【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 001

肿瘤防治专题

编者按　2024 年 4 月 15—21 日是第 30 个全国肿瘤防治宣传周，主题是“综合施策　科学防癌”，旨在按照《健康中国行动—癌症防治行动实施方案(2023—2030 年)》相关要求，扩大癌症防控科普宣传，普及抗癌健康知识，全面提升全社会癌症防控意识，营造全民防癌抗癌的良好氛围。本刊特组织策划"“肿瘤防治专题”栏目，集中刊发有关常见肿瘤诊断、治疗及预后评估方面的学术论文，以期提高临床医务工作者诊治水平，改善肿瘤患者转归，减轻肿瘤疾病社会负担，助力健康中国建设。

非小细胞肺癌组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达与患者生存期的关系

马睿，姜博文，董琪，牛凯星，林思祥

基金项目：山东省卫生健康委员会中医药科技发展计划项目(2019-0511)

作者单位：264199　山东省滨州医学院烟台附属医院肿瘤中心(马睿、董琪、牛凯星、林思祥)，急诊外科(姜博文)
通信作者：林思祥，E-mail：ytlsx-33@163. com

【摘　要】 **目的**　探究非小细胞肺癌(NSCLC)组织中长链非编码 RNA(lncRNA)FOXD2-AS1、miR-1913 的表达与患者生存期的关系。**方法**　选取 2017 年 11 月—2019 年 11 月滨州医学院烟台附属医院肿瘤中心收治的 NSCLC 患者 100 例癌组织和癌旁组织作为研究对象。根据术后 3 年预后情况分为生存组 58 例和死亡组 42 例，采用实时荧光定量—聚合酶链式反应(qRT-PCR)测定组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达水平；Pearson 法分析 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平的相关性；用 Kaplan-Meier 法分析 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达与预后的关系；Cox 分析 NSCLC 患者预后的影响因素。**结果**　与癌旁组织比较，NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高，miR-1913 表达水平降低(t/P = 11.439/ < 0.001、17.709/ < 0.001)；Target Scan Human 网址预测 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 间存在结合位点；NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平呈负相关(r = −0.406，P < 0.001)；与生存组比较，死亡组患者癌组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高，miR-1913 表达水平降低(t/P = 6.973/ < 0.001、6.307/ < 0.001)；TNM 分期为Ⅲ + Ⅳ期、发生淋巴结转移、低分化程度的 NSCLC 患者癌组织 lncRNA FOXD2-AS1 高表达比例高于 TNM 分期为Ⅰ + Ⅱ期、未发生淋巴结转移、中/高分化程度的 NSCLC 患者(χ^2/P = 5.962/0.015、5.104/0.024、6.150/0.013)，而 miR-1913 低表达比例高于 TNM 分期为Ⅰ + Ⅱ期、未发生淋巴结转移、中/高分化程度的 NSCLC 患者(χ^2/P = 11.457/0.001、7.695/0.006、11.349/0.001)；lncRNA FOXD2-AS1 高表达 NSCLC 患者 3 年生存率低于 lncRNA FOXD2-AS1 低表达患者，miR-1913 高表达患者 3 年生存率高于 miR-1913 低表达 NSCLC 患者(χ^2/P = 7.830/0.005、6.125/0.013)；多因素 Cox 分析显示，miR-1913 高是 NSCLC 患者预后的保护因素[OR(95% CI) = 0.864(0.774 ~ 0.964)]，lncRNA FOXD2-AS1 高、TNM Ⅲ + Ⅳ期、有淋巴结转移、分化程度低是 NSCLC 患者预后的危险因素[OR(95% CI) = 2.544(1.481 ~ 4.370)、3.647(1.614 ~ 8.242)、2.544(1.481 ~ 4.370)、2.986(1.361 ~ 6.553)]。**结论**　NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高，miR-1913 的表达水平降低，两者与患者预后生存期有关。

【关键词】 非小细胞肺癌；长链非编码 RNA FOXD2-AS1；miR-1913；生存期
【中图分类号】 R734.2　　【文献标识码】 A

Relationship between the expression of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 in non-small cell lung cancer tissue and survival period

*Ma Rui**, *Jiang Bowen*, *Dong Qi*, *Niu Kaixing*, *Lin Sixiang*. **Cancer Center*, *Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical University*, *Shandong Province*, *Yantai* 264199, *China*

Funding program: *Shandong Provincial Health Commission Science and Technology Development Plan Project* (2019-0511)

Corresponding author: *Lin Sixiang*, *E-mail*: *ytlsx*-33@163. *com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the relationship between the expression of long coding RNA FOXD2 adjacent opposite strand RNA 1 (lncRNA FOXD2-AS1) and miR-1913 in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissue and survival peri-

od. **Methods** A total of 100 NSCLC patients admitted to Binzhou Medical College Yantai Affiliated Hospital Cancer Center from November 2017 to November 2019 were regarded as the study subjects. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was applied to determine the expression levels of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 in tissues; Pearson method was applied to analyze the correlation between lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 expression levels in NSCLC tissues; Kaplan-Meier method was applied to analyze the relationship between lncRNA FOXD2-AS1, miR-1913 expression and prognosis in NSCLC tissues; Cox was applied to analyze the influencing factors of prognosis in NSCLC patients. **Results** Compared with the adjacent tissues, the expression level of lncRNA FOXD2-AS1 in NSCLC tissues increased and the expression level of miR-1913 decreased (t = 11.439, 17.709, P < 0.001). Target Scan Human website predicts that there is a binding site between lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913. The expression level of lncRNA FOXD2-AS1 in NSCLC was negatively correlated with miR-1913 (r = −0.406, P < 0.001). Compared with the survival subgroup, the expression level of lncRNA FOXD2-AS1 in the death subgroup increased and the expression level of miR-1913 decreased (t = 6.973, 6.307, P < 0.001). The high expression rate of lncRNA FOXD2-AS1 in NSCLC patients with TNM stage Ⅲ + Ⅳ, lymph node metastasis and low differentiation was higher than that in NSCLC patients with TNM stage Ⅰ + Ⅱ (χ^2 = 5.962, P = 0.015), no lymph node metastasis (χ^2 = 5.104, P = 0.024) and moderate/high differentiation(χ^2 = 6.150, P = 0.013). The low expression rate of miR-1913 in NSCLC patients with TNM stage Ⅲ + Ⅳ, lymph node metastasis and low differentiation was higher than that in NSCLC patients with TNM stage Ⅰ + Ⅱ (χ^2 = 11.457, P = 0.001), no lymph node metastasis (χ^2 = 7.695, P = 0.006) and moderate/high differentiation(χ^2 = 11.349, P = 0.001). The 3-year survival rate of NSCLC patients with high expression of lncRNA FOXD2-AS1 was lower than that of patients with low expression of lncRNA FOXD2-AS1 (χ^2 = 7.830, P = 0.005), and that of patients with high expression of miR-1913 was higher than that of patients with low expression of miR-1913 (χ^2 = 6.125, P = 0.013). Multivariate Cox analysis showed that high miR-1913 was a protective factor for the prognosis of NSCLC patients, the high level of lncRNA FOXD2-AS1, TNM Ⅲ + Ⅳ stage, lymph node metastasis and low degree of differentiation are the risk factors for the prognosis of NSCLC patients [*OR (95% CI)* = 0.864 (0.774 − 0.964), 2.544 (1.481 − 4.370), 3.647 (1.614 − 8.242), 2.544 (1.481 − 4.370), 2.986 (1.361 − 6.553)]. **Conclusion** The expression level of lncRNA FOXD2-AS1 increases and the expression level of miR-1913 decreases in NSCLC tissue, both of which are related to the prognostic survival period of patients.

【**Key words**】 Non-small cell lung cancer; LncRNA FOXD2-AS1; Micro RNA-1913; Survival period

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)是肺癌的一种类型,占肺癌比例的 85% 以上,其发病率和病死率较高[1-2]。NSCLC 症状包括咳嗽、咯痰、呼吸困难等[3]。NSCLC 早期无明显症状,大多数患者被确诊时已为中晚期,从而失去最佳治疗机会,且影响患者预后效果[4]。因此,寻找有效的生物标志物对 NSCLC 患者预后生存期进行评估,可以帮助医生更好地了解患者的治疗和恢复情况,指导治疗方案的制定和调整[5]。lncRNA FOXD2-AS1 可作为一种致癌基因,在多种癌症(胃癌、肺癌、宫颈癌等)中表达下调可抑制细胞周期进程,增强癌细胞的放射敏感性[6-9]。miR-1913 与前列腺癌、骨肿瘤、膀胱癌等多种癌症进展相关,可作为癌症的生物标志物[10]。目前,关于 lncRNA FOXD2-AS1 和 miR-1913 在 NSCLC 中的研究还相对较少,因此本研究分析 NSCLC 患者癌组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 的表达,以及与患者生存期的关系,以期为提高患者生存期提供一定的理论依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2017 年 11 月—2019 年 11 月滨州医学院烟台附属医院肿瘤中心收治的 NSCLC 患者 100 例作为研究对象,男 57 例,女 43 例,年龄 45 ~ 70 (54.37 ± 6.54)岁。本研究已经获得医院伦理委员会批准(1709251),NSCLC 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经临床病理确诊为 NSCLC[11];②患者入组前未接受过任何手术、放疗、化疗等抗肿瘤治疗。(2) 排除标准:①NSCLC 复发;②合并其他部位恶性肿瘤者;③伴有其他脏器功能严重损伤者;④合并自身免疫性疾病者;⑤临床病例及随访资料不全者。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达水平检测:采集 NSCLC 外科手术切除的癌组织和癌旁组织(距离癌组织 > 5 cm),液氮下速冻。取待检组织,研磨并以细胞裂解液裂解,采用 TRIzol 法抽提组织总 RNA,按照逆转录试剂盒(购于美国 Qiagen 公司)说明书的操作步骤严格执行,将总 RNA 合成 cDNA,U6 作为 miR-1913 的内源性对照,GAPDH 作为 lncRNA FOXD2-AS1 的内源性对照,引物由 Primer-BLAST 网站设计,并通过南京金斯瑞生物科技公司合成,引物序列见表 1。以 cDNA 为模板通过 LightCycler 480II 型 qRT-PCR 仪(美国 ABI 公司)以实时荧光定量—聚合

表 1　lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 引物序列

Tab. 1　Primer sequences of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913

基　因	上游引物	下游引物
lncRNA FOXD2-AS1	5'-TGGACCTAGCTGCA-GCTCCA-3'	5'-AGTTGAAGGTGCACAC-ACTG-3'
miR-1913	5'-ACCGTCGTCGCCTCC-CCGTC-3'	5'-GACTGACATAAATGGG-AGCAG-3'
GAPDH	5'-TCCGTGGTCCACGA-GAACT-3'	5'-GAAGCATTTGCGGTGG-ACGAT-3'
U6	5'-GCTGGACTCTAGGG-TGCAAG-3'	5'-GAGCATACCAGGTGGT-AGTAG-3'

酶链式反应(qRT-PCR)检测患者组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达水平,重复 3 次,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 的相对表达量。

1.3.2　随访:以微信、电话及门诊复查的方式对所有受试者进行为期 3 年的随访,随访率为 100%,随访开始于手术当天,随访终点为 NSCLC 患者死亡或者至 2022 年 11 月,必要时行影像学检查。统计随访结束时 NSCLC 患者的生存和死亡人数。根据术后 3 年预后情况分为生存组 58 例与死亡组 42 例。

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,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 t 检验;采用 Pearson 法分析 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平的相关性;Kaplan-Meier 法分析 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达与预后的关系;Cox 分析 NSCLC 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　不同组织 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平比较　与癌旁组织比较,NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高($P<0.01$),miR-1913 表达水平降低($P<0.01$),见表 2。

表 2　癌旁组织和 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Comparison of expression levels of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 in paracancer tissues and NSCLC tissues

组　织	n	lncRNA FOXD2-AS1	miR-1913
癌旁组织	100	1.01 ± 0.09	1.02 ± 0.05
NSCLC 组织	100	1.22 ± 0.16	0.74 ± 0.15
t 值		11.439	17.709
P 值		<0.001	<0.001

2.2　生存组与死亡组患者 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平比较　与生存组比较,死亡组患者 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高($P<0.01$),miR-1913 表达水平降低($P<0.01$),见表 3。

表 3　生存组和死亡组患者 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3　Comparison of expression levels of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 in NSCLC tissues of patients in survival group and death group

组　别	例数	lncRNA FOXD2-AS1	miR-1913
生存组	58	1.12 ± 0.14	0.82 ± 0.14
死亡组	42	1.35 ± 0.19	0.63 ± 0.16
t 值		6.973	6.307
P 值		<0.001	<0.001

2.3　NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平的相关性　Target Scan Human 网址预测 lncRNA FOXD2-AS1与 miR-1913 间存在结合位点,见图 1。NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平呈负相关($r=-0.406$,$P<0.001$)。

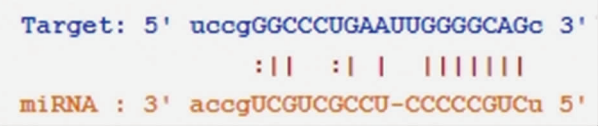


图 1　lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 间结合位点

Fig. 1　Binding site between lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913

2.4　NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达在不同临床病理特征中的差异比较　根据 NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达水平的平均值,将患者 lncRNA FOXD2-AS1 表达 <1.22 作为 lncRNA FOXD2-AS1低表达亚组 54 例,≥1.22 作为 lncRNA FOXD2-AS1高表达亚组 46 例;miR-1913 表达 <0.84 作为 miR-1913 低表达亚组 53 例,≥0.84 作为 miR-1913 高表达亚组 47 例。结果显示,不同性别、年龄、肿瘤大小、组织学类型的 NSCLC 患者 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期、发生淋巴结转移、低分化程度的 NSCLC 患者 lncRNA FOXD2-AS1 高表达比例高于 TNM 分期为Ⅰ+Ⅱ期、未发生淋巴结转移、中/高分化程度的 NSCLC 患者(P 均 <0.05)。TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期、发生淋巴结转移、低分化程度的 NSCLC 患者 miR-1913 低表达比例高于 TNM 分期为Ⅰ+Ⅱ期、未发生淋巴结转移、中/高分化程度的 NSCLC 患者(P 均 <0.01),见表 4。

2.5　NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达与生存期的关系　Kaplan-Meier法分析结果显示,

表 4　NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达在不同临床病理特征中的差异　[例(%)]

Tab. 4　Differences in expression of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 in different clinicopathological characteristics of NSCLC

项　目		例数	lncRNA FOXD2-AS1		χ^2 值	P 值	miR-1913		χ^2 值	P 值
			低表达(n=54)	高表达(n=46)			低表达(n=53)	高表达(n=47)		
性别	男	57	31(57.41)	26(56.52)	0.008	0.929	32(60.38)	25(53.19)	0.525	0.469
	女	43	23(42.59)	20(43.48)			21(39.62)	22(46.81)		
年龄(岁)	<55	51	25(46.30)	26(56.52)	1.039	0.308	26(49.06)	25(53.19)	0.170	0.680
	≥55	49	29(53.70)	20(43.48)			27(50.94)	22(46.81)		
肿瘤大小(cm)	<3	53	28(51.85)	25(54.35)	0.062	0.803	27(50.94)	26(55.32)	0.191	0.662
	≥3	47	26(48.15)	21(45.65)			26(49.06)	21(44.68)		
组织学类型	鳞癌	47	25(46.30)	22(47.83)	0.023	0.879	26(49.06)	21(44.68)	0.191	0.662
	腺癌	53	29(53.70)	24(52.17)			27(50.94)	26(55.32)		
TNM 分期	Ⅰ+Ⅱ	48	32(59.26)	16(34.78)	5.962	0.015	17(32.08)	31(65.96)	11.457	0.001
	Ⅲ+Ⅳ	52	22(40.74)	30(65.22)			36(67.92)	16(34.04)		
淋巴结转移	否	47	31(57.41)	16(34.78)	5.104	0.024	18(33.96)	29(61.70)	7.695	0.006
	是	53	23(42.59)	30(65.22)			35(66.04)	18(38.30)		
分化程度	中/高分化	46	31(57.41)	15(32.61)	6.150	0.013	16(30.19)	30(63.83)	11.349	0.001
	低分化	54	23(42.59)	31(67.39)			37(69.81)	17(36.17)		

lncRNA FOXD2-AS1 高表达 NSCLC 患者 3 年生存率为 43.48%(20/46),低于 lncRNA FOXD2-AS1 低表达患者的 70.37%(38/54)(χ^2=7.830,P=0.005);miR-1913 高表达患者 3 年生存率为 70.21%(33/47),高于 miR-1913 低表达 NSCLC 患者的 47.17%(25/53)(χ^2=6.125,P=0.013),见图 2。

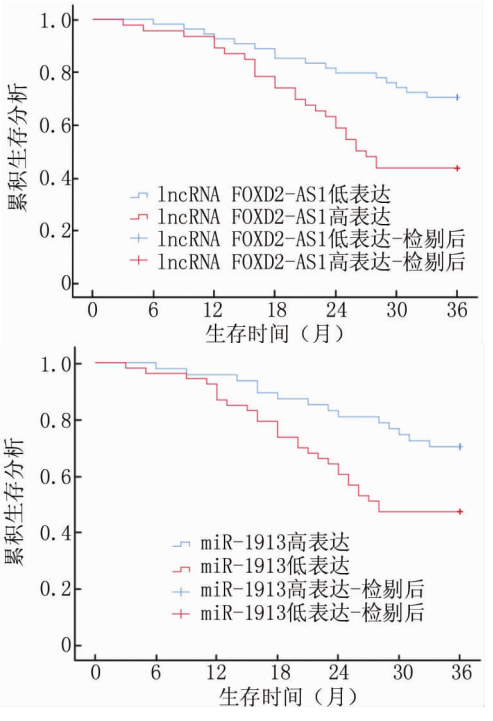


图 2　lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 表达与 NSCLC 患者生存期的关系

Fig. 2　Correlation between expression of lncRNA FOXD2-AS1 and miR-1913 and survival of patients with NSCLC

2.6　Cox 分析 NSCLC 患者预后的影响因素　以 NSCLC 患者生存状态为因变量,以 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913、TNM 分期、淋巴结转移、分化程度为自变量,lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 为连续变量,TNM 分期(赋值:Ⅲ+Ⅳ期为"1";Ⅰ+Ⅱ期为"0"),淋巴结转移(赋值:是为"1";否为"0"),分化程度(赋值:低分化为"1";中/高分化为"0"),进行多因素 Cox 分析,结果显示:miR-1913 高是 NSCLC 患者预后的保护因素(P<0.01),lncRNA FOXD2-AS1 高、TNM Ⅲ+Ⅳ期、有淋巴结转移、分化程度低是 NSCLC 患者预后的危险因素(P<0.01),见表 5。

表 5　Cox 分析 NSCLC 患者预后的影响因素

Tab. 5　Cox analysis of prognostic factors in NSCLC patients

变　量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR(95% CI)
lncRNA FOXD2-AS1 高	0.934	0.276	11.445	0.001	2.544(1.481~4.370)
miR-1913 高	−0.146	0.056	6.814	0.009	0.864(0.774~0.964)
TNM Ⅲ+Ⅳ期	1.294	0.416	9.674	0.002	3.647(1.614~8.242)
有淋巴结转移	0.934	0.276	11.445	0.001	2.544(1.481~4.370)
分化程度低	1.094	0.401	7.442	0.006	2.986(1.361~6.553)

3　讨　论

NSCLC 的致病机制较为复杂,发病率和病死率较高。近年来,关于 NSCLC 治疗和诊断的方式不断改善,其术后局部复发或远处转移率仍然较高,预后效果较差[12-13]。目前 NSCLC 评估主要以影像学检查为基础,其检出率较低,患者往往在 NSCLC 中晚期才被检出,临床治疗干预时间缩短,治疗预后效果较差,死亡率增加[14-15]。因此本研究分析 NSCLC 组织中 lncRNA

FOXD2-AS1、miR-1913 的表达，探究其与患者生存期的关系，以期改善 NSCLC 患者预后。

LncRNA FOXD2-AS1 作为 lncRNA 家族的一员，在结直肠癌、肝癌、胃癌等恶性肿瘤组织中高表达[16]。Guo 等[9]研究表明，lncRNA FOXD2-AS1 在胃癌患者组织中表达上调，敲低可抑制细胞增殖和细胞周期进程，促进细胞凋亡。Yang 等[17]研究发现，lncRNA FOXD2-AS1 高表达可以促进结直肠癌细胞的增殖。Wang 等[18]研究发现，激活 lncRNA FOXD2-AS1/miR-31/CDK1 轴可促进胶质瘤的发展进程。在本研究中，NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高。提示了上调 lncRNA FOXD2-AS1 水平可能会导致 NSCLC 的发生。该结果与 Yuan 等[19]的研究结果一致，结合以往研究结果推测敲低 lncRNA FOXD2-AS1 可减弱 A549 细胞增殖、侵袭和增加细胞凋亡。但由于目前尚无 lncRNA FOXD2-AS1 在 NSCLC 中的机制研究，仍需后续验证。另外，与生存组比较，死亡组患者 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高，lncRNA FOXD2-AS1 高表达 NSCLC 患者 3 年生存率低于 lncRNA FOXD2-AS1 低表达患者，提示了 lncRNA FOXD2-AS1 高表达会导致 NSCLC 患者死亡率上升。

miRNA 是小的非编码 RNA[20]。miR-1913 作为 miRNA 位于人类基因组的第 19 号染色体上，长度为 22 个核苷酸，miR-1913 已被证实可靶向多个基因（BCL2L11、CDK6 和 PTEN 等基因）调节细胞凋亡、代谢等过程，在多种生物过程中发挥重要作用。miR-1913 可作为癌症的生物标志物，其水平异常与多种癌症（前列腺癌、骨肿瘤、膀胱癌等）进展相关[21-22]。在本研究中，NSCLC 组织中 miR-1913 表达水平降低，提示了 miR-1913 低表达与 NSCLC 发生有关。另外，与生存组比较，死亡组患者组织中 miR-1913 表达水平降低，miR-1913 高表达患者 3 年生存率高于 miR-1913 低表达 NSCLC 患者，提示了敲低 miR-1913 会增加 NSCLC 患者死亡率，有望成为 NSCLC 预后生存期的评估方法。

Target Scan Human 网址预测 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 间存在结合位点。NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 表达水平呈负相关，提示了 lncRNA FOXD2-AS1 与 miR-1913 之间存在靶向作用，两者相互作用影响了肺癌的进程，临床可将两者联合作为新的肺癌治疗靶点。根据 Cox 分析显示，miR-1913 高是 NSCLC 患者预后的保护因素，lncRNA FOXD2-AS1 高、TNM 分期Ⅲ+Ⅳ期、淋巴结转移、分化程度低是 NSCLC 患者预后的危险因素。这表明 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 的表达水平可能对 NSCLC 患者预后具有重要的评估意义，通过调节 lncRNA FOXD2-AS1 和 miR-1913 水平，及时调整治疗方案，有助于改善 NSCLC 患者预后。

综上，NSCLC 组织中 lncRNA FOXD2-AS1 表达水平升高，miR-1913 的表达水平降低，两者与患者预后生存期有关。然而，本研究也存在一些限制，需要进一步的基础研究来探究 lncRNA FOXD2-AS1、miR-1913 影响 NSCLC 预后生存期的具体作用机制，提高结果的可靠性。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马睿：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；姜博文、牛凯星：实施研究过程，资料搜集整理；董琪：进行统计学分析；林思祥：提出研究思路，分析试验数据，论文审核

参考文献

[1] 朱超男，王帅，王文博，等. 非小细胞肺癌患者组织 miR-31-5p 表达与临床病理特征及预后的关系[J/OL]. 中华肺部疾病杂志：电子版，2023，16(4)：508-510. DOI：10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2020. 07. 024.

[2] 彭艳艳，李聪，张欣宇. 非小细胞肺癌组织中 miR-92a、miR-196b 表达水平及其临床意义[J]. 实用癌症杂志，2021，36(9)：1421-1425. DOI：10. 3969/j. issn. 1001-5930. 2021. 09. 008.

[3] 朱正飞，谭佩欣. GEMSTONE-301：同步/序贯放化疗后舒格利单抗巩固治疗可提高不可手术的Ⅲ期非小细胞肺癌患者的生存[J]. 循证医学，2022，22(1)：4-7. DOI：10. 12019/j. issn. 1671-5144. 2022. 01. 002.

[4] Li C, Wang H, Jiang Y, et al. Advances in lung cancer screening and early detection[J]. Cancer Biol Med, 2022, 19(5): 591-608. DOI: 10. 20892/j. issn. 2095-3941. 2021. 0690.

[5] 王放明，乔新伟，陈玖玲，等. 非小细胞肺癌组织 PAK4、PAK5 蛋白表达与上皮—间质转化、临床病理特征和预后的关系分析[J]. 现代生物医学进展，2024，24(2)：253-257，293. DOI：10. 13241/j. cnki. pmb. 2024. 02. 009.

[6] Xing C, Sun SG, Yue ZQ, et al. Role of lncRNALUCAT1 in cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 134(1): 111-158. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2020. 111158.

[7] 徐雪莹，章燕，钟峰，等. FOXD2-AS1、MIR4435-1HG 和 HOXC-AS2 联合诊断胃癌的临床价值及机制研究[J]. 皖南医学院学报，2023，42(5)：423-427. DOI：10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2023. 05. 004.

[8] 湛碧霞，刘冉，姜吉铠，等. 长链非编码 RNA FOXD2-AS1 在恶性肿瘤的研究进展[J]. 中国医药科学，2023，13(12)：43-46，66. DOI：10. 3969/j. issn. 2095-0616. 2023. 12. 012.

[9] Guo F, Guo R, Zhang L. Downregulation of lncRNA FOXD2-AS1 confers radiosensitivity to gastric cancer cells via miR-1913/SETD1A axis[J]. Cytogenet Genome Res, 2022, 162(1-2): 10-27. DOI: 10. 1159/000522653.

（下转 400 页）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 002

肿瘤防治专题

SIRT5、CRIP1 在肝细胞肝癌组织中的表达及临床意义

韩璐，纪爱芳，魏子白，栗彦琪，王彪

基金项目：山西省卫健委“四个一批”科技兴医创新计划项目（2020TD15）

作者单位：046000　山西长治，长治医学院附属和平医院检验科（韩璐、纪爱芳），消化科（魏子白），肝胆外科（栗彦琪、王彪）
通信作者：纪爱芳，E-mail：13383552666@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨沉默调节蛋白 5（SIRT5）、富含半胱氨酸肠蛋白 1（CRIP1）在肝细胞肝癌（HCC）组织中的表达及临床意义。**方法**　选取 2018 年 1 月—2020 年 5 月长治医学院附属和平医院肝胆外科手术切除 HCC 患者 150 例，采用免疫组化法检测 HCC 组织及癌旁组织中 SIRT5、CRIP1 表达；分析 SIRT5、CRIP1 表达与 HCC 患者临床病理参数的关系；根据 HCC 组织中 SIRT5、CRIP1 表达水平将 HCC 患者分为 SIRT5、CRIP1 阳性/阴性表达组，采用 Kaplan-Meier 法绘制 SIRT5、CRIP1 阳性/阴性表达 HCC 患者生存曲线；采用 Cox 回归分析影响 HCC 患者预后的因素。**结果**　与癌旁组织比较，HCC 组织 SIRT5 阳性表达率降低，CRIP1 阳性表达率升高（χ^2 = 40.991、42.946，P 均 < 0.001）。肿瘤单发、肿瘤直径小、中高分化程度、无脉管侵犯、TNM 分期Ⅰ～Ⅱ期的 HCC 组织较肿瘤多发、肿瘤直径大、低分化、有脉管侵犯、TNM 分期Ⅲ期的患者 SIRT5 阳性表达率升高、CRIP1 阳性表达率降低，差异均有统计学意义（SIRT5：χ^2/P = 5.179/0.023、6.459/0.011、5.899/0.015、7.402/0.007、5.930/0.015；CRIP1：χ^2/P = 4.275/0.039、5.442/0.002、6.459/0.011、6.394/0.011、5.655/0.017）；随访 3 年，150 例 HCC 患者失访 11 例，3 年总生存率为 56.83%（79/139）。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示，SIRT5 阳性表达组 3 年总生存率高于 SIRT5 阴性表达组，CRIP1 阳性表达组 3 年总生存率低于 CRIP1 阴性表达组（Log-rank χ^2 = 7.552、20.942，P = 0.006、< 0.001）。多因素 Cox 回归分析显示，肿瘤数目多发、肿瘤直径≥5 cm、低分化、脉管侵犯、TNM 分期Ⅲ期、CRIP1 阳性为 HCC 患者死亡的独立危险因素［OR（95% CI）= 2.685（1.031 ~ 6.999）、2.252（1.143 ~ 4.439）、4.181（1.735 ~ 10.076）、3.945（1.653 ~ 9.419）、3.485（1.492 ~ 8.141）、4.540（1.641 ~ 12.562），P 均 < 0.05］，SIRT5 阳性为独立保护因素［OR（95% CI）= 0.207（0.085 ~ 0.506），P < 0.01］。**结论**　HCC 组织 SIRT5 低表达和 CRIP1 高表达，与肿瘤数目、肿瘤直径、分化程度、脉管侵犯、TNM 分期和预后有关。

【关键词】 肝细胞肝癌；沉默调节蛋白 5；富含半胱氨酸肠蛋白 1；病理参数；预后
【中图分类号】 R735.7　　【文献标识码】 A

Expression and clinical significance of SIRT5 and CRIP1 in hepatocellular liver cancer tissues

*Han Lu**, *Ji Aifang*, *Wei Zibai*, *Li Yanqi*, *Wang Biao*. **Department of Laboratory*, *Heping Hospital Affiliated to Changzhi Medical College*, *Shanxi Province*, *Changzhi* 046000, *China*

Funding program: *Shanxi Provincial Health Commission's "Four Batches" Science and Technology Innovation Program for Medical Development* (2020*TD*15)

Corresponding author: *Ji Aifang*, *E-mail*: 13383552666@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the expression and clinical significance of sirtiun 5 (SIRT5) and cysteine rich protein 1 (CRIP1) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues. **Methods**　A total of 150 HCC patients were selected for Hepatobiliary Surgery in Heping Hospital Affiliated to Changzhi Medical College from January 2018 to May 2020. The expressions of SIRT5 and CRIP1 in HCC tissues and adjacent tissues were detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of SIRT5 and CRIP1 and clinicopathological parameters of HCC patients was analyzed. According to the expression levels of SIRT5 and CRIP1 in HCC tissues, HCC patients were divided into positive/negative SIRT5 and CRIP1 expression groups. Kaplan-Meier method was used to plot the survival curve of HCC patients with positive/negative expression of SIRT5 and CRIP1. The factors influencing the prognosis of HCC patients were analyzed by Cox regression. **Results**　Compared with para-cancerous tissues, HCC tissues showed decreased expression of SIRT5 positivity and increased expression of CRIP1 positivity (χ^2 = 40.991, 42.946, all P < 0.001). HCC tissues with single tumor, small tumor diameter, moderate

to high differentiation, no vascular invasion, and TNM stage Ⅰ to Ⅱ, had increased SIRT5 positive expression and decreased CRIP1 positive expression, all of which were statistically significant (SIRT5: χ^2/P = 5.179/0.023、6.459/0.011、5.899/0.015、7.402/0.007、5.930/0.015; CRIP1: χ^2/P = 4.275/0.039、5.442/0.002、6.459/0.011、6.394/0.011、5.655/0.017); At 3-year follow-up, the 3-year overall survival rate of 150 HCC patients was 56.83% (79/139). Kaplan-Meier survival curve analysis showed that the 3-year overall survival rate was higher in the SIRT5-positive expression group than that in the SIRT5-negative expression group, and the 3-year overall survival rate was higher in the CRIP1-positive expression group than that in the CRIP1-negative expression group (Log-rank χ^2 = 7.552, 20.942, P = 0.006, < 0.001). Multifactorial Cox regression analysis showed that multiple tumor numbers, tumor diameters ≥ 5cm, hypo-differentiation, vascular invasion, TNM stage Ⅲ, and CRIP1 positivity were independent risk factors for death in HCC patients, and SIRT5 positivity was an independent protective factor[*OR (95% CI)* = 2.685 (1.031 − 6.999), 2.252 (1.143 − 4.439), 4.181 (1.735 − 10.076), 3.945 (1.653 − 9.419), 3.485 (1.492 − 8.141), 4.540 (1.641 − 12.562), 0.207 (0.085 − 0.506)]. **Conclusion** Low expression of SIRT5 and high expression of CRIP1 in HCC tissues are associated with tumor number, tumor diameter, degree of differentiation, vascular invasion, TNM stage and prognosis.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Sirtiun 5; Cysteine rich protein 1; Pathological parameters; Prognosis

肝癌是全球发病率和病死率较高的恶性肿瘤之一[1]。据报道 2022 年中国肝癌发病和死亡例数分别为 431 383 例、412 216 例[2]。肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是肝癌最常见的病理学类型(75% ~85%),恶性程度高,长期预后较差[3]。沉默调节蛋白 5(sirtiun 5, SIRT5)是一种去乙酰化酶,能通过乙酰化修饰作用参与肿瘤发生发展[4]。实验报道,SIRT5 在肝癌细胞中低表达[5]。富含半胱氨酸肠蛋白 1(cysteine rich protein 1, CRIP1)是一种 LIM/双锌指蛋白,能通过抑制免疫和激活信号通路参与肿瘤发生发展[6]。实验报道,CRIP1 在肝癌细胞中高表达[7]。相关研究指出,SIRT5 异常表达与结直肠癌、分化型甲状腺癌等肿瘤患者预后不良有关[8-9];CRIP1 异常表达与卵巢癌、急性髓细胞性白血病等肿瘤患者预后不良有关[10-11]。但关于 SIRT5、CRIP1 在肝细胞肝癌组织中的表达及临床意义尚不明确,基于此本研究报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 1 月—2020 年 5 月长治医学院附属和平医院肝胆外科手术切除 HCC 患者 150 例,其中男 91 例,女 59 例,年龄 27 ~75(60.00 ± 5.75)岁,≥60 岁 79 例,<60 岁 71 例;乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)/(hepatitis C virus, HCV)阳性 128 例,HBV/HCV 阴性 22 例;肿瘤位置:左叶 63 例,右叶 74 例,跨叶 13 例;甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)79.26 ~857.68(507.20 ± 148.15)μg/L, ≥400 μg/L 129 例, <400 μg/L 21 例;肿瘤数目:单发 67 例,多发 83 例;肿瘤直径 1.15 ~7.98(4.63 ± 1.99) cm, ≥5 cm 66 例, <5 cm 84 例;分化程度:低分化 38 例,中高分化 112 例;有脉管侵犯 72 例;TNM 分期[12]:Ⅰ期 37 例,Ⅱ期 61 例,Ⅲ期 52 例。本研究已经获得医院伦理委员会批准(2018005),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年龄≥18 岁;②初次确诊为 HCC(经病理诊断);③接受根治性或姑息性切除;④TNM 分期Ⅰ~Ⅲ期。(2)排除标准:①入院前已接受任何抗肿瘤治疗;②拒绝随访;③合并其他部位恶性肿瘤;④不能耐受手术;⑤严重肝肾功能障碍;⑥合并严重感染;⑦肝移植患者;⑧合并自身免疫性疾病;⑨资料不完整。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　免疫组化检测肝组织 SIRT5、CRIP1 表达:术中收集部分癌组织及对应癌旁组织(距离癌组织 > 2 cm)福尔马林固定,取部分福尔马林固定组织,常规石蜡包埋、切片、脱蜡、水化后,pH 6.0 柠檬酸钠缓冲液进行高压热修复 5 min,室温自然冷却。切片放置于 3% H_2O_2 避光 15 min,磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)洗涤 3 次(5 min/次)阻断非特异性反应。再将一抗[兔抗人 SIRT5(1∶100)、CRIP1(1∶100),武汉三鹰生物技术有限公司,编号 67257-1-IG、15349-1-AP]滴加到切片中,4℃下过夜。次日滴加辣根过氧化物酶标记的二抗,PBS 洗涤 3 次(5 min/次),二氨基联苯胺显色,苏木精反染,乙醇梯度脱水,中性树胶封片。显微镜下观察拍照,以 PBS(代替一抗)作为阴性对照,以已知阳性切片作为阳性对照进行免疫组化评分(染色强度 × 阳性细胞比例),以≥3 分为阳性表达。染色强度:无染色、黄色、浅褐色、深棕色分别为 0 分、1 分、2 分、3 分;阳性细胞:0、<5%、5% ~ <30%、30% ~ <50%、≥50% 分别为 0 分、1 分、2 分、3 分、4 分[8]。根据 HCC 组织中 SIRT5、CRIP1 表达将 HCC 患者分为 SIRT5、CRIP1 阳性/阴性表达组。

1.3.2　随访：HCC 患者术后通过电话、门诊、互联网等方式随访 3 年，截止日期为 2023 年 5 月 31 日或失访/死亡，统计 SIRT5、CRIP1 阳性/阴性表达 HCC 患者 3 年总生存率。

1.4　统计学方法　应用 SPSS 28.0 软件对数据进行统计分析。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；计数资料以频数或率（%）表示，比较采用 χ^2 检验；Kaplan-Meier 法绘制 SIRT5、CRIP1 阳性/阴性表达 HCC 患者生存曲线；Cox 回归分析影响 HCC 患者预后的因素。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　SIRT5、CRIP1 在 HCC 组织及癌旁组织中表达比较　HCC 组织 SIRT5 阳性表达率低于癌旁组织，CRIP1 阳性表达率高于癌旁组织（$P<0.01$），见表 1。

表 1　SIRT5、CRIP1 在 HCC 组织及癌旁组织中表达比较　［例（%）］

Tab. 1　Comparison of expression of SIRT5 and CRIP1 in HCC tissues and paracancer tissues

组　别	例数	SIRT5 阳性	CRIP1 阳性
癌旁组织	150	93（62.00）	29（19.33）
癌组织	150	38（25.33）	84（56.00）
χ^2 值		40.991	42.946
P 值		<0.001	<0.001

2.2　SIRT5、CRIP1 阳性表达在 HCC 患者不同临床/病理特征中比较　肿瘤单发、肿瘤直径小、中高分化程度、无脉管侵犯、TNM 分期Ⅰ～Ⅱ期的 HCC 组织较肿瘤多发、肿瘤直径大、低分化、有脉管侵犯、TNM 分期Ⅲ期 SIRT5 阳性表达率升高、CRIP1 阳性表达率降低，差异均有统计学意义（$P<0.05$），不同性别、年龄、HBV/HCV、肿瘤位置、AFP 的 HCC 组织 SIRT5、CRIP1 阳性表达率比较差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 2。

2.3　不同 SIRT5、CRIP1 表达的 HCC 患者生存率比较　150 例 HCC 患者随访 3 年，失访 11 例，死亡 71 例，3 年总生存率为 56.83%（79/139）。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示，SIRT5 阳性表达组（35 例）3 年总生存率 68.57%（24/35）高于 SIRT5 阴性表达组（104 例）的 42.31%（44/104）；CRIP1 阳性表达组（82 例）3 年总生存率 31.71%（26/82）低于 CRIP1 阴性表达组（57 例）的 73.68%（42/57）（Log-rank χ^2 = 7.552、20.942，P = 0.006、<0.001），见图 1。

2.4　Cox 回归分析影响 HCC 患者预后的因素　以 HCC 患者预后（死亡/存活 = 1/0）为因变量，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：肿瘤数目多发、肿瘤直径≥5 cm、低分化、脉管侵犯、TNM 分期Ⅲ期、CRIP1 阳性为 HCC 患者死亡的独立危险因素，SIRT5 阳性为独立保护因素（$P<0.05$），见表 3。

表 2　SIRT5、CRIP1 表达在 HCC 患者不同临床/病理特征中差异比较　［例（%）］

Tab. 2　Difference of SIRT5 and CRIP1 expression in different clinical/pathological features of HCC patients

项　目		例数	SIRT5 阳性（n = 38）	χ^2 值	P 值	CRIP1 阳性（n = 84）	χ^2 值	P 值
性别	男	91	21（23.08）	0.623	0.430	52（57.14）	0.123	0.726
	女	59	17（28.81）			32（54.24）		
年龄（岁）	≥60	79	17（21.52）	1.284	0.257	47（59.49）	0.827	0.363
	<60	71	21（29.58）			37（52.11）		
HBV/HCV	阳性	128	30（23.44）	1.658	0.198	74（57.81）	1.164	0.281
	阴性	22	8（18.18）			10（45.45）		
肿瘤位置	左叶	63	15（23.81）	0.285	0.867	35（55.56）	0.178	0.915
	右叶	74	19（25.68）			41（55.41）		
	跨叶	13	4（30.77）			8（61.54）		
AFP（μg/L）	≥400	129	31（24.03）	0.826	0.363	74（57.36）	0.696	0.404
	<400	21	7（33.33）			10（47.62）		
肿瘤数目	单发	67	23（34.33）	5.179	0.023	31（46.27）	4.275	0.039
	多发	83	15（18.07）			53（63.86）		
肿瘤直径（cm）	≥5	66	10（15.15）	6.459	0.011	44（66.67）	5.442	0.002
	<5	84	28（33.33）			40（47.62）		
分化程度	低分化	38	4（10.53）	5.899	0.015	28（73.68）	6.459	0.011
	中高分化	112	34（31.25）			56（50.00）		
脉管侵犯	有	72	11（15.28）	7.402	0.007	48（66.67）	6.394	0.011
	无	78	27（34.62）			36（46.15）		
TNM 分期	Ⅰ～Ⅱ期	98	31（31.63）	5.930	0.015	48（48.98）	5.655	0.017
	Ⅲ期	52	7（13.46）			36（69.23）		

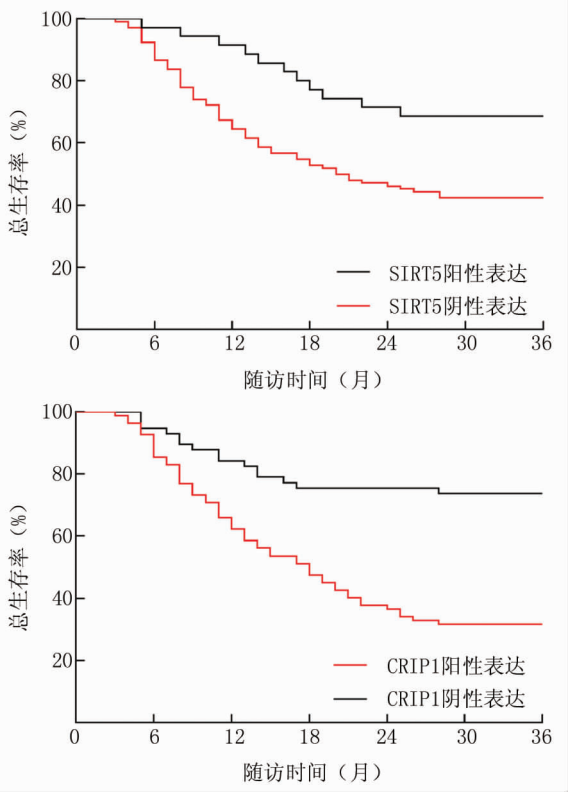


图 1　SIRT5、CRIP1 阳性/阴性表达 HCC 患者 Kaplan-Meier 生存曲线

Fig. 1　Kaplan-Meier survival curve of patients with positive/negative expression of SIRT5 and CRIP1 in HCC

表 3　Cox 回归分析影响 HCC 患者预后的因素

Tab. 3　Cox regression analysis of factors influencing the prognosis of HCC patients

变　量	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR*(95% *CI*)
肿瘤数目多发	0.988	0.489	4.089	0.043	2.685(1.031 ~ 6.999)
肿瘤直径≥5 cm	0.812	0.346	5.449	0.019	2.252(1.143 ~ 4.439)
肿瘤低分化	1.430	0.449	10.158	0.001	4.181(1.735 ~ 10.076)
脉管侵犯	1.373	0.444	9.558	0.002	3.945(1.653 ~ 9.419)
TNM 分期Ⅲ期	1.248	0.433	8.316	0.004	3.485(1.492 ~ 8.141)
SIRT5 阳性	−1.575	0.457	11.901	0.001	0.207(0.085 ~ 0.506)
CRIP1 阳性	1.513	0.519	8.487	0.004	4.540(1.641 ~ 12.562)

3　讨　论

HCC 是起源于肝细胞且血供丰富的恶性肿瘤，其发病可能与 HBV/HCV 感染、非酒精性脂肪性肝炎、饮酒过度、肝硬化、食用黄曲霉毒素污染食物等有关[3]。根治性切除是早期 HCC 的有效治疗方法，但由于其起病隐匿和 HCC 高危人群筛查未能普及，导致 70% ~ 80% 的初诊患者处于中晚期，5 年总体生存率不足 15%[13]。虽然近年来基于程序性细胞死亡蛋白-1 及配体的免疫药物和基于血管生长因子的靶向药物被用于 HCC 治疗，但 HCC 血供复杂、恶性程度高且进展迅速，仅部分患者能获得临床效益[14-15]。因此有必要确定更多 HCC 预后生物标志物，对指导临床早期干预和促进预后改善意义重大。

蛋白质翻译后修饰是蛋白质翻译中或翻译后的共价加工过程，乙酰化修饰作为最常见的酰化修饰类型，参与代谢调控、转录因子激活、染色质重塑等几乎所有的生命活动过程，在恶性肿瘤中发挥至关重要的作用[14]。SIRT5 是沉默信息调节因子 2 的同源基因家族第 5 个成员，主要定位于线粒体，能通过催化脱丙醇酰化、脱琥珀酰化、赖氨酸脱谷氨酰化等过程参与细胞代谢、损伤修复、氧化应激、细胞周期、DNA 转录、血管生成等调控[4,16]。近年来多项研究报道了 SIRT5 与肿瘤的关系，如 SIRT5 能抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路，抑制前列腺癌细胞转移[17]；SIRT5 能通过促进醛脱氢酶 5 家族成员 A1 去琥珀酰化，促进乳腺癌细胞的增殖[18]。这些研究提示 SIRT5 在不同肿瘤中发挥抑癌或促癌作用。有学者报道，肝癌细胞 SIRT5 低表达会促进肝癌细胞生长[5]。同时 SIRT5 低表达导致胰腺癌患者预后不良，SIRT5 高表达与乳腺癌预后不良相关[19-20]。本研究结果显示，HCC 组织 SIRT5 低表达，与肿瘤数目、肿瘤直径、分化程度、脉管侵犯和 TNM 分期有关，且 SIRT5 阳性表达患者 3 年生存率升高，可降低 HCC 患者死亡风险，说明 SIRT5 低表达与 HCC 恶性进展和预后不良有关。究其原因，SIRT5 低表达有助于波形蛋白乙酰化激活，促进上皮—间质转化，增强 HCC 细胞迁移和侵袭能力，促进 HCC 发生发展[21]；同时 SIRT5 低表达也有助于激活信号传导及转录激活蛋白 3 乙酰化激活，通过 Nanog 同源基因维持肿瘤细胞干性，促进 HCC 细胞增殖和分化失控，从而导致 HCC 发生发展[5]。

CRIP1 是一种在肠道广泛表达的小分子蛋白，可通过 LIM 结构域的锌指结构调节蛋白质—蛋白质相互作用，从而影响细胞增殖、分化、迁移、免疫、信号传导、细胞凋亡等肿瘤进程[6]。近年来大量研究报道了 CRIP1 参与肿瘤进程，如 CRIP1 能促进 p65 结合 CXC 趋化因子 1/5，增加核因子-κB 转录，抑制 $CD8^+$ T 细胞浸润，从而促进胰腺癌细胞免疫逃逸[22]。CRIP1 能激活 Wnt/β-连环蛋白信号通路，促进上皮性卵巢癌细胞侵袭和转移[23]。有学者报道，肝癌细胞 CRIP1 高表达会促进肝癌细胞增殖和转移[7]。本研究结果显示，HCC 组织 CRIP1 高表达，与肿瘤数目、肿瘤直径、分化程度、脉管侵犯和 TNM 分期有关，且 CRIP1 阳性表达患者 3 年生存率降低，会增加 HCC 患者死亡风险，说

明 CRIP1 高表达与 HCC 恶性进展和预后不良有关。究其原因,CRIP1 能与 γ-丁甜菜碱羟化酶相互作用激活 Wnt/β-catenin 信号通路,维持 HCC 细胞干性,从而导致 HCC 发生发展[24]。同时 CRIP1 还能与大鼠肉瘤基因相互作用,激活大鼠肉瘤基因/蛋白激酶 B 信号通路,促进 HCC 细胞增殖[25]。

综上所述,SIRT5 在 HCC 组织中低表达,CRIP1 高表达,与肿瘤数目、肿瘤直径、分化程度、脉管侵犯和 TNM 分期有关,是 HCC 患者死亡的独立危险因素,可能成为 HCC 患者预后评估的生物标志物。但仍需多中心、大样本研究验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

韩璐、纪爱芳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;魏子白:课题设计,论文撰写;栗彦琪:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王彪:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

[1] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2021,7(2):1-13. DOI:10.12151/JMCM.2021.02-01.

[2] Xia CF, Dong XS, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: Profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590. DOI: 10.1097/CM9.0000000000002108.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 原发性肝癌诊疗指南(2022 年版)[J]. 肿瘤防治研究,2022,49(3):251-276. DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2022.03.0001.

[4] Fabbrizi E, Fiorentino F, Carafa V, et al. Emerging roles of SIRT5 in metabolism, cancer, and SARS-CoV-2 infection[J]. Cells, 2023, 12(6): 852. DOI: 10.3390/cells12060852.

[5] 肖金成,康鑫鑫,朱文良,等. Sirt5 调控 STAT3/Nanog 信号通路抑制肝癌细胞的增殖和迁移[J]. 实用医学杂志,2019,35(23):3593-3596. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2019.23.004.

[6] 陈燕,孙晨. 富含半胱氨酸肠蛋白的研究进展[J]. 海洋科学,2020,44(6):148-151. DOI:10.11759/hykx20200306003.

[7] 黄雯,仰丽丽,吴付兵. CRIP1 对肝癌诊断的临床意义及其对肝癌细胞增殖和转移的影响[J]. 临床与病理杂志,2020,40(11):2813-2821. DOI:10.3978/j.issn.2095-6959.2020.11.003.

[8] 施良,尤琴琴,沙鑫,等. 结直肠癌中 SIRT5 的表达与 ^{18}F-FDG PET/CT 标准化摄取值的关系及机制研究[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2022,42(3):333-339. DOI:10.7655/NYDXBNS20220304.

[9] Yao L, Wang Y. Bioinformatic analysis of the effect of the sirtuin family on differentiated thyroid carcinoma[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 5794118. DOI: 10.1155/2022/5794118.

[10] 刘阳,康林,郑国娜,等. CRIP1 基因在人卵巢癌中的表达及其临床意义[J]. 河北医科大学学报,2021,42(8):904-908. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2021.08.009.

[11] Fu D, Zhang B, Wu S, et al. Molecular subtyping of acute myeloid leukemia through ferroptosis signatures predicts prognosis and deciphers the immune microenvironment[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 8(11): 1207642. DOI: 10.3389/fcell.2023.1207642.

[12] Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al. AJCC cancer staging manual[M]. 8th ed. New York: Springer, 2017: 155-156.

[13] 全国多中心前瞻性肝癌极早期预警筛查项目(PRECAR)专家组. 中国肝癌早筛策略专家共识[J]. 中华肝脏病杂志,2021,29(6):515-522. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20210605-00264.

[14] 国际肝胆胰协会中国分会,中华医学会外科学分会肝脏外科学组,中国临床肿瘤学会(CSCO)肝癌专家委员会. 肝细胞癌免疫联合治疗多学科中国专家共识(2023 版)[J]. 中华肝脏病杂志,2023,31(1):16-34. DOI:10.3760/cma.j.cn501113-20221215-00602.

[15] 中国医师协会肝癌专业委员会. 肝细胞癌分子靶向药物临床应用中国专家共识(2022 版)[J]. 中华医学杂志,2022,102(34):2655-2668. DOI:10.3760/cma.cn112137-20220623-01387.

[16] 康有力,赵丹,杜文静,等. SIRT5 通过调控 ALDH5A1 的琥珀酰化促进人乳腺癌细胞的增殖[J]. 基础医学与临床,2022,42(7):1099-1107. DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2022.07.1099.

[17] Choi SY, Jeon JM, Na AY, et al. SIRt5 directly inhibits the PI3K/AKT pathway in prostate cancer cell lines[J]. Cancer Genomics Proteomics, 2022, 19(1): 50-59. DOI: 10.21873/cgp.20303.

[18] 刘迪,张秀梅. SIRT5 通过调控 G6PD 促进结肠癌细胞的糖代谢及增殖[J]. 中国肿瘤临床,2021,48(17):876-881. DOI:10.12354/j.issn.1000-8179.2021.20210602.

[19] Hu T, Shukla SK, Vernucci E, et al. Metabolic rewiring by loss of Sirt5 promotes Kras-induced pancreatic cancer progression[J]. Gastroenterology, 2021, 161(5): 1584-1600. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.06.045.

[20] Greene KS, Lukey MJ, Wang X, et al. SIRT5 stabilizes mitochondrial glutaminase and supports breast cancer tumorigenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(52): 26625-26632. DOI: 10.1073/pnas.1911954116.

[21] Guo D, Song X, Guo T, et al. Vimentin acetylation is involved in SIRT5-mediated hepatocellular carcinoma migration[J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(12): 2453-2466.

[22] Liu X, Tang R, Xu J, et al. CRIP1 fosters MDSC trafficking and resets tumour microenvironment via facilitating NF-κB/p65 nuclear translocation in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Gut, 2023, 72(12): 2329-2343. DOI: 10.1136/gutjnl-2022-329349.

[23] 刘玉娟. CRIP1 通过 Wnt/β-catenin 信号通路介导 EMT 促进上皮性卵巢癌侵袭和转移的机制研究[D]. 南昌:南昌大学,2023.

[24] Wang J, Zhou Y, Zhang D, et al. CRIP1 suppresses BBOX1-mediated carnitine metabolism to promote stemness in hepatocellular carcinoma[J]. EMBO J, 2022, 41(15): e110218. DOI: 10.15252/embj.2021110218.

[25] He HY, Hu L. Cysteine-rich intestinal protein 1 enhances the progression of hepatocellular carcinoma via Ras signaling[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38(1): 49-58. DOI: 10.1002/kjm2.12445.

(收稿日期:2023-12-20)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 003

肿瘤防治专题

CUL4B、TRPM2 在胰腺癌组织中的表达和临床意义

马竹芳，庞林元，陈保银，徐菁

基金项目：陕西省科技计划项目（2021JQ-723）
作者单位：723000　陕西汉中，西安交通大学医学院附属 3201 医院消化内科
通信作者：庞林元，E-mail：Pangliny@ 126. com

【摘　要】 **目的**　探讨胰腺癌组织中 E3 泛素连接酶 Cullin4B（CUL4B）、人瞬时受体电位 M2（TRPM2）的表达及临床意义。**方法**　收集 2019 年 3 月—2020 年 3 月在西安交通大学医学院附属 3201 医院接受手术治疗胰腺癌患者 86 例的癌组织和癌旁组织。采用免疫组织化学检测组织中 CUL4B、TRPM2 蛋白表达。采用实时荧光定量 PCR 检测组织中 CUL4B、TRPM2 mRNA 水平。Spearman 秩相关分析 CUL4B 与 TRPM2 蛋白表达的关系。Kaplan-Meier 曲线分析 CUL4B、TRPM2 蛋白表达对患者预后的影响。Cox 比例风险模型分析胰腺癌预后影响因素。**结果**　胰腺癌组织中 CUL4B、TRPM2 蛋白阳性率及 mRNA 基因的相对表达量高于癌旁组织（χ^2/t = 70. 245、60. 224、15. 741、10. 976，P 均 < 0. 001）。胰腺癌组织中 CUL4B 与 TRPM2 蛋白表达呈显著正相关（r = 0. 720，P < 0. 001）。TNM 分期ⅡB ~ Ⅲ期、淋巴结转移胰腺癌中 CUL4B、TRPM2 蛋白阳性率高于Ⅰ ~ ⅡA 期、无淋巴结转移癌组织（χ^2 = 16. 511、14. 834，15. 576、15. 007，P 均 < 0. 001）。CUL4B 阳性组和阴性组 3 年总生存率分别为 9. 68%（6/62）、41. 67%（10/24），TRPM2 阳性组和阴性组 3 年总生存率分别为 8. 33%（5/60）、42. 31%（11/26），CUL4B 阳性组、TRPM2 阳性组患者 3 年累积生存率低于 CUL4B 阴性组、TRPM2 阴性组患者（Log-Rank χ^2/P = 9. 933/0. 002、11. 102/0. 001）。TNM 分期ⅡB ~ Ⅲ期、淋巴结转移、CUL4B 阳性、TRPM2 阳性是影响胰腺癌不良预后的独立危险因素［HR（95% CI）= 1. 781（1. 199 ~ 2. 646），1. 962（1. 172 ~ 3. 285），2. 482（1. 445 ~ 4. 263），1. 733（1. 223 ~ 2. 457）］。**结论**　胰腺癌组织中 CUL4B、TRPM2 表达升高，两者表达与胰腺癌不良临床病理特征有关，是胰腺癌预后相关肿瘤标志物。

【关键词】 胰腺癌；E3 泛素连接酶 Cullin4B；人瞬时受体电位 M2；预后
【中图分类号】 R735. 9　　【文献标识码】 A

Expression and clinical significance of CUL4B and TRPM2 in pancreatic cancer

Ma Zhufang, Pang Linyuan, Chen Baoyin, Xu Jing. Department of Gastroenterology, Xi'an Jiaotong University School of Medicine Affiliated 3201 *Hospital, Shaanxi Province, Hanzhong* 723000, *China*
Funding program: Shaanxi Provincial Science and Technology Plan Project (2021*JQ*-723)
Corresponding author: Pang Linyuan, E-mail: Pangliny@ 126. *com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the expression and clinical significance of Cullin4B E3 ubiquitin ligase (CUL4B) and human transient receptor potential M2 (TRPM2) in pancreatic cancer. **Methods**　Eighty-six patients with pancreatic cancer who were diagnosed and treated in author's hospital from March 2019 to March 2020 were selected. Immunohistochemistry was used to detect the expression of CUL4B and TRPM2 proteins in tissues. Real time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of CUL4B and TRPM2 mRNA in tissues. Spearman rank correlation analysis was used to analyze the relationship between CUL4B and TRPM2 protein expression. Kaplan-Meier curve analysis was used to analyze the impact of CUL4B and TRPM2 expression on patient prognosis. Cox proportional hazards model was used to analyze the prognostic factors of pancreatic cancer.**Results**　The positive rate of CUL4B and TRPM2 protein and the relative expression of mRNA in pancreatic cancer tissues were higher than those in adjacent tissues, and the difference was statistically significant(χ^2/t = 70.245, 60.224, 15.741, 10.976, P < 0.001). The expression of CUL4B was positively correlated with TRPM2 in pancreatic cancer (r = 0.720, P < 0.001). The positive rates of CUL4B and TRPM2 protein in TNM stage Ⅱ B - Ⅲ, lymph node metastasis pancreatic cancer were higher than those in stage Ⅰ - Ⅱ A, and no lymph node metastasis (χ^2 = 16.511, 14.834, 15.576, 15.007, P < 0.001). The 3-year overall survival rates of the CUL4B positive and negative groups were 9.68% (6/62) and 41.67% (10/24), respectively. The 3-year overall survival rates of the TRPM2 positive and negative groups were 8.33% (5/60) and 42.31% (11/26), respectively. The 3-year cumulative survival rate of patients in the CUL4B positive

group and TRPM2 positive group was lower than that in the CUL4B negative group and TRPM2 negative group, and the difference was statistically significant (Log-Rank χ^2 = 9.933, 11.102, P = 0.002, 0.001). TNM stage, lymph node metastasis, CUL4B, TRPM2 were independent factors affecting the prognosis of pancreatic cancer[*HR(95% CI)* = 1.781(1.199 – 2.646), 1.962(1.172 – 3.285), 2.482(1.445 – 4.263), 1.733(1.223 – 2.457)]. **Conclusion**　The expression of CUL4B and TRPM2 in pancreatic cancer are elevated, which are related to the poor clinicopathological characteristics of pancreatic cancer and are prognostic tumor markers of pancreatic cancer.

【**Key words**】 Pancreatic cancer; Cullin4B E3 ubiquitin ligase; Human transient receptor potential M2; Prognosis

胰腺癌是极具侵袭性的恶性肿瘤,全球每年新发 44.1 万例[1]。胰腺癌早期阶段临床表现不典型,诊断和治疗往往延误,预后较差[2]。E3 泛素连接酶 Cullin 4B (CUL4B)作为支架蛋白构成 Cullin-Ring 复合物,参与细胞周期、信号传导及 DNA 损伤修复等过程[3]。研究表明,膀胱癌、乳腺癌中 CUL4B 表达上调,能激活磷脂酰肌醇 3 激酶,促进肿瘤增殖、侵袭和干细胞特性形成[4-5]。人瞬时受体电位 M2(transient receptor potential cation channel subfamily M member 2,TRPM2)是一种瞬时受体电位通道,参与调控钙离子的跨膜转运、多聚 ADP 核糖的降解过程,与炎性反应、自身免疫疾病、动脉粥样硬化等疾病关系密切[6]。研究表明,TRPM2 在乳腺癌、前列腺癌中表达上调,磷酸化富脯氨酸蛋白酪氨酸激酶,促进癌细胞的增殖[7]。目前胰腺癌中 CUL4B、TRPM2 表达及临床意义尚不清楚。本研究通过检测胰腺癌中 CUL4B、TRPM2 的表达,分析两者与临床病理特征及预后的关系,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　收集 2019 年 3 月—2020 年 3 月西安交通大学医学院附属 3201 医院接受手术治疗胰腺癌患者 86 例的癌组织和癌旁组织。其中男 46 例,女 40 例;年龄 37 ~ 68(55.29 ± 6.26)岁;肿瘤最大径:< 4 cm 52 例,≥4 cm 34 例;肿瘤 TNM 分期:Ⅰ ~ ⅡA 期 45 例,ⅡB ~ Ⅲ 期 41 例;肿瘤分化程度:高中分化 50 例,低分化 36 例;肿瘤位置:胰头部 56 例,胰体尾部 30 例;有淋巴结转移 53 例。本研究已经获得医院伦理委员会批准(伦审〔2019〕022 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经组织病理检查明确为胰腺导管腺癌,符合《胰腺癌综合诊治指南(2018 版)》胰腺癌诊断标准[8];②入院前无放化疗治疗;③临床资料齐全。(2)排除标准:①合并严重心肺功能障碍;②合并胰腺外原发恶性肿瘤或术后证实肿瘤非胰腺来源,如十二指肠、胆管下段及壶腹下段;③围手术期死亡或术后 30 d 内死亡;④不能配合随访者。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　组织 CUL4B、TRPM2 蛋白检测:将术中获取的胰腺癌组织和癌旁组织浸泡于 10% 组织固定液中 12 h,石蜡包埋切片。免疫组化染色的具体实验步骤按照免疫组化试剂盒(购自北京中杉金桥生物科技公司,货号 PV6000)说明进行操作。简要步骤:烘箱中 60℃ 1 h,二甲苯脱蜡后一次放入 100% 至 75% 的梯度乙醇中水化,3% 过氧化氢浸泡 10 min,枸橼酸盐抗原修复液中煮沸,冷却后 10% 羊血清 37℃封闭 30 min,滴加一抗 4℃ 16 h,兔抗人 CUL4B、TRPM2 单克隆抗体购自英国 abcam 公司,货号 ab247477,ab11168。二抗 37℃ 30 min,DAB 显色 5 min,苏木素染色 2 min,分化液分化后清水清洗,返蓝液中静置 5 min,依次脱水、透明和封片。利用日本 Olympus 公司的 DX31 显微镜观察染色情况,染色深度评分(无染色 0 分,浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分)与面积评分(< 25% 1 分,25% ~ < 50% 2 分,50% ~ < 75% 3 分,≥75% 4 分)的乘积≥2 分为阳性,< 2 分为阴性。

1.3.2　组织 CUL4B、TRPM2 mRNA 基因表达检测:取胰腺癌和癌旁组织约 50 mg,剪碎后加入 Trizol 后研磨,离心留取上清采用 RNA 提取试剂盒(RNA 提取试剂盒购自北京索莱宝公司,货号 R1200)提取组织总 RNA,将 RNA 反转录为 cDNA,进行荧光定量 PCR 反应(SYBR Green 试剂盒购自北京索莱宝公司,货号 SY1020)。引物由上海生工公司设计合成。CUL4B 上游:5'-TTCGTGGATTCCTGAAAACATCA-3',下游:5'-CCAGCATCAGACAGTTTGGAAC-3';TRPM2 上游:5'-GAGATGCCAACCGATGCCTTT-3',下游:5'-GGAGACTCGGACGTACTTTTTCA-3';内参 GAPDH 上游:5'-TCCCCGCCGAGTACATACTG-3',下游:5'-GTCTGCTCCGATATGAACTTCTC-3'。反应条件:94℃ 5 min、94℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 40 s,共 35 个循环。体系:SYBR Green 5 μl,正反向引物各 0.5 μl,cDNA 1 μl和双蒸水 3 μl。结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$法表示 CUL4B、TRPM2 mRNA 基因的相对表达量。

1.3.3　随访及预后:胰腺癌患者自出院后开始随访,

随访间隔为 3 ~ 6 个月 1 次，随访时限为 3 年，随访以门诊方式进行；随访内容为常规体格检查、腹盆腔 CT 或 MR 等，了解随访中肿瘤复发进展及患者生存情况。随访终止时间为 2023 年 4 月。随访终点为患者发生肿瘤相关死亡或到达随访终止时间。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件统计分析数据。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；计数资料以频数或率（%）表示，比较采用 χ^2 检验；Spearman 秩相关分析胰腺癌组织中 CUL4B 与 TRPM2 蛋白表达的相关性；绘制 Kaplan-Meier 曲线，分析 CUL4B、TRPM2 对胰腺癌生存预后的影响；Cox 回归分析胰腺癌患者的预后影响因素。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　组织中 CUL4B、TRPM2 蛋白表达比较　癌组织中 CUL4B、TRPM2 蛋白阳性染色均位于细胞膜和细胞浆，其阳性率分别为 72.09%（62/86）、69.77%（60/86），高于癌旁组织的 9.30%（8/86）、11.63%（10/86），差异均有统计学意义（χ^2 = 70.245、60.224，P 均 <0.001），见图 1。

2.2　胰腺癌组织 CUL4B 与 TRPM2 蛋白表达的相关性　Spearman 秩相关分析结果显示，胰腺癌组织中 CUL4B 与 TRPM2 蛋白表达呈显著正相关（r = 0.720，P <0.001）。

2.3　组织 CUL4B、TRPM2 mRNA 基因表达比较　癌组织 CUL4B、TRPM2 mRNA 基因表达为（4.82 ± 0.66）、（3.65 ± 0.69），高于癌旁组织（3.51 ± 0.40）、（2.56 ± 0.61），差异均有统计学意义（t = 15.741、10.976，P 均 <0.001）。

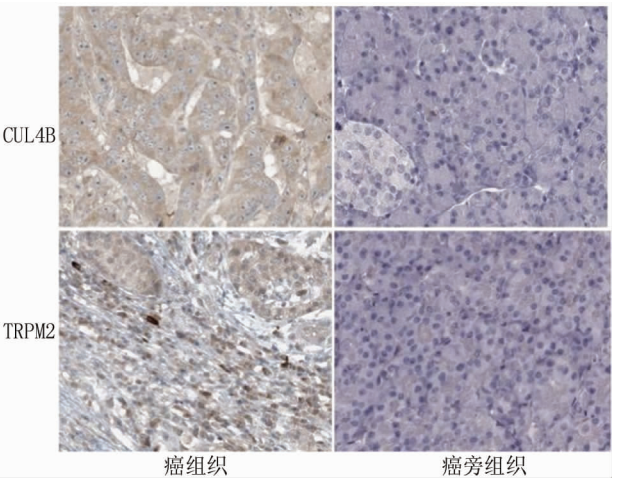


图 1　胰腺癌及癌旁组织中 CUL4B、TRPM2 蛋白表达比较（免疫组化染色，×200）

Fig. 1　Comparison of CUL4B and TRPM2 protein expression in pancreatic cancer and paracancer tissues (immunohistochemical staining, ×200)

2.4　不同临床病理特征胰腺癌组织 CUL4B、TRPM2 蛋白表达比较　TNM 分期 ⅡB ~ Ⅲ期、伴有淋巴结转移胰腺癌中 CUL4B、TRPM2 蛋白阳性率高于 Ⅰ ~ ⅡA 期、无淋巴结转移癌组织，差异具有统计学意义（P 均 <0.01），见表 1。

2.5　CUL4B、TRPM2 表达与胰腺癌患者生存预后的关系　胰腺癌患者随访结束时，共死亡 70 例（81.40%），无失访病例；3 年总生存率 18.60%（16/86）。CUL4B 阳性组和阴性组 3 年总生存率分别为 9.68%（6/62）、41.67%（10/24），TRPM2 阳性组和阴性组 3 年总生存率分别为 8.33%（5/60）、42.31%（11/26）。

表 1　不同临床病理特征胰腺癌组织中 CUL4B、TRPM2 蛋白表达比较　［例（%）］

Tab. 1　Comparison of CUL4B and TRPM2 protein expression in pancreatic cancer with different clinicopathological features

临床参数		例数	CUL4B 阳性	χ^2 值	P 值	TRPM2 阳性	χ^2 值	P 值
性别	男	46	35(76.09)	0.784	0.376	34(73.91)	0.806	0.369
	女	40	27(67.50)			26(65.00)		
年龄	<60 岁	48	32(66.67)	1.590	0.207	32(66.67)	0.495	0.482
	≥60 岁	38	30(78.95)			28(73.68)		
分化程度	高中分化	50	33(66.00)	2.204	0.138	32(64.00)	1.884	0.170
	低分化	36	29(80.56)			28(77.78)		
肿瘤最大径(cm)	<4	52	36(69.23)	0.536	0.464	33(63.46)	2.480	0.115
	≥4	34	26(76.47)			27(79.41)		
肿瘤位置	胰头部	56	42(75.00)	0.674	0.412	40(71.43)	0.210	0.647
	胰体尾部	30	20(66.67)			20(66.67)		
TNM 分期	Ⅰ ~ ⅡA 期	45	24(53.33)	16.511	<0.001	23(51.11)	15.576	<0.001
	ⅡB ~ Ⅲ期	41	38(92.68)			37(90.24)		
淋巴结转移	有	53	46(86.79)	14.834	<0.001	45(84.91)	15.007	<0.001
	无	33	16(48.49)			15(45.46)		

CUL4B 阳性组、TRPM2 阳性组患者 3 年累积生存率低于 CUL4B 阴性组、TRPM2 阴性组患者，差异均有统计学意义（Log-Rank χ^2/P = 9.933/0.002、11.102/0.001），见图 2。

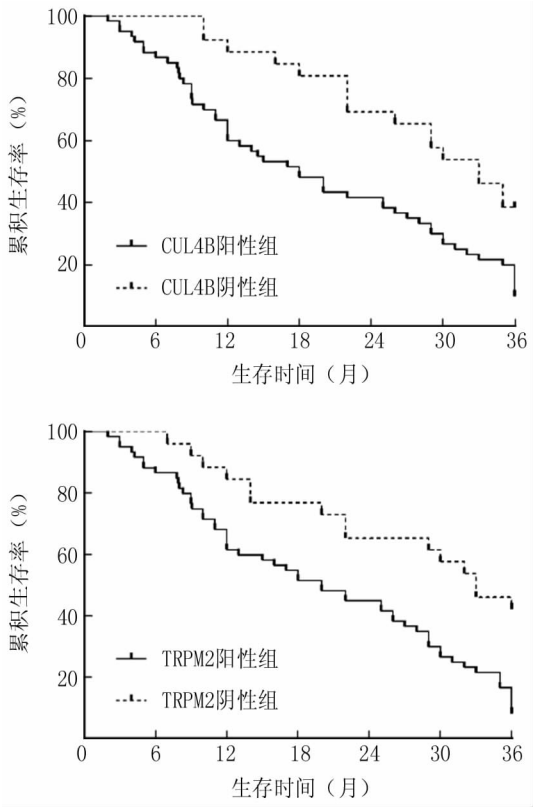


图 2　CUL4B、TRPM2 表达对胰腺癌患者生存预后的影响

Fig. 2　Impact of CUL4B and TRPM2 expression on survival and prognosis of patients with pancreatic cancer

2.6　影响胰腺癌患者预后的多因素 Cox 回归分析

以胰腺癌患者生存预后为因变量（1 = 死亡，0 = 存活），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ⅡB ~ Ⅲ期、淋巴结转移、CUL4B 阳性、TRPM2 阳性是影响胰腺癌不良预后的独立危险因素（P 均 <0.01），见表 2。

表 2　影响胰腺癌患者预后的多因素 Cox 回归分析

Tab. 2　Cox regression analysis of multiple factors affecting prognosis of patients with pancreatic cancer

因　素	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*HR* 值	95% *CI*
TNMⅡB ~ Ⅲ期	0.577	0.202	8.159	<0.001	1.781	1.199 ~ 2.646
淋巴结转移	0.674	0.263	6.568	<0.001	1.962	1.172 ~ 3.285
CUL4B 阳性	0.909	0.276	10.847	<0.001	2.482	1.445 ~ 4.263
TRPM2 阳性	0.550	0.178	9.547	<0.001	1.733	1.223 ~ 2.457

3　讨　论

胰腺癌是严重的消化道恶性肿瘤，起病隐匿，预后极差。我国居民胰腺癌标化发病率为 5.78/10 万，病死率为 5.99/10 万[9]。虽然手术、化疗等综合治疗是胰腺癌的主要临床治疗方案，但胰腺癌预后整体较差，5 年总体生存率仅 9%[9]。目前主要根据肿瘤 TNM 分期、病理分级等临床病理特征评估胰腺癌患者的预后，但不同患者存在较大的肿瘤异质性，相同分期及相同治疗方案的胰腺癌患者疾病复发转移的风险存在较大差异。因此，有必要对影响胰腺癌预后的因素进行深入研究，并寻找有效评估患者临床预后的标志物。

CUL4B 是 Cullin 4B-Ring E3 泛素连接酶复合物的支架蛋白，通过多泛素化或单泛素化作用催化底物蛋白，参与肥胖、胰岛素抵抗及病毒感染等病理生理学过程[10]。研究发现，CUL4B 在肺癌、胶质瘤等多种类型癌症中过表达，其通过表观遗传学修饰在转录水平调控靶基因表达，促进肿瘤细胞的增殖及侵袭行为[11-12]。本研究中，胰腺癌组织中 CUL4B mRNA 和蛋白表达明显升高，这与既往在胰腺癌细胞及组织中研究结果一致[13]，但该研究仅对人类癌症基因组数据库中 CUL4B 在 mRNA 基因表达的水平进行验证，而不同 mRNA 的转录本的基因表达存在一定差异，本研究在蛋白水平对 CUL4B 进行验证，结果更为准确。胰腺癌中 CUL4B 表达受微小 RNA-300 表达的调节。研究表明，胰腺癌中微小 RNA-300 表达下调，导致 CUL4B mRNA 稳定性增加，CUL4B 激活 Wnt/β-连环蛋白通路，β-连环蛋白入核后上调波形蛋白及 N 钙黏素的表达，肿瘤细胞的侵袭能力增强[14]。本研究中，CUL4B 表达与患者不良临床病理特征有关，提示 CUL4B 促进胰腺癌的恶性进展。研究表明，CUL4B 与组蛋白去乙酰化酶 1 结合形成 CRL4B 复合物，该复合物促进组蛋白 H2AK119 位点的单泛素化，上调果蝇头状因子 3 和叉头转录因子 O 亚型 3 的表达，促进肿瘤细胞的增殖、自噬、侵袭及干细胞样特性形成[13]。另外，CUL4B 能够与 DNA 损伤结合蛋白 1 及组成型光形态发生蛋白 1 结合形成复合物，介导 H3K27me2/3 组蛋白去甲基化酶 UTX 的泛素化降解，促进了结直肠癌的恶性进展[15]。本研究中，CUL4B 阳性胰腺癌患者预后较差，表明 CUL4B 有助于评估胰腺癌患者预后。研究发现，胰腺内分泌瘤中 CUL4B 与 CUL4 相关因子 7 结合，催化肿瘤抑制基因 MEN1 的泛素化降解，促进肿瘤细胞恶性增殖及对依维莫司治疗耐药性的形成，导致患者不良预后[16]。

TRPM2 属于瞬时受体电位超家族成员，是可通过钙离子的非选择性阳离子通道，能够感受活性氧簇，参与机体氧化应激、炎性反应及细胞死亡等多种病理生理过程[17]。研究表明，TRPM2 可通过促进内质网应激，促进肿瘤微环境中免疫抑制细胞浸润，并通过促进肿瘤上皮间质转化，促进肾透明细胞癌的肿瘤进展，是潜在的肿瘤治疗靶点[18]。本研究中，胰腺癌组织中 TRPM2 mRNA 和蛋白表达升高，提示 TRPM2 参与促进胰腺癌的发生。这与既往 Lin 等[19]学者研究结果相似，但该研究仅纳入 64 例胰腺癌患者，以中晚期患者为主（Ⅰ期患者仅 6 例），在反映不同分期胰腺癌患者 TRPM2 表达中代表性较差。胰腺癌中 TRPM2 表达升高的机制与缺氧微环境调控有关。研究表明，胰腺癌肿瘤微环境处于缺氧状态，缺氧通过促进钙离子内流诱导肿瘤细胞中线粒体游离活性氧的产生，上调并激活 TRPM2 的表达，促进胰腺癌细胞系 PANC-1 细胞的增殖、侵袭和转移能力[20-21]。本研究中，TRPM2 与胰腺癌不良临床病理特征有关，提示 TRPM2 促进胰腺癌的肿瘤进展。有学者发现，胰腺癌患者中 TRPM2 的过表达可增加肿瘤细胞内钙离子浓度，直接激活蛋白激酶 Cα，活化下游丝裂原活化蛋白激酶/丝裂原细胞外激酶通路，促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力，导致肿瘤分期升高[21]。本研究中，TRPM2 阳性胰腺癌患者预后较差，表明 TRPM2 可能是新的评估胰腺癌预后的肿瘤标志物。分析其原因，TRPM2 的表达通过增加缺氧诱导因子 1A 和核因子 E2 相关因子 2 蛋白的稳定性，上调多药耐药基因等的表达，导致肿瘤对化疗药的敏感性降低及患者不良生存预后[22]。另有研究发现，应用 TRPM2 的特异性抑制剂如邻氨基苯甲酸等能够抑制肿瘤内钙离子依赖的线粒体来源的活性氧产生，增强肿瘤细胞对化疗药治疗的敏感性，是潜在的肿瘤治疗靶点[23]。

本研究中，胰腺癌组织中 CUL4B 与 TRPM2 表达呈正相关，提示两者在胰腺癌中可能存在相互作用关系。笔者分析，可能与两者受缺氧调控有关。研究表明，缺氧条件下肿瘤细胞中 TRPM2 表达上调能够增加缺氧诱导因子 1A 蛋白稳定性，而缺氧诱导因子 1A 能够在转录水平直接激活 CUL4B 的转录，促进肿瘤上皮间质转化，导致迁移、侵袭等恶性生物学行为的发生[24]。但胰腺癌中两者具体作用仍有待进一步研究。

综上所述，胰腺癌组织中 CUL4B、TRPM2 在转录水平及蛋白水平均显著升高，与患者不良临床病理特征有关，均参与促进胰腺癌的肿瘤进展。CUL4B、TRPM2是影响胰腺癌不良生存预后的独立因素，可能协助临床医生评估胰腺癌患者的临床预后，进而指导临床治疗。但本研究在数据收集和样本量等方面尚存在局限，即随访时间相对较短、样本量较小，有待今后扩大样本量，延长随访时间，进一步研究 CUL4B、TRPM2 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

马竹芳：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；庞林元：提出研究方向，分析试验数据，论文审核；陈保银：实施研究过程，数据收集，分析整理，论文修改；徐菁：进行统计学分析

参考文献

[1] Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: Understanding the role of lifestyle and inherited risk factors[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(7): 493-502. DOI: 10.1038/s41575-021-00457-x.

[2] 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.

[3] Song Y, Li P, Qin L, et al. CUL4B negatively regulates Toll-like receptor-triggered proinflammatory responses by repressing Pten transcription[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(2): 339-349. DOI: 10.1038/s41423-019-0323-0.

[4] Liu X, Cui J, Gong L, et al. The CUL4B-miR-372/373-PIK3CA-AKT axis regulates metastasis in bladder cancer[J]. Oncogene, 2020, 39(17): 3588-3603. DOI: 10.1038/s41388-020-1236-1.

[5] Wang Y, Pan X, Li Y, et al. CUL4B renders breast cancer cells tamoxifen-resistant via miR-32-5p/ER-alpha36 axis[J]. J Pathol, 2021, 254(2): 185-198. DOI: 10.1002/path.5657.

[6] Zong P, Feng J, Yue Z, et al. Functional coupling of TRPM2 and extrasynaptic NMDARs exacerbates excitotoxicity in ischemic brain injury[J]. Neuron, 2022, 110(12): 1944-1958.

[7] Miller BA. TRPM2 in Cancer[J]. Cell Calcium, 2019, 80: 8-17. DOI: 10.1016/j.neuron.2022.03.021.

[8] 虞先濬，刘亮，徐华祥，等. 胰腺癌综合诊治指南（2018 版）[J]. 临床肝胆病杂志，2018，34(10)：2109-2120. DOI：10.3969/j.issn.1001-5256.2018.10.011.

[9] 冯程程，彭青兰，焦学洋，等. 1990—2019 年中国胰腺癌发病和死亡情况及其变化趋势分析[J]. 中国肿瘤，2022，31(5)：321-326. DOI：10.11735/j.issn.1004-0242.2022.05.A001.

[10] Shan H, Wang B, Zhang X, et al. CUL4B facilitates HBV replication by promoting HBx stabilization[J]. Cancer Biol Med, 2021, 19(1): 120-131. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0468.

[11] Wang Y, Yan F, Nasar A, et al. CUL4(high) lung adenocarcinomas are dependent on the CUL4-p21 ubiquitin signaling for proliferation and survival[J]. Am J Pathol, 2021, 191(9): 1638-1650. DOI: 10.1016/j.ajpath.2021.05.018.

[12] Ye X, Liu X, Gao M, et al. CUL4B promotes temozolomide resistance in gliomas by epigenetically repressing CDNK1A transcription[J]. Front Oncol, 2021, 11(8): 6388-6396. DOI: 10.3389/fonc.2021.638802.

[13] Leng S, Huang W, Chen Y, et al. SIRT1 coordinates with the CRL4B

complex to regulate pancreatic cancer stem cells to promote tumorigenesis[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(12): 3329-3343. DOI: 10.1038/s41418-021-00821-z.

[14] Zhang JQ, Chen S, Gu JN, et al. MicroRNA-300 promotes apoptosis and inhibits proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition via the Wnt/beta-catenin signaling pathway by targeting CUL4B in pancreatic cancer cells[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(1): 1027-1040. DOI: 10.1002/jcb.26270.

[15] Luo D, Chen M, Li Q, et al. CUL4B-DDB1-COP1-mediated UTX downregulation promotes colorectal cancer progression[J]. Exp Hematol Oncol, 2023, 12(1): 77-90. DOI: 10.1186/s40164-023-00440-z.

[16] Xu J, Ye Z, Zhuo Q, et al. MEN1 degradation induced by neddylation and the CUL4B-DCAF7 Axis promotes pancreatic neuroendocrine tumor progression[J]. Cancer Res, 2023, 83(13): 2226-2247. DOI: 10.1158/0008-5472. CAN-22-3599.

[17] 刘洪军,漆建,尹久,等. 亚低温对重型颅脑损伤大鼠脑组织 TRPM2、caspase9 表达的影响[J]. 四川医学, 2020, 41(7): 680-684. DOI: 10.16252/j.cnki.issn1004-0501-2020.07.003.

[18] Yuan H, Li W, Lou N, et al. TRPM2 facilitates tumor progression of clear cell renal cell carcinoma by relieving endoplasmic reticulum stress[J]. Int J Med Sci, 2023, 20(1): 57-69. DOI: 10.7150/ijms.77944.

[19] Lin R, Bao X, Wang H, et al. TRPM2 promotes pancreatic cancer by PKC/MAPK pathway[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(6): 585-596. DOI: 10.1038/s41419-021-03856-9.

[20] Ocal O, Cosar A, Naziroglu M. Amantadine attenuated hypoxia-induced mitochondrial oxidative neurotoxicity, apoptosis, and inflammation via the inhibition of TRPM2 and TRPV4 channels[J]. Mol Neurobiol, 2022, 59(6): 3703-3720. DOI: 10.1007/s12035-022-02814-6.

[21] Lin R, Wang Y, Chen Q, et al. TRPM2 promotes the proliferation and invasion of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(6): 7537-7544. DOI: 10.3892/mmr.2018.8816.

[22] Li D, Wang T, Lai J, et al. Silencing TRPM2 enhanced erastin- and RSL3-induced ferroptosis in gastric cancer cells through destabilizing HIF-1alpha and Nrf2 proteins[J]. Cytotechnology, 2022, 74(5): 559-577. DOI: 10.1007/s10616-022-00545-z.

[23] Ali ES, Chakrabarty B, Ramproshad S, et al. TRPM2-mediated Ca^{2+} signaling as a potential therapeutic target in cancer treatment: an updated review of its role in survival and proliferation of cancer cells[J]. Cell Commun Signal, 2023, 21(1): 145-158. DOI: 10.1186/s12964-023-01149-6.

[24] Huang W, Zhang J, Huo M, et al. CUL4B promotes breast carcinogenesis by coordinating with transcriptional repressor complexes in response to hypoxia signaling pathway[J]. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(10): 2001-2015. DOI: 10.1002/advs.202001515.

(收稿日期:2023-12-06)

(上接 389 页)

[10] Byun YJ, Piao XM, Jeong P, et al. Urinary microRNA-1913 to microRNA-3659 expression ratio as a non-invasive diagnostic biomarker for prostate cancer[J]. Investigative and Clinical Urology, 2021, 62(3): 340-348. DOI: 10.4111/icu.20200488.

[11] 支修益,石远凯,于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015 年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1): 67-78. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.01.014.

[12] 梁振宇,万启明,彭炜惟,等. 外周血细胞因子对非小细胞肺癌的预后及免疫治疗的疗效的预测作用[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2023, 15(2): 116-122. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4136.2023.02.003.

[13] Owonikoko TK, Ramalingam SS, Belani CP. Maintenance therapy for advanced non-small cell lung cancer: Current status, controversies, and emerging consensus[J]. Clinical Cancer Research, 2010, 16(9): 2496-2504. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2328.

[14] Verlaan PA, Roy-Chowdhuri S. Current and future trends in non-small cell lung cancer biomarker testing: The american experience[J]. Cancer: A Journal of the American Cancer Society, 2020, 128(9): 629-636. DOI: 10.1002/cncy.22313.

[15] Dan L, Yanwei S, Hui R, et al. ETV5 transcriptionally activates $TGF\beta_1$ and promotes cancer cell invasion and migration of NSCLC[J]. Journal of Molecular Histology, 2023, 54(1): 419-426. DOI: 10.1007/s10735-023-10148-3.

[16] Hu Q, Tai S, Wang J. Oncogenicity of lncRNA FOXD2-AS1 and its molecular mechanisms in human cancers[J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(5): 843-848. DOI: 10.1016/j.prp.2019.01.033.

[17] Yang X, Duan B, Zhou X. Long non-coding RNA FOXD2-AS1 functions as a tumor promoter in colorectal cancer by regulating EMT and notch signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(16): 3586-3591. DOI: 10.1186/s12935-022-02501-5.

[18] Wang J, Li B, Wang C, et al. Long noncoding RNA FOXD2-AS1 promotes glioma cell cycle progression and proliferation through the FOXD2-AS1/miR-31/CDK1 pathway[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 6(5): 1-12. DOI: 10.1002/jcb.29284.

[19] Yuan Y, Yu P, Shen H, et al. LncRNA FOXD2-AS1 increased proliferation and invasion of lung adenocarcinoma via cell-cycle regulation[J]. Pharmgenomics Pers Med, 2023, 16(1): 99-109. DOI: 10.2147/PGPM.S396866.

[20] Yu X, Odenthal M, Fries JW. Exosomes as miRNA carriers: Formation-function-future[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12): 2028-2037. DOI: 10.3390/ijms17122028.

[21] Zhou J, Xu L, Yang P, et al. The exosomal transfer of human bone marrow mesenchymal stem cell-derived miR-1913 inhibits osteosarcoma progression by targeting NRSN2[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(9): 10178-10192. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.07.008.

[22] Kaba M, Pirincci N, Demir M, et al. The relationship between microRNAs and bladder cancer: are microRNAs useful to predict bladder cancer in suspicious patients[J]. Int Urol Nephrol, 2023, 55(10): 2483-2491. DOI: 10.1007/s11255-023-03666-2.

(收稿日期:2024-01-26)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 004

肿瘤防治专题

乳腺癌组织 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达水平与患者术后 5 年内生存的相关性

卜德永，赵连，周应强，刘亮，王帅

基金项目：山西省卫生健康委科研课题(2021134)

作者单位：037006　山西省大同市第五人民医院/山西大同大学第一临床医学院普通外科
通信作者：周应强，E-mail：zyq_229@163.com

【摘　要】 **目的**　探究乳腺癌(BC)组织长链非编码 RNA 癌易感性候选基因 2(lncRNA CASC2)、微小 RNA-532-3p(miR-532-3p)表达与患者术后 5 年内生存的相关性。**方法**　选择 2015 年 1 月—2018 年 6 月大同市第五人民医院普通外科收治 BC 患者 127 例，术中收集 BC 组织及癌旁正常组织，荧光定量 PCR 法检测 BC 组织和癌旁正常组织中 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达；对 BC 患者术后进行为期 5 年的随访，记录患者 5 年内生存和死亡情况。比较癌旁正常组织和 BC 组织 lncRNA CASC2 及 miR-532-3p 表达，BC 组织中 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 表达在不同临床病理特征中的差异，生存组和死亡组临床病理特征和 BC 组织中 lncRNA CASC2 及 miR-532-3p 表达的差异。分析 BC 组织 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达的相关性；BC 组织中 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 表达与术后 5 年内生存的关系；影响 BC 患者术后 5 年内生存的因素；lncRNA CASC2、miR-532-3p 对 BC 患者术后 5 年内生存的预测价值。**结果**　BC 组织中 lncRNA CASC2 表达水平低于癌旁正常组织，miR-532-3p 表达水平高于癌旁正常组织(t/P = 38.239/ < 0.001，49.406/ < 0.001)；肿瘤直径≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤低分化、淋巴结转移者比例 lncRNA CASC2 低表达组高于高表达组，而 miR-532-3p 低表达组低于高表达组(lncRNA CASC2：χ^2/P = 17.361/ < 0.001、17.052/ < 0.001、14.694/ < 0.001、13.173/ < 0.001；miR-532-3p：χ^2/P = 10.733/0.001、9.813/0.002、10.134/0.001、7.444/0.006)；127 例 BC 患者术后随访 5 年，生存 99 例(生存组)，死亡 28 例(死亡组)，肿瘤直径≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤低分化、淋巴结转移者比例及 miR-532-3p 表达水平死亡组高于生存组，而 lncRNA CASC2 表达水平死亡组低于生存组[$\chi^2(t)/P$ = 5.211/0.022、27.149/ < 0.001、27.990/ < 0.001、4.590/0.032、19.155/ < 0.001、10.818/ < 0.001]；BC 组织中 lncRNA CASC2 与 miR-532-3p 表达呈负相关(r/P = −0.561/ < 0.001)；lncRNA CASC2 高表达组 BC 患者术后 5 年内总生存率为 89.23%(58/65)，高于 lncRNA CASC2 低表达组 66.13%(41/62)(χ^2/P = 9.854/0.002)；miR-532-3p 高表达组 BC 患者术后 5 年内总生存率为 65.57%(40/61)，低于 miR-532-3p 低表达组 89.39%(59/66)(χ^2/P = 10.466/0.001)；肿瘤直径≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤低分化、有淋巴结转移、lncRNA CASC2 低表达、miR-532-3p 高表达均是影响 BC 患者术后 5 年内生存的独立危险因素[HR(95% CI) = 2.255(1.192 ~ 4.263)、2.143(1.252 ~ 3.666)、3.089(1.386 ~ 6.887)、2.219(1.223 ~ 4.026)、2.606(1.174 ~ 5.788)、2.855(1.592 ~ 5.120)]；lncRNA CASC2、miR-532-3p 及二者联合预测 BC 患者术后 5 年内生存的 AUC 分别为 0.840、0.852、0.908，二者联合预测的 AUC 大于 lncRNA CASC2、miR-532-3p 各自单独预测的 AUC(Z/P = 2.246/0.025、2.033/0.042)。**结论**　BC 组织中 lncRNA CASC2 表达下调，miR-532-3p 表达上调，且术后 5 年内死亡的 BC 患者较存活患者变化更显著，二者表达与临床病理特征相关，对预测 BC 患者术后 5 年内生存情况价值较高。

【关键词】 乳腺癌；长链非编码 RNA 癌易感性候选基因 2；微小 RNA-532-3p；术后 5 年内生存；相关性
【中图分类号】 R737.9　　【文献标识码】 A

Correlation between the expression of lncRNA CASC2, miR-532-3p in breast cancer tissues and the survival of patients within 5 years after surgery

Bu Deyong, Zhao Lian, Zhou Yingqiang, Liu Liang, Wang Shuai. Department of General Surgery, the Fifth People's Hospital of Datong City/First Clinical Medical College of Shanxi Datong University, Shanxi Province, Datong 037006, *China*

Funding program: Shanxi Provincial Health Commission Research Project (2021134)

Corresponding author: Zhou Yingqiang, E-mail: zyq_229@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the correlation between the expression of long non-coding RNA cancer susceptibility candidate 2 (lncRNA CASC2), microRNA-532-3p (miR-532-3p) in breast cancer (BC) tissue and the survival of patients

within 5 years after surgery. **Methods** A total of 127 BC patients admitted to Department of General Surgery, the Fifth People's Hospital of Datong City from January 2015 to June 2018 were selected, BC tissues and para-cancer normal tissues were collected during the operation, and the expressions of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in BC tissues and para-cancer normal tissues were detected by fluorescence quantitative PCR; the BC patients were followed up for 5 years after surgery, the survival and death of the patients within 5 years were recorded. The expressions of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in para-cancer normal tissues and BC tissues, the expression differences of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in BC tissues in different clinicopathological characteristics, the clinicopathological characteristics and the expressions of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in BC tissues of survival group and death group were compared. Analyze the correlation between the expression of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in BC tissue, the relationship between the expression of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in BC tissue and postoperative 5-year survival, the factors affecting postoperative 5-year survival of BC patients, and the predictive value of lncRNA CASC2 and miR-532-3p for postoperative 5-year survival of BC patients. **Results** The expression level of lncRNA CASC2 in BC tissues was significantly lower than that in para-cancer normal tissues, and the expression level of miR-532-3p in BC tissues was significantly higher than that in para-cancer normal tissues (t/P = 38.239/ < 0.001, 49.406/ < 0.001). The proportion of patients with tumor diameter ≥ 2 cm, TNM stage Ⅲ, low differentiation of tumors and lymph node metastasis in lncRNA CASC2 low expression group were higher than in the high expression group, while the miR-532-3p low expression group was lower than that in the high expression group (lncRNA CASC2: χ^2/P = 17.361/ < 0.001, 17.052/ < 0.001, 14.694/ < 0.001, 13.173/ < 0.001, miR-532-3p: χ^2/P = 10.733/0.001, 9.813/0.002, 10.134/0.001, 7.444/0.006). 127 BC patients were followed up for 5 years after surgery, without loss of follow-up, 99 cases survived (survival group), 28 cases died (death group). The proportion of patients with tumor diameter ≥ 2 cm, TNM stage Ⅲ, low differentiation of tumors, lymph node metastasis and miR-532-3p expression level in the death group were higher than in the survival group, while the lncRNA CASC2 expression level in the death group was lower than in the survival group [χ^2 $(t)/P$ = 5.211/0.022, 27.149/ < 0.001, 27.990/ < 0.001, 4.590/0.032, 19.155/ < 0.001, 10.818/ < 0.001]. LncRNA CASC2 was negatively correlated with miR-532-3p expression in BC tissues (r/P = −0.561/ < 0.001). The 5-year overall survival rate of BC patients after surgery in the lncRNA CASC2 high expression group was 89.23% (58/65) higher than that in the lncRNA CASC2 low expression group 66.13% (41/62) (χ^2/P = 9.854/0.002); the 5-year overall survival rate of BC patients after surgery in the miR-532-3p high expression group was 65.57% (40/61) lower than that in the miR-532-3p low expression group 89.39% (59/66) (χ^2/P = 10.466/0.001). Tumor diameter ≥ 2 cm, TNM stage Ⅲ, low differentiation of tumors, lymph node metastasis, lncRNA CASC2 low expression, and miR-532-3p high expression were all independent risk factors affecting the survival of BC patients within 5 years after surgery [$HR(95\%\ CI)$ = 2.255(1.192 − 4.263), 2.143 (1.252 − 3.666), 3.089 (1.386 − 6.887), 2.219 (1.223 − 4.026), 2.606 (1.174 − 5.788), 2.855 (1.592 − 5.120)]. The area under curve (AUC) of lncRNA CASC2, miR-532-3p, their combined in predicting postoperative 5-year survival of BC patients was 0.840, 0.852 and 0.908, respectively, AUC predicted by the combination of the two methods was higher than that predicted by lncRNA CASC2 and miR-532-3p separately (Z/P = 2.246/0.025, 2.033/0.042). **Conclusion** The expression of lncRNA CASC2 is down-regulated and the expression of miR-532-3p is up-regulated in BC tissues, and the changes in BC patients who died within 5 years after surgery are more significant than those who survived. The expressions of both are correlated with clinicopathological characteristics, and are of high value in predicting the survival of BC patients within 5 years after surgery.

【Key words】 Breast cancer; Long non-coding RNA cancer susceptibility candidate 2; MicroRNA-532-3p; Survival within 5 years after surgery; Correlation

乳腺癌(breast cancer,BC)是女性常见肿瘤,其特点是在分子和临床水平上的异质性[1]。近年来,BC 的治疗已取得许多进展,但其仍是女性癌症死亡的重要原因[2]。长链非编码 RNA 癌易感性候选基因 2(long non-coding RNA cancer susceptibility candidate 2,lncRNA CASC2)是一种肿瘤抑制基因,能参与调节血管生成及癌细胞增殖和侵袭,其在 BC 等多种癌症中下调,与癌细胞增殖和诱导细胞凋亡具有密切关联[3-4]。微小 RNA(microRNA,miRNA)能参与癌症在内的多种人类疾病。其中,BC 组织中 miR-532-3p 呈高表达,具有致癌作用[5]。报道显示,lncRNA-miRNA 轴在上皮间充质转化和癌症干细胞中发挥关键作用,参与癌症进展[6]。研究表明,lncRNA CASC2 能通过靶向调节 miR-532-3p 抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的血管平滑肌细胞增殖,促进细胞凋亡[7]。但目前 lncRNA CASC2、miR-532-3p 与 BC 患者预后的关系尚未见研究报道。因此,现分析 lncRNA CASC2、miR-532-3p在 BC 组织中的表达及其与患者预后的相

关性，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2015 年 1 月—2018 年 6 月大同市第五人民医院普通外科收治女性 BC 患者 127 例，年龄 34 ~ 67（52.15 ± 6.22）岁，其中 ≥52 岁 63 例，<52 岁 64 例；绝经 69 例，未绝经 58 例；肿瘤直径：≥2 cm 62 例，<2 cm 65 例；TNM 分期：Ⅰ ~ Ⅱ期 84 例，Ⅲ期 43 例；肿瘤分化程度：中、高分化 88 例，低分化 39 例；有淋巴结转移 59 例，无淋巴结转移 68 例；分子分型：Luminal A 型 37 例，Luminal B 型 35 例，HER2 过表达型 25 例，基底样型 30 例。手术过程中收集患者 BC 组织及癌旁正常组织。本研究已经获得医院伦理委员会批准（临床 2014-10-2），患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　（1）纳入标准：①符合《乳腺癌诊疗规范（2018 年版）》[8] 中的诊断标准，且经病理学确诊；②临床资料完整，且接受随访者；③均是初次确诊患者，入组前未进行相关治疗。（2）排除标准：①存在其他部位恶性肿瘤；②自身免疫性疾病或全身感染性疾病；③脏器功能严重损伤。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　BC 组织和癌旁正常组织中 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达检测：将 BC 组织及癌旁正常组织制成匀浆，采用 RNA 抽提试剂盒（广州瑞博公司，批号 RB7915）提取 BC 组织及癌旁正常组织总 RNA，反转录合成 cDNA（试剂盒购自太原市川至生物公司，批号 16724L）。采用 PCR 扩增仪（美国赛默飞世尔公司，型号 SimpliAmp）进行扩增。总反应体系 30 μl 根据 PCR 试剂盒（广州瑞博公司，批号 RB8139）配制。PCR 反应条件：86℃ 4 min、95℃ 17 s、72℃ 15 s、81℃ 22 s，共 35 个循环。$2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算 lncRNA CASC2（内参为 GAPDH）、miR-532-3p（内参为 U6）相对表达量。所有引物均由深圳子科生物公司合成，引物序列见表 1。

表 1　lncRNA CASC2、miR-532-3p 引物序列

Tab. 1　lncRNA CASC2, miR-532-3p primer sequences

基因名称	上游引物	下游引物
lncRNA CASC2	5'-GCTGATCAGAGCACA-TTGGA-3'	5'-ATAAAGGTGGCCACA-ACTGC-3'
miR-532-3p	5'-GAATATTCCTCCCACA-CCCA-3'	5'-TATGGTTTTGACGACT-GTGTGAT-3'
GAPDH	5'-TACAGGACAGTCAGT-GGTGGTA-3'	5'-ACATCTAGCTTAGGA-ATGTGGC-3'
U6	5'-GCTTCGGCAGCACAT-ATACTAAAAT-3'	5'-CGCTTCACGAATTTGC-GTGTCAT-3'

1.3.2　随访：BC 患者术后随访 5 年（以电话和门诊复查为随访方式），随访开始时间为术后第 1 日，截止时间为 2023 年 6 月 30 日或患者死亡。随访频率：前 2 年每 3 个月进行 1 次随访，后 3 年每 6 个月进行 1 次随访。记录患者 5 年内生存和死亡情况。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 软件处理数据。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验；计数资料以频数或率（%）表示，组间比较用 χ^2 检验；Pearson 法分析 BC 组织中 lncRNA CASC2 与 miR-532-3p 表达的相关性；Cox 回归分析 BC 患者术后 5 年内生存的影响因素；受试者工作特征（ROC）曲线评价 lncRNA CASC2、miR-532-3p 对 BC 患者术后 5 年内生存的预测价值，计算曲线下面积（AUC）并行 Z 检验进行比较。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　癌旁正常组织和 BC 组织 lncRNA CASC2、miR-532-3p表达比较　BC 组织中 lncRNA CASC2 表达水平低于癌旁正常组织，miR-532-3p 表达水平高于癌旁正常组织（$P < 0.01$），见表 2。

表 2　癌旁正常组织和 BC 组织 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of lncRNA CASC2 and miR-532-3p expression between normal tissue adjacent to cancer and BC tissue

组　织	例数	lncRNA CASC2	miR-532-3p
癌旁正常组织	127	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.07
BC 组织	127	0.59 ± 0.11	3.17 ± 0.49
t 值		38.239	49.406
P 值		<0.001	<0.001

2.2　BC 组织中 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 表达在不同临床病理特征中的差异比较　分别以 BC 组织中 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达水平的平均值（0.59、3.17）作为临界值，将患者分为 lncRNA CASC2 高表达组（≥0.59）65 例和低表达组（<0.59）62 例、miR-532-3p 高表达组（≥3.17）61 例和低表达组（<3.17）66 例。结果发现，BC 组织中 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达水平与年龄、是否绝经、分子分型无关（$P > 0.05$）；肿瘤直径≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤分化程度低分化、淋巴结转移者比例 lncRNA CASC2 低表达组高于高表达组，而 miR-532-3p 低表达组低于高表达组（P 均 <0.01），见表 3。

2.3　生存组和死亡组患者临床病理特征及 BC 组织

lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达差异比较　127 例 BC 患者术后随访 5 年，生存 99 例（生存组），死亡 28 例（死亡组）。2 组 BC 患者年龄、是否绝经、分子分型比较差异均无统计学意义（$P>0.05$），肿瘤直径≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤分化程度低分化、淋巴结转移者比例及 miR-532-3p 表达水平死亡组高于生存组，而 lncRNA CASC2 表达水平死亡组低于生存组（$P<0.01$），见表 4。

2.4　BC 组织 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达的相关性分析　由 TargetScanHuman 网站预测结果可知，lncRNA CASC2 与 miR-532-3p 之间有 12 个互补结合位点，lncRNA CASC2 可能靶向作用于 miR-532-3p 表达，见图 1。BC 组织中 lncRNA CASC2 与 miR-532-3p 表达呈负相关（$r=-0.561$，$P<0.001$）。

表 3　BC 组织中 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 表达水平在不同临床病理特征患者中差异比较　［例（%）］

Tab. 3　Comparison of differences in lncRNA CASC2 and miR-532-3p expression levels in BC tissues among patients with different clinical and pathological characteristics

临床病理特征		例数	lncRNA CASC2		χ^2 值	P 值	miR-532-3p		χ^2 值	P 值
			高表达组（$n=65$）	低表达组（$n=62$）			高表达组（$n=61$）	低表达组（$n=66$）		
年龄	≥52 岁	63	30(46.15)	33(53.23)	0.635	0.426	32(52.46)	31(46.97)	0.382	0.536
	<52 岁	64	35(53.85)	29(46.77)			29(47.54)	35(53.03)		
绝经	是	69	34(52.31)	35(56.45)	0.220	0.639	37(60.66)	32(48.48)	1.893	0.169
	否	58	31(47.69)	27(43.55)			24(39.34)	34(51.52)		
肿瘤直径	≥2 cm	62	20(30.77)	42(67.74)	17.361	<0.001	39(63.93)	23(34.85)	10.733	0.001
	<2 cm	65	45(69.23)	20(32.26)			22(36.07)	43(65.15)		
TNM 分期	Ⅰ～Ⅱ期	84	54(83.08)	30(48.39)	17.052	<0.001	32(52.46)	52(78.79)	9.813	0.002
	Ⅲ期	43	11(16.92)	32(51.61)			29(47.54)	14(21.21)		
肿瘤分化程度	中、高分化	88	55(84.62)	33(53.23)	14.694	<0.001	34(55.74)	54(81.82)	10.134	0.001
	低分化	39	10(15.38)	29(46.77)			27(44.26)	12(18.18)		
淋巴结转移	是	59	20(30.77)	39(62.90)	13.173	<0.001	36(59.02)	23(34.85)	7.444	0.006
	否	68	45(69.23)	23(37.10)			25(40.98)	43(65.15)		
分子分型	Luminal A 型	37	17(26.15)	20(32.26)	0.573	0.449	19(31.15)	18(27.27)	0.231	0.631
	Luminal B 型	35	18(27.69)	17(27.42)			16(26.23)	19(28.79)		
	HER2 过表达型	25	14(21.54)	11(17.74)			11(18.03)	14(21.21)		
	基底样型	30	16(24.62)	14(22.58)			15(24.59)	15(22.73)		

表 4　生存组和死亡组临床病理特征及 BC 组织中 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达比较

Tab. 4　Comparison of clinical pathological characteristics and lncRNA CASC2 and miR-532-3p expression in BC tissues between survival and death groups

临床病理特征		例数	生存组（$n=99$）	死亡组（$n=28$）	χ^2/t 值	P 值
年龄［例（%）］	≥52 岁	63	47(47.47)	16(57.14)	0.816	0.366
	<52 岁	64	52(52.53)	12(42.86)		
绝经［例（%）］	是	69	54(54.55)	15(53.57)	0.008	0.927
	否	58	45(45.45)	13(46.43)		
肿瘤直径［例（%）］	≥2 cm	62	43(43.43)	19(67.86)	5.211	0.022
	<2 cm	65	56(56.57)	9(32.14)		
TNM 分期［例（%）］	Ⅰ～Ⅱ期	84	77(77.78)	7(25.00)	27.149	<0.001
	Ⅲ期	43	22(22.22)	21(75.00)		
肿瘤分化程度［例（%）］	中、高分化	88	80(80.81)	8(28.57)	27.990	<0.001
	低分化	39	19(19.19)	20(71.43)		
淋巴结转移［例（%）］	是	59	41(41.41)	18(64.29)	4.590	0.032
	否	68	58(58.59)	10(35.71)		
分子分型［例（%）］	Luminal A 型	37	29(29.29)	8(28.57)	0.006	0.941
	Luminal B 型	35	29(29.29)	6(21.43)		
	HER2 过表达型	25	18(18.18)	7(25.00)		
	基底样型	30	23(23.23)	7(25.00)		
lncRNA CASC2（$\bar{x}\pm s$）		127	0.65±0.13	0.38±0.04	10.818	<0.001
miR-532-3p（$\bar{x}\pm s$）		127	2.71±0.41	4.80±0.77	19.155	<0.001

图 1　lncRNA CASC2 靶向 miR-532-3p 的生物信息学分析

Fig. 1　Bioinformatics analysis of lncRNA CASC2 targeting miR-532-3p

2.5　BC 组织中 lncRNA CASC2、miR-532-3p 表达与患者术后 5 年内生存的关系　lncRNA CASC2 高表达组 BC 患者术后 5 年内总生存率为 89.23%（58/65），显著高于 lncRNA CASC2 低表达组 66.13%（41/62）（χ^2 = 9.854，P = 0.002）；miR-532-3p 高表达组 BC 患者术后 5 年内总生存率为 65.57%（40/61），显著低于 miR-532-3p 低表达组的 89.39%（59/66）（χ^2 = 10.466，P = 0.001）。

2.6　影响 BC 患者术后 5 年内生存的多因素 Cox 回归分析　以 BC 患者术后 5 年内生存为因变量（赋值：是为“0”；否为“1”），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：肿瘤直径≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤低分化、有淋巴结转移、lncRNA CASC2 低表达、miR-532-3p 高表达均是影响 BC 患者术后 5 年内生存的独立危险因素（P < 0.05），见表 5。

表 5　影响 BC 患者术后 5 年内生存的多因素 Cox 回归分析

Tab. 5　Multivariate Cox regression analysis on the survival of BC patients within 5 years after surgery

变　量	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*HR* 值	95% *CI*
肿瘤直径≥2 cm	0.813	0.325	6.258	0.012	2.255	1.192 ~ 4.263
TNM 分期Ⅲ期	0.762	0.274	7.734	0.005	2.143	1.252 ~ 3.666
肿瘤分化程度低	1.128	0.409	7.606	0.006	3.089	1.386 ~ 6.887
淋巴结转移	0.797	0.304	6.873	0.009	2.219	1.223 ~ 4.026
lncRNA CASC2 低	0.958	0.407	5.540	0.019	2.606	1.174 ~ 5.788
miR-532-3p 高	1.049	0.298	12.391	< 0.001	2.855	1.592 ~ 5.120

2.7　lncRNA CASC2、miR-532-3p 预测 BC 患者术后 5 年内的生存价值　绘制 lncRNA CASC2、miR-532-3p 预测 BC 患者术后 5 年内的生存价值 ROC 曲线，并计算 AUC，结果显示：lncRNA CASC2、miR-532-3p 及二者联合预测 BC 患者术后 5 年内生存的 AUC 分别为 0.840、0.852、0.908，二者联合预测的 AUC 大于各自单独预测（Z/P = 2.246/0.025、2.033/0.042），见表 6、图 2。

表 6　lncRNA CASC2、miR-532-3p 预测 BC 患者术后 5 年内生存的价值分析

Tab. 6　Analysis of the value of lncRNA CASC2 and miR-532-3p in predicting the survival of BC patients within 5 years after surgery

指　标	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
lncRNA CASC2	0.54	0.840	0.765 ~ 0.899	0.789	0.779	0.568
miR-532-3p	3.89	0.852	0.776 ~ 0.907	0.761	0.782	0.543
二者联合		0.908	0.844 ~ 0.952	0.926	0.710	0.637

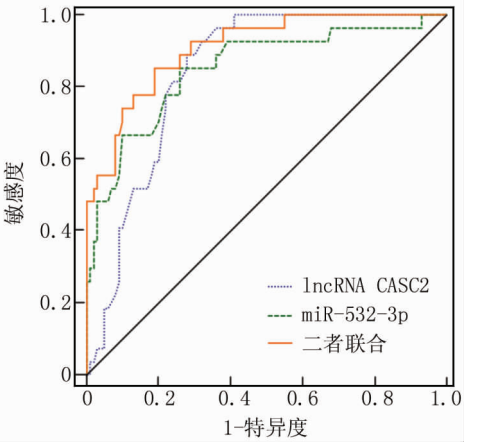


图 2　lncRNA CASC2、miR-532-3p 预测 BC 患者术后 5 年内生存的 ROC 曲线

Fig. 2　ROC curves of lncRNA CASC2 and miR-532-3p predicting survival within 5 years after surgery in patients with BC

3　讨　论

BC 是一种高度异质性肿瘤，其病因和病理表现因人而异。近年来，BC 发病率逐年上升，但由于诊断、治疗及护理的改善，病死率有所下降[9]。BC 由复杂的细胞类型组成，包括肿瘤、基质和免疫细胞，每种细胞都可以呈现不同的表型，通过相互作用促进肿瘤进展和治疗耐药性，也强烈影响患者病情进展及预后[10]。因此，寻找预测 BC 进展及预后的指标至关重要。

许多 miRNA 和 lncRNA 能参与乳腺恶性肿瘤的发生和发育过程，可能在 BC 的早期诊断、治疗和预后方面提供新的见解[11-12]。lncRNA 是一种新型基因调节因子，不编码蛋白质，但以 RNA 的形式调节不同水平的基因表达，与人类疾病尤其是癌症的进展和预后有关。部分 lncRNA 的异常表达可能与癌细胞过度生长和 BC 预后不良有关[13-14]。已有研究表明，lncRNA CASC2 在 BC 组织和细胞中表达显著降低，其过表达能抑制 BC 细胞活力和迁移[15]。Zhang 等[16]报道，lncRNA CASC2 在 BC 组织和细胞系中显著下调，其能诱导细胞周期停滞，通过调节转化生长因子-β 信号通路抑制 BC 细胞增殖和转移，诱导 BC 的早期凋亡。

lncRNA CASC2 还能调控细胞肿瘤抗原 p53 基因表达，进而阻断包括乳腺组织在内的多种组织中的癌变过程[17]。在本研究中，BC 组织中 lncRNA CASC2 表达水平显著低于癌旁正常组织；且 lncRNA CASC2 高表达组 BC 患者术后 5 年内总生存率较 lncRNA CASC2 低表达组高；与 Orak 等和 Zhang 等研究结果一致[15-16]。表明 lncRNA CASC2 可能与 BC 的发生及预后有关，其高表达提示患者预后生存较好。可能原因是 lncRNA CASC2 活性低会导致 BC 细胞增殖和迁移能力增强，导致 BC 的进展恶化。

miRNA 通过抑制信使 RNA 翻译负调节下游基因表达，在生物过程中起着重要作用[18-21]。有研究表明，miR-532-3p 在 BC 中表达显著上调，是环状 RNA（circRNA）103809 的直接靶标，其水平上调能逆转 circRNA 103809 诱导的抗肿瘤效果，进而在 BC 进展中发挥作用[22]。Peng 等[23]报道，三阴性 BC 组织中 miR-532-5p 水平升高，miR-532-5p 可预测三阴性 BC 的恶性肿瘤发生和预后不良。本研究发现，BC 组织中 miR-532-3p 表达显著高于癌旁正常组织，且 miR-532-3p 高表达组 BC 患者术后 5 年内总生存率较 miR-532-3p 低表达组低；与 Liu 等和 Peng 等报道的结果一致[22-23]。提示 miR-532-3p 可能参与 BC 的发生和预后，其高表达提示患者预后生存较差。可能原因是 miR-532-3p 高表达会促进 BC 细胞恶性生物学行为，进而使 BC 恶性生长。

本研究发现，BC 组织中 lncRNA CASC2 与 miR-532-3p 表达呈负相关，二者表达与肿瘤直径、TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移相关，表明 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 可能存在靶向调控关系，影响 BC 患者临床病理特征。进一步研究发现，死亡组 BC 组织中 lncRNA CASC2 表达水平较生存组低，miR-532-3p 表达水平较生存组高，表明 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 表达与 BC 患者术后 5 年内生存关系密切，可影响 BC 患者预后。Cox 回归分析和 ROC 曲线发现，肿瘤直径 ≥2 cm、TNM 分期Ⅲ期、肿瘤低分化、有淋巴结转移、lncRNA CASC2 低表达、miR-532-3p 高表达均是影响 BC 患者术后 5 年内生存的独立危险因素；lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 二者联合对 BC 患者术后 5 年内生存具有较高预测效能。提示临床上要重点关注 BC 患者的上述危险因素，对于 lncRNA CASC2 和 miR-532-3p 表达异常的 BC 患者，临床上给予及时的治疗和干预，可延长患者生存期。

综上所述，BC 组织中 lncRNA CASC2 表达下调，miR-532-3p 表达上调，且术后 5 年内死亡的 BC 患者较存活患者变化更显著，对预测 BC 患者术后 5 年内生存情况价值较高。但本研究未探究 lncRNA CASC2 靶向调控 miR-532-3p 的具体机制，下一步将通过基础细胞实验来加以验证。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

卜德永：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；赵连：提出研究思路，分析试验数据；周应强：实施研究过程，资料搜集整理，论文修改；刘亮、王帅：进行统计学分析，论文审核

参考文献

[1] Nolan E, Lindeman GJ, Visvader JE. Deciphering breast cancer: From biology to the clinic[J]. Cell, 2023, 186(8): 1708-1728. DOI: 10.1016/j.cell.2023.01.040.

[2] Michaels E, Worthington RO, Rusiecki J. Breast cancer: Risk assessment, screening, and primary prevention[J]. Med Clin North Am, 2023, 107(2): 271-284. DOI: 10.1016/j.mcna.2022.10.007.

[3] Shahmir S, Zahmatkesh N, Mirzaahmadi S, et al. LncRNA CASC2 inhibits progression of glioblastoma by regulating the expression of AKT in T98G cell line, treated by TMZ and thiosemicarbazone complex[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2023, 24(5): 1553-1560. DOI: 10.31557/APJCP.2023.24.5.1553.

[4] Kang L, Sun J, Liu J, et al. Long non-coding RNA CASC2 functions as a tumor suppressor in colorectal cancer via modulating the miR-18a-5p/BTG3 pathway[J]. Cell J, 2022, 24(11): 665-672. DOI: 10.22074/cellj.2022.8036.

[5] Huang L, Tang X, Shi X, et al. miR-532-5p promotes breast cancer proliferation and migration by targeting RERG[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(1): 400-408. DOI: 10.3892/etm.2019.8186.

[6] Venkatesh J, Wasson MD, Brown JM, et al. LncRNA-miRNA axes in breast cancer: Novel points of interaction for strategic attack[J]. Cancer Lett, 2021, 509(1): 81-88. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.04.002.

[7] Wang C, Zhao J, Nan X, et al. Long noncoding RNA CASC2 inhibits ox-LDL-mediated vascular smooth muscle cells proliferation and migration via the regulation of miR-532-3p/PAPD5[J]. Mol Med, 2020, 26(1): 74-82. DOI: 10.1186/s10020-020-00200-3.

[8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 乳腺癌诊疗规范（2018 年版）[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2019, 5(3): 70-99. DOI: 10.12151/JMCM.2019.03-15.

[9] Bonet C, Crous-Bou M, Tsilidis KK, et al. The association between body fatness and mortality among breast cancer survivors: Results from a prospective cohort study[J]. Eur J Epidemiol, 2023, 38(5): 545-557. DOI: 10.1007/s10654-023-00979-5.

[10] Zhao N, Rosen JM. Breast cancer heterogeneity through the lens of single-cell analysis and spatial pathologies[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 82(1): 3-10. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.07.010.

[11] 汪伶俐, 田武国, 赵健洁, 等. lncRNA NRON 靶向 miR-185-5p 调节乳腺癌细胞化疗耐药性的机制研究[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(10): 1088-1095. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.016.

（下转 417 页）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 005

肿瘤防治专题

miR-200c 联合 MORC2 检测在卵巢癌病情及预后评估中的临床价值

洪佳，黄金玲，杨琼琼，汪晶，李晶

基金项目：湖北省科学技术厅资助项目（2020HBA212）
作者单位：430060　武汉大学人民医院妇产科（洪佳、黄金玲、杨琼琼、汪晶），麻醉科（李晶）
通信作者：李晶，E-mail：378401405@ qq. com

【摘　要】 **目的**　研究微小核糖核酸-200c（miR-200c）联合 MORC 家族 CW 型锌指蛋白 2（MORC2）检测在卵巢癌病情及预后评估中的临床价值。**方法**　选择 2017 年 1 月—2019 年 12 月武汉大学人民医院妇产科诊治的卵巢癌患者 103 例（卵巢癌组）及卵巢良性疾病患者 60 例（对照组）为研究对象，采用实时荧光定量 PCR 检测 miR-200c 及 MORC2 表达并分析其与临床病理因素的关系；受试者工作特征（ROC）曲线分析 miR-200c 联合 MORC2 预测卵巢癌 2 年预后不良的效能；多因素 Logistic 回归分析卵巢癌患者死亡的危险因素；Kaplan-Meier 法分析 miR-200c 和 MORC2 表达与生存期的关系。**结果**　卵巢癌组患者肿瘤组织 miR-200c、MORC2 表达高于癌旁组织和对照组（F = 1 926. 617、1 832. 415，P 均 < 0. 001）。低分化、有恶性腹水、肿瘤最大径≥5 cm、有淋巴结转移、有远处转移及Ⅲ～Ⅳ期卵巢癌患者 miR-200c、MORC2 表达高于中-高分化、无恶性腹水、肿瘤最大径 < 5 cm、无淋巴结转移、无远处转移及Ⅰ～Ⅱ期患者（t = 14. 067、12. 451、12. 871、11. 523、16. 298、18. 351，11. 745、10. 893、10. 462、9. 893、14. 617、13. 269，P 均 < 0. 001）。miR-200c、MORC2 及二者联合预测卵巢癌患者 2 年预后不良的 AUC 分别为 0. 786、0. 792、0. 901，二者联合优于各自单独预测效能（Z = 8. 239、8. 025，P 均 < 0. 001）。miR-200c≥0. 78、MORC2≥0. 65、低分化、有恶性腹水、肿瘤最大径≥5 cm、有淋巴结转移、有远处转移、FIGO 分期Ⅲ～Ⅳ期为卵巢癌死亡的独立危险因素［OR（95% CI）= 5. 323（1. 812～8. 834）、4. 802（1. 141～8. 463）、2. 065（1. 068～3. 062）、2. 252（1. 145～3. 359）、2. 140（1. 216～3. 064）、2. 012（1. 005～3. 019）、2. 522（1. 625～3. 419）、2. 186（1. 134～3. 238）］；卵巢癌组中 miR-200c≥0. 78 且 MORC2≥0. 65 卵巢癌患者中位生存期显著低于其他患者（miR-200c < 0. 78 或 MORC2 < 0. 65）（Log-Rank χ^2 = 16. 371，P < 0. 05）。**结论**　卵巢癌患者 miR-200c 及 MORC2 表达显著升高，在卵巢癌病情及预后评估中具有重要临床价值，两者联合检测时可显著提高预测卵巢癌预后不良的敏感度及特异度。

【关键词】 卵巢癌；微小核糖核酸-200c；MORC 家族 CW 型锌指蛋白 2；临床价值；预后
【中图分类号】 R737. 31　　【文献标识码】 A

Clinical value of miR-200c combined with MORC2 detection in the evaluation of the condition and prognosis of ovarian cancer

*Hong Jia**, *Huang Jinling*, *Yang Qiongqiong*, *Wang Jing*, *Li Jing*. * *Department of Obstetrics and Gynecology*, *Renmin Hospital of Wuhan University*, *Hubei Province*, *Wuhan* 430060, *China*
Funding program: *Hubei Provincial Department of Science and Technology Supporting Project*（2020*HBA*212）
Corresponding author: *Li Jing*, *E-mail*: 378401405@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To study the clinical value of micrornas 200c (miR-200c) combined with MORC family CW type zinc finger protein 2 (MORC2) detection in the assessment of ovarian cancer disease and prognosis. **Methods**　A total of 103 patients with ovarian cancer (ovarian cancer group) and 60 patients with benign ovarian diseases (control group) diagnosed and treated in the Obstetrics and Gynecology Department of Renmin Hospital of Wuhan University from January 2017 to December 2019 were selected as the study objects. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of miR-200c and MORC2 and analyze their relationship with clinicopathological factors. Receiver Operating characteristic (ROC) curve analysis of the efficacy of miR-200c combined with MORC2 in predicting 2-year poor prognosis of ovarian cancer. Multivariate Logistic regression analysis of risk factors of death in ovarian cancer patients. Kaplan-Meier method was used to analyze the relationship between miR-200c and MORC2 expression and survival. **Results**　The expressions of miR-200c and MORC2 in tumor tissues of ovarian cancer group were higher than those in adjacent tissues and

control group (F = 1 926.617, 1 832.415, P < 0.001). The expressions of miR-200c and MORC2 were higher in patients with low differentiation, malignant ascites, maximum tumor diameter ≥5 cm, lymph node metastasis, distant metastasis, and stage Ⅲ to Ⅳ ovarian cancer than those with medium-high differentiation, no malignant ascites, and maximum tumor diameter <5 cm, no lymph node metastasis, no distant metastasis and stage Ⅰ to Ⅱ patients (t = 14.067, 12.451, 12.871, 11.523, 16.298, 18.351, 11.745, 10.893, 10.462, 9.893, 14.617, 13.269, P < 0.001). The AUC of miR-200c, MORC2 and their combination in predicting 2-year poor prognosis of ovarian cancer patients was 0.786, 0.792 and 0.901, respectively, and the combined efficacy of miR-200C was superior to that of miR-200C and MORC2 alone (Z = 8.239, 8.025, P < 0.001). miR-200c ≥ 0.78, MORC2 ≥ 0.65, poorly differentiated, malignant ascites, maximum tumor diameter ≥5 cm, lymph node metastasis, distant metastasis, and FIGO stage Ⅲ to Ⅳ were independent risk factors for ovarian cancer death [*OR(95% CI)* = 5.323 (1.812 − 8.834), 4.802 (1.141 − 8.463), 2.065 (1.068 − 3.062), 2.252 (1.145 − 3.359), 2.140 (1.216 − 3.064), 2.012 (1.005 − 3.019), 2.522 (1.625 − 3.419), 2.186 (1.134 − 3.238)]. The median survival time of ovarian cancer patients with miR-200c ≥ 0.78 and MORC2 ≥ 0.65 was significantly lower than that of other patients (miR-200c < 0.78 or MORC2 < 0.65) (Log-Rank χ^2 = 16.371, P < 0.05). **Conclusion**　The expression of miR-200c and MORC2 is significantly increased in patients with ovarian cancer, which has important clinical value in the assessment of ovarian cancer disease and prognosis. The combined detection of miR-200C and MORC2 can significantly improve the sensitivity and specificity in predicting the poor prognosis of ovarian cancer.

【**Key words**】 Ovarian cancer; Micro RNA-200c; MORC family CW type zinc finger protein 2; Clinical value; Prognosis

卵巢癌的发病机制与环境因素及遗传因素有关，其中基因表达异常为主要致病病因，研究发现多种基因表达异常与卵巢癌病情及预后密切相关，在卵巢癌病情及预后评估中敏感度及特异度高于传统的病理分期[1-2]。miR-200c 可通过多个信号传导通路调控肿瘤细胞迁移、侵袭及上皮间质转化，在卵巢癌等多种恶性肿瘤中表达上调[3-4]。MORC 家族 CW 型锌指蛋白 2（MORC family CW-type zinc finger 2，MORC2）为新近发现的促癌基因，具有调控细胞增殖、自噬及染色质重塑等功能，为乳腺癌等多种恶性肿瘤预后不良的标志物[5-6]。目前 miR-200c 和 MORC2 在卵巢癌病情及预后评估中的临床价值尚无相关研究。本研究旨在探讨 miR-200c 联合 MORC2 检测在卵巢癌病情及预后评估中的临床价值，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2017 年 1 月—2019 年 12 月武汉大学人民医院妇产科诊治的卵巢癌患者 103 例为卵巢癌组，另以同期卵巢良性疾病患者 60 例（包括卵巢囊肿、卵巢炎等）作为对照组。2 组研究对象在年龄、卡氏评分、体表面积、糖尿病史、高血压史及 HPV 感染方面比较差异均无统计学意义（P > 0.05），见表 1。本研究经医院医学伦理委员会审核批准（WHU-1045），患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　卵巢癌组病例选择标准　（1）纳入标准：①经病理组织学检查确诊；②初次诊治，既往无卵巢癌病史，未行相关治疗（包括不限于手术、化疗等）；③均经增强 CT、MR 或超声检查明确国际妇产科协会（FIGO）分期，临床病理资料明确；④患者能配合本研究，随访未脱落。（2）排除标准：①合并其他良恶性肿瘤、卵巢转移瘤等；② 合并精神神经疾病。

表 1　对照组及卵巢癌组患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between control group and ovarian cancer group

项　目	对照组（n = 60）	卵巢癌组（n = 103）	χ^2/t 值	P 值
年龄（$\bar{x} \pm s$，岁）	57.19 ± 7.25	57.34 ± 6.81	0.132	0.895
卡氏评分（$\bar{x} \pm s$，分）	93.81 ± 5.37	93.65 ± 5.52	0.159	0.874
体表面积（$\bar{x} \pm s$，m^2）	2.12 ± 0.39	2.14 ± 0.42	0.301	0.764
糖尿病史［例（%）］	12（20.0）	21（20.4）	0.004	0.953
高血压史［例（%）］	15（25.0）	27（26.2）	0.029	0.864
HPV 感染［例（%）］	40（66.7）	69（67.0）	0.002	0.966

1.3　观测指标与方法

1.3.1　miR-200c 及 MORC2 表达检测：卵巢癌组取肿瘤组织及癌旁组织（距离肿瘤组织 > 3 cm），对照组患者取卵巢活检组织。液氮下碾磨组织标本，使用上海碧云天公司 TRIzol 试剂盒（编号 R0016）提取总 RNA。采用实时荧光定量 PCR 法检测 miR-200c 及 MORC2 表达，检测试剂盒为 BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix（购自上海碧云天公司，编号 D7260），检测仪器为美国 ABI 公司 7900HT Fast 实时荧光定量 PCR 系统。引物序列：miR-200c 上游 5'-GGATAATACTGCCGGGT-3'，下游 5'-GTGCGTGTCGTGGAGTC-3'；MORC2 上游 5'-GGAGGTTCCTTCTCCCAAAGTC-3'，下游 5'-CAGAAACTGCGACACTCCGCTT-3'；U6 上游 5'-GCTTCGGCA GCACATATACTAAAAT-3'，下游 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'；GAPDH 上游 5'-

TGATGGGTGTGAACCACGAG-3', 下游 5'-CCCTTC-CACGATGCCAAAGT-3'。PCR 扩增体系 25 μl;反应条件为:94℃预变性 5 min、95℃下 15 s、60℃退火 40 s、61℃延伸扩增 40 s,共计 38 个循环,最后一轮 72℃反应 8 min。miR-200c 选择 U6 为内参,MORC2 选择 GAPDH 为内参,分别计算 miR-200c、MORC2 相对表达量。

1.3.2　随访:卵巢癌组患者每 3 个月随访 1 次,随访时间至 2023 年 10 月,随访内容包括影像学检查、肿瘤标志物(CA153)等,统计患者预后状况(生存、死亡),其中随访 2 年时出现死亡、肿瘤复发进展、严重并发症(完全性肠梗阻、恶病质、直肠阴道瘘)等定义为预后不良。

1.4　统计学方法　采用 Sigmaplot 12.0 统计软件行统计学分析。符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间均数比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析(组间比较采用 LSD-t 检验);计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-200c、MORC2 预测卵巢癌 2 年预后不良价值,并用 DeLong 法进行比较;单因素及多因素 Logistic 回归分析卵巢癌患者死亡的危险因素;Kaplan-Meier 法分析 miR-200c、MORC2 表达与生存期的关系。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组 miR-200c 和 MORC2 表达比较　卵巢癌组患者肿瘤组织 miR-200c、MORC2 表达高于癌旁组织和对照组($P<0.01$),卵巢癌组癌旁组织与对照组 miR-200c、MORC2 表达的差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2　对照组和卵巢癌组病变组织 miR-200c 和 MORC2 表达比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Comparison of miR-200c and MORC2 expression in pathological tissues between control group and ovarian cancer group

组　织	例数	miR-200c	MORC2
对照组	60	0.34 ± 0.05	0.32 ± 0.04
癌旁组织	103	0.35 ± 0.04	0.31 ± 0.04
肿瘤组织	103	0.78 ± 0.07	0.65 ± 0.05
F 值		1 926.617	1 832.415
P 值		<0.001	<0.001

2.2　卵巢癌患者 miR-200c、MORC2 表达在不同临床病理中差异比较　卵巢癌组患者肿瘤组织 miR-200c、MORC2 表达在肿瘤低分化、有恶性腹水、肿瘤最大径≥5 cm、有淋巴结转移、有远处转移及 FIGO 分期Ⅲ~Ⅳ期患者高于中-高分化、无恶性腹水、肿瘤最大径<5 cm、无淋巴结转移、无远处转移及 FIGO Ⅰ~Ⅱ期患者($P<0.01$),见表 3。

2.3　miR-200c、MORC2 预测卵巢癌患者 2 年预后不良效能　绘制 miR-200c、MORC2 预测卵巢癌患者 2 年预后不良效能的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:miR-200c、MORC2 及二者联合预测卵巢癌患者 2 年预后不良的 AUC 分别为 0.786、0.792、0.901,二者联合优于 miR-200c、MORC2 单独预测效能($Z=8.239$、8.025,P 均 <0.001),见表 4。

2.4　卵巢癌患者死亡危险因素 Logistic 回归分析　以卵巢癌患者死亡为因变量(赋值:是为"1";否为"0"),以上述结果中 $P<0.05$ 项目为自变量进行多因

表 3　卵巢癌患者不同临床病理因素中肿瘤组织 miR-200c、MORC2 表达比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3　Comparison of miR-200c and MORC2 expression in tumor tissues of ovarian cancer patients with different clinicopathological factors

项　目		例数	miR-200c	t 值	P 值	MORC2	t 值	P 值
年龄	≥60 岁	46	0.77 ± 0.08	0.129	0.897	0.66 ± 0.07	0.155	0.877
	<60 岁	57	0.79 ± 0.08			0.64 ± 0.06		
病理类型	上皮性癌	89	0.76 ± 0.07	0.137	0.892	0.64 ± 0.07	0.108	0.914
	其他	14	0.79 ± 0.09			0.66 ± 0.08		
肿瘤分化程度	低分化	40	0.89 ± 0.08	14.067	<0.001	0.77 ± 0.06	11.745	<0.001
	中-高分化	63	0.71 ± 0.05			0.59 ± 0.04		
恶性腹水	无	79	0.69 ± 0.06	12.451	<0.001	0.58 ± 0.04	10.893	<0.001
	有	24	0.86 ± 0.09			0.73 ± 0.06		
肿瘤最大径	<5 cm	62	0.67 ± 0.05	12.871	<0.001	0.59 ± 0.04	10.462	<0.001
	≥5 cm	41	0.85 ± 0.08			0.73 ± 0.07		
淋巴结转移	无	54	0.62 ± 0.07	11.523	<0.001	0.57 ± 0.05	9.893	<0.001
	有	49	0.86 ± 0.09			0.75 ± 0.08		
远处转移	无	78	0.58 ± 0.05	16.298	<0.001	0.53 ± 0.06	14.617	<0.001
	有	25	0.86 ± 0.09			0.79 ± 0.07		
FIGO 分期	Ⅰ~Ⅱ期	47	0.56 ± 0.06	18.351	<0.001	0.51 ± 0.04	13.269	<0.001
	Ⅲ~Ⅳ期	56	0.89 ± 0.08			0.79 ± 0.08		

表 4　miR-200c、MORC2 预测卵巢癌患者 2 年预后不良效能分析

Tab. 4　Analysis of the efficacy of miR-200c and MORC2 in predicting 2-year poor prognosis in patients with ovarian cancer

指　标	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
miR-200c	0.84	0.786	0.612 ~ 0.960	0.795	0.804	0.599
MORC2	0.71	0.792	0.581 ~ 1.003	0.787	0.791	0.578
二者联合		0.901	0.695 ~ 1.107	0.895	0.886	0.781

素 Logistic 回归分析，结果显示：miR-200c ≥ 0.78、MORC2 ≥ 0.65、低分化、有恶性腹水、肿瘤最大径 ≥ 5 cm、有淋巴结转移、有远处转移、FIGO 分期Ⅲ ~ Ⅳ期是卵巢癌患者死亡的独立危险因素（$P < 0.01$），见表 5。

表 5　卵巢癌患者死亡危险的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5　Multivariate Logistic regression analysis of death risk in patients with ovarian cancer

变　量	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
miR-200c ≥ 0.78	1.672	0.315	16.799	< 0.001	5.323	1.812 ~ 8.834
MORC2 ≥ 0.65	1.569	0.246	13.037	< 0.001	4.802	1.141 ~ 8.463
低分化	0.725	0.068	12.452	< 0.001	2.065	1.068 ~ 3.062
有恶性腹水	0.812	0.063	11.043	< 0.001	2.252	1.145 ~ 3.359
肿瘤最大径 ≥ 5cm	0.761	0.059	10.189	< 0.001	2.140	1.216 ~ 3.064
有淋巴结转移	0.699	0.054	13.318	< 0.001	2.012	1.005 ~ 3.019
有远处转移	0.925	0.085	12.619	< 0.001	2.522	1.625 ~ 3.419
FIGO Ⅲ ~ Ⅳ期	0.782	0.062	11.024	< 0.001	2.186	1.134 ~ 3.238

2.5　miR-200c、MORC2 表达与卵巢癌生存期的关系

卵巢癌组 miR-200c ≥ 0.78 且 MORC2 ≥ 0.65 的患者中位生存期（27.4 ± 5.8）月低于 miR-200c < 0.78 或 MORC2 < 0.65 的中位生存期（34.8 ± 6.5）月（Log-Rank $\chi^2 = 16.371$，$P < 0.05$），见图 1。

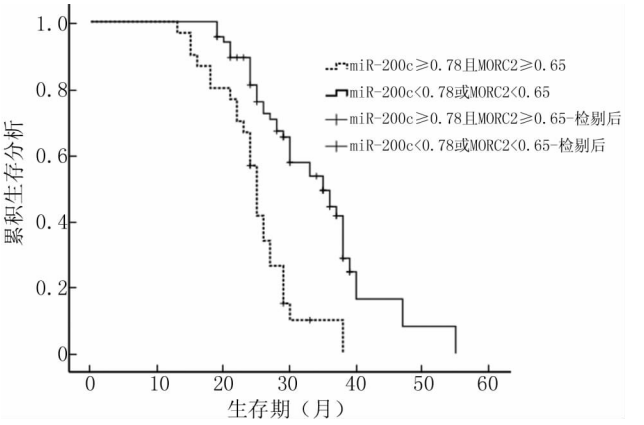


图 1　卵巢癌患者 miR-200c、MORC2 表达与生存期的关系

Fig. 1　Relationship between miR-200c and MORC2 expression and survival in patients with ovarian cancer

3　讨　论

卵巢癌的发病机制与各种诱因导致基因表达异常有关，其中 miRNA 在卵巢癌发生、发展及转归中扮演重要角色，具体机制包括调控细胞周期、凋亡、迁移、侵袭及肿瘤免疫微环境等[7]。研究发现 miRNA 贯穿卵巢癌的整个病程，与病情严重程度及生存期相关，可作为卵巢癌病情及预后评估的标志物，检测 miRNA 变化可为卵巢癌临床诊疗提供客观证据[8-9]。miR-200c 具有调控肿瘤细胞迁移侵袭、微血管生成及上皮间质转化等功能，与恶性肿瘤发病机制及预后相关，miR-200c 表达升高为预后不良的危险因素[10-11]。Kang 等[12]研究发现肿瘤组织 miR-200c-3p 为结直肠癌预后评估的标志物，miR-200c-3p 表达与总生存期呈负相关。Guo 等[13]研究发现 miR-200c 通过下调 PTEN 表达促进乳头状甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭。Ankasha 等[14]发现 miR-200c-3p 通过靶向 DLC1 的 3′非翻译区而发挥在高级别浆液性卵巢癌进展中的促进作用。本研究中卵巢癌患者 miR-200c 表达显著高于癌旁组织和对照组，进一步研究发现 miR-200c 表达与肿瘤分化程度、恶性腹水、肿瘤最大径、淋巴结转移、远处转移及 FIGO 分期相关，且 miR-200c ≥ 0.78 为卵巢癌患者死亡的独立危险因素，提示 miR-200c 与卵巢癌发病机制、病情及预后相关。

研究发现 MORC2 在染色质重塑、DNA 损伤修复、表观遗传调控和转录调控中扮演关键角色，在多种恶性肿瘤中可检测到 MORC2 表达异常，为恶性肿瘤潜在的治疗靶点[15-16]。Saroha 等[17]研究发现 MORC2 通过 β-catenin 信号通路促进乳腺癌细胞增殖及迁移。Guddeti 等[18]发现 MORC2 和 MAX 有助于糖酵解酶的表达、乳腺癌细胞的增殖和迁移。Liao 等[19]研究发现 MORC2 高表达的三阴性乳腺癌患者对新辅助化疗敏感度下降，为预后不良的标志物。结合国内外新近研究进展，推测 MORC2 在卵巢癌中具有促癌作用，为其预后不良的影响因素。本研究中卵巢癌患者 MORC2 表达显著高于癌旁组织和对照组，进一步研究发现 MORC2 表达与肿瘤分化程度、恶性腹水、肿瘤最大径、淋巴结转移、远处转移及 FIGO 分期相关，且 MORC2 ≥ 0.65 为卵巢癌患者死亡的独立危险因素，提示 MORC2 表达与卵巢癌病情及预后相关。

目前卵巢癌病情及预后评估指标包括肿瘤标志物及病理组织分期，但存在敏感度及特异度低、普适性差及可重复性低等缺点，研究卵巢癌新型标志物在改善卵巢癌疗效及预后中至关重要[20-21]。随着检测技术

的提高及卵巢癌分子机制的阐明，基因水平的检测在卵巢癌中的临床价值更高，但单个基因水平的检测指标因缺乏组织特异性而导致其敏感度及特异性低，临床上可通过多项指标联合检测以显著提高敏感度及特异度[22-23]。本研究中，miR-200c 联合 MORC2 预测卵巢癌 2 年预后不良敏感度、特异度及 AUC 均高于单独预测，表明二者联合检测可显著提高预测卵巢癌预后不良的效能，在卵巢癌临床诊疗中应密切监测 miR-200c 及 MORC2 以提高诊疗水平。

综上所述，卵巢癌患者 miR-200c 及 MORC2 表达显著升高，在卵巢癌病情及预后评估中具有重要临床价值，两者联合检测时可显著提高预测卵巢癌预后不良的敏感度及特异度。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

洪佳：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；黄金玲：进行统计学分析；杨琼琼、汪晶：实施研究过程，资料搜集整理，论文修改；李晶：提出研究思路，分析试验数据，论文审核

参考文献

[1] 高宇峰. 非编码 RNAs 在卵巢癌早期诊断中的研究进展[J]. 疑难病杂志，2022，21（6）：665-668. DOI：10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 06. 024.

[2] 杨波，李胜泽，郭苏阳，等. miR-132 在上皮性卵巢癌中的表达及作用机制研究[J]. 疑难病杂志，2021，20（2）：118-123，128. DOI：10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 003.

[3] Vescarelli E, Gerini G, Megiorni F, et al. MiR-200c sensitizes Olaparib-resistant ovarian cancer cells by targeting Neuropilin 1[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39（1）：31-39. DOI：10. 1186/s13046-019-1490-7.

[4] Yang C, Li H, Zhang T, et al. miR-200c overexpression inhibits the invasion and tumorigenicity of epithelial ovarian cancer cells by suppressing lncRNA HOTAIR in mice[J]. J Cell Biochem, 2020, 121（2）：1514-1523. DOI：10. 1002/jcb. 29387.

[5] Zhang S, Guo A, Wang H, et al. Oncogenic MORC2 in cancer development and beyond[J]. Genes Dis, 2024, 11（2）：861-873. DOI：10. 1016/j. gendis. 2023. 05. 010.

[6] Guddeti RK, Chutani N, Pakala SB. MORC2 Interactome：Its involvement in metabolism and cancer[J]. Biophys Rev, 2021, 13（4）：507-514. DOI：10. 1007/s12551-021-00812-x.

[7] 张琳琳，黄仲萍，陈樑，等. 彩色超声联合血浆 miR-191、miR-21 测定对上皮性卵巢癌的诊断效能[J]. 疑难病杂志，2020，19（11）：1133-1137. DOI：10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 11. 012.

[8] Esfandyari S, Elkafas H, Chugh RM, et al. Exosomes as biomarkers for female reproductive diseases diagnosis and therapy[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22（4）：2165-2172. DOI：10. 3390/ijms22042165.

[9] Li X, Dai A, Tran R, et al. Identifying miRNA biomarkers for breast cancer and ovarian cancer：A text mining perspective[J]. Breast Cancer Res Treat, 2023, 201（1）：5-14. DOI：10. 1007/s10549-023-06996-y.

[10] Thi Chung Duong T, Nguyen T, Thi Ngoc Nguyen T, et al. Diagnostic and prognostic value of miR-200 family in breast cancer：A meta-analysis and systematic review[J]. Cancer Epidemiol, 2022, 77（4）：12-19. DOI：10. 1016/j. canep. 2022. 102097.

[11] Klicka K, Grzywa TM, Mielniczuk A, et al. The role of miR-200 family in the regulation of hallmarks of cancer[J]. Front Oncol, 2022, 12（2）：23-34. DOI：10. 3389/fonc. 2022. 965231.

[12] Kang E, Jung SC, Nam SK, et al. Tissue miR-200c-3p and circulating miR-1290 as potential prognostic biomarkers for colorectal cancer[J]. Sci Rep, 2022, 12（1）：22-30. DOI：10. 1038/s41598-022-06192-w.

[13] Guo K, Wang J, Shu L, et al. MiR-200c promotes papillary thyroid cancer cell proliferation, migration, and invasion by downregulating PTEN[J]. Tissue Cell, 2021, 73（5）：101-123. DOI：10. 1016/j. tice. 2021. 101647.

[14] Ankasha SJ, Shafiee MN, Abdul Wahab N, et al. Oncogenic role of miR-200c-3p in high-grade serous ovarian cancer progression via targeting the 3′-untranslated region of DLC1[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18（11）：57-63. DOI：10. 3390/ijerph18115741.

[15] Zhang FL, Yang SY, Liao L, et al. Dynamic SUMOylation of MORC2 orchestrates chromatin remodelling and DNA repair in response to DNA damage and drives chemoresistance in breast cancer[J]. Theranostics, 2023, 13（3）：973-990. DOI：10. 7150/thno. 79688.

[16] Stafki SA, Turner J, Littel HR, et al. The spectrum of MORC2-related disorders：A potential link to cockayne syndrome[J]. Pediatr Neurol, 2023, 141（6）：79-86. DOI：10. 1016/j. pediatrneurol. 2023. 01. 011.

[17] Saroha HS, Kumar Guddeti R, Jacob JP, et al. MORC2/β-catenin signaling axis promotes proliferation and migration of breast cancer cells[J]. Med Oncol, 2022, 39（9）：135-142. DOI：10. 1007/s12032-022-01728-6.

[18] Guddeti RK, Pacharla H, Yellapu NK, et al. MORC2 and MAX contributes to the expression of glycolytic enzymes, breast cancer cell proliferation and migration[J]. Med Oncol, 2023, 40（3）：102-115. DOI：10. 1007/s12032-023-01974-2.

[19] Liao X, Liu C, Ding Z, et al. High expression of MORC2 predicts worse neoadjuvant chemotherapy efficacy in triple negative breast cancer[J]. Medicine（Baltimore）, 2023, 102（25）：e34164. DOI：10. 1097/MD. 0000000000034164.

[20] Jordan HA, Thomas SN. Novel proteomic technologies to address gaps in pre-clinical ovarian cancer biomarker discovery efforts[J]. Expert Rev Proteomics, 2023, 20（12）：439-450. DOI：10. 1080/14789450. 2023. 2295861.

[21] Saed GM, Nawaz A, Alvero AA, et al. Monomeric myeloperoxidase is a specific biomarker for early-stage ovarian cancer[J]. Biomarkers, 2023, 28（7）：663-671. DOI：10. 1080/1354750X. 2023. 2284106.

[22] Ma R, Tang Z, Wang J. NLRP12 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in epithelial ovarian cancer[J]. J Gene Med, 2024, 26（1）：e3585. DOI：10. 1002/jgm. 3585.

[23] Honar YS, Javaher S, Soleimani M, et al. Advanced stage, high-grade primary tumor ovarian cancer：A multi-omics dissection and biomarker prediction process[J]. Sci Rep, 2023, 13（1）：12-24. DOI：10. 1038/s41598-023-44246-9.

（收稿日期：2024－01－14）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 006

肿瘤防治专题

PRMT5 和 CDKN2B 在宫颈癌组织的表达及临床意义

胡晓菡，周强，孙武，陈静，沈瀚，李强

基金项目：江苏省医学科研项目（S2020066）
作者单位：210008　南京大学医学院附属鼓楼医院检验科（胡晓菡、沈瀚），病理科（周强），肿瘤科（孙武），妇产科（陈静、李强）
通信作者：沈瀚，E-mail：shenhan196608@126.com

【摘　要】　目的　研究蛋白精氨酸甲基转移酶 5（PRMT5）、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2B（CDKN2B）在宫颈癌中的表达及临床意义。**方法**　收集 2019 年 3 月—2020 年 3 月南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科诊治宫颈癌患者 88 例。免疫组织化学法检测宫颈癌和癌旁组织中 PRMT5、CDKN2B 表达；采用 Spearman 相关分析 PRMT5 与 CDKN2B表达的相关性；比较不同临床特征宫颈癌癌组织中 PRMT5、CDKN2B 表达的差异；Kaplan-Meier 曲线评估 PRMT5、CDKN2B 表达对宫颈癌患者无进展生存预后的影响；多因素 Cox 回归分析宫颈癌患者无进展生存预后的影响因素。**结果**　癌组织中 PRMT5 蛋白阳性率 70.45%（62/88），高于癌旁组织 6.82%（6/88）（χ^2 = 75.155，P < 0.001）。宫颈癌组织中 CDKN2B 阳性率 22.73%（20/88），低于癌旁组织 79.55%（71/88）（χ^2 = 75.336，P < 0.001）。宫颈癌中 PRMT5 与 CDKN2B 呈负相关（r = −0.734，P < 0.001）。FIGO Ⅰ B2 ~ Ⅱ A 期、有淋巴结转移宫颈癌组织中 PRMT5 阳性率高于 FIGO Ⅰ A ~ Ⅰ B1 期、无淋巴结转移者，而 CDKN2B 阳性率则降低（χ^2/P = 6.359/0.012、4.606/0.032、5.205/0.023、3.893/0.048）。PRMT5 阳性组 3 年累积无进展生存率 74.19%（46/62），低于 PRMT5 阴性组 92.31%（24/26）（Log-Rank χ^2 = 4.386，P = 0.017）。CDKN2B 阴性组 3 年累积无进展生存率 75.00%（51/68），低于 CDKN2B 阳性组 95.00%（19/20）（Log-Rank χ^2 = 4.423，P = 0.012）。FIGO 分期 Ⅰ B2 ~ Ⅱ A 期、合并淋巴结转移、PRMT5 阳性、CDKN2B 阴性是影响宫颈癌患者无进展生存预后的独立危险因素［*OR*（95% *CI*）= 1.407（1.159 ~ 1.696），1.464（1.201 ~ 1.784），1.614（1.189 ~ 2.192），1.595（1.191 ~ 2.136）］。**结论**　宫颈癌组织中 PRMT5 表达升高，CDKN2B 表达降低，两者与宫颈癌患者的不良临床病理特征有关，是评估宫颈癌预后的标志物。

【关键词】　宫颈癌；蛋白精氨酸甲基转移酶 5；细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2B；预后；肿瘤标志物
【中图分类号】　R737.33　　**【文献标识码】**　A

The expression and clinical significance of PRMT5 and CDKN2B in cervical cancer tissue

Hu Xiaohan, Zhou Qiang, Sun Wu, Chen Jing, Shen Han, Li Qiang. *Department of Laboratory, Nanjing University School of Medicine Affiliated Gulou Hospital, Jiangsu Province, Nanjing* 210008, *China*
Funding program: Jiangsu Medical Research Project (*S*2020066)
*Corresponding author: Shen Han, E-mail: shenhan*196608@126.*com*

【Abstract】　Objective　To investigate the expression and clinical significance of protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) and cyclin dependent kinase inhibitor 2B (CDKN2B) in cervical cancer.**Methods**　The clinical data of 88 cervical cancer patients who treated in the Department of Obstetrics and Gynecology, Gulou Hospital Affiliated to Nanjing University School of Medicine from March 2019 to March 2020 were collected. Immunohistochemical method was used to detect the expression of PRMT5 and CDKN2B in cervical cancer and adjacent tissues. The correlation between PRMT5 and CDKN2B expression was analyzed using Spearman correlation analysis. The differences of PRMT5, CDKN2B in cervical cancer tissues with different clinical characteristics were compared. Kaplan-Meier curve was used to evaluate the impact of PRMT5 and CDKN2B expression on the progression free survival prognosis of cervical cancer patients. Multivariate Cox regression analysis was used to analyze factors influencing the progression free survival prognosis of cervical cancer patients. **Results**　The positive rate of PRMT5 protein in cancer tissue was 70.45% (62/88), which was higher than 6.82% (6/88) in adjacent tissues (χ^2 = 75.155, P = < 0.001). The positive rate of CDKN2B in cervical cancer tissue was 22.73% (20/88), lower than 79.55% (71/88) in adjacent tissues (χ^2 = 75.336, P < 0.001). There was a significant negative correlation between PRMT5 and CDKN2B in cervical cancer (r = −0.734, P < 0.001). The positive rates of PRMT5 and CDKN2B in cervical cancer tissues with different FIGO stages and lymph node metastasis were statistically significant (P < 0.05). The cumulative 3-year progres-

sion free survival rates of the PRMT5 positive and negative groups were 74.19% (46/62) and 92.31% (24/26), respectively, the cumulative 3-year progression free survival rate of the PRMT5 positive group was lower than that of the PRMT5 negative group (Log Rank χ^2 = 4.386, P = 0.017). The 3-year progression free survival rates of the CDKN2B negative and positive groups were 75.00% (51/68) and 95.00% (19/20), respectively, the cumulative 3-year progression free survival rate of the CDKN2B negative group was lower than that of the CDKN2B positive group, and the difference was statistically significant (Log Rank χ^2 = 4.423, P = 0.012). FIGO staging Ⅰ B2 to Ⅱ A, combined with lymph node metastasis, positive PRMT5, and negative CDKN2B were independent risk factors affecting the progression free prognosis of cervical cancer patients [*OR (95% CI)* = 1.407 (1.159 – 1.696), 1.464 (1.201 – 1.784), 1.614 (1.189 – 2.192), 1.595 (1.191 – 2.136)]. **Conclusion** The increased expression of PRMT5 and the decreased expression of CDKN2B in cervical cancer tissue are related to the adverse clinical pathological characteristics of cervical cancer patients, and are biomarkers for evaluating the prognosis of cervical cancer.

【Key words】 Cervical cancer; Protein arginine methyltransferase 5; Cyclin dependent kinase inhibitor 2B; Prognosis; Tumor markers

宫颈癌是女性生殖道常见恶性肿瘤,每年新发 60.4 万例[1]。宫颈癌治疗以手术、放化疗为主,但仍有部分患者出现肿瘤术后复发和转移[2]。蛋白精氨酸甲基转移酶 5(protein arginine methyltransferase 5, PRMT5)是蛋白精氨酸甲基转移酶成员,调控 DNA 修复、mRNA 剪接和信号传导等生物学过程[3]。研究表明,PRMT5 在胃癌、乳腺癌等许多恶性肿瘤中过表达[4-5],能够转录激活 AKT 等癌基因的表达,促进癌细胞增殖、侵袭和迁移。细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2B(cyclin dependent kinase inhibitor 2B, CDKN2B)属于 CDKN2B/p20 家族,能够结合并抑制细胞周期素依赖激酶 4/6 的活性,负调控细胞周期素 D1,抑制细胞增殖,在胃癌、甲状腺癌等多种人类恶性肿瘤中发挥肿瘤抑制的作用[6-7]。宫颈癌中 PRMT5、CDKN2B 的表达及临床意义尚不明确。本研究分析宫颈癌中 PRMT5、CDKN2B 表达与临床病理特征及预后的关系,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　收集 2019 年 3 月—2020 年 3 月南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科诊治宫颈癌患者 88 例,年龄 29 ~ 79(58.67 ± 8.36)岁,病程 3 ~ 21(8.12 ± 2.37)d;基础病:高血压 20 例,糖尿病 7 例,高血脂 12 例;病理类型:宫颈鳞癌 55 例,宫颈腺癌 33 例;参照国际妇产科联盟分期标准(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO 分期)进行宫颈癌临床分期[8],ⅠA ~ ⅠB1 期 61 例,ⅠB2 ~ ⅡA 期 27 例;肿瘤大小:<4 cm 者 62 例,≥4 cm 者 26 例;肿瘤浸润深度:<1/2 全层者 60 例,≥1/2 全层者 28 例;肿瘤分化程度:低分化 30 例,高中分化 58 例;有淋巴结转移者 24 例,无淋巴结转移者 64 例。本研究已经获得医院伦理委员会批准(M20220119),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均接受根治性手术治疗,术后病理证实为宫颈癌;②病例资料完整;③原发性肿瘤且为首次诊治。(2)排除标准:①术前有新辅助放化疗;②未能达到根治性手术标准;③伴其他恶性肿瘤;④不能配合随访。

1.3　检测指标与方法

1.3.1　PRMT5、CDKN2B 检测:取宫颈癌及癌旁组织(距肿瘤边缘 >2 cm),10% 中性甲醛固定 12 h,常规石蜡包埋切片,60℃烤片 1 h,二甲苯透明化,梯度酒精脱水,柠檬酸盐抗原热修复,100 ℃ 10 min,3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,3% 羊血清封闭,PRMT5、CDKN2B 抗体 4℃ 孵育过夜(兔单克隆 PRMT5、CDKN2B抗体购自美国 Abcam 公司,货号 ab151321, ab81278,稀释比均为 1∶200),二抗室温孵育 1 h,DAB 显色 4 min,苏木素复染,梯度酒精脱水,中性树脂封片,显微镜下(DX31,日本奥林巴斯公司)观察。染色面积评分:阳性面积≤5% 为 0 分,6% ~ 25% 为 1 分,26% ~ 50% 为 2 分,51% ~ 75% 为 3 分,≥76% 为 4 分。染色强度评分:无阳性染色(0 分),淡黄色(1 分),棕黄色(2 分)。免疫组化评分为染色面积评分乘以染色强度评分,0 ~ 2 分为阴性,>2 分为阳性。

1.3.2　随访:所有患者自治疗结束后以电话及门诊复查方式进行随访。随访时间:治疗结束后 2 年内 3 ~ 6 个月随访 1 次,第 3 年每 6 ~ 12 个月随访 1 次。复查内容根据患者实际情况选择腹盆腔 CT 或 MR 等影像学检查和血常规、肝肾功能等实验室检查。记录患者随访期内肿瘤复发转移情况,患者生存情况等。随访截止时间为 2023 年 4 月 1 日。无进展生存时间定义为自宫颈癌确诊到术后肿瘤复发、转移及患者肿瘤相关死亡的时间。随访终点为患者出现肿瘤进展或随访时间结束。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件统计分析数

据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用卡方检验。Spearman 秩相关分析宫颈癌组织中 PRMT5 与 CDKN2B 表达的相关性。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,生存曲线比较采用 Log-Rank 法。多因素 Cox 比例风险回归模型分析影响宫颈癌无进展生存预后的因素。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　PRMT5、CDKN2B 在宫颈癌及癌旁组织表达的比较　PRMT5 棕黄色阳性染色位于细胞浆和细胞膜,CDKN2B棕黄色阳性染色位于细胞核,见图 1。癌组织中 PRMT5 阳性率 70.45%(62/88),高于癌旁组织 6.82%(6/88)($\chi^2=75.155$, $P<0.001$)。癌组织中 CDKN2B 阳性率 22.73%(20/88),低于癌旁组织 79.55%(71/88)($\chi^2=75.336$, $P<0.001$)。相关性分析发现,宫颈癌中 PRMT5 与 CDKN2B 表达呈显著负相关($r=-0.734$, $P<0.001$)。

2.2　PRMT5、CDKN2B 表达在不同临床病理特征中差异比较　FIGO 分期ⅠB2~ⅡA 期、有淋巴结转移宫颈癌患者癌组织中 PRMT5 阳性率分别高于 FIGO 分期ⅠB2~ⅡA 期、无淋巴结转移患者(P 均 <0.05)。FIGO分期ⅠB2~ⅡA 期、有淋巴结转移宫颈癌患者癌组织中 CDKN2B 阳性率分别低于 FIGO 分期ⅠB2~ⅡA 期、无淋巴结转移患者(P 均 <0.05),见表 1。

2.3　宫颈癌中 PRMT5、CDKN2B 表达与预后的关系　88 例宫颈癌患者随访中,出现肿瘤进展 18 例,3 年无进展生存率为 79.55%(70/88)。PRMT5 阳性和阴性组 3 年无进展生存率分别为 74.19%(46/62)和 92.31%(24/26),PRMT5 阳性组 3 年累积无进展生存率低于PRMT5阴性组(Log-Rank$\chi^2=4.386$, $P=0.017$)。CDKN2B 阳性及阴性组 3 年无进展生存率分别为 95.00%(19/20)和 75.00%(51/68),CDKN2B 阴性组 3 年累积无进展生存率低于 CDKN2B 阳性组(Log-Rank $\chi^2=4.423$, $P=0.012$),见图 2。

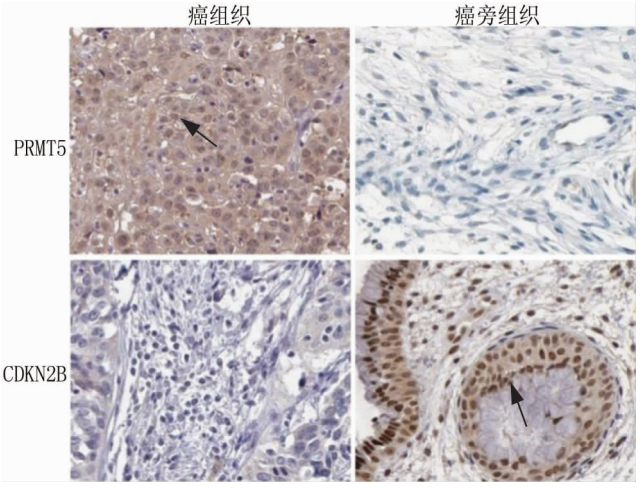


图 1　宫颈癌及癌旁组织中 PRMT5 及 CDKN2B 蛋白表达(免疫组化染色,×200)

Fig. 1　Expression of PRMT5 and CDKN2B in cervical cancer and paracancer tissues (immunohistochemical staining, ×200)

2.4　多因素 Cox 回归分析宫颈癌无进展生存预后影响因素　以是否发生肿瘤进展为因变量(0=无,1=有),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:FIGO 分期ⅠB2~ⅡA 期、合并淋巴结转移、PRMT5 阳性、CDKN2B 阴性是影响宫颈癌患者无进展生存预后的独立危险因素,见表 2。

表 1　不同临床病理特征患者 PRMT5、CDKN2B 表达比较　[例(%)]

Tab. 1　Comparison of PRMT5 and CDKN2B expression in patients with different clinicopathological characteristics

参　数		例数	PRMT5 阳性	χ^2 值	P 值	CDKN2B 阳性	χ^2 值	P 值
年龄(岁)	<60	52	35(67.31)	0.605	0.437	13(25.00)	0.374	0.541
	≥60	36	27(75.00)			7(19.44)		
病理类型	鳞癌	55	37(67.27)	0.713	0.398	14(25.45)	0.621	0.431
	腺癌	33	25(75.76)			6(18.18)		
肿瘤大小(cm)	<4	62	42(67.74)	0.742	0.389	15(24.19)	0.257	0.612
	≥4	26	20(76.92)			5(19.23)		
肿瘤浸润深度	<1/2 全层	60	39(65.00)	2.695	0.101	16(26.67)	1.666	0.197
	≥1/2 全层	28	23(82.14)			4(14.29)		
FIGO 分期	ⅠA~ⅠB1 期	61	38(62.30)	6.359	0.012	18(29.51)	5.205	0.023
	ⅠB2~ⅡA 期	27	24(88.89)			2(7.41)		
肿瘤分化程度	高中分化	58	37(63.79)	3.627	0.057	16(27.59)	2.287	0.130
	低分化	30	25(83.33)			4(13.33)		
淋巴结转移	无	64	41(64.06)	4.606	0.032	18(28.13)	3.893	0.048
	有	24	21(87.50)			2(8.33)		

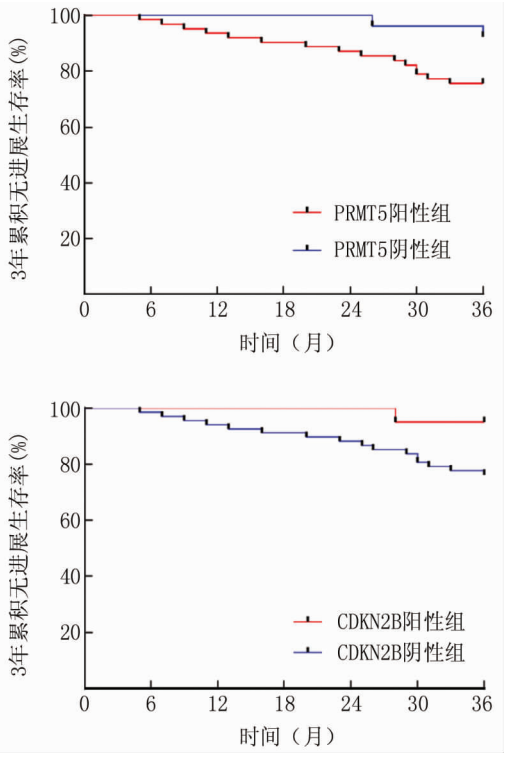


图 2　宫颈癌组织 PRMT5、CDKN2B 表达与宫颈癌患者无进展生存预后的关系

Fig. 2　Relationship between the expression of PRMT5 and CDKN2B in cervical cancer tissue and progression-free survival of patients with cervical cancer

表 2　多因素 Cox 回归分析宫颈癌预后影响因素

Tab. 2　Multivariate Cox regression analysis of prognostic factors of cervical cancer

因　素	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
FIGO Ⅰ B2 ~ Ⅱ A	0.338	0.097	12.142	<0.001	1.403	1.159 ~ 1.696
淋巴结转移	0.381	0.101	14.230	<0.001	1.464	1.201 ~ 1.784
PRMT5 阳性	0.479	0.156	9.428	<0.001	1.614	1.189 ~ 2.192
CDKN2B 阴性	0.467	0.149	9.823	<0.001	1.595	1.191 ~ 2.136

3　讨　论

宫颈癌是我国女性常见的恶性生殖系统肿瘤，每年新发病例达 10.9 万例，约占全球新发病例数的 1/6[9]。近年来随着宫颈癌早期筛查的普及，宫颈癌的发病人数逐渐增多。宫颈癌的治疗包括根治性子宫切除术加盆腔淋巴结清扫，但术后仍有 20% ~30% 的患者 3 年内出现肿瘤复发转移，且出现肿瘤复发转移后治疗手段有限，患者预后较差[10]。研究宫颈癌的疾病机制，寻找能够评估患者临床预后的肿瘤标志物，对于术后高危进展患者的术后辅助治疗方式的选择具有重要意义。

PRMT5 属于蛋白质精氨酸甲基化转移酶家族的 9 个成员之一，通过甲基化蛋白精氨酸残基，调控如 RNA 剪接、细胞周期、细胞死亡和代谢信号等通路。研究表明，子宫内膜癌中 PRMT5 能与雌激素受体 α 及类固醇受体共激活因子-1 相互作用，促进细胞周期蛋白 D1、c-Myc 的蛋白表达，增强癌细胞的增殖和迁移能力，并抑制其凋亡[11]。本研究中，宫颈癌组织 PRMT5 表达升高，与既往学者在宫颈癌组织芯片中报道的结果一致[12]，但该研究选取的患者以高分期和高分级的患者为主，研究群体的代表性存在一定的局限。宫颈癌中 PRMT5 的表达上调与转录调控失常有关。研究发现，宫颈癌中转录因子 Snail 能够结合 PRMT5 基因上调 PRMT5 的表达，进而形成 MTA1 转录抑制复合物，催化组蛋白二甲基化和脱乙酰化，抑制 E-钙黏蛋白的表达，促进肿瘤上皮—间充质转化，导致肿瘤侵袭和转移[12]。另外，PRMT5 表达与不良临床病理特征有关，提示 PRMT5 促进宫颈癌的肿瘤进展。研究表明，PRMT5 通过组蛋白 H3R2 的对称二甲基化，增强信号转录因子与转录活化因子 1 的转录，促进宫颈癌细胞中程序性死亡因子配体 1 的表达，抑制 T 细胞中干扰素-γ、肿瘤坏死因子-α 和颗粒酶 B 的分泌，促进肿瘤免疫逃逸及肿瘤恶性进展[13]。亦有研究报道，PRMT5 还能抑制 E3 泛素连接酶含 F-box/WD 重复序列的蛋白 7 的表达，增加 c-Myc 蛋白的稳定性，促进胰腺癌的无氧糖酵解，导致肿瘤的过度增殖[14]。本研究中，PRMT5 阳性宫颈癌患者无进展生存预后较差，表明 PRMT5 是新的评估宫颈癌患者无进展生存预后的肿瘤标志物。笔者分析，PRMT5 阳性的宫颈癌患者肿瘤往往合并淋巴结转移、较高的 FIGO 分期等高危复发进展的因素，导致术后治疗进展风险增加。另外，PRMT5 还能促进肿瘤耐药性形成，降低术后辅助治疗疗效，导致患者不良预后。Mueller 等[15]研究表明，PRMT5 的表达能够促进微管调节蛋白 2 的表达，导致肺癌肿瘤细胞对紫杉醇等化疗药物的获得性耐药性的形成[13]。

CDKN2B 又称为 INK4B，该基因编码蛋白作为细胞周期依赖激酶抑制剂，能与细胞周期蛋白依赖激酶 4 或 6 结合形成复合物，抑制细胞周期依赖激酶的激活，在控制细胞周期 G1 期进展中发挥作用。研究发现，甲状腺癌中 CDKN2B 表达缺失，导致细胞周期依赖性蛋白丝/苏氨酸激酶的激活，促进肿瘤细胞的过度增殖[16]。本研究中，宫颈癌组织 CDKN2B 表达下调，这与既往学者利用甲基化特异 PCR 在宫颈癌组织中发现 CKDN2B 基因的高甲基化沉默的研究结果一

致[17]，但该研究样本量较小，仅纳入 20 例宫颈癌患者，结果可能存在偏倚。宫颈癌中 CDKN2B 的表达与表观遗传学修饰有关。研究表明，CDKN2B 基因的异常甲基化导致 CDKN2B 表达缺失，增加宫颈癌、卵巢癌等恶性肿瘤发生的易感性[17-18]。本研究发现，宫颈癌中 CDKN2B 表达与 FIGO 分期、淋巴结转移有关，表明 CKDN2B 促进宫颈癌的恶性进展。Xu 等[19]报道，胃癌中 E2F 转录因子 1 的表达能够通过诱导组织分化诱导非蛋白质编码 RNA 的转录，促进其与 STAU1 蛋白的结合，降低 CDKN2B mRNA 的稳定性，抑制 CDKN2B的蛋白表达，导致肿瘤细胞过度增殖。本研究中，CDKN2B 阴性的宫颈癌患者无进展生存预后较差，提示 CDKN2B 是新的评估患者预后的肿瘤标志物。笔者分析，CDKN2B 阴性的宫颈癌肿瘤增殖能力强，FIGO 分期较高，肿瘤容易出现淋巴结转移，术后复发转移风险较高。另外，CDKN2B 阴性的宫颈癌对化疗及靶向治疗存在耐药性，降低术后辅助治疗的有效性，导致肿瘤复发和转移。研究表明，人白血病细胞 KG1a 中 miR-4755-5p 通过靶向抑制 CDKN2B 基因的表达，增强癌细胞对地西他滨等化疗药物治疗的耐药性[20]。另外，有研究报道，在吉非替尼获得性耐药的肺癌患者中 CDKN2B 表达存在明显的缺失型突变，检测 CDKN2B 基因表达情况有助于评估靶向药物治疗敏感性[21]。因此，宫颈癌中 CDKN2B 的表达下调促进肿瘤的发生发展，是新的评估宫颈癌患者预后的肿瘤标志物。本研究中，宫颈癌组织 PRMT5 与 CDKN2B 表达呈负相关，提示两者在宫颈癌中存在相互作用的关系。分析其原因，PRMT5 的表达上调能够与果蝇 Zeste 基因增强子 2 相互作用，促进组蛋白 H4R3me2 和 H3R8me2 表达，增加 CDKN2B 基因的启动子区 CpG 的甲基化水平，沉默 CDKN2B 的表达，诱导肿瘤细胞过度增殖[22-24]。

综上所述，宫颈癌中 PRMT5 表达升高，CDKN2B 表达降低，均与 FIGO 分期、淋巴结转移相关。FIGO 分期Ⅰ B2 ~ Ⅱ A 期、合并淋巴结转移、PRMT5 阳性、CDKN2B 阴性是影响宫颈癌患者无进展生存预后的独立危险因素。临床医师可根据癌组织中 PRMT5、CDKN2B表达，同时结合传统的 FIGO 分期及淋巴结转移等临床病理特征，对宫颈癌患者的预后进行评估，对于高危复发进展的患者积极诊治和随访，以改善临床预后。本研究也存在局限性，样本量较小，随访时间较短，有待今后设计多中心大样本前瞻性的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

胡晓菡：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；周强：提出研究思路，分析试验数据，论文审核；孙武：实施研究过程，资料搜集整理；陈静：实施研究过程，资料搜集整理；沈瀚：进行统计学分析；李强：论文修改

参考文献

[1] Buskwofie A, David-west G, Clare CA. A review of cervical cancer: Incidence and disparities[J]. J Natl Med Assoc, 2020, 112(2): 229-232. DOI: 10.1016/j.jnma.2020.03.002.

[2] 罗学芹. 宫颈癌治疗前后 HPV 感染情况及临床特征与病情复发的关系[J]. 吉林医学, 2023, 44(4): 977-980. DOI: 10.3969/j.issn.1004-0412.2023.04.034.

[3] 张琮，赵佩，杨盛，等. miR-322-5p 通过调控 PRMT5 表达对缺氧复氧诱导大鼠心肌细胞损伤的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(15): 3808-3813. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2022.15.050.

[4] Liu M, Yao B, Gui T, et al. PRMT5-dependent transcriptional repression of c-Myc target genes promotes gastric cancer progression[J]. Theranostics, 2020, 10(10): 4437-4452. DOI: 10.7150/thno.42047.

[5] Wu Y, Wang Z, Han L, et al. PRMT5 regulates RNA m6A demethylation for doxorubicin sensitivity in breast cancer[J]. Mol Ther, 2022, 30(7): 2603-2617. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.03.003.

[6] Chen X, Yu X, Shen E. Overexpression of CDKN2B is involved in poor gastric cancer prognosis[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(12): 19825-19831. DOI: 10.1002/jcb.29287.

[7] Wu Q, He Y, Liu X, et al. Cancer stem cell-like cells-derived exosomal CDKN2B-AS1 stabilizes CDKN2B to promote the growth and metastasis of thyroid cancer via TGF-beta1/Smad2/3 signaling[J]. Exp Cell Res, 2022, 419(1): 1132-1148. DOI: 10.1016/j.yexcr.2022.113268.

[8] Salib MY, Russell JHB, Stewart VR, et al. 2018 FIGO staging classification for cervical cancer: Added benefits of imaging[J]. Radiographics, 2020, 40(6): 1807-1822. DOI: 10.1148/rg.2020200013.

[9] Zhao Y, Bao H, Ma L, et al. Real-world effectiveness of primary screening with high-risk human papillomavirus testing in the cervical cancer screening programme in China: Anationwide, population-based study[J]. Bmc Med, 2021, 19(1): 164-173. DOI: 10.1186/s12916-021-02026-0.

[10] 万晶晶，姚莉，李梦琳，等. TOP2A 联合 miR-21 检测在宫颈癌病情及预后评估中的价值[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(10): 1045-1050. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.007.

[11] Mei S, Ge S, Wang J, et al. PRMT5 promotes progression of endometrioid adenocarcinoma via ERalpha and cell cycle signaling pathways[J]. J Pathol Clin Res, 2021, 7(2): 154-164. DOI: 10.1002/cjp2.194.

[12] Gao J, Liu R, Feng D, et al. Snail/PRMT5/NuRD complex contributes to DNA hypermethylation in cervical cancer by TET1 inhibition[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(9): 2818-2836. DOI: 10.1038/s41418-021-00786-z.

[13] Jiang Y, Yuan Y, Chen M, et al. PRMT5 disruption drives antitumor immunity in cervical cancer by reprogramming T cell-mediated re-

sponse and regulating PD-L1 expression[J]. Theranostics, 2021, 11(18): 9162-9176. DOI: 10.7150/thno.59605.

[14] Qin Y, Hu Q, Xu J, et al. PRMT5 enhances tumorigenicity and glycolysis in pancreatic cancer via the FBW7/cMyc axis[J]. Cell Commun Signal, 2019, 17(1): 30-39. DOI: 10.1186/s12964-019-0344-4.

[15] Mueller HS, Fowler CE, Dalin S, et al. Acquired resistance to PRMT5 inhibition induces concomitant collateral sensitivity to paclitaxel[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(34): 5118-5124. DOI: 10.1073/pnas.2024055118.

[16] 王明政,金妙妙,宋佳璐,等. 过表达 lncRNA HCG18 调控 miR-107/CDKN2B 轴对甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究[J]. 广东医学, 2023, 44(3): 312-319. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20224021.

[17] Banerjee M, Kulhari K, Saha TK. Assessment of DNA methylation in p15, p16 and E-Cadherin genes as a screening tool for early carcinoma cervix[J]. Indian J Clin Biochem, 2020, 35(4): 423-429. DOI: 10.1007/s12291-019-00837-w.

[18] Xia L, Zhang W, Gao L. Clinical and prognostic effects of CDKN2A, CDKN2B and CDH13 promoter methylation in ovarian cancer: Astudy using meta-analysis and TCGA data[J]. Biomarkers, 2019, 24(7): 700-711. DOI: 10.1080/1354750X.2019.1652685.

[19] Xu TP, Wang YF, Xiong WL, et al. E2F1 induces TINCR transcriptional activity and accelerates gastric cancer progression via activation of TINCR/STAU1/CDKN2B signaling axis[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(6): 2837-2846. DOI: 10.1038/cddis.2017.205.

[20] Lei L, Wang Y, Liu R, et al. Transfer of miR-4755-5p through extracellular vesicles and particles induces decitabine resistance in recipient cells by targeting CDKN2B[J]. Mol Carcinog, 2023, 62(6): 743-753. DOI: 10.1002/mc.23521.

[21] Shang Y, Li X, Liu W, et al. Comprehensive genomic profile of Chinese lung cancer patients and mutation characteristics of individuals resistant to icotinib/gefitinib[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 20243. DOI: 10.1038/s41598-020-76791-y.

[22] 刘艳红,李虎,杨翔,等. 子宫内膜癌组织 LncRNACARLo-5、CDK2、CDKN1A 表达及临床意义[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(11): 1100-1105. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.11.005.

[23] 王燕翔,李彧白,王丽伶,等. 宫颈癌患者血清 IL-6、CA125、SCCA 的表达水平及其临床意义[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(5): 489-492. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.05.014.

[24] Yang L, Ma DW, Cao YP, et al. PRMT5 functionally associates with EZH2 to promote colorectal cancer progression through epigenetically repressing CDKN2B expression[J]. Theranostics, 2021, 11(8): 3742-3759. DOI: 10.7150/thno.53023.

(收稿日期:2023-12-10)

(上接 406 页)

[12] Hu H, Zhang H, Xing Y, et al. The lncRNA THOR interacts with and stabilizes hnRNPD to promote cell proliferation and metastasis in breast cancer[J]. Oncogene, 2022, 41(49): 5298-5314. DOI: 10.1038/s41388-022-02495-4.

[13] 刘凡,施文瑜,刘益飞,等. 三阴性乳腺癌组织长链非编码 RNA-P21、microRNA-17-3p 的表达及其临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(5): 16-22. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.05.003.

[14] 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.

[15] Orak G, Rezaei HB, Ameli F, et al. The expression of lncRNAs CASC2, NEAT1, LINC00299 in breast cancer tissues and their relationship with the XBP1 splicing rate in Iranian patients during 2014-2019: A cross-sectional study[J]. Health Sci Rep, 2023, 6(9): e1552. DOI: 10.1002/hsr2.1552.

[16] Zhang Y, Zhu M, Sun Y, et al. Upregulation of lncRNA CASC2 suppresses cell proliferation and metastasis of breast cancer via inactivation of the TGF-β signaling pathway[J]. Oncol Res, 2019, 27(3): 379-387. DOI: 10.3727/096504018X15199531937158.

[17] Ghafouri-Fard S, Sohrabi B, Hussen BM, et al. Down-regulation of MEG3, PANDA and CASC2 as p53-related lncRNAs in breast cancer[J]. Breast Dis, 2022, 41(1): 137-143. DOI: 10.3233/BD-210069.

[18] Jordan-Alejandre E, Campos-Parra AD, Castro-López DL, et al. Potential miRNA use as a biomarker: From breast cancer diagnosis to metastasis[J]. Cells, 2023, 12(4): 525-542. DOI: 10.3390/cells12040525.

[19] 曹琳,尹红,朱静,等. miRNA-24 靶向调控 MEK/ERK 信号通路对乳腺癌转移的作用[J]. 南昌大学学报:医学版, 2023, 63(3): 12-17. DOI: 10.13764/j.cnki.ncdm.2023.03.003.

[20] 汪伶俐,田武国,赵健洁,等. lncRNA NRON 靶向 miR-185-5p 调节乳腺癌细胞化疗耐药性的机制研究[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(10): 1088-1095. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.016.

[21] 袁南贵,罗雪平,胡玉萍,等. QPRT、miR-26b-5p 在乳腺癌中表达及其与患者预后的关系[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(5): 476-480, 487. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.009.

[22] Liu M, Luo C, Dong J, et al. CircRNA_103809 suppresses the proliferation and metastasis of breast cancer cells by sponging microRNA-532-3p (miR-532-3p)[J]. Front Genet, 2020, 11(1): 485-496. DOI: 10.3389/fgene.2020.00485.

[23] Peng Y, Huang X, Wang H. lncRNA ACTA2-AS1 predicts malignancy and poor prognosis of triple-negative breast cancer and regulates tumor progression via modulating miR-532-5p[J]. BMC Mol Cell Biol, 2022, 23(1): 34-42. DOI: 10.1186/s12860-022-00432-7.

(收稿日期:2023-09-26)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 007

论著 · 临床

血清 LncRNA FAF、ITIH4 在慢性心力衰竭患者中的表达意义及对预后的预测价值

江洋, 刘泽岩, 叶丽, 汪栋林, 程景林, 万俊

基金项目: 安徽省第六批卫生健康适宜技术推广项目(SYJS202115)
作者单位: 230000　合肥, 安徽医科大学第二附属医院急诊内科
通信作者: 万俊, E-mail:410643872@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探讨血清长链非编码 RNA(LncRNA)FAF、间 α 胰蛋白酶抑制因子重链 4(ITIH4)在慢性心力衰竭(CHF)患者中的表达意义及对预后的预测价值。**方法**　选择 2020 年 1 月—2022 年 1 月安徽医科大学第二附属医院急诊内科收治的 CHF 患者 187 例为 CHF 组,再根据 NYHA 心功能分级分为Ⅱ级亚组 65 例,Ⅲ级亚组 77 例,Ⅳ级亚组 45 例。于同期招募健康志愿者 103 例为健康对照组。2 组受试者均检测血清 LncRNA FAF 表达和 ITIH4 水平,CHF 患者出院后随访 12 个月,统计随访期间主要不良心血管事件(MACE)发生率;多因素 Logistic 回归分析影响 CHF 患者发生 MACE 的因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析 LncRNA FAF、ITIH4 预测 CHF 患者发生 MACE 的价值。**结果**　CHF 组血清 LncRNA FAF 表达、ITIH4 水平低于健康对照组(t/P = 24. 469/ < 0. 001、35. 196/ < 0. 001)。血清 LncRNA FAF 表达、ITIH4 水平Ⅳ级亚组低于Ⅲ级亚组低于Ⅱ级亚组(F/P = 91. 653/ < 0. 001、102. 345/ < 0. 001)。MACE 亚组血清 LncRNA FAF 表达,ITIH4 水平低于非 MACE 亚组(t/P = 13. 556/ < 0. 001、6. 293/ < 0. 001)。NYHA Ⅳ级、高水平 NT-proBNP 是 CHF 患者发生 MACE 的危险因素[OR(95% CI) = 4. 627(2. 245 ~ 9. 538)、2. 284(1. 505 ~ 3. 468)],高表达 LncRNA FAF、高水平 ITIH4 是保护因素[OR(95% CI) = 0. 599(0. 425 ~ 0. 844)、0. 666(0. 478 ~ 0. 928)]。LncRNA FAF、ITIH4 及二者联合预测 CHF 患者发生 MACE 的曲线下面积为 0. 796、0. 801、0. 896,二者联合预测曲线下面积高于单独预测(Z = 2. 453、2. 404,均 P < 0. 001)。**结论**　CHF 患者血清 LncRNA FAF 表达和 ITIH4 水平均降低,且与不良预后有关,联合 LncRNA FAF 和 ITIH4 可预测 CHF 患者预后不良风险。

【关键词】 慢性心力衰竭;成纤维细胞生长因子相关因子;间 α 胰蛋白酶抑制因子重链 4;预后
【中图分类号】 R541. 6 + 1　　【文献标识码】 A

Expression significance of serum LncRNA FAF and ITIH4 in patients with chronic heart failure and prognostic value

Jiang Yang, Liu Zeyan, Ye Li, Wang Donglin, Cheng Jinglin, Wan Jun. Department of Emergency Internal Medicine, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui Province, Hefei 230000, *China*
*Funding program: The 6th Batch of Anhui Province Health and Health Appropriate Technology Promotion Project (SYJS*202115)
Corresponding author: Wan Jun, E-mail: 410643872@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the expression significance of serum long non-coding ribonucleic acid (LncRNA) FAF and inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITIH4) in patients with chronic heart failure (CHF) and their prognostic value. **Methods**　A total of 187 patients with CHF admitted to the Department of Emergency, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University from January 2020 to January 2022 were selected as CHF group, and then divided into Grade Ⅱ subgroup (65 cases), grade Ⅲ subgroup (77 cases), and grade Ⅳ subgroup (45 cases) according to NYHA cardiac function classification. In the same period, 103 healthy volunteers were recruited as control group. Serum LncRNA FAF expression and ITIH4 level were detected, and the incidence of major adverse cardiovascular events (MACE) during follow-up was analyzed for 12 months after discharge. Multivariate Logistic regression analysis was conducted to analyze the factors affecting the occurrence of MACE in CHF patients, and the value of LncRNA FAF and ITIH4 in predicting the occurrence of MACE in CHF patients was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results**　Serum LncRNA FAF expression and ITIH4 level in CHF group were lower than those in control group (t/P = 24.469/ < 0.001, 35.196/ < 0.001). Serum LncRNA FAF expression and ITIH4 level in grade Ⅳ group were lower than those in grade Ⅲ and grade Ⅱ

groups (F/P = 91.653/ < 0.001, 102.345/ < 0.001). Serum LncRNA FAF expression and ITIH4 level in MACE group were lower than those in non-MACE group (t/P = 13.556/ < 0.001, 6.293/ < 0.001). NYHA grade Ⅳ and high level of NT-pro BNP were risk factors for MACE in CHF patients, high expression of LncRNA FAF and high level of ITIH4 were protective factors [*OR (95% CI)* = 4.627 (2.245 – 9.538), 2.284 (1.505 – 3.468), 0.599 (0.425 – 0.844), 0.666 (0.478 – 0.928)]. The area under the curve of LncRNA FAF, ITIH4 and combined detection in predicting the occurrence of MACE in CHF patients was 0.796, 0.801 and 0.896, and the area under the curve of combined prediction was higher than that of single prediction (Z = 2.453, 2.404, all P < 0.001). **Conclusion**　Serum LncRNA FAF expression and ITIH4 level are decreased in CHF patients, and are associated with poor prognosis. Combining LncRNA FAF and ITIH4 can predict the risk of poor prognosis in CHF patients.

【**Key words**】 Chronic heart failure; Fibroblast growth factor-related factors; Inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4; Prognosis

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是一种临床综合征,是多种心脏疾病的终末期表现,与急性心力衰竭相比,CHF 病情较长,对机体损害较大,更容易在某种诱因的作用下突然加重,危及生命[1]。遗传因素已被证明在心力衰竭的发病机制中起核心作用,长链非编码核糖核酸(LncRNA)是一组转录本长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA,以 RNA 的形式参与生物过程,已有研究表明 LncRNA 在 CHF 中发挥着关键作用[2]。成纤维细胞生长因子相关因子(fibroblast growth factor-related factors, FAF)是一种与心血管疾病相关的 LncRNA,研究显示 LncRNA 可通过上调成纤维细胞生长因子(FGF9)表达,激活磷酸化肌肽 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路,抑制缺血缺氧心肌细胞凋亡[3]。间 α 胰蛋白酶抑制因子重链 4(inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4, ITIH4)是一个炎性反应生物标志物,可抑制炎性反应、脂质过氧化和动脉粥样硬化,血清 ITIH4 水平降低被证实与急性缺血性脑卒中患者炎性反应升高、复发风险增加及病死率升高相关[4]。冠心病患者血清 ITIH4 水平显著降低,低水平 ITIH4 与冠心病狭窄程度加重及主要不良心血管事件风险有关[5]。但 LncRNA FAF、ITIH4 与 CHF 的关系尚不清楚,目前缺乏相关报道。鉴于此本研究拟检测 CHF 患者血清 LncRNA FAF、ITIH4 表达,分析其与 CHF 预后的关系,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2020 年 1 月—2022 年 1 月安徽医科大学第二附属医院急诊内科收治的 CHF 患者 187 例为 CHF 组,男 112 例,女 75 例,年龄 55 ~ 77(65.87 ± 8.19)岁,再根据 NYHA 心功能分级[6]分为Ⅱ级亚组 65 例、Ⅲ级亚组 77 例、Ⅳ级亚组 45 例;另选择同期于医院体检中心体检的健康志愿者 103 例为健康对照组,男 65 例,女 38 例,年龄 56 ~ 78(65.11 ± 8.12)岁。2 组受试者性别、年龄比较差异无统计学意义(P > 0.05)。本研究获得医院伦理委员会批准(YX2019-003),受试者及其家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①符合《中国心力衰竭诊断和治疗指南(2018)》中 CHF 诊断标准[7];②纽约心脏协会(NYHA)心功能分级Ⅱ ~ Ⅳ级;③年龄 18 岁以上。(2)排除标准:①急性心力衰竭、急性心肌梗死、不稳定型心绞痛等心脏疾病;②恶性肿瘤,包括实体瘤和血液学恶性肿瘤;③既往接受心脏手术患者;④急慢性感染、自身免疫疾病、严重肝肾功能障碍。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　临床资料收集:收集 CHF 患者性别、年龄、体质量指数、吸烟史、饮酒史、基础疾病、NYHA 分级、血常规(白细胞计数、中性粒细胞计数)、血生化(三酰甘油、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖)、N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、超声心动图[左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室射血分数(LVEF)]等。

1.3.2　血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 检测:患者于入院翌日晨/健康对照组体检当日采集空腹静脉血 5 ml 注入干燥试管,室温静置后取上层液离心留取上清液待测。以 GenElute™ 总 RNA 纯化试剂盒(美国 Sigma-Aldrich 公司)从血浆中提取总 RNA,紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的纯度、浓度和完整性,Revert Aid RT 逆转录试剂盒(美国赛默飞公司)将总 RNA 逆转录为 cDNA。CFX96 Touch™ 实时 PCR 检测系统(美国 Bio-Rad 公司)进行 qRT-PCR 反应,PCR 体系:cDNA 1 μl,上下游引物各 0.4 μl,2 × SYBR Green 混合液 10 μl,ROC 参比染料(50 ×) 0.4 μl,加 ddH_2O 至 20 μl。PCR 条件:95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 5 s,60 ℃退火延伸 15 s,共 40 个循环。引物序列:LncRNA FAF,上游,5′-CGCTAAAGGCACAGGGTCAG-3′,下游,5′-CACCAACCTTTCCCTTCCAGTC-3′;GAPDH(内参),上游,5′-GGCACAGTCAAGGCT-

GAGAATG-3′，下游，5′-ATGGTGGTGAAGACGCCAG-TA-3′。LncRNA FAF 引物和内源性对照 GAPDH 引物由上海 Gene Pharma 公司设计合成。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法评估 LncRNA FAF 表达。

取血清样本，采用酶联免疫吸附试验检测血清 ITIH4 水平，ITIH4 试剂盒购自上海欣维宇生物科技有限公司，仪器为德国 BMG LABTECH 酶标仪。

1.3.3　随访：CHF 患者参考文献[6]进行规范化治疗，出院后电话或门诊随访 12 个月，记录随访期间主要不良心血管事件（MACE）发生率。MACE 定义为心力衰竭再住院和全因死亡。根据 MACE 的发生情况将患者分为 MACE 亚组 41 例和非 MACE 亚组 146 例。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用独立样本 t 检验；计数资料以频数或率（%）表示，比较采用 χ^2 检验；多因素 Logistic 回归分析影响 CHF 患者发生 MACE 的因素；受试者工作特征（ROC）曲线分析 LncRNA FAF、ITIH4 预测 CHF 患者发生 MACE 的价值。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 表达比较　CHF 组血清 LncRNA FAF 表达、ITIH4 水平低于健康对照组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 1。

表 1　健康对照组和 CHF 组血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 表达比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 1　Comparison of serum LncRNA FAF and ITIH4 expression between healthy control group and CHF group

组　别	例数	LncRNA FAF	ITIH4（μg/L）
健康对照组	103	5.12 ± 1.49	312.35 ± 56.30
CHF 组	187	2.03 ± 0.65	149.21 ± 21.71
t 值		24.469	35.196
P 值		<0.001	<0.001

2.2　CHF 患者不同 NYHA 分级亚组血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 表达比较　血清 LncRNA FAF 表达、ITIH4 水平Ⅳ级亚组低于Ⅲ级亚组低于Ⅱ级亚组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 2。

2.3　MACE 亚组和非 MACE 亚组血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 比较　MACE 亚组血清 LncRNA FAF 表达、ITIH4 水平低于非 MACE 亚组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 3。

2.4　非 MACE 亚组和 MACE 亚组临床资料比较　MACE 亚组患者年龄、NYHA 分级Ⅳ级比例、血清 NT-proBNP 水平大于/高于非 MACE 亚组（$P<0.05$），LVEF 低于非 MACE 亚组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 4。

表 2　不同 CHF 心功能分级患者血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 表达比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of serum LncRNA FAF and ITIH4 expression in patients with different CHF cardiac function grades

组　别	例数	LncRNA FAF	ITIH4（μg/L）
Ⅱ级亚组	65	2.31 ± 0.33	155.34 ± 9.02
Ⅲ级亚组	77	1.96 ± 0.59	149.65 ± 19.54
Ⅳ级亚组	45	1.75 ± 0.21	139.60 ± 10.16
F 值		91.653	102.345
P 值		<0.001	<0.001

表 3　非 MACE 亚组和 MACE 亚组血清 LncRNA FAF 及 ITIH4 表达比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 3　Comparison of serum LncRNA FAF and ITIH4 expression in MACE subgroup and non-MACE subgroup

组　别	例数	LncRNA FAF	ITIH4（μg/L）
非 MACE 亚组	146	2.12 ± 0.16	151.98 ± 11.69
MACE 亚组	41	1.72 ± 0.19	139.35 ± 10.05
t 值		13.556	6.293
P 值		<0.001	<0.001

2.5　影响 CHF 患者发生 MACE 的多因素 Logistic 回归方程分析　以 CHF 患者随访期间是否发生 MACE 为因变量（赋值：0 = 否，1 = 是），以年龄、NYHA 分级（赋值：0 = Ⅱ和Ⅲ级，1 = Ⅳ级）、NT-proBNP、LVEF、LncRNA FAF 及 ITIH4 为自变量，进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示：NYHA Ⅳ级、高水平 NT-proBNP 是 CHF 患者发生 MACE 的危险因素（$P<0.01$），高表达 LncRNA FAF、高水平 ITIH4 是其保护因素（$P<0.01$），见表 5。

表 5　影响 CHF 患者发生 MACE 的多因素 Logistic 回归方程

Tab. 5　Multivariate Logistic regression equation affecting MACE in CHF patients

变　量	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	P 值	*OR*（95% *CI*）
常量	14.653	4.132	12.576	<0.001	–
年龄大	0.326	0.295	1.221	1.385	1.385（0.777 ~ 2.470）
LVEF 高	−0.211	0.193	1.195	0.809	0.810（0.555 ~ 1.182）
NYHA Ⅳ级	1.532	0.369	17.237	<0.001	4.627（2.245 ~ 9.538）
NT-proBNP 高	0.826	0.213	15.038	<0.001	2.284（1.505 ~ 3.468）
LncRNA FAF 高	−0.513	0.175	8.593	0.016	0.599（0.425 ~ 0.844）
ITIH4 高	−0.406	0.169	5.771	0.023	0.666（0.478 ~ 0.928）

2.6　LncRNA FAF 及 ITIH4 预测 CHF 患者发生 MACE 的价值　绘制 LncRNA FAF 及 ITIH4 预测 CHF

表 4　非 MACE 亚组与 MACE 亚组临床资料比较

Tab. 4　Comparison of clinical data in non-MACE subgroup and MACE subgroup

项　目		非 MACE 亚组(n = 146)	MACE 亚组(n = 41)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	89(60.96)	23(56.10)	0.315	0.575
	女	57(39.04)	18(43.90)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		65.23 ± 3.26	68.16 ± 6.09	4.100	<0.001
体质量指数($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)		23.65 ± 1.52	24.06 ± 1.26	1.581	0.116
基础疾病[例(%)]	高血压	87(59.59)	25(60.98)	0.026	0.873
	糖尿病	93(63.70)	27(65.85)	0.065	0.799
	高脂血症	80(54.79)	23(56.10)	0.022	0.882
吸烟史[例(%)]		62(42.47)	19(46.34)	0.196	0.658
饮酒史[例(%)]		50(34.25)	16(39.02)	0.320	0.572
NYHA 分级[例(%)]	Ⅱ级	65(44.52)	8(19.51)	8.424	0.015
	Ⅲ级	45(30.82)	18(43.90)		
	Ⅳ级	36(24.66)	15(36.59)		
LVESD($\bar{x} \pm s$,mm)		43.79 ± 3.02	44.62 ± 3.41	1.511	0.133
LVEDD($\bar{x} \pm s$,mm)		60.42 ± 6.11	61.24 ± 5.24	0.782	0.435
LVEF($\bar{x} \pm s$,%)		58.95 ± 2.19	54.12 ± 3.75	10.480	<0.001
TG($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		1.90 ± 0.19	1.95 ± 0.21	1.454	0.148
TC($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		5.49 ± 0.59	5.51 ± 0.62	0.190	0.850
HDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		1.46 ± 0.27	1.42 ± 0.23	0.864	0.389
LDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		3.36 ± 0.32	3.43 ± 0.36	1.204	0.230
FPG($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		8.75 ± 1.33	8.92 ± 1.56	0.695	0.488
WBC($\bar{x} \pm s$, ×10^9/L)		9.96 ± 2.41	10.35 ± 2.65	0.896	0.372
ANC($\bar{x} \pm s$, ×10^9/L)		5.16 ± 1.32	5.32 ± 1.65	0.648	0.518
NT-proBNP($\bar{x} \pm s$,ng/L)		657.54 ± 203.72	1 029.46 ± 316.49	9.040	<0.001

患者发生 MACE 价值的预测效能 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:LncRNA FAF、ITIH4 及二者联合预测 CHF 患者发生 MACE 的曲线下面积为 0.796、0.801、0.896,二者联合预测曲线下面积高于单独预测(Z = 2.453、2.404,均 P < 0.001),见表 6 和图 1。

表 6　LncRNA FAF 及 ITIH4 预测 CHF 患者发生 MACE 的 ROC 曲线参数

Tab. 6　ROC curve parameters of LncRNA FAF and ITIH4 in predicting MACE in CHF patients

指　标	临界值	AUC(95% CI)	敏感度	特异度	约登指数
LncRNA FAF	<1.93	0.796(0.731 ~ 0.851)	0.780	0.794	0.575
ITIH4	<142.65 μg/L	0.801(0.737 ~ 0.856)	0.829	0.836	0.665
二者联合		0.896(0.843 ~ 0.936)	0.951	0.856	0.807

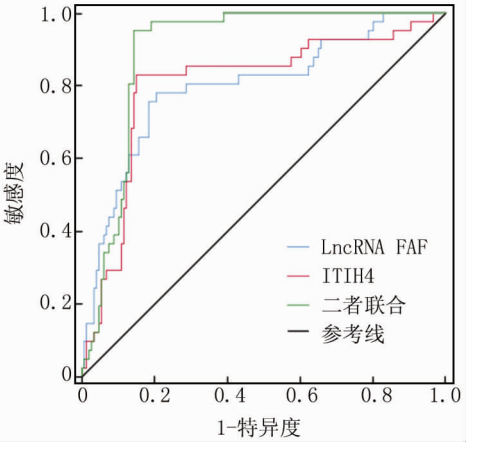


图 1　LncRNA FAF 及 ITIH4 预测 CHF 患者发生 MACE 的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve of LncRNA FAF and ITIH4 for predicting MACE in CHF patients

3　讨　论

心脏的主要功能是维持正常的心输出量,心内充盈压力不足引起心力衰竭会导致周围水肿、肺水肿和疲劳、呼吸困难等症状,不少 CHF 患者可在确诊后 5 年内死亡[8]。LncRNA 通过调节相关基因的表达在心力衰竭中发挥关键作用,目前已有研究证实部分 LncRNA参与 CHF 的发病机制,如 LncRNA GASL1 靶向负性调控 TGF-β_1 抑制心肌纤维化和心肌细胞凋亡,在 CHF 中发挥保护作用[9]。LncRNA HOTAIR 靶向抑制 miR-30a-5p 上调 KDM3A 表达减轻氧化应激和 CHF 心脏损伤[10]。

LncRNA FAF 是在心血管疾病中发现异常表达的 LncRNA,和 FGF9 位于同一染色体上,可通过反向互补组合。FGF9 属于成纤维细胞生长因子(FGF)超级家族,与 FGF 受体结合触发其磷酸化,随后激活 PI3K/AKT 和丝裂原细胞外信号调节激酶/细胞外信号调节激酶(MEK/ERK)信号通路,诱导心肌细胞增殖[11],心肌梗死大鼠心肌组织中 FGF9 表达下调,上调 FGF9 表

达可增加微血管密度,抑制间质纤维化,增强收缩功能,降低心肌梗死后心力衰竭病死率[12]。本研究发现 CHF 患者的 LncRNA FAF 表达下调,既往研究认为 LncRNA FAF 过表达可上调 FGF9 表达,抑制转化生长因子 β_1/Smad2/3 信号通路,显著减轻血管紧张素Ⅱ诱导的心肌细胞增殖、分化和胶原积累的增加,抵抗心肌纤维化[13]。进一步分析发现 LncRNA FAF 低表达与 CHF 患者 NYHA 分级增加有关,提示 LncRNA FAF 表达下调可能加速心力衰竭进程。分析其原因为 LncRNA FAF 过表达通过海绵 miR-185-5p 促进 P21 活化激酶 2 在心肌细胞中表达,减轻心肌细胞焦亡,提高细胞存活[14],继而发挥心肌细胞保护作用,改善心功能,而 LncRNA FAF 水平降低则可促进缺血缺氧心肌细胞的凋亡[3]。另外,高表达 LncRNA FAF 是 CHF 患者发生主要不良心血管事件的保护因素,LncRNA FAF 过表达可能通过抑制心肌细胞纤维化和凋亡在 CHF 中发挥保护作用,上调 LncRNA FAF 表达可能有助于改善 CHF 患者预后。

炎性反应是 CHF 发病和进展的关键,心脏损伤后巨噬细胞活化,募集单核和中性粒细胞从脾脏大量浸润到心肌组织中,促进炎性反应,成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,促使心肌细胞凋亡和心肌纤维化,诱导心力衰竭[15]。ITIH4 属于 α-胰蛋白酶抑制剂家族,主要由肝脏分泌,在感染诱导的炎性反应和器官损伤中起着重要作用。研究显示 ITIH4 可灭活脓毒症小鼠核因子 κB(NF-κB)和细胞外信号调节激酶(ERK)途径,抑制炎性反应细胞因子的分泌,血清 ITIH4 水平降低与疾病严重程度和 28 d 病死率增加有关[16]。炎性肠病患者血清 ITIH4 水平降低,与疾病活动性增加以及临床治疗反应低下有关[17]。本研究发现 CHF 组患者血清 ITIH4 水平降低。分析原因为 ITIH4 缺失可能加剧心肌纤维化和心肌细胞凋亡,导致 CHF 的发生。此外,CHF 患者血清 ITIH4 水平随着 NYHA 分级的增加而降低,推测 ITIH4 缺失可能促进炎性反应,引起大量炎性反应介质释放和心肌组织单核细胞及中性粒细胞浸润,成纤维细胞增殖,发生肌成纤维细胞转化,大量细胞外基质蛋白沉积,促使心肌纤维化和异常重塑,加剧心功能减退。Logistic 回归分析显示高 ITIH4 水平是 CHF 预后不良的保护因素,提示增高 ITIH4 水平可降低 CHF 预后不良的风险,ITIH4 可能作为 CHF 潜在治疗靶点。

ROC 曲线分析 LncRNA FAF、ITIH4 在 CHF 预后预测中具有较高价值,联合预测效能更高,LncRNA FAF、ITIH4 可能作为 CHF 预后的新标志物。另外,Logistic 回归分析结果显示 NYHA 分级Ⅳ级、高水平 NT-proBNP 是 CHF 患者发生 MACE 的危险因素,这是因为 NYHA 分级越高心功能越差,发生不良预后风险越大[18]。高水平 NT-proBNP 被认为是 CHF 的生物学标志物[19]。

综上,CHF 患者血清 LncRNA FAF 表达和 ITIH4 水平均降低,低表达 LncRNA FAF 和低水平 ITIH4 与 CHF 患者心功能降低以及不良预后有关。联合检测 LncRNA FAF、ITIH4 可预测 CHF 患者预后不良风险。本研究首次证实 LncRNA FAF 和 ITIH4 与 CHF 的关系,为临床预后分析和治疗提供了新的标志物和靶点,但也存在一定局限性,本研究为单中心研究,可能导致选择性偏倚,样本缺乏代表性,另外 LncRNA FAF 和 ITIH4 参与 CHF 的具体机制尚不清楚,尚待进一步开展基础研究证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

江洋:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;刘泽岩:实施研究过程,分析试验数据;叶丽:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;汪栋林:进行统计学分析;程景林:数据收集、分析整理,论文撰写;万俊:提出研究思路,论文审核

参考文献

[1] Lin Z, Zhao Y, Xiao L, et al. Blood urea nitrogen to serum albumin ratio as a new prognostic indicator in critical patients with chronic heart failure[J]. ESC Heart Fail, 2022, 9(2): 1360-1369. DOI: 10.1002/ehf2.13825.

[2] 苏布道,梁戎,灵小,等. 慢性心力衰竭患者血浆外泌体 LncRNA H19、miR-214 表达与炎性因子和左心室重构的关系[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(8): 796-803. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.08.003.

[3] Shi HJ, Wang MW, Sun JT, et al. A novel long noncoding RNA FAF inhibits apoptosis via upregulating FGF9 through PI3K/AKT signaling pathway in ischemia-hypoxia cardiomyocytes[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 21973-21987. DOI: 10.1002/jcp.28760.

[4] Zhang J, Hu J, Zhao W. Longitudinal change of serum Inter-α-Trypsin inhibitor heavy chain H4 and its relation with inflammation, disease recurrence, and mortality in acute ischemic stroke patients[J]. Tohoku J Exp Med, 2023, 259(3): 221-227. DOI: 10.1620/tjem.2022.J116.

[5] Huo Y, Lai Y, Feng Q, et al. Serum ITIH4 in coronary heart disease: A potential anti-inflammatory biomarker related to stenosis degree and risk of major adverse cardiovascular events[J]. Biomark Med, 2022, 16(18): 1279-1288. DOI: 10.2217/bmm-2022-0673.

[6] Al-Mashat M, Borgquist R, Carlsson M, et al. Pulmonary perfusion and NYHA classification improve after cardiac resynchronization therapy[J]. J Nucl Cardiol, 2022, 29(6): 2974-2983. DOI: 10.1007/s12350-021-02848-8.

(下转 428 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 008

论著 · 临床

冠状动脉慢血流患者血清 Salusin-α、Salusin-β 表达水平及预测价值

王宇，赵平，贾正培，陈华

基金项目：内蒙古自治区卫生健康委医疗卫生科技计划项目（202001067）
作者单位：010000　呼和浩特，内蒙古自治区人民医院心内科
通信作者：赵平，E-mail：zhaoshikong@ 126. com

【摘　要】 **目的**　研究冠状动脉慢血流（CSF）患者血清 Salusin-α、Salusin-β 水平及对 CSF 的预测价值。**方法**　选取 2019 年 6 月—2022 年 6 月内蒙古自治区人民医院心内科行冠状动脉造影（CAG）检查提示冠状动脉无明显狭窄的 108 例患者的临床资料，根据心肌梗死溶栓试验（TIMI）血流分级分为 CSF 组（TIMI≤2 级，66 例）和非 CSF 组（TIMI 3 级，42 例）。采用酶联免疫吸附试验检测血清 Salusin-α 及 Salusin-β 水平。Pearson 线性相关分析血清 Salusin-α、Salusin-β水平与临床指标的相关性。多因素 Logistic 回归分析影响 CSF 发生的因素。受试者工作特征曲线分析血清 Salusin-α、Salusin-β 及二者联合检测对 CSF 的预测价值。**结果**　CSF 组血清 Salusin-β，吸烟史比例、血尿酸、左前降支（LAD）、左回旋支（LCX）、右冠状动脉（RCA）帧数及 3 支冠状动脉平均帧数均明显高于非 CSF 组（$\chi^2/t/P$ = 16. 702/ < 0. 001、7. 013/0. 008、7. 917/ < 0. 001、12. 074/ < 0. 001、9. 344/ < 0. 001、13. 627/ < 0. 001、10. 476/ < 0. 001），而血白蛋白、血清 Salusin-α 水平低于非 CSF 组（t/P = 8. 084/ < 0. 001、19. 189/ < 0. 001）。血清 Salusin-α 与血尿酸、LAD 帧数、LCX 帧数、RCA 帧数、平均帧数呈负相关（r/P = − 0. 708/ < 0. 001、− 0. 769/ < 0. 001、− 0. 662/ < 0. 001、− 0. 635/ < 0. 001、− 0. 708/ < 0. 001），与血白蛋白呈正相关（r/P = 0. 667/ < 0. 001）。血清 Salusin-β 与血尿酸、LAD 帧数、LCX 帧数、RCA 帧数、平均帧数呈显著正相关（r/P = 0. 748/ < 0. 001、0. 676/ < 0. 001、0. 753/ < 0. 001、0. 642/ < 0. 001、0. 776/ < 0. 001），与血白蛋白呈负相关（r/P = − 0. 589/ < 0. 001）。吸烟史、Salusin-β 高是影响 CSF 发生的独立危险因素，血白蛋白高、Salusin-α 高是其保护因素［OR（95% CI）= 1. 464（1. 146 ~ 1. 870）、1. 536（0. 928 ~ 2. 548）、0. 819（0. 710 ~ 0. 942）、0. 715（0. 582 ~ 0. 878）］。血清 Salusin-α、Salusin-β 及二者联合预测 CSF 的 AUC 分别为 0. 840、0. 782、0. 896，二者联合优于各自单独预测效能（Z = 4. 561、4. 103，P = 0. 005、< 0. 001）。**结论**　CSF 患者血清 Salusin-α 降低、Salusin-β 升高，两者与 CSF 病情程度有关，血清 Salusin-α 与 Salusin-β 联合对 CSF 具有较高的预测价值。

【关键词】 冠状动脉慢血流；Salusin-α；Salusin-β；预测价值
【中图分类号】 R543. 3　　【文献标识码】 A

Study on the expression level and predictive value of serum Salusin-α and Salusin-β in patients with coronary slow flow

Wang Yu, Zhao Ping, Jia Zhengpei, Chen Hua. Department of Cardiology, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010000, *China*
Funding program: Medical and Health Technology Plan Project of Inner Mongolia Autonomous Region Health Commission (202001067)
Corresponding author: Zhao Ping, E-mail: zhaoshikong@ 126. *com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the levels of serum Salusin-**α** and Salusin-**β** in patients with coronary slow flow (CSF) and their predictive value for CSF. **Methods**　Clinical data of 108 patients who underwent coronary angiography (CAG) examination in the Department of Cardiology, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital from June 2019 to June 2022 and showed no obvious stenosis of the coronary artery were selected. According to the blood flow classification of the myocardial infarction thrombolysis test (TIMI), they were divided into CSF group (TIMI grade 2 and below, 66 cases) and control group (TIMI grade 3, 42 cases). Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure the serum levels of Salusin-**α** and Salusin-**β**. Pearson linear correlation analysis was used to analyze the correlation between serum Salusin-**α**, Salusin-**β** levels and clinical indicators. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the risk factors for CSF. Receiver operating characteristic curve was used to analyze the predictive value of serum Salusin-**α**, Salusin-**β** and their combination for CSF. **Results**　Serum Salusin-**β**, smoking history, serum uric acid, left anterior descending artery

(LAD), left circumflex artery (LCX), right coronary artery (RCA) frame count and average frame count of three coronary arteries in CSF group were significantly higher than those in control group ($\chi^2/t/P$ = 16.702/ < 0.001, 7.013/0.008, 7.917/ < 0.001, 12.074/ < 0.001, 9.344/ < 0.001, 13.627/ < 0.001, 10.476/ < 0.001), while serum albumin and serum Salusin-**α** levels were lower than those of the control group (t/P = 8.084/ < 0.001, 19.189/ < 0.001). Serum Salusin-**α** was negatively correlated with serum uric acid, LAD frame count, LCX frame count, RCA frame count and average frame count (r/P = −0.708/ < 0.001, −0.769/ < 0.001, −0.662/ < 0.001, −0.635/ < 0.001, −0.708/ < 0.001) and positively correlated with serum albumin (r/P = 0.667/ < 0.001). Serum Salusin-**β** was positively correlated with serum uric acid, LAD frame count, LCX frame count, RCA frame count and average frame count (r/P = 0.748/ < 0.001, 0.676/ < 0.001, 0.753/ < 0.001, 0.642/ < 0.001, 0.776/ < 0.001), and negatively correlated with serum albumin (r/P = −0.589/ < 0.001). Smoking history and Salusin-**β** were independent risk factors for CSF, while serum albumin and Salusin-**α** were protective factors [*OR (95% CI)* = 1.464 (1.146 − 1.870), 1.536 (0.928 − 2.548), 0.819 (0.710 − 0.942), 0.715 (0.582 − 0.878), P < 0.05]. The AUC of serum Salusin-**α**, Salusin-**β**, and their combination for predicting CSF was 0.840, 0.782, and 0.896, respectively, and the combination of the two was better than each of them alone (Z = 4.561, 4.103, P = 0.005, < 0.001). **Conclusion**　Serum Salusin-**α** is decreased and Salusin-**β** is increased in patients with CSF, which are related to the severity of CSF. The combination of serum Salusin-**α** and Salusin-**β** has a high predictive value for CSF.

【**Key words**】 Coronary slow flow; Salusin-**α**; Salusin-**β**; Predictive value

冠状动脉慢血流（coronary slow flow，CSF）是冠状动脉未见明显狭窄，但血流灌注缓慢，血流灌注不足以满足心肌氧需求的非阻塞性疾病，表现为胸痛、焦虑等，可发生急性冠脉综合征及猝死等[1-2]。寻找能够早期评估 CSF 的血清标志物，对临床诊治具有重要意义。Salusin-α 是由人类扭转应力障碍基因 TOR2A 编码产生的选择性剪切产物，具有降低血压、减慢心率及调节脂质代谢的作用[3]。研究表明，Salusin-α 能够改善颈动脉血管内皮功能障碍，抑制动脉粥样硬化的形成，是潜在的 CSF 的血清标志物[4]。Salusin-β 与 Salusin-α 具有相同的前体，由血管内皮细胞、神经系统等产生，能促进血管内皮细胞炎性反应、加重氧化应激、增加炎性细胞和内皮细胞之间的黏附能力，促进冠心病等心血管疾病的发生[5-6]。现分析 CSF 患者血清 Salusin-α、Salusin-β 表达水平及两者对 CSF 的预测价值，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2019 年 6 月—2022 年 6 月内蒙古自治区人民医院心内科行冠状动脉造影（coronary angiography，CAG）检查的患者 108 例。根据心肌梗死溶栓试验（thrombolysis in myocardial infarction，TIMI）血流分级[7]分为 CSF 组 66 例（至少 1 支血管 TIMI 血流≤2 级），非 CSF 组 42 例（TIMI 3 级）。CSF 组吸烟史比例、血尿酸高于非 CSF 组，血白蛋白低于非 CSF 组（P 均 < 0.05），其他资料比较差异无统计学意义（P 均 > 0.05），见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准通过（20190413），患者或家属知情同意并签署知情同意书。

表 1　非 CSF 组和 CSF 组患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between non CSF group and CSF group patients

资　料	非 CSF 组（n = 42）	CSF 组（n = 66）	χ^2/t 值	P 值
男/女（例）	24/18	40/26	0.128	0.721
年龄（$\bar{x} \pm s$，岁）	51.87 ± 7.06	53.22 ± 6.89	0.983	0.328
体质量指数（$\bar{x} \pm s$，kg/m^2）	25.11 ± 2.30	24.76 ± 2.47	0.737	0.463
吸烟史［例（%）］	12（28.57）	36（54.55）	7.013	0.008
高血压史［例（%）］	16（38.10）	29（43.94）	0.361	0.548
糖尿病史［例（%）］	8（19.05）	14（21.21）	0.157	0.692
收缩压（$\bar{x} \pm s$，mmHg）	145.37 ± 19.01	143.21 ± 18.33	0.588	0.557
舒张压（$\bar{x} \pm s$，mmHg）	89.11 ± 12.05	90.52 ± 11.30	0.616	0.539
总胆固醇（$\bar{x} \pm s$，mmol/L）	4.90 ± 0.55	5.08 ± 0.43	1.900	0.060
三酰甘油（$\bar{x} \pm s$，mmol/L）	1.19 ± 0.46	1.27 ± 0.32	1.066	0.289
LDL-C（$\bar{x} \pm s$，mmol/L）	2.92 ± 0.85	3.08 ± 0.76	1.018	0.311
HDL-C（$\bar{x} \pm s$，mmol/L）	1.16 ± 0.34	1.10 ± 0.35	0.878	0.382
ALT（$\bar{x} \pm s$，U/L）	23.95 ± 7.26	24.49 ± 8.48	0.341	0.734
AST（$\bar{x} \pm s$，U/L）	23.20 ± 8.15	24.14 ± 6.74	0.651	0.517
血白蛋白（$\bar{x} \pm s$，g/L）	52.10 ± 6.07	43.52 ± 4.89	8.084	< 0.001
血尿素氮（$\bar{x} \pm s$，mmol/L）	5.13 ± 1.30	5.52 ± 1.22	1.579	0.117
血肌酐（$\bar{x} \pm s$，μmol/L）	79.15 ± 18.26	85.03 ± 19.88	1.546	0.125
血尿酸（$\bar{x} \pm s$，μmol/L）	219.33 ± 38.65	283.16 ± 42.17	7.917	< 0.001

1.2　病例选择标准　（1）纳入标准：①年龄 > 18 ~ 80 岁；②就诊前患者有反复胸闷、胸痛等心肌缺血症状；③均接受 CAG 检查证实冠状动脉无明显狭窄或狭窄程度≤40%；④能够配合相关检查和治疗。（2）排除标准：①冠状动脉栓子、冠状动脉痉挛、冠状动脉扩张及溶栓治疗术后或冠状动脉支架植入术后；②合并心脏瓣膜病、先天性心脏病、心肌病、心力衰竭；③存在严重的肝肾功能不全、感染、自身免疫性疾病及恶性肿瘤；④存在持续性心房颤动、植入永久性起搏器患者；⑤对造影剂过敏或应用外源性血管收缩药物。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　临床资料收集：性别、年龄、身高、体质量指数，

既往有无吸烟史、高血压史、糖尿病史，血压等；实验室检查：血白蛋白、血尿酸、血尿素氮、血肌酐、三酰甘油（TG）、总胆固醇（TC）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸氨基转移酶（AST）。

1.3.2　血清 Salusin-α、Salusin-β 检测：留取患者住院后次日晨起空腹 8 h 以上的肘静脉血 5 ml，室温静置 1 h 后，离心留取血清进行后续检测。以酶联免疫吸附法检测血清 Salusin-α、Salusin-β 水平。Salusin-α ELISA 试剂盒购自上海一研生物科技公司，货号 EY-01H1494。Salusin-β ELISA 试剂盒购自上海瑞番生物科技公司，货号 RF1041。操作过程按照说明书要求进行。

1.3.3　CAG 检查及血流速度评估：CAG 采用标准 Judkins 技术，由 2 位心内科医生利用大 C 臂血管数字减影造影机（购自荷兰飞利浦公司，型号 Philips Integris allura 12 monoplane）进行操作：经桡动脉或股动脉途径，以碘化醇为造影剂，15 帧/s 速度绘制图像；应用 TIMI 血流帧数评估冠状动脉血流速度，记录造影剂从充盈近端靶冠状动脉的全部直径到冠状动脉末梢特定解剖位置的帧数，左前降支（LAD）、左回旋支（LCX）、右冠状动脉（RCA）的特定解剖位置分别为心尖分叉处、分支的最远分叉处及左心室后支的第一个分支处。计算 3 支靶冠状动脉的平均 TIMI 帧数。

1.4　统计学方法　应用 SPSS 26.0 软件处理数据。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差表示，组间比较采用独立样本 t 检验；计数资料以频数或率（%）表示，组间比较采用卡方检验；Pearson 相关分析血清 Salusin-α、Salusin-β 与临床参数的相关性；多因素 Logistic 回归分析 CSF 发生的影响因素；受试者工作特征曲线（ROC）分析血清 Salusin-α、Salusin-β 及联合对 CSF 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 Salusin-α、Salusin-β 比较　CSF 组血清 Salusin-α 水平低于非 CSF 组，而血清 Salusin-β 水平高于非 CSF 组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 2。

表 2　非 CSF 组和 CSF 组患者血清 Salusin-α、Salusin-β 比较（$\bar{x}\pm s$，μg/L）

Tab. 2　Comparison of serum Salusin-α、Salusin-β between non CSF group and CSF group patients

组　别	例数	Salusin-α	Salusin-β
非 CSF 组	42	3.76 ± 0.73	2.05 ± 0.68
CSF 组	66	1.41 ± 0.54	5.26 ± 1.12
t 值		19.189	16.702
P 值		<0.001	<0.001

2.2　2 组 CAG 及血流速度比较　CSF 组 LAD 帧数、LCX 帧数、RCA 帧数、平均帧数均明显高于非 CSF 组，差异有统计学意义（P 均 <0.01），见表 3。

2.3　血清 Salusin-α、Salusin-β 与临床参数的相关性　Pearson 相关分析显示，血清 Salusin-α 与血尿酸、LAD 帧数、LCX 帧数、RCA 帧数、平均帧数呈显著负相关，与血白蛋白呈正相关（P 均 <0.01）；血清 Salusin-β 与血尿酸、LAD 帧数、LCX 帧数、RCA 帧数、平均帧数呈显著正相关，与血白蛋白呈显著负相关（P 均 <0.01），见表 4。

表 4　CSF 组患者血清 Salusin-α、Salusin-β 与临床参数的相关性

Tab. 4　The correlation between serum Salusin-α, Salusin-β and clinical parameters in CSF group patients

参　数	Salusin-α		Salusin-β	
	r 值	P 值	r 值	P 值
血白蛋白	0.667	<0.001	−0.589	<0.001
血尿酸	−0.708	<0.001	0.748	<0.001
LAD 帧数	−0.769	<0.001	0.676	<0.001
LCX 帧数	−0.662	<0.001	0.753	<0.001
RCA 帧数	−0.635	<0.001	0.642	<0.001
平均帧数	−0.708	<0.001	0.776	<0.001

2.4　影响 CSF 发生的多因素 Logistic 回归分析　以是否发生 CSF 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，结果显示吸烟史、Salusin-β 高是影响 CSF 发生的独立危险因素，血白蛋白高、Salusin-α 高是独立保护因素（$P<0.01$），见表 5。

表 3　非 CSF 组和 CSF 组患者 CAG 及血流速度比较　（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 3　Comparison of CAG and blood flow velocity between non CSF group and CSF group patients

组　别	例数	LAD 帧数	LCX 帧数	RCA 帧数	平均帧数
非 CSF 组	42	31.07 ± 5.23	20.69 ± 4.34	18.41 ± 3.11	23.37 ± 5.20
CSF 组	66	44.49 ± 5.87	30.41 ± 5.78	29.37 ± 4.58	34.52 ± 5.51
t 值		12.074	9.344	13.627	10.476
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 5　影响 CSF 发生的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5　Multivariate Logistic regression analysis affecting the occurrence of CSF

因　素	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
吸烟史	0.381	0.125	9.290	<0.001	1.464	1.146 ~ 1.870
血白蛋白高	−0.201	0.072	25.090	<0.001	0.819	0.710 ~ 0.942
血尿酸高	0.030	0.264	2.663	0.104	1.536	0.928 ~ 2.548
Salusin-α 高	−0.336	0.105	10.240	<0.001	0.715	0.582 ~ 0.878
Salusin-β 高	0.229	0.065	12.412	<0.001	1.257	1.107 ~ 1.428

2.5　血清 Salusin-α、Salusin-β 及二者联合预测对 CSF 的价值　绘制血清 Salusin-α、Salusin-β 及二者联合预测 CSF 的 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 Salusin-α、Salusin-β 及二者联合预测 CSF 的 AUC 分别为 0.840、0.782、0.896，二者联合优于各自单独预测效能（Z = 4.561、4.103，P = 0.005、<0.001），见表 6、图 1。

表 6　血清 Salusin-α、Salusin-β 及二者联合预测 CSF 的价值

Tab. 6　The value of serum Salusin-α, Salusin-β and their combination in predicting CSF

指　标	截断值	*AUC*(95% *CI*)	敏感度	特异度	约登指数
Salusin-α	<1.55 μg/L	0.840(0.801 ~ 0.906)	0.802	0.720	0.522
Salusin-β	>4.94 μg/L	0.782(0.734 ~ 0.832)	0.757	0.660	0.417
二者联合		0.896(0.852 ~ 0.945)	0.853	0.786	0.639

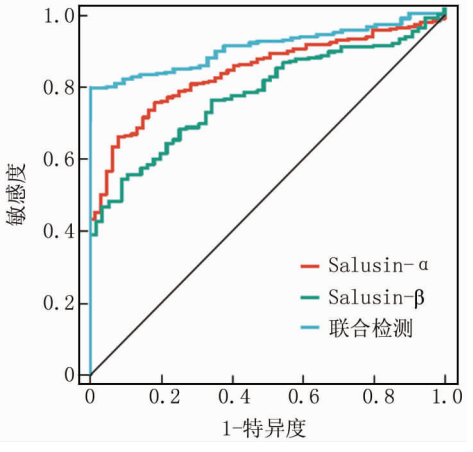


图 1　血清 Salusin-α、Salusin-β 及联合预测 CSF 价值的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve of the value of serum Salusin-α, Salusin-β and their combination in predicting CSF

3　讨　论

CSF 可引起室性心律失常、急性心肌梗死及心源性猝死，其 CAG 特征是无冠状动脉严重狭窄的情况下，冠状动脉内造影剂停滞、远端灌注延迟。CSF 的发病与微血管和内皮功能障碍、炎性反应、弥漫性动脉粥样硬化及血小板聚集性增加等因素有关[8]。TIMI 分级是临床行 CAG 中广泛使用的定性指标，但可能受到操作者主观因素及血管位置不同等因素的影响，临床上尚存在一定的不足[9]。深入研究 CSF 发病机制及影响 CSF 发生的危险因素，有利于 CSF 的筛查及临床早期干预。

Salusins 是一类新的生物活性肽，包括 28 个氨基酸的 Salusin-α 和 20 个氨基酸的 Salusin-β 2 种形式，是由人类扭转应力障碍基因 TOR2A 表达后形成的选择性剪接产物，广泛表达于人体内分泌腺、骨髓及脑组织中，以自分泌或旁分泌的方式，广泛参与细胞有丝分裂、细胞内钙信号传导，具有促进下丘脑分泌血管加压素等生物学效应[10]。研究表明，Salusin-α 参与脂质代谢调节，抑制巨噬细胞中胆固醇酯的积累，在动脉粥样硬化和心血管疾病中发挥重要保护作用[11]。本研究中，CSF 患者血清 Salusin-α 降低，并与冠状动脉血流速度有关，提示 Salusin-α 的降低参与 CSF 的发生发展。这与既往学者在动物实验中观察结果一致[11]，该研究表明，过表达 Salusin-α 能够抑制冠状动脉血管内皮细胞增殖，减轻内膜增厚程度，同时能够升高载脂蛋白 C 和载脂蛋白 B 的水平，改善冠状动脉血流灌注情况。分析其机制，Salusin-α 可能通过减轻 CSF 患者动脉内膜厚度及斑块大小，抑制 CSF 疾病的发生发展。有学者报道，Salusin-α 能够抑制巨噬细胞中酰基辅酶 A 的转录表达及生物活性，抑制巨噬细胞吞噬低密度脂蛋白，减少泡沫细胞形成，同时抑制血管内膜细胞的增殖和泡沫化，降低动脉内膜厚度[12]。尚有研究表明，Salusin-α 能够通过抑制 AKT/人哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路的磷酸化激活，减少肿瘤坏死因子等促炎细胞因子产生，减轻冠状动脉的炎性反应，抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移，减少动脉粥样硬化斑块的面积[13]。本研究结果发现，Salusin-α 是影响 CSF 发生的独立保护因素，表明 Salusin-α 是新的评估 CSF 的血清标志物。其原因可能是 Salusin-α 能够抑制冠状动脉血管内皮细胞的炎性反应，减少 CSF 的发生。研究表明，Salusin-α 能够抑制人脐静脉内皮细胞核因子 κB 通路的激活，抑制白介素 6、白介素 8 等促炎细胞因子的表达及促炎反应，当 Salusin-α 水平降低时冠状动脉炎性反应加重，血管内皮细胞损伤及凋亡增加，内皮下胶原沉积，形成冠状动脉微循环栓塞，导致 CSF 的发生[14]。

Salusin-β 也是具有心血管和神经内分泌活性的

多肽,但功能与 Salusin-α 相反,其能以旁分泌的方式刺激精氨酸加压素和催产素的释放升高血压,加快心率,促进心肌肥厚及心力衰竭的发生[15]。本研究中,CSF 组患者血清 Salusin-β 升高,与 3 支冠状动脉血流帧数及平均帧数呈正相关,这与 Akyüz 等[16]学者观察结果一致,该研究发现血清 Salusin-β 升高能够增加心肌梗死患者溶栓后 CSF 的发生风险,但该研究纳入样本量较小,CSF 组患者仅 39 例,结果可能存在一定的偏倚。本研究结果进一步提示 Salusin-β 参与 CSF 疾病的发生发展过程。分析其原因,Salusin-β 以浓度依赖的方式增加血管平滑肌细胞和成纤维细胞内钙离子浓度,激活增殖相关信号通路的传导,诱导 G1 向 S 期转变,促进平滑肌细胞和成纤维细胞的增殖,引起 CSF 的发生[17]。另外,Salusin-β 作为一种肽类激素,能促进白介素 6、单核细胞趋化蛋白 1 及细胞间黏附分子 1 等炎性因子的释放,加重内皮细胞炎性反应,促进内皮细胞与单核巨噬细胞的黏附,导致血管内皮功能障碍及泡沫细胞形成[18]。本研究中,Salusin-β 是影响 CSF 发生的独立危险因素,表明检测血清 Salusin-β 水平有助于评估 CSF 的发生。研究表明,Salusin-β 激活可直接在转录水平上调内皮细胞内质网中酰基 CoA 胆固醇酰基转移酶-1 表达,其能够促进游离胆固醇和长链脂酰 CoA 转化为胆固醇酯,促进泡沫细胞形成,加速动脉粥样硬化的发生[19]。另外,在高密度脂蛋白胆固醇受体缺陷的小鼠中,静脉输注 Salusin-β 能激活冠状动脉内皮细胞中核因子 κB 通路,增加动脉粥样硬化斑块中的低密度脂蛋白胆固醇水平和脂质负荷,加重动脉粥样硬化斑块的严重程度[20]。本研究中,血清 Salusin-α、Salusin-β 联合对 CSF 具有较高的预测价值,敏感度和特异度分别为 0.853、0.786,表明血清 Salusin-α、Salusin-β 联合对 CSF 具有较高的预测效能,有助于临床早期诊治。

血白蛋白是炎性反应时负性急性期反应蛋白,具有抗氧化、抗动脉粥样硬化等多种生物学作用,在心血管系统中发挥保护效应。本研究显示,血白蛋白是影响 CSF 发生的独立保护因素。分析其原因,白蛋白能够清除游离的活性氧自由基和氮自由基,并作为脂肪酸的重要载体,发挥抗氧化和抗血栓的作用,能够减轻冠状动脉血管内皮功能障碍、炎性反应及动脉粥样硬化,减少 CSF 的发生。本研究中,既往合并吸烟史是影响 CSF 发生的独立危险因素。分析其机制,烟草烟雾中的尼古丁、一氧化氮及一氧化碳等物质能够引起血管内皮氧化应激及炎性反应损伤,血管内皮功能障碍,机体脂质代谢紊乱及血小板功能失调均会促进冠状动脉粥样硬化的进程,导致 CSF 的发生[21]。

综上所述,CSF 患者血清 Salusin-α 降低,Salusin-β 升高,血清 Salusin-α、Salusin-β 与 3 支冠状动脉血流帧数及平均帧数有关,有助于反映 CSF 病程严重程度。吸烟史、Salusin-β 高是影响 CSF 发生的独立危险因素,血白蛋白高、Salusin-α 高是影响 CSF 发生的独立保护因素。血清 Salusin-α、Salusin-β 联合检测对 CSF 的发生具有较高的诊断效能。本研究也存在局限,未能对治疗过程中血清 Salusin-α、Salusin-β 的动态变化进行监测,两者的动态变化能否有效反映 CSF 患者冠状动脉血流灌注的变化情况,均有待今后进行深入的基础和临床研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王宇:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;赵平:提出研究思路,论文审核;贾正培:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;陈华:进行统计学分析

参考文献

[1] Chalikias G, Tziakas D. Slow coronary flow: Pathophysiology, clinical implications, and therapeutic management[J]. Angiology, 2021, 72(9): 808-818. DOI: 10.1177/00033197211004390.

[2] 徐孟成,曾华甦,范例,等. ST 段抬高型心肌梗死直接 PCI 术中支架后扩张对冠脉血流及 MACE 的影响[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(11): 828-834, 841. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20210527.005.

[3] 刘盼,刘畅,孙家安,等. 急性缺血性脑卒中患者血清 FGF4、salusin-α、MCP-1 水平的临床价值研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2022, 43(2): 105-109. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1256.2022.02.002.

[4] Wang Y, Luo M, Mao X, et al. Targeted delivery of Salusin-α into rabbit carotid arterial endothelium using sonovue[J]. J Ultrasound Med, 2022, 41(2): 365-376. DOI: 10.1002/jum.15714.

[5] 赵茜茜,王珅,卢相琴,等. 原发性高血压病人 Salusin-β、miRNA-375 与免疫因子的相关性分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(14): 2631-2634. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2022.14.032.

[6] Wang WJ, Jiang X, Gao CC, et al. Salusin β participates in high glucose induced HK 2 cell ferroptosis in a Nrf 2 dependent manner[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(3): 674-685. DOI: 10.3892/mmr.2021.12313.

[7] Majeed H, Khan MN, Naseeb K, et al. Multivessel coronary artery disease and subsequent thrombolysis in myocardial infarction flow grade after primary percutaneous coronary intervention[J]. Cureus, 2020, 12(6): 8752-8769. DOI: 10.7759/cureus.8752.

[8] 王玉霞,刘英华,卢海英,等. 急性冠状动脉综合征患者 PCI 术前血清 ICAM-1、ESM-1 水平与术后冠状动脉慢血流/无复流的相关性[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(2): 124-129. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.02.004.

[9] He W, Huang Y, Zhang Y, et al. Cardiac rehabilitation therapy for coronary slow flow phenomenon[J]. Herz, 2020, 45(5): 468-474.

DOI:10.1007/s00059-018-4742-y.

[10] Nowaczyk J, Blicharz L, Zawistowski M, et al. The clinical significance of salusins in systemic sclerosis-across-sectional study[J]. Diagnostics (Basel), 2023, 13(5): 848-861. DOI: 10.3390/diagnostics13050848.

[11] Qian K, Feng L, Sun Y, et al. Overexpression of Salusin-α inhibits vascular intimal hyperplasia in an atherosclerotic rabbit model[J]. Biomed Res Int, 2018, 12(20): 8973-8986. DOI: 10.1155/2018/8973986.

[12] Argun D, Argun F, Borku Uysal B. Evaluation of salusin-α and salusin-β levels in patients with type 2 diabetes mellitus and determination of the impact of severity of hyperglycemia on salusin levels [J]. Ir J Med Sci, 2021, 190(4): 1403-1411. DOI: 10.1007/s11845-021-02674-4.

[13] Gao S, Xu L, Zhang Y, et al. Salusin-α inhibits proliferation and migration of vascular smooth muscle cell via akt/mtor signaling[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(5): 1740-1753. DOI: 10.1159/000494792.

[14] Esfahani M, Saidijam M, Goodarzi MT, et al. Salusin-α attenuates inflammatory responses in vascular endothelial cells [J]. Biochemistry (Mosc), 2017, 82(11): 1314-1323. DOI: 10.1134/S0006297917110098.

[15] Alpsoy S, Dogan B, Ozkaramanli Gur D, et al. Assessment of salusin alpha and salusin beta levels in patients with newly diagnosed dipper and non-dipper hypertension[J]. Clin Exp Hypertens, 2021, 43(1): 42-48. DOI: 10.1080/10641963.2020.1797086.

[16] Akyüz A, Aydun F, Alpsoy S, et al. Relationship of serum salusin beta levels with coronary slow flow[J]. Anatol J Cardiol, 2019, 22(4): 177-184. DOI: 10.14744/AnatolJCardiol.2019.43247.

[17] Wang X, Chen A, Hu R, et al. Salusin-β, a TOR2A gene product, promotes proliferation, migration, fibrosis, and calcification of smooth muscle cells and accelerates the imbalance of vasomotor function and vascular remodeling in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats[J]. Front Pharmacol, 2022, 30(13): 9288-9297. DOI: 10.3389/fphar.2022.928834.

[18] Wang Y, Wang S, Zhang J, et al. Salusin-β is superior to salusin-α as a marker for evaluating coronary atherosclerosis[J]. J Int Med Res, 2020, 48(2): 3000-3015. DOI: 10.1177/0300060520903868.

[19] Janecka A, Stefanowicz J. Use of salusin β for predicting atherosclerosis and components of the metabolic syndrome[J]. Adv Clin Exp Med, 2023, 30(8): 1147-1156. DOI: 10.17219/acem/166535.

[20] Zhou CH, Liu LL, Wu YQ, et al. Enhanced expression of salusin-β contributes to progression of atherosclerosis in LDL receptor deficient mice[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2012, 90(4): 463-471. DOI: 10.1139/y2012-022.

[21] Dikalov S, Itani H, Richmond B, et al. Tobacco smoking induces cardiovascular mitochondrial oxidative stress, promotes endothelial dysfunction, and enhances hypertension[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2019, 316(3): 639-646. DOI: 10.1152/ajpheart.00595.2018.

(收稿日期:2023－11－07)

(上接 422 页)

[7] 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, 2018, 2(4): 196-225. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-3076.2018.12.002.

[8] 张玮畅,田晶,杨弘,等. 冠心病合并慢性心力衰竭患者 5 年全因死亡生存分析与可解释性研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2023, 27(4): 373-378, 391. DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2023.04.001.

[9] Deng H, Ouyang W, Zhang L, et al. LncRNA GASL1 is downregulated in chronic heart failure and regulates cardiomyocyte apoptosis [J]. Cell Mol Biol Lett, 2019, 24: 41. DOI: 10.1186/s11658-019-0165-x.

[10] Zhang X, Gao Y, Wu H, et al. LncRNA HOX transcript antisense RNA mitigates cardiac function injury in chronic heart failure via regulating microRNA-30a-5p to target KDM3A[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(5): 1473-1485. DOI: 10.1111/jcmm.17160.

[11] Jang J, Song G, Pettit SM, et al. Epicardial HDAC3 promotes myocardial growth through a novel microrna pathway[J]. Circ Res, 2022, 131(2): 151-164. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.122.320785.

[12] Yin H, Staples SCR, Pickering JG. The fundamentals of fibroblast growth factor 9[J]. Differentiation, 2023. DOI: 10.1016/j.diff.2023.09.004.

[13] Sun J, Wang Z, Shi H, et al. LncRNA FAF inhibits fibrosis induced by angiotensinogen II via the TGFβ_1-P-Smad2/3 signalling by targeting FGF9 in cardiac fibroblasts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521(3): 814-820. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.10.175.

[14] Gu J, Shi JZ, Wang YX, et al. LncRNA FAF attenuates hypoxia/ischaemia-induced pyroptosis via the miR-185-5p/PAK2 axis in cardiomyocytes[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(10): 2895-2907. DOI: 10.1111/jcmm.17304.

[15] Halade GV, Lee DH. Inflammation and resolution signaling in cardiac repair and heart failure[J]. EBioMedicine, 2022, 79: 103992. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103992.

[16] Zhao X, Guo Y, Li L, et al. Longitudinal change of serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4, and its correlation with inflammation, multiorgan injury, and death risk in sepsis[J]. J Clin Lab Anal, 2023, 37(3): e24834. DOI: 10.1002/jcla.24834.

[17] Wen N, Zhao N, Xu H, et al. Serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 in patients with inflammatory bowel disease: Correlation with disease risk, inflammation, activity, and its variation after treatment[J]. Ir J Med Sci, 2022, 191(5): 2105-2111. DOI: 10.1007/s11845-021-02837-3.

[18] Caraballo C, Desai NR, Mulder H, et al. Clinical implications of the new york heart association classification[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(23): e014240. DOI: 10.1161/JAHA.119.014240.

[19] 卢晓操,王晓琳. 慢性心力衰竭患者微型营养评估与血红蛋白、NT-proBNP 关系及其预后评估价值分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2021, 43(2): 124-128. DOI: 10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2021.02.004.

(收稿日期:2023－11－21)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 009

论著 · 临床

血清 ITIH4 和 MCL-1 水平与急性缺血性脑卒中患者病情程度及预后的关系

席俊男, 冯松松, 薛惠元, 腾东, 陈丽薇

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200763)
作者单位: 472000　河南三门峡, 河南科技大学附属黄河医院神经内科
通信作者: 陈丽薇, E-mail: 827586182@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探究急性缺血性脑卒中(AIS)患者血清间 α 胰蛋白酶抑制因子重链 4(ITIH4)、髓样细胞白血病因子-1(MCL-1)表达与病情程度及预后的关系。**方法**　纳入 2019 年 7 月—2022 年 7 月河南科技大学附属黄河医院神经内科诊治 AIS 患者 128 例为 AIS 组。根据入院时美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分, 分为轻度亚组(NIHSS < 6 分, $n = 42$)、中度亚组(NIHSS 6 ~ < 14 分, $n = 52$)和重度亚组(NIHSS ≥ 14 分, $n = 34$)。根据出院 3 个月时 AIS 患者改良 Rankins 评分, 分为预后不良亚组(mRS 评分 > 2 分, 30 例)和预后良好亚组(mRS 评分 ≤ 2 分, 98 例)。另选取同期医院体检的健康人 70 例为健康对照组。酶联免疫吸附试验检测血清 ITIH4、MCL-1 水平。Pearson 相关分析血清 ITIH4、MCL-1 水平与病情程度及预后的相关性; 多因素 Logistic 回归分析影响 AIS 患者预后的因素; 受试者工作特征曲线分析血清 ITIH4、MCL-1 对 AIS 患者预后的预测价值。**结果**　AIS 组患者血清 ITIH4、MCL-1 水平显著低于健康对照组($t/P = 43.211/ < 0.001, 43.191/ < 0.001$); 病情程度越重, AIS 患者血清 ITIH4/MCL-1 水平越低($F/P = 107.796/ < 0.001, 297.976/ < 0.001$); 预后不良亚组梗死面积、入院 24 h NIHSS 评分高于预后良好亚组($t/P = 9.637/ < 0.001, 9.752/ < 0.001$), 血清 ITIH4、MCL-1 水平及出院 3 个月简易智能状态量表(MMSE)评分、蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分低于预后良好亚组($t/P = 26.723/ < 0.001, 11.709/ < 0.001, 13.674/ < 0.001, 10.782/ < 0.001$); AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与梗死面积、入院 24 h NIHSS 评分呈负相关($r/P = -0.705/ < 0.001, -0.685/ < 0.001; -0.761/ < 0.001, -0.619/ < 0.001$), 与出院 3 个月 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关($r/P = 0.656/ < 0.001, 0.632/ < 0.001; 0.751/ < 0.001, 0.789/ < 0.001$); 出院 3 个月 MMSE 评分高、出院 3 个月 MoCA 评分高是影响 AIS 患者预后不良的独立保护因素[0.622(0.446 ~ 0.868), 0.606(0.427 ~ 0.861)], 血清 ITIH4 低、MCL-1 低、梗死面积大、入院24 h NIHSS 评分高是危险因素[OR(95% CI) = 1.467(1.150 ~ 1.870), 1.415(1.094 ~ 1.829), 1.605(1.168 ~ 2.205), 1.765(1.233 ~ 2.526)]; 血清 ITIH4、MCL-1 及两项联合预测 AIS 预后不良的 AUC 分别为 0.811、0.835、0.923, 两项联合预测 AIS 预后不良的 AUC 大于单一指标, 差异具有统计学意义($Z = 4.258$、4.119, P 均 < 0.001)。**结论**　AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 表达下调, 两者表达水平与病情严重程度有关, 两者联合对 AIS 患者预后具有较高的预测价值。

【关键词】 急性缺血性脑卒中; 间 α 胰蛋白酶抑制因子重链 4; 髓样细胞白血病因子-1; 病情程度; 预后
【中图分类号】 R743.3　　【文献标识码】 A

The serum levels of ITIH4 and MCL-1 in patients with acute ischemic stroke and relationship with the severity and prognosis

Xi Junnan, Feng Songsong, Xue Huiyuan, Teng Dong, Chen Liwei. Department of Neurology, Henan University of Science and Technology Affiliated Yellow River Hospital, Henan Province, Sanmenxia 472000, *China*
Funding program: Henan Province Medical Science and Technology Research Program Project (*LHGJ*20200763)
Corresponding author: Chen Liwei, E-mail: 827586182@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the relationship between the expression of serum inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITIH4), myeloid cell leukemia sequence 1 (MCL-1) and disease severity and prognosis in patients with acute ischemic stroke (AIS).**Methods**　A total of 128 patients diagnosed and treated with AIS in the Department of Neurology of Henan University of Science and Technology Affiliated Yellow River Hospital from July 2019 to July 2022 as AIS group.According to the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score at admission, the patients were divided into mild subgroup (NIHSS < 6 points, $n = 42$), moderate subgroup (6 points ≤ NIHSS < 14 points, $n = 52$), and severe subgroup (NIHSS ≥ 14 points, $n = 34$). According to the modified Rankins score of AIS patients at 3 months of discharge, they were divid-

ed into poor prognosis subgroup (score > 2 points, 30 cases) and good prognosis subgroup (score ≤ 2 points, 98 cases). A total of 70 healthy individuals who underwent physical examinations in hospitals during the same period were selected as the healthy group. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect serum levels of ITIH4 and MCL-1. Pearson correlation analysis was conducted to investigate the correlation between serum levels of ITIH4 and MCL-1 with the severity and prognosis of the disease; Multivariate Logistic regression analysis was used to identify the factors that affect the prognosis of AIS patients; The predictive value of serum ITIH4 and MCL-1 for the prognosis of AIS patients was analyzed by receiver operating characteristic curves. **Results**　The serum levels of ITIH4 and MCL-1 in AIS patients were lower than those in the healthy group (t/P = 43.211/ < 0.001, 43.191/ < 0.001). The more severe the illness, the lower the serum levels of ITIH4 and MCL-1 in AIS patients (F/P = 107.796/ < 0.001, 297.976/ < 0.001). The infarction area and 24-hour NIHSS score of the poor prognosis group were higher than those of the good prognosis group (t/P = 9.637/ < 0.001, 9.752/ < 0.001), while serum ITIH4 and MCL-1 levels, 3-month Mini Intelligence State Scale (MMSE) score and Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA) score were lower than those of the good prognosis subgroup, with statistically significant differences (t/P = 26.723/ < 0.001, 11.709/ < 0.001, 13.674/ < 0.001, 10.782/ < 0.001). The serum ITIH4 and MCL-1 levels in AIS patients were negatively correlated with infarct size and 24-hour NIHSS score (r/P = −0.705/ < 0.001, −0.685/ < 0.001, −0.761/ < 0.001, −0.619/ < 0.001), while positively correlated with MMSE score and MoCA score at 3 months after discharge (r/P = 0.656/ < 0.001, 0.632/ < 0.001, 0.751/ < 0.001, 0.789/ < 0.001). High MMSE score and high MoCA score after discharge were independent protective factors affecting poor prognosis in AIS patients [*OR(95% CI)* = 0.622 (0.446 − 0.868), 0.606 (0.427 − 0.861)], while low serum ITIH4, low serum MCL-1, large infarct size and high 24-hour NIHSS score were risk factors [*OR(95% CI)* = 1.467 (1.150 − 1.870), 1.415 (1.094 − 1.829), 1.605 (1.168 − 2.205), 1.765 (1.233 − 2.526)]. The AUC of serum ITIH4, MCL-1, and their combined prediction for poor prognosis in AIS were 0.811, 0.835, and 0.923, respectively. The AUC of the two combined predictions for poor prognosis in AIS was greater than that of single indicator, and the difference was statistically significant (Z = 4.258, 4.119, all P < 0.001). **Conclusion**　The expression of serum ITIH4 and MCL-1 in AIS patients is downregulated, and their expression levels are related to the severity of the disease. The combination of the two has high predictive value for the prognosis of AIS patients.

【**Key words**】 Acute ischemic stroke; Inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4; Myeloid cell leukemia sequence 1; Degree of illness; Prognosis

脑卒中是导致中老年人死亡和残疾的主要原因之一[1]。急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)约占脑卒中的 70%,具有起病急、发展迅速及预后差等特点[2]。间 α 胰蛋白酶抑制因子重链 4(inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4, ITIH4)主要由肝脏合成并分泌,在血液中被血浆激肽释放酶切割活化,参与炎性反应、免疫及肿瘤等疾病过程[3-4]。近年来发现,ITIH4 在心脑血管疾病中发挥抗炎效应,与动脉粥样硬化程度呈负相关,是评估主要不良心血管事件的血清标志物[5]。髓样细胞白血病因子-1(myeloid cell leukemia sequence 1, MCL-1)属于 B 细胞淋巴瘤蛋白 2 家族成员,参与维持线粒体外膜的完整性,发挥抗凋亡的生物学效应[6]。研究发现,脑组织缺血再灌注损伤过程中 MCL-1 表达下调,导致神经细胞凋亡增加,是潜在的缺血性脑卒中的生物标志物[7]。目前 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 表达水平及临床意义尚不清楚。本研究通过检测 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 的表达水平,探讨两者与 AIS 病情程度及预后的关系,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　纳入 2019 年 7 月—2022 年 7 月河南科技大学附属黄河医院神经内科诊治 AIS 患者 128 例(AIS 组),男 74 例,女 54 例;年龄 37 ~ 81(63.02 ± 6.53)岁;体质量指数 18.47 ~ 26.70(23.37 ± 2.19)kg/m^2;病程 2 ~ 72(21.47 ± 6.89)h;均无明显诱因;AIS 家族史 4 例;有吸烟史 45 例;基础病:高血压 54 例,糖尿病 36 例。另选取同期医院体检的健康者 70 例为健康对照组,男 40 例,女 30 例;年龄 40 ~ 78(62.73 ± 5.86)岁;体质量指数 18.26 ~ 26.57(23.20 ± 2.11)kg/m^2;AIS 家族史 1 例;有吸烟史 26 例;基础病:高血压 30 例,糖尿病 15 例。2 组受试者性别、年龄、体质量指数、AIS 家族史、吸烟史、高血压史、糖尿病史比较,差异无统计学意义(P 均 > 0.05),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准(2019-S058),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所有病例均符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南(2018)》制定的 AIS 诊断标准[8];②头颅 MR 检查显示与临床症状相

符合的责任病灶;③首次发病或复发但既往未遗留明显后遗症;④发病 72 h 内入院;⑤年龄 > 18 岁。(2)排除标准:①短暂脑缺血发作、颅内占位、脑出血及脑外伤患者;②合并急慢性肾功能不全,或严重的心肺、肝脏疾病;③合并自身免疫性疾病或恶性肿瘤;④合并血液性疾病;⑤合并神经退行性疾病、颅内感染性疾病、肠道炎性反应;⑥发病前任何原因所致生活不能自理。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 ITIH4、MCL-1 检测:患者入院后次日清晨、健康对照组体检时留取肘静脉血 5 ml,4℃冰箱静置 2 h,离心留取上层血清。采用多功能酶标仪(美国 PerkinElmer 有限公司,型号 EnVisionXcite)以酶联免疫吸附法测定血清 ITIH4(试剂盒购自上海臻科生物科技公司,货号 ZK-3744)、MCL-1(试剂盒购自上海信裕生物科技公司,货号 XY-MCL1-Hu)。按照试剂盒说明书完成检测。

1.3.2　梗死部位及面积测定:患者入院 72 h 内采用美国 GE 公司 HDXT1.5T 磁共振仪测量颅脑梗死部位(皮质、皮质下、脑干/小脑),计算梗死面积。

1.3.3　病情程度评估:参考美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale, NIHSS)[9]对 AIS 患者入院 24 h 病情程度评估,包含意识水平检查、双眼凝视及视野情况、面部瘫痪程度、上下肢运动检查、共济失调检查、有无感觉障碍、语言表达情况、构音是否正常、有无忽视症状共计 13 个部分,范围 0 ~ 42 分,分数越高神经功能受损越严重,并分为轻度亚组(NIHSS < 6 分, $n = 42$),中度亚组(6 分 ≤ NIHSS < 14 分, $n = 52$),重度亚组(NIHSS ≥ 14 分, $n = 34$)[10]。

1.3.4　预后评估:出院后 90 d 对所有 AIS 患者进行门诊和电话随访,根据随访情况进行改良 Rankins 评分(modified Rankins score, mRS)[11],包括是否存在神经功能缺损症状、能否完成日常职责和活动、是否可独立自理,评分 0 ~ 5 分,评分越高预后越差,并分为预后不良亚组(评分 > 2 分,30 例)和预后良好亚组(评分 ≤ 2 分,98 例)。采用简易智能状态量表(mini-mental state examination, MMSE)和蒙特利尔认知评估量表(Montreal cognitive assessment, MoCA)评估 AIS 患者认知功能,评分范围均为 0 ~ 30 分,分值越低,患者认知功能越差。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据。符合正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,多组间比较采用 F 检验,多组间两两比较采用 LSD-t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用卡方检验。Pearson 相关分析 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与病情程度及预后的相关性;多因素 Logistic 回归分析影响 AIS 患者预后的危险因素;受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后的价值。$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 ITIH4、MCL-1 水平比较　AIS 组患者血清 ITIH4、MCL-1 水平分别为(24.17 ± 4.58)μg/L 和(7.03 ± 1.34)μg/L,低于健康对照组的(63.29 ± 8.17)μg/L 和(22.53 ± 3.64)μg/L,差异均有统计学意义(t = 43.211、43.191, P 均 < 0.001)。

2.2　不同病情程度 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 水平比较　血清 ITIH4、MCL-1 水平比较,轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1　不同病情程度 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 水平比较　($\bar{x} \pm s$, μg/L)

Tab. 1　Comparison of serum ITIH4 and MCL-1 levels in AIS patients with different degrees of illness

组　别	例数	ITIH4	MCL-1
轻度亚组	42	31.20 ± 4.34	10.27 ± 1.41
中度亚组	52	24.20 ± 4.69	6.96 ± 1.29
重度亚组	34	15.44 ± 4.96	3.14 ± 1.02
F 值		107.796	297.976
P 值		< 0.001	< 0.001

2.3　不同预后 AIS 患者病理特征比较　预后不良亚组梗死面积、入院 24 h NIHSS 评分高于预后良好亚组,血清 ITIH4、MCL-1 水平及出院 3 个月 MMSE 评分、MoCA评分低于预后良好亚组,差异具有统计学意义(P 均 < 0.01),见表 2。

2.4　血清 ITIH4、MCL-1 与病情程度及预后的相关性　AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与梗死面积、入院 24 h NIHSS 评分呈负相关,与出院 3 个月的 MMSE 评分、MoCA评分呈正相关(P 均 < 0.01),见表 3。

表 3　AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与病情程度的相关性

Tab. 3　Correlation between serum ITIH4, MCL-1 and severity of AIS patients

参　数	ITIH4		MCL-1	
	r 值	P 值	r 值	P 值
梗死面积	−0.705	< 0.001	−0.761	< 0.001
入院 24 h NIHSS 评分	−0.685	< 0.001	−0.619	< 0.001
出院 3 个月 MMSE 评分	0.656	< 0.001	0.751	< 0.001
出院 3 个月 MoCA 评分	0.632	< 0.001	0.789	< 0.001

2.5　影响 AIS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析　以 AIS 患者预后为因变量(预后不良 = 1,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,出院 3 个月 MMSE 评分高、出院 3 个月 MoCA 评分高是影响 AIS 患者预后不良的独立保护因素,血清 ITIH4 低、MCL-1 低、梗死面积大、入院 24 h NIHSS 评分高是危险因素(P 均 < 0.01),见表 4。

2.6　血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后的价值　绘制血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后价值的预测效能 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 ITIH4、MCL-1 及两项联合预测 AIS 预后不良的 AUC 分别为 0.811、0.835、0.923,两项联合预测 AIS 预后不良的 AUC 大于单一指标,差异有统计学意义(Z = 4.258、4.119,P 均 < 0.001),见表 5,图 1。

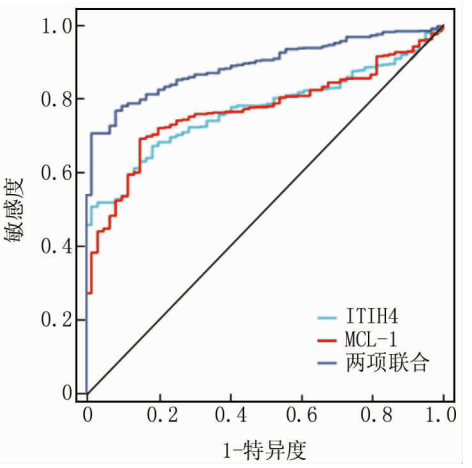


图 1　血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后不良的 ROC 曲线分析

Fig. 1　ROC curve analysis of serum ITIH4 and MCL-1 in predicting poor prognosis of AIS

表 5　血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后不良的价值

Tab. 5　Value of serum ITIH4 and MCL-1 in predicting poor prognosis of AIS

指　标	截断值	*AUC*(95% *CI*)	敏感度	特异度	约登指数
ITIH4	<7.37 μg/L	0.811(0.781 ~ 0.866)	0.681	0.815	0.496
MCL-1	<4.25 μg/L	0.835(0.794 ~ 0.870)	0.702	0.850	0.552
两项联合		0.923(0.872 ~ 0.955)	0.823	0.790	0.613

3　讨　论

脑卒中是危害我国居民健康的重大公共卫生问题,中国脑卒中病死率为 149.49/10 万,占居民总死亡率的 22.3%[12]。AIS 是脑卒中最常见的类型,病理表现为脑血栓形成或脑血管闭塞后局部缺血缺氧,引起脑细胞能量代谢障碍、钙超载及氧化应激等的发生,导致脑细胞的死亡,是中老年人致死致残的主要原因之一。深入研究 AIS 疾病机制,寻找能有效评估 AIS 预后的血清标志物,对于 AIS 的早诊断、早治疗具有较大临床意义。

ITIH4 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族成员,其作

表 2　不同预后 AIS 患者病理特征比较

Tab. 2　Comparison of pathological characteristics in AIS patients with different prognoses

项　目		预后良好亚组(n = 98)	预后不良亚组(n = 30)	χ^2/t 值	P 值
梗死面积($\bar{x} \pm s$, cm^2)		3.06 ± 1.12	5.39 ± 1.28	9.637	<0.001
梗死部位[例(%)]	皮质	44(44.90)	12(40.00)	0.224	0.894
	皮质下	30(30.61)	10(33.33)		
	脑干/小脑	24(24.49)	8(26.67)		
入院 24 h NIHSS 评分($\bar{x} \pm s$,分)		13.06 ± 3.42	20.47 ± 4.30	9.752	<0.001
出院 3 个月 MMSE 评分($\bar{x} \pm s$,分)		26.17 ± 4.06	14.69 ± 3.90	13.674	<0.001
出院 3 个月 MoCA 评分($\bar{x} \pm s$,分)		21.36 ± 2.55	15.50 ± 2.78	10.782	<0.001
ITIH4($\bar{x} \pm s$, μg/L)		30.01 ± 4.96	5.09 ± 2.12	26.723	<0.001
MCL-1($\bar{x} \pm s$, μg/L)		7.95 ± 1.69	4.02 ± 1.30	11.709	<0.001

表 4　影响 AIS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4　Multivariate Logistic regression analysis affecting the prognosis of AIS patients

因　素	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	P 值	*OR* 值	95% *CI*
ITIH4 低	0.383	0.124	9.540	<0.001	1.467	1.150 ~ 1.870
MCL-1 低	0.347	0.131	7.016	<0.001	1.415	1.094 ~ 1.829
梗死面积大	0.473	0.162	8.525	<0.001	1.605	1.168 ~ 2.205
入院 24 h NIHSS 评分高	0.568	0.183	9.634	<0.001	1.765	1.233 ~ 2.526
出院 3 个月 MMSE 评分高	−0.475	0.170	7.807	<0.001	0.622	0.446 ~ 0.868
出院 3 个月 MoCA 评分高	−0.501	0.179	7.834	<0.001	0.606	0.427 ~ 0.861

为肝源性血清糖蛋白,参与透明质酸代谢、细胞外基质代谢的调节过程,与恶性肿瘤、炎性反应及心血管疾病关系密切[13]。近年来发现,血清 ITIH4 能够改善脑组织 AIS 急性期炎性反应,与 AIS 患者神经功能康复有关,是潜在的反映 AIS 患者预后的血清生物标志物[14]。本研究中,AIS 患者血清 ITIH4 水平降低,并与患者病情程度有关,提示 ITIH4 的降低参与促进 AIS 疾病过程,与既往血清利用蛋白质谱的研究结果一致[15]。分析其原因,ITIH4 作为一种抗炎因子,在心脑血管疾病中发挥保护作用。研究表明,ITIH4 作为一种糖蛋白和蛋白酶抑制剂,通过抑制基质金属蛋白酶和促炎细胞因子介导的纤维化稳定细胞外基质,能够抑制动脉粥样硬化的发生,改善冠状动脉血管狭窄程度,降低冠心病患者主要不良心血管事件的发生风险[5,16]。AIS 患者血清 ITIH4 降低增加肿瘤坏死因子 α、白介素 6 等促炎细胞因子的分泌,加重 AIS 患者病变组织炎性反应程度,导致 AIS 患者病情加重。本研究中,AIS 患者血清 ITIH4 与 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关,提示 ITIH4 的降低加重 AIS 患者认知功能障碍。分析其原因,ITIH4 的降低促进 AIS 后神经元死亡,加重 AIS 患者认知功能障碍。有学者证实,ITIH4 能够抑制白介素 6、白介素 8 及白介素 17A 等促炎细胞因子的产生,抑制 AIS 中过量补体活化,并与细胞外组蛋白形成 ITIH4 组蛋白复合物,阻断胶质细胞中补体激活受体 C5aR1,减轻对海马神经元的细胞毒性,而小鼠大脑中动脉阻塞后 6 h 给予静脉注射 ITIH4,能显著改善 AIS 模型小鼠神经功能损伤的严重程度和认知功能[17]。本研究中,血清 ITIH4 低是影响 AIS 患者预后不良的独立危险因素,提示检测血清 ITIH4 水平有助于评估 AIS 患者预后。笔者分析,ITIH4 能够抑制中性粒细胞活化,维持中性粒细胞形态,抑制活性氧释放及中性粒细胞与血脑屏障中血管内皮细胞的黏附,发挥保护缺血脑组织的效应[17]。而 AIS 发生时,ITIH4 的降低会导致大量促炎细胞因子的产生以及过量的补体激活,引起外周炎性细胞,如中性粒细胞、单核巨噬细胞等募集到脑组织损伤部位,加重缺血脑组织炎性反应,特别是缺血半影区的炎性反应,加重神经元损伤程度,导致 AIS 患者不良预后[18]。

MCL-1 编码基因定位于人类染色体 1q21, 其作为 Bcl-2 家族成员,能够下调促凋亡蛋白 BH-3 域蛋白,具有重要的抗凋亡生物学效应,与肿瘤、DNA 损伤修复及缺血再灌注损伤等病理生理学过程关系密切。本研究中,AIS 患者血清 MCL-1 水平降低与患者病情程度有关,提示 MCL-1 的降低参与促进 AIS 疾病进展。AIS 中 MCL-1 的表达受 miR-106b-5p 的表达调控。有学者通过双荧光素酶实验证实 MCL-1 是 miR-106b-5p 的直接下游靶基因,在大脑中动脉闭塞的缺血性脑卒中大鼠模型中,脑组织中 miR-106b-5p 表达显著升高,miR-106b-5p 降低 MCL-1 和 B 细胞淋巴瘤-2 的表达,抑制超氧化物歧化酶的活性,促进神经元的氧化应激损伤及细胞凋亡,加重神经功能缺损的程度[19]。本研究中,AIS 患者血清 MCL-1 与 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关,提示 MCL-1 的降低加重 AIS 患者认知功能障碍。分析其原因,海马区在学习、认知和记忆存贮中均发挥重要的功能,MCL-1 能够通过减轻 AIS 中海马区神经元损伤,发挥神经保护效应[20-21]。研究表明,缺血性脑卒中动物模型中,缺血脑组织及血清中 MCL-1 的表达显著降低,海马 CA1 锥体神经元的存活率显著降低,大鼠出现明显的焦虑样行为和认知障碍,应用葛根素或磷脂酰肌醇 3 激酶抑制剂 LY294002 治疗后,磷脂酰肌醇 3 激酶/Akt1/糖原合成酶激酶-3β 信号通路激活,MCL-1 表达上调,减轻海马神经元缺血再灌注损伤及认知功能障碍[22]。本研究中,血清 MCL-1 低是影响 AIS 患者预后不良的独立危险因素,提示检测血清 MCL-1 水平有助于评估 AIS 患者预后。分析其原因,MCL-1 的表达降低能够抑制 Wnt/β-连环蛋白途径,增加基质金属蛋白酶 9 的产生,促进 SH-SY5Y 神经元的凋亡和炎性反应,促进脑组织水肿及神经功能缺损的程度[23]。本研究中,血清 ITIH4、MCL-1 联合预测 AIS 预后不良的诊断效能较高,表明血清 ITIH4、MCL-1 联合能够有效评估 AIS 患者的预后,临床医生可参考血清 ITIH4、MCL-1 水平,对 AIS 患者出院后 3 个月神经功能缺损情况进行预测,对于预后不良的高危患者,临床上给予积极有效的干预治疗及随访,尽可能改善患者的预后,降低致残和致死率。

综上所述,AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 水平降低,且 AIS 病情越重,血清 ITIH4、MCL-1 水平降低更为明显。血清 ITIH4、MCL-1 水平是影响 AIS 患者预后的独立因素,ITIH4、MCL-1 联合对 AIS 患者的预后具有较高的预测价值,可能为 AIS 的分层管理和预测预后提供参考。本研究也存在一定的局限,其一是患者入院时的 NIHSS 评分以及随访过程中对患者的 mRS 评分可能存在一定的评分误差。其二是入组病例数偏少且仅为单中心研究,存在一定的纳入偏倚。后续的研究中将通过增加样本量、开展多中心研究来纠正纳入偏倚,以进一步研究 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 的临床意义。

利益冲突:所有作者均声明无利益冲突

作者贡献声明

席俊男:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;冯松松:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;薛惠元:资料搜集整理;腾东:进行统计学分析;陈丽薇:课题设计,论文修改

参考文献

[1] 王陇德,吉训明,康德智,等.《中国卒中中心报告 2020》概要[J]. 中国脑血管病杂志,2021,18(11):737-743. DOI:10.3969/j.issn.1672-5921.2021.11.001.

[2] 刘源,刘星,禹红,等. 急性缺血性脑卒中患者血清 CKLF1、claudin-5 预测溶栓后出血转化的价值及与短期预后的关系[J]. 疑难病杂志,2023,22(9):902-908. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.09.002.

[3] Naryzhny S, Ronzhina N, Zorina E, et al. Construction of 2DE patterns of plasma proteins: Aspect of potential tumor markers[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 1111-1123. DOI: 10.3390/ijms231911113.

[4] Osada A, Matsumoto I, Mikami N, et al. Citrullinated inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 in arthritic joints and its potential effect in the neutrophil migration[J]. Clin Exp Immunol, 2021, 203(3): 385-399. DOI: 10.1111/cei.13556.

[5] Ravindran A, Holappa L, Niskanen H, et al. Translatome profiling reveals ITIH4 as a novel smooth muscle cell-specific gene in atherosclerosis[J]. Cardiovasc Res, 2024, 2(8): 264-272. DOI: 10.1093/cvr/cvae028.

[6] Dunham D, Viswanathan P, Gill J, et al. Expression ratios of the anti-apoptotic BCL2 family members dictate the selective addiction of Kaposi´s sarcoma-associated herpesvirus-transformed primary effusion lymphoma cell lines to MCL1[J]. J Virol, 2022, 96(23): e136022. DOI: 10.1128/jvi.01360-22.

[7] Neag MA, Mitre AO, Burlacu CC, et al. miRNA involvement in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Front Neurosci, 2022, 10(16): 9013-9026. DOI: 10.3389/fnins.2022.901360.

[8] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组,中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组. 中国急性缺血性脑卒中早期血管内介入诊疗指南 2018[J]. 中华神经科杂志,2018,51(9):683-691. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.005.

[9] Kwah LK, Diong J. National institutes of health stroke scale (NIHSS)[J]. J Physiother, 2014, 60(1): 61. DOI: 10.1016/j.jphys.2013.12.012.

[10] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志,2018,51(9):666-682. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.

[11] 张磊,刘建民. 改良 Rankin 量表[J]. 中华神经外科杂志,2012,28(5):512.

[12] 王陇德,刘建民,杨弋,等. 我国脑卒中防治仍面临巨大挑战——《中国脑卒中防治报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(2):105-119. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2019.02.001.

[13] Sun Y, Jin J, Jing H, et al. ITIH4 is a novel serum biomarker for early gastric cancer diagnosis[J]. Clin Chim Acta, 2021, 523: 365-373. DOI: 10.1016/j.cca.2021.10.022.

[14] Plubell DL, Fenton AM, Rosario S, et al. High-density lipoprotein carries markers that track with recovery from stroke[J]. Circ Res, 2020, 127(10): 1274-1287. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316526.

[15] Zhang J, Hu J, Zhao W. Longitudinal change of serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain h4 and its relation with inflammation, disease recurrence, and mortality in acute ischemic stroke patients[J]. Tohoku J Exp Med, 2023, 259(3): 221-227. DOI: 10.1620/tjem.2022.J116.

[16] Huo Y, Lai Y, Feng Q, et al. Serum ITIH4 in coronary heart disease: A potential anti-inflammatory biomarker related to stenosis degree and risk of major adverse cardiovascular events[J]. Biomark Med, 2022, 16(18): 1279-1288. DOI: 10.2217/bmm-2022-0673.

[17] McCullough LD, Royoreilly M, Lai YJ, et al. Exogenous inter-alpha inhibitor proteins prevent cell death and improve ischemic stroke outcomes in mice[J]. J Clin Invest, 2021, 131(17). DOI: 10.1172/JCI144898.

[18] Pihl R, Jensen RK, Poulsen EC, et al. ITIH4 acts as a protease inhibitor by a novel inhibitory mechanism[J]. Sci Adv, 2021, 7(2): 7381-7396. DOI: 10.1126/sciadv.aba7381.

[19] Li P, Shen M, Gao F, et al. An Antagomir to MicroRNA-106b-5p ameliorates cerebral ischemia and reperfusion injury in rats via inhibiting apoptosis and oxidative stress[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(4): 2901-2921. DOI: 10.1007/s12035-016-9842-1.

[20] 衣丽华,董岩,郑丽莎,等. 血清 MASP-3、MBL、SDMA 对老年急性缺血性脑卒中的诊断价值[J]. 疑难病杂志,2022,21(5):456-460,474. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.05.003.

[21] 刘欣,吉智,李毓新,等. 缺血性脑卒中后认知功能障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达与认知功能的关系及其预测价值[J]. 疑难病杂志,2020,19(9):869-873,879. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.002.

[22] Zhang Q, Yao M, Qi J, et al. Puerarin inhibited oxidative stress and alleviated cerebral ischemia-reperfusion injury through PI3K/Akt/Nrf2 signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2023, 22(14): 1134-1139. DOI: 10.3389/fphar.2023.1134380.

[23] Pan Q, Li K, Xue L, et al. MiR-641 exacerbates the progression of ischemic stroke through the MCL-1/Wnt/beta-Catenin pathway[J]. Clin Lab, 2022, 68(8): 7754-7768. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2021.210834.

(收稿日期:2023-10-30)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 010

论著 · 临床

血清骨钙素及 SIRT6 在急性缺血性脑卒中的表达及预后价值分析

何德英, 潘成德, 郭富饶, 江思德

基金项目: 重庆市科卫联合医学科研项目(2019MSXM077)

作者单位: 401320　重庆市巴南区人民医院检验科(何德英、郭富饶), 神经内科(潘成德、江思德)
通信作者: 郭富饶, E-mail: 123416781@ qq. com

【摘　要】 **目的**　分析急性缺血性脑卒中(AIS)患者血清骨钙素、去乙酰化酶 6(SIRT6)表达及其对临床预后的评估价值。**方法**　收集 2019 年 2 月—2021 年 2 月重庆市巴南区人民医院神经内科诊治 AIS 患者 90 例为 AIS 组, 以同期诊治的高血压或糖尿病患者 90 例为非 AIS 组, 以同期体检的健康人 90 例为健康对照组。随访 3 个月, 根据 AIS 患者预后分为预后不良亚组($n = 24$)和预后良好亚组($n = 66$)。利用酶联免疫吸附试验检测血清骨钙素及 SIRT6 水平。分析 AIS 患者预后影响因素及血清骨钙素、SIRT6 对 AIS 患者预后评估价值。**结果**　与健康对照组比较, AIS 组血清骨钙素、SIRT6 水平显著降低($t/P = 25.013/ < 0.001$、$27.571/ < 0.001$), 与非 AIS 组比较, AIS 组显著降低($t/P = 31.808/ < 0.001$、$36.440/ < 0.001$), 健康对照组及非 AIS 组比较差异无统计学意义($t/P = 2.559/0.152$、$3.113/0.067$); 重症亚组、中症亚组及轻症亚组 AIS 患者血清骨钙素及 SIRT6 依次降低($F/P = 15.234/ < 0.001$、$30.388/ < 0.001$)。与预后良好亚组比较, 预后不良亚组 AIS 患者梗死面积大、NIHSS 评分较高, 血清骨钙素及 SIRT6 较低($\chi^2/t = 8.511$、22.826、3.592、3.729, P 均 < 0.001); 梗死面积大、NIHSS 评分高是影响 AIS 患者不良预后的独立危险因素[$OR(95\%CI) = 1.397(1.141 \sim 1.709)$、$1.363(1.076 \sim 1.728)$], 血清骨钙素及 SIRT6 高是影响 AIS 患者不良预后的独立保护因素[$OR(95\%CI) = 0.770(0.610 \sim 0.973)$、$0.709(0.549 \sim 0.915)$]。血清骨钙素、SIRT6 及两项联合对 AIS 患者不良预后预测的 AUC 分别为 0.782、0.796、0.886, 两项联合的 AUC 大于各自单独预测效能($Z = 4.526$、4.209, P 均 < 0.001)。**结论**　AIS 患者血清骨钙素、SIRT6 降低, 两者与 AIS 病情严重程度有关, 可作为评估 AIS 患者预后的血清生物标志物。

【关键词】 急性缺血性脑卒中; 骨钙素; 去乙酰化酶 6; 预后
【中图分类号】 R743.3　　【文献标识码】 A

Analysis of the expression and prognostic value of serum osteocalcin and SIRT6 in acute ischemic stroke

*He Deying**, *Pan Chengde*, *Guo Furao*, *Jiang Side*. **Department of Laboratory*, *People's Hospital of Chongqing Banan District*, *Chongqing* 401320, *China*

Funding program: *Chongqing Science and Health Joint Medical Research Project* (2019*MSXM*077)

Corresponding author: *Guo Furao*, *E-mail*: 123416781@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the expression of serum osteocalcin and deacetylase 6 (SIRT6) in patients with acute ischemic stroke (AIS) and their evaluation value for clinical prognosis. **Methods**　Ninety AIS patients (AIS group) who treated in the Department of Neurology of People's Hospital Banan District from February 2019 to February 2021 were collected, 90 patients with hypertension or diabetes treated at the same time were taken as the disease control group, and 90 healthy individuals were selected as the control group. Following up for 3 months, AIS patients were divided into a poor prognosis group ($n = 24$) and a good prognosis group ($n = 66$) based on their prognosis. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum osteocalcin and SIRT6 levels. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze factors affecting poor prognosis in AIS patients. The evaluation value of various indicators in evaluating the adverse prognosis of AIS patients through receiver operating curve analysis. **Results**　Compared with the healthy control group, the serum levels of osteocalcin and SIRT6 decreased in the AIS group ($t/P = 25.013/ < 0.001$, $27.571/ < 0.001$). Compared with the non AIS group, the AIS group showed a significant decrease ($t/P = 31.808/ < 0.001$, $36.440/ < 0.001$), while there was no statistically significant difference between the healthy control group and the non AIS group ($t/P = 2.559/0.152$, $3.113/0.067$). The

serum osteocalcin and SIRT6 levels in AIS patients in the severe, moderate, and mild subgroups decreased sequentially (F/P = 15.234/ < 0.001, 30.388/ < 0.001). Compared with the subgroup with good prognosis, AIS patients in the subgroup with poor prognosis have larger infarct size, higher NIHSS score, and lower serum osteocalcin and SIRT6 (χ^2/t = 8.511, 22.826, 3.592, 3.729, all P < 0.001). Large infarct size and high NIHSS score are independent risk factors for poor prognosis in AIS patients [$OR(95\% CI)$ = 1.397 (1.141 – 1.709), 1.363 (1.076 – 1.728)]. Low serum osteocalcin and SIRT6 are independent protective factors affecting the poor prognosis of AIS patients [OR $(95\% CI)$ = 0.770 (0.610 – 0.973), 0.709 (0.549 – 0.915)]. The AUC of serum osteocalcin, SIRT6, and their combination for adverse prognosis in AIS patients were 0.782, 0.796, and 0.886, respectively. The combined AUC of the two items was greater than their individual predictive efficacy (Z = 4.526, 4.209, P < 0.001). **Conclusion**　The decrease of serum osteocalcin and SIRT6 in AIS patients are related to the severity and prognosis of AIS, and the combination of the two can improve the predictive value of poor prognosis.

【**Key words**】　Acute ischemic stroke; Osteocalcin; Deacetylase 6; Prognosis

急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)是脑卒中最常见类型,近年来其患病率呈逐渐升高的趋势[1]。AIS 一旦发生,病情急剧发展,伴随较高的致残率和致死率[2]。寻找能评估 AIS 病情及预后的生物标志物,对于改善患者预后具有重要意义[3]。骨钙素是由 BGLAP 基因编码,由非增殖期成骨细胞特异性合成和分泌,参与骨形成、葡萄糖及脂肪代谢的调节[4]。近年来发现,血清骨钙素等骨代谢指标表达失常可增加脑卒中发生的风险,是潜在的 AIS 血清标志物[5]。去乙酰化酶 6(sirtuin 6, SIRT6)具有组蛋白赖氨酸残基的脱乙酰酶作用,参与氧化应激、炎性反应、自噬及衰老等多种生物学过程[6]。研究发现,在急性脑缺血小鼠模型中,SIRT6 表达下调能够促进神经细胞凋亡,增加动物病死率,是潜在的 AIS 血清标志物[7]。本研究通过检测 AIS 患者血清骨钙素、SIRT6 表达,探讨两者对 AIS 患者临床预后的预测价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　2019 年 2 月—2021 年 2 月重庆市巴南区人民医院神经内科诊治 AIS 患者 90 例为 AIS 组,男 44 例,女 46 例,年龄 31 ~ 83 (64.35 ± 7.34)岁;体质量指数(BMI)19 ~ 27 (22.52 ± 2.28) kg/m^2,病程 1 ~ 24(6.12 ± 2.13)h;吸烟史 33 例,饮酒史 40 例;既往史:高血压 46 例,糖尿病 18 例;头颅 MR 测量梗死面积:≤4 cm^2 60 例、>4 cm^2 30 例。以同期诊治的高血压或糖尿病患者 90 例为非 AIS 组,男 48 例,女 42 例,年龄 31 ~ 78 (62.97 ± 7.81)岁;BMI 18 ~ 29 (22.53 ± 2.41) kg/m^2;高血压 60 例,糖尿病 30 例;吸烟史 30 例,饮酒史 38 例。以同期体检健康者 90 例为健康对照组,男 45 例,女 45 例,年龄 32 ~ 80 (63.82 ± 8.01)岁;BMI 18 ~ 28 (22.49 ± 2.31) kg/m^2。3 组受试者性别、年龄、BMI、吸烟史及饮酒史比较,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(KY20198134075009),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根据患者临床表现、头颅 MR 明确诊断为 AIS,同时诊断和治疗原则均符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》中的相关标准[8];②初次发病;③患者发病到入院时间小于 24 h;④无意识障碍及抽搐史;⑤临床资料完整。(2)排除标准:①既往有 AIS 病史;②入院予以静脉溶栓、血管内治疗者;③合并颅脑肿瘤、颅脑外伤、严重心律失常、心肌梗死等;④合并骨质疏松、强直性脊柱炎等疾病。

1.3　观察指标与方法

1.3.1　临床资料收集:包括性别、年龄、BMI、高血压、糖尿病等资料;检测血脂(总胆固醇、三酰甘油、高密度和低密度脂蛋白胆固醇)水平;头颅 MR 检查并计算脑梗死面积。AIS 患者入院时进行美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale, NIHSS)评分[9],评分范围 0 ~ 42 分,评分越高,神经功能缺损程度越重。根据 NIHSS 评分,分为轻症亚组(0 ~ 15 分,30 例),中症亚组(16 ~ 30 分,33 例)和重症亚组(31 ~ 42 分,27 例)。

1.3.2　血清骨钙素、SIRT6 测定:于患者入院次日清晨和健康对照组体检时采取肘静脉血 5 ml,室温静置 1 h,离心留取上层血清。以 ELx800 型酶标仪(Biotek 公司)检测血清骨钙素(酶联免疫吸附试剂盒购自上海抚生生物公司,货号 A102876)、SIRT6 水平(酶联免疫吸附试剂盒购自上海沪震生物科技公司,货号 HZ-2117)。

1.3.3　随访:患者出院第 3 个月时均接受门诊复查,应用改良 Rankin 量表(modified Rankin scale, mRS)评估其预后情况并进行分组[10],预后不良亚组(>2 分, n = 24),预后良好亚组(≤2 分, n = 66)。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析。正态分布计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组比较采

用 Student t 检验，多组比较采用 F 检验，两两比较采用 LSD-t 检验；计数资料以频数或率（%）表示，比较采用卡方检验；多因素 Logistic 回归分析 AIS 预后的影响因素；受试者工作特征曲线（ROC）分析血清骨钙素及 SIRT6 对 AIS 预后预测的效能。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　3 组血清骨钙素、SIRT6 水平比较　与健康对照组比较，血清骨钙素、SIRT6 水平 AIS 组均降低（t/P = 25.013/<0.001、27.571/<0.001），非 AIS 组比较差异无统计学意义（t/P = 2.559/0.152，3.113/0.067）；与非 AIS 组比较，AIS 组 2 项指标均降低（t/P = 31.808/<0.001、36.440/<0.001），见表 1。

表 1　3 组受试者血清骨钙素及 SIRT6 水平比较　（$\bar{x}\pm s$，μg/L）

Tab. 1　Comparison of serum osteocalcin and SIRT6 levels among three groups of subjects

组　别	例数	骨钙素	SIRT6
健康对照组	90	50.13 ± 6.31	26.16 ± 4.23
非 AIS 组	90	48.26 ± 6.54	24.28 ± 4.15
AIS 组	90	29.98 ± 7.85	11.37 ± 3.06
F 值		232.061	393.501
P 值		<0.001	<0.001

2.2　不同病情严重程度 AIS 患者血清骨钙素、SIRT6 水平比较　血清骨钙素、SIRT6 水平重症亚组 < 中症亚组 < 轻症亚组（t/P = 7.793/<0.001、3.809/<0.001，10.987/<0.001、6.684/<0.001），见表 2。

表 2　不同严重程度 AIS 患者血清骨钙素、SIRT6 水平比较　（$\bar{x}\pm s$，μg/L）

Tab. 2　Comparison of osteocalcin and SIRT6 levels in AIS patients with different severity levels

组　别	例数	骨钙素	SIRT6
轻症亚组	30	35.60 ± 7.72	14.15 ± 2.86
中症亚组	33	29.63 ± 7.91	11.64 ± 3.12
重症亚组	27	24.16 ± 7.84	7.95 ± 3.03
F 值		15.234	30.388
P 值		<0.001	<0.001

2.3　不同预后 AIS 患者临床指标比较　与预后良好亚组比较，预后不良亚组梗死面积大、NIHSS 评分较高，血清骨钙素及 SIRT6 均较低（P 均 <0.01）；其他资料 2 组比较差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 3。

表 3　不同预后 AIS 患者临床指标比较

Tab. 3　Comparison of clinical indicators in AIS patients with different prognosis

资　料	预后良好亚组（n = 66）	预后不良亚组（n = 24）	χ^2/t 值	P 值
男/女（例）	30/36	14/10	1.168	0.280
年龄（$\bar{x}\pm s$，岁）	63.98 ± 7.26	65.37 ± 7.18	0.806	0.423
BMI（$\bar{x}\pm s$，kg/m^2）	22.56 ± 2.30	22.41 ± 2.12	0.279	0.781
梗死面积（$\bar{x}\pm s$，cm^2）	3.12 ± 1.08	5.43 ± 1.29	8.511	<0.001
高血压史［例（%）］	32（48.48）	14（58.33）	0.683	0.409
糖尿病史［例（%）］	11（16.67）	7（29.17）	1.719	0.190
总胆固醇（$\bar{x}\pm s$，mmol/L）	5.16 ± 0.63	5.29 ± 0.51	0.908	0.367
三酰甘油（$\bar{x}\pm s$，mmol/L）	1.62 ± 0.33	1.65 ± 0.29	0.393	0.695
LDL-C（$\bar{x}\pm s$，mmol/L）	3.37 ± 0.80	3.52 ± 0.78	0.792	0.631
HDL-C（$\bar{x}\pm s$，mmol/L）	1.76 ± 0.31	1.73 ± 0.29	0.413	0.681
NIHSS 评分（$\bar{x}\pm s$，分）	5.89 ± 1.78	18.24 ± 3.28	22.826	<0.001
骨钙素（$\bar{x}\pm s$，μg/L）	31.91 ± 8.76	24.67 ± 7.53	3.592	0.001
SIRT6（$\bar{x}\pm s$，μg/L）	12.17 ± 3.54	9.17 ± 2.86	3.729	<0.001

2.4　AIS 患者预后影响的多因素 Logistic 回归分析　以 AIS 患者预后为因变量（不良 = 1，良好 = 0），以血清骨钙素、SIRT6、梗死面积、NIHSS 评分为自变量进行 Logistic 回归分析，结果显示：梗死面积大、NIHSS 评分高是影响 AIS 患者预后的危险因素，血清骨钙素及 SIRT6 高是影响 AIS 患者预后的保护因素（$P<0.01$），见表 4。

表 4　AIS 患者预后影响的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4　Multivariate Logistic regression analysis on the prognostic impact of AIS patients

因　素	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
梗死面积大	0.334	0.103	10.515	<0.001	1.397	1.141 ~ 1.709
NIHSS 评分高	0.310	0.121	6.564	<0.001	1.363	1.076 ~ 1.728
骨钙素高	−0.261	0.119	4.810	<0.001	0.770	0.610 ~ 0.973
SIRT6 高	−0.344	0.130	7.002	<0.001	0.709	0.549 ~ 0.915

2.5　血清骨钙素、SIRT6 水平对 AIS 患者不良预后的评估价值　绘制血清骨钙素、SIRT6 水平对 AIS 患者不良预后的评估价值 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清骨钙素、SIRT6 及两项联合对 AIS 患者不良预后的 AUC 分别为 0.782、0.796、0.886，两项联合的 AUC 大于各自单独预测效能（Z = 4.526、4.209，P 均 <0.001），见表 5、图 1。

表 5　血清骨钙素、SIRT6 水平对 AIS 患者不良预后的预测价值

Tab. 5　The predictive value of serum osteocalcin and SIRT6 levels for poor prognosis in AIS patients

变　量	截断值	AUC（95% CI）	敏感度	特异度	约登指数
骨钙素	<24.83 μg/L	0.782（0.741 ~ 0.836）	0.721	0.811	0.532
SIRT6	<9.32 μg/L	0.796（0.744 ~ 0.840）	0.707	0.812	0.519
两项联合		0.886（0.822 ~ 0.925）	0.893	0.757	0.650

注：SIRT6. 去乙酰化酶 6。

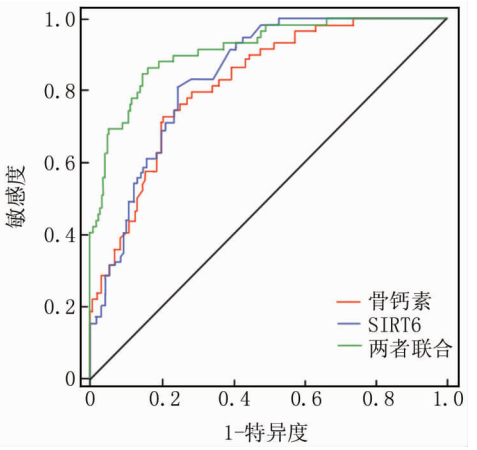


图 1　AIS 患者预后的受试者工作特征曲线分析

Fig. 1　Analysis of receiver operating characteristic curve for prognosis of AIS patients

3　讨　论

AIS 是大脑供血不足导致脑组织损伤的急性疾病，疾病早期可出现神经功能恶化，导致肢体和语言残疾，严重时可导致死亡。目前影响 AIS 患者病情严重程度及预后的因素较多，如高龄、高血压及糖尿病等[11]，但目前尚无有效评估 AIS 患者预后的血清标志物。研究影响 AIS 患者预后的因素，有利于指导临床诊治。

骨钙素是由成熟成骨细胞合成分泌的特异性非胶原蛋白，是包含 49 个氨基酸的小分子肽，不仅参与骨形成、骨转换过程，其还能够作为一种内分泌激素，参与能量代谢及雄性生殖的过程[4]。研究发现，母体骨钙素可以穿过胎盘，促进胎儿大脑神经发生和发育，促进空间学习和记忆能力[12]。本研究中，AIS 患者血清骨钙素水平明显降低，提示骨钙素表达下调促进 AIS 的发生发展。骨钙素不仅表达于成骨细胞，也存在于血管平滑肌细胞中，有学者研究表明血清骨钙素降低能够导致葡萄糖和脂肪代谢紊乱，促进血管钙化、血管动脉粥样硬化、血管内膜增生等的发生，增加 AIS 等心血管疾病的发生风险[5]。研究表明，骨钙素表达下调增加血管内皮细胞不稳定性，促进动脉血管平滑肌钙化，增加 AIS 发生的风险[13]。本研究中，AIS 患者血清骨钙素与疾病严重程度有关，病情程度越重，血清骨钙素水平越低，提示血清骨钙素水平有助于反映 AIS 患者疾病严重程度。其原因可能是骨钙素能够促进脑神经细胞代谢重编程，在脑缺血时发挥保护作用。实验研究表明，骨钙素的表达下调能够激活脯氨酸羟化酶 1，促进缺氧诱导因子 1α 的表达及葡萄糖的有氧氧化，加重脑缺血缺氧时神经元的损伤[14]。此外，骨钙素水平降低还能降低循环内皮祖细胞的水平，降低其增殖和分化为血管内皮细胞的能力，缺血区新生血管生成减少，加重 AIS 神经损伤的严重程度[13]。本研究结果表明，骨钙素高表达是影响 AIS 预后的保护因素。分析其原因，可能是骨钙素能够通过抑制 AIS 缺血半影区神经元的死亡，发挥神经保护作用。研究表明，骨钙素能够通过抑制缺血半影区神经元中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 的活性及 Gasdermin D 的表达，进而抑制神经细胞焦亡的发生，减少神经细胞的死亡及患者神经功能障碍的发生[15]。

sirtuin 家族包括 SIRT1 ~ SIRT7 共 7 个成员，具有去乙酰酶和 ADP 核糖转移酶活性[16]。SIRT6 主要位于细胞核中，是一种多功能表观遗传酶。近年研究发现，SIRT6 表达降低能够诱导血管内皮细胞衰老，抑制内皮细胞增殖及血管舒张，参与动脉粥样硬化等的发生发展[17]。本研究结果表明，AIS 患者血清 SIRT6 水平明显降低，提示 SIRT6 表达下调促进 AIS 的疾病发生。有学者证实，在原代人脑微血管内皮细胞中，缺氧条件能显著抑制 SIRT6 的表达，并在大脑中动脉闭塞的小鼠脑组织中观察到 SIRT6 表达下调的现象[18]。有研究报道，内皮细胞 SIRT6 特异性敲除的 AIS 小鼠中，脑微血管内皮细胞凋亡显著增加，引起血脑屏障功能障碍，同时半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 的过度激活促进神经元凋亡，加重动物神经功能损伤，增加动物病死率[7]。细胞实验也证实，缺氧/复氧损伤降低了原代人脑微血管内皮细胞中 SIRT6 的表达水平，损害血管内皮细胞的屏障功能，半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 表达增加，神经元存活途径 Akt 通路受到抑制，加重 AIS 病情程度[7,19-20]。本研究中，血清 SIRT6 高表达是影响 AIS 患者不良预后的独立保护因素。有学者发现，脑神经元中 SIRT6 的过度表达能够上调核因子 E2 相关因子 2 的表达，增强机体抗氧化能力，减轻了缺血再灌注损伤时氧化应激诱导的脑组织损伤和神经功能缺损，而敲除核因子 E2 相关因子 2 的表达后，SIRT6 则失去神经保护作用[21]。尚有学者发现，SIRT6 能够促进海马中小胶质细胞由 M1 型向 M2 型极化，抑制神经元的氧化应激损伤，改善手术引起的认知功能障碍[22]。因此，AIS 中 SIRT6 的表达下调参与 AIS 疾病的发生发展，是评估 AIS 患者预后的血清标志物。

综上所述，AIS 患者血清骨钙素、SIRT6 表达降低，两者的表达与 AIS 患者病情严重程度有关，是影响 AIS 患者不良预后的独立因素。临床医师可根据 AIS 患者血清骨钙素及 SIRT6 水平，对不同预后 AIS 患者

进行风险分层,优化不良预后的 AIS 患者的临床治疗方案,以减轻患者神经功能损伤程度,改善患者临床预后。此外,针对骨钙素、SIRT6 的临床治疗药物能否有效治疗 AIS,改善 AIS 患者预后,值得今后进行深入研究。本研究为单中心研究,尚可能存在潜在影响血清骨钙素、SIRT6 水平的其他疾病,有待今后设计多中心大样本临床试验,排除可能的混杂因素进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

何德英、郭富饶:提出研究思路,设计研究方案,实施研究过程,分析试验数据,论文撰写;潘成德:实施研究过程,资料搜集整理,论文撰写;江思德:课题设计,进行统计学分析

参考文献

[1] Feske SK. Ischemic stroke[J]. Am J Med, 2021, 134(12): 1457-1464. DOI: 10.1016/j.amjmed.2021.07.027.

[2] Ho JP. Acute ischemic stroke: Emergency department management after the 3-hour window[J]. Emerg Med Pract, 2021, 23(Suppl 6): 1-33. DOI: 10.1016/j.ncl.2021.02.001.

[3] Mendelson SJ, Prabhakaran S. Diagnosis and management of transient ischemic attack and acute ischemic stroke: A review[J]. JAMA, 2021, 325(11): 1088-1098. DOI: 10.1001/jama.2020.26867.

[4] Berger JM, Karsenty G. Osteocalcin and the physiology of danger[J]. FEBS Lett, 2022, 596(5): 665-680. DOI: 10.1002/1873-3468.14259.

[5] Tan LM, Wang L, Chen JJ, et al. Diagnostic performance of bone metabolic indexes for the detection of stroke[J]. Saudi Med J, 2017, 38(1): 30-35. DOI: 10.15537/smj.2017.1.15813.

[6] Korotkov A, Seluanov A, Gorbunova V. Sirtuin 6: Linking longevity with genome and epigenome stability[J]. Trends Cell Biol, 2021, 31(12): 994-1006. DOI: 10.1016/j.tcb.2021.06.009.

[7] Liberale L, Gaul DS, Akhmedov A, et al. Endothelial SIRT6 blunts stroke size and neurological deficit by preserving blood-brain barrier integrity: A translational study[J]. Eur Heart J, 2020, 41(16): 1575-1587. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz712.

[8] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 17-27. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.

[9] Kwah LK, Diong J. National institutes of health stroke scale (NIHSS)[J]. J Physiother, 2014, 60(1): 61-73. DOI: 10.1016/j.jphys.2013.12.012.

[10] Quinn TJ, Dawson J, Walters MR, et al. Reliability of the modified Rankin Scale: A systematic review[J]. Stroke, 2009, 40(10): 3393-3395. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.557256.

[11] 郭四平,杨丽慧,董万利. 急性缺血性脑卒中患者预后相关危险因素分析[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(7): 4-10. DOI: 10.7619/jcmp.20201527.

[12] Lattanzi W, Parolisi R, Barba M, et al. Osteogenic and neurogenic stem cells in their own place: Unraveling differences and similarities between niches[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9(5): 455-463. DOI: 10.3389/fncel.2015.00455.

[13] Roumeliotis S, Roumeliotis A, Dounousi E, et al. Biomarkers of vascular calcification in serum[J]. Adv Clin Chem, 2020, 98(8): 91-147. DOI: 10.1016/bs.acc.2020.02.004.

[14] Wu J, Dou Y, Liu W, et al. Osteocalcin improves outcome after acute ischemic stroke[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(1): 387-396. DOI: 10.18632/aging.102629.

[15] Duan Y, Li H, Dong X, et al. VEGF mitigates bisphosphonate-induced apoptosis and differentiation inhibition of MC3T3-E1 cells[J]. Exp Ther Med, 2022, 23(2): 130-139. DOI: 10.3892/etm.2021.11053.

[16] Zeng C, Chen M. Progress in nonalcoholic fatty liver disease: SIRt family regulates mitochondrial biogenesis[J]. Biomolecules, 2022, 12(8): 1079-1085. DOI: 10.3390/biom12081079.

[17] Grootaert M, Finigan A, Figg NL, et al. SIRT6 protects smooth muscle cells from senescence and reduces atherosclerosis[J]. Circ Res, 2021, 128(4): 474-491. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.318353.

[18] Zhang W, Wei R, Zhang L, et al. Sirtuin 6 protects the brain from cerebral ischemia/reperfusion injury through NRF2 activation[J]. Neuroscience, 2017, 366(9): 95-104. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.09.035.

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

[20] 衣丽华,董岩,郑丽莎,等. 血清 MASP-3、MBL、SDMA 对老年急性缺血性脑卒中的诊断价值[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(5): 456-460, 474. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.05.003.

[21] He Y, Yang G, Sun L, et al. SIRT6 inhibits inflammatory response through regulation of NRF2 in vascular endothelial cells[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 99(8): 1079-1086. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107926.

[22] Wang Y, Cai Z, Zhan G, et al. Caffeic acid phenethyl ester suppresses oxidative stress and regulates M1/M2 microglia polarization via Sirt6/Nrf2 pathway to mitigate cognitive impairment in aged mice following anesthesia and surgery[J]. Antioxidants (Basel), 2023, 12(3): 714-723. DOI: 10.3390/antiox12030714.

(收稿日期:2023-11-01)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 011

论著 · 临床

血清 AAT、RANTES、Resistin 水平与大动脉粥样硬化型急性缺血性卒中患者病情及预后的关系研究

张菲菲，赵佳庆，张海刚，燕斌，张东亚

基金项目：陕西省 2021 年科技计划青年项目（2021QJ-716）
作者单位：712000　咸阳，延安大学咸阳医院神经内科
通信作者：张东亚，E-mail：931903459@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探讨血清 α-1 抗胰蛋白酶（AAT）、受激活调节正常 T 细胞表达和分泌因子（RANTES）、抵抗素（Resistin）水平与大动脉粥样硬化（LAA）型急性缺血性卒中（AIS）患者病情及预后的关系。**方法**　选取 2022 年 1 月—2023 年 1 月延安大学咸阳医院神经内科收治的 LAA 型 AIS 患者 159 例纳入 AIS 组，根据入院时美国国立卫生研究院卒中量表（NIHSS）评分分为轻度亚组 31 例，中度亚组 72 例，重度亚组 56 例，另选取同期医院体检健康志愿者 84 例纳入健康对照组。随访 90 d 后，根据改良 Rankin 量表评分将 LAA 型 AIS 患者分为预后不良亚组 61 例和预后良好亚组 98 例。多因素 Logistic 回归分析 LAA 型 AIS 患者预后影响因素，受试者工作特征（ROC）曲线分析血清 AAT、RANTES、Resistin 水平预测 LAA 型 AIS 患者预后的价值。**结果**　与健康对照组比较，AIS 组血清 AAT、RANTES、Resistin 水平升高（t/P = 16.897/ < 0.001、20.334/ < 0.001、17.775/ < 0.001）；血清 AAT、RANTES、Resistin 水平在轻度亚组、中度亚组、重度亚组中依次升高（F/P = 146.195/ < 0.001、192.910/ < 0.001、194.396/ < 0.001）。随访 90 d，LAA 型 AIS 患者 159 例预后不良发生率为 38.36%（61/159）。影响 LAA 型 AIS 患者预后的独立危险因素为年龄增加、合并糖尿病、入院时 NIHSS 评分增加、AAT 升高、RANTES 升高、Resistin 升高［OR（95% CI）= 1.078（1.019 ~ 1.141）、2.774（1.010 ~ 7.622）、1.106（1.054 ~ 1.160）、1.597（1.057 ~ 2.414）、1.136（1.059 ~ 1.219）、1.097（1.035 ~ 1.163）］；血清 AAT、RANTES、Resistin 水平及三者联合预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的 ROC 曲线下面积分别为 0.769、0.771、0.766、0.897，三者联合的曲线下面积大于单独预测（Z/P = 3.484/0.001、3.416/0.001、3.230/0.001）。**结论**　LAA 型 AIS 患者血清 AAT、RANTES、Resistin 水平升高与病情加重和预后不良密切相关，血清 AAT、RANTES、Resistin 水平联合预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的价值较高。

【关键词】 急性缺血性卒中，大动脉粥样硬化型；α-1 抗胰蛋白酶；受激活调节正常 T 细胞表达和分泌因子；抵抗素；预后

【中图分类号】 R743.3　　【文献标识码】 A

Relationship between serum AAT, RANTES, and Resistin levels and the condition and prognosis of patients with acute ischemic stroke with atherosclerosis of large arteries

Zhang Feifei, Zhao Jiaqing, Zhang Haigang, Yan Bin, Zhang Dongya. Department of Neurology, Xianyang Hospital, Yan'an University, Shaanxi Province, Xianyang 712000, *China*
Funding program: Shaanxi Province 2021 *Science and Technology Program Youth Project* (2021*QJ*-716)
Corresponding author: Zhang Dongya, E-mail: 931903459@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the relationship between serum alpha-1 antitrypsin (AAT), regulated upon activation normal T cell expressed and secreted (RANTES), and Resistin levels and the condition and prognosis of patients with large artery atherosclerosis (LAA)-type acute ischemic stroke (AIS). **Methods**　One hundred and fifty-nine patients with LAA-type AIS were admitted to the Department of Neurology, Xianyang Hospital, Yan'an University, from January 2022 to January 2023, and included them in the AIS group. 31 patients were divided into mild subgroups, 72 cases of moderate subgroups, and 56 cases of severe subgroups according to the score of the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) at the time of hospitalization. In addition, 84 cases of healthy volunteers who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected to be included in the healthy control group. After 90 d of follow-up, patients with LAA-type AIS were categorized into 61 cases of poor prognosis subgroup and 98 cases of good prognosis subgroup

according to the modified Rankin Scale score. Multifactorial Logistic regression was used to analyze the factors affecting the prognosis of LAA-type AIS patients, and receiver operating characteristics (ROC) curves were analyzed to predict the prognostic value of serum AAT, RANTES, and Resistin levels in LAA-type AIS patients. **Results** Compared with the healthy control group, and the serum AAT, RANTES, and Resistin levels were elevated in the AIS group (t/P = 16.897/ < 0.001, 20.334/ < 0.001, and 17.775/ < 0.001). AAT, RANTES, and Resistin levels were elevated in mild, moderate, and severe subgroups in that order (F/P = 146.195/ < 0.001, 192.910/ < 0.001, 194.396/ < 0.001). At 90 d of follow-up, the incidence of poor prognosis in 159 patients with LAA-type AIS was 38.36%. Independent risk factors affecting the prognosis of patients with LAA type AIS were increased age, diabetes mellitus, increased NIHSS score on admission, elevated AAT, elevated RANTES, and elevated Resistin [*OR(95% CI)* = 1.078 (1.019 – 1.141), 2.774 (1.010 – 7.622), 1.106 (1.054 – 1.160), 1.597 (1.057 – 2.414), 1.136 (1.059 – 1.219), 1.097 (1.035 – 1.163)]; serum AAT, RANTES, Resistin levels and the areaunder the curve of the combination of the three predicted poor prognosis in patients with LAA-type AIS were 0.769, 0.771, 0.766, and 0.897, respectively, and the area under the curve of the combination of the three was greater than that predicted alone (Z/P = 3.484/0.001, 3.416/0.001, 3.230/0.001). **Conclusion** Elevated serum AAT, RANTES, and Resistin levels in LAA-type AIS patients are closely associated with exacerbation and poor prognosis, and the combination of serum AAT, RANTES, and Resistin levels is of high value in predicting the poor prognosis of LAA-type AIS patients.

【Key words】 Acute ischemic stroke, atherosclerotic type of large arteries; Alpha-1 antitrypsin; Activated regulation of normal T-cell expression and secretion of factors; Resistin; Prognosis

急性缺血性卒中(acute ischemic stroke, AIS)占所有卒中的 80%,是导致我国城乡居民疾病死亡的主要原因之一[1-2]。AIS 可分为 5 种亚型,其中大动脉粥样硬化(LAA)型 AIS 是 AIS 发生率最高的亚型,其预后较差,脑血管主干或分支狭窄或闭塞较其他类型更严重[3]。研究表明,炎性反应在动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)过程中扮演重要角色[4]。α-1 抗胰蛋白酶(AAT)是一种有效的抗蛋白酶,能通过调控炎性信号通路介导炎性反应,在 AS 过程中发挥重要作用[5]。研究发现,AAT 编码基因 SERPINA1 多态性与 LAA 型 AIS 风险增加有关[6]。受激活调节正常 T 细胞表达和分泌因子(RANTES)是一种化学引诱物,能通过趋化或刺激炎性介质释放促进 AS 发生[7]。研究显示,RANTES 与冠状动脉粥样硬化性心脏病患者病情严重程度相关[8]。抵抗素(resistin)是一种脂肪肽激素,能通过增加多种致炎因子表达促进炎性反应发生,进而参与 AS 过程[9]。既往研究指出,Resistin 与 AIS 患者溶栓后出血转化有关[10]。基于此,本研究探讨血清 AAT、RANTES、Resistin 与 LAA 型 AIS 患者病情及预后的关系,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2022 年 1 月—2023 年 1 月延安大学咸阳医院神经内科收治 LAA 型 AIS 患者 159 例纳入 AIS 组,男 108 例,女 51 例,年龄 34 ~ 85(63.74 ± 9.93)岁;根据入院时美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分[11]分为轻度亚组(≤4 分,31 例)、中度亚组(5 ~ 20 分,72 例)、重度亚组(≥21 分,56 例),再根据改良 Rankin 量表(mRS)评分将 LAA 型 AIS 患者分为预后不良亚组、预后良好亚组。另选取同期医院体检健康志愿者 84 例纳入健康对照组,男 59 例,女 25 例,年龄 32 ~ 83(63.14 ± 8.32)岁。2 组性别和年龄比较差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(YDXY-KY-2021-617),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①年龄≥18 岁;②首次脑卒中;③符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》诊断标准[12],且 Org 10172 急性脑卒中治疗试验分型为 LAA 型[13];④发病至入院时间 < 72 h。(2)排除标准:①伴有心、肝、肾、肺等重要脏器功能衰竭;②伴有全身炎性疾病、自身免疫性疾病;③脑出血史、颅脑外伤史、颅内手术史;④合并阿尔茨海默病、帕金森等其他神经系统疾病;⑤近期接受大手术或入院前使用免疫抑制剂、抗凝药物;⑥先天性 AAT 缺乏症;⑦妊娠期、哺乳期妇女;⑧合并恶性肿瘤。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　临床资料收集:收集性别、年龄、血管危险因素(饮酒、吸烟、心房颤动、冠心病、糖尿病、高脂血症、高血压)、卒中分布、入院时 NIHSS 评分,实验室检查指标(总胆固醇、三酰甘油、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、血肌酐、血尿酸、血尿素氮)等。

1.3.2　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平检测:抗凝管收集 LAA 型 AIS 患者入院时和健康对照组体检时静脉血 3 ml,离心留取血清待测,使用上海酶研生物科

技有限公司提供的酶联免疫吸附法试剂盒(编号 EK-H10247、EK-H11666、EK-H10611)检测血清 AAT、RANTES、Resistin 水平。

1.3.3　随访:患者出院后通过门诊复查方式进行为期 90 d 的随访,使用 mRS 评分评估预后情况[14],总分值 0~5 分,>2 分为预后不良、≤2 分为预后良好。

1.4　统计学方法　使用 SPSS 28.0 和 MedCalc19.3 版本软件分析处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,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 组间与多组间比较采用 t 与 F 检验,组间两两比较采用 LSD 检验;偏态分布计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,2 组间比较采用 U 检验;多因素 Logistic 回归分析 LAA 型 AIS 患者预后影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 AAT、RANTES、Resistin 水平预测 LAA 型 AIS 患者预后的价值。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　健康对照组、AIS 组血清 AAT、RANTES、Resistin 水平比较　与健康对照组比较,AIS 组血清 AAT、RANTES、Resistin 水平升高($P<0.01$),见表 1。

2.2　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平在不同病情 AIS 患者中比较　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平在轻度亚组、中度亚组、重度亚组患者中依次升高(P 均 <0.01),见表 2。

表 1　健康对照组、AIS 组血清 AAT、RANTES、Resistin 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum AAT, RANTES, and Resistin levels in the healthy control group and AIS group

组　别	例数	AAT(g/L)	RANTES(μg/L)	Resistin(μg/L)
健康对照组	84	2.92 ±0.46	15.89 ±4.45	18.91 ± 4.83
AIS 组	159	5.54 ±1.38	35.50 ±8.22	39.68 ±10.11
t 值		16.897	20.334	17.775
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 2　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平在不同病情 LAA 型 AIS 患者中比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Comparison of serum AAT, RANTES, and Resistin levels in patients with different conditions of LAA type AIS

组　别	例数	AAT(g/L)	RANTES(μg/L)	Resistin(μg/L)
轻度亚组	31	3.76 ±0.92	24.93 ±3.94	26.42 ±5.01
中度亚组	72	5.30 ±0.80	34.63 ±4.74	39.01 ±5.07
重度亚组	56	6.83 ±0.78	43.50 ±3.99	49.22 ±5.94
F 值		146.195	192.910	194.396
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3　不同预后 LAA 型 AIS 患者临床资料比较　随访 90 d, LAA 型 AIS 患者 159 例中预后不良 61 例(38.36%)。与预后良好亚组比较,预后不良亚组年龄更大,糖尿病比例、入院时 NIHSS 评分和血清 AAT、RANTES、Resistin 水平更高($P<0.05$),其他资料 2 亚组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3　预后不良亚组与预后良好亚组患者临床资料比较

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

项　目		预后良好亚组(n=98)	预后不良亚组(n=61)	$\chi^2/t/U$ 值	P 值
性别[例(%)]	男	68(69.39)	40(65.57)	0.251	0.616
	女	30(30.61)	21(34.43)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		61.51 ±10.21	67.33 ±8.38	3.735	<0.001
血管危险因素[例(%)]	饮酒	36(36.73)	23(37.70)	0.015	0.902
	吸烟	39(39.80)	27(44.26)	0.309	0.578
	心房颤动	5(5.10)	4(6.56)	0.001	0.973
	冠心病	8(8.16)	5(8.20)	0.000	1.000
	糖尿病	13(13.27)	18(29.51)	6.320	0.012
	高脂血症	42(42.86)	28(45.90)	0.141	0.707
	高血压	46(46.94)	38(62.30)	3.558	0.059
入院时 NIHSS 评分[$M(Q_1, Q_3)$,分]		11.00(3.00,20.00)	27.00(10.50,31.00)	5.605	<0.001
实验室检查	TC($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	4.12 ±0.81	4.29 ±0.78	1.305	0.194
	TG[$M(Q_1, Q_3)$,mmol/L]	1.43(0.65,2.40)	1.60(0.70,2.80)	1.516	0.129
	HDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.11 ±0.20	1.06 ±0.32	1.213	0.227
	LDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	2.46 ±0.69	2.59 ±0.71	1.142	0.255
	SCr($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	75.33 ±30.34	80.53 ±33.64	1.008	0.315
	UA($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	274.36 ±97.33	293.42 ±99.07	1.193	0.235
	BUN($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	4.95 ±1.75	5.26 ±1.86	1.057	0.292
	AAT($\bar{x} \pm s$,g/L)	5.13 ±1.10	6.20 ±1.52	5.113	<0.001
	RANTES($\bar{x} \pm s$,μg/L)	32.71 ±7.77	39.99 ±6.86	6.002	<0.001
	Resistin($\bar{x} \pm s$,μg/L)	36.31 ±9.21	45.08 ±9.16	5.849	<0.001

2.4　影响 LAA 型 AIS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析　以 LAA 型 AIS 患者预后(赋值:不良/良好 = 1/0)为因变量,表 3 中 $P<0.05$ 项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:年龄增加、合并糖尿病、入院时 NIHSS 评分增加、AAT 升高、RANTES 升高、Resistin 升高是影响 LAA 型 AIS 患者预后的独立危险因素($P<0.05$),见表 4。

表 4　影响 LAA 型 AIS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4　Multifactorial Logistic regression analysis affecting the prognosis of patients with LAA type AIS

因　素	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
年龄增加	0.075	0.029	6.921	0.009	1.078	1.019 ~ 1.141
合并糖尿病	1.020	0.516	3.916	0.048	2.774	1.010 ~ 7.622
NIHSS 评分增加	0.101	0.025	16.720	<0.001	1.106	1.054 ~ 1.160
AAT 升高	0.468	0.211	4.939	0.026	1.597	1.057 ~ 2.414
RANTES 升高	0.128	0.036	12.735	<0.001	1.136	1.059 ~ 1.219
Resistin 升高	0.093	0.030	9.683	0.002	1.097	1.035 ~ 1.163

2.5　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的价值　绘制血清 AAT、RANTES、Resistin 水平单独与三者联合预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC)。结果显示:血清 AAT、RANTES、Resistin 水平及三者联合预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的 AUC 分别为 0.769、0.771、0.766、0.897,三者联合的 AUC 大于血清 AAT、RANTES、Resistin 水平单独预测(Z = 3.484、3.416、3.230,P 均 = 0.001),见表 5、图 1。

表 5　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平对 LAA 型 AIS 患者预后不良的预测价值

Tab. 5　Predictive value of serum AAT, RANTES, and Resistin levels for poor prognosis in patients with LAA-type AIS

指　标	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
AAT	>5.47 g/L	0.769	0.695 ~ 0.832	0.852	0.694	0.546
RANTES	>36.61 μg/L	0.771	0.697 ~ 0.833	0.803	0.776	0.579
Resistin	>40.25 μg/L	0.766	0.693 ~ 0.830	0.771	0.714	0.485
三者联合		0.897	0.839 ~ 0.940	0.918	0.776	0.694

3　讨　论

AIS 是脑血管循环障碍引起脑血管堵塞或狭窄,使脑血管供血区域脑组织缺血、坏死而发生的突发局限性或弥漫性神经功能缺损疾病,LAA 型 AIS 是指颅内外大动脉或其皮质分支因 AS 所致的 AIS,具有起病急、进展迅速和残疾、病死率高的特点[13-14]。尽管静脉溶栓对 LAA 型 AIS 有较好的效果,但并非所有患者均能在时间窗内入院或具备静脉溶栓条件,同时部分患者由于多种原因如血脑屏障损伤、缺血再灌注损伤、凝血功能紊乱等,可引起神经功能再次恶化,仍然面临较高的残疾和死亡风险[15]。因此迫切需要寻找可靠的生物标志物,以及时、准确地评估 LAA 型 AIS 患者病情和预后。

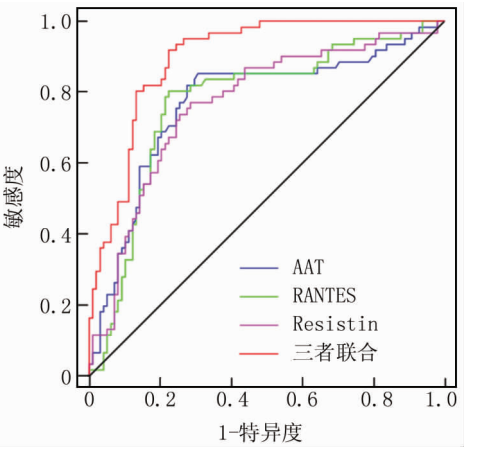


图 1　血清 AAT、RANTES、Resistin 水平预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curves of serum AAT, RANTES, and Resistin levels for predicting poor prognosis in patients with LAA-type AIS

AS 是 LAA 型 AIS 的重要病理特点,其过程涉及炎性反应、脂代谢紊乱、氧化应激、内皮细胞损伤等多种机制,其中炎性反应、氧化应激引起的血管内皮损伤是 AS 始动因素[4]。AAT 是由肝脏合成和分泌的一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,能通过减少中性粒细胞炎性介质释放和抑制核因子-κB 信号通路活化而发挥抗炎作用,急性期 AAT 升高是对抗炎性反应的表现[16]。AAT 能通过阻止炎性细胞损伤血管内皮和侵入斑块,从而发挥抗 AS 作用[5]。在缺氧/复氧诱导人脐静脉内皮细胞损伤模型中,外源性 AAT 能以剂量依赖性方式对抗氧化应激,抑制内皮细胞损伤[17]。富含 AAT 的高密度脂蛋白颗粒相比天然高密度脂蛋白颗粒能发挥更强的抗炎作用,这赋予了高密度脂蛋白更强的抗 AS 特性[18]。最近一项前瞻性研究指出[19],血清 AAT 水平与 LAA 型 AIS 患者动脉粥样硬化负荷呈正相关。然而关于其对 LAA 型 AIS 患者的意义尚未可知。本研究结果显示,LAA 型 AIS 患者血清 AAT 水平随着病情加重而进一步升高,并且会增加 LAA 型 AIS 患者预后不良风险。原因可能是 AAT 与冠状动脉狭窄程度呈正相关,因而影响 AIS 发生;且 AAT 作为急性期糖蛋白在炎性反应过程中升高,介导炎性反应过程,加重

患者血栓负荷和缺血后神经组织损伤,导致患者病情加重和预后不良[20]。

趋化因子作为一类能使免疫细胞具备定向趋化功能的小细胞因子,参与 AIS 发生发展全过程[21]。RANTES 是由活化的 T 细胞、上皮细胞等分泌的一种趋化因子,能通过结合其受体 C-C 基序趋化因子受体 1/3/4/5 等趋化免疫细胞至炎性反应部分,释放炎性介质促进炎性反应发展[7]。高脂饮食喂养的小鼠模型中,RANTES 能趋化更多的中性粒细胞、巨噬细胞至主动脉部位,增强炎性反应促进 AS 病变发生[22]。同时 RANTES 也能趋化单核细胞迁移至血管壁,损伤血管内皮以加速 AS 形成[23]。有研究报道[24],血清 RANTES水平升高是脑动脉粥样硬化狭窄发生的独立危险因素。本研究结果显示,LAA 型 AIS 患者血清 RANTES 水平升高与病情加重有关,并且会增加患者预后不良风险。可能是 RANTES 升高能结合 C-C 基序趋化因子受体 1/3/4/5 通过炎性反应促进 AS 形成,进而加重脑组织缺血坏死程度,导致患者病情加重和预后不良;同时 RANTES 还能促进小胶质细胞、星形胶质细胞等神经细胞炎性介质释放,促使患者炎性反应加重,进而加重脑缺血后血脑屏障破坏,导致病情恶化和预后不良风险增加[25]。

Resistin 是主要由单核细胞向巨噬细胞分化时表达的一种富含半胱氨酸分泌性蛋白,能通过增加单核细胞趋化蛋白 1、细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 等促炎细胞因子表达参与炎性反应过程[9]。在高脂喂养建立的蛋白 E 基因敲除小鼠 AS 模型中,下调 Resistin 能减轻炎性反应以抑制 AS 进展[26]。同时 Resistin 还具有调节血管平滑肌细胞表型转换的作用,能通过诱导血管平滑肌细胞增殖和迁移促进 AS 发生[27]。近期 Lee 等[28]研究发现,AIS 患者血清 Resistin 水平升高,且相比其他 TOAST 亚型患者,LAA 型 AIS 患者血清 Resistin 水平更高。本研究结果显示,LAA 型 AIS 患者血清 Resistin 水平随着病情加重而升高,且与预后不良发生有关。原因可能是 Resistin 升高能上调促炎细胞因子,通过炎性反应和诱导血管平滑肌细胞表型转换促进 AS 发展,加重患者血栓负荷导致病情加重和预后不良。此外,作为诱导炎性反应的关键因子,Resistin 还能激活 Toll 样受体信号通路,增强神经系统炎性反应,加剧脑缺血后神经功能缺损,从而加重病情并影响预后[29]。

本研究结果还发现,年龄增加、合并糖尿病、入院时 NIHSS 评分升高也是影响 LAA 型 AIS 患者预后的独立危险因素,考虑原因可能是年龄越大的患者可能伴有多种基础疾病,加之脑血管功能更差,因此预后不良风险高;糖尿病可通过代谢紊乱引起炎性反应、氧化应激等加剧神经损伤,导致预后不良;NIHSS 评分升高反映神经功能缺损程度更严重,因此预后更差[30]。最后本研究结果显示,血清 AAT 预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的 AUC 为 0.769,血清 RANTES 预测的 AUC 为 0.771,血清 Resistin 预测的 AUC 为 0.766,AAT、RANTES、Resistin 联合预测 LAA 型 AIS 患者预后不良的 AUC 为 0.897,大于血清 AAT、RANTES、Resistin 水平单独预测。说明联合检测血清 AAT、RANTES、Resistin 水平能进一步提升其预测价值。

综上所述,LAA 型 AIS 患者血清 AAT、RANTES、Resistin 水平升高与病情加重密切相关,并且是影响 LAA 型 AIS 患者预后的独立危险因素,血清 AAT、RANTES、Resistin 水平联合检测对 LAA 型 AIS 患者预后不良的预测价值较高。本研究存在以下不足之处:(1)影响 LAA 型 AIS 患者预后的因素复杂,本研究选择的因素可能存在一定局限性,且本研究属于单次检测,未考虑 LAA 型 AIS 患者进展和治疗过程中血清 AAT、RANTES、Resistin 水平的动态变化,期待未来纳入更多因素,完善检测时间节点,进一步加以分析。(2)本研究属于单中心研究,样本来源单一,且样本量不大,随访时间较短,可能存在选择偏倚,期待未来能够有大样本量、多中心的真实世界研究及更长的随访时间以进一步验证。(3)本研究仅探究了血清 AAT、RANTES、Resistin 水平与 LAA 型 AIS 患者病情及预后的关系,其具体作用机制还需更多临床和基础实验进一步阐明。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张菲菲:提出研究思路,实施研究过程,论文撰写和修改;赵佳庆:实施研究过程,资料搜集整理;张海刚、燕斌:数据收集和统计学分析;张东亚:设计研究方案,论文审核

参考文献

[1] 中国卒中学会,中国卒中学会神经介入分会,中华预防医学会卒中预防与控制专业委员会介入学组. 急性缺血性卒中血管内治疗中国指南 2023[J]. 中国卒中杂志,2023,18(6):684-711. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2023.06.010.

[2] 中国心血管健康与疾病报告编写组.《中国心血管健康与疾病报告 2022》概要[J]. 中国介入心脏病学杂志,2023,31(7):485-508. DOI:10.3969/j.issn.1004-8812.2023.07.002.

[3] 赵洁,朱晓岩,张萌,等. 血清尿酸/白蛋白比值与大动脉粥样硬化性卒中及其严重程度和短期转归的相关性[J]. 国际脑血管病杂志,2023,31(5):332-338. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2023.05.003.

[4] Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, et al. Patho-

physiology of atherosclerosis[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3346. DOI: 10.3390/ijms23063346.

[5] 谭迎,钟建开. α1-抗胰蛋白酶与动脉粥样硬化及冠心病关系的研究进展[J]. 山东医药, 2018, 58(17): 94-97. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.17.030.

[6] Liu Q, Cui P, Zheng K, et al. SERPINA1 gene expression in whole blood links the rs6647 variant G allele to an increased risk of large artery atherosclerotic stroke[J]. FASEB J, 2020, 34(8): 10107-10116. DOI: 10.1096/fj.201903197R.

[7] Bakogiannis C, Sachse M, Stamatelopoulos K, et al. Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis[J]. Cytokine, 2019, 122: 154157. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.09.013.

[8] 郑迎辉,程光存,徐琪,等. 血清 T 细胞激活性低分泌因子、补体 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 1、人中性粒细胞防御素 1-3 在冠状动脉粥样硬化性心脏病中表达及意义[J]. 临床军医杂志, 2021, 49(10): 1157-1159. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2021.10.26.

[9] Zhou L, Li JY, He PP, et al. Resistin: Potential biomarker and therapeutic target in atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2021, 512: 84-91. DOI: 10.1016/j.cca.2020.11.010.

[10] 王洪科,尹刘杰,李明哲. 血浆 Lp-PLA2、抵抗素、脂联素水平对急性缺血性脑卒中病人溶栓后出血转化的预测价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(10): 1875-1878. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2022.10.036.

[11] Kwah LK, Diong J. National institutes of health stroke scale (NIHSS)[J]. J Physiother, 2014, 60(1): 61. DOI: 10.1016/j.jphys.2013.12.012.

[12] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.

[13] 季一飞,余静梅. 不同 TOAST 分型急性缺血性脑卒中诊疗指南及专家共识解读[J]. 西部医学, 2022, 34(11): 1565-1570. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.11.002.

[14] 刘娜,任建发,邸卫英,等. 大动脉粥样硬化型急性脑梗死患者预后的相关危险因素研究[J]. 中国综合临床, 2022, 38(6): 521-526. DOI: 10.3760/cma.j.cn101721-20220801-000329.

[15] 国家神经系统疾病医疗质量控制中心,中国卒中学会. 急性缺血性卒中再灌注治疗医疗质量评价与改进专家建议[J]. 中国卒中杂志, 2021, 16(7): 705-715. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5765.2021.07.012.

[16] Sun R, Xu Z, Zhu C, et al. Alpha-1 antitrypsin in autoimmune diseases: Roles and therapeutic prospects[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 110: 109001. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109001.

[17] Feng Y, Hu L, Xu Q, et al. Cytoprotective role of alpha-1 antitrypsin in vascular endothelial cell under hypoxia/reoxygenation condition[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2015, 66(1): 96-107. DOI: 10.1097/FJC.0000000000000250.

[18] Segal L, Lewis EC. The lipid ties of α1-antitrypsin: Structural and functional aspects[J]. Cell Immunol, 2022, 375: 104528. DOI: 10.1016/j.cellimm.2022.104528.

[19] Mahta A, Yaghi S, Reznik ME, et al. Serum alpha-1 antitrypsin in acute ischemic stroke: A prospective pilot study[J]. J Clin Neurosci, 2020, 76: 20-24. DOI: 10.1016/j.jocn.2020.04.074.

[20] 吴成鑫,郑颖颖,吴婷婷,等. α1-抗胰蛋白酶在心血管疾病中的研究进展[J]. 中国心血管病研究, 2023, 21(1): 67-71. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5301.2023.01.013.

[21] 周抒阳,孙健淇,付旭阳,等. 缺血性脑卒中与趋化因子的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2023, 25(4): 443-445. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2023.04.027.

[22] Blin MG, Bachelier R, Fallague K, et al. CD146 deficiency promotes plaque formation in a mouse model of atherosclerosis by enhancing RANTES secretion and leukocyte recruitment[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 130: 76-87. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2019.03.017.

[23] Jongstra-Bilen J, Tai K, Althagafi MG, et al. Role of myeloid-derived chemokine CCL5/RANTES at an early stage of atherosclerosis[J]. J Mol Cell Cardiol, 2021, 156: 69-78. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2021.03.010.

[24] Guo Y, Kong Q, Zhang Y, et al. Elevated RANTES levels are associated with increased risk of cerebral atherosclerotic stenosis[J]. BMC Neurol, 2023, 23(1): 39. DOI: 10.1186/s12883-023-03079-9.

[25] Lin J, Xu Y, Guo P, et al. CCL5/CCR5-mediated peripheral inflammation exacerbates blood-brain barrier disruption after intracerebral hemorrhage in mice[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 196. DOI: 10.1186/s12967-023-04044-3.

[26] 邓国雄,韦金儒,陈梅香. 艾塞那肽对 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化血清抵抗素的影响[J]. 中国医药导报, 2019, 16(13): 4-7, 11.

[27] Heun Y, Graff P, Lagara A, et al. The GEF cytohesin-2/ARNO mediates resistin induced phenotypic switching in vascular smooth muscle cells[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 3672. DOI: 10.1038/s41598-020-60446-z.

[28] Lee KO, Lee KY, Lee CY, et al. High serum levels of resistin is associated with acute cerebral infarction[J]. Neurologist, 2021, 27(2): 41-45. DOI: 10.1097/NRL.0000000000000362.

[29] Miao J, Benomar Y, Al Rifai S, et al. Resistin inhibits neuronal autophagy through Toll-like receptor 4[J]. J Endocrinol, 2018, 238(1): 77-89. DOI: 10.1530/JOE-18-0096.

[30] 张穿洋,朱文莉,李晓冉,等. 急性脑卒中预后预测模型:机器学习与传统回归模型的比较[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2023, 21(7): 24-26. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2023.07.008.

(收稿日期:2023-11-27)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 012

论著 · 临床

血清 SIRT1、TGF-β_1 表达与退行性腰椎管狭窄症患者功能障碍指数及疼痛评分的相关性分析

冯海涛，田有勇，赵敦，郭程亮

基金项目：国家卫生健康委“十四五”规划全国重点课题项目（YGFE9889）
作者单位：032200　山西省汾阳医院创伤与脊柱科
通信作者：郭程亮，E-mail：gclwsz1001@163.com

【摘　要】 **目的**　分析血清沉默信息调节因子（SIRT1）、转化生长因子 β_1 蛋白（TGF-β_1）表达与退行性腰椎管狭窄症（DLSS）患者功能障碍指数及疼痛评分的相关性。**方法**　选取 2020 年 10 月—2023 年 10 月山西省汾阳医院创伤与脊柱科收治的 DLSS 患者 86 例作为 DLSS 组，依据 Oswestry 腰痛功能障碍指数（ODI）将患者分为轻中度功能障碍亚组（$n=50$）及重度功能障碍亚组（$n=36$）；同期医院健康体检者 85 例作为健康对照组。收集 2 组临床资料，测量所有受检者总无脂肪多裂肌横截面积（TFCSA）、总多裂肌横截面积（TCSA），并计算 TFCSA/TCSA 比值；采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测受检者血清 SIRT1、TGF-β_1、皮质醇、促肾上腺皮质激素（ACTH）水平；采用 ODI 评估受检者腰痛功能障碍；采用视觉模拟疼痛评分（VAS）评估受检者疼痛程度；Spearman 法相关性分析血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分的相关性；多因素 Logistic 回归分析 DLSS 发生的影响因素。**结果**　DLSS 组患者 TFCSA、TFCSA/TCSA 及血清 SIRT1、TGF-β_1 水平显著低于健康对照组（t/P = 8.696/ < 0.001、6.669/ < 0.001、38.323/ < 0.001、22.313/ < 0.001），皮质醇、ACTH、ODI 指数、VAS 评分均高于健康对照组（t/P = 57.280/ < 0.001、58.495/ < 0.001、48.583/ < 0.001、53.355/ < 0.001）；与轻中度功能障碍亚组比较，重度功能障碍亚组血清 SIRT1、TGF-β_1、TFCSA、TFCSA/TCSA水平降低（t/P = 13.834/ < 0.001、4.684/ < 0.001、3.520/0.001、5.418/ < 0.001），皮质醇、ACTH、ODI 指数、VAS 评分升高（t/P = 6.168/ < 0.001、2.355/0.021、15.784/ < 0.001、11.004/ < 0.001）；相关性分析显示，血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分呈负相关（r = −0.534、−0.577，−0.602、−0.556，P 均 < 0.001）；血清 SIRT1 高、TGF-β_1 高水平是 DLSS 发生的保护因素［OR（95% CI）= 0.687（0.491 ~ 0.961），0.547（0.401 ~ 0.746）］，皮质醇高、ACTH 高、ODI 指数高、VAS 评分高是 DLSS 发生的危险因素［OR（95% CI）= 2.468（1.200 ~ 5.077）、2.673（1.162 ~ 6.148）、3.345（1.165 ~ 9.602）、3.123（1.457 ~ 6.694）］。**结论**　DLSS 患者血清 SIRT1、TGF-β_1 水平降低，与 ODI 指数及 VAS 评分呈负相关，是 DLSS 发生的影响因素。

【关键词】 腰椎管狭窄症，退行性；沉默信息调节因子；转化生长因子 β_1 蛋白；功能障碍指数；疼痛评分
【中图分类号】 R681.5　　【文献标识码】 A

Correlation analysis of serum SIRT1 and TGF-β_1 expression with functional dysfunction index and pain score in patients with lumbar spinal stenosis

Feng Haitao, Tian Youyong, Zhao Dun, Guo Chengliang. Department of Trauma and Spine, Shanxi Fenyang Hospital, Shanxi Province, Fenyang 032200, *China*
Funding program: National Key Subjects Program of the 14*th Five-Year Plan of the National Health Commission* (*YGFE*9889)
*Corresponding author: Guo Chengliang, E-mail: gclwsz*1001@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the correlation between the expression of serum silence-information regulatory factor (SIRT1), transforming growth factor **β_1** protein (TGF-**β_1**) and dysfunction index and pain score in patients with degenerative lumbar spinal stenosis (DLSS). **Methods**　A total of 86 DLSS patients admitted to the Trauma and Spinal Department of Fenyang Hospital in Shanxi Province from October 2020 to October 2023 were selected as the DLSS group. According to the Oswestry Low Back Pain Dysfunction Index (ODI), patients were divided into mild to moderate dysfunction subgroup ($n=50$) and severe dysfunction subgroup ($n=36$). In the same period, 85 healthy subjects in hospital were used as healthy control group. The clinical data of 2 groups were collected, and the total adipose multifidus cross-sectional area (TFCSA) and total multifidus cross-sectional area (TCSA) of all subjects were measured, and the ratio of TFCSA/TCSA was calculated. Serum levels of SIRT1, TGF-**β_1**, cortisol and adrenocorticotropin (ACTH) were detected by enzyme-linked immunosorbent

assay (ELISA). Low back pain dysfunction was assessed by ODI. Visual analogue pain scale (VAS) was used to evaluate the pain degree of the subjects. Spearman method was used to analyze the correlation between serum SIRT1, TGF-β_1 level and ODI index and VAS score. The influencing factors of DLSS were analyzed by Logistic regression. **Results** The levels of TFCSA, TFCSA/TCSA and serum SIRT1, TGF-β_1 in DLSS group were lower than those in healthy control group (t/P = 8.696/ < 0.001, 6.669/ < 0.001, 38.323/ < 0.001, 22.313/ < 0.001). Cortisol, ACTH, ODI index and VAS scores were higher than those of healthy control group (t/P = 57.280/ < 0.001, 58.495/ < 0.001, 48.583/ < 0.001, 53.355/ < 0.001). Serum levels of SIRT1, TGF-β_1, TFCSA and TFCSA/TCSA were decreased in the severe dysfunction subgroup compared with the mild to moderate dysfunction subgroup (t/P = 13.834/ < 0.001, 4.684/ < 0.001, 3.520/0.001, 5.418/ < 0.001). Cortisol, ACTH, ODI and VAS scores were increased (t/P = 6.168/ < 0.001, 2.355/0.021, 15.784/ < 0.001, 11.004/ < 0.001). Correlation analysis showed that serum SIRT1 and TGF-β_1 levels were negatively correlated with ODI index and VAS score (r = −0.534, −0.577, −0.602, −0.556, all P < 0.001). High levels of serum SIRT1 and TGF-β_1 were protective factors for DLSS [*OR(95% CI)* = 0.687 (0.491 − 0.961), 0.547 (0.401 − 0.746)]. High cortisol, high ACTH, high ODI and high VAS score were the risk factors for DLSS [*OR(95% CI)* = 2.468 (1.200 − 5.077), 2.673 (1.162 − 6.148), 3.345 (1.165 − 9.602), 3.123 (1.457 − 6.694)]. **Conclusion** Serum SIRT1 and TGF-β_1 levels decrease in DLSS patients, which are negatively correlated with ODI index and VAS score, and are influencing factors for DLSS.

【Key words】 Lumbar spinal stenosis,degenerative; Silent information regulator 1; Transforming growth factor-β_1 protein; Dysfunction index; Pain score

退行性腰椎管狭窄症(degenerative lumbar spinal stenosis,DLSS)是一种退化性疾病,其发病率随着年龄的增长而逐渐增加,严重影响患者日常生活[1]。DLSS 的发病与炎性反应以及血液循环障碍相关,病理改变引发椎管容积下降,出现慢性进行性变化[2-3]。研究发现,DLSS 患者神经根性疼痛的原因与炎性因子有关,在疾病发展中具有重要作用[4]。沉默信息调节因子(SIRT1)广泛表达于机体组织中,现已明确其能够降低炎性反应,参与多种疾病的发展[5-6]。转化生长因子 β_1 蛋白(TGF-β_1)广泛存在于哺乳动物淋巴细胞中,受到炎性细胞因子调节,包括白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)等[7]。现阶段,鲜少有关于血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 DLSS 病情的关系研究,本研究对 DLSS 患者血清 SIRT1、TGF-β_1 水平进行检测,并分析其水平与患者功能障碍指数与疼痛评分的相关性,旨在为患者的临床治疗提供参考,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2020 年 10 月—2023 年 10 月山西省汾阳医院创伤与脊柱科收治的 DLSS 患者 86 例作为 DLSS 组,依据 Oswestry 腰痛功能障碍指数(ODI 指数)[8]分为轻中度功能障碍亚组(ODI 指数≤24, n = 50)及重度功能障碍亚组(ODI 指数 > 24, n = 36);选择同期医院体检的健康者 85 例作为健康对照组。本研究已经获得医院伦理委员会批准(20208160521),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《腰椎管狭窄症手术治疗规范中国专家共识》中相关诊断标准[9],经磁共振成像(MR)、X 线及 CT 确诊为 DLSS 的患者;②患者年龄≥50 岁。(2)排除标准:①意识不清晰或伴随精神疾病;②合并恶性肿瘤;③1 个月内服用过止痛消炎药物;④感染性疾病;⑤伴随代谢性骨病;⑥伴随肝肾功能不全或凝血功能障碍;⑦存在腰椎手术史;⑧脊椎畸形或先天肌无力。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　临床资料收集:包括性别、年龄、体质量指数(BMI)、疾病史(糖尿病、冠心病、高血压)、吸烟史及饮酒史等。

1.3.2　多裂肌形态检测:指导患者取仰卧位,使用 MR 扫描仪(Ingenia3.0, Philips Healthcare 公司)从 T12 至骶骨进行矢状位 T2 加权扫描,测量(使用图像处理软件)受检者的总无脂肪多裂肌横截面积(TFCSA)、总多裂肌横截面积(TCSA),并计算 TFCSA/TCSA比值。

1.3.3　血清 SIRT1、TGF-β_1、皮质醇、ACTH 水平检测:患者入院后次日清晨、健康对照组于体检当日抽取空腹肘静脉血 4 ml,室温下离心留取血清置于超低温冰箱保存待用。使用 ELISA 试剂盒检测血清 SIRT1、TGF-β_1(货号:ab156065、ab100647,上海艾博抗贸易有限公司)、皮质醇、促肾上腺皮质激素(ACTH)水平(货号:D711340-0096, T510005-0001,生工生物工程股份有限公司),所有操作均按照试剂盒说明书严格进行。

1.3.4　腰部功能障碍检测:采用 ODI 指数[8]评估受检者的腰部功能障碍,包括疼痛程度、承受重物能力、

生活自理能力、站立、坐、走路、性生活、睡眠质量、旅行以及社交生活方面进行评分，共计 50 分，将累计积分与总分的比值记为 ODI 值，ODI 值越高则功能障碍损伤越严重。

1.3.5　疼痛评分：采用视觉模拟疼痛评分（VAS）[10] 评估受检者疼痛情况，取游动标尺（约 10 cm），两端分别为“10 分”及“0 分”，无痛为 0 分，剧烈疼痛为 10 分。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 21.0 统计软件分析处理数据。计数资料以频数或率（%）表示，2 组间比较采用 χ^2 检验；正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，2 组间数据比较采用 t 检验；Spearman 法相关性分析血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分的相关性；多因素 Logistic 回归分析 DLSS 发生的影响因素。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组临床资料及腰部多裂肌形态差异比较　2 组在性别、年龄、BMI、TCSA、疾病史（糖尿病、冠心病、高血压）、吸烟史、饮酒史方面比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），DLSS 组患者 TFCSA 及 TFCSA/TCSA 水平低于健康对照组（$P<0.01$），见表 1。

表 1　健康对照组与 DLSS 组临床资料及腰部多裂肌形态差异比较

Tab. 1　Comparison of clinical data and morphological differences of lumbar multifidus muscle between healthy control group and DLSS group

项　目		健康对照组（$n=85$）	DLSS 组（$n=86$）	t/χ^2 值	P 值
男［例（%）］		48（56.47）	46（53.49）	0.154	0.695
年龄（$\bar{x} \pm s$，岁）		57.86 ± 6.05	58.67 ± 6.12	0.870	0.385
BMI（$\bar{x} \pm s$，kg/m^2）		23.76 ± 2.81	23.45 ± 2.54	0.757	0.450
疾病史［例（%）］	糖尿病	45（52.94）	47（54.65）	0.050	0.823
	冠心病	41（48.24）	43（50.00）	0.053	0.817
	高血压	42（49.41）	39（45.35）	0.283	0.595
吸烟史［例（%）］		53（62.35）	55（63.95）	0.047	0.828
饮酒史［例（%）］		50（58.82）	48（55.81）	0.158	0.691
TFCSA（$\bar{x} \pm s$，cm^2）		1.32 ± 0.21	1.06 ± 0.18	8.696	<0.001
TCSA（$\bar{x} \pm s$，cm^2）		1.56 ± 0.25	1.53 ± 0.24	0.801	0.425
TFCSA/TCSA（$\bar{x} \pm s$）		0.85 ± 0.18	0.69 ± 0.13	6.669	<0.001

2.2　2 组血清 SIRT1、TGF-β_1、应激指标水平、ODI 指数及 VAS 评分比较　DLSS 组血清 SIRT1、TGF-β_1 水平低于健康对照组（$P<0.01$），皮质醇、ACTH、ODI 指数、VAS 评分均高于健康对照组（$P<0.01$），见表 2。

2.3　不同功能障碍患者腰部多裂肌形态差异及血清 SIRT1、TGF-β_1 水平、应激指标比较　轻中度功能障碍亚组血清 SIRT1、TGF-β_1、TFCSA、TFCSA/TCSA 水平高于重度功能障碍亚组（$P<0.05$），皮质醇、ACTH、ODI 指数、VAS 评分均低于重度功能障碍亚组（$P<0.05$），见表 3。

表 2　健康对照组与 DLSS 组血清 SIRT1、TGF-β_1、应激指标水平、ODI 指数及 VAS 评分比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of serum SIRT1, TGF-β_1, stress index, ODI index and VAS score between healthy control group and DLSS group

指　标	健康对照组（$n=85$）	DLSS 组（$n=86$）	t 值	P 值
SIRT1（μg/L）	2.22 ± 0.28	0.96 ± 0.12	38.323	<0.001
TGF-β_1（ng/ml）	7.86 ± 0.85	5.25 ± 0.67	22.313	<0.001
皮质醇（mmol/L）	12.56 ± 1.38	40.13 ± 4.22	57.280	<0.001
ACTH（ng/L）	235.41 ± 24.18	736.45 ± 75.22	58.495	<0.001
ODI 指数	9.87 ± 1.13	28.84 ± 3.42	48.583	<0.001
VAS 评分（分）	1.36 ± 0.27	5.27 ± 0.62	53.355	<0.001

表 3　不同功能障碍 DLSS 患者腰部多裂肌形态差异及血清 SIRT1、TGF-β_1 水平、应激指标比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 3　Morphological difference of lumbar multifidus muscle, serum levels of SIRT1, TGF-β_1 and stress index in DLSS patients with different dysfunction

指　标	轻中度功能障碍亚组（$n=50$）	重度功能障碍亚组（$n=36$）	t 值	P 值
SIRT1（μg/L）	1.12 ± 0.15	0.74 ± 0.08	13.834	<0.001
TGF-β_1（ng/ml）	5.54 ± 0.71	4.85 ± 0.62	4.684	<0.001
TFCSA（cm^2）	1.12 ± 0.19	0.98 ± 0.17	3.520	0.001
TCSA（cm^2）	1.54 ± 0.25	1.52 ± 0.23	0.378	0.706
TFCSA/TCSA	0.73 ± 0.08	0.64 ± 0.07	5.418	<0.001
皮质醇（mmol/L）	37.75 ± 4.27	43.44 ± 4.15	6.168	<0.001
ACTH（ng/L）	720.05 ± 74.39	759.23 ± 76.64	2.355	0.021
ODI 指数	23.88 ± 3.21	35.72 ± 3.72	15.784	<0.001
VAS 评分（分）	4.64 ± 0.58	6.14 ± 0.68	11.004	<0.001

2.4　血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分的相关性　Spearman 法相关性分析显示，血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分均呈负相关（$P<0.01$），见表 4。

表 4　DLSS 患者血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分的相关性

Tab. 4　Correlation between serum levels of SIRT1, TGF-β_1 and ODI index and VAS score in DLSS patients

指　标	ODI 指数		VAS 评分	
	r 值	P 值	r 值	P 值
SIRT1	−0.534	<0.001	−0.602	<0.001
TGF-β_1	−0.577	<0.001	−0.556	<0.001

2.5　多因素 Logistic 回归分析 DLSS 发生的影响因素

以是否发生 DLSS 为因变量，将表 1、2 中有显著差异的因子作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示：血清 SIRT1 高、TGF-β_1 高水平是 DLSS 发生的保护因素，皮质醇高、ACTH 高、ODI 指数高、VAS 评分高是 DLSS 发生的危险因素（$P<0.05$），见表 5。

表 5　多因素 Logistic 回归分析 DLSS 发生的影响因素

Tab. 5　Multivariate Logistic regression analysis of influencing factors of DLSS occurrence

自变量	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
TFCSA 高	−0.420	0.545	0.594	0.441	0.657	0.226 ~ 1.912
TFCSA/TCSA 高	−0.612	0.387	2.505	0.113	0.542	0.254 ~ 1.157
SIRT1 高	−0.375	0.171	4.820	0.028	0.687	0.491 ~ 0.961
TGF-β_1 高	−0.603	0.158	14.580	<0.001	0.547	0.401 ~ 0.746
皮质醇高	0.903	0.368	6.027	0.014	2.468	1.200 ~ 5.077
ACTH 高	0.983	0.425	5.352	0.021	2.673	1.162 ~ 6.148
ODI 指数高	1.207	0.538	5.037	0.025	3.345	1.165 ~ 9.602
VAS 评分高	1.139	0.389	8.570	0.003	3.123	1.457 ~ 6.694

3　讨　论

DLSS 是骨科疾病，常见于中老年人群，患者临床表现包括腰腿麻木以及间歇性跛行[11]。DLSS 的发病机制包括骨赘过度生长、小关节肥大、椎间盘退变等，出现活动力降低、肌力变弱以及机体疼痛等症状，患者神经根受压处发生缺氧、水肿，椎管内血流不畅，炎性因子以及炎性介质在发病部位大量堆积，改变患者椎管内环境，大量释放炎性因子，引发患者腰椎功能障碍[12-13]。现阶段，DLSS 的发病机制以及病因尚不完全清晰，多数患者的临床症状能够通过药物抑制炎性反应得到缓解，炎性因子在 DLSS 患者发生腰腿疼痛过程中十分重要[14]。

SIRT1 是一种炎性抑制因子，能够减轻炎性因子引发的损伤，此外还能够抑制炎性因子的分泌[15]。相关研究显示，腰痛患者血清中 SIRT1 水平下降，与 ODI 指数以及 VAS 评分呈负相关[16]。本研究同样发现 DLSS 患者血清 SIRT1 水平下调，推测 DLSS 发生后引发患者体内炎性反应，炎性因子在患者发病部位逐渐积累，SIRT1 水平较低时无法扭转炎性因子造成的伤害，血清 SIRT1 可能参与了 DLSS 的发病过程。

TGF-β_1 是调节因子，能够调节免疫反应，诱导细胞凋亡，在疾病发展中十分重要[17]。研究显示，膝骨关节炎患者血清 TGF-β_1 水平降低，与患者的病情程度密切相关[18]。本研究中 DLSS 患者血清 TGF-β_1 水平低于健康对照组，现阶段已明确 DLSS 的发生与炎性反应相关，TGF-β_1 的水平受炎性细胞因子调节，推测 DLSS 发生引发患者体内炎性反应，进一步影响炎性细胞因子释放 TGF-β_1，TGF-β_1 参与 DLSS 的具体机制目前尚不清晰，需要进一步探索。

ODI 指数能够评估患者腰部功能障碍，而 VAS 评分能够反映患者的疼痛情况[19-20]，相关性分析显示血清 SIRT1、TGF-β_1 水平与 ODI 指数及 VAS 评分呈负相关，进一步证实血清 SIRT1、TGF-β_1 可能参与了 DLSS 的发病过程，临床评估患者病情时可辅助参考患者血清 SIRT1、TGF-β_1 水平，增加诊断的准确性。进一步数据分析发现，DLSS 发生的影响因素包括血清 SIRT1、TGF-β_1 水平、皮质醇、ACTH、ODI 指数以及 VAS 评分。皮质醇为活性生物激素，在蛋白质降解、病毒激活以及降低免疫力发挥重要作用，能够改变体内环境[13]。本研究中皮质醇水平升高，其可能是通过炎性反应参与 DLSS 的发病过程。ACTH 是多肽类激素，患者感染后发生炎性反应，ACTH 被大量释放[21]。本研究中 ACTH 水平升高可能是 DLSS 发病过程中发生炎性反应，患者体内释放大量 ACTH，后续将扩大样本量，进一步对试验结果进行验证。

综上所述，DLSS 患者血清 SIRT1、TGF-β_1 水平降低，与 ODI 指数及 VAS 评分呈负相关，是 DLSS 发生的影响因素。本研究仅对 86 例 DLSS 患者进行分析，样本量不够多且未对患者进行炎性因子水平的检测，后期将纳入更多患者对试验结果进行验证以及进一步分析，以期能为 DLSS 患者的临床治疗提供帮助。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

冯海涛：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；田有勇：提出研究思路，分析试验数据；赵敦：实施研究过程，资料搜集整理，进行统计学分析；郭程亮：论文审核，论文修改

参考文献

[1]　Hennemann S, de Abreu MR. Degenerative lumbar spinal stenosis [J]. Rev Bras Ortop (Sao Paulo), 2021, 56(1): 9-17. DOI: 10.1055/s-0040-1712490.

[2]　Katz JN, Zimmerman ZE, Mass H, et al. Diagnosis and management of lumbar spinal stenosis: A review [J]. JAMA, 2022, 327(17): 1688-1699. DOI: 10.1001/jama.2022.5921.

[3]　汪立平，叶亿通，张健儿. 补肾活血汤联合微创减压对腰椎管狭窄症患者腰椎功能、疼痛及炎症因子的影响[J]. 辽宁中医杂志，2022，49(8)：140-143. DOI：10.13192/j.issn.1000-1719.2022.08.040.

[4]　刘恩，栗凯华，吕飞，等. 斜外侧腰椎椎间融合术对退行性腰椎椎管狭窄症患者炎症因子的影响[J]. 国际外科学杂志，2020，47(3)：181-187. DOI：10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2020.03.008.

[5]　Ye F, Wu A. The protective mechanism of SIRT1 in the regulation of mitochondrial biogenesis and mitochondrial autophagy in Alzheimer's

disease[J]. J Alzheimers Dis, 2021, 82 (1): 149-157. DOI: 10.3233/JAD-210132.

[6] 孙融,周楚瑶,丁媛,等. 脓毒症患者血清生存素和沉默信息调节因子 2 相关酶 1 水平与其他血清炎症因子以及预后的关系研究[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37 (4): 81-86, 91. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-7414. 2022. 04. 016.

[7] Chen Y, Wang H, Ni Q, et al. B-cell-derived TGF-β_1 inhibits osteogenesis and contributes to bone loss in periodontitis[J]. J Dent Res, 2023, 102(7): 767-776. DOI: 10.1177/00220345231161005.

[8] Cleland JA, Whitman JM, Houser JL, et al. Psychometric properties of selected tests in patients with lumbar spinal stenosis[J]. Spine J, 2012, 12(10): 921-931. DOI: 10.1016/j. spinee. 2012. 05. 004.

[9] 腰椎管狭窄症手术治疗规范中国专家共识组. 腰椎管狭窄症手术治疗规范中国专家共识(2014 年)[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(35): 2724-2725. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2014. 35. 002.

[10] Faiz KW. VAS-visuell analog skala[VAS-visual analog scale]. Tidsskr Nor Laegeforen, 2014, 134(3): 323. DOI: 10.4045/tidsskr. 13. 1145.

[11] Bumann H, Nüesch C, Loske S, et al. Severity of degenerative lumbar spinal stenosis affects pelvic rigidity during walking[J]. Spine J, 2020, 20(1): 112-120. DOI: 10.1016/j. spinee. 2019. 08. 016.

[12] 丁浩,金新蒙,杭栋华,等. 腰椎管狭窄症经关节突减压术后新发腰腿痛的原因[J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29 (14): 1327-1329. DOI: 10.3977/j. issn. 1005-8478. 2021. 14. 18.

[13] 王彦鹏,崔强. 补阳还五汤加减联合温针灸治疗退行性腰椎管狭窄的疗效及对患者中医症候和炎症因子的影响[J]. 海南医学, 2022, 33 (6): 707-710. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-6350. 2022. 06. 008.

[14] 陈盈君,叶林辉,包先国,等. 腰椎管狭窄症患者血清 IL-1α、CRP、TNF-α 表达及其与 Oswestry 功能障碍指数的关系[J]. 临床和实验医学杂志, 2023, 22(5): 510-513. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-4695. 2023. 05. 017.

[15] Lei Y, Wang J, Wang D, et al. SIRT1 in forebrain excitatory neurons produces sexually dimorphic effects on depression-related behaviors and modulates neuronal excitability and synaptic transmission in the medial prefrontal cortex[J]. Mol Psychiatry, 2020, 25 (5): 1094-1111. DOI: 10.1038/s41380-019-0352-1

[16] 龚政,石昆,陈支援. 腰痛患者血清 miR-133a-5p, SIRT1 水平表达与功能障碍指数及疼痛评分的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38 (5): 86-89, 98. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2023. 05. 016.

[17] Lodyga M, Hinz B. TGF-β_1-A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity[J]. Semin Cell Dev Biol, 2020, 101(1): 123-139. DOI: 10.1016/j. semcdb. 2019. 12. 010.

[18] 段大波,张树鹰. 血清 TGF-β_1、TIMP-1、TNF-α 及 IL-17 在膝关节骨性关节炎患者血清变化情况及其与病情严重程度的关系[J]. 中国实验诊断学, 2023, 27 (7): 825-828. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-4287. 2023. 07. 019.

[19] 李光富,彭丰,吴美平,等. 机器人辅助 MIS-TLIF 对腰椎管狭窄症患者肌电图、红细胞免疫的影响[J]. 疑难病杂志, 2023, 22 (4): 426-431. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 04. 016.

[20] 曹强,段明明,周煜虎,等. 弯角椎体成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折疗效分析[J]. 疑难病杂志, 2020, 19 (1): 53-56. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 01. 013.

[21] 颜彦,夏川,李章勇,等. 血清 SAA 和 ACTH 表达水平与重症细菌感染性疾病的关系及对患者治疗效果的评估[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2022, 19 (2): 137-140. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-016X. 2022. 02. 038.

(收稿日期: 2023 - 12 - 20)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 013

论著 · 临床

基于 BNP 和 IL-6 的列线图模型在预测老年髋部骨折患者术后主要不良心血管事件发生风险的价值

易知非, 罗雪峰, 何佳奇, 吾路汗 · 马汗, 段赟, 谢增如

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2021D01D19)

作者单位: 830000　乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院创伤骨科(易知非、罗雪峰、何佳奇、吾路汗 · 马汗、谢增如);
新疆医科大学第六附属医院骨科(段赟)
通信作者: 谢增如, E-mail: 15099171693@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨基于脑钠肽(BNP)和白介素-6(IL-6)的列线图模型在个体化预测老年髋部骨折患者术后主要不良心血管事件(MACE)发生风险的价值。**方法**　纳入 2016 年 1 月—2022 年 12 月新疆医科大学第一附属医院创伤骨科诊治老年髋部骨折患者 234 例作为建模集, 同期纳入新疆医科大学第六附属医院收治的老年髋部骨折患者 253 例作为验证集。以建模集老年髋部骨折患者术后 30 d 内是否发生 MACE 分为 MACE 组 37 例(15.8%)和 N-MACE组 197 例(84.2%), 比较建模集 2 组患者临床资料、实验室指标、心功能指标以及手术相关指标, 多因素 Logistic回归分析获得影响老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的独立预测因素, 并构建列线图模型, 绘制校准曲线和 ROC 曲线, 进一步分析列线图模型的预测效能和准确度。**结果**　多因素 Logistic 回归分析调整和校正混杂因素后, ASA 分级高、年龄≥70 岁、BNP 高以及 IL-6 高为老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的独立危险因素[OR(95% CI) = 2.576(1.243 ~ 4.567), 2.317(1.237 ~ 4.347), 2.467(1.214 ~ 3.598), 2.389(1.208 ~ 3.672), P 均 < 0.05]; 基于 4 个独立预测因素: ASA 分级、年龄、BNP 及 IL-6, 构建预测老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的列线图模型; 校准曲线显示, 建模集和验证集老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的预测值与实际观测值符合度良好(P > 0.05), ROC 曲线分析结果显示, 建模集联合预测的曲线下面积(AUC)为 0.923(95% CI 0.882 ~ 0.967), 验证集联合预测的 AUC 为 0.903(95% CI 0.876 ~ 0.958)。**结论**　基于 BNP 和 IL-6 的列线图模型可用于准确预测老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险。

【关键词】 髋部骨折; 脑钠肽; 白介素-6; 主要不良心血管事件; 列线图; 老年人
【中图分类号】 R683.3　　【文献标识码】 A

The value of nomograph model based on BNP and IL-6 in individualized prediction of the risk of postoperative adverse cardiovascular events in elderly hip fracture patients

*Yi Zhifei**, *Luo Xuefeng*, *He Jiaqi*, *Wuluhan Mahan*, *Duan Yun*, *Xie Zengru*. * *Department of Trauma Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang Province, Urumqi* 830000, *China*

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2021*D*01*D*19)

Corresponding author: Xie Zengru, E-mail: 15099171693@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the value of the nomogram model based on brain natriuretic peptide (BNP) and interleukin-6 (IL-6) in the individualized prediction of the risk of postoperative major adverse cardiovascular events (MACE) in elderly hip fracture patients. **Methods**　Two hundred and thirty-four elderly hip fracture patients admitted to author's hospital from January 2016 to December 2022 were included as the modeling set, while 253 elderly hip fracture patients admitted to orthopedics department of the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University were included as the validation set. Elderly hip fracture patients in the validation set who experienced MACE within 30 days after surgery were divided into the MACE group of 37 cases (15.8%) and the N-MACE group of 197 cases (84.2%). The general clinical data, laboratory indicators, left ventricular ejection fraction and surgery related indicators of patients between the two groups in the modeling set were compared, the statistically significant variables in the single factor analysis were included in the multivariate Logistic regression analysis to obtain the independent predictors of MACE in elderly hip fracture patients after surgery, the

analysis was focused on the predictive value of BNP and IL-6, and a nomogram model was constructed, calibration curve and ROC curve were drawn to further analyze the predictive performance and accuracy of the nomogram model. **Results** Multivariate Logistic regression analysis adjusted for confounding factors, ASA grade, age, BNP and IL-6 were still independent predictors of postoperative MACE in elderly hip fracture patients [*OR(95%)CI* = 2.576 (1.243 – 4.567), 2.317 (1.237 – 4.347), 2.467 (1.214 – 3.598), 2.389 (1.208 – 3.672), $P < 0.05$]; A nomograph model was constructed to predict the risk of postoperative MACE in elderly hip fracture patients based on four independent predictors: ASA grade, age, BNP and IL-6; The calibration curve showed that the predicted value of postoperative MACE risk of elderly hip fracture patients in the modeling set and the validation set were in good agreement with the actual observation value ($P > 0.05$). The ROC analysis results showed that the area under the curve (AUC) of jointly prediction in the modeling set was 0.923 (*95% CI* 0.882 – 0.967), and the AUC of jointly prediction in the validation set was 0.903 (*95% CI* 0.876 – 0.958). **Conclusion** The nomograph model based on BNP and IL-6 can be used to accurately predict the risk of postoperative MACE in elderly hip fracture patients.

【**Key words**】 Hip fracture; Brain natriuretic peptide; Interleukin-6; Major adverse cardiovascular events; Nomogram; Elderly

髋部骨折为老年人最常见的骨折类型之一，目前随着我国人口老龄化的加剧，越来越多的老年患者正遭受这一疾病的困扰，发病率呈现逐年上升的趋势[1-2]。对于老年髋部骨折患者，早期手术治疗已经得到了广泛认可，但老年患者心脏储备功能较差，髋部骨折后因出血所致的不同程度贫血会导致心脏供氧受限，导致心脏收缩加强以及耗氧量增加；此外，老年髋部骨折患者常合并多种慢性疾病，可明显增加其术后心功能不全、心肌梗死、恶性心律失常、心源性猝死等主要不良心血管事件（MACE）发生风险[3-4]。相关文献报道[5-6]，相较于其他类型骨折患者，老年髋部骨折患者术后 MACE 的发生率升高 1.5 倍。因此，建立一种准确、有效的术前评估方法对于降低老年髋部骨折患者术后 MACE 发生率具有十分重要的意义。相关文献报道[7]，脑钠肽（BNP）作为感应心室压力或心室壁缺血的激素，可用于独立预测非心脏手术术后 MACE 的发生。有研究结果显示[8]，白介素-6（IL-6）作为机体重要的炎性因子，在调控机体炎性免疫反应过程中发挥重要的作用，其表达水平反映了患者心功能状况和与冠状动脉斑块破裂相关的急性炎性反应。本研究拟探讨基于 BNP 和 IL-6 的列线图模型在个体化预测老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的价值，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　纳入 2016 年 1 月—2022 年 12 月新疆医科大学第一附属医院创伤骨科诊治老年髋部骨折患者 234 例作为建模集，同期纳入新疆医科大学第六附属医院收治的老年髋部骨折患者 253 例作为验证集。

1.2　病例选择标准　（1）纳入标准：①年龄≥65 岁；②均由单侧低暴力损伤所致，经临床和影像学确诊为闭合性髋部骨折；③均接受内固定手术或髋关节置换术。（2）排除标准：①临床资料不完整；②合并其他部位骨折；③病理性骨折；④合并严重心、肺、肝、肾功能不全；⑤合并恶性肿瘤。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　心功能指标检测：于术前清晨抽取患者空腹肘静脉血 5 ml，离心留取上清液并置于低温冰箱保存待测；采用电化学发光法测定血清心肌肌钙蛋白 T（cTnT），放射免疫法测定血清 BNP；术前 EPIQ 5 心脏多普勒超声仪（南京恒腾电子科技有限公司）检测左心室射血分数（LVEF）等。

1.3.2　炎性因子等相关指标检测：上述血清以 SUNMATIK-9050 全自动生化仪（成都一科仪器设备有限公司）测定血红蛋白（Hb）、白蛋白（Alb）、血清肌酐（SCr）、尿素（BUN）、白细胞计数（WBC）、淋巴细胞计数（LYC）；酶联免疫吸附（ELISA）法测定血清肿瘤坏死因子-α（TNF-α，试剂盒为上海一研生物科技有限公司），白介素-1β（IL-1β）、IL-6、IL-8（武汉天正源生物科技有限公司试剂盒），中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白（NGAL）以及胱抑素 C（CysC）（天津越腾生物技术有限公司试剂盒），并计算中性粒细胞和淋巴细胞比值（NLR）；免疫比浊法测定血清高敏 C 反应蛋白（hs-CRP，杭州臻优品生物科技有限公司试剂盒）。

1.3.3　MACE 发生情况：所有患者随访至术后 30 d，记录患者术后 30 d 内 MACE 发生情况。MACE 定义：急性心肌梗死、不稳定性心绞痛、慢性心功能不全急性加重、心力衰竭、恶性心律失常、心源性猝死。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 统计学软件和 4.2.1 R 软件对数据进行分析。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；计数资料以频数或率（%）表示，2 组间比较采用 χ^2 检

验;单因素分析中有统计学意义的变量纳入多因素 Logistic 回归分析,采用最大似然比前进法筛选出最终变量,获得影响老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的独立预测因素,并基于独立预测因素构建列线图模型;绘制列线图模型的校准曲线进行内外部验证;绘制预测老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的受试者工作特征(ROC)曲线,进一步分析联合预测模型的预测效能。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　建模集和验证集患者一般资料比较　建模集共纳入老年髋部骨折患者 234 例,男 156 例(66.7%),女 78 例(33.3%),年龄 65 ~ 78 (70.2 ± 6.5)岁,平均 BMI(22.5 ± 2.2)kg/m^2,术后 30 d 内发生 MACE 37 例(15.8%)。验证集共纳入老年髋部骨折患者 253 例,男 159 例(62.8%),女 94 例(37.2%),年龄 65 ~ 79 (70.9 ± 6.7)岁,平均 BMI(22.8 ± 2.3)kg/m^2,术后 30 d内发生 MACE 41 例(16.2%)。建模集和验证集患者一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.2　建模集 MACE 组和 N-MACE 组患者临床资料比较　以建模集老年髋部骨折患者术后 30 d 内是否发生 MACE 分为 MACE 组 37 例(15.8%)和 N-MACE 组 197 例(84.2%)。建模集 MACE 组患者≥70 岁所占比例、冠心病所占比例高于 N-MACE 组,2 组性别、BMI、高血压、糖尿病、脑梗死、骨折类型等比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1　建模集 N-MACE 组与 MACE 组患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between N-MACE group and MACE group in modeling set

项　目		N-MACE 组 ($n=197$)	MACE 组 ($n=37$)	t/χ^2 值	P 值
年龄[例(%)]	<70 岁	154(78.17)	5(13.51)	11.796	<0.001
	≥70 岁	43(21.83)	32(86.49)		
性别[例(%)]	男	126(63.96)	30(81.08)	1.557	0.187
	女	71(36.04)	7(18.92)		
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m^2)		22.4 ± 2.2	22.7 ± 2.1	0.106	0.911
高血压[例(%)]		140(71.07)	28(75.68)	0.678	0.379
糖尿病[例(%)]		125(63.45)	25(67.57)	0.986	0.208
脑梗死[例(%)]		100(50.76)	20(54.05)	0.125	0.869
冠心病[例(%)]		82(41.63)	28(75.68)	4.568	0.035
骨折类型	股骨颈骨折	100(50.76)	17(45.95)	0.975	0.216
[例(%)]	转子间骨折	97(49.24)	20(54.05)		

2.3　建模集 MACE 组和 N-MACE 组患者心功能及血清学指标比较　建模集 MACE 组患者 LVEF、Hb 降低,而 BNP、TNF-α、IL-6 水平高于 N-MACE 组 ($P<0.05$),其他项目 2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2　N-MACE 组与 MACE 患者心功能及血清学指标比较　($\bar{x}\pm s$)

Tab. 2　Comparison of cardiac function, inflammatory factors and blood indexes between N-MACE group and MACE patients

项　目	N-MACE 组 ($n=197$)	MACE 组 ($n=37$)	t 值	P 值
LVEF(%)	57.5 ± 7.8	51.1 ± 6.5	1.897	0.028
BNP(ng/L)	90.5 ± 17.5	121.8 ± 21.8	6.869	<0.001
cTnT(ng/L)	92.3 ± 10.1	96.4 ± 10.2	1.128	0.219
hs-CRP(mg/L)	9.1 ± 1.3	9.4 ± 1.5	0.458	0.557
TNF-α(μg/L)	4.0 ± 0.3	4.6 ± 0.7	1.589	0.039
NLR	3.8 ± 0.3	3.9 ± 0.4	0.117	0.897
IL-1β(ng/L)	4.6 ± 0.5	4.7 ± 0.6	0.105	0.917
IL-6(ng/L)	1.9 ± 0.4	3.7 ± 0.7	5.687	<0.001
IL-8(ng/L)	62.8 ± 9.8	65.1 ± 10.3	0.267	0.774
Hb(g/L)	116.4 ± 11.7	95.4 ± 10.4	1.674	0.032
Alb(g/L)	35.6 ± 7.7	34.5 ± 7.5	0.108	0.917
CysC(mg/L)	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1	0.241	0.791
NGAL(μg/L)	115.0 ± 10.4	120.7 ± 11.3	0.357	0.687
SCr(mmol/L)	82.7 ± 5.3	86.2 ± 5.4	0.219	0.826
BUN(mmol/L)	6.1 ± 0.8	6.4 ± 0.8	0.187	0.874

2.4　建模集 N-MACE 组与 MACE 组患者手术相关指标比较　MACE 组患者的 ASA 分级 3 ~ 4 级比例高于 N-MACE组($P<0.01$),其他项目 2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3　N-MACE 组与 MACE 患者患者手术相关指标比较

Tab. 3　Comparison of surgical indicators between N-MACE group and MACE patients

项　目		N-MACE 组 ($n=197$)	MACE 组 ($n=37$)	t/χ^2 值	P 值
ASA 分级	1 ~ 2 级	132(67.01)	7(18.91)	12.145	<0.001
[例(%)]	3 ~ 4 级	65(32.99)	30(81.09)		
手术时间($\bar{x}\pm s$,min)		126.7 ± 21.1	135.5 ± 20.8	0.857	0.287
手术方式	髓内固定术	111(56.35)	20(54.05)	0.836	0.267
[例(%)]	关节置换术	86(43.65)	17(45.95)		
术中出血量($\bar{x}\pm s$,ml)		215.8 ± 32.7	224.4 ± 37.2	0.867	0.263

2.5　影响老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的多因素 Logistic 回归分析　以建模集老年髋部骨折患者术后 30 d 内是否发生 MACE(是 = 1,否 = 0)作为因变量,上述结果中有统计学意义的指标:年龄(<70 岁 = 0,≥70 岁 = 1)、冠心病(是 = 1,否 = 0)、BNP(实际值)、TNF-α(实际值)、IL-6(实际值)、ASA 分级(1 ~ 2 级 = 0,3 ~ 4 级 = 1)、左心室射血分数(实际值)以及血红蛋白(实际值)作为自变量,多因素 Logistic 回归分析调整和校正混杂因素后,ASA 分级高、年龄大、BNP

高以及 IL-6 高为老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的独立预测因素($P<0.05$),其中 BNP 每增加 1 ng/L,老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的风险增加 1.467 倍[OR(95% CI) = 2.467 (1.214 ~ 3.598), $P<0.001$],IL-6 每增加 1 ng/L,老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的风险增加 1.389 倍[OR(95% CI) = 2.389 (1.208 ~ 3.672), $P=0.010$],见表 4。

表 4　影响老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4　Multivariate Logistic regression analysis of influencing postoperative MACE in elderly patients with hip fracture

自变量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
常数项	-2.498	0.297	15.772	<0.001	-	-
ASA 分级高	0.824	0.235	11.674	<0.001	2.576	1.243 ~ 4.567
冠心病	0.378	0.119	2.765	0.093	1.378	0.947 ~ 1.521
年龄≥70 岁	0.665	0.114	5.654	0.028	2.317	1.237 ~ 4.347
BNP 高	0.715	0.215	12.229	<0.001	2.467	1.214 ~ 3.598
TNF-α 高	0.391	0.104	2.987	0.076	1.395	0.972 ~ 1.487
IL-6 高	0.689	0.113	7.334	0.010	2.389	1.208 ~ 3.672
LVEF 高	-0.211	0.086	1.765	0.267	0.793	0.713 ~ 1.169
Hb 高	-0.189	0.073	1.167	0.452	0.867	0.814 ~ 1.217

2.6　列线图模型的构建　基于表 4 中 4 个独立预测因素:ASA 分级、年龄、BNP 及 IL-6,构建列线图模型:$P=1/(1+e^{-x})$。P 代表老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的预测值,数值越接近 1,术后发生 MACE 的概率越大,e 为自然常数,X 可通过下列公式计算得出:X = 0.824 × ASA 分级(3 ~ 4 级 = 1, 1 ~ 2 级 = 0) + 0.665 × 年龄(<70 岁 = 0, ≥70 岁 = 1) + 0.715 × BNP (ng/L) + 0.689 × IL-6(ng/L) - 2.498,见图 1。

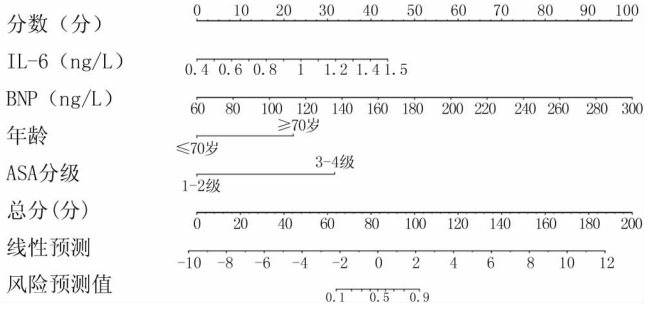


图 1　老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的列线图模型

Fig. 1　A nomographic model of postoperative MACE risk in elderly patients with hip fracture

2.7　列线图模型的内外部验证　校准曲线显示,建模集和验证集老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的预测值与实际观测值符合度良好($P>0.05$),ROC 曲线分析结果显示,建模集和验证集 ASA 分级、年龄、BNP 及 IL-6 预测老年髋部骨折患者术后发生 MACE 均具有良好的预测效能,并且 4 者联合预测的价值最高,建模集联合预测的曲线下面积(AUC)为 0.923 (95% CI 0.882 ~ 0.967),验证集联合预测的 AUC 为 0.903(95% CI 0.876 ~ 0.958),见图 2 ~ 5。

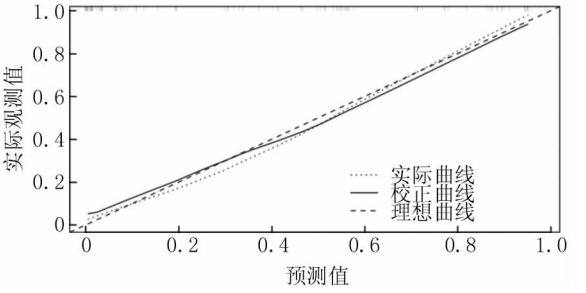


图 2　建模集列线图模型的校准曲线

Fig. 2　Calibration curve of modeling set line graph model

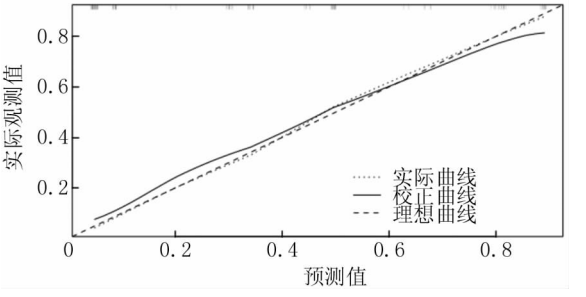


图 3　验证集列线图模型的校准曲线

Fig. 3　Calibration curve of the model of the verification cluster graph

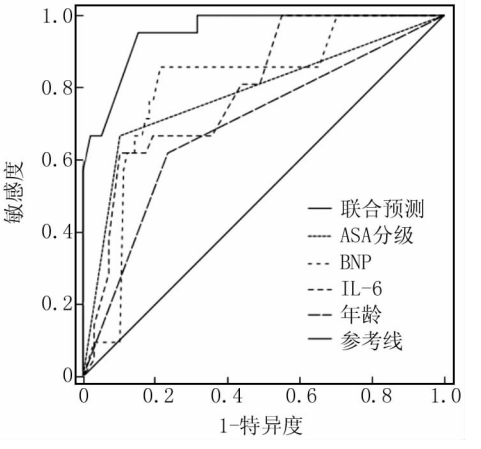


图 4　建模集预测老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的 ROC 曲线

Fig. 4　ROC curve for predicting postoperative MACE in elderly hip fracture patients with a modeling set

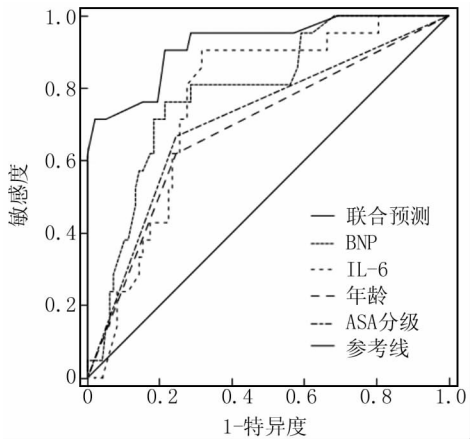


图 5　验证集预测老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的 ROC 曲线

Fig. 5　ROC curve of the validation set predicting postoperative MACE in elderly patients with hip fracture

3　讨　论

BNP 是一种感应心室压力或心室壁缺血的激素，由心肌细胞合成，具有促尿钠排泄和扩张血管的作用[9]。相关研究显示[10-11]，BNP 表达水平与各种心脏疾病如左心功能不全、二尖瓣狭窄、心肌梗死密切相关。BNP 表达水平与患者左心功能呈负相关，BNP 表达水平越高代表患者左心功能越差。Pili-Floury 等[12]的研究结果发现，BNP 表达水平越高的冠心病患者，其冠状动脉病变程度越严重，并且发生急性冠状动脉综合征风险越高。而近年来有相关研究结果显示[13]，术前 BNP 表达水平可用于预测非心脏手术患者术后心血管并发症发生风险，术前 BNP 表达水平越高预示非心脏手术患者术后发生心血管并发症的风险越高，由此得出结论：BNP 表达水平可为术前评估患者左心室舒缩功能提供指导。而本研究多因素分析结果显示，BNP 为老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的独立预测因素，术前 BNP 表达水平越高，老年髋部骨折患者术后 30 d 内发生 MACE 的风险越高，本研究再次证实了既往研究结果。

本研究多因素分析结果还发现，IL-6 为老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的独立预测因素，IL-6 每增加 1 ng/L，老年髋部骨折患者术后发生 MACE 的风险增加 1.389 倍。髋部骨折后，机体产生创伤应激反应，大量炎性细胞和炎性通路被激活，促进大量炎性因子表达和释放，这些炎性因子使机体在适应外界环境能力增加的同时，也带来了多方面的不良反应，使机体处于炎性反应状态。IL-6 作为机体炎性反应过程中的一种重要介质和促炎因子，在巨噬细胞成熟与分化、内皮细胞损伤、脂质过氧化以及炎性反应的表达与调控过程中发挥关键作用[14-15]。除此之外，IL-6 还参与冠状动脉粥样硬化斑块的形成与发展，能够增强血小板的黏附、聚集作用，促进血栓形成，加重心肌细胞损伤。因此，IL-6 表达水平不仅可以反映冠状动脉粥样硬化斑块的严重程度和不稳定性，还可以反映患者心功能的状况[16]。相关研究结果显示[17]，不稳定心绞痛患者血清 IL-6 表达水平与其左心室射血分数呈负相关，血清 IL-6 表达水平越高，不稳定心绞痛患者发生 MACE 的风险越高，提示血清 IL-6 表达水平不仅能够反映与冠状动脉斑块破裂相关的急性炎性反应，而且可以在一定程度上反映慢性炎性反应中斑块的易损性。宋培[18]的研究结果发现，IL-6 在 MACE 发生过程中发挥关键作用，可作为维持血液透析患者发生 MACE 的独立预测因素。而本研究结果提示，术前 IL-6 表达水平对于老年髋部骨折患者术后 30 d 内发生 MACE 具有较高的预测价值，其可能原因考虑为：术前 IL-6 表达水平越高代表老年髋部骨折患者左心室射血分数越低，心功能越差，冠状动脉斑块稳定性越差；此外，IL-6 升高可加重机体炎性级联反应，直接损害心肌细胞，还可加强血小板黏附、聚集作用，加重血管内皮细胞损伤，促进血栓形成，因此以上因素均可促进患者术后 MACE 的发生[19]。

近年来结合患者各个临床病理特征建立的列线图模型已被用于个体化预测各种结局事件的发生风险，其有效性和准确性也已得到证实。Chen 等[20]建立的列线图模型用于预测老年髋部骨折患者术后死亡风险，其准确性和区分度明显优于各单一预测指标。但目前针对老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的列线图模型还未见报道。本研究基于 ASA 分级、年龄、BNP 及 IL-6，构建预测老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险的列线图模型，其内外部验证结果证实，本研究构建的列线图模型用于预测老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险具有较高的准确度和预测效能。

综上所述，基于 BNP 和 IL-6 的列线图模型能用于准确预测老年髋部骨折患者术后 MACE 发生风险。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

易知非：资料搜集整理，统计学分析，论文撰写，论文修改；罗雪峰：设计研究方案，实施研究过程，分析试验数据；何佳奇、吾路汗·马汗、段赟：实施研究过程，收集整理试验数据；谢增如：提出研究思路，分析试验数据，论文审核

参考文献

[1]　赵建文，王晓伟，孙天胜，等. 老年髋部骨折术后 1 年死亡风险及

危险因素分析[J]. 实用骨科杂志,2020,26(5):399-403. DOI:10.15932/j.0253-9713.2015.11.005.

[2] Hsu WWQ, Sing CW, Li GHY, et al. Immediate risk for cardiovascular events in hip fracture patients: A population-based cohort study [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2022, 77(9): 1923-1929. DOI: 10.1093/gerona/glab336.

[3] Kim BS, Kim TH, Oh JH, et al. Association between preoperative high sensitive troponin I levels and cardiovascular events after hip fracture surgery in the elderly[J]. J Geriatr Cardiol, 2018, 15(3): 215-221. DOI:10.11909/j.issn.1671-5411.2018.03.002.

[4] 陈宏如,李萍,陈少婷,等. ViSi Mobile 无线监护仪生命体征连续监测在高龄髋部骨折患者围术期不良事件中的应用[J]. 中国医学装备,2020,17(6):42-45. DOI:CNKI:SUN:YXZB.0.2020-06-012.

[5] Araguas MA, Herrera A, Garrido I, et al. Risk factors for major adverse cardiovascular events after osteoporotic hip fracture repair surgery[J]. Injury, 2020, 51(Suppl 1): S30-S36. DOI:10.1016/j.injury.2020.03.052.

[6] 魏滨,徐懋,张利萍,等. 老年髋部骨折患者术后心血管并发症的危险因素分析[J]. 临床麻醉学杂志,2018,34(3):222-225. DOI:10.12089/jca.2018.03.003.

[7] 廖世亮,兰秀夫,魏炳南,等. cTnT、NT-proBNP 对髋部骨折术后不良心血管事件的预测价值[J]. 检验医学与临床,2020,17(16):2289-2291. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.16.005.

[8] 李珍珍,林祖近,宋伟. 入院即刻 IL-6 对不稳定型心绞痛患者左心室射血分数和主要不良心血管事件的预测价值[J]. 心电与循环,2019,38(5):418-420,424. DOI:CNKI:SUN:XDXZ.0.2019-05-019.

[9] Tamamura Y, Matsuura M, Shiba S, et al. Heart failure assessed based on plasma B-type natriuretic peptide (BNP) levels negatively impacts activity of daily living in patients with hip fracture[J]. PLoS One, 2020, 15(8): e0237387. DOI: 10.1371/journal.pone.0237387.

[10] 王金强,骆洪涛,王晓伟,等. 老年髋部骨折患者术后 30 d 内新发心脏不良事件的危险因素分析[J]. 中华创伤骨科杂志,2020,22(6): 518-522. DOI: 10.3760/cma.j.cn115530-20191218-00460.

[11] Tamamura Y, Matsuura M, Shiba S, et al. Effect of heart failure and malnutrition, alone and in combination, on rehabilitation effectiveness in patients with hip fracture[J]. Clin Nutr ESPEN, 2021, 44(8): 356-366. DOI:10.1016/j.clnesp.2021.05.014.

[12] Pili-Floury S, Ginet M, Saunier L, et al. Preoperative plasma B-type natriuretic peptide (BNP) identifies abnormal transthoracic echocardiography in elderly patients with traumatic hip fracture[J]. Injury, 2012, 43(6): 811-816. DOI:10.1016/j.injury.2011.09.016.

[13] Fu M, Zhang Y, Guo J, et al. Application of integrated management bundle incorporating with multidisciplinary measures improved in-hospital outcomes and early survival in geriatric hip fracture patients with perioperative heart failure: A retrospective cohort study[J]. Aging Clin Exp Res, 2022, 34(5): 1149-1158. DOI:10.1007/s40520-021-02038-z.

[14] Mace TA, Shakya R, Pitarresi JR, et al. IL-6 and PD-L1 antibody blockade combination therapy reduces tumour progression in murine models of pancreatic cancer[J]. Gut, 2018, 67(2): 320-332. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-311585.

[15] 张国勇,高颖,郭新颖,等. 血清尿酸、同型半胱氨酸、白细胞介素-6 与冠心病患者肠道菌群和主要不良心血管事件的关系研究[J]. 现代生物医学进展,2022,22(12):2372-2376. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2022.12.035.

[16] Ferencik M, Mayrhofer T, Lu MT, et al. Coronary atherosclerosis, cardiac troponin, and interleukin-6 in patients with chest pain: The promise trial results[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2022, 15(8): 1427-1438. DOI:10.1016/j.jcmg.2022.03.016.

[17] Batra G, Ghukasyan Lakic T, Lindback J, et al. Interleukin 6 and cardiovascular outcomes in patients with chronic kidney disease and chronic coronary syndrome[J]. JAMA Cardiol, 2021, 6(12): 1440-1445. DOI:10.1001/jamacardio.2021.3079.

[18] 宋培. CysC, IL-6 及 LVEF 对维持性血液透析患者发生不良心血管事件的预测价值[J]. 中国实验诊断学,2020,24(11):1762-1765. DOI:10.3969/j.issn.1007-4287.2020.11.002.

[19] 王小虎,赵波,喻少敏,等. 开放性骨折患者术后血清 TLR-2、MCP-1、IL-6 水平与感染的关系[J]. 疑难病杂志,2023,22(3):305-310. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.03.015.

[20] Chen M, Du Y, Tang W, et al. Risk factors of mortality and second fracture after elderly hip fracture surgery in Shanghai, China[J]. J Bone Miner Metab, 2022, 40(6): 951-959. DOI:10.1007/s00774-022-01358-y.

(收稿日期:2024-01-03)

更正声明

本刊2024 年第23 卷第3 期刊登的“急性呼吸困难床旁肺超声诊断规范专家建议”一文,第258 页左栏第14~15 行:“以胸骨旁线、腋前线、腋中线和脊柱旁线作为纵轴”,其中“腋中线”,应为“腋后线”。特此声明。

《疑难病杂志》编辑部

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 014

论著 · 临床

后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 对骨质疏松性椎体压缩性骨折患者 PKP 术后再发骨折风险的预测价值分析

张弛, 吴海龙, 张帅, 田振峰, 张斌

基金项目: 2022 年度河北省医学科学研究课题计划项目(20221698)
作者单位: 050000　石家庄市人民医院骨科
通信作者: 吴海龙, E-mail: helonsuper@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨后凸 Cobb's 角、骨密度(BMD)、Ⅰ型前胶原氨基端前肽(P1NP)对骨质疏松性椎体压缩性骨折(OVCF)患者球囊扩张椎体后凸成形术(PKP)术后再发骨折风险的预测价值。**方法**　选取 2018 年 12 月—2020 年 6 月石家庄市人民医院骨科收治的行 PKP 术的 OVCF 患者 110 例作为研究对象,进行 2 年随访,根据随访过程中是否出现新发骨折分为再发骨折组 28 例和未再发骨折组 82 例。比较 2 组患者一般资料及术后指标,Cox 分析影响 PKP 术后再发骨折的危险因素,绘制 ROC 曲线分析后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 对 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的预测价值。**结果**　随访期间骨折再发生率为 25.45%(28/110)。再发骨折组后凸 Cobb's 角、P1NP 高于未再发骨折组, BMD 低于未再发骨折组,差异具有统计学意义(t/P = 4.678/ < 0.001, 4.591/ < 0.001, 4.784/ < 0.001);Cox 分析结果显示,后凸 Cobb's 角增大、BMD 降低、P1NP 升高均是影响 PKP 术后再发骨折的危险因素[OR(95% CI) = 1.394(1.135 ~ 1.712)、1.910(1.127 ~ 3.236)、2.140(1.084 ~ 4.225), P < 0.05];ROC 曲线分析显示,后凸 Cobb's 角≥5.87°、BMD≤ −3.38 SD、P1NP≤50.67 μg/L 为截断值,后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的 AUC 分别为 0.725、0.846、0.836, 3 项联合 AUC 为 0.899, 高于单项检测(Z/P = 8.129/ < 0.001, 7.195/ < 0.001, 7.695/ < 0.001)。**结论**　定期监测后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 水平可在早期预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折风险以便及时给予干预措施。

【关键词】 椎体压缩性骨折, 骨质疏松性; 球囊扩张椎体后凸成形术; 再发骨折风险; 后凸 Cobb's 角; 骨密度; Ⅰ型前胶原氨基端前肽; 预测价值

【中图分类号】 R683.2　　【文献标识码】 A

Predictive value of posterior convex Cobb's angle, BMD, and P1NP on the risk of recurrent fracture after PKP in patients with osteoporotic vertebral compression fracture

Zhang Chi, Wu Hailong, Zhang Shuai, Tian Zhenfeng, Zhang Bin. Department of Orthopedics, Shijiazhuang People's Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, *China*
Funding program: 2022 *Hebei Provincial Medical Science Research Project Program* (20221698)
Corresponding author: *Wu Hailong*, *E-mail*: *helonsuper@163.com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the predictive value of posterior convexity Cobb's angle, bone mineral density (BMD), and pre-collagen type I amino-terminal pre-peptide (P Ⅰ NP) on the risk of recurrent fracture in osteoporotic vertebral compression fracture (OVCF) patients following balloon dilatation vertebral kyphoplasty (PKP). **Methods**　One hundred and ten OVCF patients who underwent PKP admitted to the Department of Orthopedics of Shijiazhuang People's Hospital from December 2018 to June 2020 were selected as study subjects for 2-year follow-up, and were categorized into 28 cases in the recurrent fracture group and 82 cases in the non-recurrent fracture group according to whether new fractures appeared in the follow-up process. Comparing the general data and postoperative indexes of patients in the 2 groups, Cox analyzed the risk factors affecting the recurrent fracture after PKP, and drew ROC curve to analyze the predictive value of posterior convex Cobb's angle, BMD, and P1NP on the recurrent fracture after PKP in patients with OVCF. **Results**　There were 28 cases of new fractures during the follow-up period, and the fracture recurrence rate was 25.45% (28/110). The Cobb's angle of posterior convexity and P1NP of the recurrent fracture group were higher than that of the non-recurrent fracture group, and the BMD was lower than that of the non-recurrent fracture group, and the differences were statistically significant (t/P = 4.678/ < 0.001, 4.591/ < 0.001, 4.784/ < 0.001); Cox analysis showed that increased posterior convex Cobb's angle,

decreased BMD, and elevated P1NP were all risk factors for recurrent fracture after PKP [*OR(95% CI)* = 1.394 (1.135 – 1.712), 1.910 (1.127 – 3.236), 2.140 (1.084 – 4.225), $P < 0.05$]; ROC curve analysis showed that posterior convex Cobb's angle ≥5.87°, BMD value ≤ – 3.38 SD, and P Ⅰ NP ≤50.67 μg/L were the cut-offs, and the posterior convex Cobb's angle, BMD, P Ⅰ NP predicted the AUC of 0.725, 0.846, and 0.836 for postoperative recurrent fractures after PKP in patients with OVCF, respectively, and the combined AUC of the 3 items was 0.899, which was higher than that of the single test (Z/P = 8.129/ < 0.001, 7.195/ < 0.001, and 7.695/ < 0.001). **Conclusion**　Regular monitoring of posterior convex Cobb's angle, BMD, and P1NP levels can predict the risk of recurrent fracture after PKP in patients with OVCF at an early stage so that timely intervention can be given.

【Key words】 Vertebral compression fracture,osteoporotic; Balloon dilatation vertebral kyphoplasty; Risk of recurrent fracture; Kyphotic Cobb's angle; Bone mineral density; Type I precollagen amino-terminal pre-peptide; Predictive value

骨质疏松症是以骨量减少、骨强度降低、骨脆性增加为特征的全身性骨病,骨质疏松性椎体压缩性骨折(osteoporotic vertebral compression fractures, OVCF)是老年人群常见骨质疏松并发症,该病起病隐匿,给患者带来巨大痛苦,严重影响患者生命安全[1]。OVCF 占所有骨质疏松性骨折 45%,全球每年有 890 万老年人因患有骨质疏松而发生骨折,且随着人口老龄化进程加剧,OVCF 发病率逐年升高,已成为困扰老年人身心健康的社会话题[2]。OVCF 保守治疗包括口服非甾体类抗炎药(NSAIDS)、钙剂、维生素 D、矫形器固定等,无法有效纠正脊柱后畸形,且老年人长期卧床还会加剧骨质疏松症发生,引起下肢静脉血栓、褥疮等相关并发症,影响治疗效果。随着骨科微创理念不断创新与发展,球囊扩张椎体后凸成形术(PKP)以微创、出血量少、住院时间短等优点,成为 OVCF 一线治疗方案[3]。但部分研究发现,PKP 术后新发脊柱压缩性骨折发生率达 8% ~20%[4]。骨密度(BMD)是反映骨骼强度重要指标,可预测骨折发生风险[5]。Ⅰ型前胶原氨基端前肽(P1NP)可反映成骨细胞活性和骨形成速率。后凸 Cobb's 角是由美国医生 Robert B. Cobb 于 1948 年发现并命名的指标,用于测量脊柱侧弯的严重程度,这一指标常被使用于诊断和治疗脊柱侧弯症状的患者。Cobb's 角的测量是通过计算脊柱侧弯处两个最靠近的椎体之间的角度来实现的,即顶椎体的上界线和底椎体的下界线相交的两条直线所形成的角度。目前临床上关于上述指标预测 PKP 术后再发骨折风险研究报道较少。本研究旨在探讨后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 对 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折风险的预测价值,现报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 12 月—2020 年 6 月石家庄市人民医院骨科收治的行 PKP 术的 OVCF 患者 110 例作为研究对象,男 64 例,女 46 例,年龄 50 ~ 80 (65.22 ± 5.12)岁;体质量指数 16 ~ 26 (21.35 ± 1.25) kg/m^2;合并糖尿病 81 例,合并高血压 56 例。本研究经医院伦理委员会批准([2018]第 128 号),患者及家属知情同意且签署知情同意书。

1.2　纳入、排除标准　纳入标准:(1)符合《骨质疏松性椎体压缩骨折诊治专家共识》[6]中关于 OVCF 的诊断标准,急性或慢性持续性腰背部、胸背部疼痛,表现为相应节段神经分布区域的胸肋部疼痛;胸椎、腰椎后凸、侧凸畸形,胸腰部活动受限;X 线检查有楔形或"双凹征"改变;MR 检查可见椎体压缩,不伴椎体信号改变;(2)年龄 > 50 岁;(3)均经 X 线、CT、MR 诊断;(4)均行 PKP 术治疗者;(5)术后能够定期进行有效随访;(6)临床病理资料齐全者。排除标准:(1)曾患有脊柱肿瘤者;(2)交通事故、高坠伤等巨大外力导致骨折者;(3)继发性骨质疏松导致脊柱骨折;(4)陈旧性压缩性骨折;(5)既往有其他胸椎或腰椎手术史者;(6)手术禁忌证者;(7)影像学资料不完整者。

1.3　手术方法　术前行常规检查,了解患者全身状况是否耐受手术,对合并高血糖者先给予降糖药物或注射胰岛素治疗,对合并高血压者先给予口服降压药及低盐低脂饮食,对合并冠心病者,口服改善心功能药物,待心功能改善后手术。患者取俯卧位,C 臂机正侧位透视定位伤椎,通过德国西门子 3D 影像系统透视下将责任椎体处于理想透视位置,全身静脉全麻后,做 0.4 cm 切口,在左侧 2 点钟、右侧 10 点钟方向进针,穿刺针与人体矢状面夹角为 20°,采用双向透视观察穿刺方向,穿刺针依次置入导针、扩张管、工作套管,置入球囊扩张系统,直至其深度达到椎弓根骨膜。将穿刺针于 X 线透视下穿刺椎弓根至患椎 1/3 部,取出球囊,C 臂机透视下注入 4 ml 骨水泥,待骨水泥溢出椎体时,选择套管,防止骨水泥扩散,尽量使骨水泥均匀分布同时接触上下终板。术后 3 d 复查 X 线、CT。检查骨水泥渗漏情况,辅助患者进行功能康复训练。

1.4　观察指标与方法　(1)收集所有患者一般资料,包括性别、年龄、体质量指数(BMI)、骨水泥注入量、骨

折椎体个数、既往骨折病史等。(2) BMD 检测:术后使用双能 X 线吸收法测定 BMD 值,正常 BMD 值:-1~1 SD;低 BMD 值:-2.5~<-1.0 SD;骨质疏松症:<-2.5 SD。(3)血清 P1NP 检测:术后采集患者空腹静脉血 5 ml,3 000 r/min 离心 5 min,离心半径 15 cm,留取血清,酶联免疫吸附法检测血清 P1NP 水平,严格按照试剂盒说明书操作。(4)术后行侧位椎体 X 线检查,测量后凸 Cobb's 角。

1.5　随访　所有患者术后随访 2 年,随访终点时间 2022 年 6 月。根据随访过程中是否出现新发骨折分为再发骨折组和未再发骨折组。再发骨折诊断标准:(1)PKP 术后原有症状缓解后再次出现;(2)起床或翻身时疼痛明显加重;(3)复查影像学检查时显示新鲜骨折,排除外伤及其他疾病引起者。

1.6　统计学方法　采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计数资料用频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验;Cox 回归分析影响 PKP 术后再发骨折的危险因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析 BMD、P1NP 对 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的预测价值。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　OVCF 患者 PKP 术后随访结果　对 110 例 OVCF 患者 PKP 术后进行有效随访,随访时间 2 年,随访期间共发生新发骨折 28 例,骨折再发生率为 25.45%,包括相邻节段椎体 19 例,其他部位椎体骨折 9 例;骨折再发时间 3~27(12.11±2.51)个月。

2.2　2 组患者临床资料及术后指标比较　2 组患者性别、年龄、BMI、骨水泥注入量、骨水泥渗漏、骨折椎体、是否接受骨质疏松治疗、血钙值差异均无统计学意义($P>0.05$),2 组后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 差异具有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

2.3　影响 PKP 术后再发骨折的多因素 Cox 分析　以 PKP 术后再发骨折作为因变量,单因素中有差异的后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 作为自变量,Cox 分析显示,后凸 Cobb's 角增大、BMD 降低、P1NP 升高均是影响 PKP 术后再发骨折的危险因素($P<0.01$),见表 2。

2.4　后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 对 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的预测价值　后凸 Cobb's 角≥5.87°、BMD≤-3.38 SD、P1NP≥50.67 μg/L 时,AUC 值分别为 0.725、0.846、0.836,后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 联合检测预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的 AUC 值高于单项检测(Z/P = 8.129/<0.001, 7.195/<0.001, 7.695/<0.001),见图 1、表 3。

表 1　2 组患者临床资料及术后指标比较

Tab. 1　Comparison of general data and postoperative indicators of patients in the 2 groups

项　目		未再发骨折组($n=82$)	再发骨折组($n=28$)	t/χ^2 值	P 值
性别(男/女,例)		45/37	19/9	1.445	0.229
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		68.20±5.26	68.86±5.47	0.568	0.572
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)		21.17±1.14	21.21±1.13	0.161	0.873
骨水泥注入量($\bar{x} \pm s$,ml)		3.73±1.17	3.75±1.22	0.077	0.939
骨水泥渗漏[例(%)]		21(25.61)	12(42.86)	2.957	0.086
骨折椎体[例(%)]	单节段	45(54.88)	15(53.57)	0.014	0.905
	双节段	37(45.12)	13(46.43)		
接受骨质疏松治疗[例(%)]		48(58.54)	16(57.14)	0.017	0.897
后凸 Cobb's 角($\bar{x} \pm s$,°)		5.11±1.12	6.54±2.01	4.678	<0.001
血钙($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		1.64±0.16	1.61±0.18	0.830	0.409
BMD($\bar{x} \pm s$,SD)		-3.05±0.31	-3.38±0.33	4.784	<0.001
P1NP($\bar{x} \pm s$,μg/L)		46.88±6.25	53.52±7.58	4.591	<0.001

表 2　影响 PKP 术后再发骨折的多因素 Cox 分析

Tab. 2　Multifactorial Cox analysis affecting recurrent fractures after PKP surgery

因　素	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	P 值	*OR* 值	95% *CI*
后凸 Cobb's 角增大	0.332	0.105	9.998	<0.001	1.394	1.135~1.712
BMD 降低	0.647	0.269	5.785	<0.001	1.910	1.127~3.236
P1NP 升高	0.761	0.347	4.810	<0.001	2.140	1.084~4.225

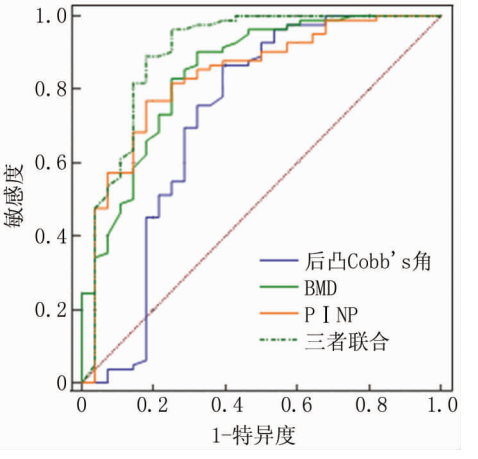


图 1　后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 单独及联合预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curves of the posterior convex Cobb's angle, BMD, and P1NP alone and in combination to predict recurrent fractures after PKP in patients with OVCF

3　讨　论

骨质疏松症现已跃居各种常见病第 7 位[7-8]。老年患者多合并各种慢性疾病,如糖尿病,持续性高血糖会造成渗透性利尿,发生钙迁移,骨钙含量减少,同时骨钙游离进入血液,产生动脉粥样硬化,加重骨质疏

表 3　后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 对 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折的预测价值　[例(%)]

Tab. 3　Predictive value of posterior convex Cobb's angle, BMD, and P1NP for recurrent fractures after PKP in patients with OVCF

项　目	*cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	*P* 值	敏感度	特异度	约登指数
后凸 Cobb's 角	≥5.87°	0.725	0.631 ~ 0.806	0.002	0.866	0.607	0.473
BMD	≤ −3.38 SD	0.846	0.765 ~ 0.908	<0.001	0.902	0.679	0.581
P1NP	≥50.67 μg/L	0.836	0.753 ~ 0.900	<0.001	0.768	0.822	0.590
联合检测		0.899	0.827 ~ 0.948	<0.001	0.963	0.750	0.713

松。PKP 是脊柱椎体强化手术治疗有效方法,其将可充气球囊装置在椎体,显影液体注入球囊,扩张球囊,可恢复椎体高度,纠正后凸畸形,还可在一定程度上缓解椎体对周围组织神经压迫,为老年患者提供手术可能。但部分患者 PKP 术后容易发生邻椎或其他椎体再骨折情况,目前认为 PKP 术后骨折再发生可能与患者自身基础因素、骨折前的外伤和既往骨折病史、手术因素和患者的依从性有关。多数学者认为,PKP 术后再发骨折高危因素是骨坏死和椎体内裂隙样变[9]。有研究显示,PKP 术后再发骨折风险高于保守治疗[10]。但更多研究认为,保守治疗并不会降低 PKP 术后再发骨折风险,且经 PKP 术治疗的 OVCF,其再骨折发生率显著低于非手术治疗。因此,现有研究结果更倾向于 OVCF 患者 PKP 术后骨折再发与患者自身的骨质疏松有关。

本研究结果显示,后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 均是 PKP 术后再发骨折的危险因素,这一研究与既往多数研究结果相符[11-12]。后凸 Cobb's 角可反映脊柱弯曲程度,该角度增加提示脊柱不稳定性增加,促使脊柱再次骨折。本研究中未再发骨折组后凸 Cobb's 角低于再发骨折组,提示 PKP 术对 OVCF 患者脊柱骨折具有改善作用,且未再发骨折组指标下降更显著,提示临床可通过后凸 Cobb's 角评估 PKP 术后改善程度,为 PKP 术后评估再发骨折风险提供参考。叶东亮等[13]对 71 例 OVCF 患者行 PKP 术后随访发现,骨密度值、腰椎椎体 CT 值是骨折再发生的危险因素。黄永恒等[14]认为骨密度降低、后伸肌群相对横截面积降低及后伸肌群脂肪浸润率升高是 OVCF 患者 PKP 术后骨折再发生的危险因素。上述研究充分说明 BMD 水平升高是 PKP 术后再发骨折的影响因素。临床可通过骨密度检查分析患者是否处于骨量低下或骨质疏松,但 BMD 不能全面反映骨强度,OVCF 患者中,BMD 下降提示骨质量降低、骨量减少,但无法反映骨小梁结构因素[15]。单独检测 BMD 水平局限性较大,使用该指标预测骨折再发效果不佳。骨代谢生化指标具有敏感度高、易于检测的特点,其血清浓度可反映骨重塑活性,较高骨重塑活性提示着较高骨折风险[16]。P1NP 可反映 Ⅰ 型胶原合成和转化情况,该指标检测优点在于动态性,术后抗骨质疏松 1 个月即可检测出 P1NP 变化情况[17-18]。进一步分析后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 对骨折再发生的预测价值,结果显示,后凸 Cobb's 角、BMD 联合 P1NP预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折 AUC 值高于单项检测,提示三者联合检测预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折价值较高。另外本研究结果还显示,后凸 Cobb's 角 ≥ 5.87°、BMD ≤ −3.38 SD、P1NP ≥ 50.67 μg/L患者的再发骨折风险显著增加,因此对于后凸 Cobb's 角 ≥5.87°、BMD ≤ −3.38 SD、P1NP ≥ 50.67 μg/L的 OVCF 患者,在行 PKP 术时应充分考虑其术后骨折再发的高风险性,术后做好规范抗骨质疏松治疗,在随访中也要密切观察患者的症状,出现新发胸背部疼痛情况首先考虑骨折再发的可能,及早予以治疗。另外有研究显示,年龄因素和骨水泥渗漏是 PKP 术后再发骨折危险因素,年龄增长使机体内性激素生成减少,抗氧化能力减弱,抑制成骨细胞和骨细胞功能,导致骨质疏松,随着年龄增长,骨质疏松加重,更容易引起再骨折;由于破损软骨终板裂隙渗漏到椎间隙的骨水泥降低了椎间盘缓冲能力,引起邻椎缓慢退变,一定程度上增加了手术椎体邻椎骨折风险[19-20]。本研究中 2 组患者年龄与骨水泥渗漏因素差异无统计学意义,原因可能与本研究样本量较少有关,需在今后扩大样本量进行深入研究。

综上,定期监测后凸 Cobb's 角、BMD、P1NP 水平可在早期预测 OVCF 患者 PKP 术后再发骨折风险,及时给予干预措施。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张弛:研究设计方案,实施研究过程,论文撰写;吴海龙、张帅:设计研究方案、研究流程,论文审核;田振峰、张斌:资料搜集整理

参考文献

[1]　赵少珩,李兵,李程. 骨质疏松性椎体压缩性骨折 MRI 信号与 PVP 手术效果的相关性[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志,2021,19(9):161-163. DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2021.09.051.

[2]　Geng Z, Zhou Q, Shang G, et al. Short-term efficacy of the percutaneous vertebroplasty using a curved versus straight vertebroplasty needle

in osteoporotic vertebral compression fractures[J]. Orthopedics, 2020, 44(1): 131-138. DOI: 10.3928/01477447-20201012-03.

[3] 宋春健,周荣,李东. PKP 椎体强化治疗骨质疏松性胸腰椎压缩骨折后椎体再塌陷的相关因素分析[J]. 系统医学 2021, 6(22): 153-156. DOI: 10.19368/j.cnki.2096-1782.2021.22.153.

[4] 潘洪,陈宏,林宗阳. 骨质疏松性椎体骨折术后血钙,骨代谢状态变化及再骨折风险分析[J]. 中华内分泌外科杂志, 2022, 16(1): 108-112. DOI: 10.3760/cma.j.cn.115807-20210115-00020.

[5] 张芸,张业峰,王磊,等. 不同骨密度骨质疏松性椎体压缩骨折骨组织形态与骨代谢标志物分析[J]. 中国骨质疏松杂志 2022, 28(1): 56-61. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2022.01.012.

[6] 中国康复医学会骨质疏松预防与康复专业委员会. 骨质疏松性椎体压缩骨折诊治专家共识(2021 版)[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(41): 3371-3379. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20210625-01436.

[7] 刘军,方振林. PKP 术中不同注入量高粘度骨水泥治疗骨质疏松性腰椎骨折的疗效分析[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2022, 8(1): 18-23. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2096-0263.2022.01.004.

[8] 吴丽,梁治平,熊玉超,等. 基于影像学特征对骨质疏松性椎体压缩骨折病人经皮椎体成形术后同椎体再发骨折的预测研究[J]. 国际医学放射学杂志, 2022, 45(4): 407-413. DOI: 10.19300/j.2022.L19183.

[9] He J, Xu S, Zhang B, et al. Gut microbiota and metabolite alterations associated with reduced bone mineral density or bone metabolic indexes in postmenopausal osteoporosis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(9): 8583-8604. DOI: 10.18632/aging.103168.

[10] 杨波,王庆雷,马建华,等. 两种术式治疗老年骨质疏松性椎体压缩性骨折的效果及其术后继发相邻椎体骨折的危险因素分析[J]. 首都医科大学学报, 2021, 42(2): 293-298. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2021.02.022.

[11] Tang B, Cui L, Chen X, et al. Risk factors for cement leakage in percutaneous vertebroplasty for osteoporotic vertebral compression fractures: An analysis of 1456 vertebrae augmented by low-viscosity bone cement[J]. Spine, 2021, 46(4): 216-222. DOI: 10.1097/BRS.0000000000003773.

[12] 方文焕,麦伟,颜志坚,等. 绝经后骨质疏松性椎体压缩性骨折患者血清雌激素,前脂肪因子-1 水平与骨代谢和骨密度相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(12): 1763-1766. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2021.12.008.

[13] 叶东亮,程世德,范高洁,等. MRI STIR 黑色线性信号,腰椎椎体 CT 值及骨密度值与老年骨质疏松性椎体压缩骨折发生风险的相关性研究[J]. 颈腰痛杂志, 2022, 43(4): 563-565. DOI: 10.3969/j.issn.1005-7234.2022.04.027.

[14] 黄永恒,刘星,尚显文. 骨质疏松性椎体压缩性骨折患者 PKP 治疗后发生邻近椎体骨折的危险因素分析[J]. 山东医药, 2021, 61(23): 72-76. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2021.23.018.

[15] 桂先革,蒋增辉,陈标,等. 骨钙素和Ⅰ型前胶原 N 端前肽对骨质疏松性椎体压缩性骨折患者术后再骨折的预测价值[J]. 中华老年病研究电子杂志, 2020, 10(1): 22-26. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-8757.2020.01.006.

[16] 李春阳,赵洪涛,张康. 血清 P1NP, β-CTX 水平与骨质疏松性椎体压缩骨折术后再发伤椎塌陷的相关性分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2020, 35(9): 951-953. DOI: 10.7531/j.issn.1672-9935.2020.09.018.

[17] 余俊喜,吴少坚,刘燕群,等. 骨水泥分布状况与骨质疏松性椎体压缩骨折术后再发邻近骨折的关系[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(4): 466-468. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8552.2020.04.028.

[18] 高维松,陈荣,王隆辉,等. 绝经后骨质疏松患者血清 Hepcidin、s-PⅠNP、s-HJV 水平与骨折的关系[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(10): 1040-1044. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.10.015.

[19] 曹强,段明明,周煜虎,等. 弯角椎体成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折疗效分析[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(1): 53-56. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.013.

[20] 张子龙,井齐明,乔瑞,等. 骨质疏松性椎体压缩骨折经皮椎体成形术后邻近椎体新发骨折的危险因素分析[J]. 中国修复重建外科杂志, 2021, 35(1): 20-25. DOI: 10.7507/1002-1892.202008044.

(收稿日期:2023-09-28)

作者·编者·读者

关于对冒用我刊名义进行非法征稿活动的郑重声明

近期发现网上有冒用我刊名义进行非法征稿活动的情况,我刊为此郑重声明如下:(1)疑难病杂志社地址设在石家庄,我社从未委托任何代理机构和个人开展组稿、征稿活动,任何打着我刊名义进行收稿活动的个人或机构均属非法。(2)根据国家新闻出版署的有关规定,一种期刊只能在其出版地设立一个编辑部,其他任何冒用本刊名义,在网上进行征稿及组稿的活动,均属非法行为。(3)作者来稿,请直接通过本刊投稿网址进行投稿,禁止发给个人,收稿后本刊将尽快给予处理,谨防上当受骗。

联系电话:0311-85901735,邮箱:ynbzz@163.com

投稿网址:https://ynbz.cbpt.cnki.net

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 015

论著 · 临床

腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术与经阴道骶棘韧带固定术对重度盆腔器官脱垂患者盆底功能、尿动力学影响的比较

何雪妍, 李红英, 王婷慧, 程慧

基金项目: 湖北省卫生健康委员会联合基金项目(WJ2019H188)

作者单位: 430065　武汉科技大学医学部医学院(何雪妍、王婷慧、程慧); 430070　武汉, 湖北省妇幼保健院妇科(李红英)
通信作者: 李红英, E-mail:46996531@ qq. com

【摘　要】 **目的**　观察腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术、经阴道骶棘韧带固定术对重度盆腔器官脱垂患者临床相关指标的影响。**方法**　收集 2021 年 5 月—2022 年 5 月湖北省妇幼保健院妇科诊治重度盆腔器官脱垂患者 73 例的病例资料进行回顾性分析, 根据治疗方法不同分为观察组 37 例及对照组 36 例。观察组开展腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术, 对照组开展经阴道骶棘韧带固定术。比较 2 组围术期指标及预后情况, 不同阶段器官脱垂情况、生活质量、尿动力学变化。**结果**　观察组手术时间长于对照组, 术中出血量少于对照组, 拔除尿管时间、术后住院时间短于对照组(t/P = 21.641/ < 0.001、6.195/ < 0.001、15.199/ < 0.001、17.575/ < 0.001)。观察组术后 6 个月 PFIQ-7 评分、PFDI-20评分低于对照组, 各项 POP-Q 指示点(Aa、Ba、C、Bp)、I-QOL 评分、最大膀胱容量、最大尿流率、平均尿流率高于对照组(t/P = 5.189/ < 0.001、22.447/ < 0.001、11.051/ < 0.001、16.916/ < 0.001、31.005/ < 0.001、3.477/ < 0.001、11.211/ < 0.001、3.503/ < 0.001、5.728/ < 0.001、10.010/ < 0.001); 观察组患者术后 6 个月新发压力性尿失禁率、再次手术率以及并发症发生率低于对照组[$\chi^2(t)/P$ = 5.471/0.019、4.103/0.042、4.364/0.036]。**结论**　腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术、经阴道骶棘韧带固定术均能作为重度盆腔脱垂患者有效的治疗方案, 前者术式较后者手术用时略长, 但在改善患者术后盆底功能以及尿动力学方面效果更优。

【关键词】 重度盆腔器官脱垂; 腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术; 经阴道骶棘韧带固定术; 盆底功能; 生活质量
【中图分类号】 R713.1　　【文献标识码】 A

Observation of the effects of laparoscopic high sacral ligament suspension and transvaginal sacral ligament fixation on pelvic floor function and urodynamics in patients with severe pelvic organ prolapse

*He Xueyan**, *Li Hongying*, *Wang Tinghui*, *Cheng Hui*. **Medical College*, *Wuhan University of Science and Technology*, *Hubei Province*, *Wuhan* 430065, *China*
Funding program: *Hubei Provincial Health Commission Joint Fund Project* (*WJ*2019*H*188)
Corresponding author: *Li Hongying*, *E-mail*: 46996531@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the feasibility of laparoscopic high position hysterosacral ligament suspension and transvaginal sacrospinal ligament fixation as treatment options for patients with severe pelvic organ prolapse, and to observe the impact of the above two surgical methods on clinical related indicators of patients. **Methods**　From May 2021 to May 2022, 73 patients with severe pelvic organ prolapse were treated in the Gynecology Department of Hubei Maternal and Child Health Hospital, there clinical data were collected and analyzed retrospectively. They were divided into an observation group of 37 cases and a control group of 36 cases according to different treatment methods. The observation group underwent laparoscopic high sacral ligament suspension surgery, while the control group underwent transvaginal sacral spine ligament fixation surgery. Compare perioperative indicators and prognosis between two groups, as well as organ prolapse, quality of life, and changes in urodynamics at different stages. **Results**　The observation group had longer surgical time than the control group, less intraoperative bleeding, shorter removal time of the urinary catheter, and shorter postoperative hospital stay than the control group (t/P = 21.641/ < 0.001, 6.195/ < 0.001, 15.199/ < 0.001, 17.575/0.001). The observation group

showed lower values in PFIQ-7 scores, and PFDI-20 scores at 6 months after surgery compared to the control group, including various POP-Q indicator points, I-QOL scores, maximum bladder volume, and maximum urinary flow rate The average urine flow rate showed higher values compared to the control group (t/P = 5.189/ < 0.001, 22.447/ < 0.001, 11.051/ < 0.001, 16.916/ < 0.001, 31.005/ < 0.001, 3.477/ < 0.001, 11.211/ < 0.001, 3.503/ < 0.001, 5.728/ < 0.001, 10.010/ < 0.001); The incidence of newly diagnosed stress urinary incontinence, reoperation rate, and incidence of complications in the observation group were lower than those in the control group at 6 months after surgery [$\chi^2(t)/P$ = 5.471/0.019, 4.103/0.042, 4.364/0.036]. **Conclusion** Laparoscopic high sacral ligament suspension surgery and transvaginal sacral spine ligament fixation surgery can both be effective treatment options for patients with severe postpartum pelvic prolapse. Although the former method takes slightly longer than the latter, it shows better results in improving postoperative pelvic floor function and urodynamics.

【Key words】 Severe pelvic organ prolapse; Laparoscopic suspension surgery for high position uterosacral ligament; Transvaginal sacral ligament fixation surgery; Pelvic floor function; Quality of life

盆腔器官脱垂是女性常见的盆底功能障碍性疾病,其病因及发病机制较为复杂,多与先天性因素、衰老、妊娠、分娩损伤等因素有关[1]。临床可表现为子宫和/或阴道前后壁不同程度脱垂、腰骶部酸痛及下坠感,长期盆腔器官脱垂可能会导致患者出现子宫颈或阴道壁溃疡,严重危害患者身心健康[2]。目前临床主要通过手术治疗为主,经阴道骶棘韧带固定术是治疗中盆腔器官脱垂手术中的重要术式之一,具体是将中盆腔顶端缝合固定在骶棘韧带上,是纠正中盆腔组织缺陷的重建手术[2-3]。但该术式也存在一定的缺点,包括术中骶前血管损伤所致大出血、肠道及泌尿系统损伤、术后阴道轴向改变等,对患者预后造成负面影响。而腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术作为一种较新的手术方式,主要是通过手术分离出双侧子宫骶韧带,然后进行缝合固定于中盆腔顶端,从而达到治疗目的[4-6]。基于此,本研究对腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术、经阴道骶棘韧带固定术作为重度盆腔器官脱垂患者治疗方案的可行性进行分析,并观察上述 2 种术式对患者临床相关指标的影响,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　收集 2021 年 5 月—2022 年 5 月湖北省妇幼保健院妇科诊治重度盆腔器官脱垂患者 73 例的病例资料进行回顾性分析,根据治疗方法不同分为观察组 37 例及对照组 36 例。2 组患者年龄、产次、体质量指数、基础病比较,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[2022IEC(011)号]。

1.2　病例选择标准　(1) 纳入标准:具备本次手术适应证;Ⅲ ~ Ⅳ期盆腔器官脱垂;术后能够配合规律随访。(2)排除标准:合并子宫肌瘤、子宫腺肌症,伴有宫颈延长,合并精神异常,无法进行正常沟通等。

1.3　手术方法　术前 1 周患者用普罗雌烯乳膏涂抹阴道,每日 1 ~ 2 次;术前 1 d 灌肠,术前 8 h 严禁饮水、饮食。基础步骤:全身麻醉后,取膀胱截石位,置入阴道窥具充分暴露宫颈手术视野,使用鼠齿钳对宫颈展开牵引操作,详细观察子宫情况。电刀切开宫颈黏膜,切口深度至宫颈间质处,将膀胱向上推至宫颈内口水平,电刀截除宫颈、电凝处理创面,对截除后的宫颈及阴道壁切缘以 Sturmdorf 缝合法成形,扩宫条探查宫颈管无狭窄。观察组:完成基础步骤后开展腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术,于患者脐孔上缘作一切口,置入套管针,拔出针芯,建立人工气腹,置入腔镜,分别于左中腹、左右麦氏点各作一个切口,置入套管针,进行盆腹腔探查。置举宫杯,暴露及避开双侧输尿管,依次将直肠外侧腹膜、骶韧带外侧腹膜开展打开操作,随后将骶韧带游离自起始根部,将不可吸收线自骶韧带中间部折叠连续缝合骶韧带至宫颈附着处,探查悬吊后阴道前后壁脱垂状况和阴道穹窿位置,必要时给予经阴道后壁修补术。对照组:完成基础步骤后开展经阴道骶棘韧带固定术,将阴道右侧壁切开 3 cm,对坐骨棘周围组织以沿盆壁手指钝性方式进行分离,充分暴露骶棘韧带并用 Allis 钳进行固定,对右侧骶棘韧带使用 10

表 1　对照组、观察组患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between control group and observation group

项　目		对照组 (n = 36)	观察组 (n = 37)	χ^2/t 值	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		49.21 ± 2.13	48.92 ± 3.50	0.426	0.671
产次($\bar{x} \pm s$,次)		1.76 ± 0.32	1.81 ± 0.20	0.802	0.424
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)		23.96 ± 2.67	23.13 ± 2.08	1.483	0.142
病程($\bar{x} \pm s$,月)		6.89 ± 1.42	6.53 ± 2.17	0.836	0.405
脱垂诱因	先天性因素	9(25.00)	6(16.22)	0.862	0.353
[例(%)]	分娩损伤	27(75.00)	31(83.78)		
脱垂分期	Ⅲ期	30(83.33)	32(86.49)	0.141	0.706
[例(%)]	Ⅳ期	6(16.67)	5(13.51)		
基础病	糖尿病	11(30.56)	13(35.14)	0.173	0.677
[例(%)]	高血压	25(69.44)	24(64.86)		

号丝线进行 1 针缝合，缝合位置在坐骨棘内侧 1.5 cm 处，另一端缝合于宫颈后唇筋膜上并打结固定，检查无活动性出血后，常规缝合阴道壁切口，术毕。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　围术期指标比较：记录 2 组患者手术时间、术中出血量、拔除尿管时间、术后住院时间。

1.4.2　不同阶段器官脱垂情况比较：在术前、术后 6 个月对患者器官脱垂进行 1 次评价。根据国际尿控协会制定的盆腔器官脱垂定量（POP-Q）分度法作为评估内容，分别对 Aa、Ba、C、Bp 等指示点进行测量。

1.4.3　不同阶段生活质量评分比较：在术前、术后 6 个月对患者生活质量进行 1 次评价，根据盆底功能影响问卷简表（PFIQ-7）作为评估内容，合计 7 个条目，每项 0 ~ 3 分，分数越低则生活质量越高。根据盆底功能障碍问卷（PFDI-20）作为评估内容，合计 20 个条目，每项 1 ~ 5 分，分数越低则生活质量越高。根据尿失禁生活质量问卷（I-QOL）作为评估内容，合计 3 个维度，每项 0 ~ 5 分，分数越高则生活质量越高。

1.4.4　不同阶段尿动力学指标比较：在术前、术后 6 个月，采用尿动力学仪（型号 DELPHIS，加拿大 LABORIE）检测患者最大膀胱容量、最大尿流率、平均尿流率。

1.4.5　预后情况比较：统计 2 组术后 6 个月新发压力性尿失禁率、再次手术率、并发症发生率，其中并发症事件包括阴道流血、慢性盆腔痛、阴道有异物感。

1.5　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。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；偏态分布的计量资料以 M（Q_1，Q_3）表示，组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验；计数资料以频数或率（%）表示，比较采用 χ^2 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组围术期指标比较　观察组手术时间长于对照组，术中出血量少于对照组，拔除尿管时间、术后住院时间短于对照组（$P < 0.01$），见表 2。

表 2　对照组、观察组围术期指标比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of perioperative indexes between control group and observation group

组　别	例数	手术时间（min）	术中出血量（ml）	拔除尿管时间（d）	术后住院时间（d）
对照组	36	72.95 ± 6.08	52.30 ± 6.61	2.51 ± 0.32	4.80 ± 0.47
观察组	37	126.70 ± 13.64	43.67 ± 5.23	1.49 ± 0.25	3.15 ± 0.32
t 值		21.641	6.195	15.199	17.575
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2　2 组不同阶段器官脱垂情况比较　术前 2 组 POP-Q 指示点比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）；与术前比较，术后 6 个月 2 组各项 POP-Q 指示点均升高（$P < 0.01$），且观察组各项 POP-Q 指示点高于对照组（$P < 0.01$），见表 3。

2.3　2 组不同阶段生活质量评分比较　术前 2 组生活质量评分比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）；与术前比较，术后 6 个月 2 组 PFIQ-7 评分、PFDI-20 评分降低，而 I- QOL 评分升高（$P < 0.01$）；与对照组术后 6 个月比较，观察组 PFIQ-7 评分、PFDI-20 评分降低，I-QOL评分升高（$P < 0.01$），见表 4。

表 4　对照组、观察组不同阶段生活质量评分比较　（$\bar{x} \pm s$，分）

Tab. 4　Comparison of quality of life scores at different stages between control group and observation group

组　别	时间	PFIQ-7 评分	PFDI-20 评分	I-QOL 评分
对照组	术前	18.46 ± 1.53	62.40 ± 3.59	0.76 ± 0.23
（n = 36）	术后 6 个月	8.21 ± 1.07	31.45 ± 2.11	2.57 ± 0.62
观察组	术前	17.72 ± 2.91	60.93 ± 5.02	0.82 ± 0.07
（n = 37）	术后 6 个月	6.86 ± 1.15	22.19 ± 1.34	3.99 ± 0.45
t/P 对照组内值		32.940/ <0.001	44.594/ <0.001	16.422/ <0.001
t/P 观察组内值		21.111/ <0.001	45.353/ <0.001	42.340/ <0.001
t/P 术后组间值		5.189/ <0.001	22.447/ <0.001	11.211/ <0.001

表 3　对照组、观察组不同阶段器官脱垂情况比较　（$\bar{x} \pm s$，cm）

Tab. 3　Comparison of organ prolapse at different stages between control group and observation group

组　别	时间	Aa	Ba	C	Bp
对照组	术前	1.19 ± 0.21	1.99 ± 0.23	2.32 ± 0.51	1.30 ± 0.62
（n = 36）	术后 6 个月	−2.07 ± 0.12	−1.48 ± 0.10	−4.79 ± 0.30	−2.34 ± 0.59
观察组	术前	1.27 ± 0.16	1.85 ± 0.42	2.29 ± 0.60	1.23 ± 0.54
（n = 37）	术后 6 个月	−2.63 ± 0.28	−2.01 ± 0.16	−6.86 ± 0.27	−2.85 ± 0.66
t/P 对照组内值		21.830/ <0.001	12.201/ <0.001	25.046/ <0.001	7.290/ <0.001
t/P 观察组内值		25.652/ <0.001	2.165/ 0.033	42.249/ <0.001	11.555/ <0.001
t/P 术后组间值		11.051/ <0.001	16.916/ <0.001	31.005/ <0.001	3.477/ <0.001

2.4　2 组不同阶段尿动力学指标比较　术前 2 组尿动力学指标比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；与术前比较，术后 6 个月 2 组最大膀胱容量、最大尿流率、平均尿流率增大（$P<0.01$）；与对照组术后 6 个月比较，观察组最大膀胱容量、最大尿流率、平均尿流率增大（$P<0.01$），见表 5。

表 5　对照组、观察组不同阶段尿动力学指标比较　（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 5　Comparison of urodynamic indexes at different stages between control group and observation group

组　别	时间	最大膀胱容量（ml）	最大尿流率（ml/s）	平均尿流率（ml/s）
对照组	术前	480.89 ± 43.57	15.49 ± 2.50	10.84 ± 2.07
（$n=36$）	术后 6 个月	521.97 ± 49.16	21.42 ± 3.67	14.21 ± 3.53
观察组	术前	482.10 ± 40.83	14.71 ± 3.83	9.91 ± 3.46
（$n=37$）	术后 6 个月	565.68 ± 57.03	25.86 ± 2.92	16.68 ± 2.85
t/P 对照组内值		3.752/ <0.001	8.012/ <0.001	4.947/ <0.001
t/P 观察组内值		7.248/ <0.001	14.082/ <0.001	9.186/ <0.001
t/P 术后组间值		3.503/ <0.001	5.728/ <0.001	10.010/ <0.001

2.5　预后情况比较　术后 6 个月，观察组新发压力性尿失禁率、再次手术率以及并发症发生率均低于对照组（$P<0.05$），见表 6。

表 6　对照组、观察组预后情况比较　［例（%）］

Tab. 6　Comparison of prognosis between control group and observation group

项　目	对照组（$n=36$）	观察组（$n=37$）	χ^2 值	P 值
新发压力性尿失禁	9（25.00）	2（5.40）	5.471	0.019
再次手术	6（16.66）	1（2.70）	4.103	0.042
阴道流血	2（5.55）	1（2.70）	0.376	0.539
慢性盆腔痛	3（8.33）	0	3.215	0.072
阴道异物感	3（8.33）	1（2.70）	1.116	0.290
并发症总发生率	8（22.22）	2（5.40）	4.364	0.036

3　讨　论

盆腔脏器脱垂是一种常见妇科疾病，该病多因盆底、肌肉、筋膜、韧带损伤所导致的盆腔脏器支持结构发生损伤引起，患者可出现腰骶部、阴道坠胀感，站立过久或劳累后症状明显，卧床休息则症状减轻[7]。随着盆腔器官脱垂的症状持续加重，部分阴道前壁膨出者会有排尿障碍，造成泌尿系统的症状，严重影响患者的日常生活[8]。经阴道骶棘韧带悬吊术是一种对盆腔器官进行重建的手术方法，1951 年 Amreich 最早提出手术构想，20 世纪 70 年代在欧洲各国广泛应用[9]。其优点是对顶端缺陷矫正较好，能维持正常阴道位置且不向上牵拉阴道。但该术式也暴露着不足之处，如出现术后复发，为二次修复手术增添一定的困难，并且术中用健康的组织修复已受损的组织有悖微创主旨[10-11]。

随着腹腔镜技术的发展与应用，因腹腔镜手术创伤小、操作精细、出血量少、术后并发症少、恢复快等特点，越来越受患者的青睐[12]。其中腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术是利用自身骶韧带将子宫颈或阴道顶端悬吊至正常的位置，恢复盆底解剖结构，维持阴道原长度及轴向，有效恢复了阴道长度及功能，可以保护患者性功能，同时可以避免使用网片带来补片暴露和侵蚀的风险，在临床上逐渐广泛应用[13-15]。

手术作为大量失血最常见的原因，术中正确评估患者的失血量显得格外重要。同时术后尽早拔管有利于拔管后首次排尿的成功率及拔管后首次排尿反射的形成，对防止尿潴留的发生具有重要意义[16-17]。本研究观察组除了手术时间长于对照组之外，其他围术期指标优于对照组，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术遵循微创理念，借助腹腔镜使得术者更加清晰探查盆腹腔内部结构，操作范围更广，减少不必要的组织损伤，缩短康复进程。本研究结果表明，腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术能够改善重度盆腔器官脱垂患者的围手术期指标及器官脱垂情况，与之前研究结果一致[18]。分析发现，腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术能彻底防范中盆腔顶端脱垂复发，可以维持阴道正常长度、性功能和/或保留生育功能。同时腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术遵循了盆底功能重建原则，手术区域主要集中于盆腔区域，术中借助腹腔镜功能使得手术视野维持良好状态，暴露充分，可以有效减轻周围神经组织的损伤，有利于术后组织的重建。

盆底功能障碍是妇科术后常见的并发症之一，这是由于盆底支持组织出现损伤，导致盆底支持薄弱或肌肉功能减退，使患者盆腔脏器发生移位或功能失调而出现的一系列病症，严重影响妇女的预后质量[19-20]。此外在盆腔手术过程中，分离直肠侧韧带、骶韧带过分贴近盆侧壁，可能会导致神经损伤，继而引发尿失禁的可能。本研究结果表明，腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术能够改善重度盆腔器官脱垂患者的尿动力学指标及生活质量，与之前研究结果一致[21-22]。分析发现，腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术依据输尿管与宫骶韧带解剖关系，手术过程在中间部从侧向内进行缝合，完全可以避免手术对输尿管的损害，不影响患者术后的排尿功能。本研究结果表明，腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术能够降低重度盆腔器官脱垂患者的新发压力性尿失禁率、再次手术率、并发症发生率，与之前研究结果一致[23]。分析发现，腹腔镜下高位宫骶韧带

悬吊术是利用患者自身组织完成,完全避免了经阴道骶棘韧带固定术网片相关并发症,如慢性盆腔痛、神经损伤、网片侵蚀及暴露等,降低术后并发症的发生率。此外腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术借助宫骶韧带极限载荷力将其作为悬吊拉点,在不改变阴道轴向基础上使子宫恢复至正常解剖位置,能够避免再次手术的发生。

综上,腹腔镜下高位宫骶韧带悬吊术、经阴道骶棘韧带固定术均能作为产后重度盆腔脱垂患者有效的治疗方案,虽然前者术式较之后者手术用时略长,但在改善患者术后盆底功能以及尿动力学方面体现出更优的效果。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

何雪妍:实施研究过程,论文撰写,论文修改,分析试验数据;李红英:设计研究方案,提出研究思路,论文审核;王婷慧:资料搜集整理;程慧:进行统计学分析

参考文献

[1] 黄卫娇,熊娟. 盆腔器官脱垂患者术前功能状态的研究进展[J]. 护士进修杂志,2019,34(3):252-254. DOI:10. 16821/j. cnki. hsjx. 2019. 03. 015.

[2] 宋岩峰. 老年盆腔器官脱垂的治疗原则及术式选择[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2015,31(4):304-307. DOI:10. 7504/fk2015030109.

[3] 丁锦,罗贤臣,倪观太. 经阴道骶棘韧带固定术研究进展[J]. 中国妇产科临床杂志,2021,22(2):215-217. DOI:10. 13390/j. issn. 1672-1861. 2021. 02. 041.

[4] 吴伟英. 经阴道骶棘韧带固定术治疗子宫、阴道穹窿脱垂的临床效果[J]. 重庆医学,2014,43(6):728-730. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2014. 06. 036.

[5] 郑颖龄,周丽,王雅卉. 经腹腔镜高位骶韧带悬吊术和经阴道骶棘韧带固定术治疗老年中度子宫脱垂患者的疗效比较[J]. 中国妇幼保健,2022,37(19):3677-3681. DOI:10. 19829/j. zgfybj. issn. 1001-4411. 2022. 19. 050.

[6] 冷冰洁,周全,佐满珍. 盆腔器官脱垂分子及遗传流行病学研究进展[J]. 实用医学杂志,2016,32(10):1716-1718. DOI:10. 3969/j. issn. 1006-5725. 2016. 10. 051.

[7] 邓志敏,代芳芳,程艳香. 盆底器官脱垂分子生物学发病机制的研究进展[J]. 中国计划生育和妇产科,2021,13(8):12-14,22. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-4020. 2021. 08. 04.

[8] 洪莎莎. 盆腔器官脱垂研究进展[J]. 中国计划生育和妇产科,2017,9(9):19-22,27. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-4020. 2017. 09. 07.

[9] Ulrich D, Letouzey V, Balenbois E, et al. Utero-vaginal suspension using bilateral vaginal anterior sacrospinous fixation with mesh: Intermediate results of a cohort study[J]. International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction, 2015, 26(12): 1803-1807. DOI:10. 1007/s00192-015-2748-z.

[10] 黄志宏,左约维,罗怀钦. 经阴道骶棘韧带悬吊术治疗盆腔器官脱垂的疗效观察[J]. 中国全科医学,2012,15(21):2464-2465. DOI:10. 3969/j. issn. 1007-9572. 2012. 07. 114.

[11] 倪观太,张莹,丁锦. 经阴道前壁路径骶棘韧带悬吊术治疗盆腔器官脱垂的短期疗效分析[J]. 现代妇产科进展,2017,26(8):595-598. DOI:10. 13283/j. cnki. xdfckjz. 2017. 08. 008.

[12] Houlihan S, Kim-Fine S, Birch C, et al. Uterosacral vault suspension (USLS) at the time of hysterectomy: laparoscopic versus vaginal approach[J]. International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction, 2019, 30(4): 611-621. DOI: 10. 1007/s00192-018-3801-5.

[13] 张坤,韩劲松. 腹腔镜下高位骶韧带悬吊术治疗子宫脱垂的疗效探讨[J]. 中国妇产科临床杂志,2013,14(2):106-109. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-1861. 2013. 02. 004.

[14] 陈晓霞. 腹腔镜下子宫骶韧带高位悬吊术治疗子宫脱垂临床效果分析[J]. 山西医药杂志,2016,45(6):663-665. DOI:10. 3969/j. issn. 0253-9926. 2016. 06. 015.

[15] 于鹤. 65 例子宫脱垂患者腹腔镜下骶韧带高位悬吊术治疗的临床分析[J]. 中国妇幼保健,2018,33(20):4773-4775. DOI:10. 7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2018. 20. 67.

[16] 王琪,林超琴,徐颖,等. 经阴道高位骶韧带悬吊联合改良曼氏手术治疗年轻子宫脱垂的疗效[J]. 广东医学,2022,43(1):75-79. DOI:10. 13820/j. cnki. gdyx. 20211841.

[17] 陈银玲,詹文华. 骶韧带高位悬吊术治疗子宫脱垂的效果及对生活质量的影响[J]. 宁夏医学杂志,2022,44(9):828-830. DOI:10. 13621/j. 1001-5949. 2022. 09. 0828.

[18] 李宏杰,孙然,李娜,等. 不同手术方式治疗生育期子宫脱垂患者的效果分析[J]. 中国综合临床,2021,37(1):52-56. DOI:10. 3760/cma. j. cn101721-20200601-00040.

[19] 谈丽丽,葛君,蒲巍林,等. 三种方法对 PFD 患者围术期指标、PFDI-20评分及术后并发症的影响[J]. 中国妇产科临床杂志,2021,22(3):303-304.

[20] 杨志娟,陈华,李际春. 三种修补术在阴道后壁脱垂患者中的临床应用[J]. 宁夏医科大学学报,2014,36(8):926-928. DOI:10. 13390/j. issn. 1672-1861. 2021. 03. 031.

[21] 王洋. 经阴道子宫切除联合阴道前后壁修补术对盆腔器官脱垂患者生活质量及盆底功能的影响[J]. 医学临床研究,2018,35(1):150-152. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-7171. 2018. 01. 051.

[22] 高岩岩,邢玲溪,张萍. 盆腔器官脱垂和压力性尿失禁术后补片相关并发症的研究进展[J]. 中国性科学,2021,30(4):38-41. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-1993. 2021. 04. 013.

[23] 周辉,吴俊杰,梁波. 经耻骨后路径阴道无张力尿道中段悬吊术对女性压力性尿失禁患者有效性和并发症发生的影响[J]. 中国妇幼保健,2021,36(16):3713-3715. DOI:10. 19829/j. zgfybj. issn. 1001-4411. 2021. 16. 018.

(收稿日期:2023 - 12 - 01)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 016

论著 · 临床

血清 IL-41 及 ACE2 水平诊断小儿川崎病的临床价值

金程, 陆冬慧, 张榴榴, 谢晋

基金项目: 安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2019b102)
作者单位: 230000　安徽省合肥市妇幼保健院普儿科(金程、陆冬慧、张榴榴), 儿外科(谢晋)
通信作者: 金程, E-mail: 13359018906@163.com

【摘　要】 **目的**　探索川崎病(KD)患儿血清白介素 41(IL-41)、血管紧张素转化酶 2(ACE2)表达水平及临床诊断价值。**方法**　选取 2018 年 12 月—2022 年 12 月合肥市妇幼保健院普儿科诊治 KD 患儿 80 例为 KD 组, 根据超声心动图结果, 分为冠状动脉损伤(CAL)亚组($n=26$)和非 CAL 亚组($n=54$), 以同期急性上呼吸道感染伴发热患儿为对照 2 组($n=40$), 同期行择期手术的腹股沟斜疝患儿为对照 1 组($n=40$)。采用酶联免疫吸附法检测血清 IL-41、ACE2 水平; 采用 Pearson 相关分析血清 IL-41、ACE2 与临床资料的相关性; 多因素 Logistic 回归分析影响 KD 患儿发生 CAL 的影响因素; 绘制受试者工作特征曲线分析血清 IL-41、ACE2 预测 KD 患儿发生 CAL 的价值。**结果**　血清IL-41、ACE2 水平比较, KD 组 > 对照 2 组 > 对照 1 组, 差异均有统计学意义($F/P=519.731/<0.001$, $1\ 115.501/<0.001$); KD 组患儿血清 IL-41、ACE2 水平与发热时间、C 反应蛋白及降钙素原呈正相关(IL-41: $r/P=0.562/<0.001$, $0.589/<0.001$, $0.613/<0.001$; ACE2: $r/P=0.622/<0.001$, $0.609/<0.001$, $0.574/<0.001$)。CAL 亚组发热时间、C 反应蛋白、降钙素原、IL-41、ACE2 均高于非 CAL 亚组, 差异有统计学意义($t/P=3.459/0.001$, $11.187/<0.001$, $11.377/<0.001$, $12.299/<0.001$, $25.882/<0.001$)。血清 IL-41、ACE2、发热时间、C 反应蛋白、降钙素原升高是影响 KD 患儿 CAL 发生的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.598(1.271 ~ 2.010), 1.573(1.241 ~ 1.994), 1.384(1.142 ~ 1.667), 1.496(1.171 ~ 1.912), 1.513(1.159 ~ 1.975)]。血清 IL-41、ACE2 及两项联合预测 KD 患儿发生 CAL 的 AUC 分别 0.812、0.815、0.878, 两项联合的 AUC 大于血清 IL-41、ACE2 单一检测($Z/P=5.116/<0.001$、$4.217/0.009$)。**结论**　KD 患儿血清 IL-41、ACE2 升高, 与发热时间、C 反应蛋白及降钙素原有关, 两者联合对 KD 患儿 CAL 发生具有较高的预测价值。

【关键词】 川崎病; 白介素 41; 血管紧张素转化酶 2; 诊断; 儿童
【中图分类号】 R725.4　　【文献标识码】 A

Clinical value of serum IL-41 and ACE2 levels in the diagnosis of pediatric Kawasaki disease

Jin Cheng, Lu Donghui, Zhang Liuliu, Xie Jin. *Department of General Pediatrics, Hefei Maternal and Child Health Hospital, Anhui Province, Hefei 230000, China*

Funding program: Scientific Research Project of Anhui Provincial Health and Health Commission (AHWJ2019b102)

Corresponding author: Jin Cheng, E-mail: 13359018906@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the expression level of serum interleukin 41 (IL-41) and angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and the clinical diagnostic value of pediatric Kawasaki disease (KD). **Methods**　Eighty cases of KD children diagnosed and treated in the Department of General Pediatrics of Hefei Maternal and Child Health Hospital from December 2018 to December 2022 were selected as the KD group, which were divided into the coronary artery lesion (CAL) subgroup according to echocardiographic results ($n=26$) and the non-CAL subgroup ($n=54$), with children with acute upper respiratory tract infection with fever in the same period as control group 2 ($n=40$) and children with inguinal hernia undergoing elective surgery in the same period as control group 1 ($n=40$). The enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of serum IL-41 and ACE2; Pearson's correlation was used to analyze the correlation between serum IL-41 and ACE2 and the clinical data; multifactorial logistic regression was used to analyze the factors affecting the occurrence of CAL in children with KD; and the working characteristic curves of the subjects were plotted to analyze the value of serum IL-41 and ACE2 in predicting the occurrence of CAL in children with KD. The working characteristic curves of subjects were plotted to analyze the value of serum IL-41 and ACE2 in predicting CAL in children with KD. **Results**　Comparison of serum IL-41 and ACE2 levels were as follows: KD group > control 2 group > control 1 group, and the differences were

statistically significant (F/P = 519.731/ < 0.001, 1 115.501/ < 0.001); IL-41 and ACE2 levels of KD children were positively correlated with fever duration, C-reactive protein and calcitoninogen (IL-41: r/P = 0.562/ < 0.001, 0.589/ < 0.001, 0.613/ < 0.001; ACE2: r/P = 0.622/ < 0.001, 0.609/ < 0.001, 0.574/ < 0.001). The CAL subgroup had higher duration of fever, C-reactive protein, calcitoninogen, and IL-41, ACE2 were higher than those in the non-CAL subgroup, and the differences were statistically significant (t/P = 3.459/0.001, 11.187/ < 0.001, 11.377/ < 0.001, 12.299/ < 0.001, 25.882/ < 0.001). Elevated serum IL-41, ACE2, duration of fever, C-reactive protein, and calcitoninogen were independent risk factors affecting the development of CAL in children with KD [$OR(95\% CI)$ = 1.598 (1.271 – 2.010), 1.573 (1.241 – 1.994), 1.384 (1.142 – 1.667), 1.496 (1.171 – 1.912), 1.513 (1.159 – 1.975)]. The AUCs of serum IL-41, ACE2 and the combination of the two predicted the occurrence of CAL in children with KD were 0.812, 0.815, and 0.878, respectively, and the AUCs of the combination of the two were greater than those of serum IL-41 and ACE2 single test (Z/P = 5.116/ < 0.001, 4.217 /0.009). **Conclusion** Elevated serum IL-41 and ACE2 in children with KD are related to the duration of fever, C-reactive protein and calcitoninogen, and the combination of these two tests has a high predictive value for the occurrence of CAL in children with KD.

【**Key words**】 Kawasaki disease; Interleukin 41; Angiotensin-converting enzyme 2; Diagnosis; Children

川崎病(Kawasaki disease, KD)是儿童常见的急性血管性炎性疾病[1]。冠状动脉是 KD 最主要的受累血管,可发生冠状动脉损伤(coronary artery lesions, CAL),危及生命[2]。目前 KD 的诊断主要根据临床症状和体征,缺乏特异性的诊断指标。白介素 41(interleukin 41,IL-41)是一种小分子分泌蛋白,具有营养神经、拮抗胰岛素抵抗及调节脂质代谢等多种功能[3-4]。血管紧张素转化酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 主要表达于血管内皮细胞中,能够结合分解血管紧张素,调节血管内皮细胞的结构和功能[5]。近年来发现,ACE2 基因多态性能够增加 KD 的发生风险,是 KD 患儿早期诊断的生物标志物[6-7]。目前血清 IL-41、ACE2 在 KD 患儿中表达的临床意义尚不明确。现检测 KD 患儿血清 IL-41、ACE2 水平,探讨两者的临床价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 12 月—2022 年 12 月合肥市妇幼保健院普儿科诊治 KD 患儿 80 例为 KD 组,男 46 例,女 34 例,年龄 0.5 ~ 9(3.76 ± 1.28)岁;病程 1 ~ 7(3.12 ± 0.74)d;无明显诱因、无糖尿病等基础疾病、无既往治疗史及家族遗传史;完全性 KD 60 例,不完全性 KD 20 例;根据超声心动图结果,分为冠状动脉损伤(CAL 亚组)26 例和非冠状动脉损伤(非 CAL 亚组)54 例。同期急性上呼吸道感染伴发热患儿 40 例为对照 2 组,男 22 例,女 18 例;年龄 0.5 ~ 10(3.68 ± 1.39)岁,均排除心血管疾病、自身免疫系统疾病等。同期行择期手术的腹股沟斜疝患儿 40 例为对照 1 组,男 23 例,女 17 例;年龄 0.6 ~ 12(3.75 ± 1.71)岁。3 组患儿性别、年龄比较差异无统计学意义(P > 0.05)。本研究经医院伦理委员会审核通过(YYLL2018-2018FY06-05-01),患儿家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　KD 组病例选择标准　(1)纳入标准:①KD 诊断符合美国心脏协会和美国儿科学会制定的《川崎病诊断指南》[8];②超声心动图结果显示存在冠状动脉瘤或冠状动脉扩张时诊断为 CAL,冠状动脉扩张标准具体为:年龄 < 5 岁时,冠状动脉内径 > 3.0 mm;≥5 岁时,冠状动脉内径 > 4.0 mm;扩张冠状动脉内径超过临近冠状动脉内径 1.5 倍以上,冠状动脉管腔明显不规则;③KD 处于急性期;④初次诊治;⑤均接受静脉注射免疫球蛋白(IVIG)治疗;⑥临床资料完整。(2)排除标准:①合并上呼吸道感染、肺炎等;②合并先天性心肺畸形;③合并自身免疫系统疾病,接受糖皮质激素等免疫抑制治疗。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　临床资料收集:记录患儿性别、年龄、发热时间等资料。实验室检查:白细胞计数、中性粒细胞百分比、淋巴细胞百分比、血小板计数、血红蛋白、红细胞沉降率、血钠、C 反应蛋白、降钙素原、白蛋白、丙氨酸氨基转移酶及天冬氨酸氨基转移酶等。

1.3.2　血清 IL-41、ACE2 水平检测:于患儿入院后治疗前,对照 1 组患儿入院后次日清晨留取空腹静脉血约 3 ml,4℃条件下离心留取上层血清。采用酶联免疫吸附实验检测血清 IL-41(ELISA 试剂盒,购自天津怡森源生物科技公司,货号 YSH109068)、ACE2(ELISA 试剂盒购自上海联祖生物科技公司,货号 LZ-E028872)水平。操作步骤参照试剂盒说明书进行。试验结束后采用全自动酶标仪(美国 Bio-RAD 公司,型号 550)检测 450 nm 吸光度值,根据标准曲线计算样品浓度。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组比

较采用独立样本 t 检验，3 组间比较采用单因素方差分析检验，多组间两两比较采用 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；Pearson 相关分析 KD 患儿血清 IL-41、ACE2 与临床参数的相关性；多因素 Logistic 回归分析 KD 患儿 CAL 发生的影响因素；受试者工作特征曲线（receiver operating characteristic，ROC）分析血清 IL-41、ACE2 预测 KD 患儿发生 CAL 的价值。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　3 组血清 IL-41、ACE2 水平比较　血清 IL-41、ACE2 水平比较，KD 组 > 对照 2 组 > 对照 1 组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 1。

表 1　3 组血清 IL-41、ACE2 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 1　Comparison of serum IL-41 and ACE2 levels in the three groups

组　别	例数	IL-41（ng/L）	ACE2（μg/L）
对照 1 组	40	80.58 ± 8.12	1.22 ± 0.23
对照 2 组	40	112.35 ± 20.27	2.35 ± 0.44
KD 组	80	217.14 ± 30.28	9.18 ± 1.36
F 值		519.731	1115.501
P 值		<0.001	<0.001

2.2　CAL 亚组与非 CAL 亚组 KD 患儿血清 IL-41、ACE2 水平及临床资料比较　CAL 亚组发热时间、C 反应蛋白、降钙素原及血清 IL-41、ACE2 均高于非 CAL 亚组，差异均有统计学意义（$P<0.01$）；其他资料 2 亚组比较差异均无统计学意义（$P>0.05$），见表 2。

2.3　KD 患儿血清 IL-41、ACE2 水平与主要临床/血液指标的相关性　KD 组患儿血清 IL-41、ACE2 水平与发热时间、C 反应蛋白及降钙素原（PCT）呈正相关（P 均 <0.01），见表 3。

表 3　KD 患儿血清 IL-41、ACE2 水平与主要临床/血液指标的相关性

Tab. 3　Correlation between serum IL-41 and ACE2 levels and major clinical/hematologic indicators in children with KD

项　目	IL-41		ACE2	
	r 值	P 值	r 值	P 值
发热时间	0.562	<0.001	0.622	<0.001
C 反应蛋白	0.589	<0.001	0.609	<0.001
PCT	0.613	<0.001	0.574	<0.001
白细胞计数	0.453	0.121	0.227	0.425
中性粒细胞百分比	0.368	0.278	0.379	0.224
红细胞沉降率	0.552	0.098	0.404	0.191
丙氨酸氨基转移酶	0.416	0.180	0.252	0.326
天冬氨酸氨基转移酶	0.352	0.321	0.409	0.091

2.4　影响 KD 患儿发生 CAL 多因素 Logistic 回归分析　以 KD 患儿发生 CAL 为因变量（赋值：是为“1”；否为“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 IL-41 高、ACE2 高、发热时间长、C 反应蛋白高、PCT 高是影响

表 2　CAL 亚组与非 CAL 亚组 KD 患儿血清 IL-41、ACE2 水平及临床资料比较

Tab. 2　Comparison of serum IL-41, ACE2 levels and clinical data between the CAL subgroup and the non-CAL subgroup of children with KD

项　目		非 CAL 亚组（$n=54$）	CAL 亚组（$n=26$）	t/χ^2 值	P 值
性别（男/女）		30/24	16/10	0.257	0.612
年龄（$\bar{x}\pm s$，岁）		3.72 ± 1.24	3.85 ± 1.33	0.429	0.669
发热时间（$\bar{x}\pm s$，d）		6.62 ± 1.68	8.13 ± 2.11	3.459	0.001
白细胞计数（$\bar{x}\pm s$，$\times10^9$/L）		13.45 ± 4.12	13.16 ± 4.51	0.286	0.776
中性粒细胞百分比（$\bar{x}\pm s$，%）		61.45 ± 14.33	65.83 ± 15.62	0.960	0.340
淋巴细胞百分比（$\bar{x}\pm s$，%）		26.41 ± 12.30	25.95 ± 12.38	0.156	0.876
血红蛋白（$\bar{x}\pm s$，g/L）		114.11 ± 11.58	111.28 ± 11.24	1.033	0.305
红细胞沉降率（$\bar{x}\pm s$，mm/h）		57.22 ± 15.14	62.13 ± 14.55	1.376	0.173
血钠（$\bar{x}\pm s$，mmol/L）		136.52 ± 3.23	135.52 ± 3.41	1.274	0.207
血小板计数（$\bar{x}\pm s$，$\times10^9$/L）		361.56 ± 114.90	347.82 ± 104.15	0.498	0.620
C 反应蛋白（$\bar{x}\pm s$，mg/L）		40.76 ± 7.78	62.53 ± 8.89	11.187	<0.001
降钙素原（$\bar{x}\pm s$，μg/L）		0.21 ± 0.04	0.35 ± 0.07	11.377	<0.001
白蛋白（$\bar{x}\pm s$，g/L）		37.65 ± 4.75	38.26 ± 4.01	0.565	0.574
丙氨酸氨基转移酶（$\bar{x}\pm s$，U/L）		45.16 ± 7.82	48.62 ± 7.91	1.847	0.069
天冬氨酸氨基转移酶（$\bar{x}\pm s$，U/L）		34.23 ± 7.15	36.48 ± 7.24	1.313	0.193
KD 临床分型［例（%）］	完全性	40（74.07）	20（76.92）	0.076	0.783
	不完全性	14（25.93）	6（23.08）		
IL-41（$\bar{x}\pm s$，ng/L）		189.08 ± 27.29	275.42 ± 33.46	12.299	<0.001
ACE2（$\bar{x}\pm s$，μg/L）		7.25 ± 1.31	16.90 ± 1.43	25.882	<0.001

KD 患儿发生 CAL 的独立危险因素（$P < 0.01$），见表 4。

表 4　多因素 Logistic 回归分析影响 KD 患儿发生 CAL 的因素

Tab. 4　Multifactorial Logistic regression analysis of factors affecting the occurrence of CAL in children with KD

因　素	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
发热时间长	0.325	0.098	10.998	<0.001	1.384	1.142 ~ 1.667
CRP 高	0.403	0.125	10.394	<0.001	1.496	1.171 ~ 1.912
PCT 高	0.414	0.136	9.267	<0.001	1.513	1.159 ~ 1.975
IL-41 高	0.469	0.117	16.068	<0.001	1.598	1.271 ~ 2.010
ACE2 高	0.453	0.121	14.016	<0.001	1.573	1.241 ~ 1.994

2.5　血清 IL-41、ACE2 预测 KD 患儿发生 CAL 的价值分析　绘制血清 IL-41、ACE2 预测 KD 患儿发生 CAL 的价值 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 IL-41、ACE2 及两项联合预测 KD 患儿发生 CAL 的 AUC 分别为 0.812、0.815、0.878，两项联合的 AUC 大于血清 IL-41、ACE2 单一检测（Z/P = 5.116/ <0.001、4.217/0.009），见图 1、表 5。

表 5　血清 IL-41、ACE2 及两项联合预测 KD 患儿发生 CAL 的价值

Tab. 5　Value of serum IL-41, ACE2 and the combination of the two in predicting the development of CAL in children with KD

指　标	最佳截断值	*AUC*(95% *CI*)	敏感度	特异度	约登指数
IL-41	>262.63 ng/L	0.812(0.779 ~ 0.847)	0.703	0.820	0.523
ACE2	>16.14 μg/L	0.815(0.761 ~ 0.852)	0.751	0.809	0.560
两项联合		0.878(0.844 ~ 0.928)	0.806	0.795	0.601

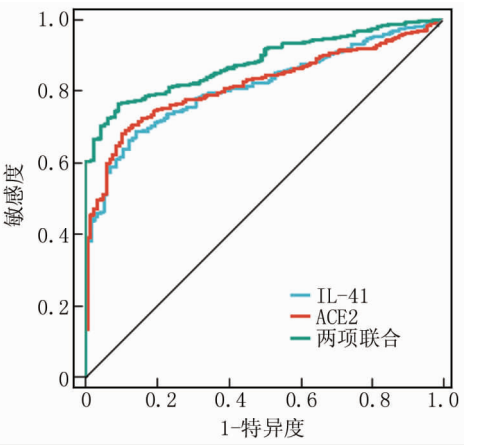


图 1　血清 IL-41、ACE2 及两项联合预测 KD 患儿发生 CAL 的 ROC 曲线分析

Fig. 1　ROC curve analysis of serum IL-41, ACE2 and the combination of the two to predict the development of CAL in children with KD

3　讨　论

KD 是儿童期常见的血管炎，是免疫介导的累及全身多个器官和组织的中小动脉炎性病变，可继发肝炎、间质性肺炎、心肌炎及心包积液等。CAL 是 KD 最常见也是最严重的并发症，常发生于 KD 急性期，可引起缺血性心肌病、心肌梗死，是影响 KD 患儿远期预后的主要因素[9-10]。虽然目前国际上已经出现了根据 KD 患儿年龄、发热时间及 C 反应蛋白等指标评估 CAL 的风险评估系统，如 Kobayashi 系统等[11]，但不同评估系统在不同人群中的评估效能存在差异，难以广泛应用于临床。深入研究 KD 的疾病机制，寻找能够有效评估 KD 患儿 CAL 发生风险的生物标志物，具有重要意义。

IL-41 是一种免疫调节细胞因子，由脂多糖、炎性因子诱导刺激巨噬细胞后分泌产生，具有调节能量消耗、葡萄糖耐量及诱导全身迟发性免疫抑制的作用[4]。研究发现，IL-41 的促炎效应能够促进内皮细胞启动炎性级联反应，导致血管内皮功能障碍，引发冠心病、川崎病等疾病的发生，是潜在的 KD 血清标志物[12-13]。本研究中，KD 患儿血清 IL-41 升高，与患儿病情程度有关，这与 Cai 等[12]报道结果一致，提示 IL-41 参与 KD 疾病的发生发展过程。分析其原因，KD 急性期时大量促炎因子如肿瘤坏死因子-α、白介素-17a 等能够激活巨噬细胞，促进 IL-41 的释放，IL-41 能够通过促进巨噬细胞、中性粒细胞等的活化及浸润，导致血管炎性损害及内皮功能障碍的发生[13]。另外，IL-41 水平升高能够提高 KD 患儿血清 D-二聚体和 N 末端脑钠肽前体水平，加重动脉内皮细胞损伤，同时降低血清 IgM 水平，减慢血管损伤修复过程，进而加重 KD 患儿病情程度[12]。本研究结果表明，血清 IL-41 升高是影响 KD 患儿 CAL 发生的独立危险因素，提示血清 IL-41 参与 KD 患儿 CAL 的发生。笔者分析，一方面是 IL-41 能够促进巨噬细胞过度活化，促进冠状动脉血管壁大量炎性细胞浸润，导致坏死性动脉炎及囊性动脉瘤的形成，可能造成血管破裂[14]。另一方面，有学者报道，IL-41 能够通过诱导辅助型 Th1 细胞和 Th2 细胞的失衡，上调血管内皮细胞中细胞外信号调节激酶，促进血管内皮细胞及平滑肌细胞过度炎性反应，加重 KD 患儿冠状动脉损害程度，同时会诱导静脉免疫球蛋白治疗耐药性形成，导致患儿不良预后[14-15]。因此，KD 患儿血清 IL-41 升高参与 KD 疾病

发生发展,是潜在的评估 CAL 发生的生物标志物。

ACE2 编码基因位于 Xp22.2,其作为一种跨膜型锌金属羧肽酶,存在于内皮细胞和上皮细胞膜外表面,参与血管紧张素Ⅱ的合成,促进血管平滑肌细胞的增殖、迁移、肥大及促炎细胞因子和基质金属蛋白酶的产生,在冠心病、脑卒中等疾病中发挥重要作用[16]。本研究中,KD 患儿血清 ACE2 水平升高,与发热时间、C 反应蛋白及降钙素原有关,提示 ACE2 参与 KD 疾病的发生发展过程。这与既往研究中 KD 患儿血清 ACE2 升高的报道结果一致[6]。KD 患儿血清 ACE2 升高与 ACE2 基因多态性有关。研究表明,ACE 基因 I/D 多态性能够增加 KD 的患病率,相对于对照 1 组儿童,KD 患儿的 ACE 基因 ID 基因型更为普遍,血清 ACE 水平较高[17]。另外,KD 发生时血管内皮损伤后也会促进 ACE2 释放到血清,导致 KD 患儿血清 ACE2 水平升高。血清 ACE2 水平升高能够加重 KD 急性期血管损伤和炎性反应,促进 KD 病情进展。研究表明,ACE2 能够激活单核巨噬细胞中核因子 κB 信号通路,促进白介素 1β、肿瘤坏死因子 α 等的表达,诱导大量活性氧等氧自由基的产生,损伤血管内皮细胞,导致血管内皮功能障碍[18]。此外,ACE2 还能够通过髓系分化基因 88 蛋白依赖性途径诱导内皮细胞凋亡,导致血管内皮细胞完整性丧失,进而促进大量单核巨噬细胞等的炎性浸润[19]。本研究中,血清 ACE2 升高能够增加 KD 患儿 CAL 的发生风险,提示血清 ACE2 是新的评估 KD 患儿 CAL 的生物标志物。笔者分析,ACE2 的表达升高能够促进巨噬细胞及中性粒细胞浸润血管壁、破坏血管壁结构,导致囊型或梭形血管瘤形成。另外,ACE2 的脱落导致血管内皮细胞的抗血小板凝集能力丧失,血小板聚集并活化,促进冠状动脉内皮损伤、血管炎及血栓的形成,同时平滑肌源性成纤维细胞大量增殖,纤维组织增生,造成冠状动脉管腔狭窄甚至阻塞[20]。因此,ACE2 水平升高参与 KD 疾病的发生发展,是新的评估 CAL 发生的血清标志物。本研究中,血清 IL-41、ACE2 联合对 KD 患儿发生 CAL 的诊断效能较高,敏感度和特异度分别为 0.806、0.795,表明两项联合能有效预测 KD 患儿 CAL 的发生。儿科医师可根据血清 IL-41、ACE2 水平对 KD 患儿 CAL 的发生进行早期预测、评估,针对高危患儿,予以积极干预治疗,尽可能延缓或避免 CAL 的发生,以改善患儿远期预后。

综上所述,KD 患儿血清 IL-41、ACE2 升高,与发热时间、C 反应蛋白及降钙素原呈正相关,两者可能均参与 KD 疾病的发生发展,是新的 KD 血清生物标志物。血清 IL-41、ACE2 升高是影响 KD 患儿 CAL 发生的独立危险因素,两项联合能够有效预测 KD 患儿 CAL 的发生。本研究也存在不足,样本含量有限,纳入研究对象可能存在偏倚,有待今后扩大样本量进行深入研究。另外,本研究未能对治疗过程中血清 IL-41、ACE2 水平变化进行动态监测,两者能否用于评估 IVIG 治疗反应的血清指标,有待今后进行深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

全程:提出研究方向、研究思路,研究选题,实施研究过程,数据收集,分析整理,论文撰写,论文终审;陆冬慧、张榴榴、谢晋:实施研究过程,数据收集、分析整理,进行文献调研与整理

参考文献

[1] Yale SH, Tekiner H, Yale ES. Tomisaku Kawasaki and Kawasaki disease[J]. Childs Nerv Syst, 2022, 38(2): 233-235. DOI: 10.1007/s00381-020-04784-3.

[2] 彭珍,闫孝永. ACEF 评分联合炎性因子评估小儿川崎病冠状动脉损害的临床价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(16): 3016-3020. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2022.16.029.

[3] Gong L, Zhou Y, Shi S, et al. Increased serum IL-41 is associated with disease activity in rheumatoid arthritis[J]. Clin Chim Acta, 2023, 538(6): 169-174.

[4] Kubick N, Klimovich P, Flouroy PH, et al. Interleukins and interleukin receptors evolutionary history and origin in relation to $CD4^+$ T cell evolution[J]. Genes (Basel), 2021, 12(6): 813-825. DOI: 10.3390/genes12060813.

[5] Shen H, Zhang J, Wang C, et al. MDM2-mediated ubiquitination of angiotensin-converting enzyme 2 contributes to the development of pulmonary arterial hypertension[J]. Circulation, 2020, 142(12): 1190-1204. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048191.

[6] Gan Y, Feng Y, Zhou X, et al. Serum levels of angiotensin-converting enzyme 2 in children with Kawasaki disease[J]. Clin Exp Med, 2022, 14(8): 115-163. DOI: 10.1007/s10238-022-00933-x.

[7] Xie X, Shi X, Liu M. The roles of genetic factors in kawasaki disease: A systematic review and meta-analysis of genetic association studies[J]. Pediatr Cardiol, 2018, 39(2): 207-225. DOI: 10.1007/s00246-017-1760-0.

[8] Ayusawam M, Sonobe T, Uemura S, et al. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (the 5th revised edition)[J]. Pediatr Int, 2005, 47(2): 232-234. DOI: 10.1111/j.1442-200x.2005.02033.x.

[9] Ae R, Maddox RA, Arams JY, et al. Kawasaki disease with coronary artery lesions detected at initial echocardiography[J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(7): 1985-1993. DOI: 10.1161/JAHA.120.019853.

[10] Lee J, Lin E, Widdifield J, et al. The long-term cardiac and noncardiac prognosis of Kawasaki disease: A systematic review[J]. Pediatrics, 2022, 149(3): 1147-1153. DOI: 10.1542/peds.2021-052567.

(下转 477 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 017

论著 · 临床

血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 对银屑病患者并发心血管疾病的预测价值

杜笑青,马玉昕,姚丽敏,何强,齐艳宁,魏波

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20211587,20231294)
作者单位: 050082　石家庄,中国人民解放军联勤保障部队第九八〇医院皮肤科
通信作者: 杜笑青,E-mail:duxiaoqing4539@126.com

【摘　要】 **目的**　检测血清氧磷酯酶 1(PON1)及 1,25 二羟基维生素 D$_3$[1,25(OH)$_2$D$_3$]水平及其对银屑病患者并发心血管疾病(CVD)的预测价值。**方法**　选取 2018 年 2 月—2022 年 2 月中国人民解放军联勤保障部队第九八〇医院皮肤科收治银屑病患者 88 例为银屑病组,根据疾病严重程度,再分为轻度亚组(n = 34)、中度亚组(n = 26)和重度亚组(n = 28);根据是否合并 CVD 分为非 CVD 亚组 63 例和 CVD 亚组 25 例。选取医院同期体检健康者 70 例为健康对照组。酶联免疫吸附实验检测血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平;比较不同病情程度银屑病患者血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平差异;多因素 Logistic 回归分析影响银屑病患者并发 CVD 的因素;受试者工作特征曲线分析血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 对银屑病患者并发 CVD 的预测价值。**结果**　银屑病组血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平低于健康对照组(t = 51.008,25.088,P 均 < 0.001)。血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平比较,轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组(F = 207.130、54.240,P 均 < 0.001);Framingham 风险评分(FRS 评分)高是影响银屑病患者并发 CVD 的独立危险因素,血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 升高是保护因素[OR(95% CI) = 1.791(1.294 ~ 2.480),0.623(0.493 ~ 0.786),0.630(0.495 ~ 0.802)];血清 PON1、1,25(OH)$_2$D$_3$ 及两项联合预测银屑病患者并发 CVD 的 AUC 分别为 0.815、0.784、0.878,两项联合的 AUC 高于血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 单独诊断,差异具有统计学意义(Z/P = 3.124/0.002、3.349/0.001)。**结论**　银屑病患者血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平与银屑病患者病情严重程度有关,有望作为评估银屑病患者 CVD 发生的新指标。

【关键词】 银屑病;心血管疾病;氧磷酯酶 1;1,25 二羟维生素 D$_3$;Framingham 评分
【中图分类号】 R758.63　　【文献标识码】 A

Predictive value of serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ in psoriasis patients with concomitant cardiovascular disease

Du Xiaoqing, Ma Yuxin, Yao Limin, He Qiang, Qi Yanning, Wei Bo. Department of Dermatology, 980 Hospital of the Joint Logistic Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Hebei Province, Shijiazhuang 050082, *China*
Funding program: Hebei Provincial Medical Science Research Project Program (20211587, 20231294)
*Corresponding author: Du Xiaoqing, E-mail: duxiaoqing*4539@126.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To detect the levels of serum phosphorus oxysterase 1 (PON1) and 1,25 dihydroxyvitamin D$_3$[1,25(OH)$_2$D$_3$] and their predictive value of predictive value of concomitant cardiovascular disease (CVD) in patients with psoriasis. **Methods**　Eighty eight patients with psoriasis admitted to the Department of Dermatology, 980 Hospital of the Joint Logistic Support Force of Chinese People's Liberation Army, from February 2018 to February 2022 were selected as the psoriasis group, which was subdivided into a mild subgroup according to the severity of the disease (n = 34), a moderate subgroup (n = 26) and severe subgroup (n = 28); according to whether combined CVD was divided into non-CVD subgroup 63 cases and CVD subgroup 25 cases. Seventy cases of healthy people who underwent medical examination in the same period in the hospital were selected as the healthy control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ levels; differences in serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ levels were compared among psoriasis patients with different degrees of disease; multifactorial Logistic Regression analysis of the factors affecting the complication of CVD in patients with psoriasis; analysis of the predictive value of serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ on the complication of CVD in patients with psoriasis by working characteristic curve of the subjects. **Results**　The serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ levels in the psoriasis group were lower than those in the healthy control group (t = 51.008, 25.088, P < 0.001). Com-

parison of serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ levels showed that mild subgroup > moderate subgroup > severe subgroup (F = 207.130, 54.240, P < 0.001); high Framingham risk score (FRS score) was an independent risk factor affecting patients with psoriasis complicating CVD, and elevated serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ were protective factors [*OR (95% CI)* = 1.791 (1.294 – 2.480), 0.623 (0.493 – 0.786), 0.630 (0.495 – 0.802)]; serum PON1, 1,25(OH)$_2$D$_3$ and the combination of the two predicted the AUC of concurrent CVD in psoriasis patients to be 0.815, 0.784, and 0.878, respectively, and the AUC of the two combinations was higher than that of serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ diagnosed alone, and the difference was statistically significant (Z/P = 3.124/ 0.002, 3.349/0.001). **Conclusion**　The serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ levels in psoriasis patients are related to the severity of the disease in psoriasis patients, which is expected to be used as a new indicator to evaluate the occurrence of CVD in psoriasis patients.

【Key words】　Psoriasis; Cardiovascular disease; Oxygen phosphodiesterase 1; 1,25 dihydroxyvitamin D$_3$; Framingham score

银屑病是一种慢性自身免疫炎性疾病,易复发、病情迁延难愈[1]。银屑病患者常合并心血管疾病(cardiovascular disease, CVD),增加心血管不良事件的发生风险,缩短银屑病患者的预期寿命[2]。氧磷酯酶 1(paraoxonase 1, PON1)具有抗氧化、防止细胞膜过氧化损伤等作用[3]。研究发现,PON1 能够抑制低密度脂蛋白氧化,减轻冠状动脉血管氧化应激损伤,防止冠心病的疾病进展[4]。1,25 二羟基维生素 D$_3$[1,25(OH)$_2$D$_3$]是维生素 D 的活性形式,参与机体钙磷代谢、免疫相关基因的表达调节[5]。研究发现,血清 1,25(OH)$_2$D$_3$ 降低能够增加健康人群的 CVD 发生风险[6],其是否能增加银屑病患者 CVD 的发生风险,目前尚无定论。本研究通过研究银屑病患者血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平,分析两者与疾病严重程度的关系及对并发 CVD 的预测价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 2 月—2022 年 2 月中国人民解放军联勤保障部队第九八〇医院皮肤科收治银屑病患者 88 例为银屑病组,男 48 例,女 40 例,年龄 33 ~ 81(58.41 ± 10.17)岁;体质量指数 18.20 ~ 28.11(24.47 ± 3.15)kg/m^2;病程 6 ~ 63(41.20 ± 6.15)个月;诱因:上呼吸道感染 13 例,急性扁桃体炎 12 例,潮湿环境 4 例,无明显诱因 59 例;银屑病家族史 5 例;吸烟史 15 例。根据是否并发 CVD,分为非 CVD 亚组 63 例和 CVD 亚组 25 例(冠状动脉粥样硬化性心脏病 17 例,心肌梗死 8 例)。选取同期医院体检健康者 70 例为健康对照组,男 36 例,女 34 例,年龄 34 ~ 79(57.71 ± 10.21)岁;体质量指数 18.12 ~ 28.31 (24.36 ± 3.08)kg/m^2。2 组性别、年龄及体质量指数比较,差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。本研究经医院医学伦理委员会审核批准([2018]伦审字(28)号),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符合中华医学会皮肤性病学分会制定的《中国银屑病诊疗指南(2018 完整版)》[7]中银屑病诊断标准;②初次诊治,年龄 > 18 岁;③临床资料完整;④患者能够配合检查和治疗。(2)排除标准:①合并其他可能影响观察结果的皮肤病;②合并其他自身免疫性疾病、感染性疾病;③妊娠期或哺乳期女性;④合并肝肾功能障碍。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　临床资料:收集所有研究对象性别、年龄、体质量指数(BMI)、银屑病家族史、吸烟史、收缩压及舒张压等临床资料。

1.3.2　血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平检测:患者入院翌日清晨/健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 5 ml,离心留取上层血清待检。采用酶联免疫吸附实验(双抗体夹心法)检测血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 水平。人 PON1 ELISA 试剂盒购自上海江莱生物科技公司,货号 JL14066。人 1,25(OH)$_2$D$_3$ ELISA 试剂盒购自上海茁彩生物科技公司,货号 ZC-35899。Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪购自美国赛默飞公司。

1.3.3　实验室检查:上述血清采用葡萄糖氧化酶法检测空腹血糖,高压液相色谱法测定糖化血红蛋白,D-10 糖化血红蛋白仪购自美国伯乐公司。全自动生化检测仪(Cobas 8000 全自动生化分析仪及配套试剂购自瑞士罗氏公司)检测血总胆固醇、三酰甘油、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血肌酐、血尿酸及血尿素氮。

1.3.4　病情程度评估:参考《中国银屑病诊疗指南(2018 完整版)》[7],评估银屑病患者皮损面积、皮损面积和严重程度评分(psoriasis area and severity index, PASI)和皮肤病生活质量评分(dermatology life quality index, DLQI)。将银屑病组患者分为,轻度亚组(n = 34):皮损面积 < 3%,PASI 评分 < 30 分,DLQI 评分 < 6

分;中度亚组($n=26$):皮损面积:3% ~10%,PASI 评分 31 ~60 分,DLQI 评分 6 ~10 分;重度亚组($n=28$):皮损面积:>10%,PASI 评分≥61 分,DLQI 评分>10 分。对所有患者进行 Framingham 风险评分(FRS 评分),用于评估银屑病患者 CVD 的发生风险[8]。FRS 评分主要根据患者性别、年龄、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、收缩压和吸烟习惯等因素进行评估,评分范围 0 ~17 分,分值越高,银屑病患者未来发生 CVD 的风险越高。

1.4　统计学方法　应用 SPSS 24.0 统计软件进行数据分析。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;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;多因素 Logistic 回归分析影响银屑病患者并发 CVD 的因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 对银屑病患者并发 CVD 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 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 比较　银屑病组血清 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 水平分别为(6.28 ± 1.26)ng/L、(17.24 ± 4.31)μg/L,低于健康对照组(25.14 ± 3.17) ng/L、(31.57 ± 2.31) μg/L(t = 51.008、25.088,P 均 <0.001)。

2.2　3 亚组银屑病患者血清 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 水平比较　血清 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 水平比较,轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组(P 均 <0.01),见表 1。

表 1　不同病情程度银屑病患者血清 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum PON1 and $1,25(OH)_2D_3$ levels in psoriasis patients with different degrees of condition

组　别	例数	PON1(ng/L)	$1,25(OH)_2D_3$(μg/L)
轻度亚组	34	10.53 ± 1.46	26.14 ± 4.71
中度亚组	26	7.22 ± 1.20	18.03 ± 4.22
重度亚组	28	4.01 ± 1.02	15.04 ± 4.05
F 值		207.130	54.240
P 值		<0.001	<0.001

2.3　非 CVD 亚组与 CVD 亚组银屑病患者临床资料比较　CVD 亚组吸烟史、FRS 评分、PASI 评分及 DLQI 评分明显高于非 CVD 亚组,血清 PON1 及 $1,25(OH)_2D_3$ 水平低于非 CVD 亚组,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 2。

2.4　影响银屑病患者并发 CVD 的多因素 Logistic 回归分析　以银屑病患者是否并发 CVD 为因变量(1 =

表 2　非 CVD 亚组与 CVD 亚组银屑病患者临床资料比较

Tab. 2　Comparison of clinical data between patients in the non-CVD subgroup and the CVD subgroup

资　料	非 CVD 亚组($n=63$)	CVD 亚组($n=25$)	χ^2/t 值	P 值
性别(男/女)	35/28	15/10	0.144	0.704
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	58.41 ± 10.25	57.95 ± 9.41	0.194	0.847
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)	24.43 ± 3.11	24.57 ± 3.20	0.189	0.851
银屑病家族史[例(%)]	3(4.76)	2(8.00)	0.089	0.765
吸烟史[例(%)]	5(7.94)	10(40.00)	13.013	<0.001
收缩压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	125.21 ± 15.26	130.26 ± 18.23	1.323	0.189
舒张压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	78.25 ± 10.36	81.15 ± 10.41	1.183	0.240
空腹血糖($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	6.03 ± 1.42	6.41 ± 1.29	1.161	0.249
糖化血红蛋白($\bar{x} \pm s$,%)	5.79 ± 1.65	6.24 ± 1.70	1.144	0.256
总胆固醇($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	4.73 ± 1.23	5.20 ± 1.24	1.613	0.110
三酰甘油($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.59 ± 0.42	1.71 ± 0.38	1.241	0.218
LDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	2.92 ± 0.83	3.01 ± 0.60	0.493	0.623
HDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.08 ± 0.22	1.04 ± 0.21	0.779	0.438
血肌酐($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	69.16 ± 16.33	72.87 ± 11.61	1.035	0.303
血尿素氮($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	5.65 ± 1.84	6.04 ± 1.78	0.905	0.368
血尿酸($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	329.30 ± 51.34	341.22 ± 41.60	1.033	0.305
FRS 评分($\bar{x} \pm s$,分)	12.30 ± 2.46	14.21 ± 3.96	2.733	<0.001
PASI 评分($\bar{x} \pm s$,分)	46.43 ± 8.01	61.27 ± 7.70	7.922	<0.001
DLQI 评分($\bar{x} \pm s$,分)	7.62 ± 2.14	11.69 ± 3.31	6.828	<0.001
PON1($\bar{x} \pm s$,ng/L)	7.52 ± 1.41	3.15 ± 1.07	13.964	<0.001
$1,25(OH)_2D_3$($\bar{x} \pm s$,μg/L)	20.04 ± 4.38	10.18 ± 4.04	9.728	<0.001

是,0 = 否),以吸烟史、FRS 评分、PASI 评分、DLQI 评分、血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,FRS 评分高是影响银屑病患者并发 CVD 的独立危险因素,血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 升高是保护因素(P < 0.01),见表 3。

表 3　影响银屑病患者中高危 CVD 发生的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3　Multifactorial Logistic regression analysis affecting the occurrence of high-risk CVD among psoriasis patients

因　素	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
吸烟史	0.157	0.102	2.369	0.116	1.170	0.958 ~ 1.429
FRS 评分高	0.583	0.166	12.334	< 0.001	1.791	1.294 ~ 2.480
PASI 评分高	0.185	0.129	2.057	0.287	1.203	0.934 ~ 1.549
DLQI 评分高	0.202	0.165	1.499	0.347	1.224	0.886 ~ 1.691
PON1 高	−0.474	0.119	15.866	< 0.001	0.623	0.493 ~ 0.786
1,25(OH)$_2$D$_3$ 高	−0.462	0.123	14.108	< 0.001	0.630	0.495 ~ 0.802

2.5　血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 预测银屑病患者并发 CVD 的价值　绘制血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 预测银屑病患者并发 CVD 的价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 PON1、1,25(OH)$_2$D$_3$ 及两项联合预测银屑病患者并发 CVD 的 AUC 分别为 0.815、0.784、0.878,两项联合的 AUC 高于血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 单独诊断,差异具有统计学意义(Z = 3.124、3.349,P = 0.002、0.001),见表 4、图 1。

表 4　血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 对银屑病患者并发 CVD 的预测价值

Tab. 4　Predictive value of serum PON1 and 1,25(OH)$_2$D$_3$ in psoriasis patients with concomitant CVD

指　标	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
PON1	< 3.25 ng/L	0.815	0.775 ~ 0.849	0.721	0.841	0.562
1,25(OH)$_2$D$_3$	< 11.18 μg/L	0.784	0.745 ~ 0.828	0.674	0.830	0.504
两项联合		0.878	0.841 ~ 0.931	0.813	0.782	0.595

3　讨　论

银屑病不仅表现为皮肤红斑鳞屑性改变,皮损处还会释放肿瘤坏死因子 α、白介素 6 等细胞因子,引起全身炎性反应和高凝状态,促进动脉粥样硬化形成,增加 CVD 的发生风险[9]。FRS 评分是评估主要心血管事件发生的良好指标。本研究表明,FRS 评分是影响银屑病患者并发 CVD 的独立风险因素,提示 FRS 评分有助于评估银屑病患者 CVD 的发生风险。笔者分析,银屑病患者具有代谢综合征的易感性,吸烟、高血压及血脂异常等 FRS 评分的构成因素均参与促进动脉粥样硬化的形成,增加了心血管疾病的发生风险。但 FRS 评分并未考虑重度银屑病患者长期炎性反应及非传统因素产生的动脉硬化的影响,在预测准确性上存在一定局限[10]。深入研究银屑病疾病机制,寻找能够评估 CVD 发生的血清生物标志物,有助于银屑病患者 CVD 的早期诊治。

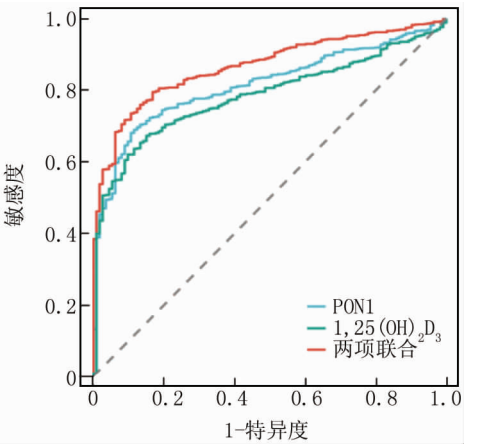


图 1　ROC 曲线分析血清 PON1 及 1,25(OH)$_2$D$_3$ 对银屑病患者并发 CVD 的预测价值

Fig. 1　ROC curve analysis of the predictive value of serum PON1 and 1, 25 (OH)$_2$D$_3$ in psoriasis patients with concomitant CVD

PON1 属于对氧磷酶家族成员,能结合高密度脂蛋白,发挥内酯酶和酯水解酶的活性。研究表明,PON1 L55M 基因多态性能够增加机体丙二醛、载脂蛋白 B 等的水平,增加银屑病的发生风险[11]。本研究中,银屑病患者血清 PON1 水平降低,提示 PON1 可能参与银屑病的发生。银屑病患者血清 PON1 水平降低与炎性因子调节有关。研究发现,银屑病发生时角质形成细胞能够促进树突状细胞的活化及 T 淋巴细胞向 Th1 型分化,导致肿瘤坏死因子 α、白介素 22 等促炎性细胞因子释放增多,进而抑制 PON1 的转录及表达,降低血清 PON1 的水平[12-13]。此外,血清 PON1 与银屑病病情严重程度有关。分析其原因,血清 PON1 水平降低导致机体抗氧化、抗炎能力降低,大量自由基的生成引起皮肤局部组织脂质过氧化、细胞凋亡、T 辅助细胞的激活及白介素-17 等因子的过度分泌,加重银屑病的病情严重程度[3]。研究表明,PON1 水平降低导致低密度脂蛋白和高密度脂蛋白的过氧化,脂蛋白氧化磷脂的活性增加,过氧化氢利用减少,加重银屑病皮损的氧化应激反应[14]。此外,PON1 作为一种钙离子依赖性高密度脂蛋白相关的乳糖酶,具有对内酯、

硫内酯、芳基酯的水解能力，其表达水平降低引起 HDL 脂蛋白功能障碍，同时增加 LDL 的稳定性，促进 LDL 的氧化，加重冠状动脉内皮细胞的损伤，导致动脉粥样硬化的发生[3-4]。本研究中，血清 PON1 水平升高是银屑病患者并发 CVD 的独立保护因素。分析其机制，PON1 能促进胆固醇的逆向运输，发挥抗动脉粥样硬化的作用。研究表明，PON-1 能抑制低密度脂蛋白的氧化，保护冠状动脉血管内皮细胞膜磷脂的过氧化损伤，抑制动脉粥样硬化的形成，减少主要不良心血管事件的发生[15-16]。有学者利用肿瘤坏死因子 α 抑制剂或外源性补充 PON1，结果发现其能显著改善银屑病患者机体过度氧化应激的状态，维持机体氧化和抗氧化系统的平衡，减轻银屑病皮损病理反应[17]。因此，血清 PON1 是新的评估银屑病患者并发 CVD 的生物标志物，以 PON1 为靶点的治疗可能有助于降低 CVD 疾病的发生风险。

1,25$(OH)_2D_3$ 是维生素 D 的主要活性形式，参与调节细胞生长分化及免疫功能[18]。研究证实，维生素 D 缺乏或摄入不足能影响 T 淋巴细胞等适应性免疫细胞的正常功能，造成皮肤免疫稳态失调，增加银屑病的发生风险[19]。本研究中，银屑病患者血清 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低，并与银屑病患者病情程度有关，提示 1,25$(OH)_2D_3$ 参与银屑病的发生发展过程。银屑病患者血清 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低的具体机制尚不清楚，紫外线照射减少，维生素 D 受体基因多态性等多种因素均会导致银屑病患者血清 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低[19]。研究表明，血清 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低能够过度活化 T 淋巴细胞、单核巨噬细胞，引起肿瘤坏死因子 α、白介素 6 等过度表达，加重银屑病皮损局部炎性反应，促进角质形成细胞的过度增殖[20]。另外，1,25$(OH)_2D_3$ 降低导致调节性 T 细胞的免疫抑制效应减弱，进一步加重 Th1 型炎性反应，加重银屑病病情严重程度[21]。本研究证实，血清 1,25$(OH)_2D_3$ 升高是银屑病患者并发 CVD 的独立保护因素，提示检测血清 1,25$(OH)_2D_3$ 有助于评估银屑病患者 CVD 的发生风险。分析其原因，血清 1,25$(OH)_2D_3$ 的水平降低加重银屑病患者血管内皮功能障碍及内皮损伤，促进动脉粥样硬化的形成，增加 CVD 的发生风险。研究表明，1,25$(OH)_2D_3$ 的降低能激活血管内皮细胞中核因子 κB，促进白介素-6、白介素-1β 及血管内皮素 1 的表达，引起血管内皮细胞损伤及功能障碍。另有研究证实，血清 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低能增强机体脂肪分解代谢，血脂水平升高，巨噬细胞吞噬大量胆固醇形成泡沫细胞，导致血管氧化应激损伤及动脉粥样斑块的形成[6]。另外，还有研究发现银屑病大鼠心肌细胞、血管内皮细胞和血管平滑肌细胞中 1α-羟化酶表达下调，导致心肌局部产生的 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低，其不能通过自分泌和/或旁分泌调节血管内皮细胞，导致血管炎性反应加重，促进动脉粥样硬化的发生[5]。本研究表明，血清 PON1 及 1,25$(OH)_2D_3$ 联合对银屑病患者并发 CVD 预测的曲线下面积为 0.878，敏感度和特异度为 0.813、0.782，表明血清 PON1 及 1,25$(OH)_2D_3$ 联合能够有效评估银屑病患者并发 CVD 的风险。临床上，医生可参考血清 PON1 及 1,25$(OH)_2D_3$ 水平，对银屑病患者并发 CVD 的风险进行评估，并早期采取干预治疗措施，以减少 CVD 的发生，改善银屑病患者的临床预后。

综上所述，银屑病患者血清 PON1 及 1,25$(OH)_2D_3$ 水平降低，两者与银屑病病情严重程度有关，两项联合对银屑病患者并发 CVD 的风险具有较高的预测价值。本研究也存在一定的局限，为单中心回顾性研究，样本量有限，有待今后设计前瞻性多中心大样本的临床试验，深入研究血清 PON1 及 1,25$(OH)_2D_3$ 在评估银屑病患者 CVD 中的预测价值。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杜笑青：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；马玉昕：提出研究思路，论文审核；姚丽敏：实施研究过程，资料搜集整理，分析试验数据；何强：进行统计学分析；齐艳宁：论文撰写，论文修改；魏波：实施研究过程，资料搜集整理

参考文献

[1] 刘爱民，张步鑫，赵巍，等. 寻常型银屑病病因病机探讨[J]. 北京中医药大学学报，2021，44(3)：266-271. DOI：10.3969/j.issn.1006-2157.2021.03.012.

[2] 王华玲，胡巧织，徐珽. 系统评价 IL-12/23 单克隆抗体治疗斑块状银屑病发生严重心血管事件的风险[J]. 中国医院药学杂志，2021，41(4)：407-411. DOI：10.13286/j.1001-5213.2021.04.15.

[3] Kotur-Stevuljevic J, Vekic J, Stefanovic A, et al. Paraoxonase 1 and atherosclerosis-related diseases[J]. Biofactors, 2020, 46(2): 193-205. DOI: 10.1002/biof.1549.

[4] Deng Z, Xiang H, Gao W. Significant association between paraoxonase 1 rs662 polymorphism and coronary heart disease: A meta-anlysis in the Chinese population[J]. Herz, 2020, 45(4): 347-355. DOI: 10.1007/s00059-018-4737-8.

[5] 张夏霞，李沙，许陕陕，等. 1,25-二羟基维生素 D3 在蛋氨酸胆碱缺乏饮食诱导的大鼠肝脏脂质代谢中的作用[J]. 中华肝脏病杂志，2021，29(2)：163-168. DOI：10.3760/cma.j.cn501113-20191010-00369.

[6] Latic N, Erben RG. Vitamin D and cardiovascular disease, with emphasis on hypertension, atherosclerosis, and heart failure[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18): 6483-6489. DOI: 10.3390/ijms21186483.

[7] 中华医学会皮肤性病学分会银屑病专业委员会. 中国银屑病诊

疗指南(2018 完整版)[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(10): 667-710. DOI: 10.35541/cjd.20190847.

[8] Jahangiry L, Farhangi MA, Rezaei F. Framingham risk score for estimation of 10-years of cardiovascular diseases risk in patients with metabolic syndrome[J]. J Health Popul Nutr, 2017, 36(1): 36-44. DOI: 10.1186/s41043-017-0114-0.

[9] 韩海军, 吉燕, 张成会, 等. 基于大数据挖掘下银屑病患者心血管疾病风险评估的价值[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(8): 839-844. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.08.010.

[10] González-Cantero A, Ortega-Quijano D, Alvarez-Díaz N, et al. Impact of biological agents on imaging and biomarkers of cardiovascular disease in patients with psoriasis: A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials[J]. J Invest Dermatol, 2021, 141(10): 2402-2411. DOI: 10.1016/j.jid.2021.03.024.

[11] Bassu S, Mangoni AA, Satta R, et al. Paraoxonase and arylesterase activity of serum PON-1 enzyme in psoriatic patients: A systematic review and meta-analysis[J]. Clin Exp Med, 2023, 23(2): 301-311. DOI: 10.1007/s10238-022-00818-z.

[12] Brinholi FF, Noto C, Maes M, et al. Lowered paraoxonase 1 (PON1) activity is associated with increased cytokine levels in drug naive first episode psychosis[J]. Schizophr Res, 2015, 166(1-3): 225-230. DOI: 10.1016/j.schres.2015.06.009.

[13] Alcantara CC, Reiche EMV, Simao ANC. Cytokines in psoriasis[J]. Adv Clin Chem, 2021, 100(8): 171-204. DOI: 10.1016/bs.acc.2020.04.004.

[14] Schiattarella M, Caiazzo G, Di Caprio R, et al. Paraoxonases and psoriasis: Negative imbalance of antioxidant endogenous mechanisms[J]. G Ital Dermatol Venereol, 2019, 154(2): 192-196. DOI: 10.23736/S0392-0488.17.05537-7.

[15] Shokri Y, Variji A, Nosrati M, et al. Importance of paraoxonase 1 (PON1) as an antioxidant and antiatherogenic enzyme in the cardiovascular complications of type 2 diabetes: Genotypic and phenotypic evaluation[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2020, 161(8): 1080-1087. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108067.

[16] Franey EG, Kritz-Silverstein D, Richard ELL, et al. Association of race and major adverse cardiac events (MACE): The atherosclerosis risk in communities (ARIC) cohort[J]. J Aging Res, 2020, 20(2): 7417-7422. DOI: 10.1155/2020/7417242.

[17] Baran A, Stepaniuk A, Kiluk P, et al. Potential predictive value of serum pentraxin 3 and paraoxonase 1 for cardiometabolic disorders development in patients with psoriasis-preliminary data[J]. Metabolites, 2022, 12(7): 580-588. DOI: 10.3390/metabo12070580.

[18] Sirbe C, Rednic S, Grama A, et al. An update on the effects of vitamin d on the immune system and autoimmune diseases[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(17): 9784-9789. DOI: 10.3390/ijms23179784.

[19] Brozyna AA, Slominski RM, Nedoszytko B, et al. Vitamin D signaling in psoriasis: Pathogenesis and therapy[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(15): 8575-8581. DOI: 10.3390/ijms23158575.

[20] Gao Y, Sun W, Cha X, et al. Psoriasis 1 reduces T-lymphocyte-mediated inflammation in patients with psoriasis by inhibiting vitamin D receptor-mediated STAT4 inactivation[J]. Int J Mol Med, 2020, 46(4): 1538-1550. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4695.

[21] Fakhoury HMA, Kvietys PR, AlKattan W, et al. Vitamin D and intestinal homeostasis: Barrier, microbiota, and immune modulation[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2020, 200(5): 1056-1063. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2020.105663.

(收稿日期:2023-11-17)

(上接 471 页)

[11] Atsumi Y, Sakakibara H, Morikawa Y, et al. Decreased hemoglobin after initial treatment is associated with treatment resistance in Kawasaki disease in Kobayashi risk stratification[J]. World J Pediatr, 2020, 16(6): 623-628. DOI: 10.1007/s12519-020-00385-x.

[12] Cai X, Li K, Li M, et al. Plasma interleukin-41 serves as a potential diagnostic biomarker for Kawasaki disease[J]. Microvasc Res, 2023, 147(8): 1044-1078. DOI: 10.1016/j.mvr.2023.104478.

[13] Liu ZX, Ji HH, Yao MP, et al. Serum Metrnl is associated with the presence and severity of coronary artery disease[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(1): 271-280. DOI: 10.1111/jcmm.13915.

[14] Duan Y, Li H, Luo D, et al. Serum IL-41 might be a biomarker for IVIG resistance and coronary artery lesions in Kawasaki disease[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 122(8): 1106-1120. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110600.

[15] Li Z, Gao Z, Sun T, et al. Meteorin-like/Metrnl, a novel secreted protein implicated in inflammation, immunology, and metabolism: A comprehensive review of preclinical and clinical studies[J]. Front Immunol, 2023, 24(14): 1098-1107. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1098570.

[16] Bourgonje AR, Abdulie AE, Timens W, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19)[J]. J Pathol, 2020, 251(3): 228-248. DOI: 10.1002/path.5471.

[17] Pan Y, Lu H. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to Kawasaki disease: A meta-analysis[J]. Afr Health Sci, 2017, 17(4): 991-999. DOI: 10.4314/ahs.v17i4.6.

[18] Armaroli G, Verweyen E, Pretzer C, et al. Monocyte-derived interleukin-1beta as the driver of S100A12-induced sterile inflammatory activation of human coronary artery endothelial cells: Implications for the pathogenesis of Kawasaki disease[J]. Arthritis Rheumatol, 2019, 71(5): 792-804. DOI: 10.1002/art.40784.

[19] Duan Y, Prasad R, Feng D, et al. Bone marrow-derived cells restore functional integrity of the gut epithelial and vascular barriers in a model of diabetes and ACE2 deficiency[J]. Circ Res, 2019, 125(11): 969-988. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315743.

[20] Pilania RK, Jindal AK, Bhattarai D, et al. Cardiovascular involvement in kawasaki disease is much more than mere coronary arteritis[J]. Front Pediatr, 2020, 8(5): 5269-5279. DOI: 10.3389/fped.2020.526969.

(收稿日期:2023-11-06)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 018

论著 · 基础

沉默 TUFM 通过 AMPK/mTOR 信号通路调控线粒体自噬对肺源性心脏病模型大鼠肺动脉高压的影响

崔本科, 王岩, 卢云凤, 杜鹃, 翟羽涵

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2020-MS-049)

作者单位: 110016　沈阳, 辽宁省人民医院呼吸与危重症科(崔本科、王岩、杜鹃、翟羽涵); 110067　沈阳, 辽宁省金秋医院心内科(卢云凤)

通信作者: 王岩, E-mail: wangyancmu@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨线粒体翻译延伸因子 Tu(TUFM)通过线粒体自噬促进肺动脉高压(PAH)血管重塑的作用机制。**方法**　2022 年 1 月—2023 年 6 月于辽宁省人民医院中心实验室进行实验。将 36 只健康雄性 Sprague-Dawley大鼠随机分为空白对照(Ctrl)组、模型(PAH)组、TUFM 过表达(OE)组、OE 阴性对照(OE-NC)组、短发夹 RNA(Sh)敲除 TUFM(Sh)组和 Sh-NC 阴性对照(Sh-NC)组, 每组 6 只。除 Ctrl 组外, 其余大鼠均一次性腹腔注射 1% 野百合碱(60 mg/kg)诱导心源性肺水肿 PAH 大鼠模型; 大鼠肺动脉平滑肌细胞(PASMC)在低氧(3% O_2)条件下培养 24 h 模拟体内肺动脉高压微环境, 分为常氧(Norm)组、低氧(Hyp)组、小干扰 RNA(SiRNA)-1 组、SiRNA-2 组、Si-NC 组、OE-NC 组和 OE 组。右心导管插管和脉冲多普勒超声检测大鼠肺血流动力学; 苏木素-伊红染色检测肺小动脉病理结构; 免疫荧光共染检测 TUFM 组织定位; 细胞计数法检测细胞增殖; 透射电镜观察线粒体结构和自噬小体; 蛋白免疫印迹检测 TUFM、自噬、凋亡和磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路相关蛋白表达。**结果**　与 Ctrl 组比较, PAH 组大鼠 TUFM 蛋白表达升高, 且主要与 PASMC 标志物 α 平滑肌肌动蛋白(α-SMA)在肺小动脉内膜存在共定位, 而与内皮细胞标志物 CD31 无共定位, 肺动脉收缩压(PASP)升高, 肺动脉血流加速时间(PAAT)缩短, 远端肺小动脉管壁呈向心性增厚, 管腔狭窄几乎堵塞, TUFM、苄氯素 1 重组蛋白(BECN1)、人微管相关蛋白轻链 3(LC3)II/I 和 B 淋巴细胞瘤 2(Bcl2)蛋白表达升高, P62、Bcl2 相关 X 蛋白(Bax)和凋亡酶激活因子(Apaf)蛋白表达降低($P<0.05$); 与 PAH 组比较, OE 组 PASP 升高, PAAT 缩短, 肺小动脉管壁厚度升高, 肺动脉 TUFM、BECN1、LC3II/I 和 Bcl2 表达升高, P62、Bax 和 Apaf 表达降低($P<0.05$); 与 PAH 组比较, Sh 组 PASP 降低, PAAT 延长, 肺小动脉管壁厚度和管腔狭窄度有所改善, TUFM、BECN1、LC3II/I 和 Bcl2 表达降低, P62、Bax 和 Apaf 表达升高($P<0.05$)。与 Norm 组比较, Hyp 组 PASMC 细胞 TUFM 蛋白表达升高; 与 Si-NC 组细胞相比, SiRNA-1 和 SiRNA-2 组 P62、Bax 蛋白表达升高, BECN1、LC3II/I、Bcl2、TUFM 表达降低, 线粒体结构完整, PASMC 细胞增殖活性降低, 细胞 p-AMPK表达降低, p-mTOR 表达升高($P<0.05$); 与 OE-NC 组比较, OE 组细胞 P62 和 Bax 蛋白表达降低, BECN1、LC3II/I、Bcl2 和 TUFM 表达升高, 部分线粒体损伤崩解, 嵴断裂消失, PASMC 细胞增殖活性明显升高, 细胞 p-AMPK 表达升高, p-mTOR 表达降低($P<0.05$)。**结论**　沉默 TUFM 可通过激活 AMPK/mTOR 信号通路促进线粒体自噬加速 PAH 肺动脉平滑肌细胞凋亡。

【关键词】 肺动脉高压; 线粒体翻译延伸因子 Tu; 平滑肌细胞; 线粒体自噬; AMPK/mTOR 通路; 大鼠

【中图分类号】 R541.5; R363.2+1　　【文献标识码】 A

Silent TUFM regulates mitochondrial autophagy through the AMPK/mTOR signaling pathway and its effect on pulmonary arterial hypertension in a pulmonary heart disease model rat

*Cui Benke**, *Wang Yan*, *Lu Yunfeng*, *Du Juan*, *Zhai Yuhan*. * *Department of Respiratory and Critical Care*, *Liaoning Provincial People's Hospital*, *Liaoning Province*, *Shenyang* 110016, *China*

Funding program: *Liaoning Provincial Natural Science Foundation Project* (2020-*MS*-049)

Corresponding author: *Wang Yan*, *E-mail*: *wangyancmu*@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the mechanism by which mitochondrial translation elongation factor Tu (TUFM) promotes vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension (PAH) through mitochondrial autophagy. **Methods**　The experiment was conducted in the Central Laboratory of Liaoning Provincial People's Hospital from January 2022 to June 2023. Thirty-six healthy male Sprague Dawley rats were randomly divided into a blank control (Ctrl) group, a model (PAH) group, a TUFM overexpression (OE) group, an OE negative control (OE-NC) group, a short hairpin RNA (Sh) knockout TUFM (Sh)

group, and a Sh-NC negative control (Sh-NC) group, with 6 rats in each group. Except for the Ctrl group, all other rats were given a one-time intraperitoneal injection of 1% monocrotaline (60 mg/kg) to induce cardiogenic pulmonary edema (PAH) in a rat model. Rat pulmonary artery smooth muscle cells (PASMC) were cultured under low oxygen (3% O_2) conditions for 24 hours to simulate the in vivo pulmonary arterial hypertension microenvironment. They were divided into normoxic (Norm) group, hypoxic (Hyp) group, small interfering RNA (SiRNA-1) group, SiRNA-2 group, Si-NC group, OE-NC group, and OE group. Right heart catheterization and pulsed Doppler ultrasound were used to detect pulmonary hemodynamics in rats. Hematoxylin-eosin staining was used to detect the pathological structure of pulmonary arterioles. Immunofluorescence co staining was used to detect tissue localization of TUFM. Cell counting method is used to detect cell proliferation. Observation of mitochondrial structure and autophagosomes using transmission electron microscopy. Protein immunoblotting was used to detect the expression of TUFM, autophagy, apoptosis, and adenosine phosphate activated protein kinase (AMPK)/mammalian rapamycin target protein (mTOR) pathway related proteins. **Results** Compared with the Ctrl group, the expression of TUFM protein in the PAH group rats increased and was mainly associated with PASMC markers **α** smooth muscle actin (**α**-SMA) is co localized in the intima of pulmonary arterioles, but not with endothelial cell marker CD31. The pulmonary artery systolic pressure (PASP) increases, the pulmonary artery acceleration time (PAAT) shortens, the distal pulmonary arteriole wall shows concentric thickening, and the lumen is almost blocked. The expression of TUFM, benzyl chloride 1 recombinant protein (BECN1), human microtubule associated protein light chain 3 (LC3) II/I, and B lymphocyte tumor 2 (Bcl2) proteins increases, while the expression of P62, Bcl2 related X protein (Bax), and apoptosis activating factor (Apaf) proteins decreases ($P<0.05$). Compared with the PAH group, the OE group showed an increase in PASP, a decrease in PAAT, an increase in pulmonary artery wall thickness, an increase in pulmonary artery TUFM, BECN1, LC3II/I, and Bcl2 expression, and a decrease in P62, Bax, and Apaf expression ($P<0.05$). Compared with the PAH group, the Sh group showed a decrease in PASP, an increase in PAAT, an improvement in pulmonary artery wall thickness and luminal stenosis, a decrease in TUFM, BECN1, LC3II/I, and Bcl2 expression, and an increase in P62, Bax, and Apaf expression ($P<0.05$). Compared with the Norm group, the Hyp group showed an increase in TUFM protein expression in PASMC cells. Compared with the Si-NC group cells, the SiRNA-1 and SiRNA-2 groups showed increased expression of P62 and Bax proteins, decreased expression of BECN1, LC3II/I, Bcl2, and TUFM, intact mitochondrial structure, decreased proliferation activity of PASMC cells, decreased expression of p-AMPK, and increased expression of p-mTOR ($P<0.05$). Compared with the OE-NC group, the expression of P62 and Bax proteins was reduced in the OE group, while the expression of BECN1, LC3II/I, Bcl2, and TUFM was increased. Some mitochondria were damaged and collapsed, and cristae rupture disappeared. The proliferation activity of PASMC cells was significantly increased, and the expression of p-AMPK was increased and p-mTOR was decreased in cells ($P<0.05$). **Conclusion** Silencing TUFM can promote mitochondrial autophagy and accelerate apoptosis of PAH pulmonary artery smooth muscle cells by activating the AMPK/mTOR signaling pathway.

【Key words】 Pulmonary arterial hypertension; Mitochondrial translation elongation factor Tu; Smooth muscle cells; Mitochondrial autophagy; AMPK/mTOR pathway; Rats

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)是一种恶性心血管疾病,以肺血管床阻塞性重构和进行性阻力增加为特征,最终导致右心功能障碍[1]。目前针对 PAH 发病机制的研究主要集中在肺血管平滑肌细胞,但由于其调控通路中信号分子的复杂性,其机制仍不清楚。最近的研究证实,线粒体通过感知缺氧、氧化应激和凋亡在 PAH 发病中发挥重要作用[2],提示线粒体代谢可能是 PAH 的关键调节因素。线粒体自噬作为线粒体质量控制的必要手段,可选择性地清除受损线粒体碎片,防止线粒体和细胞功能障碍[3]。报道称线粒体自噬的激活导致肺动脉平滑肌细胞过度增殖,增加肺血管阻力[4],但其调控 PAH 的确切分子机制尚未可知。线粒体翻译延伸因子 Tu(mitochondrial translation elongation factor Tu, TUFM)部分位于线粒体外膜上,与蛋白质翻译延伸合成、氧化磷酸化和蛋白质控有关[5]。其表达异常可通过引起线粒体呼吸链失衡和/或促进电子泄露,导致活性氧产生,影响细胞稳态[6]。最近的 PAH 模型大鼠线粒体蛋白质组分析鉴定了 TUFM 的差异表达[7],但关于 TUFM 在 PAH 进展中的生物学作用知之甚少。因此,本研究旨在揭示 TUFM 对 PAH 发生发展的影响,并探讨其可能的调控机制,报道如下。

1　材料与方法

1.1　材料与动物

1.1.1　实验动物:36 只健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠(200 ~ 220 g, 4 ~ 5 周龄),由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2021-0004。所有大鼠均饲养于辽宁省人民医院动物实验中心,标准

饲养条件,自由饮食,适应 1 周后进行实验。

1.1.2　试剂耗材:大鼠肺动脉平滑肌细胞(PASMC)购自北京中科质检生物技术有限公司;野百合碱(MCT,货号 C2401,美国 Sigma-Aldrich);蛋白定量检测试剂盒(货号:14G30C40,武汉博士德公司);苏木素—伊红(HE)染色试剂盒(货号:G1120,北京索莱宝公司);TUFM、CD31、Bcl2 相关 X 蛋白(Bax)抗体(货号:ab173300、ab222783、ab182734,美国 Abcam 公司);α 平滑肌肌动蛋白(α-SMA)抗体(货号:BM0002,美国 BOSTER 公司);人微管相关蛋白轻链 3(LC3)、苄氯素 1 重组蛋白(BECN1)、P62、凋亡酶激活因子(Apaf)、β 肌动蛋白(β-actin)抗体(货号:3868、3495、39749、8723、4970,美国 CST 公司);B 淋巴细胞瘤 2(Bcl2)抗体(货号:ET1702-53,美国 HUABIO 公司);磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)、磷酸化(p)-AMPK、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、p-mTOR 抗体(货号:bs-5551R、bs-2771R、bs3494R、bs3495R);细胞计数(CCK-8)检测试剂盒(货号:HY-K0301,美国 MCE 公司)。

1.1.3　主要实验仪器:脉冲多普勒仪(Vevo 2100,Visualsonics 公司);透射电子显微镜(HT 7700,日本 HITACHI 公司);Cytation3 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司);Chemi Doc XRS 化学发光凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司);160HR 高速冷冻离心机(美国赛默飞公司);倒置式生物显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2　实验方法　2022 年 1 月—2023 年 6 月于辽宁省人民医院中心实验室进行实验。

1.2.1　PAH 实验动物模型构建及分组:将 36 只大鼠随机分成 6 组:空白对照(Ctrl)组,模型(PAH)组,TUFM 过表达(OE)组,OE 阴性对照(OE-NC)组,短发夹 RNA(Sh)敲除 TUFM(Sh)组和 Sh 阴性对照(Sh-NC)组,每组 6 只。Ctrl 组仅给予等量生理盐水,其余 5 组根据文献[8],将溶解于 0.5 mmol/L 盐酸(pH = 7.4)溶液的 1% MCT(60 mg/kg)一次性腹腔注射诱导肺源性心脏病大鼠模型。基于美国国家生物技术信息中心相关序列(NM_001106295.1),选择具有平滑肌 22α(SM22a)基因的血清型腺相关病毒(AAV9)作为平滑肌特异性启动子。对于 OE 和 Sh 组,在给予 MCT 的同时将 1 ml 含有 10^{12} GC/ml 滴度的敲低或过表达的 AAV9 分别注射到大鼠尾静脉中,OE-NC 组和 Sh-NC 组使用等体积的相应空溶剂作为阴性对照,4 周后进行后续实验。序列如下:Sh-TUFM:上游,5′-CCCUGGUCAUGCAGAUUAUTT-3′和下游,5′-AUAAUCUGCAUGACCAGGGTT-3′和 Sh-NC:上游,5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′,下游,5′-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3′。

1.2.2　细胞模型制备及分组处理:PASMC 聚集至 80% ~90%时,更换为无血清改良 Eagle 培养基,置于 37℃培养箱内饥饿处理 24 h,更换常规培养基,随机分为常氧(Norm)组、低氧(Hyp)组、小干扰 RNA(SiRNA)-1 组、SiRNA-2 组、Si-NC 组、OE-NC 组和 OE 组。Norm 组和 Hyp 组分别置于常氧(21% O_2, 5% CO_2, 74% N_2,37℃)和低氧(3% O_2,5% CO_2,92% N_2,37℃)培养箱中培养 24 h;Si-NC 组、SiRNA-1 组、SiRNA-2 组、OE-NC 组和 OE 组细胞分别转染携带 Si-NC、Si-TUFM-1 组、Si-TUFM-2、OE-NC 和 OE-TUFM 质粒,孵育 6 h 后,放入低氧培养箱中培养 24 h。序列如下,Si-TUFM-1:上游,5′-CACCGAGUUUGGCUAUAAATT-3′和下游,5′-UUUAUAGCCAAACUCGGUGTT-3′; Si-TUFM-2:上游,5′-GGGCUAAGUUCAAGAAGUATT-3′和下游,5′-UACUUCUUGAACUUAGCCCTT-3′; Si-NC:上游,5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′,下游:5′-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3′。

1.2.3　血流动力学测定和组织收集:各组大鼠使用 2.5%戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉并固定在工作台上。脉冲多普勒检测肺动脉多普勒信号,并测量肺动脉加速时间(PAAT)。每次测量重复 3 次,计算平均值。使用颈静脉右心导管插管直接检测血流动力学数据:经颈行正中切口,钝性分离右颈外静脉,将 3F 聚乙烯导管插入主肺动脉,参照文献[9]方法测量肺动脉压力。用生理盐水冲洗右肺和右心组织以清除血液,液氮冷冻,-80℃保存。左肺用 4% 多聚甲醛固定,石蜡切片行组织学检查。

1.2.4　大鼠肺小动脉形态学检测:根据 HE 染色试剂盒说明书,石蜡切片行 HE 染色,光学显微镜下观察肺内小动脉病理情况。在低倍视野下随机选取外径(ED)50 ~200 μm 的血管,分析血管内径肥大情况。测量 ED 和中膜厚度(MT),并按照文献[10]根据 MT 百分比(MT% = 2 × MT/ED × 100%)计算动脉重塑。

1.2.5　免疫荧光共染色检测 TUFM 定位:石蜡切片用过氧化氢处理后,5% 牛血清白蛋白封闭,然后分别与 TUFM、α-SMA 或 CD 31 单克隆抗体在 4°C 下孵育过夜。洗涤未结合的一抗后,滴加异硫氰酸荧光素标记的羊抗鼠 IgG、Cy3 标记的羊抗兔 IgG 二抗在 37°C 下孵育 30 min。用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精复染并封片,荧光显微镜下观察拍照记录。

1.2.6　蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 TUFM、自噬、凋亡和 AMPK/mTOR 相关蛋白表达:将收集的肺

组织和 PASMC 细胞加入含有苯甲磺酰氟和磷酸酶抑制剂的蛋白裂解缓冲液，冰上裂解 30 min。二喹啉甲酸法测定蛋白浓度，等量的蛋白通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜后将聚偏二氟乙烯膜用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h，分别加入 TUFM、LC3、BECN1、P62、Bax、Bcl2、AMPK、p-AMPK、mTOR、p-mTOR（抗体稀释倍数 1∶1 000）和 β-actin（1∶10 000），4℃ 孵育过夜。次日，将膜与含有辣根过氧化物酶的二抗在室温下孵育 1 h。洗涤后，使用增强化学发光法对条带显影，以 β-actin 作为内参，Image J 软件进行灰度值测定分析。

1.2.7　CCK-8 法检测细胞增殖活力：根据说明书使用 CCK-8 试剂盒检测细胞活力。用上述不同条件处理细胞，然后胰蛋白酶消化并均匀接种到 96 孔板中。每孔加入 100 μl CCK-8 混合液，37°C 下孵育 2 h。分别在 12、24 和 36 h 利用酶标仪测量 450 nm 处吸光度。

1.2.8　透射电镜检测细胞线粒体结构：将 PASMC 细胞按照上述方式处理 24 h 后，戊二醛固定，用 PBS 洗涤 3 次。然后用 1% 锇酸处理，再次用 PBS 冲洗，并用丙醇脱水。将细胞包埋在环氧树脂和 2% 醋酸铀-饱和乙醇溶液中。通过透射电子显微镜观察不同处理组的线粒体结构和自噬小体。

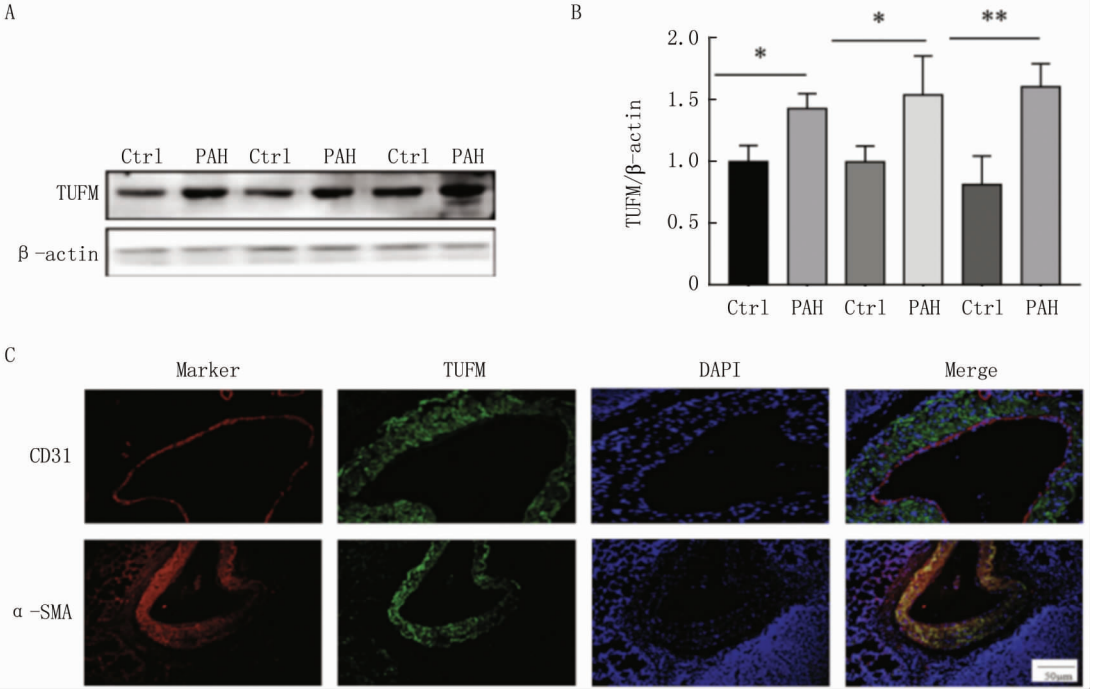
1.3　统计学分析　利用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析，使用 GraphPad Prism 9.0 软件绘图。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两两比较采用独立样本 t 检验，3 组间比较采用单因素方差分析。$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　PAH 模型大鼠肺动脉 TUFM 表达水平及定位　Western blot 结果显示，与 Ctrl 组比较，PAH 组大鼠肺动脉 TUFM 蛋白表达显著升高（$P < 0.05$，图 1A、B）。荧光共染结果显示，绿色荧光标记的 TUFM 与红色荧光标记的 PASMC 标志物 α-SMA 在肺小动脉内膜重合为黄色荧光，存在共定位；而 TUFM 与内皮细胞标志物 CD31 未见明显重合和共定位（图 1C）。

2.2　TUFM 对 PAH 大鼠血流动力学的影响　与 Ctrl 组比较，PAH 组肺动脉收缩压（PASP）升高，PAAT 缩短（$P < 0.05$）；与 PAH 组比较，OE 组 PASP 显著升高，PAAT 明显缩短（$P < 0.01$）；与 PAH 组比较，Sh 组 PASP 降低，PAAT 延长（$P < 0.05$），见图 2。

2.3　TUFM 对 PAH 大鼠肺动脉重构的影响　HE 染色结果显示，与 Ctrl 组比较，PAH 组大鼠远端肺小动脉管壁呈向心性增厚，管腔狭窄几乎堵塞，MT 百分比显著升高（$P < 0.05$）；与 PAH 组比较，Sh 组肺小动脉管壁厚度和管腔狭窄度有所改善；OE 组肺小动脉管壁厚度明显高于 PAH 组（$P < 0.05$），见图 3。



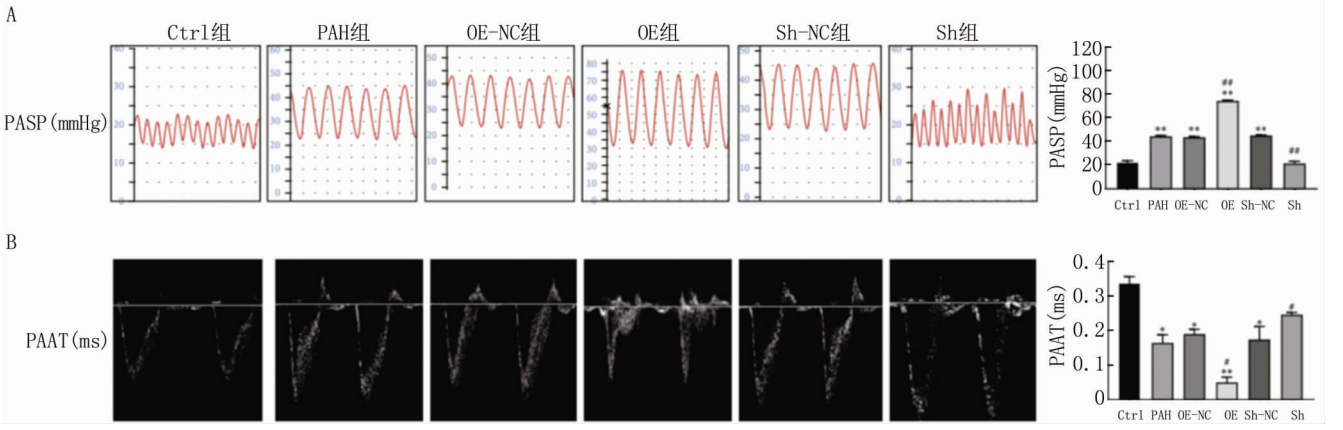
注：A. Western blot 检测 PAH 大鼠肺动脉 TUFM 蛋白表达；B. 灰度值统计图；C. 免疫荧光检测 TUFM 定位（×200）。Marker. 目的蛋白；TUFM. 线粒体翻译延伸因子 TU；DAPI. 4'，6'-二脒基-2-苯基吲哚；Merge. 合并。与 Ctrl 组比较，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$。

图 1　PAH 模型大鼠肺动脉 TUFM 表达水平及定位

Fig. 1　Expression level and localization of TUFM in pulmonary arteries of PAH model rats

2.4　TUFM 对 PAH 大鼠线粒体自噬和细胞凋亡相关蛋白表达的影响　Western blot 结果显示，与 Ctrl 组比较，PAH 组大鼠肺动脉 TUFM、BECN1、LC3II/I 和 Bcl2 蛋白表达升高，P62、Bax 和 Apaf 蛋白表达降低（$P<0.05$）；与 PAH 组比较，OE 组肺动脉 TUFM、BECN1、LC3II/I 和 Bcl2 表达显著升高，P62、Bax 和 Apaf 表达明显降低（$P<0.05$），Sh 组 TUFM、BECN1、LC3II/I 和 Bcl2 表达降低，P62、Bax 和 Apaf 表达升高（$P<0.01$），见图 4。

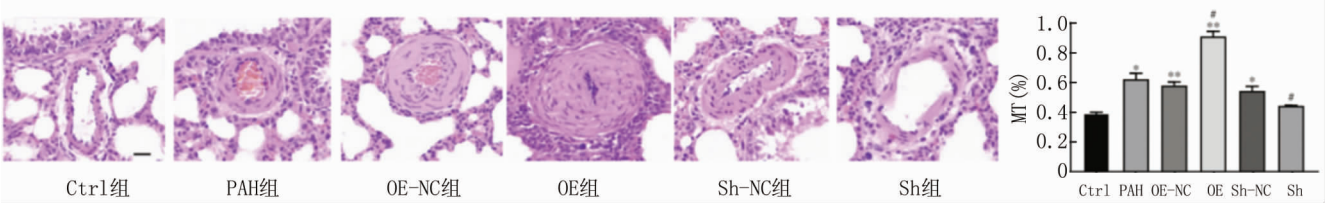
2.5　缺氧对 PASMC 细胞 TUFM 蛋白表达的影响　与



注：A. 颈静脉右心导管插管检测 PASP；B. 脉冲多普勒超声检测 PAAT。与 Ctrl 组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与 PAH 组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$。

图 2　TUFM 对 PAH 大鼠血流动力学的影响

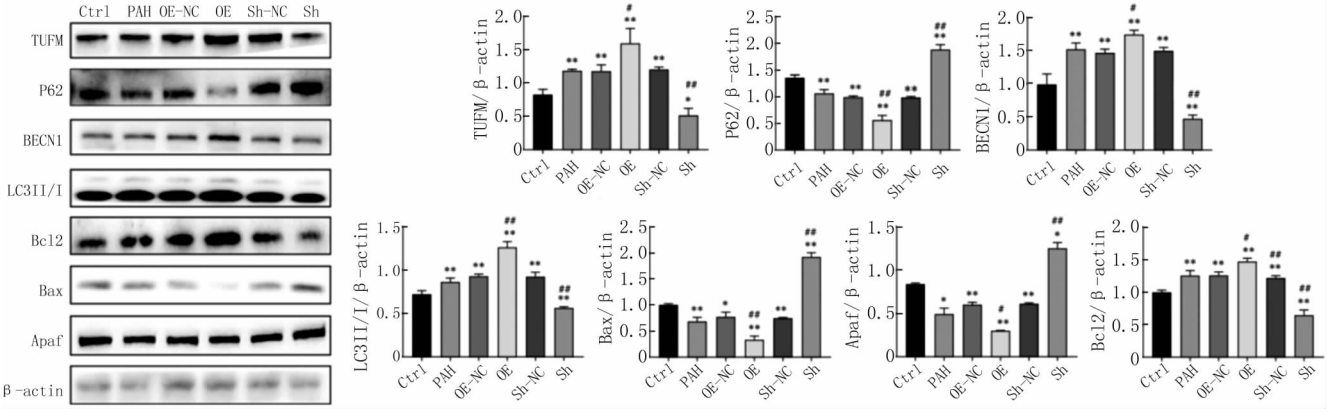
Fig. 2　Effect of TUFM on hemodynamics in PAH rats



注：与 Ctrl 组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与 PAH 组比较，$^{\#}P<0.05$。

图 3　各组大鼠肺小动脉病理结构比较（HE 染色，×200）

Fig. 3　Comparison of pathological structures of pulmonary arterioles in different groups of rats (HE staining, × 200)



注：与 Ctrl 组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与 PAH 组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$。

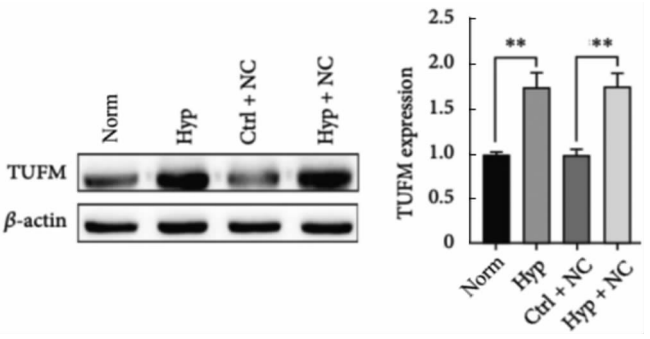
图 4　Western blot 检测各组大鼠线粒体自噬和细胞凋亡相关蛋白表达

Fig. 4　Western blot detection of mitochondrial autophagy and apoptosis related protein expression in each group of rats

Norm 组比较，Hyp 组细胞缺氧刺激可上调 TUFM 表达（$P<0.01$），见图 5。

2.6　缺氧对 PASMC 细胞线粒体自噬和凋亡相关蛋白表达的影响　与 Si-NC 组比较，SiRNA-1 和 SiRNA-2 组细胞 P62 和 Bax 蛋白表达升高，BECN1、LC3II/I、Bcl2 和 TUFM 表达降低（$P<0.05$）；与 OE-NC 组比较，OE 组细胞 P62 和 Bax 蛋白表达降低，BECN1、LC3II/I、Bcl2 和 TUFM 表达升高（$P<0.05$），见图 6。

2.7　缺氧对 PASMC 细胞线粒体结构的影响　透射电镜发现，Si-NC 组和 OE-NC 组在缺氧条件下线粒体轻微肿胀，但膜仍完整；部分损伤的线粒体嵴减少，损伤线粒体包裹在自噬体中。SiRNA-1 和 SiRNA-2 组细胞线粒体结构完整，嵴存在，膜完整，仅有少量自噬溶酶体。OE 组可见部分线粒体损伤崩解，嵴断裂消失，以及一些含有受损线粒体片段的自噬小体，见图 7。

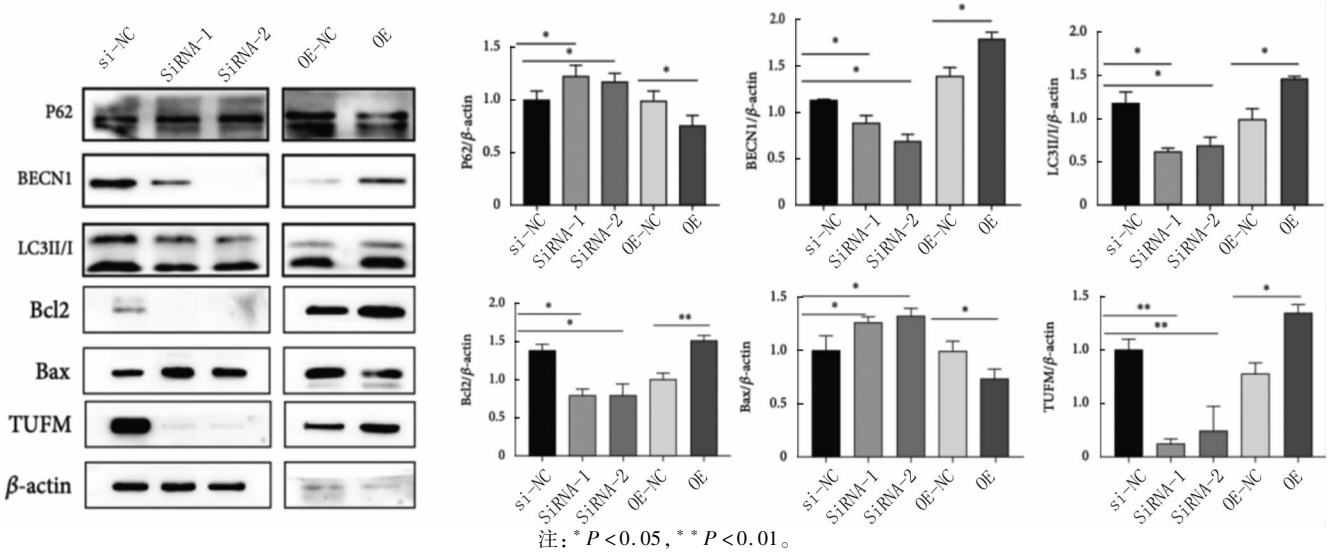


注：$^{**}P<0.01$。

图 5　Western blot 检测缺氧对 PASMC 细胞 TUFM 蛋白表达的影响

Fig. 5　Western blot detection of the effect of hypoxia on TUFM protein expression in PASMC cells

2.8　TUFM 对缺氧诱导 PASMC 细胞增殖活性的影响　CCK-8 法检测结果显示，与 Si-NC 组比较，SiRNA-1



注：$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$。

图 6　Western blot 检测缺氧对 PASMC 细胞线粒体自噬和凋亡相关蛋白表达的影响

Fig. 6　Western blot detection of the effect of hypoxia on mitochondrial autophagy and apoptosis related protein expression in PASMC cells

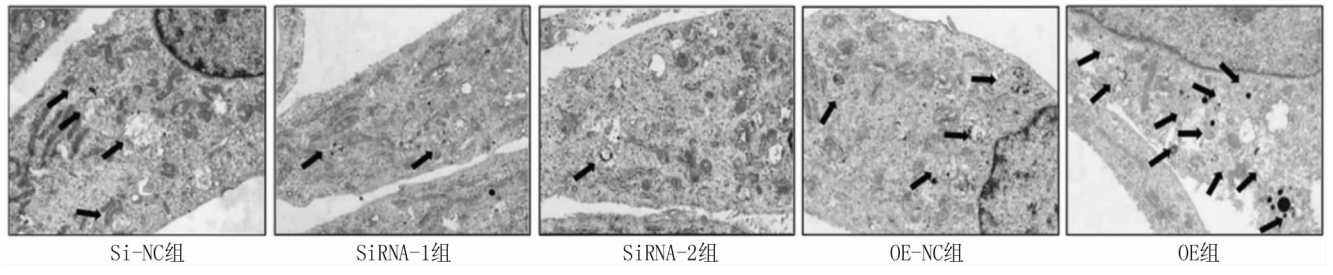
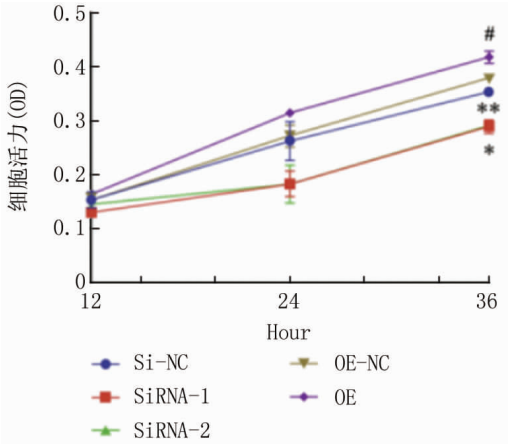


图 7　透射电镜检测缺氧对 PASMC 细胞线粒体结构的影响（×8 000，箭头代表自噬小体）

Fig. 7　Transmission electron microscopy detection of the effect of hypoxia on the mitochondrial structure of PASMC cells（× 8 000, arrows representing autophagosomes）

和 SiRNA-2 组细胞增殖活性显著降低($P<0.05$);与 OE-NC 组比较,OE 组细胞增殖活性明显升高($P<0.01$),见图 8。



注:与 Si-NC 组比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$;与 OE-NC 组比较,$^{\#}P<0.05$。

图 8　CCK-8 法检测缺氧对 PASMC 细胞增殖活性的影响

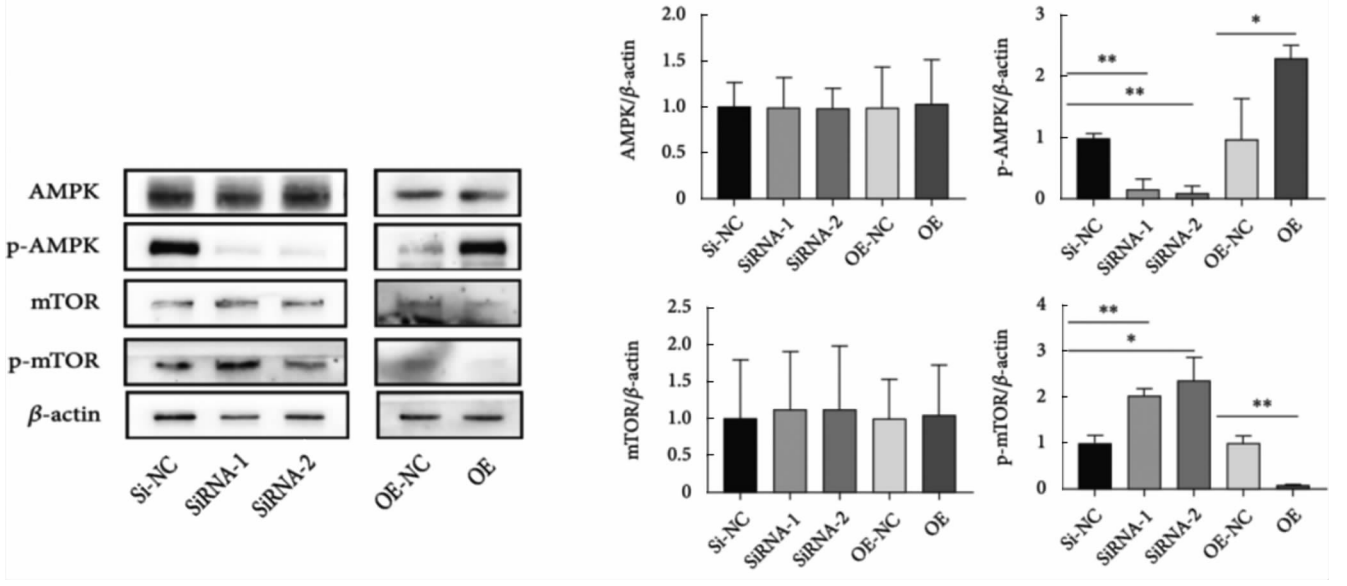
Fig. 8　CCK-8 method for detecting the effect of hypoxia on the proliferation activity of PASMC cells

2.9　TUFM 对缺氧诱导 PASMC 细胞 AMPK/mTOR 通路相关蛋白表达的影响　与 Si-NC 组比较,SiRNA-1 和 SiRNA-2 组细胞 p-AMPK 表达降低,p-mTOR 表达升高($P<0.05$);与 OE-NC 组比较,OE 组细胞 p-AMPK 表达升高,p-mTOR 表达降低($P<0.05$),见图 9。

3　讨　论

PAH 是一种进行性致死疾病,以肺小动脉重塑导致肺动脉阻力增加为特征,最终发展为右心功能障碍或右心衰竭。PAH 发病机制复杂,涉及遗传、缺氧、氧化应激、糖代谢失衡等多方面因素,其病理主要包括 PASMC 过度增殖和/或抑制凋亡以及胶原和弹性蛋白等细胞外基质的积累。但由于其分子机制不完全清楚,临床缺乏有效治疗药物,预后仍然较差。因此,迫切需要探索能有效抑制 PASMC 增殖并改善肺动脉重塑的靶向药物和内在机制。

线粒体作为细胞稳态的中心监护者,协调多种细胞生物过程,如细胞周期进程、线粒体动力学和细胞代谢等,与 PAH 的发病机制和病理过程密切相关[11]。TUFM 是线粒体 DNA 翻译表达的重要因子,在线粒体功能调控中起关键作用。既往研究显示,TUFM 可控制线粒体 DNA 编码肽的氨基酸延伸,并且其水平的变化能够影响多种细胞生物活性[6, 12-13]。最近的 PAH 肺动脉蛋白质组学研究发现,PAH 与正常个体之间存在 TUFM 差异表达[7]。因此,结合 PAH 的发病机制以及 TUFM 与线粒体功能的关系,推测 TUFM 可能参与 PAH 的发生发展。本研究在 MCT 诱导 PAH 大鼠模型中发现,与空白对照组相比,PAH 大鼠和细胞模型中 TUFM 表达明显增加,且主要定位于肺小动脉中膜平滑肌细胞,而不聚集于内层内皮细胞,与 PAH 主要病变细胞相一致[14],这提示低氧诱导的 PAH 发生发展



注:$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$。

图 9　Western blot 检测 TUFM 对缺氧诱导 PASMC 细胞 AMPK/mTOR 通路相关蛋白表达的影响

Fig. 9　Western blot detection of the effect of TUFM on the expression of AMPK/mTOR pathway related proteins in hypoxia induced PASMC cells

过程中 TUFM 可能起到一定程度的作用,但其中机制尚不明确。

为了探索 TUFM 是否参与 PAH 的发展及其在病理过程中的作用,本研究引入 TUFM 敲低或过表达质粒的 AAV9 腺相关病毒,构建 MCT 处理的 TUFM 沉默或过表达大鼠模型。4 周后,TUFM 的缺失抑制了 PAH 的发展,改善 PAH 小鼠血流动力学情况和肺小动脉血管重构,而过表达 TUFM 则加重 PAH 病理结构损伤。此外,与自噬呈负相关的自噬底物 P62 在 Sh 组中的表达水平高于 PAH 组,表明在无 TUFM 的情况下肺动脉线粒体自噬减少。自噬产物 LC3II/I 和 BECN1 水平降低也显示了 Sh 组线粒体自噬减少。据报道,PAH 的发生与 PASMC 的自噬激活、过度增殖和凋亡抵抗密切相关[14],存在自噬/凋亡互反馈调节机制,逆转自噬/凋亡失衡可有效改善血管重构,从而降低肺动脉压。研究发现,BECN1/Bcl-2 在调控自噬/凋亡平衡中发挥关键调控作用[15]。另外,本研究发现 TUFM 沉默促进 PASMC 细胞增殖的同时,引起抗凋亡基因 Bcl-2 表达下调,而凋亡促进因子 Bax 和 Apaf 表达上调,反之亦然。因此,TUFM 的缺失减轻了体内 PAH 的发展,这可能归因于线粒体自噬和凋亡调节。

为了探讨 TUFM 基因沉默抑制线粒体自噬和增殖/凋亡的分子机制,笔者重点研究了已知的信号分子 AMPK 和 mTOR 来阐明可能的途径。据报道,AMPK 和 mTOR 通过调控自噬激活激酶 1(ULK1)调节自噬,Lin 等[16]报道,双酚 A 可通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路激活促进卵巢颗粒细胞自噬。Gui 等[17]发现,红景天苷通过 AMPK/mTOR/ULK1 通路上调细胞自噬,减轻低氧诱导的肺动脉平滑肌细胞增殖和凋亡抵抗。本研究结果发现,AMPK 和 mTOR 的总蛋白水平不受 TUFM 水平的影响,但 p-AMPK 和 p-mTOR 的磷酸化激活受 TUFM 表达的调节。这说明 AMPK 和 mTOR 的活性在一定程度上受 TUFM 调控。此外,线粒体自噬标志物 P62、BECN1 和 LC3II/I 均受 TUFM 和 p-AMPK/p-mTOR 的调节。既往研究提示,AMPK 通过磷酸化其 Ser-555 和 Ser-777 位点来刺激 ULK1,而 mTOR 通过磷酸化 ULK1 中的不同 Ser 残基(Ser-757)来抑制自噬[18]。而且 mTOR 抑制剂和/或 AMPK 激活剂预处理内质网应激可扩大自噬的“生存窗口”。这些研究表明,AMPK/mTOR 通路在线粒体自噬中起枢纽作用,并调节线粒体功能和稳态。最近有学者提出,AMPK/mTOR 诱导的线粒体自噬增强通过控制一些蛋白的浓缩和溶解来调节编码关键线粒体蛋白的核 mRNA[19]。而且,TUFM 是 AMPK 和 mTOR 的上游分子,这一点通过敲低或过表达的状态得到证实。这些结果提示,TUFM 通过参与线粒体蛋白的合成,影响线粒体功能和稳态,进而调节整个细胞的功能。

本研究也存在一些局限性,首先,尽管缺氧可以部分模拟 PAH 的体内环境,但它并不完全代表 MCT 诱导 PAH 的发病机制,TUFM 研究需要一种模拟 PAH 的良好体外刺激。其次,遗憾的是没有使用 AMPK 或 mTOR 的干扰剂来进一步证实信号通路。鉴于线粒体功能调控在细胞周期过程中的重要性和复杂性,下一步的研究将从线粒体的功能和代谢调控两个方面来探讨 PAH 的发生机制。

综上所述,抑制 TUFM 可通过激活 AMPK/mTOR 信号通路抑制 PAH 肺动脉平滑肌细胞线粒体自噬,改善 PASMC 在缺氧条件下的增殖/凋亡失衡,这说明 PAH 肺动脉平滑肌细胞过度增殖至少部分是由于 TUFM 被激活促进线粒体自噬而导致的,这为改善 PAH 肺动脉重塑提供了新的靶点。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

崔本科:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王岩:提出研究思路,分析实验数据,论文审核;卢云凤:实施研究过程,资料搜集整理;杜鹃:进行统计学分析;翟羽涵:论文修改

参考文献

[1] 崔宇菲,张磊. 肺动脉高压基因遗传突变研究进展[J]. 疑难病杂志,2020,19(7):739-742. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.07.023.

[2] Zhang W, Liu B, Wang Y, et al. Mitochondrial dysfunction in pulmonary arterial hypertension [J]. Front Physiol, 2022, 13: 1079989. DOI:10.3389/fphys.2022.1079989.

[3] Onishi M, Yamano K, Sato M, et al. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy [J]. EMBO J, 2021, 40(3): e104705. DOI:10.15252/embj.2020104705.

[4] Linqing L, Yuhan Q, Erfei L, et al. Hypoxia-induced PINK1/Parkin-mediated mitophagy promotes pulmonary vascular remodeling [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 534: 568-575. DOI:10.1016/j.bbrc.2020.11.040.

[5] Choi CY, Vo MT, Nicholas J, et al. Autophagy-competent mitochondrial translation elongation factor TUFM inhibits caspase-8-mediated apoptosis [J]. Cell Death Differ, 2022, 29(2): 451-464. DOI:10.1038/s41418-021-00868-y.

[6] Kim D, Hwang HY, Ji ES, et al. Activation of mitochondrial TUFM ameliorates metabolic dysregulation through coordinating autophagy induction [J]. Commun Biol, 2021, 4(1): 1. DOI:10.1038/s42003-020-10566-0.

[7] Wang J, Uddin MN, Li Q, et al. Identifying potential mitochondrial proteome signatures associated with the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension in the rat model [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 8401924. DOI:10.1155/2022/8401924.

[8] 杜阿胖,林立建,练桂丽,等. 二甲双胍通过激活自噬改善野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠的肺动脉重塑和功能[J]. 中华高血压

杂志, 2021, 29 (11): 1069-1077. DOI: 10. 16439/j. issn. 1673-7245. 2021. 11. 010.

[9] 孙鹤宁, 鲁美丽, 田小雪, 等. Calpain-1 通过诱导内质网应激加速肺动脉高压的内皮细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 2023, 39 (4): 723-730. DOI: 10. 12360/CPB202109047.

[10] Masson B, Le Ribeuz H, Sabourin J, et al. Orai1 inhibitors as potential treatments for pulmonary arterial hypertension [J]. Circ Res, 2022, 131 (9): e102-e119. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 122. 321041.

[11] 崔志峰, 孙佳伟, 刘美洋, 等. 线粒体功能障碍在肺动脉高压形成中的作用机制[J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2022, 30(7): 24-28. DOI: 10. 12114/j. issn. 1008-5971. 2022. 00. 165.

[12] Xi HQ, Zhang KC, Li JY, et al. Expression and clinicopathologic significance of TUFM and p53 for the normal-adenoma-carcinoma sequence in colorectal epithelia [J]. World J Surg Oncol, 2017, 15 (1): 90. DOI: 10. 1186/s12957-017-1111-x.

[13] Weng X, Zheng S, Shui H, et al. TUFM-knockdown inhibits the migration and proliferation of gastrointestinal stromal tumor cells [J]. Oncol Lett, 2020, 20(5): 250. DOI: 10. 3892/ol. 2020. 12113.

[14] 周琴怡, 龚邵新, 彭琴, 等. 肺动脉平滑肌细胞: 肺动脉高压的关键治疗靶点[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(6): 543-547. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-3949. 2021. 06. 016.

[15] 何梦, 陶克龙, 张春意, 等. 淫羊藿苷通过 miR-210 调控自噬-凋亡平衡改善低氧性肺动脉高压血管重塑的研究[J]. 现代实用医学, 2020, 32(8): 919-922. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-0800. 2020. 08. 017.

[16] 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: 106298. DOI: 10. 1016/j. envint. 2020. 106298.

[17] Gui D, Cui Z, Zhang L, et al. Salidroside attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation and apoptosis resistance by upregulating autophagy through the AMPK-mTOR-ULK1 pathway [J]. BMC Pulm Med, 2017, 17 (1): 191. DOI: 10. 1186/s12890-017-0477-4.

[18] Holczer M, Bánhegyi G, Kapuy O. GADD34 keeps the mTOR pathway inactivated in endoplasmic reticulum stress related autophagy [J]. PLoS One, 2016, 11 (12): e0168359. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0168359.

[19] Fernández-Alvarez AJ, Gabriela Thomas M, Pascual ML, et al. Smaug1 membrane-less organelles respond to AMPK and mTOR and affect mitochondrial function [J]. J Cell Sci, 2022, 135 (1): jcs253591. DOI: 10. 1242/jcs. 253591.

(收稿日期: 2023 - 10 - 05)

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。仅需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; 用频数或率(%)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导出的结论, 包括理论意义、实际应用价值、局限性, 及其对进一步研究的启示。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. 04. 019

罕少见病例

芬兰型先天性肾病综合征 1 例并文献复习

张星，林新宇，王姣，付晓伟，张立明

作者单位：261000　山东潍坊，山东第二医科大学临床医学院（张星、王姣）；潍坊市人民医院新生儿科（林新宇、付晓伟、张立明）

通信作者：张立明，E-mail：671127zhanglm@163.com

【摘　要】 报道 1 例芬兰型先天性肾病综合征患儿的临床资料，并进行文献复习。

【关键词】 先天性肾病综合征，芬兰型；NPHS1 基因；诊断；治疗

【中图分类号】 R722.11　　【文献标识码】 B

Finnish congenital nephrotic syndrome: a case report and literature review

Zhang Xing, Lin Xinyu, Wang Jiao, Fu Xiaowei, Zhang Liming. * School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Shandong Province, Weifang* 261000, *China*

Corresponding author: Zhang Liming, E-mail: 671127*zhanglm*@163.*com*

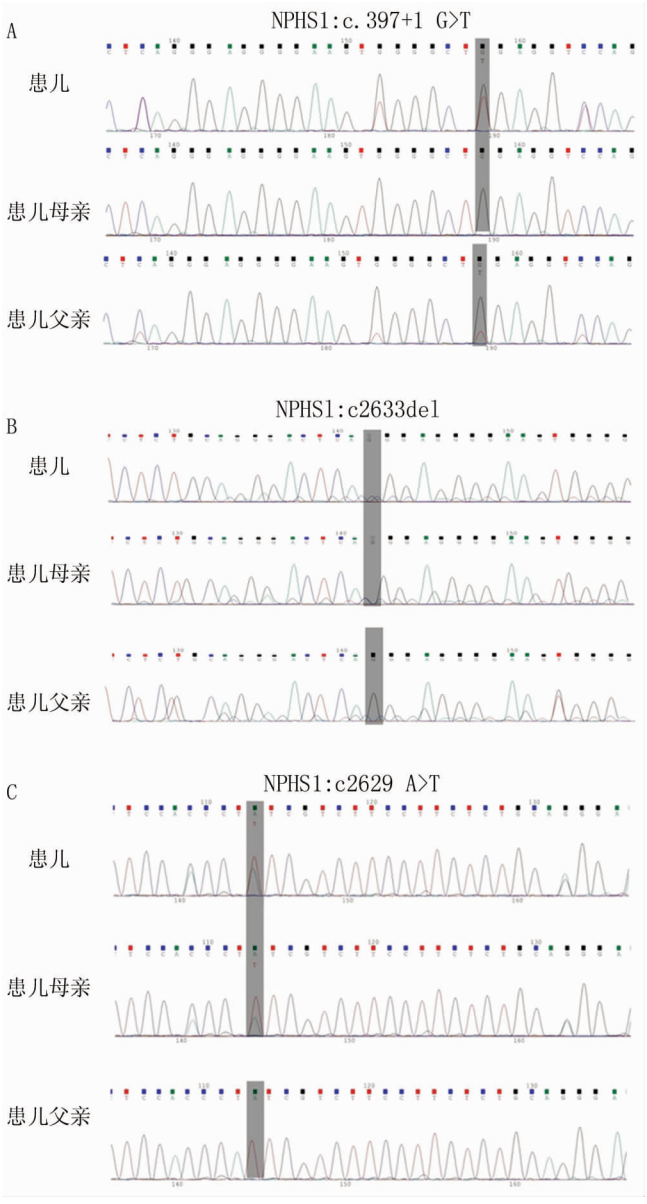
【**Abstract**】 Report the clinical data of a case of Finnish congenital nephrotic syndrome, and review the literature.

【**Key words**】 Finnish congenital nephrotic syndrome; NPHS1 gene; Diagnosis; Treatment

患儿，女，1 d，因“生后气促 15 min”于 2022 年 9 月 8 日入院。患儿系第 1 胎第 1 产，孕 33^{+6} 周因“胎儿宫内窘迫”剖宫产娩出，出生体质量 1.78 kg，羊水Ⅰ°污染，胎盘、脐带未见异常，1 min Apgar 评分 9 分，母亲有桥本甲状腺炎病史，父亲体健，家族无肾脏病患者。入院查体：T 36.5℃，P 160 次/min，R 60 次/min，SpO_2 90%。早产儿貌，反应差，呼吸促，面部浮肿；双肺呼吸音粗，闻及湿啰音，心音有力，律齐，未闻及杂音；腹平软，肝脾未触及肿大，腹水征阳性，肠鸣音存在；双下肢凹陷性水肿，肌张力差，原始反射未引出。实验室检查：尿常规示蛋白质（+++），红细胞（++），24 h 尿蛋白 4.5 g；血液生化示血清总蛋白 21.9 g/L，白蛋白 13.7 g/L，球蛋白 8.2 g/L，胆固醇正常；凝血常规示凝血酶原时间 13.1 s，凝血酶时间 18.0 s，活化部分凝血活酶时间 35.8 s，D-二聚体 1.75 μg/ml。甲状腺功能三项、血培养无明显异常；EB 病毒衣壳抗原、Torch 均阴性。肝胆胰脾肾以及心脏彩色超声未见明显异常。腹部 B 超：腹腔探及液性暗区约 2.3 cm。胸腹 X 线片示双肺纹理模糊、肠胀气。初步诊断：先天性肾病综合征，后采集患儿及其父母静脉血，基因检测显示患儿存在 NPHS1 的 3 个杂合突变位点，分别为 c.397+1G>T、c.2633del、c.2629A>T，其中 c.2633del、c.2629A>T 为国内首次报道。患儿父亲 c.397+1G>T 发生杂合突变，导致氨基酸发生剪接突变（splicing），母亲在该位点无变异（图 1A）。母亲 c.2633del 杂合突变，导致氨基酸发生移码突变（p.Asn878ThrfsTer27）、2629 号核苷酸由腺嘌呤 A 变为 T（c.2629A>T）的杂合突变，导致第 877 号氨基酸由赖氨酸变为终止子（p.Lys877Ter），患儿父亲在该位点无变异（图 1B、C）。根据美国医学遗传学与基因组学学会（ACMG）指南评估该 3 个突变位点均为可疑性致病性变异，导致基因功能丧失，结合患儿临床表型及基因检测结果，患儿为 NPHS1 基因杂合突变所致的芬兰型先天性肾病综合征（congenital nephrotic syndrome of the Finnish type，CNF）。入院后予反复输注白蛋白、丙种球蛋白及维持内环境稳态等支持治疗，定期复查尿常规、生化等相关检查，血液白蛋白持续下降且患儿全身水肿进行性加重，入院后 10 d，家长放弃治疗出院，随访 2 个月患儿死亡。

讨　论　先天性肾病综合征（congenital nephrotic syndrome，CNS）为新生儿罕见疾病之一，多发于西欧国家，主要是新生儿在出生 3 个月内出现的肾病综合征，临床症状包括大量蛋白尿、低白蛋白血症、高胆固醇血症以及严重水肿[1]。根据病因，CNS 分为原发性（遗传性）和继发性（非遗传性）。继发性 CNS 多见于宫内感染，如巨细胞病毒、人类免疫缺陷病毒、风疹、弓形虫感染、汞中毒、婴儿系统性红斑狼疮、溶血尿毒症综合征以及其他先天异常（如 Denys-Drash 综合征、指甲—髌骨综合征等）[2]。而有研究表明，60% ~80% 的患者有遗传基础，主要因编码足突细胞肾滤过屏障的基因突变所致，NPHS1 是引起 CNS 最常见的致病基因，由于在芬兰发病率极高，约 1/8 000，因此，又称为芬兰型先天性肾病综合征（CNF）[3]。

CNF 是一种罕见的常染色体隐性遗传病，1998 年首次报道 CNF 与 NPHS1 基因突变有关[4]。Kestil 等[5]发现 NPHS1 基因位于 19 号染色体长臂 13.1 位点上，编码由 1 241 个氨基酸组成的肾病蛋白 nephrin，该蛋白是肾小球足细胞裂孔隔膜的核心组成部分，特异性表达于肾小球足细胞裂孔隔膜上，与足细胞足突间相互连接，形成拉链样的结构选择性屏障，只允许水分子及小的血浆分子通过，而防止免疫球蛋白等大分子滤过，对



注:A. 患儿及其父亲在 c. 397 + 1G > T 发生杂合突变,患儿母亲不携带该突变;B. 患儿及其母亲在 c. 2633del 发生杂合突变,其父亲不携带该突变;C. 患儿及其母亲在 c. 2629A > T 发生杂合突变,其父亲不携带该突变。

图 1　患儿及其父母基因突变检测结果

于肾小球滤过和足细胞稳定性方面有至关重要的作用。当 NPHS1 发生突变时,足细胞过滤屏障功能受损,导致尿液中出现大量蛋白质。目前发现的 NPHS1 基因突变类型已超过 260 种,且世界各地 NPHS1 突变谱仍在扩大,我国报道的 NPHS1 突变类型也越来越多[3],NPSH1 的突变类型主要包括错义突变、剪切突变、无义突变、框移突变等,但并非所有的 NPHS1 基因变异都有很严重的临床表现[6]。目前认为错义突变为较轻的突变类型,而框移突变、剪切突变及零效突变被认为是较重的突变类型。根据 ACMG 指南评估该患儿的 3 个位点突变均属于严重的突变类型,在笔者后续的随访过程中,该患儿于生后 2 个月死亡。

CNF 对于免疫抑制剂及激素治疗具有耐药性,肾移植是唯一有效的治疗方式。但移植前患儿的管理往往具有挑战性,要面临低白蛋白血症相关的液体过载、血液动力学不稳定、感染和血栓形成等并发症,还需要提供优质营养以达到足够的喂养体质量,经过单侧或双侧肾脏切除后,才能进行肾移植[7]。遗憾的是,本患儿由于严重的水肿、代谢紊乱而死亡,并未进行肾脏移植。

因此,目前对于该疾病仍然是预防重于治疗。随着分子遗传学技术的不断发展,基因检测已经成为遗传性肾病检查的重要手段,基因检测可以为基因突变危险的家庭提供遗传咨询,并为计划下一胎提供产前诊断。

参考文献

[1]　康郁林. 先天性肾病综合征研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2011,38(3):3. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2011.03.013.

[2]　张慧,周娜,杨发康,等. 新生儿先天性肾病综合征 1 例报道并文献复习[J]. 中国医刊,2020,55(8):4. DOI:10.3969/j.issn.1008-1070.2020.08.018.

[3]　周瑜,陈琼,黄希,等. 芬兰型先天性肾病综合征 1 例报道[J]. 四川大学学报:医学版,2020,51(6):4. DOI:10.12182/20200760109.

[4]　高金枝,陈玲. 芬兰型先天性肾病综合征 1 例家系基因分析及文献复习[J]. 临床儿科杂志,2018,36(9):4. DOI:10.3969/j.issn.1000-3606.2018.09.006.

[5]　Kestil M, Lenkkeri U, Mnnikk M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein nephrin is mutated in congenital nephrotic syndrome[J]. Molecular Cell, 1998, 1(4):575-582. DOI:10.1016/S1097-2765(00)80057-X.

[6]　刘竹枫,王文红,张瑄,等. 同胞姐弟 NPHS1 基因变异致芬兰型先天性肾病综合征一例[J]. 中华医学遗传学杂志,2020,37(12):4. DOI:10.3760/cma.j.cn511374-20200116-00034.

[7]　Boyer O, Schaefer F, Haffner D, et al. Management of congenital nephrotic syndrome: Consensus recommendations of the ERKNet-ESPN Working Group[J]. Nature reviews nephrology, 2021, 17(4):277-289. DOI:10.1038/s41581-020-00384-1.

(收稿日期:2023 - 09 - 08)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 020

罕少见病例

HUWE1 基因突变合并 KDM5C 基因突变导致 X 连锁的智力障碍 1 例

刘青,陈波,刘畅

基金项目:石河子大学研究生教育教学改革研究项目(ZG011606)
作者单位:832000　新疆维吾尔自治区石河子市,石河子大学医学院(刘青、刘畅);石河子大学第一附属医院儿科(陈波)
通信作者:陈波,E-mail:58432141@qq.com

【摘　要】 报道 1 例 HUWE1 基因突变合并 KDM5C 基因突变导致 X 连锁的智力障碍患者的临床资料,并进行文献复习。

【关键词】 X 连锁的智力障碍;HUWE1 基因;KDM5C 基因;基因变异;诊断;治疗
【中图分类号】 R725.9　　【文献标识码】 B

A case of X-linked intellectual disability caused by HUWE1 gene mutation combined with KDM5C gene mutation

Liu Qing, Chen Bo, Liu Chang. *Medical College, Shihezi University, Xinjiang Province, Shihezi* 832000, *China*
Founding program: Research Project on Graduate Education and Teaching Reform at Shihezi University (*ZG*011606)
Corresponding author: Chen Bo, E-mail: 58432141@*qq.com*

【**Abstract**】 Report the clinical data of a patient with X-linked intellectual disability caused by a HUWE1 gene mutation combined with a KDM5C gene mutation, and review the literature.

【**Key words**】 X-linked intellectual disability; HUWE1 gene; KDM5C gene; Genetic variation; Diagnosis; Treatment

患儿,男,13 岁,因“生长迟缓 10 余年”于 2022 年 4 月 21 日入院。患儿出生史无特殊,生长发育史落后,6 个月时诊断为“囟门早闭、颅缝早闭”。患儿目前为六年级,言语欠清晰,能正确对答,学习成绩较差,好多动,注意力不集中,脾气暴躁,易怒,有自残和攻击行为。患儿父母、姐姐及家族中无类似疾病患者。体格检查:身高 143 cm(<P75),体质量 30.0 kg(<P75),头围 47 cm,BMI 14.67 kg/m^2,遗传身高 172.5±5 cm(P25~P50);皮肤黝黑,小头畸形,发际线高,前额饱满,眼裂小,眼裂上斜,双眼突出,蒜状鼻,长人中,宽嘴(图 1A),上唇薄,上颚裂,舌略突出,缺牙症,上牙 6 个,下牙 10 个,牙列不齐(图 1B),小下颌,无颈蹼,外耳大,低位耳,耳廓正常;胸廓呈漏斗胸,双侧肋外翻(图 1C);四肢脊柱无畸形,双侧手指短粗,中节指间关节略弯曲,呈杵状指(图 1D);小阴茎,阴囊未发育,未见阴毛及腋毛生长。实验室检查示 25-羟维生素 D 36.20 mmol/L,偏低;血常规、肝肾功能、电解质、心肌酶、血脂全套、尿液全检、微量元素八项(锌铁钙镉铜铅锰镁)、促肾上腺皮质激素、甲状腺功能评估等未见明显异常。左手腕骨 X 线片示骨龄 13 岁;脑电图/脑地形图检查示轻度异常,主节律为 7~8 Hz;头颅 MR 示双侧额叶发育不良并局部脑回畸形(图 2A),小脑扁桃体下疝畸形(图 2B)。

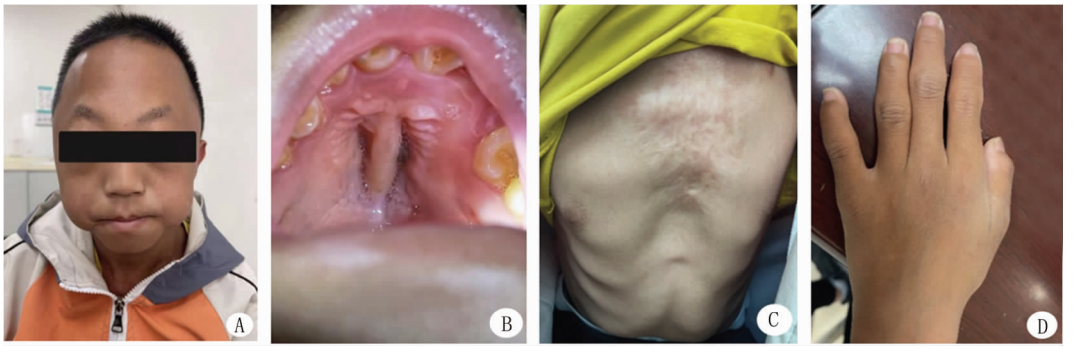


图 1　患儿面容、口腔、胸廓和手指表现

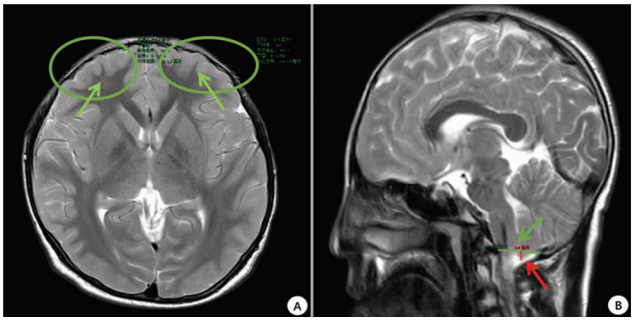


图 2　患儿头颅 MR 影像学表现

中国修订韦氏儿童智力量表(C-WISC)结果提示,患儿言语、操作和全量表智商分别为 63、70 和 63,其百分位分别为 0.80、2.60、0.80。Conners 父母问卷:学习问题表现为做事有始无终,注意力不能集中,在学习过程中不能持之以恒,学习成绩下降。基因检测:检出与受检者临床信息相关的 1 个新发致病性变异为 HUWE1(NM_031407.7):c.328 C > T(p.Arg110Trp)(图 3),参考美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)和美国分子病理学会(AMP)对于遗传变异的分类标准和指南[1],该变异为致病性变异(PM6_Strong + PM2 + PM5 + PS4_Moderate);检出与受检者临床信息可能相关的 1 个母源性临床意义未明变异为 KDM5C(NM_004187.4):c.933 G > T(p.Arg311Ser),exon7(图 4),该变异证据链 PM2,综合判定为临床意义未明变异(VUS)。结合临床表型及基因检测结果,诊断为 HUWE1 基因突变合并 KDM5C 基因突变导致 X 连锁的智力障碍。给予对症治疗及功能康复训练,随访 12 个月,目前患儿身高 147 cm,吐字较前清晰,言语流利程度稍有进步,运动较前稍有进步,专注力较前集中,能单独看书、听课 10 余分钟,学习数学等科目仍有困难,攻击性行为未见好转。

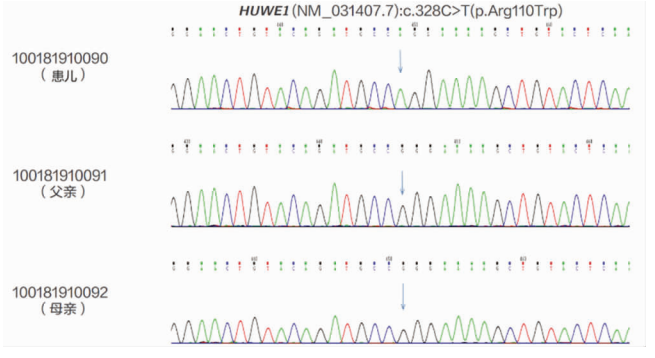


图 3　患儿及其父母 HUWE1 基因测序图

讨　论　智力障碍(intellectual disability, ID)是一种复杂的神经发育状况,发病率为 1% ~3%,而在 X 染色体上的基因发生致病性突变所引起的先天性精神发育迟滞,称为 X 连锁的智力障碍(X-linked intellectual disability, XLID)。目前已在 X 染色体上鉴定出 120 个基因与 XLID 的发生有关[2],约占 ID 患者的 10% 以上[3]。

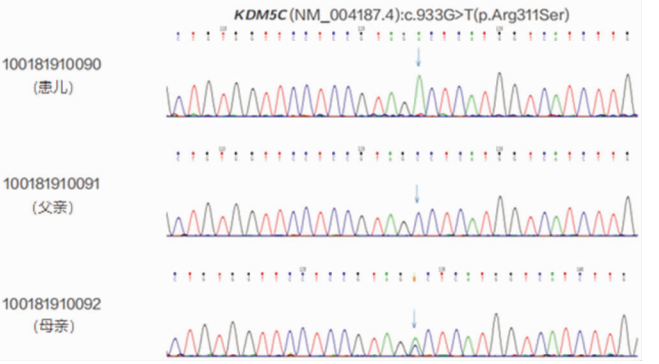


图 4　患儿及其父母 KDM5C 基因测序图

HUWE1 基因定位于 Xp11.22 上,在神经元发育、增殖过程中广泛表达,可促进突触的发生,并有助于维持基因组完整性[4]。HUWE1 基因突变诱发 HUWE1 功能增加(又称功能获得)或功能丧失减少从而导致 XLID 的发生[5]。通过检索及多番对比国内外文献后,本研究发现 HUWE1 突变的患者通常表现为:中度至重度的智力发育落后、身材矮小、手脚较小、严重的言语发育落后和非特异性的面部特征异常(如深陷的眼睛、宽大的鼻尖等)[5]。

本例患儿除以上临床体征外,还有颅缝早闭(6 个月之前颅缝早闭、小头颅)及 Chiari 畸形(头颅 MR:小脑扁桃体下疝畸形)等新的临床特点。通过文献复习发现 HUWE1(c.328 C > T;p.Arg110Trp)同一位点突变的 2 例男性患儿也具有此特点,但其中 1 例患儿还具有脊柱侧凸、小脚趾并指的附加特征[6-7]。这提示即使均为 HUWE1 基因突变甚至突变位点相同所造成的临床表型也会有细微差别。同时由于 HUWE1 基因突变病例数极为罕见,暂无法识别 HUWE1 变异的个体与该基因相关的临床表型,需进一步阐明基因型—临床表型的相关性。

本例患儿同时伴随牙列稀疏、易怒、自伤行为的特点,与目前已报道的 HUWE1 基因突变临床表型并不完全一致,查阅基因报告发现患儿还存在 1 个可能相关的母源性临床意义未明变异:KDM5C 基因(c.933 G > T;p.Arg311Ser)突变,该基因突变可导致一种罕见的呈 X 染色体连锁隐性遗传方式发病的先天性智力障碍疾病——Claes-Jensen 综合征(mental retardation, X-linked, syndromic, Claes-Jensen type, MRXSCJ),表现为轻至重度的精神发育迟滞,占男性 XLID 患者的 3%[8-10]。检索国内文献已证实致病性 KDM5C 变异的男性都具有颅面异常、癫痫和身材矮小的特征,并且拥有牙列稀疏、易怒、自伤行为的特点,本例患儿缺牙症、智力低下明显伴有多动障碍、注意力不集中,学习困难、易怒等临床特征均符合 KDM5C 基因突变的临床表型。

结合患儿基因检测结果及临床症状,新发致病性变异 HUWE1(c.328 C > T;p.Arg110Trp)与患儿临床症状相符,提示该基因变异是患儿的患病原因,但新发变异检出并不能排除父母中某一方为嵌合体的情况。建议患儿父母再生育时考虑通过产前诊断或胚胎植入前遗传学诊断(PGD)技术避免同样病症患儿的出生。本例患儿同时还发现另外 1 个 VUS 变异 KDM5C

(下转 495 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 021

综　述

神经病理性疼痛的研究进展

邵仪,蓝心,陈运滏综述　史静审校

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82060220);贵州省科技厅基础研究计划(ZK[2023]一般 390)
作者单位:550000　贵阳,贵州医科大学麻醉学院(邵仪、蓝心、陈运滏);贵州医科大学附属医院麻醉科(史静)
通信作者:史静,E-mail:shijing81@gmc.edu.cn

【摘　要】 神经病理性疼痛(NP)是由躯体感觉神经系统病变或疾病引起的疼痛,可导致运动、感觉和自主神经功能障碍,严重影响患者的生活质量。近年来 NP 的发病率呈逐年递增趋势,严重影响患者的生活质量,给家庭和社会带来很大负担。由于 NP 发病机制不确切,目前临床上尚无针对该疾病的特异性治疗方法。文章对 NP 的发病机制、诊断及治疗措施进行综述,以期为 NP 的防治提供一定的参考。

【关键词】 神经病理性疼痛;发病机制;诊断;临床治疗
【中图分类号】 R441.1;R741　　【文献标识码】 A

Research advances of neuropathic pain

*Shao Yi**, *Lan Xin*, *Chen Yunfu*, *Shi Jing*. **School of Anesthesia*, *Guizhou Medical University*, *Guizhou Province*, *Guiyang* 550000, *China*
Funding program: *National Natural Science Foundation of China* (82060220); *Basic Research Program of Guizhou Provincial Department of Science and Technology* (*ZK* [2023] *General* 390)
Corresponding author: *Shi Jing*, *E-mail*: *shijing*81@*gmc. edu. cn*

【**Abstract**】 Neuropathic pain (NP) is a kind of pain caused by lesions or diseases of the somatosensory nervous system, which can lead to motor, sensory, and autonomic dysfunction and seriously affect the quality of life of patients. In recent years, the incidence of NP is increasing, which seriously affects the quality of life of patients and brings a great burden to families and society. Due to the unclear pathogenesis of NP, there is no specific treatment for this disease clinically. This review aims to provide some reference for the prevention and treatment of NP by summarizing the existing possible pathogenesis, diagnosis and treatment measures.

【**Key words**】 Neuropathic pain; Pathogenesis; Diagnosis; Clinical treatment

神经病理性疼痛(neuropathic pain,NP)是慢性疼痛的主要类型,被国际疼痛研究协会(International Association for Study of Pain,IASP)定义为"由躯体感觉神经系统病变或疾病引起的疼痛"[1]。据流行病学研究,这种特殊疼痛影响全世界 3% ~17% 的人群,不仅影响患者的生活质量,还增加了患者的经济负担[2]。

根据最初受累的部位,这种特殊疼痛分为中枢性和外周性神经病理性疼痛,可由糖尿病、带状疱疹、创伤、癌症等诱发,在临床上表现为自发性疼痛(灼痛、刺痛、麻刺感),可伴有诱发性疼痛,尤其是轻触或寒冷时,疼痛通常为持续性且反复发作[3-4]。目前 NP 具体机制尚不明确,药物治疗效果不佳且不良反应较多,因此给临床上防治该类疾病带来了极大的挑战。文章综述了近年来部分 NP 相关的文献,旨在从病理生理机制、诊断及治疗等方面较深入地认识 NP,为临床防治提供一定的依据。

1　NP 的分类

国际疾病分类(international classification of diseases,ICD)第 11 版将 NP 分为外周和中枢来源 2 种[5]。中枢性 NP 常由影响大脑、脑干或脊髓的疾病发展而来,包括中枢性脑卒中后疼痛、多发性硬化症、脊髓损伤等,且通常在中枢神经系统损伤后数月或数年发生[6]。外周性 NP 多见于周围感觉神经系统通路的病变或疾病,如三叉神经痛、带状疱疹后神经痛、神经根病等[7]。

1.1　中枢性 NP　中枢性脑卒中后疼痛是由脑或脑干的脑血管病变、梗死或出血引起的,疼痛可能是自发的,也可能是诱发的,表现为痛觉过敏或异位痛[4]。多发性硬化症是一种慢性炎性疾病,可引起中枢神经系统脱髓鞘和轴突变性[8]。老年人群中最常见的神经退行性疾病是帕金森病,常引起神经根痛和关节痛[9]。

1.2　外周性 NP　三叉神经痛是口面部神经性疼痛的一种表现,病变局限于三叉神经,疼痛通常突发突止,表现为电击样,刺痛或尖锐性疼痛[10]。带状疱疹后神经痛通常表现为持久性剧烈疼痛,伴焦虑、失眠甚至抑郁,多常发生于三叉神经第一分支(眼分支)[11]。神经根病是由累及颈椎、胸、腰椎或骶神经根

的病变或疾病引起的持续性或复发性疼痛,最常见于脊柱退行性改变,也可由创伤、肿瘤、感染、出血或缺血等引起[4]。

2　NP 的发病机制

近年来的研究发现,NP 可能的发生机制主要包括离子通道的改变、中枢和外周敏化、神经炎性反应、中枢兴奋性和抑制性信号传导之间的不平衡等[12-13]。

2.1　离子通道的改变　异位放电是指背根神经节和神经损伤部位的自发放电,是痛觉异常的电生理学基础,与多种离子通道的活动有关[14]。当神经纤维受到损伤时, 背根神经节的电压门控钠、钙通道表达增强,降低神经纤维和神经元的阈值,还能增强神经递质的释放,促进兴奋性和外周感觉神经元的异位放电,导致自发性疼痛[2,15-16]。电压门控钠通道为外周感觉神经元兴奋性的关键调节因子,与 NP 有关的亚型包括 NaV1.3、NaV1.7、NaV1.8 和 NaV1.9, Nav1.3、Nav1.7 和 Nav1.8 等异位钠通道的增殖可能降低刺激阈值,引起异位放电,导致自发性疼痛[17]。离子通道的过表达与伤害感受器的激活阈值降低以及异位放电等有关,为 NP 靶向离子通道治疗提供了新的思路。

2.2　疼痛信号改变和下行抑制系统　下行控制系统起源于脑干和中脑,由较高的中枢控制并形成内源性调节回路,被认为是多个神经网络中的重要环节[18]。当周围神经发生病变时,感觉神经的电生理特性发生改变,进而导致中枢兴奋性和抑制性信号之间的不平衡,使抑制性中间神经元和下行控制系统受损[2]。当大脑接收到异常信息时,对丘脑和皮质的投射发生改变,产生剧烈疼痛,此时从前脑区域投射出的信号经导水管周围灰质到达脑干,调节下行控制系统[2]。研究表明下行控制系统兼具抑制性和易化性,抑制和易化之间的平衡是动态的,当环境、行为、情绪等变化时,动态平衡会被破坏。当离子型谷氨酸受体 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)和 α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸(AMPA)的激活和基因表达发生变化时,延髓头端腹内侧神经元兴奋性降低,分别导致易化和抑制[17]。神经损伤后,脊髓背角氯离子失调,导致内源性 5-羟色胺(5-HT)系统由下行抑制转变为下行易化,进而诱导 NP[19]。

2.3　外周敏化和中枢致敏　当发生炎性反应或损伤时,外周和中枢会产生一系列神经病理变化,外周敏化和中枢致敏是 NP 患者痛觉超敏的主要原因。外周敏化是指伤害感受器被激活后表现出更高的兴奋性和敏感性,同时对有害刺激的反应阈值降低的情况,当发生局部炎性反应或外周神经损伤时,外周痛觉神经元的反应性增加,发生痛觉超敏[20-21]。中枢敏化是一种由于反复的疼痛输入从而增加脊髓兴奋性的状态,在此过程中,伤害性感觉神经元能产生或增加自发活动,降低能激活神经元的外周刺激阈值,增加对阈上刺激的反应[13]。在强烈的外周有害刺激、组织或神经损伤后,初级传入神经纤维和背角神经元的活性增加,导致突触兴奋性增强,从而加速中枢致敏[15]。近年来尽管对外周和中枢敏化的机制有了一些探索,但其治疗仍然是一个具有挑战性的临床难题。

2.4　神经炎性反应　在 NP 中,神经炎性反应已被认为是其潜在的常见驱动因素[22]。神经炎性反应可使朗格汉斯细胞增加,导致表皮内神经纤维的丧失,增强脊髓背角神经元的突触传递和中枢致敏,最终导致异常疼痛[23-24]。随着研究的深入,目前通常认为神经细胞释放促炎因子和其他介质,促使炎性环境的形成,小胶质细胞作为中枢神经系统(central nervous system, CNS)的免疫细胞,是维持 CNS 环境稳态的主要细胞,已被证明能参与神经炎性反应的调节。当机体受到外界刺激时脊髓小胶质细胞能做出迅速反应转变为激活状态,激活引起的炎性反应是 NP 的最关键原因[25]。激活状态的小胶质细胞分为 M1 型(促炎表型)和 M2 型(抑炎表型),经典活化的小胶质细胞(M1 型)释放促炎因子和氧化代谢物,加剧炎性损伤;而替代活化的小胶质细胞(M2 型)分泌多种保护性和神经营养因子,清除细胞碎片,减轻局部炎性反应[26-27]。因此,小胶质细胞活化亚型在神经炎性反应的发生发展中具有重要作用。核转录因子-kappa B(nuclear transcription factor-κB ,NF-κB)是一种重要的转录因子,该通路的激活可以通过调控小胶质细胞 M1 向 M2 型极化状态改变从而参与 NP 和炎性反应性痛觉过敏的过程[28]。

3　NP 的诊断与治疗

3.1　诊断　大多数 NP 患者都存在多种类型的疼痛,包括自发疼痛、持续或阵发性疼痛和诱发性疼痛,使其诊断变得相对复杂。现阶段 NP 的诊断主要包括以下临床步骤:(1)相关神经系统病变的病史,包括疼痛部位与性质、痛性加重和缓解因素;(2)患者主诉的疼痛分布与疑似病变或疾病一致;(3)感觉变化区域与疼痛区域的范围不定,可小于、等于或超出疼痛范围。此外,应着重于体格检查,目的是发现可能提示感觉系统损伤的异常,主要是热感觉和/或机械感觉缺陷;(4)怀疑 NP 的患者,诊断需要验证性技术的辅助,如电生理学检查、神经影像学检查、量表等[29-31]。

3.2　治疗　NP 的治疗是一项挑战,应侧重于缓解临床症状而不是治疗原发病。目前其治疗可分为药理学和非药理学治疗,药理学治疗包括一线治疗药物、二线治疗和三线治疗药物;非药理学治疗包括介入治疗、物理治疗和心理治疗。

3.2.1　药物治疗:一线药物包括三环类抗抑郁药(TCA)、5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取抑制剂(SNRIs)、抗惊厥药[32]。TCA 适用于糖尿病周围神经病变、带状疱疹后遗神经痛和中枢性卒中后疼痛,镇痛的同时还能抗抑郁[6]。加巴喷丁类药物能与电压门控钙通道的 α2δ 亚基结合,从而减少兴奋性神经递质的释放,可有效治疗糖尿病性神经病变和带状疱疹后遗神经痛等相关的 NP[33-34]。当 TCA 和抗惊厥药在 NP 治疗中无效或禁忌使用时,可考虑 SNRIs,其能阻断 5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取,减少疼痛信号。但也存在很多争议,如阿米替林可诱发认知障碍、行走障碍,对老年患者来说存在较大风险;加巴喷丁会诱发睡眠过度、眩晕等,并且对化疗诱发的 NP 无效;度洛西汀可诱发恶心、口干、便秘、头晕、嗜睡等[32,35]。

二线药物包括利多卡因、辣椒素和曲马多[36]。利多卡因是一种酰胺类局麻药,能阻断钠通道传递,从而抑制疼痛信号传递[37]。辣椒素是来源于辣椒的一种天然化合物,可与伤害性纤维上的瞬时受体电位阳离子通道亚家族 V 成员 1(transient receptor potential cation channel subfamily V member 1, TRPV1)配体门控通道结合,最终导致 P 物质耗竭从而减轻疼痛敏感

性[38]。8% 辣椒素贴剂在带状疱疹后遗神经痛的治疗中具有持续性疗效且较为安全[39]。曲马多是一种弱 μ 阿片受体激动剂,适用于中到重度 NP,相较于其他阿片类药物,滥用的潜在风险较低,但仍可引起个体依赖[40]。

三线治疗包括某些强效阿片类药物,但由于药物的滥用和成瘾性,已减少了阿片类药物的使用[41]。近年来,A 型肉毒杆菌毒素因其单次治疗效用高,也被用于 NP 的治疗,其能抑制来自感觉神经的促炎介质和周围神经递质的释放,皮下注射对周围性 NP 有一定的效果[42-44]。

目前,治疗 NP 所用的传统药物虽能缓解一定症状,但伴有各种不良反应,因此迫切需要有效且耐受性好的药物治疗。除以上药物外,还有一些其他药物用于 NP 治疗。氨溴索是溴己新的一种活性代谢物,能抑制 Nav1.8 通道的活性,降低伤害性神经元的兴奋性并抑制神经性疼痛传递,在推荐剂量范围内使用时,较为安全且耐受性良好[45-46]。大麻二酚是一种天然非精神活性大麻素化合物,作用于位于中枢神经系统以及外周纤维上的大麻素受体,有抗炎镇痛等作用,且耐受性较好,严重不良反应较少[47-48]。有研究表明,维生素 D 能有效缓解多种神经病理性疼痛,如糖尿病神经病变、带状疱疹性疼痛等,其能减少促炎因子释放,减轻炎性反应从而缓解疼痛[49-50]。

3.2.2　非药物治疗:现有的药物治疗无法长期控制疼痛,还会产生耐药性,因此,非药物治疗越来越引发关注。其中,介入治疗是常用的方法,适用于难治性 NP,包括神经阻滞和硬膜外类固醇注射、神经射频消融和鞘内药物输注、神经刺激技术等[51]。

神经阻滞注射是治疗慢性疼痛的有效方法,使用的药物包括局部麻醉药或联合阿片类药物、可乐定或类固醇[51]。神经射频消融通过对目标部位施加电场或热脉冲,不会对神经造成任何永久性损伤[52]。神经周围类固醇注射可暂时有效缓解压迫和创伤相关的周围神经病变的症状[53]。临床上使用的神经电刺激方法主要包括脊髓电刺激、外周神经刺激、经皮电刺激、深部脑刺激[43]。脊髓刺激通过引入低强度电信号刺激有髓鞘 Aβ 纤维,产生的非伤害性信号(Aβ 纤维)掩盖了伤害性信号(Aδ 和 C 纤维)向大脑的传播,从而缓解疼痛[20]。经颅磁刺激技术使用磁场刺激神经组织,适用于难治性 NP 患者[54]。经皮神经调节疗法是一种将经皮神经电刺激和电针结合起来的镇痛疗法,在短期控制疼痛方面非常有效[55]。

此外,有许多物理治疗可用于 NP 的管理,包括按摩、超声波、低频电流等;康复技术如针灸、镜面疗法和运动意象等也可用于该类患者,主要目的是减少疼痛、改善功能障碍,提高患者生活质量[56]。由于 NP 持续时间长,还会造成患者运动功能丧失、焦虑、抑郁、睡眠不安,因此,在 NP 治疗过程中,心理治疗也是必不可少的治疗方式,且通常在药物或物理干预失败后进行[2]。

4　展　望

近年来 NP 在临床上越来越常见,不仅可由多种疾病诱发,还与癌症化疗药物的不良反应有关[57]。由于 NP 发病机制不确切,给临床上的防治带来了很大的困难,目前针对该类疾病的处理大多仅局限于对症治疗,并且有较多药物不良反应。因此,NP 在临床上是一个亟待解决的棘手问题。综上所述,未来深入探索 NP 发生的分子机制,为临床防治提供新的靶点可能将会成为该研究方向的热点。

参考文献

[1] Jensen TS, Baron R, Haanpaa M, et al. A new definition of neuropathic pain[J]. Pain, 2011, 152(10): 2204-2205. DOI: 10.1016/j.pain.2011.06.017.

[2] Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, et al. Neuropathic pain[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17002. DOI: 10.1038/nrdp.2017.2.

[3] Rosenberger DC, Blechschmidt V, Timmerman H, et al. Challenges of neuropathic pain: Focus on diabetic neuropathy[J]. J Neural Transm (Vienna), 2020, 127(4): 589-624. DOI: 10.1007/s00702-020-02145-7.

[4] Scholz J, Finnerup NB, Attal N, et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain[J]. Pain, 2019, 160(1): 53-59. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001365.

[5] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment[J]. Physiol Rev, 2021, 101(1): 259-301. DOI: 10.1152/physrev.00045.2019.

[6] Gurba KN, Chaudhry R, Haroutounian S. Central neuropathic pain syndromes: Current and emerging pharmacological strategies[J]. CNS Drugs, 2022, 36(5): 483-516. DOI: 10.1007/s40263-022-00914-4.

[7] Szok D, Tajti J, NyAiRi A, et al. Therapeutic approaches for peripheral and central neuropathic pain[J]. Behav Neurol, 2019, 2019: 8685954. DOI: 10.1155/2019/8685954.

[8] Di Stefano G, Maarbjerg S, Truini A. Trigeminal neuralgia secondary to multiple sclerosis: From the clinical picture to the treatment options[J]. J Headache Pain, 2019, 20(1): 20. DOI: 10.1186/s10194-019-0969-0.

[9] Niu X, Bai L, Sun Y, et al. Mild traumatic brain injury is associated with effect of inflammation on structural changes of default mode network in those developing chronic pain[J]. J Headache Pain, 2020, 21(1): 135. DOI: 10.1186/s10194-020-01201-7.

[10] Bendtsen L, Zakrzewska JM, Heinskou TB, et al. Advances in diagnosis, classification, pathophysiology, and management of trigeminal neuralgia[J]. Lancet Neurol, 2020, 19(9): 784-796. DOI: 10.1016/s1474-4422(20)30233-7.

[11] Tang J, Zhang Y, Liu C, et al. Therapeutic strategies for postherpetic neuralgia: Mechanisms, treatments, and perspectives[J]. Curr Pain Headache Rep, 2023. DOI: 10.1007/s11916-023-01146-x.

[12] Duan YW, Chen SX, Li QY, et al. Neuroimmune mechanisms underlying neuropathic pain: The potential role of TNF-α-Necroptosis pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7191. DOI: 10.3390/ijms23137191.

[13] Cui CX, Liu HY, Yue N, et al. Research progress on the mechanism of chronic neuropathic pain[J]. IBRO Neurosci Rep, 2023, 14: 80-85. DOI: 10.1016/j.ibneur.2022.12.007.

[14] 傅青雯, 尤浩军, 雷静. 神经病理性疼痛发生机制的研究进展[J]. 生命科学研究, 2023, 27(2): 139-146. DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2022.07.0176.

[15] Meacham K, Shepherd A, Mohapatra DP, et al. Neuropathic pain: central vs. peripheral mechanisms[J]. Curr Pain Headache Rep, 2017,

21(6):28. DOI:10.1007/s11916-017-0629-5.

[16] Alles SRA, Smith PA. Etiology and pharmacology of neuropathic pain[J]. Pharmacol Rev, 2018, 70(2): 315-347. DOI: 10.1124/pr.117.014399.

[17] Cohen SP, Mao J. Neuropathic pain: Mechanisms and their clinical implications[J]. BMJ, 2014, 348: f7656. DOI: 10.1136/bmj.f7656.

[18] Bannister K, Sachau J, Baron R, et al. Neuropathic pain: Mechanism-based therapeutics[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2020, 60: 257-274. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021524.

[19] Aby F, Lorenzo LE, Grivet Z, et al. Switch of serotonergic descending inhibition into facilitation by a spinal chloride imbalance in neuropathic pain[J]. Sci Adv, 2022, 8(30): eabo0689. DOI: 10.1126/sciadv.abo0689.

[20] Shinu P, Morsy MA, Nair AB, et al. Novel therapies for the treatment of neuropathic pain: Potential and pitfalls[J]. J Clin Med, 2022, 11(11): 3002. DOI: 10.3390/jcm11113002.

[21] Puja G, Sonkodi B, Bardoni R. Mechanisms of peripheral and central pain sensitization: Focus on ocular pain[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 764396. DOI: 10.3389/fphar.2021.764396.

[22] Zhang LQ, Gao SJ, Sun J, et al. DKK3 ameliorates neuropathic pain via inhibiting ASK-1/JNK/p-38-mediated microglia polarization and neuroinflammation[J]. J Neuroinflammation, 2022, 19(1): 129. DOI: 10.1186/s12974-022-02495-x.

[23] Zambusi A, Ninkovic J. Regeneration of the central nervous system-principles from brain regeneration in adult zebrafish[J]. World J Stem Cells, 2020, 12(1): 8-24. DOI: 10.4252/wjsc.v12.i1.8.

[24] Hu X, Leak RK, Shi Y, et al. Microglial and macrophage polarization—new prospects for brain repair[J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(1): 56-64. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.207.

[25] Fiore NT, Debs SR, Hayes JP, et al. Pain-resolving immune mechanisms in neuropathic pain[J]. Nat Rev Neurol, 2023, 19(4): 199-220. DOI: 10.1038/s41582-023-00777-3.

[26] Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling[J]. J Pathol, 2013, 229(2): 176-185. DOI: 10.1002/path.4133.

[27] Wu CC, Chang CY, Tzeng CY, et al. Preventive intrathecal injection of bupivacaine alleviated microglia activation and neuropathic pain in a rat model of chronic constriction injury[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7197. DOI: 10.3390/ijms23137197.

[28] Suzuki T, Kohyama K, Moriyama K, et al. Extracellular ADP augments microglial inflammasome and NF-κB activation via the P2Y12 receptor[J]. Eur J Immunol, 2020, 50(2): 205-219. DOI: 10.1002/eji.201848013.

[29] Viswanath O, Urits I, Burns J, et al. Central neuropathic mechanisms in pain signaling pathways: Current evidence and recommendations[J]. Adv Ther, 2020, 37(5): 1946-1959. DOI: 10.1007/s12325-020-01334-w.

[30] Pedowitz EJ, Abrams RMC, Simpson DM. Management of neuropathic pain in the geriatric population[J]. Clin Geriatr Med, 2021, 37(2): 361-376. DOI: 10.1016/j.cger.2021.01.008.

[31] Hange N, Poudel S, Ozair S, et al. Managing chronic neuropathic pain: recent advances and new challenges[J]. Neurol Res Int, 2022, 2022: 8336561. DOI: 10.1155/2022/8336561.

[32] Attal N. Pharmacological treatments of neuropathic pain: The latest recommendations[J]. Rev Neurol (Paris), 2019, 175(1-2): 46-50. DOI: 10.1016/j.neurol.2018.08.005.

[33] Mcanally H, Bonnet U, Kaye AD. Gabapentinoid benefit and risk stratification: Mechanisms over myth[J]. Pain Ther, 2020, 9(2): 441-452. DOI: 10.1007/s40122-020-00189-x.

[34] Meaadi J, Obara I, Eldabe S, et al. The safety and efficacy of gabapentinoids in the management of neuropathic pain: A systematic review with meta-analysis of randomised controlled trials[J]. Int J Clin Pharm, 2023, 45(3): 556-565. DOI: 10.1007/s11096-022-01528-y.

[35] Ghayur MN. Potential adverse consequences of combination therapy with gabapentin and pregabalin[J]. Case Rep Med, 2021, 2021: 5559981. DOI: 10.1155/2021/5559981.

[36] Kankowski S, Grothe C, Haastert-Talini K. Neuropathic pain: spotlighting anatomy, experimental models, mechanisms, and therapeutic aspects[J]. Eur J Neurosci, 2021, 54(2): 4475-4496. DOI: 10.1111/ejn.15266.

[37] Varshney V, Osborn J, Chaturvedi R, et al. Advances in the interventional management of neuropathic pain[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(2): 187. DOI: 10.21037/atm-20-6190.

[38] Bernatoniene J, Sciupokas A, Kopustinskiene DM, et al. Novel drug targets and emerging pharmacotherapies in neuropathic pain[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(7): 1799. DOI: 10.3390/pharmaceutics15071799.

[39] Bonezzi C, Costantini A, Cruccu G, et al. Capsaicin 8% dermal patch in clinical practice: An expert opinion[J]. Expert Opin Pharmacother, 2020, 21(11): 1377-1387. DOI: 10.1080/14656566.2020.1759550.

[40] Alshehri FS. Tapentadol: A review of experimental pharmacology studies, clinical trials, and recent findings[J]. Drug Des Devel Ther, 2023, 17: 851-861. DOI: 10.2147/dddt.S402362.

[41] Ray WA, Chung CP, Murray KT, et al. Prescription of long-acting opioids and mortality in patients with chronic noncancer pain[J]. Jama, 2016, 315(22): 2415-2423. DOI: 10.1001/jama.2016.7789.

[42] Safarpour Y, Jabbari B. Botulinum toxin treatment of pain syndromes - an evidence based review[J]. Toxicon, 2018, 147: 120-128. DOI: 10.1016/j.toxicon.2018.01.017.

[43] 喻信人,张婷婷,陈沛,等. 神经病理性疼痛治疗的研究进展[J]. 同济大学学报:医学版,2023,44(2):271-277. DOI:10.12289/j.issn.1008-0392.22170.

[44] Cavalli E, Mammana S, Nicoletti F, et al. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2019, 33: 2058738419838383. DOI: 10.1177/2058738419838383.

[45] Salat K, Gryzlo B, Kulig K. Experimental drugs for neuropathic pain[J]. Curr Neuropharmacol, 2018, 16(8): 1193-1209. DOI: 10.2174/1570159x16666180510151241.

[46] Malerba M, Ragnoli B. Ambroxol in the 21st century: Pharmacological and clinical update[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2008, 4(8): 1119-1129. DOI: 10.1517/17425255.4.8.1119.

[47] Dos Santos R, Veras F, Netto G, et al. Cannabidiol prevents chemo-

therapy-induced neuropathic pain by modulating spinal TLR4 via endocannabinoid system activation[J]. J Pharm Pharmacol, 2023, 75(5): 655-665. DOI: 10.1093/jpp/rgad023.

[48] Chesney E, Oliver D, Green A, et al. Adverse effects of cannabidiol: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials[J]. Neuropsychopharmacology, 2020, 45(11): 1799-1806. DOI: 10.1038/s41386-020-0667-2.

[49] Putz Z, Tordai D, HajdAo N, et al. Vitamin D in the prevention and treatment of diabetic neuropathy[J]. Clin Ther, 2022, 44(5): 813-823. DOI: 10.1016/j.clinthera.2022.03.012.

[50] Marchesi N, Govoni S, Allegri M. Non-drug pain relievers active on non-opioid pain mechanisms[J]. Pain Pract, 2022, 22(2): 255-275. DOI: 10.1111/papr.13073.

[51] Szok D, Tajti J, Nyúri A, et al. Therapeutic approaches for peripheral and central neuropathic pain[J]. Behav Neurol, 2019, 2019: 8685954. DOI: 10.1155/2019/8685954.

[52] Liem L, Russo M, Huygen FJ, et al. One-year outcomes of spinal cord stimulation of the dorsal root ganglion in the treatment of chronic neuropathic pain[J]. Neuromodulation, 2015, 18(1): 41-49. DOI: 10.1111/ner.12228.

[53] Bhatia A, Flamer D, Shah PS. Perineural steroids for trauma and compression-related peripheral neuropathic pain: A systematic review and meta-analysis[J]. Can J Anaesth, 2015, 62(6): 650-662. DOI: 10.1007/s12630-015-0356-5.

[54] Krieg TD, Salinas FS, Narayana S, et al. Computational and experimental analysis of TMS-induced electric field vectors critical to neuronal activation[J]. J Neural Eng, 2015, 12(4): 046014. DOI: 10.1088/1741-2560/12/4/046014.

[55] Gozani SN. Remote analgesic effects of conventional transcutaneous electrical nerve stimulation: A scientific and clinical review with a focus on chronic pain[J]. J Pain Res, 2019, 12: 3185-3201. DOI: 10.2147/jpr.S226600.

[56] Moisset X, Bouhassira D, Avez Couturier J, et al. Pharmacological and non-pharmacological treatments for neuropathic pain: Systematic review and French recommendations[J]. Rev Neurol (Paris), 2020, 176(5): 325-352. DOI: 10.1016/j.neurol.2020.01.361.

[57] Flatters SJ L, Dougherty PM, Colvin LA. Clinical and preclinical perspectives on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN): A narrative review[J]. Br J Anaesth, 2017, 119(4): 737-749. DOI: 10.1093/bja/aex229.

（收稿日期：2023－11－22）

（上接 490 页）

（c.933 G>T; p.Arg311Ser），其是否致病（单独或联合致病变异而使病情加重）则需要进一步分析临床随访和家系基因检测结果，受检者的兄弟姐妹及其他有相似临床症状的直系亲属同时检测该变异，有助进一步分析此基因变异与疾病的相关性。

迄今为止，对于 XLID 患儿无特效治疗方法，以对症治疗、康复功能训练治疗为主。对于身高偏矮者可考虑使用重组人生长激素治疗，可促进身高增长[11]。本例患儿家长无促生长治疗意愿，故现给予康复对症治疗。

通过报道此例患儿，从遗传学角度明确了其病因，扩大了 HUWE1、KDM5C 基因的变异谱。但仍需要继续收集其相关资料，加强对此病的认识，以便将来更快识别 HUWE1 基因突变及 KDM5C 基因突变的个体，明确与该基因相关的表型，帮助临床工作中对于此类患儿的早发现及精准诊断，减少临床误诊和漏诊，以及为家系的产前诊断提供参考。

参考文献

[1] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. Genet Med, 2015, 17(5): 405-424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.

[2] Shoubridge C, Tarpey PS, Abidi F, et al. Mutations in the guanine nucleotide exchange factor gene IQSEC2 cause nonsyndromic intellectual disability[J]. Nat Genet, 2010, 42(6): 486-488. DOI: 10.1038/ng.588.

[3] 彭继苹，刘芳，谢华，等. X 染色体变异对男性精神发育迟滞致病性的研究进展[J]. 遗传，2017，39(6)：455-468. DOI：10.16288/j.yczz.16-407.

[4] Bosshard M, Aprigliano R, Gattiker C, et al. Impaired oxidative stress response characterizes HUWE1-promoted X-linked intellectual disability[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15050. DOI: 10.1038/s41598-017-15380-y.

[5] Moortgat S, Berland S, Aukrust I, et al. HUWE1 variants cause dominant X-linked intellectual disability: A clinical study of 21 patients[J]. Eur J Hum Genet, 2018, 26(1): 64-74. DOI: 10.1038/s41431-017-0038-6.

[6] Taylor JC, Martin HC, Lise S, et al. Factors influencing success of clinical genome sequencing across a broad spectrum of disorders[J]. Nat Genet, 2015, 47(7): 717-726. DOI: 10.1038/ng.3304.

[7] Miller KA, Twigg SR, McGowan SJ, et al. Diagnostic value of exome and whole genome sequencing in craniosynostosis[J]. J Med Genet, 2017, 54(4): 260-268. DOI: 10.1136/jmedgenet-2016-104215.

[8] Liefke R, Oswald F, Alvarado C, et al. Histone demethylase KDM5A is an integral part of the core Notch-RBP-J repressor complex[J]. Genes Dev, 2010, 24(6): 590-601. DOI: 10.1101/gad.563210.

[9] Guerra JVS, Oliveira-Santos J, Oliveira DF, et al. DNA methylation fingerprint of monozygotic twins and their singleton sibling with intellectual disability carrying a novel KDM5C mutation[J]. Eur J Med Genet, 2020, 63(3): 103737. DOI: 10.1016/j.ejmg.2019.103737.

[10] Hatch HAM, O'Neil MH, Marion RW, et al. Caregiver-reported characteristics of children diagnosed with pathogenic variants in KDM5C[J]. Am J Med Genet A, 2021, 185(10): 2951-2958. DOI: 10.1002/ajmg.a.62381.

[11] Friez MJ, Brooks SS, Stevenson RE, et al. HUWE1 mutations in Juberg-Marsidi and Brooks syndromes: The results of an X-chromosome exome sequencing study[J]. BMJ Open, 2016, 6(4): e009537. DOI: 10.1136/bmjopen-2015-009537.

（收稿日期：2023－10－09）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 022

综　述

沿血管周围空间扩散张量成像分析在类淋巴系统障碍相关神经系统疾病中的应用研究进展

程诗桐，王晓成综述　陈建强审校

基金项目：海南省研究生创新科研课题（Qhys2022-294）
作者单位：571199　海口，海南医学院第一附属医院放射科
通信作者：陈建强，E-mail：hnchenjq@163. com

【摘　要】 脑类淋巴系统是脑组织废物代谢清除的主要路径，与多种神经退行性系统疾病有关。目前评价脑类淋巴系统的技术有限且皆多为有创检查，沿血管周围空间扩散张量成像分析（DTI-ALPS）作为一种非侵入性成像技术，能够通过量化沿血管周围通道的水扩散率来评估人体类淋巴系统功能而越来越受到临床关注。文章对 DTI-ALPS 在神经系统疾病中的应用进展及其作用机制进行综述，并进一步提出目前 DTI-ALPS 在中枢神经系统疾病研究中存在的局限，为与类淋巴系统障碍相关的神经疾病的深入研究提供新方向。

【关键词】 类淋巴系统；神经系统疾病；沿血管周围间隙扩散张量图像分析；血管周围间隙
【中图分类号】 R445；R741　　【文献标识码】 A

Application of DTI-ALPS in neurological disorders associated with glymphoid disorders

Cheng Shitong, Wang Xiaocheng, Chen Jianqiang. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 571199, *China*
*Funding program: Hainan Province Graduate Innovation Research Project (Qhys*2022-294)
*Corresponding author: Chen Jianqiang, E-mail: hnchenjq@*163. *com*

【**Abstract**】 The cerebral glymphatic system is the main pathway for the metabolic clearance of waste from brain tissue, which is related to a variety of neurodegenerative diseases. As a non-invasive imaging technique, the newly developed Diffusion tensor imaging analysis of perivascular space (DTI-ALPS) has attracted more and more clinical attention as a non-invasive imaging technique that can evaluate the function of the human glymphatic system by quantifying the water diffusion rate along the perivascular channel. This article reviews the application progress and mechanism of DTI-ALPS in neurological diseases, and further puts forward the limitations of DTI-ALPS in the research of central nervous system diseases, so as to provide a new direction for the in-depth study of glymphatic neurological diseases.

【**Key words**】 Glymphatic system; Neurological disorders; Image analysis of diffusion tensor along the perivascular space; Perivascular space

类淋巴系统（glymphatic system，GS）于 2012 年首次在小鼠实验中提出，该组织在星形胶质细胞足突及血管壁之间形成，并具有清除细胞代谢废物功能[1]。有研究指出 GS 具有维持大脑稳态的功能，从而参与了各种中枢神经系统疾病的发生[2]。研究者们致力于通过影像学检查来可视化 GS，以便更好地探索其机制，但目前应用在人体的 GS 成像方法都是有创的[3]，目前常用鞘内注射钆剂（GBCA）直接观察脑脊液（cerebrospinal fluid，CSF）的流动，显示 CSF 和间质液（ISF）的交换过程，然而研究发现钆剂渗透到脑实质的程度和速率差异高度个体化[4]，且当剂量 > 1.0 mmol/kg 时，可能会出现严重的神经毒性并发症，所以 GBCA 的鞘内给药具有一定的风险，广泛使用钆剂是不现实的[5]。2017 年日本学者 Taoka 等[6]提出了一种不需要注射造影剂来测量淋巴流量的方法，称为沿血管周围空间扩散张量成像分析（diffusion tensor imaging analysis of perivascular space，DTI-ALPS），它使用扩散张量法测量血管周围间隙（PVS）内水分子的扩散，间接反映脑类淋巴系统的功能改变。有研究表明在患有正常压力脑积水（NPH）的患者中，ALPS 指数具有更高的诊断性能，并已被提议作为一种可能对淋巴细胞功能敏感的指标[7]。另一项研究表明 ALPS 指数与淋巴测量的鞘内注射方法显著相关，表明 ALPS 指数代表淋巴清除功能，且具有准确性和公认性[8]。

DTI-ALPS 技术在当前的检测手段中对人体的影响最小，因此它是最适合用于人类研究并且容易对以往收集的病例进行回顾性研究，越来越多的研究利用 DTI-ALPS 评估各种神经疾

病的类淋巴系统功能。因此,文章对 DTI-ALPS 的原理进行介绍,并对 DTI-ALPS 技术在神经系统疾病中的应用进行综述,以期为临床探索相关神经系统疾病发病机制及治疗提供新的方向。

1　类淋巴系统的功能

GS 是一个宏观废物清除系统,在大脑中起着重要作用,它利用星形胶质细胞足突末端的水通道蛋白 4(aquaporin 4, AQP4)驱动的血管周围隧道系统,输送营养和神经活性物质,促进中枢神经系统有效消除可溶性蛋白质和代谢物[9]。当 GS 发生障碍时,脑内异常蛋白如 β-淀粉样蛋白(amyloid β-protein, Aβ)、tau 蛋白、α 突触核蛋白(α synuclein, α syn)会异常沉积。有研究指出类淋巴系统的功能减退均会影响类淋巴系统脑脊液和间质液完成液体交换及代谢废物清除,从而参与了各种中枢神经系统疾病的发生,如睡眠障碍、帕金森病、卒中、多发性硬化症、创伤性脑损伤等。这些疾病与类淋巴系统的关系随着医学影像技术的进步,对疾病的探讨提供了新的视角。

2　DTI-ALPS 成像的原理

GS 系统的 MR 可视化对于阐明许多神经系统发病机制、确定治疗效果和确定治疗目标非常重要,DTI-ALPS 对脑内淋巴系统测量的原理为:在侧脑室体水平,髓静脉垂直于脑室壁走行,而血管周围空间与髓静脉的走向相同,即左右方向。在该区域的平面上,投射纤维主要在头足方向,靠近侧脑室,联合纤维主要在前后方向,皮质下纤维主要在左右方向走行,与血管周围空间平行,而血管周围空间垂直于投射纤维和联合纤维。因此在这个区域,当沿左右方向发生变化时,它会影响投射和联合纤维。同理当 2 个纤维束都观察到这种变化时,可以说这种变化至少一部分涉及血管周围空间的病理学,即 GS 系统。并根据血管周围空间方向的扩散率与垂直于主要纤维束和血管周围空间方向的扩散率计算比值并获得 3 个方向弥散值,最后根据公式计算结果来反映类淋巴系统功能,指数值越低,提示类淋巴系统功能受损越严重[6]。

3　DTI-ALPS 在类淋巴系统障碍相关的神经系统疾病中的应用

3.1　DTI-ALPS 在阿尔茨海默病的应用　阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是以进行性认知功能和行为损害为特征的中枢神经系统退行性疾病,其发病机制复杂,至今仍未完全破译[10],目前认为其病理特征主要为聚集在细胞之间形成淀粉样蛋白斑块即淀粉样蛋白-β(Aβ)的异常沉积导致疾病进展[11]。而类淋巴系统作为大脑清除机制之一,越来越多的研究关注到类淋巴系统的功能障碍与 Aβ 沉积之间的关系。在 AD 的动物研究中,类淋巴系统清除大脑中的淀粉样蛋白和 tau 蛋白。然而没有直接证据表明在人类身上也有发生。而影像学利用 DTI-ALPS 来研究类淋巴系统与阿尔茨海默病的发病是否相关,Ota 等[12]发现 DTI-ALPS 指数分别与 Aβ 示踪剂和 tau 蛋白/炎性因子示踪剂的标准摄取值比(SUVR)之间存在显著负相关,意味着扩散率越高,蛋白沉积就越少,表明该标志物可能有效评估淋巴系统活性,并证明类淋巴系统障碍与蛋白沉积有关。同时,Hsu 等[13]也发现 ALPS 指数与 PET 图像上的 Aβ、tau 沉积有关,并进一步发现 Aβ 和 tau PET 图像与 AD 患者的认知评分相关,这一结果提示淋巴系统活动可能在 AD 相关的认知功能障碍中起重要的调节作用。由此说明 ALPS 指数可作为 AD 患者反映淋巴活性的指标,成为有用的疾病进展或治疗生物标志物。这些发现对维持类淋巴系统的正常功能和 AD 治疗提供了新思路。

3.2　DTI-ALPS 在睡眠障碍疾病中的应用　类淋巴系统在睡眠时发挥功能,而在觉醒状态下受抑制。在睡眠或麻醉状态下,小鼠的类淋巴系统中动脉周围入流和脑实质内整体流均高于觉醒状态,并且该系统对 Aβ 的清除速率较觉醒时高出 1 倍以上,这表明类淋巴系统在睡眠的某些阶段被强有力地激活,是一种清除大脑废物的液体运输途径[14]。大多数关于睡眠障碍与类淋巴系统的知识都是从啮齿动物实验中推断出来的,对于人类研究是有限的。所以可利用 DTI-ALPS 来探索人类类淋巴系统与睡眠的关系。Siow 等[15]研究发现淋巴功能和睡眠之间显著相关,并进一步发现 DTI-ALPS 与神经心理表现和大脑灰质体积之间有相关性,表明 DTI-ALPS 有潜力作为认知障碍的生物标志物。Si 等[16]发现特发性快速眼动睡眠行为障碍(idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder, iRBD)患者 DTI-ALPS 指数低于健康对照组,并与疾病严重程度升高相关,这些关联可能归因于睡眠障碍导致的淋巴系统功能障碍。而 Lee 等[17]同样通过使用 DTI-ALPS 验证 iRBD 患者存在淋巴系统功能障碍,这为寻找病因提供了方向。Gumeler 等[18]发现与健康组比较,发作性睡病 1 型(NT1)患者的 DTI-ALPS 有降低的趋势,并与各种睡眠参数相关。这些发现可能是发作性睡眠患者类淋巴系统活动改变的证据,尤其是 NT1 患者类淋巴活性改变的一个证据,因此需要对更大规模的发作性睡病患者队列进行进一步的前瞻性研究。

3.3　DTI-ALPS 在帕金森病中的应用　帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经退行性疾病,以神经元内 α-突触核蛋白异常沉积及中脑多巴胺能神经元大量丧失为特点[19]。研究发现 PD 模型小鼠的类淋巴系统功能出现减退,免疫荧光显示 AQP4 主要分布在 α-syn 阳性的神经元周围,提示类淋巴系统 AQP4 的异常分布与 α-syn 沉积有关[20]。Mcknight 等[21]通过比较有 α-syn 相关的 PD 患者与无 α-syn 相关的对照组之间 ALPS 指数,发现 PD 中的 ALPS 指数降低,反映血管周围流体运动方向的流体流速不太稳定,并推测 PD 中血管周围液体转运改变可能是潜在 α-syn 积累所导致。

有研究表明 PD 患者扩大血管周围间隙(EPVS)数目增多,可能是脑膜淋巴管受损介导病理性 α-syn 沉积并破坏 AQP4 极性引起的,提示其类淋巴系统功能障碍[22]。Ma 等[23]发现 PD 患者的 ALPS 指数低于健康组。在早期 PD 组中,ALPS 指数与简易精神状态检查(MMSE)评分、EPVS 评分具有相关性,推测类淋巴系统活性降低会导致 α-syn 的积累,这可能与大分子清除受损导致堆积在 PVS 中从而导致代偿性扩张有关。同理,Gu 等[24]发现 PD 患者的 DTI-ALPS 指数低于健康组,并在半卵圆中心、基底神经节和中脑中表现出更多的血管周围间隙扩大。Shen 等[25]发现 PD 患者 DTI-ALPS 指标降低,并与增加的 PVS 数量及体积相关,因此,DTI-ALPS 指标可与 EPVS 相互补充用

于评价淋巴系统功能,且这些研究均提供了 PD 中淋巴系统功能障碍的神经影像学支持证据。此外,Chen 等[26]则利用 DTI-ALPS 来评估 PD 患者的淋巴系统活性及其与全身氧化应激状态的关系。发现 PD 患者 DTI-ALPS 指数的降低与类淋巴系统障碍及血浆核 DNA 水平的升高之间有关,提示 PD 患者类淋巴系统的改变会导致氧化应激增加及相关的神经元损伤或死亡,表明氧化应激在淋巴系统中的可能作用会导致淋巴系统受损,这在未来的研究中尚待研究。

上述研究表明帕金森病可能和类淋巴系统密切相关,通过 DTI-ALPS 在生物标志、临床表现、影像表现中的研究进一步探索 PD 的机制。表明 DTI-ALPS 指数可能是 PD 中淋巴系统的一个有前途的生物标志物。

3.4　DTI-ALPS 在癫痫中的应用　癫痫是常见的神经系统疾病之一,有研究报道癫痫中促炎介质引起的内皮紧密连接功能障碍相关的血脑屏障损伤,可能会导致 CSF 与间质液之间的异常交换,从而影响淋巴系统[27]。研究发现,枕叶癫痫(OLE)患者、癫痫持续状态(SE)患者、伴有海马硬化(HS)的颞叶癫痫(TLE)及幼年肌阵挛性癫痫患者 DTI-ALPS 指数均明显低于健康对照组,表明各类癫痫患者可能有淋巴系统功能障碍[28-31]。这为癫痫淋巴系统功能障碍提供了神经影像学证据,表明 DTI-ALPS 是评估这些患者 GS 功能的有用工具。

3.5　DTI-ALPS 指数在其他神经系统疾病中的应用　基于类淋巴系统在中枢神经系统的广泛存在,越来越多的研究人员开始通过 DTI-ALPS 指数探索其他中枢系统疾病的类淋巴系统的功能。如在神经发育性疾病中,Li 等[32]发现孤独症谱系障碍(ASD)患者 DTI-ALPS 显著低于健康对照组,提示 ASD 患者可能存在淋巴系统功能障碍,这一结果将改变对该疾病机制的理解。Cacciaguerra 等[33]通过量化血管周围空间和测量 DTI-ALPS 指数,发现视神经脊髓炎组与健康组相比在半卵圆中心出现 PVS 增大的频率更高且 DTI-ALPS 指数更低。这一结果可能提示视神经脊髓炎类淋巴系统障碍所导致的血管周围间隙扩大与发病机制直接相关,表明 DTI-ALPS 指数在视神经脊髓炎患者的识别和监测中的潜在作用。正常压力脑积水导致认知障碍、平衡和行走困难以及失禁等症状的原因尚不清楚,使用 DTI-ALPS 技术,结果显示患有该病症的患者具有较低的 DTI-ALPS 指数,这个结果解释为 GS 功能受损[34]。创伤性脑损伤是导致痴呆、AD 等神经退行性变的危险因素。由于在创伤性脑损伤(TBI)的动物模型中已经报道了淋巴系统功能障碍[35]。所以 Park 等[36]旨在使用 DTI-ALPS 方法评估 TBI 患者类淋巴系统的活性,研究发现 TBI 患者的 ALPS 指数显著低于健康对照组。在多变量分析中,蛛网膜下腔出血和弥漫性轴突损伤的存在与 DTI-ALPS 指数相关,且 DTI-ALPS 指数与格拉斯哥昏迷评分有一定相关性。DTI-ALPS 方法可用于评估 TBI 患者的 GS 活性,为避免创伤后脑损伤引发的痴呆症,早期对类淋巴系统进行干预是必要的,以保证其正常清除蛋白质的功能,这为 TBI 提供可能的治疗靶点。

4　小结与展望

近年来 DTI-ALPS 越来越多地应用到神经疾病中,该方法具有传统检查方法所不具备的优点,成为研究类淋巴系统的热点,但同时 DTI-ALPS 目前仍有许多问题需要去探索,比如 DTI-ALPS 被设计为仅专门测量脑室周围区域的血管周围扩散指数,不能对区域血管周围扩散系数进行全局评估,并且 DTI-ALPS 方法的感兴趣区域(ROI)是手动放置的,主观因素可能影响其测量结果。尽管如此,DTI-ALPS 对神经系统疾病的类淋巴系统功能的评估,为临床研究与治疗开辟了新的道路。

大部分有关类淋巴系统的最新认知都源自鼠类的实验结果,然而现阶段对于人体类淋巴系统的了解仍然十分有限,因此希望通过梳理 DTI-ALPS 在神经病症领域的研究成果以揭示人脑淋巴系统的运作方式。所有研究表明,DTI-ALPS 在检测多种大脑病变的类淋巴系统时起到了关键性的影响。借助 DTI-ALPS 技术有望进一步解析类淋巴异常疾病的成因及其临床或者图像特征,并且可以把类淋巴系统视为一种新的临床诊断与治疗的目标。伴随着算法、序列、软件以及应用等方面的进步,笔者期望能更深层次地探究 DTI-ALPS 并在实际医疗场景中运用它去预测、诊断和评价病情。

参考文献

[1] Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β [J]. Sci Transl Med, 2012, 4(147): 147ra11. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.

[2] Iliff JJ, Wang M, Zeppenfeld DM, et al. Cerebral arterial pulsation drives paravascular CSF-interstitial fluid exchange in the murine brain [J]. J Neurosci, 2013, 33(46): 18190-18199. DOI: 10.1523/jneurosci.1592-13.2013.

[3] Zhou Y, Cai J, Zhang W, et al. Impairment of the glymphatic pathway and putative meningeal lymphatic vessels in the aging human [J]. Ann Neurol, 2020, 87(3): 357-369. DOI: 10.1002/ana.25670.

[4] Edeklev CS, Halvorsen M, Lovland G, et al. Intrathecal use of gadobutrol for glymphatic MR imaging: Prospective safety study of 100 patients [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2019, 40(8): 1257-1264. DOI: 10.3174/ajnr.A6136.

[5] Patel M, Atyani A, Salameh JP, et al. Safety of intrathecal administration of gadolinium-based contrast agents: A systematic review and meta-analysis [J]. Radiology, 2020, 297(1): 75-83. DOI: 10.1148/radiol.2020191373.

[6] Taoka T, Masutani Y, Kawai H, et al. Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer's disease cases [J]. Jpn J Radiol, 2017, 35(4): 172-178. DOI: 10.1007/s11604-017-0617-z.

[7] Yokota H, Vijayasarathi A, Cekic M, et al. diagnostic performance of glymphatic system evaluation using diffusion tensor imaging in idiopathic normal pressure hydrocephalus and mimickers [J]. Curr Gerontol Geriatr Res, 2019, 2019: 5675014. DOI: 10.1155/2019/5675014.

[8] Zhang W, Zhou Y, Wang J, et al. Glymphatic clearance function in patients with cerebral small vessel disease [J]. Neuroimage, 2021, 238: 118257. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2021.118257.

[9] Chachaj A, Gasiorowski K, Szuba A, et al. The lymphatic system in

the brain clearance mechanisms-new therapeutic perspectives for alzheimer's disease [J]. Curr Neuropharmacol, 2023, 21 (2): 380-391. DOI: 10.2174/1570159x20666220411091332.

[10] Ow SY, Dunstan DE. A brief overview of amyloids and Alzheimer's disease [J]. Protein Sci, 2014, 23(10): 1315-1331. DOI: 10.1002/pro.2524.

[11] Matsuda H, Shigemoto Y, Sato N. Neuroimaging of Alzheimer's disease: Focus on amyloid and tau PET [J]. Jpn J Radiol, 2019, 37 (11): 735-749. DOI: 10.1007/s11604-019-00867-7.

[12] Ota M, Sato N, Nakaya M, et al. Relationships between the deposition of amyloid-β and tau protein and glymphatic system activity in Alzheimer's disease: Diffusion tensor image study [J]. J Alzheimers Dis, 2022, 90(1): 295-303. DOI: 10.3233/jad-220534.

[13] Hsu JL, Wei YC, Toh CH, et al. Magnetic resonance images implicate that glymphatic alterations mediate cognitive dysfunction in Alzheimer disease [J]. Ann Neurol, 2023, 93 (1): 164-174. DOI: 10.1002/ana.26516.

[14] Xie L, Kang H, Xu Q, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain [J]. Science, 2013, 342 (6156): 373-377. DOI: 10.1126/science.1241224.

[15] Siow TY, Toh CH, Hsu JL, et al. Association of sleep, neuropsychological performance, and gray matter volume with glymphatic function in community-dwelling older adults [J]. Neurology, 2022, 98(8): e829-e838. DOI: 10.1212/wnl.0000000000013215.

[16] Si X, Guo T, Wang Z, et al. Neuroimaging evidence of glymphatic system dysfunction in possible REM sleep behavior disorder and Parkinson's disease [J]. NPJ Parkinsons Dis, 2022, 8 (1): 54. DOI: 10.1038/s41531-022-00316-9.

[17] Lee DA, Lee HJ, Park KM. Glymphatic dysfunction in isolated REM sleep behavior disorder [J]. Acta Neurol Scand, 2022, 145(4): 464-470. DOI: 10.1111/ane.13573.

[18] Gumeler E, Aygun E, Tezer FI, et al. Assessment of glymphatic function in narcolepsy using DTI-ALPS index [J]. Sleep Med, 2023, 101: 522-527. DOI: 10.1016/j.sleep.2022.12.002.

[19] Luk KC, Kehm V, Carroll J, et al. Pathological α-synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice [J]. Science, 2012, 338 (6109): 949-953. DOI: 10.1126/science.1227157.

[20] Zou W, Pu T, Feng W, et al. Blocking meningeal lymphatic drainage aggravates Parkinson's disease-like pathology in mice overexpressing mutated α-synuclein [J]. Transl Neurodegener, 2019, 8: 7. DOI: 10.1186/s40035-019-0147-y.

[21] Mcknight CD, Trujillo P, Lopez AM, et al. Diffusion along perivascular spaces reveals evidence supportive of glymphatic function impairment in Parkinson disease [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2021, 89: 98-104. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2021.06.004.

[22] 王义精,高莉娜,郝淼淼,等. 帕金森病扩大的血管周围间隙增加及类淋巴系统功能障碍的机制研究 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2022, 48(1): 21-27. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2022.01.004.

[23] Ma X, Li S, Li C, et al. Diffusion tensor imaging along the perivascular space index in different stages of Parkinson's disease [J]. Front Aging Neurosci, 2021, 13: 773951. DOI: 10.3389/fnagi.2021.773951.

[24] Gu L, Dai S, Guo T, et al. Noninvasive neuroimaging provides evidence for deterioration of the glymphatic system in Parkinson's disease relative to essential tremor [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2023, 107: 105254. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2022.105254.

[25] Shen T, Yue Y, Ba F, et al. Diffusion along perivascular spaces as marker for impairment of glymphatic system in Parkinson's disease [J]. NPJ Parkinsons Dis, 2022, 8 (1): 174. DOI: 10.1038/s41531-022-00437-1.

[26] Chen HL, Chen PC, Lu CH, et al. Associations among cognitive functions, plasma DNA, and diffusion tensor image along the perivascular space (DTI-ALPS) in patients with Parkinson's disease [J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 4034509. DOI: 10.1155/2021/4034509.

[27] Rabinovitch A, Aviram I, Biton Y, et al. Explaining recent postictal epilepsy EEG results by the G-lymphatic clearance hypothesis [J]. Med Hypotheses, 2020, 137: 109600. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109600

[28] Kim J, Lee DA, Lee HJ, et al. Glymphatic system dysfunction in patients with occipital lobe epilepsy [J]. J Neuroimaging, 2023, 33 (3): 455-461. DOI: 10.1111/jon.13083.

[29] Lee DA, Lee J, Park KM. Glymphatic system impairment in patients with status epilepticus [J]. Neuroradiology, 2022, 64 (12): 2335-2342. DOI: 10.1007/s00234-022-03018-4.

[30] Lee DA, Park BS, Ko J, et al. Glymphatic system dysfunction in temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis [J]. Epilepsia Open, 2022, 7(2): 306-314. DOI: 10.1002/epi4.12594.

[31] Lee HJ, Lee DA, Shin KJ, et al. Glymphatic system dysfunction in patients with juvenile myoclonic epilepsy [J]. J Neurol, 2022, 269(4): 2133-2139. DOI: 10.1007/s00415-021-10799-w.

[32] Li X, Ruan C, Zibrila AI, et al. Children with autism spectrum disorder present glymphatic system dysfunction evidenced by diffusion tensor imaging along the perivascular space [J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(48): e32061. DOI: 10.1097/md.0000000000032061.

[33] Cacciaguerra L, Carotenuto A, Pagani E, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of perivascular space abnormalities in neuromyelitis optica [J]. Ann Neurol, 2022, 92(2): 173-183. DOI: 10.1002/ana.26419.

[34] Bae YJ, Choi BS, Kim JM, et al. Altered glymphatic system in idiopathic normal pressure hydrocephalus [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2021, 82: 56-60. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2020.11.009.

[35] Iliff JJ, Chen MJ, Plog BA, et al. Impairment of glymphatic pathway function promotes tau pathology after traumatic brain injury [J]. J Neurosci, 2014, 34 (49): 16180-16193. DOI: 10.1523/jneurosci.3020-14.2014.

[36] Park JH, Bae YJ, Kim JS, et al. Glymphatic system evaluation using diffusion tensor imaging in patients with traumatic brain injury [J]. Neuroradiology, 2023, 65 (3): 551-557. DOI: 10.1007/s00234-022-03073-x.

(收稿日期:2023－11－21)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 023

综　述

矽肺合并系统性硬化症诊治研究进展

张光江,周杭棋,马丽丽综述　纪伟审校

基金项目: 江苏省中医药科技发展计划项目(ZD202218);江苏省研究生实践创新计划项目(SJCX23_0881)
作者单位: 210029　南京中医药大学附属医院/江苏省中医院风湿免疫科
通信作者: 纪伟,E-mail:weiweiji1103@163. com

【摘　要】 矽肺是职业病中难治愈、预后差、病死率较高的一种职业病。系统性硬化症是一种慢性自身免疫性疾病,其特征是自身抗体产生、小血管病变和纤维母细胞功能障碍,导致细胞外基质不受控制的沉积。矽肺合并系统性硬化症临床称为伊拉斯谟(Erasmus)综合征,其发病机制仍未阐明,目前尚无形成统一诊疗规范,文章对近年来矽肺合并系统性硬化症的国际国内相关研究进行综述,为矽肺合并系统性硬化症的诊疗提供借鉴。

【关键词】 矽肺;系统性硬化症;伊拉斯谟综合征;诊断;治疗;研究进展
【中图分类号】 R563.9;R593.2　　【文献标识码】 A

Progress in diagnosis and treatment of silicosis complicated with systemic sclerosis

Zhang Guangjiang, Zhou Hangqi, Ma Lili, Ji Wei. Department of Rheumatology and Immunology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine/ Jiangsu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Province, Nanjing 210029, *China*
*Funding program: Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine Technology Development Plan Project (ZD*202218); *Jiangsu Province Graduate Practice Innovation Program Project (SJCX*23_0881)
*Corresponding author: Ji Wei, E-mail: weiweiji*1103@163. *com*

【**Abstract**】 Silicosis is a kind of occupational disease which is difficult to cure, has poor prognosis and high fatality rate. Systemic sclerosis is a chronic autoimmune disease characterized by autoantibody production, small vessel lesions, and fibroblast dysfunction, leading to uncontrolled deposition of extracellular matrix. Silicosis complicated with systemic sclerosis is clinically known as Erasmus syndrome, the pathogenesis of which has not yet been clarified, and no unified diagnosis and treatment norms have been formed. This article reviews relevant international and domestic studies on silicosis complicated with systemic sclerosis in recent years, providing reference for the diagnosis and treatment of silicosis complicated with systemic sclerosis.

【**Key words**】 Silicosis; Systemic sclerosis; Erasmus syndrome; Diagnosis; Treatment; Research progress

矽肺(silicosis)是尘肺的一种类型最常见的职业性呼吸系统疾病之一,它是由吸入结晶二氧化硅(SiO_2)引起的,从而引发肺实质中的纤维化反应,表现为弥漫性间质性疾病(interstitial lung disease, ILD),发病率和病死率较高[1-2]。系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)是由免疫系统异常激活引起的结缔组织病,临床常表现为雷诺现象,随后出现与毛细血管异常和特征性自身抗体相关的典型皮肤增厚,该病的特征是血管损伤和各器官纤维化,并发症多,预后差[3-4]。伊拉斯谟于 1957 年首次分析先接触 SiO_2 后发展为 SSc 的关联,后来被称为伊拉斯谟综合征(Erasmus 综合征),此综合征是一种罕见综合征,其涉及小动脉、微血管和弥漫性结缔组织,其特征是皮肤和内脏器官的瘢痕形成和血管闭塞[5-6]。文章对其临床诊治进展相关研究进行综述。

1　矽肺和 SSc 发病概况

矽肺和 SSc 的发病率存在地区差异、职业差异、性别差异、种族差异等。我国人口基数大,截至 2021 年底现存活的职业性尘肺病患者约 45 万人[7]。2022 年 7 月国家卫生健康委员会发布我国新发职业性尘肺病 11 809 例,占新发职业病人数的前列[8]。中国、印度、欧盟等国家的矽肺已成为世界职业病中病死率较高的病种[9-10]。而 SSc 发病率低,相对罕见,全球大约为万分之一,其主要发病年龄段在 30 ~ 50 岁之间,女性发病率常高于男性,病死率较高,而我国无确切相关流行病学报道[11-14]。

2　矽肺合并 SSc 发病机制

2.1　SiO_2 颗粒刺激慢性炎性反应和自身抗体产生　伊拉斯谟综合征的发病机制不明,有相关研究认为尘肺可诱导产生自身抗体、引起免疫复合物和免疫球蛋白包括类风湿因子(RF)增高[15]。吸入的 SiO_2 颗粒被肺泡巨噬细胞(AM)吞噬,由于巨噬细胞的破坏,白介素(IL)被释放,白介素 2(IL-2)在慢性炎性反应和纤维化中起主要作用,炎性反应介质反过来激活 T 辅助细胞并进一步招募活化的巨噬细胞,以放大身体的炎性反应,当

含有 SiO_2 的肺泡巨噬细胞死亡时，SiO_2 颗粒被释放并被其他巨噬细胞重新吞噬，使炎性反应循环永久化。活化的巨噬细胞和 T 淋巴细胞都会导致不受调节的成纤维细胞增殖和胶原沉积，导致肺纤维化。炎性反应增加，细胞外基质蛋白过度积累，成纤维细胞、上皮样炎性反应细胞和细胞碎片聚集，由免疫介导的组织损伤通过纤维化刺激宿主发病，因此长期 SiO_2 颗粒暴露，发生 ILD、肺结核、肺癌和自身免疫性疾病（SSc、类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮）的风险增加[6,16]。SiO_2 同样在肺泡中积累，导致上皮细胞损伤，刺激慢性炎性反应和自身抗体产生，如抗拓扑异构酶 I（抗 Scl-70）和抗着丝粒抗体，最终发展为胶原蛋白积累和纤维化[17-18]。

2.2　SiO_2 颗粒诱导细胞凋亡失衡　据推测，SiO_2 颗粒可以作为抗体产生的辅助剂，通过诱导细胞凋亡失衡，刺激巨噬细胞、IL-1、血小板衍生生长因子等产生，激活更多的巨噬细胞和淋巴细胞，反过来，这些细胞增加基质金属蛋白酶的产生，金属蛋白酶参与细胞外基质的降解和重塑[19]。矽肺病中应答性 T 细胞增加和调节性 T 细胞（Treg）减少的失衡，同样可能导致矽肺病患者在基本免疫条件下易患自身免疫性疾病[20]。其机制可能与 SiO_2 诱导的巨噬细胞凋亡被人体免疫系统靶向的表位来加剧免疫介导的反应有关[21]。在结晶 SiO_2 暴露的大鼠模型中，发现了与硬皮病相关的自身免疫反应[22]。

2.3　其他危险因素　矽肺合并 SSc 除了矽尘介导的自身免疫水平下降以外，其主要诱发因素是职业相关性，在芳香、酮类、烃类溶剂等化学原料相关的刺激下更容易导致 SSc 的发生，尤其是以男性从事石匠、金矿工、陶瓷工、牛仔喷砂、环氧树脂、苯等相关的粉尘职业[18,23]。在相关研究的 48 例 SSc 患者中，伊拉斯谟综合征的患病率为 16.7%（8/48），均为男性，与性别之间存在统计学上的显著关联[24]。关于性别是否影响暴露于 SiO_2 的 SSc 患者的状况，研究结果存在不同意见，但在多因素分析中，男性被认为是与 SiO_2 暴露相关的 SSc 的重要危险因素[25]。此外有研究也认为吸烟伴 SiO_2 暴露是发生伊拉斯谟综合征影像学改变的危险因素[18]。

3　矽肺合并 SSc 的诊断与鉴别诊断

3.1　矽肺合并 SSc 的诊断　伊拉斯谟综合征是暴露于 SiO_2 颗粒后发生 SSc 一种罕见情况的关联疾病[26]。临床诊断主要是对矽肺和 SSc 的分别诊断，并将二者进行结合。对于矽肺患者的诊断主要是结合患者职业史、临床症状及肺功能检查（PFT）以及临床高分辨率 CT（HRCT）进行诊断[16]。肺功能通常表现为肺活量降低，通气功能障碍，周边气道黏性阻力增高，弥散功能降低等；肺 CT 影像学常表现为不规则型肺结节、肺部肿块、肺空洞、胸腔积液等，需排除结核、肿瘤、真菌等可能，除非其他绝对必要原因，应避免进行肺活检，这对于临床医务技术人员诊疗水平及相应医疗设备有较高的要求，否则不利于矽肺的发现和防治。而 SSc 的诊断同样根据临床症状、体征、辅助检查进行诊断。根据 2013 年美国风湿病学会（American College of Rheumatology，ACR）公布的 SSc 的最新分类标准[27]进行积分，总分≥9 分可诊断为 SSc，具体积分如下：（1）向掌指关节近端延伸的双侧皮肤增厚（9 分）；（2）手指皮肤增厚（仅计算较高的分数），指端硬化：不及掌指关节但接近近端指间关节（4 分）/手指肿胀（2 分）；（3）指尖病变（仅计算较高的分数），指端溃疡（2 分）/凹陷性疤痕（3 分）；（4）毛细管扩张（2 分）；（5）甲襞毛细血管异常（2 分）；（6）肺动脉高压和/或肺间质病变（2 分）；（7）雷诺现象（3 分）；（8）SSc 相关自身抗体（抗着丝点抗体/抗 Scl-70/抗 RNA 聚合酶Ⅲ抗体）阳性（3 分）。此外 SSc 还可能出现钙质沉着症、食管运动障碍等为特征的临床症状，当符合矽肺和 SSc 相应诊断标准时，可考虑伊拉斯谟综合征。

3.2　肺间质纤维化的鉴别诊断　肺泡巨噬细胞（AM）是 SiO_2 进入肺部后作用的最主要靶细胞，其可识别、吞噬进入肺组织中的 SiO_2 粉尘颗粒，产生大量活性氧（reactive oxygen species，ROS）自由基，并大量分泌炎性因子，触发炎性反应，可作为抗原递呈细胞启动矽肺免疫应答机制，与肺成纤维细胞共同发挥作用，促进矽肺纤维化进程[28]。SSc 大约有 80% 的患者存在肺纤维化或者 ILD，其中 25% ~30% 的患者会发展为弥漫性 ILD[29]，受细胞因子、信号通路、新型标志物、Toll 样受体 4（toll-like receptor 4，TLR-4）等发病机制的影响，长期吸入 SiO_2 粉尘会导致慢性炎性反应和进行性肺纤维化（PPF）[19,30]。当矽肺合并 SSc 时，肺部纤维化往往不能断定是何种疾病导致，因此在有限的条件下难以鉴别。为了进一步明确肺部病变，除了胸部 CT，可行其他检查（如正电子发射断层扫描 CT，可屈性支气管镜检查和支气管肺泡灌洗）排除传染病和癌症，鉴于肺部受累，可对肺实质和淋巴结进行组织活检，结合职业史和病理结果才能对矽肺病及相关肺病病变作出诊断，肺部受累的准确判断对于患者的治疗方法至关重要[31]。为了避免误诊矽肺病，特别是对于诊断为 SSc 的男性患者，应询问 SiO_2 暴露，即使短期接触 SiO_2，伊拉斯谟综合征同样可能会发生[16]。同时可以选择更为先进的检查设备，提高准确度，国外一项研究评估了 45 例 SSc 患者中运用具有高增量和减少切片数量的图像系列检测 ILD 的准确性，得出运用具有低采样率的 HRCT 图像系列能够以极低的辐射剂量准确检测 ILD，这种方法对于 SSc 患者的筛查具有潜在价值[32]。

4　矽肺合并 SSc 的治疗

4.1　治疗原则　伊拉斯谟综合征的治疗取决于多器官受累的程度，治疗的金标准是避免接触 SiO_2 粉尘。SiO_2 相关 SSc 的治疗与特发性 SSc 的治疗基本相同，治疗基于 ILD 的严重程度和进展，一般而言，SSc 的治疗方法是基于器官的对症治疗，例如，钙通道阻滞剂可缓解雷诺现象，主诉胃食管反流的患者给予质子泵抑制剂，而关节痛和/或肌痛患者则接受短期非甾体抗炎药，弥漫性和进行性皮肤受累和/或严重器官受累的患者应给予全身性免疫抑制治疗，例如环磷酰胺、吗替麦考酚酯和硫唑嘌呤或甲氨蝶呤（MTX）等联用[6,16]。然而迄今为止，矽肺除了对症治疗之外，没有有效的治疗策略，完全的纤维化肺损伤无法修复，因此风湿病学家认为不应该为这类患者使用免疫抑制药物，因为免疫抑制药物没有被证明是有效的，它们可能会引起非常严重的不良反应，如肺毒性或感染，为了不引起机会性感染对患者造成进一步的伤害，更建议只给予 MTX 治疗关节炎和预防皮肤和肺部疾病的进展，如果纤维化进展，可考虑对

该患者进行造血干细胞移植或肺移植[30]。

4.2　抗肺纤维化治疗　矽肺合并 SSc 导致的肺纤维化是不可逆转的,为了防止肺纤维化的进展,目前常用的药物是吡非尼酮及尼达尼布,动物实验及临床试验均证实二者能够改善甚至减轻纤维化期矽肺及 SSc-ILD 患者的肺纤维化进程,从而提高生存率[33-34]。Raghu 等[35]通过一项开放性无对照前瞻性研究发现,应用吡非尼酮治疗特发性肺纤维化(IPF),阻止了大多数患者的肺纤维化进一步发展,并改善了少数患者的氧合状况。此外有研究认为吡非尼酮可能对 PPF 患者的疾病进展和肺功能产生有益影响,特别是在不可分类 ILD 人群中[36]。另一项尼达尼布随机对照试验在全球多个国家进行,576 例患者进行了治疗组与安慰剂组对照,发现尼达尼布治疗组患者的用力肺活量(FVC)年下降率低于安慰剂组[37]。目前,尼达尼布已在全球多个国家获批使用[38]。

4.3　中医药治疗　矽肺属于中医“肺痹”病范畴,SSc 属于“皮痹”病范畴,《黄帝内经》云“皮痹不已,复感于邪,内舍于肺”[39]。因此肺痹、皮痹在一定程度上密切相关,相互影响。通过对中医药文化的挖掘,有利于改善伊拉斯谟综合征的不适症状。近些年来中药提取物及联合其他药物治疗矽肺取得了一定成就,常见的提取物有黄芪提取物、手掌参醇提取物、汉防己甲素、丹参提取物等[40],其中对汉防己甲素的相关研究颇多,刘忠鑫[41]采用汉防己甲素联合苦参素注射液治疗矽肺,不易出现不良反应,还可缓解症状改善肺通气功能。刘慕珍等[42]选用汉防己甲素和羟基磷酸哌喹联合用药治疗 24 例矽肺患者,经过 2 年临床观察,发现联合用药可阻滞和延缓矽肺病变进展。Zhang 等[43]通过大鼠模型研究发现,丹参提取物隐丹参酮可通过抑制 Smad 和 STAT3 信号通路防止肺纤维化。配合中医针刺、导引、督灸、贴敷、推拿等治疗方式可改善患者不适症状[44]。对中医药文化的深度挖掘和探索,能对改善患者症状提供更多辅助手段。

4.4　其他治疗　其他治疗主要包括干细胞治疗、手术治疗及靶向治疗等。干细胞主要是通过调节炎性反应、减少纤维化和细胞凋亡而达到改善肺功能的目的,其安全性、可靠性还需大量实验研究加以证实。有大量实验研究干细胞治疗矽肺及 SSc 的有效性,目前技术尚未成熟。矽肺干细胞治疗主要包括骨髓、脂肪、间充质干细胞三大类[45]。硬皮病应用造血干细胞移植可抑制病程进展,并逆转皮肤纤维化,甚至能够降低病死率[46-47]。随着医疗技术的改进,造血干细胞移植等新型治疗方案将得到不断的完善,虽然仍存在许多问题[48],但通过大量的临床研究,反复实验,进行对照及模拟,将来干细胞治疗技术或许能够运用到临床实践上。对于严重肺部纤维化,药物已经无法扭转病情,医务工作者可将目光放置于纤维支气管镜介入治疗[49],此外肺移植是治疗终末期尘肺的有效方法,术后患者生存时间会得到一定提高,生活质量得到一定改善,但围手术期控制影响预后的危险因素较多,如排斥反应、严重感染等,及时处理并发症,是尘肺肺移植获得长期生存的关键[50]。进行基因检测,寻找突变基因,运用相关基因靶向药物进行治疗具有广阔前景。

5　小　结

目前矽肺合并 SSc 发病机制未阐明,国际国内诊疗标准尚未形成,主要是对症和对因治疗。矽肺不单可以合并 SSc,还常并发肺结核、肺癌、肺部感染、慢性阻塞性肺疾病等,虽发病率低,但病因复杂,涉及人体呼吸、免疫、循环、血液等诸多系统,死亡率高,临床诊治棘手。临床诊断治疗往往需要呼吸科、风湿科、皮肤科、放射科、病理科多学科协同合作。因此对职业病的防护显得尤为重要,是中医强调“治未病”和“未病先防”的重要体现,因此要尽量做到以下:(1)加强从事职业病工人宣传教育,做好职业病防护,按规定操作流程佩戴防护措施。(2)积极锻炼,增强体质,提高自身免疫力,避免诱发因素。(3)加强矽肺合并 SSc 慢病的长期管理,监测病情,规范化治疗,尽量提高患者生活质量及生存质量,做到既病防变。(4)加强合并症、并发症的监测,尽量个体化,多学科合作,协同治疗。(5)力求减轻患者痛苦和疾病负担,对终末期、晚期患者进行临终关怀。

参考文献

[1] Fernández álvarez R, Martínez González C, Quero Martínez A, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of silicosis[J]. Arch Bronconeumol, 2015, 51(2): 86-93. DOI: 10.1016/j.arbres.2014.07.010.

[2] 张红香,张素华. 矽肺患者血清中活性维生素 D 和 CC16 水平及意义[J]. 工业卫生与职业病, 2023, 49 (1): 10-13. DOI: 10.13692/j.cnki.gywsyzyb.2023.01.003.

[3] Ebata S, Yoshizaki-Ogawa A, Sato S, et al. New era in systemic sclerosis treatment: Recently approved therapeutics[J]. J Clin Med, 2022, 11(15): 4631. DOI: 10.3390/jcm11154631.

[4] Hachulla E, Launay D. Diagnosis and classification of systemic sclerosis[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2011, 40(2): 78-83. DOI: 10.1007/s12016-010-8198-y.

[5] Jaanakhi VM, Ram B, Qureshi MJ, et al. Erasmus syndrome: A case series of rare Co-Occurrence of silicosis and systemic sclerosis[J]. Indian J Occup Environ Med, 2022, 26(4): 285-288. DOI: 10.4103/ijoem.ijoem_362_21.

[6] Manav V, Avci EB, Erdem O, et al. Erasmus syndrome: A rare occupational disease[J]. Indian J Dermatol, 2022, 67(3): 290-292. DOI: 10.4103/ijd.IJD_778_20.

[7] 国家卫生健康委发布 2021 年全国职业病报告[J]. 职业卫生与应急救援, 2022, 40 (4): 416.

[8] 古贞,刘波,曹碧瑶,等. 2018—2022 年自贡市新发尘肺病流行病学特征分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2024, 35(1): 149-152. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2483.2024.01.035.

[9] Krefft S, Wolff J, Rose C. Silicosis: An update and guide for clinicians[J]. Clin Chest Med, 2020, 41(4): 709-722. DOI: 10.1016/j.ccm.2020.08.012.

[10] 林卫佳,魏艳召,苏菁,等. 三种检测技术在矽肺合并肺结核患者诊断中的应用价值[J]. 工业卫生与职业病, 2023, 49 (1): 22-25, 65. DOI: 10.13692/j.cnki.gywsyzyb.2023.01.006.

[11] Argula RG, Ward C, Feghali-Bostwick C. Therapeutic challenges and advances in the management of systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension (SSc-PAH)[J]. Ther Clin Risk Manag, 2019,

15:1427-1442. DOI:10.2147/TCRM.S219024.

[12] 李莉,邓丹琪.硬皮病、皮肌炎与妊娠[J].中国皮肤性病学杂志,2019,33(9):1093-1096. DOI:10.13735/j.cjdv.1001-7089.201903133.

[13] Gelber AC, Manno RL, Shah AA, et al. Race and association with disease manifestations and mortality in scleroderma: A 20-year experience at the Johns Hopkins scleroderma center and review of the literature[J]. Medicine (Baltimore), 2013, 92(4): 191-205. DOI:10.1097/MD.0b013e31829be125.

[14] 王晓佳,姬海燕,邸益红,等.系统性硬皮病流行病学回顾性分析[J].中国病案,2020,21(8):51-54. DOI:10.3969/j.issn.1672-2566.2020.08.020.

[15] 俞建钰,陈祥芳,陈明诚,等.类风湿尘肺 2 例报告[J].风湿病与关节炎,2020,9(1):31-33. DOI:10.3969/j.issn.2095-4174.2020.01.009.

[16] Miller FW, Alfredsson L, Costenbader KH, et al. Epidemiology of environmental exposures and human autoimmune diseases: Findings from a national Institute of environmental health sciences expert panel workshop[J]. J Autoimmun, 2012, 39(4): 259-271. DOI:10.1016/j.jaut.2012.05.002.

[17] Lee S, Hayashi H, Kumaga-Takei N, et al. Autoantibodies in silicosis patients: Silica-Induced dysregulation of autoimmunity[M]//Autoantibodies and Cytokines. London: IntechOpen, 2017.

[18] Rocha LF, Luppino Assad AP, et al. Systemic sclerosis and silica exposure: A rare association in a large Brazilian cohort[J]. Rheumatol Int, 2016, 36(5): 697-702. DOI:10.1007/s00296-015-3412-0.

[19] Sari Sürmeli Z, Orucoglu N. Erasmus syndrome: Systemic sclerosis and silicosis co-occurrence[J]. Int J Rheum Dis, 2018, 21(6): 1326-1329. DOI:10.1111/1756-185X.13296.

[20] Lee S, Hayashi H, Mastuzaki H, et al. Silicosis and autoimmunity[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2017, 17(2): 78-84. DOI:10.1097/ACI.0000000000000350.

[21] Lomanta JMJ, Atienza MA, Gonzales JRM, et al. Erasmus syndrome: A case report and literature review[J]. Am J Case Rep, 2022, 23: e937061. DOI:10.12659/AJCR.937061.

[22] Kim JY, Do SY, Moon YH, et al. Systemic sclerosis due to crystalline silica exposure among jewelry workers in Korea: Two case reports[J]. Ann Occup Environ Med, 2017, 29: 18. DOI:10.1186/s40557-017-0176-x.

[23] Rubio-Rivas M, Moreno R, Corbella X. Occupational and environmental scleroderma. Systematic review and meta-analysis[J]. Clin Rheumatol, 2017, 36(3): 569-582. DOI:10.1007/s10067-016-3533-1.

[24] Azevedo S, Sousa-Neves J, Santos-Faria D, et al. Prevalence and clinical manifestations of erasmus syndrome in systemic sclerosis: A cross-sectional study[J]. Acta Reumatol Port, 2020, 45(3): 183-190.

[25] Huo X, Zeng Z, Lin Y, et al. Clinical characteristics of systemic sclerosis patients with occupational silicosis[J]. Clin Rheumatol, 2024, 43(1): 277-287. DOI:10.1007/s10067-023-06706-5.

[26] Osejo-Betancourt M, Chaparro-Mutiz P. Erasmus syndrome: The association of systemic sclerosis and silicosis[J]. Monaldi Arch Chest Dis, 2022, 93(1): 2223. DOI:10.4081/monaldi.2022.2223.

[27] Adigun R, Goyal A, Hariz A. Systemic sclerosis[M/OL]NCBI. nlm. nih. gov 2022. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430875.

[28] 张元元,薄存香,张放.肺泡巨噬细胞在矽肺发病机制中的研究进展[J].中国职业医学,2020,47(1):109-113. DOI:10.11763/j.issn.2095-2619.2020.01.021.

[29] 王修远,杨骥.系统性硬皮病的治疗现状及进展[J].临床皮肤科杂志,2021,50(9):565-569. DOI:10.16761/j.cnki.1000-4963.2021.09.015.

[30] 任亚飞,蒋亚男,谢璠,等.系统性硬化症相关间质性肺疾病的机制研究[J].实用医学杂志,2018,34(19):3307-3309. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2018.19.038.

[31] Bello S, Rinaldi A, Trabucco S, et al. Erasmus syndrome in a marble worker[J]. Reumatismo, 2015, 67(3): 116-122. DOI:10.4081/reumatismo.2015.826.

[32] Winklehner A, Berger N, Maurer B, et al. Screening for interstitial lung disease in systemic sclerosis: The diagnostic accuracy of HRCT image series with high increment and reduced number of slices[J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(4): 549-552. DOI:10.1136/annrheumdis-2011-200564.

[33] 刘莹.吡非尼酮对二氧化硅诱导的矽肺小鼠的干预效果评估[D].北京:北京协和医学院,2022.

[34] 李云炫,吕晓希,刘畅,等.吡非尼酮和尼达尼布抑制慢性肺纤维化小鼠肺泡上皮细胞再生[J].药学学报,2020,55(5):861-867. DOI:10.16438/j.0513-4870.2020-0444.

[35] Raghu G, Johnson WC, Lockhart D, et al. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with a new antifibrotic agent, pirfenidone: Results of a prospective, open-label phase II study[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 159(4 Pt 1): 1061-1069. DOI:10.1164/ajrccm.159.4.9805017.

[36] Ghazipura M, Mammen MJ, Bissell BD, et al. Pirfenidone in progressive pulmonary fibrosis: A systematic review and meta-analysis[J]. Ann Am Thorac Soc, 2022, 19(6): 1030-1039. DOI:10.1513/AnnalsATS.202103-342OC.

[37] Distler O, Highland KB, Gahlemann M, et al. SENSCIS trial Investigators. Nintedanib for systemic sclerosis-associated Interstitial lung disease[J]. N Engl J Med, 2019, 380(26): 2518-2528. DOI:10.1056/NEJMoa1903076.

[38] 刘孟国,李明,傅雯雯.系统性硬化症的生物制剂治疗新进展[J].医学综述,2021,27(9):1765-1769. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2021.09.018.

[39] 曹仁爽,张伟.皮痹—肺痹转归认知下系统性硬化症相关弥漫性实质性肺疾病的病理演变与临证探讨[J].中华中医药杂志,2021,36(5):3009-3011.

[40] 孙雪鹏.单味中药及其提取物治疗矽肺的研究进展[J].中医药学报,2018,46(4):127-130. DOI:10.19664/j.cnki.1002-2392.180134.

[41] 刘忠鑫.联合用药治疗矽肺的远期疗效观察[J].中国医药指南,2017,15(26):34-35. DOI:10.15912/j.cnki.gocm.2017.26.024.

[42] 刘慕珍,唐德环,王京,等.联合用药治疗矽肺的疗效评价[J].中国工业医学杂志,2001,14(4):215-216. DOI:10.3969/j.issn.1002-221X.2001.04.011.

(下转 508 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 024

综　述

罗普司亭治疗再生障碍性贫血的机制与临床应用研究进展

李洋洋,高明洁,田飞,孙伟正综述　王金环审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81673968);中国民族医药学会科研项目(2021Z1161-440102)

作者单位: 150040　哈尔滨,黑龙江中医药大学(李洋洋);黑龙江中医药大学附属第一医院血液病科(高明洁、田飞、孙伟正、王金环)

通信作者: 王金环,E-mail:wjh_0304@163. com

【摘　要】 再生障碍性贫血(AA)是一种严重的造血系统疾病,临床上以全血细胞减少和骨髓造血功能受损为特征。罗普司亭作为一种 Janus 激酶抑制剂,近年来引起了广泛的关注。文章从多个角度对罗普司亭治疗 AA 的机制与临床应用展开了全面而深入的讨论,包括该药物在治疗过程中的作用机制、免疫调节作用以及潜在的不良反应和安全性考量。并展望个体化治疗策略的发展和新型治疗靶点的探索,为该领域的进一步研究提供有益的思路。

【关键词】 再生障碍性贫血;罗普司亭;Janus 激酶抑制剂;治疗;研究进展

【中图分类号】 R551.3;R453.9　　【文献标识码】 A

Research progress on the mechanism and clinical application of romiplostim in the treatment of aplastic anemia

*Li Yangyang**, *Gao Mingjie*, *Tian Fei*, *Sun Weizheng*, *Wang Jinhuan*. * *Heilongjiang University of Chinese Medicine*, *Heilongjiang Province*, *Harbin* 150040, *China*

Funding program: *National Natural Science Foundation of China* (81673968); *Research Project of the Chinese Ethnic Medicine Society* (2021Z1161-440102)

Corresponding author: *Wang Jinhuan*, *E-mail*: *wjh*_0304@163. *com*

【**Abstract**】 Aplastic anemia (AA) is a severe hematologic disorder characterized clinically by a reduction in all blood cell types and impairment of bone marrow hematopoiesis. Romiplostim, as a Janus kinase inhibitor, has garnered widespread attention in recent years. This paper comprehensively and thoroughly discusses the mechanisms and clinical applications of romiplostim in the treatment of aplastic anemia from various perspectives. It explores the drug's mechanisms of action during the treatment process, its immunomodulatory effects, and potential side effects and safety considerations. Furthermore, the paper also outlines future research directions, particularly the development of personalized treatment strategies and the exploration of novel therapeutic targets, providing valuable insights and prospects for further advancements in the field.

【**Key words**】 Aplastic anemia; Romiplostim; Janus kinase inhibitors; Treatment; Research progress

再生障碍性贫血(aplastic anemia,AA)是一组由多种病因所致的骨髓造血功能衰竭性综合征,以骨髓造血细胞增生降低和外周血全血细胞减少为特征,临床以贫血、出血和感染为主要表现[1]。AA 对患者造血功能的严重影响使其成为临床上备受关注的重要问题。AA 的治疗选择取决于病情的严重程度,可能包括观察、输血、免疫抑制疗法和造血干细胞移植[2]。对于不适合骨髓移植的患者,免疫抑制治疗(immunosuppressant therapy, IST)是涉及抗胸腺细胞球蛋白(antithymocyte globulin, ATG)[3]和环孢素(cyclosporine, CSA)的基础治疗[4-6]。文献调查显示,30% 的患者对 IST 无反应,30% ~40% 的患者最终复发[7-8]。传统治疗方法如免疫抑制剂和激素治疗在一些患者中表现出有限的疗效[9]。近年来,罗普司亭作为一种新型治疗药物备受研究者关注,其在治疗 AA 中的疗效和作用机制备受期待。罗普司亭不增加血栓事件发生率[10],且具有良好的肝脏安全性。罗普司亭作为一种 Janus 激酶抑制剂(Janus kinase inhibitors, JAKI),被认为具有调节免疫反应和促进血小板生成的潜力,然而,其具体的作用机制和临床应用仍然存在许多未知之处。因此,针对罗普司亭治疗 AA 的机制与临床应用展开深入的研究[11],有助于全面了解该药物的疗效和安全性,为其在临床实践中的应用提供有益的指导和依据。文章旨在综述罗普司亭治疗 AA 的最新研究进展,探讨其作用机制、临床疗效以及可能的不良反应和安全性考量,并对未来的研究方向进行展望,以期为该领域的进一步研究和临床实践提供重要的参考和指导。

1　罗普司亭作用机制概述

罗普司亭(Romiplostim),曾用名为罗米司亭,其商品名为 Nplate,是第二代长效血小板生成素受体激动剂(TPO-RA),属于 TPO 肽类模拟物,该融合蛋白由 1 个 IgG1 Fc 载体结构域和 4 个对 TPO-R 具有高亲和力的多肽序列组成的 TPO-R 结合域组成[12-14],与内源性 TPO 无序列同源性[15-17]。与 Fcγ 受体的相互作用可能使罗普司亭能够调节体液耐受性的维持、细胞成熟、抗原呈递和 Treg 扩增。最后,罗普司亭可能通过 Fc 区的 2 个表位(称为 Tregitopes)激活 Tregs。有必要进一步探索这些机制在肽抗体功能中的作用[18]。由于罗普司亭与内源性 TPO 无序列同源性,因此不会产生内源性 TPO 中和抗体。根据这一特性,罗普司亭能够实现稳定和可预测的血小板计数上升,从而将血小板生成素自身抗体的产生风险降至最低[19]。一项小鼠实验研究表明,罗普司亭不仅能显著提高血小板计数,还能降低抗血小板抗体水平[20]。在治疗 AA 时,罗普司亭主要通过抑制 JAK-STAT 信号通路来调节免疫反应和改善造血细胞分化[21]。一项基础研究提出 $CD4^+$、$CAMK4^+$、naive T 细胞、IL-6/JAK3/STAT3 的激活及潜在的 Th17 极化是重型再生障碍性贫血(severe aplastic anemia, SAA)免疫失衡的重要分子机制之一,揭示了异常的免疫微环境在儿童 SAA 免疫介导的造血功能衰竭中的作用[22]。

罗普司亭是一种重组蛋白,具有类似血小板生成素的作用,通过激活 c-Mpl 受体而刺激骨髓内的巨核细胞增殖和分化,从而促进血小板的生成[23]。通过模拟 TPO 的结构域与体内内源性 TPO 竞争结合靶细胞上的 c-Mpl 位点,激活 JAK2/STAT5 信号通路,引起基因表达的改变,促进骨髓造血干细胞向巨核系细胞分化,以及促进巨核系细胞的增殖、分化与成熟,最终形成功能性血小板,并且释放到外周循环。Townsley 等[24]在其综述中提到,罗普司亭能够刺激生理性血小板生成的相关信号传导途径,包括 AKT 和 ERK1/2 信号通路的磷酸化增加。这些信号通路对于正常的血小板生成至关重要。此外,研究表明[25],罗普司亭在治疗难治性再生障碍性贫血(refractory or resistant aplastic anemia, rAA)患者时显示出了活性,并且在研究期间没有出现明显的克隆进化或发展为急性髓系白血病的情况。这表明罗普司亭的作用机制可能与其他药物相比具有较高的安全性。研究表明[26],罗普司亭通过激活人体的血小板生成作用,能够提高血小板计数,减少出血风险,并且在临床实践中显示出良好的安全性和耐受性。然而,该研究还指出,罗普司亭的使用可能增加静脉血栓栓塞的风险,因此在治疗过程中需要谨慎监测患者的血栓风险。

罗普司亭的结合导致酪氨酸磷酸化,随后激活 Mpl、JAK2-STAT5、ERK1/2 和 AKT 下游信号传导通路,导致基因转录增加和巨核细胞增殖和分化增加。与内源性血小板生成素类似,罗普司亭刺激巨核细胞集落形成细胞的生长,并增加巨核细胞数量、大小和多倍体[27]。罗普司亭的作用机制主要涉及通过激活 c-Mpl 受体和相关信号通路,促进骨髓内巨核细胞的增殖和分化,从而增加血小板的生成,提高血小板计数,并减少出血风险。同时也指出了其潜在的血栓栓塞风险,强调了临床应用中需要密切监测患者状况的重要性。

2　罗普司亭治疗 AA 的分子机制与作用途径

2.1　对 JAK-STAT 信号通路的调控作用　Janus 激酶(Janus kinases, JAKs)-信号传导和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)信号通路作为信号级联反应代表之一,可参与调节免疫、细胞增殖与分化、细胞凋亡、肿瘤发生和造血。JAK 属于非受体蛋白酪氨酸激酶家族,由 JAK1、JAK2、JAK3 和非受体蛋白酪氨酸激酶-2(TYK2)组成。STAT 是核内转录因子。在静息细胞中,STAT 存在于胞质中。STAT 分子被激活后,形成二聚体进入细胞核。参与调控基因表达特别是在干扰素(IFN)和白介素(IL)作为信号分子的细胞中,STAT 可以被激活,作为一种被诱导的转录因子,表现出多种特异的功能。目前已经鉴定出 7 种 STAT 蛋白,STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6,它们分别由不同的基因编码[28]。STAT 转录因子受多种细胞因子调控,从而控制免疫反应和诱导肿瘤免疫逃逸,促进或抑制各种免疫细胞的扩增和活化。STAT 家族的每个成员都可以被各种细胞因子和相关的 JAK 激活[29]。国外一项动物实验研究证实,JAK1/2 抑制剂芦可替尼在移植物抗宿主病模型中抑制细胞毒性 T 细胞活化并抑制细胞因子产生,支持 JAK/STAT 抑制剂在人类 AA 和其他免疫性骨髓衰竭综合征中的临床试验[30]。

罗普司亭的作用机制主要是通过抑制 JAK-STAT 信号通路,从而调节免疫反应和造血细胞分化,这对于 AA 的治疗具有重要意义。JAK-STAT 信号通路在细胞增殖、分化和免疫调节等多种生物学过程中起着重要作用。JAK-STAT 信号通路参与调控细胞因子信号传导,影响免疫细胞的功能和分化。该研究还强调了 JAK-STAT 信号通路在造血干细胞增殖中的重要作用,表明其在调节免疫应答和造血过程中具有重要意义。JAK-STAT 信号通路异常激活可能与疾病的发生和发展密切相关,强调了 JAK-STAT 信号通路在 AA 等疾病发病机制中的重要调控作用[31]。提出了该通路可能成为未来治疗靶点的可能性[32]。

2.2　对免疫调节和细胞增殖的影响　罗普司亭能够调节免疫细胞的功能,并对细胞因子信号传导和造血干细胞增殖产生影响,这为治疗 AA 提供了新的治疗策略。免疫调节和细胞增殖是罗普司亭治疗 AA 中的 2 个重要影响因素。研究指出罗普司亭能够调节免疫细胞的功能,包括调节细胞因子信号传导和免疫应答,从而达到治疗 AA 的效果。此外,罗普司亭还能够影响造血干细胞的增殖,促进造血过程的正常进行。罗普司亭对人体巨核细胞的功能具有调节作用,能够促进巨核细胞的分化和血小板的生成。罗普司亭通过激活 AKT/ERK 依赖途径,促进人体巨核细胞的增殖和分化,进而增加血小板的产生[33]。结合以上研究结果可以看出,罗普司亭作为一种治疗 AA 的药物,其免疫调节和细胞增殖影响是其治疗机制中的两个重要方面。通过调节免疫细胞的功能和促进造血干细胞的增殖,罗普司亭能够有效改善 AA 患者的临床症状,并促进其恢复正常的造血功能。该药物的治疗效果和安全性需要在临床应用中进一步评估和监测。

3　罗普司亭治疗 AA 的临床应用

AA 患者可以接受免疫抑制剂治疗或接受骨髓移植作为一线治疗的一部分。TPO-RA 通过与造血干/祖细胞表面的 TPO 受体结合,促进造血干细胞增殖分化及多能造血祖细胞扩增,同时具有免疫调节、诱导免疫耐受的作用[34]。罗普司亭在 AA 的临床应用中表现出积极的疗效。罗普司亭能够调节免疫平衡,维持造血细胞的稳定,并促进血液的正常生成。艾曲泊帕和罗普司亭是血小板生成素受体激动剂,在前瞻性对照研究中被证明对 AA 有效。大剂量罗普司亭可加速艾曲泊帕 rAA 患者的血液学恢复[35]。

研究发现,当患者对最大剂量艾曲泊帕无反应后改用罗普司亭,共有 10 例患者均接受最大剂量的罗普司亭(每周 20 μg/kg)。在中位随访 12 个月时,10 例患者中有 7 例(70%)实现了中性粒细胞、红细胞或血小板反应,包括 1 例完全缓解,结果显示了罗普司亭对艾曲泊帕无反应的 rAA 患者有效[36]。研究表明,患者由艾曲泊帕改用罗普司亭后,其中性粒细胞、网织红细胞和血小板计数逐渐改善,治疗后 1 年无需输血[37]。为评估罗普司亭与 ATG 和 CSA 联合治疗作为 AA 患者的一线治疗的疗效和安全性,对 12 例患者进行 6 个月的随访,有 25% 的患者达到完全缓解,41.6% 的患者达到部分缓解,16.7% 的患者没有反应;三系造血反应在治疗后 6 个月显示出改善,其中中性粒细胞绝对计数和血小板计数的改善最为显著;虽然有 2 例死亡报告,但是罗普司亭与 ATG + CSA 联合治疗作为一线治疗在临床上显示出显著的效果[38]。

在一项Ⅱ/Ⅲ期、多中心、开放标签研究中,罗普司亭以 10 μg/kg 的固定剂量皮下给药,每周 1 次,持续 4 周(第 1 ~ 4 周),然后每周给药(5、10、15 和 20 μg/kg),通过血小板反应滴定长达 52 周(第 5 ~ 52 周),证实大剂量罗普司亭在治疗 rAA 患者时有效且耐受性良好,笔者建议进一步研究以验证这些发现在更大人群中的长期效果[39]。罗普司亭已被证明可在 AA 患者中产生三系反应,增加血小板以及红细胞和中性粒细胞反应。国外进行了一项多中心Ⅱ期研究,该研究采用随机、平行、剂量探索阶段(8 周),然后对 rAA 患者进行长期开放标签扩展。在研究的 35 例患者中,接受罗普司亭 10 μg/kg 治疗的 10 例患者均表现出血小板反应,其中 30% 的患者在前 8 周内表现出红细胞反应,60% 表现出中性粒细胞反应[25]。

尽管罗普司亭在治疗 AA 方面表现出了积极的疗效,但在临床应用中仍需对其潜在的不良反应和安全性进行深入评估和监测。罗普司亭可能存在一定的不良反应,包括部分患者出现不良反应或并发症。文献指出,部分患者在接受罗普司亭治疗后可能出现不良反应,包括但不限于轻度的消化道不适、皮肤反应,以及少数患者可能出现严重的过敏反应和出血倾向[40]。研究表明,与艾曲泊帕相比,罗普司亭不存在血栓形成风险增加的信号;当然,这些结果必须通过大型药物流行病学研究来证实和量化[41]。因此,在使用罗普司亭治疗 AA 时,临床医生需要密切关注患者的治疗反应和不良反应表现,及时调整剂量并进行必要的安全性评估,以确保患者能够获得最佳的治疗效果并减少可能的不良反应。

4　罗普司亭治疗 AA 的未来展望

4.1　个体化治疗策略的发展　个体化治疗策略的发展将是未来研究的重点,以实现罗普司亭治疗 AA 的最佳疗效和最小不良反应。根据文献内容显示,当前研究对于罗普司亭治疗 AA 的个体化治疗策略发展正在逐步深入。研究人员通过对患者的临床特征、基因型、病理生理状态等方面进行深入分析,试图建立起针对不同患者个体差异的治疗方案。例如,针对不同基因型的患者,研究人员尝试确定罗普司亭的最佳治疗剂量和疗程,以确保患者获得最佳的治疗效果[42-43]。此外,一些研究还探索了罗普司亭联合其他药物治疗的可能性,以进一步增强治疗效果并减少患者可能的不良反应。研究人员还在努力建立起一套完善的评估体系,以便对患者的治疗反应和不良反应进行有效监测和评估。这些个体化治疗策略的发展将为临床医生提供更为精准的治疗方案,以满足不同患者的治疗需求,提高治疗效果并减少治疗风险。然而,尽管这一领域的研究进展迅速,但仍需要更多的临床试验和临床实践经验的积累,以验证个体化治疗策略的可行性和有效性[44]。

4.2　新型治疗靶点的探索　未来研究还应该探索罗普司亭可能作用的新型治疗靶点,以便为 AA 患者提供更为有效和安全的治疗策略。一些研究着重于探索罗普司亭在调节细胞信号通路中的作用,尤其是对于与免疫调节和造血功能密切相关的细胞信号通路的调控作用。研究人员通过深入的细胞生物学实验和动物模型研究,试图揭示罗普司亭对于不同信号通路的调节作用,以期望发现新的治疗靶点并提出相应的治疗策略[45-46]。另外,罗普司亭可能通过影响特定细胞因子或细胞分子的表达和功能来发挥治疗作用。研究人员在细胞因子信号通路的研究中发现了一些新的调节机制,这为进一步开发罗普司亭作为治疗 AA 的新型治疗靶点提供了新的思路和途径。虽然这些研究成果仍处于初步阶段,但已经为罗普司亭作为治疗 AA 的新型治疗靶点的探索奠定了基础,为未来的临床研究提供了有益的启示。

5　小结

罗普司亭作为创新型长效 TPO-RA,作用机制优势明显,不仅可以通过创新性地激活 TPO 受体的胞外结构域,全面激活下游信号通路,进一步促进巨核细胞的增殖,高效提升血小板水平,而且由于具有独特的抗体 Fc 段,可与 FcRn 相互作用,延长半衰期,从而降低给药频率,大大提高了患者依从性,有助于改善患者生存预后。罗普司亭的独特结构避免了产生中和抗体的风险。

参考文献

[1]　Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia[J]. Blood, 2017, 129(11): 1428-1436. DOI: 10.1182/blood-2016-08-693481.

[2]　Yamazaki H. Reference guide for the treatment of aplastic anemia: Key pointsof the 2022 revision[J]. Rinsho Ketsueki, 2023, 64(9): 892-899. DOI: 10.11406/rinketsu.64.892.

[3]　Sakamoto T, Obara N, Maruyama Y, et al. Repeated immunosuppressive rabbit antithymocyte globulin therapy for adult patients with relapsed or refractoryaplastic anemia[J]. Eur J Haematol, 2023, 111(5): 768-776. DOI: 10.1111/ejh.14075.

[4] Shah S, Jain P, Shah K, et al. Immunosuppressive therapy for aplastic anemia: A single-center experience from western India[J]. Ann Hematol, 2019, 98(1): 41-46. DOI: 10.1007/s00277-018-3487-2.

[5] Lionel SA, Selvarajan S, Korula A, et al. Profile and predictors of infectionfollowing Anti-thymocyte globulin or Anti-lymphocyte globulin with cyclosporine in aplastic anemia[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2023, 39(3): 419-428. DOI: 10.1007/s12288-022-01597-z.

[6] Shen Y, Li Y, Liu Q, et al. Comparison of anti-thymocyte globulin-based immunosuppressive therapy and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with transfusion-dependent non-severe aplastic anaemia: A retrospective study from a single centre[J]. Ann Med, 2023, 55(2): 2271475. DOI: 10.1080/07853890.2023.2271475.

[7] Peslak SA, Olson T, Babushok DV. Diagnosis and treatment of aplastic anemia[J]. Curr Treat Options Oncol, 2017, 18(12): 70. DOI: 10.1007/s11864-017-0511-z.

[8] Shin SH, Lee JW. The optimal immunosuppressive therapy for aplastic anemia[J]. Int J Hematol, 2013, 97(5): 564-572. DOI: 10.1007/s12185-013-1331-y.

[9] Nassani M, Fakih RE, Passweg J, et al. The role of androgen therapy in acquired aplastic anemia and other bone marrow failure syndromes[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1135160. DOI: 10.3389/fonc.2023.1135160.

[10] Kurita N, Nishikii H, Maruyama Y, et al. Safety of romiplostim administered immediately after cord-blood transplantation: A phase 1 trial[J]. Ann Hematol, 2023, 102(10): 2895-2902. DOI: 10.1007/s00277-023-05410-3.

[11] Bussel J, Kulasekararaj A, Cooper N, et al. Mechanisms and therapeutic prospects of thrombopoietin receptor agonists[J]. Semin Hematol, 2019, 56(4): 262-278. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2019.09.001.

[12] Cwirla SE, Balasubramanian P, Duffin DJ, et al. Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potent as the natural cytokine[J]. Science, 1997, 276(5319): 1696-1699. DOI: 10.1126/science.276.5319.1696.

[13] Bussel JB, Soff G, Balduzzi A, et al. A review of romiplostim mechanism of action and clinical applicability[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 2243-2268. DOI: 10.2147/DDDT.S299591.

[14] Broudy VC, Lin NL. AMG531 stimulates megakaryopoiesis in vitro by binding to Mpl[J]. Cytokine, 2004, 25(2): 52-60. DOI: 10.1016/j.cyto.2003.05.001.

[15] Kuter DJ. New thrombopoietic growth factors[J]. Clin Lymphoma Myeloma, 2007, 109(11): 4607-4616. DOI: 10.1182/blood-2006-10-019315.

[16] Wang B, Nichol JL, Sullivan JT. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of AMG 531, a novel thrombopoietin receptor ligand[J]. Clin Pharmacol Ther, 2004, 76(6): 628-638. DOI: 10.1016/j.clpt.2004.08.010.

[17] Kuter DJ. The biology of thrombopoietin and thrombopoietin receptor agonists[J]. Int J Hematol, 2013, 98(1): 10-23. DOI: 10.1007/s12185-013-1382-0.

[18] Schifferli A, Nimmerjahn F, Kühne T. Immunomodulation in primary immune thrombocytopenia: A possible role of the fc fragment of romiplostim[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1196. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01196.

[19] Perreault S, Burzynski J. Romiplostim: A novel thrombopoiesis-stimulating agent[J]. Am J Health Syst Pharm, 2009, 66(9): 817-824. DOI: 10.2146/ajhp080524.

[20] Kapur R, Aslam R, Speck ER, et al. Thrombopoietin receptor agonist (TPO-RA) treatment raises platelet counts and reduces anti-platelet antibody levels in mice with immune thrombocytopenia (ITP)[J]. Platelets, 2020, 31(3): 399-402. DOI: 10.1080/09537104.2019.1624709.

[21] Nash P, Kerschbaumer A, Dörner T, et al. Points to consider for the treatment of immune-mediated inflammatory diseases with Janus kinase inhibitors: A consensus statement[J]. Ann Rheum Dis, 2021, 80(1): 71-87. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-218398.

[22] Zhang J, Liu T, Duan Y, et al. Single-cell analysis highlights a population of Th17-polarized $CD4^+$ naive T cells showing IL6/JAK3/STAT3 activation in pediatric severe aplastic anemia[J]. J Autoimmun, 2023, 136: 103026. DOI: 10.1016/j.jaut.2023.103026.

[23] Hashemzaei M, Negahdaripour M, Heidari R, et al. Protein expression andpurification of romiplostim and analysis of its secretory production using an in silico investigated signal peptide in E. Coli[J]. Rep Biochem Mol Biol, 2023, 12(1): 27-35. DOI: 10.52547/rbmb.12.1.27.

[24] Townsley DM, Desmond R, Dunbar CE, et al. Pathophysiology and management of thrombocytopenia in bone marrow failure: Possible clinical applications of TPO receptor agonists in aplastic anemia and myelodysplastic syndromes[J]. Int J Hematol, 2013, 98(1): 48-55. DOI: 10.1007/s12185-013-1352-6.

[25] Lee JW, Lee SE, Jung CW, et al. Romiplostim in patients with refractory aplastic anaemia previously treated with immunosuppressive therapy: A dose-finding and long-term treatment phase 2 trial[J]. Lancet Haematol, 2019, 6(11): e562-e572. DOI: 10.1016/S2352-3026(19)30153-X.

[26] Ghanima W, Cooper N, Rodeghiero F, et al. Thrombopoietin receptor agonists: Ten years later[J]. Haematologica, 2019, 104(6): 1112-1123. DOI: 10.3324/haematol.2018.212845.

[27] Currao M, Balduini CL, Balduini A. High doses of romiplostim induce proliferation and reduce proplatelet formation by human megakaryocytes[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54723. DOI: 10.1371/journal.pone.0054723.

[28] Ananthakrishnan R, Hallam K, Li Q, Ramasamy R. JAK-STAT pathway incardiac ischemic stress[J]. Vascul Pharmacol, 2005, 43(5): 353-356. DOI: 10.1016/j.vph.2005.08.020.

[29] Banerjee S, Biehl A, Gadina M, et al. JAK-STAT signaling as a target forinflammatory and autoimmune diseases: Current and future prospects[J]. Drugs, 2017, 77(5): 521-546. DOI: 10.1007/s40265-017-0701-9.

[30] Groarke EM, Feng X, Aggarwal N, et al. Efficacy of JAK1/2 inhibition inmurine immune bone marrow failure[J]. Blood, 2023, 141(1): 72-89. DOI: 10.1182/blood.2022015898.

[31] Solimando AG, Desantis V, Palumbo C, et al. STAT1 overexpression triggers aplastic anemia: A pilot study unravelling novel pathogenetic insights in bone marrow failure[J]. Clin Exp Med, 2023, 23(6): 2687-2694. DOI: 10.1007/s10238-023-01017-0.

[32] Ye M, Liu G, Yang Y, et al. Network pharmacology and experimental verification of the potential mechanism of Er-Xian decoction in aplastic anemia[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 17385. DOI: 10.1038/s41598-023-44672-9.

[33] Di Buduo CA, Currao M, Pecci A, , et al. Revealing eltrombopag's promotion of human megakaryopoiesis through AKT/ERK-dependent pathway activation[J]. Haematologica, 2016, 101(12): 1479-1488. DOI: 10.3324/haematol.2016.146746.

[34] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 促血小板生成药物临床应用管理中国专家共识(2023 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(7): 535-542. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.07.002.

[35] Hosokawa K, Yamazaki H, Tanabe M, et al. High-dose romiplostim accelerates hematologic recovery in patients with aplastic anemia refractory to eltrombopag[J]. Leukemia, 2021, 35(3): 906-909. DOI: 10.1038/s41375-020-0950-6.

[36] Ise M, Iizuka H, Kamoda Y, et al. Romiplostim is effective for eltrombopag-refractory aplastic anemia: Results of a retrospective study[J]. Int J Hematol, 2020, 112(6): 787-794. DOI: 10.1007/s12185-020-02971-1.

[37] Shimizu Y, Nishikii H, Iitsuka T, et al. Hematopoietic recovery by ASXL1-mutated clones after immune suppressive therapy in a patient with severe aplastic anemia[J]. Rinsho Ketsueki, 2023, 64(1): 49-53. DOI: 10.11406/rinketsu.64.49.

[38] Dhingra G, Rajoreya A. A single-centre experience of first-line romiplostim and immunosuppressive therapy in patients with aplastic anemia[J]. Cureus, 2023, 15(4): e37682. DOI: 10.7759/cureus.37682.

[39] Jang JH, Tomiyama Y, Miyazaki K, et al. Efficacy and safety of romiplostim in refractory aplastic anaemia: A Phase II/III, multicentre, open-label study[J]. Br J Haematol, 2021, 192(1): 190-199. DOI: 10.1111/bjh.17190.

[40] Fang Q, Huang F, Liang J, et al. Safety of romiplostim and eltrombopag for children with immune thrombocytopenia: A pharmacovigilance study of the FDA adverse event reporting system database[J]. Expert Opin Drug Saf, 2023, 22(8): 707-714. DOI: 10.1080/14740338.2023.2182288.

[41] Nguyen TT, Palmaro A, Montastruc F, et al. Signal for thrombosis with eltrombopag and romiplostim: A disproportionality analysis of spontaneous reports within vigibase[J]. Drug Saf, 2015, 38(12): 1179-1186. DOI: 10.1007/s40264-015-0337-1.

[42] Kurita N, Nishikii H, Maruyama Y, et al. Safety of romiplostim administered immediately after cord-blood transplantation: A phase 1 trial[J]. Ann Hematol, 2023, 102(10): 2895-2902. DOI: 10.1007/s00277-023-05410-3.

[43] González-López TJ, Provan D. Sustained remission off-treatment (SROT) of TPO-RAs: The burgos ten-step eltrombopag tapering scheme[J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(4): 659. DOI: 10.3390/medicina59040659.

[44] Gilreath J, Lo M, Bubalo J. Thrombopoietin receptor agonists (TPO-RAs): Drug class considerations for pharmacists[J]. Drugs, 2021, 81(11): 1285-1305. DOI: 10.1007/s40265-021-01553-7.

[45] Bianchi E, Rontauroli S, Tavernari L, et al. Inhibition of ERK1/2 signaling prevents bone marrow fibrosis by reducing osteopontin plasma levels in a myelofibrosis mouse model[J]. Leukemia, 2023, 37(5): 1068-1079. DOI: 10.1038/s41375-023-01867-3.

[46] Gábris F, Kiss G, Szirmay B, et al. Absence of Nkx2-3 induces ectopic lymphatic endothelial differentiation associated with impaired extramedullary stress hematopoiesis in the spleen[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1170389. DOI: 10.3389/fcell.2023.1170389.

(收稿日期:2023－11－17)

(上接 503 页)

[43] Zhang Y, Lu W, Zhang X, et al. Cryptotanshinone protects against pulmonary fibrosis through inhibiting smad and STAT3 signaling pathways[J]. Pharmacol Res, 2019, 147: 104307. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104307.

[44] 李雯雯,李小玲,赵荫环. 系统性硬化症中西医发病机制及治疗进展[J]. 现代中西医结合杂志,2020,29(19):2158-2163. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2020.19.027.

[45] 邹有硕,赵洋. 矽肺发病机制及干细胞治疗研究进展[J]. 中国工业医学杂志,2021,34(5):416-419. DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2021.05.010.

[46] 梅凤,凌瑞杰,尹琴等. 中医药治疗矽肺进展[J]. 中国工业医学杂志,2022,35(3):233-237. DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2022.03.014.

[47] 蔡金云,傅萍. 硬皮病相关皮肤损害治疗的研究进展[J]. 疑难病杂志,2021,20(6):645-648. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.06.025.

[48] 刘俊龙,向阳. 系统性硬化症研究现状及治疗进展[J]. 世界最新医学信息文摘,2018,18(27):21-22,24. DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.27.009.

[49] 马海彬,黄纪荣,张德良. 纤维支气管镜介入治疗矽肺合并肺结核的临床价值[J]. 中国医疗器械信息,2022,28(3):110-112,172. DOI: 10.15971/j.cnki.cmdi.2022.03.044.

[50] 毛文君. 肺移植治疗终末期尘肺的临床研究[D]. 南京:南京医科大学,2023.

(收稿日期:2023－10－25)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 025

综　述

乳腺肉瘤临床诊治研究进展

张光文,成晨综述　王世明审校

基金项目: 山西省基础研究计划项目资助项目(202203021221250)
作者单位: 030001　太原,山西医科大学第一临床医学院(张光文、成晨);山西医科大学第一医院乳腺外科(王世明)
通信作者: 王世明,E-mail:wangshimingSX@ sina. com

【摘　要】 乳腺肉瘤是一种罕见的乳腺疾病,是一组起源于乳腺间叶组织的恶性肿瘤。因其具有独特的病史、治疗反应和预后,所以必须为这一类型肿瘤制订不同的诊断方法和治疗策略。由于该疾病罕见,目前对乳腺肉瘤的了解有限,主要是基于小的回顾性研究或病例报道。因此,治疗方法一般参考从其他软组织肉瘤的随机对照试验中得出结论。文章就乳腺肉瘤的病因、诊断方法、治疗策略和预后进行综述,并为寻求新的诊断治疗方法提供思路。

【关键词】 乳腺肉瘤;诊断;治疗;预后
【中图分类号】 R737.9　　【文献标识码】 A

Research progress in clinical diagnosis and treatment of breast sarcoma

*Zhang Guangwen**, *Cheng Chen*, *Wang Shiming*. * *The First Clinical College of Shanxi Medical University*, *Shanxi Province*, *Taiyuan* 030001, *China*
Funding program: *Shanxi Province Basic Research Program Project Funding Project* (202203021221250)
Corresponding author: *Wang Shiming*, *E-mail*: *wangshimingSX@ sina. com*

【**Abstract**】 Breast sarcoma is a rare breast disease, which is a group of malignant tumors originated from the mesenchymal tissue of the breast. Because of its unique medical history, treatment response and prognosis, it is necessary to develop different diagnostic methods and treatment strategies for this type of tumor. Because of its rarity, the current understanding of breast sarcoma is limited, mainly based on small retrospective studies or case reports. Therefore, the treatment generally refers to the conclusions drawn from randomized controlled trials of other soft tissue sarcomas. This article describes the etiology, diagnosis, treatment strategy and prognosis of breast sarcoma, and provides ideas for seeking new treatment methods.

【**Key words**】 Breast sarcoma; Diagnosis;Treatment; Prognosis

乳腺肉瘤是一种罕见的起源于间叶组织的肿瘤类型[1],在所有乳腺恶性肿瘤中占比不到 1%,在所有肉瘤中占比不到 5%,而且往往主要影响绝经后妇女[2]。乳腺肉瘤是一种具有异质性的肿瘤,与其他解剖位置的软组织肉瘤一样有很多类型,包括间质肉瘤、血管肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、软骨肉瘤、平滑肌肉瘤、未分化多形性肉瘤和卡波西肉瘤等[1,3-4]。乳腺肉瘤包括原发性和继发性乳腺肉瘤,其中血管肉瘤是最常见的类型[5]。由于这种疾病罕见且病例数量很少,与这种潜在侵袭性疾病相关的知识和常见临床实践在很大程度上是由小样本回顾性研究、病例报道和来自四肢软组织肉瘤的较大前瞻性研究的推断数据来指导的。文章对其近年来临床诊治研究进展予以综述。

1　乳腺肉瘤的病因、发病机制

由于乳腺肉瘤是一种罕见肿瘤,其病因与发病机制未经深入研究,在大多数情况下,无法确定致病因素。然而,有研究表明原发性乳腺肉瘤与激素、妊娠、病毒感染及某些遗传综合征(Li-Fraumeni 综合征和遗传性视网膜母细胞瘤)等因素相关[6-9];继发性乳腺肉瘤通常见于另一种胸部恶性肿瘤放疗后,被认为与既往乳腺或胸壁肿瘤放射治疗病史、慢性淋巴水肿(Stewart-Treves 综合征)以及长期暴露于化学制剂氯乙烯、砷和烷化剂等有关[10],这些因素引起 DNA 损伤,然后导致基因组(如 BRCA、p53 等)不稳定发生突变,从而可能导致肉瘤的发生发展[11]。其中乳腺血管肉瘤的发生发展可能与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)有关,它作用于血管内皮细胞,通过刺激内皮细胞增殖而诱导肿瘤扩散[12]。

2　乳腺肉瘤的临床表现

乳腺肉瘤好发于中老年女性,单侧多见,通常表现为大而无痛且质硬的乳腺肿块,生长迅速,肿瘤的中位直径 5 ~ 6 cm[13]。另外,血管肉瘤可累及乳腺表面皮肤,发生皮肤增厚或者皮肤变色,出现皮下蓝色或紫红色肿块[14]。乳腺肉瘤较少累及淋巴结,多以血行转移为主,早期易发生远处转移,常见部位为肺、肝、对侧乳腺、皮肤及皮下组织、骨、脑及卵巢等[15]。

3　乳腺肉瘤的诊断与鉴别诊断

3.1　乳腺肉瘤的诊断

3.1.1　影像学检查:患者出现乳腺肿块后首先使用影像学检查对病灶进行评估,包括乳房 X 线摄影、超声、磁共振(MR)等

检查,根据患者的年龄和临床病史,选取合适的影像学检查。在乳房 X 线摄影片上,乳腺肉瘤可以表现为边界清晰、形状规则的椭圆形肿块,也可以表现为边界不清、形状不规则、结构扭曲的肿块影;超声检查一般表现为边缘模糊或有毛刺的不规则低回声肿块;MR 同样显示边缘不规则或毛刺的病变,以及各种不同的内部强化[16]。最新的回顾性研究报道显示[17],在乳腺肉瘤相关的乳房 X 线摄影检查中,58.1% 的病例被诊断为 BI-RADS 4 或 5 类,41.9% 的病例被记录为 BI-RADS 3 类,这意味着乳腺肉瘤通常在乳房 X 线摄影中检出率很高。

3.1.2　病理学检查:活组织病理检查是诊断乳腺肉瘤的金标准[17]。常用的活检方法有空芯针穿刺活检(CNB)、真空辅助旋切活检系统(VAB)和细针针吸细胞学(FNAC),前两者病理诊断准确率高,可达 90% ~97%[18]。对于疑似肉瘤不应进行 FNAC,因为细针针吸标本不能准确确定组织学亚型和分级。CNB 是首选方法,对于上述方法不能明确诊断,可将肿块连同周围乳腺组织一并切除,作术中冰冻活检或病理检查。肉眼观察,乳腺肉瘤通常是呈鱼肉状,质硬,伴有一定量的出血和坏死[19]。组织的免疫组织化学检查也是必不可少的,不仅是为了区分肉瘤和癌症,也是为了进一步将肉瘤分类为不同的亚型。肉瘤缺乏癌等上皮性肿瘤中常见的细胞角蛋白和肌上皮标志物[1]。肿瘤大小和肿瘤组织学分级是主要的病理预后因素,肿瘤分化、核分裂指数和边界浸润性也被发现是预后因素[20]。因此,准确的组织学诊断至关重要。

3.1.3　分期:乳腺肉瘤的分期是基于美国癌症联合委员会(AJCC)对软组织肉瘤的分期,乳腺肉瘤的 AJCC 分期考虑了原发肿瘤的特征、肿瘤分化、核分裂指数、组织学分级和有无远处转移,并对预后起着重要作用[21]。由于乳腺癌主要通过淋巴结转移,而乳腺肉瘤容易通过血行转移,一旦发生淋巴结转移则被定义为Ⅳ期;因此,前哨淋巴结活检不是常规的检查。影像学检查则可用于评估肺、骨和肝脏,这是通过血行转移最常见的远处转移部位[18]。因此,所有乳腺肉瘤患者都应该接受胸部 CT、腹部和骨盆 CT 和骨扫描等影像学检查。

3.2　乳腺肉瘤的鉴别诊断

3.2.1　乳腺叶状肿瘤:乳腺叶状肿瘤是一种少见的纤维上皮性肿瘤,占所有肿瘤的 0.3% ~1.0%[22]。其病因尚不明确。创伤、怀孕、雌激素活性升高和哺乳有可能是刺激肿瘤生长的因素,另外有研究表明内皮素-1(endothelin-1)可能在叶状肿瘤发生发展中发挥作用[23]。乳腺叶状肿瘤通常较大,生长迅速,主要发生在中年妇女(40 ~50 岁)。病理学检查是确诊的关键,因为乳腺叶状肿瘤、乳腺肉瘤和乳腺纤维腺瘤在临床上仅通过影像学检查很难区分。根据组织学特征,世界卫生组织(WHO)将叶状肿瘤分为良性、交界性和恶性三类[24]。乳腺叶状肿瘤的主要治疗方法是手术,包括保乳手术和乳房切除术。同时乳腺叶状肿瘤的治疗需要多学科参与协作,包括外科医生、病理医生和放射科医生以及护理人员,以实现最佳的临床诊疗。

3.2.2　乳腺硬纤维瘤:乳腺硬纤维瘤占所有硬纤维瘤的 4%,占所有乳腺肿瘤的 0.2%[25]。乳腺硬纤维瘤可能与怀孕和口服避孕药有关,其他相关危险因素包括乳腺既往创伤史和乳腺相关手术史[5,25]。硬纤维瘤是典型的局部侵袭性生长肿瘤,一般不发生远处转移,而肉瘤早期容易出现远处转移[22]。病理学检查仍是确诊的关键。治疗方式包括手术治疗、局部放射治疗和药物治疗。治疗方式和药物的选择以及治疗顺序的选择主要取决于个体患者的特征、肿瘤特征(如大小、位置、侵袭程度和生长速度),以及每种治疗模式引起反应的程度等[26]。

4　乳腺肉瘤的治疗

4.1　手术治疗　手术是治疗局限性乳腺肉瘤的主要手段。乳腺肉瘤的手术治疗包括全乳切除术和保乳手术。多年来,全乳切除术一直被认为是治疗乳腺肉瘤的标准手术治疗。1961 年,Berg 等[27]证明,与肿瘤广泛切除相比,全乳切除术与更高的局部控制率有关。然而,随着保乳手术越来越受欢迎,这种方法受到了挑战。很多研究表明[20,28-29],保乳手术和全乳切除术的存活率和局部控制率没有差异。Toesca 等[30]证实,手术范围和重建类型对乳腺肉瘤患者的局部控制和生存没有显著影响。保乳手术的手术切缘阳性对总体生存率有不利影响,并增加局部复发的风险,与较宽的切缘相比,切缘较近也与局部复发的风险较高有关[31-32]。一般建议所有切除的乳腺肉瘤至少具有 1 cm 的阴性切缘[18]。手术切缘阴性和肿瘤大小是决定手术切除的乳腺肉瘤患者病死率的 2 个最重要的因素,小于 5 cm 的肿瘤与较好的总体存活率相关[20]。因此,每个患者的手术治疗都应该量身定做,对于小到中等大小的乳腺肉瘤,如果能达到手术切缘阴性且美容效果可接受,可以选择保乳手术治疗。

乳腺肉瘤和其他软组织肉瘤一样,主要转移途径是血源性转移,淋巴结转移很少见。一项研究表明,大约 40% 的乳腺肉瘤患者接受了不同程度的腋窝淋巴结清扫,仅有 6/246 例阳性病例[33]。因此前哨淋巴结活检、腋窝淋巴结清扫被认为是不必要的,只有在影像学检查高度怀疑腋窝淋巴结转移或者存在组织学证实的淋巴结转移才进行腋窝淋巴结清扫术。

4.2　化学治疗　辅助化疗在治疗乳腺肉瘤中的作用尚不明确,但化疗是目前晚期乳腺肉瘤的一线治疗方法。Gutman 等[34]的证据表明,接受辅助化疗的患者的无病存活率增加,总体存活率有改善的趋势。但在大多数研究中,乳腺肉瘤对化疗,特别是新辅助化疗的应答率有限,研究人员并未提及建议[20,28,35]。Zelek 等[36]提出了应该为高级别肿瘤或肿瘤直径超过 5 cm 的患者提供辅助化疗的观点。一项对美国全国范围内的乳腺血管肉瘤的分析显示,接受辅助化疗的大肿瘤(>5 cm)患者的生存率延长[37]。目前还没有评估化疗对乳腺肉瘤益处的前瞻性试验。因此,乳腺肉瘤的治疗建议通常来源于对所有软组织肉瘤的试验或回顾性研究,其中包括极少数乳腺肉瘤。化疗方案多种多样,包括环磷酰胺、蒽环类、紫杉醇和吉西他滨。30 多年来,蒽环类药物一直是化疗的主要药物,几乎在所有肉瘤组织类型中都有效。阿霉素单独治疗晚期软组织肉瘤的有效率(response rates, RR)接近 20%,但存在剂量—反应关系[38]。环磷酰胺是另一种治疗软组织肉瘤的药物,对滑膜肉瘤具有明显作用[39]。阿霉素联合环磷酰胺是转移性软组织肉瘤一线治疗中最常用的药物组合,推荐于肿瘤负荷较高的患者。2 种药物联合用药会引起更多的毒副反应,最重要的是中性粒细胞减少症[38]。对于不适合联合用药方案的患者,多柔比星具有较低的毒副作用,尤其是骨髓抑制,常被作为替代药物。吉

西他滨和多西他赛是另一种联合用药方案。Seddon 等[40]的一项大型多中心Ⅲ期随机对照试验,随机将 257 例患者在第 1 天和第 8 天分别接受吉西他滨 675 mg/m^2,第 8 天接受多西他赛 75 mg/m^2 治疗,与一线治疗的阿霉素 75 mg/m^2 相比,疗效相似,而联合用药与较差的治疗依从性和生活质量评分有关。

4.3　放射治疗　目前没有明确的证据表明辅助放射治疗在治疗乳腺肉瘤方面具有长期益处。一些研究尚未发现辅助放射治疗对于改善乳腺肉瘤预后有作用[28,41]。但 Johnstone 等[42]回顾分析了 10 例接受乳房切除术和辅助放射治疗的原发乳腺肉瘤患者,结果表明辅助放射治疗可以很好地对疾病进行局部控制,但这项研究的局限性是没有与单独接受手术的患者进行比较。Gutman 等[34]总结了 MD 安德森癌症中心在乳腺肉瘤方面的经验,表明可以通过辅助放射治疗来降低局部复发率。McGowan 等[43]研究表明,与接受放射剂量 < 48 Gy 的患者相比,接受 ≥48 Gy 放射剂量的患者的局部复发率降低。虽然这一差异并未达到统计学意义,但仍建议术后对瘤床进行至少 60 Gy 剂量射线的照射,尤其是肿瘤较大或者病理分级较高时。另外,由于血管肉瘤是一种具有高度侵袭性的乳腺肉瘤,Monroe 等[44]建议血管肉瘤的放射部位应该比其他肉瘤面积更大。

5　乳腺肉瘤的预后

已报道的乳腺肉瘤临床预后数据具有很大的变异性,其中 5 年总生存率为 55% ~ 73%,5 年无瘤生存率为 29.2% ~ 68.0%[17]。乳腺肉瘤的预后高度依赖于组织类型、组织学分级和肿瘤大小。血管肉瘤是一种乳腺肉瘤的组织学亚型,预后较差;预后不良在很大程度上是因为出现晚期临床疾病的患者比例较高[45]。手术范围和切缘状况也是一个重要的预后因素。手术切缘阴性是局部控制和提高无病生存率的有利预后因素[28]。一项对年龄、肿瘤大小、深度和切缘状况进行调整的大型多变量分析研究表明,与散发性乳腺肉瘤相比,放射性乳腺肉瘤的生存率较低,既往放射治疗是一个独立的预后因素[46]。与浸润性或原位乳腺癌患者相似,乳腺肉瘤患者也应密切关注。然而,由于疾病的生物学以及分期和预后的不同,乳腺肉瘤患者应该遵循美国国立综合癌症网络(NCCN)关于软组织肉瘤的指南,包括规律复查以了解病史、定期行体检以及影像学检查等。

6　小结与展望

乳腺肉瘤是一种罕见疾病,因此目前还没有随机试验来指导标准化治疗。一般来说,无远处转移的乳腺肉瘤的治疗需要有足够的切除范围。如果保乳手术可以获得足够的切缘和满意的美容效果,就可以避免全乳切除术。辅助放射治疗,特别是在边缘不足的情况下,显示出改善局部控制和可能改善总体存活率的趋势。因为乳腺肉瘤主要转移途径是血行转移,因此前哨淋巴结和腋窝淋巴结清扫术一般不适用。化疗的作用尚不清楚,在这一领域还需要进行更多的研究。目前乳腺肉瘤的治疗手段有限,急需新的治疗方法介入,新的治疗方法的发展将依赖于组织学特异性策略的发现,同时利用肉瘤亚型特有的生物学行为、分子途径和药物敏感性等特点。

参考文献

[1]　Duncan MA, Lautner MA. Sarcomas of the breast [J]. Surg Clin North Am, 2018, 98 (4): 869-876. DOI: 10.1016/j.suc.2018.03.013.

[2]　Hsu C, McCloskey SA, Peddi PF. Management of breast sarcoma[J]. Surg Clin North Am, 2016, 96 (5): 1047-1058. DOI: 10.1016/j.suc.2016.05.004.

[3]　Lahat G, Lev D, Gerstenhaber F, et al. Sarcomas of the breast [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2012, 12 (8): 1045-1051. DOI: 10.1586/era.12.82.

[4]　Smith TB, Gilcrease MZ, Santiago L, et al. Imaging features of primary breast sarcoma [J]. AJR Am J Roentgenol, 2012, 198 (4): W386-93. DOI: 10.2214/AJR.11.7341.

[5]　Li GZ, Raut CP, Hunt KK, et al. Breast sarcomas, phyllodes tumors, and desmoid tumors: Epidemiology, diagnosis, staging, and histology-specific management considerations [J]. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2021, 41: 390-404. DOI: 10.1200/EDBK_321341.

[6]　Lahat G, Lazar A, Lev D. Sarcoma epidemiology and etiology: Potential environmental and genetic factors [J]. Surg Clin North Am, 2008, 88 (3): 451-481, v. DOI: 10.1016/j.suc.2008.03.006.

[7]　Lum YW, Jacobs L. Primary breast sarcoma [J]. Surg Clin North Am, 2008, 88 (3): 559-570, vi. DOI: 10.1016/j.suc.2008.03.009.

[8]　Thomas DM, Ballinger ML. Etiologic, environmental and inherited risk factors in sarcomas [J]. J Surg Oncol, 2015, 111 (5): 490-495. DOI: 10.1002/jso.23809.

[9]　Kleinerman RA, Tucker MA, Abramson DH, et al. Risk of soft tissue sarcomas by individual subtype in survivors of hereditary retinoblastoma [J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99 (1): 24-31. DOI: 10.1093/jnci/djk002.

[10]　Verdin V, Mattart L, Cusumano PG, et al. Angiosarcoma associated with radiation therapy after treatment of breast cancer. Retrospective study on ten years [J]. Cancer Radiother, 2021, 25 (2): 114-118. DOI: 10.1016/j.canrad.2020.05.020.

[11]　Kadouri L, Sagi M, Goldberg Y, et al. Genetic predisposition to radiation induced sarcoma: Possible role for BRCA and p53 mutations [J]. Breast Cancer Res Treat, 2013, 140 (1): 207-211. DOI: 10.1007/s10549-013-2621-z.

[12]　El-Ghazzi N, Bay JO. Rare tumors: Angiosarcoma[J]. Bull Cancer, 2023, 110 (5): 581-588. DOI: 10.1016/j.bulcan.2023.03.002.

[13]　Surov A, Holzhausen H J, Ruschke K, et al. Primary breast sarcoma: Prevalence, clinical signs, and radiological features [J]. Acta Radiol, 2011, 52 (6): 597-601. DOI: 10.1258/ar.2011.100468.

[14]　Morgan EA, Kozono DE, Wang Q, et al. Cutaneous radiation-associated angiosarcoma of the breast: Poor prognosis in a rare secondary malignancy [J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19 (12): 3801-3808. DOI: 10.1245/s10434-012-2563-4.

[15]　Baker GM, Schnitt SJ. Vascular lesions of the breast [J]. Semin Diagn Pathol, 2017, 34 (5): 410-419. DOI: 10.1053/j.semdp.2017.05.013.

[16]　Wienbeck S, Meyer HJ, Herzog A, et al. Imaging findings of primary breast sarcoma: Results of a first multicenter study [J]. Eur J Radiol, 2017, 88: 1-7. DOI: 10.1016/j.ejrad.2016.12.020.

[17]　Lim SZ, Ong KW, Tan BK, et al. Sarcoma of the breast: An update on a rare entity [J]. J Clin Pathol, 2016, 69 (5): 373-381. DOI: 10.1136/jclinpath-2015-203545.

[18]　Al-Benna S, Poggemann K, Steinau HU, et al. Diagnosis and manage-

ment of primary breast sarcoma [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 122(3): 619-626. DOI: 10.1007/s10549-010-0915-y.

[19] Teshome M, Kuerer HM. Training of breast surgical oncologists [J]. Chin Clin Oncol, 2016, 5(3): 43. DOI: 10.21037/cco.2016.03.14.

[20] Fields RC, Aft RL, Gillanders WE, et al. Treatment and outcomes of patients with primary breast sarcoma [J]. Am J Surg, 2008, 196(4): 559-561. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.06.010.

[21] Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The eighth edition ajcc cancer staging manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(2): 93-99. DOI: 10.3322/caac.21388.

[22] Esperanca-Martins M, Melo-Alvim C, Damaso S, et al. Breast sarcomas, phyllodes tumors, and desmoid tumors: Turning the magnifying glass on rare and aggressive entities [J]. Cancers (Basel), 2023, 15(15): 3933. DOI: 10.3390/cancers15153933.

[23] Alkushi A, Arabi H, Al-Riyees L, et al. Phyllodes tumor of the breast clinical experience and outcomes: A retrospective cohort tertiary hospital experience [J]. Ann Diagn Pathol, 2021, 51: 151702. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2021.151702.

[24] Tan PH. Refining the classification of breast phyllodes tumours [J]. Pathology, 2023, 55(4): 437-448. DOI: 10.1016/j.pathol.2023.02.001.

[25] Lorenzen J, Cramer M, Buck N, et al. Desmoid type fibromatosis of the breast: Ten-year institutional results of imaging, histopathology, and surgery [J]. Breast Care (Basel), 2021, 16(1): 77-84. DOI: 10.1159/000507842.

[26] Federman N. Molecular pathogenesis of desmoid tumor and the role of gamma-secretase inhibition [J]. NPJ Precis Oncol, 2022, 6(1): 62. DOI: 10.1038/s41698-022-00308-1.

[27] Berg JW, Decrosse JJ, Fracchia AA, et al. Stromal sarcomas of the breast. A unified approach to connective tissue sarcomas other than cystosarcoma phyllodes [J]. Cancer, 1962, 15: 418-424. DOI: 10.1002/1097-0142(196203/04)15:2<418::Aid-cncr2820150226>3.0.co;2-v.

[28] Bousquet G, Confavreux C, Magne N, et al. Outcome and prognostic factors in breast sarcoma: A multicenter study from the rare cancer network [J]. Radiother Oncol, 2007, 85(3): 355-361. DOI: 10.1016/j.radonc.2007.10.015.

[29] Pasta V, Monti M, Cialini M, et al. Primitive sarcoma of the breast: New insight on the proper surgical management [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34(1): 72. DOI: 10.1186/s13046-015-0190-1.

[30] Toesca A, Spitaleri G, De Pas T, et al. Sarcoma of the breast: Outcome and reconstructive options [J]. Clin Breast Cancer, 2012, 12(6): 438-444. DOI: 10.1016/j.clbc.2012.09.008.

[31] Jallali N, James S, Searle A, et al. Surgical management of radiation-induced angiosarcoma after breast conservation therapy [J]. Am J Surg, 2012, 203(2): 156-161. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2010.12.011.

[32] Cohen-Hallaleh RB, Smith HG, Smith RC, et al. Radiation induced angiosarcoma of the breast: Outcomes from a retrospective case series [J]. Clin Sarcoma Res, 2017, 7: 15. DOI: 10.1186/s13569-017-0081-7.

[33] Gullett NP, Delman K, Folpe AL, et al. National surgical patterns of care: Regional lymphadenectomy of breast sarcomas [J]. Am J Clin Oncol, 2007, 30(5): 461-465. DOI: 10.1097/COC.0b013e31804b40f4.

[34] Gutman H, Pollock RE, Ross MI, et al. Sarcoma of the breast: implications for extent of therapy. The M. D. Anderson experience [J]. Surgery, 1994, 116(3): 505-509.

[35] Fraga-Guedes C, Gobbi H, Mastropasqua MG, et al. Primary and secondary angiosarcomas of the breast: A single institution experience [J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 132(3): 1081-1088. DOI: 10.1007/s10549-011-1931-2.

[36] Zelek L, Llombart-Cussac A, Terrier P, et al. Prognostic factors in primary breast sarcomas: A series of patients with long-term follow-up [J]. J Clin Oncol, 2003, 21(13): 2583-2588. DOI: 10.1200/JCO.2003.06.080.

[37] McClelland S 3rd, Hatfield J, Degnin C, et al. Extent of resection and role of adjuvant treatment in resected localized breast angiosarcoma [J]. Breast Cancer Res Treat, 2019, 175(2): 409-418. DOI: 10.1007/s10549-019-05172-5.

[38] Judson I, Verweij J, Gelderblom H, et al. Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: A randomised controlled phase 3 trial [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(4): 415-423. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70063-4.

[39] Sleijfer S, Ouali M, van Glabbeke M, et al. Prognostic and predictive factors for outcome to first-line ifosfamide-containing chemotherapy for adult patients with advanced soft tissue sarcomas: An exploratory, retrospective analysis on large series from the European Organization for Research and Treatment of Cancer-Soft Tissue and Bone Sarcoma Group (EORTC-STBSG) [J]. Eur J Cancer, 2010, 46(1): 72-83. DOI: 10.1016/j.ejca.2009.09.022.

[40] Seddon B, Strauss SJ, Whelan J, et al. Gemcitabine and docetaxel versus doxorubicin as first-line treatment in previously untreated advanced unresectable or metastatic soft-tissue sarcomas (GeDDiS): A randomised controlled phase 3 trial [J]. Lancet Oncol, 2017, 18(10): 1397-1410. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30622-8.

[41] Blanchard DK, Reynolds CA, Grant CS, et al. Primary nonphylloides breast sarcomas [J]. Am J Surg, 2003, 186(4): 359-361. DOI: 10.1016/s0002-9610(03)00269-1.

[42] Johnstone PA, Pierce LJ, Merino MJ, et al. Primary soft tissue sarcomas of the breast: Local-regional control with post-operative radiotherapy [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1993, 27(3): 671-675. DOI: 10.1016/0360-3016(93)90395-c.

[43] McGowan TS, Cummings BJ, O'Sullivan B, et al. An analysis of 78 breast sarcoma patients without distant metastases at presentation [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2000, 46(2): 383-390. DOI: 10.1016/s0360-3016(99)00444-7.

[44] Monroe AT, Feigenberg SJ, Mendenhall NP. Angiosarcoma after breast-conserving therapy [J]. Cancer, 2003, 97(8): 1832-1840. DOI: 10.1002/cncr.11277.

[45] Sheth GR, Cranmer LD, Smith BD, et al. Radiation-induced sarcoma of the breast: A systematic review [J]. Oncologist, 2012, 17(3): 405-418. DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0282.

[46] Gladdy RA, Qin L X, Moraco N, et al. Do radiation-associated soft tissue sarcomas have the same prognosis as sporadic soft tissue sarcomas [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(12): 2064-2069. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.1728.

(收稿日期:2023－11－07)