



主 管
中华人民共和国国家
卫生健康委员会

主 办
中国医师协会

编 辑
疑难病杂志编辑委员会

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

名誉总编辑
吴以岭

总编辑
贾振华

社长 主编
马 智

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

印 刷
石家庄市汇昌印刷有限公司

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

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

零 售
疑难病杂志编辑部

广告发布登记号
石高新 13010120190001 号

定 价
每期 12.00 元 全年 144.00 元

中国标准连续出版物号
ISSN 1671-6450
CN 13-1316/R

2022 年版权归疑难病杂志社所有

本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会
的观点, 除非特别声明; 未经本刊编辑部
许可, 不得转载和摘编; 本刊如有印
刷问题, 请向本社调换

热烈庆祝党的二十大胜利召开

目 次

一切为了人民健康——我们这十年

中国胸痛中心建设这十年 向定成 1005

指南解读

放射学阴性中轴型脊柱关节炎评估和治疗新进展:

2021 年澳大利亚共识声明解读

..... 谷金玉 夏迪 李法杰 万田豪 李凯明 李玲慧 张清 1008

论著·临床

冠状动脉瘤样扩张患者血清 Adropin 蛋白、hs-CRP 水平变化

及相关性分析 王丽娜 马娜 刘燕 孙小刚 1014

基于血管修复因子、神经递质探讨脑循环治疗仪联合

美金刚治疗阿尔茨海默病机制

..... 范彩芹 许海宁 何文杰 王星南 高莎莎 王国强 李俊飞 1019

帕金森病患者血清 circRNA DLGAP4 和 circRNA SAMD4A 表达

与病情严重程度及认知障碍相关性研究

..... 柴琴琴 范磊 刘星亮 岳秉宏 1024

脑卒中后并发血管性认知功能障碍与血清 PTEN、HDAC3 水平的

关系及危险因素 姚洁 朱倩 褚丽芳 王尚臣 1030

血清 α -MSH 和 MCP-1 对急性胰腺炎严重程度早期评估及预后的

预测价值 陶丽华 左爽 孙飞 骆佳艳 李海山 1035

自拟泄浊解毒方联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎患者

临床疗效观察 李雪可 康欣 赵源 刘建平 1040

血清 CysC、MCP-1 与高尿酸血症患者非布司他治疗效果的相关性	胡梦婷 干佳琦 潘飞 刘梅	1047
自拟清热利湿通络方联合依托考昔片治疗急性痛风性关节炎的效果及对血清炎性因子的影响	袁齐 冯家银 李莲 邓红玲	1053
辛伐他汀辅助治疗对子宫内膜异位症术后患者氧化应激状态及 IGF-1、VEGF 水平的影响	雷玉荣 刘宇 陈玉花 毕雪玲 李春芳	1058
基于循环 microRNAs 预测模型在子痫前期早期诊断中的应用	许琳 王茹 张忠霞 黄素静 罗书	1063
急性呼吸窘迫综合征患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平变化及临床意义	宋宇雷 曹建设 王承娟 贺杰 肖政辉 张新萍	1069
儿童急性淋巴细胞白血病血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达及临床意义	卫雪利 费英山 张银娟 刘静 马金海	1075

论著·基础

FKBP11 下调对肾癌细胞增殖、迁移、侵袭及 TGF-β ₁ /Smad3 通路的影响	张苗 何德娇 凌娜 李小丽 梁轶岚 张丽丽 胡威	1081
lncRNA NRON 靶向 miR-185-5p 调节乳腺癌细胞化疗耐药性的机制研究	汪伶俐 田武国 赵健洁 罗东林	1088

罕见病例

伴有亚临床甲状腺功能减退的脊髓亚急性联合变性 1 例并文献复习	冯潇潇 齐倩倩 刘卫刚 董艳红 吕佩源	1096
颈总动脉颈内静脉瘘 1 例	田弘极 王静	1098
甲状腺功能亢进继发 Takotsubo 综合征 1 例	徐鹏 鲁玉明 吴立荣	1099

综 述

遗传性出血性毛细血管扩张症的药物治疗进展	赵琳 周宪梁	1101
瞬时受体电位通道在食管疾病中的作用及机制研究进展	吴静 余晓云 沈磊	1105
二肽基肽酶-4 抑制剂与感染 SARS-CoV-2 糖尿病患者的相关性研究进展	杨海珍 何鑫 胡克	1109
抗 Ri 抗体阳性的神经系统副肿瘤综合征研究进展	李自超 葛朝明	1113

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 21, Number 10 18 October, 2022

Responsible Institution

National Health Commission of
the People's Republic of China

Sponsor

Chinese Medical Doctor Association

Editing

Editorial Board of Chinese Journal of Difficult
and Complicated Cases

Adviser

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

Honorary Editor-in-Chief

Wu Yiling

Editor-in-Chief

Jia Zhenhua

Managing Director

Ma Zhi

Publishing

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

Printing

Shijiazhuang Huichang Printing House

Overseas Distributor

China International Book
Trading Corporation
Code No. M6888

Overseas Price

\$ 12.00 per issue; \$ 144.00 a year

CSSN

ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2022 by Publishing House of Chinese
Journal of Difficult and Complicated Cases

All articles published represent the opinions of the
authors, do not reflect the official policy of the editorial
board, unless clearly specified.

CONTENTS

All For People's Health

China Chest Pain Center construction: development in the past decade

..... Xiang Dingcheng 1005

Guideline Interpretation

New progress in evaluation and treatment of radiologically negative axial

spondyloarthritis: interpretation of the Australian consensus

statement in 2021 Gu Jinyu, Xia Di, Li Fajie, et al 1008

Original Article: Clinical Research

Correlation analysis of Adropin protein and hs-CRP levels in patients with

coronary artery ectasia Wang Lina, Ma Na, Liu Yan, et al 1014

Study on the mechanism of cerebral circulation therapeutic apparatus

combined with memantine in treating Alzheimer's disease based

on vascular repair factor and neurotransmitter

..... Fan Caiqin, Xu Haining, He Wenjie, et al 1019

Correlation between the expression of circRNA DLGAP4 and circRNA

SAMD4A in serum and the severity of the disease and cognitive

impairment in patients with Parkinson's disease

..... Chai Qinqin, Fan Lei, Liu Xingliang, et al 1024

The relationship between vascular cognitive dysfunction and serum PTEN,

HDAC3 levels after stroke and its risk factors

..... Yao Jie, Zhu Qian, Chu Lifang, et al 1030

Predictive value of serum α -MSH and MCP-1 in early assessment and

prognosis of acute pancreatitis severity

..... Tao Lihua, Zuo Shuang, Sun Fei, et al 1035

Clinical observation on the therapeutic effect of self-made Xiezhuo Jiedu

Recipe combined with mesalazine on patients with ulcerative colitis

..... Li Xueke, Kang Xin, Zhao Yuan, et al 1040

Correlation between serum CysC, MCP-1 and the therapeutic effect of febuxostat in patients with hyperuricemia	Hu Mengting, Gan Jiaqi, Pan Fei,et al	1047
Effect of Self-made <i>Qingre Lishi Tongluo</i> Formula combined with etocoxib on acute gouty arthritis and its influence on serum inflammatory factors	Yuan Qi, Feng Jiayin, Li Lian,et al	1053
Effects of simvastatin on oxidative stress and IGF-1, VEGF levels in patients with endometriosis after operation	Lei Yurong, Liu Yu, Chen Yuhua,et al	1058
Application of circulating microRNAs prediction model in early diagnosis of preeclampsia	Xu Lin, Wang Ru, Zhang Zhongxia,et al	1063
Changes and clinical significance of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels in children with acute respiratory distress syndrome	Song Yulei, Cao Jianshe, Wang Chengjuan,et al	1069
Expression and clinical significance of serum GPAA1 and Endocan mRNA in children with acute lymphoblastic leukemia	Wei Xueli, Fei Yingshan, Zhang Yinjuan,et al	1075
Original Article:Basic Research		
Effects of down-regulation of FKBP11 on proliferation, migration, invasion and TGF-β ₁ /Smad3 pathway of renal cancer cells	Zhang Miao, He Dejiao, Ling Na,et al	1081
Mechanism of lncRNA NRON targeting miR-185-5p regulating chemoresistance of breast cancer cells	Wang Lingli, Tian Wuguo, Zhao Jianjie,et al	1088
Rare Case Report		
Subacute combined degeneration of spinal cord complicated with subclinical hypothyroidism;a case report and literatures review	Feng Xiaoxiao,Qi Qianqian,Liu Weigang,et al	1096
Common carotid artery-internal jugular vein fistula;a case report	Tian Hongji,Wang Jing	1098
Takotsubo syndrome secondary to hyperthyroidism;a case report	Xu Peng,Lu Yuming,Wu Lirong	1099
Review		
Advances in drug therapy of hereditary hemorrhagic telangiectasia	Zhao Lin, Zhou Xianliang	1101
Research progress on the role and mechanism of transient receptor potential channels in esophageal diseases	Wu Jing, Yu Xiaoyun, Shen Lei	1105
Research progress on the correlation between dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and SARS-CoV-2 diabetic patients	Yang Haizhen, He Xin, Hu Ke	1109
Advances in the study of nervous system paraneoplastic syndrome with positive anti Ri antibody	Li Zichao,Ge Zhaoming	1113

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.001

一切为了人民健康

中国胸痛中心建设这十年

向定成

作者单位: 510000 广州,中国人民解放军南部战区总医院心血管内科

【关键词】 胸痛中心;经皮冠状动脉介入术;发展历程

【中图分类号】 R541.4 【文献标识码】 A

胸痛中心是为以急性冠状动脉综合征、主动脉夹层、肺动脉栓塞为代表的急性高危胸痛患者提供快速诊疗的新型急救模式,我国胸痛中心的发展起源于 2011 年。十余年来,习近平总书记始终将人民的健康放在首位,不断地推进健康中国建设,我国胸痛中心建设的这十年,是在党和政府的支持和推动下,从理念形成及模式初创到快速普及发展,取得了显著的成效,为急性高危胸痛患者带来福音。

1 理念形成及模式初创

21 世纪初,我国经皮冠状动脉介入(PCI)治疗技术发展很快,PCI 数量快速增长逐步取代美国成为全球第一。但与之不相适应的是我国急性心肌梗死(AMI)患者的院内病死率长期维持在 10% 以上^[1],也意味着作为 AMI 的主要治疗方法——PCI 技术的快速发展并未有效降低 AMI 患者的院内病死率。仔细分析其原因后发现,我国 AMI 救治面临着以下几个主要问题^[2]:(1)患者发病后延误非常严重,急性胸痛发病后迟迟不就医,急性冠状动脉综合征临床路径(CPACS)研究显示^[3],AMI 患者发病后平均 5 h 到达二级医院,8 h 到达三级医院,而 AMI 患者的救治黄金时间是发病后的 2 h,因此,患者就医不及时错过了早期宝贵的救治黄金窗。(2)院前急救体系不能满足急危重症患者救治的需要,主要表现为:一是院前救护车秉承单纯就近原则转运,没有考虑送达医院的救治能力,导致许多患者被送至不具备救治能力的医院,需要实施二次转诊才能到达具有救治能力的医院而导致延误。二是院前救治与院内救治完全脱节,院前救护车通常仅仅是一个转运工具,不开除心肺复苏之外的其他救治措施,所有诊疗工作均在患者被送到急诊室后才开始启动,未能充分利用院前转运过程中这段宝贵时间启动真正的救治过程。(3)大量 AMI 患者首诊于不具备行 PCI 能力的基层医院,基层医院诊疗能

力不足导致确诊延迟而错过了救治时间窗。(4)具有 PCI 能力的医院没有建立 AMI 患者的快速绿色通道,患者到达医院后需要经过繁杂的流程,先交押金后办理住院手续,待患者收进监护室后才启动手术团队,院内延误也非常严重。2012 年我国接受直接 PCI 治疗的 ST 段抬高型急性心肌梗死(STEMI)患者平均进门—球囊扩张(D-to-B)时间为 112 min^[4],与中国 STEMI 诊治指南^[5]要求的 90 min 相差很大,而当时欧美指南^[6-7]已将该指标调整到 60 min。

上述多方面共存的问题显示,在胸痛中心建设之前,我国医疗体系不适应急危重症患者救治的需要,导致 AMI 患者不能在发病早期得到及时再灌注治疗,因此,患者的总体预后差。很显然,如果仅仅建设院内绿色通道,是无法解决院前和基层医院延误及患者延误问题的。为此,解放军南部战区总医院(原广州军区广州总医院)向定成等^[8]率先提出了以具有急诊 PCI 能力的医院为核心,通过整合区域医疗资源,将周边基层医院和院前救护车纳入到统一的急救体系进行规划,要求所有首次医疗接触环节的医护人员必须在 10 min 内完成急性胸痛患者的首份心电图检查,通过建立以信息技术为支撑的心电图远程共享平台和快速响应机制而提高首诊时的诊断正确率,并建立快速转诊机制,使 AMI 患者能够在首次医疗接触后及时确诊,并能够尽快转送到南部战区总医院接受急诊 PCI 治疗,对于不能在“指南”规定的时间内完成转运 PCI 的 STEMI 患者,可在当地溶栓治疗后再转运。这便是中国胸痛中心的区域协同救治体系的基本理念。南部战区总医院于 2011 年 3 月 27 日创建了我国首家基于区域协同救治理念的胸痛中心急救模式,将以前各家医院“单打独斗”的局面转变为区域协同,将急救起点从大医院急诊科提前到基层医院及救护车的首次医疗接触点,强调了信息共享及时间节点管理,即在规定的

时间内完成“指南”要求的诊疗工作,同时实行胸痛优先及先救治后收费。通过优化流程建立了绕行急诊及冠心病监护室的工作机制,将患者直接送进导管室进行急诊 PCI,大大缩短了救治时间,提高了救治效率并显著降低了 AMI 及主动脉夹层患者的院内病死率^[8-10]。

2 艰难的起步及推广

南部战区总医院胸痛中心模式取得的显著成效对全国胸痛中心的建设起到了积极的推动和示范作用,在中华医学会心血管病分会大力支持下,南部战区总医院于 2011 年 10 月 22 日举办了首届中国胸痛中心高峰论坛^[11],并于 2012 年 9 月 9 日召开了全国规范化胸痛中心建设及 STEMI 区域协同救治现场示范及经验交流会^[12]。但这个阶段遇到的困难和阻力是巨大的:首先,在专业层面,并非所有心血管和急诊医学专业专家们均认可区域协同救治体系的基本理念,认为这项工作不是医生能干的,应该由政府主导;其次,实际工作中在整合资源时非常困难;再次,对胸痛中心要求优化流程建立先救治后收费机制缺乏信心,担心增加医疗欠费,一旦发生医疗纠纷科室将非常被动;最后,缺乏行政力量的支持,许多医院提出没有红头文件的事情原则上不会支持。可以说从 2011 年到 2013 年应该是我国胸痛中心建设起步最艰难的时期。尽管困难重重,但仍然推动了 10 余家医院开始建设胸痛中心。

3 制定认证标准,引导规范建设

鉴于美国心血管病患者护理学会(society of cardiovascular patient care, SCPC)的认证标准是基于美国的国情而设置,而中美两国在院前急救、医院内部诊疗流程、医疗管理体系及医疗支付体系等方面均存在较大的差异,SCPC 的认证标准中许多条款并不能完全适应中国国情。为此,在原国家卫计委医政医管局的大力支持下,由时任中华医学会心血管病学分会主任委员霍勇教授领导,2013 年 9 月 14 日在广州召开的第三届中国胸痛中心高峰论坛正式发布了中国胸痛中心认证体系,该体系由认证组织架构及认证标准组成^[13]。从而开启了中国胸痛中心自主认证的历程。

认证推动了全国胸痛中心的健康发展,全国各地具有急诊 PCI 能力的三级医院纷纷开始建立胸痛中心,但胸痛中心认证云平台数据亦显示,首诊于基层医院的 AMI 患者在基层医院存在严重延误,为此,认证工作委员会制订并于 2015 年 11 月 13 日正式发布了基层胸痛中心认证标准^[14],进一步完善了胸痛急救网络。

胸痛中心建设和认证所取得的成绩受到了各级政府的充分肯定和高度赞誉,原国家卫生与计划生育委员会办公厅于 2015 年 3 月 17 日发出了《关于提升我国急性心脑血管疾病急救能力的通知》,其核心内容是要求各地卫生行政主管部门和医疗机构要通过建立胸痛中心和卒中中心推动心脑血管疾病的区域协同急救体系建设。该文件标志着胸痛中心建设所倡导的区域协同急救模式正式得到国家卫生行政主管部门的肯定并在全国范围内进行推广。

4 整合资源,加速推进

2016 年 7 月 16 日,中国心血管健康联盟在苏州成立了胸痛中心总部,通过汇集和整合社会资源共同促进胸痛中心的快速发展,同时发起了中国胸痛中心加速计划,该计划预期目标是在严格坚持认证标准的前提下,3 年内推动全国 1 000 家胸痛中心通过认证。

2017 年 10 月 22 日,原国家卫计委办公厅正式下发了《胸痛中心建设与管理指导原则(试行)》,要求二级以上医院均应建设胸痛中心。意味着国家卫生行政主管部门充分肯定了过去几年胸痛中心建设所取得的成绩,同时也加大了对胸痛中心建设的重视程度和支持力度。《胸痛中心建设与管理指导原则(试行)》的发布推动了全国胸痛中心的快速发展。截至 2022 年 8 月,全国已有 5 300 多家医院建立了胸痛中心,其中 2 200 家医院通过了认证,通过认证的胸痛中心 AMI 患者的救治效率已经显著提高,2021 年全国平均进门—导丝通过时间(D-to-W)已经从 2012 年的 112 min 缩短至 74 min,STEMI 患者院内病死率已经降低至 3%~4%,部分持续改进机制健全的医院月平均 D-to-W 时间已经缩短至 60 min 以内,STEMI 院内病死率已经降至 3% 以内^[15],接近甚至超越了欧美发达国家的平均水平。

5 强根固本抓质控,完善体系筑基层

2020 年初,突如其来的新冠肺炎席卷全国,社会进入为时 2 个多月的停摆状态,但胸痛中心事业没有停止前进的脚步。1 月 23 日南部战区总医院率先发布了新冠肺炎疫情期间胸痛中心运行流程图,随后胸痛中心管理团队及时组织专家在此基础上制订并发布了《新冠肺炎流行期间胸痛中心常态化运行机制中国专家共识》^[16],以指导全国胸痛中心在新冠肺炎流行期间做好急性胸痛患者的诊疗,使我国 STEMI 患者的院内病死率未受疫情影响而显著升高,与西方发达国家形成了鲜明的对照^[17]。

同年,还发布了《中国胸痛中心质量控制方案》和《胸痛救治单元建设方案及验收标准》等重要文件,都

是针对当前胸痛中心建设形势提出的指导未来胸痛中心发展的最重要的文件,常态化质控和胸痛救治单元建设也将是未来胸痛中心的两项最重要的工作,前者是为了确保已经通过认证的胸痛中心能够持续改进,逐步提高救治效率,降低急性胸痛疾病的病死率;而胸痛救治单元则是为了进一步完善胸痛急救网络的底层结构,推动最基层医疗机构做好首诊急救和大众教育工作,跑好胸痛急救的起跑第一棒。未来几年内,在继续推动标准版胸痛中心和基层版胸痛中心认证和质控的基础上,带动胸痛救治单元的建设将是一项艰巨而重要的任务,只有建好最基层的胸痛救治单元,才能使整个急救体系真正快起来,有效缩短急性心肌梗死患者总缺血时间,挽救更多的生命。

中国胸痛中心的发展历程刚刚走完第一个十年,其中的每一步都是值得永远铭记的,因为其中凝集了太多的期待、艰辛甚至磨难,也包含了政府的大力支持、推动,专家的探索、努力和无私奉献。

参考文献

- [1] Li J, Li X, Wang Q, et al. ST-segment elevation myocardial infarction in China from 2001 to 2011 (the China PEACE-Retrospective Acute Myocardial Infarction Study): a retrospective analysis of hospital data[J]. Lancet, 2015, 385(9966): 441-451. DOI: 10. 1016/S0140-6736(14)60921-1.
- [2] 向定成, 秦伟毅, 周民伟. 胸痛中心建设规范与实践[M]. 北京: 人民军医出版社, 2013: 8.
- [3] Du X, Gao RL, Turnbull F, et al. Hospital quality improvement initiative for patients with acute coronary syndromes in China[J]. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2014, 7(2): 217-226. DOI: 10. 1161/CIRCOUTCOMES. 113. 000526.
- [4] Zhang Y, Yu B, Han YL, et al. Protocol of the China ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) Care Project (CSCAP): a 10-year project to improve quality of care by building up a regional STEMI care network[J]. BMJ Open, 2019, 9(7): e026362. DOI: 10. 1136/bmjopen-2018-026362.
- [5] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南(2019)[J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(10): 766-783. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3758. 2019. 10. 003.
- [6] Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardi-

- ology (ESC)[J]. Eur Heart J, 2012, 33(20): 2569-2619. DOI: 10. 1093/eurheartj/ehs215.
- [7] O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J]. Circulation, 2013, 127(4): e362-e425. DOI: 10. 1161/CIR. 0b013e3182742ef6.
- [8] 向定成, 段天兵, 秦伟毅, 等. 建立规范化胸痛中心对直接经皮冠状动脉介入治疗患者进门一球囊扩张时间及预后的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2013, 41(7): 568-571. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3758. 2013. 07. 011.
- [9] 段天兵, 向定成, 秦伟毅, 等. 建立区域协同救治网络对首诊于非冠状动脉介入治疗医院的急性心肌梗死患者再灌注时间及近期预后的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(8): 641-645. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3758. 2014. 08. 006.
- [10] 龚志华, 向定成, 董凤英, 等. 区域协同救治体系对未具备经皮冠状动脉介入治疗能力医院救治急性 ST 段抬高心肌梗死患者的时间节点的影响[J]. 中国介入心脏病杂志, 2015, 23(3): 125-128. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8812. 2015. 03. 03.
- [11] 易绍东, 向定成. 首届中国胸痛中心高峰论坛会议纪要[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(1): 78. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3758. 2012. 01. 019.
- [12] 易绍东, 向定成. 规范化胸痛中心建设及 ST 段抬高型心肌梗死协同救治经验交流与示范会纪要[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(11): 923. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3758. 2012. 11. 006.
- [13] 向定成, 霍勇, 方唯一. 中国胸痛中心认证标准[J]. 中国介入心脏病杂志, 2016, 24(3): 121-130. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8812. 2016. 03. 001.
- [14] 向定成, 霍勇, 方唯一. 中国基层胸痛中心认证标准[J]. 中国介入心脏病杂志, 2016, 24(3): 131-133. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8812. 2016. 03. 002.
- [15] 霍勇, 向定成, 方唯一. 《中国胸痛中心质控报告(2020)》概要[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2021, 29(6): 313-317. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8812. 2021. 06. 004.
- [16] 中国医师协会胸痛专业委员会, 中国医师协会心血管内科医师分会, 中国胸痛中心联盟, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情防控期间胸痛中心常态化运行流程中国专家共识[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2020, 28(2): 61-69. DOI: 10. 3969/j. issn. 1004-8812. 2020. 02. 001.
- [17] Xiang DC, Xiang X, Zhang W, et al. Management and outcomes of patients with STEMI during the COVID-19 pandemic in China[J]. J Am Coll Cardio, 2020, 76(11): 1318-1324. DOI: 10. 1016/j. jacc. 2020. 06. 039.

(收稿日期: 2022-09-03)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.002

指南解读

放射学阴性中轴型脊柱关节炎评估和治疗新进展： 2021 年澳大利亚共识声明解读

谷金玉, 夏迪, 李法杰, 万田豪, 李凯明, 李玲慧, 张清

基金项目: 首都卫生发展科研专项项目(2018-2-4162); 国家自然科学基金青年项目(81904230); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(ZZ15-XY-PT-12); 中国中医科学院科技创新工程—重大攻关项目(中医骨伤学科)专项(CI2021A02003)
作者单位: 100102 北京, 中国中医科学院望京医院(谷金玉、夏迪、李法杰、万田豪、李玲慧、张清); 100091 北京, 中国中医科学院西苑医院(李凯明)
通信作者: 张清, E-mail: zhangqinggys@163.com

【摘要】 放射学阴性中轴型脊柱关节炎是脊柱关节炎的一种类型。早期诊断及治疗对于缓解临床症状及降低致残率具有重要意义。文章通过解读 2021 年“澳大利亚放射学阴性中轴型脊柱关节炎评估和治疗的共识声明”, 并与 2019 年“美国风湿病学会和美国脊柱炎协会的中轴型脊柱关节炎的治疗推荐意见(更新版)”进行对比, 结合目前放射学阴性中轴型脊柱关节炎最新研究进展, 从临床评估、运动和物理治疗及药物治疗角度进行阐述总结, 以期为中国临床医师提供科学的参考。

【关键词】 中轴型脊柱关节炎, 放射学阴性; 临床评估; 药物治疗; 指南解读

【中图分类号】 R681.5⁺1 【文献标识码】 A

New progress in evaluation and treatment of radiologically negative axial spondyloarthritis: interpretation of the Australian consensus statement in 2021 Gu Jinyu*, Xia Di, Li Fajie, Wan Tianhao, Li Kaiming, Li Linghui, Zhang Qing.

*Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China

Correspondence author: Zhang Qing, E-mail: zhangqinggys@163.com

Funding program: Special Scientific Research Project for Health Development in the Capital (2018-2-4162); Youth Program of NSFC (81904230); Special Funding for Basic Research Business Expenses of Central Public Welfare Research Institutes (ZZ15-XY-PT-12); The Major Research Project of the Science and Technology Innovation Project of the Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine (TCM Orthopedics and Traumatology) (CI2021A02003)

【Abstract】 Radiologically negative axial spondyloarthritis is a type of spinal arthritis. Early diagnosis and treatment are of great significance for relieving clinical symptoms and reducing disability rate. By interpreting the "Australian consensus statement on evaluation and treatment of radiologically negative axial spondyloarthritis in 2021", and comparing it with the "American Rheumatology Society and American Spondylitis Society's recommendations on treatment of axial spondyloarthritis (updated version)" in 2019, and combining the latest research progress of radiologically negative axial spondyloarthritis This article elaborates and summarizes sports, physical therapy and drug therapy in order to provide scientific reference for Chinese clinicians.

【Key words】 Axial spondyloarthritis, non-radiographic; Clinical assessment; Medical treatment; Guide interpretation

脊柱关节炎(spondyloarthritis, SpA)是具有典型临床特征的慢性炎性疾病,主要包括由骶髂关节炎和脊柱炎引起的腰背部疼痛,但也有外周关节炎及一定特征的关节外表现,如银屑病、葡萄膜炎或炎性肠病(IBD)^[1]。2009 年,国际脊柱关节炎协会(ASAS)提出了中轴型脊柱炎(axial spondyloarthritis, axSpA)和外周型脊柱炎的分类标准^[2-3]。其中,中轴型脊柱炎包

括强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)和放射学阴性中轴型脊柱关节炎(non-radiographic axial SpA, nr-axSpA),AS 患者的放射影像学异常与骶髂关节炎一致,但在 nr-axSpA 患者的 X 线片上,此类表现并不明显。针对放射学阴性中轴型脊柱关节炎,2021 年澳大利亚发布了“放射学阴性中轴型脊柱关节炎评估和治疗的共识声明”(以下简称“声明”)^[4],笔者充分研

读“声明”的基础上,并与 2019 年美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)和美国脊柱炎协会(Spondylitis Association of America, SAA)建议:强直性脊柱炎和放射学阴性中轴型脊柱关节炎的治疗(更新版)(以下简称“ACR/SAA 意见”)进行对比^[5],结合目前相关最新研究进展,对该“声明”进行解读评述。

1 临床评估

目前经典的强直性脊柱炎的诊断标准是 1984 年改良的纽约标准,2009 年 ASAS 明确提出中轴型脊柱关节炎诊断标准:小于 45 岁慢性腰痛持续 3 个月以上,若 X 线或 MR 提示骶髂关节炎联合一项 SpA 特征或者人白细胞抗原-B27(HLA-B27)阳性联合 2 项 SpA 特征即可诊断。依据这 2 项标准产生了放射学阴性中轴型脊柱关节炎的定义。符合 2009 年 ASAS 中轴型脊柱关节炎诊断标准但排除经典的 AS 患者界定为放射学阴性中轴型脊柱关节炎,即 MR 提示骶髂关节炎联合 1 项 SpA 特征或者 HLA-B27 阳性联合 2 项 SpA 特征。“ACR/SAA 意见”在本部分涉及较少,所以本部分主要参考“声明”解读。

1.1 临床特征 nr-axSpA 与 AS 在疾病的一般特征(发病年龄和 HLA-B27 阳性率)、主要特征[炎性腰背痛、关节炎、附着点炎、疾病活动指数(BASDAI)评分、患者总体评价和疼痛程度]、骨关节外表现(银屑病、葡萄膜炎等发生率)均无明显差别。不同的是 AS 患者 C 反应蛋白(CRP)及 AS 患者放射学进展评分系统积分(mSASSS 积分)水平均高于 nr-axSpA,这提示 nr-axSpA 患者的炎性反应水平较低,脊柱的影像学进展更缓慢。“声明”指出对疑似 nr-axSpA 的患者应进行全面的病史和体格检查以确定 axSpA 的特征、鉴别诊断及常见的并发症。

炎性背痛(IBP)病史是 axSpA 的主要特征。典型的 IBP 呈现出许多非特异性或机械性背痛所没有的特征,如休息后无缓解、夜间疼痛,以及随着运动而改善的清晨疼痛和僵硬。同时 IBP 对 nr-axSpA 具有高敏感度(74%),但特异度低(40%),与在 axSpA 中观察到的值相似(分别为 94% 和 25%)^[6]。疑似 nr-axSpA 的病史和检查应包括纤维肌痛,合并纤维肌痛在 nr-axSpA 中很常见,在纤维肌痛队列中发现 10% 患者是 axSpA,其中大多数符合 ASAS 分类标准的患者 MR 呈阳性^[7]。在临床实践中应意识到中轴性脊柱炎和纤维肌痛症状的重叠,同时有 nr-axSpA 症状应考虑合并的可能。

SpA 的其他临床特征也对 nr-axSpA 有预测价值,包括足跟附着点炎、银屑病、葡萄膜炎、炎性肠病、外周

炎性关节炎,以及对非甾体抗炎药的良好反应。“声明”指出 NSAID 的良好反应、晨僵 > 30 min 和 CRP 升高的组合具有高敏感度(90%)和中等特异度(67%)^[8]。体格检查中最有证据的检查结果是“4”字试验。SPA 家族史提高了患有 nr-axSpA 的可能性,但如果 HLA-B27 确定为阴性,指南认为 SPA 家族史无参考价值。

1.2 影像学及实验室检查 nr-axSpA 患者具有 axSpA 的特征,但在 X 线片上没有明确的骶髂关节改变。“声明”不建议应用计算机断层扫描(CT)进一步排查 nr-axSpA。临床怀疑为 nr-axSpA 的患者应采用骶髂关节 MR 检查,“声明”建议观察 T1 和 STIR 相结合。STIR 观察急性骶髂关节炎(以 BMO 表示),T1 显示慢性结构改变,有利于对患者整体的评估。BMO 的检测对于诊断至关重要,因为 STIR 序列成像能够获得比较均匀的脂肪抑制效果,STIR 较 T2 脂肪抑制序列更受青睐,而含钆造影剂增强扫描的 DWI 和 T1 与 STIR 比较没有额外的诊断价值。此外,骶髂关节韧带急性炎性反应的评估对诊断无参考意义。axSpA 可引起腰椎、胸椎和颈椎 MR 的特征性改变,但这些特征对诊断特异性不足,也没有得到验证。在疑似 nr-axSpA 中,HLA-B27 为阴性,需重复 MR 检查,以免漏诊,但不建议行脊柱 X 线检查,这一点与“ACR/SAA 意见”是一致的。另外,对于疾病稳定期,在“ACR/SAA 意见”不推荐行脊柱或骨盆 MR 评估疾病活动性。

“声明”指出考虑诊断 nr-axSpA 时应测量 CRP、HLA-B27。在 nr-axSpA RCT 的安慰剂组中,50% CRP 正常的受试者在平均 7 次测试后的 16 周内出现 CRP 升高^[9]。所以临床中高度怀疑 nr-axSpA 患者应重复检测 CRP。HLA-B27 阳性对 axSpA 诊断具有很高的预测价值,但没有相关特异性数据表明其对 nr-axSpA 的预测价值。HLA-B27 和 ASAS 阳性 MR 高度提示 nr-axSpA。

“声明”还提到诊断中的注意事项,ASAS 分类标准对 nr-axSpA 的诊断有一定价值,但不应作为个体患者的诊断标准。分类标准不应该作为一个诊断列表应用,但可以看做是一份有价值的特征列表,有助于临床医生评估症状、并发症和后遗症等。

2 运动和物理治疗

“声明”和“ACR/SAA 意见”治疗内容都包括了运动和物理治疗,但证据等级都很低,大部分是根据包含 nr-axSpA 的 AS 研究作出的推断。“ACR/SAA 意见”将治疗方法分为活动性 nr-axSpA 和稳定性 nr-axSpA 治疗。对于活动性 nr-axSpA,ACR/SAA 强烈建议应用

物理治疗,在某些条件下推荐主动物理治疗干预(监督下运动),不推荐被动物理治疗干预(按摩、超声波、热疗)。另外,运动疗法不建议水上运动,而推荐地上项目。“声明”则强调长期、定期的锻炼作用,其中挪威工作组一项高强度间歇训练(HIIT)干预 axSpA (30% nr-axSpA, 70% AS) RCT 试验研究表明,HIIT 和阻力训练(每周 3 次,持续 3 个月)与无运动的对照组比较,结果指标[强直性脊柱炎疾病活动性指数(AS-DAS)、强直性脊柱炎功能指数(BASFI)、Bath 强直性脊柱炎测量指数(BASMI)]和腰围有微小改善,基于症状的疾病活动指标 BASDAI 略有改善^[10]。与“ACR/SAA 意见”不同的是,“声明”并不反对水上运动。西班牙一项应用水上运动疗法治疗 axSpA 的 RCT 试验显示,能够改善生活质量、BASFI、BASDAI 及关节疼痛、肿胀和晨僵^[11]。

值得注意的是,“声明”认为物理疗法是一种低风险的干预措施,可以解决包括 NSBP 在内的多种背痛原因,建议诊断不明确的 nr-axSpA,可尽早开始低风险的运动和物理治疗。

3 药物治疗

3.1 非甾体抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs) “声明”及“ACR/SAA 意见”均强烈推荐非甾体抗炎药作为 nr-axSpA 的一线药物治疗。“声明”指出非甾体抗炎药可以缓解炎性和非炎性背痛,对于 nr-axSpA 背痛尤为适合。一项 axSpA 的非对照研究发现,在最大耐受剂量下,应用非甾体抗炎药的患者临床症状显著改善,达到 30% ~ 57% 的 ASAS40 和 29% 的 BASDAI50^[12]。一项针对 AS 的非甾体抗炎药的 Cochrane 系统综述发现,中等到高质量的证据表明其对中轴症状有益^[13]。

“ACR/SAA 意见”中强调持续使用要优于按需使用,并且指出对于 nr-axSpA 活动期经过 NSAIDs 治疗后仍处于活动期,强烈推荐使用肿瘤坏死因子抑制剂(TNFi),但没有推荐首选特定的 TNFi。在 TNFi 使用禁忌时,在某些条件下推荐使用司库奇尤单抗(secukinumab, SEC)或依奇珠单抗(ixekizumab, IXE),且治疗效果优于柳氮磺吡啶、甲氨蝶呤或托法替布。

3.2 缓解病情的抗风湿药(disease-modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs)

3.2.1 传统合成 DMARDs(csDMARDs):传统合成 DMARDs 代表药物有甲氨蝶呤(MTX)、柳氮磺吡啶(SSZ)、来氟米特(LEF)及新型合成药物艾拉莫德(IGU)等。“声明”中表示传统合成 DMARDs 在治疗 nr-axSpA 无法改善其轴性症状。“声明”中的柳氮磺

吡啶多项 RCT 试验也证实这一点,但对于具有周围表现的 nr-axSpA 可以考虑使用柳氮磺吡啶。一项随机对照试验报道了柳氮磺吡啶对外周疼痛评分的改善,但未发现对关节肿胀、压痛计数和 CRP 的改善^[14]。柳氮磺吡啶治疗脊柱关节炎在临床中是常见的,但缺乏高质量的证据。因为 DMARDs 的低风险和低成本,可作为治疗周围性关节炎的初始治疗选择,这一点和澳大利亚 2014 年的“声明”是一致的。

不同的是,在“ACR/SAA 意见”中,对于使用非甾体抗炎药后仍有活动性的放射学阴性中轴性脊柱炎患者,在某些条件下推荐使用柳氮磺吡啶、甲氨蝶呤或托法替布,且治疗效果优于不使用上述药物,但仅限于 TNFi 禁忌时的次选药物。

3.2.2 生物制剂

3.2.2.1 肿瘤坏死因子抑制类药物(tumor necrosis factor inhibitor, TNFi) “声明”及“ACR/SAA 意见”均将 TNFi 作为生物制剂类的一线推荐。在“声明”中, TNF 抑制剂对 nr-axSpA 轴向症状的疗效已被 4 项符合 ASAS 分类标准的大型随机安慰剂对照试验证实。在 nr-axSpA 中进行抗 TNF 的试验显示了良好的 ASAS40 反应,范围从 32% ~ 57%。TNF 抑制剂对于 axSpA 相关的急性前葡萄膜炎也有一定效果,在一项单一的开放试验中,葡萄膜炎红斑下降了 87%^[15]。TNF 抑制剂也被认为可以显著改善 axSpA 患者的神经末端炎,并伴有罕见的不良事件,如严重感染或注射部位的反应。同时它们也是银屑病和炎性肠病的既定治疗方法,当合并这些疾病时,“声明”推荐更倾向于使用 TNF 抑制剂。

“ACR/SAA 意见”在生物制剂的使用种类方面相较“声明”更广泛,并在 TNFi 应用上给出了一些细化的推荐。经过 NSAIDs 治疗后仍处于活动期时,生物制剂的推荐顺序依次为 TNFi、SEC 或 IXE、托法替布(tofacitinib, TOF)。某些情况下不推荐小剂量甲氨蝶呤与 TNFi 一起使用。正在接受 TNFi 和 NSAIDs 或传统合成抗风湿药治疗者,在某些条件下推荐继续使用 TNFi 单药而不是继续使用 2 种药物治疗。

2019 年的“ACR/SAA 意见”中,对于 TNFi 原发失效的 nr-axSpA 患者,在某些情况下推荐使用 SEC 或 IXE;对于 TNFi 继发失效的 nr-axSpA 患者,在某些情况下推荐换用另一种 TNFi。“ACR/SAA 意见”还指出了减停药相关推荐意见,治疗上不推荐仅基于 ASDAS < 1.3(或 2.1)的目标治疗。“ACR/SAA 意见”不推荐稳定期生物制剂减量或者停用,推荐维持生物制剂单药治疗。但在临床实践中,基于疗效及成本的考虑,

密切监测疾病活动下谨慎使用生物制剂的方式可能更易被我国骨科、风湿科医生及患者接受。

3.2.2.2 IL-17 抑制剂 白介素 17A (IL-17A) 抑制剂是治疗 nr-axSpA 领域中的创新药物,主要有 SEC、IXE。“ACR/SAA 意见”及“声明”将这类药物推荐顺序在 TNFi 之后。一项为期 52 周的随机双盲对照研究,在欧洲、亚洲、北美和南美等 15 个国家的 107 个地点进行,结果对 ASAS40 评估患者整体性疼痛、功能和炎性反应中,从基线改善 40% 甚至更多,并且疼痛绝对改善 2 个单位或更多(范围 0 ~ 10),剩余的 1 项无任何恶化^[16]。“声明”中一项大型安慰剂对照随机试验证实 IL-17 抑制剂能够改善 nr-axSpA 轴向症状,其对 ASAS40 的反应为 35% ~ 42%^[17]。在 nr-axSpA 治疗中,IL-17 抑制剂目前尚未与 TNF 抑制剂进行比较,但二者严重不良事件发生率相似。IL-17 抑制剂对银屑病非常有效,对 AS 的肾炎也有显著的影响,但不能改善炎性肠病 (IBD),也没有证据表明对前葡萄膜炎的疗效^[18-19]。IL-17 抑制剂作为 TNFi 治疗 nr-axSpA 后的次选药物在国内临床中应用尚少。

3.2.2.3 JAK 抑制剂 近年来,JAK 抑制剂的出现,使风湿免疫性疾病的治疗跨入全新时代,也为中轴性脊柱炎治疗带来了新思路。研究表明,JAK 抑制剂能够直接阻断与 SpA 发病相关的主要细胞因子通路(主要包括 IFN- γ 、IL-7、IL-12、IL-15、IL-22 和 IL-23),另外 TNF- α 、IL-1 和 IL-17 等细胞因子虽然独立于 JAK 信号之外,但其表达受 JAK 依赖性细胞因子调节,因此 JAK 抑制剂可直接或间接阻断达到抑制炎症反应、缓解疾病的效果^[20]。目前治疗中轴性脊柱关节炎的主要 JAK 抑制剂有 TOF、巴瑞替尼 (baricitinib)。“ACR/SAA 意见”将其作为生物制剂类最后的推荐。笔者查阅国内外文献,尚未发现单独针对 nr-axSpA 的高等级证据。但 JAK 抑制剂能够有效缓解 AS 的相关症状,一项干预活动性 AS 患者的随机对照试验发现,在第 16 周 ASAS20 改善情况明显优于安慰剂 (56.4% vs. 29.4%)^[21]。

2021 年 12 月,美国 FDA 批准了口服小分子 JAK 抑制剂托法替尼的补充新药申请 (sNDA),可用于治疗对 TNF 抑制剂反应不足或不耐受的 AS 成人患者,这是继包括类风湿性关节炎 (RA)、银屑病关节炎 (PsA)、溃疡性结肠炎成人患者和 2 岁以上多关节型幼年特发性关节炎 (pJIA) 患者的第 5 个适应证,对于临床骨科及风湿病医师和广大脊柱关节炎患者而言,无疑是一个利好消息。然而目前安全性方面尚不明确,仍需更多的权威研究进一步探讨,未来 JAK 抑制

剂的安全性及对 nr-axSpA 的疗效和预后也将是本领域研究的热点。临床医生应谨慎考虑托法替尼的好处和风险后决定是否开始或继续让患者服药。

3.3 糖皮质激素 “声明”明确指出全身性糖皮质激素在 nr-axSpA 的治疗中没有明确的作用,髌髂皮质类固醇注射在 nr-axSpA 的治疗中作用有限。全身性糖皮质激素类固醇并没有一致的有益证据,对于轴向症状的改善中也没有明确的证据,应采用更安全和更有效的替代方案。髌髂皮质类固醇注射可考虑用于 axSpA 相关的急性髌髂炎的治疗,但其作用持续时间有限。一项研究报道了髌髂关节注射皮质类固醇治疗 MR 髌髂炎 (52% AS, 48% nr-axSpA) 的疗效,其中试验组 VAS 疼痛评分明显改善,且是对照组 VAS 疼痛评分降低程度的 2 倍^[22]。

与“声明”相同,“ACR/SAA 意见”强烈不推荐使用全身性糖皮质激素进行治疗,但是经过 NSAIDs 治疗后仍存在单纯活动性髌髂关节炎者,在某些条件下推荐局部注射糖皮质激素优于不注射糖皮质激素,经过 NSAIDs 治疗后仍存在活动性起止点炎或仍存在活动性外周关节炎者,在某些条件下推荐局部注射非肠道作用的糖皮质激素要优于不注射糖皮质激素,“ACR/SAA 意见”还强调应避免在跟腱、髌腱和股四头肌肌腱周围进行注射。

4 功能和生活质量

与“ACR/SAA 意见”及其他相关指南不同,“声明”纳入了 nr-axSpA 对功能和生活质量的影响及相关的预测因子。nr-axSpA 的功能损伤与 AS 相似,在轴向脊柱关节炎疾病活动、精神和身体损伤、生活质量评分和睡眠结果方面的得分基本相同。疾病活动对生活质量、功能和工作参与得分有很强的预测性,这些结果在治疗后有所改善。疾病活动性也与疲劳相关,虽然在使用肿瘤坏死因子抑制剂后,仅观察到疲劳有轻微的改善,但也是功能和生活质量较差的预测因子^[23-24]。此外,纤维肌痛也是疾病活动性评分较高和生活质量评分较低的既定因素。

“声明”还提出患者教育的重要性,它是 nr-axSpA 管理的关键部分。一项法国 axSpA 队列研究中,消极信念极大地阻碍 nr-axSpA 管理,如认为体育活动可以引发或增加疾病活动、疾病是偶然或运气不好的观念等^[25],而这种消极信念与较高的心理压力和不充分的健康教育有关。虽然这些观察性研究肯定了信念的重要性,但并没有高质量的证据表明教育可以促进改善 nr-axSpA。但疾病相关信念、一般知识普及和疗效之间的这种联系使健康知识普及在 nr-axSpA 管理中发挥着

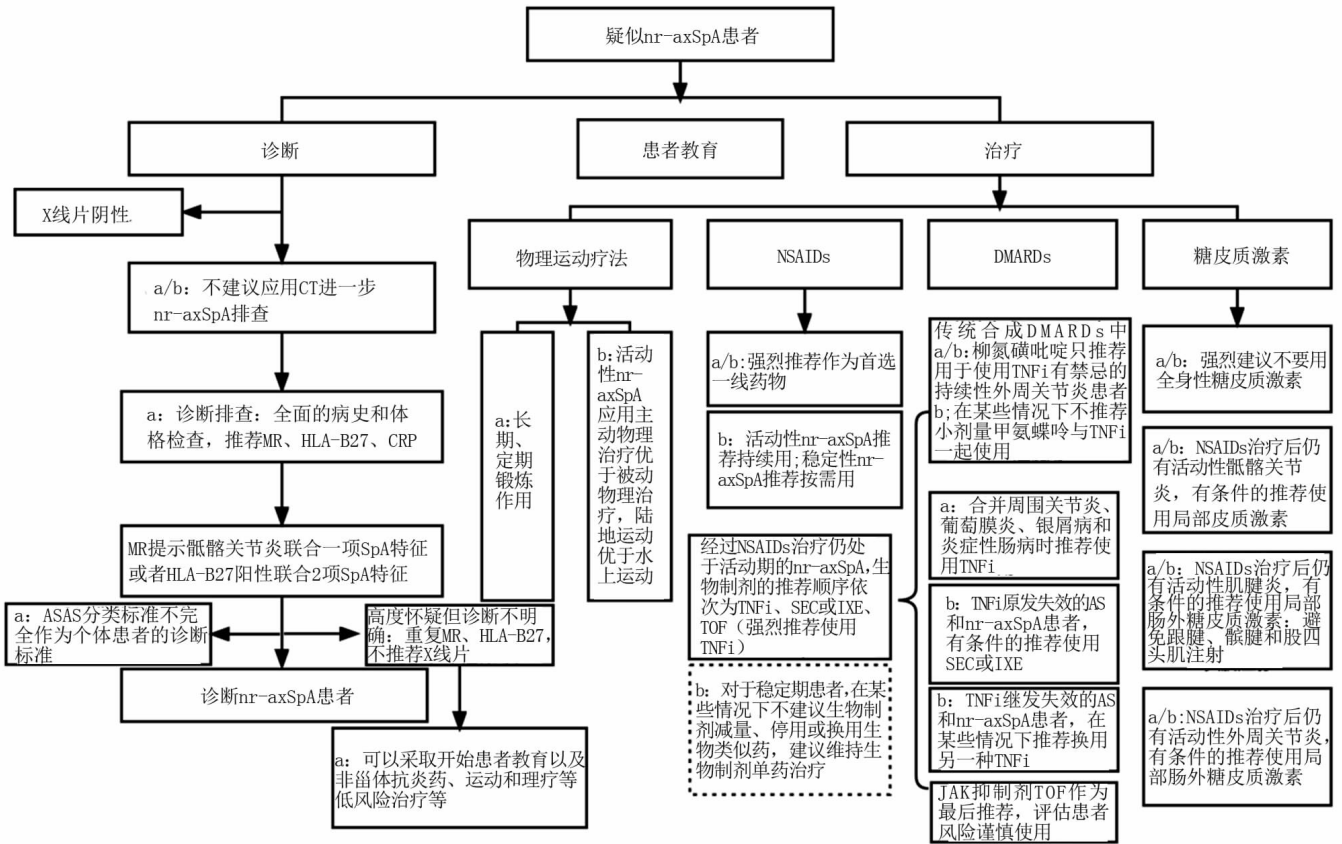
关键作用。推荐疾病教育的原因还包括提高药物依从性和对不良反应的认识、发现关节外的表现及提高就诊率等。目前国内风湿病医生也开始意识到患者教育的重要性,“声明”指出,最好是专科护士基于个性化需求向患者提供与疾病相关的教育,可以提高自我效能、自我管理、依从性、应对技能及身体和心理状态^[26]。

5 总结和展望

放射学阴性中轴性脊柱关节炎的诊断和治疗对所有的临床医生来说都具有挑战性。“声明”共提供了 22 个循证共识,“ACR/SAA 意见”在 nr-axSpA 的治疗部分提供了 28 项建议,笔者将“声明”和“ACR/SAA 意见”结合目前最新研究进展进行了总结(见图 1)。总体上,对疑似 nr-axSpA 的初步评估应包括病史、特征和背部症状、HLA-B27 检测、CRP 和 X 线片。骶髂关节 MR 的 T1 和 STIR 结合临床特征有极大的诊断价值。而在诊断不明确时可以采取实用的措施,如重复检查 MR 和 CRP,开始包括非甾体抗炎药、运动和理疗在内的低风险治疗等。初始管理应包括定期锻炼计划和 NSAIDs 治疗。如果 nr-axSpA 的诊断明确,并且尽

管应用初始管理后,疾病活动度仍然很高,则可以考虑生物制剂治疗。在临床实践中,应结合患者的具体情况(并发症、疗效、经济成本等),综合考虑“声明”和“ACR/SAA 意见”的适宜性,做出个体化、专业化的临床决策。

目前对 nr-axSpA 的理解国内外仍然存在一定争议,有学者认为 nr-axSpA 与 AS 在临床特征、HLA-B27 阳性率均无明显差别,BASDAI 指数也相近,因此 nr-axSpA 属于同一疾病在病程不同阶段的表现,属于早期的 AS。另有学者则认为 nr-axSpA 不等同于早期 AS,nr-axSpA 较 AS 临床异质性更强,不仅体现在 HLA-B27 阳性率、男性比例的差异,nr-axSpA 的预后也多样化。MR 显示骶髂关节骨髓水肿在诊断 nr-axSpA 有极大价值,但仍有很大比例病理检查显示骶髂关节存在组织学炎性反应,MR 未能检测出炎性反应变化,说明骶髂关节病理检查较 MR 能更早发现早期骶髂关节炎,更有利于 nr-axSpA 的早期诊断。因此,探究 nr-axSpA 的病因病理机制、nr-axSpA 与 AS 的关系及预后都是未来值得深入研究的方向。



注: a. “声明”推荐; b. “ACR/SAA 建议”推荐; a/b. 二者共同推荐

图 1 “声明”及“ACR/SAA 建议”主要内容总结

参考文献

- [1] Van den Berg R, van Gaalen F, van der Helm-van Mil A, et al. Performance of classification criteria for peripheral spondyloarthritis and psoriatic arthritis in the Leiden Early Arthritis cohort [J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71 (8) : 1366-1369. DOI: 10. 1136/annrheumdis-2011-201081.
- [2] Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, et al. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II) : validation and final selection[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2009, 68 (6) : 777-783. DOI: 10. 1136/ard. 2009. 108233.
- [3] Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, et al. The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2011, 70 (1) : 25-31. DOI: 10. 1136/ard. 2010. 133645.
- [4] Truong SL, McEwan T, Bird P, et al. Australian consensus statements for the assessment and management of non-radiographic axial spondyloarthritis[J]. *Rheumatol Ther*, 2022, 9 (1) : 1-24. DOI: 10. 1007/s40744-021-00416-7.
- [5] Ward MM, Deodhar A, Gensler LS, et al. 2019 Update of the American College of Rheumatology/Spondylitis Association of America/Spondyloarthritis Research and Treatment Network recommendations for the treatment of ankylosing spondylitis and nonradiographic axial spondyloarthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71 (10) : 1599-1613. DOI: 10. 1002/art. 41042.
- [6] Poddubnyy D, Callhoff J, Spiller I, et al. Diagnostic accuracy of inflammatory back pain for axial spondyloarthritis in rheumatological care[J]. *RMD Open*, 2018, 4 (2) : e000825. DOI: 10. 1136/rmdopen-2018-000825.
- [7] Ablin JN, Eshed I, Berman M, et al. Prevalence of axial spondyloarthritis among patients with fibromyalgia: a magnetic resonance imaging study with application of the assessment of spondyloarthritis international society classification criteria [J]. *Arthritis Care & Research*, 2017, 69 (5) : 724-729. DOI: 10. 1002/acr. 22967.
- [8] Baraliakos X, Tsiamsi S, Redeker I, et al. Early recognition of patients with axial spondyloarthritis-evaluation of referral strategies in primary care[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59 (12) : 3845-3852. DOI: 10. 1093/rheumatology/keaa212.
- [9] Bubová K, Forejtová S, Zegzulková K, et al. Cross-sectional study of patients with axial spondyloarthritis fulfilling imaging arm of ASAS classification criteria: baseline clinical characteristics and subset differences in a single-centre cohort [J]. *BMJ Open*, 2019, 9 (4) : e024713. DOI: 10. 1136/bmjopen-2018-024713.
- [10] Sveaas SH, Bilberg A, Berg IJ, et al. High intensity exercise for 3 months reduces disease activity in axial spondyloarthritis (axSpA) : a multicentre randomised trial of 100 patients[J]. *Br J Sports Med*, 2020, 54 (5) : 292-297. DOI: 10. 1136/bjsports-2018-099943.
- [11] Fernández García R, Sánchez Sánchez Lde C, López Rodríguez Mdel M, et al. Effects of an exercise and relaxation aquatic program in patients with spondyloarthritis: A randomized trial[J]. *Med Clin (Barc)*, 2015, 145 (9) : 380-384. DOI: 10. 1016/j. medcli. 2014. 10. 015.
- [12] Baraliakos X, Kiltz U, Peters S, et al. Efficiency of treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs according to current recommendations in patients with radiographic and non-radiographic axial spondyloarthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2017, 56 (1) : 95-102. DOI: 10. 1093/rheumatology/kew367.
- [13] Kroon FPB, van der Burg LRA, Ramiro S, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for axial spondyloarthritis (ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis) [J]. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014, 7 (7) : CD010952. DOI: 10. 1002/14651858. CD010952. pub2.
- [14] Braun J, van der Horst-Bruinsma IE, Huang F, et al. Clinical efficacy and safety of etanercept versus sulfasalazine in patients with ankylosing spondylitis: a randomized, double-blind trial [J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63 (6) : 1543-1551. DOI: 10. 1002/art. 30223.
- [15] van der Horst-Bruinsma I, van Bentum R, Verbraak FD, et al. The impact of certolizumab pegol treatment on the incidence of anterior uveitis flares in patients with axial spondyloarthritis: 48-week interim results from C-VIEW [J]. *RMD Open*, 2020, 6 (1) : e001161. DOI: 10. 1136/rmdopen-2019-001161.
- [16] Deodhar A, van der Heijde D, Gensler LS, et al. Ixekizumab for patients with non-radiographic axial spondyloarthritis (COAST-X) : a randomised, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10217) : 53-64. DOI: 10. 1016/S0140-6736(19)32971-X.
- [17] Deodhar A, Blanco R, Dokoupilová E, et al. Secukinumab improves signs and symptoms of non-radiographic axial spondyloarthritis: primary results of a randomized controlled phase III study[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73 (1) : 110-120. DOI: 10. 1002/art. 41477.
- [18] Schett G, Baraliakos X, van den Bosch F, et al. FRI0380 Secukinumab provides sustained improvement of enthesitis in patients with ankylosing spondylitis: pooled analysis of four pivotal phase 3 studies [J]. *BMJ Publishing Group Ltd and European League Against Rheumatism*, 2019: 873-874. DOI: 10. 1136/ANNRHEUMDIS-2019-EULAR. 695.
- [19] Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial [J]. *Gut*, 2012, 61 (12) : 1693-1700. DOI: 10. 1136/gutjnl-2011-301668.
- [20] Kato M, Yasuda S, Atsumi T. The role of genetics and epigenetics in rheumatic diseases: are they really a target to be aimed at [J]. *Rheumatology International*, 2018, 38 (8) : 1333-1338. DOI: 10. 1007/s00296-018-4026-0.
- [21] Deodhar A, Sliwinski-Stanczyk P, Xu H, et al. Tofacitinib for the treatment of adult patients with ankylosing spondylitis: primary analysis of a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 80 (8) : 1004-1013. DOI: 10. 1136/annrheumdis-2020-219601.
- [22] Althoff CE, Bollow M, Feist E, et al. CT-guided corticosteroid injection of the sacroiliac joints: quality assurance and standardized prospective evaluation of long-term effectiveness over six months [J]. *Clinical Rheumatology*, 2015, 34 (6) : 1079-1084. DOI: 10. 1007/s10067-015-2937-7.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.003

论著·临床

冠状动脉瘤样扩张患者血清 Adropin 蛋白、hs-CRP 水平变化及相关性分析

王丽娜, 马娜, 刘燕, 孙小刚

基金项目: 甘肃省卫生健康行业科研计划立项项目(SWSKY2020-47)

作者单位: 730000 兰州, 甘肃省第二人民医院心内科

通信作者: 马娜, E-mail: mana1024@126.com

【摘要】目的 探究血清 Adropin 蛋白、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)在冠状动脉瘤样扩张患者中的变化及其相关性分析。方法 选取 2019 年 4 月—2021 年 10 月因心绞痛就诊于甘肃省第二人民医院心内科并行冠状动脉造影(CAG)检查者 340 例为研究对象,根据 CAG 检查结果,以冠状动脉无异常者为对照组 73 例(NCA 组),单纯冠状动脉瘤样扩张(CAE)组 98 例(A 组),CAE 合并阻塞性冠状动脉疾病(OCAD)组 52 例(B 组),OCAD 组 117 例(C 组)。收集所有受试者临床资料、血清炎症指标及生化指标水平,比较各组间血清 Adropin 和 hs-CRP 水平的差异,使用 Pearson 法分析 CAE 患者血清 Adropin 与 hs-CRP 的相关性,使用 Logistic 回归分析判断 CAE 发生的影响因素。结果 A、B、C 组患者吸烟史、糖尿病占比,IL-6、TNF- α 水平均高于 NCA 组($F/P=7.845/0.047, 8.311/0.040, 64.304/<0.001, 56.600/<0.001$);血清 Adropin 水平比较, A 组 < B 组 < C 组 < NCA 组, hs-CRP 水平比较, A 组 > B 组 > C 组 > NCA 组($F/P=217.14/<0.001, 572.302/<0.001$);CAE 患者血清 Adropin 与 hs-CRP 呈负相关($r=-0.522, P<0.001$)。Logistic 回归分析显示,有吸烟史、糖尿病及血清 IL-6、TNF- α 、hs-CRP 水平升高为 CAE 发生的独立危险因素[OR(95% CI)=4.676(2.619~8.348)、1.917(1.634~2.253)、1.634(1.428~1.869)、1.523(1.306~1.775)、1.839(1.584~2.136)],血清 Adropin 水平升高为 CAE 发生的独立保护因素[OR(95% CI)=0.790(0.735~0.849)]。结论 CAE 患者血清 Adropin 呈低表达、hs-CRP 呈高表达,且 Adropin 与 hs-CRP 呈负相关,二者均是 CAE 的独立影响因素。

【关键词】 冠状动脉瘤样扩张; Adropin 蛋白; 高敏 C 反应蛋白; 冠状动脉造影; 相关性

【中图分类号】 R541.9

【文献标识码】 A

Correlation analysis of Adropin protein and hs-CRP levels in patients with coronary artery ectasia Wang Lina, Ma Na, Liu Yan, Sun Xiaogang. Department of Cardiology, the Second Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, China
Corresponding author: Ma Na, E-mail: mana1024@126.com

Funding program: Gansu Health Industry Scientific Research Plan Project (SWSKY2020-47)

【Abstract】 **Objective** To explore the changes and correlation analysis of serum Adropin protein and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in patients with coronary aneurysm ectasia (CAE). **Methods** Three hundred and forty patients with coronary angiography (CAG) who were hospitalized in the Department of Cardiology of the Second People's Hospital of Gansu Province from April 2019 to October 2021 due to angina pectoris were selected as the study objects. According to the results of CAG, 73 patients without coronary artery abnormalities were selected as the control group (NCA group), 98 patients in the simple coronary aneurysm ectasia (CAE) group (group A), 52 patients in the CAE combined with obstructive coronary artery disease (OCAD) group (group B), and 117 patients in the OCAD group (group C). Collect the clinical data, serum inflammatory index and biochemical index level of all subjects, compare the difference of serum Adropin and hs-CRP levels among groups, analyze the correlation between serum Adropin and hs-CRP in patients with CAE using Pearson method, and determine the influencing factors of CAE using logistic regression analysis. **Results** Smoking history, proportion of diabetes mellitus, IL-6, TNF- α level in group A, B and C was higher than that of NCA group ($F/P=7.845/0.047, 8.311/0.040, 64.304/<0.001, 56.600/<0.001$); Comparison of serum Adropin level: Group A < Group B < Group C < NCA, comparison of hs-CRP level: Group A > Group B > Group C > NCA ($F/P=217.14/<0.001, 572.302/<0.001$); Serum Adropin in CAE patients was negatively correlated with hs-CRP ($r=-0.522, P<0.001$). Logistic regression analysis showed that smoking history, diabetes and the increase of serum IL-6, TNF- α , hs-CRP level was an independent risk factor for

CAE [*OR* (95% *CI*) = 4.676(2.619 – 8.348), 1.917(1.634 – 2.253), 1.634(1.428 – 1.869), 1.523(1.306 – 1.775), 1.839(1.584 – 2.136)], and the increase of serum Adropin level was an independent protective factor for CAE [*OR*(95% *CI*) = 0.790(0.735 – 0.849)]. **Conclusion** Serum Adropin was low expression and hs-CRP was high expression in patients with CAE, and Adropin was negatively correlated with hs-CRP, both of which were independent risk factors for CAE.

【Key words】 Coronary aneurysm ectasia; Adropin protein; High-sensitivity C-reactive protein; Coronary angiography; Correlation

临床上将冠状动脉瘤样扩张(coronary artery ectasia, CAE)定义为冠状动脉弥漫性或局限性扩张超过邻近正常动脉直径的 1.5 ~ 2.0 倍^[1-2]。CAE 是一种非阻塞性、心肌缺血性冠状动脉疾病,可引发心功能不全、不稳定型心绞痛、急性心肌梗死等症状。CAE 患者 5 年病死率约为 29%,CAE 合并冠心病后心血管事件发生率进一步增加,进一步探究 CAE 的发生、发展机制能有效地预防、诊治和改善 CAE 患者的预后^[3-4]。目前 CAE 的发生涉及多种病理机制的共同参与,有研究指出血管内皮细胞受损及动脉粥样硬化可能是 CAE 的重要发病机制^[5]。Adropin 蛋白是最近报道的由能量稳态基因编码的肽类激素^[6],它可通过增加内皮一氧化氮合酶表达,促进 NO 合成,从而发挥保护血管的作用^[7-8]。高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)作为一种机体非特异性炎症反应的敏感指标,与炎症反应及组织损伤程度呈正相关,是预测心血管疾病的重要危险因素^[9]。本研究通过分析不同心绞痛患者血清 Adropin、hs-CRP 水平,探讨 CAE 与血清 Adropin、hs-CRP 的关系,以进一步了解 CAE 的形成、发展过程,以期将血清 Adropin、hs-CRP 作为诊断 CAE 的新型生物学标志物,为临床进一步预防和治疗 CAE 提供新的思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 4 月—2021 年 10 月因心绞痛就诊于甘肃省第二人民医院心内科并行冠状动脉造影(CAG)检查者 340 例为研究对象,根据 CAG 检查结果,以冠状动脉无异常者 73 例为对照组(NCA 组),单纯冠状动脉瘤样扩张(CAE)组 98 例(A 组),CAE 合并阻塞性冠状动脉疾病(OCAD)组 52 例(B 组),OCAD 组 117 例(C 组)。4 组受试者性别、年龄、心脏病家族史、高血压、高血脂症及 TC、HDL-C、LDL-C、TG 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),A 组、B 组、C 组吸烟史、糖尿病史占比均高于 NCA 组($P < 0.05$),IL-6、TNF- α 水平比较,A 组 $>$ B 组 $>$ C 组 $>$ NCA 组,组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。本研究经医院伦理委员会审核通过[(2022)伦审第(10 号)],全部受试者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①近期未遭遇创伤或接受过重大手术;②临床资料完整;③均行 CAG 检查;④心、肝、肾等重要脏器功能尚可。(2)排除标准:①合并急慢性感染、各种急性损伤者;②合并慢性肝、肾功能不全者;③合并心肌梗死、冠状动脉畸形等先天性畸形者;④合并免疫性疾病、恶性肿瘤者。

表 1 4 组受试者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data of four groups of subjects

项 目	NCA 组($n = 73$)	A 组($n = 98$)	B 组($n = 52$)	C 组($n = 117$)	χ^2/F 值	P 值
男/女(例)	43/30	63/35	31/21	71/46	0.623	0.891
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	56.42 $\pm$ 10.25	58.96 $\pm$ 11.32	57.19 $\pm$ 9.76	58.04 $\pm$ 12.41	0.896	0.443
吸烟史[例(%)]	35(47.95)	66(67.35) ^a	78(66.67) ^a	32(61.54) ^a	7.845	0.047
心脏病家族史[例(%)]	26(35.62)	50(51.02)	58(49.57)	24(46.15)	4.728	0.193
高血压史[例(%)]	39(53.42)	63(64.26)	75(64.10)	32(61.54)	2.666	0.446
高血脂症史[例(%)]	18(24.66)	26(26.53)	28(23.93)	14(26.92)	0.283	0.963
糖尿病史[例(%)]	14(19.18)	37(37.76) ^a	43(36.75) ^a	19(36.54) ^a	8.311	0.040
IL-6($\bar{x} \pm s$, ng/L)	84.25 $\pm$ 21.37	137.58 $\pm$ 29.41 ^a	123.81 $\pm$ 25.74 ^{ab}	112.39 $\pm$ 22.68 ^{abc}	64.304	< 0.001
TNF- α ($\bar{x} \pm s$, μ g/L)	1.67 $\pm$ 0.24	2.28 $\pm$ 0.36 ^a	2.12 $\pm$ 0.33 ^{ab}	1.96 $\pm$ 0.27 ^{abc}	56.600	< 0.001
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.31 $\pm$ 0.92	4.26 $\pm$ 0.97	4.35 $\pm$ 1.06	4.42 $\pm$ 1.03	0.324	0.808
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.02 $\pm$ 0.21	1.06 $\pm$ 0.24	1.09 $\pm$ 0.23	1.04 $\pm$ 0.25	1.500	0.214
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.83 $\pm$ 0.76	2.98 $\pm$ 0.85	2.91 $\pm$ 0.92	2.86 $\pm$ 0.81	0.493	0.688
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.65 $\pm$ 0.51	1.73 $\pm$ 0.59	1.84 $\pm$ 0.61	1.78 $\pm$ 0.56	1.746	0.157

注:与 NCA 组比较,^a $P < 0.05$;与 A 组比较,^b $P < 0.05$;与 B 组比较,^c $P < 0.05$

1.3 检测指标与方法

1.3.1 CAG 检查:所有患者使用碘克沙醇造影剂,经右侧桡动脉路径,使用 J 型导丝送至主动脉根部,再置入多功能造影导管,退出导丝,旋转导管至左冠状动脉口,轻推入造影剂,确认导管位于左冠状动脉口后进行造影,同样的方法进行右冠状动脉口造影。每支血管均使用多体位透照。采用美国 GE 公司全数字化血管造影机,以 15 帧/秒记录、分析影像学资料。

1.3.2 血清 Adropin、IL-6、TNF-α 和 hs-CRP 水平检测:取各组受试者清晨空腹肘静脉血 5 ml,在室温中静置 30 min,离心留取上层血清置于 -20℃ 待测。双抗体夹心酶联免疫吸附分析法(ELISA)检测血清 Adropin、IL-6、TNF-α 水平,试剂盒购自博辉生物科技(广州)有限公司。采用日本奥林巴斯 AU640 生化分析仪,以超敏乳胶增强免疫比浊法检测血清 hs-CRP 水平,试剂盒购自上海晶都生物技术有限公司。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行χ²检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-t 检验;Pearson 法分析 CAE 患者血清 Adropin 与 hs-CRP 的相关性;Logistic 回归分析 CAE 发生的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组冠状动脉造影结果及病变判断 A 组(CAE)造影检查示:冠状动脉局部或弥漫性扩张超过邻近正常动脉直径的 1.5~2.0 倍;C 组(OCAD)造影检查示:至少 1 支冠状动脉狭窄大于 50%;B 组(CAE 合并 OCAD)造影检查显示:在冠状动脉瘤样扩张的基础上合并有冠状动脉狭窄;NCA 组造影检查示:冠状动脉无狭窄或狭窄小于 50%,并且冠状动脉无扩张或扩张小于邻近正常动脉直径的 1.5 倍。

2.2 各组血清 Adropin 和 hs-CRP 水平比较 血清 Adropin 水平比较,A 组 < B 组 < C 组 < NCA 组,hs-

CRP 水平比较,A 组 > B 组 > C 组 > NCA 组($P < 0.01$),见表 2。

表 2 4 组受试者血清 Adropin 和 hs-CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Comparison of serum Adropin and hs-CRP levels among the four groups of subjects

组 别	例数	Adropin(ng/L)	hs-CRP(mmol/L)
NCA 组	73	85.49 ± 9.62	5.08 ± 0.74
A 组	98	53.84 ± 8.16 ^a	11.41 ± 1.16 ^a
B 组	52	64.35 ± 7.41 ^{ab}	9.35 ± 1.02 ^{ab}
C 组	117	73.64 ± 8.55 ^{abc}	8.29 ± 0.96 ^{abc}
F 值		217.14	572.302
P 值		< 0.001	< 0.001

注:与 NCA 组比较,^a $P < 0.05$;与 A 组比较,^b $P < 0.05$;与 B 组比较,^c $P < 0.05$

2.3 CAE 患者血清 Adropin 与 hs-CRP 的相关性分析 Pearson 相关分析显示,CAE 患者血清 Adropin 与 hs-CRP 呈负相关($r = -0.522, P < 0.001$)。

2.4 CAE 发生的影响因素 Logistic 回归分析 通过上述相关性分析,将吸烟史、糖尿病及血清 IL-6、TNF-α、Adropin、hs-CRP 纳入多因素 Logistic 模型,结果显示,有吸烟史、糖尿病及血清 IL-6、TNF-α、hs-CRP 水平高为 CAE 发生的独立危险因素(P 均 < 0.05),血清 Adropin 水平高为 CAE 发生的独立保护因素($P < 0.01$),见表 3。

3 讨 论

CAE 患者冠状动脉中层结构和功能减弱,血管壁异常变薄,从而导致血管壁结构发生改变,局部扩张、膨出^[10-12]。它涉及内皮功能障碍、冠状动脉粥样硬化、血小板功能和形态异常、炎性反应等多种病理学机制,其中血管内皮细胞受损及动脉粥样硬化在 CAE 的发生发展中起着重要作用^[13-16]。本研究通过检测各组血清中代表血管内皮功能的 Adropin 和代表动脉粥样硬化的 hs-CRP 水平,结果发现 Adropin 蛋白、hs-CRP 水平变化与冠状动脉瘤样扩张相关,且参与了其形成及发展,并为冠状动脉瘤的早期发现、后期干预治

表 3 影响 CAE 发生的多因素 Logistic 回归分析
Tab. 3 Logisti regression analysis of multiple factors affecting CAE occurrence

指 标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
有吸烟史	1.542	0.526	8.599	0.003	4.676	2.619 ~ 8.348
有糖尿病	0.651	0.228	8.147	0.004	1.917	1.634 ~ 2.253
IL-6 高	0.491	0.176	7.384	0.005	1.634	1.428 ~ 1.869
TNF-α 高	0.421	0.169	6.196	0.013	1.523	1.306 ~ 1.775
Adropin 高	-0.236	0.086	7.513	0.006	0.790	0.735 ~ 0.849
hs-CRP 高	0.609	0.214	8.104	0.004	1.839	1.584 ~ 2.136

疗提供了理论依据。

最近研究表明, Adropin 是一种分泌性蛋白, 表达于脐静脉内皮细胞和冠状动脉内皮细胞中, 可通过激活 RISK 信号通路促进内皮一氧化氮合成酶表达, 增加循环 NO 含量, 发挥血管内皮保护作用^[17-18]。Adropin 蛋白水平降低与内皮组织的 NO 生物利用率较少相关, 而 NO 的生物利用率下降是内皮功能紊乱的重要特征^[19]。本研究结果显示, A 组、B 组、C 组、NCA 组血清 Adropin 水平依次升高, 组间两两比较差异有统计学意义, 其中 CAE 患者血清 Adropin 水平最低, 低水平 Adropin 导致其冠状动脉血管内皮保护功能下降, 可能引发或加速 CAE 的形成。此外, 血清 Adropin 水平高是 CAE 的独立保护因素, 研究发现, 内皮细胞经 Adropin 处理后, 细胞增殖、迁移增加, 细胞凋亡减少^[20], 结合本研究结果推测, Adropin 水平具有预测 CAE 疾病进展的潜力, 有望成为预防及治疗 CAE 的靶点。

动脉粥样硬化是成年人发生 CAE 的主要病因, 而炎症反应贯穿于动脉粥样硬化斑块形成及发展的全过程, hs-CRP 作为最敏感的炎症指标, 与动脉粥样硬化的严重程度呈显著正相关^[21-23], 可以反映冠状动脉粥样硬化中炎症反应的过程, 包括冠状动脉血管内皮的损伤、动脉粥样硬化的形成、发展与破裂, 是预测心血管疾病的主要危险因素^[24-25]。本结果显示, CAE 患者扩张冠状动脉处存在严重的炎症反应, 且 hs-CRP 水平随着炎症反应的增强而递增, 在 CAE 组中炎症反应最强, 炎症反应可损伤冠状动脉血管壁结构, 过度降解细胞外基质蛋白, 导致管壁扩张及重构^[26]。hs-CRP 亦通过加速血管内皮细胞损伤、加重动脉粥样硬化程度, 从而导致冠状动脉血管壁扩张, 引起 CAE 的发生及进展。因此, 监测 hs-CRP 可以作为诊断冠状动脉瘤的辅助手段。本研究结果还显示, 血管内皮功能与动脉粥样硬化之间存在着相互作用, 二者可能共同影响血管内皮细胞, 改变动脉血管壁结构, 参与 CAE 的发展进程, 这为冠状动脉瘤样扩张的治疗提供了理论依据。但二者之间的具体作用机制仍需进一步探究。

综上所述, CAE 患者血清 Adropin 水平降低, hs-CRP 水平升高, 二者均是 CAE 的独立影响因素, 临床可通过监测二者水平在一定程度上预测 CAE 的发生。且通过对 Adropin 蛋白及 hs-CRP 水平的检测发现, 血管内皮细胞受损及动脉粥样硬化共同参与了冠状动脉瘤样扩张的发生、发展, 为早期准确地判断冠状动脉瘤样扩张提供现实依据, 为靶向药物治疗提供理论支持。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王丽娜、马娜:设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 刘燕:提出研究思路, 分析试验数据, 资料搜集整理; 孙小刚:分析试验数据, 资料搜集整理, 进行统计学分析

参考文献

- [1] Willner NA, Ehrenberg S, Musallam A, et al. Coronary artery ectasia: Prevalence, angiographic characteristics and clinical outcome [J]. *Open Heart*, 2020, 7(1): 1-6. DOI: 10.1136/openhrt-2019-001096.
- [2] Qin Y, Tang C, Ma C, et al. Risk factors for coronary artery ectasia and the relationship between hyperlipidemia and coronary artery ectasia [J]. *Coron Artery Dis*, 2019, 30(3): 211-215. DOI: 10.1097/MCA.0000000000000709.
- [3] Ghoshal S, Stevens JR, Billon C, et al. Adropin: an endocrine link between the biological clock and cholesterol homeostasis [J]. *Mol Metab*, 2018, 8: 51-64. DOI: 10.1016/j.molmet.2017.12.002.
- [4] 沈奇峰, 肖井楠. 高敏 C 反应蛋白和氨基末端钠肽前体预测老年急性冠脉综合征患者心血管事件的价值 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(1): 98-100. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9201.2018.01.038.
- Sheng QF, Xiao JN. Value of high sensitive C-reactive protein and amino-terminal natriuretic peptide in predicting cardiovascular events in elderly patients with acute coronary syndromes [J]. *Chinese Geriatrics Med*, 2018, 38(1): 98-100. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9201.2018.01.038.
- [5] Zhao LP, Xu WT, Wang L, et al. Serum adropin level in patients with stable coronary artery disease [J]. *Heart Lung Circ*, 2015, 24(10): 975-979. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.07.361.
- [6] Melnikov IS, Kozlov SG, Saburova OS, et al. Current position on the role of monomeric C-reactive protein in vascular pathology and atherothrombosis [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(1): 37-43. DOI: 10.1021/74/1381612825666191216144055.
- [7] Celik HT, Bilen M, Kazanc F, et al. Serum adropin as a predictive biomarker of erectile dysfunction in coronary artery disease patients [J]. *Cent European J Urol*, 2019, 72(3): 302-306. DOI: 10.1051/73/ceju.2019.1666.
- [8] 冯利娟, 高静. Adropin 与冠心病关系的研究进展 [J]. *天津医药*, 2018, 46(4): 444-448. DOI: 10.11958/20171311.
- Feng LJ, Gao J. The research progress of Adropin coronary heart disease [J]. *Tianjin Med*, 2018, 46(4): 444-448. DOI: 10.11958/20171311.
- [9] 黎洁雯. 尿酸、超敏 C-反应蛋白与急性冠脉综合征危险分层的关系研究 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2017, 9(3): 324-325. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2017.03.19.
- Li JW. Study on relationship between serum uric acid, high sensitive C-reactive protein and risk stratification of acute coronary syndrome [J]. *China Evid Based Cardiovasc Med*, 2017, 9(3): 324-325. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2017.03.19.
- [10] Dastgir N, Masood A, Muqet A, et al. Frequency of risk factors in patients of acute coronary syndrome due to coronary ectasia [J]. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 2020, 28(6): 312-315. DOI: 10.1177/0218492320937155.

- [11] 邢园园,薛红元. 基于人工智能三维超声心动图评价心脏功能和疾病的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(6): 646-650. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 06. 020.
Xing YY, Xue HY. Research progress on the evaluation of cardiac function and diseases based on artificial intelligence three-dimensional echocardiography[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21(6): 646-650. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 06. 020.
- [12] 陆怡茜,余蒙蒙,曾蒙苏,等. 应用冠状动脉 CTA 和计算流体力学无创性评价心肌桥对冠状动脉血流动力学的影响[J]. 中国临床医学, 2021, 28(3): 396-401. DOI: 10.12025/j. issn. 1008-6358. 2021. 20210278.
Lu YH, Yu MM, Zeng MS, et al. Noninvasive evaluation of hemodynamic changes of myocardial bridge using coronary CTA and computational fluid dynamics [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021, 28(3): 396-401. DOI: 10.12025/j. issn. 1008-6358. 2021. 20210278.
- [13] Gunasekaran P, Stanojevic D, Drees T, et al. Prognostic significance, angiographic characteristics and impact of antithrombotic and anticoagulant therapy on outcomes in high versus low grade coronary artery ectasia: A long-term follow-up study[J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2019, 93(7): 1219-1227. DOI: 10.1002/ccd. 27929.
- [14] 牛少辉,张丽华. 冠心病患者血 MMP9、NT-proBNP、hs-CRP 水平变化及意义分析[J]. 医学分子生物学杂志, 2014, 6(4): 204-207. DOI: 10.3870/j. issn. 1672-8009. 2014. 04. 005.
Niu SH, Zhang LH. Change of MMP-9, NT-proBNP and hs-CRP levels in patients with coronary heart disease and its significance[J]. Med Mol Biol, 2014, 6(4): 204-207. DOI: 10.3870/j. issn. 1672-8009. 2014. 04. 005.
- [15] Schaffer A, Verdoia M, Barbieri L, et al. Impact of diabetes on homocysteine levels and its relationship with coronary artery disease: A Single-Centre Cohort Study [J]. Ann Nutr Metab, 2016, 68(3): 180-188. DOI: 10.1159/000441478.
- [16] 崔玉梅,董蕾. 血清白介素 17、脂蛋白(a)水平与 ST 段抬高型心肌梗死患者经皮冠状动脉介入术后支架内血栓形成的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30(3): 12-16. DOI: 10.12114/j. issn. 1008-5971. 2022. 00. 070.
Cui YM, Dong L. Relationship between Serum Interleukin 17, Lipoprotein (a) Levels and In-stent Thrombosis in STEMI Patients after PCI[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30(3): 12-16. DOI: 10.12114/j. issn. 1008-5971. 2022. 00. 070.
- [17] 张泽驿,任明. Adropin 蛋白在心血管疾病中的临床研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2018, 20(2): 205-207. DOI: 10.3969/j. issn. 1009-0126. 2018. 02. 026.
Zhang ZH, Ren M. Clinical research progress of Adropin protein in cardiovascular diseases[J]. China J Geriatr Brain Vessel Dis, 2018, 20(2): 205-207. DOI: 10.3969/j. issn. 1009-0126. 2018. 02. 026.
- [18] 倪亚萍,李程亮,王敏娟,等. 摄食抑制因子 1 对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗后长期预后的预测价值[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(2): 107-109. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-9057. 2022. 02. 011.
- [19] Ozkan B, Orselik O, Yildirim Yaroglu H, et al. Association between serum adropin levels and isolated coronary artery ectasia in patients with stable angina pectoris[J]. Anatol J Cardiol, 2019, 22(5): 250-255. DOI: 10.14744/AnatoJCardiol. 2019. 90349.
- [20] Zhao ZW, Ren YG, Liu J. Low serum adropin levels are associated with coronary slow flow phenomenon[J]. Acta Cardiol Sin, 2018, 34(4): 307-312. DOI: 10.6515/ACS. 201807-34(4). 20180306B.
- [21] 郭晓坤,王林. 炎症因素与动脉粥样硬化病变发病机制关系的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(16): 3160-3166. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-2084. 2020. 16. 008.
Guo XK, Wang L. Research progress in relationship between inflammatory factors and pathogenesis of atherosclerosis[J]. Medical Recapitulate, 2020, 26(16): 3160-3166. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-2084. 2020. 16. 008.
- [22] 袁山旗,赵红敏,王晓叶,等. 颈动脉超声联合血管内皮生长因子、基质金属蛋白酶-9、超敏 C 反应蛋白检测在动脉粥样硬化斑块稳定性中的应用分析[J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23(17): 27-29, 33. DOI: 10.7619/jcmp. 201917008.
Yuan SQ, Zhao HM, Wang XY, et al. Application analysis of carotid ultrasound combined with detections of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase-9 and hypersensitive C-reactive protein in the stability of atherosclerotic plaque[J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2019, 23(17): 27-29, 33. DOI: 10.7619/jcmp. 201917008.
- [23] 包涵,李晓惠. 川崎病抗血栓治疗药物相关基因多态性研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, (11): 34-37.
Bao H, Li XH. Advances in research on gene polymorphisms of antithrombotic drugs in Kawasaki disease[J]. China Medical Herald, 2019, (11): 34-37.
- [24] 康晓平,郭秀花,苏彦萍,等. 血浆 HCY、hs-CRP 水平与高血压病人颈动脉粥样硬化的相关性及其危险因素分析[J]. 内蒙古医科大学学报, 2020, 42(4): 345-349. DOI: 10.16343/j. cnki. issn. 2095-512x. 2020. 04. 003.
Kang XP, Guo XH, Su YP, et al. Correlation between plasma HCY and hs-CRP levels and carotid atherosclerosis in patients with hypertension and its risk factors[J]. Journal of Inner Mongolia Medical University, 2020, 42(4): 345-349. DOI: 10.16343/j. cnki. issn. 2095-512x. 2020. 04. 003.
- [25] 王华,张英谦,李博,等. 川崎病抗血栓治疗的效果评估及作用机制研究[J]. 中国医药, 2021, 16(11): 1640-1644. DOI: 10.3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 11. 010.
Wang H, Zhang YQ, Li B, et al. Effect and mechanism of anticoagulant therapy on Kawasaki disease [J]. China Medicine, 2021, 16(11): 1640-1644. DOI: 10.3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 11. 010.
- [26] Sercelik A, Tanrıverdi O, Askin L, et al. Association of C-reactive protein to albumin ratio in patients with isolated coronary artery ectasia[J]. Arq Bras Cardiol, 2021, 116(1): 48-54. DOI: 10.36660/abc. 20190476.

(收稿日期: 2022-06-24)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 004

论著 · 临床

基于血管修复因子、神经递质探讨脑循环治疗仪联合美金刚治疗阿尔茨海默病机制

范彩芹, 许海宁, 何文杰, 王星南, 高莎莎, 王国强, 李俊飞

作者单位: 046200 长治, 北大医疗潞安医院神经内科

通信作者: 范彩芹, E-mail: fancaiqin159@163. com

【摘要】目的 探讨脑循环治疗仪联合美金刚治疗阿尔茨海默病(AD)效果及对脑循环、血管修复因子的影响。**方法** 选取2018年1月—2021年1月北大医疗潞安医院神经内科收治AD患者111例临床资料,以随机数字表法分为对照组55例和研究组56例。对照组采取美金刚治疗,研究组在对照组基础上采取脑循环治疗仪治疗,均治疗1个月。比较2组治疗前后蒙特利尔认知量表(MoCA)、脑循环指标(左侧椎动脉、右侧椎动脉及基底动脉血流速度)、血管修复因子[血红素氧化酶-1(HO-1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、MMP-2]、神经递质[S100B蛋白、 γ -氨基丁酸(GABA)、乙酰胆碱(Ach)]水平,以及不良反应发生情况。**结果** 治疗1个月后,研究组MoCA评分高于对照组($t/P=6.844/ <0.001$);左侧椎动脉、右侧椎动脉及基底动脉血流速度大于对照组($t/P=6.233/ <0.001$ 、 $10.110/ <0.001$ 、 $5.661/ <0.001$);血清HO-1、GABA、Ach水平高于对照组($t/P=5.791/ <0.001$ 、 $5.664/ <0.001$ 、 $4.150/ <0.001$),MMP-9、MMP-2、S100B蛋白水平低于对照组($t/P=3.945/ <0.001$ 、 $3.640/ <0.001$ 、 $5.306/ <0.001$);2组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 脑循环治疗仪联合美金刚应用于AD患者有助于改善微循环,恢复认知功能,机制可能与调节血管修复因子、神经递质有关,且安全性高。

【关键词】 阿尔茨海默病;美金刚;脑循环治疗仪;脑循环;血管修复因子;作用机制

【中图分类号】 R742

【文献标识码】 A

Study on the mechanism of cerebral circulation therapeutic apparatus combined with memantine in treating Alzheimer's disease based on vascular repair factor and neurotransmitter Fan Caiqin, Xu Haining, He Wenjie, Wang Xingnan, Gao Shasha, Wang Guoqiang, Li Junfei. Department of Neurology, Lu'an Hospital, Peking University Medical College, Shanxi Province, Changzhi 046200, China

Corresponding author: Fan Caiqin, E-mail: fancaiqin159@163. com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of cerebral circulation therapeutic apparatus combined with memantine on Alzheimer's disease (AD) and its influence on cerebral circulation and vascular repair factors. **Methods** From January 2018 to January 2021, 111 patients with AD were selected from the Department of Neurology, Lu'an Hospital, Peking University Medical College. They were randomly divided into a control group of 55 patients and a study group of 56 patients. The control group was treated with memantine, and the study group was treated with cerebral circulation therapeutic apparatus on the basis of the control group, both of which were treated for 1 month. The Montreal Cognitive Scale (MoCA), cerebral circulation indexes (left vertebral artery, right vertebral artery and basilar artery blood flow velocity), vascular repair factors [heme oxygenase-1 (HO-1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2], neurotransmitter [S100B protein γ -Aminobutyric acid (GABA), acetylcholine (Ach)], and adverse reactions. **Results** After 1 month treatment, the MoCA score of the study group was higher than that of the control group ($t/P=6.844/ <0.001$). The blood flow velocity of left vertebral artery, right vertebral artery and basilar artery was higher than that of the control group ($t/P=6.233/ <0.001$, $10.110/ <0.001$, $5.661/ <0.001$). The levels of serum HO-1, GABA and Ach were higher than those in the control group ($t/P=5.791/ <0.001$, $5.664/ <0.001$, $4.150/ <0.001$), and the levels of MMP-9, MMP-2, S100B protein were lower than those in the control group ($t/P=3.945/ <0.001$, $3.640/ <0.001$, $5.306/ <0.001$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The application of cerebral circulation therapeutic apparatus combined with memantine in AD patients is helpful to improve microcirculation and restore cognitive function. The mechanism may be related to regulating vascular repair factors and neurotransmitters, with high safety.

【Key words】 Alzheimer's disease; Memantine; Cerebral circulation function therapy instrument; Cerebral circulation; Vascular repair factor; Mechanism

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)好发于老年人,调查显示,我国 65 岁以上人群认知功能障碍发病率为 7.8%,其中 AD 发病率为 4.8%,具有病情隐匿、发展缓慢、致残率高等特点^[1-2]。美金刚是治疗 AD 的常用药物,可选择性阻断 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)型谷氨酸受体,增加脑内谷氨酸浓度,拮抗神经毒性,延缓神经退行性病变进程^[3]。脑循环治疗仪是新型物理疗法,主要是通过扩张脑血管、增加脑血流量等途径恢复神经功能,起到治疗疾病的目的。目前脑循环治疗仪在脑梗死、血管性痴呆等神经内科疾病中已有相关应用^[4-5]。近年研究表明,AD 发生发展与脑微循环障碍、胆碱能神经元丧失、炎症反应等有关,调控上述机制有望提高 AD 治疗效果^[6]。现从脑循环、血管修复因子、神经递质等方面分析脑循环治疗仪联合美金刚治疗 AD 的作用机制,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 1 月—2021 年 1 月北大医疗潞安医院神经内科收治 AD 患者 111 例,以随机数字表法分为对照组 55 例和研究组 56 例。2 组临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准(20180215),患者家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 对照组与研究组 AD 患者临床资料比较
Tab.1 Comparison of clinical data of AD patients in the control group and the study group

项 目	对照组 (<i>n</i> = 55)	研究组 (<i>n</i> = 56)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
男/女(例)	27/28	25/31	0.221	0.638
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	68.03 $\pm$ 3.23	66.95 $\pm$ 4.98	1.353	0.179
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	20.12 $\pm$ 0.68	19.89 $\pm$ 0.86	1.561	0.121
病程($\bar{x} \pm s$, 月)	15.52 $\pm$ 4.33	16.68 $\pm$ 5.12	1.288	0.201
病情程度			0.440	0.507
[例(%)] 轻度	29(52.73)	26(46.43)		
[例(%)] 中度	26(47.27)	30(53.57)		
诱因			0.335	0.563
[例(%)] 基因	5(9.10)	7(12.50)		
[例(%)] 生活方式	48(87.27)	50(89.29)	0.108	0.742
[例(%)] 环境	20(36.36)	17(30.36)	0.451	0.502
吸烟[例(%)]	26(47.27)	28(50.00)	0.083	0.774
饮酒[例(%)]	22(40.00)	17(30.36)	1.132	0.287
糖尿病[例(%)]	16(29.10)	13(23.21)	0.497	0.481
高血压[例(%)]	18(32.73)	20(35.71)	0.110	0.740
家族遗传史[例(%)]	5(9.10)	3(5.36)	0.155	0.694

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:符合 AD 诊断标准^[7],首次发病,记忆力减退,其他认知能力减退,认

知衰退足以影响社会功能;蒙特利尔认知量表(MoCA)评分 18~26 分。(2)排除标准:研究药物或仪器不耐受;重要脏器器质性病变;其他病因(脑外伤、脑肿瘤)所致认知障碍;药物、酒精滥用史;近 2 周内接受促智药物;临床资料缺失。

1.3 治疗方法 2 组患者入院后均接受改善脑微循环、抗氧化、营养神经等对症治疗。对照组采取美金刚(德国 Rottendorf Pharma GmbH)治疗,第 1 周晨起服用 5 mg,第 2 周早晚各服用 5 mg,第 3 周晨起服用 10 mg、晚上服用 5 mg,第 4 周早晚各服用 10 mg;研究组在对照组基础上采取脑循环治疗仪(上海仁和医疗设备公司, CVFT-010M 型)治疗,将电极片粘贴至两耳侧乳突,通电产生交变电磁场以无创方式穿透脑屏障,形成仿生电流刺激脑顶核,治疗模式 3,强度 80~125,频率 75~150,强度比值 1.5~3.0,20 min/次。2 组均治疗 1 个月。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 认知、记忆功能测定:治疗前后采用 MoCA 量表进行评估^[8],涉及执行功能、注意与集中、抽象思维、视结构技能、语言、记忆、计算力和定向力等维度,总分 30 分,分值越高认知功能越好,为避免学习效应,使用 MoCA7.2 和 MoCA7.3 两种版本交替测量。

1.4.2 脑循环指标检测:治疗前后采用放射性同位素示踪法测定左侧椎动脉、右侧椎动脉及基底动脉血流速度。

1.4.3 血清血管修复因子检测:治疗前后于患者空腹状态下抽取肘静脉血 2 ml,静置 20 min,离心取上清液待测。采用酶联免疫吸附法测定血清血红素氧化酶-1(HO-1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、MMP-2,试剂盒购自武汉赛培生物科技有限公司。

1.4.4 血清神经递质检测:上述血清,采用放射免疫沉淀法测定血清 S100B 蛋白、 γ -氨基丁酸(GABA)、乙酰胆碱(Ach),试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.4.5 不良反应:记录治疗期间不良反应发生情况,包括意识混沌、幻觉、脑部高氧等。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 22.0 软件包处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,组内比较采用配对 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 病例脱落情况 研究组脱落 3 例(自愿退出 1 例,自行更换治疗方案 2 例),对照组脱落 2 例(自愿退出 1 例,继发脑梗死退出 1 例)。

2.2 2 组治疗前后 MoCA 评分比较 治疗前对照组与研究组 MoCA 评分比较,差异无统计学意义 [(19.13±0.52)分 vs. (19.25±0.41)分, $t/P=1.320/0.190$],治疗 1 个月后,研究组 MoCA 评分高于对照组 [(22.71±2.02)分 vs. (20.24±1.68)分, $t/P=6.844/ <0.001$]。

2.3 2 组治疗前后脑循环指标比较 治疗前 2 组脑循环指标比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$);治疗 1 个月后研究组左侧椎动脉、右侧椎动脉及基底动脉血流速度均大于对照组 ($P<0.01$),见表 2。

表 2 对照组与研究组治疗前后脑动脉血流速度比较 ($\bar{x}\pm s$,cm/s)

Tab. 2 Comparison of cerebral circulation indexes between the control group and the study group before and after treatment

组 别	时间	左侧椎动脉	右侧椎动脉	基底动脉
对照组	治疗前	25.15±4.67	23.95±4.08	27.03±3.42
(n=53)	治疗后	27.30±4.92	27.52±4.69	30.31±4.45
研究组	治疗前	25.33±4.58	24.41±3.77	25.98±4.79
(n=53)	治疗后	33.33±5.04	36.78±4.74	35.62±5.18
t/P 对照组内值		2.361/ 0.020	4.275/ <0.001	4.334/ <0.001
t/P 研究组内值		8.791/ <0.001	15.284/ <0.001	10.225/ <0.001
t/P 治疗后组间值		6.233/ <0.001	10.110/ <0.001	5.661/ <0.001

2.4 2 组治疗前后血清血管修复因子比较 治疗前 2 组血清血管修复因子比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$);治疗 1 个月后研究组血清 HO-1 水平高于对照组,MMP-9、MMP-2 水平低于对照组 ($P<0.01$),见表 3。

表 3 对照组与研究组治疗前后血清血管修复因子比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum vascular repair factors between the control group and the study group before and after treatment

组 别	时间	HO-1(μg/L)	MMP-9(g/L)	MMP-2(g/L)
对照组	治疗前	8.96±3.23	19.08±4.42	14.50±2.21
(n=53)	治疗后	24.33±5.56	16.45±2.33	12.28±2.34
研究组	治疗前	10.01±2.48	17.72±5.91	14.62±2.13
(n=53)	治疗后	30.22±4.89	14.34±3.12	10.65±2.27
t/P 对照组内值		17.727/ <0.001	3.931/ <0.001	5.115/ <0.001
t/P 研究组内值		27.583/ <0.001	3.785/ <0.001	9.544/ <0.001
t/P 治疗后组间值		5.791/ <0.001	3.945/ <0.001	3.640/ <0.001

2.5 2 组治疗前后血清神经递质比较 治疗前 2 组

血清神经递质比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$);治疗 1 个月后研究组血清 GABA、Ach 水平高于对照组,S100B 蛋白水平低于对照组 ($P<0.01$),见表 4。

表 4 对照组与研究组治疗前后血清神经递质比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 4 Comparison of serum neurotransmitters between the control group and the study group before and after treatment

组 别	时间	S100B 蛋白(μg/L)	GABA(μmol/L)	Ach(nmol/L)
对照组	治疗前	0.70±0.22	19.86±3.55	22.20±2.34
(n=53)	治疗后	0.55±0.15	25.57±4.38	26.68±4.12
研究组	治疗前	0.68±0.24	20.21±2.96	20.96±4.08
(n=53)	治疗后	0.41±0.12	31.12±5.63	30.48±5.24
t/P 对照组内值		4.204/ <0.001	7.511/ <0.001	7.012/ <0.001
t/P 研究组内值		7.530/ <0.001	12.836/ <0.001	10.727/ <0.001
t/P 治疗后组间值		5.306/ <0.001	5.664/ <0.001	4.150/ <0.001

2.6 2 组不良反应比较 研究组不良反应总发生率为 7.55%,低于对照组的 9.43%,但 2 组比较差异无统计学意义($\chi^2=0.121,P=0.728$),见表 5。

表 5 对照组与研究组不良反应比较 [例(%)]

Tab. 5 Comparison of adverse reactions between the control group and the study group

组 别	例数	幻觉	意识混沌	脑部高氧	总发生率(%)
对照组	53	2(3.77)	3(5.66)	0	9.43
研究组	53	2(3.77)	1(1.89)	1(1.89)	7.55

3 讨 论

AD 属获得性脑变性疾病,其发病率占痴呆总数的 60%~70%,表现为行为障碍、思维障碍,随着病情进展,诱发精神异常、人格障碍、神经受损,危及患者身心健康^[9-10]。AD 发病机制复杂,尚无特效治疗手段,多以促智药物为主,如美金刚,可作用于 NMDA 受体,阻碍钙离子内流,保护神经功能,改善临床症状,但长期应用不良反应明显,效果有限,无法有效遏制 AD 进展,建议联合其他疗法。

脑循环治疗仪是新型脑病功能康复综合治疗系统,利用数字频率合成技术产生仿真生物电作用于机体头、额、顶、枕部,刺激中枢神经系统,影响脑内代谢及神经电活动,发挥神经功能保护作用。黄龙英等^[11]研究发现,补脾培元益智针法联合脑循环电刺激仪可改善血管性痴呆患者认知功能、精神状态及脑电图异常程度分级。陈世振等^[12]研究报道,认知功能训练结合脑循环治疗仪可增加轻度血管性痴呆患者脑血流量,改善认知功能,效果确切,与本研究结果相符。脑微循环障碍是 AD 重要病理改变,相关研究证实,AD

患者多个脑组织(海马、基底节、额叶、颞叶)脑血流量及脑血容量均低于健康人群,以额叶部及颞顶部降低最为明显^[13]。亦有学者指出,AD 患者脑血流量减少程度与痴呆严重程度显著相关,一旦病情进展至晚期,可出现弥漫性对称血流减少^[14]。稳定、充足的脑血流供给是保证大脑生理功能的基础,一旦脑血流减少,便可引起脑功能障碍,表现为脑内神经递质异常表达。GABA、Ach、S100B 蛋白均为常见神经递质,在 AD 患者中均呈异常表达,可作为 AD 病情进展的重要评价指标^[15-17]。脑循环治疗仪将电极片粘贴至两耳侧乳突,无创引入小脑顶核,启动条件性中枢神经源神经保护,增加缺血脑组织血流量,稳定缺血半暗带神经元膜电位,降低脑组织细胞外谷氨酸含量,发挥脑保护作用,促进认知及记忆功能恢复;其还可扩张脑血管,降低血液黏稠度,减轻脑神经损害,增强脑源神经营养因子表达,稳定脑细胞内环境,达到保护神经功能的目的^[18-19]。同时 2 组并未出现严重不良反应,经对症处理后均得到缓解。

AD 患者脑微循环障碍除与缺血严重有关外,还涉及新生血管生成及侧支循环建立障碍^[20-21]。HO-1 是重要的抗氧化酶,一定范围内表达量升高有助于降低氧化应激损伤及炎症反应损伤,有学者指出,AD 患者 HO-1 含量较低^[22]。MMP-9、MMP-2 已被证实与缺血性脑损伤、动脉粥样硬化密切相关,动物及体外试验中均发现 AD 大鼠/患者血清 MMP-9、MMP-2 呈过表达^[23]。亦有学者指出 MMP 抑制剂可有效保护缺血性脑损伤,下调 MMP-9、MMP-2 水平有望延缓疾病进展,促进疾病转归^[24]。本研究结果发现,在美金刚治疗基础上加用脑循环治疗仪可促使生成修复性血管因子,增加病变区域侧支循环,控制 AD 进程,其机制考虑与扩张脑血管、释放神经递质有关,具体机制仍需进一步明确。

综上,脑循环治疗仪联合美金刚应用于 AD 患者有助于改善微循环,恢复认知功能,机制可能与调节血管修复因子、神经递质有关,且安全性高。但本研究仍存在样本量小、干预时间过短、未设单纯脑循环治疗仪组等不足,未来可扩大样本量,延长干预时间,增设单纯脑循环治疗仪组,为 AD 确定合理治疗方案提供科学依据。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

范彩芹、许海宁:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;何文杰、王国强:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王星南:进行统计学分析;高莎莎、李俊飞:实施研究过程,资料搜集

整理,论文修改

参考文献

- [1] Villain N, Dubois B. Alzheimer's disease including focal presentations[J]. *Semin Neurol*, 2019, 39(2): 213-226. DOI: 10.1055/s-0039-1681041.
- [2] 杨云竣, 黄飏. 阿尔茨海默病与帕金森病的影像学组学研究进展[J]. *国际医学放射学杂志*, 2020, 43(1): 41-44. DOI: 10.19300/j.2020.Z17568.
- [3] Yang YJ, Huang B. Research progress of radiomics in Alzheimer's disease and Parkinson's disease[J]. *Intern J Med Radiol*, 2020, 43(1): 41-44. DOI: 10.19300/j.2020.Z17568.
- [4] 冯丽, 来芹美, 胡琳, 等. 美金刚联合脑磁治疗阿尔茨海默病痴呆的行为精神症状的疗效观察[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(2): 77-81. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.02.015.
- [5] Feng L, Lai QM, Hu L, et al. Memantine combined with brain electromagnetic therapy in the treatment of Alzheimer's disease with behavioral and psychological symptoms of dementia[J]. *Chin J Mod Med*, 2021, 31(2): 77-81. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.02.015.
- [6] 何琳琳, 杜文华, 崔宏建, 等. 针刺联合脑循环治疗仪治疗血管性痴呆的临床观察[J]. *中国社区医师*, 2022, 35(14): 24-25. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2019.14.016.
- [7] He LL, Du WH, Cui HJ, et al. Clinical observation on vascular dementia treated by acupuncture combined with cerebral circulation therapeutic apparatus[J]. *Chin Commun Doct*, 2022, 35(14): 24-25. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2019.14.016.
- [8] 董明华, 肖运昌. 丹参注射液联合脑循环治疗仪对脑梗死恢复期患者的治疗效果[J]. *中国社区医师*, 2021, 37(14): 29-30. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2021.14.013.
- [9] Dong MH, Xiao YC. Exploration on the therapeutic effect of salvia miltiorrhiza injection combined with cerebral circulation therapeutic apparatus on convalescent patients with cerebral infarction[J]. *Chin Commun Doct*, 2021, 37(14): 29-30. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2021.14.013.
- [10] Cortes-Canteli M, Iadecola C. Alzheimer's disease and vascular aging: JACC Focus Seminar[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 3(8): 942-951. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.10.062.
- [11] 贾建平, 陈生弟. *神经病学*[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 217-222.
- [12] 武冬冬, 杜危, 龙云飞, 等. 帕金森病患者主观认知减退的临床特征及其与情感症状的关系初探[J]. *中华神经科杂志*, 2022, 55(3): 191-195. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20211221-00907.
- [13] Wu DD, Du W, Long YF, et al. Clinical characteristics of subjective cognitive decline in patients with Parkinson's disease and its relationship with affective symptoms: a preliminary study[J]. *Chin J Neurol*, 2022, 55(3): 191-195. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20211221-00907.
- [14] Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment[J]. *Molecules*, 2020, 8(24): 5789. DOI: 10.3390/molecules25245789.
- [15] Lloret A, Esteve D, Lloret MA, et al. When does Alzheimer's disease really start? the role of biomarkers[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 6(22): 5536. DOI: 10.3390/ijms20225536.

- [11] 黄龙英,袁卫忠.补脾培元益智针法联合脑循环电刺激仪对血管性痴呆患者认知功能及脑电图异常程度分级的影响[J]. 医疗装备,2019,32(21):6-7. DOI:10.3969/j.issn.1002-2376.2019.21.004.
- [12] 陈世振,陈康亮,范煜华,等.认知功能训练联合脑循环治疗对轻度血管性痴呆的疗效[J]. 国际老年医学杂志,2020,41(2):76-79. DOI:10.3969/j.issn.1674-7593.2020.02.004.
Chen SZ,Chenn KL,Fan YH,et al. Effects of Cognitive Function Training Combined with Cerebral Circulation Therapy on Mild Vascular Dementia[J]. International Journal of Geriatrics,2020,41(2):76-79. DOI:10.3969/j.issn.1674-7593.2020.02.004.
- [13] 殷立新.复方苳蓉益智胶囊联合阿魏酸钠治疗阿尔茨海默病疗效及对脑微循环和胆碱能神经递质的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2021,30(27):3061-3063,3078. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2021.27.023.
- [14] 王红岩,张立军,洪梅,等.阿尔茨海默病患者脑血流灌注参数与认知功能障碍的关系[J]. 中国临床医生杂志,2020,48(3):311-314. DOI:10.3969/j.issn.2095-8552.2020.03.018.
- [15] Delgado A,Cholevas C,Theoharides TC,et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease and beneficial action of luteolin[J]. Biofactors,2021,47(2):207-217. DOI:10.1002/biof.1714.
- [16] Czapski GA,Strosznajder JB. Glutamate and gaba in microglia-neuron cross-talk in Alzheimer's disease[J]. Int J Mol Sci,2021,28(21):11677. DOI:10.3390/ijms222111677.
- [17] Chaudhuri JR,Mridula KR,Rathnakishore C,et al. Association serum s100B protein in Alzheimer's disease: A case control study from South India[J]. Curr Alzheimer Res,2020,17(12):1095-1101. DOI:10.2174/1567205018666210119145104.
- [18] 董明华,肖运昌.丹参注射液联合脑循环治疗仪对脑梗死恢复期患者的治疗效果[J]. 中国社区医师,2021,37(14):29-30. DOI:10.3969/j.issn.1007-614x.2021.14.013.
Dong MH,Xiao YC. Exploration on the therapeutic effect of salvia miltiorrhiza injection combined with cerebral circulation therapeutic apparatus on convalescent patients with cerebral infarction[J]. Chinese Community Doctors,2021,37(14):29-30. DOI:10.3969/j.issn.1007-614x.2021.14.013.
- [19] 郑昌胜,童庆好,王安江,等.脑循环系统治疗仪联合阿立哌唑对女性精神分裂症患者认知和社会功能的影响[J]. 临床与病理杂志,2022,42(4):860-865. DOI:10.3978/j.issn.2095-6959.2022.04.014.
Zheng CS,Tong QH,Wang AJ,et al. Effects of cerebral circulation function therapy device combined with aripiprazole on cognitive and social function in female patients with schizophrenia[J]. Journal of Clinical and Pathological Research,2022,42(4):860-865. DOI:10.3978/j.issn.2095-6959.2022.04.014.
- [20] 陈小平,邢彦伟,闫朝霞,等.阿尔茨海默病合并2型糖尿病模型小鼠海马血管损伤与认知改变[J]. 解剖学报,2021,52(6):863-869. DOI:10.16098/j.issn.0529-1356.2021.06.004.
Chen XP,Xing YW,Yan ZX,et al. Hippocampal vascular injury and cognitive impairment in a mixed mouse models of Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus[J]. Acta Anatomica Sinica,2021,52(6):863-869. DOI:10.16098/j.issn.0529-1356.2021.06.004.
- [21] 王紫薇,周西彬,邓菊,等.苓桂术甘汤对阿尔茨海默病血脑屏障损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(1):18-23. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx20212404.
Wang ZW,Zhou XB,Deng J,et al. Mechanism of Lingui Zhugantang in Repairing Blood-brain Barrier Injury of Alzheimer's Disease[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae,2022,28(1):18-23. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx20212404.
- [22] 王迎春,李延峰,王洪权,等.调控血红素加氧酶-1和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶2通路治疗阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中华老年医学杂志,2021,40(12):1504-1507. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2021.12.006.
Wang YC,Li YF,Wang HQ,et al. Research progress in targeting the Heme oxygenase-1/NOX 2 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase pathway for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Chinese Journal of Geriatrics,2021,40(12):1504-1507. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2021.12.006.
- [23] Ciccone L,Vandooren J,Nencetti S,et al. Natural marine and terrestrial compounds as modulators of matrix metalloproteinases-2 (mmp-2) and mmp-9 in alzheimer's disease[J]. Pharmaceuticals (Basel),2021,24(2):86. DOI:10.3390/ph14020086.
- [24] 方迎艳,苏振宏,司文霞,等.白藜芦醇治疗阿尔茨海默病的作用机制:基于网络药理学方法[J]. 南方医科大学学报,2021,41(1):10-19. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2021.01.02.
Fang YY,Su ZH,Si WX,et al. Network pharmacology-based study of the therapeutic mechanism of resveratrol for Alzheimer's disease[J]. Journal of Southern Medical University,2021,41(1):10-19. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2021.01.02.

(收稿日期:2022-07-04)

(上接 1013 页)

- [23] Van Lunteren M,Scharloo M,Ez-Zaitouni Z,et al. The impact of illness perceptions and coping on the association between back pain and health outcomes in patients suspected of having axial Spondyloarthritis: data from the SP ondyloArthritis caught early cohort[J]. Arthritis Care & Research,2018,70(12):1829-1839. DOI:10.1002/acr.23566.
- [24] Macfarlane GJ,Rotariu O,Jones GT,et al. Determining factors related to poor quality of life in patients with axial spondyloarthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register (BSR-BR-AS)[J]. Annals of the Rheumatic Diseases,2020,79(2):202-208. DOI:10.1136/annrheumdis-2019-216143.
- [25] Gossec L,Berenbaum F,Chauvin P,et al. Development and application of a questionnaire to assess patient beliefs in rheumatoid arthritis and axial spondyloarthritis[J]. Clinical Rheumatology,2018,37(10):2649-2657. DOI:10.1007/s10067-018-4172-5.
- [26] Bech B,Primdahl J, Van Tubergen A,et al. 2018 update of the EULAR recommendations for the role of the nurse in the management of chronic inflammatory arthritis[J]. Annals of the Rheumatic Diseases,2020,79(1):61-68. DOI:10.1136/annrheumdis-2019-215458.

(收稿日期:2022-08-01)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.005

论著·临床

帕金森病患者血清 circRNA DLGAP4 和 circRNA SAMD4A 表达与病情严重程度及认知障碍相关性研究

柴琴琴, 范磊, 刘星亮, 岳秉宏

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(20200204)

作者单位: 075000 河北省张家口, 河北北方学院附属第一医院神经内三科

通信作者: 岳秉宏, E-mail: z19803031016@163.com

【摘要】目的 探究环状 RNA DLGAP4(circRNA DLGAP4)、circRNA SAMD4A 表达水平与帕金森病(PD)病情严重程度、认知障碍的关系。**方法** 选取 2019 年 10 月—2022 年 3 月河北北方学院附属第一医院神经内三科诊治的 PD 患者 95 例为 PD 组, 根据蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分将 PD 患者分为认知正常亚组 54 例和认知障碍亚组 41 例; 采用 Hoehn-Yahr(H-Y)分期将 PD 患者分为 1 期亚组 33 例、2~3 期亚组 44 例、4~5 期亚组 18 例; 另选取医院同期体检健康者 95 例为健康对照组。比较各组血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平及 MoCA 评分。Pearson 法分析 PD 患者血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平与 MoCA 评分的相关性, Logistic 回归分析 PD 患者发生认知障碍的影响因素, 受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 对 PD 患者发生认知障碍的诊断价值。**结果** 与健康对照组比较, PD 组患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分降低($t/P=47.612/ <0.001$ 、 $26.821/ <0.001$), 血清 circRNA SAMD4A 表达水平升高($t/P=23.461/ <0.001$)。认知障碍亚组 PD 患者年龄、血清 circRNA SAMD4A 表达水平高于认知正常亚组($t/P=2.515/0.014$ 、 $6.693/ <0.001$), 受教育年限、血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分低于认知正常亚组($t/P=5.162/ <0.001$ 、 $8.289/ <0.001$ 、 $23.017/ <0.001$); 1 期亚组、2~3 期亚组、4~5 期亚组 PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分依次降低($F/P=103.287/ <0.001$ 、 $230.136/ <0.001$), 血清 circRNA SAMD4A 表达水平依次升高($F/P=51.949/ <0.001$); Pearson 法分析显示, PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平与 MoCA 评分呈正相关($r/P=0.557/ <0.001$), 血清 circRNA SAMD4A 表达水平与 MoCA 评分呈负相关($r/P=-0.598/ <0.001$); Logistic 回归分析显示, 受教育年限长、血清 circRNA DLGAP4 高是 PD 患者发生认知障碍的保护因素[$OR(95\% CI)=0.698(0.568 \sim 0.857)$ 、 $0.580(0.476 \sim 0.707)$], 年龄大、血清 circRNA SAMD4A 高是其危险因素[$OR(95\% CI)=2.462(1.612 \sim 3.760)$ 、 $3.836(2.225 \sim 6.615)$]; 血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 及二者联合诊断 PD 患者发生认知障碍的曲线下面积(AUC)分别为 0.791、0.852、0.948, 二者联合诊断的 AUC 优于各自单独诊断($Z/P=2.950/0.003$ 、 $2.081/0.037$)。**结论** PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达下调, circRNA SAMD4A 表达上调, 检测血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 水平有助于临床评估 PD 患者病情严重程度, 且二者联合有利于判定患者是否发生认知障碍。

【关键词】 帕金森病; 环状 RNA; 病情严重程度; 认知障碍

【中图分类号】 R742.5

【文献标识码】 A

Correlation between the expression of circRNA DLGAP4 and circRNA SAMD4A in serum and the severity of the disease and cognitive impairment in patients with Parkinson's disease Chai Qinqin, Fan Lei, Liu Xingliang, Yue Binghong. Department of Neurology, the First Hospital Affiliated to Hebei North University, Hebei Province, Zhangjiakou 075000, China

Corresponding author: Yue Binghong, E-mail: z19803031016@163.com

Funding program: Hebei Medical Science Research Project Plan (20200204)

【Abstract】 Objective To explore the relationship between the expression levels of circular RNA DLGAP4 (circRNA DLGAP4), circRNA SAMD4A and the severity of Parkinson's disease (PD) and cognitive impairment. **Methods** From October 2019 to March 2022, 95 patients with PD diagnosed and treated in the Third Department of Neurology of the First Affiliated Hospital of Hebei North University were selected as the PD group. According to the score of Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA), the PD patients were divided into 54 patients with normal cognition and 41 patients with

cognitive impairment; By Hoehn Yahr (H-Y) staging, patients with PD were divided into three subgroups: 33 patients in stage 1 subgroup, 44 patients in stage 2-3 subgroup, and 18 patients in stage 4-5 subgroup; In addition, 95 healthy people in the same period were selected as the healthy control group. Serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A expression levels and MoCA scores were compared in each group. Pearson's method was used to analyze the correlation between the expression level of circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A and MoCA score in the serum of PD patients. Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of cognitive impairment in PD patients. Subjects' work characteristic curve (ROC) was used to analyze the diagnostic value of serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A for cognitive impairment in PD patients. **Results** Compared with the healthy control group, the expression level of DLGAP4 and MoCA score in serum of patients with PD decreased ($t/P=47.612/ <0.001$, $26.821/ <0.001$), and the expression level of SAMD4A in serum increased ($t/P=23.461/ <0.001$). The age, serum circRNA SAMD4A expression level of PD patients in cognitive impairment subgroup were higher than those in cognitive normal subgroup ($t/P=2.515/0.014$, $6.693/ <0.001$), and the years of education, serum circRNA DLGAP4 expression level and MoCA score were lower than those in cognitive normal subgroup ($t/P=5.162/ <0.001$, $8.289/ <0.001$, $23.017/ <0.001$); The serum circRNA DLGAP4 expression level and MoCA score of PD patients in stage 1 subgroup, stage 2-3 subgroup and stage 4-5 subgroup decreased in turn ($F/P=103.287/ <0.001$, $230.136/ <0.001$), and the serum circRNA SAMD4A expression level increased in turn ($F/P=51.949/ <0.001$); Pearson analysis showed that the expression level of serum circRNA DLGAP4 was positively correlated with MoCA score ($r/P=0.557/ <0.001$), and the expression level of serum circRNA SAMD4A was negatively correlated with MoCA score ($r/P= -0.598/ <0.001$); Logistic regression analysis showed that long years of education and high serum circRNA DLGAP4 were protective factors for cognitive impairment in patients with PD [$OR(95\% CI)=0.698(0.568-0.857), 0.580(0.476-0.707)$], while age and high serum circRNA SAMD4A were risk factors [$OR(95\% CI)=2.462(1.612-3.760), 3.836(2.225-6.615)$]; The area under the curve (AUC) of serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A and their combination in the diagnosis of cognitive impairment in PD patients were 0.791, 0.852 and 0.948, respectively. The AUC of their combination was better than that of their individual diagnosis ($Z/P=2.950/0.003$, $2.081/0.037$). **Conclusion** The expression of circRNA DLGAP4 is down regulated and the expression of circRNA SAMD4A is up regulated in the serum of PD patients. The detection of the levels of circRNA DLGAP4 and circRNA SAMD4A in the serum is helpful for clinical evaluation of the severity of PD patients, and the combination of the two is helpful for determining whether patients have cognitive impairment.

【Key words】 Parkinson's disease; Circular RNA; Disease severity; Cognitive impairment

帕金森病(Parkinson's disease, PD)可表现为运动迟缓、静止性震颤、嗅觉减退、认知障碍等,严重影响患者正常生活^[1-2]。既往研究发现,PD 发生发展与感染、氧化应激、炎症反应、环境、自噬、环状 RNA(circular RNA, circRNA)异常表达有关^[3-4]。circRNA 作为一类环状非编码 RNA 分子,其在 PD 中表达失调,可作为诊断 PD、评估 PD 严重程度的标志物^[5]。近期研究显示,环状 RNA DLGAP4(circRNA DLGAP4)作为 circRNA 家族的一员,其在 PD 中表达下调, circRNA DLGAP4 可通过减少线粒体损伤、增强自噬,进而在 PD 中发挥神经保护作用^[6]。另外,环状 RNA SAMD4A(circRNA SAMD4A)在 PD 中呈高表达,其可能在 PD 发生发展中起促进作用^[7]。基于上述研究,本研究通过测定 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 在 PD 患者血清中的表达水平,旨在分析其与 PD 严重程度、认知障碍的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2019 年 10 月—2022 年 3 月河

北北方学院附属第一医院神经内三科收治的 PD 患者 95 例为 PD 组,男 53 例,女 42 例,年龄 50~75 (63.95 ± 9.08) 岁。并选择同期体检健康者 95 例为健康对照组,男 50 例,女 45 例,年龄 50~75 (62.37 ± 8.74) 岁。2 组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(L2019-147),全部受试对象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“中国帕金森病的诊断标准(2016 版)”^[8]中 PD 诊断标准;②初诊 PD 患者;③临床资料完善。(2)排除标准:①患有阿尔茨海默病、PD 叠加综合征、血管性痴呆或其他严重精神疾病史者;②患有急慢性感染性疾病或伴有肝、肾功能不全者;③患有自身免疫性/内分泌代谢疾病、肿瘤者。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平检测:收集 PD 患者确诊后 24 h 内及体检健康

者体检当日空腹外周血 5 ml,自然凝集离心留取血清,存于-80℃冰箱待测。解冻血清,使用 Trizol 试剂提取总 RNA;之后,应用反转录试剂盒合成 cDNA(Trizol 试剂及试剂盒均购自上海慧颖生物科技有限公司);最后利用 PCR 试剂盒和 qRT-PCR 仪将 cDNA 扩增,并确定循环阈值(CT)。扩增条件:98℃ 8 min,97℃ 20 s,64℃ 25 s,70℃ 10 s,40 个循环。circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 均以 GAPDH 为内参基因,引物序列见表 1。circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。PCR 仪、PCR 试剂盒及引物购自江苏弘麒生物科技有限公司。

表 1 基因引物序列		
Tab. 1 Gene primer sequence		
基 因	上游引物	下游引物
circRNA DLGAP4	5'-AAGTGAACAAGG-GACGCTGAC-3'	5'-ACTGCTCTGGACTGT-GACTGA-3'
circRNA SAMD4A	5'-ACTGGCAGGA-CAAAAGCATG-3'	5'-CAGGATTTTGGGCAG-CAGTT-3'
GAPDH	5'-GGAGCGAGATCCCTC-CAAAAT-3'	5'-GGCTGTGTGCATACT-TCTCATGG-3'

1.3.2 临床症状评分与分组:对所有 PD 患者进行蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分^[9],根据评估结果将 PD 患者分为认知正常亚组 54 例(MoCA 评分≥26 分)和认知障碍亚组 41 例(MoCA 评分<26 分)。采用 Hoehn-Yahr(H-Y)分期^[10]评估所有 PD 患者严重程度,将其分为 1 期亚组 33 例、2~3 期亚组 44 例、4~5 期亚组 18 例。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较行 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;Pearson 法分析 PD 患者血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平与 MoCA 评分的相关性;多因素 Logistic 回归分析 PD 患者发生认知障碍的影响因素;利用受试者工作特征曲线(ROC)评估血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 对 PD 患者发生认知障碍的诊断价值,曲线下面积(AUC)比较行 *Z* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 组间血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平及 MoCA 评分比较 与健康对照组比较,PD 组患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分降

低(*P*<0.01),血清 circRNA SAMD4A 表达水平升高(*P*<0.01),见表 2。

表 2 健康对照组、PD 组血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 水平及 MoCA 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A levels and MoCA scores between healthy control group and PD group

组 别	例数	circRNA DLGAP4	circRNA SAMD4A	MoCA 评分(分)
健康对照组	95	1.00 ± 0.03	1.01 ± 0.02	28.21 ± 0.75
PD 组	95	0.49 ± 0.10	1.95 ± 0.39	25.33 ± 0.73
<i>t</i> 值		47.612	23.461	26.821
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同认知程度 PD 患者临床资料比较 认知障碍亚组 PD 患者年龄、血清 circRNA SAMD4A 表达水平高于认知正常亚组,而受教育年限、血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分均低于认知正常亚组(*P*<0.05),2 亚组 PD 患者性别、饮酒、吸烟、高血压、糖尿病比例、PD 家族史、PD 临床分型比较差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 3。

表 3 认知正常亚组与认知障碍亚组 PD 患者临床资料比较

Tab. 3 Comparison of clinical data of PD patients in cognitive normal subgroup and cognitive impairment subgroup

项 目	认知正常亚组 (<i>n</i> = 54)	认知障碍亚组 (<i>n</i> = 41)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
男/女(例)	29/25	24/17	0.221	0.639
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	61.90 ± 8.52	66.64 ± 9.81	2.515	0.014
饮酒[例(%)]	5(9.26)	6(14.63)	0.658	0.417
吸烟[例(%)]	11(20.37)	7(17.07)	0.165	0.685
高血压[例(%)]	14(25.93)	12(29.27)	0.131	0.717
糖尿病[例(%)]	8(14.81)	5(12.20)	0.135	0.713
受教育年限($\bar{x} \pm s$,年)	10.37 ± 3.46	7.12 ± 2.37	5.162	<0.001
PD 家族史(有/无)	1/53	5/36	2.647	0.104
PD 临床分型				
混合型	30(55.55)	22(53.65)	0.641	0.726
[例(%)] 强直型	9(16.67)	5(12.20)		
震颤型	15(27.78)	14(34.15)		
circRNA DLGAP4($\bar{x} \pm s$)	0.57 ± 0.14	0.38 ± 0.05	8.289	<0.001
circRNA SAMD4A($\bar{x} \pm s$)	1.71 ± 0.30	2.27 ± 0.51	6.693	<0.001
MoCA 评分($\bar{x} \pm s$,分)	26.92 ± 0.51	23.24 ± 1.02	23.017	<0.001

2.3 不同严重程度 PD 患者血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平及 MoCA 评分比较 1 期亚组、2~3 期亚组、4~5 期亚组 PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分依次降低(*P*<0.01),血清 circRNA SAMD4A 表达水平依次升高(*P*<0.01),见表 4。

表 4 不同严重程度 PD 患者血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平及 MoCA 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A expression levels and MoCA scores in patients with PD of different severity

组 别	例数	circRNA DLGAP4	circRNA SAMD4A	MoCA 评分(分)
1 期亚组	33	0.67 ± 0.13	1.56 ± 0.31	27.21 ± 0.58
2 ~ 3 期亚组	44	0.45 ± 0.09	1.92 ± 0.38	25.28 ± 0.49
4 ~ 5 期亚组	18	0.26 ± 0.05	2.74 ± 0.55	22.01 ± 1.57
F 值		103.287	51.949	230.136
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 PD 患者血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平与 MoCA 评分的相关性 Pearson 法分析显示,PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平与 MoCA 评分呈正相关($r = 0.557, P < 0.001$),血清 circRNA SAMD4A 表达水平与 MoCA 评分呈负相关($r = -0.598, P < 0.001$)。

2.5 多因素 Logistic 回归分析 PD 患者发生认知障碍的影响因素 以 PD 患者是否发生认知障碍为因变量(发生 = 1,不发生 = 0),以年龄、受教育年限、circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,受教育年限长、血清 circRNA DLGAP4 高是 PD 患者发生认知障碍的保护因素($P < 0.01$),年龄大、血清 circRNA SAMD4A 高是其危险因素($P < 0.01$),见表 5。

表 5 PD 患者发生认知障碍的多因素 Logistic 回归分析
Tab. 5 Multifactor Logistic regression analysis of cognitive impairment in PD patients

指 标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄大	0.901	0.216	17.399	<0.001	2.462	1.612 ~ 3.760
受教育年限长	-0.396	0.105	11.725	0.001	0.698	0.568 ~ 0.857
血清 circRNA DLGAP4 高	-0.545	0.101	29.088	<0.001	0.580	0.476 ~ 0.707
血清 circRNA SAMD4A 高	1.344	0.278	23.388	<0.001	3.836	2.225 ~ 6.615

2.6 血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 预测 PD 患者发生认知障碍的价值 绘制 ROC 曲线结果显示,血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 及二者联合诊断 PD 患者发生认知障碍的 AUC 分别为 0.791、0.852、0.948,二者联合诊断的 AUC 优于血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 单独诊断($Z = 2.950, 2.081, P = 0.003, 0.037$),见图 1、表 6。

3 讨 论

PD 是一种不可逆、呈进行性加重的神经退行性疾

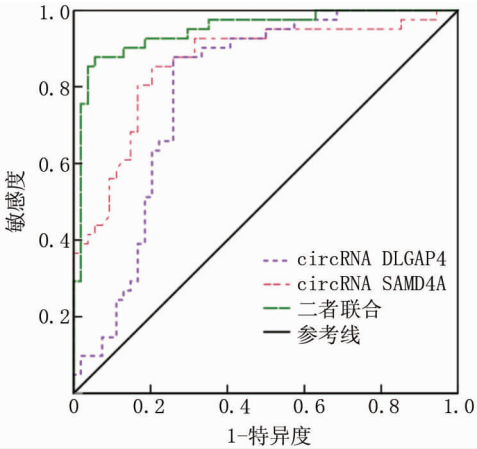


图 1 血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 诊断 PD 患者发生认知障碍的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A in diagnosis of cognitive impairment in PD patients

表 6 血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 对 PD 患者发生认知障碍的诊断价值

Tab. 6 Diagnostic value of serum circRNA DLGAP4, circRNA SAMD4A for cognitive impairment in PD patients

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
circRNA DLGAP4	0.46	0.791	0.698 ~ 0.884	0.878	0.741	0.619
circRNA SAMD4A	2.03	0.852	0.774 ~ 0.930	0.854	0.796	0.650
二者联合	—	0.948	0.902 ~ 0.993	0.854	0.954	0.808

病,其病程长,通常给予对症治疗,多数患者在 5 ~ 8 年后生活几乎不能自理^[10-13]。因此,寻找与 PD 病理发展相关,且可评估 PD 严重程度的标志物,对及时制定针对性治疗方案,延缓 PD 患者病情尤为重要。

circRNA 结构稳定,能调控微小 RNA 表达,且可参与蛋白质翻译,与亨廷顿病、阿尔茨海默病、癫痫、PD 等神经系统疾病关系密切^[14-16]。研究发现, circRNA DLGAP4 作为 circRNA 家族的成员之一,其在急性缺血性脑卒中(AIS)中呈低表达, circRNA DLGAP4 可通过抑制神经炎症反应、氧化应激反应,进而减轻脑卒中损伤, circRNA DLGAP4 可作为诊断 AIS、评估 AIS 严重程度的潜在指标^[17]。另外, Qiu 等^[18]研究认为,过表达 circRNA DLGAP4 可通过增加神经细胞活力,抑制神经细胞凋亡,降低炎症反应水平,从而缓解神经元损伤。本研究显示,PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达水平较健康者低,与 Feng 等^[6]研究趋势相符,提示 circRNA DLGAP4 表达水平降低可能与 PD 发生发展密切相关,推测 circRNA DLGAP4 可能通过影响氧化应激、神经炎症反应及神经细胞活力,进而影

响 PD 进程。本研究发现, circRNA DLGAP4 表达水平随 PD 患者病情加重而呈降低趋势, 表明检测血清 circRNA DLGAP4 表达水平有利于临床评估 PD 患者病情, circRNA DLGAP4 有望成为评估 PD 严重程度的血清指标。近期报道显示, circRNA SAMD4A 在心肌梗死中表达水平升高, 可通过促进细胞凋亡、炎症反应进而促进心肌梗死^[19]。此外, Wang 等^[7]研究发现, circRNA SAMD4A 可通过影响自噬, 促进多巴胺能神经元凋亡, 进而促进 PD 病理变化。本研究中 PD 患者血清 circRNA SAMD4A 表达水平较健康者高, 与 Wang 等^[7]研究趋势一致, 且 PD 患者病情越严重, 血清 circRNA SAMD4A 表达水平越高, 提示其可能参与 PD 病变过程, 且 circRNA SAMD4A 具有判定 PD 患者疾病严重程度的潜在价值, 分析可能原因, circRNA SAMD4A 可能通过促进多巴胺能神经元凋亡, 影响机体自噬, 从而影响 PD 疾病进展。本研究 ROC 曲线分析发现, 血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 对 PD 患者发生认知障碍有一定诊断价值, 可能是诊断 PD 患者发生认知障碍的潜在指标, 且二者联合诊断可能更有利于临床判定 PD 患者发生认知障碍, 为临床诊治 PD 认知障碍提供新方法。

认知障碍是 PD 患者中较为常见的一种非运动症状, MoCA 评分是评估认知障碍的常用方法, 其操作简便, 易于理解^[20-23]。本研究显示, PD 患者 MoCA 评分较健康者低, 且 H-Y 分期越高, MoCA 评分越低, 提示 PD 患者存在认知损伤, 且 MoCA 评分可辅助判断 PD 严重程度。另外, 经相关性分析发现, PD 患者 MoCA 评分与血清 circRNA DLGAP4 表达水平呈正相关, 与血清 circRNA SAMD4A 表达水平呈负相关, 提示 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 可能与 PD 患者认知障碍有关。且本研究发现, 发生认知障碍的 PD 患者受教育年限较短, 年龄较大, 血清 circRNA DLGAP4 表达水平、MoCA 评分较低, 血清 circRNA SAMD4A 表达水平较高, 进一步提示血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 表达水平、受教育年限、年龄可能与 PD 患者发生认知障碍关系紧密^[24-26]。此外, 多因素 Logistic 回归分析发现, 血清 circRNA DLGAP4 表达水平降低、circRNA SAMD4A 表达水平升高、受教育年限较短、年龄较大均可能会增加 PD 患者发生认知障碍的风险, 及时监控血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 等指标水平, 对临床预防 PD 患者发生认知障碍甚是有益。

综上, PD 患者血清 circRNA DLGAP4 表达下调, circRNA SAMD4A 表达上调, 两者表达水平与 PD 严重

程度、认知障碍密切相关, 有望成为临床评估 PD 患者病情、判断 PD 患者是否发生认知障碍的辅助指标。但本研究有一定局限性: 纳入样本较少, 且本研究尚未探究血清 circRNA DLGAP4、circRNA SAMD4A 与 PD 患者预后的关系, 后期将扩大样本, 进行跟踪随访, 展开深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

柴琴琴: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写, 进行统计学分析; 范磊: 课题设计, 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 刘星亮、岳秉宏: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改

参考文献

- [1] Schirinzi T, Maftei D, Pieri M, et al. Increase of prokineticin-2 in serum of patients with Parkinson's disease[J]. *Mov Disord*, 2021, 36(4): 1031-1033. DOI: 10.1002/mds.28458.
- [2] Zhu Y, Zhu X, Zhou Y, et al. Reduced serum SIRT1 levels in patients with Parkinson's disease: a cross-sectional study in China[J]. *Neurol Sci*, 2021, 42(5): 1835-1841. DOI: 10.1007/s10072-020-04711-z.
- [3] Xiong M, Qian Q, Liang X, et al. Serum levels of lipocalin-2 in patients with Parkinson's disease[J]. *Neurol Sci*, 2022, 43(3): 1755-1759. DOI: 10.1007/s10072-021-05579-3.
- [4] Hanan M, Simchovitz A, Yaron N, et al. A Parkinson's disease circRNAs resource reveals a link between circSLC8A1 and oxidative stress[J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(9): e11942. DOI: 10.15252/emmm.201911942.
- [5] Zhong L, Ju K, Chen A, et al. Circulating circRNAs panel acts as a biomarker for the early diagnosis and severity of Parkinson's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13(7): 4289-4296. DOI: 10.3389/fnagi.2021.684289.
- [6] Feng Z, Zhang L, Wang S, et al. Circular RNA circDLGAP4 exerts neuroprotective effects via modulating miR-134-5p/CREB pathway in Parkinson's disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 522(2): 388-394. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.11.102.
- [7] Wang W, Lv R, Zhang J, et al. circSAMD4A participates in the apoptosis and autophagy of dopaminergic neurons via the miR-29c-3p-mediated AMPK/mTOR pathway in Parkinson's disease[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(1): 540-546. DOI: 10.3892/mmr.2021.12179.
- [8] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组, 中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍专业. 中国帕金森病的诊断标准(2016版)[J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(4): 268-271. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2016.04.002. Parkinson's Disease and Movement Disorders Group of Neurology Branch of Chinese Medical Association, Parkinson's disease and dyskinesia major of neurophysicians branch of Chinese Medical Association. Diagnostic criteria for Parkinson's disease in China (2016 edition)[J]. *Chinese Journal of Neurology*, 2016, 49(4): 268-271. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2016.04.002.
- [9] Smith CR, Cavanagh J, Sheridan M, et al. Factor structure of the Montreal Cognitive Assessment in Parkinson disease[J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2020, 35(2): 188-194. DOI: 10.1002/gps.5234.

- [10] Kataoka H, Sugie K. Health-related quality of life may predict disease staging in 10 years in Parkinson disease with Hoehn-Yahr Stage III[J]. *Neurol Clin Pract*, 2021, 11 (3): 261-266. DOI: 10. 1212/CPJ. 0000000000000924.
- [11] Yang CG, Cai SM, Liu CY, et al. On the correlation between serum Cystatin C and Parkinson's disease in the Chinese population: a promising biomarker[J]. *J Integr Neurosci*, 2021, 20 (2): 349-357. DOI: 10. 31083/j. jin2002034.
- [12] 李晓玲, 朱艳霞, 胡丽叶, 等. 津力达颗粒对 2 型糖尿病轻度认知功能障碍患者血管内皮功能及认知功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2021, 20 (8): 765-769. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 08. 003.
Li XL, Zhu YX, Hu LY, et al. Effect of Jinlida granules on vascular endothelial function and cognitive function in patients with mild cognitive impairment in type 2 diabetes[J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2021, 20 (8): 765-769. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 08. 003.
- [13] 杨钊, 康文岩, 刘军. 原发性帕金森病患者唾液 DJ-1 蛋白与非运动症状、 α -突触核蛋白的相关性研究[J]. *临床内科杂志*, 2020, 37 (6): 423-426. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2020. 06. 009.
Yang Z, Kang WY, Liu J. Association of salivary DJ-1 concentration and non-motor symptoms, α -synuclein in primary Parkinson's disease patients[J]. *Journal of Clinical Internal Medicine*, 2020, 37 (6): 423-426. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2020. 06. 009.
- [14] Ma N, Zhang W, Wan J. Research progress on circRNA in nervous system diseases[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2020, 17 (8): 687-697. DOI: 10. 2174/156720501766620111114928.
- [15] Ravanidis S, Bougea A, Karampatsi D, et al. Differentially expressed circular RNAs in peripheral blood mononuclear cells of patients with Parkinson's disease[J]. *Mov Disord*, 2021, 36 (5): 1170-1179. DOI: 10. 1002/mds. 28467.
- [16] 娄小燕, 王涛, 高琼, 等. 阿尔茨海默病患者环状 RNA 差异表达初步分析[J]. *检验医学*, 2021, 36 (11): 1114-1120. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-8640. 2021. 11. 005.
Lou XY, Wang T, Gao Q, et al. Preliminary analysis of differentially expressed circRNA of patients with Alzheimer's disease[J]. *Laboratory Medicine*, 2021, 36 (11): 1114-1120. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-8640. 2021. 11. 005.
- [17] Liu H, Zheng W, Song Z. circDlga4 alleviates cerebral ischaemic injury by binding to AUF1 to suppress oxidative stress and neuroinflammation[J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (5): 3218-3232. DOI: 10. 1007/s12035-022-02796-5.
- [18] Qiu L, He J, Chen H, et al. CircDLGAP4 overexpression relieves oxygen-glucose deprivation-induced neuronal injury by elevating NEGR1 through sponging miR-503-3p[J]. *J Mol Histol*, 2021, 21 (11): 368-375. DOI: 10. 1007/s10735-021-10036-8.
- [19] Hu X, Ma R, Cao J, et al. CircSAMD4A aggravates H/R-induced cardiomyocyte apoptosis and inflammatory response by sponging miR-138-5p[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26 (6): 1776-1784. DOI: 10. 1111/jcmm. 16093.
- [20] 武冬冬, 杜危, 龙云飞, 等. 帕金森病患者主观认知减退的临床特征及其与情感症状的关系初探[J]. *中华神经科杂志*, 2022, 55 (3): 191-195. DOI: 10. 3760/cma. j. cn113694-20211221-00907.
Wu DD, Du W, Long YF, et al. Clinical characteristics of subjective cognitive decline in patients with Parkinson's disease and its relationship with affective symptoms: a preliminary study[J]. *Chinese Journal of Neurology*, 2022, 55 (3): 191-195. DOI: 10. 3760/cma. j. cn113694-20211221-00907.
- [21] 刘娜, 蒋森, 蔡倩, 等. 血清骨性蛋白与帕金森病患者病情严重程度及认知障碍的相关性研究[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2021, 38 (12): 1095-1098. DOI: 10. 19845/j. cnki. zfysjbbz. 2021. 0292.
Liu N, Jiang S, Cai Q, et al. Correlation between serum bone protein and disease severity and cognitive impairment in patients with Parkinson's disease[J]. *Journal of Apoplexy and Nervous Diseases*, 2021, 38 (12): 1095-1098. DOI: 10. 19845/j. cnki. zfysjbbz. 2021. 0292.
- [22] Choe CU, Petersen E, Lezius S, et al. Association of lipid levels with motor and cognitive function and decline in advanced Parkinson's disease in the Mark-PD study[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2021, 85 (1): 5-10. DOI: 10. 1016/j. parkreldis. 2021. 02. 007.
- [23] 王巍. 帕金森病患者外周血中免疫炎症因子水平表达及作用机制研究[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49 (7): 787-788, 790. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2021. 07. 26.
- [24] 王玉玲, 高华, 蒋森, 等. Fas/FasL 信号通路与帕金森病大鼠多巴胺能神经元的相关性研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28 (4): 82-85. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 04. 016.
Wang YL, Gao H, Jiang S, et al. Correlation between Fas/FasL Signaling Pathway and Dopaminergic Neurons in Rats with Parkinson's Disease[J]. *Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease*, 2020, 28 (4): 82-85. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 04. 016.
- [25] 赵佳佳, 木尼热·艾海提, 张宇洁, 等. 帕金森病的生物信息学分析及潜在治疗中药的预测[J]. *中国医药导报*, 2021, 18 (21): 23-27, 封 4.
Zhao JJ, Nimure Aihaiti, Zhang YH, et al. Bioinformatics analysis of Parkinson disease and prediction of potential treatment of traditional Chinese medicine[J]. *China Medical Herald*, 2021, 18 (21): 23-27, back cover.
- [26] 刘蕊, 陈丽. 肠道微生物和 Toll 样受体与帕金森病的相关性研究进展[J]. *中国医药*, 2021, 16 (12): 1907-1910. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 12. 035.
Liu R, Chen L. Research progress on the relationship between gut microbes, Toll-like receptors and Parkinson's disease[J]. *China Medicine*, 2021, 16 (12): 1907-1910. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 12. 035.

(收稿日期: 2022-06-28)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.006

论著·临床

脑卒中后并发血管性认知功能障碍与血清 PTEN、HDAC3 水平的关系及危险因素

姚洁, 朱倩, 褚丽芳, 王尚臣

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展计划项目(211201313)

作者单位: 050000 石家庄市人民医院神经内科一病区

通信作者: 姚洁, E-mail: yaojie1984a@163.com

【摘要】目的 分析第 10 号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因 (PTEN)、组蛋白去乙酰化酶 3 (HDAC3) 表达水平与脑卒中后并发血管性认知功能障碍 (VCI) 的关系。**方法** 选取 2019 年 6 月—2021 年 4 月石家庄市人民医院神经内一科诊治脑卒中患者 126 例为研究对象, 根据患者发病 3 个月是否发生 VCI 分为 VCI 组 52 例和非 VCI 组 74 例。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测血清 PTEN mRNA, 酶联免疫吸附法检测血清 HDAC3 表达水平; 采用 Pearson 等级相关分析血清 PTEN mRNA、HDAC3 表达水平与美国国立卫生研究院脑卒中量表 (NIHSS) 评分、蒙特利尔认知评估量表 (MoCA) 评分的相关性; 多因素 Logistic 回归分析脑卒中后发生 VCI 的影响因素。**结果** VCI 组血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平高于非 VCI 组 ($t/P = 17.156 / <0.001$ 、 $17.904 / <0.001$); 血清 PTEN mRNA、HDAC3 表达水平比较, VCI 组重度认知功能障碍 > 中度认知功能障碍 > 轻度认知功能障碍 ($F/P = 8.928 / <0.001$ 、 $64.433 / <0.001$); VCI 组 NIHSS 评分高于非 VCI 组, MoCA 评分中视空间与执行力、命名、注意、语言、抽象、延迟回忆、定向评分及总分低于非 VCI 组, 差异均有统计学意义 ($t/P = 26.197 / <0.001$ 、 $5.073 / <0.001$ 、 $13.310 / <0.001$ 、 $11.432 / <0.001$ 、 $19.058 / <0.001$ 、 $20.211 / <0.001$ 、 $6.138 / <0.001$ 、 $3.586 / <0.001$ 、 $16.511 / <0.001$); Pearson 相关性分析显示, VCI 组患者血清 PTEN mRNA 水平与 NIHSS 评分呈显著正相关, 与 MoCA 评分呈显著负相关 ($r = 0.713$ 、 -0.640 , P 均 <0.001), 血清 HDAC3 水平与 NIHSS 评分呈显著正相关, 与 MoCA 评分呈显著负相关 ($r = 0.706$ 、 -0.638 , P 均 <0.001); 多因素 Logistic 回归分析显示, 高血压、Hcy 高、hs-CRP 高、PTEN mRNA 高、HDAC3 高及 NIHSS 评分高均是脑卒中后发生 VCI 的独立危险因素 [$OR(95\% CI) = 2.012(1.087 \sim 3.723)$ 、 $2.587(1.533 \sim 4.366)$ 、 $1.902(1.063 \sim 3.404)$ 、 $1.774(1.169 \sim 2.693)$ 、 $2.384(1.391 \sim 4.087)$ 、 $2.895(1.164 \sim 7.202)$]。**结论** 血清 PTEN mRNA、HDAC3 高表达与脑卒中并发 VCI 关系密切, 二者均为脑卒中患者发生 VCI 的危险因素。

【关键词】 脑卒中; 血管性认知功能障碍; 第 10 号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因; 组蛋白去乙酰化酶 3; 相关性

【中图分类号】 R743.3

【文献标识码】 A

The relationship between vascular cognitive dysfunction and serum PTEN, HDAC3 levels after stroke and its risk factors Yao Jie, Zhu Qian, Chu Lifang, Wang Shangchen. Department of Neurology, Shijiazhuang People's Hospital, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Yao Jie, E-mail: yaojie1984a@163.com

Funding program: Shijiazhuang Science and Technology Research and Development Plan Project (211201313)

【Abstract】Objective To analyze the relationship between the expression level of phosphatase tensin homolog gene (PTEN) and histone deacetylase 3 (HDAC3) deleted on chromosome 10 and vascular cognitive impairment (VCI) after stroke. **Methods** From June 2019 to April 2021, 126 stroke patients diagnosed and treated by the First Department of Neurology of Shijiazhuang People's Hospital were selected as the study subjects. According to whether the patients had VCI three months after onset, they were divided into VCI group of 52 cases and non VCI group of 74 cases. Serum PTEN mRNA was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR), and HDAC3 expression was detected by enzyme-linked immunosorbent assay; Pearson rank correlation analysis was used to analyze the correlation between the expression levels of PTEN mRNA and HDAC3 in serum and the scores of NIHSS and MoCA; Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of VCI after stroke. **Results** The serum PTEN mRNA and HDAC3 levels in VCI

group were higher than those in non VCI group ($t/P=17.156/ <0.001$, $17.904/ <0.001$). Compared the expression levels of PTEN mRNA and HDAC3 in serum, the VCI group had severe cognitive impairment > moderate cognitive impairment > mild cognitive impairment ($F/P=8.928/ <0.001$, $64.433/ <0.001$). The NIHSS score of VCI group was higher than that of non VCI group, and the MoCA score of visual space and executive power, naming, attention, language, abstraction, delayed recall, directional score and total score was lower than that of non VCI group, with statistical significance ($t/P=26.197/ <0.001$, $5.073/ <0.001$, $13.310/ <0.001$, $11.432/ <0.001$, $19.058/ <0.001$, $20.211/ <0.001$, $6.138/ <0.001$, $3.586/ <0.001$, $16.511/ <0.001$). Pearson correlation analysis showed that the serum PTEN mRNA level in VCI group was significantly positively correlated with NIHSS score, and significantly negatively correlated with MoCA score ($r=0.713$, $-0.640, P<0.001$). The serum HDAC3 level was significantly positively correlated with NIHSS score, and significantly negatively correlated with MoCA score ($r=0.706$, $-0.638, P<0.001$). Multivariate logistic regression analysis showed that hypertension, high Hcy, high hs-CRP, high PTEN mRNA, high HDAC3 and high NIHSS score were independent risk factors for VCI after stroke [$OR(95\% CI)=2.012(1.087-3.723)$, $2.587(1.533-4.366)$, $1.902(1.063-3.404)$, $1.774(1.169-2.693)$, $2.384(1.391-4.087)$, $2.895(1.164-7.202)$].

Conclusion The high expression of PTEN mRNA and HDAC3 in serum is closely related to stroke complicated with VCI. Both of them are risk factors for stroke patients to develop VCI.

【Key words】 Stroke; Vascular cognitive impairment; Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10; Histone deacetylase 3; Correlation

脑卒中俗称“中风”，是一种具有高发病率和病死率的脑血管疾病^[1]。其可并发血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment, VCI)^[2-3]。尽早确定脑卒中患者是否并发 VCI,对于及时控制各种危险因素、获取最佳治疗时期及采取最佳治疗方案具有积极意义。组蛋白去乙酰化酶 3(histone deacetylase 3, HDAC3)在几乎所有人体组织包括脑组织中都有表达,据报道 HDAC3 在糖尿病和缺血性脑卒中表达上调^[4-5]。第 10 号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10, PTEN)是一种可以负调控磷酸酶的肿瘤抑制因子,近年来研究关注其在脑损伤中的作用^[6]。关于 PTEN、HDAC3 对脑卒中后患者认知状态的作用仍有待进一步研究。现分析血清 PTEN、HDAC3 水平与认知功能的关系,以期对脑卒中并发 VCI 早期诊断寻找生物标志物,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 6 月—2021 年 4 月石家庄市人民医院神经内一科诊治脑卒中患者 126 例为研究对象,根据患者发病 3 个月是否发生 VCI 将其分为 VCI 组 52 例和非 VCI 组 74 例。VCI 组男 30 例,女 22 例,年龄 56~77(67.13±6.12)岁;非 VCI 组男 42 例,女 32 例,年龄 56~77(67.74±5.92)岁。VCI 组患者高血压、心房颤动、冠心病、高脂血症比例及 Hcy、hs-CRP 均高于非 VCI 组($P<0.05$),见表 1。本研究经医院伦理委员会批准(20190566),患者或家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①年龄大于 50

表 1 VCI 组与非 VCI 组脑卒中患者临床资料比较
Tab. 1 Comparison of clinical data of stroke patients in VCI group and non VCI group

项 目	非 VCI 组 (<i>n</i> = 74)	VCI 组 (<i>n</i> = 52)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]	男 42(56.76) 女 32(43.24)	30(57.69) 22(42.31)	0.011	0.917
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	67.13 ± 6.12	67.74 ± 5.92	0.558	0.578
高血压[例(%)]	22(29.73)	30(57.69)	9.852	0.002
心房颤动[例(%)]	8(10.81)	17(32.69)	9.194	0.002
冠心病[例(%)]	12(16.22)	34(65.38)	31.852	<0.001
高脂血症[例(%)]	29(39.19)	32(61.54)	6.108	0.013
糖尿病[例(%)]	31(41.89)	23(44.23)	0.068	0.794
吸烟史[例(%)]	33(44.59)	21(40.38)	0.221	0.638
饮酒史[例(%)]	17(22.97)	12(23.08)	0.001	0.989
教育年限($\bar{x} \pm s$, 年)	11.33 ± 0.59	11.47 ± 1.07	0.941	0.348
Hcy($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	12.87 ± 1.72	21.18 ± 3.46	17.788	<0.001
hs-CRP($\bar{x} \pm s$, mg/L)	2.34 ± 0.98	6.63 ± 1.05	23.487	<0.001
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.34 ± 0.88	4.25 ± 0.96	0.544	0.587
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.74 ± 0.58	1.68 ± 0.65	0.544	0.588
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.54 ± 0.81	2.31 ± 0.73	1.634	0.105
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.84 ± 0.60	1.79 ± 0.51	0.489	0.626

岁且具备一定的生活自理能力;②符合中国各类主要脑血管病诊断要点(2019)^[7],并进行 CT 或 MR 临床证实;③文化程度初中及以上。(2)排除标准:①存在抑郁、精神分裂等精神心理疾病者;②入院前即有认知功能障碍或其他病变导致的认知异常者;③严重心脑血管、肝、肾等重要器官严重病变者。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平测定:分组后于清晨取患者静脉血 6 ml,室温静置 20 min,离心留取血清于无菌管中,置于 -80℃ 冰箱保存待测。取出血

清样本在室温下解冻,取 2 ml 应用 Varioskan LUX 多功能酶标仪采用酶联免疫吸附试验测定血清 HDAC3 水平,试剂盒由武汉华美生物公司提供,酶标仪购自 Thermo Fisher 公司,所有实验操作依据试剂盒说明书进行。另取 2 ml 血清应用 Trizol 试剂(上海文彻生物科技有限公司)提取血清总 RNA,并测定总 RNA 浓度及纯度,应用逆转录试剂盒(PrimeScript™ RT Master Mix,上海浩然公司)逆转录合成 cDNA,采用 ABI 7500 型实时荧光定量 PCR 仪(qRT-PCR)(美国 ABI 公司)检测血清 PTEN mRNA 相对表达水平。以 GAPDH 为内参,引物由上海生工生物工程有限公司合成,PTEN 上游引物 5'-GTGCAGATAATGACAAG-3',下游引物 5'-GATTTGACGGCTCCTCT-3'; GAPDH 上游引物 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',下游引物 5'-GTG-CAGATAATGACAAG-3'。各样品重复 3 次取平均值,2^{-ΔΔCT}法(CT 为循环阈值)计算目的基因 PTEN mRNA 的相对表达量。

1.3.2 实验室指标检测:取血清 2 ml,用 AU5800 生化分析仪(贝克曼库尔特公司)以比浊法检测 Hey、CRP、TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平。

1.3.3 神经功能缺损评分:采用美国国立卫生研究院脑卒中量表(national institutes of health stroke scale,NIHSS)对神经功能缺损程度进行评价。总分 42 分,其中 0~15 分认定为轻型神经功能缺损;16~30 分为中型神经功能缺损;31~42 分为重型神经功能缺损。

1.3.4 认知功能判定:采用蒙特利尔认知评估量表(Montreal cognitive assessment,MoCA)对患者进行认知功能检查,包括视空间与执行力、命名、注意、语言、抽象、延迟回忆、定向等 7 个方面,总分 30 分,得分>26 分者为无认知功能障碍,得分≤26 分为有认知功能障碍,其中 21~26 分为轻度认知功能障碍,10~20 分为中度认知功能障碍,0~9 分为重度认知功能障碍。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件包进行数据处理。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用χ²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,多组间比较进行单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK-*q* 检验;采用 Pearson 等级相关分析 VCI 组患者血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平与 NIHSS 评分、MoCA 评分的相关性;多因素 Logistic 回归分析脑卒中后发生 VCI 的影响因素。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平比较 VCI 组血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平高于非 VCI 组(*P*<

0.01),见表 2。

表 2 非 VCI 组与 VCI 组脑卒中患者血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum PTEN mRNA and HDAC3 levels in stroke patients between non VCI group and VCI group

组 别	例数	PTEN mRNA	HDAC3 (U/ml)
非 VCI 组	74	1.05 ± 0.21	75.65 ± 9.65
VCI 组	52	1.86 ± 0.32	126.39 ± 21.52
<i>t</i> 值		17.156	17.904
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 VCI 组不同 MoCA 评分患者血清 PTEN mRNA、HDAC3 比较 VCI 组患者血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平比较,重度认知功能障碍>中度认知功能障碍>轻度认知功能障碍(*P*<0.01),见表 3。

表 3 VCI 组不同 MoCA 评分患者血清 PTEN mRNA、HDAC3 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum PTEN mRNA and HDAC3 in patients with different MoCA scores in VCI group

组 别	例数	PTEN mRNA	HDAC3
轻度认知功能障碍	12	1.63 ± 0.19	96.25 ± 11.21
中度认知功能障碍	24	1.85 ± 0.31	124.59 ± 13.54
重度认知功能障碍	16	2.05 ± 0.22	151.70 ± 12.84
<i>F</i> 值		8.928	64.433
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 2 组神经功能和认知功能评分比较 VCI 组 NIHSS 评分高于非 VCI 组,MoCA 评分中视空间与执行力、命名、注意、语言、抽象、延迟回忆、定向评分及总分均低于非 VCI 组,差异均有统计学意义(*P*<0.01),见表 4。

表 4 VCI 组与非 VCI 组 NIHSS 评分、MoCA 评分比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

Tab. 4 Comparison of NIHSS scores and MoCA scores between VCI group and non VCI group

项 目	非 VCI 组 (<i>n</i> = 74)	VCI 组 (<i>n</i> = 52)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
NIHSS 评分	7.18 ± 1.06	18.07 ± 3.35	26.197	<0.001
MoCA 评分				
视空间与执行力	5.15 ± 1.32	4.14 ± 0.67	5.073	<0.001
命名	2.85 ± 0.34	2.06 ± 0.31	13.310	<0.001
注意	5.66 ± 0.77	4.05 ± 0.79	11.432	<0.001
语言	2.53 ± 0.12	2.13 ± 0.11	19.058	<0.001
抽象	2.15 ± 0.28	1.21 ± 0.22	20.211	<0.001
延迟回忆	4.21 ± 0.73	3.39 ± 0.75	6.138	<0.001
定向	6.01 ± 1.23	5.26 ± 1.04	3.586	<0.001
总分	28.56 ± 0.79	22.24 ± 3.16	16.511	<0.001

2.4 血清 PTEN mRNA、HDAC3 水平与 NIHSS 评分、MoCA 评分的相关性 VCI 组患者血清 PTEN mRNA 水平与 NIHSS 评分呈显著正相关,与 MoCA 评分呈显著负相关($r=0.713$ 、 -0.640 , P 均 <0.001);血清 HDAC3 水平与 NIHSS 评分呈显著正相关,与 MoCA 评分呈显著负相关($r=0.706$ 、 -0.638 , P 均 <0.001)。

2.5 脑卒中后发生 VCI 的多因素 Logistic 回归分析
以脑卒中患者是否发生 VCI 为因变量,将单因素分析中差异有统计学意义的高血压、心房颤动、冠心病、高脂血症、Hcy、hs-CRP、PTEN mRNA、HDAC3、NIHSS 评分为自变量纳入多因素 Logistic 回归分析,结果显示,高血压、Hcy 高、hs-CRP 高、PTEN mRNA 高、HDAC3 高及 NIHSS 评分高均是脑卒中后发生 VCI 的独立危险因素($P<0.05$),见表 5。

表 5 脑卒中后发生 VCI 的多因素 Logistic 回归分析
Tab.5 Multivariate logistic regression analysis of VCI after stroke

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
高血压	0.699	0.314	4.957	0.026	2.012	1.087 ~ 3.723
心房颤动	0.503	0.259	3.775	0.052	1.654	0.996 ~ 2.748
冠心病	0.118	0.235	0.251	0.616	1.125	0.710 ~ 1.783
高脂血症	0.129	0.119	1.180	0.277	1.138	0.901 ~ 1.437
Hcy 高	0.950	0.267	12.673	<0.001	2.587	1.533 ~ 4.366
hs-CRP 高	0.643	0.297	4.686	0.030	1.902	1.063 ~ 3.404
PTEN mRNA 高	0.573	0.213	7.243	0.007	1.774	1.169 ~ 2.693
HDAC3 高	0.869	0.311	9.981	0.002	2.384	1.391 ~ 4.087
NIHSS 评分高	1.063	0.465	5.226	0.022	2.895	1.164 ~ 7.202

3 讨 论

脑卒中属于急性血管性病变,一般于脑部营养物质及氧气输送过程中发生血管破裂时出现,若神经细胞氧气供应持续不足患者病死率极高^[2]。脑卒中患者发生认知功能障碍的几率约为非脑卒中患者的 9 倍,据流行病学统计,脑卒中患者约 65% 会并发 VCI,而其中 1/3 左右会发展为痴呆^[8]。脑卒中并发 VCI 患者记忆力、执行力、语言计算及理解能力等均会发生异常,且部分患者会发生人格改变等精神异常现象^[9]。MoCA 是国际广泛应用的 VCI 早期筛查量表^[10]。研究表明,脑卒中后 3 个月 VCI 的发生率为 20% ~ 80%^[11]。本研究主要依据 MoCA 评分筛查出 VCI 患者 52 例,VCI 发生率为 41.27%,与以往相关报道一致。

本研究结果显示,脑卒中患者高血压、心房颤动、冠心病、高脂血症、Hcy、hs-CRP、神经功能缺损程度与脑卒中后并发 VCI 关系密切。有研究显示,文化程度与 VCI 发生有关,这与本研究有出入,可能是因为本

研究所选患者文化程度较高,对量表的敏感性较高,知识储备较好,对医疗管理依从性更好,降低了神经损伤对认知功能的破坏^[12]。本研究高血压患者更易发生 VCI,可能是因为颅内血管结构与功能的改变加重了患者大脑的缺血缺氧;VCI 组冠心病及心房颤动患者比例高于非 VCI 组,考虑与脑血流量减少及脑栓塞易引起认知功能障碍有关^[13];高血脂亦与认知功能降低密切相关^[14],但本研究中心房颤动、冠心病、高血脂并不是脑卒中后发生 VCI 的独立危险因素,说明 VCI 的发生与多种因素有关。Hcy 氧化与患者记忆力损伤有关,易造成患者认知功能障碍^[15]。炎症反应与 VCI 发病机制关系密切,hs-CRP 是多种疾病的重要指标,其升高与血管性疾病显著相关^[16]。本研究结果显示,Hcy、hs-CRP 升高均是脑卒中后发生 VCI 的独立危险因素。此外,NIHSS 评分高亦是脑卒中后发生 VCI 的独立危险因素,提示脑卒中患者神经损伤越严重越易发生 VCI,Mancuso 等^[17]研究也证实了这一点。

PTEN 广泛表达于脑组织中,在与学习记忆功能密切相关海马神经元中被检测到^[18]。PTEN 与多种神经系统疾病有关,例如,在帕金森病小鼠模型中,抑制 PTEN 基因能够减少神经元的丢失,对帕金森病有积极作用^[19];在阿尔茨海默病残存的神经元中 PTEN 蛋白水平发生异常变化^[20]。在本研究中 VCI 组血清 PTEN mRNA 水平显著高于非 VCI 组,与以往研究结果一致,且 VCI 组患者认知功能障碍程度越高,血清 PTEN mRNA 水平越高,说明 PTEN 与 VCI 的发生进程紧密相关,分析其原因,可能是 PTEN 在脑卒中疾病中发挥重要作用,可以直接影响疾病的发生及发展进程,下调 PTEN 蛋白可以起到调节自噬抑制脑卒中进展的作用^[21],且 PTEN 可通过对 Akt/PKB 信号通路的负向调控参与继发性脑缺血灌注应激反应^[22]。此外,血清 PTEN mRNA 水平与 NIHSS 评分呈正相关,与 MoCA 评分呈负相关,进一步证明了血清 PTEN 与 VCI 的相关性。HDAC3 是能量代谢和葡萄糖代谢的关键调节因子,上调 HDAC3 可介导缺血性脑卒中的恶化^[23-24]。本研究中,VCI 组血清 HDAC3 水平显著高于非 VCI 组,且 VCI 组患者认知功能障碍程度越重,血清 HDAC3 水平越高,说明 HDAC3 与 VCI 的发生发展紧密相关,究其原因,可能与抑制 HDAC3 可增强氧化代谢,减轻高血压,选择性抑制 HDAC3 是一种增加中枢神经系统对缺血性损伤抵抗力的有效策略有关^[24-25]。且血清 HDAC3 水平与 NIHSS 评分呈正相关,与 MoCA 评分呈负相关,进一步证明了血清 HDAC3 与 VCI 的相关性,推测与 HDAC3 的特异性抑制可以启动一系

列与神经保护相关的基因有关^[24]。多因素 Logistic 回归分析显示,PTEN mRNA 和 HDAC3 升高均是脑卒中后发生 VCI 的独立危险因素。以上研究结果均表明,血清 PTEN、HDAC3 水平与脑卒中后认知功能损伤密切相关。

综上所述,血清 PTEN、HDAC3 与 VCI 关系密切,是脑卒中后发生 VCI 的危险因素。血清 PTEN、HDAC3 水平能够预测脑卒中患者神经功能损伤程度,且与患者 VCI 严重程度呈正相关。本研究结果对于脑卒中 VCI 临床早期发现有重要意义,同时对脑卒中患者预后评估及临床治疗具有积极作用。但关于血清 PTEN、HDAC3 影响 VCI 的具体机制仍需进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

姚洁:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;朱倩:进行统计学分析;褚丽芳:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;王尚臣:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Caprio FZ, Sorond FA. Cerebrovascular disease: Primary and secondary stroke prevention[J]. Med Clin North Am, 2019, 103(2): 295-308. DOI: 10.1016/j.mcna. 2018. 10. 001.
- [2] Pei X, Li Y, Zhu L, et al. Astrocyte-derived exosomes suppress autophagy and ameliorate neuronal damage in experimental ischemic stroke[J]. Exp Cell Res, 2019, 382(2): 111474. DOI: 10.1016/j.yexcr. 2019. 06. 019.
- [3] 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.
- Liu X, Ji Z, Li YX, et al. The relationship between serum miR-132 and miR-135 expression and cognitive function in patients with cognitive dysfunction after ischemic stroke and its predictive value[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2020, 19(9): 869-873, 879. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450. 2020. 09. 002.
- [4] 邓莉莉, 邝瑞军, 彭艳辉. HDAC 抑制剂 CG200745 促进 STZ 诱导糖尿病大鼠胰岛 β 细胞损伤后的再生修复[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2021, 41(4): 332-338. DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200618-06050.
- Deng LL, Kuang RJ, Peng YH. HDAC inhibitor CG200745 promotes regeneration and repair of pancreatic β -cells in STZ-induced diabetic rats[J]. Inter J of End and Met, 2021, 41(4): 332-338. DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200618-06050.
- [5] 黄海雯, 林浩然, 李汶璐, 等. 组蛋白去乙酰化酶在缺血性脑卒中后血脑屏障损伤中作用的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(15): 1889-1893. DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693. 2021. 15. 016.
- Huang HW, Lin HR, Li WL, et al. Research progress on the role of histone deacetylase in blood-brain barrier damage after ischemic stroke[J]. China Mod App Phar, 2021, 38(15): 1889-1893. DOI:

10.13748/j.cnki.issn1007-7693. 2021. 15. 016.

- [6] Li B, Huang Z, Meng J, et al. MiR-202-5p attenuates neurological deficits and neuronal injury in MCAO model rats and OGD-induced injury in Neuro-2a cells by targeting eIF4E-mediated induction of autophagy and inhibition of Akt/GSK-3 β pathway[J]. Mol Cell Probes, 2020, 51: 101497. DOI: 10.1016/j.mcp. 2019. 101497.
- [7] 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. 中国各类主要脑血管病诊断要点 2019[J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(9): 710-715. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876. 2019. 09. 003.
- Chinese Medical Association Neurology Branch, Chinese Medical Association Neurology Branch Cerebrovascular Disease Group. Diagnosis of various major cerebrovascular diseases in China 2019[J]. Chin J of Neur, 2019, 52(9): 710-715. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876. 2019. 09. 003.
- [8] Zhang Y, Yang H, Li S, et al. Consumption of coffee and tea and risk of developing stroke, dementia, and poststroke dementia: A cohort study in the UK Biobank[J]. PLoS Med, 2021, 18(11): e1003830. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003830.
- [9] Medeiros GC, Roy D, Kontos N, et al. Post-stroke depression: A 2020 updated review[J]. Gen Hosp Psychiatry, 2020, 66: 70-80. DOI: 10.1016/j.genhosppsych. 2020. 06. 011.
- [10] Potocnik J, Ovcara Stante K, Rakusa M. The validity of the Montreal cognitive assessment (MoCA) for the screening of vascular cognitive impairment after ischemic stroke[J]. Acta Neurol Belg, 2020, 120(3): 681-685. DOI: 10.1007/s13760-020-01330-5.
- [11] Yan X, Chen H, Shang X. Human urinary kallidinogenase decreases the incidence of post-stroke cognitive impairment in acute ischemic stroke patients[J]. J Integr Neurosci, 2022, 21(3): 80. DOI: 10.31083/j.jin2103080.
- [12] 张福琴, 钟华, 朱莉莉, 等. 急性脑卒中患者发生认知功能障碍的危险因素分析及风险列线图模型的建立[J]. 中风与神经疾病杂志, 2020, 37(10): 886-890. DOI: 10.19845/j.cnki.zfy.sjbjz. 2020. 0477.
- Zhang FQ, Zhong H, Zhu LL, et al. Analysis of risk factors for cognitive impairment in patients with acute stroke and establishment of a risk nomogram model[J]. J Str and Neur Dis, 2020, 37(10): 886-890. DOI: 10.19845/j.cnki.zfysjbjz. 2020. 0477.
- [13] Stewart RAH, Held C, Krug-Gourley S, et al. Cardiovascular and lifestyle risk factors and cognitive function in patients with stable coronary heart disease[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(7): e010641. DOI: 10.1161/JAHA.118.010641.
- [14] Shin BK, Kang S, Kim DS, et al. Intermittent fasting protects against the deterioration of cognitive function, energy metabolism and dyslipidemia in Alzheimer's disease-induced estrogen deficient rats[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243(4): 334-343. DOI: 10.1177/1535370217751610.
- [15] 田婧, 白永杰, 尤爱民. 血清 Hey, SAA 和 MCP-1 在脑梗死后血管性认知功能障碍患者血清中的表达及意义[J]. 广东医学, 2021, 42(7): 810-813. DOI: 10.13820/j.cnki.gdxy. 20193478.

(下转 1046 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 007

论著 · 临床

血清 α -MSH 和 MCP-1 对急性胰腺炎严重程度早期评估及预后的预测价值

陶丽华, 左爽, 孙飞, 骆佳艳, 李海山

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(1908085MH275)

作者单位: 230011 合肥市第二人民医院/安徽医科大学附属合肥医院急诊科

通信作者: 李海山, E-mail: 1710834400@qq.com

【摘要】目的 研究血清 α -黑色素细胞刺激素(α -MSH)和单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)对急性胰腺炎(AP)严重程度早期评估及预后的预测价值。方法 选取 2019 年 12 月—2021 年 12 月合肥市第二人民医院/安徽医科大学附属合肥医院急诊科诊治 AP 患者 117 例,入院时根据病情严重程度分为轻型胰腺炎(MAP)45 例、中度重症胰腺炎(MSAP)38 例、重症胰腺炎(SAP)34 例,并根据 28 d 内病死情况分为病死组 11 例与生存组 106 例。检测并比较不同严重程度及不同预后 AP 患者血清 α -MSH、MCP-1 水平, Spearman 分析血清 α -MSH、MCP-1 与 AP 严重程度的相关性, Logistic 回归分析 AP 患者预后的影响因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 α -MSH、MCP-1 对 AP 患者预后的预测价值。结果 病死组入院当天胸腔积液占比、SAP 占比高于生存组($\chi^2/P=4.193/0.041, 2.691/0.007$);病死组血清 α -MSH 水平低于生存组, MCP-1 水平高于生存组($t/P=12.072/<0.001, 6.390/<0.001$);血清 α -MSH 水平比较, MAP>MSAP>SAP($F/P=261.462/<0.001$),而 MCP-1 水平比较, MAP<MSAP<SAP($F/P=128.199/<0.001$)。经 Spearman 相关性分析,血清 α -MSH 水平与 AP 严重程度呈负相关($r=-0.415, P=0.021$), MCP-1 与 AP 严重程度呈正相关($r=0.520, P=0.017$)。经 Logistic 回归分析显示,入院当天有胸腔积液、病情严重程度重及血清 α -MSH 低、MCP-1 高是 AP 患者预后的危险因素[OR(95% CI)=4.768(2.075~10.959)、4.162(1.811~9.565)、3.747(1.630~8.612)、4.289(1.866~9.857)]。血清 α -MSH、MCP-1 及二者联合预测 AP 患者预后的 AUC 分别为 0.843、0.880、0.956,二者联合预测 AP 患者预后的效能优于单项预测($Z=2.495, 1.981, P=0.029, 0.047$)。结论 血清 α -MSH、MCP-1 水平与 AP 严重程度密切相关,且对预后具有一定预测价值。

【关键词】 胰腺炎,急性; α -黑色素细胞刺激素;单核细胞趋化蛋白 1;严重程度;早期评估;预后预测【中图分类号】 R657.5⁺1

【文献标识码】 A

Predictive value of serum α -MSH and MCP-1 in early assessment and prognosis of acute pancreatitis severity Tao Lihua, Zuo Shuang, Sun Fei, Luo Jiayan, Li Haishan. Department of Emergency, Hefei Second People's Hospital /Hefei Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Anhui Province, Hefei 230011, China

Corresponding author: Li Haishan, E-mail: 1710834400@qq.com

Funding program: Natural Science Foundation of Anhui Province (1908085MH275)

【Abstract】 Objective To investigate the predictive value of serum α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the early assessment and prognosis of acute pancreatitis (AP) severity. Methods From December 2019 to December 2021, 117 patients with AP were diagnosed and treated in the Emergency Department of Hefei Second People's Hospital/Hefei Hospital Affiliated to Anhui Medical University. They were divided into mild pancreatitis (MAP) 45 cases, moderate There were 38 cases of severe pancreatitis (MSAP) and 34 cases of severe pancreatitis (SAP), and they were divided into a death group of 11 cases and a survival group of 106 cases according to the death situation within 28 days. The levels of serum- α MSH and MCP-1 in AS patients with different severity and different prognosis were detected and compared, the correlation between serum α -MSH and MCP-1 and the severity was analyzed by Spearman, the influencing factors of the prognosis of AS patients, and receiver operating characteristic curve were analyzed by Logistic regression. (ROC) analysis of the predictive value of serum α -MSH and MCP-1 on the prognosis of AS patients. Results The proportion of pleural effusion and SAP on the day of admission in the death group were higher than those in the survival group ($\chi^2/P=4.193/0.041, 2.691/0.007$). Serum level of α -MSH in death group was lower than survival

group, and MCP-1 was higher than survival group ($t/P=12.072/ <0.001$, $6.390/ <0.001$); serum α -MSH levels were compared, $MAP > MSAP > SAP$, while MCP-1 levels were compared, $MAP < MSAP < SAP$ ($F/P=261.462/ <0.001$, $128.199 / <0.001$). According to Spearman correlation analysis, serum α -MSH level was negatively correlated with AP severity ($r=-0.415, P=0.021$), and MCP-1 was positively correlated with AP severity ($r=0.520, P=0.017$). Logistic regression analysis showed that pleural effusion on the day of admission, more severe disease severity, low serum α -MSH, and high MCP-1 were risk factors for the prognosis of AP patients [$OR(95\% CI)=4.768(2.075-10.959)$, $4.162(1.811-9.565)$, $3.747(1.630-8.612)$, $4.289(1.866-9.857)$]. The AUCs of serum α -MSH, MCP-1 and their combination in predicting the prognosis of AP patients were 0.843, 0.880, and 0.956, and the combined effect of the two in predicting the prognosis of AP patients was better than single prediction ($Z=2.495$, $1.981, P=0.029, 0.047$). **Conclusion** Serum α -MSH and MCP-1 levels are closely related to the severity of AP, and have certain predictive value for prognosis.

【Key words】 Pancreatitis, acute; α -Melanocyte stimulating hormone; Monocyte chemoattractant protein 1; Severity; Early assessment; Prognosis prediction

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是消化内科常见疾病,是由局部胰腺损伤导致胰酶释放引发的全身炎性反应性疾病^[1]。AP 病情多为轻症,预后良好,但重症患者仍占 20% ~ 30%, 总体病死率为 5% ~ 10%^[2]。因此,临床应充分重视 AP 患者的病情严重程度,并进行早期评估,从而及时给予合理治疗,改善预后。以往临床多采用各种评分系统对 AP 病情严重程度及预后进行评估,但实际操作过程中项目繁琐、耗时较长,难以实现早期实时评估,因此临床致力于寻找敏感准确的评估指标^[3-4]。近年来,随着检验技术的进步与发展,血清学指标在临床多种疾病评估中应用广泛。其中, α -黑色素细胞刺激素(α -melanocyte stimulating hormone, α -MSH)是垂体前叶分泌的黑色素细胞刺激素,具有较强抑制炎症反应效果,同时能调节机体免疫功能^[5]。单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)是白细胞趋化因子,当机体出现炎症反应时, MCP-1 会被激活,从而趋化巨噬细胞、单核细胞在局部浸润聚集,并释放炎症介质,导致多器官损伤^[6-7]。目前,临床多将 α -MSH、MCP-1 用于 AP 患者病情程度的早期评估,但对于预后的预测价值尚不明确。基于此,现分析血清 α -MSH、MCP-1 对 AP 严重程度早期评估及预后的预测价值,以期对临床治疗提供帮助,报道如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 12 月—2021 年 12 月合肥市第二人民医院/安徽医科大学附属合肥医院急诊科诊治 AP 患者 117 例,男 59 例,女 58 例,年龄 25 ~ 76 (48.69 ± 11.13) 岁。本研究经医院医学伦理委员会批准(2021-科研-015),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:均符合“中国急性胰腺炎诊治指南”中 AP 诊断标准^[8];发病至入院 <

24 h;入院前未接受任何治疗;未长期服用影响检测结果的药物。(2) 排除标准:胆管肿瘤或胰腺肿瘤;妊娠期或哺乳期女性;合并血液系统、免疫系统疾病;心、肝、肾等重要脏器严重功能障碍;合并其他脏器感染或 1 个月前存在急慢性感染疾病;合并营养状态不佳;近期有外伤史或发病前后 1 个月需进行手术治疗;长期使用免疫制剂、激素等特殊药物史。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集:收集患者临床资料,包括性别、年龄、体质量指数(BMI)、病因(酒精性、胆源性、高脂性)、入院当天是否有胸腔积液、合并高血压、合并糖尿病等。

1.3.2 血清 α -MSH 和 MCP-1 水平测定:入院次日清晨采集患者空腹静脉血 3 ml,离心留取血清,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 α -MSH、MCP-1 水平,试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司,所有操作均严格按照试剂盒说明书操作步骤进行。

1.3.3 预后分组:根据患者 28 d 死亡情况分为病死组与生存组。

1.4 AP 严重程度评估 参考“中国急性胰腺炎诊治指南”^[8],其中无脏器衰竭,无局部或全身并发症为轻型胰腺炎(MAP);急性期有 <48 h 的一过性器官功能障碍为中度重症胰腺炎(MSAP);伴有 >48 h 的器官功能障碍为重症胰腺炎(SAP)。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 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,组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验;采用 Spearman 分析血清 α -MSH、MCP-1 与 AP 严重程度的相关性;Logistic 回归分析 AP 预后的影响因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估血清 α -MSH、MCP-1 对 AP 预后的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患者临床资料比较 117 例 AP 患者经临床治疗后 28 d 内生存 106 例(90.60%)为生存组,死亡 11 例(9.40%)为病死组;2 组性别、年龄、BMI、病因、合并糖尿病、合并高血压、吸烟占比等比较,差异无统计学意义($P>0.05$);病死组入院当天胸腔积液、SAP 占比高于生存组($P<0.05$),见表 1。

表 1 生存组与病死组 AP 患者临床资料比较
Tab.1 Comparison of clinical data of patients with acute pancreatitis between survival group and death group

项 目	生存组 (<i>n</i> = 106)	病死组 (<i>n</i> = 11)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]				
男	52(49.06)	5(45.45)	0.052	0.820
女	54(50.94)	6(54.55)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	47.92 $\pm$ 8.31	48.26 $\pm$ 8.23	0.129	0.897
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	24.08 $\pm$ 2.08	24.12 $\pm$ 2.01	0.061	0.952
病因[例(%)]				
胆源性	52(49.06)	6(54.55)	0.337	0.736
高脂性	43(40.57)	4(36.36)		
酒精性	11(10.38)	1(9.09)		
入院当天胸腔积液[例(%)]	20(18.87)	5(45.45)	4.193	0.041
合并糖尿病[例(%)]	18(16.98)	3(27.27)	0.717	0.397
合并高血压[例(%)]	17(16.04)	4(36.36)	2.796	0.095
吸烟[例(%)]	26(24.53)	5(45.45)	2.241	0.134
病情严重程度				
MAP	44(41.51)	1(9.09)	2.691	0.007
[例(%)]				
MSAP	35(33.02)	3(27.27)		
SAP	27(25.47)	7(63.64)		

2.2 不同预后患者血清 α -MSH、MCP-1 水平比较 病死组血清 α -MSH 水平低于生存组,而 MCP-1 水平高于生存组($P<0.01$),见表 2。

2.3 不同 AS 严重程度血清 α -MSH、MCP-1 水平比较 117 例 AP 患者中 MAP 45 例, MSAP 38 例, SAP 34 例。随着病情程度的加重,血清 α -MSH 水平逐渐降

低,而 MCP-1 水平逐渐升高(P 均 <0.01),见表 3。

表 2 生存组与病死组 AP 患者血清 α -MSH、MCP-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)
Tab.2 Comparison of serum α -MSH and MCP-1 levels in AS patients with different prognosis

组 别	例数	α -MSH	MCP-1
生存组	106	13.81 $\pm$ 2.74	29.85 $\pm$ 4.58
病死组	11	7.29 $\pm$ 2.08	39.25 $\pm$ 5.27
<i>t</i> 值		12.072	6.390
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

表 3 不同严重程度 AP 患者血清 α -MSH、MCP-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)
Tab.3 Comparison of serum α -MSH and MCP-1 levels in patients with different AS severity

组 别	例数	α -MSH	MCP-1
MAP	45	16.52 $\pm$ 2.14	22.17 $\pm$ 4.26
MSAP	38	11.38 $\pm$ 1.57	34.82 $\pm$ 4.59
SAP	34	7.56 $\pm$ 1.02	38.25 $\pm$ 5.10
<i>F</i> 值		261.462	128.199
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.4 血清 α -MSH、MCP-1 水平与 AP 严重程度的相关性 经 Spearman 相关性分析,AP 患者血清 α -MSH 水平与严重程度呈负相关($r = -0.415$, $P = 0.021$), MCP-1 与严重程度呈正相关($r = 0.520$, $P = 0.017$)。

2.5 AP 患者预后的影响因素 Logistic 回归分析 以 AP 患者预后为因变量(1 = 死亡,0 = 生存),将上述结果中 $P<0.05$ 的指标(入院当天胸腔积液、病情严重程度、 α -MSH、MCP-1)作为自变量,Logistic 回归分析结果显示,入院当天有胸腔积液、病情严重程度重及血清 α -MSH 低、MCP-1 高是 AP 患者不良预后的危险因素($P<0.01$),见表 4。

表 4 Logistic 回归分析 AP 患者预后的危险因素
Tab.4 Logistic regression analysis of risk factors for the prognosis of AS patients

因 素	β 值	<i>SE</i> 值	<i>Wald</i> 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>
入院当天有胸腔积液	1.562	0.365	18.314	<0.001	4.768	2.075 ~ 10.959
病情严重程度(重型)	1.426	0.412	11.980	<0.001	4.162	1.811 ~ 9.565
血清 α -MSH 低	1.321	0.351	14.164	<0.001	3.747	1.630 ~ 8.612
血清 MCP-1 高	1.456	0.363	5.241	<0.001	4.289	1.866 ~ 9.857

表 5 血清 α -MSH、MCP-1 水平预测 AP 预后的价值
Tab.5 The value of serum α -MSH and MCP-1 levels in predicting AS prognosis

指 标	Cut-off 值	<i>AUC</i>	95% <i>CI</i>	敏感度	特异度	Youden 指数
低血清 α -MSH	8.70 ng/L	0.843	0.764 ~ 0.904	1.000	0.604	0.604
高血清 MCP-1	33.71 ng/L	0.880	0.807 ~ 0.933	0.909	0.717	0.626
二者联合	—	0.956	0.902 ~ 0.985	0.818	1.000	0.818

2.6 血清 α -MSH、MCP-1 水平预测 AP 预后的价值
ROC 曲线结果显示,血清低 α -MSH、高 MCP-1 及二者联合预测 AP 预后的 AUC 分别为 0.843、0.880、0.956,二者联合预测 AP 患者预后的效能优于各自单独预测($Z=2.495$ 、 1.981 , $P=0.029$ 、 0.047),见表 5、图 1。

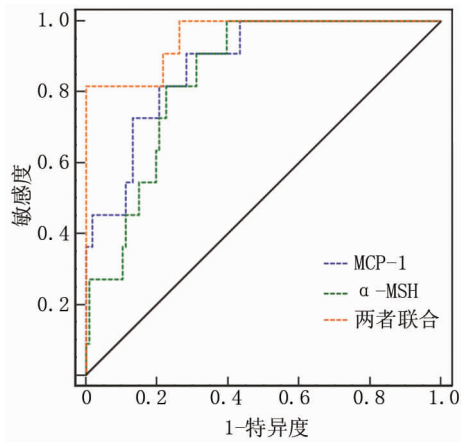


图 1 血清 α -MSH、MCP-1 水平预测 AP 预后的 ROC 曲线
Fig. 1 The ROC curve of serum α -MSH and MCP-1 levels predicting the prognosis of AP

3 讨论

AP 是临床常见急腹症,发病原因为胰腺腺泡细胞损伤,使局部和远处器官系统受累,多表现为自限性疾病,但仍有部分患者会迅速发展为重症,严重威胁患者生命安全^[9]。因此,临床早期评估 AP 严重程度,重点发现高危患者,并及时干预,有助于预后的改善。传统的预测评分系统如 APACHE II 评分^[10]、BISAP 评分^[11]等均较为复杂,在配置资源有限的科室可能不容易获得评分系统的所有参数。因此,积极寻求一种简单实用、可量化的标志物评估严重程度及预测预后是目前临床研究热点内容。

α -MSH 在原发性膝骨关节炎、外伤性脑损伤等炎性反应损伤性疾病中均异常降低,且与疾病进展密切相关^[12]。本研究选取 α -MSH 作为评估 AP 患者严重程度及预后的一个重要检测指标, α -MSH 水平与严重程度呈负相关,且是影响预后的重要因素。分析其原因为,正常机体中 α -MSH 具有抑制炎症反应作用,并维持机体免疫功能,一直处于较高水平表示机体未发生炎症反应,且免疫状态良好^[13]。而 AP 患者机体发生炎症反应损伤,重症 AP 患者甚至出现全身炎症反应综合征及多器官功能障碍等, α -MSH 水平会明显降低,同时 28 d 内病死的患者一般为重症患者,其 α -

MSH 水平会低于生存患者。本研究还通过 ROC 曲线分析血清 α -MSH 对预后的预测价值,结果显示血清 α -MSH 对 AP 患者预后的预测效果较好。

MCP-1 是炎症级联反应的始动因子,能促进炎症反应发生,参与 AP 的发生发展^[14]。一是由于 MCP-1 作为重要的炎症介质,能通过趋化作用聚集白细胞与巨噬细胞,并释放炎症因子,导致胰腺的损伤及多器官功能障碍^[15];二是因为 MCP-1 能调节抗炎因子、促炎症因子的分泌,对机体免疫功能造成一定损伤,促进病情进展,且不利于预后恢复^[16]。本研究发现,MCP-1 与 AP 严重程度呈正相关,且是影响 AP 患者预后的重要因素,这与王建等^[17]研究结果具有一致性。同时,ROC 曲线分析显示,血清 MCP-1 预测 AP 患者预后的效能较高,同时联合 α -MSH 检测对 AP 患者预后的评估效能更高,表明血清 α -MSH、MCP-1 水平对临床诊治具有一定指导意义。

综上所述,血清 α -MSH、MCP-1 水平与 AP 严重程度密切相关,且对预后具有一定预测价值。但鉴于样本量较小,后续仍需加大样本量、提高样本质量进行深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陶丽华、李海山:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,课题设计;左爽:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;孙飞、骆佳艳:提出研究思路,分析试验数据,论文审核,进行统计学分析

参考文献

- [1] Yang AL, McNabb-Baltar J. Hypertriglyceridemia and acute pancreatitis[J]. *Pancreatology*, 2020, 20 (5): 795-800. DOI: 10.1016/j.pan.2020.06.005.
- [2] Mederos MA, Reber HA, Giris MD. Acute pancreatitis: A Review[J]. *JAMA*, 2021, 325 (4): 382-390. DOI: 10.1001/jama.2020.20317.
- [3] 马小华, 李兰, 金涛, 等. 入院时有害性急性胰腺炎评分可预测轻症急性胰腺炎[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40 (2): 190-195. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2020.02.09.
- [4] Ma XH, Li L, Jin T, et al. Harmless acute pancreatitis score at admission can predict mild acute pancreatitis[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2020, 40 (2): 190-195. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2020.02.09.
- [4] 杨宁, 王瑞峰, 耿金婷, 等. 白细胞和乳酸脱氢酶对急性胰腺炎 MCTSI 评分和预后关系的研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2021, 29 (8): 555-558. DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2021.08.06.
- [4] Yang N, Wang RF, Geng JT, et al. Study on the relationship between MCTSI score and prognosis of acute pancreatitis by leukocyte and lactate dehydrogenase[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine Digestion*, 2021, 29 (8): 555-558. DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2021.08.06.

- [5] 吴绵绵,郭芳,李亚红,等. α -黑素细胞刺激素作用后高糖高脂下视网膜血管内皮细胞差异表达基因分析[J]. 中华实验眼科杂志, 2019, 37(9): 694-700. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 09. 002.
Wu MM, Guo F, Li YH, et al. α - Analysis of differentially expressed genes in retinal vascular endothelial cells under high glucose and high lipid after the action of melanocyte stimulating hormone[J]. Chinese Journal of Experimental Ophthalmology, 2019, 37(9): 694-700. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 09. 002.
- [6] Yeom JS, Jo JY, Park JS, et al. Monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 in rotavirus-associated white matter injury in newborns[J]. Neuropediatrics, 2019, 50 (4): 228-234. DOI: 10. 1055/s-0038-1677516.
- [7] 石小翠,胡美云,杜寨,等. 血清单核细胞趋化蛋白 1、基质金属蛋白酶 9 及胱抑素 C 水平对脑梗死患者预后的评估价值[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48 (1): 59-62. DOI: 10. 16636/j. cnki. jinn. 1673-2642. 2021. 01. 014.
Shi XC, Hu MY, Du Z, et al. The prognostic value of serum monocyte chemoattractant protein 1, matrix metalloproteinase 9 and cystatin C levels in patients with cerebral infarction[J]. International Journal of Neurology and Neurosurgery, 2021, 48 (1): 59-62. DOI: 10. 16636/j. cnki. jinn. 1673-2642. 2021. 01. 014.
- [8] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019 年, 沈阳)[J]. 中华消化杂志, 2019, 39 (11): 721-730. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5256. 2019. 12. 013.
Group of Pancreatic Diseases, Digestive Branch, Chinese Medical Association, Editorial Board of Chinese Journal of Pancreatic Diseases. Editorial board of Chinese Journal of digestion Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of acute pancreatitis (Shenyang, 2019)[J]. Chinese Journal of Digestion, 2019, 39 (11): 721-730. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5256. 2019. 12. 013.
- [9] Garg PK, Singh VP. Organ failure due to systemic injury in acute pancreatitis[J]. Gastroenterology, 2019, 156 (7): 2008-2023. DOI: 10. 1053/j. gastro. 2018. 12. 041.
- [10] 王静, 金霞霞, 卢国光, 等. 有核红细胞联合 Ranson 评分及 APACHE II 评分构建重症急性胰腺炎患者的结局预测模型[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43 (1): 63-70. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-8158. 2020. 01. 007.
Wang J, Jin XX, Lu GG, et al. Construction of outcome prediction model for patients with severe acute pancreatitis by nucleated red blood cells combined with Ranson score and APACHE II score[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2020, 43 (1): 63-70. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-8158. 2020. 01. 007.
- [11] 唐豪佑, 刘胜, 胡程俊, 等. 改良客观性 BISAP 评分对急性胰腺炎严重程度及预后的预测价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37 (6): 1386-1391. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5256. 2021. 06. 032.
Tang HY, Liu S, Hu CJ, et al. Predictive value of modified objective BISAP score for severity and prognosis of acute pancreatitis[J]. Journal of Clinical Hepatobiliary Diseases, 2021, 37 (6): 1386-1391. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5256. 2021. 06. 032.
- [12] 刘伟乐, 钟浩博, 王胤, 等. α -促黑色素细胞刺激激素与原发性膝骨关节炎进展的相关性研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2021, 23 (8): 711-716. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115530-20201214-00768.
Liu WL, Zhong HB, Wang Y, et al. α - Study on the correlation between melanocyte stimulating hormone and the progression of primary knee osteoarthritis[J]. Chinese Journal of Traumatic Orthopaedics, 2021, 23 (8): 711-716. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115530-20201214-00768.
- [13] Kumbhar J, Ganesh CB. The effect of α -MSH treatment on the hypothalamic-pituitary-gonad axis in the cichlid fish Oreochromis mossambicus[J]. Fish Physiol Biochem, 2021, 47 (5): 1659-1668. DOI: 10. 1007/s10695-021-01005-9.
- [14] 郑栓, 赵子豪, 刘振杰, 等. 特发性膜性肾病患者尿单核细胞趋化蛋白 1 和表皮生长因子的变化及临床意义[J]. 中华医学杂志, 2020, 100 (16): 1230-1234. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112137-20191205-02656.
Zheng S, Zhao ZH, Liu ZJ, et al. Changes and clinical significance of urinary monocyte chemoattractant protein 1 and epidermal growth factor in patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. Chinese Journal of Medicine, 2020, 100 (16): 1230-1234. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112137-20191205-02656.
- [15] 李开敏. 巨噬细胞炎症蛋白-1 α 、单核细胞趋化因子蛋白 1 与急性胰腺炎患者病情程度的关联性及其临床意义[J]. 医学检验与临床, 2021, 32 (2): 13-15, 52. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-5013. 2021. 02. 004.
Li KM. Correlation and clinical significance of macrophage inflammatory protein-1 α , monocyte chemoattractant protein-1 and severity of acute pancreatitis[J]. Medical Laboratory and Clinical, 2021, 32 (2): 13-15, 52. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-5013. 2021. 02. 004.
- [16] 梁勇, 母齐鸣, 万波, 等. 血清巨噬细胞炎症蛋白-1 α 、巨噬细胞炎症蛋白-1 β 和单核细胞趋化因子蛋白-1 在重症胆源性梗阻型胰腺炎中的表达及临床意义[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17 (3): 181-184. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-6170. 2020. 03. 053.
Liang Y, Mu QM, Wan B, et al. The expression and clinical significance of serum MIP-1 α , MIP-1 β and MCP-1 in severe biliary obstructive pancreatitis[J]. Clinical Journal of Practical Hospital, 2020, 17 (3): 181-184. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-6170. 2020. 03. 053.
- [17] 王建, 高明. 外周血 HMGB1、MCP-1、RDW 动态检测在急性胰腺炎病情严重程度评估中的价值研究[J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25 (9): 1151-1155. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-2159. 2020. 09. 004.
Wang J, Gao M. Study on the value of dynamic detection of HMGB1, MCP-1 and RDW in peripheral blood in evaluating the severity of acute pancreatitis[J]. Modern Digestion and Interventional Diagnosis and Treatment, 2020, 25 (9): 1151-1155. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-2159. 2020. 09. 004.

(收稿日期: 2022-05-26)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 008

论著 · 临床

自拟泄浊解毒方联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎患者临床疗效观察

李雪可, 康欣, 赵源, 刘建平

基金项目: 国家重大疑难疾病中西医临床协作试点项目(2019051405); 河北省重点研发计划项目(192777134D)
作者单位: 050200 石家庄, 河北中医学院研究生院(李雪可); 050013 石家庄, 河北省中医院脾胃病科(康欣、赵源、刘建平)
通信作者: 刘建平, E-mail: 13603396653@163.com

【摘要】目的 探究自拟泄浊解毒方联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎(UC)患者的临床疗效。**方法** 选取2019年11月—2020年11月河北省中医院就诊的浊毒内蕴型UC患者60例,按照随机数字表法分为对照组、试验组,每组30例。对照组予美沙拉嗪肠溶片口服,试验组在对照组的基础上予自拟泄浊解毒方联合治疗,2组均治疗12周。比较2组中医证候疗效,治疗前后炎症指标[红细胞沉降率(ESR)、C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)]、Geboes组织学指数、Mayo活动指数评分及肠道菌群水平变化。**结果** 治疗12周后,试验组总有效率为96.7%,高于对照组的76.7%($\chi^2=5.192, P=0.023$);治疗12周后,2组患者ESR、CRP、PCT水平及Geboes组织学指数均低于治疗前($P<0.01$),但试验组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗12周后,2组患者Mayo活动指数评分均低于治疗前,且试验组低于对照组($t=4.308, P<0.001$)。治疗12周后,在门水平上,2组厚壁菌门、拟杆菌门丰度明显增加,放线菌门、变形杆菌门丰度明显减少;在属水平上,试验组双歧杆菌属、普拉梭菌属、布劳特氏菌属、拟杆菌属、乳酸杆菌属丰度增加,志贺氏菌属、链球菌属丰度减少。**结论** 自拟泄浊解毒方联合美沙拉嗪肠溶片治疗可以提高UC患者的临床疗效,抑制炎症反应,调节肠道微生态系统,从而达到治疗UC的效果。

【关键词】 溃疡性结肠炎;泄浊解毒方;美沙拉嗪;临床疗效;炎症因子;肠道菌群水平

【中图分类号】 R574.62 **【文献标识码】** A

Clinical observation on the therapeutic effect of self-made Xiezhuo Jiedu Recipe combined with mesalazine on patients with ulcerative colitis Li Xueke, Kang Xin, Zhao Yuan, Liu Jianping. Graduate School of Hebei University of Chinese Medicine, Hebei Province, Shijiazhuang 050200, China

Correspondence author: Liu Jianping, E-mail: 13603396653@163.com

Funding program: National Major Difficult Disease Project (2019051405); Hebei Key Research and Development Project (192777134D)

【Abstract】 Objective To explore the clinical efficacy of self-made Xiezhuo Jiedu Recipe combined with mesalazine in the treatment of patients with ulcerative colitis (UC). **Methods** From November 2019 to November 2020, 60 patients with turbid toxin intrinsic UC were selected from Hebei Hospital of Traditional Chinese Medicine, and were divided into control group and test group according to random number table, with 30 patients in each group. The control group was given mesalazine enteric coated tablets orally, and the test group was given self-made Xiezhuo Jiedu Recipe combined treatment on the basis of the control group. Both groups were treated for 12 weeks. The therapeutic effects of TCM syndromes of the two groups were compared, and the changes of inflammatory indexes (erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT)), Geboes histological index, Mayo activity index score and intestinal flora level before and after treatment were compared. **Results** After 12 weeks of treatment, the total effective rate in the test group was 96.7%, higher than 76.7% in the control group ($\chi^2=5.192, P=0.023$). After 12 weeks of treatment, the levels of ESR, CRP, PCT and Geboes histological index in the two groups were lower than those before treatment ($P<0.01$), but there was no significant difference between the test group and the control group ($P>0.05$). After 12 weeks of treatment, the Mayo activity index scores of patients in both groups were lower than those before treatment, and those in the test group were lower than those in the control group ($t=4.308, P<0.001$). After 12 weeks of treatment, at the phyla level, the abundance of Firmicutes and Bacteroides in the two groups increased significantly, while the abundance of Actinomycetes and Proteus decreased significantly.

cantly. At the genus level, the abundance of Bifidobacterium, Clostridium pratensis, Brautzia, Bacteroides and Lactobacillus in the test group increased, while the abundance of Shigella and Streptococcus decreased. **Conclusion** The self-made *Xiezhuo Jiedu* Recipe combined with mesalazine enteric coated tablets can improve the clinical efficacy of UC patients, inhibit inflammatory reactions, regulate the intestinal microecology, and achieve the effect of treating UC.

【Key words】 Ulcerative colitis; *Xiezhuo Jiedu* Recipe; Mesalazine; Therapeutic effect; Clinical Observation; Intestinal microflora level

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种累及结肠黏膜的慢性非特异性肠道疾病, 该病以腹痛、腹泻、黏液脓血便等为主要临床表现, 具有病情反复、迁延难愈的特点。流行病学研究发现, 该病的发病率为 10/10 万 ~ 20/10 万, 且呈逐年上升的趋势^[1-3]。目前该病的发病机制尚未完全明确, 可能与遗传、免疫、肠道菌群等相关^[4]。从中医上讲, UC 属于中医学“久痢”“泄泻”等范畴。患者脾胃受损, 湿邪困阻脾胃, 日久生浊, 酝酿成毒, 浊毒壅滞肠腑, 而成本病。本研究观察自拟泄浊解毒方联合美沙拉嗪治疗浊毒内蕴型 UC 患者的疗效, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 11 月—2020 年 11 月在河北省中医院就诊的浊毒内蕴型 UC 患者 60 例, 按照随机数字表法将其分为对照组和试验组, 每组 30 例。对照组男 17 例, 女 13 例; 年龄 22 ~ 67 (41.5 ± 11.9) 岁; 病程 1 ~ 10 (4.68 ± 1.45) 年; BMI 17.5 ~ 26.7 (23.5 ± 2.2) kg/m²; 临床类型: 初发型 4 例, 慢性复发型 26 例; 病变范围: E1 3 例, E2 20 例, E3 7 例; 严重程度: 轻度 27 例, 中度 3 例。试验组男 14 例, 女 16 例; 年龄 19 ~ 69 (42.1 ± 13.9) 岁; 病程 2 ~ 10 (4.52 ± 1.32) 年; BMI 15.7 ~ 27.8 (22.8 ± 3.0) kg/m²; 临床类型: 初发型 3 例, 慢性复发型 27 例; 病变范围: E1 2 例, E2 21 例, E3 7 例; 严重程度: 轻度 27 例, 中度 3 例。2 组患者一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。该项研究已通过医院伦理委员会审查 (2019-KY-045), 所有患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 纳入标准: (1) 符合“溃疡性结肠炎中西医结合诊疗共识意见 (2017 年)”^[5] 的诊断标准; (2) 符合“国医大师李佃贵治疗溃疡性结肠炎经验”^[6] 中浊毒内蕴证的证候诊断标准; (3) 患者年龄 18 ~ 75 岁。排除标准: (1) 合并严重并发症者, 如结肠狭窄、梗阻、穿孔、癌变等; (2) 妊娠及哺乳期妇女; (3) 合并严重肝肾疾病者; (4) 患有精神类疾病者; (5) 对本研究所用的相关药物过敏者。病例剔除和脱落及终止试验标准: (1) 患者依从性差, 自行退出或失访; (2)

对本研究药物不耐受者。

1.3 治疗方案 对照组予美沙拉嗪肠溶片 (Losan Pharma GmbH 生产) 1 g/次, 3 ~ 4 次/d; 试验组在对照组的基础上予自拟泄浊解毒方颗粒 (自拟泄浊解毒方: 葛根 15 g, 黄芩 9 g, 黄连、木香各 6 g, 清半夏 12 g, 生薏苡仁、车前子各 15 g, 鱼腥草 20 g, 大血藤、败酱草各 15 g, 河北省中医院制作) 口服, 1 袋/次, 每天 2 次。2 组均治疗 12 周。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 血清炎症指标检测: 治疗前、治疗后 12 周分别取患者清晨空腹时肘静脉血 5 ml, 进行离心分离, 取上层血清进行检测, 运用全自动血沉检测仪测定红细胞沉降率 (ESR), 全自动生化分析仪测定 C-反应蛋白 (CRP), 全自动免疫分析仪测定降钙素原 (PCT)。

1.4.2 黏膜组织学疗效评价标准: 采用 Geboes 组织学指数的 6 级评估系统^[7]。0 级, 仅有结构改变; 1 级, 慢性炎症浸润; 2 级 (2A、2B), 固有层中性粒细胞和嗜酸性粒细胞浸润; 3 级, 上皮层中性粒细胞浸润; 4 级, 隐窝破坏; 5 级, 糜烂或溃疡。0、1、2A、2B、3、4 级分别赋予 0 ~ 3 分, 5 级赋予 0 ~ 4 分, 总计 22 分, 评分越高表示疾病越严重。

1.4.3 改良的 Mayo 活动指数^[5]: 用于临床研究的疗效评估, 总分之和 ≤ 2 分且无单个分项评分 > 1 分为缓解期; 3 ~ 5 分为轻度活动; 6 ~ 10 分为中度活动; 11 ~ 12 分为重度活动。

1.4.4 肠道菌群检测: 采用 16S rRNA 测序平台, 运用高通量测序技术进行肠道菌群物种鉴定。

1.4.5 不良反应记录: 记录 2 组患者治疗期间的血常规、肝功能、肾功能、心电图等变化情况。

1.5 中医证候疗效评分 参照《中药新药临床研究指导原则》^[8] 中的证候疗效评定标准。中医证候疗效计算公式采用尼莫地平法, 疗效指数 = (治疗前积分 - 治疗后积分) / 治疗前积分 × 100%, 其具体症状包括大便泄泻、腹胀腹痛、脘腹痞满、食欲不振、倦怠乏力、神疲懒言、口渴、嗝气、小便短黄、畏寒肢冷及腰膝酸软。(1) 临床缓解: 症状和体征消失或基本消失, 疗效指数 ≥ 95%; (2) 显效: 症状和体征明显改善, 疗效

指数 70% ~ 94%; (3) 有效: 症状和体征有所改善, 疗效指数 30% ~ 69%; (4) 无效: 症状和体征无明显减轻, 甚至加重, 疗效指数 < 30%。总有效率 = (临床缓解 + 显效 + 有效) / 总例数 × 100%。

1.6 统计学方法 应用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)描述, 组间比较采用 χ^2 检验, 等级资料采用秩和检验: 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 组间比较采用独立样本 t 检验; 不符合正态分布计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 描述, 组间比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

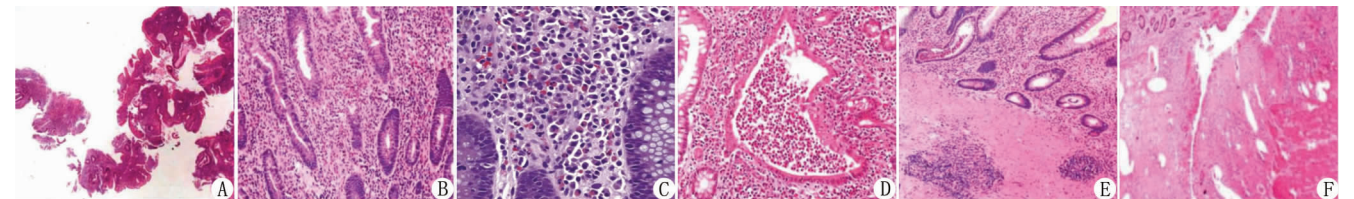
2.1 2 组 UC 患者中医证候疗效评价比较 治疗 12 周后, 试验组总有效率为 96.7%, 高于对照组的 76.7%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 2 组 UC 患者治疗前后 ESR 及血清 CRP、PCT 比较 治疗 12 周后 2 组患者 ESR、CRP、PCT 水平均低于治疗前 ($P < 0.01$), 但 2 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 对照组、试验组 UC 患者治疗前后 ESR 及血清 CRP、PCT 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of ESR, serum CRP and PCT of UC patients in control group and test group before and after treatment

组 别	时间	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	PCT (ng/L)
对照组 (n = 30)	治疗前	24.87 ± 17.68	7.68 ± 4.16	0.24 ± 0.15
	治疗后	12.70 ± 8.90	3.59 ± 2.56	0.09 ± 0.06
试验组 (n = 30)	治疗前	27.80 ± 15.64	5.88 ± 4.46	0.21 ± 0.12
	治疗后	10.03 ± 5.99	2.87 ± 2.04	0.06 ± 0.05
t/P 对照组内值		3.342/ 0.002	4.201/ < 0.001	5.450/ < 0.001
t/P 试验组内值		4.763/ < 0.001	4.125/ < 0.001	8.525/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		1.362/ 0.178	1.205/ 0.233	1.768/ 0.082



注: A. 0 级结构改变; B. 1 级炎性细胞浸润; C. 2 级嗜酸细胞浸润; D. 3 级上层中性粒细胞浸润; E. 4 级隐窝破坏; F. 5 级糜烂溃疡

图 1 Geboes 组织学指数评级标准

Fig. 1 Geboes Histology Index Rating

表 1 对照组、试验组 UC 患者治疗后中医证候疗效评价比较 [例(%)]

组 别	例数	临床缓解	显效	有效	无效	总有效率 (%)
对照组	30	2(6.7)	17(56.7)	4(13.3)	7(23.3)	76.7
试验组	30	6(20.0)	19(63.3)	4(13.3)	1(3.3)	96.7
U/ χ^2 值		U = 2.247				$\chi^2 = 5.192$
P 值		0.025				0.023

2.3 2 组 UC 患者治疗前后黏膜 Geboes 组织学指数比较 治疗 12 周后 2 组患者 Geboes 组织学指数均低于治疗前 ($P < 0.01$), 但 2 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3、图 1。

表 3 对照组、试验组 UC 患者治疗前后黏膜 Geboes 组织学指数比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

Tab. 3 Comparison of Geboes histological index of mucosa of UC patients in control group and test group before and after treatment

组 别	例数	治疗前	治疗后	t 值	P 值
对照组	30	10.57 ± 5.23	4.40 ± 1.77	7.144	< 0.001
试验组	30	11.10 ± 5.74	3.77 ± 2.03	6.817	< 0.001
t 值		0.376	1.287		
P 值		0.708	0.203		

2.4 2 组 UC 患者治疗前后改良的 Mayo 活动指数比较 2 组 UC 患者治疗前 Mayo 活动指数评分比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗 12 周后 2 组 Mayo 活动指数评分均低于治疗前 ($P < 0.01$), 且试验组 Mayo 活动指数评分低于对照组 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 4 对照组、试验组 UC 患者治疗前后改良的 Mayo 活动指数比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

Tab. 4 Comparison of modified Mayo activity index of UC patients in the control group and the test group before and after treatment

组 别	例数	治疗前	治疗后	t 值	P 值
对照组	30	8.13 ± 2.35	4.40 ± 1.77	8.764	< 0.001
试验组	30	7.73 ± 1.87	2.70 ± 1.24	12.686	< 0.001
t 值		0.730	4.308		
P 值		0.468	< 0.001		

2.5 2 组 UC 患者治疗前后肠道菌群的物种组成分析

从物种组成分类学组成分析来看,在门(phylum)水平,2 组优势菌门为厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)。与治疗前比较,治疗 12 周后 2 组厚壁菌门、拟杆菌门丰度均增加,放线菌门、变形菌门丰度均减少,见图 2。

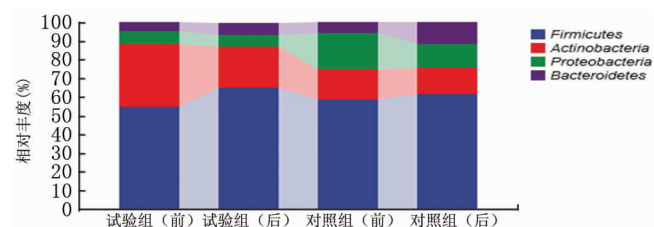


图 2 2 组治疗前后物种组成分类学组成分析(门水平)
Fig. 2 Analysis of species composition before and after treatment (door level)

在属(genus)水平,2 组优势菌属为双歧杆菌属(Bifidobacterium)、普拉梭菌属(Faecalibacterium)、布劳特氏菌属(Blautia)、拟杆菌属(Bacteroides)、志贺氏菌属(Shigella)、链球菌属(Streptococcus)、乳酸杆菌属(Lactobacillus)等。与治疗前比较,治疗 12 周后试验组双歧杆菌属、普拉梭菌属、布劳特氏菌属、拟杆菌属、乳酸杆菌属丰度增加,志贺氏菌属、链球菌属丰度减少;对照组双歧杆菌属、普拉梭菌属、乳酸杆菌属丰度增加,布劳特氏菌属、拟杆菌属、志贺氏菌属、链球菌属丰度减少,见图 3。

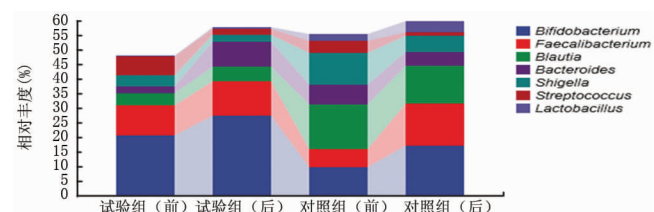


图 3 物种组成分类学组成分析(属水平)
Fig. 3 Taxonomic composition analysis of species composition (genus level)

2.6 2 组不良反应发生情况比较 本研究中试验组与对照组均未见明显不良反应,2 组患者治疗期间血常规、肝功能、肾功能、心电图等检查均无异常。

3 讨论

溃疡性结肠炎最初于 1793 年由 Matthew Baillie 提

出,而这一病名是 1859 年 Samuel Wilks 在伦敦创立的^[9]。从中医上讲,UC 属于中医学“久痢”“泄泻”等范畴^[10]。笔者认为该病病机多是先天禀赋异常,或因饮食不节(洁)损伤脾胃,或因怒、思、忧等情志失常,肝郁克脾胃之土,脾胃受损,升降功能失调,纳运失司,湿邪困阻脾胃,壅滞肠间^[11]。水湿不化,助湿生热,湿热日久生浊;邪致大肠,大肠传导失司,缠绵难愈,内生湿热与气血相搏,日久不化,弥散入血,酝酿成毒,浊毒壅滞肠腑,损伤脂膜血络,化腐成脓,而成本病^[12]。根据该特点予以自拟泄浊解毒方进行治疗,该方以葛根芩连汤为基础方进行加减治疗,方中葛根性凉且味辛甘,故能在解表退热的同时,又能升清阳而止泻痢,故为君药。黄连、黄芩可清热解毒、燥湿厚肠,以辅助葛根止痢之力;木香行气止痛、实肠止痢,共为臣药。清半夏燥湿化痰、解毒散结;薏苡仁健脾除湿,兼以扶正;车前子可利小便,排湿邪,以上三味共为佐药。鱼腥草、大血藤、败酱草均可清热解毒,以助湿热浊毒得排,故共为使药。诸药合用,共奏清化湿热、解毒止痢之功。

现代药理学研究发现,葛根可以通过抑制炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β ,阻止 p38/MAPK 信号通路磷酸化,增加 TJ((tight junction)蛋白表达,促进肠道黏膜的修复,同时也可以减少炎症因子的释放,以缓解肠道的炎症反应^[13]。黄连具有广谱抗菌、止泻作用,较宜用于肠道感染;黄芩具有抗菌消炎、抗变态反应、镇静解痉的作用^[14]。黄连主要通过 STAT4 信号通路的双向调节进行相关抗炎作用^[15]。木香中含有萜类、黄酮类、生物碱等物质,萜类为其主要成分,具有抗炎、抗菌、抗肿瘤等作用^[16]。清半夏可以通过影响 NF- κ B 及结肠组织 AQP5 mRNA 的表达,调控炎症反应,对结肠黏膜屏障起到保护作用^[17]。薏苡仁可以通过抑制肠道免疫反应,减少 IL-6 等炎症因子的表达,降低炎症的浸润程度;同时薏苡仁中的豆甾醇可以通过抑制 NCI-H460、A549 细胞的生长,以停滞细胞周期,促进细胞凋亡,起到抗肿瘤的作用^[18]。车前子可以通过抑制炎症反应,改善肠道黏膜的受损,上调 AQP4 mRNA 和蛋白的表达,以促进对水分的吸收而止泻;同时,其还具有抗病原微生物、抗衰老、降眼压、降胆固醇的作用^[19]。鱼腥草中含有槲皮甙、鱼腥草素等物质,可以改善肠道功能,促进消化吸收,具有抗炎、抗菌、抗病毒的效果^[20]。大血藤中的 β -谷甾醇可以通过肠道吸收,具有抗炎、抗菌、抑制癌细胞增殖的作用^[21]。败酱草中含有黄酮类、环烯醚萜、挥发油、皂苷类、有机酸等成分,具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、保肝利

胆等作用,其有机酸类是发挥抗菌消炎、清热解毒的主要成分之一,具有一定的止泻作用,可用于治疗腹泻、痢疾等疾病^[22]。由此可知,自拟泄浊解毒方可以抑制炎症反应,修复受损的肠道黏膜,促进黏膜愈合;改善胃肠道功能,促进消化吸收,从而达到治疗疾病的效果。

炎症因子失衡是引发 UC 的重要因素^[23]。当机体出现急性炎症反应时,转铁蛋白、纤维蛋白原、D-二聚体等细胞因子大量释放,使红细胞聚集,稳定性下降,而导致 ESR 升高^[24]。ESR 是肠道炎症程度的标志性指标,ESR 异常多提示肠道黏膜受损、肠黏膜屏障被破坏^[25]。同时,UC 发病时,IL-6、TNF 等炎症细胞因子释放,刺激血清 CRP,其浓度可在 2 d 内迅速上调。检测 ESR、CRP 可以有效评估患者的炎症程度、临床疗效及预后,与 UC 活动度密切相关。降钙素原(PCT)是一种反映机体自身免疫性疾病、炎症疾病病情活动度及严重程度的蛋白质,在评估 UC 患者病情严重程度方面具有较高的敏感度。当机体出现炎症反应时,血清 PCT 的表达会明显升高,反之则不会出现显著改变^[26]。本试验研究发现,治疗后患者的 ESR、CRP、PCT 明显下降,表明治疗后 UC 患者炎症活动度减轻,肠黏膜受损减少,利于 UC 患者肠黏膜愈合、病情缓解和生活质量的提高。

厚壁菌门含量增加时,TH17 相关基因及 IL-17 的表达会有所降低,从而减轻炎症反应,缓解 UC 患者的相关症状^[27];而将活的拟杆菌门定植于 UC 患者后,可消灭失调菌群的本土细菌,促进活细菌的定植,改善肠道菌群的失调,亦可达到治疗 UC 的目的^[28]。乳酸杆菌和双歧杆菌可以通过抑制黏附—侵袭大肠杆菌(AIEC)的毒力,阻碍 IL-23/Th17 轴的炎症反应,从而发挥免疫调节作用,从而治疗 UC。与此同时,双歧杆菌可将葡萄糖转化为醋酸和乳酸,以降低肠道 pH,抑制致病菌定植肠道^[29]。乳酸杆菌属可以通过调节 Nrf2/Ho-1 途径,降低 tnf-1,改善抗氧化酶活性,抑制炎症反应,治疗本病^[30]。普拉梭菌属可以增加 IL-10、TGF- β_1 及 Foxp3 的表达,减少 IL-17、ROR γ_t 的表达,从而调节 Th17/Treg 免疫应答,减少炎症反应,达到治疗 UC 的目的^[31]。布劳特氏菌属可以产生短链脂肪酸 SCFA,调整 Th17/Treg 的平衡,发挥抗炎作用^[32]。本研究发现,治疗后厚壁菌门、拟杆菌门、双歧杆菌属、乳杆菌属、普拉梭菌属、布劳特氏菌属等共生菌增多,放线菌门、变形菌门、志贺氏菌属、链球菌属等致病菌减少。

综上,自拟泄浊解毒方联合美沙拉嗪肠溶片治疗

可以提高 UC 患者的中医证候疗效及临床疗效,降低黏膜组织学评分、ESR、CRP、PCT 水平,调节肠道微生态系统,抑制细菌的侵袭、附着,提高肠道黏膜屏障的保护功能,抑制炎症反应,达到治疗 UC 的效果。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李雪可:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;康欣:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;赵源:进行统计学分析,论文修改;刘建平:提出研究方向、研究思路,研究选题,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Wang X,Zhao NQ,Sun YX,et al. Acupuncture for ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2020, 20 (1): 309. DOI:10. 1186/s12906-020-03101-4.
- [2] 李倩,赵述芳,龚建萍,等. 单克隆抗体用于治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44 (1): 189-195. DOI: 10. 7501/j. issn. 1674-6376. 2021. 01. 027. Li Q,Zhao SF,Gong JP,et al. Progress of monoclonal antibody in treatment of ulcerative colitis[J]. Drug Evaluation Research, 2021, 44 (1): 189-195. DOI:10. 7501/j. issn. 1674-6376. 2021. 01. 027.
- [3] 黄田,李龙泉,田珍,等. 生物制剂治疗炎症肠病现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36 (22): 3828-3832. DOI: 10. 13699/j. cnki. 1001-6821. 2020. 22. 060. Huang T,Li LQ,Tian Z,et al. Research progress on the treatment of inflammatory bowel disease with biological agents[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2020, 36 (22): 3828-3832. DOI: 10. 13699/j. cnki. 1001-6821. 2020. 22. 060.
- [4] Yuan H,Zhang T,Huang SK,et al. Six Gentlemen Decoction adding AUCKlandia and Amomum (Xiangsha Liujunzi Tang) for the treatment of ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials[J]. European Journal of Integrative Medicine, 2020, 36: 101119. DOI:10. 1016/j. ejim. 2020. 101119.
- [5] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗共识意见(2017 年)[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2018, 26 (2): 105-120. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-038X. 2018. 02. 01. Professional Committee of Gastrointestinal Disease of Chinese Society of Integrated Traditional Chinese and Western medicine. A ulcerative colitis consensus on the diagnosis and treatment of integrated Chinese and Western medicine (2017) [J]. Chin J Integr Trad West Med Dig, 2018, 26 (2): 105-120. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-038X. 2018. 02. 01.
- [6] 张弘,孙建慧,李娅,等. 国医大师李佃贵治疗溃疡性结肠炎经验[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34 (4): 1504-1506. Zhang W,Sun JH,Li Y,et al. TCM master LI Dian-gui's experience in treating ulcerative coliti [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese medicine, 2019, 34 (4): 1504-1506.
- [7] Geboes K,Riddell R,Ost A,et al. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis[J]. Gut, 2000, 47 (3): 404-409. DOI:10. 1136/gut. 47. 3. 404.

- [8] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 143.
- [9] Actis GC, Pellicano R, Fagoonee S, et al. History of inflammatory bowel diseases [J]. J Clin Med, 2019, 8 (11): 1970. DOI: 10.3390/jcm8111970.
- [10] 任玉乐, 贾先红. 溃疡性结肠炎的中医临证思考[J]. 浙江中医杂志, 2020, 55 (12): 918-919. DOI: 10.13633/j.cnki.zjtc.2020.12.042.
Ren YL, Jia XH. Thinking on the clinical features of ulcerative colitis in Chinese medicine [J]. Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 55 (12): 918-919. DOI: 10.13633/j.cnki.zjtc.2020.12.042.
- [11] 罗成福, 刘姝, 冯燕, 等. 翁连解毒汤治疗浊毒内蕴型溃疡性结肠炎的疗效观察[J]. 世界中医药, 2020, 15 (17): 2620-2624. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2020.17.021.
Luo CF, Liu S, Feng Y, et al. Therapeutic effects of Wenglian Jiedu decoction on ulcerative colitis with turbid toxin intrinsic type [J]. World Chinese Medicine, 2020, 15 (17): 2620-2624. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2020.17.021.
- [12] 安桂叶, 谢卜超, 王亚敏, 等. 翁连解毒汤对浊毒内蕴型溃疡性结肠炎患者炎症因子影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31 (3): 650-652. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2020.03.045.
An GY, Xie BC, Wang YM, et al. Effect of Wenglian Jiedu Decoction on inflammatory factors in patients with turbid and toxic ulcerative colitis [J]. Lishizhen Medicine And Materia Medica Research, 2020, 31 (3): 650-652. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2020.03.045.
- [13] 李亚兰, 刘佳静, 马沛广, 等. 葛根芩连汤调控 MMP-9/p38 MARK 途径修复溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜上皮屏障功能[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27 (4): 8-15. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20210436.
Li YL, Liu JJ, Ma PG, et al. Gegen Qinliantang regulates MMP-9/p38 MARK pathway to repair intestinal mucosal barrier function in mice with ulcerative colitis [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2021, 27 (4): 8-15. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20210436.
- [14] Park SM, Min BG, Jung JY, et al. Combination of Pelargonium sidoides and Coptis chinensis root inhibits nuclear factor kappa B-mediated inflammatory response in vitro and in vivo [J]. BMC Compl Alternat Med, 2018, 18 (1): 20-32. DOI: 10.1186/s12906-018-2088-x.
- [15] 陈宇. 黄连抗炎作用机理及其与黄柏, 附子, 干姜的比较研究[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2018.
- [16] 王阳, 范潇晓, 杨军, 等. 木香的萜类成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45 (24): 5917-5928. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20200903.601.
Wang Y, Fan XX, Yang J, et al. Research progress on terpenes and pharmacological effects of Saussurea lappa [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45 (24): 5917-5928. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20200903.601.
- [17] 黄聰, 彭伟, 魏蜀君, 等. 基于“肺与大肠相表里”研究清半夏多糖对哮喘模型大鼠结肠水液代谢的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38 (11): 104-108, 266-267. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2020.11.027.
- [18] 张强, 徐慧慧, 张润顺, 等. 基于方剂计量学与数据挖掘方法探讨姚乃礼教授治疗溃疡性结肠炎临证经验与用药规律分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22 (5): 106-110. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2020.05.026.
Zhang Q, Xu HH, Zhang RS, et al. Discussion the clinical experience and medication law of Professor Yao Naili in the treatment of ulcerative colitis based on the methods of prescription metrology and data mining [J]. Journal of Liaoning University of TCM, 2020, 22 (5): 106-110. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2020.05.026.
- [19] 王月, 彪雅宁, 储心乔, 等. 车前子对腹泻大鼠炎症因子和结肠组织 AQP4 mRNA 和蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26 (20): 52-58. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20201902.
Wang Y, Biao YN, Chu XQ, et al. Effect of Plantaginis Semen on inflammatory cytokines and mRNA and protein expressions of AQP4 in colon tissue of diarrhea rats [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2020, 26 (20): 52-58. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20201902.
- [20] 张亮, 吕丽丽, 王建房, 等. 复方鱼腥草口服制剂治疗儿童呼吸道感染有效性 Meta 分析[J]. 中草药, 2020, 51 (20): 5279-5286. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.20.021.
Zhang L, Lyu LL, Wang JF, et al. Meta analysis of efficacy of Compound Yuxingcao Oral Preparation in treatment of respiratory diseases in children [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51 (20): 5279-5286. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.20.021.
- [21] 徐锋, 黄旭龙, 张梅, 等. 基于网络药理学的大血藤抗炎作用机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38 (8): 249-253, 287. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2020.08.061.
Xu F, Huang XL, Zhang M, et al. Study on anti-inflammatory mechanism of Sargentodoxa cuneata based on network pharmacology [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2020, 38 (8): 249-253, 287. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2020.08.061.
- [22] 刘海涛, 雷鹏. 双波长 RP-HPLC 法同时测定败酱草中 5 种有机酸类成分的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30 (3): 349-353. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2019.03.013.
Liu HT, Lei P. Simultaneous determination of five organic acids in patriniae herba by dual-wavelength reversed phase high performance liquid chromatography [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2019, 30 (3): 349-353. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2019.03.013.
- [23] Flamant M, Roblin X. Inflammatory bowel disease: towards a personalized medicine [J]. Therap Adv Gastroenterol, 2018, 11: 1756283X17745029. DOI: 10.1177/1756283X17745029.
- [24] 荣雨露, 高海晋, 许翠. 定量检测血清抗中性粒细胞胞质抗体对溃疡性结肠炎的临床价值[J]. 中华消化杂志, 2020, 40 (10): 697-700. DOI: 10.3760/cma.j.cn311367-20190910-00408.

- Rong YL, Gao HJ, Xu C. Clinical value of of serum antineutrophil cytoplasmic antibody quantitatively determined for ulcerative colitis [J]. Chin J Dig, 2020, 40 (10) : 697-700. DOI: 10. 3760/cma. j. cn311367-20190910-00408.
- [25] 庞杰, 张宗芳, 李艳霞, 等. 血清补体 C5a 水平和红细胞沉降率与系统性红斑狼疮疾病活动度及预后的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34 (11) : 1110-1113. DOI: 10. 13507/j. issn. 1674-3474. 2020. 11. 009.
- Pang J, Zhang ZF, Li YX, et al. Correlations of serum complement C5a and erythrocyte sedimentation rate with disease activity and prognosis in patients with systemic lupus erythematosus [J]. J Chin Pract Diagn, 2020, 34 (11) : 1110-1113. DOI: 10. 13507/j. issn. 1674-3474. 2020. 11. 009.
- [26] 罗舒丹, 詹丽, 杨娟, 等. 益生菌联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的临床疗效及对血清炎症指标的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32 (2) : 200-203. DOI: 10. 13381/j. cnki. cjm. 202002017.
- Luo SD, Zhan L, Yang J, et al. Clinical efficacy of probiotics combined with mesalazine in the treatment of ulcerative colitis and its influence on serum inflammation indexes [J]. Chin J Microecol, 2020, 32 (2) : 200-203. DOI: 10. 13381/j. cnki. cjm. 202002017.
- [27] Natividad Jane M, Pinto-Sanchez Maria I, Galipeau Heather J, et al. Eco-biotherapy rich in firmicutes decreases susceptibility to colitis in a humanized gnotobiotic mouse model [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2015, 21 (8) : 1883-1893. DOI: 10. 1097/MIB. 0000000000000422.
- [28] Ishikawa D, Sasaki T, Takahashi M, et al. The microbial composition of bacteroidetes species in ulcerative colitis is effectively improved by combination therapy with fecal microbiota transplantation and antibiotics [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2018, 24 (12) : 2590-2598. DOI: 10. 1093/ibd/izy266.
- [29] Leccese G, Bibi A, Mazza S, et al. Probiotic lactobacillus and bifidobacterium strains counteract adherent-invasive escherichia coli (AIEC) virulence and hamper IL-23/Th17 axis in ulcerative colitis, but not in Crohn's disease [J]. Cells, 2020, 9 (8) : 1824. DOI: 10. 3390/cells9081824.
- [30] El-Baz AM, Khodir AE, Adel El-Sokkary MM, et al. The protective effect of Lactobacillus versus 5-aminosalicylic acid in ulcerative colitis model by modulation of gut microbiota and Nrf2/Ho-1 pathway [J]. Life Sciences, 2020, 256 : 117927. DOI: 10. 1016/j. lfs. 2020. 117927.
- [31] 王春晖, 杨洁, 赵宏芳, 等. 普拉梭菌干预对溃疡性结肠炎小鼠免疫应答、肠道菌群、肠黏膜屏障的影响[J]. 海南医学院学报, 2020, 26 (2) : 87-91. DOI: 10. 13210/j. cnki. jhmu. 20200106. 001.
- Wang CH, Yang J, Zhao HF, et al. Effects of Faecalibacterium prausnitzii intervention on immune response, intestinal flora and intestinal mucosal barrier of mice with ulcerative colitis [J]. Journal of Hainan Medical College, 2020, 26 (2) : 87-91. DOI: 10. 13210/j. cnki. jhmu. 20200106. 001.
- [32] 张苏, 王志斌, 王跃, 等. 小檗碱在溃疡性结肠炎中作用及机制的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2016, 36 (3) : 136-138, 193. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-534X. 2016. 03. 002.
- Zhang S, Wang ZB, Wang Y, et al. Research progress on the role and mechanism of berberine in ulcerative colitis [J]. International Journal of Gastroenterology, 2016, 36 (3) : 136-138, 193. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-534X. 2016. 03. 002.

(收稿日期: 2022-03-31)

(上接 1034 页)

- Tian J, Bai YJ, You AM. Expression and significance of serum Hcy, SAA and MCP-1 in patients with vascular cognitive impairment after cerebral infarction [J]. Gd Med, 2021, 42 (7) : 810-813. DOI: 10. 13820/j. cnki. gdx. 20193478.
- [16] Castro AR, Silva SO, Soares SC, et al. The use of high sensitivity C-reactive protein in cardiovascular disease detection [J]. J Pharm Pharm Sci, 2018, 21 (1) : 496-503. DOI: 10. 18433/jpps29872.
- [17] Mancuso M, Demeyere N, Abbruzzese L, et al. Using the Oxford Cognitive Screen to detect cognitive impairment in stroke patients: A comparison with the mini-mental state examination [J]. Front Neurol, 2018, 9 : 101. DOI: 10. 3389/fneur. 2018. 00101.
- [18] Zhang J, Yang D, Huang H, et al. Coordination of necessary and permissive signals by PTEN inhibition for CNS axon regeneration [J]. Front Neurosci, 2018, 12 : 558. DOI: 10. 3389/fnins. 2018. 00558.
- [19] Quinn PMJ, Moreira PI, Ambrósio AF, et al. PINK1/PARKIN signaling in neurodegeneration and neuroinflammation [J]. Acta Neuropathol Commun, 2020, 8 (1) : 189. DOI: 10. 1186/s40478-020-01062-w.
- [20] 舒扬, 向敏, 汪毅, 等. PTEN 在神经系统疾病中的作用[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2019, 48 (3) : 361-363, 368. DOI: 10. 3870/j. issn. 1672-0741. 2019. 03. 021.
- Shu Y, Xiang M, Wang Y, et al. The role of PTEN in nervous system diseases [J]. Acta Med Uni Sci et Tec HZ, 2019, 48 (3) : 361-363, 368. DOI: 10. 3870/j. issn. 1672-0741. 2019. 03. 021.
- [21] Pan Q, Liu Y, Wang G, et al. MTMR14 protects against cerebral stroke through suppressing PTEN-regulated autophagy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 529 (4) : 1045-1052. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2020. 06. 096.
- [22] Zheng Y, Zhao P, Lian Y, et al. MiR-340-5p alleviates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal injury via PI3K/Akt activation by targeting PDCD4 [J]. Neurochem Int, 2020, 134 : 104650. DOI: 10. 1016/j. neuint. 2019. 104650.
- [23] Emmett MJ, Lim HW, Jager J, et al. Histone deacetylase 3 prepares brown adipose tissue for acute thermogenic challenge [J]. Nature, 2017, 546 (7659) : 544-548. DOI: 10. 1038/nature22819.
- [24] Yang X, Wu Q, Zhang L, et al. Inhibition of histone deacetylase 3 (HDAC3) mediates ischemic preconditioning and protects cortical neurons against ischemia in rats [J]. Front Mol Neurosci, 2016, 9 : 131. DOI: 10. 3389/fnmol. 2016. 00131.
- [25] Zhao B, Yuan Q, Hou JB, et al. Inhibition of HDAC3 ameliorates cerebral ischemia reperfusion injury in diabetic mice in vivo and in vitro [J]. J Diabetes Res, 2019, 2019 : 8520856. DOI: 10. 1155/2019/8520856.

(收稿日期: 2022-06-30)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.009

论著·临床

血清 CysC、MCP-1 与高尿酸血症患者非布司他治疗效果的相关性

胡梦婷, 干佳琦, 潘飞, 刘梅

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFF0216502-I21)

作者单位: 201100 上海, 复旦大学附属闵行医院/上海市闵行区中心医院全科医学科

通信作者: 刘梅, E-mail: liu_mei@fudan.edu.cn

【摘要】目的 分析血清胱抑素 C(CysC)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)与高尿酸血症患者非布司他治疗效果的关系。**方法** 选取 2018 年 12 月—2021 年 12 月复旦大学附属闵行医院全科医学科收治高尿酸血症患者 102 例作为研究对象, 患者均接受一般治疗和非布司他治疗, 于治疗 3 个月时根据患者血尿酸(BUA)达标情况分为治疗有效组 82 例和无效组 20 例。检测患者治疗前后血清 CysC、MCP-1、BUA 水平及肾功能指标[血肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)]。Logistic 回归分析血清 CysC、MCP-1 与高尿酸血症患者非布司他治疗效果的关系。受试者工作特征曲线(ROC)检验血清 CysC、MCP-1 对高尿酸血症患者非布司他治疗无效的预测效能, 并绘制决策曲线分析其净收益率。**结果** 治疗 3 个月后高尿酸血症患者 102 例 BUA 未达标 20 例, 治疗无效率为 19.61%。无效组患者高尿酸血症病程、慢性肾脏疾病(CKD)3a 期患者占比高于有效组 [$t(\chi^2)/P = 3.194/0.002, 2.723/0.007$]。治疗前无效组血清 SCr、BUN、BUA、CysC、MCP-1 水平均显著高于有效组 ($t/P = 2.380/0.019, 2.047/0.043, 3.838/ <0.001, 4.539/ <0.001, 5.020/ <0.001$)。经 Logistic 回归分析, 血清 BUA、CysC、MCP-1 过表达是高尿酸血症患者非布司他治疗无效的危险因素 [$OR(95\% CI) = 1.060(1.019 \sim 1.103), 2.071(1.189 \sim 3.068), 1.055(1.022 \sim 1.088)$]。ROC 曲线分析显示, 血清 CysC、MCP-1 及二者联合预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的曲线下面积(AUC)分别为 0.794、0.791、0.803。绘制决策曲线显示, 血清 CysC、MCP-1 联合预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的净收益率高于单一指标检测。**结论** 血清 CysC、MCP-1 过表达与高尿酸血症患者非布司他治疗无效有关, 联合检测血清 CysC、MCP-1 水平可用于预测高尿酸血症治疗无效风险。

【关键词】 高尿酸血症; 非布司他; 胱抑素 C; 单核细胞趋化蛋白-1; 治疗效果

【中图分类号】 R589.7; R696⁺.6

【文献标识码】 A

Correlation between serum CysC, MCP-1 and the therapeutic effect of febuxostat in patients with hyperuricemia Hu Mengting, Gan Jiaqi, Pan Fei, Liu Mei. Department of General Medicine, Minhang Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 201100, China

Corresponding author: Liu Mei, E-mail: liu_mei@fudan.edu.cn

Funding program: National Key R & D Program (2019YFF0216502-I21)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between serum cystatin C (CysC), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) and the treatment effect of febuxostat in patients with hyperuricemia. **Methods** From December 2018 to December 2021, 102 patients with hyperuricemia who were admitted to the General Medicine Department of Minhang Hospital Affiliated to Fudan University were selected as the research subjects. The patients all received general treatment and febuxostat treatment. The patients' blood uric acid (BUA) compliance was divided into the treatment effective group of 82 cases and the ineffective group of 20 cases. Serum CysC, MCP-1 levels and renal function indexes [serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), BUA] were detected before and after treatment. Logistic regression analysis of the relationship between serum CysC, MCP-1 and the treatment effect of febuxostat in patients with hyperuricemia. The receiver operating characteristic curve (ROC) was used to test the predictive efficacy of serum CysC and MCP-1 on the ineffectiveness of febuxostat in patients with hyperuricemia, and a decision curve was drawn to analyze its net return. **Results** After 3 months of treatment, 20 of 102 patients with hyperuricemia failed to reach the BUA standard, and the treatment ineffective rate was 19.61%. The duration of hyperuricemia and the proportion of patients with chronic kidney disease (CKD) stage 3a in the in-

effective group were higher than those in the effective group [$t(\chi^2)/P=3.194/0.002, 2.723/0.007$]. Before treatment, the serum levels of SCr, BUN, BUA, CysC and MCP-1 in the ineffective group were higher than those in the effective group ($t/P=2.380/0.019, 2.047/0.043, 3.838/ <0.001, 4.539/ <0.001, 5.020/ <0.001$). Logistic regression analysis showed that the overexpression of serum BUA, CysC and MCP-1 were the risk factors for ineffective treatment of febuxostat in patients with hyperuricemia [$OR (95\% CI)=1.060 (1.019 - 1.103), 2.071 (1.189 - 3.068), 1.055 (1.022 - 1.088)$]. ROC curve analysis showed that the areas under the curve (AUC) of serum CysC, MCP-1 and their combination in predicting the ineffectiveness of febuxostat in patients with hyperuricemia were 0.794, 0.791, and 0.803, respectively. ROC showed that the combined prediction of serum CysC and MCP-1 in patients with hyperuricemia was higher than that of single index detection. **Conclusion** Serum CysC and MCP-1 overexpression is associated with ineffective treatment of febuxostat in patients with hyperuricemia. Combined detection of serum CysC and MCP-1 levels can be used to predict the risk of ineffective treatment of hyperuricemia.

【Key words】 Hyperuricemia; Febuxostat; Cystatin C; Monocyte chemoattractant protein-1; Therapeutic effect

临床上高尿酸血症 (hyperuricemia, HUA) 常给予降尿酸治疗, 促进尿酸 (uric acid, UA) 代谢, 减少体内 UA 含量, 防止痛风发生, 其中非布司他可通过抑制黄嘌呤氧化酶 (xanthinoxidase, XO) 活性, 减少 UA 生成, 以发挥降 UA 的作用^[1]。但非布司他主要作用为降 UA 而难以去除 HUA 发病因素, 部分患者经治疗后血尿酸 (BUA) 仍难以达标。研究指出, BUA 沉积可导致平滑肌细胞增殖和肾血管硬化, 从而导致肾损伤; 而肾小球排泄率降低可进一步导致 UA 沉积, 加重 HUA 病情^[2]。胱抑素 C (cystatin C, CysC) 为早期肾功能损害的敏感指标, 可自由经过肾小球滤过膜, 与肾小球滤过率有关^[3]。目前, 已有研究证实, CysC 对 HUA 患者肾小球滤过功能造成一定影响^[4]。另有研究显示, HUA 是一种慢性低度炎性疾病, 可通过活化炎性小体, 损伤血管内皮功能, 从而导致动脉粥样硬化, 增加多器官损伤风险^[5]。单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) 属于一类单核细胞趋化因子, 在肾系膜细胞、肾小管内皮细胞中均有表达^[6]。刘静等^[7]研究发现, MCP-1 与慢性肾脏疾病有关, 可介导炎性反应促进内皮细胞凋亡, 从而影响肾功能。由此推测, CysC、MCP-1 可通过影响 HUA 患者肾功能而导致 BUA 难以达标, 本研究将探讨血清 CysC、MCP-1 与 HUA 患者治疗效果的关系, 为改善 HUA 治疗效果提供参考依据, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 12 月—2021 年 12 月复旦大学附属闵行医院全科医学科收治 HUA 患者 102 例作为研究对象。根据治疗 3 个月时患者 BUA 达标情况分为有效组 82 例和无效组 20 例。无效组患者 HUA 病程、慢性肾脏疾病 (CKD) 3a 期占比高于有效组 ($P < 0.05$), 2 组性别、年龄、BMI、疾病类型、CKD 病程等资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。本研究经医院医学伦理委员会批准 (伦审 2018-009-

01X 号), 患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

表 1 有效组和无效组 HUA 患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data of HUA patients between effective and ineffective groups

项 目	有效组 (<i>n</i> = 82)	无效组 (<i>n</i> = 20)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]			0.860	0.354
男	58(70.73)	12(60.00)		
女	24(29.27)	8(40.00)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	65.58 $\pm$ 2.42	66.32 $\pm$ 2.54	1.215	0.227
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.44 $\pm$ 0.66	23.56 $\pm$ 0.68	0.725	0.470
HUA 病程($\bar{x} \pm s$, 年)	3.34 $\pm$ 0.22	3.52 $\pm$ 0.25	3.194	0.002
疾病类型			1.283	0.257
排泄不良型	46(56.10)	14(70.00)		
[例(%)] 混合型	36(43.90)	6(30.00)		
CKD 病程($\bar{x} \pm s$, 年)	4.06 $\pm$ 0.25	4.15 $\pm$ 0.28	1.410	0.162
CKD 分期			2.723	0.007
1 期	40(76.92)	4(20.00)		
[例(%)] 2 期	24(46.15)	6(30.00)		
3a 期	18(34.62)	10(50.00)		

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①高尿酸血症符合“中国肾脏疾病高尿酸血症诊治的实践指南”^[8]中相关诊断标准, 均为无症状性高尿酸血症; ②慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 分期为 1 ~ 3a 期^[9]; ③经一般治疗 (健康饮食、戒烟戒酒等) 3 个月后 BUA 仍 $> 420 \mu\text{mol/L}$; ④均在医院接受降尿酸药物治疗, 治疗期间同步随访 3 个月。(2) 排除标准: ①合并急性肾损伤; ②合并泌尿系感染; ③合并自身免疫性疾病; ④合并恶性肿瘤者; ⑤合并风湿性关节炎; ⑥合并痛风、痛风性关节炎; ⑦合并凝血功能障碍; ⑧长期服用激素类药物或免疫抑制剂; ⑨既往有肾脏和关节手术史。

1.3 治疗方法 患者均接受一般治疗: 饮食管理 (避免食用高嘌呤食物, 限制食用肉类、海鲜及豆类, 遵循低盐饮食)、戒烟戒酒、体质量控制等。同时采取非布司他 (日本 Teijin Pharma Limited) 起始剂量 20 ~ 40 mg/d 口服, 若治疗 2 ~ 4 周后 BUA 未达标, 递增

20 mg/d,最大剂量不超过 80 mg/d;若 BUA 低于目标值 >60 μmol/L,可酌情减少 20 mg/d。所有患者均治疗 3 个月。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 血清 CysC、MCP-1、BUA 水平检测:治疗前后采集患者空腹外周静脉血 6 ml,离心获取血清,采用酶法检测血清 CysC、MCP-1 水平,采用磷钨酸还原法检测 BUA 水平,试剂盒均购自武汉赛培生物科技有限公司。

1.4.2 肾功能指标检测:上述血清采用化学发光法检测血肌酐(Scr),酶法检测血尿素氮(BUN)水平,试剂盒均购自武汉赛培生物科技有限公司。

1.5 治疗效果评价 治疗 3 个月时,参照“中国肾脏疾病高尿酸血症诊治的实践指南”^[8]中 BUA 控制靶目标:男性 BUA <420 μmol/L,女性 BUA <360 μmol/L 为治疗有效。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 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χ²检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;采用 Logistic 回归分析影响高尿酸血症患者非布司他治疗效果的因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析血清CysC、MCP-1 预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的价值;以纵坐标表示净收益率,横坐标表示高风险阈值,绘制决策曲线分析血清 CysC 联合 MCP-1 预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效风险。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非布司他治疗效果 接受治疗的无症状性高尿酸血症患者 102 例,UA 控制靶目标未达标 20 例,治疗无效率为 19.61% (20/102)。

2.2 2 组治疗前后血清 Scr、BUN、BUA、CysC、MCP-1 水平比较 治疗前,无效组患者血清 Scr、BUN、BUA、CysC、MCP-1 水平均高于有效组($P < 0.05$);治疗 3 个

月后,2 组血清 Scr、BUN、BUA、CysC、MCP-1 均降低,且无效组各指标仍高于有效组($P < 0.01$),见表 2。

2.3 Logistic 回归分析影响高尿酸血症患者非布司他治疗效果的因素 以高尿酸血症患者非布司他治疗效果作为因变量(“1”= 治疗无效,“0”= 治疗有效),将血清 Scr、BUN、BUA、CysC、MCP-1 作为自变量,经 Logistic 回归分析,血清 BUA、CysC、MCP-1 高水平是高尿酸血症患者非布司他治疗无效的危险因素($P < 0.05, P < 0.01$),见表 3。

表 3 Logistic 回归分析影响高尿酸血症患者非布司他治疗效果的因素

Tab.3 Logistic regression analysis of factors affecting the treatment effect of febuxostat in patients with hyperuricemia

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常量	-62.804	15.451	16.522	<0.001	—	—
Scr 高	-0.006	0.025	0.051	0.821	0.994	0.947 ~ 1.044
BUN 高	0.909	0.526	2.989	0.084	2.482	0.886 ~ 6.954
BUA 高	0.058	0.020	8.317	0.004	1.060	1.019 ~ 1.103
CysC 高	0.728	0.283	6.617	0.010	2.071	1.189 ~ 3.608
MCP-1 高	0.053	0.016	11.07	0.001	1.055	1.022 ~ 1.088

2.4 血清 CysC、MCP-1 预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的价值 以高尿酸血症患者非布司他治疗效果作为状态变量(“1”= 治疗无效,“0”= 治疗有效),血清 CysC、MCP-1 作为检验变量,绘制 ROC 曲线显示,血清 CysC、MCP-1 单独及二者联合预测 HUA 患者非布司他治疗无效的 AUC 分别为 0.794、0.791、0.803,二者联合预测价值大于各自单独预测,但差异无统计学意义($Z/P = 0.242/0.809, 1.782/0.075$),见表 4、图 1。

2.5 血清 CysC、MCP-1 联合预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的决策曲线 绘制决策曲线显示,当高风险阈值为 0 ~ 1.0 时,净收益率 > 0,预测结果具

表 2 有效组和无效组高尿酸血症患者血清 Scr、BUN、BUA、CysC、MCP-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of serum levels of Scr, BUN, BUA, CysC and MCP-1 in patients with hyperuricemia between effective and ineffective groups

组 别	时间	Scr(μmol/L)	BUN(mmol/L)	BUA(μmol/L)	CysC(mg/L)	MCP-1(ng/L)
无效组 (n=20)	治疗前	187.53 ± 15.38	8.66 ± 0.75	526.31 ± 24.02	12.16 ± 1.48	318.45 ± 26.04
	治疗后	165.57 ± 12.86	8.14 ± 0.73	435.89 ± 33.05	10.84 ± 1.65	298.38 ± 22.60
有效组 (n=82)	治疗前	177.22 ± 17.79	8.32 ± 0.65	504.73 ± 22.19	10.56 ± 1.39	290.01 ± 21.86
	治疗后	114.16 ± 9.44	6.85 ± 0.67	351.85 ± 24.76	8.15 ± 0.86	210.53 ± 17.48
t/P 无效组内值		4.879/ <0.001	2.376/ 0.028	10.728/ <0.001	2.354/ 0.030	2.687/ 0.015
t/P 有效组内值		32.223/ <0.001	13.878/ <0.001	39.001/ <0.001	12.746/ <0.001	24.883/ <0.001
t/P 治疗前组间值		2.380/ 0.019	2.047/ 0.043	3.838/ <0.001	4.539/ <0.001	5.020/ <0.001
t/P 治疗后组间值		16.808/ <0.001	7.588/ <0.001	12.345/ <0.001	7.092/ <0.001	18.975/ <0.001

表 4 血清 CysC、MCP-1 预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的价值

Tab.4 The value of serum CysC and MCP-1 in predicting the ineffectiveness of febuxostat in patients with hyperuricemia

指 标	Cut-off 值	AUC	95% CI	特异度	敏感度	约登指数
血清 CysC	10.98 mg/L	0.794	0.668 ~ 0.919	0.598	0.800	0.398
血清 MCP-1	294.57 ng/L	0.791	0.666 ~ 0.916	0.622	0.800	0.422
二者联合	—	0.803	0.678 ~ 0.928	0.695	0.800	0.495

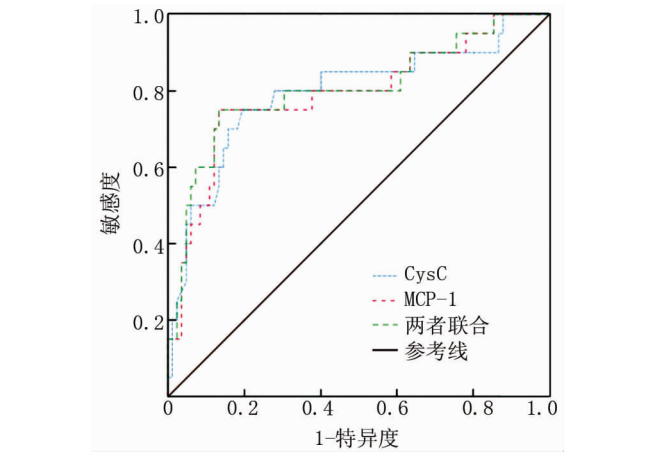


图 1 血清 CysC、MCP-1 预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的 ROC 曲线

Fig.1 The ROC curve of serum CysC and MCP-1 predicting the ineffectiveness of febuxostat in hyperuricemia patients

有临床意义,且高风险阈值越小,净收益率越大。在高风险阈值 0.2 ~ 0.5、0.7 ~ 1.0 范围内,血清 CysC、MCP-1 二者联合预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的净收益率高于单一指标检测,见图 2。

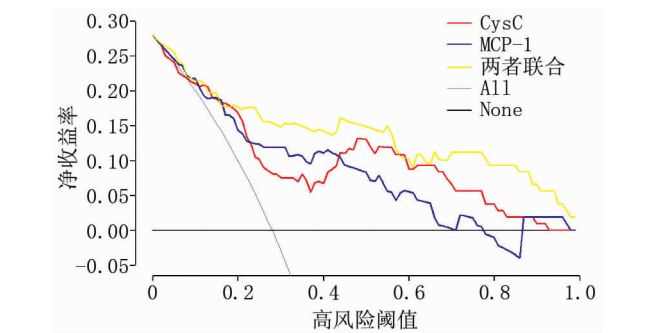


图 2 血清 CysC、MCP-1 联合预测高尿酸血症患者非布司他治疗无效的决策曲线

Fig.2 CysC and MCP-1 in serum combined to predict the decision curve of ineffective treatment of febuxostat in patients with hyperuricemia

3 讨论

HUA 目前以药物治疗为主,非布司他作为一种黄

嘌呤氧化酶(xanthinoxidase,XO)抑制剂,在治疗 HUA 中发挥良好的降 UA 作用,适用于 HUA 的长期治疗^[10-11]。但对于合并肾损伤的 HUA 患者而言,降 UA 治疗目标受到极大影响,一定程度上影响总体治疗效果。本研究通过观察 HUA 合并肾损伤患者 BUA 达标情况发现,102 例患者治疗无效率为 19.61%。反映出 HUA 患者经降 UA 治疗后 BUA 总体达标情况有待提升,探究与 BUA 达标有关的指标具有重要意义。

相关研究显示,HUA 是由体内嘌呤代谢紊乱引起的肾小球排泄减少而导致 BUA 沉积所致,肾小球滤过功能对病情变化造成极大影响^[12-15]。CysC 属于半胱氨酸蛋白酶抑制家族的阳离子多肽,由机体有核细胞合成,在肾小球滤过膜中可自由穿过,在近端肾小管可被完全吸收降解^[16]。目前临床已将 CysC 作为反映肾小球滤过率的内源性标志物,与糖尿病肾病、肾衰竭等多种肾脏疾病有关^[17-18]。本研究通过观察血清 CysC 在 HUA 合并肾损伤患者中的表达发现,无效组患者治疗前后的血清 CysC 均显著高于有效组,由此认为,血清 CysC 高表达一定程度上可通过影响肾小球排泄功能,参与 HUA 合并肾损伤病情进展,从而影响 BUA 达标。MCP-1 属于趋化因子家族,主要来源于单核巨噬细胞,可趋化单核细胞、记忆型 T 细胞及自然杀伤细胞至损伤组织部位,参与组织损伤进展^[19-20]。相关研究证实,UA 可刺激巨噬细胞激活核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B,NF- κ B)信号通路,诱导组织中炎症因子表达,而 MCP-1 作为炎症细胞趋化因子,可介导炎症反应参与肾小球损伤,从而导致肾小球排泄功能下降^[21-22]。本研究发现,无效组患者治疗前后血清 MCP-1 均显著表达,初步说明,血清 MCP-1 高表达可介导炎症反应参与肾损伤,从而影响 HUA 的治疗效果。上述结果均表明,血清 CysC、MCP-1 高表达可影响 HUA 患者肾功能,从而导致 UA 沉积且难以排出,达标不理想。

目前认为血清 CysC、MCP-1 影响 HUA 治疗效果可能与以下机制有关:(1)肾脏作为 CysC 的唯一代谢器官,受 HUA 病情影响,肾损伤时导致肾小球排泄功能下降而导致 CysC 堆积,而 CysC 含量升高可激活氧化应激反应,导致血管内皮损伤,血管平滑肌细胞增殖,从而引起肾小球间质纤维化,进一步加重肾小球损伤程度,导致 BUA 沉积,影响降 UA 治疗效果^[23]。另有报道显示,CysC 影响中性粒细胞(neutrophil,NE)的吞噬和趋化功能,参与调节 NE 诱导的炎症反应过程,激活炎症反应参与肾小球损伤机制。文钟等^[24]在 CysC 与痛风的研究中发现,CysC 可介导炎症反应、动

脉粥样硬化等途径参与肾小球损伤,降低 BUA 排泄效率,从而影响降 UA 治疗效果。陈慧等^[25] 也认为,血清 CysC 与 HUA 患者 BUA 水平呈正相关,认为血清 CysC 过表达可降低肾小球排泄功能,从而导致 BUA 沉积,加重 HUA 病情。本研究为证实上述结果,采用 Logistic 回归分析,结果表明血清 CysC 过表达与 HUA 患者非布司他治疗无效有关。由此证实,血清 CysC 过表达将增加 HUA 患者降 UA 治疗无效风险。(2) MCP-1 作为单核/巨噬细胞的特异性趋化刺激因子,在肾小球病变时,可通过发挥募集单核/巨噬细胞作用,介导相应的组织损伤。MCP-1 与趋化因子受体 2 相结合后,可促进单核细胞向血管内膜处迁移并激活巨噬细胞,诱导大量炎症因子聚集于血管壁,从而引发肾小球血管内皮炎性反应,导致肾小球功能损伤。刘宇婷等^[26] 认为, MPC-1 对肾脏内单核细胞大量聚集、激活活化等现象发挥重要的介导作用,并在肾功能损伤中发挥重要生理学作用。陈桢等^[27] 研究发现, MCP-1 可激活血管炎性反应,血管平滑肌细胞增生,参与肾小球血管损伤,导致肾小球滤过功能降低。本研究也发现,血清 MCP-1 过表达与 HUA 患者治疗无效有关。进一步证实血清 MCP-1 过表达可通过影响肾小球功能,参与 HUA 病情进展。

综上所述,血清 CysC、MCP-1 与 HUA 合并肾损伤患者肾功能有关,血清 CysC、MCP-1 过表达可通过加重 HUA 患者肾损伤而导致 BUA 难以达标,从而增加治疗无效风险。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

胡梦婷:整理数据,论文撰写;千佳琦:收集数据;潘飞:数据分析统计;刘梅:构建思路,论文审核

参考文献

- [1] Nadwa EH, Morcos GNB, Salama NM, et al. Comparing the effects of febuxostat and allopurinol in an animal model of metabolic syndrome[J]. *Pharmacology*, 2021, 106(9-10): 564-572. DOI: 10. 1159/000516495.
- [2] 丁弘, 朱进华, 田英, 等. 痛风患者并发肾功能不全的危险因素分析[J]. *现代医学*, 2018, 46(8): 858-862. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7562. 2018. 08. 005.
Ding H, Zhu JH, Tian Y, et al. Analysis of risk factors of gout patients complicated with renal insufficiency[J]. *Moder Med*, 2018, 46(8): 858-862. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7562. 2018. 08. 005.
- [3] Huidobro EJP, Guzmán AM, Tagle R, et al. Use of cystatin C to estimate glomerular filtration rate[J]. *Rev Med Chil*, 2021, 149(1): 98-102. DOI: 10. 4067/S0034-98872021000100098.
- [4] 王兴华, 杨洪娟, 胡秀红, 等. 高尿酸血症患者血清胱抑素 C 水平与炎症应激反应、肾功能损伤的相关性[J]. *热带医学杂志*, 2020, 20(11): 1447-1450, 1467. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3619. 2020. 11. 012.

- Wang XH, Yang HJ, Hu XH, et al. Correlation between serum cystatin C level and inflammatory stress response and renal function injury in patients with hyperuricemia[J]. *J Tropic Med*, 2020, 20(11): 1447-1450, 1467. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3619. 2020. 11. 012.
- [5] 蒋云, 沈成兴, 潘静薇, 等. 高尿酸血症诱导 NLRP3 炎症小体活化 GSDMD 对血管内皮细胞的影响[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(5): 612-615. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4055. 2020. 05. 28.
Jiang Y, Shen CX, Pan JW, et al. Hyperuricemia induces NLRP3 inflammatory corpuscle activation, and the effect of gsdmd on vascular endothelial cells[J]. *Chin J Evid Bas Cardiovas Med*, 2020, 12(5): 612-615. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4055. 2020. 05. 28.
- [6] Bianconi V, Sahebkar A, Atkin SL, et al. The regulation and importance of monocyte chemoattractant protein-1[J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25(1): 44-51. DOI: 10. 1097/MOH. 0000000000000389.
- [7] 刘静, 平立英. MMP-9, MCP-1, CD62P 在慢性肾脏病患者血清中的表达[J]. *中国临床研究*, 2020, 33(9): 1217-1220. DOI: 10. 13429/j. cnki. cjer. 2020. 09. 017.
Liu J, Ping LY. Expression of MMP-9, MCP-1 and CD62p in serum of patients with chronic kidney disease[J]. *Chin Clinic Rese*, 2020, 33(9): 1217-1220. DOI: 10. 13429/j. cnki. cjer. 2020. 09. 017.
- [8] 中国医师协会肾脏内科医师分会. 中国肾脏疾病高尿酸血症诊治的实践指南(2017 版)[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(25): 1927-1936. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2017. 25. 003.
Kidney Physician Branch of Chinese Medical Association. Practical guidelines for the diagnosis and treatment of hyperuricemia in kidney diseases in China (2017)[J]. *Chin J Med*, 2017, 97(25): 1927-1936. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2017. 25. 003.
- [9] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 518-525.
- [10] Mackenzie IS, Ford I, Nuki G, et al. Long-term cardiovascular safety of febuxostat compared with allopurinol in patients with gout (FAST): a multicentre, prospective, randomised, open-label, non-inferiority trial[J]. *Lancet*, 2020, 396(10264): 1745-1757. DOI: 10. 1016/S0140-6736(20)32234-0.
- [11] 陆飞妃, 安首臣, 侯冠昕, 等. 非布司他与别嘌醇对高龄伴心血管疾病高尿酸血症患者有效性及安全性影响[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(11): 1197-1200, 1204. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2021. 11. 08.
Lu FF, An SC, Hou GX, et al. Efficacy and safety of febuxostat and allopurinol in elderly patients with cardiovascular disease and hyperuricemia[J]. *Clinical Journal of Medical Officers*, 2021, 49(11): 1197-1200, 1204. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2021. 11. 08.
- [12] 吕道远, 邵小飞, 李永强, 等. 轻度高尿酸血症与肾小球滤过率及尿白蛋白肌酐比的相关研究[J]. *蚌埠医学院学报*, 2019, 44(7): 890-896, 899. DOI: 10. 13898/j. cnki. issn. 1000-2200. 2019. 07. 012.
Lyu DY, Shao XF, Li YQ, et al. Study on the correlation between mild hyperuricemia and glomerular filtration rate and urinary albumin creatinine ratio[J]. *J Bengbu Med Coll*, 2019, 44(7): 890-896, 899. DOI: 10. 13898/j. cnki. issn. 1000-2200. 2019. 07. 012.
- [13] 冯高科, 徐林. 高尿酸血症合并心血管高风险患者诊断和治疗

- 的专家共识:2021 年最新版》更新要点解读[J]. 实用心脑血管肺血管病杂志, 2021, 29(5): 1-7. DOI: 10. 12114/j. issn. 1008-5971. 2021. 00. 083.
- Feng GK, Xu L. Interpretation of the Expert Consensus for the Diagnosis and Treatment of Patient with Hyperuricemia and High Cardiovascular Risk; 2021 Update[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2021, 29(5): 1-7. DOI: 10. 12114/j. issn. 1008-5971. 2021. 00. 083.
- [14] 刘甜, 王禹川, 刘梅林. 高尿酸血症与高血压关系的研究进展[J]. 中国医药, 2021, 16(6): 935-938. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 06. 033.
- Liu T, Wang YC, Liu ML. Research progress on the relationship between hyperuricemia and hypertension[J]. China Medicine, 2021, 16(6): 935-938. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 06. 033.
- [15] 张禹, 龚劭敏, 沈子妍, 等. 肾内科门诊高尿酸血症患者血尿酸达标率的横断面分析[J]. 中国临床医学, 2022, 29(2): 140-146. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2022. 20211956.
- Zhang H, Gong SM, Shen ZY, et al. Cross-sectional analysis of the control rate of hyperuricemia among outpatients in nephrology department[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2022, 29(2): 140-146. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2022. 20211956.
- [16] Bargnoux AS, Barguil Y, Cavalier E, et al. Estimation of glomerular filtration rate using cystatin C[J]. Ann Biol Clin, 2019, 77(4): 375-380. DOI: 10. 1684/abc. 2019. 1456.
- [17] 吉林霞, 伍小琴. 糖尿病肾病患者血清 CysC, NGAL, ACR 水平及临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(3): 383-386. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2020. 03. 006.
- Ji LX, Wu XQ. Serum CysC, NGAL, ACR levels in patients with diabetes nephropathy and their clinical significance[J]. Mark Immun Clin, 2020, 27(3): 383-386. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2020. 03. 006.
- [18] 王丽媛, 徐洁, 唐小铁, 等. 美托洛尔联合治疗慢性肾脏疾病预后不良与 IL-6、RDW 及高尿酸血症的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(3): 252-256. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 03. 008.
- Wang LY, Xu J, Tang XT, et al. The correlation analysis of IL-6, RDW and hyperuricemia in the treatment of chronic kidney disease with metoprolol[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2020, 19(3): 252-256. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 03. 008.
- [19] Tam FWK, Ong ACM. Renal monocyte chemoattractant protein-1: An emerging universal biomarker and therapeutic target for kidney diseases[J]. Nephrology Dial Transplant, 2019, 35(2): 198-203. DOI: 10. 1093/ndt/gfz082.
- [20] 汤群英, 于建刚, 徐红. 血清尿酸水平与老年脑梗死患者颅内动脉硬化粥样硬化性狭窄的关系研究[J]. 实用心脑血管肺血管病杂志, 2020, 28(4): 34-37. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 04. 008.
- Tang QY, Yu JG, Xu H. Relationship between Serum Uric Acid Level and Intracranial/Extracranial Atherosclerotic Stenosis in Elderly Patients with Cerebral Infarction[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2020, 28(4): 34-37. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 04. 008.
- [21] 王宏, 丛培珊, 王君, 等. 高尿酸血症患者血清尿酸水平与糖耐量异常, 炎症反应因子及红细胞参数的相关性分析[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(16): 3084-3087, 3191. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2021. 16. 017.
- Wang H, Cong PS, Wang J, et al. Correlation analysis between serum uric acid level and abnormal glucose tolerance, inflammatory factors and erythrocyte parameters in patients with hyperuricemia[J]. Advan Mod Biomed, 2021, 21(16): 3084-3087, 3191. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2021. 16. 017.
- [22] 夏干清. 氧化应激反应与骨关节炎相关性抗氧化应激药物应用的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(1): 94-98. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 01. 021.
- Xia GQ. Research progress on the correlation between oxidative stress and osteoarthritis and the application of anti-oxidative stress drugs[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20(1): 94-98. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 01. 021.
- [23] Kubo S, Nishida Y, Kubota Y, et al. Higher serum uric acid level is inversely associated with renal function assessed by cystatin C in a Japanese general population without chronic kidney disease: The KOBE study[J]. BMC Nephrol, 2019, 20(1): 117. DOI: 10. 1186/s12882-019-1291-4.
- [24] 文钟, 青玉凤, 周京国, 等. 痛风患者血清 hsCRP, CysC 和血脂的检测意义[J]. 成都医学院学报, 2019, 14(3): 313-316. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-2257. 2019. 03. 009.
- Wen Z, Qing YF, Zhou JG, et al. Significance of serum hsCRP, CysC and blood lipids in gout patients[J]. J Chengdu Med Coll, 2019, 14(3): 313-316. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-2257. 2019. 03. 009.
- [25] 陈慧, 华文进. 高尿酸血症患者血清胱抑素 C, β_2 微球蛋白和炎症因子水平变化及意义[J]. 山东医药, 2019, 59(14): 57-59. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2019. 14. 016.
- Chen H, Hua WJ. Changes and significance of serum cystatin C, β_2 microglobulin and inflammatory factors in patients with hyperuricemia[J]. Shandong Med, 2019, 59(14): 57-59. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2019. 14. 016.
- [26] 刘宇婷, 孙维峰. 高尿酸血症患者血清脂联素, 单核细胞趋化蛋白 1 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2017, 57(21): 5-8. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 21. 002.
- Liu YT, Sun WF. Changes and significance of serum adiponectin and monocyte chemoattractant protein 1 levels in patients with hyperuricemia[J]. Shandong Med, 2017, 57(21): 5-8. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 21. 002.
- [27] 陈桢, 高丽萍. 慢性肾衰竭患者血清 CysC, β_2 -MG, MCP-1 及 ANG II 水平变化及临床意义[J]. 昆明医科大学学报, 2021, 42(2): 130-136. DOI: 10. 12259/j. issn. 2095-610X. S20210204.
- Chen Z, Gao LP. Changes and clinical significance of serum CysC, β_2 -MG, MCP-1 and ang II levels in patients with chronic renal failure[J]. J Kunming Med Univ, 2021, 42(2): 130-136. DOI: 10. 12259/j. issn. 2095-610X. S20210204.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 010

论著 · 临床

自拟清热利湿通络方联合依托考昔片治疗急性痛风性关节炎的效果及对血清炎性因子的影响

袁齐, 冯家银, 李莲, 邓红玲

作者单位: 445500 武汉大学恩施临床学院/湖北省恩施州中心医院中医部

通信作者: 袁齐, E-mail: 17671355595@163. com

【摘 要】 目的 观察自拟清热利湿通络方联合依托考昔片治疗急性痛风性关节炎的效果及对血清炎性因子的影响。方法 选取 2020 年 5 月—2022 年 5 月武汉大学恩施临床学院中医部收治的急性痛风性关节炎患者 96 例, 依据随机数字表法分为对照组与研究组, 各 48 例。2 组均给予常规治疗, 对照组在常规治疗基础上予以依托考昔片, 研究组在对照组治疗的基础上另给予自拟清热利湿通络方, 2 组均持续治疗 1 周。比较 2 组临床疗效及治疗前后临床症状(关节肿胀、关节疼痛、关节功能)评分、生化指标[红细胞沉降率(ESR)、血尿酸(BUA)]、血清炎性因子[肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素(IL)-6、IL-1 β 、IL-8、IL-10], 观察记录治疗期间的不良反应。结果 治疗 1 周后, 研究组总有效率高于对照组(95.83% vs. 81.25%, $\chi^2/P=5.031/0.025$); 治疗 1 周后, 2 组关节肿胀、关节疼痛、关节功能评分、ESR、BUA 均降低, 且研究组显著低于对照组($t/P=2.929/0.004, 2.591/0.011, 2.436/0.017, 14.394/<0.001, 11.210/<0.001$); 治疗 1 周后, 2 组血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-8、IL-10 水平均降低, 且研究组低于对照组($t/P=9.758/<0.001, 12.054/<0.001, 8.203/<0.001, 10.532/<0.001, 10.833/<0.001$); 治疗期间 2 组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 清热利湿通络方联合依托考昔片治疗能减轻急性痛风性关节炎患者的相关症状, 降低血清炎性因子水平, 疗效显著, 且安全可靠。

【关键词】 急性痛风性关节炎; 清热利湿通络方; 依托考昔片; 临床疗效; 炎性因子

【中图分类号】 R684.3

【文献标识码】 A

Effect of Self-made Qingre Lishi Tongluo Formula combined with etocoxib on acute gouty arthritis and its influence on serum inflammatory factors Yuan Qi, Feng Jiayin, Li Lian, Deng Hongling. Department of Traditional Chinese Medicine, Enshi Central Hospital/Enshi Clinical College, Wuhan University, Hubei Province, Enshi 445500, China

Corresponding author: Yuan Qi, E-mail: 17671355595@163. com

【Abstract】 **Objective** To observe the effect of Self-made Qingre Lishi Tongluo Formula combined with etocoxib in treating acute gouty arthritis and its influence on serum inflammatory factors. **Methods** From May 2020 to May 2022, 96 patients with acute gouty arthritis admitted by the Department of Traditional Chinese Medicine of Enshi Clinical College of Wuhan University were selected and divided into the control group and the research group according to the random number table, with 48 patients in each group. Both groups were given conventional treatment, the control group was given corix tablets on the basis of conventional treatment, and the research group was given self prepared heat clearing, dampness removing and collaterals dredging formula on the basis of the control group. Both groups were treated for 1 week. Compare the clinical efficacy of the two groups and the scores of clinical symptoms (joint swelling, joint pain, joint function), biochemical indicators [erythrocyte sedimentation rate (ESR), blood uric acid (BUA)], and serum inflammatory factors (tumor necrosis factor) before and after treatment tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin (IL)-6, IL-1 β , IL-8, IL-10, observe and record adverse reactions during treatment. **Results** After one week of treatment, the total effective rate of the study group was higher than that of the control group (95.83% vs.81.25%, $\chi^2/P=5.031/0.025$). After one week of treatment, joint swelling, joint pain, joint function score, ESR, BUA in both groups decreased, and the study group was lower than the control group ($t/P=2.929/0.004, 2.591/0.011, 2.436/0.017, 14.394/<0.001, 11.210/<0.001$). After one week of treatment, the levels of serum TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8 and IL-10 in the study group were lower than those in the control group ($t/P=9.758/<0.001, 12.054/<0.001, 8.203/<0.001, 10.532/<0.001, 10.833/<0.001$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups during treatment ($P>0.05$). **Conclusion** The combination of Self-made Qingre

Lishi Tongluo Formula and Kaoxi Tablet can reduce the related symptoms of patients with acute gouty arthritis, reduce the level of serum inflammatory factors, with significant efficacy and safety.

【Key words】 Acute gouty arthritis; Self-made *Qingre Lishi Tongluo* Formula; Etoricoxib; Clinical symptoms; Inflammatory factors

痛风性关节炎属于一种常见炎性反应性疾病,主要由尿酸盐沉积在关节及周围软组织导致,急性发作期患者关节常出现红、肿、热、痛等症状,反复发作可导致关节畸形,造成严重关节功能障碍,活动受限,影响正常生活^[1-2]。在痛风性关节炎急性发作期,临床治疗主要以消除炎症反应、缓解疼痛为主要目的。在调整饮食习惯和改变生活方式的基础上进行规范化治疗以避免出现关节功能障碍。非甾体抗炎药是临床常用药物,早期足量使用,可有效缓解急性痛风性关节炎患者的疼痛和肿胀,但单一药物疗效仍有待提高^[3]。痛风性关节炎在中医中归属于“痹痛”“痹症”范畴,众多医家认为该病的发生与饮食不洁、寒温不调及体内湿浊邪毒和感受外邪有密切关联,治宜利湿泄浊^[4]。临床研究发现,中医药在痛风性关节炎的治疗中有一定优势,其中清热利湿通络中药在相关报道中表现良好^[5-6]。然而,目前有关清热利湿通络中药联合非甾体类药物治疗急性痛风性关节炎疗效的研究尚少,鉴于此,本研究探讨两药联合治疗急性痛风性关节炎患者的疗效及对血清炎症因子的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 5 月—2022 年 5 月武汉大学恩施临床学院中医部收治的急性痛风性关节炎患者 96 例,依据随机数字表法分为对照组与研究组,各 48 例。对照组男 32 例,女 16 例,年龄 30~55(41.36±9.67)岁;体质指数(BMI)20.50~30.50(24.11±3.42) kg/m²;病程 1~6(3.22±1.25)d。研究组男 35 例,女 13 例,年龄 31~54(40.69±10.23)岁;BMI 21.50~29.50(24.54±3.09) kg/m²;病程 1~5(3.61±1.17)d。2 组患者基线资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(审批号:20018140),患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:患者均符合急性痛风性关节炎的西医诊断标准^[7]和中医诊断标准^[8];中医辨证分型为湿热蕴结证;年龄≥18 岁,初次确诊;急性发作 1 d 内达高峰;近 1 个月未服用过降尿酸药物。(2)排除标准:确诊为继发性痛风性关节炎者;复发性痛风者;感染性关节炎者;痛风发作休止期者;合并严重消化系统疾病、风湿性疾病、呼吸系统疾病、血

液系统疾病或肝肾功能障碍者;过敏体质或对本研究药物过敏者。

1.3 治疗方法 2 组患者均给予低嘌呤饮食、禁烟酒、减轻体质量、卧床休息、抬高患肢、局部冰敷、加大饮水量(>2 000 ml/d)、口服碳酸氢钠片(吉林敖东药业集团延吉股份有限公司)、别嘌醇缓释胶囊(黑龙江澳利达奈德制药有限公司)等常规治疗。对照组另予依托考昔片(北京泰德制药股份有限公司),初始剂量为 120 mg/次,口服,之后调整为 60 mg/次,每日 1 次,至疼痛缓解后停用(一般使用 1 周)。研究组在对照组治疗的基础上另予清热利湿通络方治疗,方药组成:苍术、黄柏、川牛膝、玉米须、泽泻、川芎各 10 g,生薏苡仁、川草藤、土茯苓各 30 g。水煎服,每天 1 剂,分 2 次口服。2 组均持续治疗 1 周。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 主要临床症状评估^[9]:治疗前 1 d、治疗 1 周后分别评估患者关节肿胀、关节疼痛和关节功能。关节肿胀评分标准:6 分,重度肿胀,皮肤紧绷,骨性标志消失;4 分,中度肿胀,皮肤纹理和骨性标志不明显;2 分,轻度肿胀,皮肤纹理变浅,骨性标志正常存在;0 分,正常。关节疼痛评分标准:6 分,重度疼痛,剧烈疼痛持续存在,无法忍受;4 分,中度疼痛,经常疼痛,影响正常生活;2 分,轻度疼痛,偶有微痛,能忍受;0 分,正常。关节功能评分标准:6 分,活动时疼痛剧烈,生活不能自理;4 分,活动时疼痛明显,无法进行日常活动;2 分,活动时疼痛不明显,能忍受,可进行日常活动;0 分,正常。

1.4.2 红细胞沉降率和血尿酸:治疗前 1 d、治疗 1 周后采集全部患者空腹肘静脉血 4 ml,采用 EHK-40 红细胞沉降压积仪检测红细胞沉降率(ESR),采用 AB-BOTT AEROSET-2000 全自动生化分析仪(乳胶增强免疫比浊法)检测血尿酸(BUA)。

1.4.3 血清炎症因子检测:治疗前 1 d、治疗 1 周后采集患者空腹肘静脉血 4 ml,4℃条件下 3 500 r/min 离心 10 min 留取上层血清,采用 Anthos 酶标仪以酶联免疫吸附法检测血清肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)-6、IL-1β、IL-8、IL-10 水平。严格按照试剂盒说明书操作,试剂盒均购自杭州联科生物技术股份有限公司。

1.4.4 不良反应记录:统计治疗期间 2 组不良反应,包括头晕头痛、疲乏、腹泻腹痛、恶心呕吐等。

1.5 疗效判定标准^[10] 显效:关节肿胀、疼痛消失,关节功能恢复正常,ESR、BUA 等主要生化指标均正常;有效:关节肿胀、疼痛明显减轻,关节活动基本如常,ESR、BUA 等主要生化指标检查基本正常;无效:关节肿胀、疼痛、功能及 ESR、BUA 等主要生化指标检查无变化甚至加重。总有效率 = (显效 + 有效)/总例数 × 100%。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较行独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行独立样本 χ^2 检验或秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 治疗 1 周后,研究组总有效率为 95.83%,高于对照组的 81.25%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 2 组急性痛风性关节炎患者临床疗效比较 [例(%)]

Tab.1 Comparison of clinical efficacy of two groups of patients with acute gouty arthritis

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	48	25(52.08)	14(29.17)	9(18.75)	81.25
研究组	48	30(62.50)	16(33.33)	2(4.17)	95.83
U/χ^2 值		$U = 3.877$		$\chi^2 = 5.031$	
P 值		0.045		0.025	

2.2 2 组治疗前后主要临床症状评分比较 治疗前,2 组关节肿胀、关节疼痛、关节功能评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 1 周后,2 组关节肿胀、关节疼痛、关节功能评分均降低($P < 0.01$),且研究组低于对照组($P < 0.05$),见表 2。

2.3 2 组治疗前后 ESR、BUA 水平比较 治疗前,2 组 ESR、BUA 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治

疗 1 周后,2 组 ESR、BUA 水平均降低($P < 0.01$),且研究组低于对照组($P < 0.01$),见表 3。

表 2 2 组急性痛风性关节炎患者治疗前后主要临床症状评分比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

Tab.2 Comparison of main clinical symptom scores of two groups of patients with acute gouty arthritis before and after treatment

组别	时间	关节肿胀	关节疼痛	关节功能
对照组 (n=48)	治疗前	4.45 ± 0.59	4.38 ± 0.72	4.16 ± 0.63
	治疗后	1.95 ± 0.32	2.02 ± 0.35	1.99 ± 0.25
研究组 (n=48)	治疗前	4.38 ± 0.52	4.41 ± 0.69	4.21 ± 0.58
	治疗后	1.74 ± 0.38	1.85 ± 0.29	1.85 ± 0.31
t/P 对照组内值		25.806/ <0.001	20.424/ <0.001	22.181/ <0.001
t/P 研究组内值		28.399/ <0.001	23.697/ <0.001	24.862/ <0.001
t/P 治疗后组间值		2.929/ 0.004	2.591/ 0.011	2.436/ 0.017

表 3 2 组急性痛风性关节炎患者治疗前后 ESR、BUA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of ESR and BUA levels between two groups of patients with acute gouty arthritis before and after treatment

组别	时间	ESR(mm/h)	BUA(μmol/L)
对照组 (n=48)	治疗前	34.42 ± 4.23	544.42 ± 56.68
	治疗后	23.69 ± 2.68	406.65 ± 42.54
研究组 (n=48)	治疗前	35.01 ± 3.84	540.51 ± 55.37
	治疗后	16.68 ± 2.05	318.85 ± 33.69
t/P 对照组内值		14.846/ <0.001	13.469/ <0.001
t/P 研究组内值		29.174/ <0.001	23.694/ <0.001
t/P 治疗后组间值		14.394/ <0.001	11.210/ <0.001

2.4 2 组治疗前后血清炎性因子比较 治疗前,2 组血清 TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 1 周后,2 组血清 TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10 水平均降低($P < 0.01$),且研究组低于对照组($P < 0.01$),见表 4。

2.5 2 组不良反应发生情况比较 治疗期间,研究组患者头晕头痛 1 例、疲乏 2 例、腹泻腹痛 1 例、恶心呕

表 4 2 组急性痛风性关节炎患者治疗前后血清炎性因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Comparison of serum inflammatory factors in two groups of patients with acute gouty arthritis before and after treatment

组别	时间	TNF-α(μg/L)	IL-6(ng/L)	IL-1β(ng/L)	IL-8(μg/L)	IL-10(ng/L)
对照组 (n=48)	治疗前	0.95 ± 0.13	34.46 ± 4.52	65.54 ± 7.81	9.17 ± 1.12	10.25 ± 1.18
	治疗后	0.56 ± 0.06	18.85 ± 1.96	31.15 ± 3.42	5.47 ± 0.55	6.58 ± 0.69
研究组 (n=48)	治疗前	0.92 ± 0.15	35.01 ± 5.04	64.85 ± 6.96	9.22 ± 1.08	10.47 ± 1.25
	治疗后	0.45 ± 0.05	14.47 ± 1.58	25.74 ± 3.03	4.38 ± 0.46	5.21 ± 0.54
t/P 对照组内值		18.872/ <0.001	21.950/ <0.001	27.945/ <0.001	20.544/ <0.001	18.601/ <0.001
t/P 研究组内值		20.594/ <0.001	26.942/ <0.001	35.695/ <0.001	28.565/ <0.001	26.763/ <0.001
t/P 治疗后组间值		9.758/ <0.001	12.054/ <0.001	8.203/ <0.001	10.532/ <0.001	10.833/ <0.001

吐 1 例,不良反应发生率为 10.42% (5/48);对照组头晕头痛 2 例、疲乏 2 例、腹泻腹痛 2 例、恶心呕吐 2 例,不良反应发生率为 16.67% (8/48),2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.801, P=0.371$)。

3 讨论

近年来,痛风性关节炎发病呈年轻化趋势,该病的发生发展与环境、遗传及高尿酸血症等因素有关^[11]。当机体出现嘌呤代谢障碍时,体内缺乏嘌呤代谢相关的酶,导致尿酸生成过量,超过机体代谢能力,从血液中析出形成尿酸盐结晶,沉积在关节部位形成痛风性关节炎,任其发展后期会出现关节残疾,或并发多种血管疾病,增加死亡风险^[12-13]。目前痛风性关节炎尚无法治愈,但可以通过调整生活方式、药物治疗等措施控制 BUA 水平,减轻疼痛,减少急性发作次数,保持关节功能正常^[14]。目前,西医针对痛风性关节炎的治疗以抑制炎症反应为主,常选用非甾体类抗炎药等,其中依托考昔具有抗炎、镇痛、解热等疗效,相较于传统非甾体类抗炎药物不良反应发生率相对更小,因此在临床上有着广泛的应用,但疗效仍有待提高,临床常与其他药物联合应用以增强疗效,降低不良反应发生的可能性^[15-16]。

本研究结果显示,清热利湿通络方联合依托考昔对于急性痛风性关节炎患者的临床症状和 ESR、BUA 的改善效果优于依托考昔单独治疗,且疗效确切。中医认为急性痛风性关节炎的基本病机是“湿热毒邪为患,络脉瘀滞不通”,而以清热利湿通络法为原则的经验方以黄柏为君药,取其苦以燥湿泻火,寒以清热解毒;以苍术、薏苡仁、川革藤、土茯苓为臣药,其中苍术味辛性温,长于燥湿健脾,祛风散寒;薏苡仁、川革藤、土茯苓三者同用利湿泄浊、健脾除痹;君臣配伍,清热燥湿,标本兼顾;玉米须泄热通淋、平肝利胆,泽泻利水、渗湿、泄热,用为佐药;辅以川芎、川牛膝,二者同用,行气开郁、祛风燥湿、逐瘀通经、活血止痛,全方共奏清热利湿、通络止痛之效^[17-18]。本研究结果还表明,2 组治疗 1 周后血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-8、IL-10 水平均降低,但研究组上述指标明显低于对照组,说明联合用药对于炎症反应的抑制效果更好。依托考昔是一种新型的高选择性 COX-2 抑制剂,可通过抑制 COX,影响花生四烯酸的代谢,减少前列腺素的合成,从而抑制疼痛和炎症反应^[19]。现代药理学研究发现,黄柏中含有的檫碱、药根碱等生物碱成分能够参与调控核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)/类 Toll 受体 (TLRs) 信号通路,下调炎症因子水平,进而缓解痛风性关节炎症状^[20]。苍术中的烯炔类成分

及倍半萜类成分素可以阻断 MAPKs 的氧化磷酸化作用和 NPM-ALK 信号通路,从而调节炎症因子的表达,具有很好的抗炎活性^[21]。泽泻三萜可通过抑制 Toll 样受体 4/NADPH 氧化酶 2 信号通路,减少炎症介质的释放,从而发挥抗炎作用^[22]。川牛膝可以在一定程度上阻断 NF- κ B 活性,从而下调众多炎症细胞因子的表达,发挥抗炎作用^[23]。此外本研究亦分析了联合用药的安全性,结果显示,2 组不良反应发生率差异无统计学意义,提示清热利湿通络方联合依托考昔治疗急性痛风性关节炎具有良好安全性,可作为中西医结合治疗急性痛风性关节炎患者的优选方案。

综上所述,清热利湿通络中药联合非甾体类抗炎药治疗急性痛风性关节炎疗效显著,可明显减轻患者临床症状、降低 ESR 和 BUA 水平,抑制血清炎症因子的表达,且不增加药物不良反应。但本研究样本选取有限,后续需开展大样本的多中心研究,进一步明确清热利湿通络中药与非甾体类抗炎药联合应用的效果。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

袁齐:提出研究思路,设计研究方案,实施研究过程,修订论文;冯家银:资料搜集整理,实施研究过程,论文撰写,论文修改;李莲:实施研究过程,分析试验数据;邓红玲:实施研究过程,论文终审

参考文献

- [1] Fan W, Chen S, Wu X, et al. Resveratrol relieves gouty arthritis by promoting mitophagy to inhibit activation of NLRP3 inflammasomes [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 3523-3536. DOI: 10.2147/JIR.S320912.
- [2] Patil T, Soni A, Acharya S. A brief review on in vivo models for gouty arthritis [J]. *Metabol Open*, 2021, 11: 100100. DOI: 10.1016/j.metop.2021.100100.
- [3] Keller SF, Mandell BF. Management and cure of gouty arthritis [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2022, 48 (2): 479-492. DOI: 10.1016/j.rdc.2022.03.001.
- [4] Liang H, Deng P, Ma YF, et al. Advances in experimental and clinical research of the gouty arthritis treatment with traditional chinese medicine [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 8698232. DOI: 10.1155/2021/8698232.
- [5] 李莉, 马金荣, 潘红梅, 等. 中药内服外敷辅助秋水仙碱治疗急性痛风性关节炎 60 例 [J]. *安徽医药*, 2020, 24 (11): 2276-2279. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.11.041.
- Li L, Ma JR, Pan HM, et al. Treatment of 60 cases of acute gouty arthritis with chinese medicine oral and external application assisted by colchicine [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2020, 24 (11): 2276-2279. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.11.041.
- [6] 于文宁, 刘新艳, 杨露梅, 等. 清热利湿通络中药外用联合西药对湿热痹阻型类风湿关节炎炎症指标的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2020, 15 (5): 946-950. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.200538.
- Yu WN, Liu XY, Yang LM, et al. Effect of external application of chi-

- nese medicine of clearing heat, eliminating dampness and removing the obstruction in meridians combined with western medicine on inflammatory factors in patients with dampness-heat blockage type of rheumatoid arthritis [J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2020, 15(5): 946-950. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.200538.
- [7] Hui M, Carr A, Cameron S, et al. The British Society for Rheumatology Guideline for the management of gout [J]. Rheumatology (Oxford), 2017, 56(7): 1056-1059. DOI: 10.1093/rheumatology/kex150.
- [8] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准 [M]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 50.
- [9] 祖立斌. 清热利湿通络方治疗湿热痹阻型急性痛风性关节炎的临床观察 [D]. 唐山: 华北理工大学, 2017.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2006: 50-52.
- [11] Li SH, Hu WS, Wu QF, et al. The efficacy of bloodletting therapy in patients with acute gouty arthritis: A systematic review and meta-analysis [J]. Complement Ther Clin Pract, 2022, 46: 101503. DOI: 10.1016/j.ctcp.2021.101503.
- [12] Sun X, Li P, Qu X, et al. Isotretinoin alleviates acute gouty arthritis in rats by inhibiting inflammation via the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway [J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 1326-1333. DOI: 10.1080/13880209.2021.1979595.
- [13] Wang Y, Zhu W, Lu D, et al. Tetrahydropalmatine attenuates MSU crystal-induced gouty arthritis by inhibiting ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 100: 108107. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.108107.
- [14] Wu Y, Wang Y, Yuan W, et al. Changes in serum inflammatory factors in acute gouty arthritis patients treated using ultrashort wave combined with loxoprofen sodium [J]. Pak J Med Sci, 2021, 37(7): 1788-1794. DOI: 10.12669/pjms.37.7.4765.
- [15] 杨娜, 胡家才, 邓巧丽, 等. 双醋瑞因联合依托考昔治疗急性痛风性关节炎疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(6): 601-604, 611. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2018.06.009.
- Yang N, Hu JC, Deng QL, et al. Observation on the effect of Diacerein combine with Etoricoxib in treatment of acute gouty arthritis [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2018, 27(6): 601-604, 611. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2018.06.009.
- [16] 李思吟. 臭氧净化血液回抽疗法联合依托考昔对急性痛风性关节炎临床症状、NRS 评分及炎症因子的影响 [J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(3): 81-84. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6170.2018.03.024.
- Li SY. Effects of O3-AHT combined with etoricoxib on clinical symptoms, NRS score and inflammatory factors in acute gouty arthritis [J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2018, 15(3): 81-84. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6170.2018.03.024.
- [17] 陈群群, 崔俊英, 李朋, 等. 四黄膏外敷结合清热利湿通络法治疗急性痛风性关节炎 (湿热蕴结证) 的疗效观察 [J]. 中国中医急症, 2020, 29(2): 323-325. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2020.02.039.
- Chen QQ, Cui JY, Li P, et al. Observation on the curative effect of external application of Sihuang ointment combined with clearing heat and removing dampness and dredging collaterals in the treatment of acute gouty arthritis (damp-heat accumulation syndrome) [J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2020, 29(2): 323-325. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2020.02.039.
- [18] 郭立霞, 黄照国, 闫恒志, 等. 清热利湿通络方联合西药治疗类风湿关节炎湿热痹阻证疗效观察 [J]. 西部中医药, 2018, 31(7): 83-86. DOI: 10.3969/j.issn.1004-6852.2018.07.024.
- Guo LX, Huang ZG, Yan HZ, et al. Clinical observation on heat-clearing damp-eliminating collateral-dredging prescriptions jointed with western medicine in treating rheumatoid arthritis of damp-heat arthralgia pattern [J]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 31(7): 83-86. DOI: 10.3969/j.issn.1004-6852.2018.07.024.
- [19] 朱琳, 孙玄静, 陈鹏, 等. 硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对膝骨性关节炎软骨修复作用机制研究 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19(5): 490-495. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.013.
- Zhu L, Sun XJ, Chen P, et al. Study on the mechanism of glucosamine sulfate combined with etoricoxib in cartilage repair of knee osteoarthritis [J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases, 2020, 19(5): 490-495. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.013.
- [20] 蹇容, 杨敏, 郑书林. 小檗碱对小鼠痛风性关节炎模型中 NLRP3/TLRs 的调控作用 [J]. 重庆医科大学学报, 2020, 45(2): 251-256. DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002318.
- Jian R, Yang M, Zheng SL. Regulatory effect of berberine on NLRP3/TLRs in mice with gouty arthritis [J]. Journal of Chongqing Medical University, 2020, 45(2): 251-256. DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002318.
- [21] 王钰, 徐义峰, 董辛, 等. 盱江古方苍术散治疗痛风的潜在分子机制探究 [J]. 实用中医内科杂志, 2022, 36(2): 40-43. DOI: 10.13729/j.issn.1671-7813.20210744.
- Wang Y, Xu YF, Dong X, et al. Exploration on potential molecular mechanism of Mingjiang ancient recipe Cangshu Powder treating gout [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2022, 36(2): 40-43. DOI: 10.13729/j.issn.1671-7813.20210744.
- [22] 李佳欣, 陈思琦, 吴鑫宇, 等. 泽泻现代药理研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(2): 143-146. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842X.2020.02.039.
- Li JX, Chen SQ, Wu XY, et al. Study on modern pharmacology of alisma orientalis [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2020, 22(2): 143-146. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842X.2020.02.039.
- [23] 王象鹏, 罗孟雄, 毕亦飞, 等. 苍膝通痹胶囊治疗骨性关节炎的网络药理学机制与细胞验证 [J]. 广州中医药大学学报, 2022, 39(3): 647-656. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.03.030.
- Wang XP, Luo MX, Bi YF, et al. Network pharmacological mechanism and cellular validation of cangxi tongbi capsules in the treatment of osteoarthritis [J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 39(3): 647-656. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.03.030.

(收稿日期: 2022-07-12)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.011

论著·临床

辛伐他汀辅助治疗对子宫内膜异位症术后患者氧化应激状态及 IGF-1、VEGF 水平的影响

雷玉荣, 刘宇, 陈玉花, 毕雪玲, 李春芳

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2019SF-039)

作者单位: 716000 陕西省延安市人民医院妇产科

通信作者: 刘宇, E-mail: ly554277896@163.com

【摘要】目的 观察辛伐他汀辅助治疗对子宫内膜异位症(EMS)术后患者氧化应激状态及胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、血管内皮生长因子(VEGF)水平的影响。**方法** 选取2018年12月—2020年12月延安市人民医院妇产科诊治的EMS患者108例作为研究对象,以简单随机化法分为对照组、研究组,各54例。对照组采取腹腔镜手术联合醋酸戈舍瑞林缓释植入剂治疗,研究组在对照组基础上加用辛伐他汀,均治疗6个月。比较2组疗效,治疗前后Kupperman评分、主观感受评分(阳性体征评分、盆腔症状评分、总主观感受评分)、血清氧化应激指标[活性氧簇(ROS)、维生素E(VE)、超氧化物歧化酶(SOD)]、IGF-1、VEGF水平,以及不良反应发生率、复发率。**结果** 研究组完全缓解率高于对照组(94.44% vs. 79.63%, $\chi^2/P=5.252/0.022$);治疗6个月后,研究组Kupperman评分、阳性体征评分、盆腔症状评分、总主观感受评分低于对照组($t=5.683, 11.073, 10.155, 11.797, P$ 均 <0.001);研究组血清ROS、IGF-1、VEGF水平低于对照组,血清VE、SOD水平高于对照组($t=4.009, 7.010, 4.236, 5.168, 5.286, P$ 均 <0.001);2组不良反应发生率及复发率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 辛伐他汀辅助治疗EMS患者,可降低血清IGF-1、VEGF水平,改善氧化应激状态,疗效显著,且安全性高。

【关键词】 子宫内膜异位症;辛伐他汀;氧化应激;胰岛素样生长因子-1;血管内皮生长因子

【中图分类号】 R711.71

【文献标识码】 A

Effects of simvastatin on oxidative stress and IGF-1, VEGF levels in patients with endometriosis after operation Lei Yurong, Liu Yu, Chen Yuhua, Bi Xuelling, Li Chunfang. Department of Obstetrics and Gynecology, Yan'an People's Hospital Yan'an, Shaanxi Province, Yan'an 716000, China

Corresponding author: Liu Yu, E-mail: ly554277896@163.com

Funding program: Key R&D Projects in Shaanxi Province (2019SF-039)

【Abstract】 Objective To observe the effects of simvastatin on oxidative stress, insulin like growth factor-1 (IGF-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in patients with endometriosis (EMS) after operation. **Methods** One hundred and eight EMS patients diagnosed and treated in the Obstetrics and Gynecology Department of Yan'an People's Hospital from December 2018 to December 2020 were selected as the research objects, and were divided into the control group and the research group by simple randomization, with 54 patients in each group. The control group was treated with laparoscopy combined with Goserelin acetate sustained-release implant, while the study group was treated with simvastatin on the basis of the control group for 6 months. The curative effects of the two groups were compared, including Kupperman score, subjective feeling score (positive sign score, pelvic symptom score, total subjective feeling score), serum oxidative stress indicators [ROS, vitamin E, superoxide dismutase (SOD)], IGF-1, VEGF levels before and after treatment, as well as the incidence and recurrence rate of adverse reactions. **Results** The complete remission rate in the study group was higher than that in the control group (94.44% vs. 79.63%, $\chi^2/P=5.252/0.022$). After 6 months of treatment, Kupperman score, positive sign score, pelvic symptom score and total subjective feeling score in the study group were lower than those in the control group ($t=5.683, 11.073, 10.155, 11.797, P<0.001$). The levels of serum ROS, IGF-1 and VEGF in the study group were lower than those in the control group, while the levels of serum VE and SOD were higher than those in the control group ($t/P=4.009, 7.010, 4.236, 5.168, 5.286, P<0.001$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions and recurrence rate between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Simvastatin can reduce serum IGF-1 and VEGF levels and im-

prove oxidative stress status in patients with EMS, with significant efficacy and high safety.

【Key words】 Endometriosis; Simvastatin; Oxidative stress; Insulin-like growth factor-1; Vascular endothelial growth factor

子宫内膜异位症(endometriosis, EMS)是激素依赖性疾病,表现为活性子宫内膜组织出现在宫腔被覆内膜及宫外,发病率为10%~15%,严重影响女性身心健康^[1]。手术治疗是EMS的基本治疗方法,但术后复发风险较高^[2]。因此,EMS治疗多采取手术联合药物治疗,以降低复发风险。目前,临床常用药物包括孕激素、促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin releasing hormone agonists, GnRHa)等,但此类药物作用机制为降低体内雌激素水平,对EMS病灶无直接作用,难以达到彻底治愈的目的^[3]。血管生成是EMS发病过程的关键环节^[4],而他汀类药物可抑制血管生成,为临床治疗EMS提供新的治疗方向。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor-I, IGF-1)是促进新生血管生成的重要细胞因子,在EMS患者血清中呈现异常高表达,且与疾病严重程度呈正相关^[5]。另近年研究发现,EMS患者体内存在氧化与抗氧化系统失衡,在病情进展中发挥重要作用^[6]。基于此,本研究尝试探讨辛伐他汀辅助治疗对EMS术后患者氧化应激状态及血清IGF-1、VEGF水平的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2018年12月—2020年12月延安市人民医院妇产科诊治的EMS患者108例作为研究对象,年龄21~43(32.03±4.87)岁;体质指数(BMI)17~28(22.61±1.93)kg/m²;病程1~5(3.01±0.77)年;EMS分期Ⅲ期68例,Ⅳ期40例;单侧76例,双侧32例;不孕15例;诱因:慢性盆腔疼痛40例,痛经35例,卵巢囊肿18例,其他15例;合并高血压14例,糖尿病5例;存在家族遗传史45例。以简单随机化法分为对照组、研究组,各54例。2组年龄、BMI、病程、EMS分期、病变位置、不孕、诱因、高血压、糖尿病、家族遗传史等临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。本研究经医院伦理委员会批准(201810270149),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均符合EMS诊断标准^[7],腹腔镜手术指征:盆腔痛需手术,卵巢内膜样囊肿达5 cm,浸润性生长,泌尿道或消化道EMS伴梗阻;②均为卵巢型EMS;③3个月内未采取激素治疗;④生殖道无器质性病变;⑤首次确诊,接受腹腔镜

手术治疗。(2)排除标准:①合并其他内分泌、免疫系统及代谢性疾病;②严重心、肺、肝、肾疾病;③合并子宫腺肌症;④曾因EMS行开腹或腹腔镜手术;⑤妊娠期或哺乳期女性;⑥精神病史。

表1 对照组与研究组临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between the control group and the study group

项 目	对照组 (n=54)	研究组 (n=54)	t/χ^2 值	P 值
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	32.58±5.17	31.86±4.69	0.758	0.450
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	22.74±2.09	22.52±1.85	0.579	0.564
病程($\bar{x}\pm s$,年)	2.98±0.81	3.07±0.75	0.599	0.550
EMS 分期	Ⅲ期 33(61.11)	35(64.81)	0.159	0.690
[例(%)]	Ⅳ期 21(38.89)	19(35.19)		
病变位置	单侧 37(68.52)	39(72.22)	0.179	0.673
[例(%)]	双侧 17(31.48)	15(27.78)		
不孕[例(%)]	8(14.81)	7(12.96)	0.077	0.781
诱因 慢性盆腔疼痛	19(35.19)	21(38.89)	2.017	0.569
[例(%)]	痛经 17(31.48)	18(33.33)		
	卵巢囊肿 8(14.81)	10(18.52)		
	其他 10(18.52)	5(9.26)		
基础病 高血压	8(14.81)	6(11.11)	0.328	0.567
[例(%)]	糖尿病 3(5.56)	2(3.70)	0.210	0.647
家族遗传史[例(%)]	23(42.59)	22(40.74)	0.038	0.845

1.3 治疗方法 2组均采用规范化腹腔镜手术治疗。常规麻醉并建立气腹,置入腹腔镜,对子宫、盆腔进行全面检查,找到病灶,电凝病变部位,分离粘连组织,切除病灶,电凝止血,术后采用0.9%氯化钠注射液充分冲洗盆腔,缝合切口。术后第5天对照组给予醋酸戈舍瑞林缓释植入剂(AstraZeneca UK Limited),每次3.75 mg皮下注射,间隔28 d再给药,共给药6次。研究组在对照组基础上加用辛伐他汀(厦门力卓药业有限公司)每次20 mg口服,每天1次。2组疗程均为6个月。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 Kupperman 评分:分别于治疗前和治疗6个月后对患者进行评分。症状指数:潮热出汗4分;泌尿系统刺激症状,外阴、阴道不适,失眠、感觉异常、抑郁2分;其余症状1分。症状评分=症状指数×程度(0~3分),各项症状评分相加即为总分,分值范围为0~51分,评分越高,患者症状越重。

1.4.2 主观感受评分^[8]:分别于治疗前和治疗6个月

后对患者体征评分(硬结、触痛,每项 0~3 分)+症状评分(盆腔痛、性交痛、痛经,每项 0~3 分),分值范围为 0~15 分,分值越高,患者症状越重。

1.4.3 血清氧化应激指标检测:分别于治疗前和治疗 6 个月后采集患者空腹肘静脉血 3 ml,离心取血清待测,采用酶联免疫吸附法检测活性氧簇(reactive oxygen species,ROS)、维生素 E(vitamin E,VE)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)水平,试剂盒由美国 R&D 公司提供。

1.4.4 血清 IGF-1、VEGF 水平检测:分别于治疗前和治疗 6 个月后采集患者空腹肘静脉血 3 ml,离心取血清待测,采用酶联免疫吸附法检测 IGF-1、VEGF,试剂盒由美国 R&D 公司提供。

1.4.5 不良反应发生及复发情况:门诊随访 6 个月,记录患者不良反应发生情况,包括痤疮、关节酸痛、阴道少量出血等。复发定义为影像学复查可见典型卵巢异位囊肿征象,持续 2 个月经周期。

1.5 治疗效果评估 于治疗 6 个月后评估治疗效果,症状、体征及盆腔包块均消失为完全缓解,盆腔包块缩小 $\geq 1/3$ 且症状、体征好转为部分缓解,未达到上述标准为未缓解。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件对数据处理分析。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,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组临床疗效比较 2 组均未出现未缓解病例。研究组完全缓解率为 94.44%,高于对照组的 79.63%($\chi^2 = 5.252, P = 0.022$),见表 2。

表 2 对照组与研究组临床疗效比较 [例(%)]
Tab. 2 Comparison of clinical efficacy between the control group and the study group

组 别	例数	完全缓解	部分缓解
对照组	54	43(79.63)	11(20.37)
研究组	54	51(94.44)	3(5.56)

2.2 2 组治疗前后 Kupperman 评分比较 治疗前 2 组 Kupperman 评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 6 个月后 2 组 Kupperman 评分低于治疗前,且研究组低于对照组($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 2 组治疗前后主观感受评分比较 治疗前 2 组阳性体征评分、盆腔症状评分、总主观感受评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 6 个月后 2 组阳

性体征评分、盆腔症状评分、总主观感受评分低于治疗前,且研究组低于对照组($P < 0.01$),见表 4。

表 3 对照组与研究组治疗前后 Kupperman 评分比较 ($\bar{x} \pm s$,分)
Tab. 3 Comparison of Kupperman scores between the control group and the study group before and after treatment

组 别	例数	治疗前	治疗后	t 值	P 值
对照组	54	13.51 $\pm$ 2.07	10.28 $\pm$ 1.52	9.242	<0.001
研究组	54	14.09 $\pm$ 1.86	8.65 $\pm$ 1.46	16.906	<0.001
t 值		1.532	5.683		
P 值		0.129	<0.001		

表 4 对照组与研究组治疗前后主观感受评分比较 ($\bar{x} \pm s$,分)
Tab. 4 Comparison of subjective feeling scores between the control group and the study group before and after treatment

组 别	时间	阳性体征评分	盆腔症状评分	总主观感受评分
对照组	治疗前	2.65 $\pm$ 1.24	5.94 $\pm$ 1.65	8.59 $\pm$ 2.08
($n=54$)	治疗后	0.42 $\pm$ 0.13	0.46 $\pm$ 0.14	0.88 $\pm$ 0.25
研究组	治疗前	2.71 $\pm$ 1.09	5.83 $\pm$ 1.61	8.09 $\pm$ 1.79
($n=54$)	治疗后	0.19 $\pm$ 0.08	0.23 $\pm$ 0.09	0.42 $\pm$ 0.14
t/P 对照组内值		13.143/ <0.001	24.318/ <0.001	27.044/ <0.001
t/P 研究组内值		16.944/ <0.001	25.520/ <0.001	31.392/ <0.001
t/P 治疗后组间值		11.073/ <0.001	10.155/ <0.001	11.797/ <0.001

2.4 2 组治疗前后血清氧化应激指标比较 治疗前 2 组血清 ROS、VE、SOD 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 6 个月后 2 组血清 ROS 水平低于治疗前,血清 VE、SOD 水平高于治疗前,且研究组改善优于对照组($P < 0.01$),见表 5。

表 5 对照组与研究组治疗前后血清氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 5 Comparison of serum oxidative stress indicators between the control group and the study group before and after treatment

组 别	时间	ROS($\mu\text{g/L}$)	VE($\mu\text{mol/L}$)	SOD(U/L)
对照组	治疗前	5.64 $\pm$ 1.15	16.34 $\pm$ 3.07	10.73 $\pm$ 3.25
($n=54$)	治疗后	4.58 $\pm$ 0.82	19.55 $\pm$ 3.06	13.92 $\pm$ 3.84
研究组	治疗前	5.52 $\pm$ 1.08	16.75 $\pm$ 2.83	11.29 $\pm$ 3.61
($n=54$)	治疗后	3.97 $\pm$ 0.76	22.71 $\pm$ 3.29	17.94 $\pm$ 4.06
t/P 对照组内值		5.515/ <0.001	5.442/ <0.001	4.660/ <0.001
t/P 研究组内值		8.625/ <0.001	10.092/ <0.001	8.995/ <0.001
t/P 治疗后组间值		4.009/ <0.001	5.168/ <0.001	5.286/ <0.001

2.5 2 组治疗前后血清 IGF-1、VEGF 比较 治疗前 2 组血清 IGF-1、VEGF 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 6 个月后 2 组血清 IGF-1、VEGF 水平低于治疗前,且研究组低于对照组($P < 0.05$),见表 6。

表 6 对照组与研究组治疗前后血清 IGF-1、VEGF 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.6 Comparison of serum IGF-1 and VEGF levels between the control group and the study group before and after treatment

组 别	时间	IGF-1 (μg/L)	VEGF (ng/L)
对照组 (n=54)	治疗前	122.57 ± 16.03	182.07 ± 32.14
	治疗后	106.37 ± 13.82	152.32 ± 26.07
研究组 (n=54)	治疗前	119.35 ± 14.28	179.51 ± 29.86
	治疗后	89.61 ± 10.85	131.74 ± 24.38
t/P 对照组内值		5.625/ <0.001	5.283/ <0.001
t/P 研究组内值		12.186/ <0.001	9.106/ <0.001
t/P 治疗后组间值		7.010/ <0.001	4.236/ <0.001

2.6 2 组不良反应发生率及复发率比较 门诊随访 6 个月 2 组无脱落病例。2 组不良反应发生率及复发率比较差异无统计学意义 ($\chi^2/P = 0.441/0.507, 1.371/0.242$), 见表 7。

表 7 对照组与研究组不良反应发生率及复发率比较 [例(%)]

Tab.7 Comparison of the incidence and recurrence rate of adverse reactions between the control group and the study group

组 别	例数	痤疮	关节酸痛	阴道出血	总发生率	复发率
对照组	54	3(5.56)	2(3.70)	1(1.85)	6(11.11)	3(5.56)
研究组	54	2(3.70)	1(1.85)	1(1.85)	4(7.41)	0

3 讨 论

EMS 最常累及卵巢,考虑卵巢功能的保留需求,姑息性切除仍是首选方案^[9-11]。而姑息性切除导致术后复发率极高,为改善这一现状,推荐保守手术联合药物治疗。GnRHa 是 EMS 最常用药物,通过抑制卵巢激素分泌阻碍异位内膜生长,但停药后机体正常排卵,机体雌激素水平恢复后易再次复发^[12]。目前,药物治疗 EMS 面临的问题是,药物应直接作用于异位病灶,而非单纯抑制雌激素分泌。

辛伐他汀是常用降脂药物,研究指出,辛伐他汀可通过抑制甲羟戊酸代谢,抑制多种肿瘤细胞增殖及侵袭能力^[13]。EMS 与肿瘤细胞生长特性类似,因此,辛伐他汀在 EMS 中具有潜在治疗作用^[14]。目前,关于他汀类药物用于 EMS 临床治疗的研究鲜见。本研究显示,辛伐他汀用于 EMS 治疗效果显著,且可显著减轻患者症状,与金迎迎等^[15]研究结果一致。分析其原因可能为辛伐他汀可改变子宫内膜基质细胞和细胞骨架形态、破坏 f-肌动蛋白纤维,同时还具有抗氧化氢自由基、氧化羟基作用,而相关研究显示,氧化应激增加

是 EMS 主要特征,另外他汀类药物可通过抗血管生成,减少 DNA 合成,抑制内异灶组织增殖,因此可通过抑制诱导异戊二烯、抑制细胞增殖蛋白合成、直接侵袭异位病灶细胞、降低雌激素水平、降低氧化应激等机制,从多方面起到治疗 EMS 的作用。而 2 组复发率无显著差异,可能与样本量小及随访时间短有关,后期需要增加样本量并延长随访时间进行进一步研究。

ROS 是正常有氧代谢的重要产物,而线粒体损伤、缺血缺氧状态下,ROS 过量产生,导致细胞氧化损伤。VE 属非酶类抗氧化剂,易被氧化,可保护其他易被氧化的物质,如三磷酸腺苷(ATP)、维生素 A、不饱和脂肪酸等,使机体细胞免受自由基毒害。SOD 是机体重要的酶类抗氧化剂,可阻断氧自由基对细胞造成的损害。研究显示,EMS 患者体内存在氧化应激,血清 ROS 水平升高,且抗氧化剂水平(VE、SOD 等)降低。本研究显示,辛伐他汀可改善 EMS 患者氧化应激状态,为其发挥治疗作用的机制之一。和儒林等^[16]研究显示,他汀类药物分子结构具有固有抗氧化作用(如抗羟基自由基、抗过氧化氢),其中辛伐他汀抗羟基自由基效果最好,与本研究结果一致。

VEGF 是目前为止发现的作用最强、最重要的促血管生成因子,组织中 VEGF 表达反映血管生成活性。IGF-1 是一种具有多种功能的细胞生长因子,具有促进细胞增殖、抗细胞凋亡、诱导新生血管形成等作用^[17]。大量实验证明,IGF-1、VEGF 在 EMS 发生、发展中具有重要作用,且二者在 EMS 患者血清中的表达水平存在正相关关系,可能起着协同作用^[18-20]。本研究显示,辛伐他汀辅助治疗 EMS 患者,可降低血清 IGF-1、VEGF 表达。可能与辛伐他汀抑制转录因子核因子 κB、活化蛋白-1 及抑制血管新生相关信号通路有关。但此过程的具体机制,仍有待后续基础研究进一步论证。

综上所述,辛伐他汀辅助治疗 EMS 术后患者,可降低血清 IGF-1、VEGF 水平,改善氧化应激状态,疗效显著,且安全性高。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

雷玉荣:实施研究过程,论文撰写;刘宇:课题设计,实施研究过程;陈玉花:实施研究过程,资料搜集整理;毕雪玲:实施研究过程,分析试验数据;李春芳:实施研究过程,进行统计学分析

参考文献

[1] Zarbo C, Brugnara A, Dessì V, et al. Cognitive and personality factors implicated in pain experience in women with endometriosis: A mixed method study[J]. Clin J Pain, 2019, 35(12): 948-957. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000757.

- [2] 米合日尼沙·买买提,王琳,韩丽丽. 子宫内异症保守手术后 GnRH-a 联合戊酸雌二醇反向添加疗法的效果及其对血清 VEGF、CA125、IL-6、TNF- α 的影响[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(4): 783-787. DOI: 10.7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2018. 04. 20.
- Mihari NMM, Wang L, Han LL. Effect of GnRH-a combined estradiol valerate reverse addition therapy after conservative surgery for endometriosis and its effect on serum VEGF, CA125, IL-6, TNF- α [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2018, 33(4): 783-787. DOI: 10.7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2018. 04. 20.
- [3] 苏胜红. 子宫内异症合并不孕患者腹腔镜术后联合药物治疗对妊娠结局的影响[J]. 中国计划生育和妇产科, 2018, 10(1): 32-36. DOI: 10.3969/j. issn. 1674-4020. 2018. 01. 9.
- Su SH. Effect of laparoscopic surgery combined drug therapy on pregnancy outcome in patients with endometriosis complicated with infertility[J]. Chinese Journal of Family Planning & Gynecotokology, 2018, 10(1): 32-36. DOI: 10.3969/j. issn. 1674-4020. 2018. 01. 9.
- [4] 张丹丹,高琴,白帆. 胰岛素样生长因子- I 和血管内皮生长因子在子宫内异症诊断中的价值[J]. 中国性科学, 2019, 28(5): 76-79. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-1993. 2019. 05. 023.
- Zhang DD, Gao Q, Bai F. The value of insulin-like growth factor- I and vascular endothelial growth factor on the diagnosis of endometriosis[J]. Chinese Journal of Human Sexuality, 2019, 28(5): 76-79. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-1993. 2019. 05. 023.
- [5] 王鑫,黄豪光,万美兰,等. 子宫内异症合并不孕患者血清内分泌激素、VEGF、IGF-I 水平及自身免疫抗体变化及其意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(15): 2299-2301. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-9455. 2017. 15. 050.
- Wang X, Huang HG, Wan ML, et al. Changes in serum endocrine hormones, VEGF, IGF-I levels, and autoimmune antibodies in patients with endometriosis and infertility and their significance[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2017, 14(15): 2299-2301. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-9455. 2017. 15. 050.
- [6] 李姐姐,郭广玲,王铁延. 子宫内异症与免疫炎症、氧化应激及血管生成的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(4): 468-471. DOI: 10.11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2018. 04. 007.
- Li NN, Guo GL, Wang TY. A correlation study on the relationships between endometriosis and immune inflammation, oxidative stress and angiogenesis[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2018, 25(4): 468-471. DOI: 10.11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2018. 04. 007.
- [7] 中华医学会妇产科学分会子宫内异症协作组. 子宫内异症诊治指南[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(3): 164-165. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2015. 03. 001.
- Endometriosis Collaboration Group of obstetrics and gynecology branch of Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of endometriosis[J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2015, 50(3): 164-165. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2015. 03. 001.
- [8] 刘铃铃,刘振贤. 醋酸戈舍瑞林辅助治疗中重度子宫内异症的效果[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(8): 974-976. DOI: 10.13699/j. cnki. 1001-6821. 2021. 08. 010.
- Liu LL, Liu ZX. Effect of goserelin acetate in adjuvant treatment of moderate and severe endometriosis[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2021, 37(8): 974-976. DOI: 10.13699/j. cnki. 1001-6821. 2021. 08. 010.
- [9] Yoo JY, Kim TH, Fazleabas AT, et al. KRAS activation and over-expression of SIRT1/BCL6 contributes to the pathogenesis of endometriosis and progesterone resistance[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6765. DOI: 10.1038/s41598-017-04577-w.
- [10] 袁卿,姜婷,闫蕾. 子宫内异症患者血清 HE4、YKL-40、Syn- decan-1 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2021, 61(4): 44-46. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2021. 04. 011.
- Yuan Q, Jiang T, Yan Q. Changes and significance of serum HE4, YKL-40 and Syndecan-1 levels in patients with endometriosis[J]. Shandong Medical Journal, 2021, 61(4): 44-46. DOI: 10.3969/j. issn. 1002-266X. 2021. 04. 011.
- [11] Michele G, Da B, Alceu A, et al. Oocyte oxidative DNA damage may be involved in minimal/mild endometriosis-related infertility[J]. Molecular Reproduction and Development, 2018, 85(2): 128-136. DOI: 10.1002/mrd. 22943.
- [12] Surrey ES, Katz-Jaffe M, Kondapalli LV, et al. GnRH agonist administration prior to embryo transfer in freeze-all cycles of patients with endometriosis or aberrant endometrial integrin expression[J]. Reprod Biomed Online, 2017, 35(2): 145-151. DOI: 10.1016/j. rbmo. 2017. 05. 004.
- [13] Cosar E, Mamillapalli R, Moridi I, et al. Serum MicroRNA biomarkers regulated by simvastatin in a primate model of EMS[J]. Reproductive Sciences, 2018, 26(3): 1343-1350. DOI: 10.1177/1933719118765971.
- [14] 曾燕. 辛伐他汀对大鼠子宫内异症的抑制作用及对 IGFs 和 Livin 表达的影响[D]. 河南: 郑州大学, 2015.
- [15] 金迎迎,包兴,柯悦,等. 辛伐他汀通过调控 PI3K/AKT 通路介导的 EMT 参与放疗诱导的食管癌细胞耐受[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2019, 40(1): 32-37. DOI: 10.7652/jdyxb201901006.
- [16] 和儒林,刘玉环. 活性氧簇、氧化应激与子宫内异症的关系研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(3): 206-209. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2019. 03. 015.
- [17] 汤礼宾,章志福,麦丽兰. 血清 CA125、VEGF、MCP-1 在子宫内异症诊断中的应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(10): 1085-1088. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-4695. 2018. 10. 026.
- [18] 卢祥章,邓艳君. 子宫动脉血流多普勒参数结合血清 SDC-1、VEGF-A 对子宫内异症的诊断价值及相关性分析[J]. 影像科学与光化学, 2021, 39(4): 550-555. DOI: 10.7517/issn. 1674-0475. 201219.
- [19] Rashidi BH, Sarhangi N, Aminimoghaddam S, et al. Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) Gene polymorphisms and expression with the risk of endometriosis: a case-control study[J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(3): 3445-3450. DOI: 10.1007/s11033-019-04807-6.
- [20] 奈慢慢,刘琰,周仲元,等. VEGF 和 IGF- I 在子宫内异症患者血清中的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(2): 342-344. DOI: 10.13241/j. cnki. pmb. 2017. 02. 036.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.012

论著·临床

基于循环 microRNAs 预测模型在子痫前期早期诊断中的应用

许琳,王茹,张忠霞,黄素静,罗书

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(20A200264)

作者单位: 570311 海口,海南医学院第二附属医院产科

通信作者: 罗书, E-mail: daleea@163.com

【摘要】目的 探讨基于循环 microRNAs 预测模型在子痫前期早期诊断中的应用价值。方法 选择 2019 年 1 月—2021 年 6 月于海南医学院第二附属医院产科行产检并具有子痫前期危险因素的孕妇(孕周 ≥ 20 周)246 例作为研究对象,根据妊娠期间是否诊断为子痫前期分为子痫组、非子痫组。检测 2 组孕妇循环 microRNAs 含量、外周血可溶性血管内皮生长因子受体 1(sFlt-1)、胎盘生长因子(PlGF)及子宫动脉搏动指数(UTPI),比较 2 组患者临床资料。通过 Logistic 回归分析影响子痫前期发生的相关因素,使用列线图构建基于循环 microRNAs 含量的预测模型并验证可行性。受试者工作特征曲线(ROC)分析预测模型与 sFlt-1/PlGF 对子痫前期的预测效能。结果 孕妇 246 例发生子痫前期 71 例。子痫组子痫家族史、高血压、肾脏疾病、24 h 尿蛋白 ≥ 0.3 g 占比及平均动脉压(MAP)显著高于非子痫组,PLT 及 Alb 低于非子痫组 [$\chi^2(U)/P = 10.894 / < 0.001$ 、13.518 / < 0.001 、8.573 / 0.003、28.612 / < 0.001 、3.510 / < 0.001 、4.371 / < 0.001 、7.039 / < 0.001]。子痫组患者 miR-16、miR-21、miR-31、miR-495 水平低于非子痫组,而 miR-136、miR-494 水平高于非子痫组 ($U/P = 3.999 / < 0.001$ 、7.614 / < 0.001 、10.239 / < 0.001 、2.709 / 0.007、2.492 / 0.013、3.719 / < 0.001)。子痫组患者 UTPI 及外周血 sFlt-1、sFlt-1/PlGF 水平显著高于非子痫组,而 PlGF 显著低于非子痫组 ($U/P = 5.114 / < 0.001$ 、2.359 / 0.025、5.805 / < 0.001 、2.104 / 0.039)。Logistic 回归分析显示,PLT 高、Alb 高、miR-21 高及 miR-31 高是影响子痫前期发生的独立保护因素 [$OR(95\% CI) = 0.964(0.938 \sim 0.991)$ 、0.782(0.673 ~ 0.908)、0.384(0.215 ~ 0.685)、0.199(0.097 ~ 0.409)],而 24 h 尿蛋白 ≥ 0.3 g、UTPI 高、sFlt-1/PlGF 高则是影响子痫前期发生的独立危险因素 [$OR(95\% CI) = 14.821(3.794 \sim 24.593)$ 、35.601(1.291 ~ 981.401)、2.391(1.431 ~ 3.998)];根据上述影响因素构建的列线图模型预测子痫前期的 C-index 为 0.947(95% CI 0.902 ~ 0.979),一致性及区分性均良好。ROC 曲线分析显示,列线图模型的预测效能高于 sFlt-1/PlGF ($Z = 6.504, P < 0.001$),敏感度、特异度均显著高于 sFlt-1/PlGF ($\chi^2/P = 20.218 / < 0.001$ 、14.464 / < 0.001)。结论 基于 miR-21 及 miR-31 构建的列线图模型对子痫前期具有较好的预测价值。

【关键词】 子痫前期;微小 RNA;列线图;预测模型;诊断价值

【中图分类号】 R714.24⁺6

【文献标识码】 A

Application of circulating microRNAs prediction model in early diagnosis of preeclampsia Xu Lin, Wang Ru, Zhang Zhongxia, Huang Sujing, Luo Shu. Department of Obstetrics, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Luo Shu, E-mail: daleea@163.com

Funding program: Hainan Health and Family Planning Industry Scientific Research Project (20A200264)

【Abstract】Objective To explore the application value of circulating microRNAs prediction model in the early diagnosis of preeclampsia. Methods 246 pregnant women (gestational age ≥ 20 weeks) who underwent prenatal examination in the Obstetrics Department of the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College from January 2019 to June 2021 and had pre-eclampsia risk factors were selected as the study subjects. They were divided into eclampsia group and non-eclampsia group according to whether they were diagnosed with pre-eclampsia during pregnancy. The content of circulating microRNAs, soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sFlt-1), placental growth factor (PlGF) and uterine artery pulsation index (UTPI) in pregnant women of the two groups were detected, and the clinical data of the two groups were compared. Logistic regression analysis was used to analyze the relevant factors affecting the occurrence of preeclampsia,

and nomograms were used to build a prediction model based on the content of circulating microRNAs and verify the feasibility. The predictive efficacy of the receiver operating characteristic curve (ROC) analysis prediction model and sFlt-1/PlGF for preeclampsia. **Results** Pre-eclampsia occurred in 71 of 246 pregnant women. The family history of eclampsia, hypertension, kidney disease, proportion of 24-hour urine protein ≥ 0.3 g and mean arterial pressure (MAP) in the eclampsia group were higher than those in the non-eclampsia group, and PLT and Alb were lower than those in the non-eclampsia group [$\chi^2(U)/P=10.894/ <0.001, 13.518/ <0.001, 8.573/0.003, 28.612/ <0.001, 3.510/ <0.001, 4.371/ <0.001, 7.039/ <0.001$]. The levels of miR-16, miR-21, miR-31 and miR-495 in patients with eclampsia were lower than those in non-eclampsia group, while the levels of miR-136 and miR-494 were higher than those in non-eclampsia group ($U/P=3.999/ <0.001, 7.614/ <0.001, 10.239/ <0.001, 2.709/0.007, 2.492/0.013, 3.719/ <0.001$). UTPI, sFlt-1, sFlt-1/PlGF levels in patients with eclampsia were significantly higher than those in non-eclampsia patients, while PlGF levels were significantly lower than those in non-eclampsia patients ($U/P=5.114/ <0.001, 2.359/0.025, 5.805/ <0.001, 2.104/0.039$). Logistic regression analysis showed that high PLT, high Alb, high miR-21 and high miR-31 were independent protective factors affecting the occurrence of preeclampsia [$OR(95\% CI)=0.964(0.938-0.991), 0.782(0.673-0.908), 0.384(0.215-0.685), 0.199(0.097-0.409)$], while 24h urine protein ≥ 0.3 g, high UTPI, high sFlt-1/PlGF were independent risk factors affecting the occurrence of preeclampsia [$OR(95\% CI)=14.821(3.794-24.593), 35.601(1.291-981.401), 2.391(1.431-3.998)$]. The C-index of pre-eclampsia predicted by the nomogram model based on the above influencing factors was 0.947 (95% CI 0.902-0.979), with good consistency and differentiation. ROC curve analysis showed that the predictive efficacy of nomogram model was higher than that of sFlt-1/PlGF ($Z=6.504, P<0.001$), and the sensitivity and specificity were higher than that of sFlt-1/PlGF ($\chi^2/P=20.218/ <0.001, 14.464/ <0.001$).

Conclusion The nomogram model based on miR-21 and miR-31 has a good predictive value for preeclampsia.

[Key words] Preeclampsia; MicroRNAs; Nomogram; Prediction model; Diagnosis

子痫一直以来是影响孕妇及胎儿的重要疾病,其对于整个孕期会造成严重的影响,甚至影响胎儿发育,最终导致不良妊娠结局的发生^[1]。研究结果显示,在子痫前期明确诊断并采取相应治疗措施能显著改善妊娠结局,但由于子痫发病机制尚不完全清楚,故目前对于子痫的早期诊断一直以来是产科临床研究的热门方向^[2-3]。国内外研究证实,循环微小 RNA (microRNAs) 与子痫前期关系密切^[4-6]。基于此,分析多个循环 microRNAs 与子痫前期的相关性,并建立预测模型,旨在为子痫前期的预测提供新方向,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2019 年 1 月—2021 年 6 月于海南医学院第二附属医院产科行产检并具有子痫前期危险因素孕妇(孕周 ≥ 20 周) 246 例作为研究对象。经过 6 个月随访后,246 例孕妇中确诊子痫前期 71 例 (28.86%),并根据子痫前期确诊情况分为子痫组 71 例和非子痫组 175 例。子痫组子痫家族史、高血压、肾脏疾病、24 h 尿蛋白 ≥ 0.3 g 占比及 MAP 高于非子痫组,PLT、Alb 低于非子痫组 (P 均 <0.01),2 组其他资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),见表 1。本研究经医院伦理委员会批准 (HN20190103027),孕妇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子痫前期诊断标准:参照“妊娠期高血压疾病诊治指南(2015)”中对于子痫前期的诊断标准,妊娠期间达到此标准则确

诊子痫前期^[7]。②符合子痫前期危险因素中至少 1 项,包括既往子痫前期史或子痫前期家族史、高血压遗传因素等;年龄 ≥ 35 岁;妊娠前 BMI ≥ 28 kg/m²;高血压病、肾脏疾病、糖尿病;初次妊娠、妊娠间隔时间 ≥ 10 年;收缩压 ≥ 130 mmHg 或舒张压 ≥ 80 mmHg (首次产前检查时、妊娠早期或妊娠任何时期检查时);妊娠早期尿蛋白定量 ≥ 0.3 g/24 h 或持续存在随机尿蛋白阳性)。③孕周 ≥ 20 周。(2)排除标准:①产前检查记录不完整;②伴有除子痫外的其他妊娠疾病;③既往恶性肿瘤疾病史;④自身免疫性疾病史或家族史。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 qRT-PCR 检测外周血 microRNAs 水平:入组后取清晨孕妇空腹肘静脉血 2 ml,提取总 RNA 后使用美国 ABI 公司提供 Step-One Plus Detection 将总 RNA 通过 PCR 法反向转录到 cDNA,而后再 cDNA、qRT-PCR 引物(见表 2)及相关酶组成 qRT-PCR 反应体系后加入 real-time PCR 分析仪中,反应过程:预变性 95℃ 30 s、变性 95℃ 5 s、退火 60℃ 44 s,总共进行 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,以 U6 为内参,计算 miR-16、miR-21、miR-31、miR-136、miR-494 及 miR-495 表达量。

1.3.2 sFlt-1 及 PlGF 检测:抽取孕妇外周静脉血 2 ml,采用瑞士罗氏公司生产的 Roche cobas E 610 型免疫分析仪,通过电化学发光免疫分析法检测外周血 sFlt-1、PlGF 水平,并计算 sFlt-1/PlGF 值。

表 1 子痫组与非子痫组临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between eclampsia group and non eclampsia group

项 目	非子痫组(<i>n</i> = 175)	子痫组(<i>n</i> = 71)	<i>U</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值	
年龄(岁) *	30(27,33)	29(25,33)	1.201	0.231	
BMI(kg/m ²) *	28.12(26.11,30.01)	28.89(26.69,30.84)	1.632	0.103	
孕周(周) *	26(23,31)	25(21,32)	0.674	0.851	
吸烟史[例(%)]	19(10.86)	6(8.45)	0.321	0.571	
饮酒史[例(%)]	5(2.86)	2(2.82)	0.164	0.684	
子痫家族史[例(%)]	4(2.29)	9(12.68)	10.894	0.001	
MAP(mmHg) *	99.84(86.63,111.41)	110.07(93.51,128.94)	3.510	<0.001	
基础疾病[例(%)]	高血压	6(3.43)	12(16.90)	13.518	<0.001
	肾脏疾病	2(1.14)	6(8.45)	8.573	0.003
	糖尿病	13(7.43)	9(12.68)	1.708	0.191
孕产情况[例(%)]	初产妇	73(41.71)	23(32.39)	1.843	0.174
	经产妇	102(58.29)	48(67.61)		
PLT(×10 ⁹ /L) *	186.81(166.99,209.37)	166.72(142.25,190.67)	4.371	<0.001	
ALT(U/L) *	24.37(7.94, 38.54)	26.02(12.48, 48.29)	1.106	0.341	
Alb(g/L) *	35.31(32.19, 37.35)	29.87(23.88, 33.61)	7.039	<0.001	
SCr(μmol/L) *	57.01(36.98, 69.34)	60.93(38.81, 82.14)	1.634	0.102	
24 h 尿蛋白≥0.3 g[例(%)]	9(5.14)	21(29.58)	28.612	<0.001	

注: * 为 *M*(*Q*₁,*Q*₃)

表 2 实时定量 PCR 引物序列

Tab. 2 Real time quantitative PCR primer sequence

基因	分类	序列
miR-16	F	5'-CGCGCTAGCAGCACGTAAT-3'
	R	5'-GTCGAGGGTCCGAGGT-3'
miR-21	F	5'-TGTCGGGTAGCTTATCAGACTGATG-3'
	R	5'-CATCAGTCTGATAAGCTACCCGACA-3'
miR-31	F	5'-TGTCATGAGAGCTCAGCA-3'
	R	5'-TCGTACAGCATGTCGAATGCC-3'
miR-136	F	5'-ACACTCCAGCTGGGACTCCATTTGTTTG-3'
	R	5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTCCATCAT-3'
miR-494	F	5'-ACACTCCAGCTGGGTGAAACATACACGG-3'
	R	5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGAGTTTC-3'
miR-495	F	5'-ACACTCCAGCTGGGAAACAAACATGGTG-3'
	R	5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGAGAAGTG-3'
U6	F	5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3'
	R	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

1.3.3 子宫动脉搏动指数(uterine artery pulsatility index,UTPI)检测:使用汕头市超声仪器研究所有限公司生产的 CTS-5000C 型实时三维超声诊断仪测量所有孕妇双侧 UTPI,再取双侧平均值作为 UTPI。

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;非正态分布计量资料以 *M*(*Q*₁,*Q*₃)表示,组间比较采用 Manne Whitney *U* 检验;采用 Logistic 回归分析影响子痫前期发生的因素;使用 R 软件包(×64 for Windows,3.6.1)建立发生子痫前期的列线图预测模型,应

用一致性指数(C-index)评估模型预测性能,并进行 Bootstrap 外部验证,绘制校正曲线,并通过内部验证该模型的信度及效度;通过建立 ROC 曲线比较预测模型与 sFlt-1/PlGF 对子痫前期的预测效能,二者差异比较采用 *Z* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组循环 microRNAs 水平比较 子痫组患者 miR-16、miR-21、miR-31、miR-495 水平低于非子痫组,miR-136、miR-494 水平高于非子痫组(*P* 均 < 0.05),见表 3。

2.2 2 组 UTPI 及外周血 sFlt-1、PlGF 水平比较 子痫组患者 UTPI 及外周血 sFlt-1、sFlt-1/PlGF 显著高于非子痫组,而 PlGF 则显著低于非子痫组(*P* 均 < 0.05),见表 4。

2.3 影响子痫前期的多因素 Logistic 回归分析 以子痫前期为因变量,以上述结果中 *P* < 0.05 的指标为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,PLT 高、Alb 高、miR-21 高及 miR-31 高是影响子痫前期发生的独立保护因素,而 24 h 尿蛋白 ≥ 0.3 g、UTPI 高、sFlt-1/PlGF 高是影响子痫前期发生的独立危险因素(*P* < 0.05),见表 5。

2.4 基于循环 microRNAs 水平对子痫前期预测模型的构建及验证 根据多因素 Logistic 回归分析结果,应用训练集子痫前期发生的数据建立子痫前期的列线图预测模型,列线图模型预测子痫前期的 C-index 为 0.947(95% *CI* 0.902 ~ 0.979),区分度良好,见图 1;经

表 3 子痫组与非子痫组循环 microRNAs 水平比较 $[M(Q_1, Q_3)]$

Tab. 3 Comparison of circulating microRNAs levels between eclampsia group and non eclampsia group

组 别	例数	miR-16	miR-21	miR-31	miR-136	miR-494	miR-495
非子痫组	175	1.68(1.21,2.12)	3.82(2.13,5.09)	4.12(2.73,6.20)	1.41(0.93,1.93)	1.07(0.79,1.41)	9.23(7.85,10.93)
子痫组	71	1.26(0.95,1.73)	1.71(1.15,2.34)	1.06(0.42,1.58)	1.67(1.19,2.24)	1.38(0.98,1.77)	8.23(6.39,10.34)
U 值		3.999	7.614	10.239	2.492	3.719	2.709
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.013	<0.001	0.007

表 4 子痫组与非子痫组 UTPI 及外周血 sFlt-1、PlGF 水平比较 $[M(Q_1, Q_3)]$

Tab. 4 Comparison of UTPI, sFlt-1 and PlGF levels in peripheral blood between eclampsia group and non eclampsia group

组 别	例数	UTPI	sFlt-1 (μg/L)	PlGF (μg/L)	sFlt-1/PlGF
非子痫组	175	0.69(0.62,0.79)	29.53(3.42,39.59)	3.98(1.58,6.23)	8.71(7.61, 9.72)
子痫组	71	0.87(0.69,1.03)	35.74(5.24,47.83)	3.09(0.97,5.84)	10.71(8.91,11.84)
U 值		5.114	2.359	2.104	5.805
P 值		<0.001	0.025	0.039	<0.001

表 5 影响子痫前期的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5 Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting preeclampsia

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常量	10.534	4.052	6.757	0.009	37572.589	—
PLT 高	-0.037	0.014	6.901	0.009	0.964	0.938 ~ 0.991
Alb 高	-0.246	0.076	10.451	0.001	0.782	0.673 ~ 0.908
24 h 尿蛋白 ≥ 0.3 g	2.696	1.102	5.981	0.014	14.821	3.794 ~ 24.593
UTPI 高	3.572	1.692	4.457	0.035	35.601	1.291 ~ 981.401
sFlt-1/PlGF 高	0.872	0.262	11.056	0.001	2.391	1.431 ~ 3.998
miR-21 高	-0.958	0.295	10.512	0.001	0.384	0.215 ~ 0.685
miR-31 高	-1.612	0.366	19.354	<0.001	0.199	0.097 ~ 0.409

Bootstrap 自抽样方法对验证集进行外部验证,活动校正曲线,校正曲线显示列线图模型预测可能性绝对误差为 0.009,一致性良好,见图 2。

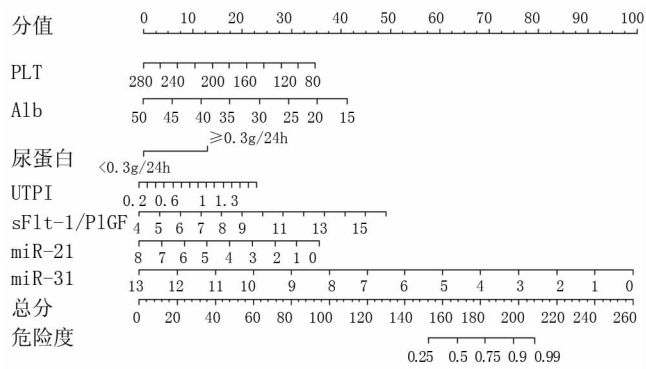


图 1 影响子痫前期发生的列线图

Fig. 1 Nomogram of influence on the occurrence of preeclampsia

2.5 基于循环 microRNAs 预测模型与 sFlt-1/PlGF 对子痫前期的预测效能比较 ROC 曲线结果显示,基于循环 microRNAs 水平预测模型 ($AUC = 0.991, 95\% CI 0.984 \sim 0.999$)、sFlt-1/PlGF ($AUC = 0.736, 95\% CI 0.660 \sim 0.812$) 对子痫前期均具有一定的预测价值

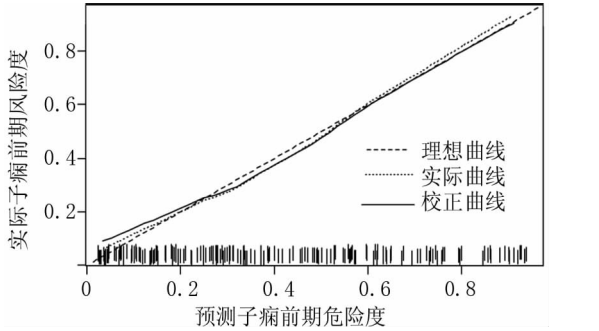


图 2 子痫前期发生的矫正曲线

Fig. 2 Correction curve of preeclampsia

($P < 0.001$), 预测效能高于 sFlt-1/PlGF, 差异具有统计学意义 ($Z = 6.504, P < 0.001$), 见图 3。预测模型敏感度、特异度均显著高于 sFlt-1/PlGF, 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 20.218, 14.464, P < 0.001$), 见表 6。

3 讨论

子痫前期的筛查一直以来是产科临床工作中的重点,近年来已将普通产检中预测子痫的高危因素进行了归纳总结,同时提出了对于高危产妇需要更精确的筛查指标来确诊子痫的研究方向^[8]。在“妊娠期高血

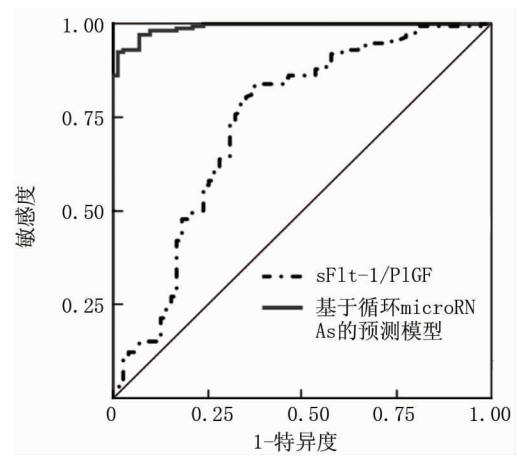


图 3 基于循环 microRNAs 预测模型与 sFlt-1/PlGF 对子痫前期预测的 ROC 曲线

Fig. 3 ROC curve for prediction of preeclampsia based on cyclic microRNAs prediction model and sFlt-1/PlGF

表 6 预测模型与 sFlt-1/PlGF 对子痫前期的预测价值比较
Tab. 6 Comparison of the predictive value of prediction model and sFlt-1/PlGF for preeclampsia

项 目	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
预测模型	≥0.163	0.991	0.984 ~ 0.999	0.843	0.994	0.837
sFlt-1/PlGF	≥10.205	0.736	0.660 ~ 0.812	0.568	0.848	0.416

压疾病诊治指南(2020 年版)”中对于目前临床上常用的 sFlt-1/PlGF 指标数据进行了总结,并说明了此指标在诊断敏感度上还存在较大的提升空间^[9]。

本次研究在以往研究的基础上对产妇首先进行了高危因素的筛查,目的在于提升检验的针对性,同时还能减少部分低危产妇进行精确筛查的成本。在 2 组产妇一般资料比较中,子痫组高血压病史及肾脏疾病病史患者占比较高,这一点在以往研究中已经得到了证实,该研究均指出高血压及肾脏病史产妇产子痫前期发生率显著高于普通患者^[10-11]。

本研究重点在于通过对子痫前期患者的精确实验室检查指标进行比较,从而得到更准确的诊断模型。本研究中所提出的 PLT、Alb、24 h 尿蛋白≥0.3 g 占比及 MAP 与子痫前期的相关性已经在既往研究指出^[12-13]。通过 Logistic 回归分析筛选结果将 PLT、Alb、24 h 尿蛋白≥0.3 g 占比、MAP 排除独立影响因素指标,充分说明了上述指标特异性较差^[14]。而纳入独立影响因素的指标中主要的作用机制如下:子痫前期由于血流压力较大,导致妊娠所致的滋养细胞无法有效的侵袭子宫动脉,从而影响子宫—胎盘循环,使其仍处

于高阻低排状态,最终影响子宫动脉的血流动力学指标,子宫动脉搏动指数则是子宫动脉血流动力学的重要指标^[15];子痫前期患者由于胎盘功能异常会使 sFlt-1 大量激活,导致 sFlt-1/PlGF 失衡从而导致子宫血管生成障碍进而影响胎盘功能,形成恶性循环导致胎儿情况恶化^[16]。

microRNAs 是一类内源性的非编码小分子 RNA,已有大量研究显示,其广泛参与到人体正常生理活动及病理改变中,是人体正常运转的重要因素,也是多种疾病发生的重要诱因。虽然本次纳入研究的 microRNAs 在 2 组之间的比较有明显差异,但通过 Logistic 分析筛选独立影响因素后结果显示,miR-16、miR-136、miR-494、miR-495 均被排除了独立影响因素,通过对比以往研究发现,miR-136、miR-494 及 miR-495 与子痫相关在国外研究中提出较多,可能由于种族、地域、生活方式等差异,导致了上述 3 组 microRNAs 在本研究样本中与子痫的相关性低于其他指标^[17]。而在 Dong 等^[18]的研究中也提出,在子痫前期孕妇中,miR-16 表达与正常孕妇相关性低于 miR-21、miR-31,本研究结果与之类似。二者参与机制如下:(1) miR-21 在血管内皮细胞中通过增加 eNOS 磷酸化及 NO 的表达从而达到防止血管内皮细胞凋亡的作用,而子痫患者 miR-21 低表达则会导致血管内皮损伤加重^[19];(2) miR-31 可以通过降低抑制缺氧诱导因子(FIH1)表达,从而导致 VEGF 的上调和促进血管的生成,子痫前期患者由于 miR-31 表达被抑制,从而导致 FIH1 高表达抑制血管内皮细胞生成,引起血管损伤^[20]。基于 miR-21 及 miR-31 的列线图模型预测子痫前期的结果显示,该模型对于子痫前期具有较好的预测作用,其预测敏感度及特异度均显著高于 sFlt-1/PlGF,再次说明基于 miR-21 及 miR-31 的列线图模型对于子痫前期具有较好的预测价值。

本研究为单中心小样本量研究,对于民族、地域等因素考虑不足,部分指标与子痫前期之间的关系是基于既往研究中推测所得,缺少基础研究进一步证实。但这并不影响本研究得出的基于 miR-21 及 miR-31 的列线图模型对于子痫前期预测的价值,今后需进一步完善相关基础研究,深入探讨 microRNAs 与子痫前期之间的具体关系,并从中获得对于子痫前期预测及治疗更有意义的指标。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

许琳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王茹:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;张忠霞:实施研究过程,资

料搜集整理, 论文修改; 黄素静: 进行统计学分析; 罗书: 课题设计, 论文撰写

参考文献

[1] 杨孜. 子痫前期从疾病提升认识到综合征如何再前行——谈亚分类亚分型理论与实践及基础与临床研究之路[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35 (1): 41-47. DOI: 10. 19538/j. fk2019010110.

Yang Z. How to advance from disease promotion to syndrome progression in preeclampsia——Discussion on the theory and practice of subclassification and the way of basic and clinical research[J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2019, 35 (1): 41-47. DOI: 10. 19538/j. fk2019010110.

[2] Rana S, Lemoine E, Granger JP, et al. Preeclampsia: Pathophysiology, challenges, and perspectives [J]. Circ Res, 2019, 124 (7): 1094-1112. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 118. 313276.

[3] Ives CW, Sinkey R, Rajapreyar I, et al. Preeclampsia-pathophysiology and clinical presentations; JACC state-of-the-art review [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76 (14): 1690-1702. DOI: 10. 1016/j. jacc. 2020. 08. 014.

[4] Ali A, Hadlich F, Abbas MW, et al. MicroRNA-mRNA networks in pregnancy complications: A comprehensive downstream analysis of potential biomarkers[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (5): 2313. DOI: 10. 3390/ijms22052313.

[5] Addo KA, Palakodety N, Hartwell HJ, et al. Placental microRNAs: Responders to environmental chemicals and mediators of pathophysiology of the human placenta[J]. Toxicol Rep, 2020, 7: 1046-1056. DOI: 10. 1016/j. toxrep. 2020. 08. 002.

[6] Srinivasan S, Treacy R, Herrero T, et al. Discovery and verification of extracellular miRNA biomarkers for non-invasive prediction of preeclampsia in asymptomatic women[J]. Cell Rep Med, 2020, 1 (2): 100013. DOI: 10. 1016/j. xcrm. 2020. 100013.

[7] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南 (2015) [J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50 (10): 721-728. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2015. 10. 001.

Chinese Medical Association Obstetrics and Gynecology Branch Gestational Hypertension Diseases Group. Guidelines for the diagnosis and treatment of pregnancy-induced hypertension (2015) [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2015, 50 (10): 721-728. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2015. 10. 001.

[8] Ukah UV, De Silva DA, Payne B, et al. Prediction of adverse maternal outcomes from pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy: A systematic review [J]. Pregnancy Hypertens, 2018, 11: 115-123. DOI: 10. 1016/j. preghy. 2017. 11. 006.

[9] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南 (2020) [J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55 (4): 227-238. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112141-20200114-00039.

Chinese Medical Association Obstetrics and Gynecology Branch Gestational Hypertension Disorders Group. Guidelines for the diagnosis and treatment of pregnancy-induced hypertension (2020) [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2020, 55 (4): 227-238. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112141-20200114-00039.

[10] Salazar MR, Espeche WG, Leiva Sisniegues CE, et al. Nocturnal hypertension in high-risk mid-pregnancies predict the development of preeclampsia/eclampsia [J]. J Hypertens, 2019, 37 (1): 182-186. DOI: 10. 1097/HJH. 0000000000001848.

[11] Kristensen JH, Basit S, Wohlfahrt J, et al. Pre-eclampsia and risk of later kidney disease: nationwide cohort study [J]. BMJ, 2019, 365: 11516. DOI: 10. 1136/bmj. 11516.

[12] Meher S, Duley L, Hunter K, et al. Antiplatelet therapy before or after 16 weeks' gestation for preventing preeclampsia: an individual participant data meta-analysis [J]. Am J Obstet Gynecol, 2017, 216 (2): 121-128, e2. DOI: 10. 1016/j. ajog. 2016. 10. 016.

[13] 史峻梅, 杨孜, 李凤秋, 等. 血清白蛋白水平预警子痫前期发病的初步研究 [J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55 (1): 29-35. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567X. 2020. 01. 006.

Shi JM, Yang Z, Li FQ, et al. Preliminary study on serum albumin levels for early warning of preeclampsia [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2020, 55 (1): 29-35. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567X. 2020. 01. 006.

[14] 向兰花, 钟敏, 温牡丹, 等. 孕早中期血清激活素 A、内皮因子联合子宫动脉多普勒搏动指数对子痫前期的预测价值 [J]. 中国妇幼保健, 2019, 34 (12): 2733-2735. DOI: 10. 7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2019. 12. 23.

Xiang LH, Zhong M, Wen MD, et al. Predictive value of serum activin A, endoglin and uterine artery Doppler pulsatility index combined with uterine artery Doppler pulsatility index in the first and second trimesters of pregnancy [J]. China Maternal and Child Health, 2019, 34 (12): 2733-2735. DOI: 10. 7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2019. 12. 23.

[15] Townsend R, Khalil A, Premakumar Y, et al. Prediction of pre-eclampsia: review of reviews [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2019, 54 (1): 16-27. DOI: 10. 1002/uog. 20117.

[16] Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (5): 5451-5465. DOI: 10. 1002/jcp. 27486.

[17] Motawi TMK, Sabry D, Maurice NW, et al. Role of mesenchymal stem cells exosomes derived microRNAs; miR-136, miR-494 and miR-495 in pre-eclampsia diagnosis and evaluation [J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 659 (1): 13-21. DOI: 10. 1016/j. abb. 2018. 09. 023.

[18] Dong K, Zhang X, Ma L, et al. Downregulations of circulating miR-31 and miR-21 are associated with preeclampsia [J]. Pregnancy Hypertens, 2019, 17 (1): 59-63. DOI: 10. 1016/j. preghy. 2019. 05. 013.

[19] Penalzo E, Soto-Carrasco G, Krause BJ. MiR-21-5p directly contributes to regulating eNOS expression in human artery endothelial cells under normoxia and hypoxia [J]. Biochem Pharmacol, 2020, 182 (1): 114288. DOI: 10. 1016/j. bcp. 2020. 114288.

[20] Dong X, Zhang Y, Chen X, et al. Long noncoding RNA LINC00511 regulates the proliferation, apoptosis, invasion and autophagy of trophoblast cells to mediate pre-eclampsia progression through modulating the miR-31-5p/homeobox protein A7 axis [J]. J Obstet Gynaecol Res, 2020, 46 (8): 1298-1309. DOI: 10. 1111/jog. 14344.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.013

论著·临床

急性呼吸窘迫综合征患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平变化及临床意义

宋宇雷, 曹建设, 王承娟, 贺杰, 肖政辉, 张新萍

基金项目: 湖南省科技创新重点工程(2020SK1014-3)

作者单位: 410000 长沙, 湖南省儿童医院重症医学科

通信作者: 张新萍, E-mail: 1057609573@qq.com

【摘要】目的 探讨急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患儿血清微小 RNA-499a-5p(miR-499a-5p)、基质金属蛋白酶 16(MMP-16)mRNA 水平与病情严重程度和预后的关系。**方法** 选取 2019 年 1 月—2022 年 1 月湖南省儿童医院重症医学科收治的 ARDS 患儿 105 例作为 ARDS 组,根据氧指数(OI)分为轻度亚组 39 例、中度亚组 42 例、重度亚组 24 例,根据住院 28 d 临床结局分为存活亚组 88 例和死亡亚组 17 例,选取同期医院体检健康儿童 47 例作为健康对照组。采用 qPCR 法检测血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平, Pearson/Spearman 相关性分析 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平对 ARDS 患儿死亡的预测价值。**结果** ARDS 组血清 miR-499a-5p 水平低于健康对照组, MMP-16 mRNA 水平高于健康对照组($t=21.349, 24.932, P$ 均 <0.001)。轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-499a-5p 水平依次降低, MMP-16 mRNA 水平依次升高($F=215.087, 99.676, P$ 均 <0.001)。死亡亚组血清 miR-499a-5p 水平低于存活亚组, MMP-16 mRNA 水平高于存活亚组($t=4.074, 3.907, P$ 均 <0.001)。Pearson/Spearman 相关性分析显示, ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 与 MMP-16 mRNA 水平呈负相关($r=-0.603, P<0.001$); ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平与动脉血二氧化碳分压、OI 均呈负相关, 与动脉血氧分压、血氧饱和度均呈正相关($r=-0.662, -0.782, 0.509, 0.535, P$ 均 <0.001), MMP-16 mRNA 水平与动脉血二氧化碳分压、OI 呈正相关, 与动脉血氧分压、血氧饱和度呈负相关($r=0.642, 0.752, -0.519, -0.587, P$ 均 <0.001)。ROC 曲线分析显示, 血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平单独与联合预测 ARDS 患儿死亡的曲线下面积分别为 0.793、0.781、0.888, 二者联合预测的曲线下面积大于单独预测($Z=1.995, 2.162, P=0.046, 0.031$)。**结论** ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平降低, MMP-16 mRNA 水平升高, 与病情加重和预后不良有关, 可作为 ARDS 患儿预后预测指标。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征; 微小 RNA-499a-5p; 基质金属蛋白酶 16; 炎症反应; 儿童

【中图分类号】 R725.6

【文献标识码】 A

Changes and clinical significance of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels in children with acute respiratory distress syndrome Song Yulei, Cao Jianshe, Wang Chengjuan, He Jie, Xiao Zhenghui, Zhang Xinping. Department of

Critical Medicine, Hunan Children's Hospital, Hunan Province, Changsha 410000, China

Corresponding author: Zhang Xinping, E-mail: 1057609573@qq.com

Funding program: Hunan Science and Technology Innovation Key Project (2020SK1014-3)

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the levels of serum microRNA-499a-5p (miR-499a-5p) and matrix metalloproteinase 16 (MMP-16) mRNA in children with acute respiratory distress syndrome (ARDS) and the severity and prognosis of the disease. **Methods** One hundred and five children with ARDS admitted to the Department of Critical Medicine of Hunan Children's Hospital from January 2019 to January 2022 were selected as the ARDS group. According to the oxygen index (OI), they were divided into 39 mild subgroups, 42 moderate subgroups, and 24 severe subgroups. According to the clinical outcome of 28 days in hospital, they were divided into 88 survival subgroups and 17 death subgroups. 47 healthy children were selected as the health control group. The serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels were detected by qPCR. Pearson/Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels and blood gas analysis indicators in children with ARDS. The predictive value of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels on the death of children with ARDS was analyzed by the receiver operating charac-

teristic curve (ROC). **Results** The level of serum miR-499a-5p in ARDS group was lower than that in healthy control group, and the level of MMP-16 mRNA was higher than that in healthy control group ($t=21.349, 24.932, P<0.001$). The level of serum miR-499a-5p in mild subgroup, moderate subgroup and severe subgroup decreased in turn, and the level of MMP-16 mRNA increased in turn ($F=215.087, 99.676, P<0.001$). Serum miR-499a-5p level in death subgroup was lower than that in survival subgroup, and MMP-16 mRNA level was higher than that in survival subgroup ($t=4.074, 3.907, P<0.001$). Pearson/Spearman correlation analysis showed that there was a negative correlation between serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA level in children with ARDS ($r=-0.603, P<0.001$). Serum miR-499a-5p level in children with ARDS was negatively correlated with arterial partial pressure of carbon dioxide and OI, positively correlated with arterial partial pressure of oxygen and saturation of blood oxygen ($r=-0.662, -0.782, 0.509, 0.535, P<0.001$), and MMP-16 mRNA level was positively correlated with arterial partial pressure of carbon dioxide and OI, negatively correlated with arterial partial pressure of oxygen and saturation of blood oxygen ($r=0.642, 0.752, -0.519, -0.587, P<0.001$). ROC curve analysis showed that the area under the curve predicted by serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels alone and jointly was 0.793, 0.781, 0.888, respectively, and the area under the curve predicted by the combination of the two was greater than that predicted alone ($Z=1.995, 2.162, P=0.046, 0.031$). **Conclusion** The lower serum miR-499a-5p level and the higher MMP-16 mRNA level in children with ARDS are related to the aggravation of the disease and poor prognosis, which can be used as prognostic indicators for children with ARDS.

【Key words】 Acute respiratory distress syndrome; MicroRNA-499a-5p; Matrix metalloproteinase 16; Inflammation; Children

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是由肺泡表面活性剂的原发性或继发性减少引起的一种以气体交换异常和急性低氧性呼吸衰竭为特征的呼吸系统疾病, 进展快、预后差, 是导致儿科重症监护室患儿死亡的重要原因^[1-2]。及时评估 ARDS 患儿病情严重程度和预后对患儿预后改善有重要意义。研究表明, 失控性炎性反应和肺泡上皮细胞、毛细血管内皮细胞损伤参与 ARDS 发生发展^[3-4]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 参与多种细胞因子转录调控, 在 ARDS 炎性反应中扮演重要角色^[5]。研究报告, 上调 miR-499-5p 表达能抑制脓毒症诱导的肺组织炎性反应^[6]。基质金属蛋白酶 16 (matrix metalloproteinase 16, MMP-16) 是一种膜结合型酶, 能通过激活 MMP2、MMP9 参与上皮细胞和毛细血管内皮细胞损伤^[7-8]。目前, 关于血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与 ARDS 患儿病情严重程度和预后的关系尚无研究报告, 因此现对其进行研究以期改善 ARDS 患儿预后提供参考依据, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 1 月—2022 年 1 月湖南省儿童医院重症医学科收治的 ARDS 患儿 105 例作为 ARDS 组, 其中男 71 例, 女 34 例; 年龄 1~12 (5.68 ± 1.56) 岁; 体重 12~51 (25.47 ± 6.22) kg; ARDS 病因: 感染 54 例, 创伤 22 例, 肺栓塞 24 例, 其他 5 例; 参考“小儿急性呼吸窘迫综合征: 小儿急性肺损伤会议共识推荐”^[9] 根据氧指数 (OI) 分为轻度亚组 39 例 (OI 4~<8)、中度亚组 42 例 (OI 8~<16)、重度亚组 24

例 (OI ≥ 16)。并根据 ARDS 患儿 28 d 临床结局分为存活亚组 88 例和死亡亚组 17 例。另选取同期医院体检健康儿童 47 例为健康对照组, 其中男 29 例, 女 18 例; 年龄 1~12 (5.74 ± 1.60) 岁; 体重 12~54 (25.42 ± 5.62) kg; 2 组儿童一般资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准 (2019 伦字 023), 受试儿家属或监护人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“小儿急性呼吸窘迫综合征: 小儿急性肺损伤会议共识推荐”^[9] 中小儿 ARDS 诊断标准; ②年龄 1~12 岁。(2) 排除标准: ①先天性疾病; ②膈疝、表面活性物质、肺腺瘤样畸形等遗传性缺陷; ③脑性过度换气; ④恶性肿瘤; ⑤严重肝肾功能障碍; ⑥资料不全。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 检测: 收集 ARDS 组入院时、健康对照组入组时受试儿肘静脉血 3 ml, 离心取上层血清保存于 -80℃ 冰箱中待测。Trizol 试剂盒 (上海冠泰生物科技有限公司) 提取血清总 RNA, 纯度、浓度合格后使用反转录试剂盒 (日本 TaKaRa Bio 公司) 逆转录合成 cDNA, 反转录体积 10 μl; 5 × PrimeScript RT Master Mix 2.0 μl、RNA 2.0 μl、RNase Free H₂O 6.0 μl; 反应条件: 37℃ 逆转录反应 15 min、85℃ 逆转录酶失活反应 5 s、4℃ 反应至结束后保存于 -20℃ 冰箱中。按照 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒 (日本 TaKaRa Bio 公司) 进行 PCR 扩增: miR-499a-5p 正向引物 5'-ACTGCTTAAGACTTGGAGT-

GA-3', 反向引物 5'-TACATTGGTGTCTCGTGGAGTCG-GCAA-3';内参 U6 正向引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCA-CA-3', 反向引物 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3';MMP-16 mRNA 正向引物 5'-AGCACTGGAAGACGGTT-GG-3', 反向引物 5'-CTCCGTTCCGCAGACTGTA-3';内参 GAPDH 正向引物 5'-GCAAATTCCATGGCACCCT-3', 反向引物 5'-TCGCCCCACTTGATTTTGG-3'。PCR 反应体系 20 μ l:SYBR[®] Premix Ex Taq 10 μ l、正反向引物各 0.8 μ l、cDNA 模板 2.0 μ l、ROX Reference Dye 0.4 μ l、RNase Free H₂O 6.0 μ l;反应条件:95℃ 预变性 90 s、95℃ 变性 30 s、63℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 15 s,循环 40 次后收集熔解曲线,采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 相对表达量。

1.3.2 动脉血气分析:ARDS 患儿入儿科重症监护室后首次机械通气时与健康对照组体检时采用丹麦雷度米特 ABL9 血气分析仪进行动脉血气分析,包括动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)、动脉血氧分压(PaO₂)、血氧饱和度(SaO₂)、吸入氧浓度、平均气道压,并计算氧指数(oxygen index,OI)=吸入氧浓度×平均气道压×100/PaO₂。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 统计学软件处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较行 *t* 检验,多组间比较采用单因素趋势方差检验;偏态分布的计量资料以 *M*(*Q*₁,*Q*₃)表示,组间比较行 *U* 检验;Pearson/Spearman 相关性分析 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平对 ARDS 患儿死亡的预测价值,曲线下面积(AUC)比较采用 Hanley & McNeil 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平比较 ARDS 组血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平分别为(1.27±0.31)、(3.08±0.62),健康对照组分别为(2.85±0.46)、(1.07±0.37),ARDS 组血清 miR-

499a-5p 水平低于健康对照组,MMP-16 mRNA 水平高于健康对照组(*t*=21.349、24.932,*P*均<0.001)。2.2 不同亚组间 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平比较 轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-499a-5p 水平依次降低,MMP-16 mRNA 水平依次升高(*P*均<0.01)。死亡亚组血清 miR-499a-5p 水平低于存活亚组,MMP-16 mRNA 水平高于存活亚组(*P*均<0.01),见表 1。

表 1 不同亚组 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels in different subgroups of children with ARDS

组 别	例数	miR-499a-5p	MMP-16 mRNA
轻度亚组	39	1.54±0.22	2.51±0.36
中度亚组	42	1.25±0.15 ^a	3.32±0.47 ^a
重度亚组	24	0.86±0.13 ^{ab}	3.60±0.43 ^{ab}
<i>F</i> 值		215.087	99.676
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001
死亡亚组	17	1.00±0.25	3.58±0.51
存活亚组	88	2.98±0.59	1.32±0.30
<i>t</i> 值		4.074	3.907
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:与轻度亚组比较,^a*P*<0.05;与中度亚组比较,^b*P*<0.05

2.3 2 组动脉血气分析比较 ARDS 组 PaCO₂、OI 高于健康对照组,PaO₂、SaO₂ 低于健康对照组(*P*均<0.01),见表 2。

2.4 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性 经 https://www.targetscan.org/vert_72/网站预测,miR-499a-5p 与 MMP-16 的 3'-非翻译区存在结合位点(图 1)。Pearson/Spearman 相关性分析显示,ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 与 MMP-16 mRNA 水平呈负相关(*r*=-0.603,*P*<0.001);ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平与 PaCO₂、OI 呈负相关,与 PaO₂、SaO₂ 呈正相关(*P*均<0.01),MMP-16 mRNA 水平与 PaCO₂、OI 呈正相关,与 PaO₂、SaO₂ 呈负相关(*P*均<0.01),见表 3。

表 2 ARDS 组与健康对照组动脉血气分析指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of arterial blood gas analysis indexes between ARDS group and healthy control group

组 别	例数	PaCO ₂ (mmHg)	PaO ₂ (mmHg)	SaO ₂ (%)	OI*
健康对照组	47	40.27±5.53	105.06±13.49	98.61±1.87	1.83(1.65, 2.09)
ARDS 组	105	58.42±9.14	75.70±21.89	77.79±8.41	9.31(5.39, 15.56)
<i>t</i> / <i>U</i> 值		12.614	8.491	16.749	9.833
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:*为 *M*(*Q*₁,*Q*₃)

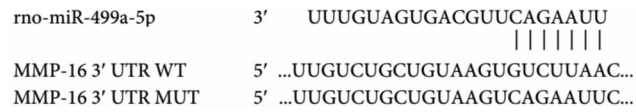


图1 miR-499a-5p 与 MMP-16 结合位点示意图
Fig. 1 miR-499a-5p and MMP-16 binding sites

表3 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性

Tab. 3 Correlation between serum miR-499a-5p, MMP-16 mRNA levels and blood gas analysis indicators in children with ARDS

变 量	miR-499a-5p		MMP-16 mRNA	
	r 值	P 值	r 值	P 值
PaCO ₂	-0.662	<0.001	0.642	<0.001
PaO ₂	0.509	<0.001	-0.519	<0.001
SaO ₂	0.535	<0.001	-0.587	<0.001
OI	-0.782 *	<0.001	0.752 *	<0.001

注: * 为 Spearman 相关性分析

2.5 血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平对 ARDS 患儿死亡的预测价值 ROC 曲线分析显示,血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平及二者联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 分别为 0.793、0.781、0.888,二者联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 大于单独预测 ($Z = 1.995、2.162, P = 0.046、0.031$),见表 4、图 2。

表4 血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平及二者联合对 ARDS 患儿死亡的预测价值

Tab. 4 serum miR-499a-5p, MMP-16 mRNA levels and their combined predictive value for the death of children with ARDS

指 标	最佳 截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
miR-499a-5p	1.28	0.793	0.703 ~ 0.866	0.941	0.534	0.475
MMP-16 mRNA	3.23	0.781	0.690 ~ 0.856	0.765	0.704	0.469
二者联合	—	0.888	0.812 ~ 0.941	0.824	0.886	0.710

3 讨 论

小儿 ARDS 是临床常见的危重症,与成人 ARDS 具备肺容积减少、肺顺应性降低和通气/血流比值失常等相似的病理特征,但在病因、危险因素、合并症和治疗预后方面仍存在较大差异^[10]。2015 年国际上首次制定了小儿 ARDS 共识,新共识根据 OI 或脉氧饱和度指数定义小儿 ARDS 和病情分级,而非成人 ARDS 的氧合指数^[9-11]。尽管近年来高级呼吸护理、外源性表面活性剂、营养和液体管理、皮质类固醇等方式和药物极大地改善了 ARDS 患儿预后,但病死率仍高达 17.3% ~

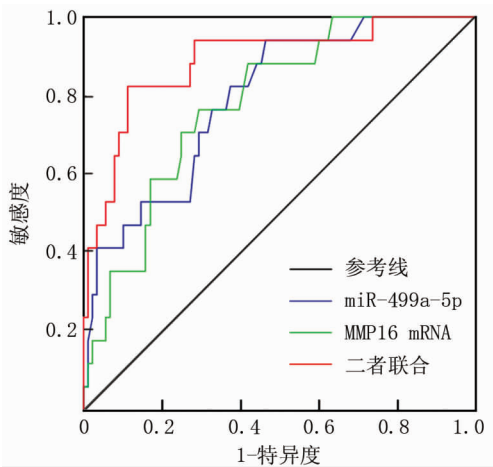


图2 血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平单独与联合预测 ARDS 患儿死亡的 ROC 曲线

Fig. 2 ROC curve for predicting death of children with ARDS by serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels alone and jointly

21.2%^[2,12]。因此,早期评估其病情严重程度和预后意义重大。

研究表明,失控性炎症反应参与 ARDS 发生发展,各种病因能直接或间接通过炎症反应破坏肺泡—毛细血管屏障中的肺泡上皮和肺毛细血管内皮,导致肺水肿和血管通透性增加,使肺功能持续恶化^[3]。miRNA 是一类小非编码 RNA 分子,通过与 mRNA 的 3'-非翻译区互补配对调控基因表达,进而参与 ARDS 发生发展^[13-14]。如 miR-223 能靶向 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 抑制肺微血管内皮细胞炎症反应、氧化应激和凋亡^[15]。miR-224 能靶向抑制 p21 增加肺微血管内皮细胞损伤^[16]。miR-499a-5p 是一种高度保守的 miRNA,定位于人 20 号染色体 q11.22,既往研究多报道其与恶性肿瘤的关系,近年研究发现,miR-499a-5p 还是一个与炎症反应密切相关的 miRNA。在脂多糖建立脓毒症心肌功能障碍模型中,上调 miR-499a-5p 能抑制脓毒症心肌功能障碍发生^[17]。Guan 等^[18]通过氧—糖剥夺建立星形胶质细胞炎症反应发现,上调 miR-499a 能靶向第 10 号染色体缺失的磷酸酶抑制星形胶质细胞炎症反应。上述研究提示,miR-499a-5p 具有抗炎作用。且近期研究指出,miR-499-5p 能靶向 SRY-Box 转录因子 6 抑制脓毒症诱导的肺损伤^[6]。本研究结果显示,ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平明显降低,且随着病情加重而降低,说明血清 miR-499a-5p 水平降低参与小儿 ARDS 发生发展,分析可能与 miR-499a-5p 具有抗炎作用有关。段凌霄等^[19]研究也报

道,在盲肠穿刺构建的 ARDS 大鼠模型中,上调 miR-499a-5p 表达能抑制肺泡上皮细胞中白介素-1 β 、白介素-6、肿瘤坏死因子- α 等促炎因子表达,减轻 ARDS 大鼠肺组织损伤。

肺泡上皮、肺毛细血管内皮和基底膜等构成的肺泡—毛细血管屏障破坏是 ARDS 发生的核心环节,基底膜降解是肺泡—毛细血管屏障破坏的重要原因之一^[20-21]。MMPs 是多种组织和细胞产生的一种胶原蛋白水解酶,因其能降解细胞外基质的各种蛋白组分而受到广泛关注,同时 MMPs 还能导致细胞—基质和细胞—细胞间作用变化,激活多种细胞因子和表面受体,参与炎症反应发生发展^[22]。MMP2 和 MMP9 是 MMP 家族常见成员,近年研究表明,MMP2、MMP9 能通过炎症反应和降解细胞外基质破坏肺泡—毛细血管屏障,参与 ARDS 发生发展^[23-25]。MMP-16 是 MMPs 家族中的一种膜结合型酶,也被称为膜型 MMP2 和膜型 MMP3,能通过切割 MMP2、MMP9 的前结构域促进 MMP2、MMP9 激活^[8]。本研究结果显示,ARDS 患儿血清 MMP-16 mRNA 水平明显升高,且随着病情加重而升高,说明血清 MMP-16 mRNA 水平升高参与小儿 ARDS 发生发展,分析可能与 MMP-16 mRNA 表达上调能促进 MMP2、MMP9 表达,二者通过炎症反应和降解细胞外基质破坏肺泡—毛细血管屏障参与 ARDS 发生发展有关。本研究通过 TargetScan 7.2 数据库预测发现,miR-499a-5p 与 MMP-16 的 3'-非翻译区存在结合位点,Pearson 相关性分析也显示,二者在 ARDS 患儿血清中表达呈负相关,提示 miR-499a-5p 与 MMP-16 可能共同参与小儿 ARDS 发生发展。有研究通过荧光素酶报告基因实验证实,上调 miR-499a-5p 能靶向下调 MMP-16 表达,降低肺泡中促炎细胞因子表达,减轻 ARDS 大鼠的肺损伤^[19]。进一步证实 miR-499a-5p、MMP-16 共同参与 ARDS 发生发展。本研究通过分析血清 miR-499a-5p、MMP-16 水平与 ARDS 患儿预后的关系发现,与存活亚组比较,死亡亚组血清 miR-499a-5p 水平明显降低而 MMP-16 mRNA 水平明显升高,提示血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平还与 ARDS 患儿预后有关。ROC 曲线分析也显示,血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 分别为 0.793、0.781,说明二者可作为 ARDS 患儿预后的辅助预测指标。分析原因可能是血清 miR-499a-5p 越低和 MMP-16 mRNA 水平越高反映 ARDS 患儿肺泡—毛细血管屏障破坏越严重,导致肺功能和结构进一步恶化,因此死亡风险更高。同时本研究 ROC 曲线分析还显示,血清 miR-499a-5p、MMP-16

mRNA 水平联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 为 0.888,较二者单独预测的 AUC 显著增加,说明联合检测血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平能提升 ARDS 患儿预后预测价值,有利于指导临床制定治疗对策以改善 ARDS 患儿预后。

综上所述,ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平低表达,MMP-16 mRNA 水平高表达,二者可能共同参与小儿 ARDS 发生发展,与 ARDS 患儿病情严重程度和预后密切相关,可作为 ARDS 患儿预后预测指标。但本研究样本量较少,还需多中心大样本研究进一步证实;同时关于 miR-499a-5p、MMP-16 参与 ARDS 的机制有待进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

宋宇雷:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;曹建设:课题设计,论文撰写;王承娟:进行统计学分析;贺杰:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;肖政辉、张新萍:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] 中华医学会灾难医学分会,中国医师协会急救复苏与灾难医学分会,中国医学救援协会救援防护分会. ARDS 患者肺康复训练专家共识[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志,2022,17(4):421-426. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2022.04.001.
- Disaster Medicine Branch of Chinese Medical Association, Emergency Resuscitation and Disaster Medicine Branch of Chinese Medical Doctor Association, Rescue Protection Branch of China Medical Rescue Association. Expert consensus on pulmonary rehabilitation training for ARDS patients[J]. Chin J Emerg Resusc Disaster Med, 2022, 17(4):421-426. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2022.04.001.
- [2] Shein SL, Maddux AB, Klein MJ, et al. Epidemiology and outcomes of critically ill children at risk for pediatric acute respiratory distress syndrome: A pediatric acute respiratory distress syndrome incidence and epidemiology study[J]. Crit Care Med, 2022, 50(3):363-374. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005287.
- [3] Kaku S, Nguyen CD, Htet NN, et al. Acute respiratory distress syndrome: Etiology, Pathogenesis, and Summary on Management[J]. J Intensive Care Med, 2020, 35(8):723-737. DOI: 10.1177/0885066619855021.
- [4] 陈飞杨,张谦,李健权.肺泡 II 型上皮细胞周期调控在 ARDS 发病中的研究进展[J]. 贵州医药,2021,45(7):1037-1038. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2021.07.007.
- Chen FY, Zhang Q, Li JQ. Research progress of alveolar type II epithelial cell cycle regulation in the pathogenesis of ARDS[J]. Guizhou Medicine Journal, 2021, 45(7):1037-1038. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2021.07.007.
- [5] 豆业芸,陈建荣,朱保峰,等.炎症相关 microRNA 在急性呼吸窘迫综合征中的研究进展[J]. 临床急诊杂志,2020,21(2):172-176. DOI:10.13201/j.issn.1009-5918.2020.02.016.
- Dou YY, Chen JR, Zhu BF, et al. Research progress of inflammation-

- related microRNAs in acute respiratory distress syndrome[J]. Journal of Clinical Emergency, 2020, 21 (2): 172-176. DOI: 10. 13201/j. issn. 1009-5918. 2020. 02. 016.
- [6] Zhang W, Li J, Yao H, et al. Restoring microRNA-499-5p protects sepsis-induced lung injury mice via targeting Sox6[J]. Nanoscale Res Lett, 2021, 16(1): 89. DOI: 10. 1186/s11671-021-03534-x.
- [7] 许崇玉, 王萍, 陈杨. 基质金属蛋白酶在 ARDS 发病机制中的作用[J]. 国际呼吸杂志, 2015, 35 (24): 1906-1909. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-436X. 2015. 24. 017.
- Xu CY, Wang P, Chen Y. Effect of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome[J]. Int J Respir Med, 2015, 35 (24): 1906-1909. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-436X. 2015. 24. 017.
- [8] Roth L, Kalev-Altman R, Monsonago-Ornan E, et al. A new role of the membrane-type matrix metalloproteinase 16 (MMP-16/MT3-MMP) in neural crest cell migration[J]. Int J Dev Biol, 2017, 61 (3-5): 245-256. DOI: 10. 1387/ijdb. 160286ds.
- [9] Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference Group. Pediatric acute respiratory distress syndrome: consensus recommendations from the Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference[J]. Pediatr Crit Care Med, 2015, 16 (5): 428-439. DOI: 10. 1097/PCC. 0000000000000350.
- [10] 时学秀, 孙同文. 急性呼吸窘迫综合征的诊治进展[J]. 中国研究型医院, 2022, 9 (1): 18-21. DOI: 10. 19450/j. cnki. jcrh. 2022. 01. 005.
- Shi XX, Sun TW. Progress in the diagnosis and treatment of acute respiratory distress syndrome[J]. Chinese Research Hospitals, 2022, 9 (1): 18-21. DOI: 10. 19450/j. cnki. jcrh. 2022. 01. 005.
- [11] 许峰, 王荃, 钱素云. 2015 年版“儿童急性呼吸窘迫综合征: 儿童急性肺损伤会议共识推荐”指南解读[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54 (5): 323-326. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2016. 05. 003.
- Xu F, Wang Q, Qian SY. Interpretation of the guideline of the 2015 edition of “Acute Respiratory Distress Syndrome in Children: Consensus Recommendations of the Children’s Acute Lung Injury Conference”[J]. Chin J Pediatr, 2016, 54 (5): 323-326. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2016. 05. 003.
- [12] Yehya N, Harhay MO, Klein MJ, et al. Predicting mortality in children with pediatric acute respiratory distress syndrome: A pediatric acute respiratory distress syndrome incidence and epidemiology study[J]. Crit Care Med, 2020, 48 (6): e514-e522. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000004345.
- [13] 龙光文, 张谦, 杨秀林, 等. miR-146b 对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中 ICAM-1 表达的调控作用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2021, 47 (3): 587-594. DOI: 10. 13481/j. 1671-587X. 20210307.
- Long GW, Zhang Q, Yang XL, et al. Regulation effect of miR-146b on expression of intercellular adhesion molecule-1 in lung tissue of rats with acute respiratory distress syndrome[J]. Journal of Jilin University: Medical Edition, 2021, 47 (3): 587-594. DOI: 10. 13481/j. 1671-587X. 20210307.
- [14] 邵峰, 金丽, 徐建如, 等. 微小核糖核酸-216a 调控 JAK2/STAT3 信号通路对急性呼吸窘迫综合征影响机制[J]. 心脑血管病杂志, 2021, 40 (7): 744-748. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-5062. 2021. 07. 022.
- Shao F, Jin L, Xu JR, et al. Mechanism of miR-216a regulating JAK2/STAT3 signaling pathway on acute respiratory distress syndrome[J]. Journal of Cardiovascular & Pulmonary Diseases, 2021, 40 (7): 744-748. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-5062. 2021. 07. 022.
- [15] Ji J, Ye W, Sun G. lncRNA OIP5-AS1 knockdown or miR-223 over-expression can alleviate LPS-induced ALI/ARDS by interfering with miR-223/NLRP3-mediated pyroptosis[J]. J Gene Med, 2022, 24 (4): e3385. DOI: 10. 1002/jgm. 3385.
- [16] 洪军, 刘景全, 公方晓, 等. 微小 RNA-224 通过靶向抑制 p21 参与调控脂多糖诱导的肺微血管内皮细胞损伤研究[J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37 (1): 81-83. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2020. 01. 023.
- Hong J, Liu JQ, Gong FX, et al. MicroRNA-224 mediates lipopolysaccharide - induced injury of pulmonary microvascular endothelium cells via regulating p21[J]. Chin J Exp Surg, 2020, 37 (1): 81-83. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2020. 01. 023.
- [17] Yang C, Wen K. Predictive value and regulatory mechanism of serum miR-499a-5p on myocardial dysfunction in sepsis[J]. J Cardiothorac Surg, 2021, 16 (1): 301. DOI: 10. 1186/s13019-021-01679-5.
- [18] Guan X, Zhang Y, Gareev I, et al. MiR-499a prevents astrocytes mediated inflammation in ischemic stroke by targeting PTEN[J]. Non-coding RNA Res, 2021, 6 (3): 146-152. DOI: 10. 1016/j. ncma. 2021. 09. 002.
- [19] 段凌霄, 李芹, 伍长学. miR-499a-5p 靶向 MMP-16 通过 Nrf2 信号通路减轻急性呼吸窘迫综合征大鼠的肺损伤[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2021, 20 (7): 487-494. DOI: 10. 7507/1671-6205. 201907059.
- Duan LX, Li Q, Wu CX. miR-499a-5p attenuates lung injury in rats with acute respiratory distress syndrome by targeting MMP-16 via Nrf2 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2021, 20 (7): 487-494. DOI: 10. 7507/1671-6205. 201907059.
- [20] Jain P, Nishiguchi A, Linz G, et al. Reconstruction of ultra-thin alveolar-capillary basement membrane mimics[J]. Adv Biol (Weinh), 2021, 5 (8): e2000427. DOI: 10. 1002/adbi. 202000427.
- [21] 彭晓婷, 李秋平. 血管内皮生长因子在急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征中的研究进展[J]. 中国小儿急救医学, 2021, 28 (5): 424-428. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4912. 2021. 05. 018.
- Peng XT, Li QP. Vascular endothelial growth factor in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome[J]. Chin Pediatr Emerg Med, 2021, 28 (5): 424-428. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4912. 2021. 05. 018.
- [22] 刘明明, 李爱玲, 修瑞娟. 基质金属蛋白酶的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34 (10): 1914-1920. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-4718. 2018. 10. 029.
- Liu MM, Li AL, Xiu RJ. Research progress on matrix metalloproteinases[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2018, 34 (10): 1914-1920. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-4718. 2018. 10. 029.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.014

论著·临床

儿童急性淋巴细胞白血病血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达及临床意义

卫雪利, 费英山, 张银娟, 刘静, 马金海

基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金(2018AAC02143)

作者单位: 750003 银川, 宁夏医科大学总医院儿内科(卫雪利、张银娟、刘静、马金海), 新生儿科(费英山)

通信作者: 马金海, E-mail: makhcn@163.com

【摘要】目的 探讨儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)血清糖基磷脂酰肌醇锚附着蛋白 1(GPAA1)和 Endocan mRNA 表达及临床意义。**方法** 选取 2018 年 1 月—2021 年 1 月宁夏医科大学总医院儿内科收治 ALL 患儿 86 例为 ALL 组, 根据 1 年后是否复发分为未复发亚组 70 例与复发亚组 16 例, 另选取医院同期体检健康儿童 54 例为健康对照组, 采用 qPCR 法检测血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达。采用 Pearson 相关性分析 ALL 患儿血清 GPAA1 mRNA 与 Endocan mRNA 表达的相关性, 多因素 Logistic 回归分析 ALL 患儿复发的影响因素, 受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达对 ALL 患儿复发的预测价值。**结果** ALL 组血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达高于健康对照组($t = 13.375, 17.485, P$ 均 < 0.001)。复发亚组血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达水平高于未复发亚组($t = 4.069, 3.791, P$ 均 < 0.001)。Pearson 相关性分析显示, 血清 GPAA1 mRNA 表达与 Endocan mRNA 表达呈正相关($r = 0.564, P < 0.001$)。多因素 Logistic 回归分析显示, 免疫表型 T-ALL、WBC $\geq 50 \times 10^9/L$ 、混合谱系白血病重排、危险度分型中高危及血清 GPAA1、Endocan mRNA 高表达为 ALL 患儿复发的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.958(1.612 ~ 4.748)、1.465(1.076 ~ 1.995)、1.979(1.094 ~ 3.581)、2.854(2.327 ~ 5.916)、1.512(1.054 ~ 2.170)、2.133(1.080 ~ 4.214)]。ROC 曲线分析显示, 血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达及二者联合预测 ALL 患儿复发的曲线下面积(AUC)分别为 0.786、0.784、0.866, 二者联合预测 ALL 患儿复发的 AUC 大于单独预测($Z = 2.574, 2.919, P = 0.010, 0.004$)。**结论** 儿童 ALL 血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达上调, 为 ALL 患儿复发的独立危险因素, 可作为 ALL 患儿复发的预测指标。

【关键词】 急性淋巴细胞白血病; 糖基磷脂酰肌醇锚附着蛋白 1; Endocan; 复发; 儿童

【中图分类号】 R733.71

【文献标识码】 A

Expression and clinical significance of serum GPAA1 and Endocan mRNA in children with acute lymphoblastic leukemia

Wei Xueli*, Fei Yingshan, Zhang Yinjuan, Liu Jing, Ma Jinhai. * Department of Pediatrics, General Hospital of Ningxia Medical University, Ningxia Province, Yinchuan 750003, China

Corresponding author: Ma Jinhai, E-mail: makhcn@163.com

Funding program: Natural Science Foundation of Ningxia Hui Autonomous Region (2018AAC02143)

【Abstract】 Objective To investigate the expression and clinical significance of glycosylphosphatidylinositol anchored protein 1 (GPAA1) and Endocan mRNA in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods** Eighty-six children with ALL who were admitted to the Department of Pediatrics of the General Hospital of Ningxia Medical University from January 2018 to January 2021 were selected as the ALL group. They were divided into 70 non relapse subgroups and 16 relapse subgroups according to whether they recurred one year later. In addition, 54 healthy children who were examined at the same time in the hospital were selected as the healthy control group. The expression of serum GPAA1 and Endocan mRNA was detected by qPCR method. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the expression of serum GPAA1 mRNA and Endocan mRNA in children with ALL, multifactor logistic regression analysis was used to analyze the factors affecting the recurrence of children with ALL, and the predictive value of serum GPAA1 and Endocan mRNA expression on the recurrence of children with ALL was analyzed by the subject's work characteristic curve (ROC). **Results** The expression of GPAA1 and Endocan mRNA in serum of ALL group was higher than that of healthy control group ($t = 13.375, 17.485, P < 0.001$). The expression levels of serum GPAA1 and Endocan mRNA in the recurrent subgroup

were higher than those in the non-recurrent subgroup ($t=4.069, 3.791, P<0.001$). Pearson correlation analysis showed that the expression of GPAA1 mRNA in serum was positively correlated with that of Endocan mRNA ($r=0.564, P<0.001$). Multivariate logistic regression analysis showed that the immune phenotype T-ALL and $WBC \geq 50 \times 10^9/L$, mixed lineage leukemia rearrangement, middle and high risk of risk classification, and high expression of serum GPAA1 and Endocan mRNA were independent risk factors for relapse in children with ALL [OR (95% CI) = 1.958 (1.612 – 4.748), 1.465 (1.076 – 1.995), 1.979 (1.094 – 3.581), 2.854 (2.327 – 5.916), 1.512 (1.054 – 2.170), 2.133 (1.080 – 4.214)]. ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum GPAA1, Endocan mRNA expression and their combined prediction of relapse in children with ALL were 0.786, 0.784 and 0.866, respectively. The AUC of the combined prediction of relapse in children with ALL was greater than that of the single prediction ($Z=2.574, 2.919, P=0.010, 0.004$). **Conclusion** The up-regulated expression of serum GPAA1 and Endocan mRNA in children with ALL is an independent risk factor of relapse in ALL children, and can be used as a predictor of relapse in ALL children.

【Key words】 Acute lymphoblastic leukemia; Glycosylphosphatidylinositol anchor attachment 1; Endocan; Recurrence; Children

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 是一种恶性造血系统疾病,因造血功能被破坏,可引起贫血、感染、出血和组织浸润等一系列临床症状,我国每年新发儿童白血病 1.5 万例,其中儿童 ALL 占 70% ~ 80%,是儿童最常见的恶性肿瘤^[1-2]。尽管国际上对 ALL 有较统一的诊断标准和不同系统治疗方案,但仍有部分儿童 ALL 会出现复发,其病理生理机制是研究热点。肿瘤发生发展是多基因、多因素参与的复杂过程,糖基磷脂酰肌醇锚附着蛋白 1 (glycosylphosphatidylinositol anchor attachment 1, GPAA1) 是糖基磷脂酰肌醇转移酶的关键亚基,参与糖基磷脂酰肌醇 (GPI) 锚结合到前体蛋白质上的过程,介导 GPI 锚定相关蛋白质^[3]。研究显示,GPAA1 过表达参与黑色素瘤、肝癌发生发展^[4-5]。Endocan 是一种内皮细胞特异性分子,参与体内炎症反应、血管生成和细胞周期、迁移、凋亡等调控^[6]。既往研究报道,Endocan 在伴发热性中性粒细胞减少症的儿童血清中升高,有助于监测白血病儿童有无发热性中性粒细胞减少症^[7]。目前,关于 GPAA1、Endocan mRNA 与儿童 ALL 的关系和临床意义尚不明确,本研究通过检测 ALL 患儿血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达,探讨二者与儿童 ALL 临床病理特征的关系及对 ALL 患儿复发的预测价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 1 月—2021 年 1 月宁夏医科大学总医院儿内科收治 ALL 患儿 86 例为 ALL 组,其中男 53 例,女 33 例;年龄 2 ~ 14 (7.20 ± 1.23) 岁,根据 1 年后是否复发分为未复发亚组 70 例与复发亚组 16 例。与未复发亚组比较,复发亚组 ALL 患儿免疫表型 T-ALL、 $WBC \geq 50 \times 10^9/L$ 、混合谱系白血病 (MLL) 重排阳性、有淋巴结肿大、危险度分型中高危

占比及血清 GPAA1、Endocan mRNA 水平升高 ($P < 0.05$),而 2 组性别、年龄、血红蛋白、BCR/ABL 等比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。另选取同期医院体检健康儿童 54 例为健康对照组,男 33 例,女 21 例;年龄 1 ~ 14 (7.17 ± 1.37) 岁;2 组儿童性别、年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准 (2017-063),受试家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 未复发亚组与复发亚组 ALL 患儿临床资料比较
Tab. 1 Comparison of clinical data of ALL children in non recurrent subgroup and recurrent subgroup

项 目		未复发亚组 ($n=70$)	复发亚组 ($n=16$)	χ^2/t 值	P 值
性别	男	43(61.43)	10(62.50)	0.006	0.937
[例(%)]	女	27(38.57)	6(37.50)		
年龄	≥ 10 岁	24(34.29)	9(56.25)	2.657	0.103
[例(%)]	< 10 岁	46(65.71)	7(43.75)		
免疫表型	T-ALL	21(30.00)	11(68.75)	8.370	0.004
[例(%)]	B-ALL	49(70.00)	5(31.25)		
血红蛋白	≥ 90 g/L	30(42.86)	4(25.00)	1.737	0.187
[例(%)]	< 90 g/L	40(57.14)	12(75.00)		
WBC	$\geq 50 \times 10^9/L$	42(60.00)	15(93.75)	6.637	0.010
[例(%)]	$< 50 \times 10^9/L$	28(40.00)	1(6.25)		
BCR/ABL	阳性	3(4.29)	3(18.75)	2.265	0.132
[例(%)]	阴性	67(95.71)	13(81.25)		
MLL 重排	阳性	2(2.86)	6(37.50)	14.657	< 0.01
[例(%)]	阴性	68(97.14)	10(62.50)		
淋巴结肿大	有	38(54.29)	13(81.25)	3.923	0.048
[例(%)]	无	32(45.71)	3(18.75)		
危险度分型	低危	55(78.57)	4(25.00)	17.353	< 0.01
[例(%)]	中高危	15(21.43)	12(75.00)		
GPAA1 mRNA($\bar{x} \pm s$)		7.39 ± 2.31	9.94 ± 2.03	4.069	< 0.01
Endocan mRNA($\bar{x} \pm s$)		4.96 ± 1.25	6.35 ± 1.61	3.791	< 0.01

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合“儿童急

性淋巴细胞白血病诊疗规范(2018 年版)”^[8]诊断标准;②初诊,入院前未接受任何抗肿瘤治疗;③接受中国儿童白血病协作组-ALL2008 方案^[9]治疗;④年龄≤14 岁。(2)排除标准:①合并其他部位恶性肿瘤;②合并其他血液系统疾病;③合并免疫系统疾病;④先天性畸形;⑤合并严重心、肝、肾功能损害;⑥难治性 ALL;⑦不能进行随访或中途失访。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达检测:收集 ALL 患儿确诊当日和健康对照组体检时空腹静脉血 3 ml,离心留取血清保存于 -80℃ 冰箱中待测。Trizol 法(北京凯诗源生物科技有限公司)提取血清总 RNA, TB Green Premix Ex TaqTM试剂盒(武汉科昊佳生物科技有限公司)逆转录合成 cDNA,按照 SYBR Green qPCR Mix 试剂盒(北京百迈客生物科技有限公司)说明书进行 PCR 扩增。引物设计合成由广州锐博生物技术有限公司完成:GPAA1 上游引物:5'-TCTCAAG-GCTCTGGAACG-3',下游引物:5'-GCCCCACACCCT-GTGATG-3';GPAA1 内参 GAPDH 上游引物:5'-CCTG-GCAGCCAGCACAAT-3',下游引物:5'-TGCCGTAGGT-GTCCCTTTG-3';Endocan mRNA 上游引物:5'-GGTG-GACTGCCCTCAACACT-3',下游引物:5'-AAGGTGC-CGTAGGGACAGTCT-3';Endocan 内参 GAPDH 上游引物:5'-TGAAGGTCCGAGTCAACGGATTTGGT-3',下游引物:5'-CATGTGGGCCATGAGGTCCACCAC-3'。反应条件:95℃ 90 s,95℃ 30 s,63℃ 30 s,72℃ 15 s,循环 40 次后进行熔融曲线分析,2^{-ΔΔCT}法计算血清 GPAA1、Endocan mRNA 相对表达量。

1.3.2 随访情况:所有 ALL 患儿经规范治疗后通过电话或门诊方式随访 1 年,观察 ALL 患儿复发情况。以治疗后再次出现骨髓中原始/幼稚淋巴细胞 >5% 定义为复发^[8]。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 软件分析处理数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;Pearson 相关性分析 ALL 患儿血清 GPAA1 mRNA 与 Endocan mRNA 表达的相关性;多因素 Logistic 回归分析 ALL 患儿复发的影响因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达对 ALL 患儿复发的预测价值,曲线下面积(AUC)比较采用 Hanley & McNeil 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达比较

ALL 组血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达水平为(8.36 ± 2.29)、(5.62 ± 1.13),高于健康对照组的(4.07 ± 1.50)、(2.37 ± 1.03),差异有统计学意义(*t* = 13.375、17.485, *P* 均 < 0.001)。

2.2 不同预后亚组间 ALL 患儿血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达比较 复发亚组血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达水平为(9.94 ± 2.03)、(6.35 ± 1.61),高于未复发亚组的(7.39 ± 2.31)、(4.96 ± 1.25),差异有统计学意义(*t* = 4.069、3.791, *P* 均 < 0.001)。

2.3 ALL 患儿血清 GPAA1 mRNA 与 Endocan mRNA 表达的相关性 ALL 患儿血清 GPAA1 mRNA 表达与 Endocan mRNA 表达呈正相关(*r* = 0.564, *P* < 0.001)。

2.4 ALL 患儿复发的多因素 Logistic 回归分析 随访 1 年,ALL 患儿 86 例复发 16 例(18.60%)。以 ALL 患儿是否复发(是为“1”,否为“0”)为因变量,以免疫表型(T-ALL 为“1”,B-ALL 为“0”)、WBC(≥50 × 10⁹/L 为“1”,<50 × 10⁹/L 为“0”)、MLL 重排(阳性为“1”,阴性为“0”)、淋巴结肿大(有为“1”,无为“0”)、危险度分型(中高危为“1”,低危为“0”)、GPAA1 mRNA(原值录入)、Endocan mRNA(原值录入)为自变量,建立多因素 Logistic 回归模型。结果显示,T-ALL、WBC ≥ 50 × 10⁹/L、MLL 重排阳性、危险度分型中高危及血清 GPAA1 mRNA 升高、Endocan mRNA 升高为 ALL 患儿复发的独立危险因素(*P* < 0.05),见表 2。

表 2 ALL 患儿复发的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 2 Multivariate Logistic regression analysis of relapse in ALL children

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
T-ALL	0.685	0.260	4.758	0.029	1.958	1.612 ~ 4.748
WBC ≥ 50 × 10 ⁹ /L	0.382	0.158	4.758	0.029	1.465	1.076 ~ 1.995
MLL 重排阳性	0.683	0.303	5.780	0.016	1.979	1.094 ~ 3.581
淋巴结肿大	0.568	0.638	3.365	0.067	1.765	0.505 ~ 6.169
危险度分型中高危	1.082	0.340	6.109	0.013	2.854	2.327 ~ 5.916
GPAA1 mRNA 升高	0.414	0.184	5.042	0.025	1.512	1.054 ~ 2.170
Endocan mRNA 升高	0.758	0.347	6.839	0.009	2.133	1.080 ~ 4.214

2.5 血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达预测 ALL 患儿复发的价值 绘制 ROC 曲线结果显示,血清 GPAA1、Endocan mRNA 及二者联合预测 ALL 患儿复发的 AUC 分别为 0.786、0.784、0.866,二者联合预测 ALL 患儿复发的 AUC 大于各项单独预测(*Z* = 2.574、2.919, *P* = 0.010、0.004),见表 3、图 1。

3 讨论

ALL 是起源于 T 系或 B 系淋巴细胞在髓内异常增生的恶性肿瘤,其特征是造血细胞的克隆性增殖停

表 3 血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达预测 ALL 患儿复发的价值

Tab.3 The value of serum GPAA1, Endocan mRNA expression in predicting relapse in children with ALL

指 标	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
GPAA1 mRNA	8.51	0.786	0.684 ~ 0.867	0.812	0.729	0.541
Endocan mRNA	5.68	0.784	0.683 ~ 0.866	0.750	0.743	0.493
二者联合	—	0.866	0.799 ~ 0.944	1.000	0.714	0.714

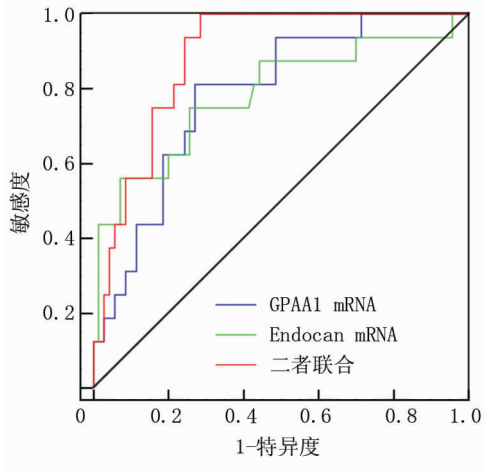


图 1 血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达单独及联合预测 ALL 患儿复发的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve for predicting recurrence of ALL children by serum GPAA1, Endocan mRNA expression alone or jointly

滞 在 原 始 的 低 分 化 阶 段 , 细 胞 功 能 失 调 的 白 细 胞 进 入 血 液 循 环 后 可 渗 入 全 身 组 织 器 官 , 导 致 正 常 血 细 胞 数 量 逐 渐 减 少^[10]。 目 前 , ALL 发 病 机 制 仍 未 完 全 明 确 , 可 能 与 病 毒 感 染 、 理 化 刺 激 、 遗 传 缺 陷 等 有 关^[11]。 尽 管 近 年 来 随 着 现 代 免 疫 学 、 分 子 生 物 学 和 遗 传 技 术 的 进 步 , 对 ALL 病 因 和 机 制 有 了 更 深 层 的 认 识 , 临 床 诊 断 和 个 体 化 治 疗 方 案 不 断 完 善 , 儿 童 ALL 的 5 年 生 存 率 可 达 90% , 但 仍 有 20% ~ 30% 的 患 儿 可 再 次 复 发 , 复 发 的 患 儿 生 存 率 不 足 50%^[12-14]。 因 此 有 必 要 进 一 步 研 究 ALL 患 儿 复 发 相 关 调 控 机 制 , 对 改 善 ALL 患 儿 治 疗 策 略 和 预 后 十 分 重 要 。

蛋 白 质 翻 译 后 修 饰 几 乎 参 与 细 胞 所 有 的 生 命 活 动 过 程 , 能 通 过 影 响 蛋 白 质 结 构 、 功 能 和 其 参 与 的 分 子 网 络 系 统 等 , 协 同 或 竞 争 地 调 控 蛋 白 质 功 能 , 参 与 肿 瘤 发 生 发 展^[15]。 GPI 与 蛋 白 质 C 末 端 以 共 价 形 式 相 连 接 , 是 真 核 生 物 中 一 种 常 见 的 蛋 白 质 翻 译 后 修 饰 , GPI 修 饰 的 蛋 白 质 能 通 过 GPI 锚 定 于 细 胞 膜 的 外 叶 , 调 节 锚 定 蛋 白 结 构 和 功 能 , 参 与 炎 性 反 应 、 信 号 转 录 、 蛋 白 降

解 、 染 色 体 稳 定 、 细 胞 增 殖 、 细 胞 死 亡 等 生 物 学 过 程^[16]。 既 往 研 究 证 实 , GPI 能 通 过 锚 定 癌 胚 抗 原 参 与 肿 瘤 进 展 , 也 能 通 过 锚 定 基 质 金 属 蛋 白 酶 促 进 肿 瘤 细 胞 上 皮 一 间 充 质 转 化^[17]。 糖 基 磷 脂 酰 肌 醇 转 移 酶 是 GPI 锚 合 成 不 可 缺 少 的 物 质 , GPAA1 则 是 糖 基 磷 脂 酰 肌 醇 转 移 酶 的 一 个 关 键 亚 基 , 自 身 不 参 与 GPI 锚 合 成 , 但 能 通 过 催 化 GPI 末 端 与 蛋 白 质 C 末 端 形 成 酰 胺 键 , 使 GPI 锚 定 蛋 白 质^[3]。 GPAA1 参 与 促 进 GPI 锚 定 蛋 白 质 , 而 GPI 能 通 过 锚 定 相 关 蛋 白 参 与 肿 瘤 发 生 发 展 。 研 究 发 现 , 在 胃 癌 中 GPAA1 过 表 达 能 促 进 GPI 锚 定 相 关 蛋 白 以 激 活 ERBB 信 号 通 路 , 促 进 胃 癌 生 长 和 转 移^[18]。 然 而 关 于 GPAA1 与 儿 童 ALL 的 关 系 尚 不 明 确 。 本 研 究 结 果 显 示 , ALL 患 儿 血 清 GPAA1 mRNA 表 达 明 显 上 调 , 为 ALL 患 儿 复 发 的 独 立 危 险 因 素 , 说 明 GPAA1 mRNA 参 与 儿 童 ALL 发 生 发 展 。 其 机 制 可 能 与 GPAA1 高 表 达 能 促 进 GPI 锚 定 蛋 白 表 达 , 激 活 c-myc 基 因 有 关 。 c-myc 是 一 种 原 癌 基 因 , 能 通 过 扩 增 和 染 色 体 易 位 重 排 方 式 激 活 , 参 与 包 括 ALL 在 内 的 几 乎 所 有 的 恶 性 肿 瘤 进 展^[19]。 Zhang 等^[20] 研 究 发 现 , GPAA1 与 c-myc 均 定 位 于 人 染 色 体 8q24 , 荧 光 素 酶 报 告 基 因 证 实 GPAA1 能 靶 向 上 调 c-myc 促 进 ALL 细 胞 恶 性 进 展 。

尽 管 ALL 是 一 种 “ 液 体 ” 肿 瘤 , 但 ALL 仍 然 存 在 骨 髓 血 管 新 生 现 象 , 骨 髓 血 管 新 生 能 通 过 增 加 骨 髓 血 管 密 度 促 进 ALL 进 展^[21]。 血 管 内 皮 细 胞 的 新 陈 代 谢 对 骨 髓 血 管 新 生 至 关 重 要 , Endocan 是 主 要 由 活 化 细 胞 分 泌 并 受 多 种 细 胞 因 子 调 节 的 可 溶 性 硫 酸 皮 肤 素 糖 蛋 白 , 能 通 过 多 种 信 号 转 导 途 径 参 与 炎 性 反 应 、 血 管 生 成 、 维 持 血 管 内 皮 完 整 等 众 多 病 理 生 理 过 程^[22]。 既 往 研 究 发 现 , Endocan 能 介 导 血 管 内 皮 生 长 因 子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 通 过 促 进 血 管 新 生 参 与 糖 尿 病 视 网 膜 病 变 进 展^[23]。 近 年 研 究 发 现 , Endocan 介 导 的 血 管 新 生 等 过 程 也 参 与 多 种 恶 性 肿 瘤 进 展 , 如 Endocan 能 通 过 介 导 VEGF 诱 导 浸 润 性 膀 胱 癌 血 管 生 成 , 促 进 肿 瘤 进 展^[24]。 在 乳 腺 癌 耐 药 性 研 究 中 , Endocan 过 表 达 能 增 加 乳 腺 癌 放 疗 耐 药 性 , 敲 除 Endocan 能 抑 制 乳 腺 癌 细 胞 增 殖 和 侵 袭^[25]。 本 研 究 结 果 显 示 , ALL 患 儿 血 清 Endocan mRNA 表 达 明 显 上 调 , 分 析 是 ALL 患 儿 因 血 液 系 统 异 常 引 起 的 血 小 板 异 常 、 凝 血 因 子 异 常 、 白 细 胞 浸 润 等 损 伤 血 管 内 皮 , 导 致 血 管 内 皮 活 化 释 放 Endocan。 进 一 步 分 析 显 示 , 血 清 Endocan mRNA 高 表 达 为 ALL 患 儿 复 发 的 独 立 危 险 因 素 , 说 明 Endocan mRNA 参 与 儿 童 ALL 发 生 发 展 。 分 析 与 Endocan 能 通 过 介 导 VEGF 促 进 骨 髓 血 管 新 生 ,

进而促进 ALL 进展有关。VEGF 是介导血管新生的关键调节因子,参与白血病骨髓血管新生过程,Endocan 能通过磷脂酰肌醇 3-激酶途径上调 VEGF 表达^[26]。本研究结果还显示,T-ALL、WBC $\geq 50 \times 10^9/L$ 、MLL 重排/危险度分型中高危也能独立影响 ALL 患儿复发,分析原因:研究表明,T-ALL 在确诊时至少属于中危危险度分型,且在诱导缓解过程中对药物反应不如 B-ALL 敏感,因此更容易复发^[14]。WBC 增加是 ALL 患者最常见表现,与造血细胞恶性增生进入外周血循环有关,WBC 越高反映 ALL 患儿髓内异常增生越严重,因此复发风险更高。MLL 重排能通过产生嵌合基因促进致癌融合蛋白转录,对白血病细胞增殖和自我更新具有重要作用,研究显示,尽管 MLL 重排在儿童 ALL 中发生率较低,但 79% 的 ALL 患儿复发与其相关^[27]。危险度分型是临床常用的儿童 ALL 危险度分组标准,中高危反映 ALL 患儿初始肿瘤细胞遗传学特征更严重,对治疗的敏感性更差,因此复发风险增加^[8]。本研究通过相关性分析发现,ALL 患儿血清 GPAA1 mRNA 表达与 Endocan mRNA 表达呈正相关,提示 GPAA1 可能和 Endocan 共同参与 ALL 患儿复发,其机制可能是 GPAA1 能促进 GPI 锚定 Endocan 蛋白质,促进 Endocan 表达,但具体机制还需进一步研究。最后本研究通过 ROC 曲线分析发现,血清 GPAA1、Endocan mRNA 可单独作为 ALL 患儿复发的预测指标,且联合检测血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达能提升预测价值,但仍需多中心大样本研究证实。

综上所述,ALL 患儿血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达升高,为 ALL 患儿复发的独立危险因素,可作为 ALL 患儿复发的辅助预测指标,且二者联合能提升辅助预测价值。由于研究时间限制,未进一步分析血清 GPAA1、Endocan mRNA 表达与儿童 ALL 长期预后的关系,有待进一步深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

卫雪利:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;费英山:提出研究思路,分析试验数据,进行统计学分析,论文审核;张银娟:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;刘静:课题设计,论文修改;马金海:设计研究方案,论文审核

参考文献

[1] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会,中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南(2021 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2021, 42 (9) : 705-716. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-2727. 2021. 09. 001. Hematology Oncology Committee, Chinese Anti-Cancer Association, Leukemia & Lymphoma Group, Chinese Society of Hematology, Chinese Medical Association. Chinese guidelines for diagnosis and treat-

ment of adult acute lymphoblastic leukemia (2021) [J]. Chinese Journal of Hematology, 2021, 42 (9) : 705-716. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-2727. 2021. 09. 001.

[2] Global Burden of Disease 2019 Cancer Collaboration, Kocarnik JM, Compton K, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. JAMA Oncol, 2022, 8 (3) : 420-444. DOI: 10. 1001/jamaoncol. 2021. 6987.

[3] Xu Y, Jia G, Li T, et al. Molecular insights into biogenesis of glycosylphosphatidylinositol anchor proteins [J]. Nat Commun, 2022, 13 (1) : 2617. DOI: 10. 1038/s41467-022-30250-6.

[4] Gao Y, Li Y, Niu X, et al. Identification and validation of prognostically relevant gene signature in melanoma [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020 : 5323614. DOI: 10. 1155/2020/5323614.

[5] Ge S, Zhang Q, Yang X. GPAA1 promotes the proliferation, invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells by binding to RNA-binding protein SF3B4 [J]. Oncol Lett, 2022, 23 (5) : 160. DOI: 10. 3892/ol. 2022. 13280.

[6] 隋欢爽, 孙敬霞, 袁晶, 等. 内皮细胞特异性分子与子痫前期关系的研究进展 [J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48 (2) : 169-173. DOI: 10. 12280/gjfcx. 20200798.

Sui XS, Sun JX, Yuan J, et al. Research progress on the relationship between Endocan and Pre-Eclampsia [J]. Journal of International Obstetrics And Gynecology, 2021, 48 (2) : 169-173. DOI: 10. 12280/gjfcx. 20200798.

[7] Kiral E, Dinleyici EC, Bozkurt-Turhan A, et al. Serum Endocan levels in children with febrile neutropenia [J]. Hematol Rep, 2016, 8 (1) : 6110. DOI: 10. 4081/hr. 2016. 6110.

[8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗规范(2018 年版) [EB/OL]. (2018-10-16) [2022-05-31]. <http://www.nhc.gov.cn/ewebeditor/uploadfile/2018/10/201810-16180401747.doc>.

[9] 中华医学会儿科学分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第四次修订) [J]. 中华儿科杂志, 2014, 52 (9) : 641-644. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2014. 09. 001. Hematology Group of Pediatrics Branch of Chinese Medical Association, Editorial Board of "Chinese Journal of Pediatrics". Recommendations for the diagnosis and treatment of acute lymphoblastic leukemia in children (the fourth revision) [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2014, 52 (9) : 641-644. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2014. 09. 001.

[10] Brown P, Inaba H, Annesley C, et al. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2. 2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2020, 18 (1) : 81-112. DOI: 10. 6004/jncn. 2020. 0001.

[11] Pastorczak A, Domka K, Fidyk K, et al. Mechanisms of immune evasion in acute lymphoblastic leukemia [J]. Cancers (Basel), 2021, 13 (7) : 1536. DOI: 10. 3390/cancers13071536.

[12] Tang J, Yu J, Cai J, et al. Prognostic factors for CNS control in children with acute lymphoblastic leukemia treated without cranial irradi-

- ation [J]. Blood, 2021, 138 (4): 331-343. DOI: 10. 1182/blood. 2020010438.
- [13] 蔡娇阳,王宁玲,蒋慧,等. 儿童急性淋巴细胞白血病 2005 方案多中心远期临床报告[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56 (7): 511-517. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2018. 07. 008.
- Cai JY, Wang NL, Jiang H, et al. Long-term results of multicenter study based on childhood acute lymphoblastic leukemia 2005 protocol [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2018, 56 (7): 511-517. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2018. 07. 008.
- [14] 林艳艳,许岩,李慧. 儿童急性淋巴细胞白血病化学治疗常规药物耐药机制的研究进展[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2022, 42 (2): 211-217. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2022. 02. 012.
- Lin YY, Xu Y, Li H. Progress in research on the mechanism of drug resistance to conventional chemotherapeutic drugs in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Medical Science, 2022, 42 (2): 211-217. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2022. 02. 012.
- [15] 耿楼,顾文莉. 蛋白质的翻译后修饰与肿瘤代谢[J]. 生命的化学, 2020, 40 (4): 600-606. DOI: 10. 13488/j. smhx. 20190387.
- Geng L, Gu WL. Protein post-translational modifications and tumor metabolism [J]. Chemistry of Life, 2020, 40 (4): 600-606. DOI: 10. 13488/j. smhx. 20190387.
- [16] 陈茜茜,王立萍,余雯静,等. 糖基转移酶超家族在肿瘤转移中的作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2017, 44 (10): 877-887. DOI: 10. 16476/j. pibb. 2017. 0314.
- Chen XX, Wang LP, Yu WJ, et al. The role of glycosyltransferase superfamily in tumor metastasis [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2017, 44 (10): 877-887. DOI: 10. 16476/j. pibb. 2017. 0314.
- [17] Yip C, Foidart P, Noel A, et al. MT4-MMP: The GPI-anchored membrane-type matrix metalloproteinase with multiple functions in diseases [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (2): 354. DOI: 10. 3390/ijms20020354.
- [18] Zhang XX, Ni B, Li Q, et al. GAA1 promotes gastric cancer progression via upregulation of GPI-anchored protein and enhancement of ERBB signalling pathway [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38 (1): 214. DOI: 10. 1186/s13046-019-1218-8.
- [19] 刘雅惠,高露,王亚菁,等. c-Myc 调控肿瘤代谢作用机制的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52 (3): 379-386. DOI: 10. 11665/j. issn. 1000-5048. 20210316.
- Liu YH, Gao L, Wang YJ, et al. Advances in the research on mechanism of tumor metabolism regulated by c-Myc [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2021, 52 (3): 379-386. DOI: 10. 11665/j. issn. 1000-5048. 20210316.
- [20] Zhang JX, Wang JH, Sun XG, et al. GAA1 promotes progression of childhood acute lymphoblastic leukemia through regulating c-myc [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24 (9): 4931-4939. DOI: 10. 26355/eurrev_202005_21182.
- [21] Simioni C, Conti I, Varano G, et al. The complexity of the tumor microenvironment and its role in acute lymphoblastic leukemia: Implications for therapies [J]. Front Oncol, 2021, 5 (11): 673506. DOI: 10. 3389/fonc. 2021. 673506.
- [22] 周福亮,贾大林. 内皮细胞特异分子-1 在心血管疾病中的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2018, 24 (5): 554-557. DOI: 10. 16695/j. cnki. 1006-2947. 2018. 05. 028.
- Zhou FL, Jia DL. Advance of serum endothelial cell-specific molecule 1 in the cardiovascular diseases [J]. Progress of Anatomical Sciences, 2018, 24 (5): 554-557. DOI: 10. 16695/j. cnki. 1006-2947. 2018. 05. 028.
- [23] Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, De Hertogh G, et al. The angiogenic biomarker endocan is upregulated in proliferative diabetic retinopathy and correlates with vascular endothelial growth factor [J]. Curr Eye Res, 2015, 40 (3): 321-331. DOI: 10. 3109/02713683. 2014. 921312.
- [24] Roudnicky F, Poyet C, Wild P, et al. Endocan is upregulated on tumor vessels in invasive bladder cancer where it mediates VEGF-A-induced angiogenesis [J]. Cancer Res, 2013, 73 (3): 1097-1106. DOI: 10. 1158/0008-5472. CAN-12-1855.
- [25] Jin H, Rugira T, Ko YS, et al. ESM-1 overexpression is involved in increased tumorigenesis of radiotherapy-resistant breast cancer cells [J]. Cancers (Basel), 2020, 12 (6): 1363. DOI: 10. 3390/cancers12061363.
- [26] Song M, Wang H, Ye Q. Increased circulating vascular endothelial growth factor in acute myeloid leukemia patients: a systematic review and meta-analysis [J]. Syst Rev, 2020, 9 (1): 103. DOI: 10. 1186/s13643-020-01368-9.
- [27] 刘青,张娜,邵静波,等. MLL 基因重排阳性的儿童急性白血病患者临床特点及预后分析[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2021, 41 (7): 903-909. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2021. 07. 009.
- Liu Q, Zhang N, Shao JB, et al. Clinical characteristics and prognosis of pediatric acute leukemia patients with MLL gene rearrangements [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Medical Science, 2021, 41 (7): 903-909. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2021. 07. 009.

(收稿日期: 2022 - 07 - 17)

(上接 1074 页)

- [23] Lanchou J, Corbel M, Tanguy M, et al. Imbalance between matrix metalloproteinases (MMP-9 and MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) in acute respiratory distress syndrome patients [J]. Crit Care Med, 2003, 31 (2): 536-542. DOI: 10. 1097/01. CCM. 0000048626. 02184. F8.
- [24] Liang Y, Yang N, Pan G, et al. Elevated IL-33 promotes expression of

MMP2 and MMP9 via activating STAT3 in alveolar macrophages during LPS-induced acute lung injury [J]. Cell Mol Biol Lett, 2018, 23: 52. DOI: 10. 1186/s11658-018-0117-x.

- [25] Liang Q, Lin Q, Li Y, et al. Effect of SIS3 on extracellular matrix remodeling and repair in a lipopolysaccharide-induced ARDS rat model [J]. J Immunol Res, 2020, 2020: 6644687. DOI: 10. 1155/2020/6644687.

(收稿日期: 2022 - 07 - 25)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.015

论著·基础

FKBP11 下调对肾癌细胞增殖、迁移、侵袭及 TGF- β_1 /Smad3 通路的影响

张苗,何德娇,凌娜,李小丽,梁轶岚,张丽丽,胡威

基金项目:湖北省卫生健康委员会 2019—2020 年度指导性项目(WJ2019F159)

作者单位:430000 武汉大学人民医院肾内二科(张苗、何德娇、凌娜、李小丽、梁轶岚、胡威),老年病科(张丽丽)

通信作者:张丽丽, E-mail: humour214@163.com

【摘要】目的 探讨下调 FK506 结合蛋白 11 (FKBP11) 对肾细胞癌 (RCC) 细胞增殖、迁移、侵袭的影响及对转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)/Smad 同源物 3 (Smad3) 通路的作用。**方法** 2020 年 3 月—2021 年 3 月于武汉大学人民医院生物实验室进行实验。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和免疫印迹 (Western-blot) 法测定人正常肾小管上皮细胞系 (HK-2) 和 RCC 细胞系 (A498、ACHN、CaKi-1、786-O) 中 FKBP11 的 mRNA 和蛋白表达水平。将 786-O 细胞分为空白组 (不转染)、对照组 (转染阴性对照 siRNA)、si-FKBP11 组 (转染 si-FKBP11) 和 si-FKBP11 + LY364947 组 (转染 si-FKBP11 同时加入 TGF- β_1 /Smad3 通路抑制剂 LY364947), 采用 qRT-PCR 和 Western-blot 检测各组细胞中 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平, CCK-8 法和集落形成实验检测细胞的增殖活力, Transwell 小室检测细胞的侵袭和迁移能力, Western-blot 检测各组细胞中增殖细胞核抗原 (PCNA)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、凋亡抑制蛋白 (Twist)、锌指转录因子 (Snail)、TGF- β_1 、Smad3 及磷酸化 Smad3 (p-Smad3) 蛋白表达水平。**结果** 与正常肾小管上皮细胞系 HK-2 比较, RCC 细胞系 A498、ACHN、CaKi-1、786-O 中 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$), 且在 786-O 细胞中表达最高。与对照组比较, si-FKBP11 组细胞中 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平、细胞增殖能力、细胞侵袭和迁移能力及 PCNA、Vimentin、Twist、Snail、TGF- β_1 和 p-Smad3 蛋白水平显著降低, E-cadherin 蛋白水平显著增高 ($P < 0.05$); 与 si-FKBP11 组比较, si-FKBP11 + LY364947 组细胞增殖能力、细胞侵袭和迁移能力以及 PCNA、Vimentin、Twist、Snail、TGF- β_1 和 p-Smad3 蛋白水平显著降低, E-cadherin 蛋白水平显著增高 ($P < 0.05$); 而空白组与对照组上述各项指标变化比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** FKBP11 下调可通过抑制 TGF- β_1 /Smad3 通路激活进而抑制 RCC 细胞增殖、侵袭和迁移。

【关键词】 肾细胞癌; FK506 结合蛋白 11; 转化生长因子- β_1 /Smad 同源物 3 通路; 细胞增殖; 细胞侵袭; 细胞迁移

【中图分类号】 R737.11

【文献标识码】 A

Effects of down-regulation of FKBP11 on proliferation, migration, invasion and TGF- β_1 /Smad3 pathway of renal cancer cells

Zhang Miao*, He Dejiao, Ling Na, Li Xiaoli, Liang Yilan, Zhang Lili, Hu Wei. * Department of Nephrology II, People's Hospital of Wuhan University, Department of Geriatrics, Hubei Province, Wuhan 430000, China

Corresponding author: Zhang Lili, E-mail: humour214@163.com

Funding program: 2019-2020 Guidance Project of Hubei Provincial Health Commission (WJ2019F159)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of down-regulation of FK506-binding protein 11 (FKBP11) on the proliferation, migration and invasion of renal cancer (RCC) cells and its effect on the transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1)/Smad homolog 3 (Smad3) pathway. **Methods** From March 2020 to March 2021, experiments were conducted in the Biological Laboratory of the People's Hospital of Wuhan University. The mRNA of FKBP11 in human normal renal tubular epithelial cell line (HK-2) and RCC cell line (A498, ACHN, CaKi-1, 786-O) was determined by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) and western blotting (Western-blot) methods and protein expression levels. The 786-O cells were divided into blank group (not transfected), control group (transfected with negative control siRNA), si-FKBP11 group (transfected with si-FKBP11) and si-FKBP11 + LY364947 group (transfected with si-FKBP11 and added TGF- β_1 /Smad3 pathway inhibitor LY364947), the expression levels of FKBP11 mRNA and protein in cells of each group were detected by qRT PCR and Western blot, the proliferation activity of cells was detected by CCK-8 method and colony formation assay, the invasion and migration ability of cells were detected by Transwell chamber, and Western blot was detected proliferating cell nuclear antigen

(PCNA), E-cadherin (E-cadherin), vimentin (Vimentin), apoptosis inhibitory protein (Twist), zinc finger transcription factor (Snail), TGF- β_1 , Smad3 and phosphorylation in each group of cells Smad3 (p-Smad3) protein expression levels. **Results** Compared with the normal renal tubular epithelial cell line HK-2, the mRNA and protein expression levels of FKBP11 in RCC cell lines A498, ACHN, CaKi-1, and 786-O were significantly up-regulated ($P < 0.05$), and the expression was the highest in 786-O cells. Compared with the control group, the expression levels of FKBP11 mRNA and protein, the ability of cell proliferation, the ability of cell invasion and migration, and the protein levels of PCNA, Vimentin, Twist, Snail, TGF- β_1 and p-Smad3 in the si-FKBP11 group were significantly decreased, and the protein level of E-cadherin was significantly decreased. Compared with the si-FKBP11 group, the si-FKBP11 + LY364947 group had significantly lower cell proliferation ability, cell invasion and migration ability, PCNA, Vimentin, Twist, Snail, TGF- β_1 and p-Smad3 protein levels, E-cadherin protein level was significantly increased ($P < 0.05$); however, there was no significant difference between the blank group and the control group in the changes of the above indicators ($P > 0.05$). **Conclusion** Downregulation of FKBP11 can inhibit RCC cell proliferation, invasion and migration by inhibiting the activation of TGF- β_1 /Smad3 pathway.

【Key words】 Renal cell carcinoma; FK506 binding protein 11; Transforming growth factor- β_1 /mothers against decapentaplegic homolog 3 pathway; Cell proliferation; Cell invasion; Cell migration

肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 简称肾癌, 是常见的恶性肿瘤^[1]。RCC 对化疗和放疗的敏感性低, 仅有少数患者可通过免疫治疗获效^[2]。RCC 患者 5 年生存率相对较低, 尤其是 RCC 伴转移患者 5 年生存率不超过 10%^[3]。FK506 结合蛋白 (FK506-binding proteins, FKBP) 在多种肿瘤细胞的发生发展中具有重要作用, 参与调控癌细胞增殖、侵袭及迁移等^[4-6]。FK506 结合蛋白 11 (FK506-binding protein 11, FKBP11) 的基因表达水平与 RCC 患者的预后密切相关, 可作为潜在标志物评估 RCC 患者的预后^[7]。转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)/Smad 同源物 3 (mothers against decapentaplegic homolog 3, Smad3) 信号通路参与调控肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移等过程^[8-9]。本研究通过观察下调 FKBP11 对 RCC 细胞增殖、侵袭和迁移及 TGF- β_1 /Smad3 通路的影响, 探讨其在 RCC 中可能的作用机制, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞: 人正常肾小管上皮细胞系 HK-2 和 RCC 细胞系 A498、ACHN、CaKi-1、786-O 均购自美国 ATCC 细胞库。(2) 试剂、剂: DME 培养基、胰蛋白酶及 CCK-8 试剂盒均购自美国 BPB 公司; Lipofectamine 2000 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司; Trizol 试剂、qRT-PCR 反应试剂盒、LY364947 (TGF- β_1 /Smad3 通路抑制剂)、ECL 发光试剂及结晶紫均购自美国 Sigma 公司; FKBP11 siRNA (si-FKBP11) 和其阴性对照 siRNA 购自广州 Ruibo 公司; Transwell 小室购自美国 Corning 公司; 一抗兔抗人 FKBP11、增殖细胞核抗原 (PCNA)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、凋亡抑制蛋白 (Twist)、锌指转录因子 (Snail)、TGF- β_1 、 β -actin、Smad3 及磷酸化 Smad3 (p-Smad3) 均

购自英国 Abcam 公司; 所用引物由上海生工生物工程有限公司合成。(3) 仪器、设备: MG80 型二氧化碳细胞培养箱购于上海冠森生物科技有限公司; Multiskan™ FC 型酶标仪、Applied Biosystems 型 qRT-PCR 仪、NERLTM 型流式细胞仪及 E-Gel Imager 型凝胶成像仪均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司, TS100 型倒置显微镜购自日本 Nikon 公司。

1.2 实验方法 2020 年 3 月—2021 年 3 月于武汉大学人民医院生物实验室进行实验。

1.2.1 细胞培养: 人正常肾小管上皮细胞系 (HK-2) 和 RCC 细胞系 (A498、ACHN、CaKi-1、786-O) 培养于 DME 培养基 (含 10% 胎牛血清) 中, 在含 5% CO₂、饱和湿度的 37℃ 恒温细胞培养箱中培养。根据细胞生长状态, 细胞融合程度超过 80% 以上时, 更换培养基传代培养。用于检测 FKBP11 的 mRNA 和蛋白表达水平。

1.2.2 细胞分组与转染: 取对数期且生长状态良好的 786-O 细胞, 以 2×10^5 个/ml 的细胞密度接种于 6 孔细胞培养板中, 当细胞融合达到 80% 时, 将细胞分为 4 组, 正常培养细胞作为空白组, 其余 3 组按照 Lipofectamine 2000 试剂盒说明书分别转染阴性对照 siRNA、si-FKBP11 及 si-FKBP11 + LY364947 $3 \mu\text{l}$ ^[9], 依次作为对照组、si-FKBP11 组和 si-FKBP11 + LY364947 组, 转染 24 h 后检测各组细胞中 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 不同细胞系中 FKBP11 的 mRNA 表达水平检测: 收集 HK-2 和 RCC 细胞, 加入 Trizol 裂解液裂解细胞, 提取细胞的总 RNA, 将 RNA 反转录形成 cDNA, 通过荧光定量 PCR 测定 FKBP11 的 mRNA 表达水平。

实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 反应程序为:95℃ 30 s, 95℃ 5 s、56℃ 30 s、72℃ 30 s,共 40 个循环。FKBP11 引物:上游 5'-GGCGTAGGCGATTGGTTCCTA-3',下游 5'-CCATTCCATTTCAT-TTCTCTGGATCG-3'。GAPDH (内参)引物:上游 5'-CCCATGGCAAGTTCAAAGGCA-3',下游 5'-TGGTGAAGACGCCAGTAGATT-3'。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算细胞中 FKBP11 的 mRNA 相对表达量。

1.3.2 免疫印记 (Western-blot) 检测细胞中蛋白表达水平:蛋白裂解液从细胞中提取总蛋白。取蛋白样品使用 SDS-PAGE 胶电泳分离 100 min,通过湿转法将蛋白转移到 PVDF 膜上,随后添加 5% 脱脂牛奶在室温下封闭 2 h,随后加入一抗:FKBP11、PCNA、E-cadherin、Vimentin、Twist、Snail、TGF- β_1 、Smad3、p-Smad3 和 β -actin 低温过夜孵育,添加二抗孵育 2 h,添加 ECL 化学发光混合液反应 5 min,在凝胶成像仪中观察拍照。使用 Image J 软件分析条带灰度值。蛋白相对表达水平 = 目的蛋白条带灰度值/ β -actin 蛋白的灰度值。

1.3.3 786-O 细胞增殖检测:CCK-8 法检测细胞增殖活力。取各组处于对数期生长的 786-O 细胞,以细胞密度为 5×10^3 个/ml 接种到 96 孔细胞培养板中,培养 24、48、72 h 时,每孔依次添加 CCK-8 溶液 10 μ l,再继续培养箱中培养 2 h 后,使用酶标仪在 450 nm 波长下检测各孔的光密度值 (IOD),以光密度值来表示细胞的增殖活力。

集落形成实验检测各组细胞集落形成情况,各组处理后的 786-O 细胞 1×10^3 个接种在 6 孔板中孵育 2 周。4% 多聚甲醛固定细胞后通过 1% 结晶紫染色,通过显微镜拍照集落形成情况。对超过 50 个细胞的集落进行统计。

1.3.4 Transwell 小室实验检测各组 786-O 细胞的侵袭和迁移数目:在 Transwell 小室中预涂 Matrigel 基质胶 50 μ l,干燥备用。取各组处于对数期生长的 786-O 细胞,添加无血清的培养基重悬调整细胞密度为 2.5×10^4 个/ml,后吸取细胞悬浮液 200 μ l 接种 Transwell 小室上室中,下室添加含 10% 胎牛血清的完全培养基,培养 24 h 后,取出小室,使用 PBS 冲洗 2~3 次,添加甲醇固定细胞,后用棉签轻轻擦拭掉上室细胞,将下室细胞用 1% 结晶紫染色 30 min,在显微镜视野下观察,分别选取左上、右上、中部、左下及右下 5 个视野,计算穿膜细胞数目。迁移实验不需要添加基质胶,其余操作方法同侵袭实验。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件分析实验数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检

验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同细胞系中 FKBP11 表达水平比较 与正常肾小管上皮细胞系 HK-2 比较,RCC 细胞系 A498、ACHN、CaKi-1、786-O 中 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$),见图 1、表 1。其中 FKBP11 在 786-O 细胞中表达最高,故后续实验以 786-O 细胞为研究对象。

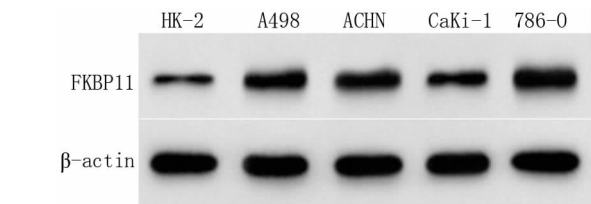


图 1 Western blot 检测 RCC 细胞与正常肾小管上皮细胞中 FKBP11 蛋白表达水平

Fig. 1 Western blot detection of FKBP11 protein expression in RCC cells and normal renal tubular epithelial cells

表 1 正常肾小管上皮细胞与 RCC 细胞中 FKBP11 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of FKBP11 expression levels in normal renal tubular epithelial cells and RCC cells

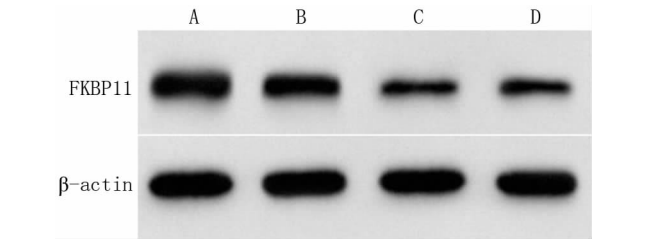
细胞系	<i>n</i>	FKBP11 mRNA	FKBP11 蛋白
HK-2	3	1.01 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.03
A498	3	1.52 $\pm$ 0.13 ^a	0.70 $\pm$ 0.06 ^a
ACHN	3	1.51 $\pm$ 0.11 ^a	0.66 $\pm$ 0.07 ^a
CaKi-1	3	1.46 $\pm$ 0.07 ^a	0.49 $\pm$ 0.05 ^{abc}
786-O	3	1.74 $\pm$ 0.16 ^a	0.87 $\pm$ 0.07 ^{abcd}
<i>F</i> 值		17.143	52.455
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:与 HK-2 比较,^a $P < 0.05$;与 A498 比较,^b $P < 0.05$;与 ACHN 比较,^c $P < 0.05$;与 CaKi-1 比较,^d $P < 0.05$

2.2 各组 786-O 细胞中 FKBP11 表达水平比较 与对照组比较,si-FKBP11 组 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$);空白组与对照组,si-FKBP11 组与 si-FKBP11 + LY364947 组细胞中 FKBP11 的 mRNA 和蛋白表达水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 2、表 2。

2.3 各组 786-O 细胞增殖活力比较 细胞培养 24 h 后,各组 786-O 细胞的增殖活力比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);培养 48、72 h 后,与对照组比较,si-FKBP11 组 786-O 细胞增殖活力明显降低 ($P < 0.05$);与 si-FKBP11 组比较,si-FKBP11 + LY364947 组 786-O 细胞增殖活力明显降低 ($P < 0.05$);而空白组与对照组

786-O 细胞增殖活力比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。此外,集落形成实验证实,与对照组比较, si-FKBP11 组集落形成明显减少 ($P < 0.05$); 与 si-FKBP11 组比较, si-FKBP11 + LY364947 组 786-O 细胞集落形成数量显著降低 ($P < 0.05$); 而空白组与对照组 786-O 细胞集落形成数量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3、表 3。



A. 空白组; B. 对照组; C. si-FKBP11 组; D. si-FKBP11 + LY364947 组
图 2 Western-blot 检测各组 786-O 细胞中 FKBP11 蛋白水平比较

Fig. 2 Western blot detection of FKBP11 protein levels in 786-O cells in each group

2.4 各组 786-O 细胞侵袭和迁移能力比较 与对照组比较, si-FKBP11 组 786-O 细胞中侵袭和迁移细胞

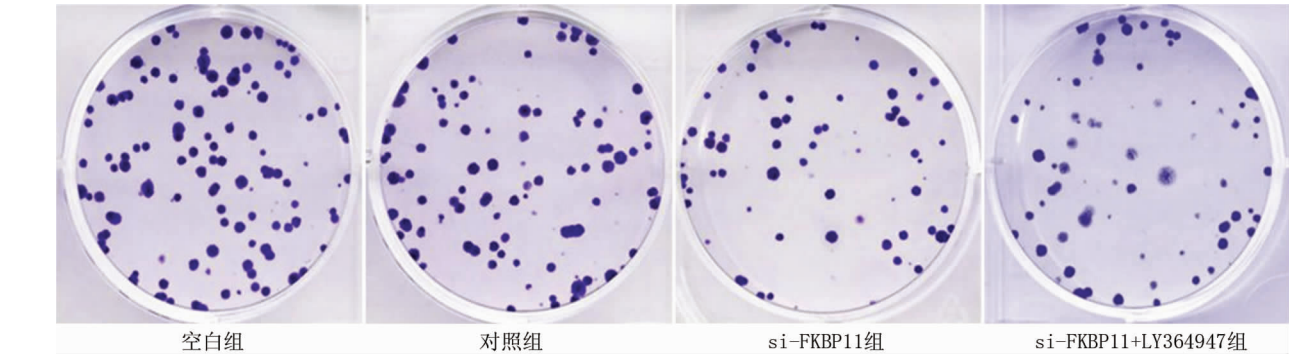


图 3 集落形成实验检测细胞增殖比较
Fig. 3 Comparison of cell proliferation detected by colony formation assay

表 3 各组 786-O 细胞增殖情况比较 ($\bar{x} \pm s$, IOD)
Tab. 3 The proliferation of 786-O cells in each group

组 别	n	细胞增殖活力			集落形成数量 (个)
		24 h	48 h	72 h	
空白组	3	0.36 ± 0.08	0.74 ± 0.09	1.11 ± 0.13	96.23 ± 8.76
对照组	3	0.34 ± 0.06	0.75 ± 0.06	1.09 ± 0.11	87.32 ± 7.12
si-FKBP11 组	3	0.31 ± 0.07	0.49 ± 0.04 ^a	0.73 ± 0.09 ^a	49.35 ± 4.18 ^a
si-FKBP11 + LY364947 组	3	0.29 ± 0.05	0.38 ± 0.03 ^b	0.55 ± 0.07 ^b	37.22 ± 3.98 ^b
F 值		0.667	28.789	21.714	61.330
P 值		0.596	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 si-FKBP11 组比较, ^b $P < 0.05$

表 2 各组 786-O 细胞中 FKBP11 mRNA 和蛋白表达水平比较
Tab. 2 FKBP11 mRNA and protein expression in 786-O cells in each group

组 别	n	FKBP11 mRNA	FKBP11 蛋白
空白组	3	1.02 ± 0.04	0.80 ± 0.07
对照组	3	0.99 ± 0.06	0.72 ± 0.06
si-FKBP11 组	3	0.42 ± 0.05 ^a	0.39 ± 0.04 ^a
si-FKBP11 + LY364947 组	3	0.45 ± 0.04	0.36 ± 0.03
F 值		140.129	55.230
P 值		<0.001	<0.001

注:与对照组比较, ^a $P < 0.05$

数目显著减少 ($P < 0.05$); 与 si-FKBP11 组比较, si-FKBP11 + LY364947 组 786-O 细胞中侵袭和迁移细胞数目显著减少 ($P < 0.05$); 而空白组与对照组 786-O 细胞中侵袭和迁移细胞数目比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 4、表 4。

2.5 各组 786-O 细胞中 PCNA、E-cadherin、Vimentin、Twist 和 Snail 蛋白表达水平比较 与对照组比较, si-FKBP11 组 786-O 细胞中 PCNA、Vimentin、Twist 和 Snail 蛋白水平显著降低 ($P < 0.05$), E-cadherin 蛋白水平显著升高 ($P < 0.05$); 与 si-FKBP11 组比较, si-FKBP11 + LY364947 组 786-O 细胞中 PCNA、Vimentin、Twist 和 Snail 蛋白水平显著降低 ($P <$

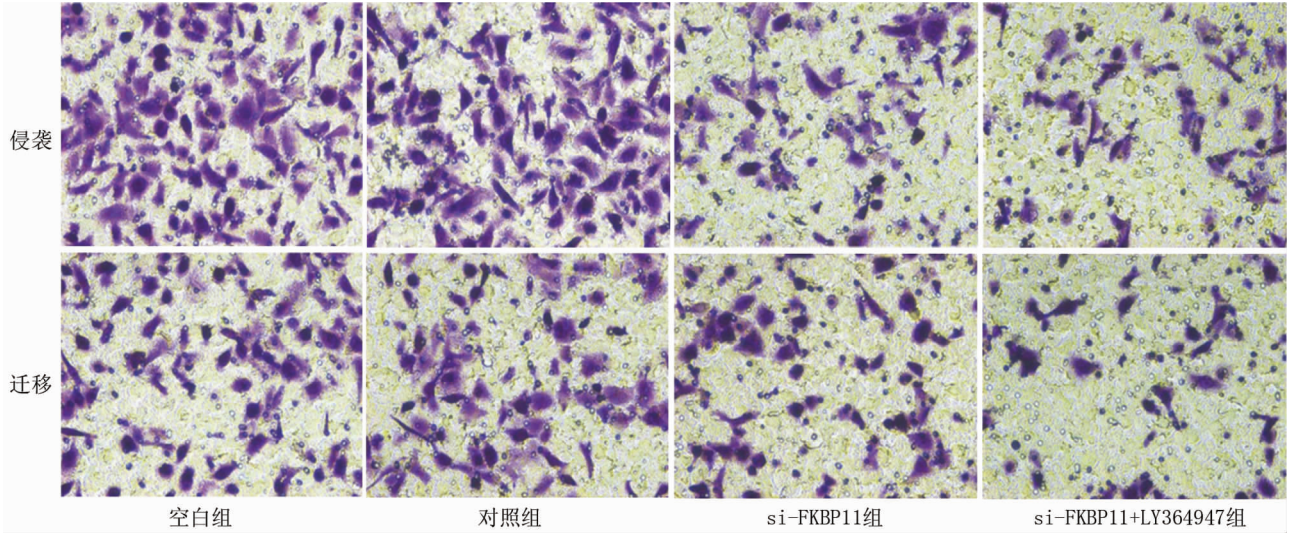


图 4 各组 786-O 细胞侵袭和迁移实验结果比较(×200)

Fig.4 Comparison of 786-O cell invasion and migration test results in each group (×200)

表 4 各组 786-O 细胞侵袭和迁移细胞数目比较 ($\bar{x} \pm s$, 个)
Tab.4 Comparison of the number of 786-O cells invading and migrating cells in each group

组 别	<i>n</i>	侵袭细胞数目	迁移细胞数目
空白组	3	80.15 ± 10.12	66.15 ± 8.79
对照组	3	81.54 ± 9.56	67.35 ± 7.56
si-FKBP11 组	3	56.89 ± 5.42 ^a	42.16 ± 4.26 ^a
si-FKBP11 + LY364947 组	3	42.15 ± 3.45 ^b	29.45 ± 3.17 ^b
<i>F</i> 值		18.561	25.560
<i>P</i> 值		0.001	<0.001

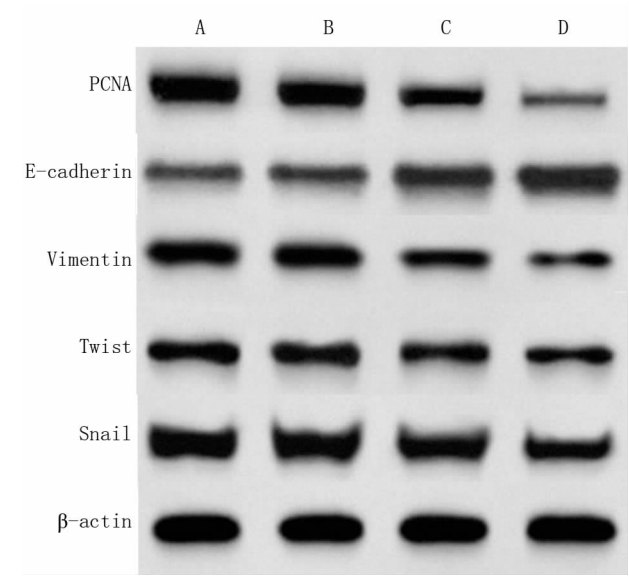
注:与对照组比较,^a*P* < 0.05;与 si-FKBP11 组比较,^b*P* < 0.05

0.05), E-cadherin 蛋白水平显著升高(*P* < 0.05);而空白组与对照组 786-O 细胞中上述蛋白表达水平比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见图 5、表 5。

2.6 各组 786-O 细胞中 TGF-β₁、Smad3 和 p-Smad3 蛋白表达水平比较 各组 786-O 细胞中 Smad3 蛋白表达水平比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。与对照组比较, si-FKBP11 组 786-O 细胞中 TGF-β₁ 和 p-Smad3 蛋白表达明显降低(*P* < 0.05);与 si-FKBP11 组比较, si-FKBP11 + LY364947 组 786-O 细胞中 TGF-β₁ 和 p-Smad3 蛋白表达明显降低(*P* < 0.05);而空白组与对照组 786-O 细胞中 TGF-β₁ 和 p-Smad3 蛋白表达水平比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见图 6、表 6。

3 讨 论

RCC 发病率占成人恶性肿瘤的 2% ~ 3%, 早期具有隐匿性, 约 30% 的患者初诊时就已经发生转移^[10-11]。传统的化学疗法和放射疗法对 RCC 治疗基



注: A. 空白组; B. 对照组; C. si-FKBP11 组; D. si-FKBP11 + LY364947 组
图 5 Western-blot 检测各组 786-O 细胞中 PCNA、E-cadherin、Vimentin、Twist 和 Snail 蛋白表达水平比较

Fig.5 Western-blot detection of PCNA, E-cadherin, Vimentin, Twist and Snail protein expression levels in 786-O cells in each group

本无效^[2], 因此发现新的有效的诊断方法和治疗方案尤为重要。

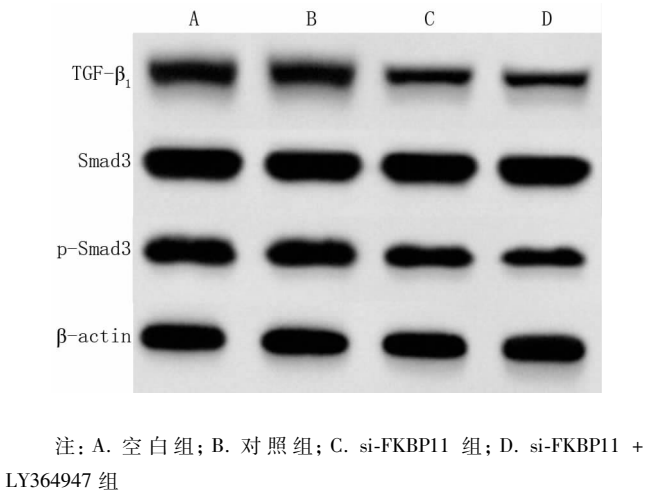
FKBPs 是一类包含肽基脯氨酸顺式/反式异构酶结构域的蛋白质家族, 可参与多种生物学功能, 如心脏调节功能、神经元的发育等, 且与多种疾病的发生发展密切相关^[7]。研究发现, FKBP11 可参与蛋白质的折叠和分泌^[12]。过表达的 FKBP11 是狼疮 B 细胞的

表 5 各组 786-O 细胞中 PCNA、E-cadherin、Vimentin、Twist 和 Snail 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Comparison of PCNA, E-cadherin, Vimentin, Twist and Snail protein levels in 786-O cells in each group

组 别	n	PCNA	E-cadherin	Vimentin	Twist	Snail
空白组	3	1.05 ± 0.11	0.37 ± 0.03	0.77 ± 0.08	0.70 ± 0.06	1.18 ± 0.12
对照组	3	1.01 ± 0.10	0.40 ± 0.05	0.74 ± 0.06	0.68 ± 0.07	1.15 ± 0.11
si-FKBP11 组	3	0.45 ± 0.06 ^a	0.78 ± 0.08 ^a	0.46 ± 0.04 ^a	0.51 ± 0.04 ^a	0.81 ± 0.09 ^a
si-FKBP11 + LY364947 组	3	0.29 ± 0.03 ^b	0.99 ± 0.10 ^b	0.31 ± 0.02 ^b	0.43 ± 0.02 ^b	0.52 ± 0.06 ^b
F 值		67.549	55.051	49.533	19.733	30.628
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 si-FKBP11 组比较,^b $P < 0.05$



注: A. 空白组; B. 对照组; C. si-FKBP11 组; D. si-FKBP11 + LY364947 组

图 6 Western-blot 检测 786-O 细胞中 TGF-β₁ 和 Smad3、p-Smad3 蛋白表达水平比较

Fig. 6 The protein expression levels of TGF-β₁, Smad3 and p-Smad3 in 786-O cells detected by Western-blot

表 6 各组 786-O 细胞中 TGF-β₁ 和 Smad3、p-Smad3 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 TGF-β₁ and Smad3, p-Smad3 protein levels in 786-O cells of each group

组 别	n	TGF-β ₁	Smad3	p-Smad3
空白组	3	0.86 ± 0.09	1.25 ± 0.13	0.97 ± 0.08
对照组	3	0.83 ± 0.10	1.24 ± 0.15	0.93 ± 0.09
si-FKBP11 组	3	0.44 ± 0.05 ^a	1.26 ± 0.11	0.58 ± 0.06 ^a
si-FKBP11 + LY364947 组	3	0.32 ± 0.03 ^b	1.21 ± 0.13	0.42 ± 0.03 ^b
F 值		41.651	0.082	45.495
P 值		<0.001	0.968	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 si-FKBP11 组比较,^b $P < 0.05$

特征之一,可破坏 B 细胞的耐受性并导致浆细胞分化^[13]。另外,FKBP11 表达可随着肝癌细胞的发展而逐渐增高,可成为肝细胞癌早期诊断的标志物之一^[14]。此外,也有研究证明,FKBP11 在肾透明细胞癌(ccRCC)组织中高表达,且其表达可随着 ccRCC 病理分级的增高而升高,与 ccRCC 的发生发展密切相关^[7]。但关于 FKBP11 在 RCC 中的作用机制还未见

详细报道。本研究结果显示,FKBP11 在 RCC 细胞系中高表达,与以往研究相似^[7],且在 786-O 细胞中 FKBP11 表达最高。进一步分析显示,FKBP11 下调可抑制 786-O 细胞的增殖、侵袭和迁移能力。同时结果表明,敲低 FKBP11 可降低 PCNA、Vimentin、Twist、Snail 蛋白水平,上调 E-cadherin 表达。已知 PCNA 主要在细胞核中表达,其蛋白水平可用来评估细胞的增殖状态^[15]。E-cadherin 水平降低及 Vimentin 水平升高是上皮-间质转化(EMT)发生的重要标志^[16]。以上结果说明,FKBP11 可通过调控细胞行为相关蛋白的表达进而参与 RCC 的发生发展过程,但 FKBP11 在 RCC 中的作用机制尚不清楚。

肿瘤的发生发展是一个极为复杂的过程,可由多种信号通路参与调控,其中 TGF-β₁/Smad3 信号通路为癌细胞发生发展的重要通路之一^[17]。有研究证明,TGF-β₁/Smad3 促进肾脏炎性反应和纤维化发展^[18]。此外有研究报道,雌激素受体 β(ERβ)可通过激活 TGF-β₁/Smad3/miRNAs 信号通路,进而影响 EMT 过程,促进 RCC 的侵袭和迁移作用,当此通路被抑制时,可逆转 ERβ 促进 RCC 发展过程,从而为有效抑制转移性 RCC 的新疗法提供基础^[19]。据报道, Twist 和 Snail 是 TGF-β₁/Smad3 通路上游转录因子,当其水平升高可促进通路激活^[20]。TGF-β₁ 和 p-Smad3 的蛋白水平则可反映 TGF-β₁/Smad3 通路状况,当二者水平增高时,表示此通路被激活,反之则为抑制^[21]。本研究结果显示,敲低 FKBP11 表达抑制 Twist、Snail、TGF-β₁ 和 p-Smad3 蛋白水平,表明敲低 FKBP11 表达可能抑制 TGF-β₁/Smad3 通路活化。进一步研究显示, TGF-β₁/Smad3 通路抑制剂部分逆转 FKBP11 下调对 RCC 细胞恶性行为及 TGF-β₁/Smad3 通路的影响。以上结果表明,下调 FKBP11 抑制 RCC 细胞恶性细胞行为,可能与抑制 TGF-β₁/Smad3 通路激活有关。

综上所述,下调 FKBP11 可抑制 RCC 细胞的增殖、侵袭和迁移,其机制可能与抑制 TGF-β₁/Smad3 通

路活化有关。然而本研究并未探究下调 FKBP11 影响 RCC 的发生发展过程是否还有其他通路的参与,还有待后续更深入的探究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张苗、张丽丽:构思、设计研究方案;何德娇、凌娜、李小丽:进行实验操作;梁轶岚、胡威:撰写论文,分析或解释数据;张苗:论文终审

参考文献

- [1] Dizman N, Arslan ZE, Feng M, et al. Sequencing therapies for metastatic renal cell carcinoma[J]. Urol Clin North Am, 2020, 47(3): 305-318. DOI:10.1016/j.ucl.2020.04.008.
- [2] Xu DD, Ding M, Tong P, et al. Synergistic effects of low-dose chemotherapy and T cells in renal cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2020, 44(3): 897-908. DOI:10.3892/or.2020.7679.
- [3] Wolf MM, Kimryn Rathmell W, Beckermann KE. Modeling clear cell renal cell carcinoma and therapeutic implications[J]. Oncogene, 2020, 39(17): 3413-3426. DOI:10.1038/s41388-020-1234-3.
- [4] Xia Z, Zhang G, Wang C, et al. The role of FKBP51 in the prognosis of ulcerative colitis-associated colorectal cancer[J]. Adv Med Sci, 2021, 66(1): 89-97. DOI:10.1016/j.advms.2021.01.003.
- [5] Knüppel L, Heinzelmann K, Lindner M, et al. FK506-binding protein 10 (FKBP10) regulates lung fibroblast migration via collagen VI synthesis[J]. Respir Res, 2018, 19(1): 67-75. DOI: 10.1186/s12931-018-0768-1.
- [6] Wang RG, Zhang D, Zhao CH, et al. FKBP10 functioned as a cancer-promoting factor mediates cell proliferation, invasion, and migration via regulating PI3K signaling pathway in stomach adenocarcinoma[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020, 36(5): 311-317. DOI: 10.1002/kjm2.12174.
- [7] Sun Z, Qin X, Fang J, et al. Multi-Omics analysis of the expression and prognosis for FKBP gene family in renal cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11(25): 697534-697548. DOI:10.3389/fonc.2021.697534.
- [8] Yao X, Cui X, Wu X, et al. Tumor suppressive role of miR-1224-5p in keloid proliferation, apoptosis and invasion via the TGF- β_1 /Smad3 signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(1): 713-720. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.10.070.
- [9] Li Y, Wang P, Ye D, et al. IGHG1 induces EMT in gastric cancer cells by regulating TGF- β /SMAD3 signaling pathway[J]. J Cancer, 2021, 12(12): 3458-3467. DOI:10.7150/jca.56056.
- [10] Lai Y, Tang F, Huang Y, et al. The tumour microenvironment and metabolism in renal cell carcinoma targeted or immune therapy[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(3): 1616-1627. DOI: 10.1002/jcp.29969.
- [11] Derosa L, Routy B, Fidelle M, et al. Gut bacteria composition drives

- primary resistance to cancer immunotherapy in renal cell carcinoma patients[J]. Eur Urol, 2020, 78(2): 195-206. DOI:10.1016/j.eururo.2020.04.044.
- [12] Preisendörfer S, Ishikawa Y, Hennen E, et al. FK506-binding protein 11 is a novel plasma cell-specific antibody folding catalyst with increased expression in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Cells, 2022, 11(8): 1341. DOI:10.3390/cells11081341.
- [13] Ruer-Laventie J, Simoni L, Schickel JN, et al. Overexpression of Fkbp11, a feature of lupus B cells, leads to B cell tolerance breakdown and initiates plasma cell differentiation[J]. Immun Inflamm Dis, 2015, 3(3): 265-279. DOI:10.1002/iid3.65.
- [14] Wang W, Li Q, Huang G, et al. Tandem mass tag-based proteomic analysis of potential biomarkers for hepatocellular carcinoma differentiation[J]. Onco Targets Ther, 2021, 14(1): 1007-1020. DOI: 10.2147/OTT.S273823.
- [15] Cardano M, Tribioli C, Prosperi E. Targeting proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as an effective strategy to inhibit tumor cell proliferation[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2020, 20(4): 240-252. DOI: 10.2174/1568009620666200115162814.
- [16] Niknami Z, Muhammadnejad A, Ebrahimi A, et al. Significance of E-cadherin and Vimentin as epithelial-mesenchymal transition markers in colorectal carcinoma prognosis[J]. EXCLI, 2020, 19(12): 917-926. DOI:10.17179/excli2020-1946.
- [17] Hu W, Zheng X, Liu J, et al. MicroRNA MiR-130a-3p promotes gastric cancer by targeting Glucosaminyl N-acetyl transferase 4 (GCNT4) to regulate the TGF- β_1 /SMAD3 pathway[J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 11634-11647. DOI:10.1080/21655979.
- [18] Tian F, Zhang ZY, Sun J, et al. Expression of miR-207 in renal tissue of renal fibrosis rats and its correlation analysis with protein expression of TGF- β_1 and Smad3[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2021, 25(2): 787-794. DOI:10.26355/eurrev_202101_24641.
- [19] Song W, He D, Chen Y, et al. Targeting newly identified ER β /TGF- β_1 /SMAD3 signals with the FDA-approved anti-estrogen Faslodex or an ER β selective antagonist in renal cell carcinoma[J]. Mol Oncol, 2018, 12(12): 2055-2071. DOI:10.1002/1878-0261.12377.
- [20] Wang B, Ge Z, Wu Y, et al. MFGE8 is down-regulated in cardiac fibrosis and attenuates endothelial-mesenchymal transition through Smad2/3-Snail signalling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(21): 12799-12812. DOI:10.1111/jcmm.15871.
- [21] Liu CM. Ampelopsin attenuates carbon tetrachloride-induced mouse liver fibrosis and hepatic stellate cell activation associated with the SIRT1/TGF- β_1 /Smad3 and autophagy pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 77(1): 105984-105991. DOI:10.1016/j.intimp.2019.105984.

(收稿日期:2022-05-11)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 016

论著 · 基础

lncRNA NRON 靶向 miR-185-5p 调节乳腺癌细胞化疗耐药性的机制研究

汪伶俐, 田武国, 赵健洁, 罗东林

基金项目: 重庆市科卫联合医学科研项目 (2019QNXM027)

作者单位: 400042 重庆, 陆军军医大学大坪医院乳腺甲状腺外科

通信作者: 罗东林, E-mail: ldl1967@ sina. com

【摘要】目的 探讨长链非编码 RNA 抑制因子活化 T 细胞 (lncRNA NRON) 对 miR-185-5p 的调控作用及其影响乳腺癌细胞增殖、凋亡及化疗耐药性的基因调控机制。**方法** 2020 年 8 月—2021 年 12 月于陆军军医大学大坪医院中心实验室进行实验。选取 2016 年 7 月—2020 年 7 月于医院乳腺甲状腺外科行手术切除的乳腺癌患者 26 例的癌组织及癌旁组织样本, 体外培养正常乳腺上皮细胞系 (MCF10A) 及乳腺癌细胞系 (MCF7、MDA-231、T47D、SKBR3、ZR7530、BT549、HCC1937、BT474)。qRT-PCR 法检测 lncRNA NRON、miR-185-5p 基因表达; 双荧光素酶试验验证 lncRNA NRON 与 miR-185-5p 的靶向关系。将 MCF7 乳腺癌细胞分为阴性对照 (NC) 组、plasmid NRON 组 (转染 lncRNA NRON 过表达载体)、plasmid NRON + mimic NC 组 (转染 plasmid NRON + mimic NC)、plasmid NRON + miR-185-5p mimic 组 (转染 plasmid NRON + miR-185-5p 模拟物), 分别给予 5-氟尿嘧啶 (5-FU)、顺铂 (DDP)、紫杉醇 (PTX) 培养, CCK-8 法检测细胞增殖情况 (OD 值)、半数抑制浓度 (IC_{50}) 及耐药指数 (R), 流式细胞术检测细胞凋亡, Western-blot 法检测胸苷酸合成酶 (TS) 表达, 裸鼠荷瘤实验验证化疗效果 (瘤体体积、ki67 表达)。**结果** 乳腺癌组织中 lncRNA NRON 表达低于癌旁组织, miR-185-5p 表达高于癌旁组织 ($P < 0.05$); 乳腺癌细胞系中 lncRNA NRON 表达低于正常乳腺上皮细胞系, miR-185-5p 表达高于正常乳腺上皮细胞系 ($P < 0.05$)。与 NC 组比较, plasmid NRON 组 MCF7 细胞对 5-FU、DDP、PTX 的 IC_{50} 及 R 值降低 ($P < 0.01$); OD 值降低, 凋亡率及 TS 表达升高 ($P < 0.01$); 裸鼠瘤体体积、ki67 表达降低 ($P < 0.01$)。双荧光素酶试验显示, lncRNA NRON 与 miR-185-5p 之间有靶向结合关系, lncRNA NRON 可靶向下调 miR-185-5p 表达。与 plasmid NRON 组比较, plasmid NRON + miR-185-5p mimic 组裸鼠瘤体体积升高 ($P < 0.05$), TS 蛋白降低 ($P < 0.05$); 而 plasmid NRON 组与 plasmid NRON + mimic NC 组比较上述指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** lncRNA NRON 可通过靶向下调 miR-185-5p 降低乳腺癌细胞对化疗药物的耐药性。

【关键词】 乳腺癌; 长链非编码 RNA 抑制因子活化 T 细胞; 微小 RNA-185-5p; 化疗耐药性

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

Mechanism of lncRNA NRON targeting miR-185-5p regulating chemoresistance of breast cancer cells Wang Lingli, Tian Wuguo, Zhao Jianjie, Luo Donglin. Department of Breast and Thyroid Surgery, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China

Corresponding author: Luo Donglin, E-mail: ldl1967@ sina. com

Funding program: Chongqing Science and Health Joint Medical Research Project (2019QNXM027)

【Abstract】Objective To investigate the regulatory effect of long chain non coding RNA inhibitor activated T cells (lncRNA NRON) on miR-185-5p and the gene regulatory mechanism of its effects on the proliferation, apoptosis and chemoresistance of breast cancer cells. **Methods** From August 2020 to December 2021, the experiment was conducted in the Central Laboratory of Daping Hospital, Army Medical University. The normal breast epithelial cell line (MCF10A) and breast cancer cell line (MCF7, MDA-231, T47D, SKBR3, ZR7530, BT549, HCC1937, BT474) were cultured in vitro from 26 patients with breast cancer who underwent surgical resection in the breast and thyroid surgery of the hospital from July 2016 to July 2020. The expression of lncRNA NRON and miR-185-5p gene was detected by qRT-PCR; The targeting relationship between lncRNA NRON and miR-185-5p was verified by double luciferase test. MCF7 breast cancer cells were divided into negative control (NC) group, plasmid NRON group (transfected with lncRNA NRON overexpression vector), plasmid NRON + mimic NC group (transfected with plasmid NRON + mimic NC), plasmid NRON + miR-185-5p mimic group (transfect-

ed with plasmid NRON + miR-185-5p simulant), respectively given 5-fluorouracil (5-FU), cisplatin (DDP), paclitaxel (PTX) culture, and cell proliferation (OD value) was detected by CCK-8 method Half inhibitory concentration (IC_{50}) and drug resistance index (R), apoptosis was detected by flow cytometry, expression of thymidylate synthase (TS) was detected by Western blot, and chemotherapy effect (tumor volume, ki67 expression) was verified by tumor bearing experiment in nude mice.

Results The expression of lncRNA NRON in breast cancer was lower than that in adjacent tissues, and the expression of miR-185-5p was higher than that in adjacent tissues ($P < 0.05$). The expression of lncRNA NRON in breast cancer cell line was lower than that in normal breast epithelial cell line, and the expression of miR-185-5p was higher than that in normal breast epithelial cell line ($P < 0.05$). Compared with NC group, IC_{50} and R values of MCF7 cells to 5-FU, DDP, PTX in plasma NRON group decreased ($P < 0.01$). OD value decreased, apoptosis rate and TS expression increased ($P < 0.01$). The tumor volume and ki67 expression in nude mice decreased ($P < 0.01$). The double luciferase assay showed that there was a targeted binding relationship between lncRNA NRON and miR-185-5p, and lncRNA NRON could target down regulate the expression of miR-185-5p. Compared with the plasmid NRON group, the tumor volume of nude mice in the plasmid NRON + miR-185-5p mimic group increased ($P < 0.05$), and TS protein decreased ($P < 0.05$). There was no significant difference in the above indicators between the plasma NRON group and the plasma NRON + mic NC group ($P > 0.05$). **Conclusion** LncRNA NRON can reduce the resistance of breast cancer cells to chemotherapy drugs by targeting down regulating miR-185-5p.

【Key words】 Breast cancer; Long chain non coding RNA inhibitor activated T cells; miR-185-5p; Chemotherapy resistance

乳腺癌是女性最主要的恶性肿瘤^[1]。乳腺癌和其他恶性肿瘤一样,由多种复杂的因素影响细胞增殖与凋亡的失衡、促癌与抑癌基因结构功能的改变、耐药蛋白及信号转导通路的异常,而最终影响细胞行为的进一步恶化^[2]。寻找新的抗癌靶点及探寻耐药机制一直是癌症研究的重点。长链非编码 RNA (lncRNAs) 可海绵化和隔离微小 RNA (miRNA) 以调节靶蛋白,影响细胞结构及功能机制的改变,因而受到研究者的关注^[3]。长链非编码 RNA 抑制因子活化 T 细胞 (lncRNA NRON) 是活化 T 细胞的非编码抑制物,近来研究发现其在乳腺癌组织中表达降低^[4],但 lncRNA NRON 是否影响乳腺癌化疗耐药性还不明确。miRNA 中的 miR-185-5p 在不同癌症中具有不同作用,已有研究发现,miR-185-5p 在乳腺癌中高表达具有促癌及促进耐药性产生的作用^[5],但 miR-185-5p 功能的异常是否受 lncRNA NRON 的调控,目前还未见研究。本研究用基因预测软件发现 lncRNA NRON 与 miR-185-5p 之间有靶向结合关系,并体外培养乳腺癌细胞,探究干预 lncRNA NRON 表达后,对 miR-185-5p 调控及耐药性产生的影响,以期对乳腺癌的基因靶向治疗提供新的思路,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象:(1)收集 2016 年 7 月—2020 年 7 月陆军军医大学大坪医院乳腺甲状腺外科行乳腺癌切除患者 26 例的癌组织及距癌组织大于 2 cm 处的癌旁组织标本,于 -80°C 保存备用。患者均为女性,年龄

35 ~ 79 (56.50 ± 5.20) 岁;临床分期:T1 ~ 2 期 20 例, T3 ~ 4 期 6 例;组织学分级:I 级 5 例,II 级 13 例,III 级 8 例;ER 阳性 21 例,PR 阳性 20 例,HER-2 扩增 11 例;分化程度:高、中分化 12 例,低分化 14 例。(2)健康清洁级 Balb/c 雌性裸鼠,购自广州锐格生物科技有限公司,生产许可证号:SCXK(粤)2021-0059;本实验符合 3R 原则,经本院动物伦理委员会批准同意 [IACUC-01(2021110026)]。(3)正常乳腺上皮细胞系 (MCF10A) 及乳腺癌细胞系 (MCF7、MDA-231、T47D、SKBR3、ZR7530、BT549、HCC1937、BT474) 均购自上海淳麦生物科技有限公司。

1.1.2 试药与试剂:5-氟尿嘧啶 (5-FU)、顺铂 (DDP)、紫杉醇 (PTX) 等购自上海源叶公司;逆转录试剂盒购自上海研卉生物公司;Lipofectamine 3000 转染试剂盒购自上海恒斐生物公司;lncRNA NRON 过表达载体 (plasmid NRON) 及其阴性对照 (NC)、miR-185-5p 模拟物 (miR-185-5p mimic) 及阴性对照 (mimic NC) 等均由生工生物工程 (上海) 公司提供;胸苷酸合成酶 (TS) 抗体购自美国 abcam 公司。

1.1.3 仪器设备:紫外分光光度仪购自上海精密仪器仪表有限公司;FACSCalibur 购自美国 BD 公司;光学显微镜 (光镜) 购自上海豫光仪器有限公司。

1.2 实验方法 2020 年 8 月—2021 年 12 月于陆军军医大学大坪医院中心实验室进行实验。正常乳腺上皮细胞系及乳腺癌细胞系于 37°C 水浴复苏,取适量用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行传代培养及计数。取对数期 MCF7 细胞系,按 1×10^5 个/孔接种于 6

孔板内, Lipofectamine 3000 转染试剂转染 lncRNA-NRON 过表达载体 (plasmid NRON) 及其阴性对照 (NC), 设置为 plasmid NRON 组、NC 组, 每组设置 6 个复孔。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 法检测 lncRNA NRON、miR-185-5p 基因表达: 乳腺癌及癌旁组织标本或细胞经粉碎、匀浆, 提取 RNA, 反转录得到 cDNA, 行 PCR 反应, 反应体系: 上下游引物各 1.0 μ l, 2 $\times$ SYBR mix 10 μ l, H₂O 10 μ l, 10 $\times$ cDNA 模板 1 μ l。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 35 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 60 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 70 s, 75 $^{\circ}$ C 延伸 35 min, 55 个循环。lncRNA NRON 以三磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内参, miR-185-5p 以 U6 为内参, 应用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算各基因相对表达量。各引物序列由上海生工生物公司合成。

1.3.2 细胞计数 (CCK-8) 法检测细胞增殖及 IC₅₀、R 值: 取转染后的 plasmid NRON 组及 NC 组细胞, 分别加入不同浓度的 5-FU (0、25、50、100、150、200 mg/L)、DDP (0、1、2.5、5、7.5 mg/L)、PTX (0、1、5、10、20、40 μ g/L), 培养 72 h 时, CCK-8 试剂 20 μ l 干预培养 4 h, 紫外分光光度计 (450 nm) 上读取吸光度 (OD) 值, 根据 OD 值绘制生长曲线, 计算细胞对 5-FU、DDP、PTX 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 值, 计算耐药指数 (R, 各组化疗药物 IC₅₀ 值的比值)。plasmid NRON 组及 NC 组细胞在 5-FU (100 mg/L)、DDP (5 mg/L)、PTX (10 μ g/L) 条件下分别培养 0 h、24 h、48 h、72 h, CCK-8 试剂 20 μ l 干预培养 4 h, 紫外分光光度计 450 nm 处读取 OD 值, 根据 OD 值绘制生长曲线, 计算增殖活性。

1.3.3 流式细胞术检测细胞凋亡率: plasmid NRON 组及 NC 组细胞在 5-FU (100 mg/L)、DDP (5 mg/L)、PTX (10 μ g/L) 条件分别培养 72 h, 收集细胞, 70% 乙醇固定, Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒和 FACSCalibur 系统进行细胞凋亡分析, ModFit LT 软件分析细胞凋亡率。

1.3.4 Western-blot 法检测各组 MCF7 细胞中胸苷酸合成酶 (TS) 蛋白表达: 细胞粉碎匀浆并提取蛋白, 二喹啉甲酸 (BCA) 法检测蛋白总浓度, 取蛋白 80 μ g 行电泳及转膜操作, 滴加 1:600 的一抗 (TS) 及 1:900 的内参 β -actin 抗体孵育 24 h, 辣根过氧化物酶二抗孵育 30 min, 化学发光液浸膜曝光, Bio-Rad 图像扫描条带, Alpha Ease FC 软件计算条带灰度值。

1.3.5 裸鼠荷瘤实验检测过表达 lncRNA NRON 对

5-FU、DDP、PTX 化疗的敏感性: plasmid NRON 组及 NC 组细胞, 调整细胞浓度为 1.0 $\times$ 10⁸ 个/ml, 取 0.2 ml 接种于裸鼠腋下, 2 周后裸鼠右腋下可触及瘤块, 视为接种成功, 并分别腹腔注射 5-FU (20 mg/kg)^[6]、DDP (30 mg/kg)^[7]、PTX (15 mg/kg)^[8], 3 天 1 次, 连续干预 4 周。干预结束后游标卡尺检测瘤体体积 (瘤体体积 = 长径 $\times$ 短径²/2), 处死裸鼠, 剥离瘤体, 精密称重, 瘤体组织经 4% 多聚甲醛固定制成 5 μ m 石蜡切片, 脱蜡及透化处理, 加入 1:200 兔抗人 ki67 抗体孵育过夜, 生物素 IgG 二抗孵育 1.5 h, 苏木精复染并于光镜下观察拍照。

1.3.6 双荧光素酶实验验证 lncRNA NRON 与 miR-185-5p 的靶向关系: Starbase 网站预测 lncRNA NRON 与 miR-185-5p 存在互补配对的碱基序列。建立含有 miR-185-5p 结合位点的 NRON 野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 片段, 并分别克隆至荧光素酶报告质粒中, 以合成 NRON-3'UTR-WT 及 NRON-3'UTR-MUT 质粒, 用 Lipofectamine 3000 转染试剂在 293T 细胞中共转染 mimic NC 或 miR-185-5p mimic, 48 h 后, 用双荧光素酶报告分析系统检测荧光素酶活性。

1.3.7 过表达 miR-185-5p 对 lncRNA NRON 作用的逆转性研究: 设置 NC 组、plasmid NRON 组、plasmid NRON + miR-185-5p mimic 组、plasmid NRON + mimic NC 组, NC 组、plasmid NRON 组细胞处理同前; plasmid NRON + miR-185-5p mimic 组及 plasmid NRON + mimic NC 组, 在 plasmid NRON 组基础上, 分别转染 miR-185-5p mimic 及 mimic NC 试剂。转染后分别接种于裸鼠皮下, 给予 5-FU、DDP、PTX 化疗药物干预后, 检测瘤体体积及 TS 蛋白表达情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件分析数据。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, 多组间比较采用方差分析, 组内两两比较采用 SNK-*q* 检验。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织、癌旁组织及细胞系中 lncRNA NRON 的表达比较 与癌旁组织比较, 乳腺癌组织中 lncRNA NRON 表达降低 (*P* < 0.05)。与正常乳腺上皮细胞系 (MCF10A) 比较, 乳腺癌细胞系 (MCF7、MDA-231、T47D、SKBR3、ZR7530、BT549、HCC1937、BT474) 中 lncRNA NRON 表达均降低 (*P* < 0.05), 其中 MCF7 细胞系中 lncRNA NRON 表达最低, 见表 1。

表 1 正常乳腺上皮细胞系及乳腺癌细胞系中 lncRNA NRON 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of lncRNA NRON expression in normal breast epithelial cell lines and breast cancer cell lines

细胞系	n	lncRNA NRON
MCF10A	6	1.00 ± 0.10
MCF7	6	0.47 ± 0.03 ^a
MDA-231	6	0.49 ± 0.04 ^a
T47D	6	0.60 ± 0.06 ^a
SKBR3	6	0.55 ± 0.05 ^a
ZR7530	6	0.62 ± 0.06 ^a
BT549	6	0.59 ± 0.04 ^a
HCC1937	6	0.60 ± 0.06 ^a
BT474	6	0.66 ± 0.04 ^a

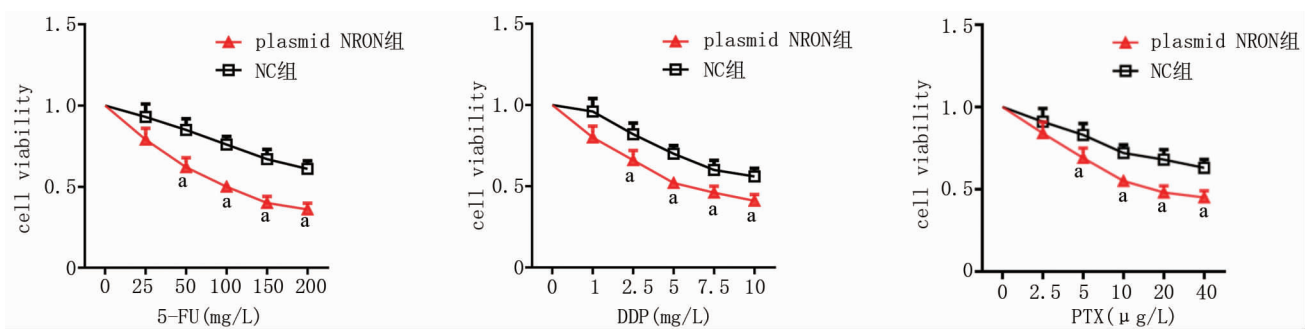
注:与 MCF10A 细胞系比较,^a $P < 0.05$

2.2 上调 lncRNA NRON 对 MCF7 细胞化疗耐药性的影响 与 NC 组比较,plasmid NRON 组细胞 lncRNA NRON 表达升高(0.45 ± 0.01 vs. 1.33 ± 0.06 , $P < 0.05$)。

NC 组及 plasmid NRON 组细胞分别经不同浓度

5-FU、DDP、PTX 干预培养 72 h 后,与 NC 组比较,plasmid NRON 组细胞 IC_{50} 值及 R 值降低($P < 0.05$),见图 1、表 2。NC 组及 plasmid NRON 组细胞在 5-FU、DDP、PTX 干预培养条件下,与 NC 组比较,plasmid NRON 组细胞 OD 值降低,在 72 h 时差异最显著($P < 0.05$),见图 2。plasmid NRON 组细胞凋亡率及 TS 蛋白表达升高($P < 0.05$),见图 3、4、表 3。裸鼠荷瘤实验发现,接种 plasmid NRON 细胞的裸鼠,经 5-FU、DDP、PTX 治疗后,瘤体体积及 ki67 表达明显低于 NC 组($P < 0.05$),见图 5、表 4。

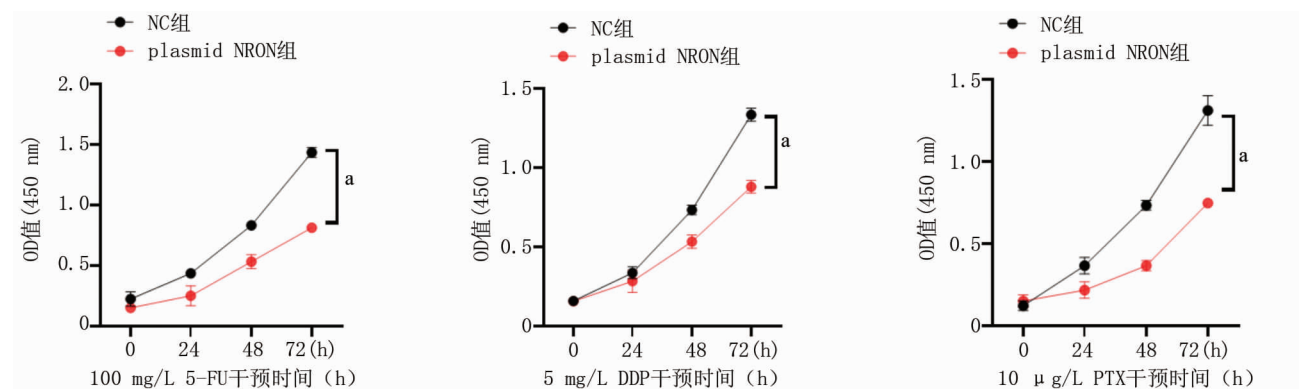
2.3 lncRNA NRON 与 miR-185-5p 的靶向关系 乳腺癌组织中 miR-185-5p 表达显著高于癌旁组织(3.22 ± 0.21 vs. 1.00 ± 0.13 , $t = 45.833$, $P < 0.001$),在癌细胞系中表达高于正常乳腺上皮细胞系($P < 0.05$),见表 5。与 NC 组比较,lncRNA NRON 组 MCF7 细胞中 miR-185-5p 表达下调(0.33 ± 0.42 vs. 1.45 ± 1.45) ($t = 30.333$, $P < 0.05$)。



注:与 NC 组比较,^a $P < 0.05$

图 1 不同浓度 5-FU、DDP、PTX 干预培养 72 h 后 2 组 MCF7 细胞系生存曲线图

Fig. 1 Survival curve of two groups of MCF7 cell lines after 72 h of intervention culture with different concentrations of 5-FU, DDP and PTX



注:与 NC 组比较,^a $P < 0.05$

图 2 不同时间 5-FU、DDP、PTX 干预培养后 2 组 MCF7 细胞增殖曲线图

Fig. 2 The proliferation curve of MCF7 cells in the two groups after the intervention of 5-FU, DDP and PTX

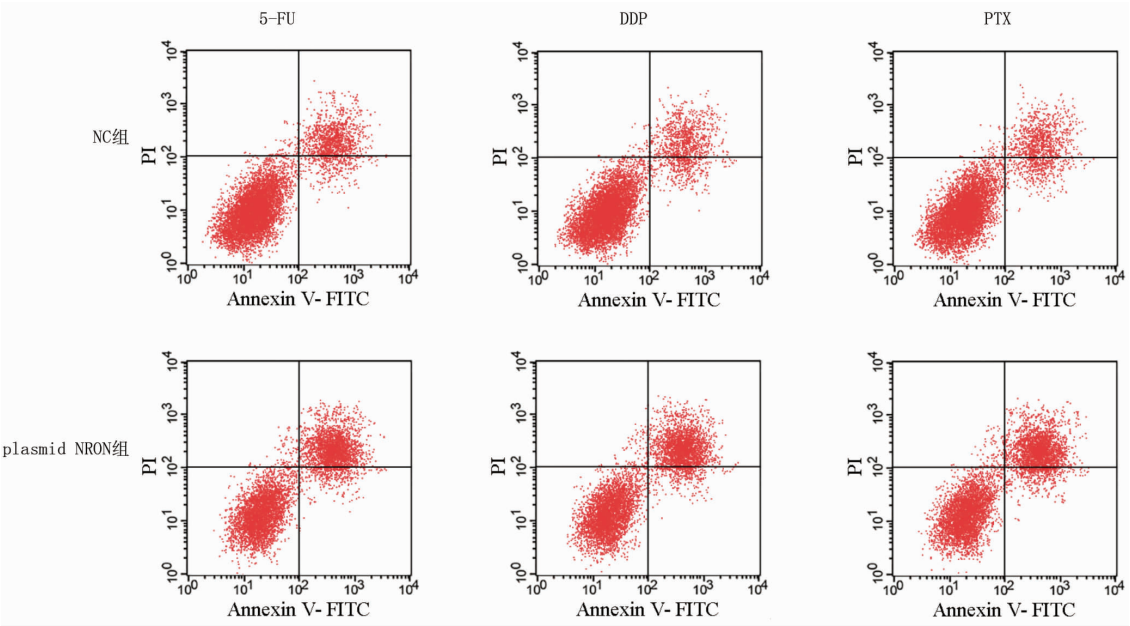


图 3 2 组流式凋亡检测图

Fig. 3 Flow type apoptosis detection diagram in 2 groups

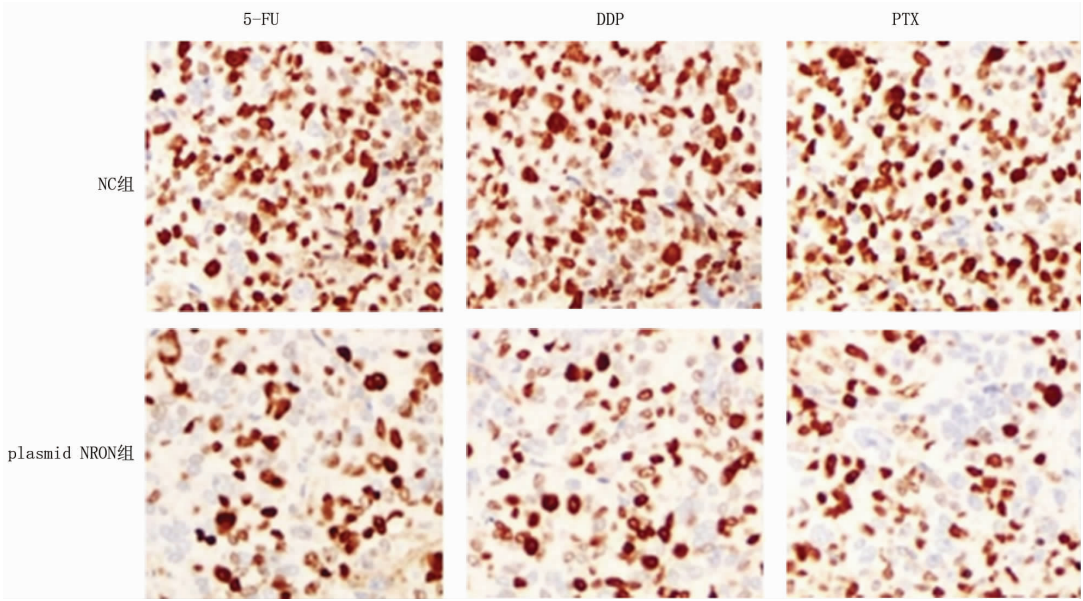
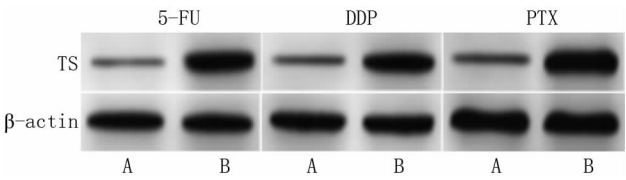


图 5 2 组瘤体组织 ki67 免疫组化染色图 (×200)

Fig. 5 Ki67 immunohistochemical staining of tumor tissues in 2 groups (×200)



注: A. NC 组; B. plasmid NRON 组

图 4 2 组 TS 蛋白表达免疫印迹图

Fig. 4 Immunoblot of TS protein expression in 2 groups



图 6 lncRNA NRON 与 miR-185-5p 靶向结合位点预测

Fig. 6 Prediction of targeted binding sites of lncRNA NRON and miR-185-5p

表 2 2 组 MCF7 细胞对 5-FU、DDP、PTX 的 IC₅₀ 及 R 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 IC₅₀ and R value comparison of two groups of MCF7 cells to 5-FU, DDP and PTX

组 别	n	5-FU		DDP		PTX	
		IC ₅₀ (mg/L)	R	IC ₅₀ (mg/L)	R	IC ₅₀ (μg/L)	R
NC 组	6	210.00 ± 10.13	1.00 ± 0.10	11.25 ± 1.06	1.00 ± 0.09	42.36 ± 4.68	1.00 ± 0.11
plasmid NRON 组	6	100.99 ± 3.79	0.48 ± 0.04	5.00 ± 0.50	0.40 ± 0.06	10.26 ± 1.06	0.24 ± 0.02
t 值		24.688	11.826	13.062	13.587	16.386	16.651
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 5-FU、DDP、PTX 干预培养后 2 组细胞凋亡率及 TS 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of apoptosis rate and TS protein expression between two groups after 5-FU, DDP and PTX intervention culture

组 别	n	5-FU		DDP		PTX	
		凋亡率(%)	TS 蛋白	凋亡率(%)	TS 蛋白	凋亡率(%)	TS 蛋白
NC 组	6	22.00 ± 2.13	0.29 ± 0.01	15.35 ± 1.06	0.27 ± 0.01	16.36 ± 1.68	0.20 ± 0.11
plasmid NRON 组	6	55.99 ± 5.79	1.18 ± 0.09	53.00 ± 0.54	1.07 ± 0.06	59.26 ± 5.06	1.04 ± 0.02
t 值		13.495	24.075	77.523	32.215	19.709	18.403
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 5-FU、DDP、PTX 干预培养后 2 组瘤体体积及 ki67 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Comparison of tumor volume and ki67 expression level between the two groups after 5-FU, DDP and PTX intervention culture

组 别	n	5-FU		DDP		PTX	
		瘤体体积(mm ³)	ki67 (MD/mm ²)	瘤体体积(mm ³)	ki67 (MD/mm ²)	瘤体体积(mm ³)	ki67 (MD/mm ²)
NC 组	6	889.57 ± 60.59	1.90 ± 0.19	890.66 ± 59.80	1.87 ± 0.18	892.57 ± 63.25	1.80 ± 0.16
plasmid NRON 组	6	250.52 ± 20.28	0.47 ± 0.05	266.83 ± 23.15	0.40 ± 0.04	269.63 ± 26.36	0.55 ± 0.03
t 值		24.499	17.829	23.830	19.528	22.268	18.809
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 5 正常乳腺上皮细胞系及乳腺癌细胞系中 miR-185-5p 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

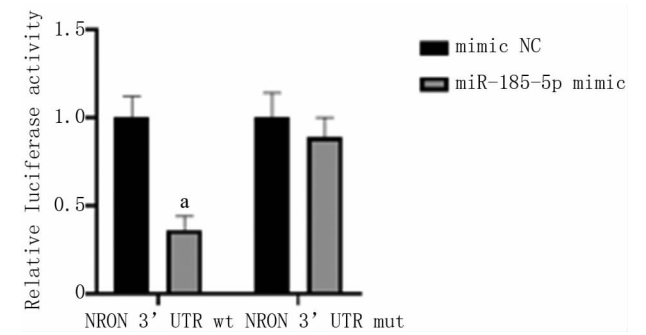
Tab.5 Comparison of miR-185-5p expression in normal breast epithelial cell lines and breast cancer cell lines

细胞系	n	miR-185-5p
MCF10A	6	0.10 ± 0.10
MCF7	6	1.42 ± 0.03 ^a
MDA-231	6	1.41 ± 0.14 ^a
T47D	6	1.63 ± 0.16 ^a
SKBR3	6	1.59 ± 0.15 ^a
ZR7530	6	1.68 ± 0.16 ^a
BT549	6	1.67 ± 0.14 ^a
HCC1937	6	1.60 ± 0.16 ^a
BT474	6	1.56 ± 0.14 ^a

注:与 MCF10A 细胞系比较,^aP<0.05

生物信息学 Starbase 数据库预测试验及双荧光素酶报告试验发现,lncRNA NRON 与 miR-185-5p 之间有靶向结合位点,293T 细胞共转染 miR-185-5p mimic 和无突变的 lncRNA NRON-WT 载体,可使 293T 细胞中荧光素酶活性显著下降($P < 0.05$),而共转染 miR-185-5p mimic 和发生突变的 lncRNA NRON-MUT 载体对荧光素酶活性无显著作用($P > 0.05$),见图 6、7。

2.4 miR-185-5p 过表达对上调 lncRNA NRON 后癌细胞化疗耐药性的影响 与 plasmid NRON 组比较,



注:与 mimic NC 比较,^aP<0.05

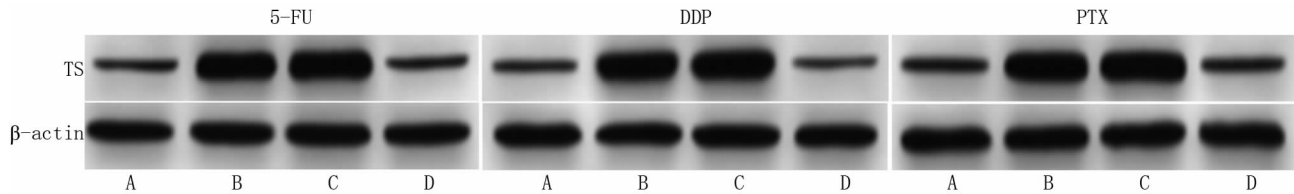
图 7 2 组荧光素酶活性比较图

Fig.7 Comparison of luciferase activity in two groups

miR-185-5p mimic + plasmid NRON 组裸鼠瘤体体积升高,TS 蛋白降低($P < 0.05$),而 plasmid NRON 组与 plasmid NRON + mimic NC 组比较上述指标差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 8、表 6。

3 讨 论

乳腺癌是一个重大的公共卫生问题,并在全球范围内造成重大的医疗负担^[9]。乳腺癌发生发展的潜在机制仍不明确。lncRNA 已在各种癌症中得到广泛研究,且已成为乳腺癌干预的新靶点。lncRNA 可作为信号分子来调节下游基因的转录,并与蛋白质(通常



注: A. NC 组; B. plasmid NRON 组; C. plasmid NRON + mimic NC 组; D. plasmid NRON + miR-185-5p mimic 组

图 8 各组瘤体中 TS 蛋白表达免疫印迹图

Fig. 8 Immunoblot of TS protein expression in tumor bodies of each group

表 6 经 5-FU、DDP、PTX 治疗后各组裸鼠瘤体体积及 TS 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Comparison of tumor volume and TS protein expression of nude mice in each group after 5-FU, DDP and PTX treatment

组 别	n	5-FU		DDP		PTX	
		瘤体体积 (mm ³)	TS 蛋白	瘤体体积 (mm ³)	TS 蛋白	瘤体体积 (mm ³)	TS 蛋白
NC 组	6	889.57 ± 60.59	0.50 ± 0.05	888.68 ± 58.78	0.39 ± 0.04	870.63 ± 60.00	0.50 ± 0.05
plasmid NRON 组	6	250.52 ± 20.28 ^a	1.47 ± 0.15 ^a	269.94 ± 24.63 ^a	1.36 ± 0.14 ^a	255.68 ± 24.39 ^a	1.47 ± 0.15 ^a
plasmid NRON + mimic NC 组	6	256.59 ± 21.36	1.49 ± 0.14	270.15 ± 23.39	1.35 ± 0.13	259.56 ± 23.57	1.49 ± 0.14
plasmid NRON + miR-185-5p mimic 组	6	700.73 ± 40.56 ^b	0.49 ± 0.04 ^b	709.75 ± 35.58 ^b	0.35 ± 0.03 ^b	716.34 ± 39.00 ^a	0.49 ± 0.04 ^b

注: 与 NC 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 plasmid NRON 组比较, ^b $P < 0.05$

是转录因子)相互作用而抑制蛋白质的功能,且海绵化和隔离 miRNA 及调节靶蛋白表达参与细胞周期、抗药产生等生物学行为过程^[10]。lncRNA NRON 反向定位在 9q33.3,长 2 730 nt,是 T 细胞核因子 NFAT 的非编码 RNA 抑制物,是常见的影响细胞核运输的 RNA^[11]。已有研究发现,lncRNA NRON 在乳腺癌组织中表达降低,且与乳腺癌患者生存及预后关系密切^[12,4]。化疗药物耐药性产生,一直是影响乳腺癌患者生存的关键因素^[13]。5-FU、DDP、PTX 是目前癌症治疗较为常见的化疗药物^[14]。本研究发现,在乳腺癌组织中 lncRNA NRON 表达明显低于癌旁组织,与 Niu 等^[4]的研究一致,说明 lncRNA NRON 在乳腺癌中可能发挥抑癌作用。用不同浓度的 5-FU、DDP、PTX 与乳腺癌细胞系 MCF7 培养后,随着耐药性的产生,lncRNA NRON 表达也随之降低,反之上调 lncRNA NRON 表达后,MCF7 细胞系对 5-FU、DDP、PTX 的耐药性明显降低,乳腺癌细胞表现为较低的增殖及较高的凋亡水平,提示干预 lncRNA NRON 表达可能是提高乳腺癌细胞对化疗药物敏感性的潜在策略。但 lncRNA NRON 参与调控耐药性产生的下游调控机制还不甚明确。

lncRNA NRON 可通过海绵化和隔离 miRNA 来影响细胞功能变化。但 lncRNA NRON 通过哪种途径调控乳腺癌细胞耐药性产生还不明确。本研究通过基因预测软件发现,lncRNA NRON 与 miR-185-5p 之间有靶向结合关系,且 lncRNA NRON 可靶向下调 miR-185-5p,

推测 lncRNA NRON 很可能通过海绵化和隔离 miR-185-5p 来发挥增敏作用。查阅大量文献发现,miRNA 中的 miR-185-5p 与乳腺癌异常增殖、凋亡及化疗耐药性产生关系密切^[15-16],且 miR-185-5p 可通过破坏嘧啶核苷酸的合成酶 (UMPS)、二氢嘧啶脱氢酶 (DPD)、TS 等合成,阻碍 5-FU、DDP、PTX 在癌细胞内分解及代谢,进而减弱化疗药物对癌细胞的毒杀作用^[17,5]。本研究发现,miR-185-5p 在乳腺癌组织和细胞系中显著高表达,与既往研究一致^[5],与 lncRNA NRON 表达趋势刚好相反,提示 miR-185-5p 作为促癌因子在乳腺癌中起作用,且可能与 lncRNA NRON 存在靶向关系,双荧光素酶实验验证了这一推测。此外,过表达 lncRNA NRON 增加乳腺癌化疗药物敏感性的同时,miR-185-5p 表达显著降低,具有促进化疗效率的 TS 表达却显著升高^[18],乳腺癌表现出较低的增殖率和较高的凋亡率,证实 lncRNA NRON 提高化疗药物敏感性作用可能与调节 miR-185-5p 有关。为了进一步验证这一推测,本研究在过表达 lncRNA NRON 的同时上调 miR-185-5p 表达,并接种于裸鼠体内,经化疗药物干预后,发现裸鼠接种 lncRNA NRON 及 miR-185-5p 高表达细胞的瘤体体积增长明显高于单独接种 lncRNA NRON 高表达的裸鼠,提示 miR-185-5p 高表达可明显削弱 lncRNA NRON 发挥的降低化疗药物耐药性作用。说明 lncRNA NRON 通过靶向负调控 miR-185-5p 抑制乳腺癌细胞的化疗耐药。

综上所述,lncRNA NRON 可通过靶向下调 miR-

185-5p,来降低乳腺癌对化疗药物的耐药性。这为乳腺癌的化疗治疗提供新的干预策略。但 miR-185-5p 高表达并不能完全逆转 lncRNA NRON 降低化疗药物耐药性的作用,提示 lncRNA NRON 的下游干预机制可能涉及多个 miRNA,这需要后续进行深入探究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明:

汪伶俐:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;田武国:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;赵健洁:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;罗东林:进行统计学分析,课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Brackstone M, Baldassarre FG, Perera FE, et al. Management of the Axilla in early-stage breast cancer: Ontario health (Cancer Care Ontario) and ASCO guideline[J]. J Clin Oncol, 2021, 39 (27) : 3056-3082. DOI: 10. 1200/JCO. 21. 00934.
- [2] 邢德纯,王霞,孙锁柱,等. 分子诊断技术在乳腺癌检测中的最新进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2020, 47 (3) : 224-232. DOI:10. 16476/j. pibb. 2019. 0253.
- Xing DC, Wang X, Sun SZ, et al. Recent advances in molecular diagnostic techniques for breast cancer detection[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2020, 47 (3) : 224-232. DOI:10. 16476/j. pibb. 2019. 0253.
- [3] Wang M, Liu H, Wu W, et al. Identification of differentially expressed plasma lncRNAs as potential biomarkers for breast cancer[J]. Clin Breast Cancer, 2022, 22 (2) : 135-141. DOI:10. 1016/j. clbc. 2021. 05. 003.
- [4] Niu L, Fan Q, Yan M, et al. LncRNA NRON down-regulates lncRNA snaR and inhibits cancer cell proliferation in TNBC[J]. Biosci Rep, 2019, 39 (5) : 1946-1958. DOI:10. 1042/BSR20190468.
- [5] Luo L, Zhang J, Tang H, et al. LncRNA SNORD3A specifically sensitizes breast cancer cells to 5-FU by sponging miR-185-5p to enhance UMPs expression[J]. Cell Death Dis, 2020, 11 (5) : 329-336. DOI: 10. 1038/s41419-020-2557-2.
- [6] 刘小梅,张诚霖,殷荣平,等. 靶向 VEGF siRNA 联合 5-FU 对人乳腺癌 MCF-7 荷瘤裸鼠的作用[J]. 江苏医药, 2017, 43 (10) : 681-684, 753. DOI:10. 19460/j. cnki. 0253-3685. 2017. 10. 002.
- Liu XM, Zhang CL, Yin RP, et al. Effects of targeting VEGF siRNA combined with 5-FU on human breast cancer cell line MCF-7 xenograft in nude mice[J]. Jiangsu Medical Journal, 2017, 43 (10) : 681-684, 753. DOI:10. 19460/j. cnki. 0253-3685. 2017. 10. 002.
- [7] Cao Y, Xie X, Li M, et al. CircHIPK2 contributes to DDP resistance and malignant behaviors of DDP-resistant ovarian cancer cells both in vitro and in vivo through circHIPK2/miR-338-3p/CHTOP ceRNA pathway[J]. Onco Targets Ther, 2021, 14 (1) : 3151-3165. DOI:10. 2147/OTT. S291823.
- [8] 孙丽,曹苏生,马晓燕,等. 化疗药物对人乳腺癌荷瘤裸鼠 ER- α 表达和甲基化水平的影响[J]. 江苏医药, 2020, 46 (6) : 593-596. DOI:10. 19460/j. cnki. 0253-3685. 2020. 06. 015.
- Sun L, Cao SS, Ma XY, et al. Effect of chemotherapy drugs on ER- α expression and methylation level in human breast cancer-bearing

- nude mice [J]. Jiangsu Medical Journal, 2020, 46 (6) : 593-596. DOI:10. 19460/j. cnki. 0253-3685. 2020. 06. 015.
- [9] Zuo Q, Band S, Kesavadas M, et al. Obesity and postmenopausal hormone receptor-positive breast cancer: Epidemiology and mechanisms [J]. Endocrinology, 2021, 162 (12) : 195-203. DOI: 10. 1210/endo/bqab195.
- [10] Zhu L, Cui K, Weng L, et al. A panel of 8-lncRNA predicts prognosis of breast cancer patients and migration of breast cancer cells [J]. PLoS One, 2021, 16 (6) : 2491-2504. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0249174.
- [11] Zhang R, Li J, Li G, et al. LncRNA Nron regulates osteoclastogenesis during orthodontic bone resorption [J]. Int J Oral Sci, 2020, 12 (1) : 14-25. DOI:10. 1038/s41368-020-0077-7.
- [12] 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.
- Yuan NG, Luo XP, Hu YP, et al. The expression of QPRT and miR-26b-5p in breast cancer and their relationship with the prognosis of patients [J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases, 2021, 20 (5) : 476-480, 487. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 05. 009.
- [13] Hong S, Song JM. 3D bioprinted drug-resistant breast cancer spheroids for quantitative in situ evaluation of drug resistance [J]. Acta Biomater, 2022, 15 (1) : 228-239. DOI: 10. 1016/j. actbio. 2021. 10. 031.
- [14] 徐梅玉,沈叶,蒋叶平,等. 四甲基偶氮唑盐比色法体外药敏试验对乳腺癌细胞药物敏感性的预测价值 [J]. 中国综合临床, 2019, 35 (1) : 6-11. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1008-6315. 2019. 01. 002.
- Xu MY, Shen Y, Jiang YP, et al. Predictive value of in vitro methyl thiazolyl tetrazolium assay chemosensitivity test of cytotoxic drug activity in breast cancer [J]. Clinical Medicine of China, 2019, 35 (1) : 6-11. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1008-6315. 2019. 01. 002.
- [15] Zhang C, Hua Y, Zhong X, et al. LncRNA UCA1 promotes tumorigenesis of breast cancer via targeting MiR-185-5p [J]. Minerva Med, 2020, 15 (1) : 97-104. DOI: 10. 23736/S0026-4806. 20. 07097-4.
- [16] Yin C, Zhang G, Sun R, et al. miR1855p inhibits F-actin polymerization and reverses epithelial mesenchymal transition of human breast cancer cells by modulating RAGE [J]. Mol Med Rep, 2018, 18 (3) : 2621-2630. DOI: 10. 3892/mmr. 2018. 9294.
- [17] Su X, Li S, Zhang H, et al. Thymidylate synthase gene polymorphism predicts disease free survival in stage II-III rectal adenocarcinoma patients receiving adjuvant 5-FU-based chemotherapy [J]. Chin Clin Oncol, 2019, 8 (3) : 28-32. DOI:10. 21037/cco. 2019. 01. 10.
- [18] 黄志国,胡孔旺. 胸苷酸合成酶与肿瘤 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2020, 47 (10) : 8-12. DOI: 10. 3760/cma. j. cn371439-20200318-00088.
- Huang ZG, Hu KW. Thymidylate synthase and tumor [J]. Journal of International Oncology, 2020, 47 (10) : 8-12. DOI:10. 3760/cma. j. cn371439-20200318-00088.

(收稿日期:2022 - 05 - 12)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.017

罕见病病例

伴有亚临床甲状腺功能减退的脊髓亚急性联合变性 1 例并文献复习

冯潇潇, 齐倩倩, 刘卫刚, 董艳红, 吕佩源

基金项目: 2019, 2020 河北省高端人才资助项目(6833452, 83587216); 2019 河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目(冀财社: 2019-139-5); 2020 年河北省引智项目(冀科专函: 2020-19-2)

作者单位: 063210 河北省唐山, 华北理工大学研究生院(冯潇潇); 050051 石家庄, 河北省人民医院神经内科(冯潇潇, 吕佩源), 神经内三科(齐倩倩, 刘卫刚, 董艳红)

通信作者: 吕佩源, E-mail: peiyuanlu@163.com

【关键词】 脊髓亚急性联合变性; 维生素 B₁₂; 亚临床甲状腺功能减退; 甲状腺激素; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R581.2⁺2; R745.4 【文献标识码】 B

患者, 女, 49 岁。主因双足麻木 1 个月、双手麻木 15 d、四肢麻木 2 d 于 2019 年 10 月 24 日入院。患者自觉低头时出现一过性过电感, 双手持续性麻木, 执行精细动作能力下降。四肢麻木呈持续性, 双下肢无力感, 可自行行走及站立。既往亚临床甲状腺功能减退症 4 年, 目前口服左甲状腺素钠片 25 μg 每早 1 次, 后未定期复查甲状腺功能。神经系统查体: 双下肢音叉振动觉减退, 双侧跟腱、膝腱反射稍减弱, 余查体未见明显异常。实验室检查: WBC 2.79 × 10¹²/L, Hcy 149.10 μmol/L, VitB₁₂ < 50 ng/L, TSH 9.9 IU/ml, 抗甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb) 313.8 IU/ml。水通道蛋白及副肿瘤综合征相关抗体未见异常, 内因子抗体阳性。胃镜检查示慢性非萎缩性胃炎征象。神经电图及肌电图示: (1) 右正中神经腕掌段运动传导速度减慢; (2) 右正中神经、右尺神经诱发感觉波幅较左侧降低明显; (3) 右腓总神经末端潜伏期延长; (4) 双腓肠神经诱发感觉波幅减低, 左腓肠神经感觉传导速度减慢。颈椎 MR 示: C₃₋₄、C₅₋₆、C₆₋₇ 椎间盘突出, 以 C₄₋₅ 水平最重; C₂₋₃ 椎体对应段脊髓后索带状长 T2 信号; C₃₋₇ 椎体骨质增生。头颅 CT 未见明显异常。头颅 MR: 双顶叶、左颞叶多发小缺血灶。甲状腺超声示: 甲状腺弥漫性病变。视诱发电位示双眼 P100 潜伏期、波幅正常范围, 体感诱发电位示双上、下肢未见异常改变。最终诊断为伴有亚临床甲状腺功能减退的脊髓亚急性联合变性。患者入院后给予叶酸、VitB₆ 降同型半胱氨酸, VitB₁₂、VitB₁、甲钴胺、痘苗病毒致免疫皮提取物、赖氨酸等营养神经治疗。治疗 20 d 后患者四肢麻木、双下肢无力感、心慌、执行精细动作能力较前好转, 行走及站立不受限, 低头时双足仍有一过性过电感, 神经系统查体较入院时无变化。

讨论 脊髓亚急性联合变性(subacute combined degeneration of spinal cord, SCD)是一种与 VitB₁₂ 吸收和代谢障碍密切相关的进行性脊髓神经疾病。SCD 病变大多局限于颈、胸段脊髓后索或侧索, 主要以进行性感觉异常和痉挛性瘫痪症状为特征^[1]。SCD 起病隐匿, 早期缺乏特异性诊断方法, 而若延误诊断, 常会导致严重的不可逆的神经功能损伤。亚临床甲状腺功能减退症(subclinical hypothyroidism, SCH)是一种常见的无典

型临床表现的内分泌代谢性疾病, 实验室检测结果为血清 TSH 水平显著升高, 而游离甲状腺素(FT₄)和游离三碘甲腺原氨酸(FT₃)水平在正常范围^[2-3]。在普通人群中甲状腺功能减退的发病率为 1%, 而 SCH 的发病率为 5% ~ 17%, 在临床工作中, SCH 容易被忽视。SCH 引起的甲状腺激素异常可以导致 VitB₁₂ 缺乏, 进而促进 SCD 的发生发展^[4]。SCH 的发病机制可能是甲状腺自身或以外的结构异常引起的机体甲状腺激素合成、分泌障碍, 虽然 SCH 早期无明显症状, 但能够诱发多种疾病, 具有一定的临床危害。

本例患者为中年女性, 慢性病程。表现为低头时自觉一过性过电感, 双手持续性麻木, 执行精细动作能力下降。本例患者的症状、体征、血清学结果、神经电图 + 肌电图结果及影像学特征, 符合脊髓亚急性联合变性的诊断。本例患者既往亚临床甲状腺功能减退症病史, 入院后查甲状腺彩色超声及甲状腺功能结果也是有力证据。查胃镜提示慢性非萎缩性胃炎, 而且内因子抗体阳性, 临床诊断为自身免疫性胃炎。补充甲状腺素、B 族维生素等治疗后患者症状好转, 考虑为甲状腺功能减退导致的功能性 VitB₁₂ 缺乏可能性大。患者血同型半胱氨酸水平升高, 也间接支持存在功能性 VitB₁₂ 缺乏。

SCD 是由于 VitB₁₂ 缺乏引起的神经系统变性疾病, 累及中枢及周围神经系统。引起 VitB₁₂ 缺乏的原因众多, 在摄入、吸收、结合、转运或代谢障碍整个过程的任一环节发生紊乱均有可能出现。VitB₁₂ 是中枢神经系统发育和髓鞘形成过程中重要的辅酶, 需要经过肠道吸收和消化, 与血清转钴胺素蛋白结合发挥作用, 若体内 VitB₁₂ 水平降低可能会导致严重的神经系统并发症^[5]。因为人体内的 VitB₁₂ 需要从食物中摄取, VitB₁₂ 的吸收需要胃底腺壁细胞分泌的内因子辅助, VitB₁₂ 的转运需要结合转钴胺蛋白, 所以节食、偏食、萎缩性胃炎、胃大部切除术、药物因素、质子泵抑制剂等因素会使体内的 VitB₁₂ 水平显著减少。有研究发现, 甲状腺激素可影响消化系统对 VitB₁₂ 的吸收, 二甲双胍也会导致血清 VitB₁₂ 浓度下降^[6-7]。

VitB₁₂ 的缺乏会影响甲基化过程, 造成髓鞘脱失、轴突变

性,并引起血液系统、消化系统及神经系统的异常临床表现^[8-9]。甲基化循环功能障碍是 SCD 脊髓损伤的重要原因,而甲基化过程中的甲硫氨酸合成酶依赖于铜和钴胺,甲硫氨酸合成酶功能障碍可能引起脊髓髓鞘损伤^[10]。甲基化对调节少突胶质细胞的增殖和分化至关重要^[11]。甲状腺激素对髓鞘的再生及修复有保护作用,对神经递质系统与维持消化系统正常发育具有重要作用。甲状腺激素与 VitB₁₂ 两者之间存在一定联系。甲状腺激素不足会引起胃肠功能紊乱、线粒体功能障碍、细胞代谢紊乱,从而影响 VitB₁₂ 的吸收及在体内发挥作用。研究显示,甲状腺功能减退患者中 VitB₁₂ 缺乏的患病率较高,原发性甲状腺功能减退患者中 1/3 的患者存在胃壁细胞抗体,甲状腺功能减退症很可能与恶性贫血有关^[4]。因 VitB₁₂ 缺乏会影响血红蛋白的合成及胃肠道功能,SCD 患者常伴有贫血、腹泻、乏力等临床症状。巨幼细胞性贫血可能是最常出现的早期症状之一^[12-13]。SCD 可累及大脑白质也会影响患者认知功能。

MR 检查可以清晰显示 SCD 的病灶特点,是目前唯一可以诊断 SCD 的影像学检查^[14]。但常规 MR 的敏感度较低,而且 MR 检查有一定的滞后性,故提出对于 SCD 的诊断应结合临床表现及血清 VitB₁₂ 的水平^[15]。SCD 早期病变表现为髓鞘肿胀,轴突变化不大。纤维的丢失导致间隙的形成,使组织在光学显微镜下呈现出疏松、空泡化的外观。SCD 病变主要位于颈髓或胸髓,多累及脊髓后索、侧索,少数也可累及大脑白质、视神经及自主神经系统等。SCD 的 MR 示矢状位可见条形或细线形长 T1 长 T2 信号,轴位可呈现“反兔耳”征或“倒 V”征^[16]。目前,诊断 SCD 的血清学重要依据仍然是总 VitB₁₂ 水平降低,但体内 VitB₁₂ 仅一小部分有活性且处于动态变化,所以当总 VitB₁₂ 水平正常时,不能判断活性 VitB₁₂ 是否缺乏,也不能作为排除 SCD 的依据。血清同型半胱氨酸、甲基丙二酸、平均红细胞体积增加能早期反映 VitB₁₂ 缺乏,可以作为辅助诊断 SCD 的实验室指标。

众多研究显示,早期诊断后进行及时的治疗可以逆转 SCD 的疾病进展,是改善 SCD 患者预后的关键^[17-18]。导致 SCD 的原因众多,发病机制尚未完全明确,在临床工作中极易漏诊。临床医生在日常工作中应加强对可疑 SCD 的确诊能力,做到早发现早治疗。对于甲状腺功能减退症患者要做到定期监测甲状腺激素及 VitB₁₂ 水平,及时给予针对性治疗,避免 SCD 发展到神经功能永久损伤的结局。

参考文献

- [1] Vasconcelos OM, Poehm EH, McCarter RJ, et al. Potential outcome factors in subacute combined degeneration: Review of observational studies[J]. J Gen Intern Med, 2006, 21 (10): 1063-1068. DOI: 10.1111/j.1525-1497.2006.00525.x.
- [2] Oner FA, Yurdakul S, Oner E, et al. Evaluation of the effect of l-thyroxine therapy on cardiac functions by using novel tissue doppler-derived indices in patients with subclinical hypothyroidism[J]. Acta Cardiol, 2011, 66 (1): 47-55. DOI: 10.1080/ac.66.1.2064966.
- [3] O'Grady MJ, Cody D. Subclinical hypothyroidism in childhood[J]. Arch Dis Child, 2011, 96 (3): 280-284. DOI: 10.1136/adc.2009.181800.
- [4] Issac TG, Soundarya S, Christopher R, et al. Vitamin B₁₂ deficiency:

an important reversible co-morbidity in neuropsychiatric manifestations[J]. Indian J Psychol Med, 2015, 37 (1): 26-29. DOI: 10.4103/0253-7176.150809.

- [5] Reynolds E. Vitamin B₁₂, folic acid, and the nervous system[J]. Lancet Neurol, 2006, 5 (11): 949-960. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70598-1.
- [6] 聂玉婷, 高利. 基于肠道菌群失调探讨脑系疾病从脾胃论治[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39 (11): 1390-1394. DOI: 10.7661/j.cjim.20191012.328.
- [7] 朱海兵, 欧阳桂兰, 余海. 老年人脊髓亚急性联合变性的临床分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18 (2): 175-178. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2016.02.018.
- [8] Sobczyńska-Malefora A, Gorska R, Pelisser M, et al. An audit of holotranscobalamin ("Active" B₁₂) and methylmalonic acid assays for the assessment of vitamin B₁₂ status: application in a mixed patient population[J]. Clin Biochem, 2014, 47 (1-2): 82-86. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.08.006.
- [9] 杨素予, 周美宁. 甲钴胺与维生素 B₁₂ 治疗早期脊髓亚急性联合变性临床研究[J]. 陕西医学杂志, 2018, 47 (7): 920-922, 926. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2018.07.033.
- [10] Winston GP, Jaisar SR. Copper deficiency myelopathy and subacute combined degeneration of the cord-why is the phenotype so similar[J]. Med Hypotheses, 2008, 71 (2): 229-236. DOI: 10.1016/j.mehy.2008.03.027.
- [11] Moyon S, Ma D, Huynh JL, et al. Efficient remyelination requires DNA methylation[J]. eNeuro, 2017, 4 (2): e0336-16. DOI: 10.1523/ENEURO.0336-16.2017.
- [12] Hannibal L, Lysne V, Bjorke-Monsen AL, et al. Biomarkers and algorithms for the diagnosis of vitamin B₁₂ deficiency[J]. Front Mol Biosci, 2016, 3: 27. DOI: 10.3389/fmolb.2016.00027.
- [13] Nafil H, Tazi I, Sifessalam M, et al. Profil clinique, biologique, et thérapeutique de l'anémie par carence en vitamine B₁₂ dans le service d'hématologie de Marrakech (Maroc)[J]. Bull Soc Pathol Exot, 2013, 106 (2): 83-88. DOI: 10.1007/s13149-013-0282-4.
- [14] 杨文魁, 薛鹏, 马秀华, 等. 脊髓亚急性联合变性的 MRI 诊断价值[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20 (5): 88-89. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2017.05.036.
- [15] Jain KK, Malhotra HS, Garg RK, et al. Prevalence of MR imaging abnormalities in vitamin B₁₂ deficiency patients presenting with clinical features of subacute combined degeneration of the spinal cord[J]. J Neurol Sci, 2014, 342 (1-2): 162-166. DOI: 10.1016/j.jns.2014.05.020.
- [16] Sun HY, Lee JW, Park KS, et al. Spine MR imaging features of subacute combined degeneration patients[J]. Eur Spine J, 2014, 23 (5): 1052-1058. DOI: 10.1007/s00586-014-3191-4.
- [17] 文钦生, 杨劲松, 张玉松. 八珍汤治疗脊髓亚急性联合变性的疗效观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15 (19): 2485-2487. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1349.2017.19.038.
- [18] 臧卫周, 杨红, 张杰文. 脊髓亚急性联合变性的临床特征分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2020, 23 (1): 40-44. DOI: 10.12083/SYSJ.2020.01.009.

颈总动脉颈内静脉瘘 1 例

田弘极,王静

作者单位: 110000 沈阳,北部战区空军医院神经内科
通信作者: 王静, E-mail: hbf44132@163. com

【关键词】 动静脉瘘,颈总动脉颈内静脉;诊断;治疗
【中图分类号】 R543.5 【文献标识码】 B

患者,女,62 岁,因“发作性右眼黑矇伴左侧肢体无力 1 周”于 2020 年 10 月 16 日入院。患者于入院 1 周前准备游泳时突发右眼黑矇、视力完全消失,左眼正常,伴有左侧肢体无力,瘫倒在地,持续约 10 min 后缓解,于当地医院查头颅 CT 示多发性腔隙性梗死,拒绝进一步检查,10 月 16 日 1:00 如厕时再次出现视力丧失及肢体瘫痪,持续约 5 min 后缓解。1 年前双侧肩袖损伤行手术治疗。否认高血压、糖尿病、高血脂病史,无烟酒嗜好。否认脑血管病及其他特殊疾病家族史。查体:T 36.2℃,P 76 次/min,R 16 次/min,BP 144/78 mmHg。神清语利,颅神经查体无异常,四肢肌力、肌张力正常,共济运动正常,四肢腱反射正常,病理征未引出。实验室检查:血常规、凝血功能、肝肾功能、血脂、心肌酶谱、血糖、电解质、红细胞沉降率、抗核抗体谱、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗心磷脂抗体、IgA、IgM、补体 C3 及 C4、类风湿因子、性激素八项及血气分析均无异常。心电图示大致正常心电图。心脏超声提示心腔大小正常范围,三尖瓣少量反流,左心室收缩及舒张功能正常。头颅 CT 未见明显异常。患者因幽闭恐惧问题拒绝磁共振检查,进一步查 CTA 示右颈总动脉—颈内静脉近段动静脉瘘,双侧椎动脉水平段与逆流静脉关系密切,右侧椎动脉远段纤细、狭窄;颅内动脉硬化;右侧胚胎型大脑后动脉(部分型)。余动脉血管显示良好,脑底动脉环显示清楚,主动脉壁无钙化,椎—基底动脉系统、颈内动脉系统未见异常,各分支走行显示良好,未见局限膨隆或狭窄(见图 1)。临床诊断颈总动脉颈内静脉瘘,家属要求赴上级医院进一步诊治,后随访患者,行外科手术治疗,术后瘘道关闭良好,颈总动脉及颈内静脉血管走行良好。

讨论 颈总动脉颈内静脉瘘(common carotid artery-interna l jugular vein fistula)临床极为罕见,指主动脉弓上颈总动脉发生破裂,动脉血经破损口直接与伴行的颈内静脉血沟通,形成异常的动—静脉沟通,导致颈内动脉系统缺血,进而出现一系列临床表现。临床上较为多见的头颈部动静脉瘘包括颈动脉海绵窦瘘、颈内动脉颈静脉瘘、椎动静脉瘘、硬脑膜动静脉瘘,按照病因多分为外伤性、医源性、先天性或自发性,其中以外伤性或医源性较多,先天性或自发性占比较低,临床多见于颈部外伤、颈内静脉穿刺置管术后^[1],本例患者瘘口位于颈总动脉起始部,位置靠近近心端,外伤性及医源性可能性不大,故

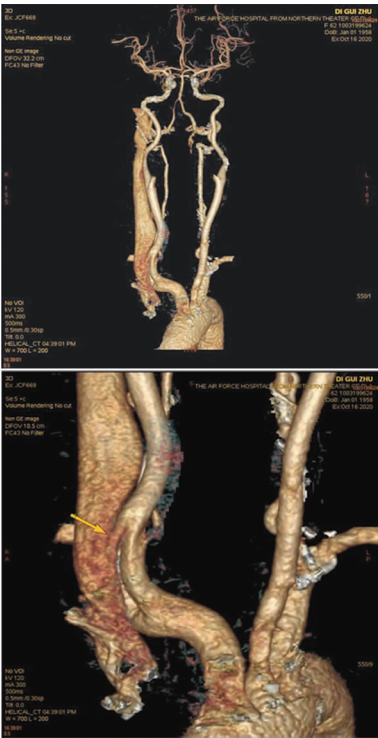


图 1 头颈部 CTA 示右颈总动脉—颈内静脉近段动静脉瘘

考虑为自发性。
颈总动脉颈内静脉瘘发病机制尚不清楚,可能包括:(1)内分泌激素相关,体内雌激素的异常变化,主要见于绝经后及妊娠期妇女;(2)先天遗传性因素相关,血管发育异常和胶原纤维缺乏症;(3)动脉血管壁脆性增加及退行性病变,如动脉粥样硬化等^[2]。
颈总动脉颈内静脉瘘临床表现多为颈内动脉系统短暂性脑缺血发作(TIA)、卒中等,如颈内动脉流量过大,历经数月或数年,患者可能出现高输出量心力衰竭、心房颤动及心源性栓塞等^[3]。本例患者为以视觉症状为主的颈内动脉系统 TIA,临床症状较典型。随着影像学的发展,DSA 成为诊断动静脉瘘的金标准。DSA 可见引流静脉出现动脉瘤样扩张、异常交织的畸形血管团等表现,对瘘口的位置和大小,瘘口的血流量、静脉引

流情况等提供可靠的诊断依据。

由于颈总动脉颈内静脉瘘发病率极低,目前还并未建立统一的诊疗标准,手术结扎、球囊栓塞、覆膜支架植入术均被报道为颈动脉颈静脉瘘的治疗选择^[4,6]。覆膜支架优点是可以保留和重塑颈动脉的完整结构,患者创伤小,尤其适用于血管解剖情况较好的年轻患者。但其受制于瘘口长度、血管有无严重迂曲等情况^[7]。手术治疗优点是视野暴露充分,瘘道封闭效果理想,常见的并发症包括损伤周围的解剖结构,如神经、食管、胸膜或动脉,意外损伤周围动脉形成血肿,可导致气道阻塞、假性动脉瘤、动静脉瘘和继发于血栓栓塞的卒中^[8]。

综上所述,在临床工作中,如果遇到颈内动脉系统 TIA 患者,并且无常见临床危险因素时,不仅要筛查颅内段血管,还要筛查颈部及弓上血管,避免误诊及漏诊。

参考文献

- [1] 马廉亭,潘力,吴涛,等. 颅内与椎管内动静脉瘘[J]. 中国临床神经外科杂志,2021,26 (10):737-746. DOI:10.13798/j. issn. 1009-153X. 2021. 10. 001.
- [2] 赵浩,潘文龙,沈春森,等. 自发性颈内动脉海绵窦瘘临床诊治研究进展[J/OL]. 中华神经创伤外科电子杂志,2018,4(1):50-52. DOI:10.3877/cma. j. issn. 2095-9141. 2018. 01. 013.
- [3] Vijoy KS, Amitabh Y, Vikas K, et al. Traumatic common carotid-internal

jugular arteriovenous fistula manifesting as life-threatening epistaxis[J]. Jacc Case Rep,2019,1(4):576-578. DOI: 10.1016/j. jaccas. 2019. 08. 023.

- [4] Tekkok IH, Akkurt C, Suzer T, et al. Congenital external carotid-jugular fistula: report of two cases and a review of the literature[J]. Neurosurgery, 1992, 30 (2): 272-276. DOI: 10.1227/00006123-199202000-00024.
- [5] Puca AE, Pignatelli F. An adult case of idiopathic internal carotid-internal jugular vein arteriovenous fistula[J]. Ann Vasc Surg,2015,29(4):842, e5-e7. DOI:10.1016/j. avsg. 2014. 12. 030.
- [6] Bellosta R, Vescovi M, Attisani L, et al. Endovascular treatment of congenital external carotid-jugular fistula: case report and review of the literature[J]. Vasc Endovasc Surg,2017,51(5):316-319. DOI:10.1177/1538574417702777.
- [7] 韩登峰,孔祥峰,吐尔逊·沙比尔. 覆膜支架在颅颈血管病变治疗中的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(21):3957-3960. DOI:10.3969/j. issn. 1673-8225. 2011. 21. 037.
- [8] Tan LH, Tan JH, Mohamad Y, et al. Unexpected complication of arteriovenous fistula of the left common carotid to internal jugular vein following central venous catheterization[J]. Chin J Traumatol,2020,23(1):29-31. DOI:10.1016/j. cjtcc. 2019. 10. 001.

(收稿日期:2022-03-01)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 019

罕见病病例

甲状腺功能亢进继发 Takotsubo 综合征 1 例

徐鹏,鲁玉明,吴立荣

作者单位:550004 贵阳,贵州医科大学附属医院内科(徐鹏、吴立荣);550002 贵阳,贵阳市第一人民医院内科(鲁玉明)

通信作者:吴立荣,E-mail:2325469221@qq.com

【关键词】 Takotsubo 综合征;甲状腺功能亢进;诊断;治疗

【中图分类号】 R542.2;R581.1 【文献标识码】 B

患者,女,55岁,因“胸闷3h”入院。患者入院前3h因争吵后突发胸闷不适,症状持续存在,心电图提示:II、III、AVF、V₁~V₆导联ST段抬高0.1~0.3mV,考虑急性心肌梗死(AMI)(图1)。患者既往体健。查体:T36.7℃,P102次/min,R18次/min,BP102/72mmHg。心肺腹未及阳性体征,双下肢不肿。血氧饱和度93%(未吸氧),立即给予阿司匹林肠溶片300mg,替格瑞洛片180mg,阿托伐他汀钙片40mg负荷剂量嚼服,随即行冠状动脉造影检查:前降支开口可见20%左右狭窄,各冠状动脉前向血流TIMI3级,患者因烦躁未行左心室造影。实验室检查:PLT80×10⁹/L,cTnI15.42μg/L,CK-MB84IU/L,BNP108.5ng/L,肌酸激酶441.6IU/L,钾2.8mmol/L,CRP、凝血功能、D-二聚体未见明显异常。胸腹CT及主动脉CTA示:主动脉未见夹层征象,胸主动脉硬化,肺动脉高压可能,双肺感染。超声心动图:左心增大,以心尖部明显,呈球形样改变,左

心室壁各节段无增厚,运动欠协调,心尖部室壁变薄,收缩幅度普遍减弱(图2)。治疗上予以改善心肌代谢、控制心室率、抑制心室重构、升压、抗感染、维持水电解质平衡等对症支持治疗。完善甲状腺功能检查:FT₃19.19pmol/L,FT₄98.56pmol/L,TSH0.01mIU/L;甲状腺球蛋白抗体1094.00IU/L,甲状腺过氧化物酶抗体14.80IU/L,促甲状腺受体抗体14.80IU/L。甲状腺B型超声:甲状腺弥漫性改变,甲状腺右侧叶低回声结节TI-RADS3类。诊断为甲状腺功能亢进继发 Takotsubo 综合征,予以抗甲状腺毒性治疗及对症支持治疗。入院第4天复查超声心动图:左心稍大,心尖稍圆钝,心尖部前壁、侧壁运动欠协调,收缩幅度稍减弱。入院第7天复查心电图显示各导联ST段较前明显回落。嘱患者院外继续服用美托洛尔、依那普利及抗甲状腺毒性药物,但患者出院后1个月即停药。2年后随访,未再次发生胸痛症状或因心力衰竭住院或心血管事件。

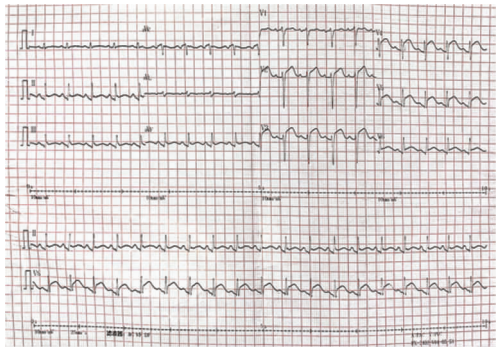


图1 患者入院时心电图

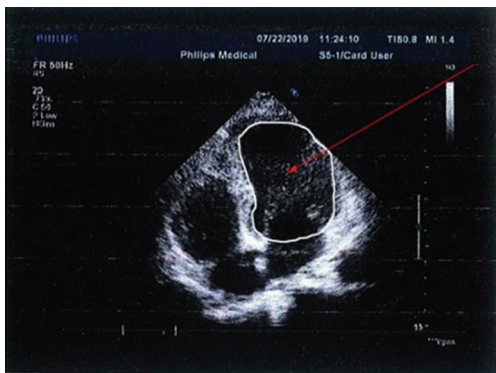


图2 患者入院时超声心动图

讨论 Takotsubo 综合征 (Takotsubo syndrome, TTS) 又称应激性心肌病、心尖球形综合征、章鱼壶心肌病、心碎综合征、圣瓶综合征,其来源于日语的 octopus pot (章鱼壶),形容左心室心尖部气球样膨胀的特征。TTS 是一种急性心血管疾病,患病率为 0.5%~0.9%,其中绝大多数为年龄 ≥ 50 岁的女性,在国际 Takotsubo 注册研究中,大约 88.9% 的患者为女性,平均年龄为 66.4 岁^[1-3]。TTS 在报告初期被认为是良性疾病,然而目前发现约 20% 的 TTS 患者在急性期可发生严重的心脏并发症,早期的住院病死率为 4%~5%,与 AMI 相当^[2,4]。

TTS 与 AMI 在临床表现、心电图、心肌损伤标志物等方面相似,许多 TTS 病例最初疑诊 AMI^[5]。目前尚缺乏一种能够快速、可靠诊断 TTS 的无创检测方法,超声心动图、左心室造影和冠状动脉造影被认为是排除或确认 TTS 的主要诊断工具。TTS 的诊断标准众多,目前还没有确定的诊断标准,常用梅奥诊所提出的诊断标准^[6]:(1) 伴或不伴心尖受累的短暂性左心室功能障碍,超出单一冠状动脉供血的范围,往往(但不一定)有应激性诱因;(2) 无梗阻性冠状动脉疾病或急性斑块破裂的冠状动脉造影证据;(3) 新发的心电图异常 (ST 段抬高、ST 段压低或 T 波倒置) 或心肌肌钙蛋白轻度升高;(4) 排除嗜铬细胞瘤和心肌炎。TTS 最常见的症状是胸痛和呼吸困难,也可表现为晕厥和肺水肿。心搏骤停、心源性休克和严重的室性心律失常在 TTS 患者中少见,全身乏力、不明原因的咳嗽和发热等症状也有报道,且发病之前通常有生活事件引起的情绪或生理应激^[2,7]。

TTS 的具体病理生理学尚不明确。目前提出了许多学说,包括交感神经过度兴奋、儿茶酚胺水平升高、微血管功能障碍、炎症反应、雌激素缺乏等,但没有一种能提供全面的解释^[2]。其中儿茶酚胺理论是 TTS 最被广泛接受的病理生理机制。TTS 患者不仅儿茶酚胺和神经肽水平出现明显升高,而且心脏交感神经支配异常且心尖交感神经过度活跃^[8]。甲状腺与肾上腺素能轴密切相关,甲状腺激素可能通过刺激心肌细胞中 β -肾上腺素受体的表达,使心脏对儿茶酚胺敏感,从而产生正性变力和变时性作用,增加对应激事件和心肌顿抑的敏感性。同时被激活的 β -肾上腺素受体形成的细胞内环磷酸腺苷,能够刺激将 T_4 转化为 T_3 的 II 型脱碘酶的基因表达,因此,在应激和 T_4 浓度升高的情况下,儿茶酚胺能信号和甲状腺激素的激活之间可能会出现一个正反馈回路,最终向 TTS 发展^[9]。

针对甲状腺功能亢进继发的 TTS 患者,除对症治疗外,应同时积极进行抗甲状腺治疗,患者经甲状腺功能亢进症治疗后心肌病可以完全恢复^[8]。本例接受 β 受体阻滞剂和 ACEI 等药物对症支持治疗,以及抗甲状腺毒性治疗,病情逐渐好转。

参考文献

- [1] Akashi YJ, Nef HM, Lyon AR. Epidemiology and pathophysiology of Takotsubo syndrome [J]. Nat Rev Cardiol, 2015, 12(7): 387-397. DOI:10.1038/nrcardio.2015.39.
- [2] Templin C, Ghadri JR, Diekmann J, et al. Clinical features and outcomes of Takotsubo (Stress) cardiomyopathy [J]. N Engl J Med, 2015, 373(10): 929-938. DOI:10.1056/NEJMoa1406761.
- [3] Khalid N, Ahmad SA, Shlofmitz E, et al. Pathophysiology of Takotsubo syndrome [M]. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, Copyright C2022, StatPearls Publishing LLC. 2022.
- [4] Kato K, Lyon AR, Ghadri JR, et al. Takotsubo syndrome: aetiology, presentation and treatment [J]. Heart, 2017, 103(18): 1461-1469. DOI:10.1136/heartjnl-2016-309783.
- [5] Lyon AR, Citro R, Schneider B, et al. Pathophysiology of Takotsubo syndrome: JACC State-of-the-Art Review [J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(7): 902-921. DOI:10.1016/j.jacc.2020.10.060.
- [6] Prasad A, Lerman A, Rihal CS. Apical ballooning syndrome (Takotsubo or stress cardiomyopathy): a mimic of acute myocardial infarction [J]. Am Heart J, 2008, 155(3): 408-417. DOI:10.1016/j.ahj.2007.11.008.
- [7] Ghadri JR, Sarcon A, Diekmann J, et al. Happy heart syndrome: role of positive emotional stress in takotsubo syndrome [J]. Eur Heart J, 2016, 37(37): 2823-2829. DOI:10.1093/eurheartj/ehv757.
- [8] Eliades M, El-Maouche D, Choudhary C, et al. Takotsubo cardiomyopathy associated with thyrotoxicosis: a case report and review of the literature [J]. Thyroid, 2014, 24(2): 383-389. DOI:10.1089/thy.2012.0384.
- [9] Aweimer A, El-Battrawy I, Akin I, et al. Abnormal thyroid function is common in Takotsubo syndrome and depends on two distinct mechanisms: results of a multicentre observational study [J]. J Intern Med, 2021, 289(5): 675-687. DOI:10.1111/joim.13189.

(收稿日期:2022-01-29)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 020

综 述

遗传性出血性毛细血管扩张症的药物治疗进展

赵琳综述 周宪梁审校

基金项目: 国家重点研发计划专项(2016YFC1300100); 临床与转化医学研究基金项目(2019XK320057)

作者单位: 100037 北京, 中国医学科学院/北京协和医学院/国家心血管病中心, 阜外医院心内科

通信作者: 周宪梁, E-mail: zhouxianliang0326@hotmail.com

【摘 要】 遗传性出血性毛细血管扩张症(HHT)是一种常染色体显性遗传的血管病。典型的临床表现是存在血管畸形, 最常见的临床表现是鼻出血、消化道出血、缺铁性贫血及特征性的皮肤黏膜毛细血管扩张。HHT 的诊断主要依靠血管畸形的证据及基因检测。现阶段的治疗目标主要在于缓解症状。近年来关于 HHT 的药物治疗取得了一定进展, 可考虑使用的药物包括抗血管生成药物、免疫调节剂、抗纤溶药物、激素、 β 受体阻滞剂等, 为 HHT 患者的治疗提供了更多的选择。

【关键词】 遗传性出血性毛细血管扩张症; 毛细血管扩张; 药物治疗

【中图分类号】 R543.7

【文献标识码】 A

Advances in drug therapy of hereditary hemorrhagic telangiectasia Zhao Lin, Zhou Xianliang. Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, National Center for Cardiovascular Disease, Department of Cardiology, Fuwai Hospital, Beijing 100037, China

Corresponding author: Zhou Xianliang, E-mail: zhouxianliang0326@hotmail.com

Funding program: National Key Research and Development Program of China (2016YFC1300100); Non-profit Central Research Institute Fund of Chinese Academy of Medical Sciences(2019XK320057)

【Abstract】 Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT) is an autosomal dominant vascular disease. The typical clinical manifestation is the presence of vascular malformation. The most common clinical manifestations are epistaxis, gastrointestinal bleeding, iron deficiency anemia and characteristic telangiectasia of skin and mucosa. The diagnosis of HHT mainly depends on the evidence of vascular malformation and gene detection. The current treatment goal is mainly to alleviate symptoms. In recent years, the drug treatment of HHT has made some progress. The drugs that can be considered include anti angiogenic drugs, immunomodulators, anti-fibrinolytic drugs, hormones β Receptor blockers provide more options for the treatment of HHT patients.

【Key words】 Hereditary hemorrhagic telangiectasia; Telangiectasia; Medical therapy

遗传性出血性毛细血管扩张症(hereditary hemorrhagic telangiectasia, HHT)又称为 Osler-Weber-Rendu 综合征, 是一种常染色体显性遗传性血管病, 估计患病率为 1/5 000^[1]。HHT 的临床特征是在血管畸形, 最常见的临床表现为鼻出血、消化道出血、缺铁性贫血及特征性的皮肤黏膜毛细血管扩张。此外, 肺、肝和脑等器官也常有动静脉畸形(arteriovenous malformation, AVM)^[1]。目前, HHT 的治疗目标主要为缓解症状, 本文重点总结 HHT 的药物治疗进展。

1 HHT 分子遗传学

HHT 被认为是骨形态发生蛋白 9/10(bone morphogenetic protein, BMP9/10)通路异常的一种疾病^[2]。常见的突变基因有 ENG 和 ACVRL1。ENG 变异相关的 HHT 被称为 HHT1, ACVRL1 变异相关的 HHT 被称为 HHT2, 约 90% 的 HHT 患者存在这 2 种基因中的 1 种突变。HHT3 和 HHT4 的基因变异分

别定位在染色体 5 和 7 上, 但受到影响的确切基因还不清楚^[3]。GDF2 基因突变也会导致 HHT, 被称为 HHT5。SMAD4 的致病变异通常与青少年息肉病/HHT 重叠综合征有关, 但其突变的频率不超过 HHT 患者的 2%。与 HHT 疾病相关的其他基因还有 RASA1, 其在血管结构发展相关的信号通路中发挥重要作用^[4]。

2 临床表现

HHT 常见的临床表现是自发性反复鼻出血, 累及约 95% 的患者。约 1/3 的 HHT 患者有反复消化道出血, 小肠是主要累及部位^[5]。鼻出血和消化道出血常导致缺铁性贫血。皮肤和黏膜毛细血管扩张在大多数患者中出现较晚, 好发于唇、舌、颊黏膜和指尖, 一般无临床意义。HHT 也会累及肺部、肝脏及脑部。HHT 肺部受累包括肺动静脉畸形(pulmonary arteriovenous malformation, PAVM)、肺动脉高压伴高输出性心力衰竭等。由于肺

动静脉的自发性破裂,患者可出现大量咯血或血胸,但死亡较罕见。肝脏受累往往无症状,只有少部分患者会发展为有症状性肝病,严重时可导致高输出量心力衰竭、贫血、门静脉高压和胆道坏死,中枢神经系统受累的患者可表现为癫痫、短暂性脑缺血发作、脑卒中或脊髓出血^[5]。

3 实验室/影像学检查

HHT 患者常出现贫血伴缺铁,建议对 HHT 患者进行全血细胞计数、铁代谢和肝功能的实验室检测。如果临床诊断或怀疑为 HHT,建议对其常见的靶器官进行系统筛查。其中 PAVM 常用的检查方法是胸部计算机增强扫描(computed tomography, CT),肝动静脉畸形的检查方法有多普勒超声、腹部增强 CT 或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)。颅内动静脉畸形的患者危及生命的并发症是血管破裂及颅内出血,所以建议 HHT 患者使用头部 MR 筛查颅内血管病变^[6]。有创性检查如血管造影,亦被认为是 HHT 血管畸形诊断的金标准^[7]。对于青少年息肉病/HHT 重叠综合征的患者,建议从 12 岁开始,每 1~3 年进行结肠镜检查 and 上消化道内镜检查。如果发现息肉,建议每年进行 1 次内镜检查^[6]。

4 诊断

国际共识诊断标准(Curaçao 诊断标准)基于下列 4 种表现^[1,8]:(1)反复自发性鼻出血;(2)典型部位的多发性皮肤黏膜毛细血管扩张;(3)内脏受累,如消化道毛细血管扩张,肺、脑或肝 AVM;(4)一级亲属患有 HHT。符合 3~4 项可确诊,符合 2 项为可疑,符合 0~1 项可排除。需注意的是,由于部分 HHT 患者基因筛查结果为阴性,所以基因突变阳性并不是诊断的必要条件,应警惕在基因突变检测阴性的个体中存在 HHT。

5 药物治疗

5.1 抗血管生成药 健康状态下,内皮细胞依赖促血管生成和抗血管生成的平衡来控制血管生长。当出现恶性生长的细胞时,这种平衡向促血管生成因子转移,其中包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)。HHT 中异常的 TGF- β 导致 VEGF 的过度产生^[9],引起异常的血管生成,进而导致动静脉畸形和毛细血管扩张。第 2 版国际 HHT 指南中关于鼻出血和消化道出血的推荐强调了抗血管生成疗法^[1]。

5.1.1 酪氨酸激酶抑制剂

5.1.1.1 贝伐珠单抗 贝伐珠单抗是一种重组的人源化单克隆 IgG1 抗体,可中和循环中的 VEGF。迄今为止发表的最大的一项国际多中心、回顾性研究评估了静脉注射贝伐珠单抗在 238 例 HHT 患者中的疗效,结果显示,贝伐珠单抗在减少 HHT 相关鼻出血和胃肠道出血方面非常有效。贝伐珠单抗使用 1 年可将平均血红蛋白增加 32 g/L 并将鼻出血严重程度评分(ESS)降低 3.4 分。与间歇性/按需维持相比,连续的贝伐珠单抗治疗可以获得更高的血红蛋白和更低的 ESS。贝伐珠单抗整体耐受性良好,高血压、疲劳和蛋白尿是最常见的不良事件^[10]。其他病例报道也支持贝伐珠单抗对 HHT 鼻出血和消化道出血的改善作用^[11]。虽然研究也报道了血栓形成的并发症,然而迄今为止并没有发现血栓率增加的明确证据。贝伐珠单抗对肝 AVM 也有改善作用,现已提出对于不符合移植条件的老年患者

(65 岁以上)及医学上不适合移植的 65 岁以下患者,可使用贝伐珠单抗,若有效则将其作为移植的过渡^[12]。

考虑到全身使用贝伐珠单抗的不良反应,研究者尝试使用黏膜下或壁内注射治疗 HHT 相关鼻出血。黏膜下注射贝伐珠单抗可以恢复 HHT 受累组织中局部抗血管生成和促血管生成因子之间的平衡,从而限制出血的频率和严重程度。一项对 32 例患者进行的研究表明,局部使用贝伐珠单抗对于治疗 HHT 相关鼻出血是一种相对安全的治疗方式^[13]。

5.1.1.2 帕唑帕尼 贝伐珠单抗长期给药、静脉给药的要求及其不良反应引发了对其替代药物的研究,其中之一是帕唑帕尼,这是一种多靶点酪氨酸激酶受体抑制剂。研究显示^[14],13 例输血依赖的 HHT 患者接受帕唑帕尼(中位剂量为 150 mg)治疗 12 个月后,平均血红蛋白增加了 4.8 g/dl,平均 ESS 降低了 4.77 分。另一项关于帕唑帕尼的前瞻性、多中心研究也显示,接受治疗的 HHT 患者血红蛋白水平和鼻出血都有良好的改善^[15]。帕唑帕尼的整体耐受性良好,高血压、淋巴细胞减少和疲劳是常见的不良反应。总之,帕唑帕尼在治疗 HHT 的出血方面是安全有效的,可以减轻患者的输血依赖。

5.1.2 成纤维细胞生长因子:成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)与酪氨酸激酶受体相互作用从而发挥生物学功能。FGFs 与 VEGF 协作可促进内皮细胞的增殖,诱导血管生成。因此,抑制 FGF 构成了抗 VEGF 的替代方案。既往研究已表明,抑制 FGF 信号通路可能是抑制 HHT 患者异常血管化的治疗方法。体外实验表明,酚磺乙胺可抑制伤口愈合和内皮细胞小血管生成,临床试验也证实局部喷雾酚磺乙胺治疗 HHT 可使 ESS 显著降低(4.14 vs. 2.74),且未见明显的不良反应^[16]。2018 年外用酚磺乙胺已作为 HHT 患者鼻出血的孤儿药。

5.2 免疫调节剂 沙利度胺可下调 HHT 的 VEGF 水平,改善血管壁的完整性。研究已发现,使用低剂量沙利度胺与鼻出血频率降低及时间缩短相关^[17]。沙利度胺已经被欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)认证为 HHT 的孤儿药,但研究也显示,大约有 1/3 的患者因不良反应停药,包括嗜睡、周围神经病变、恶心和便秘^[18]。欧洲罕见多系统血管疾病参考网络(European Reference Networks for Rare Multisystemic Vascular Diseases, VASCERN)评估了沙利度胺用于 HHT 患者的安全性^[11],约 55% 的患者存在沙利度胺相关不良事件,男性和女性的发生率相近,在 ENG 突变患者中的发生率高于 ACVRL1 突变患者。最常见的不良事件为周围神经病变(18%)、嗜睡(12%)和头晕(9%)。需要注意的是,沙利度胺抗血管生成的疗效与剂量有关,HHT 患者每天口服沙利度胺 50~200 mg 对降低毛细血管扩张、鼻出血和输血的次数有显著效果^[19]。但每天服用沙利度胺可能有周围神经病变、嗜睡、便秘和血栓形成等不良反应,这些不良反应可能通过减少给定剂量来降低。

5.3 抗纤溶药物 抗纤溶药物可有效减少鼻出血的严重程度。2014 年的一项试验纳入了 118 例每月鼻出血超过 60 min 或超过 28 次的 HHT 患者,将其随机分至安慰剂组或氨甲环酸组。结果发现与安慰剂组比较,氨甲环酸组的鼻出血发生率降低了 5.5%,每月鼻出血持续时间减少 17.3%^[20]。2020 年

HHT 指南^[1]提出,若局部保守治疗无效,可考虑口服氨甲环酸治疗鼻出血,氨甲环酸也被推荐用于轻度胃肠道出血的患者。氨基己酸的作用机制与氨甲环酸相似,但在已发表的 HHT 研究中临床经验要少得多。使用抗纤溶药物理论上存在血栓风险,但一项回顾性研究显示,24 例 HHT 患者接受抗纤溶治疗,中位随访时间为 13 个月,并未发现血栓事件^[21]。

5.4 激素 绝经女性患者鼻出血的发生率有所增加,这表明雌激素可能在女性的 HHT 相关出血中发挥保护作用。使用全身雌激素、孕激素和选择性雌激素反应调节剂来治疗 HHT 的数据仍有限。但是这些药物在凝血和纤维蛋白溶解方面有良好特性,它们也可改善血管完整性,增强鼻鳞状上皮功能。雷洛昔芬是 ENG 和 ACVRL1 启动子的转录激活因子^[22],2010 年,EMA 和美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)已将盐酸雷洛昔芬指定为治疗 HHT 患者出血的孤儿药。醋酸巴多昔芬是一种特异性的雌激素受体调节剂,可显著降低鼻衄的频率和强度^[23]。2014 年,巴多昔芬也被 EMA 认定为治疗 HHT 的孤儿药。需注意的是,雌激素和特异性雌激素受体调节剂作为激素受体配体,也会增加凝血因子基因的转录。所以应对接受这些治疗的 HHT 患者定期进行检测,以防止血栓事件。同时雌激素可能导致一些不良反应,包括体质量增加、男性乳房发育和性欲丧失等。

5.5 β 受体阻滞剂 非选择性肾上腺素能 β 受体阻滞剂与血管收缩、抑制内皮细胞迁移及降低 VEGF 表达等抗血管生成特性有关。随机对照试验证实局部使用 β 受体阻滞剂可改善鼻出血。2020 年一项随机对照试验纳入了 20 例 HHT 鼻出血患者,将其随机分至 1.5% 普萘洛尔凝胶组和安慰剂组。结果显示,8 周后普萘洛尔组的 ESS 显著降低,血红蛋白水平显著升高,静脉补铁和输血需求也减少^[24]。有研究显示,鼻内使用噻吗洛尔也能减少鼻出血的频率和严重程度^[25],但是另外一项研究结果显示局部使用噻吗洛尔凝胶未见显著获益^[26],关于噻吗洛尔的作用后续仍需更多的研究证实。全身摄取 β 受体阻滞剂也有不良反应,如心动过缓和低血压。但目前局部使用未发现类似的不良反应,可能与局部的剂量较低有关。

5.6 其他用药

5.6.1 他克莫司:他克莫司是 BMP9-ALK1-BMP2-Smad1/5/9 信号级联的有效激活因子,被证明可增强内皮细胞中的 ALK-1 信号通路,抑制 VEGF 信号传导和血管过度形成。低剂量他克莫司可有效治疗 HHT 患者的鼻出血或胃肠道出血,但未减轻肺动脉高压进展^[27]。有研究显示,他克莫司激活 BMP2 信号通路并可逆转严重的实验性肺动脉高压^[28]。他克莫司为治疗 ALK-1 基因突变的 HHT 和肺动脉高压的患者提供了一种新的治疗选择,关于他克莫司的疗效需要进行更多研究。

5.6.2 伊曲康唑:伊曲康唑是一种抗真菌药物,也被用于抗癌治疗,其机制包括抑制 VEGF 通路中的内皮细胞增殖。一项纳入 21 例 HHT 患者的研究中^[29],患者每日口服 200 mg 伊曲康唑,持续 16 周。治疗期间,中位鼻出血 ESS 从 6.0 分下降到 3.8 分,每月的鼻出血频率从 56 次下降到 38 次,每月的持续时间从 407 min 下降到 278 min。所以口服伊曲康唑可显著改善

HHT 患者的鼻出血。伊曲康唑最常见的不良反应是胃肠道反应(20%)、肝功能异常(5%)和皮疹(3%)。长期治疗可出现头痛和周围神经病变。少数可发生中度或严重的不良反应,如药物诱导的肝损伤和充血性心力衰竭。

5.6.3 中医药:目前中医药在 HHT 治疗中的研究仍较少,孙凤等^[30]对鼻出血的 HHT 患者进行回顾性分析显示这些患者属于中医脾肾两虚型,对患者使用补肾健脾中药 1 个月后,患者的脾肾两虚证候得到纠正,鼻出血得到有效控制。范愈燕等^[31]探究了玉女煎加味治疗 HHT 的临床疗效,其在鼻科填塞基础上,对鼻出血的 HHT 患者采用玉女煎随证加减治疗,结果显示中药玉女煎加味可明显改善 HHT 患者鼻出血的症状。期待更多关于中医药在 HHT 疾病治疗中的探索结果。

6 预后情况

通过积极治疗,HHT 患者整体的期望寿命与常人无异。但如果疾病未得到良好控制,HHT 患者的期望寿命会缩短,特别是在合并颅内血管病变和出血性并发症的患者中。在 HHT 确实促成死亡的情况下,计算得出的期望寿命平均缩短 19 年^[32]。慢性胃肠道出血、贫血和有症状的肝动静脉畸形(HAVM)与 HHT 患者的病死率增加相关^[33],这表明需要注重 HHT 患者中并发症的治疗,以降低 HHT 患者的病死率。此外,与具有 ACVRL1 或 ENG 突变的患者相比,具有 SMAD4 突变的患者病死率更高,但鉴于 SMAD4 患者的罕见性,尚需要进一步证实^[33]。

7 小结与展望

总之,HHT 是一种少见且需被重视的遗传性出血性疾病,该疾病生活质量的下降大多数是病情复发和严重鼻出血的结果。若对 HHT 患者及时干预,患者的生活质量及预期寿命均可改善。现阶段 HHT 的治疗方法主要在于缓解症状,尚缺乏针对 BMP9/10-ALK1-SMAD1/5/9 信号通路突变成分的病因学治疗方法。基于此,希望今后会出现更多机制驱动的药物,扩大可用于治疗 HHT 的药物选择。

参考文献

- [1] Faughnan ME, Mager JJ, Hetts SW, et al. Second international guidelines for the diagnosis and management of hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. Ann Intern Med, 2020, 173(12): 989-1001. DOI: 10.7326/m20-1443.
- [2] Robert F, Desroches-Castan A, Bailly S, et al. Future treatments for hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. Orphanet J Rare Dis, 2020, 15(1): 4. DOI: 10.1186/s13023-019-1281-4.
- [3] Lam S, Guthrie KS, Latif MA, et al. Genetic counseling and testing for hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. Clin Genet, 2022, 101(3): 275-284. DOI: 10.1111/cge.14050.
- [4] Hernandez F, Huether R, Carter L, et al. Mutations in rsal and gdf2 identified in patients with clinical features of hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. Hum Genome Var, 2015, 2(2): 15040. DOI: 10.1038/hgv.2015.40.
- [5] 秦丽丽, 高笑宇, 孙德俊. 遗传性出血性毛细血管扩张症研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(6): 642-644. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2021.06.027.
- [6] Kroon S, Snijder RJ, Faughnan ME, et al. Systematic screening in he-

- reditary hemorrhagic telangiectasia: A review [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2018, 24(3): 260-268. DOI: 10.1097/mcp.0000000000000472.
- [7] 王闻博,刘宏达,刘兆臣,等. 肝脏遗传性出血性毛细血管扩张症的研究进展[J]. *中国现代普通外科进展*, 2015, 18(5): 388-391. DOI:10.3969/j.issn.1009-9905.2015.05.014.
- [8] Faughnan ME, Palda VA, Garcia-Tsao G, et al. International guidelines for the diagnosis and management of hereditary haemorrhagic telangiectasia[J]. *J Med Genet*, 2011, 48(2): 73-87. DOI: 10.1136/jmg.2009.069013.
- [9] Kritharis A, Al-Samkari H, Kuter DJ. Hereditary hemorrhagic telangiectasia: Diagnosis and management from the hematologist's perspective[J]. *Haematologica*, 2018, 103(9): 1433-1443. DOI: 10.3324/haematol.2018.193003.
- [10] Al-Samkari H, Kasthuri RS, Parambil JG, et al. An international, multicenter study of intravenous bevacizumab for bleeding in hereditary hemorrhagic telangiectasia: The inhibit-bleed study[J]. *Haematologica*, 2021, 106(8): 2161-2169. DOI: 10.3324/haematol.2020.261859.
- [11] Buscarini E, Botella LM, Geisthoff U, et al. Safety of thalidomide and bevacizumab in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2019, 14(1): 28. DOI: 10.1186/s13023-018-0982-4.
- [12] Dupuis-Girod S, Buscarini E. Hereditary hemorrhagic telangiectasia: To transplant or not to transplant[J]. *Liver Int*, 2016, 36(12): 1741-1744. DOI:10.1111/liv.13210.
- [13] Karnezis TT, Davidson TM. Efficacy of intranasal bevacizumab (avastin) treatment in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia-associated epistaxis[J]. *Laryngoscope*, 2011, 121(3): 636-638. DOI:10.1002/lary.21415.
- [14] Parambil JG, Gossage JR, McCrae KR, et al. Pazopanib for severe bleeding and transfusion-dependent anemia in hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Angiogenesis*, 2021, 25(1): 87-97. DOI: 10.1007/s10456-021-09807-4.
- [15] Faughnan ME, Gossage JR, Chakinala MM, et al. Pazopanib may reduce bleeding in hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(1): 145-155. DOI: 10.1007/s10456-018-9646-1.
- [16] Albinana V, Giménez-Gallego G, García-Mato A, et al. Topically applied etamsylate: A new orphan drug for hht-derived epistaxis (anti-angiogenesis through fgf pathway inhibition)[J]. *TH Open*, 2019, 3(3): e230-e243. DOI:10.1055/s-0039-1693710.
- [17] Harrison L, Kundra A, Jervis P. The use of thalidomide therapy for refractory epistaxis in hereditary haemorrhagic telangiectasia: Systematic review[J]. *J Laryngol Otol*, 2018, 132(10): 866-871. DOI: 10.1017/s0022215118001536.
- [18] Fang J, Chen X, Zhu B, et al. Thalidomide for epistaxis in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia: A preliminary study[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 157(2): 217-221. DOI: 10.1177/0194599817700573.
- [19] Franchini M, Frattini F, Crestani S, et al. Novel treatments for epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia: A systematic review of the clinical experience with thalidomide[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2013, 36(3): 355-357. DOI:10.1007/s11239-012-0840-5.
- [20] Gaillard S, Dupuis-Girod S, Boutitie F, et al. Tranexamic acid for epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia patients: A european cross-over controlled trial in a rare disease[J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(9): 1494-1502. DOI:10.1111/jth.12654.
- [21] Beckman JD, Li Q, Hester ST, et al. Integration of clinical parameters, genotype and epistaxis severity score to guide treatment for hereditary hemorrhagic telangiectasia associated bleeding[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2020, 15(1): 185. DOI:10.1186/s13023-020-01453-1.
- [22] Albinana V, Bernabeu-Herrero ME, Zarrabeitia R, et al. Estrogen therapy for hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT): Effects of raloxifene, on endoglin and alk1 expression in endothelial cells[J]. *Thromb Haemost*, 2010, 103(3): 525-534. DOI:10.1160/th09-07-0425.
- [23] Zarrabeitia R, Ojeda-Fernandez L, Recio L, et al. Bazedoxifene, a new orphan drug for the treatment of bleeding in hereditary haemorrhagic telangiectasia[J]. *Thromb Haemost*, 2016, 115(6): 1167-1177. DOI:10.1160/th15-03-0239.
- [24] Mei-Zahav M, Gendler Y, Bruckheimer E, et al. Topical propranolol improves epistaxis control in hereditary hemorrhagic telangiectasia (hht): A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(10): 3130. DOI:10.3390/jcm9103130.
- [25] Olitsky SE. Topical timolol for the treatment of epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Am J Otolaryngol*, 2012, 33(3): 375-376. DOI:10.1016/j.amjoto.2011.10.011.
- [26] Dupuis-Girod S, Pitiot V, Bergerot C, et al. Efficacy of timolol nasal spray as a treatment for epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 11986. DOI:10.1038/s41598-019-48502-9.
- [27] Sommer N, Droege F, Gamen KE, et al. Treatment with low-dose tacrolimus inhibits bleeding complications in a patient with hereditary hemorrhagic telangiectasia and pulmonary arterial hypertension[J]. *Pulm Circ*, 2019, 9(2): 1-3. DOI:10.1177/2045894018805406.
- [28] Spiekerkoetter E, Tian X, Cai J, et al. Fk506 activates BMPR2, rescues endothelial dysfunction, and reverses pulmonary hypertension[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(8): 3600-3613. DOI: 10.1172/jci65592.
- [29] Kroon S, Snijder RJ, Hosman AE, et al. Oral itraconazole for epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia: A proof of concept study[J]. *Angiogenesis*, 2021, 24(2): 379-386. DOI: 10.1007/s10456-020-09758-2.
- [30] 孙凤,高明洁,雍彦礼. 补肾健脾法治疗遗传性出血性毛细血管扩张症体会[J/OL]. *世界最新医学信息文摘: 电子版*, 2014, 8(8): 136, 141. DOI:10.3969/j.issn.1671-3141.2014.08.102.
- [31] 范愈燕,王向东,锡林,等. 玉女煎加味治疗遗传性出血性毛细血管扩张症的疗效观察[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2015, 22(3): 128-131. DOI:10.16066/j.1672-7002.2015.03.006.
- [32] Droege F, Thangavelu K, Stuck BA, et al. Life expectancy and comorbidities in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Vasc Med*, 2018, 23(4): 377-383. DOI: 10.1177/1358863x18767761.
- [33] Thompson KP, Nelson J, Kim H, et al. Predictors of mortality in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, 16(1): 12. DOI: 10.1186/s13023-020-01579-2.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 021

综 述

瞬时受体电位通道在食管疾病中的作用及机制研究进展

吴静,余晓云综述 沈磊审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81570490)

作者单位: 430000 武汉大学人民医院消化内科(吴静、沈磊); 430022 华中科技大学协和医院消化内科(余晓云)

通信作者: 沈磊, E-mail: szggyx2017@163.com

【摘 要】 瞬时受体电位(TRP)通道广泛表达于哺乳动物组织和细胞中,在炎症反应、免疫、感觉传导等方面发挥多重作用,其功能状态的异常与疾病的发生密切相关。近年来,多项研究显示,TRP 通道参与食管相关疾病的发生发展。因此,文章对 TRP 通道在食管疾病中的作用与机制进行综述,展望其在食管疾病治疗中的应用前景,并为未来临床治疗提供新思路。

【关键词】 瞬时受体电位通道;胃食管反流病;食管癌;嗜酸性食管炎;作用机制

【中图分类号】 R571 【文献标识码】 A

Research progress on the role and mechanism of transient receptor potential channels in esophageal diseases Wu Jing*, Yu Xiaoyun, Shen Lei. * Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430000, China

Corresponding author: Shen Lei, E-mail: szggyx2017@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81570490)

【Abstract】 Transient receptor potential (TRP) channels are widely expressed in mammalian tissues and cells, and play multiple roles in inflammatory response, immunity, sensory conduction, etc. The abnormality of their functional status is closely related to the occurrence of diseases. In recent years, a number of studies have shown that TRP channels are involved in the occurrence and development of esophagus-related diseases. Therefore, this article reviews the role and mechanism of TRP channel in esophageal diseases, looks forward to its application prospects in the treatment of esophageal diseases, and provides new ideas for future clinical treatment.

【Key words】 Transient receptor potential channel; Gastroesophageal reflux disease; Esophageal carcinoma; Eosinophilic esophagitis; Mechanism

瞬时受体电位(transient receptor potential, TRP)通道家族是广泛表达于哺乳动物不同细胞类型和组织中的非选择性阳离子通道蛋白,其参与多种生理和病理过程,如传导感觉信号、炎症反应调控、通道功能异常状态致各种疾病相关等^[1]。近年来,越来越多的研究发现^[2-3], TRP 通道与内脏高敏感、食管癌等食管疾病状态密切相关,不同亚型的 TRP 通道在各种食管疾病中发挥着不同的作用。因此,改变特定 TRP 通道的活性,或许能为食管疾病治疗提供新的思路。本文主要综述 TRP 通道在食管疾病中的作用机制及临床应用前景,有望为未来的研究提供新见解。

1 TRP 通道家族概述

根据氨基酸序列和拓扑结构的差异进行分类,TRP 家族有 6 种亚型存在于哺乳动物中,包括 TRPC、TRPV、TRPM、TRPA、TRPP、TRPML^[4]。TRP 多由 4 个亚基组成同型或异型四聚体结构,每个亚基以 6 个跨膜结构域(S1 ~ S6)的形式存在于质膜中,S5 和 S6 之间有 1 个成孔环路,两侧是胞内由多种结构域组

成的 N 和 C 末端,从而形成功能性通道以适应细胞内外的刺激。除了对 Ca²⁺ 具有特异性的 TRPV5 和 TRPV6,以及对一价阳离子具有高度选择性的 TRPM4 和 TRPM5 之外,TRP 通道均可渗透一价和二价离子^[5]。它们广泛分布于中枢和外周神经系统,也存在于哺乳动物的非神经细胞中。TRP 通道充当多种和特定刺激的分子传感器,可被温度、pH、渗透压等多种外源性或局部内源性刺激激活或致敏。在神经细胞中,TRP 通道激活可导致质膜去极化,引发 Ca²⁺ 内流,增加动作电位的产生,促使刺激信号到达自主和中枢神经系统,引起反射和感觉。在非兴奋性细胞中,TRP 通道主要参与调节细胞内钙浓度,参与血管舒张和细胞增殖等多种生理病理过程。此外,某些 TRP 通道还存在于特定的细胞器中(包括纤毛和溶酶体),通过不同机制调控相关细胞器的活动^[6]。

1.1 TRPC TRPC 是 TRP 家族中的经典型,包括 7 个成员(TRPC1 ~ 7),其中 TRPC2 是人类的假基因,在人类和猿猴中不表达^[4,5]。TRPC 蛋白形成非选择性阳离子通道,定位于细胞质

膜上,通过 G 蛋白耦联受体、酪氨酸激酶受体、低渗溶液、机械刺激等方式激活。TRPCs 不仅参与神经功能的调节,还在炎症反应、心脏重构、肿瘤发生发展等发挥作用。目前 TRPC6 的基因突变已被证实与遗传性疾病(如局灶性节段性肾小球硬化症)有关^[7],同时也有研究提示其对食管癌的发展进程有促进作用^[8]。

1.2 TRPV TRPV 是 TRP 家族中的香草家族^[5],其中 TRPV 1~4 可由植物中香草醛、辣椒素等激活,属于热敏感 TRP 通道。TRPV1 是迷走神经无髓鞘传入神经元的 C 纤维中高表达的疼痛、热传感器,在食管黏膜固有层、结直肠等部位表达水平高,对酸敏感,与食管黏膜炎性反应、内脏高敏感有关^[9]。而同亚族的 TRPV2 会在高温(>52℃)条件下被激活,其在支配胃肠道的内在抑制性运动和外在神经元中表达,有助于胃适应性松弛和小肠松弛,同时参与介导细胞存活、增殖、转移的信号通路,在不同类型的癌症中具有一定的致癌作用^[10]。此外,TRPV4 在温度(>27℃)、机械刺激、花生四烯酸的代谢产物条件下激活,作为渗透压和机械压力的传感器,介导信号传导^[4]。

1.3 TRPM TRPM 是 TRP 家族中的褪黑素家族^[5],由 8 个成员(TRPM1~8)组成。TRPM7 是正常组织和细胞中广泛表达的具有蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性的离子通道,在细胞和全身镁稳态中发挥重要作用。另外作为冷感受器的 TRPM8,选择性地表达在初级感觉神经元的亚群中,并且可以通过低温和化学物质(如薄荷醇^[11])激活,从而诱发感觉异常。还可通过调控磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸蛋白激酶/糖原合成酶激酶-3 β 信号通路的激活、调节细胞在缺氧等应激条件下的耐受能力,参与调控肿瘤细胞的增殖、迁移和凋亡,参与肿瘤的发生发展^[12]。

1.4 TRPA TRPA 是 TRP 家族中的锚蛋白型^[5],其中 TRPA1 是哺乳动物中 TRPA 家族的唯一成员,可被温度(<17℃)激活。TRPA1 存在于疼痛感受神经细胞膜上,调节促进长期反应和触发回避行为的疼痛感觉通路,因此阻断 TRPA1 功能有望减轻机体疼痛感,TRPA1 拮抗剂(如芥子油)或许可改善刺激性暴露引起的神经源性炎症反应。

2 TRP 通道与食管疾病的关系

众所周知,食管中有多种 TRP 通道蛋白表达,各自发挥着不同的作用,如传导信号、调控炎症介质等^[1]。目前已发现多种 TRP 通道(TRPV1、TRPV2、TRPV4、TRPA1、TRPM7 和 TRPM8)与食管相关疾病密切相关,其在内脏高敏感、食管癌等疾病中已被广泛研究。对于内脏高敏感状态,TRP 通道蛋白首先充当外界刺激的感受器,同时可通过增加活化、降低激活阈值或改变传入递质的表达来调节机体对外界刺激的效应程度。除了外来刺激激活外,在组织损伤或炎症反应释放时内源性促炎介质可以激活 G 蛋白耦联受体超家族受体,导致 TRP 通道致敏和激活,从而放大疼痛和神经源性炎症反应^[13]。在胃食管反流病、嗜酸性食管炎等食管高敏感状态下,食管中的伤害性刺激可以通过 TRPs 介导后脊髓和迷走传入神经并产生感觉异常^[2,14]。而在肿瘤相关研究中发现^[8,10],TRP 通道参与了癌细胞的生长、增殖、迁移,在食管癌的发生和发展中起关键作用。

此外,也有研究证明在食管角质形成细胞中高表达的 TRPV4 参与食管损伤修复过程,其介导食管角化细胞的 ATP 释放,通过 ATP 降解产物腺苷作用于 A2B 腺苷受体,从而降低体外伤口愈合率^[15]。

2.1 胃食管反流病 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是常见的消化系统疾病,全球患病率为 2.5%~51.2%,并有升高趋势^[16]。GERD 临床主要表现为反酸、胃灼热、烧心等症状,多数患者临床症状是食管对酸的敏感性增加所致^[17],表现为内脏高敏感。GERD 不仅严重影响患者生活质量,而且增加了食管炎、食管狭窄、巴雷特食管和食管腺癌的发病风险。目前 GERD 的主要治疗局限于质子泵抑制剂等抗酸药物,对于难治性、PPI 耐药患者仍未有切实有效的治疗方式。近年来,越来越多的研究提示,TRP 通道参与了 GERD 的发生发展,这或许可以为 GERD 的临床治疗提供新思路。

目前有研究发现^[18],GERD 患者食管黏膜中 TRPV1 的表达水平增高,且根据 Ma 等^[19]的研究报道,将食管上皮细胞暴露于酸性环境下(pH=5.0)会增加 TRPV1 的表达,同时导致 ATP 释放及炎症细胞因子 IL-8、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)和巨噬细胞炎症反应蛋白 1 α (MIP-1 α)的上调,这表明 TRPV1 的活化与炎症反应密切相关。另外有研究发现^[3,20],TRPV1 拮抗剂会抑制食管迷走神经结/颈静脉神经 C 纤维对酸诱导的作用,表明酸暴露或酸诱导引起的食管炎可能使初级感觉神经元敏感。TRPV1 的过度表达导致内脏感觉神经元的兴奋性增强形成食管高敏感状态,因此靶向作用于 TRPV1 通道的药物可能成为对常规治疗无反应的 GERD 患者的潜在治疗方法。

2021 年发表的一项研究发现,反流性食管炎大鼠模型的食管括约肌中 TRPV2 通道蛋白和神经生长因子的表达显著增加,口服 TRPV2 抑制剂曲尼司特可显著改善大鼠的体质量减轻、食管病变和上皮厚度等问题,结果表明,抑制性运动神经元中 TRPV2 的上调与食管炎模型中的食管括约肌松弛有关^[21]。TRPV2 抑制剂可能有利于 GERD 的治疗,但其具体机制尚未可知,仍需要进一步研究。

Yu 等^[11]研究发现,TRPM8 多在食管迷走神经 TRPV1 阳性的颈静脉神经元中表达,且 TRPM8 激动剂(薄荷醇)也选择性诱发颈静脉神经元(非结节神经元)C 纤维神经末梢的动作电位,阐述了 TRPM8 在食管感觉转导中的独特作用。2019 年 Banovcin 等^[22]发现给予薄荷醇灌注后,健康受试者是相对不痛苦的冷感觉,而 GERD 患者则转变为相对痛苦的灼烧感。2022 年新发表的研究也提示灌注薄荷醇会降低食管上段基础压力,同时可以减少由食管内快速空气膨胀引起的二次蠕动的频率^[23]。这些研究证据证实了 TRPM8 通道在改善食管感觉或食管痉挛的可行性,为 GERD 和食管痉挛等病症的临床治疗提供新方法。

2.2 食管癌 食管癌是我国高发肿瘤之一,据 2021 年全球癌症报告统计,2020 年全球约有食管癌新发病例 60.4 万例,死亡病例 50.4 万例,位居恶性肿瘤发病、死亡的第 7 位和第 6 位,其中东亚地区我国发病率最高^[24]。因此,降低我国食管癌的发病率和病死率,成为当前亟待解决的重大公共卫生问题。食管癌

发病的内在机制仍在不断探索,目前已经证实 TRP 通道在食管癌的发生和发展中起关键作用。

Zhou 等^[25]发现 TRPV2 通过影响 WNT/ β -连环蛋白或基底细胞癌信号传导来调节肿瘤进展,对 62 例食管鳞状细胞癌 (ESCC) 患者的食管组织研究发现,TRPV2 在 ESCC 的过表达与食管癌预后不良有关,并提出将其作为早期切除 ESCC 患者的新型预后生物标志物和 ESCC 的新型治疗靶点。而 Huang 等^[26]检测了一种非肿瘤性人食管鳞状细胞和 2 种食管鳞状细胞癌细胞,发现 TRPV1、TRPV2 和 TRPV4 蛋白在 ESCC 细胞中上调,TRPV1 和 TRPV4 的过度活化促进了 ESCC 细胞的增殖和迁移。以上作为热敏通道的 TRPVs 可能在食管鳞癌的发生发展中发挥关键作用。

同时目前已有多项研究证明,TRPM7 也在食管癌中发挥多种功能作用,包括肿瘤增殖、生长、迁移等。2017 年 Nakashima 等^[27]发现与非肿瘤性食管上皮相比,虽然 ESCC 中的 TRPM7 蛋白表达增高,但抑制 TRPM7 表达却增加了 ESCC 的增殖、迁移和侵袭。Dou 等^[28]研究发现,使用苯二氮草类麻醉剂咪达唑仑抑制 TRPM7 的表达后,有助于抑制下咽鳞状细胞癌细胞的生长和增殖,并能诱导 G_0/G_1 细胞周期阻滞和阻断视网膜母细胞瘤基因 (Rb) 的活化,特异性 TRPM7 激动剂缓激肽逆转了这种作用。因此 TRPM7 在不同食管癌细胞系的作用机制并不明确,仍需要探究其在食管癌中发挥的作用。此外,同亚系的 TRPM8 与食管癌也有相关性。Lan 等^[29]研究发现,TRPM8 在食管癌样本和细胞系中过表达,进一步研究发现,TRPM8 过表达及 TRPM8 激动剂会诱导程序性死亡配体 1 (PD-L1) 的表达,从而降低了 CD8⁺T 细胞对食管癌细胞的细胞毒性作用,解释了癌细胞免疫逃避的可能机制。

已有研究发现,TRPC6 在人食管鳞癌组织的表达明显高于正常食管组织,其调节细胞内 Ca^{2+} 浓度和周期蛋白依赖性激酶 1,抑制 TRPC6 会减少 ESCC 细胞钙信号传导并诱导细胞周期阻滞^[30]。另外,在 2013 年发表的前瞻性临床研究中^[31],TRPC6 过表达与 ESCC 患者的预后不良相关,且在局部晚期 ESCC 中该通道高表达患者总体生存时间明显缩短。因此根据细胞 G_2/M 期对辐照最敏感,或许使用 TRPC6 的抑制剂可作为有效的放射增敏剂,增强辐照的抗增殖作用,使新辅助放疗加 TRPC6 抑制剂有望成为局部晚期 ESCC 高 TRPC6 表达患者的特异性治疗策略。

2.3 嗜酸性食管炎 TRPA1 是在伤害感受器中广泛表达的阳离子通道,在感觉神经元和伤害性传入纤维中选择性表达。Liu 等^[14]发现在嗜酸性食管炎 (EoE) 豚鼠模型中,长时间的抗原攻击使食管感觉神经元和传入神经 C 纤维中的 TRPA1 敏感。而后续研究也发现^[32],使用 TRPA1 拮抗剂刺激腺苷 (腺苷诱导食管中枢性感觉致敏) A2 受体可以诱导结节 C 纤维致敏,提示 TRPA1 可能参与嗜酸性食管炎的发病过程^[33]。然而最近一项研究发现,在质子泵抑制剂难治性食管反流患者中,食管动力无效患者与食管动力正常患者的潜在机械感受器 (包括 TRPA1、TRPV1、TRPV4) 的表达没有差异,提示潜在机械感受器的表达与食管收缩减弱无关^[34]。由此看来,TRPA1 主要参在

食管的感觉性传导,而与食管运动方面联系较少,仍需进一步研究。

3 小 结

近年来研究发现,在内脏高敏感状态下,TRP 通道主要作用是感觉传导和参与炎症反应,在疾病进一步发展、治疗和干预措施中已展现出明显的潜力;同时 TRP 通道是食管癌治疗的潜在靶点,其通路的抑制或激活可调控肿瘤细胞凋亡、增殖、转移,也可以根据其参与肿瘤细胞周期的机制,使用拮抗剂或激活剂辅助癌症患者临床治疗。目前 TRP 通道在食管相关疾病的分子机制仍需进一步探索,也应继续深入其与感觉神经元之间的传导机制和在肿瘤细胞发挥作用的具体途径,从而发现特异性的靶点来应对内脏高敏感和相关肿瘤的发生发展,为难治性 GERD、食管癌等患者提供更佳的治疗策略,进而改善预后。

参考文献

- [1] Diver MM, King JVL, Julius D, et al. Sensory TRP Channels in Three Dimensions [J]. Annual Review of Biochemistry, 2022, 91: 629-649. DOI: 10.1146/annurev-biochem-032620-105738.
- [2] Silva RO, Bingana RD, Sales TMAL, et al. Role of TRPV1 receptor in inflammation and impairment of esophageal mucosal integrity in a murine model of nonerosive reflux disease [J]. Neurogastroenterology and Motility: the Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society, 2018, 30(8): e13340. DOI: 10.1111/nmo.13340.
- [3] Bujak JK, Kosmala D, Szopa IM, et al. Inflammation, cancer and immunity-implication of TRPV1 channel [J]. Front Oncol, 2019, 9: 1087. DOI: 10.3389/fonc.2019.01087.
- [4] Li H. TRP channel classification [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 976: 1-8. DOI: 10.1007/978-94-024-1088-4_1.
- [5] 吕小斌, 罗和生. TRP 离子通道家族和消化系统肿瘤相关性研究 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2021, 30(2): 194-198. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2021.02.016.
- [6] Moran MM. TRP channels as potential drug targets [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2018, 58: 309-330. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010617-052832.
- [7] Chen X, Sooch G, Demaree IS, et al. Transient receptor potential canonical (TRPC) channels: Then and Now [J]. Cells, 2020, 9(9): 1983. DOI: 10.3390/cells9091983.
- [8] Zhang Y, Zhang Y, Fan H, et al. Study on the role of transient receptor potential C6 channels in esophageal squamous cell carcinoma radiosensitivity [J]. Journal of Thoracic Disease, 2017, 9(10): 3802-3809. DOI: 10.21037/jtd.2017.09.108.
- [9] 许智超, 年媛媛, 孟宪梅. TRPV1 信号通路的研究现状 [J]. 包头医学院学报, 2021, 37(10): 62-65. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2021.10.015.
- [10] Siveen KS, Nizamuddin PB, Uddin S, et al. TRPV2: A cancer biomarker and potential therapeutic target [J]. Dis Markers, 2020, 2020: 8892312. DOI: 10.1155/2020/8892312.
- [11] Yu X, Hu Y, Ru F, et al. TRPM8 function and expression in vagal sensory neurons and afferent nerves innervating guinea pig esophagus [J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2015, 308(6): G489-G496. DOI: 10.1152/ajpgi.00336.2014.
- [12] 冷傲, 刘一谦. TRPM8 在肿瘤中的研究进展 [J]. 临床与病理杂

- 志, 2022, 42(3): 721-725. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.03.030.
- [13] Balemans D, Boeckstaens GE, Talavera K, et al. Transient receptor potential ion channel function in sensory transduction and cellular signaling cascades underlying visceral hypersensitivity[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2017, 312(6): G635-G648. DOI: 10.1152/ajpgi.00401.2016.
- [14] Liu Z, Hu Y, Yu X, et al. Allergen challenge sensitizes TRPA1 in vagal sensory neurons and afferent C-fiber subtypes in guinea pig esophagus[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2015, 308(6): G482-G488. DOI: 10.1152/ajpgi.00374.2014.
- [15] Boudaka A, Saito CT, Tominaga M. Deletion of TRPV4 enhances in vitro wound healing of murine esophageal keratinocytes [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 11349. DOI: 10.1038/s41598-020-68269-8.
- [16] 展玉涛. 胃食管反流病诊治进展[J]. *西南医科大学学报*, 2022, 45(2): 103-107. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2022.02.003.
- [17] Yan Y, Xiang XL, Qian W, et al. Changes of neuronal activities after gut electrical stimulation with different parameters and locations in lateral hypothalamus area of obese rats[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2014, 34(4): 510-515. DOI: 10.1007/s11596-014-1307-z.
- [18] 杨勇. 瞬时受体电位香草酸亚型 1 及 5 羟色胺 4 在胃食管反流病中的表达及意义[J]. *中国综合临床*, 2016, 32(8): 713-716. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6315.2016.08.012.
- [19] Ma J, Altomare A, Guarino M, et al. HCl-induced and ATP-dependent upregulation of TRPV1 receptor expression and cytokine production by human esophageal epithelial cells[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2012, 303(5): G635-G645. DOI: 10.1152/ajpgi.00097.2012.
- [20] Yu X, Hu Y, Yu S. Effects of acid on vagal nociceptive afferent subtypes in guinea pig esophagus[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2014, 307(4): G471-G478. DOI: 10.1152/ajpgi.00156.2014.
- [21] Matsumoto K, Suenaga M, Mizutani Y, et al. Role of transient receptor potential vanilloid subtype 2 in lower oesophageal sphincter in rat acid reflux oesophagitis[J]. *J Pharmacol Sci*, 2021, 146(3): 125-135. DOI: 10.1016/j.jphs.2021.03.010.
- [22] Banovcin P, Duricek M, Zatkó T, et al. The infusion of menthol into the esophagus evokes cold sensations in healthy subjects but induces heartburn in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD)[J]. *Dis Esophagus*, 2019, 32(11): doz038. DOI: 10.1093/dote/doz038.
- [23] Lei WY, Liang SW, Hung JS, et al. Effects of menthol on esophageal motility in humans: Studies using high-resolution manometry[J]. *Neurogastroenterology and Motility: the Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 2022, 34(5): e14267. DOI: 10.1111/nmo.14267.
- [24] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [25] Zhou K, Zhang SS, Yan Y, et al. Overexpression of transient receptor potential vanilloid 2 is associated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(7): 17. DOI: 10.1007/s12032-014-0017-5.
- [26] Huang R, Wang F, Yang Y, et al. Recurrent activations of transient receptor potential vanilloid-1 and vanilloid-4 promote cellular proliferation and migration in esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(2): 206-225. DOI: 10.1002/2211-5463.12570.
- [27] Nakashima S, Shiozaki A, Ichikawa D, et al. Transient receptor potential melastatin 7 as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(3): 1161-1167. DOI: 10.21873/anticancer.11429.
- [28] Dou Y, Li Y, Chen J, et al. Inhibition of cancer cell proliferation by midazolam by targeting transient receptor potential melastatin 7[J]. *Oncology Letters*, 2013, 5(3): 1010-1016. DOI: 10.3892/ol.2013.1129.
- [29] Lan X, Zhao J, Song C, et al. TRPM8 facilitates proliferation and immune evasion of esophageal cancer cells[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(10): BSR20191878. DOI: 10.1042/BSR20191878.
- [30] Stoklosa P, Borgström A, Kappel S, et al. TRP channels in digestive tract cancers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(5): 1877. DOI: 10.3390/ijms21051877.
- [31] Zhang SS, Wen J, Yang F, et al. High expression of transient potential receptor C6 correlated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(3): 607. DOI: 10.1007/s12032-013-0607-7.
- [32] Brozmanova M, Mazurova L, Ru F, et al. Mechanisms of the adenosine A2A receptor-induced sensitization of esophageal C fibers[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2016, 310(3): G215-G223. DOI: 10.1152/ajpgi.00350.2014.
- [33] Suciu A, Popa SL, Dumitrascu DL. Upper gastrointestinal sensitization and symptom generation[J]. *Journal of Medicine and Life*, 2019, 12(4): 316-321. DOI: 10.25122/jml-2019-0111.
- [34] Sawada A, Lei WY, Zhang M, et al. Esophageal mucosal sensory nerves and potential mechanoreceptors in patients with ineffective esophageal motility[J]. *Neurogastroenterology and Motility: the Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 2022, 34(2): e14205. DOI: 10.1111/nmo.14205.

(收稿日期: 2022-05-23)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 022

综 述

二肽基肽酶-4 抑制剂与感染 SARS-CoV-2 糖尿病患者的相关性研究进展

杨海珍,何鑫综述 胡克审校

基金项目: 国家重点研发计划新型冠状病毒肺炎疫情应急项目(2020YFC0845100);武汉市新冠病毒肺炎疫情应急科技攻关专项项目(2020020101010005)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院呼吸与危重症医学二科

通信作者: 胡克, E-mail: hukeyx@163.com

【摘 要】 二肽基肽酶-4(DPP-4)在多种免疫细胞中表达并参与免疫功能的调节,且与严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(SARS-CoV-2)的刺突受体结合区高度亲和,因此,SARS-CoV-2 可通过 DPP-4 作为功能性受体而进入宿主体内。二肽基肽酶-4 抑制剂(DPP-4is)具有抗炎作用,可减轻细胞因子风暴和减缓病情进展而有益于机体。DPP-4is 因良好的有效性和安全性在 2 型糖尿病(T2DM)的治疗中占有重要地位。文章对感染 SARS-CoV-2 的糖尿病患者使用 DPP-4is 与临床预后相关性的研究进展进行综述。

【关键词】 新型冠状病毒肺炎;糖尿病,2 型;二肽基肽酶-4 抑制剂;严重急性呼吸综合征冠状病毒 2;治疗

【中图分类号】 R563.1⁺9;R587.1

【文献标识码】 A

Research progress on the correlation between dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and SARS-CoV-2 diabetic patients

Yang Haizhen, He Xin, Hu Ke. Department II of Respiratory and Critical Care Medicine, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Hu Ke, E-mail: hukeyx@163.com

Funding program: National Key R & D Plan Novel Coronavirus Pneumonia Epidemic Emergency Project (2020YFC0845100); Wuhan City Novel Coronavirus-19 Epidemic Emergency Special Project for Tackling Key Scientific and Technological Problem (2020020101010005)

【Abstract】 Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) is expressed in a variety of immune cells and is involved in the regulation of immune function, and has a high affinity for the spike receptor binding region of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). And, therefore, SARS-CoV-2 can enter the host through DPP 4 as a functional receptor. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors (DPP-4is) have anti-inflammatory properties that can benefit the body by reducing cytokine storm and slowing disease progression. DPP-4is occupies an important position in the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) due to its favorable efficacy and safety profile. This article reviews the research progress on the relationship between the use of DPP 4is and clinical prognosis in diabetic patients infected with SARS-CoV-2.

【Key words】 COVID-19; Diabetes mellitus, type 2; Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors; Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; Treatment

研究发现,合并糖尿病尤其是 2 型糖尿病(T2DM)是新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者病情加重的重要危险因素之一^[1],因此,对于不同降糖药物在机体感染 SARS-CoV-2 后不同临床结局的影响已越来越受到关注,有研究分析了二甲双胍及钠-葡萄糖共转运体 2 抑制剂对这些患者预后的影响、可能的利与弊等^[2]。近来发现二肽基肽酶-4(DPP-4)在 SARS-CoV-2 病毒进入体细胞内的过程中起重要作用,而二肽基肽酶-4 抑制剂(DPP-4is)广泛应用于 T2DM 的治疗中,且安全性良好,因此对于 DPP-4is 与 COVID-19 预后的相关性同样受到高度重视^[3]。

本文旨在介绍有关 DPP-4is 对 COVID-19 临床结局影响的研究进展,尤其是与 T2DM 患者合并 COVID-19 的相关性。

1 DPP-4 及 DPP-4is 概述

1.1 DPP-4 及 DPP-4is 对免疫的作用 DPP-4 最初被称为“T 细胞抗原 CD26”,是一种能与宿主细胞相结合的多功能、可溶性丝氨酸蛋白酶,已发现在淋巴细胞、脂肪细胞及其他多种细胞有大量表达,包括肺血管内皮细胞和肺泡上皮细胞;同时,广泛表达于多种类型的免疫细胞,包括 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞、巨噬细胞等,并参与其功能

的调节。研究表明,除具有催化活性外,DPP-4/CD26 也与 T 细胞信号转导过程有关,通过与腺苷脱氨酶(ADA)、小凹蛋白-1(caveolin-1)、CD45、甘露-6 磷酸/胰岛素生长因子-II 受体(M6P/IGF II-R)等细胞蛋白相互作用联合刺激参与 T 细胞活化,产生控制免疫应答的细胞内信号^[4]。同时,研究结果也表明,CD26 在与其他因素共激活 T 细胞的作用中,DPP-4 的催化活性不是必需的^[5]。DPP-4 也可以可溶性形式存在于血浆和体液中^[6]。研究发现,可溶性 DPP-4 可增加促炎细胞因子如 IL-6、IL-8 的分泌,2 种细胞因子在肺损伤中发挥关键作用^[7]。DPP-4is 主要通过影响活化 B 细胞核因子- κ 轻链增强子(NF- κ B)信号通路来减轻炎症反应程度,有研究证实,该类药物在 T2DM 患者中具有快速强效的抗炎作用^[8]。因此,DPP-4 不仅在维持机体葡萄糖的稳态中起关键作用,而且在炎症反应和免疫反应中也起重要作用。基于此,推测 DPP-4/CD26 参与了多种免疫性/炎性疾病,而 DPP-4is 通过修饰多种免疫调节底物的生物活性而稳定内环境或治疗疾病^[5]。

1.2 DPP-4 及 DPP-4is 对炎症反应的作用 由于 DPP-4/CD26 参与调节 T 细胞活性,曾认为 DPP-4is 可能因损害细胞免疫功能而增加发生呼吸道感染的风险^[5]。然而,在临床实践中常规使用 DPP-4is 并不影响机体的固有免疫及适应性免疫。不过有研究显示,与其他降糖药物使用者相比,DPP-4is 使用者报道的感染数量增加,特别是上呼吸道感染病例^[9];但另一项大型前瞻性研究并没有发现 DPP-4is 存在感染风险增加的证据^[10]。有研究表明,DPP-4is 可增加鼻炎、咽炎及尿路感染的风险,但不增加呼吸道感染的风险^[11]。在 COVID-19 大流行前夕发表的 2 项观察性研究和对 41 项随机对照性研究进行的荟萃分析显示,DPP-4is 并不增加发生肺炎的风险性^[12]。总之,就普通细菌性肺炎的风险性而言,常规使用 DPP-4is 是安全的。

在 2013 年,DPP-4 被欧洲人类冠状病毒伊拉斯姆斯医学中心确定为中东呼吸综合征(MERS)冠状病毒的功能性受体,其基因型与 SARS-CoV-2 相类似。研究发现,DPP-4 的自然突变并不利于 MERS-CoV 进入宿主细胞,反之可能有助于改善 MERS 感染患者的病情发展^[13]。为进一步评价 DPP-4 与 MERS 临床经过的相关性,研究者通过免疫学方法研究了 DPP-4 在机体内的分布,结果发现,在人体呼吸道 DPP-4 的免疫反应性定位于免疫细胞、内皮细胞、肺泡细胞、胸膜间皮和淋巴管^[14]。值得注意的是,在一项有关急性呼吸窘迫综合征(ARDS)小鼠模型的研究中,DPP-4is 可通过抑制促炎细胞因子白介素-1b、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6,而减轻肺损伤等组织学变化,但这种来自动物实验的发现尚未在人体中得到证实^[15]。

2 DDP-4 及 DDP-4is 与糖尿病的关系和作用

葡萄糖稳态依赖于多种激素的相互作用,包括胰岛素、胰高血糖素和肠促胰岛素激素等。小肠内存在营养物质时,肠内分泌细胞会释放肠促胰岛素激素,主要是胰高血糖素样肽-1(GLP-1)和葡萄糖依赖性胰岛素性多肽(GIP)。这些激素以葡萄糖依赖的方式刺激胰岛素分泌,同时抑制胰高血糖素分泌,从而促进血糖调节。DDP-4 广泛表达于多种组织中,其功能虽尚未完全了解,但其在葡萄糖和胰岛素代谢中有重要作用。

GLP-1 和 GIP 被循环中的 DPP-4 快速代谢并失活^[16],最终导致胰岛素分泌减少。DDP-4is 可快速特异性抑制 DPP-4 活性,从而阻断 GLP-1 和 GIP 的分解,增加活性肠促胰岛素的水平,最终使胰岛素分泌增加和血糖水平降低。由于这种特性,DDP-4is 被用于治疗 T2DM,这也是临床上控制血糖的良好选择,在许多国家逐渐取代磺脲类药物^[17]。这一趋势的原因是,DDP-4is 除了对餐后血糖控制有积极作用外,对 T2DM 患者的体质量、血压、餐后血脂、氧化应激和内皮功能也有积极作用^[18],且血糖变化幅度小,发生低血糖的风险性低,具有良好的安全性,尤其是住院患者。

3 SARS-CoV-2 对糖代谢的影响机制

COVID-19 与糖尿病之间存在双向关系。一方面,糖尿病与严重的 COVID-19 风险增加有关;另一方面,COVID-19 本身会扰乱葡萄糖稳态,并可能发展为糖尿病^[19]。长期以来病毒感染被认为是引发糖尿病的潜在环境因素。研究表明,SARS-CoV-1 与 β 细胞破坏和 1 型糖尿病的触发有关^[20]。来自德国和我国的病毒学数据揭示了 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV-1 感染之间的重要共性,并证明 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV-1 均通过血管紧张素转换酶 2(ACE2)进入宿主细胞^[21]。一方面,ACE2 可裂解血管紧张素 II(Ang-II),当 SARS-CoV-2 与 ACE2 结合后,ACE2 与病毒复合物一起被内吞,降低了 ACE2 在细胞表面的表达,导致 Ang-II 积累和局部肾素-血管紧张素系统(RAS)激活;另一方面,Ang-II 不仅可通过 Ang-I 型受体促进血管收缩,还可促进炎症反应的发生,甚至可能导致急性肺损伤、细胞因子风暴。目前尚不清楚 COVID-19 引发的糖尿病表型是典型的 1 型还是 2 型,其糖代谢改变是短暂的还是持续的^[19]。一些暴露于 SARS-CoV-2 的新发糖尿病患者,可能由于细胞因子风暴及 SARS-CoV-2 向胰腺 β 细胞的趋向性而增加胰岛素抵抗和胰岛素分泌减少,进而引起了血糖升高^[22]。这可能由于 RAS 的激活和宿主对 COVID-19 的炎症反应所致。

4 DDP-4 及 DDP-4is 与 SARS-CoV-2 及 COVID-19 的关系和作用

4.1 来自生物信息学的研究发现 研究者利用生物信息学方法来预测人体细胞与病毒蛋白相互作用及基于晶体结构蛋白对接的结果显示,人类 DPP-4 与 SARS-CoV-2 的刺突受体结合区域具有高度的亲和力,并据此提出假设,即 SARS-CoV-2 能通过 DPP-4 酶作为功能性受体进入宿主细胞^[23]。将 SARS-CoV-2 主要蛋白酶的三维结构与包括 DPP-4 在内的多种蛋白酶的三维结构进行对比,发现尽管预测结果需要进一步评估,但仍提示 DPP-4is 具有抗病毒作用,并可用来治疗合并 COVID-19 的糖尿病患者。然而,另一项研究并未证明 SARS-CoV-2 能与 DPP-4 结合,而是发现 β 冠状病毒除与公认的 ACE2 结合外,还能够通过一种未知的受体进入人体细胞^[24]。目前大部分研究认为,相对于 DPP-4,膜结合 ACE2 是 COVID-19 进入宿主免疫细胞的主要结合位点,而 COVID-19 患者血液中可溶性 DPP-4 水平下降这一现象,提示 ACE2 和 DPP-4 酶在 COVID-19 发病过程中起着调节作用^[25]。另有研究者进一步提出假设:由于 DPP-4is 能靶向作用于宿主细胞与病毒的结合位点,因此使用 DPP-4is 或

许可降低机体在暴露病毒后的 COVID-19 严重程度^[3]。但对这一假设尚存在一定争议。

4.2 DPP-4is 对 COVID-19 作用的相关机制 具有抗炎特性的抗糖尿病药物一直被认为是 COVID-19 时期“充满希望的药物”,已知 DPP-4is 因其较强的抗炎作用而对心血管系统和肾脏功能具有保护作用^[26]。对 16 项研究进行的荟萃分析结果发现,与安慰剂相比,DPP-4is 治疗可显著降低炎症生物标志物 C 反应蛋白(CRP)的水平^[27]。Solerte 等^[28]分析了 DPP-4is 对因 COVID-19 而住院的 2 型糖尿病患者的生化结果,结果提示 DPP-4is 治疗组患者的 IL-6、降钙素原和 CRP 等炎症参数较基线降低。由于炎症反应过程在 COVID-19 患者异常活跃,加重疾病严重程度,促进 SARS-CoV-2 感染患者发生急性呼吸窘迫综合征和凝血功能障碍,因此,DPP-4is 可能有利于阻断导致细胞因子风暴的通路。

另一方面,由于 DPP-4 是一种作用范围广泛的多功能蛋白,不仅仅限于作为蛋白水解酶的作用,因此当其受到抑制后对机体的影响可能也是多方面的。应当指出的是,当前对于 COVID-19 的致病过程已有较好的了解,确定了多种危险因素和保护性因素^[29],但对 DPP-4is 在感染 SARS-CoV-2 的 2 型糖尿病患者临床结局有何影响方面尚未完全阐明^[3],尚待随机对照研究获得可靠结果之后,方能进一步明确其地位。

4.3 COVID-19 期间有关 DPP-4is 的观察性研究 分布于人体呼吸道的 DPP-4 可能会促进病毒进入呼吸系统,并导致机体发生 COVID-19,促进细胞因子风暴和免疫病理的进展,乃至发生 ARDS。因此,至少在理论上,将 DPP-4is 应用于感染 SARS-CoV-2 的 2 型糖尿病患者,可能减少进入呼吸道的病毒及其复制量,并减轻患者在发生 COVID-19 后的肺部细胞因子风暴和炎症反应程度^[30]。基于这一假设,已经报道了多项回顾性临床观察研究^[28,31-32],分析了 DPP-4is 对因 COVID-19 而住院的 2 型糖尿病患者临床结局的影响,但不同的研究结果之间差异较大,患者需要入住 ICU 的风险比(HR)为 0.36 ~ 1.81。同样,这些研究也分析了 DPP-4is 对住院患者病死率的影响,不同结果之间的异质性也很明显,风险比为 0.13 ~ 1.48。事实上,对于这些研究之间存在较大异质性的原因并没有进行较好的解释;而且,大多数研究并不是专门针对假设而设计的。如在法国进行的冠状病毒 SARS-CoV-2 和糖尿病终点研究即 CORONADO 研究^[32],接受 DPP-4is 治疗的糖尿病患者数量很有限,因此,这也降低了研究结果的可信度,因为样本量小的研究结果使统计效能下降。而另一项招募的患者数量更大、旨在专门评估 DPP-4is 对预后影响的病例对照性研究^[28],所获得结果则更具有说服力。与未使用者相比较,DPP-4is 使用者需要入住 ICU 的风险比及发生死亡的风险比均更低,前者 HR 为 0.51(95% 置信区间 0.27 ~ 0.95, $P=0.03$),后者 HR 为 0.44(95% 置信区间 0.29 ~ 0.66, $P=0.0001$)。

应当指出的是,现有的研究资料均存在较大的局限性。首先,选择性偏倚和多种混杂因素影响了所得结果。因为现有的关于感染 SARS-CoV-2 的 T2DM 患者的预后大多来自回顾性观察性研究,这种回顾性研究有其本身固有的缺陷;此外,在无随

机化的情况下,无法避免选择性偏差;不同种类降糖药物的适应证和禁忌证不同也影响所得结果;而且,DPP-4is 使用者与未使用者的临床特征可能存在差异,包括年龄、肾功能、已确定的心血管疾病等,甚至这些因素带来的影响可能独立于 DPP-4is 本身带来的影响进而影响预后^[30]。其次,患者住院期间血糖控制水平可能影响合并 COVID-19 的 T2DM 患者的预后^[1];但迄今已发表的有关 DPP-4is 与预后相关性的研究中,并没有对住院期间血糖控制水平进行分析和排除;甚至对于入院前使用的 DPP-4is 是否在住院期间仍然维持使用也不清楚。最后,由于这些研究本身的局限性,国外已经有学者对此进行了讨论和点评^[33],并认为当前客观的看法是使用 DPP-4is 仅可能在理论上降低 COVID-19 相关病死率,现有的证据并不足以证实二者之间存在因果关系;而西格列汀等 DPP-4is 对发生 COVID-19 的 T2DM 患者有着潜在的益处,需要得到良好设计、高质量的前瞻、随机、对照性研究的证实。

5 当前临床实践推荐

为证实 DPP-4is 治疗可能影响 T2DM 患者发生 COVID-19 后的病情变化这一假设,一项在意大利完成、包括 3 818 例重症 COVID-19 患者的研究发现,尽管意大利不同地区使用 DPP-4is 存在明显的差异,但这种差异与糖尿病患者感染 COVID-19 后的病死率并不相关^[34]。因此,这一发现并不支持 DPP-4is 对 COVID-19 的发生和病情进展可能产生影响。由于 COVID-19 是一种有着诸多未知和不确定因素的新型病毒导致的感染,至今对其研究的深度仍然有限,因此,专家建议对病情严重的 COVID-19 糖尿病患者应遵循经典的糖尿病治疗策略^[35]。而且,在大流行期间强调对 COVID-19 患者进行良好控制血糖的重要性,甚至有学者提出优化血糖控制可能减轻病情和降低感染 COVID-19 的风险性^[1]。此外,在一般情况下,对于有着 T2DM 的 SARS-CoV-2 无症状感染者或非重症 COVID-19 患者,不建议预防性停用降糖药物。另一方面,即使与胰岛素联合使用,DPP-4is 也不增加发生低血糖的风险性,而且对肾功能的影响也不大。在当前,并没有令人信服的证据建议轻、中度 COVID-19 住院患者应停用 DPP-4is,也即建议非重症患者应继续使用。

6 小结

尽管近来有报道认为,DPP-4is 有益于降低 COVID-19 合并糖尿病患者的病死率^[28],但在总体上支持 DPP-4is 能够改善暴露 SARS-CoV-2 的 T2DM 患者预后的证据仍不充足。对于 DPP-4is 在这些新发糖尿病患者中的有效性和安全性并未得到充分的证实。此外,DPP-4is 对病情危重的 COVID-19 患者的治疗作用可能有限,不少需要入住 ICU 的重症患者无法继续使用这类药物,且即使有必要使用降糖药物也应首先采用胰岛素替代治疗。

总之,鉴于 DPP-4 参与免疫和炎症反应等诸多生物学过程,因此有理由认为 DPP-4is 可能改善感染 SARS-CoV-2 糖尿病患者的预后,但现有的研究尚不足以确切地回答 DPP-4is 对 COVID-19 糖尿病患者预后的影响。此外,除危重患者外,无证据表明 COVID-19 糖尿病患者需要停用 DPP-4is。当然,这些结

论仍有待于前瞻、随机、对照性研究所得结果的证实。

参考文献

- [1] Zhu L, She ZG, Cheng X, et al. Association of blood glucose control and outcomes in patients with COVID-19 and pre-existing type 2 diabetes[J]. *Cell Metab*, 2020, 31(6): 1068-1077. e3. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.04.021.
- [2] Scheen AJ. SGLT2 inhibition during the COVID-19 epidemic: Friend or foe[J]. *Diabetes Metab*, 2020, 46(5): 343-344. DOI: 10.1016/j.diabet.2020.06.003.
- [3] Iacobellis G. COVID-19 and diabetes: Can DPP4 inhibition play a role[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020, 162: 108125. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108125.
- [4] Wagner L, Klemann C, Stephan M, et al. Unravelling the immunological roles of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) activity and/or structure homologue (DASH) proteins[J]. *Clin Exp Immunol*, 2016, 184(3): 265-283. DOI: 10.1111/cei.12757.
- [5] Deacon CF. Physiology and pharmacology of DPP-4 in glucose homeostasis and the treatment of type 2 diabetes[J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 80. DOI: 10.3389/fendo.2019.00080.
- [6] Shao S, Xu Q, Yu X, et al. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors and their potential immune modulatory functions[J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 209: 107503. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107503.
- [7] Bozza FA, Salluh JJ, Japiassu AM, et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis[J]. *Crit Care*, 2007, 11(2): R49. DOI: 10.1186/cc5783.
- [8] Makdissi A, Ghanim H, Vora M, et al. Sitagliptin exerts an anti-inflammatory action[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(9): 3333-3341. DOI: 10.1210/jc.2012-1544.
- [9] Willemsen MJ, Mantel-Teeuwisse AK, Straus SM, et al. Use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and the reporting of infections: a disproportionality analysis in the World Health Organization Vigibase[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(2): 369-374. DOI: 10.2337/dc10-1771.
- [10] Scheen AJ. The safety of gliptins: updated data in 2018[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2018, 17(4): 387-405. DOI: 10.1080/14740338.2018.1444027.
- [11] Amori RE, Lau J, Pittas AG. Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA*, 2007, 298(2): 194-206. DOI: 10.1001/jama.298.2.194.
- [12] Morieri ML, Bonora BM, Longato E, et al. Exposure to dipeptidyl-peptidase 4 inhibitors and the risk of pneumonia among people with type 2 diabetes: Retrospective cohort study and meta-analysis[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2020, 22(10): 1925-1934. DOI: 10.1111/dom.14142.
- [13] Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, et al. Polymorphisms in dipeptidyl peptidase 4 reduce host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 155-168. DOI: 10.1080/22221751.2020.1713705.
- [14] Meyerholz DK, Lambert AM, McCray PB Jr. Dipeptidyl peptidase 4 distribution in the human respiratory tract: Implications for the middle east respiratory syndrome[J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(1): 78-86. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.09.014.
- [15] Kawasaki T, Chen W, Htwe YM, et al. DPP4 inhibition by sitagliptin attenuates LPS-induced lung injury in mice[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 315(5): L834-L845. DOI: 10.1152/ajplung.00031.2018.
- [16] Vahl TP, Paty BW, Fuller BD, et al. Effects of GLP-1-(7-36)NH₂, GLP-1-(7-37), and GLP-1-(9-36)NH₂ on intravenous glucose tolerance and glucose-induced insulin secretion in healthy humans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(4): 1772-1779. DOI: 10.1210/jc.2002-021479.
- [17] Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, et al. Consensus statement by the american association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm - 2018 executive summary[J]. *Endocr Pract*, 2018, 24(1): 91-120. DOI: 10.4158/CS-2017-0153.
- [18] Ussher JR, Drucker DJ. Cardiovascular actions of incretin-based therapies[J]. *Circ Res*, 2014, 114(11): 1788-1803. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.301958.
- [19] Rubino F, Amiel SA, Zimmet P, et al. New-onset diabetes in COVID-19[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(8): 789-790. DOI: 10.1056/NEJMc2018688.
- [20] Yang JK, Lin SS, Ji XJ, et al. Binding of SARS coronavirus to its receptor damages islets and causes acute diabetes[J]. *Acta Diabetol*, 2010, 47(3): 193-199. DOI: 10.1007/s00592-009-0109-4.
- [21] Yan R, Zhang Y, Li Y, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2[J]. *Science*, 2020, 367(6485): 1444-1448. DOI: 10.1126/science.abb2762.
- [22] Sathish T, Tapp RJ, Cooper ME, et al. Potential metabolic and inflammatory pathways between COVID-19 and new-onset diabetes[J]. *Diabetes Metab*, 2021, 47(2): 101204. DOI: 10.1016/j.diabet.2020.10.002.
- [23] Vankadari N, Wilce JA. Emerging COVID-19 coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 601-604. DOI: 10.1080/22221751.2020.1739565.
- [24] Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(4): 562-569. DOI: 10.1038/s41564-020-0688-y.
- [25] Schlicht K, Rohmann N, Geisler C, et al. Circulating levels of soluble Dipeptidylpeptidase-4 are reduced in human subjects hospitalized for severe COVID-19 infections[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2020, 44(11): 2335-2338. DOI: 10.1038/s41366-020-00689-y.
- [26] Tomovic K, Lazarevic J, Kocic G, et al. Mechanisms and pathways of anti-inflammatory activity of DPP-4 inhibitors in cardiovascular and renal protection[J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(1): 404-422. DOI: 10.1002/med.21513.
- [27] Liu X, Men P, Wang B, et al. Effect of dipeptidyl-peptidase-4 inhibitors on C-reactive protein in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 144. DOI: 10.1186/s12944-019-1086-4.
- [28] Solerte SB, D'Addio F, Trevisan R, et al. Sitagliptin treatment at the time of hospitalization was associated with reduced mortality in patients with type 2 diabetes and COVID-19: A multicenter, case-control, retrospective, observational study[J]. *Diabetes Care*, 2020, 43(12): 2999-3006. DOI: 10.2337/dc20-1521. (下转 1116 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 023

综 述

抗 Ri 抗体阳性的神经系统副肿瘤综合征研究进展

李自超综述 葛朝明审校

基金项目: 甘肃省科技计划项目(20JR10FA663)

作者单位: 730000 兰州大学第二医院神经内科(李自超、葛朝明); 730000 兰州, 甘肃省神经内科临床医学研究中心(葛朝明)

通信作者: 葛朝明, E-mail: gezhaoming123456@163.com

【摘 要】 近年来, 随着对副肿瘤综合征机制研究的兴起, 神经系统副肿瘤综合征(PNS)的表现与发病机制也成为临床研究的重点。神经系统副肿瘤综合征是指肿瘤的产物作用于体内神经系统的共同抗原, 发生交叉免疫反应累及神经系统, 如大脑皮质、小脑、脑干、周围神经引起相应神经功能缺损的一组临床综合征。此类患者常为急性或亚急性起病, 预后不佳。现对神经系统副肿瘤抗体的系统研究仍不足, 而了解神经副肿瘤抗体对机体的免疫反应是制定相应治疗策略的关键。文章对抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者的发现起源、发病机制、临床表现、诊断、治疗及预后进行综述。

【关键词】 神经系统副肿瘤综合征; 肿瘤; 抗 Ri 抗体

【中图分类号】 R73; R747.9

【文献标识码】 A

Advances in the study of nervous system paraneoplastic syndrome with positive anti Ri antibody Li Zichao*, Ge

Zhaoming. * Department of Neurology, Second Hospital of Lanzhou University, Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: Ge Zhaoming, E-mail: gezhaoming123456@163.com

Funding program: Gansu Provincial Science and Technology Plan Project (20JR10FA663)

【Abstract】 In recent years, with the rise of research on the mechanism of paraneoplastic syndrome, the manifestations and pathogenesis of nervous system paraneoplastic syndrome (PNS) have become the focus of clinical research. Paraneoplastic syndrome of the nervous system refers to a group of clinical syndromes in which the products of tumors act on the common antigens of the nervous system in the body and cross immune reactions affect the nervous system, such as cerebral cortex, cerebellum, brain stem, and peripheral nerves, causing corresponding neurological deficits. Such patients often have acute or subacute onset and poor prognosis. At present, the systematic research on the antineoplastic antibodies of the nervous system is still insufficient, and understanding the immune response of the antineoplastic antibodies of the nervous system to the body is the key to formulate corresponding treatment strategies. This article reviews the origin, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, treatment and prognosis of anti Ri antibody positive PNS patients.

【Key words】 Neurological paraneoplastic syndrome; Tumor; Ri antibody

神经系统副肿瘤综合征(paraneoplastic neurologic syndromes, PNS)是一种少见的与癌症相关的神经系统疾病。其致病原因尚不明确, 通过检测出原发性肿瘤患者体内抗神经元副肿瘤抗体表明, 神经系统副肿瘤综合征很可能与体内肿瘤细胞激活自身免疫, 从而引起相关神经系统损害有关。由于不同的抗神经元副肿瘤抗体可引起相应的神经系统症状, 且有时可早于原发性肿瘤症状, 因此可通过检测神经副肿瘤抗体诊断原发肿瘤。目前, 对神经副肿瘤抗体的研究多集中在抗 Hu 抗体和抗 Yo 抗体等几个常见抗体上, 而对抗 Ri 抗体的研究大多数仍然是个案报道, 本文总结抗 Ri 抗体阳性 PNS 的发病机制、临床表现及预后特点, 为临床诊断及治疗提供参考。

1 抗 Ri 抗体的概述

1988 年, Budde-Steffen 等检查 7 例乳腺癌患者的血清抗神经元自身抗体, 在患有乳腺癌并伴有眼肌阵挛和共济失调症状

患者的血清中发现了针对神经元细胞核的抗体。1991 年, Luque 等描述了 8 例乳腺癌合并各种类型眼肌阵挛及共济失调患者的临床表现及抗神经元副肿瘤抗体, 在排除病毒感染、颅内高渗状态、脑肿瘤及代谢异常等常见疾病后, 通过蛋白质印迹分析了这 8 例患者的血清和脑脊液, 在其中均检测到一致且高度特异的 2 种蛋白质抗原, 相对分子量约为 55 kD 和 80 kD。进一步通过组织化学分析鉴定中和抗原的相关副肿瘤抗体, 最终确定了相对分子量 80 kD 的蛋白质抗原为致病抗原, 并将其特异性结合抗体命名为抗 Ri 抗体。而相对分子量为 55 kD 的抗原对髓母细胞瘤细胞有反应性, 推测与神经系统副肿瘤引起的体内神经系统免疫内环境改变有关。目前发现大多数抗 Ri 抗体阳性的患者合并有肿瘤, 其中以乳腺癌和卵巢癌为主, 但也有肺癌、输卵管癌的相关报道。Ri 抗原是在体内广泛分布的神经元蛋白质, 由 Nova-1 和 Nova-2 基因进行编码, 可能与神经细

胞的成熟和内环境稳定有关。Ri 抗体也被称为抗自身神经核抗体 2 型,由于 Ri 抗原的广泛分布,抗 Ri 抗体阳性综合征病损可广泛累及神经系统,包括脑组织、脊髓等。

现引起 Ri 抗体相关 PNS 最多的肿瘤为小细胞肺癌,大约占 36%;其次约 32% 的 Ri 相关 PNS 患者合并乳腺癌,推测可能与相关肿瘤易产生神经内分泌分化有关^[1-2]。Ri 抗体阳性乳腺癌患者中,大多数没有人类表皮生长因子受体 2 (HER2) 相关表达,且以女性较为常见。与之相反的是,抗 Yo 抗体阳性的女性乳腺癌患者中 96% 表现为 HER2 强表达,表明抗 Ri 抗体与抗 Yo 抗体可能相关发病机制不同。男性则以小细胞肺癌为主要因素。目前还有卵巢癌引起的 Ri 相关 PNS,但目前仅有个案报道,且该病例报道无明显神经系统功能缺损症状,暂不能完全证明为 PNS。此外,也有直肠癌、胸腺癌的个案报道^[3-4]。现对 Ri 相关 PNS 的系统研究仍然较少,目前仍以个案报道为主,因此对 Ri 抗体相关肿瘤的规律仍不明确^[5]。

2 抗 Ri 抗体 PNS 发病机制

神经系统副肿瘤综合征的相关发病机制尚不明确,推测可能由肿瘤引起的免疫反应与神经组织抗原发生作用引起。与 Ri 抗体相关的肿瘤病理显示广泛性的神经系统浦肯野细胞丢失,小脑或齿状核广泛性脱髓鞘改变,并伴有脑血管间大量淋巴细胞浸润。Nova-1 和 Nova-2 广泛表达于中枢神经系统,抗 Ri 抗体可与这 2 种抗原发生交叉性免疫反应^[6]。

现也有一些文献证实,p53 基因突变或功能异常也可引起副肿瘤综合征。肿瘤可以诱导具有免疫原性的蛋白生成,引起体液免疫,刺激细胞生长或凋亡。目前的研究表明,抑癌基因缺失或基因突变导致机体免疫系统生成特异性抗原,抗原使树突细胞异常表达,并引起相关 B 淋巴细胞及细胞毒性 T 淋巴细胞扩增,最终引起自身免疫反应。对抗 Ri 抗体阳性患者尸检病理结果表明,患者脊髓、小脑、脑中神经元较正常人显著减少,并伴有大量星形胶质细胞增生和慢性炎性淋巴细胞浸润。

在对 PNS 整体的发病机制研究表明,与 PNS 相关的抗神经元抗体在中枢神经及周围神经中广泛存在,其中 60% 病例影响中枢神经系统,仅有 20% 左右病例影响周围神经系统,还有部分病例影响自主神经功能。此外,对于出现中枢神经系统受损的患者中,其脑脊液神经系统副肿瘤抗体滴度通常高于血清中的抗体滴度,甚至在某些情况下出现血清为阴性,仅脑脊液抗体阳性的病例。因此,完善神经系统副肿瘤抗体需同时完成血清及脑脊液中的抗体滴度测定,且需以脑脊液中抗体滴度作为诊断标准,单纯测定血清可能会出现假阴性结果^[7-10]。

3 抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者的临床表现

3.1 亚急性小脑变性(PCD) 副肿瘤亚急性小脑变性患者临床表现为四肢共济失调,可伴有眼震及构音障碍。病程常为急性或亚急性起病,可伴有小脑性眩晕症状,有的患者可出现认知功能减退,持续时间可达数月^[11]。Ri 抗体阳性的患者脑脊液中可出现蛋白或细胞增多,大多数患者在头颅磁共振(MR)中无明显异常,但有的患者可有炎性改变。因此,如果出现原因不明的急性或亚急性小脑共济失调,排除自身免疫性疾病及脑炎等常见相关因素后,如患者既往有恶性肿瘤病史需考虑神

经系统副肿瘤综合征^[12-13]。

3.2 肌肉阵挛及脑干综合征(OMS) 眼肌阵挛与感染、创伤及肿瘤均有关,大约 2% 患有神经母细胞瘤的幼儿患有眼肌阵挛,但在成年人中相对罕见。如果成年人既往无特殊疾病史出现眼肌阵挛,其有 20% 可能合并潜在性肿瘤。目前有少数抗 Ri 抗体阳性的患者可出现完全性水平眼肌麻痹、三叉神经感觉综合征和躯干共济失调。副肿瘤性 OMS 的典型特征是快速的,不自主眼球震颤及肌肉不自主收缩,有的患者症状可表现为间断性发作^[14]。神经定位涉及脑桥背侧的结构:外展神经核、内侧纵束、丘脑和脊髓束的三叉神经核。这类患者在头颅磁共振中显示脑桥背侧出现对称性炎性改变,常被误诊为退行性疾病或神经炎性疾病,影响临床医生诊断,从而导致预后不佳^[15]。此外,如出现脑干综合征可引起呼吸受累从而导致呼吸衰竭,需要密切检测患者夜间及白天呼吸频率变化^[16-17]。

3.3 非典型帕金森综合征 有的患者可表现为不典型的帕金森症状,在数月中出现行动迟缓、静止性震颤、步态异常。这类患者病程较典型帕金森病患者发展较快,常被误诊为多系统萎缩(MSA)或进行性核上性麻痹(PSP)。患者大多合并乳腺癌或肺癌,其发病率较抗 Hu 抗体或抗 Ma 抗体阳性患者少。有的患者可合并眼肌麻痹及混合性构音障碍、躯干前驱症^[18]。既往的病例回顾显示,抗 Ri 阳性表现为帕金森症状,对左旋多巴反应较差,且预后更差,大多数患者在 1 年内死亡^[19-20]。

3.4 脊髓炎 表现为脊髓炎的抗 Ri 抗体阳性患者相当罕见,仅在少部分个案中有所报道。副肿瘤性脊髓炎患者的 MR 表现为对称性多节段受损的炎性改变。临床表现多为急性或亚急性起病,双下肢或四肢进行性无力,并出现双侧病理征阳性,其与急性脊髓炎区别在于发生脊髓休克期可能较小,常为不完全性感觉或运动障碍,有的患者合并肌张力障碍^[21]。

神经系统副肿瘤综合征有时可出现多重抗神经元抗体阳性,现将常见神经系统副肿瘤临床特征进行分类,见表 1。

表 1 常见神经系统副肿瘤抗体与相关肿瘤的临床表现

抗体	临床表现	常见相关肿瘤
抗 Hu 抗体	脑脊髓炎、脑干退行性疾病、感觉周围神经病变、自主神经功能障碍	小细胞肺癌
抗 Ri 抗体	小脑变性、脑干脑炎、肌阵挛和脑干综合征、帕金森综合征、脊髓炎	小细胞肺癌、乳腺癌、卵巢癌、直肠癌、胸腺癌
抗 Yo 抗体	亚急性小脑变性	乳腺癌
抗 Ma 抗体	边缘叶脑炎、脑干脑炎	乳腺癌、生殖细胞肿瘤、肺癌
抗 VGCC 抗体	Lambert-Eaton 肌无力综合征(LEMS)、小脑功能障碍	小细胞肺癌
抗 SOX 抗体	LEMS、副肿瘤性小脑变性(PCD)	小细胞肺癌、卵巢癌、乳腺癌

4 抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者的实验室及影像学检查特点

抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者血常规、生化、肿瘤标志物均无明显异常,其脑脊液压力及细胞数、蛋白、糖、氯化物大多正常,但

有的患者可能出现脑脊液蛋白增高,表现为以淋巴细胞为主的细胞数轻度升高。

大多数抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者头颅及脊柱 MR 未出现明显异常,少部分患者出现类脑炎改变,表现为头颅 MR 出现颞叶、小脑或脑干炎性改变,在 T2 及 Flair 序列中可表现为高信号。有时可在动态脑电图中发现颞叶异常放电波^[22]。脊髓炎患者中常表现为相应脊髓节段灰质广泛性炎性改变。

5 抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者的诊断

目前针对 PNS 的诊断方法仍有待提高,副肿瘤抗体的检测阳性率为 70%~80%,但仍有部分神经系统副肿瘤综合征出现临床症状时副肿瘤抗体仍为阴性^[23]。抗 Ri 抗体阳性 PNS 是一种罕见的疾病,在神经系统副肿瘤综合征中仍较少见。大多数患者发病表现为急性或亚急性起病,但仍有大约 30% 左右患者表现为慢性进行性加重式发展。这种不规则的起病特征导致抗 Ri 抗体阳性 PNS 患者误诊率较高^[24]。现多从 4 个方面诊断抗 Ri 抗体阳性神经系统副肿瘤综合征:(1)患者既往有恶性肿瘤病史或在神经系统症状出现 4 年内发生恶性肿瘤,但需注意,神经系统副肿瘤综合征可早于原发肿瘤起病,目前没有明显证据表明其发病率与原发肿瘤的分期相关。(2)脑脊液出现类似脑炎改变。(3)患者血液或脑脊液神经系统副肿瘤抗体阳性,但是抗 Ri 抗体阳性的准确率只有 70%~80%,如抗体阴性临床表现典型时仍不能排除抗 Ri 抗体阳性相关神经系统副肿瘤综合征^[23]。(4)排除其他神经系统疾病,如神经系统退行性疾病、变性疾病、脑炎或脊髓炎等。

大部分的 Ri 抗体阳性患者表现为 PCD 或眼肌阵挛,目前在出现相关神经功能障碍的基础上,如果检测出抗 Ri 抗体,即可诊断为抗 Ri 抗体阳性的 PNS。但需要注意的是,有的患者可能同时出现多个副肿瘤抗体阳性。如患者合并小细胞肺癌常合并抗 Hu 抗体阳性。患者合并乳腺癌时常合并抗 Yo 抗体阳性^[25]。

6 抗 Ri 抗体阳性 PNS 治疗及预后

现对抗 Ri 抗体阳性的 PNS 相关治疗方案统归于 PNS 整体的治疗,暂无针对不同抗体的 PNS 的特异性治疗方案。目前对 PNS 的治疗多以针对原发肿瘤放化疗等治疗为主,辅以免疫治疗。有报道提示,包括免疫球蛋白(IVIg)、环磷酰胺(CTX)和甲强龙(MP)在内的免疫抑制治疗对所有出现 Rankin 评分 ≥ 4 分的神经系统副肿瘤综合征患者改善效果不明显,但也有报道表明,75%的癌症患者合并神经系统副肿瘤综合征通过免疫治疗获益^[26]。近几年来随着靶向药物的兴起,原发肿瘤除了传统的手术、放疗、化疗等治疗方法,通过基因检测测定患者的靶向基因从而选择特定的靶向药物进行治疗,可以取得良好的预后。但目前暂无使用靶向药物可改善 PNS 症状的证据支持^[27-28]。

根据 PNS 的发病特征,可给予患者相关的免疫治疗。抗 Ri 抗体与抗 Hu 抗体均为抗神经元抗体,其治疗方案也基本相同。免疫治疗方法包括免疫球蛋白、血浆置换及免疫抑制剂,临床上最常用静脉注射人免疫球蛋白 pH4 进行治疗。文献报道 3 例抗 Ri 抗体阳性的患者,其中 2 例神经功能缺损症状出现改

善。此外,可对 PNS 相关神经系统功能障碍进行对症治疗,如改善肌张力、调节抑郁状态等。PNS 预后较差,多数患者在发病后 1 年内死亡,少数患者可存活数年。

7 总结与展望

由于抗 Ri 抗体阳性的 PNS 临床上较为罕见,且提示预后不良,对其相关诊疗仍有一定的局限性。其发病可早于原发肿瘤,症状多为急性或亚急性起病,以 PCD、肌肉阵挛及 OMS、非典型帕金森综合征为主要临床表现。抗 Ri 抗体引起细胞免疫和体液免疫,介导免疫 B 细胞和免疫 T 细胞增殖,对自身神经细胞攻击,从而导致病灶神经元缺损,引起相应的神经功能异常,现表明该过程可能是其发病的主要机制。而关于抑癌基因 p53 的突变及缺失导致的神经系统副肿瘤综合征考虑与神经元树突抗原异常表达,体内正常免疫介导自身免疫反应有关。目前对抗 Ri 抗体具体如何引起免疫反应及免疫介导的详细过程仍是研究的重点。

据统计抗 Ri 抗体阳性的 PNS 患者预后不佳,多数患者在出现临床症状不久后死亡。为改善患者预后,提高患者生存质量,逆转神经功能缺损,深入研究相关治疗仍有必要。但目前抗 Ri 抗体阳性病例仍然较少,临床研究多以个案为主,需进行系统性研究、全国多中心随机对照研究。且目前对神经系统副肿瘤综合征的治疗选择相对较少,仍以免疫球蛋白为主,辅以放疗、化疗等传统肿瘤治疗,而靶向药物及肿瘤免疫治疗相关研究仍然较少。

参考文献

- [1] Tay JK, Miller J, Joshi A, et al. Anti-Ri-associated paraneoplastic cerebellar and brainstem degenerative syndrome[J]. J R Coll Physicians Edinb, 2012, 42(3): 221-224. DOI: 10.4997/JRCPE.2012.307.
- [2] Carvalho Neto EG, Gomes MF, Alves RPM, et al. Anti-Ri autoimmune encephalitis associated with breast cancer[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2020, 78(11): 737. DOI: 10.1590/0004-282X20200091.
- [3] Boch M, Rinke A, Rexin P, et al. Paraneoplastic brainstem encephalitis in a patient with exceptionally long course of a metastasized neuroendocrine rectum neoplasm[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 691. DOI: 10.1186/1471-2407-14-691.
- [4] Mitchell AN, Bakhos CT, Zimmerman EA. Anti-Ri-associated paraneoplastic brainstem cerebellar syndrome with coexisting limbic encephalitis in a patient with mixed large cell neuroendocrine lung carcinoma[J]. J Clin Neurosci, 2015, 22(2): 421-423. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.06.103.
- [5] 戴新井, 王佳凯, 胡海杰, 等. 抗 Yo 抗体脑炎 1 例分析[J]. 中风与神经疾病杂志, 2019, 36(1): 70-71. DOI: CNKI: SUN: ZFSJ. 0.2019-01-016.
- [6] Fanous I, Dillon P. Paraneoplastic neurological complications of breast cancer[J]. Exp Hematol Oncol, 2016, 5: 29. DOI: 10.1186/s40164-016-0058-x.
- [7] Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, et al. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study[J]. Lancet Neurol, 2014, 13(2): 167-177. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70282-5.
- [8] Armangue T, Santamaria J, Dalmau J. When a serum test overrides the

- clinical assessment[J]. *Neurology*, 2015, 84 (13) : 1379-1381. DOI: 10. 1212/WNL. 0000000000001425.
- [9] Höftberger R, Rosenfeld MR, Dalmau J. Update on neurological paraneoplastic syndromes[J]. *Curr Opin Oncol*, 2015, 27 (6) : 489-495. DOI: 10. 1097/CCO. 0000000000000222.
- [10] Olmez OF, Kinikoglu O, Yilmaz NH, et al. Anti-Ri-associated paraneoplastic neurological syndrome: Initial symptom of breast cancer with HER2 overexpression and treatment by dual HER2 blockade[J]. *J Oncol Pharm Pract*, 2019, 25 (6) : 1526-1530. DOI: 10. 1177/1078155218792672.
- [11] Tazi R, Salimi Z, Fadili H, et al. Anti-Ri-associated paraneoplastic neurological syndrome revealing breast cancer: A case report[J]. *Cureus*, 2022, 14 (1) : e21106. DOI: 10. 7759/cureus. 21106.
- [12] 王婷婷, 韩敬哲, 曹端华, 等. 亚急性小脑变性误诊为小脑型桥本脑病一例[J]. *中国医师进修杂志*, 2017, 40 (12) : 1134-1135. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4904. 2017. 12. 021.
- [13] Sun X, Tan J, Sun H, et al. Anti-SOX1 antibodies in paraneoplastic neurological syndrome[J]. *J Clin Neurol*, 2020, 16 (4) : 530-546. DOI: 10. 3988/jcn. 2020. 16. 4. 530.
- [14] Sena G, Gallo G, Vescio G, et al. Anti-Ri-associated paraneoplastic ophthalmoplegia-ataxia syndrome in a woman with breast cancer: a case report and review of the literature[J]. *J Med Case Rep*, 2020, 14 (1) : 67. DOI: 10. 1186/s13256-020-02410-z.
- [15] Bekircan-Kurt CE, Temucin C, Elibol B. Jaw clenching in anti-Ri-antibody-associated paraneoplastic syndrome[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2013, 19 (1) : 132-133. DOI: 10. 1016/j. parkreldis. 2012. 05. 013.
- [16] 张磊, 于会艳, 王湘, 等. 胸腺瘤伴 Ri 抗体阳性的强直和肌阵挛的进行性脑脊髓炎 1 例[J]. *中国临床案例成果数据库*, 2022, 4 (1) : E03059. DOI: 10. 3760/cma. j. cmcr. 2022. e03059.
- [17] 于涛, 王华. 抗 Ri 抗体阳性眼阵挛-肌阵挛综合征一例[J]. *中国小儿急救医学*, 2018, 25 (11) : 879-880. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4912. 2018. 11. 018.
- [18] Di Schino C, Nunzi M, Colosimo C. Subacute axial parkinsonism associated with anti-Ri antibodies[J]. *Neurol Sci*, 2021, 42 (3) : 1155-1156. DOI: 10. 1007/s10072-020-04685-y.
- [19] Takkar A, Mehta S, Gupta N, et al. Anti- Ri antibody associated progressive supranuclear palsy like presentation in a patient with breast carcinoma[J]. *J Neuroimmunol*, 2020, 347 : 577345. DOI: 10. 1016/j. jneuroim. 2020. 577345.
- [20] 时丽丽, 王金玲, 刘霞, 等. 抗 Yo 抗体阳性的帕金森综合征 1 例报道及文献复习[J]. *检验医学*, 2021, 36 (7) : 776-778. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-8640. 2021. 07. 023.
- [21] Tomar LR, Agarwal U, Shah DJ, et al. Jaw dystonia and myelopathy: Paraneoplastic manifestations of breast malignancy with anti-Ri/ANNA-2 antibody[J]. *Ann Indian Acad Neurol*, 2021, 24 (5) : 826-828. DOI: 10. 4103/aian. AIAN_920_20.
- [22] Testud B, Brun G, Kaphan E, et al. Distinctive MRI features of paraneoplastic encephalitis with anti-Ri antibodies[J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2021, 177 (3) : 315-317. DOI: 10. 1016/j. neurol. 2020. 05. 009.
- [23] Said S, Cooper CJ, Reyna E, et al. Paraneoplastic limbic encephalitis, an uncommon presentation of a common cancer: Case report and discussion[J]. *Am J Case Rep*, 2013, 14 : 391-394. DOI: 10. 12659/AJCR. 889560.
- [24] Simard C, Vogrig A, Joubert B, et al. Clinical spectrum and diagnostic pitfalls of neurologic syndromes with Ri antibodies[J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2020, 7 (3) : e699. DOI: 10. 1212/NXI. 0000000000000699.
- [25] 邱占东, 刘峥, 李大伟, 等. 多重抗神经元抗体阳性的神经系统副肿瘤综合征临床分析[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2020, 27 (4) : 261-265. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-2963. 2020. 04. 003.
- [26] Murphy BL, Zalewski NL, Degnim AC, et al. Breast cancer-related paraneoplastic neurologic disease[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 167 (3) : 771-778. DOI: 10. 1007/s10549-017-4566-0.
- [27] Murphy BL, Zalewski NL, Degnim AC, et al. Breast cancer-related paraneoplastic neurologic disease[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 167 (3) : 771-778. DOI: 10. 1007/s10549-017-4566-0.
- [28] Wu X, Wang H, Xu G, et al. Anti-CV2 autoimmune encephalitis with Parkinson-like symptoms and bilateral leukoencephalopathy-A Case Report[J]. *Front Neurol*, 2019, 10 : 1064. DOI: 10. 3389/fneur. 2019. 01064.

(收稿日期: 2022-05-17)

(上接 1112 页)

- [29] Scheen AJ, Marre M, Thivolet C. Prognostic factors in patients with diabetes hospitalized for COVID-19: Findings from the CORONADO study and other recent reports[J]. *Diabetes Metab*, 2020, 46 (4) : 265-271. DOI: 10. 1016/j. diabet. 2020. 05. 008.
- [30] Scheen AJ. DPP-4 inhibition and COVID-19: From initial concerns to recent expectations[J]. *Diabetes Metab*, 2021, 47 (2) : 101213. DOI: 10. 1016/j. diabet. 2020. 11. 005.
- [31] Chen Y, Yang D, Cheng B, et al. Clinical characteristics and outcomes of patients with diabetes and COVID-19 in association with glucose-lowering medication[J]. *Diabetes Care*, 2020, 43 (7) : 1399-1407. DOI: 10. 2337/dc20-0660.
- [32] Cariou B, Hadjadj S, Wargny M, et al. Phenotypic characteristics and prognosis of inpatients with COVID-19 and diabetes: the CORONADO study[J]. *Diabetologia*, 2020, 63 (8) : 1500-1515. DOI: 10. 1007/s00125-020-05180-x.
- [33] Nauck MA, Meier JJ. Reduced COVID-19 mortality with sitagliptin treatment? Weighing the dissemination of potentially lifesaving findings against the assurance of high scientific standards[J]. *Diabetes Care*, 2020, 43 (12) : 2906-2909. DOI: 10. 2337/dci20-0062.
- [34] Strollo R, Maddaloni E, Dauriz M, et al. Use of DPP4 inhibitors in Italy does not correlate with diabetes prevalence among COVID-19 deaths[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2021, 171 : 108444. DOI: 10. 1016/j. diabres. 2020. 108444.
- [35] Bornstein SR, Rubino F, Khunti K, et al. Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8 (6) : 546-550. DOI: 10. 1016/S2213-8587(20)30152-2.

(收稿日期: 2022-05-31)