2015.01.001.
- [3] Potus F, Hindmarch CCT, Dunham-Snary KJ, et al. Transcriptomic signature of right ventricular failure in experimental pulmonary arterial hypertension: Deep sequencing demonstrates mitochondrial, fibrotic, inflammatory and angiogenic abnormalities [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9):2730.DOI:10.3390/ijms19092730.
- [4] Serban AI, Stanca L, Geicu OI, et al. RAGE and TGF- β 1 cross-talk regulate extracellular matrix turnover and cytokine synthesis in AGEs exposed fibroblast cells [J]. PLoS One, 2016, 11 (3): e0152376.DOI:10.1371/journal.pone.0152376.
- [5] 刘欣欣, 王浩彦, 张曼林, 等. 改良版英国医学研究会呼吸困难量表评分及肺功能测定对慢性阻塞性肺疾病患者运动能力的预测价值研究 [J]. 临床内科杂志, 2016, 33(6):404-406.DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2016.06.014.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会间质性肺疾病学组. 特发性肺纤维化诊断和治疗中国专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39 (6):427-432.DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2016.06.005.
- [7] 王传海, 李承红, 孔彬. N-乙酰半胱氨酸辅治特发性肺纤维化的临床疗效观察 [J]. 疑难病杂志, 2015, 14(2):129-131,136. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2015.02.006.
- [8] 申严, 卓宋明, 庄虹, 等. 小剂量阿奇霉素联合吸入布地奈德和 N-乙酰半胱氨酸治疗特发性肺纤维化的临床疗效分析 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(5):905-908.DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2015.05.026.
- [9] 杨丽玮, 卢佩佩, 西丽娜依? 买买提, 郭淑丽. 布氏杆菌感染者血清 Tim-3/HMGB1 与相关细胞因子的变化 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19 (10):1016-1019.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.011.
- [10] 李加贝, 吕建祥, 李忠贤. 血液净化联合乙酰半胱氨酸治疗急性百草枯中毒的效果及对肺纤维化的影响 [J]. 中国医药, 2020, 15(1): 45-48.DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.01.012.
- [11] 闫春江, 黎永琳, 李燕, 王津, 奚小土. 血必净注射液对脓毒症患者血清 miR-223 及高迁移率族蛋白 B1 表达的影响 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(3):243-246.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.03.007.
- [12] Sgalla G, Iovene B, Calvello M, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenesis and management [J]. Respir Res, 2018, 19 (1):32. DOI:10.1186/s12931-018-0730-2.
- [13] Lee K, Chang Y, Song K, et al. Associations between single nucleotide polymorphisms of high mobility group box 1 protein and clinical outcomes in Korean sepsis patients [J]. Yonsei Med J, 2016, 57(1):111-117.DOI:10.3349/ymj.2016.57.1.111.

- [14] 廖洋,江宇,罗春,程胜.FIZZ1 和白细胞介素 4 及 γ -干扰素在弥漫性间质性肺疾病中的表达及对患者临床转归的影响[J].中国医药,2019,14(4):541-544.DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2019.04.016.
- [15] 刘艳妮,姚艳粉.猪肺磷脂注射液联合经鼻间歇正压通气治疗新生儿呼吸窘迫综合征的临床疗效及其对血清人高迁移率族蛋白 B1、重组人巨噬细胞移动抑制因子水平的影响[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(6):94-97.DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2019.06.020.
- [16] Chirico V, Lacquaniti A, Leonardi S, et al. Acute pulmonary exacerbation and lung function decline in patients with cystic fibrosis: high-mobility group box 1 (HMGB1) between inflammation and infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(4):368, e1-e9.DOI:10.1016/j.cmi.2014.11.004.
- [17] 史昊,林锦乐,张文武,等. HMGB1-RAGE 通路及其在急性呼吸窘迫综合征中的作用[J]. 临床急诊杂志, 2016, 17(5):409-412. DOI: 10.13201/j.issn.1009-5918.2016.05.025.
- [18] Li J, Kong X, Jiang S, et al. miR-627/HMGB1/NF- κ B regulatory loop modulates TGF- β_1 -induced pulmonary fibrosis[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3):2983-2993.DOI:10.1002/jcb.27038.
- [19] Sideek MA, Teia A, Kopecki Z, et al. Co-localization of LTBP-2 with FGF-2 in fibrotic human keloid and hypertrophic scar[J]. J Mol Histol, 2016, 47(1):35-45.DOI:10.1007/s10735-015-9645-0.
- [20] Enomoto Y, Matsushima S, Shibata K, et al. LTBP2 is secreted from lung myofibroblasts and is a potential biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Clin Sci (Lond), 2018, 132(14):1565-1580.DOI:10.1042/CS20180435.
- [21] Hirani R, Hanssen E, Gibson MA. LTBP-2 specifically interacts with the amino-terminal region of fibrillin-1 and competes with LTBP-1 for binding to this microfibrillar protein[J]. Matrix Biol, 2007, 26(4):213-223.DOI:10.1016/j.matbio.2006.12.006.
- [22] Sideek MA, Smith J, Menz C, et al. A central bioactive region of LTBP-2 stimulates the expression of TGF- β_1 in fibroblasts via Akt and p38 signalling pathways[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(10):2114. DOI:10.3390/ijms18102114.
- [23] Lee EJ, Kang MK, Kim DY, et al. Chrysin inhibits advanced glycation end products-induced kidney fibrosis in renal mesangial cells and diabetic kidneys[J]. Nutrients, 2018, 10(7):882.DOI:10.3390/nu10070882.
- [24] 唐康, 程勇. AGE/RAGE 参与结直肠癌细胞上皮-间质转化及肿瘤干性的调控[J]. 肿瘤, 2017, 37(6):576-586.DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2017.11.054.
- [25] Ge X, Arriazu E, Magdaleno F, et al. High mobility group box-1 drives fibrosis progression signaling via the receptor for advanced glycation end products in mice [J]. Hepatology, 2018, 68(6):2380-2404.DOI:10.1002/hep.30093.
- [26] Khaket TP, Kang SC, Mukherjee TK. The potential of receptor for advanced glycation end products (RAGE) as a therapeutic target for lung associated diseases[J]. Curr Drug Targets, 2019, 20(6):679-689.DOI:10.2174/1389450120666181120102159.

(收稿日期:2021-01-04)

撰写医学论文主体部分的要求

- 1 前言 概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据、研究方法、预期结果和意义等。仅提供与研究主题紧密相关的参考文献,切忌写成文献综述。不要涉及本研究中的数据或结论。一般以 200~300 个汉字为宜,占全文字数的 5% 左右。
- 2 方法 描述研究对象(人或实验动物,包括对照组)的选择及其基本情况,以及研究所采用的方法(包括分组方法)。实验研究的论文常写成“材料与方法”,临床研究论文常写成“资料与方法”。临床试验研究还应说明试验程序是否经所在单位或地区伦理学相关机构的批准,研究对象是否知情同意并签署知情同意书。
 - 2.1 观察对象:观察对象为患者,需注明病例和对照者来源、选择标准、一般情况、观察指标和疗效判断标准等。研究对象为实验动物,需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。
 - 2.2 研究方法:详述新创的方法及改良方法的改进之处,以备他人重复。采用他人方法,应以引用文献的方式给出方法的出处,无须详细描述。
 - 2.3 药品与试剂:药品及化学试剂使用通用名称,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位、生产时间及给药途径。
 - 2.4 仪器、设备:应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述工作原理。
 - 2.5 统计学处理:描述统计学方法及其选择依据,并说明所使用的统计学软件。
- 3 结果 “结果”是指实验所得数据、观察记录,经过综合分析和统计学处理的结果,而不是原始数据,更不是原始记录。按逻辑顺序在正文的文字、表格和图中描述所获得的结果。结果的叙述应实事求是,简洁明了,数据准确,层次清楚,逻辑严谨,不应与讨论内容相混淆。应着重总结重要的研究成果。以数据反映结果时,应注意不能只描述导数(如百分数),还应同时给出据以计算导数的绝对数。一般应对所得数据进行统计学处理,并给出具体的统计值,例如: $t = 2.85, P < 0.01$ 。
- 4 讨论 “讨论”是对研究结果的科学解释与评价,是研究所形成的科学理论。着重讨论研究成果的创新之处及从中导出的结论,包括理论意义、实际应用价值、局限性,及其对进一步研究的启示。如果不能导出结论,也可通过讨论,提出建议、设想、改进意见或待解决的问题等。应将本研究结果与其他有关的研究相比较,并将本研究结论与目的联系起来讨论,并列出具体的参考文献。不必重述已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不应列入图或表。

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 05. 009

论著 · 临床

QPRT、miR-26b-5p 在乳腺癌中表达及其与患者预后的关系

袁南贵, 罗雪平, 胡玉萍, 姚斌, 黄伟玲

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目 (A2018074); 广州市花都区科技计划项目 (18-HDWS-023)

作者单位: 510800 广州市中西医结合医院乳腺科 (袁南贵、胡玉萍、姚斌、黄伟玲), 检验科 (罗雪平)

通信作者: 胡玉萍, E-mail: Hnxykjyh-bx@163. com

【摘要】目的 分析喹啉酸磷酸核糖基转移酶 (QPRT)、微小 RNA-26b-5p (miR-26b-5p) 在乳腺癌中表达及其与患者预后的关系。**方法** 选取 2015 年 3 月—2017 年 10 月于广州市中西医结合医院行乳腺癌 (经病理组织检查均为乳腺浸润性导管癌) 改良根治术女性患者 89 例为研究对象, 获取乳腺癌组织 (观察组) 和癌旁正常乳腺组织 (对照组), 免疫组化法检测 QPRT 表达, 原位杂交技术检测 miR-26b-5p 表达水平, 分析 QPRT、miR-26b-5p 水平与患者术后复发转移的关系, COX 多因素分析乳腺癌患者发生复发转移的影响因素。**结果** 观察组 QPRT 的阳性表达率明显高于对照组, miR-26b-5p 的阳性表达率明显低于对照组 ($\chi^2/P = 54.395/0.000, 23.448/0.000$); QPRT 与 miR-26b-5p 在乳腺癌组织中表达呈负相关 ($r/P = -0.343/0.000$); QPRT、miR-26b-5p 表达水平与患者 TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移有关 (QPRT: $\chi^2/P = 5.326/0.021, 4.991/0.025, 6.740/0.009$, miR-26b-5p: $\chi^2/P = 5.902/0.015, 4.946/0.026, 7.949/0.005$); QPRT 高表达患者术后复发转移率明显高于 QPRT 低表达患者 (65.38% vs. 29.73%, $\chi^2/P = 13.260/0.000$), miR-26b-5p 低表达患者术后复发转移率明显高于 miR-26b-5p 高表达患者 (63.79% vs. 25.81%, $\chi^2/P = 12.550/0.000$); 分化程度低、TNM 分期 III ~ IV 期、淋巴结发生转移、QPRT 高表达、miR-26b-5p 低表达是影响乳腺癌患者术后复发转移的危险因素 [OR (95% CI) = 2.381 (1.394 ~ 4.066), 2.317 (1.272 ~ 4.221), 2.449 (1.243 ~ 4.825), 2.604 (1.501 ~ 4.517), 3.007 (1.625 ~ 5.564)]。**结论** 乳腺癌组织中 QPRT 表达上调, miR-26b-5p 表达下调, 是影响乳腺癌患者术后发生复发转移的危险因素, 可能为临床治疗乳腺癌提供潜在靶点。

【关键词】 乳腺癌; 喹啉酸磷酸核糖基转移酶; 微小 RNA-26b-5p; 预后; 相关性**【中图分类号】** R737.9 **【文献标识码】** A

The expression of QPRT and miR-26b-5p in breast cancer and their relationship with the prognosis of patients Yuan Nanguai*, Luo Xueping, Hu Yuping, Yao Bin, Huang Weiling. *Department of Mammary Gland, Guangzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Guangdong Province, Guangzhou 510800, China

Corresponding author: Hu Yuping, E-mail: Hnxykjyh_bx@163. com

Funding program: Guangdong Medical Science and Technology Research Fund Project (A2018074); Guangzhou Huadu District Science and Technology Project (18-HDWS-023)

【Abstract】 Objective To analyze the expression of quinolinic acid phosphoribosyl transferase (QPRT) and microRNA-26b-5p (miR-26b-5p) in breast cancer and their relationship with the prognosis of patients. **Methods** From March 2015 to October 2017, 89 female patients undergoing modified radical mastectomy in the Breast Department of Guangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine (all were invasive ductal carcinoma of the breast after pathological examination) were selected as the research objects, and breast cancer tissues were obtained. (Observation group) and normal breast tissue adjacent to cancer (control group), immunohistochemical method was used to detect QPRT expression, in situ hybridization was used to detect miR-26b-5p expression level, and the relationship between QPRT, miR-26b-5p level and postoperative recurrence and metastasis was analyzed. Factor analysis of the influencing factors of recurrence and metastasis of breast cancer patients. **Results** The positive expression rate of QPRT in the observation group was significantly higher than that of the control group, and the positive expression rate of miR-26b-5p was significantly lower than that of the control group ($\chi^2/P = 54.395/0.000, 23.448/0.000$); QPRT and miR-26b-5p were found in breast cancer tissues The expression was negatively correlated ($r/P = -0.343/0.000$). The expression levels of QPRT and miR-26b-5p were related to

the patient's TNM stage, tumor differentiation, and lymph node metastasis (QPRT: $\chi^2/P = 5.326/0.021, 4.991/0.025, 6.740/0.009$, miR-26b-5p: $\chi^2/P = 5.902/0.015, 4.946/0.026, 7.949/0.005$); the postoperative recurrence and metastasis rate of patients with high QPRT expression was significantly higher than that of patients with low QPRT expression (65.38% vs. 29.73%, $\chi^2/P = 13.260/0.000$), the postoperative recurrence and metastasis rate of patients with low miR-26b-5p expression was significantly higher than that of patients with high miR-26b-5p expression (63.79% vs. 25.81%, $\chi^2/P = 12.550/0.000$); the degree of differentiation was low, TNM stage III-IV, Lymph node metastasis, high QPRT expression, and low miR-26b-5p expression are risk factors affecting postoperative recurrence and metastasis of breast cancer patients [OR (95% CI) = 2.381 (1.394 - 4.066), 2.317 (1.272 - 4.221), 2.449 (1.243 - 4.825), 2.604 (1.501 - 4.517), 3.007 (1.625 - 5.564)]. **Conclusion** The up-regulation of QPRT expression in breast cancer tissues and the down-regulation of miR-26b-5p expression are risk factors affecting postoperative recurrence and metastasis of breast cancer patients, and may provide potential targets for clinical treatment of breast cancer.

【Key words】 Breast cancer; Quinolinic acid phosphoribosyl transferase; microRNA-26b-5p; Prognosis; Correlation

乳腺癌是女性最为常见的恶性肿瘤之一,具有较高的发病率和病死率。2019 年全世界发现乳腺癌约 210 万,严重威胁女性健康^[1]。乳腺癌的发生发展受多种因素、多种方式共同影响,基于美国国家生物信息中心的 GEO 数据库中乳腺癌基因表达芯片显示,与甘油酯类、活性氮类及辅酶类代谢过程相关基因的差异性表达可能与乳腺癌预后有关^[2]。其中,喹啉酸磷酸核糖基转移酶 (quinolinic acid phosphoribosyltransferase, QPRT) 是喹啉酸盐代谢中的关键酶,可能参与乳腺癌辅酶代谢过程,并且 QPRT 高表达提示乳腺癌患者较低生存率,与患者预后不良有关^[2]。关于 QPRT 与乳腺癌患者临床病理参数的关系研究国内外鲜见报道。近年来,微小 RNA (microRNA, miRNA) 在恶性肿瘤中的作用越来越受到关注,通过靶向 mRNA 的 3' 非翻译区而抑制其靶基因的表达,参与肿瘤的增殖、分化、侵袭过程^[3-4]。有研究发现,miR-26b-5p 通过孕激素受体 A 亚型 (progesterone receptor A, PR-A) 受黄体酮激素调控,其表达水平与 PR-A 呈正相关,独立介导乳腺癌细胞的侵袭和转移^[5]。因此,本研究通过检测乳腺癌组织中 QPRT、miR-26b-5p 表达水平,探究其与乳腺癌患者预后的相关性,讨论其潜在临床价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2015 年 3 月—2017 年 10 月于广州市中西医结合医院行乳腺癌改良根治术女性患者 89 例为观察组,经病理组织检查均为乳腺浸润性导管癌,年龄 29 ~ 67 岁,中位数 49 岁;绝经 55 例;肿瘤直径 ≥ 6 cm 52 例, < 6 cm 37 例;TNM 分期: I ~ II 期 31 例, III ~ IV 期 58 例;低分化程度 62 例,中、高分化程度 27 例;有淋巴结转移 55 例,无淋巴结转移 34 例。同时取癌旁正常乳腺组织为对照组。本研究获得医院伦理委员会批准同意,患者及家属知情同意并签署知情

同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①术前均未接受任何辅助化疗或内分泌治疗;②病理组织石蜡标本均保存完整;③临床资料完整。(2) 排除标准:①合并其他肿瘤;②合并免疫缺陷、传染性疾病;③因各种原因拒绝参与本研究。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 免疫组化法检测 QPRT 表达水平:乳腺癌改良根治术后,将乳腺癌组织做成石蜡标本,连续切片厚度 4 μm ,进行脱蜡处理,采用链霉亲和素-生物素复合物 (SP) 法染色,方法步骤严格按照试剂盒说明书进行。一抗采用兔 anti-QPRT 单克隆抗体试剂盒 (购自上海爱必信生物科技有限公司) 按照 1:50 稀释,组织切片与一抗在 4℃ 过夜,随后加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗兔 IgG (1:200, 购自美国 Abcam 公司) 孵育 1 h,再加入 SP 孵育 30 min,将每个切片在二氨基联苯胺 (DAB) 工作液 500 μl 中室温下浸泡 3 ~ 10 min,苏木素复染,脱水、透明、封片。用磷酸盐缓冲液作为阴性对照。结果判定标准:(1) 按染色强度记分,无染色为 0 分,浅黄色为 1 分,黄色或黄棕色 2 分,棕褐色为 3 分;(2) 按阳性细胞百分比记分,无阳性细胞记 0 分,阳性细胞 $< 25\%$ 记 1 分, $25\% \sim 50\%$ 记 2 分, $51\% \sim 75\%$ 记 3 分, $> 75\%$ 记 4 分。取 2 种方法得分的乘积,乘积 0 分为阴性 (-), 1 分为弱阳性 (+), 2 ~ 3 分为阳性 (++), > 3 分为强阳性 (+++); 同时定义 > 3 分为高表达, ≤ 3 分为低表达。

1.3.2 原位杂交技术检测 miR-26b-5p 表达水平:石蜡切片经梯度脱蜡后利用 3% 双氧水在室温下浸泡 10 min,蒸馏水清洗 3 遍,按照试剂盒说明书方法进行原位杂交,置于光学显微镜 (德国徕卡公司, 型号 DM1000) 观察。结果判定标准:(1) 按染色强度,无染色或浅黄色颗粒为 1 分,黄色或黄棕色颗粒为 2 分,棕

褐色颗粒或团片状为 3 分; (2) 按阳性细胞百分比记分: 无阳性细胞记 0 分, 阳性细胞 < 10% 记 1 分, 10% ~ 50% 记 2 分, > 50% 记 3 分。取 2 种方法得分的乘积, 乘积 0 分为阴性 (-), 1 分为弱阳性 (+), 2 ~ 3 分为阳性 (++), > 3 分为强阳性 (+++); 同时定义 > 3 分为高表达, ≤ 3 分为低表达。

1.3.3 记录随访情况: 患者术后即进行规范的后续治疗并进入随访观察, 每 3 个月进行一次电话或门诊随访, 观察记录患者 3 年内复发、转移情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析。计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 符合正态分布计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; Spearman 分析乳腺癌组织中 QPRT 与 miR-26b-5p 表达的关系; 采用 COX 多因素分析乳腺癌患者发生复发转移的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织与正常乳腺组织 QPRT、miR-26b-5p 表达比较 QPRT 主要定位于细胞核和细胞质, miR-

26b-5p 主要定位于细胞质, 见图 1、2。乳腺癌组织中 QPRT 表达 (-) 16 例 (17.98%), (+ ~ ++) 34 例 (38.20%), (+++) 39 例 (43.82%), 其阳性表达率 82.02%, 明显高于癌旁正常乳腺组织的 26.97% ($\chi^2 = 54.395, P = 0.000$); 乳腺癌组织中 miR-26b-5p 表达 (-) 43 例 (48.32%), (+ ~ ++) 29 例 (32.58%), (+++) 17 例 (19.10%), 其阳性表达率 51.68%, 明显低于癌旁正常乳腺组织的 85.39% ($\chi^2 = 23.448, P = 0.000$), 见表 1。

2.2 QPRT、miR-26b-5p 在乳腺癌组织中表达的关系 利用 Spearman 分析乳腺癌组织中 QPRT、miR-26b-5p 表达关系, 结果显示二者表达呈负相关 ($r = -0.343, P = 0.000$)。

2.3 QPRT、miR-26b-5p 在不同临床/病理特征中表达水平比较 在乳腺癌组织中 QPRT、miR-26b-5p 高低表达水平在不同年龄、是否绝经、肿瘤直径中比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 在不同 TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移情况中比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

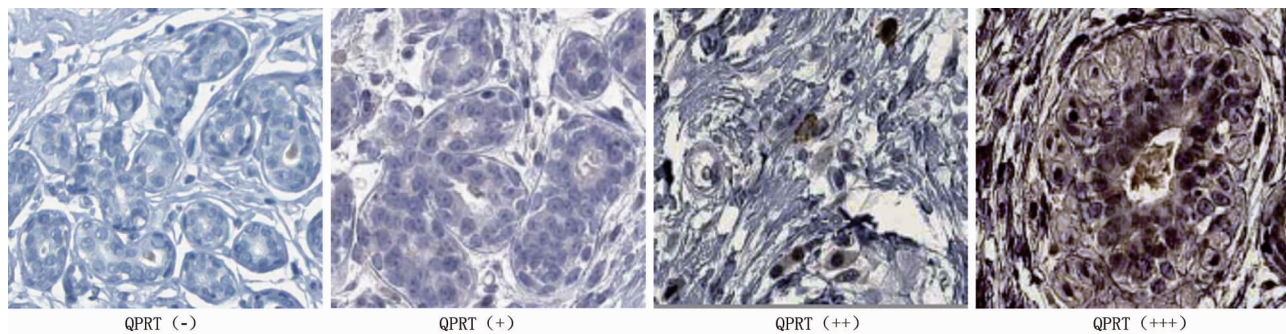


图 1 QPRT 在乳腺癌组织中的表达情况 (免疫组化染色, ×400)

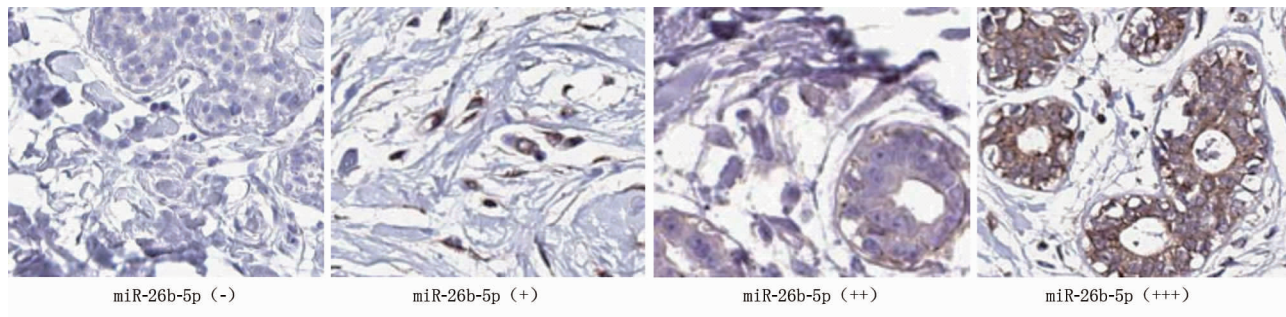


图 2 miR-26b-5p 在乳腺癌组织中的表达情况 (原位杂交技术, ×400)

表 1 QPRT、miR-26b-5p 在乳腺癌组织与正常乳腺组织中的表达比较 [例 (%)]

组别	例数	QPRT			miR-26b-5p		
		-	+ ~ ++	+++	-	+ ~ ++	+++
对照组	89	65 (73.03)	17 (19.10)	7 (7.87)	13 (14.61)	23 (25.84)	53 (59.55)
观察组	89	16 (17.98)	34 (38.20)	39 (43.82)	43 (48.32)	29 (32.58)	17 (19.10)
Z 值			48.329			35.278	
P 值			0.000			0.000	

2.4 QPRT、miR-26b-5p 表达水平与乳腺癌患者术后复发转移的关系 QPRT 高表达组乳腺癌患者术后复发转移率为 65.38% (34/52), 明显高于 QPRT 低表达组的 29.73% (11/37) ($\chi^2 = 13.260, P = 0.000$); miR-26b-5p 低表达组患者术后复发转移率为 63.79% (37/58), 明显高于 miR-26b-5p 高表达组的 25.81% (8/31) ($\chi^2 = 12.550, P = 0.000$), 见图 3。

2.5 影响乳腺癌患者术后复发转移的 COX 多因素分析 分化程度低、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结发生转移、QPRT 高表达、miR-26b-5p 低表达是影响乳腺癌患者术后复发转移的危险因素($P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的癌症,并逐渐成为影响女性健康的一个重要因素。近年来,全球乳腺癌的发病率和病死率持续上升,2019 年美国约有 26.8 万例乳腺癌新增病例和 4.2 万死亡病例,其发病率和病死率分别排名第一、二位, 占有所有新发癌症患者的 30% 和癌症相关死亡人数的 15%, 中国和印度等发展中国家的乳腺癌发病率也呈逐年增长趋势^[6-9], 因此, 早期诊断、及时治疗对改善乳腺癌患者预后具有重要意义。

乳腺癌是一种高度异质性疾病, 具有明显的分子特征和基因表达特征^[10-11]。随着临床治疗的不断优

表 2 乳腺癌组织 QPRT、miR-26b-5p 在不同临床/病理特征中表达水平比较 [例(%)]								
项 目		例数	QPRT		χ^2/P 值	miR-26b-5p		χ^2/P 值
			高表达 (n = 52)	低表达 (n = 37)		高表达 (n = 31)	低表达 (n = 58)	
年龄	<50 岁	46	24(52.17)	22(47.83)	1.533/0.216	27(58.70)	19(41.30)	1.757/0.185
	≥50 岁	43	28(65.12)	15(34.88)		31(72.09)	12(27.91)	
是否绝经	否	34	21(61.76)	13(38.24)	0.252/0.615	24(70.59)	10(29.41)	0.712/0.399
	是	55	31(56.36)	24(43.64)		34(61.82)	21(38.18)	
肿瘤直径	<6 cm	37	20(54.05)	17(45.95)	0.499/0.480	22(59.46)	15(40.54)	0.909/0.340
	≥6 cm	52	32(61.54)	20(38.46)		36(69.23)	16(30.77)	
TNM 分期	I ~ II 期	31	13(41.94)	18(58.06)	5.326/0.021	15(48.39)	16(51.61)	5.902/0.015
	III ~ IV 期	58	39(67.24)	19(32.76)		43(74.14)	15(25.86)	
分化程度	低	62	41(66.13)	21(33.87)	4.991/0.025	45(72.58)	17(27.42)	4.946/0.026
	中、高	27	11(40.74)	16(59.26)		13(48.15)	14(51.85)	
淋巴结转移	无	34	14(41.18)	20(58.82)	6.740/0.009	16(47.06)	18(52.94)	7.949/0.005
	有	55	38(69.09)	17(30.91)		42(76.36)	13(23.64)	

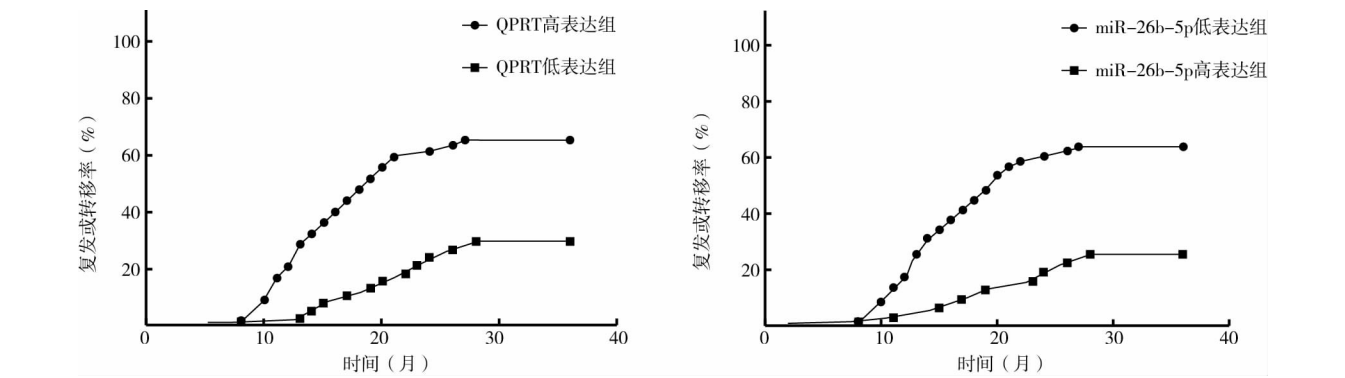


图 3 QPRT、miR-26b-5p 表达水平与乳腺癌患者术后复发转移的关系

表 3 影响乳腺癌患者术后复发转移的 COX 多因素分析						
变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
分化程度低	0.867	0.273	10.098	0.001	2.381	1.394 ~ 4.066
TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期	0.840	0.306	7.540	0.006	2.317	1.272 ~ 4.221
淋巴结转移	0.896	0.346	6.701	0.010	2.449	1.243 ~ 4.825
QPRT 高表达	0.957	0.281	11.560	0.001	2.604	1.501 ~ 4.517
miR-26b-5p 低表达	1.100	0.314	12.293	0.000	3.007	1.625 ~ 5.564

化,乳腺癌的病死率明显下降,但其远处转移和复发在临床上仍是一个巨大的挑战。Xu 等^[12]利用 4 个基因表达数据集(GEO)和癌症基因组图谱(TCGA)对乳腺癌和正常组织的差异表达基因(DEGs)进行分析,结果发现 547 个 DEGs(302 个上调,245 个下调),最终确定了 7 个重要的预后候选基因,QPRT 为其中之一。QPRT 是一种新生烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)合成途径中的关键酶,以往研究发现 QPRT 与 Wilms 肿瘤基因 1(WT1)关系密切,是白血病及其他恶性肿瘤的致癌基因^[13-14]。QPRT 在乳腺癌中的作用越来越受到重视。本结果显示,QPRT 在乳腺癌组织中的阳性表达率明显高于正常乳腺组织,表明 QPRT 在乳腺癌中可能发挥癌基因作用。乳腺癌组织中 QPRT 表达水平在不同 TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结有无转移中比较差异有统计学意义,表明 QPRT 可能参与乳腺癌的增殖分化、转移侵袭过程。有研究发现,与正常乳腺组织相比,QPRT 在乳腺癌组织中过表达,且与患者进展不良有关;体外实验发现,唐氏综合征细胞黏附分子反义 RNA1(DSCAM-AS1)通过竞争性结合 miR-150-5p 和 miR-2467-3p 增加 QPRT 表达,可促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,且抑制细胞凋亡^[15]。提示 QPRT 可能与其靶基因结合而表达上调,参与乳腺癌的发生、发展进程。本研究还发现,QPRT 高表达患者术后复发转移率明显高于 QPRT 低表达患者,且 QPRT 高表达是影响乳腺癌患者术后复发转移的危险因素,表明 QPRT 高表达与患者预后不良有关,但具体作用机制尚不明了。

miRNA 是一类进化高度保守的单链 RNA,结合于靶基因的 3'-非翻译区,通过阻止翻译或直接降解 mRNA 来抑制基因表达^[16-18]。本研究结果显示,miR-26b-5p 在乳腺癌组织中阳性表达率显著低于癌旁正常乳腺组织,并且其表达水平与患者 TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移及复发转移有关,miR-26b-5p 低表达是影响乳腺癌患者术后复发转移的危险因素,表明 miR-26b-5p 可能参与乳腺癌患者肿瘤细胞分化、侵袭及转移等病理过程。田连芳等^[19]研究发现,miR-26b-3p 在乳腺癌细胞系 MDA-MB-453 中表达最低,细胞实验证实 miR-26b-3p 可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,通过与其下游靶基因 E 盒锌指结合蛋白 1(ZEB1)结合参与肿瘤的发展过程。另有研究认为^[20],miR-26b 作为 miR-26 家族一员,其在炎性乳腺癌中的表达水平低于非炎性局部晚期乳腺癌,且均低于正常乳腺组织,这种表达下降可能与炎性表型、三阴性状态及治疗后肿瘤残留有关;进一步研究发现,敲除

miR-26b 可靶向上调 Zeste 基因增强子同源物 2(EZH2)蛋白表达,可能作为炎性乳腺癌和非炎性局部晚期乳腺癌的潜在治疗靶点。本研究 Spearman 分析显示,乳腺癌组织中 QPRT 和 miR-26b-5p 表达水平呈负相关,推测低表达的 miR-26b-5p 可能靶向上调 QPRT 表达参与乳腺癌的发生发展,具体作用机制有待进一步细胞实验证实。

综上所述,乳腺癌组织中 QPRT 表达上调,miR-26b-5p 表达下调,二者可能存在靶向关系;其水平差异性表达与患者不良预后有关,可能作为治疗乳腺癌的潜在靶点,具体机制值得进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

袁南贵:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;罗雪平:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;胡玉萍:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;姚斌:进行统计学分析;黄伟玲:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [2] 杨丽洁, 杨铁成, 石丽稳, 等. 基于生物信息学分析筛选三阴性乳腺癌相关的预后标志物[J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(8): 1505-1508. DOI:10.3760/cma.j.cn421213-20200224-01073.
- [3] Pan C, Luo J, Zhang J. Computational identification of RNA-Seq based miRNA-mediated prognostic modules in cancer[J]. IEEE J Biomed Health Inform, 2020, 24(2):626-633. DOI: 10.1109/JBHI.2019.2911528.
- [4] Zhang M, Shi Y, Zhang Y, et al. miRNA-5119 regulates immune checkpoints in dendritic cells to enhance breast cancer immunotherapy[J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69(6):951-967. DOI: 10.1007/s00262-020-02507-w.
- [5] McFall T, McKnight B, Rosati R, et al. Progesterone receptor A promotes invasiveness and metastasis of luminal breast cancer by suppressing regulation of critical microRNAs by estrogen[J]. J Biol Chem, 2018, 293(4):1163-1177. DOI: 10.1074/jbc.M117.812438.
- [6] Van Hemelrijck WMJ, Schutter HD, Valk HAG, et al. Breast cancer by migrant background in Belgium: Lower risk, but worse survival in women of non-European origin[J]. Int J Cancer, 2020, 147(2): 350-360. DOI: 10.1002/ijc.32726.
- [7] Maumy L, Harrissart G, Dewaele P, et al. Impact of nutrition on breast cancer mortality and risk of recurrence, a review of the evidence[J]. Bull Cancer, 2020, 107(1):61-71. DOI: 10.1016/j.bulcan.2019.08.009.
- [8] 祝淑叙, 韩春. 从乳腺癌发病变化看我国恶性肿瘤的防控重点[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(11):1081-1083, 1090. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.11.001.

(下转 487 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.010

论著·临床

m⁶A RNA 甲基化调控因子对甲状腺癌进展及预后的影响

黄甜甜,段碧晗,叶迎春,王硕,高凌

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81571376)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院内分泌科

通信作者: 高凌, E-mail: ling.gao@whu.edu.cn

【摘要】目的 探讨 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌中的作用。**方法** 在 TCGA 数据库中获取甲状腺癌样本 510 例和正常对照样本 58 例的 RNA-seq 转录组数据及相应甲状腺癌患者的临床病理资料。比较 13 种 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌和正常甲状腺组织中的表达水平。基于一致性聚类分析将甲状腺癌组织分为 2 个聚类,并比较其总体生存率和临床病理特征的差异。进一步利用单因素 COX 回归分析筛选出与甲状腺癌患者预后相关因子,并将其纳入 LASSO 回归分析,构建患者的风险特征模型,进而评估风险特征模型的预测价值。**结果** 除 YTHDF2 外,余 12 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌组织中的表达与正常甲状腺组织比较差异均有统计学意义。在一致性聚类分析中,聚类 2 的总体生存率明显低于聚类 1。基于 3 个高风险调控因子(RBM15、KIAA1429 和 FTO)构建风险特征模型并用于风险评分计算。高危组和低危组的总体生存率,RBM15、KIAA1429、FTO 表达和 T 状态比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。ROC 曲线显示,风险评分可以预测甲状腺癌患者的 5 年生存率(AUC = 0.717),多因素 Cox 回归分析表明,风险评分是甲状腺癌的独立预后指标($P = 0.001$)。**结论** m⁶A RNA 甲基化调控因子影响甲状腺癌的进展,其中 RBM15、KIAA1429 和 FTO 可作为临床预后标志物,在治疗决策中具有潜在价值。

【关键词】 甲状腺癌;m⁶A RNA 甲基化;进展;预后

【中图分类号】 R763.1 **【文献标识码】** A

The impact of m⁶A RNA methylation modulators on the progression and clinical prognosis of thyroid carcinoma

Huang Tiantian, Duan Bihan, Ye Yingchun, Wang Shuo, Gao Ling. Department of Endocrinology & Metabolism, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Gao Ling, E-mail: ling.gao@whu.edu.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81571376)

【Abstract】 Objective The role of m⁶A RNA methylation modulators in thyroid carcinoma was investigated by analyzing RNA-seq transcriptome results and corresponding clinical data of 568 thyroid carcinoma samples from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. **Methods** The expression levels of 13 major m⁶A RNA methylation modulators between thyroid carcinoma and normal thyroid tissues were compared. Based on consensus clustering of these modulators, carcinoma tissues were divided into two clusters, whose overall survival (OS) and clinicopathological features are compared. The least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) Cox regression were used to set up risk signature for risk score calculation and the predictive value of risk score was further evaluated. **Results** The expression of modulators in thyroid carcinoma was significantly different from that in normal thyroid tissues except for YTHDF2. In consensus clustering analysis, the OS of cluster 2 was significantly poorer than cluster 1. Three high OR modulators (RBM15, KIAA1429 and FTO) were identified for risk signature and used for risk score calculation. There were significant differences in survival and clinicopathological features analysis between the high vs. low-risk group ($P < 0.05$). The ROC curve indicated that the risk score can predict survival rates of thyroid carcinoma patients (AUC=0.717). Multivariate Cox regression analysis showed that risk score was an independent prognostic marker of thyroid carcinoma ($P = 0.001$). **Conclusion** The m⁶A RNA methylation modulators influence the progression of thyroid carcinoma, among which RBM15, KIAA1429 and FTO can be clinical prognostic markers and have potential value in treatment decisions.

【Key words】 Thyroid carcinoma; m⁶A RNA methylation; Progression; Prognosis

甲状腺癌是一种常见的内分泌系统恶性肿瘤,也是人类最常见的肿瘤之一。在世界许多地区,特别是发达国家,甲状腺癌的发病率呈上升趋势。分化型甲状腺癌在甲状腺癌中占 90% 以上,包括甲状腺乳头状癌和滤泡型甲状腺癌。然而,甲状腺癌通常是无症状的,芬兰一项经典研究发现,隐匿性甲状腺癌的患病率高达 30%^[1]。因此,了解甲状腺癌发病的分子机制对早期诊断、准确治疗及改善预后都至关重要。

N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine, m⁶A)是一种甲基化修饰,可发生在 RNA 腺嘌呤上,是大多数真核生物最普遍的 mRNA 修饰形式^[2]。在人类及其他许多物种中,m⁶A 在调节基因表达、蛋白质翻译、细胞行为和生理状态等方面发挥着重要作用^[3]。m⁶A 甲基化是一个动态可逆的过程,根据 13 个 m⁶A 甲基化调控因子的功能不同,可以将其分为三类^[4-5]:“书写者”介导 RNA 的甲基化修饰过程,包括 METTL3、METTL4、KIAA1429、WTAP、RBM15 和 ZC3H13;“擦除者”介导 RNA 的去甲基化过程,包括 FTO 和 ALKBH5;“阅读者”负责读取 RNA 甲基化信息,参与下游 RNA 的翻译和降解,包括 YTHDC1、YTHDC2、YTHDF1、YTHDF2 和 HNRNPC。“擦除者”之一的 FTO 与人类肥胖和心理发展有关,而 ALKBH5 已被证明以去甲基化依赖的方式影响小鼠的精子发生^[6-7],这表明在各种生理过程中 m⁶A 扮演着重要的角色。

越来越多的研究表明,m⁶A 在许多复杂的人类疾病发生发展中发挥着重要作用^[8-9]。关于 m⁶A 与胃癌、肝癌、乳腺癌、肺鳞状细胞癌等多种肿瘤疾病的关系已有较多报道^[10-13],而 m⁶A 在甲状腺癌发生和进展过程中的作用仍不十分清楚。本研究利用 TCGA 数据库中的 RNA 测序数据,系统分析了 13 个广泛报道的 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌中的表达。此外,使用 LASSO Cox 回归分析,筛选出 3 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子构建 LASSO 风险回归模型,预测甲状腺癌患者的生存和预后,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 从 TCGA (<https://cancergenome.nih.gov/>) 数据库中获取了甲状腺癌组织 510 例和正常甲状腺组织 58 例的 RNA-seq 转录组数据及相应甲状腺癌患者临床病理数据。在分析甲状腺癌亚组的总体生存率和临床病理因素时,排除了缺少年龄、性别、病理分级和随访数据的样本,最终保留了 501 例甲状腺癌样本,其中甲状腺癌患者中男 314 例,女 187 例;年龄≤60 岁 171 例,>60 岁 330 例;生存状态:死亡 182 例,存活 319 例;临床分级:1 级 36 例,2 级 184 例,

3 级 281 例;临床分期:I 期 79 例,II 期 152 例,III 期 205 例,IV 期 65 例;原发肿瘤:T₁ 39 例,T₂ 111 例,T₃ 215 例,T₄ 136 例;远处转移:M₀ 451 例,M₁ 50 例;淋巴结转移:N₀ 153 例,N₁ 138 例,N₂ 104 例,N₃ 106 例。

1.2 生物信息学分析方法 主要使用 Active-Perl 5.24.3 Build 2404 (<https://www.perl.org/>)、Rv3.6.0 (<https://www.r-project.org/>) 软件对数据进行转换、统计分析和计算。使用 R 软件包中的“pheatmap”软件包比较甲状腺癌组织和正常甲状腺组织中 13 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达。使用“Consensus Cluster Plus”软件包通过一致性聚类分析方法将甲状腺癌组织分为 2 个亚组,探究 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌中的作用。主成分分析“PCA”包检测基于 m⁶A 相关基因表达的肿瘤分组的可行性。为了探讨 m⁶A RNA 甲基化调控因子的预后价值,使用 Lasso Cox 回归分析方法来确定与总生存率显著相关的 3 个基因,并得到最终风险评分公式。根据每位患者的风险评分,将其分为高危组和低危组,并使用 R 包中的“survival”“survminer”“pheatmap”软件包比较 2 组总体生存率和临床病理特征。使用 2 组间的 ROC 曲线来检验生存模型的预测效率,并使用单因素和多因素 Cox 回归分析方法确定风险评分的预后价值。

1.3 统计学方法 主要采用 R 软件对数据进行统计分析。以 Wilcoxon 秩和检验比较 m⁶A RNA 甲基化调控因子在肿瘤组织和正常组织中的表达情况。根据 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达情况将患者分为 2 个亚组后,采用卡方检验比较聚类 1 和聚类 2 的性别、年龄、WHO 分期和病理分级。在总体生存分析中,采用 Kaplan-Meier 法检测甲状腺癌亚组间、高危组和低危组间的总体生存率。使用 ROC 曲线分析评估风险评分对 5 年生存率的预测效率。通过单因素和多因素 Cox 回归分析确定风险评分的预后价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

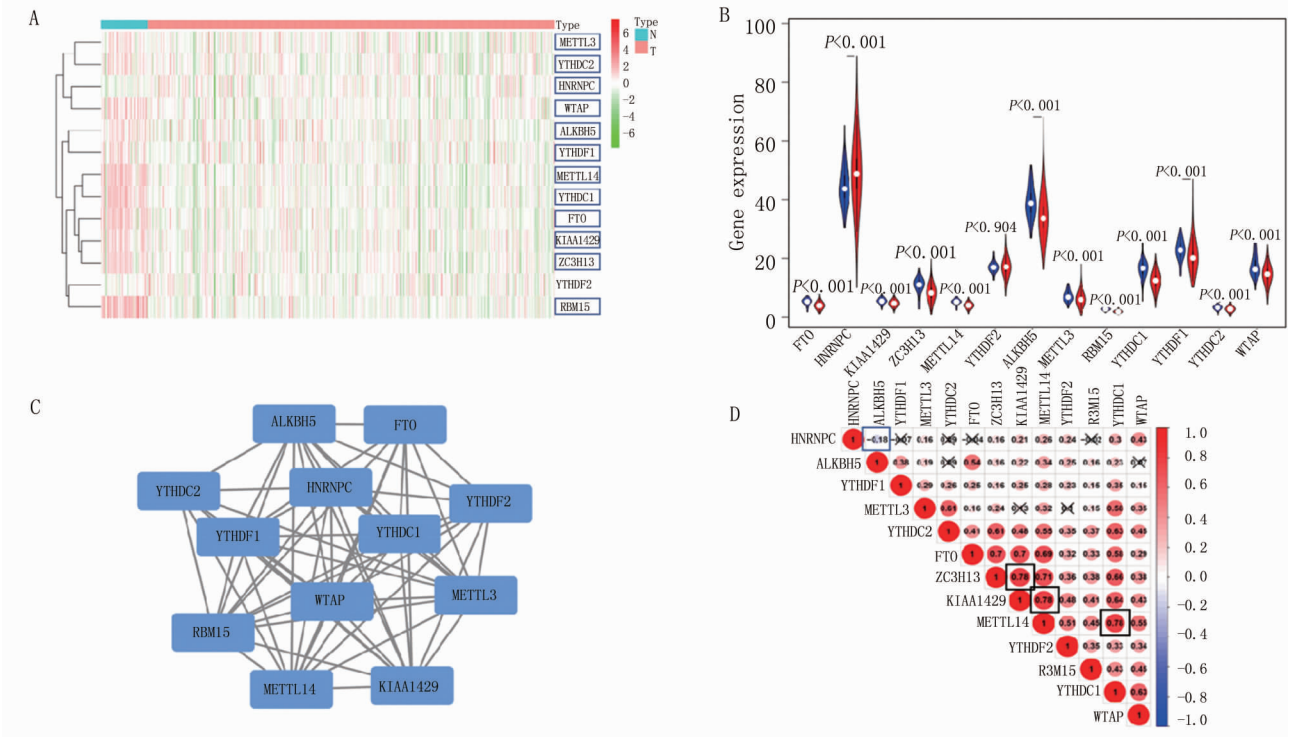
2 结果

2.1 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌中的表达情况 分析 TCGA 数据库中 501 例甲状腺癌样本和 58 例正常甲状腺组织样本中 13 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达情况。除 YTHDF2 外,12 个调控因子均表现出显著的差异表达(图 1A、B)。与正常组织比较,甲状腺癌组织的 METTL3、YTHDC2、WTAP、ALKBH5、YTHDF1、METTL4、YTHDC1、FTO、KIAA1429、ZC3H13、RBM15 显著下调($P < 0.001$),HNRNPC 显著上调($P < 0.001$)。为进一步了解 13 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子之间的关系,构建了 PPI 网络图来结果显示,WTAP、

HNRNPC 和 YTHDC1 似乎处于中心位置,并与其他 m⁶A RNA 甲基化调控因子相互作用(图 1C)。此外,大多数 m⁶A RNA 甲基化调控因子都显示出正相关关系。其中,ZC3H13 与 KIAA1429、KIAA1429 与 METTL14、METTL14 与 YTHDC1 等 3 对调控因子呈较强的正相关关系($\rho = 0.78$),只有 HNRNPC 和 ALKBH5 呈负相关关系($\rho = -0.18$)(图 1D)。

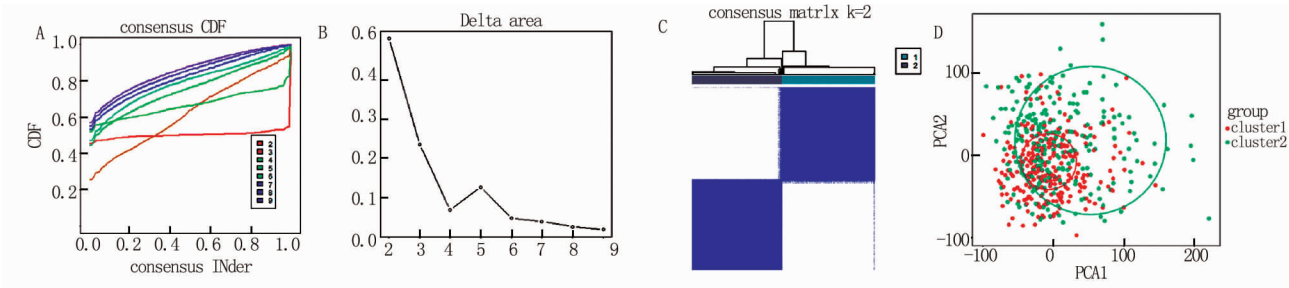
2.2 m⁶A RNA 甲基化调控因子的一致性聚类分析
采用一致性聚类分析对 501 例甲状腺癌组织进行分组,分组标准如下:(1)累积分布函数增长率较慢;(2)

聚类后各组样本量足够大;(3)组内相关性高而组间相关性低。在 TCGA 数据集中,根据 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达相似性,最终将甲状腺癌组织分为 2 个亚组(图 2A ~ C)。对甲状腺癌 2 个亚组的主成分分析验证表明,总 RNA 在亚组中的表达具有特异性,即聚类 1 似乎有向中心聚集的趋势,而聚类 2 则有向四周扩散的趋势(图 2D),这说明根据 m⁶A RNA 甲基化调控因子的一致性聚类分析可以将甲状腺癌很好地区分为 2 个亚组。但 2 个亚组之间存在很多重叠的区域,这表明甲状腺癌 2 个亚组之间具有一些共同点。



注:A. 甲状腺癌与正常甲状腺组织中 13 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子的基因表达水平(蓝色代表正常组织,粉红色代表甲状腺癌组织)。红色越深表示基因表达上调越明显,绿色越深代表基因表达下调越明显;B. 小提琴图可视化 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌中的表达差异;C. PPI 网络图评估 m⁶A RNA 甲基化调控因子之间的相互作用;D. Spearman 相关分析每个 m⁶A RNA 甲基化调控因子之间的关系

图 1 甲状腺癌与正常甲状腺组织中 m⁶A RNA 甲基化调节因子的基因表达及其相关性



注:A. $k = 2 \sim 9$ 的一致性聚类累积分布函数;B. $k = 2 \sim 9$ 时累积分布函数曲线下面积的相对变化;C. 当 $k = 2$ 时,一致性聚类分析将 TCGA 甲状腺癌数据分成 2 个不同的亚组;D. TCGA 数据集总 RNA 表达谱的主成分分析,红色代表聚类 1,蓝色代表聚类 2

图 2 m⁶A RNA 甲基化调控因子的一致性聚类分析

2.3 聚类结果与临床转归及临床病理特征的关系

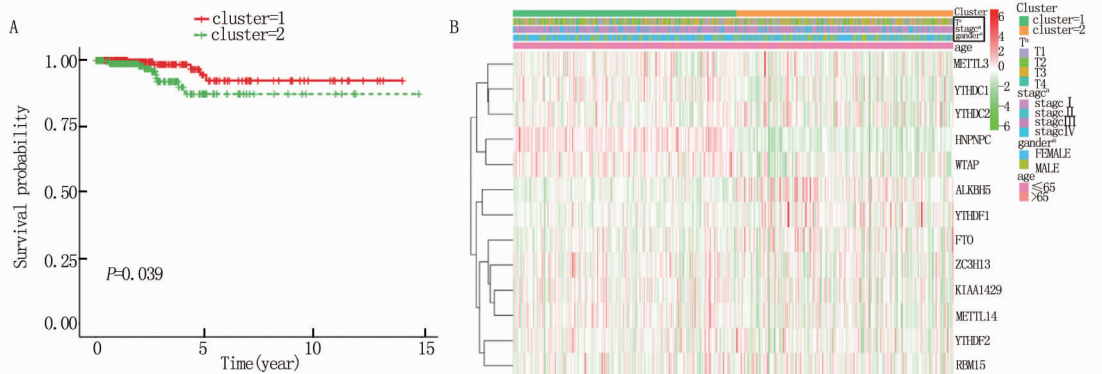
进一步分析甲状腺癌患者的总体生存率及临床病理特征发现,聚类 1 的总体生存率明显高于聚类 2 (图 3A)。聚类 1 的 4 年生存率约为 97%, 聚类 2 约为 87%。此外,在聚类 1 中 HNRNPC 明显高表达,而 ALKBH5 的表达明显降低,进一步说明这两种调控因子之间的负相关关系。与聚类 1 比较,聚类 2 与男性、高临床分期和高 T 状态显著相关(图 3B)。总而言之,聚类结果与甲状腺癌患者的总体生存率及临床肿瘤恶性程度密切相关。

2.4 3 种 m⁶A RNA 甲基化调控因子的预后价值 通过对 TCGA 数据进行单因素 Cox 回归分析,13 个基因表达水平与总体生存率的相关性见图 4A。RBM15、KIAA1429、FTO 等 3 个基因与总体生存率显著相关,均为高危基因,其危险比均 >1,其中 RBM15 的危险比高达 4.361。随后使用 LASSO Cox 回归算法,对筛选出 RBM15、KIAA1429 和 FTO 建立风险特征模型。进一步使用 LASSO 算法得到的系数来计算风险评分(图 4B、C),具体公式为: 风险评分 = $\sum_{i=1}^n \text{Coef}_i \times x_i$, 其中 Coef_i 为系数, x_i 为所选各基因的表达值。RBM15 系数为 1.158, KIAA1429 系数为 0.206, FTO 系数为 0.227。

甲状腺癌患者根据中位风险评分分为高危组和低危组。结果显示高危组甲状腺癌患者的总体生存率明显缩短(图 4D)。低危组 4 年生存率约为 98%, 高危组约为 87%。

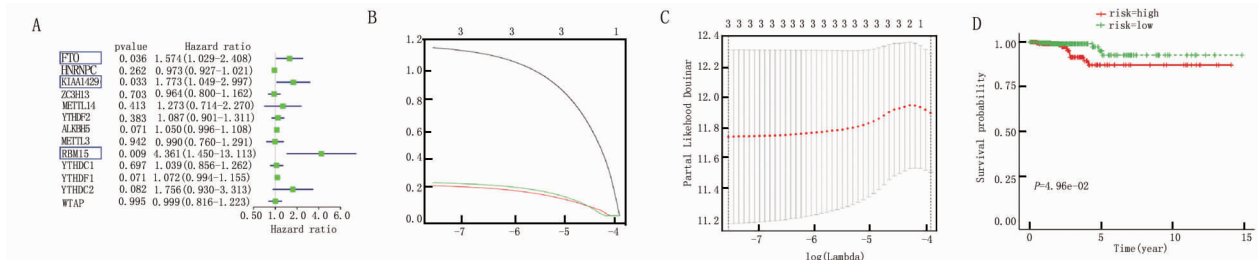
2.5 甲状腺癌危险评分与预后及临床病理特征的关系 ROC 曲线结果表明,风险评分对甲状腺癌患者的 5 年生存率有较高的预测准确率 (AUC = 0.717) (图 5A)。为进一步了解高危组与低危组甲状腺癌患者 3 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达情况及其临床病理特征的关系,再对不同分组与临床病理特征(性别、年龄、生存状态、T 状态)进行相关性分析并绘制其 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达热图(图 5B)。结果显示,与低危组比较,高危组 RBM15、KIAA1429、FTO 表达明显增高,且高危组和低危组甲状腺癌患者在 T 状态之间存在显著差异。

2.6 甲状腺癌的独立预后指标分析 单因素 Cox 回归分析显示,年龄、风险评分、分期、T 状态均与总体生存率相关。多因素 Cox 回归分析结果显示,年龄和风险评分可以作为甲状腺癌的独立预后指标,即甲状腺癌的风险随着年龄和风险评分的增加而增加,见图 6。



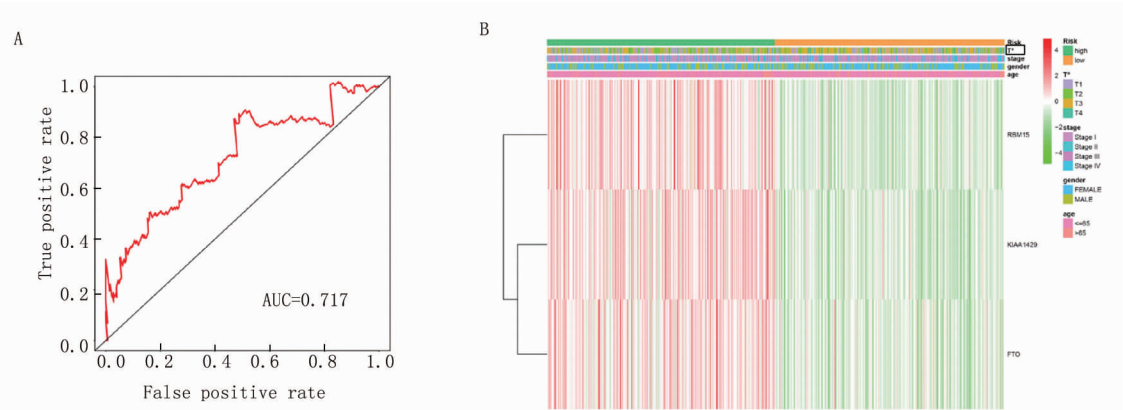
注:A. 聚类 1 总体生存率明显高于聚类 2 ($P < 0.05$); B. 聚类 1 和聚类 2 临床病理特征比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与聚类 1 相比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

图 3 甲状腺癌患者不同聚类总体生存率和临床病理特征比较



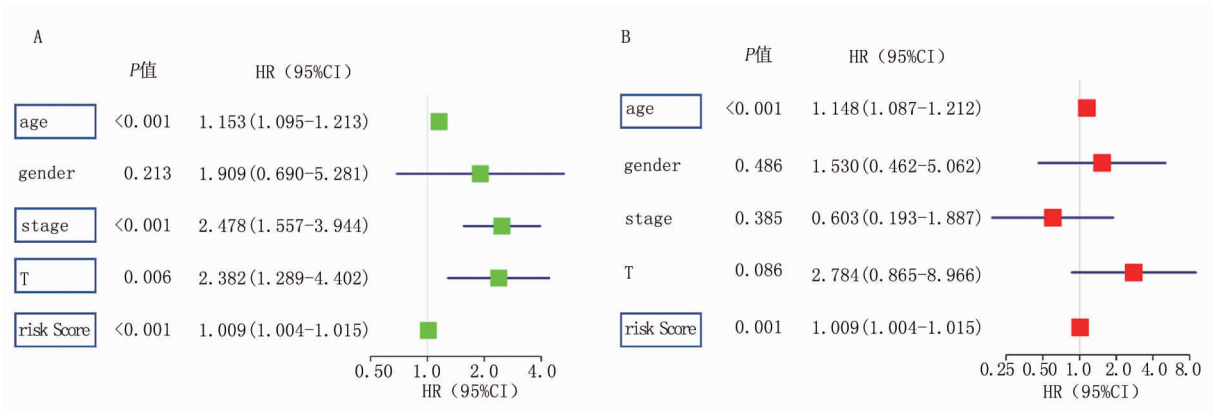
注:A. TCGA 数据集中与总体生存率相关的 13 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子的单变量 Cox 回归分析,根据风险比、95% 置信区间确定了 3 个基因 ($P < 0.05$, $HR > 1$); B、C. 在 TCGA 数据集中选择靶基因的过程; D. 根据风险评分将甲状腺癌患者分为高危组和低危组的总体生存曲线

图 4 3 种 m⁶A RNA 甲基化调控因子构建风险特征模型



注:A. ROC 曲线显示风险评分的 5 年生存率预测价值;B. 热图显示 3 种 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌患者高危组和低危组的表达水平以及临床病理特征差异;与甲状腺癌患者高危组相比,^a*P*<0.05,^b*P*<0.01

图 5 甲状腺癌的危险评分与预后及临床病理特征的关系



注:A. TCGA 数据集中临床病理因素和风险评分与患者总体生存之间的单变量 Cox 回归分析;B. TCGA 数据集中临床病理因素和风险评分与患者总体生存之间的多变量 Cox 回归分析

图 6 风险评分和临床病理变量对甲状腺癌患者预后的影响

3 讨论

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤,近 40 年来在世界范围内发病率呈上升趋势。超声检查的进步可能是造成这种趋势的原因^[14],然而,导致这一增长的其他原因尚不清楚。虽然甲状腺癌相对于其他恶性肿瘤具有较好的惰性和良好的长期生存率,但甲状腺癌可发生在任何年龄,通常对年轻人的影响更大^[15]。m⁶A RNA 甲基化调控因子在肿瘤的发生发展中起重要作用,且已被证实与多种癌症密切相关,靶向 m⁶A RNA 甲基化的抗癌药物在临床的应用前景非常广阔^[16]。因此,有必要探讨 m⁶A RNA 甲基化调控因子与甲状腺癌的关系或对甲状腺癌预后的预测价值。

在本研究中,首先分析了 m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌和正常甲状腺组织中的表达情况及其与不同临床病理的关系。甲状腺癌组织和正常组织中多达 12 个 m⁶A RNA 甲基化调控因子的表达比较差异有统计学意义。

急性髓系白血病患者中 METTL3 表达升高,并发挥致癌作用。METTL3 通过增加 cMYC、BCL-2 和 PTEN 的翻译,抑制细胞分化和凋亡,促进细胞增殖。METTL3 还激活 PI3K / AKT 通路,控制细胞分化和自我更新^[17]。肝细胞癌中 METTL3 表达升高,METTL3 在体外可促进肝癌细胞的生长、迁移和集落形成,在体内可影响肝癌的成瘤性、生长和肺转移,且 METTL3 水平升高提示预后不良^[16]。METTL3 在卵巢癌中也高表达,且 METTL3 高表达与肿瘤分级、FIGO 分期及总生存率显著相关^[18]。近期,有学者进行了 METTL3 促进甲状腺癌进展的相关研究^[19],研究表明,METTL3 诱导 TCF1 mRNA m⁶A 甲基化,上调 TCF1 蛋白水平,TCF1 通过激活 Wnt 通路进一步刺激肿瘤细胞转移,从而加重甲状腺癌的恶性进展,提示 METTL3 是一种潜在的癌基因。然而,本研究显示,METTL3 在甲状腺癌患者中的表达远低于正常组织,提示 METTL3 可能阻碍了甲状腺癌的进展。这表明 METTL3 在甲状腺癌

发生发展中的作用可能还需要更多的研究来证明。

在探索 m⁶A RNA 甲基化调控因子是否对甲状腺癌有预后价值的过程中,进行了 Cox 单变量分析和 LASSO 回归分析,鉴定筛选出 RBM15、KIAA1429 和 FTO 等 3 个基因。研究发现,RBM15、KIAA1429 和甲状腺疾病的关系研究甚少,而 FTO 与甲状腺癌密切相关。

RBM15 对基因敲除模型小鼠中多种组织的发育至关重要,尤其对维持造血干细胞长期稳态和巨核细胞、B 细胞的分化具有重要作用^[20]。此外,RBM15 参与了染色体易位 t(1;22),产生与急性巨核细胞白血病相关的 RBM15-MKL1 融合蛋白^[21]。除参与急性巨核细胞白血病的发生外,RBM15 还是 X 染色体沉默的重要因素,并已证实在乳腺组织中表达^[22]。研究表明,雌激素可独立增加 RBM15 的表达,并与乳腺疾病的发生有关。对于甲状腺癌,女性的发病率高于男性,这是否与雌激素信号传导有关还有待进一步研究。

KIAA1429 已被证实通过不同途径影响多种癌症,包括通过依赖于 GATA3 的 m⁶A 转录后修饰促进肝细胞癌的进展,以及通过直接靶向 c-jun mRNA 调节胃癌细胞增殖^[23]。此外,一项关于乳腺癌的研究表明,KIAA1429 可通过调节 CDK1 表达而成为乳腺癌的致癌因子^[24]。各种 CKD 抑制剂被广泛应用于临床治疗恶性肿瘤,包括甲状腺癌^[25]。因此,KIAA1429 与甲状腺癌的关联机制值得进一步探讨。

FTO 在乳腺癌、急性髓系白血病和胶质母细胞瘤中高表达,并促进这些癌症的进展,现阶段已开发出相关药物^[10,26-27]。大黄酸是第一种有效的 FTO 抑制剂,通过竞争性结合催化区域和单链 RNA 底物抑制 FTO。大黄酸还能有效抑制 m⁶A 去甲基化,提高体外 m⁶A 水平^[28]。然而,本研究发现 FTO 在甲状腺癌中表达水平较低。此外,它在膀胱癌中也呈低表达。m⁶A 调控基因的致癌作用似乎存在争议。这可能是由于癌症的异质性,相同的基因在不同的癌症中扮演不同的角色,导致 m⁶A 调节基因在不同癌症中的表达差异。FTO 更多的是作为一个与肥胖、糖尿病和代谢综合征相关的基因进行研究,在一些大型的研究中发现,BMI 增加已成为甲状腺癌一个新的危险因素。

综上,m⁶A RNA 甲基化调控因子在甲状腺癌中异常表达并具有预后价值,为进一步探讨 m⁶A 甲基化在甲状腺癌中的作用和寻找相关治疗靶点提供了重要证据。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

黄甜甜:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;高凌:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;段碧吟:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;叶迎春:进行统计学分析;王硕:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Lohia S, Hanson M, Tuttle RM, et al. Active surveillance for patients with very low-risk thyroid cancer[J]. *Laryngoscope Invest Otolaryngol*, 2020,5(1):175-182. DOI:10.1002/lto.2.356.
- [2] Su Y, Huang J, Hu J. m⁶A RNA methylation regulators contribute to malignant progression and have clinical prognostic impact in gastric cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1038. DOI: 10.3389/fonc.2019.01038.
- [3] Du K, Zhang L, Lee T, et al. m⁶A RNA methylation controls neural development and is involved in human diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2019,56(3):1596-1606. DOI:10.1007/s12035-018-1138-1.
- [4] Yang Y, Hsu PJ, Chen YS, et al. Dynamic transcriptomic m⁶A decoration: writers, erasers, readers and functions in RNA metabolism[J]. *Cell Res*, 2018,28(6):616-624. DOI:10.1038/s41422-018-0040-8.
- [5] Chen XY, Zhang J, Zhu JS. The role of m⁶A RNA methylation in human cancer[J]. *Mol Cancer*, 2019,18(1):103. DOI:10.1186/s12943-019-1033-z.
- [6] Loos RJ, Yeo GS. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2014,10(1):51-61. DOI:10.1038/nrendo.2013.227.
- [7] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Mol Cell*, 2013,49(1):18-29.DOI:10.1016/j.molcel.2012.10.015.
- [8] 程子硕,刘丽华. m⁶A 甲基化在肿瘤发生发展中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*,2020,27(10):1183-1189. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.018.
- [9] Yang Y, Shen F, Huang W, et al. Glucose is involved in the dynamic regulation of m6A in patients with type 2 diabetes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019,104(3):665-673. DOI:10.1210/je.2018-00619.
- [10] Niu Y,Lin Z,Wan A,et al. RNA N6-methyladenosine demethylase FTO promotes breast tumor progression through inhibiting BNIP3[J]. *Mol Cancer*, 2019,18(1):46. DOI:10.1186/s12943-019-1004-4.
- [11] Chen Y, Peng C, Chen J, et al. WTAP facilitates progression of hepatocellular carcinoma via m⁶A-HuR-dependent epigenetic silencing of ETS1[J]. *Mol Cancer*, 2019,18(1):127. DOI:10.1186/s12943-019-1053-8.
- [12] Liu J, Ren D, Du Z, et al. m⁶A demethylase FTO facilitates tumor progression in lung squamous cell carcinoma by regulating MZF1 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,502(4):456-464. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.05.175.
- [13] Liu T, Yang S, Sui J, et al. Dysregulated N6-methyladenosine methylation writer METTL3 contributes to the proliferation and migration of gastric cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2020,235(1):548-562. DOI:10.1002/jcp.28994.
- [14] 韦琦丽,田丽玲,农秀明. 甲状腺癌超声诊断技术应用进展[J]. *中国肿瘤临床与康复*,2020,27(8):1019-1021. DOI:10.13455/

- j. cnki. cjcpr. 2020. 08. 33.
- [15] Roman BR, Morris LG, Davies L. The thyroid cancer epidemic, 2017 perspective[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2017, 24(5):332-336. DOI:10. 1097/MED. 0000000000000359.
- [16] Liu ZX, Li LM, Sun HL, et al. Link between m⁶A modification and cancers[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2018,6:89. DOI:10. 3389/fbioe. 2018. 00089.
- [17] Vu LP, Pickering BF, Cheng Y, et al. The N⁶-methyladenosine (m⁶A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells[J]. *Nat Med*, 2017, 23(11):1369-1376. DOI:10. 1038/nm. 4416.
- [18] Hua W, Zhao Y, Jin X, et al. METTL3 promotes ovarian carcinoma growth and invasion through the regulation of AXL translation and epithelial to mesenchymal transition[J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 151(2):356-365. DOI:10. 1016/j. ygyno. 2018. 09. 015.
- [19] Wang K, Jiang L, Zhang Y, et al. Progression of thyroid carcinoma is promoted by the m⁶A methyltransferase METTL3 through regulating m⁶A methylation on TCF1[J]. *Onco Targets Ther*, 2020,13: 1605-1612. DOI:10. 2147/OTT. S234751.
- [20] Xiao N, Laha S, Das SP, et al. Ott1 (Rbm15) regulates thrombopoietin response in hematopoietic stem cells through alternative splicing of c-Mpl [J]. *Blood*, 2015, 125 (6): 941-948. DOI: 10. 1182/blood-2014-08-593392.
- [21] Tamefusa K, Fukutake K, Ishida H, et al. Prognostic significance of chimeric fusion gene analysis in pediatric acute megakaryoblastic leukemia[J]. *Rinsho Ketsueki*, 2019, 60 (2): 99-105. DOI: 10. 11406/rinketsu. 60. 99.
- [22] Moindrot B, Cerase A, Coker H, et al. A pooled shRNA screen identifies Rbm15, Spen, and Wtap as factors required for xist RNA-mediated silencing [J]. *Cell Rep*, 2015, 12 (4):562-572. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2015. 06. 053.
- [23] Miao R, Dai CC, Mei L, et al. KIAA1429 regulates cell proliferation by targeting c-Jun messenger RNA directly in gastric cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2020,235 (10):7420-7432. DOI:10. 1002/jcp. 29645.
- [24] Qian JY, Gao J, Sun X, et al. KIAA1429 acts as an oncogenic factor in breast cancer by regulating CDK1 in an N6-methyladenosine-independent manner [J]. *Oncogene*, 2019,38 (33):6123-6141. DOI:10. 1038/s41388-019-0861-z.
- [25] Fazeli S, Paal E, Maxwell JH, et al. Salutary response to targeted therapy in anaplastic thyroid cancer [J]. *J Investig Med High Impact Case Rep*, 2019,7:1558611202. DOI:10. 1177/2324709619890942.
- [26] Li Z, Weng H, Su R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N⁶-methyladenosine RNA demethylase [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31 (1): 127-141. DOI: 10. 1016/j. ccell. 2016. 11. 017.
- [27] Dixit D, Xie Q, Rich JN, et al. Messenger RNA methylation regulates glioblastoma tumorigenesis [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31 (4): 474-475. DOI:10. 1016/j. ccell. 2017. 03. 010.
- [28] Chen B, Ye F, Yu L, et al. Development of cell-active N⁶-methyladenosine RNA demethylase FTO inhibitor[J]. *J Am Chem Soc*, 2012,134(43):17963-17971. DOI:10. 1021/ja3064149.

(收稿日期:2020 - 11 - 28)

(上接 480 页)

- [9] 白宇鸽, 徐玲, 段学宁, 等. 中国乳腺癌专病队列研究: 临床队列的设计与初步结果[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(12): 2046-2052. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200507-00694.
- [10] Liang Y, Zhang H, Song X, et al. Metastatic heterogeneity of breast cancer: Molecular mechanism and potential therapeutic targets[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 60(1):14-27. DOI: 10.1016/j.semcancer. 2019.08.012.
- [11] Katharina S, Kathrin T, Christine E, et al. The effect of family history on screening procedures and prognosis in breast cancer patients - Results of a large population-based case-control study[J]. *Breast*, 2021, 55(1):98-104. DOI: 10.1016/j.breast.2020.12.008.
- [12] Xu YH, Deng JL, Wang LP, et al. Identification of candidate genes associated with breast cancer prognosis[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(7):1205-1227. DOI: 10.1089/dna.2020.5482.
- [13] Niu YC, Tong J, Shi XF, et al. MicroRNA-654-3p enhances cisplatin sensitivity by targeting QPRT and inhibiting the PI3K/AKT signaling pathway in ovarian cancer cells[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20 (2):1467-1479. DOI: 10.3892/etm.2020.8878.
- [14] Ullmark T, Montano G, Jarvstrat L, et al. Anti-apoptotic quinolinate phosphoribosyltransferase (QPRT) is a target gene of Wilms' tumor gene 1 (WT1) protein in leukemic cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482 (4):802-807. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.11. 114.
- [15] Zhang Y, Jia SS, Song HT, et al. Silencing DSCAM-AS1 suppresses the growth and invasion of ER-positive breast cancer cells by down-regulating both DCTPP1 and QPRT[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(14):14754-14774. DOI: 10.18632/aging.103538.
- [16] Adhami M, Haghdoust AA, Sadeghi B, et al. Candidate miRNAs in human breast cancer biomarkers: a systematic review[J]. *Breast Cancer*, 2018, 25(2):198-205. DOI: 10.1007/s12282-017-0814-8.
- [17] Lv Z, Wang S, Zhao W, et al. MicroRNA analysis of NCI-60 human cancer cells indicates that miR-720 and miR-887 are potential therapeutic biomarkers for breast cancer: Brief Report[J]. *Drug Discov Ther*, 2020, 14(4):197-203. DOI: 10.5582/ddt.2020.03058.
- [18] Valcourt DM, Day ES. Dual regulation of miR-34a and notch signaling in triple-negative breast cancer by antibody/miRNA nanocarriers[J]. *Mol Ther-Nucl Acids*, 2020, 21 (1):290-298. DOI: 10. 1016/j.omtn.2020.06.003.
- [19] 田连芳, 李丽玮, 张小冲, 等. miR-26b-3p 对乳腺癌细胞生物学行为的影响及作用机制研究[J]. *中国癌症杂志*, 2020, 30(9):667-673. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2020.09.005.
- [20] Ding Q, Wang Y, Zuo Z, et al. Decreased expression of microRNA-26b in locally advanced and inflammatory breast cancer[J]. *Hum Pathol*, 2018, 77(1):121-129. DOI: 10.1016/j.humphath.2018.04.002.

(收稿日期:2021 - 01 - 14)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.011

论著·临床

脓毒性休克患者短期预后预测模型的构建及评估

郑从波, 胡芳宝, 王文, 窦红杰, 林凌, 王德强

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目(18401321104)

作者单位: 201400 上海交通大学附属第六人民医院南院 ICU

通信作者: 王文, E-mail: 1535680438@qq.com

【摘要】目的 通过分析脓毒性休克患者短期预后发生的相关影响因素, 建立并评估个体化预测脓毒性休克患者短期预后发生风险的列线图模型。**方法** 选取 2017 年 6 月—2020 年 7 月上海交通大学附属第六人民医院南院 ICU 诊治的脓毒性休克患者 150 例作为研究对象, 并依据患者 7 d 转归情况分为死亡组(46 例)和存活组(104 例)。收集患者基本信息和临床资料, 采用 Logistic 回归模型分析脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立危险因素, 应用列线图在线网站绘制预测脓毒性休克患者短期预后发生风险的列线图模型, 采用受试者工作特征曲线(ROC)、校准曲线及 Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验评估列线图模型进行验证。**结果** 与存活组比较, 死亡组降钙素原(PCT)、入 ICU 时急性生理与慢性健康评分(APACHE II 评分)、1-磷酸鞘氨醇(S1P)、C 反应蛋白(CRP)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)水平均升高($t/P = 2.965/0.004, 3.806/0.000, 3.492/0.001, 3.123/0.002, 2.448/0.016$)。Logistic 回归模型显示, 高 PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP 及 NLR 水平是脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立危险因素[OR (95% CI) = 1.093 (1.026 ~ 1.163), 1.590 (1.210 ~ 2.089), 1.394 (1.062 ~ 1.829), 1.076 (1.011 ~ 1.144), 1.116 (1.029 ~ 1.209)]。ROC 结果显示, 列线图模型预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的 AUC 为 0.890。校准曲线为斜率接近为 1 的直线, Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验 $\chi^2 = 13.079, P = 0.109$ 。**结论** 基于 PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP 及 NLR 水平分析脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立影响因素, 并构建预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的列线图模型, 具有良好的区分度与准确度。

【关键词】 脓毒性休克; 短期预后; 预测模型; 列线图; 构建; 评估**【中图分类号】** R631⁺.4 **【文献标识码】** A

Construction and evaluation of short-term prognosis prediction model for patients with septic shock. Zheng Congbo, Hu Fangbao, Wang Wen, Dou Hongjie, Lin Ling, Wang Deqiang. ICU, South Hospital of the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201400, China

Corresponding author: Wang Wen, E-mail: 1535680438@qq.com

Funding program: Scientific Research Project of Shanghai Science and Technology Commission(18401321104)

【Abstract】Objective To establish and evaluate a nomogram model for predicting the risk of short-term prognosis of patients with septic shock by analyzing the related factors of short-term prognosis in patients with septic shock. **Methods** From June 2017 to July 2020, 150 patients with septic shock diagnosed and treated in the ICU, South Hospital of the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University were selected as the research objects, and the subjects were divided into death group (46 cases) and survival group (104 cases) according to the 7-day outcome of patients. Basic information and clinical data of patients were collected. Logistic regression model was used to analyze the independent risk factors of short-term poor prognosis in patients with septic shock. A nomogram model was developed to predict the risk of short-term prognosis in patients with septic shock. Receiver operating characteristic curve (ROC), calibration curve and Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test were used to evaluate and verified the nomogram model. **Results** Procalcitonin (PCT), acute physiology and chronic health evaluation score (APACHE II score) at ICU admission, sphingosine 1-phosphate (S1P), C-reactive protein (CRP) and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) levels in death group were higher than those in survival group ($t/P = 2.965/0.004, 3.806/0.000, 3.492/0.001, 3.123/0.002, 2.448/0.016$). Logistic regression model showed that PCT, APACHE II score, S1P, CRP and NLR levels were independent risk factors of short-term adverse prognosis in patients with septic shock [OR (95% CI) = 1.093 (1.026 ~ 1.163), 1.590 (1.210 ~ 2.089), 1.394 (1.062 ~ 1.829), 1.076 (1.011 ~ 1.144), 1.116 (1.029 ~ 1.209)]. ROC results showed that the AUC of predicting the risk of poor short-term prognosis in patients with septic shock was 0.890. The calibration curve was a straight line with slope close to

1. Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test showed $\chi^2 = 13.079$, $P = 0.109$. **Conclusion** Based on PCT, APACHE II score, S1P, CRP and NLR levels, the independent influencing factors of poor short-term prognosis in patients with septic shock were analyzed, and the nomogram model for predicting the risk of short-term poor prognosis in patients with septic shock has good discrimination and accuracy.

【Key words】 Septic shock; Short-term prognosis; Predictive model; Nomogram; Construction; Evaluation

脓毒性休克是重症监护病房(ICU)常见的危急重症,该疾病的主要临床特点为低氧血症、低血压、全身性炎症反应、多器官功能障碍等,具有发病率高、预后差、病死率高等特点,严重威胁患者的生命健康^[1-3]。寻找患者预后不良的相关因素,及早对患者进行早期干预和及时治疗具有重要意义。如何实现对脓毒性休克患者短期预后发生风险的个体化预测,是目前关注的重点。相关文献报道,列线图模型能够整合 Logistic 回归分析结果中相关影响因素,以达到个性化预测临床不良事件发生风险的目的^[4-6]。本研究将通过分析脓毒性休克患者的临床资料,探究此类患者短期预后的相关危险因素,旨在建立个体化预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的列线图模型,以辅助临床筛选高风险患者,并对其有针对性的制定预防策略,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 6 月—2020 年 7 月上海交通大学附属第六人民医院南院 ICU 诊治的脓毒性休克患者 150 例作为研究对象,其中男 81 例,女 69 例,年龄 28~61(49.86±2.64)岁。依据患者 7 d 转归情况分为死亡组(46 例)和存活组(104 例)。死亡组男 26 例,女 20 例,年龄 30~61 岁;存活组男 55 例,女 49 例,年龄 28~60 岁。本研究经医院伦理委员会批准通过,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①符合 2018 年制定的“中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南”中的诊断标准^[7];②ICU 住院时间>24 h 者;③临床资料完整者。(2)排除标准:①同时患有严重心脑血管疾病者;②同时合并心源性休克者;③入院前使用免疫抑制类药物者;④临床资料不全者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集:包括性别、年龄、病程,是否患有高血压、糖尿病、心肌功能障碍;入住 ICU 时急性生理与慢性健康状况评分(APACHE II 评分)等。

1.3.2 炎症因子检测:入院后第 1 d 采集患者静脉血 5 ml,使用 LD-SY96S 型酶标仪(购自山东莱恩德智能科技有限公司)采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测患者血清降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)、1-磷酸鞘

氨醇(S1P)水平;使用 KT6300 型血细胞分析仪(购自武汉科尔达医疗科技有限公司)检测全血中性粒细胞与淋巴细胞数并计算二者比值(NLR)。

1.4 统计学方法 利用 SPSS 22.0 软件进行数据处理。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;采用多因素 Logistic 回归分析脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立危险因素,应用列线图在线网站(<http://111.229.212.9:3838/inomogram/>)绘制预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的列线图模型。作列线图模型的受试者工作特征曲线(ROC),计算曲线下面积(AUC),评估列线图模型区分度。绘制校准曲线及 Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验评估列线图模型准确度。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床资料比较 150 例患者中,7 d 内死亡 46 例(30.67%),存活 104 例(69.33%)。死亡组性别、年龄、病程及患高血压、糖尿病、心肌功能障碍的比例与存活组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。死亡组 PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP、NLR 水平均高于存活组($P < 0.05$),见表 1。

表 1 2 组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	死亡组 ($n = 46$)	存活组 ($n = 104$)	t/χ^2 值	P 值
性别(男/女,例)	26/20	55/49	0.055	0.815
年龄(岁)	50.11±2.49	49.64±2.73	0.998	0.320
病程(d)	3.06±0.97	2.91±1.04	0.831	0.407
高血压[例(%)]	13(28.26)	21(20.19)	0.769	0.381
糖尿病[例(%)]	9(19.57)	25(24.04)	0.154	0.695
PCT(ng/ml)	46.14±9.68	41.95±7.11	2.965	0.004
APACHE II 评分(分)	26.06±1.92	24.78±1.89	3.806	0.000
S1P(μmol/L)	17.01±2.13	15.74±2.02	3.492	0.001
CRP(mg/L)	27.03±8.77	22.78±7.16	3.123	0.002
心肌功能障碍[例(%)]	7(15.22)	20(19.23)	0.129	0.719
NLR	22.15±6.38	19.56±5.79	2.448	0.016

2.2 脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的 Logistic 回归分析 以脓毒性休克患者短期预后不良是否发生(1=死亡,0=存活)为因变量,以上述有统计

学意义的 5 个变量 PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP、NLR 水平作为自变量,进行 Logistic 回归分析。结果显示,PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP 及 NLR 水平升高是脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立危险因素($P<0.05$),见表 2。

表 2 脓毒性休克患者短期预后不良发生的危险因素分析						
因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
高 PCT	0.089	0.032	7.704	0.006	1.093	1.026~1.163
高 APACHE II 评分	0.464	0.139	11.088	0.001	1.590	1.210~2.089
高 S1P	0.332	0.139	5.741	0.017	1.394	1.062~1.829
高 CRP	0.073	0.032	5.332	0.021	1.076	1.011~1.144
高 NLR	0.109	0.041	7.069	0.008	1.116	1.029~1.209

2.3 个体化预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的列线图模型建立 根据上述 Logistic 回归分析结果,应用列线图在线网站绘制预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的列线图模型。结果显示,PCT 每增加 5 ng/ml,列线图模型评分增加 6.3 分;APACHE II 评分每增加 1 分,列线图模型评分增加 7 分;S1P 每增加 1 $\mu\text{mol/L}$,列线图模型评分增加 5 分;CRP 每增加 5 mg/L,列线图模型评分增加 5.2 分;NLR 每增加 5,列线图模型评分增加 8.7 分,相对应的脓毒性休克患者短期预后不良发生风险上升,见图 1。

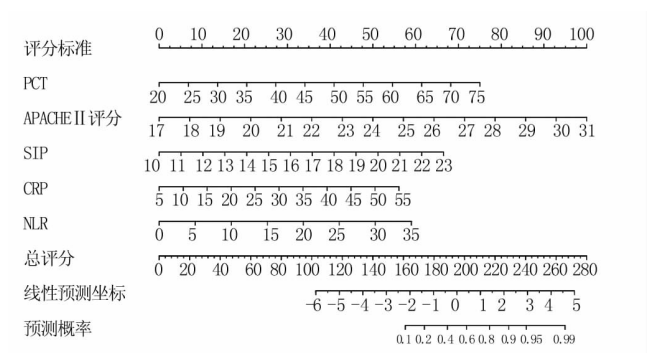


图 1 预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的列线图模型

2.4 列线图模型的验证 作列线图模型预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的 ROC 曲线,评估列线图模型区分度。ROC 曲线分析结果显示,预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的 AUC 为 0.890 (95% CI 0.826~0.955),表明该列线图模型区分度良好,见图 2。绘制脓毒性休克患者短期预后不良发生风险列线图模型的校准曲线并进行 Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验,评估列线图模型的准确度,校准曲线为斜率接近 1 的直线,见图 3,表明该模型预测脓毒性休

克患者短期预后不良发生风险与实际发生风险一致性良好,Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验 $\chi^2 = 13.079$, $P = 0.109$,表明该列线图模型具有较好校准度。

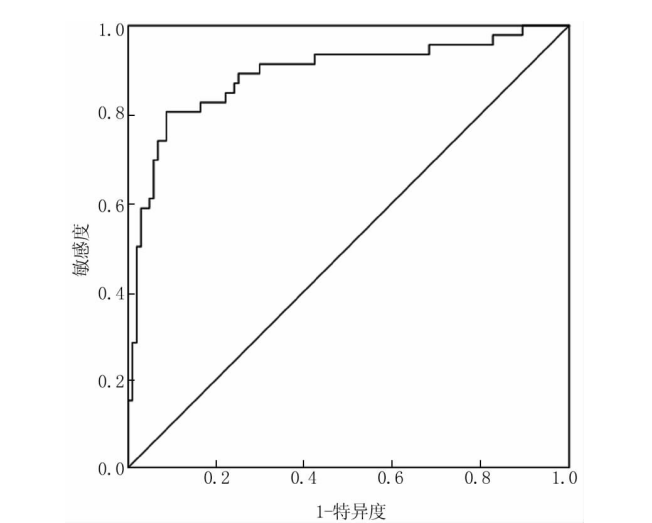


图 2 列线图模型预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的 ROC 曲线

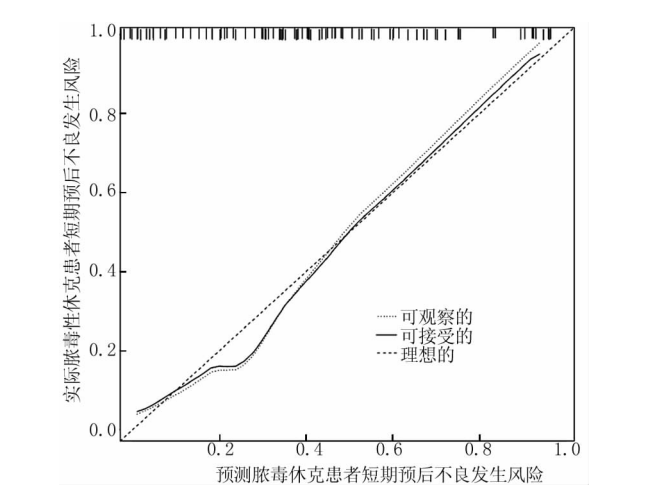


图 3 列线图模型脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的验证

3 讨论

脓毒性休克是一种可导致机体多器官功能发生障碍的疾病,具有较高的病死率^[8-10]。相关数据显示,脓毒性休克患者病死率为 19%~47%^[11]。本研究发现,150 例脓毒性休克患者中有 46 例患者 7 d 内死亡,病死率为 30.67%。因此,寻找影响脓毒性休克患者死亡发生的相关因素具有重要意义。有研究显示,可应用列线图模型预测临床不良事件发生的风险^[12-15]。本结果发现,死亡组 PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP、NLR 水平均高于存活组;PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP 及 NLR 水平升高是脓毒性休克患者预后不良发

生的独立危险因素。基于上述 5 项脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立影响因素,建立列线图模型,可更直观地分析各危险因素的不同水平对脓毒性休克患者短期预后不良风险的影响程度,以筛选出脓毒性休克患者短期预后不良发生高风险患者。

张颖等^[16]研究发现,PCT、CRP 是影响脓毒性休克患者预后的独立危险因素,且其水平越高,患者预后越差。本结果显示,PCT、CRP 是脓毒性休克患者短期预后不良发生的危险因素,且 PCT 每增加 5 ng/ml,列线图模型评分增加 6.3 分权重,CRP 每增加 5 mg/L,列线图模型评分增加 5.2 分权重。可能原因为:PCT、CRP 水平升高,增加了机体的炎性反应,促进了感染的发生,大大增加了患者短期预后不良发生的风险。王文静等^[17]研究发现,脓毒性休克死亡患者 PCT 水平高于生存者,且 PCT 诊断脓毒性休克患者不良预后的 AUC 为 0.932,检测脓毒性休克患者 PCT 水平,可预测患者预后。朱先华等^[18]研究发现,S1P 在脓毒性休克患者血清中呈高表达,且其表达水平与患者预后有关,可作为评估患者病情及预后的重要指标。本研究结果显示,S1P 是脓毒性休克患者短期预后不良发生的危险因素,且 S1P 每增加 1 $\mu\text{mol/L}$,列线图模型评分增加 5 分权重。可能原因为:S1P 表达水平升高,降低了血管活性物质的表达及冠状动脉血流量及心肌收缩能力,进而促进了预后不良的发生。梁欢等^[19]研究发现,NLR 是脓毒性休克患者死亡的危险因素,且与 APACHE II 评分密切相关,对脓毒性休克患者死亡风险发生具有一定的预测价值。本研究结果显示,NLR 是脓毒性休克患者短期预后不良发生的危险因素,且 NLR 每增加 5,列线图模型评分增加 8.7 分权重。张灯亮等^[20]研究发现,脓毒性休克患者经治疗后 APACHE II 评分降低,具有积极的治疗效果,且检测相应血流动力学指标对评估患者预后具有重要的作用。本结果显示,APACHE II 评分是脓毒性休克患者短期预后不良发生的危险因素,且 APACHE II 评分每增加 1 分,列线图模型评分增加 7 分权重。此外,本研究还对列线图预测模型进行了验证,ROC 曲线分析结果显示,该模型预测脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的 AUC 为 0.890,表明该列线图模型区分度良好,校准曲线为斜率接近 1 的直线,Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验 $\chi^2 = 13.079$, $P = 0.109$,表明该列线图模型具有较好校准度。

综上所述,本研究基于 PCT、APACHE II 评分、S1P、CRP 及 NLR 水平分析脓毒性休克患者短期预后不良发生的独立影响因素,并构建预测脓毒性休克患

者短期预后不良发生风险的列线图模型,具有良好的区分度与准确度,但要实现更全面的脓毒性休克患者短期预后不良发生风险的筛查,还需进一步临床研究。
利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

郑从波:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;胡芳宝:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王文:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;窦红杰、林凌:进行统计学分析;王德强:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Harbi GA, Chaari A. Platelets parameters in septic shock: clinical usefulness and prognostic value [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2020, 31(7):421-425. DOI:10.1097/MBF.0000000000000937.
- [2] Llópez-Espinós P, Palazón-Bru A, Beneyto-Ripoll C, et al. Quality assessment of meta-analyses evaluating randomized clinical trials to improve the prognosis of septic shock: an overview of systematic reviews [J]. *Curr Med Res Opin*, 2020, 36(6):929-939. DOI: 10.1080/03007995.2020.1754188.
- [3] Coopersmith CM, Backer DD, Deutschman CS, et al. Surviving sepsis campaign: research priorities for sepsis and septic shock [J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(8):1334-1356. DOI: 10.1097/CCM.00000000000003225.
- [4] 王力捷,沈韦羽,席勇,等. 直径 ≤ 1 cm 肺纯磨玻璃结节中浸润性肺腺癌风险预测的列线图模型研究 [J]. *中国医刊*, 2019, 54(1):40-45. DOI:10.3969/j.issn.1008-1070.2019.01.010.
- [5] 韩磊,崔平,唐明霜,等. 胆道系统肿瘤患者生存预测模型的构建及验证研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2019, 40(11):1461-1469. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.11.022.
- [6] 高福来,谢长顺,张利利. 基于血清 Betatrophin 水平的非酒精性脂肪肝列线图预测模型的建立与分析 [J]. *中国医药导报*, 2019, 16(10):109-112, 125. DOI:CNKI:SUN:YYCY.0.2019-10-029.
- [7] 中国医师协会急诊医师分会,中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018) [J]. *临床急诊杂志*, 2018, 19(9):567-588. DOI:10.3969/j.issn.1002-1949.2018.09.001.
- [8] Rygdr SL, Butler E, Granholm A, et al. Low-dose corticosteroids for adult patients with septic shock: a systematic review with Meta-analysis and trial sequential analysis [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(7):1003-1016. DOI:10.1007/s00134-018-5197-6.
- [9] 付优,何聪,白银箱,等. 肾阻力指数联合中心静脉压预测脓毒性休克患者发生急性肾损伤的价值 [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32(4):473-477. DOI:10.3760/cma.j.cn121430-20191014-00062.
- [10] Sekino M, Funaoka H, Sato S, et al. Association between macroscopic tongue ischemia and enterocyte injury and poor outcome in patients with septic shock: A Preliminary Observational Study [J]. *Shock*, 2018, 50(5):530-537. DOI:10.1097/SHK.0000000000001122.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.012

论著·临床

右旋糖酐铁联合 EPO 治疗妊娠期缺铁性贫血疗效及其对 RET、Hepcidin-25 水平的影响

吴进, 李慧, 肖凯, 王芳, 吴佳, 阳笑

基金项目: 湖南省科学技术厅科技计划一般项目(2014SK3105)

作者单位: 410008 长沙, 湖南省妇幼保健院药学研究部(吴进、李慧、肖凯、王芳、吴佳), 产科(阳笑)

通信作者: 吴进, E-mail: gxwv29@163.com

【摘要】目的 观察右旋糖酐铁片剂联合促红细胞生成素(EPO)治疗妊娠期缺铁性贫血的疗效及其对患者网织红细胞(RET)、铁调素-25(Hepcidin-25)水平的影响。**方法** 选取2018年7月—2019年7月湖南省妇幼保健院产科收治的妊娠期缺铁性贫血患者86例,随机数字表法分为对照组和联合组,各43例。对照组采用右旋糖酐铁片剂治疗,联合组采用右旋糖酐铁片剂联合EPO治疗。治疗1个月后,比较2组临床疗效,治疗前后血红蛋白(Hb)、红细胞平均体积(MCV)、EPO、铁蛋白(SF)、可溶性转铁蛋白受体(sTfR)、Hepcidin-25、膜铁转运蛋白1(FPN1)、铁幼素(HJV)、RET百分数(RET%)及分群荧光RET比率(MFR)、未成熟RET比率(IRF)、低荧光RET比率(LFR)、血红蛋白含量(RET-He),并记录妊娠结局、不良反应发生情况。**结果** 联合组治疗总有效率高于对照组(93.35% vs. 81.40%, $\chi^2/P=4.074/0.044$)。与对照组比较,治疗后联合组Hb、MCV水平显著升高,EPO水平显著降低($t/P=4.067/0.001, 2.097/0.039, 5.695/0.001$),SF、Hepcidin-25、HJV水平显著升高,sTfR、FPN1水平显著降低($t/P=3.926/0.001, 10.000/0.001, 5.829/0.001, 3.588/0.001, 8.379/0.001$),RET%、MFR、IRF水平显著降低,LFR、RET-He水平显著升高($t/P=2.440/0.017, 2.897/0.005, 5.804/0.001, 3.070/0.001, 4.619/0.001$)。联合组妊娠结局不良率、不良反应发生率高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 右旋糖酐铁片联合EPO治疗妊娠期缺铁性贫血患者可有效提高血清铁含量和铁蛋白饱和度,显著改善患者的贫血症状,效果显著。

【关键词】 缺铁性贫血;妊娠期;右旋糖酐铁片;促红细胞生成素;网织红细胞;铁调素-25**【中图分类号】** R556.3**【文献标识码】** A

Effect of iron dextran tablets combined with EPO on RET and hepcidin-25 levels in patients with iron deficiency anemia during pregnancy Wu Jin*, Li Hui, Xiao Kai, Wang Fang, Wu, Jia, Yang Xiao. * Pharmaceutical Research Department, Hunan Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha 410008, China

Corresponding author: Wu Jin, E-mail: gxwv29@163.com

Funding program: Normal Project of Hunan Province Science and Technology Bureau(2014SK3105)

【Abstract】Objective To explore the effect of iron dextran tablets combined with erythropoietin (EPO) on RETiculocyte (RET) and hepcidin-25 (hepcidin-25) levels in patients with iron deficiency anemia during pregnancy. **Methods** From July 2018 to July 2019, 86 patients with iron deficiency anemia in pregnancy were randomly divided into control group and combined group. Control group was treated with dextran iron tablets, combined group with dextran iron tablets combined with EPO treatment. Hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), erythropoietin (EPO), ferritin (SF), soluble transferrin receptor (sTfR), hepcidin-25, membrane iron transporter 1 (FPN1), ferritin (HJV), RET% and fluorescent RET ratio (MFR) were compared between the two groups before and after treatment. Immature RET ratio (IRF), low fluorescence RET ratio (LFR), hemoglobin content (RET-He), pregnancy outcome and clinical efficacy were analyzed. **Results** The total effective rate in combined group was higher than control group (93.35% vs. 81.40%, $\chi^2/P=4.074/0.044$). Compared with the control group, A significant increase in Hb, MCV levels, EPO levels decreased significantly ($t/P=4.067/0.001, 2.097/0.039, 5.695/0.001$). Compared with the control group, A significant increase in SF, Hepcidin-25, HJV, levels, sTfR, FPN1 levels decreased significantly ($t/P=3.926/0.001, 10.000/0.001, 5.829/0.001, 3.588/0.001, 8.379/0.001$). Compared with the control group, A significant decrease in RET%, MFR, IRF levels in the combined group, LFR, RET-He levels increased significantly ($t/P=2.440/0.017, 2.897/0.005, 5.804/0.001, 3.070/0.001, 4.619/0.001$). Pregnancy outcomes rate and adverse effect rate are

high, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Iron dextran tablets combined with EPO in the treatment of patients with iron deficiency anemia during pregnancy can effectively improve the serum iron content and ferritin saturation, significantly improve the anemia of patients, the effect is significant.

【Key words】 Iron deficiency anemia; Pregnancy; Iron dextran tablets; Erythropoietin; Reticulocyte; Hepcidin-25

铁是维持人体新陈代谢和体内平衡所必需的微量元素,然而,只有大约 1/5 的育龄妇女有足够的铁储备,由于胎儿和孕妇对铁的需求较大,身体更容易缺铁,从而导致缺铁性贫血^[1]。孕妇贫血大多是缺铁性贫血,但也有部分是地中海贫血、巨幼细胞贫血等。建议做相关检查,假如孕妇铁蛋白水平降低,说明体内铁储备不足,从而会引起缺铁性贫血^[2]。如果长期缺铁性贫血,无法为胎儿生长发育提供足够的营养,可能导致胎儿发育不良、出生体质量过低、宫内生长受限,严重的可能会导致胎儿智力受到影响,出生之后婴儿注意力不集中等^[3]。建议多吃含铁较高的食物、新鲜蔬菜水果,补充维生素,促进铁的吸收。如果铁蛋白水平较低,贫血较为严重的孕妇,建议口服一些铁剂补血,同时配合口服维生素 C^[4]。现观察右旋糖酐铁片联合 EPO 治疗对妊娠期缺铁性贫血患者 RET、Hepcidin-25 水平的影响,为临床提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 7 月—2019 年 7 月湖南省妇幼保健院产科收治的妊娠期缺铁性贫血患者 86 例,随机数字表法分为对照组和联合组各 43 例。对照组年龄 25 ~ 36 (28.98 ± 5.22) 岁;孕周 14 ~ 17 (14.73 ± 1.42) 周。联合组年龄 23 ~ 34 (27.08 ± 5.22) 岁,孕周 12 ~ 16 (13.30 ± 1.90) 周。2 组年龄、孕周等比较,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批准,患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:所有患者均符合“妊娠期铁缺乏和缺铁性贫血诊治指南”诊断标准^[5]。(2) 排除标准:有严重呼吸系统、感染性疾病、心脑血管疾病、泌尿系统疾病、消化系统疾病、血液系统疾病、神经系统疾病者;患有地中海贫血症者。

1.3 治疗方法 2 组患者均行临床基础干预,均加强营养,多食用新鲜水果、蔬菜、肉类、动物肝脏等有利于控制贫血的食物,每日口服维生素 C 促进铁吸收。对照组给予右旋糖酐铁片剂(辽宁味邦生物制药有限公司)50 mg/次,饭后口服,每天 3 次。联合组在对照组的基础上给予重组人红细胞生成素(EPO,山东科兴生物制品有限公司)600 IU/kg,分 3 次皮下注射,每周 1 次,连续治疗 1 个月。

1.4 临床疗效评价标准^[6] 显效:临床症状基本消失,血红蛋白 > 110 g/L;有效:临床症状有所好转,血红蛋白上升值 > 20 g/L;无效:临床症状无改善,甚至加重,血红蛋白上升值 ≤ 20 g/L。总有效率 = (显效 + 有效)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 贫血相关指标检测:采集 2 组患者治疗前、后 1 d 清晨空腹静脉血 3 ml,离心分离血清备用。采用迈瑞 Mindray 全自动血液细胞分析仪 BC-5000 检测血红蛋白(Hb)、红细胞平均体积(MCV)水平,采用化学发光法检测 EPO 水平。

1.5.2 铁相关指标检测:上述血清采用增强免疫分析法检测铁相关指标铁蛋白(SF)水平,采用酶联免疫吸附试验法(ELISA 法)检测铁调素-25(Hepcidin-25)、膜铁转运蛋白 1(FPN1)、铁幼素(HJV)水平,采用化学发光法检测可溶性转铁蛋白受体(sTfR)水平。

1.5.3 RET 计数及分群检测:采集 2 组患者治疗前、后 1 d 清晨空腹肘静脉血 3 ml,抗凝处理,轻轻摇晃,之后使用 XE-2100 分析仪做 RET 计数[RET 百分数(RET%)]及分群检测。分群荧光[RET 比率(MFR)、未成熟 RET 比率(IRF)、低荧光 RET 比率(LFR)、血红蛋白含量(RET-He)]。

1.5.4 妊娠结局:统计早产、产后出血、巨大儿、低体质量儿、新生儿窒息等发生情况。

1.5.5 不良反应:统计患者治疗过程中恶心、便秘、肝肾功能异常、胃胀等不良反应情况。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件分析处理数据。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,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。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 联合组治疗总有效率为 95.35%,高于对照组的 81.40%,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 2 组治疗前后贫血相关指标水平比较 治疗前 2 组 Hb、MCV、EPO 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 1 个月后 2 组 Hb、MCV 水平明显升高, EPO 水平明显降低,且联合组升高/下降幅度较对照

组更明显 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 2 组临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	43	25(58.14)	10(23.26)	8(18.60)	81.40
联合组	43	32(74.42)	9(20.93)	2(4.65)	95.35
U/χ^2 值		$U = 4.512$		$\chi^2 = 4.074$	
P 值		0.032		0.044	

表 2 2 组患者治疗前后贫血相关指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	Hb(g/L)	MCV(fl)	EPO(mIU/ml)
对照组 ($n = 43$)	治疗前	84.26 ± 15.69	72.95 ± 18.62	23.61 ± 6.48
	治疗后	106.69 ± 18.75	81.62 ± 19.69	13.69 ± 4.11
联合组 ($n = 43$)	治疗前	84.24 ± 15.68	72.94 ± 18.60	23.60 ± 6.47
	治疗后	126.36 ± 25.58	88.46 ± 8.36	9.25 ± 3.04
t/P 对照组内值		6.061/0.001	2.098/0.039	8.477/0.001
t/P 联合组内值		9.206/0.001	4.991/0.001	13.160/0.001
t/P 治疗后组间值		4.067/0.001	2.097/0.039	5.695/0.001

2.3 2 组治疗前后铁相关指标水平比较 治疗前 2 组 SF、sTfR、Hepcidin-25、FPN1、HJV 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 1 个月后 2 组 SF、Hepcidin-25、HJV 水平明显上升, sTfR、FPN1 水平明显降低, 且联合组升高/下降幅度较对照组更明显 ($P < 0.01$), 见表 3。

2.4 2 组治疗前后 RET 计数及分群比较 治疗前, 2 组 RET 计数及分群结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 1 个月后 2 组 RET%、MFR、IRF 水平明显下降, LFR、RET-He 水平明显上升, 且联合组升高/下

降幅度较对照组更明显 ($P < 0.05$), 见表 4。

2.5 2 组妊娠结局比较 联合组妊娠结局(早产、新生儿窒息各 1 例)不良率为 4.65%, 高于对照组(巨大儿 1 例)的 2.33%, 但差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.345$, $P = 0.557$)。

2.6 2 组不良反应比较 联合组不良反应(恶心、便秘各 1 例, 胃胀 2 例)总发生率 9.30%, 高于对照组(恶心、胃胀各 1 例)的 4.65%, 但差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.717$, $P = 0.397$)。

3 讨论

妊娠期缺铁性贫血属于妊娠期常见的一种现象, 对母婴健康有不同程度的危害。妊娠期缺铁性贫血孕妇主要表现为疲乏无力、皮肤苍白、头晕、心悸、耳鸣、气急、神经系统症状等, 严重威胁孕妇生命安全^[7]。铁是胎儿正常发育所必需的微量元素。维持妊娠期铁代谢的稳态十分重要, 人体需要储存大约 500 mg 的铁来满足怀孕的需要, 大约 40% 的妇女在怀孕期间会缺铁^[8]。因此, 缺铁是引起妊娠期贫血最常见的原因, 妊娠期间及时监测和评价铁代谢是预防缺铁的必要措施。铁调素是由肝脏分泌的一种富含半胱氨酸的抗菌肽激素, 通过抑制十二指肠铁吸收和巨噬细胞铁释放, 负向调节铁代谢, 其在免疫系统、铁转运和铁储存中起重要作用^[9]。基于上述背景, 本研究分析右旋糖酐铁片联合 EPO 治疗妊娠期缺铁性贫血的效果, 为临床上此病的治疗提供参考。

右旋糖酐铁是一种有机高价可溶性铁, 在小肠黏

表 3 2 组患者治疗前后铁相关指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	SF($\mu\text{g/L}$)	sTfR(nmol/L)	Hepcidin-25(ng/ml)	FPN1(ng/ml)	HJV(ng/ml)
对照组 ($n = 43$)	治疗前	25.36 ± 7.25	27.69 ± 8.25	72.34 ± 14.70	5.21 ± 1.75	0.43 ± 0.12
	治疗后	55.43 ± 12.24	19.35 ± 6.15	86.34 ± 17.42	3.69 ± 1.25	0.82 ± 0.24
联合组 ($n = 43$)	治疗前	25.34 ± 7.23	27.67 ± 8.24	72.32 ± 14.69	5.20 ± 1.73	0.41 ± 0.10
	治疗后	70.69 ± 22.36	15.26 ± 4.25	136.24 ± 27.69	1.95 ± 0.54	1.25 ± 0.42
t/P 对照组内值		13.860/0.001	5.222/0.001	4.028/0.001	4.635/0.001	9.531/0.001
t/P 联合组内值		12.650/0.001	8.777/0.001	13.370/0.001	11.760/0.001	12.760/0.001
t/P 治疗后组间值		3.926/0.001	3.588/0.001	10.000/0.001	8.379/0.001	5.829/0.001

表 4 2 组患者治疗前后 RET 计数及分群比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	RET%	MFR(%)	IRF(%)	LFR(%)	RET-He(pg)
对照组 ($n = 43$)	治疗前	2.45 ± 0.58	14.62 ± 4.26	21.36 ± 6.48	76.85 ± 9.43	25.34 ± 2.15
	治疗后	2.03 ± 0.24	11.69 ± 3.15	18.36 ± 2.24	82.49 ± 7.11	29.62 ± 3.72
联合组 ($n = 43$)	治疗前	2.44 ± 0.57	14.60 ± 4.64	21.34 ± 6.46	76.83 ± 9.40	25.32 ± 2.14
	治疗后	1.85 ± 0.42	9.86 ± 2.69	14.10 ± 4.26	89.53 ± 13.25	33.52 ± 4.10
t/P 对照组内值		4.388/0.001	3.626/0.001	2.869/0.005	3.132/0.002	6.532/0.001
t/P 联合组内值		5.464/0.001	5.795/0.001	6.135/0.001	5.126/0.001	11.630/0.001
t/P 治疗后组间值		2.440/0.017	2.897/0.005	5.804/0.001	3.070/0.001	4.619/0.001

膜上分解为游离铁,然后逐渐被身体吸收,并与转铁蛋白结合形成一种复合物,进入人体血液循环,参与血红蛋白的合成,且影响多种酶的活性^[10]。研究显示,右旋糖酐铁片主要成分包括三价铁的微分子右旋糖酐和氢氧化合物,易溶于水,形成亲水性胶体,在小肠黏膜上分解形成游离铁,随即通过被动和主动运转被机体吸收,与转铁蛋白结合形成复合物进入血液循环并影响多种酶的活性,生物利用度高。促红细胞生成素是类激素样物质、能够在骨髓造血微环境下促进红细胞的生成,调节机体的造血功能,可有效促进红细胞有丝分裂、血红蛋白的合成,释放骨髓内成网织红细胞、成熟红细胞^[11]。另外研究显示,EPO 在骨髓造血过程中起着重要的作用,可促进红细胞成熟,成熟的红细胞可携带较多的氧到组织,充足的氧可抑制肾脏产生红细胞生成酶及肝脏生成促红细胞生成素,从而调节红细胞的生成量,起到改善贫血症状的作用^[12-13]。本结果显示,与单纯应用右旋糖酐铁片的患者比较,联合应用右旋糖酐铁片、EPO 治疗妊娠期缺铁性贫血患者改善效果更为显著,效果较为理想,但目前临床上并无研究将两者联合应用于此类患者的治疗中,且本研究样本量较少,因此上述研究结果还需后续研究进一步分析验证。

临床研究显示,在妊娠期缺铁性贫血发生后,多种贫血相关指标表达异常,主要包括 Hb、MCV、EPO 等,其中 Hb 为红细胞内运输氧的特殊蛋白质,由珠蛋白和血红素组成,其珠蛋白部分是由 2 对不同的珠蛋白链组成的四聚体,与红细胞功能相关^[14]。EPO 是由肾脏产生的细胞因子,可直接作用于红系祖细胞刺激造血,促进幼红细胞的成熟,调节红细胞生成,贫血时,骨髓幼红细胞代偿性增生,刺激 EPO 水平升高,进而骨髓幼红细胞转铁蛋白受体表达升高,增加细胞摄取铁的能力,从而增加 Hb 合成^[15]。本研究结果显示,联合应用右旋糖酐铁片、EPO 治疗的患者贫血症状明显改善,表现为上述指标表达异常改善。

目前随着临床上对妊娠期缺铁性贫血的不断研究发现,此类患者机体内铁相关指标水平异常,部分升高或降低,增加患者贫血风险,SF 在肝内合成并储存,肝细胞炎症反应可使 SF 合成增加,肝细胞变性坏死可使 SF 释放入血,SF 升高程度与肝细胞受损轻重呈平行关系,但在严重低蛋白血症、缺铁性贫血可明显降低^[16]。sTfR 是跨膜糖蛋白,在血浆中与转铁蛋白特异性结合并转运到细胞中,血清 sTfR 是以游离形式从红细胞中脱落,它能有效反映骨髓红细胞的形成率和骨髓造血过程中的缺铁程度,与机体铁营养状况呈负相关,sTfR 水平越高,说明缺铁越严重。张彦芬等^[17]研

究显示,患者治疗后上述指标明显改善,贫血症状消失,其水平高低与患者疾病严重程度密切相关。Hepcidin-25 是人体内的一种铁平衡调节多肽,活性多肽 Hepcidin-25 主要是在肝脏中产生,通过蛋白质溶解切割前铁调素的 C-端 25 个氨基酸而产生的^[18]。N-端的铁调素-25 转化成小的多肽,这些多肽累积在尿液中,且活性较低,晚幼红细胞和成熟红细胞之间的过渡细胞是 RET,RET 的寿命为 1~2 d,而成熟红细胞的寿命为 120 d^[19]。FPN1 是一种跨膜铁输出分子,铁调素是维持机体铁稳态的中心调节因子,其表达量受铁水平的影响,铁调素与 FPN1 相互作用,影响 FPN1 的水平变化,从而控制肠道对铁的吸收和循环过程^[20]。周士华等^[21]研究显示,HJV 是铁调素表达所必需的调节蛋白,当机体循环铁逐渐上升时,肝细胞会加大合成铁调素进入血液,通过血液循环,它会到达铁的主要吸收部位十二指肠,与 HJV 在细胞膜上结合,降解 HJV,从而控制肠道对铁的吸收,HJV 在贫血中的应用价值较高,但目前对其研究较少。另外研究显示,在缺铁早期,骨髓存铁下降,因为 RET-He 的合成导致其下降,红细胞其他参数的变化慢,因此,在缺铁时,RET-He 可反映出骨髓红细胞造血的状态^[22]。本结果显示,联合应用右旋糖酐铁片、EPO 可明显改善患者机体铁代谢状态,改善贫血。

另外,虽然本结果发现,联合应用右旋糖酐铁片、EPO 治疗妊娠期缺铁性贫血有效,但并未深入分析其具体作用机制,且本研究样本量较少,可能存在一定的偏倚,因此还需后续研究进一步分析,以明确两者是否可用于此病的治疗和具体作用机制,为临床上两药联合治疗此病提供参考。

综上所述,联合应用右旋糖酐铁片、EPO 可有效提高妊娠期缺铁性贫血患者铁蛋白饱和度和血清铁水平,抑制 RET、Hepcidin-25 水平异常表达,有效改善患者的贫血症状,效果显著。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

吴进:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李慧:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;肖凯:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;王芳:进行统计学分析;吴佳、阳笑:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Breymann C, Honegger C, Hsli I, et al. Diagnosis and treatment of iron- deficiency anaemia in pregnancy and postpartum [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017,296(6):1229-1234. DOI: 10.1007/s00404-017-4526-2.
- [2] Percy L, Mansour D, Fraser I. Iron deficiency and iron deficiency

- anaemia in women[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017,40:55-67. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2016.09.007.
- [3] Jose A, Mahey R, Sharma JB, et al. Comparison of ferric carboxymaltose and iron sucrose complex for treatment of iron deficiency anemia in pregnancy- randomised controlled trial[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2019,19(1):54. DOI: 10.1186/s12884-019-2200-3.
- [4] Lewkowicz AK, Tuuli MG. Iron-deficiency anaemia in pregnancy: the role of hepcidin[J]. Lancet Glob Health, 2019,7(11):e1476-e1477. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30414-0.
- [5] 中华医学会围产医学分会. 妊娠期铁缺乏和缺铁性贫血诊治指南[J]. 中华围产医学杂志,2014,17(7):451-454. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-9408.2014.07.006.
- [6] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:6-9.
- [7] 汪霞,陶冶,王克涛,等. 蛋白琥珀酸铁联合生血宁治疗妊娠期缺铁性贫血效果[J]. 临床军医杂志,2019,47(9):947-948,951. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2019.09.21.
- [8] 谭伟兰,曾秋霞,区凯敏. 蛋白琥珀酸铁口服溶液联合益血生胶囊治疗妊娠期缺铁性贫血疗效评价[J]. 中国药业,2020,29(5):146-148. DOI:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.05.039.
- [9] 石丹,刘亚琼,张毅,等. 健脾生血片联合琥珀酸亚铁片治疗妊娠期缺铁性贫血临床研究[J]. 中国药业,2019,28(17):60-62. DOI: 10.3969/j.issn.1006-4931.2019.17.017.
- [10] 史生辉,李燕君,李生有,等. 健脾生血片与右旋糖酐铁片治疗妊娠期缺铁性贫血的临床对比研究[J]. 世界中医药,2018,13(9):2241-2243. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.09.036.
- [12] 李娜,李娟. 妊娠期预防性补铁对孕妇促红细胞生成素及妊娠结局影响[J]. 中国计划生育学杂志,2020,28(7):1041-1043. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2020.07.018.
- [14] 张琳,宋玮钊,黄校风. 妊娠期缺铁性贫血患者血 Hb、SF、PONI 水平与围生结局的关系[J]. 浙江医学,2019,41(12):1295-1297,1333. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.12.2019-1231.
- [15] 王青波,林宏,张国军,等. sTfR、EPO 的检测对孕妇缺铁性贫血诊断价值分析[J]. 标记免疫分析与临床,2019,26(1):37-39,69. DOI:10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.01.009.
- [13] 王百盛,李如珍,韩文锋,等. 联合应用重组人促红细胞生成素与蔗糖铁治疗初次全髋关节置换围术期贫血的疗效分析[J]. 创伤外科杂志,2019,21(3):192-196,200. DOI:10.3969/j.issn.1009-4237.2019.03.008.
- [16] 王奋勤,梁娟丽,王苗苗,等. 生血宝合剂辅助治疗妊娠期缺铁性贫血效果及对孕妇 MCV、SF 及妊娠结局影响[J]. 中国计划生育学杂志,2020,28(7):1053-1055,1063. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8189.2020.07.021.
- [17] 张彦芬,高大,易媛媛,等. 复方红衣补血口服液联合乳酸亚铁治疗妊娠期缺铁性贫血的临床研究[J]. 现代药物与临床,2019,34(8):2449-2453. DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2019.08.044.
- [18] 李姣,张亚平,张瑞,等. 铁调素在妊娠期缺铁性贫血中的表达及其与铁代谢参数的相关性[J]. 河北医科大学学报,2019,40(12):1465-1468. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2019.12.025.
- [19] 齐亮,邱辉,付玉. 血清铁调素-25 水平对妊娠期缺铁性贫血诊治的意义及与围产结局的关系[J]. 中国临床研究,2019,32(11):1471-1475. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2019.11.004.
- [20] 程旭,陆晔,李蓉,等. 铁调素调节蛋白、骨形成蛋白 6 及铁调素在乳腺癌组织中的表达及其与贫血的关系[J]. 医学研究杂志,2017,46(11):149-152,48. DOI:10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.036.
- [21] 周士华,杜景云,李亚梅,等. 可溶性转铁蛋白受体、膜铁转运蛋白 1、铁幼素对妊娠妇女缺铁性贫血的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床,2019,26(3):464-467,472. DOI:10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.03.025.
- [22] 张瀚月,张璐璐,许瑞,等. 网织红细胞血红蛋白含量等指标在妊娠期缺铁性贫血筛查中的意义[J]. 中国医药,2019,14(5):763-767. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.05.030.

(收稿日期:2020 - 11 - 16)

(上接 491 页)

- [11] 王宝权,李男,付海燕,等. 重症医学科脓毒症和脓毒性休克患者影响预后相关因素分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2019,19(5):499-504. DOI:10.16718/j.1009-7708.2019.05.007.
- [12] Lin S, Ye F, Rong W, et al. Nomogram to assist in surgical plan for hepatocellular carcinoma: a prediction model for microvascular invasion[J]. J Gastrointest Surg, 2019, 23(12):2372-2382. DOI: 10.1007/s11605-019-04140-0.
- [13] Wang T, Wang L, Yang H, et al. Development and validation of nomogram for prediction of malignant transformation in oral leukoplakia: A large-scale cohort study[J]. J Oral Pathol Med, 2019, 48(6):491-498. DOI:10.1111/jop.12862.
- [14] Zhao W, Xu Y, Yang Z, et al. Development and validation of a radiomics nomogram for identifying invasiveness of pulmonary adenocarcinomas appearing as subcentimeter ground-glass opacity nodules[J]. Eur J Radiol, 2019, 112(1):161-168. DOI:10.1016/j.ejrad.2019.01.021.
- [15] 马微妹,李姣,何妮,等. 基于乳腺 MRI 及腋窝超声的列线图预测早期乳腺癌前哨淋巴结转移风险的价值[J]. 中华放射学杂志, 2020, 54(7):694-701. DOI: 10.3760/cma.j.cn112149-20200420-00576.
- [16] 张颖,袁彬,汪阳. 脓毒性休克患者血清 C-反应蛋白、降钙素原和 NT-pro-BNP 水平及预后意义[J]. 空军医学杂志, 2018, 34(1):52-56. DOI:10.3969/j.issn.2095-3402.2018.01.015.
- [17] 王文静,孙雷焕,郭波,等. 早期外周灌注指数、乳酸、降钙素原预测脓毒性休克患者预后的价值[J]. 山东医药, 2020, 60(11):59-61. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2020.11.015.
- [18] 朱先华,胡晓飞. 1-磷酸鞘氨醇在脓毒性休克患者表达及其与预后关系的研究[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(4):411-415. DOI:10.14053/j.cnki.ppcr.201804013.
- [19] 梁欢,苗常青,吴梦茹,等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值对脓毒性休克患者 28 d 死亡风险的预测价值评估[J]. 临床急诊杂志, 2019, 20(7):503-508. DOI:10.13201/j.issn.1009-5981.2019.07.001.
- [20] 张灯亮,何先弟,刘杰,等. PiCCO 监测下的目标导向集束化治疗脓毒性休克的疗效及相关血流动力学指标对预后的诊断价值[J]. 中国急救医学, 2020, 40(6):536-541. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2020.06.014.

(收稿日期:2020 - 11 - 19)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 05. 013

论著 · 基础

大承气汤对大鼠胰腺纤维化的改善作用及 Wnt/ β -catenin 通路的影响

蔡滨, 梁晓强, 倪效, 叶圳, 李炯

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目 (19401902106)

作者单位: 200032, 上海中医药大学附属龙华医院肝胆外科 (蔡滨、倪效、叶圳、李炯), 中医外科研究所 (梁晓强)

通信作者: 李炯, E-mail: joe8989@sohu.com

【摘 要】 目的 探讨大承气汤对大鼠胰腺纤维化的改善作用及 Wnt/ β -连环蛋白 (β -catenin) 通路的影响。方法 2020 年 7—9 月在上海中医药大学附属龙华医院实验室进行实验。48 只 SD 大鼠建立胰腺纤维化模型成功后, 采用随机数字表法分成模型组、清胰利胆颗粒组 (2.678 g/kg)、大承气汤低剂量组 (6 g/kg)、大承气汤高剂量组 (12 g/kg), 每组 12 只; 另取 12 只大鼠作为空白对照组。各药物组给予相应药物灌胃, 空白对照组及模型组给予等体积的生理盐水, 每天 1 次, 给药周期为 4 周; 干预结束后, 测定各组血清淀粉酶、透明质酸水平, 苏木精—伊红 (HE) 染色观察胰腺组织病理结构并判定胰腺纤维化指数、腺体破坏指数评分, 测定胰腺组织中 Wnt、 β -catenin mRNA 和蛋白表达水平。结果 空白对照组胰腺结构正常; 模型组胰腺出现导管增生, 见大量纤维组织、空泡样变、嗜酸性粒细胞浸润明显, 且胰腺组织间隔增宽, 脂肪组织代替部分坏死腺体组织; 清胰利胆颗粒组及大承气汤低、高剂量组胰腺组织纤维化程度减轻, 炎性细胞、脂肪细胞浸润减少。与空白对照组比较, 模型组纤维化指数评分、腺体破坏指数评分、血清淀粉酶、透明质酸、胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 和蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 清胰利胆颗粒组及大承气汤低、高剂量组纤维化指数评分、腺体破坏指数评分、血清淀粉酶、透明质酸、胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 和蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$), 且大承气汤高剂量组水平低于大承气汤低剂量组 ($P < 0.05$); 清胰利胆颗粒组和大承气汤高剂量组各指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 大承气汤对大鼠胰腺纤维化具有明显改善作用, 其机制可能与大承气汤抑制大鼠胰腺组织 Wnt/ β -catenin 通路的激活有关。

【关键词】 胰腺纤维化; 大承气汤; Wnt/ β -catenin 通路; 大鼠

【中图分类号】 R576 【文献标识码】 A

Improvement of Dachengqi decoction on pancreatic fibrosis in rats and influence of Wnt/ β -catenin pathway Cai Bin*, Liang Xiaoliang, Ni Xiao, Ye Zhen, Li Jiong. * Department of Hepatobiliary Surgery, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Corresponding author: Li Jiong, E-mail: joe8989@sohu.com

Funding program: Scientific Research Projects of Shanghai Science and Technology Commission (19401902106)

【Abstract】 **Objective** To explore the improvement effect of Dachengqi decoction on rat pancreatic fibrosis and the influence of Wnt/ β -catenin pathway. **Methods** After the establishment of pancreatic fibrosis model, 48 SD rats were divided into model group, Qingyi Lidan Granule group (2.678 g/kg), Dachengqi decoction low-dose group (6 g/kg) and Dachengqi decoction high-dose group (12 g/kg) by random number table method. each group has 12 rats, and another 12 rats are taken as the blank control group. After the modeling is successful, each drug group is given corresponding drugs by gavage, the blank control group and The model group was given an equal volume of normal saline, once a day, for a period of 4 weeks; after the intervention, the levels of serum amylase and hyaluronic acid in each group were measured, and hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathology of pancreatic tissue structure and determine the pancreatic fibrosis index and gland destruction index scores, and measure the Wnt and β -catenin mRNA and protein expression levels in pancreatic tissues. **Results** The structure of the pancreas in the blank control group was normal. In the model group, ductal hyperplasia appeared in the pancreas, with a large amount of fibrous tissue, vacuolar degeneration, and obvious infiltration of eosinophils. The interval of pancreatic tissue was widened, and adipose tissue replaced part of the necrotic glandular tissue. The degree of pancreatic tissue fibrosis was reduced in the Qingyi Lidan Granule group and the low and high dose groups of

Dachengqi decoction, and the infiltration of inflammatory cells and fat cells was reduced. Compared with the blank control group, the fibrosis index score, gland destruction index score, serum amylase, hyaluronic acid, pancreatic tissue Wnt, β -catenin mRNA and protein expression levels increased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the fibrosis index score, gland destruction index score, serum amylase, hyaluronic acid, pancreatic tissue Wnt, β -catenin mRNA and protein expression levels in *Qingyi Lidan* Granule group and *Dachengqi* decoction low and high dose groups Decrease ($P < 0.05$). The level of *Dachengqi* decoction high-dose group was lower than that of *Dachengqi* decoction low-dose group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the indexes between the *Qingyi Lidan* Granule group and the *Dachengqi* decoction high-dose group ($P > 0.05$). **Conclusion** *Dachengqi* decoction can significantly improve pancreatic fibrosis in rats, and its mechanism may be related to *Dachengqi* decoction inhibiting the activation of Wnt/ β -catenin pathway in rat pancreatic tissue.

【Key words】 Pancreatic fibrosis; *Dachengqi* decoction; Wnt/ β -catenin pathway; Rats

胰腺纤维化严重威胁人类健康,其临床表现为持续或反复出现的上腹痛、胰腺钙化、脂肪变性、胰腺假性囊肿、胰腺的内分泌和外分泌功能不足^[1-2]。胰腺纤维化的特征是细胞外基质增加,炎性细胞浸润,腺泡细胞损伤和减少,腺管结构变化及腺管中结石形成^[3-4]。Wnt 蛋白涉及 19 种高度保守,分泌富含半胱氨酸的糖蛋白家族,在调节各种生理过程中起着重要作用,包括细胞存活、增殖、迁移和极性、细胞命运和干细胞自我更新^[5]。Wnt 蛋白激活涉及至少 4 个不同的细胞内信号传导级联:Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)、Wnt/ Ca^{2+} 、Wnt 平面细胞极性和 Wnt/蛋白激酶 A (PKA) 途径。Wnt 信号转导的失调导致发育缺陷和人类疾病,影响组织发育或体内平衡^[6]。研究表明,Wnt/ β -catenin 信号传导在多个器官,特别是肝脏的纤维化发展中起着至关重要的作用^[7]。研究已经证实,该途径可通过上调 Wnt 和 β -catenin 蛋白水平并增加核 β -catenin 的表达来介导胰腺星状细胞(多能性干细胞)的激活^[8]。近期研究表明,大承气汤具有抗炎作用,对重症胰腺炎具有良好的治疗效果^[9]。然而,大承气汤对胰腺纤维化是否有治疗作用尚不清楚,本研究拟探讨大承气汤经 Wnt/ β -catenin 通路改善大鼠胰腺纤维化的作用机制,为胰腺纤维化的治疗提供理论依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料 (1)实验动物:SPF 级 SD 大鼠购自南京医科大学实验动物中心,雌雄不限,10~12 周龄,体质量 260~320 g,动物生产许可证号:SCXK(苏)2019-0019,动物使用许可证号:SYXK(苏)2019-0058,动物质量合格证号:M30617914。动物饲养环境为:(22±2)℃,湿度 60%,12 h 明/暗循环,自由饮水进食。(2)药物及试剂:大承气汤(组方:大黄 12 g、芒硝 12 g、厚朴 12 g、枳实 12 g,由医院中药房提供,药材购自安徽百禾堂中药饮片有限公司,加水煎煮 2 次,每次 1 h,混合 2 次药液过滤去渣,置于旋转蒸发仪中浓缩

成生药量分别为 0.6、1.2 g/ml 的汤剂);清胰利胆颗粒(吉林省抚松制药股份有限公司);二乙基二硫代氨基甲酸钠溶液(天津百伦斯生物科技有限公司);苏木精—伊红(HE)染液、裂解缓冲液、二辛可宁酸蛋白测定试剂盒、聚偏氟乙烯(PVDF)膜、增强的化学发光试剂盒(上海碧云天生物技术研究所);淀粉酶、透明质酸检测试剂盒(美国贝克曼公司);总 RNA 提取试剂盒(日本希森美康公司);cDNA 合成试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(美国 Applied Biosystems 公司);Wnt、 β -catenin、GAPDH 单克隆抗体、兔抗鼠二抗(美国 Southern Biotech 公司)。(3)仪器:AS-09 型光学显微镜(日本尼康公司);StepOne/StepOne Plus 型实时荧光定量 PCR 系统(美国 ABI 公司);Healthcare 型凝胶成像系统(美国 GE 公司)。

1.2 实验方法 2020 年 7—9 月在上海中医药大学附属龙华医院实验室进行实验。大鼠适应性喂养 1 周后进行实验,参照文献[10]的方法建立胰腺纤维化大鼠模型,大鼠禁食不禁水 12 h,腹腔注射 10% 的二乙基二硫代氨基甲酸钠溶液 700 mg/kg,间隔 1 日注射 1 次,共注射 15 次。通过胰腺组织 HE 染色观察病理结构,判断模型建立的成功与否。53 只大鼠参与造模,成功 48 只,将建模成功的大鼠随机数字表法分为模型组、清胰利胆颗粒组(2.678 g/kg)、大承气汤低剂量组(6 g/kg)、大承气汤高剂量组(12 g/kg)^[11-12],每组 12 只;另取 12 只大鼠腹腔注射等量生理盐水设为空白对照组。各药物组给予相应药物灌胃,灌胃体积均为 10 ml/kg,空白对照组及模型组给予等体积的生理盐水,每天 1 次,给药周期为 4 周。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 胰腺损伤指标测定:干预 4 周后,大鼠腹主动脉取血,8 000 × g 离心分离血清,采用酶联免疫吸附法测定血清淀粉酶、透明质酸水平,操作步骤按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 胰腺组织形态学检查:颈脱臼处死大鼠,钝性分离胰腺组织,将胰腺组织在 4% 多聚甲醛中固定过夜,使用标准方法包埋在石蜡中,然后连续切片(4 μ m 厚),用 HE 染液对组织进行染色,通过光学显微镜进行组织学检查。对胰腺组织病理进行纤维化指数和腺体破坏指数评分^[13],评分范围 0~5 分(0 分为正常,5 分为严重),评分项目包括:炎性反应、纤维化、纤维腺泡萎缩和细胞排列评分。

1.3.3 胰腺组织中 Wnt、 β -catenin mRNA 水平测定:使用总 RNA 提取试剂盒提取胰腺组织总 RNA,并使用 cDNA 合成试剂盒进行逆转录,实时荧光定量 PCR 系统进行定量 PCR 反应。所有 PCR 数据均针对管家基因 GAPDH 进行标准化,引物由北京安必奇生物科技有限公司合成,序列如下:Wnt 正向 5'-CAAAATGGT-TCTCCCAAGGA-3', Wnt 反向 5'-ACATCTTCTCGCCAT-TCCAC-3'; β -catenin 正向 5'-ACCCTCCCAGATTA-CAACC-3', β -catenin 反向 5'-CAAGCGGTGTTCTGTCT-CAA-3'; GAPDH 正向 5'-CACCCTTCTACTATCTCCTC-CAT-3', GAPDH 反向 5'-CGAGATCAGCTCAGCTG-CAAGTC-3'。循环条件为 50℃ 2 min, 95℃ 1min, 然后 95℃ 40 s 和 60℃ 30 s 的 40 个循环。使用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}方法确定相对 mRNA 表达水平。

1.3.4 胰腺组织中 Wnt、 β -catenin 蛋白水平测定:获取胰腺组织(40 mg),然后用裂解缓冲液裂解,通过二辛可宁酸法测定蛋白质浓度,通过 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离出总细胞蛋白(20 μ g),并转移到

PVDF 膜上,将膜用 5% 脱脂奶在 PBS 缓冲液中室温封闭 2 h,并在 4℃ 与 Wnt、 β -catenin、GAPDH 一抗(1:1 000)孵育过夜,洗涤 3 次后,将膜与兔抗鼠二抗(1:5 000)在室温下放置 1 h 孵育。使用增强的化学发光试剂盒将蛋白条带可视化,凝胶成像系统对蛋白质条带进行捕获和定量分析。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠胰腺纤维化指标比较 与空白对照组比较,模型组纤维化指数评分、腺体破坏指数评分及血清淀粉酶、透明质酸水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,清胰利胆颗粒组及大承气汤低、高剂量组纤维化指数评分、腺体破坏指数评分、血清淀粉酶、透明质酸水平降低($P < 0.05$);且大承气汤高剂量组上述指标水平低于大承气汤低剂量组($P < 0.05$);清胰利胆颗粒组与大承气汤高剂量组上述指标水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 各组大鼠胰腺病理结构变化比较 空白对照组胰腺结构正常;模型组胰腺出现导管增生,见大量纤维组织、空泡样变、嗜酸性粒细胞浸润明显,且胰腺组织间隔增宽,脂肪组织代替部分坏死腺体组织;清胰利胆颗粒组及大承气汤低、高剂量组胰腺组织纤维化程度减轻,炎性细胞、脂肪细胞浸润减少,见图 1。

表 1 各组大鼠胰腺纤维化指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	纤维化指数评分(分)	腺体破坏指数评分(分)	淀粉酶(U/L)	透明质酸(U/L)
空白对照组	12	0	0	159.96 $\pm$ 52.73	79.94 $\pm$ 16.44
模型组	12	4.36 $\pm$ 0.38 ^a	4.48 $\pm$ 0.42 ^a	2696.63 $\pm$ 369.96 ^a	398.96 $\pm$ 42.85 ^a
清胰利胆颗粒组	12	2.25 $\pm$ 0.27 ^b	2.95 $\pm$ 0.33 ^b	1598.36 $\pm$ 173.85 ^b	169.96 $\pm$ 19.20 ^b
大承气汤低剂量组	12	3.15 $\pm$ 0.31 ^{bc}	3.85 $\pm$ 0.37 ^{bc}	2154.64 $\pm$ 259.96 ^{bc}	262.29 $\pm$ 35.69 ^{bc}
大承气汤高剂量组	12	2.29 $\pm$ 0.29 ^{bd}	2.93 $\pm$ 0.31 ^{bd}	1610.36 $\pm$ 178.63 ^{bd}	171.69 $\pm$ 20.36 ^{bd}
<i>F</i> 值		19.637	21.623	20.247	19.741
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与清胰利胆颗粒组比较,^c $P < 0.05$;与大承气汤低剂量组比较,^d $P < 0.05$

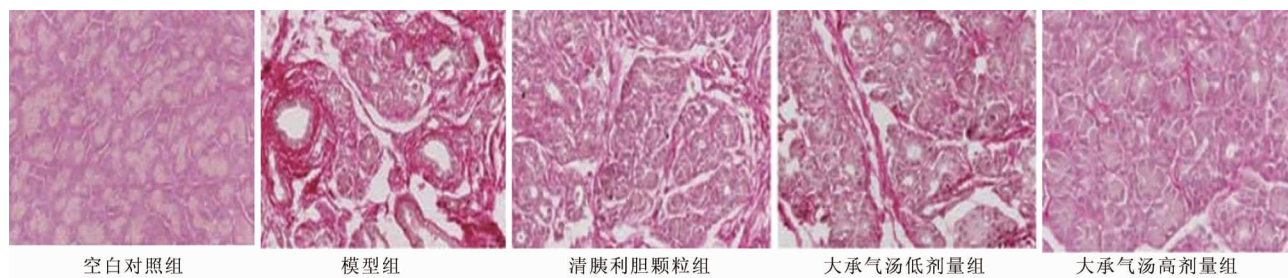


图 1 各组大鼠胰腺组织病理结构变化比较(HE 染色, $\times 200$)

2.3 各组大鼠胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 表达水平比较 与空白对照组比较,模型组胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,清胰利胆颗粒组及大承气汤低、高剂量组胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 水平降低($P < 0.05$);且大承气汤高剂量组胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 水平低于大承气汤低剂量组($P < 0.05$);清胰利胆颗粒组与大承气汤高剂量组胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠胰腺组织 Wnt、 β -catenin mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	Wnt mRNA	β -catenin mRNA
空白对照组	12	0.99 $\pm$ 0.23	0.83 $\pm$ 0.13
模型组	12	3.98 $\pm$ 0.43 ^a	3.59 $\pm$ 0.32 ^a
清胰利胆颗粒组	12	1.50 $\pm$ 0.25 ^b	1.65 $\pm$ 0.19 ^b
大承气汤低剂量组	12	2.36 $\pm$ 0.35 ^{bc}	2.45 $\pm$ 0.24 ^{bc}
大承气汤高剂量组	12	1.49 $\pm$ 0.28 ^{bd}	1.67 $\pm$ 0.18 ^{bd}
F 值		13.427	12.678
P 值		0.000	0.000

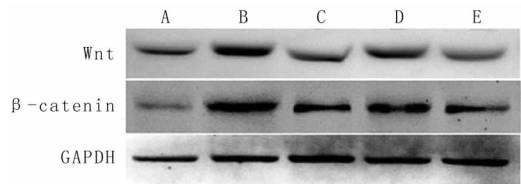
注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与清胰利胆颗粒组比较,^c $P < 0.05$;与大承气汤低剂量组比较,^d $P < 0.05$

2.4 各组大鼠胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白表达水平比较 与空白对照组比较,模型组胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,清胰利胆颗粒组及大承气汤低、高剂量组胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白水平降低($P < 0.05$);且大承气汤高剂量组胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白水平低于大承气汤低剂量组($P < 0.05$);清胰利胆颗粒组与大承气汤高剂量组胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3、图 2。

表 3 各组大鼠胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	Wnt 蛋白 (/GAPDH)	β -catenin 蛋白 (/GAPDH)
空白对照组	12	0.52 $\pm$ 0.04	0.29 $\pm$ 0.03
模型组	12	2.01 $\pm$ 0.15 ^a	2.12 $\pm$ 0.18 ^a
清胰利胆颗粒组	12	0.86 $\pm$ 0.06 ^b	0.95 $\pm$ 0.06 ^b
大承气汤低剂量组	12	1.05 $\pm$ 0.11 ^{bc}	1.36 $\pm$ 0.12 ^{bc}
大承气汤高剂量组	12	0.85 $\pm$ 0.07 ^{bd}	0.93 $\pm$ 0.08 ^{bd}
F 值		9.465	8.745
P 值		0.000	0.000

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与清胰利胆颗粒组比较,^c $P < 0.05$;与大承气汤低剂量组比较,^d $P < 0.05$



注:A. 空白对照组;B. 模型组;C. 清胰利胆颗粒组;D. 大承气汤低剂量组;E. 大承气汤高剂量组

图 2 各组大鼠胰腺组织 Wnt、 β -catenin 蛋白印迹图

3 讨 论

从中医角度来讲,胰腺纤维化是痰瘀凝滞之病^[14]。胰腺纤维化是慢性胰腺炎的主要病理特征,中医将慢性胰腺炎归结为“腹痛、胃心痛、胁痛、泄泻、瘕”等病症范畴,多由外邪侵袭、情志失畅、饮食不节、恣食肥甘、虫积内积或创伤等导致肝胆不利,湿热积滞中焦,中焦气机不畅,日久则肝郁气滞,痰瘀凝滞之。湿热内困,当以清热化湿;肝旺乘脾,当以疏肝理气;痰湿蕴脾,当以燥湿涤痰;气滞血瘀,当以理气活血;腑气不通,当以通腑泻下。大承气汤方中大黄泻热通便,燥湿化痰,荡涤肠胃,为君药;芒硝助大黄泻热通便活血化痰散结,并能软坚润燥,为臣药,二药相须为用,峻下热结之力甚强;积滞内阻,则腑气不通,故以厚朴、枳实行气散结,消痞除满,并助硝、黄推荡积滞以加速热结之排泄,共为佐使^[15]。现代医学发现,大承气汤含有黄酮等活性物质,进一步的药理学研究表明,大承气汤具有降低毛细血管通透性,减少炎性渗出物,降低炎性反应病灶的扩散;减少内毒素吸收,改善微循环,增加腹腔脏器的血流量,减轻组织缺血、缺氧状态,具有抗炎性反应、免疫调节,抗病毒和抗肿瘤的作用^[16-17]。本研究中,模型组纤维化指数评分、腺体破坏指数评分及血清淀粉酶、透明质酸水平高于空白对照组;模型组胰腺出现导管增生,见大量纤维组织、空泡样变、嗜酸性粒细胞浸润明显,且胰腺组织间隔增宽,脂肪组织代替部分坏死腺体组织,符合胰腺炎和胰腺纤维化的表现^[18-20]。给予大承气汤治疗后,大承气汤低、高剂量组纤维化指数评分、腺体破坏指数评分及血清淀粉酶、透明质酸水平低于模型组,胰腺组织纤维化程度减轻,炎性反应、脂肪细胞浸润减少,且大承气汤各剂量组之间呈剂量依赖性。说明大承气汤对大鼠胰腺纤维化具有明显改善作用。

Wnt 是一种多能细胞因子,在调节免疫、炎性反应、细胞生长和分化中起着不可或缺的作用。有研究表明,肝硬化和心脏纤维化等疾病中 Wnt 高表达^[21-22]。Wnt 是促进多能性干细胞中纤维化反应的促

纤维化因子之一^[23]。通过 β -catenin 蛋白广泛表征的典型 Wnt/ β -catenin 信号传导可驱动特定靶基因的活化并调节一系列生物过程,在激活该信号通路的过程中,细胞质 β -catenin 稳定并进入细胞核,与转录因子特别是 T 细胞因子和淋巴增强因子结合,从而调节靶基因的转录^[24-25]。有研究证实,Wnt/ β -catenin 信号传导途径参与调节细胞分化和增殖^[26]。Wnt/ β -catenin 信号通路激活与维甲酸诱导的纤连蛋白表达有关,并协同抑制纤连蛋白分解^[27-28]。研究表明,Wnt/ β -catenin 信号通路在体外刺激多能性干细胞时被激活,进而诱导多能性干细胞向纤维细胞转化^[29]。本研究结果显示,模型组大鼠胰腺组织 Wnt/ β -catenin mRNA 和蛋白水平高于空白对照组,给予大承气汤治疗后,大承气汤低、高剂量组大鼠胰腺组织 Wnt/ β -catenin mRNA 和蛋白水平低于模型组,大承气汤各剂量组之间呈剂量依赖性。说明大承气汤抑制大鼠胰腺组织 Wnt/ β -catenin mRNA 和蛋白表达进而抑制 Wnt/ β -catenin 通路激活,改善大鼠胰腺纤维化。

综上所述,大承气汤对大鼠胰腺纤维化具有明显改善作用,其机制可能与大承气汤抑制大鼠胰腺组织 Wnt/ β -catenin mRNA 和蛋白表达进而抑制 Wnt/ β -catenin 通路激活有关。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

蔡滨:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;梁晓强:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;倪效:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;叶圳:进行统计学分析;李炯:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Kanikovskiy OE, Pavlyk IV, Oliinyk IV, et al. The key role of pancreatic fibrosis severity in the surgical treatment algorithm of patients with chronic pancreatitis [J]. *Wiad Lek*, 2020, 73 (2):235-238.DOI: 10.36740/WLek202002105.
- [2] Kojayan GG, Alizadeh RF, Li S, et al. Reducing pancreatic fibrosis using antioxidant therapy targeting Nrf2 antioxidant pathway: A possible treatment for chronic pancreatitis [J]. *Pancreas*, 2019, 48 (10):1259-1262.DOI: 10.1097/MPA.0000000000001433.
- [3] Ji T, Feng W, Zhang X, et al. HDAC inhibitors promote pancreatic stellate cell apoptosis and relieve pancreatic fibrosis by upregulating miR-15/16 in chronic pancreatitis [J]. *Hum Cell*, 2020, 33 (1): 1-11.DOI: 10.1007/s13577-020-00387-x.
- [4] Cui LH, Li CX, Zhuo YZ, et al. Saikosaponin d ameliorates pancreatic fibrosis by inhibiting autophagy of pancreatic stellate cells via PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 300 (1): 18-26.DOI: 10.1016/j.cbi.2019.01.005.
- [5] Ryosuke W, Yasunao H, Shigekuni H, et al. A novel dipeptide type inhibitor of the Wnt/ β -catenin pathway suppresses proliferation of

- acute myelogenous leukemia cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 535 (1):73-79.DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.12.027.
- [6] Perry JM, Tao F, Roy A, et al. Overcoming Wnt- β -catenin dependent anticancer therapy resistance in leukaemia stem cells [J]. *Na Cell Biol*, 2020, 22 (6):689-700.DOI: 10.1038/s41556-020-0507-y.
- [7] 李臻,陆爽,吴君.丹防胶囊对免疫性肝纤维化大鼠肝组织 wnt1、 β -catenin、DKK1 表达的影响 [J]. *天津医药*, 2019, 47 (8):804-809,898.DOI:10.11958/20182249.
- [8] 王吉维,郝文伟,李盛涛,等.五味子乙素通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调节人胰腺癌细胞增殖、凋亡和侵袭 [J]. *解剖科学进展*, 2021, 27 (1):58-60, 64.DOI: 10.13885/j.issn.1000-2812.2018.01.003.
- [9] 孙文杰,陈亚峰,李红昌,等.大承气汤干预重症急性胰腺炎并发肝损伤的作用机制 [J]. *中成药*, 2020, 42 (1):200-203.DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.042.
- [10] 宋敏敏,陈尼维,伏桂香,等.内源性硫化氢对二乙基二硫代氨基甲酸盐诱导的大鼠慢性胰腺纤维化的影响 [J]. *同济大学学报:医学版*, 2017, 38 (3):40-45. DOI: 10.16118/j.1008-0392.2017.03.008.
- [11] 高丽娟,刘莉,刘华生,等.胰泰复方对胰腺纤维化大鼠腺泡细胞凋亡的影响 [J]. *中国医药导报*, 2018, 15 (21):19-22.DOI: CNKI: SUN:YYCY.0.2018-21-005.
- [12] 沈峰峰,巴元明,彭泽旭,等.大承气汤对重症急性胰腺炎大鼠回肠组织 JAK2/STAT3 信号通路的影响 [J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37 (5):923-928.DOI:10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2020.05.025.
- [13] Fujita Y, Kitago M, Abe T, et al. Evaluation of pancreatic fibrosis with acoustic radiation force impulse imaging and automated quantification of pancreatic tissue components [J]. *Pancreas*, 2018, 47 (10): 1277-1282.DOI: 10.1097/MPA.0000000000001179.
- [14] 方菁,叶蔚.中医药对胰腺纤维化相关信号通路的研究进展 [J]. *新中医*, 2018, 50 (4):40-44.DOI:10.13457/j.cnki.jncm.2018.04.010.
- [15] 关万涛.大承气汤联合中药灌肠治疗重症胰腺炎预后临床观察 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2020, 22 (1):64-67.DOI:10.3969/j.issn.1008-987x.2020.01.17.
- [16] 刘蕊蕊,王永安,钟大玲,等.大承气汤对过敏性哮喘小鼠肺部炎症及 MAPK 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25 (9):1-5.DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.20190901.
- [17] 梁群,刘廷廷,谢礼翔,等.大承气汤化痰保留灌肠对脓毒症患者凝血功能的影响 [J]. *中国急救医学*, 2018, 38 (7): 596-599.DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2018.07.007.
- [18] 郑星,黄毓娟,张淑珍.浅析急性胆源性胰腺炎的中医综合治疗方法及优势 [J]. *光明中医*, 2020, 35 (24):3838-3840.
- [19] 岳德亮.加味大承气汤联合奥曲肽治疗重症急性胰腺炎的临床疗效分析 [J]. *数理医药学杂志*, 2020, 33 (12):1858-1859.
- [20] 张宏富,菅元云.大承气汤联合泮托拉唑钠治疗急性胰腺炎临床研究 [J]. *实用中医药杂志*, 2020, 36 (10):1306-1307.
- [21] 李淑琴,朱贤勇,章剑坚.动态监测生化、凝血指标及 Wnt3a 对肝硬化肝病病情评估及预后判断的价值 [J]. *世界华人消化杂志*, 2018, 26 (22):1364-1370.DOI:10.11569/wjcd.v26.i22.1364.

(下转 507 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.014

论著·基础

miR-423-5p 调控 TGF- β /Smad 信号通路对肺癌脑转移模型大鼠的干预作用探究

杨成,王光学,张燕飞,管宏新,魏亮,钟春龙,李钦传

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金项目(22120190215);上海市浦东新区卫生和计划生育委员会学科建设计划项目(PWZxq2017-13);

作者单位:200120 上海,同济大学附属东方医院神经外科(杨成、张燕飞、管宏新、魏亮、钟春龙),转化医学研究中心(王光学、李钦传),心胸外科(李钦传)

通信作者:魏亮,E-mail:xvrbf@163.com

【摘要】目的 探究 miR-423-5p 调控 TGF- β /Smad 信号通路对肺癌脑转移模型大鼠的干预作用。**方法** 2019 年 2 月—2020 年 1 月于同济大学附属东方医院转化医学研究中心进行实验。选取 SPF 级大鼠 60 只,随机数字表法分为空白组、模型组、上调组、下调组各 15 只,除空白组外,其余大鼠建立肺癌脑转移模型,建模成功后,上调组、下调组大鼠分别静脉注射 miR-423-5p mimics control、miR-423-5p mimics,空白组、模型组大鼠静脉注射等体积生理盐水。干预 14 d 后比较各组大鼠肺组织病理组织学变化,miR-423-5p 表达量,血清癌胚抗原(CEA)、鳞状细胞癌相关抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白 19 血清片段 21-1(CYFRA21-1)水平,肺泡灌洗液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 水平及 TGF- β /Smad 信号通路蛋白表达量。**结果** 与空白组比较,模型组 miR-423-5p 表达量、CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平及 TGF- β ₁、COL-1、Smad2/3、Vimentin 蛋白表达量均升高(P 均 < 0.01);与模型组比较,上调组上述指标水平升高,下调组降低(P 均 < 0.01);与上调组比较,下调组上述指标水平降低($t/P = 9.513/0.001, 5.936/0.001, 5.819/0.001, 4.833/0.001, 4.465/0.001, 7.416/0.001, 4.114/0.001, 7.320/0.001, 6.479/0.001, 5.504/0.001, 4.880/0.001$)。**结论** 下调 miR-423-5p 可能通过作用于 TGF- β /Smad 信号通路,调控 TGF- β ₁、COL-1、Smad2/3、Vimentin 蛋白表达量,阻断炎症反应,抑制肺癌脑转移的发生发展。

【关键词】 肺癌;脑转移;TGF- β /Smad 信号通路;鳞状细胞癌相关抗原;细胞角蛋白 19 血清片段 21-1

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A

The intervention effect of miR-423-5p regulating TGF- β /Smad signal pathway on lung cancer brain metastasis model rats Yang Cheng*, Wang Guangxue, Zhang Yanfei, Guan Hongxin, Wei Liang, Zhong Chunlong, Li Qinchuan. *Neurosurgery Department, Dongfang Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200120, China

Corresponding author: Wei Liang, E-mail:xvrbf@163.com

Funding program: Special Funds for Basic Scientific Research in Central Universities(22120190215); Subject Construction Project of Shanghai Pudong New Area Health Commission(PWZxq2017-13)

【Abstract】 Objective To explore the intervention effect of miR-423-5p regulating TGF- β /Smad signaling pathway on lung cancer brain metastasis model rats. **Methods** From February 2019 to January 2020, the experiment was carried out in the Translational medicine research center of Translational Medicine Research Center, Dongfang Hospital, Tongji University. Sixty SPF Rats were selected, including 15 as blank group. The rest rats were randomly divided into model group, up-regulation group and down-regulation group with 15 rats in each group. After successful modeling, rats in up-regulation group and down-regulation group were injected with miR-423-5p mimics control and miR-423-5p respectively. Mice in blank group and model group were injected with equal volume of normal saline. Histopathological changes, expression of miR-423-5p, serum carcinoembryonic antigen (CEA), squamous cell carcinoma associated antigen (SCC Ag), cytokeratin 19 serum fragment 21-1 (CYFRA21-1), tumor necrosis factor - α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) in alveolar lavage fluid (BALF), and TGF - β / Smad signaling pathway were compared. **Results** Compared with the up-regulation group, the expression of miR-423-5p in the down-regulation group was lower ($t/P = 9.513/0.001$); compared with the up-regulation group, the expression of miR-423-5p in the down-down group was lower ($t/P = 5.936/0.001, 5.819/0.001, 4.833/0.001$); compared with the up-regulation group, the expression of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in

the down-down group was lower ($t/P = 4.465/0.001, 7.416/0.001$); compared with the up-up group, the levels of TNF- α , IL-1 ($t/P = 4.114/0.001, 7.320/0.001$) Compared with the control group, the expression of TGF- β 1, COL-1, Smad2/3 and vimentin in the down-regulation group was lower ($t/P = 6.479/0.001, 5.504/0.001, 4.880/0.001$). **Conclusion** Down regulation of miR-423-5p may regulate the expression of TGF- β 1, COL-1, Smad2/3 and vimentin protein through TGF- β / Smad signaling pathway and block inflammatory response.

【Key words】 Lung cancer; Brain metastasis; TGF- β /Smad signaling pathway; Squamous cell carcinoma-associated antigen; Cytokeratin 19 serum fragment 21-1

原发性肺癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其常见的远处转移部位为脑部,常见部位为大脑半球,其次为小脑和脑干^[1]。目前临床上对于肺癌脑转移的发病原因尚无统一定论,认为其与宿主的患病史、个人史、精神史、其他感染等相关^[2]。近年来,肺癌脑转移的发生率和诊断率呈逐年上升的趋势,且肺癌脑转移患者预后效果差,自然生存时间仅为 1~2 个月^[3]。肺癌脑转移患者常见的临床症状为呕吐、癫痫、发作性头痛、精神及意识障碍。临床上常将手术、化疗、放疗等综合手段用于肺癌脑转移患者的治疗中,可在一定程度上延长患者生存期,提高其生活质量^[4]。微小 RNA (miRNA) 可由肿瘤细胞主动分泌,其表达量随着肿瘤细胞的生成、凋亡而变化,故 miRNA 表达量在一定程度上可代表人体内健康或疾病的信息。miRNA 是真核生物体内具有良好稳定性的非编码 RNA,广泛参与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等生理过程,还在疾病发生、生物体发育时序、细胞分化凋亡等方面起重要作用^[5],但 miR-423-5p 在肺癌脑转移中的作用机制尚未研究。现探究 miR-423-5p 调控 TGF- β /Smad 信号通路对肺癌脑转移模型大鼠的干预作用,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 动物: SPF 级大鼠 60 只,雌雄各半,由郑州大学实验动物中心提供[动物许可证号:SYXK(豫)2020-0008)],鼠龄 3~6(4.75 $\pm$ 1.19)个月,体重 226~257(229.43 $\pm$ 26.19)g,将大鼠置于室温 22~24℃,湿度 40%~70%,自然光照、通风的无病原菌干净笼子中饲养,饮用的水和食物均经消毒处理。本实验经医院实验动物伦理委员会批准。(2) 试剂:miR-423-5p 慢病毒载体(滴度为 1×10^8 TU/ml) 购于无锡莱弗思生物实验器材有限公司;酶联免疫试剂盒购于武汉纯度生物科技有限公司;TGF- β ₁、COL-1 抗体购于上海恒斐生物科技有限公司;Smad2/3、Vimentin 抗体购于武汉益普生物科技有限公司。(3) 仪器设备:OLYMPUS CX23 光学显微镜、Primer 5.0 软件上海普赫光电科技有限公司产品。

1.2 实验方法 2019 年 2 月—2020 年 1 月于同济大

学附属东方医院转化医学研究中心进行实验,

1.2.1 肺癌脑转移建模:在 60 只大鼠中随机数字表法选取 15 只作为空白组,其余大鼠随机分为模型组、上调组、下调组各 15 只,参照陈愉生等^[6]肺癌脑转移模型建立方法造模,除空白组外,其余 3 组大鼠均经麻醉、仰卧位固定、消毒后,于胸骨左缘第二肋间旁开 2 mm 处进针 3~5 mm,进针前调好 BD 针头至滞留空气 0.05 ml 左右,吸取肺癌细胞悬液 0.1 ml(1×10^6 个肿瘤细胞),观察到血液喷射涌出作为进入左心室的标准,并在 10 s 内完成注射,注射完成后快速拔针,棉签按压进针点。参照文献^[7]判断肺癌脑转移建模结果(图 1):模型组建模成功 11 例,上调组建模成功 12 例,下调组建模成功 14 例。

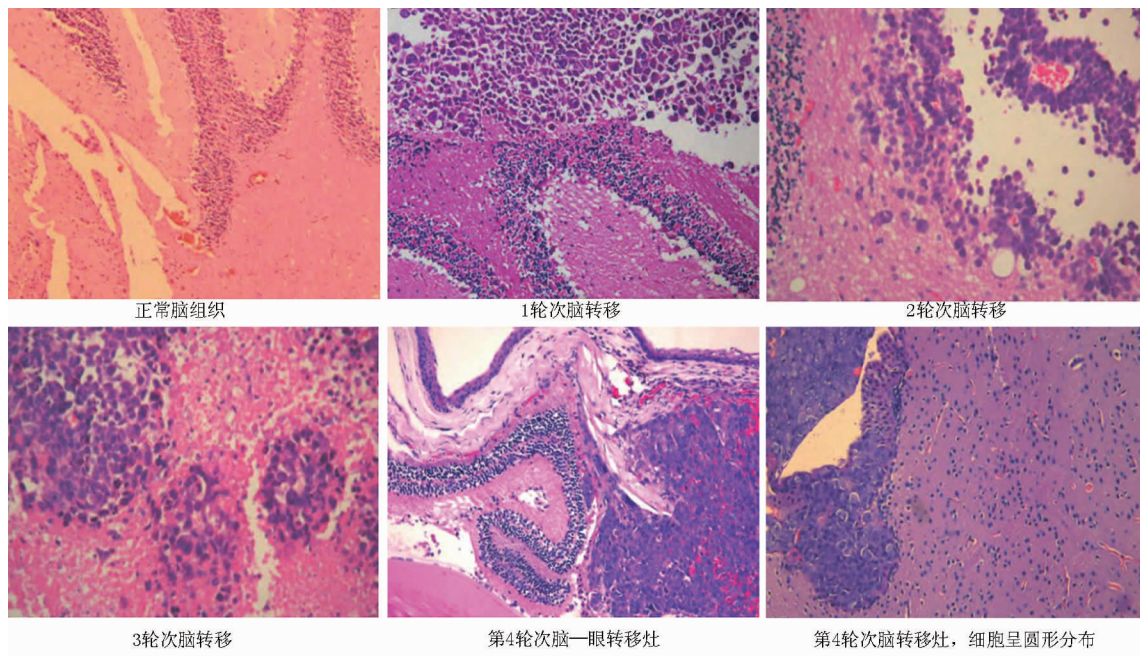
1.2.2 干预方法:建模成功后上调组、下调组大鼠分别尾部静脉注射 miR-423-5p mimics control 10 μ l、miR-423-5p mimics 10 μ l,空白组、模型组大鼠尾部静脉注射等体积生理盐水,miR-423-5p 干预 14 d 后观察各组大鼠变化。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 样本采集:在 miR-423-5p 干预后取大鼠脑组织行 HE 染色。抽取大鼠尾部静脉血 2 ml,离心留取血清,置于 -20℃ 冰箱待用。将大鼠胸腔打开,夹闭双侧肺门,结扎左右主支气管,在左主支气管近端刺入套针,使用 4℃ 无菌肝素盐水 15 ml 分 3 次灌入左肺,每次盥洗 2 遍,回收肺泡灌洗液 10~15 ml,离心待用。游离结扎处大鼠双肺,采用 4% 多聚甲醛固定左肺下叶组织,15% EDTA 脱钙、脱水后进行石蜡包埋,制作厚约 3 μ m 组织切片。

1.3.2 肺组织病理观察:取各组大鼠左肺下叶组织样本进行 HE 染色处理,在光学显微镜下观察大鼠肺组织病理变化。

1.3.3 采用 RT-PCR 法检测肺组织中 miR-423-5p 表达量:将 Trizol 1 ml 加至肺组织中并研磨为粉末后提取总 RNA 并检测其纯度和浓度,使用 Takara 逆转录试剂盒进行逆转录处理后,反应条件:37℃ 反转录 60 min;85℃ 灭活酶 5 s,95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 5 s,



注:1、2、3 轮次脑转移,病灶血供随轮次增加而增加;第 4 轮次脑转移灶提示脑转移模型建立成功

图 1 大鼠脑组织细胞(HE 染色, $\times 100$)

60℃ 退火 20 s, 40 个循环, 使用 Primer 5.0 软件对引物序列进行设计, miR-423-5p 引物序列上游: 5'-GGGTCT-TGGAGTAGGTCATT-3', 下游: 5'-CAGTGCCTGTCGTG-GAG-3'; 内参基因 GAPDH 引物序列上游: 5'-AACAGC-CTCAAGATCATCAGCAA-3', 下游: 5'-GACTGTGGTCAT-GAGTCCTTCCA-3'。

1.3.4 血清 CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 和肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 检测: 采用酶联免疫吸附法检测各组大鼠血清癌胚抗原 (CEA)、鳞状细胞癌相关抗原 (SCC-Ag)、细胞角蛋白 19 血清片段 21-1 (CYFRA21-1) 水平, 肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平, 将样本置于室温、制备样品; 在反应孔上依次加入稀释好的待测样本及标准品 100 μ l/孔, 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, 加入抗体工作液 (1:100 稀释后) 100 μ l/孔, 37℃ 恒温孵育箱中湿育 45 min; 反应板清洗 4 次, 在反应孔内加入 TMB 溶液 100 μ l/孔, 37℃ 恒温孵育箱中湿育 45 min 后, 将终止液 100 μ l/孔加入反应孔内终止反应, 在 450 nm 处读 OD 值; 以 OD 值为纵坐标, 以标准品为横坐标, 绘制标准曲线, 根据样本的 OD 值可在标准曲线上查出 CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

1.3.5 TGF- β /Smad 信号通路蛋白表达量检测: 采用 Western-blot 法检测 TGF- β /Smad 信号通路蛋白表达量, 将采集到的样本研磨加入蛋白缓冲液, 提取各组细胞蛋白并使用 BCA 法测定浓度, 制备电泳样品, 上样

量 50 μ g 进行 SDS-PAGE 电泳, 蛋白转至 PVDF 膜, 加入脱脂奶粉封闭 1 h, 一抗 4℃ 孵育过夜, 洗膜 3 次 (5 min/次), 二抗室温孵育 1 h, 洗膜 3 次 (5 min/次), 加入发光液曝光 3~4 次, 取重叠值。采用软件分析蛋白条带灰度值, 内参蛋白为 Actin。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件统计分析数据。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验, 组内比较采用配对 t 检验, 多组间数据比较采用 F 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺组织病理变化比较 空白组大鼠肺泡结构完整, 肺泡壁薄、间隔正常, 未出现炎性细胞浸润、肉芽肿的形成; 模型组大鼠肺泡结构损伤, 部分肺泡萎陷或消失、间隔增厚, 在肺泡腔和肺泡间质中出现显著的单核细胞、巨噬细胞等炎性细胞浸润; 上调组大鼠肺间质存在大量的炎性细胞浸润, 肺组织损伤严重, 大量肺泡出现萎缩、塌陷现象; 下调组大鼠肺炎性细胞浸润和肺泡结构损伤减轻, 肺隔膜变薄, 肺泡浸润基本恢复正常, 见图 2。

2.2 各组大鼠 miR-423-5p 表达量比较 与空白组 miR-423-5p 表达量 (1.08 ± 0.34) 比较, 模型组 (2.34 ± 0.71) 升高 ($t/P = 6.026/0.001$); 与模型组比较, 上调组 (3.75 ± 1.21) 升高, 下调组 (0.64 ± 0.19) 降低 ($t/P = 3.366/0.003$ 、 $8.620/0.001$), 且下调组低于上

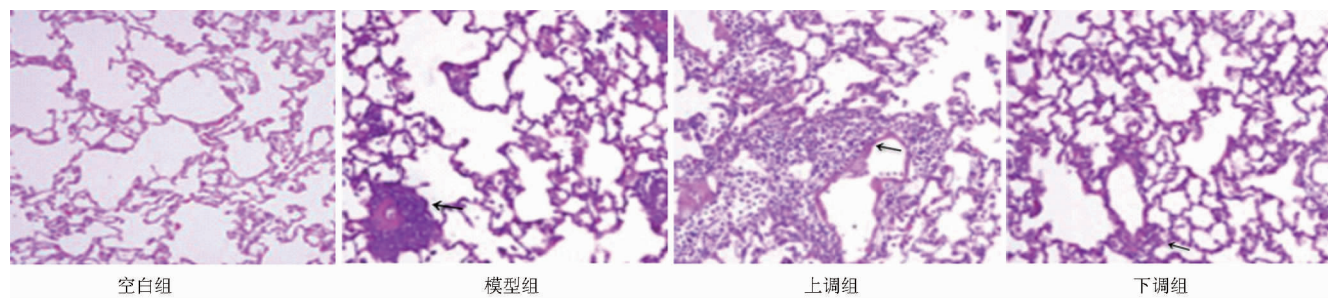


图2 各组大鼠肺组织病理学比较(HE染色, ×400)

调组($t/P=9.513/0.001$)。

2.3 各组大鼠血清 CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 水平比较 与空白组比较,模型组 CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 水平均升高($t/P=10.900/0.001$ 、 $10.050/0.001$ 、 $8.267/0.001$);与模型组比较,上调组上述指标均升高,下调组均降低($t/P=2.992/0.008$ 、 $3.521/0.002$ 、 $2.694/0.014$ 、 $3.443/0.002$ 、 $2.416/0.024$ 、 $2.279/0.032$),且下调组均低于上调组($t/P=5.936/0.001$ 、 $5.819/0.001$ 、 $4.833/0.001$),见表1。

表1 各组大鼠血清 CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

组别	例数	CEA	SCC-Ag	CYFRA21-1
空白组	15	2.05 ± 0.67	0.41 ± 0.13	0.74 ± 0.23
模型组	11	11.45 ± 3.27^a	2.18 ± 0.67^a	2.43 ± 0.75^a
上调组	12	16.87 ± 5.29^b	3.57 ± 1.14^b	3.56 ± 1.19^b
下调组	14	7.59 ± 2.34^{bc}	1.62 ± 0.49^{bc}	1.82 ± 0.59^{bc}
F 值		2.345	0.503	0.540
P 值		0.001	0.001	0.001

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与上调组比较,^c $P<0.05$

2.4 各组大鼠肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较 与空白组比较,模型组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均升高($t/P=6.519/0.001$ 、 $8.841/0.001$ 、 $10.630/0.001$);与模型组比较,上调组上述指标均升高,下调组均降低($t/P=2.277/0.033$ 、 $2.822/0.010$ 、 $2.727/0.034$ 、 $2.622/0.015$ 、 $5.369/0.001$ 、 $2.433/0.023$),且

下调组均低于上调组($t/P=4.465/0.001$ 、 $7.416/0.001$ 、 $4.114/0.001$),见表2。

表2 各组大鼠肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TNF- α (ng/L)	IL-1 β (ng/ml)	IL-6(ng/L)
空白组	15	55.42 ± 18.31	4.57 ± 1.39	38.56 ± 12.41
模型组	11	117.59 ± 30.26^a	17.38 ± 5.41^a	118.65 ± 25.46^a
上调组	12	158.45 ± 51.93^b	25.58 ± 8.12^b	157.48 ± 51.09^b
下调组	14	87.56 ± 26.94^{bc}	8.74 ± 2.39^{bc}	91.32 ± 29.61^{bc}
F 值		3.936	8.054	3.650
P 值		0.010	0.001	0.020

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与上调组比较,^c $P<0.05$

2.5 各组大鼠 TGF- β /Smad 信号通路蛋白表达量比较 与空白组比较,模型组 TGF- β_1 、COL-1、Smad2/3、Vimentin 蛋白表达量均升高($t/P=5.921/0.001$ 、 $7.920/0.001$ 、 $4.979/0.001$ 、 $5.236/0.001$);与模型组比较,上调组以上指标均升高,下调组均降低($t/P=2.936/0.008$ 、 $3.666/0.001$ 、 $2.461/0.023$ 、 $2.519/0.020$ 、 $5.443/0.001$ 、 $3.140/0.005$ 、 $3.071/0.005$ 、 $2.455/0.022$),且下调组均低于上调组($t/P=7.320/0.001$ 、 $6.479/0.001$ 、 $5.504/0.001$ 、 $4.880/0.001$),见表3、图3。

3 讨论

肺癌脑转移是临床常见而严重的疾病,其原因多为肺组织淋巴和供血丰富,癌细胞易从邻近的淋巴管或血管转移至远处器官,肺血管和椎静脉间常有吻合

表3 各组大鼠 TGF- β /Smad 信号通路蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TGF- β_1	COL-1	Smad2/3	Vimentin
空白组	15	1.26 ± 0.43	1.06 ± 0.34	1.03 ± 0.31	1.38 ± 0.44
模型组	11	2.75 ± 0.84^a	3.59 ± 1.18^a	1.96 ± 0.63^a	2.81 ± 0.93^a
上调组	12	4.15 ± 1.36^b	6.18 ± 2.05^b	2.74 ± 0.86^b	4.02 ± 1.32^b
下调组	14	1.36 ± 0.41^{bc}	2.38 ± 0.74^{bc}	1.32 ± 0.41^{bc}	1.95 ± 0.82^{bc}
F 值		8.145	4.710	4.607	3.683
P 值		0.001	0.003	0.003	0.015

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与上调组比较,^c $P<0.05$

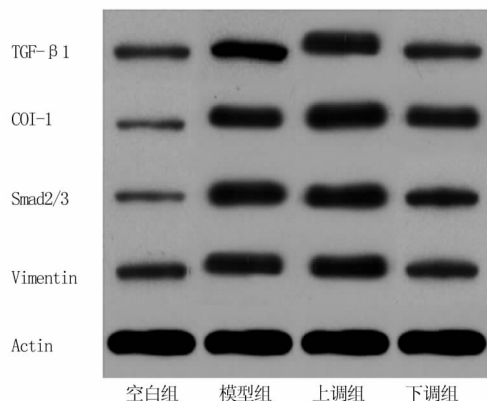


图3 各组大鼠 TGF-β/Smad 信号通路蛋白印迹比较

支,脱落的肺癌细胞可不经肺部毛细血管的过滤而直接入脑,增大其转移至脑部的几率^[7-8]。miRNA 是部分哺乳动物体内一类单链分子,对蛋白编码基因具有调控作用。miR-423-5p 起初在心力衰竭等疾病中发现,孙丽丽等^[9]研究中,miR-423-5p 来源于心肌细胞,且在慢性心力衰竭患者体内水平显著升高,提示其可能参与慢性心力衰竭的发生、发展,具有较高敏感度,可作为评估病情严重程度的生物标志物,且其水平越高,提示心力衰竭进展较快。有研究显示^[10],miR-423-5p 在卵巢癌中呈高表达,其原因可能为其可提高癌细胞的克隆形成率及侵袭细胞比例,促进异种移植瘤的生长。在本研究中,前期工作中发现 miR-423-5p 与肺癌脑转移密切相关,故深入探究下调 miR-423-5p 通过作用于 TGF-β/Smad 信号通路对肺癌脑转移模型大鼠的干预作用,可为肿瘤的早期无创性诊断开辟一条新途径。

CEA 属于糖蛋白,结构复杂,可参与不同类型癌症的发病、发展过程^[11]。在侯志华等^[12]研究中,CEA 在非小细胞肺癌伴脑转移患者体内呈高表达,但经治疗后其水平降低,与本研究结果一致。在孙杰等^[13]研究中,CEA 可作为肺癌的肿瘤标志物,且其水平变化与肿瘤细胞的增殖相关,肿瘤晚期其水平更高。SCC-Ag 属于肿瘤相关抗原,分布于肺部肿瘤组织中,且在鳞状细胞癌中分布更为广泛。在覃远静等^[14]研究中,SCC-Ag 是一种肿瘤抗原,主要存在于肿瘤病灶内,在鳞状细胞癌中的诊断敏感度极高。CYFRA21-1 是角蛋白家族成员之一,主要储存在复层肿瘤上皮细胞质内,在细胞癌变、凋亡或溶解后会进入血液中,导致血液中其水平升高^[15]。在赵雪莲等^[16]研究中,CYFRA21-1 是一种具有较高敏感性、特异度的鳞癌标志物,可用于判断肺癌脑转移及监测发展过程。本研究

结果显示,CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 水平与肺癌脑转移密切相关,其原因可能为上述 3 个指标均为肿瘤的重要标志物,三者联合对肺癌脑转移的发生发展预测价值更高。

TGF-β/Smad 信号通路在调控干细胞活性和器官形成中具有重要作用,当 TGF-β 信号通路各成员活性未激活时,体内会自发性发生多种癌症,这表明 TGF-β 定向调节干细胞对癌症形成具有不可或缺的功能^[17-18]。TGF-β₁ 在 TGF 家族中为最经典的转化生长因子。Smad2 蛋白在浸润癌细胞、良性肿瘤细胞、癌前病变上皮细胞中呈低表达,但在结肠癌、乳腺癌等恶性肿瘤中呈高表达,且其水平随肿瘤分化程度增高而增高^[19-20]。在王春刚等^[21]研究中,TGF-β 可通过与其受体相结合,将细胞外信号传递至细胞内,进而活化 Smad2、Smad3 与 Smad4 形成复合物移位至细胞核作为基因转录反应,调控肿瘤细胞的生物功能。有研究显示^[22],上调 Vimentin 的表达,肺癌细胞系的迁移能力显著增强,促进非小细胞肺癌的浸润和转移。在甘声通等^[23]研究中,TGF-β 信号通路可促进上皮-间质转化和血管生成,促使非小细胞肺癌侵袭转移,抑制此信号通路具有良好的临床应用前景。本结果显示,下调 miR-423-5p 可通过作用于 TGF-β/Smad 信号通路,阻断延缓肺癌脑转移的发生发展,其原因可能为下调 miR-423-5p 对 TGF-β/Smad 信号通路相关信号分子具有抑制作用,阻碍此信号通路的激活、细胞外信号传递至细胞内,抑制肿瘤细胞生物活性。

综上所述,下调 miR-423-5p 可能通过作用于 TGF-β/Smad 信号通路,下调 TGF-β₁、COL-1、Smad2/3、Vimentin 蛋白表达量,减轻炎症反应,抑制肺癌脑转移的发生发展。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨成、魏亮:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王光学、张燕飞:提出研究思路,分析试验数据,论文修改;管宏新:实施研究过程,资料搜集整理,论文撰写,统计学分析;钟春龙、李钦传:课题设计,论文审核

参考文献

- [1] Romaszko AM, Doboszyńska A. Multiple primary lung cancer: A literature review [J]. Adv Clin Exp Med, 2018, 27 (5): 725-730. DOI: 10.17219/acem/68631.
- [2] Nozawa H, Ishihara S, Kawai K, et al. Brain metastasis from colorectal cancer: Predictors and treatment outcomes [J]. Oncology, 2017, 93(5):309-314. DOI: 10.1159/000478661.
- [3] Singh M, Venugopal C, Tokar T, et al. Therapeutic targeting of the premetastatic stage in human lung-to-brain metastasis [J]. Cancer Res, 2018, 78(17):5124-5134. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-

- 18-1022.
- [4] Karan M, Vukovi N, Vulekovi P, et al. Nocardial brain abscess mimicking lung cancer metastasis in immunocompetent patient with pulmonary nocardiosis: a case report[J]. Acta Clin Croat, 2019, 58(3):540-545. DOI: 10. 20471/acc. 2019. 58. 03. 20.
- [5] 王大鹏,夏庆欣. 微 RNA-375 对非小细胞肺癌脑转移的诊断价值[J]. 安徽医药,2020,24(1):38-41. DOI:10. 3969/j. issn. 1009-6469. 2020. 01. 010.
- [6] 陈愉生,涂润威,俞梅娥,等. 胸腔原位种植与经左心室注射建立肺癌脑转移动物模型的比较[J]. 中国实验动物学报,2015,23(5):490-494. DOI:10. 3969/j. issn. 1005-4847. 2015. 05. 009.
- [7] 雷贝,曹杰,沈杰,等. 人肺腺癌脑转移动物模型建立及显像的研究[J]. 中国肺癌杂志,2013,16(8):391-399. DOI: 10. 3779/j. issn. 1009-3419. 2013. 08. 01.
- [8] Yousefi M, Bahrami T, Salmaninejad A, et al. Lung cancer-associated brain metastasis: Molecular mechanisms and therapeutic options[J]. Cell Oncol (Dordr), 2017, 40(5):419-441. DOI: 10. 1007/s13402-017-0345-5.
- [9] 孙丽丽,智永超,杨雪,等. 慢性心力衰竭患者血清 miR-423-5p 表达水平及意义[J]. 中国心血管病研究,2018,16(5):427-431. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-5301. 2018. 05. 012.
- [10] 宋洋,任芳. miR-423-5p 在卵巢癌组织中的表达及对癌细胞增殖的影响[J]. 医学临床研究,2018,35(9):1675-1678. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7171. 2018. 09. 004.
- [11] 周正,冯青青. 非小细胞肺癌脑转移与血清肿瘤标志物变化的相关性分析[J]. 中国实用神经疾病杂志,2019,22(19):2097-2103. DOI:10. 12083/SYSJ. 2019. 19. 348.
- [12] 侯志华,薛娜娜,魏晗,等. 奥西替尼对非小细胞肺癌伴脑部转移患者的疗效观察[J]. 河北医药,2020,42(15):2321-2323,2327. DOI:10. 3969/j. issn. 1002-7386. 2020. 15. 018.
- [13] 孙杰,童燕娜,杨靖,等. 血清肿瘤标志物联合检测用于诊断非小细胞肺癌患者发生脑转移的效果分析[J]. 中华保健医学杂志,2020,22(3):158-160. DOI:10.3969/j.issn.1674-3245.2020.03.016.
- [14] 覃远静,王雪梅,童燕娜,等. 肿瘤血清标志物水平升高与非小细胞肺癌患者发生脑转移的关系[J]. 中华保健医学杂志,2020,22(2):194-196. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-3245. 2020. 02. 025.
- [15] 符琳琳. 肺癌脑转移与血清肿瘤标志物变化的相关性[J]. 现代肿瘤医学,2017,25(13):2071-2074. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-4992. 2017. 13. 015.
- [16] 赵雪莲,赵宏刚. 血清 CEA、NSE、CYFRA21-1 在肺癌脑转移患者中的变化及其临床意义[J]. 卒中与神经疾病,2017,24(3):243-245,254. DOI:10. 3969/j. issn. 1007-0478. 2017. 03. 019.
- [17] 李汉杰,葛鹏,景瑞军,等. TGF- β 通过激活 smad2 信号通路上调 CXCR4 表达促进非小细胞肺癌 A549 细胞迁移和侵袭[J]. 现代医学,2019,47(5):555-560. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7562. 2019. 05. 015.
- [18] Korkut A, Zaidi S, Kanchi RS, et al. A pan-cancer analysis reveals high-frequency genetic alterations in mediators of signaling by the TGF- β superfamily[J]. Cell Syst, 2018, 7(4):422-437. DOI: 10. 1016/j. cels. 2018. 08. 010.
- [19] 李瑞,任鹏飞,温艳艳,等. SMAD2 和 SGK3 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 临床肺科杂志,2019,24(8):1498-1503. DOI:10. 3969/j. issn. 1009-6663. 2019. 08. 034.
- [20] 陆婉玲,李小龙,党亚正,等.DC-CIK 免疫疗法联合放疗治疗中晚期非小细胞肺癌疗效观察[J]. 疑难病杂志,2020,19(8):804-807,827. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.011.
- [21] 王春刚,陈山,王志峰,等. 长链非编码 RNA LIMT 调控 TGF- β 信号通路对肺癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. 现代肿瘤医学,2020,28(18):3108-3113. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2020.18.003.
- [22] 崔凯,王武平,孙盈,等. 非小细胞肺癌中 Twist 通过 TGF- β /Smad3 信号通路促进 EMT 的发生[J]. 陕西医学杂志,2016,45(11):1462-1465. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-7377. 2016. 11. 007.
- [23] 甘声通,邱丽君,刘晓慧,等. TGF- β 信号通路在非小细胞肺癌中的作用[J]. 生命的化学,2019,39(3):575-580. DOI:10. 13488/j. smhx. 20181324.

(收稿日期:2020 - 11 - 24)

(上接 501 页)

- [22] Liu Q, Zhu LJ, Waaga-Gasser AM, et al. The axis of local cardiac endogenous Klotho-TGF- β_1 -Wnt signaling mediates cardiac fibrosis in human[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 136(1):113-124. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2019.09.004.
- [23] Hiroyuki K, Minoru S, Yuko N, et al. Klotho is a novel therapeutic target in peritoneal fibrosis via Wnt signaling inhibition[J]. Nephrol Dial Transpl, 2020, 35(5):773-781. DOI: 10.1093/ndt/gfz298.
- [24] 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.
- [25] Tang T, Guo C, Xia T, et al. LncCCAT1 promotes breast cancer stem cell function through activating WNT/ β -catenin signaling[J]. Theranostics, 2019, 9(24):7384-7402. DOI: 10.7150/thno.37892.
- [26] Jiang SY, Miao YX, Hirokazu T, et al. Effects of lncRNA DANC on proliferation and differentiation of osteoblasts by regulating the Wnt/ β -catenin pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(13):5558-5566. DOI: 10.26355/eurrev_201907_18289.
- [27] Yang C, Wang C, Zhou J, et al. Fibronectin 1 activates WNT/ β -catenin signaling to induce osteogenic differentiation via integrin β_1 interaction[J]. Lab Invest, 2020, 100(12):1494-1502. DOI: 10. 1038/s41374-020-0451-2.
- [28] Zhou L, Chen X, Lu M, et al. Wnt/ β -catenin links oxidative stress to podocyte injury and proteinuria[J]. Kidney Int, 2019, 95(4):830-845. DOI: 10.1016/j.kint.2018.10.032.
- [29] Cho IH, Park SJ, Lee SH, et al. The role of Wnt/ β -catenin signaling in the restoration of induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium after laser photocoagulation[J]. Lasers Med Sci, 2019, 34(3):571-581. DOI: 10.1007/s10103-018-2631-5.

(收稿日期:2021 - 02 - 01)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.015

荟萃分析

麝香通心滴丸联合常规药物治疗慢性心力衰竭疗效的 Meta 分析

权力, 张艳达, 赵健, 任昌振, 贺治青, 梁春

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81473445, 91539118, 81611130092); 上海市中西医临床协作试点项目(ZY2018-2020-FWTX-1102)

作者单位: 200003 上海, 海军军医大学附属长征医院心血管内科

通信作者: 梁春, E-mail: chunliang@smmu.edu.cn

【摘要】目的 分析麝香通心滴丸与常规药物联合使用治疗慢性心力衰竭的临床效果。**方法** 计算机检索数据库 PubMed、Web of Science、维普中文期刊服务平台(VIP)、中国知网(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBMdisc)、万方数据库中有关麝香通心滴丸与常规药物联合治疗慢性心力衰竭的研究, 经筛选评价后使用 Stata 15.1 软件对相关指标进行分析。**结果** 最终纳入 10 项研究 1 314 例患者, 均为中文文献。Meta 分析结果表明, 麝香通心滴丸与常规药物联合治疗(观察组)疗效显著优于常规治疗(对照组), 差异有统计学意义[$OR = 3.29, 95\% CI(2.28, 4.75), P < 0.001$], 治疗后观察组 LVEF、6MWT 水平显著高于对照组, 差异具有统计学意义[LVEF: $WMD = 6.38, 95\% CI(1.87, 10.89), P = 0.006$; 6MWT: $WMD = 62.73, 95\% CI(33.88, 91.58), P < 0.001$], 治疗后观察组 NT-proBNP 水平显著低于对照组, 差异有统计学意义[$WMD = -338.15, 95\% CI(-512.80, -159.70), P < 0.001$]。**结论** 麝香通心滴丸与常规药物联合治疗慢性心力衰竭可显著提高治疗有效率, 改善心功能, 并降低心力衰竭标志物水平。

【关键词】 心力衰竭; 麝香通心滴丸; 心功能; Meta 分析**【中图分类号】** R541.6⁺1**【文献标识码】** A

Meta-analysis of the efficacy of Shexiang Tongxin Dripping Pills combined with conventional drugs in the treatment of chronic heart failure Quan Li, Zhang Yanda, Zhao Jian, Ren Changzhen, He Zhiqing, Liang Chun. Department of Cardiology, Changzheng Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200003, China

Corresponding author: Liang Chun, E-mail: chunliang@smmu.edu.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China(81473445, 91539118, 81611130092); Shanghai Clinical Collaboration Pilot Project of Traditional Chinese and Western Medicine(ZY2018-2020-FWTX-1102)

【Abstract】Objective To analyze the clinical effect of Shexiang Tongxin Dripping Pills combined with conventional drugs in the treatment of chronic heart failure.**Methods** Computer search database PubMed, Web of Science, VIP Chinese Journal Service Platform (VIP), Chinese Academic Journal Full-text Database (CNKI), Chinese Biomedical Literature Database (CBMdisc), Wanfang Data (Wanfang data) for related Shexiang Tongxin Dripping Pills Combined with conventional drugs in the treatment of chronic heart failure, after screening and evaluation, Stata 15.1 software was used to analyze the relevant indicators.**Results** In the end, 1 314 patients were included in 10 studies, all of which were Chinese literature. The results of Meta-analysis showed that the combined treatment of Shexiang Tongxin Dripping Pills and conventional drugs (observation group) was significantly better than conventional treatment (control group), and the difference was statistically significant [$OR = 3.29, 95\% CI(2.28, 4.75), P < 0.001$], the LVEF and 6MWT levels of the observation group were significantly higher than those of the control group after treatment, and the difference was statistically significant [LVEF: $WMD = 6.38, 95\% CI(1.87, 10.89), P = 0.006$; 6MWT: $WMD = 62.73, 95\% CI(33.88, 91.58), P < 0.001$], the level of NT-proBNP in the observation group was significantly lower than the control group after treatment, the difference was statistically significant [$WMD = -338.15, 95\% CI(-512.80, -159.70), P < 0.001$].**Conclusion** The combination of Shexiang Tongxin Dripping Pills and conventional drugs in the treatment of chronic heart failure can significantly increase the effective rate of treatment, improve heart function, and reduce the level of heart failure markers.

【Key words】 Heart failure; Shexiang Tongxin Dripping Pills; Cardiac function; Meta-analysis

心力衰竭是各种器质性心脏病的终末期表现,也是心血管疾病中最常见的类型。流行病学调查显示,随着生活方式的改变和我国人口老龄化的加快,心力衰竭的发生率逐年上升,且该病的病死率高达 50%,一旦出现心力衰竭,大部分患者病情呈进行性恶化^[1-2]。

冠心病是心力衰竭最常见的病因,除此之外,心脏能量代谢障碍、心肌纤维化、心室重构及神经内分泌因子改变等也是促进心力衰竭的重要因素。目前心力衰竭的临床治疗方法包括药物干预、血运重建及心脏移植等^[3],西医治疗已取得一定效果,但单纯西药干预存在一定不良反应,尤其是对低血压慢性收缩性心力衰竭患者,应用 ACEI/ARB、 β 受体阻滞剂等药物会导致基础血压进一步下降,引发机体各个脏器发生低灌注,反而会增加患者病死率^[4]。

中药具有多靶点、多环节、多层次的作用机制,且临床使用中无明显不良反应,具有独特的优势。已有研究证明,麝香通心滴丸可改善 PCI 术后患者的微循环障碍,提高心脏射血分数,改善心肌缺血再灌注损伤及慢血流,减轻心肌缺氧,提高心功能等^[5-6]。中西医结合治疗可为治疗心力衰竭提供一种有效的途径和思路,目前麝香通心滴丸也越来越多用于心力衰竭治疗中。本研究使用 Meta 分析,通过检索主要数据库从建库至 2020 年 9 月已发表的有关麝香通心滴丸与常规药物联合治疗心力衰竭的相关文献,分析其对心力衰竭的治疗效果,并为未来在临床上应用麝香通心滴丸治疗心力衰竭提供更多循证医学证据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 纳入标准 研究类型:麝香通心滴丸与常规药物联合治疗慢性心力衰竭的随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)。研究对象:患者明确诊断为慢性心力衰竭,性别、年龄、病程不限,样本量不限。干预措施:对照组采用常规药物干预,观察组采用麝香通心滴丸与常规药物联合治疗。结局指标:临床有效率、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、6 min 步行试验距离(6-minute walk test, 6MWT)及 N 末端脑钠肽前体(N-terminal brain natriuretic peptide, NT-proBNP)。

1.2 排除标准 重复发表的文献;研究目的与本研究目的不符合的文献;非 RCT 研究;合并心律失常或其他疾病;加用其他中成药;会议汇编资料或仅有摘要的文献;不能提供有效数据用于分析的文献。

1.3 检索策略 计算机检索数据库:Web of Science、PubMed、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、维普中文

期刊服务平台(VIP)、万方数据库(Wanfang data)、中国生物医学文献数据库(CBMdisc)。检索年限:自建库至 2020 年 9 月。中文检索词:麝香通心滴丸、心力衰竭;英文检索词:“Shexiang Tongxin, heart failure”。

1.4 文献筛选与资料提取 由 2 名研究者独立进行文献检索,通过 EndNote 查找重复文献并进行手工查重;根据纳入和排除标准,阅读文献题目和摘要,排除明显不符合纳入标准的文献;而后阅读全文,排除不符合纳入标准或有排除理由的文献,交叉核对结果,如遇分歧通过讨论或咨询第三方解决。

1.5 文献质量评价 由 2 名研究者按预定标准筛选文献,并按 Jadad 质量标准评价^[7-9]:(1)随机,具体描述随机分配方法为 2 分;提及“随机”但未明确交代分配方法为 1 分;未叙述随机分配为 0 分。(2)盲法,描述具体盲法为 2 分;提及“盲法”但未具体交代为 1 分;非盲法为 0 分。(3)失访或退出情况,具体记录失访或退出情况为 1 分;未提及失访或退出为 0 分。总分 0~2 分为低质量文献,3~5 分为高质量文献。如有文献质量评价分歧,通过讨论或咨询第三方解决。

1.6 统计学方法 用 Stata 15.1 软件对相关指标进行 Meta 分析。若纳入的各项研究不存在明显异质性($P \geq 0.1, I^2 \leq 50\%$),采用固定效应模型分析;否则采用随机效应模型分析;用比值比(OR)及 95% 置信区间(95% CI)表示计数资料分析结果,并绘制研究指标森林图。对部分指标进行 Egger's 检验,判断发表性偏倚的大小^[9],最后对研究结果进行总结。

2 结果

2.1 检索文献结果及纳入文献的质量评价 共检索出 50 篇文献。排除重复发表的文献,阅读题目、摘要后纳入 12 篇,进一步阅读全文后纳入 10 篇文献,均为中文文献。排除的原因主要有非 RCT 研究、研究内容不符等。共纳入 1 314 例患者,其中观察组 658 例,对照组 656 例。纳入研究中的高质量文献 8 项,低质量文献 2 项,见表 1。

2.2 Meta 分析结果

2.2.1 观察组与对照组疗效比较:在纳入的文献中共有 8 篇报道了麝香通心滴丸治疗慢性心力衰竭的疗效。异质性检验结果示 $P = 0.961, I^2 = 0$,使用固定效应模型合并分析,结果显示,观察组有效率显著优于对照组,差异有统计学意义($OR = 3.29, 95\% CI 2.28 \sim 4.75, P < 0.001$),见图 1。

2.2.2 观察组与对照组 LVEF 水平比较:在纳入的文献中共有 7 篇报道比较观察组与对照组的 LVEF 水平。异质性检验结果示 $P = 0.000, I^2 = 98.5\%$,应用随机效

应模型合并分析。结果显示,治疗后观察组 LVEF 水平相较于对照组显著提高,差异有统计学意义($WMD = 6.38, 95\% CI 1.87 \sim 10.89, P = 0.006$),见图 2。

2.2.3 观察组与对照组治疗后 6MWT 比较:在纳入的文献中共有 5 篇报道比较观察组与对照组的 6MWT 水平。异质性检验结果示 $P = 0.000, I^2 = 96.8\%$,应用随机效应模型合并分析。治疗后,观察组 6MWT 水平相较于对照组显著提高,差异有统计学意义($WMD = 62.73, 95\% CI 33.88 \sim 91.58, P < 0.001$),见图 3。

2.2.4 观察组与对照组治疗后 NT-proBNP 水平比较:在纳入的文献中共有 6 篇报道比较观察组与对照组的 NT-proBNP 水平。异质性检验结果示 $P = 0.000, I^2 = 99.4\%$,应用随机效应模型合并分析。结果显示,治疗后,观察组 NT-proBNP 水平相较于对照组显著下降,差异有统计学意义($WMD = -338.15, 95\% CI -512.80 \sim -159.70, P < 0.001$),见图 4。

2.2.5 发表偏倚评价:使用 Stata 对所发表文章中主要指标包括疗效、LVEF 进行 Egger's 检验,结果显示疗效 $P = 0.077$, LVEF $P = 0.304$,表明本研究所纳入文献整体上可排除文献发表偏倚。

3 讨论

心力衰竭是指心肌受损后导致心脏的收缩及舒张功能出现障碍,心功能明显下降,以致出现心排量减少,并常伴有水肿和淤血等症状。心力衰竭是绝大多数慢性心脏病的最终发展结局,其不断进展且难以彻底治愈^[20-21]。中医认为心力衰竭发生与气虚无力难以推动血液运行,日久则旧血不去,心肌失之濡养有关,故治疗当以益气、活血及通络为主^[22]。

麝香通心滴丸组方是依据《苏沈良方》中至宝丹和传统名方六神丸加减化裁而来,具有芳香益气通脉,活血化瘀止痛之功效,常用于冠心病稳定型劳累性心绞痛,中医辨证气虚血瘀证,症见胸痛胸闷,心悸气短,

表 1 纳入文献基本特征及质量评价

作者	年份	例数	性别 (男/女,例)	年龄(岁)		干预措施	结局指标	Jadad 评分(分)
				观察组	对照组			
丘春燕 ^[10]	2019	101	55/46	61.29 ± 6.36	62.08 ± 6.78	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,12 周)	疗效, LVEF, 6MWT	3
何志鹏 ^[11]	2020	240	149/91	59.97 ± 5.42	60.32 ± 4.76	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,24 周)	疗效, LVEF, NT-proBNP, 6MWT	3
华先平 ^[12]	2011	121	76/45	64.30 ± 5.90	66.80 ± 6.20	常规药物 + 麝香通心滴丸(60 mg,3/日,8 周)	LVEF, NT-proBNP, 6MWT	3
吴刚 ^[13]	2020	140	83/57	66.47 ± 6.53	66.52 ± 6.71	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,24 周)	疗效, LVEF, NT-proBNP, 6MWT	5
彭超 ^[14]	2019	128	76/52	61.09 ± 7.84	60.53 ± 7.78	常规药物 + 麝香通心滴丸(70 mg,3/日,12 周)	疗效	2
杨顺良 ^[15]	2018	86	50/36	66.23 ± 1.97	64.74 ± 1.32	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,24 周) + 盐酸曲美他嗪(20 mg,3/日,24 周)	疗效, NT-proBNP	3
吴刚 ^[16]	2017	112	62/50	62.92 ± 7.81	62.75 ± 7.97	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,12 周)	疗效, NT-proBNP	3
吴刚 ^[17]	2019	172	94/78	63.90 ± 6.70	65.10 ± 7.50	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,24 周)	疗效, LVEF, NT-proBNP	3
阿尔达克 ^[18]	2018	150	91/59	59.89 ± 2.41	59.36 ± 2.22	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,15 d) + LVEF 左卡尼汀(2 g,1/日,15 d)		3
钟敬琼 ^[19]	2017	64	34/30	—	—	常规药物 + 麝香通心滴丸(2 丸,3/日,4 周) + 疗效, LVEF, 6MWT 左卡尼汀(2 g,1/日,4 周)		2

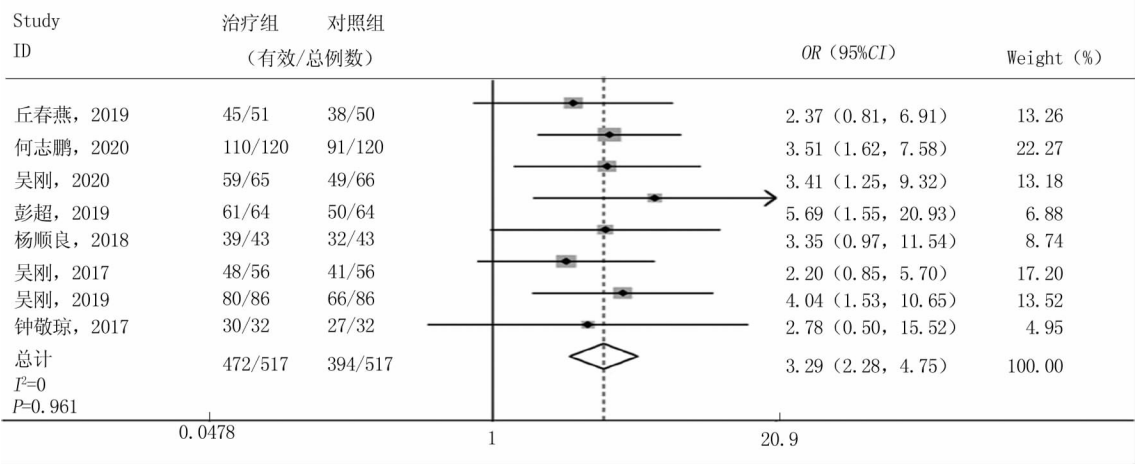


图 1 2 组患者临床有效率的 Meta 分析森林图

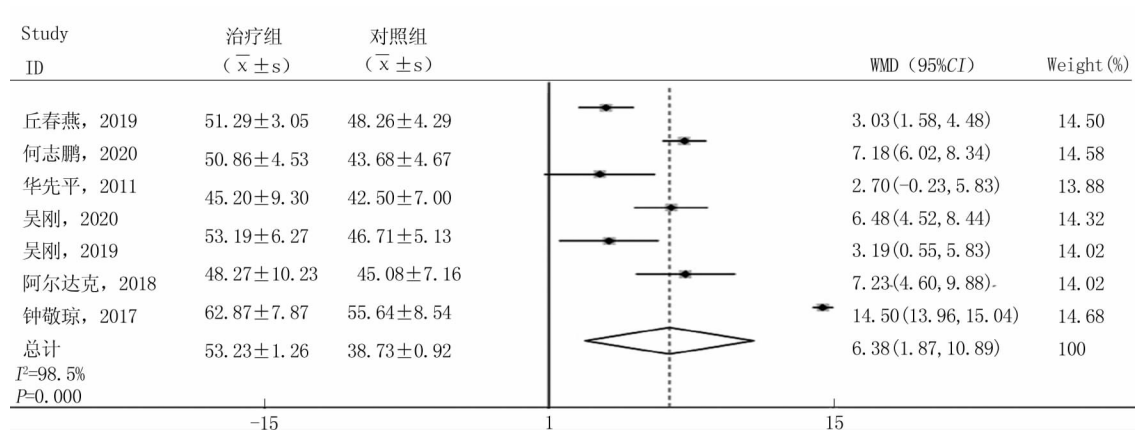


图 2 2 组患者治疗后 LVEF 水平比较的 Meta 分析森林图

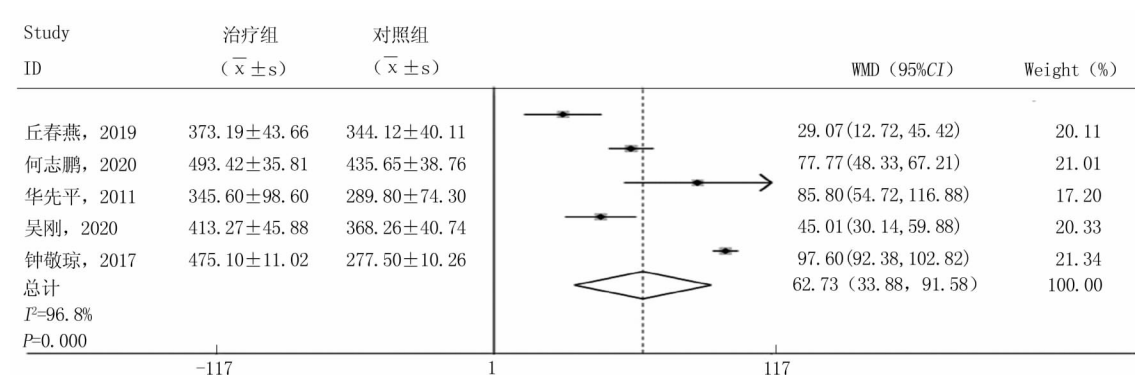


图 3 2 组患者治疗后 6MWT 比较的 Meta 分析森林图

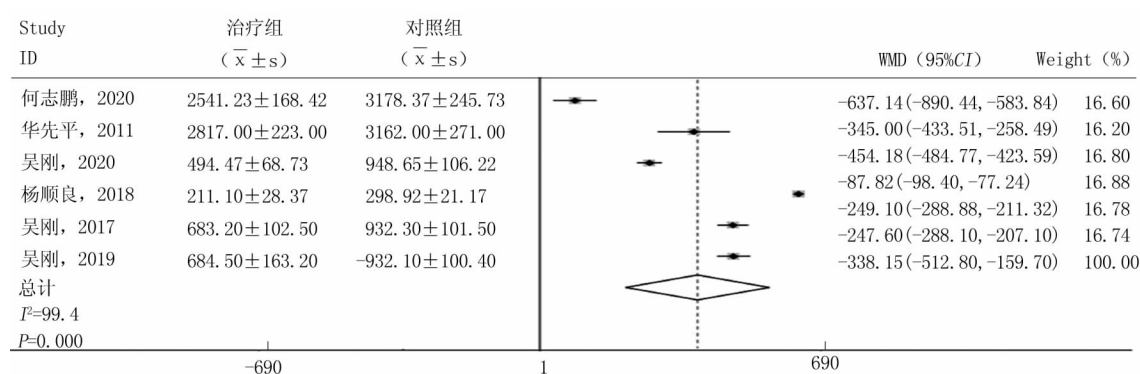


图 4 2 组患者治疗后 NT-proBNP 水平比较的 Meta 分析森林图

神倦乏力^[23-24]。Meta 分析证明,常规药物联合麝香通心滴丸治疗可改善冠心病心绞痛患者症状,相比常规治疗方案,加用麝香通心滴丸治疗的长期成本更低、健康产出更高,具有成本—效果优势和药物经济学优势^[24-26]。本研究对 10 项麝香通心滴丸与常规药物联合治疗慢性心力衰竭的研究进行 Meta 分析,结果显示麝香通心滴丸与常规药物联合观察组的有效率显著优于对照组,治疗后该组 LVEF、6MWT 较对照组显著升高,且血浆 NT-proBNP 水平降低,表明麝香通心滴丸

对慢性心力衰竭有很好的疗效。

除心力衰竭和冠心病外,Wang 等^[27]研究发现,应用麝香通心滴丸可显著改善冠状动脉慢血流(CSF)患者的血流情况,有很好的疗效和安全性;Lin 等^[28]研究表明,麝香通心滴丸可通过抑制缺氧损伤和细胞凋亡等机制改善心肌缺血;Ding 等^[29]证明麝香通心滴丸可通过调节线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放和蛋白激酶 B—糖原合酶激酶-3 β (protein kinase B/glycogen synthase ki-

nase-3, AKT-GSK3 β) 磷酸化通路降低大鼠冠状动脉微血栓形成; Xiong 等^[30] 还发现麝香通心滴丸可改善动脉粥样硬化症状。

现代研究证明, 麝香通心滴丸具有抗炎、抗 RAAS, 改善心肌纤维化和内皮功能、抗凋亡等效应, 可明显改善患者心功能^[31]。麝香通心滴丸能明显降低心血管疾病患者血清高敏 C-反应蛋白(hypersensitive-CRP, hs-CRP)、TNF- α 、白介素(interleukin, IL)-18, 升高 IL-10 水平, 延缓动脉粥样硬化进程^[30]。也可通过下调 H9c2 细胞凋亡蛋白——Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax) 的表达, 并上调抗凋亡 B 细胞淋巴瘤因子-2(B cell lymphoma 2, Bcl-2) 的表达以发挥抗凋亡效应^[32]。还可降低自噬相关蛋白——微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) II/LC3 I、Beclin-1、自噬相关蛋白 5(autophagy protein 5, Atg5) 和自噬相关基因 Beclin-1、Atg5 的表达抑制细胞自噬水平来减少细胞损伤, 从而发挥保护心肌细胞的作用^[33]。刘新文等^[34] 证明麝香通心滴丸可通过低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α)/Bcl-2/腺病毒 E1B 相互作用蛋白 3(Bcl-2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3, Bnip3) 自噬细胞信号通路(HIF-1 α /Bnip3) 对 H9c2 心肌细胞缺氧/复氧起到保护作用。

麝香通心滴丸主要成分有人工麝香、牛黄、人参茎叶总皂苷、丹参、熊胆粉、冰片、蟾酥等。其中麝香是成熟雄麝香囊中的分泌物, 气味芬芳, 能够改善血管内皮细胞功能, 促进受损心肌细胞代谢水平恢复, 拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 激活, 延缓心室重构进程^[17]。熊胆粉能降低血液黏度、红细胞聚集指数及血小板黏附率, 降低血脂, 抑制血栓形成^[35]; 蟾酥在抗炎、免疫调节、调节血压、增强心肌收缩力、扩张冠状动脉等方面具有一定的作用^[36]。人参茎叶总皂苷是人参的主要成分, 能够通过清除体内自由基和抗氧化作用, 减轻缺血心肌的再灌注损伤, 增强心肌功能, 保护人体自身免疫系统^[37]。丹参具有活血化瘀、抗凝、扩血管、改善微循环、通脉养血等功效, 并能够防止和减轻缺氧心肌超微结构的变化, 对缺氧心肌有保护作用, 还可改变血液流变学性质, 降低血液黏稠度, 并能增加心肌收缩力, 使心输出量增加, 扩张血管, 同时使肾动脉血流量增加, 尿量增多, 从而减轻心脏前后负荷, 发挥良好的抗心力衰竭作用^[38-39]。

部分研究进一步分析该药物中活性成分功效, 发现人参茎叶总皂苷中的活性成分人参皂苷 Rg3 可以

激活心肌组织中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 和核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, NRF-2) 蛋白以调节线粒体的结构与功能, 进而改善心脏功能^[40]; Rg1 可上调 PGC-1 α 减少游离脂肪酸, 进而可有效改善心肌肥大^[41]。丹参中的活性成分丹参酮 II A 磺酸钠、丹参多酚酸酯可通过抑制磷酸化细胞外调节激酶 1/2(extracellular-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 表达抑制心肌肥大, 减少心肌缺血再灌注损伤, 还可通过调节去乙酰化酶 1(sirtuin 1, Sirt1) 抑制氧化应激和炎症反应, 防治心肌重构; 隐丹参酮可通过增加 PGC-1 α 和线粒体转录因子 A(mitochondrial transcription factor A, TFAM) 的表达修复线粒体功能; 丹参酸酚 B 可激活 Sirt1 减轻氧化应激损伤; 丹参酮 II A 可抑制 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的表达发挥抗动脉粥样硬化作用^[42-47]。王伟等^[32] 通过网络药理学与血清药物化学研究发现, 麝香通心滴丸中的 8 种活性成分, 如沙蟾毒精、远华蟾毒精、脂蟾毒配基、蟾毒灵等也具有一定强心作用, 分子对接分析也显示这些成分与主要靶点结合性较好。故麝香通心滴丸可通过多成分、多靶点、多环节、多层次机制改善心力衰竭患者的心功能。

本研究纳入的各文献虽未见明显的发表偏倚, 但分析结果仍存在一定局限性: 因受制于研究数量, 纳入的文献总数及病例数相对较少, 未来仍需要通过大样本、多中心随机临床对照研究来进一步验证麝香通心滴丸对于心力衰竭的治疗效果, 为其临床应用提供更多可靠依据。

综上, 应用麝香通心滴丸与常规药物联合治疗慢性心力衰竭可显著提高治疗有效率, 改善心功能, 并可降低心力衰竭标志物水平。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

权力、张艳达: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 赵健、任昌振: 资料搜集整理, 进行统计学分析, 论文修改; 贺治青、梁春: 分析试验数据, 论文审核, 提供项目支持

参考文献

- [1] 王华, 李莹莹, 柴珂, 等. 中国住院心力衰竭患者流行病学及治疗现状[J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(11): 865-874. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2019.11.004.
- [2] Tondi L, Fragasso G, Spoladore R, et al. Real-life indications to ivabradine treatment for heart rate optimization in patients with chronic systolic heart failure [J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown),

- 2018, 19(7): 351-356. DOI: 10.2459/JCM.0000000000000661.
- [3] 宋孟仙, 刘华, 王雯霞, 等. 体外心脏震波治疗对缺血性心力衰竭患者的疗效及其机制研究[J]. 临床心血管病杂志, 2016, 32(9): 938-942. DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2016.09.019.
- [4] 田国芳, 宋玉勤, 张丽花, 等. 参芪复脉汤加减联合常规西医治疗慢性心力衰竭合并低血压状态疗效观察[J]. 河北中医, 2017, 39(9): 1340-1343. DOI:10.3969/j.issn.1002-2619.2017.09.016.
- [5] 肖珊珊, 唐冰. 麝香通心滴丸联合血栓抽吸改善 STEMI 患者 PCI 术后心肌血流灌注的临床研究[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(4): 460-463. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20161129.003.
- [6] 宋炳慧, 王书清, 贾珊珊, 等. 麝香通心滴丸联合血栓抽吸改善 STEMI 患者 PCI 术后慢血流的临床研究[J]. 中外女性健康研究, 2017, 24: 34-39. DOI:10.3969/j.issn.2096-0417.2017.24.023.
- [7] Jadad AR, Moore RA, Carroll D, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary [J]. Controlled Clinical Trials, 1996, 17(1): 1-12. DOI: 10.1016/0197-2456(95)00134-4.
- [8] 张艳达, 赵健, 张如岗, 等. 麝香保心丸辅助治疗急性心肌梗死疗效的 Meta 分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(24): 3857-3863. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2019.24.003.
- [9] 康德英, 洪旗, 刘关键, 等. Meta 分析中发表性偏倚的识别与处理[J]. 中国循证医学杂志, 2003, 3(1): 45. DOI:10.3969/j.issn.1672-2531.2003.01.010.
- [10] 丘春燕, 林超, 乔建峰, 等. 麝香通心滴丸对陈旧性心肌梗死合并慢性心衰的疗效观察[J]. 中国老年保健医学, 2019, 17(5): 51-53. DOI:10.3969/j.issn.1672-2671.2019.05.018.
- [11] 何志鹏, 吴琪, 翁敏杰, 等. 麝香通心滴丸对低血压慢性收缩性心力衰竭患者治疗效果的研究[J]. 中国现代医生, 2020, 58(14): 49-52.
- [12] 华先平, 詹艳, 李梓香, 等. 麝香通心滴丸对慢性心力衰竭病人心功能的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(2): 143-145. DOI:10.3969/j.issn.1672-1349.2011.02.008.
- [13] 吴刚, 余德龙, 李磊, 等. 麝香通心滴丸对缺血性心力衰竭心肌纤维化和血管再生的影响机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020: 1-10. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.20201034.
- [14] 彭超. 麝香通心滴丸辅助西药治疗气虚血瘀证缺血性心力衰竭疗效及对 S100 A8/A9、NF- κ B 及 RAGE 水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(11): 1169-1172. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2019.11.007.
- [15] 杨顺良. 麝香通心滴丸联合曲美他嗪对缺血性心力衰竭的疗效及对患者 NT-proBNP 及心功能的影响[J]. 中国医学创新, 2018, 15(27): 4-7. DOI:10.3969/j.issn.1674-4985.2018.27.002.
- [16] 吴刚, 宋玉华, 胡立群. 麝香通心滴丸联合盐酸曲美他嗪对缺血性心力衰竭(气虚血瘀证)炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 188-193. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2017230188.
- [17] 吴刚, 胡立群. 麝香通心滴丸联合盐酸曲美他嗪对缺血性心力衰竭患者神经激素-细胞因子及左心室重构的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(4): 677-680. DOI:10.13192/j.issn.1000-1719.2019.04.002.
- [18] 阿尔达克·沙别提汗, 宋俊宏. 麝香通心滴丸联合左卡尼汀治疗慢性心力衰竭的临床价值体会[J]. 中西医结合心脑血管病电子杂志, 2018, 6(10): 141, 144. DOI:10.3969/j.issn.2095-6681.2018.10.107.
- [19] 钟敬琼, 李少霞, 许珍娥. 麝香通心滴丸联合左卡尼汀治疗慢性心力衰竭的临床疗效观察[J]. 现代医院, 2017, 17(1): 101-102, 105. DOI:10.3969/j.issn.1671-332X.2017.01.032.
- [20] 黄慧, 杨丽玫. 麝香保心丸联合曲美他嗪治疗缺血性心脏病心力衰竭[J]. 河南中医, 2015, 35(4): 726-728. DOI:10.16367/j.issn.1003-5028.2015.04.0308.
- [21] 王兴刚, 高淑明. 麝香保心丸联合曲美他嗪治疗老年缺血性心脏病心力衰竭的疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 2(26): 5524-5525.
- [22] 马金, 张艳. 慢性心力衰竭中医病机“气虚-血瘀-水停”与“心室重构”的相关性探讨[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(17): 1936-1938. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2016.17.041.
- [23] 张贵峰, 赖永新. 麝香通心滴丸治疗冠心病心绞痛气虚血瘀证的临床疗效[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(5): 994-995.
- [24] 潘婕, 王志恒, 王晓梅, 等. 应用 Markov 模型对麝香通心滴丸联合西药常规治疗冠心病的药物经济学评价[J]. 中国中药杂志, 2021. DOI:10.19540/j.cnki.cjcmm.20210209.501.
- [25] 杜惠清, 刘志超, 黄宇虹, 等. 麝香通心滴丸联合常规西药改善冠心病心绞痛的系统评价[J]. 天津中医药大学学报, 2020, 39(2): 193-196. DOI:10.11656/j.issn.1673-9043.2020.02.16.
- [26] 李文华, 吴晓军, 李桂新, 等. 麝香通心滴丸治疗冠心病心绞痛的系统评价[J]. 西北国防医学杂志, 2018, 39(5): 281-284. DOI:10.16021/j.cnki.1007-8622.2018.05.001.
- [27] Wang SH, Chu L, Xu Z, et al. Effect of Shexiang Tongxin Dropping Pills on the immediate blood flow of patients with coronary slow flow[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2018, 25(5): 360-365. DOI: 10.1007/s11655-018-2559-4
- [28] Lin S, Chu J, Zhang L, et al. Protective effects of Shexiang Tongxin Dropping Pill on pituitrin-induced acute myocardial ischemia in rats[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 16(3): 3125-3132. DOI: 10.3892/mmr.2017.6963
- [29] Ding Y, Zhu HY, Zhang LZ, et al. Shexiang Tongxin Dropping Pill reduces coronary microembolization in rats via regulation of mitochondrial permeability transition pore opening and AKT-GSK3 β phosphorylation [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2020. DOI: 10.1007/s11655-019-3176-6.
- [30] Xiong M, Jia C, Cui J, et al. Shexiang Tongxin dropping pill attenuates atherosclerotic lesions in ApoE deficient mouse model[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 159: 84-92. DOI: 10.1016/j.jep.2014.11.013.
- [31] 陈照云, 黄兴, 周立华, 等. 麝香通心滴丸药物作用机制和药物靶点的研究进展[J]. 河南中医, 39(7): 1117-1121. DOI:10.16367/j.issn.1003-5028.2019.07.0277.
- [32] 王伟, 刘星雨, 尚云龙, 等. 基于血清药物化学与网络药理学探究麝香通心滴丸治疗冠心病的机制[J]. 中成药, 2020, 42(10): 2768-2777. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.045.
- [33] Lei S, Zhang Y, Su W, et al. Remifentanyl attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative injury by downregulating PKC β 2 activation and inhibiting autophagy in H9C2 cardiomyocytes[J]. Life Sci, 2018, 213: 109-115. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.10.041.

- [34] 刘新文,沈男男,王佳良,等. 麝香通心滴丸对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用[J/OL]. 中华危重症医学杂志:电子版, 2020, 13(3):170-175.DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2020.03.003.
- [35] 熊敏琪,贾成林,崔金刚,等. 熊胆粉在麝香通心滴丸抗动脉粥样硬化中的作用机制研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(9): 1083-1089.DOI:10.7661/CJIM.2015.09.1083.
- [36] 陈瀛澜,郝艳艳,郭夫江,等. 蟾酥化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(12): 2579-2588.DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.033.
- [37] 冯巧巧,刘军田. 麝香酮药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2015, 17(3): 212-214.DOI:10.3969/j.issn.1672-979X.2015.03.021.
- [38] 代晓光,苏长兰. 丹参化学成分及药理研究进展[J]. 中医药信息, 2018, 35(4): 126-129.DOI:10.19656/j.cnki.1002-2406.180135.
- [39] 陈成,陈永忠,邹襄谷,等. 丹参多酚酸盐对心衰模型大鼠去甲肾上腺素、血管紧张素-II、肿瘤坏死因子的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2014, 36(8): 702-706.DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2014.08.009.
- [40] Sun M, Huang C, Wang C, et al. Ginsenoside Rg3 improves cardiac mitochondrial population quality: mimetic exercise training[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 441(1): 169-174. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.10.039.
- [41] 王辉,高航. 人参皂苷 Rg1 通过调控 PGC-1 α 抑制异丙肾上腺素诱导大鼠心肌细胞肥大[J]. 中药药理与临床, 2015, 14(3): 55-59.DOI:10.13412/j.cnki.zyy.2015.03.017.
- [42] Li SS, Feng J, Zheng Z, et al. Effect of sodium tanshinone II A sulfonate on phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 in angiotensin II-induced hypertrophy of myocardial cells[J]. Chin J Integr Med, 2008, 14(2): 123-127. DOI: 10.1007/s11655-008-0123-3.
- [43] Feng J, Li S, Chen H. Tanshinone II A inhibits myocardial remodeling induced by pressure overload via suppressing oxidative stress and inflammation: Possible role of silent information regulator 1[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 791: 632-639. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.09.041.
- [44] Qi JY, Yu J, Huang DH, et al. Salvianolate reduces murine myocardial ischemia and reperfusion injury via ERK1/2 signaling pathways in vivo[J]. Chin J Integr Med, 2017, 23(1): 40-47. DOI: 10.1007/s11655-016-2621-z.
- [45] Zhang Y, Chen L, Li F, et al. Cryptotanshinone protects against adriamycin-induced mitochondrial dysfunction in cardiomyocytes[J]. Pharm Biol, 2016, 54(2): 237-242. DOI: 10.3109/13880209.2015.1029052.
- [46] Zeng W, Shan W, Gao L, et al. Inhibition of HMGB1 release via salvianolic acid B-mediated SIRT1 up-regulation protects rats against non-alcoholic fatty liver disease[J]. Sci Rep, 2015, 5: 16013. DOI: 10.1038/srep16013.
- [47] 贾连群,冯峻屹,杨关林,等. 丹参酮 II A 对 EA.hy926 细胞 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(5): 337-340.

(收稿日期:2020-09-28)

作者·编者·读者

《疑难病杂志》特色栏目征稿

《疑难病杂志》是国内唯一报道有关疑难病症的国家级核心刊物,由中华人民共和国国家卫生健康委员会主管、中国医师协会主办。本刊为美国《化学文摘》(CA)、日本科学技术振兴机构数据库(JST)、波兰《哥白尼索引》(IC)来源期刊,已被确定为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”“中国生物医学核心期刊”,并被“中国期刊全文数据库”“中文科技期刊数据库”“中国生物医学文献数据库”等国内多家数据库收录。为了体现刊物的特色,真正做到“引导潮流、荟萃精华、贴近临床、服务读者”的办刊宗旨,特向广大从事中医、西医、中西医结合的医药工作者征集以下特色栏目稿件。

疑难病研究 即有关疑难病的临床研究和实验研究,2021 年着重报道心血管病、脑血管病、糖尿病及恶性肿瘤等疑难病诊断、治疗中的新理论、新方法、新技术、新经验。包括针对某种疑难病进行的大规模临床随机对照试验,对某种疑难病病因学的新理论和新见解,对疑难病诊治的经验总结,对某种复杂临床操作技术以及诊疗技术的改进等。

疑难病例(理)讨论 主要刊登对各科疑难病例举行的临床会诊、病例讨论、病理分析、尸检评析等方面的文章,通过专家对其病因、病理、诊断和治疗方案等内容的讨论,从而达到仁者见仁、智者见智,指导临床诊断与治疗。

罕见病例 主要报道新发现疾病和罕见、少见疾病,一般结构包括三大部分,即病例简介、讨论和参考文献。通过罕见疾病报告,以提高临床医师认识疾病、诊断疾病的能力。

作者投稿请先阅读《疑难病杂志》稿约(见本卷第 1 期 107-108 页),论文所涉及的课题若获得国家或部、省级基金资助或属攻关项目,请脚注于文题页作者署名下方,如:“基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870765)”,并请附基金证明复印件,可优先刊登。

本刊只接受电子投稿,将稿件发至电子邮箱(ynbzz@163.com)或登录本刊网址(<http://tougao.ynbzz.com>)进行投稿。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.016

罕见病例

以脑白质病变为主的水痘一带状疱疹病毒脑炎 1 例

肖伟, 张小东, 周薇, 张鑫, 杨飞, 屠榕, 余巨明

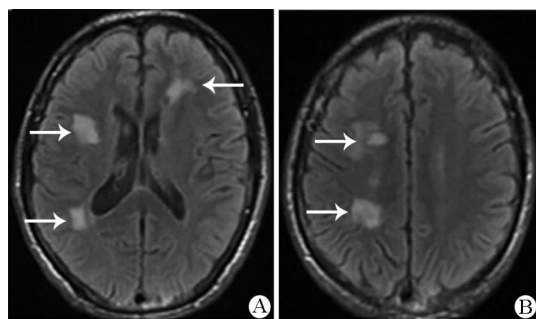
作者单位: 637000 四川南充, 川北医学院附属医院神经内科

通信作者: 余巨明, E-mail: yujuming1963@126.com

【关键词】 水痘一带状疱疹病毒脑炎; 脑白质; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R512.3 【文献标识码】 B

患者, 男, 65 岁, 因头痛 7 d 入院。7 d 前患者无明显诱因出现头痛, 位于左侧额颞部, 呈持续性胀痛, 夜间头痛剧烈, 难以忍受, 伴头部紧箍感, 余无特殊, 遂就诊于当地医院, 期间患者发热 1 次, 体温 38.6℃, 予以抗感染(具体不详)治疗后体温正常, 但头痛无明显好转, 为进一步治疗至我院。既往体检, 否认高血压、糖尿病、心脏病及脑卒中等病史。双侧颈部淋巴结轻度增大, 余查体未见异常; 头颅 MR 示: 双侧侧脑室旁多发斑片状异常信号, 考虑脑白质病变, 无明显强化, 颅内多发缺血灶(图 1); 脑电图无异常; 腰穿脑脊液: 压力正常, 白细胞 130 × 10⁶/L, 单个核细胞 95%, 总蛋白 738.04 mg/L。脑脊液病原学宏基因组检测结果示: 人疱疹病毒 3 型(水痘带状疱疹病毒)。诊断: 病毒性脑炎(水痘带状疱疹病毒), 继续予以抗病毒、营养神经、补液等治疗, 治疗 7 d 后头痛较前缓解, 治疗 14 d 后患者头痛基本消失, 患者拒绝复查腰穿及头颅 MR 检查并要求出院, 出院后继续予以阿昔洛韦口服治疗 1 周。目前已电话随访 40 d, 患者一般情况良好, 头痛未再发作, 能正常工作及生活。



注: A. 右侧侧脑室旁、左侧侧脑室前角斑片状脑白质改变; B. 右侧半卵圆中心多发斑片状脑白质改变

图 1 患者头颅 MR 影像表现

讨论 脑白质病变(WMLs)是指脑白质中神经细胞的髓鞘损害。其病因复杂多样, 主要包括缺血性、免疫性、肿瘤性、中毒性等, 而以带状疱疹病毒脑炎为病因的脑白质病文献罕见报道。

人类疱疹病毒 3 型又称水痘一带状疱疹病毒(varicella-zos-

ter virus, VZV), VZV 在儿童期初次感染后形成水痘, 原发感染后在整个神经轴、神经节、神经元中潜伏, 随着 VZV 特异细胞介导的免疫力下降, VZV 从神经节重新激活, 引起带状疱疹、疱疹后神经痛及一系列中枢神经系统并发症, 包括脑膜脑炎、吉兰-巴雷综合征、脊髓炎、血管炎等^[1-4]。VZV 引起成人中枢神经系统感染少见, 临床表现常有头痛、发热、精神异常、癫痫发作、局灶性神经功能缺损等(如偏瘫、单瘫等), 因其临床表现、实验室及辅助检查缺乏特异性, 确诊需靠病原学检查。

本例患者以头痛为主要表现伴一过性发热, 无神经系统定位体征, 头颅 MR 显示脑白质多发病灶, 脑脊液细胞数中度增高, 以单个核细胞为主, 蛋白轻度增高, 糖、氯化物正常。根据起病形式、临床表现及脑脊液结果需首先考虑病毒性脑炎, 但病毒性脑炎尤其是单纯疱疹病毒性脑炎好发于颞叶及额叶, 而本例患者病灶多发, 且位于深部脑白质, 不排除其他病毒感染的可能。近年研究表明, 二代宏基因组测序技术(mNGS)具有较高的敏感度及特异度, 对中枢神经系统感染具有重要的诊断价值^[5]。本例患者脑脊液中检测到 VZV, 测序质量达 93.38%, 支持 VZV 脑炎的诊断, 虽然出院时和出院后未能复查脑脊液及头颅 MR 的变化, 但患者 40 d 的良好随访结果也支持 VZV 脑炎的诊断。

以脑白质损害为主的 VZV 脑炎罕见报道。Horten 等^[6]最早报道了相关病例, 随后 Berth 等^[7]报道了伴明显白质脱髓鞘的 VZV 脑脊髓炎, 这些患者大都伴有免疫功能低下, 尤其是艾滋病。本例患者通过相关免疫疾病及 HIV 的筛查, 未发现免疫功能缺陷证据。VZV 产生脑损伤机制包括: 大中型血管病变(出血性梗死)、小血管病变(脱髓鞘性病变)、脑室炎及脑室周围炎等^[8]。由于深部脑白质由大脑中动脉的滋养动脉供血, 易受到小血管危险因素的影响, 小血管病变会导致混合性缺血和脱髓鞘改变^[9]。依据病灶分布及病变大小, 本例患者综合考虑小血管病变机制, 但其引起脑小血管病的确切机制仍待探索。

VZV 脑炎治疗的关键是早期抗病毒, 早期筛查及识别尤为重要。部分患者临床及影像学表现不典型, 临床上容易误诊从而延误患者的治疗, 导致患者症状进一步加重, 因此对于伴白质损害的患者, 排除相关疾病, 结合患者的临床症状, 应考虑 VZV 脑炎的可能, mNGS 对于脑炎诊断有较高的价值, 对于临床

考虑不典型脑炎建议完善 mNGS 检测,早期诊断及早期治疗并预防不良预后。

参考文献

- [1] 俞蕙,朱启谔. 水痘一带状疱疹病毒感染的研究现状[J]. 中国计划免疫, 2001, 7 (2): 59-62. DOI: 10.3969/j.issn.1006-916X.2001.02.023.
- [2] Nagel MA, Gilden D. Neurological complications of varicella zoster virus reactivation[J]. Curr Opin Neurol, 2014, 27 (3): 356-360. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000092
- [3] Steiner I, Benninger F. Manifestations of herpes virus infections in the nervous system [J]. Neurol Clin, 2018, 36 (4): 725-738. DOI: 10.1016/j.ncl.2018.06.005.
- [4] Kennedy PGE, Gershon AA. Clinical features of varicella-zoster virus infection [J]. Viruses, 2018, 10 (11): 609. DOI: 10.3390/v10110609.
- [5] Brown JR, Bharucha T, Breuer J. Encephalitis diagnosis using met-

agenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases [J]. Infect, 2018, 76 (3): 225-240. DOI: 10.1016/j.jinf.2017.12.014.

- [6] Horten B, Price RW, Jimenez D. Multifocal varicella-zoster virus leukoencephalitis temporally remote from herpes zoster [J]. Ann Neurol, 1981, 9 (3): 251-266. DOI: 10.1002/ana.410090308.
- [7] Berth S, Carbanar O, Yang NS, et al. Varicella-zoster virus encephalomyelitis with a prominent demyelinating component [J]. Neuropathology, 2015, 35 (6): 587-591. DOI: 10.1111/neup.12224.
- [8] Kleinschmidt-DeMasters BK, Amlie-Lefond C, Gilden DH. The patterns of varicella zoster virus encephalitis [J]. Hum Pathol, 1996, 27 (9): 927-938. DOI: 10.1016/s0046-8177(96)90220-8.
- [9] Read SJ, Pettigrew L, Schimmel L, et al. White matter medullary infarcts: acute subcortical infarction in the centrum ovale [J]. Cerebrovasc Dis, 1998, 8 (5): 289-295. DOI: 10.1159/000015868.

(收稿日期: 2020-06-08)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.017

罕见病例

肾上腺乳头状淋巴管内血管内皮瘤 2 例并文献复习

易小敏, 张杰秀, 居小兵, 谭若芸

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81770751)

作者单位: 210029 南京医科大学第一附属医院泌尿外科

通信作者: 谭若芸, E-mail: tanruoyun112@vip.sina.com

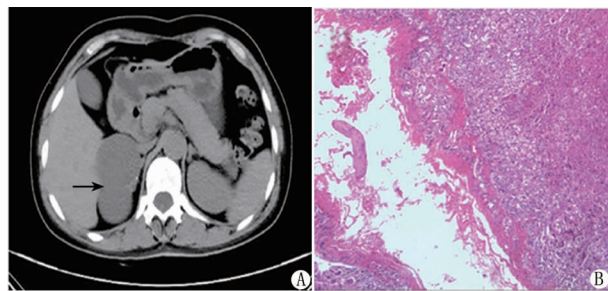
【关键词】 乳头状淋巴管内血管内皮瘤; Dabska 瘤; 血管肉瘤; 肾上腺肿瘤; 肾上腺囊肿; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R732.2

【文献标识码】 B

例 1, 女, 49 岁, 因右腰部酸胀不适 1 个月入院。既往高血压病史 20 年, 血压最高 170/110 mmHg, 规律口服降压药物治疗。20 年前行声带息肉切除手术, 13 年前因脑垂体瘤行伽马刀治疗。入院后实验室检查无明显异常。泌尿系 CT 示: 右侧肾上腺见多房囊性密度影(图 1A), 囊壁散在钙化, CT 值约 15 HU, 增强后未见强化, 较大囊截面 8.4 cm × 4.1 cm, 双肾囊肿, 左肾错构瘤, 肝脏多发囊肿。于全麻下行后腹腔镜下右肾上腺部分切除+肾囊肿去顶术, 术中见肾上腺处有一囊肿, 局部囊壁钙化, 肾脏背侧 2 个囊肿大小分别为 4 cm × 4 cm、4 cm × 3 cm, 完整切除肾上腺囊肿, 囊液均为淡黄色。术后病理(图 1B): 右侧肾上腺部分囊壁衬附上皮 CD31(+), CD34(部分+), ERG(+), D2-40(+), Ki67(1%~2%+), SMA(-), FLI-1(+), 周围可见囊肿形成。诊断为乳头状淋巴管内血管内皮瘤(Dabska 瘤), 术后恢复良好。随访至今患者腰部不适症状较前缓解, CT 检查未提示肿瘤复发或转移。

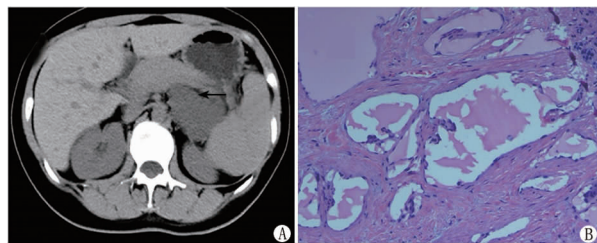
例 2, 女, 33 岁, 因体检发现左侧肾上腺肿瘤 10 d 入院。泌尿系超声: 左侧肾上腺见 6.5 cm × 5.4 cm 的无回声区, 内见少许分隔, 未见明显血流信号, 左侧肾上腺区囊性占位。泌尿系



注: A. 泌尿系 CT 示右肾上腺区囊性占位(箭头位置); B. 术后病理结果(HE 染色, ×200)

图 1 患者 CT 影像表现及病理结果

CT 示: 左侧肾上腺见囊性不规则占位, 较大截面为 5.2 cm × 4.4 cm(图 2A)。于全麻下行后腹腔镜下左肾上腺部分切除术, 术中见肾上腺区囊肿, 大小 7 cm × 5 cm, 表面淡黄透亮, 局部囊壁钙化, 内见淡黄色液体流出, 囊内有分隔。术后病理(图 2B): 左肾上腺海绵状淋巴管瘤, 灶性区内皮细胞乳头状增生, 诊断为 Dabska 瘤样改变。术后恢复良好, 至今随访未提示肿瘤复发或转移。



注:A.泌尿系 CT 示左肾上腺区囊性占位(箭头位置);B.术后病理结果(HE 染色, ×200)

图 2 患者 CT 影像表现及病理结果

讨论 乳头状淋巴管内血管内皮瘤(papillary intralymphatic angioendothelioma, PILA), 又称 Dabska 瘤, 是一种较为罕见的交界性血管肉瘤, 组织学特点为网状淋巴管瘤及淋巴管内多发鞋钉样突起, 具有局部侵袭、复发及远处转移倾向, 生物学行为介于良性血管瘤与恶性血管肉瘤之间^[1]。2013 年 WHO 软组织及骨肿瘤分类将其收录为乳头状淋巴管内血管内皮细胞瘤, 描述为起源于或具有淋巴管特征的罕见肿瘤。Dabska 瘤和网状血管内皮瘤均属血管内皮瘤^[2]。两者具有类似的组织形态、免疫表型, 且均表现出交界性生物学行为, 有时较难以区分, 病例 2 即为此类型, 因此也有学者合称两者为靴钉样(DABSKA-网状)血管内皮瘤^[3]。

Dabska 瘤多见于婴儿或儿童, 成人病例仅占 25%, 无明显性别差异^[4]。该肿瘤主要发生于四肢皮肤, 其次为躯干和头颈部皮肤, 近年来其他部位包括脾脏、骨、颈动脉鞘、前列腺、乳腺、小肠、肠系膜、下唇等也有零散报道^[5-8]。显微镜下观察 Dabska 瘤由不规则血管管腔组成, 管腔内衬典型乳头样增生的鞋钉样内皮细胞, 细胞内可见空泡颗粒, 胞核深染, 核分裂象罕见, 乳头状结构的中心为透明基质, 管腔内可见淋巴细胞、红细胞, 肿瘤间质有不同程度的淋巴细胞浸润, 免疫组化示 CD34、CD31、ERG、D2-40 等脉管标志物阳性^[9]。目前原发于肾上腺的 Dabska 瘤尚无文献报道。

Dabska 瘤患者一般无自觉症状, CT 检查该肿瘤表现为肾上腺区域的囊性占位, 以多房囊性和囊实性病变为主, 要注意与其他肾上腺区域的疾病鉴别: (1) 肝囊肿及肾囊肿, 病例 1 即为 Dabska 瘤合并多发肾囊肿, 如合并同侧肾囊肿可一并行肾囊肿去顶手术。(2) 肾上腺囊肿, 单纯肾上腺囊肿多为薄壁的单房囊肿, 因囊内成分单一显现为液性暗区, 囊壁常无明显钙化或伴有少量钙化, 不难区分。(3) 肾上腺肿瘤囊性变, CT 检查肿瘤区域不均一强化, 极少表现为完全囊性变。(4) 肾上腺淋巴瘤瘤, 可表现为与 Dabska 瘤相似的多房性、复杂性囊肿, CD31、CD34、D2-40 阳性有助于肾上腺淋巴瘤瘤的诊断, 但淋巴瘤瘤没有典型的鞋钉样内皮细胞和乳头状结构, 最终确诊仍需依据病理诊断。因难以获得理想的穿刺标本和有囊液流失的风险, 肾上腺囊性病变患者不建议术前行细针穿刺活检。由于肾上腺淋巴瘤瘤为良性病变, 而 Dabska 瘤界限清晰、生长缓慢, 可不必常规行术中冰冻检查。

Dabska 瘤为低度恶性的交界性血管源性肿瘤, 局部完整切除的预后较好, 因此肾上腺 Dabska 瘤的治疗应以手术完整切除为主。对体积较大、有内分泌功能或有临床症状、合并囊内出血或钙化的肾上腺肿瘤, 身体条件允许的情况下应积极外科手术处理。病变 <2 cm, 无内分泌功能及临床症状, 无囊内出血、感染等情况时可考虑动态随访观察^[10]。腹腔镜肾上腺切除或部分切除手术具有视野清晰、操作精细的特点, 后腹腔入路对肠道及周围脏器影响小, 术后恢复快, 已成为肾上腺肿瘤外科治疗的首选方式。由于 Dabska 瘤不除外局部复发、淋巴结扩散和远处转移的可能, 若术前评估考虑有淋巴结转移, 可行区域淋巴结清扫, 术后加强随访。

综上所述, 肾上腺 Dabska 瘤为肾上腺囊性病变, 发病率极低, 多无内分泌功能, 无明显临床症状, 与肾上腺淋巴瘤瘤难区分, 腹腔镜手术治疗安全有效, 术后需加强随访, 监测肿瘤复发。

参考文献

- [1] Wang Y, Han H, Du Y. Hobnail (retiform-Dabska) hemangioendothelioma located in the jejunum[J]. Digestive Endoscopy, 2018, 30(3): 390-391. DOI: 10.1111/den.13040.
- [2] Mondal A, Das M, Chatterjee U, et al. Retiform hemangioendothelioma: An uncommon vascular neoplasm[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2020, 63(1): 122-124. DOI: 10.4103/IJPM. IJPM_237_19.
- [3] 郭春雨, 韩换, 郑建明. 靴钉样(DABSKA-网状)血管内皮瘤 1 例[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(11): 1286-1287. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2018.11.030.
- [4] 吴涛, 丁向东, 李晶, 等. Dabska 血管内皮细胞瘤 1 例并文献复习[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(9): 1038-1040. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2017.09.025.
- [5] 王彦, 杨彦华, 于建宪. 前列腺 Dabska 瘤 1 例报道[J]. 诊断病理学杂志, 2011, 18(4): 297-298. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8096.2011.04.021.
- [6] 董晓峰, 张建斌. 下肢乳头状淋巴管内血管内皮细胞瘤 1 例报道[J]. 诊断病理学杂志, 2018, 25(4): 300-302. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8096.2018.04.016.
- [7] Li B, Li Y, Tian XY, et al. Unusual multifocal intraosseous papillary intralymphatic angioendothelioma (Dabska tumor) of facial bones: a case report and review of literature[J]. BioMed Central, 2013, 8(1): 160-161. DOI: 10.1186/1746-1596-8-160.
- [8] 詹升华, 郭凌川, 黄山, 等. 脾脏原发性 Dabska 瘤 1 例[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(10): 1193-1194. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2016.10.033.
- [9] Schwartz RA, Dabski C, Dabska M. The Dabska tumor: a thirty-year retrospect[J]. Dermatology (Basel, Switzerland), 2000, 201(1): 1-5. DOI: 10.1159/000018419.
- [10] 周蔚华, 梁洁, 唐浩. 原发性肾上腺平滑肌肉瘤 2 例并文献复习[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(12): 1268-1270. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.12.018.

(收稿日期: 2020—09—14)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.018

综 述

巨噬细胞移动抑制因子与心房颤动的研究进展

李珩,尹德春综述 曲秀芬审核

基金项目:中国博士后面上资助项目(2018M631959);黑龙江省博士后基金(LBH-Z18213);哈医大一院留学归国基金(2018L001)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院心血管内科

通信作者:曲秀芬,E-mail:hydxg@sina.com

【摘要】巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种多效性炎性细胞因子,在心房颤动(AF)患者中高表达。心房电重构、结构重构、氧化应激、炎性反应等在心房颤动的发病机制中起重要作用,MIF可能与心房颤动的众多因素相关,参与了心房颤动的各个过程。文章对MIF在不同方面促进心房颤动的发生发展及其抑制剂的治疗前景的治疗前景进行综述,推测靶向MIF的药物可能成为心房颤动治疗的新靶标。

【关键词】巨噬细胞移动抑制因子;心房颤动;MIF抑制剂

【中图分类号】R541.7+5 【文献标识码】A

Research progress of macrophage migration inhibitory factor and atrial fibrillation Li Heng, Yin Dechun, Qu Xiufen.

Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Province, Harbin 150001, China

Corresponding author: Qu Xiufen, E-mail: hydxg@sina.com

Funding program: Heilongjiang Postdoctoral Science Fund (2018M631959); Heilongjiang Postdoctoral Fund (LBH-Z18213); Harbin Medical University Affiliated / First Hospital Overseas Study and Return Fund (2018L001)

【Abstract】Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a pleiotropic inflammatory cytokine, which is highly expressed in patients with atrial fibrillation (AF). Atrial electrical remodeling, structural remodeling, oxidative stress, inflammatory response, etc. play an important role in the pathogenesis of atrial fibrillation. MIF may be related to many factors of atrial fibrillation and participate in various processes of atrial fibrillation. This article reviews the different aspects of MIF promoting the occurrence and development of atrial fibrillation and its inhibitors, and speculates that drugs targeting MIF may become a new target for the treatment of atrial fibrillation.

【Key words】Macrophage migration inhibitory factor; Atrial fibrillation; MIF inhibitors

心房颤动(atrial fibrillation, AF)是最常见的快速性心律失常,在人群中有着较高的发病率和致残率。随着年龄的增长,心房颤动将导致更多的并发症,严重影响患者的生活质量。众所周知,心房颤动的发病机制很复杂,包括电重构、结构重构、氧化应激、炎性反应和遗传等因素。巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种多效性炎性细胞因子,具有广泛的调节性,参与多种疾病的发展过程,包括脓毒症、狼疮和类风湿性关节炎等炎性疾病,还有心力衰竭、心肌梗死、心肌炎、快速性心律失常、急性肾损伤、器官纤维化、恶性肿瘤和其他免疫性疾病等。近期多项研究表明,心房颤动患者中检测到高水平的MIF^[1],MIF在心房颤动的发展中起到重要作用,因此更好地研究MIF参与心房颤动的机制将是未来的趋势,抑制MIF将是治疗心房颤动的新方

法。MIF一直是研究热点,尤其是类风湿性关节炎等炎性疾病、肿瘤、动脉粥样硬化等各种疾病。最近研究表明,MIF在心血管疾病中有至关重要的作用。近年来较多研究分析了MIF与心房颤动的关系,MIF可能参与调节AF的电重构、结构重构、氧化应激和炎性反应等方面,但是MIF与各个因素的关系及其机制有待进一步研究。

1 MIF的生物结构和特性

1989年,人类首次从活化的T细胞中克隆出MIF cDNA^[2],MIF是源自活化T淋巴细胞的可溶性细胞因子,调节巨噬细胞和T细胞的活化。MIF是一种115个氨基酸的多肽,其真实结构是同型三聚体,形状为环形,三聚体结构由被6个 α -螺旋包围的3个 β -折叠组成,每个 β -折叠均由来自3种单体中的每一个 β

链组成。MIF 是一种多功能蛋白,有 2 种不同的催化活性,具有互变异构酶和硫醇蛋白氧化还原酶(TPOR)的活性^[3]。MIF 以蛋白质的形式存在于细胞内外,在多种细胞表达,包括单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、上皮细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞和心肌细胞等,其可抑制巨噬细胞迁移、调节炎症因子、促进巨噬细胞及中性粒细胞等炎症细胞的募集^[4]。MIF 可结合和激活各种受体,例如 CD74、CD44、CXCR2、CXCR4 和 CXCR7,这些受体之间形成了多种可能的复合物,包括 CD74/CD44、CD74 /CXCR2、CD74/CXCR4 和 CD74/CXCR4/CXCR7,与受体结合后通过 ERK1/2、MAPK 和 AKT 等信号传导途径激活下游分子^[5]。MIF 具有 TPOR 活性,其氧化还原功能是由 Cys-Ala-Leu-Cys 基序所介导的,提示 MIF 可能调节细胞氧化还原过程, MIF 能够在病理相关的氧化和还原状态之间进行转化^[3]。MIF 作为炎症反应的上游调节剂,其通过促炎性介质 TNF、白介素和组织降解基质金属蛋白酶(MMP)的释放来促进炎症反应的发生,证据表明,MIF 通过上调细胞因子(TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β)来反调节糖皮质激素的抗炎活性^[3]。最新研究表明,MIF 在痛风炎症反应中起着重要的协调作用,可能与促进 IL-1 β 的释放和中性粒细胞的募集有关^[6]。MIF 也可促进体外视网膜色素上皮细胞(RPE)的 IL-6、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和 I 型胶原蛋白的产生^[7]。MIF 还可激活 NLRP3 炎症小体参与炎症反应过程,其还可作为潜在的分子伴侣稳定蛋白质的结构^[8]。

2 MIF 与电重构

近年来,AF 的发生机制一直是研究重点,心房电重构是其中的重要机制。心房的快速颤动引起心肌细胞的电生理变化,这些变化被称为电重构。电重构以动作电位持续时间(APD)和不応期缩短为特点,在 AF 发生的早期,心肌细胞许多离子电流改变,包括 K⁺ 电流、Ca²⁺ 电流和 Na⁺ 电流等,Ca²⁺ 电流在心肌细胞的动作电位和兴奋性中起重要作用。心肌中存在多种 Ca²⁺ 通道蛋白,其中电压依赖性钙通道分为 L 型和 T 型通道,2 种电流的减少缩短了有效不应期和 APD^[9]。研究表明,间隙连接存在于 2 个相邻的心房肌细胞间,间隙连接由连接蛋白组成,可通过电流或化学物质,维持心房肌细胞的电和机械偶联,心房颤动的心房连接蛋白 43(Cx43)表达降低,形成微折返环,促进心房颤动的发生^[10]。

有学者用人类重组 MIF(rMIF)处理 AF 患者的心房肌细胞,可见 L 型钙通道($I_{Ca,L}$)和 T 型钙通道

($I_{Ca,T}$)振幅的降低,2 种通道蛋白 mRNA 表达降低,蛋白酪氨酸激酶家族成员之一(Src)抑制剂可阻止这个过程。这表明 MIF 可能通过 Src 激酶下调 2 种钙通道的数量及电流强度,从而改变心肌细胞的电生理,促进心房颤动的发展^[11-12]。MIF 是否影响其他离子通道来促进 AF 有待进一步研究。近期研究表明,MIF 与 CD74 结合后可以诱导肌浆网(SR)Ca²⁺ ATPase 的表达,提高 Na⁺/Ca²⁺ 交换体(NCX)外排率,ryanodine 受体 2(RyR2)的磷酸化及钙/钙调蛋白激酶 II(CaMK II)的活化。依赖 CaMK II 的 RyR2 磷酸化可促进 SR 钙泄漏,引起心房的触发活动,因此 MIF 信号传导可诱导心房肌细胞的钙失调而促进 AF 的发生。此外,MIF 可加强瞬时向外钾电流(I_{to})和超快速延迟整流钾电流(I_{Kur})。用抗 CD74 抗体中和可阻断 MIF 介导的钙超载,降低 SR 钙含量和 NCX 外排率,阻断 MIF 介导的钾电流增加,为心房颤动的治疗提供一个新方法^[13]。rMIF 还可通过 ERK1/2 诱导 Cx43 表达的降低^[10]。

3 MIF 与结构重构

作为心房颤动的另一个重要机制,结构重构是永久性心房颤动的主要原因。心房颤动患者的心房特征是心房扩张、纤维化增加、心肌肥大等,不同患者心房纤维化程度不同。基质金属蛋白酶(MMPs)可降解细胞外基质成分,包括胶原蛋白、纤连蛋白和层黏连蛋白,金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)是其抑制剂。MMP 和 TIMP 调节心房中细胞外基质(ECM)的平衡;研究已经证明,心房颤动患者心房组织中 MMP-2、MMP3、MMP-9 的 mRNA 和蛋白质表达水平明显升高,其升高可能与 AF 风险增加有关。在心房组织中 MMP-1 和 MMP-7 mRNA 升高,但在循环蛋白中无差异,心房颤动患者组织 MMP-13 mRNA 显著高于对照组^[14]。此外,MMP-9 可促进心房纤维化,MMP-9/TIMP-1 比率升高,促进心房 ECM 重塑和心房颤动^[15]。

有研究表明,MIF 可调节心脏成纤维细胞(CFs)的增殖和分化。实验用小鼠重组 MIF 处理 CFs 48 h 可促进 CFs 的增殖和分泌,MIF 上调了 CF 中与心房纤维化相关的胶原蛋白 I 和 III、MMP-2、MMP-9 和 TGF- β 的表达水平。其中 Src 激酶参与了此过程,因此 MIF 可能通过 Src 激酶促进 CF 的增殖和 ECM 的增加,从而导致 AF 的结构重塑。由于本实验的 CFs 包括心房和心室成纤维细胞,所以更需要心房颤动的心房成纤维细胞进行进一步的实验^[16]。研究发现血清 MIF 浓度与 AF 的左心房直径呈正相关,后者可作为心房重

塑的参数^[1],这也反映出 MIF 参与心房重塑的过程,但尚不能直接证明 MIF 可导致结构重塑。许多研究表明,MIF 参与各器官组织的纤维化,在特发性肺纤维化(IPF)中,MIF 在活动性纤维化区域过度表达,其参与 IPF 的发病,敲低 MIF 表达可减弱人肺成纤维细胞的增殖和迁移,从而进一步抑制肺纤维化^[17-18]。MIF 在肥大细胞促进成纤维细胞增殖和胶原蛋白合成中起重要作用,其抗体在很大程度上抑制了此纤维化过程^[19],在 AF 中 MIF 是否参与肥大细胞的促纤维化有待研究。

但有相反的观点认为,MIF 有抗纤维化作用,实验表明 MIF 过度表达可抑制小鼠 CFs 合成 ECM,MIF 通过减弱 Smad3 的激活上调 miR-29b-3p、miR-29c-3p 的表达,后者通过靶向促纤维化基因抑制心脏纤维化。反之,MIF 缺乏会促进心脏纤维化^[20]。肾纤维化中肾小管细胞 MIF 表达降低,MIF 的缺失加剧肾脏纤维化^[21]。在心脏中 MIF 实验结果的差异性可能是由于实验取材和实验环境等不同导致的,由于心房和心室的差异性,因此取 AF 动物的心房组织更有助于实验结果,并需要大量实验来验证 MIF 与心房纤维化的关系。或许 MIF 在不同器官组织及在同种器官组织不同疾病状态下的功能不同。许多研究表明,MIF 可诱导多种 MMP 的表达,其中 MMP-2、MMP-9 和 MMP-13 均可参与 AF 的结构重构,在哮喘的发作中 MIF 可通过上调 MMP-2 参与气道平滑肌细胞(ASMC)的增殖和迁移,进而促进气道的重塑^[22]。但至今没有直接证据表明在 AF 中 MIF 与 MMP 的关系,是否可上调 AF 心房 MMP 的表达进而参与心房重构尚需研究。

4 MIF 与氧化应激

氧化应激在 AF 中起到至关重要的作用,其通过影响电重构及结构重构等各个方面参与心房颤动的发生和维持^[23]。在 AF 心房肌细胞中 H₂O₂ 可能通过激活 Src 和 PKC 诱导 MIF 的上调^[24]。在刚地弓形虫中发现 NADPH 氧化酶 4(Nox4)参与了巨噬细胞上调 MIF 的过程^[25]。当心脏发生缺血再灌注时,细胞内 MIF 通过其 TPOR 活性抵抗氧化应激,S-亚硝基化的 MIF 可增强 TPOR 活性^[26]。MIF 也可诱导抗氧化剂响应元件(ARE)保护各细胞器官免受氧化损伤^[27]。目前研究表明,ROS 可参与并诱导 MIF 的产生,反过来 MIF 能抗氧化应激。目前研究均表明,MIF 具有抗氧化应激作用,但 AF 中 MIF 与氧化应激的关系尚待研究。虽然 MIF 可通过其他作用促进心房颤动的发生发展,但是 MIF 可能通过抗氧化应激保护心肌细胞免受损伤,因此 MIF 在 AF 中可能具有双相作用。

5 MIF 与炎症反应

众所周知,炎症反应与 AF 相关,炎症反应会改变心肌细胞的电生理和心房的结构,导致心房发生电和结构重塑。参与炎症反应的物质包括炎症细胞因子、NLRP3 炎症小体、中性粒细胞^[28]、尿酸和凝血酶,这些均参与 AF 的发生发展。

5.1 MIF 与 NLRP3 炎症小体 NLRP3 炎症小体是重要的炎症反应信号复合体,心肌细胞和 CFs 均存在 NLRP3 炎症小体,在 AF 患者的心房中发现 NLRP3 炎症小体升高,活性增强,Caspase-1 表达增加。NLRP3 炎症小体激活可导致 SR 的 Ca²⁺ 释放异常,APD 缩短和心房肥大^[28]。研究表明 MIF 介导了 NLRP3 与中间丝波形蛋白之间相互作用,可激活 NLRP3,因此 MIF 是 NLRP3 炎症小体组装和激活的关键因素。MIF 还可能充当 NLRP3 的伴侣,稳定蛋白质,促进其与波形蛋白的相互作用^[8]。

5.2 MIF 与炎症细胞因子 细胞因子与心房颤动的发生率或复发率相关,促进心房炎症反应或纤维化。研究表明 MIF 可通过诱导炎症因子促进炎症反应,包括 TNF、IL-6、IL-1、IL-8、IL-17、IL-18 等。MIF 通过激活 NLRP3 炎症小体上调 IL-18 和 IL-1 β ^[28]。实验发现 MIF 缺陷细胞可导致 IL-1 受体和 TNF 受体的下调,MIF 上调细胞因子受体表达,放大了细胞因子的炎症反应^[29]。MIF 可能通过 NF- κ B、ERK1/2、JNK、AP-1、PI3K/Akt 和 Jak2/STAT3 等途径调节多种细胞因子的产生和释放。在类风湿关节炎的研究中,学者观察 rh-MIF 可诱导 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A、IL-17F 等因子的产生和释放^[30]。推测在 AF 中,MIF 也可诱导细胞因子的产生和释放。

5.3 MIF 与中性粒细胞 中性粒细胞/淋巴细胞比(NLR)被证明可以预测心房颤动的复发。MIF 通过中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)诱导中性粒细胞活化^[31]。在急性痛风中,MIF 促进中性粒细胞积累,而 MIF 缺陷型小鼠中性粒细胞的积累减少^[32]。

5.4 MIF 与凝血酶 凝血酶通过与其受体(PAR)结合激活 ERK 和 JNK 途径,刺激细胞因子的产生,增强 CF 的增殖和促纤维化信号分子 Akt 和 Erk 的磷酸化、TGF- β_1 的表达,导致心房炎症反应和纤维化^[33]。多项研究表明,凝血酶可诱导不同细胞(内皮细胞、上皮细胞和成纤维细胞等)MIF 的表达,凝血酶可能通过 ERK 1/2 等途径诱导内皮细胞 MIF 的产生^[34]。实验证明部分凝血酶抑制剂可减少心脏炎症反应和纤维化^[35],推测这或许与进一步抑制 MIF 有关。因此凝血酶介导 MIF 的产生也可能是心房颤动发生机制的一

部分。

5.5 MIF 与尿酸 血清尿酸盐水平及其存在时间与心房颤动的风险呈正相关^[36]。研究表明尿酸可能通过诱导各种炎性因子进而促进心房纤维化,降低尿酸的药物可减少 AF 的发生^[37],MIF 可能参与尿酸介导的炎性反应。已发现尿酸(UA)会刺激遭受 UA 诱发的肾病大鼠肾小管中 MIF 上调,MIF 抑制剂消除了 UA 诱导的血管炎性反应和重塑,表明 MIF 可能参与 UA 诱导的血管重塑^[38],抗 MIF 可能对高尿酸血症的患者有益。推测 MIF 可能是 UA 导致心房颤动的重要中介,尚需实验证明。

6 MIF 抑制剂

MIF 参与多种疾病,因此 MIF 抑制剂可作为治疗靶标。典型的 MIF 抑制剂是异噻唑啉类抑制剂 ISO-1,它可抑制 MIF 的互变异构酶活性,已有研究表明,ISO-1 显著降低了前列腺癌和结肠癌,AV411 及其类似物 AV1013、SCD-19 和 CPSI-1306 均是 MIF 的变构抑制剂,MIF 互变异构酶抑制剂 p425 极大地抑制了丙酮酸 4-羟苯酯互变异构的活性,阻止了 MIF 与 CD74 的结合。4-IPP 的苯基嘧啶类化合物通过与 MIF 互变异构酶活性位点形成共价键来抑制 MIF 的功能。异硫氰酸盐共价修饰 MIF 活性位点中的 Pro-1 残基,抑制 MIF 与 CD74 的结合。化合物 T-614 可在体外和体内选择性抑制 MIF。MIF 抑制剂可延缓或减轻多种疾病的发展。MIF 抑制剂的研究仍处于临床前阶段,未来研究靶向 MIF 的药物或许应聚焦在以下几个方面:与 MIF 的活性位点共价结合或修饰干扰其活性;阻断其与受体结合;影响其传导途径的上下游物质。靶向 MIF 的药物可能会成为心房颤动一种新的治疗手段^[39-40]。

7 小结与展望

MIF 在心房颤动中起到至关重要的作用,MIF 通过影响心肌细胞的钙通道及诱导钙失调导致心房电重构;其可抗氧化应激,使心肌细胞免受氧化损伤;也可作为炎性因子的上游介质调控各种炎性因子,诱导中性粒细胞等炎性细胞活化;另外,与心房颤动相关的凝血酶和尿酸可能作为 MIF 的上游物质诱导 MIF 的产生。但是 MIF 在结构重塑中的作用存在争议,尚需大量实验验证;其在心房颤动中与氧化应激的关系需进一步研究,MIF 参与心房颤动的机制需要明确。这些途径均可能是 MIF 参与心房颤动的复杂途径,靶向 MIF 的药物可能是未来心房颤动治疗的关键。

参考文献

[1] Wan C,Li Z. Serum macrophage migration inhibitory factor is cor-

related with atrial fibrillation[J]. J Clin Lab Anal,2018,32(2):14. DOI:10. 1002/jcla. 22225.

- [2] Weiser WY, Temple PA, Witek-Giannotti JS, et al. Molecular cloning of a cDNA encoding a human macrophage migration inhibitory factor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(19):7522-7526. DOI: 10. 1073/pnas. 86. 19. 7522.
- [3] Trivedi-Parmar V, Jorgensen WL. Advances and insights for small molecule inhibition of macrophage migration inhibitory factor[J]. J Med Chem, 2018, 61(18):8104-8119. DOI:10. 1021/acs. jmedchem. 8b00589.
- [4] Bloom J, Sun S, Al-Abed Y. MIF, a controversial cytokine: a review of structural features, challenges, and opportunities for drug development[J]. Expert Opin Ther Targets, 2016, 20(12):1463-1475. DOI: 10. 1080/14728222. 2016. 1251582.
- [5] Jankauskas SS, Wong DWL, Bucala R, et al. Evolving complexity of MIF signaling [J]. Cell signal, 2019, 57:76-88. DOI:10. 1016/j. cellsig. 2019. 01. 006.
- [6] Galvo I, Cramer A, Amaral FA. Investigating MIF in mouse model of gout [J]. Methods Mol Biol, 2020, 2080: 213-222. DOI: 10. 1007/978-1-4939-9936-1_19.
- [7] Qin D, Jiang Y, Jin X. Effect of macrophage migration inhibitory factor on inflammatory cytokines and fibrogenic gene expression in human RPE cells[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(1):830-836. DOI: 10. 3892/mmr. 2019. 10277.
- [8] Lang T, Lee JPW, Elgass K, et al. Macrophage migration inhibitory factor is required for NLRP3 inflammasome activation [J]. Nat Commun, 2018, 9(1):1-15. DOI:10. 1038/s41467-018-04581-2.
- [9] Grunnet M, Bentzen BH, Sørensen US, et al. Cardiac ion channels and mechanisms for protection against atrial fibrillation[J]. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2012, 162:1-58. DOI:10. 1007/112_2011_3.
- [10] Li X, Rao F, Deng CY, et al. Involvement of ERK1/2 in Cx43 depression induced by macrophage migration inhibitory factor in atrial myocytes[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44(7):771-778. DOI:10. 1111/1440-1681. 12766.
- [11] Rao F, Deng CY, Wu SL, et al. Involvement of Src in L-type Ca^{2+} channel depression induced by macrophage migration inhibitory factor in atrial myocytes[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 47(5):586-594. DOI:10. 1016/j. yjmcc. 2009. 08. 030.
- [12] Rao F, Deng CY, Wu SL, et al. Mechanism of macrophage migration inhibitory factor-induced decrease of T-type Ca^{2+} channel current in atrium-derived cells[J]. Exp Physiol, 2013, 98(1):172-182. DOI: 10. 1113/expphysiol. 2012. 066761.
- [13] Cheng WL, Kao YH, Chen YC, et al. Macrophage migration inhibitory factor increases atrial arrhythmogenesis through CD74 signaling[J]. Transl Res, 2020, 216:43-56. DOI:10. 1016/j. trsl. 2019. 10. 002.
- [14] Liu Y, Xu B, Wu N, et al. Association of MMPs and TIMPs with the occurrence of atrial fibrillation: A systematic review and Meta-analysis[J]. Can J Cardiol, 2016, 32(6):803-813. DOI:10. 1016/j. cja. 2015. 08. 001.
- [15] Stanciu AE, Vatasescu RG, Stanciu MM, et al. The role of pro-fibrot-

- ic biomarkers in paroxysmal and persistent atrial fibrillation [J]. *Cytokine*, 2018, 103: 63-68. DOI: 10.1016/j.cyt. 2017. 12. 026.
- [16] Xue YM, Deng CY, Wei W, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes cardiac fibroblast proliferation through the Src kinase signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 3425-3431. DOI: 10.3892/mmr. 2017. 8261.
- [17] Olivieri C, Bargagli E, Inghilleri S, et al. Macrophage migration inhibitory factor in lung tissue of idiopathic pulmonary fibrosis patients [J]. *Exp Lung Res*, 2016, 42(5): 263-266. DOI: 10.1080/01902148. 2016. 1199744.
- [18] 罗益锋, 易慧, 黄鑫炎, 等. 敲低巨噬细胞移动抑制因子表达对人肺成纤维细胞增殖及迁移能力的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(6): 716-721. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-5725. 2020. 06. 003.
- [19] Gu NY, Yao X, Shi HF, et al. The role of macrophage migration inhibitory factor in mast cell-stimulated fibroblast proliferation and collagen production [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122482. DOI: 10.1371/journal.pone. 0122482.
- [20] Liang JN, Zou X, Fang XH, et al. The Smad3-miR-29b/miR-29c axis mediates the protective effect of macrophage migration inhibitory factor against cardiac fibrosis [J]. *Molecular Basis of Disease*, 2019, 1865(9): 2441-2450. DOI: 10.1016/j.bbdis. 2019. 06. 004.
- [21] Djurdjaj S, Martin IV, Buhl EM, et al. Macrophage migration inhibitory factor limits renal inflammation and fibrosis by counteracting tubular cell cycle arrest [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(12): 3590-3604. DOI: 10.1681/ASN. 2017020190.
- [22] Lan H, Wang N, Chen Y, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes rat airway muscle cell proliferation and migration mediated by ERK1/2 and FAK signaling [J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(1): 75-83. DOI: 10.1002/cbin. 10863.
- [23] Ren X, Wang X, Yuan M, et al. Mechanisms and treatments of oxidative stress in atrial fibrillation [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(26): 3062-3071. DOI: 10.2174/13816128246661809031.
- [24] Rao F, Deng CY, Zhang QH, et al. Involvement of Src tyrosine kinase and protein kinase C in the expression of macrophage migration inhibitory factor induced by H₂O₂ in HL-1 mouse cardiac muscle cells [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2013, 46(9): 746-751. DOI: 10.1590/1414-431X20132936.
- [25] Kim JH, Lee J, Bae SJ, et al. NADPH oxidase 4 is required for the generation of macrophage migration inhibitory factor and host defense against *Toxoplasma gondii* infection [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1-13. DOI: 10.1038/s41598-017-06610-4.
- [26] Pohl J, Hendgen-Cotta UB, Rammos C, et al. Targeted intracellular accumulation of macrophage migration inhibitory factor in the reperfused heart mediates cardioprotection [J]. *Thromb Haemost*, 2016, 115(1): 200-212. DOI: 10.1160/TH15-05-0436.
- [27] Yukitake H, Takizawa M, Kimura H. Macrophage migration inhibitory factor as an emerging drug target to regulate antioxidant response element system [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 1-6. DOI: 10.1155/2017/8584930.
- [28] Zhou X, Dudley SC. Evidence for inflammation as a driver of atrial fibrillation [J]. *Front Cardiovasc*, 2020, 7: 1-8. DOI: 10.3389/fcvm. 2020. 00062.
- [29] Toh ML, Aeberli D, Lacey D, et al. Regulation of IL-1 and TNF receptor expression and function by endogenous macrophage migration inhibitory factor [J]. *J Immunol*, 2006, 177(7): 4818-4825. DOI: 10.4049/jimmunol. 177. 7. 4818.
- [30] García-Arellano S, Hernández-Palma LA, Bucala R, et al. Th1/Th17 cytokine profile is induced by macrophage migration inhibitory factor in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients [J]. *Curr Mol Med*, 2018, 18(10): 679-688. DOI: 10.2174/1566524019666190129123240.
- [31] Hao J, Lv TG, Wang C. Macrophage migration inhibitory factor contributes to anti-neutrophil cytoplasmic antibody-induced neutrophils activation [J]. *Hum Immunol*, 2016, 77(12): 1209-1214. DOI: 10.1016/j.humimm. 2016. 08. 006.
- [32] Galvo I, Dias AC, Tavares LD, et al. Macrophage migration inhibitory factor drives neutrophil accumulation by facilitating IL-1 β production in a murine model of acute gout [J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 99(6): 1035-1043. DOI: 10.1189/jlb. 3MA0915-418R.
- [33] Spronk HM, De Jong AM, Verheule S, et al. Hypercoagulability causes atrial fibrosis and promotes atrial fibrillation [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(1): 38-50. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw119.
- [34] Chao CH, Chen HR, Chuang YC, et al. Macrophage migration inhibitory factor-induced autophagy contributes to thrombin-triggered endothelial hyperpermeability in sepsis [J]. *Shock*, 2018, 50(1): 103-111. DOI: 10.1097/SHK. 0000000000000976.
- [35] Coppini R, Santini L, Palandri C, et al. Pharmacological inhibition of serine proteases to reduce cardiac inflammation and fibrosis in atrial fibrillation [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1420. DOI: 10.3389/fphar. 2019. 01420.
- [36] Li S, Cheng J, Cui L, et al. Cohort study of repeated measurements of serum urate and risk of incident atrial fibrillation [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(13): e012020. DOI: 10.1161/JAHA. 119. 012020.
- [37] 李娟, 刘德平. 抗痛风药物与心房颤动关系的研究进展 [J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(2): 187-190. DOI: 10.3969/j. issn. 1007-5410. 2019. 02. 022.
- [38] Fu X, Niu N, Li G, et al. Blockage of macrophage migration inhibitory factor (MIF) suppressed uric acid-induced vascular inflammation, smooth muscle cell de-differentiation, and remodeling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(2): 440-444. DOI: 10.1016/j.bbrc. 2018. 10. 093.
- [39] Kok T, Wasieleski AA, Cool RH, et al. Small-molecule inhibitors of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as an emerging class of therapeutics for immune disorders [J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(11): 1910-1918. DOI: 10.1016/j.drudis. 2018. 06. 017.
- [40] Xu L, Li Y, Sun H, et al. Current developments of macrophage migration inhibitory factor (MIF) inhibitors [J]. *Drug Discov Today*, 2013, 18(11-12): 592-600. DOI: 10.1016/j.drudis. 2012. 12. 013.

(收稿日期: 2020-08-14)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 05. 019

综 述

超声影像技术在评价颈动脉弹性中的研究进展

张颖综述 叶玉泉,薛红元审校

作者单位: 063000 唐山,华北理工大学研究生院(张颖);050000 石家庄,河北省人民医院超声科(叶玉泉、薛红元)

通信作者: 叶玉泉, E-mail: zhangzhang1106@126. com

【摘 要】 颈动脉粥样硬化与心脑血管疾病的发生密切相关。研究表明,在颈动脉粥样硬化的发展过程中,颈动脉弹性的减低早于颈动脉内膜中层厚度(IMT)的增厚,所以通过检测颈动脉弹性可以早期评估颈动脉的硬化程度,对心脑血管疾病的预防和早期干预有重要的意义。文章针对目前用于检测颈动脉弹性的超声影像学技术的研究进展进行综述。

【关键词】 颈动脉粥样硬化;心脑血管疾病;颈动脉弹性;超声

【中图分类号】 R445. 1;R543

【文献标识码】 A

Research progress of ultrasound imaging technology in the evaluation of carotid artery elasticity Zhang Ying*, Ye Yuquan, Xue Hongyuan. * Graduate School of North China University of Technology, Hebei Province, Tangshan 063000, China
Corresponding author: Ye Yuquan, E-mail: hbghyzbangong@126. com

【Abstract】 Carotid atherosclerosis is closely related to the occurrence of cardiovascular and cerebrovascular diseases. Studies have shown that in the development of carotid atherosclerosis, the decrease in carotid artery elasticity is earlier than the increase in carotid intima-media thickness (IMT), so by detecting the elasticity of the carotid artery, the degree of carotid artery stiffness can be assessed early, which is of great significance for the prevention and early intervention of cardiovascular and cerebrovascular diseases. This article reviews the current research progress of ultrasound imaging techniques used to detect carotid artery elasticity.

【Key words】 Carotid atherosclerosis; Cardiovascular and cerebrovascular diseases; Carotid artery elasticity; Ultrasonography

相关研究表明,心脑血管疾病(cardiovascular and cerebrovascular diseases, CVD)已经成为我国居民死亡的首要原因。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是大多数心脑血管疾病的重要病理基础^[1]。相关研究表明,动脉硬化常与 AS 同时发生,动脉硬化的发生主要是由于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中的弹性纤维蛋白断裂及 I 型胶原增加引起的,这与 AS 的发生发展存在协同作用。ECM 蛋白和血管壁力学的变化促进了血管内皮屏障的损伤,从而增加了血管壁的通透性,加速了胆固醇的沉积,这也是 AS 发生的关键环节^[2-3]。同时,弹性纤维蛋白还可对血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的迁移和增殖起到抑制作用,因此当动脉硬化发生时,大量弹性纤维蛋白的断裂也会促进 AS 的发生。除此之外,动脉硬化还可能通过激活、参与其他病理生理机制来促进 AS 的发生发展^[4]。另外,有学者认为动脉硬化先于斑块的形成,可作为 AS 的筛查指标及 AS 发生的预测因

子^[5]。动脉硬化即动脉弹性、动脉顺应性、血管的舒张功能减低,研究表明在早期发现动脉弹性减低,及时干预颈动脉斑块的进一步发展,对减少心脑血管事件的发生具有重要意义^[4]。颈动脉因其与颅脑、心脏供血动脉联系密切,同时位置表浅、易于观察,许多研究表明,颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)病变程度与冠状动脉硬化性心脏病(coronary artery disease, CAD)及缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS)的发生有关,因此颈动脉常作为筛查全身动脉病变的观察窗口^[6-7]。相关研究表明,动脉弹性的变化可以更敏感地预测 AS 的早期病变。因此,本文针对无创超声技术在评估颈动脉弹性中的应用进行综述。

1 血管回声跟踪技术

血管回声跟踪(echo-tracking, ET)技术是通过跟踪并实时标记血管壁的运动,再以曲线的形式表现出血管内径在心动周期中的变化,并结合即时血压分析,从而得出动脉弹性变化的相关参数,主要包括:压力应

变弹性系数 (pressure-strain elastic modulus, E_p)、硬化参数 (stiffness parameter, β)、顺应性 (arterial compliance, AC)、单点脉搏波传导速度 (one-point pulse wave velocity calculated from β value, $PWV\beta$)、增大指数 (augmentation index, AI)。通过这 5 项指标,可以反映血管的弹性功能,当血管的僵硬程度增大时, E_p 、 β 、 $PWV\beta$ 、AI 增大,AC 减小。有学者应用这一检查手段来评价健康人颈动脉僵硬程度,发现随着年龄的增加,动脉的 E_p 、 β 值均不断增大,而 AC 呈下降的趋势;不同性别间颈动脉僵硬程度存在差异,女性在更年期以前,其颈动脉及腹主动脉硬度值均大于男性,但当女性更年期以后,不同性别间动脉的硬度值未见明显差异,这一现象体现出衰老在动脉僵硬程度改变中发挥的重要作用,也说明了雌激素的抗动脉粥样硬化作用^[8]。Ershova 等^[9]对家族性高胆固醇血症 (familial hypercholesterolemia, FH) 患者及其未患病的一级亲属颈动脉僵硬程度和主动脉僵硬程度进行比较,指出 FH 患者的动脉硬度明显增高,同时发现与主动脉相比,利用 ET 技术测量局部颈动脉僵硬程度的改变能更好地反映 FH 患者动脉受损的情况。焦新宇等^[10]指出应用 ET 技术评估颈动脉的僵硬程度,发现颈动脉僵硬程度的增加发生在内膜中层厚度 (intima-media thickness, IMT) 增厚之前,对预防 AS 的发生、发展,减少 CVD 的发生有重要意义。另外,有学者利用该技术对肥厚型心肌病患者颈动脉僵硬程度进行研究,发现颈动脉 β 值的增加与左心室功能的减低有关,并指出颈动脉的 β 值有望用于反映疾病的严重程度^[11]。ET 技术虽然可对局部的动脉僵硬程度进行评价,但测量时得到的参数 $PWV\beta$ 、AI 均为间接推导得出,用于指导临床仍需要大量数据进一步验证;另外,测量时还需要结合被检者的实时血压才可以评估其颈动脉弹性,而被检者的实时血压影响因素众多,测量结果容易产生偏倚。同时,ET 检测结果还会受到性别、年龄等因素影响。因此,利用 ET 技术检测动脉弹性所得出的正常参考值范围及其对临床的意义值得更深入的探讨。

2 速度向量成像技术

VVI (velocity vector imaging, VVI) 技术是应用斑点追踪技术、空间相干技术等,通过实时跟踪算法计算并以矢量方式在二维灰阶动态图上显示组织运动方向、运动速度、位移及时相,对组织进行生物力学量化分析的新技术。该技术在评价心肌结构力学,定性、定量评价局部心肌功能方面较为成熟。VVI 技术可通过定量测定向量大小和方向计算出血管壁的移动速率 (V_{max})、应变 (S_{max})、应变率 (SR_{max}) 等物理弹性相

关的量化参数及组织形变特性,从而用于评估动脉弹性的变化。有研究者对 DM 模型鼠的颈动脉弹性进行研究,并将结果与模型鼠的动脉 IMT 及组织病理学结果相比较,发现随着模型鼠患病时程的增加,其动脉 S_{max} 、 SR_{max} 逐渐减小,且早于动脉 IMT 的增厚,此时其组织病理学可观察到脂滴的沉积、泡沫细胞的形成及胶原纤维的增多等 AS 早期病理表现,说明 VVI 技术测量动脉弹性可以在 IMT 增厚前识别出动脉受损,有助于早期发现 DM 患者动脉功能的减低、控制 DM 患者动脉并发症的发生发展^[12]。Kim 等^[13]也利用该技术探究高血压对颈动脉管壁的影响,发现颈动脉弹性的减低早于 IMT 的增厚,VVI 技术可在早期识别出颈动脉管壁的重塑,并指出高血压病通过增加患者颈动脉的周向血管壁面剪切应力 (wall shear stress, WSS) 刺激胶原纤维的分泌,促进动脉硬化的发生。这与曹丽等^[14]对代谢综合征患者的颈动脉弹性研究相一致,说明 VVI 技术测量动脉壁弹性可以为 AS 的早期预防及诊断提供理论依据。和传统多普勒超声相比,VVI 技术可避免角度的影响,可以更加准确的反映血管壁的运动。此外 VVI 技术还有以下优点:第一,能够获得各方向血管壁的移动速率和方向;第二,能够自动定位,确定向心运动的中心,可以避免自身动脉搏动对测量结果的影响;第三,可同时监测心电图,从而分析心动周期中管壁的运动情况。VVI 技术对二维动态图像有较严格的要求,在体位受限、脂肪层过厚或水肿患者检测中可能会因图像不清晰而影响结果,所以在被检者的选择上受到一定程度的限制。与此同时,现阶段该技术还没有统一的参考标准,故 VVI 技术应用于血管弹性的测量、诊断动脉弹性的减低,还需大量的研究来确立统一的标准。

3 超声弹性成像技术

1991 年,超声弹性成像 (ultrasound elastography, UE) 的概念被首次提出,该技术主要是利用待检组织在外力作用下产生的形变,通过比较组织压缩前后的射频信号,对形变程度的分析,得到组织的应变分布及弹性系数分布,进而评价组织的硬度。对超声图像进行伪彩色处理后,图像在不同硬度区间内呈现不同颜色,这可以更加直观表现出不同组织间的弹性对比。该技术广泛应用于甲状腺、乳腺、肝脏、前列腺等器官的疾病诊断及鉴别,也有学者应用 UE 技术评估血管弹性。梁志等^[15]对头颈部恶性肿瘤患者放射治疗前、后的颈动脉内膜中层厚度 (CIMT)、颈动脉内径变化率 (ΔD) 及血液与颈动脉血管壁 SR 比值进行研究,结果显示放射治疗早期患者 IMT 未见明显变化,但此时

ΔD 及 SR 比值已经发生明显变化, ΔD 随着放射剂量的增加而减少, SR 比值随着放射剂量增加而增大, SR 比值与 ΔD 呈负相关, 提示 SR 比值可在一定程度上反映动脉的收缩与舒张功能, 可对动脉弹性的变化进行评价; 另外 SR 比值和 ΔD 能在动脉结构和形态发生改变之前反映出动脉弹性的变化, 为早期发现、干预动脉粥样硬化事件的发生提供参考。有学者利用该技术对 HIV 患者和健康人群颈动脉壁硬度进行比较, 并指出 HIV 患者的颈动脉壁僵硬程度大于健康人群, 说明与健康人群相比, HIV 患者的动脉壁更容易过早发生硬化^[16]。相比于以往的触诊, UE 技术能够反映深层组织的弹性, 该技术可重复性强、检测结果更加直观更具有客观性。但在应用过程中仍存在一定缺陷, 不同病灶组织之间可能存在重叠, 导致检测到的弹性值发生偏差; UE 技术要求操作者具有较丰富的操作经验及规范的扫查手法; 其主要局限还包括该技术会受到探头加压程度不同及脉搏波动的影响, 同时不能对组织硬度进行定量的评估。

4 剪切波弹性成像技术

剪切波弹性成像 (shear wave elastography imaging, SWE) 技术是一种用于评价活体组织硬度的新技术, 其原理是探头发射安全的声辐射脉冲, 在组织不同深度上连续聚焦从而对组织施加激励, 产生横向剪切波, 通过高速成像技术跟踪剪切波传播速度 (shear wave velocity, SWV), 系统定量分析后得到组织弹性的绝对值—杨氏模量 (E)。SWV 与 E 成正比, E 越大, 组织越硬, 弹性图上显示为红色; E 越小, 即组织硬度值越小, 弹性图上显示为蓝色。SWE 技术在甲状腺、乳腺结节的评级及良恶性肿瘤的鉴别、肝纤维化分期等方面的研究已相对成熟^[17]。目前利用剪切波成像技术评估动脉的硬度仍处于研究阶段。动脉壁弹性可分为纵向弹性和环向弹性, SWE 主要反映动脉的纵向弹性, 动脉的纵向弹性越好, 越利于向外周传递动脉压力。杨谧等^[18]应用 SWE 技术对常规颈动脉超声检查无异常的患者进行颈动脉弹性检测, 结果显示随着被测者年龄的增长, 其动脉的纵向弹性减低, 杨氏模量随之增加, 这与衰老对动脉管壁的影响相一致, 表明 SWE 技术可发现动脉的细微变化, 及时识别动脉功能的减退。Wang 等^[19]收集了 61 例无颈动脉斑块 CAD 患者, 并根据冠状动脉狭窄程度是否大于 50%, 将患者分为阻塞组及非阻塞组, 对比 2 组患者颈动脉的 E 值, 发现阻塞组患者的 E 值明显大于非阻塞组, 通过 ROC 曲线分析得出, 颈动脉的 E 值可作为阻塞性 CAD 的预测指标。有学者指出利用该技术评估动脉

壁僵硬度的变化可反映高血压引起的血管重构、管腔变大、弹性减低等病理性改变, 同时早期发现动脉弹性的减低, 对病变进行及时干预, 有利于延缓心血管疾病的发生^[20]。SWE 技术不受探头压力及血管搏动的影响, 使直接、实时、无创的评估动脉纵向弹性成为可能。但目前尚处于探索阶段, 同时测量时无法勾画感兴趣区 (ROI) 的范围, 且 ROI 的选择及测量结果还会受到操作者经验的影响^[21]。

5 超极速超声成像脉搏波技术

超极速超声成像脉搏波 (ultra-fast ultrasonic imaging pulse wave, UFPWV) 技术通过快速描记动脉壁的运动方向, 测得动脉收缩期开始时的 PWV (PWVBS) 和收缩期结束时的 PWV (PWVES), 从而对局部动脉弹性功能评价。UFPWV 技术是针对动脉某点血管壁的顺应性进行测量, 增加了检测的准确程度, 可以更加准确反映病变部位动脉的弹性功能变化, 它具有可重复性强、精准度高、无需额外检测其他指标的的优点, 因此可作为早期评价动脉弹性功能的新型技术之一。李鑫等^[22]收集了 239 例行冠状动脉造影检查的患者, 并按检查结果将患者分为正常对照组、轻度病变组、中重度病变组, 比较 3 组颈动脉的 PWVBS、PWVES 及 CMT, 指出 UFPWV 技术可在早期识别动脉受损, 并且随着病变的加重, 颈动脉的 PWVBS、PWVES 逐渐升高。另外, 有学者通过研究指出, 高血压患者与健康人相比, 颈动脉弹性显著减低, 同时, PWVBS、PWVES 与高血压级别呈正相关 ($r = 0.466, 0.342, P$ 均 $= 0.000$)^[21]。有学者利用该技术对未暴露在心血管危险因素下的健康人群颈动脉弹性进行测量, 发现男性、年龄和体质指数升高是颈动脉硬化的独立危险因素 (年龄: 95% $CI = 1.10 \sim 1.11$, 男性: 95% $CI = 2.65 \sim 7.19$, 体质指数: 95% $CI = 1.34 \sim 1.62$; P 均 < 0.05), 并指出对无心血管危险因素的健康人来说也不能忽视 AS 发生的可能, UFPWV 可在早期识别动脉受损及其功能的减低, 有助于 AS 的早期干预^[23]。Zhu 等^[24]利用 UFPWV 技术对高脂血症患者与健康人群颈动脉的 PWVBS、PWVES 及 CMT 进行测量, 结果 PWVES 与年龄的相关性较好 ($r = 0.710, P < 0.001$); 与健康人群比较, 高脂血症患者的 PWVBS、PWVES 及 CMT 均明显增高; 另外, 将高脂血症患者分为 CMT 增厚组和非增厚组, 发现 2 组患者的 PWVES 均高于健康对照组, 以上结果说明 UFPWV 技术可在早期识别动脉硬化的发生并评估动脉硬化的程度。与传统的 PWV 检测技术相比, UFPWV 技术不需测量体表脉搏波传导距离, 也无需监测实时血压, 大大减小了检测过

程中的误差。通过 UFPWV 技术大样本人群的研究,该技术将有望为 AS 的早期识别与诊断提供理论依据,对 CAD 的预防、检测和治疗也有着重要的意义。然而,UFPWV 技术只能测量一个心动周期的 PWV,对于心率较慢的患者很难捕捉到一个完整的心动周期,在一定程度上限制了其应用范围。

6 小结与展望

动脉弹性可以在 AS 发生之前反映出动脉受损及功能的减低,有利于对 AS 病变的早期干预,减少严重心血管事件的发生^[25]。同时,有文献表明颈动脉弹性可在一定程度上评估心血管病变的严重程度,对于 CIS 及 CAD 患者来说,可以通过超声弹性成像技术初步评估其病变程度,与其他影像学检查比较,在保证安全、无创的同时,还能节约时间、减少费用,为预测和评估心血管疾病的发生发展提供了新的途径。但是,目前上述各项技术在测量和评价颈动脉弹性功能方面,仍缺乏一个较为统一的测量及诊断标准,还需要进行大规模的临床研究,来制定出参考值标准和相关诊断指南。在临床评估患者颈动脉早期改变时,应尽早识别病变的发生,并结合实验室检查和临床症状进行综合分析,为早期进行临床个体化干预治疗提供较为准确的参考依据。

参考文献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2019.03.001.
- [2] Shah PK. Inflammation, infection and atherosclerosis[J]. Trends in Cardiovascular Medicine,2019,29(8):468-472.DOI:10.1016/j.tcm.2019.01.004.
- [3] Xu S, Kamato D, Little PJ, et al. Targeting epigenetics and non-coding RNAs in atherosclerosis: from mechanisms to therapeutics[J]. Pharmacology and Therapeutics,2019,196:15-43. DOI:10.1016/j.pharmthera.2018.11.003.
- [4] Palombo C, Kozakova M. Arterial stiffness, atherosclerosis and cardiovascular risk: Pathophysiologic mechanisms and emerging clinical indications[J]. Vascular Pharmacology,2016,77:1-7.DOI:10.1016/j.vph.2015.11.083.
- [5] Yamanashi H, Koyamatsu J, Nagayoshi M, et al. Screening validity of arterial pressure-volume index and arterial velocity-pulse index for preclinical atherosclerosis in Japanese community-dwelling adults: the Nagasaki Islands Study[J]. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis,2018,25(9):792-798.DOI:10.5551/jat.43125.
- [6] Clarke R, Du H, Kurmi O, et al. Burden of carotid artery atherosclerosis in Chinese adults: Implications for future risk of cardiovascular diseases[J]. European Journal of Preventive Cardiology, 2017,24(6):647-656.DOI:10.1177/2047487317689973.
- [7] Zhang H, Liu M, Ren T, et al. Associations between carotid artery plaque score, carotid hemodynamics and coronary heart disease[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2015, 12 (11): 14275-14284. DOI: 10.3390/ijer-ph121114275.
- [8] Vriz O, Aboyans V, Minisini R, et al. Reference values of one-point carotid stiffness parameters determined by carotid echo-tracking and brachial pulse pressure in a large population of healthy subjects[J]. Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension,2017, 40(7): 685-695. DOI: 10.1038/hr.201724.
- [9] Ershova AI, Meshkov AN, Rozhkova TA, et al. Carotid and aortic stiffness in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia[J]. PLoS One,2016,11(7): e0158964.DOI:10.1371/journal.pone.0158964.
- [10] 焦新宇,杜启巨,杜昕苓.血管回声跟踪技术评估多囊卵巢综合征合并胰岛素抵抗患者早期颈动脉粥样硬化[J].中国医学影像技术,2019,35(9):1327-1330.DOI:10.13929/j.1003-3289.201903147.
- [11] Rosca M, Mandes L, Ciuperca D, et al. Carotid arterial stiffness is increased and related to left ventricular function in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. European Heart Journal Cardiovascular Imaging, 2020, 21(8): 923-931. DOI: 10.1093/ehjci/jez243.
- [12] 曹丽,郭丹丹,张凯,等.速度向量成像技术评价糖尿病大鼠腹主动脉弹性的研究[J].中华老年医学杂志,2019,38(4):454-458.DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2019.04.025.
- [13] Kim SA, Park SH, Jo SH, et al. Alterations of carotid arterial mechanics preceding the wall thickening in patients with hypertension[J]. Atherosclerosis,2016,248:84-90.DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.017.
- [14] 曹丽,张凯,曾莎,等.老年代谢综合征患者颈动脉弹性的研究[J].中华老年医学杂志,2018,37(12):1379-1382.DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2018.12.021.
- [15] 梁志,李毅,戢炳金.超声弹性成像技术用于头颈部放射治疗前后血管弹性检测的相关研究[J].中国医学装备,2019,16(4):52-55. DOI:10.3969/J.ISSN.1672-8270.2019.04.014.
- [16] Roy Cardinal MH, Durand M, Chartrand-Lefebvre, et al. Increased carotid artery wall stiffness and plaque prevalence in HIV infected patients measured with ultrasound elastography[J]. European Radiology,2020,30(4):3178-3187.DOI:10.1007/s00330-020-06660-9.
- [17] Geisel MH, Bauer M, Hennig F. Comparison of coronary artery calcification, carotid intima-media thickness and ankle-brachial index for predicting 10-year incident cardiovascular events in the general population[J]. European Heart Journal,2017,38(23):1815-1822. DOI:10.1093/eurheartj/ehx120.
- [18] 杨溢,杨寒凝,孙月,等.实时剪切波及彩色脉搏波成像对正常颈动脉硬度的研究[J].中国临床医学影像杂志,2018,29(7):468-470, 474.DOI:10.12117/jccmi.2018.07.004.
- [19] Wang Y, Zhao C, Meng P, et al. Incremental value of carotid elasticity modulus using shear wave elastography for identifying coronary artery disease in patients without carotid plaque[J]. Journal of Hypertension,2020.DOI:10.1097/HJH.0000000000002773.
- [20] 杨寒凝,杨溢,孙月,等.实时剪切波弹性成像及彩色脉搏波成像技术评估不同级别高血压患者颈总动脉弹性[J/OL].中华医学超声杂志:电子版,2018,15(9):679-685.DOI:10.3877/cma.j.issn.1672-6448.2018.09.008.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.020

综 述

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 肾脏损伤的机制探讨

瞿转综述 王惠明审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81370800); 湖北省科技创新重点项目 (2019ACA137)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院肾内科

通信作者: 王惠明, E-mail: rm000301@whu.edu.cn

【摘 要】 2019 年底由新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 感染导致的新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 疫情已被世界卫生组织定义为全球大流行。随着相关研究的不断深入, 发现除呼吸系统病变外, 肾脏损伤是 COVID-19 的主要并发症之一, 危重患者中急性肾损伤的发生率较高且影响患者预后。文章结合最新研究对 COVID-19 肾脏损害的可能机制进行综述。

【关键词】 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 肾损伤; 机制

【中图分类号】 R563.1⁺4

【文献标识码】 A

Study on the mechanism of kidney damage in the new type of coronavirus pneumonia (COVID-19) Qu Zhuan,

Wang Huiming. Department of Nephrology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Wang Huiming, E-mail: rm000301@whu.edu.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81370800); Key Scientific and Technological Innovation Project of Hubei Province (2019ACA137)

【Abstract】 At the end of 2019, the new coronavirus pneumonia (COVID-19) outbreak caused by the new coronavirus (SARS-CoV-2) infection has been defined by the World Health Organization as a global pandemic. With the continuous deepening of related research, it has been found that in addition to respiratory system diseases, kidney injury is one of the main complications of COVID-19. The incidence of acute kidney injury in critically ill patients is higher and affects the prognosis of patients. This article reviews the possible mechanisms of COVID-19 kidney damage.

【Key words】 Coronavirus disease 2019; SARS-CoV-2; Renal injury; Mechanisms

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 是新近发现的乙类并按甲类管理的传染病, 自 2019 年 12 月以来, COVID-19 已造成全球 4 870 多万人感染, 导致近 120 多万人死亡^[1-2], 对世界公共卫生造成了严重的威胁。血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme, ACE2) 是严重急性呼吸综合征冠状病毒 (SARS-CoV) 的关键受体^[3-4], 在靶器官损害中起关键作用。许多临床报道和回顾性研究均发现, 除外以病毒性肺炎为特征的呼吸系统病变, 肾脏作为 ACE2 高表达器官, 也是 SARS-CoV-2 入侵的重要靶器官, 部分新冠肺炎患者伴有急性肾损伤, 并观察到重型及危重症型患者相关急性肾损伤 (AKI) 是 COVID-19 患者死亡的独立危险因素之一, 且 AKI 与 SARS-CoV-2 的肾脏靶向性有关^[5-7]。因此探讨 COVID-19 肾损伤机制对预防和治疗肾损伤有重大意义。

1 SARS-CoV-2 概述

冠状病毒 (coronavirus, CoV) 属于冠状病毒科, 形

态呈圆形或椭圆形, 直径 60 ~ 140 nm, 基因组为大型有包膜的正链 RNA 病毒, 其 5' 端具有甲基化的帽子, 编码一个非结构多聚蛋白, 参与基因组的转录和复制; 而其 3' 端有 Poly A 尾巴, 编码包括刺突糖蛋白 (spike protein, S 蛋白)、核衣壳蛋白 (nucleocapsid protein, N 蛋白)、小包膜糖蛋白 (envelope protein, E 蛋白)、膜糖蛋白 (membrane protein, M 蛋白) 等一系列结构蛋白^[8]。冠状病毒的 S 蛋白可以利用细胞表面受体 ACE2 的结合介导病毒的吸附和侵入过程。冠状病毒可分为 4 个属: α 、 β 、 δ 和 γ , 其中 α 和 β 冠状病毒会感染人类^[9]。已知 6 种冠状病毒可引起人类呼吸道、肠道等感染, 被分为低致病性 hCoV (如 HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU) 和高致病性 hCoV [如严重急性呼吸综合征冠状病毒 (SARS-CoV)、中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS-CoV)] 2 种^[10-13]。通过 Zhou 等^[14] 对 3 例重症肺炎患者样本进行无偏测序, 发现了未知的 β 冠状病毒, 全基因组与

蝙蝠冠状病毒的同源性为 96%, 属于严重急性呼吸系统综合征相关的冠状病毒 (SARSr-CoV) 物种, 被归类为 β 冠状病毒的 2b 谱系, 世界卫生组织将其命名为 2019-nCoV, 而后国际病毒分类委员会将其命名为严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) [15]。病毒基因组序列比对显示, SARS-CoV-2 与 SARS 冠状病毒的同源性为 79% 左右, 与 MERS 冠状病毒的同源性仅 52% 左右 [16], 与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 不同, SARS-CoV-2 是本世纪感染人类的第 3 种高致病性冠状病毒。Lu 等 [17] 对 9 例患者基因组进行结构分析表明, SARS-CoV-2 能够与人类的 ACE2 受体结合。与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 相同, SARS-CoV-2 也通过 S 蛋白与细胞表面受体 ACE2 结合进入靶细胞, 引起损伤 [3, 18]。新型冠状病毒感染导致临床最为常见的症状为发热、乏力和干咳, 大多数患者出现呼吸困难和肺部双侧磨玻璃浑浊影像表现, 常见并发症有急性呼吸窘迫综合征、急性心肌损伤、急性肾损伤、休克和继发性感染 [6, 19-22]。因肺是新型冠状病毒感染后最主要的靶器官, 其引起的疾病被命名为新型冠状病毒感染肺炎 (COVID-19) [23-24]。

2 SARS-CoV-2 相关肾脏损伤的临床表现

冠状病毒感染后引起的肾损伤并不少见, 在以往关于 SARS 和 MERS-CoV 感染的报道中, 5% ~ 15% 的病例中发生 AKI, 病死率很高 (60% ~ 90%), 研究表明冠状病毒引起的肾脏损伤以肾小管损伤为主, 尿液检查异常较明显, 但也出现肾小球滤过功能受损, 表现为血肌酐、尿素氮水平升高 [25-27]。

肺是 SARS-CoV-2 最主要的靶器官, 多项研究表明, COVID-19 患者急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 发生率为 17% ~ 29% [21, 28]。但肾脏也是常被累及的肺外器官之一, 尤其是重症患者, 更容易出现肾脏损伤。Chen 等 [20] 报道的 99 例 COVID-19 患者中, 6% 患者血尿素氮升高, 3% 患者血清肌酐升高, AKI 发生率 3%。Guan 等 [21] 报道了来自 30 个省、自治区和直辖市 552 家医院的 1 099 例 COVID-19 患者数据, 其中轻症 926 例, 重症 173 例, 4.3% 重症患者出现血肌酐 > 133 $\mu\text{mol/L}$, AKI 发生率 2.9%; 轻症患者血肌酐 > 133 $\mu\text{mol/L}$ 者仅 1%, AKI 发生率仅 0.1%。Cheng 等 [19] 报道的 710 例 COVID-19 患者研究中, 44.0% 患者有蛋白尿, 26.9% 患者有血尿, 血肌酐、尿素氮升高分别为 15.5%、14.1%, 且在研究期间, 有 3.2% 患者发生 AKI。该研究认为 AKI 是患者住院死亡率的独立危险因素。Wang 等 [6] 报道, 来自武汉中南医院的 138 例患者 (其中 36 例收住 ICU) 资料显示, 收住 ICU 的患者

AKI 发生率 8.3%, 而非 ICU 患者 AKI 发生率为 2.0%。一项针对 59 例 COVID-19 患者 (包括重症 28 例和死亡 3 例) 的研究发现 [29], 34% 患者在入院第一天出现大量蛋白尿, 63% 患者在住院期间出现蛋白尿; 19% (11/59) 患者血浆肌酐升高, 3 例死亡病例肌酐处于极高水平, 27% (16/59) 患者尿素氮升高。计算机断层扫描 (CT) 显示所有患者 ($n = 27$) 肾脏放射学异常; 27 例患者中出现蛋白尿 14 例, 肌酐升高 3 例, 尿素氮升高 4 例。Diao 等 [30] 报道的 COVID-19 患者 85 例研究中, 27.06% (23/85) 患者表现为急性肾功能衰竭 (ARF), 年龄 ≥ 60 岁的患者更易发生 ARF (65.22% vs. 24.19%, $P < 0.001$)。陈蕾等 [31] 对 29 例 COVID-19 患者的研究中, 所有患者肌酐及尿素氮未见明显变化, 考虑可能与样本量过少有关。综上所述, 目前的数据及共识均认为新型冠状病毒导致 AKI, 且 AKI 是住院患者死亡的独立危险因素, 但肾脏受累的确切机制尚不清楚。

3 SARS-CoV-2 引起肾脏损伤的可能机制

3.1 SARS-CoV-2 损伤肾脏的基础研究

目前研究表明, 从患者血清、痰液、支气管肺泡灌洗液、尿液、唾液、粪便均可检出 SARS-CoV-2 病毒核酸 [16, 21, 32]。国家《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版)》及据尸检和穿刺组织病理结果指出, 肾小球球囊腔内见蛋白性渗出物, 肾小管上皮变性、脱落, 可见透明管型, 间质充血, 可见微血栓及灶性纤维化 [33]。

3.2 ACE2 介导 SARS-CoV-2 肾脏损伤

3.2.1 ACE2 介导 SARS-CoV-2 直接攻击肾小管上皮细胞

ACE2 已被证明是介导 SARS-CoV-2 入侵宿主细胞的特异性受体, 但 SARS-CoV-2 不能与其他冠状病毒受体结合, 如氨肽酶 N (APN) 和二肽基肽酶 4 (DPP4) [34]。以往研究通过单基因 RNA 测序发现, SARS-CoV-2 的受体蛋白 ACE2 在肾脏高表达, 较呼吸道高出近 100 倍, 且在近端肾小管表达增强, 肾小球表达相对弱 [23, 34-35]。Wrapp 等 [36] 解析了新型冠状病毒的 S 蛋白结构, 该研究发现新型冠状病毒是利用高度糖基化的同源三聚体 S 蛋白进入宿主细胞, 且 ACE2 蛋白与新型冠状病毒 S 蛋白的亲合力是 SARS 冠状病毒的 10 ~ 20 倍, 提示该病毒传染性更强, 推测这可能是 COVID-19 较 SARS 更容易发生肾脏损伤的原因。跨膜丝氨酸蛋白酶 (transmembrane protease serines, TMPRSS) 家族是冠状病毒 S 蛋白启动过程中的关键细胞蛋白酶, 待病毒进入细胞后发挥重要作用 [17]。多项研究通过单细胞转录组分析 (scRNA seq) 技术在单细胞水平分析了 ACE2 受体和关键蛋白酶 TMPRSS 家

族在肾脏细胞中的表达情况,发现 ACE2 和 TMPRSS 家族基因在足细胞和近曲小管中显著共表达,其表达水平显著高于肺组织和消化道。研究结果提示,肾脏可能为 SARS-CoV-2 的靶向宿主细胞^[16,35,37]。Diao 等^[30]报道 6 例 COVID-19 患者尸检结果中,肾脏病理显示死后肾脏组织有严重的急性肾小管坏死和淋巴细胞浸润。免疫组化结果显示,SARS-CoV-2 病毒核蛋白(NP)抗原在肾小管中积累。推测 SARS-CoV-2 可能通过与 ACE2 受体结合进入肾小管细胞,通过核内半胱氨酸蛋白酶中组织蛋白酶 B 和 L(CatB/L)启动 TMPRSS2 细胞系中的 S 蛋白开始病毒复制,直接损伤肾小管和足细胞,导致患者出现蛋白尿^[38-39]。

3.2.2 ACE2 介导 SARS-CoV-2 致肾间质损伤: Fan 等^[40]报道,免疫组化显示 ACE2 蛋白主要分布在肾内血管内皮、肾小管上皮和冠状血管内皮细胞,而免疫细胞和肾小球壁层上皮细胞未见 ACE2 表达。在血液中可检测到 SARS-CoV-2,全身所有血液均经过肾脏滤过,其中的代谢废物、炎性细胞、炎性介质、毒性物质等,都会接触到肾脏。因此,血液中的病毒可能通过肾内血管内皮细胞、肾小管上皮细胞的 ACE2 感染肾脏,除增加肾脏的病毒载量外,内皮细胞及肾小管上皮细胞的 ACE2 与病毒结合,使内皮细胞被病原体标记,使其成为宿主免疫系统识别和攻击的目标。这或许是 SARS-CoV-2 引起肾间质水肿及肾小管损伤的原因。

3.2.3 ACE2 介导 SARS-CoV-2 致慢性肾脏损伤: ACE2 的器官和细胞特异性表达表明,ACE2 在肾脏的局部肾素-血管紧张素系统中发挥着重要作用。因此,病毒可能直接与此类 ACE2 阳性细胞结合下调 ACE2 表达,不仅引起内皮功能受损、血压升高、降低肾小球滤过率,而且使 Ang II 相对增多,激活转化生长因子(TGF)- β 和丝裂原活化蛋白激酶信号通路,上调 NADPH 氧化酶,加重氧化应激和炎症反应、纤维化^[41],远期可能转变为慢性肾脏病,目前仍缺少相关研究证实。

3.3 免疫攻击

3.3.1 免疫失调: Guo 等^[42]回顾性分析 COVID-19 死亡组与存活组患者资料发现,死亡组 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁺CD8⁺T 细胞绝对计数水平均明显降低,提示细胞免疫功能低下,研究提出将淋巴细胞计数 $<0.8 \times 10^9/L$ 作为预测病毒性肺炎死亡风险模型(MuLBSTA score)的指标之一。Wan 等^[43]对 123 例 COVID-19 患者(轻症 102 例和重症 21 例)外周血和细胞因子进行相关分析,轻症组 CD4⁺T 细胞降低率为 52.90%,重症组为 95.24%;轻症组 CD8⁺T 降低

率为 28.40%,重症组为 61.90%,说明在机体感染 SARS-CoV-2 的情况下,重症患者 T 淋巴细胞的抑制作用更强;NK 细胞减少的比例分别为 34.31% 和 47.62%,这表明 SARS-CoV-2 感染限制了 NK 细胞的活性;重症患者促炎因子 IL-6 和 IL-10 水平明显升高。Huang 等^[28]报道 COVID-19 患者 40 例入院时白细胞减少 10 例(25%),淋巴细胞减少 26 例(65%)。Diao 等^[30]报道,免疫组化显示,6 例肾小管间质内巨噬细胞 CD68⁺较多,2 例肾小管间质内 CD8⁺T 细胞数量中等,而 CD4⁺T 细胞和 CD56⁺NK 细胞在受检组织内少见。提示 SARS-CoV-2 可能通过招募巨噬细胞浸润到肾小管间质而进一步引起肾小管损伤。6 例尸检中均观察到 C5b-9 在小管上的沉积。在 2 个病例中,肾小球和毛细血管中也可见极低水平的 C5b-9 沉积。然而,正常肾脏组织中 C5b-9 表达缺失,提示 SARS-CoV-2 感染可能通过触发 C5b-9 沉积诱导急性肾小管坏死和 AKI。Xu 等^[33]发现 COVID-19 患者外周血 CD4⁺T 细胞亚群中,高促炎性的 CCR6⁺Th17 比例增加,CD8⁺T 细胞毒性增强。美国报道 1 例合并 ARDS 的 COVID-19 患者,穿刺病理结果显示,外周血 CD4⁺和 CD8⁺细胞的数量大大减少,高度促炎性的 CCR4⁺CCR6⁺Th17 细胞增加。以上研究表明免疫失调参与了 AKI 的发生、发展。

3.3.2 细胞因子风暴: 细胞因子风暴是指机体在感染微生物或其他剧烈刺激的情况下,免疫系统被过度激活,导致体液中多种细胞因子[IL-1、IL-6、IL-17、IL-12、TNF- α 、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、G-CSF、IFN- γ 诱导蛋白 10(IP-10)、MCP-1 等]迅速大量产生,导致单器官或多器官系统炎症反应过度表现,可能导致急性呼吸窘迫综合征、急性肾损伤、心肌损害、休克、弥散性血管内凝血、多器官功能衰竭,甚至危及生命^[44]。Guo 等^[42]回顾性分析 COVID-19 死亡组与存活组患者资料发现,死亡组患者各项炎症因子水平较存活组更高,研究结果显示,死亡组患者体内存在过度的炎症反应。Huang 等^[28]在 *Lancet* 上发表研究结果指出,COVID-19 患者血浆炎症因子 IL-1 β 、IFN- γ 、IP-10 和 MCP-1 浓度显著升高,ICU 收治患者比非 ICU 患者具有更高浓度的 G-CSF、IP-10、MCP-1、巨噬细胞炎症蛋白 1 α (MIP1 α)和 TNF- α ,相比于 22 例非新冠病毒感染的肺炎患者,71 例普通型新冠肺炎患者 T 细胞和 B 细胞下降显著,而单核细胞、中性粒细胞和 NK 细胞数量却无显著差异,而这 3 种细胞是细胞因子风暴的主要参与者,该研究指出细胞因子风暴与 SARS-CoV-2 感染疾病严重程度有关。陈蕾等^[31]回顾性分析 29 例 COV-

ID-19 患者血清炎症因子发现, IL-2R、IL-6 表达水平与病情严重程度有明显的相关性。Ruan 等^[45]分析了 68 例 SARS-CoV-2 感染死亡病例(68/150, 45%)和 82 例出院病例(82/150, 55%)的病例资料, 2 组间血尿素氮、血肌酐、IL-6 水平存在显著性差异, 提示 COVID-19 的死亡可能是由于病毒激活的细胞因子风暴综合征导致。以上研究表明新冠肺炎患者细胞因子风暴可能参与病情进展, 并可能导致 AKI 及多器官功能障碍的发生及发展, 最终导致严重 COVID-19 患者的死亡。

4 小 结

综上所述, COVID-19 相关肾脏损伤发病机制可能与 SARS-CoV-2 通过 ACE2 介导直接攻击肾脏细胞、细胞因子风暴、免疫损伤等有关, 但目前国内外少有 SARS-CoV-2 致肾损伤的机制研究, 且大多数临床研究的数据受限, 因此还需要通过构建动物模型进一步探讨分子机制。对于临床上出现急性肾损伤或本身有肾脏疾病的新冠肺炎患者, 后期治愈出院应仍保持随访状态, 观察上述患者是否会有慢性肾脏损伤。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中华人民共和国国家卫生健康委员会公告(2020 年第 1 号) [EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/xxgzb/202001/44a3b8245e8049d2837a4f27529cd386.shtml>.
- [2] World Health Organization. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [EB/OL]. <https://covid19.who.int/>. 2020.
- [3] Yan R, Zhang Y, Li Y, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 [J]. *Science*, 2020, 367(6485): 1444-1448. DOI:10.1126/science.abb2762.
- [4] Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus [J]. *Nature*, 2003, 426(6965): 450-454. DOI:10.1038/nature02145.
- [5] Cheng Y, Luo R, Wang K, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19 [J]. *Kidney Int*, 2020, 97(5): 829-838. DOI:10.1016/j.kint.2020.03.005.
- [6] Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [J]. *Jama*, 2020, 323(11): 1061-1069. DOI:10.1001/jama.2020.1585.
- [7] Braun F, Lütgehetmann M, Pfefferle S, et al. SARS-CoV-2 renal tropism associates with acute kidney injury [J]. *The Lancet*, 2020, 396(10251): 597-598. DOI:10.1016/S0140-6736(20)31759-1.
- [8] Hu B, Ge X, Wang LF, et al. Bat origin of human coronaviruses [J]. *Virology*, 2015, 12: 221. DOI:10.1186/s12985-015-0422-1.
- [9] Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis [J]. *Adv Virus Res*, 2011, 81: 85-164. DOI:10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2.
- [10] Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses [J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(6): 490-502. DOI:10.1016/j.tim.2016.03.003.
- [11] Forni D, Cagliani R, Clerici M, et al. Molecular evolution of hu-

- man coronavirus genomes [J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(1): 35-48. DOI:10.1016/j.tim.2016.09.001.
- [12] Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(20): 1953-1966. DOI:10.1056/NEJMoa030781.
- [13] Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(19): 1814-1820. DOI:10.1056/NEJMoa1211721.
- [14] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273. DOI:10.1038/s41586-020-2012-7.
- [15] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of V. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 [J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(4): 536-544. DOI:10.1038/s41564-020-0695-z.
- [16] Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(9): 1015-1024. DOI:10.1097/CM9.0000000000000722.
- [17] Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding [J]. *Lancet*, 2020, 395(10224): 565-574. DOI:10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- [18] Lan J, Ge J, Yu J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor [J]. *Nature*, 2020, 581(7807): 215-220. DOI:10.1038/s41586-020-2180-5.
- [19] Cheng Y, Luo R, Wang K, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19 [J]. *Kidney International*, 2020, 97(5): 829-838. DOI:10.1016/j.kint.2020.03.005.
- [20] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513. DOI:10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- [21] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(18): 1708-1720. DOI:10.1056/NEJMoa2002032.
- [22] Chen T, Wu D, Chen H, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study [J]. *BMJ*, 2020, 368: m1091. DOI:10.1136/bmj.m1091.
- [23] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(8): 727-733. DOI:10.1056/NEJMoa2001017.
- [24] WHO. WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020 [EB/OL]. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>.
- [25] Chu KH, Tsang WK, Tang CS, et al. Acute renal impairment in coronavirus-associated severe acute respiratory syndrome [J]. *Kidney International*, 2005, 67(2): 698-705. DOI:10.1111/j.1523-1755.2005.67130.x.

- [26] Pacciarini F, Ghezzi S, Canducci F, et al. Persistent replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus in human tubular kidney cells selects for adaptive mutations in the membrane protein [J]. J Virol, 2008, 82 (11): 5137-5144. DOI: 10.1128/JVI.00096-08.
- [27] Eckerle I, Muller MA, Kallies S, et al. In-vitro renal epithelial cell infection reveals a viral kidney tropism as a potential mechanism for acute renal failure during Middle East Respiratory Syndrome (MERS) Coronavirus infection [J]. Virol J, 2013, 10:359. DOI: 10.1186/1743-422X-10-359.
- [28] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. The Lancet, 2020, 395(10223): 497-506. DOI:10.1016/s0140-6736(20)30183-5.
- [29] Li Z, Wu M, Guo J, et al. Caution on kidney dysfunctions of 2019-nCoV patients [J]. Med Rxiv,2020. DOI:10.1101/2020.02.08.20021212.
- [30] Diao B, Feng Z, Wang C, et al. Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection [J]. Med Rxiv, 2020. DOI: 10.1101/2020.03.04.20031120.
- [31] 陈蕾, 刘辉国, 刘威, 等. 2019 新型冠状病毒肺炎 29 例临床特征分析 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43 (3): 203-208. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.03.013.
- [32] Xiao F, Tang M, Zheng X, et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2 [J]. Gastroenterology, 2020, 158 (6): 1831-1833, e1833. DOI:10.1053/j.gastro.2020.02.055.
- [33] Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. The Lancet Respiratory Medicine, 2020, 8 (4): 420-422. DOI:10.1016/s2213-2600(20)30076-x.
- [34] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. Nature, 2020, 579(7798): 270-273. DOI:10.1038/s41586-020-2012-7.
- [35] Deng YY, Zheng Y, Cai GY, et al. Single-cell RNA sequencing data suggest a role for angiotensin-converting enzyme 2 in kidney impairment in patients infected with 2019-novel coronavirus [J]. Chin Med J (Engl), 2020, 133 (9): 1129-1131. DOI: 10.1097/cm9.0000000000000783.
- [36] Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation [J]. Science, 2020, 367(6483): 1260-1263. DOI:10.1126/science.abb2507.
- [37] Zou X, Chen K, Zou J, et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection [J]. Frontiers of Medicine, 2020, 14(2): 185-192. DOI:10.1007/s11684-020-0754-0.
- [38] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Krüger N, et al. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells [J]. Bio Rxiv,2020. DOI:10.1101/2020.01.31.929042.
- [39] Yang X, Jin Y, Li R, et al. Prevalence and impact of acute renal impairment on COVID-19: a systematic review and meta-analysis [J]. Critical Care, 2020, 24 (1): 356. DOI: 10.1186/s13054-020-03065-4.
- [40] Fan C, Lu W, Li K, et al. ACE2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis infection in COVID-19 patients [J]. Frontiers in Medicine, 2021, 7: 563893. DOI: 10.3389/fmed.2020.563893.
- [41] Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019(COVID-19)[J]. The Journal of Pathology, 2020, 251(3): 228-248. DOI:10.1002/path.5471.
- [42] Guo L, Wei D, Zhang X, et al. Clinical features predicting mortality risk in patients with viral pneumonia: The MuLBSTA Score [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2752. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02752.
- [43] Wan S, Yi Q, Fan S, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP) [J]. Med Rxiv, 2020. DOI:10.1101/2020.02.10.20021832.
- [44] Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, et al. Into the eye of the cytokine storm [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2012, 76 (1): 16-32. DOI:10.1128/MMBR.05015-11.
- [45] Ruan Q, Yang K, Wang W, et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China [J]. Intensive Care Med, 2020,46 (5): 846-848. DOI: 10.1007/s00134-020-05991-x.

(收稿日期:2020 - 09 - 10)

(上接 526 页)

- [21] 李健明,胡向东,张岩峰,等.剪切波弹性成像的影响因素分析[J/OL].中华医学超声杂志:电子版,2019,16(8):565-567. DOI:10.3877/cma.j.issn.1672-6448.2019.08.002.
- [22] 李鑫,王杰冰,李玉宏.极速脉搏波技术评估冠状动脉病变患者颈部血管弹性功能及其相关影响因素[J].中国医科大学学报, 2018,47(7):612-616. DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2018.07.010.
- [23] Zhu ZQ, Chen LS, Jiang XZ, et al. Absent atherosclerotic risk factors are associated with carotid stiffening quantified with ultrafast ultrasound imaging [J]. European Radiology,2021, 31 (5) : 3195-3206. DOI:10.1007/s00330-020-07405-4.
- [24] Zhu ZQ, Chen LS, Wang H, et al. Carotid stiffness and atherosclerotic risk: non-invasive quantification with ultrafast ultrasound pulse wave velocity [J]. Springer Berlin Heidelberg,2019,29 (3):1507-1517. DOI:10.1007/s00330-018-5705-7.
- [25] Fernandes-Silva MM, Shah Amil M, Claggett B, et al. Adiposity, body composition and ventricular-arterial stiffness in the elderly: the Atherosclerosis Risk in Communities Study [J]. European Journal of Heart Failure, 2018, 20(8): 1191-1201. DOI: 10.1002/ehhf.1188.

(收稿日期:2020 - 11 - 19)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.021

综 述

内质网应激与 mTOR 信号通路在消化系统肿瘤中的研究进展

吴晓曼, 李明综述 谭诗云审校

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2019CFB142)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科/消化系统疾病湖北省重点实验室

通信作者: 谭诗云, E-mail: tanshiyun@medmail.com.cn

【摘 要】 内质网应激(ERS)是由于饥饿、离子失衡等多种原因导致细胞内质网功能障碍而引发的一系列自我调节反应,通过介导代谢改变维持细胞内稳态。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路也是参与调节细胞代谢的重要通路之一,并对自噬激活有负调节作用。ERS 与 mTOR 信号通路在调控细胞内代谢过程中相互影响对方信号传导,进而可改变消化系统肿瘤的疾病进程。文章对 ERS 与 mTOR 信号通路在消化系统肿瘤中的研究进展作一综述,为消化系统肿瘤的治疗提供新的研究方向。

【关键词】 内质网应激;雷帕霉素靶蛋白;信号通路;消化系统肿瘤

【中图分类号】 R735 【文献标识码】 A

Research progress of endoplasmic reticulum stress and mTOR signaling pathway in digestive system tumors Wu Xiaoman, Li Ming, Tan Shiyun. Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University/Hubei Key Laboratory of Digestive System Disease, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Tan Shiyun, E-mail: tanshiyun@medmail.com.cn

Funding program: Natural Science Foundation of Hubei Province (2019CFB142)

【Abstract】 Endoplasmic reticulum stress (ERS) is a series of self-regulating reactions triggered by dysfunction of the endoplasmic reticulum of cells due to starvation, ion imbalance and other reasons. It maintains cell homeostasis by mediating metabolic changes. The mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway is also one of the important pathways involved in regulating cell metabolism, and has a negative regulatory effect on autophagy activation. ERS and mTOR signal pathways influence each other's signal transduction in the process of regulating intracellular metabolism, which can change the disease process of digestive system tumors. This article reviews the research progress of ERS and mTOR signaling pathway in digestive system tumors, and provides new research directions for the treatment of digestive system tumors.

【Key words】 Endoplasmic reticulum stress; Mammalian target of rapamycin; Signal pathway; Digestive system neoplasms

根据国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)的数据显示,东亚地区胃癌、肝癌等消化系统肿瘤的发病率呈现较高的水平^[1]。肿瘤的发生是一系列缓慢、复杂的代谢改变过程,在细胞生长、繁殖等过程中,每一个阶段的发生都有各种代谢信号通路相互交叉影响。改变肿瘤细胞代谢过程,影响疾病进展一直是抗肿瘤治疗的主要策略之一。内质网作为细胞内参与大部分分泌及跨膜蛋白生成修饰等过程的重要细胞器,其稳态对细胞代谢至关重要。当细胞内稳态受到外界刺激时,可引发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)激活非折

叠蛋白应答(unfolded protein response, UPR)维持内质网功能稳定。近期有研究发现^[2],ERS 与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路存在关联,ERS 可通过 mTOR 信号通路诱导代谢改变,从而对细胞起到相应的保护作用,但其具体机制还尚未明确,文章对此进行综述。

1 ERS 及 mTOR 信号通路

1.1 ERS ERS 是指未折叠或错误折叠的蛋白质累积在内质网内,引发 UPR 消减未折叠蛋白质的毒性作用,从而维持细胞稳态。人类癌细胞通常具有维持 UPR 长时间激活的能力,并支持其生存。UPR 由 3 种

重要的内质网跨膜蛋白介导:RNA 依赖的蛋白激酶样 ER 激酶 (RNA-dependent protein kinase-like ER eukaryotic initiation factor-2 α kinase, PERK)、肌醇需求激酶 (inositol requiring enzyme, IRE)1 α 和激活作用转录因子 (activating transcription factor, ATF)6。当未处于 ERS 状态时,这 3 种蛋白均处于无活性状态,与葡萄糖调节蛋白 78/B 细胞免疫球蛋白结合蛋白 (glucose-regulated protein 78/B-cell immunoglobulin binding protein, GRP78/BIP) 结合。当 ERS 被激活后,这 3 种跨膜蛋白与结合蛋白分离后,自身活化并激活下游蛋白进行信号传导^[3]。这 3 种蛋白分别参与不同的信号调节通路,进而调控细胞代谢。PERK 被激活后可进一步诱导 C/EBP 同源蛋白 (C/EBP-homologous protein, CHOP/GADD153) 的转录,促进肿瘤细胞凋亡^[4]。IRE1 磷酸化后引起 X-盒结合蛋白 (X-box protein, XBP)1 的 mRNA 被剪切得到 sXBP1,进而上调伴侣蛋白与内质网相关降解途径 (endoplasmic reticulum-associated degradation, ERAD) 机制的组分清除错误折叠蛋白^[5]。ATF6 被裂解后可诱导伴侣和 UPR 介质的表达,包括 BIP 和 XBP1,而且高表达的 ATF6 与癌症转移、复发相关^[6]。

1.2 mTOR 信号通路 mTOR 属于磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 家族中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可形成 2 种不同形式的复合物:mTOR 复合物 (mTOR complex, mTORC)1 和 mTORC2。mTORC2 可通过磷酸化蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 和蛋白激酶 C 控制细胞存活和细胞骨架重塑,但 mTOR 的大部分代谢功能归因于 mTORC1^[7]。在人体糖代谢中,血糖水平升高可刺激胰岛素信号传导,导致特定激酶包括 PI3K 和下游激酶被激活,如 AKT、非典型蛋白激酶 C 和 mTOR 复合物活化蛋白磷酸酶 (如蛋白磷酸酶 1 和蛋白磷酸酶 2) 来调节体内代谢^[8]。除了参与代谢,mTOR 还是自噬诱导的重要调控因子,激活 mTOR 可抑制自噬,而抑制 mTOR 活性则可促进自噬,这在抗肿瘤治疗领域是较热门的研究方向^[9]。

2 ERS 与 mTOR 信号通路在消化系统肿瘤中的研究

mTOR 信号通路是调节多种细胞过程中最重要的信号传导途径之一,随着研究不断深入,越来越多的证据表明,ERS 影响 mTOR 信号通路的调控机制。Choi 等^[10]研究发现,用衣霉素诱导 ERS 后,出现 mTOR 信号通路下游信号分子磷酸化核糖体蛋白 S6 激酶 (ribosomal protein S6 kinase, S6K) 下降,表明影响细胞内 ERS 水平能够进一步调节 mTOR 信号通路的表达水平。在大鼠嗜铬细胞瘤细胞系 PC12 中利用 ERS 抑制

剂 4-苯基丁酸 (4-phenylbutyric acid, 4-PBA) 抑制 ERS, mTOR 磷酸化水平降低,并且证实是通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调节自噬,更说明 ERS 能一定程度地影响 mTOR 信号通路进而调控代谢进程。mTOR 信号通路也可影响 ERS 水平,用雷帕霉素抑制 mTOR 信号通路后可引起 ERS 标志蛋白 BIP 急剧下降^[11]。但在不同的消化系统肿瘤疾病中,ERS 与 mTOR 信号通路之间的相互影响有所不同。

2.1 ERS 与 mTOR 信号通路在肝癌中的研究 肝细胞癌是全世界最常见的肝癌类型,也是第二大最常见的癌症相关死亡原因。美洛昔康是一种选择性的环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 抑制剂,常作为非甾体类抗炎药 (non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID) 使用,除抗炎效果外,Zhong 等^[12] 研究发现其在人肝癌细胞系 HepG2 和 Bel-7402 中可通过 ERS 下的 GRP78 诱导细胞凋亡,在此过程中利用腺苷酸蛋白活化激酶 (AMP-activated protein kinases, AMPK)-mTOR 信号传导途径诱导自噬激活。与美洛昔康组比较,美洛昔康 + GRP78siRNA 组 Western-blot 检测结果显示,p-AMPK 蛋白表达量显著降低,而 p-mTOR 表达量增加,自噬水平降低。上述研究结果表明,ERS 可通过 GRP78 信号分子调控 mTOR 信号通路。该研究认为自噬是对 ERS 诱导凋亡的一种保护机制,ERS 通过激活 AMPK 磷酸化,抑制 mTOR 激活,从而诱导自噬。Hispidulin (4',5,7-trihydroxy-6-methoxyflavone) 同样可以导致人肝癌细胞系 SMMC7721 和 Huh7 中 ERS 水平增高并诱导癌细胞凋亡,同样证实 mTOR 信号通路参与 ERS 调控凋亡的机制^[13]。

2.2 ERS 与 mTOR 信号通路在结直肠癌中的研究 结直肠癌是世界上第三常见的恶性肿瘤,是癌症死亡的第四大原因,在结直肠癌的抗癌治疗研究中,发现丁香活性组分 (active fraction of clove, AFC),可以明显地抑制人结直肠癌细胞系 HCT-116 的细胞活力,并诱导自噬和细胞凋亡^[14]。以往研究表示,mTOR 信号通路可调控自噬,经蛋白表达检测,在 AFC 的影响下,与对照组相比,试验组以剂量依赖性方式抑制 mTOR 磷酸化,从而激活自噬。在抗结直肠癌治疗中,药物可以通过 mTOR 信号通路的调控影响癌细胞的增殖与生存^[15-16]。You 等^[17] 研究进一步说明 ERS 参与其中,发现使用衣霉素处理人结肠癌细胞系 SW620 能抑制 mTOR 表达,且可抑制结肠癌细胞生长并促进其凋亡。再次为 ERS 与 mTOR 信号通路的互连提供了确切的证据,为进一步寻找抗癌治疗靶点提供了新的方向。在另外的抗结直肠癌药物研究中,Tsai 等^[18] 发现,肉

桂曲霉有一定的抗癌作用,能有效引发细胞内 ERS 标志蛋白 CHOP 及降低 AKT 和 mTOR 的磷酸化水平,在抑制 CHOP 表达后 mTOR 磷酸化水平上升,并减少了由肉桂曲霉导致的细胞死亡,该研究认为,mTOR 信号调控癌细胞增殖生长依赖于 ERS 的介导,其中 CHOP 发生了很大的作用。这提示结直肠癌中 ERS 与 mTOR 信号通路之间的调控机制可成为抗癌治疗的新兴研究方向,ERS 调控 mTOR 信号通路并进一步诱导自噬,影响细胞凋亡水平。

2.3 ERS 与 mTOR 信号通路在胰腺肿瘤中的研究

据美国癌症协会统计,2019 年美国新诊断胰腺癌病例约 5.6 万例,预计有 4.5 万例死于胰腺癌,仅次于肺癌和结肠癌^[19],阐述胰腺肿瘤的发生发展机制及寻找潜在治疗靶点一直是胰腺肿瘤的热点研究方向。在小鼠胰岛 β 细胞系 MIN6 中,Chu 等^[20]研究发现,棕榈酸可以诱导细胞发生 ERS 及自噬通量增加,在用自噬抑制剂 CQ 提前干预 2 h 的情况下,加用 ERS 抑制剂 PBA 可以减少自噬标志蛋白 LC3 II,表示降低 ERS 可以降低自噬通量。由于 mTOR 信号通路参与调控自噬通量,因此在胰腺中 ERS 可能通过 mTOR 参与调控自噬。在大鼠胰岛 β 细胞系 RIN-5F 中,Varshney 等^[21]研究进一步发现,mTOR 的上游信号 AMPK 参与 ERS 调节,在运用 siRNA 干扰 AMPK 表达后,棕榈酸诱导的 ERS 水平增高,自噬信号的传导阻断会使 ERS 标志蛋白 CHOP 表达量增高,表明 AMPK 调控的自噬可以消除部分 ERS。Jia 等^[22]研究显示,抑制 AMPK/mTOR 信号并不能显著减轻非瑟酮(Fisetin)诱导的人胰腺癌细胞系 PANC-1 的自噬水平,也不能降低 ERS 下游信号通路 PERK、ATF4 或 ATF6 的表达,并且 ATF4 表达增加。Su 等^[23]研究同样发现,AMPK 敲低并不能降低粗糠柴毒素(rottlerin)在胰腺细胞内对真核起始因子(eukaryotic initiation factor,eIF)2 α 磷酸化或 CHOP 表达的影响,说明在此条件下 mTOR 信号通路上游信号分子 AMPK 不参与 ERS 的正向调节。但 Kim 等^[24]研究显示,mTOR 抑制剂雷帕霉素,诱导自噬可以增加 GRP78/BIP 蛋白的表达,增强了大鼠胰岛素瘤细胞系 INS-1E 内的 ERS,此时自噬不再起细胞保护作用,无法消解细胞的 ERS 水平。在胰腺肿瘤中,ERS 与 mTOR 信号通路之间存在相互作用,但并非单纯的单向调节,具体调节机制还需要进一步研究。

2.4 ERS 与 mTOR 信号通路在其他消化系统肿瘤中的研究 胃癌是世界排名第五大最常见的恶性肿瘤,每年估计有超过 100 万的新病例^[25]。而 mTOR 抑制剂也已被证明是有效的抗肿瘤药物,可激活 UNC-51

样激酶(unc-51-like kinase,ULK)复合物以诱导自噬并抑制血管生成^[26]。张丽敏等^[27]研究显示,在大鼠胃窦 Cajal 间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICCs)中应用 mTOR 抑制剂雷帕霉素后,可以明显增加 GRP78 mRNA 含量,表明胃细胞内 mTOR 信号通路参与调控 ERS。Chen 等^[28]在人胃癌细胞系 SGC-7901 和 BGC-823 中进一步发现,雷帕霉素通过抑制 mTOR 磷酸化引起 eIF2 α 磷酸化明显升高。在 ERS 中,磷酸化的 PERK 被激活使 eIF2 α 磷酸化,促使一般蛋白质翻译工作减弱来降低内质网负荷,eIF2 α 的磷酸化程度降低说明 mTOR 参与负向调节细胞内的 ERS 水平。食管癌是一种常见的上消化道肿瘤,多为鳞状细胞癌,Zhou 等^[29]研究发现,衣霉素能引起 ERS 水平上升,并且可显著下调磷酸化 AKT,mTOR 蛋白的表达。在 Ansari 等^[30]研究中也显示了同样的结果,并且进一步诱导了食管癌细胞自噬的发生。在同样多为鳞状细胞癌的口腔癌中,PERK 基因敲低能使自噬略有减少,但暴露于烷基磷酸胆碱类药物 Erufosine 会使细胞自噬增加,并且促进肿瘤细胞凋亡。

ERS 与 mTOR 信号通路的关联出现在很多消化系统肿瘤中,可见其在消化系统肿瘤发生、发展和治疗过程中起着重要作用。目前 ERS 与 mTOR 信号通路之间并非单方向的影响,还有很多其他因素参与相互作用,其内在联系更为复杂,需要科研人员更多的研究与探索。

3 小 结

综上所述,ERS 与 mTOR 信号通路之间的相互作用可表现为 mTOR 信号通路调节 ERS 水平,但在消化系统肿瘤发展过程中,目前研究更多的是 ERS 下游信号分子 PERK、IRE1 α 等表现出参与调控 mTOR 信号通路,由此调节细胞内自噬、凋亡水平。但 ERS 并非所有信号分子均可与 mTOR 发生相互作用,具体调控机制可因部位或疾病的不同有所差异。针对这一调控机制进行干预,成为抗肿瘤治疗的药物靶标,可为消化系统肿瘤的治疗方案提供新的方向。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] Tan J, Jiang X, Yin G, et al. Anacardic acid induces cell apoptosis of prostatic cancer through autophagy by er stress/dapk3/akt signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2017, 38(3): 1373-1382. DOI: 10.3892/or.2017.5841.
- [3] Nam SM, Jeon YJ. Proteostasis in the endoplasmic reticulum: Road

- to cure [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11 (11): 1793. DOI: 10.3390/cancers11111793.
- [4] Sun X, Liao W, Wang J, et al. Cstmp induces apoptosis and mitochondrial dysfunction in human myeloma rpmi8226 cells via chop-dependent endoplasmic reticulum stress[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 776-784. DOI:10.1016/j.biopha.2016.07.045.
- [5] Roy A, Kumar A. Er stress and unfolded protein response in cancer cachexia[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11 (12): 1929. DOI: 10.3390/cancers11121929.
- [6] Siwecka N, Rozpedek W, Pytel D, et al. Dual role of endoplasmic reticulum stress-mediated unfolded protein response signaling pathway in carcinogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (18): 4354. DOI: 10.3390/ijms20184354.
- [7] Zeng H. mTOR signaling in immune cells and its implications for cancer immunotherapy [J]. *Cancer Lett*, 2017, 408: 182-189. DOI:10.1016/j.canlet.2017.08.038.
- [8] Wang Y, Viscarra J, Kim SJ, et al. Transcriptional regulation of hepatic lipogenesis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(11): 678-689. DOI:10.1038/nrm4074.
- [9] Nunez-Olvera SI, Gallardo-Rincon D, Puente-Rivera J, et al. Autophagy machinery as a promising therapeutic target in endometrial cancer [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1326. DOI: 10.3389/fonc.2019.01326.
- [10] Choi J, Jo M, Lee E, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in regulation of endometrial stromal cell invasiveness: Possible role in pathogenesis of endometriosis[J]. *Mol Hum Reprod*, 2019, 25(3): 101-110. DOI:10.1093/molehr/gaz002.
- [11] Sheng C, Lin XJ, Wang HZ, et al. Lithocholic acid activates mTOR signaling inducing endoplasmic reticulum stress in placenta during intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. *Life Sci*, 2019, 218: 300-307. DOI:10.1016/j.lfs.2018.12.050.
- [12] Zhong J, Dong X, Xiu P, et al. Blocking autophagy enhances meloxicam lethality to hepatocellular carcinoma by promotion of endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Prolif*, 2015, 48 (6): 691-704. DOI:10.1111/cpr.12221.
- [13] Han M, Gao H, Xie J, et al. Hispidulin induces ER stress-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo by activating AMPK signaling pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40(5): 666-676. DOI:10.1038/s41401-018-0159-7.
- [14] Liu M, Zhao G, Zhang D, et al. Active fraction of clove induces apoptosis via PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy in human colorectal cancer hct-116 cells [J]. *Int J Oncol*, 2018, 53 (3): 1363-1373. DOI:10.3892/ijo.2018.4465.
- [15] Guerrero-Zotano A, Mayer IA, Arteaga CL. PI3K/AKT/mTOR: Role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2016, 35 (4): 515-524. DOI:10.1007/s10555-016-9637-x.
- [16] O'Donnell JS, Massi D, Teng MWL, et al. PI3K-AKT-mTOR inhibition in cancer immunotherapy, redux [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 48: 91-103. DOI:10.1016/j.semcancer.2017.04.015.
- [17] You S, Li W, Guan Y. Tunicamycin inhibits colon carcinoma growth and aggressiveness via modulation of the ERK-JNK-mediated AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3): 4203-4212. DOI:10.3892/mm.2018.8444.
- [18] Tsai DH, Chung CH, Lee KT. Antrodia cinnamomea induces autophagic cell death via the CHOP/TRB3/Akt/mTOR pathway in colorectal cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 17424. DOI: 10.1038/s41598-018-35780-y.
- [19] Mizrahi JD, Surana R, Valle J W, et al. Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2020, 395 (10242): 2008-2020. DOI: 10.1016/S0140-6736 (20)30974-0.
- [20] Chu KY, O'Reilly L, Mellet N, et al. Oleate disrupts camp signaling, contributing to potent stimulation of pancreatic beta-cell autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294 (4): 1218-1229. DOI:10.1074/jbc.RA118.004833.
- [21] Varshney R, Varshney R, Mishra R, et al. Kaempferol alleviates palmitic acid-induced lipid stores, endoplasmic reticulum stress and pancreatic beta-cell dysfunction through AMPK/mTOR-mediated lipophagy[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 57: 212-227. DOI:10.1016/j.jnuthio.2018.02.017.
- [22] Jia S, Xu X, Zhou S, et al. Fisetin induces autophagy in pancreatic cancer cells via endoplasmic reticulum stress- and mitochondrial stress-dependent pathways [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (2): 142. DOI:10.1038/s41419-019-1366-y.
- [23] Su HY, Waldron RT, Gong R, et al. The unfolded protein response plays a predominant homeostatic role in response to mitochondrial stress in pancreatic stellate cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11 (2): e0148999. DOI:10.1371/journal.pone.0148999.
- [24] Kim HS, Han TY, Yoo YM. Melatonin-mediated intracellular insulin during 2-deoxy-d-glucose treatment is reduced through autophagy and edc3 protein in insulinoma ins-1e cells[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 2594703. DOI:10.1155/2016/2594703.
- [25] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2020, 396 (10251): 635-648. DOI: 10.1016/S0140-6736 (20)31288-5.
- [26] Cao Y, Luo Y, Zou J, et al. Autophagy and its role in gastric cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 489: 10-20. DOI:10.1016/j.cca.2018.11.028.
- [27] 张丽敏, 凌江红, 周洲, 等. 内质网自噬在 cajal 间质细胞内质网应激损伤中的作用[J]. *山东医药*, 2018, 58(9): 25-28. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.09.007.
- [28] Chen W, Zou P, Zhao Z, et al. Synergistic antitumor activity of rapamycin and EF24 via increasing ros for the treatment of gastric cancer[J]. *Redox Biol*, 2016, 10: 78-89. DOI:10.1016/j.redox.2016.09.006.
- [29] Zhou F, Li YH, Wang JJ, et al. Endoplasmic reticulum stress could induce autophagy and apoptosis and enhance chemotherapy sensitivity in human esophageal cancer ec9706 cells by mediating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39 (6): 1010428317705748. DOI:10.1177/1010428317705748.
- [30] Ansari SS, Sharma AK, Soni H, et al. Induction of ER and mitochondrial stress by the alkylphosphocholine erufosine in oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 296. DOI: 10.1038/s41419-018-0342-2.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.022

综 述

胰高血糖素样肽-1 受体激动剂与非酒精性脂肪性肝病研究进展

杨丕坚综述 夏宁审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81760146); 广西壮族自治区临床重点专科建设项目经费资助; 广西医科大学青年科学基金项目(GXMUYSF202136)

作者单位: 535000 钦州, 广西医科大学第十附属医院/钦州市第一人民医院内分泌科(杨丕坚); 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院老年内分泌科(夏宁)

通信作者: 夏宁, E-mail: xianingxmu@163.com

【摘 要】 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)已成为中西方国家的高发肝病,但尚未有药物用于治疗 NAFLD。胰高血糖素样肽-1(GLP-1)受体激动剂(GLP-1RAs)被批准用于治疗 2 型糖尿病(T2DM),近年来发现, GLP-1RAs 可通过降低转氨酶水平、改善血脂水平、降低肝脏脂肪含量、促进脂肪再分布,直接减少肝脏的脂肪变性、减轻肝纤维化程度和改善炎症反应,从而改善 NAFLD。文章主要就 NAFLD 的发病机制和 GLP-1RAs 治疗的研究进展进行综述,为 NAFLD 的基础研究和临床治疗提供相关参考。

【关键词】 非酒精性脂肪性肝病; 胰高血糖素样肽-1 受体激动剂; 炎症反应; 脂肪变性; 脂肪代谢

【中图分类号】 R575.5

【文献标识码】 A

Research progress of glucagon-like peptide 1 receptor agonist and non-alcoholic fatty liver disease Yang Pijian, Xia Ning. Department of Endocrinology, the Tenth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Qinzhou 535000, China

Corresponding author: Xia Ning, E-mail: xianingxmu@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81760146); Key Clinical Specialty Construction Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region; Guangxi Medical University Youth Science Foundation Project(GXMUYSF202136)

【Abstract】 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a high-incidence liver disease in Chinese and Western countries, but there are no drugs to treat NAFLD. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists (GLP-1RAs) are approved for the treatment of type 2 diabetes (T2DM). In recent years, it has been found that GLP-1RAs can reduce transaminase levels, improve blood lipid levels, reduce liver fat content, and promote Fat redistribution directly reduces liver steatosis, reduces liver fibrosis and improves inflammatory response, thereby improving NAFLD. This article mainly reviews the pathogenesis of NAFLD and the research progress of GLP-1RAs treatment, and provides relevant references for the basic research and clinical treatment of NAFLD.

【Key words】 Nonalcoholic fatty liver disease; Glucagon like peptide 1 receptor agonists; Inflammation; Steatosis; Lipid metabolism

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)影响全球约 1/4 的成年人口,增加了社会健康和经济负担^[1]。目前,尚未有药物被批准用于治疗 NAFLD,一般的治疗建议包括改变生活方式、限制热量摄入和减轻体质量^[2]。胰高血糖素样肽-1 受体激动剂(glucagon like peptide-1 receptor agonists, GLP-1RAs)是一类被批准用于治疗 T2DM 的药物^[3]。最近 GLP-1RAs 治疗 NAFLD 的研究取得了进展,这类药物可能成为治疗 NAFLD 的新选择^[4]。本文综述了 GLP-1RAs 对 NAFLD 影响的重要研究,并分析了 GLP-

1RAs 对肝病有益作用的机制,以期扩大 GLP-1RAs 在 NAFLD 治疗中的应用。

1 NAFLD 的发病机制

NAFLD 的发生、发展是遗传因素、代谢因素和环境因素协同作用造成的,共同促进脂肪在肝细胞内蓄积^[5]。肝脏脂质运输、脂质合成和分解失衡是肝脏脂质代谢紊乱的主要原因,最终导致脂肪在肝细胞中过度蓄积,形成脂肪肝。而肝脏脂质堆积增加和脂质代谢异常导致炎症反应、内质网应激、氧化应激和肝细胞损伤死亡^[6]。在 NAFLD 中肝细胞的主要死亡形式有

凋亡、焦亡、坏死^[7]。肝细胞的死亡可促进肝脏固有细胞(如 Kupffer 细胞、窦状内皮细胞)和因损伤而招募的细胞(如单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞)都发出促炎信号(包括但不限于细胞因子、趋化因子等),同时引起肝星形细胞的激活,导致肝脏的炎性反应和纤维化^[8]。肝脏炎性反应可进一步促进肝细胞的损伤和死亡及肝星状细胞的活化^[9]。上述细胞之间的相互影响和相互作用所形成的恶性循环促进了 NAFLD 病情的进展。

2 GLP-1RAs 的生物学特性

GLP-1 是一种由肠道 L 细胞分泌的肽类激素。然而,循环中的 GLP-1 不稳定,可被二肽基肽酶-4 (DPP-4)快速鉴别和降解,因此它在体内的半衰期仅 2 min^[10]。GLP-1RAs 模拟天然 GLP-1 起作用,合成的 GLP-1RAs 对 DPP-4 具有抵抗力,并有较长的半衰期,这使临床治疗成为可能。艾塞那肽是 Exendin-4 的合成形式,与天然 GLP-1 具有约 53% 的氨基酸同源序列,半衰期为 3~4 h。利拉鲁肽是一种人工合成 GLP-1 类似物,与 GLP-1 氨基酸结构同源性达 97%,其半衰期为 11~15 h。GLP-1 通过作用于细胞膜上的 GLP-1 受体而在不同组织中发挥不同的作用。目前,GLP-1 受体广泛分布在胰腺、肾脏、脂肪和肝脏等组织中^[11]。GLP-1 除具有促进胰腺 β 细胞葡萄糖浓度依赖性分泌胰岛素,增强胰岛素敏感性等作用,还具有调节血脂、减少内脏脂肪和缓解肝脏脂肪病变的重要功能^[12]。

3 GLP-1RAs 改善 NAFLD 动物和临床研究证据

目前,7 种合成的 GLP-1RAs 已被批准并可用于治疗 T2DM^[13],分别是艾塞那肽、艾塞那肽长效释放剂、利拉鲁肽、albiglutide、dulaglutide、lixisenatide 和 semaglutide。近年来,多项研究证实了 GLP-1RAs 延缓 NAFLD 进展的作用。在高脂饮食喂养的 APOE * 3-Leiden 转基因小鼠中,GLP-1RAs 治疗 4 周显著降低肝脏脂质含量,并逆转高脂饮食诱导的肝脏脂肪变性^[14]。除单纯性脂肪变性的动物模型外,GLP-1RAs 对非酒精性脂肪性肝炎(NASH)也有显著的治疗作用。喂饲高反式脂肪的 ob/ob 和 C57BL/6J 小鼠可更好地模拟 NASH 患者的病理生理特征,GLP-1RAs 可显著降低高反式脂肪饮食小鼠的体质量、肝脏脂肪含量和血浆肝酶水平,并对肝脏疾病终点有明显的有益作用^[15]。GLP-1RAs 对人类 NAFLD 的有益作用已在多项研究中得到证实。在 AWARD 计划(AWARD-1、AWARD-5、AWARD-8 和 AWARD-9)的子分析已经证明,与安慰剂相比,dulaglutide 显著降低了血清转氨酶

活性和 γ -谷氨酰转肽酶水平^[16]。在 SUSTAIN-6 研究的子分析中,已证明 semaglutide 可降低丙氨酸氨基转移酶和高敏 C-反应蛋白^[17-18]。GLP-1RAs 已经成为 T2DM 合并 NASH 患者一种治疗选择,尽管尚不清楚 GLP-1R 激动剂是否通过肝脏中的 GLP-1R 直接作用于肝细胞减少肝脏脂肪变性或炎性反应^[19]。有学者报道,19 例经活检证实的 NASH 患者使用利拉鲁肽治疗 24 周后,体质量指数、内脏脂肪堆积、转氨酶和高血糖均有所降低,在利拉鲁肽治疗 96 周后,重复肝活检的 10 例患者中有 6 例肝脏组织学也有改善^[20]。

4 GLP-1RAs 改善 NAFLD 的作用机制

4.1 GLP-1RAs 对肝脏脂代谢的调节

肝脏的脂质平衡是通过游离脂肪酸流入肝脏、游离脂肪酸 β 氧化、脂肪从头生成和极低密度脂蛋白的分泌来维持的^[21]。任何环节的缺陷都会导致肝脏脂质蓄积。GLP-1 受体存在于人和啮齿动物的肝细胞中,体外研究结合体内研究数据表明,GLP-1 通过与 GLP-1 受体结合直接影响肝细胞的脂质代谢^[22]。

过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α) 是脂肪酸代谢的重要调节因子,主要在肝脏和骨骼肌中表达,调控脂肪酸分解代谢相关基因的表达,包括肝脏清除极低密度脂蛋白、脂肪酸摄取和氧化的基因^[23]。从 NASH 小鼠分离的肝细胞显示,PPAR- α 及其下游靶基因酰基辅酶 A 氧化酶 (ACOX) 和肉碱棕榈酰基转移酶 1A (CPT1A) 的表达降低^[24]。而 ACOX 和 CPT1A 分别参与过氧化物酶体和线粒体脂肪酸 β 氧化^[25]。因此,NAFLD 小鼠肝细胞脂肪酸氧化的能力受损。GLP-1RAs 还可通过介导 SIRT1 改善肝脏的脂肪沉积,这个作用是通过激活 AMPK 途径同时抑制 SREBP-1c 完成^[26]。因此,GLP-1RAs 通过增加脂肪酸 β 氧化,抑制肝脏新生脂肪生成,直接影响肝脏脂质代谢。

4.2 GLP-1RAs 对炎性反应信号与肝纤维化的调控

NAFLD 与肝脏慢性低度炎性反应有关^[27]。新的证据表明,代谢性炎性反应是脂肪肝的一个关键过程,并导致多器官并发症,这可通过免疫细胞亚群和体液因子的系统性改变检测出来^[28]。在肝脏和肝外器官中,这些信号可以促进细胞功能障碍、细胞死亡和有害组织重塑,这些改变都是为了维持器官结构和功能的完整性^[29]。而在 NAFLD 的慢性炎性反应中,巨噬细胞起着关键作用,研究表明巨噬细胞表达 GLP-1 受体并受 GLP-1 调控^[30]。Lee 等^[31]在肥胖小鼠过表达 GLP-1 可调控巨噬细胞从促炎 M1 表型转变到抗炎 M2 表型。利拉鲁肽通过提高肝脏 Kupffer 细胞(肝脏特异性巨噬细胞)M2/M1 比率降低 NAFLD 小鼠模型肝脏炎性反

应;体外研究发现,利拉鲁肽通过 cAMP-PKA-STAT3 信号通路调节 Kupffer 细胞向 M2 样活化^[32]。GLP-1RAs 还可以通过减少肝脏巨噬细胞的内流而抑制炎症反应,从而改善肝脏炎症反应^[33]。在化学诱导的 NASH 小鼠模型中,exendin-4 可减轻肝脏巨噬细胞的募集和肝脏炎症反应,同样,在遗传性 NASH 小鼠模型中,exendin-4 减少肝巨噬细胞浸润^[34]。总体而言,这些数据表明 GLP-1RAs 可通过免疫调节作用减轻肝脏炎症反应。

肝星状细胞占正常肝脏细胞的 8% ~ 14%,它的激活在肝纤维化的发生、发展起着重要作用。肝损伤后,肝星状细胞被激活促进组织修复,包括细胞动员、增殖、迁移至病变和细胞外基质成分的产生。当肝损伤持续存在时,肝星状细胞高表达促炎、促纤维化和增殖的标志物如肿瘤坏死因子- α 、转化生长因子 β 、血小板衍生生长因子受体 β 。GLP-1RAs 已被证明可改善肝纤维化和延缓 NASH 进展。利拉鲁肽可改善慢性肝病模型中肝星状细胞的表型,促进原代人肝星状细胞的失活,表现为 α -平滑肌肌动蛋白和胶原表达减少,伴随着肿瘤坏死因子- α 、转化生长因子 β 等细胞因子和增殖标志物的表达显著减少^[35]。GLP-1RAs 可抑制肝细胞的凋亡信号,进而抑制肝星状细胞的活化和纤维化^[2]。此外,GLP-1RAs 抑制 I 型胶原蛋白分泌改善肝纤维化^[15]。

4.3 GLP-1RAs 对氧化应激和内质网应激的改善 氧化应激和内质网应激在 NAFLD 的二次打击假说中起关键作用^[6]。NAFLD 患者肝细胞内过多的游离脂肪酸导致脂质过氧化和大量 ROS 产生,而 ROS 是氧化应激的主要指标,提示此时肝细胞微环境氧化应激的发生。丙二醛(MDA)是脂质过氧化反应的高级脂氧化终产物,机体内自由基的清除程度与细胞损伤可用肝组织中 MDA 的含量来间接反映^[36]。研究表明,GLP-1 可以保护肝细胞免受氧化应激和内质网应激的损伤^[37]。SOD 和 MDA 联合检测通常用来评估细胞的氧化应激水平^[38]。研究表明 exendin-4 可降低 ob/ob 小鼠肝脏中的 MDA 水平,利拉鲁肽可明显降低 NAFLD 动物模型肝脏 ROS、MDA 水平,升高 SOD 水平,利拉鲁肽这种作用可能是通过提高肝脏脂联素水平和失活 JNK1 来实现的^[39]。也有研究表明,利拉鲁肽可能通过 SIRT1/SIRT3-FoxO3a 促进自噬而减少氧化应激^[40]。

内质网应激和氧化应激在 NAFLD 的发病机制中是相互联系的过程。维持内质网氧化还原平衡对正常的内质网功能很重要,而内质网 H_2O_2 产生和清除途

径的改变会诱导内质网应激,并导致代谢功能障碍^[41]。作为 ROS 的重要来源之一,内质网的长期应激通过上调 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)的活性从而介导 ROS 的产生^[42]。研究表明,exendin-4、利拉鲁肽可降低 CHOP 的表达,同时增加了与自噬相关基因产物的表达,这对内质网应激具有保护作用^[43]。CHOP、caspase-12 和 JNK 通过增强它们的活性参与了 NAFLD 模型的内质网应激,而 GLP-1RAs 处理可显著抑制这些活化蛋白的表达而改善内质网应激^[44]。另一项研究报道,GLP-1RAs 还可直接调节内质网关键蛋白的功能和表达^[2]。微粒体三酰甘油转移蛋白(MTTP)是一种位于内质网腔内的必需蛋白,介导脂质向载脂蛋白 B 的转运,MTTP 对于防止脂肪酸超载内质网至关重要,它可以减少脂肪酸引起的脂毒性损伤^[45]。NAFLD/NASH 患者 MTTP 表达降低,利拉鲁肽治疗后 MTTP 表达明显增加^[36]。

5 结 语

在过去的 10 年中,关于 NAFLD 病理生理学的新知识不断积累,显示了这种疾病发展过程中机制的复杂性。目前治疗 NAFLD 的方法仍然有限,疗效仍然较差。除通过生活方式干预来减肥外,还需要针对脂肪代谢、炎症反应等的药物治疗。GLP-1RAs 是一种被批准用于治疗 2 型糖尿病的药物。近年来,多项研究证实 GLP-1RAs 延缓 NAFLD/NASH 进展的作用。GLP-1 不仅通过胰岛素效应间接逆转 NAFLD/NASH 的进展,改善 NAFLD 相关的关键参数,而且直接影响肝细胞的脂质代谢和肝脏炎症反应。GLP-1RAs 可能通过这些不同的途径发挥作用。然而,大多数现有的 GLP-1RAs 对于 NAFLD 的适应证研究仍不透彻;同时由于缺乏大规模的临床研究,迫切需要开展随机对照的多中心试验进一步阐明。

参考文献

- [1] Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement [J]. *J Hepatol*, 2020, 73 (1): 202-209. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.03.039.
- [2] Liu J, Wang G, Jia Y, et al. GLP-1 receptor agonists: effects on the progression of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2015, 31 (4): 329-335. DOI: 10.1002/dmrr.2580.
- [3] Bajaj HS, Al-Jabri B, Verma S. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists and cardiovascular protection in type 2 diabetes: a pathophysiology-based review of clinical implications [J]. *Curr Opin Cardiol*, 2018, 33 (6): 665-675. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000562.
- [4] Ranjbar G, Mikhailidis DP, Sahebkar A. Effects of newer antidiabetic drugs on nonalcoholic fatty liver and steatohepatitis: Think out of the box [J]. *Metabolism*, 2019, 101: 154001. DOI: 10.1016/j.

- metabol.2019.154001.
- [5] Marchisello S, Di Pino A, Scicali R, et al.Pathophysiological, molecular and therapeutic issues of nonalcoholic fatty liver disease: An Overview [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019,20(8):1948.DOI: 10.3390/ijms20081948.
- [6] Cantley JL, Yoshimura T, Camporez JP, et al.CGI-58 knockdown sequesters diacylglycerols in lipid droplets/ER-preventing diacylglycerol-mediated hepatic insulin resistance [J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013,110(5):1869-1874.DOI: 10.1073/pnas.1219456110.
- [7] 郭亮, 汤其群.非酒精性脂肪肝病发病机制和治疗的研究进展 [J]. 生命科学, 2018,30(11):1165-1172.DOI: 10.13376/j.cbls/2018141.
- [8] Brenner C, Galluzzi L, Kepp O, et al.Decoding cell death signals in liver inflammation [J].J Hepatol, 2013,59 (3):583-594.DOI: 10.1016/j.jhep.2013.03.033.
- [9] Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, et al.Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies [J].Nature Medicine, 2018,24(7):908-922.DOI: 10.1038/s41591-018-0104-9.
- [10] Cao C, Yang S, Zhou Z.GLP-1 receptor agonists and pancreatic safety concerns in type 2 diabetic patients: data from cardiovascular outcome trials [J].Endocrine, 2020, 68(3):518-525.DOI: 10.1007/s12020-020-02223-6.
- [11] Yang P, Liang Y, Luo Y, et al.Liraglutide ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in diabetic mice via the IRS2/PI3K/Akt signaling pathway [J].Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity : Targets and Therapy, 2019,12:1013-1021.DOI: 10.2147/DMSO.S206867.
- [12] Zhao P, Liang YL, Belousoff MJ, et al.Activation of the GLP-1 receptor by a non-peptidic agonist [J].Nature, 2020,577(7790):432-436.DOI: 10.1038/s41586-019-1902-z.
- [13] Tarantino G, Balsano C.Gastrointestinal peptides and nonalcoholic fatty liver disease [J].Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity, 2020, 27 (1): 11-15. DOI: 10.1097/MED.0000000000000514.
- [14] Parlevliet ET, Wang Y, Geerling JJ, et al.GLP-1 receptor activation inhibits VLDL production and reverses hepatic steatosis by decreasing hepatic lipogenesis in high-fat-fed APOE* 3-Leiden mice [J].PLoS One, 2012, 7 (11): e49152. DOI: 10.1371/journal.pone.0049152.
- [15] Mells JE, Fu PP, Sharma S, et al.Glp-1 analog, liraglutide, ameliorates hepatic steatosis and cardiac hypertrophy in C57BL/6J mice fed a Western diet [J].American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2012,302 (2): G225-235. DOI: 10.1152/ajpgi.00274.2011.
- [16] Cusi K, Sattar N, Garcia-Perez LE, et al.Dulaglutide decreases plasma aminotransferases in people with Type 2 diabetes in a pattern consistent with liver fat reduction: a post hoc analysis of the AWARD programme [J].Diabetic Medicine, 2018,35(10):1434-1439. DOI: 10.1111/dme.13697.
- [17] Sumida Y, Yoneda M, Tokushige K, et al.Antidiabetic therapy in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis [J].International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (6): 1907. DOI: 10.3390/ijms21061907.
- [18] Newsome P, Francque S, Harrison S, et al.Effect of semaglutide on liver enzymes and markers of inflammation in subjects with type 2 diabetes and/or obesity [J].Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2019,50(2):193-203.DOI: 10.1111/apt.15316.
- [19] Kothari S, Dhami-Shah H, Shah SR.Antidiabetic drugs and statins in nonalcoholic fatty liver disease [J].J Clin Exp Hepatol, 2019,9(6): 723-730.DOI: 10.1016/j.jceh.2019.06.003.
- [20] Petit JM, Cercueil JP, Loffroy R, et al.Effect of liraglutide therapy on liver fat content in patients with inadequately controlled type 2 diabetes: The Lira-NAFLD Study [J].The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2017,102(2):407-415.DOI: 10.1210/je.2016-2775.
- [21] 邵幼林, 范建高.非酒精性脂肪性肝病患者肝脏脂肪的来源与去路 [J].国际消化病杂志, 2019,39(5):316-320.DOI:10.3969/j.issn.1673-534X.2019.05.003.
- [22] 林楚曼, 林伟浩, 周蕊, 等.GLP-1 缓解非酒精性脂肪性肝病相关信号通路的研究进展 [J].国际内分泌代谢杂志, 2018,38(3):179-182.DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2018.03.009.
- [23] Shen Y, Xiao X, Wu K, et al.Effects and molecular mechanisms of Ninghong black tea extract in nonalcoholic fatty liver disease of rats [J].Journal of Food Science, 2020,85 (3):800-807.DOI: 10.1111/1750-3841.14846.
- [24] Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C, et al.Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis [J].Liver International, 2011,31 (9): 1285-1297. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02462.x.
- [25] Wang Y, Nakajima T, Gonzalez FJ, et al.PPARs as metabolic regulators in the liver: Lessons from liver-specific PPAR-null mice [J].International Journal of Molecular Sciences, 2020,21(6):2061. DOI: 10.3390/ijms21062061.
- [26] Xu F, Li Z, Zheng X, et al.SIRT1 mediates the effect of GLP-1 receptor agonist exenatide on ameliorating hepatic steatosis [J].Diabetes, 2014,63(11):3637-3646.DOI: 10.2337/db14-0263.
- [27] Gehrke N, Schattenberg JM.Metabolic inflammation - a role for hepatic inflammatory pathways as driver of comorbidities in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J].Gastroenterology, 2020,158(7):1929-1947, e6.DOI: 10.1053/j.gastro.2020.02.020.
- [28] Hotamisligil GS.Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders [J].Nature, 2017,542(7640):177-185.DOI: 10.1038/nature21363.
- [29] Schuppan D, Surabattula R, Wang XY.Determinants of fibrosis progression and regression in NASH [J].J Hepatol, 2018,68(2):238-250.DOI: 10.1016/j.jhep.2017.11.012.
- [30] Hogan AE, Gaoatswe G, Lynch L, et al.Glucagon-like peptide 1 analogue therapy directly modulates innate immune-mediated inflammation in individuals with type 2 diabetes mellitus [J].Diabetologia, 2014,57(4):781-784.DOI: 10.1007/s00125-013-3145-0.
- [31] Lee YS, Park MS, Choung JS, et al.Glucagon-like peptide-1 inhibits adipose tissue macrophage infiltration and inflammation in an obese mouse model of diabetes [J].Diabetologia, 2012,55(9):2456-2468. DOI: 10.1007/s00125-012-2592-3.

- [32] Li Z, Feng PP, Zhao ZB, et al. Liraglutide protects against inflammatory stress in non-alcoholic fatty liver by modulating Kupffer cells M2 polarization via cAMP-PKA-STAT3 signaling pathway[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 510 (1): 20-26. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.12.149.
- [33] Qiao YL, Qian JM, Wang FR, et al. Butyrate protects liver against ischemia reperfusion injury by inhibiting nuclear factor kappa B activation in Kupffer cells[J]. The Journal of Surgical Research, 2014, 187(2): 653-659. DOI: 10.1016/j.jss.2013.08.028.
- [34] Yamamoto T, Nakade Y, Yamauchi T, et al. Glucagon-like peptide-1 analogue prevents nonalcoholic steatohepatitis in non-obese mice[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(8): 2512-2523. DOI: 10.3748/wjg.v22.i8.2512.
- [35] De Mesquita FC, Guixé-Muntet S, Fernández-Iglesias A, et al. Liraglutide improves liver microvascular dysfunction in cirrhosis: Evidence from translational studies[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3255. DOI: 10.1038/s41598-017-02866-y.
- [36] 周亚宾, 华进, 戚伶俐, 等. 姜黄素预处理对急性缺血再灌注模型大鼠肝脏的保护作用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2020, 46(2), 297-301, 433. DOI: 10.13481/j.1671-587x.20200215.
- [37] Ben-Shlomo S, Zvibel I, Shnell M, et al. Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase[J]. J Hepatol, 2011, 54(6): 1214-1223. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.09.032.
- [38] 周玉娣, 蒋为, 周萍. 黄芩素通过上调 miR-7-5p 影响脂多糖诱导的肾小球上皮细胞氧化应激及凋亡[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(10): 1860-1866. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2020.10.018.
- [39] Gao H, Zeng Z, Zhang H, et al. The Glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide inhibits oxidative stress and inflammatory response in the liver of rats with diet-induced non-alcoholic fatty liver disease[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2015, 38(5): 694-702. DOI: 10.1248/bpb.b14-00505.
- [40] Tong W, Ju L, Qiu M, et al. Liraglutide ameliorates non-alcoholic fatty liver disease by enhancing mitochondrial architecture and promoting autophagy through the SIRT1/SIRT3-FOXO3a pathway[J]. Hepatology Research, 2016, 46(9): 933-943. DOI: 10.1111/hepr.12634.
- [41] Ashraf NU, Sheikh TA. Endoplasmic reticulum stress and Oxidative stress in the pathogenesis of Non-alcoholic fatty liver disease[J]. Free Radical Research, 2015, 49(12): 1405-1418. DOI: 10.3109/10715762.2015.1078461.
- [42] Chen Z, Tian R, She Z, et al. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2020, 152: 116-141. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025.
- [43] Rahman K, Liu Y, Kumar P, et al. C/EBP homologous protein modulates liraglutide-mediated attenuation of non-alcoholic steatohepatitis[J]. Laboratory Investigation, 2016, 96(8): 895-908. DOI: 10.1038/labinvest.2016.61.
- [44] Ao N, Yang J, Wang X, et al. Glucagon-like peptide-1 preserves non-alcoholic fatty liver disease through inhibition of the endoplasmic reticulum stress-associated pathway[J]. Hepatology Research, 2016, 46(4): 343-353. DOI: 10.1111/hepr.12551.
- [45] Sirwi A, Hussain MM. Lipid transfer proteins in the assembly of apoB-containing lipoproteins[J]. J Lipid Res, 2018, 59(7): 1094-1102. DOI: 10.1194/jlr.R083451.

(收稿日期: 2020-09-10)

作者 · 编者 · 读者

关于参考文献标注和著录的要求

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

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

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