

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.001

指南与共识

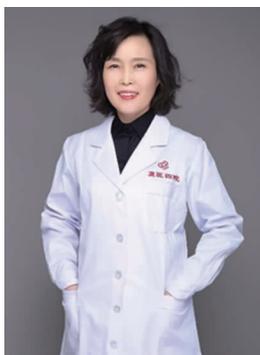
《肝癌新辅助治疗中国专家共识(2023 版)》专家解读

张兰, 李胜棉



作者单位: 050010 石家庄, 河北医科大学第四医院消化内科

通信作者: 李胜棉, E-mail: shengmianli2013@163.com



李胜棉, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 任职于河北医科大学第四医院消化内科。主要学术兼职: 中国抗癌协会老年肿瘤专业委员会、神经内分泌肿瘤专业委员会常务委员, 亚太医学生物免疫学会肝病专业委员会常务委员, 中国临床肿瘤学会结直肠癌专家委员会委员, 中国抗癌协会肿瘤支持治疗专业委员会委员, 中国医疗保健国际交流促进会消化道肿瘤综合诊疗学分会委员, 河北省抗癌协会老年肿瘤专业委员会主任委员, 河北省预防医学会消化疾病防控专业委员会主任委员, 河北省女医师协会消化专业委员会主任委员, 河北省临床肿瘤学会神经内分泌肿瘤专家委员会主任委员。长期从事消化道肿瘤的诊治及基础研究, 取得多项研究成果, 以第一作者和通讯作者发表论文 70 余篇, 其中最高影响因子 22.682/Q1。

【关键词】 肝癌; 新辅助治疗; 专家共识; 解读

【中图分类号】 R735.7 【文献标识码】 A

原发性肝癌是全球第六大常见恶性肿瘤和第三大恶性肿瘤死亡原因, 2020 年我国原发性肝癌的新发病例和死亡病例数均居全球首位^[1]。肝细胞癌(简称肝癌)是原发性肝癌最常见的病理学类型, 在我国约占原发性肝癌病例的 90%^[2]。肝切除术是肝癌患者获得更长生存期的最主要治疗手段。但是我国肝癌患者手术切除率 < 30%, 总体 5 年生存率仅为 18%, 而且即使获得根治性手术切除, 术后 5 年复发率也高达 70%, 预后较差^[3]。以降低术后复发风险、延长患者生存时间为主要目的肝癌新辅助治疗应运而生, 为规范临床实践, 《肝癌新辅助治疗中国专家共识(2023 版)》(中华外科杂志, 2023, 61(12): 1035-1045) 基于临床研究数据, 对肝癌新辅助治疗的概念、目标获益人群、治疗方案选择、治疗时间窗、治疗失败后的处理等临床关注的热点问题进行推荐指导, 以期在初步规范的新辅助治疗模式下, 为肝癌新辅助治疗进一步获取更高级别的循证医学证据, 让更多肝癌患者获益。

1 新辅助治疗的目标人群

根据我国《2024 年原发性肝癌诊疗指南》和《2024 CSCO 原发性肝癌诊疗指南》推荐肝脏储备功能良好

的早期肝癌, 也就是中国肝癌分期(China liver cancer staging, CNLC) I a、I b 和 II a 的患者手术切除是首选治疗方法。但这部分患者通过手术治疗后的 5 年生存率仅分别为 77.2%、62.5% 和 40.8%^[4], 仍有较高的术后复发率, 成为了影响肝癌手术患者长期生存的主要瓶颈。I a 期肝癌患者术后复发率相对低, 目前没有证据认为其可以从新辅助治疗中获益, 因此暂不建议临床行新辅助治疗。但对于 CNLC I b 和 II a 的肝癌患者, 随着肿瘤体积越大, 个数越多, 手术治愈率明显降低, 目前国内外已有小样本新辅助治疗研究认为这部分患者可通过新辅助治疗获得更低复发率和更长生存时间, 尤其是存在术后复发高危因素者获益更好, 但疗效尚需更多的样本量证实^[5]。对于可切除的中晚期肝癌患者(CNLC II b、III a) 手术后 5 年生存率仅分别为 37.4% 和 23.8%^[4], 说明大部分患者不能从单独手术治疗获益, 应寻求更优的治疗策略^[6-7]。

基于上述考虑, 共识推荐^[8]: 肝癌新辅助治疗的目标人群包括: (1) 伴复发危险因素的可切除 CNLC I b ~ II a 期患者, 术前复发危险因素包括肿瘤包膜不完整、肿瘤紧邻血管、甲胎蛋白(AFP) > 400 μg/L, 或

基于术前影像组学模型定义的高复发人群,建议上述患者加入新辅助临床试验;(2)对于可切除的 CNLC II b、III a 期患者,建议加入新辅助临床试验或经多学科诊疗(MDT)团队共同讨论后行新辅助治疗(证据等级 2,推荐强度 A)。

在临床实践中,随着手术技术的不断进步,可切除肝癌的范围不断扩大,但是术后较高的复发率,尤其是较高的早期复发率可能与微转移病灶在肿瘤早期就已经形成有关,即使是 CNLC I a 期肝癌,术后也有早期复发的患者,这始终是肝癌治疗的瓶颈。虽然新辅助治疗确实提高了部分患者完全切除率、降低了术后复发率,但也有部分患者并未在新辅助治疗中获益,反而因出现疾病进展或严重不良反应而失去手术根治机会,故对于所有初始可切除的肝癌患者均考虑新辅助治疗显然是不合理的。如何在术前更精准地筛选出高复发风险且新辅助治疗可能有效的人群并给予新辅助治疗,一直是新辅助治疗领域关注的热点问题。(1)影像学筛选高复发风险人群。目前普遍认为肿瘤大小、数量、包膜侵犯和门静脉受累是肝癌术后复发的高危因素^[9]。随着影像组学的快速发展,基于 CT 或 MR 建立肝癌复发风险模型的研究越来越多^[10-11],与现有的临床影像、病理预后因素形成互补,能在早期肝细胞癌切除术前和术后提供较为准确、个体化的肿瘤复发风险预测。但因为目前获取图像的影像设备以及图像采集参数不统一,且缺乏大样本量的临床验证,预测模型的实用性和可行性受限,相信未来可能成为有效预测肝癌术后复发的新突破。(2)生物标志物筛选高危复发人群,预测新辅助疗效。①中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR):作为反映机体不同炎症状态的炎症指标,可以通过多种途径在癌症进展中发挥关键作用。国内外多项研究表明术前患者的 NLR 水平与术后复发有着密切关系^[12-13]。也有研究探索 NLR 与肝癌治疗预后的相关性,结果发现,无论是单独经肝动脉化疗栓塞(TACE)治疗/射频消融治疗,还是 TACE 联合靶向免疫治疗,均发现低 NLR 水平与较好的总生存期(OS)/无进展生存期(PFS)具有相关性^[14-16]。虽然肯定 NLR 与肿瘤复发及治疗的预后之间存在一定的联系,但其截断值范围尚需大量的研究来确定。②循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA):在结直肠癌的研究显示^[17],与传统肿瘤标志物(CEA/CA19-9)相比,早期 ctDNA 变化是预测新辅助治疗反应和复发的更好预测因子。在肝癌中也有相关研究显示 ctDNA 中的异常甲基化与肿瘤早期转移或术后复发风险增加及更差的预后相关^[18-19]。

而对 TACE 治疗的肝癌患者术前、术后 ctDNA 的检测发现,治疗后 ctDNA 的增加与治疗进展呈正相关。虽然 ctDNA 在肝癌不同治疗模式中预测早期疗效的数据尚不充分,但未来在不断的数据积累下,相信 ctDNA 在肝癌新辅助治疗中的价值会更高。

2 新辅助治疗方案选择

目前肝癌新辅助治疗的方案主要集中在介入、放射、靶向和免疫治疗。

2.1 介入治疗 包括 TACE 和经肝动脉化疗灌注(HAIC)。

2.1.1 TACE 治疗是肝癌新辅助治疗最早探索的方案:早在 2009 年的一项前瞻性研究中^[20],纳入肿瘤最大直径 >5 cm(CNLC I b ~ III a 期)的可切除肝癌患者,随机分为术前 TACE + 手术治疗组和单纯手术治疗组,结果发现术前加入 TACE 治疗未能降低术后复发率,亦未改善术后生存。但另外一项前瞻性非随机对照研究结果显示^[21],经 TACE 新辅助治疗的可切除肝癌患者中合并门脉癌栓患者(CNLC III a 期)生存得到改善。TACE 单独作为新辅助治疗的疗效尚不能满足大部分可切除肝癌患者新辅助治疗的需求。在精准治疗时代下,很多学者尝试 TACE 的联合治疗模式作为肝癌新辅助方案。一项前瞻性、单臂、II 期研究显示^[22],TACE 联合 PD-1 抑制剂治疗巴塞罗那分期 A 期和 B 期肝癌患者,客观缓解率(ORR)为 62%,完全病理缓解率(pCR)为 14%,发现了 TACE 联合治疗的潜在优势。2023 年发表的 CHANCE001 研究^[23],是目前 HCC 样本量最大、全国多中心回顾性研究,结果显示在我国的真实世界中,TACE 联合靶向和免疫治疗中晚期肝癌相较于单独 TACE 治疗,具有更好的抗肿瘤效果,联合治疗组和单一治疗组的 ORR 分别为 60.1% 和 32.0% ($P < 0.001$),OS 分别为 19.2 个月和 15.7 个月 ($P = 0.001$)。2024 年 ASCO 会议上公布的我国一项前瞻性、单臂、II 期研究^[24],研究纳入的是 CNLC II b 和 III a 期的居于高危复发因素的可切除肝癌患者,探索了 TACE 联合替雷利珠单抗和仑伐替尼新辅助治疗的疗效和安全性,结果显示三联方案新辅助治疗的 ORR 高达 89.7%,主要病理缓解率(MPR)为 76.9%,pCR 为 15.4%。中位随访 8 个月,中位无复发生存时间(mRFS)未达到,6 个月和 12 个月 RFS 率分别为 90% 和 82.5%,且安全性良好。基于这些研究数据,指南不推荐单纯 TACE 治疗作为肝癌新辅助治疗方案,建议 TACE 与靶向和/或免疫联合治疗作为新辅助治疗的可选方案(证据等级 2,推荐强度 B)。

2.1.2 HAIC 新辅助治疗的证据也取得了进展:在 2023 年 ASCO 会议上,我国一项应用 FOLFOX-HAIC 方案新辅助治疗超过米兰标准的 BCLC A 或 B 期肝癌患者的多中心、前瞻性 III 期临床研究进行了交流^[25],新辅助治疗组完全缓解率(CRR)为 10.1%,ORR 为 63.6%,与直接手术切除组比较,新辅助治疗组患者 OS 和 PFS 均有明显改善,但是 2 组患者的无复发生存期(RFS)差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 CNLC III a 期肝癌合并门静脉癌栓的患者中开展了一项多中心、随机对照(RCT)研究^[26],结果证实了 HAIC 治疗合并门静脉癌栓的肝癌患者,其 ORR 明显高于索拉非尼单药治疗(ORR 27.6% vs. 3.4%),OS 更优(中位 OS 未达到 vs. 8.3 月)。在局部联合全身系统治疗方面,一项 HAIC + 仑伐替尼 + 特瑞普利单抗新辅助治疗不可手术切除肝细胞癌疗效的探索^[27],结果显示:与仑伐替尼比较,联合治疗具有更高的 ORR(59.2% vs. 9.3%)和更长的生存时间(11.1 月 vs. 5.1 月)。从临床研究数据看,HAIC + 靶向 + 免疫的治疗模式同样可以给可切除肝癌患者带来较高的 ORR 和更长的 OS。本指南推荐:HAIC 治疗用于肝癌新辅助治疗可降低术后复发率,改善患者预后(证据等级 3,推荐强度 B)。

无论是 TACE 还是 HAIC 单独作为肝癌新辅助治疗的疗效均有限,虽然目前越来越多的研究显示,TACE/HAIC 联合靶向、免疫治疗作为肝癌新辅助治疗方案在 ORR、MPR/CPR 方面存在优势,但这些优势是否会转化成长期的生存获益仍需更高级别循证医学证据证实。而且在临床研究中 TACE/HAIC 的联合治疗模式仅在中晚期肝癌中看到很好的数据,在早期肝癌的新辅助治疗中获益的数据并不充分。此外联合治疗的优势还依赖于患者肝脏的代偿功能,在患者筛选中应更重视评估基础肝病的情况。

2.2 放射治疗 既往肝癌患者对传统的体外放射治疗的耐受性较差,所以虽然放疗在肝癌的治疗有效,但临床应用受限。随着影像学技术和放疗技术的发展,体外放疗的精准度越来越高,对正常肝脏的照射剂量明显降低,所以包括三维适形、调强放疗以及立体定向放疗在肝癌中的治疗地位也逐渐升高。越来越多的临床研究发现^[28-29],对于存在门静脉癌栓的 CNLC III a 期肝癌患者,与直接手术治疗相比,术前接受三维适形新辅助放疗的患者,可以获得缩小癌栓范围、降低术后复发率以及延长生存的结果。此外,新辅助放疗联合手术的治疗模式也给中央型肝癌患者带来了曙光。中央型肝癌因与肝内主要脉管系统粘连或距离较近,与

周围型肝癌相比更易侵犯大血管和胆管分支而发生肝内、肝外转移,也因位置特殊,手术难度大,手术很难达到 1 cm 的相对安全切缘,预后差。2022 年一项单臂 II 期研究纳入了 38 例中央型肝癌患者,接受新辅助调强放疗联合手术治疗的模式,将中央型肝癌患者的 5 年生存率从 37.2% 提高至 69.1%,达到了与小肝癌根治手术相似的疗效^[30]。5 年无瘤生存率可达 41.0%。而且放疗相关的 3 级不良反应发生率仅为 7.9%,提示了较好的安全性。基于上述证据,指南推荐:新辅助精准放疗可降低伴门静脉癌栓的肝癌患者术后复发率,并提高生存率(证据等级 2,推荐强度 B);新辅助调强放疗可改善中央型肝癌患者的预后(证据等级 3,推荐强度 C)。目前除了单纯放疗以外,放疗的联合治疗也有一些小样本临床数据^[31-32],提示对于单发肿瘤直径超过 5 cm 的肝癌,精准放疗联合 TACE 作为新辅助治疗的方案可以获得更好的缩瘤效果,但是安全性和远期疗效还需要更多循证医学证据去证实。目前术前新辅助放疗的最佳剂量、与手术的最佳间隔时间等问题仍需要在临床中进一步探索。

2.3 靶向和免疫治疗 目前获批肝癌适应证的靶向药物(索拉非尼、仑伐替尼、多纳非尼、阿帕替尼、贝伐珠单抗)和免疫药物(阿替利珠单抗、信迪利单抗、卡瑞利珠单抗、替雷利珠单抗)众多,从晚期肝癌一线治疗的循证医学数据看,单药靶向治疗的客观缓解率较低,生存期延长有限,而免疫治疗或免疫联合靶向治疗可以获得更高的客观缓解率和更长的生存期。目前没有靶向药物新辅助治疗获益的证据,但已经有小样本免疫单药治疗的研究探索肝癌新辅助领域,初见曙光。一项单臂、开放、II 期研究评估了西米普利单抗(PD-1 单抗)在可切除肝癌新辅助治疗中的应用^[33],研究纳入了 21 例 CLNC I b 期、II 期和 III b 期肝癌患者,结果显示,有 20 例患者接受西米普利单抗新辅助治疗后成功接受了手术切除,且有 4 例(20%)患者术后病理达到了该研究的主要终点——主要病理学缓解(major pathological response, MPR),研究中定义的 MPR 为切除肿瘤坏死 > 70%。另一项研究是纳武利尤单抗单药或联合伊匹木单抗在肝癌新辅助治疗中的探索^[34],共纳入 27 例可切除肝癌患者,13 例给予纳武利尤单抗治疗,14 例给予纳武利尤单抗 + 伊匹木单抗治疗,结果显示研究达到了安全性和耐受性的主要终点,MPR 为 33% (研究定义 MPR 为肿瘤坏死 > 60%),中位随访 24.6 个月,达到 MPR 患者未观察到复发,未达到 MPR 患者复发率为 50%。免疫治疗带来的高肿瘤坏死率,初步提示可能预示更低的肿瘤复发率。指南推

荐:新辅助免疫治疗可改善肝癌患者的预后,提高 CPR 率,推荐符合标准的肝癌患者加入新辅助免疫治疗的临床试验(证据等级 2,推荐强度 B)。

基于靶向、免疫联合治疗在肝癌晚期一线中获得的更高 ORR 和 OS 结果,是否可以比免疫单药在新辅助治疗带来更多的获益? 一项回顾性研究^[35],分析了 CNLC II b、III c 期肝癌患者术前给予卡瑞利珠单抗联合阿帕替尼新辅助治疗的疗效,结果显示新辅助组与常规组相比,可降低肿瘤术后 1 年复发率(42.9% vs. 64.0%),尤其是降低单发肿瘤 1 年术后复发率(25% vs. 71%),同时提高术后 1 年的生存率(100.0% vs. 74.2%),且并未增加围术期并发症的发生率。另一项纳入了 15 例 HCC 患者的 I b 期研究^[36],评估卡博替尼联合纳武利尤单抗作为肝癌新辅助治疗方案的可行性和有效性,结果显示 80% 患者成功接受了 R0 切除术;MPR 为 42%,安全性和耐受性尚可接受。目前免疫或靶免联合治疗的循证医学数据较少,但发现了较好的安全性和抗肿瘤活性,值得进一步探索。

在众多的新辅助治疗方案中如何优化选择? 肝癌的早期复发可能与微转移病灶有关,仅加强局部治疗,对降低远处复发转移风险收获甚微,而系统治疗可能会更好地发挥作用。免疫治疗时代已经改变了晚期肝癌患者的预后,而指南推荐的免疫单药的新辅助治疗模式是否已足够? 哪些可切除肝癌需要以免疫治疗为基础的联合治疗方案来增敏? 如何控制失败率? 这些问题还需要更多临床和基础研究的探索来解答。

3 新辅助治疗时间窗

肝癌新辅助治疗中出现疾病进展或严重毒性导致失去手术机会或手术延期,是临床需要特别关注和亟待解决的问题,如何平衡获益与风险,新辅助治疗时间窗的选择尤为重要。既往研究结果显示^[37]:早期肝癌患者术前等待时间在 70 d 内,对手术的预后无明显影响。而 Lim 等^[38]的研究显示早期肝癌患者术前等待时间的安全窗可以长达 3 个月。目前新辅助治疗的临床研究设定的术前治疗周期多在 2~4 个周期(3 个月内),既可以获得较好的肿瘤退缩,又有较好的安全性。指南推荐:肝癌新辅助治疗周期为 6~12 周,最长不超过 16 周。无论病灶是否缩小,达到治疗目的后应尽快手术。

总之,肝癌新辅助治疗时间窗的选择应综合考量所选择治疗方案的中位起效时间、中位疾病进展时间及中位不良反应发生的时间。而且更应该倾向于精准化,期待在不断进步的精准影像学、分子学的评估下,是否可以通过早期判断治疗方案的有效性,对无反

应的肝癌早期手术切除治疗,最大程度降低疾病进展风险,而对治疗有反应的肝癌适当延长治疗周期以获得更好的肿瘤缓解率,这值得在临床中去进一步探索。

4 新辅助治疗失败后的处理

新辅助治疗过程中出现疾病进展的患者何去何从,同样也是肝癌新辅助治疗面临的难题。指南推荐:对于新辅助治疗失败的患者,应根据前期治疗方式和疾病进展情况,选择个体化的后续治疗策略(证据等级 3,推荐强度 B)。

新辅助治疗失败可能是疾病进展、不可耐受的不良反应或基础肝病加重。虽然肝癌的治疗模式不断更新,生存期有所延长,但手术治疗仍然是早期肝癌获得更长生存的优选治疗。在临床实践中,新辅助治疗期间发现肿瘤进展,首先应对肿瘤的可切除性和分期进行重新评估,如果肿瘤仍处于可切除的范围内,对于仍处于早期的肝癌积极建议尽早行外科手术治疗,对于中晚期肝癌,即使仍有手术机会,但需要 MDT 讨论充分评估患者生存获益,谨慎选择手术治疗。如果肿瘤已发生远处转移或其他不适合手术的情况,则建议根据肿瘤分期,按照相关诊疗指南严格选择适合的治疗方案。对于新辅助治疗期间发生了严重的不良反应和基础肝病加重的情况,应该积极给予对症处理,待不良反应消失或降至 1 级以下,肝脏代偿功能好转,重新评估手术治疗。

5 小结与展望

肝癌术后的 5 年生存率低、复发率高是限制肝癌患者长期生存的主要原因。目前在免疫治疗时代,以免疫治疗为基础的联合治疗模式为晚期肝癌患者带来了明显生存获益,基于系统治疗的临床数据,使肝癌的新辅助治疗成为可能。但目前新辅助治疗的高级别循证医学证据尚不充足,相信在指南的规范指导下,更深入地探索新辅助治疗领域仍存在争议的问题,会为未来肝癌新辅助治疗指明方向。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71 (3): 209249. DOI: 10.1158/1538-7445.sabcs23-po4-14-11.
- [2] Cong WM, Dong H, Tan L, et al. Surgicopathological classification of hepatic space-occupying lesions: A single-center experience with literature review [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17 (19): 2372-2378. DOI: 10.3748/wjg.v17.i19.2372.
- [3] Villanueva A. Hepatocellular carcinoma [J]. N Engl J Med, 2019, 380(15): 1450-1462. DOI: 10.1056/NEJMra1713263.
- [4] 夏永祥,张峰,李相成,等. 原发性肝癌 10 966 例外科治疗分析 [J]. 中华外科杂志, 2021, 59 (1): 6-17. DOI: 10.3760/cma.j.

- cn112139-20201110-00791.
- [5] Su YY, Li CC, Lin YJ, et al. Adjuvant versus neoadjuvant immunotherapy for hepatocellular carcinoma: clinical and immunologic perspectives[J]. *Semin Liver Dis*, 2021, 41(3): 263-276. DOI: 10.1055/s-0041-1730949.
- [6] 中国抗癌协会肝癌专业委员会转化治疗协作组. 肝癌转化治疗中国专家共识(2021版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2021, 20(6): 600-616. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20210512-00223.
- [7] 中国医疗保健国际交流促进会肝脏肿瘤分会, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院消化肿瘤多学科协作组. 肝细胞癌新辅助及转化治疗中国专家共识[J/CD]. *肝癌电子杂志*, 2022, 9(1): 23-28. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7815.2023.01.002.
- [8] 肝癌新辅助治疗中国专家共识协作组, 中国研究型医院学会消化外科专业委员会, 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 肝癌新辅助治疗中国专家共识(2023版)[J]. *中华外科杂志*, 2023, 61(12): 1035-1045. DOI: 10.3760/cma.j.cn112139-20230914-00121.
- [9] Poon RT, Fan ST, Ng IO, et al. Different risk factors and prognosis for early and late intrahepatic recurrence after resection of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer*, 2000, 89(3): 500-507. DOI: 10.1002/1097-0142(20000801)89:3<500::aid-cnrc4>3.0.co;2-o.
- [10] 季顺惟, 王科, 吴晓峰, 等. 基于 CT 检查影像组学早期肝细胞癌切除术后肿瘤复发的预测模型构建及其应用价值[J]. *中华消化外科杂志*, 2020, 19(2): 204-216. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2020.02.014.
- [11] 袁惊雷, 谢晓桐, 张佩娜, 等. 基于 CT 和 MRI 影像组学的机器学习模型预测肝癌早期复发的研究进展[J]. *磁共振成像*, 2022, 13(12): 154-158. DOI: 10.12015/issn.1674-8034.2022.12.029.
- [12] 周雷, 丁胜义, 雷响, 等. 原发性肝细胞肝癌手术切除后复发的危险因素研究[J]. *肝胆外科杂志*, 2021, 29(5): 369-372. DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2021.05.013.
- [13] Kim WJ, Lim TW, Park PJ, et al. Prognostic markers affecting the early recurrence of hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis after curative resection[J]. *The International Journal of Biological Markers*, 2019, 34: 123-131. DOI: 10.1177/1724600819834306.
- [14] 杨福军, 沈芳, 毕孝杨, 等. 术前 NLR 与 TACE 治疗肝癌患者预后相关性的 Meta 分析[J]. *临床放射学杂志*, 2022, 41(11): 2051-2058. DOI: 10.13437/j.cnki.jcr.2022.11.032.
- [15] 申雪晗, 周江敏, 张志伟, 等. NLR 对 TACE 联合仑伐替尼及免疫治疗的中晚期肝癌患者预后的预测价值[J]. *肝胆胰外科杂志*, 2023, 35(1): 19-24. DOI: 10.11952/j.issn.1007-1954.2023.01.004.
- [16] 楚伟可, 吴雪, 张鹏, 等. 炎症标志物对早期小肝癌行射频消融术预后的预测价值[J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(4): 843-850. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.04.020.
- [17] Wang XY, Zhang R, Rui H, et al. Early circulating tumor DNA dynamics predict neoadjuvant therapy response and recurrence in colorectal liver metastases: A prospective study[J]. *Ann Surg Oncol*, 2023, 30(8): 5252-5263. DOI: 10.1245/s10434-023-13604-2.
- [18] 程诺, 任庆旗, 袁建玲, 等. 术前外周血循环肿瘤 DNA 在肝细胞癌微循环血管侵犯预测中的应用价值分析[J]. *岭南现代临床外科*, 2023, 23(2): 100-105. DOI: 10.3969/j.issn.1009-976X.2023.02.002.
- [19] 杨小周, 张灵强, 王凯强, 等. 循环肿瘤细胞与循环肿瘤 DNA 在肝细胞癌中的研究进展[J]. *河北医药*, 2023, 45(3): 446-450. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2023.03.032.
- [20] Zhou WP, Lai EC, Li AJ, et al. A prospective, randomized, controlled trial of preoperative transarterial embolization for resectable large hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg*, 2009, 249(2): 195202. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181961c16.
- [21] Zhang YF, Guo RP, Zou RH, et al. Efficacy and safety of preoperative chemoembolization for resectable hepatocellular carcinoma with portal vein invasion: A prospective comparative study[J]. *Eur Radiol*, 2016, 26(7): 20782088. DOI: 10.1007/s00330-015-4021-8.
- [22] Guo C, Zhang J, Huang X, et al. Preoperative sintilimab plus transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma exceeding the Milan criteria: A phase II trial[J]. *Hepatol Commun*, 2023, 7(3): e0054. DOI: 10.1097/HC9.000000000000054.
- [23] Zhu HD, Li HL, Huang MS, et al. Transarterial chemoembolization with PD-(L)1 inhibitors plus molecular targeted therapies for hepatocellular carcinoma (CHANCE001)[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 58. DOI: 10.1038/s41392-022-01235-0.
- [24] Wu JY, Yan ML, Wen T, et al. Perioperative lenvatinib combined with tislelizumab plus transcatheter arterial chemoembolization in resectable hepatocellular carcinoma with high-risk of recurrence: A prospective, single-arm, phase 2 trial[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2024, 42(3_suppl): 503. DOI: 10.1200/JCO.2024.42.3_suppl.503.
- [25] Li S, Zhong C, Li Q, et al. Neoadjuvant transarterial infusion chemotherapy with FOLFOX could improve outcomes of resectable BCLC stage A/B hepatocellular carcinoma patients beyond Milan criteria: An interim analysis of a multi-center, phase 3, randomized, controlled clinical trial [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(15_suppl): 4008. DOI: 10.1200/jco.2021.39.15_suppl.4008.
- [26] Choi JH, Chung WJ, Bae SH, et al. Randomized, prospective, comparative study on the effects and safety of sorafenib vs. hepatic arterial infusion chemotherapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 82(3): 469-478. DOI: 10.1007/s00280-018-3638-0.
- [27] He MK, Liang RB, Zhao Y, et al. Lenvatinib, toripalimab, plus hepatic arterial infusion chemotherapy versus lenvatinib alone for advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2021, 13: 17588359211002720. DOI: 10.1177/17588359211002720.
- [28] Li N, Feng S, Xue J, et al. Hepatocellular carcinoma with main portal vein tumor thrombus: A comparative study comparing hepatectomy with or without neoadjuvant radiotherapy[J]. *HPB (Oxford)*, 2016, 18(6): 549-556. DOI: 10.1016/j.hpb.2016.04.003.
- [29] Wei X, Jiang Y, Zhang X, et al. Neoadjuvant three-dimensional conformal radiotherapy for resectable hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: A randomized, open-label, multicenter controlled study[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(24): 2141-2151. DOI: 10.1200/JCO.18.02184.
- [30] Wu F, Chen B, Dong D, et al. Phase 2 evaluation of neoadjuvant

- intensitymodulated radiotherapy in centrally located hepatocellular carcinoma: A nonrandomized controlled trial [J]. JAMA Surg, 2022, 157(12):10891096. DOI: 10.1001/jamasurg.2022.4702.
- [31] SB, Kim KS, Park YN, et al. The efficacy of hepatic resection after neoadjuvant transarterial chemoembolization (TACE) and radiation therapy in hepatocellular carcinoma greater than 5 cm in size[J]. J Korean Med Sci, 2009, 24(2):242-247. DOI: 10.3346/jkms.2009.24.2.242.
- [32] Wong WM, Cheung CC, Mak CF. Early experience of transarterial chemoembolization and stereotactic body radiotherapy as neoadjuvant therapy in treating solitary rightlobe hepatocellular carcinoma greater than 10 cm[J]. Surg Pract, 2016, 20(1):43-48. DOI: 10.1111/1744-1633.12161.
- [33] Marron TU, Fiel MI, Hamon P, et al. Neoadjuvant cemiplimab for resectable hepatocellular carcinoma: A single-arm, open-label, phase 2 trial[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022 Mar;7(3):219-229. DOI: 10.1016/S2468-1253(21)00385-X.
- [34] Kaseb AO, Hasanov E, Cao HST, et al. Perioperative nivolumab monotherapy versus nivolumab plus ipilimumab in resectable hepato-
- cellular carcinoma: A randomised, open-label, phase 2 trial[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(3): 208-218. DOI: 10.1016/S2468-1253(21)00427-1.
- [35] 夏永祥, 张慧, 张峰, 等. 肝细胞癌免疫新辅助治疗的有效性和安全性分析[J]. 中华外科杂志, 2022, 60(7):688-694. DOI: 10.3760/cma.j.cn112139-20220408-00150.
- [36] Yarchoan M, Zhu Q, Durham J, et al. Feasibility and efficacy of neoadjuvant cabozantinib and nivolumab in patients with borderline resectable or locally advanced hepatocellular carcinoma (HCC)[J]. J Clin Oncol, 2021, 39(suppl 3):335.
- [37] Wei M, Chen S, Li J, et al. Prognostic role of time to surgery in hepatocellular carcinoma at barcelona clinic liver cancer stage 0-A [J]. Ann Surg Oncol, 2020, 27(10): 3740-3753. DOI: 10.1245/s10434-020-08499-2.
- [38] Lim C, Bhangui P, Salloum C, et al. Impact of time to surgery in the outcome of patients with liver resection for BCLC 0-A stage hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2017, 68(1): 100-108. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.09.017.

(收稿日期:2024-08-26)

作者·编者·读者

撰写医学论文主体部分的要求

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

2 资(材)料与方法 实验研究论文常写成“材料与方法”,临床研究论文常写成“资料与方法”。

2.1 研究对象:研究对象为人,需注明时间、地点、分组方法、一般情况、选择标准与排除标准等,并说明经所在单位伦理委员会批准,研究对象知情同意。研究对象为实验动物,需注明动物的名称、种系、雌雄、年龄、饲养条件、健康状况及合格证号等。

2.2 药品、试剂及仪器、设备: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。

2.3 观察指标与方法:选用相应观察指标,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,以引用参考文献的方式给出即可。

3 统计学方法 说明所使用的统计学软件及版本,明确资料的表达及统计学方法的选择。用 $\bar{x} \pm s$ 表达服从或近似服从正态分布的计量资料,可采用 t 检验、方差分析;用 $M(Q_1, Q_3)$ 表达呈偏态分布的计量资料或生存时间资料,可采用秩和检验,若考虑协变量的影响,可采用协方差分析;用频数或构成比(%)表达计数资料或等级资料,可采用卡方检验或秩和检验。

4 结果 是指与设计的观察指标相对应的实(试)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。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,并给出具体的统计检验值,如: $t=2.85, P<0.01$ 。

5 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,不必重述结果部分具体数据或资料。着重讨论研究结果的创新之处及从中得出的结论,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。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,同时列出相关参考文献。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.002

消化系统肿瘤防治专题

自身免疫性胃炎合并幽门螺杆菌感染与胃癌发生关系的研究

孔文洁, 贺欢, 刘卫东, 惠文佳, 于琳, 胡新会, 张梦霞, 高峰

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2022D01C834, 2024D01C76)

作者单位: 830000 乌鲁木齐, 新疆维吾尔自治区人民医院消化内科

通信作者: 高峰, E-mail: xjgf@sina.com



【摘要】 目的 探究自身免疫性胃炎(AIG)、幽门螺杆菌(Hp)感染与胃癌之间的关系。方法 选择2012年1月—2019年1月新疆维吾尔自治区人民医院消化内科收治的AIG患者316例作为研究对象,根据是否合并幽门螺杆菌感染分为Hp组($n=91$)和非Hp组($n=225$);根据Hp感染状态进一步将Hp组患者分为既往感染亚组($n=73$)和活性感染亚组($n=18$);比较2组胃癌发生风险、胃癌发生率、胃癌筛查指标及胃癌发病部位差异,并进一步比较2亚组胃癌发生率。结果 与非Hp组比较,Hp组患者在抗壁细胞抗体(PCA)阳性比例和抗内因子抗体(IFA)阳性比例方面差异无统计学意义($\chi^2/P=0.191/0.662, 0.277/0.599$);Hp组患者胃蛋白酶原(PG) I水平及PG I/PG II降低($t/P=2.133/0.034, 2.001/0.046$),胃泌素17(G-17)升高($t/P=2.045/0.042$)。与既往感染亚组比较,活性感染亚组患者 ^{14}C 呼气试验结果显著升高($t/P=34.990/ <0.001$);既往感染亚组患者Hp感染时距入组间隔时间平均为(2.12 ± 0.94)年。与非Hp组比较,Hp组OLGA和OLGIM分期III~IV期比例升高($\chi^2/P=8.314/0.004, 5.242/0.022$),胃癌发生风险较高(12.09% vs. 5.33%, $\chi^2/P=4.380/0.036$);Hp组胃体及贲门癌发生率显著下降,胃窦癌发生率升高(58.33% vs. 100%, 36.36% vs. 0%, $P=0.037$);与既往感染亚组比较,活性感染亚组患者胃癌发生率更高(27.78% vs. 8.22%, $\chi^2/P=5.198/0.023$)。结论 AIG患者合并Hp感染尤其是活性感染时的胃癌发生风险显著高于单纯AIG患者。

【关键词】 自身免疫性胃炎;幽门螺杆菌;胃癌;相关性**【中图分类号】** R735.2;R573.3**【文献标识码】** A

The relationship between autoimmune gastritis complicated with Helicobacter pylori infection and gastric cancer

Kong Wenjie, He Huan, Liu Weidong, Hui Wenjia, Yu Lin, Hu Xinhui, Zhang Mengxia, Gao Feng. Department of Gastroenterology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Xinjiang Province, Urumqi 830000, China

Funding program: Natural Science Foundation in Xinjiang Uygur Autonomous Region(2022D01C834, 2024D01C76)

Corresponding author: Gao Feng, E-mail: xjgf@sina.com

【Abstract】 Objective Investigating the relationship between autoimmune gastritis, Helicobacter pylori infection and gastric cancer through a retrospective cohort study. **Methods** Patients with autoimmune gastritis in our hospital were enrolled and divided into non-Hp group ($n=225$) and an Hp group ($n=91$) according to the status of Helicobacter pylori infection. The baseline characteristics, OLGA and OLGIM stages, screening indicators of gastric cancer, incidence and location of gastric cancer were statistically analyzed between the two groups. The incidence of gastric cancer was further compared between the two subgroups. **Results** Compared with non-Hp group, there were no statistically significant differences in PCA and IFA positive proportion in Hp group ($\chi^2/P=0.191/0.662, 0.277/0.599$); The level of PG I and PG I/PG II in Hp group decreased ($t/P=2.133/0.034, 2.001/0.046$), and G-17 increased ($t/P=2.045/0.042$); Compared with past infection subgroups, active infection subgroup of patients with a significant rise in ^{14}C breath test results ($t/P=34.99/ <0.05$); The average time from infection to enrolled group in past infection subgroups was (2.12 ± 0.94) years; Compared with the non-Hp group, the performance of OLGA and OLGIM staging in Hp group were worse (41.76% vs. 25.33%, 19.78% vs. 10.22%, $\chi^2/P=8.314/0.004, 5.242/0.022$), and the gastric cancer risk is higher (12.09% vs. 5.33%, $\chi^2/P=4.380/0.036$); The incidence of gastric body and cardia cancer in Hp group was significantly lower, and the incidence of gastric antrum cancer was significantly higher (58.33% vs. 100%, 36.36% vs. 0%, $P=0.037$). Compared with the previous infection subgroup, the incidence

of gastric cancer in the active infection subgroup was higher (27.78% vs.8.22%, $\chi^2/P=5.198/0.023$). **Conclusion** The risk of gastric cancer in AIG patients with Hp infection, especially active Hp infection, is significantly higher than that in AIG patients without HP infection.

【Key words】 Autoimmune gastritis; Helicobacter pylori; Gastric cancer; Correlation

自身免疫性胃炎 (autoimmune gastritis, AIG) 表现为胃壁细胞破坏、内因子丧失和胃黏膜萎缩,常伴有血清抗壁细胞和/或抗内因子抗体阳性^[1]。AIG 在一般人群中的患病率为 0.1% ~ 2.0%, 在女性和 60 岁以上人群中可达 2% ~ 3%^[2]。值得注意的是, AIG 的慢性炎症反应增加了胃部肿瘤风险, 并被认为是一种癌前病变^[3]。研究发现 AIG 患者胃癌发病率为 0.14% ~ 0.27%, 与一般人群比较的相对风险值可达 6.80 ~ 11.05^[1]。但是, 既往研究未对 AIG 患者发生胃癌过程中幽门螺杆菌 (helicobacter pylori, Hp) 的作用进行分析, 因此无法更好地认识 AIG 患者的胃癌风险。研究发现, Hp 感染可引发胃黏膜的自身免疫反应, 约 65% 的 Hp 感染者可检测到胃黏膜的抗体, 且表现出胃体萎缩加重、胃酸生成减少和 AIG 诊断标志物上调。Hp 感染还与多种自身免疫性疾病有关^[4-5]。此外, Hp 也是公认的胃癌发生独立危险因素。因此, AIG、Hp 和胃癌之间存在着密切的联系, 尽管以往认为 AIG 并不常见, 但随着幽门螺杆菌治疗的普及, AIG 在慢性胃炎中的占比逐渐升高, 应引起研究人员的重视。本研究拟探究 Hp 在 AIG 患者胃癌风险中的作用, 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方法, 选取 2012 年 1 月—2019 年 1 月新疆维吾尔自治区人民医院消化内科明确诊断为 AIG 的患者 316 例。将有 Hp 感染的 AIG 患者纳入 Hp 组 ($n=91$), 将无 Hp 感染的 AIG 患者纳入非 Hp 组 ($n=225$); 并根据 Hp 感染状态将 Hp 组 AIG 患者分为既往感染亚组 ($n=73$) 和活动性感染亚组 ($n=18$)。非 Hp 组与 Hp 组、既往感染亚组与活动性感染亚组临床资料比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性, 见表 1、2。研究已经获得医院伦理委员会批准 (K20190315086), 患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合《中国慢性胃炎诊治指南 (2022 年, 上海)》中 AIG 诊断标准^[6]; ②年龄 18 ~ 80 岁; ③定期在医院进行随访, 临床资料完整。(2) 排除标准: ①已行胃大部切除术史者; ②合并心、肝、肾等重要脏器功能衰竭者。

表 1 非 Hp 组与 Hp 组 AIG 患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between non Hp and Hp groups of AIG patients

项 目	非 Hp 组 ($n=225$)	Hp 组 ($n=91$)	χ^2/t 值	P 值	
性别 [例 (%)]	男	77 (34.22)	35 (38.46)	0.509	0.476
	女	148 (65.78)	56 (61.54)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	59.60 \pm 11.53	57.75 \pm 10.93	1.304	0.193	
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	22.09 \pm 2.27	21.64 \pm 2.41	1.539	0.125	
病程 ($\bar{x} \pm s$, 年)	5.44 \pm 2.40	5.51 \pm 2.04	0.245	0.807	
吸烟史 [例 (%)]	58 (25.78)	27 (29.67)	0.499	0.479	
贫血 [例 (%)]	91 (40.44)	38 (41.76)	0.046	0.830	
VB ₁₂ ($\bar{x} \pm s$, ng/L)	195.79 \pm 75.60	189.77 \pm 70.58	0.653	0.514	

表 2 既往感染亚组与活动性感染亚组 AIG 患者临床资料比较

Tab. 2 Comparison of clinical data between previous infection subgroup and active infection subgroup of AIG patients

项 目	既往感染亚组 ($n=73$)	活动性感染亚组 ($n=18$)	χ^2/t 值	P 值	
性别 [例 (%)]	男	35 (47.95)	8 (44.44)	0.071	0.790
	女	38 (52.05)	10 (55.56)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	58.14 \pm 11.24	56.12 \pm 9.55	0.685	0.495	
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	21.64 \pm 2.48	21.66 \pm 2.16	0.027	0.978	
病程 ($\bar{x} \pm s$, 年)	5.58 \pm 2.03	5.17 \pm 2.10	0.735	0.464	
吸烟史 [例 (%)]	29 (39.73)	9 (50.00)	0.627	0.429	
贫血 [例 (%)]	30 (41.09)	8 (44.44)	0.067	0.796	
VB ₁₂ ($\bar{x} \pm s$, ng/L)	207.40 \pm 63.73	189.41 \pm 56.64	1.478	0.143	

1.3 观测指标与方法

1.3.1 胃壁细胞抗体检测: 入组患者初次确诊 AIG 时, 在门诊或入院时采集晨起空腹外周静脉血 10 ml, 离心获得血清后以 ELISA 法检测血清中抗壁细胞抗体 (PCA) 和抗内因子抗体 (IFA) 水平, 试剂盒购自德国欧蒙 (杭州) 公司。

1.3.2 胃黏膜分泌物检测: 采集患者晨起空腹外周静脉血 10 ml, 以自动生化分析仪及标准试剂 (BS-1000M, 迈瑞医疗公司) 检测胃蛋白酶原 I (PG I)、胃蛋白酶原 I/胃蛋白酶原 II (PG I/PG II)、胃泌素-17 (G-17) 和维生素 B₁₂ (VB₁₂) 水平。

1.3.3 Hp 感染检测: 所有患者入组时, 以尿素酶试验进行 Hp 感染检测。检测前 4 周患者未服用抗生素和铋剂等相关 Hp 敏感药物。检测时, 空腹状态下服用

尿素¹⁴C 胶囊 20 min 后收集气体检测。当¹⁴C 呼气试验 >100 dpm 时为阳性,可诊断患者活动性 Hp 感染。根据患者最后一次尿素酶试验结果对活动性 Hp 感染进行判定,既往有 Hp 感染但活动性 Hp 阴性患者判定为既往 Hp 感染。

1.3.4 OLGA 和 OLGIM 分期:患者入组时根据胃镜及镜下活检明确慢性胃炎分期。OLGA 分期:胃窦及胃体黏膜无萎缩计 0 分,轻度萎缩计 1 分,中度萎缩计 2 分,重度萎缩计 3 分,当胃窦萎缩 3 分伴胃体萎缩 1 分或胃窦胃体萎缩合计 4 分时,OLGA 分期为Ⅲ期,当胃窦胃体萎缩合计大于 4 分时,OLGA 分期为Ⅳ期。其中 OLGA 分期Ⅲ~Ⅳ期为胃癌高风险人群。OLGIM 分期:胃窦及胃体无肠化计 0 分,轻度肠化计 1 分,中度肠化计 2 分,重度肠化计 3 分,其中 OLGIM 分期Ⅲ~Ⅳ期为胃癌高风险人群。

1.3.5 胃癌发生率:入组患者在确诊 AIG 后进行定期随访,并对胃癌的发生情况进行记录。胃癌诊断标准参照《中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版)》^[7],综合临床表现和辅助检查进行诊断,辅助检查包括血清学检查(胃功能、G-17、肿瘤标志物)、X 线检查(上消化道造影)、CT、MR、超声、内窥镜检查(胃镜及镜下活检)、PET-CT 或腹腔镜检查等。

1.4 统计学方法 采用 GraphpadPrism 8.0 软件统计处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非 Hp 组和 Hp 组胃壁细胞抗体比较 与非 Hp 组比较,Hp 组患者 PCA 阳性比例和 IFA 阳性比例,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 非 Hp 组与 Hp 组 AIG 患者胃壁细胞抗体比较 [例(%)]

Tab.3 Comparison of gastric wall cell antibodies between non Hp group and Hp group AIG patients

组别	例数	PCA 阳性	IFA 阳性
非 Hp 组	225	145(64.44)	99(44.00)
Hp 组	91	61(67.03)	43(47.25)
χ^2 值		0.191	0.277
<i>P</i> 值		0.662	0.599

2.2 2 组胃黏膜分泌物比较 与非 Hp 组比较,Hp 组患者 PG I 水平及 PG I/PG II 降低,G-17 水平升高($P < 0.05$),见表 4。

表 4 非 Hp 组和 Hp 组 AIG 患者胃黏膜分泌物比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Comparison of gastric mucosal secretions between non Hp and Hp groups of AIG patients

组别	例数	PG I (g/L)	PG I/PG II	G-17 (pmol/L)
非 Hp 组	225	11.15 ± 4.09	1.07 ± 0.38	67.37 ± 12.63
Hp 组	91	10.10 ± 3.60	0.98 ± 0.27	70.69 ± 14.16
χ^2/t 值		2.133	2.001	2.045
<i>P</i> 值		0.034	0.046	0.042

2.3 Hp 感染率比较 患者最后一次¹⁴C 呼气试验结果显示,既往感染亚组患者 73 例,¹⁴C 呼气试验结果为(32.11 ± 13.03) dpm;活动性感染亚组患者 18 例,结果为(594.33 ± 136.61) dpm,2 亚组比较差异有统计学意义($t = 34.990, P < 0.001$)。其中,既往感染亚组患者 Hp 感染时距入组间隔时间平均为(2.12 ± 0.94)年。

2.4 2 组 OLGA、OLGIM 分期及胃癌发生率比较 Hp 组患者慢性胃炎 OLGA、OLGIM 分期Ⅲ~Ⅳ期比例均高于非 Hp 组($P < 0.05$);此外,随访中 Hp 组患者胃癌发生率高于非 Hp 组($P < 0.05$),见表 5。

表 5 非 Hp 组和 Hp 组患者分期及胃癌发生率比较 [例(%)]

Tab.5 Comparison of cancer risk between non Hp and Hp groups

组别	例数	OLGA Ⅲ~Ⅳ期	OLGIM Ⅲ~Ⅳ期	胃癌
非 Hp 组	225	57(25.33)	23(10.22)	12(5.33)
Hp 组	91	38(41.76)	18(19.78)	11(12.09)
χ^2 值		8.314	5.242	4.380
<i>P</i> 值		0.004	0.022	0.036

2.5 2 组胃癌发病部位比较 非 Hp 组患者胃体及贲门癌 12 例、胃窦癌 0 例,胃癌发生率为 5.33% (12/225);Hp 组患者胃体及贲门癌 7 例、胃窦癌 4 例,胃癌发生率为 12.09% (11/91),高于非 Hp 组($\chi^2 = 4.380, P = 0.036$)。胃癌发病部位有显著差异,其中 Hp 组胃体及贲门癌发生率显著下降,胃窦癌发生率升高(Fisher 确切概率 $P = 0.037$)。

2.6 不同时段 Hp 感染与胃癌的关系 将 Hp 感染患者进行分层分析发现,活动性 Hp 感染与胃癌发生密切相关,发生率显著高于既往感染亚组($P < 0.05$),见表 6。

3 讨论

许多自身免疫性疾病已被报道与胃癌发生风险有关,包括 AIG、恶性贫血和自身免疫性甲状腺炎等^[8-9]。日本一项回顾性研究表明,245 例 AIG 患者的胃癌发病率为 9.8%,略高于本研究的 7.28%,这可能与检测标准差异有关。日本病理医师诊断癌症更多根据细胞

表 6 Hp 感染与胃癌发生的关系 [例(%)]

Tab. 6 The relationship between Hp infection and the occurrence of gastric cancer

组别	例数	无胃癌	胃癌
既往感染亚组	73	67(91.78)	6(8.22)
活动性感染亚组	18	13(72.22)	5(27.78)
χ^2 值		5.198	
P 值		0.023	

和组织结构异型性的程度,而不依据肿瘤的位置和浸润的深度,这可能也解释了为何日本早期胃癌发病和检出率较高,且治疗方案取得了良好结果^[10]。

AIG 伴或不伴恶性贫血都被认为是一种癌前病变^[11]。关于 SEER 数据库的 1 项病例对照研究表明, AIG 恶性贫血与胃腺癌的发病率有关, OR 值为 2.18 (95% CI 1.94 ~ 2.45)。其他研究也提出类似结论, AIG 患者每人年发生胃腺癌或神经内分泌肿瘤的发病率可达 1.4%^[12]。在 Park 等^[13]的研究中胃腺癌的粗发病率为 2.4%。但这一数据可能也是偏低的,当 AIG 及胃癌发生的诊断标准更加严格时,胃癌的发病率可能会更高,如本研究中 7.28% 的随访发病率所示。

本研究中, Hp 感染与 AIG 指标(PCA、IFA 和维生素 B₁₂)之间并无显著联系,但这并不代表 Hp 感染与 AIG 无关。事实上 AIG 与 Hp 感染之间存在密切联系,但具体关系仍存在争议^[14]。研究表明, Hp 感染可能是 AIG 的始动感染触发因素^[15]。Hp 感染可引起大量胃黏膜细胞 H⁺/K⁺ ATP 酶抗原暴露,引起自身免疫反应。此外,幽门螺杆菌脂多糖和胃黏膜中一些蛋白质结构相似,使得某些幽门螺杆菌抗原和壁细胞的 H⁺/K⁺ ATP 酶之间存在交叉反应机制,进而刺激 PCA 的产生。针对于此,有学者提出根除幽门螺杆菌可逆转早期 AIG 进程,并且根除后血清胃泌素和自身抗体水平显著降低^[16-17]。与之矛盾的是, Hp 也可能抑制了 AIG 的病情发展。Ihara 等^[16]也报道了 1 例根除 Hp 后 AIG 快速进展的病例。此外,幽门螺杆菌常侵袭胃窦部的特点也可能掩盖了 Hp 感染与 AIG 指标之间的关联, Hp 组胃癌患者中胃窦癌占比较高的结果也侧面提供了证明。

本研究还发现, AIG 合并 Hp 感染患者的 OLGA 和 OLGIM 分期、胃癌筛查指标(PG I、PG I/PG II 和 G-17)水平均为胃癌高风险因素,且最终随访胃癌发病率更高,这提示 AIG 与 Hp 感染之间可能存在协同关系。经进一步分析发现,既往 Hp 阳性的 AIG 患者胃癌发病率较活动性 Hp 患者更低,表明根除 Hp 可

能改善了 AIG 进程,再次提示了 AIG 与 Hp 感染之间的协同关系。但是, AIG 合并 Hp 对胃癌的影响是通过多种途径实现的。除前述讨论中 Hp 可能通过与 AIG 的相互作用增加 AIG 患者的患癌风险外, Hp 感染也是公认的胃癌发生独立危险因素^[18-20]。笔者对胃癌发生部位分析后发现,单纯 AIG 患者均为胃体癌,与 AIG 合并 Hp 感染患者差异具有统计学意义。AIG 根据发病机制主要累及胃体部,而 Hp 感染可累及全胃尤其是胃窦部^[21]。因此,本研究结果表明在 AIG 合并 Hp 感染的患者中,幽门螺杆菌同样可直接影响胃癌的发生。但值得注意的是, Hp 感染胃炎患者发生胃癌时约一半都位于胃窦部,高于本研究 AIG 合并 Hp 感染者的胃窦癌发生率(36.36%)^[22-23]。因此该结果也从侧面提示 Hp 感染可通过与 AIG 的相互作用对胃癌发生产生影响。

但是,本研究的局限性在于缺乏 AIG 合并 Hp 感染对胃癌影响的具体机制分析,因此进一步的基础研究十分重要。此外,由于 Hp 阳性可能会掩盖部分患者 AIG 的检出,笔者在纳入患者时可能存在一定选择偏倚^[24],多中心大样本的研究是有必要的。

综上所述, AIG 患者合并 Hp 感染尤其是活动性感染时的胃癌发生风险显著高于单纯 AIG 患者。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

孔文洁、惠文佳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;贺欢、刘卫东、于琳、胡新会、张梦霞:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;高峰:进行统计学分析

参考文献

- [1] Chen C, Yang Y, Li P, et al. Incidence of gastric neoplasms arising from autoimmune metaplastic atrophic gastritis: A systematic review and case reports [J]. J Clin Med, 2023, 12 (3): 1062. DOI: 10.3390/jcm12031062.
- [2] Miceli E, Vanoli A, Lenti MV, et al. Natural history of autoimmune atrophic gastritis: A prospective, single centre, long-term experience [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2019, 50 (11-12): 1172-1180. DOI: 10.1111/apt.15540.
- [3] 尹朝, 齐明, 王倩. 自身免疫性胃炎研究进展[J]. 中华内科杂志, 2020, 59 (4): 322-325. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20190616-00416.
- [4] 靳蕊, 张文, 李景南. 自身免疫性胃炎的研究进展[J]. 中华消化杂志, 2021, 41 (Z1): 66-70. DOI: 10.3760/cma.j.cn11367-20210910-00493.
- [5] Hoft SG, Noto CN, DiPaolo RJ. Two distinct etiologies of gastric cancer: Infection and autoimmunity [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 752346. DOI: 10.3389/fcell.2021.752346.
- [6] 房静远, 杜奕奇, 刘文忠, 等. 中国慢性胃炎诊治指南(2022 年, 上海) [J]. 胃肠病学, 2022, 27 (4): 193-224. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2023.03.004.

- [7] 中华医学会肿瘤学分会,中华医学会杂志社. 中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版)[J]. 中华医学杂志,2022,102(16):1169-1189. DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20220127-00197.
- [8] Liu S,Deng Z,Zhu J, et al. Gastric immune homeostasis imbalance: An important factor in the development of gastric mucosal diseases [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 161: 114338. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114338.
- [9] Dijk-Brouwer D, Muskiet F, Verheesen RH, et al. Thyroidal and extrathyroidal requirements for iodine and selenium; A combined evolutionary and (Patho)physiological approach [J]. Nutrients, 2022, 14(19):3886. DOI:10.3390/nu14193886.
- [10] Murakami D, Yamato M, Amano Y, et al. Variation in the rate of detection of minute and small early gastric cancers at diagnostic endoscopy may reflect the performance of individual endoscopists [J]. BMJ Open Gastroenterol, 2023, 10(1): e001143. DOI: 10.1136/bmjgast-2023-001143.
- [11] Rustgi N, Shroff SG, Katona BW. Two types of gastric cancer caused by the same underlying condition [J]. Gastroenterology, 2018, 154(5):1246-1248. DOI:10.1053/j.gastro.2017.11.290.
- [12] Lahner E, Esposito G, Pillozzi E, et al. Occurrence of gastric cancer and carcinoids in atrophic gastritis during prospective long-term follow up [J]. Scand J Gastroenterol, 2015, 50(7):856-865. DOI: 10.3109/00365521.2015.1010570.
- [13] Park JY, Cornish TC, Lam-Himlin D, et al. Gastric lesions in patients with autoimmune metaplastic atrophic gastritis (AMAG) in a tertiary care setting [J]. Am J Surg Pathol, 2010, 34(11):1591-1598. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f623af.
- [14] Rustgi SD, Bijlani P, Shah SC. Autoimmune gastritis, with or without pernicious anemia; epidemiology, risk factors, and clinical management [J]. Therap Adv Gastroenterol, 2021, 14: 17562848211038771. DOI:10.1177/17562848211038771.
- [15] 马飞跃, 房静远. 自身免疫性胃炎的研究进展 [J]. 胃肠病学, 2023, 28(12): 752-756. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2023.12.008.
- [16] Ihara T, Ihara N, Kushima R, et al. Rapid progression of autoimmune gastritis after helicobacter pylori eradication therapy [J]. Intern Med, 2023, 62(11): 1603-1609. DOI: 10.2169/internalmedicine.0533-22.
- [17] Kotera T, Nishimi Y, Kushima R, et al. Regression of autoimmune gastritis after eradication of helicobacter pylori [J]. Case Rep Gastroenterol, 2023, 17(1): 34-40. DOI: 10.1159/000528388.
- [18] Usui Y, Taniyama Y, Endo M, et al. Helicobacter pylori, homologous-recombination genes, and gastric cancer [J]. N Engl J Med, 2023, 388(13): 1181-1190. DOI: 10.1056/NEJMoa2211807.
- [19] 陈宇, 李明, 谭诗云. 幽门螺杆菌感染与结直肠肿瘤相关性研究进展 [J]. 疑难病杂志, 2023, 22(11): 1214-1218. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.11.019.
- [20] 张嘉星, 邓水苗, 李玉民. 幽门螺杆菌及其诱导的细胞自噬对胃癌影响的分子机制 [J]. 临床误诊误治, 2021, 34(7): 112-116. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2021.07.023.
- [21] 王婷, 杨杰, 武胜. 幽门螺杆菌相关性胃炎中的细胞因子研究进展 [J]. 疑难病杂志, 2024, 23(2): 249-252. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.02.025.
- [22] Khan MR, Farooqi NB, Shahzad N. Is proximal gastric cancer a different entity from distal gastric cancer? Anatomical site distribution of signet ring cell carcinoma and its association with helicobacter pylori infection [J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2020, 32(2): 194-197.
- [23] Senchukova MA, Tomchuk O, Shurygina EI. Helicobacter pylori in gastric cancer: Features of infection and their correlations with long-term results of treatment [J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(37): 6290-6305. DOI: 10.3748/wjg.v27.i37.6290.
- [24] Kotera T, Yoshioka U, Takemoto T, et al. Evolving autoimmune gastritis initially hidden by active helicobacter pylori gastritis [J]. Case Rep Gastroenterol, 2022, 16(1): 103-109. DOI: 10.1159/000521523.

(收稿日期: 2024-05-17)

作者 · 编者 · 读者

“诊疗指南、专家共识解读”专栏征稿

近年来, 各类疾病的诊断治疗趋于规范化、标准化, 相应的诊疗指南、专家共识也层出不穷, 对该类临床诊疗指南及专家共识进行深度权威解读, 可为国内同行提供相关参考证据, 有助于临床医师更好地学习、理解并应用于临床实践, 有利于规范临床诊疗活动, 提高医疗服务水平。《疑难病杂志》近年组织策划了“中国专家共识”“指南解读”等栏目, 邀请相关专家组织了一系列专栏文章, 收到良好的效果, 文章获得较高的下载率和引用率。2024 年我刊继续面向广大专家学者进行征稿, 对最新修订的诊疗指南、专家共识进行解读, 其内容包括: 指南形成背景、指南重点内容解读、指南主要亮点等, 字数 4 000 ~ 6 000 字。稿件一经专家审定, 即可在《疑难病杂志》当期发表, 稿酬从优, 欢迎踊跃赐稿。

投稿邮箱: ynbzz@163.com

投稿系统: https://ynbz.cbpt.cnki.net

联系电话: (0311)85901735

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.003

消化系统肿瘤防治专题

原发性肝癌患者血清 CXCLs、MMPs 及外周血炎症反应指标与治疗短期预后的相关性

邱亮, 朱梓兆, 郭庆良, 赵晓飞, 丁兢



基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(7222096)

作者单位: 100069 北京, 首都医科大学附属北京佑安医院普外中心(邱亮、郭庆良、赵晓飞、丁兢); 110006 沈阳, 沈阳市第六人民医院普外一科(朱梓兆)

通信作者: 邱亮, E-mail: justin7720@163.com

【摘要】 目的 探究原发性肝癌患者血清 CXC 趋化因子配体(CXCLs)、基质金属蛋白酶(MMPs)及外周血炎症反应指标与治疗短期预后的相关性。方法 选取 2021 年 9 月—2023 年 9 月首都医科大学附属北京佑安医院普外中心收治的原发性肝癌患者 117 例为研究对象, 根据患者治疗后 3 个月预后情况分为短期预后不良组($n=27$)和短期预后良好组($n=90$)。检测患者血清 CXCLs(CXCL2、CXCL8、CXCL9、CXCL13)、MMPs(MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14)水平及外周血炎症反应指标[中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、淋巴细胞/单核细胞比值(LMR)、系统免疫炎症指数(SII)]; Spearman 相关性分析差异性指标与原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的相关性; 多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的影响因素。结果 短期预后不良组血清 CXCL8、CXCL9、CXCL13 水平均高于短期预后良好组($t/P=3.876/<0.001$ 、 $4.779/<0.001$ 、 $5.434/<0.001$); 短期预后不良组血清 MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14 水平均高于短期预后良好组($t/P=6.775/<0.001$ 、 $5.376/<0.001$ 、 $6.377/<0.001$ 、 $6.565/<0.001$); 短期预后不良组 SII 高于短期预后良好组($t/P=5.569/<0.001$); Spearman 相关性分析表明, 原发性肝癌患者肿瘤长径、多发肿瘤、合并肝硬化、CXCL8、CXCL9、CXCL13、MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14、SII 与治疗短期预后不良均呈正相关($r=0.286$ 、 0.209 、 0.200 、 0.415 、 0.417 、 0.420 、 0.459 、 0.383 、 0.493 、 0.442 、 0.440 , P 均 <0.05); 多因素 Logistic 回归分析结果显示, 血清 CXCL8、CXCL9、CXCL13、MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14 水平及 SII 升高是原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.021(1.009 ~ 1.063)、1.043(1.006 ~ 1.082)、1.087(1.011 ~ 1.170)、1.455(1.045 ~ 2.026)、1.096(1.001 ~ 1.201)、1.027(1.011 ~ 1.074)、1.128(1.083 ~ 1.295)、1.044(1.024 ~ 1.066)]。结论 血清 CXCLs、MMPs 水平及 SII 高的原发性肝癌患者治疗后短期预后往往较差, 密切监测血清 CXCLs、MMPs 水平及 SII 变化对于准确评估原发性肝癌患者预后具有一定临床意义。

【关键词】 原发性肝癌; 趋化因子; 基质金属蛋白酶; 炎症反应指标; 系统免疫炎症指数; 预后**【中图分类号】** R735.7 **【文献标识码】** A

Correlation between serum CXCLs, MMPs and inflammatory markers in peripheral blood of patients with primary liver cancer and short-term prognosis after treatment

Di Liang*, Zhu Zizhao, Guo Qingliang, Zhao Xiaofei, Ding Jing. * Beijing You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, General Surgery Center, Beijing 100069, China

Funding program: Beijing Natural Science Foundation Funded Project(7222096)

Corresponding author: Di Liang, E-mail: justin7720@163.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between serum C-X-C chemokine ligand (CXCLs), matrix metalloproteinase (MMPs), peripheral blood inflammation and short-term prognosis in patients with primary liver cancer. **Methods**

One hundred and seventeen patients diagnosed with primary liver cancer at our hospital between September 2021 and September 2023 were categorized into two cohorts based on their short-term prognosis: a cohort with optimistic short-term prognosis ($n=90$) and a cohort with unfavorable short-term prognosis ($n=27$) within 3 months post-treatment. Various parameters including general clinical characteristics, levels of CXCLs (CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL13), levels of MMPs (MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-14), and peripheral blood inflammatory markers [neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), lymphocyte/monocyte ratio (LMR), and systemic immune inflammation index (SII)] were measured and compared between these

two groups. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between differential indicators and poor short-term prognosis after treatment in patients with primary liver cancer; multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of poor short-term prognosis after treatment in patients with primary liver cancer. **Results**

The levels of serum CXCL8, CXCL9, and CXCL13 in the poor short-term prognosis group were higher than those in the good short-term prognosis group ($t/P=3.876/ <0.001$, $4.779/ <0.001$, $5.434/ <0.001$); the levels of serum MMP-2, MMP-7, MMP-9, and MMP-14 in the poor short-term prognosis group were higher than those in the good short-term prognosis group ($t/P=6.775/ <0.001$, $5.376/ <0.001$, $6.377/ <0.001$, $6.565/ <0.001$); the SII in the poor short-term prognosis group was higher than that in the good short-term prognosis group ($t/P=5.569/ <0.001$); Spearman correlation analysis showed that tumor diameter, multiple tumors, cirrhosis, CXCL8, CXCL9, CXCL13, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-14, and SII were positively correlated with poor short-term prognosis after treatment in patients with primary liver cancer ($r=0.286, 0.209, 0.200, 0.415, 0.417, 0.420, 0.459, 0.383, 0.493, 0.442, 0.440$, all $P < 0.05$); the results of multivariate Logistic regression analysis showed that high levels of serum CXCL8, CXCL9, CXCL13, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-14, and high SII were independent risk factors for poor short-term prognosis after treatment in patients with primary liver cancer [OR (95% CI) = 1.021 (1.009 - 1.063), 1.043 (1.006 - 1.082), 1.087 (1.011 - 1.170), 1.455 (1.045 - 2.026), 1.096 (1.001 - 1.201), 1.027 (1.011 - 1.074), 1.128 (1.083 - 1.295), 1.044 (1.024 - 1.066)]. **Conclusion** The short-term prognosis of patients with primary liver cancer with high levels of serum CXCLs, MMPs, and SII is often poor after treatment. Closely monitoring the changes in serum CXCLs, MMPs levels, and SII has certain clinical significance for accurately assessing the prognosis of patients with primary liver cancer.

【Key words】 Primary liver cancer; Chemokine; Matrix metalloproteinase; Peripheral blood inflammation index; Systemic immune inflammatory index; Prognosis

原发性肝癌的发病率及病死率始终处于较高水平^[1]。以甲胎蛋白为代表的传统血清学检测联合影像学检查是原发性肝癌鉴别诊断、病情评估的主要手段^[2-3]。然而,单独应用甲胎蛋白在辅助诊断、评估原发性肝癌病情方面存在敏感度较低的情况,可能导致患者漏诊^[4,5]。因此,寻找敏感度及特异度较高的新型血清学标志物对于早期辅助诊断、准确评估预后均具有重要临床意义。既往研究表明趋化因子参与肿瘤细胞的增殖、抗凋亡及肿瘤血管生成等过程^[6]。其中,以 C-X-C 基元趋化因子(CXCL13)为代表的多种趋化因子已被证实参与乳腺癌、胃癌等肿瘤转移过程,与患者预后具有密切相关性^[7-8]。此外,多种基质金属蛋白酶(MMPs)可通过影响肿瘤血管生成、调控肿瘤细胞侵袭等作用影响肿瘤患者手术预后^[9-11]。但关于 CXCLs、MMPs 及外周血炎性反应指标在不同预后的原发性肝癌患者中的差异尚缺乏系统性描述。基于此,本研究拟探索不同短期预后的原发性肝癌患者 CXCLs、MMPs 及外周血炎性反应指标的差异,筛选与患者短期不良预后相关的危险因素,为更准确地评估患者临床疗效及预后提供新的标志物,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 9 月—2023 年 9 月首都医科大学附属北京佑安医院普外中心收治的原发性肝癌患者 117 例为研究对象,患者入院后均接受肝动脉插管化疗栓塞术,术后进行电话随访或门诊随访,根据

患者治疗后 3 个月内是否出现肝内靶病灶复发或扩大 20% 以上及死亡分为短期预后不良组($n=27$)和短期预后良好组($n=90$)。短期预后不良组患者肿瘤长径、多发肿瘤比例、合并肝硬化比例大于短期预后良好组($P < 0.05$),见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(京佑科伦字[2021]175 号),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①所有患者均接受病理学诊断,病理类型为肝细胞肝癌;②确诊肝细胞癌前未接受手术、肝动脉化疗栓塞术或靶向治疗;③具有介入手术治疗指征,同意接受介入治疗^[12];④预期生存期超过 3 个月;⑤临床资料及实验室检验结果完整可取。(2) 排除标准:①既往接受过肝细胞癌手术治疗、化疗、放疗或免疫治疗;②确诊为继发性肝癌或肝癌复发患者;③入组时合并急性感染;④合并其他组织、器官恶性肿瘤;⑤合并自身免疫性疾病或凝血功能障碍;⑥不耐受肝癌介入治疗。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 CXCLs、MMPs 水平检测:于启动系统性治疗前采集患者外周静脉血 3 ml,在室温下离心留取上层血清,通过 PHX-60 化学发光免疫分析仪(北京普朗新技术有限公司)测定患者血清 CXCLs(CXCL2、CXCL8、CXCL9、CXCL13)、MMPs(MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14)水平。

1.3.2 外周血炎性反应指标检测:取上述血样,通过全自动血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有

限公司,型号:BC-20)检测患者淋巴细胞绝对计数、中性粒细胞绝对计数、单核细胞绝对计数。计算中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)、淋巴细胞/单核细胞比值(lymphocyte/monocyte ratio, LMR)、系统免疫炎症指数(systemic immune inflammation index, SII)。SII = 血小板绝对计数 × 中性粒细胞绝对计数/淋巴细胞绝对计数。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 27.0 软件进行数据分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较采用两独立样本 *t* 检验; Spearman 相关性分析差异性指标与原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的相关性;多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌患者治疗后短期

预后不良的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组血清 CXCLs 水平比较 短期预后不良组血清 CXCL8、CXCL9、CXCL13 水平均高于短期预后良好组($P < 0.01$);2组血清 CXCL2 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.2 2组血清 MMPs 水平比较 短期预后不良组血清 MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14 水平均高于短期预后良好组($P < 0.01$),见表 3。

2.3 2组外周血炎症反应指标比较 短期预后不良组 SII 高于短期预后良好组($P < 0.01$);2组 NLR、LMR 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 4。

表 1 短期预后良好组与短期预后不良组原发性肝癌患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between primary liver cancer patients with good short-term prognosis and those with poor short-term prognosis

项目		短期预后良好组(n=90)	短期预后不良组(n=27)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	67(74.44)	20(74.07)	0.001	0.969
	女	23(25.56)	7(25.93)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		66.34 ± 2.11	67.18 ± 2.09	0.482	0.634
体质量指数($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)		23.39 ± 1.11	23.41 ± 1.23	0.056	0.913
基础病[例(%)]	高血压	38(42.22)	13(48.15)	0.297	0.586
	糖尿病	27(30.00)	11(40.74)	1.093	0.296
	高脂血症	30(33.33)	11(40.74)	0.501	0.479
TNM 分期[例(%)]	I ~ II 期	42(46.67)	12(44.44)	0.041	0.839
	III ~ IV 期	48(53.33)	15(55.56)		
肿瘤长径($\bar{x} \pm s$,cm)		4.82 ± 0.23	5.57 ± 0.33	5.891	<0.001
多发肿瘤[例(%)]		41(45.56)	19(70.37)	5.119	0.024
肿瘤转移[例(%)]		41(45.56)	17(62.96)	2.518	0.113
合并肝硬化[例(%)]		42(46.67)	19(70.37)	4.676	0.031

表 2 短期预后良好组与短期预后不良组原发性肝癌患者血清 CXCLs 水平比较 ($\bar{x} \pm s$,ng/L)

Tab. 2 Comparison of serum CXCLs levels between the short-term good prognosis group and the short-term poor prognosis group in primary liver cancer patients

组别	例数	CXCL2	CXCL8	CXCL9	CXCL13
短期预后良好组	90	175.90 ± 16.37	263.61 ± 19.94	814.83 ± 52.37	209.63 ± 17.45
短期预后不良组	27	176.15 ± 13.33	286.68 ± 43.52	866.01 ± 33.89	240.51 ± 43.87
<i>t</i> 值		0.072	3.876	4.779	5.434
<i>P</i> 值		0.943	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 短期预后良好组与短期预后不良组原发性肝癌患者血清 MMPs 水平比较 ($\bar{x} \pm s$,μg/L)

Tab. 3 Comparison of serum MMPs levels between the short-term good prognosis group and the short-term poor prognosis group in primary liver cancer patients

组别	例数	MMP-2	MMP-7	MMP-9	MMP-14
短期预后良好组	90	47.66 ± 8.59	295.17 ± 20.52	319.08 ± 33.18	229.89 ± 17.95
短期预后不良组	27	62.83 ± 14.43	323.12 ± 32.27	365.40 ± 32.82	260.92 ± 30.83
<i>t</i> 值		6.775	5.376	6.377	6.565
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 短期预后良好组与短期预后不良组原发性肝癌患者外周血炎性反应指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of peripheral blood inflammatory response indicators between the short-term good prognosis group and the short-term poor prognosis group in primary liver cancer patients

组别	例数	NLR	LMR	SII
短期预后良好组	90	1.52 ± 0.15	6.48 ± 0.53	312.57 ± 29.52
短期预后不良组	27	1.50 ± 0.14	6.37 ± 0.51	349.11 ± 31.16
<i>t</i> 值		0.755	0.912	5.569
<i>P</i> 值		0.452	0.364	<0.001

2.4 差异性指标与原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的相关性 Spearman 相关性分析表明,原发性肝癌患者肿瘤长径、多发肿瘤、合并肝硬化、CXCL8、CXCL9、CXCL13、MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14、SII 与治疗后短期预后不良均呈正相关($r/P = 0.286/0.017, 0.209/0.024, 0.200/0.031, 0.415/ <0.001, 0.417/ <0.001, 0.420/ <0.001, 0.459/ <0.001, 0.383/ <0.001, 0.493/ <0.001, 0.442/ <0.001, 0.440/ <0.001$)。

2.5 多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的影响因素 以原发性肝癌患者治疗后短期预后情况为因变量(短期预后不良 = 1、短期预后良好 = 0),以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:血清 CXCL8、CXCL9、CXCL13、MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14 水平及 SII 升高是原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$),见表 5。

表 5 影响原发性肝癌患者治疗后短期预后不良的 Logistic 回归分析

Tab. 5 Logistic regression analysis of short-term poor prognosis in patients with primary liver cancer after treatment

项目	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
肿瘤长径大	0.135	0.101	2.013	0.131	1.234	0.991 ~ 1.932
多发肿瘤	0.231	0.151	1.578	0.265	1.099	0.893 ~ 1.789
合并肝硬化	0.182	0.156	1.455	0.276	1.111	0.891 ~ 1.567
CXCL8 高	0.050	0.020	4.257	0.038	1.021	1.009 ~ 1.063
CXCL9 高	0.042	0.019	5.131	0.024	1.043	1.006 ~ 1.082
CXCL13 高	0.084	0.037	5.019	0.025	1.087	1.011 ~ 1.170
MMP-2 高	0.375	0.169	4.928	0.026	1.455	1.045 ~ 2.026
MMP-7 高	0.092	0.046	3.957	0.047	1.096	1.001 ~ 1.201
MMP-9 高	0.096	0.023	4.889	0.026	1.027	1.011 ~ 1.074
MMP-14 高	0.120	0.030	3.932	0.047	1.128	1.083 ~ 1.295
SII 高	0.043	0.010	7.951	<0.001	1.044	1.024 ~ 1.066

3 讨论

原发性肝细胞癌患者病情进展隐匿但恶性程度往

往较高^[13]。早期肝细胞癌患者主要采取根治性手术治疗,而随着患者病情进展,介入治疗成为原发性肝癌患者的另一有效治疗方案^[14]。尽管相比于传统手术,介入手术具有创伤少、并发症发生率低等优势,但临床仍发现部分患者出现疾病进展或肿瘤复发,影响患者生存率及预后^[15]。因此,寻找能够预测原发性肝癌患者治疗后短期预后的指标对于及时调整干预方案、改善患者预后均具有重要临床意义。

随着对肿瘤微环境、炎性微环境的研究逐渐深入,趋化因子在肿瘤发生、发展中的作用及对患者预后的影响成为人们关注的要点^[16]。CXCL8 对中性粒细胞、T 细胞和单核细胞均具有趋化作用。同时, CXCL8 可能促进新血管生成,因此在鼻咽癌、肺癌等肿瘤相关血管生成中发挥促进作用^[17]。CXCL9 可通过趋化 T 淋巴细胞及自然杀伤细胞、扩张肿瘤血管等作用促进肿瘤细胞侵袭或转移,既往研究提示其参与肝癌的发生、发展过程,但具体机制尚不明晰^[18]。CXCL13 不仅与肿瘤的发生、发展及侵袭密切相关,也对恶性肿瘤患者预后具有一定指示作用,被认为是潜在的肿瘤标志物^[19]。本研究发现,短期预后不良的原发性肝癌患者 CXCL8、CXCL9 及 CXCL13 水平均显著高于短期预后良好患者,且 CXCL8、CXCL9 及 CXCL13 水平较高是原发性肝癌患者不良预后的危险因素。CXCL8、CXCL9 可能通过与 CXCR1、CXCR2 等特异性受体结合,增强肿瘤组织附近炎性反应趋化及新生血管形成,进一步加剧残余肝肿瘤细胞增殖。CXCL13 则可通过诱导肿瘤相关巨噬细胞分泌焦磷酸蛋白,进而引起细胞上皮间质转化并导致肿瘤进展。此外,既往研究发现肿瘤直径 > 5 cm 的原发性肝癌患者血清 CXCL13 水平显著较高,而肿瘤直径又与肝癌患者预后具有一定相关性,因此上述结论均间接提示 CXCL8、CXCL9、CXCL13 等高表达与患者预后可能密切相关^[20]。

既往研究发现,血清 MMP-2 和 MMP-7 水平与胃癌、肺癌、结直肠癌等恶性肿瘤的发生、发展密切相关^[21-22]。此外, MMP-9 可通过参与血管再生、炎性反应等多种病理反应过程促进恶性肿瘤浸润或转移^[23]。而 MMP-14 能够在细胞表面有效激活 MMP-2 等多种 MMPs 亚型,共同降解细胞外基质并为肿瘤转移提供有利环境^[24]。本研究发现,原发性肝癌患者 MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-14 水平较高均是患者短期预后不良的危险因素。MMP-2、MMP-7 能够降解基底膜胶原等多种胞外基质成分诱导基底膜损伤,该过程破坏了抑制肿瘤侵袭的内皮屏障,因此其表达水平与肿瘤复发、转移发生率呈正相关。既往研究发现,抑制 MMP-9

转录或蛋白水平具有一定抗肿瘤价值,提示检测原发性肝癌患者血清 MMP-9 水平变化可能有利于患者的预后判断^[25]。MMP-14 具有促血管内皮生长因子表达及诱导血管生成的作用,因此可能通过诱导残留肿瘤血管新生,增加患者术后复发风险,影响预后^[26]。

由于仅在单中心开展回顾性研究,本研究最终纳入的原发性肝癌患者病例数较少,可能对统计学分析结果造成一定偏倚,后期可通过扩大样本量提高研究结论的可信度和准确性。此外, CXCLs 及 MMPs 影响原发性肝癌患者预后的具体机制仍有待进一步验证。

综上所述,本研究发现 CXCLs、MMPs 及 SII 水平较高的原发性肝癌患者短期预后往往较差,密切监测患者血清 CXCLs、MMPs 水平特征变化对于准确评估患者预后具有一定临床意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

邱亮:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;朱梓兆、郭庆良:提出研究思路,实施研究过程,分析试验数据;赵晓飞、丁兢:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析

参考文献

- [1] 邓燕,段勇.原发性肝癌发病机制和药物治疗的研究进展[J].河北医学,2024,30(2):345-348. DOI:10.3969/j.issn.1006-6233.2024.02.034.
- [2] 王岩,吕呈,李鲁平,等.用于原发性肝癌诊断的新型肿瘤标记物研究现状[J].中国医学创新,2020,17(19):169-172. DOI:10.3969/j.issn.1674-4985.2020.19.043.
- [3] 周冬冬,刘晓利,姜婷婷,等.常见肝癌预后预测模型的分析与比较[J].中国肿瘤临床,2020,47(24):1281-1286. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2020.24.149.
- [4] 伍毅,浦润.甲胎蛋白阴性肝细胞癌诊疗及预后的研究进展[J].山东医药,2020,60(1):94-97. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2020.01.026.
- [5] 党宏斌.MSCT 增强扫描评估原发性肝癌术前 TNM 分期的效果[J].现代医用影像学,2023,32(7):1279-1281. DOI:10.3969/j.issn.1006-7035.2023.07.021.
- [6] 宗宇达,田玥,裴思莹,等.趋化因子/受体轴调控肝癌免疫细胞招募及转移的研究进展[J].中国老年学杂志,2023,43(4):1006-1009. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2023.04.059.
- [7] Zajkowska M, Mroczko B. Chemokines in primary liver cancer[J]. Int J Mol Sci,2022,23(16):8846. DOI:10.3390/ijms23168846.
- [8] Ahmad M, Dhasmana A, Harne PS, et al. Chemokine clouding and liver cancer heterogeneity: Does it impact clinical outcomes[J]. Semin Cancer Biol,2022,32(3):1175-1185. DOI:10.1016/j.semcancer.2022.02.015.
- [9] 何万鹏,姚豫桐,王显魁,等.影响原发性肝细胞癌患者血管内皮生长因子表达水平的研究进展[J].实用医院临床杂志,2016,13(5):214-217. DOI:10.3969/j.issn.1672-6170.2016.05.072.
- [10] 庄涛涛,邢雪.基质金属蛋白酶家族中明胶酶在原发性肝癌诊断与治疗中的研究进展[J].临床普外科电子杂志,2015,3(2):49-54.
- [11] Li C, Tian W, Zhao F, et al. Systemic immune-inflammation index,

SII, for prognosis of elderly patients with newly diagnosed tumors [J]. Oncotarget,2018,9(82):35293-35299. DOI:10.18632/oncotarget.24293.

- [12] 中华医学会超声医学分会,中国研究型医院学会肿瘤介入专业委员会.影像引导原发性肝癌消融指南(2023 版)[J].中华肝脏病杂志,2024,32(2):97-112. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20240108-00017.
- [13] 鲜林峰,方乐天,刘文斌,等.原发性肝癌流行现状、主要发病机制及防控策略[J].中国癌症防治杂志,2022,14(3):320-328. DOI:10.3969/j.issn.1674-5671.2022.03.13.
- [14] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政司.原发性肝癌诊疗指南(2024 年版)[J].协和医学杂志,2024,15(3):532-558. DOI:10.12290/hyxxz.2024-0304.
- [15] 王宗琰,顾方明.原发性肝癌术后复发的预防和治疗进展[J].肝胆胰外科杂志,2022,34(7):394-398. DOI:10.11952/j.issn.1007-1954.2022.07.003.
- [16] 邸亮,郭庆良,段斌炜,等.免疫检查点抑制剂联合仑伐替尼治疗 TACE 抵抗晚期原发性肝癌的效果及对血清 PDGF、VEGF 的影响[J].疑难病杂志,2023,22(1):54-59. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.01.010.
- [17] He Z, Li F, Zhang X, et al. Knockdown of EIF4G1 in NSCLC induces CXCL8 secretion[J]. Front Pharmacol,2024,15:1346383. DOI:10.3389/fphar.2024.1346383.
- [18] Reschke R, Gajewski TF. CXCL9 and CXCL10 bring the heat to tumors[J]. Sci Immunol,2022,7(73):eabq6509. DOI:10.1126/sciimmunol.abq6509.
- [19] Zhang X, Lu Y, Huang K, et al. The synergized diagnostic value of VTQ with chemokine CXCL13 in lung tumors [J]. Front Oncol, 2023,13:1115485. DOI:10.3389/fonc.2023.1115485.
- [20] Yang S, Wang H, Qin C, et al. Up-regulation of CXCL8 expression is associated with a poor prognosis and enhances tumor cell malignant behaviors in liver cancer [J]. Biosci Rep, 2020, 40(8): BSR20201169. DOI:10.1042/BSR20201169.
- [21] Zhang H, Ma Y, Wang H, et al. MMP-2 expression and correlation with pathology and MRI of glioma [J]. Oncol Lett,2019,17(2):1826-1832. DOI:10.3892/ol.2018.9806.
- [22] Yamada K, Kadota K, Fujimoto S, et al. MMP-7 expression is associated with a higher rate of tumor spread through air spaces in resected lung adenocarcinomas [J]. Lung Cancer,2023,175:125-130. DOI:10.1016/j.lungcan.2022.12.001.
- [23] Li Z, Wei J, Chen B, et al. The role of MMP-9 and MMP-9 inhibition in different types of thyroid carcinoma [J]. Molecules,2023,28(9):3705. DOI:10.3390/molecules28093705.
- [24] Vos MC, Van Der Wurff AAM, Van Kuppevelt TH, et al. The role of MMP-14 in ovarian cancer: A systematic review [J]. J Ovarian Res, 2021,14(1):101. DOI:10.1186/s13048-021-00852-7.
- [25] Li JZ, Li J, Liu BZ. MicroRNA-328-3p inhibits malignant progression of hepatocellular carcinoma by regulating MMP-9 level [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(21):9331-9340. DOI:10.26355/eur-rev_201911_19426.
- [26] Duan F, Peng Z, Yin J, et al. Expression of MMP-14 and prognosis in digestive system carcinoma: A meta-analysis and databases validation [J]. J Cancer,2020,11(5):1141-1150. DOI:10.7150/jca.36469.

(收稿日期:2024-07-22)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.004

消化系统肿瘤防治专题

胰腺癌外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达与临床病理特征及预后的相关性

周林, 鲁号锋, 东富强, 张铁泉



基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2020HBA586)

作者单位: 434000 湖北荆州, 荆州市第一人民医院肝胆胰外科

通信作者: 张铁泉, E-mail: 18163131795@163.com

【摘要】 目的 研究胰腺癌(PAC)外周血 miR-122-5p、NOC2 类核仁相关转录阻遏物(NOC2L)表达与临床病理特征及预后的相关性。方法 选择 2020 年 1 月—2023 年 1 月荆州市第一人民医院肝胆胰外科诊治的胰腺癌患者(PAC 组, 97 例)及胰腺良性疾病患者(对照组, 53 例)为研究对象, 采用实时荧光定量聚合酶链反应检测外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达; 比较不同临床病理特征中 miR-122-5p、NOC2L 表达差异; Spearman 秩相关分析 miR-122-5p、NOC2L 与临床病理特征的相关性; 采用 ROC 曲线及 DeLong 法比较 miR-122-5p、NOC2L 在胰腺癌预后不良预测中的敏感度及特异度; 多因素 Cox 回归分析胰腺癌预后不良的危险因素。Kaplan-Meier 生存模型分析并 Log Rank 比较不同外周血 miR-122-5p 和 NOC2L 表达中生存期的差异。结果 PAC 组患者外周血 miR-122-5p 表达低于对照组, NOC2L 表达高于对照组($t/P = 28.061 / <0.001, 29.701 / <0.001$)。组织学分级 3 级、原发肿瘤直径 ≥ 4 cm、淋巴结转移 N2、远处转移 M1 及 TNM 分期 III ~ IV 期患者外周血 miR-122-5p 表达低于组织学分级 1 ~ 2 级、原发肿瘤直径 < 4 cm、淋巴结转移 N0 ~ 1、远处转移 M0 及 TNM 分期 I ~ II 期患者($t/P = 5.935 / <0.001, 2.801 / 0.006, 3.284 / 0.001, 3.583 / <0.001, 6.567 / <0.001$), NOC2L 表达高于组织学分级 1 ~ 2 级、原发肿瘤直径 < 4 cm、淋巴结转移 N0 ~ 1、远处转移 M0 及 TNM 分期 I ~ II 期患者($t/P = 2.039 / 0.044, 3.318 / 0.001, 2.287 / 0.024, 2.417 / 0.018, 3.943 / <0.001$); 胰腺癌患者外周血 miR-122-5p 表达与组织学分级、原发肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期呈负相关($r_s/P = -0.713 / 0.016, -0.678 / 0.021, -0.764 / 0.009, -0.695 / 0.011, -0.732 / 0.004$), NOC2L 表达与组织学分级、原发肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期呈正相关($r_s/P = 0.657 / 0.039, 0.701 / 0.014, 0.726 / 0.019, 0.672 / 0.028, 0.717 / 0.015$); miR-122-5p、NOC2L 及二者联合预测胰腺癌预后不良的 AUC 分别为 0.735、0.719、0.863, 二者联合优于各自单独预测效能($Z/P = 9.412 / <0.05, 10.013 / <0.05$); miR-122-5p ≤ 0.69 、NOC2L ≥ 1.21 、组织学分级 3 级、原发肿瘤直径 ≤ 4 cm、淋巴结转移 N2、远处转移 M1、TNM 分期 III ~ IV 期为胰腺癌预后不良的独立危险因素[$HR(95\% CI) = 4.051(1.217 \sim 6.885), 4.063(1.159 \sim 6.968), 1.723(1.013 \sim 2.433), 1.831(1.022 \sim 2.641), 2.036(1.141 \sim 2.932), 2.300(1.097 \sim 3.503), 2.474(1.115 \sim 3.834)$]。miR-122-5p ≤ 0.69 且 NOC2L ≥ 1.21 胰腺癌患者中位生存期显著短于其他患者(miR-122-5p > 0.69 或 NOC2L < 1.21) (Log Rank = 12.573, $P < 0.001$)。结论 胰腺癌外周血 miR-122-5p 及 NOC2L 表达与临床病理特征及预后密切相关, 在预后及病情预测中具有一定临床价值, 两者联合检测时可提高在胰腺癌预后不良预测中的敏感度及特异度。

【关键词】 胰腺癌; 微小 RNA-122-5p; NOC2 类核仁相关转录阻遏物; 预后评估**【中图分类号】** R735.9**【文献标识码】** A

Correlation between peripheral blood miR-122-5p and NOC2L expressions and clinicopathological features and prognosis in pancreatic cancer Zhou Lin, Lu Haofeng, Dong Fuqiang, Zhang Tiequan. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Jingzhou First People's Hospital, Hubei Province, Jingzhou 434000, China

Funding program: Natural Science Foundation of Hubei Province (2020HBA586)

Corresponding author: Zhang Tiequan, E-mail: 18163131795@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between the expression of miR-122-5p and NOC2L in peripheral blood and clinicopathological characteristics and prognosis of pancreatic cancer. **Methods** Patients with pancreatic cancer (PAC group, 97 cases) and patients with benign pancreatic diseases (control group, 53 cases) from January 2020 to

January 2023 were selected as the research subjects. The expression of miR-122-5p and NOC2L in peripheral blood was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. The differences in the expression of miR-122-5p and NOC2L in different clinicopathological characteristics were compared. The correlation between miR-122-5p and NOC2L and clinicopathological characteristics was analyzed by Spearman rank correlation. The sensitivity and specificity of miR-122-5p and NOC2L in predicting poor prognosis of pancreatic cancer were compared by ROC curve and DeLong method. Multivariate Cox regression was used to analyze the risk factors for poor prognosis of pancreatic cancer. Kaplan-Meier survival model analysis and Log Rank comparison were used to compare the differences in survival among patients with different peripheral blood miR-122-5p and NOC2L expressions. **Results** The expression of peripheral blood miR-122-5p in the PAC group was lower than that in the control group, while the expression of NOC2L was higher than that in the control group ($t/P = 28.061 / < 0.001, 29.701 / < 0.001$). The expression of miR-122-5p in peripheral blood of patients with histological grade 3, primary tumor size ≥ 4 cm, number of metastatic lymph nodes N2, distant metastasis M1 and TNM stage III-IV was lower than that of patients with histological grade 1-2, primary tumor size < 4 cm, number of metastatic lymph nodes N0-1, distant metastasis M0 and TNM stage I-II ($t/P = 5.935 / < 0.001, 2.801 / 0.006, 3.284 / 0.001, 3.583 / < 0.001, 6.567 / < 0.001$), while the expression of NOC2L was higher ($t/P = 2.039 / 0.044, 3.318 / 0.001, 2.287 / 0.024, 2.417 / 0.018, 3.943 / < 0.001$). The peripheral blood miR-122-5p expression in pancreatic cancer patients was negatively correlated with histological grade, primary tumor size, number of metastatic lymph nodes, distant metastasis and TNM stage ($r_s/P = -0.713 / 0.016, -0.678 / 0.021, -0.764 / 0.009, -0.695 / 0.011, -0.732 / 0.004$), NOC2L expression was positively correlated with histological grade, primary tumor size, number of metastatic lymph nodes, distant metastasis and TNM stage ($r_s/P = 0.657 / 0.039, 0.701 / 0.014, 0.726 / 0.019, 0.672 / 0.028, 0.717 / 0.015$). miR-122-5p, NOC2L and their combination had an AUC of 0.735, 0.719 and 0.863 for predicting poor prognosis of pancreatic cancer, respectively. The combination of the two was superior to their individual predictive efficacy ($Z/P = 9.412 / < 0.05, 10.013 / < 0.05$). miR-122-5p ≤ 0.69 , NOC2L ≥ 1.21 , histological grade 3, primary tumor size ≤ 4 cm, number of metastatic lymph nodes N2, distant metastasis M1, and TNM stage III-IV were independent risk factors for poor prognosis of pancreatic cancer [$HR(95\% CI) = 4.051 (1.217 - 6.885), 4.063 (1.159 - 6.968), 1.723 (1.013 - 2.433), 1.831 (1.022 - 2.641), 2.036 (1.141 - 2.932), 2.300 (1.097 - 3.503), 2.474 (1.115 - 3.834)$]. The median survival of pancreatic cancer patients with miR-122-5p ≤ 0.69 and NOC2L ≥ 1.21 was (10.39 \pm 2.45) months, which was significantly lower than that of other patients (miR-122-5p > 0.69 or NOC2L < 1.21) (15.61 \pm 3.08) months (Log Rank = 12.573, $P < 0.001$). **Conclusion** The expression of miR-122-5p and NOC2L in peripheral blood of pancreatic cancer is closely related to clinical pathological characteristics and prognosis, and has certain clinical value in prognosis and disease prognosis. The combined detection of the two can improve the sensitivity and specificity in predicting poor prognosis of pancreatic cancer.

【Key words】 Pancreatic cancer; Micro RNA-122-5p; NOC2L; Prognosis evaluation

胰腺癌 (pancreatic cancer, PAC) 被称为“癌症之王”且尚无有效的根治手段, 导致其病死率极高, 改善胰腺癌诊疗现状为临床上亟待解决的重大问题^[1]。胰腺癌发病机制主要与各种诱因导致的基因表达异常有关, 且与胰腺癌临床病理特征及生存期密切相关, 可为胰腺癌临床诊疗策略制定、分子靶向治疗提供基因水平的高敏感证据^[2]。miR-122-5p 为具有抑癌基因功能 miRNA, 对肿瘤细胞恶性生物学行为、微环境及免疫逃避具有调控作用, 在消化系统肿瘤中表达显著下调, 为预后不良的危险因素^[3]。NOC2 类核仁相关转录阻遏物 (NOC2L) 为新近发现的促癌基因, 可与抑癌基因 p53 结合后抑制 p300/CBP 对组蛋白的乙酰化修饰, 最终抑制 p53 依赖的下游信号通路而参与肿瘤发病机制^[4]。目前 NOC2L 在恶性肿瘤发病机制中的作用及其临床价值研究极少, 研究发现 NOC2L 在肝癌

肿瘤组织中表达显著上调且对肝癌细胞恶性生物学行为具有促进作用^[5]。本研究旨在分析胰腺癌外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达与临床病理特征及预后的相关性, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2020 年 1 月—2023 年 1 月荆州市第一人民医院肝胆胰外科诊治的胰腺癌患者 97 例 (PAC 组) 为研究对象, 另以同期胰腺良性疾病 (胰腺炎 31 例、胰腺假性囊肿 22 例) 患者 53 例为对照组。2 组患者临床资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性, 见表 1。本研究经荆州市第一人民医院医学伦理委员会审批通过 (JJYY-047), 患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 PAC 组病例入选标准 纳入标准: (1) 超声胃镜活检和/或术后病理检查确诊, 符合《中国胰腺癌综合

诊治指南(2020 版)》中胰腺癌诊断标准^[6]; (2) 既往无胰腺癌病史且未行相关治疗(包括不限于手术、放疗、化疗、免疫及靶向治疗等); (3) 有明确的 TNM 分期(影像学 cTNM 或病理学 pTNM, 存在 pTNM 分期时以 pTNM 分期为准)。排除标准: (1) 合并其他良恶性肿瘤、胰腺转移瘤等; (2) 临床病理资料缺失; (3) 不配合本研究随访, 随访时脱访。

表 1 对照组及 PAC 组患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between control group and PAC group patients

项目	对照组 (n=53)	研究组 (n=97)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]				
男	30(56.60)	60(61.86)	0.394	0.530
女	23(43.40)	37(38.14)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	53.95 ± 6.77	54.38 ± 6.83	0.371	0.712
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	22.56 ± 3.55	22.85 ± 3.42	0.490	0.625
ECOG 评分($\bar{x} \pm s$, 分)	1.51 ± 0.61	1.49 ± 0.57	0.200	0.841
糖尿病史[例(%)]	9(16.98)	13(13.40)	0.351	0.554
家族史[例(%)]	7(13.21)	8(8.25)	0.937	0.333

1.3 观测指标与方法

1.3.1 miR-122-5p 及 NOC2L 表达检测: 采取患者空腹肘静脉血(外周血)15 ml, 采用实时荧光定量聚合酶链反应检测 miR-122-5p 及 NOC2L 表达。RNA 提取试剂盒购自武汉科鹿公司(批号 2020017); 实时荧光定量 PCR 检测试剂购自武汉普健公司(批号 WHPJ-033); PCR 扩增仪器为美国 ABI 公司 HT7900。根据试剂盒操作说明提取患者总 RNA 后纯化并定量, 逆转录为 cDNA 后扩增, 实时荧光定量聚合酶链反应总体积 25 μ l, 扩增循环设置条件为: 94 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, 95 $^{\circ}$ C 下 45 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 62 $^{\circ}$ C 延伸扩增 45 s, 共计 31 个循环。miR-122-5p 正向引物序列 5'-TGGAGTGTGACAATGGTGT-3', 反向引物序列 5'-GAACATGTCTGCGTATCTC-3'; NOC2L 正向引物序列 5'-AAGCAACGCCTCACTCCAAA-3', 反向引物序列 5'-ACTGTCCGTGACCTGGAATTT-3'; U6 正向引物序列 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向引物序列 5'-AACGCTTACGAATTTGCGT-3'; β -actin 正向引物序列 5'-AGCCTCGCCTTTGCCG-3', 反向引物序列 5'-CTCGTCCGCCCACATAGGAAT-3'。以 β -actin 作为内参, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 miR-122-5p、NOC2L 相对表达量。

1.3.2 随访及预后分析: PAC 组每 2 个月复查, 随访终点为 2024 年 6 月, 随访内容包括胰腺增强 CT、生存期及预后状况, 以随访中出现胰腺癌复发、肿瘤相关死亡及严重并发症等为预后不良。

1.4 统计学方法 采用 GraphPad pro 10.0 及 Python 语言 SciPy 统计包对数据处理及统计分析。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验或单因素方差分析(两两比较采用 LSD- t 检验); 计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验; Spearman 秩相关分析 miR-122-5p、NOC2L 与临床病理特征的相关性; 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析检测指标在胰腺癌 1 年预后不良预测中的敏感度及特异度; 多因素 Cox 回归分析胰腺癌预后不良的危险因素; Kaplan-Meier 生存模型分析并 Log Rank 比较不同外周血 miR-122-5p 和 NOC2L 表达中生存期的差异。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达比较 与对照组比较, PAC 组患者外周血 miR-122-5p 表达显著降低, NOC2L 表达显著增高, 差异均有统计学意义(P < 0.01), 见表 2。

表 2 对照组与 PAC 组患者外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of miR-122-5p and NOC2L expression in peripheral blood between control group and PAC group patients

组别	例数	miR-122-5p	NOC2L
对照组	53	1.15 ± 0.12	0.54 ± 0.09
PAC 组	97	0.69 ± 0.08	1.21 ± 0.15
t 值		28.061	29.701
P 值		<0.001	<0.001

2.2 胰腺癌不同临床病理特征中外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达比较 PAC 组患者外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达在组织学分级 3 级、原发性肿瘤直径 \geq 4 cm、淋巴结转移 N2、远处转移 M1 及 TNM 分期 III ~ IV 期中低/高于组织学分级 1 ~ 2 级、原发性肿瘤直径 < 4 cm、淋巴结转移 N0 ~ 1、远处转移 M0 及 TNM 分期 I ~ II 期患者, 差异均有统计学意义(P < 0.01), 见表 3。

2.3 胰腺癌 miR-122-5p、NOC2L 表达与临床病理特征的相关性 胰腺癌外周血 miR-122-5p 表达与组织学分级、原发性肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期呈负相关(P < 0.05), NOC2L 表达与组织学分级、原发性肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期呈正相关(P < 0.05), 见表 4。

2.4 外周血 miR-122-5p、NOC2L 预测胰腺癌预后不良的价值 绘制外周血 miR-122-5p、NOC2L 预测胰腺癌预后不良的价值受试者工作特征曲线(ROC), 并计

表 3 PAC 组患者不同临床病理特征中外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of differences in miR-122-5p and NOC2L expression in peripheral blood of PAC group patients with different clinical pathological characteristics

项目	例数	miR-122-5p	t 值	P 值	NOC2L	t 值	P 值	
性别	男	60	0.68 ± 0.07	1.294	0.199	1.22 ± 0.16	0.961	0.339
	女	37	0.70 ± 0.08			1.19 ± 0.13		
年龄	≥55 岁	43	0.68 ± 0.09	1.087	0.281	1.20 ± 0.14	0.672	0.503
	<55 岁	54	0.70 ± 0.09			1.22 ± 0.15		
病灶位置	胰头	56	0.68 ± 0.10	0.894	0.374	1.23 ± 0.17	1.289	0.201
	胰体尾	41	0.70 ± 0.12			1.19 ± 0.12		
病理类型	腺癌	89	0.69 ± 0.07	0.000	1.000	1.21 ± 0.13	0.000	1.000
	其他	8	0.69 ± 0.10			1.21 ± 0.14		
组织学分级	1~2 级	62	0.72 ± 0.06	5.935	<0.001	1.19 ± 0.11	2.039	0.044
	3 级	35	0.64 ± 0.07			1.25 ± 0.18		
原发肿瘤直径	<4 cm	67	0.71 ± 0.11	2.801	0.006	1.18 ± 0.12	3.318	0.001
	≥4 cm	30	0.65 ± 0.06			1.28 ± 0.17		
淋巴结转移	N0~1	40	0.72 ± 0.09	3.284	0.001	1.17 ± 0.13	2.287	0.024
	N2	57	0.67 ± 0.06			1.24 ± 0.16		
远处转移	M0	83	0.73 ± 0.07	3.583	<0.001	1.17 ± 0.11	2.417	0.018
	M1	14	0.66 ± 0.05			1.25 ± 0.14		
TNM 分期	I~II 期	58	0.75 ± 0.12	6.567	<0.001	1.16 ± 0.12	3.943	<0.001
	III~IV 期	39	0.61 ± 0.07			1.28 ± 0.18		

算曲线下面积 (AUC), 结果显示: miR-122-5p、NOC2L 及二者联合预测胰腺癌预后不良的 AUC 分别为 0.735、0.719、0.863, 二者联合优于各自单独预测效能 (并用 DeLong 法对其差异进行比较) ($Z/P = 9.412 / < 0.01$ 、 $10.013 / < 0.01$), 见表 5、图 1。

表 4 胰腺癌外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达与临床病理特征的相关性

Tab. 4 Correlation between the expression of miR-122-5p, NOC2L in peripheral blood and clinicopathological characteristics of pancreatic cancer

临床病理特征	miR-122-5p		NOC2L	
	r_s	P 值	r_s	P 值
组织学分级	-0.713	0.016	0.657	0.039
原发肿瘤大小	-0.678	0.021	0.701	0.014
转移淋巴结数	-0.764	0.009	0.726	0.019
远处转移	-0.695	0.011	0.672	0.028
TNM 分期	-0.732	0.004	0.717	0.015

表 5 外周血 miR-122-5p、NOC2L 预测胰腺癌预后不良中的价值比较

Tab. 5 Comparison of the value of miR-122-5p and NOC2L in predicting poor prognosis of pancreatic cancer

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
miR-122-5p	0.63	0.735	0.543 ~ 0.927	0.724	0.685	0.409
NOC2L	1.27	0.719	0.517 ~ 0.921	0.711	0.701	0.412
二者联合		0.863	0.608 ~ 1.118	0.857	0.838	0.695

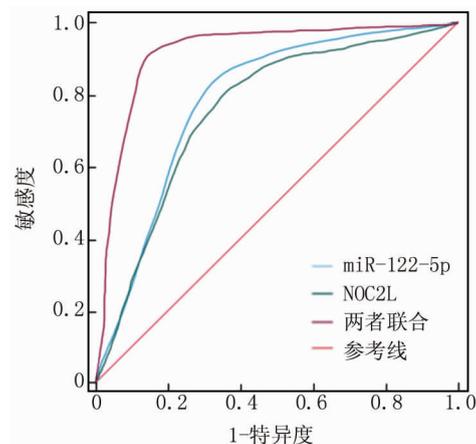


图 1 外周血 miR-122-5p、NOC2L 预测胰腺癌预后不良的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of miR-122-5p and NOC2L in peripheral blood predicting poor prognosis of pancreatic cancer

2.5 多因素 Cox 回归分析胰腺癌预后不良危险因素

以胰腺癌预后不良为因变量 (赋值: 是“1”; 否为“0”), 以 miR-122-5p、NOC2L、组织学分级、原发肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期为自变量进行多因素 Cox 回归分析, 结果显示: miR-122-5p ≤ 0.69、NOC2L ≥ 1.21、组织学分级 3 级、原发肿瘤直径 ≥ 4 cm、淋巴结转移 N2、远处转移 M1、TNM 分期 III~IV 期为胰腺癌预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$), 见表 6。

表 6 胰腺癌预后不良危险因素多因素 Cox 回归分析

Tab. 6 Cox regression analysis of risk factors for poor prognosis of pancreatic cancer

指标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
miR-122-5p \leq 0.69	1.399	0.151	16.497	0.000	4.051	1.217 ~ 6.885
NOC2L \geq 1.21	1.402	0.137	15.602	0.000	4.063	1.159 ~ 6.968
组织学分级 3 级	0.544	0.068	10.745	0.041	1.723	1.013 ~ 2.433
原发肿瘤直径 \geq 4 cm	0.605	0.071	11.129	0.035	1.831	1.022 ~ 2.641
淋巴结转移 N2	0.711	0.079	12.773	0.026	2.036	1.141 ~ 2.932
远处转移 M1	0.833	0.083	13.026	0.018	2.300	1.097 ~ 3.503
TNM 分期 III ~ IV 期	0.906	0.116	14.178	0.005	2.474	1.115 ~ 3.834

2.6 外周血 miR-122-5p、NOC2L 表达与胰腺癌生存期关系 胰腺癌患者 97 例随访结束时存活 12 例,死亡 85 例,其中 miR-122-5p \leq 0.69 且 NOC2L \geq 1.21 胰腺癌患者中位生存期(10.39 \pm 2.45)月显著低于其他患者(miR-122-5p > 0.69 或 NOC2L < 1.21)(15.61 \pm 3.08)月(Log Rank = 12.573, P < 0.001)。

3 讨论

胰腺癌的发病机制与基因表达异常密切相关,其中 miRNA 等基因翻译调控在胰腺癌中扮演重要角色,其分子机制包括调控肿瘤细胞侵袭转移、微血管生成及肿瘤局部微环境等^[7-8]。研究发现 miRNA 表达异常贯穿胰腺癌的始终,与其临床病理特征及生存期存在关联,可作为胰腺癌病情及预后评估的标志物,已经成为胰腺癌治疗的新靶点及手段^[9-10]。miR-122-5p 具有调控肿瘤细胞恶性生物学行为、免疫微环境等多种功能,与恶性肿瘤发病机制及预后相关,研究证实 miR-122-5p 在消化系统肿瘤中表达显著下调,为预后不良的危险因素^[11]。Ren 等^[12]发现 miR-122-5p 可通过调控 ASCT2 基因表达以抑制胰腺癌细胞增殖、谷氨酰胺代谢并诱导细胞凋亡。目前胰腺癌 miR-122-5p 与临床病理特征的相关性及其临床价值尚无研究,基于目前的研究进展及其功能推测 miR-122-5p 在胰腺癌中具有抑癌基因功能,为胰腺癌的保护因素。本研究中胰腺癌患者外周血 miR-122-5p 表达显著降低,与组织学分级、原发肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期呈负相关,进一步发现 miR-122-5p 表达下调为预后不良的危险因素,表明 miR-122-5p 与胰腺癌临床病理特征及预后密切相关,在胰腺癌病情及预后评估中具有一定临床价值。

TP53 在 E3 泛素连接酶作用后转运到细胞质中激活而发挥调控细胞周期功能,抑制细胞进入增殖期并促进细胞凋亡,为目前研究最深入及最常见的抑癌基因,TP53 信号通路在肿瘤免疫逃避、化疗药物耐药及肿瘤微环境改变中扮演关键角色^[13-14]。NOC2L 为具有组蛋白乙酰转移酶活性抑制的促癌基因,可阻断

TP53 与小鼠双微体基因的乙酰化,抑制 TP53 依赖的下游基因 p21 的激活表达。此外,研究发现 NOC2L 与 p63 均能发生结合,并且抑制 p63 对靶基因 p21 的转录激活,最终阻滞细胞周期并促进细胞凋亡^[5]。目前 NOC2L 基因在肿瘤中的表达及功能尚未明确,基于其对 TP53、p63 及成视网膜细胞瘤基因的调控作用推测其对肿瘤细胞恶性生物学行为具有促进功能。Chen 等^[15]发现敲低 NOC2L 表达后可通过介导 FOXO3 基因抑制乳腺癌细胞增殖,而提高 NOC2L 表达可促进乳腺癌细胞迁移及侵袭。本研究中,胰腺癌患者外周血 NOC2L 表达显著增高,与组织学分级、原发肿瘤直径、淋巴结转移、远处转移及 TNM 分期呈负相关,进一步发现 NOC2L 表达下调为预后不良的危险因素,表明 NOC2L 在胰腺癌中具有促癌基因功能,与胰腺癌发病机制、病情及预后相关,为胰腺癌潜在的治疗靶点。

胰腺癌预后生存期评估、临床诊疗策略制定、疗效评估及治疗方案调整主要方法为影像学分期(cTNM)及术后病理组织学 TNM 分期(pTNM),前者受限于影像仪器的分辨率及放射科医生影像解读的主观经验,后者依赖于术后病理组织标本而不适用于 IV 期等无法行手术取病理标本者,导致 TNM 分期在临床应用中受到多种因素影响而限制其广泛应用^[16-17]。随着胰腺癌相关新型基因的发现及其功能深入研究,基因检测因 PCR 技术指数级倍增效应在临床应用中的敏感度显著高于传统的 TNM 分期,但单个基因标志物的检测存在敏感度及特异度不可兼得等缺点,实际临床应用中采用多指标联合检测以提高临床应用的效能^[18-19]。本研究中,miR-122-5p 联合 NOC2L 检测在胰腺癌预后不良预测中的敏感度、特异度及 AUC 均高于 miR-122-5p、NOC2L,表明在临床应用中应将 miR-122-5p、NOC2L 有机结合以提高其临床价值。此外,目前胰腺癌近远期预后评估手段多为对术后病理组织标本的检测,存在普适性差、取材繁琐等缺点,尤其不适合于无法取得病理组织的 IV 期患者^[20-22],外周血具有取材快捷方便、不依赖于病理组织标本等优点,在胰腺癌整个

病程中均可检测,故外周血 miR-122-5p、NOC2L 检测较肿瘤组织检测更具有优势。

综上所述,胰腺癌外周血 miR-122-5p 及 NOC2L 表达与临床病理特征密切相关,在预后及病情预测中具有一定临床价值,两者联合检测时可提高在胰腺癌预后不良预测中的敏感度及特异度。值得注意的是,本研究为单中心研究且胰腺癌纳入病例较少,胰腺癌 miR-122-5p、NOC2L 表达与临床病理特征的相关性及其临床价值有待于进一步研究证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

周林:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;鲁号锋:统计学分析;东富强:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;张铁泉:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] 秦瑞峰,薛佳栋,霍浩然,等. miR-141-3p 和 miR-22-3p 在胰腺癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(3): 261-265. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 03. 010.
- [2] Teng T, Shi H, Fan Y, et al. Metabolic responses to the occurrence and chemotherapy of pancreatic cancer; Biomarker identification and prognosis prediction [J]. *Sci Rep*, 2024, 14 (1) : 6938. DOI: 10. 1038/s41598-024-56737-4.
- [3] 李品青,徐春阳,薛晨祺,等. 肝细胞癌组织中 lncRNA-SOX2OT、miR-122-5p 表达及与病理参数和预后的关系[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(12): 1277-1282. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 12. 010.
- [4] Lu S, Chen Z, Liu Z, et al. Unmasking the biological function and regulatory mechanism of NOC2L: a novel inhibitor of histone acetyltransferase [J]. *J Transl Med*, 2023, 21 (1) : 31. DOI: 10. 1186/s12967-023-03877-2.
- [5] 王玲. NOC2L 在肝细胞癌中的作用和分子机制研究[D]. 北京: 北京大学医学部, 2022.
- [6] 中国抗癌协会胰腺癌专业委员会. 中国胰腺癌综合诊治指南(2020 版) [J]. *中华外科杂志*, 2021, 59 (2) : 81-100. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112139-20201113-00794.
- [7] Ajsaonkar R, Lee B, Valimukhametova A, et al. Detection of pancreatic cancer mirna with biocompatible nitrogen-doped graphene quantum dots [J]. *Materials (Basel)*, 2022, 15 (16) : 5760. DOI: 10. 3390/ma15165760.
- [8] Nakamura K, Zhu Z, Roy S, et al. An exosome-based transcriptomic signature for noninvasive, early detection of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma: A multicenter cohort study [J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(5): 1252-1266. e2. DOI: 10. 1053/j. gastro. 2022. 06. 090.
- [9] Fu J, Dong H, Wu J, et al. Emerging Progress of RNA-Based Antitumor Therapeutics [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19 (10) : 3159-3183. DOI: 10. 7150/ijbs. 83732.

- [10] Wu Z, Huang X, Cai M, et al. Novel necroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(2): 869-891. DOI: 10. 18632/aging. 203846.
- [11] Chen F, Li Y, Aye L, et al. FUT8 is regulated by miR-122-5p and promotes malignancies in intrahepatic cholangiocarcinoma via PI3K/AKT signaling [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2023, 46(1): 79-91. DOI: 10. 1007/s13402-022-00736-y.
- [12] Ren P, Wu NA, Fu S, et al. miR-122-5p Restrains pancreatic cancer cell growth and causes apoptosis by negatively regulating ASCT2 [J]. *Anticancer Res*, 2023, 43 (10) : 4379-4388. DOI: 10. 21873/anticancer. 16634.
- [13] 杨慧娟,杨淑君,王艳,等. 角蛋白 7、p53 蛋白与膀胱癌临床病理及预后的相关性 [J]. 疑难病杂志, 2023, 22 (12) : 1313-1317. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 12. 015.
- [14] 黄超,方兴刚,陈璐,等. 益母草碱调节 Akt/MDM2/p53 信号通路对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响 [J]. 疑难病杂志, 2023, 22 (10) : 1090-1097. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 015.
- [15] Chen B, Dong C, Wang F, et al. Knockdown of NIR suppresses breast cancer cell proliferation via promoting FOXO3 [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 637-651.
- [16] Schouten TJ, Daamen LA, Dorland G, et al. Nationwide validation of the 8th american joint committee on cancer tnm staging system and five proposed modifications for resected pancreatic cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2022, 29 (9) : 5988-5999. DOI: 10. 1245/s10434-022-11664-4.
- [17] Bugazia D, Al-Najjar E, Esmail A, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: The latest on diagnosis, molecular profiling, and systemic treatments [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1386699. DOI: 10. 3389/fonc. 2024. 1386699.
- [18] Nakayama C, Tanoue K, Idichi T, et al. Implications of PD-1, Tim-3, and TIGIT expression for cancer immunity and pancreatic cancer prognosis [J]. *Anticancer Res*, 2022, 42 (7) : 3373-3380. DOI: 10. 21873/anticancer. 15824.
- [19] Abu-Khudir R, Hafsa N, Badr BE. Identifying effective biomarkers for accurate pancreatic cancer prognosis using statistical machine learning [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2023, 13 (19) : 3091. DOI: 10. 3390/diagnostics13193091.
- [20] Luo Y, Han S, Yan B, et al. UHMK1 is a novel marker for personalized prediction of pancreatic cancer prognosis [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 834647. DOI: 10. 3389/fonc. 2022. 834647.
- [21] Sato K, Hikita H, Shigekawa M, et al. The serum tenascin C level is a marker of metabolic disorder-related inflammation affecting pancreatic cancer prognosis [J]. *Sci Rep*, 2024, 14 (1) : 12028. DOI: 10. 1038/s41598-024-62498-x.
- [22] 余道武,余天雾,苟毅,等. 胰腺癌组织 ICAM-1、LRG1、TRIM14 的表达及临床意义 [J]. *临床误诊误治*, 2022, 35(3): 49-53. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-3429. 2022. 03. 012.

(收稿日期: 2024 - 07 - 25)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.005

消化系统肿瘤防治专题

血清 MIP-3 α 、CCR3 对结肠癌患者根治术后复发转移的预测价值

刘军, 乔镡, 高小鹏, 孙博, 申磊花



基金项目: 陕西省重点研发项目(2019SF-181)

作者单位: 710000 西安市中心医院普外科(刘军、高小鹏、孙博、申磊花), 消化外科(乔镡)

通信作者: 乔镡, E-mail: pqw00119@163.com

【摘要】目的 探究血清巨噬细胞炎性蛋白-3 α (MIP-3 α)、CC 趋化因子受体 3(CCR3) 对结肠癌患者根治术后复发转移的预测价值。**方法** 选取 2018 年 6 月—2021 年 5 月西安市中心医院普外科收治的结肠癌患者 198 例为结肠癌组, 患者均接受结肠癌根治术。术后随访 3 年根据患者复发转移情况分为复发转移亚组($n=65$)与未复发转移亚组($n=133$)。另选取医院同期健康体检者 192 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法测定血清 MIP-3 α 、CCR3 水平; 多因素 Logistic 回归分析结肠癌患者根治术后复发转移的影响因素; 受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 MIP-3 α 、CCR3 水平对结肠癌患者根治术后复发转移的预测价值。**结果** 结肠癌组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平均高于健康对照组($t/P=22.813/<0.001, 15.164/<0.001$); 复发转移亚组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平均高于未复发转移亚组($t/P=11.813/<0.001, 12.545/<0.001$); 随访 3 年, 198 例结肠癌患者复发转移发生率为 32.83%(65/198)。复发转移亚组患者 TNM 分期 T3~T4 期、低分化程度、术前癌胚抗原(CEA) $>10 \mu\text{g/L}$ 的比例均大于未复发转移亚组($\chi^2/P=4.694/0.030, 14.253/<0.001, 5.602/0.018$); TNM 分期 T3~T4 期、低分化程度、术前 CEA $>10 \mu\text{g/L}$ 、MIP-3 α 高、CCR3 高均为结肠癌患者根治术后复发转移的独立危险因素[$OR(95\% CI)=1.869(1.008\sim3.465), 1.998(1.097\sim3.640), 1.887(1.090\sim3.267), 2.335(1.194\sim4.565), 2.318(1.200\sim4.478)$]; 血清 MIP-3 α 、CCR3 水平及二者联合预测结肠癌患者根治术后复发转移的曲线下面积(AUC)分别为 0.808、0.795、0.899, 二者联合的 AUC 大于血清 MIP-3 α 、CCR3 水平单独预测的 AUC($Z/P=2.989/0.003, 2.575/0.010$)。**结论** 结肠癌患者血清 MIP-3 α 、CCR3 水平升高, 对结肠癌患者术后复发转移具有一定辅助预测价值, 可能作为潜在的肿瘤标志物。

【关键词】 结肠癌; 术后复发转移; 巨噬细胞炎性蛋白-3 α ; CC 趋化因子受体 3**【中图分类号】** R735.3⁺5**【文献标识码】** A

The predictive value of serum MIP-3 α and CCR3 for postoperative recurrence and metastasis of colon cancer patients after radical surgery Liu Jun*, Qiao Pu, Gao Xiaopeng, Sun Bo, Shen Leihua. * Department of General Surgery, Xi'an Central Hospital, Shaanxi Province, Xi'an 710000, China

Funding program: Shaanxi Provincial Key R&D Project (2019SF-181)

Corresponding author: Qiao Pu, E-mail: pqw00119@163.com

【Abstract】 Objective To explore and analyze the predictive value of serum macrophage inflammatory protein-3 α (MIP-3 α) and chemokine C-C-motif receptor 3(CCR3) for postoperative recurrence and metastasis of colon cancer patients. **Methods** A total of 198 colon cancer patients admitted to our hospital from June 2018 to May 2021 were included as the colon cancer group. According to the follow-up results, they were grouped into a recurrence and metastasis group ($n=65$) and a non-recurrence and metastasis group ($n=133$). 192 healthy volunteers who underwent physical examinations in our hospital during the same period were included as the control group. The expression levels of serum MIP-3 α and CCR3 were detected, and the general clinical data of the patients were analyzed. Multivariate logistic regression was applied to analyze the influencing factors of postoperative recurrence and metastasis in colon cancer patients. Receiver operating characteristic(ROC) curve was plotted to analyze the predictive value of serum MIP-3 α and CCR3 for postoperative recurrence and metastasis in colon cancer patients. **Results** Compared with the control group, the serum levels of MIP-3 α and CCR3 in the colon cancer group were obviously increased ($t/P=22.813/<0.001; 15.164/<0.001$). The serum levels of MIP-3 α and CCR3 in

the recurrence and metastasis group were obviously higher than those in the non-recurrence and metastasis group ($t/P = 11.813 / < 0.001; 12.545 / < 0.001$). The differences in TNM staging, differentiation degree, and preoperative CEA levels between the recurrent and non-recurrent metastatic groups were statistically obvious ($\chi^2/P = 4.694/0.030; 14.253 / < 0.001; 5.602/0.018$). TNM staging T3 + T4, degree of low differentiation, and elevation of preoperative CEA, MIP-3 α , and CCR3 were all risk factors for postoperative recurrence and metastasis in patients [$OR(95\% CI) = 1.869 (1.008 - 3.465); 1.998 (1.097 - 3.640); 1.887 (1.090 - 3.267); 2.335 (1.194 - 4.565); 2.318 (1.200 - 4.478)$]. ROC curve results showed that the AUC predicted by serum MIP-3 α , CCR3, and their combination for postoperative recurrence and metastasis in colon cancer patients was 0.808, 0.795, and 0.899, respectively. The AUC predicted by the combination was obviously higher than that predicted by MIP-3 α ($Z = 2.989, P = 0.003$) and CCR3 ($Z = 2.575, P = 0.010$) alone. **Conclusion** The serum levels of MIP-3 α and CCR3 are elevated in patients with colon cancer, they have certain auxiliary predictive value for postoperative recurrence and metastasis, and may serve as potential biomarkers.

【Key words】 Colon cancer; Postoperative recurrence and metastasis; Macrophage inflammatory protein-3 α ; Chemokine C-C-motif receptor 3

结肠癌是常见的恶性肿瘤,具有较高的发病率及病死率,预后较差^[1-2]。结肠癌的标准治疗方法有手术、化疗和放疗,但经过治疗,患者术后仍会发生复发转移,导致死亡人数和新发病例不断增加^[2]。在我国,结肠癌根治术后的 5 年总生存率约为 60%,病死率仍然很高^[3-4]。因此寻找预测根治术后复发转移的相关生物标志物对临床预防具有重大意义。趋化因子巨噬细胞炎性蛋白 3 α (macrophage inflammatory protein-3 α , MIP-3 α),也称为趋化因子(C-C 基序)配体 20 (CCL20)^[5]。研究表明,MIP-3 α 在结直肠癌中表达升高,与人类结直肠癌患者的不良预后相关^[6]。CC 趋化因子受体 3 (chemokine C-C-motif receptor 3, CCR3) 是 CCL5/RANTES、CCL7/MCP-3 和 CCL11/eotaxin 等趋化因子的受体,CCR3 及其配体是癌症的治疗靶点^[7]。有研究发现,血清 CCR3 在结肠癌患者中表达显著升高^[8]。但有关 MIP-3 α 、CCR3 联合在结肠癌术后复发转移中的临床价值尚不清晰,本研究通过检测结肠癌患者血清 MIP-3 α 、CCR3 水平,分析 MIP-3 α 、CCR3 对患者术后复发转移的预测价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性选取 2018 年 6 月—2021 年 5 月西安市中心医院普外科收治的结肠癌患者 198 例为结肠癌组,男 99 例,女 99 例,年龄(60.35 \pm 6.21)岁,患者入院后均接受标准化结肠癌根治术。另选取医院同期健康体检者 192 例为健康对照组,男 95 例,女 97 例,年龄(60.17 \pm 6.33)岁,2 组性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究已经获得医院伦理委员会批准(20180915),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①经病理检查确诊为结肠癌;②首次确诊;③符合结肠癌根治术手术指

征。(2)排除标准:①合并免疫性疾病;②合并其他肿瘤疾病;③心、肝、肾功能不全;④合并严重感染;⑤转移性结肠癌;⑥预计生存期 < 3 个月。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 MIP-3 α 、CCR3 水平检测:于结肠癌患者入组次日/健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 5 ml,离心后留取上清液待测。采用酶联免疫吸附法测定血清 MIP-3 α 、CCR3 水平,检测所用试剂盒分别购自上海瓦兰生物科技有限公司(货号:APE10452)和无锡东林科技发展责任有限公司(货号:DL-CCR3-Hu1)。

1.3.2 随访及分组:患者行结肠癌根治术后开始随访,采用电话和门诊复查的方式进行随访,每 6 个月随访 1 次,随访截至 2024 年 5 月或患者出现复发转移。以术后出现新的结肠癌病灶或盆腔转移灶、伴或不伴远处转移判定为复发转移,随访 3 年根据结肠癌患者复发转移情况分为复发转移亚组($n = 65$)与未复发转移亚组($n = 133$)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 进行数据统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用两独立样本采用 t 检验;多因素 Logistic 回归分析结肠癌患者根治术后复发转移的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 MIP-3 α 、CCR3 水平对结肠癌患者根治术后复发转移的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平比较 结肠癌组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平均高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

2.2 2 亚组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平比较 复发转移亚组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平均高于未复发转移亚组

($P < 0.01$), 见表 2。

表 1 健康对照组与结肠癌组血清 MIP-3 α 、CCR3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Tab. 1 Comparison of serum MIP-3 α and CCR3 levels between healthy control group and colon cancer group

组别	例数	MIP-3 α	CCR3
健康对照组	192	16.32 \pm 1.85	195.68 \pm 21.36
结肠癌组	198	21.01 \pm 2.19	231.06 \pm 24.55
<i>t</i> 值		22.813	15.164
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

表 2 未复发转移亚组与复发转移亚组结肠癌患者血清 MIP-3 α 、CCR3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Tab. 2 Comparison of serum levels of MIP-3 α and CCR3 in colon cancer patients between the non-recurrent and recurrent subgroups

组别	例数	MIP-3 α	CCR3
未复发转移亚组	133	19.72 \pm 2.03	215.68 \pm 22.69
复发转移亚组	65	23.65 \pm 2.51	262.54 \pm 28.35
<i>t</i> 值		11.813	12.545
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 2 亚组临床/病理特征比较 随访 3 年, 198 例结肠癌患者复发转移发生率为 32.83% (65/198)。复发转移亚组患者 TNM 分期 T3 ~ T4 期、低分化、术前癌胚抗原 (CEA) > 10 μ g/L 的比例均大于未复发转移亚组 ($P < 0.05$); 2 亚组性别、年龄、吸烟史、饮酒史、肿瘤部位、肠梗阻、血管侵犯、术后辅助化疗比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

2.4 多因素 Logistic 回归分析结肠癌患者根治术后复发转移的影响因素 以结肠癌患者根治术后发生复发转移为因变量 (否 = 0, 是 = 1), 将上述有差异项目 [TNM 分期 (T2 期 = 0, T3 ~ T4 期 = 1)、分化程度 (中高分化 = 0, 低分化 = 1)、术前 CEA ($\leq 10 \mu$ g/L = 0, > 10 μ g/L = 1)、MIP-3 α 及 CCR3 (均为实测值)] 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示: TNM 分期 T3 ~ T4 期、低分化程度、术前 CEA > 10 μ g/L、MIP-3 α 高、CCR3 高均为结肠癌患者根治术后复发转移的独立危险因素 ($P < 0.05$), 见表 4。

2.5 血清 MIP-3 α 、CCR3 水平对结肠癌患者根治术后复发转移的预测价值 绘制血清 MIP-3 α 、CCR3 水平单独与联合预测结肠癌患者根治术后复发转移的 ROC 曲线, 并计算曲线下面积 (AUC), 结果显示: 血清 MIP-3 α 、CCR3 水平及二者联合预测结肠癌患者根治术后复发转移的 AUC 分别为 0.808、0.795、0.899, 二者联合的 AUC 大于血清 MIP-3 α 、CCR3 水平单独预测

的 AUC ($Z = 2.989, 2.575, P = 0.003, 0.010$), 见表 5、图 1。

表 3 未复发转移亚组与复发转移亚组结肠癌患者临床/病理特征比较 [例 (%)]

Tab. 3 Comparison of clinical/pathological characteristics between non recurrent and recurrent subgroups of colon cancer patients

项目	未复发转移亚组 ($n = 133$)	复发转移亚组 ($n = 65$)	χ^2 值	<i>P</i> 值	
性别	男	65 (48.87)	34 (52.31)	0.206	0.650
	女	68 (51.13)	31 (47.69)		
年龄 (岁)	<60	71 (53.38)	30 (46.15)	0.913	0.339
	≥ 60	62 (46.62)	35 (53.85)		
吸烟史		68 (51.13)	39 (60.00)	1.384	0.239
饮酒史		66 (49.62)	38 (58.46)	1.367	0.242
肿瘤部位	升部	49 (36.84)	23 (35.38)	0.104	0.991
	降部	21 (15.79)	10 (15.38)		
	横部	23 (17.29)	11 (16.92)		
	乙状部	40 (30.08)	21 (32.31)		
肠梗阻		65 (48.87)	29 (44.62)	0.317	0.573
血管侵犯		56 (42.11)	30 (46.15)	0.291	0.589
TNM 分期	T2 期	75 (56.39)	26 (40.00)	4.694	0.030
	T3 ~ T4 期	58 (43.61)	39 (60.00)		
分化程度	中高分化	96 (72.18)	29 (44.62)	14.253	<0.001
	低分化	37 (27.82)	36 (55.38)		
术后辅助化疗		79 (59.40)	30 (46.15)	3.095	0.079
术前 CEA (μ g/L)	≤ 10	77 (57.89)	26 (40.00)	5.602	0.018
	>10	56 (42.11)	39 (60.00)		

表 4 影响结肠癌患者根治术后复发转移的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4 Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting recurrence and metastasis in colon cancer patients after radical surgery

项目	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
TNM T3 ~ T4 期	0.625	0.315	3.942	0.047	1.869	1.008 ~ 3.465
低分化程度	0.692	0.306	5.116	0.024	1.998	1.097 ~ 3.640
术前 CEA > 10 μ g/L	0.635	0.280	5.143	0.023	1.887	1.090 ~ 3.267
MIP-3 α 高	0.848	0.342	6.148	0.013	2.335	1.194 ~ 4.565
CCR3 高	0.841	0.336	6.260	0.012	2.318	1.200 ~ 4.478

表 5 血清 MIP-3 α 、CCR3 水平对结肠癌患者根治术后复发转移的预测价值

Tab. 5 The predictive value of serum MIP-3 α and CCR3 levels for recurrence and metastasis in colon cancer patients after radical surgery

项目	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
MIP-3 α	21.08 ng/L	0.808	0.746 ~ 0.861	0.815	0.729	0.544
CCR3	238.58 ng/L	0.795	0.732 ~ 0.849	0.846	0.645	0.491
二者联合		0.899	0.849 ~ 0.938	0.800	0.910	0.710

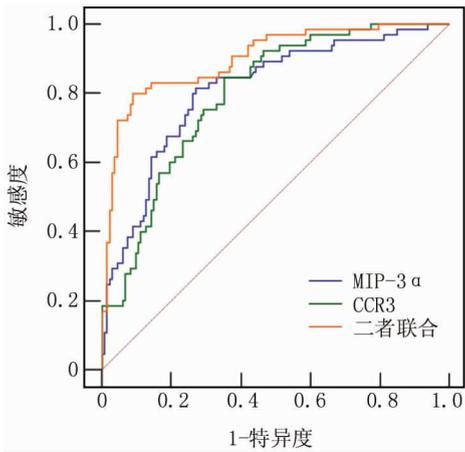


图 1 血清 MIP-3 α 、CCR3 水平预测结肠癌患者根治术后复发转移的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of predicting postoperative recurrence and metastasis in colon cancer patients based on serum MIP-3 α and CCR3 levels

3 讨论

结肠癌是一种起源于结肠上皮的恶性肿瘤,通常发生在乙状结肠直肠交界处。虽然其病因尚不清楚,但大多数结肠癌都是由腺瘤性息肉发展而来,从正常的结肠上皮发展为小腺瘤,然后从小腺瘤的轻度隐窝结构异常发展为最终的侵袭性癌症^[9]。结肠癌是全球发病率较高的癌症之一,也是癌症相关死亡的主要原因之一^[10-11]。随着我国经济的发展,人民生活水平提高和饮食结构改变,我国结肠癌的发病率和病死率呈逐年上升趋势,结肠癌的临床症状主要包括腹胀、消化不良和便血,最初的轻微症状,如消化不良、血便和便秘,在晚期可发展为水肿、黄疸和腹水。多种因素参与结肠癌的发展,如缺乏体育活动、过量饮酒、年龄增大、家族史、高脂肪饮食、糖尿病、炎症肠病等^[12]。结肠癌的发病机制和进展受不同遗传特征和基因组不稳定事件的驱动,从而导致不同的结肠癌表型,这些表型以染色体不稳定性、启动子 CpG 岛位点的高甲基化和高水平的微卫星不稳定性为特征^[13-14]。目前,结肠癌的治疗原则以手术为主,辅以放疗、生物治疗和靶向治疗的综合治疗方案。近年来,腹腔镜结肠癌根治术因其具有创伤小、术后疼痛轻等优点,已成为开腹手术的首选方法。然而,结肠癌患者容易在手术后发生并发症增加复发的风险,甚至导致死亡^[15-16]。因此寻找相关的高效生物标志物对预测患者术后复发转移具有一定临床价值。

趋化因子能诱导免疫细胞迁移和趋化,但也能对肿瘤细胞产生促瘤作用^[6],趋化细胞因子能够以多种

方式诱导癌细胞增殖和存活,并且肿瘤细胞可以表达趋化因子受体并产生促进肿瘤生长的趋化因子。血清 CCL20、CXCL12、CXCL10、CXCL8 等浓度升高是结直肠癌患者预后不良的独立危险因素^[17]。MIP-3 α 主要由外周血中的中性粒细胞、Th17 细胞和单核细胞分泌,在肝脏、肺部和外周血细胞中表达。MIP-3 α 与特异性趋化因子受体 6 (CCR6) 结合后,参与炎症反应,刺激抗原特异性免疫反应,促进炎症介质和细胞因子的释放,抵御微生物入侵,介导病理组织损伤,从而形成炎症反应的恶性循环^[18]。基质细胞衍生的 CCL20 可促进骨巨细胞瘤的肿瘤进展和骨质溶解,CCL20/CCR6 轴有助于肝脏血管生成,促进肝细胞癌的高血管状态。此外,结直肠癌细胞衍生的 CCL20 通过 FOXO1/CEBPB/NF- κ B 信号传导诱导 Tregs 的募集,进一步促进了结肠癌的化疗耐药性^[19]。并且 CCL20 在结直肠癌中显著升高,可通过导致 p130cas 磷酸化并刺激 ERK-MAP 激酶和 Akt 通路来调节结肠癌增殖和转移^[20]。本研究结果发现,术后发生复发转移的结肠癌患者血清 MIP-3 α 水平升高,与徐婷婷^[21] 研究具有相似性。表明 MIP-3 α 表达升高可能与患者术后复发转移具有密切联系,进一步分析发现 MIP-3 α 升高为影响结肠癌患者术后发生复发转移的危险因素,表明 MIP-3 α 表达水平与结肠癌患者病情发生发展具有一定相关性,推测在结肠癌中,细菌感染、微生物代谢产物、肥胖或上皮损伤会破坏肠上皮屏障,导致 MIP-3 α 的产生和释放,在肿瘤进展过程中,MIP-3 α 会吸引更多的免疫细胞进入肿瘤,进一步导致病情恶化^[22],MIP-3 α 也可能通过调控 p130cas 磷酸化并刺激 ERK-MAP 激酶和 Akt 通路来调节结肠癌增殖和转移,促进癌细胞增殖扩散、复发转移,并且 MIP-3 α 水平升高还可能通过相关信号通路诱导癌细胞耐药,导致不良预后。

CCR3 在许多细胞类型(包括嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、T 细胞和单核细胞)上都有表达,而且比趋化因子受体家族的其他成员能结合更多的趋化因子配体。CCR3 参与多种病理过程,包括细胞迁移、过敏反应和寄生虫感染^[23]。CCR3 的表达也与侵袭性疾病的发生、局部扩散范围的增大以及生化复发的风险较高有关。最近的研究表明,CCR3 参与了甲状腺癌、前列腺癌、结肠癌和胶质母细胞瘤的扩散^[24],此外趋化因子 CCL7 及其受体 CCR3 也是结肠癌细胞侵袭和转移的关键介质^[25]。本研究结果发现,术后发生复发转移的结肠癌患者血清 CCR3 水平升高,表明 CCR3 水平升高与患者术后复发转移有关,可能参与调控患者病

情进展, Tateyama 等^[26]研究也发现, 结直肠癌患者血清中的 CCR3 水平显著升高, 进一步分析发现 CCR3 升高为影响结肠癌患者复发转移的危险因素, 进一步表明 CCR3 失调可能影响患者病情进展, 推测 CCR3 可能与相关配体结合后, 诱导癌基因, 促进癌细胞增殖扩散, 导致术后复发转移, CCR3 水平升高可能导致嗜碱性粒细胞、T 细胞和单核细胞等免疫细胞增加, 调节免疫反应, 导致免疫抑制, 增加术后癌细胞复发转移的风险^[27]。

此外, MIP-3 α 、CCR3 联合预测结肠癌患者根治术后复发转移的 AUC 为 0.899, 且联合预测具有较高的特异度, 提示 MIP-3 α 、CCR3 联合对患者术后复发转移具有更优的预测价值, 多指标联合可弥补单指标预测的不足, 提高预测准确度。

综上, 术后复发转移的结肠癌患者血清 MIP-3 α 、CCR3 水平升高, 对结肠癌患者术后复发转移具有一定辅助预测价值, 可能为潜在的肿瘤标志物, 但本研究所选样本量较少, 仍需进一步深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘军、乔锴: 提出研究方向、研究思路, 研究选题, 设计论文框架, 撰写论文; 高小鹏、申磊花: 实施研究过程, 数据收集、分析整理, 进行文献调研与整理; 孙博: 设计研究方案、研究流程

参考文献

[1] Chuang JP, Tsai HL, Chen PJ, et al. Comprehensive review of biomarkers for the treatment of locally advanced colon cancer[J]. *Cells*, 2022, 11(23):3744-3763. DOI:10.3390/cells11233744.

[2] Dey A, Mitra A, Pathak S, et al. Recent advancements, limitations, and future perspectives of the use of personalized medicine in treatment of colon cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2023, 22(1):15330338231178403. DOI:10.1177/15330338231178403.

[3] Pang X, Xu B, Lian J, et al. Real-world survival of colon cancer after radical surgery: A single-institutional retrospective analysis[J]. *Front Oncol*, 2022, 12(1):914076-914087. DOI:10.3389/fonc.2022.914076.

[4] Chen S, Shen X. Long noncoding RNAs: Functions and mechanisms in colon cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):167-179. DOI:10.1186/s12943-020-01287-2.

[5] Gordy JT, Hui Y, Schill C, et al. A SARS-CoV-2 RBD vaccine fused to the chemokine MIP-3 α elicits sustained murine antibody responses over 12 months and enhanced lung T-cell responses[J]. *Front Immunol*, 2024, 15(1):1292059-1292071. DOI:10.3389/fimmu.2024.1292059.

[6] Nandi B, Del Valle JP, Samur MK, et al. CCL20 induces colorectal cancer neoplastic epithelial cell proliferation, migration, and further CCL20 production through autocrine HGF-c-Met and MSP-MSPR signaling pathways[J]. *Oncotarget*, 2021, 12(24):2323-2337. DOI:10.18632/oncotarget.28131.

[7] Tateyama N, Asano T, Suzuki H, et al. Epitope mapping of anti-mouse CCR3 monoclonal antibodies using flow cytometry[J]. *Antibodies (Basel)*, 2022, 11(4):75-85. DOI:10.3390/antib11040075.

[8] Zajkowska M, Kulczyńska-Przybik A, Dulewicz M, et al. Eotaxins and their receptor as biomarkers of colorectal cancer[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(12):2675-2685. DOI:10.3390/jcm10122675.

[9] Wei RY, Li CH, Zhong WY, et al. A correlation study affecting survival in patients after radical colon cancer surgery: A retrospective study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(11):e33302. DOI:10.1097/MD.00000000000033302.

[10] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1):7-33. DOI:10.3322/caac.21708.

[11] 杨同昕, 董建宁, 施雪松, 等. 结直肠癌组织中 SPON2、MGP 表达及临床意义[J]. *疑难病杂志*, 2024, 23(2):207-211. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2024.02.016.

[12] Aiello P, Sharghi M, Mansourkhani SM, et al. Medicinal plants in the prevention and treatment of colon cancer[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019(1):2075614-2075664. DOI:10.1155/2019/2075614.

[13] Molfetta R, Paolini R. The controversial role of intestinal mast cells in colon cancer[J]. *Cells*, 2023, 12(3):459-472. DOI:10.3390/cells12030459.

[14] 周钰杰, 杨芳, 严晶, 等. 结直肠癌组织 miR-330-5p、PTBPI 的表达与病理参数和预后的关系[J]. *疑难病杂志*, 2024, 23(1):68-72. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2024.01.012.

[15] Wang J, Li MH. Risk factors for anastomotic fistula development after radical colon cancer surgery and their impact on prognosis[J]. *World J Gastrointest Surg*, 2023, 15(11):2470-2481. DOI:10.4240/wjgs.v15.i11.2470.

[16] Duan X, Su D, Yu H, et al. Adoption of artificial intelligence (AI)-based computerized tomography (CT) evaluation of comprehensive nursing in the operation room in laparoscopy-guided radical surgery of colon cancer[J]. *Comput Intell Neurosci*, 2022, 2022(1):2180788-2180798. DOI:10.1155/2022/2180788.

[17] Paczek S, Lukaszewicz-Zajac M, Mroczko B. Chemokines-what is their role in colorectal cancer[J]. *Cancer Control*, 2020, 27(1):1073274820903384. DOI:10.1177/1073274820903384.

[18] Liu M, Duan YJ, Zhang Y, et al. Prognostic value of macrophage inflammatory protein-3 α (MIP3- α) and severity scores in elderly patients with sepsis[J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17(1):1503-1509. DOI:10.2147/JIR.S447142.

[19] Wang D, Yang L, Yu W, et al. Colorectal cancer cell-derived CCL20 recruits regulatory T cells to promote chemoresistance via FOXO1/CEBPB/NF- κ B signaling[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1):215-229. DOI:10.1136/s40425-019-0701-2corr1.

[20] Li Y, Liu J, Xiao Q, et al. EN2 as an oncogene promotes tumor progression via regulating CCL20 in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7):604-614. DOI:10.1038/s41419-020-02804-3.

[21] 徐婷婷. 趋化因子 CXCL8 与 CCL20 在结直肠癌患者血清中表达与肝转移发生的临床研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2019.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.006

消化系统肿瘤防治专题

沙利度胺联合 FOLFOX6 方案治疗结直肠癌术后肝转移患者疗效及其对生存率的影响

李佳慧, 胡洁, 林武华, 袁海汀, 樊婷



基金项目: 四川省卫生健康委员会科研课题项目(21PJ133)

作者单位: 614000 四川乐山, 武警四川省总队医院肿瘤科

通信作者: 林武华, E-mail: 380239205@qq.com

【摘要】 目的 探讨沙利度胺联合 FOLFOX6 方案对结直肠癌术后肝转移治疗的效果, 以及对患者肿瘤标志物、生存率的影响。方法 选择 2021 年 1 月—2023 年 1 月武警四川省总队医院肿瘤科收治的结直肠癌术后肝转移患者 130 例为研究对象, 利用随机数字表法分为单一组 65 例与联合组 65 例。单一组采用 FOLFOX6 方案, 联合组采用沙利度胺联合 FOLFOX6 方案。治疗 4 个周期后, 比较 2 组临床疗效; 治疗前后 2 组血清肿瘤标志物[癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)]、炎症反应指标[白介素-4(IL-4)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与趋化因子受体 4(CXCR4)]、体力状况、生存情况; 记录并比较 2 组治疗期间不良反应发生情况。结果 联合组总有效率高于单一组(52.31% vs. 33.85%, $\chi^2/P=4.517/0.034$)。治疗 4 个周期后, 2 组血清 CEA、CA199 均低于治疗前, 且联合组 CEA、CA199 低于单一组($t/P=30.898/<0.001$, 17.832/ <0.001); 2 组血清 IL-4、TNF- α 、CXCR4 均下降, 且联合组低于单一组($t/P=11.080/<0.001$, 12.162/ <0.001 , 7.533/ <0.001); 2 组 KPS 评分均上升, 且联合组高于单一组($t/P=4.515/<0.001$); 联合组 12 个月生存率高于单一组(50.77% vs. 30.77%, $\chi^2=5.383$, $P=0.020$); 2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 结直肠癌术后肝转移患者采用沙利度胺联合 FOLFOX6 方案治疗, 可有效延长生存时间, 减少炎症反应, 有一定临床应用价值。

【关键词】 结直肠癌; 肝转移, 术后; FOLFOX6 方案; 沙利度胺; 炎症因子; 疗效**【中图分类号】** R735.3⁺5; R735.3⁺7 **【文献标识码】** A

Efficacy of thalidomide combined with FOLFOX6 regimen in the treatment of postoperative liver metastasis from colorectal cancer and its impact on survival rate Li Jiahui, Hu Jie, Lin Wuhua, Yuan Haiting, Fan Ting. Department of Oncology, Sichuan Armed Police Force Hospital, Sichuan Province, Leshan 614000, China

Funding program: Sichuan Provincial Health Commission Research Project (21PJ133)

Corresponding author: Lin Wuhua, E-mail: 380239205@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of thalidomide combined with FOLFOX6 on postoperative liver metastasis of colorectal cancer, tumor markers and survival rate. **Methods** A total of 130 patients with postoperative liver metastasis of colorectal cancer admitted to the First General Surgery Department of Sichuan Armed Police Corps Hospital from January 2021 to January 2023 were selected as the study objects, and were divided into a single group (65 cases) and a combined group (65 cases) by random number table method. The single group was treated with FOLFOX6 regimen and the combined group was treated with thalidomide combined with FOLFOX6 regimen. The clinical effect was compared between the two groups after treatment. Tumor markers [serum carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 199 (CA199)], inflammatory response indicators [interleukin-4 (IL-4), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and chemokine receptor 4 (CXCR4)], physical status and survival of 2 groups before and after treatment; the adverse reactions were recorded and compared between the two groups during treatment. **Results** The total effective rate of the combined group was higher than that of the single group (52.31% vs. 33.85%, $\chi^2/P=4.517/0.034$). After 4 cycles of treatment, CEA and CA199 in 2 groups were lower than before treatment, and CEA and CA199 in combination group were lower than those in single group ($t/P=30.898/0.001$, 17.832/0.001); IL-4, TNF- α and CXCR4 decreased in 2 groups, and the combined group was lower than the single group ($t/P=11.080/0.001$, 12.162/0.001, 7.533/0.001); KPS scores increased in both groups, and the combined group was higher than

the single group ($t/P=4.515/0.001$); The 12-month survival rate of the combined group was higher than that of the single group (50.77% vs.30.77% , $\chi^2 = 5.383, P=0.020$); there was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The treatment of postoperative liver metastases of colorectal cancer can effectively prolong the survival time and reduce the inflammatory response, the effect is ideal, and the clinical application value is high.

【Key words】 Colorectal cancer; Liver metastasis,post operation; FOLFOX6 scheme; Thalidomide; Inflammatory factor; Therapeutic effect

结直肠癌属于临床常见恶性肿瘤,其发病率较高,据相关调查研究结果显示,该病每年新增人数约为 180 万,死亡人数约为 88 万,已成为我国社会公共卫生重点关注问题^[1-2]。结直肠癌发病因素较为复杂,具体发病机制尚未完全明确,现一般认为其与遗传、生活环境、饮食习惯等因素关系密切,由于早期缺乏典型症状,多数患者就诊时已处于中晚期,错过最佳治疗时机^[3-4]。已有研究指出^[5],有 50% ~ 60% 的结直肠癌患者可于确诊或根治术后发生肝转移,增加治疗难度。目前,对此种情况临床常采用化疗方案,以控制病情进展,消灭肿瘤细胞,改善患者临床症状。FOLFOX6 属于结直肠癌术后肝转移常用治疗方案,但其单纯使用不良反应较强,部分患者治疗效果不够理想^[6-7]。沙利度胺是一种谷氨酸衍生物,具有免疫调节、抗炎和抗血管生成等作用,可有效抑制肿瘤细胞生长、增殖,治疗效果确切^[8]。但沙利度胺与 FOLFOX6 方案联合使用既往报道较少,为提高整体治疗效果,本研究将二者联合用于结直肠癌术后肝转移治疗中,分析其临床应用价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2021 年 1 月—2023 年 1 月武警四川省总队医院肿瘤科收治的结直肠癌术后肝转移患者 130 例,利用随机数字表法分为单一组 65 例与联合组 65 例。单一组采用 FOLFOX6 方案,联合组采用沙利度胺联合 FOLFOX6 方案。2 组患者临床资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(武川医伦委[2020]005 号),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合结直肠癌诊断标准^[9];②预计生存期 > 3 个月;③均经影像学、病理学检查确诊;④临床资料齐全;⑤具有 FOLFOX6 化疗适应证。(2) 排除标准:①对本研究使用药物过敏者;②合并免疫系统疾病及严重感染者;③接受其他方案治疗者;④伴有严重肠梗阻、肠穿孔等并发症者;⑤存在其他部位恶性肿瘤者;⑥代谢性疾病者;⑦中途退出或失访,无法配合治疗者。

表 1 单一组与联合组结直肠癌术后肝转移患者临床资料比较
Tab. 1 Comparison of clinical data between single group and combination group patients with postoperative liver metastasis of colorectal cancer

项 目	单一组 (n=65)	联合组 (n=65)	χ^2/t 值	P 值
性别[例(%)]	男 34(52.31)	37(56.92)	0.279	0.597
	女 31(47.69)	28(43.08)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	60.18 \pm 7.17	60.68 \pm 7.25	0.395	0.693
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	22.75 \pm 2.34	22.69 \pm 2.31	0.147	0.883
肝转移瘤数量 [例(%)]	单个 18(27.69)	15(23.08)	0.366	0.545
	多个 47(72.31)	50(76.92)		
肝转移灶分布 [例(%)]	单叶 55(84.62)	57(87.69)	0.258	0.612
	双叶 10(15.38)	8(12.31)		
原发肿瘤部位 [例(%)]	直肠癌 32(49.23)	35(53.85)	0.277	0.599
	结肠癌 33(50.77)	30(46.15)		

1.3 治疗方法 单一组采取 FOLFOX6 化疗方案:第 1 天给予奥沙利铂(扬子江药业集团有限公司,规格:50 mg)130 mg/m² 静脉滴注 3 h;第 1 ~ 2 天给予亚叶酸钙(江苏康缘药业股份有限公司,规格:100 mg)400 mg/m² 静脉注射;5-氟尿嘧啶(上海旭东海普药业有限公司,规格:10 ml:0.25 g)首次 400 mg/m² 静脉推注,而后 1 200 mg/m² 静脉泵注 46 h,此为 1 个完整化疗用药方案,间隔 1 周,即 2 周为一个化疗周期,后开始进行下个化疗疗程。联合组在单一组基础上给予沙利度胺(常州制药厂有限公司,规格:50 mg)100 mg 口服,分 2 次服用,共服用 4 个周期。2 组均治疗 4 个周期。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 血清肿瘤标志物与炎症反应指标检测:于患者入院时采集空腹肘静脉血 6 ml,离心留取上层血清待测。采用酶联免疫吸附法测定血清肿瘤标志物[癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)]及炎症指标[白介素-4(IL-4)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、趋化因子受体 4(CXCR4)]水平,试剂盒均由合肥莱尔生物科技有限公司提供。

1.4.2 体力状况判定:治疗前后采用卡氏功能状态量表(KPS)判定患者体力状况。总分 100 分,分值越低,

患者体力状况越差。

1.4.3 随访及生存情况:自患者出院起通过电话、来院复查等方式进行定期随访,每 4 周随访 1 次,截止时间为 2024 年 2 月。记录患者 6 个月、12 个月生存情况。

1.4.4 不良反应监测:记录患者治疗期间发生胃肠反应、肝肾功能异常、贫血、神经毒性等情况。

1.5 临床疗效判定标准^[10] 完全缓解(CR):所有靶病灶消失,新发病灶未出现,维持时间 ≥ 4 周;部分缓解(PR):靶病灶最大直径之和减小 $\geq 30\%$,维持时间 > 4 周;病情稳定(SD):靶病灶最大直径之和减小 $20\% \sim < 30\%$,或增加 $< 20\%$;病情进展(PD):靶病灶最大直径之和增加 $> 20\%$,出现新病灶。总有效率 = (CR + PR)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计学软件处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,等级资料采用秩和检验,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较采用独立样本 t 检验,组内比较采用配对样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组临床疗效比较 治疗 4 个周期后,联合组总有效率为 52.31%,高于单一组的 33.85%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 单一组与联合组结肠直肠癌术后肝转移患者临床疗效比较 [例(%)]

Tab. 2 Comparison of clinical efficacy between single group and combination group in patients with postoperative liver metastasis of colorectal cancer

组别	例数	PR	SD	PD	总有效率 (%)
单一组	65	22(33.85)	15(23.08)	28(43.08)	33.85
联合组	65	34(52.31)	16(24.62)	15(23.08)	52.31
χ^2/Z 值			$Z = 2.503$		$\chi^2 = 4.517$
P 值			0.012		0.034

2.2 2组血清肿瘤标志物比较 治疗 4 个周期后,2组血清 CEA、CA199 均低于治疗前,且联合组低于单一组($P < 0.01$),见表 3。

2.3 2组血清炎症反应指标比较 治疗 4 个周期后,2组血清 IL-4、TNF- α 、CXCR4 均下降,且联合组低于单一组($P < 0.01$),见表 4。

2.4 2组治疗前后体力状况比较 治疗前,单一组与联合组 KPS 评分[(65.19 \pm 7.62)分 vs. (65.76 \pm

7.68)分]比较,差异无统计学意义($t/P = 0.425/0.672$);治疗 4 个周期后,单一组与联合组 KPS 评分[(76.15 \pm 8.27)分 vs. (83.02 \pm 9.06)分]均上升($t/P = 20.266/ < 0.001$, 29.862/ < 0.001),且联合组 KPS 评分高于单一组($t/P = 4.515/ < 0.001$)。

表 3 单一组与联合组结肠直肠癌术后肝转移患者治疗前后血清肿瘤标志物比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum tumor markers before and after treatment in patients with postoperative liver metastasis of colorectal cancer between the single group and the combination group

组别	时间	CEA($\mu\text{g/L}$)	CA199(IU/ml)
单一组 ($n = 65$)	治疗前	251.96 \pm 27.81	231.78 \pm 25.77
	治疗后	145.78 \pm 16.21	136.57 \pm 15.45
联合组 ($n = 65$)	治疗前	252.03 \pm 27.85	232.35 \pm 25.82
	治疗后	73.52 \pm 9.63	94.26 \pm 11.28
t/P 单一组组内值		60.191/ < 0.001	58.457/ < 0.001
t/P 联合组组内值		91.523/ < 0.001	80.055/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		30.898/ < 0.001	17.832/ < 0.001

表 4 单一组与联合组结肠直肠癌术后肝转移患者治疗前后血清炎症反应指标比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$)

Tab. 4 Comparison of serum inflammatory response indicators before and after treatment in patients with postoperative liver metastasis of colorectal cancer between the single group and the combination group

组别	时间	IL-4	TNF- α	CXCR4
单一组 ($n = 65$)	治疗前	67.97 \pm 7.98	38.96 \pm 4.92	496.82 \pm 51.71
	治疗后	52.63 \pm 6.42	23.78 \pm 3.21	204.11 \pm 23.55
联合组 ($n = 65$)	治疗前	68.09 \pm 7.96	39.03 \pm 4.95	497.75 \pm 51.88
	治疗后	41.11 \pm 5.39	17.52 \pm 2.63	175.56 \pm 19.47
t/P 单一组组内值		30.439/ < 0.001	49.213/ < 0.001	85.444/ < 0.001
t/P 联合组组内值		54.167/ < 0.001	67.527/ < 0.001	90.132/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		11.080/ < 0.001	12.162/ < 0.001	7.533/ < 0.001

2.5 2组生存情况比较 单一组 6 个月生存率为 64.62% (42/65),联合组为 69.23% (45/65),2组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.313, P = 0.576$);联合组 12 个月生存率为 50.77% (33/65),高于单一组的 30.77% (22/65),2组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 5.383, P = 0.020$)。

2.6 2组不良反应比较 治疗期间,2组胃肠反应、肝肾功能异常、贫血、神经毒性发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 5。

3 讨论

结肠直肠癌作为世界三大恶性肿瘤疾病之一,早期无特异性表现,待病情严重就诊时,往往错过最佳手术

表 5 单一组与联合组结肠直肠癌术后肝转移患者不良反应比较 [例(%)]

Tab. 5 Comparison of adverse reactions in colorectal cancer patients with postoperative liver metastasis between single group and combination group

组别	例数	胃肠反应	肝肾功能异常	贫血	神经毒性
单一组	65	26(40.00)	7(10.77)	11(16.92)	9(13.85)
联合组	65	30(46.15)	9(13.85)	15(23.08)	13(20.00)
χ^2 值		0.502	0.285	0.769	0.875
P 值		0.479	0.593	0.380	0.349

时期^[11-12]。随着结肠直肠癌病情进一步发展。中晚期患者可发生肿瘤转移、扩散,其中肝转移发生率较高^[13-14]。据相关研究结果显示,结肠直肠癌中晚期患者发生肝转移的比例高达 50%,无法行手术切除者生存期低于 1 年,对患者生命安全造成极大威胁^[15-17]。现阶段,临床对此常采用化疗方案进行治疗,以抑制病情发展,如 FOLFOX6 方案,所含奥沙利铂作为铂类抗肿瘤药物,可有效刺激水衍化物生成,与肿瘤细胞 DNA 相结合,阻碍其合成、复制,继而起到杀灭肿瘤细胞的效果^[18-19]。亚叶酸钙属于叶酸拮抗剂解毒剂,可有效提高人体内叶酸活性,抑制甲氨蝶呤损伤机体正常细胞,可用于结肠直肠癌辅助治疗,与 5-氟尿嘧啶联合使用,能在一定程度上延长患者生存时间,提高其生存率,治疗效果确切。但 FOLFOX6 方案单纯使用整体治疗效果有限,仍有提升空间,故此,应探索更加高效的治疗方案,以便于为患者谋取更大获益。

沙利度胺作为谷氨酸衍生物,通过维持溶酶体膜稳定性,减弱中性粒细胞趋化,从而发挥抗炎作用;除此之外,沙利度胺还可调节机体免疫功能,抵抗肿瘤新生血管生成,具有阻碍肿瘤细胞扩散、转移的作用,临床应用效果明显^[20]。本研究将其与 FOLFOX6 方案联合治疗结肠直肠癌术后肝转移患者,结果显示,联合组总有效率(52.31%)明显高于单一组(33.85%),提示沙利度胺联合 FOLFOX6 方案对患者病情控制效果较好,可显著缩小靶病灶体积,缓解患者临床症状。分析原因可能为,FOLFOX6 方案中奥沙利铂具有广谱抗肿瘤作用,对于体内转移性肿瘤病灶杀伤性较大;而 5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙同样具有肿瘤细胞杀伤作用^[21-22];再加以沙利度胺,从不同途径、不同机制共同发挥肿瘤血管生成抑制作用,最终达到控制病情进展、缩小靶病灶体积的目的。对比 2 组肿瘤标志物,联合组 CEA、CA199 水平明显低于单一组,提示联合方案治疗可显著降低患者体内肿瘤标志物水平,利于疾病预后。其中 CEA 是一种免疫球蛋白,其水平高低与肿

瘤细胞迁移密切相关,当其含量过高时,可降低肿瘤细胞之间排列紧密性,使其极性消失,从而有助于肿瘤细胞发生转移、扩散^[23-24];而 CA199 属于一种糖蛋白,参与肿瘤细胞转移机制,当肿瘤发生恶变或转移时,其在体内水平升高;故此,促使二者水平降低至正常,对患者病情恢复具有积极意义。对比 2 组炎症反应指标,联合组血清 IL-4、TNF- α 、CXCR4 水平明显低于单一组,提示沙利度胺联合 FOLFOX6 方案可有效降低机体内炎症因子水平,减轻炎症反应损伤。分析原因可能为,FOLFOX6 方案能有效杀伤肿瘤细胞,减少病灶发生,但其同时对机体正常组织也有一定杀伤作用;在此基础上,加用沙利度胺可有效调节机体免疫系统,增强患者抵抗力,治疗效果更好。对比 2 组体力状况,联合组 KPS 评分明显高于单一组,提示联合沙利度胺对患者体力状况改善较大,可有效提高其生活质量。对比 2 组生存情况,联合组 12 个月生存率明显高于单一组,提示加用沙利度胺可有效延长患者生存时间,在一定程度上提升生存率。对比 2 组神经毒性、贫血等不良反应发生率,差异无统计学意义,提示联合沙利度胺未增加治疗风险,安全性较高。

综上所述,采用沙利度胺联合 FOLFOX6 方案治疗结肠直肠癌术后肝转移,在临床应用上效果较好,可明显减少炎症反应的发生,改善患者体力状况,降低肿瘤标志物水平,且安全性良好。但本研究入组人数较少,数据支撑不足,后续还需设计更加全面的方案进一步证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李佳慧、林武华:提出研究思路,设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;胡洁、袁海汀:实施研究过程,分析试验数据,论文审核;樊婷:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] 杨智,刘圆圆. 脾多肽注射液在结肠癌肝转移患者 mFOLFOX6 化疗联合西妥昔靶向转化治疗中的应用效果[J]. 临床合理用药杂志,2023,16(18):102-104. DOI:10.15887/j.cnki.13-1389/r.2023.18.029.
- [2] 赖曼,李娟,李瑶,等. 芍药汤加减联合 FOLFOX6 方案、常规治疗对湿热蕴结型结肠癌术后辅助化疗患者的临床疗效[J]. 中成药,2022,44(9):2834-2838.
- [3] Patel SG, Karlitz JJ, Yen T, et al. The rising tide of early-onset colorectal cancer: A comprehensive review of epidemiology, clinical features, biology, risk factors, prevention, and early detection[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol,2022,7(3):262-274. DOI:10.1016/S2468-1253(21)00426-X.
- [4] Sminsky JA, Shore BM, Lupu GV, et al. Risk factors for colorectal polyps and cancer[J]. Gastrointest Endosc Clin N Am,2022,32(2):195-213. DOI:10.1016/j.giec.2021.12.008.

- [5] 李伟良,卜文静,方祯,等. 健脾化痰方联合 FOLFOX6 方案治疗结直肠癌肝转移的临床疗效及安全性[J]. 现代中西医结合杂志,2021,30(33):3673-3676,3722. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2021.33.006.
- [6] 王正洪,方亮,蒋明东,等. FOLFOX6 方案与 FOLFIRI 方案治疗晚期结直肠癌的疗效和安全性比较及肿瘤转移的临床特点分析[J]. 实用医院临床杂志,2018,15(1):97-100. DOI:10.3969/j.issn.1672-6170.2018.01.030.
- [7] 胡荣臻,张莉,刘慧革. 贝伐珠单抗联合 mFOLFOX6 方案治疗转移性结直肠癌的疗效及安全性[J]. 癌症进展,2023,21(24):2703-2706. DOI:10.11877/j.issn.1672-1535.2023.21.24.09.
- [8] 雷雨,于娇,何莉,等. 沙利度胺联合 XELOX 方案治疗转移性结肠癌的预后效果及影响因素[J]. 解放军医药杂志,2018,30(10):23-26. DOI:10.3969/j.issn.2095-140X.2018.10.006.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中国结直肠癌诊疗规范(2020年版)[J]. 中华外科杂志,2020,58(8):561-585. DOI:10.3760/cma.j.cn112139-20200518-00390.
- [10] 李康,董龙科. 西妥昔单抗联合 mFOLFOX6 化疗方案治疗转移性结直肠癌的临床效果[J]. 临床医学研究与实践,2023,8(9):9-12. DOI:10.19347/j.cnki.2096-1413.202309003.
- [11] 陈晓莉,杜书章,张瑞,等. 贝伐珠单抗联合 XELOX、FOLFOX6 方案治疗转移性结直肠癌的疗效对比及其对患者肝肾功能的影响[J]. 中国合理用药探索,2021,18(3):45-49.
- [12] 李毅斌,曹漫明,胡喜钢,等. 射频消融术联合肝动脉化疗栓塞及西妥昔单抗治疗结直肠癌肝转移的疗效评价[J]. 介入放射学杂志,2016,25(2):129-133. DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2016.02.009.
- [13] Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: A review [J]. JAMA, 2021, 325(7): 669-685. DOI: 10.1001/jama.2021.0106.
- [14] 夏金,王雁军,原园,等. 腹腔镜下结直肠癌肝转移同期切除术的疗效及对患者免疫功能的影响[J]. 癌症进展,2021,19(18):1917-1920. DOI:10.11877/j.issn.1672-1535.2021.19.18.22.
- [15] 燕国丽,胡作为,王珊. 二联化疗方案辅助应用对结直肠癌肝转移患者生存时间及不良反应的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2018,27(36):4065-4067,4074. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2018.36.021.
- [16] 韩磊,武雪亮,郭飞,等. 微波消融在潜在可切除的结直肠癌伴同时性多发肝转移中的临床应用[J]. 中国医学科学院学报,2024,46(2):161-168. DOI:10.3881/j.issn.1000-503X.15900.
- [17] 朴龙镇,金兰,李滕,等. DC-CIK 联合化疗对结直肠癌根治术后肝转移患者疗效及对 TRF1 和 TRF2 表达的影响[J]. 疑难病杂志,2021,20(5):446-449,455. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.003.
- [18] 张洋,杨帆,王景景. 沙利度胺联合 XELOX 方案化疗治疗转移性结直肠癌的疗效及对生存率的影响[J]. 癌症进展,2022,20(7):727-730. DOI:10.11877/j.issn.1672-1535.2022.20.07.21.
- [19] 邱国钦,陈玉强,许英艺,等. FOLFOX6/FOLFIRI 优化给药全身化疗联合 TACE 治疗结直肠癌肝转移[J]. 实用肿瘤杂志,2023,38(4):371-376. DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2023.059.
- [20] 张兰会,刘瑜,黄汝芹,等. 沙利度胺联合健脾养阴活血方治疗晚期结直肠癌合并重度营养不良疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2020,29(21):2285-2288. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2020.21.002.
- [21] 魏哲威,何裕隆,余捷,等. 结直肠癌肝转移术后 mFOLFOX6 方案与 XELOX 方案辅助化疗的疗效观察[J/OL]. 消化肿瘤杂志:电子版,2018,10(3):153-156. DOI:10.3969/j.issn.1674-7402.2018.03.007.
- [22] 马骏,张玉英,陈树军,等. 奥沙利铂不同给药方案联合卡培他滨对结直肠癌肝转移患者的疗效及生存率的影响[J]. 中国医药,2020,15(4):593-596. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.04.027.
- [23] 江经斌. 结直肠癌肿瘤标志物的临床应用研究进展[J]. 疑难病杂志,2020,19(8):860-864. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.08.025.
- [24] 郑璐,许权,陆妙珍,等. 贝伐单抗联合 FOLFOX-6 化疗治疗晚期转移性结直肠癌的临床应用[J]. 现代实用医学,2019,31(4):478-480. DOI:10.3969/j.issn.1671-0800.2019.04.023.

(收稿日期:2024-07-17)

(上接 1307 页)

- [22] Li W, Chen F, Gao H, et al. Cytokine concentration in peripheral blood of patients with colorectal cancer[J]. Front Immunol, 2023, 14(1):1175513-1175525. DOI:10.3389/fimmu.2023.1175513.
- [23] Rege SV, Teichert A, Masumi J, et al. CCR3 plays a role in murine age-related cognitive changes and T-cell infiltration into the brain [J]. Commun Biol, 2023, 6(1):292-302. DOI:10.1038/s42003-023-04665-w.
- [24] Guérard A, Laurent V, Fromont G, et al. The chemokine receptor CCR3 is potentially involved in the homing of prostate cancer cells to bone: Implication of bone-marrow adipocytes [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4):1994-2005. DOI:10.3390/ijms22041994.
- [25] Qi S, Perrino S, Miao X, et al. The chemokine CCL7 regulates invadopodia maturation and MMP-9 mediated collagen degradation in liver-metastatic carcinoma cells[J]. Cancer Lett, 2020, 483(1):98-113. DOI:10.1016/j.canlet.2020.03.018.
- [26] Tateyama N, Asano T, Tanaka T, et al. Epitope mapping of anti-mouse CCR3 monoclonal antibodies (C3Mab-6 and C3Mab-7) [J]. Monoclon Antib Immunodiagn Immunother, 2023, 42(2):68-72. DOI:10.1089/mab.2022.0034.
- [27] 孙剑,高杨,康荣基,等. LINC00261 和 miR-31 在结直肠癌组织中的表达及与临床病理特征的相关性[J]. 临床误诊误治, 2021, 34(11):44-48. DOI:10.3969/j.issn.1002-3429.2021.11.011.

(收稿日期:2024-07-18)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.007

心血管疾病专题

血清 SDC-1、THBS-1 水平与急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的相关性

李相权, 于宗良, 张梦遥, 王俊锋, 陈杰, 王腾, 张梓桑



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81700737)

作者单位: 215300 江苏昆山, 江苏省昆山市第一人民医院心血管内科

通信作者: 于宗良, E-mail: zongliang-yu@163.com

【摘要】目的 探究血清多配体蛋白聚糖-1(SDC-1)、血小板反应蛋白 1(THBS-1)水平与急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后无复流发生的相关性。**方法** 纳入 2020 年 1 月—2023 年 12 月江苏省昆山市第一人民医院心血管内科诊治急性 STEMI 患者 394 例为病例组,根据 PCI 术后血液是否复流分为复流亚组($n=308$)和无复流亚组($n=86$),另纳入体检健康人群 402 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 SDC-1、THBS-1 表达水平;采用 Pearson/Spearman 法分析血清 SDC-1、THBS-1 表达与发生无复流患者临床资料的相关性;Logistic 回归分析 PCI 术后无复流发生的影响因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 SDC-1、THBS-1 水平预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的价值。**结果** 与健康对照组比较,病例组血清 SDC-1、THBS-1 水平升高($t/P=170.052/<0.001$ 、 $62.118/<0.001$)。与复流亚组比较,无复流亚组患者冠状动脉病变长、冠状动脉病变支数多($t/\chi^2/P=9.035/<0.001$ 、 $11.443/0.001$),无复流亚组血清 SDC-1、THBS-1 水平均升高($t/P=8.885/<0.001$ 、 $8.754/<0.001$);急性 STEMI 经 PCI 术后无复流患者血清 SDC-1、THBS-1 与冠状动脉病变长度、冠状动脉多支病变均呈正相关(SDC-1: $r/r_s/P=0.412/<0.001$ 、 $0.539/<0.001$;THBS-1: $r/r_s/P=0.457/<0.001$ 、 $0.582/<0.001$);急性 STEMI 患者冠状动脉病变长、冠状动脉多支病变及血清 SDC-1 高、THBS-1 高均为 PCI 术后无复流发生的危险因素[$OR(95\%CI)=3.363(1.450\sim 7.794)$ 、 $3.625(1.783\sim 7.370)$ 、 $4.391(2.722\sim 7.084)$ 、 $5.146(3.695\sim 7.167)$], P 均 <0.001];血清 SDC-1、THBS-1 及二者联合预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的 AUC 分别为 0.812、0.770、0.882,二者联合优于各自单独预测效能($Z/P=2.046/0.041$ 、 $3.274/0.001$)。**结论** PCI 术后发生无复流的急性 STEMI 患者血清 SDC-1、THBS-1 水平均升高,是无复流发生的危险因素,二者联合具有较高的预测价值。

【关键词】 急性 ST 段抬高型心肌梗死;经皮冠状动脉介入治疗;无复流;多配体蛋白聚糖-1;血小板反应蛋白 1

【中图分类号】 R542.2⁺2

【文献标识码】 A

Correlation between serum SDC-1 and THBS-1 levels with no-reflow after PCI in patients with acute STEMI Li Xiangquan, Yu Zongliang, Zhang Mengyao, Wang Junfeng, Chen Jie, Wang Teng, Zhang Zisang. Department of Cardiovascular Medicine, The First People's Hospital of Kunshan, Jiangsu Province, Kunshan 215300, China

Funding program: National Natural Science Foundation of China(81700737)

Corresponding author: Yu Zongliang, E-mail: zongliang-yu@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between serum levels of syndecan-1 (SDC-1) and thrombospondin-1 (THBS-1) and the no-reflow after percutaneous coronary intervention (PCI) in patients with acute ST segment elevation myocardial infarction (STEMI). **Methods** A total of 394 patients with acute STEMI diagnosed and treated in the Cardiovascular Department of the First People's Hospital of Kunshan City, Jiangsu Province from January 2020 to December 2023 were selected as the study group. They were grouped into a reflow subgroup ($n=308$) and a no-reflow subgroup ($n=86$) based on whether blood flow was restored after PCI. Additionally, 402 healthy individuals who underwent physical examination were included as the control group. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to measure the expression levels of serum SDC-1 and THBS-1 in different groups. Pearson/Spearman methods were applied to analyze the correlation between serum SDC-1 and THBS-1 expression and clinical data of patients with no-reflow. Logistic regression was applied to analyze the influencing factors of no-reflow occurrence after PCI surgery. Receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted to analyze the potential value of serum SDC-1 and THBS-1 expression in predicting no-reflow occur-

rence after PCI in acute STEMI patients. **Results** Compared with the control group, the research group showed high expression of serum SDC-1 and THBS-1 ($t/P=170.052/ <0.001, 62.118/ <0.001$). There were obvious differences in the length and number of coronary artery lesions between the no-reflow group and the reflow group ($t/\chi^2/P=9.035/ <0.001, 11.443/ <0.001$). Compared with the reflow subgroup, the expression of serum SDC-1 and THBS-1 increased in the no-reflow subgroup ($t/P=8.885/0.000, 8.754/0.000$). The expression of serum SDC-1 ($r/r_s/P=0.412/ <0.001, 0.539/ <0.001$) and THBS-1 in acute STEMI patients with no-reflow after PCI was positively correlated with the length of coronary artery lesions and multi vessel coronary artery lesions ($r/r_s/P=0.457/ <0.001, 0.582/ <0.001$). The length of coronary artery lesions, multi vessel coronary artery lesions, serum SDC-1, and THBS-1 in patients with acute STEMI were all risk factors for no-reflow after PCI [OR (95% CI) = 3.363(1.450 - 7.794), 3.625 (1.783 - 7.370), 4.391 (2.722 - 7.084), 5.146 (3.695 - 7.167)]. The area under the curve (AUC) for predicting no-reflow after PCI in acute STEMI patients based on the expression levels of serum SDC-1, THBS-1 and combined was 0.812, 0.770 and 0.882, respectively. The combined prediction efficiency of the two was better than that of each ($Z/P=2.046/0.041, 3.274/0.001$). **Conclusion** The expressions of serum SDC-1 and THBS-1 are elevated in acute STEMI patients with no-reflow after PCI, they are risk factors for the no-reflow. The combination of the two has a high predictive value for the occurrence of no-reflow.

【Key words】 Acute STEMI; Percutaneous coronary intervention; no-reflow; Syndecan-1; Thrombospondin-1

ST 段抬高型心肌梗死 (ST elevation myocardial infarction, STEMI) 由冠状动脉完全闭塞引起, 是急性冠状动脉综合征患者死亡或残疾的主要原因^[1]。经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 能够重建血管, 有效疏通闭塞的冠状动脉管腔, 改善短期和长期临床结果^[2-3]。但仍有部分 STEMI 患者 PCI 术后心外膜动脉无复流, 影响预后生存^[4]。因此有必要了解急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的相关因素, 以实现患者的及早治疗和康复。多配体蛋白聚糖-1 (syndecan-1, SDC-1) 是跨膜蛋白聚糖家族的成员, 血小板反应蛋白 1 (thrombospondin-1, THBS-1) 是一种大型基质细胞糖蛋白, 有研究报道了二者在冠状动脉疾病、STEMI 患者中的高表达^[5-7]。但是较少研究关注二者与患者预后的相关性, 故进行本研究, 以开发 PCI 术后心肌无复流评估指标, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2020 年 1 月—2023 年 12 月江苏省昆山市第一人民医院心血管内科诊治急性 STEMI 患者 394 例为病例组, 男 208 例, 女 186 例, 年龄 58 ~ 73 (65.58 ± 6.73) 岁; BMI 20 ~ 27 (23.25 ± 2.68) kg/m²; 病程 3 ~ 9 (5.89 ± 2.41) h; 心肌梗死家族史 22 例; 吸烟史 101 例, 饮酒史 116 例; 糖尿病史 129 例, 高血压史 122 例, 动脉粥样硬化史 331 例; 入院时 TIMI 分级 ≥ 2 级 12 例, < 2 级 382 例; 冠状动脉病变血管长度 17.04 ~ 20.72 (22.35 ± 4.69) mm; 冠状动脉单支病变 210 例, 多支病变 184 例。另纳入体检健康人群 402 例为健康对照组, 男 192 例, 女 210 例, 年龄 58 ~ 72 (65.13 ± 6.49) 岁; BMI 20 ~ 26 (22.96 ± 2.24) kg/m²。

2 组性别比例、年龄、BMI 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本研究已经获得医院伦理委员会批准 (伦 2019 论第 37 号), 入选者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合急性 STEMI 相关诊断标准^[8]; ②经冠状动脉造影确诊动脉闭塞; ③接受 PCI 治疗; ④首次发病; ⑤临床资料完整。(2) 排除标准: ①合并先天性心脏病或心肌肥厚等其他心脏疾病; ②合并恶性肿瘤; ③近期发生急性或慢性感染; ④妊娠期患者; ⑤精神异常患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 SDC-1、THBS-1 表达水平测定: 患者入组当天/健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 4 ml, 离心后收集血清, 冻存于 -80℃ 冰箱待测。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清 SDC-1、THBS-1 表达水平, 各项操作按照相关试剂盒说明书进行, 在 450 nm 波长下测定相关蛋白浓度。SDC-1、THBS-1 ELISA 试剂盒分别购自上海梵态生物技术有限公司 (货号: FT-P33796R)、上海信裕生物技术有限公司 (货号: xyA611Hu)。

1.3.2 术后无复流的判定与分组: PCI 植入支架后即刻使用 Revolution 256 排 CT 复查病变冠状动脉 CT 血管成像情况, 依据心肌梗死溶栓 (thrombolytic in myocardial infarction, TIMI) 分级标准^[9]评估患者术后血液是否复流。TIMI < 2 级为无复流亚组 ($n = 86$); TIMI ≥ 2 级视为复流亚组 ($n = 308$)。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 26.0 软件统计分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 比较采用

χ^2 检验; Pearson/Spearman 法分析血清 SDC-1、THBS-1 表达与无复流发生患者临床资料的相关性; 多因素 Logistic 回归分析 PCI 术后无复流发生的影响因素; 绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 分析血清 SDC-1、THBS-1 表达对急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 SDC-1、THBS-1 表达水平比较 与健康对照组比较, 病例组血清 SDC-1、THBS-1 水平显著升高 ($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 研究组、健康对照组血清 SDC-1、THBS-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

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

组别	例数	SDC-1	THBS-1
健康对照组	402	5.86 ± 0.74	15.63 ± 1.46
病例组	394	36.38 ± 3.52	24.81 ± 2.57
t 值		170.052	62.118
P 值		<0.001	<0.001

2.2 2 亚组临床资料比较 2 亚组患者性别、年龄、BMI、病程、心肌梗死家族史、吸烟史、饮酒史、糖尿病史、高血压史、动脉粥样硬化史、入院时 TIMI 分级比例等比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与复流亚组比较, 无复流亚组患者冠状动脉病变长度较长、冠状动脉病变支数较多 ($P < 0.01$), 见表 2。

2.3 无复流亚组、复流亚组血清 SDC-1、THBS-1 水平

比较 与复流亚组比较, 无复流亚组血清 SDC-1、THBS-1 表达均升高 ($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 无复流亚组、复流亚组急性 STEMI 患者血清 SDC-1、THBS-1 表达比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab. 3 Comparison of SDC-1 and THBS-1 expression between the non reflux subgroup and reflux subgroup

组别	例数	SDC-1	THBS-1
复流亚组	308	35.57 ± 3.39	24.26 ± 2.28
无复流亚组	86	39.26 ± 3.46	26.78 ± 2.63
t 值		8.885	8.754
P 值		<0.001	<0.001

2.4 血清 SDC-1、THBS-1 水平与 PCI 术后无复流发生患者临床资料的相关性 急性 STEMI 经 PCI 术后无复流发生患者血清 SDC-1、THBS-1 水平与冠状动脉病变长度、冠状动脉多支病变均呈正相关 (SDC-1: $r/r_s/P = 0.412/ < 0.001/ 0.539/ < 0.001$; THBS-1: $r/r_s/P = 0.457/ < 0.001/ 0.582/ < 0.001$)。

2.5 Logistic 回归分析急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的影响因素 以急性 STEMI 患者 PCI 术后发生无复流为因变量 (是 = 1, 否 = 0), 以冠状动脉病变长度 (实测值)、冠状动脉多支病变支数 (多支 = 1, 单支 = 0) 及血清 SDC-1、THBS-1 (均为实测值) 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示: 急性 STEMI 患者冠状动脉病变长、冠状动脉多支病变、SDC-1 高、THBS-1 高均为 PCI 术后无复流发生的危险因素 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 2 无复流亚组、复流亚组急性 STEMI 患者临床资料比较

Tab. 2 Comparison of clinical data of acute STEMI patients between non reflux subgroup and reflux subgroup

项目		复流亚组 (n = 308)	无复流亚组 (n = 86)	t/χ^2 值	P 值
性别 [例 (%)]	男	161 (52.27)	47 (54.65)	0.153	0.696
	女	147 (47.73)	39 (45.35)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)		65.82 ± 6.64	64.74 ± 6.15	1.355	0.176
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)		23.15 ± 2.38	23.63 ± 2.54	1.629	0.104
病程 ($\bar{x} \pm s$, h)		6.13 ± 2.23	5.82 ± 2.16	1.148	0.252
心肌梗死家族史 [例 (%)]		15 (4.87)	7 (8.14)	1.363	0.243
吸烟史 [例 (%)]		76 (24.68)	25 (29.07)	0.681	0.409
饮酒史 [例 (%)]		85 (27.60)	31 (36.05)	2.310	0.129
糖尿病史 [例 (%)]		94 (30.52)	35 (40.70)	3.163	0.075
高血压史 [例 (%)]		90 (29.22)	32 (37.21)	2.007	0.157
动脉粥样硬化史 [例 (%)]		262 (85.06)	69 (80.23)	1.169	0.280
入院时 TIMI 分级 [例 (%)]	<2 级	298 (96.75)	84 (97.67)	0.193	0.660
	≥2 级	10 (3.25)	2 (2.33)		
冠状动脉病变长度 ($\bar{x} \pm s$, mm)		21.28 ± 4.24	26.17 ± 4.55	9.305	<0.001
冠状动脉病变支数 [例 (%)]	单支	178 (57.79)	32 (37.21)	11.443	0.001
	多支	130 (42.21)	54 (62.79)		

表 4 Logistic 回归分析急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的影响因素

Tab. 4 Logistic regression analysis of factors influencing no reflux after PCI in acute STEMI patients

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
冠状动脉病变长	1.213	0.429	7.989	0.005	3.362	1.450 ~ 7.794
冠状动脉多支病变	1.288	0.362	12.657	<0.001	3.625	1.783 ~ 7.370
SDC-1 高	1.480	0.244	36.769	<0.001	4.391	2.722 ~ 7.084
THBS-1 高	1.638	0.169	93.966	<0.001	5.146	3.695 ~ 7.167

2.6 血清 SDC-1、THBS-1 水平预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的价值分析 绘制血清 SDC-1、THBS-1 水平预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 SDC-1、THBS-1 及二者联合预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的 AUC 分别为 0.812、0.770、0.882,二者联合优于各自单独预测效能($Z/P = 2.046/0.041$ 、 $3.274/0.001$),见表 5、图 1。

表 5 血清 SDC-1、THBS-1 表达预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的价值比较

Tab. 5 Comparison of the value of serum SDC-1 and THBS-1 expression in predicting no reflux after PCI in acute STEMI patients

变量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
SDC-1	37.377 μg/L	0.812	0.759 ~ 0.866	0.791	0.718	0.509
THBS-1	24.287 μg/L	0.770	0.718 ~ 0.822	0.930	0.497	0.427
二者联合		0.882	0.841 ~ 0.922	0.779	0.860	0.639

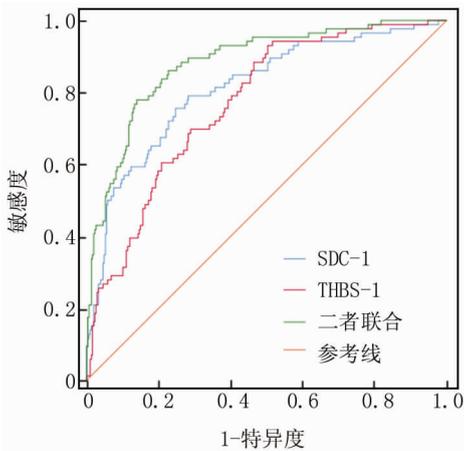


图 1 血清 SDC-1、THBS-1 水平预测 PCI 术后无复流发生的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve for predicting no reflux after PCI based on serum SDC-1 and THBS-1 levels

3 讨论

急性 STEMI 患者在疼痛发作后应尽快恢复闭塞

梗死动脉的血流量,以减少梗死面积并改善临床结果,推荐的治疗方法是 PCI 对心外膜冠状动脉进行早期机械再灌注。95% 以上的 PCI 手术可成功恢复心外膜冠状动脉血流,然而,尽管造影显示心外膜冠状动脉完全通畅,但约有一半的患者冠状动脉远端微血管灌注未完全恢复^[10]。冠状动脉无复流是 STEMI 患者在再灌注治疗后发生的常见现象,具有高度动态化,并在再灌注后持续数天甚至数周,导致左心室重构、心力衰竭、生存率降低等不良事件发生^[11]。目前,预防或减轻无复流发生仍是 STEMI 治疗的努力方向。因此,探究影响急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的相关因素是十分必要的,且意义重大。

SDC-1 主要在上皮细胞中表达,调节细胞迁移、增殖、炎症反应和基质重塑等多种生理病理过程,其胞外结构域脱落的增加多与器官病变相关^[12]。Andrup 等^[13]研究发现,住院治疗 4 个月后 STEMI 患者血清 SDC-1 表达降低,SDC-1 与微血管阻塞、梗死面积增加和左心室射血分数降低有关。蒋萍影等^[14]发现,川崎病患儿血清高水平 SDC-1 是合并发生冠状动脉病变的危险因素。Vahldieck 等^[15]认为,STEMI 患者血清高水平 SDC-1 与内皮功能障碍、较长的住院天数相关。Parimon 等^[16]研究发现,特发性肺纤维化患者和小鼠模型肺上皮组织中 SDC-1 呈高表达,SDC-1 通过调控多种 miRNA (miR-144-3p、miR-142-3p、miR-34b-5p、miR-503-5p) 表达促进 TGF-β、Wnt/β-catenin、Notch、hedgehog、MUC5B 等多种促纤维化信号途径诱导上皮可塑性的纤维化过程,导致肺纤维化进程。Guo 等^[17]发现,肾缺血再灌注损伤诱导 SDC-1 脱落,并伴有肾小管上皮细胞极性丧失和凋亡增加,抑制 SDC-1 的脱落通过抑制 STAT3 的激活来促进 E-cadherin 表达,缓解细胞黏附连接的损伤,对肾脏具有一定的保护作用。本研究中,与健康对照比较,急性 STEMI 患者血清 SDC-1 水平升高,提示血清 SDC-1 与急性 STEMI 有关,推测 SDC-1 高水平可能通过引起心脏血管堵塞、内皮功能障碍等诱发急性 STEMI^[13-15]。PCI 术后无复流发生患者血清 SDC-1 水平显著高于复流患者,提示血清 SDC-1 可能参与术后无复流发生,且无复流患者、复流患者在冠状动脉病变长度、冠状动脉病变支数上具有显著差异,SDC-1 水平与冠状动脉病变长度、冠状动脉多支病变呈正相关,为 PCI 术后无复流发生的危险因素,提示血清 SDC-1 通过影响冠状动脉病变长度、冠状动脉多支病变参与术后无复流发生,推测 SDC-1 可能一方面通过调控相关信号通路诱导动脉纤维化水平,影响病变冠状动脉,不利于 PCI 术

后血路重建,另一方面通过加剧内皮细胞损伤影响病变动脉的治疗恢复,进而造成术后无复流^[16-17]。

THBS-1 是一种常见的分泌糖蛋白,属于血小板反应蛋白家族,通过与各种配体相互作用参与胞外基质成分的降解和重塑、细胞迁移、功能障碍和凋亡,与许多心血管疾病的病理过程相关^[18]。姚卓亚等^[19]发现血清 THBS-1 高表达急性冠脉综合征患者的预后不良发生率高于低表达患者。占敏等^[20]发现,敲除 THBS-1 影响慢性心力衰竭小鼠的氨基酸代谢,减轻心脏组织损伤程度。肾衰竭与心脏纤维化有关,Zhou 等^[21]表示,下调 THBS-1 表达通过抑制肾衰竭大鼠心脏成纤维细胞 TGF- β 激活,减少心脏纤维化,改善心功能,提高了大鼠生存率。Xu 等^[22]总结了高血糖与 THBS-1 的相关性,指出糖尿病患者中 THBS-1 呈高表达,其通过激活 TGF- β_1 介导 Smad 磷酸化和 MAPK 途径启动细胞纤维化信号,诱导糖尿病患者心脏、肝脏、肾脏、视网膜等多种器官和组织发生纤维化。Kelm 等^[23]发现,缺血再灌注损伤大鼠心脏组织中 THBS-1 表达水平升高,敲除 THBS-1 减轻了老年大鼠心肌细胞损伤,改善了心脏舒张和收缩功能。本研究中,急性 STEMI 患者血清 THBS-1 水平高于健康对照组,提示 THBS-1 高水平促进急性 STEMI 疾病的发生。PCI 术后无复流患者血清 THBS-1 水平与冠状动脉病变长度、冠状动脉多支病变均呈正相关,提示 THBS-1 与急性 STEMI 冠状动脉病变程度相关,推测 THBS-1 可能通过调控下游信号通路促进心脏纤维化进程,加快血管增厚,降低血流流速扩大缺血范围,加重心肌损伤^[21-22]。与复流患者比较,PCI 术后无复流患者血清 THBS-1 水平升高,为 PCI 术后无复流发生的危险因素,提示 THBS-1 与术后无复流发生相关,推测 THBS-1 可能通过与下游配体结合促进动脉血管纤维化进展,诱导氧化应激持续损伤心肌细胞,进而引发血管严重损伤,导致 PCI 术后无复流发生^[21-23]。

此外,本研究发现,血清 SDC-1、THBS-1 水平预测急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的 AUC 分别为 0.812、0.770,二者联合预测的 AUC 为 0.882,显著大于 SDC-1、THBS-1 单独预测,提示 SDC-1、THBS-1 联合对急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流具有较高的预测价值,后续将进行进一步的验证。

综上所述,急性 STEMI 患者血清 SDC-1、THBS-1 水平增加,与 PCI 术后无复流发生有关,是无复流发生的危险因素,二者联合具有较高的无复流发生预测价值。这些发现证实血清 SDC-1、THBS-1 与急性 STEMI 患者 PCI 术后无复流发生的相关性,提供了二者未来

临床应用于预测无复流发生的基础参考,有利于及早预防和治疗无复流发生,提高患者生存状况。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李相权、于宗良:设计课题和研究方案,实施研究过程,论文撰写;张梦遥、王俊锋:提出研究思路,进行统计学分析,论文审核;陈杰、王腾、张梓桑:实施研究过程,资料搜集整理,分析试验数据,论文修改

参考文献

- [1] Bhatt DL, Lopes RD, Harrington RA. Diagnosis and treatment of acute coronary syndromes: A review [J]. *JAMA*, 2022, 327 (7): 662-675. DOI: 10.1001/jama.2022.6185.
- [2] Hoole SP, Bambrough P. Recent advances in percutaneous coronary intervention [J]. *Heart*, 2020, 106 (18): 1380-1386. DOI: 10.1136/heartjnl-2019-315707.
- [3] Bouisset F, Gerbaud E, Bataille V, et al. Percutaneous myocardial revascularization in late-presenting patients with STEMI [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 78 (13): 1291-1305. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.07.039.
- [4] Zachura M, Sadowski M, Kurzawski J, et al. Heterogeneity of the no-reflow group after primary percutaneous coronary intervention due to ST-segment elevation myocardial infarction - are there sex differences? [J]. *Cardiovasc Revasc Med*, 2022, 37 (1): 97-101. DOI: 10.1016/j.carrev.2021.06.014.
- [5] Wernly B, Fuernau G, Masyuk M, et al. Syndecan-1 predicts outcome in patients with ST-segment elevation infarction independent from infarct-related myocardial injury [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 18367-18373. DOI: 10.1038/s41598-019-54937-x.
- [6] 杨吉操, 王国良, 栾一. 芪参益气滴丸治疗慢性心力衰竭患者的临床疗效及其血清组织蛋白酶 S、血小板反应蛋白-1 水平的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2023, 18 (12): 2517-2522. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.231234.
- [7] Ma Z, Wang M, Xu X, et al. Thrombospondin-1 plasma levels associated with in-hospital major adverse cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome [J]. *Int J Cardiol*, 2023, 375 (1): 98-103. DOI: 10.1016/j.ijcard.2023.01.011.
- [8] 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. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 (2019) [J]. *中华心血管病杂志*, 2019, 47 (10): 766-783. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2019.10.003.
- [9] TIMI Study Group. The thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) trial phase I findings [J]. *N Engl J Med*, 1985, 312 (14): 932-936. DOI: 10.1056/NEJM19850403121437.
- [10] Konijnenberg LSF, Damman P, Duncker DJ, et al. Pathophysiology and diagnosis of coronary microvascular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116 (4): 787-805. DOI: 10.1093/cvr/cvz301.
- [11] Ndrepepa G, Kastrati A. Coronary no-reflow after primary percutaneous coronary intervention-current knowledge on pathophysiology, diagnosis, clinical impact and therapy [J]. *J Clin Med*, 2023, 12 (17): 5592-5633. DOI: 0.3390/jcm12175592. (下转 1324 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.008

心血管疾病专题

冠心病射血分数降低心力衰竭患者预后影响因素分析及预测模型构建

李雪芹, 孙振峰, 涂胜, 陈多学, 朱明利



基金项目: 安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2020A0336); 亳州市重点研发计划项目(bzzc2021050)

作者单位: 236800 安徽省亳州市人民医院心内科

通信作者: 涂胜, E-mail: tusheng77@163.com

【摘要】目的 探究合并冠心病的射血分数降低心力衰竭(HFrEF)患者预后影响因素,并构建对应的预测模型。**方法** 回顾性分析2021年1月—2023年6月安徽省亳州市人民医院心内科诊治的合并冠心病的HFrEF患者219例的临床资料,经随机数字表法按照2:1随机分为开发集146例、检验集73例。随访统计患者主要不良心血管事件(MACE)发生情况,将开发集中发生MACE、未发生MACE的患者分别纳入结局不良组($n=32$)、结局良好组($n=114$)。比较开发集、检验集及开发集结局不良组、结局良好组临床资料;采用Logistic回归模型分析合并冠心病的HFrEF患者预后影响因素,建立回归方程及预后预测模型;经受试者工作特征(ROC)曲线评估模型效能。**结果** 开发集、检验集临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结局不良组高尿酸血症、CONUT评分、UAC、SYNTAX评分、院外依从性不良构成比高于结局良好组($P<0.05$),LVEF低于结局良好组($P<0.01$)。Logistic回归模型分析显示,合并高尿酸血症、控制营养状况(CONUT)评分高、SYNTAX评分高、院外依从性不良是合并冠心病的HFrEF患者预后不良的危险因素[$OR(95\%CI)=2.561(1.272\sim5.155)$ 、 $2.309(1.292\sim4.126)$ 、 $3.048(1.360\sim6.831)$ 、 $2.179(1.323\sim3.587)$],左心室射血分数(LVEF)高是其保护因素[$OR(95\%CI)=0.532(0.353\sim0.801)$]。基于开发集Logistic回归分析构建合并冠心病的HFrEF患者预后预测模型。ROC曲线显示,预测模型预测开发集患者预后不良的曲线下面积(AUC)为0.923(95%CI 0.867~0.960),敏感度为0.938,特异度为0.860,预测模型预测检验集患者预后不良的AUC为0.904(95%CI 0.812~0.960),敏感度为0.900,特异度为0.830。**结论** 合并高尿酸血症、CONUT评分高、SYNTAX评分高、院外依从性不良是合并冠心病的HFrEF患者预后不良的危险因素,LVEF高是其保护因素,以上述因素为依据构建的预测模型在预测合并冠心病的HFrEF患者预后不良时具有良好的效能。

【关键词】 冠心病;射血分数降低心力衰竭;预后;预测模型**【中图分类号】** R541.6⁺1**【文献标识码】** A

Analysis of prognostic factors and construction of predictive model in patients with heart failure complicated with coronary heart disease Li Xueqin, Sun Zhenfeng, Tu Sheng, Chen Duoxue, Zhu Mingli. Department of Cardiology, Bozhou People's Hospital, Anhui Province, Bozhou 236800, China

Funding program: Key Project of Natural Science Research in Anhui Universities (KJ2020A0336); Key R&D Program Project of Bozhou City (bzzc2021050)

Corresponding author: Tu Sheng, E-mail: tusheng77@163.com

【Abstract】 Objective To explore the prognostic factors of heart failure patients with reduced ejection fraction (HFrEF) complicated by coronary heart disease and to construct a corresponding prediction model. **Methods** The clinical data of 219 patients with HFrEF complicated with CHD admitted to hospital from January 2021 to June 2023 were retrospectively analyzed, and randomly divided into development set (146 cases) and test set (73 cases) according to 2:1 by computer generated random number method. The occurrence of major adverse cardiovascular events (MACE) was analyzed during follow-up. Patients with MACE and no MACE were included in the adverse outcome group and the good outcome group respectively. Compare the clinical data of development set and test set. The clinical data of poor outcome group and good outcome group were compared and developed. Logistic regression model was used to analyze the prognostic factors of HFrEF patients with CHD, and the regression equation and prognosis prediction model were established. The effectiveness of the model was evaluated by receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** There was no significant difference

in clinical data between the development set and the test set ($P > 0.05$). Logistic regression model analysis showed that hyperuricemia, high CONUT score, high SYNTAX score, and poor out-of-hospital compliance were risk factors for poor prognosis in HFrEF patients with CHD ($P < 0.05$), and left ventricular ejection fraction (LVEF) was a protective factor ($P < 0.05$). A prognostic model for HFrEF patients with coronary heart disease was established based on the developed set Logistic regression analysis structure. ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of the predictive model for predicting poor prognosis in the development set was 0.923 (95% CI 0.867 ~ 0.960), the sensitivity was 0.938, and the specificity was 0.860. The predictive model predicted poor outcomes in the test set with an AUC of 0.904 (95% CI 0.812 ~ 0.960), sensitivity of 0.900, and specificity of 0.830. **Conclusion** Hyperuricemia, high CONUT score, high SYNTAX score, and poor out-of-hospital compliance are risk factors for poor prognosis in HFrEF patients with CHD, and LVEF is a protective factor. The prediction model built based on the above factors has good efficacy in predicting poor prognosis in HFrEF patients with CHD.

【Key words】 Coronary heart disease; Heart failure patients with reduced ejection fraction; Prognosis; Prediction model

随着全球老龄化的加剧及生活方式的改变,心力衰竭(heart failure, HF)发病率逐年上升,已成为全球范围内的公共卫生问题,特别是在发展中国家,由于医疗资源不足和健康意识缺乏,HF的防治形势尤为严峻^[1]。根据左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)不同可将HF分为射血分数降低心力衰竭(heart failure with reduced ejection fraction, HFrEF)和射血分数保留心力衰竭(heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF),其中HFrEF是HF的主要形式,症状较HFpEF更为严重。HFrEF常伴有多种合并症,而冠心病是最常见且最危险的合并症之一,二者合并存在可进一步损伤患者的心脏功能,增加心源性休克、心律失常等发生风险^[2]。目前针对合并冠心病的HFrEF的治疗主要包括药物治疗、介入治疗、心脏手术等,虽可减轻患者症状,但并不能完全阻止疾病进展,患者仍面临一定的预后不良风险^[3]。目前评估合并冠心病的HFrEF患者预后的指标主要包括心功能分级、心力衰竭严重程度评分、LVEF、血清标志物及心脏影像学检查等,但通常仅依赖单一的指标或参数,难以全面反映患者的病情,存在缺乏个体化、动态监测不足、预测准确性不足等问题^[4-5]。列线图模型作为一种可视化的预测工具,能够整合多种预后相关因素,为临床医生提供直观的预测结果^[6]。本研究旨在通过收集和分析合并冠心病的HFrEF患者的临床数据,构建一个列线图预后预测模型并验证其效能,以期临床提供一种新的预后评估工具,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析2021年1月—2023年6月亳州市人民医院心内科诊治的合并冠心病的HFrEF患者219例的临床资料,经随机数字表法按照2:1随机分为开发集146例、检验集73例。纳入标准:(1)年龄>18岁;(2)符合冠心病及HF诊断标准^[7],经心

脏超声检查LVEF $\leq 40\%$,确诊为HFrEF;(3)具有完整的病历资料,包括病史、体格检查、实验室检查、心脏超声、心电图等。排除标准:(1)合并除HFrEF和冠心病之外的其他严重心脏疾病,如瓣膜性心脏病、先天性心脏病;(2)严重肝肾功能障碍、恶性肿瘤、感染性疾病等;(3)心脏手术治疗或介入治疗史;(4)存在精神疾病或认知功能障碍,无法配合研究。本研究经医院伦理委员会批准(亳医伦审2020第250号),患者或家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 观察指标与方法

1.2.1 临床资料收集:2组患者入组后收集相关临床资料,包括性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、吸烟、饮酒、合并症(糖尿病、高血压、高尿酸血症、高脂血症、脑血管病)、院外依从性等。

1.2.2 血生化指标检测:患者入组后,采集空腹肘静脉血5 ml,离心后分离血清。采用酶联免疫吸附试验检测N末端脑钠肽前体(NT-proBNP),在SPARK酶标仪(瑞士帝肯公司)上完成。

1.2.3 心功能检查:应用VIVID E95型彩色多普勒超声诊断仪(美国GE公司)进行检查,包括左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic volume diameter, LVESD)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic volume diameter, LVEDD)、LVEF。采用心电图检查判断心律失常,并应用美国纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)方法进行心功能分级。

1.2.4 计算机断层动脉造影检测:用Healthcare CT扫描仪(美国GE公司)进行检测,包括病变血管数量、SYNTAX评分(根据血管区段、病变严重程度、分叉病变、三血管病变等进行评分,0~22分、23~32分、 ≥ 33 分分别为轻度、中度、重度病变)。

1.2.5 控制营养状况评分(controlling nutritional status, CONUT):通过血清白蛋白、总胆固醇和总淋巴细胞

计数等 3 个指标评估,0~1 分、2~4 分、5~12 分分别为无营养不良风险、低营养不良风险、中高营养不良风险。

1.3 随访统计预后情况 随访截至 2024 年 1 月,随访终点为出现主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular event, MACE)或截止随访日期。MACE 包括心肌梗死、心源性死亡、再次血运重建、心力衰竭再住院、缺血性卒中或死亡,由 2 位临床专家确认,如有分歧,请第 3 位临床专家仲裁。开发集中发生 MACE、未发生 MACE 的患者分别纳入结局不良组、结局良好组。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。经 K-S 检验符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合正态分布以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较分别用独立样本 t 检验、Mann-Whitney U 检验;计数资料以频数或率(%)表示,采用 χ^2 检验;用 Logistic 回归模型分析合并冠心病的 HF_rEF 患者预后影响因素,建立回归方程;经 RMS 程序包建立合并冠心病的 HF_rEF 患者预后的列线图模型;经受试者工作特征(ROC)曲线、Calibration 曲线评估模型效能及校准能力。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 开发集、检验集临床资料比较 开发集、检验集

合并冠心病的 HF_rEF 患者临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表 1。

2.2 开发集结局不良组、结局良好组临床资料比较 随访时间 6~36 个月,中位随访时间 18(6,23)个月。开发集发生 MACE 32 例(21.92%)。结局不良组高尿酸血症、CONUT 评分、UAC、SYNTAX 评分、院外依从性不良构成比高于结局良好组($P < 0.05$),LVEF 低于结局良好组($P < 0.05$),见表 2。

2.3 合并冠心病的 HF_rEF 患者预后影响因素的多因素 Logistic 分析 以预后不良(否=0,是=1)为因变量,高尿酸血症(否=0,是=1)、LVEF(连续变量)、CONUT 评分(连续变量)、UAC(连续变量)、SYNTAX 评分(连续变量)、院外依从性不良(否=0,是=1)为自变量进行 Logistic 回归分析。方差膨胀因子(variance inflation factor, VIF)值 > 10 时排除共线性变量,高尿酸血症与 UAC 具有共线性,排除 UAC,保留高尿酸血症。结果显示,合并高尿酸血症、CONUT 评分高、SYNTAX 评分高、院外依从性不良是合并冠心病的 HF_rEF 患者预后不良的危险因素,LVEF 高是其保护因素($P < 0.05$),见表 3。

表 1 开发集、检验集合并冠心病的 HF_rEF 患者临床资料比较

Tab.1 Comparison of clinical data of HF_rEF patients with coronary heart disease in the development set and test set

项 目		检验集($n=73$)	开发集($n=146$)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别[例(%)]	男	32(43.84)	70(47.95)	0.330	0.565
	女	41(56.16)	76(52.05)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		62.14 \pm 9.17	61.03 \pm 8.95	0.858	0.392
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)		23.08 \pm 2.38	23.36 \pm 2.59	0.774	0.440
吸烟史[例(%)]		51(69.86)	94(63.38)	2.444	0.295
饮酒史[例(%)]		53(72.60)	101(69.18)	3.888	0.143
合并基础疾病[例(%)]	糖尿病	23(31.51)	39(26.71)	0.551	0.458
	高血压	13(17.81)	31(21.23)	0.356	0.551
	高尿酸血症	7(9.59)	18(12.33)	0.361	0.548
	高脂血症	25(34.25)	42(28.77)	0.688	0.407
	脑血管病	4(5.48)	10(6.85)	0.153	0.696
CONUT 评分[$M(Q_1, Q_3)$,分]		4(3,6)	4(3,6)	0.161	0.681
NT-proBNP($\bar{x} \pm s$,ng/L)		2 357.28 \pm 410.01	2 260.79 \pm 319.68	1.911	0.057
病变血管数量[例(%)]	1 支	20(27.40)	37(25.34)	0.742	0.863
	2 支	19(26.03)	46(31.51)		
	3 支	26(35.62)	47(32.19)		
	左主干病变	8(10.96)	16(10.96)		
SYNTAX 评分($\bar{x} \pm s$,分)		22.54 \pm 6.68	21.83 \pm 6.17	0.781	0.436
NYHA 分级[例(%)]	Ⅱ级	21(28.77)	53(36.30)	2.682	0.262
	Ⅲ级	38(52.05)	59(40.41)		
	Ⅳ级	14(19.18)	34(23.29)		
LVEF($\bar{x} \pm s$,%)		35.98 \pm 3.62	36.75 \pm 3.47	1.526	0.129
院外依从性[例(%)]	良好	60(82.19)	124(84.93)	0.272	0.602
	不良	13(17.81)	22(15.07)		

表 2 开发集结局不良组、结局良好组合并冠心病的 HFrEF 患者临床资料比较

Tab. 2 Clinical data comparison of HFrEF patients with poor and good outcome combinations and coronary heart disease in the development set

项目		结局良好组(n=114)	结局不良组(n=32)	$\chi^2/\text{t}/Z$ 值	P 值
性别[例(%)]	男	51(44.74)	19(59.38)	2.145	0.143
	女	63(55.26)	13(40.63)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		60.32 \pm 9.12	63.57 \pm 8.49	1.807	0.073
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)		23.21 \pm 2.45	23.89 \pm 2.87	1.335	0.184
吸烟史[例(%)]		78(68.42)	16(50.00)	4.048	0.132
饮酒史[例(%)]		82(71.93)	19(59.37)	2.692	0.260
合并基础疾病[例(%)]	糖尿病	28(24.56)	11(34.38)	1.229	0.268
	高血压	21(18.42)	11(34.38)	3.716	0.054
	高尿酸血症	10(8.77)	8(25.00)	6.088	0.014
	高脂血症	29(25.44)	13(40.63)	2.812	0.094
	脑血管病	6(5.26)	4(12.50)	2.051	0.152
CONUT 评分[M(Q ₁ , Q ₃), 分]		4(4, 6)	6(4, 8)	4.179	<0.001
NT-proBNP($\bar{x} \pm s$, ng/L)		2 233.37 \pm 436.59	2 358.49 \pm 330.17	1.503	0.135
病变血管数量[例(%)]	1 支	29(25.44)	8(25.00)	2.203	0.531
	2 支	39(34.21)	7(21.88)		
	3 支	34(29.82)	13(40.63)		
	左主干病变	12(10.53)	4(12.50)		
SYNTAX 评分($\bar{x} \pm s$, 分)		20.91 \pm 6.31	25.09 \pm 5.76	3.372	0.001
NYHA 心功能分级[例(%)]	II 级	43(37.72)	10(31.25)	0.453	0.797
	III 级	45(39.47)	14(43.75)		
	IV 级	26(22.81)	8(25.00)		
LVEF($\bar{x} \pm s$, %)		37.36 \pm 2.70	34.59 \pm 4.32	4.437	<0.001
院外依从性[例(%)]	良好	101(88.60)	23(71.88)	5.459	0.019
	不良	13(11.40)	9(28.13)		

表 3 合并冠心病的 HFrEF 患者预后影响因素的多因素 Logistic 分析

Tab. 3 Multivariate Logistic analysis of prognostic factors in HFrEF patients with concomitant coronary heart disease

项目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常数项	-20.203	5.767	12.271	<0.001	0.000	
合并高尿酸血症	0.940	0.357	6.937	0.008	2.561	1.272 ~ 5.155
CONUT 评分高	0.837	0.296	7.984	0.005	2.309	1.292 ~ 4.126
SYNTAX 评分高	1.114	0.412	7.323	0.007	3.048	1.360 ~ 6.831
LVEF 高	-0.631	0.209	9.115	0.007	0.532	0.353 ~ 0.801
院外依从性不良	0.779	0.254	9.375	0.002	2.179	1.323 ~ 3.587

2.4 建立合并冠心病的 HFrEF 患者预后预测模型

纳入 Logistic 回归模型中相关因素建立 Logistic 回归方程: $Y = 0.940X_1$ (高尿酸血症) + $0.837X_2$ (CONUT 评分) + $1.114X_3$ (SYNTAX 评分) - $0.631X_4$ (LVEF) + $0.779X_5$ (院外依从性不良)。将上述因素作为预后预测模型的变量, 对各变量对应的数值进行评分, 所有变量分数相加获取总分及合并冠心病的 HFrEF 患者预后不良的风险, 见图 1。

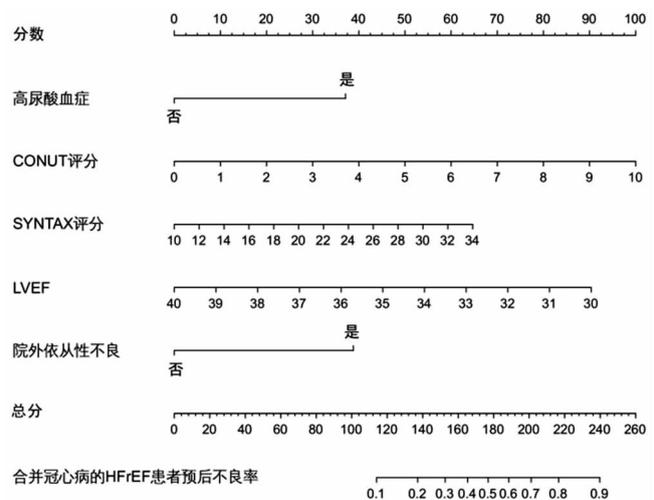


图 1 合并冠心病的 HFrEF 患者预后预测模型

Fig. 1 Prognostic prediction model for HFrEF patients with concomitant coronary heart disease

2.5 合并冠心病的 HFrEF 患者预后预测模型效能的验证 ROC 曲线显示, 预测模型预测开发集患者预后

不良的曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 0.923 (95% CI 0.867 ~ 0.960), 敏感度为 0.938, 特异度为 0.860。预测模型预测检验集患者预后不良的 AUC 为 0.904 (95% CI 0.812 ~ 0.960), 敏感度为 0.900, 特异度为 0.830, 见图 2。

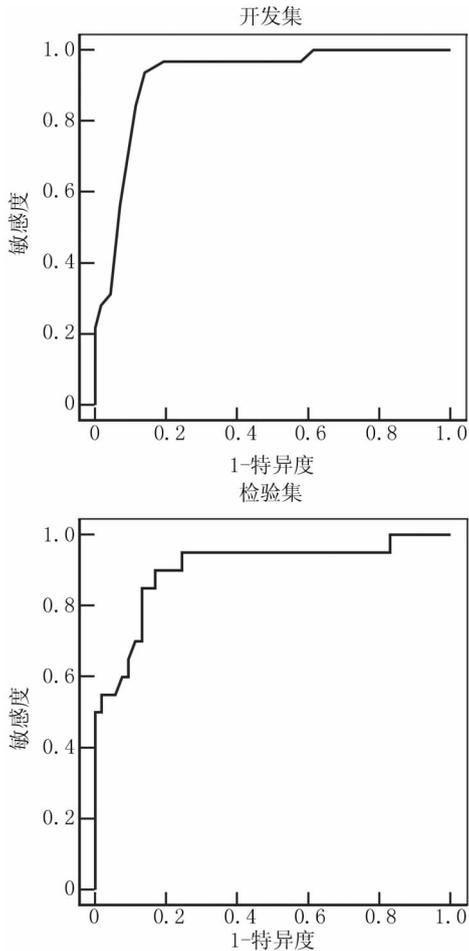


图 2 预测模型预测开发集、检验集患者预后不良的 ROC 曲线
Fig. 2 ROC curves of the prediction model for predicting poor prognosis in the development and test sets of patients

3 讨论

HFrEF 是 HF 的一种严重形式, 当 HF 与冠状动脉疾病合并存在时, 其治疗更为复杂, 通常预示着更高的再住院率和病死率^[8]。合并冠心病的 HFrEF 危险因素众多, 包括性别、年龄、高血压、糖尿病、高血脂、吸烟、肥胖、遗传因素等, 其发病机制涉及心脏的神经体液调节失衡、心肌细胞凋亡、心脏纤维化、心脏重塑等多个方面, 两者相互影响, HFrEF 可能加剧冠心病的病程, 而冠心病又进一步损害心脏功能^[9-10]。合并冠心病的 HFrEF 患者预后复杂, 受疾病严重程度、合并症、治疗反应、生活方式等多种因素的影响, 现有的预后评

估工具多依赖于有限的临床参数, 难以全面反映患者的预后风险, 加之 HFrEF 的病情波动性大, 患者的症状和体征可能在短时间内发生显著变化, 进一步增加预后评估难度^[11-13]。因此, 构建一个更为精确和实用的预后评估工具, 对于优化治疗方案, 改善患者管理, 提高治疗效果等大有裨益。

本研究经 Logistic 回归模型分析显示, 高尿酸血症、CONUT 评分、SYNTAX 评分、院外依从性不良是合并冠心病的 HFrEF 患者预后不良的危险因素, 高 LVEF 是其保护因素, 与既往研究结论相似^[14-16]。高尿酸血症与炎症反应和氧化应激有关, 可引起心肌细胞损伤, 加速动脉粥样硬化和心肌重塑, 从而加重心血管疾病严重程度; 高尿酸血症可导致内皮细胞功能障碍, 影响血管舒张功能, 加剧患者心肌缺血, 并引起血管壁增厚、血管内皮细胞增殖、血小板聚集增加等, 从而促进 HFrEF 进展; 高尿酸血症常与肾功能受损相关, 肾功能不全可导致水钠潴留和血管紧张素-醛固酮系统激活, 加重 HFrEF 病情^[17-18]。Wei 等^[19]认为, 入院时血尿酸水平越高, 不同 HF 亚型患者的长期死亡风险越高, 在 HFrEF 患者中, 尿酸可预测其死亡风险 ($OR = 1.28, 95\% CI 1.12 \sim 1.47, P < 0.001$)。CONUT 评分广泛应用于慢性疾病和心血管疾病患者的营养状况评估。营养不良会导致免疫功能下降, 增加患者感染和并发症风险, HFrEF 患者本身就存在免疫功能受损的情况, 营养不良可能会干扰心脏的能量代谢, 心肌能量供应不足可导致心肌收缩功能下降; 营养不良可导致肌肉质量减少和体力活动能力下降, 患者更加虚弱并易疲劳, 加重症状; 营养不良还可影响自主神经系统平衡, 导致交感神经活性增强和副交感神经活性降低, 增加心脏不稳定性。有学者认为^[20], 营养状况差可预测 HFrEF 患者的全因死亡率, 改善患者营养状态可延长其生存期。SYNTAX 评分是评估冠状动脉病变复杂性和严重性的工具, 主要用于指导血运重建策略的选择。高 SYNTAX 评分意味着患者可能存在多支冠状动脉的病变, 进一步降低心肌供血, 导致 HFrEF 患者心功能恶化和心力衰竭加重^[21]。冠心病患者由于心肌缺血或心肌梗死, 导致心肌细胞损伤和死亡, 心肌收缩力减弱, LVEF 降低。LVEF 降低意味着心脏泵血功能减弱, 导致心脏无法有效地将血液泵送到全身, 导致全身器官和组织灌注不足, 引起多器官功能衰竭^[22]。低 LVEF 常伴随心室重塑, 包括心室扩张和壁厚变化, 该种重塑使心脏结构和功能更加不稳定, 增加心律失常的风险, 可能导致突发性心脏事件, 从而影响患者的生存率。另外, 低 LVEF 患者在治疗

上面临更多挑战,传统药物治疗和心脏再同步治疗的效果可能受限,导致临床管理的复杂性增加,从而影响整体预后。HFrEF 患者通常需要服用 ACEI、ARBs、 β -受体阻滞剂、醛固酮受体拮抗剂和利尿剂等多种药物,若患者未按时、按量服用,可能导致 HF 症状的加重、心功能的进一步下降,增加心血管事件发生风险。院外依从性不良还意味着患者不遵循健康的生活方式,如不合理的饮食、缺乏适度的运动、吸烟、酗酒等,加重心血管疾病发展^[23]。此外,HFrEF 患者需定期进行随访,以监测病情变化、调整治疗方案和预防并发症,院外依从性不良可能导致患者错过随访,延误病情的发现和治疗,增加 MACE 发生风险^[24-26]。

列线图可根据个体患者的特定临床特征(如性别、年龄、病史等)提供个性化的风险评估,并通过图形化的方式呈现,非专业人士也能相对容易地理解和使用,有助于临床医生和患者更直观地了解风险水平。列线图还可以整合多个与预后相关的变量,提供更全面的风险预测,通过多变量统计分析,提高对预后的预测准确性,与单变量预测相比,能够更准确地识别高风险患者^[27]。本研究以高尿酸血症、CONUT 评分、SYNTAX 评分、院外依从性不良、LVEF 为基础构建合并冠心病的 HFrEF 患者预后预测模型,经验证预测效能良好,提示该模型可指导临床评估该类患者预后不良的风险,并进行针对性预防,以降低 MACE 发生率。

综上所述,高尿酸血症、CONUT 评分高、SYNTAX 评分高、院外依从性不良、LVEF 低是合并冠心病的 HFrEF 患者预后不良的影响因素,纳入上述因素构建的预测模型预测效能良好。本研究的创新之处在于构建了一个整合了多个临床指标的模式,提供了比单一指标更全面的预后评估工具,并通过内部和外部验证,确认模型的预测准确性和泛化能力。未来研究重点在于进行多中心、大规模的临床研究,进一步增强模型的泛化能力和外部有效性,并探索基于模型预测结果的定制化干预措施,以改善患者预后。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李雪芹、孙振峰、涂胜:设计研究方案,数据整理,统计学分析,论文撰写及修改;陈多学、朱明利:病例收集、数据统计分析

参考文献

[1] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC [J]. *Eur J Heart Fail*, 2022, 24(1): 4-131. DOI:

10. 1002/ejhf. 2333.

[2] Savarese G, Stolfo D, Sinagra G, et al. Heart failure with mid-range or mildly reduced ejection fraction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2022, 19(2): 100-116. DOI: 10. 1038/s41569-021-00605-5.

[3] Reddy YNV, Borlaug BA, Gersh BJ. Management of atrial fibrillation across the spectrum of heart failure with preserved and reduced ejection fraction [J]. *Circulation*, 2022, 146(4): 339-357. DOI: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 122. 057444.

[4] Correale M, Fioretti F, Tricarico L, et al. The role of congestion biomarkers in heart failure with reduced ejection fraction [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(11): 3834. DOI: 10. 3390/jcm12113834.

[5] Pocock SJ, Ferreira JP, Packer M, et al. Biomarker-driven prognostic models in chronic heart failure with preserved ejection fraction: The EMPEROR-Preserved trial [J]. *Eur J Heart Fail*, 2022, 24(10): 1869-1878. DOI: 10. 1002/ejhf. 2607.

[6] Li Y, Li Y, Wang Y, et al. Nomogram to predict dermatomyositis prognosis: A population-based study of 457 cases [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2022, 40(2): 247-253. DOI: 10. 55563/clinexprheumatol/0ddt88.

[7] 中华医学会. 临床诊疗指南心血管分册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.

[8] Kumar S, Psotka MA. Heart failure without a reduced ejection fraction [J]. *Am J Manag Care*, 2023, 29(10 Suppl): S187-S194. DOI: 10. 37765/ajmc. 2023. 89417.

[9] Girerd N, Cleland J, Anker SD, et al. Inflammation and remodeling pathways and risk of cardiovascular events in patients with ischemic heart failure and reduced ejection fraction [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 8574. DOI: 10. 1038/s41598-022-12385-0.

[10] Albuquerque F, Oliveira AF, de Araújo Gonçalves P, et al. Predicting obstructive coronary artery disease in heart failure with reduced ejection fraction: A practical clinical score [J]. *Rev Port Cardiol*, 2023, 42(1): 21-28. DOI: 10. 1016/j. repc. 2021. 09. 020.

[11] Soufi MK, Almahmoud MF, Kadri AN, et al. Heart failure with stable mildly-reduced ejection fraction: Prognosis and predictors of outcomes [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2023, 48(5): 101631. DOI: 10. 1016/j. cpcardiol. 2023. 101631.

[12] Palazzuoli A, Ruocco G, Pellicori P, et al. Multi-modality assessment of congestion in acute heart failure: Associations with left ventricular ejection fraction and prognosis [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2024, 49(3): 102374. DOI: 10. 1016/j. cpcardiol. 2024. 102374.

[13] Yang M, Kondo T, Adamson C, et al. Impact of comorbidities on health status measured using the Kansas City cardiomyopathy questionnaire in patients with heart failure with reduced and preserved ejection fraction [J]. *Eur J Heart Fail*, 2023, 25(9): 1606-1618. DOI: 10. 1002/ejhf. 2962.

[14] Nishino M, Egami Y, Kawanami S, et al. Lowering uric acid may improve prognosis in patients with hyperuricemia and heart failure with preserved ejection fraction [J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(19): e026301. DOI: 10. 1161/JAHA. 122. 026301.

[15] Davran GB, Davran AC, Karabag T. The relationship of prognostic nutritional index with prognosis and inflammation in patient with heart failure and reduced ejection fraction [J]. *Nutr Health*, 2023, 29

- (4):737-743. DOI:10.1177/02601060221103017.
- [16] Larsson JE, Denholt CS, Thune JJ, et al. Initiation of eplerenone or spironolactone, treatment adherence, and associated outcomes in patients with new-onset heart failure with reduced ejection fraction: A nationwide cohort study [J]. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother*, 2023, 9(6):546-552. DOI:10.1093/ehjcvp/pvad045.
- [17] Weinicki M, Gorczyca-Giowacka I, Lubas A, et al. Association of hyperuricemia with impaired left ventricular systolic function in patients with atrial fibrillation and preserved kidney function: Analysis of the POL-AF registry cohort [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(12):7288. DOI:10.3390/ijerph19127288.
- [18] 李晓红, 王鹏飞, 赵兴胜. 无症状高尿酸血症对老年心力衰竭病人心功能和脑钠肽水平的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(16):3023-3025. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2022.16.031.
- [19] Wei FF, Chen X, Cheng W, et al. Associations of long-term mortality with serum uric acid at admission in acute decompensated heart failure with different phenotypes [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2023, 33(10):1998-2005. DOI:10.1016/j.numecd.2023.06.007.
- [20] Zengin A, Karatas MB, Canga Y, et al. Prognostic performance of controlling nutritional Status score in patients with ST segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention [J]. *Anatol J Cardiol*, 2022, 26(1):23-28. DOI:10.5152/AnatolJCardiol.2021.190.
- [21] Czinege M, Halatiu VB, Nyulas V, et al. Nutritional status and recurrent major cardiovascular events following acute myocardial infarction—a follow-up study in a primary percutaneous coronary intervention center [J]. *Nutrients*, 2024, 16(7):1088. DOI:10.3390/nu16071088.
- [22] Gavara J, Marcos-Garces V, Lopez-Lereu MP, et al. Magnetic resonance assessment of left ventricular ejection fraction at any time post-infarction for prediction of subsequent events in a large multicenter STEMI registry [J]. *J Magn Reson Imaging*, 2022, 56(2):476-487. DOI:10.1002/jmri.27789.
- [23] Hu Y, Yang H, Zhou Y, et al. Prediction of all-cause mortality with malnutrition assessed by nutritional screening and assessment tools in patients with heart failure: A systematic review [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2022, 32(6):1361-1374. DOI:10.1016/j.numecd.2022.03.009.
- [24] 黄柳, 崔坤, 田小超, 等. 老年急性心力衰竭患者血清 Clusterin、KLK1 水平及对病情和预后的评估价值 [J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(8):791-795, 803. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.08.002.
- [25] Yu C, Xie Q, Cai L, et al. Long term prognostic value of SYNTAX score II among stemi patients—a comprehensive result from meta-analysis [J]. *Clin Invest Med*, 2022, 45(1):E12-20. DOI:10.25011/cim.v45i1.38083.
- [26] 闫奎坡, 张剑郭, 郭雨晴. 完全血运重建对急性 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者预后影响的 Meta 分析 [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(11):1186-1192. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.013.
- [27] Mei Z, Chen J, Chen P, et al. A nomogram to predict hyperkalemia in patients with hemodialysis: A retrospective cohort study [J]. *BMC Nephrol*, 2022, 23(1):351. DOI:10.1186/s12882-022-02976-4.

(收稿日期:2024-05-28)

(上接 1317 页)

- [12] Reszegi A, Tótrai P, Regos E, et al. Syndecan-1 in liver pathophysiology [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, 323(2):C289-C294. DOI:10.1152/ajpcell.00039.2022.
- [13] Andrup S, Andersen GO, Hoffmann P, et al. Novel cardiac extracellular matrix biomarkers in STEMI: Associations with ischemic injury and long-term mortality [J]. *PLoS One*, 2024, 19(5):e0302732. DOI:10.1371/journal.pone.0302732.
- [14] 蒋萍影, 唐国英, 刘青. 血清 SDC-1、CTRPI 水平与川崎病患儿冠状动脉病变的相关性分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2023, 34(7):38-44. DOI:10.3969/j.issn.1673-5293.2023.07.006.
- [15] Vahldieck C, Fels B, Löning S, et al. Prolonged door-to-balloon time leads to endothelial glycocalyx damage and endothelial dysfunction in patients with ST-elevation myocardial infarction [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(11):2924-2939. DOI:10.3390/biomedicines11112924.
- [16] Parimon T, Yao C, Habel DM, et al. Syndecan-1 promotes lung fibrosis by regulating epithelial reprogramming through extracellular vesicles [J]. *JCI Insight*, 2019, 5(17):e129359. DOI:10.1172/jci.insight.129359.
- [17] Guo M, Shen D, Su Y, et al. Syndecan-1 shedding destroys epithelial adherens junctions through STAT3 after renal ischemia/reperfusion injury [J]. *iScience*, 2023, 26(11):108211-108222. DOI:10.1016/j.isci.2023.108211.
- [18] Zhang K, Li M, Yin L, et al. Role of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 in cardiovascular diseases (review) [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(5):1275-1293. DOI:10.3892/ijmm.2020.4507.
- [19] 姚卓亚, 包炳蔚, 钱少环, 等. 血清 ADAMTS13、TSP1 与急性冠脉综合征患者心肌损伤和临床预后的相关性 [J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(5):710-715. DOI:10.121229/j.issn.1673-4254.2021.05.11
- [20] 占敏, 卓丰, 吴敏, 等. 敲除 TSP1 通过氨基酸和糖代谢通路对阿霉素所致心肌损伤的作用 [J]. *广东医学*, 2023, 44(2):161-167. DOI:10.13820/j.cnki.gdyx.20221679.
- [21] Zhou Y, Ng DYE, Richards AM, et al. MicroRNA-221 inhibits latent TGF- β 1 activation through targeting thrombospondin-1 to attenuate kidney failure-induced cardiac fibrosis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22(1):803-814. DOI:10.1016/j.omtn.2020.09.041.
- [22] Xu L, Zhang Y, Chen J, et al. Thrombospondin-1: A key protein that induces fibrosis in diabetic complications [J]. *J Diabetes Res*, 2020, 2020(1):8043135-8043148. DOI:10.1155/2020/8043135.
- [23] Kelm NQ, Beare JE, Weber GJ, et al. Thrombospondin-1 mediates Drp-1 signaling following ischemia reperfusion in the aging heart [J]. *FASEB Bioadv*, 2020, 2(5):304-314. DOI:10.1096/fba.2019-00090.

(收稿日期:2024-07-26)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.009

心血管疾病专题

SGLT2 抑制剂联合利尿剂对 CHF 患者肾功能、心功能的影响及安全性研究

努尔古丽·托合提, 阿布力米提·加马力, 阿不都热合曼·米吉提, 努尔比亚·阿地力



基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2021D01C027)

作者单位: 844000 新疆维吾尔自治区喀什地区第二人民医院心血管内科

通信作者: 努尔比亚·阿地力, E-mail: nuerbiya199006@163.com

【摘要】 目的 基于单中心前瞻性队列研究探索不同钠-葡萄糖共转运蛋白 2 (SGLT2) 抑制剂联合利尿剂治疗对慢性心力衰竭 (CHF) 患者肾功能、心功能的影响及临床安全性。方法 采用随机、开放、单中心前瞻性临床队列研究, 选取 2022 年 6 月—2023 年 12 月喀什地区第二人民医院心血管内科收治的 CHF 患者 96 例作为研究对象, 通过随机数字表法分为达格列净组 ($n=32$)、卡格列净组 ($n=32$) 和对照组 ($n=32$), 所有患者均接受常规基础心力衰竭治疗, 其中达格列净组患者联合应用达格列净, 卡格列净组患者联合应用卡格列净, 对照组患者不额外给予药物治疗。所有患者连续治疗 3 个月并随访。观察患者心功能相关指标 [左心室射血分数 (LVEF)、左心室质量指数 (LVMI)、左心室重构指数 (LVRI)], 心力衰竭相关血清学指标 [脑钠肽 (BNP)、N 端脑钠肽前体 (NT-proBNP)]、心室重构相关指标 [胱抑素 C (CysC)、成纤维细胞生长因子 23 (FGF23)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)], 炎症因子 [C 反应蛋白 (CRP)、白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]、肾功能指标 [血肌酐 (SCr)、尿素氮 (BUN)、肾小球滤过率 (GFR)] 及药物相关不良反应。结果 治疗 3 个月后 3 组患者 LVEF、LVRI、GFR 均较治疗前升高, LVMI、BNP、NT-proBNP、CysC、FGF23、MMP-9、SCr 和 BUN 水平均降低, 且达格列净组、卡格列净组患者各心功能指标、心力衰竭相关血清学指标、心室重构相关指标及肾功能指标的变化幅度均大于对照组患者 ($F/P=13.740/<0.001, 6.415/0.002, 8.520/<0.001, 12.184/<0.001, 15.945/<0.001, 14.927/<0.001, 12.330/<0.001, 8.755/<0.001, 20.388/<0.001, 12.055/<0.001, 10.196/<0.001$), 但达格列净组、卡格列净组 2 组比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 治疗后 3 组患者血清 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平均较治疗前降低, 但组间比较差异无统计学意义 ($F/P=0.101/0.904, 1.449/0.442, 0.021/0.979$); 3 组患者不良事件发生率比较差异均无统计学意义 ($\chi^2/P=0.571/0.751$)。结论 不论是达格列净还是卡格列净, 在基础治疗方案上联合应用 SGLT2 抑制剂均可有效改善 CHF 患者的心功能及肾功能, 同时显著降低患者炎症反应水平、心力衰竭相关血清学指标及心室重构程度, 且具有较高的临床安全性。

【关键词】 慢性心力衰竭; 钠-葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂; 心功能; 肾功能; 疗效; 安全性**【中图分类号】** R541.6**【文献标识码】** A

Effects of SGLT2 inhibitor combined with diuretics on renal and cardiac function and clinical safety in CHF patients

Nuerguli Tuoheti, Abulimiti Jiamali, Abudurehman Mijiti, Nuerbiya Adili. Department of cardiology, the Second People's Hospital of Kashgar Region, Xinjiang, Kashgar 844000, China

Funding program: Natural Science Foundation in Xinjiang Uygur Autonomous Region (2021D01C027)

Corresponding author: Nuerbiya Adili, E-mail: nuerbiya199006@163.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of different sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors combined with diuretics on renal function, cardiac function, and clinical safety in patients with chronic heart failure (CHF). **Methods** A randomized, open-label, single-center prospective clinical cohort study was conducted. A total of 96 CHF patients admitted to the Second Department of Cardiology, Second People's Hospital of Kashgar, from June 2022 to December 2023 were selected as the research subjects and divided into three groups using a random number table: the dapagliflozin group ($n=32$), the canagliflozin group ($n=32$), and the control group ($n=32$). All patients received conventional basic treatment for heart failure. Additionally, the dapagliflozin group was treated with dapagliflozin, the canagliflozin group with canagliflozin, and the control group without any extra medication. All patients were followed up after 3 months of continuous treatment. Observations included cardiac function-related indicators [left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular mass index (LVMI), left ventricular remodeling index (LVRI)], heart failure-related serological markers [plasma brain natriuretic

peptide (BNP), N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP)], ventricular remodeling-related indicators [cystatin C (CysC), fibroblast growth factor 23 (FGF23), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)], inflammatory factors [C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α)], renal function indicators [serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), glomerular filtration rate (GFR)], and drug-related adverse reactions. **Results** After treatment, the LVEF, LVRI, and GFR of the three groups were higher than before treatment, while the levels of LVMI, BNP, NT-proBNP, CysC, FGF23, MMP-9, Scr, and BUN was lower. The changes in cardiac function indicators, heart failure-related serological markers, ventricular remodeling-related indicators, and renal function indicators in the dapagliflozin and canagliflozin groups were greater than those in the control group ($F/P = 13.740 / < 0.001, 6.415 / 0.002, 8.520 / < 0.001, 12.184 / < 0.001, 15.945 / < 0.001, 14.927 / < 0.001, 12.330 / < 0.001, 8.755 / < 0.001, 20.388 / < 0.001, 12.055 / < 0.001, 10.196 / < 0.001$), but there was no statistically significant difference between the dapagliflozin and canagliflozin groups ($P > 0.05$). After treatment, the serum levels of CRP, IL-6, and TNF- α in the three groups were lower than before treatment, but there was no statistically significant difference between the groups ($F/P = 0.101 / 0.904, 1.449 / 0.442, 0.021 / 0.979$). There were no statistically significant differences in the incidence of adverse events among the three groups ($\chi^2 / P = 0.571 / 0.751$). **Conclusion** Both dapagliflozin and canagliflozin combined with SGLT2 inhibitors on top of basic treatment can effectively improve cardiac and renal function in CHF patients, significantly reduce inflammation levels, heart failure-related serological markers, and the degree of ventricular remodeling. The combined use of different types of SGLT2 inhibitors shows high clinical safety and may have significant clinical application value for improving long-term prognosis in CHF patients.

【Key words】 Chronic heart failure; Sodium glucose co-transporter 2 inhibitor; Cardiac function; Renal function, Therapeutic effect; Safety

作为各种心血管疾病的终末阶段,慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)在中老年人群中的发病率较高,造成的公共医疗负担也较大^[1]。CHF 患者在无其他诱因情况下基本能保持正常生活,但随着疾病缓慢进展及患者心功能逐渐下降,心脏血管不良事件的发生率也逐渐增加,因此早期进行对症治疗及抗心力衰竭治疗是提高患者长期生存率的重要方法^[2]。除应用利尿剂、正性肌力药、血管紧张素转化酶抑制剂等常规抗心力衰竭药物外,近年来临床研究指出钠—葡萄糖协同转运蛋白 2(sodium glucose co-transporters 2, SGLT2)抑制剂不仅能调控患者血糖、改善胰岛素功能,还具有改善患者心肌代谢水平、血管内皮功能及调控心脏离子通道等作用,提示 SGLT2 抑制剂在心力衰竭中的潜在应用价值^[3-5]。但既往研究大多集中于评估 SGLT2 抑制剂在糖尿病患者心功能方面的影响,缺

少 SGLT2 抑制剂在 CHF 患者中的临床研究^[6-7]。基于此,本研究旨在通过单中心前瞻性队列研究探索不同 SGLT2 抑制剂联合利尿剂对 CHF 患者肾功能、心功能的影响及临床安全性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2022 年 6 月—2023 年 12 月喀什地区第二人民医院心血管内科二病区诊治的 CHF 患者 110 例作为研究对象。最终入组 96 例患者,通过随机数字表法分为达格列净组($n = 32$)、卡格列净组($n = 32$)和对照组($n = 32$),3 组患者性别、年龄、体质指数、病程,吸烟史、高血压、糖尿病比例及 NYHA 分级等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准(202205-03),全部患者或家属均知情同意并签署知情同意书。

表 1 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data of CHF patients in the control group, dapagliflozin group, and canagliflozin group

项 目	对照组($n = 32$)	达格列净组($n = 32$)	卡格列净组($n = 32$)	F/χ^2 值	P 值
男性[例(%)]	21(65.63)	19(59.38)	20(62.50)	0.267	0.875
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	52.63 \pm 4.10	54.06 \pm 4.08	53.41 \pm 3.74	1.048	0.355
病程($\bar{x} \pm s$, 年)	6.09 \pm 1.09	6.56 \pm 1.11	6.34 \pm 1.36	1.242	0.294
吸烟史[例(%)]	22(68.75)	21(65.63)	19(59.38)	0.638	0.727
合并高血压[例(%)]	16(50.00)	14(43.75)	15(46.88)	0.251	0.882
合并糖尿病[例(%)]	13(40.63)	10(31.25)	11(34.38)	0.638	0.727
NYHA 分级[例(%)]	Ⅱ级	17(53.13)	17(53.13)	0.257	0.992
	Ⅲ级	11(34.37)	10(31.25)		
	Ⅳ级	4(12.50)	5(15.62)		

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①患者经超声心动图检查且符合我国 CHF 的临床诊断标准^[8];②患者存在下肢水肿、间断呼吸困难等心力衰竭症状或体征;③患者入组时意识清楚,能够配合进行治疗及各项观察指标的检测;④NYHA 分级为 II ~ IV 级^[9]。(2) 排除标准:①合并肺心病;②合并急性心力衰竭、心肌病或心脏瓣膜病;③既往发生过心肌梗死或接受相关治疗;④合并恶性肿瘤;⑤依从性较差,无法配合治疗或随访。(3) 脱落标准:(1) 患者随访期间全因性死亡;②患者因个人要求更换治疗方案或脱离研究队列。

1.3 治疗方法 3 组患者均给予利尿剂改善水肿症状,β-受体阻滞剂或血管紧张素转换酶抑制剂控制血压,同时予抗血小板药物及他汀类调脂药物。达格列净组患者在此基础上给予达格列净片(阿斯利康制药有限公司,10 mg/片)5 mg/次口服,每日 1 次,持续应用 1 周后调整剂量为 10 mg/次,每日 1 次。卡格列净组患者在此基础上给予卡格列净片(湖北华世通生物医药科技有限公司,100 mg/片)100 mg/次口服,每日 1 次。对照组患者不额外给予其他药物治疗。3 组均连续治疗 3 个月。

1.4 观察指标与方法
1.4.1 心功能相关指标:分别于治疗前及治疗后通过 EPQI 7C 心血管超声成像系统(荷兰皇家飞利浦电子公司)对患者进行超声心动图检查。记录患者左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)等指标,计算左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)和左心室重构指数(left ventricular remodeling index, LVRI)。其中 LVMI = 左心室质量/体表面积^[10];LVRI = 左心室质量/左心室舒张末期容积^[11]。
1.4.2 心力衰竭相关血清学指标:分别于治疗前及治疗后采集患者空腹肘静脉血 3 ml,离心留取血清待测。通过 Atellica 全自动生化免疫分析仪(西门子医疗系统有限公司)及其配套试剂测定患者血清中脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、N 端脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)的水平。
1.4.3 心室重构相关指标:分别于治疗前及治疗后通过酶联免疫吸附法测定血清中胱抑素 C(Cystatin C, CysC)、成纤维细胞生长因子 23(fibroblast growth factor 23, FGF23)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)的水平。试剂盒分别购自上海瑞番生物科技有限公司(货号:RF5485)、上海泽叶生物科技有限公司(货号:ZY-E62119H)、北京百奥莱博科技有限公司(货号:P14780)。

1.4.4 炎症因子水平:分别于治疗前及治疗后通过酶联免疫吸附法测定血清中 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素 6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor α, TNF-α)的水平。试剂盒均购自艾博抗(上海)贸易有限公司(货号:ab260058, ab178013, ab181421)。

1.4.5 肾功能指标:分别于治疗前及治疗后通过 BS-1000M 全自动生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)测定患者血清中血肌酐(serum creatinine, SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)及肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)的水平变化。

1.4.6 药物相关不良反应:记录并比较各组患者治疗期间出现的药物相关不良反应发生情况,包括尿路感染、消化道症状、口渴、低血压、头晕等。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 27.0 软件对数据进行分析统计。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,多组间比较采用 ANOVA 检验,治疗前后比较采用配对样本 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 心功能相关指标比较 治疗前 3 组患者 LVEF、LVMI 及 LVRI 比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05),与治疗前比较,治疗 3 个月后 3 组患者 LVEF 和 LVRI 均升高、LVMI 均降低,且达格列净组、卡格列净组患者 LVEF、LVRI 及 LVMI 变化幅度均大于对照组(*P* < 0.05),但达格列净组、卡格列净组 2 组间治疗后 LVEF、LVMI 及 LVRI 水平比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 2。

表 2 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者心功能相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of heart function related indicators among CHF patients in the control group, dapagliflozin group, and canagliflozin group

组别	时间	LVEF (%)	LVMI(g/m ²)	LVRI(g/ml)
对照组 (n = 32)	治疗前	38.49 ± 2.67	131.17 ± 11.99	0.89 ± 0.09
	治疗后	41.35 ± 3.16	121.35 ± 5.83	1.03 ± 0.40
达格列净组 (n = 32)	治疗前	38.01 ± 3.93	130.51 ± 9.81	0.87 ± 0.08
	治疗后	46.20 ± 4.54	115.82 ± 8.30	1.10 ± 0.09
卡格列净组 (n = 32)	治疗前	39.03 ± 3.11	129.00 ± 10.51	0.86 ± 0.06
	治疗后	46.26 ± 5.01	114.83 ± 9.06	1.10 ± 0.11
I/P 对照组内值		4.193/ <0.001	4.645/ <0.001	8.104/ <0.001
I/P 达格列净组内值		6.153/ <0.001	6.858/ <0.001	11.798/ <0.001
I/P 卡格列净组内值		7.110/ <0.001	5.722/ <0.001	10.359/ <0.001
F/P 治疗后组间值		13.740/ <0.001	6.415/ 0.002	8.520/ <0.001

2.2 心力衰竭相关血清学指标比较 治疗前 3 组患

者血清 BNP、NT-proBNP 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 3 个月后 3 组患者血清 BNP、NT-proBNP 较治疗前均降低, 且达格列净组、卡格列净组患者血清 BNP、NT-proBNP 变化幅度均大于对照组患者 ($P < 0.05$), 但达格列净组、卡格列净组 2 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者心力衰竭相关血清学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum indicators related to heart failure among CHF patients in the control group, dapagliflozin group, and canagliflozin group

组别	时间	BNP($\mu\text{g/L}$)	NT-proBNP(pg/ml)
对照组 ($n=32$)	治疗前	4.56 \pm 1.11	780.68 \pm 95.84
	治疗后	2.97 \pm 0.57	664.32 \pm 66.90
达格列净组 ($n=32$)	治疗前	4.62 \pm 1.13	735.16 \pm 80.67
	治疗后	2.46 \pm 0.43	509.75 \pm 90.07
卡格列净组 ($n=32$)	治疗前	4.69 \pm 1.15	776.85 \pm 121.10
	治疗后	2.32 \pm 0.62	518.98 \pm 86.53
t/P 对照组内值		6.614/ <0.001	9.312/ <0.001
t/P 达格列净组内值		5.858/ <0.001	9.317/ <0.001
t/P 卡格列净组内值		6.576/ <0.001	8.318/ <0.001
F/P 治疗后组间值		12.184/ <0.001	15.945/ <0.001

2.3 心室重构相关指标比较 治疗前 3 组患者血清 CysC、FGF23 和 MMP-9 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 3 个月后 3 组患者平均血清 CysC、FGF23 和 MMP-9 水平较治疗前均降低, 且达格列净组、卡格列净组患者降低幅度均大于对照组患者 ($P < 0.05$), 但达格列净组、卡格列净组 2 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

表 4 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者心室重构相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of ventricular remodeling related indicators among CHF patients in the control group, dapagliflozin group, and canagliflozin group

组别	时间	CysC(mg/L)	FGF23($\mu\text{g/L}$)	MMP-9(mg/L)
对照组 ($n=32$)	治疗前	2.53 \pm 0.48	569.41 \pm 54.71	205.53 \pm 28.54
	治疗后	2.10 \pm 0.16	421.46 \pm 49.67	172.34 \pm 28.60
达格列净组 ($n=32$)	治疗前	2.49 \pm 0.60	557.70 \pm 59.69	195.98 \pm 42.13
	治疗后	1.93 \pm 0.24	373.53 \pm 32.16	143.92 \pm 29.31
卡格列净组 ($n=32$)	治疗前	2.66 \pm 0.64	565.59 \pm 70.09	197.20 \pm 40.35
	治疗后	1.83 \pm 0.20	383.62 \pm 38.32	146.73 \pm 31.82
t/P 对照组内值		6.524/ <0.001	7.069/ <0.001	6.244/ <0.001
t/P 达格列净组内值		4.966/ <0.001	10.079/ <0.001	10.363/ <0.001
t/P 卡格列净组内值		5.615/ <0.001	8.977/ <0.001	9.723/ <0.001
F/P 治疗后组间值		14.927/ <0.001	12.330/ <0.001	8.755/ <0.001

2.4 炎症因子水平比较 治疗前 3 组患者血清 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 3 个月后 3 组患者血清 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平均较治疗前降低, 但组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 5。

表 5 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Comparison of inflammatory factor levels among CHF patients in the control group, dapagliflozin group, and canagliflozin group

组别	时间	CRP(mg/L)	IL-6(ng/L)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)
对照组 ($n=32$)	治疗前	4.25 \pm 1.27	4.68 \pm 1.17	3.53 \pm 1.03
	治疗后	2.52 \pm 0.73	2.39 \pm 0.85	2.05 \pm 0.58
达格列净组 ($n=32$)	治疗前	4.14 \pm 1.31	4.34 \pm 1.02	3.21 \pm 1.02
	治疗后	2.59 \pm 0.60	2.14 \pm 0.78	2.03 \pm 0.66
卡格列净组 ($n=32$)	治疗前	4.29 \pm 1.11	4.51 \pm 1.17	3.33 \pm 1.01
	治疗后	2.57 \pm 0.82	2.43 \pm 0.60	2.02 \pm 0.65
t/P 对照组内值		4.899/ <0.001	10.199/ <0.001	5.019/ <0.001
t/P 达格列净组内值		4.973/ <0.001	14.279/ <0.001	5.560/ <0.001
t/P 卡格列净组内值		6.506/ <0.001	13.230/ <0.001	6.179/ <0.001
F/P 治疗后组间值		0.101/ 0.904	1.449/ 0.442	0.021/ 0.979

2.5 肾功能指标比较 治疗前 3 组患者 SCr、BUN 和 GFR 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 3 个月后 3 组患者 SCr 和 BUN 水平较治疗前均降低, GFR 均升高, 且达格列净组、卡格列净组患者 SCr 和 BUN 水平降低幅度及 GFR 升高幅度均大于对照组患者 ($P < 0.05$), 但达格列净组、卡格列净组 2 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 6。

表 6 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者患者肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Comparison of renal function indicators among CHF patients in the control group, dapagliflozin group, and canagliflozin group

组别	时间	SCr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)	GFR [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73\text{m}^{-2}$]
对照组 ($n=32$)	治疗前	230.15 \pm 34.78	11.79 \pm 2.64	50.20 \pm 9.50
	治疗后	179.50 \pm 32.26	9.35 \pm 1.34	64.75 \pm 5.32
达格列净组 ($n=32$)	治疗前	243.09 \pm 29.02	12.22 \pm 2.79	50.21 \pm 9.48
	治疗后	129.43 \pm 17.97	7.74 \pm 1.35	70.76 \pm 4.59
卡格列净组 ($n=32$)	治疗前	229.78 \pm 29.30	12.69 \pm 2.64	47.62 \pm 7.38
	治疗后	127.87 \pm 16.72	8.05 \pm 1.48	69.89 \pm 7.06
t/P 对照组内值		5.427/ <0.001	4.599/ <0.001	6.504/ <0.001
t/P 达格列净组内值		21.913/ <0.001	8.345/ <0.001	14.327/ <0.001
t/P 卡格列净组内值		18.008/ <0.001	8.980/ <0.001	13.161/ <0.001
F/P 治疗后组间值		20.388/ <0.001	12.055/ <0.001	10.196/ <0.001

2.6 药物相关不良反应比较 治疗期间达格列净组患者药物相关不良反应发生率为 12.50%,与卡格列净组的 15.63%、对照组的 9.38% 比较,组间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.571, P = 0.751$),见表 7。

3 讨论

我国心血管疾病的发病率始终处于较高水平,作为各种心血管疾病终末状态的 CHF 患病率也始终处于较高水平。目前改善 CHF 患者预后的药物虽然种类较多,但在新药的研发上仍面临瓶颈^[12]。近年来,多项大样本量临床研究均验证了 SGLT2 抑制剂在改善 2 型糖尿病患者病情的同时,同样具有改善心功能、提高患者临床预后的作用^[13]。而在非糖尿病的心力衰竭患者中,部分 SGLT2 抑制剂也发挥了独立于降糖作用的心血管保护作用,特别是在改善患者血液动力学、心室重构等方面表现出较高的临床应用价值^[14]。目前,关于卡格列净及多种 SGLT2 抑制剂在 CHF 患者间的横向比较研究尚少,因此通过真实世界数据评价卡格列净、达格列净在 CHF 患者中的应用价值对于未来更好地选择此类药物具有一定临床意义。

LVEF 是反映 CHF 患者心功能的最重要指标之一,通过超声心动图获取其他心功能参数后可计算出 LVMI、LVRI 等复合指标,能够更全面地反映患者心功能改变^[15]。除了超声相关指标外,BNP、NT-proBNP 等血清学指标已被证明是诊断心力衰竭及评估疾病严重程度的重要生物学标志物^[16]。本研究发现,联合应用卡格列净或达格列净的 CHF 患者治疗后 LVEF 和 LVRI 均显著升高, LVMI、血清 BNP、NT-proBNP 均显著降低,且心功能超声指标及心力衰竭标志物的变化幅度均大于未应用 SGLT2 抑制剂的患者,但 2 组患者间对比并无显著差异,提示达格列净和卡格列净均可有效改善 CHF 患者心功能。SGLT2 抑制剂可能通过增加间质内水的排泄、与利尿剂发挥协同作用改善 CHF 患者心功能。既往研究也提示,达格列净可通过发挥渗透性利尿作用改善患者心脏血流动力学、促进心肌缺血再灌注,而卡格列净可能也通过类似机制促进 CHF 患者心功能快速恢复^[17]。

炎症因子可能被 CHF 相关氧化应激反应诱导,进

一步形成炎症因子风暴加重 CHF 严重程度。既往研究提示,IL-6、TNF- α 等炎症因子会加重患者血管内皮损伤、肺水肿严重程度,因此降低 CHF 患者炎症反应程度也是改善预后的重要方法之一^[18]。本研究发现应用 SGLT2 抑制剂的 2 组 CHF 患者血清 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平较治疗前均显著降低,但 2 组间比较差异无统计学意义。本研究结论与既往研究中发现达格列净降低炎症因子、活性氧的表达水平具有一致性,可能与 SGLT2 增强 AMPK 磷酸化并抑制 NLRP3 炎性小体的激活有关,但组间差异无统计学意义可能与纳入的病例数较少有关^[19]。

心室重构是影响 CHF 患者预后的重要病理生理过程,其中 FGF23、MMP-9 和 CysC 被报道与心力衰竭患者左心室重构密切相关,可通过直接或间接影响心血管病理变化促进心室重构严重程度^[20-22]。本研究发现联合应用卡格列净或达格列净的 CHF 患者治疗后血清 CysC、FGF23 和 MMP-9 水平较治疗前均显著降低,虽然 2 组患者间无显著差异,但各指标降低幅度均显著大于对照组患者。卡格列净和达格列净可能通过降低心肌细胞胞质内 Na⁺、Ca²⁺ 的离子浓度发挥心脏保护作用^[23]。此外,也有研究表明 SGLT2 抑制剂可能通过抑制心肌细胞凋亡及纤维化、调节心肌细胞代谢平衡等途径逆转心室重构过程^[24]。此外,本研究还观察到各组患者治疗后 SCr 和 BUN 水平较治疗前均显著降低,GFR 均显著升高,其中达格列净组、卡格列净组患者各肾功能指标变化幅度均大于对照组患者,提示 SGLT2 抑制剂在利尿的同时可减轻肾脏负担、改善 CHF 患者水钠潴留状态,进而发挥促进肾功能恢复的作用^[25]。

本研究的局限性在于有效病例数较少,应扩大样本量提高研究结论的可信度。此外,在本研究结论基础上,可以设置更多 SGLT2 抑制剂联合治疗组,更全面地评价不同 SGLT2 抑制剂在 CHF 患者中的应用价值及区别。

尽管如此,本研究仍认为不论是达格列净还是卡格列净,在基础治疗方案上联合应用 SGLT2 抑制剂均可有效改善 CHF 患者的心功能及肾功能,同时显著降

表 7 对照组、达格列净组、卡格列净组 CHF 患者药物相关不良反应比较 [例(%)]

组别	例数	尿路感染	消化道症状	口渴	低血压	头晕	不良事件发生率(%)
对照组	32	0	2(6.25)	0	0	1(3.13)	9.38
达格列净组	32	1(3.13)	1(3.13)	1(3.13)	1(3.13)	0	12.50
卡格列净组	32	0	2(6.25)	1(3.13)	1(3.13)	1(3.13)	15.63

低患者炎症反应水平、心力衰竭相关血清学指标及心室重构程度。联合应用不同种类 SGLT2 均具有较高的临床安全性,对于提高 CHF 患者远期预后可能具有较高的临床应用价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

努尔古丽·托合提:提出研究方案,实施研究过程,论文撰写;阿布力米提·加马力:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;阿不都热合曼·米吉提:论文审核;努尔比亚·阿地力:提出研究思路,分析试验数据,进行统计学分析

参考文献

- [1] 何凯,胡宗萍.老年慢性心力衰竭患者生活质量影响因素研究进展[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(11): 1610-1613. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 11. 025.
- [2] 马梦琪,彭芳,江雪萌,等.慢性心力衰竭病人治疗负担研究进展[J]. 护理研究, 2023, 37(10): 1760-1764. DOI: 10.12102/j. issn. 1009-6493. 2023. 10. 013.
- [3] 王立立.慢性心力衰竭药物治疗的新证据与新观念[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2023, 25(5): 449-452. DOI: 10.3969/j. issn. 1009-0126. 2023. 05. 001.
- [4] 李远翥,罗素新,黄毕.钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂对射血分数保留型心力衰竭的治疗进展[J]. 中国心血管病研究, 2023, 21(8): 757-762. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-5301. 2023. 08. 015.
- [5] 余浩瑗,王东英,冯旸,等.四种新型抗心力衰竭药物治疗慢性心力衰竭效果比较的网状 Meta 分析[J]. 实用心脑血管病杂志, 2023, 31(8): 21-29. DOI: 10.12114/j. issn. 1008-5971. 2023. 00. 127.
- [6] 董文远,李保.钠-葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂对心脏淋巴管新生作用的研究进展[J]. 国际心血管病杂志, 2023, 50(4): 225-228. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-6583. 2023. 04. 009.
- [7] 张辉,王利,邓龙,等. SGLT2 抑制剂在常见心血管疾病中应用的研究进展[J]. 实用药物与临床, 2023, 26(12): 1121-1126. DOI: 10.14053/j. cnki. pper. 202312013.
- [8] 中华医学会,中华医学会临床药学会,中华医学会杂志社,等.慢性心力衰竭基层合理用药指南[J]. 中华全科医师杂志, 2021, 20(1): 42-49. DOI: 10.3760/cma. j. cn114798-20201118-01166.
- [9] Blacher M, Zimmerman A, Engster PHB, et al. Revisiting heart failure assessment based on objective measures in NYHA functional classes I and II [J]. Heart, 2021, 107(18): 1487-1492. DOI: 10.1136/heartjnl-2020-317984.
- [10] Poppe KK, Bachmann ME, Triggs CM, et al. Geographic variation in left ventricular mass and mass index: a systematic review [J]. J Hum Hypertens, 2012, 26(7): 420-429. DOI: 10.1038/jhh. 2011. 56
- [11] Xu Y, Lin J, Liang Y, et al. Prognostic value of left ventricular remodeling index in idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2021, 22(10): 1197-1207. DOI: 10.1093/ehj-ci/jeaa144.
- [12] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. 中华心力衰竭和心肌病杂志(中英文), 2018, 2(4): 196-225. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-3758.

2018. 10. 004.

- [13] Cheng JWM, Colucci V, Kalus JS, et al. Focused updates: SGLT2 inhibitors in patients with heart failure and/or chronic kidney disease [J]. Ann Pharmacother, 2021, 55(2): 252-260. DOI: 10.1177/1060028020934001.
- [14] Tziastoudi M, Pissas G, Goulinopoulos S, et al. Sodium-glucose transporter 2 (SGLT2) inhibitors and iron deficiency in heart failure and chronic kidney disease: A literature review [J]. Life (Basel), 2023, 13(12): 2338. DOI: 10.3390/life13122338.
- [15] Triposkiadis F, Starling RC. Chronic heart failure: Diagnosis and management beyond LVEF classification [J]. J Clin Med, 2022, 11(6): 1718. DOI: 10.3390/jcm11061718.
- [16] Ibrahim NE, Gaggin HK, Rabideau DJ, et al. Worsening renal function during management for chronic heart failure with reduced ejection fraction: Results from the pro-BNP outpatient tailored chronic heart failure therapy (PROTECT) study [J]. J Card Fail, 2017, 23(2): 121-130. DOI: 10.1016/j. cardfail. 2016. 07. 440.
- [17] Custodio JS Jr, Duraes AR, Abreu M, et al. SGLT2 inhibition and heart failure-current concepts [J]. Heart Fail Rev, 2018, 23(3): 409-418. DOI: 10.1007/s10741-018-9703-2.
- [18] Eskandari V, Amirzargar AA, Mahmoudi MJ, et al. Gene expression and levels of IL-6 and TNF α in PBMCs correlate with severity and functional class in patients with chronic heart failure [J]. Ir J Med Sci, 2018, 187(2): 359-368. DOI: 10.1007/s11845-017-1680-2.
- [19] Theofilis P, Sagris M, Oikonomou E, et al. The impact of SGLT2 inhibitors on inflammation: A systematic review and meta-analysis of studies in rodents [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 111: 109080. DOI: 10.1016/j. intimp. 2022. 109080.
- [20] Havlenova T, Skaroupkova P, Miklovic M, et al. Right versus left ventricular remodeling in heart failure due to chronic volume overload [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 17136. DOI: 10.1038/s41598-021-96618-8.
- [21] D'Auria F, Polito MV, Vitulano G, et al. Predictors of left ventricular reverse remodeling in patients with chronic heart failure [J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2018, 19(8): 465-469. DOI: 10.2459/JCM. 0000000000000679.
- [22] Vergaro G, Aimo A, Taurino E, et al. Discharge FGF23 level predicts one year outcome in patients admitted with acute heart failure [J]. Int J Cardiol, 2021, 336: 98-104. DOI: 10.1016/j. ijcard. 2021. 05. 028.
- [23] Carluccio E, Biagioli P, Reboli G, et al. Left ventricular remodeling response to SGLT2 inhibitors in heart failure: an updated meta-analysis of randomized controlled studies [J]. Cardiovasc Diabetol, 2023, 22(1): 235. DOI: 10.1186/s12933-023-01970-w.
- [24] 王玉容,冷晓晖,向沂,等. 2 型糖尿病合并射血分数保留心力衰竭患者不同降糖药物治疗效果比较 [J]. 疑难病杂志, 2023, 22(8): 804-809. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 08. 004.
- [25] Berezina TA, Fushley IM, Berezin AA, et al. Predictors of kidney function outcomes and their relation to SGLT2 inhibitor dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus who had chronic heart failure [J]. Adv Ther, 2023, 11(8): 4551. DOI: 10.1007/s12325-023-02683-y.

(收稿日期: 2024 - 07 - 09)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.010

心血管疾病专题

彩色多普勒超声联合血清 Cyr61、ANGPTL3 对慢性心力衰竭患者的诊断价值

谢子旗, 吴小娟, 谢晴, 郑小叶, 朱红艳, 张环



基金项目: 陕西省重点研发计划项目(S2022-YF-YBSF-0983)

作者单位: 710008 西安, 西北大学附属医院·西安市第三医院超声科(谢子旗、吴小娟、谢晴、郑小叶), 检验科(朱红艳), 心内科(张环)

通信作者: 吴小娟, E-mail: dsyywxj@163.com

【摘要】目的 探究彩色多普勒超声(CDU)联合血清富含半胱氨酸蛋白61(Cyr61)、血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)对慢性心力衰竭(CHF)患者的诊断价值。**方法** 选取2020年12月—2023年12月西北大学附属医院·西安市第三医院心内科收治的CHF患者86例为心力衰竭组,根据美国纽约心脏协会(NYHA)心功能分级,将患者分为Ⅱ~Ⅲ级亚组58例和Ⅳ级亚组28例。另选取同期医院健康体检者86例为健康对照组。采用CDU检测心功能,酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清Cyr61、ANGPTL3水平;Pearson相关分析血清Cyr61、ANGPTL3水平与心功能指标的相关性;多因素Logistic回归分析CHF患者的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价CDU及血清Cyr61、ANGPTL3水平对CHF的诊断价值。**结果** 心力衰竭组血清Cyr61、ANGPTL3水平及左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心房内径(LAD)均显著高于健康对照组,左心室射血分数(LVEF)显著低于健康对照组($t/P = 9.779 / < 0.001, 35.751 / < 0.001, 18.376 / < 0.001, 21.451 / < 0.001, 49.742 / < 0.001$);Ⅳ级亚组CHF患者血清Cyr61、ANGPTL3水平及LVEDD、LAD均显著高于Ⅱ~Ⅲ级亚组,LVEF显著低于Ⅱ~Ⅲ级亚组($t/P = 11.226 / < 0.001, 37.440 / < 0.001, 7.786 / < 0.001, 27.001 / < 0.001, 13.303 / < 0.001$);血清Cyr61、ANGPTL3水平与LVEDD、LAD呈正相关,与LVEF呈负相关(Cyr61: $r/P = 0.501 / < 0.001, 0.510 / < 0.001, -0.522 / < 0.001$; ANGPTL3: $r/P = 0.515 / < 0.001, 0.517 / < 0.001, -0.532 / < 0.001$);多因素Logistic回归分析显示,Cyr61、ANGPTL3、LVEDD、LAD升高为CHF患者的独立危险因素[$OR(95\% CI) = 3.108(1.590 \sim 6.076), 4.378(2.011 \sim 9.533), 3.420(1.452 \sim 8.054), 2.058(1.429 \sim 2.963)$],LVEF升高为独立保护因素[$OR(95\% CI) = 0.521(0.329 \sim 0.824)$];LVEDD、LAD、LVEF、Cyr61、ANGPTL3及五者联合诊断CHF的曲线下面积(AUC)分别为0.764、0.832、0.815、0.810、0.808、0.976,五者联合的AUC大于单独诊断的AUC($Z/P = 2.527 / 0.031, 2.675 / 0.024, 2.689 / 0.020, 2.679 / 0.018, 2.680 / 0.023$)。**结论** CHF患者血清Cyr61、ANGPTL3均显著升高,CDU联合血清Cyr61、ANGPTL3可提高对CHF患者的诊断价值。

【关键词】 慢性心力衰竭;彩色多普勒超声;富含半胱氨酸蛋白61;血管生成素样蛋白3;诊断价值**【中图分类号】** R541.6⁺1**【文献标识码】** A**Diagnostic value of color Doppler ultrasound combined with serum Cyr61 and ANGPTL3 in patients with chronic heart failure**

Xie Ziqi*, Wu Xiaojuan, Xie Qing, Zheng Xiaoye, Zhu Hongyan, Zhang Huan. *Department of Ultrasound, Northwest University Affiliated Hospital Xi'an No. 3 Hospital, Shaanxi Province, Xi'an 710008, China

Funding program: Shaanxi Provincial Key R&D Program Project (S2022-YF-YBSF-0983)

Corresponding author: Wu Xiaojuan, E-mail: dsyywxj@163.com

【Abstract】 Objective To explore the diagnostic value of color Doppler ultrasound (CDU) combined with serum cysteine-rich 61 (Cyr61) and angiopoietin like protein 3 (ANGPTL3) in patients with chronic heart failure (CHF). **Methods** Eighty-six cases of CHF patients admitted to the Department of Cardiology of the Northwest University Affiliated Hospital Xi'an No.3 Hospital, from December 2020 to December 2023 were selected as the study group, and the patients were divided into 58 cases of subgroups of class II-III and 28 cases of subgroup of class IV according to the cardiac function grading of the New York Heart Association (NYHA). Another 86 cases were selected as healthy control group from the same period of hospital health checkups. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine serum Cyr61 and ANGPTL3 levels; Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between serum Cyr61 and ANGPTL3 levels and cardiac function indexes; multifactorial logistic regression was used to analyze the influencing factors of CHF pa-

tients; and subjects' work characteristics (ROC) curves were used to evaluate the CDU and serum Cyr61, ANGPTL3 levels for the diagnostic value of CHF. **Results** Serum Cyr61, ANGPTL3 levels and left ventricular end-diastolic internal diameter (LVEDD) and left atrial diameter (LAD) were significantly higher and left ventricular ejection fraction (LVEF) was significantly lower in the study group than in the healthy control group ($t/P=9.779/ <0.001$, $35.751/ <0.001$, $18.376/ <0.001$, $21.451/ <0.001$, $49.742/ <0.001$); serum Cyr61 and ANGPTL3 levels and LVEDD and LAD were significantly higher in the class IV subgroup of CHF patients than in the class II-III subgroup, and LVEF was significantly lower than in the class II-III subgroup ($t/P=11.226/ <0.001$, $37.440/ <0.001$, $7.786/ <0.001$, $27.001/ <0.001$, $13.303/ <0.001$); serum Cyr61 and ANGPTL3 levels were positively correlated with LVEDD and LAD and negatively correlated with LVEF ($r/P=0.501/ <0.001$, $0.510/ <0.001$, $-0.522/ <0.001$, $0.515/ <0.001$, $0.517/ <0.001$, $-0.532/ <0.001$); multifactorial logistic regression analysis showed that high Cyr61, high ANGPTL3, high LVEDD, and high LAD were independent risk factors for patients with CHF [$OR (95\% CI) = 3.108 (1.590 - 6.076)$, $4.378 (2.011 - 9.533)$, $3.420 (1.452 - 8.054)$, $2.058 (1.429 - 2.963)$], and high LVEF was an independent protective factor [$OR (95\% CI) = 0.521 (0.329 - 0.824)$]; the AUCs for the diagnosis of CHF for LVEDD, LAD, LVEF, Cyr61, ANGPTL3 and the combination of the five were: 0.764, 0.832, 0.815, 0.810, 0.808, and 0.976, and the area under the curve (AUC) of the combination of the five was greater than the AUC of LVEDD, LAD, LVEF, Cyr61, and ANGPTL3 diagnosed alone ($Z/P=2.527/ 0.031$, $2.675/0.024$, $2.689/0.020$, $2.679/0.018$, $2.680/0.023$). **Conclusion** Serum Cyr61 and ANGPTL3 are greatly elevated in CHF patients, and CDU combined with serum Cyr61 and ANGPTL3 can improve the diagnostic value for CHF patients.

【Key words】 Chronic heart failure; Color Doppler ultrasound; Cysteine-rich 61; Angiopoietin like protein 3; Diagnostic value

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是各种病因所导致心脏疾病的终末时期,多发于老年群体,致残率和病死率较高^[1-2]。CHF病情易反复发作,患者症状为呼吸困难及体液滞留等,影响人们的生活质量,随着医疗技术的完善 CHF 生存率得到较大的提高,然而 5 年病死率也接近 50%^[3-4]。因此在临床早期诊断 CHF 并进行合理治疗对改善患者预后尤为重要。彩色多普勒超声(CDU)可清晰显示出心脏和器官的内部结构,检查无创且可重复操作,成为诊断 CHF 的常用方法^[5]。然而其也会因为操作者熟练程度及个体差异存在误诊和漏诊现象。富含半胱氨酸蛋白 61 (Cyr61)作为细胞外基质蛋白,在动脉粥样硬化过程中起着促进炎症反应及调节胆固醇代谢的作用^[6]。血管生成素样蛋白 3 (ANGPTL3)作为分泌型蛋白因子,可参与脂质代谢及血管生成,有研究发现其还参与冠心病的进展^[7]。目前关于 CDU 联合血清 Cyr61、ANGPTL3 在 CHF 中的研究鲜有报道,因此本研究旨在探讨 CDU 联合血清 Cyr61、ANGPTL3 对 CHF 患者的诊断价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 12 月—2023 年 12 月西北大学附属医院·西安市第三医院心内科收治的 CHF 患者 86 例为心力衰竭组,根据美国纽约心脏协会(NYHA)心功能分级^[8],将 CHF 患者分为 II~III 级亚组 58 例和 IV 级亚组 28 例。另选取同期医院健康体检者 86 例为健康对照组。健康对照组与心力衰竭组临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可

比性,见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(SYLL-2020-039),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 健康对照组与心力衰竭组临床资料比较

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

项目	健康对照组 (n=86)	心力衰竭组 (n=86)	χ^2 值	P 值
男[例(%)]	50(58.14)	49(56.98)	0.024	0.877
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	62.58 ± 5.54	62.67 ± 5.34	0.108	0.914
BMI(kg/m ²)	22.79 ± 2.53	22.86 ± 2.54	0.181	0.857
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	139.68 ± 5.95	140.38 ± 6.05	0.765	0.445
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	78.59 ± 7.57	77.58 ± 7.56	0.875	0.383
饮酒史[例(%)]	20(23.26)	21(24.42)	0.032	0.858
吸烟史[例(%)]	17(19.77)	19(22.09)	1.142	0.285
高血压史[例(%)]	19(22.09)	22(25.58)	0.288	0.591
糖尿病史[例(%)]	12(13.95)	16(18.60)	0.683	0.409
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	8.96 ± 1.95	9.10 ± 2.01	0.464	0.644
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.27 ± 0.27	1.24 ± 0.24	0.770	0.442
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.18 ± 0.46	2.20 ± 0.48	0.279	0.781
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.24 ± 0.28	1.19 ± 0.26	1.214	0.227
FPG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	5.42 ± 0.95	5.39 ± 0.86	0.217	0.828
HbA _{1c} ($\bar{x} \pm s$, %)	6.33 ± 0.58	6.41 ± 0.59	0.897	0.371

注:TC. 总胆固醇;TG. 三酰甘油;FPG. 空腹血糖;BMI. 体质指数;LDL-C. 低密度脂蛋白胆固醇;HDL-C. 高密度脂蛋白胆固醇;HbA_{1c}. 糖化血红蛋白。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①符合 CHF 的诊断标准^[9];②均为首次确诊;③年龄 > 18 岁;④左心室射血分数(LVEF) < 45.0%。(2)排除标准:①恶性肿

瘤者;②感染性疾病者;③急性心肌梗死;④重要脏器(肝、肾)衰竭者;⑤先天性心脏病。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 Cyr61、ANGPTL3 水平检测:于 CHF 患者入院时/健康对照组体检当日采集空腹静脉血 5 ml,离心留取上层血清待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 Cyr61、ANGPTL3 水平,试剂盒均购自上海江莱公司(货号为 1528905377、1529019579),按照试剂盒说明书进行检测,使用酶标仪(Multiskan FC)检测吸光度值,绘制标准曲线计算血清水平。

1.3.2 CDU 检查:采用 CDU(荷兰 Philip 公司,型号 Affiniti 70)扫描心脏和周边位置(探头频率为 2.25 MHz),观察心室血液流速、波动速度等,获取图像并测量心功能指标[左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心房内径(LAD)、LVEF]。所有结果均由高年资彩超室医师双盲阅片,连续检测 3 个心动周期,取其平均值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,2 组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;Pearson 相关性分析血清 Cyr61、ANGPTL3 水平与心功能指标的相关性;多因素 Logistic 回归分析 CHF 患者的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价 CDU、Cyr61、ANGPTL3 对 CHF 患者的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 Cyr61、ANGPTL3 水平及心功能指标比较 心力衰竭组血清 Cyr61、ANGPTL3 水平及 LVEDD、LAD 均高于健康对照组,LVEF 低于健康对照组($P < 0.01$),见表 2。

2.2 不同 NYHA 心功能分级血清 Cyr61、ANGPTL3 水

平及心功能指标比较 IV 级亚组 CHF 患者血清 Cyr61、ANGPTL3 水平及 LVEDD、LAD 均高于 II ~ III 级亚组,LVEF 低于 II ~ III 级亚组($P < 0.01$),见表 3。

2.3 血清 Cyr61、ANGPTL3 水平与心功能指标的相关性 Pearson 相关性分析显示,CHF 患者血清 Cyr61、ANGPTL3 水平与 LVEDD、LAD 呈正相关,与 LVEF 呈负相关($P < 0.01$),见表 4。

表 4 CHF 患者血清 Cyr61、ANGPTL3 水平与心功能指标的相关性

Tab. 4 Correlation between serum Cyr61, ANGPTL3 levels and cardiac function indicators in CHF patients

指 标	Cyr61		ANGPTL3	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
LVEDD	0.501	<0.001	0.515	<0.001
LAD	0.510	<0.001	0.517	<0.001
LVEF	-0.522	<0.001	-0.532	<0.001

2.4 多因素 Logistic 回归分析 CHF 患者的影响因素

以 CHF 患者为因变量(是 = 1,否 = 0),以 Cyr61、ANGPTL3、LVEDD、LAD、LVEF 为自变量(赋值均为实测值)进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示:Cyr61、ANGPTL3、LVEDD、LAD 升高为 CHF 患者的独立危险因素,LVEF 升高为独立保护因素($P < 0.05$),见表 5。

2.5 CDU 及血清 Cyr61、ANGPTL3 水平诊断 CHF 的价值 绘制 CDU 及血清 Cyr61、ANGPTL3 水平单独与联合诊断 CHF 的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:LVEDD、LAD、LVEF、Cyr61、ANGPTL3 及五者联合诊断 CHF 的 AUC 分别为 0.764、0.832、0.815、0.810、0.808、0.976,五者联合的 AUC

表 2 健康对照组与心力衰竭组血清 Cyr61、ANGPTL3 水平及心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum Cyr61, ANGPTL3 levels and cardiac function indicators between healthy control group and heart failure group

组 别	例数	Cyr61 (ng/L)	ANGPTL3 (mg/L)	LVEDD (mm)	LAD (mm)	LVEF (%)
健康对照组	86	90.68 ± 12.65	31.25 ± 3.75	46.25 ± 2.86	32.75 ± 3.25	66.27 ± 4.38
心力衰竭组	86	111.63 ± 15.32	55.53 ± 5.06	55.13 ± 3.45	45.93 ± 4.68	42.06 ± 1.09
<i>t</i> 值		9.779	35.751	18.376	21.451	49.742
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 II ~ III 级亚组与 IV 级亚组 CHF 患者血清 Cyr61、ANGPTL3 水平及心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum Cyr61, ANGPTL3 levels and cardiac function indicators between subgroups II - III and IV of CHF patients

组 别	例数	Cyr61 (ng/L)	ANGPTL3 (mg/L)	LVEDD (mm)	LAD (mm)	LVEF (%)
II ~ III 级亚组	58	98.62 ± 13.75	40.56 ± 3.86	53.12 ± 3.42	36.45 ± 4.52	43.15 ± 1.11
IV 级亚组	28	138.57 ± 18.57	86.54 ± 7.56	59.30 ± 3.51	65.57 ± 5.02	39.81 ± 1.05
<i>t</i> 值		11.226	37.440	7.786	27.001	13.303
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

大于 LVEDD、LAD、LVEF、Cyr61、ANGPTL3 单独诊断的 AUC($Z = 2.527、2.675、2.689、2.679、2.680, P = 0.031、0.024、0.020、0.018、0.023$),见表 6、图 1。

表 5 影响 CHF 患者的多因素 Logistic 回归分析

Tab.5 Multivariate Logistic regression analysis affecting CHF patients

自变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
Cyr61 高	1.134	0.342	10.994	<0.001	3.108	1.590~6.076
ANGPTL3 高	1.476	0.397	13.834	<0.001	4.378	2.011~9.533
LVEDD 高	1.230	0.437	7.918	0.005	3.420	1.452~8.054
LAD 高	0.722	0.186	15.057	<0.001	2.058	1.429~2.963
LVEF 高	-0.652	0.234	7.764	0.005	0.521	0.329~0.824

表 6 CDU 及血清 Cyr61、ANGPTL3 水平诊断 CHF 的价值

Tab.6 The diagnostic value of CDU and serum levels of Cyr61 and ANGPTL3 for CHF

项 目	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
LVEDD	53.127 mm	0.764	0.694~0.835	0.567	0.843	0.410
LAD	41.358 mm	0.832	0.774~0.891	0.722	0.824	0.546
LVEF	43.328%	0.815	0.751~0.880	0.777	0.803	0.580
Cyr61	106.357 ng/L	0.810	0.745~0.876	0.796	0.793	0.589
ANGPTL3	51.364 mg/L	0.808	0.735~0.880	0.817	0.782	0.599
五者联合		0.976	0.959~0.993	0.966	0.776	0.742

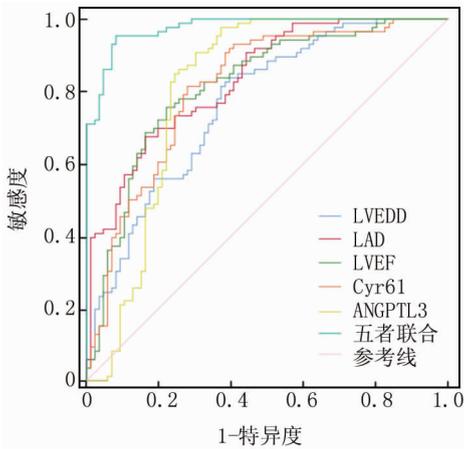


图 1 CDU 及血清 Cyr61、ANGPTL3 水平诊断 CHF 的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curves of CDU and serum Cyr61, ANGPTL3 levels for diagnosing CHF

3 讨论

CHF 是心脏功能异常导致心室充盈或者射血能力受损的综合征,会使患者出现疲劳、运动不耐受及呼吸困难,还可伴有肺循环充血、组织水肿等^[10]。CHF 作为心血管病的终末期,其发病率随着老龄化加剧不断增加,社会经济负担加重^[11]。虽然医疗技术发展较

快,但 CHF 病死率仍然较高,因此寻找与 CHF 有关的指标进行早期诊断,可有效改善患者预后。

CDU 能较为全面地显示心脏结构图像,还能测量血流状态、心脏扩大等,其还有安全无创、检查费用低等优点,可为临床医师诊断 CHF 提供参考^[12]。CDU 检查时采用 LVEDD、LAD、LVEF 判断患者病情,LVEDD 能评价机体的心脏形态及结构,LVEF 能反映患者的病情严重程度,其可评估患者的左心室泵血功能,与心肌细胞数量及心肌收缩功能有关,当其值变低时说明机体心肌坏死以及纤维化程度较为严重,心脏收缩功能也随之变差,有研究发现 CDU 诊断 CHF 患者心功能时临床价值较高^[13]。本研究结果发现,心力衰竭组 LVEDD、LAD 均显著升高,LVEF 显著降低,说明 CHF 患者的心功能较差,且随着心功能分级增加 LVEDD、LAD 明显升高,LVEF 明显降低,说明 CDU 可有效评估患者的心功能分级。根据 ROC 曲线得知,LVEDD、LAD、LVEF 诊断 CHF 患者的 AUC 为 0.764、0.832、0.815,说明 CDU 可对 CHF 进行诊断。CDU 易受经验等主观因素影响,也会因为样本数据和个体差异性导致漏诊,因此可联合血清生物学指标进行鉴别。

Cyr61 作为常见的结缔组织生长因子,可与溶血磷脂酸结合来促进迁移平滑肌细胞,在动脉粥样硬化中发挥作用^[14]。Cyr61 还是一种促炎因子,可介导内皮细胞增殖,并通过介导巨噬细胞的黏附和迁移,激活促炎基因谱,从而参与平滑肌细胞的增殖过程^[15]。且 Cyr61 降低时会抑制 ox-LDL 诱导的血管平滑肌细胞的活力和迁移,从而证实 Cyr61 可参与调节胆固醇代谢及动脉粥样硬化的进展^[16]。血清 Cyr61 在冠心病患者中明显升高,且会随着病情程度加重而增加,还可进行早期诊断^[17]。本研究结果发现,心力衰竭组血清 Cyr61 水平显著升高,且随着心功能分级增加其水平明显升高,说明血清 Cyr61 可能参与 CHF 的进展。

ANGPTL3 蛋白分子结构主要包括分泌信号肽、卷曲螺旋结构域以及球状纤维蛋白原样结构域,卷曲螺旋结构域与脂质代谢有关,球状纤维蛋白原样结构域与血管生成有关^[18]。ANGPTL3 能抑制脂蛋白脂肪酶活性,可降低 LDL-C 水平,促进血管平滑肌细胞增殖,从而参与脂质代谢类疾病的进展,而脂质代谢与心功能存在一定的关系^[19]。治疗心血管病时以 ANGPTL3 为靶点,可对动脉粥样硬化心血管病起到较好的治疗效果^[20]。有研究发现,老年冠心病心力衰竭患者血清 ANGPTL3 明显升高,其还能反映左心功能障碍的严重程度,早期监测其水平变化对临床早期干预治疗十分重要^[21]。本研究发现,心力衰竭组血清 ANGPTL3 水

平显著升高,且随着心功能分级越高其水平也在增加,说明血清 ANGPTL3 可能参与 CHF 的发展。Pearson 相关性分析发现,血清 Cyr61 与 ANGPTL3 呈正相关,说明二者可能共同参与调节 CHF 的生物学发展。且血清 Cyr61、ANGPTL3 与 LVEDD、LAD、LVEF 均有关,说明血清 Cyr61、ANGPTL3 与 CHF 患者心功能具有一定的相关性。多因素 Logistic 回归分析表明 Cyr61、ANGPTL3、LVEDD、LAD 为影响 CHF 患者的危险因素,LVEF 为保护因素,说明检测其水平变化可有效评估患者病情进展。根据 ROC 曲线得知,LVEDD、LAD、LVEF、血清 Cyr61、ANGPTL3 五者联合诊断 CHF 患者的 AUC 为 0.976,优于各自单独诊断,说明五者联合检测可有效提高对 CHF 的诊断价值,为临床医师早期诊治并制定治疗策略提供参考。

综上所述,CHF 患者血清 Cyr61、ANGPTL3 均显著升高,CDU 联合血清 Cyr61、ANGPTL3 可提高对 CHF 的诊断价值。后续将扩大样本量进一步验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

谢子旗:实施研究过程,资料搜集整理,论文撰写;吴小娟:课题设计,论文审核;谢晴、郑小叶:分析试验数据,进行统计学分析,论文修改;朱红艳、张环:提出研究思路,设计研究方案,资料搜集整理

参考文献

- [1] Boersma EM, Ter Maaten JM, Damman K, et al. Dipeptidyl peptidase 3, a marker of the antagonist pathway of the renin-angiotensin-aldosterone system in patients with heart failure [J]. *Eur J Heart Fail*, 2021, 23(6):947-953. DOI:10.1002/ejhf.2158.
- [2] Harwood AE, Russell S, Okwose NC, et al. A systematic review of rehabilitation in chronic heart failure: Evaluating the reporting of exercise interventions [J]. *ESC Heart Fail*, 2021, 8(5):3458-3471. DOI:10.1002/ehf2.13498.
- [3] Wang X, Wang F, Feng Z, et al. The association between levels of serum homocysteine and chronic heart failure: A protocol for systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(5):e24117. DOI:10.1097/MD.00000000000024117.
- [4] Wang C, Han S, Tong F, et al. Predictive value of the serum Cystatin C/Prealbumin ratio in combination with NT-proBNP levels for long-term prognosis in chronic heart failure patients: A retrospective cohort study [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8(1):684919-684923. DOI:10.3389/fcvm.2021.684919.
- [5] Bian P, Zhang X, Liu R, et al. Deep-learning-based color doppler ultrasound image feature in the diagnosis of elderly patients with chronic heart failure complicated with sarcopenia [J]. *J Healthc Eng*, 2021, 2021(1):2603842-2603851. DOI:10.1155/2021/2603842.
- [6] Frey SP, Yorumazel B, Hölscher-Doht S, et al. CYR61 improves muscle force recreation in a rabbit trauma model [J]. *Technol Health Care*, 2021, 29(6):1129-1140. DOI:10.3233/THC-191635.
- [7] 刘丽梅, 李志明, 刘新, 等. 血清 miR-135b、ANGPTL3 与冠心病患者 Gensini 积分的相关性分析 [J]. *广东医学*, 2021, 42(4):472-

475. DOI:10.13820/j.cnki.gdxy.20192523.
- [8] Shang X, Xiao S, Dong N, et al. Assessing right ventricular function in pulmonary hypertension patients and the correlation with the New York Heart Association (NYHA) classification [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(52):90421-90429. DOI:10.18632/oncotarget.19026.
- [9] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师协会心力衰竭专业委员会中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(10):760-789. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.10.004.
- [10] 李洪幸, 杜小岳, 张冰. 心衰超声指数评价慢性心力衰竭患者心脏功能的临床价值 [J]. *医学影像学杂志*, 2020, 30(9):1607-1610.
- [11] Yang H, Li Y, Su X, et al. Relationship between free fatty acids, body mass index and depressive symptoms in patients with chronic heart failure [J]. *Nurs Open*, 2021, 8(5):2877-2885. DOI:10.1002/nop2.877.
- [12] 王晓萍, 王志荣. 心电图联合心脏彩超诊断冠心病心力衰竭病情严重程度的价值研究 [J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2019, 14(11):1038-1041. DOI:10.3969/j.issn.1673-6966.2019.11.005.
- [13] 黄兵, 柳登平. 彩色多普勒超声对慢性心力衰竭患者心功能的评估价值分析 [J]. *临床医学工程*, 2023, 30(5):595-596. DOI:10.3969/j.issn.1674-4659.2023.05.0595.
- [14] Liu C, Cao Y, He X, et al. Association of Cyr61-cysteine-rich protein 61 and short-term mortality in patients with acute heart failure and coronary heart disease [J]. *Biomark Med*, 2019, 13(18):1589-1597. DOI:10.2217/bmm-2019-0111.
- [15] 张欢, 夏豪, 徐林, 等. 富含半胱氨酸蛋白 61 在心血管疾病中的研究进展 [J]. *中国心血管病研究*, 2019, 17(11):1032-1036. DOI:10.3969/j.issn.1672-5301.2019.11.016.
- [16] Li W, Li Y, Zhi W, et al. Diagnostic value of using exosome-derived cysteine-rich protein 61 as biomarkers for acute coronary syndrome [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(6):1437-1442. DOI:10.3892/etm.2021.10872.
- [17] 钱人杰, 丁振江. 血清 Cyr61、MHR、LHR 水平及联合检测与冠心病的相关性分析 [J]. *医学信息*, 2023, 36(19):92-96, 129. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.19.019.
- [18] 宋昕, 王佳, 付群, 等. 冠心病患者血清 CT-1、ANGPTL3、sTNFRI 与心功能分级和预后的关系分析 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2023, 15(4):477-480. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2023.04.20.
- [19] Tikkanen E, Minicocci I, Hällfors J, et al. Metabolomic signature of angiotensin-like protein 3 deficiency in fasting and postprandial state [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(4):665-674. DOI:10.1161/ATVBAHA.118.312021.
- [20] Wang Q, Oliver-Williams C, Raitakari OT, et al. Metabolic profiling of angiotensin-like protein 3 and 4 inhibition: A drug-target Mendelian randomization analysis [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(12):1160-1169. DOI:10.1093/eurheartj/ehaa972.
- [21] 陈丽芳, 黄于朗, 柯晓. 血清软骨糖蛋白 39 和血管生成素样蛋白 3 水平与老年冠心病心力衰竭患者左心室功能不全的相关性 [J]. *中华老年医学杂志*, 2021, 40(9):1107-1111. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2021.09.005.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.011

论著·临床

高分辨率磁共振成像联合血清 miR-140-3p、miR-223-3p 在颈动脉粥样硬化斑块易损性评价中的价值研究

丁超, 刘永保, 张春阳, 张健煜, 郭振委



基金项目: 江苏省科技基础研究计划项目(BK20211214)

作者单位: 222061 江苏省连云港市第一人民医院医学影像科(丁超、刘永保), 神经内科(张春阳、张健煜、郭振委)

通信作者: 刘永保, E-mail: 2522287002@qq.com

【摘要】目的 探究高分辨率磁共振成像(高分辨率 MR)联合血清微小核糖核酸-140-3p(miR-140-3p)、微小核糖核酸-223-3p(miR-223-3p)在颈动脉粥样硬化斑块易损性评价中的价值。**方法** 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月连云港市第一人民医院神经内科收治的颈动脉粥样硬化患者 86 例为研究对象,根据病理学确诊斑块状况将患者分为斑块易损组 42 例和非斑块易损组 44 例。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测血清 miR-140-3p、miR-223-3p 表达;Kappa 检验分析高分辨率 MR 检测与金标准诊断颈动脉粥样硬化斑块易损的一致性;多因素 Logistic 回归分析颈动脉粥样硬化患者斑块易损的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 对颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的诊断价值。**结果** 斑块易损组血清 miR-140-3p 表达低于非斑块易损组,血清 miR-223-3p 表达高于非斑块易损组($t/P=6.033/<0.001, 6.367/<0.001$);2 组动脉重构类型及斑块分布位置比较,差异无统计学意义($P>0.05$);Kappa 检验显示,高分辨率 MR 检测与金标准诊断颈动脉粥样硬化斑块易损的一致性尚可(Kappa=0.603, $P<0.001$);多因素 Logistic 回归分析显示, C 反应蛋白(CRP)、miR-223-3p 升高为颈动脉粥样硬化患者斑块易损的独立危险因素[OR(95% CI)=1.685(1.051~2.702)、3.054(2.008~4.645)], miR-140-3p 升高为独立保护因素[OR(95% CI)=0.752(0.616~0.918)];高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 及三者联合诊断颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的曲线下面积(AUC)分别为 0.800、0.860、0.884、0.981,三者联合的 AUC 大于高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 单独诊断的 AUC($Z/P=4.537/<0.001, 2.980/0.003, 2.869/0.004$)。 **结论** 高分辨率 MR 联合血清 miR-140-3p、miR-223-3p 检测对颈动脉粥样硬化斑块易损性有较高的诊断价值。

【关键词】 颈动脉粥样硬化;斑块易损性;高分辨率磁共振成像;微小核糖核酸-140-3p;微小核糖核酸-223-3p

【中图分类号】 R445.2;R543.4

【文献标识码】 A

Value of high-resolution MR combined with serum miR-140-3p and miR-223-3p in evaluating the carotid atherosclerotic plaque vulnerability Ding Chao*, Liu Yongbao, Zhang Chunyang, Zhang Jianyu, Guo Zhenwei. * Department of

Medical Imaging, the First People's Hospital of Lianyungang, Jiangsu Province, Lianyungang 222061, China

Funding program: Jiangsu Province Science and Technology Basic Research Program (BK20211214)

Corresponding author: Liu Yongbao, E-mail: 2522287002@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the value of high-resolution magnetic resonance imaging (high-resolution MR) combined with serum micromA-140-3p (miR-140-3p) and micromA-223-3p (miR-223-3p) in the assessment of the vulnerability of carotid atherosclerotic plaques. **Methods** A total of 86 patients with carotid atherosclerosis admitted to the Department of Neurology of the First People's Hospital of Lianyungang City from January 2022 to December 2023 were selected as the study objects. According to the pathologically confirmed plaque status, the patients were divided into a plaque vulnerable group (42 cases) and a non-plaque vulnerable group (44 cases). The serum levels of miR-140-3p and miR-223-3p were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). Kappa test was used to analyze the consistency of high-resolution MR Detection and gold standard in diagnosing vulnerable carotid atherosclerotic plaques. Multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of plaque vulnerability in patients with carotid atherosclerosis. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of the diagnostic value of high-resolution MR, miR-140-3p and miR-223-3p in plaque vulnerability in patients with carotid atherosclerosis. **Results** The serum miR-140-3p level in the plaque vulnerable group was lower than that in the non-plaque vulnerable group, and the serum miR-223-3p level was higher than that in

the non-plaque vulnerable group ($t/P=6.033/ <0.001, 6.367/ <0.001$). There was no significant difference in arterial remodeling type and plaque distribution between the two groups ($P>0.05$). Kappa test showed that the high resolution MR Test was generally consistent with the gold standard in the diagnosis of vulnerable carotid atherosclerotic plaque (Kappa value = 0.603). Multivariate Logistic regression analysis showed that high CRP and miR-223-3p were independent risk factors for vulnerable plaque in patients with carotid atherosclerosis [OR (95% CI) = 1.685 (1.051 - 2.702), 3.054 (2.008 - 4.645)]. The high level of miR-140-3p was an independent protective factor [OR (95% CI) = 0.752 (0.616 - 0.918)]. The area under the curve (AUC) of plaque vulnerability in patients with carotid atherosclerosis diagnosed by high-resolution MR, miR-140-3p, miR-223-3p and their combination were 0.800, 0.860, 0.884 and 0.981, respectively. The AUC of the combination of the three was greater than that diagnosed by high-resolution MR, miR-140-3p and miR-223-3p alone ($Z/P = 4.537/ <0.001, 2.980/0.003, 2.869/0.004$). **Conclusion** High-resolution MR Combined with serum miR-140-3p and miR-223-3p detection can improve the diagnostic value of carotid atherosclerotic plaque vulnerability.

【Key words】 Carotid atherosclerosis; Plaque vulnerability; High-resolution magnetic resonance imaging; Microribonucleic acid-140-3p; Microribonucleic acid-223-3p

动脉粥样硬化是导致动脉粥样硬化性心血管疾病的主要病理生理过程,例如冠状动脉、脑血管和外周动脉疾病^[1]。易损颈动脉斑块的存在与冠状动脉疾病和卒中事件有关^[2-3]。高分辨率磁共振成像(高分辨率 MR)具有高灵敏度、相对较低的成本和无辐射性等优点,可以监测颈动脉斑块,然而,其性能取决于操作者,并且可能受到钙化存在的限制^[4]。因此寻找与颈动脉粥样硬化斑块易损性相关的生物学指标有重要的意义。微小核糖核酸(miRNA, miR)在血管功能和动脉粥样硬化中发挥关键作用^[5]。miR-140-3p 在颈动脉硬化大鼠血清中的表达显著降低^[6]。miR-223-3p 在动脉粥样硬化患者血清中上调,可能是动脉粥样硬化的有效诊断标志物^[7]。miR-140-3p、miR-223-3p 在颈动脉粥样硬化斑块易损性中的研究甚少,鉴于此,本研究检测颈动脉粥样硬化患者血清中 miR-140-3p、miR-223-3p 表达水平,分析高分辨率 MR 联合血清 miR-140-3p、miR-223-3p 对颈动脉粥样硬化斑块易损性的评估价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月连云港市第一人民医院神经内科收治的颈动脉粥样硬化患者 86 例为研究对象,根据病理学确诊斑块状况并将患者分为斑块易损组 42 例和非斑块易损组 44 例。2 组患者性别、年龄、体质量指数(BMI)、吸烟史、饮酒史、高血压史、糖尿病史、血肌酐(SCr)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)比较差异无统计学意义($P > 0.05$);与非斑块易损组比较,斑块易损组尿酸(UA)、C 反应蛋白(CRP)水平显著升高($P < 0.01$),见表 1。本研究获得医院伦理委员会批准(2021-11020012),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 非斑块易损组与斑块易损组颈动脉粥样硬化患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data of carotid atherosclerosis patients between non plaque vulnerable group and plaque vulnerable group

项 目	非斑块易损组 (n = 44)	斑块易损组 (n = 42)	χ^2/t 值	P 值
男[例(%)]	28(63.64)	27(64.29)	0.004	0.950
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	68.58 \pm 7.12	68.62 \pm 7.15	0.026	0.979
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	21.18 \pm 2.24	21.26 \pm 2.18	0.168	0.867
吸烟史[例(%)]	24(54.55)	22(52.38)	0.040	0.841
饮酒史[例(%)]	20(45.45)	18(42.86)	0.059	0.808
高血压史[例(%)]	32(72.73)	34(80.95)	0.815	0.367
糖尿病史[例(%)]	26(59.09)	25(59.52)	0.002	0.967
UA($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)	354.68 \pm 40.18	450.65 \pm 50.41	9.786	<0.001
SCr($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)	68.41 \pm 7.06	69.48 \pm 7.45	0.684	0.496
CRP($\bar{x} \pm s$, mg/L)	11.07 \pm 2.04	13.52 \pm 2.08	5.514	<0.001
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.48 \pm 0.58	4.52 \pm 0.63	0.307	0.760
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.98 \pm 0.24	2.10 \pm 0.32	1.973	0.052
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.20 \pm 0.21	1.14 \pm 0.20	1.356	0.179
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.95 \pm 0.50	3.10 \pm 0.54	1.337	0.185

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合《CDFI 评估颈动脉粥样硬化斑块易损性》^[8]的要求;②斑块厚度 ≥ 1.5 mm, 长度 ≥ 10 mm。(2) 排除标准:①体内有金属异物的患者;②患有严重心律失常的患者;③患有严重心脏性疾病的患者;④患有恶性肿瘤的患者;⑤无法进行交流的患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-140-3p、miR-223-3p 表达检测:于患者入院时采集空腹肘静脉血 10 ml,离心留取上清液置于 -80℃ 冰箱内待检测。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测血清中 miR-140-3p、miR-223-3p 水平。使用 TRIzol 试剂(深圳子科生物科技有限公司,货号:15596018)从血清中提取总 RNA,再使用大容量

cDNA 逆转录试剂盒(北京祥生兴业科技有限公司,货号:4368814)将提取的 RNA 逆转录为 cDNA 进行 qRT-PCR。反应条件:96℃ 预变性 8 min、95℃ 变性 38 s、58℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 30 s,共计 40 个循环。引物序列见表 2。反应体系:cDNA 1 μl,上下游引物各 1 μl,Power SYBR Green RT-PCR 试剂(上海恒斐生物科技有限公司,货号:4368711)8 μl,ddH₂O 5 μl。以 U6 作为内参,采用 2^{-ΔΔCT}法分析 miR-140-3p、miR-223-3p 的表达水平。

表 2 miR-140-3p 和 miR-223-3p 引物序列

Tab. 2 Primer sequences for miR-140-3p and miR-223-3p

基因	上游引物	下游引物
miR-140-3p	5'-TACCACAGGCTAGACCACGG-3'	5'-CCACAGGCTAGAAC-CACGG-3'
miR-223-3p	5'-ACACTCCAGCTGGG-TGTCAGT-3'	5'-AATTCAGTTGAGTGG-GGTAT-3'
U6	5'-CGCTTGGGCAGCAC-ATATAC-3'	5'-AAATATGGAACGCTT-CACGA-3'

1.3.2 颈动脉粥样硬化斑块检测:使用西门子磁共振扫描仪对患者颈动脉进行扫描,设置扫描层面为 35 层,回波时间(TE)为 4.10 ms,重复时间(TR)为 25 ms,视野(FOV)为 145 mm。T1WI 序列设定为 TE 15 ms,TR 750 ms;T2WI 序列为 TE 75 ms,TR 3 450 ms。在肘静脉注射造影剂(上海伟进生物科技有限公司,货号:mv-122)5 ml,5 min 后进行增强磁共振 T1WI 扫描。观察患者颈动脉粥样硬化斑块状况。

1.4 颈动脉粥样硬化斑块易损性评价 颈动脉粥样硬化斑块易损性为易发生血栓并进展为动脉粥样硬化斑块,其特征为斑块内出血、大脂质核心、薄或破损纤维帽的斑块^[9]。

1.5 统计学方法 选用 SPSS 22.0 软件整理和分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用两独立样本 *t* 检验;Kappa 检验分析高分辨率 MR 检测与金标准诊断斑块易损的一致性,Kappa 值 >0.75 为一致性良好,0.4~0.75 为一致性尚可,<0.4 为一致性较差;多因素 Logistic 回归分析颈动脉粥样硬化患者斑块易损的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 对颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的诊断价值。*P* <0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 miR-140-3p、miR-223-3p 表达比较 斑

块易损组血清 miR-140-3p 表达低于非斑块易损组,miR-223-3p 表达高于非斑块易损组(*P* <0.01),见表 3。

表 3 非斑块易损组与斑块易损组颈动脉粥样硬化患者血清 miR-140-3p、miR-223-3p 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum miR-140-3p and miR-223-3p levels between non plaque vulnerable group and plaque vulnerable group in patients with carotid atherosclerosis

组别	例数	miR-140-3p	miR-223-3p
非斑块易损组	44	1.01 ± 0.14	1.02 ± 0.11
斑块易损组	42	0.84 ± 0.12	1.20 ± 0.15
<i>t</i> 值		6.033	6.367
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 2 组颈动脉粥样硬化斑块特点比较 非斑块易损组与斑块易损组动脉重构类型及斑块分布位置比较,差异无统计学意义(*P* >0.05),见表 4。

表 4 非斑块易损组与斑块易损组颈动脉粥样硬化患者颈动脉粥样硬化斑块特点比较 [例(%)]

Tab. 4 Comparison of characteristics of carotid atherosclerotic plaque between non plaque vulnerable group and plaque vulnerable group

项目	非斑块易损组 (<i>n</i> = 44)	斑块易损组 (<i>n</i> = 42)	χ^2 值	<i>P</i> 值
动脉重构类型			2.622	0.105
正向重构	20(45.45)	12(28.57)		
负向重构	24(54.55)	30(71.43)		
斑块分布位置				
上壁	9(20.45)	10(23.81)	0.141	0.708
下壁	20(45.45)	17(40.48)	0.217	0.641
前壁	15(34.09)	13(30.95)	0.096	0.756
后壁	7(15.91)	8(19.05)	0.147	0.701

2.3 高分辨率 MR 检测与金标准诊断颈动脉粥样硬化斑块易损的一致性 经高分辨率 MR 检测发现斑块易损 35 例,非斑块易损 51 例。Kappa 检验显示,高分辨率 MR 与金标准诊断颈动脉粥样硬化斑块易损的一致性尚可(Kappa =0.603,*P* <0.001)。

2.4 多因素 Logistic 回归分析颈动脉粥样硬化患者斑块易损的影响因素 以颈动脉粥样硬化患者斑块是否易损为因变量(是 =1,否 =0),以上述结果中 *P* <0.05 项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示:CRP、miR-223-3p 升高为颈动脉粥样硬化患者斑块易损的独立危险因素,miR-140-3p 高为独立保护因素(*P* <0.05),见表 5。

2.5 高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 对颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的诊断价值 绘制高分辨率

MR、miR-140-3p、miR-223-3p 单独与联合诊断颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 及三者联合诊断颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的 AUC 分别为 0.800、0.860、0.884、0.981,三者联合的 AUC 大于高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 单独诊断的 AUC ($Z/P = 4.537 / < 0.001$ 、 $2.980 / 0.003$ 、 $2.869 / 0.004$),见表 6、图 1。

表 5 影响颈动脉粥样硬化患者斑块易损的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5 Multifactor Logistic regression analysis on the vulnerability of plaque in patients with carotid atherosclerosis

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
UA 高	0.218	0.368	0.352	0.553	1.244	0.605 ~ 2.559
CRP 高	0.522	0.241	4.687	0.030	1.685	1.051 ~ 2.702
miR-140-3p 高	-0.285	0.102	7.808	0.005	0.752	0.616 ~ 0.918
miR-223-3p 高	1.116	0.214	27.218	<0.001	3.054	2.008 ~ 4.645

表 6 高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 对颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的诊断价值

Tab. 6 Diagnostic value of high-resolution MR, miR-140-3p, miR-223-3p on plaque vulnerability of carotid atherosclerosis patients

指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
高分辨率 MR		0.800	0.700 ~ 0.879	0.714	0.886	0.601
miR-140-3p	0.904	0.860	0.769 ~ 0.926	0.786	0.932	0.718
miR-223-3p	1.125	0.884	0.796 ~ 0.943	0.738	0.909	0.647
三者联合		0.981	0.925 ~ 0.998	0.952	0.795	0.747

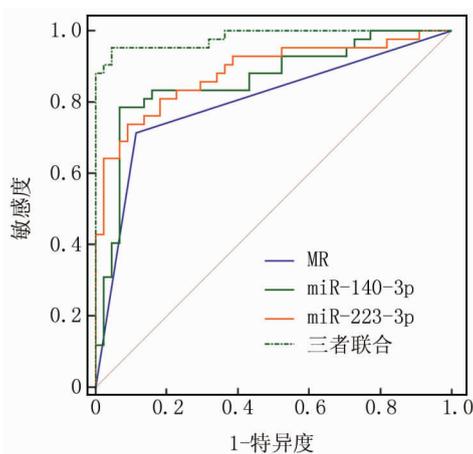


图 1 高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 诊断颈动脉粥样硬化患者斑块易损性的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of high-resolution MR, miR-140-3p, miR-223-3p in diagnosis of plaque vulnerability in patients with carotid atherosclerosis

3 讨论

颈动脉粥样硬化是一种常见的血管性疾病,其特征是动脉壁增厚和弹性降低,这是由动脉内膜中形成动脉粥样硬化斑块(脂肪沉积物)导致的^[10]。斑块主要由胆固醇、脂肪、钙和人体血液中的其他成分组成,随着时间的推移其通常会导致动脉狭窄并使组织血液供应减少,这可能导致许多严重的疾病,例如冠心病、颈动脉疾病、外周动脉疾病、慢性肾脏疾病、脑卒中、心绞痛甚至死亡^[11]。高分辨率 MR 能够进行动脉腔血流及脂肪形成信号比较,判断斑块的状况,有一定的特异性,但易受到影像医师的主观影响,存在一定的误诊、漏诊情况^[12]。本研究 Kappa 检验显示,高分辨 MR 与金标准诊断斑块易损的一致性尚可,高分辨率 MR 评估颈动脉粥样硬化斑块易损性的敏感度为 0.714,特异度为 0.886,其 AUC 为 0.800,表明其对颈动脉粥样硬化斑块易损性的诊断价值有限。因此,寻找能够早期高效诊断颈动脉粥样硬化斑块易损性相关的指标,对疾病的早期干预具有重要意义。

miRNA 与各种致病过程密切相关,例如癌症、神经变性、糖尿病肾病和血管疾病,更重要的是,miRNA 在颈动脉粥样硬化的发生和进展过程中还发挥重要的致病作用^[13]。以往研究表明,miR-140-3p 在外周动脉疾病患者血清中显著下调^[14]。miR-140-3p 通过靶向抑制核因子和 sirtuin 2 信号通路介导的氧化应激反应抑制动脉粥样硬化^[15]。本研究表明,与非斑块易损组比较,斑块易损组 miR-140-3p 表达水平显著降低,提示 miR-140-3p 影响斑块易损的发生,分析原因为 miR-140-3p 通过靶向 SMAD 特异性 E3 泛素蛋白连接酶 1 在肺动脉高压中发挥关键作用,miR-140-3p 在损伤或动脉粥样硬化血管中的表达降低^[16]。

miR-223-3p 是一种新的心血管疾病预后标志物,miR-223-3p 可能影响炎症反应和巨噬细胞积累,最初被认为是一种影响造血、免疫应答和炎症疾病的髓样特异性 miRNA,但目前已报道其在许多类型的细胞(如肝细胞和心肌细胞)中表达^[17]。研究证明,miR-223-3p 与冠状动脉疾病的多种病理过程或特征有关,包括动脉粥样硬化、血管或心肌重构、血小板反应异常和心肌缺血^[18]。miR-223-3p 具有促细胞凋亡和抗血管生成作用,并促进心肌梗死诱导的心肌纤维化和心律失常^[19]。miR-223-3p 通过抑制 FOXO3a 表达促进心肌细胞凋亡,也被证明可以通过靶向 RAS1 来调节心肌梗死后的心脏纤维化。研究表明,动脉粥样硬化患者血清 miR-223-3p 表达水平升高^[20],本研究结果亦发现,与非斑块易损组比较,斑块易损组患者 miR-

223-3p 水平显著升高,提示 miR-223-3p 与易损斑块的发生密切相关,分析原因为 miR-223-3p 参与调节胆固醇稳态和脂蛋白的转运功能,并且已被证明可以调节有助于动脉粥样硬化发病的细胞活动^[18]。

高分辨率 MR、miR-140-3p、miR-223-3p 三者联合诊断颈动脉粥样硬化斑块易损性的 AUC 高于单独诊断的 AUC 值,提示联合检测能够提高诊断效能。本研究多因素 Logistic 回归分析显示,CRP、miR-140-3p、miR-223-3p 表达水平均是颈动脉粥样硬化斑块易损的影响因素。上述结果表明 miR-140-3p、miR-223-3p 是颈动脉粥样硬化斑块易损的潜在生物指标,及时检测 miR-140-3p、miR-223-3p 表达水平对动脉粥样硬化斑块易损性有良好的诊断作用。

综上所述,颈动脉粥样硬化斑块易损患者血清 miR-140-3p 低表达、miR-223-3p 高表达,高分辨率 MR 联合血清 miR-140-3p、miR-223-3p 检测对颈动脉粥样硬化斑块易损性有较高的诊断价值。但本研究样本量较少,后续将扩大样本量采用多中心研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

丁超、刘永保:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张春阳、张健煜:提出研究思路,分析试验数据,进行统计学分析,论文审核;郭振委:资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] 刘一颖,张辰浩,林珑,等.从急性心肌梗死逆向加速动脉粥样硬化性心血管疾病谈中医痰瘀同治[J].中国中医急症,2022,31(4):645-647. DOI:10.3969/j.issn.1004-745X.2022.04.021.
- [2] 李梦馨,庞萌,李健,等.预测颈动脉粥样硬化易损斑块的新型生物标志物研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2022,30(8):714-718. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2022.08.012.
- [3] 张明龙,李留东.冠心病患者血清 Lp-PLA₂ 及 hs-CRP 水平与冠状动脉粥样硬化易损斑块的相关性研究[J].特别健康,2021,23(3):251-252. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2015.01.036.
- [4] 李抒洋.磁共振黑血序列与超声成像对动脉粥样硬化斑块稳定性评估的比较[J].疑难病杂志,2020,19(1):88-91. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.022.
- [5] 曾明,王秀玉,马星,等. MicroRNA-145 在动脉粥样硬化血管平滑肌细胞增殖迁移及表型转化中的研究进展[J].宁夏医科大学学报,2023,45(7):731-738. DOI:10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2023.07.015.
- [6] Li H,Liu X,Sun N,et al. Differentially expressed circular non-coding RNAs in atherosclerotic aortic vessels and their potential functions in endothelial injury[J]. Front Cardiovasc Med,2021,7(8):657544-657552. DOI:10.3389/fcvm.2021.657544.
- [7] You D,Qiao Q,Ono K,et al. miR-223-3p inhibits the progression of atherosclerosis via down-regulating the activation of MEK1/ERK1/2 in macrophages[J]. Aging (Albany NY),2022,14(4):1865-1878. DOI:10.18632/aging.203908.

- [8] 吕琦,惠晶晶,陈剑华,等. CDFI 评估颈动脉粥样硬化斑块易损性[J].中凤与神经疾病杂志,2015,32(3):243-247. DOI:CNKI:SUN:ZFSJ.0.2015-03-012.
- [9] 徐彤彤,朱雨蒙,王贝茹,等.基于高分辨率磁共振血管壁成像评估颈动脉分叉处几何形态与动脉粥样硬化斑块易损性的相关性研究[J].实用放射学杂志,2024,40(5):701-704,720. DOI:10.3969/j.issn.1002-1671.2024.05.004.
- [10] 张丽丽,梁娜娜. miR-204 在颈动脉粥样硬化患者血浆中表达及其在 ox-LDL 诱导的巨噬细胞胆固醇积累和凋亡中的调控作用[J].中国老年学杂志,2022,42(20):5107-5110. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2022.20.062.
- [11] 杨月君,孙坤钰,余兰,等.缺血性脑卒中患者血清 dp-ucMGP、骨钙素水平与颈内动脉颅内段钙化的相关性[J].疑难病杂志,2023,22(7):708-713. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.07.007.
- [12] 马媛媛,丁建,张彩霞,等.高分辨率 MRI 联合超微血流成像评估颈动脉粥样硬化斑块易损性的临床价值[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(5):941-945. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2022.05.036.
- [13] 骆熊,熊玮,梁旭. miRNA-126 在颈动脉粥样硬化患者中的表达及意义[J].中国老年学杂志,2016,36(3):577-579. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2016.03.027.
- [14] Zhu ZR,He Q,Wu WB,et al. miR-140-3p is involved in in-stent restenosis by targeting C-Myb and BCL-2 in peripheral artery disease[J]. J Atheroscler Thromb,2018,25(11):1168-1181. DOI:10.5551/jat.44024.
- [15] Yang D,Wang M,Hu Z,et al. Extracorporeal cardiac shock wave-induced exosome derived from endothelial colony-forming cells carrying miR-140-3p alleviate cardiomyocyte hypoxia/reoxygenation injury via the PTEN/PI3K/AKT pathway[J]. Front Cell Dev Biol,2022,10(9):779936-779942. DOI:10.3389/fcell.2021.779936.
- [16] Mo P,Tian CW,Li Q,et al. Decreased plasma miR-140-3p is associated with coronary artery disease[J]. Heliyon,2024,10(5):26960-26972. DOI:10.1016/j.heliyon.2024.e26960.
- [17] 李芸芸,李玉琳,王绿娅,等.微小核糖核酸-223-3p 对心脏缺血/再灌注损伤后心脏重构的影响[J].心肺血管病杂志,2018,37(3):231-234,243. DOI:10.3969/j.issn.1007-5062.2018.03.015.
- [18] 王丽,赵洋洋,高燕,等. miR-223-3p 和 MMP-9 联合检测在川崎病冠状动脉病变早期诊断中的临床价值[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(5):821-823. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2021.05.029.
- [19] 王星星,宋虎,杜晨阳,等. miR-223-3p 调控 FOXO3a 介导自噬在肝脏缺血再灌注损伤中的作用[J].中华器官移植杂志,2020,41(7):423-429. DOI:10.3760/cma.j.cn421203-20190321-00085.
- [20] Zhang MW,Shen YJ,Shi J,et al. miR-223-3p in cardiovascular diseases: A biomarker and potential therapeutic target[J]. Front Cardiovasc Med,2021,20(7):610561-610575. DOI:10.3389/fcvm.2020.610561.

(收稿日期:2024-07-01)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.012

论著·临床

老年阿尔茨海默病患者血清 NRG1、Klotho 水平与脑电图参数、预后的相关性

刘哲, 徐妍, 马轩, 潘建萍, 汤文郁



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82171181)

作者单位: 710100 西安, 西安国际医学中心医院神经内八科(刘哲、马轩、潘建萍、汤文郁), 视频脑电监测室(徐妍)

通信作者: 马轩, E-mail: 921804126@qq.com

【摘要】目的 研究老年阿尔茨海默病(AD)患者血清神经调节蛋白 1(NRG1)、Klotho 与脑电图参数、预后的相关性。**方法** 选取 2021 年 1 月—2023 年 12 月西安国际医学中心医院神经内八科诊治的老年 AD 患者 192 例为病例组, 根据预后情况分为预后不良亚组 87 例和预后良好亚组 105 例。另外选取健康体检者 82 例为健康对照组。利用脑电图仪检测并计算 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$; ELISA 试剂盒检测血清 NRG1、Klotho; 简单精神状态检查表(MMSE)评价 AD 患者的认知功能并根据评分分为无症状亚组(47 例)、轻度亚组(66 例)、中度亚组(70 例)、重度亚组(9 例); 采用 Spearman 分析各指标间的相关性; Logistic 回归分析 AD 患者预后的影响因素; 受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 NRG1、Klotho 对 AD 患者的预后预测价值。**结果** 病例组 NRG1、Klotho 水平低于健康对照组, $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 高于健康对照组($t/P = 11.822/ < 0.001, 18.466/ < 0.001, 17.806/ < 0.001$); NRG1、Klotho、MMSE 水平趋势为无症状亚组 > 轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组, $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 水平趋势为无症状亚组 < 轻度亚组 < 中度亚组 < 重度亚组($F/P = 30.523/ < 0.001, 58.508/ < 0.001, 411.618/ < 0.001, 69.750/ < 0.001$); NRG1、Klotho 与 MMSE 呈正相关($r/P = 0.422/ < 0.001, 0.439/ < 0.001$), MMSE 与 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 呈负相关($r/P = -0.418/ < 0.001$); 预后不良亚组高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、NRG1、Klotho、MMSE 以及日常锻炼所占比例低于预后良好亚组, 同型半胱氨酸(Hcy)、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 高于预后良好亚组($t/\chi^2/P = 3.979/ < 0.001, 7.052/ < 0.001, 8.769/ < 0.001, 4.016/ < 0.001, 11.305/ < 0.001, 5.936/ < 0.001, 9.237/ < 0.001$); Hcy、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 升高是 AD 患者不良预后的危险因素[OR(95% CI) = 2.266(1.493 ~ 3.440)、1.692(1.134 ~ 2.524)], NRG1、Klotho、MMSE 升高是 AD 患者不良预后的保护因素[OR(95% CI) = 0.315(0.228 ~ 0.434)、0.384(0.285 ~ 0.518)、0.401(0.269 ~ 0.598)]; 血清 NRG1、Klotho 及二者联合预测 AD 患者预后的 AUC 分别为 0.751、0.783、0.901, 二者联合优于各自单独预测效能($Z = 4.031, 3.985, P$ 均 < 0.001)。**结论** 老年阿尔茨海默病患者血清 NRG1、Klotho 水平降低, 且与脑电图参数和预后相关。

【关键词】 阿尔茨海默病; 神经调节蛋白 1; Klotho; 脑电图; 预后; 老年人**【中图分类号】** R749.16 **【文献标识码】** A

The correlation between serum NRG1, Klotho levels with EEG parameters, prognosis in elderly Alzheimer's disease patients Liu Zhe*, Xu Yan, Ma Xuan, Pan Jianping, Tang Wenyu. * Department of Neurology, Xi'an International Medical Center Hospital, Shaanxi Province, Xi'an 710100, China

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82171181)

Corresponding author: Ma Xuan, E-mail: 921804126@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between serum Neuregulin 1 (NRG1), Klotho with electroencephalogram parameters and prognosis in elderly patients with Alzheimer's disease. **Methods** A total of 192 elderly Alzheimer's disease patients who treated in the Department of Neurology Xi'an International Medical Center Hospital from January 2021 to December 2023 were included as the disease group, and were separated into a poor prognosis subgroup (87 cases) and a good prognosis subgroup (105 cases) according to their prognosis. In addition, 82 healthy examinees were included as the healthy control group. Electroencephalogram detection was carried out, and $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ value was calculated. ELISA kit was applied to detect serum NRG1 and Klotho. The Mini Mental State Examination (MMSE) was applied to evaluate the cognitive function of AD patients, and grouped into asymptomatic subgroup (47 cases), mild subgroup (66 cases), moderate subgroup (70 cases), and severe subgroup (9 cases) based on the scores. General clinical data of the disease group were

collected. Spearman was applied to analyze the correlation between various indicators. Logistic regression was applied to analyze the factors influencing the prognosis of Alzheimer's disease patients. ROC was applied to analyze the prognostic value of serum NRG1 and Klotho in Alzheimer's disease patients. **Results** The levels of NRG1 and Klotho in the disease group were lower than those in the healthy control group, and the $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ value was higher than that in the healthy control group ($t/P = 11.822/ < 0.001, 18.466/ < 0.001, 17.806/ < 0.001$). The trends of NRG1, Klotho, and MMSE levels showed asymptomatic subgroup $>$ mild subgroup $>$ moderate subgroup $>$ severe subgroup, and the trend of $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ value showed asymptomatic subgroup $<$ mild subgroup $<$ moderate subgroup $<$ severe subgroup ($F/P = 30.523/ < 0.001, 58.508/ < 0.001, 411.618/ < 0.001, 69.750/ < 0.001$). NRG1 and Klotho are positively correlated with MMSE, while MMSE is negatively correlated with $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ ($r/P = 0.422/ < 0.001, 0.439/ < 0.001, -0.418/ < 0.001$). The high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), NRG1, Klotho, MMSE, and proportion of daily exercise in the poor prognosis subgroup were lower than those in the good prognosis subgroup, while homocysteine (Hcy) and $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ value were higher than those in the good prognosis subgroup ($t/\chi^2/P = 3.979/ < 0.001, 7.052/ < 0.001, 8.769/ < 0.001, 4.016/ < 0.001, 11.305/ < 0.001, 5.936/ < 0.001, 9.237/ < 0.001$). High Hcy and $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ were risk factors for the prognosis of AD patients, while high NRG1, Klotho, and MMSE were protective factors for the prognosis of AD patients [$OR(95\% CI) = 2.266 (1.493 - 3.440), 1.692 (1.134 - 2.524), 0.315 (0.228 - 0.434), 0.384 (0.285 - 0.518), 0.401 (0.269 - 0.598)$]. The AUC of serum NRG1, Klotho, and their combination in predicting the prognosis of AD patients were 0.751, 0.783, and 0.901, respectively. The combination of the two was superior to their individual predictive efficacy ($Z = 4.031, 3.985, P < 0.001$ for all). **Conclusion** The expression of serum NRG1 and Klotho is low in elderly Alzheimer's disease patients, and their expression levels are correlated with EEG parameters and prognosis.

[Key words] Alzheimer's disease; Neuregulin 1; Klotho; Electroencephalogram; Prognosis; Elderly

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是痴呆的重要原因之一,特别是老年患者,对患者及家庭增加沉重负担^[1]。AD 与动脉粥样硬化性心脑血管疾病之间存在关联,具有共同的致病途径,AD 可引发心脑血管疾病,影响患者预后^[2-3]。认知功能缺陷或障碍是 AD 的重要表现,严重时干扰日常生活能力,加重患者的病情复杂性,给临床治疗带来严峻的考验^[4]。脑电图与中枢神经系统结构和功能密切相关,脑电波是大脑进行各种神经认知活动时释放的生物电信号, α 、 β 、 δ 、 θ 、 γ 波包含生理、行为等方面的特征信息,为直接了解突触活动提供方便,是一种有前途的生物标志物或工具^[5]。既往研究指出,神经调节蛋白 1 (neuregulin 1, NRG1) 是一种神经营养因子,通过激活 ErbB 受体酪氨酸激酶参与神经元发育、存活和迁移、轴突导向和突触形成,增强认知功能^[6]。Klotho 是一种膜结合的抗衰老蛋白,与衰老导致的疾病相关,过表达有益于衰老的大脑,对 AD 和认知功能具有积极作用^[7]。因此,本研究对血清 NRG1、Klotho 与脑电图参数和预后的相关性进行研究,旨在为 AD 患者的病情和预后提供有效的诊断、预测指标,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 1 月—2023 年 12 月西安国际医学中心医院神经内八科诊治的老年阿尔茨海默病患者 192 例为病例组,其中男 106 例,女 86 例,年龄 (66.23 ± 4.18) 岁; BMI (22.86 ± 2.25) kg/m²; 糖尿病 41 例,高血压 59 例,高血脂 49 例;病程 $(3.18 \pm$

1.55) 年。另选取同期健康体检者 82 例为健康对照组,其中男 51 例,女 31 例,年龄 (65.74 ± 3.25) 岁; BMI (23.08 ± 2.07) kg/m²; 高血压 22 例,高血脂 18 例,糖尿病 19 例。2 组性别、年龄、BMI 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 (2020-106),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合临床上对 AD 的诊断标准^[8];②年龄 ≥ 60 岁;③临床资料完整;④脑电图检查前未服用镇静剂、安眠药。(2) 排除标准:①合并甲状腺功能异常、维生素 B 缺乏、叶酸缺乏、贫血等可能影响认知功能的躯体疾病;②合并谵妄、精神病、抑郁病、血管性认知损害、帕金森病、额颞叶痴呆等疾病;③合并脑卒中、颅脑损伤、脑部肿瘤等其他脑部疾病;④合并心血管疾病;⑤既往出现脑梗死、脑出血。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 脑电图检测:利用数字化脑电图仪 (德力凯, EEG-8101),以导电膏、弹力帽固定盘状电极,电极安放位置参照国际 10-10 系统,共 21 个电极,以耳电极为参考,设置参数为灵敏度 $7 \sim 10 \mu V/mm$, 70 Hz 高频滤波, 0.5 Hz 低频滤波,监测 20 min 内的脑电图波动,记录 α 、 β 、 δ 、 θ 平均波值,计算 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 。

1.3.2 血清 NRG1、Klotho 检测:病例组入组次日清晨、健康对照组体检当日抽取空腹肘静脉血 3 ml,离心留取血清,以 ELISA 法检测血清 NRG1、Klotho,对应试

剂盒货号为 ab309432(abcam)、JL19117(江莱生物)。

1.3.3 认知功能评价:患者入组后次日,采用指南[9]推荐的简单精神状态检查表(Mini-Mental State Examination, MMSE)评价其认知功能,量表涵盖定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力、语言能力等 5 个维度,每个维度得分 3~10 分,总分为 30 分,采用指南推荐的 ≤ 26 分为认知功能障碍或痴呆临界值,即 27~30 分为无认知功能障碍(无症状亚组,47 例)、21~26 分为轻度认知功能障碍(轻度亚组,66 例)、10~20 分为中度认知功能障碍(中度亚组,70 例)、0~9 分为重度认知功能障碍(重度亚组,9 例)。

1.3.4 随访:根据指南[8]推荐治疗方案对 192 例患者进行 1 年的药物治疗和康复训练,1 年内每 3 个月进行一次随访,记录深静脉血栓、严重感染、脑卒中和死亡等预后不良事件,在末次随访统计时纳入出现预后不良事件的患者为预后不良亚组(87 例),其余未出现不良事件的患者纳为预后良好亚组(105 例)。

1.4 统计学方法 利用 SPSS 27.0 软件统计分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组比较采用 t 检验,多组比较采用 F 检验和 SNK- q 检验;指标之间的相关性采用 Spearman 分析;AD 患者预后的影响因素采用 Logistic 回归分析;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 NRG1、Klotho 对阿尔茨海默病患者的预后价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组 NRG1、Klotho 和 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 比较 病例组血清 NRG1、Klotho 水平低于健康对照组, $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

2.2 不同认知程度 AD 患者 NRG1、Klotho、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 、MMSE 比较 NRG1、Klotho、MMSE 水平趋势为无症状组 > 轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组($P < 0.05$), $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 水平趋势为无症状组 < 轻度亚组 < 中度亚组 < 重度亚组($P < 0.01$),见表 2。

表 1 健康对照组与病例组 NRG1、Klotho 和 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of NRG1, Klotho, and $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ between the healthy control group and the case group

组别	例数	NRG1 (ng/L)	Klotho ($\mu\text{g/L}$)	$(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$
健康对照组	82	426.35 \pm 49.65	2.04 \pm 0.37	0.56 \pm 0.08
病例组	192	349.94 \pm 48.71	1.36 \pm 0.23	0.91 \pm 0.17
t 值		11.822	18.466	17.806
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 NRG1、Klotho、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 与 MMSE 评分相关性分析 NRG1、Klotho 与 MMSE 评分呈正相关($r = 0.422, 0.439, P$ 均 < 0.001), $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 与 MMSE 评分呈负相关($r = -0.418, P = 0.001$)。

2.4 预后良好亚组与预后不良亚组患者临床资料比较 2 亚组患者的性别、年龄、BMI、受教育程度、LDL-C 以及吸烟史、饮酒史、AD 家族史、长期卧床、糖尿病、高血压、高血脂所占比例比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),预后不良亚组 HDL-C、NRG1、Klotho、MMSE 以及日常锻炼所占比例低于预后良好亚组, Hcy、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 高于预后良好亚组($P < 0.01$),见表 3。

2.5 Logistic 多因素回归分析 AD 患者预后的影响因素 以 AD 患者预后不良为因变量(否 = 0,是 = 1),以表 3 中具有显著性差异的指标:日常锻炼(无 = 0,有 = 1)、HDL-C、Hcy、NRG1、Klotho、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 、MMSE 为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示: Hcy、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 升高是 AD 患者不良预后的危险因素, NRG1、Klotho、MMSE 升高是 AD 患者不良预后的保护因素($P < 0.01$),见表 4。

2.6 血清 NRG1、Klotho 预测 AD 患者预后的价值分析 绘制血清 NRG1、Klotho 预测 AD 患者预后的 ROC,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 NRG1、Klotho 及二者联合预测 AD 患者预后的 AUC 分别为 0.751、0.783、0.901,二者联合优于各自单独预测($Z = 4.031, 3.985, P$ 均 < 0.001),见表 5、图 1。

表 2 病例组不同认知程度 NRG1、Klotho、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 、MMSE 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of NRG1, Klotho, $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$, and MMSE scores among case groups with different levels of cognition

组别	例数	NRG1 (ng/L)	Klotho ($\mu\text{g/L}$)	$(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$	MMSE(分)
无症状亚组	47	385.08 \pm 42.33	1.53 \pm 0.22	0.73 \pm 0.09	28.43 \pm 1.32
轻度亚组	66	362.55 \pm 40.92	1.42 \pm 0.16	0.88 \pm 0.11	24.18 \pm 2.73
中度亚组	70	320.18 \pm 38.65	1.25 \pm 0.14	1.02 \pm 0.14	16.57 \pm 2.35
重度亚组	9	305.34 \pm 36.07	0.83 \pm 0.10	1.15 \pm 0.13	7.11 \pm 1.24
F 值		30.523	58.508	69.750	411.618
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 预后良好亚组与预后不良亚组 AD 患者临床资料比较

Tab. 3 Comparison of clinical data between AD patients in the good prognosis subgroup and the poor prognosis subgroup

项目		预后良好亚组 (n = 105)	预后不良亚组 (n = 87)	χ^2 值	P 值
性别 [例 (%)]	男	57 (54.29)	49 (56.32)	0.080	0.778
	女	48 (45.71)	38 (43.68)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)		66.67 \pm 4.28	65.69 \pm 3.36	1.737	0.084
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)		22.94 \pm 2.25	22.76 \pm 2.21	0.556	0.579
日常锻炼 [例 (%)]		63 (60.00)	31 (35.63)	11.305	0.001
吸烟史 [例 (%)]		69 (65.71)	65 (74.71)	1.827	0.176
饮酒史 [例 (%)]		60 (57.14)	53 (60.92)	0.280	0.597
AD 家族史 [例 (%)]		22 (20.95)	23 (26.44)	0.798	0.372
长期卧床 [例 (%)]		26 (24.76)	29 (33.33)	1.710	0.191
糖尿病 [例 (%)]		20 (19.05)	21 (24.14)	0.734	0.392
高血压 [例 (%)]		31 (29.52)	28 (32.18)	0.158	0.691
高血脂 [例 (%)]		25 (23.81)	24 (27.59)	0.357	0.550
受教育程度 [例 (%)]	初中及以下	47 (44.76)	46 (52.87)	1.376	0.502
	高中	36 (34.29)	24 (27.59)		
	大学及以上	22 (20.95)	17 (19.54)		
HDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		1.12 \pm 0.13	1.05 \pm 0.11	3.979	<0.001
LDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		2.05 \pm 0.31	1.97 \pm 0.26	1.913	0.057
Hcy ($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)		7.52 \pm 1.48	9.37 \pm 2.75	5.936	<0.001
NRG1 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)		369.76 \pm 45.57	326.02 \pm 39.15	7.052	<0.001
Klotho ($\bar{x} \pm s$, μ g/L)		1.46 \pm 0.19	1.24 \pm 0.15	8.769	<0.001
($\delta + \theta$) / ($\alpha + \beta$) ($\bar{x} \pm s$)		0.83 \pm 0.12	1.01 \pm 0.15	9.237	<0.001
MMSE ($\bar{x} \pm s$, 分)		22.29 \pm 2.51	20.87 \pm 2.35	4.016	<0.001

表 4 Logistic 多因素回归分析 AD 患者预后的影响因素

Tab. 4 Logistic multivariate regression analysis of factors influencing the prognosis of AD patients

项目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
日常锻炼	0.356	0.266	1.794	0.180	1.428	0.848 ~ 2.405
HDL-C 低	0.561	0.371	2.289	0.130	1.753	0.847 ~ 3.627
Hcy 高	0.818	0.213	14.749	<0.001	2.266	1.493 ~ 3.440
NRG1 高	-1.155	0.164	49.615	<0.001	0.315	0.228 ~ 0.434
Klotho 高	-0.957	0.153	39.133	<0.001	0.384	0.285 ~ 0.518
($\delta + \theta$) / ($\alpha + \beta$) 高	0.526	0.204	6.646	<0.011	1.692	1.134 ~ 2.524
MMSE 高	-0.914	0.204	20.065	<0.001	0.401	0.269 ~ 0.598

表 5 血清 NRG1、Klotho 预测 AD 患者预后的价值分析

Tab. 5 Value analysis of serum NRG1 and Klotho in predicting the prognosis of AD patients

变量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
NRG1	354.40 ng/L	0.751	0.683 ~ 0.810	0.713	0.686	0.398
Klotho	1.34 μ g/L	0.783	0.718 ~ 0.839	0.759	0.733	0.492
二者联合		0.901	0.849 ~ 0.939	0.966	0.676	0.642

3 讨论

临床上, AD 的主要特征是进行性记忆丧失和认知障碍, 脑实质和神经系统中淀粉样蛋白 β 与 tau 蛋白积累干扰神经元之间的通讯, 神经元纤维缠结限制神经元的营养输送, 淀粉样蛋白 β 与 tau 蛋白的细胞

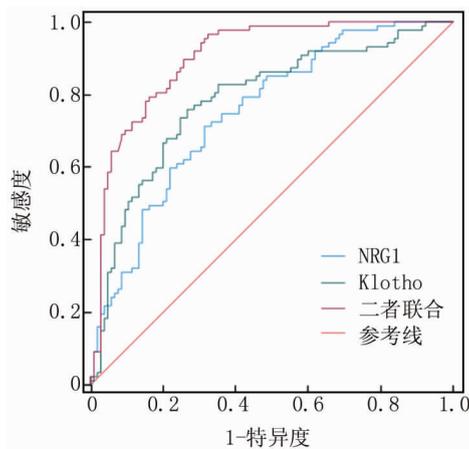


图 1 血清 NRG1、Klotho 预测 AD 患者预后的价值曲线

Fig. 1 Value curve of serum NRG1 and Klotho in predicting the prognosis of AD patients

毒性作用导致神经细胞死亡以及胆碱能系统逐渐丧失是诱导 AD 的重要机制, 与 AD 的严重程度息息相关^[10]。最初, 对 AD 的诊断局限于进行性认知障碍或痴呆阶段, 主要依赖于临床症状, 然而, 神经行为症状不再满足临床对 AD 诊断的需求^[11]。随着科学技术的发展, PET 扫描物质、淀粉样蛋白 β 、磷酸化 tau 蛋白等新型生物标志物的开发和测定, 在临床实践和临床研究中显示出强大的前景^[11]。脑电图是基于时间依

赖性的神经活动,相较于侧重神经活动功能结果的 PET 扫描,脑电图能提供实时的复杂神经波动,可用于识别 AD^[12]。本研究结果提示 NRG1、Klotho、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 可能参与 AD 的发生机制,或可对 AD 的诊断作出贡献。 α 、 β 、 δ 、 θ 、 γ 波能给予不同的睡眠、记忆、认知和知觉功能成分,在大脑活动领域具有重要意义,作为脑功能缺陷和神经反馈的诊断指标,可有效评估脑电信号的复杂性改变^[5,12]。 δ 、 θ 水平升高与认知功能下降相关, α 、 β 水平升高则与更好的认知表现有关^[13]。MMSE 是对认知功能进行有效评价的量表,准确度较高^[9]。在本研究中,NRG1、Klotho、MMSE、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 水平随 AD 患者认知功能的恶化而发生变化,表明 NRG1、Klotho、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 参与 AD 患者进行性认知障碍,与认知功能密切相关,强调 NRG1、Klotho 表达下调在介导认知功能障碍的重要作用。

AD 是一种神经退行性疾病,基因改变和积累可能导致神经退行性疾病及认知能力下降,Martínez-Iglesias 等^[14]检测包含 AD 在内的神经退行性疾病患者血液 NRG1 的转录水平,发现患者 NRG1 转录水平显著低于健康队列。本研究与该研究结果具有一致性,均强调 NRG1 表达下调对阿尔茨海默病的促进作用。癫痫与 AD 的发病机制具有相似性,淀粉样蛋白 β 与 tau 蛋白沉积、GABA 能和谷氨酸能信号系统改变在 2 种疾病中发挥重要作用^[15]。研究表明,NRG1 可增强 GABA 能信号传递,可抑制和终止癫痫发作,而 NRG1 表达下调或 GABA 能信号传递受损可增加 AD 小鼠癫痫易感性,损伤海马体突触回路,介导认知功能障碍^[6]。因此,NRG1 是 AD 认知水平的关键调节因子。Klotho 被称为长寿因子,血清浓度随年龄增长而降低,参与许多与衰老相关的疾病,包括心血管疾病和神经退行性疾病^[7]。研究报道称,Klotho 在老年人大脑和 AD 患者大脑中表达水平较低,Klotho 诱导的自噬是降解受损蛋白和细胞的重要途径,然而,Klotho 表达降低则会导致自噬缺陷,介导 AD 等神经退行性疾病^[16]。氧化应激是神经退行性疾病患者认知功能下降的关键机制之一,Orellana 等^[17]研究认为 Klotho 具有抗氧化能力,通过负调控 PI3K/AKT 信号转导通路增强星形胶质细胞和神经元的抗氧化酶活性,提高抗氧化能力,保护星形胶质细胞和神经元免受氧化应激损伤,减少细胞凋亡,维护认知功能。另外,Park 等^[18]证明 Klotho 可改善认知功能,尽管 Klotho 不能通过血脑屏障,但血小板因子活化是 Klotho 作用于神经系统的重要媒介,从而增加突触可塑性、认知能力。因此,Klotho 表达水平升高可能促进神经元保护,提示具有

更好的认知功能,甚至降低衰老和 AD 的痴呆风险。

本研究多因素分析结果提示,Hcy、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 、NRG1、Klotho、MMSE 水平异常可增加患者预后不良的风险。已知,Hcy 是一种与 AD、认知障碍相关的血管危险因素,Hcy 及其代谢产物水平升高会加速 AD 及认知能力下降的发生^[19]。上述研究分析指出 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 、NRG1、Klotho、MMSE 与大脑神经元功能密切相关,具有评价和预测认知功能的潜在作用。因此,Hcy、 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 、NRG1、Klotho、MMSE 与 AD 患者预后有关,这些因素的异常存在易使患者发生预后不良。本研究 ROC 分析结果显示,血清 NRG1、Klotho 对 AD 患者具有预后预测价值,可灵敏识别预后不良的患者,提示临床需对血清 NRG1、Klotho 水平下降的患者提高警惕,准确评估预后不良风险,尽早开展个性化治疗,改善患者预后。

综上所述,老年 AD 患者血清 NRG1、Klotho 水平较低,其水平与 $(\delta + \theta)/(\alpha + \beta)$ 和认知功能有关,较低的血清 NRG1、Klotho 水平不利于患者的预后。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘哲、徐妍:设计课题和研究方案,实施研究过程,文章撰写;马轩、汤文郁:提出研究思路,实施研究过程,统计分析,论文审核和修改;潘建萍:实施研究过程,整理收集资料,论文审核和修改

参考文献

- [1] Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, et al. Alzheimer disease[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7 (1): 33-40. DOI: 10. 1038/s41572-021-00269-y.
- [2] Nordestgaard LT, Christoffersen M, Frikke-Schmidt R. Shared risk factors between dementia and atherosclerotic cardiovascular disease [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (17): 97-107. DOI: 10. 3390/ijms23179777.
- [3] 戴蓉芳,徐明然,胡颖,等.血清尿酸、白介素 6、P-tau181 与阿尔茨海默病患者认知功能、日常生活能力和预后的关系分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23 (8): 1447-1452. DOI: 10. 13241/j.cnki. pmb. 2023. 08. 009.
- [4] Castner SA, Gupta S, Wang D, et al. Longevity factor klotho enhances cognition in aged nonhuman primates [J]. Nat Aging, 2023, 3 (8): 931-937. DOI: 10. 1038/s43587-023-00441-x.
- [5] Flanagan K, Saikia MJ. Consumer-grade electroencephalogram and functional near-infrared spectroscopy neurofeedback technologies for mental health and wellbeing [J]. Sensors (Basel), 2023, 23 (20): 84-92. DOI: 10. 3390/s23208482.
- [6] Mao R, Hu M, Liu X, et al. Impairments of GABAergic transmission in hippocampus mediate increased susceptibility of epilepsy in the early stage of Alzheimer's disease [J]. Cell Commun Signal, 2024, 22 (1): 147-153. DOI: 10. 1186/s12964-024-01528-7.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.013

论著·临床

血清 AIFM2、UMOD 水平对重症急性胰腺炎并发急性肾损伤的预测价值

刘毓杰, 沈晨, 马鹏飞, 郑幼伟

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20220031)

作者单位: 471000 河南洛阳, 河南科技大学第一附属医院肝胆外科

通信作者: 郑幼伟, E-mail: dfyzyw@126.com



【摘要】目的 研究重症急性胰腺炎(SAP)患者血清线粒体相关凋亡因子2(AIFM2)、尿调节素(UMOD)水平对SAP患者并发急性肾损伤(AKI)的预测价值。**方法** 选取2020年3月—2023年3月河南科技大学第一附属医院肝胆外科收治的SAP患者182例为SAP组,根据是否并发AKI将SAP患者分为AKI亚组($n=50$)和非AKI亚组($n=132$)。另选取同期健康体检者60例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清AIFM2、UMOD水平;Pearson相关性分析血清AIFM2、UMOD水平与肾功能指标的相关性;多因素Logistic回归分析SAP患者并发AKI的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评估血清AIFM2、UMOD水平对SAP患者并发AKI的预测价值。**结果** SAP组血清AIFM2水平高于健康对照组,血清UMOD水平低于健康对照组($t/P=25.618/<0.001, 48.340/<0.001$);182例SAP患者AKI发生率为27.47%(50/182)。AKI亚组血肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)、Ranson评分、血清AIFM2高于非AKI亚组,血清UMOD低于非AKI亚组($t/P=45.463/<0.001, 26.748/<0.001, 27.264/<0.001, 18.075/<0.001, 14.273/<0.001$);Pearson相关性分析显示,AKI亚组SAP患者SCr、BUN、Cys C与血清AIFM2水平呈正相关($r/P=0.725/<0.001, 0.621/<0.001, 0.637/<0.001$),与血清UMOD水平呈负相关($r/P=-0.710/<0.001, -0.636/<0.001, -0.671/<0.001$);多因素Logistic回归结果显示,SCr、BUN、Ranson评分、AIFM2升高是SAP患者并发AKI的独立危险因素[$OR(95\%CI)=1.589(1.258\sim2.006), 1.594(1.252\sim2.028), 1.451(1.120\sim1.879), 1.419(1.085\sim1.856)$],血清UMOD升高是独立保护因素[$OR(95\%CI)=0.628(0.493\sim0.799)$];血清AIFM2、UMOD水平及二者联合预测SAP患者并发AKI的AUC分别为0.871、0.862、0.938,二者联合的AUC大于血清AIFM2、UMOD水平单独预测($Z=4.344, 4.840, P$ 均 <0.001)。**结论** SAP并发AKI患者血清AIFM2升高、UMOD降低,均与病情程度有关,二者联合对SAP并发AKI的发生具有较高的评估价值。

【关键词】 重症急性胰腺炎;急性肾损伤;线粒体相关凋亡因子2;尿调节素;预测价值**【中图分类号】** R576 **【文献标识码】** A

The predictive value of serum AIFM2 and UMOD levels for acute kidney injury in patients with severe acute pancreatitis Liu Yujie, Shen Chen, Ma Pengfei, Zheng Youwei. Department of Hepatobiliary, First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Henan Province, Luoyang 471000, China

Funding program: Joint Construction Project of Henan Medical Science and Technology Research and Development Program (LHGJ20220031)

Corresponding author: Zheng Youwei, E-mail: dfyzyw@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the levels of serum mitochondrial associated apoptosis factor 2 (AIFM2) and uromodulin (UMOD) in patients with severe acute pancreatitis (SAP), and their predictive value for acute kidney injury (AKI) in SAP. **Methods** One hundred and eighty-two SAP patients (SAP group) treated at the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology from March 2020 to March 2023 were selected. Based on whether they had concurrent AKI, the SAP group was divided into a non-AKI group (132 cases) and an AKI group (50 cases), with 60 healthy individuals as the control group during the same period. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect serum AIFM2 and UMOD levels. The evaluation value of serum AIFM2 and UMOD for SAP complicated with AKI was assessed using logistic regression model and receiver operating characteristic curve. **Results** The serum AIFM2 level in the SAP group was higher than that in the control group, and the serum UMOD level was lower than that in the control group

($t = 25.618, 48.340, P < 0.001$). The serum AIFM2 level, blood urea nitrogen level, blood creatinine level, and Ranson score in the AKI group were higher than those in the non-AKI group, and the serum UMOD level was lower than that in the non-AKI group ($t/P = 45.463 / < 0.001, 26.748 / < 0.001, 27.264 / < 0.001$). The serum creatinine, blood urea nitrogen, cystatin C, and Ranson score of AKI group SAP patients were positively correlated with serum AIFM2 ($r/P = 0.725 / < 0.001, 0.621 / < 0.001, 0.637 / < 0.001$) and negatively correlated with serum UMOD ($r/P = -0.710 / < 0.001, -0.636 / < 0.001, -0.671 / < 0.001$). Blood urea nitrogen, blood creatinine, Ranson score, and serum AIFM2 were risk factors for SAP complicated with AKI [$OR (95\% CI) = 1.589 (1.258 - 2.006), 1.594 (1.252 - 2.028), 1.451 (1.120 - 1.879), 1.419 (1.085 - 1.856)$], while serum UMOD was a protective factor [$OR (95\% CI) = 0.628 (0.493 - 0.799)$]. The area under the curve (95% CI) of serum AIFM2 and UMOD combined for the evaluation of SAP complicated AKI was 0.938 (0.889 - 0.959), which was higher than that of serum AIFM2. UMOD single detection was 0.871 (0.831 ~ 0.913) and 0.862 (0.821 ~ 0.896) ($Z = 4.344, 4.840, P = 0.000, 0.000$). **Conclusion** The elevation of serum AIFM2 and the decrease of UMOD in SAP complicated AKI patients are related to the severity of the disease, and the combination of the two has high evaluation value for the occurrence of SAP complicated AKI.

[Key words] Severe acute pancreatitis; Acute kidney injury; Mitochondrial associated apoptotic factor 2; Urinary regulator; Forecast

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 约占急性胰腺炎的 20%, 可伴有多器官功能障碍^[1]。急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是常见的 SAP 并发症, 可发生于 SAP 病程早期, 导致患者休克、多器官功能障碍及死亡^[2]。线粒体相关凋亡因子 2 (apoptosis inducing factor mitochondria associated 2, AIFM2) 是一种黄素蛋白氧化还原酶, 能结合单链 DNA, 参与线粒体膜透化的调节, 维持线粒体完整性和细胞增殖^[3]。有学者采用蛋白质组学分析发现, SAP 患者胰腺组织中 AIFM2 蛋白表达显著升高, 其能促进胰腺腺泡细胞的凋亡, 是新的评估 SAP 患者预后的血清标志物^[4]。尿调节素 (uromodulin, UMOD) 又称为尿调蛋白, 其在内质网糖基化修饰后与磷脂酰肌醇结合, 参与促进炎症细胞聚集、活化, 发挥免疫调节效应^[5]。研究表明, 胰腺腺泡细胞中肝细胞核因子-1 β 的表达下调能够抑制 UMOD 的蛋白表达, 导致腺泡细胞溶质转运能力降低, 促进细胞凋亡^[6]。目前 SAP 并发 AKI 患者血清 AIFM2、UMOD 水平及临床意义尚不明确。本研究分析 SAP 并发 AKI 患者血清 AIFM2、UMOD 水平, 探讨两者的临床意义, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 3 月—2023 年 3 月河南科技大学第一附属医院肝胆外科收治的 SAP 患者 182 例为 SAP 组, 男 98 例、女 84 例; 年龄 41 ~ 71 (56.93 ± 8.37) 岁; 体质指数 (BMI) 18.01 ~ 28.89 (22.57 ± 2.11) kg/m^2 。根据是否并发 AKI 将 SAP 患者分为 AKI 亚组 50 例和非 AKI 亚组 132 例。另选取同期医院健康体检者 60 例为健康对照组, 男 34 例、女 26 例; 年龄 42 ~ 79 (55.87 ± 8.24) 岁; BMI 18.10 ~ 28.74 (22.69 ± 2.21) kg/m^2 。2 组性别、年龄、BMI 比较差异

无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本研究已经获得医院伦理委员会批准 (2020-0109), 受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①SAP 符合《中国急性胰腺炎诊治指南》诊断标准^[7]; ②AKI 符合国际改善全球肾脏病预后组织制定的 AKI 指南诊断标准^[8]; ③年龄 > 18 岁; ④发病时间 < 48 h; ⑤在外院未进行任何诊治。(2) 排除标准: ①慢性胰腺炎、慢性肾小球肾炎及肾病综合征等疾病; ②恶性肿瘤、严重免疫缺陷病及长期激素治疗者; ③有慢性肾功能衰竭、肾毒性药物使用史或合并严重心、肺及肝功能不全患者; ④妊娠期或哺乳期女性。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集: 收集 SAP 患者性别、年龄、BMI、疾病史 (高血压、糖尿病)、实验室检查指标 [白细胞计数 (WBC)、血红蛋白 (Hb)、空腹血糖 (FPG)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、血淀粉酶 (AMS)、胱抑素 C (Cys C)、肌酐 (SCr)、血尿素氮 (BUN)] 等。对所有 SAP 患者进行 Ranson 评分, 主要根据患者年龄、WBC、FPG、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 进行评估, 评分范围 0 ~ 11 分, 分值越高病情越重^[9]。

1.3.2 血清 AIFM2、UMOD 水平检测: 于患者入院时及健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 5 ml, 离心收集上层血清待检。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清 AIFM2、UMOD 水平。按照 AIFM2 ELISA 试剂盒 (上海研玑生物技术有限公司, 货号: YQ-53038K) 和人 UMOD ELISA 试剂盒 (武汉菲恩生物科技公司, 货号: EH2197) 说明书中的实验步骤进行操作。使用酶

标仪(美国赛默飞公司,型号:Multiskan GO)检测吸光度并计算样品的浓度。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;Pearson 相关性分析血清 AIFM2、UMOD 水平与肾功能指标的相关性;多因素 Logistic 回归分析 SAP 患者并发 AKI 的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 AIFM2、UMOD 水平对 SAP 患者并发 AKI 的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 AIFM2、UMOD 水平比较 SAP 组血清 AIFM2 水平高于健康对照组,血清 UMOD 水平低于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

表 1 健康对照组与 SAP 组血清 AIFM2、UMOD 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of serum AIFM2 and UMOD levels between healthy control group and SAP group

组别	例数	AIFM2(ng/L)	UMOD($\mu\text{g/L}$)
健康对照组	60	21.30 \pm 6.63	81.27 \pm 13.68
SAP 组	182	64.46 \pm 12.47	24.11 \pm 4.76
<i>t</i> 值		25.618	48.340
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

表 2 非 AKI 亚组与 AKI 亚组 SAP 患者临床/病理特征比较

Tab.2 Comparison of clinical/pathological characteristics between non AKI subgroup and AKI subgroup SAP patients

项目	非 AKI 亚组($n = 132$)	AKI 亚组($n = 50$)	t/χ^2 值	<i>P</i> 值
男[例(%)]	70(53.03)	28(56.00)	0.129	0.720
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	56.79 \pm 8.16	57.31 \pm 9.14	0.371	0.711
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)	22.45 \pm 2.12	22.87 \pm 2.36	1.156	0.249
高血压[例(%)]	31(23.49)	14(28.00)	0.397	0.529
糖尿病[例(%)]	20(15.15)	6(12.00)	0.294	0.588
WBC($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/\text{L}$)	15.22 \pm 3.11	16.03 \pm 3.26	1.548	0.123
Hb($\bar{x} \pm s$,g/L)	130.54 \pm 19.63	128.12 \pm 20.23	0.736	0.463
FPG($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	6.28 \pm 0.70	6.31 \pm 0.73	0.255	0.799
TC($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	2.92 \pm 0.81	2.98 \pm 0.78	0.451	0.653
TG($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.51 \pm 0.41	1.60 \pm 0.44	1.295	0.197
HDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.63 \pm 0.31	1.58 \pm 0.29	0.988	0.324
LDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	2.30 \pm 0.51	2.38 \pm 0.48	0.960	0.339
AMS($\bar{x} \pm s$,U/L)	597.77 \pm 108.40	631.30 \pm 115.39	1.830	0.069
SCr($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	70.05 \pm 19.22	271.60 \pm 40.38	45.463	<0.001
BUN($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	5.18 \pm 1.28	12.49 \pm 2.36	26.748	<0.001
Cys C($\bar{x} \pm s$,mg/L)	0.86 \pm 0.24	0.92 \pm 0.30	1.402	0.163
Ranson 评分($\bar{x} \pm s$,分)	1.12 \pm 0.36	3.78 \pm 0.96	27.264	<0.001
AIFM2($\bar{x} \pm s$,ng/L)	54.42 \pm 11.78	90.96 \pm 13.21	18.075	<0.001
UMOD($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)	27.10 \pm 4.76	16.21 \pm 4.12	14.273	<0.001

2.2 不同病情 SAP 患者临床/病理特征比较 182 例 SAP 患者 AKI 发生率为 27.47% (50/182)。AKI 亚组 SCr、BUN、Ranson 评分、血清 AIFM2 高于非 AKI 亚组,血清 UMOD 低于非 AKI 亚组($P < 0.01$);其他资料 2 亚组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 SAP 并发 AKI 患者血清 AIFM2、UMOD 水平与肾功能指标的相关性 Pearson 相关性分析显示,AKI 亚组 SAP 患者 SCr、BUN、Cys C 与血清 AIFM2 水平呈正相关($P < 0.01$),与血清 UMOD 水平呈负相关($P < 0.01$),见表 3。

表 3 血清 AIFM2、UMOD 水平与肾功能指标的相关性

Tab.3 Correlation between serum AIFM2, UMOD levels and renal function indicators

项目	AIFM2		UMOD	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
SCr	0.725	<0.001	-0.710	<0.001
BUN	0.621	<0.001	-0.636	<0.001
Cys C	0.637	<0.001	-0.671	<0.001

2.4 多因素 Logistic 回归分析 SAP 患者并发 AKI 的影响因素 以 SAP 患者是否并发 AKI 为因变量(赋值:是为“1”;否为“0”),将表 2 中有差异项目作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示:SCr、BUN、Ranson 评分、AIFM2 升高是 SAP 患者并发 AKI

的独立危险因素,血清 UMOD 升高是独立保护因素 ($P < 0.01$),见表 4。

表 4 多因素 Logistic 回归分析 SAP 患者并发 AKI 的影响因素
Tab. 4 Multivariate Logistic regression analysis of the influencing factors of AKI in SAP patients

项目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
SCr 高	0.463	0.119	15.666	<0.001	1.589	1.258 ~ 2.006
BUN 高	0.466	0.123	14.354	<0.001	1.594	1.252 ~ 2.028
Ranson 评分高	0.372	0.132	7.942	<0.001	1.451	1.120 ~ 1.879
AIFM2 高	0.350	0.137	6.527	<0.001	1.419	1.085 ~ 1.856
UMOD 高	-0.466	0.123	14.354	<0.001	0.628	0.493 ~ 0.799

2.5 血清 AIFM2、UMOD 水平对 SAP 患者并发 AKI 的预测价值 绘制血清 AIFM2、UMOD 水平单独与联合预测 SAP 患者并发 AKI 的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 AIFM2、UMOD 水平及二者联合预测 SAP 患者并发 AKI 的 AUC 分别为 0.871、0.862、0.938,二者联合的 AUC 大于血清 AIFM2、UMOD 水平单独预测 ($Z = 4.344, 4.840, P$ 均 < 0.001),见表 5、图 1。

表 5 血清 AIFM2、UMOD 水平对 SAP 患者并发 AKI 的预测价值

Tab. 5 The predictive value of serum AIFM2 and UMOD levels for AKI in SAP patients

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
AIFM2	77.66 ng/L	0.871	0.831 ~ 0.913	0.786	0.880	0.666
UMOD	19.72 μ g/L	0.862	0.821 ~ 0.896	0.751	0.852	0.603
二者联合		0.938	0.889 ~ 0.959	0.886	0.815	0.701

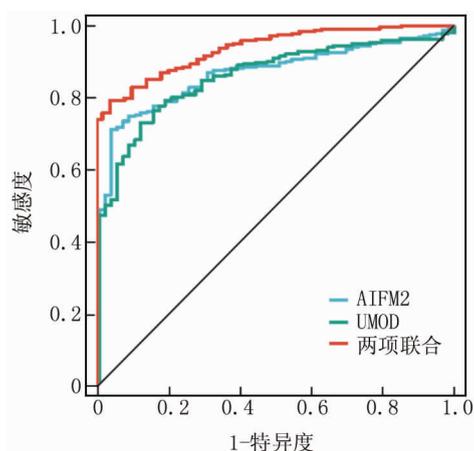


图 1 血清 AIFM2、UMOD 水平预测 SAP 患者并发 AKI 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve for predicting AKI in SAP patients based on serum AIFM2 and UMOD levels

3 讨论

急性胰腺炎是突发的消化系统疾病,多具有自限性,部分患者可发展为 SAP。SAP 具有起病急、进展快及预后差等特点,病死率高达 20%^[10]。肾脏是 SAP 最易受累的胰腺外器官之一,SAP 时由于有效循环血容量不足、炎症反应介质释放等因素可引起 AKI 的发生,是导致 SAP 患者高致死率和不良预后的重要因素。寻找能有效评估 SAP 并发 AKI 的血清指标,对于指导 SAP 并发 AKI 的临床诊治具有重要临床意义。

AIFM2 基因位于人类 10 号染色体上,属于 AIF 蛋白家族成员,AIFM2 蛋白定位于线粒体外膜和细胞质,在细胞凋亡过程中诱导 DNA 断裂,促进细胞增殖、侵袭和迁移过程^[11]。研究表明,AIFM2 能够诱导脂质过氧化物及氧自由基的产生,发挥促进细胞凋亡的作用^[12]。本研究中,SAP 患者血清 AIFM2 升高,与既往学者在胰腺炎患者胰腺组织中检测的结果一致^[13],但该研究仅纳入 23 例胰腺炎患者的胰腺组织,样本的代表性存在一定的局限,本研究在加大样本量基础上证实 SAP 患者血清 AIFM2 水平升高,提示 AIFM2 参与 SAP 的疾病过程。研究表明,急性胰腺炎时胰腺腺泡细胞的内质网应激能够上调 P53 基因的表达,p53 蛋白能够结合于 AIFM2 基因的启动子区,AIFM2 的蛋白表达上调能够诱导胰腺腺泡细胞的凋亡,促进胰蛋白酶原的激活,导致急性胰腺炎的疾病进展^[13]。本研究中,SAP 合并 AKI 患者血清 AIFM2 升高更为显著,且 AIFM2 水平与肾功能指标有关,提示 AIFM2 能够促进 SAP 患者 AKI 的发生发展。分析其原因,AIFM2 的表达上调能引起 SAP 患者肾脏组织损伤及炎症反应的发生,引起肾功能障碍,导致 AKI 的发生。研究表明,急性胰腺炎中内质网应激活化转录因子 6 表达明显升高,其能够通过激活并促进 AIFM2 聚集于胰腺腺泡细胞和肾小管上皮细胞中的线粒体,促进细胞凋亡,加重肾脏和胰腺炎性反应损伤及肾组织纤维化程度^[14]。此外,AIFM2 还能够通过自由基链式反应引发脂质膜中多不饱和脂肪酸的过氧化,上调肾小管上皮细胞中 4-羟基壬烯醛的表达,促进氧化应激标志物(如活性氧、丙二醛)和炎症反应标志物(白介素-1 β 、白介素-6 和肿瘤坏死因子- α)的表达,引起肾小管上皮细胞的线粒体功能障碍、氧化应激损伤及细胞凋亡,导致 AKI 的发生^[15]。本研究中,血清 AIFM2 升高是影响 SAP 并发 AKI 发生的危险因素。分析其原因,肾小管上皮细胞中 AIFM2 能够抑制谷胱甘肽过氧化物酶 4 的转录,下调长链酯酰辅酶 A 合成酶 4 的表达,促进细胞膜的脂质过氧化损伤,诱导铁死亡的发生,而下调

AIFM2 的表达后能抑制肾小管上皮细胞的肾小管损伤和铁死亡^[16]。因此, AIFM2 参与促进 SAP 患者 AKI 的发生发展, 是新的 SAP 并发 AKI 的血清标志物。

UMOD 基因位于 16q20, 编码蛋白分子量为 90 kD, 其能促进免疫细胞的聚集活化, 激活细胞表面凝集素和受体—配体依赖信号通路, 参与慢性肾脏病的发生发展^[17]。本研究中, SAP 患者血清 UMOD 水平降低, 这与既往学者在急性胰腺炎中观察的结果相似^[18], 但该研究中血清 UMOD 降低水平高于本研究结果, 其原因可能是本研究纳入的观察对象为 SAP 患者, 血清 UMOD 水平降低更为显著。SAP 患者血清 UMOD 的降低与促炎性细胞因子的表达调控异常有关。研究表明, 急性胰腺炎早期全身炎症反应引起机体白介素 1 β 、白介素 6 等促炎细胞因子的表达上调, 继而激活肾小管上皮细胞中核因子 κ B 和细胞外调节激酶信号通路, 抑制 UMOD mRNA 的转录和蛋白表达, 导致患者血清 UMOD 水平降低^[19-20]。本研究中, SAP 患者血清 UMOD 水平与肾功能指标呈负相关, 提示 UMOD 的水平降低加重 SAP 患者肾功能的损伤。研究表明, UMOD 作为一种肾脏特异性蛋白, 其能够抑制单核细胞、中性粒细胞等炎症细胞的趋化和迁移, 减轻肾组织炎症反应, 而 UMOD 的表达降低能够促进炎症细胞的迁移, 诱导肾小管上皮细胞的凋亡, 加重 SAP 患者肾功能损伤的程度^[21]。动物实验研究表明, 小鼠肾脏缺血再灌注损伤后, 肾小管及血清中 UMOD 的表达降低, 在肾功能恢复期间肾小管细胞向基底外侧部分移位, 血清 UMOD 表达再次逐渐增加, 肾组织炎症反应介质释放和肾小管上皮细胞凋亡均明显减少, 肾功能障碍的程度明显减轻^[22]。本研究中, 血清 UMOD 是 SAP 患者并发 AKI 的保护因素, 提示 UMOD 能够降低 SAP 患者并发 AKI 风险。分析其原因, UMOD 可通过激活未折叠的蛋白质/内质网应激反应途径, 诱导树突状细胞免疫耐受, 减轻 SAP 患者肾组织的炎症反应损伤, 改善患者肾功能状况。研究表明, 在 UMOD 基因突变的小鼠中, F4/80⁺ 和 CD11c⁺ 肾小管上皮细胞能够吞噬 UMOD 和抗 UMOD 抗体免疫复合物, 激活转录因子 5 介导的内质网应激反应通路, 加重肾缺血再灌注损伤后的炎症反应, 促进肿瘤坏死因子等炎症因子的分泌, 导致肾纤维化的发生^[23]。本研究中, 血清 AIFM2、UMOD 联合对 SAP 并发 AKI 评估的曲线下面积较大, 提示血清 AIFM2、UMOD 联合有助于临床早期评估 SAP 并发 AKI 的发生。

综上所述, SAP 并发 AKI 患者血清 AIFM2 升高, 血清 UMOD 降低, 两者与血肌酐、血尿素氮、胱抑素 C

及 Ranson 评分有关, 均参与 SAP 并发 AKI 的发生发展过程。血清 AIFM2、UMOD 联合对 SAP 并发 AKI 的发生具有较高的评估价值, 有利于辅助临床进行早期诊治。本研究存在的局限是未能对 AIFM2、UMOD 参与促进 SAP 患者 AKI 发生的机制进行实验研究, 两者能否成为新的 SAP 并发 AKI 的治疗靶点, 有待今后进行进一步的基础和临床试验研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘毓杰:设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写, 资料搜集整理; 沈晨:实施研究过程, 分析试验数据; 马鹏飞:资料搜集整理, 论文修改, 进行统计学分析; 郑幼伟:提出研究思路, 论文审核

参考文献

- [1] Boxhoorn L, Voermans RP, Bouwense SA, et al. Acute pancreatitis [J]. *Lancet*, 2020, 396 (10252) : 726-734. DOI: 10. 1016/S0140-6736(20)31310-6.
- [2] 高其亮, 毛星荐, 吴钢. 急性胰腺炎患者血清 miR-455-3p, miR-141-3p 水平表达与病情严重程度关系的研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2024, 39 (5) : 41-46. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2024. 05. 008.
- [3] Guo S, Li F, Liang Y, et al. AIFM2 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing mitochondrial biogenesis through activation of SIRT1/PGC-1 α signaling [J]. *Oncogenesis*, 2023, 12 (1) : 46-54. DOI: 10. 1038/s41389-023-00491-1.
- [4] 曹荣昌. ATF6 上调 AIFM2 促进重症急性胰腺炎腺泡细胞凋亡和损伤的机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2021.
- [5] 顾树江, 张春铭, 盛利, 等. 高血压肾病患者血清尿调节蛋白和胱抑素 C 水平与临床病理特征及预后的相关性研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37 (1) : 61-66. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2022. 01. 013.
- [6] Ferrè S, Igarashi P. New insights into the role of HNF-1 β in kidney (patho) physiology [J]. *Pediatr Nephrol*, 2019, 34 (8) : 1325-1335. DOI: 10. 1007/s00467-018-3990-7.
- [7] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南 (2019 年, 沈阳) [J]. *中华消化杂志*, 2019, 39 (11) : 721-730. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-1432. 2019. 11. 001.
- [8] Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury [J]. *Nephron Clin Pract*, 2012, 120 (4) : 179-184. DOI: 10. 1159/000339789.
- [9] Ong Y, Shelat VG. Ranson score to stratify severity in acute pancreatitis remains valid - Old is gold [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 15 (8) : 865-877. DOI: 10. 1080/17474124. 2021.
- [10] Nawacki L, Gluszek S. Hospital mortality rate and predictors in acute pancreatitis in Poland: A single-center experience [J]. *Asian J Surg*, 2024, 47 (1) : 208-215. DOI: 10. 1016/j. asjsur. 2023. 07. 063.
- [11] Guo S, Li F, Liang Y, et al. AIFM2 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing mitochondrial biogenesis through activation of SIRT1/PGC-1 α signaling [J]. *Oncogenesis*, 2023, 12 (1) : 46-

57. DOI:10.1038/s41389-023-00491-1.
- [12] Bersuker K, Hendricks JM, Li Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis [J]. *Nature*, 2019, 575 (7784): 688-692. DOI:10.1038/s41586-019-1705-2.
- [13] Zhou L, Tan JH, Zhou WY, et al. P53 Activated by ER stress aggravates caerulein-induced acute pancreatitis progression by inducing acinar cell apoptosis [J]. *Dig Dis Sci*, 2020, 65 (11): 3211-3222. DOI:10.1007/s10620-020-06052-5.
- [14] Tan JH, Cao RC, Zhou L, et al. ATF6 aggravates acinar cell apoptosis and injury by regulating p53/AIFM2 transcription in Severe Acute Pancreatitis [J]. *Theranostics*, 2020, 10 (18): 8298-8314. DOI:10.7150/thno.46934.
- [15] Sharma S, Sharma P, Bailey T, et al. Electrophilic aldehyde 4-Hydroxy-2-Nonenal mediated signaling and mitochondrial dysfunction [J]. *Biomolecules*, 2022, 12 (11): 1555-1566. DOI:10.3390/biom12111555.
- [16] Kim DH, Choi HI, Park JS, et al. Farnesoid X receptor protects against cisplatin-induced acute kidney injury by regulating the transcription of ferroptosis-related genes [J]. *Redox Biol*, 2022, 54 (7): 1023-1036. DOI:10.1016/j.redox.2022.102382.
- [17] Devuyt O, Bochud M, Olinger E. UMOD and the architecture of kidney disease [J]. *Pflugers Arch*, 2022, 474 (8): 771-781. DOI:10.1007/s00424-022-02733-4.
- [18] Chan J, Svensson M, Tannaes TM, et al. Associations of serum uromodulin and urinary epidermal growth factor with measured glomerular filtration rate and interstitial fibrosis in kidney transplantation [J]. *Am J Nephrol*, 2022, 53 (2-3): 108-117. DOI:10.1159/000521757.
- [19] Yuan Z, Wang W, Song S, et al. IGFBP1 stabilizes Umod expression through m6A modification to inhibit the occurrence and development of cystitis by blocking NF- κ B and ERK signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 134 (8): 1119-1127. DOI:10.1016/j.intimp.2024.111997.
- [20] 赵瑞臣, 次多, 何春娅, 等. 重症急性胰腺炎外周血 miR-9、miR-155 表达水平与淀粉酶、炎性反应及 Th17/Treg 平衡的关系 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20 (8): 795-800. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.08.009.
- [21] Wen Y, Parikh CR. Current concepts and advances in biomarkers of acute kidney injury [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2021, 58 (5): 354-368. DOI:10.1016/j.intimp.2024.111997.
- [22] Gerges D, Hevesi Z, Schmidt SH, et al. Tubular epithelial progenitors are excreted in urine during recovery from severe acute kidney injury and are able to expand and differentiate in vitro [J]. *Peer J*, 2022, 20 (10): 14110-14225. DOI:10.7717/peerj.14110.
- [23] Plotkin M, O'Brien CA, Goellner J, et al. A uromodulin mutation drives autoimmunity and kidney mononuclear phagocyte endoplasmic reticulum stress [J]. *Am J Pathol*, 2020, 190 (12): 2436-2452. DOI:10.1016/j.ajpath.2020.08.015.

(收稿日期:2024-08-06)

(上接 1345 页)

- [7] Ananya FN, Ahammed MR, Lahori S, et al. Neuroprotective role of Klotho on dementia [J]. *Cureus*, 2023, 15 (6): 43-51. DOI:10.7759/cureus.40043.
- [8] 国家卫生健康委办公厅. 阿尔茨海默病的诊疗规范 (2020 年版) [J]. *全科医学临床与教育*, 2021, 19 (1): 4-6. DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2021.001.002.
- [9] 田金洲, 解恒革, 王鲁宁, 等. 中国阿尔茨海默病痴呆诊疗指南 (2020 年版) [J]. *中华老年医学杂志*, 2021, 40 (3): 269-283. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2021.03.001.
- [10] Monteiro AR, Barbosa DJ, Remiao F, et al. Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 211 (2): 11-22. DOI:10.1016/j.bcp.2023.115522.
- [11] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease [J]. *Lancet*, 2021, 397 (10284): 1577-1590. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
- [12] Ando M, Nobukawa S, Kikuchi M, et al. Identification of electroencephalogram signals in Alzheimer's disease by multifractal and multi-scale entropy analysis [J]. *Front Neurosci*, 2021, 15 (3): 66-74. DOI:10.3389/fnins.2021.667614.
- [13] Ujma PP, Bódizs R, Dresler M, et al. Multivariate prediction of cognitive performance from the sleep electroencephalogram [J]. *Neuroimage*, 2023, 279 (1): 12-19. DOI:10.1016/j.neuroimage.2023.120319.
- [14] Martínez-Iglesias O, Naidoo V, Cacabelos N, et al. Epigenetic biomarkers as diagnostic tools for neurodegenerative disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23 (1): 13-21. DOI:10.3390/ijms23010013.
- [15] Zhang D, Chen S, Xu S, et al. The clinical correlation between Alzheimer's disease and epilepsy [J]. *Front Neurol*, 2022, 13 (1): 92-105. DOI:10.3389/fneur.2022.922535.
- [16] Fung TY, Iyaswamy A, Sreenivasamurthy SG, et al. Klotho an autophagy stimulator as a potential therapeutic target for Alzheimer's disease: A review [J]. *Biomedicines*, 2022, 10 (3): 705-713. DOI:10.3390/biomedicines10030705.
- [17] Orellana AM, Mazucanti CH, Dos Anjos LP, et al. Klotho increases antioxidant defenses in astrocytes and ubiquitin-proteasome activity in neurons [J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1): 15-23. DOI:10.1038/s41598-023-41166-6.
- [18] Park C, Hahn O, Gupta S, et al. Platelet factors are induced by longevity factor klotho and enhance cognition in young and aging mice [J]. *Nat Aging*, 2023, 3 (9): 1067-1078. DOI:10.1038/s43587-023-00468-0.
- [19] Wloczkowska O, Perla-Kaján J, Smith AD, et al. Anti-N-homocysteine-protein autoantibodies are associated with impaired cognition [J]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2021, 7 (1): 159-164. DOI:10.1002/trc2.12159.

(收稿日期:2024-07-30)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.014

论著·临床

血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 与慢性肾脏病维持性血液透析患者残余肾功能的相关性及预后预测价值

王朝霞, 柴梅月, 常淑婷, 张立, 康娜, 贺江花



基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2022JQ-786)

作者单位: 712000 陕西咸阳, 陕西中医药大学附属医院血液净化科(王朝霞、常淑婷、张立、康娜、贺江花), 肾病一科(柴梅月)

通信作者: 柴梅月, E-mail: chaimeiyue@126.com

【摘要】目的 研究血清可溶性类 fms 酪氨酸激酶 1 (sFlt-1)、视黄醇结合蛋白 (RBP)、乳脂球表皮生长因子 8 (MFG-E8) 在慢性肾脏病维持性血液透析患者中表达水平, 分析三者与患者残余肾功能 (RRF) 的相关性及对预后的预测价值。**方法** 选取 2020 年 10 月—2023 年 4 月陕西中医药大学附属医院血液净化科收治的慢性肾脏病维持性血液透析患者 168 例为研究对象, 根据残余肾尿素清除率 (KRU) 计算值分为有 RRF 组 ($n=28$) 和无 RRF 组 ($n=140$); 又根据预后情况分为生存组 ($n=128$) 和死亡组 ($n=40$)。收集患者临床资料, 采用 ELISA 检测血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平, Spearman 法分析血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 与 RRF 的相关性, Logistic 回归分析患者预后影响因素, 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平对患者预后的预测价值。**结果** 与有 RRF 组相比, 无 RRF 组的糖尿病患者占比显著增加 ($\chi^2/P=7.547/0.006$), 血清 sFlt-1、RBP 水平显著升高 ($t/P=6.870/<0.001$, $4.449/<0.001$), MFG-E8 水平显著降低 ($t/P=14.071/<0.001$); 血清 sFlt-1、RBP 与 RRF 均呈负相关 ($r=-0.450$, -0.562 , $P<0.05$), MFG-E8 与 RRF 呈正相关 ($r=0.556$, $P<0.05$)。与生存组相比, 死亡组血清 sFlt-1、RBP 水平显著升高 ($t/P=8.947/<0.001$, $8.248/<0.001$), MFG-E8 水平显著降低 ($t/P=10.040/<0.001$); Logistic 回归分析结果表明, 糖尿病、血清 sFlt-1、RBP 水平升高为影响患者预后的危险因素 [$OR(95\% CI)=2.336(1.151\sim4.740)$, $2.786(1.081\sim7.180)$, $2.954(1.171\sim7.450)$], 而 MFG-E8 水平升高为影响患者预后的保护因素 [$OR(95\% CI)=0.788(0.636\sim0.976)$]; 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 以及三者联合预测患者预后的 AUC 分别为 0.834、0.836、0.825、0.925, 三者联合预测显著优于各项指标单独预测 ($Z/P=2.757/0.006$, $2.804/0.005$, $3.035/0.002$)。**结论** 慢性肾脏病维持性血液透析无 RRF 患者血清 Flt-1、RBP 水平显著升高, MFG-E8 水平显著降低, 与患者 RRF 具有显著相关性, 三者联合检测对患者预后具有一定预测价值。

【关键词】 慢性肾脏病; 维持性血液透析; 残余肾功能; 可溶性类 fms 酪氨酸激酶 1; 视黄醇结合蛋白; 乳脂球表皮生长因子 8; 预后

【中图分类号】 R692 **【文献标识码】** A

Correlation of serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 with residual renal function in patients with chronic kidney disease maintenance hemodialysis and their predictive value for prognosis Wang Chaoxia*, Chai Meiyue, Chang Shuting, Zhang Li, Kang Na, He Jianghua. * Department of Blood Purification, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Province, Xianyang 712000, China

Funding program: Natural Science Basic Research Project of Shaanxi Province(2022JQ-786)

Corresponding author: Chai Meiyue, E-mail: chaimeiyue@126.com

【Abstract】 Objective To study the expression levels of serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1), retinol-binding protein (RBP), and milk fat globule-epidermal growth factor-factor 8 (MFG-E8) in patients with chronic kidney disease maintenance hemodialysis, and to further analyze the correlation between the three with the residual renal function (RRF) of the patients, and their predictive value for prognosis. **Methods** From October 2020 to April 2023, 168 chronic kidney disease maintenance hemodialysis patients admitted to our hospital were regarded as the diseased group, which were separated into the RRF group ($n=28$) and the no RRF group ($n=140$) according to the calculated value of RRF, and separated into the survival group ($n=128$) and the death group ($n=40$) according to the prognosis. ELISA was applied to detect serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 levels. General clinical data were collected and analyzed. Spearman's method was applied to

analyze the correlation between serum sFlt-1, RBP, MFG-E8 and RRF. Logistic regression was performed to analyze the factors affecting patient prognosis. Receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted to analyze the predictive value of serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 levels for prognosis. **Results** Compared with the RRF group, the proportions of patients with diabetes mellitus in the no RRF group were greatly increased ($\chi^2/P=7.547/0.006$), serum sFlt-1 and RBP levels were greatly higher ($t/P=6.870/<0.001$, $4.449/<0.001$), and MFG-E8 level was greatly lower ($t/P=14.071/<0.001$). Serum sFlt-1 and RBP were negatively correlated with RRF ($r=-0.450$, $-0.562, P<0.05$), and MFG-E8 was positively correlated with RRF ($r=0.556, P<0.05$). Compared with the survival group, serum sFlt-1 and RBP levels were greatly higher ($P<0.05$) and MFG-E8 level was greatly lower ($P<0.05$) in the death group. Diabetes, elevated serum sFlt-1 and RBP levels were risk factors affecting prognosis ($P<0.05$), and elevated MFG-E8 level was a protective factor affecting prognosis ($P<0.05$). The AUC of serum sFlt-1, RBP, MFG-E8, and the combination for predicting prognosis was 0.834, 0.836, 0.825, and 0.925, respectively, and the combined prediction of the three was greatly better than that of sFlt-1 ($Z=2.757, P=0.006$), RBP ($Z=2.804, P=0.005$), and MFG-E8 ($Z=3.035, P=0.002$) alone. **Conclusion** Serum Flt-1 and RBP levels are greatly increased and MFG-E8 level is greatly decreased in chronic kidney disease maintenance hemodialysis patients without RRF, which had a certain correlation with RRF and had a certain auxiliary predictive value for the prognosis.

【Key words】 Chronic kidney disease; Maintenance hemodialysis; Residual renal function; Soluble fms-like tyrosine kinase 1; Retinol-binding protein; Milk fat globule-epidermal growth factor-factor 8; Prognosis

慢性肾脏病是一种肾功能逐渐恶化的临床疾病,发病率和病死率都很高,导致慢性肾脏病最常见的原因是糖尿病和高血压^[1-2]。从慢性肾脏病转变为终末期肾病的第 1 年内,病死率高达 30%。终末期肾病患者主要依靠肾移植或透析进行肾脏替代治疗。血液透析是最常见的透析方式,在大多数国家,80% 以上的慢性透析患者接受血液透析治疗。虽然血液透析疗法被广泛使用,但有研究表明,维持性血液透析患者在透析后会发生多种不适症状^[3],最常见的相关并发症包括低血压、肌肉痉挛等^[4]。因此寻找有效生物标志物对患者临床治疗具有重要意义。

可溶性类 fms 酪氨酸激酶 1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1, sFlt-1) 是一种抗血管生成蛋白,主要由胎盘产生,与血管内皮生长因子和胎盘生长因子信号在血管中的抑制作用有关^[5]。sFlt-1 有助于单核细胞和巨噬细胞的迁移和活化,导致炎症反应和血管生成。慢性肾脏病患者血浆 sFlt-1 水平升高,会促进心血管疾病的发展^[6]。视黄醇结合蛋白 (retinol-binding protein, RBP) 在营养和健康调查中被用作视黄醇的替代标志物,可在血清、血浆、尿液中测得,用来评估维生素 A 的状态^[7]。在 2 型糖尿病肾病的早期阶段,可以检测到尿液中 RBP 水平升高,对糖尿病肾病的检测和早期治疗具有重要价值^[8]。乳脂球表皮生长因子 8 (milk fat globule epidermal growth factor 8, MFG-E8) 是一种分泌型多功能糖蛋白,参与中枢神经系统的多种病理过程,在治疗神经退行性疾病和创伤性脑损伤、抑制促炎介质的释放和调节免疫反应方面发挥有益作用^[9]。有研究表明, MFG-E8 检测在早期糖尿病肾病

和临床糖尿病肾病的鉴别诊断中具有重要意义^[10]。目前,有关 sFlt-1、RBP、MFG-E8 在慢性肾脏病维持性血液透析患者中的临床价值尚不清晰,因此本研究通过检测慢性肾脏病维持性血液透析患者血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平,并进一步分析三者与患者残余肾功能的相关性以及对患者预后的预测价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 10 月—2023 年 4 月陕西中医药大学附属医院血液净化科收治的慢性肾脏病维持性血液透析患者 168 例为研究对象,根据残余肾功能 (residual renal function, RRF) 分为无 RRF 组 ($n=140$) 和有 RRF 组 ($n=28$); 又根据随访 1 年的生存情况分为生存组 ($n=128$) 和死亡组 ($n=40$)。本研究经医院伦理委员会批准 (2020-08026), 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 纳入标准: (1) 符合慢性肾脏病国际肾脏病基金会肾脏疾病转归质量分期 5 期^[11]; (2) 血液透析治疗 ≥ 3 个月; (3) 临床资料完整。排除标准: (1) 合并心、肝、肺疾病; (2) 合并肿瘤疾病; (3) 合并严重感染; (4) 神志清醒, 服从性好; (5) 免疫系统疾病。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 临床资料收集: 收集患者性别、年龄、体质指数 (BMI)、吸烟史、饮酒史、高血压、高血脂、糖尿病等临床信息。

1.3.2 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平检测: 于患者入组次日进行空腹肘静脉采血 5 ml, 采用离心机 (多用

途台式离心机 Labofuge 400R, 赛默飞世尔科技公司) 离心后, 收集上清液, 采用 ELISA 检测试剂盒检测 sFlt-1 (上海子科生物科技有限公司)、RBP (南京森贝伽生物科技有限公司)、MFG-E8 (上海将来实业股份有限公司) 水平, 各指标检测均根据操作说明书进行。

1.3.3 残余肾功能测定: 入组首次透析后及第 2 次透析前, 采用全自动生化分析仪测定血清尿素氮浓度及尿素氮浓度, 计算平均值为透析期间尿素浓度。根据残余肾尿素清除率 (KRU) 公式计算 RRF: $KRU = 2 (VID \times UID) / TID (Cpre + Cpos)$, 其中 VID 为透析期间尿量, UID 为透析期间尿素浓度, TID 为透析时间, Cpre 为透析期间血尿素浓度, Cpos 为透析后血尿素/尿素。并按照 KRU 判断有无 RRF: $< 1.0 \text{ ml/min}$ 为无 RRF; $\geq 1.0 \text{ ml/min}$ 为有 RRF。

1.3.4 随访: 所有患者均采用门诊及电话进行随访, 随访时间截至 2024 年 4 月或患者全因死亡, 详细记录患者死亡原因和死亡时间。根据患者存活情况分为生存组和死亡组。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.00 软件进行数据分析。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; Spearman 法分析血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 与 RRF 的相关性; Logistic 回归分析患者预后的影响因素, 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平对患者预后的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料比较 RRF 组与无 RRF 组的性别、年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、高血压、高血脂、透析时间及透析频率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与有 RRF 组相比, 无 RRF 组的糖尿病患者比例显著增加 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平比较 与有 RRF 组相比, 无 RRF 组血清 sFlt-1、RBP 水平显著增加 ($P < 0.01$), MFG-E8 水平显著降低 ($P < 0.01$), 见表 2。

2.3 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 与 RRF 相关性分析 采用 Spearman 法分析血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 与 RRF 相关性, 结果显示, 血清 sFlt-1、RBP 与 RRF 均呈负相关 ($r = -0.450, -0.562, P < 0.05$), 而 MFG-E8 与 RRF 呈正相关 ($r = 0.556, P < 0.05$)。

2.4 不同预后血液透析患者临床资料比较 生存组与死亡组的性别、年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、高血压、高血脂、透析时间及透析频率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与生存组相比, 死亡组的糖尿病患者比例

显著增加 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 1 2 组慢性肾脏病血液透析患者一般资料比较

Tab. 1 Comparison of general information between two groups of chronic kidney disease hemodialysis patients

项目	无 RRF 组 (n=140)	有 RRF 组 (n=28)	χ^2/t 值	P 值
性别 [例 (%)]				
男	72 (51.43)	10 (35.71)	2.306	0.129
女	68 (48.57)	18 (64.29)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	66.32 \pm 6.79	65.98 \pm 6.86	0.209	0.835
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.89 \pm 2.65	23.65 \pm 2.50	0.381	0.704
吸烟 [例 (%)]	76 (54.29)	11 (39.29)	2.103	0.147
饮酒 [例 (%)]	83 (59.29)	13 (46.43)	1.575	0.209
高血压 [例 (%)]	88 (62.86)	13 (46.43)	2.627	0.105
高血脂 [例 (%)]	84 (60.00)	12 (42.86)	2.800	0.094
糖尿病 [例 (%)]	102 (72.86)	13 (46.43)	7.547	0.006
透析时间 ($\bar{x} \pm s$, 月)	20.31 \pm 2.23	19.62 \pm 2.03	1.516	0.131
透析频率 ($\bar{x} \pm s$, 次/周)	2.40 \pm 0.27	2.31 \pm 0.25	1.629	0.105

表 2 不同 RRF 慢性肾脏病血液透析患者血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 levels in patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis under different RRFs

组别	例数	sFlt-1 ($\mu\text{g/L}$)	RBP (mg/L)	MFG-E8 (ng/L)
无 RRF 组	140	1.49 \pm 0.20	3.48 \pm 0.40	149.33 \pm 16.42
有 RRF 组	28	1.21 \pm 0.18	3.12 \pm 0.34	202.25 \pm 23.32
t 值		6.870	4.449	14.071
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

表 3 不同预后血液透析患者临床资料比较

Tab. 3 Comparison of clinical data of hemodialysis patients with different prognoses

项目	生存组 (n=128)	死亡组 (n=40)	χ^2/t 值	P 值
性别 [例 (%)]				
男	60 (46.88)	22 (55.00)	0.805	0.370
女	68 (53.13)	18 (45.00)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	66.25 \pm 6.82	66.31 \pm 6.74	0.049	0.961
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.84 \pm 2.60	23.89 \pm 2.71	0.105	0.916
吸烟 [例 (%)]	72 (56.25)	25 (62.50)	0.488	0.485
饮酒 [例 (%)]	70 (54.69)	26 (65.00)	1.323	0.250
高血压 [例 (%)]	73 (57.03)	28 (70.00)	2.138	0.144
高血脂 [例 (%)]	69 (53.19)	27 (67.50)	2.300	0.129
糖尿病 [例 (%)]	82 (64.06)	33 (82.50)	4.797	0.029
透析时间 ($\bar{x} \pm s$, 月)	20.03 \pm 2.15	20.73 \pm 2.34	1.760	0.080
透析频率 ($\bar{x} \pm s$, 次/周)	2.37 \pm 0.26	2.43 \pm 0.30	1.227	0.222

2.5 不同预后血液透析患者血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 比较 与生存组相比, 死亡组血清 sFlt-1、RBP 水平均显著增加 ($P < 0.01$), MFG-E8 水平显著降低 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 4 不同预后血液透析患者血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 levels in hemodialysis patients with different prognoses

组别	例数	sFlt-1 ($\mu\text{g/L}$)	RBP (mg/L)	MFG-E8 (ng/L)
生存组	128	1.36 \pm 0.19	3.26 \pm 0.38	165.81 \pm 18.62
死亡组	40	1.68 \pm 0.22	3.95 \pm 0.44	133.65 \pm 14.21
t 值		8.947	8.248	10.040
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.6 慢性肾脏病血液透析患者预后影响因素分析

以患者预后结局为因变量(生存 = 0, 死亡 = 1), 以患者糖尿病(否 = 0, 是 = 1)以及血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 水平为自变量进行 Logistic 回归分析, 结果显示, 糖尿病及血清 sFlt-1、RBP 水平升高为影响患者预后的危险因素 ($P < 0.05$), MFG-E8 水平升高为影响患者预后的保护因素 ($P < 0.05$), 见表 5。

表 5 慢性肾脏病血液透析患者预后影响因素分析

Tab. 5 Analysis of prognostic factors in patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis

指标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
糖尿病	0.848	0.361	5.524	0.019	2.336	1.151 ~ 4.740
sFlt-1 高	1.025	0.483	4.500	0.034	2.786	1.081 ~ 7.180
RBP 高	1.083	0.472	5.266	0.022	2.954	1.171 ~ 7.450
MFG-E8 高	-0.238	0.109	4.778	0.029	0.788	0.636 ~ 0.976

2.7 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 对患者预后的预测价值分析 ROC 曲线结果显示, 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 以及三者联合预测患者预后的 AUC 分别为 0.834、0.836、0.825、0.925, 三者联合预测显著优于各项指标单独预测 ($Z/P = 2.757/0.006$ 、 $2.804/0.005$ 、 $3.035/0.002$), 见表 6、图 1。

表 6 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 对慢性肾脏病血液透析患者预后的预测价值

Tab. 6 The predictive value of serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 for the prognosis of patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis

指标	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
sFlt-1	1.55 $\mu\text{g/L}$	0.834	0.769 ~ 0.887	0.800	0.727	0.527
RBP	3.57 mg/L	0.836	0.771 ~ 0.888	0.825	0.727	0.552
MFG-E8	149.02 ng/L	0.825	0.759 ~ 0.879	0.825	0.703	0.528
三项联合		0.925	0.874 ~ 0.960	0.775	0.938	0.713

3 讨论

慢性肾脏病是一种复杂的多发性疾病, 可导致肾

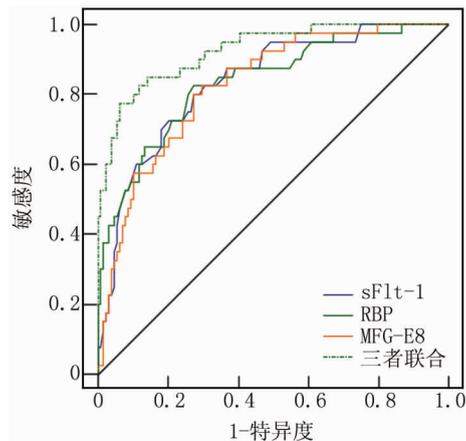


图 1 血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 预测慢性肾脏病血液透析患者预后的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum sFlt-1, RBP, and MFG-E8 predicting the prognosis of chronic kidney disease hemodialysis patients

功能障碍, 并发展为终末期肾脏病。美国国家肾脏基金会将慢性肾脏病定义为肾小球滤过率下降至 $< 15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$ 或肾脏损伤持续至少 3 个月。慢性肾脏病的病因包括盐潴留、明显的血容量过多、交感神经过度活跃和内皮功能障碍^[12]。与该疾病相关的并发症会加速慢性肾脏病的进展, 并增加心血管相关疾病的发病风险^[13]。此外, 初级医疗机构对慢性肾脏病的认识水平仍然很低, 部分原因是慢性肾脏病在晚期之前通常是无声无息的^[14]。慢性肾脏病发展为终末期肾衰竭后, 通常需要透析和肾移植, 肾衰竭和血液透析治疗与多种症状有关, 包括不宁腿综合征、睡眠障碍、抑郁、焦虑、肌肉痉挛和疲劳^[15]。对于需要透析的慢性肾衰竭患者来说, 生活质量和存活率与 RRF 有关。常用的血清学指标如肌酐、胱抑素 C 和尿素等由于会被透析过程清除, 不能准确反映 RRF^[16]。因此, 寻找高效的生物标志物对 RRF 的评估及患者预后预测具有重大意义。

sFlt-1 是血管内皮生长因子受体-1 的可溶性变体, 在调节血管内皮生长因子活性方面发挥着重要作用^[17]。研究表明, sFlt-1 会导致内皮功能障碍、血管生成减少、毛细血管修复受损以及蛋白尿增加。sFlt-1 水平的升高与慢性肾脏病患者的内皮功能障碍以及不良预后有关^[18]。循环 sFlt-1 水平在具有不同程度肾功能损害的不同疾病中升高, 与肾小球滤过率呈负相关^[19]。在本研究中, 无 RRF 患者血清 sFlt-1 水平升高, 与 RRF 呈负相关, 表明血清 sFlt-1 表达水平与患者 RRF 有关, 推测 sFlt-1 水平升高导致血管生成减

少、毛细血管修复受损,破坏血管生存平衡机制,诱导内皮损伤,肾脏损伤,RRF 降低。死亡患者血清 sFlt-1 水平升高,为影响患者预后的危险因素,预测患者预后的 AUC 为 0.834,表明 sFlt-1 参与慢性肾脏病维持性血液透析病理发生发展过程,推测 sFlt-1 水平升高与慢性肾脏病患者的内皮功能障碍有关,由于内皮功能障碍是动脉粥样硬化的初始病理过程之一,与心血管风险增加有关,循环中 sFlt-1 的增加可能与慢性肾脏病患者的心血管风险有关,并影响患者预后,导致患者死亡风险增加^[18]。

RBP 是血液中视黄醇的转运蛋白,主要由碳水化合物和多肽链合成,帮助肝细胞上的维生素 A 转运到上皮细胞。在评估近端肾小管重吸收功能和肾小球滤过功能中具有重要价值。RBP 可与甲状腺转运体结合形成聚合复合物,活化的 RBP 可游离于血浆中,经肾小球过滤后,大部分被近端肾小管吸收并分解,供组织正常使用,只有少数随尿液排出,因此在健康状态下,血清或尿液中检测到的 RBP 含量极低。RBP 含量的变化提示肾小管和肾小球发生了病理变化。在诱导因子的作用下,RBP 可刺激体内氧化应激,增加氧自由基对血管内皮的损伤^[20-21]。此前研究发现,RBP 水平可以反映患者的早期肾功能损害^[22-23]。在本研究中,无 RRF 患者血清 RBP 水平升高,与 RRF 呈负相关,表明 RBP 与 RRF 具有密切联系,推测当肾功能发生损伤或丧失后,肾小球过滤功能降低,RBP 无法吸收分解导致水平升高。死亡患者血清 RBP 水平升高,为影响患者预后的危险因素,预测患者预后的 AUC 为 0.836,表明 RBP 参与慢性肾脏病维持性血液透析病理发生发展过程,推测 RBP 水平升高,刺激体内氧化应激发生,增加氧自由基对血管内皮的损伤,进一步损伤肾脏,引起并发症,增加预后不良风险^[24]。

MFG-E8 也称乳黏附素,是一种在体内各种细胞中产生的抗炎糖蛋白,参与各种生物和生理过程。最初,发现 MFG-E8 与凋亡细胞上的磷脂酰丝氨酸结合,并与巨噬细胞上的 $\alpha v \beta 3$ 整合素相互作用,以增强凋亡细胞的吞噬,除了促进凋亡细胞的清除,MFG-E8 还可以减轻炎症反应、促进血管生成、修复肠上皮和激活血管平滑肌细胞的增殖。在防止脓毒症、减轻炎症反应和组织损伤以及促进伤口愈合和组织再生中起重要作用^[25-26]。研究发现,MFG-E8 可减轻小鼠肾脏 I/R 模型中的炎症反应和器官损伤程度,含有 MFG-E8 的 BMSC-EVs 减轻了肾纤维化大鼠模型的肾纤维化^[27]。在本研究中,无 RRF 患者血清 MFG-E8 水平降低,与 RRF 呈正相关,表明 MFG-E8 水平对 RRF 程度评估具

有一定参考价值,推测血清 MFG-E8 对肾小球滤过具有良好稳定作用。可减轻肾脏的纤维化进展。死亡患者血清 MFG-E8 水平降低,为影响患者预后的保护因素,预测患者预后的 AUC 为 0.825,表明 MFG-E8 水平可反映患者的临床状态及结局,推测 MFG-E8 水平降低,导致巨噬细胞对凋亡细胞的清除能力降低,病变细胞增加,并且 MFG-E8 水平降低,机体免疫平衡受到破坏,炎症反应加剧,患者预后不良风险增加^[28]。

此外,血清 sFlt-1、RBP、MFG-E8 联合预测的 AUC 高于其单独预测,提示 sFlt-1、RBP、MFG-E8 之间可能具有相互调控作用,对患者预后发展具有更好的预测效能。

综上所述,慢性肾脏病维持性血液透析患者血清 sFlt-1、RBP 水平显著升高,MFG-E8 水平显著降低,与患者 RRF 具有一定相关性,对患者预后具有一定辅助预测价值。但有关 sFlt-1、RBP、MFG-E8 在慢性肾脏病维持性血液透析患者中的调控机制尚未阐明,需进一步深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王朝霞、柴梅月:提出研究方向、实施研究过程、论文撰写;常淑婷、张立:实施研究过程,分析整理,进行文献调研与整理;康娜、贺江花:实施研究过程,数据收集,统计学分析,论文修订

- 参考文献**
- [1] Carswell C, Cogley C, Bramham K, et al. Chronic kidney disease and severe mental illness: A scoping review [J]. *J Nephro*, 2023, 36(6): 1519-1547. DOI:10.1007/s40620-023-01599-8.
 - [2] Miguel V, Kramann R. Metabolic reprogramming heterogeneity in chronic kidney disease [J]. *FEBS Open Bio*, 2023, 13(7): 1154-1163. DOI:10.1002/2211-5463.13568.
 - [3] Zhou M, Gu X, Cheng K, et al. Exploration of symptom clusters during hemodialysis and symptom network analysis of older maintenance hemodialysis patients: A cross-sectional study [J]. *BMC Nephrol*, 2023, 24(1): 115-128. DOI:10.1186/s12882-023-03176-4.
 - [4] Raja SM, Seyoum Y. Intradialytic complications among patients on twice-weekly maintenance hemodialysis: An experience from a hemodialysis center in Eritrea [J]. *BMC Nephrol*, 2020, 21(1): 163-168. DOI:10.1186/s12882-020-01806-9.
 - [5] Dathan-Stumpf A, Rieger A, Verlohren S, et al. sFlt-1/PlGF ratio for prediction of preeclampsia in clinical routine: A pragmatic real-world analysis of healthcare resource utilisation [J]. *PLoS One*, 2022, 17(2): e0263443. DOI:10.1371/journal.pone.0263443.
 - [6] Matsui M, Onoue K, Saito Y. sFlt-1 in Chronic kidney disease: Friend or foe? [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 14187-14199. DOI:10.3390/ijms232214187.
 - [7] Whitehead RD Jr, Ford ND, Mapango C, et al. Retinol-binding protein, retinol, and modified-relative-dose response in Ugandan children aged 12-23 months and their non-pregnant caregivers [J]. *Exp Biol Med*

- (Maywood), 2021, 246(8):906-915. DOI:10.1177/1535370220985473.
- [8] Zhou XH, Liu SY, Yang B, et al. Urinary orosomucoid and retinol binding protein levels as early diagnostic markers for diabetic kidney disease[J]. BMC Nephrol, 2023, 24(1):357-362. DOI:10.1186/s12882-023-03363-3.
- [9] Ren J, Zhu B, Gu G, et al. Schwann cell-derived exosomes containing MFG-E8 modify macrophage/microglial polarization for attenuating inflammation via the SOCS3/STAT3 pathway after spinal cord injury[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(1):70-86. DOI:10.1038/s41419-023-05607-4.
- [10] Xiong Y, Wang B, Jiao J, et al. Expression and clinical association of MFG-E8 and TAM receptors in diabetic patients with different stages of microvascular complication: An experimental study[J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(44):e35788. DOI:10.1097/MD.00000000000035788.
- [11] 田瑞, 周芸. 慢性肾脏病概念及分期诊断标准的演变和现状[J]. 国际移植与血液净化杂志, 2018, 16(1):1-4. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4238.2018.01.001.
- [12] Hebert SA, Ibrahim HN. Hypertension management in patients with chronic kidney disease[J]. Methodist Debakey Cardiovasc J, 2022, 18(4):41-49. DOI:10.14797/mdcvj.1119.
- [13] Naber T, Purohit S. Chronic kidney disease; Role of diet for a reduction in the severity of the disease[J]. Nutrients, 2021, 13(9):3277-3292. DOI:10.3390/nu13093277.
- [14] Evans M, Lewis RD, Morgan AR, et al. A narrative review of chronic kidney disease in clinical practice; Current challenges and future perspectives[J]. Adv Ther, 2022, 39(1):33-43. DOI:10.1007/s12325-021-01927-z.
- [15] Hargrove N, El Tobgy N, Zhou O, et al. Effect of aerobic exercise on dialysis-related symptoms in individuals undergoing maintenance hemodialysis; A systematic review and meta-analysis of clinical trials[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2021, 16(4):560-574. DOI:10.2215/CJN.15080920.
- [16] Schwab S, Kleine CE, Bös D, et al. Beta-trace protein as a potential biomarker of residual renal function in patients undergoing peritoneal dialysis[J]. BMC Nephrol, 2021, 22(1):87-95. DOI:10.1186/s12882-021-02287-0.
- [17] Moore KH, Chapman H, George EM. Unfractionated heparin displaces sFlt-1 from the placental extracellular matrix[J]. Biol Sex Differ, 2020, 11(1):34-44. DOI:10.1186/s13293-020-00311-w.
- [18] Wada H, Shinozaki T, Suzuki M, et al. Impact of chronic kidney disease on the associations of cardiovascular biomarkers with adverse outcomes in patients with suspected or known coronary artery disease: The exceed-j study[J]. J Am Heart Assoc, 2022, 11(3):e023464. DOI:10.1161/JAHA.121.023464.
- [19] Schulz A, Drost CC, Hesse B, et al. The soluble fms-like tyrosine kinase-1 contributes to structural and functional changes in endothelial cells in chronic kidney disease[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(24):16059-16062. DOI:10.3390/ijms232416059.
- [20] Lin ZH, Dai SF, Zhao JN, et al. Application of urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase combined with serum retinol-binding protein in early detection of diabetic nephropathy[J]. World J Diabetes, 2023, 14(6):883-891. DOI:10.4239/wjcd.v14.i6.883.
- [21] 辛国勇, 郑高梅, 唐伟. Cys-C、RBP 联合 UA 对老年急性心肌梗死患者 PCI 术后心力衰竭的诊断价值[J]. 临床误诊误治, 2023, 36(5):73-77. DOI:10.3969/j.issn.1002-3429.2023.05.016.
- [22] Yang X, Fan J, Wu Y, et al. The value of electrophoresis and chemical detection in the diagnosis of hypertensive nephropathy[J]. Int J Gen Med, 2021, 14(1):4803-4808. DOI:10.2147/IJGM.S305871.
- [23] 蒙军平, 张涵, 赵洁, 等. 尿液 RBP 和 ALB 在早期糖尿病肾病中的诊断价值及其与外周血 MCP-1 表达的关系[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(1):48-51, 56. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.01.012.
- [24] 毛辉, 黄洁群, 欧志强, 等. 血清视黄醇结合蛋白、胱抑素 C 及载脂蛋白 B/载脂蛋白 A1 联合检测对高血压早期肾损伤的诊断价值[J]. 川北医学院学报, 2024, 39(1):51-54. DOI:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.01.012.
- [25] Bu HF, Subramanian S, Geng H, et al. MFG-E8 plays an important role in attenuating cerulein-induced acute pancreatitis in mice[J]. Cells, 2021, 10(4):728. DOI:10.3390/cells10040728.
- [26] 陈宗皓, 张海波, 李岩, 等. 术前血清 HMGB1、MFG-E8、CysC 水平与心脏瓣膜置换术后急性肾损伤发生的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(8):809-814. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.08.007.
- [27] Shi Z, Wang Q, Zhang Y, et al. Extracellular vesicles produced by bone marrow mesenchymal stem cells attenuate renal fibrosis, in part by inhibiting the RhoA/ROCK pathway, in a UUO rat model[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1):253-273. DOI:10.1186/s13287-020-01767-8.
- [28] 李卿, 郑宏, 唐建生, 等. 血清 MFG-E8 与肾结石经皮肾镜治疗预后相关性[J]. 西部医学, 2024, 36(2):253-257. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2024.02.018.

(收稿日期:2024-06-19)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.015

论著·临床

狼疮性肾炎患者血清 FGF-23、Gas6 水平与疾病活动性的关系

杨小杰, 强建红, 汤喜红, 高彩霞, 冯彦飞



基金项目: 陕西省科协青年人才托举计划项目(20200305)

作者单位: 716000 陕西省延安市人民医院风湿免疫科

通信作者: 冯彦飞, E-mail: 564673294@qq.com

【摘要】目的 探讨狼疮性肾炎(LN)患者血清成纤维细胞生长因子 23(FGF-23)、生长停滞特异性蛋白 6(Gas6)水平与疾病活动性的关系。**方法** 选择 2021 年 3 月—2024 年 3 月延安市人民医院风湿免疫科收治的 LN 患者 119 例为 LN 组,并根据系统性红斑狼疮疾病活动指数 2000(SLEDAI-2000)评分分为活动亚组 70 例和非活动亚组 49 例,另选取同期医院健康体检者 105 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 FGF-23、Gas6 水平;Pearson 相关分析血清 FGF-23、Gas6 水平与肾功能指标、SLEDAI-2000 评分的相关性;多因素 Logistic 回归分析 LN 患者疾病活动性的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 FGF-23、Gas6 水平对 LN 患者疾病活动性的诊断价值。**结果** LN 组血清 FGF-23、Gas6 水平均高于健康对照组($t/P=21.040/ <0.001$ 、 $7.389/ <0.001$);活动亚组收缩压、舒张压、尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)、尿蛋白、SLEDAI-2000 评分、FGF-23、Gas6 均高于非活动亚组($t/P=2.356/0.020$ 、 $3.717/ <0.001$ 、 $11.867/ <0.001$ 、 $17.152/ <0.001$ 、 $30.579/ <0.001$ 、 $19.439/ <0.001$ 、 $11.284/ <0.001$ 、 $10.818/ <0.001$),补体 C3、C4 水平低于非活动亚组($t/P=6.233/ <0.001$ 、 $12.329/ <0.001$);血清 FGF-23、Gas6 水平分别与 BUN、SCr、尿蛋白、SLEDAI-2000 评分呈正相关(FGF-23: $r/P=0.410/ <0.001$ 、 $0.395/ <0.001$ 、 $0.326/0.002$ 、 $0.563/ <0.001$;Gas6: $r/P=0.352/ <0.001$ 、 $0.384/ <0.001$ 、 $0.311/0.008$ 、 $0.509/ <0.001$),与补体 C3、C4 水平呈负相关(FGF-23: $r/P=-0.408/ <0.001$ 、 $-0.377/ <0.001$;Gas6: $r/P=-0.376/ <0.001$ 、 $-0.321/ <0.001$);多因素 Logistic 回归分析显示,高 FGF-23、Gas6、尿蛋白水平是 LN 患者疾病活动的独立危险因素[OR(95% CI)=2.136(1.224~3.727)、1.865(1.171~2.967)、2.539(1.416~4.554)];血清 FGF-23、Gas6 水平及二者联合诊断 LN 患者疾病活动性的曲线下面积(AUC)分别为 0.804、0.834、0.938,二者联合的 AUC 大于各自单独诊断($Z/P=3.843/ <0.001$ 、 $3.270/ <0.001$)。**结论** LN 患者血清 FGF-23、Gas6 水平均增高,且与 LN 肾功能损伤、补体水平降低及疾病活动性增加有关。联合检测 FGF-23、Gas6 可有效鉴别 LN 疾病活动性。

【关键词】 狼疮性肾炎;疾病活动性;成纤维细胞生长因子 23;生长停滞特异性蛋白 6**【中图分类号】** R593.24⁺2 **【文献标识码】** A

Relationship between serum FGF-23, Gas6 levels and disease activity in patients with lupus nephritis Yang Xiaojie, Qiang JianHong, Tang Xihong, Gao Caixia, Feng Yanfei. Department of Rheumatology and Immunology, Yan'an People's Hospital, Shaanxi Province, Yan'an 716000, China

Funding program: Young Talents Lifting Program of Shaanxi Association for Science and Technology (20200305)

Corresponding author: Feng Yanfei, E-mail: 564673294@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between serum levels of fibroblast growth factor 23 (FGF-23), growth arrest specific protein 6 (Gas6) and disease activity in patients with lupus nephritis (LN). **Methods** One hundred and nineteen patients with LN admitted to the Department of Rheumatology and Immunology of Yan'an People's Hospital from March 2021 to March 2024 were selected as LN group, and were divided into active subgroup (70 cases) and inactive subgroup (49 cases) according to SLEDAI-2000 score. Another 105 healthy subjects were selected as the control group. Serum levels of FGF-23 and Gas6 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The correlations between serum FGF-23 and Gas6 levels and renal function indexes and SLEDAI-2000 scores were analyzed by Pearson correlation analysis. The influencing factors of disease activity in LN patients were analyzed by multivariate Logistic regression. Receiver operating characteristic (ROC) curve to evaluate the diagnostic value of serum FGF-23 and Gas6 levels in disease activity in LN pa-

tients. **Results** The levels of FGF-23 and Gas6 in LN group were higher than those in healthy control group ($t/P = 21.040 / <0.001$ and $7.389 / <0.001$). Systolic blood pressure, diastolic blood pressure, urea nitrogen (BUN), blood creatinine (SCr), urinary protein, SLEDAI-2000 score, FGF-23 and Gas6 in active subgroup were higher than those in inactive subgroup. The levels of C3 and C4 were lower than those of inactive subgroups ($t/P = 2.356 / 0.020, 3.717 / <0.001, 11.867 / <0.001, 17.152 / <0.001, 30.579 / <0.001, 19.439 / <0.001, 11.284 / <0.001, 10.818 / <0.001, 6.233 / <0.001, 12.329 / <0.001$); Serum FGF-23 and Gas6 levels were positively correlated with BUN, SCr, urinary protein and SLEDAI-2000 scores, respectively ($r/P = 0.410 / <0.001, 0.395 / <0.001, 0.326 / 0.002, 0.563 / <0.001; 0.352 / <0.001, 0.384 / <0.001, 0.311 / 0.008, 0.509 / <0.001$) were negatively correlated with the levels of C3 and C4 ($r/P = -0.408 / <0.001, -0.377 / <0.001; -0.376 / <0.001, -0.321 / <0.001$); Multivariate Logistic regression analysis showed that High levels of FGF-23, Gas6 and urinary protein were independent risk factors for disease activity in LN patients [OR (95% CI) = 2.136 (1.224 - 3.727), 1.865 (1.171 - 2.967), 2.539 (1.416 - 4.554)]. The levels of serum FGF-23 and Gas6, as well as the area under the curve (AUC) of their combined diagnosis of disease activity in LN patients, were 0.804, 0.834, and 0.938, respectively. The AUC of their combined diagnosis was greater than that of their individual diagnosis ($Z/P = 3.843 / <0.001, 3.270 / <0.001$). **Conclusion** Serum FGF-23 and Gas6 levels are increased in LN patients, which are related to renal function injury, decreased complement level and increased disease activity in LN patients. The combination of FGF-23 and Gas6 can effectively identify the disease activity of LN.

【Key words】 Lupus nephritis; Disease activity; Fibroblast growth factor 23; Growth arrest-specific protein 6

狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是慢性肾病和肾功能衰竭的重要原因,高达 20% 的患者在发病的前 10 年进展为终末期肾病^[1]。LN 活动性病变更往往加重肾脏纤维化和向终末期肾病进展,有效监测 LN 疾病活动性至关重要^[2]。成纤维细胞生长因子 23(fibroblast growth factor 23, FGF-23)调节磷酸盐和维生素 D 水平,其水平随着肾功能下降而升高,较高水平 FGF-23 与进展为终末期肾病的风险增加密切相关^[3,4]。生长停滞特异性蛋白 6(growth arrest-specific protein 6, Gas6)在介导血管动脉粥样硬化、血栓形成和炎症反应中具有重要作用^[5]。既往报道显示,维持性血液透析患者血浆中 Gas6 水平显著增高^[6],表明 Gas6 也可能参与肾脏疾病过程。鉴于以往 FGF-23、Gas6 在肾病中的报道,推测其可能与 LN 有关,为此本研究拟检测 LN 患者血清 FGF-23、Gas6 水平以为临床活动性评估提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2021 年 3 月—2024 年 3 月延安市人民医院风湿免疫科收治的 LN 患者 119 例为 LN 组,男 53 例、女 66 例,年龄 28 ~ 49 (37.15 ± 8.09) 岁; 体质量指数(BMI) 20 ~ 26 (23.59 ± 1.73) kg/m^2 ; 另选取同期医院健康体检者 105 例为健康对照组,男 49 例、女 56 例,年龄 27 ~ 50 (37.32 ± 8.11) 岁; BMI 20 ~ 25 (23.41 ± 1.60) kg/m^2 。2 组性别、年龄、BMI 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准(2021011206),入选者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①经肾活检确诊

为 LN,符合相关诊断标准^[7];②年龄 ≥ 18 岁。(2) 排除标准:①糖尿病、高血压、药物、感染等引起的继发性肾病;②合并肾炎、肾病综合征、肾小管间质病变等原发性肾病;③近 1 周使用免疫抑制剂者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 FGF-23、Gas6 水平检测:于患者入院 24 h 内或健康对照组体检当日,采集其空腹肘静脉血 3 ml 和中段尿 10 ml 待检。血液离心留取血清,采用 Varioskan LUX 全自动酶标仪(美国赛默飞公司),以酶联免疫吸附试验(试剂盒购自英国 Abcam 公司,货号 S203516、M2140352)检测血清 FGF-23、Gas6 水平。

1.3.2 肾功能相关指标检测:上述血液以全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司,型号 AU480)检测尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)、补体 C3、补体 C4、尿蛋白水平。

1.3.3 LN 疾病活动性评估及分组:上述中段尿参照系统性红斑狼疮疾病活动指数 2000(SLEDAI-2000)评分^[8],根据血尿、脓尿、蛋白尿、管型尿评估 LN 疾病活动性:0 ~ < 4 分为无活动, ≥ 4 分为有活动,根据 SLEDAI-2000 评分将 LN 患者分为活动亚组 70 例与非活动亚组 49 例。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 29.0 统计学软件分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;Pearson 相关分析血清 FGF-23、Gas6 水平与肾功能指标、SLEDAI-2000 评分的相关性;多因素 Logistic 回归分析 LN 患者疾病活动性的

影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 FGF-23、Gas6 水平对 LN 患者疾病活动性的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 FGF-23、Gas6 水平比较 LN 组患者血清 FGF-23、Gas6 水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 健康对照组和 LN 组血清 FGF-23、Gas6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum FGF-23 and Gas6 levels between healthy control group and LN group

组别	例数	FGF-23 (ng/L)	Gas6 ($\mu\text{g/L}$)
健康对照组	105	53.26 \pm 6.98	18.03 \pm 4.11
LN 组	119	80.32 \pm 11.43	22.62 \pm 5.06
<i>t</i> 值		21.040	7.389
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 不同疾病活动性 LN 患者临床/病理特征比较 2 亚组 LN 患者性别、年龄、病程、BMI、吸烟史、饮酒史比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);活动亚组收缩压、舒张压、BUN、SCr、尿蛋白、SLEDAI-2000 评分、FGF-23、Gas6 均高于非活动亚组,补体 C3、C4 水平低于非活动亚组($P < 0.05$),见表 2。

2.3 血清 FGF-23、Gas6 水平与肾功能指标、SLEDAI-2000 评分的相关性 Pearson 相关分析显示,血清 FGF-23、Gas6 水平分别与 BUN、SCr、尿蛋白、SLEDAI-2000 评分呈正相关($P < 0.01$),与补体 C3、C4 水平呈

负相关($P < 0.01$),见表 3。

表 3 血清 FGF-23、Gas6 水平与肾功能指标、SLEDAI-2000 评分的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis between serum FGF-23, Gas6 levels and renal function indicators, SLEDAI-2000 score

指标	FGF-23		Gas6	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
BUN	0.410	<0.001	0.352	<0.001
SCr	0.395	<0.001	0.384	<0.001
尿蛋白	0.326	0.002	0.311	0.008
补体 C3	-0.408	<0.001	-0.376	<0.001
补体 C4	-0.377	<0.001	-0.321	0.006
SLEDAI-2000 评分	0.563	<0.001	0.509	<0.001

2.4 多因素 Logistic 分析 LN 患者疾病活动性的影响因素 以 LN 患者疾病活动性为因变量(非活动 = 0, 活动 = 1),将表 2 中有差异项目作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示:FGF-23、Gas6、尿蛋白水平升高是 LN 患者疾病活动的独立危险因素($P < 0.05$),见表 4。

2.5 血清 FGF-23、Gas6 水平对 LN 患者疾病活动性的诊断价值 绘制血清 FGF-23、Gas6 水平单独与联合诊断 LN 患者疾病活动性的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 FGF-23、Gas6 水平及二者联合诊断 LN 患者疾病活动性的 AUC 分别为 0.804、0.834、0.938,二者联合的 AUC 大于血清 FGF-23、Gas6 水平各自单独诊断的 AUC ($Z = 3.843、3.270$, P 均 < 0.001),见表 5、图 1。

表 2 不同疾病活动性 LN 患者临床/病理特征比较

Tab. 2 Comparison of clinical/pathological characteristics of LN patients with different disease activities

项目	非活动亚组 ($n = 49$)	活动亚组 ($n = 70$)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
男[例(%)]	22(44.90)	31(44.29)	0.004	0.947
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	36.91 \pm 5.84	37.32 \pm 6.09	0.368	0.714
病程($\bar{x} \pm s$, 年)	1.97 \pm 0.33	2.03 \pm 0.41	0.849	0.397
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)	23.46 \pm 1.63	23.69 \pm 1.57	0.774	0.440
吸烟史[例(%)]	11(22.45)	26(37.14)	2.905	0.088
饮酒史[例(%)]	13(26.53)	25(35.71)	1.118	0.290
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	138.17 \pm 12.51	144.35 \pm 15.0	2.356	0.020
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	72.35 \pm 8.91	79.15 \pm 10.41	3.717	<0.001
BUN($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	5.71 \pm 1.82	12.42 \pm 3.65	11.867	<0.001
SCr($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mmol/L}$)	63.29 \pm 13.05	126.14 \pm 23.19	17.152	<0.001
尿蛋白($\bar{x} \pm s$, g/24 h)	0.28 \pm 0.05	3.26 \pm 0.68	30.579	<0.001
补体 C3($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	0.72 \pm 0.20	0.52 \pm 0.15	6.233	<0.001
补体 C4($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	0.56 \pm 0.18	0.26 \pm 0.08	12.329	<0.001
SLEDAI-2000 评分($\bar{x} \pm s$, 分)	2.01 \pm 0.33	13.02 \pm 3.95	19.439	<0.001
FGF-23($\bar{x} \pm s$, ng/L)	74.69 \pm 5.03	84.26 \pm 4.19	11.284	<0.001
Gas6($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)	20.15 \pm 2.16	24.35 \pm 2.03	10.818	<0.001

表 4 影响 LN 患者疾病活动性的多因素 Logistic 回归模型

Tab. 4 Multivariate Logistic regression model affecting disease activity in LN patients

自变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
收缩压高	0.261	0.249	1.098	0.513	1.298	0.797 ~ 2.115
舒张压高	0.156	0.137	1.296	0.352	1.168	0.894 ~ 1.529
BUN 高	0.302	0.271	1.241	0.391	1.352	0.795 ~ 2.301
SCr 高	0.264	0.243	1.180	0.425	1.302	0.809 ~ 2.097
尿蛋白高	0.932	0.298	9.781	<0.001	2.539	1.416 ~ 4.554
补体 C3 高	0.153	0.146	1.099	0.512	1.165	0.875 ~ 1.551
补体 C4 高	0.201	0.184	1.193	0.406	1.222	0.852 ~ 1.754
SLEDAI-2000 高	0.265	0.251	1.114	0.509	1.303	0.797 ~ 2.132
FGF-23 高	0.759	0.284	7.142	0.001	2.136	1.224 ~ 3.727
Gas6 高	0.623	0.237	6.910	0.008	1.865	1.171 ~ 2.967

表 5 血清 FGF-23、Gas6 水平单独及联合诊断 LN 患者疾病活动性的价值

Tab. 5 The value of serum FGF-23 and Gas6 levels alone and in combination for diagnosing disease activity in LN patients

指 标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
FGF-23	79.16 ng/L	0.804	0.721 ~ 0.871	0.829	0.796	0.625
Gas6	22.09 μ g/L	0.834	0.755 ~ 0.896	0.843	0.816	0.659
二者联合		0.938	0.879 ~ 0.974	0.971	0.755	0.726

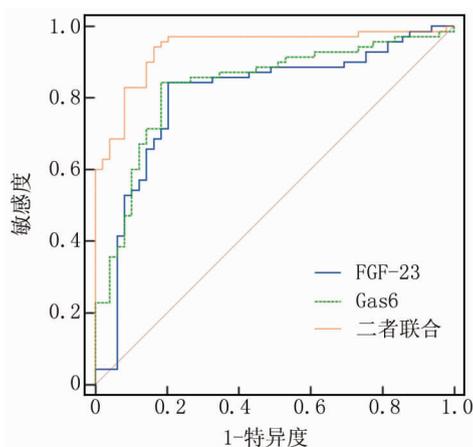


图 1 血清 FGF-23、Gas6 水平诊断 LN 患者疾病活动性的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum FGF-23 and Gas6 levels for diagnosing disease activity in LN patients

3 讨论

LN 是系统性红斑狼疮最常见的严重表现之一,由全身性自身抗体衍生的免疫复合物沉积引起, LN 临床表现多样,从无症状蛋白尿到水肿、高血压、食欲不振、全身不适、贫血等,导致难以及早地识别病情发作,最终引起疾病进展^[9-10]。活动性 LN 病变主要包括毛细血管内细胞增生、白细胞浸润、肾脏纤维素样坏死和核

破裂、新月体形成等,与严重的肾损伤有关。因此识别可以量化 LN 疾病活动性和严重程度生物标志物十分必要,尽管肾活检是 LN 诊断和分类的金标准,但为有创检查,不适合多次进行肾活检。蛋白尿增高不能证明肾脏炎症反应持续存在,可能由疾病过程中预先存在的慢性病变或近期肾脏损伤引起,所以寻找可替代的、非侵入性标志物是目前研究的重点。

FGF-23 是一种骨源性激素,主要由骨细胞表达和分泌,与肾脏中的共受体 Klotho 相互作用参与磷血症和矿物质代谢的调节,刺激尿磷酸盐排泄和抑制肾脏中维生素 D 的激活, FGF-23 水平过高可降低血清磷酸盐和 1,25-二羟基维生素 D 水平,导致多种原发性低磷血症疾病^[10]。FGF-23 升高还可加速动脉粥样硬化和 endothelial 功能障碍,促进尿毒症心血管并发症的发展,被认为是反映肾小管功能障碍的预测因子,与更高的急性肾损伤风险相关^[11-12]。既往报道也显示,慢性肾脏病患者血清 FGF-23 水平显著增高,随着肾小球滤过率降低, FGF-23 水平逐渐升高^[13]。FGF-23 是慢性肾脏病患者肾功能衰竭的标志物^[14]。本研究发现 LN 患者血清 FGF-23 水平显著增高,原因为肾小管间质炎症反应是 LN 发病的关键机制^[15],炎症细胞因子如白介素-6 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 可促进 FGF-23 的产生,引起外周血中 FGF-23 水平升高^[16]。进一步分析高水平 FGF-23 与疾病活动性增加有关, FGF-23 具有免疫调节特性,可直接作用于中性粒细胞并通过直接干扰趋化因子信号传导和整合素激活来抑制宿主防御,从而损害宿主防御, FGF-23 还能以旁分泌方式刺激巨噬细胞中 TNF- α 的表达来促进炎症反应^[17],进而加剧 LN 病情,导致疾病活动性增加。

Gas6 属于维生素 K 依赖性蛋白家族,作为活化蛋白 C 的辅助因子,通过与 TAM 家族的受体酪氨酸激酶 (Tyro3、Axl、Mer) 相互作用而具有生长因子样特性,影响凝血过程并具有促炎作用,与血栓性疾病和炎症反应性疾病有关^[18]。Gas6 可激活 Akt/mTOR 通路或信号转导和转录激活因子,导致系膜细胞增殖和肾小球肥大,与多种肾病的发生有关。研究表明,与白蛋白尿正常患者和健康对照组比较,微量或大量蛋白尿的糖尿病肾病患者血浆 Gas6 水平更高^[19]。终末期肾病患者 Gas6 水平增高,并与血管钙化有关^[20]。本研究发现, LN 组血清 Gas6 水平增高,与 LN 肾功能损伤、补体消耗及疾病活动性增加有关,表明 Gas6 可能参与 LN 发生进展,与活动性增加有关。推测可能的机制为: Axl 通过促进肾小球系膜细胞存活和增殖,导致肾小球系膜肥大,另外 Axl 激活导致哺乳动物雷帕霉素

靶蛋白磷酸化,有助于系膜细胞和肾小管细胞的增殖,而 mTOR 通路是导致 LN 的关键因素^[21]。Gas6 通过 Gas6/Axl 轴诱导肾炎细胞因子和趋化因子表达^[22],引起严重的肾脏炎症反应和 LN 活动性增加。

ROC 曲线显示 FGF-23、Gas6 联合鉴别 LN 活动性的 AUC 大于单独指标鉴别的 AUC,表明 FGF-23、Gas6 可作为 LN 活动性的标志物。Logistic 回归分析显示尿蛋白水平增高也是 LN 疾病活动的独立危险因素,蛋白尿是 LN 的主要表现,当 LN 活动增加时,尿液中蛋白水平升高。

综上所述, LN 患者血清 FGF-23、Gas6 水平均增高,高水平 FGF-23、Gas6 与 LN 肾功能损伤、补体消耗及疾病活动性增加有关。联合 FGF-23、Gas6 可有效鉴别 LN 疾病活动程度,对临床病情评估及治疗指导均有重要价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨小杰:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;强健红:分析试验数据;汤喜红:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;高彩霞:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析;冯彦飞:论文审核

参考文献

- [1] Alforaih N, Whittall-Garcia L, Touma Z. A review of lupus nephritis [J]. *J Appl Lab Med*, 2022, 7(6): 1450-1467. DOI: 10.1093/jalm/jfac036.
- [2] 陈灵芝, 钟开义, 陈立国. 系统性红斑狼疮患者血清半乳糖凝集素-3 水平与疾病活动度及并发狼疮性肾炎的相关性研究[J]. *临床误诊误治*, 2022, 35(9): 67-70. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2022.09.016.
- [3] Huang SS, Huang PH, Leu HB, et al. Significance of serum FGF-23 for risk assessment of contrast-associated acute kidney injury and clinical outcomes in patients undergoing coronary angiography [J]. *PLoS One*, 2021, 16(7): e0254835. DOI: 10.1371/journal.pone.0254835.
- [4] Grund A, Sinha MD, Haffner D, et al. Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease-A pediatric perspective [J]. *Front Pediatr*, 2021, 9: 702719. DOI: 10.3389/fped.2021.702719.
- [5] 李迪, 吕永楠, 刘欢, 等. 生长停滞特异性蛋白 6 与急性心肌梗死的相关性研究 [J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(3): 302-306. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2020.03.020.
- [6] 李斌, 邓修高, 李金, 等. 维持性血液透析患者血浆生长停滞特异性蛋白 6 水平与动静脉内瘘血栓形成的关系 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2022, 22(9): 737-741. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2022.09.006.
- [7] 中国狼疮肾炎诊断和治疗指南编写组. 中国狼疮肾炎诊断和治疗指南 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(44): 3441-3455. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.44.001.
- [8] 董洋, 王丽姣, 曹慧霞, 等. 系统性红斑狼疮疾病活动评分评估系

统性红斑狼疮疾病活动的临床价值研究 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2023, 27(2): 91-95. DOI: 10.3760/cma.j.cn141217-20220511-00197.

- [9] 李晓英, 杨丹丹, 黄辉, 等. 双重血浆置换治疗重症狼疮性肾炎合并急性肾损伤的效果及安全性研究 [J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(1): 67-72. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.01.012.
- [10] Ivey-Miranda JB, Stewart B, Cox ZL, et al. FGF-23 (Fibroblast Growth Factor-23) and cardiorenal interactions [J]. *Circ Heart Fail*, 2021, 14(11): e008385. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.121.008385.
- [11] Chang YH, Wu CH, Chou NK, et al. High plasma C-terminal FGF-23 levels predict poor outcomes in patients with chronic kidney disease superimposed with acute kidney injury [J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2020, 11: 2040622320964161. DOI: 10.1177/2040622320964161.
- [12] Manou E, Thodis E, Arsos G, et al. Fibroblast growth factor 23 and α -Klotho protein are associated with adverse clinical outcomes in non-dialysis CKD patients [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2020, 45(6): 900-915. DOI: 10.1159/000510351.
- [13] 张瑞, 何娜, 郝隽. 慢性肾脏病患者血清 HMGA2 蛋白、FGF-23 水平与肾功能损伤程度的相关性研究 [J]. *海南医学*, 2023, 34(10): 1457-1460. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2023.10.020.
- [14] Bellorin-Font E, Rojas E, Martin KJ. Bone disease in chronic kidney disease and kidney transplant [J]. *Nutrients*, 2022, 15(1): 167. DOI: 10.3390/nu15010167.
- [15] Chang A, Clark MR, Ko K. Cellular aspects of the pathogenesis of lupus nephritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2021, 33(2): 197-204. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000777.
- [16] Lang F, Leibrock C, Pandya AA, et al. Phosphate homeostasis, inflammation and the regulation of FGF-23 [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43(6): 1742-1748. DOI: 10.1159/000495393.
- [17] Han X, Li L, Yang J, et al. Counter-regulatory paracrine actions of FGF-23 and 1,25(OH)₂D in macrophages [J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(1): 53-67. DOI: 10.1002/1873-3468.12040.
- [18] Furukawa M, Wang X, Ohkawara H, et al. A critical role of the Gas6-Mer axis in endothelial dysfunction contributing to TA-TMA associated with GVHD [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(14): 2128-2143. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000222.
- [19] Li W, Wang J, Ge L, et al. Growth arrest-specific protein 6 (Gas6) as a noninvasive biomarker for early detection of diabetic nephropathy [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2017, 39(4): 382-387. DOI: 10.1080/10641963.2017.1288739.
- [20] 刘倩, 黄雯静, 舒婷婷, 等. 终末期肾病患者血管钙化风险与维生素 K2 摄入关系的前瞻性研究 [J]. *海南医学*, 2017, 28(7): 1053-1055. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2017.07.008.
- [21] Li S, Guo Q, Zhu H, et al. Increased Mer and Axl receptor tyrosine kinase expression on glomeruli in lupus nephritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(5): 1063-1070. DOI: 10.1007/s10067-017-3550-8.
- [22] Zhen Y, Lee IJ, Finkelman FD, et al. Targeted inhibition of Axl receptor tyrosine kinase ameliorates anti-GBM-induced lupus-like nephritis [J]. *J Autoimmun*, 2018, 93: 37-44. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.06.001.

(收稿日期: 2024-07-06)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.016

论著·临床

血清 TRAP1、Cystatin-SN 联合检测在肺结节鉴别诊断中的价值

唐月红, 施庆彤, 林涛, 傅婷婷

基金项目: 扬州市科技计划项目(YZ2023126)

作者单位: 225000 江苏省扬州大学附属医院胸外科

通信作者: 施庆彤, E-mail: shiqingtong77@126.com



【摘要】目的 研究血清肿瘤坏死因子受体相关蛋白 1 (TRAP1)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 SN (Cystatin-SN) 联合检测在良性肺结节与恶性肺结节中的诊断价值。**方法** 选取 2021 年 7 月—2023 年 6 月江苏省扬州大学附属医院胸外科诊治的肺结节患者 198 例作为研究对象, 根据病理检查结果分为良性结节组 42 例, 恶性结节组 156 例。检测良性结节组和恶性结节组血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平; 绘制 ROC 曲线分析血清 TRAP1、Cystatin-SN 单一及联合检查对恶性肺结节的诊断效能。**结果** 恶性结节组血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平显著高于良性结节组, 差异有统计学意义 ($t/P=32.273/ <0.001, 30.512/ <0.001$)。在恶性肺结节组中, 有淋巴结转移、组织学低/未分化患者血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平高于无淋巴结转移、组织学高/中分化患者, 差异有统计学意义 ($t/P=11.812/ <0.001, 5.547/ <0.001, 16.837/ <0.001, 8.923/ <0.001$), 而不同性别、临床症状、结节部位、病理类型患者比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。ROC 曲线分析结果表明, 血清 TRAP1、Cystatin-SN 单独及二者联合检查诊断恶性肺结节的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.831、0.863 和 0.938, 二者联合的 AUC 显著大于 TRAP1、Cystatin-SN 单独预测, 差异有统计学意义 ($Z=2.127, 2.038, P<0.05$)。**结论** 恶性肺结节患者血清中 TRAP1、Cystatin-SN 水平较高, 二者联合检测在肺结节良恶性鉴别诊断中具有较好的应用价值。

【关键词】 肺结节; 肿瘤坏死因子受体相关蛋白 1; 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 SN; 诊断价值

【中图分类号】 R734.2; R446.11

【文献标识码】 A

Study on the diagnostic value of combined detection of serum TRAP1 and Cystatin-SN in benign and malignant pulmonary nodules Tang Yuehong, Shi Qingtong, Lin Tao, Fu Tingting. Department of Chest Surgery, Yangzhou University Affiliated Hospital, Jiangsu Province, Yangzhou 225000, China

Funding program: Yangzhou Municipal Bureau of Science and Technology (YZ2023126)

Corresponding author: Shi Qingtong, E-mail: shiqingtong77@126.com

【Abstract】 Objective This study aims to investigate the diagnostic value of combined detection of serum tumor necrosis factor receptor associated protein 1 (TRAP1) and cysteine protease inhibitor SN (Cystatin-SN) in benign and malignant pulmonary nodules, providing reference for clinical related diagnosis. **Methods** One hundred and ninety-eight patients with pulmonary nodules who visited between July 2021 and June 2023 were selected as the study subjects. According to pathological examination results, they were divided into a benign nodule group of 42 cases and a malignant nodule group of 156 cases. Compare the serum levels of TRAP1 and Cystatin-SN between the benign nodule group and the malignant nodule group; Compare the results of single and combined serum TRAP1 and Cystatin-SN tests; Compare the diagnostic efficacy of single or combined examinations for malignant pulmonary nodules; And observe the pathological characteristics of malignant pulmonary nodules, further analyze the correlation between serum TRAP1, Cystatin-SN levels and pathological features, and the results of multiple factor Poisson regression. **Results** The serum levels of TRAP1 and Cystatin-SN in the malignant nodule group were significantly higher than those in the benign nodule group, with statistical significance ($t/P=32.273/ <0.001, 30.512/ <0.001$). In the group of malignant pulmonary nodules, there was a statistically significant difference in the levels of serum TRAP1 and Cystatin-SN in lymph node metastasis and histological differentiation ($t/P=11.812/ <0.001, 5.547/ <0.001, 16.837/ <0.001, 8.923/ <0.001$); In the group of malignant pulmonary nodules, there was no statistically significant difference in the levels of serum TRAP1 and Cystatin-SN in terms of gender, clinical symptoms, nodule location,

and pathological type ($P > 0.05$). ROC curve analysis results showed that the area under the curve (AUC) of serum TRAP1 and Cystatin-SN alone and the combination of them were 0.831, 0.863, 0.938, respectively, and the AUC of the combination was significantly higher than that predicted by TRAP1 and Cystatin-SN alone, with statistical significance ($Z = 2.127, 2.038, P < 0.05$). **Conclusion** Serum TRAP1 and Cystatin-SN have good clinical value in the differential diagnosis of benign and malignant pulmonary nodules, and it has been found that serum TRAP1 and Cystatin-SN levels are highly expressed in patients with malignant pulmonary nodules, which may become potential serum biomarkers.

【Key words】 Pulmonary nodules; Serum tumor necrosis factor receptor associated protein 1; Cysteine protease inhibitor SN; Diagnostic value

肺结节是一种临床常见的征象,病因至今未明,现多考虑与生活方式变化、环境影响、疾病因素等有关^[1-2]。CT作为影像学检查的常规项目,虽可鉴别肺结节疾病,但由于肺结节并无特异性影像学表现,难以鉴别良性或恶性结节,可能导致良性结节患者被误诊为肺癌,浪费医疗资源,甚至影响患者心理健康^[3]。肿瘤坏死因子受体相关蛋白1(tumor necrosis factor receptor-associated protein 1, TRAP1)是一类重要的具有多功能的细胞内信号转导因子,具有抵御氧化应激所诱导的凋亡、维持线粒体完整性及细胞内稳态的作用^[4]。TRAP1介导肿瘤发生发展的分子机制主要有AMPK激酶、BRAF通路、ROS及Akt/p70S6K通路等,目前已被证实在胃癌、结肠癌、甲状腺癌及肺癌等多种肿瘤组织中高表达^[5-6]。而半胱氨酸蛋白酶抑制剂SN(Cystatin-SN)是由CST1基因编码的含141个氨基酸的蛋白质,分子量为16.4 kD,属于一种组织蛋白酶抑制剂^[7]。有学者猜测Cystatin-SN基因的表达可以影响肿瘤组织的生物学恶性潜能,促进肿瘤的生长、侵袭和转移^[7]。目前对血清TRAP1、Cystatin-SN在肺结节良恶性鉴别诊断中的报道较少,本研究对其可行性及有效性进行研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2021年7月—2023年6月扬州大学附属医院胸外科就诊的肺结节患者198例作为研究对象,根据病理检查结果分为良性结节组42例,恶性结节组156例。其中良性结节组男19例,女23例,年龄43~68(54.21±3.02)岁;体质指数20~26(23.69±1.05)kg/m²;结节直径0.53~1.27(0.73±0.20)cm;结节部位:中央型14例,周围型28例。恶性结节组男77例,女79例,年龄41~66(53.95±4.80)岁;体质指数20~26(24.17±1.38)kg/m²;结节直径0.59~1.31(0.86±0.13)cm;结节部位:中央型35例,周围型121例。2组患者性别、年龄、体质指数、结节直径及结节部位比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究获得医院医学伦理

委员会批准(2021-YKL10-01),患者及其家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①术前均接受影像学检查,并经病理学检查证实;②年龄<70岁;③术前均未进行过化疗或靶向等治疗。(2)排除标准:①存在肺不张;②合并凝血功能异常;③合并其他部位肿瘤。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清TRAP1、Cystatin-SN水平检测:患者入院后第1d采集清晨空腹肘静脉血5ml,3500 r/min(离心半径10cm)离心10min(离心仪购自上海百典仪器设备有限公司,型号TGL-16B),取上清液置于-80℃冰箱存放。采用酶联免疫吸附法进行检测,TRAP1检测试剂盒购自上海化邦生物科技有限公司(生产批号:HBP31080R),Cystatin-SN检测试剂盒购自杭州齐誉生物科技有限公司,检测步骤均严格按试剂盒操作说明书进行。

1.3.2 病理学检查:患者入院后第1d通过胸壁经皮穿刺技术,将穿刺针导入结节位置,取出小块组织标本,送病理科检查,确定肺结节的性质,区分良性结节和恶性结节。

1.4 统计学方法 采用SPSS 26.0软件进行统计学处理。计数资料以频数或率(%)表示,采用 χ^2 检验;符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价TRAP1、Cystatin-SN对肺结节良恶性的诊断价值,计算曲线下面积(AUC),AUC越趋近于1表示诊断效能越佳,各指标间AUC比较用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组患者血清TRAP1、Cystatin-SN水平比较 恶性结节组血清TRAP1、Cystatin-SN水平显著高于良性结节组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表1。

2.2 不同临床病理特征恶性肺结节患者血清TRAP1、Cystatin-SN水平比较 在恶性肺结节组中,不

同淋巴结转移、组织学分化患者血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);而不同性别、临床症状、结节部位、病理类型比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1 2 组肺结节患者血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum TRAP1 and Cystatin-SN levels in patients with pulmonary nodules

组别	例数	TRAP1 (ng/L)	Cystatin-SN(μg/L)
良性结节组	42	1.05 ± 0.17	1.46 ± 0.20
恶性结节组	156	2.66 ± 0.53	4.89 ± 1.35
<i>t</i> 值		32.273	30.512
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 血清 TRAP1、Cystatin-SN 及其二者联合对恶性肺结节的诊断价值比较 绘制 TRAP1、Cystatin-SN 及二者联合诊断恶性肺结节的 ROC 曲线,并计算 AUC,结果表明,TRAP1、Cystatin-SN 及二者联合诊断恶性肺结节的 AUC 分别为 0.831、0.863 和 0.938,二者联合的 AUC 明显大于 TRAP1、Cystatin-SN 单独检测,差异有统计学意义($Z = 2.127、2.038, P < 0.05$),见表 3、图 1。

表 3 血清 TRAP1、Cystatin-SN 及其二者联合对恶性肺结节的诊断效能

Tab. 3 Diagnostic efficacy of serum TRAP1, Cystatin-SN, and their combination for malignant pulmonary nodules

指标	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
TRAP1	2.01 ng/L	0.831	0.753 ~ 0.909	0.699	0.881	0.581
Cystatin-SN	2.98 μg/L	0.863	0.801 ~ 0.925	0.712	0.810	0.521
二者联合		0.938	0.887 ~ 0.989	0.853	0.929	0.782

表 2 不同临床病理特征恶性肺结节患者血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum TRAP1 and Cystatin-SN levels in malignant pulmonary nodules with different clinical pathological features

项目	例数	TRAP1 (ng/L)	<i>t</i> / <i>P</i> 值	Cystatin-SN(μg/L)	<i>t</i> / <i>P</i> 值
性别	男	77	2.65 ± 0.20	4.92 ± 1.03	0.412/0.680
	女	79	2.70 ± 0.12		
临床症状	有	27	2.60 ± 0.17	4.88 ± 1.16	0.189/0.850
	无	129	2.71 ± 0.26		
结节部位	中央型	35	2.65 ± 0.24	4.86 ± 1.09	0.107/0.914
	周围型	121	2.72 ± 0.10		
病理类型	腺癌	123	2.57 ± 0.30	4.94 ± 0.98	0.371/0.711
	鳞癌	33	2.71 ± 0.26		
淋巴结转移	是	37	2.91 ± 0.40	5.33 ± 1.19	5.547/ <0.001
	否	119	2.08 ± 0.27		
组织学分化	高/中分化	51	1.95 ± 0.23	3.58 ± 1.37	8.923/ <0.001
	低/未分化	105	2.87 ± 0.38		

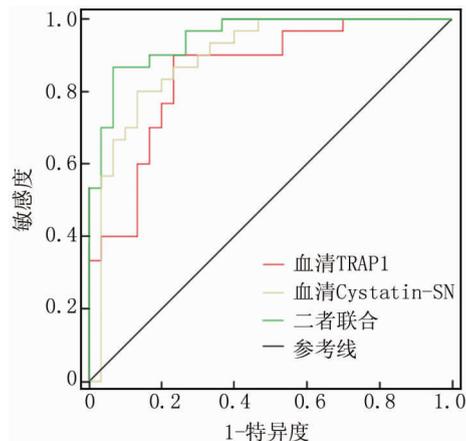


图 1 血清 TRAP1、Cystatin-SN 及二者联合诊断恶性肺结节的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum TRAP1, Cystatin-SN, and their combined diagnosis for malignant pulmonary nodules

3 讨论

肺结节确切致病原因尚未明确,但一般认为诸多疾病都会形成肺部结节,包括肺炎、肺结核、高血压病、糖尿病、冠心病等,都会导致相应的脏器损伤,进而诱发肺部结节^[8]。肺结节有良性与恶性之分,不同性质肺结节的症状体征可能并没有明显的差异,但其预后却大不相同。大部分良性肺结节预后良好,对机体的影响较小,及时治疗多数能恢复健康^[9]。而恶性肺结节可能会逐渐发生肺内转移甚至全身转移,出现咳嗽、咯血、胸痛、消瘦、乏力等一系列症状,影响患者的日常生活和工作,甚至危及健康或生命。

CT 是目前临床上广泛检查肺部疾病的方法,但由于 CT 软、硬件的局限性和图像层过厚等问题,在对肺结节鉴别过程中易出现假阴性结果^[10]。研究表明,对

于肺结节患者临床可以通过血清学试验的方式进行检查,从而判断代谢功能是否紊乱,对于疾病的治疗具有重要的意义^[11]。施旺细胞(Schwann's cell)是一种周围神经系统的神经胶质细胞,其功能极其活跃,可分泌多种活性物质,主要分布在周围神经系统中神经元的突起周围,细胞形状不规则^[12]。施旺细胞在肺部发挥的作用已多有报道,一项研究初步阐述了施旺细胞在肺癌微环境以及转移和侵袭当中所扮演的角色^[13]。Wendy 团队认为:施旺细胞外囊泡携带丰富的 TRAP1,能够可逆地影响结节肿瘤坏死因子 α 。TRAP1 是新近发现的一类细胞内重要的信号转导蛋白,其异常表达与多种肿瘤的发生、发展密切相关,能够影响肿瘤的进展,包括抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤细胞耐药性的产生以及维持营养剥夺状态下的肿瘤能量产生等,调节正常和肿瘤细胞的表达,具有很大的生物学意义^[14-15]。此外,将 TRAP1 选择性隔离到细胞外囊泡中可能会改变施旺细胞中肿瘤坏死因子受体的平衡,使之有利于肿瘤坏死因子受体 2,从而改变细胞外囊泡生成细胞对肿瘤坏死因子 α 的反应,这无疑为 TRAP1 在疾病诊断中的应用提供了新思路^[16]。Cystatin-SN/CST1 能抑制细胞内、外的组织蛋白酶活性,在肿瘤的生长、血管生成、浸润和转移中起重要作用,并且有研究表明 CST1 的高表达与多种癌症相关。有研究显示,CST1 可调节乳腺癌细胞 PI3K/AKT 信号通路的活性,并导致雌激素受体 α (ER α)和 p-AKT 的表达降低^[17]。Dai 等^[18]发现 CST1 在癌组织中 mRNA 和蛋白质水平普遍上调。此外,CST1 低表达亚组的总生存期(OS)和无病生存期(DFS)显著优于 CST1 高表达亚组($P < 0.001$),这表明 CST1 表达水平与这些患者的生存风险密切相关。单因素和多因素分析表明,CST1 表达是癌症的独立预后因素。其次,CST1 过表达促进乳腺癌细胞的增殖、克隆、迁移和侵袭能力^[17]。然而,CST1 在肺结节疾病的预后意义和功能尚不清楚。本研究中,恶性结节组血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平显著高于良性结节组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。与 Yang 等^[19]研究结果相似,CST1 可促进恶性肺结节细胞中的上皮-间质转化,这些发现有助于更好地理解 CST1 在恶性肺结节中的独特作用。此外,TRAP1 参与多种受体家族的信号转导,如与肿瘤坏死因子受体家族结合时,引起 NF- κ B、p38 α 、MK2 的激活,从而促进靶基因的转录、mRNA 的稳定,进而加重恶性肺结节的炎症反应。

虽然血清 TRAP1、Cystatin-SN 在恶性肺结节患者中都呈现高表达,但在检查过程中受诸多因素影响,如

采血时体位的不同对人体的血液循环有一定影响,这是由于人体的血液和组织间液会根据姿势体位的变化而进行自我平衡,将会改变血液中总蛋白、钙、胆红素、胆固醇的含量。除此之外,药物也可以通过药理及毒理作用改变血生化参数,因此仅靠单项指标鉴别恶性肺结节并不严谨。故此对肺结节患者开展血清 TRAP1、Cystatin-SN 联合检查,结果显示:血清 TRAP1、Cystatin-SN 联合检查恶性肺结节的敏感度、特异度均高于单一检查。表明开展联合检查可精准鉴别良性恶性肺结节,弥补单一检查的缺点,综合各项指标的优势,提高对良恶性肺结节疾病检查的敏感度及准确度。

本研究发现,在恶性肺结节组中,不同淋巴结转移、组织学分化患者比较,血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平差异有统计学意义($P < 0.01$);而不同性别、临床症状、结节部位、病理类型患者比较,血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平差异无统计学意义($P > 0.05$),说明血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平可作为恶性肺结节患者发生淋巴结转移及组织学分化潜在的生物标志物。Kang 等^[20]发现随着淋巴结转移 TRAP1 表达水平增加,说明 TRAP1 在肿瘤转移、进展过程可能起到一定作用。此外,Cystatin-SN 通过与受体结合,激活下游信号通路,影响肺结节组织细胞生物学行为,促进肿瘤生长和转移,为揭示淋巴结转移机制和开发恶性肺结节靶向治疗方案提供了重要的研究途径^[21]。

综上,血清 TRAP1、Cystatin-SN 在肺结节良恶性鉴别诊断中具有良好的临床价值,且有淋巴转移及组织分化低的恶性肺结节患者中血清 TRAP1、Cystatin-SN 水平呈现高表达状态,有望成为其诊断和鉴别诊断的潜在血清生物标志物。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

唐月红:设计课题,实施研究过程,采集分析数据,论文撰写;施庆彤:提出研究思路,实施研究过程,统计学处理;林涛、傅婷婷:实施研究过程,采集整理数据

参考文献

- [1] 张晓梅,姜良铎,肖培新.肺结节病因病机探讨[J].环球中医药,2019,12(3):435-437. DOI:10.3969/j.issn.1674-1749.2019.03.032.
- [2] 胡转楠,张少言,黄星,等.肺结节病模型的研究进展[J].中国医药导报,2023,20(11):37-40,44. DOI:10.20047/j.issn1673-7210.2023.11.08.
- [3] 李惠民,肖湘生.肺结节 CT 影像评价[J].中国医学计算机成像杂志,2001,7(1):30-41. DOI:10.3969/j.issn.1006-5741.2001.01.005.
- [4] 沈培亮,刘兆国,孙丽华,等.肿瘤治疗新靶点 TRAP1 研究进展[J].中国药理学通报,2016,32(4):459-462,463. DOI:10.3969/

- j. issn. 1001-1978. 2016. 04. 004.
- [5] 李纯,刘静,关正元,等. TRAP1 在食管癌中的表达及对预后的影响[J]. 临床与实验病理学杂志,2017,33(2):135-139. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2017.02.004.
- [6] 袁萌. TRAP1 与恶性肿瘤的关系及研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志,2017,31(4):371-375. DOI: 10.11904/j.issn.1002-3070.2017.04.016.
- [7] 蒋健,陈平. 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 SN 与胃肠道肿瘤的关系研究进展[J]. 医学综述,2013,19(19):3518-3520. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2013.19.020.
- [8] 张倩,黄慧,徐作军. 肺结节病的诊治进展[J]. 临床内科杂志,2020,37(10):684-688. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.10.003.
- [9] 张苏. 肺结节病发病机制研究进展[J]. 临床与病理杂志,2019,39(7):1537-1541. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.07.026.
- [10] 陈迪,钟铠泽,肖要来. 深度学习在胸部 CT 肺结节诊断中的应用进展[J]. 国际呼吸杂志,2022,42(23):1835-1840. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20220714-00606.
- [11] Gao JY, Song BR, Peng JJ, et al. Correlation between mitochondrial TRAP-1 expression and lymph node metastasis in colorectal cancer [J]. World Journal of Gastroenterology, 2012, 18(41):5965-5971. DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5965.
- [12] 郑亚妮. 轴突信号 Neuregulin 1 在施旺细胞发育及再生修复中的作用[J]. 组织工程与重建外科杂志,2017,13(1):45-47. DOI: 10.3969/j.issn.1673-0364.2017.01.013.
- [13] Zhou Y, Shurin GV, Zhong H, et al. Schwann cells augment cell spreading and metastasis of lung cancer [J]. Cancer Res, 2018, 78(20):5927-5939. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1702.
- [14] 周亮,韩兆东,何慧婵,等. 肿瘤坏死因子受体相关因子 1 蛋白在前列腺癌组织中的表达及意义[J]. 实用医学杂志,2013,29(19):3157-3159. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2013.19.021.
- [15] Maddalena F, Sisinni L, Lettini G, et al. Resistance to paclitaxel in breast carcinoma cells requires a quality control of mitochondrial antiapoptotic proteins by TRAP1 [J]. Molecular Oncology, 2013, 7(5):895-906. DOI: 10.1016/j.molonc.2013.04.009.
- [16] 康建军,高乐,席俊峰. HOXC10 通过靶向调控 CST1 的表达对肺癌细胞干细胞样特性的作用研究[J]. 河北医学,2022,28(7):1071-1076. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2022.07.04.
- [17] Liu Y, Ma H, Wang Y, et al. Cystatin SN affects cell proliferation by regulating the ER α /PI3K/AKT/ER α loopback pathway in breast cancer [J]. OncoTargets and Therapy, 2019, 12:11359-11369. DOI: 10.2147/OTT.S234328.
- [18] Dai DN, Li Y, Chen B, et al. Elevated expression of CST1 promotes breast cancer progression and predicts a poor prognosis [J]. Journal of Molecular Medicine, 2017, 95:873-886. DOI: 10.1007/s00109-017-1537-1.
- [19] Yang J, Luo G, Li C, et al. Cystatin SN promotes epithelial-mesenchymal transition and serves as a prognostic biomarker in lung adenocarcinoma [J]. BMC Cancer, 2022, 22(1):1-18. DOI: 10.1186/s12885-022-09685-z.
- [20] Kang BH, Plescia J, Song HY, et al. Combinatorial drug design targeting multiple cancer signaling networks controlled by mitochondrial Hsp90 [J]. Journal of Clinical Investigation, 2009, 119(3):454-464. DOI: 10.1172/JCI37613.
- [21] 刘瑜,杨华清,赵彬,等. CST1 调节 Notch 信号通路对非小细胞肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 临床肿瘤学杂志,2023,28(1):8-15. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2023.01.002.

(收稿日期:2024-03-20)

作者 · 编者 · 读者

《疑难病杂志》对形态学图片的质量和制作要求

作者提供的形态学图片既应用于论文的出版,也应用于论文的评审和编辑,除图片要足够的大小外,图像要能真实反映形态的原貌和特征。图片要清晰,对比度好,色彩正常。基本要求如下:

1. 图片必须是原始图像或由原始图像加工成的照片,图像要能显示出形态特征,必要时需加提示或特指符号(如箭头等)。
2. 数码照片的图像分辨率调整为 300 dpi 或以上,总像素至少要在 150 万 ~ 200 万像素或以上,图像文件用 tif 格式。
3. 图像要有简明扼要、规范的形态描述,但不能简单到只写“电子显微镜形态改变”之类。
4. 大体标本图片上应有标尺,显微镜图片应注明染色方法和图像的真正放大倍数,数码照片的放大率最好用比例尺来标注。
5. 插入到文本文件中的图片,在调整其大小时要保持原图像的宽/高比例(即先按下计算机的 Shift 键,再进行缩放操作)。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.017

论著·临床

乳腺癌组织中 PRDX4、ALG3 的表达及与临床病理特征和预后的关系

郑莉, 杨侠, 黄倩, 徐曼, 刘梦婷, 宁晓洁



基金项目: 湖北省卫生健康委员会科研项目(WJ2021M001)

作者单位: 430000 武汉市第一医院甲状腺乳腺外科

通信作者: 宁晓洁, E-mail: janejames@163.com

【摘要】目的 探讨过氧化物还原酶 4 (PRDX4)、 α -1,3-甘露糖基转移酶 (ALG3) 在乳腺癌组织中的表达情况及其与临床病理特征和预后的关系。**方法** 收集 2020 年 6 月—2022 年 6 月武汉市第一医院甲状腺乳腺外科诊治乳腺癌患者 126 例的癌组织、癌旁组织及相关资料, 采用免疫组化法检测组织中 PRDX4、ALG3 蛋白水平, 依据表达情况分为阴性、阳性表达组; Kaplan-Meier 生存曲线分析 PRDX4、ALG3 蛋白表达与乳腺癌患者 2 年预后的关系; 采用多因素 Cox 回归分析筛选 2 年预后影响因素。**结果** 癌组织中 PRDX4 阳性表达、ALG3 阳性表达比例高于癌旁组织 ($\chi^2/P = 68.980/ < 0.001, 72.278/ < 0.001$)。PRDX4 阳性表达组、ALG3 阳性表达组 T2~4 期、N1~2 期、组织低分化、有淋巴结转移比例高于 PRDX4 阴性表达组、ALG3 阴性表达组 (PRDX4: $\chi^2/P = 8.749/0.003, 14.655/ < 0.001, 15.935/ < 0.001, 15.154/ < 0.001$; ALG3: $\chi^2/P = 7.653/0.006, 9.559/0.002, 17.594/ < 0.001, 9.433/0.002$)。PRDX4 阳性表达乳腺癌患者 2 年生存率低于 PRDX4 阴性表达患者 (61.18% vs. 85.37%, $\chi^2 = 7.572, P = 0.006$); ALG3 阳性表达乳腺癌患者 2 年生存率低于 ALG3 阴性表达患者 (60.67% vs. 89.19%, $\chi^2 = 9.943, P = 0.002$)。死亡组 T2~4 期、N1~2 期比例高于生存组 ($\chi^2/P = 8.188/0.004, 8.022/0.005$)。PRDX4 阳性表达、ALG3 阳性表达是乳腺癌患者 2 年内死亡的独立危险因素 [HR (95% CI) = 2.759 (1.462~5.207)、2.805 (1.469~5.356)]。**结论** 乳腺癌患者癌组织 PRDX4、ALG3 的阳性表达率均高于癌旁组织, 二者高表达与 T 分期、N 分期、组织分化程度、淋巴结转移及预后有关。

【关键词】 乳腺癌; 过氧化物还原酶 4; α -1,3-甘露糖基转移酶; 预后**【中图分类号】** R737.9 **【文献标识码】** A

Expression of PRDX4 and ALG3 in breast cancer and their relationship with clinicopathological features and prognosis

Zheng Li, Yang Xia, Huang Qian, Xu Man, Liu Mengting, Ning Xiaojie. Department of Thyroid and Breast Surgery, Wuhan First Hospital, Hubei Province, Wuhan 430000, China

Funding program: Research Project of Hubei Provincial Health Commission (WJ2021M001)

Corresponding author: Ning Xiaojie, E-mail: janejames@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of peroxiredoxin 4 (PRDX4) and alpha-1,3-mannosyltransferase (ALG3) in breast cancer and their relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** The cancerous tissue, paracancerous tissue and related data of 126 patients with breast cancer diagnosed and treated in General Surgery Department of Renhe Hospital Affiliated to Three Gorges University during June 2020 to June 2022 were retrospectively collected. Immunohistochemistry was used to measure the expression of PRDX4 and ALG3 proteins in tissues. According to the protein expression, patients were separated into negative expression group and positive expression group. Multivariate Cox regression analysis was applied to screen for factors affecting 2-year prognosis. **Results** The proportions of PRDX4 positive expression and ALG3 positive expression in cancer tissues were higher than those in adjacent tissues ($\chi^2/P = 68.980/ < 0.001, 72.278/ < 0.001$). The proportions of T2-T4, N1-N2, poorly differentiated tissues, and lymph node metastasis in the PRDX4 positive expression group and ALG3 positive expression group were higher than those in the PRDX4 negative expression group and ALG3 negative expression group ($\chi^2/P = 8.749/0.003, 14.655/ < 0.001, 15.935/ < 0.001, 15.154/ < 0.001; 7.653/0.006, 9.559/0.002, 17.594/ < 0.001, 9.433/0.002$). The 2-year survival rate of patients with positive expression of PRDX4 (52/85, 61.18%) was lower than that of patients with negative expression of PRDX4 (35/41, 85.37%) in breast cancer ($\chi^2 = 7.572, P = 0.006$). The 2-year survival rate of patients with positive expression of ALG3 (54/89, 60.67%) was lower than that

of patients with negative expression of ALG3 (33/37, 89.19%) in breast cancer ($\chi^2 = 9.943, P = 0.002$). The proportion of T2-T4 and N1-N2 stages in the death group was higher than that in the survival group ($\chi^2/P = 8.188/0.004, 8.022/0.005$). PRDX4 positive expression and ALG3 positive expression were independent risk factors for death of breast cancer patients within 2 years [$HR(95\% CI) = 2.759 (1.462 \sim 5.207), 2.805 (1.469 \sim 5.356)$]. **Conclusion** The positive expression rates of PRDX4 and ALG3 in breast cancer tissues are higher than those in adjacent tissues. The high expression of both is related to T stage, N stage, tissue differentiation degree, lymph node metastasis, and prognosis.

【Key words】 Breast cancer; Peroxiredoxin 4; Alpha-1,3-mannosyltransferase; Prognosis

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤,大多数乳腺癌死亡与疾病进展和转移有关,因乳腺癌药物靶点较少,较多患者可能出现耐药性,造成患者生存状况仍不理想^[1-2]。因此,寻找与乳腺癌病理进展和预后相关的蛋白,探讨其作为药物靶点的可能性,可能对改善乳腺癌预后具有重要意义。过氧化物还原酶 4 (peroxiredoxin 4, PRDX4) 是细胞内源性的抗氧化酶,可通过 ERK 通路影响乳腺癌细胞的增殖和迁移,进而促进其恶性进展^[3-4]。肿瘤细胞内糖基转移酶的差异表达已被研究作为预测标志物和潜在的治疗靶点^[5]。α-1,3-甘露糖基转移酶 (alpha-1, 3-mannosyltransferase, ALG3) 位于 3q27.1, 与早期 N-聚糖合成有关,在内质网和高尔基体中存在,与乳腺癌进展密切相关^[6]。尽管 PRDX4、ALG3 在乳腺癌中均有相关研究,但较多局限于基础研究,而未对其临床特征进行综合分析。因此,现分析癌旁组织和癌组织中 PRDX4、ALG3 表达特征及其对乳腺癌的预后判定价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2020 年 6 月—2022 年 6 月武汉市第一医院甲状腺乳腺外科诊治的乳腺癌患者 126 例的癌组织、癌旁组织及相关资料,患者年龄 (50.42 ± 10.86) 岁;体质量指数 (22.71 ± 2.76) kg/m²;绝经 84 例,未育 9 例;合并糖尿病 6 例,高血压 42 例,高脂血症 15 例;有癌症家族史 8 例。本研究已获取医院医学伦理委员会通过 (202003-021), 患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合乳腺癌的诊治指南和规范^[7],病理诊断最终确诊;②初诊,无任何化疗或手术治疗史者;③资料齐全者。(2) 排除标准:①有急性乳腺炎等感染疾病;②妊娠、哺乳期女性;③自身免疫系统疾病,如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症;④凝血功能异常者;⑤有其他脏器功能异常或癌症者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 癌旁组织和癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白水平检测:收集患者术中癌旁组织和癌组织,并予 10% 甲醛

固定、石蜡包埋、组织切片,采用试剂盒 [PRDX4 试剂盒购自上海圻明生物科技有限公司,货号 (IM) (01)-4322;ALG3 试剂盒购自上海帛科生物技术有限公司,货号 BK-KT16997)] 进行免疫组化染色。染色结束后采用日本奥林巴斯 BX50 显微镜观察阳性染色图像,根据阳性细胞数量及染色强度分别进行评分。阳性细胞数量:阳性细胞数量 > 75% 为 3 分,阳性细胞数量 > 50% ~ 75% 为 2 分,阳性细胞数量 > 10% ~ 50% 为 1 分,阳性细胞数量 ≤ 10% 为 0 分;染色强度:深棕色为 3 分,棕色为 2 分,黄色为 1 分,无色为 0 分。二者相乘后总分 ≥ 2 分为阳性表达, < 2 分为阴性表达。

1.3.2 预后随访:治疗后对乳腺癌患者进行为期 2 年的预后随访,随访方式为门诊检查、电话、微信,记录患者 2 年内无病生存情况,第 1 年每 3 个月随访至少 1 次,第 2 年每 6 个月至少随访 1 次,随访终点为随访期结束或患者死亡,截至 2024 年 6 月。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计软件对数据进行统计分析。计数资料以频数或率 (%) 表示,比较行 χ^2 检验;Kaplan-Meier 生存曲线分析 PRDX4、ALG3 蛋白表达与乳腺癌患者 2 年预后的关系;采用多因素 Cox 回归分析筛选乳腺癌患者 2 年预后影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌旁组织和癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白表达比较 癌组织中 PRDX4 阳性表达、ALG3 阳性表达比例高于癌旁组织 ($P < 0.01$),见表 1、图 1。

表 1 乳腺癌患者癌旁组织和癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白表达比较 [例(%)]

Tab. 1 Comparison of PRDX4 and ALG3 protein levels in adjacent and cancerous tissues of breast cancer patients

组织	例数	PRDX4		ALG3	
		阴性表达	阳性表达	阴性表达	阳性表达
癌旁组织	126	106 (84.13)	20 (15.87)	104 (82.54)	22 (17.46)
癌组织	126	41 (32.54)	85 (67.46)	37 (29.37)	89 (70.63)
χ^2 值		68.980		72.278	
P 值		<0.001		<0.001	

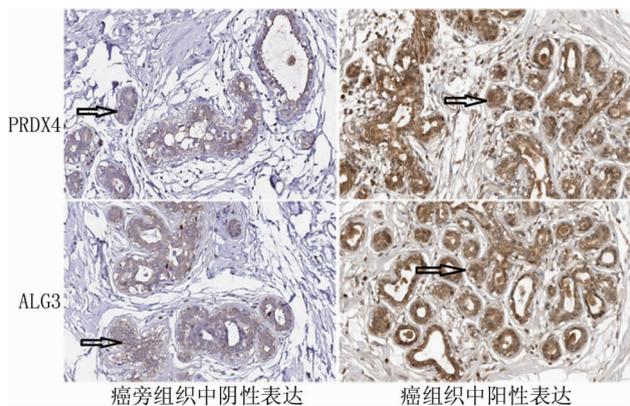


图 1 PRDX4、ALG3 蛋白在乳腺癌患者癌组织和癌旁组织中的表达(免疫组化染色, ×200)

Fig. 1 Expression of PRDX4 and ALG3 proteins in cancer tissues and adjacent tissues of breast cancer patients

2.2 癌组织中 PRDX4、ALG3 蛋白表达在乳腺癌患者不同临床病理特征中的差异比较 依据癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白表达分为阳性、阴性表达组, PRDX4、ALG3 蛋白表达在乳腺癌患者不同年龄、绝经与否、病理类型、肿瘤直径、分子分型中比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。PRDX4 阳性表达组、ALG3

阳性表达组 T2 ~ 4 期、N1 ~ 2 期、组织低分化、有淋巴结转移比例高于 PRDX4 阴性表达组、ALG3 阴性表达组 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.3 癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白表达与乳腺癌患者 2 年预后的关系 采用 Kaplan-Meier 法分析癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白表达与乳腺癌患者 2 年预后的关系, 结果显示, PRDX4 阳性表达乳腺癌患者 2 年生存率低于 PRDX4 阴性表达患者 (61.18% vs. 85.37%, $\chi^2 = 7.572, P = 0.006$); ALG3 阳性表达乳腺癌患者 2 年生存率低于 ALG3 阴性表达 (60.67% vs. 89.19%, $\chi^2 = 9.943, P = 0.002$), 见图 2。

2.4 2 年不同预后的乳腺癌患者临床病理特征差异比较 生存组和死亡组患者年龄、绝经与否、病理类型、肿瘤直径、组织分化程度、淋巴结转移、分子分型比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 死亡组 T2 ~ 4 期、N1 ~ 2 期比例高于生存组 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.5 乳腺癌患者 2 年预后的影响因素分析 以乳腺癌患者 2 年预后为因变量(赋值: 死亡 = 1, 生存 = 0), 以 PRDX4、ALG3、T 分期、N 分期为自变量进行多因素 Cox 回归分析, 结果显示: PRDX4 阳性表达、ALG3 阳性表达是乳腺癌患者 2 年内死亡的独立危险因素 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 2 癌组织中 PRDX4、ALG3 蛋白表达在乳腺癌患者不同临床病理特征中的差异比较 [例(%)]

Tab. 2 Comparison of PRDX4 and ALG3 protein expression in different clinicopathological characteristics of breast cancer patients

项目	例数	PRDX4 阴性表达组 (n = 41)	PRDX4 阳性表达组 (n = 85)	χ^2 值	P 值	ALG3 阴性表达组 (n = 37)	ALG3 阳性表达组 (n = 89)	χ^2 值	P 值	
年龄(岁)	<50	47	19(46.34)	28(32.94)	2.124	0.145	13(35.14)	34(38.20)	0.105	0.746
	≥50	79	22(53.66)	57(67.06)			24(64.86)	55(61.80)		
绝经	否	42	16(39.02)	26(30.59)	0.886	0.347	15(40.54)	27(30.34)	1.224	0.268
	是	84	25(60.98)	59(69.41)			22(59.46)	62(69.66)		
病理类型	浸润性导管癌	109	36(87.80)	73(85.88)	0.077	0.962	31(83.78)	78(87.64)	0.284	0.594
	浸润性小叶癌	12	4(9.76)	8(9.41)			4(10.81)	8(8.99)		
	其他癌	5	1(2.44)	4(4.71)			2(5.41)	3(3.37)		
肿瘤直径(cm)	<2	37	15(36.59)	22(25.88)	1.528	0.216	14(37.84)	23(25.84)	1.813	0.178
	≥2	89	26(63.41)	63(74.12)			23(62.16)	66(74.16)		
T 分期	T1 期	42	21(51.22)	21(24.71)	8.749	0.003	19(51.35)	23(25.84)	7.653	0.006
	T2 ~ 4 期	84	20(48.78)	64(75.29)			18(48.65)	66(74.16)		
N 分期	N0 期	34	20(48.78)	14(16.47)	14.655	<0.001	17(45.95)	17(19.10)	9.559	0.002
	N1 ~ 2 期	92	21(51.22)	71(83.53)			20(54.05)	72(80.90)		
组织分化程度	中高分化	38	22(53.66)	16(18.82)	15.935	<0.001	21(56.76)	17(19.10)	17.594	<0.001
	低分化	88	19(46.34)	69(81.18)			16(43.24)	72(80.90)		
淋巴结转移	无	52	27(65.85)	25(29.41)	15.154	<0.001	23(62.16)	29(32.58)	9.433	0.002
	有	74	14(34.15)	60(70.59)			14(37.84)	60(67.42)		
分子分型	Lumina A/B 型	86	25(60.98)	61(71.76)	1.486	0.476	24(64.86)	62(69.66)	0.099	0.752
	HER-2 阳性型	5	2(4.88)	3(3.53)			2(5.41)	3(3.37)		
	三阴性型	35	14(34.14)	21(24.71)			11(29.73)	24(26.97)		

表 3 不同预后乳腺癌患者的临床病理特征比较 [例(%)]

Tab. 3 Comparison of clinicopathological characteristics of breast cancer patients with different prognosis

项目	例数	生存组(n=87)	死亡组(n=39)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)	<50	47	36(41.38)	1.998	0.157
	\geq 50	79	51(58.62)		
绝经	否	42	33(37.93)	2.674	0.102
	是	84	54(62.07)		
病理类型	浸润性导管癌	109	79(90.80)	4.611	0.100
	浸润性小叶癌	12	6(6.90)		
	其他癌	5	2(2.30)		
肿瘤直径(cm)	<2	37	29(33.33)	2.134	0.144
	\geq 2	89	58(66.67)		
T 分期	T1 期	42	36(41.38)	8.188	0.004
	T2 ~ 4 期	84	51(58.62)		
N 分期	N0 期	34	30(34.48)	8.022	0.005
	N1 ~ 2 期	92	57(65.52)		
组织分化程度	中/高分化	38	25(28.74)	0.270	0.603
	低分化	88	62(71.26)		
淋巴结转移	无	52	38(43.68)	0.673	0.412
	有	74	49(56.32)		
分子分型	Lumina A/B 型	86	64(73.56)	3.673	0.159
	HER-2 阳性型	5	3(3.45)		
	三阴性型	35	20(22.99)		

表 4 乳腺癌患者 2 年预后影响因素的 Cox 回归分析

Tab. 4 Cox regression analysis of factors influencing the 2-year prognosis of breast cancer patients

影响因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
PRDX4 阳性	1.015	0.324	9.811	0.001	2.759	1.462 ~ 5.207
ALG3 阳性	1.031	0.330	9.769	0.002	2.805	1.469 ~ 5.356
T 分期高	0.196	0.198	0.976	0.323	1.216	0.825 ~ 1.793
N 分期高	0.205	0.174	1.382	0.240	1.227	0.872 ~ 1.726

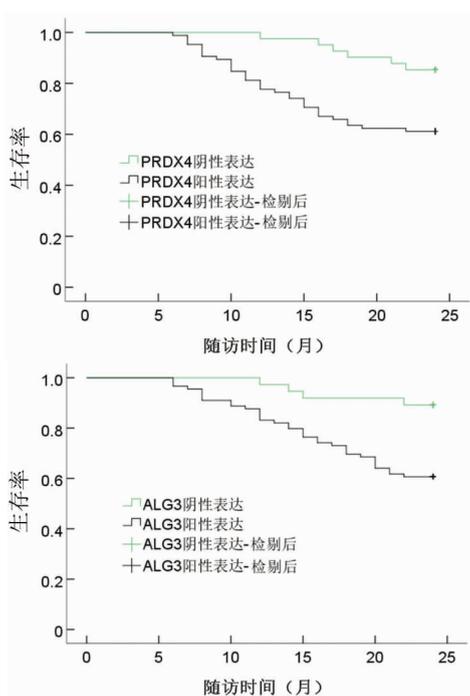


图 2 癌组织 PRDX4、ALG3 蛋白表达与乳腺癌患者 2 年预后的关系

Fig. 2 The relationship between the expression of PRDX4 and ALG3 proteins in cancer tissue and the 2-year prognosis of breast cancer patients

3 讨论

乳腺癌是一种高度异质性的恶性肿瘤,对女性健

康构成了严重威胁,目前患者的主要治疗选择包括手术、放射疗法和辅助激素或化疗^[8]。随着近些年来医学检测技术和分子生物学的不断发展,乳腺癌临床预后已极大改善,但部分患者仍出现复发转移和死亡^[9]。深入了解新型且具有成本效益的预后生物标志物,有助于预测和筛查预后较差的高危人群,推进新的治疗方法并及时提供针对性乳腺癌的干预措施。

PRDX 家族是具有抗氧化功能的关键新蛋白家族,在生物体中普遍表达,其中 PRDX4 可以锚定于内质网调控蛋白质氧化折叠,也可以分泌到细胞外基质发挥抗氧化作用,但其在各类肿瘤细胞中的功能意义较为复杂^[10]。既往研究显示,PRDX4 是一种多功能蛋白质,参与防止氧化损伤、调节细胞增殖和细胞内信号传导,且参与肿瘤的恶性进展、复发和死亡^[11]。魏静等^[12]研究发现,敲低 PRDX4 表达可抑制三阴性乳腺癌细胞的侵袭,同时可促进其凋亡。Wang 等^[13]研究发现,乳腺癌组织中 PRDX1 ~ 5 表达高于正常组织,

PRDX6 表达低于正常组织, PRDX4、5 表达与肿瘤的晚期分期相关。本研究结果表明, 乳腺癌患者癌组织 PRDX4 表达显著升高, 且这种高表达与较高的 T 分期、N 分期、淋巴结转移、组织低分化和死亡有关, 与 Wang 等^[13] 研究存在部分一致。基于既往文献及 PRDX4 作用机制推测, PRDX4 高表达可能促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭, 同时抑制细胞凋亡, 推动恶性生物学行为进展, 进而增加患者死亡风险。此外, 既往研究显示, 乳腺癌转移发展的一个可能解释是上皮间质转化(EMT)现象, EMT 是指通过降解和重塑紧密连接链和黏附连接蛋白来松动细胞与细胞之间的连接, 从而使转化细胞脱离并更自由地移动^[14]。而 Zheng 等^[15] 和 Huang 等^[16] 研究发现, PRDX4 可通过 EMT 调控肝母细胞瘤、结直肠癌等癌症的发生及进展。分析认为 PRDX4 还可能通过影响 EMT 参与乳腺癌的发生及进展, 促进患者死亡, 但其生物机制待今后基础研究验证。

糖基化对细胞的每个过程都有巨大的影响, 如识别、信号传导、细胞基质相互作用等, 糖结构的微小改变会显著影响细胞的生物学行为以及治疗效果, 针对糖基化的研究已被认为是癌症药物研发的新途径^[17]。ALG3 有助于肿瘤细胞中的高甘露糖型 N-聚糖合成, 而几种高甘露糖型 N-聚糖的异常表达已被描述与癌症进展有关^[18]。ALG3 过表达会导致糖蛋白功能障碍, 从而促进肿瘤细胞增殖和侵袭^[19]。Sun 等^[20] 通过体内和体外实验发现, 上调 ALG3 可增强乳腺癌细胞增殖, 提高其干细胞性和放射抗性。本研究结果中 ALG3 高表达与乳腺癌更高的 T 分期、N 分期等临床病理特征及 2 年预后有关。分析认为 ALG3 高表达可能促进乳腺癌细胞中高甘露糖型 N-聚糖的过量合成, 其合成和分泌过量可能会造成糖蛋白功能障碍, 导致细胞增殖、迁移、侵袭等作用增强, 促进乳腺癌疾病进展和死亡情况发生。此外, 本研究 Kaplan-Meier 分析发现, PRDX4、ALG3 阴性表达和阳性表达患者的生存率差异有统计学意义。Luo 等^[21] 研究同样显示, ALG3 是三阴性乳腺癌预后不良的潜在生物标志物。提示今后可将二者作为预后预测指标进行进一步的探究, 以为临床提供预后生物标志物, 筛查死亡风险较高的乳腺癌患者进行针对性治疗。

综上所述, PRDX4、ALG3 阳性表达与乳腺癌患者更高的 T 分期、N 分期、组织低分化、淋巴结转移以及不良的临床结果相关, 这种关系需要进一步进行机制研究, 以说明二者在乳腺癌患者中的确切作用。同时临床需寻找调节 PRDX4、ALG3 表达以抵抗乳腺癌进

展的可能办法。PRDX4、ALG3 在预测乳腺癌患者预后方面可能有重要价值, 需要更大的队列研究来验证。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

郑莉、宁晓洁: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 杨侠、黄倩: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 徐曼: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改; 刘梦婷: 进行统计学分析

参考文献

- [1] Thomas A, Douglas E, Reis-Filho JS, et al. Metaplastic breast cancer: Current understanding and future directions[J]. Clin Breast Cancer, 2023, 23(8): 775-783. DOI: 10.1016/j.clbc.2023.04.004.
- [2] 王麓璐, 张学思, 潘静, 等. 乳腺癌患者血清钙黏蛋白 S100A10、脂肪酸转运蛋白 4 水平与临床病理特征及复发的相关性[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(5): 453-457. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.05.002.
- [3] Lei P, Yu L, Sun X, et al. Exploring the role of PRDX4 in the development of uterine corpus endometrial carcinoma[J]. Med Oncol, 2024, 41(2): 48-54. DOI: 10.1007/s12032-023-02265-6.
- [4] 董云佳, 吴静, 刘亚锋, 等. PRDX4 通过 ERK 通路对乳腺癌细胞影响机制[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2024, 31(2): 74-84. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2024.02.02.
- [5] Liu P, Lin C, Liu Z, et al. Inhibition of ALG3 stimulates cancer cell immunogenic ferroptosis to potentiate immunotherapy[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(7): 352-360. DOI: 10.1007/s00018-022-04365-4.
- [6] Xue X, Feng Q, Hong X, et al. Comprehensive analysis of ALG3 in pan-cancer and validation of ALG3 as an onco-immunological biomarker in breast cancer[J]. Aging (Albany NY), 2024, 16(3): 2320-2339. DOI: 10.18632/aging.205483.
- [7] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2021年版)[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(10): 954-1040. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.10.013.
- [8] Roy M, Fowler AM, Ulaner GA, et al. Molecular classification of breast cancer[J]. PET Clin, 2023, 18(4): 441-458. DOI: 10.1016/j.cpet.2023.04.002.
- [9] Gouri A, Benarba B, Dekaken A, et al. Prediction of late recurrence and distant metastasis in early-stage breast cancer: Overview of current and emerging biomarkers[J]. Curr Drug Targets, 2020, 21(10): 1008-1025. DOI: 10.2174/1389450121666200312105908.
- [10] Han J, Itoh T, Shioya A, et al. The combination of the low immunohistochemical expression of peroxiredoxin 4 and perilipin 2 predicts longer survival in pancreatic ductal adenocarcinoma with peroxiredoxin 4 possibly playing a main role[J]. Histol Histopathol, 2023, 38(12): 1415-1427. DOI: 10.14670/HH-18-666.
- [11] 王海龙, 杨文青, 张瑜. 子宫内膜癌中 PRDX4 和 GRP78 的表达及其临床意义[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2022, 19(2): 229-233. DOI: 10.3969/j.issn.1673-016X.2022.02.064.
- [12] 魏静, 王石健, 杨赛成, 等. 敲低 Prdx4 抑制三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞侵袭和促进其凋亡的机制[J]. 江苏医药, 2022, 48(10): 986-989. DOI: 10.19460/j.cnki.0253-3685.2022.10.004.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.018

论著·临床

鼻咽癌组织中核连蛋白 2、整合素 $\beta 3$ 表达及其临床预后评估价值

徐菲, 黄庆艳, 周江会, 黄佳露, 翟亮



基金项目: 上海市卫生健康委员会卫生行业临床研究项目(202040168)

作者单位: 200433 上海, 海军军医大学第一附属医院耳鼻喉科(徐菲、黄庆艳、周江会、黄佳露); 201999 上海中医药大学附属宝山医院耳鼻喉科(翟亮)

通信作者: 翟亮, E-mail: zhaicat320@163.com

【摘要】目的 研究鼻咽癌(NPC)组织中核连蛋白 2(NUCB2)、整合素 $\beta 3$ (ITGB3)的表达及其对 NPC 患者预后评估价值。**方法** 回顾性收集 2017 年 3 月—2018 年 3 月海军军医大学第一附属医院耳鼻喉科收治的 NPC 术后患者 94 例的癌组织及癌旁组织。采用实时荧光定量 PCR(qPCR)和免疫组织化学法检测癌组织和癌旁组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 和蛋白表达;Kaplan-Meier 法分析 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达对 NPC 患者生存预后的影响;Cox 回归分析 NPC 患者预后的影响因素。**结果** NPC 患者癌组织 NUCB2、ITGB3 蛋白表达阳性率分别为 95.74% (90/94)、87.23% (82/94), 高于癌旁组织的 8.51% (8/94)、10.64% (10/94), 差异有统计学意义($\chi^2/P = 143.323 / < 0.001, 29.139 / < 0.001$); NPC 患者癌组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 的相对表达量高于癌旁组织, 差异有统计学意义($t/P = 49.760 / < 0.001, 43.704 / < 0.001$); TNM 分期 III ~ IV 期的 NPC 癌组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达水平高于 TNM 分期 I ~ II 期($t/P = 17.443 / < 0.001, 14.275 / < 0.001$)。NUCB2 高表达组 5 年总生存率为 52.17% (24/46), 低于 NUCB2 低表达组的 83.33% (40/48) (Log-rank $\chi^2 = 10.941, P = 0.001$); ITGB3 高表达组 5 年总生存率为 53.33% (24/45), 低于 ITGB3 低表达组的 81.63% (40/49) (Log-rank $\chi^2 = 9.832, P = 0.002$)。Cox 回归分析结果表明, TNM 分期 III ~ IV 期、NUCB2 mRNA 升高、ITGB3 mRNA 升高为影响 NPC 患者预后的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.608(1.225 ~ 2.112), 1.839(1.228 ~ 2.753), 1.738(1.246 ~ 2.426)]。**结论** NPC 组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 和蛋白表达上调, 两者参与 NPC 肿瘤的进展过程, 是评估 NPC 患者预后的标志物。

【关键词】 鼻咽癌; 核连蛋白 2; 整合素 $\beta 3$; 临床病理特征; 预后**【中图分类号】** R739.6**【文献标识码】** A

A study on the expression and prognostic value of nucleonectin 2 and integrin $\beta 3$ in nasopharyngeal cancer tissues Xu Fei*, Huang Qingyan, Zhou Jianghui, Huang Jialu, Zhai Liang. * Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Funding program: Shanghai Municipal Health Commission Health Industry Clinical Research Project (202040168)

Corresponding author: Zhai Liang, E-mail: zhaicat320@163.com

【Abstract】 Objective To study the expression of nucleolin 2 (NUCB2) and integrin $\beta 3$ (ITGB3) in nasopharyngeal carcinoma (NPC) and their prognostic value in NPC patients. **Methods** The cancer tissues and adjacent tissues of 94 patients with NPC who were admitted to the Department of Otolaryngology in the First Affiliated Hospital of Naval Medical University from March 2017 to March 2018 were collected. Real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) and immunohistochemistry were used to detect the expression of NUCB2 and ITGB3 mRNA and protein in cancer tissues and adjacent tissues. Kaplan-Meier method was used to analyze the effect of NUCB2 and ITGB3 mRNA expression on the survival and prognosis of NPC patients. Cox regression analysis was used to analyze the prognostic factors of NPC patients. **Results** The positive rates of NUCB2 and ITGB3 protein expression in cancer tissues of NPC patients were 95.74% (90/94) and 87.23% (82/94), respectively, which were higher than 8.51% (8/94) and 10.64% (10/94) in adjacent tissues ($\chi^2/P = 143.323 / < 0.001, 29.139 / < 0.001$); The relative expression of NUCB2 and ITGB3 mRNA in cancer tissues of NPC patients was higher than that in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($t/P = 49.760 / < 0.001, 43.704 / < 0.001$); The expression levels of NUCB2 and ITGB3 mRNA in NPC tissues of TNM stage III ~ IV were higher than those of TNM stage

I ~ II ($t/P=17.443/ <0.001$, $14.275/ <0.001$). The 5-year overall survival rate of NUCB2 high expression group was 52.17 % (24/46), which was lower than that of NUCB2 low expression group (83.33 % , 40/48) (Log-rank $\chi^2 = 10.941$, $P=0.001$); The 5-year overall survival rate of ITGB3 high expression group was 53.33 % (24/45), which was lower than 81.63 % (40/49) of ITGB3 low expression group (Log-rank $\chi^2 = 9.832$, $P=0.002$). TNM stage III ~ IV, increased NUCB2 mRNA and increased ITGB3 mRNA were independent risk factors affecting the prognosis of NPC patients [$OR(95\% CI) = 1.608(1.225 - 2.112), 1.839(1.228 - 2.753), 1.738(1.246 - 2.426)$]. **Conclusion** The mRNA and protein expressions of NUCB2 and ITGB3 are up-regulated in NPC tissues. They are involved in the progression of NPC tumors and are markers for evaluating the prognosis of NPC patients.

【Key words】 Nasopharyngeal carcinoma; Nucleonectin 2; Integrin β 3; Clinical pathological features; Prognosis

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是常见头颈部恶性肿瘤,由于位置隐匿,患者就诊时多为中晚期,生存预后较差^[1]。放疗是 NPC 的主要治疗方式,特别是随着化疗及靶向治疗的联合应用,NPC 的疗效有了很大的改善,但肿瘤仍可发生复发转移^[2]。核连蛋白 2(nucleonectin 2, NUCB2) 具有 EF 折叠结构域,能够结合钙离子,参与下丘脑进食调节和血管内皮细胞肿瘤坏死因子的释放^[3]。研究表明,黑色素瘤中 NUCB2 表达上调,其能够抑制癌细胞内质网应激的发生,抑制细胞凋亡,促进癌细胞转移^[4]。整合素 β 3(integrin β 3, ITGB3) 编码蛋白构成整合素 β 链,可以与多个伴侣蛋白结合,参与细胞黏附以及整合素介导的细胞内信号传导过程^[5]。研究表明,乳腺癌中 ITGB3 表达上调,其能与硫酸乙酰肝素蛋白多糖相互作用,介导细胞外囊泡的内吞和内化过程,促进癌细胞转移^[6]。目前 NPC 中 NUCB2、ITGB3 的表达及预后意义尚不清楚。本研究分析 NPC 组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 和蛋白表达,探究两者的临床预后价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性收集 2017 年 3 月—2018 年 3 月海军军医大学第一附属医院耳鼻喉科收治的 NPC 术后患者 94 例的癌组织及癌旁组织,患者中男 57 例,女 37 例;年龄 32 ~ 79 (63.51 \pm 6.12) 岁;吸烟史 40 例;病理类型:角化性鳞癌 20 例,非角化性分化型鳞癌 28 例,非角化性未分化型鳞癌 46 例;TNM 分期: I ~ II 期 32 例, III ~ IV 期 62 例;分化程度:高中分化 52 例,低分化 42 例;淋巴结转移 41 例。本研究已经获得医院伦理委员会批准(2023-01-005),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①经病理学诊断为 NPC;②初发且入院之前未接受放化疗治疗;③患者依从性高,能够接受入院后的相关治疗及随访。(2) 排除标准:①复发性或肿瘤源自其他器官肿瘤转移;②合并慢性阻塞性肺气肿、肾功能衰竭等其他严重疾病;③合并精神障碍性疾病、自身免疫性疾病等。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 NUCB2、ITGB3 mRNA 检测:行实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达水平。于术中留取 NPC 患者部分癌组织及癌旁组织(距离癌组织 0.5 cm 以上,经病理证实为正常组织)经液氮冷冻后研磨成末,使用 TRIzol 试剂(上海远慕生物科技有限公司,货号 YM-0110-168)提取总 RNA,再使用 Takara 试剂(广州威佳科技有限公司,货号 RR901Q)将 RNA 逆转录为互补 DNA。以互补 DNA 为模板,根据 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 试剂(北京伊塔生物科技有限公司,货号 SY4008)说明书建立 qPCR 反应。以 GAPDH 为内参,NUCB2、ITGB3 mRNA 的上下游引物由北京睿博兴科生物技术有限公司设计合成。反应程序:95 $^{\circ}$ C 5 min 1 次,95 $^{\circ}$ C 30 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,70 $^{\circ}$ C 32 s,共计 40 个循环。NUCB2 上游引物 5'-ATGAGGTGGAGGAC-CATCCTG-3',下游引物 5'-TGGTTCTATCTTCG-CACTTCC-3'; ITGB3 上游引物 5'-TGCGAAGAT-AGAACCACCAGA-3',下游引物 5'-TTCTTTGCTTAGC-CTCCCACT-3';内参 GAPDH 上游引物 5'-GGGAG-GCTAAGCAAAGAAGACTG-3',下游引物 5'-TCCAT-GCCTATATCTTGAAGGGA-3'。采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算 NUCB2、ITGB3 mRNA 相对表达量。以 NUCB2、ITGB3 的平均值 3.53、2.79 为界,分为 NUCB2 高表达组 46 例(≥ 3.53)和 NUCB2 低表达组 48 例(< 3.53),ITGB3 高表达组 45 例(≥ 2.79)和 ITGB3 低表达组 49 例(< 2.79)。

1.3.2 NUCB2、ITGB3 蛋白检测:采用免疫组织化学法检测 NPC 患者癌组织及癌旁组织中 NUCB2、ITGB3 蛋白表达。将术中获取的癌组织及癌旁组织甲醛固定后,按常规免疫组化方法进行染色。NUCB2 抗体购自美国 GeneTex 公司(货号 GTX47488),ITGB3 抗体购自北京百奥莱博公司(货号 Z18783)。稀释倍数均为 1:100。DAB 显色后树脂封片,显微镜(日本 Olympus 公司,DX31 型)下拍照并观察染色情况。染色强度:无染色 0 分,浅黄色 1 分,棕褐色 2 分。染色面积: $\leq 25\%$ 1 分,26% ~ 50% 2 分, $\geq 51\%$ 3 分。采用半定量

法评估,染色强度和染色面积评分的乘积计算染色评分,≥2 分为阳性,<2 分为阴性。

1.3.3 随访: NPC 患者病理确诊后均接受放化疗治疗,治疗结束后定期门诊随访。共随访 5 年,第 1~2 年每 3 个月 1 次,第 3~5 年每 6 个月 1 次。记录随访中患者的死亡情况及死亡原因,随访截止时间为 2023 年 4 月 1 日,随访终点为死亡或随访结束。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用卡方检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用两独立样本 *t* 检验;采用 Kaplan-Meier 曲线分析 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达对 NPC 患者生存预后的影响;Cox 回归分析 NPC 患者预后的影响因素。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NPC 组织和癌旁组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达比较 NPC 患者癌组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 的相对表达量高于癌旁组织,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 1。

表 1 NPC 组织和癌旁组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of NUCB2 and ITGB3 mRNA expression in NPC tissues and adjacent tissues

组别	例数	NUCB2	ITGB3
癌旁组织	94	1.12 ± 0.21	1.05 ± 0.11
癌组织	94	3.53 ± 0.42	2.79 ± 0.37
<i>t</i> 值		49.760	43.704
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 NPC 组织和癌旁组织中 NUCB2、ITGB3 蛋白表

表 2 NPC 组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达在不同临床/病理特征中的差异比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of mRNA expression differences of NUCB2 and ITGB3 in NPC tissues across different clinical/pathological features

项目	例数	NUCB2 (<i>n</i> = 94)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	ITGB3 (<i>n</i> = 94)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	
性别	男	57	3.58 ± 0.44	1.450	0.151	2.83 ± 0.37	1.348	0.181
	女	37	3.45 ± 0.40			2.73 ± 0.32		
年龄	≤60 岁	41	3.45 ± 0.39	1.584	0.117	2.75 ± 0.30	0.969	0.335
	>60 岁	53	3.59 ± 0.45			2.82 ± 0.38		
吸烟史	有	40	3.57 ± 0.44	0.815	0.417	2.81 ± 0.37	0.420	0.675
	无	54	3.50 ± 0.39			2.78 ± 0.32		
病理类型	角化性鳞癌	20	3.48 ± 0.47	0.541	0.586	2.79 ± 0.36	0.181	0.834
	非角化性分化型鳞癌	28	3.60 ± 0.39			2.82 ± 0.33		
	非角化性未分化型鳞癌	46	3.51 ± 0.45			2.77 ± 0.35		
分化程度	高中分化	52	3.50 ± 0.43	0.818	0.416	2.77 ± 0.38	0.672	0.503
	低分化	42	3.57 ± 0.39			2.82 ± 0.33		
TNM 分期	I ~ II 期	32	2.41 ± 0.35	17.443	<0.001	2.02 ± 0.30	14.275	<0.001
	III ~ IV 期	62	4.11 ± 0.49			3.19 ± 0.41		
淋巴结转移	有	41	3.61 ± 0.37	1.638	0.105	2.83 ± 0.39	0.970	0.335
	无	53	3.47 ± 0.44			2.76 ± 0.31		

达比较 NPC 组织中 NUCB2、ITGB3 蛋白位于细胞质和细胞膜,癌组织阳性率分别为 95.74% (90/94)、87.23% (82/94),高于癌旁组织的 8.51% (8/94)、10.64% (10/94),差异有统计学意义($\chi^2 = 143.323$ 、29.139,*P* 均 < 0.001),见图 1。

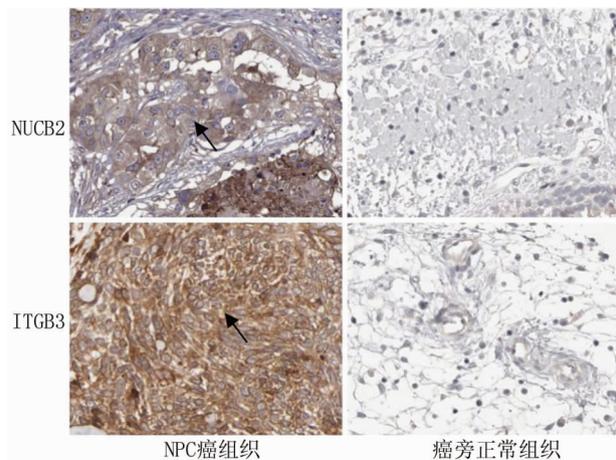


图 1 NPC 组织及癌旁组织中 NUCB2、ITGB3 蛋白表达(免疫组化染色, ×200)

Fig. 1 Expression of NUCB2 and ITGB3 proteins in NPC tissue and adjacent tissues (immunohistochemistry staining, ×200)

2.3 NPC 组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达在不同临床/病理特征中的差异比较 NPC 组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达水平在性别、年龄、吸烟史、病理类型、分化程度、淋巴结转移中比较差异无统计学意义(*P* > 0.05);TNM 分期 III ~ IV 期的 NPC 癌组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达水平高于 TNM 分期 I ~ II 期(*P* < 0.01),见表 2。

2.4 癌组织中 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达不同对 NPC 患者生存预后的影响 NPC 患者 94 例至随访结束时死亡 30 例,5 年总生存率 68.09% (64/94)。NUCB2 高表达组 5 年总生存率为 52.17% (24/46), 低于 NUCB2 低表达组的 83.33% (40/48) (Log-rank $\chi^2 = 10.941, P = 0.001$); ITGB3 高表达组 5 年总生存率为 53.33% (24/45), 低于 ITGB3 低表达组的 81.63% (40/49) (Log-rank $\chi^2 = 9.832, P = 0.002$), 见图 2。

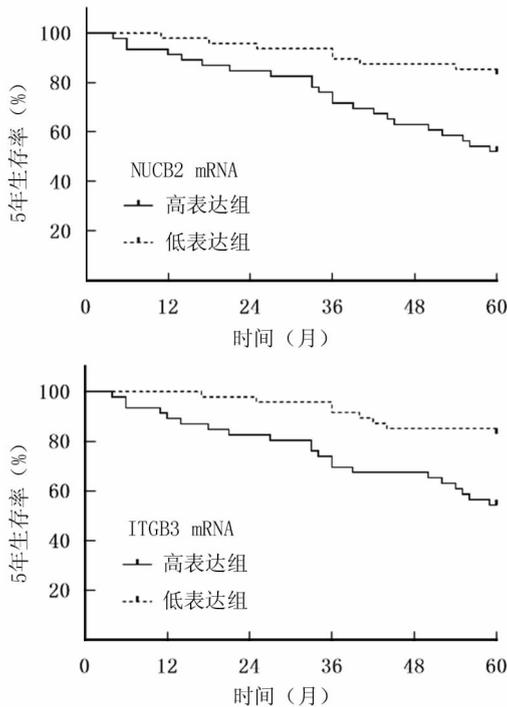


图 2 Kaplan-Meier 曲线分析 NUCB2、ITGB3 mRNA 表达不同对 NPC 患者生存预后的影响

Fig. 2 Kaplan-Meier curve analysis of the impact of different mRNA expressions of NUCB2 and ITGB3 on the survival prognosis of NPC patients

2.5 Cox 回归分析 NPC 患者预后的影响因素 以 NPC 患者预后为因变量 (1 = 死亡, 0 = 生存), 以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量进行多因素 Cox 回归分析, 结果显示: TNM 分期 III ~ IV 期、NUCB2 mRNA 升高、ITGB3 mRNA 升高为影响 NPC 患者预后的独立危

险因素, 见表 3。

3 讨论

NPC 是人类常见恶性肿瘤, 全球每年新发病例达 12.9 万例, 死亡 7.3 万例^[7]。目前 NPC 采用多学科、综合治疗的模式, 放射治疗是鼻咽癌的主要治疗方式之一, 化疗及靶向治疗可进一步提高 NPC 的治疗效果。但 NPC 治疗后复发和转移仍是导致治疗失败的主要原因。TNM 分期系统是目前评估 NPC 患者治疗预后的重要指标, 但由于肿瘤异质性, 难以准确评估 NPC 患者的预后^[8]。研究影响 NPC 预后的标志物, 对于指导 NPC 临床治疗意义重大。

NUCB2 又称 NEFA, 广泛分布于中枢神经系统和外周组织, 结构上包含信号肽、EF 折叠结构域, 具有 DNA/ Ca^{2+} 结合能力, 具有调节食物摄入、减少胃肠动力等生理功能^[9]。研究表明, NUCB2 在乳腺癌、膀胱癌等肿瘤中过表达, 其参与肿瘤发生、侵袭、迁移等癌症进展的各个阶段, 是新的肿瘤标志物^[10]。本研究中, NPC 癌组织中 NUCB2 在 mRNA 和蛋白水平表达均显著升高, 这与既往学者在 NPC 组织中检测的结果一致^[11], 但该研究纳入的 NPC 患者仅 39 例, 纳入的样本量较小。NPC 中 NUCB2 的表达上调与非编码 RNA 的调控异常有关。研究表明, 肾癌中环状 RNA_0000274RNA 作为分子海绵, 结合微小 RNA-338-3p, 微小 RNA-338-3p 不能结合 NUCB2 mRNA 的 3' 非编码区, 增加 NUCB2 mRNA 的稳定性及蛋白表达, NUCB2 激活下游 Jacus 相关激酶 1/信号转导与转录激活因子 3 信号通路, 促进癌细胞的增殖及侵袭^[12]。本研究中, NPC 癌组织中 NUCB2 的表达与 TNM 分期有关, 提示 NUCB2 能够促进 NPC 的肿瘤进展。有学者在基础实验中证实, 微小 RNA-30a-5p 在 NPC 组织和细胞中表达下调, 引起其下游靶基因 NUCB2 的表达上调, NUCB2 能够促进 NPC 肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 导致 NPC 肿瘤的恶性进展^[13]。另外, 有学者在 NPC 肿瘤细胞系 CNE1 中发现, NUCB-2 的过表达能够上调 Nefatin-1 等代谢产物的表达水平, 增强丝裂原活化蛋白激酶信号通路的信号传导, 促进癌细胞的恶性增殖^[11]。本研究证实, NUCB2 mRNA 的表达升高能

表 3 多因素 Cox 回归分析 NPC 患者预后影响因素

Tab. 3 Multivariate Cox regression analysis of prognostic factors in NPC patients

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
TNM 分期 III ~ IV 期	0.475	0.139	11.678	<0.001	1.608	1.225 ~ 2.112
NUCB2 mRNA 升高	0.609	0.206	8.740	<0.001	1.839	1.228 ~ 2.753
ITGB3 mRNA 升高	0.553	0.170	10.582	<0.001	1.738	1.246 ~ 2.426

够增加 NPC 患者不良预后的风险。分析其原因, NUCB2 不仅有助于促进 NPC 的肿瘤进展, 还能够降低癌细胞对化疗和放疗的敏感性, 导致 NPC 患者的不良预后。既往学者在胶质瘤中发现, NUCB2 的过表达能够抑制替莫唑胺化疗治疗诱导的癌细胞凋亡, 上调化疗后 DNA 损伤修复蛋白的表达水平, 增加化疗治疗的抵抗性, 导致患者不良预后。此外, NUCB2 还能够增强放射处理后 GBM8401 和 U87-MG 细胞中 DNA 修复蛋白如聚 ADP 核糖聚合酶 1 和 X 射线修复交叉互补蛋白 1 的表达, 促进非同源末端连接和同源重组修复过程, 增强癌细胞放射治疗中的 DNA 损伤修复能力^[14]。

ITGB3 也称 CD61 或 GP3A, 是整合素家族的重要成员, 其作为细胞表面的黏附受体, 参与肿瘤代谢的重编程、基质和免疫微环境的形成及维持肿瘤的干性等, 是新的肿瘤诊断及治疗靶点^[15]。本研究中, NPC 组织中 ITGB3 表达升高, 提示 ITGB3 参与 NPC 的肿瘤过程。肿瘤中 ITGB3 的表达受缺氧微环境的调控, 癌细胞的过度增殖导致肿瘤微环境处于缺血缺氧的状态, 引起癌细胞中缺氧诱导因子 1 α 的表达升高, 缺氧诱导因子 1 α 能够结合 ITGB3 基因的启动子区域, 在转录水平上调 ITGB3 的蛋白表达, ITGB3 能够激活黏着斑激酶/AKT 信号通路, 促进肿瘤上皮间充质转化及肿瘤血管生成, 促进肿瘤细胞的侵袭转移及血行转移^[16]。此外, ITGB3 mRNA 还受到微小 RNA 转录后水平的调控。有学者在结直肠癌中发现, 微小 RNA-124-3p 的表达下调能够增加 ITGB3 mRNA 的稳定性及表达, 促进癌细胞的恶性增殖^[17]。本研究中, 临床分期 III ~ IV 期 NPC 组织中 NUCB2 mRNA 明显升高, 提示 NUCB2 能够促进 NPC 的肿瘤进展。分析其机制, NPC 中血小板衍生的细胞外囊泡能够增加 NPC 细胞中 ITGB3 的蛋白稳定性, 激活细胞外调节信号激酶/活性转录因子 4/核因子 E2 相关因子 2 通路, 增加溶质载体家族 7 成员 11 的表达, 增强细胞内还原性谷胱甘肽水平, 抑制癌细胞铁死亡, 促进 NPC 细胞的转移^[18]。另有学者发现, 乳腺癌中能够与迁移侵袭抑制蛋白基因 MIIP 相互作用并促进其经泛素蛋白酶体途径进行 ITGB3 降解, 促进血管内皮生长因子 A 的表达, 并激活 β -连环蛋白及癌细胞上皮-间质转化的发生, 促进肿瘤血管生成、侵袭和转移^[19]。本研究证实, ITGB3 mRNA 的表达升高能够增加 NPC 患者不良预后的风险, 是新的评估 NPC 患者预后的肿瘤标志物。分析其原因, ITGB3 的表达能够增强癌细胞的顺铂耐药性, 降低患者辅助治疗的有效性, 导致患者不良预

后。研究表明, 骨肉瘤中 ITGB3 的表达能够激活丝裂原活化蛋白激酶和血管内皮生长因子信号通路, 增强癌细胞对顺铂的耐药性, 增加肿瘤复发风险, 导致患者不良预后^[20]。有学者报道, 在髓母细胞瘤中 ITGB3 高表达的患者对放疗的敏感性显著降低, 而在利用 ITGB3 的竞争性配体模拟物 Cilenitide 抑制 ITGB3 后, 癌细胞对放疗的敏感性明显增加, 是潜在的提高放疗敏感性的治疗靶点^[21]。

综上所述, NPC 中 NUCB2、ITGB3 mRNA 和蛋白表达均升高, 两者均与 TNM 分期有关, 在 NPC 肿瘤进展中均发挥促癌作用。NUCB2 mRNA 升高、ITGB3 mRNA 升高是影响 NPC 预后的危险因素, 为临床医生评估 NPC 患者的预后提供了新思路。本研究存在一定局限性, 由于是回顾性研究, 可能存在研究对象纳入的选择偏倚, 这些因素可能导致试验结果出现误差, 有待今后设计前瞻性多中心临床试验进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

徐菲: 提出研究方向、研究思路, 设计论文框架, 论文撰写; 黄庆艳: 分析试验数据, 论文审核; 周江会、黄佳露: 实施研究过程, 资料搜集整理; 翟亮: 文献调研与整理, 论文修改

参考文献

- [1] Bossi P, Chan AT, Licitra L, et al. Nasopharyngeal carcinoma: ESMO-EURACAN clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up (dagger) [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32 (4): 452-465. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.12.007.
- [2] 梁忠国, 朱小东. 鼻咽癌放疗技术与靶区的研究进展 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2021, 13 (3): 316-320. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2021.03.17.
- [3] 董青, 丁飞, 郭浩, 等. Nesfatin-1/NUCB2 在幽门螺杆菌感染相关早期胃癌患者中的表达及临床意义 [J/OL]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2023, 17 (7): 783-789. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2023.07.005.
- [4] Zhang D, Lin J, Chao Y, et al. Regulation of the adaptation to ER stress by KLF4 facilitates melanoma cell metastasis via upregulating NUCB2 expression [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37 (1): 176-183. DOI: 10.1186/s13046-018-0842-z.
- [5] 李睿慧, 董航, 王辰因, 等. 丹皮酚调控 ITGB3/p38MAPK 抑制乳腺癌细胞增殖侵袭与上皮-间质转化 [J]. *国际免疫学杂志*, 2024, 47 (1): 1-5. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2024.01.001.
- [6] Fuentes P, Sese M, Guijarro PJ, et al. ITGB3-mediated uptake of small extracellular vesicles facilitates intercellular communication in breast cancer cells [J]. *Nat Commun*, 2020, 11 (1): 4261-4272. DOI: 10.1038/s41467-020-18081-9.
- [7] Chang ET, Ye W, Zeng YX, et al. The evolving epidemiology of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2021, 30 (6): 1035-1047. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-20-1702.
- [8] 戴振兴, 陈楷, 王景芝, 等. 血清 SPARC 及 SERPIND1 与鼻咽癌

患者放疗敏感性及其预后的相关性[J]. 疑难病杂志, 2024, 23(6):669-674. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2024.06.006.

- [9] Zhou Q, Liu Y, Feng R, et al. NUCB2: Roles in physiology and pathology[J]. *J Physiol Biochem*, 2022, 78(3):603-617. DOI:10.1007/s13105-022-00895-4.
- [10] Cho JM, Moon KT, Lee HJ, et al. Nucleobindin 2 expression is an independent prognostic factor for bladder cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(13):19597-19606. DOI:10.1097/MD.00000000000019597.
- [11] Liang Y, Ma Y, Wang K, et al. NUCB-2/Nesfatin-1 promotes the proliferation of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2023, 23(1):181-192. DOI:10.1186/s12935-023-03038-x.
- [12] Qi Q, Sun Y, Yang Y, et al. Circ_0000274 contributes to renal cell carcinoma progression by regulating miR-338-3p/NUCB2 axis and JAK1/STAT3 pathway[J]. *Transpl Immunol*, 2022, 74(8):101626-101634. DOI:10.1016/j.trim.2022.101626.
- [13] Li M, Wang Y, Zhao Q, et al. MiR-30a-5p inhibits proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells by targeting NUCB2[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(8):1274-1285. DOI:10.1177/0960327121991913.
- [14] Lin IC, Chang CH, Chong YB, et al. Role of nucleobindin-2 in the clinical pathogenesis and treatment resistance of glioblastoma[J]. *Cells*, 2023, 12(19):2420-2431. DOI:10.3390/cells12192420.
- [15] 周仕轶, 尤耀东, 赵涛, 等. 扶正化痰解毒汤调控 ITGB3-Ras 轴对前列腺癌细胞生物学行为的影响[J]. 成都中医药大学学报, 2023, 46(2):29-38. DOI:10.13593/j.cnki.51-1501/r.2023.02.029.
- [16] Wang G, Yang Q, Li M, et al. Quantitative proteomic profiling of tumor-associated vascular endothelial cells in colorectal cancer[J]. *Biol Open*, 2019, 8(5):4838-4845. DOI:10.1242/bio.042838.
- [17] Wu Q, Zhong H, Jiao L, et al. MiR-124-3p inhibits the migration and invasion of Gastric cancer by targeting ITGB3[J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(1):1527-1532. DOI:10.1016/j.prp.2019.152762.
- [18] Li F, Xu T, Chen P, et al. Platelet-derived extracellular vesicles inhibit ferroptosis and promote distant metastasis of nasopharyngeal carcinoma by upregulating ITGB3[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(15):5858-5872. DOI:10.7150/ijbs.76162.
- [19] Gao Y, Fang Y, Huang Y, et al. MIP functions as a novel ligand for ITGB3 to inhibit angiogenesis and tumorigenesis of triple-negative breast cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(9):810-819. DOI:10.1038/s41419-022-05255-0.
- [20] Li Q, Chen G, Jiang H, et al. ITGB3 promotes cisplatin resistance in osteosarcoma tumors[J]. *Cancer Med*, 2023, 12(7):8452-8463. DOI:10.1002/cam4.5585.
- [21] Echavidre W, Durivault J, Gotorbe C, et al. Integrin- α v β 3 is a therapeutically targetable fundamental factor in medulloblastoma tumorigenicity and radioresistance[J]. *Cancer Res Commun*, 2023, 3(12):2483-2496. DOI:10.1158/2767-9764.CRC-23-0298.

(收稿日期:2024-07-21)

(上接 1372 页)

- [13] Wang G, Zhong WC, Bi YH, et al. The prognosis of peroxiredoxin family in breast cancer[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11(1):9685-9699. DOI:10.2147/CMAR.S229389.
- [14] Farahzadi R, Valipour B, Fathi E, et al. Oxidative stress regulation and related metabolic pathways in epithelial-mesenchymal transition of breast cancer stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1):342-349. DOI:10.1186/s13287-023-03571-6.
- [15] Zheng J, Guo X, Shioya A, et al. Peroxiredoxin 4 promotes embryonal hepatoblastoma cell migration but induces fetal cell differentiation[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(6):2726-2737.
- [16] Huang CY, Lee KC, Tung SY, et al. 2D-DIGE-MS proteomics approaches for identification of gelsolin and peroxiredoxin 4 with lymph node metastasis in colorectal cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(13):3189-3195. DOI:10.3390/cancers14133189.
- [17] Liang D, Gao Q, Meng Z, et al. Glycosylation in breast cancer progression and mammary development: Molecular connections and malignant transformations[J]. *Life Sci*, 2023, 326(1):1-10. DOI:10.1016/j.lfs.2023.121781.
- [18] Wu Z, Su R, Dai Y, et al. Deep pan-cancer analysis and multi-omics evidence reveal that ALG3 inhibits CD8⁺ T cell infiltration by suppressing chemokine secretion and is associated with 5-fluorouracil sensitivity[J]. *Comput Biol Med*, 2024, 177(1):1-8. DOI:10.1016/j.combiomed.2024.108666.
- [19] 邢现菲, 李瑞华, 韩亚娟, 等. ALG3 通过 JAK/STAT 通路促进三阴性乳腺癌增殖, 侵袭和迁移[J]. 山西医科大学学报, 2023, 54(5):580-588. DOI:10.13753/j.issn.1007-6611.2023.05.003.
- [20] Sun X, He Z, Guo L, et al. ALG3 contributes to stemness and radioresistance through regulating glycosylation of TGF- β receptor II in breast cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1):149-154. DOI:10.1186/s13046-021-01932-8.
- [21] Luo B, Liu X, Zhang Q, et al. ALG3 predicts poor prognosis and increases resistance to anti-PD-1 therapy through modulating PD-L1 N-link glycosylation in TNBC[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 140(1):1-12. DOI:10.1016/j.intimp.2024.112875.

(收稿日期:2024-07-19)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 11. 019

论著 · 基础

青藤碱调节 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路对 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬和凋亡的影响

胡宏志, 汪能, 李娟, 李冰, 姚金龙



基金项目: 湖南省自然科学基金省市联合项目(2022JJ50049)

作者单位: 410005 长沙, 湖南中医药大学第二附属医院骨伤四科

通信作者: 李娟, E-mail: 289845646@qq.com

【摘要】 目的 探讨青藤碱(SN)调节单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/UNC-51 样激酶 1(ULK1)信号通路对白介素-1 β (IL-1 β)诱导的关节软骨细胞自噬和凋亡的影响。方法 将关节软骨细胞分为 Control 组(正常培养)、IL-1 β 组(10 μ g/L 的 IL-1 β 诱导 12 h)、L-SN、M-SN、H-SN 组(在 IL-1 β 诱导的基础上添加 25、50、100 μ mol/L 的 SN)、SN + Compound C 组(在 H-SN 组的基础上添加 10 μ mol/L AMPK 抑制剂 Compound C)。MTT 法、透射电子显微镜(TEM)、流式细胞仪分别检测 SN 对各组关节软骨细胞增殖、自噬、凋亡的影响;ELISA 试剂盒检测各组细胞中 COX-2、TNF- α 、MMP-3、MMP-13 的表达;蛋白印迹实验(WB)检测各组细胞中 p-AMPK、AMPK、p-mTOR、mTOR、p-ULK1、ULK1 蛋白水平。结果 与 Control 组比较,IL-1 β 组关节软骨细胞的 A₄₉₀ 值、p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 蛋白水平降低,自噬空泡数、凋亡率、COX-2、TNF- α 、MMP-3、MMP-13、p-mTOR/mTOR 蛋白水平升高($P < 0.05$);与 IL-1 β 组比较,L-SN 组、M-SN 组、H-SN 组 A₄₉₀ 值、自噬空泡数、p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 蛋白水平升高,凋亡率、COX-2、TNF- α 、MMP-3、MMP-13、p-mTOR/mTOR 蛋白水平降低($P < 0.05$);与 H-SN 组比较,SN + Compound C 组 A₄₉₀ 值、自噬空泡数、p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 蛋白水平降低,凋亡率、COX-2、TNF- α 、MMP-3、MMP-13、p-mTOR/mTOR 蛋白水平升高($P < 0.05$)。结论 SN 可以通过促进 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬,抑制细胞凋亡,其机制可能是通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路实现的。

【关键词】 骨关节炎;青藤碱;单磷酸腺苷活化蛋白激酶;雷帕霉素靶蛋白;UNC-51 样激酶 1;白介素-1 β ;关节软骨细胞;自噬;凋亡

【中图分类号】 R684.3

【文献标识码】 A

Impacts of sinomenine on autophagy and apoptosis in articular chondrocytes induced by IL-1 β by regulating AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway Hu Hongzhi, Wang Neng, Li Juan, Li Bing, Yao Jinlong. Department of Orthopedics and Trauma, Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Hunan Province, Changsha 410005, China

Funding program: Hunan Province Natural Science Foundation Joint Project(2022JJ50049)

Corresponding author: Li Juan, E-mail: 289845646@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the impacts of sinomenine (SN) on interleukin-1 β (IL-1 β) induced autophagy and apoptosis in articular chondrocytes by regulating the adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR)/UNC-51-like kinase 1 (ULK1) signaling pathway. **Methods** Joint chondrocytes were grouped into control group (normal culture), IL-1 β group (induced with 10 ng/mL IL-1 β for 12 hours), L-SN, M-SN, H-SN groups (adding SNs of 25, 50, and 100 μ M on the basis of IL-1 β induction), and SN + Compound C group (adding 10 μ mol/L AMPK inhibitor Compound C on the basis of the H-SN group). MTT assay, transmission electron microscopy (TEM), and flow cytometry were used to detect the effects of SN on proliferation, autophagy, and apoptosis of articular chondrocytes in each group. ELISA kit was applied to detect the expression of COX-2, TNF- α , MMP-3, and MMP-13 of cells in various groups. Western blotting (WB) was applied to detect the protein expression of p-AMPK, AMPK, p-mTOR, mTOR, p-ULK1, and ULK1 in the cells of each group. **Results** Compared with the Control group, the A490 values of articular chondrocytes, the expression of p-AMPK/AMPK and p-ULK1/ULK1 proteins in the IL-1 β group were decreased, the autophagy vacuole count, apoptosis rate, the expression of COX-2, TNF- α , MMP-3, MMP-13, and p-mTOR/mTOR proteins were in-

creased ($P < 0.05$). Compared with IL-1 β group, the A490 value, number of autophagic vacuoles, the expression of p-AMPK/AMPK and p-ULK1/ULK1 proteins in the L-SN group, M-SN group, and H-SN group were increased, the apoptosis rate, the expression of COX-2, TNF- α , MMP-3, MMP-13, and p-mTOR/mTOR proteins were decreased ($P < 0.05$). Compared with H-SN group, the A490 value, number of autophagic vacuoles, the expression of p-AMPK/AMPK and p-ULK1/ULK1 proteins in the SN + Compound C group were decreased, the apoptosis rate, the expression of COX-2, TNF- α , MMP-3, MMP-13, and p-mTOR/mTOR proteins were increased ($P < 0.05$). **Conclusion** SN can promote IL-1 β induced autophagy in articular chondrocytes and inhibit cell apoptosis, which may be achieved by activating the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway.

【Key words】 Joint chondrocytes; Sinomenine; Adenosine monophosphate activated protein kinase; Mammalian target of rapamycin; UNC-51 like kinase 1; Interleukin-1 β ; Articular chondrocyte; Autophagy; Apoptosis

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种高发病率和致残性的退行性关节疾病,其特征是持续的软骨退化、软骨下硬化和滑膜炎,OA 对功能障碍和残疾有显著影响,80% 的患者有行动限制,25% 的患者有主要日常生活困难^[1]。软骨细胞是软骨中唯一的细胞类型,在维持正常的生理功能和软骨形态方面起着重要作用,自噬是一种自我降解过程,是软骨退变和细胞凋亡的重要保护机制^[2]。炎症细胞因子如白介素-1 β (IL-1 β) 可抑制自噬,促进细胞凋亡并导致 OA 患者软骨变性^[3]。目前,OA 的有效治疗仅限于疼痛管理,这些治疗并不能逆转关节软骨功能的丧失^[4]。因此,迫切需要探索 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬和凋亡的分子机制,以寻找新的治疗靶点,开发药物以提高 OA 患者的治疗效能。青藤碱 (sinomenine, SN) 是青藤的主要成分,临床可有效治疗 OA 等疾病,具有毒性较低、不良反应较少的特点^[5]。单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 是能量代谢、细胞生长和自噬的重要调节因子;雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 是一种进化上保守的蛋白激酶,通过磷酸化激活在自噬激活过程中起关键的负调控作用;UNC-51 样激酶 1 (ULK1) 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,对自噬启动起关键作用^[6]。相关研究显示,AMPK 通过直接磷酸化和激活 ULK1 来促进自噬,而 mTOR 通过抑制 ULK1 激活来抑制自噬;炎症因子可降低 AMPK、ULK1 的磷酸化,导致 mTOR 活化抑制减弱,从而阻止自噬,进而导致炎症反应进一步加剧^[7]。然而,目前 SN 调节 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路对 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬和凋亡的影响尚不清晰。本实验对其进行研究,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 (1) 材料:关节软骨细胞(上海冠导生物工程有限公司,货号 GD-C60208263);SN(上海岑特生物科技有限公司,货号 QY-EG478);Compound C(北京德航五洲科技有限公司,货号 UE171260);MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,货号 GK3605);Annexin

V-FITC/PI 双染法细胞凋亡检测试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司,货号 HQF02-KVA);环加氧酶 2 (COX-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、基质金属蛋白酶 (MMP)-3、MMP-13 ELISA 试剂盒、BCA 蛋白测定试剂盒、ECL 免疫印迹底物试剂盒(上海康朗生物科技有限公司,货号 KL-E10956、KL-E10134、KL-E2385HU、KL-E11126、KL-D5420、KL-X123);GAPDH、p-AMPK、AMPK、p-mTOR、mTOR、p-ULK1、ULK1、HRP(英国 Abcam 公司,货号 ab226408、ab92701、ab32382、ab137133、ab2732、ab229909、ab240916、ab97023)。(2) 仪器:透射电子显微镜(广州东锐科技有限公司,型号 HT7800);流式细胞仪(广州进科驰安科技有限公司,型号 Apogee A50);酶标仪(上海臻诺生物科技有限公司,型号 Lab-Cope 220V K3 COPE)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组:将关节软骨细胞分为 Control 组(正常培养)、IL-1 β 组(参考文献[8]用 10 $\mu\text{g/L}$ 的 IL-1 β 诱导 12 h)、低、中、高剂量 SN (L-SN、M-SN、H-SN) 组(参考文献[9]在 IL-1 β 诱导的基础上添加 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 SN)、SN + Compound C 组(参考文献[10]在 H-SN 组的基础上添加 10 $\mu\text{mol/L}$ AMPK 抑制剂 Compound C)。每组实验重复 3 次,每次 2 个平行。

1.2.2 MTT 法检测关节软骨细胞增殖:将关节软骨细胞以 6×10^3 /孔的密度置于 6 孔板中,按照 1.2.1 的分组处理后,用 20 ml 0.5% MTT 溶液孵育 4 h 去除上清,加入 DMSO 150 μl ,使结晶物充分溶解,使用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度 (A_{490} 值)。

1.2.3 透射电子显微镜检测关节软骨细胞自噬:处理后收获的关节软骨细胞固定在 2.5% 戊二醛磷酸盐缓冲液中,2 h 后用 PBS 冲洗后,样品在 1% 四氧化锇中固定 1 h,用水冲洗,用梯度乙醇脱水,用环氧丙烷置换,在 Epon812 中保存过夜,样品包埋在 Epon812 中,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中固化,用 Reichert Ultracut E 切片机获得 50 ~ 70 nm 超薄切片。切片用醋酸铀和柠檬酸铅双染色,用透射电子显微镜观察。

1.2.4 流式细胞术检测关节软骨细胞凋亡:对数期的关节软骨细胞接种至 6 孔板,按照 1.2.1 分组进行处理,然后胰酶消化,细胞收集于离心管中。将收集的细胞和培养基混匀,4℃ 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 洗涤后用 1 × Binding Buffer 重悬调整密度为 5 × 10⁵ 个/ml,取 1 × 10⁵ 个细胞悬液于流式管中,加入 FITC 和 PI 在室温黑暗条件下孵育 30 min,再次用 PBS 洗涤细胞,并立即使用流式细胞仪检测,计算凋亡率。

1.2.5 ELISA 检测关节软骨细胞中 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 的表达:关节软骨细胞经 1.2.1 分组处理后,收集细胞,按照 ELISA 试剂盒配置反应体系,在 450 nm 处测定吸光度,以不同比例稀释的 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 标准品的吸光度绘制标准曲线,计算关节软骨细胞中 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 的水平。

1.2.6 蛋白印迹实验(WB)检测关节软骨细胞中 p-AMPK、AMPK、p-mTOR、mTOR、p-ULK1、ULK1 蛋白水平:收集关节软骨细胞并于 RIPA 裂解缓冲液中裂解,采用 BCA 蛋白测定试剂盒测定最终蛋白浓度,蛋白加热变性后,每个样品中 40 μg 的总蛋白用 12% SDS-PAGE 分离,并转移到 PVDF 膜上,用 5% 脱脂牛奶在 TBST 中阻断 2 h,然后用一抗 p-AMPK (1:1 000)、AMPK (1:1 000)、p-mTOR (1:1 000)、mTOR (1:2 000)、p-ULK1 (1:1 000)、ULK1 (1:1 000) 在 4℃ 下检测过夜,以 GAPDH (1:1 000) 作为内参,用 TBST 洗涤 3 次后,使用相应的酶标二抗(1:2 000)在室温下孵育 1 h,使用 ECL 免疫印迹底物试剂盒可视化免疫反应条带,在 Image J 软件上进行分析。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析。不同组别间关节软骨细胞的 A₄₉₀ 值、自噬空泡数、p-ULK1/ULK1 蛋白水平等计量资料,符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较行 SNK-*q* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组关节软骨细胞增殖比较 与 Control 组比较,IL-1β 组关节软骨细胞的 A₄₉₀ 值显著降低 (*P* < 0.05);与 IL-1β 组比较,L-SN 组、M-SN 组、H-SN 组 A₄₉₀ 值均增高 (*P* < 0.05);与 H-SN 组比较,SN + Compound C 组 A₄₉₀ 值降低 (*P* < 0.05),见表 1。

2.2 各组关节软骨细胞自噬比较 与 Control 组比较,IL-1β 组关节软骨细胞的自噬空泡数增高 (*P* < 0.05);与 IL-1β 组比较,L-SN 组、M-SN 组、H-SN 组自噬空泡数增高 (*P* < 0.05);与 H-SN 组比较,SN + Compound C 组自噬空泡数降低 (*P* < 0.05),见图 1、表 1。

2.3 各组关节软骨细胞凋亡比较 与 Control 组比较,IL-1β 组关节软骨细胞的凋亡率增高 (*P* < 0.05);与 IL-1β 组比较,L-SN 组、M-SN 组、H-SN 组凋亡率降低 (*P* < 0.05);与 H-SN 组比较,SN + Compound C 组凋亡率增高 (*P* < 0.05),见图 2、表 1。

2.4 各组关节软骨细胞中 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 表达比较 与 Control 组比较,IL-1β 组关节软骨细胞 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 表达增高 (*P* < 0.05);与 IL-1β 组比较,L-SN 组、M-SN 组、H-SN 组 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 表达降低 (*P* < 0.05);与 H-SN 组比较,SN + Compound C 组 COX-2、TNF-α、MMP-3、MMP-13 表达增高 (*P* < 0.05),见表 2。

2.5 各组关节软骨细胞 p-AMPK/AMPK、p-mTOR/mTOR、p-ULK1/ULK1 蛋白水平比较 与 Control 组比较,IL-1β 组关节软骨细胞中 p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 蛋白水平降低,p-mTOR/mTOR 水平增高 (*P* < 0.05);与 IL-1β 组比较,L-SN 组、M-SN 组、H-SN 组中 p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 蛋白水平增高,p-mTOR/mTOR 水平降低 (*P* < 0.05);与 H-SN 组比较,SN + Compound C 组 p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 蛋白水平降低,p-mTOR/mTOR 水平增高 (*P* < 0.05),见图 3、表 3。

表 1 SN 对各组关节软骨细胞增殖、自噬及凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effects of SN on proliferation, autophagy, and apoptosis of articular chondrocytes in various groups

组别	<i>n</i>	A ₄₉₀ 值	自噬空泡数(个)	凋亡率(%)
Control 组	6	0.98 ± 0.14	1.23 ± 0.39	2.34 ± 0.73
IL-1β 组	6	0.33 ± 0.09 ^a	6.34 ± 1.25 ^a	44.58 ± 4.84 ^a
L-SN 组	6	0.52 ± 0.11 ^b	13.51 ± 2.42 ^b	30.47 ± 3.59 ^b
M-SN 组	6	0.71 ± 0.12 ^{bc}	25.44 ± 3.46 ^{bc}	21.51 ± 2.48 ^{bc}
H-SN 组	6	0.93 ± 0.13 ^{bcd}	37.52 ± 4.03 ^{bcd}	9.82 ± 1.32 ^{bcd}
SN + Compound C 组	6	0.48 ± 0.10 ^e	9.47 ± 2.34 ^e	39.77 ± 4.15 ^e
<i>F/P</i> 值		30.068/ <0.001	159.063/ <0.001	161.188/ <0.001

注:与 Control 组比较,^a*P* < 0.05;与 IL-1β 组比较,^b*P* < 0.05;与 L-SN 组比较,^c*P* < 0.05;与 M-SN 组比较,^d*P* < 0.05;与 H-SN 组比较,^e*P* < 0.05。

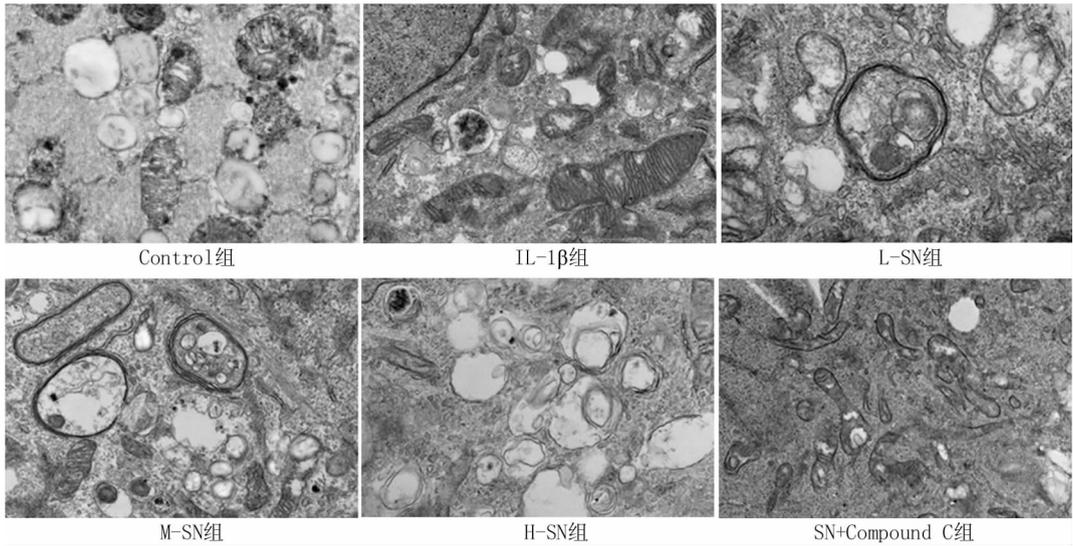


图 1 各组关节软骨细胞自噬情况比较(×10 000)

Fig. 1 Comparison of autophagy status of joint cartilage cells in various groups (× 10000)

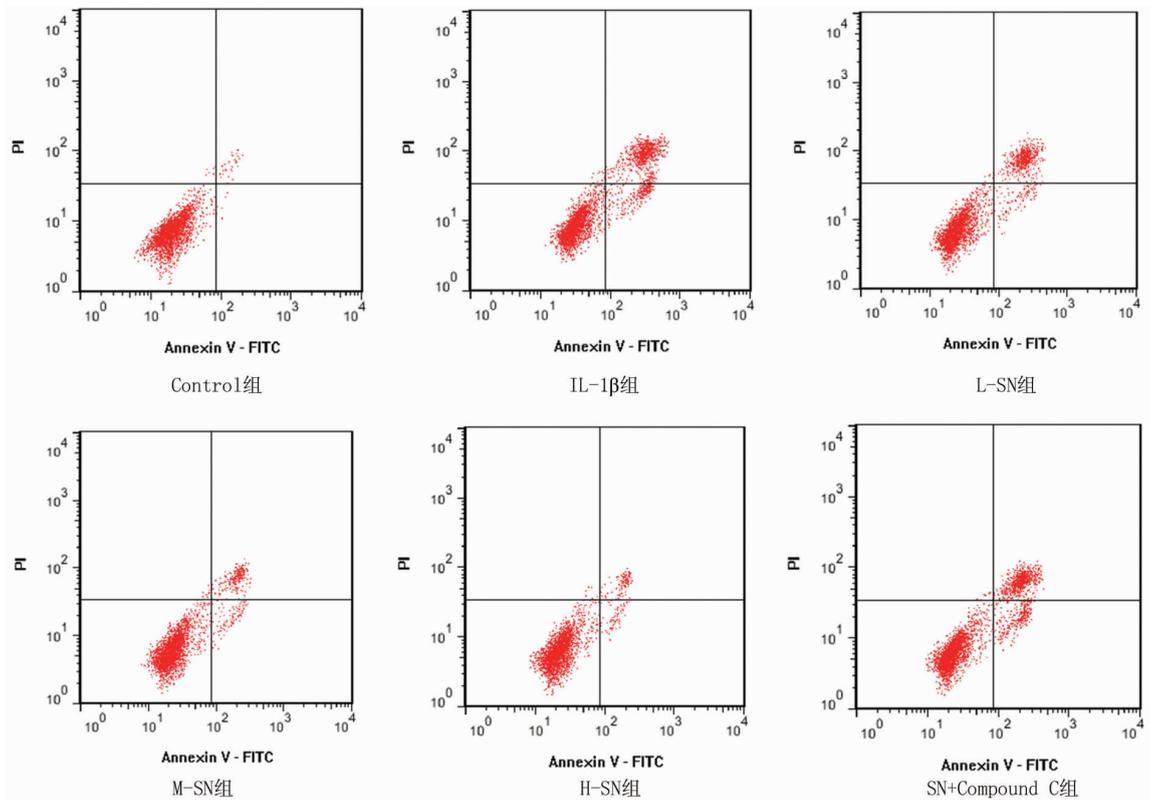


图 2 各组关节软骨细胞凋亡情况比较

Fig. 2 Comparison of apoptosis of articular cartilage cells in various groups

3 讨论

OA 是一种异质性疾病,与性别、年龄、肥胖、遗传有关,影响全球约 2.4 亿人,发病率和病死率呈上升的趋势,给社会造成巨大的经济负担^[11]。OA 的主要临

床症状包括慢性疼痛、关节不稳定、僵硬、关节畸形/影像学关节间隙狭窄,常用的治疗方法有低强度有氧运动、减肥、针灸、药物治疗、手术等,然而,大多数治疗只能减轻关节的疼痛和僵硬程度,治疗效果仍然不明

表 2 SN 对各组关节软骨细胞 COX-2、TNF- α 、MMP-3、MMP-13 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effects of SN on the expression of COX-2, TNF- α , MMP-3, and MMP-13 in joint cartilage cells of various groups

组别	n	COX-2 ($\mu\text{g/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	MMP-3 (ng/L)	MMP-13 (ng/L)
Control 组	6	5.34 \pm 1.26	28.44 \pm 4.28	17.52 \pm 5.83	43.69 \pm 5.32
IL-1 β 组	6	51.42 \pm 6.34 ^a	97.58 \pm 10.22 ^a	76.54 \pm 9.36 ^a	112.57 \pm 11.63 ^a
L-SN 组	6	34.51 \pm 4.82 ^b	72.21 \pm 7.87 ^b	55.48 \pm 8.44 ^b	90.46 \pm 9.47 ^b
M-SN 组	6	23.26 \pm 3.71 ^{bc}	53.26 \pm 6.34 ^{bc}	37.81 \pm 7.15 ^{bc}	70.52 \pm 7.94 ^{bc}
H-SN 组	6	11.74 \pm 2.85 ^{bed}	35.72 \pm 5.25 ^{bed}	20.55 \pm 6.42 ^{bed}	51.43 \pm 6.48 ^{bed}
SN + Compound C 组	6	47.86 \pm 5.03 ^e	80.65 \pm 8.61 ^e	64.76 \pm 9.02 ^e	103.77 \pm 10.58 ^e
F/P 值		114.181/ <0.001	79.551/ <0.001	56.938/ <0.001	60.487/ <0.001

注:与 Control 组比较,^a*P* < 0.05;与 IL-1 β 组比较,^b*P* < 0.05;与 L-SN 组比较,^c*P* < 0.05;与 M-SN 组比较,^d*P* < 0.05;与 H-SN 组比较,^e*P* < 0.05。

表 3 SN 对各组关节软骨细胞中 p-AMPK/AMPK、p-mTOR/mTOR、p-ULK1/ULK1 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effects of SN on the protein levels of p-AMPK/AMPK, p-mTOR/mTOR, and p-ULK1/ULK1 in various groups of articular chondrocytes

组别	n	p-AMPK/AMPK	p-mTOR/mTOR	p-ULK1/ULK1
Control 组	6	1.08 \pm 0.12	0.27 \pm 0.06	1.32 \pm 0.14
IL-1 β 组	6	0.32 \pm 0.07 ^a	1.14 \pm 0.12 ^a	0.52 \pm 0.09 ^a
L-SN 组	6	0.56 \pm 0.09 ^b	0.87 \pm 0.09 ^b	0.77 \pm 0.11 ^b
M-SN 组	6	0.79 \pm 0.10 ^{bc}	0.56 \pm 0.08 ^{bc}	0.96 \pm 0.12 ^{bc}
H-SN 组	6	1.03 \pm 0.11 ^{bed}	0.35 \pm 0.07 ^{bed}	1.21 \pm 0.13 ^{bed}
SN + Compound C 组	6	0.47 \pm 0.08 ^e	0.96 \pm 0.10 ^e	0.64 \pm 0.10 ^e
F/P 值		61.552/ <0.001	93.673/ <0.001	44.828/ <0.001

注:与 Control 组比较,^a*P* < 0.05;与 IL-1 β 组比较,^b*P* < 0.05;与 L-SN 组比较,^c*P* < 0.05;与 M-SN 组比较,^d*P* < 0.05;与 H-SN 组比较,^e*P* < 0.05。

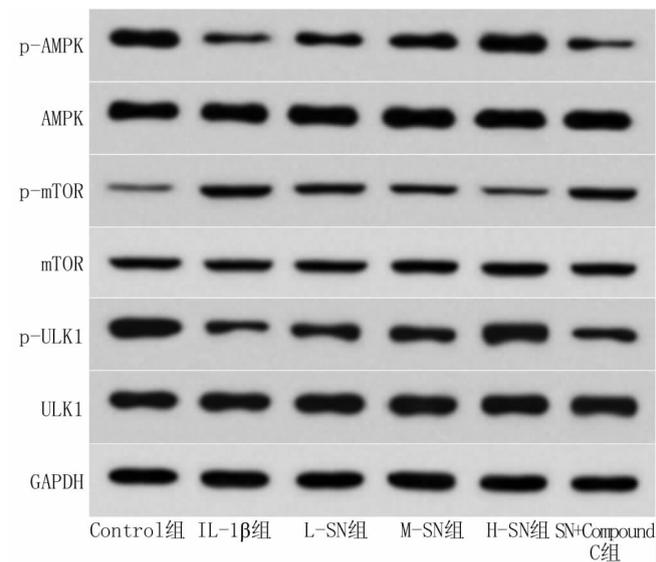


图 3 WB 检测各组关节软骨细胞中 p-AMPK/AMPK、p-mTOR/mTOR、p-ULK1/ULK1 蛋白水平比较

Fig. 3 Comparison of p-AMPK/AMPK, p-mTOR/mTOR, and p-ULK1/ULK1 protein levels in articular chondrocytes of different groups detected by WB

显^[12]。OA 发病机制主要与炎性反应、自噬、衰老、软骨细胞凋亡、代谢紊乱有关,其中,炎性通路激活、炎性细胞增多、细胞因子等炎性反应危险因素在 OA 发病

和进展的病理生理调控中起着至关重要的作用,此外,炎性反应与软骨细胞代谢紊乱、细胞自噬和凋亡密切相关^[13]。在 OA 的发病和进展中最重要的促炎细胞因子是 IL-1 β ,其可通过诱导炎性损伤(COX-2、TNF- α),上调基质金属蛋白酶(MMP-3、MMP-13)的表达,导致细胞外基质降解,促进细胞自噬和凋亡^[14]。因此,探讨 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬和凋亡的作用机制,有助于改善骨性关节炎,然而,针对 OA 的有效治疗及药物作用机制还需要进一步阐明。本研究采用 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞结果发现,细胞增殖能力下降,自噬增加,COX-2、TNF- α 炎性因子表达增加,MMP-3、MMP-13 基质金属蛋白酶表达增加,提示 IL-1 β 通过炎性反应、细胞外基质降解等过程,促进关节软骨细胞的自噬和凋亡,进而导致 OA 疾病的进展。

SN 是从中药中提取的单体生物碱,具有抗肿瘤、抗炎、镇痛、免疫调节、神经保护、心脏保护等广泛的生物活性作用,可用于治疗风湿性关节炎、OA、肿瘤等疾病,此外还在心脑血管等器官保护中发挥着重要作用^[15]。Lei 等^[16]发现,SN 可显著提高 OA 大鼠模型的体质量,减轻心脏重量,显著降低炎性因子水平,以及缓解氧化应激,是治疗 OA 疾病的有益活性剂。Dong 等^[17]发现,在 OA 小鼠和 IL-1 β 刺激的软骨细胞中,SN 治疗下调炎性细胞因子水平和 NLRP3 炎性小体成

分的蛋白表达,上调 miR-223-3p 的表达,进而抑制软骨细胞的凋亡,改善了关节软骨退化,可以作为治疗 OA 的潜在靶点。Wu 等^[18]发现,SN 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路,抑制 NF- κ B 信号通路,抑制 IL-1 β 诱导的炎症反应和软骨破坏。本研究发现 SN 以浓度依赖的方式,促进 IL-1 β 诱导的细胞增殖和自噬,抑制细胞凋亡,抑制 COX-2、TNF- α 、MMP-3、MMP-13 蛋白的表达,提示 SN 可能通过抑制炎症反应、细胞外基质降解,促进关节软骨细胞的活性,进而抑制 OA 的发生、发展,SN 可作为 OA 的潜在治疗新药物。

AMPK/mTOR/ULK1 信号通路是一个公认的自噬调节因子,AMPK 可以通过直接激活 ULK1 或抑制 mTOR 间接磷酸化 ULK1 来增强自噬,在多种疾病中发挥重要作用。Zhang 等^[19]发现,连翘苷 A 通过 AMPK/mTOR/ULK1 缓解 LPS 诱导的牛乳腺上皮细胞炎症反应和氧化应激,调控自噬,抑制细胞凋亡。Huang 等^[20]发现,片仔癀在体外通过 AMPK/mTOR/ULK1 通路调节关键自噬蛋白,增强自噬反应,抑制 NLRP3 炎症小体介导的神经炎症反应;在大鼠中,片仔癀可通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 显著降低梗死面积,抑制小胶质细胞激活,改善神经元缺陷,对缺血性脑卒中具有良好的治疗效果。Zhang 等^[21]发现,敲除 BRD4 通过 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路激活自噬,在细胞水平上可抑制 IL-1 β 诱导的髓核细胞的衰老和凋亡,在体内减弱了椎间盘退行性变。Wang 等^[22]发现,清化浊健脾方可通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路,促进自噬,减少炎症反应,缓解急性痛风性关节炎。本研究发现,IL-1 β 处理导致 p-AMPK/AMPK、p-ULK1/ULK1 表达降低,p-mTOR/mTOR 表达升高,而药物 SN 则可以上调 AMPK、ULK1 的磷酸化,抑制 mTOR 的磷酸化,而 AMPK 抑制剂则可以逆转 SN 对关节软骨细胞增殖、自噬、凋亡以及 AMPK/mTOR/ULK1 通路蛋白水平的影响,提示 SN 通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路促进 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬,抑制细胞凋亡,进而抑制 OA 的进展。

综上所述,SN 可以通过促进 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞自噬,抑制细胞凋亡,其机制可能是通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路实现的。然而,本研究局限于 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路且未进行体内实验,后续会重新设计实验,深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

胡宏志:实验方案实施,论文撰写;汪能、姚金龙:数据统计,论文修改;李娟:实验设计,数据统计;李冰:实验方案实施,

数据整理

参考文献

- [1] Li Z, Cheng J, Liu J. Baicalin protects human OA chondrocytes against IL-1 β -induced apoptosis and ECM degradation by activating autophagy via MiR-766-3p/AIFM1 axis[J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14(5): 2645-2655. DOI: 10. 2147/DDDT. S255823.
- [2] Lu J, Bian J, Wang Y, et al. Oxymatrine protects articular chondrocytes from IL-1 β -induced damage through autophagy activation via AKT/mTOR signaling pathway inhibition[J]. J Orthop Surg Res, 2024, 19(1): 178-189. DOI: 10. 1186/s13018-024-04667-2.
- [3] Wan J, Zhu Z, He Z, et al. Stevioside protects primary articular chondrocytes against IL-1 β -induced inflammation and catabolism by targeting integrin [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 119(1): 110261-110272. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2023. 110261.
- [4] Zhou X, Li J, Zhou Y, et al. Down-regulated ciRS-7/up-regulated miR-7 axis aggravated cartilage degradation and autophagy defection by PI3K/AKT/mTOR activation mediated by IL-17A in osteoarthritis [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(20): 20163-20183. DOI: 10. 18632/aging. 103731.
- [5] Huang Z, Mao X, Chen J, et al. The efficacy and safety of zhengqing fengtongning for knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 1(1): 2768444. DOI: 10. 1155/2022/2768444.
- [6] Lin M, Hua R, Ma J, et al. Bisphenol A promotes autophagy in ovarian granulosa cells by inducing AMPK/mTOR/ULK1 signalling pathway [J]. Environ Int, 2021, 147(1): 106298. DOI: 10. 1016/j. envint. 2020. 106298.
- [7] Xiao J, Shen X, Kou R, et al. Kirenol inhibits inflammation challenged by lipopolysaccharide through the AMPK-mTOR-ULK1 autophagy pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 116(1): 109734-109744. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2023. 109734.
- [8] 刘元豪,邢忠,许环顺,等. 重楼皂苷 VII 对 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞凋亡和分泌炎症介质的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(3): 330-335. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-7108. 2023. 03. 005.
- [9] Qi W, Gu Y, Wang Z, et al. Sinomenine inhibited interleukin-1 β -induced matrix metalloproteinases levels via SOCS3 up-regulation in SW1353 cells [J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(11): 1643-1652. DOI: 10. 1248/bpb. b20-00270.
- [10] 段沛言,刘艺,林心怡,等. 细胞外基质硬度通过 AMPK 调控干细胞线粒体的形态异质性 [J]. 四川大学学报:医学版, 2024, 55(1): 47-52. DOI: 10. 12182/20240160504.
- [11] Lin Z, Miao J, Zhang T, et al. JUNB-FBXO21-ERK axis promotes cartilage degeneration in osteoarthritis by inhibiting autophagy [J]. Aging Cell, 2021, 20(2): 13306-13320. DOI: 10. 1111/accel. 13306.
- [12] Chen W, Zheng H, Zhang X, et al. Columbianetin alleviates lipopolysaccharides (LPS)-induced inflammation and apoptosis in chondrocyte through activation of autophagy by inhibiting serum and glucocorticoid-induced protein kinase 1 (SGK1) expression [J]. Bioengineered, 2022, 13(2): 4051-4062. DOI: 10. 1080/21655979. 2022. 2032970.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 11. 020

综述

药物涂层球囊在直接经皮冠状动脉介入治疗中的临床应用研究进展

冯欧花综述 刘惠良, 张飞飞 审核



基金项目: 河北省重点研发计划项目(18277791D); 河北省“三三三”人才工程项目(C20231063)

作者单位: 050300 石家庄, 井陘县医院心内科(冯欧花); 050051 石家庄, 河北省人民医院心血管内科(刘惠良、张飞飞)

通信作者: 张飞飞, E-mail: zhangfeifei06@163.com

【摘要】 药物洗脱支架(DES)植入是目前国内外指南推荐直接经皮冠状动脉介入治疗(PPCI)首选策略。DES 植入损害血管自主舒缩且伴随支架血栓形成和支架内再狭窄风险,促使“介入无植入理念”提出。药物涂层球囊(DCB)通过与血管内皮接触可将药物均匀释放于血管内膜,有效抑制血管内膜过度增生,达到改善心肌血流灌注目的,实现介入无植入。目前少量研究报道了 DCB 在直接经皮冠状动脉介入治疗中的临床疗效,文章就相关临床研究进展做一综述。

【关键词】 经皮冠状动脉介入治疗; 药物涂层球囊; 药物洗脱支架

【中图分类号】 R543.3⁺¹ **【文献标识码】** A

Clinical research progress of drug coated balloon in primary percutaneous coronary intervention Feng Ouhua^{*}, Liu HuiLiang, Zhang Feifei. ^{*} Department of Cardiology, Jingxing County Hospital, Jingxing County, Hebei Province, Shijiazhuang 050300, China

Funding program: S&T program of Hebei (18277791D); Hebei Province "three three three" talent project (C20231063)

Corresponding author: Zhang Feifei, E-mail: zhangfeifei06@163.com

【Abstract】 Drug eluting stent (DES) are widely recommended for primary percutaneous coronary intervention (PCI). However, DES implantation can affect vascular autoregulatory function and is linked to risks of stent thrombosis and in-stent restenosis. This has led to the proposal of the "no implant intervention" concept. Drug coated balloon (DCB) release medication uniformly upon contact with the vascular endothelium, effectively inhibiting excessive intimal hyperplasia and improving myocardial perfusion without the need for permanent implants. While limited studies have reported on the clinical efficacy of DCB in Primary PCI (PPCI), this article provides a review of the relevant clinical research progress.

【Key words】 Percutaneous coronary intervention; Drug coated balloon; Drug eluting stent

直接经皮冠状动脉介入治疗(primary percutaneous coronary intervention, PPCI)可有效恢复急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)缺血心肌灌注,降低病死率,改善患者预后。药物洗脱支架(drug eluted stent, DES)植入是目前国内外指南推荐直接经皮冠状动脉介入治疗首选策略。相较于普通球囊扩张形成、裸金属支架(bare metal stent, BMS),DES 可有效处理血管夹层、急性期血管弹性回缩,降低再狭窄风险^[1]。DES 植入后遗留永久植入物,损害血管自主舒缩,且支架相关并发症如支架血栓形成和支架内再狭窄依然存在,研究显示每植入 1 枚支架,患者远期主要不良心血管事件(major adverse cardiac event, MACE)风险增加 5%,因此促使了“介入无植入理念”提出^[2]。药物涂层球囊(drug coated balloon, DCB)通过与血管内皮短暂接触可将球囊表面药物均匀释放于血管内膜,有效抑制血管内膜过度增生,避免金属残留,达到改善心肌血

流灌注目的。临床研究充分验证了其对于支架内再狭窄、小血管病变及高出血风险人群应用的安全性及有效性^[3]。直接经皮冠状动脉介入治疗术中靶病变血栓负荷、血管直径、复杂程度、内膜愈合等特点影响了 DES、DCB 临床疗效^[4,5],目前少量研究报道了 DCB 对比 DES 在 PPCI 中的临床疗效,本文就相关进展做一综述。

1 DCB 技术概述

1997 年 Axel 等^[6]通过基础研究首次报道了紫杉醇可抑制血管平滑肌细胞的迁移和增殖。2003 年 Scheller 等^[7]证实了在猪冠状动脉应用紫杉醇及碘普罗胺混合物可发挥抑制支架内再狭窄作用,并首次报道了应用紫杉醇 DCB 预防支架内再狭窄。2006 年发表了第一项 DCB 临床研究显示,相较于普通球囊扩张,DCB 可减少晚期管腔丢失,降低主要不良心血管事件发生风险^[8]。随后相继开展了 DCB 多项临床研究,DCB 的适应证

由造影显示支架内再狭窄、小血管、分叉病变、原位大血管病变、慢性闭塞病变延伸至高出出血风险、糖尿病、急性冠状动脉综合征患者^[9]。

DCB 由半顺应性球囊、抗细胞增殖药物和药物载体三部分组成。抗细胞增殖药物目前主要包括紫杉醇和西罗莫司等,紫杉醇通过稳定微管阻止细胞分裂,药物释放快速,而雷帕霉素通过抑制 mTOR 通路减少细胞增生和炎症反应,均可有效抑制细胞增殖途径,减少血管内膜过度增生和再狭窄^[10-11]。DCB 治疗需对靶病变进行充分预处理,要求靶病变 C 型以下夹层、心肌梗死溶栓治疗(thrombolysis in myocardial infarction, TIMI)血流 III 级、残余狭窄 $\leq 30\%$ ^[12]。DCB 使用符合“无植入”概念,避免了支架再狭窄、晚期支架血栓形成风险,同时保留血管的生

理状态,保持血管的弹性和顺应性,促进血管的自然愈合;减少长期双联抗血小板药物治疗的需求,降低出血风险;此外器械优越的通过性、临床疗效,使其在治疗复杂冠状动脉病变方面展现了良好的前景^[13]。

2 DCB 在直接经皮冠状动脉介入治疗中的临床研究

自 2014 年至今,先后开展了 DCB 单臂队列、DCB 对比 DES 回顾性分析及 DCB 对照 DES 随机对照研究,单病例数量相对较少,多数研究均完善了造影检查及随访,相关研究见表 1。

PAPPA 是首个研究单独应用 DCB 在 PPCI 中安全性和有效性的前瞻性临床试验^[14-15]。该研究入选 100 例 ST 段抬高型心肌梗死(ST segment evaluation myocardial infarction, STEMI)患者,靶病变经血栓抽吸后均充分预扩张,使用 DCB 贴壁至少

表 1 药物涂层球囊在直接经皮冠状动脉介入治疗应用的临床研究

序号	研究	研究设计	病例数量	诊断	DCB	造影随访结局 (时间,随访率)	临床随访结局 (时间,随访率)
1	DEB-AMI ^[14] (2015)	多中心,多组, 回顾性研究	DCB $n = 40$; DCB + BMS $n = 50$; PES $n = 50$; BMS $n = 50$	STEMI	Dior II	LLL(mm): DCB 0.51 ± 0.59 vs. DCB + BMS 0.64 ± 0.56 vs. BMS 0.74 ± 0.32 , $P > 0.05$; DES 0.21 ± 0.32 , $P < 0.01$ (6 个月, 90%)	MACE: DCB 17.5% vs. DCB + BMS 23.9% vs. BMS 25.0% vs. DES 4.4%, $P > 0.05$; TLR: DCB 12.5% vs. DCB + BMS 23.9% vs. BMS 19.1% vs. DES 2.2%, $P > 0.05$ (12 个月, 100%)
2	PAPPA ^[15] (2014)	单中心,单臂, 前瞻性研究	DCB $n = 100$	STEMI	Pantera Lux	NR	MACE: 5% TLR: 3% (12 个月, 100%)
3	Ho 等 ^[16] (2015)	单中心,单臂, 前瞻性研究	DCB $n = 89$	STEMI	SeQuent Please	NR	MACE: 4.5%; TVR: 0% (1 个月, 100%)
4	Gobic 等 ^[17] (2017)	单中心,随机 对照,前瞻性 研究	DCB $n = 38$; DES $n = 37$	STEMI	SeQuent Please	LLL(mm): DCB -0.09 ± 0.09 vs. DES 0.10 ± 0.19 , $P < 0.05$, (6 个月, 84%)	MACE: DCB 5.3% vs. DES 5.4%, $P > 0.05$ TLR: DCB 0% vs. DES 5.4%, $P > 0.05$ (6 个月, 100%)
5	REVELATION ^[18-19] (2019)	多中心,随机 对照,前瞻性 研究	DCB $n = 60$; DES $n = 60$	STEMI	SeQuent Please	FFR: DCB 0.92 ± 0.05 vs. DES 0.91 ± 0.06 ; LLL(mm): DCB 0.05 (-0.40, 0.20) vs. DES 0.00 (-0.16, 0.10), (9 个月, 60.83%)	MACE: DCB 5.4% vs. DES 1.9%, $P > 0.05$ (9 个月, 91%)
6	张大鹏等 ^[20] (2020)	单中心,2 组, 回顾性研究	DCB $n = 180$ DES $n = 200$	AMI	SeQuent Please	NR	MACE: DCB 3.3% (6/180) vs. DES 1.0% (2/200), $P > 0.05$ (3 个月, 100%)
7	Hao 等 ^[21] (2021)	单中心,2 组, 随机对照,前 瞻性研究	DCB $n = 38$; DES $n = 42$	STEMI	Bingo	LLL(mm): DCB -0.12 ± 0.46 vs. DES 0.14 ± 0.37 , (1 年, 100%)	MACE: DCB 11% vs. DES 14%, $P > 0.05$ (12 个月, 100%)
8	Yukiko 等 ^[22] (2022)	单中心,2 组, 回顾性研究	DCB $n = 107$; DES $n = 202$	STEMI 74%, NSTEMI 3%, UA 23%	SeQuent Please	LLL(mm): DCB 0.000 ± 0.624 vs. DES 0.376 ± 0.737 (DCB 组、DES 组分别与 8 ~ 12、9 ~ 14 个月, 100%)	TLR: DCB 2.8% vs. DES 4.0%, $P > 0.05$ (DCB 组、DES 组分别为 657 \pm 488 d, 541 \pm 472 d, 100%)
9	Duan 等 ^[23] (2022)	单中心,2 组, 回顾性研究	DCB $n = 84$; DES $n = 129$	STEMI	SeQuent Please	无创测定微血管阻力指数 (NRcaIMR) DCB 34.23 (23.91) vs. DES 36.49 (21.04), (术后, 100%)	MACE: DCB 14.29% vs. DES 16.28%, $P > 0.05$, (12 个月, 100%); TLR: DCB 0% vs. DES 3.1%, $P > 0.05$, (12 个月, 100%) 倾向性匹配后 MACE (DES vs. DCB: OR 2.98, 95% CI: 1.07 ~ 8.29, $P = 0.04$)
10	Wang 等 ^[24] (2022)	单中心,2 组, 随机对照,前 瞻性研究	DCB $n = 92$; DES $n = 92$	STEMI	Vasoguard TM DCB	LLL(mm): DCB 0.24 ± 0.39 vs. DES 0.31 ± 0.38 , (9 个月, 100%)	MACE: DCB 3.4% vs. DES 4.7%, $P > 0.05$; TLR: DCB 2.3% vs. DES 2.4%, $P > 0.05$, (9 个月, 100%)
11	Ioannis 等 ^[25] (2023)	单中心,2 组, 回顾性研究	DCB $n = 425$; DES $n = 687$	STEMI	SeQuent Please	NR	全因死亡: DCB 10.8% vs. DES 9%; TLR: DCB 0.2% vs. DES 0.7%, $P > 0.05$ (30 d, 100%)

注: DCB. 药物涂层球囊; PES. 紫杉醇药物洗脱支架; DES. 药物洗脱支架; BMS. 裸金属支架; STEMI. ST 段抬高型心肌梗死; LLL. 晚期管腔丢失; FFR. 血流储备分数; NRcaIMR. 无创测定微血管阻力指数; MACE. 主要不良心血管事件; TLR. 靶病变血运重建; NR. 未报道。

60 s, C 级以上夹层或残余狭窄 > 50%, 补充置入 BMS, 59 例患者采取单纯 DCB 策略, 41 例患者置入支架。1 年后随访显示 5 例患者发生不良心血管事件, 其中心源性死亡 2 例, 靶血管再次血运重建 3 例。PAPPA 研究初步显示了 DCB 在 STEMI 特定人群的安全性及有效性。

2015 年 Nijhoff 等^[14] 在 DEB-AMI 研究的基础上入选 40 例 STEMI 患者采取单纯 DCB 策略, 回顾性对比 DCB、DCB + BMS、BMS、紫杉醇药物洗脱支架 (paclitaxel eluting stent, PES) 临床疗效。术后 6 个月造影随访中, DCB 组的晚期管腔丢失 (late lumen loss, LLL) 为 (0.51 ± 0.59) mm, 与 BMS 组 (0.74 ± 0.57) mm 和 DEB + BMS 组 (0.64 ± 0.56) mm 相比, 差异无统计学意义, 而 DCB 的 LLL 劣于 DES 组 (0.21 ± 0.32) mm。与 BMS 及 DEB + BMS 组相比, DCB 组的 MACE 发生率及再狭窄率差异均无统计学意义。该研究进一步证明了在 STEMI 患者中单独 DCB 策略是安全有效的。

Ho 等^[16] 研究开展的前瞻性单臂队列研究观察了 DCB 在 89 例 STEMI 患者 PPCI 中的临床疗效, 其中 50 例患者行血栓抽吸术, 80% 患者使用血小板糖蛋白 II b/III a 受体拮抗剂 (GP II b/III a receptor antagonists, GPI), 所有靶病变均进行充分预扩张后使用 DCB, 术中 4 例患者出现 C 型及以上夹层补充置入支架。随访 30 d, 其中 4 例患者发生主要不良心血管事件 (major adverse cardiovascular events, MACE), 其中心源性休克 3 例, 脓毒症 1 例, 所有患者均无靶血管血运重建。

Gobic 等^[17] 报道首项 DCB 对比 DES 在 STEMI 患者 PPCI 应用的随机对照临床研究。其中 37 例患者置入 DES, 38 例单纯使用 DCB。经 6 个月临床随访, DES 组有 2 例患者运动平板试验出现阳性结果, 造影证实为支架内再狭窄; DCB 组运动平板试验均呈现阴性结果。术后 6 个月造影随访显示参考血管直径在 DES 组及 DCB 组分别为 (3.04 ± 0.46) mm、 (2.61 ± 0.49) mm, 差异无统计学意义, 而 DCB 组 LLL 优于 DES 组 $[(0.10 \pm 0.19)$ mm vs. (-0.09 ± 0.09) mm, $P < 0.05$]。

REVELATION 为前瞻性多中心、随机对照研究, 入选 120 例 STEMI 患者, 1:1 随机分配至 DCB 或 DES 组^[18]。所有患者均接受血栓抽吸、球囊预扩张, DCB 组严格预处理过程, 选择直径 1:1 的药物球囊, 较预扩张球囊至少长 5 mm, 避免血管的地理丢失及不匹配。如果残余管腔支架狭窄 > 50% 或 C 型夹层, 在药物涂层球囊之后植入裸金属支架。所有患者进行 9 个月的冠状动脉造影、功能学评价及 2 年临床随访。2 组患者 9 个月冠状动脉血流储备分数 (fractional flow reserve, FFR) 对比差异无统计学意义 (DCB 0.92 ± 0.05) vs. DES (0.91 ± 0.06) 、LLL [DCB $0.05 (-0.40, 0.20)$ vs. DES $0.00 (-0.16, 0.10)$]。109 例患者 (91%) 完成 2 年临床随访, DCB 组发生了 MACE 3 例 (5.4%), 而 DES 组发生了 1 例 (1.9%)^[19]。

张大鹏等^[20] 回顾了 2016—2019 年接受 PPCI 的急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 患者 380 例, 其中 180 例接受 DCB 治疗, 200 例接受 DES 治疗。随访院内及出院后 3 个月内 MACE, 包括心源性死亡、非致命性心肌梗死、靶血管血运重建及支架内血栓。DCB 组的冠状动脉撕裂发生率显

著高于 DES 组 [8.3% (15/180) vs. 3.0% (6/200), $P = 0.02$], 2 组患者住院期间及出院 3 个月 MACE 差异无统计学意义 (DCB 3.3% vs. DES 1.0%, $P = 0.15$)。显示在 AMI 患者 PPCI 治疗中应用药物涂层球囊与药物洗脱支架同样安全、有效。

Hao 等^[21] 于 2018 年 1 月—2019 年 12 月纳入 STEMI 患者 80 例, 随机分为 DCB 组 ($n = 38$)、DES 组 ($n = 42$)。DCB 组患者经预扩张、血栓抽吸、冠状动脉内应用 II b/III a 强化抗栓治疗后, 对于靶血管造影残余狭窄 < 30%, C 级以下夹层, 无明显血栓负荷, 前向血流 TIMI3 级, 依据靶血管参数给予直接 1:1:1, 长度 1.3:1, 选用 Bingo 药物涂层球囊治疗。随访 2 组患者心绞痛发作、LLL 及主要不良心血管事件 (心源性死亡、靶病变血运重建、非致死性心肌梗死)。术后 1 年, 2 组患者心绞痛分级、左心室射血分数及 MACE 无明显差异; 药物球囊组 LLL 为 (-0.12 ± 0.46) mm, 药物支架组 LLL 为 (0.14 ± 0.37) mm。2 组患者 MACE 发生率分别为 11% (DCB) 和 14% (DES)。

Yukiko 等^[22] 回顾分析 2016 年 1 月—2019 年 12 月行 PPCI 患者 309 例临床数据, 其中 70% 患者为 STEMI。107 例患者接受 DCB 治疗, 202 例患者接受 DES, 所有患者术中均使用血管内超声指导。术后 DCB 组、DES 组分别于 8~12、9~14 个月造影随访, 临床随访全因死亡、靶病变失败、心源性死亡、非致死性心肌梗死、靶病变血运重建、急性血栓。造影随访 DCB 组 LLL 为 (0.00 ± 0.624) mm, DES 组 LLL 为 (0.376 ± 0.737) mm, 临床随访靶血管血运重建 (target lesion revascularization, TLR): DCB 为 2.8%, DES 为 4.0%, 二者比较差异无统计学意义, 其余临床事件发生率 2 组间差异亦无统计学意义。

Duan 等^[23] 回顾分析 2018 年 2 月—2020 年 2 月行 PPCI 治疗的 STEMI 患者 213 例资料, 其中 84 例接受 DCB 治疗, 129 例接受 DES 治疗。所有患者均应用 Rainmed 软件计算微循环阻力指数 (coronary angiography-derived index of microcirculatory resistance, caIMR) 评价 STEMI 患者微血管损伤。研究比较了 2 组间术后 caIMR 差异, 随访至少 12 个月 MACE 发生率, 包括心血管死亡或全因死亡、非致命性心肌梗死、不稳定型心绞痛、靶血管重建及心力衰竭再住院。显示 2 组间术后 caIMR 差异无统计学意义 [DCB (34.23 ± 23.91) , DES (36.49 ± 21.04)]; 临床随访 DES 组、DCB 组的 MACE 发生率分别为 16.28%、14.29%, 其余临床事件差异亦无统计学意义。但 2 组患者经倾向性评分匹配后分析显示 MACE 发生率 DCB 组低于 DES 组 ($P = 0.04$)。该研究也证实 caIMR > 40 是预测 STEMI 患者 PPCI 术后 MACE 的独立危险因素。

Wang 等^[24] 开展了一项比较新型超声波控制药物释放的 DCB 与 DES 在 STEMI 患者 PPCI 应用的前瞻性、随机对照研究。研究纳入 184 例 STEMI 患者, 随机分入 DCB 组或 DES 组。主要研究终点是术后 9 个月造影随访时晚期管腔丢失。其中 DCB 组患者晚期管腔丢失为 (0.24 ± 0.39) mm, DES 组为 (0.31 ± 0.38) mm。DCB 组患者直径狭窄率为 $(28.27 \pm 15.35)\%$, DES 组为 $(25.73 \pm 15.41)\%$ 。其中 DCB 组患者发生 MACE 事件 3 例, DES 组患者发生 MACE 事件 4 例。TLR 分别为 DCB 2.3% 和 DES 3.4%。药物涂层球囊组患者在 12 个月的临床随访中

均未发生心源性死亡或支架内血栓形成。提示超声波控制紫杉醇释放的 DCB 在 STEMI 患者 PPCI 中应用安全、可行。

2023 年 Ioannis 等^[25]发表了对比 DCB 与 DES 在 STEMI 急诊介入诊疗应用中的大规模临床研究。该研究回顾分析了英国诺福克和诺里奇大学医院 2016 年 1 月—2019 年 11 月救治 1 139 例首发 STEMI 患者,其中 452 例接受 DCB 治疗,687 例接受 DES 治疗。临床随访主要终点是全因死亡率。次要终点包括心血管死亡、急性冠状动脉综合征、卒中或短暂性脑缺血发作、严重出血和靶病变血运重建。2 组患者中靶血管直径的中位数为 3.5 mm。DCB 组中位随访时间为 2.9 年(2~4.2 年),DES 组为 3.4 年(2.3~4.3 年),2 组患者死亡率分别为 10.8%、9.0%,差异无统计学意义;次要终点差异也无统计学意义。

3 DCB 在直接经皮冠状动脉介入治疗应用的作用机制

DCB 在不使用永久置入物的情况下,发挥抑制内膜增生、保持血管通畅作用。在 PPCI 诊疗中 DCB 可获得不劣于 DES 的临床疗效,且 LLL 可能优于 DES。主要作用机制为:(1)急诊介入治疗主要目的是恢复心肌灌注,对于复杂病变 DCB 可简化手术策略,提高手术成功率;(2)急诊冠状动脉介入诊疗时机体交感神经兴奋,多数病例冠状动脉血管收缩,不能反映真实血管直径,易发生支架贴壁不良,增加支架血栓、再狭窄风险^[26];(3)术后无金属残留及聚合物基质,减少内膜炎症反应及血栓形成风险,且急诊介入患者病史相对简短,患者的抗血小板依从性及出血风险具有不确定性,DCB 的抗栓时间短于 DES^[27];(4)相较于 DES,DCB 扩张过程中球囊贴覆于血管壁,提供了充分的接触面积,保证了血管壁对药物吸收的均一性,充分抑制血管内膜增生^[28];(5)DCB 通过亲脂性基质将抗增殖药物快速、均匀地转移到血管壁,血管壁中的药物浓度远高于 DES 植入后,细胞摄取药物后与微管蛋白结合导致微管功能障碍,可使细胞有丝分裂停止,发挥抗组织增生作用,具有积极的重塑效果,增强管腔晚期获得,弥补了 DCB 术后残余狭窄的缺点^[29];(6)药物发挥抑制平滑肌细胞迁移和表型转变,从而抑制内膜增生及炎症反应^[7];(7)ACS 靶病变血管壁损害,DCB 扩张后高药物浓度可抑制内皮过度增生,后期药物浓度逐步下降亦利于冠状动脉内皮化^[30]。

4 DCB 在直接 PCI 应用的专家共识推荐

基于 DCB 相关临床研究结果,DCB 已经成为 ISR、小血管病变的首选治疗方案,且逐步拓展到分叉病变、大血管原发病变、CTO 病变以及高出血风险、急性心肌梗死患者。关于 DCB 在直接 PCI 应用的共识推荐如下:药物涂层球囊临床应用中国专家共识(第二版)指出,支持单纯 DCB 作为急性心肌梗死直接 PCI 的备选方案,尤其是对于有高出血风险的患者^[12];第三版国际药物球囊专家共识指出,由于 ACS 急性期影响血管直径大小,DCB 可作为直接 PCI 治疗选择,如果管腔中存在血栓病变会降低药物吸收,影响治疗效果^[31];DCB 治疗冠状动脉疾病日本专家共识指出,对于合理选择的患者中急诊介入术中可应用 DCB 治疗^[32]。

已发表的相关临床研究显示直接 PCI 中靶病变长度、血栓负荷、钙化结节增加 DCB 后 MACE 发生风险^[33],因此建议直接

PCI 术中选择靶病变长度 < 20 mm;对于高血栓负荷术中应用血栓抽吸、强化冠状动脉抗栓(冠状动脉溶栓、GPI),降低血栓负荷;对于钙化结节可应用非顺应球囊、切割球囊等特殊器械充分预处理靶病变。此外腔内影像学明确靶病变形态特征,进一步优化 DCB 介入诊疗的临床疗效。

目前临床研究已初步证实了 DCB 在直接 PCI 应用的安全性及有效性,为 ACS 急诊介入诊疗提供了新的策略及理念。但既往临床研究多为单中心、非随机研究且样本量小、随访时间短、缺乏腔内影像及生理学指导,因此仍需多中心、大规模、长期随访及现代冠状动脉介入诊疗策略指导 DCB 应用的临床研究,进一步明确 DCB 的安全性及有效性。

参考文献

- [1] Zhao H, Miao R, Lin F, et al. Drug-coated balloon in primary percutaneous coronary intervention [J]. *J Interv Cardiol*, 2023, 2023; 5210808. DOI:10.1155/2023/5210808.
- [2] Yu A, Liu H, Yu H, et al. Effectiveness of drug-coated balloon in acute myocardial infarction: A protocol for systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine*, 2023, 102 (13): e33383. DOI:10.1097/MD.00000000000033383.
- [3] Kondo Y, Ishikawa T, Shimura M, et al. Cardiovascular outcomes after paclitaxel-coated balloon angioplasty versus drug-eluting stent placement for acute coronary syndrome: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Med*, 2024, 13 (5): 1481. DOI: 10.3390/jcm13051481.
- [4] Lazar FL, Onea HL, Olinic DM, et al. A 2024 scientific update on the clinical performance of drug-coated balloons [J]. *AsiaIntervention*, 2024, 10 (1): 15-25. DOI:10.4244/aij-d-23-00010.
- [5] Cortese B, Kalkat H, Bathia G, et al. The evolution and revolution of drug coated balloons in coronary angioplasty: An up-to-date review of literature data [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2023, 102 (6): 1069-1077. DOI:10.1002/ccd.30891.
- [6] Axel DI, Kunert W, Göggelmann C, et al. Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery [J]. *Circulation*, 1997, 96 (2): 636-645. DOI:10.1161/01.cir.96.2.636.
- [7] Scheller B, Speck U, Schmitt A, et al. Addition of paclitaxel to contrast media prevents restenosis after coronary stent implantation [J]. *J Am Coll Cardiol*. 2003, 42 (8): 1415-1420. DOI: 10.1016/s0735-1097(03)01056-8.
- [8] Scheller B, Hehrlein C, Bocksch W, et al. Treatment of coronary in-stent restenosis with a paclitaxel-coated balloon catheter [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355 (20): 2113-2124. DOI:10.1056/NEJMoa061254.
- [9] 肖宏凯, 金亮, 林嘉隆, 等. 药物涂层球囊治疗急性心肌梗死的临床疗效和安全性研究 [J]. *岭南急诊医学杂志*, 2022, 27 (3): 219-221, 230. DOI:10.3969/j.issn.1671-301X.2022.03.005.
- [10] Zhang Y, Chen D, Dong Q, et al. Drug-coated balloons for acute myocardial infarction: A metaanalysis of randomized clinical trials [J]. *J Interv Cardiol*, 2022, 2022; 4018771. DOI:10.1155/2022/4018771.
- [11] Zhang DM, Chen S. In-Stent restenosis and a drug-coated balloon: Insights from a clinical therapeutic strategy on coronary artery diseases [J]. *Cardiol Res Pract*, 2020, 2020; 8104939. DOI: 10.1155/

- 2020/8104939.
- [12] 《药物涂层球囊临床应用中国专家共识》专家组. 药物涂层球囊临床应用中国专家共识(第二版) [J]. 中国介入心脏病学杂志 2023, 31 (6): 413-426. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8812. 2023. 06. 003.
- [13] Cao Z, Li J, Fang Z, et al. The factors influencing the efficiency of drug-coated balloons [J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2022, 9: 947776. DOI: 10. 3389/fcvm. 2022. 947776.
- [14] Nijhoff F, Agostoni P, Belkacemi A, et al. Primary percutaneous coronary intervention by drug-eluting balloon angioplasty; the nonrandomized fourth arm of the DEB-AMI (drug-eluting balloon in ST-segment elevation myocardial infarction) trial [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2015, 86 (1): 34-44. DOI: 10. 1002/ccd. 26060.
- [15] Vos NS, Dirksen MT, Vink MA, et al. Safety and feasibility of a Paclitaxel-eluting balloon angioplasty in Primary Percutaneous coronary intervention in Amsterdam (PAPPA); One-year clinical outcome of a pilot study [J]. *EuroIntervention*, 2014, 10 (5): 584-590. DOI: 10. 4244/eijv10i5a101.
- [16] Ho HH, Tan J, Ooi YW, et al. Preliminary experience with drug-coated balloon angioplasty in primary percutaneous coronary intervention [J]. *World J Cardiol*, 2015, 7 (6): 311-314. DOI: 10. 4330/wjc. v7. i6. 311.
- [17] Gobic D, Tomulic V, Lulic D, et al. Drug-coated balloon versus drug-eluting stent in primary percutaneous coronary intervention; A feasibility study [J]. *Am J Med Sci*, 2017, 354 (6): 553-560. DOI: 10. 1016/j. amjms. 2017. 07. 005.
- [18] Vos NS, Fagel ND, Amoroso G, et al. Paclitaxel-coated balloon angioplasty versus drug-eluting stent in acute myocardial infarction; The revelation randomized trial [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2019, 12 (17): 1691-1699. DOI: 10. 1016/j. jcin. 2019. 04. 016.
- [19] Niehe SR, Vos NS, Van Der Schaaf RJ, et al. Two-year clinical outcomes of the revelation study; sustained safety and feasibility of paclitaxel-coated balloon angioplasty versus drug-eluting stent in acute myocardial infarction [J]. *J Invasive Cardiol*, 2022, 34 (1): e39-e42. DOI: 10. 25270/jic/20. 00741.
- [20] 张大鹏, 王乐丰, 刘宇, 等. 药物涂层球囊与药物洗脱支架治疗冠状动脉原发病变的疗效与安全性比较 [J]. *中华心血管病杂志*, 2020, 48 (7): 600-607. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112148-20200327-00254.
- [21] Hao X, Huang D, Wang Z, et al. Study on the safety and effectiveness of drug-coated balloons in patients with acute myocardial infarction [J]. *J Cardiothorac Surg*, 2021, 16 (1): 178. DOI: 10. 1186/s13019-021-01525-8.
- [22] Yukiko M, Tetsuya I, Hidehiko N, et al. A Propensity score-matched comparison of midterm outcomes between drug-coated balloons and drug-eluting stents for patients with acute coronary syndrome [J]. *International Heart Journal*, 2022, 63 (2): 217-225. DOI: 10. 1536/ihj. 21-576.
- [23] Duan Y, Wang Y, Zhang M, et al. Computational pressure-fluid dynamics applied to index of microcirculatory resistance, predicting the prognosis of drug-coated balloons compared with drug-eluting stents in STEMI patients [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 898659. DOI: 10. 3389/fphys. 2022. 898659.
- [24] Wang Z, Yin Y, Li J, et al. New ultrasound-controlled paclitaxel releasing balloon vs. asymmetric drug-eluting stent in primary st-segment elevation myocardial infarction- a prospective randomized trial [J]. *Circ J*, 2022, 86 (4): 642-650. DOI: 10. 1253/circj. CJ-21-0315.
- [25] Ioannis M, Tharusha G, Natasha C, et al. Assessment of paclitaxel drug-coated balloon only angioplasty in STEMI [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2023, 16 (7): 771-779. DOI: 10. 1016/j. jcin. 2023. 01. 380.
- [26] 殷总朋, 刘志强. 药物涂层球囊在冠状动脉病变中的应用进展 [J]. *中国心血管病研究*, 2022, 20 (12): 1142-1146. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5301. 2022. 12. 015.
- [27] Mohiaddin H, Wong T, Burke-Gaffney A, et al. Drug-coated balloon-only percutaneous coronary intervention for the treatment of de novo coronary artery disease: A systematic review [J]. *Cardiol Ther*, 2018, 7 (2): 127-149. DOI: 10. 1007/s40119-018-0121-2.
- [28] Hu H, Shen L. Drug-coated balloons in the treatment of acute myocardial infarction (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21 (5): 464. DOI: 10. 3892/etm. 2021. 9895.
- [29] Shaikh S, Hamza M, Upreti P, et al. Meta-analysis comparing drug-coated balloon versus plain old balloon angioplasty for in-stent restenosis of coronaries [J]. *Am J Cardiol*, 2024, 229: 22-27. DOI: 10. 1016/j. amjcard. 2024. 07. 015.
- [30] 周力, 朱超, 王福财, 等. 药物涂层球囊在急性心肌梗死直接经皮冠状动脉介入术中的应用 [J]. *首都医科大学学报*, 2023, 44 (4): 669-675. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-7795. 2023. 04. 025.
- [31] Jeger RV, Eccleshall S, Wan Ahmad WA, et al. International DCB consensus group. Drug-coated balloons for coronary artery disease: Third report of the international DCB consensus group [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2020, 13 (12): 1391-1402. DOI: 10. 1016/j. jcin. 2020. 02. 043.
- [32] Muramatsu T, Kozuma K, Tanabe K, et al. Clinical expert consensus document on drug-coated balloon for coronary artery disease from the Japanese Association of Cardiovascular Interv, 2023, 38 (2): 166-176. DOI: 10. 1007/s12928-023-00921-2.
- [33] Yamamoto T, Kawamori H, Toba T, et al. Clinical impact of optical coherence tomography findings after drug-coated balloon treatment for patients with acute coronary syndromes [J]. *Int J Cardiol*, 2023, 387: 131149. DOI: 10. 1016/j. ijcard. 2023. 131149.

(收稿日期: 2024 - 08 - 22)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.021

综述

微塑料和纳米塑料对心脏的影响及机制研究进展

王菁菁, 黄观明, 冯灿综述 崔海明审校



基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyzdxk-2023065); 上海市科学技术委员会科研计划项目 (19DZ1930404, 21JC1405300)

作者单位: 200080 上海, 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院心内科

通信作者: 崔海明, E-mail: cuihaiming@shyueyanghospital.com

【摘要】 微塑料和纳米塑料 (MNPs) 可通过摄入、吸入和皮肤接触等多种方式进入人体。相关研究发现 MNPs 对心脏具有多方面影响, 包括心律失常、心包水肿、心功能受损等, 同时研究发现与其他污染物共同暴露时不良反应比单一暴露更小。文章就 MNPs 对心脏的影响进行综述, 为未来针对 MNPs 引起的相关危害制定治疗方案和探索利用 MNPs 进行疾病诊断和治疗提供思路。

【关键词】 微塑料; 纳米塑料; 心血管疾病; 心律失常; 心包水肿; 心功能受损

【中图分类号】 R994.6 **【文献标识码】** A

The impacts of micro-and-nano plastics on heart Wang Jingjing, Huang Guanming, Feng Can, Cui Haiming. Department of Cardiology, The Affiliated Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Shanghai 200080, China

Funding program: High Level Key Discipline Construction Project of Traditional Chinese Medicine of the State Administration of Traditional Chinese Medicine (zyzdxk-2023065); Research Plan Project of Shanghai Science and Technology Commission (19DZ1930404, 21JC1405300)

Corresponding author: Cui Haiming, E-mail: cuihaiming@shyueyanghospital.com

【Abstract】 Microplastics and nanoplastics (MNPs) widely exist in food, water, air and daily necessities, and humans may be exposed through intake, inhalation and skin contact. Studies have found that MNPs has many effects on the heart, including arrhythmia, pericardial edema, impaired cardiac function, etc. Even when it is exposed with other pollutants, the adverse reaction is less than that of single exposure. This paper reviews the effects of MNPs on the heart, so as to provide ideas for making therapeutic decision of diseases related to MNPs and exploring the use of MNPs for disease diagnosis and treatment in the future.

【Key words】 Microplastics; Nanoplastics; Cardiovascular disease; Arrhythmia; Pericardial edema; Impaired cardiac function

心脏病是我国乃至全世界死亡和致残的重要原因, 目前发现微塑料和纳米塑料 (microplastics and nanoplastics, MNPs) 会造成心律失常、心包水肿、心功能受损等心脏相关的影响^[1-5], 并且在人类心肌、心包、心外膜脂肪、左心耳等心脏组织已发现 MNPs^[6]。一项长达 34 个月的随访研究发现, 颈动脉斑块中含有 MNPs 的患者比颈动脉斑块中无 MNPs 的患者发生心肌梗死、脑卒中或任何原因导致的复合死亡的风险升高 3.53 倍, 这是首次证实 MNPs 与人类死亡风险之间的联系^[7]。文章就 MNPs 对心脏的影响及其机制进行综述。

1 MNPs 概述

塑料因其低成本、便携性和可塑性在全球被广泛使用。根据联合国环境规划署的报道数据, 2018—2023 年的塑料年产量约为 4 亿吨, 预计到 2050 年全球塑料累计产量将增长到 340

亿吨。塑料暴露在光、热、湿气和微生物中会降解为微塑料 (microplastics, MPs, 直径 < 5 mm) 和纳米塑料 (nanoplastics, NPs, 直径 1 ~ 1 000 nm)^[8]。MNPs 在食物、水、空气和日用品中广泛存在, 它可以通过摄入、吸入和皮肤接触等多种方式进入人体^[9], 并且可能和其他污染物一样具有生物放大、生物积累和易位的特性^[10-11], 这对人类的健康构成更大的风险。

2 MNPs 对心脏的影响

2.1 心律失常 目前研究显示, MNPs 暴露对心脏的损害中心律失常最为多见, 包括心动过缓和心动过速。

2.1.1 心动过缓: Cao 等^[1]发现, 将斑马鱼胚胎暴露于较低浓度聚苯乙烯纳米颗粒 (PS NPs) 中, 斑马鱼即可表现出心率减慢, 并且心率随着浓度增高而下降。PS NPs 引起斑马鱼胚胎心率下降也有一样的浓度依赖性^[2]。聚苯乙烯微米颗粒 (PS

MPs)引起的斑马鱼心率下降还具有遗传性,在母本组(仅暴露雌性)和共同亲本组(暴露雄性和雌性),都观察到子代出现心动过缓^[12]。在离体实验中,用 PS MPs 处理成年斑马鱼离体心脏 2 h,也观察到心率有显著的变时性降低和剂量依赖性降低^[13]。MNP 不仅能够减慢鱼类的心率,也能够减慢果蝇的心率,并且具有性别差异,雌性果蝇心率显著下降,雄性果蝇无明显变化^[14]。

为了模拟更加真实的环境,研究者将聚丙烯微塑料(PP MPs)和 PS MPs 进行风化处理,发现在符合实际环境的浓度下,斑马鱼胚胎的心率明显降低,但心率降低的效应不一定随着浓度增高而线性增强,而且原始 MPs 比风化后的 MPs 危害性更大^[15]。塑料往往难以降解,因此自然中存在的塑料大多数是老化的塑料。噻虫嗪是一种广泛使用的杀虫剂,斑马鱼共同暴露于这两种污染物时,心率出现明显的降低^[16]。除了斑马鱼,海洋青鳉鱼暴露于 PS MPs 后心率也出现变时性降低^[17]。

2.1.2 心动过速:有实验发现,MNPs 也可以引起心动过速。用 PS NPs 处理斑马鱼胚胎,受精 24 h 后斑马鱼出现心率加快,可能是黏附在胚胎绒毛膜上的 PS 颗粒导致胚胎内部缺氧微环境引起的^[18]。用 PS MPs 处理斑马鱼胚胎 72 h 后心率显示增快,并且具有剂量依赖性,但暂未发现对 MPs 大小的依赖性,因为在相同浓度下使用的 1 μm 和 3 μm 之间未发现显著差异^[3]。用聚对苯二甲酸乙二醇酯颗粒(直径约 150 μm)和聚对苯二甲酸乙二醇酯纤维(长 3~5 mm,直径约 20 μm)处理斑马鱼胚胎,受精后 48 h 斑马鱼也出现心率加快^[19]。用 100 $\mu\text{g/L}$ 的 PS MPs 处理金鱼幼鱼,在暴露 3 d 后金鱼幼鱼心率显著增快,暴露 7 d 后心率仍有显著增加^[20]。

MNPs 引起心率减慢或加快的不同表现,可能是不同研究中塑料的类型、大小、浓度、暴露方式和持续时间的综合影响造成的。有实验发现温度与 NPs 的心血管毒性有关,温度升高促进了斑马鱼发育过程中 NPs 的积累,增加了氧化应激水平,虽然导致了斑马鱼幼虫死亡率增加,但是抑制心率的作用有所减弱^[21]。将青鳉鱼暴露于不同浓度 PS MPs 溶液后采用基因测序和分析,发现 3 个与青鳉鱼心脏发育相关基因(BMP4、GATA4、NKx2.5)的表达受到显著的影响^[22]。因此,MNPs 对心律失常的影响可能与氧化应激有关,且可以影响基因表达。

2.2 心包水肿 早期关于 MNPs 与心包水肿相关性的研究多以单一的塑料为研究对象。Sun 等^[23]发现低浓度的 NPs 不会引起斑马鱼出现心包水肿,当浓度大于 100 $\mu\text{g/ml}$ 时,斑马鱼出现心包水肿,且心包水肿面积呈剂量依赖性增加。暴露于塑料的斑马鱼不仅自身产生变化,还会遗传给子代,研究人员对斑马鱼胚胎注射 PS NPs,尽管其成长环境不暴露于 NPs,但其子代的心率和血流速度增加,还出现了心包水肿^[4]。

然而,在真实环境中,塑料往往与其他污染物共同存在,因此为了进一步探索 MNPs 对心包水肿的影响,一些研究者将 MPs 与其他污染物联合暴露。如与单独使用微囊藻毒素-LR 相比,微囊藻毒素-LR 加上 PS MPs 或 PS NPs 能够使斑马鱼胚胎的心率显著降低,并且出现明显的心包水肿^[24]。许多个人护理品中有唑类杀菌剂,这些日用品丢弃后使得唑类杀菌剂进入环

境,它们与 PS NPs 复合暴露较单独暴露更能加重心包水肿^[25]。NPs 和对乙酰氨基酚高浓度复合暴露时斑马鱼幼鱼均出现心包水肿,这可能是由于体内毒素的积聚,扰乱了渗透压调节系统,导致心包水合作用过多^[26]。NPs 是持久性有机污染物的良好载体,如多溴联苯醚、多氯联苯,PS NPs 联合 2,2',4,4'-四溴联苯醚或 PS NPs 联合多氯联苯-153 共同暴露都加剧了斑马鱼幼虫心包水肿^[27-28]。

2.3 心功能下降 心功能通常使用心房钠尿肽(proBNP)、心脏肌钙蛋白 T(cTnT)、超声心动图等检查来衡量。一项实验中将 NPs 以 3 mg、6 mg 和 10 mg/kg 每周 2 次口服强饲小鼠,持续 8 周后,彩色多普勒超声提示射血分数(EF)和左心室短轴缩短率(FS)下降,但仍在正常生理范围内,说明暂时未引起心脏功能的变化^[8]。但是,另一项实验将 40 nm 的 PS-NPs 通过吸入暴露于小鼠,暴露仅 1 周后,血清中 proBNP、cTnT 等生物标志物浓度显著增加,暴露 4 周和 12 周后,生物标志物仍然很高,EF 和 FS 的值则以剂量依赖性方式显著下降^[29]。NPs 对斑马鱼的心输出量(CO)的抑制作用也具有浓度依赖性,浓度越高,CO 抑制作用越明显,尾静脉中性粒细胞的趋化和募集作用也越明显,这说明 NPs 对心脏的影响或许是通过炎症反应实现的^[23]。

目前鱼类是 MNPs 研究的主要对象,但研究也涉及以大鼠为模型探索 MNPs 对哺乳动物心脏的影响。通过模拟哺乳动物心脏电同步的电刺激,发现与带负电荷的 NPs 相比,带正电荷的 NPs 在急性暴露期间具有较高的细胞内化能力,导致细胞内钙离子水平、电生理活性、线粒体膜电位和细胞代谢发生显著变化,从而引起心肌收缩力下降,而且新生心肌细胞比成熟心肌更易受到 MNPs 暴露的影响^[30]。

尽管动物模型为理解 MNPs 的影响提供了重要信息,但人类和动物之间存在显著差异,因此,动物模型的反应并不总能准确预测人类的情况。一项基于人诱导多能干细胞基因集富集分析揭示,暴露于 PS NPs 时,心脏瓣膜的发育及相关细胞成分,包括细胞外基质,可能出现功能障碍^[31]。

3 MNPs 对心脏影响的作用机制

心律失常、心包水肿、心功能下降都是 MNPs 对心脏影响的宏观表现。通过对心肌细胞微观观察,许多研究发现 MNPs 对心肌细胞造成不可逆的损伤,包括心肌纤维化、细胞焦亡、细胞凋亡。心脏纤维化是大多数心肌疾病的常见病理生理特征,与收缩和舒张功能障碍、心律失常发生和不良结局有关^[32]。Wang 等^[8]通过尾静脉注射 NPs 处理小鼠 8 周后观察到心脏组织纤维化。而 Zhang^[29]等通过吸入暴露的方式观察到暴露 12 周后小鼠心肌纤维化水平显著升高。Li 等^[33]和 Wei 等^[34]通过口服暴露也得到类似的结果。

从分子机制而言,现有研究主要集中在氧化应激和炎症反应两个方面。氧化应激是体内氧化与抗氧化作用失衡的一种状态,最终干扰细胞代谢,造成机体损伤。如 Wu 等^[35]将鲤鱼直接暴露于 3 种粒径(50 nm、100 nm 和 400 nm)的 PS NPs 水环境中 28 d,发现活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量显著增加,抗氧化酶(CAT、SOD1 和 Gpx1)活性降低,丙二醛(malondialdehyde, MDA)积累。过量的 ROS 参与多种细胞信号通路的

激活,引起其他病理生理反应,如纤维化、细胞自噬、细胞凋亡和炎症反应^[33,35]。MNP 不仅能够诱导鱼类的氧化应激,也可以诱导哺乳动物例如鼠的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性降低^[34]。

炎症反应会诱导心肌细胞损伤,导致心功能不全和疾病进展^[14],在炎症反应中,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素(interleukin, IL)和干扰素家族(interferon, IFN)发挥关键作用。Zhang 等^[36]发现,鸡口服 PS-NPs 42 d 会通过 NF- κ B-NLRP3-GSDMD 轴触发细胞焦亡并加剧心肌炎症反应,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18、ASC、GSDMD、NF- κ B、COX-2、iNOS 和 IL-6 等过表达,其中 NLRP3 炎症小体被广泛认为是特定心血管疾病进展的关键因素,如心肌梗死、心力衰竭^[14]。而 Wang 等^[8]认为 MNP 可能通过诱导氧化应激引起线粒体不稳定,导致线粒体 DNA 泄漏到细胞质中,然后细胞质定位的 mt-DNA 激活 cGAS-STING 信号通路并促进炎症反应,最终诱导心肌细胞衰老。

除了 MNP 单一影响,一些研究者将实验对象暴露于双重污染中。如镉被认为是最危险的金属污染物之一,通过将小鼠口服暴露于环境相关浓度的 PS NPs 和镉,发现能够增加细胞焦亡、细胞凋亡和坏死性凋亡相关基因和蛋白质的表达,导致小鼠心肌微观结构受损,心肌破裂、质量下降^[37]。也有研究将不同尺寸 PS MPs 与苯丙(a)蒽(BaA)联合暴露,发现 MPs 的综合毒性取决于其大小,小尺寸 PS MPs(0.2 μ m)增强了 BaA 对幼虫的毒性作用,如心脏缺陷和破坏血管形成;中等大小的 PS MPs(1.0 μ m)在综合毒性作用方面处于临界;大尺寸 PS MPs(10 μ m)减轻了 BaA 的心脏毒性,包括心脏缺陷、ROS 水平和细胞死亡^[38]。这也意味着 MNP 对心脏的影响不一定是负面的。

大多数实验证明 MNP 引起的心肌细胞损伤为细胞凋亡,然而也有 PS MPs 能够引起人源性心脏类器官体积明显增加,与体内观察结果一致,即室间隔厚度的增加,而与肥厚相关的标志物(MYH7B、ANP、BNP、COL1A1)也有一致性改变^[39]。

4 小结与展望

MNP 作为新兴污染物在逐渐引起研究人员的注意,目前 MNP 的相关研究以鱼、鼠为主要对象,大量体内外研究证实 MNP 会引起心律失常、心包水肿、心功能受损,其机制可能与氧化应激和炎症反应有关,但尚不明确,需要进一步研究证实。而且,这些研究几乎都利用未特殊处理的 MNP,但实际上 MNP 进入水生环境后,会被各种各样的微生物定植,大肠杆菌包覆的 MNP 比未被定植的 MNP 更容易被摄取^[40],这意味着 MNP 对人类的影响比目前实验呈现出的更大。人类暴露于多种来源的 MNP,且 MNP 的影响很可能有浓度依赖性,体内长期慢性积累可能会对人体产生不可逆的损害,但与之相关的临床研究较少,需要更多的研究来阐明 MNP 对人类的潜在不良健康影响及其相关机制。然而,通过将 MNP 与其他污染物联合暴露发现大尺寸 MNP 甚至能够减轻其他污染物对心脏的负面影响,呈现出积极的作用。本文通过多方面归纳 MNP 对心

脏的影响,有助于未来针对 MNP 引起的相关危害制定治疗方案,或探索利用 MNP 进行疾病诊断和治疗的可能性。

参考文献

- [1] Cao X, Xie W, Feng M, et al. Nanoplastic exposure mediates neurodevelopmental toxicity by activating the oxidative stress response in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. ACS Omega, 2024, 9(14): 16508-16518. DOI: 10.1021/acsomega.4c00231.
- [2] Zhang R, Wang M, Chen X, et al. Combined toxicity of microplastics and cadmium on the zebrafish embryos (*Danio rerio*) [J]. Sci Total Environ, 2020, 743: 140638. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140638.
- [3] La Pietra A, Fasciolo G, Lucariello D, et al. Polystyrene microplastics effects on zebrafish embryological development: Comparison of two different sizes [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2024, 106: 104371. DOI: 10.1016/j.etap.2024.104371.
- [4] Sulukan E, Senol O, Baran A, et al. Nano-sized polystyrene plastic particles affect many cancer-related biological processes even in the next generations; zebrafish modeling [J]. Sci Total Environ, 2022, 838(Pt 3): 156391. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.156391.
- [5] Lu T, Li D, Yuan X, et al. Potential effects of orally ingesting polyethylene terephthalate microplastics on the mouse heart [J]. Cardiovasc Toxicol, 2024, 24(3): 291-301. DOI: 10.1007/s12012-024-09837-6.
- [6] Yang Y, Xie E, Du Z, et al. Detection of various microplastics in patients undergoing cardiac surgery [J]. Environ Sci Technol, 2023, 57(30): 10911-10918. DOI: 10.1021/acs.est.2c07179.
- [7] Marfella R, Prattichizzo F, Sardu C, et al. Microplastics and nanoplastics in atheromas and cardiovascular events [J]. N Engl J Med, 2024, 390(10): 900-910. DOI: 10.1056/NEJMoa2309822.
- [8] Wang K, Du Y, Li P, et al. Nanoplastics causes heart aging/myocardial cell senescence through the Ca(2+)/mtDNA/cGAS-STING signaling cascade [J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 96-119. DOI: 10.1186/s12951-024-02375-x.
- [9] Rahman A, Sarkar A, Yadav OP, et al. Potential human health risks due to environmental exposure to nano- and microplastics and knowledge gaps: A scoping review [J]. Sci Total Environ, 2021, 757: 143872. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143872.
- [10] Habumugisha T, Zhang Z, Uwizewe C, et al. Toxicological review of micro- and nano-plastics in aquatic environments; Risks to ecosystems, food web dynamics and human health [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2024, 278: 116426. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2024.116426.
- [11] Saemi-Komsari M, Esmaceli HR, Keshavarzi B, et al. Trophic transfer, bioaccumulation and translocation of microplastics in an international listed wetland on the montreux record [J]. Environ Res, 2024, 257: 119172. DOI: 10.1016/j.envres.2024.119172.
- [12] Pitt JA, Trevisan R, Massarsky A, et al. Maternal transfer of nanoplastics to offspring in zebrafish (*Danio rerio*): A case study with polystyrene [J]. Sci Total Environ, 2018, 643: 324-334. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.186.
- [13] Dimitriadi A, Papaefthimiou C, Genizegkini E, et al. Adverse effects polystyrene microplastics exert on zebrafish heart - molecular to individual level [J]. J Hazard Mater, 2021, 416: 125969. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.125969.
- [14] Hohman AM, Sorensen RM, Jovanovic B, et al. The heart of plastic: Utilizing the drosophila model to investigate the effects of micro/nan-

- oplastics on heart function [J]. *Front Toxicol*, 2024, 6: 1438061. DOI:10.3389/ftox.2024.1438061.
- [15] Prata JC, Venancio C, Girao AV, et al. Effects of virgin and weathered polystyrene and polypropylene microplastics on *Raphidocelis subcapitata* and embryos of danio rerio under environmental concentrations [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 816: 151642. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.151642.
- [16] Sun Y, Ding P, Zhang J, et al. Combined neurotoxicity of aged microplastics and thiamethoxam in the early developmental stages of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environ Pollut*, 2024, 348: 123853. DOI:10.1016/j.envpol.2024.123853.
- [17] Li Y, Wang J, Yang G, et al. Low level of polystyrene microplastics decreases early developmental toxicity of phenanthrene on marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 385: 121586. DOI:10.1016/j.jhazmat.2019.121586.
- [18] Duan Z, Duan X, Zhao S, et al. Barrier function of zebrafish embryonic chorions against microplastics and nanoplastics and its impact on embryo development [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 395: 122621. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122621.
- [19] Cheng H, Feng Y, Duan Z, et al. Toxicities of microplastic fibers and granules on the development of zebrafish embryos and their combined effects with cadmium [J]. *Chemosphere*, 2021, 269: 128677. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.128677.
- [20] Yang H, Xiong H, Mi K, et al. Toxicity comparison of nano-sized and micron-sized microplastics to goldfish *carassius auratus* Larvae [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 388: 122058. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122058.
- [21] Duan Z, Wang J, Zhang H, et al. Elevated temperature decreases cardiovascular toxicity of nanoplastics but adds to their lethality: A case study during zebrafish (*Danio rerio*) development [J]. *J Hazard Mater*, 2023, 458: 131679. DOI:10.1016/j.jhazmat.2023.131679.
- [22] Chen JC, Chen MY, Fang C, et al. Microplastics negatively impact embryogenesis and modulate the immune response of the marine medaka *oryzias melastigma* [J]. *Mar Pollut Bull*, 2020, 158: 111349. DOI:10.1016/j.marpolbul.2020.111349.
- [23] Sun M, Ding R, Ma Y, et al. Cardiovascular toxicity assessment of polyethylene nano plastics on developing zebrafish embryos [J]. *Chemosphere*, 2021, 282: 131124. DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.131124.
- [24] Xiao Y, Hu L, Duan J, et al. Polystyrene microplastics enhance microcystin-LR-induced cardiovascular toxicity and oxidative stress in zebrafish embryos [J]. *Environ Pollut*, 2024; 124022. DOI:10.1016/j.envpol.2024.124022.
- [25] Bhagat J, Zang L, Nakayama H, et al. Effects of nanoplastic on toxicity of azole fungicides (ketoconazole and fluconazole) in zebrafish embryos [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 800: 149463. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.149463.
- [26] Gao X, Zhang Y, Hou L, et al. Co-exposure to nanoplastics and acetaminophen causes skeletal dysplasia and behavioral abnormalities in zebrafish [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 253: 114640. DOI:10.1016/j.ecoenv.2023.114640.
- [27] Wang Q, Li Y, Chen Y, et al. Toxic effects of polystyrene nanoplastics and polybrominated diphenyl ethers to zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 126: 21-33. DOI:10.1016/j.fsi.2022.05.025.
- [28] Varshney S, Hegstad-Pettersen MM, Siritappagoudar P, et al. Enhanced neurotoxic effect of PCB-153 when co-exposed with polystyrene nanoplastics in zebrafish larvae [J]. *Chemosphere*, 2024, 355: 141783. DOI:10.1016/j.chemosphere.2024.141783.
- [29] Zhang T, Yang S, Ge Y, et al. Multi-dimensional evaluation of cardiotoxicity in mice following respiratory exposure to polystyrene nanoplastics [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2023, 20(1):46-59. DOI:10.1186/s12989-023-00557-3.
- [30] Roshanzadeh A, Oyunbaatar NE, Ganjbakhsh SE, et al. Exposure to nanoplastics impairs collective contractility of neonatal cardiomyocytes under electrical synchronization [J]. *Biomaterials*, 2021, 278: 121175. DOI:10.1016/j.biomaterials.2021.121175.
- [31] Bojic S, Falco MM, Stojkovic P, et al. Platform to study intracellular polystyrene nanoplastic pollution and clinical outcomes [J]. *Stem Cells*, 2020, 38(10):1321-1325. DOI:10.1002/stem.3244.
- [32] Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities [J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 70-99. DOI:10.1016/j.mam.2018.07.001.
- [33] Li Z, Zhu S, Liu Q, et al. Polystyrene microplastics cause cardiac fibrosis by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway and promoting cardiomyocyte apoptosis in rats [J]. *Environ Pollut*, 2020, 265 (Pt A): 115025. DOI:10.1016/j.envpol.2020.115025.
- [34] Wei J, Wang X, Liu Q, et al. The impact of polystyrene microplastics on cardiomyocytes pyroptosis through NLRP3/Caspase-1 signaling pathway and oxidative stress in Wistar rats [J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(5):935-944. DOI:10.1002/tox.23095.
- [35] Wu H, Guo J, Yao Y, et al. Polystyrene nanoplastics induced cardiomyocyte apoptosis and myocardial inflammation in carp by promoting ROS production [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 125: 1-8. DOI:10.1016/j.fsi.2022.04.048.
- [36] Zhang Y, Yin K, Wang D, et al. Polystyrene microplastics-induced cardiotoxicity in chickens via the ROS-driven NF- κ B-NLRP3-GSDMD and AMPK-PGC-1 α axes [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 840: 156727. DOI:10.1016/j.scitotenv.2022.156727.
- [37] Ye J, Qiu W, Pang X, et al. Polystyrene nanoplastics and cadmium co-exposure aggravated cardiomyocyte damage in mice by regulating PANoptosis pathway [J]. *Environ Pollut*, 2024, 347: 123713. DOI:10.1016/j.envpol.2024.123713.
- [38] Sim Y, Cho HJ, Lee JS, et al. Combined effects of microplastics and benz[a]anthracene on cardiotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*) larvae: Size matters [J]. *Chemosphere*, 2023, 330: 138723. DOI:10.1016/j.chemosphere.2023.138723.
- [39] Zhou Y, Wu Q, Li Y, et al. Low-dose of polystyrene microplastics induce cardiotoxicity in mice and human-originated cardiac organoids [J]. *Environ Int*, 2023, 179: 108171. DOI:10.1016/j.envint.2023.108171.
- [40] Fabra M, Williams L, Watts JEM, et al. The plastic trojan horse: Biofilms increase microplastic uptake in marine filter feeders impacting microbial transfer and organism health [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 797: 149217. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.149217.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.022

综 述

lncRNA 相关基因在三阴性乳腺癌中的作用研究进展

喻茂文, 喻珊珊综述 廖振宇审校



基金项目: 四川省医学科研课题计划项目(S23015)

作者单位: 610400 成都, 四川大学华西医院金堂医院实验医学科(喻茂文、廖振宇); London, Britain, Queen Mary

University of London, Barts Cancer Institute(喻珊珊)

通信作者: 廖振宇, E-mail: Jiaoshizige99@163.com

【摘要】 三阴性乳腺癌(TNBC)是乳腺癌的一种特殊类型,具有较高的复发率、侵袭率。近年研究发现,长链非编码 RNA(lncRNA)在 TNBC 中异常表达,可通过多基因或多信号转导途径参与 TNBC 细胞增殖分化、迁移、自噬及凋亡等生物学进程,对 TNBC 发生发展具有重要作用。lncRNA 调控的分子作用机制是当前 TNBC 研究热点,可用于辅助诊断、预测预后,有望成为 TNBC 潜在作用靶点。文章从 lncRNA 的特征、在 TNBC 中具体作用机制及预测预后价值等方面作一综述。

【关键词】 三阴性乳腺癌;长链非编码 RNA;增殖;迁移;凋亡;作用机制

【中图分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A

Research progress on the role of lncRNA-related genes in triple-negative breast cancer Yu Maowen*, Yu Shanshan, Liao Zhenyu. *Department of Experimental Medicine, Jintang Hospital, West China Hospital of Sichuan University, Sichuan Province, Chengdu 610400, China

Funding program: Sichuan Medical Research Project (S23015)

Corresponding author: Liao Zhenyu, E-mail: Jiaoshizige99@163.com

【Abstract】 Triple negative breast cancer (TNBC) is a special type of breast cancer, which has a high recurrence rate and invasion rate. Recent studies have found that abnormal expression of long non-coding RNA (lncRNA) in TNBC can participate in biological processes such as proliferation, differentiation, migration, autophagy and apoptosis of TNBC cells through multi-gene or multi-signal transduction pathways, and play an important role in the occurrence and development of TNBC. The molecular mechanism of action regulated by lncRNA is currently a hot topic in TNBC research, which can be used to assist diagnosis and prognosis prediction, and is expected to become a potential target of TNBC. This article reviews the characteristics of lncRNA, its specific mechanism of action in TNBC and its prognosis.

【Key words】 Triple negative breast cancer; Long non-coding RNA; Proliferation; Migration; Apoptosis; Mechanism

据 2022 年国际癌症数据显示,乳腺癌新发病例和死亡例数分别为 229.6 万例、66.66 万例,在全球女性癌症新发病例、死亡病例位居首位,严重影响女性患者生命健康^[1]。乳腺癌根据激素受体分为 4 个分子亚型,即孕激素受体(progesterone receptor, PR)、雌激素受体(estrogen receptor, ER)、人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)及 Ki-67,而三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是指病理组织中 ER、PR、HER-2 均为阴性,是乳腺癌较为常见的一种亚型,占原发性乳腺癌的 15%~20%^[2]。相关研究显示, TNBC 多发于绝经期女性,对常见内分泌治疗和靶向治疗不敏感,其预后较差,具有较高侵袭性、易复发转移、明显异质性等,患者在确诊时多处于中晚期,错过了最佳手术时机,影响患者预后生存^[3]。随着分子靶向药物(靶向治疗、抗 HER-2 药物、免疫治疗药物等)的发展,虽然 TNBC 治疗效果获得明显提升,但 TNBC

发病率呈年轻化趋势上升,好发于 40 岁以下女性群体。可见,早期诊断、治疗和预防 TNBC 是当前亟待解决的问题。

目前,随着分子生物学的不断深入,长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)从“垃圾”转录产物转为介导细胞生物学过程的功能转录基因,已成为近年肿瘤研究方面的热点,多项研究结果显示, lncRNA 在疾病和恶性肿瘤中发挥重要生物学功能^[4-5]。近年研究发现, lncRNA 在 TNBC 中异常表达,在转录前、转录及转录后调控中起重要作用,能够参与 TNBC 细胞多种生物学功能,如细胞增殖、迁移、凋亡、血管形成、耐药和自噬等^[6]。因此,本研究重点分析近 3 年来 lncRNA 与 TNBC 之间的分子机制及预后预测等相关研究,并对其进行综述,以期对疾病诊断和治疗提供新的思路和理论依据。

1 lncRNA 概述

在全基因组序列中人类发现了多种新型基因,包括

lncRNA,在人类基因组中约 80% 基因能够被转录,不超过 2% 的转录基因组能够编码蛋白质,剩余基因组由非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 组成^[7]。人类基因组认为多数 ncRNA 不能编码蛋白质,尽管这些 ncRNA 不能编蛋白质,但可通过转录调控基因表达参与生命活动进展^[8]。lncRNA 是 ncRNA 家族成员,长度大于 200 个核苷酸,是主要由 RNA 聚合酶 II 转录的副产物,由于多数 lncRNA 没有生物学功能,最早被称为“转录噪音”^[9]。lncRNA 分类包括以下几种:(1) 正义 lncRNA,可与编码基因的一个或多个外显子重叠;(2) 反义转录产物,可与相反链上的转录产物完全互补或部分互补;(3) 内含子 lncRNA,主要是由基因的内含子所产生;(4) 双向转录产物,能与蛋白质编码的基因共享相同的启动子,但转录方向则完全相反;(5) 基因间 lncRNAs,主要是位于蛋白质编码基因之间的序列独立转录;(6) 增强子 RNA,是由蛋白质编码基因的增强子区域产生^[10-12]。然而近年研究发现,lncRNA 是真核生物生命活动的重要组成部分,与人类疾病和肿瘤发生发展密切相关,证实 lncRNA 具有转录调控、转录干扰、顺式或反式转录及转录后水平上调、染色质修饰、转录激活、核内运输、表观遗传等特征,lncRNA 的调控作用是近年医学研究的热点和重点^[13]。

据报道显示,lncRNA 与多种恶性肿瘤发生发展有关,可发挥抗癌或促癌作用,通过调节癌细胞多种生物学过程(如增殖、迁移、侵袭、自噬及凋亡等)从而发挥抗肿瘤目的^[14-15]。有研究显示,lncRNA 可作为肿瘤原癌基因和致癌基因参与肿瘤恶性进展,主要通过以下作用机制发挥调节功能:(1) 表观遗传调控:一些反式 lncRNA 通过调节组蛋白修饰复合物的作用影响相关基因的表达,还可通过调控一些基因位点的 DNA 甲基化状态,从而改变染色体自身的结构^[16]。(2) 转录调控:既往研究显示,lncRNA 可通过影响染色体构象使其位点接近靶基因的启动子,直接影响靶向基因表达^[17];在转录水平,lncRNA 还可与编码蛋白质基因的转录本形成一条互补的双链,在 Dicer 酶的作用下生成内源性 siRNA,从而介导转录因子招募,抑制基因表达^[18];此外,lncRNA 还可作为转录核心调节因子从而参与下游靶基因的表达。(3) 转录后调控:lncRNA 以互补结合的形式参与 mRNA 剪接、翻译和降解,还可作为 miRNA 的分子海绵,通过吸附下游 miRNA,从而解除 miRNA 对 mRNA 的抑制作用,这一过程称为内源竞争性 (competing endogenous, ceRNA) 网络;lncRNA 还可与一种或多种蛋白结合调控蛋白的翻译及稳定性^[19]。可见 lncRNA 可通过调控多种作用机制在某个阶段调控多个基因表达,从而发挥作用。当前研究显示,lncRNA 与 TNBC 侵袭转移、化疗效果、预后不良等有关,通过调节 TNBC 细胞生物学功能,从而参与 TNBC 恶性进展^[20]。

2 lncRNA 与 TNBC 的关系

2.1 lncRNA 调控 TNBC 细胞增殖分化、自噬和凋亡

肿瘤细胞增殖受细胞程序性死亡调控,而自噬和凋亡同属于程序性死亡的 2 种形式,自噬是细胞内降解和回收的过程,通过形成自噬体,与溶酶体结合,从而降解细胞内物质,以维持细胞内稳态,在一些情况下,自噬会诱导细胞死亡,可协同细胞凋亡共同调控细胞凋亡,当肿瘤细胞凋亡和自噬受到抑制后,能加速细

胞恶性增殖分化^[21]。已有研究表明,lncRNA 与 TNBC 细胞增殖分化、自噬和凋亡密切相关,肿瘤细胞不断分裂和增殖,有助于肿瘤恶性生长^[22]。Wei 等^[23] 研究显示,lncRNA WFDC21P 在 TNBC 中高表达,与患者生存率显著相关,lncRNA WFDC21P 通过靶向调控 miR-628/SMAD3 轴参与 TNBC 细胞增殖和转移。Yu 等^[24] 研究发现,lncRNA SEMA3B-AS1 在 TNBC 组织中低表达,与 TNM 分期、淋巴结转移、Ki67、预后不良密切相关,可作为 TNBC 预后不良的独立危险因素;体外细胞实验显示,过表达 lncRNA SEMA3B-AS1 能明显抑制 TNBC 细胞增殖、转移,可通过负调节 miR-513c-5p 表达参与 TNBC 进展。也有研究发现,通过 TCGA 数据库和 RT-qPCR 发现,lncRNA LINC00707 在 TNBC 组织中表达上调,敲除 lncRNA LINC00707 能抑制 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭,并诱导细胞自噬,lncRNA LINC00707 通过竞争性结合 miR-423-5p 进而调节 MARCH2/PI3K/AKT/mTOR 信号通路表达,参与 TNBC 细胞进展,可能是 TNBC 有效靶标^[25]。郭晨旭等^[26] 发现,下调 lncRNA ATB 能抑制 TNBC 细胞增殖和转移,并诱导细胞凋亡。淳林等^[27] 通过观察 TNBC 细胞功能实验发现,lncRNA SNHG6 通过靶向调控 miR-519d-3p/CCND1 轴促进 TNBC 细胞增殖、迁移,并抑制细胞凋亡。上述 lncRNA 可能是 TNBC 发生、发展的重要分子机制,有望成为 TNBC 干预靶点。

2.2 lncRNA 调控 TNBC 细胞迁移、侵袭、血管生成

血管生成是肿瘤细胞生长和转移的必要过程,可为肿瘤细胞提供生长和转移所需的营养物质,从而加速肿瘤发生和发展过程^[28]。Kim 等^[29] 发现,lncRNA152 在 TNBC 中表达上调,敲低 lncRNA152 能促进 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭,并促进肿瘤血管生成。Hu 等^[30] 研究显示,lncRNA SEMA3B-AS1 在 TNBC 组织中表达下调与患者不良预后有关,敲除 lncRNA SEMA3B-AS1 能促进 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭,过表达则抑制 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭,其通过海绵吸附 miR-3940 进而调控 KLLN 促进 TNBC 细胞生成。Wang 等^[31] 通过收集 TNBC 组织发现,lncRNA LINC01605 在 TNBC 组织中表达上调,lncRNA LINC01605 表达升高与患者低生存率有关,体外实验显示,敲除 lncRNA LINC01605 能抑制 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭;体内实验显示,敲除 lncRNA LINC01605 能抑制移植瘤小鼠迁移和肿瘤形成,提示 lncRNA LINC01605 可能作为 TNBC 治疗潜在靶点。Liu 等^[32] 研究显示,lncRNA uc. 246 在 TNBC 细胞中表达上调,过表达 lncRNA uc. 246 能促进 TNBC 细胞血管形成、迁移和上皮间质转化,可能作为 TNBC 潜在作用靶点。敖翔等^[33] 研究发现,lncRNA P21 在 TNBC 组织和细胞中低表达,过表达 lncRNA P21 能抑制 TNBC 细胞增殖和克隆形成能力,并能抑制细胞迁移、侵袭,且 lncRNA P21 通过靶向 miR-17-3p 表达从而发挥抗肿瘤作用。可见,上述 lncRNA 相关基因可参与调控 TNBC 细胞迁移、侵袭、血管生成,有望成为 TNBC 的潜在标志物。

2.3 lncRNA 调控 TNBC 细胞耐药

化疗是治疗 TNBC 的主要途径,虽然能改善患者总体生存率和生活质量,但会有部分患者产生耐药性,影响化疗效果^[34]。最近相关分子作用机制研究发现,TNBC 化疗耐药性与 lncRNA 调控的分子机制有关,可通

过调控多途径参与 TNBC 细胞耐药进展^[35]。Zheng 等^[36]研究发现, lncRNA PRKCQ-AS1 在 TNBC 紫杉醇耐药细胞中表达上调, 敲除 lncRNA PRKCQ-AS1 能诱导 TNBC 紫杉醇耐药细胞自噬和降低耐药性, 并促进细胞凋亡。Li 等^[37]研究通过构建 TNBC 紫杉醇耐药细胞发现, lncRNA OTUD6B-AS1 表达上调, 可通过靶向 miR-26a-5p/MTDH 轴促进 TNBC 紫杉醇耐药细胞自噬和 DNA 损伤。Aini 等^[38]通过检索 TCGA 数据发现, lncRNA SNHG10 在 TNBC 中表达下调, 在阿霉素、多柔比星治疗后 lncRNA SNHG10 表达进一步下调, 提示 lncRNA SNHG10 有望成为 TNBC 干预治疗靶点。Wu 等^[39]研究发现, 沉默 lncRNA AFAP1-AS1 能抑制 TNBC 细胞对 5-Fu、阿霉素、紫杉醇和顺铂耐药性, 并抑制细胞增殖、迁移和侵袭, 通过靶向下调 miR-195 和 miR-545 参与 TNBC 进展。于冰等^[40]研究结果显示, lncRNA MEG3 在 TNBC 紫杉醇耐药细胞中表达水平低于 TNBC 细胞, 上调 lncRNA MEG3 能通过激活 NLRP3/caspase-1/GSDMD 通路促进 MDA-MB-231 细胞焦亡和增加 TNBC 对紫杉醇的敏感性。可见这些 lncRNA 有望成为 TNBC 治疗的作用靶点。

2.4 lncRNA 影响 TNBC 干细胞特性 肿瘤干细胞是肿瘤细胞的一类特殊细胞, 是肿瘤遗传进展的主要组成部分, 具有自我复制、多向分化潜能, 研究认为, 肿瘤干细胞是导致肿瘤治疗失败、复发和转移的主要原因^[41]。研究显示, TNBC 干细胞与 lncRNA 调控作用机制有关, 能参与 TNBC 恶性进展^[42]。Ma 等^[43]研究显示, lncRNA XIST 通过激活 IL-6/STAT3 信号调节 TNBC 干细胞自我分化能力。Zhou 等^[44]研究显示, lncRNA TGFB2-AS1 在 TNBC 干细胞中高表达, TNBC 干细胞干预移植瘤小鼠后, lncRNA TGFB2-AS1 能明显抑制移植瘤小鼠肿瘤生长和肺转移。Cruikshank 等^[45]研究显示, lncRNA Part1 对 TNBC 增殖、迁移作用, 与肿瘤干细胞有关, 说明 TNBC 相关 lncRNA 有望成为其潜在治疗靶点。

2.5 lncRNA 影响 TNBC 诊断和预后 最近研究证据表明, 许多 lncRNA 在肿瘤发生发展中具有重要作用, 在不同癌组织中表现出明显异质性, lncRNA 在 TNBC 患者血清、组织中异常表达, 可用于诊断、预测预后评估, 是当前 TNBC 诊断、治疗和预后评估的一个研究方向^[46]。徐阳等^[47]研究显示, lncRNA CASC11 在 TNBC 组织表达升高, 与患者脉管浸润、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期及复发密切相关, 有望成为 TNBC 潜在作用靶点, 可通过靶向调控 miR-676-3p 诱导 TNBC 细胞迁移和侵袭。Liu 等^[48]通过纳入 122 例 TNBC 患者发现, lncRNA LINC00466 在癌组织中高表达, 与患者不良预后显著相关, 通过调节 miR-539-5p 促进 TNBC 进展, 提示 lncRNA LINC00466 有望成为治疗 TNBC 的一个策略。许春景等^[49]通过查阅 TCGA 数据库, 发现 TNBC 中 111 个 lncRNA 与铜死亡有关, 经 Cox 分析显示, lncRNA MELTF-AS1、APTR、DHRS4-AS1、LINC02188 和 URB1-AS1 与患者生存预后有关, 能有效预测 TNBC 预后。潘帆帆等^[50]研究显示, lncRNA TINCR 在 TNBC 血清外泌体和组织中高表达, 与患者 T 分期、N 分期及生存预后有关, 在 TNBC 诊断和病情评估中具有一定的价值。曹雷雨等^[51]通过观察免疫相关 lncRNA, 结果显示 lncRNA AC090181. 2、LINC01235、

LINC01943 与 TNBC 免疫预后显著相关, 在预测 TNBC 预后方面具有良好的参考价值, 相关 lncRNA 可作为检测高风险群体预测 TNBC 预后的理想候选基因, 为其及时治疗提供参考方向。

3 小结与展望

lncRNA 和 TNBC 之间的关系是当前研究的热点, 笔者针对近 3 年 TNBC 与 lncRNA 相关的文献进行了综述, 多数 lncRNA 在 TNBC 中异常表达, lncRNA 具有广泛的生物学功能, 通过多基因或多信号转导途径参与 TNBC 细胞增殖、迁移、凋亡、自噬、耐药及血管生成等过程, 从而发挥抗癌或促癌作用。本研究总结了 lncRNA 与 TNBC 的相关文献, 其有望成为 TNBC 诊断、治疗的靶点, 从不同角度阐述 lncRNA 与 TNBC 相关作用机制和研究情况, 为研究 TNBC 早期诊断、预后评估提供参考。有关 lncRNA 与 TNBC 研究多为基础研究, 基于 lncRNA 治疗进展有望成为 TNBC 潜在治疗靶点, 但 lncRNA 在临床应用中仍处于起步阶段, 有大量基础和临床的问题需要解决, 仍存在着诸多挑战, 如缺乏安全、特异和有效载体类型及非靶向效应等, 虽然 lncRNA 可能对 TNBC 有潜在的治疗价值, 但仍需更深入的基础和临床研究去探讨。

参考文献

- Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74 (3): 229-263. DOI: 10. 3322/caac. 21834.
- Bianchini G, De Angelis C, Licata L, et al. Treatment landscape of triple-negative breast cancer - expanded options, evolving needs [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19 (2): 91-113. DOI: 10. 1038/s41571-021-00565-2.
- Yang QH, Fu YQ, Wang JX, et al. Roles of lncRNA in the diagnosis and prognosis of triple-negative breast cancer [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2023, 24 (12): 1123-1140. DOI: 10. 1631/jzus. B2300067.
- Yao ZT, Yang YM, Sun MM, et al. New insights into the interplay between long non-coding RNAs and RNA-binding proteins in cancer [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42 (2): 117-140. DOI: 10. 1002/cac2. 12254.
- Khorkova O, Stahl J, Joji A, et al. Long non-coding RNA-targeting therapeutics: Discovery and development update [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2023, 18 (9): 1011-1029. DOI: 10. 1080/17460441. 2023. 2236552.
- Nandagopal S, Misra S, Sankanagoudar S, et al. Long non coding RNA in triple negative breast cancer: A promising biomarker in tumorigenesis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2023, 24 (1): 49-59. DOI: 10. 31557/APJCP. 2023. 24. 1. 49.
- Palcau AC, Brandi R, Mehterov NH, et al. Exploiting long non-coding RNAs and circular RNAs as pharmacological targets in triple-negative breast cancer treatment [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15 (16): 4181. DOI: 10. 3390/cancers15164181.
- Crespi M. Long non-coding RNAs reveal new regulatory mechanisms controlling gene expression [J]. *C R Biol*, 2023, 345 (4): 15-39. DOI: 10. 5802/crbio. 106.
- Chen B, Dragomir MP, Yang C, et al. Targeting non-coding RNAs to overcome cancer therapy resistance [J]. *Signal Transduct Target*

- Ther, 2022, 7(1):121. DOI:10.1038/s41392-022-00975-3.
- [10] Mattick JS, Amaral PP, Caminci P, et al. Long non-coding RNAs: Definitions, functions, challenges and recommendations [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(6):430-447. DOI:10.1038/s41580-022-00566-8.
- [11] Vishnubalaji R, Elango R, Alajez NM. LncRNA-based classification of triple negative breast cancer revealed inherent tumor heterogeneity and vulnerabilities [J]. *Noncoding RNA*, 2022, 8(4):44. DOI:10.3390/nrna8040044.
- [12] 万广民, 许刚. lncRNA 和 circRNA 在三阴性乳腺癌放疗敏感性中的研究进展 [J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2024, 33(7):678-683. DOI:10.3760/cma.j.cn113030-20230921-00098.
- [13] Agostini M, Mancini M, Candi E. Long non-coding RNAs affecting cell metabolism in cancer [J]. *Biol Direct*, 2022, 17(1):26. DOI:10.1186/s13062-022-00341-x.
- [14] Mishra MK, Gupta S, Shivangi, et al. Assessing long non-coding RNAs in tobacco-associated oral cancer [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2022, 22(11):879-888. DOI:10.2174/1568009622666220623115234.
- [15] Rajabi S, Rajani HF, Mohammadkhani N, et al. Long non-coding RNAs as novel targets for phytochemicals to cease cancer metastasis [J]. *Molecules*, 2023, 28(3):987. DOI:10.3390/molecules28030987.
- [16] Shaath H, Vishnubalaji R, Elango R, et al. Long non-coding RNA and RNA-binding protein interactions in cancer: Experimental and machine learning approaches [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 3):325-345. DOI:10.1016/j.semcancer.2022.05.013.
- [17] Much C, Lasda EL, Pereira IT, et al. The temporal dynamics of lncRNA Firre-mediated epigenetic and transcriptional regulation [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):6821. DOI:10.1038/s41467-024-50402-0.
- [18] Athanasopoulou K, Chondrou V, Xiropotamos P, et al. Transcriptional repression of lncRNA and miRNA subsets mediated by LRF during erythropoiesis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2023, 101(9):1097-1112. DOI:10.1007/s00109-023-02352-1.
- [19] 魏娜, 侯净, 王光辉, 等. lncRNA LINC00958 靶向调控 miR-597-5p 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(18):4488-4495. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2022.18.030.
- [20] Mathias C, Kozak VN, Magno JM, et al. PD-1/PD-L1 inhibitors response in triple-negative breast cancer: Can long noncoding rnas be associated [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(19):4682. DOI:10.3390/cancers15194682.
- [21] Chen JS, Chiu SC, Huang SY, et al. Isolinderalactone induces apoptosis, autophagy, cell cycle arrest and mapk activation through ros-mediated signaling in colorectal cancer cell lines [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18):14246. DOI:10.3390/ijms241814246.
- [22] Azman AA, Siok-Fong C, Rajab NF, et al. The potential roles of lncRNA TINCR in triple negative breast cancer [J]. *Mol Biol Rep*, 2023, 50(9):7909-7917. DOI:10.1007/s11033-023-08661-5.
- [23] Wei YB, Liang DM, Zhang ML, et al. WFDC21P promotes triple-negative breast cancer proliferation and migration through WFDC21P/miR-628/SMAD3 axis [J]. *Front Oncol*, 2022, 12(10):1032850. DOI:10.3389/fonc.2022.1032850.
- [24] Yu HZ, Wu Y, Huang JY, et al. lncRNA SEMA3B-AS1 inhibits miR-513c-5p to regulate the progression of triple-negative breast cancer [J]. *Anticancer Res*, 2023, 43(12):5475-5484. DOI:10.21873/anticancer.16750.
- [25] Li HL, Liu QH, Hu YQ, et al. lnc00707 regulates autophagy and promotes the progression of triple negative breast cancer by activation of PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1):138. DOI:10.1038/s41420-024-01906-7.
- [26] 郭晨旭, 刘静波, 许睿, 等. 长链非编码 RNA ATB 对三阴性乳腺癌细胞的增殖、凋亡及上皮间充质转化的影响 [J]. *山西医科大学学报*, 2022, 53(8):950-956. DOI:10.13753/j.issn.1007-6611.2022.08.006.
- [27] 淳林, 赵奎, 何丽琼, 等. lncRNA SNHG6 对三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移及凋亡的影响研究及其 ceRNA 网络初探 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2022, 30(3):386-390. DOI:10.13404/j.cnki.cjbbh.20220311.009.
- [28] Hayashi Y, Matsuo Y, Denda Y, et al. Girdin regulates both migration and angiogenesis in pancreatic cancer cell lines [J]. *Oncol Rep*, 2023, 50(3):169. DOI:10.3892/or.2023.8606.
- [29] Kim DS, Camacho CV, Setlem R, et al. Functional characterization of lncRNA152 as an angiogenesis-inhibiting tumor suppressor in triple-negative breast cancers [J]. *Mol Cancer Res*, 2022, 20(11):1623-1635. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-22-0123.
- [30] Hu J, Huang HH, Xi HZ, et al. lncRNA SEMA3B-AS1 inhibits breast cancer progression by targeting miR-3940/KLLN axis [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(9):800. DOI:10.1038/s41419-022-05189-7.
- [31] Wang W, He XH, Wang YQ, et al. LINC01605 promotes aerobic glycolysis through lactate dehydrogenase A in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Sci*, 2022, 113(8):2484-2495. DOI:10.1111/cas.15370.
- [32] Liu Y, Hu XP, Xia WF. Overexpression of long non-coding RNA uc.246 facilitates angiogenesis, migration, and EMT phenotype of human breast cancer cells [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2024, 196(2):1142-1153. DOI:10.1007/s12010-023-04572-0.
- [33] 敖翔, 梁红玲, 詹勇涛, 等. lncRNA-P21 通过靶向 miR-17-3p 对三阴性乳腺癌细胞迁移和侵袭能力的影响 [J]. *天津医药*, 2022, 50(3):241-247. DOI:10.11958/20211157.
- [34] Obidiro O, Battogtokh G, Akala EO. Triple negative breast cancer treatment options and limitations: Future outlook [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(7):1796. DOI:10.3390/pharmaceutics15071796.
- [35] Das PK, Siddika A, Rashed KM, et al. Roles of long noncoding RNA in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Med*, 2023, 12(20):20365-20379. DOI:10.1002/cam4.6600.
- [36] Zheng SR, Fu WD, Huang QD, et al. lncRNA PRKCQ-AS1 regulates paclitaxel resistance in triple-negative breast cancer cells through miR-361-5p/PIK3C3 mediated autophagy [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2023, 50(6):431-442. DOI:10.1111/1440-1681.13758.
- [37] Li PP, Li RG, Huang YQ, et al. lncRNA OTUD6B-AS1 promotes paclitaxel resistance in triple negative breast cancer by regulation of miR-26a-5p/MTDH pathway-mediated autophagy and genomic instability [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(21):24171-24191. DOI:

- 10.18632/aging.203672.
- [38] Aini S, Bolati S, Ding W, et al. LncRNA SNHG10 suppresses the development of doxorubicin resistance by downregulating miR-302b in triple-negative breast cancer [J]. *Bioengineered*, 2022, 13 (5): 11430-11439. DOI:10.1080/21655979.2022.2063592.
- [39] Wu JJ, Xu W, Ma LN, et al. Formononetin relieves the facilitating effect of lncRNA AFAP1-AS1-miR-195/miR-545 axis on progression and chemo-resistance of triple-negative breast cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13 (14): 18191-18222. DOI:10.18632/aging.203156.
- [40] 于冰, 杨旭, 陈之梦, 等. lncRNA MEG3 调控 NLRP3/caspase-1/GSDMD 通路影响三阴性乳腺癌对紫杉醇的敏感性 [J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31 (4): 597-602. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2023.04.002.
- [41] Islam SS, Al-Tweigeri T, Al-Harbi L, et al. Long noncoding RNA DLEU2 and ROR1 pathway induces epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells in breast cancer [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10 (1): 61. DOI:10.1038/s41420-024-01829-3.
- [42] Song B, Wei FX, Peng JH, et al. Icarin regulates EMT and stem cell-like character in breast cancer through modulating lncRNA NEAT1/TGF β /SMAD2 signaling pathway [J]. *Biol Pharm Bull*, 2024, 47 (2): 399-410. DOI:10.1248/bpb.b23-00668.
- [43] Ma YX, Zhu YY, Shang L, et al. LncRNA XIST regulates breast cancer stem cells by activating proinflammatory IL-6/STAT3 signaling [J]. *Oncogene*, 2023, 42 (18): 1419-1437. DOI:10.1038/s41388-023-02652-3.
- [44] Zhou CX, Wang DF, Li JC, et al. TGF β 2-AS1 inhibits triple-negative breast cancer progression via interaction with SMARCA4 and regulating its targets TGF β 2 and SOX2 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119 (39): e2117988119. DOI:10.1073/pnas.2117988119.
- [45] Cruickshank BM, Wasson MD, Brown JM, et al. LncRNA PART1 promotes proliferation and migration, is associated with cancer stem cells, and Alters the miRNA landscape in triple-negative breast cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13 (11): 2644. DOI:10.3390/cancers13112644.
- [46] Hu Y, He YQ, Luo N, et al. A feedback loop between lncRNA MALAT1 and DNMT1 promotes triple-negative breast cancer stemness and tumorigenesis [J]. *Cancer Biol Ther*, 2023, 24 (1): 2235768. DOI:10.1080/15384047.2023.2235768.
- [47] 徐阳, 潘胜男. lncRNA CAS11 在三阴性乳腺癌中的临床意义及其与 miR-676-3p 调控的关系 [J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44 (4): 465-471. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.017.
- [48] Liu JQ, Yu HS, Cui HY, et al. LncRNA LINC000466 predicts the prognosis and promotes the progression of triple-negative breast cancer via modulating miR-539-5p [J]. *Clin Breast Cancer*, 2022, 22 (4): 374-380. DOI:10.1016/j.clbc.2022.01.011.
- [49] 许春景, 郭旭, 陈杰, 等. 铜死亡相关 lncRNA 预测三阴性乳腺癌患者预后及与肿瘤免疫微环境的关系 [J]. *浙江医学*, 2023, 45 (23): 2468-2472, 2508. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2023.45.23.2023-1191.
- [50] 潘帆帆, 郑明华, 邓华红. 三阴性乳腺癌血清外泌体和组织中 lncRNA TINCR 的表达及临床意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44 (7): 808-813. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.07.008.
- [51] 曹雷雨, 刘伟, 高艳, 等. 三阴性乳腺癌免疫相关 lncRNA 筛选及预后预测模型构建 [J]. *山东医药*, 2023, 63 (15): 28-32. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2023.15.006.

(收稿日期:2024-06-17)

(上接 1384 页)

- [13] Deng X, Xu H, Pan C, et al. Moderate mechanical strain and exercise reduce inflammation and excessive autophagy in osteoarthritis by downregulating mitofusin 2 [J]. *Life Sci*, 2023, 332 (1): 122020-122033. DOI:10.1016/j.lfs.2023.122020.
- [14] Tang L, Sim I, Moqbel S, et al. Dapansutrile ameliorated chondrocyte inflammation and osteoarthritis through suppression of MAPK signaling pathway [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2022, 41 (1): 1-11. DOI:10.1177/09603271221145401.
- [15] Hou W, Huang L, Huang H, et al. Bioactivities and mechanisms of action of sinomenine and its derivatives: A comprehensive review [J]. *Molecules*, 2024, 29 (2): 540-590. DOI:10.3390/molecules29020540.
- [16] Lei YH, Hu XX, Wen HJ, et al. Bone protective effect of sinomenine against monosodium iodoacetate induced knee and hip injury in rat model: An inflammatory pathway [J]. *Acta Cir Bras*, 2024, 39 (1): 390924-390934. DOI:10.1590/ach390924.
- [17] Dong HC, Li PN, Chen CJ, et al. Sinomenine attenuates cartilage degeneration by regulating miR-223-3p/NLRP3 inflammasome signaling [J]. *Inflammation*, 2019, 42 (4): 1265-1275. DOI:10.1007/s10753-019-00986-3.
- [18] Wu Y, Lin Z, Yan Z, et al. Sinomenine contributes to the inhibition of the inflammatory response and the improvement of osteoarthritis in mouse-cartilage cells by acting on the Nrf2/HO-1 and NF- κ B signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75 (1): 105715. DOI:10.1016/j.intimp.2019.105715.
- [19] Zhang X, Zhang H, Gao Y, et al. Forsythoside A regulates autophagy and apoptosis through the AMPK/mTOR/ULK1 pathway and alleviates inflammatory damage in MAC-T cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118 (1): 110053. DOI:10.1016/j.intimp.2023.110053.
- [20] Huang Z, Zhou X, Zhang X, et al. Pien-Tze-Huang, a Chinese patent formula, attenuates NLRP3 inflammasome-related neuroinflammation by enhancing autophagy via the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141 (1): 111814-111824. DOI:10.1016/j.biopha.2021.111814.
- [21] Zhang GZ, Chen HW, Deng YJ, et al. BRD4 inhibition suppresses senescence and apoptosis of nucleus pulposus cells by inducing autophagy during intervertebral disc Degeneration: an in vitro and in vivo study [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 1 (1): 9181412-9181438. DOI:10.1155/2022/9181412.
- [22] Wang Y, Xu Y, Tan J, et al. Anti-inflammation is an important way that Qingre-Huazhuo-Jiangsuan recipe treats acute gouty arthritis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1268641-1268666. DOI:10.3389/fphar.2023.1268641.

(收稿日期:2024-05-31)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.023

综 述

肾上腺皮质癌临床治疗研究进展

牛文静,梁华,牛立峰综述 张海梅审校



基金项目:“白求恩·精益求精-晚期实体瘤科研项目(二期)”研究课题(STLKY2-010)

作者单位:261000 山东潍坊,山东第二医科大学临床医学院(牛文静);266000 山东青岛,青岛市中心医院肿瘤科

(梁华、张海梅);264010 山东烟台,烟台市滨州医学院临床医学院(牛立峰)

通信作者:张海梅,E-mail:zhanghaimei2004@163.com

【摘要】肾上腺皮质癌是一种预后不良的罕见恶性肿瘤,具有高度侵袭性。临床上以女性患者较为多见,该病形成的原因目前尚未阐明,可能与机体功能障碍、饮食、药物等因素有关,常表现为女性男性化及肾上腺功能亢进。由于肾上腺皮质癌侵袭性较强,容易发生转移,常见淋巴转移主要为肾上腺周围及大动脉周围淋巴结转移。故早期发现及手术完全切除是治疗该病的关键,尽可能切除肿瘤和相邻组织,从而提高治疗成功率。对于肿瘤远处转移、全身状况不佳等无法进行手术的肾上腺皮质癌患者,可考虑使用辅助疗法,如放疗、化疗、分子靶向治疗等,为患者争取较长的生存时间。文章对肾上腺皮质癌治疗的最新基础研究和临床研究进展进行综述,为肾上腺皮质癌临床治疗提供新的视角和经验。

【关键词】肾上腺皮质癌;临床治疗;研究进展

【中图分类号】R736.6 【文献标识码】A

Progress in clinical treatment of adrenal cortical cancer Niu Wenjing*, Liang Hua, Niu Lifeng, Zhang Haimei. * School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Shandong Province, Weifang 261000, China

Funding program: "Bethune · Excellence-Advanced Solid Tumor Research Project (Phase II)" Research Topic (STLKY2-010)

Corresponding author: Zhang Haimei, E-mail: zhanghaimei2004@163.com

【Abstract】Adrenocortical carcinoma is a rare malignant tumor with poor prognosis and is highly aggressive. It is clinically more common in female patients. The cause of this disease has not yet been fully elucidated, but it may be related to organ dysfunction, dietary factors, and drug factors. It often manifests as virilization in females and hyperfunction of the adrenal glands. Due to the strong invasiveness of adrenocortical carcinoma and its propensity for metastasis, common lymphatic metastases mainly involve the lymph nodes around the adrenal glands and the large arteries. Therefore, early detection and complete surgical resection are key to treating the disease, with the aim of removing as much of the tumor and adjacent tissue as possible to increase the success rate of treatment. For patients with adrenocortical carcinoma who have distant metastases or poor general condition and are not candidates for surgery, adjunctive therapies such as radiotherapy, chemotherapy, and molecular targeted therapy may be considered to prolong survival. This article presents a comprehensive and systematic review of the latest basic and clinical research advances in the treatment of adrenocortical carcinoma. The aim is to provide new perspectives and experiences in the clinical treatment of adrenocortical carcinoma.

【Key words】Adrenocortical carcinoma; Clinical Treatment; Research progress

肾上腺皮质癌是临床中一种罕见的癌症,其发病原因尚无统一结论^[1]。其中约60%的原发性肾上腺皮质癌为功能性,多为单侧发生,体积较大,癌瘤往往呈圆形、椭圆形或分叶状,临床表现包括食欲下降、多毛症、皮肤粗糙、糖尿病、骨质疏松等,且易发生局部浸润和转移^[2-3]。临床诊疗中,肾上腺皮质癌需与其他原发性肾上腺肿瘤区分,如嗜铬细胞瘤和不寻常的原发性肿瘤,以及肾上腺转移癌。通过识别肾上腺皮质肿瘤的黏液样、嗜酸细胞和肉瘤样变体,以免与其他肿瘤混淆^[4]。对于I~II期及绝大多数III期肾上腺皮质癌患者,均可以行根治性

手术切除,通过清除周围脂肪组织和受肿瘤侵犯的可疑区域以控制病情^[5]。对于无法手术者可选择放疗、化疗、分子靶向治疗等辅助疗法,以为患者获取较佳的治疗效果^[6-7]。文章就目前肾上腺皮质癌临床治疗进展予以综述。

1 手术治疗

目前,手术切除被认为是治疗肾上腺皮质癌最常用和有效的方法,适用于潜在可切除的I~II期及绝大多数III期肾上腺皮质癌患者。吴侃等^[8]对22例局限性(I/II期)肾上腺皮质癌患者分别应用经腹膜后途径腹腔镜肾上腺切除术、经腹腔途

径腹腔镜肾上腺切除术治疗,2 组患者术后 5 年总生存率差异无统计学意义($P=0.485$),证实上述 2 种手术治疗对局限性(I/II 期)肾上腺皮质癌具有相似的控制效果。Zheng 等^[9]通过比较开放性肾上腺切除术和腹腔镜肾上腺切除术 2 种方法治疗肾上腺皮质癌患者的短期结果,发现开放性肾上腺切除术在手术时间、出血量和术后住院时间方面的益处小于腹腔镜肾上腺切除术,而开放性肾上腺切除术患者的平均无病生存期则长于腹腔镜肾上腺切除术患者。所有接受腹腔镜肾上腺切除术治疗的患者(11/11)在首次复发时都显示出局部复发性病变,而 13 例接受开放性肾上腺切除术治疗的患者中有 5 例未出现局部复发($P=0.030$)。但由于肾上腺周围结构复杂,难以完全摘除,此时容易残留部分肿瘤组织,导致术后复发。对于肾上腺皮质癌术后复发再行手术切除疗效方面,杨华安等^[10]研究表明,复发灶行扩大切除可改善肾上腺皮质癌术后原位复发病患者的生存,但此手术方案对于远处转移患者生存则无显著获益。Mpaili 等^[11]则认为腹腔镜肾上腺切除术和局部晚期原发性肾上腺皮质癌(ENSAT I ~ III)的开放式方法在多个指标上表现相似,包括 R0 切除率、总复发率、无病生存率和总生存率,这表明决定手术成功的关键是肿瘤切除的彻底程度,而非手术的具体方法。

综上,手术治疗是早期肾上腺皮质癌的主要治疗方式,但不同的手术方法在治疗效果、术后复发率和生存期等方面存在差异,应根据患者的具体情况和肿瘤特征进行个体化评估选择最适合的手术方法。当无法进行手术切除或手术切除无效时,通常使用放、化疗等治疗方案。

2 放射治疗

放疗是治疗肾上腺皮质癌的主要手段之一,基于放射线的生物效应,当放射线或其他辐射照射到肿瘤组织时,辐射会直接或间接地与细胞内的水分子互动,产生自由基和其他有害物质,这些有害物质可导致肿瘤细胞的 DNA 发生不可修复的损伤。此外,放射治疗还可以通过影响细胞生物化学代谢,组织细胞分裂或生长,从而抑制肿瘤蔓延或生长^[12]。Sabolch 等^[13]将接受手术后辅助放射局部治疗的患者与单独接受手术治疗的匹配队列进行比较,术后放射治疗(RT)显著改善了肾上腺皮质癌患者的局部控制效果。Else 等^[14]对 391 例诊断为肾上腺皮质癌的成年患者进行了分析,发现皮质醇生成、肿瘤分期和肿瘤分级为其预后危险因素,并通过对比放射治疗及米托坦治疗,发现上述 2 种治疗方案均能提升患者的无复发生存率。Ho 等^[15]回顾性分析了 14 例经病理证实的肾上腺皮质癌患者的治疗过程,显示放射治疗可缓解完全肾上腺皮质癌患者因骨转移引起的全身疼痛症状。上述研究提示,术后辅助放射治疗在肾上腺皮质癌的治疗中具有显著优势,是肾上腺皮质癌综合治疗策略中的重要组成部分。同时,在制定肾上腺皮质癌患者的治疗计划时,需要综合考虑患者的个体健康状况、年龄、肿瘤特征以及放射治疗的潜在益处和风险,以确定最适合患者的治疗方案。

3 化学治疗

随着肾上腺皮质癌治疗研究的不断发展,米托坦作为治疗

肾上腺皮质癌的主要药物之一,取得了显著的效果^[16-17]。米托坦是一种能够抑制肾上腺皮质激素合成和分泌的药物,其治疗肾上腺皮质癌作用机制包括以下几点:米托坦赋予肾上腺特异性细胞毒性,并通过抑制甾醇-O-乙酰转移酶 1 下调类固醇生成,从而导致脂质诱导的内质网应激^[18]。米托坦导致 2 种细胞色素 P450(CYP11A1 和 CYP17A1)的 mRNA 水平降低,这两种信使核糖核酸编码参与皮质醇和硫酸脱氢表雄酮(DHEAS)合成的蛋白质^[19]。米托坦可以逆转 *mdr-1*/*Pgp* 介导的多药耐药性,其通过与天然产物化疗剂联合治疗可以增强肾上腺皮质癌的临床疗效^[20]。邓建华等^[21]回顾性分析 76 例 IV 期肾上腺皮质癌患者的临床资料,对给予口服米托坦联合氢化可的松治疗复发转移的患者随访 8 ~ 60 个月,手术后 5 年的患者存活 43 例。连鹏鸽等^[22]观察 2 例晚期肾上腺皮质癌术前给予米托坦治疗的效果,发现服用药物后患者库欣症状缓解,在术后随访 7、42 个月均未见复发,证实对晚期肾上腺皮质癌行手术的患者而言,术前应用米托坦辅助治疗可显著改善患者库欣症状,降低转移情况。另有研究表明,当米托坦血药浓度 > 14 mg/L 时,总生存率显著增加,认为如果要发挥临床作用米托坦浓度要达到 14 mg/L^[23]。Maiter 等^[24]对接受米托坦治疗的 34 例肾上腺皮质癌患者(12 例患者在研究前诊断,22 例患者在试验期间诊断)的结果进行了评估,70% 的患者在 4 个月后来米托坦血浆水平达到 14 ~ 20 mg/L,61% 的可评估患者维持了 2 个月以上,这对于总生存期具有积极影响。虽然米托坦的使用可能带来包括胃肠道、神经、激素、皮肤和代谢等不良反应,但并不严重,米托坦使用终止需要依据肿瘤的进展情况来判定。此外,并非全部患者在接受米托坦治疗后均能达到血浆水平 ≥ 14 mg/L,并持续维持,因此在研究和临床治疗中应考虑该情况。米托坦作为辅助治疗手段应依据肿瘤分期、手术切除肿瘤的完整度及增殖率等主要预后因素。

4 免疫治疗

肾上腺皮质癌可通过多种途径避免被免疫系统攻击,如通过降低自身抗原的表达、增加抑制性免疫细胞的数量等。免疫治疗是基于人体免疫系统的特点和机制,通过注射免疫调节剂或其他方法来激活 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞等,使它们能够更好地识别和攻击异常细胞发挥抗肿瘤效应。免疫治疗通过增强免疫记忆功能,使免疫系统能够更好地对抗异常细胞,或通过抑制肿瘤免疫逃逸机制,使免疫系统能够更好地攻击肿瘤细胞^[25]。

程序性死亡受体 1(PD-1)是一种重要的免疫抑制分子,PD-1 受体与其配体 PD-L1 和 PD-L2 结合时,可以抑制活化的 T 细胞,从而避免自身免疫反应过度激活^[26]。在某些情况下,肿瘤细胞利用 PD-1 受体与其配体 PD-L1 信号通路来逃避免疫反应,导致系统无法清除它们^[27]。因此,针对 PD-1 抗体可以阻止 PD-1 受体与其配体 PD-L1 之间结合,促进 T 细胞的激活,继而增强免疫系统对肿瘤的攻击。纳武利尤单抗是完全人源化的 PD-1 免疫检查点抑制剂抗体,其作用靶点为 PD-1,通过解除肿瘤对免疫系统的抑制,从而发挥抗肿瘤作用^[28]。Carneiro 等^[29]研究证实纳武利尤单抗在晚期 ACC 患者中表现出适度的抗肿瘤

瘤活性,纳武利尤单抗的安全性与之前的临床经验一致。Le 等^[30]评估了阿维鲁单抗(一种抗程序性死亡配体 1 抗体)在既往治疗过的转移性肾上腺皮质癌患者中的疗效,50 例患者接受阿维鲁单抗治疗平均随访为 16.5 个月,其中曾接受 2 种及以上方案治疗的患者占 74.0%,50.0% 的患者继续使用米托坦。结果表明,客观缓解率(ORR)为 6.0%,中位无进展生存期为 2.6 个月(95% CI 1.4 ~ 4.0),中位总生存期为 10.6 个月(95% CI 7.4 ~ 15.0),1 年总生存率为 43.4%(95% CI 27.9% ~ 57.9%)。Habra 等^[31]使用帕博利珠单抗治疗肾上腺皮质癌患者,结果显示 14 例患者中有 5 例在 27 周时生存且无进展(无进展生存率为 35.7%,95% CI 13% ~ 65%)。根据实体瘤免疫相关反应评估标准,可评估影像学反应的 14 例患者中,2 例患者有部分反应(包括 1 例产生皮质醇的 ACC),7 例患者病情稳定(包括 3 例产生皮质醇 ACC),5 例患者病情进展,客观反应率为 14%(95% CI 2% ~ 43%)。免疫治疗为肾上腺皮质癌患者提供了新的希望,作为新的辅助治疗手段,是转移性 ACC 病情持续发展后的治疗手段之一。

5 分子靶向治疗

肾上腺皮质癌通常具有恶性增殖、浸润及转移等基本生物学特征,肾上腺皮质癌细胞可以破坏周围组织结构,穿过血管、淋巴管等通道,侵入到周边正常组织中,这些浸润能力是肾上腺皮质癌转移的基础,也是该病治疗难度增加的原因之一。分子靶向治疗是根据患者基因变异和疾病特征来选择相应的靶点药物,药物进入人体内会特异性选择与致癌位点相结合并发生作用,使肿瘤细胞发生特异性凋亡^[32]。

5.1 胰岛素样生长因子(IGF)抑制剂 IGF 是一组具有促生长作用的多肽类物质,在组织或血液中均与胰岛素样生长因子结合蛋白相结合。IGF 轴有 I 型 IGF(IGF-I)和 II 型 IGF(IGF-II)2 种,它们通过结合特定的糖蛋白膜受体 IGF-1R 和 IGF-2R 发挥作用^[33]。IGF-1R 是 IGF 家族中的一个关键成员,具有四聚体结构,由二硫键连接的 2 个 α 亚基和 2 个跨膜 β 亚基组成。IGF-1R 信号通路通过与细胞表面上特异性受体结合的形式在调节细胞增殖、分化、凋亡等方面起着非常重要的生理作用^[34]。许多类型的肿瘤细胞会过表达 IGF-1R,从而导致多种癌症对放疗、化疗和靶向治疗产生耐药,因此通过靶向 IGF/IGF-1R 抑制 IGF-1R 信号来消除癌细胞成为肾上腺皮质癌的一种治疗策略。Linsitinib 是一种强效口服小分子 IGF-1R 和胰岛素受体抑制剂,其通过抑制 IGF-1R 自磷酸化和下游信号蛋白 AKT,ERK1/2 和 S6 激酶的激活,IC50 为 0.028 ~ 0.130 $\mu\text{mol/L}$,具有广泛的抗肿瘤谱^[35]。西妥木单抗是一种靶向 IGF-1R 的单克隆抗体,一项研究对肾上腺皮质癌患者给予西妥木单抗 3 ~ 6 mg/kg 静脉注射,每周 1 次,替西罗莫司 25 ~ 37.5 mg 静脉滴注,每周 1 次,注射 4 周,8 周后再停药,结果显示 26 例患者中有 11 例(42%)病情稳定(SD) ≥ 6 个月(持续时间 6 ~ 21 个月),其中 3 例患者之前接受过 IGF-1R 抑制剂治疗。该研究证实西妥木单抗联合替西罗莫司具有良好的耐受性,超过 40% 患者达到了病情稳定的效果^[36]。

5.2 哺乳动物雷帕霉素靶标蛋白(mTOR)抑制剂 mTOR 是

PI3K 相关激酶家族中的一种丝氨酸蛋白激酶,其主要通过 PI3K/Akt/mTOR 途径来实现对细胞周期、细胞生长等生理功能调控作用。一般情况下,结节性脑硬化化合物-1 和结节性脑硬化化合物-2 形成二聚体复合物是小 GTP 酶 Rheb 的抑制剂,Rheb 则是 mTOR 活化必需的刺激蛋白,因此,结节性脑硬化化合物-1 和结节性脑硬化化合物-2 在一般情况下可抑制 mTOR 的功能。Doghman 等^[37]研究了一种新的 PI3K-雷帕霉素双重抑制剂的哺乳动物靶点(NVP-BEZ235)在体外对 H295R 肾上腺皮质癌细胞系增殖的影响,该研究证实双重 PI3K/mTOR 抑制剂可能是治疗晚期癌症的一种有用的药物,同时抑制 Erk 和 PI3K-mTOR 途径可能需要在一种类型的肿瘤中获得更高的抗增殖作用。

5.3 蛋白酪氨酸激酶(PTK)抑制剂 PTK 是一类催化 ATP γ 位磷酸基团转移到蛋白酪氨酸残基酚羟基的激酶,其可以将磷酸基团转移到特定的底物上,促进底物的活化或改变其功能。另外有研究显示,PTK 异常表达通常会导致细胞增殖障碍,并与肿瘤侵袭、转移和肿瘤血管生成密切相关^[38]。酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)通过抑制受体酪氨酸激酶活性,阻断细胞表面受体与配体结合后胞内区活化信号,从而抑制信号转导通路的最终生物学效应。目前已开发了多种强大且耐受性良好的 TKI,其具有单个或多个靶点,包括 EGFR、ALK、ROSI、HER2、NTRK、VEGFR、RET、MET、MEK、FGFR、PDGFR 和 KIT 等,有助于实现基于患者个体基因特征的精准癌症医学^[39]。TKIs 显著提高了患者的生存率和生活质量,并改变了各种实体瘤的治疗模式。但目前关于 TKIs 干预主要集中在基础实验或其他疾病研究,关于其对肾上腺皮质癌机制研究比较浅显,仍需通过科学研究以确定 TKIs 在肾上腺皮质癌的可行性。

分子靶向治疗目前尚未明确作为一种标准治疗方案,对于不适合手术切除或者出现转移的肿瘤可能具有益处,但该方法的疗效仍需长期随访调查。

6 小结与展望

综上,手术切除始终是治疗肾上腺皮质癌最常用和有效的方法,适用于潜在可切除的 I ~ II 期及绝大多数 III 期肾上腺皮质癌患者。然而,由于手术治疗风险高、技术难度大、并发症发生率高,手术指征应由多学科团队讨论确定。对于可完全切除的肾上腺皮质癌,应由经验丰富的肾上腺和肿瘤外科医生实施开腹肿物切除术和相关的淋巴结清扫术。同时肾上腺皮质癌切除术后常以米托坦辅助治疗 2 年以上,以提高无复发生存期。对于无法手术的患者临床则需要根据患者的具体情况,选择放疗、化疗、免疫治疗、分子靶向治疗等辅助疗法,以达到最佳的治疗效果。此外,对患者的复查与随访中,应关注 ACC 的相关激素水平以及影像学检查和核素扫描检查(随访推荐使用 MR 检查)。

随着对肾上腺皮质癌认识的深入及药物研发技术的不断发展,目前关于放疗、化疗、免疫治疗、分子靶向治疗单一治疗或联合治疗研究正在进行中,这些研究可能为这些患者的未来治疗提供信息,通过多中心随机对照试验并延长随访时间,探索长期肿瘤学结果,以确定不同治疗方法在肾上腺皮质癌中的益处。

参考文献

- [1] Lin J, Li Y, Huang Z, et al. Rare correlation of somatic PRKACA mutations with pregnancy-associated aldosterone- and cortisol-producing adenomas: A case report and literature review [J]. *BMC Endocrine Disorders*, 2024, 24(1): 116. DOI: 10.1186/s12902-024-01645-x.
- [2] 刘娇静, 陈露方, 陈聪聪, 等. 儿童原发性肾上腺皮质瘤的 CT 表现及鉴别 [J]. *中国中西医结合影像学杂志*, 2023, 21(5): 581-584. DOI: 10.3969/j.issn.1672-0512.2023.05.023.
- [3] 王耀, 张前进. 原发性肾上腺皮质瘤诊疗进展 [J]. *国际泌尿系统杂志*, 2019, 39(2): 326-328. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4416.2019.02.041.
- [4] Sun J, Ding L, He L, et al. The clinical characteristics and pathogenic variants of primary pigmented nodular adrenocortical disease in 210 patients: A systematic review [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2024, 15: 1356870. DOI: 10.3389/fendo.2024.1356870.
- [5] Saraiva M, da Inez Correia R, Azevedo SX, et al. ACTH-producing adrenocortical carcinoma: An exceedingly rare diagnosis [J]. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 2024, 36(1): 24. DOI: 10.1186/s43046-024-00229-z.
- [6] Sun-Zhang A, Juhlin CC, Carling T, et al. Comprehensive genomic analysis of adrenocortical carcinoma reveals genetic profiles associated with patient survival [J]. *ESMO Open*, 2024, 9(7): 103617. DOI: 10.1016/j.esmoop.2024.103617.
- [7] Ziogas IA, Hills-Dunlap JL, Corkum KS, et al. Current management strategies and outcomes in children with adrenocortical carcinoma [J]. *The Journal of Surgical Research*, 2024, 301: 110-117. DOI: 10.1016/j.jss.2024.04.086.
- [8] 吴佩, 张帆, 张富勋, 等. 经腹膜后途径与经腹腔途径腹腔镜肾上腺切除术治疗肾上腺皮质瘤的疗效和安全性对比研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2022, 43(11): 830-834. DOI: 10.3760/cma.j.cn112330-20221101-00582.
- [9] Zheng GY, Li HZ, Deng JH, et al. Open adrenalectomy versus laparoscopic adrenalectomy for adrenocortical carcinoma: A retrospective comparative study on short-term oncologic prognosis [J]. *OncoTargets and Therapy*, 2018, 11: 1625-1632. DOI: 10.2147/OTT.S157518.
- [10] 杨华安, 李志勇, 郭胜杰, 等. 肾上腺皮质瘤术后复发再手术切除的疗效和预后因素分析 [J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(16): 2220-2224. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2020.16.010.
- [11] Mpaili E, Moris D, Tsilimigras DI, et al. Laparoscopic versus open adrenalectomy for localized/locally advanced primary adrenocortical carcinoma (ensat i-iii) in Adults: Is margin-free (R0) resection the key surgical factor that dictates outcome? A review of the literature [J]. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 2018, 28(4): 408-414. DOI: 10.1089/lap.2017.0546.
- [12] Piao Z, Liu T, Yang H, et al. Multimodal integration of radiology and pathology signatures for distinguishing between aldosterone-producing adenomas and nonfunctional adrenal adenomas [J]. *Endocrine*, 2024, 85(3): 1387-1397. DOI: 10.1007/s12020-024-03827-y.
- [13] Sabolch A, Else T, Griffith KA, et al. Adjuvant radiation therapy improves local control after surgical resection in patients with localized adrenocortical carcinoma [J]. *International Journal of Radiation Oncology Biolphys*, 2015, 92(2): 252-259. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2015.01.007.
- [14] Else T, Williams AR, Sabolch A, et al. Adjuvant therapies and patient and tumor characteristics associated with survival of adult patients with adrenocortical carcinoma [J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2013, 99(2): 455-461. DOI: 10.1210/jc.2013-2856.
- [15] Ho J, Turkbey B, Ederly M, et al. Role of radiotherapy in adrenocortical carcinoma [J]. *The Cancer Journal*, 2013, 19(4): 288-294. DOI: 10.1097/PPO.0b013e31829e3221.
- [16] Corso CR, Acco A, Bach C, et al. Pharmacological profile and effects of mitotane in adrenocortical carcinoma [J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2021, 87(7): 2698-2710. DOI: 10.1111/bcp.14721.
- [17] 王刚刚, 金讯波, 蒋绍博, 等. 晚期肾上腺皮质瘤治疗的临床分析 [J]. *中国医学前沿杂志*, 2015(8): 23-25. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7372.2015.08.006.
- [18] Bach C, Corso CR, Veiga AA, et al. Effects of o,p'-DDE, a mitotane metabolite, in an adrenocortical carcinoma cell line [J]. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 2022, 15(12): 1486. DOI: 10.3390/ph15121486.
- [19] Haberbosch L, Maurer L, Sandforth A, et al. Spironolactone is associated with reduced mitotane levels in adrenocortical carcinoma patients [J]. *Endocrine-related Cancer*, 2022, 29(3): 121-128. DOI: 10.1530/erc-21-0202.
- [20] Puglisi S, Calabrese A, Basile V, et al. New perspectives for mitotane treatment of adrenocortical carcinoma [J]. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2020, 34(3): 101415. DOI: 10.1016/j.beem.2020.101415.
- [21] 邓建华, 张学斌, 张玉石, 等. IV期肾上腺皮质瘤的治疗方案选择与预后分析 [J]. *兰州大学学报: 医学版*, 2022, 48(6): 31-34. DOI: 10.13885/j.issn.1000-2812.2022.06.007.
- [22] 连鹏鹄, 张玉石, 李汉忠. 晚期肾上腺皮质瘤术前辅助治疗的临床分析 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2013, 34(8): 582-586. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6702.2013.08.005.
- [23] Hermsen IG, Martin F, Massimo T, et al. Plasma concentrations of o,p'-DDD, o,p'-DDA, and o,p'-DDE as predictors of tumor response to mitotane in adrenocortical carcinoma: Results of a retrospective ens@T multicenter study [J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2011, 96(6): 1844-1851. DOI: 10.1210/jc.2010-2676.
- [24] Maiter D, Bex M, Vroonen L, et al. Efficacy and safety of mitotane in the treatment of adrenocortical carcinoma: A retrospective study in 34 Belgian patients [J]. *Annales d'endocrinologie*, 2016; S0003426616000275. DOI: 10.1016/j.ando.2016.02.005.
- [25] 李龙, 郑振东, 刘渤娜, 等. 生物免疫疗法联合放疗对小细胞肺癌患者肿瘤标志物及 T 淋巴细胞亚群水平的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(3): 237-240. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.03.005.
- [26] 缪康, 张力. 程序性死亡受体 1 及其配体 1 单克隆抗体抗肿瘤机制的研究进展 [J]. *中华内科杂志*, 2021, 60(11): 1005-1009. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20210811-00546.
- [27] 王松, 李兴川, 刘兆辰. 放疗联合 PD1/PD-L1 抑制剂抗肿瘤治疗 [J]. *中国临床研究*, 2020, 33(2): 261-264. DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2020.02.032.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.11.024

综 述

调节性 T 细胞的免疫治疗研究进展

樊慧明, 焦沃尔综述 陈始明审校



基金项目: 国家自然科学基金项目(82371116, 82301274)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院耳鼻咽喉头颈外科

通信作者: 陈始明, E-mail: shimingchen0468@163.com

【摘要】 人体免疫系统时刻维持动态平衡, 当免疫系统发生紊乱时, 可导致急/慢性炎症性疾病、自身免疫性疾病及移植物抗宿主病(GVHD)等多种免疫相关疾病的发生。调节性 T 细胞(Treg)是 CD4⁺ 辅助 T 细胞的一类亚群, 对于维持免疫稳态和预防自身免疫性疾病至关重要。文章对 Treg 细胞的生理作用机制、免疫治疗方法及其靶向治疗价值进行综述, 旨在为后续 Treg 细胞的免疫治疗策略提供有益借鉴。

【关键词】 调节性 T 细胞; 免疫治疗**【中图分类号】** R453 **【文献标识码】** A

Advances in immunotherapy of regulatory T cells Fan Huiming, Jiao Woer, Chen Shiming. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Funding program: National Natural Science Foundation of China(82371116, 82301274)

Corresponding author: Chen Shiming, E-mail: shimingchen0468@163.com

【Abstract】 The human immune system maintains dynamic balance at all times. When the immune system is disordered, it can lead to acute and chronic inflammatory diseases, autoimmune diseases, graft versus host disease (GVHD) and other immune-related diseases. Regulatory T cells (Treg) are a subset of CD4⁺ helper T cells, which play an important role in maintaining immune homeostasis and preventing autoimmune diseases. In view of this, the article reviews the physiological mechanism, immunotherapy methods and the value of targeted therapy of Treg cells, aiming to provide useful reference for the subsequent immunotherapy strategies of Treg cells.

【Key words】 Regulatory T cells; Immunotherapy

人体免疫系统是识别并清除外来病原体和内源性突变衰老细胞的重要防线, 其通过免疫器官、免疫细胞和免疫活性物质的协同作用, 以先天性免疫和适应性免疫 2 种方式维持机体的稳态平衡, 保护机体免受相关疾病危害。当机体因异常或过度免疫反应而发生紊乱时, 可进展为急/慢性炎症性疾病、自身免疫性疾病及移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)等免疫相关疾病^[1]。调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是 CD4⁺ 辅助 T 细胞中一类具有免疫抑制功能的亚群, 主要维持机体自身免疫耐受, 同时抑制体外抗原引起的过度免疫反应^[2]。Treg 细胞在治疗免疫相关疾病方面具有巨大的潜力, 尤其在自身免疫性疾病如类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、多发性硬化症、白塞病及其他免疫相关性疾病如 1 型糖尿病、GVHD 等领域已展现出积极的治疗效果。因此, 文章对 Treg 细胞的生理作用机制、免疫治疗方法及其靶向治疗价值进行综述, 旨在为后续 Treg 细胞的免疫治疗策略提供借鉴。

1 调节性 T 细胞及其免疫抑制机制

1995 年, Sakaguchi 等^[3]首次发现某种高表达 CD25 的 CD4⁺ T 细胞具有维持自身免疫耐受的功能, 并将其命名为 Treg

细胞。Treg 细胞的第一个生物标志物是 CD25 (IL-2 受体 α 链), 其可促进 Treg 细胞的免疫抑制功能。但是, CD25 也能在其余 CD4⁺ T 细胞上瞬时表达, 因此缺乏特异性^[4]。后来研究发现, 叉头框蛋白 3 (Foxp3) 作为 Treg 细胞转录分化的主调控因子, 更能代表 Treg 细胞的特异性功能。人体缺失 Foxp3 可导致以全身自身免疫为特征的 IPEX 综合征; 小鼠体内 Foxp3 基因突变则会引起多器官损伤而致其死亡^[5]。Treg 细胞可分为胸腺初始性 Treg 细胞(nTreg)和外周诱导性 Treg 细胞(iTreg)。其中, nTreg 由自身抗原刺激产生, 主要维持自身免疫耐受; 而 iTreg 由外来刺激产生, 主要调控对食物、共生微生物等无害抗原的耐受^[6]。

Treg 细胞通过各种直接或间接途径发挥免疫抑制作用。如其可通过 CTLA-4 和 PD1 等共抑制分子直接抑制抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC)和效应 T 细胞(effector T cell, Teff)的激活; 可高表达 CD25 竞争性结合 IL-2 或高表达 CD39/73 介导 ATP 转化为腺苷, 从而间接下调 Teff 细胞的活性。此外, Treg 细胞还可分泌免疫抑制性细胞因子 IL-10、IL-35 和 TGF- β , 并且产生穿孔素和颗粒酶来损伤 Teff 细胞及 NK 细

胞^[7-8]。目前大量基础和临床研究均表明,通过促进 Treg 细胞在体内外的扩增并加以功能修饰,可以有效治疗各类免疫相关疾病^[9]。

2 调节性 T 细胞的免疫治疗方法

2.1 Treg 细胞体内诱导扩增

2.1.1 低剂量 IL-2 疗法:IL-2 主要由 CD4⁺T 细胞产生,可诱导 Treg 细胞、Teff 细胞及 NK 细胞的增殖活化。其中 Treg 细胞表面高表达 IL-2 受体 CD25,因而可优先结合游离的 IL-2^[10]。研究发现,给予机体低剂量的外源性 IL-2 可以选择性扩增 Treg 细胞,而不影响其他免疫细胞亚群的数量和功能,在治疗自身免疫性疾病和 GVHD 方面展现出显著潜力。目前已有大量临床试验表明该方法的可行性^[11-19],见表 1。如 Wang 等^[11]对 41 例类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者开展了低剂量 IL-2 疗法,在连续 5 d 每天皮下注射 0.5 × 10⁶ IU/m² 的 IL-2 后,患者体内 CD4⁺Treg 细胞数量显著增加,临床症状得到缓解且没有出现不良反应。在另一项 1 型糖尿病的 II 期临床试验中, Rosenzweig 等^[12]发现患儿体内 Treg 细胞可被低剂量 IL-2 有效扩增,且部分患儿在 1 年后 C 肽水平明显改善。此外,在同种异体心脏移植的小鼠模型中,研究人员发现低剂量 IL-2 疗法可延缓小鼠体内发生的慢性排斥反应,并诱导移植物浸润 Treg 细胞,从而促进其移植耐受^[20]。

虽然低剂量 IL-2 疗法可在体内优先扩增 Treg 细胞,但由于 CD25 并非 Treg 细胞特异性表达,其潜在的脱靶作用以及 IL-2 较短的血清半衰期都影响了该方法的疗效。因此, VanDyke 等^[21]结合人源性 IL-2 与抗人 IL-2 抗体 F5111,设计了一种 hIL-2/F5111 新型融合蛋白,其可以特异性高效激活 Treg 细胞,并在后续的结肠炎和糖尿病小鼠模型中取得显著疗效。De Picciotto 等^[22]利用 mRNA 技术编码了一种特殊的 IL-2 突变蛋白 HAS-IL2m。这种突变蛋白相比原始的 IL-2,对 CD25 的亲合力更高,且其半衰期更长。在 GVHD 模型和实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型中,皮下注射脂质封装的 HAS-IL2m mRNA

后,小鼠体内 Treg 细胞选择性扩增,GVHD 和 EAE 疾病进展得到了有效缓解。此外,也有研究设计了一种载有 IL-2 的 TCR 响应性纳米颗粒,该纳米颗粒能够特异性地识别并结合到 TCR,从而实现在 Treg 细胞浸润部位的靶向递送。在同种异体移植小鼠模型中,使用载有 IL-2 的 TCR 响应性纳米颗粒后,能够显著减少异体排斥反应的发生^[23]。

2.1.2 Foxp3 转导:Foxp3 是诱导 Treg 细胞功能表达的关键转录因子,其表达下调可促使 Treg 细胞可塑性分化为辅助性 T 细胞(Th)样的 Treg 细胞,而当 Foxp3 表达上调后,其他类型的 Th 细胞又能可塑性转变为 Treg 细胞^[24-25]。因此,通过慢病毒载体转导增加 Foxp3 的表达是一种有效的策略,可以促使 Treg 细胞的扩增并可能在免疫相关疾病的治疗中发挥重要作用。Masiuk 等^[26]通过使用携带 Foxp3 基因表达的慢病毒载体,对同种异体造血干细胞进行基因修饰,并将其移植到 Scurfy 免疫缺陷型小鼠中,成功恢复了小鼠体内 Foxp3 的表达,并促进了 Treg 细胞的增殖,从而显著抑制了自身免疫反应。Loser 等^[27]利用编码 Foxp3 的逆转录病毒转导 CD4⁺初始 T 细胞,发现该细胞可定向分化为 Treg 细胞表型,将其应用于过敏小鼠及自身免疫型小鼠模型中能有效抑制炎症反应和自身免疫反应。

2.1.3 其他:除了低剂量 IL-2 疗法和 Foxp3 诱导 Treg 细胞体内扩增外,多种激动性小分子、自制融合蛋白及激动性抗体也可以促进 Treg 细胞体内增殖。姜黄素(curcuma)是一种古老的多年生草本植物,其衍生的纳米姜黄素(nanocurcumin)具有多种生物学特性,如抗炎、抗氧化、抗血管生成以及促进伤口愈合等^[28]。Mehdi Yousefi 团队在多个 II 期临床试验中证明口服纳米姜黄素可显著提升患者体内 Treg 细胞占比,同时上调 IL-10、TGF-β 等免疫抑制性细胞因子,从而延缓强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)、多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)及白塞病(Behcet's disease, BD)的疾病进展^[29-31]。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)及其受体 TNFR2 在慢性炎症性疾病中发挥重要作用,研究表明 TNFR2 为 Treg 细胞上的高表达受体,

表 1 低剂量 IL-2 疗法相关临床试验情况

作者	年份	分期	例数	疾病	剂 量	结 论
Wang 等 ^[11]	2016-未知	NA	41	RA	0.5 × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 可提升 RA 患者体内 Treg 细胞,促进疾病缓解且无不良反应
Rosenzweig 等 ^[12]	2013-2017	II	24	T1D	(0.125, 0.250, 0.500) × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 可有效扩增患儿体内 Treg 细胞,并改善部分患儿 C 肽水平
Humrich 等 ^[13]	2017-2019	II	100	SLE	1.5 × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 对活动期 SLE 患者安全有效
Rosenzweig 等 ^[14]	2014-2021	II	81	RA, AS, SLE 等	1 × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 对 RA、AS、SLE 等多种疾病均具有良好耐受性,所有患者均有特异性 Treg 细胞扩增和激活
Whangbo 等 ^[15]	2013-2024	I	25	cGVHD	1 × 10 ⁶ IU/m ²	输注健康供体 Treg 细胞并用低剂量 IL-2 体内扩增对类固醇难治性 cGVHD 患者安全且耐受性良好
Belizaire 等 ^[16]	2015-2024	II	25	cGVHD	1 × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 联合体外光分离置换疗法对类固醇难治性 cGVHD 患者安全有效
Whangbo 等 ^[17]	2015-2020	I	21	cGVHD	儿童:(0.33 ~ 1) × 10 ⁶ IU/m ² ; 成人:(0.67 ~ 2) × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 对类固醇难治性 cGVHD 患儿安全有效,而在 cGVHD 成人中高于 IL-2 最大耐受剂量并不能改善其症状
Lim 等 ^[18]	2017-2019	IV	6	肝移植	(0.5 ~ 2) × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 可选择性扩增肝移植受者体内 Treg 细胞,但不能促进其肝移植耐受
Zhang 等 ^[19]	2015-2017	II	47	RA	1 × 10 ⁶ IU/m ²	低剂量 IL-2 联合甲氨蝶呤对活动期 RA 患者安全有效

注: RA. 类风湿性关节炎;T1D. 1 型糖尿病;SLE. 系统性红斑狼疮;AS. 强直性脊柱炎;cGVHD. 慢性移植物抗宿主病。

其激活后可促进 Treg 细胞的扩增并抑制 Teff 细胞活性^[32]。Vargas 等^[33]设计了一种 TNFR2 激动融合蛋白 NewSTAR2,可扩增小鼠体内的 Treg 细胞数量并上调活性标志物,从而保护同种异体造血干细胞移植后的小鼠免受 GVHD 损伤。此外,某些激动性抗体也能有效诱导 Treg 细胞增殖,如抗 CD52 单抗在 EAE 模型中可促进 Treg 细胞扩增,并抑制 Teff 细胞的中枢神经系统浸润^[34]。

2.2 Treg 细胞体外扩增和过继转移

2.2.1 多克隆调节性 T 细胞:体内诱导扩增 Treg 细胞的方法

因扩增效率低、药物潜在不良反应多及血清半衰期短等原因,治疗效果欠佳。因此近年来多数研究将 Treg 细胞的扩增方法由体内转向体外,其中临床应用最广泛的是多克隆调节性 T 细胞 (polyclonal Treg cells)^[35]。研究人员首先收集患者自体外周血,利用磁或荧光活化细胞分选技术 (magnetic or fluorescence activated cell sorting, MASC or FASC) 获得高度纯化的 Treg 细胞,然后利用抗 CD3/CD28 微球及高剂量 IL-2 对 Treg 细胞进行进一步刺激扩增,最终得到多克隆 Treg 细胞并回输进患者体内,从而治疗各种免疫相关疾病^[36]。关于多克隆 Treg 的临床试验,目前已有较多的研究正在进行或已完成^[37-42],见表 2。在一项关于 1 型糖尿病的 I 期临床试验中,Bluestone 等^[37]对 15 例患者的自体 Treg 细胞进行体外多克隆扩增,然后过继回输至体内,结果发现所有患者体内 Treg 细胞显著增加并维持免疫抑制表型,且部分患者体内 C 肽水平的提升可维持 2 年以上。在另一项 I/II 期临床试验中,研究人员从 9 例肝移植患者血液中分离 Treg 细胞,在良好生产规范 (good manufacturing practice, GMP) 条件下扩增并回输,结果发现患者体内循环 Treg 细胞显著上升,移植后发生的免疫排斥反应明显减少,整个过程安全且患者耐受性良好^[38]。此外,体外多克隆调节性 T 细胞疗法可用于治疗某些疑难疾病,Voskens 等^[39]报道 1 例同时患有难治性溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和原发性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis, PSC) 的患者,该患者在过继回输自体 Treg 细胞 12 周后,肠道内炎症反应明显减轻,同时肝功能得到显著改善。

目前,多克隆 Treg 疗法仍处于发展探索阶段,后续需要进一步提高其临床疗效和安全性。为了获取足够数量的临床级

Treg 细胞,Reading 等^[43]利用多能成体祖细胞 (multipotent adult progenitor cells, MAPC[®]) 与 Treg 细胞体外共培养,发现其可成倍扩增 Treg 细胞数量并缩短 30% 的扩增时间。此外,Marín Morales 等^[44]构建了全封闭自动化的 CliniMACS Prodigy[®] 扩增系统,该系统可减少 Treg 细胞的体外污染风险、人工操作时间以及人为干预造成的产品质量下降,保证后续临床及工程化 Treg 细胞的生产效率和质量。

2.2.2 抗原特异性调节性 T 细胞:虽然多克隆调节性 T 细胞

疗法可高效扩增 Treg 细胞,但在面对某些特定的器官特异性自身免疫性疾病时,单纯的多克隆 Treg 疗法可能不足以实现精确的靶向治疗效果^[45]。因此,提高 Treg 细胞的靶向性成为了当前研究的重要方向。Dedovic 等^[46]从非肥胖性糖尿病 (non obese diabetes, NOD) 小鼠模型中分离出负载胰岛素 B 链肽段的树突状细胞 (dendritic cell, DC),并将其与 CD4⁺ 初始 T 细胞、TCR 激动剂、TGF- β 及 IL-2 共培养,从而产生胰岛素特异性 Treg 细胞,这一研究为 1 型糖尿病的免疫治疗提供了新的策略和方向。此外,Park 等^[47]通过 DC 细胞负载 α 突触核蛋白并刺激产生特异性 Treg 细胞,成功在帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 小鼠模型中验证了这些细胞的定向迁移能力、抑制促炎小胶质细胞的能力及神经保护活性。由于 A 型血友病 (hemophilia A) 替代治疗后,部分患者体内会产生严重的抗 FVIII 自身免疫反应,于是有研究利用 FVIII 特异性 Treg 细胞进行过继转移,发现其可显著抑制抗 FVIII 免疫反应^[48]。然而迄今为止,抗原特异性 Treg 细胞大多数由 APC 刺激产生,获取效率低下,其在实际临床应用中仍面临诸多挑战。

2.2.3 工程化调节性 T 细胞:为了解决多克隆调节性 T 细胞

的靶向性问题,以及抗原特异性调节性 T 细胞的获取效率问题,近年来研究人员设计出工程化调节性 T 细胞 (engineered regulatory T cells, EngTregs),其成功结合了上述 2 种细胞的优点。该细胞主要分为 TCR-Treg 和 CAR-Treg 两类。

TCR-Treg 结合了体外人工多克隆和基因工程编辑技术,是一类表达抗原特异性 TCR 的多克隆调节性 T 细胞。其细胞表面的人工 TCR 为二硫键异二聚体,由一对糖基化的 α 链和 β 链组成,其中每条链包含一个可变的免疫球蛋白样功能结构域、一个恒定结构域、一个跨膜结构域以及一个细胞质区域,能够

表 2 多克隆调节性 T 细胞疗法相关临床试验情况

作者	年份	分期	例数	疾病	剂量	结论
Bluestone 等 ^[37]	2010-2017	I	16	T1D	(0.05 ~ 26) $\times 10^8$ 个	自体回输多克隆 Treg 细胞可促进 T1D 患者体内的 Treg 细胞抑制活性,并提升其 C 肽水平
Sánchez-Fueyo 等 ^[38]	2014-2018	I/II	9	肝移植	(0.5 ~ 1) $\times 10^6$ 和 (3 ~ 4.5) $\times 10^6$ 个/kg	自体回输多克隆 Treg 细胞可提升肝移植受者体内 Treg 细胞循环水平,并减少移植后的免疫排斥反应
Voskens 等 ^[39]	2021-2023	I	11	UC, PSC	1 $\times 10^6$ 个/kg	自体回输多克隆 Treg 细胞可减轻 UC 合并 PSC 患者肠道内的炎症反应并改善其肝功能
Tang 等 ^[40]	2016-2019	I/II	15	肝移植	1 $\times 10^8$ 个	10 例肝移植患者中仅有 5 例成功扩增自体 Treg 细胞并输注,且仅有 2 例成功达到移植耐受
Thonhoff 等 ^[41]	2019-2022	II	12	ALS	(1 ~ 3) $\times 10^6$ 个/kg	自体回输多克隆 Treg 细胞联合低剂量 IL-2 对 ALS 患者安全有效
Chwojnicky 等 ^[42]	2014-未知	I/II	14	MS	静注:40 $\times 10^6$ 个/kg;鞘注:1 $\times 10^6$ 个	鞘内注射自体多克隆 Treg 细胞对 MS 患者安全有效,且比静脉内注射疗效更好

注:T1D. 1 型糖尿病; ALS. 肌萎缩侧索硬化; UC. 溃疡性结肠炎; PSC. 原发性硬化性胆管炎; MS. 多发性硬化症。

识别主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 并诱导后续免疫反应^[49]。通过多克隆技术制备的 TCR-Treg 具有高效、精准、特异性强等优点,能够在复杂的免疫环境中发挥免疫抑制作用。目前 TCR-Treg 已经成功应用于多项临床前研究中,并展现出了良好的治疗效果和安全性。Yang 等^[50]通过慢病毒工程化编辑和 Foxp3 同源定向修复技术,成功在体外产生了具有持久免疫抑制功能的胰岛抗原特异性 Treg 细胞。将这些胰岛抗原特异性 Treg 细胞过继转移到 T1D 小鼠体内后,能够有效阻断 T_H17 细胞对胰岛抗原的识别,从而改善或延缓 T1D 的疾病进展。Malviya 等^[51]通过逆转录病毒工程化编辑技术成功改造了 Treg 细胞,使其能够特异性地识别并抑制针对中枢神经系统自身抗原 (MOG 和 NF-M) 的免疫反应,过继转移该工程化 Treg 细胞后可有效治疗 EAE 小鼠。此外, Yeapuri 等^[52]利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术,成功设计了 β 淀粉样蛋白特异性 Treg 细胞,将这些细胞过继转移到阿茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 小鼠模型中,可显著减少 β 淀粉样蛋白沉积,并改善 AD 小鼠的学习和记忆能力。

CAR-Treg 即细胞表面表达嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor) 的工程化 Treg 细胞。CAR 主要由胞外结构域、间隔区及铰链、跨膜结构域和胞质信号结构域 4 个部分构成,其中胞质结构域可结合各种共刺激分子如 CD28、4-1BB、ICOS 等,产生 Treg 细胞活化、增殖和功能所需的下游信号^[53]。CAR-Treg 比 TCR-Treg 的识别谱更广,能结合靶组织上表达的整个蛋白,而 TCR-Treg 只能识别 MHC 类分子呈递的抗原肽^[54]。在临床中,供体和受体的 MHC 不匹配是异体移植排斥反应的主要触发因素,因此特异性针对供体 MHC 的 CAR-Treg 可有效抑制移植排斥反应^[55]。如鉴于 25% 的移植双方具有供体 HLA-A2 阳性而受体 HLA-A2 阴性的特点,Wagner 等^[56]将 HLA-A2 特异性 CAR-Treg 输注给异位心脏移植小鼠,最终成功延长了其存活时间。

由于肠源性细菌的鞭毛蛋白 (flagellin) 是炎症肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 治疗的常见靶向抗原,Boardman 等^[57]通过开发特异性鞭毛蛋白 CAR-Treg,成功实现了对结肠炎性反应部位的靶向治疗,并通过促进结肠源性上皮细胞的产生来有效缓解炎症反应。此外,也有研究表明髓磷脂特异性 CAR-Treg 在体外扩增后可长期表达免疫抑制表型,并在体内抑制 EAE 小鼠模型的疾病进展^[58]。

3 小结与展望

由于 Treg 细胞独特的免疫抑制作用,可以通过体内诱导扩增及体外过继转移的方式来增加循环或病灶中的 Treg 细胞数量,从而有效治疗各种免疫相关性疾病。目前,低剂量 IL-2 疗法已有较多临床试验证实其安全有效,而多克隆 Treg 细胞过继转移法则进一步兼顾了安全性和获取效率。未来关于 Treg 细胞的免疫治疗策略将着重考虑其靶点特异性从而针对特定的疾病开发工程化 Treg 细胞,继而让相关患者受益。

参考文献

[1] Nicholson LB. The immune system [J]. *Essays Biochem*, 2016, 60 (3): 275-301. DOI: 10.1042/EBC20160017.

[2] Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, et al. Regulatory T cells and human disease [J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38 (1): 541-566. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042718-041717.

[3] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases [J]. *J Immunol*, 1995, 155 (3): 1151-1164.

[4] Brown CY, Sadlon T, Hope CM, et al. Molecular insights into regulatory T-Cell adaptation to self, environment, and host tissues: Plasticity or loss of function in autoimmune disease [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1269. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01269.

[5] Georgiev P, Charbonnier LM, Chatila TA. Regulatory T cells: The many faces of Foxp3 [J]. *J Clin Immunol*, 2019, 39 (7): 623-640. DOI: 10.1007/s10875-019-00684-7.

[6] Göschl L, Scheinecker C, Bonelli M. Treg cells in autoimmunity: From identification to Treg-based therapies [J]. *Semin Immunopathol*, 2019, 41 (3): 301-314. DOI: 10.1007/s00281-019-00741-8.

[7] Esensten JH, Muller YD, Bluestone JA, et al. Regulatory T-cell therapy for autoimmune and autoinflammatory diseases: The next frontier [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142 (6): 1710-1718. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.10.015.

[8] Rana J, Biswas M. Regulatory T cell therapy: Current and future design perspectives [J]. *Cell Immunol*, 2020, 356: 104193. DOI: 10.1016/j.cellimm.2020.104193.

[9] Palomares O, Elewaut D, Irving PM, et al. Regulatory T cells and immunoglobulin E: A new therapeutic link for autoimmunity [J]. *Allergy*, 2022, 77 (11): 3293-3308. DOI: 10.1111/all.15449.

[10] Zhou P. Emerging mechanisms and applications of low-dose IL-2 therapy in autoimmunity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2022, 67: 80-88. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2022.06.003.

[11] Wang J, Zhang SX, Chang JS, et al. Low-dose IL-2 improved clinical symptoms by restoring reduced regulatory T cells in patients with refractory rheumatoid arthritis: A randomized controlled trial [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 947341. DOI: 10.3389/fimmu.2022.947341.

[12] Rosenzwajg M, Salet R, Lorenzon R, et al. Low-dose IL-2 in children with recently diagnosed type 1 diabetes: A Phase I/II randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-finding study [J]. *Diabetologia*, 2020, 63 (9): 1808-1821. DOI: 10.1007/s00125-020-05200-w.

[13] Humrich JY, Cacoub P, Rosenzwajg M, et al. Low-dose interleukin-2 therapy in active systemic lupus erythematosus (LUPIL-2): A multi-centre, double-blind, randomised and placebo-controlled phase II trial [J]. *Ann Rheum Dis*, 2022, 81 (12): 1685-1694. DOI: 10.1136/ard-2022-222501.

[14] Rosenzwajg M, Lorenzon R, Cacoub P, et al. Immunological and clinical effects of low-dose interleukin-2 across 11 autoimmune diseases in a single, open clinical trial [J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78 (2): 209-217. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214229.

[15] Whangbo JS, Nikiforow S, Kim HT, et al. A phase 1 study of donor regulatory T-cell infusion plus low-dose interleukin-2 for steroid-refractory chronic graft-vs-host disease [J]. *Blood Adv*, 2022, 6 (21): 5786-5796. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021006625.

- [16] Belizaire R, Kim HT, Poryanda SJ, et al. Efficacy and immunologic effects of extracorporeal photopheresis plus interleukin-2 in chronic graft-versus-host disease[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(7): 969-979. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018029124.
- [17] Whangbo JS, Kim HT, Mirkovic N, et al. Dose-escalated interleukin-2 therapy for refractory chronic graft-versus-host disease in adults and children[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(17): 2550-2561. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000631.
- [18] Lim TY, Perpinán E, Londono MC, et al. Low dose interleukin-2 selectively expands circulating regulatory T cells but fails to promote liver allograft tolerance in humans[J]. *J Hepatol*, 2023, 78(1): 153-164. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.08.035.
- [19] Zhang X, Miao M, Zhang R, et al. Efficacy and safety of low-dose interleukin-2 in combination with methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 67. DOI: 10.1038/s41392-022-00887-2.
- [20] Ravichandran R, Itabashi Y, Fleming T, et al. Low-dose IL-2 prevents murine chronic cardiac allograft rejection: Role for IL-2-induced T regulatory cells and exosomes with PD-L1 and CD73[J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(9): 2180-2194. DOI: 10.1111/ajt.17101.
- [21] VanDyke D, Iglesias M, Tomala J, et al. Engineered human cytokine/antibody fusion proteins expand regulatory T cells and confer autoimmune disease protection[J]. *Cell Rep*, 2022, 41(3): 111478. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.111478.
- [22] De Picciotto S, Devita N, Hsiao CJ, et al. Selective activation and expansion of regulatory T cells using lipid encapsulated mRNA encoding a long-acting IL-2 mutein[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3866. DOI: 10.1038/s41467-022-31130-9.
- [23] Eskandari SK, Sulkaj I, Melo MB, et al. Regulatory T cells engineered with TCR signaling-responsive IL-2 nanogels suppress alloimmunity in sites of antigen encounter[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(569): eaaw4744. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaw4744.
- [24] Colamatteo A, Carbone F, Bruzzaniti S, et al. Molecular mechanisms controlling Foxp3 expression in health and autoimmunity: From epigenetic to post-translational regulation[J]. *Front Immunol*, 2020, 10: 3136. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03136.
- [25] Qiu R, Zhou L, Ma Y, et al. Regulatory T Cell plasticity and stability and autoimmune diseases[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2018, 58(1): 52-70. DOI: 10.1007/s12016-018-8721-0.
- [26] Masiuk KE, Laborada J, Roncarolo MG, et al. Lentiviral gene therapy in hscs restores lineage-specific Foxp3 expression and suppresses autoimmunity in a mouse model of IPEX syndrome[J]. *Cell Stem Cell*, 2019, 24(2): 309-317. e7. DOI: 10.1016/j.stem.2018.12.003.
- [27] Loser K, Hansen W, Apelt J, et al. In vitro-generated regulatory T cells induced by Foxp3-retrovirus infection control murine contact allergy and systemic autoimmunity[J]. *Gene Ther*, 2005, 12(17): 1294-1304. DOI: 10.1038/sj.gt.3302567.
- [28] Karthikeyan A, Senthil N, Min T. Nanocurcumin: A promising candidate for therapeutic applications[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 487. DOI: 10.3389/fphar.2020.00487.
- [29] Ahmadi M, Hajjalilo M, Dolati S, et al. The effects of nanocurcumin on Treg cell responses and treatment of ankylosing spondylitis patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 121(1): 103-110. DOI: 10.1002/jcb.28901.
- [30] Dolati S, Babaloo Z, Ayromlou H, et al. Nanocurcumin improves regulatory T-cell frequency and function in patients with multiple sclerosis[J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 327: 15-21. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.01.007.
- [31] Abbasian S, Soltani-Zangbar MS, Khabbazi A, et al. Nanocurcumin supplementation ameliorates Behcet's disease by modulating regulatory T cells: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101: 108237. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.108237.
- [32] Medler J, Wajant H. Tumor necrosis factor receptor-2 (TNFR2): An overview of an emerging drug target[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(4): 295-307. DOI: 10.1080/14728222.2019.1586886.
- [33] Vargas JG, Wagner J, Shaikh H, et al. A TNFR2-Specific TNF fusion protein with improved in vivo activity[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 888274. DOI: 10.3389/fimmu.2022.888274.
- [34] Kiapour N, Wu B, Wang Y, et al. Therapeutic effect of Anti-CD52 monoclonal antibody in multiple sclerosis and its animal models is mediated via T regulatory cells[J]. *J Immunol*, 2022, 209(1): 49-56. DOI: 10.4049/jimmunol.2100176.
- [35] Raffin C, Vo LT, Bluestone JA. Treg cell-based therapies: Challenges and perspectives[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 20(3): 158-172. DOI: 10.1038/s41577-019-0232-6.
- [36] Ferreira LMR, Muller YD, Bluestone JA, et al. Next-generation regulatory T cell therapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(10): 749-769. DOI: 10.1038/s41573-019-0041-4.
- [37] Bluestone JA, Buckner JH, Fitch M, et al. Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(315): 315ra189. DOI: 10.1126/scitranslmed.aad4134.
- [38] Sánchez-Fueyo A, Whitehouse G, Grageda N, et al. Applicability, safety, and biological activity of regulatory T cell therapy in liver transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(4): 1125-1136. DOI: 10.1111/ajt.15700.
- [39] Voskens C, Stoica D, Rosenberg M, et al. Autologous regulatory T-cell transfer in refractory ulcerative colitis with concomitant primary sclerosing cholangitis[J]. *Gut*, 2023, 72(1): 49-53. DOI: 10.1136/gutjnl-2022-327075.
- [40] Tang Q, Leung J, Peng Y, et al. Selective decrease of donor-reactive T (regs) after liver transplantation limits T(reg) therapy for promoting allograft tolerance in humans[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(669): eabo2628. DOI: 10.1126/scitranslmed.abo2628.
- [41] Thonhoff JR, Berry JD, Macklin EA, et al. Combined regulatory T-lymphocyte and IL-2 treatment is safe, tolerable, and biologically active for 1 year in persons with amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2022, 9(6): e200019. DOI: 10.1212/NXI.000000000200019.
- [42] Chwojnicky K, Iwaszkiewicz-Grzes D, Jankowska A, et al. Administration of CD4⁺ CD25^{high} CD127⁻ FoxP3⁺ regulatory T cells for relapsing-remitting multiple sclerosis: A phase I study[J]. *BioDrugs*, 2021, 35(1): 47-60. DOI: 10.1007/s40259-020-00462-7.

- [43] Reading JL, Roobrouck VD, Hull CM, et al. Augmented expansion of treg cells from healthy and autoimmune subjects via adult progenitor cell co-culture [J]. *Front Immunol*, 2021, 12; 716606. DOI: 10.3389/fimmu.2021.716606.
- [44] Marín Morales JM, Münch N, Peter K, et al. Automated clinical grade expansion of regulatory T cells in a fully closed system[J]. *Front Immunol*, 2019, 10;38. DOI:10.3389/fimmu.2019.00038.
- [45] Serr I, Drost F, Schubert B, et al. Antigen-specific treg therapy in Type 1 diabetes-challenges and opportunities [J]. *Front Immunol*, 2021, 12;712870. DOI:10.3389/fimmu.2021.712870.
- [46] Dedovic N, Paunovic V, Stojanovic I. Isolation and enrichment of mouse insulin-specific CD4⁺ T regulatory cells[J]. *J Immunol Methods*, 2019, 470;46-54. DOI:10.1016/j.jim.2019.04.011.
- [47] Park SY, Yang H, Kim S, et al. Alpha-synuclein-specific regulatory T cells ameliorate Parkinson's disease progression in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20):15237. DOI:10.3390/ijms242015237.
- [48] Smith BM, Lyle MJ, Chen AC, et al. Antigen-specific in vitro expansion of factor VIII-specific regulatory T cells induces tolerance in hemophilia A mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(2):328-340. DOI:10.1111/jth.14659.
- [49] Qu G, Chen J, Li Y, et al. Current status and perspectives of regulatory T cell-based therapy [J]. *J Genet Genomics*, 2022, 49(7):599-611. DOI:10.1016/j.jgg.2022.05.005.
- [50] Yang SJ, Singh AK, Drow T, et al. Pancreatic islet-specific engineered Tregs exhibit robust antigen-specific and bystander immune suppression in type 1 diabetes models[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(665): eabn1716. DOI:10.1126/scitranslmed.abn1716.
- [51] Malviya M, Saoudi A, Bauer J, et al. Treatment of experimental auto-immune encephalomyelitis with engineered bi-specific Foxp3⁺ regulatory CD4⁺ T cells[J]. *J Autoimmun*, 2020, 108; 102401. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102401.
- [52] Yeapuri P, Machhi J, Lu Y, et al. Amyloid- β specific regulatory T cells attenuate Alzheimer's disease pathobiology in APP/PS1 mice [J]. *Mol Neurodegener*, 2023, 18(1):97. DOI: 10.1186/s13024-023-00692-7.
- [53] Esmailzadeh A, Tahmasebi S, Athari SS. Chimeric antigen receptor - T cell therapy: Applications and challenges in treatment of allergy and asthma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123; 109685. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109685.
- [54] Bellinghausen I, Khatri R, Saloga J. Current strategies to modulate regulatory T cell activity in allergic inflammation [J]. *Front Immunol*, 2022, 13;912529. DOI:10.3389/fimmu.2022.912529.
- [55] Socie G, Michonneau D. Milestones in acute GVHD pathophysiology [J]. *Front Immunol*, 2022, 13; 1079708. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1079708.
- [56] Wagner JC, Ronin E, Ho P, et al. Anti-HLA-A2-CAR Tregs prolong vascularized mouse heterotopic heart allograft survival [J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(9):2237-2245. DOI:10.1111/ajt.17063.
- [57] Boardman DA, Wong MQ, Rees WD, et al. Flagellin-specific human CAR Tregs for immune regulation in IBD [J]. *J Autoimmun*, 2023, 134;102961. DOI:10.1016/j.jaut.2022.102961.
- [58] De Paula Pohl A, Schmidt A, Zhang AH, et al. Engineered regulatory T cells expressing myelin-specific chimeric antigen receptors suppress EAE progression [J]. *Cell Immunol*, 2020, 358; 104222. DOI: 10.1016/j.cellimm.2020.104222.

(收稿日期:2024-06-03)

(上接 1402 页)

- [28] Loewith R, Hall MN. Target of rapamycin (TOR) in nutrient signaling and growth control [J]. *Genetics: A Periodical Record of Investigations Bearing on Heredity and Variation*, 2011, 189(4):1177-1201. DOI:10.1534/genetics.111.133363.
- [29] Carneiro BA, Bhavana K, Costa RB, et al. Nivolumab in metastatic adrenocortical carcinoma: Results of a phase 2 trial [J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2019, 104(12):6193-6200. DOI:10.1210/je.2019-00600.
- [30] Le Tourneau C, Hoimes C, Zarwan C, et al. Avelumab in patients with previously treated metastatic adrenocortical carcinoma: Phase 1b results from the JAVELIN solid tumor trial [J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2018, 6(1):111. DOI:10.1186/s40425-018-0424-9.
- [31] Habra MA, Stephen B, Campbell M, et al. Phase II clinical trial of pembrolizumab efficacy and safety in advanced adrenocortical carcinoma [J]. *Journal of Immunotherapy of Cancer*, 2019(1):253. DOI:10.1186/S40425-019-0722-X.
- [32] 王雅杰. 肿瘤分子靶向治疗进展 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2006, 21(3):209-212. DOI:10.3969/j.issn.1001-1692.2006.03.005.
- [33] 王江帅, 王丽娜, 张黎明, 等. 恶性肿瘤胰岛素样生长因子结合蛋白 2 研究进展 [J]. *社区医学杂志*, 2023, 21(14):758-762. DOI: 10.19790/j.cnki.JCM.2023.14.10.
- [34] 李芳. 胰岛素样生长因子结合蛋白 2 与恶性肿瘤研究进展 [J]. *临床合理用药杂志*, 2011, 4(14):151-152. DOI:10.3969/j.issn.1674-3296.2011.14.140.
- [35] Fassnacht M, Berruti A, Baudin E, et al. Linsitinib (OSI-906) versus placebo for patients with locally advanced or metastatic adrenocortical carcinoma: A double-blind, randomised, phase 3 study [J]. *The Lancet Oncology*, 2015, 16(4):426-35. DOI: 10.1016/s1470-2045(15)70081-1.
- [36] Naing A, Lorusso P, Fu S, et al. Insulin growth factor receptor (IGF-1R) antibody cixutumumab combined with the mTOR inhibitor temsirolimus in patients with metastatic adrenocortical carcinoma [J]. *The British Journal of Cancer*, 2013, 108(4):826-830. DOI: 10.1038/bjc.2013.46.
- [37] Doghman M, Lalli E. Efficacy of the novel dual PI3-kinase/mTOR inhibitor NVP-BE225 in a preclinical model of adrenocortical carcinoma [J]. *Molecular & Cellular Endocrinology*, 2012, 364(1-2):101-104. DOI:10.1016/j.mce.2012.08.014.
- [38] Jiao Q, Bi L, Ren Y, et al. Advances in studies of tyrosine kinase inhibitors and their acquired resistance [J]. *Molecular Cancer*, 2018, 17(1):36. DOI:10.1186/s12943-018-0801-5.
- [39] Huang L, Jiang S, Shi Y. Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001-2020) [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2020, 13(1):143. DOI:10.1186/s13045-020-00977-0.

(收稿日期:2024-06-11)