



主 管
中华人民共和国国家
卫生健康委员会

主 办
中国医师协会

编 辑
疑难病杂志编辑委员会

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

名誉总编辑
吴以岭

总编辑
贾振华

社长 主编
马 智

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

印 刷
石家庄市汇昌印刷有限公司

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

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

零 售
疑难病杂志编辑部

广告发布登记号
石高新 13010120190001 号

定 价
每期 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

党为人民谋健康 100 年

我国生命健康文化体系建设思考 王立祥 刘中民 973

恶性肿瘤专题

京尼平苷对肺癌 H1975 细胞增殖和转移的抑制作用

及 SIRT1/NF- κ B 信号通路的影响 杨谦 张军 马玉泉 谭雪敏 977

培美曲塞联合顺铂治疗晚期非小细胞肺癌患者对

CEA 等标志物表达的影响 朱艳 王瑞凯 李阿敏 霍龙 982

沉默 MMP-9 对喉癌细胞侵袭、迁移及 PI3K/Akt 磷酸化

水平的影响 左文娜 朱虹 金爱燕 王强 王洪琴 987

术前预后营养指数、白蛋白/碱性磷酸酶比值对肾癌患者

行肾根治性切除预后的评估价值 蒲永昌 汪勇 郭钊 刘林海 992

HIF-1 α 参与调控三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞化疗耐药

及体内外增殖的机制研究 王亮 黄琰菁 姜娜娜 吴煥良 997

论著·临床

自发性脑出血患者血清 CXCL1、CXCR2 表达水平

及临床意义 张皓春 陈忠 文泽贤 刘春平 蒲国明 刘素君 1003

血小板—纤维蛋白凝块强度、P-选择素与急性脑梗死

患者复发的相关性及其预测价值

..... 玄洪雷 啜红斐 李珊珊 张宁宁 吴兵 郝新斌 1008

铁稳态失调在介导 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者贫血发生中的

作用机制研究 林石宁 王发辉 石慧芳 徐建光 陈山 1012

扶正活血化痰法联合抗生素对老年肺炎患者肺功能的影响	刘泽林 刘丹丹 邹月 姜星屹 王伟 董国岭 郭琳娜 陈玉	1017
外周血 6 种白介素对脓毒症相关血小板减少的诊断价值	李明 周志刚 王伟琴 王瑞兰 黄培杰	1022
夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛缓释胶囊对ⅢB型前列腺炎伴性功能障碍的 疗效观察	左岩 马志强 张翼 梁立彬 徐芝立 刘巍	1027
自拟补肾活血方联合重组人粒细胞刺激因子治疗免疫性复发性流产的疗效分析	谢春红 梁松岳 钱平 彭艳丽 谢锂岑	1031
宫颈弹性成像联合阴道超声预测宫颈机能不全孕妇早产的价值	熊德庆 申俊玲 谢萍 罗汝琼	1036
绝经后骨质疏松患者血清Hepcidin、s-P I NP、s-HJV水平与骨折的关系	高维松 陈荣 王隆辉 吴昌新	1040
论著·基础		
绞股蓝提取物通过调控lncRNA PICSAR对IL-1β诱导软骨细胞损伤的保护作用 及机制研究	刘文斌 李艳兵 周焱涛	1045
罕少见病例		
乳腺罗道病1例	杨敏 赵国林 张东伟	1050
成年型球形细胞脑白质营养不良1例	冯雪丹 于莎莎 张玉靖 祖煜 高煜 陈剑华 马红梅 王向波	1051
综 述		
经皮冠状动脉介入治疗对内皮功能影响的研究进展	张楷 李伟	1053
慢性心力衰竭合并骨骼肌萎缩的机制研究进展	陈喆 宿玮洁 张美沙 常宏	1057
非编码RNA在百草枯中毒机制中的研究进展	孟婷婷 李铁刚	1063
原发中枢神经系统淋巴瘤研究进展	宋颖 韩叶 吴重阳	1067
床旁即时超声对急重症疑难病患者诊断与评估研究进展	赵浩天 刘奕 李会英 薛红元	1072
Noonan综合征发病机制的研究进展	罗光月 陆韦	1077
作者·编者·读者		1021

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 20, Number 10 18 October, 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 Diangui

Honorary Editor-in-Chief

Wu Yiling

Editor-in-Chief

Jia Zhenhua

Managing Director

Ma Zhi

Publishing

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

Printing

Shijiazhuang Huichang Printing House

Overseas Distributor

China International Book
Trading Corporation
Code No. M6888

Overseas Price

\$ 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 editorial
board, unless clearly specified.

CONTENTS

CPC Pursuing Health for People: 100 Years Review

Thinking on the construction of life health culture system in China

..... Wang Lixiang, Liu Zhongmin 973

Tumor Prevention and Treatment

The inhibitory effect of geniposide on the proliferation and metastasis of lung

cancer H1975 cells and the influence of SIRT1/NF- κ B signaling pathway

..... Yang Qian, Zhang Jun, Ma Yuquan, et al 977

Effect of pemetrexed combined with cisplatin neoadjuvant chemotherapy on the

expression of CEA and other markers in patients with non-small

cell lung cancer Zhu Yan, Wang Ruikai, Li Amin, et al 982

The effect of silencing MMP-9 on the invasion, migration and PI3K/Akt

phosphorylation level of laryngeal carcinoma cells

..... Zuo Wenna, Zhu Hong, Jin Aiyun, et al 987

Preoperative prognostic nutritional index and albumin/alkaline phosphatase ratio

in evaluating the prognosis of patients with renal cell carcinoma undergoing

radical nephrectomy Pu Yongchang, Wang Yong, Guo Chuan, et al 992

HIF-1 α participates in the regulation of triple-negative breast cancer

MDA-MB-231 cell chemotherapy resistance and the mechanism of

in vitro and in vivo proliferation

..... Wang Liang, Huang Yanjing, Lou Nana, et al 997

Original Article: Clinical Research

Expression levels and clinical significance of CXCL1 and CXCR2 in serum of

patients with spontaneous intracerebral hemorrhage

..... Zhang Haochun, Chen Zhong, Wen Zexian, et al 1003

Analysis of the correlation between ADP-induced platelet-fibrin clot strength, P-selectin and recurrence in patients	
with acute cerebral infarction and its predictive value	Xuan Honglei, Chuai Hongfei, Li Shanshan, et al 1008
Study on the mechanism of iron homeostasis disorder in mediating anemia in COPD patients with type II respiratory failure	
.....	Lin Shining, Wang Fahui, Shi Huifang, et al 1012
Study on the effect of Fuzhenghuoxuehuatan method combined with antibiotics on pulmonary function in the elderly patients	
with pneumonia	Liu Zelin, Liu Dandan, Zou Yue, et al 1017
Diagnostic value of six kinds of interleukins in peripheral blood for sepsis-related thrombocytopenia	
.....	Li Ming, Zhou Zhigang, Wang Weiqin, et al 1022
Observation on the curative effect of Xialiqi capsules combined with tamsulosin hydrochloride sustained-release capsules	
on type III B prostatitis with sexual dysfunction	Zuo Yan, Ma Zhiqiang, Zhang Yi, et al 1027
Therapeutic effect analysis of self-made Bushenhuoxue decoction combined with recombinant human granulocyte stimulating	
factor on immune recurrent abortion	Xie Chunhong, Liang Songyue, Qian Ping, et al 1031
The value of cervical elastography combined with vaginal ultrasound in predicting premature delivery in pregnant women	
with cervical insufficiency	Xiong Deqing, Shen Junling, Xie Ping, et al 1036
The relationship between serum levels of Hepcidin, s-P I NP, s-HJV and fractures in postmenopausal patients with	
osteoporosis	Gao Weisong, Chen Rong, Wang Longhui, et al 1040
Original Article ; Basic Research	
The protective effect and mechanism of gynostemma pentaphyllum extract on IL-1β-induced chondrocyte damage	
by regulating lncRNA PICSAR	Liu Wenbin, Li Yanbing, Zhou Yantao 1045
Rare Case Report	
Rosai-Dorfman disease of the breast ; a case report	
	Yang Min, Zhao Guolin, Zhang Dongwei 1050
Adult-onset globoid cell leukodystrophy ; a case report	
	Feng Xuedan, Yu Shasha, Zhang Yujing, et al 1051
Review	
Review on the effect of percutaneous coronary intervention on endothelial function	
	Zhang Kai, Li Wei 1053
Mechanism research progress of chronic heart failure combined with skeletal muscle atrophy	
.....	Chen Zhe, Su Weijie, Zhang Meisha, et al 1057
Research progress of non-coding RNA in the mechanism of paraquat poisoning	
	Meng Tingting, Li Tiegang 1063
Research advances of primary central nervous system lymphoma	
	Song Ying, Han Ye, Wu Chongyang 1067
Research progress of bedside ultrasound in diagnosis and evaluation of patients with severe and difficult diseases	
.....	Zhao Haotian, Liu Yi, Li Huiying, et al 1072
Research progress on the pathogenesis of Noonan syndrome	
	Luo Guangyue, Lu Wei 1077

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 001

党为人民谋健康 100 年

我国生命健康文化体系建设思考

王立祥, 刘中民

基金项目: 全军医学科技“十二五”心肺复苏重点项目(BWS11J077)

作者单位: 100039 北京, 解放军总医院第三医学中心原急诊科(王立祥); 200005 上海, 同济大学附属东方医院(刘中民)

通信作者: 刘中民, E-mail: liu. zhongmin@ tongji. edu. cn

【关键词】 生命健康; 文化建设; 理论体系; 中国共产党建党百年

【中图分类号】 R-02

【文献标识码】 A

2020 年 9 月 11 日, 中共中央总书记习近平在北京主持召开科学家座谈会提出, 我国经济社会发展和民生改善比过去任何时候都更加需要科学技术解决方案, 都更加需要增强创新这个第一动力, 希望广大科学家和科技工作者肩负起历史责任, 坚持面向世界科技前沿、面向经济主战场、面向国家重大需求、面向人民生命健康, 不断向科学技术广度和深度进军。这是党的十九届五中全会首次对科技创新提出了“面向人民生命健康”的新方向, 也是党中央在“面向世界科技前沿、面向经济主战场、面向国家重大需求”基础上, 根据新型冠状病毒肺炎疫情、坚持“科技为民”作出的新部署。应深入理解“人民生命健康”在人类社会进步、国家发展及新科技革命和产业变革中的历史方位, 厘清我国在“人民生命健康”有关领域科技创新的基础条件, 进一步明确构建“面向人民生命健康”科技创新体系的主要任务, “十四五”时期, 在习近平新时代中国特色社会主义思想指导下, 力争在关系人民生命健康的若干领域实现突破, 而发展与其相适应的中华特色生命健康文化, 更是新时代赋予共产党人的使命担当, 也为广大生命健康文化工作者施展搭建了一个大舞台。人类最基本的追求就是生命健康, 生命健康是人民构建美好生活的基石, 如何以人民生命健康文化需求为导向, 探索人民生命健康文化新模式, 发展人民生命健康文化新业态, 弘扬以人为本的生命健康文化观, 需深入挖掘生命健康文化之源、开拓生命健康文化之径、普惠生命健康文化之众, 构建生命健康文化体系势在必行^[1-4]。

1 生命健康文化之源

生命健康是人类社会永恒不变的追求目标, 而文化是连接生命与健康的仁爱纽带, 生命健康文化是孕育华夏民族兴旺发达的文明源泉。恰逢百年未遇世界大变

局之际, 尤其是新冠疫情给人类生命健康带来严重威胁之时, 举国上下秉承“生命至上、人民至上”宗旨, 取得了世人瞩目的战“疫”成果, 催发了世人对生命健康文化内涵的深刻认知, 以人为本的生命健康文化核心价值观彰显了华夏文明之软实力。坚定人民生命健康红色文化观, 发展人民生命健康绿色文化观, 弘扬人民生命健康本色文化观是生命健康文化“三色”发展观^[5-8]。

1.1 生命健康红色革命文化价值观 红色是人民生命健康文化所系之色。从党成立那天起就把保障人民生命健康同争取民族独立、人民解放事业紧紧联系在一起, 传承中国共产党全心全意为人民服务的红色基因是时代使命。坚持以人民为中心、奉行人民至上, 确立了把人民生命健康放在优先发展的战略地位, 以成为民族昌盛和国家富强的重要标志。这充分体现了我们党重视人民生命健康事业、关注人民生命健康权益、实现人民生命健康福祉的根本追求, 是党坚定捍卫人民生命健康红色文化观的基石。发展中国特色社会主义文化, 是新时代中国特色社会主义思想的重要组成部分, 是提高国家文化软实力, 是物质健康文明、精神健康文明、身心健康文明的社会主义先进文化的整体理念, 更是现代生命健康文化建设者的使命担当。经过长期不懈努力, 人民生命健康水平显著提高, 从站起来、富起来到强起来, 有赖于开辟了一条符合中国国情的红色生命健康文化发展之路。

1.2 生命健康绿色先进文化世界观 绿色是人民生命健康文化所存之色。健康中国、美丽中国、平安中国勾勒了全体中华儿女的美好家园, 良好的绿色生态环境是人类生命健康的基础。按照绿色发展的理念, 普及生命健康生活、优化生命健康服务、完善生命健康保障, 秉持满足人民生命健康需求的绿色文化观, 着力打好“天蓝、水清、土净”三大战役, 营造“绿水青山就是

金山银山”的生态文明、生存文明、生活文明。把生命健康融入所有政策,不断满足人民日益增长的美好生活需要,让全体人民共享获得感、幸福感、安全感,坚持发展人与环境的共生、共存、共荣,营造天、地、人和谐的生命健康文化氛围,是满足人民生命健康文化需求、适应社会生命健康文化要求、紧跟时代生命健康文化追求的健康中国绿色发展之路。

1.3 生命健康本色传统文化历史观 本色是人民生命健康文化所承之色。汲取中华民族五千年的生命健康文化精髓,探寻中华生命健康文化宝库,镌刻腾龙向上、黄河向善、长城向信的生命健康文化符号,让“生命健康文化”真正汇入到中华文化文明的本色之中。中医药是中华文明瑰宝,中医药凝聚着中国人民和中华民族的博大智慧,传承精华、守正创新是新时代生命健康文化工作者的使命担当,如何古为今用、中西合用、中为洋用,是我们应当奋斗书写好的时代答卷。面对世界百年未有之大变局,明确中国特色社会主义进入新时代,应对生物技术与信息技术重大挑战,坚守“上医治未病、中医治欲病、下医治已病”,以人民生命健康为中心是立足本土化、融入国际化、迈向现代化的生命健康文化本色发展之路。

1.4 生命健康“三色”立体文化观 在我国全面建成小康社会、实现第一个一百年奋斗目标之后,完整、准确、全面地推动生命健康文化观,籍以更好的为人类生命健康服务。生命健康文化是一个人享受幸福生活的基础,生命健康文化是一个家庭开创美好未来的基业,生命健康文化是屹立世界东方的基石。生命健康文化的发展,离不开创新生命健康文化科学理论、科学技术、科学普及这三方面工作。坚定红色、发展绿色、弘扬本色生命健康“三色”立体文化观,衬托出为人民生命健康服务与时代共频的底色,有利于推进健康中国战略,迈入为天地立心、为民族立业、为人民立命的民族伟大复兴新时代,走出一条中国特色的生命健康文化之路。

2 生命健康文化之径

从古到今,生命健康长寿都是人类追求的目标和理想,透过世界卫生组织(WHO)个人健康寿命 60% 取决于自身生活方式和素质的数据,表明健康素养是生命健康的主要决定因素,人类已进入“我的生命健康我做主”的新时期。然而,就个人健康和寿命而言,7% 取决于气候影响,8% 取决于医疗条件,10% 取决于社会因素,15% 取决于遗传……可见生命健康绝不是独善而行的,融入全周期时间、全方位世间、全维度空间,谓之“三间”之径,营造出人与人、人与社会、人

与自然和谐共生的生命健康新局面,铸就生命健康文化生态循环系统^[9-12]。

2.1 生命健康全周期时间之径 从生命健康全周期时间“长度”出发,搭建贯穿人们生老病死全周期人人之格局。个人健康寿命 60% 取决于自身生活方式和素质,其中人的生命健康素养,与群体的发病率、死亡率乃至平均期望寿命相关,不仅取决于在世的“中人”,而且关乎到过世的“前人”和末世的“后人”。而且“前人”能否将健康的生活方式传承给“后人”,“中人”发挥好承“前人”启“后人”生命健康时代延续的重要纽带作用,是中华血脉相承、薪火相传最根本的人文方式,站在人类生命健康历史与现实交汇处,把控好个体生命健康状态,需处理好人与人之间的关系,融入人与人生命健康全周期时间之径正逢其时。

2.2 生命健康全方位世间之径 从生命健康全方位世间“宽度”出发,构建覆盖人们生老病死全方位社会之格局。生命健康不仅取决于人与人全周期时间“长度”,也取决于人与社会全方位世间“宽度”。个体生命健康除身心因素外,也与社会适应性密切相关,其中 10% 就取决于社会因素。世界卫生组织将“健康”(Health)定义为:健康乃是一种身体上、心理上和社会适应性完好状态。把握完好个体生命健康状态,需处理好人与社会生命健康之关系,包括与生命健康个体、集体、国体之间的关系;乃至与个体相伴的生理、心理、伦理和社会适应的相互关系,融入人与社会生命健康全方位“世间”之径中,创造出和谐共生的生命健康社会新生态。

2.3 生命健康全维度空间之径 从生命健康全维度空间“高度”出发,构建涵盖人们生老病死全维度自然之格局。生命健康除了人与人全周期时间“长度”、人与社会全方位世间“宽度”外,还取决于人与自然全维度空间“高度”。个体生命健康 7% 取决于气候因素影响,频发的自然灾害一次次为人们敲响了警钟,把握好个体生命健康状态,需处理好人与自然和谐共存的关系,融入人与自然全维度“空间”之格局就显得尤为重要。护佑地球这一人类共同的家园,秉持“天人合一”“道法自然”“绿水青山就是金山银山”的人与自然和谐相处绿色发展生态观,立足本土化、融入国际化、迈向现代化,着力打好“天蓝、水清、土净”三大战役,将为人类卫生健康命运共同体“万物与我齐一”的生命健康创造新机遇。

2.4 生命健康“三间”立体之径 围绕生命健康主题,汇聚人与人全周期时间、人与社会全方位世间、人与自然全维度空间构筑的“三间”生命健康新格局,

它是顺应百年未遇大变局而生,是华夏民族生命健康之智慧,更是智能时代的数字革命赋予个体生命健康一次深刻变革。“三间”相辅相成相向而行,把人类生老病死的命运融入到生命健康的大格局中,将会提升个体创造生命健康内生动力,变成人类生命健康的强大生命力,以利于人与人、人与社会、人与自然三大关系的和谐共存。以老庄为代表提出“养生”(庄子·养生主)指出“人上寿百岁,中寿八十,下寿六十”的昔日;今天提出“小康寿” ≥ 80 岁、“中康寿” ≥ 100 岁、“大康寿” ≥ 120 岁,愿人类在“三间”新格局中,伴随生命健康的脚步,一道踏上仁寿安康立体“厚命”之旅……

3 生命健康文化之众

生命健康概念的演变主要经历了 3 个阶段:第一阶段是 1948 年以前,当时大家比较认可的健康定义主要是“个体无病,即健康”;第二阶段是 1948—2011 年,由 WHO 给健康的定义为一个人身体没有出现疾病或虚弱现象,而同时一个人生理上、心理上和社会上是完好状态;第三阶段是 2011 年荷兰的健康学者马特尔德·休伯(Machteld Huber)提出,健康应当是个体在面对社会、躯体和情感挑战时的适应和自我管理能力。综上,不难看出人类对于生命健康定义认识的进步,从点性思维到线性思维再到平面思维的演变历程。但无论是 WHO 的健康定义克服了把“健康”视作“没有疾病”的狭隘生物医学角度,将健康扩展到躯体、精神和社会领域,还是马特尔德·休伯提出的健康 6 个维度:躯体功能、精神功能和感知、灵性维度、生活质量、社会和社交参与及日常自理功能,其共性仍是从个体生命健康角度出发而论及“健康”的定义。如此而言,生命健康不仅取决于每个鲜活的个体生活方式选择和素质程度,而且不容忽略的是在人类生命健康长河中,如何将“前人”生命健康的血脉传递给“后人”才是生命健康质量的有力保障,它依赖于每个“中人”承“前人”启“后人”共同组成的生命健康文化之众,故“前人”“中人”“后人”正是人类生命健康运行轨迹中不可或缺的同路人^[6,13-15]。

3.1 生命健康“前人”文明 对“前人”(过世者)如何发掘“死而复生”的再生生命健康物质文明价值,摒弃“死而害生”的封建迷信陈规陋习,倡导精神文明新风尚,树立“前人栽树,后人乘凉”的生命健康文化历史观(past tense of human health);有生有死,有始有终,生命才是完整的。只有摒弃守旧观念,树立正确的“死亡观”,超脱问题之表象,以宏观的眼光再次审视与理解死亡,才能够真正认识到生命的终极意义与价值。在充分尊重中国传统文化的同时,革故鼎新,启发

人们既能幸福地“生”,亦可坦然地“归”,获得精神生命的平静与不朽:一“遗体”归承“遗像”;二“植棺”归承“植树”;三“腐生”归承“新生”;四“寿命”归承“厚命”;五“哀乐”归承“安乐”;六“假相”归承“真相”;七“凡心”归承“善心”。

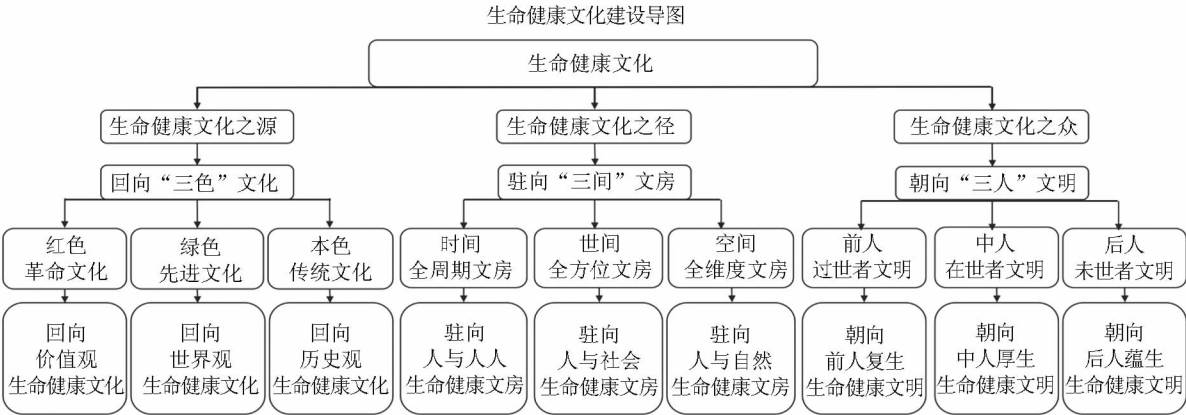
3.2 生命健康“中人”文明 对“中人”(在世者)紧扣生命健康主题“厚生”而为,从时间、空间、世间三间维度着手,细心编织与“前人”“后人”(末世者)的生命健康物质与精神文明纽带,展现当今人类与社会自然和谐共处的“天、地、人”生命健康发展现实观(present tense of human health);践行人民生命健康文化,以人为本之“中人”发挥“厚生”之责尤为重要,以往对生命健康的定义多停留在个体健康的层面,而在健康尚从属于国家治理、社会保障和生态环境等诸多因素决定的今天,这种就“个体论个体”的健康已明显力不从心了;它决定了“中人”们如何把握住生命健康的本质,满足人民生命健康需求、适应社会生命健康要求、紧跟时代生命健康追求之目的。故时代呼唤个人、家庭、社会三者结合,开启个体、群体、全体三位一体的“立体健康”厚生理念!

3.3 生命健康“后人”文明 对“后人”(末世者)孕育“生而扶生”的新生生命健康科学思想,营造山美、水美、人更美的绿色生存、生活、生态环境,贯穿防“未病”的生命健康未来观(future tense of human health)。以生命之“生”与身心之“健康”为主线,守护好“后人”生命健康本源,打造好“后人”生命健康“心生”之环,倡导生命健康“七生”法则:一健康创生,二健康仁生,三健康卫生,四健康养生,五健康救生,六健康悦生,七健康蕴生;可谓是“后人”生命健康文明的价值源泉。“后人”生命健康文明不仅是个人资源、家庭资源,也是社会的基本资源,更是经济发展、社会进步、民族兴旺、国家繁荣的有力保证。全面提升我国“后人”健康素养水平,有赖于培育“后人”生命健康的土壤,有赖于培养“后人”生命健康的种子,有赖于培植“后人”生命健康的根苗。

3.4 生命健康“三人”文明 从“前人”生命健康历史观、“中人”生命健康发展现实观到“后人”生命健康未来观,“三观”纳入人类全生命周期中统筹管理,植入“三人”生命健康的新理念,铸成“前人—中人—后人”生命健康整体生态循环系统,形成缺一不可的“三人”众之环良性生态圈,循环往复以至无穷,必将造福于人类生命健康之伟业!党的十九届五中全会提出,全面建成小康社会、实现第一个百年奋斗目标之后,还应趁势而上从“小康”到“中康”,乃至“大康”,充分认识生

命健康不是静态、一成不变、停滞不前的,生命健康长寿是人类对美好生活永恒不变的追求,明确人类进入生命健康新时期,秉持人类植入“三人”生命健康发展新理念,坚持以人民为中心的生命健康发展思想,坚持发展为了人民、发展依靠人民,发展成果由人民共享的现代生命健康观,全心全意为人民生命健康服务。在世界经历百年未有大变局之际,人类从古至今对美好生命健康文化的追求始终不变。生命健康文化为促进人类全面发展提供基本保障,是构建人类卫生健康命运共同体之根本。基于世界卫生组织的大数据分析,人类健康和寿命 60% 取决于自身健康生活方式与素质,充分赋予了人类以个体为中心的生命健康权。然

而,人类社会个体健康素养并不乐观,我国 2020 年居民健康素养水平仅为 20%,凸显了人们对美好生命健康的追求与自身健康素质之间的不平衡这一主要矛盾。如何突破这一阻碍人类生命健康的瓶颈,有赖于认清人类进入生命健康文化新时期、认识人类生命健康文化新理念、认知人类生命健康文化新格局的“三新”思路。拓展“三新”思路有利于明确人类生命健康文化发展的历史方位、指导原则及路径选择,尤其在在我国全面建成小康社会、实现第一个百年奋斗目标之后,完整、准确、全面地推动现代强国生命健康文化体系建设,以文化生、以文化人,籍以全心全意地为人类生命健康服务^[16]。



参考文献

[1] 王立祥, 孟宪励, 苏婧. 中华精准健康传播专家共识指南[J]. 中国研究型医院, 2018, 5(4): 39-42. DOI: 10. 19450/j. cnki. jerh. 2018. 04. 009.

[2] 王立祥. 立体心肺复苏 立体健康 立体数字: “三立一体”理念[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(1): 5-7. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-4352. 2019. 01. 002.

[3] 王立祥, 孟庆义, 余涛. 2018 中国心肺复苏培训专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(5): 385-400. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-4352. 2018. 05. 001.

[4] 中国研究型医院学会心肺复苏学专业委员会. 新型冠状病毒肺炎相关心搏骤停患者心肺复苏专家共识[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(4): 345-359. DOI: 10. 11855/j. issn. 0577-7402. 2020. 04. 02.

[5] 王立祥, 吕传柱, 余涛. 中国公众心肺复苏卫生健康指南[J]. 实用休克杂志(中英文), 2018, 2(6): 367-369.

[6] 王立祥. 坚定红色 发展绿色 弘扬本色[EB/OL]. [http://theory. people. com. cn/n1/2019/1225/c40531-31521258. html](http://theory.people.com.cn/n1/2019/1225/c40531-31521258.html), 2019-12-25.

[7] 王立祥. 谱写生命健康时代“心”华章[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(8): 923-927. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-4352. 2019. 08. 001.

[8] 王立祥, 王贵强, 张文宏. 《中华精准健康传播专家共识》之防控新冠病毒病公民卫生健康指南(上)[J]. 中国研究型医院, 2020, 7(2): 45-51. DOI: 10. 19450/j. cnki. jerh. 2020. 02. 012.

[9] 王立祥, 王贵强, 张文宏. 《中华精准健康传播专家共识》之防控新冠病毒病公民卫生健康指南(下)[J]. 中国研究型医院, 2020, 7(3): 69-75. DOI: 10. 19450/j. cnki. jerh. 2020. 03. 019.

[10] 刘中民, 王立祥, 沈洪. 中国灾难预防应急联盟蓝皮书[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(6): 515-517. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-4352. 2018. 06. 002.

[11] 王立祥. 历史长河中应对流行病的“三力”方略[J]. 中华医学信息导报, 2020, 35(10): 12-13. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1000-8039. 2020. 10. 120.

[12] 王立祥, 刘中民, 刘亮. 中国心肺复苏复苏培训教程[M]. 北京: 科学出版社, 2019: 5-7, 118-126.

[13] 王贵强, 王立祥, 张文宏. 免疫力就是好医生[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 1-16.

[14] 王立祥. 自主生命健康力是“克疫”之本[EB/OL]. [http://www. xinhuanet. com/health/20210730/0c705772a20d4a14b9b928b46d46303e/c. html](http://www.xinhuanet.com/health/20210730/0c705772a20d4a14b9b928b46d46303e/c.html), 2021-07-30.

[15] 王立祥. 人类自主生命健康“三新”思路[EB/OL]. [https://baijia- hao. baidu. com/s? id = 1691116360629901413&wfr = spider&for = pc](https://baijia-hao. baidu. com/s? id = 1691116360629901413&wfr = spider&for = pc), 2020-02-08.

[16] 刘中民, 袁铭, 王韬. 应急文化学导论[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2021.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.002

恶性肿瘤专题

京尼平苷对肺癌 H1975 细胞增殖和转移的抑制作用及 SIRT1/NF- κ B 信号通路的影响

杨谦,张军,马玉泉,谭雪敏

基金项目: 河北省 2020 年度医学科学研究课题计划项目(20200194)

作者单位: 056000 河北省邯郸市中心医院胸外科

通信作者: 马玉泉, E-mail: myq111234@163.com

【摘要】目的 探讨京尼平苷对肺癌 H1975 细胞增殖和转移的抑制作用及沉默信息调节因子 1(SIRT1)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路的影响。**方法** 2021 年 1—2 月在河北省邯郸市中心医院实验室进行实验,取肺癌 H1975 细胞进行培养,而后分为阴性对照组及京尼平苷低、中、高(10、20、40 μ mol/L)剂量组和阳性对照组(多柔比星 10 μ mol/L),均培养 72 h。采用 CCK-8 法检测细胞存活率,Transwell 小室测定细胞侵袭能力,划痕实验法检测细胞迁移能力,蛋白免疫印迹法检测细胞 SIRT1 和 NF- κ B 蛋白表达水平。**结果** 与阴性对照组比较,京尼平苷各剂量组和阳性对照组细胞存活率、侵袭细胞数、细胞迁移率和 NF- κ B 蛋白表达水平显著降低,SIRT1 蛋白表达水平显著升高,且京尼平苷各剂量组呈剂量依赖性效应($F/P = 42.594/0.000, 50.524/0.000, 20.154/0.000, 14.512/0.000, 14.218/0.000$);京尼平苷高剂量组和阳性对照组上述指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 京尼平苷可有效抑制肺癌 H1975 细胞的增殖和转移能力,其机制可能与调控 SIRT1/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达有关。

【关键词】 肺癌;京尼平苷;增殖;转移;沉默信息调节因子 1/核因子- κ B 信号通路

【中图分类号】 R734.2

【文献标识码】 A

The inhibitory effect of geniposide on the proliferation and metastasis of lung cancer H1975 cells and the influence of SIRT1/NF- κ B signaling pathway Yang Qian, Zhang Jun, Ma Yuquan, Tan Xuemin. Department of Thoracic Surgery, Handan Central Hospital, Hebei Province, Handan 056000, China

Corresponding author: Ma Yuquan, E-mail: myq111234@163.com

Funding program: Medical Science Research Project Plan of Hebei Province in 2020 (20200194)

【Abstract】 Objective To explore the inhibitory effect of geniposide on the proliferation and metastasis of lung cancer H1975 cells and the influence of the silent information regulator 1 (SIRT1)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** From January to February 2021, experiments were carried out in the Laboratory of Handan Central Hospital. After treating lung cancer H1975 cells with different concentrations of geniposide, they were divided into negative control group, low, medium and high geniposide (10, 20, 40 μ mol/L). The dose group and the positive control group (doxorubicin 10 μ mol/L) were cultured for 72 h. The CCK8 method was used to detect the cell survival rate, the Transwell chamber was used to detect the cell invasion ability, the scratch test method was used to detect the cell migration ability, and the western blot method was used to detect the expression levels of cell SIRT1 and NF- κ B. **Results** Compared with the negative control group, the cell survival rate, number of invaded cells, cell migration rate and NF- κ B protein expression level of each dose group of geniposide and positive control group were significantly reduced, and the expression level of SIRT1 protein was significantly increased. The dose group showed a dose-dependent effect ($F/P = 42.594/0.000, 50.524/0.000, 20.154/0.000, 14.512/0.000, 14.218/0.000$). There was no significant difference in the above indicators between the high-dose geniposide group and the positive control group ($P > 0.05$). **Conclusion** Geniposide can effectively inhibit the proliferation and metastasis of lung cancer H1975 cells, and its mechanism may be related to the regulation of the expression of proteins related to the SIRT1/NF- κ B signaling pathway.

【Key words】 Lung cancer; Geniposide; Proliferation; Metastasis; SIRT1/NF- κ B signaling pathway

肺癌是最危险的癌症之一,其生存率低于其他类型的恶性肿瘤,5 年总生存率仅为 10% ~ 20%^[1]。据

报道,2018 年新增肺癌病例 210 万,死亡 180 万^[2]。尽管在手术、放疗、化疗和特定靶向治疗方面取得了进展,但由于诊断发现晚,导致其预后仍不理想,进而出现癌细胞的转移^[3-4]。大量的基因组研究将肺癌与抑癌、致癌基因的表达、染色体畸变、氧化应激等因素相联系,这些因素影响了包括细胞生长、分裂、增殖、存活、运动、侵袭和细胞内追踪等多种细胞功能^[5]。京尼平苷是一种环烯醚萜葡萄糖苷,主要用于心血管、消化系统和中枢神经系统疾病的治疗,有研究发现,京尼平苷对多种肿瘤细胞具有明显的抑制作用^[6]。沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 具有许多生物学作用,包括抑制细胞分化、调节细胞周期、抑制凋亡和肿瘤发生,有研究发现,SIRT1 在一些癌症中的表达下调,包括乳腺癌、前列腺癌和肺癌^[7]。SIRT1 作为一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的组蛋白去乙酰化酶,具有非常广泛的底物,不仅与组蛋白 H1、H3 和 H4 相互作用和调节,而且还与非组蛋白底物,如核因子- κ B(NF- κ B)、肿瘤抑制因子 p53、叉头框转录因子(Fox)和 DNA 修复因子 E2F 转录因子 1(E2F1)蛋白质类相互作用^[8]。然而,SIRT1 在肺癌发展中的确切作用尚不清楚。因此,本研究重点探讨京尼平苷对肺癌 H1975 细胞增殖和转移的影响,为肺癌的临床治疗提供参考,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)实验细胞:肺癌 H1975 细胞株(武汉普诺赛生命科技有限公司);(2)药物试剂:京尼平苷(上海万疆生物技术有限公司,原料药,纯度 $\geq 98\%$);多柔比星(武汉市东康源科技有限公司,原料药,纯度 99%);RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司);细胞计数试剂盒-8(CCK-8)、牛血清白蛋白(BSA)、蛋白裂解液、胎牛血清(FBS)、胰蛋白酶(上海优宁维生物有限公司);鼠抗人 SIRT1、NF- κ B、 β -actin 一抗(美国 abcam 公司);鼠抗人二抗(美国 Invitrogen 公司)。(3)仪器:Herocell 180 型 CO₂ 细胞培养箱(上海润度生物科技有限公司),DG5033A 型酶标仪(南京华东电子信息科技股份有限公司),353097 型 Transwell 小室(北京冬璞泰和科技有限责任公司),TA500 型显微镜(德国徕卡公司),LAS-4000 型凝胶成像系统(美国 GE 公司)。

1.2 实验方法 2021 年 1—2 月在邯郸市中心医院实验室进行实验。

1.2.1 细胞培养:肺癌 H1975 细胞复苏后,将其置于含有 10% FBS、青霉素(100 μ g/ml)和链霉素(100 μ g/ml)的 RPMI 1640 培养基中,在 5% CO₂、37℃ 培养箱中静

置培养,每 24 h 更换一次培养液,并在细胞覆盖率达到 70% 左右时使用胰蛋白酶消化、传代。

1.2.2 细胞分组及处理:将培养后的肺癌 H1975 细胞分为阴性对照组及京尼平苷低、中、高剂量组和阳性对照组^[9-10]。阴性对照组:将肺癌 H1975 细胞 5×10^5 个/ml 在 RPMI 1640 培养基中培养(培养环境 5% CO₂、2% O₂、93% N₂, 37℃);京尼平苷低、中、高剂量组:将京尼平苷 10、20、40 μ mol/L 添加至肺癌 H1975 细胞的培养基中培养,方法同阴性对照组;阳性对照组:将多柔比星 10 μ mol/L 添加至肺癌 H1975 细胞的培养基中培养,方法同阴性对照组。各组设置 6 个平行样,均培养 72 h。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 CCK-8 法检测细胞存活率:上述各组肺癌 H1975 细胞胰蛋白酶消化 2 min,制成细胞悬液,离心弃上清,加入含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基,使细胞悬浮,接种到 96 孔板中,每孔 100 μ l,培养 24 h 后去除培养液,再加入新的 RPMI 1640 培养液,培养 24 h,去除培养液。每孔加入 RPMI 1640 培养液 100 μ l 和 CCK-8 试剂 10 μ l,持续培养 3 h,使用酶标仪读取 450 nm 处的吸光度(OD)值,计算细胞存活率,细胞存活率 = 实验组 OD 值/空白组 OD 值 $\times 100\%$ 。只加培养液、CCK-8 试剂设为空白组。

1.3.2 Transwell 小室测定细胞侵袭能力:将上述各组细胞接种到涂有基质胶的 Transwell 小室上层,10% 的 FBS 作为趋化剂添加到下腔室中,在 37℃ 下孵育 24 h 后,对滤膜进行结晶紫染色,显微镜下对细胞进行观察,随机选择 5 个视野进行细胞计数(紫色细胞数量),重复 3 次取平均值。

1.3.3 划痕实验法检测细胞迁移能力:将上述各组肺癌 H1975 细胞以 5×10^5 个/孔的密度接种在培养板上黏附过夜,细胞密度在 95% 左右时,进行 200 μ l 枪头划痕,并在培养 24 h 后观察细胞迁移,在划痕 0 h 和 24 h 后使用显微镜获得刮擦的图像,检查划痕间隙,计算细胞迁移率,细胞迁移率 = (0 h 间隙距离 - 24 h 间隙距离)/0 h 间隙距离 $\times 100\%$ ^[11]。

1.3.4 蛋白免疫印迹法检测 SIRT1、NF- κ B 蛋白表达:用超声波细胞破碎仪使细胞破碎,采用蛋白裂解液裂解细胞,收集细胞裂解液离心,上清液即为总蛋白,经凝胶电泳分离后,将蛋白转移到硝酸纤维素膜上,将膜放在 5% 脱脂奶粉溶液中封闭 2 h,然后用鼠抗人 SIRT1(1:1 000)、NF- κ B(1:1 000)、 β -actin(1:1 000)一抗在 4℃ 条件下孵育 2 h,PBS 缓冲液清洗 3 次,加入二抗孵育 2 h,采用化学发光试剂并在凝胶成像系统

上显影 SIRT1、NF- κ B 和 β -actin 的蛋白条带,并分析结果。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 统计软件对数据进行分析。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,并采用 SNK- q 法进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肺癌 H1975 细胞存活率比较 与阴性对照组比较,京尼平苷各剂量组与阳性对照组细胞存活率显著降低,且京尼平苷低剂量组 $>$ 中剂量组 $>$ 高剂量组 ($P < 0.05$);京尼平苷高剂量组和阳性对照组细胞存活率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

2.2 各组肺癌 H1975 细胞侵袭细胞数比较 与阴性对照组比较,京尼平苷各剂量组与阳性对照组侵袭细胞数显著降低,且京尼平苷低剂量组 $>$ 中剂量组 $>$ 高剂量组 ($P < 0.05$);京尼平苷高剂量组和阳性对照组侵袭细胞数比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表

1、图 1。

2.3 各组肺癌 H1975 细胞迁移率比较 与阴性对照组比较,京尼平苷各剂量组与阳性对照组细胞迁移率显著降低,且京尼平苷低剂量组 $>$ 中剂量组 $>$ 高剂量组 ($P < 0.05$);京尼平苷高剂量组和阳性对照组细胞迁移率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1、图 2。

2.4 各组肺癌 H1975 细胞 SIRT1、NF- κ B 蛋白表达水平比较 与阴性对照组比较,京尼平苷各剂量组及阳性对照组 SIRT1 蛋白表达水平显著升高,NF- κ B 蛋白表达水平显著降低,且京尼平苷各剂量组随剂量增加 SIRT1 蛋白表达水平升高,NF- κ B 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$);京尼平苷高剂量组和阳性对照组 SIRT1、NF- κ B 蛋白表达比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2、图 3。

3 讨论

肺癌仍然是全世界癌症相关死亡的主要原因^[12]。其中肺腺癌、鳞状细胞癌和大细胞肺癌占全部肺癌病例的 75%^[13]。在中国,肺癌目前在所有癌症中的发病率为第一位,同时也是病死率最高的恶性肿瘤^[14]。

表 1 各组肺癌 H1975 细胞存活率、侵袭细胞数、细胞迁移率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	细胞存活率 (%)	侵袭细胞数 (个)	细胞迁移率 (%)
阴性对照组	6	90.12 $\pm$ 9.73	172.54 $\pm$ 14.12	42.71 $\pm$ 5.34
京尼平苷低剂量组	6	75.11 $\pm$ 8.37 ^a	123.67 $\pm$ 14.18 ^a	27.01 $\pm$ 5.01 ^a
京尼平苷中剂量组	6	55.63 $\pm$ 8.04 ^{ab}	94.57 $\pm$ 13.29 ^{ab}	19.52 $\pm$ 4.11 ^{ab}
京尼平苷高剂量组	6	34.75 $\pm$ 7.02 ^{abc}	65.53 $\pm$ 11.33 ^{abc}	11.17 $\pm$ 3.72 ^{abc}
阳性对照组	6	33.89 $\pm$ 7.21 ^{abc}	64.71 $\pm$ 11.08 ^{abc}	11.02 $\pm$ 3.66 ^{abc}
<i>F/P</i> 值		42.594/0.000	50.524/0.000	20.154/0.000

注:与阴性对照组比较,^a $P < 0.05$;与京尼平苷低剂量组比较,^b $P < 0.05$;与京尼平苷中剂量组比较,^c $P < 0.05$

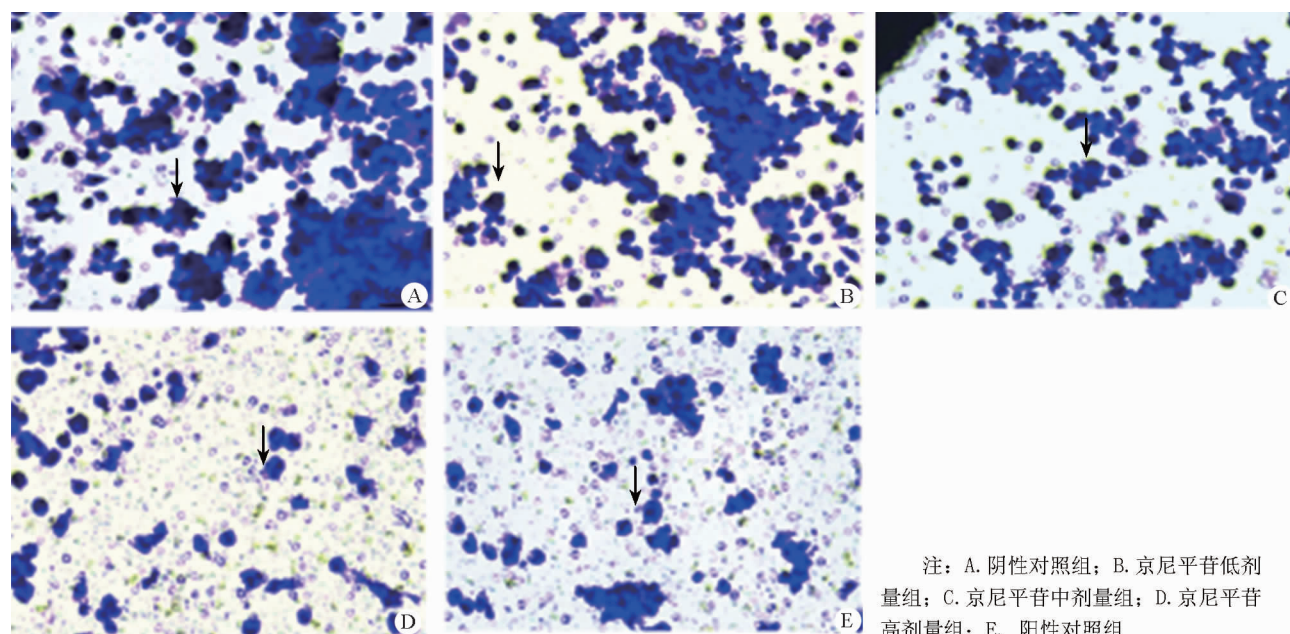


图 1 各组肺癌 H1975 细胞侵袭细胞数比较(结晶紫染色, $\times 200$, 箭头表示侵袭细胞)

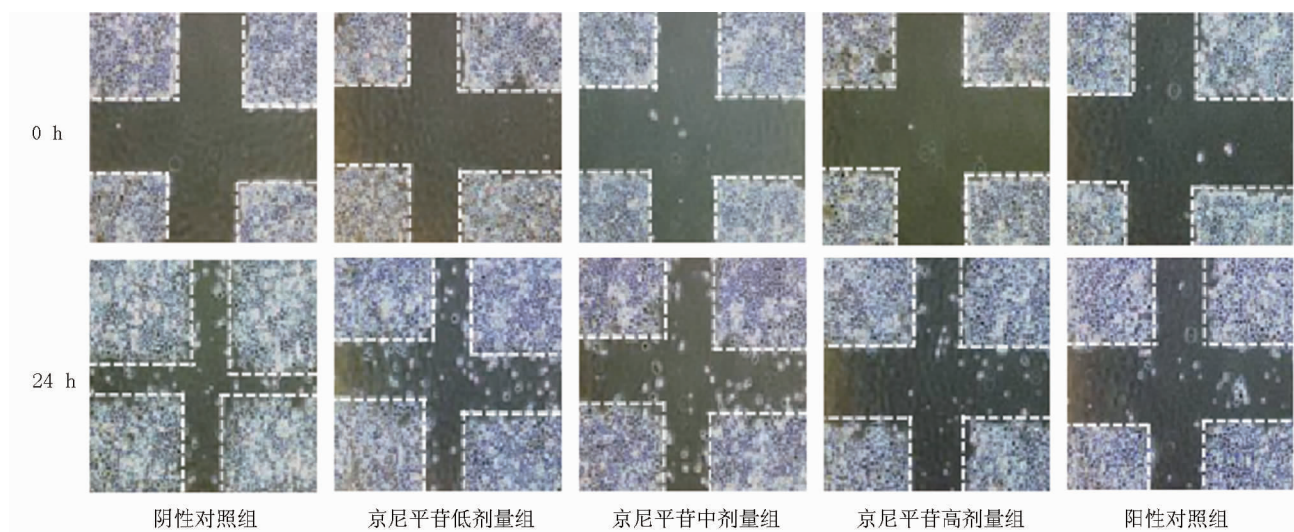
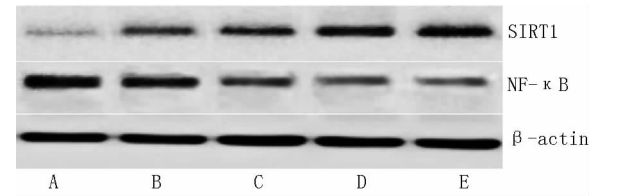


图2 各组肺癌 H1975 细胞迁移率比较

表2 各组肺癌 H1975 细胞 SIRT1、NF-κB 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	SIRT1/β-actin	NF-κB/β-actin
阴性对照组	6	0.24 ± 0.04	1.08 ± 0.09
京尼平苷低剂量组	6	0.42 ± 0.05 ^a	0.82 ± 0.08 ^a
京尼平苷中剂量组	6	0.61 ± 0.07 ^{ab}	0.60 ± 0.06 ^{ab}
京尼平苷高剂量组	6	0.91 ± 0.08 ^{abc}	0.32 ± 0.04 ^{abc}
阳性对照组	6	0.93 ± 0.08 ^{abc}	0.31 ± 0.04 ^{abc}
F/P 值		14.218/0.000	14.512/0.000

注: SIRT1. 沉默信息调节因子 1; NF-κB. 核因子-κB. 与阴性对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与京尼平苷低剂量组比较, ^b $P < 0.05$; 与京尼平苷中剂量组比较, ^c $P < 0.05$



注: A. 阴性对照组; B. 京尼平苷低剂量组; C. 京尼平苷中剂量组; D. 京尼平苷高剂量组; E. 阳性对照组

图3 各组肺癌 H1975 细胞 SIRT1、NF-κB 蛋白表达印迹图

近 50 年来,在多个国家肺癌的发病率均呈上升趋势,同时城市发病率高于农村,经济较发达地区发病率较高^[15]。由于临床常规药物治疗的局限性和毒副作用,限制了肺癌的治疗,因此了解和评价其具体作用机制,寻找有效的、安全的肺癌治疗方法是一个迫切的问题。京尼平苷为一种环烯醚萜类化合物,具有抗炎、镇痛、止泻、抑制胃酸分泌、治疗软组织损伤等功效^[16]。有研究发现,京尼平苷对乳腺癌细胞的增殖具有明显的抑制作用,并可降低其迁移水平^[17]。本研究中选用的肺癌 H1975 细胞属于肺腺癌细胞,结果发现,在给予

京尼平苷干预后,可明显抑制其增殖、迁移和侵袭水平,且随着京尼平苷干预剂量的增加,其抑制效果更明显,具有剂量一效应关系,表明京尼平苷对肺癌 H1975 细胞作用明显,可能在肺癌的治疗过程中起到一定的作用。

SIRT1 是 sirtuin 家族的一员,在哺乳动物细胞应激反应和细胞命运决定中起着重要作用,它能使核心组蛋白 N 端尾部的赖氨酸残基脱乙酰,导致 DNA 卷曲,随后转录降低^[18-19]。最近的研究还表明, SIRT1 在包括肺癌在内的多种癌细胞中低表达,并且 SIRT1 的表达可能通过与叉头框蛋白 O (FOXO)、B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2)、肿瘤抑制因子 p21、肿瘤抑制因子 p53、蛋白激酶 B (AKT) 和共济失调毛细血管扩张症突变基因(ATM)的相互作用而与化疗和放疗的耐受性相关^[20]。NF-κB 是 SIRT1 的下游底物之一, NF-κB 通过抗凋亡信号保护细胞免于死亡^[21]。已有研究发现 SIRT1 和 NF-κB 的表达水平在多种肿瘤中均发生异常,其表达水平与肿瘤细胞的转移水平密切相关^[22-23]。在本研究中,探讨了 SIRT1 通过 SIRT1/NF-κB 途径调节肺癌 H1975 细胞的增殖和转移。在阴性对照组中, SIRT1 呈现低表达状态,而 SIRT1 低表达可促进 NF-κB 的表达,从而导致 NF-κB 在肺癌 H1975 细胞中为高表达状态,当给予京尼平苷干预后, SIRT1 表达上调, NF-κB 表达下降,同时结合肺癌 H1975 细胞存活率、侵袭力和迁移力的结果,发现其增殖、侵袭和转移水平均受到抑制,因此推测京尼平苷可能通过 SIRT1 使组蛋白去乙酰化降低 NF-κB 的表达,从而导致肺癌 H1975 细胞免受 NF-κB 的抗凋亡作用,抑制肺癌 H1975 细胞的增殖,同时降低了肺癌 H1975 细胞的

侵袭力和迁移力,达到降低肿瘤细胞转移的风险。

综上所述,京尼平苷可有效抑制肺癌 H1975 细胞的增殖和转移,其作用效果与剂量密切相关,京尼平苷的抗增殖和转移作用可能与调控 SIRT1/NF- κ B 信号通路有关,可能通过促进 SIRT1 蛋白的表达来抑制其下游蛋白 NF- κ B 的表达,从而抑制肺癌 H1975 细胞的增殖和转移。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨谦:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张军:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;马玉泉:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;谭雪敏:进行统计学分析,课题设计

参考文献

- [1] Stahel RA, Curioni-Fontecedro A, Rohrmann S, et al. Survival outcome of non-small cell lung cancer patients: Comparing results between the database of the Comprehensive Cancer Center Zürich and the Epidemiological Cancer Registry Zurich and Zug[J]. Lung Cancer, 2020, 146(1):217-223. DOI: 10.1016/j.lungcan.2020.05.037.
- [2] 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.
- [3] Wang N, Gao Q, Tang J, et al. Anti-tumor effect of local injectable hydrogel-loaded endostatin alone and in combination with radiotherapy for lung cancer[J]. Drug Deliv, 2021, 28(1):183-194. DOI: 10.1080/10717544.2020.1869864.
- [4] Fang W, Jin R, Mu W. Near-infrared mediated polymer-coated carbon nanodots loaded cisplatin for targeted care management of lung cancer therapy[J]. Process Biochem, 2020, 99(1):27-35. DOI: 10.1016/j.procbio.2020.08.009.
- [5] Tabbò F, Guerrera F, van den Berg A, et al. Kinomic profiling of tumour xenografts derived from patients with non-small cell lung cancer confirms their fidelity and reveals potentially actionable pathways[J]. Eur J Cancer, 2021, 144(7):17-30. DOI:10.1016/j.ejca.2020.10.036.
- [6] Lv K, Zheng S, Li X, et al. Toxicity evaluation of geniposide on MCF-7 cancer cells[J]. Mol Cell Biomech, 2020, 17(4):199-204. DOI:10.32604/mcb.2020.011811.
- [7] Karbasforooshan H, Roohbakhsh A, Karimi G. SIRT1 and microRNAs: The role in breast, lung and prostate cancers[J]. Expl Cell Res, 2018, 367(1):1-6. DOI:10.1016/j.yexcr.2018.03.023.
- [8] 毛慧慧,杜宗华,田英.二甲双胍抑制炎症相关 AMPK/Sirt1/NF- κ B 信号通路改善肾小管上皮细胞衰老的分子机制[J].中国药师, 2019, 22(12):2183-2187. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2019.12.006.
- [9] 刘东星,胡为民,刘越泽,等.京尼平苷对 A β 1-42 诱导的 SH-SY5Y 细胞的保护作用及相关机制研究[J].现代中西医结合杂志, 2019, 28(33):3654-3657,3680. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2019.33.002.
- [10] 吴秀芝,袁芳.表没食子儿茶素没食子酸酯联合多柔比星对肺

- 癌 A549 细胞增殖与荷瘤裸鼠肿瘤生长的抑制作用[J].中国药房, 2015, 26(10):1353-1356. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2015.10.18.
- [11] 李林芳,杨倩,张源源,等.柚皮素对人与小鼠乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响[J].中国普通外科杂志, 2020, 29(11):1346-1356. DOI:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.11.008.
- [12] Eun YJ, Kyungdo H, Wook SD, et al. Conditional relative survival and competing mortality in patients who underwent surgery for lung cancer: A nationwide cohort study[J]. Int J Cancer, 2021, 148(3):626-636. DOI:10.1002/IJC.33239.
- [13] Soumya M, Mohan A, Harikrishna J, et al. Demographic characteristics, clinical presentation, risk factors and pathological types of lung cancer: A prospective study[J]. J Clin Sci Res, 2020, 9(1):16-24. DOI:10.4103/JCSR.JCSR_103_19.
- [14] 赫捷,陈万青,李霓,等.中国女性乳腺癌筛查与早诊早治指南(2021,北京)[J].中华肿瘤杂志, 2021, 43(4):357-382. DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20210119-00061.
- [15] 伦文慧,李铁钢,毛纯,等.广州市城区居民肺癌死亡率和发病率趋势分析及预测[J].中国癌症防治杂志, 2020, 12(1):51-56. DOI:10.3969/j.issn.1674-5671.2020.01.09.
- [16] 金桂娟,叶齐,徐之良.京尼平苷对关节炎大鼠的镇痛作用及机制[J].中国新药杂志, 2018, 27(3):356-360. DOI:10.3969/j.issn.1003-3734.2018.03.019.
- [17] Lv K, Zhu J, Zheng S, et al. Evaluation of inhibitory effects of geniposide on a tumor model of human breast cancer based on 3D printed Cs/Gel hybrid scaffold[J]. Mater Sci Eng C, 2021, 119(1):111-119. DOI:10.1016/J.MSEC.2020.111509.
- [18] Zhang Z, Nong L, Chen M, et al. Long noncoding RNA SNHG10 sponges miR-543 to upregulate tumor suppressive SIRT1 in nonsmall cell lung cancer[J]. Cancer Biother Radio, 2020, 35(10):771-775. DOI:10.1089/CBR.2019.3334.
- [19] Yue Y, He L, Tian M, et al. Construction of SIRT1 gene shRNA lentivirus vector and its effect on the proliferation of breast cancer cells[J]. Cell Mol Biol, 2020, 66(3):204-210. DOI:10.14715/cmb/2020.66.3.33.
- [20] Qi H, Wang H, Pang D. miR-448 promotes progression of non-small-cell lung cancer via targeting SIRT1[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(3):1907-1913. DOI:10.3892/etm.2019.7738.
- [21] Qu C, Qu C, Xu L, et al. Nuclear receptor TLX may be through regulating the SIRT1/NF- κ B pathway to ameliorate cognitive impairment in chronic cerebral hypoperfusion[J]. Brain Res Bull, 2021, 166(1):142-149. DOI:10.1016/j.brainresbull.2020.11.006.
- [22] Zheng Z, Bian Y, Zhang Y, et al. Metformin activates AMPK/SIRT1/NF- κ B pathway and induces mitochondrial dysfunction to drive caspase3/GSDME-mediated cancer cell pyroptosis[J]. Cell Cycle, 2020, 19(1):1089-1104. DOI:10.1080/15384101.2020.1743911.
- [23] Zhou B, Yang Y, Li C. SIRT1 inhibits hepatocellular carcinoma metastasis by promoting M1 macrophage polarization via NF- κ B pathway[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12(1):2519-2529. DOI: 10.2147/OTT.S195234.

(收稿日期:2021-05-27)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 003

恶性肿瘤专题

培美曲塞联合顺铂治疗晚期非小细胞肺癌患者对 CEA 等标志物表达的影响

朱艳, 王瑞凯, 李阿敏, 霍龙

基金项目: 安徽高校自然科学研究重点项目计划(KJ2020A0338)

作者单位: 232007 安徽理工大学第一附属医院/淮南市第一人民医院呼吸与危重症医学科

通信作者: 朱艳, E-mail: 2258743327@qq.com

【摘要】目的 观察培美曲塞联合顺铂治疗晚期非小细胞肺癌患者对 CEA 等标志物表达的影响。方法 选取 2016 年 6 月—2021 年 4 月安徽理工大学第一附属医院/淮南市第一人民医院呼吸与危重症医学科收治晚期非小细胞肺癌患者 120 例的临床资料, 根据随机数字表法分为对照组和观察组, 各 60 例。对照组给予吉西他滨联合顺铂治疗, 观察组给予培美曲塞联合顺铂新辅助化疗。治疗 3 周后, 比较 2 组患者治疗效果, 治疗前后血清肿瘤标志物、免疫功能指标及生活质量水平变化, 观察 2 组患者不良反应发生情况。结果 观察组患者治疗有效率和控制率明显高于对照组(60.00% vs. 31.67%, $\chi^2/P=9.701/0.002$; 83.33% vs. 53.33%, $\chi^2/P=12.478/0.000$)。与治疗前比较, 治疗后 2 组患者血清 CEA、CA125、CK-19 水平及 CD4⁺、CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低, 血清 CD8⁺ 水平及情绪功能、躯体功能、角色功能、社会功能、认知功能评分明显升高, 且观察组患者上述指标改善较对照组更为显著($t/P=8.376/<0.001$, 6.866/ <0.001 , 14.091/ <0.001 , 5.439/ <0.001 , 3.420/ <0.000 , 11.317/ <0.001 , 6.124/ <0.001 , 16.448/ <0.001 , 14.129/ <0.001 , 13.281/ <0.001 , 24.082/ <0.001 , 14.758/ <0.001)。观察组不良反应发生率明显低于对照组(44.33% vs. 63.33%, $\chi^2/P=4.821/0.026$)。结论 培美曲塞联合顺铂治疗非小细胞肺癌, 可降低血清肿瘤标志物水平, 改善免疫功能及生活质量, 降低不良反应发生率, 效果显著。

【关键词】 非小细胞肺癌; 培美曲塞; 顺铂; 肿瘤标志物

【中图分类号】 R734.2 【文献标识码】 A

Effect of pemetrexed combined with cisplatin neoadjuvant chemotherapy on the expression of CEA and other markers in patients with non-small cell lung cancer Zhu Yan, Wang Ruikai, Li Amin, Huo Long. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Science and Technology/Huainan First People's Hospital, Hainan 232007, China

Corresponding author: Zhu Yan, E-mail: 2258743327@qq.com

Funding program: Key Project Plan of Natural Science Research in Anhui Universities (KJ2020A0338)

【Abstract】Objective To observe the effect of pemetrexed combined with cisplatin neoadjuvant chemotherapy on the expression of CEA and other markers in patients with non-small cell lung cancer. Methods The clinical data of 120 patients with non-small cell lung cancer admitted to the Department of Respiratory and Critical Care Medicine at the First Affiliated Hospital of Anhui University of Science and Technology/Huainan First People's Hospital from June 2016 to April 2021 were selected. According to the random number table method, they were divided into control group and observation group, each with 60 cases. The control group was given gemcitabine combined with cisplatin, and the observation group was given pemetrexed combined with cisplatin neoadjuvant chemotherapy. The treatment effects of the two groups of patients were compared, the changes in serum tumor markers, immune function indexes and quality of life levels before and after treatment were compared, and the occurrence of adverse reactions in the two groups of patients was observed. Results The effective rate and control rate of treatment in the observation group were significantly higher than those in the control group (60.00% vs. 31.67%, $\chi^2/P=9.701/0.002$, 83.33% vs. 53.33%, $\chi^2/P=12.478/0.000$). Compared with before treatment, serum CEA, CA125, CK19 levels and CD4⁺, CD3⁺, CD4⁺/CD8⁺ of the two groups were significantly reduced after treatment, and serum CD8⁺ value and emotional function, physical function, role function, social function, and cognitive function were significantly increased. The improvement of the above indicators in the observation group was more significant than that in the control group ($t/P=8.376/<0.001$, 6.866/ <0.001 , 14.091/ <0.001 , 5.439/ <0.001 , 3.420/ <0.000 , 11.317/ <0.001 , 6.124/ $<$

0.001, 16.448/ <0.001, 14.129/ <0.001, 13.281/ <0.001, 24.082/ <0.001, 14.758/ <0.001). The incidence of adverse reactions in the observation group was significantly lower than that in the control group (44.33% vs.63.33%, $\chi^2/P=4.821/0.026$). **Conclusion** Pemetrexed combined with cisplatin in the treatment of non-small cell lung cancer can reduce the level of serum tumor markers, improve immune function and quality of life, and reduce the incidence of adverse reactions. The effect is significant.

【Key words】 Non small cell lung cancer; Pemetrexed; Cisplatin; Tumor marker

肺癌是临床上发病率和病死率均较高的一种癌症,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是最为常见的一种类型,约占 75%,以咳嗽、痰血、低热、胸部胀痛为主要临床表现^[1]。由于 NSCLC 患者早期症状多较为隐匿,一经确诊,多为晚期,又由于患者手术禁忌证、年龄及瘤病灶转移等因素,致使 NSCLC 患者多采用放化疗方式进行治疗^[2-3]。目前临床上多以铂类为基础药物对 NSCLC 患者进行化疗,其中顺铂联合吉西他滨方案是 NSCLC 治疗的标准化方案,但因其长期治疗,患者多出现不同程度的胃肠道不良反应,患者依从性较差,临床应用具有一定的局限性^[4-5]。而培美曲塞是用于 NSCLC 和恶性胸膜间皮瘤治疗的新型抗代谢类肿瘤药物,效果显著^[6]。另外,近年随着临床分子生物学的不断发展,人们对肿瘤标志物的认识逐渐加深,意识到肿瘤进展评价中肿瘤标志物的重要性^[7]。现观察培美曲塞联合顺铂治疗晚期非小细胞肺癌患者对癌胚抗原(CEA)等肿瘤标志物表达的影响,为其临床诊治提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 6 月—2021 年 4 月安徽理工大学第一附属医院/淮南市第一人民医院呼吸与危重症医学科收治非小细胞肺癌患者 120 例,根据随机数字表法分为对照组和观察组,每组 60 例。对照组男 40 例,女 20 例,年龄 35~69(56.87±6.39)岁;发病部位:周围型肺癌 52 例,中心型肺癌 8 例;病理类型:腺癌 56 例,非腺非小细胞肺癌 4 例;临床分期:Ⅲa 期 20 例,Ⅲb 期 21 例,Ⅳ期 19 例。观察组男 42 例,女 18 例,年龄 35~70(56.69±6.23)岁;发病部位:周围型肺癌 54 例,中心型肺癌 6 例;病理类型:腺癌 58 例,非腺非小细胞肺癌 2 例;临床分期:Ⅲa 期 19 例,Ⅲb 期 22 例,Ⅳ期 19 例。2 组患者性别、年龄、发病位置、病理类型及临床分期比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理学委员会批准(审批号 2016B11),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符合美国国立综合癌症网络 NSCLC 临床指南中关于 NSCLC 的诊断

标准^[8],且经肺组织活检确诊者;②NSCLC 分期符合国际抗癌联盟中关于 TNM 的分期标准^[9];③预计生存期>6 个月者;④临床资料完整者。(2)排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②对化疗过敏或者不耐受者;③合并精神系统疾病者;④合并严重心、肝、肾功能障碍者;⑤依从性差,中途退出者。

1.3 治疗方法 对照组患者在第 1 天给予顺铂 75 mg/m²(齐鲁制药有限公司),第 1 天和第 8 天给予吉西他滨 1 000 mg/m²(Eli Lilly and Company)静脉滴注。观察组患者在化疗前 1 天及化疗第 1 天、第 2 天给予地塞米松[上海现代哈森(商丘)药业有限公司]4 mg,每天 2 次;化疗前 7 d 开始服用叶酸(北京斯利安药业有限公司)400 μg,每天 1 次,直至最后一次化疗结束后 21 d;化疗前 7 d 内肌肉注射维生素 B₁₂(上海信谊九福药业有限公司)1 000 μg 一次;同时在第 1 天给予顺铂 75 mg/m²(齐鲁制药有限公司)静脉滴注和培美曲塞(Eli Lilly and Company)500 mg/m²静脉滴注。2 组患者均治疗 3 周。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 肿瘤标志物测定:治疗前及治疗 3 周后抽取患者清晨空腹肘静脉血 5 ml,离心取上清,采用放射免疫法测定血清癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 125(CA125)水平,血清细胞角蛋白 19(CK-19)水平采用电化学法测定。

1.4.2 免疫功能测定:上述血清采用流式细胞仪(美国 BD 公司, FACS Vantage 型)测定 CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD3⁺ T 细胞并计算 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值。

1.4.3 生活质量评分:治疗前及治疗 3 周后参考癌症患者生活质量核心问卷^[6]进行生活质量评价,包括情绪功能、躯体功能、角色功能、社会功能、认知功能等 5 个项目,每项为 10 分,总分 50 分,分值越高患者生活质量越高。

1.4.4 不良反应观察:记录 2 组患者黏膜炎、腹泻、骨髓抑制、肾损害、肝损害、恶心呕吐等不良反应发生情况。

1.5 疗效评价标准 参考《实体瘤治疗疗效评价标

准-RECIST》中关于 NSCLC 疗效的评价标准^[10]: (1) 完全缓解, 病灶完全消失, 同时 1 个月内未有新病灶出现; (2) 部分缓解, 病灶直径减少 $\geq 30\%$, 同时持续时间 > 1 个月, 且未有新病灶出现; (3) 疾病稳定: 病灶直径减少 $< 30\%$, 增加 $< 20\%$, 同时持续时间 > 1 个月, 且未有新病灶出现; (4) 疾病进展: 病灶直径增加 $\geq 20\%$, 或有新病灶出现。疾病控制率 = (完全缓解 + 部分缓解 + 疾病稳定) / 总例数 $\times 100\%$, 治疗有效率 = (完全缓解 + 部分缓解) / 总例数 $\times 100\%$ 。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 20.00 软件对数据进行统计学分析。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。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组临床治疗效果比较 观察组患者治疗有效率和控制率明显高于对照组 (60.00% vs. 31.67%, 83.33% vs. 53.33%, $P < 0.01$), 见表 1。

2.2 2 组治疗前后血清肿瘤标志物比较 与治疗前比较, 治疗 3 周后 2 组患者血清 CEA、CA125 及 CK-19 水平均明显降低, 且观察组降低较对照组更为显著 (P 均 < 0.01), 见表 2。

2.3 2 组治疗前后免疫功能指标变化比较 与治疗前比较, 2 组患者治疗 3 周后 $CD4^+$ 、 $CD3^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均明显降低, $CD8^+$ 明显升高, 且观察组降低/升高幅度较对照组更为显著 ($P < 0.01$), 见表 3。

2.4 2 组治疗前后生活质量水平变化比较 与治疗前比较, 2 组患者治疗后情绪功能、躯体功能、角色功能、社会功能、认知功能评分均明显升高, 且观察组升高较对照组更为显著 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 2 2 组 NSCLC 患者治疗前后血清肿瘤标志物比较 $(\bar{x} \pm s)$

组 别	时间	CEA (ng/ml)	CA125 (U/ml)	CK-19 (ng/ml)
对照组 ($n=60$)	治疗前	22.74 $\pm$ 3.98	276.54 $\pm$ 21.06	5.29 $\pm$ 0.68
	治疗后	16.89 $\pm$ 3.05	63.89 $\pm$ 4.59	3.26 $\pm$ 0.47
观察组 ($n=60$)	治疗前	22.91 $\pm$ 4.05	274.39 $\pm$ 21.19	5.36 $\pm$ 0.75
	治疗后	12.24 $\pm$ 2.39	36.59 $\pm$ 4.02	2.08 $\pm$ 0.35
t/P 对照组内值		7.650/ < 0.001	6.332/ < 0.001	16.104/ < 0.001
t/P 观察组内值		16.518/ < 0.001	13.439/ < 0.001	28.851/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		8.376/ < 0.001	6.866/ < 0.001	14.091/ < 0.001

注: CEA. 癌胚抗原; CA125. 糖类抗原 125; CK-19. 细胞角蛋白 19

2.5 2 组不良反应发生率比较 观察组患者不良反应总发生率 (43.33%) 明显低于对照组 (63.33%), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 5。

3 讨 论

对于 NSCLC 患者而言, 及时发现并根据其病情进行早期治疗, 是改善其病情发展的关键^[11-14]。吉西他滨是一种特异性作用于细胞周期的抗肿瘤药物, 主要对 DNA 合成步骤中的 G1 期向 S 期发展进行阻断, 进而起到抗肿瘤效果, 顺铂联合吉西他滨虽然对 NSCLC 具有相对较好的化疗效果, 但其对机体免疫功能具有显著的抑制作用, 同时会引发胃肠道及血液系统毒性反应^[15-16]。培美曲塞是新一代的抗代谢类药物, 可对甘氨酸酰胺核苷甲酰基转移酶、胸苷酸合成酶及二氢叶酸还原酶等多种叶酸依赖性酶进行抑制^[17]。另外, 其还可通过叶酸结合蛋白的运输系统及运载叶酸的载体进入细胞, 造成嘌呤和嘧啶的合成障碍, 致使细胞在分裂间期发生停滞, 从而对肿瘤细胞凋亡具有促进作用^[18]。另外, 顺铂是一种可以与 DNA 发生链内和链间交联反应, 最终对 DNA 的转录和复制过程产生破坏

表 1 2 组 NSCLC 患者临床治疗效果比较 [例 (%)]

组 别	例数	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病进展	有效率 (%)	控制率 (%)
对照组	60	1 (1.67)	18 (30.00)	13 (21.66)	28 (46.67)	31.67	53.33
观察组	60	3 (5.00)	33 (55.00)	14 (23.33)	10 (16.67)	60.00	83.33
U/χ^2 值		$U = 13.975$				$\chi^2 = 9.701$	$\chi^2 = 12.478$
P 值		0.007				0.002	0.000

表 3 2 组 NSCLC 患者治疗前后免疫功能指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

组 别	时间	$CD8^+ (%)$	$CD4^+ (%)$	$CD3^+ (%)$	$CD4^+/CD8^+$
对照组 ($n=60$)	治疗前	31.25 $\pm$ 3.26	37.98 $\pm$ 3.69	55.62 $\pm$ 3.98	1.25 $\pm$ 0.16
	治疗后	34.15 $\pm$ 2.01	33.87 $\pm$ 3.41	50.20 $\pm$ 3.89	1.05 $\pm$ 0.12
观察组 ($n=60$)	治疗前	31.39 $\pm$ 3.19	37.85 $\pm$ 3.75	55.79 $\pm$ 4.15	1.30 $\pm$ 0.13
	治疗后	36.78 $\pm$ 2.19	30.19 $\pm$ 3.15	47.26 $\pm$ 4.53	0.80 $\pm$ 0.09
t/P 对照组内值		9.233/ < 0.001	10.529/ < 0.001	9.091/ < 0.001	16.074/ < 0.001
t/P 观察组内值		5.329/ < 0.001	5.717/ < 0.001	6.833/ < 0.001	10.287/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		6.124/ < 0.001	5.439/ < 0.001	3.420/ 0.000	11.317/ < 0.001

表 4 2 组 NSCLC 患者治疗前后生活质量评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组 别	时间	情绪功能	躯体功能	角色功能	社会功能	认知功能
对照组 ($n=60$)	治疗前	4.36 $\pm$ 0.36	4.21 $\pm$ 0.39	3.32 $\pm$ 0.29	3.26 $\pm$ 0.29	2.25 $\pm$ 0.19
	治疗后	5.87 $\pm$ 0.61	6.08 $\pm$ 0.52	6.29 $\pm$ 0.59	5.12 $\pm$ 0.54	5.41 $\pm$ 0.52
观察组 ($n=60$)	治疗前	4.39 $\pm$ 0.31	4.25 $\pm$ 0.36	3.37 $\pm$ 0.26	3.34 $\pm$ 0.27	2.21 $\pm$ 0.18
	治疗后	7.89 $\pm$ 0.73	7.79 $\pm$ 0.78	8.05 $\pm$ 0.84	6.97 $\pm$ 0.25	7.26 $\pm$ 0.82
t/P 对照组内值		16.513/ <0.001	22.285/ <0.001	34.994/ <0.001	23.505/ <0.001	44.213/ <0.001
t/P 观察组内值		34.184/ <0.001	31.919/ <0.001	41.226/ <0.001	74.414/ <0.001	46.594/ <0.001
t/P 治疗后组间值		16.448/ <0.001	14.129/ <0.001	13.281/ <0.001	24.082/ <0.001	14.758/ <0.001

表 5 2 组 NSCLC 患者不良反应总发生率比较 [例(%)]

组 别	例数	黏膜炎	腹泻	骨髓抑制	肝肾损害	恶心呕吐	总发生率(%)
对照组	60	7(11.67)	8(13.33)	6(10.00)	6(10.00)	11(18.33)	63.33
观察组	60	5(8.33)	6(10.00)	4(6.67)	3(5.00)	8(13.33)	43.33
χ^2 值		0.370	0.323	0.436	0.480	0.563	4.821
P 值		0.543	0.570	0.509	0.488	0.453	0.026

作用^[19]。相关研究显示,与顺铂联合吉西他滨比较,顺铂联合培美曲塞治疗 NSCLC 患者,总生存期、无进展生存期及治疗有效率较优,耐受性好,不良反应发生率较低^[20]。本研究中观察组患者治疗有效率和控制率明显高于对照组,不良反应发生率明显低于对照组,提示顺铂联合培美曲塞可更好地对患者病情进行控制,降低不良反应发生率。

临床常用相关疗效评价标准及影像学指标对患者预后进行评估,但影像学检查会受到病灶周围组织、病灶边界及病灶体积的影响,且对影像学医师及设备要求相对较高^[21-23]。另外,即使影像学结果无进展,其肿瘤标志物水平仍然可能不断升高;另外 MR、CT 等检查方式费用较高,无形中增加了患者的经济负担。而肿瘤标志物通常存在于血液中,宿主细胞内其水平也会呈现一定变化^[24]。由于检测快捷简便等优势,对患者病情发展状况及疗效评价方面具有较好的指示作用。CEA 是一种影响肺癌细胞转移和生长的因子;CA125 是一种主要在卵巢癌上皮细胞和肺癌细胞中表达产生的细胞表面糖蛋白抗原^[25];CK-19 是一种生长于上皮源性肿瘤细胞胞浆中的酸性角蛋白,NSCLC 细胞坏死以后,会释放一定量的 CA21-1,对 NSCLC 的诊断、预后评价具有重要的意义^[26]。本研究结果显示,观察组患者上述肿瘤标志物改善较对照组更显著,提示培美曲塞联合顺铂治疗 NSCLC,可以有效减少肿瘤标志物的生成,改善预后。T 淋巴细胞具有免疫调节作用,可对机体免疫内环境产生较好的稳定效果。其中 CD8⁺可有效反映抑制性 T 细胞,CD3⁺是成熟 T 细胞的标志,CD4⁺可代表辅助性 T 细胞。与正常人比较,癌症人群的 CD3⁺、CD4⁺及 CD4⁺/CD8⁺等 T 细胞

分化抗原水平明显较低^[27]。故而上述指标可有效地对自身免疫水平进行评估。本研究结果显示,观察组患者治疗后 CD3⁺、CD4⁺及 CD4⁺/CD8⁺等指标改善较对照组更优,这可能是由于培美曲塞可对机体免疫应答进行激活,促使细胞发生凋亡,一定程度上促使新生淋巴细胞的杀伤功能增强,故而增强机体免疫,改善预后。

综上所述,培美曲塞联合顺铂治疗非小细胞肺癌,可降低血清肿瘤标志物水平,改善免疫功能及生活质量,降低不良反应发生率,效果显著,具有一定的临床应用价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

朱艳:设计研究方案,论文撰写,论文修改;李阿敏:采集数据,统计学分析,图表设计,论文修改;王瑞凯:试验数据收集,数据分析整理,论文修改,查找文献;霍龙:数据资料搜集整理,论文修改,查找文献

参考文献

- [1] Goff PH, Jing ZM, Rengan R, et al. Radiation and modulation of the tumor immune microenvironment in non-small cell lung cancer[J]. Seminars in Radiation Oncology, 2021, 31(2):133-139. DOI:10.1016/j.semradonc.2020.11.010.
- [2] Bhatta S, Doroshov DB, Hirsch FR. Predictive biomarkers for immune checkpoint inhibitors in advanced non-small cell lung cancer: Current status and future directions[J]. The Cancer Journal, 2020, 26(6):58-63. DOI:10.1097/PPO.0000000000000483.
- [3] Martinez P, Peters S, Stammers T, et al. Immunotherapy for the first-line treatment of patients with metastatic non-small cell lung cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2019, 25(9):2691-2698. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-3904.
- [4] Harvey RD, Bruinooge SS, Li C, et al. Impact of broadening trial eligibility criteria for patients with advanced non-small cell lung cancer: Real-World Analysis of Select ASCO- Friends Recommendations[J]. Clinical Cancer Research, 2021, 27(9):2430-2434. DOI:

- 10.1158/1078-0432.CCR-20-3857.
- [5] Medeiros TM, Altmayer S, Watte G, et al. ¹⁸F-FDG PET/CT and whole-body MRI diagnostic performance in M staging for non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *European Radiology*, 2020, 30(6): 3641-3649. DOI: 10.1007/s00330-020-06703-1.
- [6] 庞思思, 胡帆, 王峰. 培美曲塞联合奈达铂治疗晚期肺癌的疗效, 不良反应及对体力状况, 生活质量的影响研究[J]. *癌症进展*, 2020, 18(19): 62-66. DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2020.18.19.11.
- [7] Liang J, Lu T, Chen Z, et al. Mechanisms of resistance to pemetrexed in non-small cell lung cancer[J]. *Translational Lung Cancer Research*, 2019, 8(6): 1107-1118. DOI: 10.21037/tlcr.2019.10.14.
- [8] 陆舜, 纪文翔, 虞永峰. 2014 版《NCCN 非小细胞肺癌临床实践指南》更新解读[J]. *中国医师进修杂志*, 2015, 38(5): 318-320. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4904.2015.05.003.
- [9] Rosenbaum JN, Bloom R, Forsy JT, et al. Genomic heterogeneity of ALK fusion breakpoints in non-small-cell lung cancer[J]. *Modern Pathology An Official Journal of the United States*, 2018, 31(5): 791-808. DOI: 10.1038/modpathol.2018.181.
- [10] 刘秋华, 林榕波. 实体瘤疗效评价标准 (RECIST) 指南 1.1 版 [C]. // 第十二届全国临床肿瘤大会暨 2009 年 CSCO 学术年会论文集. 2009; 451. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2019.18.695.
- [11] Weiss JM, Pennell N, Deal AM, et al. Nab-p acitaxel in older patients with non-small cell lung cancer who have developed disease progression after platinum-based doublet chemotherapy[J]. *Cancer*, 2020, 126(5): 1060-1067. DOI: 10.1002/enr.32573.
- [12] 赵新, 韩鲁军, 张森, 等. 气管镜下二氧化碳冷冻活组织检查及消融治疗非小细胞肺癌所致阻塞性肺不张的疗效[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(2): 132-136. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.02.006.
- [13] 杨雳, 何杰, 任召强, 等. 安罗替尼治疗晚期非小细胞肺癌效果和安全性 Meta 分析[J]. *中国医药*, 2020, 15(4): 545-549. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.04.016.
- [14] 施萍, 杜永亮. 外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值与初诊晚期非小细胞肺癌患者预后的关系研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(3): 71-75. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.03.015.
- [15] Gao L, Shao T, Zheng W, et al. Curcumin suppresses tumor growth of gemcitabine-resistant non-small cell lung cancer by regulating lncRNA-MEG3 and PTEN signaling[J]. *Clinical and Translational Oncology*, 2021, 157(2): 165-174. DOI: 10.1007/s12094-020-02531-3.
- [16] Svedberg A, Björn N, Sigurgeirsson B, et al. Genetic association of gemcitabine/carboplatin-induced leukopenia and neutropenia in non-small cell lung cancer patients using whole-exome sequencing[J]. *Lung Cancer*, 2020, 147(6): 106-114. DOI: 10.1016/j.lungcan.2020.07.005.
- [17] 李雅芳, 王勇. 培美曲塞注射剂与多西他赛注射剂治疗非小细胞肺癌患者的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(12): 1227-1229.
- [18] Sun X, Xu X, Chen Y, et al. Danggui Buxue Decoction sensitizes the response of non-small-cell lung cancer to gemcitabine via regulating deoxycytidine Kinase and P-glycoprotein[J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 2011-2021. DOI: 10.3390/molecules24102011.
- [19] Visser S, Koolen S, Bruijn PD, et al. Pemetrexed exposure predicts toxicity in advanced non-small-cell lung cancer: A prospective cohort study[J]. *European Journal of Cancer*, 2019, 121(9): 64-73. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.08.012.
- [20] 黄慧, 陈滔. 培美曲塞联合顺铂对晚期非鳞非小细胞肺癌患者血清肿瘤标志物的影响[J]. *药物评价研究*, 2018, 41(12): 2289-2293. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6367.2018.12.031.
- [21] Asahina H, Tanaka K, Morita S, et al. A phase II study of osimertinib combined with platinum plus pemetrexed in patients with EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer: The OPAL Study (NEJ032C/LOGIK1801) [J]. *Clinical Lung Cancer*, 2020, 22(2): 147-151. DOI: 10.1016/j.clcc.2020.09.023.
- [22] 陆婉玲, 李小龙, 党亚正, 等. DC-CIK 免疫疗法联合化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.
- [23] 张丹, 牟尚东, 田姍, 等. 吉非替尼治疗非小细胞肺癌的效果分析及机制研究[J]. *中国医药*, 2020, 15(3): 366-369. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.03.011.
- [24] Pan Z, Yang G, Cui J, et al. A pilot phase I study of intrathecal pemetrexed for refractory leptomeningeal metastases from non-small-cell lung cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9(6): 838-843. DOI: 10.3389/fonc.2019.00838.
- [25] 林永娟, 李会颖, 黄明敏, 等. 经 Ommaya 囊脑室内注射培美曲塞治疗非小细胞肺癌软脑膜转移 1 例及文献回顾[J]. *中国肺癌杂志*, 2019, 22(8): 546-550. DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2019.08.12.
- [26] Garon EB, Aerts J, Kim JS, et al. Safety of Pemetrexed plus Platinum in combination with pembrolizumab for metastatic nonsquamous non-small cell lung cancer: A post hoc analysis of KEYNOTE-189 [J]. *Lung Cancer*, 2021, 155(5): 53-60. DOI: 10.1016/j.lungcan.2021.05.005.
- [27] Permsuwan U, Thongprasert S, Sirichanchuen B. Cost-utility analysis of first-line pemetrexed plus cisplatin in non-small cell lung cancer in thailand [J]. *Value in Health Regional Issues*, 2020, 21(5): 9-16. DOI: 10.1016/j.jfma.2019.12.007.

(收稿日期: 2021-06-07)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 004

恶性肿瘤专题

沉默 MMP-9 对喉癌细胞侵袭、迁移及 PI3K/Akt 磷酸化水平的影响

左文娜, 朱虹, 金爱燕, 王强, 王洪琴

基金项目: 河北省沧州市重点研发计划指导项目 (172302066)

作者单位: 061001 河北省沧州市中心医院耳鼻喉科

通信作者: 左文娜, E-mail: zg6668@yeah. net

【摘要】目的 观察沉默基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 对喉癌细胞侵袭、迁移及 PI3K/Akt 磷酸化水平的影响。**方法** 收集 2018 年 3 月—2019 年 3 月河北省沧州市中心医院耳鼻喉科诊治喉癌患者 20 例的术后癌组织和癌旁组织, 将 HEp2 细胞分为 Control 组、siRNA Control 组和 MMP-9 siRNA 组。采用 qRT-PCR 检测 MMP-9 mRNA 表达, MTT 法检测 HEp2 细胞增殖, 流式细胞术实验检测 HEp2 细胞凋亡, Transwell 实验检测 HEp2 细胞侵袭, 伤口愈合实验检测 HEp2 细胞迁移, Western-blot 分析检测 PI3K/Akt 蛋白磷酸化水平。**结果** 喉癌组织中的 MMP-9 mRNA 表达明显高于癌旁组织 ($t/P = 11.237/0.001$)。MMP-9 siRNA 组的 HEp2 细胞增殖能力显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 5.382/0.005, 5.146/0.007$), HEp2 细胞凋亡能力明显高于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 8.643/0.001, 8.237/0.001$), HEp2 细胞侵袭能力显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 7.673/0.001, 6.792/0.002$), HEp2 细胞愈合度显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 6.882/0.003, 6.513/0.005$), p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 9.459/0.001, 8.736/0.001, 6.873/0.001, 6.694/0.001$)。而 Control 组与 siRNA Control 组比较, 上述指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** MMP-9 在喉癌组织中高表达, 沉默 MMP-9 能够抑制 HEp2 细胞的增殖、侵袭、迁移, 促进 HEp2 细胞的凋亡, 沉默 MMP-9 可能是通过抑制 PI3K/Akt 信号通路来减缓喉癌的发展。

【关键词】 喉癌; 基质金属蛋白酶-9; PI3K/Akt 通路; 增殖; 侵袭

【中图分类号】 R739.65 **【文献标识码】** A

The effect of silencing MMP-9 on the invasion, migration and PI3K/Akt phosphorylation level of laryngeal carcinoma cells Zuo Wenna, Zhu Hong, Jin Aiyuan, Wang Qiang, Wang Hongqin. Department of Otolaryngology, Cangzhou Central Hospital, Hebei Province, Cangzhou 061001, China

Corresponding author: Zuo Wenna, E-mail: zg6668@yeah. net

Funding program: Key R & D Plan Guidance Project of Cangzhou City (172302066)

【Abstract】Objective To observe the effect of silencing matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) on the invasion, migration and PI3K/Akt phosphorylation level of laryngeal cancer cells. **Methods** Collected the postoperative cancer and para-cancerous tissues of 20 patients with laryngeal cancer diagnosed and treated by the Department of Otolaryngology, Cangzhou Central Hospital, Hebei Province from March 2018 to March 2019, and divided HEp2 cells into Control group, siRNA Control group and MMP-9 siRNA group. MMP-9 mRNA expression was detected by qRT PCR, HEp2 cell proliferation was detected by MTT method, HEp2 cell apoptosis was detected by flow cytometry, HEp2 cell invasion was detected by Transwell test, HEp2 cell migration was detected by wound healing test, and PI3K/Akt phosphorylation was detected by Western blot analysis level. **Results** The expression of MMP-9 mRNA in laryngeal cancer tissue was significantly higher than that in adjacent tissues ($t/P = 11.237/0.001$). The proliferation ability of HEp2 cells in the MMP-9 siRNA group was significantly lower than that of the Control group and siRNA Control group ($t/P = 5.382/0.005, 5.146/0.007$). The apoptotic ability of HEp2 cells in the MMP-9 siRNA group was significantly higher than that of the Control group and siRNA Control group ($t/P = 8.643/0.001, 8.237/0.001$). The invasion ability of HEp2 cells of MMP-9 siRNA group was significantly lower than that of Control group and siRNA Control group ($t/P = 7.673/0.001, 6.792/0.002$). The healing rate of HEp2 cells in the MMP-9 siRNA group was significantly lower than that of the Control group and siRNA Control group ($t/P = 6.882/0.003,$

6. 513/0. 005). The protein levels of pPI3K and pAkt in the MMP-9 siRNA group were significantly lower than those in the Control group and siRNA Control group ($t/P=9.459/0.001, 8.736/0.001, 6.873/0.001, 6.694/0.001$). **Conclusion** MMP-9 is highly expressed in laryngeal cancer tissues. Silencing MMP-9 can inhibit the proliferation, invasion and migration of HEp2 cells and promote the apoptosis of HEp2 cells. Silencing MMP-9 may slow down the development of laryngeal cancer by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway.

【Key words】 Laryngeal carcinoma; Matrix metalloproteinase 9; PI3K/Akt pathway; Proliferation; Invasion

喉癌是喉黏膜上皮组织的恶性肿瘤,是头部常见的恶性肿瘤之一。临床主要表现为声音嘶哑,咽喉异物感,咽下疼痛,痰中带血,伴有刺激性咳嗽,病情严重会导致呼吸困难等^[1]。该病多发于老年男性,中国喉癌的发病率约为 5.83/10 万,占全身肿瘤的 2% 左右^[2]。随着环境污染的加重,喉癌的发病率逐渐升高。该病的发病机制尚不明确,一般与吸烟、口腔卫生欠佳、接触有害粉尘、内分泌失调、病毒和维生素 D 代谢失常关系密切^[3]。喉癌的发生不限于侵袭、迁移、转移和血管生成,而且还与细胞外环境密切相关^[4]。基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 在细胞外基质膜蛋白裂解和重构中发挥着非常重要的作用,与癌症的病理学特性广泛相关^[5]。相关研究表明, MMP-9 在肿瘤的转移、侵袭和血管生成中起着重要的作用,并且介导肿瘤的微环境变化,在大多数情况下促进肿瘤的发展^[6]。另外, MMP-9 还与心血管疾病和免疫疾病相关。磷脂酰肌醇 3 激酶/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶 (PI3K/Akt) 信号通路调控肿瘤细胞的多种功能,如细胞生长、增殖、迁移和凋亡等^[7]。目前关于沉默 MMP-9 调控 PI3K/Akt 磷酸化水平的机制尚不清楚,现观察沉默 MMP-9 对喉癌细胞侵袭、迁移及 PI3K/Akt 磷酸化水平的影响,为临床喉癌治疗提供一定的参考,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 (1) 实验对象:收集 2018 年 3 月—2019 年 3 月河北省沧州市中心医院耳鼻喉科诊治喉癌患者 20 例的术后癌组织和癌旁组织(于 -80℃ 冰箱中保存)。人鼻咽永生上皮细胞: NP69、HEp2、TU212、TU686、TU177 细胞(南京凯基生物科技发展有限公司)。(2) 试剂:甲醛、含 FBS 的培养基、Lipofectamine 3000 转染试剂(南通碧云天生物技术有限公司);四甲基偶氮唑盐(北京中杉金桥生物技术有限公司);Trizol 裂解液、蛋白裂解液(南京建成生物工程研究所);qRT-PCR 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。(3) 仪器设备:酶标仪(德国 biosys bioreader)、流式细胞仪(美国 BD 公司, FACS Calibur 流式细胞仪)、Transwell 小室(北京达科为生物技术有限公司, 3422)、图像分析系统(Media Cybernetics 公司, Image-

Pro Plus 7.0)、显微镜(日本 Olympus 公司, CX23)。

1.2 实验方法 取 NP69、HEp2、TU212、TU686、TU177 细胞分别维持在 DMEM 与 10% FBS 的培养基中,于 37℃、5% CO₂ 中培养, 2 d 更换液体 1 次,待细胞处于对数生长期时,采用适量胰酶消化,吸出培养液,进行传代培养,待后期实验备用。待 HEp2 细胞生长密度达到 80% 以上,取之进行转染,转染 siRNA Control 40 nmol/L 为 siRNA Control 组,转染 pGV 102-MMP-9-siRNA 40 nmol/L 为 MMP-9 siRNA 组,按 Lipofectamine 3000 转染试剂说明书进行转染,只进行换液处理,没有转染的 HEp2 细胞记为 Control 组。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 MMP-9 mRNA 表达:将喉癌组织和癌旁组织放入液氮中研磨,在喉癌组织、癌旁组织呈粉状时加入 Trizol 裂解液 1 ml,提取组织中的 RNA,并检测纯度和浓度,逆转录成 cDNA,采用 qRT-PCR 试剂盒检测 MMP-9 mRNA 水平。为了验证 MMP-9 mRNA 在 NP69、HEp2、TU212、TU686、TU177 细胞的表达,也分别加入 Trizol 裂解液 1 ml,提取细胞中的 RNA,检测纯度和浓度,逆转录成 cDNA, MMP-9 mRNA 引物:上游 5'-ACTTCATCACCATTCCAT-3',下游 5'-GCTTCTTATCAACACT-3'; GAPDH 内参,上游 5'-CAATTCTCCATTCTCATT-3',下游 5'-CATATCCTATAATCCA-3',反应条件为 92℃、30 min, 80℃ 退火 10 s, 70℃ 延伸 15 s, 45 个循环,采用 2^{-ΔΔCT} 计算相对含量。

1.3.2 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 法检测 HEp2 细胞增殖:将 Control 组、siRNA Control 组和 MMP-9 siRNA 组转染后的 HEp2 细胞以 1.0 × 10⁴ 个/孔接种到 24 孔板中,细胞培养过夜,在 24 h、48 h、72 h、96 h,采用 MTT 法测定细胞增殖情况,酶标仪在 490 nm 下完成吸光度值 (OD) 测定。

1.3.3 流式细胞术实验检测 HEp2 细胞凋亡:取各组转染后的 HEp2 细胞,以每孔 1 × 10⁶ 个/孔接种于 24 孔板中,将荧光标记的 Annexin V 加到细胞悬液中,常温孵育 20 min,采用 PI 染色,应用流式细胞仪进行检测,实验重复 3 次。

1.3.4 Transwell 实验检测 HEp2 细胞侵袭:将各组转染后的 HEp2 细胞,以 2×10^4 个/孔接种无血清培养基的 Transwell 小室中进行细胞侵袭实验,再将含 10% FBS 的培养基放入 Transwell 小室中,孵育 48 h 后,使用甲醛固定,采用 0.1% 结晶紫染色 30 min,拍照,采用 Image-Pro Plus 图像分析系统计数细胞侵袭的数量。

1.3.5 伤口愈合实验检测 HEp2 细胞迁移:将各组转染后的 HEp2 细胞以 1×10^5 个/孔放入 6 孔板中,室温孵育 12 h,观察细胞生长情况,当细胞的融合度达到 80% 时,采用 200 μ l 移液枪头刮细胞表面,使其形成伤口,显微镜拍照,使用 Image J 图像处理软件计算迁移面积,伤口愈合率 = [(0 h 面积 - 48 h 面积) / 0 h 面积] $\times$ 100%。

1.3.6 蛋白质印迹 (Western-blot) 法分析检测 PI3K/Akt 磷酸化水平:取各组转染后的 HEp2 细胞,加入蛋白裂解液,并收集裂解后的液体离心处理,取上清液,采用 BCA 法定量,提取总蛋白,进行 SDS-PAGE 电泳、转膜,再加入 5% 胎牛血清蛋白封闭 60 min,加入相应的一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h,洗膜后加入二抗,室温孵育 60 min 后,TBST 洗膜,采用化学发光法检测 p-PI3K、p-Akt、PI3K 和 Akt 蛋白水平,拍照后应用 Gel-Pro analyzer 软件分析灰度值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行数据处理。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组比较行单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP-9 在喉癌组织、癌旁组织和人鼻咽永生上皮细胞中的表达比较 qRT-PCR 检测结果显示,喉癌组织中 MMP-9 mRNA 表达明显高于癌旁组织 (1.56 ± 0.41 vs. 0.24 ± 0.07 , $t/P = 11.237/0.001$); 鼻咽永生上皮细胞 NP69 与 HEp2、TU212、TU686、TU717 细胞中 MMP-9 mRNA 表达水平分别为 0.32 ± 0.05 、 1.83 ± 0.46 、 1.36 ± 0.27 、 1.33 ± 0.25 、 1.51 ± 0.32 ,与鼻咽永生上皮细胞 NP69 比较,HEp2、TU212、TU686、TU717 细胞中 MMP-9 mRNA 表达明显升高 ($t/P = 8.673/0.009$ 、 $6.431/0.017$ 、 $6.159/0.022$ 、 $6.873/0.011$),且 HEp2 细胞中 MMP-9 mRNA 表达最高,故后续采用 HEp2 细胞进行实验。

2.2 沉默 MMP-9 对喉癌细胞增殖和凋亡作用的影响 MTT 法检测结果显示,Control 组 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的 HEp2 细胞增殖能力分别为 0.26 ± 0.05 、 0.48 ± 0.07 、 0.83 ± 0.09 、 1.26 ± 0.13 ,siRNA Control 组 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的 HEp2 细胞增殖能力分别

为 0.24 ± 0.06 、 0.46 ± 0.06 、 0.82 ± 0.07 、 1.19 ± 0.11 ,MMP-9 siRNA Control 组 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的 HEp2 细胞增殖能力分别为 0.24 ± 0.07 、 0.44 ± 0.08 、 0.51 ± 0.06 、 0.69 ± 0.07 。与 Control 组比较,siRNA Control 组各时点 HEp2 细胞增殖能力差异无统计学意义 ($t/P = 0.795/0.274$ 、 $0.831/0.213$ 、 $0.949/0.195$ 、 $0.982/0.154$);与 siRNA Control 组比较,MMP-9 siRNA 组 24 h、48 h 细胞增殖能力差异无统计学意义 ($t/P = 1.036/0.116$ 、 $1.227/0.109$),而 72 h 和 96 h 细胞增殖能力显著降低 ($t/P = 5.382/0.005$ 、 $5.146/0.007$)。流式细胞术实验检测结果显示,与 Control 组比较,siRNA Control 组 HEp2 细胞凋亡能力差异无统计学意义 ($t/P = 1.156/0.785$);MMP-9 siRNA 组 HEp2 细胞凋亡能力明显高于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 8.643/0.001$ 、 $8.237/0.001$),见图 1。

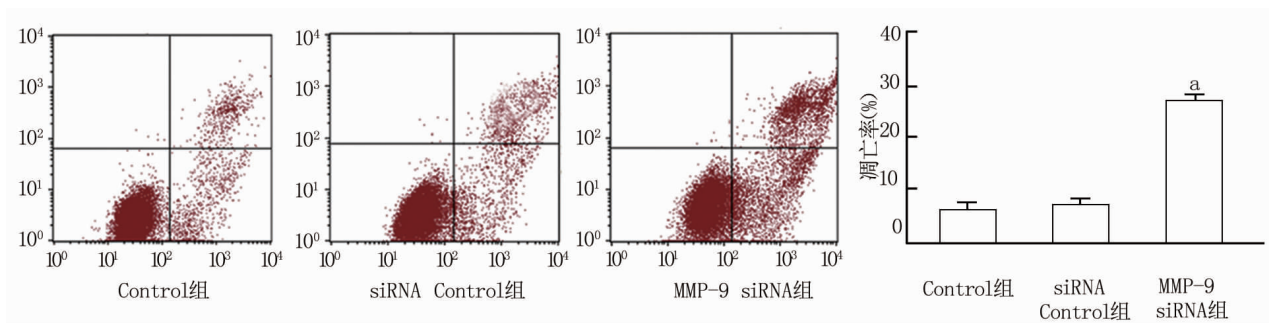
2.3 沉默 MMP-9 对喉癌细胞侵袭作用的影响 Transwell 实验检测结果显示,与 Control 组比较,siRNA Control 组 HEp2 细胞侵袭能力差异无统计学意义 ($t/P = 1.379/0.483$);MMP-9 siRNA 组 HEp2 细胞侵袭能力显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 7.673/0.001$ 、 $6.792/0.002$),见图 2。

2.4 沉默 MMP-9 对喉癌细胞迁移作用的影响 伤口愈合实验检测结果显示,与 Control 组比较,siRNA Control 组 HEp2 细胞愈合率差异无统计学意义 ($t/P = 1.756/0.336$);MMP-9 siRNA 组 HEp2 细胞愈合度显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 6.882/0.003$ 、 $6.513/0.005$),见图 3。

2.5 沉默 MMP-9 对 PI3K/Akt 蛋白磷酸化水平的影响 Western-blot 分析检测结果显示,Control 组、siRNA Control 组和 MMP-9 siRNA 组中 PI3K、Akt 蛋白水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);Control 组、siRNA Control 组中 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平比较差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$);MMP-9 siRNA 组中 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平显著低于 Control 组和 siRNA Control 组 ($t/P = 9.459/0.001$ 、 $8.736/0.001$ 、 $6.873/0.001$ 、 $6.694/0.001$),见图 4。

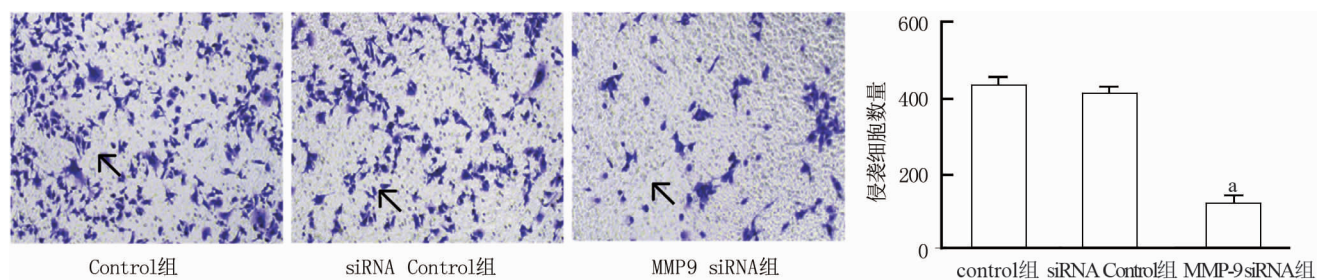
3 讨论

喉癌是常见的头颈部恶性肿瘤之一,以喉鳞癌为主要类型,近年来,喉癌的发病率逐渐增高。全切除术是一种传统的喉癌治疗方法,可显著减少该病的复发情况,但可能引起喉部功能丧失^[8]。放化疗已经广泛应用于喉癌的治疗,尽管可以延长患者的生存时间,但总体的治疗效果并不理想,预后不良,生存率低,后遗症和并发症较多,严重影响了患者的生命及生活质



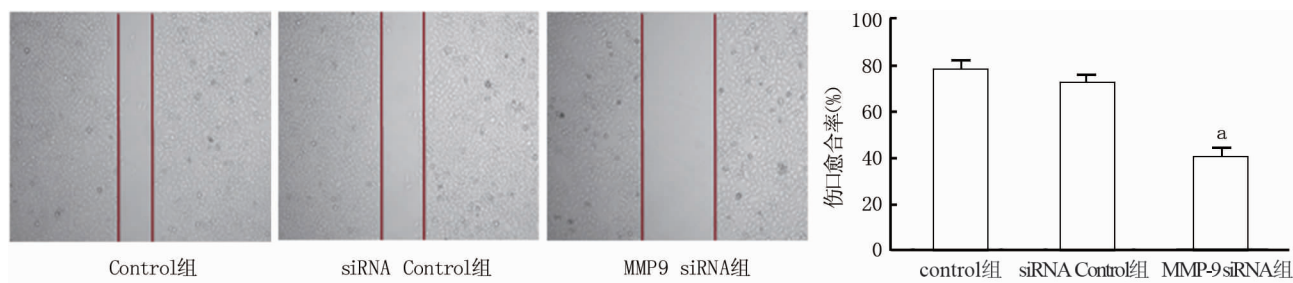
注:与 Control 组比较,^a $P < 0.01$

图 1 沉默 MMP-9 对喉癌细胞凋亡作用的影响



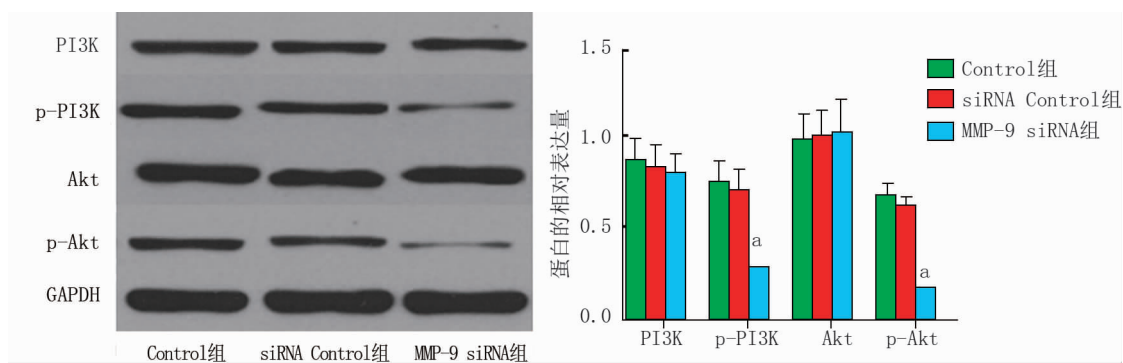
注:与 Control 组比较,^a $P < 0.01$

图 2 沉默 MMP-9 对喉癌细胞侵袭作用的影响



注:与 Control 组比较,^a $P < 0.01$

图 3 沉默 MMP-9 对喉癌细胞迁移作用的影响



注:与 Control 组比较,^a $P < 0.01$

图 4 沉默 MMP-9 对 PI3K/Akt 蛋白磷酸化水平的影响

量^[9]。所以亟需深入了解喉癌的发生和发展机制,寻找新的治疗策略提高喉癌的诊治和预后水平。

肿瘤细胞穿透基底膜的过程中,基质金属蛋白酶(MMPs)发挥着重要的作用,它能够降解细胞外基质

从而形成肿瘤侵袭与转移的通道^[10]。MMP-9 与肿瘤的关系尤其密切,MMP-9 基因位于染色体 20q13. 12, MMP-9 蛋白含有催化结构域、血凝素样结构域、铰链结构域、信号肽和前肽结构^[11-12]。MMP-9 具有蛋白水解裂解活性,在细胞外环境中参与许多生物学过程,促进癌症的发生和发展^[13]。MMP-9 在肿瘤侵袭和转移过程中也起到重要的作用,相关研究表明,miR-188-5p 通过 MMP-9 表达而抑制瘢痕疙瘩的增殖和侵袭^[14]。本研究通过 qRT-PCR 检测 MMP-9 在喉癌组织和喉癌细胞中的表达,发现喉癌组织中 MMP-9 mRNA 表达明显高于癌旁组织,与鼻咽永生生化上皮细胞 NP69 比较,HEp2、TU212、TU686、TU177 细胞中 MMP-9 mRNA 表达明显升高,证明了 MMP-9 在喉癌组织和喉癌细胞中高表达,具有促进肿瘤发展的作用。

本结果表明,沉默 MMP-9 的 HEp2 细胞增殖、侵袭能力明显降低,细胞愈合度也明显减少,从而说明抑制 MMP-9 能够抑制 HEp2 细胞增殖、侵袭和迁移,促进细胞凋亡。相关研究表明,沉默 MMP-9 能够抑制乳腺癌肿瘤细胞的生长、迁移及侵袭^[15],与本结论相类似。MMP-9 能够降解血管基底膜的主要成分 IV 型胶原,从而参与肿瘤细胞的侵袭和迁移,同时能够促进血管内皮生长因子来调节肿瘤血管的发生,因此沉默 MMP-9 可抑制肿瘤细胞的侵袭和迁移,从而抑制肿瘤血管的发生。

PI3K 是具有催化活性的信号蛋白,与下游的 Akt 结合发生磷酸化,构成 PI3K/Akt 信号通路,该通路在细胞迁移过程中发挥着重要的作用^[16-17]。相关研究发现,MMPs 表达呈 PI3K 依赖的特点,即激活 PI3K 会使 MMPs 的表达水平上调,抑制 PI3K 会使 MMPs 的表达水平下调^[18]。本结果显示,沉默 MMP-9 的表达,p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平明显低于 Control 组和 siRNA Control 组。由此推测,沉默 MMP-9 可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路,阻止细胞外基质的降解,来减缓喉癌的发展。

综上所述,沉默 MMP-9 对喉癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移能力的影响,并阐述了与 PI3K/Akt 蛋白磷酸化水平的关系,为喉癌的诊断和治疗研究提供了一定的理论基础。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

左文娜:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;朱虹:进行统计学分析;金爱燕:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王强:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;王洪琴:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Brandstorp-Boesen J, Zitterström U, Evensen JF, et al. Value of patient-reported symptoms in the follow up of patients potentially cured of laryngeal carcinoma [J]. *The Journal of Laryngology And Otology*, 2019, 133 (6): 508-514. DOI: 10. 1017/S0022215119000677.
- [2] 潘新良, 林云. 正确选择喉癌治疗方式, 提高患者的生存率及生活质量[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2020, 55 (12): 1111-1115. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115330-20201004-00784.
- [3] 胡谊容, 田松明, 赵福容. 喉癌患者 PAC-1, CD62P 表达与临床病理特征和复发的关系[J]. *中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志*, 2020, 28 (1): 56-60. DOI: 10. 16542/j. cnki. issn. 1007-4856. 2020. 01. 014.
- [4] Wang N, Yan H, Wu D, et al. PRMT5/Wnt4 axis promotes lymph-node metastasis and proliferation of laryngeal carcinoma [J]. *Cell Death & Disease*, 2020, 11 (10): 864. DOI: 10. 1038/s41419-020-03064-x.
- [5] Mondal S, Adhikari N, Banerjee S, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 194: 112260. DOI: 10. 1016/j. ejmech. 2020. 112260.
- [6] 王秋子, 陶明月, 周宇, 等. 基质金属蛋白酶 9, 基质金属蛋白酶 2, 迁移诱导蛋白 7 和细丝蛋白 A 在结肠癌中的表达及其预后意义[J]. *肿瘤研究与临床*, 2021, 33 (5): 334-338. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115355-20200713-00381.
- [7] 李志勇, 杨荃荃, 马鹏, 等. 喉癌患者 HP 感染情况及临床意义[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27 (11): 103-107. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2020. 11. 023.
- [8] Harris A, Tanyi A, Hart R, et al. Transoral laser surgery for laryngeal carcinoma: has Steiner achieved a genuine paradigm shift in oncological surgery [J]. *Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 2018, 100 (1): 2-5. DOI: 10. 1308/rcsann. 2017. 0190.
- [9] Marioni G, Ottaviano G, Lovato A, et al. Expression of maspin tumor suppressor and mTOR in laryngeal carcinoma [J]. *American Journal of Otolaryngology*, 2020, 41 (1): 102322. DOI: 10. 1016/j. amjoto. 2019. 102322.
- [10] Moore-Smith LD, Isayeva T, Lee JH, et al. Silencing of TGF- β_1 in tumor cells impacts MMP-9 in tumor microenvironment [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 8678. DOI: 10. 1038/s41598-017-09062-y.
- [11] Hitoshi E, Satoshi O, Yutaka I, et al. Glucose starvation induces LKB1-AMPK-mediated MMP-9 expression in cancer cells [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8 (1): 10122. DOI: 10. 1038/s41598-018-28074-w.
- [12] Lima A, Mota J, Monteiro S, et al. Legume seeds and colorectal cancer revisited: Protease inhibitors reduce MMP-9 activity and colon cancer cell migration [J]. *Food Chemistry*, 2016, 197 (15): 30-38. DOI: 10. 1016/j. foodchem. 2015. 10. 063.
- [13] Kunte M, Desai K. The protein extract of chlorella minutissima inhibits the expression of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in cancer cells through upregulation of TIMP-3 and down regulation of c-Jun [J]. *Cell Journal*, 2018, 20 (2): 211-219. DOI: 10. 22074/cellj. 2018. 5277.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.005

恶性肿瘤专题

术前预后营养指数、白蛋白/碱性磷酸酶比值对肾癌患者行肾根治性切除预后的评估价值

蒲永昌, 汪勇, 郭钊, 刘林海

基金项目: 四川省医学科研课题计划项目(S17044)

作者单位: 641100 四川省内江市第二人民医院泌尿外科

通信作者: 汪勇, E-mail: 365800171@qq.com

【摘要】目的 分析术前预后营养指数(PNI)、白蛋白/碱性磷酸酶比值(AAPR)对肾癌患者行肾癌根治性切除预后的评估价值。**方法** 选取2011年1月—2015年12月在内江市第二人民医院泌尿外科行肾癌根治性切除手术治疗的肾癌患者227例作为肾癌组,另选取于医院体检健康志愿者80例作为健康对照组。检测并比较2组外周血PNI和AAPR水平;术后随访5年,根据肾癌患者预后状况分为预后良好亚组($n=186$)和预后不良亚组($n=41$),比较2亚组临床病理资料;采用多因素Logistic回归分析影响肾癌患者不良预后的危险因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析术前PNI、AAPR预测肾癌患者不良预后的价值。**结果** 肾癌组患者外周血PNI、AAPR低于健康对照组($t/P=6.118/0.000, 5.730/0.000$);预后不良亚组外周血PNI、AAPR低于预后良好亚组($t/P=4.697/0.005, 5.358/0.001$)。2亚组肿瘤直径、病理分期、Fuhrman分级、发生转移比较差异有统计学意义($\chi^2/P=28.469/0.000, 29.191/0.000, 22.761/0.000, 10.756/0.002$);肿瘤直径 >3 cm、病理分期Ⅲ~Ⅳ期、Fuhrman分级3~4级、发生转移、PNI和AAPR降低是影响肾癌患者不良预后的独立危险因素[$OR(95\% CI)=1.863(1.234 \sim 2.812), 1.997(1.282 \sim 3.110), 2.851(1.529 \sim 5.317), 2.971(1.413 \sim 6.245), 2.673(1.473 \sim 4.850), 2.782(1.466 \sim 5.281)$]。PNI预测肾癌患者不良预后的曲线下面积(AUC)为0.772(95% CI 0.675~0.869),约登指数(Youden指数)为0.396;AAPR的AUC为0.831(95% CI 0.752~0.911),Youden指数为0.512;PNI、AAPR联合检测的AUC为0.906(95% CI 0.852~0.962),Youden指数为0.608,二者联合检测的AUC优于单独检测。**结论** 术前PNI、AAPR降低是肾癌患者预后不良的重要危险因素,联合检测PNI、AAPR对肾癌患者的预后评估有一定临床应用价值。

【关键词】 根治性手术;肾癌;预后营养指数;白蛋白/碱性磷酸酶比值;预后

【中图分类号】 R737.11

【文献标识码】 A

Preoperative prognostic nutritional index and albumin/alkaline phosphatase ratio in evaluating the prognosis of patients with renal cell carcinoma undergoing radical nephrectomy Pu Yongchang, Wang Yong, Guo Chuan, Liu Linhai.

Department of Urology, Neijiang Second People's Hospital, Neijiang 641100, Sichuan

Corresponding author: Wang Yong, E-mail: 365800171@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the evaluation value of preoperative prognostic nutritional index (PNI) and albumin/alkaline phosphatase ratio (AAPR) for the prognosis of patients with renal cancer undergoing radical nephrectomy. **Methods** A total of 227 renal cancer patients as renal cancer group who underwent surgical treatment in the Department of Urology of the Second People's Hospital of Neijiang City from January 2011 to December 2015 were selected, Another 80 healthy volunteers were selected as the control group. Detect and compare the levels of PNI and AAPR in the peripheral blood of the two groups; after operation, the 5-year follow-up was divided into good prognosis subgroup ($n=186$) and poor prognosis subgroup ($n=41$) according to the prognosis of the patients, the clinicopathological data of the two groups were compared; and multivariate logistic regression was used to analyze the risk factors affecting the adverse prognosis of renal cancer patients; receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the value of PNI and AAPR in predicting the adverse prognosis of renal cancer patients. **Results** The peripheral blood PNI and AAPR of the renal cancer group were lower than those of the control group ($t/P=6.118/0.000, 5.730/0.000$); the peripheral blood PNI and AAPR of the poor prognosis subgroup were lower than those of the good prognosis subgroup ($t/P=4.697/0.005, 5.358/0.001$); there were significant differences in tumor diameter, pathological stage, Fuhrman grade and metastasis between the two subgroups ($\chi^2/P=28.469/0.000, 29.191/0.000, 22.761/0.000, 10.756/0.002$); tumor diameter >3 cm, pathological stage Ⅲ-Ⅳ,

Fuhrman grade 3-4, metastasis, PNI and AAPR decrease were independent risk factors affecting the poor prognosis of renal cancer patients [OR(95% CI)=1.863(1.234-2.812)、1.997(1.282-3.110)、2.851(1.529-5.317)、2.971(1.413-6.245)、2.673(1.473-4.850)、2.782(1.466-5.281)]; the area under curve (AUC) for PNI to predict the poor prognosis of renal cancer patients was 0.772 (95% CI 0.675-0.869), the Youden index was 0.396; the AUC of AAPR was 0.831 (95% CI 0.752-0.911), the Youden index was 0.512; the AUC of combined detection of PNI and AAPR was 0.906 (95% CI 0.852-0.962), the Youden index was 0.608. The AUC of combined detection was better than that of single detection. **Conclusion** Decreased values of PNI and AAPR before operation are important risk factors for poor prognosis of renal cancer patients. The combined detection of PNI and AAPR has certain clinical application value for the prognosis evaluation of renal cancer patients.

【Key words】 Prognostic Nutritional Index; Albumin/Alkaline Phosphatase Ratio; Renal Cancer; Prognosis

肾癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一。目前,随着人们饮食结构及生活习惯的改变,肾癌的发病率也逐年上升,严重威胁着人们的生命健康。根治性肾切除术是肾癌治疗的主要手段,但对中晚期肾癌患者即便切除原发病灶,患者也容易出现复发及转移,严重影响着患者的生存预后^[1]。预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI)是由血清白蛋白和外周血淋巴细胞计数计算而来,可用于评估患者的营养状况、手术风险、术后并发症等^[2]。研究发现,PNI与胰腺癌、结直肠癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤的预后密切相关^[3-5]。白蛋白/碱性磷酸酶比值(albumin/alkaline phosphatase ratio, AAPR)是一种反映机体营养状态及炎症反应程度的新指标, AAPR降低与恶性肿瘤的预后不良密切相关^[6]。目前,关于 PNI、AAPR与肾癌患者预后的研究报道较少。因此,现分析术前 PNI、AAPR与肾癌患者肾根治性切除术预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 1 月—2015 年 12 月在内江市第二人民医院泌尿外科行肾根治性切除手术治疗的肾癌患者 227 例作为肾癌组,男 158 例,女 69 例,年龄 30~81(56.93±11.24)岁。另选取医院体检健康志愿者 80 例为健康对照组,男 40 例,女 40 例,年龄 25~78(56.71±10.98)岁。2 组受试者的性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过医院医学伦理委员会审批(审批号:2010-LS197),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①均经 CT 和病理学检查诊断为肾癌;②年龄≥18 岁;③术前均未接受放疗、化疗等抗肿瘤治疗;④临床随访资料完整。(2)排除标准:①合并其他器官恶性肿瘤者;②伴有严重心、肝、肺等功能障碍者;③合并自身免疫性疾病或免疫缺陷疾病;④术前存在急慢性感染者;⑤临床随访资料不完整。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集:包括性别、年龄、体质指数、高血压、糖尿病、肿瘤家族史、手术方式、肿瘤直径、病理类型、病理分期、Fuhrman 分级、有无转移等。

1.3.2 外周血 PNI、AAPR 检测:肾癌组在术前 24 h、健康对照组于体检时空腹抽取肘静脉血 10 ml,离心分离得血清,置于-80℃冰箱保存待测。应用 AU2700 型全自动生化分析仪(日本 OLYMPUS 公司)及配套试剂检测血清碱性磷酸酶、白蛋白水平;采用 XE-5000 型血常规分析仪(日本希森美康公司)检测淋巴细胞计数。PNI=5×淋巴细胞计数($\times 10^9/L$)+血清白蛋白(g/L);AAPR=血清白蛋白/碱性磷酸酶。

1.3.3 随访:采取门诊及电话对肾癌患者术后进行为期 5 年随访,术后 2 年内每 3 个月随访 1 次,2 年后每 6 个月随访 1 次,随访终点时间为 2020 年 12 月 31 日,统计患者生存情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件统计处理数据。符合正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,2 组间比较采用 χ^2 检验;采用多因素 Logistic 回归分析影响肾癌患者预后不良的危险因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析术前 PNI、AAPR 对肾癌患者不良预后的评估价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组外周血 PNI、AAPR 比较 肾癌组患者外周血 PNI、AAPR 低于健康对照组($P<0.01$),见表 1。

表 1 2 组受试者外周血 PNI、AAPR 比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	PNI	AAPR
健康对照组	80	49.85±6.23	0.92±0.82
肾癌组	227	43.93±5.71	0.51±0.64
t 值		6.118	5.730
P 值		0.000	0.000

注:PNI. 预后营养指数;AAPR. 白蛋白/碱性磷酸酶比值

2.2 不同预后亚组外周血 PNI、AAPR 比较 随访 5 年,肾癌患者 227 例中存活 186 例记为预后良好亚组,死亡 41 例记为预后不良亚组。预后不良亚组外周血 PNI、AAPR 低于预后良好亚组($P < 0.01$),见表 2。

表 2 不同预后亚组肾癌患者外周血 PNI、AAPR 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PNI	AAPR
预后良好亚组	186	44.62 ± 5.50	0.54 ± 0.79
预后不良亚组	41	40.82 ± 3.71	0.39 ± 0.46
<i>t</i> 值		4.697	5.358
<i>P</i> 值		0.005	0.001

注:PNI. 预后营养指数;AAPR. 白蛋白/碱性磷酸酶比值

2.3 不同预后肾癌患者临床病理资料比较 2 亚组患者性别、年龄、体质量指数、合并高血压比例、合并糖尿病比例、肿瘤家族史比例、手术方式、病理类型比较差异无统计学意义($P > 0.05$),肿瘤直径、病理分期、Fuhrman 分级、发生转移比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 3 不同预后肾癌患者临床病理资料比较 [例(%)]

项目	例数	预后良好亚组 (<i>n</i> = 186)	预后不良亚组 (<i>n</i> = 41)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				1.761	0.193
男	158	133(71.51)	25(60.98)		
女	69	53(28.49)	16(39.02)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		57.23 ± 12.07	56.71 ± 10.98	0.269	0.787
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)		24.59 ± 1.71	24.16 ± 2.08	0.625	0.311
高血压	121	94(50.54)	27(65.85)	3.166	0.085
糖尿病	88	73(39.25)	15(36.59)	0.100	0.860
肿瘤家族史	97	74(39.78)	23(56.10)	3.653	0.080
手术方式				3.430	0.094
开放	72	54(29.03)	18(43.90)		
腹腔镜	155	132(70.97)	23(56.10)		
肿瘤直径(cm)				28.469	0.000
≤3	148	136(73.12)	12(29.27)		
>3	79	50(26.88)	29(70.73)		
病理类型				0.698	0.514
透明细胞癌	183	148(79.57)	35(85.37)		
非透明细胞癌	44	38(20.43)	6(14.63)		
病理分期				29.191	0.000
I~II期	125	118(63.44)	7(17.07)		
III~IV期	102	68(36.56)	34(82.93)		
Fuhrman 分级				22.761	0.000
1~2 级	131	121(65.05)	10(24.39)		
3~4 级	96	65(34.95)	31(75.61)		
发生转移				10.756	0.002
有	108	79(42.47)	29(70.73)		
无	119	107(57.53)	12(29.27)		

2.4 影响肾癌患者不良预后的多因素 Logistic 回归分

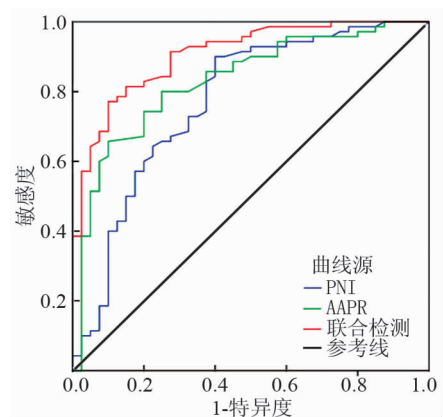
析 多因素 Logistic 回归分析结果显示,肿瘤直径 > 3 cm、病理分期 III ~ IV 期、Fuhrman 分级 3 ~ 4 级、发生转移、PNI 和 AAPR 降低是影响肾癌患者不良预后的独立危险因素($P < 0.05$),见表 4。

表 4 影响肾癌患者不良预后的多因素 Logistic 回归分析

项目	β 值	<i>SE</i> 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>
肿瘤直径(> 3 cm)	0.622	0.210	0.003	1.863	1.234 ~ 2.812
病理分期(III ~ IV期)	0.692	0.226	0.002	1.997	1.282 ~ 3.110
Fuhrman 分级(3 ~ 4 级)	1.048	0.318	0.001	2.851	1.529 ~ 5.317
发生转移(有)	1.089	0.379	0.004	2.971	1.413 ~ 6.245
PNI(降低)	0.983	0.304	0.001	2.673	1.473 ~ 4.850
AAPR(降低)	1.023	0.327	0.002	2.782	1.466 ~ 5.281

注:PNI. 预后营养指数;AAPR. 白蛋白/碱性磷酸酶比值

2.5 PNI、AAPR 预测肾癌患者不良预后的价值 绘制 PNI、AAPR 预测肾癌患者不良预后的 ROC 曲线,结果显示 PNI、AAPR 预测肾癌患者不良预后的曲线下面积(AUC)分别为 0.772、0.831, PNI、AAPR 联合检测的 AUC 为 0.906(95% *CI* 0.852 ~ 0.962),优于单独检测,见表 5、图 1。



注:PNI. 预后营养指数;AAPR. 白蛋白/碱性磷酸酶比值

图 1 术前 PNI、AAPR 预测肾癌患者不良预后的 ROC 曲线

3 讨论

肾癌是一种起源于肾实质泌尿小管上皮系统的恶性肿瘤,其发病率较高,占肾脏恶性肿瘤的 80% ~ 90%^[7]。肾癌患者起病隐匿,早期临床症状不明显,大部分患者就诊时已处于中晚期,治疗难度大,对患者生活质量造成极大影响。肾癌患者对放疗、化疗不敏感,手术是其首选治疗方法,但是近 30% 患者术后会出现局部复发或远处转移,患者预后较差,严重威胁其生命安全^[8]。Bai 等^[9]报道称,经手术切除癌组织后,约 30% 肾透明细胞癌患者可出现癌转移、死亡等不良

表 5 PNI、AAPR 预测肾癌患者不良预后的价值比较

项 目	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
PNI	43.09	0.772	0.675 ~ 0.869	0.771	0.625	0.396
AAPR	0.47	0.831	0.752 ~ 0.911	0.714	0.798	0.512
二者联合	-	0.906	0.852 ~ 0.962	0.708	0.900	0.608

注:PNI. 预后营养指数;AAPR. 白蛋白/碱性磷酸酶比值;AUC. 曲线下面积

预后,患者 5 年生存率较低。因此,术前寻找能预测肾癌患者预后的相关指标,对肾癌患者个体化的临床决策制定及降低患者病死率有重要意义。

PNI 由血清白蛋白和淋巴细胞计数 2 项指标组成,具有简单、可靠、重复性好的特点,是评估机体营养、免疫状态及手术风险的重要指标。机体自身营养不良及免疫功能降低可促进肿瘤的发生发展,且对患者治疗选择和生存质量产生一定影响。同时,肿瘤的发生发展也与机体自身的慢性炎性反应密切相关。而机体自身的炎性反应也是影响术后患者预后的关键因素。研究表明,机体自身处于高炎性反应状态时,血清白蛋白水平可出现明显下降,白蛋白不仅在组织中参与传输多种炎性因子,还直接参与机体急慢性炎性反应^[10]。而在恶性肿瘤患者中,持续性的炎性反应可加快机体白蛋白丢失,进而导致患者预后不良。血清白蛋白是评估机体营养状况常用的血液学指标,血清白蛋白降低提示患者机体营养消耗高,耐受力较差。研究证实,血清白蛋白降低与结肠癌、肺癌等多种恶性肿瘤患者的预后不良密切相关^[11-12]。淋巴细胞是人体免疫反应细胞,是反映机体免疫功能的重要参数,与机体免疫力有关。研究发现,淋巴细胞可通过激活细胞毒性淋巴细胞增殖来遏制癌细胞的增殖与迁移,从而减少肿瘤的进展、复发^[5]。据报道,高淋巴细胞计数恶性肿瘤患者比低淋巴细胞计数患者 5 年生存率更高^[13]。本结果发现,肾癌组患者的 PNI 较健康对照组低,提示肾癌患者在肿瘤发生、发展过程中存在营养过度消耗和免疫受损现象。Hu 等^[14]报道称,术前 PNI 降低与根治性肾切除肾癌患者生存预后较差有关。本研究发现,肾癌患者预后不良亚组 PNI 明显低于预后良好亚组,提示术前 PNI 水平与肾癌患者预后状况密切相关,PNI 值越低,患者营养及免疫状况越差,患者预后越差。

碱性磷酸酶是一种水解酶,主要分布于肝脏、骨骼、肾等组织中。研究发现,碱性磷酸酶参与机体肿瘤的发生发展及免疫微环境的塑造,并与多种恶性肿瘤的不良预后有关^[15-17]。AAPR 是血清白蛋白与血清碱性磷酸酶的比值,在一定程度上可反映患者全身炎性反应、免疫力及营养状态。本结果发现,肾癌组患者的

AAPR 明显低于健康对照组,原因可能是低 AAPR 的肾癌患者自身可能存在较强的炎性反应、营养不良和免疫功能低下等,从而促进了肿瘤的发生发展。研究发现,行根治性肾输尿管切除术的上尿路上皮癌患者,术前 AAPR 值降低患者的 5 年生存率和无瘤生存率更低^[18]。且术前 AAPR 值低的患者肿瘤细胞侵袭性较强,患者术后出现肿瘤复发或死亡的风险较大^[19]。本研究也得出预后不良亚组 AAPR 明显较预后良好亚组低,与上述研究结果一致。

研究发现,PNI 值降低与宫颈癌患者的病理分期、淋巴结转移、宫旁浸润相关,且 PNI 值降低是患者不良预后独立危险因素^[5]。本研究多因素 Logistic 回归分析显示,术前 PNI 和 AAPR 降低是影响肾癌患者不良预后的独立危险因素,说明术前 PNI、AAPR 值降低,患者自身的营养状况较差、免疫功能降低,术后可造成残留肿瘤细胞的再生、复制,进而导致肿瘤的复发,影响患者预后,与既往报道相似^[14,20]。同时还需注意肿瘤直径、病理分期、Fuhrman 分级、发生转移对肾癌患者预后的影响。此外,ROC 曲线结果显示,PNI、AAPR 及 2 项联合检测预测肾癌患者不良预后的 AUC 分别为 0.772、0.831、0.906,提示术前联合检测 PNI、AAPR 预测肾癌患者临床预后的效果更佳,进而有助于指导患者的临床治疗,改善患者预后。

综上所述,术前 PNI、AAPR 值降低是肾癌患者预后不良的重要危险因素,联合检测 PNI、AAPR 对评估肾癌患者的临床预后有较高参考价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

蒲永昌:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;汪勇:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;郭钊:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;刘林海:进行统计学分析

参考文献

[1] 张浩然, 张兴明, 朱旭东, 等. 不同部位转移灶对肾癌患者预后的影响及其对 IMDC 评分的改良价值[J]. 中华泌尿外科杂志, 2020, 41 (6): 439-445. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112330-20200501-00345.

[2] Xiao F, Wang L, Zhang W, et al. Preoperative prognostic nutritional index is a significant predictor of survival in esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. Nutr Cancer, 2021, 73 (2): 215-220.

- DOI: 10.1080/01635581.2020.1757129.
- [3] Kim KH, Hwang HK, Kang IC, et al. Oncologic impact of preoperative prognostic nutritional index change in resected pancreatic cancer following neoadjuvant chemotherapy[J]. *Pancreatol*, 2020, 20(2):247-253. DOI: 10.1016/j.pan.2019.12.006.
 - [4] Bai X, Feng L. Correlation between prognostic nutritional index, Glasgow prognostic score, systemic inflammatory response, and TNM staging in colorectal cancer patients[J]. *Nutr Cancer*, 2020, 72(7):1170-1177. DOI: 10.1080/01635581.2019.1675725.
 - [5] 任建兰, 兰美, 孙畅, 等. 预后营养指数对宫颈癌患者同步放化疗疗效及预后的预测价值[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2020, 33(10):850-857. DOI:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.10.006.
 - [6] Kim JS, Keam B, Heo DS, et al. The prognostic value of albumin-to-alkaline phosphatase ratio before radical radiotherapy in patients with non-metastatic nasopharyngeal carcinoma: a propensity score matching analysis[J]. *Cancer Res Treat*, 2019, 51(4):1313-1323. DOI: 10.4143/crt.2018.503.
 - [7] 李凡, 管维. 肾癌诊疗相关进展[J]. *临床外科杂志*, 2021, 29(2):101-104. DOI:10.3969/j.issn.1005-6483.2021.02.001.
 - [8] 程洁, 宴启锋, 卞建强, 等. 术前中性粒细胞与淋巴细胞的比值和血小板与淋巴细胞的比值与肾癌预后的相关性[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2019, 24(12):1019-1022. DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2019.12.011.
 - [9] Bai S, Wu Y, Yan Y, et al. The effect of CCL5 on the immune cells infiltration and the prognosis of patients with kidney renal clear cell carcinoma[J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(18):2917-2925. DOI: 10.7150/ijms.51126.
 - [10] 廖国强, 方少洪, 何国文, 等. 超敏 C 反应蛋白与白蛋白比值对经皮肾镜手术后全身炎症反应的预测作用探讨[J]. *微创泌尿外科杂志*, 2020, 9(3):182-185. DOI: 10.19558/j.cnki.10-1020/r.2020.03.006.
 - [11] 杨焕丽, 贾泽博, 刘振社. 结肠癌患者化疗前后血清白蛋白水平与临床病理特征及预后的关系研究[J]. *结直肠肛门外科*, 2018, 24(4):321-327. DOI: 10.19668/j.cnki.issn1674-0491.2018.04.001.
 - [12] 徐小峰, 戴宏宇, 乔建兵, 等. 血清白蛋白对接受全身化疗的老年晚期非小细胞肺癌患者预后的预测价值[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2019, 25(3):346-350. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-1927.2019.03.016.
 - [13] Oyenuga M, Vierkant RA, Lynch CF, et al. Associations between tissue-based CD3⁺ T-lymphocyte count and colorectal cancer survival in a prospective cohort of older women[J]. *Mol Carcinog*, 2020, 60(1):15-24. DOI: 10.1002/mc.23267.
 - [14] Hu X, Wang YH, Lia T, et al. Prognostic value of preoperative prognostic nutritional index in patients with renal cell carcinoma after nephrectomy[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 509(1):210-216. DOI: 10.1016/j.cca.2020.06.025.
 - [15] Namikawa T, Ishida N, Tsuda S, et al. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase levels in patients with unresectable advanced gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2019, 22(4):684-691. DOI: 10.1007/s10120-018-0897-8.
 - [16] Long ZQ, Hua X, Zhang WW, et al. Prognostic impact of the pre-treatment albumin to alkaline phosphatase ratio for nonmetastatic breast cancer patients[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11(1):4809-4814. DOI: 10.2147/CMAR.S200759.
 - [17] 颜朗, 严俊, 何天时. 血清碱性磷酸酶及乳酸脱氢酶评价肝癌切除术后生存预后的价值[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2020, 12(1):37-40. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4136.2020.01.009.
 - [18] Tan P, Xie N, Ai J, et al. The prognostic significance of albumin-toalkaline phosphatase ratio in upper tract urothelial carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):868-879. DOI: 10.1038/s41598-018-29833-5.
 - [19] 赵明, 刘大千, 滕雪, 等. 术前白蛋白碱性磷酸酶比值对根治性膀胱切除术后总体生存期的影响[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2020, 41(2):102-108. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6702.2020.02.005.
 - [20] Xia A, Chen Y, Chen J, et al. Prognostic value of the albumin-to-alkaline phosphatase ratio on urologic outcomes in patients with non-metastatic renal cell carcinoma following curative nephrectomy[J]. *J Cancer*, 2019, 10(22):5494-5503. DOI: 10.7150/jca.34029.

(收稿日期:2021-03-25)

(上接 991 页)

- [14] Zhu W, Wu X, Yang B, et al. miR-188-5p regulates proliferation and invasion via PI3K/Akt/MMP-2/9 signaling in keloids[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2019, 51(2):185-196. DOI:10.1093/abbs/gmy165.
- [15] 廖天志, 成宏. 人参皂苷 Rg3 联合沉默 MMP-9 抑制乳腺癌肿瘤细胞的生长和转移[J]. *河北医药*, 2020, 42(9):6-11. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2020.09.001.
- [16] Wen S, Sun L, An R, et al. A combination of Citrus reticulata peel and black tea inhibits migration and invasion of liver cancer via PI3K/AKT and MMPs signaling pathway[J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(1):507-519. DOI:10.1007/s11033-019-05157-z.
- [17] Ayoub MS, Fouad MA, Abdel-Hamid H, et al. Battle tactics against MMP-9; discovery of novel non-hydroxamate MMP-9 inhibitors endowed with PI3K/AKT signaling attenuation and caspase 3/7 activation via Ugi bis-amide synthesis[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 186(15):111875. DOI:10.1016/j.ejmech.2019.111875.
- [18] 林祥博, 石文静, 杨志一, 等. 间质表皮转化因子通过 PI3K/AKT/MMPs 信号通路促进胰腺癌细胞的侵袭转移[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2019, 35(6):79-85. DOI:10.13865/j.cnki.cjbm.2019.06.10.

(收稿日期:2021-04-26)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.006

恶性肿瘤专题

HIF-1 α 参与调控三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞化疗耐药及体内外增殖的机制研究

王亮, 黄琰菁, 娄娜娜, 吴焕良

基金项目: 海南省自然科学基金面上项目(819MS117)

作者单位: 570311 海口, 海南省肿瘤医院放疗科

通信作者: 吴焕良, E-mail: 15808950949@163.com

【摘要】目的 探究过表达低氧诱导因子-1 (HIF-1 α) 对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞化疗耐药及其对体内外增殖机制的影响。**方法** 2020 年 1—12 月于海南省肿瘤医院进行实验。(1)MDA-MB-231 细胞培养后随机分为 3 组,空白对照组不进行转染,pEGFP-HIF-1 α 组、pEGFP-C1 组,分别将 pEGFP-HIF-1 α 质粒及 pEGFP-C1 空载体质粒转染入细胞中。采用荧光定量 PCR 与 Western-blot 检测转染后 HIF-1 α 、VEGF 的 mRNA 和蛋白表达,CCK-8 法检测细胞药物敏感性与细胞生长抑制率,Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡。(2)将 20 只雌性 BALB/c 裸鼠随机数字表法分为 C1 组和 HIF-1 α 组,每组 10 只,HIF-1 α 组裸鼠左侧乳垫处注射转染 pEGFP-HIF-1 α 的 MDA-MB-231 细胞,C1 组裸鼠左侧乳垫处注射转染 pEGFP-C1 的 MDA-MB-231 细胞,1 周后观察裸鼠成瘤状况,于 4 周后处死裸鼠,取肿瘤组织 HE 染色检测组织病理学变化,免疫组织化学染色检测 Ki-67 与 VEGF 的表达。**结果** 与空白对照组比较,pEGFP-HIF-1 α 组细胞中 HIF-1 α mRNA 和蛋白相对表达量均显著升高($t/P=36.027/0.000,25.432/0.000$),VEGF mRNA 和蛋白相对表达量均显著升高($t/P=24.551/0.000,19.876/0.000$);顺铂 IC₅₀ 值显著增加($P<0.05$),顺铂处理培养 72、96 h 后细胞生长抑制率显著下降($P<0.05$),细胞凋亡率显著降低($t/P=56.437/0.000$);与 C1 组比较,HIF-1 α 组裸鼠在 1、2、3、4 周时肿瘤体积显著增大($t/P=79.987/0.000,120.547/0.000,89.152/0.000,80.984/0.000$),肿瘤组织中肿瘤细胞排列较为密集,Ki-67、VEGF 的阳性表达率显著增加($t/P=83.436/0.000,67.817/0.000$)。**结论** 过表达 HIF-1 α 会降低 MDA-MB-231 细胞对顺铂的敏感性,抑制细胞凋亡,促进裸鼠三阴性乳腺癌肿瘤组织的生长,其机制可能与促进 VEGF 表达有关。

【关键词】 三阴性乳腺癌;低氧诱导因子-1 α ;化疗敏感性;增殖;裸鼠

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

HIF-1 α participates in the regulation of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cell chemotherapy resistance and the mechanism of in vitro and in vivo proliferation Wang Liang, Huang Yanjing, Lou Nana, Wu Huanliang. Department of Radiotherapy, Hainan Cancer Hospital, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Wu Huanliang, E-mail: 15808950949@163.com

Funding program: General Project of Hainan Natural Science Foundation (819MS117)

【Abstract】 Objective To explore the effect of overexpression of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1 α) on chemotherapy resistance of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells and its proliferation mechanisms in vivo and in vitro. **Method** The experiment will be conducted in Hainan Cancer Hospital from January to December 2020. (1)MDA-MB-231 cells were randomly divided into 3 groups after culture. The pEGFP HIF-1 α plasmid (pEGFP HIF-1 α group) and pEGFP-C1 empty vector plasmid (pEGFP-C1 group) were transfected into the cells. The blank control group cells were not transfected. Fluorescence quantitative PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of HIF-1 α and VEGF after transfection, CCK-8 method was used to detect cell drug sensitivity and cell growth inhibition rate, and Annexin V FITC/PI double staining method was used to detect cell apoptosis. (2) Divide 20 female BALB/c nude mice into C1 group and HIF-1 α group by random number table, with 10 mice in each group. HIF-1 α group nude mice were injected with pEGFP HIF-1 α -transfected MDA-MB-231 cells on the left mammary pad, and C1 group nude mice were injected with pEGFP-C1 transfected MDA-MB-231 cells on the left mammary pad. One week later, the tumorigenesis status of nude mice was observed, and the nude mice were sacrificed 4 weeks later. HE staining was used to detect tumor histopathological tissue

changes, and immunohistochemical staining was used to detect the expression of Ki-67 and VEGF. **Results** Compared with the blank control group, the relative expression of HIF-1 α mRNA and protein in the cells of the pEGFP-HIF-1 α group was significantly increased ($t/P=36.027/0.000, 25.432/0.000$), and the relative expression of VEGF mRNA and protein in the cells were significantly increased ($t/P=24.551/0.000, 19.876/0.000$). and the IC50 value of cisplatin was significantly increased ($P<0.05$). After treatment and culture for 72 and 96 h, the cell growth inhibition rate was significantly decreased ($P<0.05$), the cell apoptosis rate was significantly reduced ($t/P=56.437/0.000$). Compared with the C1 group, the tumor volume of the nude mice in the HIF-1 α group increased significantly at 1, 2, 3, and 4 weeks ($t/P=79.987/0.000, 120.547/0.000, 89.152/0.000, 80.984/0.000$), and there were tumors in the tumor tissues. The cells are arranged densely, and the positive expression rate of Ki67 and VEGF increases significantly ($t/P=83.436/0.000, 67.817/0.000$). **Conclusion** Overexpression of HIF-1 α can reduce the sensitivity of MDA-MB-231 cells to chemotherapy drugs, inhibit cell apoptosis, and promote the growth of triple-negative breast cancer tumor tissue in nude mice. The mechanism may be related to the promotion of VEGF expression.

【Key words】 Triple negative breast cancer; Hypoxia inducible factor 1 α ; Chemotherapy sensitivity; Proliferation; Nude mice

目前,乳腺癌作为一种恶性肿瘤严重威胁妇女身心健康,并给社会带来巨大的经济压力^[1]。在我国,乳腺癌在女性恶性肿瘤中发病率最高^[2]。三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是一种具有高度侵袭性的乳腺癌亚型,占乳腺癌病例的 15%~20%,具有较高的肿瘤异质性、低分化、快速增殖、早期复发与转移及预后不良等特征^[3-4]。常规化学疗法和放射疗法是 TNBC 患者早期和晚期的标准治疗方法,由于缺乏雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人表皮生长因子受体 2(HER2)^[3],常规治疗效果欠佳,且用于 TNBC 的化疗药物对癌细胞的选择性相对较低, TNBC 患者在反复使用药物后会产生耐药性^[5]。因此,了解化疗耐药的潜在机制和潜在分子靶标可能有助于 TNBC 的治疗。

低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α)是细胞在缺氧状态下表达并可作出调控反应的核转录因子。研究表明, HIF-1 α 参与调节细胞内 pH、自噬、凋亡、血管生成及自身免疫等过程,并可在转录水平调控多个靶基因的表达从而影响肿瘤细胞的化疗耐药性^[6-8]。本研究通过在三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中过表达 HIF-1 α 观察对顺铂敏感性的影响,并探讨其对体内外增殖的作用及相关机制,为三阴性乳腺癌的治疗提供新的实验依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)动物及细胞:健康、SPF 级 BALB/c 雌性裸鼠 20 只,4~6 周龄,体质量(20 ± 2)g,购自海南医学院实验动物中心,生产批号:SYXK(琼)2019-0008,动物饲养环境:温度(22 ± 2)℃,湿度 60%,12 h 明/暗循环,自由饮食与饮水;三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 购于美国典型培养物保藏中心

(ATCC); pEGFP-HIF-1 α 质粒由上海生工生物有限公司设计构建。(2)试剂试剂:青霉素、链霉素、胎牛血清、DMEM 培养基(美国 Hyclone 公司),CCK-8 试剂盒(美国 Amresco 公司),Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒、化学发光液 ECL(南京碧云天生物公司),HE 染色试剂(武汉博士德生物工程有限公司),Trizol 试剂盒、SYBR Green qPCR Mix 试剂盒(日本 Takara 公司),Lipofectamine 2000 试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司),RIPA 裂解液(北京索莱宝公司),兔抗 Ki-67、兔抗 VEGF、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体(北京中杉金桥生物科技有限公司)。(3)仪器设备:细胞培养箱(美国 Thermo Revco 公司);凝胶成像系统(美国 UVP 公司);MK3 酶标仪(美国热电公司);FACS-Canto 型流式细胞仪(美国 BD 公司);Olympus BX-50 光学显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.2 实验方法 2020 年 1—12 月于海南省肿瘤医院进行实验。

1.2.1 细胞培养与转染: 在三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 中添加含 10% 胎牛血清、青霉素(100 U/ml)、链霉素(100 μ g/ml)的 DMEM 培养基中,置于 37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中孵育,待细胞贴壁生长,每 2~3 d 传代 1 次。当汇合度达到 80%~90%时,使用 Lipofectamine 2000 试剂进行转染。将 MDA-MB-231 细胞浓度调整为 2×10^5 个/ml,接种于 6 孔板中,将细胞随机分为 3 组:空白对照组、pEGFP-C1 组和 pEGFP-HIF-1 α 组,按照 Lipofectamine 2000 说明书操作,空白对照组细胞不进行转染处理, pEGFP-HIF-1 α 组和 pEGFP-C1 组分别转染 pEGFP-HIF-1 α 质粒及其 pEGFP-C1 空载体质粒,3 组均置于 37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 48 h 后收获细胞。

1.2.2 乳腺癌裸鼠模型构建:将 4~6 周龄雌性 BALB/c 裸鼠 20 只随机数字表法分为 C1 组和 HIF-1 α 组,每组 10 只。收集转染后的 MDA-MB-231 细胞,洗涤后用无血清 DMEM 悬浮细胞 100 μ l, HIF-1 α 组裸鼠注射转染 pEGFP-HIF-1 α 的 MDA-MB-231 细胞, C1 组裸鼠注射转染 pEGFP-C1 的 MDA-MB-231 细胞。在无菌条件下,取细胞悬液 0.2 ml 注射入裸鼠左侧乳垫处。1 周后观察裸鼠成瘤状况,并定期监测肿瘤生长体积,于 4 周后处死裸鼠,取肿瘤组织用甲醛液固定备用。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 qRT-PCR 检测 MDA-MB-231 细胞中 HIF-1 α 、血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 表达: TRIzol 法提取转染后细胞总 RNA, Nanodrop 测定提取的 RNA 纯度和浓度。按照 cDNA 合成试剂盒进行逆转录获得 cDNA,以合成的 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 检测基因 mRNA 表达,具体操作参考 SYBR Green qPCR Master Mix 试剂盒说明书,以 β -actin 为内参基因,由上海生工生物有限公司合成引物, HIF-1 α 上游引物: 5'-GTTACAGTATTCCAGCAGA-3', 下游引物: 5'-GTATGTGGTAGGAGATG-3'; VEGF 上游引物: 5'-CGAGCTTCAGGACAATGCTGGTG-3', 下游引物: 5'-GCAGGAAGGTCAACCACTCAC-3'; β -actin 上游引物: 5'-CCCTGGCACCCAGCAGCTTC-3', 下游引物: 5'-GC-CGATCCACACGGAGTAC-3'。扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min(1 个循环); 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s(40 个循环)。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各基因 mRNA 的相对表达水平,

1.3.2 Western-blot 检测 MDA-MB-231 细胞中 HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达:在转染后细胞中加入 RIPA 裂解缓冲液提取细胞总蛋白, Bradford 试剂盒检测上清液蛋白质浓度。取 50 μ g 蛋白样品通过 10% SDS-PAGE 分离并转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF)上,在 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h,滴加特异性一抗 HIF-1 α (1:200)、VEGF(1:200)、GAPDH(1:1 000)在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。次日,将印迹用 TBST 清洗,然后滴加辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(1:2 000)二抗,室温孵育 1 h, TBST 洗膜后,通过滴加增强的 ECL 化学发光液显色曝光,凝胶成像系统拍照,通过 Image-Pro Plus 软件对各蛋白条带进行分析。

1.3.3 CCK-8 法检测 MDA-MB-231 细胞药物敏感性:将转染后的 MDA-MB-231 细胞以 5×10^4 个/ml 密度接种于 96 孔板上,每孔加入 100 μ l,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 72 h,分别加入终浓度为 2、

4、8、16、32 μ g/ml 顺铂培养液,培养 24 h 后每孔加入 10 μ l CCK-8,孵育 2 h 后,采用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度值(OD),计算药物半抑制浓度(IC₅₀)。将转染后的 MDA-MB-231 细胞以 5×10^4 个/ml 密度接种于 96 孔板上,每孔加入 100 μ l,培养 24 h 后加入含 7 μ g/ml 顺铂的培养液培养,分别于 0、24、48、72、96 h 每孔加入 CCK-8 试剂 10 μ l,细胞培养箱内孵育 1 h 后,采用酶标仪测定 450 nm 处的 OD 值,计算细胞生长抑制率。

1.3.4 Annexin V-FITC/PI 双染法检测 MDA-MB-231 细胞凋亡:收集转染后的 MDA-MB-231 细胞进行消化离心,并制成细胞悬液,使用 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒检测凋亡细胞,加入 1 $\times$ binding buffer 重悬细胞 500 μ l,在细胞悬浮液加入 Annexin V-FITC 5 μ l,接着加入 10 μ l 的 PI,混匀后室温避光孵育 15 min,采用流式细胞仪检测各组细胞的凋亡情况。

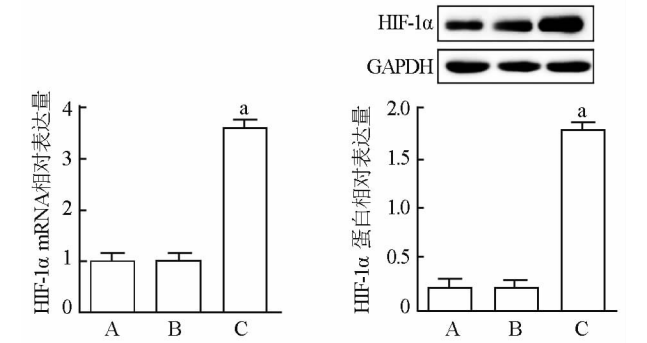
1.3.5 HE 染色观察裸鼠肿瘤组织:将甲醛固定好的肿瘤组织进行常规脱水,石蜡包埋,切片 4 μ m 厚度;而后进行 HE 染色,苏木精染色 5 min,流水冲洗后,伊红染色液染色 3 min,用梯度乙醇脱水,二甲苯进行透明处理,使用中性树胶封片,在光学显微镜下观察肿瘤组织切片并采集图片。

1.3.6 免疫组织化学方法检测 Ki-67 和 VEGF 表达:将制备的裸鼠肿瘤组织石蜡切片用二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,采用 0.3% 过氧化氢(H₂O₂)处理 30 min,滴加柠檬酸钠溶液修复抗原。然后加入山羊血清室温孵育 1 h,将切片与 Ki-67(1:100)、VEGF(1:100)抗体在 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,次日 PBS 液冲洗后,加二抗室温孵育 1 h。滴加 DAB 显色,自来水洗涤,加苏木素复染,二甲苯透明,中性树胶封片,在光学显微镜下观察图像并拍照。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 17.0 软件进行实验数据统计分析。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间数据比较采用独立样本 t 检验,多组间数据比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

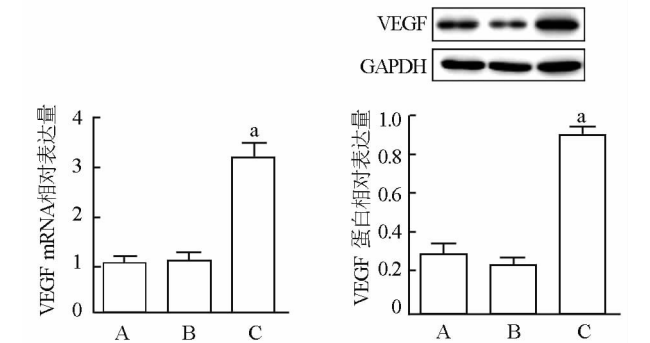
2 结果

2.1 3 组细胞 HIF-1 α mRNA 和蛋白表达比较 与空白对照组比较, pEGFP-HIF-1 α 组细胞中 HIF-1 α mRNA 和蛋白相对表达量显著升高,差异有统计学意义($t/P = 36.027/0.000, 25.432/0.000$); pEGFP-C1 组细胞中 HIF-1 α mRNA 和蛋白相对表达量与空白对照组比较差异无统计学意义($t/P = 0.759/0.106, 0.802/0.101$)。说明转染成功,见图 1。



注: A. 空白对照组; B. pEGFP-C1 组; C. pEGFP-HIF-1 α 组。与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$

图 1 3 组 MDA-MB-231 细胞 HIF-1 α mRNA 与蛋白表达比较



注: A. 空白对照组; B. pEGFP-C1 组; C. pEGFP-HIF-1 α 组。与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$

图 2 3 组 MDA-MB-231 细胞 VEGF mRNA 和蛋白表达比较

2.2 3 组细胞中 VEGF mRNA 和蛋白表达比较 与空白对照组比较, pEGFP-HIF-1 α 组细胞中 VEGF mRNA 和蛋白相对表达量均显著升高 ($t/P = 24.551/0.000, 19.876/0.000$); pEGFP-C1 组细胞中 VEGF mRNA 和蛋白相对表达量与空白对照组比较差异均无统计学意义 ($t/P = 0.988/0.071, 0.875/0.103$), 见图 2。

2.3 3 组细胞的顺铂 IC₅₀ 和细胞生长抑制率比较 与空白对照组比较, pEGFP-C1 组 MDA-MB-231 细胞生长抑制率的顺铂 IC₅₀ 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 pEGFP-HIF-1 α 组的 IC₅₀ 显著升高 ($P < 0.05$)。顺铂对 MDA-MB-231 细胞的生长抑制率随时间逐渐增加, 在培养 0、24、48 h 内顺铂对各组细胞的生长抑制率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 在培养

72、96 h pEGFP-HIF-1 α 组细胞生长抑制率显著低于空白对照组 ($P < 0.05$), 而 pEGFP-C1 组细胞生长抑制率与空白对照组比较差异仍无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

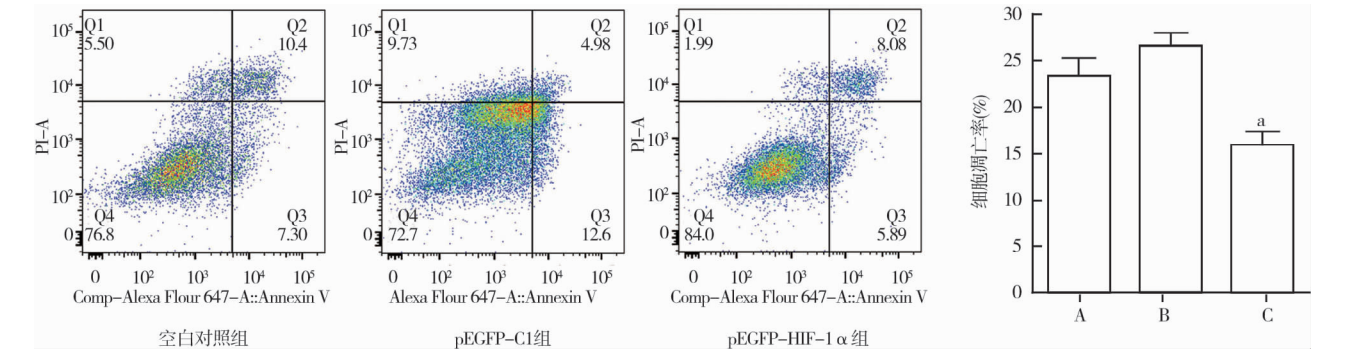
2.4 3 组细胞凋亡率比较 与空白对照组比较, pEGFP-HIF-1 α 组细胞凋亡率显著降低 ($t/P = 56.437/0.000$), 而 pEGFP-C1 组与空白对照组比较差异无统计学意义 ($t/P = 1.560/0.052$), 见图 3。

2.5 2 组裸鼠肿瘤组织生长比较 在 2 组裸鼠皮下接种 MDA-MB-231 细胞 1 周后, 裸鼠皮下均形成种植瘤, 成瘤率为 100%; 转染 pEGFP-HIF-1 α 的 MDA-MB-231 细胞接种裸鼠 1 周后, 种植瘤块生长较为迅速, 在 1、2、3、4 周时, 其肿瘤组织体积显著大于转染 pEGFP-

表 1 3 组 MDA-MB-231 细胞顺铂 IC₅₀ 值与细胞生长抑制率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	IC ₅₀ (μg/ml)	细胞生长抑制率 (%)					<i>F/P</i> 值
			0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
空白对照组	3	4.72 ± 0.64	0.81 ± 0.10	10.22 ± 1.04	19.18 ± 1.72	30.89 ± 3.14	39.10 ± 3.81	53.715/0.000
pEGFP-C1 组	3	4.74 ± 0.61	0.76 ± 0.09	10.83 ± 1.11	19.09 ± 1.61	31.18 ± 3.45	39.21 ± 3.84	49.042/0.000
pEGFP-HIF-1 α 组	4	6.16 ± 0.85 ^a	0.78 ± 0.11	10.98 ± 1.03	19.66 ± 1.87	24.25 ± 2.66 ^a	27.24 ± 2.76 ^a	44.835/0.000
<i>F/P</i> 值		36.214/0.000	1.345/0.067	0.945/0.072	1.113/0.070	25.809/0.000	46.332/0.000	

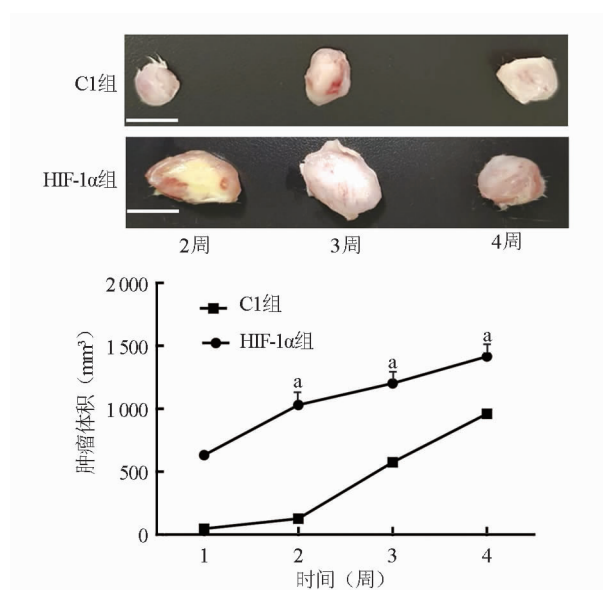
注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$



注: A. 空白对照组; B. pEGFP-C1 组; C. pEGFP-HIF-1 α 组。与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$

图 3 流式细胞术检测 3 组 MDA-MB-231 细胞凋亡比较

C1 的裸鼠 ($t/P = 79.987/0.000$ 、 $120.547/0.000$ 、 $89.152/0.000$ 、 $80.984/0.000$), 见图 4。



注:与 C1 组比较, $^aP < 0.05$

图 4 2 组裸鼠肿瘤组织与生长情况比较

2.6 2 组裸鼠肿瘤组织病理学变化比较 HE 染色结果显示,2 组裸鼠所有种植瘤均为癌,且 HIF-1 α 组裸鼠肿瘤组织中肿瘤细胞比 C1 组裸鼠排列更加密集,见图 5。

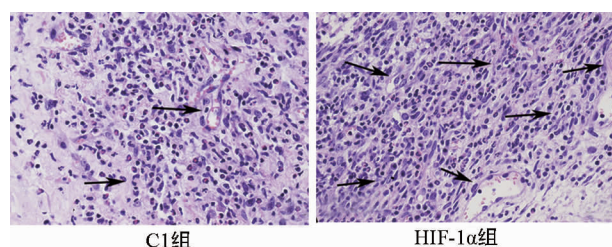


图 5 2 组裸鼠肿瘤组织细胞密集比较 (HE 染色, $\times 100$)

2.7 2 组裸鼠肿瘤组织 Ki-67 与 VEGF 表达比较 免疫组化染色结果显示,pEGFP-C1 组肿瘤中 Ki-67 阳性表达率为 $(13.56 \pm 1.34)\%$, 低于 pEGFP-HIF-1 α 组的 $(67.23 \pm 6.77)\%$ ($t/P = 83.436/0.000$); VEGF 阳性表达率 pEGFP-C1 组为 $(10.22 \pm 0.97)\%$, 低于 pEGFP-HIF-1 α 组的 $(45.87 \pm 4.36)\%$ ($t/P = 67.817/0.000$), 见图 6。

3 讨论

乳腺癌是全世界女性癌症相关死亡的第二大病因,TNBC 在年龄超过 40 岁的女性中更为常见,与其他类型的乳腺癌相比,其复发性和转移率相对较高^[4]。

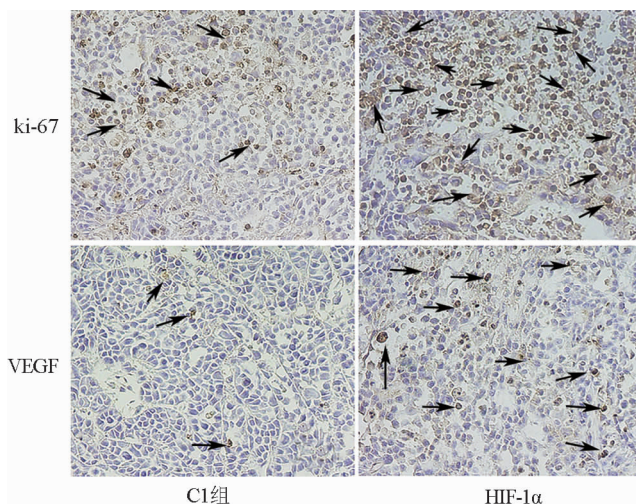


图 6 2 组裸鼠肿瘤组织中 Ki-67 与 VEGF 表达比较 (免疫组化染色, $\times 100$)

由于缺乏特异性分子靶点和有效的临床治疗手段,以及化疗药物耐药性的产生,基于以上综合治疗方法尚未有效提高 TNBC 患者的整体生存率,这使得 TNBC 治疗存在巨大挑战。低氧水平是许多类型癌症的常见特征,尤其是诸如 TNBC 等增生性癌症^[9]。在低氧条件下,肿瘤细胞激活几种途径以促进肿瘤进展并使癌细胞出现化疗耐药性。大量研究证实,HIF-1 α 水平升高与患者预后差和耐药性增加之间存在很强的相关性,HIF-1 α 通过募集 Treg 细胞和抑制肿瘤浸润性 T 细胞来促进免疫抑制性微环境,此外,HIF-1 α 还通过募集肿瘤相关巨噬细胞 (TAM) 和髓样抑制细胞 (MDSC) 促进肿瘤生长^[10-11]。这表明 HIF-1 α 可作为一些肿瘤治疗新的分子靶点。

本研究成功建立了过表达 HIF-1 α 的 MDA-MB-231 细胞,过表达 HIF-1 α 的细胞中顺铂 IC50 值明显升高,而且细胞凋亡率降低,在顺铂处理下培养 72 h 和 96 h 后,过表达 HIF-1 α 的 MDA-MB-231 细胞生长抑制率明显下降。说明过表达 HIF-1 α 后减弱了三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞对顺铂的敏感度。

VEGF 是人类癌症中的主要血管生成因子,血管生成在肿瘤的生长、进展和转移中起着复杂的作用^[12-14]。多项研究表明,恶性肿瘤患者血清 VEGF 水平明显高于良性肿瘤患者,且 VEGF 水平较高的患者生存时间相对较短^[15-17]。也有研究表明,在缺氧条件下和炎症反应过程中,VEGF 表达增加^[18]。在乳腺癌相关研究中,抑制 VEGF 信号通路可抑制乳腺癌细胞的增殖,并诱导细胞凋亡,从而调控癌细胞的生长、存活、抗药性等^[19-21]。本研究结果表明,在 MDA-MB-231 细胞中 HIF-1 α 可促进 VEGF 的表达,注射转染 pEG-

FP-HIF-1 α 质粒 MDA-MB-231 细胞的裸鼠肿瘤组织的生长速度较快,且肿瘤组织中 VEGF 表达增加,由此说明 HIF-1 α 可能激活 VEGF 信号通路从而促进体内外肿瘤的增殖生长。目前,靶向 VEGF 的抗血管生成疗法已成为多种肿瘤的重要治疗策略之一。

综上, HIF-1 α 过表达会减弱体外培养 MDA-MB-231 细胞的顺铂敏感性,抑制细胞凋亡,在体内过表达 HIF-1 α 可促进三阴性乳腺癌肿瘤形成与生长。

(致谢:感谢海南医学院基础医学与生命科学学院许佳老师在实验中提供的帮助)

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王亮:设计研究方案,论文撰写;黄瑛菁:实施研究过程,分析实验数据;姜娜娜:实施研究过程,进行统计学分析;吴焕良:提出研究思路,论文审核

参考文献

- [1] Mehrnaz G, Fateme H, Soudeh KF, et al. Development of a novel liposomal nanoparticle formulation of cisplatin to breast cancer therapy[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(7): 3584-3592. DOI: 10.1002/jcb.29651.
- [2] Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global cancer in women: burden and trends[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2017, 26(4):444-457. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-16-0858.
- [3] Guiu S, Mollevi C, Charon-Barra C, et al. Prognostic value of androgen receptor and FOXA1 co-expression in non-metastatic triple negative breast cancer and correlation with other biomarkers[J]. Br J Cancer, 2018, 119(1):76-79. DOI: 10.1038/s41416-018-0142-6.
- [4] Garrido-Castro AC, Lin NU, Polyak K. Insights into molecular classifications of triple-negative breast cancer: improving patient selection for treatment[J]. Cancer Discov, 2019, 9(2):176-198. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1177.
- [5] Byun WS, Kim WK, Yoon JS, et al. Antiproliferative and antimigration activities of fluoro-neplanocin a via inhibition of histone H3 methylation in triple-negative breast cancer[J]. Biomolecules, 2020, 10(4):530-545. DOI: 10.3390/biom10040530.
- [6] Abe H, Semba H, Takeda N. The roles of hypoxia signaling in the pathogenesis of cardiovascular diseases[J]. J Atheroscler Thromb, 2017, 24(9):884-894. DOI: 10.5551/jat.RV17009.
- [7] Tang JH, Ma ZX, Huang GH, et al. Downregulation of HIF-1 α sensitizes U251 glioma cells to the temozolomide (TMZ) treatment[J]. Exp Cell Res, 2016, 343(2):148-158. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.04.011.
- [8] 谢婉新, 刘小雪, 陈立娜, 等. HIF-1 α 和 ARNT 在肿瘤转移及耐药中作用的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2019, 42(3): 311-315. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2019.03.016.

- [9] Schito L, Rey S, Konopleva M. Integration of hypoxic HIF- α signaling in blood cancers[J]. Oncogene, 2017, 36(38):5331-5340. DOI: 10.1038/onc.2017.119.
- [10] Semenza GL. The hypoxic tumor microenvironment: a driving force for breast cancer progression[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(3):382-391. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2015.05.036.
- [11] Ward C, Langdon SP, Mullen P, et al. New strategies for targeting the hypoxic tumour microenvironment in breast cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2013, 39(2):171-179. DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.08.004.
- [12] Ding J, Jia W, Cui Y, et al. Anti-angiogenic effect of a chemically sulfated polysaccharide from Phellinus ribis by inhibiting VEGF/VEGFR pathway[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 154: 72-81. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.03.068.
- [13] 金小虎, 葛一涵, 赵毅. 血管内皮生长因子与乳腺癌的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2020, 27(12): 1533-1536. DOI: 10.13455/j.cnki.cjcor.2020.12.32.
- [14] 高静, 李晓岚, 王敏哲, 等. 血管内皮生长因子、基质细胞衍生因子-1 基因对人微血管内皮细胞增殖、迁移、凋亡的影响[J]. 安徽医药, 2019, 23(9): 1784-1789. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.09.021.
- [15] 刘俊骥. 乳腺癌患者血清、肿瘤组织中 VEGF、IL-17 的表达及与临床预后的相关性探讨[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(9): 1501-1503. DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2020.09.064.
- [16] 陈馨, 张薇, 张伟杰, 等. 肿瘤相关巨噬细胞 CD163 在乳腺癌组织中的表达及对乳腺癌细胞生物学特性的影响[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(3): 292-297. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.03.016.
- [17] 周桂荣, 苏国森, 湛建伟, 等. 新辅助化疗 + 手术对不同分子亚型乳腺癌预后及影响因素分析[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(8): 821-826. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.08.016.
- [18] Chen MC, Lee CF, Huang WH, et al. Magnolol suppresses hypoxia-induced angiogenesis via inhibition of HIF-1 α /VEGF signaling pathway in human bladder cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(9): 1278-1287. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.02.009.
- [19] Sadia A, Aisha S, Saleema MA, et al. Association analysis of the VEGF gene variants with breast cancer susceptibility and tumor characteristics in an indigenous population: A pilot study[J]. Gene Rep, 2019, 16:100447. DOI: 10.1016/j.genrep.2019.100447.
- [20] Eun JS, Deok-Beom J, HyoJung L, et al. CNOT2 promotes proliferation and angiogenesis via VEGF signaling in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. Cancer Lett, 2018, 412:88-98. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.09.052.
- [21] 路欣, 孔令玉, 邱宁. 乳腺癌患者 D-双功能蛋白表达与肿瘤标志物 CEA 和 CA153 关系的临床研究[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(2): 164-166. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.02.014.

(收稿日期:2021-04-14)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.007

论著·临床

自发性脑出血患者血清 CXCL1、CXCR2 表达水平及临床意义

张皓春, 陈忠, 文泽贤, 刘春平, 蒲国明, 刘素君

基金项目: 四川省医学科研课题计划项目(S17049)

作者单位: 635000 四川省达州市中心医院脑血管病科(张皓春、陈忠、文泽贤), 神经内科(刘春平、蒲国明、刘素君)

通信作者: 陈忠, E-mail: 799957665@qq.com

【摘要】目的 探讨 CXC 趋化因子配体 1(CXCL1)、趋化因子受体 2(CXCR2)在自发性脑出血(SICH)患者血清中的表达水平及临床意义。方法 选取 2019 年 5 月—2020 年 10 月达州市中心医院脑血管病科和神经内科收治的 SICH 患者 125 例为研究对象,同期选取医院体检健康者 130 例为健康对照组。收集患者一般资料,酶联免疫吸附(ELISA)法检测所有受试者血清 CXCL1、CXCR2 水平。对 SICH 患者出院 90 d 后进行随访,并根据改良 Rankin 量表(mRS)评分将患者分为预后不良亚组 47 例,预后良好亚组 78 例。Logistic 回归分析影响 SICH 患者预后不良的危险因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 CXCL1、CXCR2 水平对 SICH 患者预后不良的预测价值。结果 与健康对照组比较,SICH 组血清 CXCL1、CXCR2 水平显著升高($t/P=34.105/0.000, 27.349/0.000$)。随着神经功能缺损程度和脑出血量的增加,SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平依次升高(CXCL1: $F/P=112.201/0.000, 135.823/0.000$; CXCR2: $F/P=48.927/0.000, 52.139/0.000$);预后不良亚组 SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平显著高于预后良好亚组($t/P=13.072/0.000, 9.350/0.000$)。SICH 患者血清 CXCL1 与 CXCR2 水平呈正相关($r/P=0.714/0.000$)。Logistic 多因素回归分析结果表明,脑出血量大及血清 CXCL1、CXCR2 升高是 SICH 患者预后不良的危险因素($P<0.05$)。血清 CXCL1、CXCR2 水平预测 SICH 预后不良的曲线下面积(AUC)分别为 0.712(95% CI 0.610~0.815)、0.714(95% CI 0.619~0.809),二者联合预测 SICH 预后不良的 AUC 为 0.823(95% CI 0.718~0.917),优于单独预测。结论 血清 CXCL1、CXCR2 水平与 SICH 患者神经功能缺损程度、脑出血量及预后有关,可能是临床上预测 SICH 预后的潜在生物标志物。

【关键词】 自发性脑出血;CXC 趋化因子配体 1;CXC 趋化因子受体 2;临床意义;预后

【中图分类号】 R743.34

【文献标识码】 A

Expression levels and clinical significance of CXCL1 and CXCR2 in serum of patients with spontaneous intracerebral hemorrhage Zhang Haochun, Chen Zhong, Wen Zexian, et al. Department of cerebrovascular disease, Dazhou Central Hospital, Dazhou, Sichuan 635000

Corresponding author: Chen Zhong, E-mail: 799957665@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression levels and clinical significance of CXC chemokine ligand 1 (CXCL1) and CXC chemokine receptor 2 (CXCR2) in serum of patients with spontaneous intracerebral hemorrhage (SICH). Methods 125 patients with SICH in department of cerebrovascular disease and department of neurology Dazhou Central Hospital from May 2019 to October 2020 were selected as the research objects, and 130 healthy people in our hospital were selected as the control group. The general data of the patients were collected, and the levels of serum CXCL1 and CXCR2 was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The patients were followed up 90 days after discharge and divided into poor prognosis subgroup (47 cases) and good prognosis subgroup (78 cases) according to modified Rankin scale(mRS) score. Logistic regression analysis was used to analyze the risk factors of poor prognosis in SICH patients; receiver operating characteristic(ROC) curve was used to analyze the predictive value of serum CXCL1 and CXCR2 levels for poor prognosis in patients with SICH. Results Compared with the control group, the levels of serum CXCL1 and CXCR2 in SICH group was significantly increased ($t/P=34.105/0.000, 27.349/0.000$). The levels of serum CXCL1 and CXCR2 in SICH patients increased significantly with the increases of neurological deficit and cerebral hemorrhage ($t/P=6.219/0.000, 4.766/0.000, 9.460/0.000, 5.529/0.000, 7.679/0.000, 5.622/0.000, 8.973/0.000, 4.544/0.000$); the levels of serum CXCL1 and CX-

CR2 in poor prognosis subgroup were significantly higher than those in good prognosis subgroup ($t/P = 13.072/0.000$, $9.350/0.000$). The expression of serum CXCL1 and CXCR2 was positively correlated in SICH patients ($r/P = 0.714/0.000$). Logistic regression analysis showed that cerebral hemorrhage volume, serum CXCL1 and CXCR2 were risk factors for poor prognosis of SICH patients ($P < 0.05$). The area under the curve (AUC) of serum CXCL1 and CXCR2 levels in predicting poor prognosis of SICH was 0.712 (95% CI: 0.610 ~ 0.815) and 0.714 (95% CI: 0.619 ~ 0.809), respectively, the AUC of combining CXCL1 and CXCR2 levels in predicting poor prognosis of SICH was 0.823 (95% CI: 0.718 ~ 0.917), which was better than that of single prediction of poor prognosis of SICH. Conclusion The expression of CXCL1 and CXCR2 in serum of SICH patients related to the degree of neurological deficit, the amount of cerebral hemorrhage and prognosis, which may be potential biomarkers to predict the prognosis of SICH.

【Key words】 CXC chemokine ligand 1; CXC chemokine receptor 2; spontaneous intracerebral hemorrhage; clinical significance

自发性脑出血 (spontaneous intracerebral hemorrhage, SICH) 是由非外伤性脑实质血管破裂引起的最常见脑血管疾病之一, 具有较高的病死率^[1]。脑水肿是 SICH 发生后的重要继发性病变, 脑水肿的形成会导致脑组织颅内压升高, 造成患者神经功能障碍, 威胁患者生命^[2]。研究脑损伤相关机制, 可能为 SICH 病情程度的判断和预后预测提供生物标志物。研究表明, 炎性细胞因子在 SICH 后继发性损伤过程中有重要的作用^[3]。趋化因子是一种抗炎细胞因子, CXC 趋化因子配体 1 (CXCL1) 是与 SICH 有关的中枢基因, 在 SICH 中表达显著上调^[4]。CXC 趋化因子受体 2 (CXCR2) 是 CXCL1 的受体, 研究表明 CXCL1/CXCR2 可促进顺铂诱导肾损伤过程中的炎症反应^[5]。目前还未见 CXCL1、CXCR2 在 SICH 中的临床研究, 本研究通过检测 CXCL1、CXCR2 在 SICH 患者血清中的水平, 并分析二者的临床意义, 以期对 SICH 疾病严重程度判断和预后的预测提供理论基础, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 5 月—2020 年 10 月达州市中心医院脑血管病科和神经内科收治的 125 例 SICH 患者为研究对象 (SICH 组), 男 69 例, 女 56 例, 年龄 45 ~ 74 (60.35 ± 7.14) 岁; 病程 0.5 ~ 5.6 (3.15 ± 1.42) h; 病因: 高血压性脑出血 42 例, 脑动脉硬化性脑出血 59 例, 其他 24 例; 出血部位: 丘脑 42 例, 基底节区 75 例, 其他 8 例; 基础疾病: 高血压 41 例, 糖尿病 35 例, 高脂血症 31 例; 用药史: 服用他汀类药物 35 例, 抗血小板药物 42 例。根据美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分^[6] 评价 SICH 患者神经功能缺损程度: 0 ~ 4 分为轻度 42 例, 5 ~ 20 分为中度 47 例, > 20 分为重度 36 例^[7]; 根据脑出血量将患者分为小量出血 (< 15 ml) 52 例, 中量出血 (15 ~ 30 ml) 41 例, 大量出血 (> 30 ml) 32 例。同期选取医院体检健康者 130 例为健康对照组, 男 71 例, 女 59 例, 年龄 43 ~ 75

(59.48 ± 7.83) 岁。2 组研究对象性别、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 (伦审字 2019-0127 号), 所有受试者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 SICH 患者选择标准 (1) 纳入标准: ①符合“中国脑出血诊治指南 (2019)”中关于 SICH 的诊断标准^[8]; ②经磁共振成像和头颅 CT 证实, 且为首次发病; ③发病时间 < 6 h; ④临床资料完整。(2) 排除标准: ①继发性脑出血患者; ②合并颅脑损伤等其他原因导致的脑出血; ③心、肝、肾等重要脏器疾病患者; ④合并免疫性疾病患者; ⑤合并恶性肿瘤患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测血清 CXCL1、CXCR2 水平: SICH 组于入院当日、健康对照组于体检当日清晨, 采集 2 组研究对象肘静脉血 5 ml 于离心管中, 4℃ 离心提取血清, 于 -80℃ 冰箱中保存待测。采用 ELISA 双抗体夹心法检测血清中 CXCL1、CXCR2 水平, 严格按照试剂盒说明书进行试验操作。试剂盒均购自武汉菲恩生物科技有限公司。

1.3.2 随访: 对 SICH 患者出院 90 d 后采用门诊短期预后随访, 随访开始日期为患者出院之日, 随访截止日期为 2021 年 2 月 28 日。所有 SICH 患者均完成随访, 无失访。根据改良 Rankin 量表 (mRS) 评分^[9] 评价患者预后, mRS 评分 0 ~ 2 分为预后良好亚组 78 例, mRS 评分 3 ~ 6 分为预后不良亚组 47 例。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析。符合正态分布计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 比较行 χ^2 检验; Pearson 法分析血清 CXCL1、CXCR2 水平的相关性, Logistic 回归分析影响 SICH 患者预后不良的危险因素, 受试者工作特征曲线 (ROC) 分析血清 CXCL1、

CXCR2 水平对 SICH 患者预后不良的预测价值,ROC 曲线下面积(AUC)比较采用 Z 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组受试者血清 CXCL1、CXCR2 水平比较 与健康对照组比较,SICH 组血清 CXCL1、CXCR2 水平显著升高($P < 0.01$),见表 1。

表 1 2 组受试者血清 CXCL1、CXCR2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$,ng/ml)

组 别	例数	CXCL1	CXCR2
健康对照组	130	0.58 ± 0.17	2.34 ± 0.58
SICH 组	125	1.49 ± 0.25	4.65 ± 0.76
t 值		34.105	27.349
P 值		0.000	0.000

注:SICH. 自发性脑出血;CXCL1. CXC 趋化因子配体 1;CXCR2. CXC 趋化因子受体 2

2.2 SICH 患者不同临床病理特征血清 CXCL1、CXCR2水平比较 不同性别、年龄、病程、病因、出血部位及有无高血压史、糖尿病史、高脂血症 SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);神经功能缺损程度轻度、中度、重度患者血清

CXCL1、CXCR2 水平依次升高($P < 0.05$);脑出血量小量、中量、大量患者血清 CXCL1、CXCR2 水平依次升高($P < 0.05$);预后不良亚组 SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平显著高于预后良好亚组($P < 0.01$),见表 2。

2.3 SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平相关性分析 SICH 患者血清 CXCL1 与 CXCR2 水平呈正相关($r = 0.714, P = 0.000$)。

2.4 Logistic 回归分析影响 SICH 患者预后不良的危险因素 以 SICH 患者预后情况为因变量,以表 1、2 中 $P < 0.05$ 指标(神经功能缺损程度、脑出血量及血清 CXCL1、CXCR2 水平)作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示脑出血量大及血清 CXCL1、CXCR2 升高是 SICH 患者预后不良的危险因素($P < 0.01$),见表 3。

2.5 血清 CXCL1、CXCR2 水平对 SICH 患者预后不良的预测价值 ROC 曲线结果显示,血清 CXCL1 水平预测 SICH 患者预后不良的 AUC 为 0.712,血清 CXCR2 水平为 0.714,二者联合为 0.823,优于二者单独预测($Z = 2.746, 2.500, P = 0.006, 0.012$),见表 4、图 1。

表 2 125 例 SICH 患者不同临床病理特征血清 CXCL1、CXCR2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$,ng/ml)

项 目	例数	CXCL1	t/F 值	P 值	CXCR2	t/F 值	P 值
性别	男	69	1.51 ± 0.26	0.928	4.71 ± 0.79	0.954	0.342
	女	56	1.47 ± 0.21		4.58 ± 0.71		
年龄	<60 岁	58	1.45 ± 0.24	1.739	4.55 ± 0.78	1.406	0.162
	≥60 岁	67	1.53 ± 0.27		4.74 ± 0.73		
病程	<3.15 h	60	1.42 ± 0.20	1.594	4.76 ± 0.81	1.607	0.111
	≥3.15 h	65	1.52 ± 0.28		4.56 ± 0.70		
病因	高血压	42	1.54 ± 0.27	1.368	4.69 ± 0.80	0.340	0.712
	脑动脉硬化	59	1.42 ± 0.22		4.57 ± 0.70		
	其他	24	1.50 ± 0.25		4.63 ± 0.73		
出血部位	丘脑	42	1.57 ± 0.29	1.565	4.62 ± 0.73	0.042	0.959
	基底节区	75	1.48 ± 0.26		4.56 ± 0.70		
	其他	8	1.44 ± 0.21		4.69 ± 0.79		
高血压史	有	41	1.54 ± 0.28	1.698	4.78 ± 0.75	1.306	0.194
	无	84	1.46 ± 0.23		4.59 ± 0.77		
糖尿病史	有	35	1.55 ± 0.29	1.619	4.81 ± 0.68	1.557	0.122
	无	90	1.47 ± 0.23		4.59 ± 0.72		
高脂血症	有	31	1.54 ± 0.23	1.195	4.79 ± 0.73	1.461	0.147
	无	94	1.48 ± 0.26		4.61 ± 0.77		
NIHSS	轻度	42	1.14 ± 0.24	112.201	3.91 ± 0.69	48.927	0.000
	中度	47	1.45 ± 0.23		4.63 ± 0.73		
	重度	36	1.96 ± 0.26		5.54 ± 0.79		
脑出血量	小量	52	1.12 ± 0.26	135.823	3.95 ± 0.71	52.139	0.000
	中量	41	1.53 ± 0.25		4.81 ± 0.76		
	大量	32	2.05 ± 0.24		5.62 ± 0.83		
预后	预后不良	47	1.87 ± 0.24	13.072	5.47 ± 0.72	9.350	0.000
	预后良好	78	1.26 ± 0.26		4.15 ± 0.79		

注:SICH. 自发性脑出血;CXCL1. CXC 趋化因子配体 1;CXCR2. CXC 趋化因子受体 2

表 3 Logistic 多因素回归分析影响 SICH 患者预后不良的危险因素

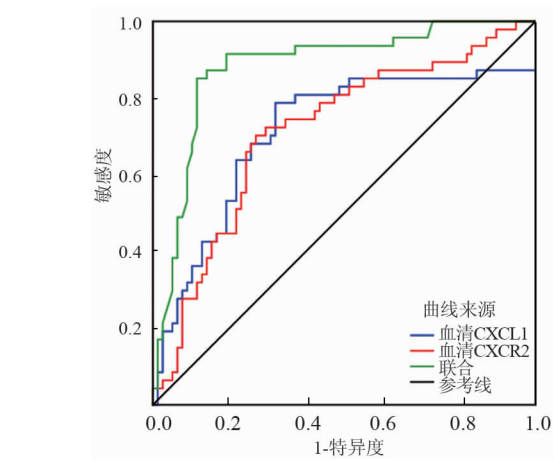
变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
神经功能缺损程度重	0.436	0.415	1.102	0.294	1.546	0.685 ~ 3.487
脑出血量大	0.569	0.267	4.537	0.033	1.766	1.046 ~ 2.980
血清 CXCL1 升高	0.809	0.218	13.761	0.000	2.245	1.464 ~ 3.441
血清 CXCR2 升高	0.842	0.304	7.664	0.006	2.320	1.279 ~ 4.210

注:SICH. 自发性脑出血;CXCL1. CXC 趋化因子配体 1;CXCR2. CXC 趋化因子受体 2

表 4 血清 CXCL1、CXCR2 水平对 SICH 患者预后不良的预测价值

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
血清 CXCL1	1.47 ng/ml	0.712	0.610 ~ 0.815	0.787	0.680	0.467
血清 CXCR2	4.78 ng/ml	0.714	0.619 ~ 0.809	0.702	0.731	0.433
二者联合	-	0.823	0.718 ~ 0.917	0.851	0.625	0.476

注:SICH. 自发性脑出血;CXCL1. CXC 趋化因子配体 1;CXCR2. CXC 趋化因子受体 2



注:SICH. 自发性脑出血;CXCL1. CXC 趋化因子配体 1;CXCR2. CXC 趋化因子受体 2

图 1 血清 CXCL1、CXCR2 水平预测 SICH 患者预后不良的 ROC 曲线

3 讨 论

脑出血是临床上常见的脑卒中类型,发病机制复杂,高血压是最常见的系统性危险因素,与所有年龄段的发病率和病死率增加有关,随着人口老龄化的加剧及抗凝或抗血小板药物的大量使用,SICH 发病率也逐年升高^[10]。SICH 发病急,且病情进展迅速,治疗不及时会导致患者发生脑损伤或脑死亡等,致死率高,预后差,幸存者可遗留偏瘫、失语等严重残疾,给患者家庭和生活带来沉重的负担^[11]。SICH 损伤主要包括原发性损伤和继发性损伤,原发性损伤是指 SICH 发生后,血液在脑组织中迅速聚集,导致颅内压升高,脑组织缺血、缺氧等造成脑组织损伤^[12-14]。脑水肿是 SICH 继发性损伤主要病变类型,在 SICH 患者神经功能损伤过程中有重要的作用^[15]。其损伤机制较为复杂,炎症反应在脑水肿引起神经损伤中占据重要作用,可能是

导致 SICH 患者预后不良的主要因素之一^[16]。因此,探讨炎症因子在 SICH 中的临床意义,可能为发掘 SICH 预后的生物标志物提供理论基础。

趋化因子是一种大小为 8 ~ 14 kD,由细胞分泌的小细胞因子或信号蛋白,具有定向细胞趋化作用^[17]。趋化因子的生物学效应是由 G 蛋白偶联的趋化因子受体介导的,CXCL1 属于趋化因子中的促炎性细胞因子,CXCR2 主要表达于中性粒细胞、单核细胞、CD8⁺T 细胞等细胞表面,是 CXCL1 主要趋化因子受体,二者相互作用在炎症反应中起重要作用^[18]。Fu 等^[19]研究表明,SICH 模型大鼠中 CXCL1 水平显著高于假手术组。本研究结果表明,SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平显著高于健康对照组,提示 CXCL1、CXCR2 水平可能与 SICH 的发生有关。进一步研究表明,血清 CXCL1、CXCR2 水平升高是 SICH 发生的危险因素。血源性白细胞和中性粒细胞深入脑实质并破坏血脑屏障,会导致炎症反应、脑水肿及神经损伤的发生^[20]。趋化因子和趋化因子受体共同促进免疫细胞募集到中枢神经系统,CXCL1 是一种主要募集中性粒细胞的趋化因子,Wu 等^[21]研究表明,CXCL1、CXCR2 对神经炎症反应期间大脑中性粒细胞的募集至关重要。Li 等^[22]研究表明,CXCL1 表达降低会导致中性粒细胞向大脑的浸润减少,从而减少缺血性脑卒中模型小鼠炎症反应,减轻小鼠缺血性脑卒中后脑损伤。猜测 CXCL1、CXCR2 可能通过引起神经炎症反应,导致 SICH 患者脑水肿及神经损伤的发生,影响患者预后,具体机制有待进一步研究。本结果提示,血清 CXCL1、CXCR2 可能是反映 SICH 疾病严重程度的潜在生物标志物,提示通过动态检测血清 CXCL1、CXCR2 可能为临床上 SICH 患者预后的预测提供依据。

综上所述,SICH 患者血清 CXCL1、CXCR2 水平显

著升高,且与 SICH 患者疾病严重程度和预后有关,可能是临床上预测 SICH 预后的潜在生物标志物。然而本研究纳入病例数较少,结果可能存在一定的误差,下一步需扩大样本量,进一步研究二者在 SICH 中的临床意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张皓春:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;陈忠、文泽贤:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;刘春平:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;蒲国明:进行统计学分析;刘素君:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Shoamanesh A, Patrice LM, Castellucci LA, et al. Canadian stroke best practice recommendations: Management of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage, 7th Edition Update 2020[J]. *Int J Stroke*, 2021, 16(3): 321-341. DOI: 10.1177/1747493020968424.
- [2] 王蔚, 王洪连, 杨思进, 等. 脑出血后脑水肿相关信号通路研究现状[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2019, 21(3): 327-330. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2019.03.027.
- [3] Xu CJ, Ge HT, Wang T, et al. Increased expression of T cell immunoglobulin and mucin domain 3 on CD14⁺ monocytes is associated with systemic inflammatory reaction and brain injury in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2018, 27(5): 1226-1236. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.11.041.
- [4] Liu Z, Zhang R, Chen X, et al. Identification of hub genes and small-molecule compounds related to intracerebral hemorrhage with bioinformatics analysis[J]. *Peer J*, 2019, 7(1): e7782. DOI: 10.7717/peerj.7782.
- [5] Liu P, Li X, Lv W, et al. Inhibition of CXCL1-CXCR2 axis ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury by mediating inflammatory response[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122(1): 109693. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109693.
- [6] Finocchi C, Balestrino M, Malfatto L, et al. National Institutes of Health Stroke Scale in patients with primary intracerebral hemorrhage[J]. *Neurol Sci*, 2018, 39(10): 1751-1755. DOI: 10.1007/s10072-018-3495-y.
- [7] 郝玉青, 刘艳丽, 王芳芳, 等. 老年急性缺血性脑卒中患者血清 miR-150-5p 及 miR-148b-3p 的表达及其临床意义[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2020, 47(2): 116-120. DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2020.02.002.
- [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. 中国脑出血诊治指南(2019)[J]. *中华神经科杂志*, 2019, 52(12): 994-1005. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2019.12.003.
- [9] 张磊, 刘建民. 改良 Rankin 量表[J]. *中华神经外科杂志*, 2012, 28(5): 512.
- [10] Hines K, Mouchtouris N, Saiegh FA, et al. Prediction of hematoma expansion in spontaneous intracerebral hemorrhage: Our institutional

- experience[J]. *J Clin Neurosci*, 2021, 86(1): 271-275. DOI: 10.1016/j.jocn.2021.01.046.
- [11] 胡海成, 王如海, 韩超, 等. 自发性脑出血患者术后不良预后的危险因素及其预测价值[J]. *中华神经外科杂志*, 2020, 36(10): 1057-1062. DOI: 10.3760/cma.j.cn112050-20200331-00186.
 - [12] 彭佳华, 龙少好, 黄兰青, 等. 自发性脑出血患者血肿形态分析对早期血肿扩大的预测与诊断价值[J]. *中华急诊医学杂志*, 2020, 29(4): 565-572. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2020022.012-1.
 - [13] 杨庆晓, 关文明, 宋彬, 等. 急性脑出血患者血清 ICAM-1、cFN 水平与炎性因子相关性及其预后的危险因素分析[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(6): 549-553, 558. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.003.
 - [14] 束坤, 林涛, 刘卓, 等. 血清 MMP-9、蛋白激酶 B 和 Cyt-C 联合检测在脑出血大鼠模型中的诊断价值[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(3): 297-302. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.03.019.
 - [15] Tschoe C, Bushnell CD, Duncan PW, et al. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets[J]. *J Stroke*, 2020, 22(1): 29-46. DOI: 10.5853/jos.2019.02236.
 - [16] Xi Z, Chen X, Xu C, et al. Protocatechuic acid attenuates brain edema and blood-brain barrier disruption after intracerebral hemorrhage in mice by promoting Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Neuroreport*, 2020, 31(18): 1274-1282. DOI: 10.1097/WNR.0000000000001542.
 - [17] 陈丽萍, 刘启航, 程计林. 趋化因子在肝细胞癌中的研究进展[J]. *肝脏*, 2019, 24(11): 1316-1319. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1704.2019.11.036.
 - [18] Hou SM, Chen PC, Lin CM, et al. CXCL1 contributes to IL-6 expression in osteoarthritis and rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by CXCR2, c-Raf, MAPK, and AP-1 pathway[J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22(1): 251. DOI: 10.1186/s13075-020-02331-8.
 - [19] Fu G, Wang H, Cai Y, et al. Theaflavin alleviates inflammatory response and brain injury induced by cerebral hemorrhage via inhibiting the nuclear transcription factor kappa beta-related pathway in rats[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12(1): 1609-1619. DOI: 10.2147/DDDT.S164324.
 - [20] Zheng J, Sun Z, Liang F, et al. AdipoRon attenuates neuroinflammation after intracerebral hemorrhage through AdipoR1-AMPK pathway[J]. *Neuroscience*, 2019, 412(1): 116-130. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2019.05.060.
 - [21] Wu F, Zhao Y, Jiao T, et al. CXCR2 is essential for cerebral endothelial activation and leukocyte recruitment during neuroinflammation[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12(1): 98. DOI: 10.1186/s12974-015-0316-6.
 - [22] Li D, Lang W, Zhou C, et al. Upregulation of microglial ZEB1 ameliorates brain damage after acute ischemic stroke[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(13): 3574-3586. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.03.011.

(收稿日期: 2021-05-08)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.008

论著·临床

血小板—纤维蛋白凝块强度、P-选择素与急性脑梗死患者复发的相关性及其预测价值

玄洪雷,啜红斐,李珊珊,张宁宁,吴兵,郝新斌

基金项目:辽宁省科学技术研究发展计划项目(2017L062)

作者单位:111000 辽宁省辽阳市中心医院神经内科

通信作者:郝新斌,E-mail:lyzxyhxb@163.com

【摘要】目的 分析血小板—纤维蛋白凝块强度(MA_{ADP})、P-选择素与急性脑梗死患者复发的相关性及其预测价值。**方法** 选取2018年10月—2020年6月辽阳市中心医院神经内科收治急性脑梗死患者282例,根据患者6个月内是否复发分为复发组($n=30$)和未复发组($n=252$),计算复发率,检测并比较2组MA_{ADP}、P-选择素水平,采用单因素和多因素Logistic回归分析急性脑梗死患者复发的危险因素,ROC曲线分析MA_{ADP}、P-选择素对急性脑梗死患者复发的预测价值。**结果** 282例急性脑梗死患者在6个月内复发30例,复发率为10.64%。复发组的糖尿病比例、房颤史比例高于未复发组($\chi^2/P=4.345/0.037, 4.715/0.030$),MA_{ADP}、P-选择素水平高于未复发组($t/P=6.629/0.000, 6.303/0.000$)。ROC分析显示,MA_{ADP}、P-选择素预测急性脑梗死患者复发的曲线下面积(AUC)分别为0.819、0.796,而二者联合预测脑梗死复发的AUC为0.847。有糖尿病、有房颤史及MA_{ADP}、P-选择素水平过高均是急性脑梗死患者复发的危险因素[$OR(95\%CI)=2.067(1.206\sim3.543), 3.736(1.424\sim9.799), 2.790(1.394\sim5.584), 2.633(1.131\sim6.127)$]。**结论** MA_{ADP}、P-选择素与急性脑梗死患者复发密切相关,二者联合应用可较好地辅助临床预测患者的复发风险,具有一定的临床应用价值。

【关键词】 脑梗死,急性;复发;血小板—纤维蛋白凝块强度;P-选择素;预测价值**【中图分类号】** R743.33**【文献标识码】** A

Analysis of the correlation between ADP-induced platelet-fibrin clot strength, P-selectin and recurrence in patients with acute cerebral infarction and its predictive value Xuan Honglei, Chuai Hongfei, Li Shanshan, Zhang Ningning, Wu Bing, Hao Xinbin.

Department of Neurology, Liaoyang Central Hospital, Liaoning Province, Shenyang 111000, China

Corresponding author: Hao Xinbin, E-mail: lyzxyhxb@163.com

Funding program: Liaoning Science and Technology Research and Development Plan Project(2017L062)

【Abstract】 Objective To analyze the correlation and predictive value of ADP-induced platelet-fibrin clot strength (MA_{ADP}), P-selectin and recurrence in patients with acute cerebral infarction. **Methods** 282 patients with acute cerebral infarction admitted to Department of Neurology, Liaoyang Central Hospital from October 2018 to June 2020 were selected, divided into recurrence group and non-recurrence group according to whether the patients had recurrence within 6 months. The recurrence rate of all patients with acute cerebral infarction was counted, the factors affecting the recurrence of acute cerebral infarction patients were analyzed by single factor and multivariate, and the predictive value of MA_{ADP} and P-selectin in patients with acute cerebral infarction was analyzed. **Results** According to statistics, 30 of the 282 patients with acute cerebral infarction relapsed within 6 months, the disease recurrence rate was 10.64% (30/282). The proportion of diabetes, the proportion of atrial fibrillation history in the recurrence group were higher than those in the non-recurrence group ($\chi^2/P=4.345/0.037, 4.715/0.030$), and the levels of MA_{ADP} and P-selectin in the recurrence group were higher than those in the non-recurrence group ($t/P=6.629/0.000, 6.303/0.000$). ROC analysis showed that the area under the curve of MA_{ADP} and P-selectin for predicting the recurrence of acute cerebral infarction patients were 0.819 and 0.796, respectively, and the predictive value of the two can be further improved after the combined application (AUC was 0.847). Diabetes, atrial fibrillation, and high levels of MA_{ADP} and P-selectin were risk factors for recurrence in patients with acute cerebral infarction [$OR(95\%CI)=2.067(1.206\sim3.543), 3.736(1.424\sim9.799), 2.790(1.394\sim5.584), 2.633(1.131\sim6.127)$]. **Conclusion** MA_{ADP} and P-selectin are closely related to the recurrence of patients with acute cerebral infarction. The combined application of

the two can better assist the clinical prediction of the risk of recurrence in patients, and has certain clinical application value.

【Key words】 Cerebral infarction,acute; Recurrence; ADP-induced platelet-fibrin clot strength; P-selectin; Predictive value

急性脑梗死是临床常见的急危重症,患者因脑部血供障碍导致脑组织出现缺血缺氧性损伤,口角歪斜、言语及意识障碍等症状,若未得到及时有效的治疗可造成永久性脑损伤,具有较高的致死率和致残率^[1]。急性脑梗死具有较高的复发率,且与首发急性脑梗死患者相比,复发后患者致死、致残风险均明显升高^[2-3],对患者的生命健康构成巨大的威胁,若能尽早筛选出复发高风险人群进行早期干预,或可有效改善患者的预后。血小板—纤维蛋白凝块强度(ADP-induced platelet-fibrin clot strength, MA_{ADP})是血栓弹力图仪的一项检查指标,其数值对血栓再形成风险及出血风险均具有较好地评估价值,可用于辅助临床治疗缺血性心脑血管疾病时治疗方案的制定^[4-5]。P-选择素是血小板激活的标志物,其在急性脑梗死患者血清中表达明显升高,且与患者的病情严重程度密切相关,相关研究还显示,P-选择素可用于预测不稳定心绞痛患者主要不良心血管事件的发生风险^[6-7]。 MA_{ADP} 、P-选择素预测急性脑梗死患者复发的研究鲜有报道,鉴于此,本研究分析二者与急性脑梗死患者复发的相关性及其预测价值,以期临床制定急性脑梗死复发风险预测模型提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 10 月—2020 年 6 月辽阳市中心医院神经内科收治急性脑梗死患者 282 例,以 6 个月内出现急性脑梗死复发患者纳入复发组($n=30$),未复发患者为未复发组($n=252$)。复发组患者糖尿病比例、房颤史比例均高于未复发组,差异有统计学意义($P<0.05$),2 组患者的性别、年龄、体质量指数、高血压比例、高脂血症比例、吸烟史比例、治疗方式、血肌酐、尿素氮、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血小板计数等资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会审核(审批号:201809012),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根据中华医学会制定的相关标准进行诊断^[8],确诊首次患有急性脑梗死;急性脑梗死复发的定义为经规范治疗症状好转或痊愈的患者再次发生急性脑梗死;②均接受氯吡格雷联合阿司匹林的双重抗血小板治疗;③发病到治疗

表 1 2 组急性脑梗死患者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	复发组 ($n=30$)	未复发组 ($n=252$)	t/χ^2 值	P 值
性别(男/女)	20/10	171/81	0.017	0.895
年龄(岁)	65.46 $\pm$ 8.04	62.89 $\pm$ 7.26	1.812	0.071
体质量指数(kg/m ²)	22.43 $\pm$ 1.86	22.31 $\pm$ 2.13	0.295	0.768
高血压[例(%)]	21(70.00)	142(56.35)	2.048	0.152
糖尿病[例(%)]	13(43.33)	64(25.40)	4.345	0.037
高脂血症[例(%)]	6(20.00)	42(16.67)	0.211	0.646
吸烟史[例(%)]	16(53.33)	124(49.21)	0.183	0.669
房颤史[例(%)]	7(23.33)	22(8.73)	4.715	0.030
治疗方式[例(%)]			1.482	0.223
静脉溶栓	19(63.33)	186(73.81)		
血管内介入	11(36.67)	66(26.19)		
血肌酐(μ mol/L)	78.89 $\pm$ 16.54	74.68 $\pm$ 19.87	1.115	0.266
尿素氮(mmol/L)	6.86 $\pm$ 1.92	6.54 $\pm$ 2.17	0.772	0.441
ALT(U/L)	19.32 $\pm$ 3.12	18.61 $\pm$ 4.29	0.879	0.380
AST(U/L)	19.86 $\pm$ 4.51	20.12 $\pm$ 4.84	0.280	0.780
血小板计数($\times 10^9/L$)	186.35 $\pm$ 40.25	194.56 $\pm$ 54.98	0.792	0.429

注:ALT. 丙氨酸氨基转移酶;AST. 天冬氨酸氨基转移酶

时间 <8 h,有完整的临床资料及随访资料。(2)排除标准:①合并脑出血、颅内感染等脑部疾病;②合并恶性肿瘤、血液系统疾病、严重肝肾功能障碍;③对氯吡格雷或阿司匹林过敏,或治疗依从性低的患者;④近期使用过华法林等影响血小板聚集功能的药物;⑤近期出现过严重感染或接受过大型外科手术者。所有患者均根据相关指南的要求进行治疗^[8]。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 MA_{ADP} 及 P-选择素检测:患者于双重抗血小板方案治疗 7 d 后采用血栓弹力图仪(TEG5000 型,美国 Hemoscope 公司)检测 MA_{ADP} ;同时抽取患者空腹肘静脉血 5 ml,离心提取血清,采用上海酶联生物科技有限公司提供试剂盒以酶联免疫吸附法检测 P-选择素水平。

1.3.2 随访情况:对患者进行 6 个月的随访,主要以门诊或电话形式随访,统计患者急性脑梗死复发情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件统计分析数据。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。采用受试者工作特征曲线(ROC)分析 MA_{ADP} 、P-选择素对急性脑梗死患者复发的预测价值,采用多因素 Logistic 回归模型

分析急性脑梗死患者复发的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性脑梗死复发率 对 282 例患者进行 6 个月的随访,急性脑梗死患者经规范治疗症状好转或痊愈后再次发生急性脑梗死 30 例,复发率为 10.64%。

2.2 2 组 MA_{ADP} 及 P-选择素比较 复发组 MA_{ADP} 及 P-选择素水平均高于未复发组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见表 2。

表 2 2 组急性脑梗死患者 MA_{ADP} 及 P-选择素水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MA_{ADP} (mm)	P-选择素 (ng/L)
未复发组	252	42.36 $\pm$ 8.81	51.89 $\pm$ 8.35
复发组	30	53.48 $\pm$ 7.52	62.35 $\pm$ 10.46
t 值		6.629	6.303
P 值		0.000	0.000

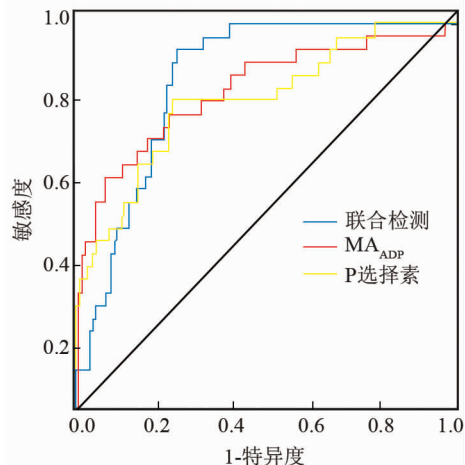
注: MA_{ADP} . 血小板—纤维蛋白凝块强度

2.3 MA_{ADP} 、P-选择素对急性脑梗死患者复发的预测价值 ROC 分析显示, MA_{ADP} 、P-选择素及二者联合用于预测急性脑梗死患者复发的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.819 (95% CI 0.730 ~ 0.908)、0.796 (95% CI 0.706 ~ 0.885)、0.847 (95% CI 0.798 ~ 0.896),约登指数分别为 0.517、0.509、0.648,二者联合应用预测价值高于各自单独预测,见表 3、图 1。

2.4 急性脑梗死患者复发的影响因素分析 以糖尿病、房颤史、 MA_{ADP} 、P-选择素为自变量,以急性脑梗死患者在 6 个月内的复发情况为因变量,进行多因素 Logistic 回归模型分析,结果显示,有糖尿病、有房颤史及 MA_{ADP} 、P-选择素水平过高均是急性脑梗死患者复发的危险因素 ($P < 0.05$),见表 4。

3 讨论

急性脑梗死是世界范围内的主要致死性疾病之一,近年来其发病率呈递增的趋势,给全球的健康问题带来了巨大的挑战^[9]。我国一项纳入 6 070 例初发急性脑梗死患者的研究显示^[10],患者出院 3 个月的复发再入院率为 8.57%,本研究结果显示,282 例急性脑梗死患者 6 个月复发率为 10.64%,从这些数据可以看



注: MA_{ADP} . 血小板—纤维蛋白凝块强度;ROC. 受试者工作特征曲线

图 1 MA_{ADP} 、P-选择素预测急性脑梗死复发的 ROC 曲线

表 4 急性脑梗死患者复发的影响因素分析

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
有糖尿病	0.726	0.275	6.970	0.008	2.067	1.206 ~ 3.543
有房颤史	1.318	0.492	7.176	0.007	3.736	1.424 ~ 9.799
MA_{ADP} 高	1.026	0.354	8.400	0.004	2.790	1.394 ~ 5.584
P-选择素高	0.968	0.431	5.044	0.025	2.633	1.131 ~ 6.127

注: MA_{ADP} . 血小板—纤维蛋白凝块强度

出急性脑梗死具有较高的复发率。若可以在早期准确、有效地筛选出急性脑梗死复发高风险人群,将有助于进行积极的二级预防干预,这对于降低复发率、改善患者预后具有重要意义。糖尿病、房颤均会增加急性脑梗死的发病风险,本研究结果发现二者亦是急性脑梗死患者复发的危险因素。糖尿病可增加动脉粥样硬化斑块的不稳定性,且与非糖尿病患者相比,糖尿病患者血小板高反应性的发生率明显升高,这也导致患者在接受双联抗血小板治疗后再发缺血事件的风险依然较高^[11]。房颤患者的血液易呈高凝状态,导致血栓形成的风险显著增加,据统计房颤患者发生急性脑梗死的风险是正常人群的 5 倍^[12]。

血栓弹力图仪是临床常用的检测仪器,可从血小板聚集、凝血、纤溶等方面动态监测凝血情况, MA_{ADP} 是其中一项检查指标,可较好地反映活化的血小板和纤维蛋白共同形成的最大血凝块强度。 MA_{ADP} 对出血

表 3 MA_{ADP} 、P-选择素预测急性脑梗死患者复发价值分析 ($\bar{x} \pm s$)

指标	最佳临界值	AUC (95% CI)	敏感度	特异度	约登指数
MA_{ADP} (mm)	48.12	0.819 (0.730 ~ 0.908)	0.767	0.750	0.517
P-选择素 (ng/L)	56.42	0.796 (0.706 ~ 0.885)	0.767	0.742	0.509
二者联合	—	0.847 (0.798 ~ 0.896)	0.933	0.714	0.648

注: MA_{ADP} . 血小板—纤维蛋白凝块强度;AUC. 曲线下面积

和血栓风险均有较好的评估作用,国内外指南均指出,若 $MA_{ADP} < 31$ mm 提示出血风险高, $MA_{ADP} > 47$ mm 则提示血栓风险高^[13-14]。本研究结果显示,复发组 MA_{ADP} 高于未复发组,且 MA_{ADP} 过高是急性脑梗死患者复发的危险因素,这提示急性脑梗死复发者血液呈高凝状态,易促进血栓形成,进而提升疾病复发的风险。Wang 等^[15]对 218 例接受支架治疗的缺血性脑血管病患者进行了 98 ~ 226 d 的随访,结果发现 MA_{ADP} 可用于预测患者再发缺血事件的风险,最佳临界值为 49.95 mm。本研究通过 ROC 分析发现, MA_{ADP} 用于预测急性脑梗死患者复发的价值较高,且预测复发的最佳临界值为 48.12 mm,该数值与相关指南中推荐的血栓形成风险预警值($MA_{ADP} > 47$ mm)较为接近,提示临床可通过检测 MA_{ADP} 评估患者复发的风险。

P-选择素是细胞黏附分子选择素家族的一员,在人体内既能以可溶性蛋白的形式存在血液循环中,又能以膜蛋白的形式表达于血小板和内皮细胞表面。近年来的研究显示^[16],P-选择素在血栓形成的过程中发挥着重要的作用,且在急性冠状动脉综合征、急性脑梗死等多种缺血性心脑血管疾病患者血液中的表达水平明显上升^[17-18]。Chen 等^[19]的研究显示,P-选择素可用于预测外周动脉疾病患者介入治疗后血管再狭窄,而急性脑梗死患者复发与介入治疗后血管再狭窄的病理机制存在多处共同点,因此可推测 P-选择素可能也可用于评估急性脑梗死患者复发的风险。本研究结果显示,复发组 P-选择素水平高于未复发组,且 P-选择素水平过高是急性脑梗死患者复发的危险因素,这提示 P-选择素水平与急性脑梗死的复发情况密切相关。P-选择素可能主要通过以下几条途径促进血栓的形成:(1)血小板聚集是血栓形成的关键步骤,而血小板聚集体的维持依赖于 P-选择素,在聚集发生的初期纤维蛋白原会与 GP IIb/IIIa 互相结合,进而连接相邻的血小板,而 P-选择素的凝集素结构域可与血小板表面的硫化物相互结合,进一步稳定已桥接的血小板,促进大量血小板聚集^[20];(2)P-选择素可通过促进白细胞与血管细胞黏附分子-1 结合诱导白细胞黏附、聚集到动脉粥样硬化内皮细胞表面,促进炎症因子分泌,进而加速动脉粥样硬化斑块的发展^[21]。

本研究通过 ROC 分析发现, MA_{ADP} 、P-选择素用于预测急性脑梗死患者复发的曲线下面积分别为 0.819 (95% CI 0.730 ~ 0.908)、0.796 (95% CI 0.706 ~ 0.885),提示二者对急性脑梗死患者复发的预测价值较高。然而单一指标预测急性脑梗死患者复发均存在一定的局限性,目前的趋势是多个指标联合应用、构建

综合评估模型,本研究进一步分析发现, MA_{ADP} 、P-选择素联合应用后预测价值可得到进一步提升。

综上所述, MA_{ADP} 、P-选择素与急性脑梗死患者复发密切相关,二者联合应用可较好地辅助临床预测患者的复发风险,具有一定的临床应用价值。在后续研究急性脑梗死复发的综合评估模型时,可考虑纳入 MA_{ADP} 及 P-选择素 2 个指标。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

玄洪雷、啜红斐、李珊珊:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张宁宁:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;吴兵:进行统计学分析;郝新斌:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Rabinstein AA. Update on treatment of acute ischemic stroke[J]. Continuum (Minneapolis), 2020, 26(2): 268-286. DOI: 10.1212/CON.0000000000000840.
- [2] 郑雯丽,邓仁丽,邱业银,等.缺血性脑卒中复发风险预测模型的研究进展[J].中华神经医学杂志,2020,19(4):408-412. DOI: 10.3760/cma.j.cn115354-20191205-00723.
- [3] Wei L, Ke Z, Zhao Y, et al. The elevated lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with the occurrence and recurrence of acute cerebral infarction[J]. Neuroreport, 2017, 28(6): 325-330. DOI: 10.1097/WNR.0000000000000765.
- [4] 杨军,刘晓辉,李玲,等.血栓弹力图评估血小板功能有助于缩短患者冠状动脉搭桥术前等待时间[J].中华检验医学杂志,2017,40(2):114-118. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2017.02.009.
- [5] Zhang M, Wang JR, Zhang Y, et al. Effects of individualized antiplatelet therapy based on CYP2C19 genotype and platelet function on the prognosis of patients after PCI[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(20): 10753-10768. DOI: 10.26355/eurrev_202010_23436.
- [6] 李术钊,胡夷,黄勇,等.血清中三项指标的表达与脑梗死相关性研究[J].检验医学与临床,2017,14(20):3116-3118. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.20.056.
- [7] 肖智谦,龙运玲,彭湘南,等.P-选择素水平对不稳定心绞痛患者 MACE 发生率的影响[J].广西医科大学学报,2018,35(5):119-121. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2018.05.027.
- [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 2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.
- [9] Venkatasubba Rao CP, Suarez JJ. Management of stroke in the neurocritical care unit[J]. Continuum (Minneapolis), 2018, 24(6): 1658-1682. DOI: 10.1212/CON.0000000000000670.
- [10] 许源,马健勇,葛艳秋,等.XGboost 模型对缺血性脑卒中出院后 90 d 内复发再入院风险的预测效果分析[J].中华神经医学杂志,2018,17(8):813-818. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2018.08.010.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.009

论著·临床

铁稳态失调在介导 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者贫血发生中的作用机制研究

林石宁,王发辉,石慧芳,徐建光,陈山

基金项目: 海南省卫生健康行业科研项目(20A200310)

作者单位: 570311 海口,海南医学院第二附属医院呼吸内科

通信作者: 石慧芳, E-mail: shihuifang196705@163.com

【摘要】目的 观察铁稳态失调在介导 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者贫血发生中的作用机制及贫血对患者预后的影响。**方法** 选择 2019 年 9 月—2020 年 9 月海南医学院第二附属医院呼吸内科收治 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者 70 例。根据患者是否存在贫血分为贫血组($n=22$)和非贫血组($n=48$)。比较 2 组患者入院时临床资料及炎症因子、贫血相关指标及铁稳态指标(铁调素),并分析铁调素与炎症因子之间的相关性。多因素 Logistic 回归分析影响患者发生贫血的危险因素。随访 90 d,分析 2 组患者慢性阻塞性肺疾病急性发作(AECOPD)及存活情况之间的差异。**结果** 贫血组年龄、病程及血清 IL-1、IL-6、TNF- α 、铁调素水平高于非贫血组($t/P=3.881/ <0.001$, $2.221/0.032$, $2.313/0.026$, $4.242/ <0.001$, $2.442/0.021$, $5.746/ <0.001$),血清 Alb 水平低于非贫血组($t/P=4.055/ <0.001$);贫血组患者随访期间 AECOPD 发生率、发生次数显著高于非贫血组($\chi^2/P=4.635/0.034$, $t/P=9.321/ <0.001$)。IL-6、TNF- α 与铁调素呈正相关($r/P=0.309/0.008$, $0.294/0.011$),而 IL-1 与铁调素之间无显著相关性($r/P=0.026/0.821$)。年龄大、高 IL-6、高铁调素是患者发生贫血的独立危险因素[$OR(95\% CI)=1.401(1.063 \sim 1.843)$ 、 $1.164(1.079 \sim 2.976)$ 、 $1.555(1.089 \sim 2.221)$],高 Alb 是患者发生贫血的独立保护因素[$OR(95\% CI)=0.491(0.276 \sim 0.873)$]。**结论** COPD 伴 II 型呼吸衰竭合并贫血的患者体内存在铁稳态失调,可能是由炎症因子引起的;贫血可导致 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者住院 90 d 内 AECOPD 风险增加。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;呼吸衰竭, II 型;贫血;铁调素;炎症反应**【中图分类号】** R563.8 **【文献标识码】** A

Study on the mechanism of iron homeostasis disorder in mediating anemia in COPD patients with type II respiratory failure Lin Shining, Wang Fahui, Shi Huifang, Xu Jianguang, Chen Shan. Department of Respiratory Medicine, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Shi Huifang, E-mail: shihuifang196705@163.com

Funding program: Hainan Medical and Health Research Project (20A200310)

【Abstract】 Objective To observe the mechanism of iron homeostasis in mediating the occurrence of anemia in COPD patients with type II respiratory failure and the effect of anemia on the prognosis of patients. **Methods** From September 2019 to September 2020, 70 patients with COPD and type II respiratory failure were admitted to the Department of Respiratory Medicine, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College. According to whether patients have anemia, they are divided into anemia group ($n=22$) and non-anemia group ($n=48$). The clinical data and inflammatory factors, anemia-related indicators and iron homeostasis indicators (hepcidin) were compared between the two groups of patients when they were admitted to the hospital, and the correlation between hepcidin and inflammatory factors was analyzed. Multivariate logistic regression analysis of the risk factors of anemia in patients. The difference between the acute onset of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) and survival during the 90-day follow-up period of the two groups was analyzed. **Results** The age, course of disease, IL-1, IL-6, TNF- α , and ironmodulin levels in the anemia group were higher than those in the non-anemia group ($t/P=3.881/ <0.001$, $2.221/0.032$, $2.313/0.026$, $4.242/ <0.001$, $2.442/0.021$, $5.746/ <0.001$), the level of Alb is lower than the non-anemia group ($t/P=4.055/ <0.001$). The incidence and frequency of AECOPD during the follow-up period in the anemia group were significantly higher than those in the non-anemia group ($\chi^2/P=4.635/0.034$, $t/P=9.321/ <0.001$). IL-6, TNF- α and hepcidin were positively correlated ($r/P=0.309/0.008$, $0.294/0.011$), but there was no

significant correlation between IL-1 and hepcidin ($r/P=0.026/0.821$). Old age, high IL6, and methordrin are independent risk factors for anemia in patients [$OR(95\%CI)=1.401(1.063-1.843), 1.164(1.079-2.976), 1.555(1.089-2.221)$], high Alb is Independent protective factors for anemia in patients [$OR(95\%CI)=0.491(0.276-0.873)$]. **Conclusion** In patients with COPD with type II respiratory failure and anemia, there is an imbalance of iron homeostasis in the body, which may be caused by inflammatory response factors. Anemia can increase the risk of AECOPD in patients with COPD and type II respiratory failure for 90 days in hospital.

【Key words】 Chronic obstructive pulmonary disease; Respiratory failure, type II; Anemia; Hepcidin; Inflammatory response

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)作为老年人常见呼吸道疾病之一,病情极易反复,且易出现呼吸衰竭,导致患者死亡。前期临床研究发现^[1], COPD 合并贫血患者通常预后较差,还对患者的生活质量、医疗资源利用率产生了不利影响。研究表明^[2], 贫血是 COPD 患者死亡的独立预测因子,但贫血对 COPD 伴呼吸衰竭预后的影响尚缺乏报道。目前关于引起 COPD 伴呼吸衰竭合并贫血的机制尚不明确,已有研究指出,可能与体内铁代谢紊乱、血清铁、转铁蛋白饱和度水平下降有关^[3,4]。关于 COPD 患者机体内铁稳态失调很大程度上与机体炎性反应有关,这种贫血又被称为炎性贫血。铁调素作为一种急性期蛋白物质,是铁代谢调节的关键因子,其可通过多种机制影响血浆铁水平,而铁调素也受到许多炎性因子的影响,如 IL-1、IL-6,但这种影响程度如何尚不明确。现探究铁稳态失调在介导 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者贫血发生中的作用机制,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 9 月—2020 年 9 月海南医学院第二附属医院呼吸内科收治 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者 70 例,男 42 例,女 38 例,年龄 46~67(57.81 ± 8.72)岁,根据患者是否存在贫血(男 Hb < 120 g/L,女 Hb < 110 g/L)分为贫血组($n=22$)和非贫血组($n=48$)。本研究经医院伦理委员会审核批准(审批号:2019011),患者及家属对本次研究均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①符合“慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2018 年修订版)”^[5]中 COPD 的诊断标准;②合并 II 型呼吸衰竭;③接受有创通气治疗;④既往 6 个月未接受机械通气治疗。(2)排除标准:①存在可引起贫血的其他明确病因,如失血、遗传性贫血、肝脾肾脏疾病、血液系统疾病、风湿免疫系统疾病、肿瘤,合并糖尿病、慢性心功能不全、胃肠道及其他器官的出血性疾病等;②合并活动性肺结核、肺部以外感染灶等;③近 1 个月使用糖皮质激素;④已知有维生素 B₁₂ 或叶酸缺乏;⑤缺乏肺功能、动脉血气分

析、血常规等检查。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集:收集患者性别、年龄、体质量指数(BMI)、病程、吸烟史、基础疾病、使用糖皮质激素和支气管扩张剂情况等。

1.3.2 血清 Alb 及炎性因子检测:于患者入院后次日清晨采集空腹肘静脉血 5 ml,其中 2 ml 采用贝克曼库尔特公司生产的 AU5800 型全自动生化分析仪检测白蛋白(Alb)水平;另 3 ml 3000 r/min 离心 10 min 得血清,采用双抗体夹心法检测细胞因子白介素 1(IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平,操作按各试剂盒(购自武汉艾迪抗生物科技有限公司)说明书进行。

1.3.3 血清铁指标检测:上述静脉血 2 ml 使用贝克曼库尔特公司生产的 AU5800 型全自动生化分析仪检测血清铁、铁蛋白水平、总铁结合力,计算转铁蛋白饱和度:转铁蛋白饱和度(%) = 血清铁/总铁结合力 $\times 100\%$,应用酶联免疫吸附法测定铁调素水平。

1.3.4 随访情况:采用前瞻性研究方法随访 90 d,记录患者慢性阻塞性肺疾病急性发作(AECOPD)情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 分析炎性因子与铁调素的相关性;采用 K-M 生存曲线分析随访期间 AE-COPD 发生率,Logistic 回归分析 COPD 伴 II 型呼吸衰竭患者发生贫血的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床资料比较 贫血组患者年龄、病程均大于非贫血组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),性别、吸烟史、基础疾病、糖皮质激素及支气管扩张剂使用情况等比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 2 组实验室相关指标比较 贫血组患者 IL-1、IL-6、TNF- α 、铁调素水平高于非贫血组,Alb 水平低于非贫血组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),血清铁、铁

表 1 2 组 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭
患者临床资料比较 [例(%)]

临床资料	非贫血组 (n=48)	贫血组 (n=22)	t/χ^2 值	P 值
男/女(例)	27/21	12/10	0.104	0.764
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	63.32 $\pm$ 7.27	71.47 $\pm$ 8.53	3.881	<0.001
病程($\bar{x} \pm s$, 年)	6.01 $\pm$ 1.97	7.29 $\pm$ 2.35	2.221	0.032
吸烟史	34(70.83)	15(68.18)	0.051	0.822
基础疾病				
高血压	23(47.92)	12(54.55)	0.265	0.606
糖尿病	13(27.08)	9(40.91)	1.338	0.247
冠心病	9(18.75)	7(31.82)	1.461	0.226
肾功能不全	9(18.75)	3(13.64)	0.277	0.598
使用糖皮质激素	11(22.92)	6(27.27)	1.557	0.693
支气管扩张剂使用				
1 种	27(56.25)	13(59.09)	0.049	0.823
≥ 2 种	21(43.75)	9(40.91)		

蛋白、总铁结合力、转铁蛋白饱和度比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 2 组 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭
患者实验室相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	非贫血组 (n=48)	贫血组 (n=22)	t 值	P 值
Alb(g/L)	43.57 $\pm$ 3.99	39.31 $\pm$ 4.12	4.055	<0.001
IL-1 (ng/ml)	3.53 $\pm$ 0.69	3.97 $\pm$ 0.76	2.313	0.026
IL-6 (ng/ml)	10.72 $\pm$ 1.35	12.24 $\pm$ 1.41	4.242	<0.001
TNF- α (ng/ml)	123.57 $\pm$ 26.90	139.23 $\pm$ 19.84	2.442	0.021
铁调素 (ng/ml)	30.18 $\pm$ 5.28	39.15 $\pm$ 6.39	5.746	<0.001
血清铁(μ mol/L)	12.58 $\pm$ 4.33	11.24 $\pm$ 3.54	1.367	0.177
血清铁蛋白(g/L)	1.82 $\pm$ 0.42	1.73 $\pm$ 0.31	1.003	0.321
总铁结合力(μ mol/L)	39.17 $\pm$ 5.04	37.24 $\pm$ 5.13	1.469	0.149
转铁蛋白饱和度(%)	31.25 $\pm$ 6.01	29.47 $\pm$ 5.34	1.234	0.221

2.3 炎症因子与铁调素的相关性分析 Pearson 相关性分析结果显示,血清 IL-6、TNF- α 与铁调素呈正相关($r/P=0.309/0.008$ 、 $0.294/0.011$),而血清 IL-1 与铁调素无相关性($r/P=0.026/0.821$)。

2.4 影响 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者发生贫血的多因素 Logistic 回归分析 根据临床资料及实验室检查指标比较结果,将 $P<0.05$ 的指标纳入 Logistic 回归分析,年龄大、高 IL-6、高铁调素是患者发生贫血的独

立危险因素,高 Alb 水平是影响贫血的独立保护因素,见表 3。

2.5 2 组 AECOPD 发生情况比较 截至 2020 年 12 月 31 日,70 例患者完成随访 67 例(95.71%)。完成随访患者中,贫血组 21 例,AECOPD 发生次数为(1.04 ± 0.69)次;非贫血组 46 例,AECOPD 发生次数为(0.57 ± 0.17)次,贫血组患者随访期间 AECOPD 发生次数显著高于非贫血组($t=9.321, P<0.001$);通过建立 K-M 曲线比较随访期间 2 组患者 AECOPD 发生率,贫血组患者发生 AECOPD 12 例(54.55%),非贫血组患者发生 AECOPD 21 例(45.65%),贫血组 AECOPD 发生率高于非贫血组($\chi^2/P=4.635/0.034$),见图 1。

3 讨 论

COPD 是目前老年慢性疾病中最常见的一类,也是影响老年人生存质量的重要因素,虽然近几年来 COPD 长期治疗方案得到逐渐规范化,控制了大部分患者的病情进展,但是由于其病情的不可逆性,尤其是对于高龄患者,仍然是导致预后不良的重要原因^[6-7]。既往研究提出,贫血患者罹患 COPD 的可能性大于普通患者,同时贫血也是 COPD 患者死亡的重要影响因素,说明上述 2 种疾病间具有相互促进的作用,进一步对二者之间的关系进行研究能完善 COPD 患者治疗方案,改善患者预后^[8-9]。

Ⅱ型呼吸衰竭是 COPD 患者急性发作期常见的并发症,此类患者气道炎性反应相对较重,而白介素家族作为炎症因子中重要成员,其在患者体内水平升高,同时作为促炎因子的 TNF- α 也会发生改变^[10-12]。本结果提示,上述炎症因子与 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者贫血发生具有一定关系。其中 TNF- α 可通过诱导红系祖细胞的凋亡而对红细胞的生成产生负调节作用^[13]。白介素可直接抑制促红细胞生成素(EPO)参与早期红系暴增式集落形成,通过影响早期红系祖细胞水平抑制红系增殖^[14]。既往研究提出,炎症因子会导致人体内瘦素水平升高,从而导致患者摄入量减少及消耗量的增加,进一步影响 Alb 水平^[15]。本结果中,贫血组患者 Alb 水平低于非贫血组,与之前的研究

表 3 影响 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者发生贫血的多因素 Logistic 回归分析

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常量	10.694	11.106	0.927	0.336	44 070.362	—
年龄大	0.336	0.141	5.728	0.017	1.401	1.063 ~ 1.843
高 Alb	-0.711	0.294	5.86	0.015	0.491	0.276 ~ 0.873
高 IL-6	0.152	0.065	5.472	0.019	1.164	1.079 ~ 2.976
高铁调素	0.442	0.182	5.912	0.015	1.555	1.089 ~ 2.221

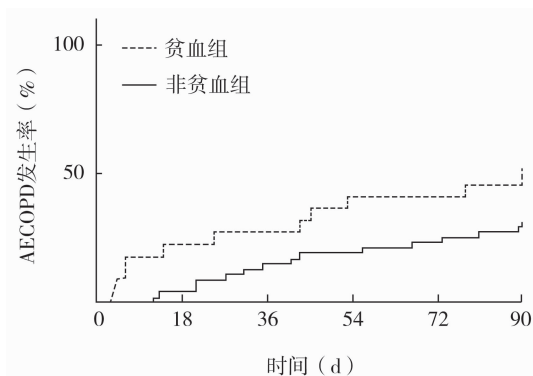


图1 2组 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者随访 90 d 内 AECOPD 发生率比较

一致。既往研究中已经证实,贫血发生与年龄所致的器官功能退行性障碍有关,而本研究中 2 组患者年龄亦存在显著差异,与之前研究结果类似^[16]。

本研究 2 组患者体内铁元素消耗情况并未存在显著区别,这也充分说明了 COPD 导致贫血可能与铁摄入量不足有关。铁调素是体内参与调控血红蛋白生成的重要因素,其具有抑制肠道对铁的吸收及单核巨噬细胞系统对铁释放的作用,其水平升高会使大量的铁聚集于单核巨噬细胞系统中(骨髓细胞外铁增加),降低了铁生物利用度,导致铁代谢异常,引起贫血发生^[17-18]。本结果显示,贫血组铁调素水平显著高于非贫血组,充分证实了 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者发生贫血与铁调素导致的铁摄入量不足有关。通过多元线性回归分析结果显示,COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者体内铁调素水平与炎症因子 IL-6 及 TNF- α 存在显著相关性。动物实验结果表明,敲除 IL-6 基因小鼠受到 LPS 刺激后铁调素水平显著低于正常小鼠,说明 IL-6 有刺激铁调素合成的作用^[19]。分析其原因可能与 IL-6 影响铁调素合成的 HAMP 基因表达有关。司倩楠等^[20]对血液透析患者 TNF- α 与铁调素关系的研究中也指出,患者 TNF- α 升高会导致铁调素水平升高,本结果与之类似,但上述 2 种因素具体作用过程还需要进一步开展基础实验予以证实及完善。

多因素分析结果排除了病程、IL-1 及 TNF- α 为影响贫血的独立因素,可能有以下几点原因:(1) IL-1 与气道炎性反应有直接关系,但对于营养状态及血红蛋白的影响却相对较小,可能与其作用靶点同 IL-6 不同有关^[21];(2) TNF- α 升高受到多因素的调控,其表达量与白介素家族存在显著相关性,可能由于共线性因素,导致 TNF- α 被排除了独立影响因素;(3) 可能与本研究样本量较小导致的误差有关。

本结果提示,贫血组患者短期气道炎性反应加重

情况明显高于非贫血组。如上所述,COPD 患者发生贫血可能与炎性反应有关,故虽然通过治疗 2 组患者病情均得到控制,但由于贫血患者体内炎性水平较高,从而导致其 AECOPD 发生率也显著升高。同时在 Zhao 等^[22]的研究中还指出,由于炎性反应导致局部水肿,通透性增加,导致患者受到病原体感染的可能性也显著增加,从而使 AECOPD 发生率升高。

本研究为单中心小样本量研究,结果可能存在一定偏倚,同时对于 IL-6 与铁调素之间的具体作用过程也尚未进一步深入研究,部分结论是鉴于既往研究提出的推断,故下一步需要增加样本量,同时对相关基础研究应进一步加强。但上述不足并不影响本研究中得出铁调素升高所致的铁稳态失衡对于 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭贫血发生具有重要影响的结论,提示在今后 COPD 伴Ⅱ型呼吸衰竭患者治疗过程中,应当注意体内铁稳态的情况,针对性开展治疗能有效提升患者预后。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

林石宁:研究选题,实施研究过程,设计论文框架;王发辉:实施研究过程,数据统计;石慧芳:提出研究方向、研究思路,设计研究方案、研究流程;徐建光:数据分析;陈山:数据获取

参考文献

- [1] Soriano JB, Polverino F, Cosio BG. What is early COPD and why is it important[J]. Eur Respir J, 2018, 52(6): 1801448. DOI: 10.1183/13993003.01448-2018.
- [2] Xiong W, Xu M, Pudasaini B, et al. The influence of anemia on one-year exacerbation rate of patients with COPD-PH[J]. BMC Pulm Med, 2018, 18(1):143. DOI: 10.1186/s12890-018-0693-6.
- [3] Park SC, Kim YS, Kang YA, et al. Hemoglobin and mortality in patients with COPD: a nationwide population-based cohort study[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2018, 13:1599-1605. DOI: 10.2147/COPD.S159249.
- [4] Patel MS, McKie E, Steiner MC, et al. Anaemia and iron dysregulation: untapped therapeutic targets in chronic lung disease[J]. BMJ Open Respir Res, 2019, 6(1):e000454. DOI: 10.1136/bmjresp-2019-000454.
- [5] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等.慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018 年)[J]. 中华全科医师杂志,2018,17(11):856-870. 10.3760/cma.j.issn.1671-7368.2018.11.003.
- [6] Lareau SC, Fahy B, Meek P, et al. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(1): P1-12. DOI: 10.1164/rccm.1991P1.
- [7] Cortopassi F, Gurung P, Pinto-Plata V. Chronic obstructive pulmonary disease in elderly patients[J]. Clin Geriatr Med, 2017, 33(4):539-552. DOI: 10.1016/j.cger.2017.06.006.
- [8] Corlateanu A, Covantev S, Mathioudakis AG, et al. Anemia in

- COPD[J]. *Pneumologia*, 2016, 65(3):168.
- [9] Putcha N, Fawzy A, Paul GG, et al. Anemia and adverse outcomes in a chronic obstructive pulmonary disease population with a high burden of comorbidities. An analysis from SPIROMICS[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2018, 15(6):710-717. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201708-687OC.
 - [10] Barnes PJ. Inflammatory endotypes in COPD[J]. *Allergy*, 2019, 74(7):1249-1256. DOI: 10.1111/all.13760.
 - [11] Fermont JM, Masconi KL, Jensen MT, et al. Biomarkers and clinical outcomes in COPD: a systematic review and meta-analysis[J]. *Thorax*, 2019, 74(5):439-446. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2018-211855.
 - [12] Oh JY, Lee YS, Min KH, et al. Difference in systemic inflammation and predictors of acute exacerbation between smoking-associated COPD and tuberculosis-associated COPD[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 13: 3381-3387. DOI: 10.2147/COPD.S177371.
 - [13] Shu W, Pang Z, Xu C, et al. Anti-TNF- α monoclonal antibody therapy improves anemia through downregulating hepatocyte hepcidin expression in inflammatory bowel disease[J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019:4038619. DOI: 10.1155/2019/4038619.
 - [14] Fraenkel PG. Anemia of inflammation: A review[J]. *Med Clin North Am*, 2017, 101(2):285-296. DOI: 10.1016/j.mcna.2016.09.005.
 - [15] Savchenko L, Mykytiuk M, Cinato M, et al. IL-26 in the induced sputum is associated with the level of systemic inflammation, lung functions and body weight in COPD patients[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 13:2569-2575. DOI: 10.2147/COPD.S164833.
 - [16] Gadre SK, Jhand AS, Abuqayyas S, et al. Effect of anemia on mortality in mechanically ventilated patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Intensive Care Med*, 2020, 35(3):251-256. DOI: 10.1177/0885066617739561.
 - [17] Kovchun AV, Smilianov VA, Kuchma NG, et al. The impact of systemic inflammation on anemia in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Wiad Lek*, 2020, 73(2):325-328.
 - [18] Saneela S, Iqbal R, Raza A, et al. Hepcidin: A key regulator of iron[J]. *J Pak Med Assoc*, 2019, 69(8):1170-1175.
 - [19] Li B, Gong J, Sheng S, et al. Increased hepcidin in hemorrhagic plaques correlates with iron-stimulated IL-6/STAT3 pathway activation in macrophages[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 515(2):394-400. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.05.123.
 - [20] 司倩楠, 王建刚, 刘新宇. 维持性血液透析患者微炎症状态与铁缺乏的相关性分析[J]. *山东医药*, 2020, 60(2):69-71. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2020.02.021.
 - [21] Zhang YB, Zuo HY, Tian DH, et al. Correlation between peripheral skeletal muscle functions and the stable phase of COPD in older patients[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16):5317-5326. DOI: 10.26355/eurrev_201808_15732.
 - [22] Zhao X, Wu Y. Correlations of silent information regulator of transcription 1 (SIRT1) expression, inflammatory factors, and oxidative stress with pulmonary function in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) [J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27:e929046. DOI: 10.12659/MSM.929046.

(收稿日期:2021-03-25)

(上接 1011 页)

- [11] Verdoia M, Pergolini P, Nardin M, et al. Impact of diabetes on immature platelets fraction and its relationship with platelet reactivity in patients receiving dual antiplatelet therapy[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2016, 42(2):245-253. DOI:10.1007/s11239-016-1348-1.
- [12] 黄从新, 张澍, 黄德嘉, 等. 心房颤动:目前的认识和治疗的建议-2018[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2018, 32(4):315-368. DOI:10.13333/j.cnki.cjcpe.2018.04.001.
- [13] Tantry US, Bonello L, Aradi D, et al. Consensus and update on the definition of On-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(24):2261-2273. DOI:10.1016/j.jacc.2013.07.101.
- [14] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 抗血小板药物治疗反应多样性临床检测和处理的中国专家建议[J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42(12):986-991. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2014.12.002.
- [15] Wang B, Li XQ, Ma N, et al. Association of thrombelastographic parameters with post-stenting ischemic events[J]. *J Neurointerv Surg*, 2017, 9(2):192-195. DOI: 10.1136/neurintsurg-2015-011687.
- [16] Jing Y, Hu Y, Li H, et al. Assessment of thrombotic risk in atrial fibrillation with ultrasound molecular imaging of P-selectin [J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(2):388-400. DOI: 10.1160/TH17-02-0103.
- [17] Golukhova EZ, Grigoryan MV, Ryabinina MN, et al. Body mass index and plasma P-selectin before coronary stenting predict high residual platelet reactivity at 6 months on dual antiplatelet therapy[J]. *Cardiology*, 2018, 139(2):132-136. DOI: 10.1159/000485555.
- [18] 贺东红, 黄亮星. 前循环脑梗死患者血清血管内皮细胞钙黏蛋白和血小板 P 选择素表达水平及临床价值分析[J]. *山西医药杂志*, 2020, 48(11):1423-1425. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2020.11.044.
- [19] Chen N, Chen L, Jiang S, et al. Predictive value of P-selectin and endothelin-1 for vascular restenosis after interventional procedures for peripheral artery disease[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5):3907-3912. DOI: 10.3892/etm.2019.7407.
- [20] 李泽, 李新刚, 沈素. P-选择素在血栓形成中的作用及 P-选择素抑制剂的研究进展[J]. *中南药学*, 2020, 18(2):276-279. DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2020.02.023.
- [21] Ye Z, Zhong L, Zhu S, et al. The P-selectin and PSGL-1 axis accelerates atherosclerosis via activation of dendritic cells by the TLR4 signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7):507. DOI: 10.1038/s41419-019-1736-5.

(收稿日期:2021-04-27)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 010

论著 · 临床

扶正活血化痰法联合抗生素对老年肺炎患者肺功能的影响

刘泽林, 刘丹丹, 邹月, 姜星屹, 王伟, 董国岭, 郭琳娜, 陈玉

基金项目: 廊坊市科技支撑计划项目(2016013178)

作者单位: 065000 河北省廊坊市人民医院感染性疾病科

通信作者: 刘泽林, E-mail: liuzelin1979@163. com

【摘要】目的 探讨扶正活血化痰法联合抗生素对老年肺炎患者肺功能的影响。**方法** 收集 2018 年 3 月—2019 年 9 月廊坊市人民医院感染性疾病科收治的老年肺炎患者 84 例, 根据随机数字表法分为 2 组, 对照组按诊疗指南标准予常规抗生素治疗, 观察组在抗生素基础上联合扶正活血化痰法进行治疗, 治疗 2 周后, 观察比较 2 组临床疗效, 记录咳嗽消失、体温恢复正常、肺部啰音消失等临床症状恢复时间和平均住院时间, 检测血清 C-反应蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子水平变化, 检查治疗后第 1 秒用力呼气容积(FEV₁)、第 1 秒呼气容积同肺总量(FVC)之间的比值(FEV₁/FVC)等肺功能指标和动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)等血气指标变化情况, 并进行生活质量评分比较。**结果** 治疗 2 周后, 观察组临床疗效显著高于对照组(92.82% vs. 76.19%, $\chi^2/P=5.591/0.027$), 观察组咳嗽消失、体温恢复正常、肺部啰音消失等临床症状恢复时间及住院时间均短于对照组($P<0.05$)。2 组患者血清 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平均较治疗前显著下降($P<0.01$), 且观察组各项指标下降较对照组更为明显(13.551/0.000、13.624/0.000、13.257/0.000)。肺功能和血气分析检查结果显示, 观察组 FEV₁、FEV₁/FVC 和 PaO₂ 均升高, PaCO₂ 均降低, 且观察组改善优于对照组(14.655/0.000、14.352/0.000、14.036/0.000、11.252/0.000)。生活质量评分改善观察组亦优于对照组($P<0.01$)。**结论** 扶正活血化痰法联合抗生素治疗老年肺炎患者, 能提高临床疗效, 改善临床症状、血清炎症因子水平、肺功能指标、血气指标, 提高生活质量。

【关键词】 老年肺炎; 扶正活血化痰法; 抗生素; 肺功能; 血气指标; 炎症因子; 生活质量

【中图分类号】 R563.1 **【文献标识码】** A

Study on the effect of Fuzhenghuoxuehuatan method combined with antibiotics on pulmonary function in the elderly patients with pneumonia Liu Zelin, Liu Dandan, Zou Yue, Jiang Xingyi, Wang Wei, Dong Guoling, Guo Linna, Chen Yu. Department of Infectious Diseases, Langfang People's Hospital, Hebei Province, Langfang, 065000, China.

Corresponding author: Liu Zelin, E-mail: liuzelin1979@163. com

Funding program: Langfang Science and Technology Support Plan Project (2016013178)

【Abstract】Objective To investigate the effect of Fuzhenghuoxuehuatan method combined with antibiotics on pulmonary function in elderly patients with pneumonia. **Methods** A total of 84 elderly patients with pneumonia admitted to Langfang People's Hospital from March 2018 to September 2019 were collected and divided into 2 groups according to the random number table. The control group was given routine antibiotic treatment according to the guideline of treatment and guidance. The observation group was treated with the combination of strengthening the vital blood, activating blood and resolving phlegm on the basis of antibiotics. After 2 weeks of treatment, the clinical efficacy and cough disappeared in the 2 groups. The recovery time of clinical symptoms such as normal body temperature, disappearance of pulmonary rales and average hospitalization were measured, and the levels of serum C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) After treatment, the forced expiratory volume (FEV₁), the ratio of expiratory volume in the first second to vital capacity (FEV₁/FVC) and other pulmonary function indexes, arterial partial pressure of oxygen (PaO₂) and arterial partial pressure of carbon dioxide (PaCO₂) were examined. **Results** After 2 weeks of treatment, the clinical efficacy of the observation group was significantly higher than that of the control group (92.82% vs. 76.19%, $\chi^2/P=5.591/0.027$). The recovery time and hospitalization time of clinical symptoms such as disappearance of cough, recovery of body temperature and disappearance of pulmonary rales in the observation group were shorter than those in the control group ($P<0.05$) Serum CRP,

IL-6 and TNF- α in 2 groups were decreased significantly ($P < 0.01$), the observation group were better than control group (13.551/0.000, 13.624/0.000 and 13.257/0.000). The levels of FEV₁, FEV₁/FVC and PaO₂ in the observation group increased and PaCO₂ decreased significantly, and the improvement of the observation group was better than that in the control group (14.655/0.000, 14.352/0.000, 14.036/0.000, 11.252/0.000). The improvement of quality of life score in the observation group is also better than that in the control group ($P < 0.01$). **Conclusion** Fuzhenghuoxuehuatan method combined with antibiotics in the treatment of elderly patients with pneumonia can improve the clinical efficacy, clinical symptoms, serum inflammatory factor level, pulmonary function index and blood gas index, and improve the quality of life.

【Key words】 Senile pneumonia; Fuzhenghuoxuehuatan method; Antibiotics; pulmonary function; Blood gas index; Inflammatory factors; Quality of life

老年肺炎是临床常见的呼吸系统疾病,早期患者没有特异性的呼吸症状,病情进展也较快,所以临床误诊和漏诊的情况较多,甚至延误最佳治疗时期,老年肺炎的临床特征表现为习惯性的复发和持续性的恶化,甚至还会引起患者体内酸碱、电解质、心血管、神经系统及胃肠道功能紊乱,不仅会直接影响患者的生活质量,也会对其生命健康造成严重的威胁^[1]。由于老年人普遍存在着身体机能和免疫系统功能下降的情况,所以也极易引发各种心血管和呼吸系统疾病,增大了治疗的难度。另外由于临床普遍存在着滥用抗生素的现象,患者的耐药性增加,进一步降低了治疗效果。在抗生素治疗的基础上联合中药治疗,不但安全性较高,还可以进一步提高治疗效果^[2-3]。本研究分析扶正活血化痰法联合抗生素对老年肺炎患者肺功能的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集2018年3月—2019年9月廊坊市人民医院感染性疾病科收治的老年肺炎患者84例,病例纳入标准:(1)临床症状和影像学检查诊断符合老年肺炎的诊断标准^[4];(2)年龄>60岁,<90岁。(3)患者依从性好,可配合研究。排除标准:(1)合并严重的重要器官功能障碍;(2)有严重认知障碍、恶性肿瘤或全身传染类疾病;(3)患有严重心脑血管疾病或依从性不高。84例患者按随机数字表法分为2组,对照组42例,男25例,女17例,年龄62~87(74.49±3.51)岁,病程0.5~5.5(2.98±0.52)个月;观察组42例,男24例,女18例,年龄63~86(74.48±3.52)岁,病程1~5.5(2.96±0.51)个月。2组性别、年龄、病程等一般资料比较差异无统计学意义,具有可比性($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会审核批准,全部患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 治疗方法 对照组采用注射用头孢孟多酯钠(华北制药河北华民药业有限公司生产)2.0 g,静脉滴注,2次/日,连续治疗2周。观察组在此基础上,联合扶正活血化痰方剂(基础方药组成:茯苓30 g,前胡、

炒白术、款冬花、蜜枇杷叶、紫苑、当归、丹参各10 g,杏仁、石菖蒲各6 g,炙甘草3 g)。若患者有体寒症状,加干姜、炒白芥子各10 g,制附片6 g;若患者体质偏热,加炙桑白皮10 g和葶苈子6 g,大枣6枚。上述药物加水煎煮,1 000 ml熬制成300 ml,然后分3次温服,每天1剂,连续治疗2周。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 临床症状恢复时间观察:密切观察治疗过程中2组患者症状变化情况,包括咳嗽、体温、肺部啰音等临床症状恢复或消失时间等,并记录住院时间^[5]。

1.3.2 血清炎症因子水平检测:治疗前及治疗2周后常规清晨采集2组患者空腹静脉血4 ml,3 000 r/min离心15 min后取上层清液,于-70℃冰箱内冻存待检;用BeckmanCXT型全自动生化分析仪及酶联免疫吸附实验法分别检测血清CRP、IL-6和TNF- α 等指标水平,全部操作均按试剂盒说明书进行^[6]。

1.3.3 肺功能及血气指标检测:治疗前及治疗2周后应用肺功能检测仪和血气分析仪检测患者第1秒用力呼气容积(FEV₁)、第1秒呼气容积同肺活量(FVC)之间的比值(FEV₁/FVC)等肺功能指标和动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)等血气指标^[7]。

1.3.4 生活质量评分^[8] 治疗前及治疗2周后应用36条目健康量表(SF-36)检测2组患者社会、躯体、角色以及认知等4项功能评分,以此评价生活质量情况,每项满分100,分数越高生活质量越高。

1.4 临床疗效评价标准^[4] 显效:经检查后患者显示气道的分泌物、咳嗽症状和肺啰音等症状明显得到改善,且各炎症因子水平基本恢复正常,X线胸片显示阴影大部分被吸收;有效:经检查后患者显示气道的分泌物、咳嗽症状和肺啰音等症状有所改善,且各炎症因子水平部分恢复正常,且胸片显示阴影部分吸收;无效:经检查后患者临床症状和炎症因子水平无好转迹象,患者胸片显示阴影无显著变化。以(显效+有效)/总例数×100%计算总有效率。

1.5 统计学方法 应用 SPSS18.0 统计学软件进行分析,其中计数资料以频数或率(%)表示,采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者临床疗效比较 治疗 2 周后,观察组总有效率为 92.82%,对照组为 76.19%,2 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 2 组老年肺炎患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	42	12(28.57)	20(47.62)	10(23.81)	76.19
观察组	42	23(54.76)	16(38.10)	3(7.14)	92.86
U/χ^2 值		$U = 15.980$		$\chi^2 = 5.891$	
P 值		0.025		0.027	

2.2 2 组患者临床症状恢复时间比较 经过 2 周治疗,2 组患者临床症状均逐渐恢复,观察组各临床症状恢复时间及住院时间均显著短于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 2 2 组老年肺炎患者临床症状恢复时间比较 $(\bar{x} \pm s, d)$

组别	例数	体温恢复	咳嗽消失	啰音消失	住院时间
对照组	42	6.11 ± 1.04	11.13 ± 1.48	11.07 ± 1.48	11.17 ± 3.45
观察组	42	5.03 ± 1.03	8.66 ± 1.19	9.09 ± 1.15	9.17 ± 2.15
t 值		13.588	13.284	13.058	13.056
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 2 组患者血清炎性因子比较 治疗 2 周后,2 组患者血清炎性因子水平均较治疗前显著下降,差异有统计学意义($P < 0.01$),且与对照组比较,观察组各项指标下降更为明显($P < 0.01$),见表 3。

2.4 2 组患者肺功能、血气指标比较 治疗 2 周后,2 组患者 FEV_1 、 FEV_1/FVC 和 PaO_2 均较治疗前升高,而 $PaCO_2$ 均较治疗前降低($P < 0.01$),且观察组改善程度优于对照组($P < 0.01$),见表 4。

表 3 2 组老年肺炎患者治疗前后血清炎性因子水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	例数	CRP(mg/L)	IL-6(pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
对照组	治疗前	34.84 ± 4.52	49.39 ± 4.94	30.01 ± 3.74
($n = 42$)	治疗后	9.08 ± 1.81	17.11 ± 2.41	6.33 ± 1.41
观察组	治疗前	34.83 ± 4.53	49.41 ± 4.92	30.03 ± 3.72
($n = 42$)	治疗后	6.09 ± 1.44	11.78 ± 2.13	1.27 ± 0.23
t/P 对照组内值		3.024/0.000	2.985/0.000	5.127/0.000
t/P 观察组内值		4.509/0.000	3.254/0.000	6.205/0.000
t/P 治疗后组间值		13.551/0.000	13.624/0.000	13.257/0.000

注:CRP: C 反应蛋白;IL-6: 白介素-6;TNF- α :肿瘤坏死因子- α

2.5 2 组患者生活质量评分比较 治疗 2 周后,2 组患者生活质量均显著改善,且观察组评分均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 5。

表 5 2 组老年肺炎患者治疗后生活质量评分比较 $(\bar{x} \pm s, \text{分})$

组别	例数	社会功能	躯体功能	角色功能	认知功能
对照组	42	70.73 ± 4.55	72.62 ± 4.47	71.39 ± 4.42	74.66 ± 4.36
观察组	42	83.68 ± 4.72	81.75 ± 4.67	84.46 ± 4.88	83.23 ± 4.73
t 值		13.652	13.065	16.455	12.541
P 值		0.005	0.007	0.002	0.009

3 讨论

老年肺炎是临床常见因感染细菌、病毒等引起的肺部感染性疾病,患者多表现为发热和咳嗽,还会伴随呼吸困难等症状^[9-12]。临床多采用抗生素来进行治疗,西药治疗虽然见效快,但是因为老年患者随着年龄的增大,自身的免疫力和抵抗力开始不断下降,再加上患者长期使用抗生素,导致体内病原菌对抗生素产生了极强的耐药性,因此单用西药治疗不易达到预期的治疗效果。另外抗生素虽然能够让患者在短时间内恢复病情,但是在消灭病原菌的时候,也有可能引起人体中的菌群失调,对患者的身体造成损伤,应用抗生素的药量过多,更容易造成药物堆积,增加不良反应的风险,药量过少则不易达到治疗效果^[13-15]。随着医疗技术的进步和发展,传统中医疗法的应用越来越普及,具

表 4 2 组老年肺炎患者肺功能、血气指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	例数	FEV_1 (%)	FEV_1/FVC (%)	PaO_2 (mmHg)	$PaCO_2$ (mmHg)
对照组	治疗前	43.64 ± 2.44	39.57 ± 5.33	45.33 ± 5.20	62.33 ± 4.21
($n = 42$)	治疗后	59.94 ± 3.51	57.53 ± 2.36	63.96 ± 8.28	54.34 ± 7.28
观察组	治疗前	47.64 ± 3.49	40.53 ± 4.39	43.30 ± 2.20	65.28 ± 4.33
($n = 42$)	治疗后	74.02 ± 3.66	66.71 ± 2.44	76.04 ± 8.51	43.76 ± 7.54
t/P 对照组内值		5.268/0.000	3.587/0.000	3.856/0.000	4.227/0.000
t/P 观察组内值		4.552/0.000	6.335/0.000	3.993/0.000	6.890/0.000
t/P 治疗后组间值		14.655/0.000	14.352/0.000	14.036/0.000	11.252/0.000

注: FEV_1 :第 1 秒用力呼气容积; FEV_1/FVC :第 1 秒呼气容积同肺活量之间的比值

有安全性高、疗效好的特点。本研究采用抗生素联合扶正活血化痰法治疗,能够通过中西药联合达到治疗目的。研究结果表明,观察组临床疗效高于对照组($P < 0.05$),提示中西药联合治疗,疗效优于单一抗生素治疗,另外,联合用药还可以促进患者临床症状的恢复。这是因为抗生素可有效抑制患者体内细菌的增殖和减少对肺部的损伤,扶正活血化痰法可以为患者扶正温补和润肺化痰,两者联合使用可有效控制患者病情发展,进一步缓解临床症状,标本兼治,从而达到治愈的目的^[16]。

老年肺炎属于中医中“咳嗽”“肺胀”的范畴,主要是因为患者的身体虚寒和体内的阳气不足,因此在外感风邪后,容易引起肺气壅遏不畅,进而热蒸液聚形成痰,再者患者久病导致体虚,无法恢复自身的阳气,或患者的元阳因过度劳累和七情所伤导致受损,从而引起肝火犯肺致肺部形成痰,痰湿会影响患者的肺部,久治不愈就会引起肺脾气虚,更易滋生痰浊^[17]。此病因主要在于“火”和“痰”,病机是患者的肺部受风邪所犯所致,因此临床中医治疗以扶正祛邪和活血化瘀为主,同时为患者进行补肺平喘。研究结果表明:观察组的临床症状恢复时间短于对照组($P < 0.01$),提示联合治疗能够促进患者临床症状的恢复,更有利于缓解患者的不适。这是因为观察组联合扶正活血化痰法治疗,选取的茯苓味甘、性质平和,能够为患者利水渗湿和健脾宁心;前胡味苦,药性微寒,可以起到疏风散热和降气化痰的功效;炒白术是临床常用的补虚药材,能够起到健脾益气和燥湿利水的作用;款冬花味微甘,药性性温,可以润肺下气和止咳化痰;蜜枇杷叶味苦,性质微寒,能够清肺止咳和降逆止呕,对肺热痰嗽的临床治疗效果极佳;紫苑是种味苦、药性性温的药材,与款冬花一样,均具有温肺下气和止咳消痰的作用;当归是种味甘且药性性温的药材,可以起到活血补血和为患者通经活络的功效;丹参味苦,药性微寒,可以为患者祛瘀生新和活血调经,还能起到镇静止痛和养血安神的功效^[18];杏仁味苦,但药性微温,能够润肠通便,还能止咳平喘^[19];石菖蒲味苦,其药性性温,可以为患者化湿开窍豁痰,还能起到醒神益智的作用;再加上炙甘草来进行调合,从而达到扶正温补和润肺化痰的目的,有效缓解咳嗽、痰多和发热等临床症状。

现代医学研究表明,方中的炒白术可以增强患者的机体免疫;款冬花可以镇咳平喘,且祛痰效果十分明显;杏仁能够镇痛抗炎;石菖蒲可以抑制患者体内的真菌和细菌,且含有的 α -细辛醚成分能够镇咳平喘;当归可以降低血脂和扩血管,抗炎效果十分理想;炒白术不

但能够促进体内的血液循环,还能抗菌镇静,能够促进细胞的免疫功能,提高患者身体抵抗力^[20]。其现代医学研究结果均符合本研究结论,而且此方比较侧重于温补,方中的药物也比较温和,比较适合老年肺炎患者使用。本研究结果表明,观察组血清炎性因子水平低于对照组,FEV₁、FEV₁/FVC 和 PaO₂ 均高于对照组,PaCO₂ 低于对照组($P < 0.01$),生活质量评分高于对照组($P < 0.01$),提示采用抗生素联合扶正活血化痰法能够改善患者炎性水平、肺功能、血气指标和提高临床治疗效果,从而达到改善患者生活质量的目的。

综上所述,老年肺炎患者采取扶正活血化痰法联合抗生素治疗能改善肺功能、血气指标、炎性因子水平和临床症状,提高临床治疗效果和生活质量,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

刘泽林:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;刘丹丹、邹月:提出研究思路,分析实验数据,论文审核;姜星屹:实施研究过程,资料搜集整理;王伟:进行统计学分析;董国岭、郭琳娜:论文修改;陈玉:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] 王新平. 血清肺表面活性蛋白 D、可溶性髓样细胞触发性受体-1 检测对老年重症肺炎合并呼吸衰竭患者病情判断和预后评估[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 66(8): 923-926.
- [2] 晏蕾, 李玉茜, 高占成. 病毒性肺炎合并急性呼吸窘迫综合征的临床观察[J]. 中国医刊, 2019, 41(9): 958-961.
- [3] Forster AJ, Daneman N, Van WC. Influence of antibiotics and case exposure on hospital-acquired *Clostridium difficile* infection independent of illness severity[J]. Journal of Hospital Infection, 2017, 95(4): 400-409.
- [4] 裴兴华, 于海明, 吴艳红, 等. APACHE II 评分与老年重症肺炎需有创机械通气患者谵妄发生的关系[J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29(9): 821-824.
- [5] 孙武铭, 周华, 沈丽莎, 等. 碳青霉烯类抗生素耐药肺炎克雷伯菌血流感染不同抗感染治疗方案的疗效与安全性[J]. 中华内科杂志, 2019, 58(8): 566-571.
- [6] Sun K, Yang H, Huang X, et al. ALA-PDT combined with antibiotics for the treatment of atypical mycobacterial skin infections: Outcomes and safety[J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2017, 19(9): 274-277.
- [7] 杜芳玲, 梅艳芳, 刘盼盼, 等. 烧伤患者产 NDM-1 型金属 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌的碳青霉烯类抗生素耐药机制研究[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(1): 29-34.
- [8] 李春连, 陶愈婷, 卢娜. 6min 步行运动训练对 CHF 患者的疗效及对生活质量评分的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2020, 29(6): 655-659.
- [9] Abongwa HK, Cervellin G, Tarasconi A, et al. Antibiotics alone for uncomplicated acute appendicitis in high operative risk adult patients: Analytical review of RCTs and proposal of evidence based

- treatment decision[J]. Acta bio-medica: Atenei Parmensis, 2017, 87(3):334-346.
- [10] 郑玉君,王茜,秦克,等. ICU 重症肺炎用药后鲍曼不动杆菌定植检出率及对病死率的影响[J]. 疑难病杂志,2020,19(6):603-606. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 06. 016.
- [11] 逯阳,邵东风,孙晔,等. 连花清瘟胶囊联合左氧氟沙星治疗社区获得性肺炎疗效及对 LCQ 评分、炎症因子的影响[J]. 疑难病杂志,2020,19(11):1152-1156. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 11. 016.
- [12] 宋维,潘萌萌,韩铭欣,等. NLR 和 PCT 对成人社区获得性肺炎患者进展为脓毒症的预测价值比较[J]. 疑难病杂志,2020,19(2):118-121. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 02. 003.
- [13] 马洁,刘国星,徐红日,等. 扶正透邪解毒化痰方联合抗生素对多重耐药铜绿假单胞菌体外抑制作用[J]. 中华中医药杂志,2018,52(6):2574-2577.
- [14] 刘艳芹,马香. 肺炎链球菌性疾病的流行现状及预防研究进展[J]. 中国医药,2020,15(2):311-314. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2020. 02. 037.
- [15] 肖征,郑培明,楚亚菲,等. 肺炎支原体肺炎患儿血清 D-二聚体和白细胞介素 6 水平变化的临床意义[J]. 中国医药,2020,15(11):1697-1699. DOI:10.3760/j. issn. 1673-4777. 2020. 11. 010.
- [16] 胡晓玲,安静,吴海斌,等. 基于心肺同治理论应用益气化痰活血方治疗慢性肺源性心脏病合并冠心病气虚痰瘀互结证的临床观察[J]. 中华中医药杂志,2019,52(7):3323-3326.
- [17] Huijun D, Jiayou Z, Yixiao WU, et al. Characteristics and ecological risk assessment of antibiotics in five city lakes in Nanchang City, Lake Poyang Catchment[J]. Journal of Lake Sciences, 2017, 29(4):848-858.
- [18] 万新焕,王瑜亮,周长征,等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药,2020,51(3):788-798. DOI:10.7501/j. issn. 0253-2670. 2020. 03. 032.
- [19] 杨栓柱,王文,李猛,等. 千金苇茎汤合瓜蒌薤白杏仁汤治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期临床研究[J]. 陕西中医,2019,40(5):600-603. DOI:10.3969/j. issn. 1000-7369. 2019. 05. 016.
- [20] 曲文学. 分析硫酸特布他林片联合沐舒坦雾化吸入治疗老年慢性阻塞性肺炎的临床效果[J]. 中国医药指南,2020,18(14):83-84.

(收稿日期:2021-02-23)

作者·编者·读者

撰写医学论文主体部分的要求

- 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。
- 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。
 - 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。
 - 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。
 - 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。
 - 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。
 - 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。
- 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: $t = 2.85$, $P < 0.01$ 。
- 讨论** “讨论”是对研究结果的科学解释与评价,是研究所形成的科学理论。着重讨论研究结果的创新之处及从中导出的结论,包括理论意义、实际应用价值、局限性,及其对进一步研究的启示。如果不能导出结论,也可通过讨论,提出建议、设想、改进意见或待解决的问题等。应将本研究结果与其他有关的研究相比较,并将本研究结论与目的联系起来讨论,并列出相关参考文献。不必重述已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不应列入图或表。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.011

论著·临床

外周血 6 种白介素对脓毒症相关血小板减少的诊断价值

李明,周志刚,王伟琴,王瑞兰,黄培杰

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81471891)

作者单位:201620 上海交通大学附属第一人民医院急诊危重病科

通信作者:黄培杰,E-mail:18016008456@163.com

【摘要】目的 探讨外周血 6 种白介素水平对脓毒症相关血小板减少患者的早期诊断价值。方法 选取 2017 年 7 月—2020 年 6 月上海交通大学附属第一人民医院重症监护室确诊的脓毒症患者 169 例为研究对象。根据确诊第 1 天血小板数量是否 $>100 \times 10^9/L$ 分为血小板减少组($n=76$)和血小板正常组($n=93$)。采集患者的基线资料,比较 2 组外周血 6 种白介素(白介素-1、白介素-2R、白介素-6、白介素-8、白介素-10、TNF- α)水平,并分析其与脓毒症相关血小板减少的相关性。结果 与血小板正常组比较,血小板减少组的序贯器官功能衰竭(SOFA)评分、APACHE II 评分、呼吸道感染比例、血流感染比例、病死率更高,差异均有统计学意义($Z/\chi^2/P=2.275/0.000, 4.237/0.023, 4.803/0.028, 8.197/0.004, 7.623/0.006$);血小板减少组患者的白介素-2R、白介素-6、白介素-10 和 TNF- α 均明显升高($Z/P=2.996/0.003, 3.567/0.000, 3.812/0.000, 2.383/0.017$)。ROC 曲线分析发现,白介素-2R、白介素-6、白介素-10 和 TNF- α 对脓毒症相关血小板减少均具有一定的预测价值 [$AUC(95\% CI)=0.634(0.549 \sim 0.719), 0.660(0.576 \sim 0.743), 0.669(0.585 \sim 0.754), 0.607(0.519 \sim 0.695)$]。多因素 Logistic 回归分析发现,SOFA 评分和白介素-6 升高是脓毒症相关血小板减少的独立危险因素 [$OR(95\% CI)=1.254(1.072 \sim 1.468), 1.001(1.000 \sim 1.002)$]。基于多因素分析结果,以 SOFA 评分和白介素 6 构建的多参数模型,预测脓毒症相关血小板减少的 AUC 为 0.732,最佳临界值为 0.394,敏感度 0.684,特异度 0.710。结论 白介素 6 和 SOFA 评分构建的多参数模型对脓毒症相关血小板减少的发生具有良好的预测价值。

【关键词】 脓毒症;血小板减少;白介素;序贯器官功能衰竭评分

【中图分类号】 R631⁺.1

【文献标识码】 A

Diagnostic value of six kinds of interleukins in peripheral blood for sepsis-related thrombocytopenia Li Ming, Zhou Zhigang, Wang Weiqin, Wang Ruilan, Huang Peijie. Department of Critical Care Medicine, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201620, China

Corresponding author: Huang Peijie, E-mail: 18016008456@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81471891)

【Abstract】 Objective To explore the value of six interleukins in peripheral blood in the early diagnosis of patients with sepsis-related thrombocytopenia. Methods 169 patients with sepsis diagnosed in the intensive care unit of the First People's Hospital of Shanghai Jiaotong University from July 2017 to June 2020 were selected as the research objects. According to whether the number of platelets on the first day of diagnosis was greater than $100 \times 10^9/L$, they were divided into thrombocytopenia group ($n=76$) and normal platelet group ($n=93$). The baseline data of patients were collected, and the levels of 6 interleukins (interleukin-1, interleukin-2R, interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10, and TNF- α) in the peripheral blood of the two groups were compared, and their correlation with sepsis-related thrombocytopenia was analyzed. Results Compared with the normal platelet group, the SOFA score, APACHE II score of the thrombocytopenia group had higher respiratory infections, bloodstream infections, and mortality rates, and the differences were statistically significant ($Z/\chi^2/P=2.275/0.000, 4.237/0.023, 4.803/0.028, 8.197/0.004, 7.623/0.006$). In patients with thrombocytopenia, interleukin-2R, interleukin-6, interleukin-10 and TNF- α were all significantly increased ($Z/P=2.996/0.003, 3.567/0.000, 3.812/0.000, 2.383/0.017$). ROC curve analysis found that interleukin-2R, interleukin-6, interleukin-10 and TNF- α have certain predictive value for sepsis-related thrombocytopenia [$AUC(95\% CI)=0.634(0.549 \sim 0.719), 0.660(0.576 \sim 0.743), 0.669(0.585 \sim 0.754), 0.607(0.519 \sim 0.695)$]. Multivariate Logistic analysis found that elevated SOFA score and interleukin-6

were independent risk factors for sepsis-related thrombocytopenia [OR (95% CI) = 1.254 (1.072 - 1.468), 1.001 (1.000 - 1.002)]. Based on multivariate analysis As a result, the multi-parameter model constructed with SOFA score and interleukin-6 predicts the AUC of sepsis-related thrombocytopenia is 0.732, the best cut-off value is 0.394, the sensitivity is 0.684, and the specificity is 0.710. **Conclusion** The multi-parameter model constructed by interleukin-6 and SOFA score has good predictive value for the occurrence of sepsis-related thrombocytopenia.

【Key words】 Sepsis; Thrombocytopenia; Interleukins; SOFA score

目前脓毒症仍是导致 ICU 患者死亡的主要疾病之一^[1]。2019 年中国的一项 ICU 脓毒症全国横向调查显示,每 100 例 ICU 患者中,20.6 例确诊为脓毒症,其中 90 d 病死率达 35.5%^[2]。而伴发血小板减少的脓毒性休克患者,不仅住院时间、脏器功能恢复时间延长,病死率也更高^[3]。甚至有研究显示,伴发血小板减少的脓症患者病死率会增加 1.7 倍^[4]。因此,早期识别脓毒症相关的血小板减少,对改善脓症患者预后具有重要意义。已有研究表明,白介素不仅在早期诊断脓毒症方面具有较高的敏感度和特异度,还与脓毒症相关的毛细血管渗漏综合征、低血压、休克、器官衰竭等有关^[5-6]。白介素水平的变化还与各种免疫性血小板减少有关^[7-8]。白介素 1、白介素 6、白介素 11 等还可刺激骨髓巨核细胞,促进血小板生成^[9]。但是,白介素与脓毒症相关血小板减少之间的关系尚不明确。现分析外周血 6 种白介素水平对脓毒症相关血小板减少的预测价值,为早期识别脓毒症相关的血小板减少提供新思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 采用回顾性队列研究的方法,收集 2017 年 7 月—2020 年 6 月上海交通大学附属第一人民医院重症监护室确诊脓症患者 169 例的临床资料。根据确诊第 1 天血小板数量是否 $> 100 \times 10^9/L$,分为血小板减少组 76 例、血小板正常组 93 例。血小板减少组男 47 例,女 29 例,中位年龄 62 岁;序贯器官功能衰竭评分(SOFA)6(4,9)分;急性生理学和慢性健康状况评分 II(APACHE II)评分分级:轻度 15 例,中度 39 例,重度 22 例;基础疾病:高血压 28 例,糖尿病 12 例,慢性呼吸道疾病 11 例,心脑血管疾病 7 例;感染部位:呼吸道感染 21 例,腹腔感染 25 例,血流感染 23 例,皮肤软组织感染 3 例,泌尿系统感染 4 例。血小板正常组男 66 例,女 27 例,中位年龄 65 岁;SOFA 评分 4(2.5,6)分;APACHE II 评分分级:轻度 32 例,中度 44 例,重度 17 例;基础疾病:高血压 43 例,糖尿病 26 例,慢性呼吸道疾病 13 例,心脑血管疾病 12 例;感染部位:呼吸道感染 47 例,腹腔感染 26 例,血流感染 14 例,皮肤软组织感染 1 例,泌尿系感染 4 例,其

他部位 1 例。本研究严格遵守医学伦理学要求并经医院伦理委员会批准(审批号:2021KY004),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:患者符合脓毒症 3.0 诊断标准^[1]。(2)排除标准:有血液系统疾病史、免疫系统疾病史、ICU 住院时间 < 24 h 及妊娠期或哺乳期患者。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 血小板数量及白介素检测: 所有患者均在确诊 24 h 内留取静脉血 10 ml,其中 5 ml 注入到无抗凝真空管中,离心留取上清液,采用 ELISA 法检测血清白介素 1、白介素 2R、白介素 6、白介素 8、白介素 10 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,试剂盒购于美国 RB 公司,检测仪器为日本伯乐 680 型酶标仪;5 ml 管注入 EDTA-K2 抗凝管,测定血小板数量,检测仪器为 sysmex-2100 五分类血球计数仪。上述指标检测均按试剂盒操作说明书进行。

1.3.2 随访情况: 确诊时间为随访起点,每位患者在确诊满 28 d 随访 1 次,末次随访时间为 2020 年 7 月 31 日,随访方式包括电话、微信,主要随访内容为生存状况。所有患者均未失访,169 例患者 28 d 内死亡 36 例,28 d 病死率为 21.3%。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数)[$M(Q_1, Q_3)$]表示,采用非参数 Mann-Whitney U 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。绘制白介素预测脓毒症相关血小板减少的受试者工作特征曲线(ROC)。采用多因素 Logistic 回归分析法,确定脓毒症相关血小板减少的独立危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者基线资料比较 2 组患者在性别、年龄、基础疾病方面比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与血小板正常组比较,血小板减少组的 SOFA 评分、APACHE II 评分、呼吸道感染比例、血流感染比例、病

死率更高($P<0.05$),见表 1。

表 1 2 组脓毒症患者基线资料比较 [例(%)]

项 目	血小板正常组 (<i>n</i> =93)	血小板减少组 (<i>n</i> =76)	χ^2/Z 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)*	65(47.50,72.00)	62(52.00,72.75)	0.346	0.729
男性	66(70.97)	47(61.84)	1.187	0.276
严重程度评分(分)*				
SOFA 评分	4(2.5,6)	6(4,9)	2.275	0.000
APACHE II 评分	12(8.5,17.5)	15.5(11,21.75)	4.237	0.023
基础疾病				
高血压	43(46.24)	28(36.84)	1.515	0.220
糖尿病	26(27.96)	12(15.79)	3.053	0.060
慢性呼吸道疾病	13(13.98)	11(14.47)	0.008	0.927
心脑血管疾病	12(12.90)	7(9.21)	0.571	0.451
感染部位				
呼吸道	47(50.54)	21(27.63)	8.197	0.004
腹部	26(27.95)	25(32.89)	0.278	0.598
血流	14(15.05)	23(30.26)	4.803	0.028
皮肤软组织	1(1.08)	3(3.95)	0.509	0.476
泌尿系统	4(4.30)	4(5.27)	0.000	0.943
其他	1(1.08)	0	0.010	0.919
死亡	12(12.90)	24(31.58)	7.623	0.006

注: * 非正态分布数据,以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示。SOFA. 序贯器官功能衰竭评分;APACHE II. 急性生理学和慢性健康状况评分 II

2.2 2 组血清白介素水平比较 与血小板正常组比较,血小板减少组患者白介素-2R、白介素-6、白介素-10 和 TNF- α 均明显升高(P 均 <0.05),白介素 1 和白介素 8 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 2 组脓毒症患者 6 种白介素水平比较 [$M(Q_1, Q_3)$]

项 目	血小板减少组 (<i>n</i> =76)	血小板正常组 (<i>n</i> =93)	<i>Z</i> 值	<i>P</i> 值
白介素-1(pg/ml)	5(5,8.8)	5(5,6.95)	1.385	0.166
白介素 2R(U/ml)	1 786(1 002,2 516)	1 204(691,1 931)	2.996	0.003
白介素 6(pg/ml)	123(26.79,1 000)	48.4(16.1,150)	3.567	0.000
白介素 8(pg/ml)	110(40.45,374.25)	88.1(51.3,207)	1.220	0.223
白介素 10(pg/ml)	20(6.33,53.18)	8.34(5,15.05)	3.812	0.000
TNF- α (pg/ml)	22.9(12.25,38.95)	16.2(11.45,27.25)	2.383	0.017

2.3 白介素水平预测脓毒症相关血小板减少的 ROC 曲线分析 选取 2 组中有差异的白介素 2R、白介素 6、白介素 10 和 TNF- α ,分析单独及其联合预测血小板减

少的价值。结果显示,4 种白介素对血小板减少均具有一定的预测价值。ROC 曲线下面积(AUC)比较,白介素 10>白介素 6>白介素 2R>TNF- α ,其中白介素 6 特异度最高,白介素 10 敏感度最高。4 种白介素联合后 ROC 曲线下面积最大,特异度为 0.860,提示联合预测价值更大,见表 3、图 1。

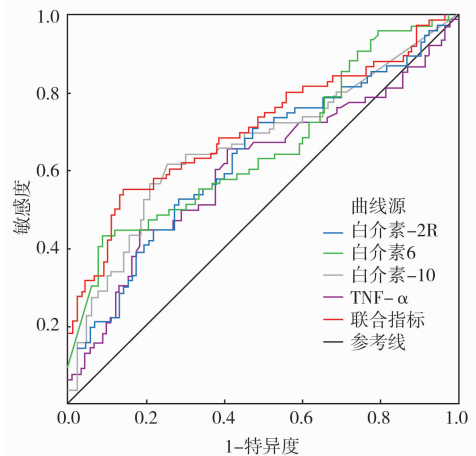


图 1 白介素水平预测脓毒症相关血小板减少的 ROC 曲线

2.4 脓毒症相关血小板减少的多因素 Logistic 回归危险因素分析 将 2 组间比较后差异有统计学意义的 4 项白介素,以及临床认为可能与脓毒症血小板减少密切相关的临床预测指标,采用多因素 Logistic 回归分析,结果显示,SOFA 评分和白介素 6 升高是脓毒症相关血小板减少的独立危险因素。基于多因素分析结果,构建多参数模型。ROC 曲线分析显示,该模型对脓毒症相关血小板减少预测的 AUC 为 0.732,95% CI 为 0.654~0.809($P<0.01$),该模型最佳临界值为 0.394,敏感度为 0.684,特异度为 0.710,见表 4。

3 讨论

脓毒症相关血小板减少的定义一般有 2 种,一种是指血小板数量低于 $150\times 10^9/L$,另一种相对保守的定义是指血小板数量低于 $100\times 10^9/L$ ^[3,10-11]。这 2 种定义均被普遍接受。脓毒症伴发血小板减少的发生率为 14.5%~70.6%^[3,12],发生率差异很大,这可能与血小板减少定义不同、纳入的患者病情严重程度不一有关。本研究采用了血小板数量低于 $100\times 10^9/L$ 的

表 3 2 组脓毒症患者白介素水平预测脓毒症相关血小板减少的 ROC 曲线分析

指 标	最佳临界值	AUC(95% CI)	<i>P</i> 值	敏感度	特异度	约登指数
白介素 2R	1 728 U/ml	0.634(0.549~0.719)	0.003	0.526	0.720	0.246
白介素 6	531.5 pg/ml	0.660(0.576~0.743)	0.000	0.434	0.914	0.334
白介素 10	15.0 pg/ml	0.669(0.585~0.754)	0.000	0.618	0.753	0.371
TNF- α	29.6 pg/ml	0.607(0.519~0.695)	0.017	0.447	0.817	0.264
联合预测		0.709(0.628~0.790)	0.000	0.553	0.860	0.413

表 4 脓毒症相关血小板减少的多因素 Logistic 回归危险因素分析

指 标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
SOFA 评分升高	0.227	0.080	7.965	0.005	1.254(1.072 ~ 1.468)
APACHE II 评分升高	-0.041	0.032	1.647	0.199	0.960(0.901 ~ 1.022)
白介素 2R 升高	0.000	0.000	2.183	0.140	1.000(1.000 ~ 1.000)
白介素 6 升高	0.001	0.001	5.594	0.018	1.001(1.000 ~ 1.002)
白介素 10 升高	0.001	0.002	0.217	0.641	1.001(0.997 ~ 1.005)
TNF- α 升高	-0.001	0.008	0.217	0.899	0.999(0.983 ~ 1.005)

注:SOFA 评分.序贯器官功能衰竭评分;APACHE II 评分.急性生理学与慢性健康状况评分 II

定义,血小板减少的发生率为 44.97%(76/169),这与相关文献中的报道相似。脓毒症发生血小板减少的原因复杂,涉及多个环节,可能包括炎症反应失控、免疫性血栓形成、吞噬作用增强、骨髓抑制、弥散性血管内凝血(DIC)等^[13-15]。脓毒症病死率高达 30% 以上,而且当脓毒症并发血小板减少时,病死率还会显著增加^[16-17]。因此,早期识别出血小板减少,有利于改善脓毒症预后。

本研究结果显示,脓毒症伴发血小板减少组白介素 6 水平明显升高,而且白介素 6 升高是预测脓毒症血小板减少的独立危险因素,其机制考虑是脓毒症失控的炎症反应导致白介素 6 明显升高。病原体入侵机体,炎症细胞激活,短时间内产生大量包括白介素 6、白介素 1、TNF- α 在内的促炎细胞因子,其中白介素 1 和 TNF- α 是启动炎症反应瀑布级联反应的最上游因子,可进一步刺激白介素 6 的产生,持续的炎症反应最终可导致多器官功能衰竭甚至死亡,因此,白介素 6 是一种最重要的促炎细胞因子。白介素 6 主要由巨噬细胞通过病原体相关分子模式(PAMPs)或损伤相关分子模式(DAMPs)产生,通过激活急性期反应、免疫反应及造血,发挥清除病原体和愈合损伤组织的功能^[18-19]。除巨噬细胞外,血管内皮细胞、间质细胞、成纤维细胞等也可释放白介素 6。相关的前瞻性临床研究也发现,入院后白介素 6 水平较高的患者死亡风险更大,白介素 6 水平下降与生存获益有关^[20-21]。Kobayashi 等^[22]在早产儿中发现,连续监测外周血白介素 6 水平有利于早期发现脓毒症。这些研究与本研究结果相似。

本研究还发现,白介素 6 和 TNF- α 均可直接影响血小板生成。白介素 6 和 TNF- α 均可刺激骨髓巨核细胞增殖,巨核细胞在骨髓中增殖成熟后转化为前血小板,然后释放到外周血中,24 h 后发育为成熟血小板^[9]。当外周血小板数量减少时,负反馈调节会刺激白介素 6、TNF- α 等细胞因子的产生,进而促进骨髓造血。因此,脓毒症血小板减少组白介素 6、TNF- α 均

升高。

白介素 10 是一种抗炎细胞因子,主要由巨噬细胞产生。早期的研究发现,在健康志愿者中给予人重组白介素 10 会导致血小板水平下降,原因可能是单核细胞和巨噬细胞产生的促炎性细胞因子减少,进而导致巨核细胞集落形成单位(CFU-MKs)等造血祖细胞减少,直接影响血小板的生成^[23-24]。在本研究中血小板减少患者白介素 10 水平升高,这可能提示白介素 10 在血小板水平下降中也有类似的作用。

白介素 2 由 Th1 细胞产生。在免疫性血小板减少中,白介素 10 升高可以抑制巨噬细胞,减少抗原呈递细胞向 Th1 细胞呈递抗原,从而抑制 Th1 细胞因子的产生,因此在免疫性血小板减少中,白介素 2 水平是下降的^[25]。脓毒症时,严重的感染可促使淋巴细胞产生白介素-2 受体(IL-2R),其水平的高低反映淋巴细胞的活化程度^[26]。在本研究中,血小板减少组白介素 2R 水平高于血小板正常组,这与 Lusyati 等^[27]研究的结果相似,提示在脓毒症伴血小板减少的早期,炎症细胞包括淋巴细胞被激活,因此,血小板减少组白介素 2R 升高。

综上所述,白介素 2R、白介素 6、白介素 10 和 TNF- α 对脓毒症相关血小板减少的诊断有一定的预测价值。其中,白介素 6 升高是脓毒症相关血小板减少的独立危险因素,诊断价值最高。白介素 6 和 SOFA 评分构建的多参数模型对临床早期诊断脓毒症相关血小板减少具有指导意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李明:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;周志刚、王伟琴:实施研究过程,分析实验数据,资料收集整理;王瑞兰:实施研究过程、论文修改;黄培杰:提出研究思路,分析实验数据,论文审核

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] Xie J, Wang H, Kang Y, et al. The epidemiology of sepsis in Chinese

- ICUs: A National Cross-Sectional Survey[J]. *Crit Care Med*, 2020, 48 (3): e209-e218. DOI: 10.1097/CCM.00000000000004155.
- [3] Menard CE, Kumar A, Houston DS, et al. Evolution and impact of thrombocytopenia in septic shock; A retrospective cohort study[J]. *Crit Care Med*, 2019, 47 (4): 558-565. DOI: 10.1097/CCM.00000000000003644.
- [4] Azkarate I, Choperena G, Salas E, et al. Epidemiology and prognostic factors in severe sepsis/septic shock. Evolution over six years[J]. *Med Intensiva*, 2016, 40 (1): 18-25. DOI: 10.1016/j.medin.2015.01.006.
- [5] Iwase S, Nakada TA, Hattori N, et al. Interleukin-6 as a diagnostic marker for infection in critically ill patients: A systematic review and meta-analysis[J]. *Am J Emerg Med*, 2019, 37 (2): 260-265. DOI: 10.1016/j.ajem.2018.05.040.
- [6] 李涛, 张香军. 脓毒症肺损害患者外周血肿瘤坏死因子- α 、白介素-10、血小板参数及血沉的变化及意义[J]. *实验与检验医学*, 2019, 37(6): 1083-1086. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1129.2019.06.030.
- [7] Yadav DK, Tripathi AK, Gupta D, et al. Interleukin-1B (IL-1B-31 and IL-1B-511) and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphisms in primary immune thrombocytopenia[J]. *Blood Res*, 2017, 52 (4): 264-269. DOI: 10.5045/br.2017.52.4.264.
- [8] Gudbrandsdottir S, Ghanima W, Nielsen CH, et al. Effect of thrombopoietin-receptor agonists on circulating cytokine and chemokine levels in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP)[J]. *Platelets*, 2017, 28 (5): 478-483. DOI: 10.1080/09537104.2016.1235691.
- [9] Machlus KR, Thon JN, Italiano JJ. Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: a review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation[J]. *Br J Haematol*, 2014, 165 (2): 227-236. DOI: 10.1111/bjh.12758.
- [10] Larkin CM, Santos-Martinez MJ, Ryan T, et al. Sepsis-associated thrombocytopenia[J]. *Thromb Res*, 2016, 141: 11-16. DOI: 10.1016/j.thromres.2016.02.022.
- [11] Liu Y, Jin G, Sun J, et al. Recombinant human thrombopoietin in critically ill patients with sepsis-associated thrombocytopenia: A clinical study[J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 98: 144-149. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.06.045.
- [12] Khurana D, Deoke SA. Thrombocytopenia in critically ill patients: Clinical and laboratorial behavior and its correlation with short-term outcome during hospitalization[J]. *Indian J Crit Care Med*, 2017, 21 (12): 861-864. DOI: 10.4103/ijccm.IJCCM_279_17.
- [13] 李明, 周志刚. 血小板相关参数在脓毒症中临床意义的研究进展[J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(4): 423-427. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.023.
- [14] 徐志育, 谢晓红, 朱永, 等. 血清 miR-125b、miR-142-3p 表达与脓毒症预后的关系及其预测价值[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(7): 714-718. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.016.
- [15] 党晓燕, 潘龙飞, 牛泽群, 等. Caprini 血栓风险评估量表对脓毒症伴静脉血栓栓塞症高危患者预防性抗凝的指导价值研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(10): 19-24. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.10.004.
- [16] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193 (3): 259-272. DOI: 10.1164/rccm.201504-0781OC.
- [17] 周志刚, 谢云, 冯铁男, 等. 血小板计数短期动态变化对 ICU 脓毒症患者预后的临床预测价值: 一项成人的回顾性队列研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32(3): 301-306. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20190909-00069.
- [18] Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm[J]. *Immunotherapy*, 2016, 8 (8): 959-970. DOI: 10.2217/imt-2016-0020.
- [19] 廖明喻, 潘萌萌, 宋维, 等. C-反应蛋白对成人社区获得性肺炎患者发展为脓毒症的风险预测价值[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (2): 140-143. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.02.008.
- [20] Thao P, Tra TT, Son NT, et al. Reduction in the IL-6 level at 24 h after admission to the intensive care unit is a survival predictor for Vietnamese patients with sepsis and septic shock: a prospective study[J]. *BMC Emerg Med*, 2018, 18 (1): 39. DOI: 10.1186/s12873-018-0191-4.
- [21] Ricarte-Bratti JP, Brizuela NY, Jaime-Albarran N, et al. IL-6, MMP-3 and prognosis in previously healthy sepsis patients[J]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*, 2017, 74 (2): 99-106.
- [22] Kobayashi T, Iwatani S, Hirata A, et al. Rapid changes in serum IL-6 levels in preterm newborns with Gram-negative early-onset sepsis[J]. *Cytokine*, 2021, 138: 155371. DOI: 10.1016/j.cyt.2020.155371.
- [23] Punnath K, Dayanand KK, Chandrashekar VN, et al. Association between inflammatory cytokine levels and thrombocytopenia during plasmodium falciparum and P. vivax infections in South-Western Coastal Region of India[J]. *Malar Res Treat*, 2019, 2019: 4296523. DOI: 10.1155/2019/4296523.
- [24] 谭乐明, 杨成, 周水英, 等. 脓毒症的早期诊断相关研究进展[J]. *中国医药*, 2020, 15 (5): 796-800. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.05.039.
- [25] Ma L, Liang Y, Fang M, et al. The cytokines (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-17) and Treg cytokine (TGF- β 1) levels in adults with immune thrombocytopenia[J]. *Pharmazie*, 2014, 69 (9): 694-697.
- [26] Hosomi S, Yamagami H, Itani S, et al. Sepsis markers soluble IL-2 receptor and soluble CD14 subtype as potential biomarkers for complete mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease[J]. *J Crohns Colitis*, 2018, 12 (1): 87-95. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjx124.
- [27] Lusiyati S, Hulzebos CV, Zandvoort J, et al. Cytokines patterns in newborn infants with late onset sepsis[J]. *J Neonatal Perinatal Med*, 2013, 6 (2): 153-163. DOI: 10.3233/NPM-1364112.

(收稿日期: 2021-05-22)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 012

论著 · 临床

夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛缓释胶囊对ⅢB型前列腺炎伴性功能障碍的疗效观察

左岩,马志强,张翼,梁立彬,徐芝立,刘巍

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展指导计划(12146493)

作者单位: 050011 石家庄市第三医院泌尿外科

通信作者: 张翼, E-mail: 18003311239@163. com

【摘要】目的 观察夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛胶囊对ⅢB型前列腺炎伴性功能障碍患者的治疗效果。**方法** 选取2019年6月—2020年10月石家庄市第三医院泌尿外科诊治ⅢB型前列腺炎且伴有性功能障碍患者80例,随机数字表法分为试验组40例,对照组40例。试验组采用夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛缓释胶囊治疗,对照组仅采用盐酸坦索罗辛缓释胶囊治疗,治疗4周后观察2组临床疗效,检测治疗前后睾酮、雌二醇水平变化,观察临床症状及性功能评分,记录不良反应发生情况。**结果** 试验组总有效率高于对照组(92.5% vs 77.5%, $\chi^2/P=4.120/0.021$)。治疗4周后试验组睾酮(T)高于对照组,雌二醇(E_2)及雌二醇/睾酮比值(E_2/T)低于对照组($t/P=4.110/0.000, 2.635/0.010, 3.085/0.003$)。治疗4周后试验组慢性前列腺炎症状指数(NIH-CPS)各项评分(包括排尿、生活质量、疼痛)、早泄诊断表评分均低于对照组($t/P=15.509/0.000, 9.438/0.000, 8.562/0.000, 14.984/0.000$),而国际勃起功能指数(IEF-5)高于对照组($t/P=4.270/0.000$),2组药物不良反应发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛胶囊通过调节内分泌失衡,可安全、有效改善ⅢB型前列腺炎患者的临床症状和性功能障碍。

【关键词】 前列腺炎,ⅢB型;性功能障碍;性激素;夏荔芪胶囊;盐酸坦索罗辛

【中图分类号】 R697⁺.33;R698

【文献标识码】 A

Observation on the curative effect of Xialiqi capsules combined with tamsulosin hydrochloride sustained-release capsules on type ⅢB prostatitis with sexual dysfunction Zuo Yan, Ma Zhiqiang, Zhang Yi, Liang Libin, Xu Zhili, Liu Wei. The Third Hospital of Shijiazhuang City, Hebei Province, Shijiazhuang 050011, China
Corresponding author: Zhang Yi, E-mail: 18003311239@163. com
Funding program: Shijiazhuang Science and Technology Research and Development Guidance Plan (12146493)

【Abstract】 Objective To observe the therapeutic effect of Xialiqi capsules combined with tamsulosin hydrochloride capsules on patients with type ⅢB prostatitis with sexual dysfunction. **Methods** From June 2019 to October 2020, 80 patients with type ⅢB prostatitis and sexual dysfunction were diagnosed and treated in the Department of Urology, Third Hospital of Shijiazhuang City. Random number table method was divided into 40 cases in the experimental group and 40 cases in the control group. The experimental group was treated with Xialiqi capsules combined with tamsulosin hydrochloride sustained-release capsules. The control group was only treated with tamsulosin hydrochloride sustained-release capsules. Observe the clinical efficacy of the two groups, testosterone and estradiol levels before and after treatment, clinical symptoms and sexual function scores, and the occurrence of adverse reactions. **Results** The total effective rate of the experimental group was higher than that of the control group (92.5% vs 77.5%, $\chi^2/P=4.120/0.021$). After 4 weeks of treatment, testosterone (T) in the test group was higher than that in the control group, and estradiol (E_2) and estradiol/testosterone ratio (E_2/T) were lower than those in the control group ($t/P=4.110/0.000, 2.635/0.010, 3.085/0.003$). After 4 weeks of treatment, the test group's chronic prostatitis symptom index (NIH-CPS) scores (including urination, quality of life, pain) and premature ejaculation diagnostic table scores were lower than those of the control group ($t/P=15.509/0.000, 9.438/0.000, 8.562/0.000, 14.984/0.000$), and the International Erectile Function Index (IEF-5) was higher than the control group ($t/P=4.270/0.000$). There was no significant difference in the incidence of adverse drug reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Xialiqi capsules combined with tamsulosin hydrochloride capsules can safely and effectively improve

the clinical symptoms and sexual dysfunction of patients with type IIIB prostatitis by regulating endocrine imbalance.

【Key words】 Prostatitis, type IIIB; Sexual dysfunction; Sex hormones; *Xialiqi* capsules; Tamsulosin hydrochloride

慢性前列腺炎发病率高达 15%, 最新流行病学调查显示中国 III 型前列腺炎发病率为 4.5%^[1], III A 与 III B 型发病率基本相当。III 型前列腺炎好发于青年, 具有病因复杂、反复发作、治疗效果差等特点^[2], 严重影响患者生活质量。研究显示, 慢性前列腺炎较一般人群更易发生性功能障碍, 发生率为 49%, 其中勃起功能障碍占 14.9%^[3]。男性性功能障碍临床表现为勃起功能障碍、早泄、性欲减退、射精痛、不射精症、逆行射精等。慢性前列腺炎引起性功能障碍的机制可能与内分泌、血管、神经、心理因素等相关^[4]。现观察夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛缓释胶囊治疗 III B 型前列腺炎伴性功能障碍患者的治疗效果, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2019 年 6 月—2020 年 10 月石家庄市第三医院泌尿外科诊治 III B 型前列腺炎且伴有性功能障碍患者 80 例, 年龄 18 ~ 48 (30.12 ± 3.53) 岁; 病程 4 ~ 36 (24.81 ± 4.67) 个月。随机数字表法分为试验组 40 例, 对照组 40 例。本研究经医院伦理委员会审核批准(审批号 075), 患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) 纳入标准: ①均符合美国国立卫生研究院(national institutes of health, NIH)制定的 III B 型前列腺炎诊断标准^[5]; ②近 1 个月内未采取相关治疗; ③病程大于 3 个月; ④慢性前列腺炎症状指数(the NIH chronic prostatitis symptom index, NIH-CPSI)评分 ≥ 10 分; ⑤前列腺液中淋球菌、衣原体、支原体 DNA 检测均为阴性; ⑥患者伴有不同程度的性功能障碍, 表现为勃起功能障碍、早泄、性欲降低等, 测定国际勃起功能指数(IIEF-5) ≤ 21 分(总分 25 分)、早泄诊断表评分 ≥ 9 分(总分 20 分)。(2) 排除标准: ①存在尿道狭窄、神经源性膀胱、泌尿系感染、结石或前列腺癌等疾病; ②合并心、肝、肾及造血系统等严重原发性疾病; ③既往有尿道或前列腺手术史; ④无法积极遵医嘱治疗及随访; ⑤精神疾病者; ⑥过敏体质者; ⑦近期内服用影响性功能药物。

1.3 治疗方法 试验组予夏荔芪胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司生产)3 粒(1.35 g)口服, 3 次/d, 盐酸坦索罗辛缓释胶囊[安斯泰来(中国)制药有限公司生产]0.2 mg 口服, 1 次/d; 对照组仅予盐酸坦索罗辛缓释胶囊 0.2 mg 口服, 1 次/d。2 组均治疗 4 周。且告知患者用药期间忌酒及辛辣刺激食物, 适当运动, 避

免久坐, 规律性生活。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 性激素检测: 患者治疗前及治疗 4 周后, 采集晨起空腹静脉血 5 ml, 离心留取血清, 应用罗氏公司提供 E601 型化学发光免疫分析仪采用电化学发光法监测血清睾酮(T)及雌二醇(E₂)水平[试剂盒购自罗氏诊断产品(上海)有限公司], 并计算 E₂/T 比值。

1.4.2 NIH-CPS 评分^[5]: NIH-CPSI 评分主要包括 3 部分内容, 共 9 个问题(0 ~ 43 分), 第一部分疼痛或不适(0 ~ 21 分), 第二部分排尿症状(0 ~ 10 分), 第三部分生活质量(0 ~ 12 分)。根据总评分分为: 轻度 0 ~ 14 分, 中度 15 ~ 29 分, 重度 30 ~ 43 分。治疗前及治疗 4 周后分别对各项评分进行测定。

1.4.3 性功能障碍评分评价^[6]: 以 IIEF-5 评价性功能障碍, 总分 25 分, 分为 4 级: 无勃起功能障碍 > 21 分, 轻度勃起功能障碍 12 ~ 21 分, 中度勃起功能障碍 8 ~ 11 分, 重度勃起功能障碍 < 8 分。早泄诊断量表评分: 总分 20 分, 早泄 > 11 分, 可疑早泄 9 ~ 10 分, 无早泄 < 8 分。

1.4.4 不良反应发生情况: 观察记录服用药物后是否发生头晕、恶心、腹泻、皮疹等不良反应。

1.5 疗效判定标准^[7] 按 NIH-CPSI 评分变化评估治疗效果: 评分降低 > 80% 为显效; 评分降低 > 60% 且 $\leq 80\%$ 为有效; 评分降低 $\leq 60\%$ 为无效。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数 $\times 100\%$ 。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件处理数据。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 *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 试验组总有效率为 92.5%, 高于对照组的 77.5%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 2 组治疗前后性激素比较 治疗前 T、E₂ 及 E₂/T 比值比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与治疗前比较, 治疗 4 周后对照组 T、E₂ 及 E₂/T 比值差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 4 周后试验组 T 升高, E₂、E₂/T 降低, 且试验组改善优于对照组 ($P < 0.01$), 见表 2。

2.3 2 组治疗前后 NIH-CPS 评分比较 治疗前 2 组

NIH-CPS 评分(包括排尿症状、生活质量、疼痛或不适症状)分别比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);治疗 4 周后 2 组排尿症状、生活质量、疼痛或不适评分均降低($P<0.01$),且试验组降低幅度大于对照组(P 均 <0.01),见表 3。

表 1 对照组及试验组临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	40	17(42.5)	14(35.0)	9(22.5)	77.5
试验组	40	22(55.0)	15(37.5)	3(7.5)	92.5
U/χ^2 值		$U=2.100$		$\chi^2=4.120$	
P 值		0.016		0.021	

表 2 2 组ⅢB 型前列腺炎伴性功能障碍患者
治疗前后 T、E₂、E₂/T 比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	T (ng/ml)	E ₂ (pg/ml)	E ₂ /T
对照组 ($n=40$)	治疗前	3.78±0.61	52.01±12.49	14.55±5.27
	治疗后	3.85±0.73	52.74±12.97	13.95±5.76
试验组 ($n=40$)	治疗前	3.72±0.65	51.98±12.74	14.53±5.65
	治疗后	4.73±1.12	43.13±11.21	10.55±3.67
t/P 对照组内值		0.460/0.647	0.253/0.801	0.510/0.606
t/P 试验组内值		4.871/0.000	3.003/0.004	3.689/0.000
t/P 治疗后组间值		4.110/0.000	2.635/0.010	3.085/0.003

注:T.睾酮;E₂.雌二醇

表 3 2 组ⅢB 型前列腺炎伴性功能障碍患者
治疗前后 NIH-CPS 评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	时间	排尿症状	生活质量	疼痛或不适
对照组 ($n=40$)	治疗前	8.37±1.13	9.17±1.49	14.19±3.3
	治疗后	5.91±1.21	5.74±1.15	8.75±2.13
试验组 ($n=40$)	治疗前	8.25±1.32	9.13±1.61	14.23±2.24
	治疗后	2.31±1.05	3.32±1.11	5.35±1.27
t/P 对照组内值		182.765/0.000	71.659/0.000	29.037/0.000
t/P 试验组内值		90.552/0.000	72.567/0.000	39.849/0.000
t/P 治疗后组间值		15.509/0.000	9.438/0.000	8.562/0.000

2.4 2 组治疗前后 IIEF-5、早泄诊断表评分比较 治疗前 2 组 IIEF-5、早泄诊断表评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 4 周后 2 组 IIEF-5 升高、早泄诊断表评分降低($P<0.01$),且试验组改善优于对照组(P 均 <0.01),见表 4。

2.5 2 组不良反应发生情况比较 试验组患者出现头晕 2 例,腹泻 1 例,不良反应发生率为 7.5%;对照组出现皮疹 1 例,腹泻 1 例,不良反应发生率为 5.0%;2 组药物不良反应发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.153,P=0.310$)。

3 讨论

ⅢB 型前列腺炎是一种以生殖器/骨盆疼痛和下尿路症状(不伴尿路感染)为特点的临床综合征。ⅢB

表 4 2 组ⅢB 型前列腺炎伴性功能障碍患者
治疗前后 IEF-5、早泄诊断表评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	时间	IIEF-5	早泄诊断量表
对照组 ($n=40$)	治疗前	12.17±4.93	14.21±3.29
	治疗后	15.97±4.79	10.04±2.31
试验组 ($n=40$)	治疗前	12.34±5.15	14.32±3.17
	治疗后	20.19±4.35	2.17±1.63
t/P 对照组内值		190.597/0.000	23.875/0.000
t/P 试验组内值		51.171/0.000	49.271/0.000
t/P 治疗后组间值		4.270/0.000	14.984/0.000

注:IIEF-5.国际勃起功能指数

型前列腺炎作为慢性前列腺炎的一个主要类型,发病原因复杂,其发病机制可能与内分泌失衡、免疫功能异常、心理精神因素等多种因素有关^[8]。目前临床治疗多采用 α 受体阻滞剂、中成药物、植物制剂及局部理疗等,单一治疗效果差,一般多需要联合治疗。盐酸坦索罗辛是一种选择性肾上腺能 α_1 受体阻断剂,药理研究表明其不仅对前列腺平滑肌、膀胱颈部和尿道具有高选择性阻断作用,同时还能够松弛平滑肌并缓解尿液反流所致的下尿路刺激症状,但不会影响 α_2 受体,不引起总外周血管阻力的全面降低,且对 β 受体几乎无阻滞作用,不会影响心排血量^[9],减少了非选择性 α 阻滞剂的药物不良反应。

慢性前列腺炎在中医上属于“淋证”“精浊”“白淫”等范畴,认为其发病主要由脾肾亏虚、风邪化热及湿热下注蕴结引起,故而应以清热解毒、利湿通淋为治疗法则,临床治疗应以补肾、祛湿下焦、清热活血为主。夏荔芪胶囊组方为黄芪、女贞子、滑石、夏枯草、荔枝核、琥珀、肉桂、关黄柏,以补气、活血、祛湿为组方原则,具有健脾益肾、利水散结的功效。黄芪益气利尿,女贞子补益脾肾,滑石利尿通淋,夏枯草清肝散结,荔枝核理气解瘀,琥珀消瘀血通五淋,肉桂活血通经,关黄柏滋阴降火,全方共奏补益脾肾、利水散结之效,调理脾肾气虚。这与慢性前列腺炎中医学病机基本一致,因此将夏荔芪胶囊应用于慢性前列腺炎治疗具有一定疗效。目前临床上多采用夏荔芪胶囊治疗中重度前列腺增生^[10],但鲜有应用于慢性前列腺炎的研究。本研究通过对治疗前后 NIH-CPS 评分比较发现,夏荔芪胶囊联合坦索罗辛胶囊治疗可有效改善ⅢB 型前列腺炎临床症状,且优于单一 α 受体阻滞剂。从药物作用分析,其原因可能是由于ⅢB 型前列腺炎是一种多病因、发病机制复杂,症状多样和对治疗反应不一的异质性临床综合征,单一方式及途径的治疗往往难以取得满意疗效。而夏荔芪胶囊组方精良,多重成分相互加乘可通过多种通路及靶点达到治疗目的;而 α 受体

阻滞剂治疗作用仅限于改善排尿、盆底紧张及痉挛情况,治疗上有一定的局限性。

人体雄激素以睾丸分泌的睾酮为主,成年男性睾丸每天可分泌 4~9 mg 睾酮。雄激素对控制前列腺正常发育和维持正常功能有主导作用。其可影响前列腺分泌物的形成及运输,维持前列腺的生物活性,防止腺体的自噬,控制细胞核的增生扩散等。雄激素失衡引起慢性前列腺炎机制可能是由于雄激素含量水平降低所致,雄激素有抑制体液免疫的作用,所以当其含量降低时便可诱发自身免疫反应的发生^[11]。另外,雌激素亦有广泛的生理功能,可调节男性体内细胞生长和凋亡,并且在男性生殖系统发育和分化过程中也起着重要作用,其中最主要、活性最强的激素是 E₂。研究显示,动物模型中 E₂ 升高可诱发慢性无菌性前列腺炎^[12]。主要通过以下途径:(1)对下丘脑—垂体—睾丸轴抑制促性腺激素释放的负反馈具有抑制效应,导致雄激素合成降低。并且 E₂ 具有促炎性反应因子转录作用,进而导致炎性反应发生^[13]。(2)促进垂体分泌泌乳素,泌乳素具有炎性反应因子作用,导致炎性反应细胞聚集^[14]。(3)诱导基质金属蛋白酶活化,其活化与炎性反应细胞浸润有关,在前列腺炎性反应中起到了协同作用^[15]。(4)除雌激素直接作用外,部分雌激素效应还可通过雌激素受体的介导而发生,促进炎性反应的发生。此外,前列腺本身可调节多种激素如促甲状腺释放激素、促肾上腺皮质激素、泌乳素等的分泌,局部的炎性反应刺激可使前列腺充血淤积,引流不畅,长期可能导致前列腺腺体萎缩、纤维化,引起内分泌异常。本研究通过对 T、E₂ 水平的比较,发现内分泌失衡可能是ⅢB型前列腺炎的发病原因之一,这与相关文献的研究一致。

研究表明,慢性前列腺炎患者性功能障发病率为 49%,其中勃起功能障碍占 14.9%。慢性前列腺炎引起勃起功能障碍的机制主要有:内分泌因素、动脉功能不全与静脉闭塞性疾病、神经源性因素、心理因素、炎性因素等。对于症状性前列腺炎患者,性欲减退发生率为 24%。性欲与生理、心理因素等多种因素密切相关。而前列腺作为高度依赖于性激素的性附属器官,其发生、发展、病变均受到性激素及其受体的影响。睾酮水平减低主要通过以下 4 种机制影响勃起功能:一氧化氮合酶释放受损;PDE5 表达和活性改变;海绵体神经功能受损;阴茎静脉闭塞性疾病^[16]。硫酸脱氢表雄酮是成年男性体内 50% 雄激素合成的前体,有较强的抗抑郁作用,对男性性功能造成影响。睾酮对维持男性性欲至关重要^[14],而泌乳素水平改变也会间接影

响性欲。前列腺可调节多种激素(促甲状腺释放激素、泌乳素等)分泌,发生前列腺炎时容易导致内分泌失调。因此,ⅢB型前列腺炎患者 T、E₂ 异常所致的内分泌失衡可能是导致性功能障碍的重要因素之一,与本研究结果一致。本研究通过对 IIEF-5、早泄诊断表评分进行比较,说明夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛缓释胶囊可通过调节内分泌失衡显著改善ⅢB型前列腺炎患者的性功能障碍。

对 2 组药物不良反应发生率进行比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛胶囊治疗在提高疗效的同时,未增加药物不良反应,是一种安全有效的治疗方案。

综上,性功能障碍与ⅢB型前列腺炎既相对独立,又具有一定的关联。夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛胶囊通过调节内分泌失衡,可安全、有效改善ⅢB型前列腺炎患者的临床症状和性功能障碍。本研究不足之处缺乏对ⅢB型前列腺炎的性激素影响性功能障碍分子机制上的探讨,需要进一步深入验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

左岩:课题设计及实施,撰写论文;马志强:文献检索,与课题设计;张翼:课题设计及实施;梁立彬:课题设计;徐芝立:采集病例,数据统计及统计学分析;刘巍:采集病例

参考文献

- [1] Chen J, Zhang H, Niu D, et al. The risk factors related to the severity of pain in patients with Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome [J]. BMC Urol, 2020, 20 (1): 154. DOI: 10.1186/s12894-020-00729-9.
- [2] 刘敏, 李东. 慢性前列腺炎/慢性骨盆疼痛综合征的治疗进展 [J]. 临床外科学杂志, 2019, 27(2): 104-107. DOI:10.3969/j.issn.1005-6483.2019.02.005.
- [3] Li XC, Zhang XB, Liao ZC, et al. Is mild erectile dysfunction associated with severe psychological symptoms in Chinese patients with moderate-to-severe chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome [J]. Asian J Androl, 2021, 23(3): 319-324. DOI: 10.4103/aja.aja_71_20.
- [4] 龙涛. 微创治疗Ⅲ型前列腺炎临床应用进展 [J]. 中国男科学杂志, 2020, 34(5): 70-74. DOI:10.3969/j.issn.1008-0848.2020.05.015.
- [5] 郭应禄, 那彦群, 叶章群, 等. 中国泌尿外科和男科疾病诊断治疗指南(2019 版) [M]. 北京: 科学出版社, 2020: 438-439, 460-461.
- [6] 安源. 慢性前列腺炎所致男性不育与性功能障碍的临床诊治研究 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2020, 20(82): 119-120. DOI:10.3969/j.issn.1671-3141.2020.82.065.
- [7] 王金霞. 热淋清颗粒对慢性前列腺炎患者炎性因子及性功能障碍的影响 [J]. 中国性科学, 2020, 29(10): 129-132. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1993.2020.10.036.

(下转 1035 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 013

论著 · 临床

自拟补肾活血方联合重组人粒细胞刺激因子治疗免疫性复发性流产的疗效分析

谢春红, 梁松岳, 钱平, 彭艳丽, 谢锂岑

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2016JJ4048); 湖南省中医药科研计划课题项目(201918)

作者单位: 410000 长沙, 湖南省妇幼保健院中医妇科

通信作者: 谢锂岑, E-mail: 512867664@ qq. com

【摘要】 目的 探讨自拟补肾活血方联合重组人粒细胞刺激因子治疗免疫性复发性流产(RSA)的疗效。方法 选取2017年3月—2020年3月湖南省妇幼保健院中医妇科门诊收治的96例免疫性RSA患者,按照随机数字表法分为对照组、观察组,每组48例。对照组于排卵前1、2 d和排卵日接受重组人粒细胞刺激因子皮下注射治疗,妊娠后口服屈孕酮片至妊娠12周;观察组在对照组基础上增加自拟补肾活血方治疗,自入组后开始至发现妊娠结束。比较2组疗效和不良反应,治疗前后中医证候积分、细胞免疫和炎症因子指标差异。结果 观察组治疗有效率高于对照组(89.58% vs. 70.83%, $\chi^2 = 5.315, P < 0.05$);2组治疗后双膝酸软、头晕耳鸣、夜尿频多、神疲乏力积分均较治疗前降低($P < 0.01$),且观察组低于对照组($t = 17.578, 6.317, 18.428, 12.131, P$ 均 < 0.01);2组CD3⁺ T细胞、CD4⁺ T细胞、CD3-CD56⁺ NK细胞、CD56bright NK细胞、CD56dimNK细胞占比较治疗前增高($P < 0.05$),且观察组上述指标高于对照组($t = 2.526, 2.441, 2.601, 3.924, 5.592, P$ 均 < 0.05);2组血清TNF- α 、IL-1 β 、CRP水平较治疗前降低($P < 0.01$),且观察组血清炎症因子水平低于对照组($t = 15.204, 2.958, 7.363, P$ 均 < 0.01)。结论 自拟补肾活血方联合重组人粒细胞刺激因子治疗免疫性RSA有助于改善细胞免疫功能,降低炎症反应水平,提高保胎效果。

【关键词】 补肾活血方;重组人粒细胞刺激因子;复发性流产

【中图分类号】 R714.21

【文献标识码】 A

Therapeutic effect analysis of self-made Bushenhuoxue decoction combined with recombinant human granulocyte stimulating factor on immune recurrent abortion Xie Chunhong, Liang Songyue, Qian Ping, Peng Yanli, Xie Lichen. Department of Traditional Chinese Medicine and Gynecology, Hunan Maternity and Child Health Hospital, Hunan Province, Changsha 410000, China

Funding program: Hunan Natural Science Foundation Project (2016JJ4048); Research Project of Hunan Provincial Scientific Research Plan of Traditional Chinese Medicine (201918)

【Abstract】 **Objective** To explore the efficacy of self-made Bushenhuoxue decoction combined with recombinant human granulocyte stimulating factor in the treatment of immune recurrent abortion (RSA). **Methods** A total of 96 patients with immune RSA admitted to the outpatient Department of Traditional Chinese Medicine of Hunan Maternity and Child Health Hospital from March 2017 to March 2020 were selected. According to the random number table, they were divided into control group and observation group, each with 48 cases. The control group received subcutaneous injection of recombinant human granulocyte stimulating factor 1 d, 2 d before ovulation and the day of ovulation, and oral drogestrolone tablets after pregnancy until 12 weeks of gestation. The observation group added self-made Bushenhuoxue decoction treatment on the basis of the control group, from the time of enrollment to the discovery of the end of pregnancy. The efficacy and adverse reactions of the two groups were compared, and the differences in TCM syndrome scores, cellular immunity and inflammatory factors before and after treatment were compared. **Results** The effective rate of treatment in the observation group was higher than that in the control group (89.58% vs. 70.83%, $\chi^2 = 5.315, P < 0.05$). After treatment, the knees of the two groups were sore, dizzy, tinnitus, frequent nocturia, and fatigue scores were lower than before treatment ($P < 0.01$), and the observation group was lower than the control group ($t = 17.578, 6.317, 18.428, 12.131$, both $P < 0.01$). The proportions of CD3⁺ T cells, CD4⁺ T cells, CD3 CD56⁺ NK cells, CD56bright NK cells, and CD56dimNK cells in the two groups were higher than those before treatment ($P < 0.05$), and the above indicators in the observation group were higher than

those in the control group ($t=2.526, 2.441, 2.601, 3.924, 5.592, P<0.05$). The levels of serum TNF- α , IL-1 β , and CRP in the two groups were lower than before treatment ($P<0.01$), and the serum inflammatory factor levels in the observation group were lower than those in the control group ($t=15.204, 2.958, 7.363$, all $P<0.01$). **Conclusion** Bushenhuoxue decoction combined with recombinant human granulocyte stimulating factor in the treatment of immune RSA can help improve cellular immune function, reduce the level of inflammatory response, and improve the effect of fetal protection.

【Key words】 Bushenhuoxue decoction; Recombinant human granulocyte stimulator; Recurrent abortion

复发性流产 (recurrent spontaneous abortion, RSA) 是育龄期妇女流产常见的病因之一,目前 RSA 定义尚无统一标准,我国将 RSA 定义为同一性伴侣在妊娠 28 周前发生 3 个或 3 个以上的妊娠丢失^[1]。RSA 病因复杂,目前已知涉及遗传、解剖异常、内分泌紊乱、感染、免疫功能紊乱、血栓前状态、环境因素等^[2]。近年来随着生殖医学的发展,免疫因素所致 RSA 逐渐引起关注,母体免疫系统紊乱可诱发自身抗体的产生,细胞因子分泌异常,导致母体对胎儿免疫排斥反应,最终发生流产^[3]。西医对免疫性 RSA 的治疗主要包括内分泌治疗、主被动免疫治疗、免疫抑制治疗等,虽然取得一定疗效,但是长期使用存在出血、肝肾功能受损等不良反应。补肾活血方具有补肾活血、益气养血、清热安胎之功效,并能调节 RSA 患者免疫耐受状态^[4]。因此,本研究通过临床随机对照试验,客观评价补肾活血方联合重组人粒细胞刺激因子治疗免疫性 RSA 的疗效,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 3 月—2020 年 3 月湖南省妇幼保健院中医妇科门诊收治的免疫性 RSA 患者 96 例,按照随机数字表法分为对照组和观察组,每组各 48 例。观察组年龄 (30.16 ± 3.59) 岁,体质指数 (23.15 ± 2.35) kg/m²,孕次 (5.32 ± 1.62) 次;流产 (4.05 ± 1.03) 次;对照组年龄 (29.74 ± 3.18) 岁,体质指数 (22.45 ± 2.49) kg/m²,孕次 (5.28 ± 1.57) 次;流产 (3.98 ± 1.01) 次。年龄、孕次、流产次数、体质指数等临床资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准 (审批号: 20170105),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 纳入标准: (1) 符合《妇产科学》中 RSA 诊断标准^[5]; (2) 2 次免疫因素检查提示自身抗体 (封闭抗体或抗磷脂抗体、抗精子抗体、淋巴细胞抗原相容性等) 阳性者; (3) 中医证型为肾虚血瘀型,主症,屡孕屡堕,次症,双膝酸软、头晕耳鸣、夜尿频多、神疲乏力,舌质淡,苔薄白,伴瘀斑,脉沉细或涩^[6-7]; (4) 距离上次流产 > 3 个月,年龄 < 40 岁。

排除标准: (1) 妊娠期间因不可抗力或环境因素先兆流产或流产者; (2) 性激素水平、甲状腺功能异常; (3) 生殖系统畸形或解剖学异常; (4) 生殖道弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒感染; (5) 近 1 个月服用其他中药治疗和激素类药物,治疗期间擅自停药。

1.3 治疗方法 对照组: 分别于排卵前 1、2 d 和排卵日于医院门诊接受重组人粒细胞刺激因子注射液 (瑞白, 齐鲁制药有限公司生产) 300 μ g 皮下注射治疗,连续治疗 2 个周期。治疗期间禁止性生活,注意休息,补充维生素 E 和叶酸。治疗结束受孕后口服屈孕酮片 (荷兰 Abbott Biologicals B. V. 公司生产) 10 mg, 每天 2 次,维持治疗至妊娠 12 周。

观察组: 在对照组基础上增加自拟补肾活血方治疗。方剂组成: 菟丝子 15 g, 桑寄生 15 g, 续断 15 g, 杜仲 15 g, 生地 10 g, 丹参 10 g, 川芎 10 g, 益母草 6 g, 当归 12 g, 白芍 12 g, 黄芩 10 g, 柴胡 6 g, 白术 12 g, 黄芪 30 g。辨证加减: 少腹坠胀加升麻 10 g, 苏梗 10 g; 阴道出血加荆芥炭 12 g, 地榆炭 15 g; 腹痛加砂仁 6 g, 陈皮 12 g。中药及煎制由医院中药房提供和完成。服用方法: 每日水煎剂 1 剂, 分早晚 2 次服用, 自入组后开始服用自拟补肾活血方, 维持至妊娠。

1.4 观察指标与方法 (1) 中医证候积分: 参照《中药新药临床研究指导原则》^[6] 对治疗前后双膝酸软、头晕耳鸣、夜尿频多、神疲乏力等证候进行评分, 按无、轻度、中度、重度分别记 0、2、4、6 分, 分值越高提示病情越严重。 (2) 血浆细胞免疫检测: 治疗前、治疗后采集外周静脉血 6 ml 分别注入肝素抗凝试管和干燥试管。含肝素抗凝试管血标本充分混匀, 采用 CD3-PE/CD4-FITC、CD3-PE/CD8-FITC、CD3-PE/CD56-FITC/CD16-APC 抗体 (购自北京四正柏生物科技有限公司) 标记, FACS Calibur 型流式细胞仪 (美国 BD 公司) 检测 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、NK 细胞 (CD3⁺CD56⁺NK 细胞) 及其亚群 [CD56^{bright}NK 细胞 (CD3⁺CD56⁺CD16⁺), CD56^{dim}NK 细胞 (CD3⁺CD56⁺CD16⁻)] 所占百分比。 (3) 血清炎症因子指标检测: 普通干燥试管中待血液凝固后取上层液离心 (3 000 r/min, 半径

10 cm,时间 10 min)后取血清待测。采用 ALISEI 全自动酶标仪(意大利 SEAC 公司)应用酶联免疫吸附试验检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)、C 反应蛋白(CRP)水平,试剂盒购自上海酶联生物公司。(4)不良反应:观察 2 组患者治疗期间肝肾功能损伤、头晕、恶心、呕吐等不良反应发生情况。

1.5 疗效评价标准 依据文献[8]制定疗效标准:治愈,妊娠至 20 周,B 超提示胎儿发育正常,临床症状和体征消失;好转,以往流产最长孕周 < 妊娠周期 < 20 周,临床症状和体征有所改善;未愈,妊娠周期 < 以往流产最长孕周,临床症状和体征无改善或有加重。总有效率 = (治愈 + 好转)/总例数 $\times$ 100%。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,等级资料比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者临床疗效比较 观察组患者治疗总有效率高于对照组(89.58% vs. 70.83%),差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 2 组患者治疗前后中医证候积分比较 与治疗前比较,2 组患者治疗后双膝酸软、头晕耳鸣、夜尿频多、神疲乏力等积分均降低($P < 0.01$),且观察组低于对照组($P < 0.01$),见表 2。

2.3 2 组患者治疗前后血浆免疫指标比较 与治疗前比较,2 组患者治疗后 CD3 $^{+}$ T 细胞、CD4 $^{+}$ T 细胞、

表 1 2 组免疫性复发性流产患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	治愈	好转	未愈	总有效率(%)
对照组	48	18(37.50)	16(33.33)	14(29.17)	70.83
观察组	48	23(47.92)	20(41.67)	5(10.42)	89.58
U/χ^2 值			$U = 5.317$		$\chi^2 = 5.315$
P 值			0.070		0.021

CD3 $^{+}$ CD56 $^{+}$ NK 细胞、CD56brightNK 细胞、CD56dimNK 细胞占比均升高($P < 0.05$),且观察组治疗后各项指标高于对照组($P < 0.05$),见表 3。

2.4 2 组患者治疗前后血清炎性因子比较 与治疗前比较,2 组患者治疗后血清 TNF- α 、IL-1 β 、CRP 水平降低($P < 0.01$),且观察组治疗后各项指标低于对照组($P < 0.01$),见表 4。

表 4 2 组免疫性复发性流产患者治疗前后炎性因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TNF- α (ng/ml)	IL-1 β (pg/ml)	CRP(mg/L)
对照组 ($n = 48$)	治疗前	6.81 $\pm$ 2.32	33.32 $\pm$ 11.05	11.98 $\pm$ 3.42
	治疗后	4.95 $\pm$ 1.17	21.41 $\pm$ 8.46	8.12 $\pm$ 2.41
观察组 ($n = 48$)	治疗前	6.42 $\pm$ 2.06	32.41 $\pm$ 10.11	12.04 $\pm$ 3.26
	治疗后	2.27 $\pm$ 0.35	16.95 $\pm$ 6.13	5.12 $\pm$ 1.47
t/P 对照组内值		4.960/0.000	5.929/0.000	6.392/0.000
t/P 观察组内值		13.760/0.000	9.059/0.000	13.407/0.000
t/P 治疗后组间值		15.204/0.000	2.958/0.004	7.363/0.000

2.5 2 组患者不良反应比较 2 组患者均未出现药物过敏,也未发生肝功能损害,仅对照组出现头晕 1 例,观察组未观察到不良反应发生。

3 讨论

RSA 属于中医“滑胎”范畴,以“屡孕屡堕”“应期

表 2 2 组免疫性复发性流产患者治疗前后中医证候积分比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

组别	时间	双膝酸软	头晕耳鸣	夜尿频多	神疲乏力
对照组 ($n = 48$)	治疗前	4.75 $\pm$ 1.32	4.09 $\pm$ 1.05	3.51 $\pm$ 1.86	3.70 $\pm$ 1.47
	治疗后	3.96 $\pm$ 0.62	2.87 $\pm$ 1.32	2.46 $\pm$ 0.43	2.53 $\pm$ 0.71
观察组 ($n = 48$)	治疗前	4.57 $\pm$ 1.36	4.01 $\pm$ 1.03	3.66 $\pm$ 1.92	3.75 $\pm$ 1.62
	治疗后	2.06 $\pm$ 0.42	1.62 $\pm$ 0.37	1.05 $\pm$ 0.31	1.20 $\pm$ 0.27
t/P 对照组内值		3.753/0.000	5.011/0.000	3.811/0.000	4.965/0.000
t/P 观察组内值		12.217/0.000	15.130/0.000	9.298/0.000	10.757/0.000
t/P 治疗后组间值		17.578/0.000	6.317/0.000	18.428/0.000	12.131/0.000

表 3 2 组免疫性复发性流产患者治疗前后免疫指标比较 ($\bar{x} \pm s$,%)

组别	时间	CD3 $^{+}$ T 细胞	CD4 $^{+}$ T 细胞	CD3 $^{+}$ CD56 $^{+}$ NK 细胞	CD56brightNK 细胞	CD56dimNK 细胞
对照组 ($n = 48$)	治疗前	75.10 $\pm$ 6.26	26.51 $\pm$ 5.43	13.36 $\pm$ 3.05	10.02 $\pm$ 2.41	4.10 $\pm$ 0.97
	治疗后	79.32 $\pm$ 7.19	32.66 $\pm$ 6.52	15.02 $\pm$ 4.65	12.66 $\pm$ 2.65	5.54 $\pm$ 1.21
观察组 ($n = 48$)	治疗前	75.21 $\pm$ 6.35	26.35 $\pm$ 5.59	13.05 $\pm$ 3.16	10.05 $\pm$ 2.65	4.11 $\pm$ 0.97
	治疗后	83.26 $\pm$ 8.07	36.21 $\pm$ 7.68	17.36 $\pm$ 4.15	14.91 $\pm$ 2.96	6.95 $\pm$ 1.26
t/P 对照组内值		3.067/0.003	5.022/0.000	2.068/0.041	5.106/0.000	6.433/0.000
t/P 观察组内值		5.431/0.000	7.192/0.000	5.725/0.000	8.475/0.000	12.374/0.000
t/P 治疗后组间值		2.526/0.013	2.441/0.017	2.601/0.011	3.924/0.000	5.592/0.000

而堕”为特点,中医认为 RSA 病因在于冲任受损和胎元不固,与肾虚、气虚、血瘀等有关,《景岳全书·妇人规》中云“凡妊娠之数见堕胎者,必以气脉亏损而然”,肾为冲任之本,冲为血海,任主胞胎,冲任又皆起胞中,因此肾气不足可致阴阳失调,冲任不调,生殖功能减弱,胞宫无以系胎,发生堕胎,反复小产。《灵枢·邪气脏腑病形》中云“有所堕坠,恶血留内”,妇人妊娠后阴血下注冲任以养胎元,若血瘀则致冲任失盛,胎失所养,胎元不能顺利着床,起堕胎甚至屡孕屡堕,血瘀证、肾虚证分别占 RSA 中医证型的 34.7% 和 32.0%^[9]。现有研究显示,肾虚与免疫功能异常有关,“正气存内,邪不可干”“邪之所凑,其气必虚”,肾在免疫调节中发挥重要作用,肾虚血瘀则会破坏女性生殖系统稳态,故免疫性 RSA 病机为肾虚血瘀,以虚为本,以实为标,治疗应采取补肾活血法^[8,10-11]。

自拟补肾活血方中菟丝子补肝肾,滋阴固阳,桑寄生益血固胎,续断补肾安胎,杜仲补下焦之虚,4 味君药共发挥滋补肝肾、稳固冲任、益母安胎之功效。配伍丹参、益母草清热凉血、活血散瘀,发挥活血化瘀安胎效果,适用于血瘀之症。加用补血活血的当归,行气开郁的川芎,助气血畅行,使胎有所养。再配伍白芍助养血柔肝、调经安胎,抑制川芎走窜之性,生地凉血补血,滋阴补肾。6 味臣药活血行气,养血安胎,与滋补的君药为伍,补中带行,补行共施,补而不滞。辅以黄芩、白术安胎气,黄芪、柴胡益气升阳,令气血旺行,经络通畅,胎元得以提固。全方 14 味中药君臣佐使,相辅相成,共奏补肾活血安胎之效,并根据临床辨证加减,灵活使用,观察组治疗有效率达 89.58%。对照组采用重组人粒细胞刺激因子皮下注射治疗,37.50% 患者妊娠维持到 20 周,这与重组人粒细胞刺激因子治疗促使子宫内膜分化增殖,增强早期胚胎和子宫内膜黏附力,利于胎盘着床和生长,提高子宫内膜对雌激素敏感性,改善子宫内膜容受性有关^[12-13]。补肾活血方也可促进滋养细胞蜕膜化和胚胎发育^[14],重组人粒细胞刺激因子皮下注射联合补肾活血方可发挥更显著的治疗效果。本研究结果显示,观察组治疗有效率高于对照组,治疗后中医证候积分低于对照组,说明在西医治疗基础上加用补肾活血方可提高免疫性 RSA 的疗效,改善患者临床症状。

免疫细胞参与母—胎免疫耐受的过程,正常妊娠时免疫细胞与子宫蜕膜细胞和滋养细胞相互形成完整的免疫网络,协调受精卵着床和胎儿发育,维持妊娠正常进行。当免疫调节机制紊乱,分泌大量炎症细胞因子,影响受精卵植入和胎盘形成,母胎免疫耐受异常,

细胞免疫增强,对胎儿排斥反应增加,引发流产^[15]。本研究结果显示,2 组患者治疗后 CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD3⁺CD56⁺ NK 细胞、CD56brightNK 细胞、CD56dimNK 细胞占比均增高,血清 TNF-α、IL-1β、CRP 水平均降低,说明重组人粒细胞刺激因子皮下注射或联合补肾活血方均可改善免疫性 RSA 患者免疫功能,抑制机体炎性反应。现有研究显示,重组人粒细胞刺激因子可通过效应细胞 CD4⁺ T 淋巴细胞调节机体免疫状态,具有抗炎和免疫调节作用^[16-17]。中医补肾活血治疗也被证实可下调 CD8⁺ T 细胞占比,上调 CD4⁺ T 细胞占比,恢复免疫平衡,还可加强 NK 细胞与子宫间质细胞间旁分泌途径,提高 NK 细胞活性,继而维持免疫内环境稳态,提高保胎效果^[18-20]。其次,补肾活血方还可改善宫腔局部炎性环境,降低外周血白介素-1β 和白介素-23 水平^[21-22]。现代基础研究显示,菟丝子可调节调节性 T 细胞 (Treg)/辅助性 T 细胞 17 (Th17),促使 Treg/Th17 向 Treg 偏移,重建免疫内环境稳态,桑寄生水提物可抑制急性炎性反应^[23-24]。由此可见,在重组人粒细胞刺激因子皮下注射治疗基础上增加补肾活血方可更有效抑制炎性反应,改善患者免疫状态。本研究中观察组对母体免疫状态改善和炎性反应控制效果优于对照组,且 2 组患者均未出现严重不良反应,说明重组人粒细胞刺激因子皮下注射联合补肾活血方治疗安全性高,体现了中医药毒副作用少的优势。

综上,重组人粒细胞刺激因子皮下注射联合补肾活血方可更有效地提高 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞免疫功能,抑制炎性反应,改善临床症状,提高疗效,值得在临床推广。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

谢春红、梁松岳:课题设计,设计研究方案,实施研究过程和论文撰写;钱平:提出研究思路,论文审核;彭艳丽、谢锂岑:资料搜集整理,进行统计学分析和修改

参考文献

- [1] 宛娜娜,杨菁.复发性流产的治疗进展[J].中华生殖与避孕杂志,2018,38(11):951-956. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.11.015.
- [2] 张清华,潘静,姚丽艳.复发性流产患者病因构成分析[J].中国全科医学,2020,23(14):1760-1764. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2019.00.738.
- [3] 季筱雨,叶平.免疫型复发性流产病因研究及中西医结合治疗进展[J].现代免疫学,2019,39(5):402-406. DOI: CNKI: SUN: SHMY.0.2019-05-009.
- [4] 李文娜,李娜,冯晓玲,等.补肾活血中药治疗免疫型复发性流产的研究进展[J].中华中医药学刊,2019,37(4):849-854. DOI:

- 10.13193/j. issn. 1673-7717. 2019. 04. 018.
- [5] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013;557-559.
- [6] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002;253-258.
- [7] 肖承棕. 中医妇科临床研究[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 170-174.
- [8] 党慧敏, 刘艳巧, 安鹏, 等. 补肾活血方联合地屈孕酮对复发性自然流产患者 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞及 IL-10、TGF- β_1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(11): 2716-2720. DOI: 10.13193/j. issn. 1673-7717. 2015. 11. 047.
- [9] 武颖, 刘雁峰, 何军琴. 不同证型复发性流产影响因素及血栓前状态的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(3): 237-240. DOI: 10.11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2016. 03. 001.
- [10] 熊静. 中西医结合治疗妊娠早期免疫性复发性流产的回顾性分析[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [11] 徐翠, 李楠, 张云娜. 从生殖稳态探索女性肾虚血瘀的病理机制[J]. 北京中医药, 2016, 35(8): 769-770. DOI: 10.16025/j.1674-1307. 2016. 08. 018.
- [12] 许红, 韩彦洁, 张瑶, 等. LC-MS/MS 法在不明原因复发性流产患者血清 10 种氨基酸水平检测中的应用[J]. 山东医药, 2017, 57(44): 18-21. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 44. 005.
- [13] 金素芳, 方锦川, 李石, 等. 重组人粒细胞集落刺激因子宫腔灌注对复发性流产患者子宫内膜容受性及妊娠结局的影响[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(5): 592-594, 封 3. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-7377. 2020. 05. 022.
- [14] 冯晓玲, 李强, 李嘉伟, 等. 补肾活血方对不明原因复发性流产患者分泌晚期血清中 IL-11、IL-11R 的影响研究[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1): 6-11. DOI: 10.13193/j. issn. 1673-7717. 2020. 01. 002.
- [15] 季兰岚, 张卓莉. 从证据的角度客观认识复发性流产中的免疫因素[J]. 中华风湿病学杂志, 2020, 24(1): 1-6. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1007-7480. 2020. 01. 001.
- [16] Sun J, Bai H, Wang Z, et al. Pegylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor regulates the immune status of patients with small cell lung cancer[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(3): 713-722. DOI: 10.1111/1759-7714. 13322.
- [17] 杨昊臻, 郑楠楠, 胡瑾华. 重组人粒细胞集落刺激因子的免疫调节作用及其在肝衰竭中的应用[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(9): 718-720. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1007-3418. 2013. 09. 019.
- [18] 卢燕, 陈思, 王佩娟. 从 T 细胞亚群变化探讨补肾活血汤治疗免疫性卵巢早衰的免疫调节机制[J]. 药物生物技术, 2016, 23(6): 491-494. DOI: CNKI: SUN: YWSW. 0. 2016-06-005.
- [19] 贡欣, 金哲, 鲁秋丹. 补肾活血方对子宫自然杀伤细胞与子宫间质细胞旁分泌基因表达谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(4): 485-489. DOI: 10.7661/j. cjim. 20170204. 020.
- [20] 李玛建, 高爱平, 涂序眠. 养血安胎冲剂对反复早期自然流产患者 NK 及 TS 细胞活性的影响[J]. 中医杂志, 2005, 46(1): 42-43. DOI: 10.3321/j. issn. 1001-1668. 2005. 01. 023.
- [21] 冯晓玲, 常卓, 张璇, 等. 补肾活血方对抗心磷脂抗体(+)复发性流产患者蜕膜及外周血膜联蛋白 A2 和 Toll 样受体 4 的影响研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(6): 701-706. DOI: 10.12114/j. issn. 1007-9572. 2018. 00. 382.
- [22] 冯晓玲, 张俐佳, 张杨, 等. 补肾活血方对不明原因复发性流产患者外周血中 IL-1 β 、IL23 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(8): 1808-1810. DOI: 10.3969/j. issn. 1008-0805. 2019. 08. 006.
- [23] 王雷, 孙晓艳, 吕衍民, 等. 菟丝子对辐射损伤后小鼠 Treg/Th17 亚群影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(23): 1624-1628. DOI: CNKI: SUN: QLZL. 0. 2017-23-003.
- [24] 易春霞, 洪正善, 谭柳萍, 等. 桑寄生抗炎作用的初步实验研究[J]. 药学研究, 2019, 38(2): 70-72, 94. DOI: 10.13506/j. cnki. jpr. 2019. 02. 002.

(收稿日期: 2021-05-31)

(上接 1030 页)

- [8] Zhang W, Fang Y, Shi MF, et al. Optimal acupoint and session of acupuncture for patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a meta-analysis[J]. Transl Andol Urol, 2021, 10(1): 143-153. DOI: 10.21037/tau-20-913.
- [9] 宁晶, 张晓毅, 邹练. 盐酸坦索罗辛胶囊联合宁泌泰胶囊治疗Ⅲ型前列腺炎的临床疗效分析[J]. 中国性科学, 2018, 21(1): 14-17. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-1993. 2018. 01. 003.
- [10] 罗清勇, 冯鹏. 夏荔芪胶囊联合盐酸坦索罗辛缓释胶囊治疗良性前列腺增生症的临床疗效及安全性[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(12): 1311-1314. DOI: 10.3969/j. issn. 1008-8849. 2020. 12. 013.
- [11] Liu M, Xie ZK, Costello CA, et al. Metabolomic analysis coupled with extreme phenotype sampling identified that lysophosphatidylcholines are associated with multisite musculoskeletal pain[J]. Pain, 2021, 162(2): 600-608. DOI: 10.1097/j. pain. 0000000000002052.
- [12] Mizoguchi S, Mori K, Wang Z, et al. Effects of estrogen receptor β stimulation in a rat model of non-bacterial prostatic inflammation[J]. Prostate, 2017, 77(7): 803-811. DOI: 10.1002/pros. 23320.
- [13] 韩杰, 刘子仪, 方振, 等. 重复制动应激对雌性大鼠下丘脑—垂体—卵巢轴的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2020, 36(3): 245-249. DOI: 10.12047/j. cjap. 5927. 2020. 054.
- [14] 樊晓, 刘春, 刘宇翔. 自噬与性激素失衡慢性前列腺炎相关性的研究进展[J]. 中国性科学, 2020, 29(11): 11-13. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-1993. 2020. 11. 004.
- [15] 张雪松, 高文峰, 成海生. 双倍剂量盐酸坦洛新缓释片治疗Ⅲ型前列腺炎的疗效和安全性探究[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(1): 321-324. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-4695. 2018. 03. 030.
- [16] Lee MH, Seo DH, Lee CW, et al. Relationship between hypogonadal symptoms, sexual dysfunction and chronic prostatitis in middle-aged men by self-reported questionnaires, even without biochemical testosterone deficiency[J]. World J Mens Health, 2020, 38(2): 243-249. DOI: 10.5534/wjmh. 190117.

(收稿日期: 2021-06-02)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.014

论著·临床

宫颈弹性成像联合阴道超声预测宫颈机能不全孕妇早产的价值

熊德庆, 申俊玲, 谢萍, 罗汝琼

基金项目: 国家重点研发计划精准医学研究专项基金(2017YFC0907304)

作者单位: 617000 四川省攀枝花市妇幼保健院超声科(熊德庆、申俊玲), 妇产科(谢萍、罗汝琼)

通信作者: 申俊玲, E-mail: X13882306750@163.com

【摘要】目的 分析 E-cervix 宫颈弹性成像技术联合阴道超声预测宫颈机能不全孕妇早产的价值。方法 选取 2020 年 1—12 月四川省攀枝花市妇幼保健院妇产科收治宫颈机能不全孕妇 85 例, 均于孕 20~24 周接受 E-cervix 宫颈弹性成像联合阴道超声检查, 获取孕妇的宫颈长度和宫颈组织超声弹性成像参数, 并依据孕妇有无发生早产分为早产组和未早产组, 比较 2 组的一般资料、宫颈长度(CL)和超声弹性成像参数, ROC 曲线分析弹性成像联合阴道超声预测宫颈机能不全孕妇早产的价值。结果 85 例宫颈机能不全孕妇中, 发生早产 40 例(47.06%); 2 组孕妇年龄、BMI、孕次、既往宫颈手术史等基线资料比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 早产组 CL 短于未早产组, 弹性比较指数(ECI)、宫颈外口应变率(ES)、宫颈内口应变率(IS)高于未早产组, 差异均有统计学意义($t=3.527, 5.259, 5.001, 6.103, P$ 均 <0.01); ROC 结果显示, CL 预测宫颈机能不全孕妇早产的曲线下面积(AUC)为 0.673, 宫颈组织超声弹性成像参数 ECI、ES、IS 预测宫颈机能不全孕妇早产的 AUC 分别为 0.782、0.766、0.805。结论 E-cervix 宫颈弹性成像技术联合阴道超声可有效反馈宫颈组织弹性情况, 对宫颈机能不全孕妇早产风险有一定预测价值。

【关键词】 宫颈机能不全; 早产; 阴道超声; 宫颈弹性成像; E-cervix 技术

【中图分类号】 R711.74; R714.21

【文献标识码】 A

The value of cervical elastography combined with vaginal ultrasound in predicting premature delivery in pregnant women with cervical insufficiency Xiong Deqing*, Shen Junling, Xie Ping, Luo Ruqiong. * Department of Ultrasound, Panzhihua Maternal and Child Health Care Hospital, Sichuan Province, Panzhihua 617000, China

Corresponding author: Shen Junling, E-mail: X13882306750@163.com

Funding program: Special Fund for Precision Medicine Research of National Key R & D Plan (2017YFC0907304)

【Abstract】 Objective To analyze the value of Ecervix cervical elastography technology combined with vaginal ultrasound in predicting premature delivery in pregnant women with cervical insufficiency. Methods From January to December 2020, 85 cases of pregnant women with cervical insufficiency were admitted to the Department of Obstetrics and Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Panzhihua City, Sichuan Province. All of them underwent E cervix cervical elastography combined with vaginal ultrasound at 20-24 weeks of gestation to obtain the length of the cervix and the cervix of the pregnant women. Tissue ultrasound elastography parameters were divided into preterm group and non-preterm group according to whether the pregnant women had premature delivery. The general data, cervical length (CL) and ultrasound elastography parameters of the two groups were compared, and ROC curve analysis was used to analyze the value of elastography combined with vaginal ultrasound in predicting premature delivery in pregnant women with cervical insufficiency. Results Among the 85 pregnant women with cervical insufficiency, 40 cases (47.06%) occurred prematurely. There was no statistically significant difference in the baseline data of the two groups of pregnant women's age, BMI, pregnancy times, and previous cervical surgery history ($P>0.05$). The CL of the preterm group was shorter than that of the preterm group, the elasticity comparison index (ECI), the strain rate of the external cervical os (ES), and the strain rate of the internal cervix (IS) were higher than those of the preterm group, and the differences were statistically significant ($t=3.527, 5.259, 5.001, 6.103, P$ all <0.01). ROC results showed that the area under the curve (AUC) of CL predicting premature delivery in pregnant women with cervical insufficiency was 0.673, and the AUC of cervical tissue ultrasound elastography ECI, ES, and IS predicting premature delivery in pregnant women with cervical insufficiency were 0.782, 0.766, and 0.805, respective-

ly. **Conclusion** E cervix cervical elastography technology combined with vaginal ultrasound can effectively feed back the elasticity of the cervical tissue, and has a certain predictive value for the risk of premature birth in pregnant women with cervical insufficiency.

【Key words】 Cervical insufficiency; Premature delivery; Transvaginal ultrasound; Cervical elastography; E cervix technology

宫颈机能不全因结构和功能不全,宫颈难以维持至妊娠足月,是目前引起早产和晚期流产反复发生的主要原因之一,而早产儿因多脏器功能尚未发育成熟,免疫功能尚未完全形成,不仅感染风险高,病死风险也会大幅增加^[1]。因此,早期预测宫颈机能不全孕妇早产风险意义重大。既往研究指出,宫颈的机械性能与早产的发生密切相关,孕期宫颈长度可用于预测分娩,但特异度较低^[2]。近年来研究指出,除宫颈长度、宫颈软硬度与早产有一定关系外,宫颈组织弹性指标变化可反映早产早期阶段的宫颈组织软化趋势,从而用于预测评估早产风险,且特异度较高^[3]。传统阴道超声是检查宫颈机能不全孕妇宫颈情况的常用检查手段,具有无创、可动态观察等优点,可准确、客观测量宫颈长度(cervical length, CL),但难以观察宫颈软硬度,无法反馈宫颈组织弹性情况^[4]。E-cervix 技术是专为宫颈弹性成像研发的多参数半定量弹性成像技术,通过 Elastoscanner 软件实现,可检测分析子宫动脉搏动对宫颈的作用力引起的组织形变大小,并以弹性图像的不同颜色显示出来^[5]。有研究表明,内源性应变性弹性成像已在乳腺癌、甲状腺疾病等多种疾病中得以广泛应用,且检查准确度较高^[6]。推测也可将此方法用于宫颈机能不全孕妇早产风险的预测评估。为更好地减少宫颈机能不全孕妇早产风险,现分析 E-cervix 宫颈弹性成像联合阴道超声预测宫颈机能不全孕妇早产的价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1—12 月四川省攀枝花市妇幼保健院妇产科收治宫颈机能不全孕妇 85 例,年龄 21 ~ 32 (24.00, 28.00) 岁;分娩孕周 28 ~ 42 (35.14 ± 1.47) 周。依据早产判断标准(妊娠不足 37 周)将发生早产的宫颈机能不全孕妇纳入早产组 40 例,余孕妇为未早产组 45 例。本研究实施获得医院伦理委员会批准同意[伦审号 2020(12)],孕妇及家属对研究内容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全部孕妇于孕 14 ~ 18 周时,均经询问病史、超声等多种检查确诊为宫颈机能不全;②妊娠单活胎;③孕妇意识水平正常,可配合研究。(2)排除标准:①有妊娠合并症及并发

症;②伴有宫颈病变;③伴羊水过多;④伴阴道出血、胎膜早破;⑤有子宫畸形;⑥有感染病史;⑦合并恶性肿瘤;⑧合并无法控制的内分泌异常。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 基线资料:收集所有孕妇基线资料,包括:(1)年龄;(2)孕次:1 次, ≥ 2 次;(3)体质量指数(BMI):正常(BMI ≤ 23.9 kg/m²)、肥胖或超重(BMI > 23.9 kg/m²);(4)既往有无宫颈手术史。

1.3.2 阴道超声检查:使用三星 WS80A 彩色多普勒超声诊断仪,仪器内置 Elastoscanner 软件,并配备 EV3-10B 腔内容积探头,探头频率 3 ~ 10 MHz。孕妇排空膀胱取膀胱截石位,在超声探头上涂抹耦合剂,再套上无菌胶套,并将探头放置于阴道内,使探头靠近宫颈,可与宫颈轻轻接触,但不产生形变,保持探头稳定,并嘱孕妇身体保持静止,缓慢平静呼吸,清晰显示宫颈内口和宫颈外口结构,并测量 CL。

1.3.3 E-cervix 宫颈弹性成像检查:阴道超声检查后切换至 E-cervix 宫颈弹性成像模式,测量感兴趣区(ROI)组织应变率,宫颈矢状切面成像范围内可清晰显示完整宫颈结构,并对探头轻缓施压,观察弹性成像图,当弹性图像右侧的质量控制条完全充满绿色时代表图像已稳定,随后即自动冻结。已冻结的图像解冻后即可重新加载,再次读取弹性图像。每次操作均存储 3 幅弹性图像进行测量分析。ROI 设定方法选取“4 点法”,以 4 个点自宫颈内口至宫颈外口标记宫颈管,然后依次标记宫颈内口边界及宫颈外口边界,而后 ROI 自动生成,各参数自动显示。测量弹性比较指数(elasticity contrast index, ECI)、宫颈外口应变率(external cervical, ES)、宫颈内口应变率(internal strain rate, IS)、宫颈长度(cervical length, CL)等参数。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件进行数据处理。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;偏态分布计量资料以中位数及四分位数 [*M* (*Q*₁, *Q*₃)] 表示,组间比较采用非参数 Mann-Whitney *U* 秩和检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;绘制受试者工作特征曲线(ROC),检验宫颈长度和宫颈组织应变率超声弹性成像参数预测宫颈机能不全孕妇早产的价值。*P* < 0.05 为差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 2 组基线资料比较 2 组孕妇的年龄、BMI、孕次、既往宫颈手术史等基线资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 2 组发生早产的宫颈机能不全孕妇基线资料比较 [例(%)]					
项 目	未早产组 ($n=45$)	早产组 ($n=40$)	U/χ^2 值	P 值	
年龄[$M(Q_1, Q_3)$, 岁]	26(23.75, 27.00)	26(25.00, 27.00)	0.614	0.436	
BMI	正常	20(44.44)	0.422	0.516	
	超重或肥胖	25(55.56)			
孕次(次)	1	24(53.33)	0.006	0.939	
	≥ 2	21(46.67)			
既往宫颈手术史	有	14(31.11)	0.133	0.715	
	无	31(68.89)			

2.2 2 组 CL、宫颈组织应变超声弹性成像参数比较 早产组的 CL 短于未早产组, ECI、ES、IS 高于未早产组, 差异均有统计学意义($P<0.01$), 见表 2。

表 2 2 组宫颈机能不全孕妇 CL、宫颈组织应变超声弹性成像参数比较 ($\bar{x}\pm s$)					
组 别	例数	CL(cm)	ECI	ES	IS
未早产组	45	3.14 $\pm$ 0.43	3.04 $\pm$ 0.35	0.49 $\pm$ 0.23	0.26 $\pm$ 0.10
早产组	40	2.85 $\pm$ 0.31	3.44 $\pm$ 0.35	0.73 $\pm$ 0.21	0.45 $\pm$ 0.18
t 值		3.527	5.259	5.001	6.103
P 值		0.001	0.000	0.000	0.000

2.3 CL、宫颈组织应变超声弹性成像参数对宫颈机能不全孕妇早产的预测分析 将 CL、ECI、ES、IS 分别作为检验变量, 宫颈机能不全孕妇的早产发生情况作为状态变量(1 = 早产, 0 = 未早产), 绘制 ROC 曲线结果显示, CL 预测宫颈机能不全孕妇早产的 AUC 为 0.673, 宫颈组织应变超声弹性成像各参数 ECI、ES、IS 预测宫颈机能不全孕妇早产的 AUC 分别为: 0.782、0.766、0.805, 见图 1、表 3。

3 讨论

宫颈机能不全孕妇因宫颈病理性扩张松弛, 极易

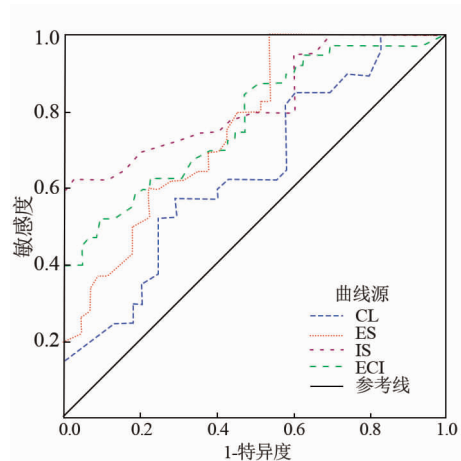


图 1 CL、宫颈组织应变超声弹性成像参数预测宫颈机能不全孕妇早产的 ROC 曲线

引发早产, 且早产发生前并无典型表现, 孕妇难以及时发现, 不良结局风险高^[7]。可见, 尽早预测、评估宫颈机能不全孕妇的早产风险, 对降低早产率, 改善孕妇及胎儿预后具有积极意义。

王艳霞等^[8]研究指出, 宫颈机能不全患者早产率占自然早产的 40%~50%。本研究结果显示, 85 例宫颈机能不全孕妇中, 有 40 例孕妇发生早产, 发生率为 47.06%, 上述研究表明宫颈机能不全孕妇发生早产风险高, 早期预测尤为关键。目前, 国内外有研究指出, CL 和宫颈软硬度等宫颈机械性能与早产密切相关^[9-10]。王丽等^[11]研究指出, 经阴道超声测量 CL 可用于预测分娩。彭芳华等^[12]研究也指出, CL 可用于早产风险的预测中。但宫颈长度虽可用于早产预测, 但特异度较低, 易出现漏诊误诊现象, 延误治疗。因此除观察 CL, 检测宫颈组织弹性变化以判断早产风险尤为关键且必要^[13]。妊娠晚期时, 因宫颈中胶原蛋白和水分含量增多, 宫颈会发生软化, 而宫颈过早软化易导致早产的发生^[14-15]。但目前临床尚缺乏对宫颈组织弹性变化的有效检查手段, 具体参数的测定仍存在一定难度^[16]。

本研究结果显示, 早产组的 CL 短于未早产组, ECI、ES、IS 高于未早产组, 表明宫颈机能不全发生早产孕妇的宫颈组织弹性存在异常变化。分析认为可能

表 3 CL、宫颈组织应变超声弹性成像参数对宫颈机能不全孕妇早产的预测价值比较						
变 量	cut-off 值	AUC	95% CI	特异度	敏感度	约登指数
CL	3.04 cm	0.673	0.559~0.787	0.422	0.650	0.072
ECI	3.18	0.782	0.685~0.879	0.533	0.750	0.283
ES	0.59	0.766	0.667~0.864	0.578	0.725	0.303
IS	0.24	0.805	0.707~0.904	0.422	0.825	0.247

与宫颈机能不全孕妇宫颈组织已存在不同程度软化有关,这会影响孕妇宫颈组织弹性,继而导致上述结果发生^[17]。为了进一步明确宫颈组织弹性预测宫颈机能不全孕妇早产的风险,本研究绘制 ROC 曲线,结果显示,CL 预测宫颈机能不全孕妇早产的 AUC 不足 0.7,预测价值较差。这可能是因为宫颈长度和宫颈硬度存在一定的关系,宫颈长度足够,但可能存在宫颈软化现象,仍易出现早产现象,因而宫颈长度预测早产具有一定的漏诊率;宫颈组织应变超声弹性成像各参数对宫颈机能不全孕妇早产均有一定的预测价值,且 IS 的预测价值最佳,可能在预测早产方面更具有临床指导意义。分析认为宫颈弹性成像可根据显示图像的颜色情况判断病灶组织的软硬程度,如蓝色代表组织较软,绿色变成深绿即说明组织硬度非常硬,以此可作为判断宫颈软硬度的依据,并观察感兴趣区弹性应变率的变化情况,可进一步评估宫颈状态,从而更加有效地预测早产风险。但本研究也存在一定的局限,如内源性应变性弹性成像技术目前在甲状腺、乳腺等疾病中应用广泛,但应用于产科疾病中的相关研究还较少,尚无较多的循证学依据可支持本研 究所得结果,还需在未来进一步开展更多的研究探索、分析,以进一步拓宽内源性应变性弹性成像在产科疾病中的应用范围。

综上所述,E-cervix 宫颈弹性成像联合阴道超声可有效反馈宫颈组织弹性情况,对宫颈机能不全孕妇早产风险有一定预测价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

熊德庆:提出研究方向,设计研究方案,实施研究过程,数据收集,分析整理,进行文献调研,设计论文框架,撰写论文;申俊玲:提出研究思路,研究选题,论文终审;谢萍:进行统计学分析;罗汝琼:进行文献调研与整理

参考文献

- [1] 卢澄钰,李兆生,王振宇,等.检测宫颈机能不全的方法及其循证评价[J].实用妇产科杂志,2018,34(5):347-351. DOI: CNKI; SUN;SFCZ.0.2018-05-013.
- [2] Berghella V,Palacio M,Ness A,et al. Cervical length screening for prevention of preterm birth in singleton pregnancy with threatened preterm labor: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials using individual patient-level data[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2017, 49 (3): 322-329. DOI: 10. 1002/uog. 17388.
- [3] Oturina V,Hammer K,Mllers M,et al. Assessment of cervical elastography strain pattern and its association with preterm birth[J]. J Perinat Med, 2017, 45 (8): 925-932. DOI: 10. 1515/jpm-2016-0375.

- [4] 王礼贤,杨漪,王翠菊,等.超声弹性成像组织弥散定量分析技术预测宫颈功能不全[J].中国医学影像技术,2018,34(8):1242-1245. DOI: 10. 13929/j. 1003-3289. 201801097.
- [5] 张立鹤,谢红宁,郑巧,等. E-cervix 宫颈弹性成像辅助诊断非孕早期宫颈机能不全的研究[J].中国临床新医学,2019,12(8):817-821. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3806. 2019. 08. 01.
- [6] Görgülü FF. Which is the best reference tissue for strain elastography in predicting malignancy in thyroid nodules, the sternocleidomastoid muscle or the thyroid parenchyma [J]. J Ultrasound Med, 2019, 38 (11): 3053-3064. DOI: 10. 1002/jum. 15013 .
- [7] 邓宇巍,陈涛,赵一冰,等.经会阴超声检查对宫颈机能不全的诊断价值探讨[J].中国医刊,2018,53(12):113-115. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-1070. 2018. 12. 029.
- [8] 王艳霞,李亚妮,屈鹏飞,等. 67 例经阴道宫颈环扎术治疗宫颈机能不全临床效果分析[J].中国妇幼健康研究,2018,29(8):1043-1046. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-5293. 2018. 08. 025.
- [9] Pizzella S,Helou NE,Chubiz J,et al. Evolving cervical imaging technologies to predict preterm birth[J]. Semin Immunopathol, 2020, 42 (4): 385-396. DOI: 10. 1007/s00281-020-00800-5.
- [10] Cho SH, Park KH, Jung EY, et al. Maternal characteristics, short mid-trimester cervical length, and preterm delivery [J]. J Korean Med Sci, 2017, 32 (3): 488-494. DOI: 10. 3346/jkms. 2017. 32. 3. 488.
- [11] 王丽,彭软,符小艳,等.剪切波弹性成像评估孕妇宫颈在早产中的预测价值[J].海南医学,2017,28(18):3067-3069. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-6350. 2017. 18. 046.
- [12] 彭芳华,张志坤,刘雨蒙,等.实时组织弹性成像在妊娠期宫颈评价中的应用[J].国际妇产科学杂志,2015,42(3):352-354. DOI: CNKI;SUN;GWVC.0.2015-03-038.
- [13] Kwak DW, Kim M, Oh SY, et al. Reliability of strain elastography using in vivo compression in the assessment of the uterine cervix during pregnancy[J]. J Perinat Med, 2020, 48 (3): 256-265. DOI: 10. 1515/jpm-2019-0370.
- [14] Sundtoft I, Roos JL, Sandager P, et al. Cervical collagen is reduced in non-pregnant women with a history of cervical insufficiency and a short cervix[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2017, 96 (8): 984-990. DOI: 10. 1111/aogs. 13143.
- [15] Blitz MJ, Ghorayeb SR, Pachtman SL, et al. Quantitative ultrasound analysis of proximal and distal cervical tissue echogenicity in premature cervical remodeling[J]. J Ultrasound Med, 2018, 37 (12): 2873-2879. DOI: 10. 1002/jum. 14647.
- [16] 黎黎,张栋栋,王海静,等.探讨经阴道宫颈组织超声 E 成像技术在预测晚期流产及早产风险的临床应用价值[J].中国妇产科临床杂志,2019,20(5):67-68. DOI: 10. 13390/j. issn. 1672-1861. 2019. 05. 023.
- [17] Wang B, Zhang Y, Chen SH, et al. Diagnostic accuracy of cervical elastography in predicting preterm delivery: A systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98 (29): e16449. DOI: 10. 1097/MD. 00000000000016449.

(收稿日期:2021-05-29)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.015

论著·临床

绝经后骨质疏松患者血清 Hepsidin、s-P I NP、s-HJV 水平与骨折的关系

高维松, 陈荣, 王隆辉, 吴昌新

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(18A201177)

作者单位: 570311 海口, 海南医学院第二附属医院骨科

通信作者: 吴昌新, E-mail: wuchangxin1966@163.com

【摘要】目的 探讨绝经后骨质疏松患者血清铁调素(Hepsidin)、I型前胶原氨基端前肽(s-P I NP)、可溶性铁调素调节蛋白(s-HJV)水平与骨折发生的关系。**方法** 选取2018年9月—2020年12月海南医学院第二附属医院骨科收治绝经后骨质疏松患者196例,其中发生骨折113例(骨折组),未发生骨折83例(无骨折组),另纳入同期于医院门诊体检的绝经后未发生骨质疏松女性92例为对照组。酶联免疫吸附试验检测血清 Hepsidin、s-P I NP、s-HJV 水平,双能X线骨密度仪测定桡骨远端、腰椎(L₁₋₄前后位腰椎均值)、股骨颈、全髋、胫骨的骨密度。分析血清 Hepsidin、s-P I NP、s-HJV 与骨密度的相关性,Logistic 回归分析绝经后骨质疏松性骨折的影响因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 Hepsidin、s-P I NP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松患者骨折的价值。**结果** 血清 Hepsidin 水平及桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髋、胫骨骨密度比较,骨折组 < 无骨折组 < 对照组($F/P=98.210/0.000, 26.520/0.000, 13.380/0.000, 60.210/0.000, 63.540/0.000, 154.061/0.000$);血清 s-P I NP、s-HJV 水平比较,骨折组 > 无骨折组 > 对照组($F/P=113.063/0.000, 142.968/0.000$);血清 Hepsidin 与桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髋、胫骨骨密度呈正相关(P 均 < 0.01),血清 s-P I NP、s-HJV 与桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髋、胫骨骨密度呈负相关(P 均 < 0.01)。高腰椎骨密度、高全髋骨密度、高水平 Hepsidin 是绝经后骨质疏松性骨折的保护因素[$OR(95\% CI) = 0.655(0.535 \sim 0.802), 0.720(0.597 \sim 0.867), 0.649(0.509 \sim 0.828)$],高水平 S-P I NP、S-HJV 是其危险因素[$OR(95\% CI) = 1.664(1.122 \sim 2.467), 1.956(1.281 \sim 2.987)$];血清 Hepsidin、s-P I NP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松骨折的曲线下面积分别为0.698、0.658、0.704,3项指标联合预测的曲线下面积为0.932,高于单独检测($Z/P=2.412/0.012, 2.569/0.010, 2.306/0.016$)。**结论** 绝经后骨质疏松骨折患者血清 Hepsidin 水平降低,s-P I NP、s-HJV 水平升高,Hepsidin 缺乏和 s-P I NP、s-HJV 增加与骨密度下降有关,三者可作为绝经后骨质疏松患者骨折的预测指标。

【关键词】 骨质疏松;骨折;绝经;铁调素;I型前胶原氨基端前肽;可溶性铁调素调节蛋白**【中图分类号】** R681;R711.51**【文献标识码】** A

The relationship between serum levels of Hepsidin, s-P I NP, s-HJV and fractures in postmenopausal patients with osteoporosis Gao Weisong, Chen Rong, Wang Longhui, Wu Changxin. Department of Orthopedics, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570311, China

Corresponding author: Wu Changxin, E-mail: wuchangxin1966@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Health and Family Planning Industry in Hainan Province (18A201177)

【Abstract】Objective To explore the relationship between the levels of serum hepcidin (Hepsidin), type I procollagen N-terminal propeptide (sP-I NP), soluble hepcidin (s-HJV) and fracture occurrence in postmenopausal patients with osteoporosis. **Methods** From September 2018 to December 2020, 196 patients with postmenopausal osteoporosis were admitted to the Department of Orthopedics, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, of which 113 cases (fracture group) and 83 cases without fracture (no fracture group), during the same period 92 postmenopausal women who did not develop osteoporosis in the outpatient physical examination of the hospital served as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum levels of Hepsidin, s-P I NP, and sHJV, and dual-energy X-ray bone densitometer was used to determine the bone mineral density of the distal radius, lumbar spine (L1-4 anteroposterior lumbar spine average), femoral neck, total hip, and tibia. The influencing factors of serum Hepsidin, sPINP, sHJV and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic fractures were analyzed. Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to

analyze the value of serum Hepcidin, sPINP, sHJV in predicting fractures in postmenopausal osteoporotic patients. **Results**

Serum Hepcidin level, bone mineral density comparison of distal radius, lumbar vertebrae, femoral neck, total hip, tibia, fracture group < no fracture group < control group ($F/P = 98.210/0.000, 26.520/0.000, 13.380/0.000, 60.210/0.000, 63.540/0.000, 154.061/0.000$), serum s-P I NP, s-HJV level fracture group > no fracture group > control group ($F/P = 113.063/0.000, 142.968/0.000$). Serum Hepcidin was positively correlated with the bone mineral density of the distal radius, lumbar vertebrae, femoral neck, total hip, and tibia (all $P < 0.01$). Serum s-P I NP and s-HJV were negatively correlated with the bone mineral density of the distal radius, lumbar spine, femoral neck, total hip, and tibia ($P < 0.01$). High lumbar bone density, high total hip bone density, and high levels of Hepcidin are protective factors for postmenopausal osteoporotic fractures [$OR(95\% CI) = 0.655(0.535 - 0.802), 0.720(0.597 - 0.867), 0.649(0.509 - 0.828)$], high levels of S-P I NP and s-HJV are the risk factors [$OR(95\% CI) = 1.664(1.122 - 2.467), 1.956(1.281 - 2.987)$]. The area under the curve of serum Hepcidin, s-P I NP, and s-HJV predicting postmenopausal osteoporotic fractures are 0.698, 0.658, and 0.704, respectively. The area under the curve predicted by the combined three indicators is 0.932, which is higher than that of a single test ($Z/P = 2.412/0.012, 2.569/0.010, 2.306/0.016$). **Conclusion** Serum Hepcidin levels in postmenopausal osteoporotic fracture patients decreased, and s-P I NP and s-HJV levels increased. Hepcidin deficiency and increased s-P I NP and s-HJV were related to decreased bone mineral density. The three can be used as predictors of fractures in postmenopausal osteoporotic patients.

【Key words】 Osteoporosis; Fracture; Menopause; Hepcidin; N terminal propeptide of type I procollagen; Soluble hemojuvelin

骨质疏松是中老人常见骨骼疾病,以骨量减少,骨组织微结构破坏,易发生脆性骨折为特征,报道显示,我国女性绝经后骨质疏松患病率为 34.25% ~ 39.20%^[1-2]。骨折是骨质疏松的严重后果,可导致患者生活质量下降,残疾和死亡,增加家庭负担,耗费医疗资源^[3-4]。骨质疏松性骨折是可预防性疾病,需对高危人群进行早期识别和筛查,以降低骨折风险。铁调素 (Hepcidin) 是体内调节铁代谢的关键激素,在铁动态平衡中发挥重要作用,Hepridin 缺乏可增加破骨细胞活性,促使骨吸收增加,引起骨量减少^[5]。可溶型铁调素调节蛋白 (soluble hemojuvelin, s-HJV) 是骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 受体,负性调节 Hepcidin 表达^[6]。I 型前胶原氨基端前肽 (N-terminal propeptide of type I procollagen, s-P I NP) 反映成骨细胞合成骨胶原的能力,是新骨形成的特异性敏感指标,与骨质疏松患者骨密度密切相关^[7]。本研究通过检测绝经后骨质疏松患者血清 Hepcidin、s-P I NP、s-HJV 水平,探讨其与骨质疏松骨折发生的关系,以为临床诊治提供借鉴,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 9 月—2020 年 12 月海南医学院第二附属医院骨科收治绝经后骨质疏松患者 196 例,其中发生骨折 113 例 (骨折组),均为胸腰椎压缩性骨折,年龄 61 ~ 75 (68.12 ± 6.12) 岁,停经时间 5 ~ 13 (9.21 ± 3.02) 年;未发生骨折 83 例 (无骨折组),年龄 60 ~ 74 (68.01 ± 5.07) 岁,停经时间 4 ~ 15 (9.32 ± 2.89) 年;同期于医院门诊体检的绝经后未发

生骨质疏松女性 92 例为对照组,均经影像学检查,骨密度测量排除骨质疏松, T 值 ≥ -1.0, 无脆性骨折史,年龄 60 ~ 73 (67.99 ± 4.21) 岁,停经时间 5 ~ 14 (9.02 ± 3.42) 年。3 组年龄、停经时间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。本研究获得医院伦理会批准 (审批号:2019-12-003),全部受试者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①参照 2017 版“原发性骨质疏松症诊疗指南”标准^[8],结合临床症状 (腰背痛、全身骨痛、脊柱变形),影像学、骨密度测量或定量计算机断层照相术检查等确诊骨质疏松;② T 值 ≤ -2.5 或 -2.5 < T 值 < -1.0 但发生脆性骨折;③绝经女性。(2) 排除标准:①合并其他内分泌疾病,如甲状旁腺疾病、性腺疾病、肾上腺疾病;②风湿或类风湿关节炎;③合并肾脏疾病、骨肉瘤、多发性骨髓瘤;④先天骨代谢异常;⑤既往创伤性因素所致骨折史。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 Hepcidin、s-P I NP、s-HJV 检测:受试者入组后采集空腹肘静脉血 3 ml 离心 (转速 3 000 r/min,离心半径 10 cm,离心时间 15 min) 后收集血清上机检测。使用 JD-SY96S 全自动酶标仪 (山东竞道光电科技有限公司,型号 JD-SY96S) 及配套相应试剂盒,以酶联免疫吸附法测定血清 Hepcidin、s-P I NP、s-HJV 水平。

1.3.2 骨密度检测:受试者平躺于检查床,使用 Prodigy 双能 X 线骨密度仪 (美国 GE 公司,型号 Prodigy,电功率 243 W,管电压 76 kV,管电流 0.15 ~ 3.00 mA)

测定桡骨远端、腰椎(L₁₋₄前后位腰椎均值)、股骨颈、全髌、胫骨的骨密度。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验;Pearson 相关分析血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 与骨密度之间相关性,二元 Logistic 回归分析绝经后骨质疏松性骨折的危险因素,绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松患者骨折的价值,曲线下面积(AUC)的差异比较采用 Z 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 水平比较 血清 Hcpcidin 水平比较,骨折组 < 无骨折组 < 对照组,差异具有统计学意义(*P* < 0.01);血清 s-PINP、s-HJV 水平比较,骨折组 > 无骨折组 > 对照组,差异具有统计学意义(*P* 均 < 0.01),见表 1。

表 1 3 组受试者血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

组 别	例数	Hcpcidin	s-P I NP	s-HJV
对照组	92	120.28 ± 32.07	30.15 ± 9.56	53.26 ± 10.51
无骨折组	83	98.32 ± 21.16	45.12 ± 12.05	80.21 ± 16.35
骨折组	113	72.15 ± 19.35	58.12 ± 16.31	92.31 ± 20.45
<i>F</i> 值		98.210	113.063	142.968
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注: Hcpcidin. 铁调素; s-P I NP. I 型前胶原氨基端前肽; s-HJV. 可溶型铁调素调节蛋白

2.2 3 组骨密度比较 桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髌、胫骨骨密度比较,骨折组 < 无骨折组 < 对照组,差异具有统计学意义(*P* 均 < 0.01),见表 2。

表 2 3 组受试者桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髌、胫骨骨密度比较 ($\bar{x} \pm s$, g/cm²)

组 别	例数	桡骨远端	腰椎	股骨颈	全髌	胫骨
对照组	92	0.54 ± 0.15	1.02 ± 0.32	0.89 ± 0.20	1.19 ± 0.21	0.69 ± 0.12
无骨折组	83	0.49 ± 0.12	0.93 ± 0.26	0.72 ± 0.19	1.03 ± 0.16	0.52 ± 0.11
骨折组	113	0.42 ± 0.06	0.82 ± 0.25	0.63 ± 0.12	0.92 ± 0.14	0.43 ± 0.09
<i>F</i> 值		26.520	13.380	60.210	63.540	154.061
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 与骨密度相关分析 (*r*/*P*)

指 标	桡骨远端	腰椎	股骨颈	全髌	胫骨
血清 Hcpcidin	0.741/0.000	0.752/0.000	0.801/0.000	0.739/0.000	0.740/0.000
血清 s-PINP	-0.752/0.000	-0.762/0.000	-0.749/0.000	-0.762/0.000	-0.752/0.000
血清 s-HJV	-0.782/0.000	-0.815/0.000	-0.832/0.000	-0.782/0.000	-0.753/0.000

注: Hcpcidin. 铁调素; s-P I NP. I 型前胶原氨基端前肽; s-HJV. 可溶型铁调素调节蛋白

2.3 血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 与骨密度相关性

血清 Hcpcidin 与桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髌、胫骨骨密度呈正相关(*P* < 0.01), s-P I NP、s-HJV 与桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髌、胫骨骨密度呈负相关(*P* < 0.01),见表 3。

2.4 绝经后骨质疏松性骨折的影响因素分析 纳入桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髌、胫骨骨密度及血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV(连续性变量均未赋值)为自变量,以绝经后骨质疏松性骨折为因变量(赋值:0 = 否,1 = 是),建立 Logistic 回归模型,ENTER 法排除无关变量,结果显示,高腰椎骨密度、高全髌骨密度、高水平 Hcpcidin 是绝经后骨质疏松性骨折的保护因素,高水平 s-P I NP、高水平 s-HJV 是绝经后骨质疏松性骨折的危险因素(*P* < 0.05),见表 4。

2.5 血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松骨折的价值分析 ROC 分析显示,血清 Hcpcidin、s-P I NP、s-HJV 及三者联合预测绝经后骨质疏松骨折的 AUC 分别为 0.698、0.658、0.704、0.932,三者联合预测高于单独预测,差异具有统计学意义(*Z* = 2.412、2.569、2.306, *P* = 0.012、0.010、0.016),见图 1、表 5。

3 讨论

绝经后卵巢功能衰竭,雌激素分泌量急剧下降,雌激素抑制破骨细胞的作用减弱,导致破骨细胞增殖,骨生成细胞凋亡,骨重建障碍,最终引起骨吸收增加,骨量流失^[9]。目前临床以症状、骨密度、脆性骨折作为诊断骨质疏松的依据,骨密度作为判断骨量的主要指标,在骨质疏松诊断方面具有较好的特异度,多以骨密度 ≤ -2.5 为诊断骨质疏松的标准^[10],但是骨密度值变化缓慢,耗时长,部分患者在骨密度 > -2.5 时也可能发生脆性骨折,且骨密度测量不能连续性观测,局

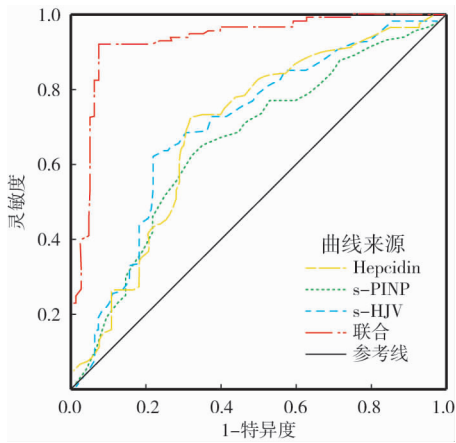
表 4 影响绝经后骨质疏松性骨折的 Logistic 回归分析

指 标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
高桡骨远端骨密度	-0.201	0.163	1.521	0.659	0.818(0.594 ~ 1.126)
高股骨颈骨密度	-0.195	0.146	1.784	0.620	0.823(0.618 ~ 1.095)
高胫骨骨密度	-0.235	0.178	1.743	0.635	0.791(0.558 ~ 1.121)
高腰椎骨密度	-0.423	0.103	16.866	0.006	0.655(0.535 ~ 0.802)
高全髋骨密度	-0.329	0.095	11.993	0.003	0.720(0.597 ~ 0.867)
高血清 Hepsidin	-0.432	0.124	12.137	0.020	0.649(0.509 ~ 0.828)
高血清 s-P I NP	0.509	0.201	6.412	0.005	1.664(1.122 ~ 2.467)
高血清 s-HJV	0.671	0.216	9.650	0.012	1.956(1.281 ~ 2.987)

注:Hepsidin. 铁调素;s-P I NP. I 型前胶原氨基端前肽;s-HJV. 可溶型铁调素调节蛋白

表 5 血清 Hepsidin、s-P I NP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松骨折的效能分析

指标	cut-off 值(ng/ml)	AUC(95% CI)	P 值	敏感度	特异度	约登指数
血清 Hepsidin	82.13	0.698(0.618 ~ 0.772)	0.000	0.717	0.699	0.416
血清 s-PINP	52.13	0.658(0.580 ~ 0.736)	0.000	0.646	0.675	0.321
血清 s-HJV	71.49	0.704(0.629 ~ 0.780)	0.000	0.681	0.711	0.392
三者联合	-	0.932(0.893 ~ 0.970)	0.000	0.920	0.916	0.836



注:Hepsidin. 铁调素;s-P I NP. I 型前胶原氨基端前肽;s-HJV. 可溶型铁调素调节蛋白

图 1 血清 Hepsidin、s-PINP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松骨折的 ROC 曲线

限性较大。因此亟需探寻能敏感监测骨质疏松及其相关骨折的指标,以做好防预工作,降低骨折发生率。

骨骼是一种代谢活跃的组织,破骨细胞和成骨细胞相互作用制衡下不断重塑骨骼组织,维持骨代谢稳定,在铁超负荷条件下,骨吸收增加和骨形成减少,导致病理性骨丢失^[11]。Hepsidin 是由 25 个氨基酸组成的长链肽,由炎症反应或铁超负荷刺激肝细胞产生,降低循环血中铁浓度,Hepsidin 水平降低是导致铁超载和血色素沉着症的主要原因^[12]。s-HJV 是 Hepsidin 的上游调节因子,通过负性调节 Hepsidin 抑制肠道铁吸收,促使细胞铁流出,s-HJV/Hepsidin 相互协调维持机体铁稳态^[13]。现有报道显示,在癌性贫血患者中 Hepsidin 高表达,s-HJV 低表达,s-HJV/Hepsidin 轴参

与癌性贫血发病机制^[6]。本研究结果表明,血清 Hepsidin、s-HJV 与绝经后骨质疏松及骨质疏松骨折均有关,低水平 Hepsidin、高水平 s-HJV 是绝经后骨质疏松性骨折的危险因素。Liu 等^[14]也指出,Hepsidin 水平降低是导致骨质疏松、骨量丢失的主要原因。Sato 等^[15]报道也显示,Hepsidin 水平与类风湿性关节炎患者股骨密度呈正相关。推测 Hepsidin 参与绝经后骨质疏松骨折的机制为:(1) Hepsidin 缺乏时,骨组织中 β -连环蛋白(β -catenin)与叉头盒 O3a(FOXO3a)结合,抑制 β -catenin 与 Wnt 转录因子 TCF4 / TCF7L2 的结合,干扰 Wnt / β -catenin 信号通路引起骨质流失^[16]。(2) Hepsidin 可通过骨形态发生蛋白 2 (BMP2) / Smad、促分裂原激活蛋白激酶 (MAPK) / P38 信号通路促使成骨细胞分化^[17],Hepsidin 缺乏则引起成骨细胞合成减少,骨量丢失甚至发生脆性骨折。(3) Hepsidin、s-HJV 相互作用维持机体铁稳态,s-HJV 过表达抑制 Hepsidin 合成,导致机体循环血游离铁增加,当铁沉积于骨组织时诱导氧化应激反应,铁氧化酶可抑制骨钙素、骨碱性磷酸酶活性进而抑制骨形成^[18]。

正常情况下骨基质在骨代谢中有序分解和合成,骨代谢异常时可导致成骨和破骨细胞功能障碍,骨重建失衡,因此骨代谢指标常被用于预测骨质疏松性骨折风险。I 型胶原蛋白是骨基质的主要蛋白质,在骨形成过程中被切割为 P I NP 和 P I CP,并释放进入循环,与 P I CP 比较,P I NP 性质稳定,其水平不受饮食因素影响。血清 P I NP 水平常被用于乳腺癌患者骨转移、老年人骨质疏松性骨折及抗骨质疏松疗效评估等^[19-20]。本研究发现,绝经后骨质疏松患者血清

s-P I NP水平与桡骨远端、腰椎、股骨颈、全髌、胫骨骨密度呈负相关。以往研究报道也指出,绝经后骨质疏松女性血清 s-P I NP 水平高于健康对照组,P I NP 水平与骨密度呈负相关,与本研究结论一致^[21]。骨质疏松患者血清 s-P I NP 水平升高的原因为:当骨质疏松发生时,骨量严重流失,骨吸收增加,I 型胶原降解代偿性增加,因此导致其降解片段在血清中水平增加^[22]。本研究结果显示,血清 Hepcidin、s-P I NP、s-HJV 预测绝经后骨质疏松骨折均具有一定价值,但是单独指标预测效能不够理想,Hepcidin、s-P I NP、s-HJV 等 3 项指标联合检测可提高对绝经后骨质疏松骨折的预测效能,可为临床提供更准确的信息。

综上,血清 Hepcidin 缺乏和 s-P I NP、s-HJV 增加与绝经后骨质疏松及骨质疏松性骨折的发生均有关,三者可作为绝经后骨质疏松患者骨折的预测指标。本研究局限之处在于未观察男性骨质疏松患者血清 Hepcidin、s-P I NP、s-HJV 水平,三者指标是否受性激素影响尚不能确定,在以后研究中需进一步拓宽样本范围加以证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

高维松:提出研究思路,设计研究方案,实施研究过程,分析试验数据,进行统计学分析,论文撰写;陈荣、王隆辉:资料搜集整理;吴昌新:论文审核、论文修改

参考文献

- [1] 顾巧萍,吴丽平,孙微.绝经后骨质疏松症的患病率及危险因素研究[J].中国妇幼保健,2020,35(22):4158-4162. DOI:10.19829/j. zgfybj. issn. 1001-4411. 2020. 22. 001.
- [2] 黄雪珍,张建东,官荣光,等.1 768 例中老年妇女绝经后骨质疏松患病率及危险因素调查分析[J].检验医学与临床,2016,13(13):1841-1843. DOI:10.3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 13. 038.
- [3] 林婕,张丽华,沈芸.477 例骨质疏松性骨折患者生存质量分析[J].昆明医科大学学报,2016,37(1):69-72. DOI:10.3969/j. issn. 1003-4706. 2016. 01. 016.
- [4] Si L, Winzenberg TM, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis related fractures and costs in China: 2010—2050 [J]. Osteoporos Int, 2015,26(7):1929-1937. DOI: 10.1007/s00198-015-3093-2.
- [5] 张辉,王爱飞,吴加东,等.铁调素过表达对雌性去势小鼠铁代谢和骨代谢指标的影响[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2018,11(4):375-379. DOI:10.3969/j. issn. 1674-2591. 2018. 04. 008.
- [6] 史玉娟,潘湘涛.癌性贫血患者血清 BMP6 和 BMP4 水平变化及其与 Hepcidin 和 s-HJV 的关系[J].现代检验医学杂志,2014,29(2):41-43. DOI:10.3969/j. issn. 1671-7414. 2014. 02. 012.
- [7] Bell KJ, Hayen A, Glasziou P, et al. Potential usefulness of BMD and bone turnover monitoring of zoledronic acid therapy among women with osteoporosis: Secondary analysis of randomized con-

- trolled trial data[J]. J Bone Miner Res, 2016,31(9):1767-1773. DOI:10.1002/jbmr. 2847.
- [8] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2017,10(5):413-444. DOI:10.3969/j. issn. 1007-9572. 2017. 00. 118.
- [9] 陈怡洁,金雪静,王雪,等.雌激素及炎症因子与绝经后骨质疏松相关研究进展[J].国际妇产科学杂志,2020,47(6):712-715. DOI:10.3969/j. issn. 1674-1870. 2020. 06. 023.
- [10] 张智海,朱钧,蓝旭,等.中国人骨质疏松症诊断标准专家共识(第三稿·2014 版)[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(9):1007-1010. DOI:10.3969/j. issn. 1006-7108. 2014. 09. 001.
- [11] Jeney V. Clinical impact and cellular mechanisms of iron overload-associated bone loss [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 77. DOI: 10.3389/fphar. 2017. 00077.
- [12] Saneela S, Iqbal R, Raza A, et al. Hepcidin: A key regulator of iron [J]. J Pak Med Assoc, 2019, 69(8):1170-1175.
- [13] 邵红,陆晔,程旭,等.铁调素、骨形成蛋白、铁调素调节蛋白在肠癌组织中的表达及其临床意义[J].临床合理用药杂志,2016(24):157-160. DOI:10.15887/j. cnki. 13-1389/r. 2016. 24. 081.
- [14] Liu B, Liu C, Zhong W, et al. Reduced hepcidin level features osteoporosis [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3):1963-1967. DOI: 10.3892/etm. 2018. 6410.
- [15] Sato H, Takai C, Kazama JJ, et al. Serum hepcidin level, iron metabolism and osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis [J]. Sci Rep, 2020, 10(1):9882. DOI:10.1038/s41598-020-66945-3.
- [16] Li G, Zhang H, Wu J, et al. Hepcidin deficiency causes bone loss through interfering with the canonical Wnt/ β -catenin pathway via Forkhead box O3a [J]. J Orthop Translat, 2020, 23:67-76. DOI:10.1016/j. jot. 2020. 03. 012.
- [17] Lu H, Lian L, Shi D, et al. Hepcidin promotes osteogenic differentiation through the bone morphogenetic protein 2/small mothers against decapentaplegic and mitogen-activated protein kinase/P38 signaling pathways in mesenchymal stem cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(1):143-150. DOI:10.3892/mmr. 2014. 2769.
- [18] Zarjou A, Jeney V, Arosio P, et al. Ferritin ferroxidase activity: A potent inhibitor of osteogenesis [J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(1):164-172. DOI:10.1359/jbmr. 091002.
- [19] Zuo CT, Yin DC, Fan HX, et al. Study on diagnostic value of P1NP and β -CTX in bone metastasis of patients with breast cancer and the correlation between them [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(12):5277-5284. DOI:10.26355/eurrev_201906_18194.
- [20] Anastasilakis AD, Papapoulos SE, Polyzos SA, et al. Zoledronate for the prevention of bone loss in women discontinuing denosumab treatment. A prospective 2-year clinical trial [J]. J Bone Miner Res, 2019, 34(12):2220-2228. DOI:10.1002/jbmr. 3853.
- [21] 王雅纯,周少法,张翔. IL-33 与绝经后骨质疏松女性骨密度和骨代谢指标相关性研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(12):1806-1809. DOI:10.3969/j. issn. 1006-7108. 2020. 12. 016.
- [22] 华仲森,陈之青.绝经后骨质疏松性腰椎骨折患者血清 β -CTX、P1NP 的水平及意义 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(7):1642-1643. DOI:10.3969/j. issn. 1005-9202. 2018. 07. 045.

(收稿日期:2021-05-26)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 016

论著 · 基础

绞股蓝提取物通过调控 lncRNA PICSAR 对 IL-1 β 诱导软骨细胞损伤的保护作用及机制研究

刘文斌, 李艳兵, 周焱涛

基金项目: 湖北省卫生计生委科研项目 (JX6B36)

作者单位: 445000 湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院脊柱外科

通信作者: 刘文斌, E-mail: lwb1968@yeah. net

【摘要】目的 探讨绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导软骨细胞损伤的作用及分子机制。**方法** 2020 年 10 月—2021 年 4 月于湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院进行实验, 将关节软骨细胞随机分为对照 (NC) 组、IL-1 β 组及绞股蓝提取物低、中、高剂量组、IL-1 β + si-con 组、IL-1 β + si-lncRNA PICSAR 组、pcDNA-con + 高剂量组、pcDNA-lncRNA PICSAR + 高剂量组, 分别对其进行干预水平; 用细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 检测细胞活力, 流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 蛋白质印迹 (Western-blot) 法检测裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Cleave-caspase-3) 蛋白表达水平; 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测丙二醛 (MDA) 水平和超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性; 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测 lncRNA PICSAR 表达水平。**结果** 与 NC 组比较, IL-1 β 组细胞活力及 SOD、CAT 活性降低, 凋亡率升高, Cleave-caspase-3 表达水平、MDA 水平、lncRNA PICSAR 表达水平升高 ($P < 0.05$)。与 IL-1 β 组比较, 绞股蓝提取物低、中、高剂量组, 软骨细胞活力及 SOD、CAT 活性依次升高 ($F/P = 119.735/0.000, 5.289/0.002, 334.948/0.000$), 凋亡率、Cleave-caspase-3 表达水平、MDA 水平、lncRNA PICSAR 表达水平依次降低 ($F/P = 430.551/0.000, 137.513/0.000, 383.769/0.000, 254.805/0.000$)。与 IL-1 β + si-con 组比较, IL-1 β + lncRNA PICSAR 组软骨细胞活力升高, Cleave-caspase-3 表达水平降低, 细胞凋亡率降低, MDA 水平降低, SOD 和 CAT 活性升高 ($t/P = 18.317/0.000, 14.884/0.000, 27.691/0.000, 29.684/0.000, 25.008/0.000, 28.737/0.000$)。与 pcDNA-con + 高剂量组比较, pcDNA-lncRNA PICSAR + 高剂量组 lncRNA PICSAR 表达水平升高, 软骨细胞活力降低, Cleave-caspase-3 表达水平升高, 细胞凋亡率升高, MDA 水平升高, SOD 和 CAT 活性降低 ($t/P = 13.349/0.000, 14.969/0.000, 27.871/0.000, 20.234/0.000, 24.811/0.000, 23.971/0.000$)。**结论** 绞股蓝提取物通过下调 lncRNA PICSAR 抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡和氧化应激, 减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤。

【关键词】 骨关节炎; 绞股蓝提取物; lncRNA PICSAR; 软骨细胞; 凋亡; 氧化应激

【中图分类号】 R681.3; R684.3

【文献标识码】 A

The protective effect and mechanism of gynostemma pentaphyllum extract on IL-1 β -induced chondrocyte damage by regulating lncRNA PICSAR Liu Wenbin, Li Yanbing, Zhou Yantao. Department of Spine Surgery, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hubei Province, Enshi 445000, China

Corresponding author: Lin Wenbin, E-mail: lwb1968@yeah. net

Funding program: Scientific Research Project of Hubei Provincial Health and Family Planning Commission (JX6B36)

【Abstract】Objective To explore the effect of Gynostemma pentaphyllum extract on interleukin 1 β (IL1 β)-induced chondrocyte damage and its molecular mechanism. **Methods** From October 2020 to April 2021, experiments were conducted at the Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hubei Province, and articular chondrocytes were randomly divided into control (NC) group, IL-1 β group, gynostemma pentaphyllum extract low, medium and high dose group, IL-1 β + si con group, IL-1 β + si lncRNA PICSAR group, pcDNA con + high-dose group, and pcDNA lncRNA PICSAR + high-dose group were treated with intervention levels. Cell counting kit 8 (CCK-8) was used to detect cell viability, flow cytometry was used to detect cell apoptosis, and Western blot was used to detect the expression level of cleaved Cleave caspase 3 (Cleave caspase-3) protein. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) detects malondialdehyde (MDA) levels and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities. Real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) detects the expression level of lncRNA PICSAR. **Results** Compared with IL-1 β group, gynostemma pentaphyllum extract low,

medium and high dose group, chondrocyte viability, SOD and CAT activities increased ($F/P = 119.735/0.000, 5.289/0.002, 334.948/0.000$), apoptosis rate, Cleave caspase3 expression level, MDA level, lncRNA PICSAR expression level decreased sequentially ($F/P = 1430.551/0.000, 137.513/0.000, 383.769/0.000, 254.805/0.000$). Compared with the IL-1 β + si con group, the IL-1 β + lncRNA PICSAR group showed increased chondrocyte viability, decreased Cleave caspase-3 expression level, decreased cell apoptosis rate, decreased MDA level, and increased SOD and CAT activities ($t/P = 18.317/0.000, 14.884/0.000, 27.691/0.000, 29.684/0.000, 25.008/0.000, 28.737/0.000$). Compared with the pcDNA con + high-dose group, the pcDNA lncRNA PICSAR + high-dose group lncRNA PICSAR expression level increased, chondrocyte viability decreased, Cleave caspase3 expression level increased, cell apoptosis rate increased, MDA level increased, SOD and CAT activities decreased ($t/P = 13.349/0.000, 14.969/0.000, 27.871/0.000, 20.234/0.000, 24.811/0.000, 23.971/0.000$). **Conclusion** Gynostemma extract inhibits IL1 β -induced chondrocyte apoptosis and oxidative stress by down-regulating lncRNA PICSAR, and reduces IL1 β -induced chondrocyte damage.

【Key words】 Osteoarthritis; Gynostemma pentaphyllum extract; lncRNA PICSAR; Chondrocyte; Apoptosis; Oxidative stress

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种随着年龄增长发病率逐渐增加的慢性关节疾病,其发病机制复杂,涉及氧化应激、软骨细胞凋亡、细胞外基质降解及滑膜炎性反应等^[1-4]。近年来发现中医药治疗骨关节炎疗效确切,能够多靶点、多途径发挥治疗作用^[5-6]。因此,开发可用于治疗骨关节炎的中药对改善患者生活质量具有重要意义。绞股蓝为绞股蓝属植物的全草,其含有多种无机元素等,研究报道绞股蓝皂苷提取物对痛风性关节炎相关的炎性疼痛发挥镇痛作用^[7]。绞股蓝总苷颗粒可通过清除活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 减轻大鼠胶原诱导性关节炎的症状。绞股蓝皂苷抑制白介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β) 诱导的人骨关节炎软骨细胞炎性反应^[8]。然而绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导软骨细胞损伤的影响及机制尚不清楚。研究发现长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 在包括关节炎在内的各种自身免疫性疾病中起着关键作用^[9]。研究报道 lncRNA PICSAR 在类风湿关节炎滑液中的表达明显升高,通过刺激 miR-4701-5p 促进成纤维样滑膜细胞的增殖、迁移和侵袭,进而造成关节破坏^[10]。说明 lncRNA PICSAR 可影响关节炎的发生发展。然而 lncRNA PICSAR 对 IL-1 β 诱导软骨细胞损伤的影响,及绞股蓝提取物是否调控 lncRNA PICSAR 也尚不清楚。因此,本实验旨在研究绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导软骨细胞损伤的影响及机制是否与 lncRNA PICSAR 有关,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞:人关节软骨细胞购自美国 sciencell 公司;(2) 试剂:绞股蓝提取物 (纯度 > 98%) 购自南京道斯夫生物科技有限公司;DMEM 培养基购自上海中乔新舟生物科技有限公司;IL-1 β 购自上海烜雅生物科技有限公司;细胞计数试剂盒 8

(cell counting kit-8, CCK-8) 购自北京泰泽嘉业科技发展有限公司;凋亡检测试剂盒购自上海信帆生物科技有限公司;蛋白提取试剂盒购自美国 Invent 公司;丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 水平检测试剂盒、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;荧光定量 PCR 试剂盒购自上海研卉生物科技有限公司;(3) 仪器设备:Multiskan FC 酶标仪购自美国 Thermo 公司;FACS caliber 流式细胞仪购自美国 BD 公司;VCX750 超声波细胞破碎仪购自美国 Sonics 公司。

1.2 实验方法 2020 年 10 月—2021 年 4 月于湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院进行实验。(1) 软骨细胞用 DMEM 培养基在 37℃ 的孵育箱中培养,取对数生长期细胞,正常培养的细胞作为对照 (NC) 组;用 10 ng/ml 的 IL-1 β 作用软骨细胞 (诱导软骨细胞模拟其损伤) 作为 IL-1 β 组,分别用浓度为 5、10、20 μ g/ml 的绞股蓝提取物和 10 ng/ml 的 IL-1 β 处理软骨细胞,记为绞股蓝提取物低、中、高剂量组;(2) 将 PICSAR 抑制表达质粒及阴性对照转染至软骨细胞 6 h 后,用 10 ng/ml 的 IL-1 β 处理 24 h,记为 IL-1 β + si-lncRNA PICSAR 组、IL-1 β + si-con 组,研究抑制 lncRNA PICSAR 对软骨细胞损伤的影响;将 PICSAR 过表达质粒及阴性对照转染至软骨细胞后 6 h 后,用 20 μ g/ml 的绞股蓝提取物和 10 ng/ml 的 IL-1 β 处理 24 h,记为 pcDNA-lncRNA PICSAR + 高剂量组、pcDNA-con + 高剂量组,研究绞股蓝提取物和 lncRNA PICSAR 对软骨细胞损伤的影响。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 CCK-8 法检测细胞活力:各组处理软骨细胞以 2×10^3 个/孔的密度接种在 96 孔板中,培养 24 h,将 10 μ l 的 CCK-8 溶液添加到每孔中,酶标仪检测各组

细胞 450 nm 处的吸光度值(A)。

1.3.2 流式细胞术检测细胞凋亡:收集各组处理软骨细胞,用预冷的 PBS 漂洗 2 次,加入结合缓冲液($1 \times$ Binding Buffer)400 μ l 重悬,然后加入 10 μ l 的 Annexin V-FITC 和 PI 混匀,避光孵育 10 min;以流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.3.3 蛋白质印迹(Western-blot)法检测凋亡相关蛋白 Cleave-caspase-3 的表达:提取各组软骨细胞的总蛋白,定量后通过凝胶电泳分离蛋白,然后转至聚偏二氟乙烯膜上,封闭后加入裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Cleave-caspase-3)多克隆抗体(1:800),4℃ 孵育过夜,加入山羊抗兔 IgG-HRP(1:2 000)室温孵育 2 h, ECL 发光液显影,成像后用 Quantity One 分析蛋白条带的灰度值,以 Cleave-caspase-3/ β -actin 条带的比值作为蛋白相对表达水平。

1.3.4 酶联免疫吸附法(ELISA)检测氧化应激性指标 MDA 水平和 SOD、CAT 活性:收集各组培养 48 h 的细胞,超声 10 min 使细胞裂解,2 000 r/min 离心 20 min 取上清,各项指标均严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3.5 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 lncRNA PICSAR 表达水平:提取各组细胞的总 RNA,反转录成 cDNA 后以 GAPDH 为内参进行 PCR 扩增,循环条件为 95℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s,共 40 个循环;lncRNA PICSAR 上游引物序列:5'-GCTGAAGTGCCTG-GACTTTC-3',下游引物序列:5'-GTCTGAGGAAGAG-GCACCTG-3';GAPDH 上游引物序列:5'-TGTTGCCAT-CAATCACCCCTT-3',下游引物序列:5'-CTCCACGACG-TACTCAGCG-3'。相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各组 lncRNA PICSAR 表达水平。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较行 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞活力及细胞凋亡的影响 与 NC 组比较,IL-1 β 组软骨细胞活力降低、凋亡率升高,Cleave-caspase-3 表达水平升高($P < 0.05$);与 IL-1 β 组比较,绞股蓝提取物低、中、高剂量组软骨细胞活力依次升高、凋亡率依次降低,Cleave-caspase-3 表达水平依次降低(P 均 < 0.05),见图 1、表 1。

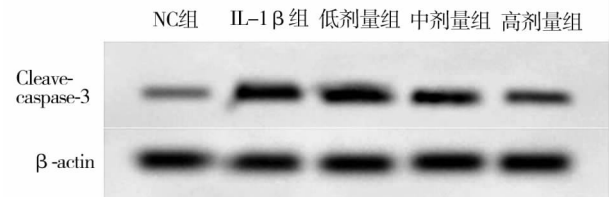


图 1 不同浓度绞股蓝提取物对 OA 软骨细胞 Cleave-caspase-3 蛋白表达的影响

表 1 不同浓度绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞活力及细胞凋亡影响的比较 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组 别	细胞活力(A 值)	细胞凋亡率(%)	Cleave-caspase-3
NC 组	0.968 $\pm$ 0.07	7.36 $\pm$ 0.43	0.38 $\pm$ 0.02
IL-1 β 组	0.436 $\pm$ 0.03 ^a	23.69 $\pm$ 1.63 ^a	0.84 $\pm$ 0.07 ^a
低剂量组	0.573 $\pm$ 0.05 ^b	17.92 $\pm$ 1.02 ^b	0.71 $\pm$ 0.07 ^b
中剂量组	0.725 $\pm$ 0.06 ^b	12.43 $\pm$ 0.86 ^b	0.58 $\pm$ 0.03 ^b
高剂量组	0.896 $\pm$ 0.08 ^b	8.43 $\pm$ 0.51 ^b	0.43 $\pm$ 0.03 ^b
F 值	119.735	430.551	137.513
P 值	0.000	0.000	0.000

注:OA. 骨关节炎;Cleave-caspase-3. 裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3。与 NC 组比较,^a $P < 0.05$;与 IL-1 β 组比较,^b $P < 0.05$

2.2 不同浓度绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞氧化应激影响的比较 与 NC 组比较,IL-1 β 组软骨细胞中 MDA 水平升高,SOD 和 CAT 活性降低($P < 0.05$);与 IL-1 β 组比较,绞股蓝提取物低、中、高剂量组软骨细胞中 MDA 水平依次降低,SOD 和 CAT 活性依次升高(P 均 < 0.05),见表 2。

表 2 不同浓度绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞氧化应激影响的比较 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

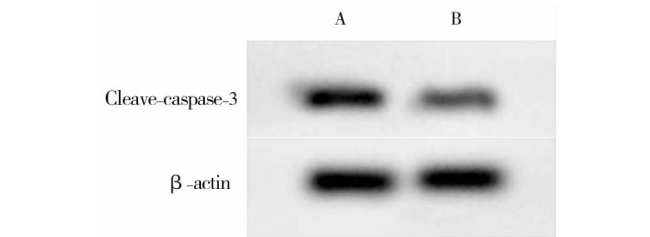
组 别	MDA(μ mol/g)	SOD(U/mg)	CAT(U/mg)
NC 组	16.96 $\pm$ 1.13	15.28 $\pm$ 0.76	11.51 $\pm$ 0.57
IL-1 β 组	38.06 $\pm$ 1.16 ^a	6.43 $\pm$ 0.31 ^a	4.69 $\pm$ 0.27 ^a
低剂量组	32.71 $\pm$ 1.86 ^b	8.76 $\pm$ 0.32 ^b	7.39 $\pm$ 0.41 ^b
中剂量组	25.03 $\pm$ 1.52 ^b	12.35 $\pm$ 0.81 ^b	9.86 $\pm$ 0.53 ^b
高剂量组	18.25 $\pm$ 1.17 ^b	14.59 $\pm$ 11.02 ^b	11.05 $\pm$ 0.49 ^b
F 值	383.769	5.289	334.948
P 值	0.000	0.002	0.000

注:OA. 骨关节炎;MDA. 丙二醛;SOD. 超氧化物歧化酶;CAT. 过氧化氢酶。与 NC 组比较,^a $P < 0.05$;与 IL-1 β 组比较,^b $P < 0.05$

2.3 不同浓度绞股蓝提取物对 lncRNA PICSAR 表达比较 与 NC 组比较,IL-1 β 组软骨细胞中 lncRNA PICSAR 表达水平升高(1.00 ± 0.10 vs. 2.68 ± 0.17 , $P < 0.05$);与 IL-1 β 组比较,绞股蓝提取物低、中、高剂量组软骨细胞中 lncRNA PICSAR 表达水平依次降低(2.17 ± 0.15 、 1.68 ± 0.12 、 1.21 ± 0.09),差异有统计学意义($F = 254.805$, $P = 0.000$)。

2.4 抑制 lncRNA PICSAR 对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨

细胞活力、细胞凋亡及氧化应激的影响比较 与 IL-1 β + si-con 组比较, IL-1 β + si-lncRNA PICSAR 组 lncRNA PICSAR 表达水平、Cleave-caspase-3 表达水平、细胞凋亡率、MDA 水平均降低, 软骨细胞活力及 SOD、CAT 活性均升高 ($P < 0.01$), 见图 2, 表 3。



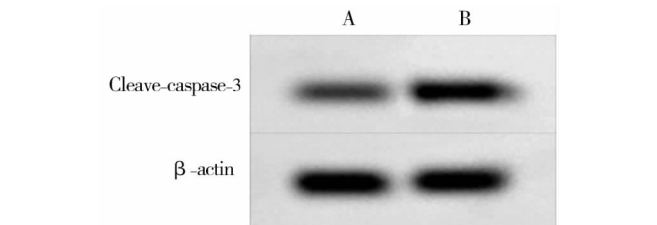
注: A. IL-1 β + si-con 组; B. IL-1 β + si-lncRNA PICSAR 组; Cleave-caspase-3. 裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3

图 2 抑制 lncRNA PICSAR 对凋亡蛋白 Cleave-caspase-3 表达的影响

2.5 lncRNA PICSAR 过表达在绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞活力、细胞凋亡及氧化应激中的影响 与 pcDNA-con + 高剂量组比较, pcDNA-lncRNA PICSAR + 高剂量组 lncRNA PICSAR 表达水平、Cleave-caspase-3 表达水平、细胞凋亡率、MDA 水平升高, 软骨细胞活力及 SOD、CAT 活性均降低 ($P < 0.05$), 见图 3、表 4。

3 讨论

骨关节炎是一种以关节软骨进行性退化为特征的骨关节疾病, 软骨细胞是关节软骨中的唯一细胞, 软骨细胞凋亡可直接导致关节软骨退变甚至钙化, 影响关节功能^[11-12]。研究表明氧化应激参与了骨关节炎的



注: A. pcDNA-con + 高剂量组; B. pcDNA-lncRNA PICSAR + 高剂量组; Cleave-caspase-3. 裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3

图 3 过表达 lncRNA PICSAR 和绞股蓝提取物对凋亡蛋白 Cleave-caspase-3 表达的影响

病理过程, 氧化应激可促使软骨细胞凋亡甚至导致病理损伤^[13-15]。本实验用 IL-1 β 诱导软骨细胞模拟其损伤情况, 结果显示, 软骨细胞活力降低, 凋亡率升高, MDA 水平升高, SOD 和 CAT 活性降低; 表明 IL-1 β 诱导了软骨细胞凋亡和氧化应激的产生。研究报道绞股蓝皂苷对过氧化氢诱导的成骨细胞氧化应激损伤具有一定的保护作用, 并对损伤的成骨细胞有促进增殖分化的作用^[16-17]。绞股蓝总苷通过提高血管内皮细胞抗氧化活性对血管内皮细胞损伤起保护作用^[18]。绞股蓝皂苷通过同时抑制神经元氧化应激和炎症反应来预防过氧化氢诱导的视网膜神经节细胞凋亡^[19]。以上研究表明, 绞股蓝的有效成分皂苷具有抗氧化作用。为研究绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤是否有影响, 本实验用不同剂量绞股蓝提取物处理 IL-1 β 诱导的软骨细胞, 结果显示, 软骨细胞活力升高, 凋亡率降低, Cleave-caspase-3 表达水平降低, MDA 水平降低, SOD 和 CAT 活性升高。Cleave-caspase-3 是凋亡相关蛋白, 其表达水平升高表明细胞凋亡增多, 因此,

表 3 抑制 lncRNA PICSAR 对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞活力、细胞凋亡及氧化应激的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	lncRNA PICSAR	细胞活力 (A 值)	Cleave-caspase-3	细胞凋亡率 (%)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (U/mg)	CAT (U/mg)
IL-1 β + si-con 组	1.00 $\pm$ 0.09	0.431 $\pm$ 0.03	0.82 $\pm$ 0.07	23.42 $\pm$ 1.34	38.15 $\pm$ 1.86	6.55 $\pm$ 0.27	4.98 $\pm$ 0.17
IL-1 β + si-lncRNA PICSAR 组	0.42 $\pm$ 0.03	0.896 $\pm$ 0.07	0.42 $\pm$ 0.04	9.83 $\pm$ 0.61	17.16 $\pm$ 1.02	12.96 $\pm$ 0.72	14.98 $\pm$ 1.03
t 值	18.341	18.317	14.884	27.691	29.684	25.008	28.737
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: OA. 骨关节炎; lncRNA PICSAR. 长链 RNA PICSAR; Cleave-caspase-3. 裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3; MDA. 丙二醛; SOD. 超氧化物歧化酶; CAT. 过氧化氢酶

表 4 过表达 lncRNA PICSAR 在绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞活力、细胞凋亡及氧化应激的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	lncRNA PICSAR	细胞活力 (A 值)	Cleave-caspase-3	细胞凋亡率 (%)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (U/mg)	CAT (U/mg)
pcDNA-con + 高剂量组	1.00 $\pm$ 0.09	0.893 $\pm$ 0.08	0.41 $\pm$ 0.03	8.47 $\pm$ 0.36	18.19 $\pm$ 1.06	14.38 $\pm$ 0.82	11.27 $\pm$ 0.73
pcDNA-lncRNA PICSAR + 高剂量组	1.87 $\pm$ 0.13	0.495 $\pm$ 0.04	0.79 $\pm$ 0.07	21.54 $\pm$ 1.36	29.82 $\pm$ 1.36	6.94 $\pm$ 0.37	5.13 $\pm$ 0.24
t 值	16.507	13.349	14.969	27.871	20.234	24.811	23.971
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: OA. 骨关节炎; lncRNA PICSAR. 长链 RNA PICSAR; Cleave-caspase-3. 裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3; MDA. 丙二醛; SOD. 超氧化物歧化酶; CAT. 过氧化氢酶

本实验结果表明绞股蓝提取物可抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡和氧化应激。

研究表明, lncRNA 参与调控骨关节炎软骨细胞损伤^[20]。研究报道, lncRNA MALAT1 通过调节 miR-150-5p/AKT3 轴促进软骨细胞增殖, 抑制细胞凋亡和细胞外基质降解^[21]。lncRNA NR024118 过表达可抑制脂多糖诱导的软骨细胞凋亡、氧化应激和炎症反应^[22]。而 lncRNA PICSAR 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞的影响尚不清楚。本结果显示, IL-1 β 诱导的软骨细胞中 lncRNA PICSAR 表达水平升高, 提示 lncRNA PICSAR 可能参与软骨细胞损伤过程。进一步抑制 lncRNA PICSAR 表达后, 软骨细胞活力升高, Cleave-caspase-3 表达水平降低, 细胞凋亡率降低, MDA 水平降低, SOD 和 CAT 活性升高; 表明抑制 lncRNA PICSAR 表达可抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡和氧化应激。过表达 lncRNA PICSAR 能够逆转绞股蓝提取物对 IL-1 β 诱导的软骨细胞活力、细胞凋亡及氧化应激的影响。

综上, 绞股蓝提取物通过下调 lncRNA PICSAR 抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡和氧化应激, 减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘文斌: 设计研究方案, 课题设计, 实施研究过程, 论文撰写; 李艳兵: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 周焱涛: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改, 进行统计学分析

参考文献

- [1] 王新军, 袁银鹏, 王越, 等. 软骨细胞凋亡引发骨关节炎的机制研究进展[J]. 山东医药, 2020, 60(2): 114-117. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2020. 02. 034.
- [2] 韩广波, 李皓恒, 蔡伟松, 等. 骨关节炎中的氧化应激信号通路研究进展[J]. 中国医药导报, 2020, 17(9): 35-38. DOI: CNKI: SUN: YYCY. 0. 2020-09-009.
- [3] Castrogiovanni P, Ravalli S, Musumeci G. Apoptosis and autophagy in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. J Invest Surg, 2020, 33(9): 874-875. DOI: 10. 1080/08941939. 2019. 1576811.
- [4] Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129: 110452. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2020. 110452.
- [5] 崔世奎, 杨海燕, 何宝丰. 中医药治疗骨关节炎作用机理研究概述[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(18): 140-142. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-2779. 2019. 18. 058.
- [6] Wang M, Liu L, Zhang CS, et al. Mechanism of traditional Chinese medicine in treating knee osteoarthritis[J]. J Pain Res, 2020, 13: 1421-1429. DOI: 10. 2147/JPR. S247827.
- [7] 史坤, 王娜, 尚小玉, 等. 绞股蓝提取物对痛风性关节炎大鼠的镇痛作用[J]. 营养学报, 2013, 35(6): 594-598. DOI: CNKI:

- SUN: YYXX. 0. 2013-06-020.
- [8] Wan ZH, Zhao Q. Gypenoside inhibits interleukin-1 β -induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2017, 31(9): e21926. DOI: 10. 1002/jbt. 21926.
- [9] 夏芳芳, 胡明智, 孙慧莹, 等. lncRNA 在自身免疫性疾病中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(15): 1907-1912. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-484X. 2019. 15. 023.
- [10] Bi X, Guo XH, Mo BY, et al. lncRNA PICSAR promotes cell proliferation, migration and invasion of fibroblast-like synoviocytes by sponging miRNA-4701-5p in rheumatoid arthritis[J]. EBioMedicine, 2019, 50: 408-420. DOI: 10. 1016/j. ebiom. 2019. 11. 024.
- [11] 王文涛, 李斯明. 骨关节炎关节软骨细胞凋亡的研究进展[J]. 中国骨科临床与基础研究杂志, 2019, 11(3): 180-188. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-666X. 2019. 03. 007.
- [12] Barreto G, Manninen M, K Eklund K. Osteoarthritis and Toll-like receptors: When innate immunity meets chondrocyte apoptosis[J]. Biology, 2020, 9(4): 65. DOI: 10. 3390/biology9040065.
- [13] 王贞文, 彭吾训. 氧化应激在骨关节炎中的研究进展[J]. 医药前沿, 2018, 8(35): 8-9. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-1752. 2018. 35. 004.
- [14] Zahan OM, Serban O, Gherman C, et al. The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis[J]. Med Pharm Rep, 2020, 93(1): 12-22. DOI: 10. 15386/MPR-1422.
- [15] 朱琳, 孙玄静, 陈鹏, 等. 硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对膝骨性关节炎软骨修复作用机制研究[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(5): 490-495. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 05. 013.
- [16] 林燕平, 黄佳纯, 陈桐莹, 等. 绞股蓝皂苷减轻 H₂O₂ 诱导大鼠成骨细胞氧化应激损伤的机制[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(23): 3649-3653. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-4344. 2725.
- [17] 张子龙, 李雯珊, 滕菲, 等. 绞股蓝总苷提取物及总苷片的质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(24): 5976-5981. DOI: 10. 19540/j. cnki. ejcmm. 20200922. 302.
- [18] 马翔, 闫霖. 绞股蓝总苷对氧化低密度脂蛋白损伤血管内皮细胞的保护作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(2): 472-475. DOI: 10. 13193/j. issn. 1673-7717. 2018. 02. 057.
- [19] Zhang HK, Ye Y, Li KJ, et al. Gypenosides prevent H₂O₂-induced retinal ganglion cell apoptosis by concurrently suppressing the neuronal oxidative stress and inflammatory response[J]. J Mol Neurosci, 2020, 70(4): 618-630. DOI: 10. 1007/s12031-019-01468-9.
- [20] 何璐, 李彦林, 王国梁, 等. 长链非编码 RNA 在骨关节炎软骨损伤中的调控作用[J]. 中国修复重建外科杂志, 2020, 34(11): 135-140. DOI: 10. 7507/1002-1892. 202002109.
- [21] Zhang Y, Wang F, Chen G, et al. lncRNA MALAT1 promotes osteoarthritis by modulating miR-150-5p/AKT3 axis[J]. Cell Biosci, 2019, 9(1): 54. DOI: 10. 1186/s13578-019-0302-2.
- [22] Mei X, Tong J, Zhu W, et al. lncRNA-NR024118 overexpression reverses LPS-induced inflammatory injury and apoptosis via NF- κ B/NRF2 signaling in ATDC5 chondrocytes[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4): 3867-3873. DOI: 10. 3892/mm. 2019. 10639.

(收稿日期: 2021-05-11)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 017

罕见病病例

乳腺罗道病 1 例

杨敏, 赵国林, 张东伟

作者单位: 150086 哈尔滨医科大学附属第二医院乳腺外科

通信作者: 张东伟, E-mail: mugong0@163.com

【关键词】 罗道病; 乳腺; 鉴别诊断; 治疗

【中图分类号】 R551.2

【文献标识码】 B

患者,女,64岁,因“发现左乳肿块6个月”于2020年1月2日入院。入院前6个月患者无意中发现左乳一肿块,“鸽子蛋”大小,不伴乳头溢液,无周期性疼痛,肿块增长缓慢。查体:神志清楚,自主体位,无特殊病容,全身浅表淋巴结未扪及肿大,双乳对称,左乳内上肿块部位皮肤发红,皮温不高,无酒窝征及橘皮样变,乳头无明显分泌物,左乳内上象限可触及一肿块,大小5 cm×3 cm,无压痛,质硬,边界不清,形状不规则,活动度欠佳,与周围组织界限不清,双腋下、锁骨上及胸骨旁未触及肿大淋巴结。血常规、肝肾功能未见异常。乳腺彩色超声:左乳低一无回声区,其内低回声团块(BI-RADS4a级),左腋下淋巴结轻度肿大。完善术前准备后于2020年1月6日行左乳区段切除术,术中病变组织肉眼观:质地硬,边界不清,剖面呈灰白色或灰黄色。术后病理回报:左乳区段皮下组织内见大量淋巴、浆细胞及组织细胞浸润,淋巴滤泡形成(图1),未做免疫组化,诊断罗道病(RDD)。患者术后6个月、1年复查恢复良好,未见复发。

讨论 罗道病(Rosai-Dorfman disease, RDD)又称窦组织细胞增生伴巨大淋巴结病,是一种少见、特发性的良性组织细胞增生性疾病,最初由Destombes于1965年描述,1969年Rosai和Dorfman进一步阐述并命名^[1]。

RDD多累及颈部淋巴结,淋巴结外受累约占43%,单纯累及乳房病例罕见,国内外文献已报道的乳腺RDD病例不到40例,且多为乳腺单发^[2]。RDD病因不明,可能与免疫力低下或自身免疫系统紊乱、病毒感染、Fas/FasL信号传导通路破坏有关^[3,4]。RDD典型临床表现是颈部无痛淋巴结肿大,可伴有低热、体质量减轻、盗汗。单纯累及乳房时常表现为乳房局部缓慢生长的无痛性肿块。实验室检查可见贫血、白细胞增多、红细胞沉降率增快等^[5]。影像学无特征表现,单纯累及乳房时影像学表现可从单纯性囊肿到乳腺癌,其中,类似乳腺癌的表现较多见^[2]。病理活检是诊断RDD的主要依据,典型病理特征:增生的组织细胞胞质中可见完整的淋巴细胞,并可有浆细胞等,淋巴细胞较多时会沿着胞质周边分布,呈淋巴细胞的伸入运动或被吞噬现象;免疫组化S-100呈阳性,组织细胞CD68、CD163和α1-抗胰蛋白酶呈阳性^[6]。乳腺RDD需与朗格汉斯细胞组织细胞增生症、IgG4相关硬化性疾病、肉芽肿性乳腺炎等鉴别^[7]。本病预后较好,大多数患者症状自然消退,但易复

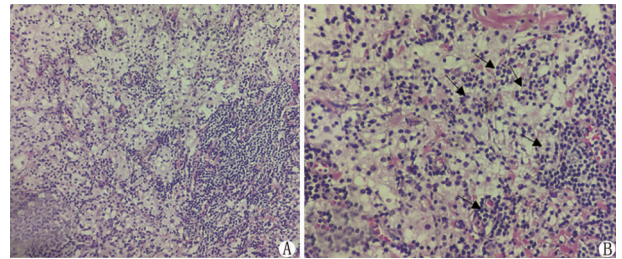


图1 乳腺罗道病患者乳腺组织病理表现(HE染色, A×200, B×400)

发和误诊^[8]。2018年RDD管理相关的共识建议:不伴淋巴结肿大、无症状性皮肤RDD患者可以观察随访;单发的结外病变,或有气道、颅内、脊柱、鼻窦等处症状者,可手术切除;多灶性、无法手术切除的结外病变,可选择全身治疗,但目前尚无标准治疗方案^[5]。

本例患者临床表现及影像学表现均与乳腺癌表现相似,仅靠临床表现和影像学检查难以进行鉴别,最终通过病理确诊。本例患者仅乳腺单发,选择手术切除,术后长期观察随访。目前患者术后6个月及1年随访术后恢复良好,未见复发。由于对RDD认识不足,术前未对患者进行全身CT、腹部超声或PET/CT等检查来确定其他部位是否也存在病变;患者术后病理考虑乳腺RDD,建议完善免疫组化进一步确认,但由于患者依从性差,拒绝做免疫组化,因此本例乳腺RDD缺少免疫组化结果,诊断依据不够充分。后续将对本例患者进行长期随访,以获取更多预后和复发的相关资料。

参考文献

- [1] Rosai J, Dorfman RF. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy. A newly recognized benign clinicopathological entity [J]. Arch Pathol, 1969, 87(1): 63-70.
- [2] Shin GW, Park YM, Heo YJ, et al. Sonographic features of Rosai-Dorfman disease in the breast: A case report [J]. Journal of Clinical Ultrasound, 2020, 48(2): 108-110. DOI: 10.1002/jcu.22781.
- [3] Chougule A, Bal A, Das A, et al. IgG4 related sclerosing mastitis: expanding the morphological spectrum of IgG4 related diseases [J]. Pathology, 2015, 47(1): 27-33. DOI: 10.1097/PAT.000000000000187.

- [4] Hoffmann JC, Lin CY, Bhattacharyya S, et al. Rosai-Dorfman disease of the breast with variable IgG4⁺ plasma cells: A diagnostic mimicker of other malignant and reactive entities[J]. The American Journal of Surgical Pathology, 2019, 43 (12): 1653-1660. DOI: 10. 1097/PAS. 0000000000001347.
- [5] Bruce-Brand C, Schneider JW, Schubert P. Rosai-Dorfman disease: an overview[J]. Clin Pathol, 2020, 73 (11): 697-705. DOI: 10. 1136/ jclinpath-2020-206733.
- [6] Junu O, Yeshwant BR, Jason LH, et al. Extra nodal Rosai-Dorfman disease originating in the nasal and paranasal complex and gnathic

bones: A systematic analysis of seven cases and review of literature[J]. Springer US, 2020, 14 (2): 442-453. DOI: 10. 1007/ s12105-019-01056-8.

- [7] Goldbach AR, Hava S, Caroline D, et al. Rosai-Dorfman disease of the breast: A potential marker of systemic disease[J]. The Breast Journal, 2019, 25 (1): 134-137. DOI: 10. 1111/tbj. 13169.
- [8] Delaney EE, Larkin A, MacMaster S, et al. Rosai-Dorfman disease of the breast[J]. Cureus, 2017, 9 (4): e1153. DOI: 10. 7759/cureus. 1153.

(收稿日期: 2020-11-30)

【DOI】 10. 3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 018

罕见病例

成年型球形细胞脑白质营养不良 1 例

冯雪丹, 于莎莎, 张玉靖, 祖煜, 高煜, 陈剑华, 马红梅, 王向波

作者单位: 100069 北京丰台右安门医院神经内科(冯雪丹、于莎莎、张玉靖、祖煜、高煜、陈剑华、马红梅); 100053 首都医科

大学宣武医院神经内科(王向波)

通信作者: 王向波, E-mail: xb90956@ sina. cn

【关键词】 球形细胞脑白质营养不良; Krabbe 病; GALC 基因; 成年起病; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R742. 8

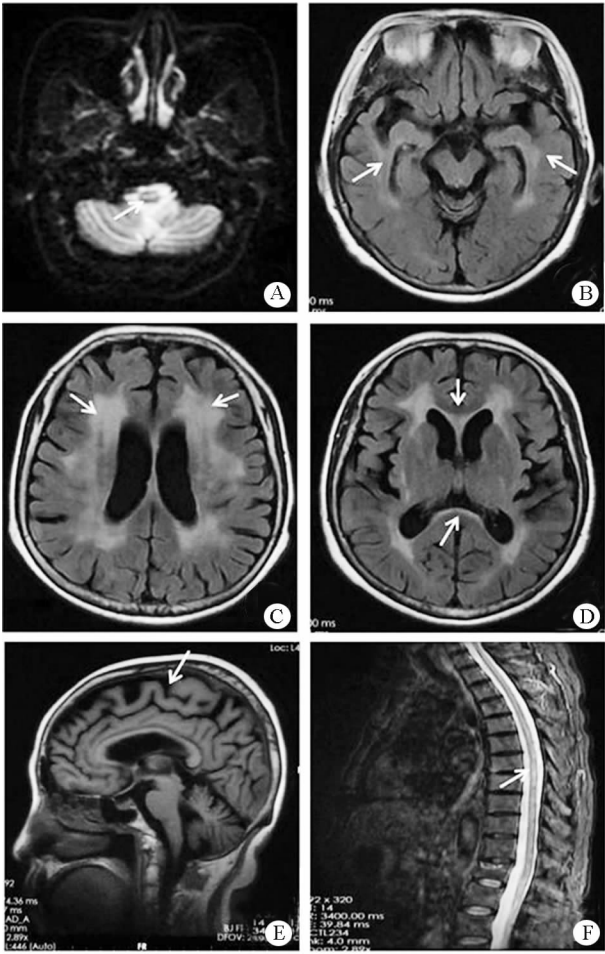
【文献标识码】 B

患者, 女, 60 岁, 主因“进行性双下肢无力 2 年余”于 2017 年 11 月入院。患者 2 年前出现双下肢僵硬无力、行走不稳, 伴头部不自主抖动。18 个月出现四肢末端麻木及前胸部束带感。双下肢无力逐渐进展, 6 个月前不能站立行走, 抬离床面困难, 伴小便失禁、言语笨拙。多次就诊于各大医院, 行头部及颈胸椎 MR 平扫示脑内、颈、胸髓内多发异常信号, 脑萎缩。考虑“多发性硬化”, 给予改善循环、营养神经等药物, 并多次行激素、丙种球蛋白治疗无明显好转。既往糖尿病史 10 余年。查体: 双上肢肌力 V 级, 双下肢肌力 III 级, 双下肢肌张力增高, 腱反射活跃, 双侧 Babinski 征、Chaddock 征阳性。脑脊液 IgA 1.69 mg/dl (正常参考值 0~0.2 mg/dl), IgG 11.9 mg/dl (正常参考值 0.48~5.86 mg/dl), 脑脊液 IgG 寡克隆区带(OB)及特异性 IgG 寡克隆区带(SOB)均阳性。头颅 MR 平扫显示双侧额叶、侧脑室旁、基底节区、颞叶海马及脑干异常密度信号灶, 双侧侧脑室对称性扩大, 脑沟、脑裂增宽; 胸椎 MR 平扫可见脊髓内线状长 T2 密度信号灶, 轴位扫描见病灶于脊髓背侧(图 1)。第二代高通量测序结果显示, 受检者(患者及其儿子)β-半乳糖脑苷脂酶(GALC)基因 c. 1418G>A 的杂合核苷酸变异(图 2)。代谢脑病 4 项中 GALC 活性为 4.2 nmol·mg⁻¹·17 h⁻¹ (正常参考值 18~75 nmol·mg⁻¹·17 h⁻¹)。诊断为成年型球形细胞脑白质营养不良(Krabbe)病, 给予 B 族维生素营养神经、巴氯芬缓解肢体痉挛状态后好转出院。患者出院后继续长期口服上述药物, 每年均静脉输注丙种球蛋白, 临床症状无明显进展。

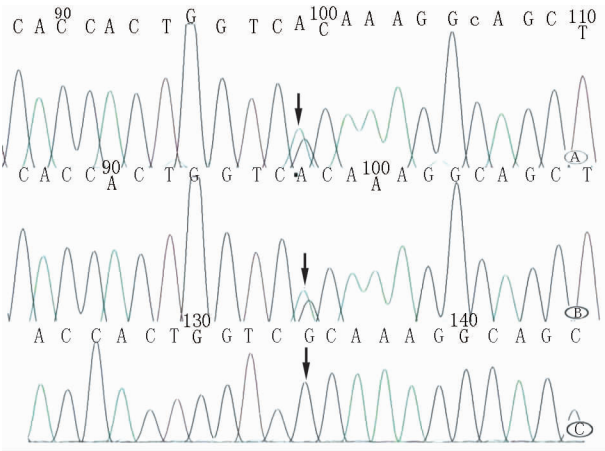
讨论 球形细胞脑白质营养不良(globoid cell leukodystrophy, GLD)又称 Krabbe 病, 是由于 GALC 基因缺陷导致半乳

糖脑苷脂蓄积于神经系统而引发的疾病, 确诊的主要依据是 GALC 活性缺乏和基因学检测。该病发病率约为 1/10 万, 主要发生于婴幼儿, 超过 20 岁的成年型不足 5%^[1-2]。本例为国内报道起病年龄最大的患者。成年型 Krabbe 病较早发症状轻、进展缓慢, 主要表现为痉挛性截瘫、步态障碍、精神障碍、视听障碍、语言障碍、周围神经病变等^[3-4], 本例符合成年型 Krabbe 病临床表现。因为本病可表现为不对称的肢体无力和行走困难, 所以与多发性硬化难以鉴别^[4-5]。

Krabbe 病的典型影像学特征是皮质脊髓束或脑室周围白质对称性异常信号, 少数仅显示轻度脑萎缩^[3,6]。本例患者 MR 提示病变累及双侧额叶、脑室旁、基底节区及胼胝体压部, 以及双侧颞叶海马、脑干和脊髓这些少见部位。脊髓内散在片条状异常信号与多发性硬化相似, 两者鉴别点在于多发性硬化多不具有对称性和沿皮质脊髓束分布的特点。此外, 90% Krabbe 病患者电生理检查可发现周围神经受损, 部分为亚临床病变^[7], 而本例 MR 及肌电图无周围神经受损的证据。Krabbe 病患者脑脊液检查大多正常, 或有轻度蛋白升高。本例与 Tomás 等^[5]报道的病例相似, 脑脊液 OB、SOB 阳性, IgG 指数和 24h IgG 合成率异常而在血清中正常, 提示脑脊液存在体液免疫反应。目前认为 Krabbe 病的机体免疫反应激活先于临床症状和白质病理理性改变^[8]。本例患者出院后定期输注丙种球蛋白, 随访 3 年病情稳定。免疫治疗是否可使 Krabbe 病患者获益需进一步证实。Krabbe 病尚无特异性根治措施, 在症状出现之前行造血干细胞移植(HSCT)是唯一证实有效的治疗方法, 基因治疗和酶替代疗法仍处于实验阶段。所以, 对于 Krabbe 病家系通过产前



注:A~D. 脑干、双侧海马、胼胝体、侧脑室旁异常密度信号灶;
E. 弥漫性脑萎缩;F. 胸髓内见线状长 T2 密度信号
图 1 成年型球形细胞脑白质营养不良患者头颅、胸椎 MR 影像表现



注:患者(A)及其子(B)c. 1418G>A 杂合变异,红色箭头所指为变异位点,患者丈夫(C)未发现变异
图 2 球形细胞脑白质营养不良患者 GALC 基因测序结果

诊断避免基因缺陷患儿的出生更具意义。

Krabbe 病由 GALC 基因突变引起,该基因位于 14q31 号染色体,编码 GALC,对鞘糖脂的分解代谢发挥至关重要的作用。人类基因突变数据库中已经编录了至少 237 个导致 Krabbe 病的突变基因^[2]。在本例患者及其儿子 GALC 基因中发现 c. 1418G>A 的杂合核苷酸变异为错义变异,该变异导致第 473 号氨基酸由精氨酸变为组氨酸(p. Arg473His),进而导致蛋白质功能受到影响。患者儿子 37 岁尚未发病或为延迟显性,由于缺少受检者父母检验样本,所以未进行父母来源验证工作。c. 1418G>A 变异为新的致病突变,在 100 例正常人、基因多态性数据库、人类基因突变数据库中均未检出该突变,国内外文献也未见相关报道。新突变基因 c. 1418G>A 的发现拓展了 Krabbe 病的基因突变谱,或为成年型 Krabbe 病的特殊变异。

本例患者临床表现、实验室及影像学表现符合 MacDonald 原发进展型多发性硬化诊断标准,多次误诊为“多发性硬化”,颅脑影像学显示病变沿皮质脊髓束分布的特点、酶学及基因学检测是 2 种疾病鉴别诊断的关键点。

参考文献

[1] Graziano ACE, Cardile V. History, genetic, and recent advances on Krabbe disease[J]. Gene, 2015, 555(1):2-13. DOI:10.1016/j.gene.2014.09.046.

[2] Madsen AMH, Wibrand F, Lund AM, et al. Genotype and phenotype classification of 29 patients affected by Krabbe disease[J]. JIMD Reports, 2019, 46(1):35-45. DOI:10.1002/jimd.12007.

[3] Zhou X, Yin WW, Yu XF, et al. Adult-onset Krabbe disease due to a homozygous GALC mutation without abnormal signals on an MRI in a consanguineous family: A case report[J]. Mol Genet Genomic Med, 2020, 8(9):e1407. DOI:10.1002/mgg3.1407.

[4] 宣宇威,李韵,张新卿,等.一例成年起病的 Krabbe 病的临床、影像学以及基因突变分析[J].中华医学遗传学杂志,2013,30(5):585-588. DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2013.05.017.

[5] Tomás J, Dures J, Lacerda L, et al. Adolescent-onset Krabbe disease with an initial diagnosis of multiple sclerosis and a novel mutation[J]. BMJ Case Reports, 2015, 2015:bcr2015210625. DOI:10.1136/bcr-2015-210625.

[6] Cousyn L, Law-Ye B, Pyatigorskaya N, et al. Brain MRI features and scoring of leukodystrophy in adult-onset Krabbe disease[J]. Neurology, 2019, 93(7):e647-e652. DOI:10.1212/WNL.0000000000007943.

[7] Adachi H, Ishihara K, Tachibana H, et al. Adult-onset Krabbe disease presenting with an isolated form of peripheral neuropathy[J]. Muscle Nerve, 2016, 54(1):152-157. DOI:10.1002/mus.25067.

[8] Potter GB, Petryniak MA. Neuroimmune mechanisms in Krabbe's disease[J]. Journal of Neuroscience Research, 2016, 94(11):1341-1348. DOI:10.1002/jnr.23804.

(收稿日期:2020-12-19)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.019

综 述

经皮冠状动脉介入治疗对内皮功能影响的研究进展

张楷综述 李伟审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81960047)

作者单位: 550004 贵阳, 贵州医科大学心血管内科

通信作者: 李伟, E-mail: liwei249188@sina.com

【摘 要】 血管内皮受损可引起血管粥样硬化, 导致血栓形成, 使血管堵塞、狭窄, 进而影响血液循环和血流灌注。血流灌注异常会提高冠状动脉粥样硬化心脏病的发生率, 故冠心病与血管内皮受损有密切关联。经皮冠状动脉介入是临床治疗动脉血管狭窄或栓塞的有效手段, 但是介入治疗具有一定的创伤性, 可能会影响最终的治疗效果, 需加以改善和预防。近年来, 关于经皮冠状动脉介入治疗对内皮功能影响的相关报道较多, 现对相关临床文献进行综述, 阐述介入治疗改进方法, 为减少内皮功能损伤提供参考。

【关键词】 冠心病; 经皮冠状动脉介入; 内皮功能; 研究进展

【中图分类号】 R541.4

【文献标识码】 A

Review on the effect of percutaneous coronary intervention on endothelial function Zhang Kai, Li Wei, Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang 550004, China

Corresponding author: liwei, E-mail: liwei249188@sina.com

Funding program: Funding program: National Natural Science Foundation of China(81960047)

【Abstract】 Vascular endothelial damage can cause atherosclerosis, thrombosis, vascular occlusion and stenosis, and then affect blood circulation and blood perfusion. Abnormal blood flow perfusion can increase the incidence of coronary atherosclerotic heart disease, so coronary heart disease is closely related to vascular endothelial damage. Percutaneous coronary intervention (PCI) is an effective method for clinical treatment of arterial stenosis or embolism. However, PCI is traumatic and may affect the final therapeutic effect, which needs to be improved and prevented. In recent years, there are many reports about the effect of percutaneous coronary intervention on endothelial function. This paper analyzes the relevant clinical literature, expounds the improvement methods of interventional therapy, and provides reference for reducing endothelial function damage.

【Key words】 Coronary heart disease; Percutaneous coronary intervention; Endothelial function; Research progress

冠状动脉粥样硬化心脏病是常见的心血管疾病之一, 主要由冠状动脉粥样硬化引起血管壁受损、栓子形成, 导致血管狭窄, 进而造成血流灌注不足, 使心肌细胞缺血、缺氧, 甚至坏死^[1]。血管内皮损伤主要由高血压、高脂血症和糖尿病加速血管硬化所致, 是血栓形成的危险因素。因此, 血管内皮受损与冠状动脉粥样硬化心脏病具有一定关系。目前, 我国冠心病发病率与病死率仍处于递增趋势, 临床主要采用经皮冠状动脉介入治疗冠心病, 通过经心导管技术, 扩张狭窄、闭塞血管, 进而改善心肌缺血、缺氧, 缓解患者心绞痛症状^[2]。但是经皮冠状动脉介入治疗并发症较多, 可能会引起动脉穿孔、动脉急性闭塞、血管痉挛等^[3-4]。为了最大限度减少介入治疗对血管内皮功能的不良影

响, 保证临床治疗效果, 需重视对经皮冠状动脉介入治疗的改善。

1 诱发血管内皮功能损伤原因

1.1 高血压诱发内皮功能损伤 血管内皮细胞功能受损是引发心血管疾病的基础病理, 内皮受损主要好发于高血压、糖尿病、冠心病等人群。原发性高血压与内皮损伤有一定关联, 当机体血压急剧升高时, 使血管壁受损, 导致平滑肌细胞血管舒张反应迟钝, 从而导致血管内皮功能改变^[5]。

1.2 氧化应激对内皮功能影响 正常生理状态下, 氧自由基的生成与清除失衡会引发氧化应激, 而氧化应激可以调节免疫功能、细胞功能。但过度氧化应激会导致炎性细胞生长和血管平滑肌细胞的增殖, 促使内

皮细胞凋亡,增强炎症因子、血液黏附分子表达,进而损伤内皮细胞^[6]。氧自由基介导的活性物质会增加胞质内钙离子浓度,减少舒血管因子的生成;同时钙离子内流消耗三磷酸腺苷酶,导致三磷酸腺苷酶生成减少,两者减少造成血管内皮功能受损^[7]。

1.3 氧化低密度脂蛋白对内皮功能的影响 氧化低密度脂蛋白是血管壁氧化形成的产物,主要负责提高E-选择素、P-选择素等黏附分子基因表达水平,使单核细胞黏附于血管壁和内皮细胞,氧化低密度脂蛋白被内皮细胞摄取后,可引起内皮细胞激活、分泌功能紊乱、功能障碍、功能丢失,氧化低密度脂蛋白与单核细胞受体结合,还可促使内皮细胞凋亡^[8]。

2 内皮功能损伤与心血管内皮细胞的关系

血管内皮细胞是血管壁和血流之间的单核细胞,可以分泌抑制平滑肌细胞增殖、抗血栓、缓解血管壁炎症反应、调节血管紧张性的氧化亚氮(NO)、内皮素(ET-1)等活性物质,当血管内皮细胞受到损害后,导致舒血管因子分泌减少,促进缩血管因子分泌,打破血管平衡状态,从而引起心血管事件^[9]。冠心病主要由脂质受损的内皮聚集形成粥样硬化斑块而堵塞血管,导致心肌血流灌注不足,使心肌细胞逐渐坏死所致。内皮血管细胞凋亡、促炎因子增多、黏附分子增多、氧化物质表达增加都能导致内皮细胞分泌舒血管因子减少,并增加血管紧张素原产生,从而造成动脉血管腔狭窄和闭塞;另外,舒血管因子合酶内源性竞争对二甲基精氨酸分泌产生抑制作用,可以增加血管剪切力,使内源性的一氧化氮合酶受到抑制,也减少血管紧张素Ⅱ、内皮素-1、去甲肾上腺素的合成,最终加剧血管内皮舒张功能受损,引起冠心病^[10-12]。有研究指出^[13],血管内皮细胞功能受损可作为反映冠心病患者血管壁退化的预警指标。由此可见,血管内皮损伤参与冠心病的形成机制。

3 经皮冠状动脉介入治疗应用于心血管疾病的现状

3.1 心血管疾病介入治疗现状 经皮冠状动脉介入是冠心病治疗的主要方法,通过开通动脉路径,扩张血管,将溶栓药物输注冠状动脉,使血栓溶解,还能维持血流通畅,提高冠状动脉血流灌注,从而减轻患者心肌缺血、缺氧情况,预防心肌细胞坏死^[14-15];同时,也能改善心肌细胞和内皮细胞氧化应激与炎症反应,发挥对内皮功能的保护作用。经皮冠状动脉介入治疗具有一定的局限性,只适用于符合介入治疗指征患者:慢性稳定型冠心病合并心肌缺血,非ST段抬高型心肌梗死和不稳定型心绞痛,既往行介入治疗或冠状动脉旁路移植术,血流动力学不稳定,出现二尖瓣反流或心力衰

竭。随着医疗技术的发展,经皮冠状动脉介入治疗得到不断创新,并衍生出不同类型的经皮冠状动脉介入治疗方法,常见的包括经皮冠状动脉球囊血管成形术、冠状动脉支架植入术、冠状动脉内血栓抽吸术等^[16-18];介入路径包括股动脉路径、桡动脉路径等。其中经皮冠状动脉球囊血管成形术通常采用股动脉途径,将导管置入冠状动脉口,再用球囊扩张狭窄血管,治疗效果显著,但单纯介入治疗容易发生动脉再闭塞或狭窄,通常需要联合药物治疗,增强疗效^[19-21]。

3.2 经皮冠状动脉介入治疗对血管内皮功能损伤的影响 在经皮冠状动脉介入治疗中,需要将冠状动脉支架置入待扩张血管,不管是选择药物洗脱支架,还是选择金属裸支架,都会直接损伤血管内皮细胞,导致内皮功能改变,从而影响治疗效果,甚至会引起一系列并发症,严重影响患者的生命健康。有研究指出,冠心病患者介入治疗前后的前列环素、内皮素和一氧化氮等物质会出现明显变化,且差异具有统计学意义^[22-23],这说明介入治疗可以影响患者血管内皮细胞释放的物质水平。

经皮冠状动脉介入治疗对于改善冠状动脉内血流灌注意义大,但其同时具有直接导致内皮损伤、释放斑块内致炎碎片及再灌注损伤等引发炎症反应的风险^[24]。研究发现,经皮冠状动脉介入治疗会导致内皮因子分泌功能的改变,进而破坏收缩血管因子分泌的平衡,导致冠状动脉和外周血管异常收缩^[25];此外,内皮细胞功能的改变也会促进血小板黏附和聚集,增加平滑肌细胞生成和增殖,最终造成内皮病理性损害。有研究指出^[26],在经皮冠状动脉介入治疗中,血管内皮细胞损伤和功能改变与介入方式、支架类型、支架涂层药物、支架平台材质有着密切关联。

4 经皮冠状动脉介入治疗不同因素对血管内皮细胞损伤和功能的影响

4.1 介入方式对血管内皮细胞损伤和功能改变的影响 目前,临床常用的介入治疗包括冠状动脉支架置入手术和球囊血管成形术,均有一定的治疗效果。有研究显示^[27],不同介入治疗方法造成内皮功能损伤及其程度有所差异。卢佳等^[28]研究采用冠状动脉支架置入术治疗单支血管病变冠心病,发现患者治疗前后心功能、心肌纤维化指标出现明显改变,但对内皮依赖性血管舒张功能无明显影响。采用冠状动脉球囊血管成形术和冠状动脉支架置入术治疗时间越长,越会在一定程度上引起内皮受损,但相比于球囊血管成形术或其他手术,支架置入术比较容易引起严重血管内皮功能损伤,进而出现血管再狭窄、栓塞。此外,若未及

时预防和干预内皮功能受损,也会加重冠状动脉损伤。冠状动脉支架置入术损伤性较大,相比于其他介入方法,该手术需要通过支架扩张狭窄血管,造成机械血管损伤和内皮功能损伤,同时还会提高血管壁炎症反应水平,进一步损伤内皮细胞。而球囊血管成形术是通过导入带有囊袋的导管,将囊袋膨胀一定程度后,使血管管腔扩张,可以减少对血管壁的机械性损伤。可见,选择球囊血管成形术可以减少介入治疗血管内皮损伤。

4.2 介入支架类型对血管内皮细胞损伤和功能改变的影响 在近年介入治疗发展过程中,支架类型从简单的金属支架不断演变为各种功能化支架,但在临床应用中,金属裸支架及药物洗脱支架仍为常用的支架类型,还有部分未广泛推广和应用的新型支架(如内皮祖细胞捕获支架)^[29]。有研究显示^[30],不同类型支架造成的内皮损伤位置、持续时间和程度各不相同,而国内外的很多研究对此都持有不同观点。支架植入都会引起一定程度的内皮损伤,通过降低相关区域一氧化氮浓度并干扰其分布,使支架附近一氧化氮浓度相对较低,进一步导致支架再狭窄和血栓形成。金属裸支架造成内皮损伤属于机械性损伤,金属支架会剥离血管外膜与中膜,最终使血管中沉积许多剥落的内皮细胞,从而造成血栓形成^[31]。对于药物洗脱支架,支架的植入会改变动脉中血流传输,引起支柱附近进入扰动的流动模式,在其血流模式下会影响药物洗脱支架的药物涂层,导致各区域的药物浓度分布不均,从而影响不同区域的内皮隔离效果^[32]。但药物洗脱支架是借助裸金属支架平台携带的药物,在血管局部洗脱释放后,可以抑制支架内膜增生,预防血管再狭窄;同时,药物涂层可以隔离内皮和支架,减少机械性接触和损伤,预防内皮损伤的加重^[33],目前临床上广泛使用药物洗脱支架。

4.3 支架涂层药物对血管内皮细胞损伤和功能改变的影响 心血管疾病介入治疗及技术发展迅猛,药物洗脱支架也随之发展至第三代,这也意味着药物洗脱支架的药物选择具有多样性,而不同覆盖药物对内皮功能损伤的影响也不同。涂层药物品类繁多,而且都能带来一定的效果,国内外研究结果暂未总结出太多完整性的结论,只发现不同的支架涂层药物造成内皮损伤程度也不同。依维莫司药物洗脱支架、佐他莫司洗脱支架是较为新型的药物洗脱支架,在药物、聚合物和支架平台上均有不同改进,既能减少内膜增殖,又能促进内皮化及再狭窄的预防效果,应用价值远高于第一代支架^[34]。同时,新一代支架结构及材料的改进,

可以提高支架与血管产生的相容性,还能加快内皮化进程。有研究表明,药物洗脱支架置入后可以更好地保留血管内皮功能,而且加速置入血管再内皮化的进程^[35]。药物洗脱支架支柱的药物可以均匀覆盖内膜,这对减少内膜损伤具有一定关联。有研究指出^[36],不同药物洗脱支架术后的并发症发生率也有所不同,这可能与药物过敏反应、覆盖位置和纤维蛋白沉积程度不同有关,故而导致内皮细胞出现不同程度的损伤。总而言之,与第一代药物洗脱支架相比,新一代支架对血管内皮功能影响较小。

4.4 支架材质对血管内皮细胞损伤和功能改变的影响 大多数国内外研究指出^[27-28],介入治疗支架的药物和聚合物是造成患者内皮损伤的关键,但支架材质的不同是否会影响内皮功能尚未可知。支架技术的发展,使得支架平台不断升级,从钴铬合金系列发展到铂铬合金系列,直至新一代生物可吸收支架系列。近年来,临床采用铂铬合金支架或钴铬合金支架置入术治疗冠心病,患者术后都会出现血管再狭窄情况,但在不考虑药物和支架聚合物影响的前提下,铂铬合金药物洗脱支架能降低介入手术血管内皮损伤所引起的并发症发生率^[37]。相关研究表明^[38-40],生物可吸收支架可通过溶解残留物及帮助动脉愈合来减少对血管内皮的损伤,从而降低血管再狭窄的风险。但由于生物可吸收聚合物支架的结构强度、生物可吸收金属支架的细胞毒性等问题存在,致使生物可吸收支架仍未广泛应用于临床。可见,支架本身在介入手术内皮功能影响中占据重要角色。

5 小结

在经皮冠状动脉介入术治疗过程中,采用不同类型的支架都会引起不同程度的内皮损伤,而内皮损伤与介入术并发症发生有一定关联。即使采用药物洗脱支架可最大限度减少血管再狭窄的发生,也可能引起支架植入部位内皮损伤。这可能与支架置入段内皮细胞覆盖不全有关,血管内皮分化延迟,更容易产生血栓,并改变血管内皮细胞结构与功能,最终造成血管内皮损伤。因此,临床需提高支架置入的安全性。通过寻求改善血管内皮功能受损的药物,并及时治疗,这对减少患者血管内皮功能受损和降低血管再狭窄具有重要意义。

参考文献

- [1] 张玥,潘颖洁,严金川. 内皮-间质转化与易损斑块的研究进展[J]. 中华心血管病杂志, 2021, 49(6): 632-637. DOI: 10.3760/cma.j.cn112148-20200602-00456.
- [2] 季润青,余苑,李静. 急性心肌梗死指南推荐治疗在我国应用现状[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(2): 250-252. DOI:

- 10.3969/j. issn. 1674-4055. 2020. 02. 30.
- [3] Bajraktari G, Rexhaj Z, Elezi S, et al. Radialaccess for coronary angiography carries fewer complications compared with femoral access: A Meta-analysis of randomized controlled trial[J]. J Clin Med, 2021, 10(10):2163. DOI:10.3390/jcm10102163.
- [4] Earl TJ. Acute hand ischemia and digital amputation after transradial-coronary intervention in a patient with CREST syndrome[J]. Tex Heart Inst J, 2020, 47:319-321. DOI:10.14503/THIJ-19-6988.
- [5] Gunnarsson TP, Ehlers TS, Fiorenza M, et al. Essential hypertension is associated with blunted smooth muscle cell vasodilator responsiveness and is reversed by 10-20-30 training in men[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 318(6):C1252-C1263. DOI:10.1152/ajpcell.00047.2020.
- [6] Clayton ZS, Hutton DA, Brunt VE, et al. Apigenin restores endothelial function by ameliorating oxidative stress, reverses aortic stiffening, and mitigates vascular inflammation with aging[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2021, 321(1):H185-H196. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2018.03.008.
- [7] 林书坡, 郑艳秋, 郑春贵, 等. 前列地尔对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者经 PCI 后心肌缺血再灌注、血清炎症反应因子、氧化应激和血管内皮功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(24):5153-5156. DOI:10.3969/j.issn.1007-5062.2020.40.24.
- [8] 王凤娇, 高翔, 尹航, 等. 氧化低密度脂蛋白可影响内皮祖细胞的功能: 如何提高其数量和功能[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(29):4706-4712. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0630.
- [9] James L, Manasi N. The therapeutic potential of targeting endogenous inhibitors of nitric oxide synthesis[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2011, 10(4):277-291. DOI:10.1038/nrd3358.
- [10] 刘驰, 闵冬雨, 朱竟赫, 等. 金丝桃苷通过 NOS/NO 系统调控血管内皮影响动脉粥样硬化进程的实验研究[J]. 药物评价研究, 2021, 44(5):971-977. DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2021.05.009.
- [11] Parsamanesh N, Asghari A, Sardari S, et al. Resveratrol and endothelial function: A literature review[J]. Pharmacol Res, 2021, 170:105725. DOI:10.1016/j.phrs.2021.105725.
- [12] Ning DS, Ma J, Peng YM, et al. Apolipoprotein A-I mimetic peptide inhibits atherosclerosis by increasing tetrahydrobiopterin via regulation of GTP-cyclohydrolase 1 and reducing uncoupled endothelial nitric oxide synthase activity[J]. Atherosclerosis, 2021, 328:83-91. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2021.05.019.
- [13] Li T, Tu PY, Bi JB, et al. LncRNAMiat knockdown alleviates endothelial cell injury through regulation of miR-214-3p/Caspase-1 signaling during atherogenesis[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2021, 48(9):1231-1238. DOI:10.1111/1440-1681.13538.
- [14] Ahmad Y, Howard JP, Arnold A, et al. Completerevascularization by percutaneous coronary intervention for patients with ST-segment-elevation myocardial infarction and multivessel coronary artery disease: An Updated Meta-Analysis of Randomized Trials[J]. J Am Heart Assoc, 2020, 9(12):e015263. DOI:10.1161/JAHA.119.015263.
- [15] 贾莹, 田雅楠, 田进伟. 冠心病介入治疗临床研究进展简述[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(6):461-467. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2021.06.002.
- [16] 张飞飞, 谢悦陶, 刘立天, 等. 经皮冠状动脉药物洗脱支架术后再狭窄影响因素分析[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(14):1946-1951. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2020.14.017.
- [17] 冯莉萍, 周桃, 刘成伟, 等. 急性冠状动脉综合征患者 PCI 术后应用瑞白对血管内皮功能的影响[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(12):1196-1199, 1204. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.12.003.
- [18] 陈要起, 穆金兴, 陈洪波, 等. 冠状动脉内应用比伐卢定对急性非 ST 段抬高型心肌梗死高危患者早期 PCI 术预后的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(8):765-769, 774. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.08.003.
- [19] Liu JH, Zhang B, Chen M, et al. High-dose statin pretreatment decreases periprocedural myocardial infarction and cardiovascular events in East Asian patients undergoing percutaneous coronary intervention: A meta-analysis of fifteen randomized controlled trials[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(25):e26278. DOI:10.1097/MD.00000000000026278.
- [20] 冯艳林, 李毅, 马瑞, 等. 老年冠状动脉粥样硬化性心脏病合并糖尿病患者经皮冠状动脉介入术后应用替格瑞洛和氯吡格雷的临床疗效比较[J]. 中国医药, 2020, 15(2):178-182. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.02.005.
- [21] 莫秀丽, 陈文, 黎法斌, 等. ST 段抬高型心肌梗死患者雷帕霉素洗脱支架-经皮冠状动脉介入治疗后支架内再狭窄的影响因素及 Nomogram 模型构建研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(8):23-29. DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2020.08.005.
- [22] 张春, 姜立清, 李小民, 等. 急诊经皮冠状动脉腔内成形术患者血内皮素和一氧化氮变化及意义[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14(4):233-234. DOI:10.3760/j.issn:1003-0603.2002.04.015.
- [23] 韩娟萍, 张卫泽, 林丽霞, 等. 前列地尔对急性 ST 段抬高型心肌梗死 PCI 术后心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(7):657-660. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.07.003.
- [24] Tucker B, Vaidya K, Cochran BJ, et al. Inflammation during percutaneous coronary intervention-prognostic value, mechanisms and therapeutic targets[J]. Cells, 2021, 10(6):1391. DOI:10.3390/cells10061391.
- [25] Mangiacapra F, Del Buono MG, Abbate A, et al. Role of endothelial dysfunction in determining angina after percutaneous coronary intervention: Learning from pathophysiology to optimize treatment[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2020, 63(3):233-242. DOI:10.1016/j.pcad.2020.02.009.
- [26] Moussa ID, Mohanany D, Saucedo J, et al. Trends and outcomes of restenosis after coronary stent implantation in the United States[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(13):1521-1531. DOI:10.1016/j.jacc.2020.08.002.
- [27] 江旭东, 李鹏飞, 刘铮, 等. 球囊扩张式血管支架介入对弯曲血管的生物力学损伤研究[J]. 工程力学, 2019, 36(2):239-248. DOI:10.6052/j.issn.1000-4750.2017.12.0979.
- [28] 卢佳, 黄韵入. 研究冠状动脉支架置入术治疗老年单支血管病变冠心病的临床疗效[J]. 中国实用医药, 2020, 15(20):32-34. DOI:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2020.20.011.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.020

综 述

慢性心力衰竭合并骨骼肌萎缩的机制研究进展

陈喆,宿玮洁,张美沙综述 常宏审校

基金项目: 国家自然科学基金项目(81803936);河北省教育厅科学技术研究项目(QN2019004);华北理工大学大学生创新创业训练计划项目(X2019327)

作者单位: 063210 唐山,华北理工大学中医学院

通信作者: 常宏, E-mail: chhong1987@163.com

【摘 要】 慢性心力衰竭是临床最常见的心血管疾病,肌萎缩是其最重要的并发症之一。骨骼肌的病变影响心力衰竭患者病情的进展和预后。文章主要从骨骼肌萎缩的病变特点、发病机制和治疗方面进行综述,力求为慢性心力衰竭合并骨骼肌萎缩的临床治疗和新药物开发提供依据和思路。

【关键词】 慢性心力衰竭;骨骼肌萎缩;研究进展

【中图分类号】 R541.6;R685.4 【文献标识码】 A

Mechanism research progress of chronic heart failure combined with skeletal muscle atrophy Chen Zhe, Su Weijie, Zhang Meisha, Chang Hong. Traditional Chinese Medicine College, North China University of Science and Technology, Hebei Province, Tangshan 063210, China

Corresponding author: Chang Hong, E-mail: chhong1987@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China(81803936); Science and Technology Research Project of Hebei Provincial Department of Education (QN2019004); Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students of North China University of Technology(X20193327)

【Abstract】 Chronic heart failure is one of the most common cardiovascular diseases and skeletal muscle atrophy is its most important complication. Skeletal muscle lesions affect the progression and prognosis of patients with heart failure. In this paper, the pathological characteristics, pathogenesis and treatment of skeletal muscle atrophy were reviewed in order to provide evidence and ideas for the clinical treatment of chronic heart failure combined with skeletal muscle atrophy, likewise the development of new drugs.

【Key words】 Chronic heart failure; Skeletal muscle atrophy; Research progress

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是各种心脏疾病发展的终末阶段,目前全球心力衰竭患者数量接近 2 600 万,造成了严重的医疗和社会经济负担^[1]。《中国心血管病报告 2018》概要^[2]中显示,我国心力衰竭患者已达 450 万,随着年龄增长,心力衰竭的患病率显著上升。目前,虽然针对心力衰竭的发病机制、病理生理及防治均取得了显著成效,但心力衰竭的整体预后仍较差,病死率和再住院率均较高。CHF 患者不仅心功能受损,而且运动不耐受,容易出现疲劳、气短和活动受限,限制了其生活质量的提高^[3]。活动受限等临床表现的出现,不仅是心脏功能的降低,多种因素造成的骨骼肌萎缩的影响同样值得注意^[4]。骨骼肌萎缩在 CHF 患者的早期阶段就已经出现^[5],疲乏、气短等症状的出现可随着骨骼肌萎缩的增加而加重。骨骼肌萎缩不仅限制 CHF 患者日常生活,还影响

其生活质量和预后,显著增加其发病率和病死率^[6-7]。所以,骨骼肌萎缩直接影响着心力衰竭的预后,在 CHF 的治疗上不仅要改善心脏功能,防治骨骼肌萎缩和提高患者生活质量也是亟待解决的难题。本文就慢性心力衰竭合并骨骼肌萎缩的结构和代谢异常、相关的分子机制和治疗进行综述。

1 慢性心力衰竭后骨骼肌的变化

慢性心力衰竭时,骨骼肌的形态和功能发生了改变。究其原因,是毛细血管密度降低,骨骼肌营养供应异常,肌肉质量降低,肌纤维类型改变和能量代谢能力异常所致^[8]。具体表现为以下两个方面。

1.1 骨骼肌形态改变 慢性心力衰竭时骨骼肌出现萎缩是骨骼肌的特征性改变之一,19.5%的 CHF 患者合并肌肉萎缩^[7]。磁共振检查显示,心力衰竭患者的腓肠肌出现变化,表现为体积降低,肌肉中水和脂质的

含量增加,提示肌肉中蛋白质含量减少^[9]。骨骼肌纤维包括 I 型和 II 型: I 型肌纤维由氧化代谢供能,收缩速度较慢,肌力小,有较强的抗疲劳能力,提供持续的运动能力; II 型肌纤维由糖酵解供能,是一种无氧供能,收缩速度较快,肌力大,但是容易疲劳^[10]。在严重心力衰竭患者中,其骨骼肌纤维类型发生了转变, I 型纤维比率下降, II 型纤维比率相对增加,这种纤维的转变与运动能力密切相关,所以心力衰竭患者出现运动不耐受。心力衰竭后,患者骨骼肌的毛细血管在结构和功能上发生了改变^[11]:长度、面积及表面积下降,肌纤维的数量也下降,同时血流动力学改变,这些都导致其供氧量显著减少,促使骨骼肌对运动不耐受,运动能力降低。

1.2 骨骼肌能量代谢异常 骨骼肌的能量代谢异常主要表现在 3 个方面:糖、脂和蛋白质代谢。糖代谢异常主要体现在胰岛素抵抗和糖耐量异常, Fukushima 等^[12]研究发现,心力衰竭小鼠的骨骼肌中 Akt 磷酸化水平下降,葡萄糖转运蛋白 4 (glucose transporter 4, GLUT4) 的膜转位水平也下降,造成肌肉对葡萄糖的摄取降低。心力衰竭时,骨骼肌由于氧化代谢能力降低,对于脂质的氧化利用减少,造成脂质大量沉积在骨骼肌。在对扩张型心肌病导致心力衰竭患者的检查中,发现患者骨骼肌中脂质的含量是正常人的 2 倍多^[13]。大量脂质沉积会加重线粒体功能恶化,造成能量代谢障碍。心力衰竭时,骨骼肌蛋白质代谢也出现异常,表现为合成和降解失衡,合成的肌肉比降解的要少^[14]。蛋白质合成—分解代谢失衡是肌肉萎缩发生的重要机制之一^[15]。体内蛋白质合成和分解通路的平衡对肌肉质量有着至关重要的影响,若打破蛋白质合成与分解通路之间的平衡,则会导致肌肉的增生或萎缩^[16]。

2 慢性心力衰竭合并骨骼肌萎缩的分子机制

2.1 泛素蛋白酶体途径 正常细胞内蛋白质的代谢是一个持续降解和再合成动态平衡的过程。泛素蛋白酶体途径 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 是细胞内 ATP 依赖的蛋白质选择性降解的主要途径,由泛素、泛素相关酶和蛋白酶体组成,能够降解细胞内大部分泛素化的蛋白质^[17]。而蛋白质代谢异常如肌萎缩,可导致 UPS 过度活化,引起蛋白质过度降解^[18],最终导致肌萎缩。

泛素蛋白连接酶 (E3) 是 UPS 的关键酶,其中肌肉环指蛋白-1 (muscle ring-finger protein-1, MuRF-1) 和肌肉萎缩相关的 F-box 蛋白 (muscle atrophy F-box, MAFbx/atrogin-1) 转录启动 UPS,泛素—蛋白酶体系统中蛋白质的泛素化是通过特异的泛素蛋白连接酶 E3

对蛋白质底物的准确选择来调节^[19-20]。研究表明, MuRF1 位于肌节,可降解粗肌丝中含有肌球蛋白结构域的其他蛋白质,如肌球蛋白轻链和肌球蛋白结合蛋白 C,从而造成肌肉萎缩^[21]; MAFbx 可能通过下调蛋白质起始因子 eIF3-f 的表达抑制蛋白质合成,从而导致肌肉萎缩^[22]。在慢性心力衰竭小鼠模型中,泛素蛋白酶体通路在 CHF 所致骨骼肌萎缩中起重要作用^[23]。研究发现, MAFbx (即 atrogin-1) 和 MuRF-1 是调控骨骼肌蛋白质降解中心途径的 2 个特异性关键酶^[20,24]。MuRF-1 和 MAFbx 是涉及 p38 MAPK/FoxO 信号的下游部分^[25]。在去神经支配、悬挂固定、高剂量地塞米松或炎性细胞因子处理导致的肌肉萎缩模型中均可见 MuRF-1 和 MAFbx 转录增加,抑制小鼠肌肉中 MuRF-1 和 MAFbx 的表达,则可减少肌肉降解^[24,26]。张聪聪等^[23]研究发现,心力衰竭小鼠中, AKT/FoxOs 转录因子激活,骨骼肌的泛素—蛋白酶体通路被激活, MAFbx 和 MuRF-1 2 种泛素连接酶的表达增加,引起骨骼肌的蛋白质泛素化增加,发生骨骼肌萎缩。由此可见, UPS 在骨骼肌萎缩中占有重要地位,该通路的活化能够诱导骨骼肌萎缩的发生。MuRF-1 和 MAFbx 作为骨骼肌萎缩的关键酶,是潜在的治疗干预靶点,对两者的调控可能成为临床上防治骨骼肌萎缩的关键点。

2.2 肌肉生长抑制素 肌肉生长抑制素简称肌抑素,又称生长分化因子 8 (GDF-8),是骨骼肌大量再生过程中的负性肌肉生长调节因子^[27],通过神经—体液系统调节骨骼肌的数量和大小。肌抑素在骨骼肌中表达最多,在快速肌纤维 (糖酵解供能) 中表达高于缓慢肌纤维 (氧化代谢供能)^[28]。研究发现,心力衰竭患者肌肉中生长抑制素 mRNA 表达显著增加^[29]。Breitbart 等^[30]采用心肌细胞特异性缺失肌抑素 (MSTN-CKO) 构建小鼠模型,该模型心肌选择性缺乏肌抑素 mRNA,但骨骼肌中能检测到肌抑素 mRNA 及其前体蛋白。野生型小鼠和 MSTN-CKO 小鼠在 2 个月大时血清中活性肌抑素水平相当。2 周压力超负荷刺激后,野生型小鼠血清肌抑素水平升高约 3 倍,而 MSTN-CKO 小鼠血清肌抑素水平无明显升高。这些数据表明,在病理负荷的情况下,心脏释放肌抑素进入循环,产生高水平的血清肌抑素。该团队还发现,野生型小鼠血清肌抑素水平升高与骨骼肌萎缩有关,表现为股四头肌、腓肠肌和比目鱼肌均出现肌肉质量下降。而在 MSTN-CKO 小鼠中,没有观察到骨骼肌质量的下降 (即没有萎缩)。该研究表明,心脏肌抑素在压力过载所致小鼠心力衰竭时引起的肌肉萎缩中起着重要作用。

Heineke 等^[31]研究显示,心力衰竭小鼠中血清肌抑素明显增加,同时小鼠伴有肌肉萎缩,而在心肌细胞中敲除肌抑素的小鼠未出现肌肉萎缩。Yoshida 等^[32]发现肌抑素能抑制 Akt 磷酸化,导致蛋白质合成减少,蛋白质降解增加,从而引起骨骼肌萎缩、纤维化,进一步加重心力衰竭的症状。这些研究提示,心力衰竭患者中高水平的肌抑素很可能是适应性不良压力负荷导致的,治疗性的抑制血清肌抑素水平可能会使肌肉质量和力量改善,甚至可能会改善心脏功能。

2.3 胰岛素样生长因子-1 胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 是一种合成代谢生长因子,可以刺激蛋白合成和卫星细胞增殖,同时抑制蛋白降解,并参与诸多病理生理过程。该物质还在骨骼肌中合成,并以自分泌和旁分泌的方式刺激特定的信号通路从而调节肌肉生长,对于骨骼肌的生长具有重要作用。Chen 等^[33]研究老年肌少症患者发现,采用抗阻训练的患者血清 IGF-1 浓度显著高于对照组,表明 IGF-1 在改善骨骼肌方面有重要作用。另外,IGF-1 能够抑制 E3 泛素蛋白连接酶 Atrogin-1 和 MuRF-1 的表达,防止骨骼肌出现萎缩^[34-35]。Yoshida 等^[32]发现,IGF-1 与 IGF-1 受体 (IGF-1R) 结合,之后通过刺激胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate 1, IRS1) 和磷酸肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K),使得至少 2 条信号通路被激活:RAS-Raf-MEK-ERK 通路和 PI3K-Akt 通路。这 2 条信号通路对肌肉细胞的增生起到相反的作用,并且 PI3K-Akt 通路能抑制分化型肌管 RAS-Raf-MEK-ERK 信号的转导。PI3K-Akt 通路在骨骼肌中占有重要地位^[36]。IGF-1 可以启动 PI3K/Akt 信号通路,这是肌蛋白合成和分解的关键点,IGF-1/PI3K/Akt 信号通路的激活能从多个环节促进蛋白合成,抑制蛋白降解,防止肌肉萎缩^[37]。重度心力衰竭患者使用心室辅助装置可以增加其骨骼肌中 IGF-1 的表达,增加肌纤维的横截面积,表明 IGF-1 在骨骼肌萎缩的改善中发挥重要作用^[38]。

2.4 血管紧张素 II 血管紧张素 II (Ang II) 是肾素-血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS) 的主要效应分子,对中枢神经系统、肾上腺、血管和肾脏等具有多种生理调节作用,包括血压调节和水盐代谢平衡调节。此外,RAS 在心血管疾病的发病过程中起着重要作用,尤其是在心力衰竭中发挥着不可替代的作用。

慢性心力衰竭患者体内血管紧张素 II 水平升高,并且发生骨骼肌质量下降,体质量减轻^[32]。实验研究证明,输注 Ang II 可致蛋白质分解增加和 IGF-1 信

号传导减少,这是由于骨骼肌 IGF-1 信号的传导是骨骼肌中蛋白质合成的主要代谢途径^[39]。研究发现,Ang II 可以增强 UPS 活性,促进蛋白降解^[40]。动物实验证明^[41],Ang II 的注射可以增加 MuRF-1 表达,增强 UPS 活性,加速蛋白水解,并且可以激活天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)。Caspase-3 不仅是凋亡的关键执行者之一,也是一个加速肌肉蛋白降解的起始步骤,降解具有复杂结构的肌原纤维,进而加速 UPS 的激活,促进蛋白降解,最终导致肌萎缩^[42]。其他研究发现,Ang II 还能引起炎症因子如 TNF- α 的升高,进而激活 FOXO1,刺激 MuRF-1 和 Atrogin-1 的转录,激活 UPS,引起蛋白降解,骨骼肌萎缩^[39,43]。AKT 作为一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在磷脂酰肌醇依赖的蛋白激酶的协同作用下,胞浆内的 AKT 与磷脂酰肌醇 2 磷酸 (PIP2) 和磷脂酰肌醇 3 磷酸 (PIP3) 相结合,使得 AKT 转位到质膜,从而促进 Ser473 和 Thr308 2 个位点的磷酸化。而 Ser473 和/或 Thr308 位点的磷酸化则是 AKT 激活的必要条件,活化后的 AKT 促使转录因子 FOXO1 磷酸化,后者从细胞核移到细胞质,被泛素蛋白酶体降解,从而其转录调节活性受到抑制^[23]。FOXO1 可以调节 Atrogin-1 和 MuRF-1,而 AKT 能使 FOXO1 失活,从而抑制骨骼肌萎缩。当骨骼肌发生萎缩时,PI3K/Akt 信号通路下调,FOXO1 重新回到细胞核,上调 Atrogin-1 和 MuRF-1 的表达,从而加重肌肉萎缩^[44]。

2.5 炎症细胞因子 研究发现,慢性心力衰竭患者中,促炎性细胞因子在血循环中浓度持续升高^[45],其中起主要作用的是白介素类和肿瘤坏死因子。TNF- α 、TGF- β 和 IL-1、IL-12、IL-8、IL-18 等是心脏受激后最常见的促炎细胞因子。当发生慢性心力衰竭时,心脏通过免疫系统来启动损伤组织的修复机制^[46]。随着自身免疫的参与,心力衰竭后促炎细胞因子储备显著增加^[47]。TNF- α 可使 NF- κ B 抑制物 IKB 磷酸化而降解,从而激活 NF- κ B,使之能够迅速进入细胞核,启动转录因子 FOXO,进而导致 MuRF-1 表达,并引起肌肉蛋白的降解^[48-49]。

其他如睾酮和乙酰化赖氨酸在骨骼肌萎缩中也发挥作用。睾酮能影响肌肉质量和功能,CHF 患者体内的睾酮水平显著下降,低睾酮水平与 CHF 患者的活动能力降低密切相关,而且睾酮通过抑制泛素连接酶中的 Atrogin-1 和 MuRF-1 来维持肌肉质量,防止骨骼肌萎缩^[50-52]。Tsuda 等^[53]发现,乙酰化赖氨酸可以增强骨骼肌线粒体的乙酰化,进而影响线粒体 β 氧化,降低患者的运动能力。

3 治疗

长期以来,人们对于 CHF 的治疗重在改善心功能,对骨骼肌病变后的肌少症造成的危害重视不足,使得 CHF 患者的生活质量得不到相应改善。目前,针对肌少症的研究主要集中在营养、药物和运动医学 3 个领域,体育锻炼、血管紧张素转换酶抑制剂和必需氨基酸等也成为治疗 CHF 合并肌少症的主要方法^[54-56]。但是药物对 CHF 患者合并肌少症的治疗作用仍没有完全被认可,同时 CHF 患者可能难以掌控运动训练的强度和ación。而其他一些治疗方法,包括肌肉生长抑素抑制剂、UPS 抑制剂、重组生长激素、睾酮等,虽有一定改善骨骼肌萎缩的作用,但均为实验研究或是小样本研究,不能证明其临床有效性^[57]。这些现象的存在势必促使寻求有效的治疗药物来防治肌少症,提高 CHF 患者的生活质量和生存率。中医在 CHF 合并骨骼肌问题的治疗上占有重要地位,临床研究提示,八珍汤联合曲美他嗪在治疗 CHF 合并肌少症方面效果良好,表现为改善患者的心功能、提升肌肉质量及肌肉力量^[58]。彭杰等^[59]通过动物实验研究发现,温肾活血方通过降低 MAFbx 和 MuRF-1 mRNA 表达,降低骨骼肌细胞凋亡来提高大鼠心力衰竭后的运动耐量。

4 小结

慢性心力衰竭患者不仅面临心功能的异常,还伴随着骨骼肌的病变,而骨骼肌的病变严重影响了慢性心力衰竭患者的生活质量提高和病情进展。目前,慢性心力衰竭合并骨骼肌萎缩的机制尚未完全明确,临床尚未足够重视肌萎缩在心力衰竭发展中的作用。同时,针对心力衰竭合并肌萎缩的治疗仍存在不足,缺少高质量的临床试验明确药物的有效性。有待国内外学者继续深入研究心力衰竭合并骨骼肌萎缩的发病机制,进行有效治疗药物的探索,为患者的临床治疗提供依据。

参考文献

- [1] Rajadurai J, Tse HF, Wang CH, et al. Understanding the epidemiology of heart failure to improve management practices: An Asia-Pacific perspective[J]. J Card Fail, 2017, 23(4): 327-339. DOI: 10.1016/j.cardfail. 2017. 01. 004.
- [2] 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.
- [3] Philippou A, Xanthis D, Chrysanthopomicronulos C, et al. Heart failure-induced skeletal muscle wasting[J]. Curr Heart Fail Rep, 2020, 17(5): 299-308. DOI: 10.1007/s11897-020-00468-w.
- [4] 信栓力, 焦凤辉, 常超, 等. 肌少症对老年慢性心力衰竭患者骨骼肌及心功能的影响[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(8): 751-755. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1671-7368. 2019. 08. 009.

- [5] Ebner N, Elsner S, Springer J, et al. Molecular mechanisms and treatment targets of muscle wasting and cachexia in heart failure: an overview[J]. Curr Opin Support Palliat Care, 2014, 8(1): 15-24. DOI: 10.1097/SPC. 0000000000000030.
- [6] Von Haehling S. Muscle wasting and sarcopenia in heart failure: a brief overview of the current literature[J]. ESC Heart Fail, 2018, 5(6): 1074-1082. DOI: 10.1002/ehf2. 12388.
- [7] Fulster S, Tacke M, Sandek A, et al. Muscle wasting in patients with chronic heart failure: results from the studies investigating co-morbidities aggravating heart failure (SICA-HF) [J]. Eur Heart J, 2013, 34(7): 512-519. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs381.
- [8] Saitoh M, Ishida J, Doehner W, et al. Sarcopenia, cachexia, and muscle performance in heart failure: Review update 2016[J]. Int J Cardiol, 2017, 238: 5-11. DOI: 10.1016/j.ijcard. 2017. 03. 155.
- [9] Zizola C, Schulze PC. Metabolic and structural impairment of skeletal muscle in heart failure[J]. Heart Fail Rev, 2013, 18(5): 623-630. DOI: 10.1007/s10741-012-9353-8.
- [10] 李伯江, 李平华, 吴望军, 等. 骨骼肌纤维形成机制的研究进展[J]. 中国农业科学, 2014, 47(6): 1200-1207. DOI: 10.3864/j.issn. 0578-1752. 2014. 06. 016.
- [11] Weiss K, Schar M, Panjath GS, et al. Fatigability, exercise intolerance, and abnormal skeletal muscle energetics in heart failure[J]. Circ Heart Fail, 2017, 10(7): e004129. DOI: 10.1161/CIRC-HEARTFAILURE. 117. 004129.
- [12] Fukushima A, Kinugawa S, Takada S, et al. Direct renin inhibitor ameliorates insulin resistance by improving insulin signaling and oxidative stress in the skeletal muscle from post-infarct heart failure in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 779: 147-156. DOI: 10.1016/j.ejphar. 2016. 03. 022.
- [13] Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, et al. Intramyocellular lipid is increased in the skeletal muscle of patients with dilated cardiomyopathy with lowered exercise capacity[J]. Int J Cardiol, 2014, 176(3): 1110-1112. DOI: 10.1016/j.ijcard. 2014. 07. 113.
- [14] Von Haehling S, Steinbeck L, Doehner W, et al. Muscle wasting in heart failure: An overview[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(10): 2257-2265. DOI: 10.1016/j.biocel. 2013. 04. 025.
- [15] Von Haehling S, Ebner N, Dos SM, et al. Muscle wasting and cachexia in heart failure: mechanisms and therapies[J]. Nat Rev Cardiol, 2017, 14(6): 323-341. DOI: 10.1038/nrcardio. 2017. 51.
- [16] Morimoto Y, Kondo Y, Kataoka H, et al. Heat treatment inhibits skeletal muscle atrophy of glucocorticoid-induced myopathy in rats[J]. Physiol Res, 2015, 64(6): 897-905. DOI: 10.33549/physiolres. 932942.
- [17] Zhao J, Zhai B, Gygi SP, et al. mTOR inhibition activates overall protein degradation by the ubiquitin proteasome system as well as by autophagy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(52): 15790-15797. DOI: 10.1073/pnas. 1521919112.
- [18] Cunha TF, Bacurau AV, Moreira JB, et al. Exercise training prevents oxidative stress and ubiquitin-proteasome system overactivity and reverse skeletal muscle atrophy in heart failure[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e41701. DOI: 10.1371/journal. pone. 0041701.
- [19] Glass DJ. Signaling pathways perturbing muscle mass[J]. Curr Opin

- Clin Nutr Metab Care, 2010, 13 (3) : 225-229. DOI: 10. 1097/mco. 0b013e32833862df.
- [20] Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014, 307(6): E469-E484. DOI: 10. 1152/ajpendo. 00204. 2014.
- [21] Fanzani A, Conraads VM, Penna F, et al. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: an update[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2012, 3 (3) : 163-179. DOI: 10. 1007/s13539-012-0074-6.
- [22] Li HH, Willis MS, Lockyer P, et al. Atrogen-1 inhibits Akt-dependent cardiac hypertrophy in mice via ubiquitin-dependent coactivation of Forkhead proteins[J]. J Clin Invest, 2007, 117 (11) : 3211-3223. DOI: 10. 1172/JCI31757.
- [23] 张聪聪, 陈博雅, 程乃萱, 等. AKT/FOXO1 信号通路在心力衰竭小鼠骨骼肌萎缩中的作用[J]. 心血管病杂志 2018, 37 (1) : 60-65. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-5062. 2018. 01. 016.
- [24] Rom O, Reznick AZ. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass[J]. Free Radic Biol Med, 2016, 98: 218-230. DOI: 10. 1016/j. freeradbiomed. 2015. 12. 031.
- [25] Gumucio JP, Mendias CL. Atrogen-1, MuRF-1, and sarcopenia[J]. Endocrine, 2013, 43 (1) : 12-21. DOI: 10. 1007/s12020-012-9751-7.
- [26] Castillero E, Alamdari N, Lecker SH, et al. Suppression of atrogen-1 and MuRF1 prevents dexamethasone-induced atrophy of cultured myotubes[J]. Metabolism, 2013, 62 (10) : 1495-1502. DOI: 10. 1016/j. metabol. 2013. 05. 018.
- [27] Argiles JM, Orpi M, Busquets S, et al. Myostatin: more than just a regulator of muscle mass[J]. Drug Discov Today, 2012, 17 (13-14) : 702-709. DOI: 10. 1016/j. drudis. 2012. 02. 001.
- [28] Lee SJ. Regulation of muscle mass by myostatin[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2004, 20: 61-86. DOI: 10. 1146/annurev. cellbio. 20. 012103. 135836.
- [29] Gielen S, Sandri M, Kozarez I, et al. Exercise training attenuates MuRF-1 expression in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure independent of age: the randomized Leipzig Exercise Intervention in Chronic Heart Failure and Aging catabolism study[J]. Circulation, 2012, 125 (22) : 2716-2727. DOI: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 111. 047381.
- [30] Breitbart A, Auger-Messier M, Molkentin JD, et al. Myostatin from the heart: local and systemic actions in cardiac failure and muscle wasting[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300 (6) : H1973-H1982. DOI: 10. 1152/ajpheart. 00200. 2011.
- [31] Heineke J, Auger-Messier M, Xu J, et al. Genetic deletion of myostatin from the heart prevents skeletal muscle atrophy in heart failure[J]. Circulation, 2010, 121 (3) : 419-425. DOI: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 109. 882068.
- [32] Yoshida T, Tabony AM, Galvez S, et al. Molecular mechanisms and signaling pathways of angiotensin II-induced muscle wasting: potential therapeutic targets for cardiac cachexia[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45 (10) : 2322-2332. DOI: 10. 1016/j. biocel. 2013. 05. 035.
- [33] Chen HT, Chung YC, Chen YJ, et al. Effects of different types of exercise on body composition, muscle strength, and IGF-1 in the elderly with sarcopenic obesity[J]. J Am Geriatr Soc, 2017, 65 (4) : 827-832. DOI: 10. 1111/jgs. 14722.
- [34] Fujita N, Fujino H, Sakamoto H, et al. Time course of ubiquitin-proteasome and macroautophagy-lysosome pathways in skeletal muscle in rats with heart failure[J]. Biomed Res, 2015, 36 (6) : 383-392. DOI: 10. 2220/biomedres. 36. 383.
- [35] 陈玄, 叶笑然, 黄晓卿. 电针对大鼠失神经支配骨骼肌萎缩及 IGF-1/PI3K/AKT 表达的影响[J]. 中国针灸, 2018, 38 (12) : 1311-1317. DOI: 10. 13703/j. 0255-2930. 2018. 12. 015.
- [36] 吕欣, 周达岸. PI3K/AKT 信号通路对骨骼肌再生的影响研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2020, 39 (11) : 908-912. DOI: 10. 16038/j. 1000-6710. 2020. 11. 013.
- [37] Glass DJ. PI3 kinase regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2010, 346: 267-278. DOI: 10. 1007/82_2010_78.
- [38] Khawaja T, Chokshi A, Ji R, et al. Ventricular assist device implantation improves skeletal muscle function, oxidative capacity, and growth hormone/insulin-like growth factor-I axis signaling in patients with advanced heart failure[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2014, 5 (4) : 297-305. DOI: 10. 1007/s13539-014-0155-9.
- [39] Shen C, Zhou J, Wang X, et al. Angiotensin-II-induced muscle wasting is mediated by 25-Hydroxycholesterol via GSK3beta signaling pathway[J]. Eblomedicine, 2017, 16: 238-250. DOI: 10. 1016/j. ebiom. 2017. 01. 040.
- [40] Cabello-Verrugio C, Cordova G, Salas JD. Angiotensin II: role in skeletal muscle atrophy[J]. Curr Protein Pept Sci, 2012, 13 (6) : 560-569. DOI: 10. 2174/138920312803582933.
- [41] Sukhanov S, Semprun-Prieto L, Yoshida T, et al. Angiotensin II, oxidative stress and skeletal muscle wasting[J]. Am J Med Sci, 2011, 342 (2) : 143-147. DOI: 10. 1097/MAJ. 0b013e318222e620.
- [42] Josiak K, Jankowska EA, Piepoli MF, et al. Skeletal myopathy in patients with chronic heart failure: significance of anabolic-androgenic hormones[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2014, 5 (4) : 287-296. DOI: 10. 1007/s13539-014-0152-z.
- [43] Handayaniingsih AE, Iguchi G, Fukuoka H, et al. Reactive oxygen species play an essential role in IGF-I signaling and IGF-I-induced myocyte hypertrophy in C2C12 myocytes[J]. Endocrinology, 2011, 152 (3) : 912-921. DOI: 10. 1210/en. 2010-0981.
- [44] 刘雪云, 李高权, 徐守宇. 废用性肌萎缩的蛋白质合成和降解途径[J]. 中国运动医学杂志, 2013, 32 (7) : 654-657. DOI: 10. 16038/j. 1000-6710. 2013. 07. 015.
- [45] Hanna A, Frangogiannis NG. Inflammatory cytokines and chemokines as therapeutic targets in heart failure[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2020, 34 (6) : 849-863. DOI: 10. 1007/s10557-020-07071-0.
- [46] Bartekova M, Radosinska J, Jelemensky M, et al. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease[J]. Heart Fail Rev, 2018, 23 (5) : 733-758. DOI: 10. 1007/s10741-018-9716-x.
- [47] Gullestad L, Ueland T, Vinge LE, et al. Inflammatory cytokines in heart failure: mediators and markers[J]. Cardiology, 2012, 122 (1) : 23-35. DOI: 10. 1159/000338166.
- [48] Ladner KJ, Caligiuri MA, Guttridge DC. Tumor necrosis factor-regulated biphasic activation of NF-kappa B is required for cytokine-induced loss of skeletal muscle gene products[J]. J Biol Chem, 2003,

- 278(4):2294-2303. DOI:10.1074/jbc.M207129200.
- [49] Lin XF, Jiang QL, Peng ZL, et al. Therapeutic effect of psoralen on muscle atrophy induced by tumor necrosis factor- α [J]. Iran J Basic Med Sci, 2020, 23 (2): 251-256. DOI: 10.22038/IJBMS.2019.37469.8939.
- [50] Shin MJ, Jeon YK, Kim IJ. Testosterone and Sarcopenia [J]. World J Mens Health, 2018, 36 (3): 192-198. DOI: 10.5534/wjmh.180001.
- [51] Wang W, Jiang T, Li C, et al. Will testosterone replacement therapy become a new treatment of chronic heart failure? A review based on 8 clinical trials [J]. J Thorac Dis, 2016, 8(5): E269-E277. DOI: 10.21037/jtd.2016.03.39.
- [52] Pires-Oliveira M, Maragno AL, Parreiras-e-Silva LT, et al. Testosterone represses ubiquitin ligases atrogin-1 and Murf-1 expression in an androgen-sensitive rat skeletal muscle in vivo [J]. J Appl Physiol (1985), 2010, 108 (2): 266-273. DOI: 10.1152/japplphysiol.00490.2009.
- [53] Tsuda M, Fukushima A, Matsumoto J, et al. Protein acetylation in skeletal muscle mitochondria is involved in impaired fatty acid oxidation and exercise intolerance in heart failure [J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2018, 9(5): 844-859. DOI:10.1002/jcsm.12322.
- [54] Antunes-Correa LM, Trevizan PF, Bacurau A, et al. Effects of aerobic and inspiratory training on skeletal muscle microRNA-1 and downstream-associated pathways in patients with heart failure [J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2020, 11 (1): 89-102. DOI:10.1002/jcsm.12495.
- [55] Zhou LS, Xu LJ, Wang XQ, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on physical function in elderly subjects: A systematic review and Meta-analysis [J]. Drugs Aging, 2015, 32(9): 727-735. DOI:10.1007/s40266-015-0288-3.
- [56] Harada H, Kai H, Niiyama H, et al. Effectiveness of cardiac rehabilitation for prevention and treatment of sarcopenia in patients with cardiovascular disease - A retrospective cross-sectional analysis [J]. J Nutr Health Aging, 2017, 21 (4): 449-456. DOI:10.1007/s12603-016-0743-9.
- [57] Collamati A, Marzetti E, Calvani R, et al. Sarcopenia in heart failure: mechanisms and therapeutic strategies [J]. J Geriatr Cardiol, 2016, 13(7): 615-624. DOI:10.11909/j.issn.1671-5411.2016.07.004.
- [58] 郝媛媛, 胡石甫. 曲美他嗪联合八珍汤治疗老年慢性心衰合并肌少症的临床效果 [J]. 内蒙古中医药, 2021, 40(3): 57-58. DOI: 10.16040/j.cnki.cn15-1101.2021.03.036.
- [59] 彭杰, 彭爽. 温肾活血方对心衰大鼠运动耐量及 Airogl-1/MAFbx 和 Murf-1 mRNA 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(1): 70-73. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2019.01.020.

(收稿日期:2021-06-02)

(上接 1056 页)

- [29] Park KS, Kang SN, Kim DH, et al. Late endothelial progenitor cell-capture stents with CD146 antibody and nanostructure reduce in-stent restenosis and thrombosis [J]. Acta Biomater, 2020, 111: 91-101. DOI:10.1016/j.actbio.2020.05.011.
- [30] 席亚东, 黄玉华, 杜若林, 等. 血管内支架植入后的内皮损伤及其修复策略 [J]. 生物医学工程学杂志, 2018, 35(2): 307-313. DOI:10.7507/1001-5515.201612008.
- [31] Kereiakes DJ, Yeh RW, Massaro JM, et al. Stent thrombosis in drug-eluting or bare-metal stents in patients receiving dual antiplatelet therapy [J]. JACC Cardiovasc Interv, 2015, 8(12): 1552-1562. DOI:10.1016/j.jcin.2015.05.026.
- [32] Liu X, Wang M, Zhang N, et al. Effects of endothelium, stent design and deployment on the nitric oxide transport in stented artery: a potential role in stent restenosis and thrombosis [J]. Med Biol Eng Comput, 2015, 53(5): 427-439. DOI:10.1007/s11517-015-1250-6.
- [33] Hemetsberger R, Abdelghani M, Toelg R, et al. Impact of coronary calcification on clinical outcomes after implantation of newer-generation drug-eluting stents [J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(12): e019815. DOI:10.1161/JAHA.120.019815.
- [34] Kalra A, Rehman H, Khera S, et al. New-generation coronary stents: Current data and future directions [J]. Curr Atheroscler Rep, 2017, 19(3): 14. DOI:10.1007/s11883-017-0654-1.
- [35] Bhogal S, Panchal HB, Bagai J, et al. Drug-eluting versus bare metal stents in saphenous vein graft intervention: An updated comprehensive Meta-analysis of randomized trials [J]. Cardiovasc Revasc Med, 2019, 20(9): 758-767. DOI:10.1016/j.carrev.2018.11.013.
- [36] Nakata T, Fujii K, Fukunaga M, et al. Morphological, functional, and biological vascular healing response 6 months after drug-eluting stent implantation: A randomized comparison of three drug-eluting stents [J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2016, 88(3): 350-357. DOI:10.1002/ccd.26273.
- [37] Pelliccia F, Del Prete G, Del Prete A, et al. Effects of percutaneous coronary intervention and stenting with different drug-eluting coatings and platforms on endothelial damage and inflammation [J]. Int J Cardiol, 2012, 156(2): 242-243. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.01.059.
- [38] Sotomi Y, Onuma Y, Collet C, et al. Bioresorbable scaffold: The emerging reality and future directions [J]. Circ Res, 2017, 120(8): 1341-1352. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.117.310275.
- [39] Chakraborty Banerjee P, Al-Saadi S, Choudhary L, et al. Magnesium implants: Prospects and challenges [J]. Materials (Basel), 2019, 12(1): 136. DOI:10.3390/ma12010136.
- [40] García-Mintegui C, Córdoba LC, Buxadera-Palomero J, et al. Zn-Mg and Zn-Cu alloys for stenting applications: From nanoscale mechanical characterization to in vitro degradation and biocompatibility [J]. Bioact Mater, 2021, 6(12): 4430-4446. DOI:10.1016/j.bioactmat.2021.04.015.

(收稿日期:2021-03-19)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 021

综 述

非编码 RNA 在百草枯中毒机制中的研究进展

孟婷婷综述 李铁刚审校

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81772056); 中国医科大学附属盛京医院杰出人才基金(MF89)345 人才工程(M0273)

作者单位: 110004 沈阳, 中国医科大学附属盛京医院急诊科

通信作者: 李铁刚, E-mail: litg@sj-hospital.org

【摘 要】 百草枯是一种广泛使用的高效除草剂, 会产生超氧阴离子和其他自由基, 导致严重毒性反应。而百草枯中毒是危及生命的疾病, 可涉及多个系统脏器, 导致多器官功能衰竭, 其中肺是主要靶器官。目前, 发病机制尚未完全阐明, 临床没有特效的治疗手段。文章就近年来非编码 RNA 在百草枯中毒发病机制中的研究进展作一综述。

【关键词】 百草枯中毒; 长链非编码 RNA; 肺损伤; 发病机制

【中图分类号】 R139⁺.3 【文献标识码】 A

Research progress of non-coding RNA in the mechanism of paraquat poisoning Meng Tingting, Li Tiegang. Emergency Department of Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110004, China

Founding program: General Project of National Natural Science Foundation of China (81772056); Outstanding Talent Fund of Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University (MF89)345 Talent Pproject (M0273)

Corresponding author: Li Tiegang, E-mail: litg@sj-hospital.org

【Abstract】 Paraquat is a highly effective and widely used herbicide that produces superoxide anions and other free radicals, leading to severe toxicity. Paraquat poisoning is a life-threatening disease that can involve multiple organs and lead to multiple organ failure, among which lung is the main target organ. At present, there is no effective treatment and the pathogenesis has not been fully elucidated. This article reviews the recent progress in the pathogenesis of paraquat poisoning by non-coding RNA.

【Key words】 Paraquat poisoning; Long chain non-coding RNA; Lung injury; Pathogenesis

百草枯(paraquat, PQ), 又名对草快、克芜踪, 化学名称为 1,1-二甲基-4,4-联吡啶阳离子盐, 是一种联吡啶类除草剂。由于其价格低廉, 使用方便, 已在世界范围内广泛使用, 同时也成为发展中国家常见的农药中毒致死原因。据统计, 百草枯中毒致死率高达 50% ~ 70%^[1]。百草枯可通过消化道、呼吸道、皮肤吸收而致多器官损伤, 但尤以肺损伤为主。一些学者认为百草枯与肺内二胺和腐胺、精胺、亚精胺等多胺的结构相似, 从而导致肺竞争性地积累百草枯^[2]。中毒者可出现致死性肺出血、水肿, 经过抢救度过急性期的患者大多数也会发生不可逆性的肺纤维化、增生等改变; 此外还可致肝、肾损害, 同时累及循环、神经、血液、泌尿等系统^[3]。由于没有特效解毒药, 百草枯中毒预后很差。本文对近年来有关百草枯中毒的研究及长链非编码 RNA 在百草枯治疗中的进展进行综述。

1 非编码 RNA 定义

人类基因组研究计划成果认为, 人类 30 多亿个碱

基对的基因序列中 2/3 序列被反转录, 而最终仅有不到 2% 核酸序列用于编码蛋白, 大部分基因不表达蛋白质, 这一类基因被称为非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)。过去非编码 RNA 被认为是垃圾 RNA, 但随着研究深入, 非编码 RNA 作为影响基因表达因素而逐渐被重视^[4]。非编码 RNA 通常指不编码蛋白质的 RNA, 但这并不意味着这种 RNA 既不包含信息也不具有功能。随着高通量测序技术的突飞猛进, 非编码 RNA 的研究也逐渐深入, 这些 RNA 似乎包含一个隐藏的内部信号层。这些内部信号层控制着生理和发育中不同水平的基因表达, 包括染色质结构、表观遗传记忆、转录、RNA 剪接、编辑、翻译和翻转。人们意识到非编码 RNA 可以通过其稳定的二级或三级结构发挥多种生物学功能。非编码 RNA 根据长度可划分为 3 类: < 50 nt, 包括 microRNA、siRNA、piRNA; 50 ~ 500 nt, 包括 rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA、SLRNA、SRPRNA 等; > 500 nt, 包括长的 mRNA-like 非编

码 RNA、长的不带 polyA 尾巴的非编码 RNA 等。但目前的研究热点是具有调节功能的 RNA, 主要是 miRNA、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)。许多非编码 RNA 多聚腺苷化后大部分仍会保留在核内, 少数会被运输到胞质。胞内的 miRNA 和 lncRNA 分别与 mRNA 和 miRNA 的 3' 端非翻译区的碱基序列互补结合, 进而影响 RNA 的降解或者翻译过程, 导致靶细胞发生相应病理生理变化。

2 百草枯中毒机制

百草枯中毒机制尚未完全清楚, 目前研究比较广的主要有以下几个学说: 氧自由基产生学说、线粒体损伤学说、分子生物学说和酶失衡学说。这些学说都源于微粒体起源理论、线粒体起源理论^[3], 即百草枯在含有肝微粒体和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 生成系统的孵育混合物生物转化过程中形成了羟基自由基, 而线粒体是百草枯自由基形成的场所和靶点。众多实验研究证实, 百草枯所致的细胞损伤最初表现为线粒体肿胀, 随后出现明显的细胞变性和细胞质水肿。自由基的强氧化性、氧化还原酶系的失衡损伤细胞的膜结构和功能、细胞内的能量、物质代谢系统障碍, 最终导致细胞水肿、凋亡, 加重组织炎症反应。而长链非编码 RNA 在百草枯中毒机制中通过其竞争性的结合 mRNA, 减弱 miRNA 对细胞调节作用, 间接调控 mRNA, 而发挥着增强或减弱线粒体的损伤和胞内氧自由基的产生。

3 百草枯中毒肺损伤机制

百草枯中毒的动物实验和临床病例分析均已证明百草枯主要积聚在肺部, 即使治疗后血液中的百草枯浓度降低, 但肺内百草枯水平却无任何变化^[3]。该效应可用肺内多胺转运系统解释, 该转运系统在肺泡 I 型、II 型细胞膜上大量表达。百草枯在肺内易聚集, 不易消除的特点, 使得肺成为百草枯对人体损害的首要靶器官。研究证实, 上皮-间质转化机制、炎症因子的介导和氧化应激在百草枯致肺损伤中发挥重要作用。

3.1 上皮-间质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT) EMT 指上皮细胞从形态学上到间质细胞的转化, 它赋予了细胞侵袭和迁移的能力。EMT 被认为是肿瘤形成和器官纤维化形成中的重要步骤。Yamada 等^[5]证实 EMT 在百草枯致肺纤维化中也起着重要作用。肺纤维化中肌成纤维细胞主要由肺泡上皮细胞通过 EMT 而来, 表现为上皮标志蛋白 E-cadherin 表达降低, 而纤维化相关基因基质金属蛋白酶 (MMP-2、MMP-9)、I 型胶原蛋白、III 型胶原蛋白的 mRNA 水平升高^[5-6]。除此之外, 细胞因子在 EMT 形成过程中

也扮演着重要角色。研究已经证实, 转化生长因子 β (TGF- β) 激活 TGF- β /Smad 信号通路^[7-8]; 缺氧诱导因子-1 α (HIF1 α) 调控 Snail 和 β -catenin 信号通路^[9-10]; HIF1 α 调节 LOX/ β -catenin 的表达^[11]; 结缔组织生长因子 (CTGF) 的表达均参与了 EMT 和早期肺纤维化的形成过程^[12]。

3.2 炎性介质 参与和介导炎性反应的细胞因子称为炎性介质。目前研究已经发现, 炎性介质可参与肿瘤形成、血液病发展、器官纤维化过程。百草枯可激活中性粒细胞、巨噬细胞等分泌细胞因子, 参与肺纤维化过程。研究已经证实, 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、核因子- κ B (NF- κ B)、白介素 1 β (IL-1 β) 和 IL-6 的表达水平, 在百草枯所致的急性肺损伤中明显升高^[13]。

3.3 氧化应激 对百草枯中毒机制的研究发现, 百草枯在被人体吸收进入血液循环后, 经历了氧化还原循环的交替还原和再氧化过程, 并在氧化还原循环过程中起到催化作用, 生成负氧离子, 然后引发一个级联反应, 导致其他活性氧物种 (ROS) 的产生, 主要是过氧化氢^[14]。Adachid 等^[15]在 2003 年首次发现连续剂量的百草枯可致胆固醇过氧化和肺损伤。Chen 等^[16]研究显示, 百草枯处理过小鼠的肺髓过氧化物酶活性、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH) 和 4-羟基壬醛 (4-hydroxynonanal) 蛋白活性升高, 这进一步证实了氧化应激损伤在百草枯致肺纤维化进程中发挥重要作用。

4 非编码 RNA 与百草枯中毒机制

4.1 MicroRNA (miRNA) 与百草枯中毒 miRNA 是一类由内源基因编码的长度约为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子, 能够与 mRNA 的 3' UTR (3'-untranslated region) 互补结合, 抑制 mRNA 的翻译或降低 mRNA 的稳定, 从而调节 mRNA 的表达^[17], 间接调控多种生物学行为, 如增生、分化和凋亡。miRNA 除可在肿瘤发生中发挥重要作用外, 近来研究发现, miRNA 在百草枯中毒中也扮演着重要角色。

黄敏等^[18]用微阵列测序分析百草枯诱导肾上腺嗜铬细胞瘤细胞 (PC12) 的 miRNA 测序谱显示, 随着百草枯浓度的增加, miR-Let-7e 表达水平持续下降, 而 miR-34a 表达水平持续上升, bcl-2 蛋白表达水平降低, 且与 miR-34a 的表达量呈剂量-效应关系; 这说明 miRNAs 的异常表达参与了 PQ 致 PC12 细胞损伤过程, 同时 PQ 可能通过上调 miR-34a 表达增加 bcl-2 蛋白表达, 进而诱导 PC12 细胞凋亡。朱勇^[19]在百草枯致肺纤维化模型中发现 HIF-1 α 及其靶基因 microRNA-210 (miR-210) 存在相互调控关系, 并在致肺纤维化中对 EMT 有重要作用。PQ 中毒后, 大鼠肺组织即

有 HIF-1 α 表达显著升高;上皮标志物 ZO-1 和 E-cadherin 表达减少,间质标志物 α -SMA 明显增多,即发生了 EMT;miR-210 表达明显增加。在细胞内沉默 HIF-1 α 后,Snail 和 β -catenin 表达明显减少,PQ 中毒诱导的 EMT 程度减轻;miR-210 表达明显下降。而体外过表达 miR-210 后,间质标志物 α -SMA 进一步增多,上皮标志物 ZO-1 和 E-cadherin 进一步减少,EMT 程度加重,HIF-1 α 表达增多;抑制 miR-210 后,明显减轻 PQ 中毒诱导的 EMT,HIF-1 α 显著减少。以上的实验结果提示,HIF-1 α 和 miR-210 之间存在正反馈调控,细胞内 HIF-1 α 增多,一方面调节 EMT,另一方面进一步促进 miR-210 表达,形成恶性循环,不断促进 PQ 诱导的 EMT 和肺纤维化发生发展;HIF-1 α 可能是治疗 PQ 中毒致肺纤维化的一个潜在靶点。蔡志鹏^[20]用百草枯诱导小鼠神经母细胞,探讨 miR-380-3p 在百草枯致神经细胞损害中的作用及其与 Nrf2 的关系。用 qRT-PCR 观察细胞 mRNA 表达水平,显示百草枯可下调神经细胞内 miR-380-3p 的表达水平,而转录因子 Nrf2 的激活可以上调神经细胞内 miR-380-3p 表达水平,miR-380-3p 的过表达可导致神经细胞 (Neuro-2a) 增殖活性下降、凋亡率升高及周期阻滞。詹燕婷^[21]通过实验观察 miR-17-5p 功能获得与功能失去在 PQ 致小鼠神经母细胞瘤细胞 (Neuro-2a) 增殖、凋亡、细胞周期改变中的影响,PQ 可诱导神经细胞 miR-17-5p 表达下调和 DNA 甲基化水平升高;这说明 miR-17-5p 参与 PQ 诱导的神经细胞凋亡、细胞周期的改变。

因此,miRNA 可以作为一种新的研究标志物,降低或抑制 miRNA 在体内的表达,从而引起百草枯诱导的细胞凋亡、细胞周期的改变,为百草枯中毒、治疗、预后提供一个新的思路。

4.2 lncRNA 与百草枯中毒 lncRNA 是长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA,过去人们认为 lncRNA 是转录“噪音”,是 RNA 聚合酶 II 转录的副产物,不具有生物学功能^[22]。近年来随着对 lncRNA 的研究表明,lncRNA 参与了 X 染色体沉默、基因组印记及染色质修饰、转录激活、转录干扰、核内运输等多种重要的调控过程;同时也在剂量补偿效应、表观遗传调控、细胞周期调控和细胞分化调控等众多生命活动中发挥重要作用^[23-25]。在 Salmena 等^[26]提出 ceRNA 概念后,科研人员发现 lncRNA 因 miRNA 含有某个或多个反应元件 (microRNA response elements, MREs),可与 mRNAs 竞争性结合 miRNAs,从而调节 mRNA 的表达,参与肺纤维化、肿瘤、百草枯中毒等疾病的发生发展。近年来,有不少学者研究 lncRNA 作为调控生命活动的重

要大分子在百草枯中毒中所扮演的重要角色,从而为百草枯中毒治疗、防治提供新的靶点。

杨虹雨等^[27]研究了 A07-17-0016 lncRNA NR_030777 在百草枯致神经细胞损害中对 Zfp326/Cpne5 表达的调控及对细胞增殖凋亡的影响,PQ 处理可引起小鼠神经母细胞瘤 (Neuro-2a, N2a) 增殖活力下降,细胞凋亡增加,NR_030777 lncRNANR_030777 表达升高,Zfp326 mRNA 表达降低,Cpne5 mRNA 表达升高;敲低 NR_030777,会使 PQ 诱导的 N2a 细胞增殖活力、Zfp326 mRNA、Cpne5 mRNA 表达量受到抑制;而过表达 NR_030777,会使 PQ 诱导的 Zfp326 mRNA、Cpne5 mRNA 表达量产生一定的协同作用;同时能够拮抗 PQ 对细胞的毒性。此研究说明,lncRNA 能够调控 mRNA 分子的表达,并能够抵抗百草枯诱导的神经细胞损害作用。

张银银等^[28]研究 lncRNA-AK039862 在 PQ 诱导的小鼠帕金森病模型中发现,lncRNA-AK039862 在 PQ 抑制神经小胶质细胞和/或多巴胺能细胞增殖活力中起到协同作用;可在 PQ 处理的神经小胶质细胞中正向调控 Foxa1 基因转录过程,并促进 Pafah1b1 转录、翻译过程。陈俊杰^[29]通过构建百草枯诱导的小鼠肺纤维化模型,抽取小鼠肺组织,行 lncRNA 芯片分析,发现多种 lncRNA 参与小鼠肺纤维化过程,选取其中差异表达的 lncRNAuc. 77 及 2700086A05Rik 转染至人肺腺癌细胞 (A549),发现其靶基因 ZEB2 及 HOXA3 表达明显变化,并引起细胞形态改变,促进纤维化相关基因表达变化。以上的研究说明,lncRNA 可以发挥其调节功能,从而影响细胞的生命活力。

5 小结与展望

非编码 RNA 虽然不能编码蛋白质,但能够与具有同源性的 DNA 和 RNA 结合,从而调节信息表达;也可以通过折叠其二级结构,参与转录前和转录后调控。综上所述,非编码 RNA 在百草枯中毒机制的研究中,其主要通过信号通路、细胞因子、蛋白分子的参与,或竞争性地结合 miRNA 调控 EMT 进程,调控相关凋亡蛋白分子等发挥影响。非编码 RNA 在百草枯中毒机制研究取得的进展,为百草枯中毒治疗提供了非常有价值的生物学标志物和治疗靶点。但目前,针对非编码 RNA 在百草枯中毒机制的研究尚处于起始阶段,很多问题尚未解决,如非编码 RNA 如何在转录前、转录后调控相关信号通路、相关蛋白分子,又有哪些非编码 RNA 分子介导了炎症反应—免疫反应调控。这些问题引导临床继续深入探究非编码 RNA 在百草枯中毒中所起的作用。

参考文献

- [1] Wang Y, Chen Y, Mao L, et al. Effects of hemoperfusion and continuous renal replacement therapy on patient survival following paraquat poisoning[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181207. DOI: 10.1371/journal.pone.0181207.
- [2] Guo F, Sun YB, Su L, et al. Losartan attenuates paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats[J]. Hum Exp Toxicol, 2015, 34(5): 497-505. DOI: 10.1177/0960327114543840.
- [3] Williams JH, Whitehead Z, Van Wilpe E. Paraquat intoxication and associated pathological findings in three dogs in South Africa[J]. J S Afr Vet Assoc, 2016, 87(1): e1-e9. DOI: 10.4102/jsava.v87i1.1352.
- [4] Ransohoff JD, Wei Y, Khavari PA. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(3): 143-157. DOI: 10.1038/nrm.2017.104.
- [5] Yamada A, Aki T, Unuma K, et al. Paraquat induces epithelial mesenchymal transition like cellular response resulting in fibrogenesis and the prevention of apoptosis in human pulmonary epithelial cells[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0120192. DOI: 10.1371/journal.pone.0120192.
- [6] Huang M, Wang YP, Zhu LQ, et al. MAPK pathway mediates epithelial-mesenchymal transition induced by paraquat in alveolar epithelial cells[J]. Environ Toxicol, 2016, 31(11): 1407-1414. DOI: 10.1002/tox.22146.
- [7] Xie L, Zhou D, Xiong J, et al. Paraquat induce pulmonary epithelial-mesenchymal transition through transforming growth factor- β 1-dependent mechanism[J]. Exp Toxicol Pathol, 2016, 68(1): 69-76. DOI: 10.1016/j.etp.2015.09.010.
- [8] Han YY, Shen P, Chang WX. Involvement of epithelial to mesenchymal transition and associated transforming growth factor- β /Smad signaling in paraquat-induced pulmonary fibrosis[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(6): 7979-7984. DOI: 10.3892/mmr.2015.4454.
- [9] Zhu Y, Tan J, Xie H, et al. HIF-1 α regulates EMT via the Snail and β -catenin pathway in paraquat poisoning-induced early pulmonary fibrosis[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(4): 688-697. DOI: 10.1111/jcmm.12769.
- [10] Xie H, Tan JT, Wang RL, et al. Expression and significance of HIF-1 α in pulmonary fibrosis induced by paraquat[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2013, 238(9): 1062-1068. DOI: 10.1111/jcmm.12769.
- [11] Lu J, Qian Y, Jin W, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α regulates epithelial-to-mesenchymal transition in paraquat-induced pulmonary fibrosis by activating lysyl oxidase[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(3): 2287-2294. DOI: 10.3892/etm.2017.5677.
- [12] Huang M, Yang H, Zhu L, et al. Inhibition of connective tissue growth factor attenuates paraquat-induced lung fibrosis in a human MRC-5 cell line[J]. Environ Toxicol, 2016, 31(11): 1620-1626. DOI: 10.1002/tox.22166.
- [13] Khalighi Z, Rahmani A, Cheraghi J, et al. Perfluorocarbon attenuates inflammatory cytokines, oxidative stress and histopathologic changes in paraquat-induced acute lung injury in rats[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2016, 42: 9-15. DOI: 10.1016/j.etp.2015.12.002.
- [14] 孙百胜, 何月忠. 百草枯中毒机制及临床治疗进展[J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29(11): 1043-1046. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.11.018.
- [15] Adachid J, Ishii K, Tomita M, et al. Consecutive administration of paraquat to rats induces enhanced cholesterol peroxidation and lung injury[J]. Arch Toxicol, 2003, 77(6): 353-357. DOI: 10.1007/s00204-003-0449-8.
- [16] Chen J, Zeng T, Bi Y, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) attenuated paraquat induced lung damage in mice[J]. Inhal Toxicol, 2013, 25(1): 9-16. DOI: 10.3109/08958378.2012.750405.
- [17] Pinto R, De Summa S, Danza K, et al. MicroRNA expression profiling in male and female familial breast cancer[J]. Br J Cancer, 2014, 111(12): 2361-2368. DOI: 10.1038/bjc.2014.535.
- [18] 黄敏, 娄单, 常秀丽, 等. 百草枯诱导 PC12 细胞 MicroRNA 的变化及 bel-2 调控机制[J]. 中华卫生劳动职业病杂志, 2014, 32(1): 32-37. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2014.01.003.
- [19] 朱勇. HIF-1 α 和 miR-210 在百草枯中毒致肺纤维化中对上皮-间质转化的作用研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- [20] 蔡志鹏. miR-380-3p 在百草枯致神经细胞损害中的作用及其与 Nr2 的关系探讨[D]. 福州: 福建医科大学, 2017.
- [21] 詹燕婷. miR-17-5p 在百草枯致神经细胞损害中的作用及其改变的可能途径探讨[D]. 福州: 福建医科大学, 2016.
- [22] 夏天, 肖丙秀, 郭俊明. 长链非编码 RNA 的作用机制及其研究方法[J]. 遗传, 2013, 35(3): 269-280. DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00269.
- [23] Lekka E, Hall J. Noncoding RNAs in disease[J]. FEBS Lett, 2018, 592(17): 2884-2900. DOI: 10.1002/1873-3468.13182.
- [24] 张绍峰, 李晓荣, 孙传宝, 等. 植物非编码 RNA 调控春化作用的表观遗传[J]. 遗传, 2012, 34(7): 485-488. DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00829.
- [25] Teng L, Meng R. Long non-coding RNA MALAT1 promotes acute cerebral infarction through miRNAs-mediated hs-CRP regulation[J]. J Mol Neurosci, 2019, 69(3): 494-504. DOI: 10.1007/s12031-019-01384-y.
- [26] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the rosetta stone of a hidden RNA language[J]. Cell, 2011, 146(3): 353-358. DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.014.
- [27] 杨虹雨, 林清霞, 蔡萍, 等. LncRNA NR_030777 在百草枯致神经细胞损害中 Zfp326/Cpne5 表达的调控及对细胞增殖凋亡的影响[C]. 中国毒理学会, 中国毒理学第七次全国会员代表大会暨中国毒理学会第六次青年学者论坛论文摘要, 2018: 78-79.
- [28] 张银银, 吴静文, 杨虹雨, 等. LncRNA AK039862 在百草枯抑制神经细胞增殖、迁移及改变 Pafah1b1/Foxa1 表达中的作用[C]. 中国毒理学会, 中国毒理学会第七次全国会员代表大会暨中国毒理学会第六次中青年学者科技论坛论文摘要, 2018: 79-80.
- [29] 陈俊杰. 长链非编码 RNA 在百草枯致小鼠肺纤维化模型中的表达谱分析及作用初步研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2015.

(收稿日期: 2021-06-22)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.022

综 述

原发中枢神经系统淋巴瘤研究进展

宋颖,韩叶综述 吴重阳审校

基金项目:兰州市科技发展指导性计划项目(2019-ZD-65);兰州大学第二医院萃英科技创新面上项目(CY2018-MS07)

作者单位:730000 兰州,兰州大学第二医院血液科

通信作者:吴重阳,E-mail:wuchy@lzu.edu.cn

【摘 要】 原发中枢神经系统淋巴瘤(PCNSL)是一种侵袭性恶性肿瘤,预后不良。虽然基于大剂量甲氨蝶呤的免疫化疗方法在诱导反应方面是有效的,但多数患者不能长期持久地缓解。近年来,高通量分子和基因组分析研究极大地促进了对 PCNSL 分子生物学机制的理解。解除调控的促增殖信号通路,如核因子(NF)- κ B 途径、janus 相关激酶/信号转换器和转录激活因子(JAK/STAT)通路等,可能成为潜在的治疗靶点,了解分析 PCNSL 的基本分子和遗传异常将促进该疾病靶向治疗的未来发展和应用。文章就 PCNSL 的临床特征、诊断、靶向治疗及预后等方面进行综述。

【关键词】 淋巴瘤,中枢神经系统;分子学;诊断;靶向治疗

【中图分类号】 R733.4

【文献标识码】 A

Research advances of primary central nervous system lymphoma Song Ying, Han Ye, Wu Chongyang. Department of Hematology, Lanzhou University Second Hospital Lanzhou, 730000 China

Corresponding author: Wu Chongyang, E-mail: wuchy@lzu.edu.cn

Funding program: Lanzhou Science and Technology Development Guidance Plan Project (2019-ZD-65); Cuiying Science and Technology Innovation Project of the Second Hospital of Lanzhou University (CY2018-MS07)

【Abstract】 Primary central nervous system lymphoma (PCNSL) is an aggressive malignant tumor associated with poor survival. Although high-dose methotrexate-based immunochemotherapy approaches are effective at inducing responses, few patients experience long-term durable remissions. Recently, novel insights from high-throughput molecular and genome analysis into the biology of this unique disease have been elucidated and have paved the way for the investigation of rational approaches. Unregulated pro-proliferation signaling pathways, such as nuclear factor (NF)- κ B pathway, janus-related kinase/signal converter, and transcription activator (JAK/STAT) pathway, may become potential therapeutic targets, may become potential therapeutic targets.

【Key words】 Central nervous system lymphoma molecular targeted therapy

原发中枢神经系统淋巴瘤(primary central nervous system lymphoma, PCNSL)特指发生在“免疫豁免区”——中枢神经系统的罕见淋巴瘤,占颅内肿瘤的4%和结外淋巴瘤的4%~6%^[1],是继胶质母细胞瘤和弥漫性星形细胞瘤之后,发生在中枢神经系统的第三种最常见的恶性肿瘤。目前,世界卫生组织(WHO)将 PCNSL 设为一个独特亚型,属于侵袭性非霍奇金淋巴瘤范围,病变可累及大脑、脊髓、软脑膜或眼睛的玻璃体和视网膜部分,发病中位年龄为56岁,男性略高于女性(男:女=3:2),超过90%以上 PCNSL 患者的病理类型为弥漫性大B细胞淋巴瘤(PCNS DLBCL)^[2]。病因尚不明确,有研究认为,PCNSL 发生与年龄和免疫抑制状态[包括人类免疫缺陷病毒(HIV)感染或医源性免疫

抑制]相关^[3]。本文综述 PCNS DLBCL(下述简称为 PCNSL)的临床特征、主要组织形态学、免疫表型和遗传学特征、靶向治疗及预后进展。

1 临床特征

PCNSL 患者临床特征缺乏特异性,根据所累及的中枢神经系统部位不同而表现不同,疾病进展快,通常在数周内发生。约70%患者因脑实质或软脑膜受累出现局灶性神经功能缺损,高达43%患者出现非特异性行为或神经认知改变,33%患者因颅内压升高导致头痛、意识混乱、恶心和呕吐等表现,20%~25%的 PCNSL 病例累及眼部(视网膜、玻璃体、视网膜下色素上皮间隙或视神经头),患者可能出现视力模糊、视力下降、飞蚊症,但较少发生,通常无症状或只有类似葡萄

萄膜炎的轻微症状;当肿瘤累及脊髓,通常是累及胸髓的离散髓内结节,与其他髓内肿瘤的症状相似,取决于在脊髓内的位置,可能仅感到不对称的感觉变化、四肢无力,以及膀胱或肠道功能障碍,易造成误诊。与原发性脑肿瘤(胶质瘤)或脑转移瘤患者相比,PCNSL 病变较少累及皮质,因此患者癫痫发作(14%)较为罕见^[4,6];另外临床上也几乎未观察到仅软脑膜受累而无脑实质病变或孤立的脊髓病变患者,在非中枢淋巴瘤患者中观察到的典型症状,如发热、出汗和体质量减轻等,在 PCNSL 中也并不常见。

2 诊断

2.1 影像学及组织病理学 对于出现神经精神症状的患者,磁共振成像(MR)是诊断 PCNSL 首选的方式,病变通常对称,位于脑室周围深部白质,偶尔有室管膜下延伸,多累及胼胝体,信号均匀、DWI 呈高信号,均匀地对比增强,无出血或坏死、伴有不同程度的病灶周围水肿,但水肿相对较轻^[7]。而多发性硬化、结节病和偶尔的胶质瘤等颅内疾病,与 PCNSL 有类似的 MR 表现,且都对皮质类固醇有短暂反应。因此 PCNSL 的明确诊断主要是通过病理诊断,现有指南推荐首选立体定向活检术行病理分析,但如有眼部或脑脊液受累的证据,玻璃体切除术或脑脊液细胞学检查即可确诊^[8]。PCNSL 肿瘤组织标本肉眼通常显示出柔软和苍白的鱼肉外观,显微镜下肿瘤组织通常由中心母细胞组成,较少由免疫母细胞组成,以弥漫性、侵袭性或血管周围生长模式浸润神经实质,肿瘤细胞多数可见核分裂相,偶见病理性核分裂相;病变区域显示反应性 T 细胞和活化巨噬细胞及反应性星形胶质细胞浸润的强炎性反应,周围小血管和毛细血管数目增多,血管周围反应性 T 细胞浸润(RPVI),肿瘤周围轻度水肿。免疫组织化学染色与系统性 DLBCL 相同,表达 B 细胞标志物如 CD19、CD20、CD22 和 CD79a,浆细胞标志物(CD38、CD138)不存在,部分可表达 CD10、BCL-6、CD30 等,Ki-67 增殖指数高。MUM1 和 BCL-6 的共表达在正常生发中心不存在,然而,这 2 种标记可以在大约 50% 的 PCNSL 患者中同时显示,提示肿瘤细胞正处在离开生发中心阶段,因此大多数 PCNSL 患者免疫组化与生发中心后或活化的 B 细胞(ABC)免疫表型(CD10⁺, BCL6⁺, MUM1/IRF4⁺)相似^[5,9-10]。

2.2 分子遗传学 从分子学的角度分析,基因改变可以作为诊断生物标志物或个性化治疗的靶点,在过去的 10 年里,下一代测序(NGS)的发展极大促进了通过靶向和全外显子测序鉴定 PCNSL 中基因改变的研究,但由于疾病的罕见性及肿瘤存在的特殊部位阻碍了研

究的进展。一些分子和遗传改变可能导致肿瘤的发生,包括原癌基因和抑癌基因的突变,遗传物质的获得和丢失,以及一些重要信号通路的异常激活。多项研究表明,PCNSL 大多表现为 6p21 (HLA)、6q21 (PRDM1)、6q23 (TNFAIP3)、8q12 (TOX)、9p21 (TOX、CDKN2A、CDKN2B) 缺失,7q、9p24.1 (PD-L1/PD-L2)、11q 和 12 号 (ETV6) 染色体拷贝增加^[11];最常见的突变包括 NF- κ B 途径 (PIM1、MYD88、IRF4、CARD11), B 细胞受体信号 (CD79B、CD79A、ITPKB), JAK-STAT 信号通路 (CCND1、SOCS1、STAT6、STAT3), 以及调节细胞周期/凋亡基因 (即 TP53、CCND3、BTG2、PIM1、CDKN2A、ATM)、染色质 (即 KMT2D) 和转录 (即 C-MYC、PRDM1、TBL1XR1) 调节途径等基因,与系统性 DLBCL 的突变靶点有相当大的重叠^[11-15]。但最近也有研究揭示了其特异性,对于 DLBCL, MYD88 突变通常局限于非生发中心亚型 (non-GCB) 中,而 PCNSL 生发中心亚型 (GCB) 患者也出现 MYD88 的突变,且突变在 GC 和活化 B 细胞亚型 (ABC) 中分布相似。此外有研究对 77 例 PCNSL 和 17 例继发性中枢神经系统淋巴瘤 (SCNSL) 患者进行研究发现,3% PCNSL 患者 CSMD2 和 CSMD3 基因中存在突变,尽管突变频率较低,但这只在 PCNSL 患者中检测到,也许是导致 PCNSL 疾病发生的主要基因^[12, 15]。总之,关于 PCNSL 的生物学研究尚不完善,部分仍存在争议,目前热点研究的突变通路及发生突变较多的基因可能对靶向治疗提供一定的分子学依据。

NF- κ B 信号通路是一种参与多种淋巴系统恶性肿瘤增殖的信号通路,其异常和激活是 PCNSL 的标志。NF- κ B 通路中的许多基因在同一肿瘤中同时发生突变,最常见的突变是 PIM1 和 MYD88,其次是 IRF4、CARD11 和 PRDM1^[15]。PIM1 癌基因定位于染色体 6p21.2,是一类新型丝氨酸/苏氨酸激酶,能够激活基因转录和细胞周期,通过直接或间接调控靶点抑制细胞凋亡,参与 JAK/STAT 通路,并对 NF- κ B 通路上游调控因子和下游靶点表达水平产生影响。研究在表达 PIM1 的突变细胞中发现 NF- κ B 上游调节因子 TLR4/7 和 IL1R1 的上调^[16]。此外 PIM-1 还通过调节帽依赖性蛋白 MYC 的转录活性和细胞周期进程来促进肿瘤发生^[17]。MYD88 作为信号衔接蛋白,在刺激 toll 样受体 (TLRs)、IL-1 和 IL-18 受体后激活 NF- κ B 通路。其中大多数突变为 TIR 结构域疏水核心 265 位点处脯氨酸被亮氨酸所取代 (L265P)^[18]。L265P 突变体可通过自发组装含有白介素 1 受体激活激酶 (IRAK1) 和白介素 4 受体激活激酶 (IRAK4) 的蛋白复合物促进细胞

生存,导致 IRAK4 激酶活性、IRAK1 磷酸化、NF- κ B 信号转导、JAK 激酶激活 STAT3,并分泌 IL-6、IL-10 和干扰素- β ^[19]。MYD88 信号通路对于 PCNSL 的发病机制是不可或缺的,因此支持开发 IRAK4 激酶抑制剂和该通路的其他成分,将有助于治疗带有 MYD88 突变的 PCNSL 患者。IRF4(又称 MUM1)是淋巴细胞、髓细胞和树突状细胞分化和成熟几个步骤的关键调节因子^[20]。与系统性 DLBCL 相比,高比例的 BCL6/MUM1/IRF4 共表达已被证明是 PCNSL 的一个特征^[21],这可能成为治疗的又一靶点。CARD11 属于 BCM 复合体,由 BCL10、CARD11 和 MALT 组成,位于 B 细胞受体(BCR)复合物的下游,通常与 MYD88 和 CD79B 突变重合,与 NF- κ B 通路的激活有关,但目前 CARD11 突变在治疗或预后方面尚未发现价值^[22]。此外与正常反应性 B 淋巴细胞或系统性 DLBCL 相比,PCNSL 具有更显著的 CD79B 表达。CD79B 是免疫球蛋白超家族的一个成员,与 CD79A 共同启动由 BCR 复合物激活的信号转导级联,触发下游的布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)激活来促进 BCR 信号传递,最终导致 NF- κ B 通路的激活^[23-24]。

多项研究表明,JAK/STAT 通路的结构性激活可诱导肿瘤的持续生存,参与 JAK/STAT 信号通路的分子可能是促进 PCNSL 发病机制的调控因素^[25]。STAT3 是一种致癌转录因子,激活的 STAT3 进入细胞核,调控靶基因的表达,从而促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移和血管生成。多变量生存分析表明,STAT3 磷酸化是 PCNSL 中 PFS 较短的独立预后因素,因此 STAT3 抑制剂作为新型靶向药物具有很大的开发潜力^[26]。此外 IL-6 和 IL-10 等细胞因子可通过上调 PCNSL 中的 JAK1/STAT3/STAT6 的构成性激活来刺激 B 细胞增殖和存活,而 MYD88 的下调可显著降低 IL-6 和 IL-10 的分泌及 STAT3 的磷酸化^[19, 25]。总之通过 NF- κ B 和 IAK/STAT 通路功能的相互作用,能够诱导促肿瘤发生基因(包括血管生成和缺氧基因、趋化因子和免疫抑制细胞因子)协同促进肿瘤发展^[27]。

多数 PCNSL 患者可检测到细胞周期调控因子 CDKN2A 的 DNA 甲基化导致的沉默。CDKN2A,也被称为 TP16,是一个在基因组稳定性中起重要作用的肿瘤抑制基因。P16 为其编码的一种蛋白,特异性抑制 CDK4 和 CDK6,并可能通过对 CDK4/细胞周期蛋白 D1 复合物活性的抑制作用来阻断 G1 细胞周期进程,CDKN2A 纯合子缺失的 PCNSL 患者预后较差^[18, 28]。6q21 中包含编码 BLIMP1 蛋白的 PRDM1 基因,作为肿瘤抑制基因,在 PCNSL 和 ABC 亚型 DLBCL 中发挥

重要作用。PRDM1 基因失活突变与 BLIMP1 蛋白表达缺失相关,这些突变可能通过阻断末端 B 细胞分化来促进肿瘤的发生。目前也有小样本研究表明,6q21 (PRDM1)缺失与总生存期(OS)较短相关^[16]。

3 靶向治疗

过去几十年中,以大剂量甲氨蝶呤(HD-MTX)为主的化疗、放疗、靶向治疗和干细胞移植极大地促进了 PCNSL 患者的缓解,患者的预后有了显著改善。但由于年龄大、延迟神经毒性、耐药性或复发等因素,30%~50%的患者无法从这种治疗中受益,且对总体生存率和长期生存率仍具挑战性。因此,开发新的、安全的靶向药物对于治疗至关重要,且目前其尚用于复发/难治(R/R)患者。值得探究的靶点和途径包括 NF- κ B 途径、B 细胞受体、JAK/STAT 途径、PI3K/mTOR 通路、IRF4、BCL-6、PIM 激酶及 PD-1/PD-L1 等^[29]。

BCR 信号通路可能靶向于不同的信号节点,上游抑制可靶向脾酪氨酸激酶(SYK)、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)、BTK 或白介素-1 受体相关激酶(IRAK),下游可被免疫调节药物(IMiDs)抑制,如沙利度胺及其类似物来那度胺和泊马度胺抑制 IRF4,或黏膜相关淋巴瘤组织淋巴瘤易位蛋白 1(MALT1)抑制剂等。后 NF- κ B 转录因子通过抑制 κ B(I κ B)保留在细胞质中。I κ B 激酶(IKK)磷酸化 I κ B,然后被蛋白质体降解,导致 NF- κ B 转录因子进入细胞核导致基因表达的改变,蛋白酶体介导的 I κ B 水解可能是 BCR 信号轴的另一个方面,可以被蛋白酶体抑制剂如硼替佐米靶向。

伊布替尼(Ibrutinib)是一种不可逆的 BTK 选择性抑制剂,以 BCR 信号为靶点,在 BCR 亚基 CD79B 和 MYD88 发生突变的淋巴瘤中特别活跃,因此多项研究在 PCNSL 患者中测试了 BTK 抑制剂的临床作用。其中一项针对 PCNSL R/R 患者的 II 期临床试验应用伊布替尼 560 mg/d 单药治疗,治疗 2 个月后,可进行评估的患者 44 例中 31 例(70.45%)获得了疾病控制,13 例(29.55%)治疗失败,在所有的中枢神经系统均观察到对药物的反应,尽管 PFS 中位数仅为 4.8 个月,但 15 例在 1 年后持续缓解。需要特别指出的是 2 例患者出现了肺曲霉病^[30]。此外多项包括伊布替尼在内的联合方案,如伊布替尼联合替莫唑胺、依托泊苷、多霉素、地塞米松与利妥昔单抗(DA-TEDDi-R)方案等,均展现出可观的临床疗效^[31]。尽管 PCNSL 患者对 BTK 抑制剂高度敏感,但在大多数研究中,不良反应都是短暂的。多项临床研究表明,mTOR 抑制剂及 PI3K 抑制剂可能存在血脑屏障穿透受限,导致临床低

反应,目前尚有一些包含针对 PI3K/mTOR 轴的药物治疗临床试验正在进行中^[32]。来那度胺(Lenalidomide)作为一种有效的抗增殖和免疫调节剂,对 PCNSL 患者展现出临床活性。一项针对老年 PCNSL 患者 II 期临床试验应用低剂量来那度胺维持,患者耐受性良好,中位时间为 18.9(0.9~65.2)个月,这说明来那度胺维持 PCNSL 的可行性^[33]。此外药物联合方案,如 Len 联合利妥昔单抗(R2 方案)在 R/R 患者中表现出显著的疗效,但由于中位反应持续时间短,尚不能成为 R/R PCNSL 的标准治疗。目前仍需要进行进一步随机研究,评估来那度胺联合治疗对提高一线诱导治疗反应率的益处^[34]。

因 PCNSL 患者多出现染色体 9p24.1 拷贝数变化,Nayak 等^[35]进行一项应用检查点抑制剂治疗 PCNSL 和睾丸淋巴瘤(PTL)的临床试验。结果表明,PD-1 阻断剂纳武利尤单抗(Nivolumab)在 R/R PCNSL 及 PTL 患者中显示出活性。这表明在 PCNSL 中使用免疫检查点抑制剂可能是另一种有前途的治疗方法,仍需进一步的评估,目前多项临床试验正在进行中。

4 预后

为了更好地预测临床结果和进行患者分层管理,目前 2 种公认的预后评分系统已被广泛应用于临床中:国际结外淋巴瘤研究组(IELSG)评分和纪念斯隆-凯特癌症中心(MSKCC)评分。IELSG 评分将年龄、ECOG 评分、血清 LDH 水平、脑脊液蛋白浓度和脑深部结构的影响确定为 PCNSL 患者独立的生存预测因子,并对这几个变量进行综合分析得出预后评分,分为 3 个不同的风险组(0~1 分低危,2~3 分中危,4~5 分高危),其 2 年总生存率分别为 80%、48% 和 15%。因部分患者无法行腰椎穿刺,IELSG 评分具有一定的局限性。MSKCC 评分通过年龄和卡氏行为状态(KPS)评分评估患者的预后,将新诊断的 PCNSL 患者分为 3 个组(组 1 年龄<50 岁、组 2 年龄≥50 岁且 KPS≥70 分、组 3 年龄≥50 岁且 KPS<70 分)。MSKCC 评分具有普遍适用性,但仅通过年龄及行为状态进行预后评估不够客观精准。除上述公认指标外,已有研究表明,MYC 和 BCL2 双重阳性是不良无进展生存期(PFS)的独立预后因素,BCL6 重排和染色体 6q22 的缺失也与较短 OS 相关^[36]。此外 PCNSL 患者脑脊液(CSF)中白介素-10(IL-10)的水平明显高于 SCNSL,与更短的 PFS 和 OS 时间相关,可反映疾病的严重程度和治疗反应,治疗后 CSF 中 IL-10 无下降提示患者预后不良,可能成为 PCNSL 潜在的诊断和预后生物标志物^[37]。

5 小结与展望

在过去的几十年里,PCNSL 的治疗取得了重大进展。对 PCNSL 病理生理学的新见解使靶向药物进入临床试验,并显示出了良好的临床反应。但人类对这种疾病的分子发病机制的了解非常有限,基于上述生物学途径的新干预措施的系统研究可能会促进治疗的进展,但因疾病罕见性,多种可能有效的药物未能进行临床试验评估疗效,也考虑到并非所有小分子药物都能有效地通过血脑屏障达到治疗浓度,另外如何在 CNS 淋巴瘤微环境中安全地获得这些药物的有效浓度,都需要进一步探究。

参考文献

- [1] Villano JL, Koshy M, Shaikh H, et al. Age, gender, and racial differences in incidence and survival in primary CNS lymphoma [J]. Br J Cancer, 2011, 105(9): 1414-1418. DOI: 10. 1038/bjc. 2011. 357.
- [2] King RL, Goodlad JR, Calaminici M, et al. Lymphomas arising in immune-privileged sites: insights into biology, diagnosis, and pathogenesis [J]. Virchows Arch, 2020, 476(5): 647-665. DOI: 10. 1007/s00428-019-02698-3.
- [3] Dandachi D, Ostrom QT, Chong I, et al. Primary central nervous system lymphoma in patients with and without HIV infection: a multi-center study and comparison with U. S national data [J]. Cancer Causes Control, 2019, 30(5): 477-488. DOI: 10. 1007/s10552-019-01144-8.
- [4] Grommes C, Rubenstein JL, Deangelis LM, et al. Comprehensive approach to diagnosis and treatment of newly diagnosed primary CNS lymphoma [J]. Neuro Oncol, 2019, 21(3): 296-305. DOI: 10. 1093/neuonc/now192.
- [5] Grommes C, Deangelis LM. Primary CNS Lymphoma [J]. J Clin Oncol, 2017, 35(21): 2410-2418. DOI: 10. 1200/JCO. 2017. 72. 7602.
- [6] Bataille B, Delwail V, Menet E, et al. Primary intracerebral malignant lymphoma Report of 248 cases [J]. J Neurosurg, 2000, 92(2): 261-266. DOI: 10. 3171/jns. 2000. 92. 2. 0261.
- [7] 罗国栋, 孙新海, 翟宁, 等. 原发性中枢神经系统淋巴瘤 MRI 表现分析 [J]. 医学影像学杂志, 2020, 30(03): 354-357. DOI: CNKI:SUN:XYXZ. 0. 2020-03-003.
- [8] Abrey LE, Batchelor TT, Ferreri AJ, et al. Report of an international workshop to standardize baseline evaluation and response criteria for primary CNS lymphoma [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(22): 5034-5043. DOI: 10. 1200/JCO. 2005. 13. 524.
- [9] Yang XL, Liu YB. Advances in pathobiology of primary central nervous system lymphoma [J]. Chinese Medical Journal, 2017, 130(16): 1973-1979. DOI: 10. 4103/0366-6999. 211879.
- [10] 刘双, 李道胜, 班媛媛, 等. 原发中枢神经系统的弥漫大 B 细胞淋巴瘤病理学诊断特征 [J]. 中华诊断学电子杂志, 2020, 8(4): 265-269. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 2095-655X. 2020. 04. 010.
- [11] Braggio E, VanWier S, Ojha J, et al. Genome-wide analysis uncovers novel recurrent alterations in primary central nervous system lymphomas [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(17): 3986-3994. DOI: 10.

- 1158/1078-0432. CCR-14-2116.
- [12] Bodor C, Alpar D, Marosvari D, et al. Molecular subtypes and genomic profile of primary central nervous system lymphoma [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2020, 79 (2): 176-183. DOI: 10.1093/jnen/nlzl25.
- [13] Fukumura K, Kawazu M, Kojima S, et al. Genomic characterization of primary central nervous system lymphoma [J]. Acta Neuropathol, 2016, 131 (6): 865-875. DOI: 10.1007/s00401-016-1536-2.
- [14] Takashima Y, Sasaki Y, Hayano A, et al. Target amplicon exome-sequencing identifies promising diagnosis and prognostic markers involved in RTK-RAS and PI3K-AKT signaling as central oncopathways in primary central nervous system lymphoma [J]. Oncotarget, 2018, 9(44): 27471-27486. DOI: 10.18632/oncotarget.25463.
- [15] Zhou Y, Liu W, Xu Z, et al. Analysis of genomic alteration in primary central nervous system lymphoma and the expression of some related genes [J]. Neoplasia, 2018, 20 (10): 1059-1069. DOI: 10.1016/j.neo.2018.08.012.
- [16] Hiemcke-Jiwa LS, Leguit RJ, Snijders TJ, et al. Molecular analysis in liquid biopsies for diagnostics of primary central nervous system lymphoma: Review of literature and future opportunities [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2018, 127: 56-65. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.05.010.
- [17] Zhang X, Song M, Kundu JK, et al. PIM Kinase as an executional target in cancer [J]. J Cancer Prev, 2018, 23 (3): 109-116. DOI: 10.15430/JCP.2018.23.3.109.
- [18] Montesinos-Rongen M, Godlewska E, Brunn A, et al. Activating L265P mutations of the MYD88 gene are common in primary central nervous system lymphoma [J]. Acta Neuropathol, 2011, 122 (6): 791-792. DOI: 10.1007/s00401-011-0891-2.
- [19] Ngo VN, Young RM, Schmitz R, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma [J]. Nature, 2011, 470(7332): 115-119. DOI: 10.1038/nature09671.
- [20] 吴梅, 桑威, 刘慧. 干扰素调节因子 4 相关淋巴瘤的研究进展 [J]. 白血病·淋巴瘤, 2019, 28 (6): 368-371. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2019.06.012.
- [21] Kreher S, Johrens K, Strehlow F, et al. Prognostic impact of B-cell lymphoma 6 in primary CNS lymphoma [J]. Neuro Oncol, 2015, 17 (7): 1016-1021. DOI: 10.1093/neuonc/nov046.
- [22] Akhter A, Masir N, Elyamany G, et al. Differential expression of Toll-like receptor (TLR) and B cell receptor (BCR) signaling molecules in primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system [J]. J Neurooncol, 2015, 121 (2): 289-296. DOI: 10.1007/s11060-014-1655-3.
- [23] Kuo HP, Ezell SA, Hsieh S, et al. The role of PIM1 in the ibrutinib-resistant ABC subtype of diffuse large B-cell lymphoma [J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(11): 2489-2501.
- [24] Nakamura T, Tateishi K, Niwa T, et al. Recurrent mutations of CD79B and MYD88 are the hallmark of primary central nervous system lymphomas [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2016, 42 (3): 279-290. DOI: 10.1111/nan.12259.
- [25] Owen KL, Brockwell NK, Parker BS. JAK-STAT signaling: A double-edged sword of immune regulation and cancer progression [J]. Cancers (Basel), 2019, 11 (12): 2002. DOI: 10.3390/cancers11122002.
- [26] Yang X, Wang Y, Sun X, et al. STAT3 activation is associated with interleukin-10 expression and survival in primary central nervous system lymphoma [J]. World Neurosurg, 2020, 134: e1077-e1084. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.11.100.
- [27] Fan Y, Mao R, Yang J. NF-kappaB and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer [J]. Protein Cell, 2013, 4 (3): 176-185. DOI: 10.1007/s13238-013-2084-3.
- [28] Chapuy B, Roemer MG, Stewart C, et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas [J]. Blood, 2016, 127 (7): 869-881. DOI: 10.1182/blood-2015-10-673236.
- [29] Ponzoni M, Issa S, Batchelor TT, et al. Beyond high-dose methotrexate and brain radiotherapy: novel targets and agents for primary CNS lymphoma [J]. Ann Oncol, 2014, 25 (2): 316-322. DOI: 10.1093/annonc/mdt385.
- [30] Soussain C, Choquet S, Blonski M, et al. Ibrutinib monotherapy for relapse or refractory primary CNS lymphoma and primary vitreoretinal lymphoma: Final analysis of the phase II 'proof-of-concept' iLOC study by the Lymphoma study association (LYSA) and the French oculo-cerebral lymphoma (LOC) network [J]. Eur J Cancer, 2019, 117: 121-130. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.05.024.
- [31] Lionakis MS, Dunleavy K, Roschewski M, et al. Inhibition of B cell receptor signaling by Ibrutinib in primary CNS lymphoma [J]. Cancer Cell, 2017, 31 (6): 833-843, e835. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.04.012.
- [32] Grommes C, Nayak L, Tun HW, et al. Introduction of novel agents in the treatment of primary CNS lymphoma [J]. Neuro Oncol, 2019, 21 (3): 306-313. DOI: 10.1093/neuonc/noy193.
- [33] Vu K, Mannis G, Hwang J, et al. Low-dose lenalidomide maintenance after induction therapy in older patients with primary central nervous system lymphoma [J]. Br J Haematol, 2019, 186 (1): 180-183. DOI: 10.1111/bjh.15787.
- [34] Soussain C, Choquet S, Blonski M, et al. Lenalidomide in combination with intravenous rituximab (REVRI) in relapsed/refractory primary CNS lymphoma or primary intraocular lymphoma: a multicenter prospective "Proof of Concept" phase II study of the French Oculo-Cerebral Lymphoma (LOC) Network and the Lymphoma Study Association (LYSA) [J]. Ann Oncol, 2019, 30(4): 621-628. DOI: 10.1093/annonc/mdz032.
- [35] Nayak L, Iwamoto FM, Lacasce A, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma [J]. Blood, 2017, 129 (23): 3071-3073. DOI: 10.1182/blood-2017-01-764209.
- [36] 周道斌, 张炎. 原发性中枢神经系统淋巴瘤诊治现状及进展 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2019, 57 (7): 31-39. DOI: 10.6040/j.issn.1671-7554.0.2019.204.
- [37] Song Y, Zhang W, Zhang L, et al. Cerebrospinal fluid IL-10 and IL-10/IL-6 as accurate diagnostic biomarkers for primary central nervous system large B-cell lymphoma [J]. Sci Rep, 2016, 6: 38671. DOI: 10.1038/srep38671.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.023

综 述

床旁即时超声对急重症疑难病患者诊断与评估研究进展

赵浩天, 刘奕, 李会英综述 薛红元审核

基金课题: 河北省科技计划项目(152777137); 河北省医学科学研究重点课题计划(20200774)

作者单位: 050051 石家庄, 河北省人民医院超声科

通信作者: 薛红元, E-mail: 13633117865@163.com

【摘 要】 床旁超声在急重症监护病房中的应用日渐广泛。将超声可视化技术结合急重症患者病理生理学理念, 达到全身多器官扫描评估和快速诊断的目的, 从而高效、精准地完成对严重创伤、感染、休克、呼吸困难和多脏器损伤的诊断工作, 为一线抢救赢得时机。文章从急重症疾病的病理生理学入手, 结合床旁超声可视化技术, 对心脏、肺脏、肾脏、血管、胃肠道等多器官疾病诊断和评估方法新进展作一综述。

【关键词】 床旁超声; 血流动力学; 感染性休克; 急性呼吸困难; 容量反应性

【中图分类号】 R445.1 【文献标识码】 A

Research progress of bedside ultrasound in diagnosis and evaluation of patients with severe and difficult diseases

Zhao Haotian, Liu Yi, Li Huiying, Xue Hongyuan. Department of Ultrasound, Hebei General Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Xue Hongyuan, E-mail: 13633117865@163.com

Funding program: Hebei Science and Technology Planning Project(152777137); Key Topics of Medical Science Research in Hebei Province(20200774)

【Abstract】 Bedside ultrasound is widely used in emergency and intensive care unit. The ultrasound visualization technology is combined with the pathophysiology concept of severe patients to achieve the purpose of multiple organ scanning evaluation and rapid diagnosis, so as to complete the diagnosis of trauma, infection, shock, dyspnea and multiple organ injury efficiently and accurately, and win the opportunity for the rescue. Based on the pathophysiology of acute and severe diseases, combined with bedside ultrasound visualization technology, this paper reviews the diagnosis and evaluation methods of multiple organ diseases such as heart, lung, kidney, blood vessels, gastrointestinal and so on.

【Key words】 Bedside ultrasound; Hemodynamics; Septic shock; Acute dyspnea; Fluid responsiveness

床旁急重症超声最早应用于循环和呼吸系统疾病的诊断, 对于突发急性呼吸困难或急性休克患者, 可快速鉴别原因, 以便及时针对性治疗。然而近年来通过对超声技术与临床理念的不断结合与完善, 颅脑超声、胃肠超声、肾脏多普勒及静脉通路建立与维护等新技术日渐崭露头角, 已成为急诊、麻醉及重症监护室内每日全身脏器评估中不可或缺的一部分。通过对每一次治疗前后的循环、呼吸、脏器灌注等状况对比, 明确病情变化, 便于调整进一步的治疗方案。

1 床旁即时超声在循环功能评估中的应用

1.1 下腔静脉(inferior vena cava, IVC)超声指标对容量反应性评估 既往以自主呼吸者 IVC 塌陷率 > 50% 和控制通气者 IVC 扩张率 > 18% 作为判断容量

反应性的阈值。然而近年来研究表明^[1], IVC 对容量反应性的预测并无明确临界点, 且受多种因素干扰。肺动脉高压、三尖瓣严重狭窄或关闭不全、心包填塞或腹内压 > 12 mmHg 等多种因素均可引起 IVC 慢性扩张, 而高估容量反应性^[2]; 存在哮喘、慢性阻塞性肺疾病等呼吸过度患者, 可使原本无反应性的 IVC 出现变异度。因此, IVC 处于两个极端(明显塌陷或明显扩张固定)时诊断价值高^[1], 处于中间状态需结合其他评估技术。此外, 对于支持通气模式, 胸腔内压变化复杂, IVC 与容量反应性失去关联^[3]。

1.2 右心功能的评估 右心的斜行肌纤维解剖结构决定了其生理特性: 顺应性强而抗压能力差。当前负荷(静脉回流)增加时, 右心室可通过肌纤维长度变化

而容纳更多的血液^[4];但当面对突然升高的后负荷(肺动脉压力),右心室可出现急剧扩张而功能障碍。由于肺动脉具有低阻力、高顺应性等特点^[5],慢性阻塞性肺疾病、急性肺损伤、肺动脉高压等疾病均可导致肺动脉压骤增,累及右心。当右心室压力高于左心室压力时,可压迫室间隔造成其矛盾运动,即超声“D 字征”表现,通过干扰左心室舒张末期而降低心输出量^[6]。超声发现右心室面积大于左心室面积时,往往提示右心功能已出现明显障碍,提示右心功能亟待改善。此外,右心室壁厚度 > 5 mm 或右心房扩张提示慢性右侧心力衰竭^[7]。

1.3 左心功能的评估 超声心动图可动态评估收缩功能,发现明显的左心室壁弥漫性或局限性运动障碍。除急性心肌梗死相关的阶段性室壁运动障碍外,脓毒症休克患者由于感染、应激等因素可诱发室壁运动弥漫性障碍^[8],严重影响心脏做功。局部障碍如应激性心肌病(心尖球形综合征最常见)亦被忽视,常表现为延室壁短轴方向发生环形运动障碍^[6],同样可导致心脏射血不足。

左心室舒张功能是左心房的血液向左心室流动的主要动力,当舒张功能减退可引起左心房充盈压增加,肺静脉压增加,此类患者对液体复苏耐受性差,应予以警惕。二尖瓣峰流速与二尖瓣环收缩期位移比(E/e')被认为是评价舒张功能良好指标, $E/e' > 15$ 与左心室重构相关^[7,9],此时补液可诱发肺水肿发生,需予以警惕。

1.4 主动脉、肺动脉及瓣膜的评估 床旁超声可甄别较明显的主动脉夹层、腹主动脉瘤、主动脉窦部扩张等主动脉结构异常疾病。超声可探及肺动脉主干及左、右肺动脉起始段,对于明显的大块肺栓塞可及时发现。测量肺动脉主干宽度及多普勒流速可判断有无血运异常。瓣膜问题常表现为狭窄或关闭不全,床旁超声可观察瓣膜开闭运动、形态结构、有无赘生物等问题。此外,于瓣膜开口处使用多普勒可测量反流束面积和血流速度,对血流动力学异常有极高的提示价值^[7]。

1.5 联合心肺超声方案对休克原因的鉴别应用 通过床旁超声除外明显的气胸、心包积液和肺栓塞,可排除梗阻性休克;通过肺超声观察双肺无 B 线存在(即为 A 征象),可排除心源性休克;此时休克原因诊断已窄化。对患者给予液体复苏治疗,若患者出现明显的临床指标及生命体征改善(如血压上升、尿量增加或灌注改善等),提示低血容量休克;若补液引起 B 线出现,却依然伴随顽固性低血压,提示可能为分布性休克(主要是感染性休克)^[10]。该方案是联合心肺超声技

术对休克患者综合性评价。事实上休克患者病因及临床表现往往复杂,可能合并 2 种以上类型休克,此时床旁超声可窄化休克类型范围,避免错误治疗方向,为抢救赢得先机。

2 床旁超声在急性呼吸困难中的应用

2.1 床旁急诊肺超声(bedside lung ultrasound in emergency, BLUE)方案 正常肺组织由于气体充填而无法被超声反射,表现为与胸膜线平行的反射伪像(即 A 线)。当肺间质内液体积聚导致小叶间隔增厚时,超声可探查 B 线。肺超声可通过 B 线范围、分布和密集程度,可对肺水肿、肺炎等疾病鉴别诊断并评估严重程度。

肺超声主要价值在于鉴别呼吸困难。Lichtenstein 等^[11]提出 BLUE 方案可鉴别 90% 以上的急性呼吸困难病因。双肺 A 线联合“胸膜滑动征”减弱,提示慢性阻塞性肺疾病或哮喘;双肺 A 线且胸膜滑动消失,提示气胸可能;双肺 B 线联合“胸膜滑动征”存在,提示静水压肺水肿;双肺 B 线且胸膜滑动消失,提示渗透性肺水肿;双肺不均匀“碎片征”;“组织样征”或“支气管充气征”时提示肺实变。超声对肺栓塞诊断缺乏特异性,当发现双肺呈透亮 A 线,同时下肢深静脉发现血栓证据时需警惕肺栓塞。

2.2 联合心肺超声对急性肺水肿的鉴别 临床较常见的肺水肿分为静水压性和渗透性。静水压性肺水肿常见于心源性或容量过负荷,由于心脏射血能力无法匹配静脉回流,导致肺循环液体积聚,肺毛细血管跨壁压增大,在高压驱动下渗入肺间质或肺泡。静水压性肺水肿符合流体力学规律,其各级肺小动脉和毛细血管受到同等压力,因此 B 线的分布和密集程度均匀,且并无胸膜的改变。

渗透性肺水肿常见于急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)^[12],表现为肺泡壁广泛破坏,Ⅱ型上皮细胞损伤导致肺泡表面维持张力的活性物质丧失,从而液体渗入,肺泡塌陷。ARDS 的特征性改变是肺泡内气—液分布呈重力依赖性^[12],重力依赖区的肺泡过度塌陷呈“有血无气”,而上肺发生死腔通气而无血流通过呈“有气无血”。因此,当肺超声检查发现重力区肺叶呈“碎片征”“组织样征”“支气管充气征”等肺实变声像,而上肺则呈 A 线,中间区域肺叶呈逐渐加重的 B 线时,需警惕 ARDS 的发生。有学者总结 ARDS 的主要肺超声征象:(1)存在正常通气区;(2)胸膜滑动减弱或消失;(3)胸膜线节段性不均匀增粗;(4)胸膜下小片状低回声区或“碎片征”;(5)分布不均的 B 线^[13]。此外,肺超声可动态监测并

指导 ARDS 患者肺复张^[14],且与氧合指数、肺实变面积的变化均有较强的相关性。

2.3 肺超声对肺炎的诊断价值 小叶性肺炎可表现为局部肺叶 B 线,而肺泡完全塌陷可表现为局部“碎片征”,或大范围“组织样征”,严重时可观察到动态或静态支气管征。动态支气管征提示支气管内随呼吸仍有气流通过,而静态支气管征提示此处完全无通气,需考虑阻塞性肺不张^[13]。此外,当病变累及胸膜可见胸膜增厚、呈锯齿样。胸膜厚度超过 20 mm 提示肺实变^[15]。Long 等^[16]的一项 Meta 分析显示,超声对成人肺炎诊断的敏感度为 88%,特异度为 86%。

3 床旁超声在急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 中的应用

3.1 肾阻力指数和肾血流半定量评分 危重患者容易合并 AKI,合并 AKI 的危重患者其机械通气时长及病死率均增加^[17]。脓毒症休克患者合并 AKI 并不仅是肾前性灌注不足的原因。近年来观点认为^[18],液体过负荷或中心静脉压升高,均可通过阻碍静脉回流,增加肾静脉压(即肾脏后负荷),导致 AKI 发生。血肌酐是监测肾功能良好的指标,但频繁采血存在感染、出血等风险。

肾动脉多普勒技术测量肾阻力指数是既往评价肾血流灌注的指标,Meta 分析显示^[19],肾阻力指数与 AKI 可逆性呈负相关。然而该指标易受到心率、腹腔内压等因素干扰,其评价肾脏灌注的准确性受到质疑^[20]。有学者提出^[21],肾血流半定量评分法评估肾脏灌注,具体标准为:未检测到肾脏血流记为 0 分,当仅肾门处可见少量血流信号时记为 1 分,血流可达叶间动脉记为 2 分,血流可到弓状动脉(肾脏完全可见血流)记为 3 分。

3.2 肾脏造影对微循环评估 新兴的肾脏超声造影技术是针对肾脏组织灌注及微循环进行评估的技术^[22]。利用微泡造影剂注入患者外周静脉,可根据微泡与血红蛋白短暂结合,沿血流方向可评估肾脏微循环状况。该技术在监护病房具有良好应用前景。

4 床旁超声在胸腹部创伤中的应用

4.1 腹腔急症 腹部外伤频繁发生且病情复杂,除明显的创口外,还可能合并隐性胸腹腔出血、气胸等严重合并症。持续性出血和张力性气胸可能是致命的,快速准确评估病情可明显降低外伤患者的病死率和致残率^[23]。腹部超声通过对剑突下四腔心、双侧膈下及盆腔切面的检查,重点在于肝周、脾周、心包及盆腔内有无游离性积液^[24]。

4.2 胸腔急症 气体或液体积聚于胸膜腔内均为病

理性。除应用已久的胸腔积液诊断外,床旁超声筛查气胸成为近年来研究热点。“胸膜滑动征”是壁层胸膜和脏层胸膜随呼吸运动而发生相互滑动产生,它的消失意味着二者失去正常解剖或功能关系。“胸膜滑动征”消失不能完全诊断气胸,也可能是肺大疱、胸膜粘连等因素导致。“肺点”是胸膜滑动和无滑动的交界点,提示此处为气胸范围边界^[25]。超声发现“肺点”对诊断气胸价值极高^[26]。Karagoz 等^[27]研究发现,“肺点”诊断气胸的 ROC 曲线下面积为 0.99。然而,当大量气胸发生导致单侧肺组织完全萎陷时,“肺点”不易寻找,此时可通过超声 M 型模式下观察到“平流层征”即可诊断气胸,增加了对胸腹部联合创伤的诊断价值。

5 床旁超声在颅脑损伤中的应用

5.1 视神经鞘宽度 (optic nerve sheath diameter, ONSD) 监测 对神经重症患者应常规实施颅内压监测。ONSD 与颅内压关系密切。视神经鞘与蛛网膜下腔相通,升高的颅内压使得蛛网膜下腔中流动的脑脊液聚集在视神经鞘,致其充盈压增加而变宽^[28]。ONSD 增宽可出现于颅内压急性变化的数分钟内,对脑水肿风险有预警提示。既往磁共振或 CT 技术精确度虽高但受限于重症病房。近年来床旁超声监测 ONSD 方法兴起。使用高频线阵探头经眼眶于眼球下方 3 mm 处可获取标准切面^[28]。Meta 分析显示^[29],ONSD > 5 mm 提示颅内压升高。此外,ONSD 动态监测还可反映患者容量状态。陈焕等^[30]对 44 例心脏术后患者研究发现,累积 72 h 液体负平衡后可观察到 ONSD 较前变窄,表明 Δ ONSD 与 72 h 累积液体负平衡相关($r = -0.388$)。

5.2 经颅多普勒 (transcranial doppler, TCD) 的应用 常规 TCD 可发现颅内血肿、脑室扩张和脑中线移位等异常。此外,TCD 通过对脑动脉频谱及波形改变,可早期定性和定量监测脑血流变化。通气过度与不足均会影响脑血流速度改变,被称为脑血管反应性^[31],在调整动脉血二氧化碳分压的同时使用 TCD 监测大脑中动脉血流速度变化,可完成动态评估。此外,TCD 可动态评估危重患者的脑血流自调节功能^[6],对疾病诊断和治疗评价均有较高指导价值。

6 床旁超声在胃肠功能衰竭中的应用

6.1 胃窦运动及胃残余量的监测 胃肠道血流的自动调节能力较弱,在遭受严重感染、休克、手术等打击后,血流动力学的急剧变化会引起胃肠道灌注的变化,常发生肠黏膜缺血缺氧、水肿等病理生理学改变。胃肠道运动障碍可引起胃潴留、肠腔扩张、肠梗阻等合并

症,造成喂养不耐受,长期可致营养不良和肌肉萎缩发生,降低患者抗病能力。

床旁超声可动态监测胃窦变化,根据胃窦横截面积于舒张末期和收缩末期面积变化率 $[\Delta S = (S_{舒张末} - S_{收缩末})/S_{舒张末}]$,或观察 2 min 内胃窦收缩次数,可对患者胃排空功能和误吸风险有较好的评估价值^[32],优于既往肠鸣音听诊等。此外,超声定量监测胃残余量近年来在监护病房应用较多,于肠内营养实施后一定时间内监测胃窦横截面积,可精确评估胃残余量。与既往胃管回抽法相比,具有无创、便捷、防止反流误吸和维持营养连续性等优点。有学者提倡将超声日常监测胃窦当作 ICU 日常营养实施的必要措施^[33]。

6.2 肠道运动及肠壁厚度的监测 尽管肠腔因存在气体干扰而无法透声,但当明显的肠道扩张、肠壁水肿增厚时,肠腔内因食糜充填而呈实性回声,可被超声探及。超声下观察到严重扩张的肠腔内食物无流动感,提示合并动力性肠梗阻等。此外,超声测量小肠壁厚度 $>3\text{ mm}$ 或大肠厚度 $>5\text{ mm}$ 均可提示肠壁水肿^[28]。

7 床旁超声在技术操作中的应用

7.1 超声引导静脉液路建立 并非所有患者动、静脉位置和相互解剖关系均符合常规,对于存在血管解剖异位患者多次穿刺可增加皮下损伤、感染、气胸、误入动脉等风险^[34]。床旁超声引导下穿刺置管技术可直观监测穿刺过程,具有准确、便捷和节约时间等优点。Meta 分析显示^[35],超声判断中心静脉置管位置的敏感度为 72%,特异度为 100%,阳性预测值为 92.1%,阴性预测值为 98.5%。

超声下静脉穿刺分为平面内法(静脉短轴视角)和平面外法(静脉长轴视角),结合 2 种方法对置管具有更高的准确性。Tampo 等^[36]提出置管三步法:(1)通过短轴角度寻找中心静脉;(2)通过长轴引导穿刺过程;(3)通过短轴确认导丝是否位于目标静脉内。Schmidt 等^[37]建议将超声引导法作为中心静脉置管的安全措施之一。

7.2 超声引导空肠喂养管置管技术 肠内营养有利于保护肠黏膜屏障,减少肠源性感染,较肠外营养更优^[38]。既往腹部 X 线或胃镜下置管技术均因有创性和复杂性,无法于监护病房开展。经验性盲插法是目前常用置管操作,但成功率并不高。床旁超声引导下鼻肠管置管以其无创、便捷、动态、可反复评估等优点逐渐被采纳。床旁超声通过对食管、贲门、胃窦和幽门四处动态识别平行管样回声(“双轨征”),并通过注水后“云雾征”确保鼻肠管顺利放置。此外,超声引导体外膜肺氧合术、经皮气管切开术等危重病房新技术中

均表现出明显优势^[39]。

综上所述,床旁超声对各器官组织均可完成可视化评估,且具备无创、便捷、可重复操作等优点,已成为急重症患者高效实用的床旁监测工具。

参考文献

- [1] Vieillard-Baron A, Evrard B, Repesse X, et al. Limited value of end-expiratory inferior vena cava diameter to predict fluid responsiveness impact of intra-abdominal pressure[J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44 (2): 197-203. DOI: 10. 1007/s00134-018-5067-2.
- [2] Via G, Tavazzi G, Price S. Ten situations where inferior vena cava ultrasound may fail to accurately predict fluid responsiveness: a physiologically based point of view[J]. *Intensive Care Med*, 2016, 42 (7): 1164-1167. DOI: 10. 1007/s00134-016-4357-9.
- [3] Kory P. COUNTERPOINT: Should acute fluid resuscitation be guided primarily by inferior vena cava ultrasound for patients in shock? No[J]. *Chest*, 2017, 151 (3): 533-536. DOI: 10. 1016/j. chest. 2016. 11. 017.
- [4] Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, et al. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II[J]. *Circulation*, 2008, 117 (13): 1717-1731. DOI: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 107. 653584.
- [5] 张宏民, 刘大为. 室间隔左移:“恃弱凌强”的治疗启示[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56 (7): 483-484. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1426. 2017. 07. 002.
- [6] 王小亭, 刘大为, 于凯江, 等. 中国重症超声专家共识[J]. *中华内科杂志*, 2016, 55 (11): 900-912. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-583X. 2017. 05. 001.
- [7] Rudski LG, Lai WW, Afialo J, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: A report from the American Society of Echocardiography[J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 2010, 23 (7): 685-713. DOI: 10. 1016/j. echo. 2010. 05. 010.
- [8] 谢军, 李发鹏, 邓泽润, 等. 不同血管活性药物对 ARDS 合并感染性休克患者血流动力学、容量反应性及肾功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17 (10): 1122-1126. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 10. 010.
- [9] 张冉, 米杰, 吕新潮, 等. ST 段抬高型心肌梗死患者 E/E 值与左心室重构的相关性[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17 (6): 545-549. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 06. 002.
- [10] Lichtenstein DA. BLUE-protocol and FALLS-protocol: two applications of lung ultrasound in the critically ill[J]. *Chest*, 2015, 147 (6): 1659-1670. DOI: 10. 1378/chest. 14-1313.
- [11] Lichtenstein DA, Mezière GA. Relevance of lung ultrasound in the diagnosis of acute respiratory failure: the BLUE protocol[J]. *Chest*, 2008, 134 (1): 117-125. DOI: 10. 1378/chest. 07-2800.
- [12] Sivapalan P, Bonnesen B, Jensen JU. Novel perspectives regarding the pathology, inflammation, and biomarkers of acute respiratory distress syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22 (1): 205. DOI: 10. 3390/ijms22010205.
- [13] Mojoli F, Bouhemad B, Mongodi S, et al. Lung ultrasound for critically ill patients[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199 (6): 701-714. DOI: 10. 1164/rccm. 201802-0236CI.
- [14] Stevic N, Chatelain E, Dargent A, et al. Lung recruitability evaluated

- by recruitment-to-inflation ratio and lung ultrasound in COVID-19 acute respiratory distress syndrome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(8):1025-1027. DOI:10.1164/rccm.202012-4447LE.
- [15] Liu XL, Lian R, Tao YK, et al. Lung ultrasonography: an effective way to diagnose community-acquired pneumonia[J]. *Emerg Med J*, 2015, 32(6):433-438. DOI:10.1136/emered-2013-203039.
- [16] Long L, Zhao HT, Zhang ZY, et al. Lung ultrasound for the diagnosis of pneumonia in adults: A meta-analysis[J]. *Medicine*, 2017, 96(3):e5713. DOI:10.1097/MD.0000000000005713.
- [17] Trongtrakul K, Patumanond J, Phairatwet P, et al. External validation of the acute kidney injury risk prediction score for critically ill surgical patients who underwent major non-cardiothoracic surgery[J]. *Healthcare (Basel)*, 2021, 9(2):209. DOI:10.3390/healthcare9020209.
- [18] Chen X, Wang X, Honore PM, et al. Renal failure in critically ill patients, beware of applying (central venous) pressure on the kidney[J]. *Ann Intensive Care*, 2018, 8(1):91-97. DOI:10.1186/s13613-018-0439-x.
- [19] Ninet S, Schnell D, Dewitte A, et al. Doppler-based renal resistive index for prediction of renal dysfunction reversibility: A systematic review and meta-analysis[J]. *J Crit Care*, 2015, 30(3):629-635. DOI:10.1016/j.jcrc.2015.02.008.
- [20] Song J, Wu W, He Y, et al. Value of the combination of renal resistance index and central venous pressure in the early prediction of sepsis-induced acute kidney injury[J]. *J Crit Care*, 2018, 45:204-208. DOI:10.1016/j.jcrc.2018.03.016.
- [21] Vaara ST, Korhonen AM, Kaukonen KM, et al. Fluid overload is associated with an increased risk for 90-day mortality in critically ill patients with renal replacement therapy: data from the prospective FINNAKI study[J]. *Crit Care*, 2012, 16(5):R197. DOI:10.1186/cc11682.
- [22] Liu N, Zhang Z, Hong Y, et al. Protocol for a prospective observational study on the association of variables obtained by contrast-enhanced ultrasonography and sepsis-associated acute kidney injury[J]. *BMJ Open*, 2019, 9(7):e023981. DOI:10.1136/bmjopen-2018-023981.
- [23] 孙燕, 游向东, 黄品同, 等. 急诊应用超声 FAST 方案评估腹腔及心包多发伤的临床应用价值分析[J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27(5):499-501. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.05.008.
- [24] Zamani M, Masoumi B, Esmailian M, et al. A comparative analysis of diagnostic accuracy of focused assessment with sonography for trauma performed by emergency medicine and radiology residents[J]. *Iran Red Crescent Med J*, 2015, 17(12):e20302. DOI:10.5812/irem.j.20302.
- [25] 赵浩天, 龙玲, 任珊, 等. 床旁肺超声对气胸诊断价值的研究进展[J]. *中国急救医学*, 2019, 39(9):892-897. DOI:10.3969/j.issn.1002-1949.2019.09.018.
- [26] Skulec R, Parizek T, David M, et al. Lung point sign in ultrasound diagnostics of pneumothorax: Imitations and Variants[J]. *Emerg Med Int*, 2021, 28:6897946. DOI:10.1155/2021/6897946.
- [27] Karagoz A, ünlüer EE, Akcay O, et al. Effectiveness of bedside lung ultrasound for clinical follow-up of primary spontaneous pneumothorax patients treated with tube thoracostomy[J]. *Ultrasound Q*, 2018, 34(4):226-232. DOI:10.1097/RUQ.0000000000000363.
- [28] 尹万红, 王小亭, 刘大为, 等. 重症超声临床应用技术规范[J]. *中华内科杂志*, 2018, 57(6):397-417. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.06.004.
- [29] Dubourg J, Javouhey E, Geeraerts T, et al. Ultrasonography of optic nerve sheath diameter for detection of raised intracranial pressure: a systematic review and meta-analysis[J]. *Intensive Care Med*, 2011, 37(7):1059-1068. DOI:10.1007/s00134-011-2224-2.
- [30] 陈焕, 王小亭, 丁欣, 等. 心脏术后患者视神经鞘宽度与容量状态的相关性研究[J]. *中华内科杂志*, 2016, 55(10):779-783. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2016.10.011.
- [31] 张丽娜, 艾宇航. 超声与颅内压监测和脑血流动力学评估[J]. *中国实用内科杂志*, 2017, 37(8):16-19. DOI:10.19538/j.cnk2017080103.
- [32] Perlas A, Arzola C, Van de Putte P, et al. Point-of-care gastric ultrasound and aspiration risk assessment: a narrative review[J]. *Can J Anaesth*, 2018, 65(4):437-448. DOI:10.1007/s12630-017-1031-9.
- [33] Benhamou D. Ultrasound assessment of gastric contents in the perioperative period: why is this not part of our daily practice[J]. *Br J Anaesth*, 2015, 114(4):545-548. DOI:10.1093/bja/aeu369.
- [34] Calvache JA, Rodríguez MV, Trochez A, et al. Incidence of mechanical complications of central venous catheterization using landmark-technique: do not try more than 3 times[J]. *J Intensive Care Med*, 2016, 31(6):397-402. DOI:10.1177/0885066614541407.
- [35] Bou CR, Kiblawi S, El KC, et al. Use of contrast-enhanced ultrasound for confirmation of central venous catheter placement: Systematic review and Meta-analysis[J]. *J Ultrasound Med*, 2017, 36(12):2503-2510. DOI:10.1002/jum.14296.
- [36] Tampo A. Three-step procedure for safe internal jugular vein catheterization under ultrasound guidance[J]. *J Medical Ultrason*, 2018, 45(4):671-673. DOI:10.1007/s10396-018-0885-y.
- [37] Schmidt GA, Kory P. Ultrasound guided central venous catheter insertion: teaching and learning[J]. *Intensive Care Med*, 2014, 40(1):111-113. DOI:10.1007/s00134-013-3093-7.
- [38] 曹岚, 叶向红, 张丽娜, 等. 超声辅助四步法鼻空肠管置入在 ICU 中的应用[J]. *肠外与肠内营养*, 2018, 25(3):58-61. DOI:10.16151/j.1007-810x.2018.03.012.
- [39] 张青, 王小亭, 张宏民, 等. 重症相关操作迈入新时代[J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(7):481-484. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2019.07.001.

(收稿日期:2020-09-22)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.024

综 述

Noonan 综合征发病机制的研究进展

罗光月综述 陆韦审校

基金项目: 贵州省科技厅联合基金(黔科合 LH 字[2015]7518 号); 遵义市科技局(遵市科合 HZ 字(2020)244 号)

作者单位: 563000 遵义医科大学附属医院预防保健科

通信作者: 陆韦, E-mail: Luweiunyi@163.com

【摘 要】 Noonan 综合征(NS)是一种遗传异质性疾病,大约 80% 的 NS 发病机制与丝裂原活化蛋白激酶信号传导通路(RAS-MAPK)有关的基因突变相关,然而有近 20% NS 个体的潜在遗传病因尚无法解释,且各基因致病机制尚不清楚。目前尚无有效治疗 NS 的方案,仅以对症治疗为主。深入了解 NS 各基因的致病机制及相关的基因型—表型有助于找到潜在的治疗靶点。文章对 NS 发病机制做一综述,为治疗提供更多的研究方向。

【关键词】 Noonan 综合征;发病机制;基因型—表型

【中图分类号】 R394 **【文献标识码】** A

Research progress on the pathogenesis of Noonan syndrome Luo Guangyue, Lu Wei. Department of Child Health Care, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China

Corresponding author: Lu Wei, E-mail: Luweiunyi@163.com

Funding program: Joint Fund of Guizhou Provincial Department of Science and Technology (QKEHE LH[2015] No. 7518); Zunyi Municipal Bureau of Science and Technology [Zunyi Kehe HZ(2020) No. 244]

【Abstract】 Noonan syndrome (NS) is a genetically heterogeneous disease. About 80% of the pathogenesis of NS is related to gene mutations related to the mitogen-activated protein kinase signaling pathway (RAS MAPK). However, nearly 20% of individuals with NS The underlying genetic etiology has not been explained, and the pathogenic mechanism of each gene is still unclear. At present, there is no effective treatment plan for NS, only symptomatic treatment is the mainstay. An in-depth understanding of the pathogenic mechanism of NS genes and related genotype-phenotype will help to find potential therapeutic targets. This article reviews the pathogenesis of NS and provides more research directions for treatment.

【Key words】 Noonan syndrome; Pathogenesis; Genotype-phenotype

Noonan 综合征 (Noonan syndrome, NS) 是一种累及多系统的遗传异质性疾病,多属于常染色体显性遗传,但也有少数病例呈常染色体隐性遗传^[1]。活产婴儿中发生率为(4~10)/万^[2]。随着分子诊断技术的发展,对其病因有了更全面的认识,大约 80% 的 NS 患者与丝裂原活化蛋白激酶信号传导通路(RAS-mitogen-activated protein kinase, RAS-MAPK)基因突变有关。然而,10%~20% 的患者临床诊断没有得到分子学证实。目前认为,NS 主要特征是身材矮小、特殊面容、发育迟缓、先天性心脏病,其他还包括蹼状颈、胸阔畸形、隐睾、各种凝血缺陷、淋巴发育不良、眼部异常和罕见的儿童时期恶性血液病^[3-4]。其中先天性心脏病以肺动脉瓣狭窄(pulmonary valvar stenosis, PVS)、房间隔缺损(atrial septal defect, ASD)及肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)多见。目前尚无有效治疗 NS 的方案,以对症治疗为主。临床医生有必要

了解 NS 各基因的致病机制及相关的基因型—表型,进而找到潜在的治疗靶点。因而,本文拟对 NS 发病机制做一简要综述,为治疗提供更多的研究方向。

1 发病机制

RAS-MAPK 途径是一种广为人知的细胞内信号传导途径,它携带细胞外配体(如激素、细胞因子和生长因子)的信号,直到在细胞核中发生转录,从而参与细胞的增殖、分化和代谢过程。RAS 充当分子开关,刺激 MAPK 级联的顺序激活,这三个水平的激酶(RAF、MEK 和 ERK)在一系列磷酸化后最终通过转录修饰产生其作用。现已明确 20 个与 NS 相关的基因,根据 ClinGen 基因策划框架策划的每个基因—疾病关联分类,权威水平包括 KRAS(14)、NRAS(13.5)、PTPN11(13.5)、RAF1(13.5)、RIT1(13.5)、SOS1(12.5),强等级水平包括 LZTR1(12),中等水平包括 BRAF(10.5)、SOS2(9.5),有限水平包括 MAP2K1(3.5)、

MAP2K2(1)、LZTR1(AR)(8.75)、MRAS(4.5)、RASA2(2)、RRAS(3.25),具有争议的是 A2ML1、RASA1、SHOC2,没有证据的是 HRAS(-)、PPP1CB(-)^[5];这些基因编码产物参与 RAS-MAPK 信号通路的转导,而 NS 发病与该通路信号上调相关。除 LZTR1 基因导致的 NS 可能为常染色体隐性遗传^[1],其他均为常染色体显性遗传。

2 NS 相关基因

2.1 权威水平基因

2.1.1 KRAS: KRAS 是具有 GTP 酶活性的 RAS 蛋白(属于一类信号转导 GTP 酶,其在与 GTP 和 GDP 结合的构象之间循环),KRAS 突变是 NS 的第二个报道基因,所占比例小于 5%^[6]。异亮氨酸替代位于 14 位的缬氨酸残基是最常见的 KRAS 突变之一。具有 KRAS 突变的 NS 患者表现出更严重的临床表现和认知缺陷,约 85% NS 患儿伴有 PVS、HCM、ASD 等心脏受累表现,并且全部患有轻度至中度智力障碍^[7]。K-Ras V14I 小鼠显示出心脏增生,这是由于与主动脉瓣增厚有关的心肌细胞数量增加所致^[8]。

2.1.2 NRAS: NRAS 是 RAS 蛋白家族的另一成员,在极少数 NS 个体也发现了 NRAS 突变。NRAS 的 Switch II 区域内或附近发现了突变,并被认为是干扰了 GTP 酶的功能,突变可导致 MEK 和 ERK 磷酸化增强^[9]。这些 NRAS 突变的患者通常表现出相对温和的典型 Noonan 特征^[10]。

2.1.3 PTPN11: PTPN11 是 NS 中第一个被发现且最常见的致病基因,约占所有病例的 50%^[11]。SHP2 是 PTPN11 的蛋白产物,是一种非受体蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP),由 N 和 C 端 SH2 域和一个催化 PTP 域组成。PTPN11 中大多数引起 NS 的错义突变都集中在与 N-SH2 和 PTP 结构域之间相互作用有关的残基中。该区域的突变破坏了 SHP2 无催化活性形式的稳定性,削弱了蛋白质从活性构象转变为非活性构象的能力,并导致 RAS-MAPK 通路的信号传导增加^[12]。

SHP2 参与调控 RAS-MAPK 信号通路与一系列生长因子和细胞因子的信号转导相关,如生长激素、胰岛素样生长因子和成纤维细胞生长因子等,从而导致 NS 患儿生长迟缓和骨骼异常等多种临床表现。对 PTPN11 基因缺陷小鼠进行的研究表明,PTPN11 编码的 SHP2 蛋白对于胚胎心脏瓣膜的发育至关重要。与非 PTPN 突变型患者相比,PTPN11 突变患者更多源于家族遗传,具有典型的 NS 特殊面容、PVS、ASD、身材矮小、胸廓畸形、隐睾、容易瘀伤等的发生率较高。

N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体(NMDARs)

对于突触可塑性和学习与记忆至关重要,GluN2 亚基的酪氨酸磷酸化调节 NMDAR 功能。NS 相关的 SHP2 使 GluN2B 去磷酸化,从而调节 NMDAR 功能,导致 NS 认知功能障碍^[13]。PTPN11 突变相关 NS 的头颅影像学显示双侧纹状体的灰质体积减少,颞叶区域的表面积减少,额叶区域的皮质厚度增加,并减少了边缘区域的皮质厚度,包括海马回路中必不可少的边缘结构,从而影响正在发育的人脑的注意力和记忆力,表现出注意力不集中、活动过度 and 记忆力障碍水平很高^[14]。

在 NS 患者中 PTPN11 突变的存在与其容易瘀伤密切相关,SHP2 催化失调增加了血小板反应不良,表型为出血缺陷^[15]。PTPN11 激活突变在干细胞微环境中有致白血病的作用,间充质干/祖细胞和骨祖细胞中的 PTPN11 突变,导致 CC 趋化因子 CCL3 过度产生,该因子可将单核细胞招募到造血干细胞所在的区域。因此,造血干细胞被 IL-1 β 和可能由单核细胞产生的其他致炎细胞因子过度激活,导致干细胞移植后儿童时期的骨髓增生性肿瘤(myeloproliferative neoplasm,MPN)加重和供体细胞来源的 MPN。有研究揭示了骨髓微环境中 PTPN11 突变在白血病发生中的关键作用,并确定 CCL3 是控制 NS 白血病进展和改进 NS 相关白血病干细胞移植治疗的潜在治疗靶点^[16]。

2.1.4 RAF1: 在 NS 患者中,8% 的患者存在 RAF1 突变。RAF1 基因位于第 3 号染色体上,编码 648 个氨基酸的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是下游 Ras 直接的效应子之一。与 NS 相关的大多数 RAF1 突变都聚集在 2 个区域中:保守区域 2(S259 侧翼)和保守区域 3(围绕激活片段)。这些突变导致 RAF1 的不同功能,因为残基 S259 和 S621 的磷酸化负责 RAF1 的调节。RAF1 基因突变与肥厚性心肌病、智力缺陷、身材矮小和伴有雀斑综合征的 NS 样皮肤特征(多发性雀斑、咖啡色斑痣、多发性痣)。超过 90% 的 RAF1 保守区域 2 突变的 NS 患者表现出严重的肥厚性心肌病,是由异常的 ERK5 和 MEK1/2 信号传导所致,MEK1/2 的过度激活导致肌原纤维紊乱,ERK5 信号增加介导心肌细胞肥大,抑制 MEK1/2 可以逆转诱导型多能干细胞来源的心肌细胞中肌节紊乱,而抑制 MEK5/ERK5 可以逆转心肌肥大的表型。RAF1 的 L613V 突变使皮质中神经胶质细胞数增加,与学习增强有关^[17]。

2.1.5 RIT1: RIT1 突变占 NS 病例的 5%~9%^[18]。RIT1 是与 RAS 亚家族相关的小 GTP 酶,与经典的 RAS GTP 酶(KRAS、HRAS、NRAS)有 50% 的序列同源性,并显示出典型的 GTP 酶活性,可调节细胞存活率,RIT1 在胚胎和成年阶段普遍存在表达^[19]。虽然 RIT1

在正常的 RAS-ERK 通路激活中可能不起主要作用,但突变的 RIT1 等位基因在异种细胞中的表达增加了 MAPK-ERK 通路的激活或 ELK 的反式激活,显示了功能获得效应,并进一步支持了 RIT1 在 NS 发病机制中的致病作用^[20]。具有 RIT1 突变的个体常见于产前异常(围产期异常,包括颈部半透明、胎儿积水、胸腔积液或乳糜胸和先天性心脏缺陷),心血管疾病(肥厚型心肌病、房间隔缺损和肺动脉狭窄)和淋巴管异常,而身材矮小、智力问题、眼部异常和外胚层异常则较不常见^[18-20]。该突变菌株易于部分通过 AKT 介导的信号传导而受到肾上腺素刺激,导致心脏肥大^[21]。具有早发性 HCM 表型(年龄 < 2 岁)的患者,特别是在双心室梗阻的患者中,预后较差,MEK 抑制剂可逆转 RIT1 突变的 NS 的肥厚型心肌病^[22]。

2.1.6 SOS1: SOS1 突变约占病例的 15%。SOS1 编码产物为 RAS 特异性的鸟嘌呤核苷酸交换因子,该蛋白负责刺激 RAS 从非活性 GDP 结合形式转变为活性 GTP 结合形式。SOS1 是一种具有多个结构域的复杂蛋白,参与了自身抑制。改变的氨基酸残基可能解除自身抑制,导致结构性激活。SOS1 基因突变的 NS 患者表现出相当独特的类型,表现为明显的面部畸形(巨头畸形、上睑下垂)、某些皮肤表现(角化过度、眉毛稀疏、生长缓慢的卷发)、心脏缺陷(肺动脉瓣狭窄、房间隔缺损和室间隔缺损)、淋巴疾病,而身材矮小、智力缺陷、肥厚性心肌病的发生率较低^[23]。对于 PT-PN11 筛查阴性,且发育迟滞不前,伴有心一面一皮肤综合征样的皮肤、毛发改变而身高正常者,应考虑行 SOS1 基因突变的筛查。MEK 抑制剂曲美替尼能治疗 SOS1 突变相关的 NS 患者的严重淋巴疾病^[24]。

2.2 强水平基因 亮氨酸拉链样转录调节因子 1 (LZTR1) 是一个高度保守的基因,其编码蛋白的 N 端有 6 个 Kelch 基序, C 端有 2 个 BTB/POZ 结构域。在 NS 中的发生率高达 8%^[1]。LZTR1 是正常细胞周期的重要调节因子,并起着抑癌作用。LZTR1 被发现是 RAS 泛素化和信号转导的保守调节因子。双等位基因 LZTR1 突变导致了常染色体显性及隐性遗传 Noonan 综合征,隐性 NS 相关的 LZTR1 错义突变通过加速 LZTR1 降解或异常的亚细胞定位而可变地影响蛋白质功能,并在 RAS-MAPK 信号背景下表现为功能丧失突变;显性遗传 NS 相关的 LZTR1 突变特异性地影响 Kelch 结构域底物识别表面并增强 RAS-MAPK 信号。携带 LZTR1 突变的 NS 患者表现出典型的 NS 面部特征、蹼状颈、心血管缺陷和出血^[25]。LZTR1 功能的丧失导致血管功能障碍,抗血管内皮生长因子可能是治

疗 LZTR1 突变的 NS 患者出血性疾病的方法^[26]。

2.3 中等水平基因

2.3.1 BRAF: BRAF 是苏氨酸-丝氨酸蛋白激酶家族的一员,可作为 RAS 的效应器和 MAPK 模块的上游成分。该基因位于染色体 7a34 区,其突变常与心一面一皮肤综合征相关。BRAF 过度的酪氨酸激酶活性促进了 RAS-MAPK 信号级联的失调,使细胞分子改变,从而导致受影响个体 NS 的发生。特征性面部和外胚层表现是 BRAF 突变的主要临床特征,表现为新生儿生长障碍,喂养困难,身材矮小,头颈部突出,面部特征明显,多发性痣和深色雀斑,轻到中度的认知障碍,骨骼异常,肌张力降低,无心一面一皮肤综合征样相关的皮肤异常、羊水过多和肥厚性心肌病^[27]。

2.3.2 SOS2: SOS2 从结构和功能上与 SOS1 类似,致病突变影响位于 Dbl 同源结构域的 3 个保守残基,其中 2 个直接参与维持 SOS2 自身抑制构象的分子内结合网络。致病的 SOS2 突变促进了 SOS2 中 GEF 功能的增强,导致 RAS 和 RAF-MEK-ERK 级联的信号增强。与引起 NS 的 SOS1 突变相似,与 SOS2 缺陷相关的表型特征为生长发育正常,明显的外胚层受累和易患淋巴并发症^[28]。首例 SOS2 突变的 NS 产前病例发现颈部半透明层明显增加^[29]。然而,与 SOS1 突变不同的是,SOS2 突变仅限于 DH 区域。

3 小结与展望

NS 是一种常染色体遗传性疾病,研究发现,大约 80% 的 NS 发病机制与 RAS-MAPK 信号通路相关的基因突变有关。国内外学者对 NS 发生、发展过程中可能涉及到的基因进行了研究,通过对 NS 动物模型应用相应靶点阻断剂后观察疾病转归,为 NS 的治疗提供了更多的研究方向。但是,NS 临床表现复杂、缺乏有效的治疗方案,需要临床医师定期对患者疾病状态进行评估,判断疾病严重程度并采取积极治疗。然而,临床上仍无一致、有效的治疗方案,故对于 NS 发病机制的研究,有助于临床医师探索潜在、有效的治疗靶点。因此,不断深入研究 NS 发生、发展过程中各基因突变的发病机制及相关的基因型—表型,对 NS 的治疗具有重要的指导意义,但是从基础研究中寻找治疗靶点再到临床应用还需要很长时间的探索。

参考文献

- [1] Johnston JJ, van der Smagt JJ, Rosenfeld JA, et al. Autosomal recessive Noonan syndrome associated with biallelic LZTR1 variants [J]. Genet Med, 2018, 20(10):1175-1185. DOI:10.1038/gim.2017.249.
- [2] Yart A, Edouard T. Noonan syndrome: an update on growth and development [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2018, 25(1):

- 67-73. DOI:10.1097/MED.0000000000000380.
- [3] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组. Noonan 综合征的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3):324-328. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2020.03.017.
- [4] Roberts AE, Allanson JE, Tartaglia M, et al. Noonan syndrome[J]. *Lancet*, 2013, 381(9863):333-342. DOI:10.1016/S0140-6736(12)61023-X.
- [5] Grant AR, Cushman BJ, Cave H, et al. Assessing the gene-disease association of 19 genes with the RASopathies using the ClinGen gene curation framework[J]. *Hum Mutat*, 2018, 39(11):1485-1493. DOI:10.1002/humu.23624.
- [6] Lee BH, Kim JM, Jin HY, et al. Spectrum of mutations in Noonan syndrome and their correlation with phenotypes[J]. *J Pediatr*, 2011, 159(6):1029-1035. DOI:10.1016/j.jpeds.2011.05.024.
- [7] Gremer L, Merbitz-Zahradnik T, Dvorsky R, et al. Germline KRAS mutations cause aberrant biochemical and physical properties leading to developmental disorders[J]. *Hum Mutat*, 2011, 32(1):33-43. DOI:10.1002/humu.21377.
- [8] Hernandez-Porras I, Fabbiano S, Schuhmacher AJ, et al. K-RasV14I recapitulates Noonan syndrome in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(46):16395-16400. DOI:10.1073/pnas.1418126111.
- [9] Cirstea IC, Kutsche K, Dvorsky R, et al. A restricted spectrum of NRAS mutations causes Noonan syndrome[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(1):27-29. DOI:10.1038/ng.497.
- [10] Ekvall S, Wilbe M, Dahlgren J, et al. Mutation in NRAS in familial Noonan syndrome-case report and review of the literature[J]. *BMC Med Genet*, 2015, 16:95. DOI:10.1186/s12881-015-0239-1.
- [11] Tidyman WE, Rauen KA. Expansion of the RASopathies[J]. *Curr Genet Med Rep*, 2016, 4(3):57-64. DOI:10.1007/s40142-016-0100-7.
- [12] Rauen KA. The RASopathies[J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2013, 14: 355-369. DOI: 10.1146/annurev-genom-091212-153523.
- [13] Levy AD, Xiao X, Shaw JE, et al. Noonan syndrome-associated SHP2 dephosphorylates GluN2B to regulate NMDA Receptor function[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(6):1523-1535. DOI:10.1016/j.celrep.2018.07.006.
- [14] Johnson EM, Ishak AD, Naylor PE, et al. PTPN11 gain-of-function mutations affect the developing human brain, memory, and attention[J]. *Cereb Cortex*, 2019, 29(7):2915-2923. DOI:10.1093/cercor/bhy158.
- [15] Bellio M, Garcia C, Edouard T, et al. Catalytic dysregulation of SHP2 leading to Noonan syndromes affects platelet signaling and functions[J]. *Blood*, 2019, 134(25):2304-2317. DOI:10.1182/blood.2019001543.
- [16] Dong L, Yu WM, Zheng H, et al. Leukaemogenic effects of Ptpn11 activating mutations in the stem cell microenvironment[J]. *Nature*, 2016, 539(7628):304-308. DOI:10.1038/nature20131.
- [17] Holter MC, Hewitt LT, Koebele SV, et al. The Noonan syndrome-linked RalflL613V mutation drives increased glial number in the mouse cortex and enhanced learning[J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(4):e1008108. DOI:10.1371/journal.pgen.1008108.
- [18] Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, et al. Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations[J]. *Hum Genet*, 2016, 135(2):209-222. DOI:10.1007/s00439-015-1627-5.
- [19] Shi GX, Cai W, Andres DA. Rit subfamily small GTPases: regulators in neuronal differentiation and survival[J]. *Cell Signal*, 2013, 25(10):2060-2068. DOI:10.1016/j.cellsig.2013.06.002.
- [20] Chen PC, Yin J, Yu HW, et al. Next-generation sequencing identifies rare variants associated with Noonan syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(31):11473-11478. DOI:10.1073/pnas.1324128111.
- [21] Takahara S, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, et al. New Noonan syndrome model mice with RIT1 mutation exhibit cardiac hypertrophy and susceptibility to beta-adrenergic stimulation-induced cardiac fibrosis[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42:43-53. DOI:10.1016/j.ebiom.2019.03.014.
- [22] Andelfinger G, Marquis C, Raboisson MJ, et al. Hypertrophic cardiomyopathy in noonan syndrome treated by MEK-inhibition[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(17):2237-2239. DOI:10.1016/j.jacc.2019.01.066.
- [23] Moncini S, Bonati MT, Morella I, et al. Differential allelic expression of SOS1 and hyperexpression of the activating SOS1 c.755C variant in a Noonan syndrome family[J]. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23(11):1531-1537. DOI:10.1038/ejhg.2015.20.
- [24] Dori Y, Smith C, Pinto E, et al. Severe Lymphatic Disorder Resolved With MEK Inhibition in a Patient With Noonan Syndrome and SOS1 Mutation[J]. *Pediatrics*, 2020, 146(6):e20200167. DOI: 10.1542/peds.2020-0167.
- [25] Aoki Y, Niihori T, Inoue S, et al. Recent advances in RASopathies[J]. *J Hum Genet*, 2016, 61(1):33-39. DOI:10.1038/jhg.2015.114.
- [26] Sewduth RN, Pandolfi S, Steklov M, et al. The noonan syndrome gene *lzlrl* controls cardiovascular function by regulating vesicular trafficking[J]. *Circ Res*, 2020, 126(10):1379-1393. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.119.315730.
- [27] Al-Aama JY, Banaganapalli B, Aljeaid D, et al. Targeted molecular sequencing revealed allelic heterogeneity of BRAF and PTPN11 genes among arab noonan syndrome patients[J]. *Russian Journal of Genetics*, 2018, 54(8):975-984. DOI: 10.1134/S1022795418080033.
- [28] Lissewski C, Chune V, Pantaleoni F, et al. Variants of SOS2 are a rare cause of Noonan syndrome with particular predisposition for lymphatic complications[J]. *Eur J Hum Genet*, 2021, 29(1):51-60. DOI:10.1038/s41431-020-00708-6.
- [29] Gentile M, Fanelli T, Lepri FR, et al. First prenatal case of Noonan syndrome with SOS2 mutation; Implications of early diagnosis for genetic counseling[J]. *Am J Med Genet A*, 2021, 185(6):1897-1902. DOI:10.1002/ajmg.a.62180.