



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

协办
河北以岭医药研究院

编辑
疑难病杂志编辑委员会

顾问
吴咸中 陈可冀 王正国 王永炎
张运 李春岩 张伯礼 邱蔚六
郭应禄 葛均波 李恩 于金明

总编辑
吴以岭

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
国内外公开发售
国内: 中国邮政集团公司
河北省分公司
国外: 中国国际图书贸易集团
有限公司
(北京399信箱, 100044)
代号: DK 13017

订购
全国各地邮电局
邮发代号: 18-187
网址: http://bk. 11185. cn

零售
疑难病杂志编辑部

广告发布登记号
石高新 13010120190001 号

定价
每期 12.00 元 全年 144.00 元

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

2020 年版权归疑难病杂志社所有

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

向抗击新冠肺炎疫情的最可爱的人致敬

目次

论著·临床

- 改良心脏磁共振 T1 mapping 序列在持续心房颤动患者中的应用研究
..... 陆艾嘉 赵蕾 田洁 张臣 铁红红 马晓海 433
- 射血分数保留的心力衰竭患者 MMP-2、MMP-9、Gal-3 的浓度变化及其临床意义
..... 徐洁 郭衍楷 曹桂秋 王贵鹏 薄雅坤 张鹏珂 周莉莉 438
- 法舒地尔联合呋塞米、螺内酯对急性左心功能衰竭患者心功能及血清 AST、LDH、CK-MB 水平的影响
..... 马乔炎 张平 曹倩 张建秀 孙广江 443
- 急诊 PCI 术后早期应用脑钠肽对急性心肌梗死患者神经内分泌激素、血管内皮功能及心功能的影响
..... 张莹洁 任岩春 赵永峰 董静杰 吴志红 胡喜田 447
- 循环 miR-26b 水平变化与老年高血压患者左心室肥厚及心功能的关系
..... 冯威 张俊 武文君 高兰兰 452
- 急性呼吸窘迫综合征患儿血清 miR-21 水平与炎症因子水平及临床预后的关系
..... 周莉蓉 王琪 麦碧薇 朱乃云 雷智贤 457
- 过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 表达及与 Th17/Treg 失衡的关系
..... 钟洁 陶宁 赵利 何诚 胡建平 462
- 桥接整合因子 1 在心源性哮喘与肺源性哮喘鉴别诊断中的意义
..... 王成钢 蒋志丽 李艳芳 聂绍平 阙斌 467

食管裂孔疝继发贫血 40 例临床特点分析	程书平 李明 田甜 谭诗云	472
静脉麻醉复合右美托咪定对冠状动脉搭桥术患者心肝肾的保护作用	王立峰 柳磊 张秀宁 赵楠 王秀丽	476
微球经肝动脉化疗栓塞术对不可切除乙型肝炎性肝癌患者的疗效分析	刘亮 范敬静 张超	480
半量血浆置换联合双重血浆分子吸附系统对慢加急性肝衰竭患者炎性反应、免疫功能及肝功能的影响	秦浩 王洋 魏金刚 高朋彬 吴凤影 任飞	485
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	朱琳 孙玄静 陈鹏 顾向浩 周云	490
慢性髓系白血病患者 SHP-1 基因、id4 基因甲基化状态及其与疾病进展的关系	郑伟 侯志新 刘承祥 张雷 韩松	496
论著·基础		
CYP-EET 信号通路对大鼠 MCAO 缺血再灌注后血管新生影响的研究	刘阳 郑小龙 喻志源 王伟 谢敏杰	500
TGF- β R II、SCF、Cx-37 基因和蛋白在卵巢早衰中的表达及意义	李振森 章青 马妍 盛菲 李文	505
腹部推拿联合 5-HT ₄ 受体激动剂调节 SCF/c-kit 信号通路对 STC 大鼠的作用研究	马鑫文 王程 张瑞春 屈玉疆 刘俊昌	510
罕见病例		
新生儿 Barth 综合征致左室心肌致密化不全 1 例	刘小焯 王炜 李月梅	516
儿童肾管外尤文肉瘤/外周原始神经外胚层肿瘤 1 例	杜青 刘斌 刘远梅	517
多脏器累及的重症系统性红斑狼疮 1 例	陈薇薇 黄慧萍 苏晓 徐俊	519
胰岛素类似物致胰岛素自身免疫综合征 1 例	纪群 方团育	521
误诊误治分析		
误诊为慢性阻塞性肺疾病的气管鳞癌 1 例	刘代梅 曾玉璇 朱端 唐春兰 胡建林 罗虎	522
综 述		
苍术麻黄汤及其组成成分在血脂异常治疗中的研究进展	李璐璐 胡馨 尚菊菊 刘红旭	524
挥发性有机物检测在结直肠癌筛查中的研究进展	郭颖韵 田山 董卫国	528
免疫检查点抑制剂治疗卵巢癌的研究进展	李霞林 付力宇 崔玉兰	533
成人 Still 病临床诊治的研究进展	李施阳 张晓莉	537
作者·编者·读者		437、520、536

期刊基本参数: CN13-1316/R * 2002 * m * A4 * 112 * zh * P * ¥12.00 * 4 500 * 26 * 2020-05

本期责任编辑: 马智 英文编辑: 马晓海

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 19, Number 5 18 May, 2020

Responsible Institution

National Health Commission of
the People's Republic of China

Sponsor

Chinese Medical Doctor Association

Co-organizer

Hebei Yiling Medical Academy

Editing

Editorial Board of Chinese Journal of Difficult
and Complicated Cases

Adviser

WU Xianzhong CHEN Keji WANG Zhengguo
WANG Yongyan ZHANG Yun LI Chunyan
ZHANG Boli QIU Weiliu GUO Yinglu
GE Junbo LI En YU Jinming

Editor-in-Chief

WU Yiling

Managing Director

MA Zhi

Publishing

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

Printing

Shijiazhuang Huichang Printing House

Overseas Distributor

China International Book
Trading Corporation
P. O. Box 399, Beijing 100044, China
Code No. DK 13017

Overseas Price

\$ 12.00 per issue; \$ 144.00 a year

CSSN

ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2020 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 editori-
al board, unless clearly specified.

CONTENTS

Original Article: Clinical Research

- Application of modified T1 mapping sequence in patients with persistent atrial fibrillation**
..... *Lu Aijia, Zhao Lei, Tian Jie, et al* 433
- Changes of MMP-2, MMP-9 and Gal-3 in heart failure patients with preserved ejection fraction and their clinical significance**
..... *Xu Jie, Guo Yankai, Cao Guiqiu, et al* 438
- Effects of fasudil combined with furosemide and spironolactone on cardiac function and serum AST, LDH and CK-MB levels in patients with acute left heart failure**
..... *Ma Qiaoyan, Zhang Ping, Cao Qian, et al* 443
- Effects of early application of brain natriuretic peptide on neuroendocrine hormones, vascular endothelial function and cardiac function in patients with acute myocardial infarction after PCI**
..... *Zhang Yingjie, Ren Yanchun, Zhao Yongfeng, et al* 447
- The relationship between the changes of circulating miR-26b and left ventricular hypertrophy and cardiac function in elderly patients with hypertension**
..... *Feng Wei, Zhang Jun, Wu Wenjun, et al* 452
- The relationship between serum miR-21 level and inflammatory factors and clinical prognosis in children with acute respiratory distress syndrome**
..... *Zhou Lirong, Wang Qi, Mai Biwei, et al* 457
- Expression of SOCS-1 and SOCS-3 in peripheral blood of patients with allergic asthma and their relationship with imbalance of Th17/Treg**
..... *Zhong Jie, Tao Ning, Zhao Li, et al* 462
- The significance of bridging integration factor 1 in the differential diagnosis of cardiogenic asthma and pulmonary asthma**
..... *Wang Chenggang, Jiang Zhili, Li Yanfang, et al* 467
- Clinical analysis of 40 cases of anemia secondary to hiatal hernia**
..... *Cheng Shuping, Li Ming, Tian Tian, et al* 472

Protective effect of intravenous anesthesia combined with dexmedetomidine on heart, liver and kidney in patients undergoing coronary artery bypass grafting	<i>Wang Lifeng, Liu Lei, Zhang Xiuning, et al</i>	476
Microsphere transcatheter arterial chemoembolization for unresectable hepatitis B liver cancer	<i>Liu Liang, Fan Jingjing, Zhang Chao</i>	480
The effect of half volume plasma exchange combined with double plasma molecular adsorption system on inflammatory response, immune function and liver function in patients with chronic acute liver failure	<i>Qin Hao, Wang Yang, Wei Jingang, et al</i>	485
Study on the mechanism of glucosamine sulfate combined with etocoxib in cartilage repair of knee osteoarthritis	<i>Zhu Lin, Sun Xuanjing, Chen Peng, et al</i>	490
Methylation of SHP-1 and ID4 genes and their relationship with disease progression in chronic myeloid leukemia	<i>Zheng Wei, Hou Zhixin, Liu Chengxiang, et al</i>	496
Original Article ; Basic Research		
Effects of CYP-EET signaling pathway on angiogenesis after MCAO ischemia-reperfusion in rats	<i>Liu Yang, Zheng Xiaolong, Yu Zhiyuan, et al</i>	500
Expression and significance of TGF-β R II, SCF, Cx-37 genes and proteins in premature ovarian failure	<i>Li Zhenmiao, Zhang Qing, Ma Yan, et al</i>	505
Effects of abdominal massage combined with 5-HT₄ receptor agonist on SCF/c-kit signaling pathway in STC rats	<i>Ma Xinwen, Wang Cheng, Zhang Ruichun, et al</i>	510
Rare Case Report		
Left ventricular non-compaction cardiomyopathy caused by Barth syndrome in a newborn case	<i>Liu Xiaoye, Wang Wei, Li Yuemei</i>	516
Extrasosseous Ewing sarcomas/peripheral primitive neuroectodermal tumor in children: a case report	<i>Du Qing, Liu Bin, Liu Yuanmei</i>	517
Severe systematic lupus erythematosus with multiorgan involvement: a case report	<i>Chen Weiwei, Huang Huiping, Su Xiao, et al</i>	519
Insulin autoimmune syndrome caused by insulin analogue: a case report	<i>Ji Qun, Fang Tuanyu</i>	521
Misdiagnosis and Mistreatment Analysis		
Tracheal squamous carcinoma mistaken for chronic obstructive pulmonary disease: a case report	<i>Liu Daimei, Zeng Yuxuan, Zhu Duan, et al</i>	522
Review		
Clinical research progress of <i>Cangzhumahuang</i> decoction and its components in the treatment of dyslipidemia	<i>Li Lulu, Hu Xin, Shang Juju, et al</i>	524
Research progress of VOC detection in colorectal cancer screening	<i>Guo Yingyun, Tian Shan, Dong Weiguo</i>	528
Research progress of immuncheckpoint inhibitors in the treatment of ovarian cancer	<i>Li Xialin, Fu Liyu, Cui Yulan</i>	533
Progress in clinical diagnosis and treatment of adult Still's disease	<i>LI Shiyang, Zhang Xiaoli</i>	537

改良心脏磁共振 T1 mapping 序列在持续心房颤动患者中的应用研究

陆艾嘉, 赵蕾, 田洁, 张臣, 铁红红, 马晓海

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81771787, 81671647)

作者单位: 100029 首都医科大学附属北京安贞医院介入诊疗科(陆艾嘉、马晓海), 医学影像科(赵蕾、田洁、张臣、铁红红)

通信作者: 马晓海, E-mail: maxi8238@yahoo.com

【摘要】目的 分析改良采集模式 T1 mapping 成像序列在心房颤动成像中的应用价值。**方法** 收集 2018 年 1—12 月首都医科大学附属北京安贞医院经临床确诊为持续性房颤同时接受心脏磁共振检查的患者 50 例为研究对象。扫描序列包括常规 T1 mapping 序列、改良 T1 mapping 序列、电影序列、延迟增强序列。比较患者采用常规与改良模式下 T1 mapping 序列所得图像的质量和测量结果的差异。房颤患者中 5 例接受了电复律治疗, 在治疗前后各进行 1 次心脏磁共振检查, 比较同一患者在房颤心律和窦性心律下采用改良模式扫描 T1 mapping 结果的准确性。**结果** 50 例持续性房颤患者, 常规模式下 T1 mapping 增强前 103 幅图像的 492 个心肌节段和增强后 123 幅图像的 515 个节段存在伪影, 明显多于改良模式下 T1 mapping 增强前 42 幅图像的 168 个节段和增强后 59 幅图像的 190 个节段 ($\chi^2 = 189.871, P < 0.01$)。改良模式下扫描的左心室增强前 T1 值、增强后 T1 值和细胞外基质容积(ECV)均高于常规扫描模式($t = -4.145, -2.431, -4.049$, 均 $P < 0.05$)。5 例接受电复律治疗的房颤患者 T1 mapping 结果比较显示, 电复律后常规模式的 T1 mapping 结果与电复律前改良模式结果无明显差异($P > 0.05$), 而电复律前常规模式 T1 mapping 结果各项指标明显低于电复律后常规模式的 T1 mapping 结果(P 均 < 0.05)。**结论** 对于房颤患者, 改良模式可明显改善 T1 mapping 图像质量且结果可靠, 能有效避免由于常规模式扫描导致的 T1 值低估情况。

【关键词】 持续性房颤; 心脏磁共振成像; 改良 T1 mapping 序列; T1 值

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.001

Application of modified T1 mapping sequence in patients with persistent atrial fibrillation Lu Aijia*, Zhao Lei, Tian Jie, Zhang Chen, Tie Honghong, Ma Xiaohai. * Department of Interventional Diagnosis and Treatment, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding author: Ma Xiaohai, E-mail: maxi8238@gmail.com

Funding Program: National Natural Science Foundation of China(81771787, 81671647)

【Abstract】 Objective To analyze the application value of systolic T1 mapping with a heart-rate-dependent (HRD) pulse sequence scheme in patients with atrial fibrillation (AF). **Methods** From January to December 2018, fifty patients with persistent AF that were enrolled in our study received cardiac magnetic resonance imaging. The examination protocol includes regular Modified Look-Locker Inversion Recovery (MOLLI) T1 mapping sequences, systolic T1 mapping with a HRD pulse sequences, cine MR and late gadolinium enhancement (LGE) imaging. The difference of image quality and measurement results in patients using MOLLI T1 mapping sequence and systolic T1 mapping with a HRD pulse sequence was compared. The cardiac magnetic resonance examination was repeated for five patients after electric cardioversion. Compare the T1 values' difference of the same patient under atrial fibrillation rhythm and sinus rhythm by the modified sequence. **Results** Fifty patients with persistent AF, including 15 females, with an average age of (54 ± 13) years were enrolled in this study. There are artifacts in 492 myocardial segments of 103 pre-enhanced images and 515 segments of 123 post-enhanced images in MOLLI T1 mapping, which is obviously more than 168 segments of 42 pre-enhanced images in systolic MOLLI T1 mapping with heart-rate-dependent pulse sequence ($\chi^2 = 189.871, P < 0.01$). The overall native T1 times, post-enhanced T1 times and ECV of the left ventricle (LV) in HRD T1 maps were greater than in the conventional ones (all $P < 0.05$). The comparison of systolic MOLLI T1 mapping results of five patients with AF before electric cardioversion and conventional MOLLI T1 mapping results after electric cardioversion showed no significant difference (all $P > 0.05$). However, the conventional T1 mapping

results before electric cardioversion were significantly lower than that after electrical cardioversion (all $P < 0.05$). **Conclusion**

Systolic MOLLI T1 mapping with heart-rate-dependent pulse sequence scheme can significantly improve image quality. For patients with AF, the modified T1 mapping imaging results are reliable, which can effectively avoid the underestimation of T1 values using the conventional method.

【Key words】 Persistent atrial fibrillation; Cardiac magnetic resonance; Modified T1 mapping sequence; T1 value

作为最常见的持续性心律失常——心房颤动(房颤)的发病率不断上升^[1]。我国现有房颤患者约 1 000 万,房颤患者脑卒中发生率增加 5~7 倍,病死率增加 1 倍^[2]。研究显示,房颤患者存在左心室心肌间质纤维化,且该病理改变与心功能不全密切相关^[3]。

随着磁共振成像(magnetic resonance, MR)技术的发展,利用纵向弛豫时间映射图(T1 mapping)技术能够直接测量组织的 T1 值,在后处理软件的辅助下,获取细胞外基质容积(extracellular volume, ECV)成像,从而无创地量化评估心肌纤维化程度^[4]。T1 mapping 及 ECV 成像可以为左室心肌纤维化的早期诊断和指导治疗提供帮助,但是房颤发作时极不规则的心室率会影响其准确性^[5]。本研究拟探究改良的 T1 mapping 成像技术对房颤患者成像的可行性,通过比较不同时相(收缩期/舒张期)和采集模式(固定/心率依赖)组合获得的 T1 值和 ECV 数据,验证收缩期并心率依赖(heart-rate-dependent, HRD)采集模式 T1 mapping 在房颤患者中应用的可靠性,报道如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象

收集 2018 年 1—12 月首都医科大学附属北京安贞医院经临床确诊为持续性房颤的患者 50 例。入选标准:年龄 ≥ 18 岁,心电图或动态心电图等工具确切地记录到房颤发作。持续性房颤为房颤心律发作持续时间超过 7 d。排除标准:有 MR 检查禁忌证的患者。本研究经医院伦理委员会批准,所有受检者均在充分了解检查目的及风险的情况下,自愿参加并签署知情同意书。全部患者接受心脏磁共振检查,采用常规序列和改良序列分 2 次进行 T1 mapping 扫描。其中 5 例房颤患者在接受心电图复律检查前、后各进行 1 次心脏磁共振检查,用于比较改良模式扫描结果的准确性。

1.2 HRD 采集模式

固定的 Look-Locker 反转恢复序列(modified Look-Locker inversion recovery, MOLLI)采集模式,如 5(3)3/4(1)3(1),相邻 2 次反转恢复采集数据的间隔为括号内的 3 次心跳/1 次心跳。心率加快时,每次心跳的时间较慢心率时缩短,如果此时依然采用相同的心跳次数作为间隔时间,将导致磁化矢量恢复不全,残余效应将作用于下一次反转恢复,导致

低估 T1 值。为保障在下次翻转脉冲前得到充分的纵向磁化矢量恢复,需要依据心率增加间隔的心跳次数。理论上,经过 4 倍的 T1 时间(心肌组织的最大 T1 值 2 000 ms),目标组织能够恢复磁化平衡。对于默认的 5(3)3 采集模式,当心率为 60 次/min(1 000 ms)时,需要 $(5+3) \times 1\,000 = 8\,000$ ms 再开始第二次翻转脉冲。对于高心率,则需要根据心率计算间隔心跳次数。笔者针对 5(3)3/4(1)3(1) 2 种采集模式进行修改。由于 5(3)3 适合于 60 次/min 的心率,因此,对于增强前 T1 mapping,第二次反转恢复脉冲前的心跳次数为 $n = (5+3)/(\text{以 ms 为单位的心率}) \times 1\,000 - 5$,对于增强后 T1 mapping,第二次反转恢复脉冲前的心跳次数为 $n = (4+1)/(\text{以 ms 为单位的心率}) \times 1\,000 - 4$ 。

1.3 心脏磁共振检查

检查采用 3.0T 磁共振扫描仪(Verio,德国 Siemens 公司)及 32 通道表面相控阵心脏线圈。采用运动自动矫正反转恢复真实稳态自由进动 T1 mapping 序列:扫描范围包含左心室三层短轴层面(基底段、中间段及心尖段),主要参数:视野(FOV) 270 mm \times 320 mm,矩阵 144 \times 256,重复时间(TR) 2.8 ms,回波时间(TE) 1.18 ms,反转角 35°,层厚 10 mm,并行采集加速因子 2。舒张期采用系统默认的依据 ECG 门控的触发延迟(trigger delay, TD),收缩期采用 TD = 0 ms。对于 HRD 采集模式,依据真实扫描前观察到的最高心率决定间隔心跳次数。对比增强 T1 mapping 成像:静脉注入对比剂后约 15 min 重复采集前述短轴层面的 T1 mapping,扫描序列、参数同前。其他检查序列包括:(1)心脏电影成像,扫描范围包含左心室基底段至心尖段在内的左室短轴、长轴和四腔心层面,主要成像参数:FOV 286 mm \times 340 mm,矩阵 216 \times 256,TR 3.4 ms,TE 1.7 ms,时间分辨率 40 ms,层厚 8 mm;(2)对比剂延迟强化成像(LGE),采用二维相位敏感反转恢复快速小角度激发序列,经肘正中静脉注入对比剂(Magnevist,德国 Schering 公司。流速 2 ml/s,用量 0.2 mmol/kg),延迟 5~10 min 采集左心室短轴、两腔心和四腔心图像。主要参数:FOV 260 mm \times 350 mm,矩阵 130 \times 256,TR 4.1 ms,TE 1.6 ms,反转角 20°,层厚 8 mm,反转恢复时间(TI)300 ms。

1.4 图像分析 定量分析 T1 mapping 图像,手动勾画感兴趣区(region of interest, ROI)分别描记增强前、后每一层面图像左心室内膜和心外膜边界,软件自动计算并输出该层面勾画的闭合范围内增强前、后心肌的平均 T1 值(T1myo pre, T1myo post)。测量时尽量避开左心室血池(接近心内膜)及心包脂肪(接近心外膜)等可能产生部分容积效应的区域。对于存在伪影的心肌节段,在进行段水平分析时,存在伪影节段及与之对应的其他采集模式获取的图像均排除在外。但在计算以患者为单位的心肌 T1 值和 ECV 时,全部无伪影节段均纳入评价。之后采用 ROI 工具勾画增强前、后每一层面图像左心室血池范围,软件自动计算并输出该层面增强前、后血池平均 T1 值(T1blood pre, T1blood post)。记录左室基底段、中间段及心尖段层面的心肌及血池增强前、后的平均 T1 值。左心室整体平均 T1 值(分别为增强前、后及血池) = 3 层 T1 值之和/3。对于接受 2 次 MR 检查的入选者,2 次检查进行段水平分析。继而采用公式: $ECV = (1 - \text{hematocrit}) (1/T1 \text{ T1myo post} - 1/ \text{T1myo pre}) / (1/ \text{T1blood post} - 1/ \text{T1blood pre})$ 获得每位受试者左心室 ECV 数据^[6]。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用配对 *t* 检验或单因素方差分析;计数数据采用频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

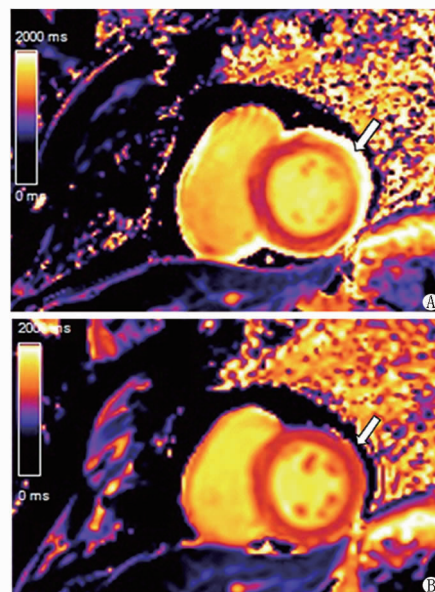
2.1 研究对象基本情况 本研究入组 50 例持续性房颤患者,男 35 例,女 15 例,年龄 34 ~ 71 (54 ± 13) 岁;体质量指数(27.9 ± 4.91) kg/m^2 ;合并高血压 20 例,冠心病 12 例,高胆固醇血症 33 例;LGE 阳性 6 例。由心脏磁共振电影序列测量的心功能结果见表 1。

表 1 50 例房颤患者心功能参数 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	数值
平均心率(bpm)	93.40 ± 24.1
左心室射血分数(%)	46.10 ± 16.88
舒张末期容积(ml)	90.90 ± 23.54
收缩末期容积(ml)	49.00 ± 7.86
每搏输出量(ml)	41.90 ± 21.63
心肌质量(g)	101.10 ± 30.21
心输出量(L/min)	4.20 ± 3.01

2.2 房颤患者不同采集模式 T1 mapping 的比较 50 例房颤患者共采集 300 幅增强前 T1 mapping 图像和 300 幅增强后 T1 mapping 图像。常规模式的 T1 map-

ping 图像(增强前、后各 150 幅图像)中,增强前 103 幅图像的 492 个心肌节段、增强后 123 幅图像的 515 个节段存在伪影;改良模式下的 T1 mapping 图像(增强前、后各 150 幅图像)中,增强前 42 幅图像的 168 个节段存在伪影,增强后 59 幅图像的 190 个节段存在伪影,常规模式和改良模式的伪影图像的数量有明显差异($\chi^2 = 189.871, P < 0.01$),见图 1。



注:A. 常规序列扫描,可见左心室部分前壁和侧壁存在伪影(箭头所示);B. 改良模式扫描同层面图像,可见图像信号均匀,乳头肌显示清晰,与 A 图对应侧(箭头所示)无伪影存在

图 1 房颤患者常规模式和改良模式 T1 mapping 图像比较

改良模式下扫描的左心室增强前 T1 值、增强后 T1 值和 ECV 均高于常规扫描模式获得的相应结果($P < 0.05$),见表 2。

表 2 房颤患者不同采集模式下获得左心室增强前/增强后 T1 值和 ECV 比较 ($\bar{x} \pm s$)

检查模式	例数	左心室增强前 T1 值(ms)	左心室增强后 T1 值(ms)	左心室 ECV (%)
常规模式	50	1 263.29 ± 40.71	551.07 ± 57.49	26.41 ± 2.73
改良模式	50	1 311.00 ± 44.51	571.37 ± 66.16	28.02 ± 3.48
<i>t</i> 值		-4.145	-2.431	-4.049
<i>P</i> 值		<0.001	0.037	<0.001

2.3 房颤患者电复律前、后扫描结果比较 5 例患者在接受电复律前后各进行了一次心脏磁共振检查,常规采集模式及收缩期 HRD 采集模式下获得左心室增强前/增强后 T1 值和 ECV。电复律后改良模式的 T1 mapping 结果与电复律前改良模式结果无明显差异(P

均 >0.05), 而电复律前常规模式 T1 mapping 结果各项指标明显低于电复律后常规模式的 T1 mapping 结果 (P 均 <0.05), 见表 3。

3 讨论

T1 mapping 是由在 T1 恢复过程中不同时间点采集的一系列图像经过配准得到的。目前常用的 T1 mapping 成像序列为 MOLLI 技术。MOLLI 技术的心率敏感性通过改良模式已大大改善^[7]。影响 MOLLI 技术心率敏感性的最大因素是相邻 2 次反转恢复之间的间隔时间。通过延长相邻反转恢复间的间隔时间可以消除残余心率效应^[8]。但具体应如何依据心率增加而增大间隔时间, 目前尚无相关报道。此外, 高心率时, 舒张期心脏相对静止期缩短幅度比收缩期更显著, 因此, 收缩期更适合用于高心率患者的数据采集。对于房颤患者, 尽管每个心动周期的 R-R 间期长短不一, 但收缩期变异程度小于舒张期^[9]。

T1 mapping 应当有稳健的测量性能, 才能得到广泛的应用。任何校正都应当妥善地说明以保证其可重复性。目前专家共识推荐的方法是屏气单层 2D 采集。在获得足够研究证据前尚不能确定患者的排除标准, 同时还缺少验证呼吸运动、心律失常及极限心率干扰 T1 和 ECV 测量的相关数据。另外, 许多潜在的与疾病相关的因素, 例如心肌的厚薄、心律失常、残余心率效应均可能会影响所测量的 T1 值并引入不明程度的偏倚^[10]。

MOLLI 由 3 个连续的心电门控反转恢复准备 LL (Look-locker) 序列 (LL1、LL2、LL3) 在一次闭气内扫描完成, 这 3 个序列在反转脉冲之后的连续心脏跳动的舒张末期分别进行 3 个、3 个及 5 个单次采集^[11]。每个 LL 序列的 TI 时间为反转脉冲到采集 k 空间第一幅图像的时间。而有效 TI 时间为初始 TI 加上从第一幅图像采集开始后的心动周期的时间长度, 图像后处理时, 根据有效 TI 时间重新排列, 使得图像类似于一次采集得出的。在每 2 个 LL 序列之间有 3 个无数据采集的心动周期, 从而使得纵向磁化矢量完全恢复平衡。

利用 MOLLI 技术可在一次屏气过程中采集心脏单层 T1 mapping 数据, 而且每次舒张末期数据采集时间 <200 ms, 使运动伪影较少, 具有较高的空间分辨率和可重复性^[12]。低心率患者, R-R 间期缩短, 固定采集模式 5(3)3/4(1)3(1)2 不能保障足够时间等待磁化矢量恢复至平衡状态。完整的反转恢复时间导致低估 T1 值, 在前一次 T1 反转恢复后增加心跳次数可以有效避免低估 T1 值。本研究提示, 改良模式可明显改善 T1 mapping 图像质量。房颤患者复律前后 CMR 检查比较后证实, 收缩期 HRD 采集模式 T1 mapping 成像结果可靠。改良模式的扫描有效避免由于常规模式扫描导致的 T1 值低估情况。

本研究数据显示, 改良模式下收缩期所采集的可评价图像数和心肌节段数均高于常规模式舒张期所采集的数目。心率加快时, 舒张期心脏相对静止期缩短幅度较收缩期明显。对于房颤患者, 尽管 R-R 间期绝对不齐, 收缩期变异小于舒张期^[13-14]。因此, 收缩期采集数据获得了更多的可评价图像。

本研究入组的受试者相对数量较少, 尤其是参加 2 次 MR 检查的人数。未来需要纳入更多参与 2 次检查的受试者以进一步验证 HRD 采集模式的准确性。此外, HRD 采集模式相对操作复杂, 且 HRD 模式的优势在更高心率患者中更明显, 因此未来需要优化该采集模式, 在保证其准确性的基础上, 进一步简化操作流程。最后, 笔者未进行观察者间及观察者内部一致性检验, 但基于以往研究结果表明, T1 mapping 序列观察者间及观察者内部一致性良好^[15-16]。

综上所述, 改良 (HRD) 采集模式有助于避免对 T1 值的低估, 尤其适合高心率患者。该模式在图像质量和准确性方面明显提高, 能使更多心律不齐和高心率患者获益。因此, 收缩期并心率依赖模式 T1 mapping 成像序列能够用于房颤患者进行心室纤维化定量评价。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

表 3 5 例房颤患者电复律前、后扫描结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

检查模式	时间	左心室增强前 T1 值(ms)	左心室增强后 T1 值 (ms)	左心室 ECV (%)
常规模式 (n=5)	电复律前	1 209.3 ± 56.1	532.1 ± 33.2	25.9 ± 2.12
	电复律后	1 269.4 ± 33.2	565.3 ± 49.0	26.5 ± 2.12
改良模式 (n=5)	电复律前	1 278.3 ± 47.1	575.2 ± 41.0	27.9 ± 2.01
	电复律后	1 279.1 ± 23.3	580.4 ± 33.0	27.6 ± 1.56
t/P 常规模式复律前后值		3.021/0.037	3.921/0.002	3.049/0.017
t/P 常规模式复律前后值		0.034/0.974	0.221/0.831	0.206/0.841
t/P 2 种模式复律后值		1.021/0.253	1.009/0.199	0.976/0.090

陆艾嘉、赵蕾:设计研究方案,提出研究思路,研究选题,论文撰写;田洁、铁红红:数据收集、研究过程实施;张臣:文献调研与整理,研究过程实施;马晓海:设计论文框架,修订论文,论文终审

参考文献

- [1] Lippi G, Sanchis-Gomar F, Cervellin G. Global epidemiology of atrial fibrillation: An increasing epidemic and public health challenge[J]. *International Journal of Stroke: Official Journal of the International Stroke Society*, 2020. <https://doi.org/10.1177/1747493019897870>.
- [2] 黄从新,张澍,黄德嘉,等.心房颤动:目前的认识和治疗的建议-2018[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2018, 32(4):315-368. DOI: 10.13333/j.cnki.cjcp.2018.04.001.
- [3] 周鹏,李剑,刘韦卓,等.1425名不同年龄段心房颤动患者CHA₂-DS₂-VASc评分的构成成分比较[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2020, 34(1):11-15. DOI: 10.13333/j.cnki.cjcp.2020.01.004.
- [4] 李燕,黄凌波,付兵,等.心脏磁共振 T1 Mapping 技术和 ECV 评估扩张型心肌病心肌纤维化应用分析[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(2):185-189. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2018.02.16.
- [5] Alkhalil M, Borlotti A, De Maria GL, et al. Dynamic changes in injured myocardium, very early after acute myocardial infarction, quantified using T1 mapping cardiovascular magnetic resonance[J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2018, 20(1):82. DOI: 10.1186/s12968-018-0506-3.
- [6] Pagano JJ, Chow K, Paterson D, et al. Effects of age, gender, and risk-factors for heart failure on native myocardial T and extracellular volume fraction using the SASHA sequence at 1.5T[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2018, 48(5):1307-1317. DOI: 10.1002/jmri.26550.
- [7] Rosmini S, Bulluck H, Captur G, et al. Myocardial native T1 and extracellular volume with healthy ageing and gender[J]. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2018, 19(6):615-621. DOI: 10.1093/ehjci/jej034.
- [8] Yang EY, Khan MA, Graviss A, et al. Relationship of extracellular volume assessed on cardiac magnetic resonance and serum cardiac troponins and natriuretic peptides with heart failure outcomes[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):20168. DOI: 10.1038/s41598-019-56213-4.
- [9] Alkhalil M, Borlotti A, De Maria GL, et al. Dynamic changes in injured myocardium, very early after acute myocardial infarction, quantified using T1 mapping cardiovascular magnetic resonance[J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2018, 20(1):82. DOI: 10.1186/s12968-018-0506-3.
- [10] El-Rewaidy H, Nezafat M, Jang J, et al. Nonrigid active shape model-based registration framework for motion correction of cardiac T1 mapping[J]. *Magnetic Resonance in Medicine*, 2018, 80(2):780-791. DOI: 10.1002/mrm.27068.
- [11] Lugauer F, Wetzel J, Forman C, et al. Single-breath-hold abdominal T1 mapping using 3d cartesian look-locker with spatiotemporal sparsity constraints[J]. *Magma*, 2018, 31(3):399-414. DOI: 10.1007/s10334-017-0670-8.
- [12] Saunders LC, Johns CS, Stewart NJ, et al. Diagnostic and prognostic significance of cardiovascular magnetic resonance native myocardial T1 mapping in patients with pulmonary hypertension[J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2018, 20(1):78. DOI: 10.1186/s12968-018-0501-8.
- [13] Luetkens JA, Wolpers AC, Beiert T, et al. Cardiac magnetic resonance using late gadolinium enhancement and atrial T1 mapping predicts poor outcome in patients with atrial fibrillation after catheter ablation therapy[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):13618. DOI: 10.1038/s41598-018-31916-2.
- [14] Qi HK, Bustin A, Cruz G, et al. Free-running simultaneous myocardial T1/T2 mapping and cine imaging with 3D whole-heart coverage and isotropic spatial resolution[J]. *Magn Reson Imaging*, 2019, 63:159-169. DOI: 10.1016/j.mri.2019.08.008.
- [15] Goldfarb JW, Hsu B, Cao JJ. Effects of supplemental oxygen on cardiovascular magnetic resonance water proton relaxation time constant measurements (T1, T2 and T2*)[J]. *Magn Reson Imaging*, 2019, 61:124-130. DOI: 10.1016/j.mri.2019.05.004.
- [16] Xanthis CG, Bidhult S, Greiser A, et al. Simulation-based quantification of native T1 and T2 of the myocardium using a modified MOLLI scheme and the importance of Magnetization Transfer[J]. *Magn Reson Imaging*, 2018, 48:96-106. DOI: 10.1016/j.mri.2017.12.020.

(收稿日期:2020-03-26)

作者·编者·读者

《疑难病杂志》参考文献引用技巧

本刊参考文献是按照 GB/T 15835-2015《信息与文献 参考文献著录规则》规定的格式进行著录,除传统的项目外,文献末还要加标注数字对象唯一标识码(DOI)信息,近来有作者反映查找文章的 DOI 信息困难,造成著录格式不完整、不规范,为帮助作者更好地引用文献,撰写论文,本刊编辑部总结了文献检索的小技巧:登录万方数据网站 <http://www.wanfangdata.com.cn>,检索出想要参考引用的文献,出现该文献相关信息界面,点击文题下方的“□”导出按钮,出现“导出文献列表”,点击其下方的“参考文献格式”,即出现该文献的规范著录格式,包括作者、文题、刊名、年份、卷(期)、起止页码、DOI 等完整信息,即可加以引用。

射血分数保留的心力衰竭患者 MMP-2、MMP-9、Gal-3 的浓度变化及其临床意义

徐洁, 郭衍楷, 曹桂秋, 王贵鹏, 薄雅坤, 张鹏珂, 周莉莉

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2016D01C244)

作者单位: 830011 新疆医科大学第五附属医院心血管内科(徐洁、郭衍楷、曹桂秋、王贵鹏、薄雅坤、张鹏珂), 超声科(周莉莉)

通信作者: 曹桂秋, E-mail: 657659930@qq.com

【摘要】目的 观察射血分数保留的心力衰竭(HF-PEF)患者血清中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、MMP-9及半乳糖凝集素-3(Gal-3)的浓度变化及其临床意义。**方法** 选取2016年7月—2017年6月新疆医科大学第五附属医院心血管内科诊治的HF-PEF患者88例作为HF-PEF组,非心力衰竭患者35例为NHF组,均采用ELISA法测定血清MMP-2、MMP-9及Gal-3的浓度,超声测定左房直径(LA)、左室舒张末期内径(LVEDD)及左室射血分数(LVEF),并分析其相关性。**结果** HF-PEF组患者血清MMP-2、MMP-9及Gal-3浓度明显高于NHF组($t/P = 12.952/0.000$ 、 $17.618/0.000$ 、 $14.801/0.000$),并随着心功能分级升高而显著增加($F/P = 78.72/0.000$ 、 $127.531/0.000$ 、 $86.418/0.000$);HF-PEF组LAD水平大于NHF组,LVEF水平低于NHF组(P 均 <0.01),而2组LVEDD水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。血清MMP-2、MMP-9和Gal-3浓度与LAD、LVEDD呈正相关(LAD: $r/P = 0.716/0.000$ 、 $0.712/0.000$ 、 $0.661/0.000$;LVEDD: $r/P = 0.267/0.012$ 、 $0.325/0.002$ 、 $0.280/0.008$),与LVEF呈负相关($r/P = -0.357/0.001$ 、 $-0.547/0.000$ 、 $-0.451/0.000$)。**结论** 检测血清中MMP-2、MMP-9及Gal-3浓度有助于HF-PEF患者病情早期诊断及其疾病严重程度的判断。

【关键词】 射血分数保留的心力衰竭;基质金属蛋白酶-2;基质金属蛋白酶-9;半乳糖凝集素-3

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.002

Changes of MMP-2, MMP-9 and Gal-3 in heart failure patients with preserved ejection fraction and their clinical significance Xu Jie*, Guo Yankai, Cao Guiqiu, Wang Guipeng, Bo Yakun, Zhang Pengke, Zhou Lili. *Department of Cardiology, the Fifth Affiliated Hospital of Xin Jiang Medical University, Urumqi 830011, China

Corresponding author: Cao Guiqiu, E-mail: 657659930@qq.com

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2016D01C244)

【Abstract】 Objective To observe the changes of serum matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9 and galactose agglutinin-3 (Gal-3) in patients with heart failure (HF-PEF) with preserved ejection fraction and its clinical significance. **Methods** From July 2016 to June 2017, 88 HF-PEF patients were selected as HF-PEF group and 35 non heart failure patients as NHF group. The concentrations of MMP-2, MMP-9 and Gal-3 in serum were measured by ELISA, the left atrial diameter (LA), left ventricular end diastolic diameter (LVEDD) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were measured by ultrasound, and the correlation was analyzed. **Results** The concentrations of MMP-2, MMP-9 and Gal-3 in HF-PEF group were significantly higher than those in NHF group ($t/P = 12.952/0.000$, $17.618/0.000$, $14.801/0.000$), and increased with the increase of cardiac function grade ($F/P = 78.72/0.000$, $127.531/0.000$, $86.418/0.000$). The LA level of HF-PEF group was higher than that of NHF group, while the LVEF level of HF-PEF group was lower than that of NHF group ($P < 0.01$). The concentrations of MMP-2, MMP-9 and Gal-3 were positively correlated with LA and LVEDD (LAD: $r/P = 0.716/0.000$, $0.712/0.000$, $0.661/0.000$; LVEDD: $r/P = 0.267/0.012$, $0.325/0.002$, $0.280/0.008$), and negatively correlated with LVEF ($r/P = -0.357/0.001$, $-0.547/0.000$, $-0.451/0.000$). **Conclusion** The detection of MMP-2, MMP-9 and Gal-3 in serum is helpful for the early diagnosis of HF-PEF and the judgment of disease severity.

【Key words】 Heart failure with preserved ejection fraction; Matrix metallo protein-2; Matrix metallo protein-9; Galectin-3

心力衰竭(HF)是多种心血管疾病晚期的终末表现,具有很高的病死率,目前全世界有2 300万人受其影响,并且随着年龄的增长,其患病人数仍会进一步升高^[1-2]。射血分数保留的心力衰竭(HF-PEF)作为心力衰竭的一种亚型,其具有心力衰竭的所有特征,因为其射血分数保持在正常水平而被命名^[3]。流行病学研究表明, HF-PEF 已逐渐成为全球各个地区心力衰竭的最主要表现形式,其占比高达 52% ~ 71%^[4-6]。因其机制不明,表型尚不完全清楚,目前缺乏特异且有效的治疗措施能够显著降低其发病率和病死率^[7],已逐渐成为当今心脏病学领域最大难题之一^[8],因此对 HF-PEF 的早期诊治以期获得更好的预后是现阶段迫切需要解决的问题。目前研究表明,在 HF-PEF 发生发展过程中,存在左心室舒张期主动舒张能力下降,心肌顺应性减低,僵硬程度增强等一系列表现^[9],表明心肌纤维化可能同样参与了 HF-PEF 的发生发展。既往研究表明,炎症因子如基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、MMP-9 及半乳糖凝集素-3(Gal-3)在射血分数减少型心力衰竭(HF-REF)的起病过程中发挥着重要作用,在心肌纤维化方面表现尤为明显^[10-11]。但是,这些炎症因子是否在 HF-PEF 发病过程中同样发挥着类似的作用,目前相关报道较少。因此,现观察 HF-PEF 患者血清 MMP-2、MMP-9 及 Gal-3 浓度变化及其与左心功能相关参数的关联性,并分析血清炎症因子浓度变化在 HF-PEF 诊断及疾病严重程度判断中的临床价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2016年7月—2017年6月新疆医科大学第五附属医院心血管内科诊治的 HF-PEF 患者 88 例作为 HF-PEF 组,其中男 39 例,女 49 例,平均年龄(60.67 ± 11.41)岁。按纽约心脏病学会(NYHA)心功能分级进行分组,其中Ⅱ级 35 例,Ⅲ级 31 例,Ⅳ级 22 例;病程 5 ~ 16(10.45 ± 3.44)年;合并症:高血压 42 例,糖尿病 35 例,稳定型心绞痛 72 例,心律失常 35 例;吸烟史 24 例。同期另选取无心功能不全的患者 35 例作为对照组(NHF 组),男 15 例,女 20 例,平均年龄(59.26 ± 10.25)岁;病程 5 ~ 15(10.23 ± 3.32)年,合并症:高血压 16 例,糖尿病 12 例,稳定型心绞痛 26 例,心律失常 14 例;吸烟史 11 例,既往均无心脏疾病病史。2 组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,患者及家属知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:HF-PEF 组入选患者均满足 2016 年欧洲心脏病协会心力衰竭指南诊断标

准^[3]。①具备典型 HF 症状和/或体征;②左心室射血分数(LVEF) ≥ 50%;③利钠肽水平升高,即氨基末端脑钠肽前体(NT-pro BNP) ≥ 125 pg/ml、B 型利钠肽(BNP) ≥ 35 pg/ml;④超声心动图结果符合以下至少 1 条标准:相关的结构性心脏病(左室增厚或左房变大),舒张功能不全[舒张早期二尖瓣血流速度与舒张早期二尖瓣环心肌运动速度之比(E/e') ≥ 13 或平均 $e' < 9$ cm/s 等]。(2)排除标准:①LVEF < 50%;②急性或慢性感染;③肿瘤性疾病;④自身免疫系统性疾病;⑤先天性心脏病、心瓣膜病、心包疾病、心肌病;⑥肝、肾功能不全;⑦血液系统性疾病。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血脂检测:2 组于入院第 2 天清晨(空腹 8 h 以上)留取肘静脉血 4 ml,离心取上清液置于 -80℃ 的冰箱中保存待测。采用美国 BECKMAN AU5800 LX-20 型全自动生化分析仪检测总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白-A1(Apo-A1)、载脂蛋白-B(Apo-B)水平。

1.3.2 炎症因子检测:上述血清采用酶联免疫吸附法(ELISA)定量测定 MMP-2、MMP-9、Gal-3 水平,试剂盒购自武汉优尔生商贸有限公司,严格按照说明书操作。

1.3.3 心功能测定:由 2 名专门的经验丰富的心脏病专业超声医师完成彩色多普勒超声心动图(Phillips IE33, Seattle, WA, USA)检测,具体方法详见文献[12],检测左心房前后径(LAD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)及 LVEF;所有数据均连续测量 3 次,取其平均值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析;计数资料以频率或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;相关分析采用 Pearson 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血脂比较 2 组患者 TC、TG、HDL-C、LDL-C、Apo-A1 及 Apo-B 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 2 组血清炎症因子比较 HF-PEF 组血清 MMP-2、MMP-9 和 Gal-3 水平均高于 NHF 组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

2.3 2 组心功能比较 HF-PEF 组 LAD 水平高于 NHF 组,而 LVEF 水平低于 NHF 组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.01),2 组 LVEDD 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 1 2 组患者血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	Apo-A1 (g/L)	Apo-B (g/L)
NHF 组	35	3.93 ± 0.53	1.62 ± 0.59	1.26 ± 0.36	2.35 ± 0.65	1.22 ± 0.18	0.91 ± 0.35
HF-PEF 组	88	3.85 ± 1.12	1.55 ± 0.79	1.23 ± 0.34	2.43 ± 0.79	1.19 ± 0.24	0.87 ± 0.33
<i>t</i> 值		0.404	0.474	0.434	0.531	0.668	0.596
<i>P</i> 值		0.687	0.637	0.665	0.596	0.506	0.552

表 2 2 组患者血清 MMP-2、MMP-9 及 Gal-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-2 (pg/ml)	MMP-9 (ng/ml)	Gal-3 (ng/L)
NHF 组	35	85.82 ± 11.59	5.45 ± 1.69	13.94 ± 4.46
HF-PEF 组	88	147.53 ± 40.74	13.62 ± 3.43	33.65 ± 4.25
<i>t</i> 值		12.952	17.618	14.801
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

表 3 2 组患者 LAD、LVEDD、LVEF 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	LAD (cm)	LVEDD (cm)	LVEF (%)
NHF 组	35	3.25 ± 0.43	4.68 ± 0.30	69.91 ± 4.61
HF-PEF 组	88	3.77 ± 0.70	4.72 ± 0.57	63.29 ± 6.64
<i>t</i> 值		4.093	0.393	5.397
<i>P</i> 值		0.000	0.695	0.000

2.4 HF-PEF 组不同心功能分级患者血清炎性因子比较 随着心功能分级的增加, HF-PEF 组患者血清 MMP-2、MMP-9 和 Gal-3 水平逐渐升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 4 HF-PEF 组不同 NYHA 分级患者血清炎性因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

NYHA 分级	例数	MMP-2 (pg/ml)	MMP-9 (ng/ml)	Gal-3 (ng/L)
Ⅱ级	35	112.42 ± 26.63	10.57 ± 1.25	24.96 ± 4.26
Ⅲ级	31	153.49 ± 24.92	13.90 ± 1.62	34.51 ± 5.07
Ⅳ级	22	194.98 ± 19.39	18.09 ± 2.43	46.29 ± 8.88
<i>F</i> 值		78.718	127.531	86.418
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.5 HF-PEF 患者炎性因子水平与左心功能相关性分析 HF-PEF 患者血清 MMP-2、MMP-9 和 Gal-3 水平与 LAD 呈显著正相关 ($P < 0.01$), 与 LVEDD 指数呈弱正相关 ($P < 0.05$), 与 LVEF 水平呈负相关 ($P < 0.01$), 见表 5。

表 5 HF-PEF 患者血清炎性因子水平与左心功能相关分析 ($\bar{x} \pm s$)

变量	MMP-2		MMP-9		Gal-3	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
LAD	0.716	0.000	0.712	0.000	0.661	0.000
LVEDD	0.267	0.012	0.325	0.002	0.280	0.008
LVEF	-0.357	0.001	-0.547	0.000	-0.451	0.000

3 讨论

目前研究表明, 心肌纤维化不仅是心力衰竭的始动因素之一, 同时也参与心力衰竭的发病过程中。另外, 也有许多对 HF-REF 的研究报道表明, 在心肌纤维化过程中, 存在着炎性因子的高表达, 这对预测心力衰竭的发生及评估其预后方面也发挥着重要的作用^[13-16]。HF-PEF 作为心力衰竭的一种亚型, 对其机制的研究并不透彻, 因其发病机制不明, 临床预后欠佳, 仍需大量的研究对其发病机制作进一步阐述。因此, 本研究对在 HF-REF 中发挥着重要作用的相关炎性因子 (MMP-2、MMP-9 和 Gal-3) 是否在 HF-PEF 患者中也发挥着重要的作用进行深入探讨。

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是在细胞外基质分解过程中起关键作用的一种内肽酶, 其功能障碍能够导致心脏舒张或收缩功能障碍, 进而出现心力衰竭^[17-19]。既往研究表明, 检测血浆中 MMP 水平可能是定量胶原蛋白在 HF-PEF 疾病进程中降解的一种方法, 对评估疾病严重程度、预后及炎症反应等方面均具有重要的影响。MMP-2 和 MMP-9 是发生心脏重构和参与慢性心力衰竭进展的 2 种重要的酶^[20-21]。MMP-2 在 HF-PEF 患者中普遍存在, 并与心脏纤维化程度密切相关^[22]。Sanchis 等^[23]对 HF-PEF 患者中 BNP 与 MMP-2 的研究表明, 在预测 HF-PEF 发生方面, MMP-2 有更高的敏感度和特异度, 并且对其病死率、心血管病住院或因心血管原因到急诊室就诊终点的综合预后评分贡献更大。同样, MMP-9 能够调控心肌间质纤维化及炎症反应过程, 主要是因为其能够影响心肌细胞基质降解及重塑的平衡, 进而最终出现心肌胶原的重构^[24-25]。研究表明^[26], 血浆 MMP-9 水平可识别有舒张功能不全和 HF-PEF 风险的无症状高血压患者, 表明 MMP-9 参与高血压诱导的 HF-PEF 早期发展。进一步对高血压人群合并心力衰竭症状的研究表明, MMP-9 是无症状性左心室舒张功能障碍严重程度的重要指标。而 MMP-9 主要是通过激活 TGF-1 和允许心肌肌成纤维细胞迁移而导致左心室僵硬, 进而介导出现舒张功能障碍^[27]。在此次研究中, HF-PEF 组患者血清中 MMP-2 和

MMP-9 浓度显著升高,并且随着心功能程度的加重而逐渐升高,表明 MMP-2 和 MMP-9 同样也参与了 HF-PEF 的发生发展,进一步也证实了 HF-PEF 的发病过程中存在着心肌纤维化及心肌的重构,这与以往研究结果相似。MMP-2 和 MMP-9 水平可能是一种有用的标志物,可用于识别有 HF 发展风险和预后不良的患者,或可作为多标记方法的组成部分^[28]。Gal-3 属于可溶性 β -半乳糖苷结合蛋白的一种,在组织炎症反应、修复及纤维化中发挥着重要的作用,被认为是 HF 心脏纤维化发展的重要蛋白,具有潜在的临床意义^[11]。Beltrami 等^[29]对急性 HF-PEF 的研究中表明, Gal-3 与 HF-PEF 舒张功能障碍的严重程度和左心室僵硬有关,在 HF-PEF 患者中具有独立于肾功能障碍的预后作用。Ansari 等^[30]研究同样表明, Gal-3 在严重舒张功能障碍患者的诊断中具有显著的疗效。根据超声心动图对舒张功能障碍的分级, Gal-3 水平的升高可能反映了 HF-PEF 的进展过程。本研究发现 Gal-3 在 HF-PEF 患者中高表达,并且随着心功能的恶化而表达进一步增加,这与相关研究一致,即 Gal-3 水平与心肌纤维化密切相关,并参与病程进展^[28]。

另一方面,尽管 HF-PEF 组患者 LVEF 水平仍然大于 50%,但与 NHF 组比较差异有统计学意义,表明在 HF-PEF 发生发展中,存在着 LVEF 下降的趋势,最终可能逐渐进展为 HF-PEF,因此仅仅通过监测 LVEF 水平并不能早期反映 HF-PEF 的疾病进展,如果不采用及时有效的预防策略,可能延误此类患者的早期诊治。同时, HF-PEF 组 LA 水平大于 NHF 组,且随着心功能的恶化, LA 逐步增加,提示 HF-PEF 组患者心房结构的改变与病情的进展密切相关,即心脏发生纤维化且逐渐加重后,左室顺应性降低,心室舒张末压增加,心室充盈压随之增大,最终呈现出左心房后负荷增大,左心房重构发生,这与曹省等^[31]的研究一致,左心室舒张功能水平与左心房扩大的程度明显相关。而相关性分析显示, MMP-2、MMP-9 及 Gal-3 水平与 LA 水平呈显著的正相关,与 LVEDD 水平呈弱正相关,与 LVEF 呈负相关。反映心脏纤维化的炎症因子与 LVEDD 和 LVEF 存在着较弱的关联性,表明随着心功能不全的加重,也同样出现了心室重构,只是异构程度较小,暂未呈显著性变化,这与之前的研究报道相符^[12]。因而,可以推测监测炎症因子水平联合心功能相关指标参数变化可以更有效地评估患者的心功能水平,更早地反映患者心脏重构的变化,从而为临床早预防、早诊断及早治疗提供更多的理论支持依据,为临床此类患者提供更多的获益。

目前而言, HF-PEF 患者的临床治疗效果差,一方面与其机制复杂且不明有关,另一方面,与临床医疗人员对其缺乏充分的认识也有很大的关系,继而对其诊疗、预后判断及院外管理方面存在缺陷。本研究初步结果表明,在 HF-PEF 的发生发展过程中,心肌纤维化也发挥着重要的作用,这与 HF-REF 的发病机制方面存在着某种相通之处,结合研究结果,尽管 HF-PEF 患者的射血分数及左室舒张末期内径仍处于正常范围,但其朝着恶化的方向进展,因而估测, HF-PEF 是 HF-REF 较早的疾病呈现状态,随着病情的发生发展, HF-PEF 终究会发展成为 HF-REF,但是相比于 HF-PEF, HF-REF 的药物治疗和器械治疗均取得了长足的进步,患者的生活质量以及预后均得到了很大的提高,然而 HF-PEF 患者的治疗情况及预后并不容乐观,因而推测, HF-PEF 在其发病过程中,应该还存在着一些尚不明确的机制,且发挥着重要的作用,需要进一步的研究来进行探讨。

综上所述,本研究结果证明 MMP-2、MMP-3、Gal-3 等在 HF-PEF 起病及疾病进程中发挥了一定的作用,在 HF-PEF 诊断及预后判断等方面具有较高的临床应用价值,后期可以通过改变相关通路来进行特定的干预治疗从而使临床患者获益^[22],但这仍待进一步的研究证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

徐浩、王贵鹏:设计研究方案,论文修改;郭衍楷:分析整理数据,进行统计学分析,论文撰写;曹桂秋:提出研究思路,课题设计,论文审核;薄雅坤、张鹏珂:实施研究过程,资料搜集整理;周莉莉:实施研究过程,资料收集整理,分析数据

参考文献

- [1] Park JJ, Choi DJ. Heart failure epidemic: An expected phenomenon [J]. Korean Circulation Journal, 2016, 46(5):610-612. DOI: 10.4070/kcj.2016.46.5.610.
- [2] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association [J]. Circulation, 2016, 133(4):447-454. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000366.
- [3] Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC [J]. European Journal of Heart Failure, 2016, 18(8):891-975. DOI:10.1002/ehf.592.
- [4] Oktay AA, Rich JD, Shah SJ. The emerging epidemic of heart failure with preserved ejection fraction [J]. Current Heart Failure Reports, 2013, 10(4):401-410. DOI:10.1007/s11897-013-0155-7.

- [5] Shimokawa H, Miura M, Nochioka K, et al. Heart failure as a general pandemic in Asia [J]. *European Journal of Heart Failure*, 2015, 17(9):884-892. DOI:10.1002/ejhf.319.
- [6] Steinberg BA, Zhao X, Heidenreich PA, et al. Trends in patients hospitalized with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction: prevalence, therapies, and outcomes [J]. *Circulation*, 2012, 126(1):65-75. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.080770.
- [7] Lam CS, Voors AA, De Boer RA, et al. Heart failure with preserved ejection fraction: from mechanisms to therapies [J]. *European Heart Journal*, 2018, 39(30):2780-2792. DOI:10.1093/eurheartj/ehy301.
- [8] Lam C, Pieske B. Heart failure with preserved ejection fraction (HFPEF) currently represents one of the greatest unmet needs in Cardiology [J]. *Introduction Heart Fail Clin*, 2014, 10(3): XV. DOI:10.1016/j.hfc.2014.05.002.
- [9] 柴珂, 王华, 杨杰孚. 射血分数保留性心力衰竭的病理生理机制和治疗进展 [J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(9):921-923. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2016.09.022.
- [10] Pytliak M, Vargova V, Mechirova V. Matrix metalloproteinases and their role in oncogenesis: A review [J]. *Onkologie*, 2012, 35(1-2):49-53. DOI:10.1159/000336304.
- [11] Gehlken C, Suthahar N, Meijers WC, et al. Galectin-3 in heart failure: An update of the last 3 years [J]. *Heart Failure Clinics*, 2018, 14(1):75-92. DOI:10.1016/j.hfc.2017.08.009.
- [12] 郭楷楷, 徐洁, 曹桂秋, 等. 射血分数保留的心力衰竭患者血清 IL-6、TNF- α 、CRP 水平变化及其相关性分析 [J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(3):217-220. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.03.001.
- [13] Shirazi LF, Bissett J, Romeo F, et al. Role of inflammation in heart failure [J]. *Current Atherosclerosis Reports*, 2017, 19(6):27. DOI:10.1007/s11883-017-0660-3.
- [14] 袁桂莉, 郭继忠, 要彤, 等. 和肽素及 Tei 指数诊断急性心肌梗死后心力衰竭的临床价值 [J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(6):545-548.
- [15] 李崇耀, 张曼, 赵鸿斌, 等. 收缩性心力衰竭患者降钙素原、氨基末端脑钠肽前体水平及超声心动图变化分析 [J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(12):1208-1211, 1217.
- [16] 孙浩楠, 王志家, 高玉霞, 等. 慢性射血分数降低型心力衰竭的药物治疗进展 [J]. *中国医药*, 2020, 15(4):623-627.
- [17] Radosinska J, Barancik M, Vrbjar N. Heart failure and role of circulating MMP-2 and MMP-9 [J]. *Panminerva Medica*, 2017, 59(3):241-253. DOI:10.23736/S0031-0808.17.03321-3.
- [18] 李雅, 贾辛未, 冯翠娜, 等. 心力衰竭患者血清 B 型脑钠肽和左心室射血分数变化情况及对患者预后的预测价值 [J]. *中国医药*, 2019, 14(6):823-826.
- [19] 张杰, 赖润民, 鞠建庆, 等. 芪参益气滴丸治疗射血分数保留心力衰竭的网络药理学研究 [J]. *中国医药导报*, 2020, 17(1):21-24.
- [20] Bartekova M, Barancik M, Pokusa M, et al. Molecular changes induced by repeated restraint stress in the heart: The effect of oxytocin receptor antagonist atosiban [J]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2015, 93(9):827-834. DOI:10.1139/cjpp-2015-0096.
- [21] Meluzin J, Tomandl J, Podrouzkova H, et al. Can markers of collagen turnover or other biomarkers contribute to the diagnostics of heart failure with normal left ventricular ejection fraction [J]. *Biomedical Papers*, 2013, 157(4):331-339. DOI:10.5507/bp.2012.110.
- [22] Wu CK, Su MYM, Wu YF, et al. Combination of plasma biomarkers and clinical data for the detection of myocardial fibrosis or aggravation of heart failure symptoms in heart failure with preserved ejection fraction patients [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018, 7(11):427. DOI:10.3390/jcm7110427.
- [23] Sanchis L, Andrea R, Falces C, et al. Prognosis of new-onset heart failure outpatients and collagen biomarkers [J]. *European Journal of Clinical Investigation*, 2015, 45(8):842-849. DOI:10.1111/eci.12479.
- [24] 郑学鹤, 刘慧峰, 华先平, 等. 阿托伐他汀对射血分数保留型慢性心力衰竭患者心室重构及血清几丁质酶 3 样蛋白 1 和基质金属蛋白酶 9 水平的影响 [J]. *中国医药*, 2019, 14(4):489-492. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.04.003.
- [25] 李静, 吕国芬, 刘俊法. 不同剂量阿托伐他汀联合美托洛尔治疗急性充血性心力衰竭合并肾功能不全的临床效果 [J]. *中国医药导报*, 2019, 16(5):51-54, 62.
- [26] Collier P, Watson CJ, Voon V, et al. Can emerging biomarkers of myocardial remodelling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure [J]. *European Journal of Heart Failure*, 2011, 13(10):1087-1095. DOI:10.1093/eurjhf/hfr079.
- [27] Wang Y, Xu F, Chen J, et al. Matrix metalloproteinase-9 induces cardiac fibroblast migration, collagen and cytokine secretion; Inhibition by salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Phytomedicine*, 2011, 19(1):13-19. DOI:10.1016/j.phymed.2011.06.024.
- [28] Radosinska J, Barancik M, Vrbjar N. Heart failure and role of circulating MMP-2 and MMP-9 [J]. *Panminerva Med*, 2017, 59(3):241-253. DOI:10.23736/S0031-0808.17.03321-3.
- [29] Beltrami M, Ruocco G, Dastidar AG, et al. Additional value of Galectin-3 to BNP in acute heart failure patients with preserved ejection fraction [J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 457:99-105. DOI:10.1016/j.cca.2016.04.007.
- [30] Ansari U, Behnes M, Hoffmann J, et al. Galectin-3 reflects the echocardiographic grades of left ventricular diastolic dysfunction [J]. *Ann Lab Med*, 2018, 38(4):306-315. DOI:10.3343/alm.2018.38.4.306.
- [31] 曹省, 郭瑞强, 陈金玲, 等. 实时三维超声心动图评价慢性心力衰竭患者左心房功能和同步性的初步研究 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2012, 21(2):116-120. DOI:10.3760/cma.j.issn.1004-4477.2012.02.008.

(收稿日期:2020-01-06)

法舒地尔联合呋塞米、螺内酯对急性左心功能衰竭患者心功能及血清 AST、LDH、CK-MB 水平的影响

马乔炎, 张平, 曹倩, 张建秀, 孙广江

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(L172031)

作者单位: 100000 首都医科大学附属北京康复医院心脏康复中心

通信作者: 张平, E-mail: 77988909@qq.com

【摘要】目的 观察 Rho 激酶抑制剂法舒地尔联合呋塞米及螺内酯对急性左心功能衰竭(ALHF)患者心功能及血清天冬氨酸基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸肌酶同工酶(CK-MB)水平的影响。**方法** 选取 2016 年 1 月—2018 年 12 月首都医科大学附属北京康复医院心脏康复中心收治 ALHF 患者 90 例,按随机数字表法分成对照组(45 例)与观察组(45 例)。对照组患者采取常规治疗配合呋塞米及螺内酯,观察组患者在对照组基础上联合法舒地尔治疗。比较 2 组临床疗效,治疗前后心功能,血清 AST、LDH、CK-MB 水平,生存质量表(SF-36)评分,步行 6 min 距离,不良反应发生率。**结果** 观察组治疗总有效率为 97.78%,高于对照组的 84.44% ($\chi^2 = 4.939, P = 0.026$)。治疗后 2 组患者心功能指标,血清 AST、LDH、CK-MB 水平, SF-36 评分, 6 min 步行距离明显改善,且观察组改善明显优于对照组($t/P = 7.879/0.000, 3.443/0.000, 10.314/0.000, 12.396/0.000, 12.318/0.000, 3.967/0.000, 12.671/0.000$), 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** 采取 Rho 激酶抑制剂联合呋塞米及螺内酯治疗急性左心功能衰竭,可明显改善患者心脏功能,降低血清 AST、LDH、CK-MB 表达水平,提升患者生活质量评分与 6 min 步行距离。

【关键词】 Rho 激酶抑制剂;呋塞米;螺内酯;联合治疗;左心功能衰竭,急性;心功能;天冬氨酸氨基转移酶;乳酸脱氢酶;肌酸肌酶同工酶

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.003

Effects of fasudil combined with furosemide and spironolactone on cardiac function and serum AST, LDH and CK-MB levels in patients with acute left heart failure Ma Qiaoyan, Zhang Ping, Cao Qian, Zhang Jianxiu, Sun Guangjiang. Cardiac Rehabilitation Center, Beijing Rehabilitation Hospital, Capital Medical University, Beijing 100000, China

Corresponding author: Zhang Ping, E-mail: 77988909@qq.com

Funding program: Beijing Natural Science Foundation (1172031)

【Abstract】 Objective To observe the effect of Rho kinase inhibitor fasudil combined with furosemide and spironolactone on cardiac function and serum aspartate transferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine MB (CK-MB) levels in patients with acute left heart failure (ALHF). **Methods** From January 2016 to December 2018, 90 patients with ALHF were enrolled in the heart rehabilitation center of Beijing Rehabilitation Hospital Affiliated to Capital Medical University. They were divided into control group (45 cases) and observation group (45 cases) according to the random number table method. The patients in the control group were treated with furosemide and spironolactone, while the patients in the observation group were treated with fasudil based on the control group. The clinical effect, cardiac function, serum AST, LDH and CK-MB levels, SF-36 scores, 6 min walking distance and adverse reactions were compared before and after treatment. **Results**

The total effective rate of the observation group was 97.78%, higher than 84.44% of the control group ($\chi^2 = 4.939, P = 0.026$). After treatment, the heart function index, serum AST, LDH, CK-MB level, SF-36 score, 6 min walking distance were significantly improved in the two groups, and the improvement in the observation group was significantly better than that in the control group ($t/P = 7.879/0.000, 3.443/0.000, 10.314/0.000, 12.396/0.000, 12.318/0.000, 3.967/0.000, 12.671/0.000$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Rho kinase inhibitor combined with furosemide and spironolactone in the treatment of acute left heart failure can significantly improve the cardiac function of patients, reduce the expression level of serum AST, LDH and CK-MB,

and improve the patients' quality of life score and 6-min walking distance.

【Key words】 Rho kinase inhibitors; Furosemide; Spironolactone; Combination therapy; Left heart failure, acute; Cardiac function; AST; LDH; CK-MB

急性左心功能衰竭(ALHF)以呼吸困难、频繁咳嗽为最典型的临床症状,多因突发心脏结构、功能异常引起,起病急,病情危重,可对患者生命安全造成严重威胁。使心脏循环出现障碍,可出现肺淤血、肺静脉淤血^[1-3]。迅速缓解心功能衰竭症状,减少患者机械通气比例为主要的治疗方向。呋塞米可有效增加水、钠等排泄,为广泛用于治疗心力衰竭的利尿药,有扩张血管作用,利于增加肾血流量^[4]。高血压及低钾血症预防药物螺内酯与呋塞米联合可有效增强利尿效应,多联合用于心力衰竭利尿治疗^[5-6]。研究表明,Rho 激酶通过多种血管活性物质相互作用,在心力衰竭病理生理过程中具有关键性作用。现对 ALHF 患者采取联合用药治疗,获得满意效果,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 1 月—2018 年 12 月首都医科大学附属北京康复医院心脏康复中心收治 ALHF 患者 90 例,按随机数字表法分为对照组 45 例,男 25 例(55.56%),女 20 例(44.44%),年龄 48~78(62.3±4.2)岁;病程 3.6~15.9(6.7±0.6)个月;NYHA 心功能分级,Ⅲ级 21 例,Ⅳ级 24 例;合并症,高血压 11 例,冠心病 21 例,糖尿病 10 例,其他 3 例;既往接受治疗 19 例,家族遗传史 21 例。观察组 45 例,男 25 例(55.56%),女 20 例(44.44%),年龄 45~76(63.9±4.7)岁;病程 3.9~16.5(6.9±0.7)个月;NYHA 心功能分级,Ⅲ级 20 例,Ⅳ级 25 例;合并症,高血压 12 例,冠心病 20 例,糖尿病 11 例,其他 2 例;既往接受治疗 18 例,家族遗传史 23 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。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者及其家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准^[6]:符合“急性心力衰竭诊断和治疗指南”中 ALHF 诊断标准;NYHA 心功能分级为Ⅲ~Ⅳ级。(2)排除标准^[7]:凝血功能障碍或有出血倾向;合并消化性溃疡等严重消化道疾病;严重肝、肾功能不全;妊娠期或哺乳期妇女;过敏体质或对研究药物成分有过敏史。

1.3 治疗方法 迅速建立静脉通道,积极治疗原发病,予及时纠正低氧血症及水电解质紊乱、酸碱失衡等常规治疗。对照组:呋塞米注射液(上海禾丰制药有限公司生产)40 mg 静脉滴注,而后再静脉泵注呋塞米

10 mg/h,持续 12 h,1 次/d;螺内酯片(南京瑞年百思特制药有限公司生产)20 mg/次口服,根据病情服用,1~2 次/d。观察组:在对照组基础上联合 Rho 激酶抑制剂治疗:盐酸法舒地尔注射液(旭化成制药株式会社名古屋医药工厂生产)30 mg/次+生理盐水 100 ml 混合稀释后静脉滴注,时间控制在 30 min,3 次/d。2 组均连续治疗 1 周。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 临床疗效评价:显效,临床症状消失或显著减轻,心率维持正常范围内,心功能改善 ≥ 2 级,左心室射血分数(LVEF)提高 $\geq 20\%$,心影较治疗前显著缩小;有效,临床症状显著减轻,心功能改善 > 1 级,LVEF 提高 $> 10\%$;无效,临床症状、体征未见明显改善,甚至加重、死亡。总有效率=(显效+有效)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.4.2 心功能指标检测:由同一医师采用固定心电图监测仪(成都壹科医疗器械有限公司生产,型号 SE-301)检查心脏,监测治疗前后心输出量(CO)、LVEF,每项监测 3 次,取其平均值。

1.4.3 血清 AST、LDH、CK-MB 水平检测:抽取患者治疗前后清晨空腹状态下外周静脉血 3 ml,离心后取上层血清,采用全自动生化分析仪检测患者血清 AST(正常参考值 0~40 U/L)、LDH(正常参考值 ≤ 252 U/L)、CK-MB(正常参考值 < 0.6 ng/ml)。仪器为美国贝克曼库尔特公司 AU5800 型全自动生化分析仪,采用配套试剂盒,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4.4 生活质量评价:采用生存质量表(SF-36)评分^[8],主要针对健康状况、日常生活情况、心理情况等问题进行调查,分值 0~100 分,分数越高代表生存质量越高。6 min 步行距离,在 10:00 时对患者进行步行 6 min 的距离测量。

1.4.5 记录不良反应情况:记录心源性休克、多器官衰竭、恶心/呕吐、乏力、低血压、头痛等不良反应发生情况。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 17.0 软件进行数据分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采取 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 治疗后,观察组总有效率为

97.78%，高于对照组的 84.44%，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 1。

表 1 2 组患者临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	45	17(37.78)	21(46.66)	7(15.56)	84.44
观察组	45	24(53.33)	20(44.45)	1(2.22)	97.78
U/χ^2 值		$U = 5.617$		$\chi^2 = 4.939$	
P 值		0.012		0.026	

2.2 2 组治疗前后心脏功能指标比较 治疗前 2 组患者心脏功能各项指标比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；治疗后 2 组患者心脏功能指标明显提升，且观察组优于对照组 ($P < 0.01$)，见表 2。

2.3 2 组治疗前后血清 AST、LDH、CK-MB 水平比较 治疗前 2 组患者血清 AST、LDH、CK-MB 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后 2 组 AST、LDH、CK-MB 水平均降低，观察组 3 项指标水平均低于对照组 ($P < 0.01$)，见表 3。

2.4 2 组治疗前后生活质量比较 治疗前 2 组患者 SF-36 评分、6 min 步行距离比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；治疗后 2 组患者 SF-36 评分、6 min 步行

距离升高，且观察组高于对照组 ($P < 0.01$)，见表 4。

2.5 2 组不良反应发生率比较 2 组出现心源性休克、恶心/呕吐、低血压、头痛均各 1 例，对照组多器官衰竭 1 例，观察组乏力 1 例，不良反应总发生率均为 11.11% (5/45)，差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.000, P = 1.000$)。

3 讨论

慢性心力衰竭为老年常见、多发心血管疾病，且受多种因素影响，近年呈逐渐上升趋势，成为威胁国民身心健康的重要疾病，引起临床广泛重视。而在其急性发作时所引发的 ALHF 为临床常见心血管疾病，罹患患者逐渐增多，由于心力衰竭可导致患者出现液体潴留，而水钠潴留则会进一步引起外周水肿及肺淤血症状，表现为严重呼吸困难、胸闷、乏力、胸水、腹水等。而患病后的液体潴留，致活动耐量显著降低，利尿剂在 ALHF 治疗中占据重要地位^[9-10]。因此，利尿剂为临床主要治疗药物，以呋塞米为临床首选药物，因其为强效利尿剂，对水与电解质有排泄作用，抑制肾小管髓袢厚壁段对钠与氯的主动重吸收，可增加水、钠、钾、氯等排泄，促使管腔液钠离子、氯离子浓度升高，降低渗透压梯度差，减弱肾小管浓缩功能，最终达到减轻水钠潴留

表 2 2 组患者治疗前后心脏功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CO(L/min)				LVEF(%)			
		治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值
对照组	45	3.49 ± 0.92	4.14 ± 1.37	3.272	0.001	36.72 ± 8.61	40.23 ± 6.87	2.647	0.010
观察组	45	3.53 ± 0.93	5.88 ± 1.22	12.725	0.000	36.69 ± 8.53	44.68 ± 8.25	5.593	0.000
t 值		0.254	7.879			0.021	3.443		
P 值		0.799	0.000			0.984	0.000		

表 3 2 组患者治疗前后血清 AST、LDH、CK-MB 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	AST(g/L)	LDH(U/L)	CK-MB(ng/ml)
对照组 ($n = 45$)	治疗前	117.01 ± 20.37	296.33 ± 33.37	354.01 ± 42.37
	治疗后	81.96 ± 10.18	173.36 ± 13.28	199.96 ± 23.18
观察组 ($n = 45$)	治疗前	116.74 ± 20.36	296.54 ± 33.36	353.74 ± 42.36
	治疗后	58.73 ± 9.57	132.33 ± 15.77	134.73 ± 18.57
t/P 对照组内值		15.034/0.000	19.833/0.000	23.058/0.000
t/P 观察组内值		33.291/0.000	25.917/0.000	37.341/0.000
t/P 治疗后组间值		10.314/0.000	12.396/0.000	12.318/0.000

表 4 2 组患者治疗前后 SF-36 评分、6 min 步行距离比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SF-36 评分(分)				步行 6 min 距离(m)			
		治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值
对照组	45	75.02 ± 7.22	80.23 ± 6.87	4.281	0.010	127.02 ± 13.32	196.61 ± 21.63	8.967	0.001
观察组	45	74.96 ± 7.21	84.68 ± 3.25	9.593	0.000	126.91 ± 13.27	245.88 ± 30.22	19.937	0.000
t 值		0.121	3.967			0.196	12.671		
P 值		0.904	0.000			0.867	0.000		

对机体损害的目的^[11-12]。为增强利尿效果,临床多予以利尿剂联合方案治疗 ALHF。螺内酯可增强利尿效果,多用于治疗原发性醛固酮增多症及水肿性疾病,直接作用于远曲小管及集合管,增加钠离子、氯离子及水排泄^[13-14]。2 种药物联合使用发挥协同作用,且螺内酯有对抗其他利尿剂排钾的作用,并在此过程中可积极预防低血钾^[15-17]。文献报道^[18-20],Rho 激酶介导血管平滑肌细胞收缩,促使炎性细胞移动,可促进氧化应激、炎性反应等各种相关因子释放增加。盐酸法舒地尔为 Rho 激酶抑制剂,具有扩张血管,减少炎性介质产生,促进一氧化氮生成,减少心脏耗氧量,保护心肌组织等多重作用。有研究指出^[21-23],将 ALHF 患者分为利尿剂组(常规治疗基础上接受呋塞米及螺内酯)和三联治疗组(在利尿剂组基础上加用盐酸法舒地尔),结果显示,三联治疗组治疗总有效率显著高于利尿剂组(95.75% vs. 82.98%),与利尿剂组比较,三联治疗组治疗后 LVEF、LVESV、LVEDV 及血清 AST、LDH、CK-MB 水平改善更显著。且不良反应发生率无显著差异。本研究中,治疗前 2 组患者心脏功能各项指标,血清 AST、LDH、CK-MB 水平,步行 6 min 距离, SF-36 评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后 2 组患者心脏功能指标,血清 AST、LDH、CK-MB 水平,步行 6 min 距离, SF-36 评分明显改善,且观察组明显优于对照组,观察组患者的临床治疗总有效率为 97.78%,明显高于对照组的 84.44%,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。2 组患者不良反应发生率均为 11.11%。本结果与以往研究结果相近^[24-25]。

综上所述,在急性左心功能衰竭患者的治疗中,采取 Rho 激酶抑制剂联合呋塞米及螺内酯治疗,可明显改善患者心脏功能,降低血清 AST、LDH、CK-MB 水平,提升患者步行 6 min 距离与生活质量评分,治疗有效率较高,且安全性良好。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马乔炎:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张平:提出研究思路,分析试验数据;曹倩:实施研究过程,论文审核;张建秀:进行统计学分析;孙广江:课题设计,资料搜集

参考文献

- [1] 姚玉龙,许开亮,叶明荣,等.肺部超声在指导急性左心功能衰竭患者呋塞米使用中的价值[J].蚌埠医学院学报,2016,41(2):161-163. DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.02.007.
- [2] 王伟,边陌,马宁,等.小剂量托伐普坦联合呋塞米治疗急性心力衰竭合并利尿剂抵抗超高龄老年患者临床评价[J].临床军医杂志,2016,44(6):601-604. DOI:10.16680/j.1671-3826.2016.06.14.
- [3] 朱俊,张超锋,王聪霞.呋塞米与螺内酯不同用药比例治疗慢性

心力衰竭的疗效及对血钾水平的影响[J].广西医科大学学报,2017,34(11):1617-1620. DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2017.11.23.

- [4] 殷宇刚,严斌,吕磊.盐酸法舒地尔对老年冠心病心力衰竭的临床疗效[J].实用医学杂志,2015,31(14):2376-2378. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2015.14.043.
- [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.急性心力衰竭诊断和治疗指南[J].中华心血管病杂志,2010,38(3):195-208. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2010.03.002.
- [6] 孙伦魁.硝普钠在急性左心功能衰竭患者急救中的应用效果研究[J].中国继续医学教育,2016,8(23):162-163. DOI:10.3969/j.issn.1674-9308.2016.23.102.
- [7] 宋菲,张冬颖,刘剑.利尿剂在心力衰竭中的治疗进展[J].医学综述,2015,21(8):1427-1429. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2015.08.031.
- [8] 王京,张阿宁,王晨霞.大剂量呋塞米联合螺内酯治疗急性左心功能衰竭的临床观察[J].西南国防医药,2016,26(12):1473-1476. DOI:10.3969/j.issn.1004-0188.2016.12.038.
- [9] 王宇朋,王萍,李虹伟.老年急性心力衰竭的研究进展[J].中华老年心脑血管病杂志,2017,19(12):1342-1344. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2017.12.032.
- [10] 张晓平,徐峰.Rho 激酶抑制剂对大鼠压力负荷性心力衰竭保护作用的研究[J].临床和实验医学杂志,2018,18(8):796-799. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2018.08.004.
- [11] 陈华,吕妍琨,杜荣品.Rho 激酶抑制剂与茛菪碱对慢性心力衰竭患者细胞因子的影响[J].世界中医药,2014,9(6):808-809,812. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.06.037.
- [12] 刘峰,李哲,回志.慢性肾功能衰竭合并急性左心功能衰竭患者心肌酶、肌钙蛋白的临床意义[J].中国医药导刊,2016,18(5):450-451.
- [13] 郑朝军.硝普钠抢救治疗急性左心功能衰竭疗效分析[J].中国社区医师,2017,33(5):19-20. DOI:10.3969/j.issn.1007-614x.2017.5.10.
- [14] 方莉.硝普钠联合多巴胺治疗急性左心功能衰竭的疗效及护理[J].中国城乡企业卫生,2017,32(1):152-155. DOI:10.16286/j.1003-5052.2017.01.065.
- [15] 王荣增,张沛峰.硝普钠抢救高血压并急性左心功能衰竭临床效果观察[J].中国实用医药,2016,14(30):30-31. DOI:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2016.30.015.
- [16] Reddy Y, Obokata M, Wiley B, et al. The haemodynamic basis of lung congestion during exercise in heart failure with preserved ejection fraction[J]. Eur Heart J, 2019, 40(45):3721-3730. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz713.
- [17] Augusto JB, Antunes S, Ferreira JB, et al. Utility of pacemaker with sleep apnea monitor to predict left ventricular overload and acute decompensated heart failure[J]. Am J Cardiol, 2019, 124(11):1720-1724. DOI: 10.1016/j.amjcard.2019.08.046.
- [18] Alvarez CK, Cronin E, Baker WL, et al. Heart failure as a substrate and trigger for ventricular tachycardia[J]. J Interv Card Electrophysiol, 2019, 56(3):229-247. DOI: 10.1007/s10840-019-00623-x.

急诊 PCI 术后早期应用脑钠肽对急性心肌梗死患者神经内分泌激素、血管内皮功能及心功能的影响

张莹洁,任岩春,赵永峰,董静杰,吴志红,胡喜田

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展指导计划项目(161462493)

作者单位: 050011 石家庄市第一医院心内科

通信作者: 任岩春, E-mail: 417330753@qq.com

【摘要】目的 观察急性心肌梗死患者急诊 PCI 术后早期应用脑钠肽对神经内分泌激素、血管内皮功能及心功能的影响。**方法** 选择 2017 年 1 月—2018 年 6 月石家庄市第一医院心内科收治急性心肌梗死急诊 PCI 术后患者 60 例作为研究对象,随机数字表法分为观察组及对照组各 30 例。2 组患者均给予心肌梗死基础药物治疗,观察组另予脑钠肽静脉泵注 72 h,比较 2 组治疗 72 h 后 E、NE、Ang II 水平,治疗后 2 周及 3 个月的心功能、FMD、NO、ET-1、NT-proBNP 水平及心功能变化。**结果** 治疗 72 h 后 2 组血浆 E、NE、Ang II 指标均较治疗前下降,且观察组下降较对照组更显著($t/P=16.345/ < 0.001, 3.297/0.002, 9.617/ < 0.001$);与治疗前比较,治疗后 2 组患者 FMD、NO 均升高,ET-1 水平下降,但对照组变化无统计学意义($P > 0.05$),而观察组改善显著(治疗后 2 周: $t/P=8.666/ < 0.001, 4.642/ < 0.001, 13.457/ < 0.001$;治疗后 3 个月: $t/P=6.210/ < 0.001, 4.902/ < 0.001, 2.149/0.036$);治疗后 2 周、3 个月 2 组患者 NT-proBNP、LVEDD、LVEF、FS 指标均有所改善,3 个月较 2 周进一步改善,且观察组较对照组改善更明显(治疗后 2 周: $t/P=5.620/ < 0.001, 26.609/ < 0.001, 4.751/ < 0.001, 23.257/ < 0.001$;治疗后 3 个月: $t/P=7.044/ < 0.001, 2.790/0.007, 4.016/ < 0.001, 2.496/0.015$)。**结论** 急性心肌梗死患者急诊 PCI 术后早期应用脑钠肽可以调节神经内分泌激素,改善血管内皮功能,并对心肌重构具有重要作用,进而改善患者心功能,改善预后。

【关键词】 脑钠肽;心肌梗死,急性;神经内分泌激素;血管内皮功能;心功能;心室重构

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.004

Effects of early application of brain natriuretic peptide on neuroendocrine hormones, vascular endothelial function and cardiac function in patients with acute myocardial infarction after PCI Zhang Yingjie, Ren Yanchun, Zhao Yongfeng, Dong Jingjie, Wu Zhihong, Hu Xitian. Department of Cardiology, First Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, China

Corresponding author: Ren Yanchun, E-mail: 417330753@qq.com

Funding program: Shijiazhuang Science and Technology Research and Development Guidance Plan Project (161462493)

【Abstract】 Objective To observe the effect of brain natriuretic peptide on neuroendocrine hormone, vascular endothelial function and cardiac function in patients with acute myocardial infarction after PCI. **Methods** From January 2017 to June 2018, 60 patients with acute myocardial infarction after PCI were selected as the study object. Randomly divided into observation group and control group with 30 cases each. The patients in both groups were treated with basic drugs for myocardial infarction. In the observation group, brain natriuretic peptide was injected intravenously for 72 hours. The levels of E, NE, ang II, FMD, NO, ET-1, NT-proBNP and cardiac function of the two groups were compared at 72 hours, 2 weeks and 3 months after treatment. **Results** After 72 hours of treatment, the plasma E, NE, ang II indexes of the two groups were lower than before treatment, and the decrease of the observation group was more significant than that of the control group ($t/P=16.345/ < 0.001, 3.297/0.002, 9.617/ < 0.001$). Compared with before treatment, FMD, NO and ET-1 levels of the two groups were increased, but there was no significant difference in the control group ($P > 0.05$). But the observation group improved significantly (2 weeks after treatment: $t/P=8.666/ < 0.001, 4.642/ < 0.001, 13.457/ < 0.001$; 3 months after treatment: $t/P=6.210/ < 0.001, 4.902/ < 0.001, 2.149/0.036$). NT-proBNP, LVED, LVEF and FS were improved in two weeks and three months after treatment. Three months later, it was further improved than two weeks, and the improvement of the observation group was more obvious than that of the control group (2 weeks after treatment: $t/P=5.620/ < 0.001, 26.609/ < 0.001, 4.751/ < 0.001, 23.257/ < 0.001$; 3 months after treatment: $t/P=7.044/ < 0.001, 2.790/0.007,$

4.016/ <0.001 , 2.496/0.015). **Conclusions** Early application of brain natriuretic peptide after PCI in patients with acute myocardial infarction can regulate neuroendocrine hormones, improve vascular endothelial function, and play an important role in myocardial remodeling, thereby improving cardiac function and prognosis.

【Key words】 Brain natriuretic peptide; Acute myocardial infarction; Neuroendocrine hormone; Vascular endothelial function; Cardiac Function; Left ventricular remodeling

急性心肌梗死是由于血栓形成等原因引起冠状动脉血供突然减少或中断,导致所供应区域的心肌缺血及坏死,其后果严重,即使给予血管再通治疗,仍有较高比例的患者出现心力衰竭、心律失常等严重并发症,甚至猝死,除心肌梗死影响心脏收缩及舒张功能外,RASS 系统的过度激活等病理机制也参与其中,引起血管内皮功能损伤、心室重构、诱发心律失常等^[1]。脑钠肽(BNP)具有利尿、扩张血管、减低心脏负荷及拮抗神经内分泌系统过度激活等多种作用,本研究旨在观察急性心肌梗死急诊 PCI 治疗后早期应用脑钠肽对神经内分泌激素、血管内皮功能及心功能的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2017 年 1 月—2018 年 6 月石家庄市第一医院心内科收治急性心肌梗死急诊 PCI 术患者 60 例作为研究对象,均符合 2015 年中华医学会心血管分会制定的急性心肌梗死诊治指南中心肌梗死全球定义,且具有急诊 PCI 手术适应证^[2],除外心源性休克、严重肝肾功能障碍及不宜应用静脉血管扩张剂的患者。按随机数字表法分为脑钠肽组(观察组)和对照组各 30 例。2 组患者性别、年龄、吸烟史、高血压病史、糖尿病病史、入院前发病病程及家族遗传史等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,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 治疗方法 患者入院后均经桡动脉入路行急诊 PCI 治疗,支架采用微创医疗器械(上海)有限公司生产的雷帕霉素洗脱支架——火鸟支架(Firebird),材质为钴铬合金,支架植入数目 1~2 个。2 组患者均给予包括双联抗血小板、他汀类调脂药物在内的心肌梗死基础药物治疗;观察组患者另予重组人脑钠肽(康哲

药业有限公司)0.007 5~0.015 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 静脉泵入,维持 72 h。用药期间根据血压调整剂量,如血压偏低除脑钠肽减量外可予以多巴胺、去甲肾上腺素或联合静脉滴注。2 组患者总住院时长均为 8~14 d。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 神经内分泌激素指标测定:患者入院后及治疗 72 h 后次日空腹分别抽取肘静脉血 5 ml,抗凝处理,采用武汉博士德生物制剂有限公司提供的试剂盒以免疫荧光法检测血浆中肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE)、血管紧张素 II(Ang II)采用贝克曼公司生产的全自动化学发光测定仪及安图生物技术有限公司生产的试剂盒检测。

1.3.2 血管内皮功能指标测定:应用美国 GE 公司 LOGIQ P5 型高分辨率彩色多普勒血流诊断系统于入院时(治疗前)、治疗后 2 周及 3 个月复查时分别测定肱动脉内皮依赖性舒张功能(FMD),在患者平卧位安静状态下测定肱动脉前后内膜间距(Db),于肱动脉远端应用血压计袖带予以加压至 300 mmHg 5 min 后,再次测量肱动脉前后内膜间距(D1),计算 $\text{FMD} = [(D1 - Db)/Db] \times 100\%$ ^[3];于患者入院时、治疗后 2 周、3 个月抽取空腹肘静脉血 3~5 ml 离心取血清,采用上海抚生公司提供的酶联免疫(ELISA)试剂盒测定血清一氧化氮(NO),采用深圳爱抗公司生产的 URANUSAE120 型全自动酶免仪测定血管收缩因子内皮素-1(ET-1)水平。

1.3.3 心功能指标测定:分别于患者入院时(治疗前)及治疗后 2 周、3 个月抽取空腹肘静脉血 3~5 ml,采用丹麦 Radiometer Medical ApS 公司生产的 AQT90 FLEX 型免疫分析仪及其荧光免疫干式定量分析试剂板检测全血中氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP),应用 NemioSSA-550A 型 TOSHIBA 超声显像系统于入院

表 1 2 组患者临床资料比较 [例(%)]

组别	例数	男	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	吸烟史	高血压病史	糖尿病病史	病程($\bar{x} \pm s$, h)	家族遗传史
对照组	30	21(70.0)	54.6 \pm 10.6	17(56.7)	23(76.7)	8(26.7)	3.6 \pm 0.8	8(26.7)
观察组	30	20(66.7)	53.9 \pm 12.1	18(60.0)	22(73.3)	9(30.0)	3.5 \pm 0.4	9(30.0)
χ^2/t 值		0.077	0.865	0.069	0.089	0.082	0.933	0.082
P 值		0.781	0.495	0.793	0.766	0.774	0.427	0.774

时(治疗前)、治疗后 2 周及 3 个月复查时分别测定左室舒张末期内径(LVEDD)、左室射血分数(LVEF)及左室短轴缩短率(FS),其中 LVEDD 采用 M 型超声仪于胸骨长轴切面测量,LVEF 及 FS 则采用双平面 Simpson 法进行测量。

1.3.4 记录不良反应:住院用药过程中观察患者血压、心率等不良反应的发生情况及再住院和死亡情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 15.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验,组内不同时点比较采用方差分析,差异有统计学意义时,进一步用 LSD 法做两两比较;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血浆神经内分泌激素水平比较 治疗前,2 组患

者血浆 E、NE、AngII 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗 72 h 后 2 组各项指标均明显下降($P < 0.01$),且观察组下降较对照组更显著($P < 0.05$),见表 2。

2.2 2 组血管内皮功能比较 治疗前,2 组患者 FMD 及血清 NO、ET-1 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),与治疗前比较,治疗后 2 组患者 FMD、NO 均升高,ET-1 水平下降,但对照组 FMD、NO 升高及 ET-1 水平下降均无统计学意义($P > 0.05$),而观察组各项指标变化有统计学意义,且较对照组改善更明显($P < 0.01$),见表 3。

2.3 2 组心功能比较 治疗前,2 组患者 LVEDD、LVEF、FS 及 NT-proBNP 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后 2 周及 3 个月,2 组患者的心功能指标均有所改善,且治疗后 3 个月较治疗后 2 周进一步改善,观察组改善较对照组更明显($P < 0.01$),见表 4。

表 2 2 组患者血浆 E、NE 及 Ang II 水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	E (ng/ml)	NE (ng/ml)	Ang II (pg/ml)
对照组 (n=30)	治疗前	1 229.3 ± 187.6	14.6 ± 6.2	394.2 ± 16.2
	治疗后 72 h	769.9 ± 135.7	11.2 ± 2.8	363.7 ± 20.5
观察组 (n=30)	治疗前	1 268.7 ± 169.6	14.8 ± 5.9	391.4 ± 14.5
	治疗后 72 h	327.5 ± 59.7	8.9 ± 2.6	322.6 ± 11.3
<i>t/P</i> 对照组内值		10.868/ <0.001	2.737/0.008	6.394/ <0.001
<i>t/P</i> 观察组内值		28.672/ <0.001	5.012/ <0.001	20.499/ <0.001
<i>t/P</i> 治疗后 72 h 组间值		16.345/ <0.001	3.297/0.002	9.617/ <0.001

表 3 2 组患者 FMD 及血清 NO、ET-1 水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	FMD (%)	NO (μmol/L)	ET-1 (ng/L)
对照组 (n=30)	治疗前	7.36 ± 2.42	32.7 ± 7.3	81.5 ± 24.2
	治疗后 2 周	9.62 ± 3.24	35.9 ± 6.9	77.3 ± 16.7
	治疗后 3 个月	8.57 ± 3.61	33.1 ± 4.3	77.6 ± 17.1
观察组 (n=30)	治疗前	7.23 ± 2.12	33.1 ± 8.5	80.3 ± 23.6
	治疗后 2 周	15.62 ± 1.89	44.6 ± 7.6	66.7 ± 14.1
	治疗后 3 个月	13.19 ± 5.20	40.0 ± 6.4	69.1 ± 13.3
<i>F/P</i> 对照组内值		3.917/0.073	2.292/0.107	0.427/0.654
<i>F/P</i> 观察组内值		83.704/ <0.001	17.636/ <0.001	5.085/0.008
<i>t/P</i> 治疗后 2 周组间值		8.666/ <0.001	4.642/ <0.001	13.457/ <0.001
<i>t/P</i> 治疗后 3 个月组间值		6.210/ <0.001	4.902/ <0.001	2.149/0.036

表 4 2 组患者治疗前后心功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	NT-proBNP (pg/ml)	LVEDD (mm)	LVEF (%)	FS (%)
对照组 (n=30)	治疗前	3 247 ± 754	58.5 ± 5.9	41.2 ± 4.7	21.3 ± 3.4
	治疗后 2 周	1 575 ± 291	55.1 ± 6.6	43.2 ± 5.1	22.9 ± 3.5
	治疗后 3 个月	1 155 ± 357	54.7 ± 6.4	44.5 ± 5.3	23.6 ± 3.7
观察组 (n=30)	治疗前	3 524 ± 899	59.3 ± 6.2	40.6 ± 4.9	20.2 ± 3.6
	治疗后 2 周	1 122 ± 332	50.7 ± 7.6	49.9 ± 5.8	25.3 ± 2.9
	治疗后 3 个月	655 ± 154	50.5 ± 5.2	50.1 ± 5.5	25.8 ± 3.1
<i>F/P</i> 对照组内值		141.199/ <0.001	3.288/0.042	3.264/0.043	3.336/0.040
<i>F/P</i> 观察组内值		226.381/ <0.001	18.432/ <0.001	30.167/ <0.001	27.899/ <0.001
<i>t/P</i> 治疗后 2 周组间值		5.620/ <0.001	26.609/ <0.001	4.751/ <0.001	23.257/ <0.001
<i>t/P</i> 治疗后 3 个月组间值		7.044/ <0.001	2.790/0.007	4.016/ <0.001	2.496/0.015

2.4 2 组不良反应比较 观察组血压降低 4 例,对照组发生 3 例,2 组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.162$, $P = 0.688$),经多巴胺、去甲肾上腺素或同时静脉滴注维持血压,其中 1 例患者因血压过低静脉滴注 26 h。其他未见明显不良反应。

3 讨论

冠状动脉粥样硬化性心脏病患者往往均存在动脉粥样硬化、内皮细胞功能损伤及心肌重塑等病理基础,而内皮细胞损伤等又可成为诱发心肌梗死的因素^[4],在心肌梗死发生发展过程中,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)过度激活,导致神经内分泌激素 Ang II、E、NE 等分泌异常增高,引起血管及心脏靶器官发生继发性损伤^[5],同时可使内皮细胞功能进一步损伤及心肌重塑过程进展,从而诱发心律失常、心力衰竭等严重并发症,并对预后产生不良影响^[6]。

急诊 PCI 治疗是目前心肌梗死及时恢复冠状动脉血流及心肌组织正常血供的主要手段^[7],但 PCI 治疗可引发心肌再灌注损伤,其发生机制可能与局部炎症反应相关^[8],球囊、导管、支架等器械操作对冠状动脉血管内皮的损伤也可诱导炎症反应^[9],从而导致心肌细胞坏死和梗死范围扩大等,因此临床医生已重视药物干预来防治 PCI 术后再灌注损伤的发生发展^[10-11]。

FMD 是利用高分辨超声测定肱动脉在心动周期的内径变化来评估血管内皮功能,并在一定程度上反映血管内皮损伤,其降低与冠心病发病显著相关,且预测冠状动脉病变程度的敏感度甚至优于运动负荷试验^[12]。NO 是血管内皮细胞合成的舒张血管因子,是重要的信号传导分子,具有调节血管舒张、心脏收缩的功能,并能抑制平滑肌细胞增殖与迁移,抑制血小板聚集,抑制内皮细胞凋亡等多种功能,减缓动脉粥样硬化的进程,对冠状动脉起着重要保护作用^[13-15]。ET-1 则与 NO 的作用相反,为一种收缩血管因子,可引起血管内皮功能障碍和炎症反应,导致外周血管重构,限制血管损伤修复,减低活动耐量和心脏储备,其水平反映血管内皮损伤程度^[16-18]。

脑钠肽是心脏室壁张力增加时分泌的一种神经激素,具有拮抗 RAAS 过度激活作用,延缓心肌重塑,并可通过利钠利尿、扩张血管等作用机制降低肺循环及体循环阻力^[19],目前临床试验显示,脑钠肽还具有改善血管内皮功能等^[20-21]。但在心肌梗死等状态下,机体自身产生的脑钠肽往往不能满足对抗过度激活的 RAAS 及炎症反应等,需要外源性补充。重组人脑钠肽是基因重组技术合成的生物制剂,与人体内脑钠肽具有相同的分子组成、构型和生物活性^[22],已广泛应

用于冠心病、心力衰竭、肺源性心脏病等疾病的临床治疗,改善症状的同时对预后亦产生良性影响。

本研究在急性心肌梗死急诊 PCI 患者中应用脑钠肽泵入治疗后,2 组 E、NE、Ang II 指标均有所下降,但观察组下降较对照组更显著,表明应用脑钠肽可以有效抑制 RAAS 系统,促进循环内分泌系统功能恢复,同时调节血管活性^[5,23]。此研究中观察组较对照组 FMD 及 NO 水平升高,而 ET-1 水平下降,表明应用脑钠肽可以使血管内皮功能明显改善,进而改善了患者的预后。本研究还显示,2 组患者治疗后 2 周、3 个月 NT-proBNP、LVEDD、LVEF、FS 等指标均有所改善,治疗后 3 个月较治疗后 2 周进一步改善,且观察组较对照组改善更明显,提示在急性心肌梗死患者急诊 PCI 术后早期应用脑钠肽具有保护心肌、减少心肌细胞坏死,保护心功能的作用,与其他学者的研究结果一致^[24]。以上均提示其治疗方案的可行性,虽研究例数相对较少,不足以形成定论,但为临床提供了一定的治疗依据,可进一步进行观察研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张莹洁、赵永峰、吴志红:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;任岩春、胡喜田:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;董静杰:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析,论文修改

参考文献

- [1] 范晏,陶蓉. 炎症免疫应答在心肌梗死后心脏重构中的作用[J]. 上海交通大学学报:医学版,2017,37(6):831-835. DOI:10.3969/j.issn.1674-8115.2017.06.020.
- [2] 中华医学会心血管病分会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志,2015,43(5):380-393. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2015.05.003.
- [3] Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force[J]. J Am Coll Cardiol,2002,39(2):257-265. DOI:10.1016/S0735-1097(01)01746-6.
- [4] 张彬,曲凤霞,崔美平,等. 冻干重组人脑利钠肽对急性心肌梗死合并心力衰竭患者 NT-proBNP 及心功能的影响[J]. 实用临床医学杂志,2015,19(23):1-3,11. DOI:10.7619/jcmp.2015.23.001.
- [5] 王莉丽,李付强,杜佩珊,等. 重组人脑利钠肽治疗对 AMI 心力衰竭患者心功能及血清指标的影响[J]. 检验医学与临床,2018,15(16):2435-2438.
- [6] 李静,蒋林轩,赵敏. 急性心肌梗死患者神经内分泌抑制药物应用调查与分析[J]. 中国全科医学,2015,18(20):2451-2453,2457. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2015.20.022.
- [7] Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, et al. 2015 ACC/AHA/SCAI Focused update on primary percutaneous coronary intervention for pa-

tients with ST-elevation myocardial infarction: An update of the 2011 ACC/AHA/SCAI Guideline for percutaneous coronary intervention and the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67 (10): 1235-1250. DOI:10.1016/j.jacc.2015.10.005.

[8] Guo J, Wang SB, Yuan JY, et al. Coptisine protects rat heart against myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing myocardial apoptosis and inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 231 (2): 384-391. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.003.

[9] Abdel Wahab M, Saad M, Kynast J, et al. Comparison of hospital mortality with intraortic balloon counterpulsation insertion before versus after primary percutaneous coronary intervention for cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardio*, 2010, 105 (7): 967-971. DOI:10.1016/j.amjcard.2009.11.021.

[10] 王立中,董鹏,刘芳,等.尼可地尔联合替罗非班对急性心肌梗死患者急诊 PCI 术后心肌微循环和心功能短期预后的影响[J].现代中西医结合杂志,2016,25(17):1834-1836. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2016.17.004.

[11] Berent R, Berent T, Karkutli E, et al. Influence of high-dose highly efficient statins on short-term mortality in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting for acute coronary syndrome [J]. *Am J Cardiol*, 2014, 114 (7): 1128-1129. DOI:10.1016/j.amjcard.2014.07.003.

[12] 牛瑜琳,杨培灵.超声检测颈动脉股动脉内中膜厚度及肱动脉血管内皮功能对冠心病的诊断价值[J].中外医疗,2013,32(21):172-173. DOI:10.16662/j.cnki.1674-0742.2013.21.040.

[13] 杨雪松,孙奋勇,李泽兵,等.一氧化氮、内皮素-1 和同型半胱氨酸对冠心病的辅助诊断价值[J].检验医学,2018,9(4):312-320. DOI:10.3969/j.issn.1673-8640.2018.04.009.

[14] 薛茫,胡桃红.新活素对急性心肌梗死后顽固性心力衰竭患者心功能的影响及临床疗效的观察[J].中国医药导报,2019,16(10):154-156,161.

[15] 李月.参附注射液联合西药治疗对急性心力衰竭患者心功能及血流动力学指标的影响[J].中国现代医生,2019,57(2):119-121.

[16] 闫学安.运动康复对冠心病慢性心衰患者心功能,血管紧张素 II 及内皮素-1 水平的影响[J].心血管康复医学杂志,2015,24(1):5-9. DOI:10.3969/j.issn.1008-0074.2015.01.02.

[17] Fajardo J, Heywood JT, Patterson JH, et al. Natriuretic peptides for the treatment of acute heart failure: A focus on nesivotide in recent clinical trials [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2015, 13 (7): 743-751. DOI:10.1586/j.erct.14779072.2015.1051034.

[18] 张德勤,黎敬锋,郑志燕.老年心力衰竭患者心电活动、超声指数的相关性及诊断价值[J].疑难病杂志,2019,18(8):777-781.

[19] 重组人脑利钠肽多中心研究协作组.重组人脑利钠肽治疗心力衰竭安全性和疗效的开放性随机对照多中心临床研究[J].中华心血管杂志,2011,39(4):305-308. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2011.04.005.

[20] 于熙滢,周大亮,郝丹,等.新活素对急性心肌梗死患者内皮功能影响的临床研究[J].中华老年心脑血管病杂志,2015,17(1):37-39. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2015.01.010.

[21] 谭锋,杨辉.新活素对心肌梗死合并心力衰竭患者血管内皮细胞功能的影响[J].海南医学,2016,27(3):371-373. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2016.03.009.

[22] 王旭敏.新活素在急性心肌梗死后心力衰竭治疗中的疗效分析[J].山西医药杂志,2018,47(21):2587-2588. DOI:10.3969/j.issn.0523-9926.2018.21.034.

[23] 张海珍,李翠莲.重组人脑利钠肽治疗急性失代偿心力衰竭的临床疗效及对炎症因子的影响[J].重庆医学,2016,45(34):4850-4851. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.34.031.

[24] Zhang Y, Gao F, Zhang XY, et al. Value of human brain natriuretic peptide in treatment of acute anterior myocardial infarction evaluated via three-dimensional speckle tracking imaging [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14 (2): 5699-5709. DOI:10.4238/2015.May.29.2.

(收稿日期:2019 - 12 - 13)

(上接 446 页)

[19] Tran KV, Tanriverdi K, Aurigemma GP, et al. Circulating extracellular RNAs, myocardial remodeling, and heart failure in patients with acute coronary syndrome [J]. *J Clin Transl Res*, 2019, 5 (1): 33-43.

[20] Gao SY, Yao DH, Li JF, et al. Effect of sacubitril/valsartan on cardiac function in heart failure rabbits with preserved ejection fraction [J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2019, 47 (11): 887-893. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2019.11.007.

[21] Kawabori M, Kapur NK. Heartech: Another parachute looking for a landing zone in interventions for heart failure [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2019, 94 (6): 854-855. DOI:10.1002/ccd.28566.

[22] Takamiya Y, Okamura K, Shirai K, et al. Successful depressor effect concomitant with complete normalization of high renin and aldosterone profile by percutaneous transluminal renal angioplasty in a patient with acute exacerbated heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Am J Case Rep*, 2019, 20 (12): 1684-1690. DOI:10.12659/AJCR.917973.

[23] Capriotti T, Ashline B. Systolic heart failure: An update for home healthcare clinicians [J]. *Home Healthc Now*, 2019, 37 (6): 312-318. DOI:10.1097/NHH.0000000000000793.

[24] Huang B, Li YJ, Shen J, et al. D-dimer level and long-term outcome in patients with end-stage heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2019, 16 (8): 621-629. DOI:10.11909/j.issn.1671-5411.2019.08.005.

[25] Charach G, Rogowski O, Karniel E, et al. Monocytes may be favorable biomarker and predictor of long-term outcome in patients with chronic heart failure: A cohort study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (38): e17108. DOI:10.1097/MD.00000000000017108.

(收稿日期:2019 - 12 - 27)

循环 miR-26b 水平变化与老年高血压患者左心室肥厚及心功能的关系

冯巍, 张俊, 武文君, 高兰兰

作者单位: 233000 蚌埠医学院第二附属医院心内科

通信作者: 冯巍, E-mail: yss5m2@163.com

【摘要】目的 分析循环 miR-26b 水平变化与老年高血压患者左心室肥厚及心功能的关系。**方法** 选取 2017 年 1 月—2019 年 10 月蚌埠医学院第二附属医院心内科诊治老年高血压患者 132 例, 检测患者循环 miR-26b 水平, 以其相对表达量的中位数作为临界值, 分为 miR-26b 低水平组(对照组, $n = 76$)和 miR-26b 高水平组(观察组, $n = 56$)。比较 2 组患者的生化指标、心脏超声指标及 NYHA 心功能分级, 分析 miR-26b 与各超声心动图参数的相关性; 多因素 Logistic 回归分析老年高血压患者发生左心室肥厚的影响因素; ROC 曲线预测循环 miR-26b 对老年高血压患者左心室肥厚的诊断价值。**结果** 与对照组相比, 观察组室间隔厚度(IVST)、左心室后壁厚度(LVPWT)、左心室质量指数(LVMI)及左心室肥厚(LVH)病例数均降低($t = 12.031, 12.003, 12.738, \chi^2 = 65.558, P$ 均 $= 0.000$), E/A 值升高($t = 8.219, P = 0.000$)。循环 miR-26b 水平与 IVST、LVPWT 和 LVMI 均呈负相关($r = -0.493, -0.526, -0.789, P$ 均 < 0.001), 与 E/A 值呈正相关($r = 0.421, P < 0.001$)。对照组心功能减退比例显著高于观察组($\chi^2 = 42.861, P = 0.000$)。年龄、IVST、LVPWT 及 LVMI 增加是导致老年高血压患者左心室肥厚发生的独立危险因素($P < 0.05$); miR-26b 水平升高则是保护因素($P < 0.01$)。循环 miR-26b 水平诊断老年高血压的 ROC 曲线下面积为 0.836, 最佳临界值为 8.83, 敏感度为 81.4%, 特异度为 78.9%, 约登指数为 0.603。**结论** 循环 miR-26b 水平与老年高血压患者左心室肥厚呈负相关, 与左室舒张功能呈正相关, 是老年高血压患者发生左心室肥厚伴舒张功能不全的保护因素, 同时可作为潜在的生物标志物用于老年高血压患者左心室肥厚的诊断。

【关键词】 微小 RNA-26b; 老年高血压; 左室肥厚; 心功能; 相关性

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.005

The relationship between the changes of circulating miR-26b and left ventricular hypertrophy and cardiac function in elderly patients with hypertension Feng Wei, Zhang Jun, Wu Wenjun, Gao Lanlan. Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Anhui Province, Bengbu 233000, China

Corresponding author: Feng Wei, E-mail: yss5m2@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between the changes of circulatory miR-26b and left ventricular hypertrophy and cardiac function in elderly patients with hypertension. **Methods:** From January 2017 to October 2019, 132 elderly patients with hypertension were treated in the Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College. The level of miR-26b was measured. Taking the median of relative expression as the critical value, miR-26b was divided into low level group (control group, $n = 76$) and high-level group (observation group, $n = 56$). The biochemical indexes, echocardiographic indexes and NYHA cardiac function grades of the two groups were compared, and the correlation between miR-26b and echocardiographic parameters was analyzed. Multivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of left ventricular hypertrophy in elderly patients with hypertension. ROC curve predicts the value of circulatory miR-26b in the diagnosis of left ventricular hypertrophy in elderly patients with hypertension. **Results** Compared with the control group, IVST, LVPWT, LVMI and LVH decreased ($t = 12.031, 12.003, 12.738, \chi^2 = 65.558, P = 0.000$), and E/A increased ($t = 8.219, P = 0.000$). The circulating miR-26b level was negatively correlated with IVST, LVPWT and LVMI ($r = -0.493, -0.526, -0.789, P < 0.001$), and positively correlated with E/A ($r = 0.421, P < 0.001$). The proportion of cardiac dysfunction in the control group was significantly higher than that in the observation group ($\chi^2 = 42.861, P = 0.000$). The increase of age, IVST, LVPWT and LVMI were independent risk factors ($P < 0.05$), and the increase of miR-26b was protective factor ($P < 0.01$). The area under ROC curve was 0.836, the best critical value was 8.83, the sensitivity

was 81.4%, the specificity was 78.9%, and the Youden index was 0.603. **Conclusion** The level of circulating miR-26b has a negative correlation with left ventricular hypertrophy and a positive correlation with left ventricular diastolic function. It is a protective factor of left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in elderly patients with hypertension. It can also be used as a potential biomarker for the diagnosis of left ventricular hypertrophy in elderly patients with hypertension.

【Key words】 miR-26b; Elderly hypertensive patients; Left ventricular hypertrophy; Cardiac function; Relationship

目前心血管疾病是全球范围内导致死亡的重要原因,而高血压则是心血管疾病的重要危险因素。近年来,随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变,我国高血压患病人数激增。作为一种常见的慢性病,高血压以动脉血压持续升高为主要特征,长期发病会使心脏结构及功能发生改变,左心室肥厚及其舒张功能减退是高血压的早期表现,随着病情进展则会出现心室收缩功能减退及心腔扩大,最终导致心力衰竭的发生^[1]。左心室肥厚(LVH)是高血压导致的一种常见的靶器官损害,以心肌纤维增多为主要表现,目前其病理生理机制尚未完全阐明,但最新文献报道,微小RNA(miRNAs)参与了心脏发育和重构、心律失常、心肌肥厚等心血管生理病理过程^[2]。循环 miRNAs 即血清和血浆中的 miRNAs,在高温、酸碱性和 RNA 酶等恶劣条件下均能保持极高的稳定性^[3]。关于循环微小 RNA-26(miR-26b)水平变化与老年高血压患者左心室肥厚及心功能的关系报道较为少见,现检测老年高血压患者循环 miR-26b 水平变化及超声心动图参数并分析其相关性,以期对高血压左心室肥厚的早期发现及诊断提供一定指导,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 1 月—2019 年 10 月蚌埠医学院第二附属医院心内科诊治老年高血压患者 132 例,男 80 例,女 52 例,年龄 62~85 岁,本研究经医院医学伦理委员会审核批准,患者及家属知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1)诊断标准:高血压诊断标准参照 2018 年修订版“中国高血压防治指南”^[4],不使用降压药物,非同日 3 次测量诊室血压,舒张压 ≥ 90 mmHg 和/或收缩压 ≥ 140 mmHg。(2)纳入标准:年龄在 60 岁以上;符合以上高血压诊断标准;均为原发性高血压患者;未接受降血压药物治疗;对本研究积极配合者。(3)排除标准:原发性醛固酮增多症、嗜铬细胞瘤、肾性高血压等继发性高血压患者;先天性心脏畸形;合并肥厚性心肌病、心脏瓣膜病、收缩性心力衰竭等心脏病;某些对心率有影响的疾病或已服用影响心率的药物;有吸烟、饮酒及糖尿病史的患者;合并严重的肝、脾、肺、肾等系统疾病;代谢性疾病和肿瘤患者;接受瓣

膜置换术、冠状动脉搭桥术、起搏器植入术及近 1 年有外科手术史的患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料:收集患者的基本资料,包括性别、年龄、体质量指数(BMI)、病程、入院时舒张压(DBP)和收缩压(SBP)、诱因等。

1.3.2 循环 miR-26b 水平检测:患者入院次日清晨空腹采取肘静脉血 5 ml,离心获取血浆并移入无 RNA 酶灭菌管中,用 Trizol 法提取血浆总 RNA 并用分光光度计进行定量,对 miRNAs 3 末端加 Poly(A) 处理后进行逆转录反应,将合成的 cDNA 为模板采用 SYBR Green I 法进行实时定量聚合酶链式反应(RT-PCR)。miR-26b 上游引物:5'-ACACTCCAGCTGGGTTTGGTCCCCT-TCAAC-3',下游引物:5'-GGTGTCTGGAGTCGGCAAT-TCAGTTGAG-3';同时以 U6 作为内参基因,上游引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物:5'-AACGCT-TCACGAATTTGCGT-3'。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算 miR-26b 的相对表达量。

1.3.3 生化指标检测:取空腹肘静脉血 5 ml,离心后获得血清,采用奥林巴斯 AU400 全自动生化分析仪检测空腹血糖(FPG)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血肌酐(SCr)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)。

1.3.4 超声心动图检查:采用美国 GEVivid7 型彩色超声仪,探头频率 2.5~3.5 MHz,测量左心室舒张末期期内径(LVEDD)、室间隔厚度(IVST)、左心室后壁厚度(LVPWT)、左心室射血分数(LVEF)及二尖瓣舒张早期血液流速峰值(E 峰)及舒张晚期流速峰值(A 峰),并计算 E/A 值。取测量 3 个心动周期的平均值。左心室心肌质量(LVM)采用 Devereux 公式计算, $LVM = 1.04 [(LVEDD + IVST + LVPWT)^3 - LVEDD^3] - 13.6$,左心室质量指数(LVMI)再根据体表面积(BSA)计算, $LVMI = LVM/BSA$ 。根据美国超声心动图协会推荐的标准^[5],男性 $LVMI > 125$ g/m²,女

性 LVMI >110 g/m² 即诊断为 LVH。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;Pearson 检验用于 miR-26b 与各超声心动图参数的相关性分析;老年高血压患者 LVH 发生的影响因素分析采用 Logistic 回归分析;循环 miR-26b 对老年高血压患者 LVH 的诊断价值预测采用受试者工作特征曲线(ROC)。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床资料比较 根据循环 miR-26b 水平检测结果,132 例患者 miR-26b 的相对表达量为 4.56 ~ 16.93,以中位数 7.62 为分组界值, <7.62 纳入 miR-26b 低水平组(对照组)76 例, ≥7.62 纳入 miR-26b 高水平组(观察组)56 例。2 组患者的性别、年龄、BMI、

病程、DBP、SBP、高血压分级、诱因及生化指标 FPG、TG、TC、LDL-C、HDL-C、HbA_{1c}、ALT、AST、SCr、CK、CK-MB、LDH、hs-CRP、BUN、UA 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 2 组超声心动图参数比较 与对照组比较,观察组 IVST、LVPWT、LVMI 水平及 LVH 病例数均减少,E/A 值升高($P < 0.01$)。2 组患者 LVEDD、LVEF 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 2 组患者超声心动图参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组($n=76$)	观察组($n=56$)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
LVEDD(mm)	44.57 ± 3.94	44.25 ± 3.86	0.465	0.643
IVST(mm)	12.23 ± 1.17	9.96 ± 0.92	12.031	0.000
LVPWT(mm)	11.69 ± 1.04	9.57 ± 0.95	12.003	0.000
LVEF(%)	65.72 ± 6.48	66.13 ± 6.54	0.358	0.721
E/A	0.59 ± 0.14	0.92 ± 0.31	8.219	0.000
LVMI(g/m ²)	139.35 ± 14.25	110.42 ± 10.78	12.738	0.000
LVH [例(%)]	70(92.11)	13(23.21)	65.558	0.000

表 1 2 组患者临床特征比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组($n=76$)	观察组($n=56$)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]			1.217	0.269
男	43(56.58)	37(66.07)		
女	33(43.42)	19(33.93)		
年龄(岁)	71.85 ± 7.03	72.16 ± 7.09	0.249	0.803
BMI(kg/cm ²)	25.41 ± 3.28	24.92 ± 3.37	0.838	0.403
病程(年)	7.94 ± 3.36	8.16 ± 3.47	0.367	0.714
DBP(mmHg)	93.52 ± 8.24	92.87 ± 8.15	0.450	0.653
SBP(mmHg)	148.93 ± 13.14	150.12 ± 13.78	0.504	0.615
高血压分级[例(%)]			3.185	0.203
1 级	29(38.16)	25(44.64)		
2 级	28(36.84)	24(42.86)		
3 级	19(25.00)	7(12.50)		
诱因[例(%)]			0.159	0.924
高钠、低钾膳食	31(40.79)	22(39.29)		
超重和肥胖	26(34.21)	21(37.50)		
家族遗传史	19(25.00)	13(23.21)		
FPG(mmol/L)	5.57 ± 0.52	5.63 ± 0.59	0.619	0.537
TG(mmol/L)	2.41 ± 0.58	2.42 ± 0.55	0.100	0.920
TC(mmol/L)	5.39 ± 0.65	5.36 ± 0.62	0.267	0.789
LDL-C(mmol/L)	2.62 ± 0.31	2.59 ± 0.28	0.572	0.568
HDL-C(mmol/L)	1.35 ± 0.34	1.32 ± 0.31	0.519	0.604
HbA _{1c} (%)	5.18 ± 0.67	5.24 ± 0.69	0.502	0.616
ALT(U/L)	30.21 ± 9.93	29.85 ± 9.74	0.208	0.836
AST(U/L)	27.56 ± 8.24	28.16 ± 8.82	0.401	0.689
SCr(μmol/L)	75.94 ± 13.79	77.01 ± 14.35	0.433	0.666
CK(U/L)	96.48 ± 22.56	95.39 ± 21.78	0.278	0.781
CK-MB(U/L)	16.13 ± 4.89	14.91 ± 4.04	1.523	0.130
LDH(U/L)	144.76 ± 31.25	141.28 ± 30.97	0.635	0.527
hs-CRP(mg/L)	12.37 ± 5.68	11.94 ± 5.26	0.443	0.658
BUN(mmol/L)	5.41 ± 1.39	5.37 ± 1.34	0.166	0.868
UA(μmol/L)	385.42 ± 39.76	392.23 ± 40.15	0.969	0.355

2.3 循环 miR-26b 水平与 IVST、LVPWT、LVMI 及 E/A 的相关性 循环 miR-26b 水平与 IVST、LVPWT 和 LVMI 均呈负相关 ($r = -0.493$ 、 -0.526 、 -0.789 , P 均 < 0.001), 与 E/A 值呈正相关 ($r = 0.421$, $P < 0.001$)。

2.4 2 组 NYHA 心功能分级比较 根据 NYHA 标准评估结果, 对照组心功能减退患者 72 例 (94.74%), 高于观察组 26 例 (41.08%) ($\chi^2 = 42.861$, $P = 0.000$), 见表 3。

表 3 2 组患者 NYHA 心功能分级比较 [例(%)]

级别	对照组 (n=76)	观察组 (n=56)
I 级	4(5.26)	33(58.93)
II 级	32(42.11)	19(33.93)
III 级	30(39.47)	3(5.36)
IV 级	10(13.16)	1(1.79)

2.5 老年高血压患者左心室肥厚的影响因素分析 Logistic 多因素分析结果显示, 年龄、IVST、LVPWT 及 LVMI 增加是导致老年高血压患者左心室肥厚发生的独立危险因素 ($P < 0.05$); miR-26b 水平升高则是保护因素 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 4 老年高血压患者左心室肥厚影响多因素 Logistic 分析

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值(95% CI)
年龄	1.734	0.927	3.419	0.021	2.379 (1.368 ~ 3.842)
IVST	1.295	0.646	2.358	0.013	5.142 (3.405 ~ 6.257)
LVPWT	0.867	0.719	6.642	0.032	3.063 (2.241 ~ 5.463)
LVMI	2.453	0.882	4.734	0.006	4.581 (3.263 ~ 7.879)
miR-26b	-2.246	0.954	7.527	0.000	0.528 (0.257 ~ 0.895)

注: 自变量赋值, 年龄 > 75 岁 = 1, ≤ 75 岁 = 0; IVST 增加 = 1, 未增加 = 0; LVPWT 增加 = 1, 未增加 = 0; LVMI 男性 > 125 g/m²、女性 > 110 g/m² = 1, 男性 ≤ 125 g/m²、女性 ≤ 110 g/m² = 0; miR-26b ≥ 7.62 = 1, < 7.62 = 0

2.6 循环 miR-26b 水平对老年高血压患者左心室肥厚的诊断价值 ROC 曲线分析结果显示, miR-26b 曲线下面积为 0.836, 95% CI 为 0.757 ~ 0.916 ($P < 0.05$), 最佳临界值为 8.83, 敏感度为 81.4%, 特异度为 78.9%, 约登指数为 0.603。miR-26b 对老年高血压患者 LVH 有较高的诊断价值, 见图 1。

3 讨论

LVH 是高血压的常见并发症之一, 长期高血压可增加心脏左心室后负荷, 因而导致慢性适应性改变, 即 LVH 的发生^[6-7]。心肌重塑及质量增加、心室壁增厚是 LVH 的重要特征。研究显示高血压患者合并 LVH 时发生心律失常的比率显著高于单纯高血压患者^[8]。

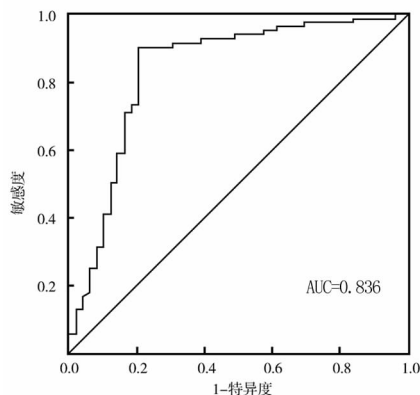


图 1 miR-26b 诊断老年高血压患者 LVH 的 ROC 曲线图

有文献报道^[9], 高血压合并 LVH 患者冠状动脉储备能力显著下降, 导致急性心肌缺血事件极易发生从而使死亡风险增加。高血压伴发 LVH 是心脑血管事件和死亡发生的独立危险因素, 因此及早准确地诊断 LVH 临床意义重大。目前常用的心电图、磁共振成像及超声心动图等诊断方法均有一定的弊端或局限性^[10], 临床上急需找到一种简单并且特异度和敏感度高的诊断方法。

miRNAs 为一类在生物进化过程中高度保守的内源性非编码小分子 RNA, 在转录后水平具有调控基因表达的作用^[11]。在细胞的分化、增殖、迁移、凋亡等多种病理生理过程中均有 miRNAs 参与。以往文献报道^[12], miRNAs 在消化系统、神经系统及生殖系统等疾病中均取得了较大的研究进展。近年来研究发现^[13], miRNAs 参与了心脏发育和重构, 并且与心肌纤维化、心肌肥大及心力衰竭等多种心血管疾病密切相关。早期研究发现^[14], 冠心病患者血浆中 miR-26b 的表达水平显著低于健康人, miR-26b 有望成为辅助诊断冠心病的标志物。赵欣等^[15]报道, 在建立的小鼠心房纤维化-心房颤模型中, miR-26 通过抑制心房组织中血管紧张素 II/Kruppel 样因子 4/转化生长因子- β (angiotensin / Kruppel like factor 4/transforming growth factor- β , Ang II/KLF 4/TGF- β) 信号通路的激活, 从而起到抗心房颤、心房纤维化的效应。本研究检测了 132 例老年高血压患者静脉血 miR-26b 水平, 结果发现其相对表达量在 4.56 ~ 16.93 之间, 中位数为 7.62。

为探讨 miR-26b 水平与 LVH 发生的关系, 本研究分析显示, 与对照组相比, 观察组室间隔厚度、左心室后壁厚度、左心室质量指数及左心室肥厚病例数均显著减少 ($P < 0.01$)。室间隔厚度和左心室后壁厚度决定了左心室质量指数, 而左心室质量指数可直接作

为衡量左心室肥厚的重要临床指标,左心室质量指数越大则左心室肥厚越严重^[16]。该结果提示循环 miR-26b 水平越低,越容易发生左心室肥厚,且与伍崇海^[17]报道相符。二尖瓣舒张早期血液流速峰值下降,舒张晚期流速峰值升高,则两者比值(E/A 值)下降,E/A 值 < 1,说明左心室舒张功能下降^[18]。文献报道^[19],老年高血压伴发左心室肥厚患者常出现左心室舒张功能下降。本研究显示,2 组患者 E/A 值均 < 1,且对照组显著低于观察组 ($P < 0.01$)。提示 2 组患者均出现左心室舒张功能不全,且 miR-26b 水平越低越严重。最新研究表明,抑制 miR-26b 后可使脂肪细胞分化被有效抑制,抑制 miR-26b 对细胞增殖有促进作用。推测可能是 miR-26b 水平较低的老年高血压患者,更利于心肌细胞增殖且发生代偿性肥大,心肌间质胶原随之增多,心肌发生纤维化样变,持续肥厚的心肌出现功能和生化反应异常,使其顺应性和僵硬程度均发生改变,进而心脏舒张功能出现进行性下降,最终导致心脏舒张功能不全。相关性分析结果显示,循环 miR-26b 水平与室间隔厚度、左心室后壁厚度和左心室质量指数均呈负相关(P 均 < 0.01),与 E/A 值呈正相关($P < 0.01$)。根据 NYHA 标准评估显示,miR-26b 低水平组心功能减退比例显著高于 miR-26b 高水平组($P < 0.05$)。以上结果均证实 miR-26b 水平低的老年高血压患者更容易合并左心室肥厚及心功能减退。

多因素分析结果显示,年龄、室间隔厚度、左心室后壁厚度及左心室质量指数增加是导致老年高血压患者左心室肥厚发生的独立危险因素($P < 0.05$);miR-26b 水平升高是保护因素($P < 0.05$)。有研究指出^[20],随着年龄的增加,心肌细胞体积增大,心脏胶原成分和心脏质量增加,长期超负荷压力及左心室适应性反应衰竭可能导致了左心室肥厚的发生,因而老年患者 LVH 的发生率升高。室间隔厚度和左心室后壁厚度增加,左心室质量指数随之增加,当男性 LVMI > 125 g/m²,女性 LVMI > 110 g/m² 时即诊断为左心室肥厚。以往研究报道,大鼠心脏肥厚组织中 miR-26a 和 miR-26b 表达下调,并且通过对靶点糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 进行抑制以调控心脏肥厚过程^[21]。本研究结果提示,miR-26b 在老年高血压患者心室肥厚过程亦发挥了调控作用,但其作用机制有待进一步研究。ROC 曲线分析显示,曲线下面积为 0.836,95% CI 为 0.757 ~ 0.916,最佳临界值为 8.83,敏感度 81.4%,特异度 78.9%,提示 miR-26b 相对表达量 < 8.83 即可诊断为心室肥厚,且具有较高的敏感度和特异度。

综上,循环 miR-26b 水平与老年高血压患者左心室肥厚呈负相关,与左室舒张功能呈正相关,是老年高血压患者发生左心室肥厚伴舒张功能不全的保护因素,同时可作为潜在的生物标志物用于老年高血压患者左心室肥厚的诊断。今后需进一步开展循环 miR-26b 对左心室肥厚发挥保护作用机制的研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

冯崑:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张俊:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;武文君、高兰兰:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] Theilen LH, Meeks H, Fraser A, et al. Long-term mortality risk and life expectancy following recurrent hypertensive disease of pregnancy [J]. *Obstetric Anesthesia Digest*, 2019, 39 (1): 26-27. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.04.002.
- [2] Wu QS, He Q, He JQ, et al. The role of mitofilin in left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients [J]. *Renal Failure*, 2018, 40 (1): 252-258. DOI: 10.1080/0886022X.2018.1456455.
- [3] 孟荔, 史爱武. 微小 RNA 在心血管疾病中的研究进展 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2018, 38 (4): 562-568. DOI: 10.7655/NYDXBNS20180431.
- [4] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国), 中华医学会心血管病学分会中国医师协会高血压专业委员会, 等. 中国高血压防治指南(2018 年修订版) [J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24 (1): 24-56. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2019.01.002.
- [5] Chen XL, Xu XH, Zhang JS. Surgical treatment of hypertensive intracerebral hemorrhage [J]. *Chinese Journal of Contemporary Neurology and Neurosurgery*, 2018, 18 (12): 845-849. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6731.2018.12.001.
- [6] Vallée A, Yannoutsos A, Temmar M, et al. Determinants of the aortic pulse wave velocity index in hypertensive and diabetic patients: Predictive and therapeutic implications [J]. *Journal of Hypertension*, 2018, 36 (12): 2324-2332. DOI: 10.1097/HJH.0000000000001828.
- [7] Kühl JT, Nielsen JB, Stisen ZR, et al. Left ventricular hypertrophy identified by cardiac computed tomography and ECG in hypertensive individuals: A population-based study [J]. *Journal of Hypertension*, 2018, 37 (4): 739-746. DOI: 10.1097/HJH.0000000000001962.
- [8] Silva CT, Zorkoltseva IV, Niemeijer MN, et al. A combined linkage, microarray and exome analysis suggests MAP3K11 as a candidate gene for left ventricular hypertrophy [J]. *BMC Medical Genomics*, 2018, 11 (1): 22. DOI: 10.1186/s12920-018-0339-9.
- [9] Cao JL, Yang YQ, Nabeel DM, et al. Correlation between serum calcineurin activity and left ventricular hypertrophy in hypertensive patients and its clinical significance [J]. *Cardiology*, 2018, 139 (2): 124-131. DOI: 10.1159/000481280.
- [10] Kuang ZM, Wang Y, Wang JJ, et al. Effects of bisoprolol in young hypertension patients with left ventricular hypertrophy [J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2017, 26 (16): 1923-1929. (下转 461 页)

急性呼吸窘迫综合征患儿血清 miR-21 水平与炎症因子水平及临床预后的关系

周莉蓉, 王琪, 麦碧薇, 朱乃云, 雷智贤

基金项目: 2016 年海南省卫生计生行业科研项目(1601033029A2001)

作者单位: 570206 海口, 海南省妇女儿童医学中心儿童重症医学科

通信作者: 雷智贤, E-mail: leix698@163.com

【摘要】目的 分析血清 miR-21 水平与急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患儿炎症因子水平及预后的关系。**方法** 选择 2016 年 3 月—2019 年 2 月海南省妇女儿童医学中心儿童重症医学科收治的 ARDS 患儿 98 例作为 ARDS 组,按照病情严重程度分为轻度($n=32$)、中度($n=36$)和重度($n=30$);选取同期于医院体检的健康儿童 90 例作为对照组。比较 2 组血清 miR-21 表达水平,炎症因子[肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)和 IL-17]的水平,采用 Pearson 相关分析血清 miR-21 表达水平与血清炎症因子的相关性,使用 ROC 曲线分析 miR-21 对 ARDS 患儿预后的预测价值。**结果** ARDS 组患儿血清 miR-21 表达水平、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平高于对照组($t=8.697, 21.373, 10.548, 26.117, P$ 均=0.000),并随着病情加重而增加($F=21.731, 71.905, 69.963, 448.536, P$ 均=0.000)。死亡亚组患儿入院时血清 miR-21 表达水平、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平明显高于存活亚组($t=4.626, 4.237, 4.818, 11.141, P$ 均=0.000);血清 miR-21 表达量与 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 呈正相关($r=0.501, 0.462, 0.495, P$ 均=0.000);血清 miR-21 表达水平预测 ARDS 患儿预后曲线下面积为 0.796(95% CI 0.729~0.862),最佳临界值为 1.54,敏感度和特异度分别为 78.57% 和 82.65%, Youden 指数为 0.612。**结论** 血清 miR-21 表达水平和炎症因子水平在 ARDS 患儿中明显升高,并随着病情加重而升高,血清 miR-21 表达水平和炎症因子水平呈正相关,血清 miR-21 的表达水平有助于评估患儿的病情严重状况和预后。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征;微小 RNA-21;肿瘤坏死因子- α ;白介素-6;白介素-17;预后;儿童

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.006

The relationship between serum miR-21 level and inflammatory factors and clinical prognosis in children with acute respiratory distress syndrome Zhou Lirong, Wang Qi, Mai Biwei, Zhu Naiyun, Lei Zhixian. Department of Pediatric Critical Medicine, Hainan Women and Children Medical Center, Hainan Province, Haikou 570206, China

Corresponding author: Lei Zhixian, E-mail: leix698@163.com

Funding program: 2016 Hainan Health and Family Planning Industry Research Project (1601033029A2001)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between serum miR-21 level and inflammatory factors and prognosis in children with acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** Ninety-eight children with ARDS admitted to the Department of Pediatric Critical Medicine at Hainan Women and Children's Medical Center from March 2016 to February 2019 as ARDS group, According to the severity of the disease, it can be divided into three categories: mild, moderate and severe. Meanwhile, 90 healthy children were selected as the control group. The expression levels of serum miR-21 and inflammatory factors [tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-17 (IL-17)] were compared between the two groups. Pearson correlation analysis between serum miR-21 expression and serum inflammatory factors. Prognostic value of miR-21 in children with ARDS by ROC curve analysis **Results** From March 2016 to February 2019, 98 children with ARDS were selected as ARDS group. According to the severity of the disease, they were divided into mild ($n=32$), moderate ($n=36$) and severe ($n=30$). 90 healthy children were selected as the control group. The expression level of miR-21 and the levels of inflammatory factors (TNF- α , IL-6 and IL-17) were compared between the two groups. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the expression level of miR-21 and the serum inflammatory factors. ROC curve was used to analyze the predictive value of miR-21 in children with ARDS. **Conclusion** The expression level of serum miR-21 and inflammatory factors increased significantly in children with ARDS, and increased with the aggravation of the disease. The

expression level of serum miR-21 was positively correlated with the level of inflammatory factors. The expression level of serum miR-21 was helpful to evaluate the severity and prognosis of the disease.

【Key words】 Acute respiratory distress syndrome; miR-21; Tumor necrosis factor α ; Interleukin 6; Interleukin 17;

Prognosis

急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 是临床常见的一种危急重症,其临床表现主要为难治性低氧血症和进行性呼吸困难,进而出现呼吸衰竭,因而病死率较高,对患儿的生命构成严重的威胁^[1-2]。引起 ARDS 的病因错综复杂,至今还未完全阐明,研究认为 ARDS 的病理生理学机制与炎性因子失衡密切相关,炎性因子是 ARDS 发生发展过程中的核心环节^[3]。另有研究报道,血清炎性因子水平与儿童 ARDS 的发生发展及疾病严重程度密切相关^[4]。近年来大量研究显示,mi-croRNA(miRNA)参与了炎性反应的调控过程,其机制主要是通过与靶基因 mRNA 的 3' 端非编码区域结合,引起靶基因 mRNA 的降解或抑制转录翻译过程,调控基因的表达^[5]。有报道称 miR-21 在急性肺损伤的小鼠模型中表达上调,与炎性因子的表达密切相关,并且在呼吸窘迫综合征早产儿血清中的表达水平也明显升高^[6-7]。然而 miR-21 在儿童 ARDS 发生发展过程中的作用还不清楚,是否参与调控了儿童 ARDS 的炎性水平也未见相关报道。因此,现分析 ARDS 患儿血清 miR-21 水平与疾病严重程度和炎性因子水平的关系,并探讨 miR-21 在 ARDS 患儿中的作用机制,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 3 月—2019 年 2 月海南省妇女儿童医学中心儿童重症医学科收治的 ARDS 患儿 98 例(ARDS 组)作为研究对象,男 48 例,女 50 例;年龄 1 个月~10.5 岁,平均年龄(3.6 \pm 2.4)岁。按照 ARDS 柏林定义^[8]将 ARDS 患儿病情严重程度分为 3 个亚组,轻度亚组 32 例,男 15 例,女 17 例,年龄 1 个月~9.3 岁,平均年龄(3.8 \pm 2.1)岁;原发病:肺部感染 29 例,支气管异物 1 例,其他 2 例。中度亚组 36 例,男 19 例,女 17 例,年龄 4 个月~10.5 岁,平均年龄(3.4 \pm 2.8)岁;原发病:肺部感染 33 例,支气管异物 2 例,其他 1 例。重度亚组 30 例,男 14 例,女 16 例,年龄 2 个月~10.3 岁,平均年龄(3.6 \pm 2.3)岁;原发病:肺部感染 27 例,支气管异物 1 例,其他 2 例。3 亚组患儿的性别、年龄和原发病比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。同期于本院健康体检的儿童 90 例为对照组,男 44 例,女 46 例,年龄 2 个月~10.3 岁,平均年龄(3.8 \pm 2.6)岁;近 1 个月内无感染

性疾病,未使用免疫抑制剂。ARDS 组和对照组儿童性别和年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,受试者家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①符合国际儿童 ARDS 诊断共识标准^[9];②患儿处于急性期(发病时间 <3 d)。(2)排除标准:①由心力衰竭导致的呼吸衰竭;②其他原因导致的呼吸衰竭。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-21 水平检测:收集 ARDS 患儿入院和健康体检儿童体检时的外周血各 3 ml,使用 Life Technologies 公司的血清 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,测量 RNA 的浓度和纯度。使用逆转录试剂盒(碧云天生物技术公司)将总 RNA 逆转录,将逆转录形成的 cDNA 作为模型进行实时定量 PCR,反应体系(10 μ l):cDNA 0.2 μ l, Forward primer (10 μ mol/L) 0.5 μ l, Reverse primer (10 μ mol/L) 0.5 μ l, ROX II (50x) 0.2 μ l, SYBR (2x) 5 μ l, RNase free water 3.6 μ l,反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 1 min,95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,重复 40 个循环。引物由上海生工有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 实时定量 PCR 扩增引物序列

基因	引物序列
miR-21	上游引物 5'-TCGGCGGTAGCTTATCAGACTGA-3'
	下游引物 5'-ATCCAGTGCAGGTTCCGAGG-3'
U6	上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3'
	下游引物 5'-AAGCCTCACGAATTCGCGT-3'

1.3.2 血清炎性因子水平检测:分别收集 ARDS 患儿入院和健康体检儿童体检时的外周血 3 ml,离心获得血清。使用酶联免疫吸附试验检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)和 IL-17。酶联免疫吸附试验试剂盒购自上海碧云天生物公司,由实验室专业人员进行操作。

1.4 统计学方法 使用 Graphpad Prism 8.0 软件对数据进行统计分析并绘图。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;指标间关系采用 Pearson 法分析;ROC 曲

线分析 miR-21 对 ARDS 患儿预后的预测价值。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 miR-21 和炎症因子水平比较 与对照组比较, ARDS 组患儿血清 miR-21、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平均升高(P < 0.01), 见表 2。

2.2 不同严重程度亚组间血清 miR-21 和炎症因子水平比较 血清 miR-21、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平随着病情程度加重而升高, 重度亚组 > 中度亚组 > 轻度亚组(P 均 < 0.01), 见表 3。

2.3 不同预后患儿血清 miR-21 和炎症因子水平比较 ARDS 患儿 28 d 内病死 39 例, 存活 59 例。死亡亚组患儿血清 miR-21、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平高于存活亚组(P < 0.01), 见表 4。

2.4 血清 miR-21 水平与炎症因子的相关性 血清 miR-21 表达水平与血清炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平均呈正相关(r = 0.501、0.462、0.495, P 均 = 0.000)。

2.5 血清 miR-21 水平预测 ARDS 患儿预后的价值 血清 miR-21 曲线下面积为 0.796(95% CI 0.729 ~ 0.862), 最佳临界值为 1.54, 敏感度和特异度分别为 78.57% 和 82.65%, Youden 指数为 0.612, 见图 1。

3 讨论

ARDS 是以顽固性低氧血症和进行性呼吸困难为特征的呼吸衰竭^[10-11]。儿童 ARDS 的病死率较高, 但

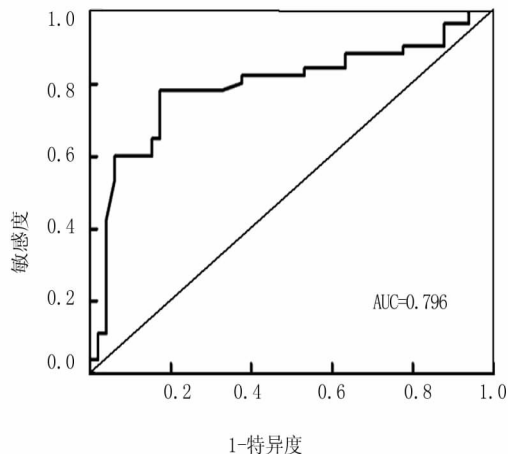


图 1 miR-21 预测 ARDS 患儿预后的 ROC 曲线

临床上仍缺乏比较可靠的疾病严重程度评估和预后判断的指标^[12], 因此寻找能够评估儿童 ARDS 疾病严重程度和预后判断的指标具有重要的临床意义。炎症反应是 ARDS 发生发展过程中的核心环节, 在 ARDS 早期, 肺泡和肺间质内的炎症细胞释放大量的炎症因子, 如 TNF- α 和 IL-6, 从而加重了炎症反应过程, 诱导肺组织损伤^[13]。IL-17 也是炎症反应过程中重要的炎症因子, 其过度表达可以对组织细胞产生损伤^[14], 研究也显示, IL-17 也参与了肺部的炎症反应^[15]。本研究证实血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平在 ARDS 患儿中升高, 并且随着 ARDS 病情的加重而升高, 与刘灵芝^[16]

表 2 2 组受试者血清 miR-21 和炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-21	TNF- α (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-17 (pg/ml)
对照组	90	0.95 \pm 0.49	18.27 \pm 3.82	12.59 \pm 3.17	100.52 \pm 22.57
ARDS 组	98	1.69 \pm 0.56	32.65 \pm 5.23	18.52 \pm 4.38	201.36 \pm 29.57
t 值		8.697	21.373	10.548	26.117
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 不同严重程度亚组血清 miR-21 和炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-21	TNF- α (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-17 (pg/ml)
轻度亚组	32	1.31 \pm 0.42	28.49 \pm 3.12	14.05 \pm 2.47	156.26 \pm 17.58
中度亚组	36	1.64 \pm 0.33	31.74 \pm 2.85	18.36 \pm 3.01	197.72 \pm 19.19
重度亚组	30	1.94 \pm 0.38	38.18 \pm 3.74	23.47 \pm 3.84	253.85 \pm 15.84
F 值		21.731	71.905	69.963	448.536
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 不同预后患儿血清 miR-21 和炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-21	TNF- α (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-17 (pg/ml)
死亡亚组	39	1.82 \pm 0.41	34.23 \pm 2.96	20.24 \pm 3.29	226.48 \pm 19.47
存活亚组	59	1.49 \pm 0.39	31.61 \pm 3.02	17.38 \pm 2.57	184.76 \pm 17.23
t 值		4.626	4.237	4.818	11.141
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

和 Mikacenic 等^[17]的研究结果一致,说明 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 可以通过激活炎症反应造成肺损伤,进一步导致 ARDS 患儿病情的加重。

研究显示,miR-21 在急性肺损伤的小鼠模型中表达上调,并与炎症反应密切相关,本研究发现,ARDS 患儿血清中 miR-21 的表达水平明显高于健康儿童,并且随着 ARDS 患儿病情的加重而升高,说明 miR-21 参与了 ARDS 的发生发展过程,并与 ARDS 疾病严重程度有关。miRNA 可以通过与靶基因 mRNA 的 3' 端非编码区域结合,引起靶基因 mRNA 的降解或抑制转录翻译过程,调控炎症反应基因的表达,因此,本研究探讨了血清 miR-21 表达水平与炎症因子水平的相关性,发现血清 miR-21 表达水平与 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 呈正相关,说明 miR-21 可以调控 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 mRNA 转录翻译过程,促使 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 表达增加,这些炎症因子可以通过血液循环或水肿液进入肺组织,从而激活肺组织的免疫反应,一方面可以募集大量炎症细胞,如嗜中性粒细胞,进入肺组织对抗病原体,另一方面这些炎症细胞在对抗病原体过程中过度表达的炎症介质进一步对肺组织产生损伤,形成炎症反应级联瀑布放大效应,从而加重病情。提示血清 miR-21 表达水平可以作为判断 ARDS 患儿病情严重程度的辅助指标。其机制可能与二甲基精氨酸二甲基氨基水解酶 1 (dimethylarginine dimethylaminohydrolases 1, DDAH1)/非对称二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA)/一氧化氮 (nitric oxide, NO) 信号通路有关,miR-21 表达下调,可以通过 DDAH1/ADMA/NO 信号通路抑制 TNF- α 、IL-6 和 IL-17 的表达^[18]。此外,ARDS 可以引起肺纤维化,从而加重病情^[19],ARDS 患儿血清 miR-21 表达水平升高,可能通过下调 1 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs, ADAMTS-1) 的表达^[20],促进肺纤维化,加重病情。本研究还记录了 ARDS 患儿 28 d 病死情况,死亡亚组患儿入院时血清 miR-21 的表达水平、TNF- α 、IL-6 和 IL-17 水平明显高于存活亚组,提示血清 miR-21 表达水平和炎症因子水平高的 ARDS 患儿预后较差,分析其原因可能是血清 miR-21 表达升高,调控炎症因子过表达,激活炎症反应,形成炎症反应级联放大效应,进一步损伤肺组织,引起肺泡膜的通透性增加,大量的水肿液积聚在肺泡及肺间质内,引起肺通气和换气功能严重障碍,以致患者肺组织不能进行有效的交换,导致患者缺氧并伴有二氧化碳潴留,出现呼吸困难等症状,进而呼吸衰竭。本研

究绘制血清 miR-21 水平判断 ARDS 患儿预后的 ROC 曲线,血清 miR-21 曲线下面积为 0.796,说明 miR-21 对 ARDS 患儿预后判断具有一定的价值,其最佳临界值为 1.54,敏感度和特异度分别为 78.57% 和 82.65%,说明血清 miR-21 表达水平可以用来辅助评估 ARDS 患儿的预后情况。

综上所述,血清 miR-21 表达水平在 ARDS 患儿中明显升高,并与疾病严重程度和炎症因子水平密切相关,通过检测血清 miR-21 的表达有助于评估患儿的病情严重状况和预后情况。由于受到样本量的限制,还需要进一步采用大型的队列研究验证血清 miR-21 表达水平与疾病严重程度和炎症因子的关系,此外,还需要从分子生物学角度深入探究 miR-21 是通过何种信号通路增强了 ARDS 患儿的炎症反应,以明确 miR-21 在 ARDS 患儿致病过程中的作用,为临床治疗提供有价值的信息。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

周莉蓉:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,论文修改;王琪:实施研究过程,资料搜集整理;麦碧薇:进行统计学分析;朱乃云:课题设计;雷智贤:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Su LX, Shang XL, Zhu R, et al. A cross-sectional study of acute cor pulmonale in acute respiratory distress syndrome patients in China[J]. Chin Med J (Engl), 2019, 132(23): 2842-2847. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000531.
- [2] Francois T, Emeriaud G, Karam O, et al. Transfusion in children with acute respiratory distress syndrome [J]. Ann Transl Med, 2019, 7(19): 511. DOI: 10.21037/atm.2019.08.28.
- [3] 蒋金萍, 张慧娟, 陈群, 等. 肺内和肺外源性急性呼吸窘迫综合征血清炎症因子的比较[J]. 皖南医学院学报, 2018, 37(6): 560-562. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0217.2018.06.015.
- [4] 林秋玉. 83 例急性呼吸窘迫综合征患儿临床治疗的危险因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(11): 2504-2506. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.11.28.5.
- [5] Tiwari A, Mukherjee B, Dixit M, et al. MicroRNA key to angiogenesis regulation: MiRNA biology and therapy[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2018, 18(3): 266-277. DOI: 10.2174/1568009617666170630142725.
- [6] Zhu WD, Xu J, Zhang M, et al. MicroRNA-21 inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting nuclear factor- κ B[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(6): 4616-4622. DOI: 10.3892/etm.2018.6789.
- [7] 许云仙, 金蕊, 陈筱青, 等. miR-21 在早产儿呼吸窘迫综合征患儿血清中表达水平的研究[J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2018, 38(10): 1409-1412. DOI: 10.7655/NYDX-BNS20181016.
- [8] Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory

- distress syndrome; the Berlin Definition [J]. *JAMA*, 2012, 307 (23): 2526-2533. DOI:10.1001/jama.2012.5669.
- [9] Jouvet P, Thomas NJ, Willson DF, et al. 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] McNicholas BA, Rooney GM, Laffey JG, et al. Lessons to learn from epidemiologic studies in ARDS [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2018, 24(1): 41-48. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000473.
- [11] 吴安琪, 侯伟, 孟玲玲, 等. ALI/ARDS 患者使用保护性通气策略对于肺部损伤的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18 (11): 2194-2196. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2018.11.042.
- [12] Schouten LR, Veltkamp F, Bos AP, et al. Incidence and mortality of acute respiratory distress syndrome in children: A systematic review and meta-analysis [J]. *Crit Care Med*, 2016, 44(4):819-829. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001388.
- [13] Reiss LK, Schuppert A, Uhlig S. Inflammatory processes during acute respiratory distress syndrome; A complex system [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2018, 24 (1): 1-9. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000472.
- [14] Beringer A, Noack M, Miossec P. IL-17 in chronic inflammation; From discovery to targeting [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(3): 230-241. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.01.001.
- [15] Gurczynski SJ, Moore BB. IL-17 in the lung: the good, the bad, and the ugly [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314 (1): L6-L16. DOI: 10.1152/ajplung.00344.2017.
- [16] 刘灵芝. 儿童急性呼吸窘迫综合征患儿血清肿瘤坏死因子- α 与白细胞介素-1 β 白细胞介素-6 表达水平分析 [J]. *实用医技杂志*, 2019, 26(11):1419-1420. DOI:10.19522/j.cnki.1671-5098.2019.11.027.
- [17] Mikacenic C, Hansen EE, Radella F, et al. Interleukin-17A is associated with alveolar inflammation and poor outcomes in acute respiratory distress syndrome [J]. *Crit Care Med*, 2016, 44(3):496-502. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001409.
- [18] Liu YE, Tong CC, Zhang YB, et al. Chitosan oligosaccharide ameliorates acute lung injury induced by blast injury through the DDAH1/ADMA pathway [J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192135. DOI: 10.1371/journal.pone.0192135.
- [19] Marchioni A, Tonelli R, Ball L, et al. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis; Lessons learned from acute respiratory distress syndrome [J]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 80. DOI: 10.1186/s13054-018-2002-4.
- [20] 赵红, 姚平波, 戴利, 等. miR-21 对 ADAMTS-1 的调节在肺纤维化体内外实验中的研究 [J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(15): 2426-2429. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2015.15.005.
- (收稿日期:2020-01-03)
-
- (上接 456 页)
- [11] 丛保奕. 非编码 RNA 与高血压关系研究进展 [J]. *微循环学杂志*, 2019, 29(2): 37-41. DOI:10.3969/j.issn.1005-1740.2019.02.008.
- [12] Shen J, Xing W, Gong F, et al. MiR-150-5p retards the progression of myocardial fibrosis by targeting EGR1 [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18 (12):1335-1348. DOI:10.1080/15384101.2019.1617614.
- [13] Tomaniak M, Sygitowicz G, Baszczyk O, et al. MiR-1, miR-21, and galectin-3 in hypertensive patients with symptomatic heart failure and left ventricular hypertrophy [J]. *Kardiologia Polska*, 2018, 76(6): 1009-1011. DOI:10.5603/KP.2018.0117.
- [14] 袁苗, 严定一, 张超英, 等. miR-26 在 Ang II 引起的高血压心脏重构时的变化 [J]. *心脏杂志*, 2018, 30(6): 7-11. DOI: 10.13191/j.chj.2018.0149.
- [15] 赵欣, 夏时俊, 孙鹏瑜, 等. miR-26 通过负向调控 Ang II/KLF4/TGF- β 通路抑制心房颤动易感性及心房纤维化 [J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(6): 549-554. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1439.2019.06.014.
- [16] Antikainen RL, Peters R, Beckett NS, et al. Left ventricular hypertrophy is a predictor of cardiovascular events in elderly hypertensive patients; Hypertension in the Very Elderly Trial [J]. *Journal of Hypertension*, 2016, 34(11): 2280-2286. DOI: 10.1097/HJH.0000000000001073.
- [17] 伍崇海. 血浆 miR-26b 和 miR-30a 对高血压性左室肥厚和肥厚型心肌病诊断价值的研究 [D]. 广州: 广州医科大学, 2015: 1-66.
- [18] Jakob P, Kacprowski T, Briand-Schumacher S, et al. Profiling and validation of circulating microRNAs for cardiovascular events in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *European Heart Journal*, 2017, 38(7): 511-515. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw563.
- [19] Chowdhury EK, Jennings GLR, Dewar E, et al. Predictive performance of echocardiographic parameters for cardiovascular events among elderly treated hypertensive patients [J]. *American Journal of Hypertension*, 2016, 29(7): 821-831. DOI: 10.1093/ajh/hpw035.
- [20] Restrepo C, Patel SK, Rethnam V, et al. Left ventricular hypertrophy and cognitive function; A systematic review [J]. *Journal of Human Hypertension*, 2018, 32(3): 171-179. DOI: 10.1038/s41371-017-0023-0.
- [21] Vegter EL, Ovchinnikova ES, Herman HWS, et al. Rodent heart failure models do not reflect the human circulating microRNA signature in heart failure [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177242. DOI: 10.1371/journal.pone.0177242.
- (收稿日期:2019-11-28)

过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 表达及与 Th17/Treg 失衡的关系

钟洁,陶宁,赵利,何诚,胡建平

基金项目:四川省卫生厅科研基金项目(180127)

作者单位:629000 四川省遂宁市中心医院急诊科

通信作者:钟洁,E-mail:zhongjie2463@163.com

【摘要】目的 检测过敏性哮喘患者外周血单个核细胞细胞因子信号传导抑制蛋白 1(SOCS-1)、SOCS-3 表达水平并分析其与 Th17/Treg 失衡的关系及意义。**方法** 选取 2018 年 4 月—2019 年 9 月四川省遂宁市中心医院急诊科诊治过敏性哮喘患者 60 例为哮喘组,另选取同期于医院进行体检的健康体检者 60 例作为健康对照组,采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 2 组外周血单个核细胞 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平,流式细胞仪检测外周血 CD4⁺IL-17⁺T 细胞(Th17 细胞)、CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg 细胞)百分率,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 IL-6、IL-17、IL-23、TGF-β1、IFN-γ 水平,Pearson 相关分析过敏性哮喘患者 Th17/Treg 比值与 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平相关性。**结果** 哮喘组外周血 Th17 细胞百分率、Th17/Treg 比值显著高于健康对照组,Treg 细胞百分率显著低于健康对照组($t = 15.726, 2.665, 15.074, P$ 均 < 0.01);哮喘组外周血单个核细胞 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平较健康对照组显著上调($t = 10.805, 4.709, P$ 均 $= 0.000$);与健康对照组比较,哮喘组患者血清 IL-6、IL-17、IL-23、TGF-β1 表达水平显著升高,IFN-γ 表达水平显著降低($t = 26.648, 11.963, 6.844, 58.921, 8.900, P$ 均 $= 0.000$);哮喘组患者 FEV₁、FVC、FEV₁% 显著低于健康对照组($t = 12.316, 6.142, 35.372, P$ 均 $= 0.000$);过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平与 IL-6、IL-17、IL-23、TGF-β1 水平均呈正相关(SOCS-1: $r = 0.576, 0.365, 0.525, 0.478, P$ 均 < 0.01 ;SOCS-3: $r = 0.463, 0.427, 0.364, 0.415, P$ 均 < 0.01),与 IFN-γ 水平均呈负相关($r = -0.549, -0.562, P$ 均 < 0.01),SOCS-3 mRNA 水平与 SOCS-1 mRNA 水平呈正相关($r = 0.471, P < 0.01$);SOCS-1、SOCS-3 mRNA 与 Th17/Treg 比值呈正相关($r = 0.488, 0.606, P$ 均 < 0.05)。 **结论** 过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 表达上调,与 Th17/Treg 失衡及炎症因子异常表达有关,可能参与过敏性哮喘发生。

【关键词】 过敏性哮喘;细胞因子信号传导抑制蛋白 1;细胞因子信号传导抑制蛋白 3;Th17/Treg 失衡

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.007

Expression of SOCS-1 and SOCS-3 in peripheral blood of patients with allergic asthma and their relationship with imbalance of Th17/Treg Zhong Jie, Tao Ning, Zhao Li, He Cheng, Hu Jianping. Department of Emergency, Suining Central Hospital, Sichuan Province, Suining 629000, China

Corresponding author: Zhong Jie, E-mail: zhongjie2463@163.com

Funding program: Scientific Research Fund Project of Sichuan Provincial Department of Health (180127)

【Abstract】 Objective To detect the expression level of monocyte cytokine signal transduction inhibitory protein 1 (SOCS-1) and SOCS-3 in peripheral blood of patients with allergic asthma, and analyze the relationship and significance between them and Th17/Treg imbalance. **Methods** From April 2018 to September 2019, 60 patients with allergic asthma were selected as asthma group. In addition, 60 healthy people who had physical examination in the hospital at the same time were selected as the control group. The expression of SOCS-1 and SOCS-3 mRNA in peripheral blood mononuclear cells of the two groups was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR). The percentage of CD4⁺IL-17⁺T cells (Th17 cells) and CD4⁺CD25⁺regulatory T cells (Treg cells) in peripheral blood were detected by flow cytometry. The serum levels of IL-6, IL-17, IL-23, TGF-β1 and IFN-γ were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Pearson correlation analysis showed that Th17/Treg ratio was related to the expression level of SOCS-1 and SOCS-3 mRNA in patients with allergic asthma. **Results** The percentage of Th17 cells and the ratio of Th17/Treg in peripheral blood of asthma group were significantly higher than that of healthy control group, and the percentage of Treg cells was significantly lower than that of healthy

control group ($t = 15.726, 2.665, 15.074, P < 0.01$). The expression level of SOCS-1 and SOCS-3 mRNA in peripheral blood mononuclear cells of asthma group was significantly higher than that of healthy control group ($t = 10.805, 4.709, P = 0.000$). Compared with the healthy control group, the levels of serum IL-6, IL-17, IL-23, TGF- β 1 in the asthma group were significantly higher, and the levels of IFN- γ were significantly lower ($t = 26.648, 11.963, 6.844, 58.921, 8.900, P = 0.000$); FEV₁, FVC, FEV₁% in the asthma group were significantly lower than those in the healthy control group ($t = 12.316, 6.142, 35.372, P = 0.000$). The expression of SOCS-1 and SOCS-3 mRNA was positively correlated with the levels of IL-6, IL-17, IL-23 and TGF- β 1 (SOCS-1: $r = 0.576, 0.365, 0.525, 0.478, P < 0.01$; SOCS-3: $r = 0.463, 0.427, 0.364, 0.415, P < 0.01$), and negatively correlated with IFN- γ ($r = -0.549, -0.562, P < 0.01$), respectively mRNA level was positively correlated ($r = 0.471, P < 0.01$). There was a positive correlation between SOCS-1, SOCS-3 mRNA and Th17/Treg ratio ($r = 0.488, 0.606, P < 0.05$). **Conclusions** The up-regulated expression of SOCS-1 and SOCS-3 in the peripheral blood of patients with allergic asthma is related to the imbalance of Th17/Treg and the abnormal expression of inflammatory factors, which may be involved in the occurrence of allergic asthma.

【Key words】 Allergic asthma; Cytokine signal transduction inhibitor protein 1; Cytokine signal transduction inhibitor protein 3; Th17/Treg imbalance

过敏性哮喘是一种慢性炎性气道疾病,由多种炎性细胞介导发生,全世界大约有 3.5 亿过敏性哮喘患者,每年增加速率大约为 3%,发病率逐年上升^[1]。过敏性哮喘发病机制尚不明确,近年研究发现^[2],辅助性 Th17 细胞及调节性 T 细胞(Treg)在哮喘发病中占有重要地位。细胞因子信号传导抑制蛋白(SOCS)家族是一类反馈性阻断细胞因子信号转导过程的调节因子,由细胞因子诱导产生,SOCS-1、SOCS-3 是 SOCS 家族中重要的 2 种分子^[3-4]。T 细胞亚群在免疫应答和调节中发挥重要作用。研究发现^[5-6],SOCS-1、SOCS-3 可通过调节 T 细胞亚群分化影响不同类型的免疫应答。研究表明^[7],SOCS-1、SOCS-3 可被多种炎性因子和抗炎因子诱导表达,在免疫应答和免疫调节中起到重要作用。研究显示,Th17 参与多种炎性疾病及自身免疫性疾病的发生发展,如系统性红斑狼疮、自身免疫性关节炎等^[8]。体内炎性因子的异常波动可能会引起 Th17/Treg 比例失衡,临床上对于 Th17/Treg 失衡在过敏性哮喘发生发展中的意义鲜有研究报道。现检测过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平,并分析其与 Th17/Treg 失衡的关系及意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 4 月—2019 年 9 月四川省遂宁市中心医院急诊科诊治过敏性哮喘患者 60 例为哮喘组,男 31 例,女 29 例,年龄 22~54(38.15 \pm 8.23)岁;病程 1~10(2.05 \pm 1.02)年;哮喘程度,轻度 32 例,中重度 28 例;患者无家族遗传史,无其他慢性病史。选取同期医院进行体检的健康体检者 60 例作为健康对照组,男 30 例,女 30 例,年龄 24~56(39.01 \pm 8.57)岁,均经皮肤过敏原点刺试验为阴性,且无过敏性疾病及其他

慢性疾病史,无长期用药史,近 1 周内无急性感染情况。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通过,所有样品采集均取得患者及家属知情同意并签字,符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①符合过敏性哮喘诊断标准者,哮喘诊断标准参照全球哮喘防治倡议(global initiative for asthma,GINA)和中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的“支气管哮喘防治指南(2016 年版)”^[9];②皮肤点刺试验结果粉尘螨、户尘螨阳性者,血清特异性 IgE 检测结果为阳性(血清总 IgE > 200 U/ml);③无其他心血管系统疾病、自身免疫系统疾病等基础疾病;④取血 4 周内未使用过糖皮质激素、肝素、免疫抑制剂或其他影响试验结果的药物;⑤1 周内无急性感染,无过敏性疾病、其他慢性病史。(2)排除标准:①非过敏性哮喘患者;②皮肤过敏原点刺试验或血清过敏原特异性抗体均为阴性者;③患有免疫系统疾病者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 样品制备:无菌条件下抽取 2 组受试者空腹状态下外周静脉血 5 ml,其中 3 ml 加入无菌肝素(20 IU/ml)抗凝管,使用密度梯度离心法对外周血单个核细胞进行分离;2 ml 直接离心取血清,用于 ELISA 检测。

1.3.2 Th17 细胞、Treg 细胞百分率检测:在测试管、对照管中加入外周血单个核细胞,RPMI-1640 稀释后,加入 PMA 和 BFA 二氧化碳培养箱中孵育,使用抗人 CD4-FITC、IL-17A PE 孵育检测 Th17 细胞百分率的样品,CD25-PE 孵育检测 Treg 细胞百分率的样品;对照管使用 MouseIgG1-PE 孵育进行对照。使用 PBS 缓冲液反复洗涤后放入流式细胞仪进行检测[Attune NxT

款流式细胞仪,购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司],CD4⁺T 细胞设门,分析门中 CD4⁺IL-17⁺T 细胞(Th17 细胞)百分率、CD4⁺CD25⁺阳性 T 细胞百分率。

1.3.3 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平检测:采用 RNA 提取试剂盒(购自北京天根生化有限公司)提取血清总 RNA,反转录得 cDNA。采用定量 PCR 仪(CFX96 型 qRT-PCR 仪,购自美国 Bio-Rad 公司)对 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 进行扩增。qRT-PCR 反应体系共 10 μl,miScript SYBR[®] Green Mix 5 μl,cDNA(50 ng/μl)1 μl,上下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μl,ddH₂O 3.0 μl。反应条件:95℃ 90 s,95℃ 30 s,63℃ 30 s,72℃ 15 s,45 个循环,AceQ qPCR SYBR[®] Green Mix 试剂盒购自南京 vazyme 生物公司。SOCS-1、SOCS-3 mRNA 及内参 GAPDH 的引物序列见表 1。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成。采用 2^{-ΔΔCT}法对血清 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平进行定量分析。

1.3.4 血清炎症因子水平检测:采用酶联免疫法测定(ELX800 型全自动酶标仪,购自美国 Bio-Tek 公司)血清白介素-6(IL-6)、IL-17、IL-23、人转化生长因子 β1(TGF-β1)、干扰素(IFN-γ)水平,检测操作严格按照试剂盒说明书进行。IL-6 ELISA 试剂盒购自 Sinobiological 公司;IL-17、IL-23、TGF-β1 ELISA 试剂盒购自武汉默沙克生物科技有限公司;IFN-γ 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司;为控制检测质量,本次研究所有样品的检测均由检验科同一批人员在同台仪器上操作,每个样本均设 3 次重复。

1.3.5 肺功能检测:选择肺功能检测仪对所有受试者进行肺功能检测,检测指标包括最大呼吸第 1 s 呼出气量(FEV₁)、用力肺活量(FVC)、第 1 s 用力呼吸容积比值(FEV₁%)/FEV₁/FVC。

1.4 统计学方法 利用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较行

χ² 检验;正态分布计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 *t* 检验;相关性分析采用 Pearson 相关分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组外周血 Th17 细胞、Treg 细胞百分率及 Th17/Treg 比值比较 哮喘组外周血 Th17 细胞百分率、Th17/Treg 比值显著高于健康对照组(*P* < 0.01),Treg 细胞百分率显著低于健康对照组(*P* < 0.01),见表 2。

表 2 2 组外周血 Th17 细胞、Treg 细胞百分率及 Th17/Treg 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg
健康对照组	60	0.51 ± 0.36	5.42 ± 1.29	0.12 ± 0.93
哮喘组	60	1.68 ± 0.45	2.87 ± 0.23	0.57 ± 0.92
<i>t</i> 值		15.726	15.074	2.665
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.009

2.2 2 组外周血单个核细胞 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平比较 哮喘组外周血单个核细胞 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平高于健康对照组(*P* < 0.01),见表 3。

表 3 2 组外周血单个核细胞 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SOCS-1	SOCS-3
健康对照组	60	1.12 ± 0.15	1.13 ± 0.13
哮喘组	60	1.36 ± 0.21	1.34 ± 0.32
<i>t</i> 值		4.502	4.709
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 2 组血清炎症因子水平比较 与健康对照组比较,哮喘组血清 IL-6、IL-17、IL-23、TGF-β1 表达水平显著升高(*P* < 0.01),IFN-γ 表达水平显著降低(*P* < 0.01),见表 4。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	正向引物	反向引物
SOCS-1	5'-AGACCCCTTCTCACCTCTTG-3'	5'-CTGCACAGCAGAAAAATAAAGC-3'
SOCS-3	5'-TCCCCCCAGAAGAGCCTATTAC-3'	5'-TCCGACAGAGATGCTGAAGAGTG-3'
GAPDH	5'-CAACTTGGTATCGTGGAAGGACTC-3'	5'-AGGGATGATGTTCTGGAGAGCC-3'

表 4 2 组炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	例数	IL-6	IL-17	IL-23	TGF-β1	IFN-γ
健康对照组	60	36.09 ± 12.33	12.56 ± 2.14	25.04 ± 7.79	154.93 ± 14.75	48.61 ± 11.56
哮喘组	60	121.35 ± 21.46	18.57 ± 3.25	47.83 ± 24.59	353.01 ± 21.46	30.48 ± 10.74
<i>t</i> 值		26.648	11.963	6.844	58.921	8.900
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 2 组肺功能比较 哮喘组患者 FEV₁、FVC、FEV₁% 均显著低于健康对照组 ($P < 0.01$), 见表 5。

表 5 2 组肺功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FEV ₁ (L)	FVC(L)	FEV ₁ %
健康对照组	60	2.01 ± 0.15	2.54 ± 0.34	103.64 ± 4.62
哮喘组	60	1.56 ± 0.24	2.21 ± 0.32	77.95 ± 3.21
<i>t</i> 值		12.316	6.142	35.372
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 与 Th17/Treg、炎性因子水平相关性分析 过敏性哮喘患者 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 与 Th17/Treg 比值呈正相关 ($r = 0.488, 0.606, P < 0.05$), 见图 1、图 2; SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平均与 IL-6、IL-17、IL-23、TGF-β1 水平呈正相关 ($P < 0.01$), 与 IFN-γ 水平呈负相关 ($P < 0.01$); SOCS-3 mRNA 水平与 SOCS-1 mRNA 水平呈正相关 ($r = 0.471, P < 0.01$), 见表 6。

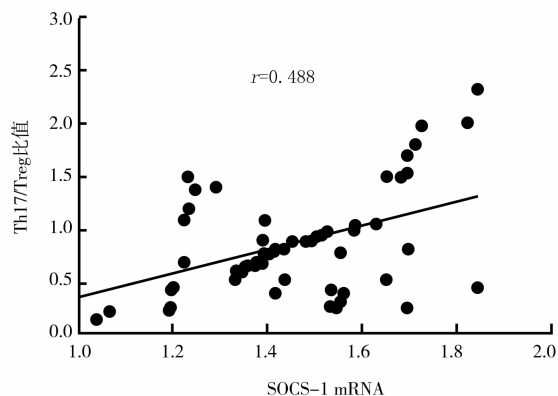


图 1 SOCS-1 mRNA 与 Th17/Treg 比值相关性分析

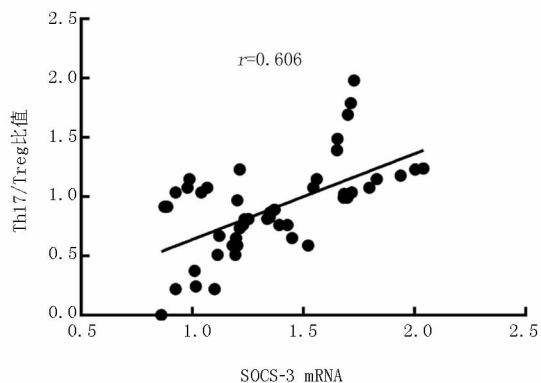


图 2 SOCS-3 mRNA 与 Th17/Treg 比值相关性分析

表 6 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 与炎性细胞因子水平相关性分析

变量	SOCS-1 mRNA		SOCS-3 mRNA	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
IL-6	0.576	<0.001	0.463	<0.001
IL-17	0.365	0.002	0.427	<0.001
IL-23	0.525	<0.001	0.364	<0.001
TGF-β1	0.478	<0.001	0.415	<0.001
IFN-γ	-0.549	<0.001	-0.562	<0.001

3 讨论

本研究发现,过敏性哮喘患者外周血单个核细胞中 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平相对于健康对照组显著上调,提示 SOCS-1、SOCS-3 可能与过敏性哮喘发病有关,其中 SOCS 蛋白是天然免疫和获得性免疫系统中关键的生理性调节因子,参与调节 T 细胞的发育和分化、抑制细胞因子信号通路等,在免疫性疾病、感染性疾病发生中发挥重要作用^[10-13]。有学者研究认为^[14],SOCS-1 通过 SH2 结构域与细胞因子受体胞内段 Janus 激酶(JAK)结合,使之泛素化后降解,从而阻滞 INF-γ、IL-2、IL-6、IL-7、IL-12 等多种细胞因子的信号经 STAT 途径传导。SOCS-1 缺陷小鼠表现出 T 细胞大量激活的剧烈炎症反应^[15]。因此,SOCS-1 被认为是防止自身免疫的重要调节分子。夏家露等^[16]研究发现,SOCS-3 mRNA 表达水平下调的小鼠体内 IL-4 水平减少,提示 IL-4 水平受 SOCS-3 mRNA 表达水平调节,二者与过敏性哮喘发生有关。说明 SOCS-1、SOCS-3 可能与过敏性哮喘的发病有关,推测其主要是通过调节 T 细胞的分化及抑制细胞因子信号通路而发挥作用。

长期以来的观点认为,Th1/Th2 失衡在过敏性哮喘中有重要作用,近年来发现 Th17/Treg 失衡在过敏性哮喘中作用同样突出^[17]。Treg 不同于 Th1/Th2,它可以表现出免疫抑制功能。初始 CD4⁺T 细胞在 IL-12 和 IFN-γ 诱导下分化为 Th1 细胞,参与细胞介导免疫应答;在 TGF-β 单独诱导下分化为 Treg 细胞,分泌 TGF-β,参与免疫调节;在 TGF-β 和 IL-6 的共同诱导下分化为 Th17,分泌 IL-6 和 IL-17,参与炎症反应和自身免疫性疾病^[18],IL-6 可促进活化的 CD4⁺ 细胞向 Th17 分化,形成正反馈。本研究发现,哮喘组血清中 IL-6、IL-17、IL-23、TGF-β1 表达水平显著升高,IFN-γ 表达水平显著降低,哮喘组 Th17 细胞百分率、Th17/Treg 比值显著高于健康对照组,Treg 细胞百分率显著低于健康对照组,提示 Th17、Treg 细胞百分率的变化和比例与过敏性哮喘有关。而有关研究发现^[19-20],IL-

6 能促进急性期蛋白合成,介导前列腺素合成,从而参与哮喘的炎性反应。IL-17 是一种促炎性细胞因子,可作用于气道上皮细胞等炎性细胞,通过刺激趋化因子、细胞炎性因子等促进嗜中性粒细胞、巨噬细胞募集引发炎性反应^[21]。李小明^[22]研究发现,哮喘患者支气管活检标本 IL-17 水平较健康者高,且与疾病严重程度有关,提示 IL-17 参与哮喘的发生发展。洪菲萍等^[23]研究发现,经过治疗后支气管哮喘急性发作患儿病情显著好转,血清中 IFN- γ 水平显著升高,IFN- γ 有助于支气管哮喘的诊断及病情变化的判断。Yan 等^[24]研究发现,过敏性哮喘患者外周血 IL-17 水平较健康对照组表达增加,说明 IL-17 可能在哮喘初期或疾病进展期间发挥作用,但其作用尚未确定。Guerra 等^[25]研究发现,IL-23 在过敏性哮喘等免疫类疾病中发挥重要作用。Chu 等^[26]研究发现,TGF- β 1 在哮喘组血清中水平高于健康对照组,可能与难治性哮喘发生有关。本研究与以往研究结果相似,提示过敏性哮喘患者存在不同程度炎性反应,可能与 Th17/Treg 失衡有关。

进一步研究发现,过敏性哮喘患者外周血 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平与 IL-6、IL-17、IL-23、TGF- β 1 呈正相关,与 IFN- γ 水平呈负相关;SOCS-1、SOCS-3 mRNA 与 Th17/Treg 比值呈正相关,提示 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 可能通过对细胞因子的调控影响 Th17、Treg 的细胞数量从而影响 Th17/Treg 比值。

综上所述,过敏性哮喘患者外周血中存在 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 高表达,以 Th17 细胞比率上升为主的 Th17/Treg 失衡,且过敏性哮喘患者 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 高表达与 Th17/Treg 失衡有关。但本研究样本量不充分,需要扩大样本量对 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 在过敏性哮喘患者 Th17/Treg 失衡中的作用机制进行深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

钟洁:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;陶宁:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;赵利:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;何诚:进行统计学分析;胡建平:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Ekstedt S, Stenberg H, Tufvesson E, et al. The potential role of CD 16 high CD 62L dim neutrophils in the allergic asthma[J]. *Allergy*, 2019, 74(11):2265-2268. DOI: 10.1111/all.13861.
- [2] 刘希君,沈亚琪,秦虹,等.哮喘中 miR-155 的表达变化及其对 Th 细胞分化的影响[J]. *国际免疫学杂志*, 2018, 41(4):390-394. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2018.04.006.
- [3] Yu CF, Peng WM, Schlee M, et al. SOCS1 and SOCS3 target IRF7

degradation to suppress TLR7-mediated type I IFN production of human plasmacytoid dendritic cell[J]. *J Immunol*, 2018, 200(12):4024-4035. DOI: 10.4049/jimmunol.1700510.

- [4] Zheng GH, Wang YJ, Wen X, et al. Silencing of SOCS-1 and SOCS-3 suppresses renal interstitial fibrosis by alleviating renal tubular damage in a rat model of hydronephrosis[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(2):2200-2211. DOI:10.1002/jcb.26382.
- [5] 郑应麟,周希,杨洁芳. SOCS1 对 CD4⁺T 细胞分化的影响及其在桥本甲状腺炎中的作用[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2018, 38(5):293-297. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2018.05.002.
- [6] Zhang WW, Jiang MM, Chen JY, et al. SOCS3 suppression promoted the recruitment of CD11b⁺ Gr-1 F4/80 MHCII early-stage myeloid-derived suppressor cells and accelerated interleukin-6-related tumor invasion via affecting myeloid differentiation in breast cancer[J]. *Front Immunol*, 2018, 9(1):1699-1719. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01699.
- [7] Sorokina LN, Mineev VN, Lim VV. Role of negative regulators of SOCS1, SOCS3, and SOCS5 gene transcription in the negative cell signaling regulation system in asthma[J]. *Ter Arkh*, 2017, 89(3):43-47. DOI: 10.17116/terarkh201789343-47.
- [8] 曹琦,董生凤,胡琼. Th17/Treg 细胞平衡及其细胞因子在感染性早产中的研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 25(2):233-237. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2019.02.005.
- [9] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(2016年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(9):675-697. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2016.09.007.
- [10] Chen M, Zhao J, Ali IHA, et al. Cytokine signaling protein 3 deficiency in myeloid cells promotes retinal degeneration and angiogenesis through arginase-1 up-regulation in experimental autoimmune uveoretinitis[J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(4):1007-1020. DOI:10.1016/j.ajpath.2017.12.021.
- [11] 高兵,李松,马虹,等.过敏性哮喘患儿外周血 Th17/Treg 比值变化及其与呼吸功能、免疫球蛋白的相关性[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(6):594-596,601.
- [12] 徐会荣,孙婷,洪兰,等.粉尘螨滴剂治疗过敏性哮喘患儿效果及对白细胞介素、免疫指标等水平的影响[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(3):259-263.
- [13] 华彤.舌下变应原特异性免疫治疗儿童过敏性哮喘的效果观察[J]. *中国当代医药*, 2018, 25(29):94-96.
- [14] 谢旭磊,杨圣俊,郝洪岭,等. SOCS1、SHP1 在 JAK2V617F 突变阳性骨髓增殖性肿瘤中的表达及鲁索替尼的调控作用[J]. *第二军医大学学报*, 2018, 39(1):74-80. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.01.0074.
- [15] 卢新军,薛志诚,章旭之,等.过表达 SOCS1 分子的树突状细胞诱导 T 细胞功能及其对小鼠移植物的免疫保护作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(5):766-769. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2017.05.014.
- [16] 夏家露,严醒,刘亚如,等. SOCS3 对四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化进展和逆转的影响及机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(9):1215-1221. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2017.09.008.

桥接整合因子 1 在心源性哮喘与肺源性哮喘鉴别诊断中的意义

王成钢, 蒋志丽, 李艳芳, 聂绍平, 阙斌

基金项目: 北京市医管局重点医学发展计划(ZYLX201710)

作者单位: 100029 首都医科大学附属北京安贞医院急诊科

通信作者: 阙斌, E-mail: que_bin@126.com

【摘要】 目的 分析桥接整合因子 1 (BIN1) 在心源性哮喘与肺源性哮喘鉴别诊断中的意义。方法 选取 2017 年 5 月—2018 年 12 月北京安贞医院急诊科诊治以呼吸困难为主要症状的患者 114 例作为研究对象, 完善相关检查后分为心源性哮喘组 ($n=66$) 和肺源性哮喘组 ($n=48$), 同期于体检中心随机选择健康者 50 例为健康对照组 ($n=50$), 测定血浆中 BIN1、B 型利钠肽 (BNP) 浓度, 比较各组 2 项指标浓度的差异及 BIN1 与 BNP 对心源性哮喘的诊断价值。结果 与肺源性哮喘组比较, 心源性哮喘组 BIN1 降低 ($P<0.05$), BNP 浓度则明显升高 ($P<0.05$), 根据 NYHA 心功能分级, 心功能越差, BIN1 水平下降越明显 ($F=4.312, P=0.021$), BNP 水平则升高越明显 ($F=10.876, P=0.012$)。多元 Logistic 回归分析发现, BIN1 是发生心源性哮喘的保护因素 ($OR=0.467, P=0.033$), 而 BNP 是发生心源性哮喘的危险因素 ($OR=1.079, P=0.018$)。ROC 曲线分析显示, BIN1 预测心源性哮喘的曲线下面积 (AUC) 为 0.804 (95% CI 0.723~0.852), 敏感度和特异度分别为 85.1% 和 91.7%, Youden 指数 0.768。BNP 预测心源性哮喘的 AUC 为 0.852 (95% CI 0.782~0.943), 敏感度和特异度分别为 92.4% 和 79.2%, Youden 指数 0.716。BIN1 联合 BNP 诊断心源性哮喘的 AUC 为 0.891 (95% CI 0.856~0.934), 敏感度和特异度分别为 86.3% 和 92.6%, Youden 指数 0.790。结论 血浆 BIN1 检测对鉴别心源性哮喘与肺源性哮喘具有一定的意义, 二者联合检测对于心源性哮喘具有更高的诊断价值。

【关键词】 桥接整合因子 1; 心力衰竭; B 型利钠肽; 心源性哮喘; 肺源性哮喘; 鉴别诊断

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.008

The significance of bridging integration factor 1 in the differential diagnosis of cardiogenic asthma and pulmonary asthma

Wang Chenggang, Jiang Zhili, Li Yanfang, Nie Shaoping, Que Bin. Department of Emergency, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding author: Que Bin, E-mail: que_bin@126.com

Funding program: Key Medical Development Plan of Beijing Medical Administration Bureau (ZYLX201710)

【Abstract】 Objective To analyze the significance of bridge integration factor 1 (BIN1) in the differential diagnosis of cardiogenic asthma and pulmonary asthma. **Methods** From May 2017 to December 2018, 114 patients with dyspnea as the main symptom diagnosed and treated in the Emergency Department of Beijing Anzhen Hospital were selected as the study object. After the completion of relevant examination, they were divided into cardiogenic asthma group ($n=66$) At the same time, 50 healthy people were randomly selected as the control group ($n=50$) in the physical examination center. The concentrations of BIN1 and B-type natriuretic peptide (BNP) in the plasma were measured. The differences of 2 indexes in each group and the diagnostic value of BIN1 and BNP in cardiogenic asthma were compared. **Results** Compared with the pulmonary asthma group, BIN1 decreased ($P<0.05$) and BNP increased significantly ($P<0.05$) in the cardiac asthma group. According to the NYHA cardiac function classification, the worse the cardiac function, the more obvious the decrease of BIN1 level ($F=4.312, P=0.021$), and the higher the BNP level ($F=10.876, P=0.012$). Multiple logistic regression analysis showed that BIN1 was the protective factor of cardiogenic asthma ($OR=0.467, P=0.033$), while BNP was the risk factor of cardiogenic asthma ($OR=1.079, P=0.018$). ROC curve analysis showed that the AUC of BIN1 was 0.804 (95% CI 0.723~0.852), the sensitivity and specificity were 85.1% and 91.7%, respectively, and the Youden index was 0.768. The AUC of BNP was 0.852 (95% CI 0.782~0.943), the sensitivity and specificity were 92.4% and 79.2%, respectively, and the Youden index was 0.716. The AUC of BIN1 combined with BNP was 0.891 (95% CI 0.856~0.934), the sensitivity and

specificity were 86.3% and 92.6% respectively, and the Youden index was 0.790. **Conclusion** The detection of BIN1 in plasma has a certain significance in distinguishing between cardiogenic asthma and pulmonary asthma. The combined detection of BIN1 in plasma has a higher diagnostic value for cardiogenic asthma.

【Key words】 Bridging integration factor 1; Heart failure; Brain natriuretic peptide; Cardiac asthma; Pulmonary asthma; Differential diagnosis

桥接整合因子 1 (bridging integration factor 1, BIN1) 是心肌横管系统的一个重要调节蛋白,一方面可通过调节细胞膜内陷参与心肌横管形成,另一方面其与 L 型钙通道精确地共同定位于心肌细胞的横管上。BIN1 是 L 型钙通道最重要的 $\alpha 1 C$ 亚单位 (Cav1.2) 的锚定蛋白,调节 Cav1.2 在横管的转运和聚集^[1],从而使 L 型钙通道与兰尼碱受体充分作用产生有效的钙瞬变,激发心肌的兴奋收缩耦联^[2-3]。心力衰竭时心肌细胞的主要病理生理改变是横管重构导致的钙瞬变受损,使 L 型钙通道与兰尼碱受体耦联分离,从而导致心肌收缩功能受损及增加心律失常风险^[4]。有研究发现, BIN1 在心肌梗死、扩张型心肌病、心力衰竭时明显下降^[5-7], BIN1 是一个潜在的心脏健康和功能储备的标志物,可以评估心力衰竭心肌细胞收缩功能,更可作为治疗心力衰竭发展进程的指标。因此推测 BIN1 在心源性哮喘时可能也存在表达水平的变化,现分析比较 BIN1 在心源性哮喘与肺源性哮喘鉴别诊断中的意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 5 月—2018 年 12 月北京安贞医院急诊科诊治以呼吸困难为主要症状的患者 114 例作为研究对象。排除标准:年龄 > 80 岁、外伤、心包填塞、急性心肌梗死、贫血和严重肝功能不全、肾功能不全、自身免疫系统疾病、入院后使用过冻干重组人脑利钠肽的患者。分为心源性呼吸困难(哮喘组) 66 例,男 38 例,女 28 例,年龄 51~80 (68.13 ± 4.26) 岁;合并症:风湿性心脏病 4 例,先天性心脏病 1 例,高血压性心脏病 10 例,扩张型心肌病 8 例,冠心病 43 例;根据 NYHA 心功能分级:心功能 II 级 27 例, III 级 20 例, IV 级 19 例。肺源性呼吸困难(哮喘组) 48 例,患者超声心动图结果均显示心功能正常;男 25 例,女 23 例,年龄 53~78 (64.14 ± 3.01) 岁;合并症:肺栓塞 12 例,支气管扩张 2 例,肺炎 1 例,肺癌 5 例,过敏性哮喘 5 例,慢性支气管炎并发慢性阻塞性肺疾病 23 例。另外,同期于医院体检中心随机选择健康体检者 50 例为健康对照组,男 25 例,女 25 例,年龄 50~77 (65.23 ± 2.54) 岁。本研究经医院伦理委员会批准,受试者及家属知情同意并签署同意书。

1.2 观测指标与方法

1.2.1 临床资料统计:入选者均进行心电图、超声心动图、X 线摄胸片,必要时,完善胸部 CT 及肺功能检查;实验室检查 BNP、血常规、生化、糖化血红蛋白等。

1.2.2 血浆 BIN1 测定:患者入院后/健康对照组体检当日清晨空腹采取静脉血 5 ml,抗凝离心获得血浆置 -20 °C 下冰冻待测。使用 ELISA 法测定 BIN1,试剂盒由北京天根生化科技有限公司提供,操作过程严格按照说明书进行。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 11.0 软件对数据进行统计处理。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组之间比较采用 S-N-K 法检验;计数资料以频数或率 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多因素 Logistic 回归模型分析评估 BIN1 及 BNP 与心源性哮喘相关性,应用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 分析 BIN1 及 BNP 预测心源性哮喘的价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组临床资料比较 3 组患者的性别、年龄、BMI、高血压史、ALT、糖化血红蛋白 (HbA_{1c})、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、肌酐比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。糖尿病史及吸烟史在 3 组之间存在差异 ($P < 0.05$),其中心源性哮喘组糖尿病史百分比高于肺源性哮喘组和健康对照组,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$),肺源性哮喘组患者有吸烟史的百分比高于心源性哮喘组和健康对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

2.2 3 组 BIN1 及 BNP 比较 与健康对照组及肺源性哮喘组比较,心源性哮喘组 BIN1 浓度明显减低,而 BNP 浓度明显升高 ($P < 0.05$);与健康对照组比较,肺源性哮喘组仅 BNP 浓度明显升高 ($P < 0.05$),见表 2。

2.3 心源性哮喘组 NYHA 不同分级患者血浆 BIN1 及 BNP 水平比较 与 II 级和 III 级比较,IV 级患者 BIN1 明显降低 ($P < 0.05$),BNP 水平则明显升高 ($P < 0.05$)。与 II 级比较,III 级患者 BIN1 及 BNP 水平也有同样的变化趋势,仅 BNP 差异有统计学意义 ($P <$

0.05), 见表 3。

表 2 3 组患者血浆 BIN1 及 BNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	BIN1 ($\mu\text{g/ml}$)	BNP (pg/ml)
健康对照组	50	63.2 \pm 12.5	78.5 \pm 11.2
肺源性哮喘组	48	60.1 \pm 11.6	126.1 \pm 12.8 ^a
心源性哮喘组	66	31.5 \pm 10.3 ^{ab}	584.7 \pm 63.1 ^{ab}
F/P 值		4.564/0.034	8.976/0.014

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与肺源性哮喘组比较,^b $P < 0.05$

表 3 心源性哮喘不同 NYHA 分级患者血浆 BIN1 及 BNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

NYHA 分级	例数	BIN1 ($\mu\text{g/ml}$)	BNP (pg/ml)
II 级	27	40.2 \pm 9.5	254.5 \pm 15.7
III 级	20	37.3 \pm 10.2	536.5 \pm 30.6 ^a
IV 级	19	19.2 \pm 11.3 ^{ab}	935.8 \pm 50.9 ^{ab}
F/P 值		4.312/0.021	10.876/0.012

注:与 II 级比较,^a $P < 0.05$;与 III 级比较,^b $P < 0.05$

2.4 BIN1、BNP 在心源性哮喘诊断中的价值分析

以吸烟史、糖尿病史、BIN1、BNP 作为自变量,对心源性哮喘进行多因素 Logistic 回归分析后发现,BIN1 是发生心源性哮喘的保护因素,BNP 是发生心源性哮喘的危险因素($P < 0.05$),见表 4。

表 4 心源性哮喘发生的多因素 Logistic 回归分析

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值(95% CI)
吸烟史	0.754	0.422	3.191	0.075	2.125 (1.683 ~ 3.134)
糖尿病史	0.623	0.381	2.674	0.296	1.864 (1.390 ~ 2.012)
BIN1	-0.761	0.409	3.462	0.033	0.467 (0.246 ~ 0.854)
BNP	0.076	0.028	7.367	0.018	1.079 (0.901 ~ 1.124)

2.5 BIN1、BNP 诊断心源性哮喘的 ROC 曲线分析

BIN1 预测心源性哮喘的曲线下面积(AUC)为 0.804 (95% CI 0.723 ~ 0.852),敏感度和特异度分别为 85.1% 和 91.7%,Youden 指数 0.768。BNP 预测心源性哮喘的 AUC 为 0.852 (95% CI 0.782 ~ 0.943),敏感度和特异度分别为 92.4% 和 79.2%,Youden 指数 0.716。BIN1、BNP 联合诊断 AUC 为 0.891 (95% CI 0.856 ~ 0.934),敏感度和特异度分别为 86.3% 和 92.6%,Youden 指数 0.790,见表 5。

3 讨论

急性哮喘性呼吸困难是临床常见的急危重症,具有发病急、病情变化快、病死率高的特点,根据其病因主要分为心源性哮喘和肺源性哮喘 2 类。尽管两者的临床表现相似,但病理生理机制、治疗原则、疾病预后却明显不同。因此,早期快速诊断病因具有重要的临床意义。目前临床常用反映心功能的生物标志物包括

表 1 3 组基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	健康对照组 ($n=50$)	肺源性哮喘组 ($n=48$)	心源性哮喘组 ($n=66$)	χ^2/F 值	P 值
性别[男(%)]	25(50.0)	25(52.1)	38(57.6)	1.193	0.718
年龄(岁)	(65.23 \pm 2.54)	64.14 \pm 3.01	68.13 \pm 4.26	1.652	0.857
BMI (kg/m^2)	26.01 \pm 3.63	25.34 \pm 4.51	26.58 \pm 5.39	0.766	0.453
吸烟[例(%)]	15(30.0)	21(43.7) ^a	22(33.3) ^{ab}	5.042	0.039
高血压[例(%)]	10(20.0)	17(35.4)	27(40.9)	2.081	0.056
糖尿病[例(%)]	9(18.0)	13(27.1)	23(34.8) ^{ab}	4.122	0.047
ALT(U/L)	25.50 \pm 23.45	28.47 \pm 19.13	35.23 \pm 21.22	0.633	0.127
HbA _{1c} (%)	6.0 \pm 0.8	6.1 \pm 0.9	6.2 \pm 0.7	0.924	0.873
TC(mmol/L)	4.38 \pm 0.92	4.58 \pm 1.05	4.91 \pm 1.98	0.672	0.342
HDL-C(mmol/L)	1.15 \pm 0.33	1.05 \pm 0.36	1.01 \pm 0.25	0.457	0.942
LDL-C(mmol/L)	2.21 \pm 0.62	2.50 \pm 0.88	2.76 \pm 0.78	0.932	0.443
肌酐($\mu\text{mol/L}$)	72.2 \pm 15.8	74.60 \pm 15.50	76.50 \pm 18.30	0.875	0.325

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与肺源性哮喘组比较,^b $P < 0.05$

表 5 BIN1、BNP 及两者联合预测心源性哮喘的诊断价值比较

项目	AUC	Cut-off 值	阳性预测值	阴性预测值	敏感度	特异度	Youden 指数
BIN1	0.804	51.6 $\mu\text{g/ml}$	0.949	0.815	0.851	0.917	0.768
BNP	0.852	188.5 pg/ml	0.859	0.884	0.924	0.792	0.716
联合诊断	0.891	51.0/189.8 ^a	0.955	0.792	0.863	0.926	0.790

注:^a联合诊断 Cut-off 值 BIN1 51.0 $\mu\text{g/ml}$,BNP 189.8 pg/ml

BNP 和氨基末端脑钠肽前体(N terminal pro B typhenatriuretic peptide, NT-proBNP)。BNP 是一种主要由心脏分泌的短肽激素,NT-proBNP 则是 BNP 生成过程中产生的无活性氨基酸片段。BNP 在外周血中的生物半衰期短于 NT-proBNP,在外周血中的浓度也低于 NT-proBNP。BNP 和 NT-proBNP 诊断心力衰竭均具有较高的敏感度和特异度,均可预测心力衰竭患者长期死亡风险,但诊断急性心力衰竭时 NT-proBNP 水平应根据年龄和肾功能不全进行分层。国内外许多研究已证实,心源性哮喘时 BNP 明显升高^[8-10],其在鉴别心源性哮喘和肺源性哮喘方面具有重要参考价值。本研究中发现,肺源性哮喘患者的 BNP 和健康对照组比较,也有显著升高。基础和临床研究均证实急性心肌缺血、缺氧可以诱导 BNP 的释放,但是 BNP 或 NT-proBNP 敏感度和特异度不足以诊断心肌缺血,无症状的左心功能不全、肺栓塞等也可导致其升高^[11]。因此目前临床上以 BNP > 100 pg/ml 作为判断患者有无心功能障碍的标准^[12],可能会导致 BNP 对心力衰竭、心源性哮喘诊断的假阳性率提高。另外研究发现,肥胖心力衰竭患者的 BNP 浓度会相对偏低^[13],这些可能都是 BNP 作为判断心源性哮喘和肺源性哮喘特异度低于 BIN1 的原因。

心力衰竭是各种心脏疾病的终末期共同表现,心力衰竭时心肌细胞的主要病理生理改变是横管系统的重构,从而影响钙瞬变,进而影响兴奋收缩耦联,最终导致心肌收缩功能下降。BIN1 又被称为 Amphiphysin 2,是 BAR 结构域超家族的一员,是维持 T 管结构的重要蛋白之一^[14]。BIN1 一方面可介导细胞膜内陷参与心肌横管形成,另一方面其与 L 型钙通道精确地共同定位于心肌细胞的横管并介导兴奋收缩耦联,其在心力衰竭时表达明显下降,这在动物模型与人类相关临床研究中均已得到证实^[2, 7, 15-16]。BIN1 的减少会导致 L 型钙通道与兰尼碱受体耦联分离,从而导致心肌收缩功能受损并与心力衰竭的诊断及预后相关^[15]。因此,推断 BIN1 在心力衰竭时表达的改变可能具有高度特异性。

本研究结果显示,心源性哮喘患者血浆 BIN1 含量较肺源性哮喘患者及健康人群显著减低,且与心力衰竭严重程度相关,BIN1 水平降低可能是心力衰竭患者发生心肌重构、收缩力下降的原因之一。这与国外相关研究结果一致^[2, 5],国外研究认为 BIN1 能影响心肌细胞收缩力,未来可能会成为心力衰竭治疗领域的新目标^[17-19]。此外,还有研究发现 BIN1 对于心律失常也具有一定预测价值,在小鼠心律失常模型研究中,

BIN1 基因敲除小鼠具有更高的室性心律失常发生率^[16]。国内邹卓璇等^[20]在慢性心力衰竭患者血浆中也发现 BIN1 同样的改变,并且伊伐布雷定可以使慢性心力衰竭患者血浆中的 BIN1 升高。目前心力衰竭时 BIN1 减少的具体机制仍不清楚,可能与心力衰竭时心肌细胞含量减少有关。心力衰竭时心肌细胞严重受损,横管系统遭到破坏,导致心源性 BIN1 显著减少。另外,病变的心肌细胞代谢改变,BIN1 转录、翻译的速度较慢,均可能造成 BIN1 合成的不足^[5]。Logistic 回归分析的结果进一步证实,BIN1 与心源性哮喘显著负相关,是心力衰竭的一个保护性因素。ROC 曲线分析证实 BIN1 可以作为临床鉴别心源性哮喘与肺源性哮喘的一个重要参考指标,与 BNP 比较,其诊断心源性哮喘的敏感度较低,但特异度更高,将 BIN1 和 BNP 二者联合诊断心源性哮喘具有更高的准确性。但由于本研究入选患者例数较少,仍需要更大样本的患者人群去进一步研究临床应用的可行性。

总之, BIN1 作为评估心力衰竭心肌细胞收缩功能的重要指标,其在鉴别心源性哮喘和肺源性哮喘时具有不劣于 BNP 的诊断价值,将 BIN1 与 BNP 联合可能会提高心力衰竭的诊断准确性。BIN1 在临床工作中可能会有更大的应用前景,未来通过增加 BIN1 的表达和恢复来延缓或阻止心脏病的发展进程,可能会成为新的研究热点。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王成钢:分析试验数据,统计学分析,论文撰写;蒋志丽:实施研究过程,资料搜集整理;阙斌、李艳芳、聂绍平:提出研究思路,设计研究方案,论文修改及审核

参考文献

- [1] Fu Y, Shaw SA, Naami R, et al. Isoproterenol promotes rapid ryanodine receptor movement to bridging integrator 1 (BIN1)-organized dyads[J]. *Circulation*, 2016, 133(4): 388-397. DOI:10.1161/circulationaha.115.018535.
- [2] Zhou K, Hong T. Cardiac BIN1 (cBIN1) is a regulator of cardiac contractile function and an emerging biomarker of heart muscle health [J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 60(3): 257-263. DOI:10.1007/s11427-016-0249-x.
- [3] De La Mata A, Tajada S, O'Dwyer S, et al. BIN1 induces the formation of t-tubules and adult-like Ca²⁺ release units in developing cardiomyocytes [J]. *Stem Cells*, 2019, 37(1): 54-64. DOI:10.1002/stem.2927.
- [4] Dewenter M, von der Lieth A, Katus HA, et al. Calcium signaling and transcriptional regulation in cardiomyocytes [J]. *Circ Res*, 2017, 121(8): 1000-1020. DOI: 10.1161/circresaha.117.310355.
- [5] Hong TT, Cogswell R, James CA, et al. Plasma BIN1 correlates

with heart failure and predicts arrhythmia in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy [J]. *Heart Rhythm*, 2012, 9 (6): 961-967. DOI: 10.1016/j.hrthm.2012.01.024.

[6] Lyon AR, Nikolaev VO, Miragoli M, et al. Plasticity of surface structures and beta (2)-adrenergic receptor localization in failing ventricular cardiomyocytes during recovery from heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2012, 5(3): 357-365. DOI:10.1161/circheartfailure.111.964692.

[7] Laury Kleintop LD, Mulgrew JR, Heletz I, et al. Cardiac-specific disruption of Bin1 in mice enables a model of stress- and age-associated dilated cardiomyopathy [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(11): 2541-2551. DOI:10.1002/jcb.25198.

[8] Brunner La Rocca HP, Sanders-van Wijk S. Natriuretic peptides in chronic heart failure [J]. *Card Fail Rev*, 2019, 5(1): 44-49. DOI: 10.15420/cfr.2018.26.1.

[9] 陈亮, 官晓艳, 龙俞宇, 等. 哮喘儿童巨噬细胞吞噬功能和肺功能的关系研究 [J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(6): 590-593. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.012.

[10] 王艳艳, 安淑华, 李芹, 等. 6 岁以下幼儿哮喘发病的相关因素分析 [J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(7): 710-714. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.07.015.

[11] 急性非创伤性胸痛生物标志物联合检测专家共识组. 急性非创伤性胸痛生物标志物联合检测专家共识 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2015, 24(9): 940-951. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2015.09.005.

[12] Kafkas N, Patsilina S, Makris K, et al. Brain natriuretic peptide: A marker of cardiac dysfunction with ventricular or dual-chamber pacing [J]. *Acta Cardiol*, 2011, 66(5): 589-594. DOI: 10.2143/ac.66.5.2131083.

[13] Mueller C, McDonald K, De Boer RA, et al. Heart Failure Association of the European Society of Cardiology practical guidance on the use of natriuretic peptide concentrations [J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(6): 715-731. DOI:10.1002/ejhf.1494.

[14] Fu Y, Hong T. BIN1 regulates dynamic t-tubule membrane [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(7 Pt B): 1839-1847. DOI:10.1016/j.bbamer.2015.11.004.

[15] Prokic I, Cowling BS, Laporte J. Amphiphysin 2 (BIN1) in physiology and diseases [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(5): 453-463. DOI:10.1007/s00109-014-1138-1.

[16] Hong T, Yang H, Zhang SS, et al. Cardiac BIN1 folds T-tubule membrane, controlling ion flux and limiting arrhythmia [J]. *Nat Med*, 2014, 20(6): 624-632. DOI:10.1038/nm.3543.

[17] Abi-Samra F, Gutterman D. Cardiac contractility modulation: A novel approach for the treatment of heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2016, 21(6): 645-660. DOI:10.1007/s10741-016-9571-6.

[18] 符瑜, 吴少敏, 曾昭凡. 噻托溴铵粉吸入剂联合沙美特罗替卡松粉吸入剂对哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠综合征患者肺功能和睡眠质量及心率变异性的影响 [J]. *中国医药*, 2019, 14(9): 1331-1335. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.09.013.

[19] 刘莹. 孟鲁司特钠联合布地奈德治疗支气管哮喘的疗效 [J]. *中国现代医生*, 2019, 57(9): 96-97, 101.

[20] 邹卓璇, 邱英茹, 陈浩, 等. 伊伐布雷定对慢性心力衰竭患者血浆桥接整合因子 1 含量的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(15): 2915-2919. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2019.15.026.

(收稿日期: 2019-10-13)

(上接 466 页)

[17] Wang W, Liu QB, Jing W. Astragalus membranaceus improves therapeutic efficacy of asthmatic children by regulating the balance of Treg/Th17 cells [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2019, 17(4): 252-263. DOI: 10.3724/SP.J.1009.2009.00252.

[18] 周正菊, 张友山, 梁彩霞, 等. ITP 患者外周血 Th9、Th17 和 Treg 细胞水平及 IL-9、IL-17 和 TGF-β 表达在 ITP 发病中的作用 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(1): 180-184. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2019.01.029.

[19] 陶小枫, 王晓希, 刘维, 等. 血清 IL-6、SAA 及 PSA 检测对前列腺癌的诊断价值 [J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(1): 70-74. DOI:10.13753/j.issn.1007-6611.2019.01.014.

[20] 付蓉, 李锋, 刘燕青. 预见性护理在过敏性鼻炎及支气管哮喘护理中的临床研究 [J]. *中国现代医生*, 2018, 56(26): 147-150.

[21] Ro M, Kwon SY, Kim JH. Leukotriene B4 receptors mediate the production of IL-17, thus contributing to neutrophil-dominant asthmatic airway inflammation [J]. *Allergy*, 2019, 74(9): 1797-1799. DOI: 10.1111/all.13789.

[22] 李小明. 支气管哮喘患者外周血 CD4⁺T、CD8⁺T、Th17、IL-17 表达水平与肺功能的相关性研究 [J]. *河北医科大学学报*, 2018, 39(5): 504-507. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2018.05.003.

[23] 洪菲萍, 杨一民, 曾谷兰. 儿童支气管哮喘急性发作期血清炎性细胞因子检测的临床意义 [J]. *现代医药卫生*, 2019, 35(4): 518-520. DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2019.04.010.

[24] Yan S, Chen L, Zhao Q, et al. Developmental endothelial locus-1 (Del-1) antagonizes Interleukin-17-mediated allergic asthma [J]. *Immunol Cell Biol*, 2018, 96(5): 526-535. DOI: 10.1111/imb.12023.

[25] Guerra ES, Lee CK, Specht CA, et al. Central role of IL-23 and IL-17 producing eosinophils as immunomodulatory effector cells in acute pulmonary aspergillosis and allergic asthma [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(1): e1006175. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006175.

[26] Chu S, Zhang X, Sun Y, et al. ANP/NPRA inhibits epithelial-mesenchymal transition of airway by targeting smad3 in asthma [J]. *Int J Pept Res Ther*, 2019, 25(1): 1617-1626. DOI: 10.1007/s10989-018-09804-0.

(收稿日期: 2019-12-14)

食管裂孔疝继发贫血 40 例临床特点分析

程书平, 李明, 田甜, 谭诗云

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2019CFB142)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科

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

【摘要】 分析 2017 年 1 月—2019 年 6 月武汉大学人民医院消化内科诊治的食管裂孔疝继发贫血患者 40 例的临床资料, 其中男 17 例, 女 23 例, 平均年龄 (70.6 ± 12.0) 岁, 病程 4 天 ~ 3 年。主要临床表现为腹痛 20 例 (50.00%), 头昏、乏力 11 例 (27.50%), 腹胀 7 例 (17.50%), 恶心、呕吐 7 例 (17.50%), 黑便 5 例 (12.50%), 胸闷、胸痛 5 例 (12.50%)。误诊为冠心病 3 例, 消化道恶性肿瘤 2 例, 小肠出血 1 例。患者均不同程度贫血, 重度、中度、轻度贫血分别为 3 例、15 例、22 例, 血红蛋白平均为 (89.8 ± 20.8) g/L; 大便隐血阳性 15 例 (37.50%); 内镜发现 Cameron 病变 19 例, 其中 Cameron 溃疡 4 例, Cameron 糜烂 15 例。因严重贫血行输血治疗 6 例, 选择食管裂孔疝修复术 21 例, 选择药物治疗 18 例, 拒绝治疗 1 例; 随访 6 个月, 手术治疗者食管裂孔疝复发 1 例, 贫血治愈 20 例, 症状好转 19 例; 药物治疗失访 1 例, 贫血治愈 13 例, 贫血较前好转 2 例, 贫血加重 2 例, 症状好转 10 例; 手术/药物治疗在贫血治愈、症状缓解、并发症方面比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。总之, 食管裂孔疝继发贫血临床表现无特异性, 以消化道隐性出血为主, 少数可发生急性消化道出血, Cameron 病变是其主要病因, 但内镜下发病率低, 需与肿瘤、冠心病等进行鉴别, 治疗方式应根据患者具体情况选择。

【关键词】 食管裂孔疝; 贫血; Cameron 病变; 临床特点

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.009

Clinical analysis of 40 cases of anemia secondary to hiatal hernia Cheng Shuping, Li Ming, Tian Tian, Tan Shiyun.

Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

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

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

【Abstract】 Objective To analyze the clinical characteristics, endoscopic manifestations, treatment and prognosis of patients with secondary anemia due to hiatal hernia. **Methods** The clinical data of 40 patients with secondary anemia of hiatal hernia were collected from January 2017 to June 2019 in the Department of Gastroenterology, Wuhan University People's Hospital. The clinical data were analyzed, and they were divided into surgical groups according to the different treatment methods. And drug group to analyze its anemia cure, symptom relief, and complications. **Results** Among the 40 patients, 17 were male and 23 were female. The average age was (70.6 ± 12.0) years, and the course of the disease was 4 days to 3 years. The main clinical manifestations were abdominal pain in 20 cases (50.00%), dizziness and fatigue in 11 cases (27.50%), abdominal distension in 7 cases (17.5%), malignancy and vomiting in 7 cases (17.50%), and melena in 5 cases (12.50%). Chest tightness and chest pain were found in 5 cases (12.50%). Three patients were misdiagnosed as coronary heart disease, two were misdiagnosed as malignant tumors of the digestive tract, and one was misdiagnosed as small bowel hemorrhage. All patients had varying degrees of anemia, with severe, moderate, and mild anemia in 3, 15, and 22 cases, with average hemoglobin of (89.8 ± 20.8) g/L; positive stool occult blood of 37.5%; and 19 cases of Cameron lesions were found by endoscopy. Among them, 4 cases had Cameron ulcer and 15 cases had Cameron erosion. 6 cases were treated for blood transfusions due to anemia, 21 cases were repaired with esophageal hiatal hernia, 18 were treated with medicine, 1 patient was discharged after the refusal of treatment; follow-up for 6 months, 1 case had a recurrence of esophageal hiatal hernia in operation group, 20 cases were cured with anemia, 19 cases Symptoms improved; 1 case was lost to follow-up in the drug group, 13 cases of anemia were cured, 2 cases of anemia improved, 2 cases of anemia worsened, and 10 cases of symptoms improved; the two groups were not statistically significant in terms of anemia cure, symptom relief, and complications ($P > 0.05$). **Conclusion** The clinical manifestation of esophageal hiatal hernia secondary to anemia is nonspecific. It is dominated by hidden gastrointestinal bleeding.

A few can occur with acute gastrointestinal bleeding. Cameron disease is the main cause, but the incidence is low under endoscopy. And so on, the treatment should be selected according to the specific circumstances of the patient.

【Key words】 Hiatal hernia; Anemia; Cameron disease; Clinical characteristics

食管裂孔疝(hiatus hernia, HH)是指腹腔一个或多个腹腔器官通过食管裂孔进入胸腔所致的疾病。据报道 HH 的发病率为 0.8% ~ 2.9%^[1-2]。HH 的主要临床表现包括腹痛、腹胀、胸痛、吞咽困难、反酸、贫血等症状^[2]。其中 HH 继发贫血在临床上往往被忽视。国外研究报道^[3],有 15% ~ 45% 的 HH 继发贫血。Cameron 等^[4]首次通过内镜描述了贫血患者胃膈肌水平的线性糜烂和溃疡,认为这些线性病变与 HH 继发贫血相关。这些线性糜烂和溃疡被命名为 Cameron 糜烂和溃疡(图 1A、B),两者统称为 Cameron 病变^[5]。事实上,美国胃肠病学协会(American gastroenterological association, AGA)将 Cameron 病变列为易被忽视的隐匿性消化道出血病因^[6]。Cameron 病变所致的消化道出血可以是显性的也可以隐匿性的,大部分患者最终会出现缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA)^[7]。HH 继发贫血在临床上并不少见,但是临床表现缺乏特异性,容易导致误诊和漏诊。本文通过回顾性分析 HH 继发贫血患者的临床资料,为临床诊治 HH 继发贫血提供参考。

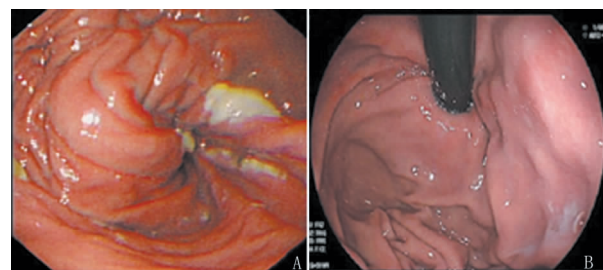


图 1 HH 继发贫血患者胃膈肌内镜表现

1 临床资料

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月—2019 年 6 月武汉大学人民医院消化内科住院治疗的 HH 继发贫血患者 40 例的临床资料。其中男 17 例,女 23 例,年龄 38 ~ 85(70.6 ± 12.0)岁;病程 4 天 ~ 3 年;合并高血压 15 例,冠心病 6 例,2 型糖尿病 1 例;纳入研究患者无传染病病史、家族遗传史、恶性肿瘤病史。

1.2 临床表现 HH 继发贫血患者的临床表现无特异性。最常见的症状为腹痛 20 例(50.00%),头昏、乏力 11 例(27.50%),腹胀 7 例(17.50%),恶心、呕吐 7 例(17.50%),黑便 5 例(12.50%),胸闷、胸痛 5

例(12.50%), 咽喉不适 4 例(10.00%),反酸、烧心 3 例(7.50%),咳嗽 3 例(7.50%),下肢水肿 1 例(2.50%)。

1.3 误诊情况 误诊为冠心病 3 例,消化道恶性肿瘤 2 例,小肠出血 1 例。

1.4 实验室检查 患者均有不同程度贫血,其中重度贫血 3 例(7.50%),中度贫血 15 例(37.50%),轻度贫血 22 例(55.00%),血红蛋白(89.8 ± 20.8)g/L,白细胞升高 5 例,白蛋白中位数为 37.0 g/L(30.7 ~ 45.9 g/L);大便隐血试验阳性 15 例(37.50%);32 例行 CEA、AFP 肿瘤标志物检查未见异常;25 例行贫血五项检查,所有患者维生素 B₁₂及叶酸正常,血清铁下降 20 例,总铁结合力升高 16 例;患者怀疑血液系统疾病行骨髓穿刺检查提示缺铁性贫血 3 例;所有患者肝、肾功能未见明显异常。

1.5 影像学检查 患者均行胸部 CT 检查,HH 患者 38 例(95.00%),漏诊 2 例(5.00%)。HH 合并肺部感染 3 例(7.50%),肺气肿 2 例(5.00%),慢性支气管炎 1 例(2.50%),陈旧性肺结核 1 例(2.50%)。

1.6 内镜检查及病理检查 胃镜检查患者 36 例,因不能耐受胃镜检查改行胶囊内镜检查患者 3 例,行小肠镜检查 1 例,内镜诊断食管裂孔疝 40 例,慢性糜烂性胃炎 21 例,反流性食管炎 19 例,浅表性胃炎 15 例,贲门口炎伴出血 3 例,胃息肉 3 例,十二指肠憩室 2 例,慢性萎缩性胃炎 2 例,食管糜烂 1 例。肠镜检查 10 例,未见异常 8 例,直肠息肉 1 例,结肠息肉 1 例。依据 Gray 等^[8]提出的 Cameron 病变内镜诊断标准(满足以下 2 条):(1)内镜发现 HH;(2)胃镜在膈肌裂孔水平报告单个或多个糜烂或溃疡,符合此诊断标准 19 例,其中 Cameron 溃疡 5 例, Cameron 糜烂 14 例。Cameron 病变患者因怀疑肿瘤行活检 3 例,病理提示胃黏膜组织慢性炎性反应伴糜烂。

1.7 诊断及鉴别诊断 目前,HH 继发贫血无相关诊断标准,主要依据患者临床表现、辅助检查及内镜检查做出综合诊断。对贫血的 HH 患者,内镜下发现 Cameron 病变可以考虑 HH 继发贫血诊断,但需与其他消化道出血、消化道恶性肿瘤、急性冠状动脉综合征等进行鉴别。

1.8 治疗及预后 手术治疗(食管裂孔疝修复术)和药物治疗(质子泵抑制剂 + 铁剂)是 HH 继发贫血患

者主要的治疗方法。患者入院时因严重贫血行输血治疗 6 例,平均使用 2.3 单位浓缩红细胞。行食管裂孔疝修复术 21 例,其中在腹腔镜下行食管裂孔疝修复术 3 例,其余 18 例均在开腹下行手术治疗;1 例患者术后出现肺部感染;21 例随访 6 个月,其中开腹手术患者 HH 复发 1 例,贫血治愈 20 例,临床症状明显好转 19 例。接受药物治疗 18 例,1 例拒绝治疗自动出院;接受药物治疗患者出院后继续口服泮托拉唑 40 mg,每日 1 次,治疗 1 个月,并嘱患者进食含铁丰富的食物;17 例随访 6 个月,失访 1 例,贫血治愈 13 例,较前缓解 2 例,加重 2 例,临床症状明显好转 10 例。将 38 例患者按接受不同治疗方式分为手术治疗组和药物治疗组,2 组在贫血治愈、临床症状缓解及并发症方面比较差异无统计学意义(Fisher 精确检验, $P > 0.05$)。

2 讨论

HH 在膈疝中最为常见,占 90% 以上,其主要危险因素为肥胖、饮食习惯、高龄等^[9-10]。随着人们生活方式的改变及人口老龄化,HH 发病率呈上升趋势^[10]。因此,HH 继发贫血在临床上也逐渐增多,但经常被临床医生所忽视^[11]。HH 继发贫血的临床症状缺乏特异性,胃镜下只有 <50% 的患者发现 Cameron 病变,内镜医生对 Cameron 病变的特点缺乏认识,临床上易导致误诊和漏诊。

HH 继发贫血的临床表现多样,主要以消化道症状为主,本研究发现最常见的症状为腹痛、头昏、乏力、腹胀、恶心、呕吐、黑便、胸闷、胸痛,其次为吞咽不适、反酸、烧心、咳嗽、下肢水肿。这与 HH 患者临床表现相似,但 HH 患者头昏、乏力、黑便症状少见。50% 患者存在腹痛,以上腹部为主,可能因胃组织嵌入胸腔所致。40 例患者都有不同程度贫血,55.00% 患者表现为轻度贫血,并以缺铁性贫血为主;只有 27.50% 患者表现为乏力、头昏等贫血症状,37.50% 患者大便隐血阳性,12.50% 患者出现黑便,病程为 4 天~3 年,可能是因为 HH 继发贫血是一个慢性的过程,大部分患者逐渐耐受了贫血状态,少数情况会引起急性消化道出血,这可能与 Cameron 糜烂向 Cameron 溃疡转变有关,但仍需多中心、大样本前瞻性临床研究进一步明确。除此之外,部分患者伴有腹胀、恶心、呕吐、吞咽不适等症状,会影响患者食欲,进一步加重患者贫血情况。

HH 继发贫血患者需与消化道恶性肿瘤鉴别,此类患者会出现腹痛、腹胀、恶心、黑便等非特异性消化道症状,随着肿瘤的进展,会出现贫血、低蛋白血症等恶病质表现,这与 HH 继发贫血的病情非常相似,易导致误诊。本组误诊为消化道恶性肿瘤 2 例,行肿瘤标

志物检验提示阴性,均行内镜检查及病理活检排除。对于可疑消化道肿瘤的 HH 继发贫血患者,应积极行内镜检查,必要时取活检进行鉴别。除了消化道症状,12.50% 的患者出现胸闷、胸痛症状,HH 继发贫血患者年龄段与冠心病相似,且常伴有高血压、糖尿病、肥胖等危险因素,容易误诊为冠心病。本组患者误诊为冠心病 3 例,首诊科室均为心血管内科,均行心电图、肌钙蛋白检测未见异常,血常规提示轻度贫血,大便隐血试验阴性,胸部 CT 均提示 HH;使用硝酸甘油后胸闷、胸痛症状可以缓解,为进一步明确诊断行冠状动脉造影术,患者冠状动脉未见狭窄及斑块,排除冠心病。HH 相关胸痛和冠心病心绞痛无论是在年龄段、临床症状、使用硝酸甘油等药物后胸痛缓解等方面非常相似,有时难以鉴别,尤其是 HH 与冠心病同时存在的复杂情况^[12-13]。因此,在积极诊断冠心病的同时,还应注意排除 HH 可能;临床医生应提高对 HH 和冠心病的认识,拓宽对老年胸闷、胸痛患者诊治思路。

本组误诊为小肠出血 1 例,患者入院提示中度贫血,大便隐血试验阳性,怀疑消化道出血,行胃镜提示 HH,反流性食管炎;肠镜未发现出血病灶,给与抑酸、补铁后症状好转。Chevrollier 等^[3]报道,HH 患者中 Cameron 病变的发生率为 10%~32%,HH 继发贫血患者的 Cameron 病变发生率是无贫血患者的 1.5 倍。Cameron 病变被认为是 HH 继发贫血的原因,但在临床实践中发现,并非每一位 HH 继发贫血患者内镜下都发现 Cameron 病变,这可能由如下原因所致:(1) Cameron 病变会随着时间的改变愈合和复发,从而使内镜检查错过 Cameron 病变,69% 的 Cameron 病变在诊断之前曾接受过多次内镜检查^[14]。(2) Chun 等^[15]认为,内镜医生对 Cameron 病变的认识不够导致其相对罕见,并使其诊断困难。除 HH 贫血患者发现 Cameron 病变外,还有少部分非贫血患者也发现 Cameron 病变,这可能是因为 Cameron 病变导致 HH 继发贫血是一个缓慢渐进的过程。

本组 40 例中手术治疗 21 例,药物(质子泵抑制剂+铁剂)治疗 18 例,2 组在贫血治愈、临床症状缓解及并发症方面比较差异无统计学意义,这与 Camus 等^[16]报道一致。目前,HH 继发贫血推荐个体化治疗,可先行药物治疗,如药物无法改善贫血,可行手术干预。对于因 Cameron 病变发生急性消化道出血的患者,根据病情选择输血和内镜下止血治疗,及时终止活动性出血病灶,从而降低死亡风险及缩短住院时间。

临床医生应加深对 HH 继发贫血临床和内镜特点的认识,患者主要以腹痛、腹胀、乏力等非特异性症状

就诊,应全面询问患者病史,评估患者病情;对于能耐受内镜检查患者,尽量行内镜检查,内镜检查不仅能排除消化道肿瘤,而且可以发现 Cameron 病变;如患者不能行内镜检查,可用上消化道 X 线钡餐代替,有条件可选择较为安全的胶囊内镜检查^[17]。在排除肿瘤且未发现 Cameron 病变证据后,可以先行药物治疗观察,如果患者血红蛋白上升和大便隐血试验转阴,可以考虑 Cameron 病变导致隐性消化道出血可能。对于以胸闷、胸痛为表现的患者,应在诊断心血管疾病的同时,询问患者有无消化道症状,重点排除 HH,避免误诊。

综上所述,HH 继发贫血的特点如下:(1)患者年龄较大,主要以消化道症状为主,少部分患者会以胸闷、胸痛起病;(2)以慢性隐性消化道失血为主,少部分患者会发生急性消化道出血;(3)HH 继发贫血患者 Cameron 病变发现率不足 50%,临床医生应提高对 Cameron 病变的认识,需与消化道肿瘤、冠心病等疾病相鉴别;(4)目前采用个体化治疗^[16],可先行药物治疗,如药物无法纠正贫血,可选择食管裂孔疝修复术。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

程书平:设计研究方案,实施研究过程,数据收集,分析整理,撰写论文;李明、田甜:数据收集,分析整理;谭诗云:提出研究思路,论文审核

参考文献

[1] Addo A, Broda A, Zahiri HR, et al. Resolution of anemia and improved quality of life following laparoscopic hiatal hernia repair[J]. *Surgical Endoscopy*, 2019. DOI: 10.1007/s00464-019-07054-9.

[2] Carrott PW, Hong J, Kuppusamy M, et al. Repair of giant paraesophageal hernias routinely produces improvement in respiratory function [J]. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2012, 143 (2): 398-404. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2011.10.025.

[3] Chevrollier GS, Brown AM, Keith SW, et al. Preoperative anemia: A common finding that predicts worse outcomes in patients undergoing primary hiatal hernia repair[J]. *Surgical Endoscopy*, 2019, 33(2): 535-542. DOI: 10.1007/s00464-018-6328-4.

[4] Cameron AJ, Higgins JA. Linear gastric erosion: A lesion associated with large diaphragmatic hernia and chronic blood loss anemia[J]. *Gastroenterology*, 1986, 91 (2): 338-342. DOI: 10.1016/0016-5085(86)90566-4.

[5] Maganty K, Smith RL. Cameron lesions: Unusual cause of gastrointestinal bleeding and anemia [J]. *Digestion*, 2008, 77(3-4): 214-217.

DOI: 10.1159/000144281.

[6] Raju GS, Gerson L, Das A, et al. American gastroenterological association (AGA) institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(5): 1694-1696. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008.

[7] Zullo A, Manta R, De Francesco V, et al. Cameron lesions: A still overlooked diagnosis. Case report and systematic review of literature [J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2018, 42(6): 604-609. DOI: 10.1016/j.clinre.2018.05.002.

[8] Gray DM, Kushnir V, Kalra G, et al. Cameron lesions in patients with hiatal hernias: Prevalence, presentation, and treatment outcome [J]. *Diseases of the Esophagus*, 2015, 28(5): 448-452. DOI: 10.1111/dote.12223.

[9] Siegal SR, Dolan JP, Hunter JG. Modern diagnosis and treatment of hiatal hernias [J]. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 2017, 402(8): 1145-1151. DOI: 10.1007/s00423-017-1606-5.

[10] Yu HX, Han CS, Xue JR, et al. Esophageal hiatal hernia: Risk, diagnosis and management [J]. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2018, 12(4): 319-329. DOI: 10.1080/17474124.2018.1441711.

[11] 克力木·阿不都热依木, 皮尔地瓦斯·麦提素甫, 艾克拜尔·艾力, 等. 腹腔镜手术治疗食管裂孔疝合并缺铁性贫血 26 例临床报告 [J]. *中华胃食管反流病电子杂志*, 2016, 3(3): 132-134. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6899.2016.03.008.

[12] 王卫卫, 王天红, 刘美霞, 等. 冠心病 PCI 术后食管裂孔疝误诊 1 例 [J]. *疑难病杂志*, 2013, 12(12): 967-968. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2013.12.027.

[13] 翟英慧, 郝咏刚, 李海涛, 等. 食管裂孔疝误诊为冠心病 32 例 [J/OL]. *中华疝和腹壁外科杂志: 电子版*, 2014, 8(6): 504-506. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-392X.2014.06.005.

[14] Maganty K, Smith RL. Cameron lesions: Unusual cause of gastrointestinal bleeding and anemia [J]. *Digestion*, 2008, 77(3-4): 214-217. DOI: 10.1159/000144281.

[15] Chun CL, Conti CA, Triadafilopoulos G. Cameron ulcers: You will find only what you seek [J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2011, 56(12): 3450-3452. DOI: 10.1007/s10620-011-1803-y.

[16] Camus M, Jensen DM, Ohning GV, et al. Severe upper gastrointestinal hemorrhage from linear gastric ulcers in large hiatal hernias: A large prospective case series of Cameron ulcers [J]. *Endoscopy*, 2013, 45(5): 397-400. DOI: 10.1055/s-0032-1326294.

[17] 刘雁冰, 蔡玲燕, 孙燕, 等. 胶囊内镜在 325 例疑似小肠疾病中的诊断价值 [J]. *疑难病杂志*, 2016, 15(10): 1032-1035. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2016.10.011.

(收稿日期: 2019-12-16)

静脉麻醉复合右美托咪定对冠状动脉搭桥术患者心肝肾的保护作用

王立峰, 柳磊, 张秀宁, 赵楠, 王秀丽

作者单位: 050051 石家庄, 河北医科大学第三医院麻醉科(王立峰、张秀宁、赵楠、王秀丽), 心外科(柳磊)

通信作者: 王立峰, E-mail: 7145668q@163.com

【摘要】目的 观察静脉麻醉复合右美托咪定对体外循环下行冠状动脉搭桥术患者围手术期心肝肾的保护作用。**方法** 选择 2016 年 6 月—2017 年 6 月河北医科大学第三医院心外科行体外循环下行冠状动脉搭桥术冠心病患者 90 例, 随机数字表法分为对照组(C 组)和盐酸右美托咪定组(D 组), 每组 45 例。2 组均予全凭静脉麻醉及常规体外循环下行冠状动脉搭桥术。而 D 组在切皮前 30 min 静脉泵注右美托咪定。记录患者在给药前即刻(T0)、给药后 10 min(T1)、30 min(T2)、1 h(T3)、3 h(T4)、6 h(T5)的收缩压(SBP)、舒张压(DBP)和心率(HR)变化, 术前及术后 8 h、12 h、24 h、48 h、72 h 检测心肌肌钙蛋白(cTnI)和血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)心肌损伤标志物含量, 术前 24 h 和术后 24 h 血清炎症因子水平[高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)和中性粒细胞计数(ANC)]; 术前和术后 1 个月检测左心室射血分数(LVEF)及室壁运动计分指数(WMSI)等心功能指标; 记录术前和术后 24 h 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)、胱抑素 C(CysC)等肾功能指标的变化。**结果** 与 C 组比较, D 组患者的收缩压和舒张压及心率均明显下降($F/P = 7.125/0.029, 7.620/0.020, 6.340/0.034$); D 组患者心肌损伤标志物 cTnI、CK-MB 明显降低($F/P = 10.037/0.000, 8.310/0.047$), 而心功能指标 LVEF、WMSI 明显改善($t/P = 20.091/ <0.001, 4.930/ <0.001$)。D 组术后肾功能较 C 组有所改善($t/P = 7.495/ <0.001, 10.430/ <0.001, 4.939/ <0.001$), hs-CRP、ANC 等炎症相关因子较 C 组降低($t/P = 30.855/ <0.001, 11.385/ <0.001$), 机械通气时间短于 C 组($t/P = 6.882/ <0.001$), 术后 Ramsay 镇静评分明显高于 C 组($U/P = 5.674/0.001$)。**结论** 右美托咪定能够降低炎症反应, 减少心肾功能损伤, 改善焦虑情绪, 可安全有效地应用于冠状动脉搭桥术患者。

【关键词】 盐酸右美托咪定; 冠状动脉搭桥术; 心肌保护

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.010

Protective effect of intravenous anesthesia combined with dexmedetomidine on heart, liver and kidney in patients undergoing coronary artery bypass grafting Wang Lifeng*, Liu Lei, Zhang Xiuning, Zhao Nan, Wang Xiuli. * Department of Anesthesiology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Wang Lifeng, E-mail: 7145668q@163.com

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of intravenous anesthesia combined with dexmedetomidine on heart, liver and kidney in patients undergoing coronary artery bypass grafting. **Methods** From June 2016 to June 2017, the Third Hospital of Hebei Medical University Department of anesthesia for coronary heart disease in off-pump coronary artery bypass grafting anesthesia in 90 patients as the research object, randomly divided into control group (group C) and dexmedetomidine hydrochloride treatment group (group D), 2 groups were given conventional coronary artery bypass grafting, D group were treated with intravenous micro injection of dexmedetomidine. Recorded all patients' systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and heart rate (HR) before (T0) and after administration of 10 min (T1), 30 min (T2), 1 h (T3), 3 h (T4), 6 h (T5) preoperative and postoperative 8 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h of cardiac troponin I (cTnI) and serum creatine kinase isoenzyme (CK-MB) content, 24h before surgery and after surgery 24h the level of serum inflammatory factor [hypersensitive C reactive protein (hs-CRP) levels and neutrophil count (ANC)]; preoperative and postoperative 1 months were examined by echocardiography cardiac function; left ventricular ejection fraction (LVEF) and wall motion score index (WMSI) recorded before and during operation; after 24h of liver and kidney function changes of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), Cystatin C (CysC). **Results** Compared with group C, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and heart rate in group D decreased significantly

($F/P=7.125/0.029$, $7.620/0.020$, $6.340/0.034$); myocardial injury markers in group D were significantly lower than those in control group ($F/P=10.037/0.000$, $8.310/0.047$), while heart function indicators such as LVEF and WMSI were significantly higher ($t/P=20.091/<0.001$, $4.930/<0.001$). After operation, kidney function in group D were improved ($t/P=7.495/<0.001$, $10.430/<0.001$, $4.939/<0.001$), inflammatory related factors hs-CRP, ANC were decreased ($t/P=30.855/<0.001$, $11.385/<0.001$), mechanical ventilation time was significantly shorter than that in group C ($t/P=6.882/<0.001$). Rasay sedation score in group D was significantly higher than that in group C ($U/P=5.674/0.001$). **Conclusion** Dexmedetomidine can reduce inflammation, reduce heart and kidney function damage, improve anxiety, and can be safely and effectively used in patients undergoing coronary artery bypass grafting.

【Key words】 Dexmedetomidine; Coronary artery bypass grafting; Myocardial preservation

冠心病是威胁人类健康的主要疾病之一,随着经济的快速发展,人民生活水平的提高,冠心病的发病率呈逐年上升趋势。目前治疗冠心病的方法主要是冠状动脉旁路移植手术(coronary artery bypass grafting CABG),其能够有效改善心肌缺血,促进缺血区域的血运重建,提高再灌注效率。但心脏手术过程中可因体外循环技术或者手术创伤应激等原因,引起机体全身炎性反应综合征,体内炎性介质爆发激活中性粒细胞,介导多种炎性介质释放,致使心肌抑制、毛细血管渗漏、缺血一再灌注损伤等多脏器损伤^[1]。冠状动脉旁路移植围手术期患者死亡原因主要与多脏器功能衰竭有关^[2],因此减轻围术期多脏器功能的损伤能够极大地降低手术并发症及不良预后,降低临床病死率^[3]。右美托咪定(DEX)是选择性 α^2 肾上腺素能受体激动剂,具有镇静、镇痛的作用,并广泛应用于临床^[4]。近年来,在多种动物缺血/再灌注模型中,DEX已被证实可减轻脏器的缺血一再灌注损伤,具有多重器官保护作用^[5],而对于体外循环下行冠状动脉搭桥术冠心病患者的多脏器功能保护作用鲜有报道。本研究旨在观察静脉麻醉复合右美托咪定对体外循环下行冠状动脉搭桥术患者围手术期脏器功能的保护作用,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2016年6月—2017年6月河北医科大学第三医院心外科行冠心病体外循环冠状动脉搭桥术患者90例作为研究对象,均符合美国ASA分级II~III级,患者无急性心肌梗死史,近期无心力衰竭、心律失常史,无心脏手术史,无明显肝肾功能异常。采用随机数字表法分为2组,每组45例。右美托咪定组(D组)男22例,女23例,年龄55~70(63.2 ± 6.8)岁;BMI 24~29(27.2 ± 1.8) kg/m^2 ;合并症,高血压26例,糖尿病10例,COPD/哮喘2例。对照组(C组)男26例,女19例,年龄55~69(63.3 ± 7.1)岁;BMI 23~29(26.5 ± 1.9) kg/m^2 ;合并症,高血压27例,糖尿病8例,COPD/哮喘4例。2组患者性别、年龄、BMI及合

并症等基线资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究均符合法定的医学伦理学要求,所有患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 麻醉方法 术前患者均禁食水6~8h,麻醉前30min肌内注射吗啡0.2mg/kg和东莨菪碱0.3mg。入室后开放外周静脉,面罩吸氧2L/min,并监测ECG、 SpO_2 ,2%利多卡因局部麻醉后行左桡动脉和右颈内静脉穿刺置管术,并分别行有创动脉压及中心静脉压监测。麻醉诱导:羟乙基淀粉130/0.9氯化钠注射液静脉滴注予以补液,舒芬太尼0.8~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、罗库溴铵0.6~0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 依次静脉注射,以患者意识、睫毛反射消失,呼唤患者无睁眼反应,且肌松满意后行气管内插管和机械通气,维持 $\text{P}_{\text{ET}}\text{CO}_2$ 在35~40mmHg。麻醉维持:术中调整丙泊酚、舒芬太尼和顺势阿曲库铵用量,维持镇静、镇痛和肌松。体外循环(CPB)期间鼻咽温降至30 $^{\circ}\text{C}$ ~32 $^{\circ}\text{C}$,维持红细胞压积(Hct)20%~25%,血pH7.3~7.4, PaCO_2 35~45mmHg;术毕复温速率0.20~0.25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 。D组常规麻醉诱导,于手术开始前30min以右美托咪定(江苏恒瑞医药股份有限公司)0.3~0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 速度静脉泵注,30min内注完,再以0.2~0.3 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 微量注射泵持续泵入直到手术结束。

1.3 观察指标与方法 (1)BP、HR及HR:予右美托咪定静脉泵注前(T0)及用药后10min(T1)、30min(T2)、1h(T3)、3h(T4)、6h(T5)时间点监测并记录2组患者的收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、心率(HR);(2)心肌标志物:采用心肌标志物检测仪(博适公司, Triage型)分别于术前,术后8h、24h、48h、72h取静脉血0.5ml离心后取血清,采用ELISA法检测心肌肌钙蛋白I(cTnI)、肌酸激酶(CK-MB);(3)心功能:采用超声(mindray公司,UMT-500型)于术前、术后1个月测定左心室射血分数(LVEF)、室壁运动指数(WMSI);(4)肝肾功能^[6]:于术前、术后24h测定ALT、AST,肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、胱抑素C(Cys-C);(5)炎性指标:高敏C反应蛋白(hs-CRP)、中性粒细胞

计数(ANC);(6)机械通气时间和拔管时间;(7)镇静评分^[7];采用 Ramsay 镇静评分评价患者术后 6 h 内的镇静情况。1 级,患者焦虑、不安或烦躁;2 级,患者合作、定向力良好或安静;3 级,患者仅对命令有反应;4 级,患者对轻叩眉间或强声刺激反应敏捷;5 级,患者对轻叩眉间或者强声刺激反应迟钝;6 级,患者对轻叩眉间或者强声刺激无任何反应。Ramsay 评分 2、3 级说明患者充分镇静。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件对数据统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用两独立样本 *t* 检验,组内多时点比较采用 *F* 检验;不符合正态分布的计量资料以中位数和四分位间距表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 秩和检验。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 BP 和 HR 比较 与 T0 比较,用药后 D 组 SBP、DBP 和 HR 均下降,而 C 组上升,在不同时间点 D 组均低于 C 组 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 2 组不同时间点 SBP、DBP 和 HR 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	HR(次/min)
C 组 (n=45)	T0	132.9 ± 31.3	65.4 ± 17.6	74.6 ± 25.5
	T1	149.5 ± 29.7	75.1 ± 18.3	82.6 ± 24.1
	T2	154.3 ± 27.3	78.4 ± 16.8	85.0 ± 24.2
	T3	157.3 ± 35.3	86.4 ± 17.5	86.6 ± 25.5
	T4	160.1 ± 35.6	86.8 ± 17.7	85.6 ± 24.4
D 组 (n=45)	T0	136.3 ± 32.8	67.3 ± 18.6	75.4 ± 24.6
	T1	134.5 ± 30.5	64.7 ± 17.6	69.4 ± 23.3
	T2	130.9 ± 30.3	61.0 ± 17.3	62.8 ± 24.7
	T3	122.1 ± 29.4	61.2 ± 16.2	65.9 ± 25.0
	T4	127.9 ± 28.8	64.5 ± 16.5	65.1 ± 24.7
	T5	130.6 ± 28.4	63.9 ± 16.8	66.9 ± 24.3
F/P C 组内值		6.005/0.002	5.140/0.009	5.420/0.008
F/P D 组内值		9.204/0.000	4.987/0.014	9.019/0.000
F/P 治疗后组间值		7.125/0.029	7.620/0.020	6.340/0.034

2.2 2 组血清 cTnI 和 CK-MB 水平比较 术前 2 组血清 cTnI、CK-MB 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),术后 T1(8 h) 2 组均升高,之后随着时间的变化逐渐降低,且 D 组下降程度较 C 组更明显 ($P < 0.05$),见表 2。

2.3 2 组 LVEF 和 WMSI 比较 术前 2 组心功能比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);术后 1 个月 D 组患者 LVEF 高于 C 组 ($P < 0.01$),WMSI 指数低于 C 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),见表 3。

表 2 2 组患者不同时间点 cTnI、CK-MB 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	cTnI(ng/ml)	CK-MB(U/L)
C 组 (n=45)	术前	1.3 ± 0.9	46.5 ± 4.7
	术后 8 h	3.4 ± 2.0	128.4 ± 20.8
	术后 24 h	2.4 ± 1.2	110.5 ± 18.9
	术后 48 h	1.9 ± 0.9	47.3 ± 14.8
	术后 72 h	0.9 ± 0.4	21.6 ± 12.7
D 组 (n=45)	术前	1.2 ± 0.8	45.7 ± 3.6
	术后 8 h	2.8 ± 1.8	118.6 ± 20.7
	术后 24 h	1.9 ± 1.3	69.5 ± 18.1
	术后 48 h	1.0 ± 0.8	30.2 ± 15.5
	术后 72 h	0.7 ± 0.4	19.9 ± 8.1
F/P C 组内值		7.010/0.028	6.820/0.034
F/P D 组内值		12.071/0.000	6.017/0.000
F/P 治疗后组间值		10.037/0.000	8.310/0.047

表 3 2 组患者术前和术后 1 月 LVEF、WMSI 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	LVEF(%)	WMSI
C 组 (n=45)	术前	55.79 ± 2.12	1.77 ± 0.24
	术后 1 月	58.03 ± 2.42	1.53 ± 0.35
D 组 (n=45)	术前	56.27 ± 1.79	1.75 ± 0.42
	术后 1 月	68.69 ± 2.61	1.23 ± 0.21
t/P C 组内值		4.671/ <0.001	3.794/ <0.001
t/P D 组内值		26.325/ <0.001	7.429/ <0.001
t/P 治疗后组间值		20.091/ <0.001	4.930/ <0.001

2.4 2 组肝肾功能比较 术前 2 组患者肝肾功能均良好 ($P > 0.05$),术后 24 h C 组无异常变化 ($P > 0.05$);D 组肝肾功能无异常变化 ($P > 0.05$),但肾功能改善 ($P < 0.01$),且 D 组各时段肾功能与 C 组比较均有所改善 ($P < 0.05$),见表 4。

2.5 2 组血清 hs-CRP、ANC 比较 2 组术前血清 hs-CRP 和 ANC 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);术后 24 h 时 2 组均升高,且 C 组升高幅度大于 D 组 ($P < 0.01$),见表 5。

表 5 2 组术后 24 h 血清 hs-CRP、ANC 变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	hs-CRP(mg/L)	ANC($\times 10^9/L$)
C 组 (n=45)	术前	4.90 ± 1.30	5.21 ± 0.67
	术后 24 h	9.50 ± 0.40	10.77 ± 1.67
D 组 (n=45)	术前	5.01 ± 0.70	5.34 ± 0.67
	术后 24 h	5.90 ± 1.31	7.28 ± 1.20
t/P C 组内值		22.687/ <0.001	20.728/ <0.001
t/P D 组内值		8.175/ <0.001	9.469/ <0.001
t/P 治疗后组间值		30.855/ <0.001	11.385/ <0.001

表 4 2 组患者术前和术后 24 h 肝肾功能主要指标变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	ALT(U/L)	AST(U/L)	Scr(mol/L)	BUN(mmol/L)	CysC(mg/L)
C 组 (n=45)	术前	24.90 ± 5.72	17.60 ± 4.40	88.90 ± 10.10	4.60 ± 0.81	0.82 ± 0.21
	术后 24 h	24.31 ± 5.01	18.40 ± 5.20	89.22 ± 9.70	5.42 ± 0.90	0.85 ± 0.13
D 组 (n=45)	术前	23.01 ± 6.20	18.51 ± 4.31	89.31 ± 10.80	5.12 ± 0.60	0.86 ± 0.14
	术后 24 h	24.60 ± 5.41	18.30 ± 4.61	74.81 ± 8.50	3.42 ± 0.50	0.63 ± 0.15
t/P C 组内值		0.521/0.604	0.788/0.433	0.153/0.879	1.773/0.080	0.815/0.417
t/P D 组内值		1.296/0.198	0.223/0.824	7.077/ <0.001	14.601/ <0.001	7.520/ <0.001
t/P 治疗后组间值		0.264/0.792	0.097/0.923	7.495/ <0.001	10.430/ <0.001	4.939/ <0.001

2.6 2 组机械通气时间比较 D 组患者机械通气时间为(264.23 ± 39.80)min 明显短于 C 组(320.12 ± 37.20) min($t=6.882, P<0.001$)。

2.7 2 组 Ramsay 镇静评分 D 组术后 6 h 内总体 RASS 评分[中位数(最小值~最大值)]为 3(1~3)分高于对照组 2(1~3)分($U=5.674, P=0.001$)。

3 讨论

冠心病严重威胁了人类的健康,冠状动脉搭桥术治疗可以有效缓解患者临床症状^[8],改善心肌缺血,促进血运重建,避免出现更多的梗死面积,维持心脏泵功能的稳定^[9]。围手术期患者手术刺激、交感神经兴奋性增加、氧化应激炎症反应等增强,均增加了患者心脏负荷,进而增加了患者围手术期心力衰竭及肾衰竭的风险^[10-11]。体外循环冠状动脉搭桥术的开展经过了几十年的发展,其技术已经相当成熟,该治疗方案尽管给很多患者带来了高质量的生活,但是仍存在一定的缺陷,如体外循环会对患者的心、肾、脑等器官造成不同程度的损伤。因此,寻找冠心病患者最优质的治疗方案是临床医生一直努力的方向。

右美托咪定(DEX)是选择性 α_2 肾上腺素能受体激动剂,具有镇静、镇痛的作用,但能否安全有效地应用于冠状动脉旁路移植术患者尚不清楚^[12-14]。cTnI 是一种心肌收缩调节蛋白,仅存在于心肌细胞,具有高度的组织特异性,心肌细胞损伤或坏死时,cTnI 大量释放入血,判断心肌细胞损伤具有更高的敏感度和特异性。血浆中的 CK-MB 主要来自心肌,是诊断急性心肌梗死最有价值的酶学生化指标。hs-CRP 与 ANC 属于人体抵抗病原体时参与急性时相反应的重要物质,也是临床上应用较为广泛的反映机体感染严重程度的指标之一。本研究结果显示,冠状动脉旁路移植术中使用右美托咪定能减少炎症因子的释放,减轻心肌组织的损伤,达到心肌保护作用。LVEF 和 WMSI 均是评价心脏收缩与舒张功能的重要指标。本研究结果显示应用右美托咪定后心功能指标 LVEF、WMSI 明显得到改善,心功能恢复情况较 C 组明显。ALT、AST、Scr、

BUN 与 CysC 均是临床评价肝肾功能的指标,本研究结果显示,应用右美托咪定后患者肝肾功能指标有明显的改善。

综上所述,右美托咪定能够降低炎症反应,减少心肝肾功能损伤,改善焦虑情绪,可安全有效地应用于冠状动脉旁路移植术患者。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王立峰:设计研究方案,论文撰写;柳磊:提供研究思路;张秀宁:实施研究过程;赵楠:分析实验数据;王秀丽:课题设计,论文修改

参考文献

- [1] 魏红芳,陈永学,李书河,等.右美托咪定对急性颅脑损伤患者围手术期炎症反应的影响[J].中华麻醉学杂志,2012,32(10):1249-1251. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2012.10.025.
- [2] Leino K, Hynynen M, Jalonen J, et al. Renal effects of dexmedetomidine during coronary artery bypass surgery: a randomized placebo-controlled study[J]. BMC Anesthesiol, 2011, 11(4):75-79. DOI: 10.1186/1471-2253-11-9.
- [3] 中华医学会麻醉学分会.右美托咪定临床应用指导意见[J].中华医学,2013,93(35):2775-2778. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2013.35.003.
- [4] 姜晓东,于昕冉,于健. ICU 围术期机械通气患者应用右美托咪定镇静效果观察[J].中国现代药物应用,2018,12(20):80-82. DOI:10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2018.20.045.
- [5] Sun R, Wang S, Li S, et al. Effects of dexmedetomidine on delirium and mortality during sedation in ICU patients: A systematic review and meta-analysis protocol[J]. BMJ Open, 2019, 9(4):e025850. DOI:10.1136/bmjopen-2018-025850.
- [6] 李世杰.探讨右美托咪定对腹腔镜胆囊切除术患者应激反应及肝肾功能的影响[J].北方医学,2015,12(11):57.
- [7] 李晓松,刘海涛,任建军,等.右美托咪定对心肺转流心内直视手术患儿血流动力学及应激反应的影响[J].临床麻醉学杂志,2012,28(10):958-960.
- [8] Zhao J, Zhou C. The protective and hemodynamic effects of dexmedetomidine on hypertensive cerebral hemorrhage patients in the perioperative period[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(5):2903-2908. DOI:10.3892/etm.2016.3711.

微球经肝动脉化疗栓塞术对不可切除乙型肝炎性肝癌患者的疗效分析

刘亮, 范敬静, 张超

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目(20180827); 张家口市科学技术研究与发展计划项目(1821154H)

作者单位: 075000 张家口, 河北北方学院附属第一医院介入科

【摘要】目的 探讨微球经肝动脉化疗栓塞术对不可切除乙型肝炎性肝癌患者的疗效。**方法** 收集 2016 年 11 月—2017 年 11 月河北北方学院附属第一医院消化科收治的乙型肝炎性肝癌患者 100 例, 按随机数字表法分为观察组和对照组, 每组 50 例。对照组患者给予常规经肝动脉化疗栓塞术治疗; 观察组给予微球经肝动脉化疗栓塞术治疗。比较 2 组近期临床疗效、肿瘤标志物(AFP、AFP-L3 和 CA199)水平、生存质量评分和远期临床疗效的情况。**结果** 治疗后, 2 组患者近期临床疗效、肿瘤标志物(AFP、AFP-L3 和 CA199)、生存质量评分和远期临床疗效均改善, 且观察组近期临床疗效明显高于对照组(58.00% vs. 26.00%, $\chi^2/P = 10.509/0.001$), 观察组患者肿瘤标志物水平明显低于对照组($t/P = 17.413/0.000, 29.467/0.000, 17.429/0.000$), 观察组生存质量评分显著高于对照组($t/P = 5.227/0.000$), 观察组患者 6 个月、12 个月、24 个月的生存率均显著高于对照组($\chi^2 = 4.336/0.037, 3.934/0.047, 4.058/0.044$)。**结论** 微球经肝动脉化疗栓塞术对不可切除乙型肝炎性肝癌患者的治疗效果显著, 安全性高。

【关键词】 微球; 肝动脉化疗栓塞术; 肝癌, 乙型肝炎性; 疗效

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.011

Microsphere transcatheter arterial chemoembolization for unresectable hepatitis B liver cancer Liu Liang, Fan Jingjing, Zhang Chao. Department of Intervention, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Province, Zhangjiakou 075000, China

Funding program: Key Research Project of Medical Science in Hebei Province (20180827); Research and Development Project of Science and Technology in Zhangjiakou City (1821154h)

【Abstract】 Objective To explore the effect of microsphere chemoembolization via hepatic artery in the treatment of unresectable hepatitis B liver cancer. **Methods** From November 2016 to November 2017, 100 patients with hepatitis B liver cancer were collected from the Digestive Department of the First Affiliated Hospital of Hebei North University. According to the method of random number table, 50 cases in each group were divided into observation group and control group. The patients in the control group were treated with conventional transcatheter arterial chemoembolization. The observation group was treated with microsphere chemoembolization via hepatic artery. The short-term clinical efficacy, tumor markers (AFP, AFP-L3 and CA199), quality of life score and long-term clinical efficacy of the two groups were compared. **Results** After treatment, the short-term clinical efficacy, tumor markers (AFP, AFP-L3 and CA199), quality of life score and long-term clinical efficacy of the two groups were improved, and the short-term clinical efficacy of the observation group was significantly higher than that of the control group (58.00% vs. 26.00%, $\chi^2/P = 10.509/0.001$) The level of tumor markers in the observation group was significantly lower than that in the control group ($t/P = 17.413/0.000, 29.467/0.000, 17.429/0.000$). The quality of life score in the observation group was significantly higher than that in the control group ($t/P = 5.227/0.000$). The survival rate of the observation group at 6, 12 and 24 months was significantly higher than that in the control group ($\chi^2/P = 4.336/0.037, 3.934/0.047, 4.058/0.044$). **Conclusion** Microsphere chemoembolization via hepatic artery has a significant effect and high safety in the treatment of unresectable hepatitis B liver cancer.

【Key words】 Microsphere; Transcatheter arterial chemoembolization; Liver cancer; Hepatitis B; Efficacy

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是临床上发病率和病死率较高的恶性肿瘤, 尤其我国的肝癌患

者人数居世界首位^[1-4]。此外, 我国高达 70% ~ 80% 的肝癌为乙型病毒性肝炎持续感染引起。大部分患者

发病早期并无典型的临床症状,被发现时已为中晚期,因此手术治疗后生存期不超过 6 个月,生存率较低^[5-7]。而对于无法手术治疗的患者,一般选择肝动脉栓塞化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)的方法,将化疗药物置入肿瘤的供血血管,从而阻断血流,控制肿瘤的生长,减少肿瘤的复发和转移,延长肝癌患者的生存期^[8-10]。随着置入肿瘤的栓塞材料不断发展和优化,加载化疗药物的载药微球栓塞剂成为当前常用的栓塞剂,其具有将所载药物缓释到病变部位并永久性栓塞肿瘤血管的优势^[11-12]。既往研究表明,微球联合肝动脉化疗栓塞术在不增加不良反应的前提下,可以提升栓塞效果和肝癌的治疗疗效^[13-14]。然而,微球联合肝动脉化疗栓塞术在不可切除乙型肝炎性肝癌的治疗有效性未见相关报道。因此,本研究探讨微球联合肝动脉化疗栓塞术治疗不可切除乙型肝炎性肝癌的临床疗效,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2016 年 11 月—2017 年 11 月河北北方学院附属第一医院消化科收治的乙型肝炎性肝癌患者 100 例,并记录患者的年龄、体质量指数(BMI)、肿瘤直径、肝硬化状态和肝功能 Child-Pugh 分级。按随机数字表法将其分为观察组和对照组,每组 50 例。2 组患者在性别、年龄、BMI、肿瘤直径、肝硬化状态和肝功能 Child-Pugh 分级方面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,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

1.2.1 纳入标准:(1)符合“原发性肝癌诊疗规范”的临床诊断标准,经临床影像学 and 病理学确诊为乙型肝炎相关性原发性肝癌^[15],且失去手术机会的患者;(2)符合 TACE 的适应证,并为首次进行 TACE 介入治疗的患者;(3)凝血机制和心、肺、肾功能基本正常的患者;(4)未使用手术切除、抗肿瘤及靶向药物治疗的患者;(5)意识清楚,生命体征较为稳定,同意并服从安排的患者。

1.2.2 排除标准:(1)原因不明导致的肝癌;(2)排除甲型肝炎、丙型肝炎和戊型肝炎感染的患者;(3)既往接受放疗和化疗的患者;(4)合并严重的感染,其他恶性肿瘤,心、肺、肾疾病,血液系统疾病和严重的精神疾病患者;(5)依从性较差不能配合完成研究的患者。

1.3 治疗方法 所有患者均接受 TACE 治疗。手术前需要禁食 6 h,然后用 2% 利多卡因进行局部麻醉,采用改良 Seldinger 技术行右股动脉穿刺并插管,行肝动脉造影,以了解肿瘤位置和主要的供血动脉,行超选择插管至肿瘤供血动脉。所有患者灌注化疗药物 5-氟尿嘧啶 750 ~ 1 000 mg,再将超液态碘化油 6 ~ 35 ml 与表柔比星 40 ~ 60 mg 混合为栓塞剂,并尽量使所需栓塞的血管达到完全充填,血流停止时即停止栓塞。对照组按以上方法进行治疗,观察组则在上述基础上根据血管直径的大小选择 1 ~ 2 ml 相应的微球(Emboshphere, 40 ~ 500 μ m, Biosphere medical S. A.)注入肿瘤部位,2 组患者 TACE 术后拔管并对穿刺点进行压迫,嘱患者平卧 8 ~ 12 h。每 1 ~ 2 周进行 1 次化疗,共 2 ~ 3 次。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 近期临床疗效评价:于治疗前后,通过增强 CT 对患者肿瘤目标病灶进行观察,参照“实体瘤治疗疗效评价标准”^[14]。并将疗效分为 4 个等级:(1)完全缓解,所有目标病灶完全消失;(2)部分缓解,病灶最大直径缩小 $\geq 50%$;(3)稳定,病灶最大直径缩小 25% ~ $< 50%$;(4)进展,病灶最大直径增加 $> 25%$,或有新的病灶形成。总有效率 = (完全缓解 + 部分缓解) / 总例数 $\times 100%$ 。

1.4.2 血清 AFP、AFP-L3、CA199 水平检测:患者入院时及在治疗结束后,在清晨空腹抽取 2 ml 静脉血,室温静置 20 min 使其凝固,然后以 2 800 r/min 离心 20 min,以分离血清。利用南京森贝伽生物科技有限公司的试剂盒检测甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、甲胎蛋白异质体(alpha-fetoprotein isoforms, AFP-L3)、大分子糖蛋白抗原 199(carbohydrate antigen 199, CA 199),然后用 ELx800 全自动酶标仪检测。AFP >

表 1 2 组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别[例(%)]		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	肿瘤直径(cm)	肝硬化状态[例(%)]		Child-Pugh 分级[例(%)]	
		男	女				存在	不存在	A 级	B 级
对照组	50	29(58.00)	21(42.00)	53.32 \pm 3.52	22.02 \pm 2.24	4.35 \pm 0.54	18(36.00)	32(64.00)	23(46.00)	27(54.00)
观察组	50	27(54.00)	23(46.00)	52.83 \pm 4.89	22.45 \pm 2.13	4.27 \pm 0.55	16(32.00)	34(68.00)	24(48.00)	26(52.00)
$\nu\chi^2$ 值		0.162		0.575	-0.984	0.734	0.178		0.040	
P 值		0.687		0.567	0.328	0.465	0.673		0.841	

20 $\mu\text{g/L}$ 为阳性; AFP-L3 $>6.5 \mu\text{g/L}$ 为阳性, 并计算 AFP-L3/AFP 比例。

1.4.3 生存质量评估: 利用健康状况调查量表 (SF-36) 评定患者的生活质量^[15], 包括评估患者的身体功能、身体角色、社交功能、角色情绪和精神健康等 8 项内容, 共 36 个条目, 每个条目得分 1~5 分, 所有条目得分之和/1.8 即为标准总分, 标准总分为 100 分, 其得分分值越高, 说明其生存质量越好。

1.4.4 远期疗效评价: 全部患者随访时间为 2 年, 若患者于 2 年内死亡即停止随访, 并于 6 个月、12 个月和 24 个月时以门诊复查、电话和邮件的形式随访。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料采用频数或率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组近期临床疗效比较 观察组总有效率为 58.00%, 明显高于对照组的 26.00%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 10.509, P < 0.01$)。见表 2。

2.2 2 组治疗前后肿瘤标志物水平比较 治疗前 2 组患者肿瘤标志物 (AFP、AFP-L3/AFP 和 CA199) 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后 2 组肿瘤标志物水平较治疗前显著降低 ($P < 0.01$), 且观察组肿瘤标志物水平明显低于对照组 ($P < 0.01$), 见表 3。

2.3 2 组生存质量评分比较 治疗前 2 组患者生存质量评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后, 2 组生存质量评分均升高 ($P < 0.01$), 且观察组生存质量评分明显高于对照组 ($P < 0.01$), 见表 4。

2.4 2 组患者远期生存率比较 随访至 2019 年 11 月, 观察组 6 个月、12 个月、24 个月的生存率显著高于对照组 ($P < 0.05$), 见表 5。

表 4 2 组患者治疗前后生存质量评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	例数	治疗前	治疗后	t 值	P 值
对照组	50	43.25 \pm 4.35	47.39 \pm 5.02	4.407	0.000
观察组	50	43.01 \pm 5.31	51.88 \pm 3.42	9.930	0.000
t 值		0.247	5.227		
P 值		0.805	0.000		

表 5 2 组患者远期生存率比较 [例(%)]

组别	例数	6 个月	12 个月	24 个月
对照组	50	37(74.00)	31(62.00)	23(46.00)
观察组	50	45(90.00)	40(80.00)	33(66.00)
χ^2 值		4.336	3.934	4.058
P 值		0.037	0.047	0.044

3 讨论

恶性肿瘤为当前危害人类健康最严重疾病之一, 原发性肝癌为癌症导致死亡的第三大原因, 其具有恶性程度高、进展快、转移性强、预后较差且复发率高的疾病特点^[16-17]。其中乙型肝炎相关性原发性肝癌在我国所占比例较高^[18]。因此针对乙型肝炎相关性原发性肝癌亟需选择合适的治疗方法进行干预, 虽然临床上针对肝癌的治疗方式较多, 然而手术治疗仍是治疗原发性肝癌的主要手段^[19]。对于乙型肝炎相关性原发性肝癌, 因早期症状隐匿, 发现时已为中晚期, 进行手术的风险较大, 同时手术的切除率较低^[20-21]。因此 TACE 被认为是除手术外肝癌首选的治疗方法, 且以往研究证明, TACE 在原发性肝癌的治疗中疗效确

表 2 2 组患者治疗后近期临床疗效比较 [例(%)]

组别	例数	完全缓解	部分缓解	稳定	进展	总有效率 (%)
对照组	50	1(2.00)	12(24.00)	19(38.00)	18(36.00)	26.00
观察组	50	7(14.00)	22(44.00)	15(30.00)	6(12.00)	58.00

表 3 2 组患者治疗前后肿瘤标志物水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	AFP ($\mu\text{g/L}$)	AFP-L3/AFP (%)	CA199 (U/ml)
对照组 ($n=50$)	治疗前	165.31 \pm 15.18	17.13 \pm 1.78	678.29 \pm 64.34
	治疗后	140.55 \pm 14.37	14.11 \pm 1.45	295.39 \pm 33.55
观察组 ($n=50$)	治疗前	166.23 \pm 13.37	17.36 \pm 1.81	681.18 \pm 56.16
	治疗后	98.21 \pm 9.44	7.02 \pm 0.89	197.07 \pm 21.31
t/P 对照组内值		5.486/0.000	4.366/0.002	12.585/0.000
t/P 观察组内值		9.757/0.000	11.485/0.000	18.485/0.000
t/P 疗后组间值		17.413/0.000	29.467/0.000	17.429/0.000

切,而常规的 TACE 治疗中所使用的栓塞剂为碘油和化疗药物的混合剂,一定程度上可导致治疗肝癌的化疗药物发生沉积,同时会进入血液循环,因此可导致全身不良反应的发生^[22-24]。近年来将栓塞剂中的载药剂进行了优化,选择载药微球进行肿瘤的栓塞。本研究通过利用微球经肝动脉化疗栓塞术的治疗方式,观察其对患者的近期临床疗效、肿瘤标志物(AFP、AFP-L3/AFP 和 CA199)、生存质量和远期临床疗效的影响。并且通过研究发现,微球经肝动脉化疗栓塞术和常规的肝动脉化疗栓塞术均可以改善患者的近期临床疗效,降低患者的肿瘤标志物(AFP、AFP-L3/AFP 和 CA199)水平,提高患者的生存质量,以及提高 2 年内患者的生存率。

肝癌的血供与正常生理情况下有所不同,由肝动脉供应 90% ~ 100% 的血液,TACE 治疗肝癌即为针对肝癌血供特点而建立的治疗方法^[25]。既往研究证明,TACE 可有效改善症状、减轻患者痛苦、提高生命质量及延长生存期^[26]。然而 TACE 过程中使用的栓塞剂非常重要,因常用的碘油乳剂沉积使其不能达到令人满意的治疗效果,因此当下常选择可避免该作用的微球作为药物载体。栓塞微球是一种由丙烯酸与凝胶构成的永久性颗粒性栓塞剂,微球表面光滑,亲水性好,并且其毒性较小,微球可以使化疗药物在肝癌的肿瘤部位持续时间延长,且可保持较高的浓度,同时可避免药物沉积的问题,进而降低化疗药物的不良反应^[27-29]。

综上所述,微球 TACE 可以完成栓塞肝癌细胞及保护正常肝组织和肝细胞的目的,具有安全性和疗效显著的特点。因此,与常规的 TACE 比较,微球 TACE 可以显著改善患者的近期临床疗效,降低患者的肿瘤标志物(AFP、AFP-L3/AFP 和 CA199)水平,提高患者的生存质量,以及提高 2 年内患者的生存率。本研究确定微球 TACE 对于乙型肝炎相关性原发性肝癌的治疗疗效显著,不良反应小,具有一定的临床价值,值得临床推广。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘亮:提出研究方向、研究思路,实施研究过程,数据收集,分析整理,修订论文、论文终审;张超:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;范敬静:进行文献调研与整理,设计论文框架,撰写论文

参考文献

[1] Akinyemiju T, Abera S, Ahmed M, et al. The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level: Results from the Global Burden of Disease

Study 2015 [J]. *Jama Oncology*, 2017, 3 (12): 1683-1691. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.3055.

[2] Cong WM, Bu H, Chen J, et al. Practice guidelines for the pathological diagnosis of primary liver cancer: 2015 update [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22 (42): 9279-9287. DOI: 10.3748/wjg.v22.i42.9279.

[3] Valery PC, Laversanne M, Clark PJ, et al. Projections of primary liver cancer to 2030 in 30 countries worldwide [J]. *Hepatology*, 2018, 67 (2): 600-611. DOI: 10.1002/hep.29498.

[4] Al-Sarraf M, Go TS, Kithier K, et al. Proceedings: Primary liver cancer. A review of the clinical features, blood groups, serum enzymes, therapy, and survival of 65 cases [J]. *Cancer*, 2015, 33 (2): 574-582. DOI: 10.1002/1097-0142(197402)33:23.0.CO;2-A.

[5] Cheung KS, Seto WK, Wong DK, et al. Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein predicts liver cancer development in chronic hepatitis B patients under antiviral treatment [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (29): 47507-47517. DOI: 10.18632/oncotarget.17670.

[6] 王宇婷, 陈陶阳, 朱健, 等. 肝癌高发区人群新生儿乙型肝炎疫苗接种对肝癌的预防效果 [J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52 (4): 402-408. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2018.04.013.

[7] Chen TY, Qian GS, Fan CS, et al. Qidong hepatitis B virus infection cohort: A 25-year prospective study in high risk area of primary liver cancer [J]. *Hepatoma Research*, 2018, 4 (1): 4. DOI: 10.20517/2394-5079.2017.50.

[8] Wang Y, Deng T, Zeng L, et al. Efficacy and safety of radiofrequency ablation and transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis [J]. *Hepatology Research the Official Journal of the Japan Society of Hepatology*, 2016, 46 (1): 58-71. DOI: 10.1111/hepr.12568.

[9] Sun JH, Zhou TY, Zhang YL, et al. Efficacy of transcatheter arterial chemoembolization for liver metastases arising from pancreatic cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (24): 39746-39755. DOI: 10.18632/oncotarget.14642.

[10] Huang W, You L, Yang S, et al. Metronomic S-1 chemotherapy plus transcatheter arterial chemoembolization (TACE): A promising treatment of hepatocellular carcinoma refractory to TACE [J]. *Journal of Buon*, 2016, 21 (4): 909-916.

[11] Schicho A, Pereira PL, Pützl M, et al. Degradable starch microspheres transcatheter arterial chemoembolization (DSM-TACE) in intrahepatic cholangiocellular carcinoma (ICC): Results from a national multi-center study on safety and efficacy [J]. *Medical Science Monitor International Medical Journal of Experimental & Clinical Research*, 2017, 23 (12): 796-800. DOI: 10.12659/MSM.902901.

[12] Sandow TA, Arndt SE, Albar AA, et al. Assessment of response to transcatheter arterial chemoembolization with doxorubicin-eluting microspheres: Tumor biology and hepatocellular carcinoma recurrence in a 5-year transplant cohort [J]. *Radiology*, 2017, 286 (3): 170731. DOI: 10.1148/radiol.2017170731.

[13] Kennoki N, Hori S, Yuki T, et al. Transcatheter arterial chemoembolization with spherical embolic agent in patients with pulmonary or mediastinal metastases from breast cancer [J]. *Journal of Vascular &*

- Interventional Radiology Jvir, 2017, 28 (10) : 1386-1394. DOI: 10. 1016/j. jvir. 2017. 06. 003.
- [14] Hatanaka T, Arai H, Kakizaki S, et al. Balloon-occluded transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma [J]. World Journal of Hepatology, 2018, 10 (7) : 485-495. DOI: 10. 4254/wjh. v10. i7. 485.
- [15] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)摘要[J]. 中华肝脏病杂志, 2012, 20 (6) : 419-426. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1007-3418. 2012. 06. 007.
- [16] 刘双勇. 肝癌术后复发转移原因及治疗现状[J]. 疑难病杂志, 2018, 17 (3) : 311-314. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 03. 024.
- [17] Liu L, Liang J, Deng X. Effects of Aidi injection, with Western medical therapies on quality of life for patients with primary liver cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. Chin J Integr Med, 2019, 25 (10) : 785-790. DOI: 10. 1007/s11655-017-2426-8.
- [18] Qu CF, Duan ZP, Chen K, et al. Reducing liver cancer risk beginning at birth: Experiences of preventing chronic hepatitis B virus infection in China [J]. Hepatoma Research, 2017, 3 (10) : 228-240. DOI: 10. 20517/2394-5079. 2017. 41.
- [19] Bell R, Pandanaboyana S, Lodge JPA, et al. Primary liver resection for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma: The role of surgery in BCLC early (A) and intermediate stages (B) [J]. Langenbecks Archives of Surgery, 2017, 402 (4) : 575-583. DOI: 10. 1007/s00423-016-1475-3.
- [20] Zhou R. Application of TACE combined with PSE in the treatment of primary liver cancer and hypersplenism [J]. Journal Of Modern Oncology, 2015, 23 (8) : 1097-1099. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672 - 4992. 2015. 08. 21.
- [21] Ma MX, Sun XL, Guo YG, et al. Effect of TACE on liver function indexes in patients with primary liver cancer [J]. Journal of Hainan Medical University, 2017, 23 (12) : 1705-1708. DOI: 10. 13210/j. cnki. jhmu. 20170627. 008.
- [22] 赵鹏, 郑加生, 张洪海, 等. 肝动脉导管化疗栓塞联合 CT 引导精准微波消融治疗原发性肝癌的疗效及影响因素 [J]. 中华肿瘤杂志, 2016, 38 (2) : 138-145. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-3766. 2016. 02. 012.
- [23] 欧明瑞, 辛振, 崔培元. 载药微球在肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌中的临床价值 [J]. 包头医学院学报, 2018, 34 (6) : 20-22. DOI: 10. 16833/j. cnki. jbm. 2018. 06. 008.
- [24] 陈刚, 张鼎, 应亚草, 等. 国产载药微球经动脉化疗栓塞治疗不可切除原发性肝癌的临床研究 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2017, 46 (1) : 44-51. DOI: 10. 3785/j. issn. 1008-9292. 2017. 02. 02. 07.
- [25] Guo JH, Zhang HY, Gao S, et al. Hepatic artery infusion with raltitrexed or 5-fluorouracil for colorectal cancer liver metastasis [J]. World Journal of Gastroenterology, 2017, 23 (8) : 1406-1411. DOI: 10. 3748/wjg. v23. i8. 1406.
- [26] 李成业. TAE 和 TACE 治疗原发性肝癌的效果及对肝功能分级的影响 [J]. 检验医学与临床, 2019, 16 (18) : 63-66. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 18. 013.
- [27] 尹伟利, 连佳, 肖时湘, 等. 载药微球与传统碘化油经肝动脉化疗栓塞术治疗不可切除肝癌效果比较的 Meta 分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 12 (6) : 77-79. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5256. 2019. 06. 018.
- [28] 周素军. 药物缓释微球肝动脉化疗栓塞术治疗中晚期原发性肝癌的近期疗效及安全性分析 [J]. 武汉大学学报: 医学版, 2019, 40 (5) : 742-746. DOI: 10. 14188/j. 1671-8852. 2018. 1170.
- [29] 杨海南, 何明基, 周静文, 等. 栓塞治疗原发性肝癌中 2 种载药微球的疗效对比 [J]. 安徽医学, 2019, 40 (1) : 41-44. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-0399. 2019. 01. 012.

(收稿日期: 2019-12-13)

(上接 479 页)

- [9] Bajwa SJ, Kaur J, Kulshrestha A, et al. Nitroglycerine, esmolol and dexmedetomidine for induced hypotension during functional endoscopic sinus surgery: A comparative evaluation [J]. J Anaesthesiol Clin Pharmacol, 2016, 32 (2) : 192-197. DOI: 10. 4103/0970-9185. 173325.
- [10] Kitamura S, Takechi K, Nishihara T, et al. Effect of dexmedetomidine on intraocular pressure in patients undergoing robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy under total intravenous anesthesia: A randomized, double blinded placebo controlled clinical trial [J]. J Clin Anesth, 2018, 49 : 30-35. DOI: 10. 1016/j. jclinane. 2018. 10. 001.
- [11] Ghimire LV, Chou FS. Efficacy of prophylactic dexmedetomidine in preventing postoperative junctional ectopic tachycardia in pediatric cardiac surgery patients: A systematic review and meta-analysis [J]. Paediatr Anaesth, 2018, 28 (7) : 597-606. DOI: 10. 1111/pan. 13405.
- [12] Barends CR, Absalom A, van Minnen B, et al. Dexmedetomidine versus midazolam in procedural sedation. A systematic review of efficacy and safety [J]. PLoS One, 2017, 12 (1) : e0169525. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0169525.
- [13] Liu X, Xie G, Zhang K, et al. Dexmedetomidine vs propofol sedation reduces delirium in patients after cardiac surgery: A meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials [J]. J Crit Care, 2017, 38 : 190-196. DOI: 10. 1016/j. jerc. 2016. 10. 026.
- [14] Venkatraman R, Hungerford JL, Hall MW, et al. Dexmedetomidine for sedation during noninvasive ventilation in pediatric Patients [J]. Pediatr Crit Care Med, 2017, 18 (9) : 831-837. DOI: 10. 1097/PCC. 0000000000001226.
- [15] 程虎, 詹海婷, 俞瑾, 等. 右美托咪定对非体外循环下冠状动脉旁路移植术患者的心肌保护作用 [J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34 (6) : 1047-1050. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-9030. 2017. 06. 046.

(收稿日期: 2019-09-23)

半量血浆置换联合双重血浆分子吸附系统对慢加急性肝衰竭患者炎性反应、免疫功能及肝功能的影响

秦浩, 王洋, 魏金刚, 高朋彬, 吴凤影, 任飞

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展指导计划项目(171461873)

作者单位: 050000 石家庄市第五医院重症医学科(秦浩、吴凤影、任飞), 感染一科(王洋), 外科(魏金刚), 感染三科(高朋彬)

通信作者: 高朋彬, E-mail: gaopbky@163.com

【摘要】目的 观察半量血浆置换(LPE)联合双重血浆分子吸附系统(DPMAS)对慢加急性肝衰竭(ACLF)患者炎性因子、T淋巴细胞亚群及肝功能的影响。**方法** 选择2017年1月—2018年12月石家庄市第五医院重症医学科收治ACLF患者129例作为研究对象,采用随机数字表法分为PE组、PE+DPMAS组和LPE+DPMAS组,每组43例。PE组给予单纯PE治疗,PE+DPMAS组给予全量PE(2 500~3 000 ml)联合DPMAS治疗,LPE+DPMAS组给予半量PE(1 200~1 500 ml)联合DPMAS治疗,治疗7 d,分析各组炎性因子、T淋巴细胞亚群及肝功能变化,并评价短期疗效。**结果** 3组均无患者死亡。治疗总有效率比较,PE+DPMAS组、LPE+DPMAS组高于PE组($\chi^2/P=7.527/0.000$);治疗后PE+DPMAS组、LPE+DPMAS组IL-10、TGF- β 高于PE组($F/P=18.241/0.000, 41.535/0.000$),IL-6、TNF- α 、CRP低于PE组($F/P=39.267/0.000, 64.026/0.000, 58.570/0.000$);PE+DPMAS组、LPE+DPMAS组CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺高于PE组($F/P=6.297/0.002, 7.502/0.001$),CD8⁺低于PE组($F/P=4.873/0.009$);PE+DPMAS组、LPE+DPMAS组TBil、DBil、ALT低于PE组($F/P=14.168/0.000, 31.911/0.000, 21.816/0.000$),PTA高于PE组($F/P=16.138/0.000$);治疗后PE+DPMAS组、LPE+DPMAS组上述各指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。3组不良反应发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** PE联合DPMAS治疗ACLF患者效果优于单独PE治疗,能更好地抑制炎性反应,提高免疫能力,促进肝功能恢复;且半量PE联合DPMAS与全量PE联合DPMAS治疗效果相当。

【关键词】 慢加急性肝衰竭;半量血浆置换;双重血浆分子吸附系统;炎性因子;T淋巴细胞亚群;肝功能

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.012

The effect of half volume plasma exchange combined with double plasma molecular adsorption system on inflammatory response, immune function and liver function in patients with chronic acute liver failure Qin Hao*, Wang Yang,

Wei Jingang, Gao Pengbin, Wu Fengying, Ren Fei. *Department of Critical Care Medicine, The Fifth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Gao Pengbin, E-mail: gaopbky@163.com

Funding program: Shijiazhuang Science and Technology Research and Development Guidance Plan Project (171461873)

【Abstract】 Objective To observe the effects of LPE combined with DPMAS on inflammatory factors, T lymphocyte subsets and liver function in patients with chronic acute liver failure (ACLF). **Methods** From January 2017 to December 2018, 129 patients with ACLF admitted to the Department of Critical Medicine of Shijiazhuang Fifth Hospital were selected as the study objects. They were randomly divided into PE group, PE + DPMAS group and LPE + DPMAS group, with 43 cases in each group. PE group was treated with PE alone, PE + DPMAS group with total PE (2 500 ~ 3 000 ml) combined with DPMAS, LPE + DPMAS group with half PE (1 200 ~ 1 500 ml) combined with DPMAS for 7 days. The changes of inflammatory factors, T lymphocyte subsets and liver function in each group were analyzed and the short-term effect was evaluated.

Results The total effective rate of PE + DPMAS group and LPE + DPMAS group was higher than that of PE group ($\chi^2/P=7.527/0.000$). After treatment, IL-10 and TGF- β in PE + DPMAS group and LPE + DPMAS group were higher than those in PE group ($F/P=18.241/0.000, 41.535/0.000$), IL-6, TNF- α and CRP were lower than those in PE group ($F/P=39.267/0.000, 64.026/0.000, 58.570/0.000$). CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ in PE + DPMAS group and LPE + DPMAS group were higher than those in PE group ($F/P=6.297/0.002, 7.502/0.001$), and CD8⁺ was lower than those in PE group

($F/P=4.873/0.009$)。TBIL, DBIL and ALT in PE + DPMAS group and LPE + DPMAS group were lower than those in PE group ($F/P=14.168/0.000, 31.911/0.000, 21.816/0.000$), and PTA was higher than those in PE group ($F/P=16.138/0.000$)。After treatment, there was no significant difference between PE + DPMAS group and LPE + DPMAS group ($P>0.05$)。There was no significant difference in the incidence of adverse reactions among the three groups ($P>0.05$)。

Conclusion PE combined with DPMAS is better than PE alone in the treatment of ACLF, which can better inhibit the inflammatory response, improve the immune capacity, and promote the recovery of liver function; and the treatment effect of half PE combined with DPMAS is equivalent to that of full PE combined with DPMAS。

【Key words】 Chronic and acute liver failure; Half plasma exchange; Dual plasma molecular adsorption system; Inflammatory factors; T lymphocyte subsets; Liver function

肝衰竭是由酒精、药物、病毒感染等多种因素造成的严重肝脏损害,导致肝脏细胞合成和代谢功能减弱,出现凝血功能不足、肝性脑病、腹水、黄疸等表现的临床症候群^[1]。肝衰竭患者由于肝脏合成、解毒、排泄等功能不足,大量毒性物质聚集会进一步损伤肝细胞,形成恶性循环。该病起病急骤、病情严重、进展迅速、并发症多、治疗困难,导致病死率极高,部分患者临床治疗后仍预后不良,是威胁我国民众生命安全的重大疾病。根据其临床特点,大致将肝衰竭划分为急性肝衰竭、亚急性肝衰竭、慢加急性(亚急性)肝衰竭(ACLF)和慢性肝衰竭^[2]。ACLF是指既往慢性肝病史,短期内发生急性肝功能衰竭或失代偿的表现。血浆置换(PE)是目前应用最为广泛的人工肝支持疗法,价格低廉,救治成功率高,但对血浆需求量大;双重血浆分子吸附系统(DPMAS)不仅能吸附胆红素,还能彻底清除炎症因子,减轻血浆供给压力。有研究证实^[3],PE联合DPMAS治疗ACLF取得显著疗效,但血浆供给不足影响了其大范围的使用。本研究采用半量PE(LPE)联合DPMAS治疗ACLF患者,观察其对炎症因子、T淋巴细胞亚群及肝功能的影响,为临床治疗提供新思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2017年1月—2018年12月石家庄市第五医院重症医学科收治ACLF患者129例作为研究对象,采用随机数字表法分为PE组、PE+DPMAS组和LPE+DPMAS组,各43例。PE组男25例,女18例,年龄24~63(45.16 ± 5.47)岁;慢性肝病病程3~10(4.14 ± 0.89)年;亚太肝脏研究学会(APASL)ACLF分级:I级24例、II级19例;合并症:肝性脑病29例,肝肾综合征10例,其他4例。PE+DPMAS组男24例,女19例,年龄22~64(45.63 ± 5.51)岁;慢性肝病病程2~8(3.95 ± 0.87)年;APASL ACLF分级,I级25例,II级18例;合并症:肝性脑病27例,肝肾综合征11例,其他5例。LPE+DPMAS组男24例,女19例,年龄21~65(45.33 ± 5.42)岁;慢

性肝病病程3~8(4.21 ± 0.88)年;APASL ACLF分级,I级26例,II级17例;合并症:肝性脑病30例,肝肾综合征10例,其他3例。3组基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会审核,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 (1)诊断标准:均符合“肝衰竭诊疗指南(2012版)”中ACLF相关诊断标准^[4]。既往慢性肝病史,短期内肝功能衰竭或失代偿急性发作,主要表现为:①明显消化道症状,身体极度疲乏无力;②黄疸迅速加深,TBil超过正常范围上限10倍或每日上升超过 $17.1\mu\text{mol/L}$;③凝血酶原活度(PTA) $\leq 40\%$;④失代偿性腹水;⑤伴或不伴肝性脑病。(2)纳入标准:①符合上述诊断标准,均为乙型病毒性肝炎,APASL的ACLF^[5]分级I级或II级;②年龄18~65岁;③首次因慢加急性肝衰竭入院治疗;④预计存活期超过1个月。(3)排除标准:①急性或慢性肝衰竭;②合并活动性出血、弥散性血管内凝血(DIC)、失代偿性腹水等症状;③合并肝癌或其他恶性肿瘤;④合并其他重要脏器显著病变、血液系统疾病或自身免疫性疾病;⑤肝移植史;⑥精神疾病史,精神及行为异常,无法有效配合治疗和观察;⑦妊娠、计划妊娠或哺乳期女性。

1.3 治疗方法 患者入院后均保持绝对卧床休息,严格监测各项生命体征,给予营养支持,维持水电解质、维持酸碱平衡、保肝降酶退黄等内科支持治疗。PE组在此基础上给予PE治疗,术前PE模式连接管路,常规异丙嗪25mg肌肉注射、西咪替丁0.4g静脉滴注;室内恒温,连接贝朗Diapact血液透析机、贝朗Haemoselect L0.5血浆分离器与配套管路建立体外循环通路,血浆分离进行体外循环,置换液采用新鲜冰冻血浆;参数设置:血液流速120~150ml/min,时间2~3h,血浆置换量2500~3000ml,通过管道输入血制品,达到目标量后停止治疗。PE+DPMAS组给予全量PE和DPMAS治疗,安装体外循环管路,血浆分离器,BS330一次性使用血浆胆红素吸附器和HA330-II一

次性使用血液灌流器,均由珠海健帆生物科技有限公司提供,余仪器/处理同上。LPE + DPMAS 组给予 LPE + DPMAS 治疗,血浆置换量改为 1 200 ~ 1 500 ml,操作步骤同 PE + DPMAS 组。患者治疗过程中均进行心电监护,密切关注各项生命体征的变化。术中适量补充葡萄糖酸钙,若出现低血压,立即补充血容量;若出现过过敏反应及时进行处理;如凝血较好的患者,采用体外抗凝,出血端选择肝素钠持续泵注抗凝,回血端泵入用硫酸鱼精蛋白注射液拮抗肝素。3 组治疗方案均为 1 次/d,每次治疗间隔 2 d,总计治疗时间为 7 d(3 次)。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 疗效评价标准^[5]:显效,临床症状明显好转, TBil 降低 $\geq 50\%$, PTA $\geq 60\%$;有效,临床症状有所缓解, TBil 降低 30% ~ 50%, PTA $\geq 40\%$;无效,症状未见减轻或持续恶化, TBil 未降低或持续升高, PTA 未提高或持续降低,或死亡,脑死亡或治疗无效后放弃。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数 $\times 100\%$ 。

1.4.2 血清炎症因子检测:治疗前后分别取外周静脉血 5 ml,离心取上清液待测;采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清白细胞介素-10(IL-10)、IL-6、转化生长因子- β (TGF- β)、肿瘤坏死因子(TNF- α)和 C-反应蛋白(CRP)水平,试剂盒由 R&D Systems 公司提供。

1.4.3 血清 T 淋巴细胞亚群:治疗前后取上述血清分别采用 BD FACSCalibur 流式细胞仪检测外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞水平,并计算 CD4⁺/CD8⁺。

1.4.4 肝功能指标检测:治疗前后取上述血清采用日立 7600 全自动生化分析仪检测血清 TBil、DBil、ALT 水平,采用希森美康 Xp-1000 全自动血液分析仪检测 PTA、PLT 水平。

1.4.5 不良反应发生情况:观察并记录治疗过程中发生的不良反应。

1.5 统计学方法 使用 SPSS 22.0 软件对数据进行

统计分析。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较使用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,前后比较采用配对 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组短期疗效比较 3 组均无患者死亡;治疗总有效率 PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组显著高于 PE 组($P < 0.01$), PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 3 组患者短期疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
PE 组	43	7(16.28)	14(32.56)	22(51.16)	48.84
PE + DPMAS 组	43	15(34.88)	15(34.88)	13(30.23)	69.77
LPE + DPMAS 组	43	17(39.53)	14(32.56)	12(27.91)	72.09
<i>U</i> / χ^2 值			<i>U</i> = 8.086		$\chi^2 = 7.527$
<i>P</i> 值			0.018		0.000

2.2 3 组炎症因子比较 治疗前 3 组炎症因子比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后 3 组各项指标均显著改善($P < 0.01$), PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组 IL-10、TGF- β 显著高于 PE 组($P < 0.01$), IL-6、TNF- α 、CRP 显著低于 PE 组($P < 0.01$); PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组各指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 3 组免疫功能指标比较 治疗前 3 组免疫功能指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后 3 组各项指标均显著改善($P < 0.01$), PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 高于 PE 组($P < 0.05$), CD8⁺ 低于 PE 组($P < 0.05$); PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组各指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 2 3 组患者治疗前后炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	IL-10(mg/L)	TGF- β (mg/L)	IL-6(ng/L)	TNF- α (mg/L)	CRP(mg/L)
PE 组 (<i>n</i> = 43)	治疗前	88.49 \pm 11.28	142.67 \pm 10.57	38.94 \pm 5.86	423.71 \pm 54.35	32.57 \pm 5.61
	治疗后	120.38 \pm 12.35	163.75 \pm 11.58	16.41 \pm 3.83	203.75 \pm 37.42	19.62 \pm 3.41
PE + DPMAS 组 (<i>n</i> = 43)	治疗前	89.43 \pm 12.45	143.59 \pm 11.24	39.31 \pm 5.71	428.64 \pm 58.91	33.42 \pm 5.75
	治疗后	135.43 \pm 12.88	182.34 \pm 12.03	10.59 \pm 2.87	135.64 \pm 30.48	12.71 \pm 3.22
LPE + DPMAS 组 (<i>n</i> = 43)	治疗前	88.96 \pm 12.75	142.96 \pm 10.97	38.46 \pm 5.28	425.35 \pm 56.91	31.29 \pm 5.46
	治疗后	134.31 \pm 13.37	184.39 \pm 11.08	11.64 \pm 2.95	131.56 \pm 31.37	13.35 \pm 3.18
<i>F</i> / <i>P</i> PE 组内值		12.502/0.000	8.816/0.000	21.104/0.000	21.859/0.000	12.935/0.000
<i>F</i> / <i>P</i> PE + DPMAS 组内值		16.839/0.000	15.434/0.000	29.469/0.000	28.967/0.000	20.607/0.000
<i>F</i> / <i>P</i> LPE + DPMAS 组内值		16.096/0.000	17.424/0.000	29.078/0.000	29.646/0.000	18.618/0.000
<i>F</i> / <i>P</i> 治疗后组间值		18.241/0.000	41.535/0.000	39.267/0.000	64.026/0.000	58.570/0.000

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

组别	时间	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
PE 组 (n=43)	治疗前	28.41 ± 4.46	35.41 ± 4.58	0.83 ± 0.22
	治疗后	32.46 ± 5.24	29.56 ± 4.21	1.15 ± 0.27
PE + DPMAS 组 (n=43)	治疗前	27.86 ± 4.51	36.31 ± 4.72	0.81 ± 0.25
	治疗后	35.31 ± 4.57	26.73 ± 4.53	1.36 ± 0.28
LPE + DPMAS 组 (n=43)	治疗前	28.13 ± 4.65	36.48 ± 4.63	0.78 ± 0.23
	治疗后	35.95 ± 4.73	27.35 ± 4.51	1.32 ± 0.25
F/P PE 组内值		3.860/0.000	6.166/0.000	6.025/0.000
F/P PE + DPMAS 组内值		7.609/0.000	9.602/0.000	9.608/0.000
F/P LPE + DPMAS 组内值		7.731/0.000	9.263/0.000	10.424/0.000
F/P 治疗后组间值		6.297/0.002	4.873/0.009	7.502/0.001

2.4 3 组肝功能和凝血功能指标比较 治疗前 3 组肝功能和凝血功能指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后 3 组各项指标均显著改善, PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组 PTA 高于 PE 组 ($P < 0.01$), TBil、DBil、ALT 低于 PE 组 ($P < 0.01$); PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组各指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 组治疗后 PLT 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

2.5 不良反应情况比较 PE 组发生低血压 4 例, 失衡综合征 3 例, 继发感染 1 例, 其他 2 例, 不良反应发生率为 23.26% (10/43); PE + DPMAS 组发生低血压 2 例, 失衡综合征 2 例, 继发感染 2 例, 其他 3 例, 不良反应发生率为 20.93% (9/43); LPE + DPMAS 组发生低血压 3 例, 失衡综合征 2 例, 继发感染 2 例, 其他 3 例, 不良反应发生率为 23.26% (10/43); 3 组不良反应发生率比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.089, P = 0.956$)。

3 讨论

ACLF 是国内最为常见的肝衰竭类型, 其中慢性乙肝病毒感染是最常见的诱因。该病会造成严重的肝功能障碍, 导致肝脏无法发挥其功能, 因此治疗的关键在于及时清除体内毒性物质, 阻断恶性循环, 避免肝脏

发生进一步的损伤。目前 ACLF 尚无特效治疗方法, 主要治疗方式有内科支持治疗、人工肝支持治疗和肝移植^[6]。内科支持治疗能够缓解部分症状, 但对肝脏内毒性物质没有很好的处理方法; 人工肝支持能暂时性清除毒性物质, 改善内环境, 延长生存期, 为肝恢复和肝移植赢得时间; 肝移植是 ACLF 最佳治疗方式, 能够显著改善患者肝脏功能, 但肝源稀少、治疗难度高、费用巨大、等待时间长。PE 是目前应用最为广泛的血液滤过治疗方法, 其能够代替肝脏的某些功能, 有效清除体内毒素和致病因子, 维持机体内环境稳定, 缓解临床症状, 为其他治疗赢得机会^[7]。但是, PE 会导致血浆中某些物质的缺失, 滤过的血浆需要弃置, 对血浆的需求大, 可能存在血浆缺乏的风险, 且注入外源性血浆制品可能引起过敏、感染等并发症。

血浆胆红素吸附器能通过电荷作用吸附胆红素和胆汁酸^[8], 血液灌流器吸附剂可通过三维网状的分子筛和树脂亲脂疏水性及分子间范德华力来清除炎症因子等^[9], 减轻炎症反应和肝性脑病症状; DPMAS 将二者进行组合使用, 有效吸附胆红素和其他有害物质, 不仅显著提升吸附能力, 还能减少血液过滤过程中对血细胞和血浆中有益物质的破坏。本研究显示, PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组短期疗效显著优于 PE 组 ($P < 0.01$), 提示 DPMAS 能够显著提升 ACLF 治疗效果, 可能与提升对有害物质的吸附能力有关。3 组不良反应发生情况差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示 DPMAS 不会增加风险, 但也可能与本次研究纳入样本较少有关。与秦华等^[10]学者研究显示的 DPMAS 联合 PE 治疗 ACLF 疗效确切, 能减少血浆用量, 安全性较高的结果基本一致。急性肝衰竭在人类死亡原因中位列第 7, 其病死率约为 40%。为方便观察, 本次研究选择基础状况相对较好的患者 (APASL ACLF 评分 I 级或 II 级, 预计生存时间超过 1 个月), 且本次研究治疗和观察较短 (7 d), 故而在治疗过程中并无死亡病例。

表 4 3 组患者治疗前后肝功能和凝血功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TBil ($\mu\text{mol/L}$)	DBil ($\mu\text{mol/L}$)	ALT (U/L)	PTA (%)	PLT ($\times 10^9/\text{L}$)
PE 组 (n=43)	治疗前	387.14 ± 32.96	237.84 ± 25.91	235.71 ± 28.58	31.35 ± 5.38	76.34 ± 15.38
	治疗后	251.35 ± 28.94	163.46 ± 24.16	154.68 ± 25.43	43.41 ± 5.22	75.68 ± 15.34
PE + DPMAS 组 (n=43)	治疗前	390.31 ± 34.51	236.49 ± 26.74	231.46 ± 30.32	32.03 ± 5.16	76.59 ± 15.43
	治疗后	221.73 ± 27.32	127.34 ± 25.53	122.49 ± 24.15	48.96 ± 5.35	76.71 ± 15.36
LPE + DPMAS 组 (n=43)	治疗前	391.45 ± 34.12	238.43 ± 27.01	233.74 ± 29.74	31.77 ± 5.26	75.97 ± 15.89
	治疗后	225.46 ± 28.03	125.87 ± 24.34	125.31 ± 25.48	49.16 ± 5.41	76.38 ± 15.93
F/P PE 组内值		20.301/0.000	13.768/0.000	13.889/0.000	10.550/0.000	0.199/0.421
F/P PE + DPMAS 组内值		25.115/0.000	19.360/0.000	18.434/0.000	14.936/0.000	0.036/0.486
F/P LPE + DPMAS 组内值		24.650/0.000	20.300/0.000	18.156/0.000	15.113/0.000	0.119/0.453
F/P 治疗后组间值		14.168/0.000	31.911/0.000	21.816/0.000	16.138/0.000	0.049/0.952

近年来研究发现,免疫损伤和内毒素损伤是其主要发病机制^[11]。炎症因子能够诱导机体发生炎症反应,参与肝细胞损伤的过程。IL-10、TGF- β 是典型的抗炎因子,其免疫抑制效果是通过抑制巨噬细胞分泌其他促炎因子来实现的;IL-6、TNF- α 、CRP 是典型的促炎因子,其中 IL-6 可调节机体炎症反应,促进其他炎症因子表达,加重肝组织损伤;TNF- α 是经单核巨噬细胞分泌的炎症因子,能协同自由基、脂质代谢产物等其他物质加重肝脏损伤;CRP 为机体急性时相反应蛋白,是监测机体炎症反应、组织损伤等重要的检验指标。本研究结果显示,治疗前 3 组促炎因子高表达,抗炎因子低表达,提示机体处于炎症反应之中,纠正抗炎及促炎因子失衡有利于缓解症状,促进病情转归。治疗后 PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组 IL-10、TGF- β 水平显著高于 PE 组($P < 0.01$),IL-6、TNF- α 、CRP 水平显著低于 PE 组($P < 0.01$),表明 DPMAS 能更好地清除促炎因子,提高抗炎因子水平,对降低 ACLF 肝损伤具有积极意义。肝衰竭时肝脏解毒功能明显降低,大量毒性物质堆积于体内。DPMAS 的灌流器为吸附中大小分子毒素的广谱吸附剂,能够有效清除炎症介质和相关细胞因子等有毒代谢物。

相关研究显示^[12],T 淋巴细胞亚群紊乱参与 ACLF 患者病理生理改变,主要表现为 CD4⁺/CD8⁺ 比例失衡。成熟 T 淋巴细胞根据 CD 分子的差异分为 CD4⁺ 以及 CD8⁺ T 细胞,CD4⁺ 活化后分化为 Th 细胞,CD8⁺ 活化后分化的 T 细胞具有细胞毒性,CD4⁺/CD8⁺ 失衡进一步提高细胞毒性作用,损伤肝组织。本研究显示,治疗前 3 组 CD4⁺ 低表达和 CD8⁺ 高表达证实其参与 ACLF 发病过程。治疗后 PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 显著高于 PE 组($P < 0.01$),CD8⁺ 显著低于 PE 组($P < 0.01$),提示 DPMAS 能够调节 T 淋巴细胞亚群紊乱,提高免疫功能,改善临床预后。

肝功能是评价 ACLF 治疗效果的直观指标。TBil、DBil 是肝功能检测中的常规项目,肝脏承担着胆红素代谢过程中的重要作用,胆红素的升高表示胆红素排泄发生障碍^[13];ALT 主要存在于肝脏组织细胞中,其升高是急性肝细胞损害的敏感标志^[14];PTA 是诊断 ACLF 的重要依据,其高低与肝损伤程度呈反比^[15]。治疗后,PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组 TBil、DBil、ALT 显著低于 PE 组($P < 0.01$),提示 PE 联合 DPMAS 能更好地促进肝功能恢复,治疗效果优于单独 PE 治疗,可能与 DPMAS 降低毒性物质对肝脏的损伤,减少肝性脑病的发生有关。治疗后,PE + DPMAS 组、

LPE + DPMAS 组 PTA 显著高于 PE 组($P < 0.01$),提示 DPMAS 能更好地促进凝血功能的恢复,可能与其在吸附过程中降低对血细胞和有益物质的破坏有关。

PE + DPMAS 组、LPE + DPMAS 组治疗有效率、不良反应发生率、炎症因子、T 淋巴细胞亚群和肝功能比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),提示降低血浆置换量并不会对 PE 联合 DPMAS 治疗 ACLF 的效果产生影响,能有效减少血浆用量,降低用血压力。但本次研究纳入病例数较少,观察时间较短,且未纳入 ACLF 病情严重患者,需要进一步扩大样本量,延长观察时间,进行更深入的研究。

综上所述,PE 联合 DPMAS 治疗 ACLF 患者效果优于单独 PE 治疗,能更好地抑制炎症反应,提高免疫能力,促进肝功能恢复;且半量 PE 联合 DPMAS 与全量 PE 联合 DPMAS 治疗效果相当,可考虑采用半量 PE 联合 DPMAS,减少血浆用量。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

秦浩、王洋:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;魏金刚:课题设计,论文撰写;高朋彬:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;吴凤影:进行统计学分析;任飞:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] 唐娟,邓薇,唐静,等. 双重血浆分子吸附系统对慢加急性肝衰竭患者血清炎症因子、肝功能及免疫功能的影响[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(9): 903-906, 910. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2017. 09. 010.
- [2] 谭文婷,邓国宏. 慢加急性肝衰竭的定义及诊断:新认识及启示[J]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25(9): 659-663. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1007-3418. 2017. 09. 005.
- [3] 更藏尖措,汪祖兰,于国英,等. 双重血浆分子吸附系统治疗慢加急性肝衰竭的临床疗效[J]. 山东医药, 2018, 58(25): 1-4. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2018. 25. 001.
- [4] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(3): 177-183.
- [5] 陈辰,李嘉,周莉,等. 不同评分系统对乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭短期预后的诊断价值[J]. 天津医药, 2017, 45(4): 413-417. DOI: 10. 11958/20161038.
- [6] 罗森,孟忠吉,龚作炯. 慢加急性肝衰竭的免疫调节治疗研究进展[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(1): 101-106. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 01. 026.
- [7] 段志文,武杨屏,范晶华,等. 不同血液净化方式治疗各型肝衰竭的临床疗效比较[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23(4): 390-392. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-9691. 2016. 04. 013.
- [8] 吴蓓,朱丽,段萌,等. 双重血浆分子吸附系统治疗乙肝慢加急性肝衰竭患者疗效及其对 T 淋巴细胞亚型的影响[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(6): 584-587, 591. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2016. 06. 009.

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

朱琳, 孙玄静, 陈鹏, 顾向浩, 周云

作者单位: 221000 江苏省徐州市中医院风湿免疫科

通信作者: 陈鹏, E-mail: za9nw6@163.com

【摘要】目的 观察硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对膝骨性关节炎(KOA)的临床疗效,并探讨其对关节软骨修复的可能作用机制。**方法** 选取2016年1月—2019年5月徐州市中医院风湿免疫科诊治膝骨性关节炎患者106例作为研究对象,随机分为2组,对照组($n=40$)仅给予依托考昔治疗,观察组($n=66$)给予硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔治疗。观察2组患者临床疗效、治疗前后西安大略和麦克马斯特大学(WOMAC)骨关节炎指数的变化;比较2组关节液中骨代谢指标、生长因子、炎性因子和基质金属蛋白酶,NO诱导凋亡的相关因子和JNK、Wnt5a的mRNA表达水平。**结果** 观察组总有效率高于对照组(92.43% vs. 67.50%, $\chi^2=20.770$, $P=0.000$)。治疗后2组患者的疼痛、关节僵硬、关节功能评分及WOMAC量表总分均显著降低,且观察组均低于对照组($t=17.086, 24.224, 15.699, 19.524$, P 均=0.000);BGP和OPG升高,CTX-II、COMP及RANKL降低,且观察组升高/降低幅度大于对照组($t=7.157, 15.747, 18.569, 11.345, 14.307$, P 均=0.000);2组患者TGF- β 、IGF-1和FGF-2水平均升高,且观察组高于对照组($t=8.313, 2.579, 9.298$, P 均=0.000);2组患者IL-1 β 、IL-17、IL-18、TNF- α 、MMP-3、MMP-9及MMP-13水平均降低,且观察组均低于对照组($t=15.322, 15.858, 12.099, 28.679, 21.359, 20.524, 10.987$, P 均=0.000);JNK和Wnt5a mRNA水平均降低,且观察组低于对照组($P<0.05$);NO和LPO降低,SOD升高,且观察组降低/升高幅度大于对照组($t=21.957, 13.096, 46.343$, P 均=0.000)。**结论** 硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对KOA软骨具有修复作用,其作用机制可能是通过降低炎性因子水平,使JNK和Wnt5a表达下调以抑制基质金属蛋白酶的分泌,进而减缓软骨基质的降解;也可能是通过SOD途径抑制NO诱导的软骨细胞凋亡。

【关键词】 硫酸氨基葡萄糖;依托考昔;膝骨性关节炎;软骨修复;作用机制

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.013

Study on the mechanism of glucosamine sulfate combined with etocoxib in cartilage repair of knee osteoarthritis Zhu

Lin, Sun Xuanjing, Chen Peng, Gu Xianghao, Zhou Yun. Department of Rheumatology and Immunology, Xuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Province, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Chen Peng, E-mail: za9nw6@163.com

【Abstract】 Objective To observe the clinical effect of glucosamine sulfate combined with etocoxib on knee osteoarthritis (KOA), and to explore its possible mechanism of articular cartilage repair. **Methods** From January 2016 to May 2019, 106 patients with knee osteoarthritis were selected as the study object. Randomly divided into two groups, the control group ($n=40$) was treated with etocoxib only, and the observation group ($n=66$) was treated with glucosamine sulfate combined with etocoxib. The clinical effect and the changes of osteoarthritis index before and after treatment were observed in the two groups. The levels of bone metabolism index, growth factor, inflammatory factor, matrix metalloproteinase, NO-induced apoptosis related factor and JNK, Wnt5a mRNA expression were compared between the two groups. **Results** The total effective rate of the observation group was higher than that of the control group (92.43% vs. 67.50%, $\chi^2=20.770$, $P=0.000$). After treatment, the pain, joint stiffness, joint function score and the total score of WOMAC in the two groups were significantly lower than those in the control group ($t=17.086, 24.224, 15.699, 19.524$, $P=0.000$). BGP and OPG increased, CTX-II, COMP and RANKL decreased, and the increase/decrease of the observation group was larger than that of the control group ($t=7.157, 15.747, 18.569, 11.345, 14.307$, $P=0.000$). The levels of TGF- β , IGF-1 and FGF-2 in the two groups were higher than those in the control group ($t=8.313, 2.579, 9.298$, $P=0.000$). The levels of IL-1 β , IL-17, IL-18, TNF- α , MMP-3, MMP-9 and MMP-13 in the two groups were lower than those in the control group ($t=15.322, 15.858$,

12.099, 28.679, 21.359, 20.524, 10.987, $P = 0.000$). The mRNA levels of JNK and Wnt5a in the observation group were lower than those in the control group ($P < 0.05$). NO and LPO decreased, SOD increased, and the decrease/increase of the observation group was larger than that of the control group ($t = 21.957, 13.096, 46.343, P = 0.000$). **Conclusion** Glucosamine sulfate combined with etocoxib can repair the cartilage of KOA, and its mechanism may be to reduce the level of inflammatory factors, down regulate the expression of JNK and Wnt5a to inhibit the secretion of matrix metalloproteinase, and then slow down the degradation of cartilage matrix, or to inhibit the apoptosis of chondrocytes induced by no through SOD pathway.

【Key words】 Glucosamine potassium sulfate; Etocoxib; Knee osteoarthritis; Cartilage repair; Mechanism of action

膝骨性关节炎(KOA)是一种常见的中老年女性群体多发的慢性进行性骨关节退变性疾病^[1]。不同程度的关节僵硬、疼痛,局部肿胀、畸形和功能障碍是该病的主要临床表现,进行性关节软骨破坏和退变,软骨下骨硬化或囊性变,关节滑膜增生,关节边缘形成骨赘,关节囊挛缩或肥大,以及韧带挛缩或松弛等是其病理特征^[2]。关于膝骨性关节炎的病理机制尚不十分清楚,目前仍缺乏特异性的治疗方法,减轻疼痛,控制疾病进展,结合患者病情决定使用药物或非药物治疗是当前的治疗原则。作为一种天然的氨基酸单糖,硫酸氨基葡萄糖能补充软骨基质,使软骨降解减缓,促进软骨细胞合成蛋白聚糖,是软骨的营养类药物^[3]。依托考昔是环氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的特异性抑制剂,作为非甾体类抗炎药,具有止痛、抗炎及退热的作用^[4]。临床上常将2种药物联合使用治疗膝骨性关节炎且已取得显著疗效,然而未见硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对关节软骨修复的作用机制报道,因此本研究旨在探讨两者联合用药对膝骨性关节炎软骨修复的作用机制,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2016年1月—2019年5月徐州市中医院风湿免疫科诊治膝骨性关节炎患者106例作为研究对象。随机分为2组,对照组40例,男9例,女31例,平均年龄(62.07 ± 11.32)岁;平均病程(3.59 ± 0.75)月;发病部位,左膝18例,右膝22例;Kellgren-Lawrence分级,Ⅰ级9例,Ⅱ级15例,Ⅲ级16例。观察组66例,男14例,女52例,平均年龄(61.58 ± 10.24)岁;平均病程(3.74 ± 0.89)月;发病部位,左膝35例,右膝31例;Kellgren-Lawrence分级,Ⅰ级16例,Ⅱ级27例,Ⅲ级23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。本研究已通过医院医学伦理委员会审核批准,患者及家属均知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1)诊断标准:均符合美国风湿病学会制定的标准^[5],①年龄 > 40 岁;②1个月内大多数

时间有膝关节疼痛症状;③晨僵持续时间 < 30 min;④活动时关节有摩擦音;⑤关节滑液检查有骨关节炎症状;⑥X线片观察可见关节边缘形成骨赘。(2)纳入标准:均符合以上诊断标准且单膝发病;对硫酸氨基葡萄糖和依托考昔无过敏史。(3)排除标准:患者合并内分泌系统、消化系统、血液系统、心、肝、肾及肿瘤等疾病;合并肢体先天畸形、皮肤病、膝关节局部急性创伤等疾病;患有类风湿性关节炎、化脓性关节炎、创伤性关节炎、痛风、强直性脊柱炎等风湿性疾病;近1个月内使用过皮质激素类和非甾体抗炎类药物、免疫调节剂,以及其他汤药、中成药或接受过理疗;患有精神类、意识功能障碍等疾病;患者病历资料丢失或不全,中途退出者。

1.3 治疗方法 对照组给予依托考昔[Merck Sharp&Dohme(Australia)Pty. Ltd生产]60 mg/次口服,1次/d。观察组在对照组基础上予硫酸氨基葡萄糖钾胶囊(留普安,山西康宝生物制品股份有限公司生产)0.5 g/次口服,3次/d,2组均连续治疗6周。治疗期间嘱患者注意保暖,指导其进行股四头肌舒缩功能锻炼,禁止跑步、下蹲、爬楼梯及爬山等加重膝关节负重的活动,若出现任何可能与治疗方案有关的不良反应均立即停药并退出本研究项目。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 临床疗效评价:临床控制,膝关节肿胀、疼痛等临床症状和体征完全消失,关节功能恢复正常;显效,静息时无膝痛,偶尔活动时疼痛,关节功能明显恢复,对工作和生活均不产生影响;有效,膝痛有时发作,行走时轻度疼痛,膝关节功能基本恢复,上下楼梯稍感不便;无效,治疗后肿胀、疼痛等临床症状未改变,膝关节功能无好转。总有效率=(临床控制+显效+有效)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.4.2 膝关节功能评估:治疗前后采用西安大略和麦克马斯特大学(WOMAC)骨关节炎指数量表评估,该量表由3部分,共24项组成,每项评分有5个等级,无困难为0分,轻度为1分,中度为2分,重度为3分,极

度为 4 分, 满分 96 分; 其中疼痛情况有 5 项, 满分 20 分; 关节僵硬程度有 2 项, 满分 8 分; 关节功能有 17 项, 满分 68 分。得分越高说明患者膝骨性关节炎病情越重。

1.4.3 骨代谢指标检测: 分别于治疗前和治疗后行关节腔穿刺抽取关节液 5~10 ml, 其中 1~2 ml 采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 严格参照试剂盒说明书检测骨钙素 (BGP)、骨保护素 (OPG)、II 型胶原 C-端肽 (CTX-II)、软骨寡聚基质蛋白 (COMP)、核转录因子 κ B 受体活化因子配体 (RANKL)。人 CEACAM1 ELISA 试剂盒 (BGP)、人 Osteoprotegerin ELISA 试剂盒、人 COMP ELISA 试剂盒、人 TNFSF11 ELISA 试剂盒 (RANKL) 均为 Abcam 产品, Cytochrome P450 27A1 (CYP27A1) BioAssay ELISA Kit (Human) 为 USBiological 产品。

1.4.4 生长因子检测: 上述关节液 1~2 ml, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 严格参照试剂盒说明书检测转化生长因子 β (TGF- β)、胰岛素样生长因子 1 (IGF-1)、成纤维细胞生长因子 2 (FGF-2)。人 TGF- β ELISA 试剂盒、人 IGF-1 ELISA 试剂盒、人 FGF-2 ELISA 试剂盒均为 Abcam 产品。

1.4.5 炎症因子检测: 上述关节液 1~2 ml, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 严格参照试剂盒说明书检测白介素 1 β (IL-1 β)、IL-17、IL-18、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。人 IL-1 β ELISA 试剂盒、人 IL-17 ELISA 试剂盒、人 IL-18 ELISA 试剂盒、人 TNF- α ELISA 试剂盒均为 Abcam 产品。

1.4.6 基质金属蛋白酶检测: 上述关节液 1~2 ml, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 严格参照试剂盒说明书检测基质金属蛋白酶 3 (MMP-3)、MMP-9、MMP-13。Human Total MMP3 ELISA Kit、Human MMP9 ELISA Kit、Human MMP-13 ELISA Kit 均为 proteintech 公司产品。

1.4.7 NO 诱导凋亡的相关因子检测: 上述关节液 1~2 ml, 采用相应试剂盒, 严格参照试剂盒说明书检测一氧化氮 (NO)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化脂

质 (LPO)。NO 测定试剂盒 (酶法) 比色法、SOD 测定试剂盒 (WST-1 法)、LPO 试剂盒均为南京建成公司产品。

1.4.8 JNK 和 Wnt5a 的 mRNA 检测: 采用 Trizol 法提取治疗前后关节液中总 RNA 并进行反转录, 以得到的 cDNA 作为模板, 进行 RT-qPCR, 以检测 C-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 和 Wnt5a 的表达情况, JNK 上游引物序列: 5'-CGGGATCTTCAACTTTAACAT GGAAGTGCCTTCTGT GACTTTAAA-3', 下游引物: 5'-CCCAAGCTTACTC-CTACTAAAAAGCACTTACTTTTTAAAGTC-3'; Wnt5a 上游引物: 5'-CACACACTACATCAGTGGCTCAAAG-3', 下游引物: 5'-TCCAGCACATGAACGTGTAAACAG-3'; 同时将 GAPDH (上游引物: 5'-CTTTAACATGGAAGTGC GGGA-3', 下游引物: 5'-CTAAAAAGCACTTACCCCAAGCTATC-3') 作为内参基因, 每个样本均重复进行 3 次试验。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件对数据统计分析。计数资料以频数或率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验; 正态分布计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间比较采用独立样本 t 检验, 不同时间点比较采用配对 t 检验。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 治疗 6 周后, 观察组总有效率达 92.43%, 高于对照组的 67.5% ($\chi^2 = 20.770, P = 0.000$), 见表 1。

表 1 2 组患者临床疗效比较 [例 (%)]

组别	例数	临床控制	显效	有效	无效	总有效率 (%)
对照组	40	9(22.50)	8(20.00)	10(25.00)	13(32.50)	67.50
观察组	66	43(65.15)	9(13.64)	9(13.64)	5(7.57)	92.43

2.2 2 组治疗前后 WOMAC 量表评分比较 2 组患者治疗前各项评分和 WOMAC 总分比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 2 组患者治疗 6 周后各指标均降低 ($P < 0.01$), 且观察组均低于对照组 ($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后 WOMAC 量表评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	疼痛	关节僵硬	关节功能	总分
对照组 (n=40)	治疗前	17.18 \pm 2.45	7.25 \pm 0.72	57.36 \pm 5.91	84.32 \pm 10.43
	治疗后	12.57 \pm 1.36	5.07 \pm 0.49	41.27 \pm 4.08	63.57 \pm 7.38
观察组 (n=66)	治疗前	17.36 \pm 2.59	7.21 \pm 0.68	57.83 \pm 6.07	84.16 \pm 10.25
	治疗后	8.94 \pm 0.83	3.14 \pm 0.33	30.62 \pm 2.89	41.83 \pm 4.09
t/P 对照组内值		10.405/0.000	15.831/0.000	14.170/0.000	10.271/0.000
t/P 观察组内值		25.151/0.000	43.746/0.000	32.881/0.000	31.161/0.000
t/P 治疗后组间值		17.086/0.000	24.224/0.000	15.699/0.000	19.524/0.000

2.3 2 组治疗前后骨代谢指标比较 治疗前 2 组患者关节液中 BGP、OPG、CTX-II、COMP 及 RANKL 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 6 周后 2 组 BGP 和 OPG 升高, CTX-II、COMP 及 RANKL 均降低, 且观察组升高/降低幅度大于对照组 ($P < 0.01$), 见表 3。

2.4 2 组治疗前后生长因子水平比较 治疗前 2 组 TGF- β 、IGF-1 及 FGF-2 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 6 周后 2 组各指标均升高, 且观察组高于对照组 ($P < 0.01$), 见表 4。

差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 6 周后 2 组均降低, 且观察组低于对照组 ($P < 0.05$), 见图 1。

表 4 2 组患者治疗前后生长因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TGF- β ($\mu\text{g/L}$)	IGF-1($\mu\text{g/L}$)	FGF-2(ng/L)
对照组 ($n=40$)	治疗前	21.93 \pm 2.08	82.87 \pm 9.83	24.01 \pm 2.53
	治疗后	25.42 \pm 2.47	89.64 \pm 11.25	28.39 \pm 2.92
观察组 ($n=66$)	治疗前	22.07 \pm 2.16	83.41 \pm 10.29	23.58 \pm 2.47
	治疗后	30.15 \pm 3.04	95.72 \pm 12.06	34.64 \pm 3.59
t/P 对照组内值		6.835/0.000	2.866/0.005	7.170/0.000
t/P 观察组内值		17.602/0.000	6.308/0.000	20.619/0.000
t/P 治疗后组间值		8.313/0.000	2.579/0.000	9.298/0.000

2.5 2 组治疗前后炎症因子和基质金属蛋白酶水平比较 治疗前, 2 组炎症因子及基质金属蛋白酶水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗 6 周后 2 组各指标均降低 ($P < 0.01$), 且观察组均低于对照组 ($P < 0.01$), 见表 5、6。

2.6 2 组治疗前后 JNK 和 Wnt5a 的 mRNA 水平比较 治疗前 2 组患者 JNK 和 Wnt5a 的 mRNA 水平比较

表 6 2 组患者治疗前后基质金属蛋白酶水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)

组别	时间	MMP-3	MMP-9	MMP-13
对照组 ($n=40$)	治疗前	221.01 \pm 21.18	67.25 \pm 7.21	274.92 \pm 27.83
	治疗后	158.37 \pm 14.82	45.38 \pm 4.62	193.76 \pm 18.69
观察组 ($n=66$)	治疗前	217.93 \pm 20.54	66.83 \pm 7.14	275.18 \pm 28.09
	治疗后	98.46 \pm 9.75	30.26 \pm 2.97	152.43 \pm 14.72
t/P 对照组内值		15.326/0.000	16.153/0.000	15.312/0.000
t/P 观察组内值		42.688/0.000	38.419/0.000	31.445/0.000
t/P 治疗后组间值		21.359/0.000	20.524/0.000	10.987/0.000

2.7 2 组治疗前后 NO 诱导凋亡因子比较 治疗前 2 组患者关节液中 NO、SOD 及 LPO 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 6 周后 2 组 NO 和 LPO 均降低, SOD 水平升高, 且观察组降低/升高优于对照组 ($P < 0.01$), 见表 7。

表 7 2 组患者治疗前后 NO 诱导凋亡因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

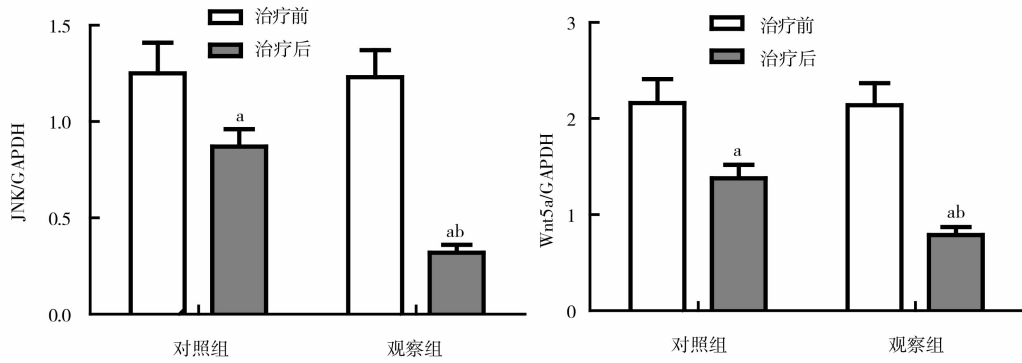
组别	时间	NO($\mu\text{mol/L}$)	SOD(U/ml)	LPO(nmol/ml)
对照组 ($n=40$)	治疗前	66.03 \pm 7.21	70.12 \pm 6.93	8.81 \pm 0.86
	治疗后	42.39 \pm 4.28	89.48 \pm 9.04	3.69 \pm 0.42
观察组 ($n=66$)	治疗前	65.82 \pm 7.14	69.41 \pm 6.87	8.74 \pm 0.83
	治疗后	27.54 \pm 2.69	118.59 \pm 12.16	1.06 \pm 0.15
t/P 对照组内值		17.832/0.000	10.749/0.000	33.834/0.000
t/P 观察组内值		40.759/0.000	28.607/0.000	73.974/0.000
t/P 治疗后组间值		21.957/0.000	13.096/0.000	46.343/0.000

表 3 2 组患者治疗前后骨代谢指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	BGP(ng/ml)	OPG(pg/ml)	CTX-II($\mu\text{g/L}$)	COMP($\mu\text{g/L}$)	RANKL(pg/ml)
对照组 ($n=40$)	治疗前	3.42 \pm 0.61	120.51 \pm 12.64	2.41 \pm 0.29	4.90 \pm 0.67	83.82 \pm 9.44
	治疗后	4.13 \pm 0.94	163.79 \pm 17.38	1.62 \pm 0.18	3.46 \pm 0.48	72.95 \pm 7.51
观察组 ($n=66$)	治疗前	3.39 \pm 0.58	118.42 \pm 12.37	2.36 \pm 0.27	4.85 \pm 0.62	84.73 \pm 9.69
	治疗后	5.78 \pm 1.26	232.85 \pm 24.19	0.94 \pm 0.08	2.59 \pm 0.31	54.38 \pm 5.77
t/P 对照组内值		4.007/0.000	12.737/0.000	14.638/0.000	11.050/0.000	5.699/0.000
t/P 观察组内值		13.988/0.000	34.216/0.000	40.966/0.000	26.487/0.000	21.863/0.000
t/P 治疗后组间值		7.157/0.000	15.747/0.000	18.569/0.000	11.345/0.000	14.307/0.000

表 5 2 组患者治疗前后炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	IL-1 β (pg/ml)	IL-17($\mu\text{g/L}$)	IL-18(pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
对照组 ($n=40$)	治疗前	75.02 \pm 7.14	389.73 \pm 39.52	241.25 \pm 23.96	88.31 \pm 9.56
	治疗后	51.48 \pm 4.89	276.41 \pm 26.11	184.67 \pm 17.13	52.45 \pm 5.02
观察组 ($n=66$)	治疗前	74.37 \pm 6.95	391.64 \pm 40.25	232.59 \pm 24.16	87.94 \pm 9.27
	治疗后	38.56 \pm 3.74	205.38 \pm 19.76	148.73 \pm 13.25	30.52 \pm 2.86
t/P 对照组内值		17.204/0.000	15.131/0.000	12.149/0.000	21.004/0.000
t/P 观察组内值		36.861/0.000	33.747/0.000	24.725/0.000	48.085/0.000
t/P 治疗后组间值		15.322/0.000	15.858/0.000	12.099/0.000	28.679/0.000



注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$;与对照组相同时间点比较,^b $P < 0.05$

图1 2组患者 JNK 和 Wnt5a 的 mRNA 水平比较

3 讨论

现代医学理论认为^[6],关节软骨变形、丢失,软骨下骨和关节边缘骨质再生是 KOA 的重要特征,且关节软骨是该病的始发部位,因此治疗过程中,在保证疼痛减轻、疾病进展得到控制的同时,更应该促进软骨组织的修复。本研究结果表明,硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔和单独使用依托考昔均有显著疗效,且两者联合用药疗效优于单独使用依托考昔,该结果与以往诸多文献报道结果一致^[7]。此外本研究发现,硫酸氨基葡萄糖钾联合依托考昔治疗 KOA 能够更好地调节患者骨代谢指标以延缓或阻止关节退变,促进生长因子分泌以修复软骨组织,进而改善关节功能。存在于人体关节软骨中的氨基葡萄糖是氨基聚糖合成过程中所需的基本物质,口服硫酸氨基葡萄糖钾可使软骨基质直接得到补充,软骨降解减缓,利于软骨蛋白合成及软骨细胞基质分泌功能恢复,进而使关节软骨结构改善^[8]。依托考昔能选择性抑制环氧合酶、前列腺素的合成,发挥抗炎作用,从而使关节肿胀疼痛等症状有效缓解^[9]。

大量研究表明,炎症反应为 KOA 的主要病理特征,炎症因子是破坏关节软骨及引发肿胀、疼痛的重要因素,且炎症因子主要通过一系列的级联放大反应发挥作用^[10-13]。IL-1 β 可促进基质金属蛋白酶的分泌,进而导致软骨细胞基质降解,软骨细胞凋亡^[14]。IL-17 通过对软骨细胞的分解代谢发挥强力诱导作用,从而促进软骨降解,此外还能刺激 IL-6 生成,间接促进基质金属蛋白酶的分泌^[14]。IL-18 则具有诱导一氧化氮、前列腺素 E2 等产生的作用,进而参与 KOA 炎症反应发生、关节损伤的过程^[15-16]。TNF- α 可以使白细胞被激活并聚集,抑制 II 型胶原和蛋白聚糖的合成,抑制

软骨的自身修复并促进软骨降解。作为一组金属依赖性蛋白酶类,基质金属蛋白酶具有降解关节软骨细胞外基质的作用^[17-18]。由滑膜细胞和软骨细胞分泌的 MMP-3 不仅能使多种细胞外基质中的基质蛋白底物发生降解,还能使 MMP-9 和 MMP-13 等酶原被激活从而产生级联放大反应, MMP-9 通过破坏软骨基质和胶原形成的网状结构而使胶原降解, MMP-3 和 MMP-9 协同作用可加速破坏进程,并使胶原软骨的变化不可逆转。目前最有效的 II 型胶原降解酶 MMP-13,可降解各种胶原,直接破坏关节软骨的完整性。本研究结果提示,硫酸氨基葡萄糖和依托考昔可抑制炎症因子的分泌,进而降低基质金属蛋白酶水平,从而减缓软骨基质降解,利于受损软骨细胞修复。以往研究表明^[19],在关节炎软骨破坏过程中,IL-1 β 可上调 Wnt5a 的表达,而 Wnt5a 可通过 JNK 信号途径介导而上调基质金属蛋白酶的表达。本研究结果表明,硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔治疗 KOA,在降低 IL-1 β 水平并抑制基质金属蛋白酶过程中,有 JNK 和 Wnt5a 的参与。

作为导致软骨细胞凋亡的一条重要途径,NO 诱导的凋亡与 NO、LPO 和 SOD 关系密切^[20]。在 KOA 发病过程中机体产生的大量自由基具有促进凋亡作用^[21]。自由基的重要成员 NO 通过诱导软骨细胞凋亡而加重软骨细胞损伤。自由基脂质过氧化反应的代谢产物 LPO,可对细胞及细胞膜的结构造成损伤,该指标常用于间接反映自由基对组织细胞的损伤程度。SOD 可通过歧化作用将体内氧自由基清除,还能阻断细胞色素 C 依赖的线粒体凋亡途径,从而对滑膜和软骨细胞发挥保护作用。本研究结果提示,硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对 KOA 软骨的修复作用,可能是通过增加 SOD 水平,抑制脂质过氧化反应,而使自由基

减少,软骨细胞凋亡被抑制,最终对软骨起到保护和修复的作用。

综上,硫酸氨基葡萄糖联合依托考昔对 KOA 软骨的修复作用,可能是通过降低炎症因子水平使 JNK 和 Wnt5a 表达下调以抑制基质金属蛋白酶的分泌,进而减缓软骨基质的降解;或通过 SOD 途径抑制 NO 诱导的软骨细胞凋亡。今后将采取构建动物模型或在细胞水平进行研究,进一步验证本结论。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

朱琳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;孙玄静:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;陈鹏:课题设计;顾向浩、周云:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

[1] Kang SH, Lee SJ, Press JM, et al. Real-time three-dimensional knee moment estimation in knee osteoarthritis: Toward biodynamic knee osteoarthritis evaluation and training[J]. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 2019, 27 (6) : 1263-1272. DOI: 10.1109/TNSRE.2019.2915812.

[2] Dell'Isola A, Steultjens M. Classification of patients with knee osteoarthritis in clinical phenotypes: Data from the osteoarthritis initiative [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1) : e0191045. DOI: 10.1371/journal.pone.0191045.

[3] 高雪. 硫酸氨基葡萄糖联合非甾体抗炎药治疗轻中度膝骨关节炎中的效果观察[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(75) : 14791-14792. DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2017.75.079.

[4] 刘慧娜. 依托考昔联合骨疏康胶囊治疗膝骨关节炎的效果及对患者炎症因子表达的影响[J]. *中国实用医刊*, 2019, 46(1) : 101-104. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-4756.2019.01.031.

[5] Au KY, Chen H, Lam WC, et al. Sinew acupuncture for knee osteoarthritis: study protocol for a randomized sham-controlled trial [J]. *Bmc Complementary & Alternative Medicine*, 2018, 18(1) : 133. DOI:10.1186/s12906-018-2195-8.

[7] Steultjens M. KNEEMO-Prevention and personalized treatments in knee osteoarthritis: an Initial Training Network-FP7 [J]. *Impact*, 2017, 2017(4) : 69-71. DOI:10.21820/23987073.2017.4.69.

[8] Eaton CB, Sayeed M, Ameeraz S, et al. Sex differences in the association of skin advanced glycation endproducts with knee osteoarthritis progression [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2017, 19(1) : 36. DOI:10.1186/s13075-017-1226-z.

[9] Feng XU, Beiping L. Therapeutic efficacy of ozone injection into the knee for the osteoarthritis patient along with oral celecoxib and glucosamine [J]. *Journal of Clinical & Diagnostic Research Jcdr*, 2017, 11(9) : UC01-UC03. DOI: 10.7860/JCDR/2017/26065.10533.

[10] Rangbulla V, Nirola A, Gupta M, et al. Salivary IgA, Interleukin-1 β and MMP-8 as salivary biomarkers in chronic periodontitis patients [J]. *Chinese Journal of Dental Research the Official Journal of the Scientific*, 2017, 20(1) : 43-51. DOI:10.3290/j.cjdr.a37741.

[11] 门广美. 磁共振 T2 图在膝关节骨性关节炎诊断中的应用研究进展[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(2) : 204-207. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.02.025.

[12] 周思齐, 李皓桓. 氨基葡萄糖联合关节腔内注射透明质酸钠治疗膝骨关节炎的 Meta 分析[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(10) : 1156-1160. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.10.018.

[13] 梁治权, 顾文飞, 廖军. 清热解毒通络汤联合塞来昔布对骨关节炎患者血清相关炎症因子水平的影响[J]. *中国医药*, 2018, 13(3) : 433-436. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2018.03.028.

[14] Naik SP, Mahesh PA, Jayaraj BS, et al. Evaluation of inflammatory markers interleukin-6 (IL-6) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in asthma[J]. *Journal of Asthma*, 2017, 54(6) : 584-593. DOI: 10.1080/02770903.2016.1244828.

[15] WU GW, Zheng CS, LI XH, et al. Effect of electroacupuncture on chondrocyte apoptosis and cartilage matrix of experimental rats with knee osteoarthritis[J]. *Rehabilitation Medicine*, 2017, 27(5) : 22-28. DOI:10.3724/SP.J.1329.2017.05022.

[16] 洪汉青, 张彩荣, 陈德春, 等. 针刀治疗膝骨性关节炎的临床效果[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(9) : 162-165, 169.

[17] Kohno K, Itoh S, Hanai A, et al. Identification of matrix metalloproteinase 9-interacting sequences in staphylococcal superantigen-like protein 5 [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2018, 497(2) : 713-718. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.138.

[18] Saravani S, Yari D, Saravani R, et al. Association of COL4A3 (rs55703767), MMP-9 (rs17576) and TIMP-1 (rs6609533) gene polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes [J]. *Biomed Rep*, 2017, 6(3) : 329-334. DOI:10.3892/br.2017.856.

[19] Martineau X, Abed E, Martel-Pelletier J, et al. Alteration of Wnt5a expression and of the non-canonical Wnt/PCP and Wnt/PKC-Ca²⁺ pathways in human osteoarthritis osteoblasts[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8) : e0180711. DOI:10.1371/journal.pone.0180711.

[20] Lv H, Chen W, Yuwen P, et al. Multivariate analysis of factors related to radiographic knee osteoarthritis based on the comparison between football players and matched nonsportsmen [J]. *International Orthopaedics*, 2018, 42(3) : 519-527. DOI: 10.1007/s00264-018-3797-y.

[21] Petersen KK, Arendt-Nielsen L, Finocchietti S, et al. Age interactions on pain sensitization in patients with severe knee osteoarthritis and controls [J]. *Clinical Journal of Pain*, 2017, 33(12) : 1081-1087. DOI:10.1097/AJP.0000000000000495.

(收稿日期:2019-11-27)

慢性髓系白血病患者 SHP-1 基因、id4 基因甲基化状态及其与疾病进展的关系

郑伟, 侯志新, 刘承祥, 张雷, 韩松

基金项目: 吉林省卫生厅科技计划项目(2013ZC023)

作者单位: 130062 长春, 中国人民解放军联勤保障部队第九六四医院病理科

通信作者: 韩松, E-mail: msongh@126.com

【摘要】目的 探究慢性髓系白血病(CML)患者含 SH2 结构域的磷酸酶 1(SHP-1)基因、DNA 结合抑制因子 4(id4)基因甲基化状态及其与疾病进展的关系。**方法** 选取 2015 年 5 月—2019 年 5 月中国人民解放军联勤保障部队第九六四医院血液科收治 CML 患者 78 例为研究对象(病例组),选取同期于医院健康体检者 42 例作为健康对照组。使用甲基化特异性聚合酶链反应(MS-PCR)法对 2 组受试者骨髓中 SHP-1 基因、id4 基因甲基化表达进行检测,分析 CML 患者慢性期、加速期及急变期 SHP-1 基因、id4 基因甲基化率。**结果** SHP-1、id4 基因 mRNA 表达水平比较,健康对照组 > 慢性期 > 加速期 > 急变期,差异均有统计学意义($F = 83.813, 424.699, P$ 均 = 0.000)。健康对照组、CML 慢性期、加速期及急变期的 SHP-1 基因甲基化阳性率分别为 0%、25.00%、96.67% 及 100.00%,差异具有统计学意义($\chi^2 = 98.127, P = 0.000$);而 id4 基因甲基化阳性率分别为 0%、0%、66.67% 及 70.83%,差异亦具有统计学意义($\chi^2 = 65.490, P = 0.000$)。**结论** SHP-1 基因、id4 基因在健康者中呈非甲基化,在 CML 慢性期甲基化率较低,在加速期或急变期则呈高甲基化状态,因而其甲基化可作为预测 CML 疾病进展的标志因子,对 CML 的诊断及治疗具有积极意义。

【关键词】 慢性髓系白血病;含 SH2 结构域的磷酸酶 1;DNA 结合抑制因子 4;甲基化状态;疾病进展

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.014

Methylation of SHP-1 and ID4 genes and their relationship with disease progression in chronic myeloid leukemia

Zheng Wei, Hou Zhixin, Liu Chengxiang, Zhang Lei, Han Song. Department of Pathology, The 964th Hospital of the PLA Joint Logistics Support Force, Changchun 130062, China

Corresponding author: Han Song, E-mail: msongh@126.com

【Abstract】Objective To explore the methylation status of phosphatase-1 (SHP-1) gene and DNA binding inhibitor-4 (ID4) gene with SH2 domain in patients with chronic myeloid leukemia (CML) and their relationship with disease progression. **Methods** From May 2015 to May 2019, 78 CML patients (case group) were enrolled in the Hematology Department of the 964 Hospital of the Joint Service Support Force of the People's Liberation Army. 42 healthy people in the same period were selected as the control group. The methylation expression of SHP-1 gene and ID4 gene in bone marrow of two groups of subjects was detected by methylation specific PCR. To analyze the methylation rate of SHP-1 gene and ID4 gene in CML patients in chronic, accelerated and acute phases. **Results** Compared with the expression level of SHP-1 and ID4 gene mRNA, the difference was statistically significant ($F = 83.813, 424.699, P = 0.000$). The positive rates of SHP-1 gene methylation in healthy control group, CML in chronic phase, accelerated phase and acute phase were 0%, 25.00%, 96.67% and 100.00%, respectively, with statistical significance ($\chi^2 = 98.127, P = 0.000$); the positive rates of ID4 gene methylation were 0%, 0%, 66.67% and 70.83%, with statistical significance ($\chi^2 = 65.490, P = 0.000$). **Conclusion** SHP-1 gene and ID4 gene are unmethylated in healthy people, low methylation rate in chronic phase of CML, and high methylation rate in accelerated phase or acute phase of CML, so their methylation can be used as a marker to predict the progress of CML disease, which has positive significance for the diagnosis and treatment of CML.

【Key words】 Chronic myeloid leukemia; Phosphatase 1 containing SH2 domain; DNA binding inhibitor 4; Methylated state; Disease progression

慢性髓系白血病(CML)多起源于多能干细胞,其起病缓慢,且临床症状无特异性,因此早期诊断较为困难^[1]。相关资料显示,DNA 甲基化是表观遗传学修饰的重要方式之一,且其与造血系统恶性肿瘤的发生、发展密切相关^[2]。研究指出,抑癌基因启动子甲基化可造成基因沉默,是 CML 发生、发展的重要分子机制^[3]。而含 SH-2 结构域的磷酸酶 1(SHP-1)为胞质酪氨酸磷酸酶,其可对下游信号蛋白分子产生脱磷酸化作用,从而有效调节造血细胞的功能^[4]。另 DNA 结合抑制因子 4(id4)为抑癌基因的一种,其主要存在于各类生物细胞中,可被甲基化,从而抑制基因表达。而目前关于二者甲基化状态与 CML 疾病进展的关系研究报道较少。基于此,本研究探讨 CML 患者 SHP-1 基因、id4 基因甲基化状态及其与疾病进展的关系,以期为临床防治提供参考。现将结果报道如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料 选取 2015 年 5 月—2019 年 5 月中国人民解放军联勤保障部队第九六四医院血液科收治 CML 患者 78 例为研究对象(病例组),男 43 例,女 35 例;年龄 9~71(42.68±3.80)岁。根据病情程度分为慢性期 24 例,加速期 30 例,急变期 24 例;选取同期于医院健康体检者 42 例作为健康对照组,男 23 例,女 19 例;年龄 8~70(42.06±3.28)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。本研究经医院医学伦理委员会批准,研究对象均知情同意并签署同意书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:①CML 患者符合“中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南”(2016 版)^[5]诊断标准;②CML 分期明确者;③临床资料完整,能够配合完成本次研究者。(2)排除标准:①严重心、肝、肾等功能障碍者;②合并其他恶性肿瘤者;③妊娠及哺乳期妇女;④有智力或精神障碍不能配合者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 白细胞提取:取患者骨髓 5 ml,肝素抗凝,并加入淋巴细胞分离液 5 ml,使用低温高速离心机(Hreaeus,德国, Sigma3-18K)进行离心,弃上清,细胞计数。再继续加入 PBS 缓冲液 5 ml,离心后在 CO₂ 培养箱(Hreaeus,德国, WCI-180)37℃ 中进行传代培养,最后将细胞进行液氮冻存待测。

1.3.2 mRNA 基因表达:采用荧光定量 PCR 技术进行检测,细胞总 RNA 的提取使用 Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司)。

1.3.3 MS-PCR 法检测 SHP-1、id4 基因启动子甲基化状态:(1)白细胞复苏。离心管预热(培养液 10 ml),

冻存管置于 38℃ 恒温水浴箱(天津市恒奥科技发展有限公司, HWT-6B)水浴,冻存细胞吸入离心管,离心,弃上清,加入新鲜培养液混匀(10 ml),再次离心弃上清。(2)DNA 提取。收集细胞,离心,弃上清,加 PBS 缓冲液(180 μl),混匀,加 Proteinase K 20 μl(混匀、室温孵育 2 min),加 10% SDS 10 μl,加无水乙醇 200 μl,全部溶液置入吸附柱,离心,弃流出液,加 CB 溶液 500 μl,离心,弃流出液,加 WBI 溶液 500 μl,离心,弃流出液,DNA 洗脱,-20℃ 保存备用。(3)DNA 浓度测定。DNA 提取后,进行电泳同时使用紫外分光光度计(德国 SPECTRO)测 OD 值。(4)DNA 修饰。按照 Methylamp DNA Modification Kit 说明严格操作。(5)PCR 扩增。使用 PCR 扩增仪(上海之江生物科技股份有限公司),PCR 体系为 25 μl,其中 DNA 2 μl,上游、下游引物各为 2.5 μl,绿色 PCR 体系 12.5 μl, ddH₂O 5.5 μl。引物序列见表 1。PCR 条件:94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 45 min,54℃ 退火 45 s,40 个循环;72℃ 延伸 10 min。(6)产物检测。制胶、凝固、上样、电泳(120 V,35 min)(电泳仪,北京六一生物科技股份有限公司),凝胶成像系统分析仪(上海复星实业股份有限公司)下摄片。

表 1 MS-PCR 引物序列及产物长度

基因	序列
SHP-1 甲基化(M)	上游: 5'-GAACGTTATTATAGTATAGCGTTC-3' 下游: 5'-TCACGCATACGAACCCAAACG-3'
SHP-1 非甲基化(U)	上游: 5'-GTGAAGTTATTATAGTATAGTGTTC-3' 下游: 5'-TTCACACATACAAACCCAAACAAT-3'
id4 甲基化(M)	上游: 5'-TTTTATAAATATAGTTGCGCGGC-3' 下游: 5'-GAATATCCTAATCACTCCCTTCGA-3'
id4 非甲基化(U)	上游: 5'-GTTTTATAAATATAGTTGTGTGTGG-3' 下游: 5'-AAATATCCTAATCACTCCCTTCAA-3'

注: SHP-1 甲基化(M)、SHP-1 非甲基化(U)、id4 甲基化(M)、id4 非甲基化(U)引物

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计处理。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组 SHP-1、id4 基因表达水平比较 2 组患者 SHP-1、id4 基因表达水平比较,健康对照组 > 慢性期 > 加速期 > 急变期,差异有统计学意义($P<0.01$),但加速期、急变期比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 2 组受试者 SHP-1、id4 基因表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SHP-1	id4
健康对照组	42	1.75 ± 0.41	0.945 ± 0.215
CML 慢性期	24	1.28 ± 0.35 ^a	0.125 ± 0.024 ^a
CML 加速期	30	0.72 ± 0.21 ^{ab}	0.046 ± 0.012 ^{ab}
CML 急变期	24	0.68 ± 0.22 ^{ab}	0.043 ± 0.011 ^{ab}
F 值		83.813	424.699
P 值		<0.001	<0.001

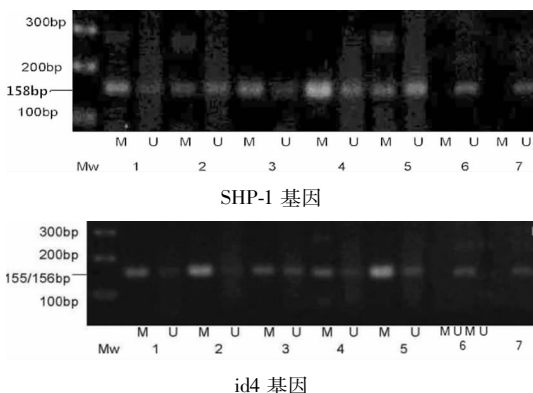
注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与 CML 慢性期比较,^b $P < 0.05$

2.2 2 组 SHP-1、id4 基因启动子甲基化率比较 健康对照组 SHP-1、id4 基因甲基化阳性率均为 0;病例组慢性期分别有 6 例(25.00%)、0 例,加速期分别为 29 例(96.67%)、20 例(66.67%),急变期分别为 24 例(100.00%)、17 例(70.83%)。加速期及急变期 CML 患者 SHP-1、id4 基因甲基化阳性率显著高于健康对照组及慢性期,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 3 2 组受试者 SHP-1、id4 基因启动子甲基化率比较 [例(%)]

组别	例数	SHP-1	id4
健康对照组	42	0	0
CML 慢性期	24	6(25.00)	0
CML 加速期	30	29(96.67)	20(66.67)
CML 急变期	24	24(100.00)	17(70.83)
χ^2 值		98.127	65.490
P 值		<0.001	<0.001

2.3 MSP 法测定 SHP-1、id4 蛋白凝胶成像图 CML 患者骨髓 SHP-1、id4 基因甲基化扩增产物大小分别为 158/158 bp、155/156 bp。甲基化扩增结果显示,SHP-1 基因、id4 基因在健康者中呈非甲基化阳性,在 CML 患者中呈甲基化状态。见图 1。



注: M、U 分别代表甲基化阳性、非甲基化阳性;图 1、2 中 1~5 分别代表 CML 患者骨髓标本甲基化与非甲基化结果,6~7 为正常者骨髓标本甲基化与非甲基化结果

图 1 SHP-1 基因和 id4 基因甲基化凝胶成像图

3 讨论

CML 多发于 50 岁以上人群,骨髓髓系增生、外周血白细胞增多及脾脏肿大是其主要特征^[6]。相关研究指出,CML 可分为慢性期、加速期及急变期,其起病缓慢,且在慢性期症状表现无特异性,因此易被忽视。而进展期常表现为脏器浸润,并出现恶化,急变期预后较差,可危及患者生命,因此早期发现 CML 尤为重要。目前关于 CML 疾病进展的分子机制尚不明确,但有研究认为,CML 不同时期基因甲基化差异显著。邵明等^[7]研究表明,细胞转化进程中,甲基化现象的出现要明显早于恶性表型,因此相关基因的甲基化检测对肿瘤的早期发现及防治具有重要意义。

甲基化为蛋白质和核酸一种重要的修饰,其可对基因的表达和关闭进行调节,并与肿瘤疾病关系密切^[8]。据文献报道,基因整体甲基化的降低及 CpG 局部甲基化的异常升高是造成癌症的一个重要原因。当启动子区 CpG 甲基化异常升高时,可造成基因沉默发生,在癌症中即表现为抑癌基因表达降低或不表达,从而促进肿瘤细胞的增殖^[9-10]。表观遗传学指出,对于基因失活现象的治疗主要以抑制 DNA 甲基化及组蛋白脱乙酰基两方面进行^[11]。而 SHP-1 基因、id4 基因均为抑癌基因,二者在 CML 疾病进展中的作用机制尚不明确,是否参与 CML 的发生及发展需要进一步的研究。

SHP-1 基因主要存在于造血细胞中,其可对下游信号蛋白分子磷酸酪氨酸进行脱磷酸化,从而实现受体酪氨酸激酶、抗原受体复合物等信号通路的调控,进一步对造血干细胞的增殖与凋亡进行调控^[12-13]。现国内外较多文献指出,SHP-1 基因结构异常在 CML 中较为少见,其失活机制多表现为启动子的甲基化。且刘晓等^[14]通过研究发现,SHP-1 基因在正常者中均不呈现甲基化,而在 CML 患者中,其甲基化阳性率随 CML 病情程度的加重而升高。本研究中,健康对照组 SHP-1 基因 mRNA 表达水平显著高于病例组各期,CML 慢性期患者显著高于 CML 急变期、加速期患者,且健康对照组甲基化阳性率为 0,CML 慢性期、加速期及急变期的甲基化阳性率分别为 25.00%、96.67%、100.00%。该结果与上述研究结论相符,具有一致性,提示 CML 中,SHP-1 基因失活或沉默现象可能为其启动子的甲基化。而 id4 基因为螺旋—环—螺旋转录因子亚家族的一员,其多存在于各类生物细胞中。资料显示,id 分子本身缺少 DNA 结合所需要的碱性氨基酸序列,因而与 bHLH 结合后,可形成异二聚体结构,从而对 bHLH 与 DNA 的结合产生抑制作用,进而阻抑细

胞分化^[15]。因此 id4 基因可作为抑癌基因,而当其被甲基化后,会导致基因发生沉默,基因表达产生抑制,从而促进肿瘤发生。本研究显示,CML 加速期及急变期 id4 基因 mRNA 表达水平均低于慢性期,且健康对照组及慢性期 CML 组中,甲基化阳性率均为 0,而 CML 加速期及急变期的甲基化阳性率分别为 66.67%、70.83%,与慢性期及健康对照组差异显著。提示 id4 基因 mRNA 表达受限与 CML 疾病的发生发展密切相关,且其甲基化可作为预测 CML 疾病进展的标志因子,对 CML 的诊断及治疗具有积极意义。

综上所述,SHP-1 基因、id4 基因在健康者中呈非甲基化,在 CML 慢性期甲基化较低,在加速期或急变期则呈高甲基化状态,因而其甲基化可作为预测 CML 疾病进展的标志因子,对 CML 的诊断及治疗具有积极意义。本研究不足为样本量偏小,仍有待进一步行大样本研究证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

郑伟:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;侯志新:提出研究思路,分析试验数据;刘承祥:实施研究过程,资料搜集整理;张雷:进行统计学分析;韩松:课题设计,论文修改,论文审核

参考文献

[1] Xu MM, Yang YL, Geng YH, et al. Methylation status and mRNA expression of DKK-3 and WIF-1 in acute myeloid leukemia patients [J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2017, 25 (5) : 1314-1320. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2017.05.007.

[2] Elias MH, Azlan H, Baba AA, et al. Aberrant DNA methylation of SOCS1 gene is not associated with resistance to imatinib mesylate among chronic myeloid leukemia patients [J]. *Cardiovascular & Hematological Disorders Drug Targets*, 2018, 18 (3) : 234-238. DOI:10.2174/1871529X18666180419101416.

[3] 刘晓,刘珊,李英华.慢性髓性白血病患者外周血细胞中 SHP-1、DNMTs 水平变化及其与疾病进展的关系 [J]. *山东医药*, 2018, 58 (45) : 84-86. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.45.023.

[4] 何志凯,薛燊,张勇洪,等.伊马替尼治疗的慢性髓系白血病患者 JARID1B、Hes1 和 MMP-9 基因表达水平差异的研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27 (4) : 1071-1076. DOI:10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2019.04.013.

[5] 杜东芬,朱丽霞,王云贵,等.肾母细胞瘤 1 基因表达及其对急性

髓系白血病患者预后的预测价值 [J]. *浙江大学学报:医学版*, 2019, 48 (1) : 50-57. DOI:10.3785/j.issn.1008-9292.2019.02.09.

[6] Klil Drori AJ, Yin H, Azoulay L, et al. Molecular monitoring of therapeutic milestones and clinical outcomes in patients with chronic myeloid leukemia [J]. *Cancer*, 2019, 125 (4) : 618-625. DOI:10.1002/cncr.31835.

[7] 邵明,汤平,吕先萍,等. ABO 血型基因启动子甲基化水平在成人白血病和骨髓增生异常综合征中的临床意义和预后分析 [J]. *中华内科杂志*, 2018, 57 (11) : 816-823. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.11.005.

[8] Ayatollahi H, Keramati MR, Shirdel A, et al. BCR-ABL fusion genes and laboratory findings in patients with chronic myeloid leukemia in northeast Iran [J]. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 2018, 9 (1) : 65-70. DOI:10.22088/cjim.9.1.65.

[9] Aggoune D, Sorel N, Bonnet ML, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cell (MSC) gene profiling in chronic myeloid leukemia (CML) patients at diagnosis and in deep molecular response induced by tyrosine kinase inhibitors (TKIs) [J]. *Leukemia Research*, 2017, 60:94-102. DOI:10.1016/j.leukres.2017.07.007.

[10] 树叶,罗鸯鸯,罗勇奇,等.过敏性紫癜患者 CD4⁺T 细胞叉头框蛋白 3 基因甲基化水平及其与调节性 T 细胞的关系 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2019, 52 (3) : 162-166. DOI:10.3760/cma.j.issn.0412-4030.2019.03.003.

[11] 孙文宣,江滨.去甲基化药物在老年急性髓系白血病中的联合治疗进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27 (4) : 1339-1343. DOI:10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2019.04.058.

[12] Liu XD, Liu X, Li YH, et al. Expression of SHP-1 mRNA in patients with myelogenous leukemia and its clinical significance [J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2017, 25 (4) : 975-979. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2017.04.003.

[13] 孙精文,张蕊,李艳.急性髓系白血病 SPRED1 基因启动子甲基化状态的研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2019, 48 (8) : 688-693. DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2019.08.004.

[14] 刘晓,刘珊,李英华.慢性髓性白血病患者外周血细胞中 SHP-1、DNMTs 水平变化及其与疾病进展的关系 [J]. *山东医药*, 2018, 58 (45) : 90-92. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.45.023.

[15] Tibaldi E, Pagano MA, Frezzato F, et al. Targeted activation of the SHP-1/PP2A signaling axis elicits apoptosis of chronic lymphocytic leukemia cells [J]. *Haematologica*, 2017, 102 (8) : 1401-1412. DOI:10.3324/haematol.2016.155747.

(收稿日期:2019 - 12 - 02)

CYP-EET 信号通路对大鼠 MCAO 缺血再灌注后血管新生影响的研究

刘阳, 郑小龙, 喻志源, 王伟, 谢敏杰

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81501020, 81371312); 湖北省自然科学基金资助项目(2019CFB678)

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院神经内科

通信作者: 谢敏杰, E-mail: xie_minjie@126.com

【摘要】 目的 研究 CYP-EET 信号系统对大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)缺血再灌注后血管新生及 VEGF/VEGFR 信号通路的影响。方法 2017 年 6 月—2018 年 4 月于华中科技大学同济医学院附属同济医院进行实验。选择 SPF 级健康成年 SD 雄性大鼠 80 只, 建立大鼠 MCAO 缺血再灌注模型, 采用 ELISA 法检测脑缺血后 1、3、7 d 脑组织内 14,15-EET 的变化; 通过侧脑室注射 14,15-EET 或 sEH 选择性抑制剂 AUDA 增加内源性 EETs 的含量, 应用免疫荧光技术和 Western-blot 检测脑缺血再灌注 1、3、7 d 后血管新生及相关信号通路。结果 与假手术组比较, 缺血组脑缺血再灌注后 1 d 脑组织内 14,15-EET 含量显著降低($t/P = 11.863/0.000$), 脑缺血再灌注后 3、7 d 脑内 14,15-EET 含量显著增加($t/P = -10.411/0.000, -8.432/0.000$); 外源性加入 14,15-EET 或 AUDA 后 vWF、VEGFR、VEGF 表达增加($F/P = 71.122/0.000, 44.363/0.000, 45.034/0.000$), p-Akt 及 p-Erk 蛋白表达降低($F/P = 39.601/0.000, 121.670/0.000$)。结论 脑缺血再灌注病理过程中 CYP-EETs 信号系统通过上调 VEGF/VEGFR 通路, 抑制 Erk 及 Akt 磷酸化, 促进血管新生。

【关键词】 CYP-EETs 信号系统; 脑缺血再灌注; 血管新生; 神经保护; 大鼠

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.015

Effects of CYP-EET signaling pathway on angiogenesis after MCAO ischemia-reperfusion in rats Liu Yang, Zheng Xiaolong, Yu Zhiyuan, Wang Wei, Xie Minjie. Department of Neurology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: Xie Minjie, E-mail: xie_minjie@126.com

Funding program: Supported by the National Natural Science Foundation of China (81501020, 81371312); the Natural Science Foundation of Hubei Province (2019CFB678)

【Abstract】 Objective To study the effect of CYP-EET signaling system on angiogenesis and VEGF/VEGFR signaling pathway after ischemia-reperfusion in rats with middle cerebral artery occlusion (MCAO). **Methods** From June 2017 to April 2018, the experiment was conducted in Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology. The MCAO ischemia-reperfusion model was established in 80 SPF healthy adult SD male rats. The changes of 14,15-EET in brain tissue were detected by ELISA on the 1st, 3rd and 7th day after cerebral ischemia. The content of endogenous EETs was increased by injecting 14,15-EET or the selective inhibitor AUDA into the lateral ventricle. Neovascularization and related signal pathways were detected by immunofluorescence and Western blot after 1, 3, 7 days of cerebral ischemia-reperfusion. **Results** Compared with the sham operation group, the 14,15-EET content in the brain tissue of the ischemia group decreased significantly ($t/P = 11.863/0.000$), and the 14,15-EET content in the brain increased significantly ($t/P = -10.411/0.000, t/P = -8.432/0.000$) on the 3rd and 7th day after cerebral ischemia-reperfusion. The expression of vWF, VEGFR and VEGF increased ($F/P = 71.122/0.000, F/P = 44.363/0.000, F/P = 45.034/0.000$), and the expression of p Akt and p Erk decreased ($F/P = 39.601/0.000, F/P = 121.670/0.000$) after exogenous addition of 14,15-EET or AUDA. **Conclusion** CYP-EETs signal system can inhibit ERK and Akt phosphorylation and promote angiogenesis by up regulating VEGF/VEGFR pathway during cerebral ischemia-reperfusion.

【Key words】 CYP-EETs signaling pathway; Cerebral ischemia reperfusion; Angiogenesis; Rats

血管新生在脑缺血后神经修复中具有重要作用。脑缺血时血流中断引起氧和营养物质供给障碍,细胞能量代谢紊乱,离子稳态失衡,细胞凋亡。脑缺血后新生血管的形成增加了缺血区血流供应,促进了新生血管网络的形成,为缺血缺氧组织提供能量,促进神经损伤的修复^[1]。细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 表氧化酶可代谢花生四烯酸而生成一种小分子活性物质—环氧二十碳三烯酸 (epoxyeicosatrienoic acids, EETs)。根据环氧基位置的不同, EETs 分为 4 种亚型: 5, 6-EET、8, 9-EET、11, 12-EET、14, 15-EET。研究报道, EETs 主要由 CYP 表氧化酶家族中 CYP2C 和 CYP2J 2 种亚型代谢花生四烯酸而生成。EETs 在体内被表氧化物水解酶 (soluble epoxidehydrolase, sEH) 代谢生成没有活性或活性很低的二羟基二十碳三烯酸 (dihydroxyeicosatrienoic acids, DHET) 从而构成一个完整的系统发挥生理作用。既往研究报道, EET 具有非常广泛的生物学功能, 包括扩张血管, 促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 细胞迁移及抗炎等^[2]。然而, 脑缺血后 CYP-EET 信号系统对梗死边缘区血管新生的影响及其相关机制目前尚不清楚。本研究采用外源性 14, 15-EET 或 sEH 选择性抑制剂 12-(3-金刚烷-1-基-脲基) 十二烷酸 [12-(3-adamantan-1-yl-ureido) dodecanoic acid, AUDA] 增加内源性 EETs 的含量, 研究 CYP-EETs 信号系统对大鼠大脑中动脉闭塞 (MCAO) 缺血再灌注后血管新生及相关信号通路的影响, 报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 (1) 动物: SPF 级健康成年 SD 雄性大鼠 80 只, 体质量 220 ~ 250 g, 由华中科技大学同济医学院附属同济医院实验动物中心提供。所有动物实验均严格遵循实验动物伦理委员会的相关规定, 并获得华中科技大学实验动物伦理委员会同意; (2) 试剂: p-Erk 兔多克隆抗体、p-Akt 兔多克隆抗体 (购自美国 Cell Signaling 公司), GAPDH 鼠单克隆抗体 (购自武汉谷歌生物科技有限公司), vWF 兔多克隆抗体 (购自美国 Abcam 公司), VEGF 鼠单克隆抗体 (购自美国 Abcam 公司), VEGFR 兔多克隆抗体 (购自美国 Cell Signaling 公司), cy3 标记山羊抗兔 IgG (购自美国 Jackson ImmunoResearch 公司), IRDye 800-conjugated 山羊抗兔 IgG, Alexa Fluor700-conjugated 山羊抗小鼠 IgG (购自美国 LI-COR Biosciences 公司), RIPA 强蛋白裂解液 (购自美国 Pierce 公司), BCA 蛋白定量试剂盒 (购自美国 Thermo 公司), 蛋白酶抑制剂 cocktail, 磷酸化蛋白酶抑制剂 (购自美国 Roche 公司), 蛋白 Marker

(1811) (购自美国 Fermentas 公司), 凝胶配置试剂盒 (购自武汉谷歌生物科技有限公司), NC 膜 (购自美国 Millipore 公司), 14, 15-DHET ELISA 试剂盒 (购自美国 Detroit R&D 公司); (3) 仪器设备: Alzet 给药微泵 2001 型、Alzet Brain Infusion Kits 2 (购自美国 Durect 公司), SR-6N 立体定位仪 (购自日本 Narishige 公司), CM1900 冰冻切片机 (购自德国 Leica 公司), Odyssey IR 成像系统 (购自美国 LI-COR Biosciences 公司), 激光共聚焦显微镜 (购自日本 Olympus 公司)。

1.2 动物分组及造模 2017 年 6 月—2018 年 4 月于华中科技大学同济医学院附属同济医院进行实验。

1.2.1 动物分组: 研究分为 2 部分。(1) 研究大鼠 MCAO 后不同时间点脑内 14, 15-EET 的变化, 大鼠分为假手术组和缺血 (MCAO) 组, 分别于缺血再灌注后 1 d、3 d、7 d 检测各组大鼠脑组织 14, 15-EET; (2) 研究 CYP-EET 信号系统对大鼠 MCAO 缺血再灌注后血管新生、VEGF/VEGFR、Erk、Akt 信号通路的影响, 大鼠分为假手术组、溶剂对照组、14, 15-EET 干预组、AUDA 干预组, 分别于缺血再灌注后 1 d、3 d、7 d 进行检测, 其中 1 d、3 d 检测 VEGF、p-Erk、p-Akt 蛋白水平; 7 d 检测 vWF、VEGFR 阳性的微血管密度。

1.2.2 动物造模: 以参考文献 [3] 的方法建立大鼠 MCAO 模型。采用右侧颈内动脉插入线栓的方法阻断同侧大脑中动脉血流, 首先腹腔注射氯胺酮和异丙嗪复合麻醉大鼠, 采用仰卧位并固定, 暴露右侧颈总动脉; 结扎颈外动脉及颈总动脉近心端, 用动脉夹夹闭颈内动脉; 在颈总动脉远心端用显微剪做一切口, 将线栓由此切口缓慢插入颈内动脉, 直至线栓头部到达右侧大脑中动脉处; 激光多普勒血流监测可见血流下降值约为基线水平的 70% ~ 80% 即造模成功^[4]; 缺血 1 h 后缓慢拔出线栓实施缺血后再灌注。假手术组不插入线栓, 其余操作与上述一致。手术期间, 利用保温垫使直肠温维持在 (37.0 ± 0.5) °C。干预组缺血前 30 min 采用 Alzet 给药微泵持续侧脑室给药, 药物浓度为 14, 15-EET 10 μmol/L, AUDA 1 mmol/L, 溶剂对照组注射含有相同浓度二甲基亚砜 (DMSO) 的生理盐水, 给药剂量参照文献 [5], 给药时间为 7 d, Alzet 给药微泵的使用严格按照说明书操作。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 14, 15-EET 检测: 采用 14, 15-DHET ELISA 竞争性试剂盒检测大鼠 MCAO 缺血再灌注后 1、3、7 d 脑组织匀浆中 14, 15-DHET 含量, 最终换算为脑组织 14, 15-EET 的水平。测定严格按照仪器和试剂盒要求进行。

1.3.2 vWF 及 VEGFR 阳性的微血管密度检测:采用免疫荧光技术检测。大鼠深度麻醉后断头取脑, -80℃ 异戊烷速冻, -20℃ 冰冻切片切片, 厚度为 10 μm, 贴于多聚赖氨酸包被的玻片上。4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液固定 15 min, 0.01 mol/L PBS 漂洗后 0.25% Triton-X100 破膜, 10% BSA 室温封闭 2 h, 加入一抗 vWF(1:400)、VEGFR(1:100)4℃ 孵育过夜。阴性对照采用抗体稀释液孵育过夜, 0.01 mol/L PBS 漂洗后避光加入二抗 cy3 标记山羊抗兔抗体(1:400), 室温孵育 1 h。Olympus 激光共聚焦显微镜采集图像。每张切片随机选取 5 个视野, 同一曝光参数下采集图像, Image-J 软件统计分析每个视野下 vWF 及 VEGFR 阳性的微血管密度。

1.3.3 脑组织蛋白浓度检测:采用 Western-bolt 法测量。大鼠深度麻醉后断头取脑, 取缺血边缘区大脑皮质, RIPA 裂解液提取总蛋白, 离心取上清, 蛋白变性后制备 SDS 聚丙烯酰胺凝胶并加样电泳, 将蛋白转膜至 0.45 μm 醋酸纤维膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, p-Erk 兔多克隆抗体(1:500)、p-Akt 兔多克隆抗体(1:500)、VEGF 鼠单克隆抗体(1:500)、GAPDH 鼠单克隆抗体(1:1000)4℃ 孵育过夜, 0.5% TBST 漂洗(6 min × 4 次), IRDye 800-conjugated 羊抗兔二抗(1:5000), Alexa Fluor700-conjugated 山羊抗小鼠二抗(1:5000)室温避光孵育 1 h; 用 Odyssey IR 红外成像系统检测蛋白条带的免疫活性, 记录平均吸光度(mean optical density), 并以 GAPDH 为内参进行校正。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验; 多组比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 SNK 法。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 MCAO 后不同时间点脑内 14,15-EET 的变化 大鼠 MCAO 缺血再灌注后 1、3、7 d 脑组织匀浆中总的 14,15-EET 比较, 第 1 d 缺血组低于假手术组 (*P* < 0.05); 第 3、7 d 缺血组均高于假手术组 (*P* < 0.05), 见表 1。

表 1 大鼠 MCAO 后不同时间点脑内 14,15-EET 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg}/\mu\text{g}$)

组别	<i>n</i>	1 d	3 d	7 d
假手术组	5	15.964 ± 0.887	16.792 ± 1.222	16.792 ± 1.222
缺血组	5	3.275 ± 0.597	53.758 ± 3.333	33.811 ± 1.484
<i>t/P</i> 值		11.863/0.000	-10.411/0.000	-8.432/0.000

2.2 各组脑组织 vWF 及 VEGFR 阳性的微血管密度比较 采用血管内皮细胞特异性标志物 vWF 标记微血管内皮细胞, 第 7 天, 溶剂对照组明显低于假手术组 (*P* < 0.05), 14,15-EET 干预组、AUDA 干预组明显高于溶剂对照组 (*P* < 0.05)。

采用 VEGFR 标记新生血管, 第 7 天, 溶剂对照组明显高于假手术组 (*P* < 0.05), 14,15-EET 干预组明显高于溶剂对照组 (*P* < 0.05); AUDA 干预组虽然较溶剂对照组增多, 但差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见图 1、表 2。

表 2 干预后 vWF 和 VEGFR 阳性微血管密度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	vWF	VEGFR
假手术组	5	113.500 ± 3.122	13.577 ± 0.869
溶剂对照组	5	57.175 ± 1.739	23.447 ± 0.400
14,15-EET 干预组	5	85.646 ± 2.123	29.073 ± 1.713
AUDA 干预组	5	83.119 ± 3.539	26.793 ± 0.600
<i>F/P</i> 值		71.122/0.000	44.363/0.000

2.3 各组脑组织 VEGF 蛋白表达比较 采用 Western-bolt 方法检测 VEGF 蛋白表达, 第 1 天及第 3 天时, 溶剂对照组明显高于假手术组 (*P* < 0.05), 14,15-EET 干预组、AUDA 干预组明显高于溶剂对照组 (*P* < 0.05), 见图 2、表 3。

表 3 各组干预后 VEGF 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

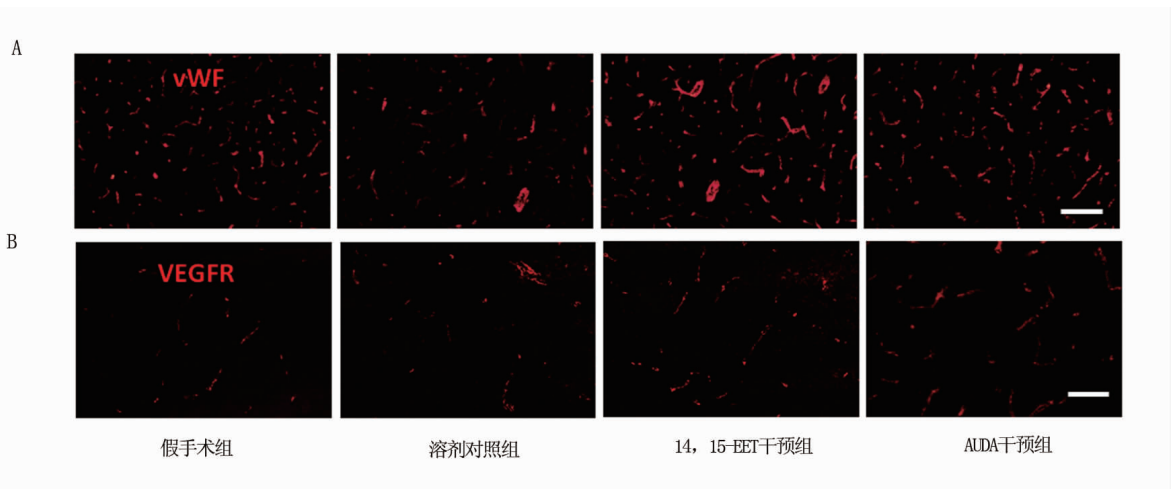
组别	<i>n</i>	1 d	3 d
假手术组	5	0.269 ± 0.007	0.267 ± 0.031
溶剂对照组	5	0.339 ± 0.006	0.384 ± 0.007
14,15-EET 干预组	5	0.416 ± 0.015	0.482 ± 0.013
AUDA 干预组	5	0.400 ± 0.012	0.460 ± 0.017
<i>F/P</i> 值		41.639/0.000	45.034/0.000

2.4 各组脑组织干预后 p-Akt 和 p-Erk 蛋白表达比较

Western-bolt 结果显示, 第 3 天时, 溶剂对照组 p-Akt 及 p-Erk 蛋白水平均明显高于假手术组 (*P* < 0.05), 14,15-EET 干预组、AUDA 干预组明显低于溶剂对照组 (*P* < 0.05), 见图 3、表 4。

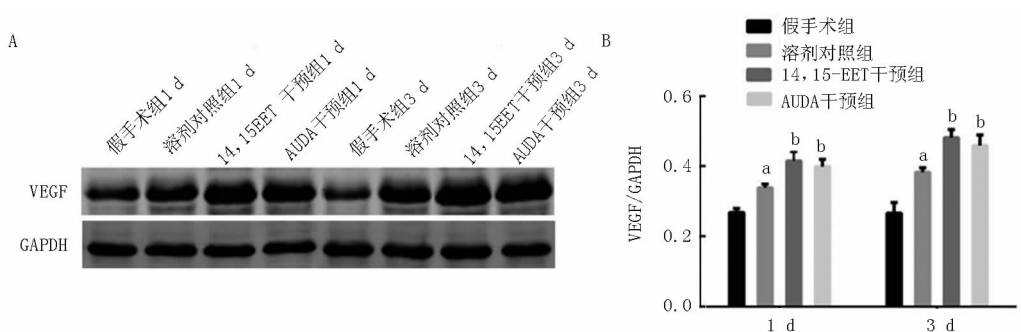
表 4 各组干预后 p-Akt 和 p-Erk 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	p-Akt	p-Erk
假手术组	5	0.169 ± 0.006	0.128 ± 0.007
溶剂对照组	5	0.285 ± 0.010	0.259 ± 0.006
14,15-EET 干预组	5	0.225 ± 0.007	0.140 ± 0.004
AUDA 干预组	5	0.197 ± 0.009	0.151 ± 0.004
<i>F/P</i> 值		39.601/0.000	121.670/0.000



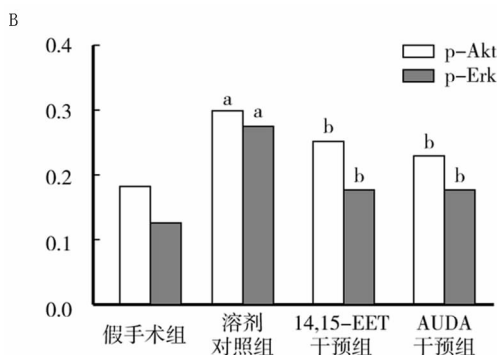
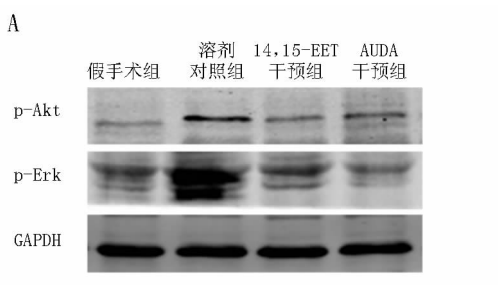
注:A. 红色荧光代表血管内皮细胞标志物 vWF, 标尺 = 100 μm; B. 红色荧光代表 VEGFR 阳性新生血管, 标尺 = 50 μm

图 1 各组 vWF 及 VEGFR 阳性的微血管密度比较



注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与溶剂对照组比较,^b $P < 0.05$

图 2 各组 VEGF 蛋白表达水平比较



注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与溶剂对照组比较,^b $P < 0.05$

图 3 各组干预后 p-Akt、p-Erk 蛋白表达比较

3 讨论

CYP 表氧化酶-EETs 信号系统在中枢神经系统的正常生理和多种神经系统疾病中都具有重要的作用。生理情况下, EETs 被认为是突触传递的重要调节因子, 参与脑血流的调节、皮质血管新生、抗细胞凋亡、调节神经激素的生成等^[6]。Li 等^[7] 研究发现, 在小鼠全脑缺血模型中, 脑组织及血浆中 14, 15-DHET 水平较对照组显著升高, 过表达 CYP2J2 小鼠脑缺血后梗死体积、细胞凋亡较野生型小鼠显著减少, 说明 EETs 在脑缺血过程中发挥神经保护作用。本研究也发现, MCAO 后 3、7 d 时脑内 14, 15-EET 含量显著升高, 但是 1 d 时 14, 15-EET 含量却减少, 推测该变化可能的原因是脑缺血急性期大量细胞坏死, 导致 EETs 生成减少, 而后期胶质细胞增殖活化, 血管内皮细胞新生后 EETs 的生成代偿增多。

研究发现, EETs 发挥神经保护作用的机制主要与抗凋亡、抗炎性反应、抗血栓形成等有关。Geng 等^[8] 研究发现, EETs 通过抑制 Caspase-3 的激活、细胞色素

C 释放发挥抗凋亡作用,减少梗死体积。Liu 等^[9]发现 EETs 通过减少缺血后炎症因子 TNF- α 、IL-6、NF- κ B、iNOS 分泌,发挥神经保护作用。此外,也有研究发现 EETs 在肿瘤、心肌梗死、视网膜等疾病中具有促进血管新生的作用^[10-11],然而 EETs 信号系统在脑缺血中是否具有促进血管新生的作用尚不清楚。故本研究建立 MCAO 缺血再灌注模型,分别通过侧脑室注射外源性 14,15-EET 和 AUDA 增加内源性 EETs,观察其对血管新生的影响。结果发现,外源性加入 14,15-EET 或 sEH 抑制剂 AUDA 可显著增加缺血边缘区微血管密度。VEGF 参与脑缺血后一系列神经损伤修复的过程,包括促进神经元存活、血管新生、神经前体细胞的增殖、迁移和分化^[12-13]。VEGFR-2 作为 VEGF 的重要受体表达于内皮细胞和神经元,VEGF/VEGFR 信号通路在血管新生及神经损伤与修复中扮演了重要角色^[14]。Sommer 等^[15]研究发现,EETs 可显著增加 VEGF 表达,促进缺血诱导的创伤处血管新生;Zhao 等^[16]报道,EETs 增加心肌梗死后 VEGF 的表达,促进血管新生。此外,Zhang 等^[17]研究发现,sEH 抑制剂可促进缺氧缺糖时星形胶质细胞分泌 VEGF,激活神经元 VEGFR,减少神经元凋亡,发挥神经保护作用。研究表明,有丝分裂原活化蛋白激酶(Erk)及磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)磷酸化等机制可能是 VEGF/VEGFR 的下游通路^[18-20]。与此类似,本研究发现外源性加入 14,15-EET 或 sEH 抑制剂 AUDA 可显著上调缺血边缘区 VEGF 和 VEGFR 的表达,同时抑制 Erk 和 Akt 的蛋白磷酸化水平,说明 EET 的血管新生作用与上调 VEGF/VEGFR 的表达密切相关,Erk 及 Akt 信号通路可能是其重要机制之一。

综上所述,本研究在 MCAO 缺血再灌注模型中发现,CYP-EET 信号系统可以增加缺血边缘区微血管密度,可能与 VEGF/VEGFR 信号通路激活有关。后期尚需要更多体外细胞水平的信号通路研究加以证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘阳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;郑小龙:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;喻志源、王伟、谢敏杰:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] Hatakeyama M, Ninomiya I, Kanazawa M. Angiogenesis and neuronal remodeling after ischemic stroke[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(1):16-19. DOI: 10.4103/1673-5374.26444.
- [2] Jamieson KL, Endo T, Darwesh AM, et al. Cytochrome P450-derived eicosanoids and heart function[J]. *Pharmacol Ther*, 2017,

- 179:47-83. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.05.005.
- [3] Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 2(9):3445-3454. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
- [4] Taninishi H, Jung JY, Izutsu M, et al. A blinded randomized assessment of Doppler flowmetry efficacy in standardizing outcome from intraluminal filament MCAO in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 2015, 15(241):111-120. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2014.12.006.
- [5] Liu Y, Wan Y, Fang Y, et al. Epoxyeicosanoid signaling provides multi-target protective effects on neurovascular unit in rats after focal ischemia[J]. *J Mol Neurosci*, 2016, 58(2):254-265. DOI: 10.1007/s12031-015-0670-y.
- [6] Wang L, Luo G, Zhang LF, et al. Neuroprotective effects of epoxyeicosatrienoic acids[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2018, 138:9-14. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2018.07.002.
- [7] Li R, Xu X, Chen C, et al. Cytochrome P450 2J2 is protective against global cerebral ischemia in transgenic mice[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2012, 99(3-4):68-78. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2012.09.004.
- [8] Geng HX, Li RP, Li YG, et al. 14,15-EET suppresses neuronal apoptosis in ischemia-reperfusion through the mitochondrial pathway[J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(10):2841-2849. DOI: 10.1007/s11064-017-2297-6.
- [9] Liu Z, Liu Y, Zhou H, et al. Epoxyeicosatrienoic acid ameliorates cerebral ischemia reperfusion injury by inhibiting inflammatory factors and pannexin-1[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2):2179-2184. DOI: 10.3892/mmr.2017.6831.
- [10] Guo Z, Johnson V, Barrera J, et al. Targeting cytochrome P450-dependent cancer cell mitochondria: Cancer associated CYPs and where to find them[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(2-3):409-423. DOI: 10.1007/s10555-018-9749-6.
- [11] Capozzi ME, McCollum GW, Penn JS. The role of cytochrome P450 epoxygenases in retinal angiogenesis[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(7):4253-4260. DOI: 10.1167/iovs.14-14216.
- [12] Esposito E, Hayakawa K, Ahn BJ, et al. Effects of ischemic post-conditioning on neuronal VEGF regulation and microglial polarization in a rat model of focal cerebral ischemia[J]. *J Neurochem*, 2018, 146(2):160-172. DOI: 10.1111/jnc.14337.
- [13] Lapi D, Colantuoni A. Remodeling of cerebral microcirculation after ischemia-reperfusion[J]. *J Vasc Res*, 2015, 52(1):22-31. DOI: 10.1159/000381096.
- [14] Geiseler SJ, Morland C. The janus face of VEGF in stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5):e1362. DOI: 10.3390/ijms19051362.
- [15] Sommer K, Jakob H, Badjlan F, et al. 11,12 and 14,15 epoxyeicosatrienoic acid rescue deteriorated wound healing in ischemia[J]. *PLoS One*, 2019, 14(1):e0209158. DOI: 10.1371/journal.pone.0209158.

(下转 515 页)

TGF- β R II、SCF、Cx-37 基因和蛋白在卵巢早衰中的表达及意义

李振森, 章青, 马妍, 盛菲, 李文

作者单位: 200000 上海, 中国人民解放军海军军医大学附属长征医院生殖医学中心

通信作者: 李文, E-mail: lyliwen@sina.com

【摘要】目的 探讨转化生长因子 β 受体 II (TGF- β R II)、干细胞因子(SCF)、间隙连接蛋白 37(Cx-37)在卵巢早衰(POF)中的表达及意义。**方法** 2019 年 6 月—9 月在中国人民解放军海军军医大学附属长征医院动物实验室进行实验,将雌性大鼠 40 只按随机数字表法分为实验组和对照组,各 20 只。实验组大鼠予雷公藤多苷片悬浮液 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 1 次/d, 共 2 周,制作 POF 模型;对照组大鼠给予上述相同剂量的生理盐水灌胃,1 次/d,共 2 周。之后抽取血液并处死,同时留存大鼠卵巢。卵巢切片后 HE 染色,PCR 法测定 TGF- β R II、SCF、Cx-37 mRNA 表达,Western-Blot 法测定 TGF- β R II、SCF、Cx-37 蛋白表达。**结果** 实验组大鼠成熟卵泡、次级卵泡及初级卵泡明显少于对照组,闭锁卵泡明显多于对照组,差异均有统计学意义($t/P = 19.899/0.000, 10.407/0.000, 8.364/0.000, 18.491/0.000$);血清 E2 水平低于对照组,血清 FSH 水平高于对照组($t/P = 16.067/0.000, 37.947/0.000$);TGF- β R II、Cx-37 mRNA 和蛋白表达水平低于对照组,SCF mRNA 和蛋白表达水平高于对照组,差异均有统计学意义($t/P = 12.642/0.000, 12.081/0.000, 69.397/0.000, 50.447/0.000, 33.001/0.000, 48.152/0.000$)。**结论** 卵巢早衰大鼠的 SCF 蛋白呈现高水平表达,TGF- β R II、Cx-37 蛋白呈现低水平表达,在卵巢早衰疾病的发生发展过程中起着重要的作用,可为减缓卵巢早衰提供新的临床指标和靶向治疗思路。

【关键词】 卵巢早衰;转化生长因子 β 受体 II;干细胞因子;间隙连接蛋白 37;大鼠

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.016

Expression and significance of TGF- β R II, SCF, Cx-37 genes and proteins in premature ovarian failure Li Zhenmi-ao, Zhang Qing, Ma Yan, Sheng Fei, Li Wen. Reproductive Medicine Center, Long March Hospital Affiliated to Naval Medical University of the people's Liberation Army of China, Shanghai 200000, China

Corresponding author: Li Wen, E-mail: lyliwen@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression and significance of transforming growth factor β receptor II (TGF- β R II), stem cell factor (SCF) and gap junction protein 37 (Cx-37) in premature ovarian failure (POF). **Methods** From June to September 2019, the experiment was conducted in the Animal Laboratory of Changzheng Hospital Affiliated to the Naval Medical University of the People's Liberation Army. 40 female rats were divided into two groups according to the random number table: the experimental group and the control group. The rats in the experimental group were given $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ of Tripterygium glycoside suspension once a day for 2 weeks to make POF model. Rats in the control group were given the same dose of saline once a day for 2 weeks. After that, blood was drawn and killed, and the ovaries of rats were preserved. The expression of TGF- β R II, SCF and Cx-37 mRNA was detected by PCR and Western blot respectively. **Results** The number of mature follicles, secondary follicles and primary follicles in the experimental group was significantly lower than that in the control group, and the number of atretic follicles was significantly higher than that in the control group ($t/P = 19.899/0.000, t/P = 10.407/0.000, t/P = 8.364/0.000, t/P = 18.491/0.000$). The level of serum E2 was lower than the control group, the level of serum FSH was higher than the control group ($t/P = 16.067/0.000, t/P = 37.947/0.000$), the level of TGF- β R II, Cx-37 mRNA and protein expression was lower than the control group, the level of SCF mRNA and protein expression was higher than the control group, the difference was statistically significant ($t/P = 12.642/0.000, t/P = 12.081/0.000, t/P = 69.397/0.000, t/P = 50.447/0.000, t/P = 33.001/0.000, t/P = 48.152/0.000$). **Conclusion** The expression of SCF protein and TGF- β R II and Cx-37 protein in rats with premature ovarian failure is high level, which play an

important role in the development of premature ovarian failure. It can provide new clinical indicators and targeted treatment ideas for the alleviation of premature ovarian failure.

【Key words】 Premature ovarian failure; Transforming growth factor β receptor II; Stem cell factor; Gap junction protein 37; Rats

卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF) 是一种多在女性 40 岁之前出现的卵巢功能衰竭性疾病, 以绝经为主要临床表现, 同时伴有一定程度的促性腺激素上升和雌激素下降, 也是临床上造成女性不孕的常见病因之一^[1]。POF 不仅会对患者心理造成一定创伤, 同时生理上雌激素水平降低还会增加患者出现冠心病及骨质疏松的风险^[2]。POF 的发病病因与机制相对较为复杂, 涉及到心理、医源性、病毒感染、免疫及遗传等因素, 其中有 50% 左右的患者发病与其机体免疫障碍有关, 约 30% 左右的患者因遗传因素引发, 还有部分患者无明确病因, 被称之为特发性 POF^[3]。近年, 关于卵泡发育相关基因在 POF 发病中的作用逐渐被广泛研究^[4]。其中间隙连接蛋白 37 (Cx37) 是颗粒细胞与卵母细胞缝隙连接相互通讯的媒介, 给卵母细胞的正常发育提供营养, 同时可以将其成熟分化的信号传递出去^[5]。卵巢中含有转化生长因子 β 受体 II (TGF- β R II) 和 TGF- β R I, TGF- β R II 可以与 TGF- β 相结合, 从而对 TGF- β R I 起到募集激活的作用, 最终形成二聚体形式的复合物, 调控机体相关基因活动, 在卵巢早衰中起着一定的作用^[6]。故本研究分析 TGF- β R II、干细胞因子 (SCF)、Cx-37 基因和蛋白在 POF 中的表达及意义, 为更深层次地了解 POF 病因及临床治疗提供参考, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 清洁级 SD 健康雌性大鼠 46 只 (许可证号 SYXK[湘]2015-0006, 由湖南中医药大学实验动物中心提供), 周龄 12 周, 体质量 200 ~ 250 g。清洁环境下生长, 相对湿度 40% ~ 60%, 温度 18 ~ 22℃, 12 h 光照下, 自由进水, 普通饲料饲养 1 周, 对大鼠每天阴道脱落的细胞进行涂片处理, 对其动情周期进行筛查, 选择周期规律的大鼠作为实验对象。

1.1.2 试剂与仪器: (1) 试剂。Trizol 试剂 (美国 Invitrogen 公司), TGF- β R II、SCF、Cx-37 抗体均购于北京奥维亚生物技术有限公司, 血清雌二醇 (E2)、促卵泡刺激素 (FSH) 试剂盒均由上海劲马生物科技有限公司提供, Western-blot 及凝胶电泳试剂均由南京凯基生物有限公司提供; (2) 仪器。台式离心机 (型号 5424r, 美国 Eppendorf 公司)、切片机 (型号 OPJ-1B, 天津天

利航空机电有限公司)、全自动酶标仪 (型号 Read Max 1900Plus, 上海闪谱生物科技有限公司)、显微镜 (型号 Olympus IX71, 日本 OLYMPUS)、PCR 仪 (型号 Step One Plus Real-Time, 美国 Applied Biosystems 公司)、电泳仪 (型号 Bio-Rad, 美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物建模及分组: 2019 年 6 月—9 月在中国人民解放军海军军医大学附属长征医院动物实验室进行实验, 规律动情周期大鼠 40 只, 按照随机数字表法分为对照组和实验组, 各 20 只。实验组予雷公藤多苷片悬浮液 50 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 灌胃, 1 次/d, 共 2 周, 作为 POF 模型。从大鼠开始灌药第 4 天起, 每天对大鼠进行阴道涂片, 并对其动情周期进行观察, 当阴道脱落细胞涂片表现为周期杂乱无章, 或持续停留在某一个时期, 表明大鼠动情周期紊乱, 则提示模型建立成功, 对照组给予上述相同剂量的生理盐水灌胃, 1 次/d, 共 2 周。2 天测量一次体质量。

1.2.2 标本处理: 40 只大鼠给药结束后 2 d, 均予 10% 水合氯醛麻醉, 于其眶周吸取血液样本, 静置、离心取上清液, 冰箱中保存, 待测; 而后均处死大鼠留取卵巢, 中性福尔马林液处理, 石蜡包埋, 连续切片, 贴附于预先用赖氨酸进行处理的载玻片上, 在 37 ~ 42℃ 条件下烤片过夜, 以备后续实验使用。部分卵巢置于液氮中保存, 以备后续 mRNA 表达的测定。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 卵泡发育观察和组织学判断标准^[7]: 上述 40 份卵巢蜡块每块取切片 2 张, 每张切片选取 5 个视野进行观察, 每组在高倍镜视野下观察 40 个卵巢最大横切面的卵泡总数, 最后取平均数。组织学标准, 颗粒细胞层减少, 胞质、染色体溶解, 卵母细胞核固缩, 卵细胞结构不清晰, 为闭锁卵泡。在卵泡发育的最后环节, 出现相对较大的卵泡腔, 卵细胞结构清晰, 视为成熟卵泡; 卵母细胞由不少于 2 层的立方状颗粒细胞将其包围, 视为次级卵泡; 卵母细胞仅仅被单层的立方状颗粒细胞包围, 视为初级卵泡。

1.3.2 血清 E2、FSH 水平测定: 采用酶联免疫吸附法测定血清 E2、FSH 水平, 操作方法严格按照说明书执行。

1.3.3 卵巢组织 TGF- β R II、SCF、Cx-37 mRNA 表达

水平测定^[8]:采用 Trizol 试剂提取大鼠卵巢的总 RNA, A280/A260 法测定 RNA 的浓度和纯度, RNA 完整性采用琼脂糖电泳法进行检测。按照说明, 将 1 μg 的总 RNA 经过反转录处理后扩增, 其中 SCF 上游引物序列为 5'-AAACTGGTGGCGAATC-3', 下游引物序列为 5'-CACGGGTAGCAAGAAC-3', 大小 756 bp; Cx-37 上游引物序列为 5'-CTGGGCCACGTCATTTACCT-3', 下游引物序列为 5'-CATGGTCCAGCCGTAGAGAC-3', 产物大小 267 bp; TGF-βR II 上游引物序列为 5'-CTGTGAGAAGC-CGCAGGAAGT-3', 下游引物序列为 5'-CAGAGT-GAAGCCGTGGTAGGTG-3', 大小 603 bp; GAPDH 内参上游序列为 5'-CTCATGACCACAGTCCATGC-3', 下游序列为 5'-TTCAGCTCTGGGATGACCTT-3', 产物大小 155 bp。扩增条件为 94℃ 条件下进行 30 min 的预变性, 94℃ 条件下 30 s, 59℃ 条件下 30 s, 72℃ 条件下 45 s, 共进行 40 个循环进行扩增处理。以 GAPDH 作为内参, 采用 2^{-ΔΔCt} (Ct 为基本循环值) 法对 TGF-βR II、SCF、Cx-37 mRNA 的相对表达量进行测定。

1.3.4 Western-blot 法测卵巢组织 TGF-βR II、SCF、Cx-37 蛋白表达: 采用 Western-blot 法检测。按照 TRNzol 总 RNA 提取试剂说明书进行总蛋白提取, Bradford 比色法测定蛋白浓度, 并将各组样品蛋白浓度调整一致, 蛋白进行变性处理, 经聚丙烯酰胺凝胶电泳进行蛋白分离, 然后转印到 PVDF 膜上, 置入封闭液中摇动孵育 1 h, 加入一抗 (TGF-βR II、SCF、Cx-37 均为 1:1 000 稀释) 孵育, 4℃ 下过夜。二抗 (1:2 000 稀释) 孵育 2 h, 免疫荧光增强法显色, TGF-βR II、SCF、Cx-37 蛋白的表达量以 GAPDH 的灰度比值表示。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.00 软件对数据行统计分析。正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组卵巢组织形态学比较 实验组大鼠闭锁卵泡明显多于对照组, 成熟卵泡、次级卵泡及初级卵泡明显少于对照组, 差异具有统计学意义 (P < 0.01), 见表 1。

表 1 2 组大鼠各级卵泡构成比较 ($\bar{x} \pm s$, 个)

组别	n	闭锁卵泡	成熟卵泡	次级卵泡	初级卵泡
对照组	20	1.11 ± 0.20	2.23 ± 0.45	4.26 ± 0.68	5.66 ± 1.06
实验组	20	3.26 ± 0.48	0.21 ± 0.06	2.21 ± 0.56	3.46 ± 0.51
<i>t</i> 值		18.491	19.899	10.407	8.364
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 2 组血清 E2、FSH 水平比较 实验组大鼠血清

E2 水平低于对照组, 血清 FSH 水平高于对照组, 差异具有统计学意义 (P < 0.01), 见表 2。

表 2 2 组大鼠血清 E2、FSH 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	E2 (ng/L)	FSH (IU/L)
对照组	20	83.62 ± 7.41	0.03 ± 0.01
实验组	20	53.26 ± 4.08	0.15 ± 0.01
<i>t</i> 值		16.067	37.947
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.3 2 组卵巢组织 TGF-βR II、SCF、Cx-37 mRNA 表达水平比较 实验组大鼠 TGF-βR II、Cx-37 mRNA 表达水平低于对照组, SCF mRNA 表达水平高于对照组, 差异具有统计学意义 (P < 0.01), 见表 3。

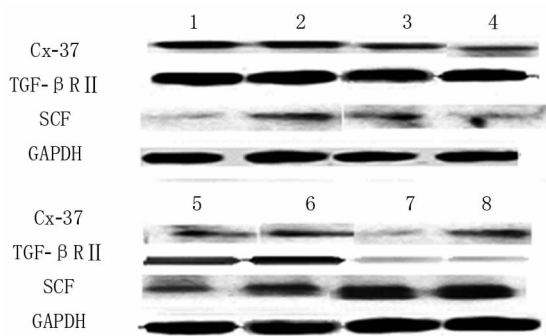
表 3 2 组大鼠 TGF-βR II、SCF、Cx-37 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TGF-βR II	SCF	Cx-37
对照组	20	0.87 ± 0.15	0.28 ± 0.02	0.94 ± 0.21
实验组	20	0.29 ± 0.14	0.61 ± 0.04	0.35 ± 0.06
<i>t</i> 值		12.642	33.001	12.081
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.4 2 组卵巢组织 TGF-βR II、SCF、Cx-37 蛋白表达水平比较 实验组大鼠 TGF-βR II、Cx-37 蛋白表达水平低于对照组, SCF 蛋白表达水平高于对照组, 差异具有统计学意义 (P < 0.01), 见表 4、图 1。

表 4 2 组大鼠 TGF-βR II、SCF、Cx-37 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TGF-βR II	SCF	Cx-37
对照组	20	0.836 ± 0.024	0.325 ± 0.012	0.712 ± 0.032
实验组	20	0.361 ± 0.019	0.653 ± 0.028	0.318 ± 0.014
<i>t</i> 值		69.397	48.152	50.447
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000



注: 1~4 为对照组, 5~8 为实验组

图 1 TGF-βR II、SCF、Cx-37 蛋白表达印迹图

3 讨论

卵巢是一种重要的生殖器官,在具有生殖能力的前提下还具有一定雌激素分泌功能。卵巢的大小与产卵期和年龄关系较为密切^[9-10]。卵巢中起重要作用的功能性结构是卵泡,主要存在于卵巢皮质内,主要由一个卵母细胞和周边相应的大量卵泡细胞组成,对卵泡的闭锁、排卵及发育具有重要的影响^[11-12]。另外,颗粒细胞也是参与雌激素合成的重要细胞^[13]。卵巢是目前女性生殖系统中对药物较为敏感的器官,其功能受损与相关化疗药物的使用具有很大关系^[14]。目前临床上已经确认可以对卵巢相关功能产生一定程度损伤的药物有植物碱、抗生素、抗代谢药、铂类化合物及烷化剂等^[15]。本研究选用雷公藤多苷片悬浮液作为致病药物,灌养大鼠制作 POF 大鼠模型。多项临床研究显示,自身免疫功能紊乱为 POF 发病的重要机制,可以引起卵巢一定程度的炎性反应,破坏卵泡细胞的相关超微结构,如透明带受损、缝隙链接断裂、线粒体肿胀等,造成卵巢细胞发生不同程度的凋亡,影响卵泡的正常成熟及闭锁,最后致使卵巢功能逐渐减退^[16-17]。

SCF 是由卵巢局部分泌的重要旁分泌因子,调控卵巢的正常发育^[18]。另外,颗粒细胞也能够分泌形成 SCF,而当 SCF 水平达到一定程度后可以进一步刺激颗粒细胞的分化和增殖,可以较好地调控卵泡的早期发育,具有重要的生理作用^[19]。而本研究结果显示,实验组大鼠 SCF mRNA 及蛋白表达明显高于对照组,提示高水平表达的 SCF 可能通过对颗粒细胞进一步调控,引发 POF。在正常细胞之间的通讯方式一般存在 2 种,其一是通过体循环自分泌、旁分泌及远程分泌方式间接性的完成通讯;另外一种是通过存在于细胞间的缝隙链接进行信息的直接交换,称之为缝隙连接细胞通讯^[20]。缝隙连接相邻细胞的质膜相结合形成微型管道,6 个跨膜蛋白分子将每一半的管道围绕,形成一种结构单元,被称为连接子,跨膜蛋白被称为连接蛋白(Cx),对缝隙连接的功能产生重要的影响^[21]。而卵泡周围无相应的血管环境,缝隙连接是周围细胞与卵泡细胞进行物质交换及信号传递的重要形式,其中卵巢缝隙连接最为丰富的连接蛋白为 Cx-37,主要存在于卵母细胞表面细胞骨架上与卵泡颗粒细胞中,构成颗粒细胞与卵母细胞间缝隙连接的相互通讯,为卵母细胞的发育提供信号交换与物质基础^[22]。本研究结果显示,实验组大鼠的 Cx-37 mRNA 和蛋白表达水平明显低于对照组,这可能是由于 POF 大鼠卵巢的各级卵泡存在不同程度的减少,性激素水平发生改变,

卵巢内分泌功能变化,间质纤维化及坏死。TGF- β 是卵泡发育和生长不可或缺的活性因子,而影响 TGF- β 信号传导较为重要的受体为 TGF- β R II^[23]。其可与 TGF- β 特异性结合,通过 Samd 经典信号转导通路对细胞外基质的分泌和合成,机体细胞的迁移与增殖产生调控,在受损组织重塑过程中起着重要的作用^[24]。而本研究结果提示,POF 大鼠表达的 TGF- β R II mRNA 和蛋白量相对较少,与以往研究结果相符^[25-26]。

综上所述,卵巢早衰大鼠 SCF 蛋白呈高水平表达,TGF- β R II、Cx-37 蛋白呈低水平表达,在卵巢早衰疾病的发生发展过程中起着重要的作用,可为减缓卵巢早衰提供新的临床指标和靶向治疗思路。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李振森:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;章青:提出研究思路,分析试验数据,论文修改;马妍:实施研究过程;盛菲:资料搜集整理,进行统计学分析;李文:课题设计,论文审核

参考文献

- [1] Al-Hussaini TK, Zakhhera MS, Abdel-Aleem M, et al. Premature ovarian failure/dysfunction following surgical treatment of polycystic ovarian syndrome: A case series[J]. Middle East Fertility Society Journal, 2017, 22(3):233-235. DOI:10.1016/j.mefs.2017.03.008.
- [2] Melekoglu R, Ciftci O, Eraslan S, et al. Beneficial effects of curcumin and capsaicin on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in a rat model[J]. Journal of Ovarian Research, 2018, 11(1):33-39. DOI:10.1186/s13048-018-0409-9.
- [3] He Y, Chen D, Yang L, et al. The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in premature ovarian failure[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2018, 9(1):263-272. DOI:10.1186/s13287-018-1008-9.
- [4] Yang W, Wang Y, Shan W, et al. Progress on the clinical applications of stem cells for premature ovarian failure[J]. Nano LIFE, 2018, 8(4):51-59. DOI:10.1142/s1793984418410039.
- [5] Feng G, Lin M, Zhou X, et al. Efficacy of Bushenjianpi prescription on autoimmune premature ovarian failure in mice[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 37(5):667-674. DOI:10.1016/s0254-6272(17)30321-7.
- [6] Sanverdi I, Kilicci C, Cogendez E, et al. Utility of complete blood count parameters to detect premature ovarian insufficiency in cases with oligomenorrhea/amenorrhea[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2017, 32(4):e22372-e22381. DOI:10.1002/jcla.22372.
- [7] 王永峰, 马会明, 相丽, 等. BMSCs 移植对大鼠卵巢早衰的修复及 TGF- β R II 表达的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2017, 39(6):627-630. DOI:10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2017.06.004.
- [8] 刘慧萍, 曾柳庭, 胡立娟, 等. 补肾活血方对卵巢早衰小鼠颗粒细胞 TGF- β 1、TGF- β R II、Smad2/3 表达的影响[J]. 中成药,

- 2017, 39(9):1782-1788. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.005.
- [9] 李欣捧. 补肾调冲方对雷公藤多苷片致卵巢早衰大鼠 SCF、Cx37 的影响[D]. 唐山:华北理工大学, 2018.
- [10] 廖培强, 王玮. 缝隙连接蛋白 Cx37 基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死的相关性[J]. 医学临床研究, 2017, 34(5):1023-1026. DOI:10.3969/j.issn.1671-7171.2017.05.068.
- [11] Wang Z, Wang Y, Yang T, et al. Study of the reparative effects of menstrual-derived stem cells on premature ovarian failure in mice [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2017, 8(1):11-41. DOI: 10.1186/s13287-016-0458-1.
- [12] Yan Z, Dai Y, Fu H, et al. Curcumin exerts a protective effect against premature ovarian failure in mice [J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2018, 60(3):261-271. DOI: 10.1530/JME-17-0214.
- [13] Kumar R, Alwani M, Kosta S, et al. BMP15 and GDF9 gene mutations in premature ovarian failure [J]. *Journal of Reproduction & Infertility*, 2017, 18(1):185-189.
- [14] Xiong Y, Liu T, Wang S, et al. Cyclophosphamide promotes the proliferation inhibition of mouse ovarian granulosa cells and premature ovarian failure by activating the lncRNA-Meg3-p53-p66Shc pathway [J]. *Gene*, 2017, 596(6):1-8. DOI:10.1016/j.gene.2016.10.011.
- [15] Mishra B, Ripperdan R, Ortiz L, et al. Very low doses of heavy oxygen ion radiation induce premature ovarian failure [J]. *Reproduction*, 2017, 154(2):123-133. DOI:10.1530/REP-17-0101.
- [16] Sheikhsari G, Aghebatmaleki L, Nouri M, et al. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 102:254-262. DOI:10.1016/j.biopha.2018.03.056.
- [17] Luo Q, Yin N, Zhang L, et al. Role of SDF-1/CXCR4 and cytokines in the development of ovary injury in chemotherapy drug induced premature ovarian failure mice [J]. *Life Sciences*, 2017, 179(8):103-109. DOI:10.1016/j.lfs.2017.05.001.
- [18] 覃柳巧. 地黄菟丝调经颗粒对环磷酰胺所致卵巢早衰大鼠 SCF 和 GnRHR-mRNA 的影响[D]. 哈尔滨:黑龙江省中医药科学院, 2015.
- [19] 于梅, 覃柳巧, 迟继铭, 等. 地黄菟丝调经颗粒对环磷酰胺所致卵巢早衰大鼠干细胞因子的影响[J]. *中国中医药科技*, 2016, 23(1):25-27.
- [20] Wu YY, Liang CY, Liu TT, et al. Protective roles and mechanisms of polysaccharides from *Dendrobium officinale* on natural aging-induced premature ovarian failure [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 101(5):953-960. DOI:10.1016/j.biopha.2018.03.030.
- [21] 李子广, 夏申宏, 王恩举, 等. 缝隙连接蛋白 Cx37 在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2018, 39(24):6-9. DOI:10.3969/j.issn.1002-1256.2018.24.001.
- [22] Carballo S, Pfenniger A, Carballo D, et al. Differential association of Cx37 and Cx40 genetic variants in atrial fibrillation with and without underlying structural heart disease [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1):295-306. DOI: 10.3390/ijms19010295.
- [23] 党赛利, 刘佳钰, 刘丹, 等. 血清 TGF- β 水平在类风湿性关节炎并发卵巢早衰中的临床分析[J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 9(5):524-525. DOI:CNKI:SUN:DYBF.0.2017-05-026.
- [24] 李娜, 刘元, 党赛利. 卵巢早衰与结缔组织病免疫因素的相关研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2016, 16(96):33-42. DOI:10.3969/j.issn.1671-3141.2016.96.023.
- [25] Lin J, Li XL, Song H, et al. A general description for Chinese medicine in treating premature ovarian failure [J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2017, 23(2):91-97. DOI:10.1007/s11655-016-2642-7.
- [26] Conte B, Del ML. Gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in breast cancer patients [J]. *Minerva Ginecologica*, 2017, 69(4):350-356. DOI:10.23736/S0026-4784.17.04067-9.

(收稿日期:2019-11-19)

(上接 489 页)

- [9] 刘春涛, 武瑞, 俞海燕, 等. 双重血浆分子吸附模式人工肝治疗乙肝相关慢加急性肝衰竭的疗效观察[J]. *浙江医学*, 2019, 41(2):125-127, 131. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.2.2018-1086.
- [10] 秦华, 魏丽. 双重血浆分子吸附联合血浆置换治疗慢加急性肝衰竭的疗效分析[J]. *临床荟萃*, 2019, 34(7):633-636. DOI:10.3969/j.issn.1004-583X.2019.07.013.
- [11] 谭立明, 蒙仪妹, 隆婷婷, 等. 降钙素原、D-二聚体、C-反应蛋白对慢加急性肝衰竭患者并发感染的临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(3):410-415. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2018.03.017.
- [12] 谢能文, 涂慧敏, 何金秋, 等. HBV 相关慢加急性肝衰竭患者 T 淋巴细胞亚群和体液免疫指标检测的临床意义[J]. *实用临床医学*, 2018, 19(2):5-8. DOI:10.13764/j.cnki.lcsy.2018.02.002.
- [13] 吴振平, 钟渊斌, 李小鹏, 等. 乙型肝炎病毒相关慢加急性(亚急性)肝功能衰竭患者中急性肾损伤的分析[J]. *中华传染病杂志*, 2016, 34(12):713-716. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6680.2016.12.003.
- [14] 刘政芳, 黄伟, 李芹, 等. 动态检测慢加急性(亚急性)性肝衰竭病人细胞因子的临床意义[J]. *安徽医药*, 2017, 21(2):263-266. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.02.018.
- [15] 张慧, 肖蕾, 许敏, 等. HBV 相关慢加急性肝衰竭患者血浆抗可溶性肝抗原抗体的检测及意义[J]. *广东医学*, 2017, 38(13):1977-1980. DOI:10.3969/j.issn.1001-9448.2017.13.009.

(收稿日期:2019-10-17)

腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂调节 SCF/c-kit 信号通路对 STC 大鼠的作用研究

马鑫文, 王程, 张瑞春, 屈玉疆, 刘俊昌

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2017D01C174)

作者单位: 830000 乌鲁木齐, 新疆维吾尔自治区中医药研究院(马鑫文); 新疆维吾尔自治区中医医院推拿科(马鑫文、王程、张瑞春、屈玉疆、刘俊昌)

通信作者: 刘俊昌, E-mail: jctcm@126.com

【摘要】目的 观察腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂调节 SCF/c-kit 信号通路对慢传输型便秘(STC)大鼠的作用。**方法** 2017 年 10 月—2018 年 6 月于新疆维吾尔自治区中医药研究院进行实验。65 只雄性大鼠随机数字表法分为 5 组, 对照组、模型组、推拿组、莫沙必利组、推拿联合莫沙必利组(联合组), 每组 13 只。除对照组外, 其余各组采用肠神经节消融术建立 STC 大鼠模型, 推拿组进行腹部推拿, 莫沙必利组大鼠予 0.15 mg/ml 莫沙必利 10 ml/kg 灌胃, 联合组予推拿 + 相同浓度的莫沙必利灌胃, 各组干预方式每日 1 次, 连续 14 d。实验结束后比较各组大鼠体质量、粪便含水率、血浆 SP、NO、5-HT 及 VIP 水平、肠推动率, 实时定量 PCR 检测大鼠结肠组织中 5-HT₃R 和 5-HT₄R mRNA 的表达, Western-blot 检测大鼠结肠组织中 SCF、c-kit 蛋白水平。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠体质量增加值显著升高($F = 11\ 910.958, P = 0.021$), 粪便含水率显著降低($F = 81.938, P = 0.018$), 血浆 SP 水平显著降低, NO、5-HT 及 VIP 水平均显著升高($F/P = 621.651/0.011, 4\ 298.343/0.008, 2\ 282.876/0.013, 834.829/0.026$), 肠推动率显著降低($P < 0.05$), 结肠组织中 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 水平、SCF、c-kit 水平均显著下降($P < 0.05$)。与模型组比较, 推拿组、莫沙必利组、联合组大鼠体质量增加值均显著降低($P < 0.05$), 粪便含水率显著增加($P < 0.05$), 血浆 SP 水平显著升高, NO、5-HT 及 VIP 水平均显著降低($P < 0.05$), 肠推动率均显著升高($P < 0.05$)。结肠组织中 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 水平、SCF、c-kit 蛋白水平均显著升高($P < 0.05$), 且联合组大鼠各项指标转归效果均显著优于推拿组及莫沙必利组($P < 0.05$)。**结论** 腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂能够调节 STC 大鼠体内 SCF/c-kit 信号通路, 缓解 STC 大鼠疾病状态, 改善其疾病转归。

【关键词】 慢传输型便秘; 腹部推拿; 5-HT₄ 受体激动剂; SCF/c-kit 信号通路; 大鼠

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.017

Effects of abdominal massage combined with 5-HT₄ receptor agonist on SCF/c kit signaling pathway in STC rats

Ma Xinwen*, Wang Cheng, Zhang Ruichun, Qu Yujiang, Liu Junchang. *Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang, Urumqi 830000, China

Corresponding author: Liu Junchang, E-mail: jctccm@126.com

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2017D01C174)

【Abstract】 Objective To observe the effect of abdominal massage combined with 5-HT₄ receptor agonist on SCF/c kit signal pathway in slow transit constipation (STC) rats. **Methods** The experiment was conducted in Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Traditional Chinese Medicine from October 2017 to June 2018. Sixty-five male rats were randomly divided into 5 groups: control group, model group, massage group, mosapride group, massage combined with Mosapride group (combined group). In addition to the control group, the other groups used intestinal ganglia ablation to establish STC rat model. The rats in mosapride group were given 0.15 mg/ml mosapride 10 ml/kg intragastric administration, and the rats in combination group were given massage + mosapride of the same concentration intragastric administration. Each group was intervened once a day for 14 days. At the end of the experiment, the body weight, fecal water content, plasma SP, no, 5-HT and VIP levels, intestinal motility were compared. The expression of 5-HT₃R and 5-HT₄R mRNA was detected by real-time quantitative PCR, and SCF and c-kit protein levels were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the body weight increment of the model group was significantly higher ($F = 11\ 910.958, P = 0.021$), and the fecal water content

was significantly lower ($F = 81.938, P = 0.018$), the plasma SP level was significantly reduced, the levels of no, 5-HT and VIP were significantly increased ($F/P = 621.651/0.011, 4298.343/0.008, 2282.876/0.013, 834.829/0.026$), the intestinal motility rate was significantly reduced ($P < 0.05$), and the levels of 5-HT₃R and 5-HT₄R mRNA, SCF and C kit water in colon tissue were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the body weight of rats in massage group, mosapride group and combination group decreased significantly ($P < 0.05$), fecal water content increased significantly ($P < 0.05$), plasma SP level increased significantly, no, 5-HT and VIP levels decreased significantly ($P < 0.05$), and intestinal motility increased significantly ($P < 0.05$). The levels of 5-HT₃R and 5-HT₄R mRNA, SCF and c-kit protein in colon tissue were significantly increased ($P < 0.05$), and the outcome of the combined group was significantly better than that of the massage group and Mosapride group ($P < 0.05$). **Conclusion** Abdominal massage combined with 5-HT₄R receptor agonist can regulate SCF/c-kit signaling pathway in STC rats, alleviate the disease status and improve the disease outcome.

【Key words】 Slow transit constipation; Abdominal massage combined with 5-HT₄ receptor agonist; SCF/c kit signaling pathway; Rats

慢传输型便秘 (slow transit constipation, STC) 是由于大肠功能紊乱、传导失常而导致的排便周期延长和排便困难。其发病机制可能与肠神经系统、中枢神经及自主神经系统调节功能障碍、激素水平异常等多种因素有关^[1-6]。5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 是参与调节胃肠道分泌和运动功能的重要神经递质和旁分泌信号分子。其中 5-HT₃ 受体 (5-HT₃R)、5-HT₄ 受体 (5-HT₄R) 与胃肠道动力存在紧密联系。莫沙必利是目前临床上常使用的 5-HT₄ 受体激动剂之一, 常被用来调节胃肠道动力, 促进肠道蠕动。腹部推拿是中医特色疗法之一, 近年研究表明, 腹部推拿能够明显改善慢传输型便秘的临床症状, 缓解患者的疾病状态^[3-6], 但其作用机制目前尚未明确。现通过研究腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂对 STC 大鼠进行治疗并观察疗效, 报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 (1) 动物: 健康雄性 SD 大鼠 65 只, SPF 级, 6 周龄, 体质量 (180 ± 20) g, 购自新疆医科大学动物实验中心, 自由进食、饮水饲养于实验动物房。(2) 试剂: SCF、c-kit 和 GAPDH 抗体均购自 Proteintech 公司, RNA 提取试剂盒购自 Promega 公司, RIPA 蛋白裂解液、P 物质 (SP)、一氧化氮 (NO)、5-HT 及血管活性肠肽 (VIP) 检测 ELISA 试剂盒购自上海碧云天公司, ECL 显色液购自 Thermo 公司。(3) 仪器设备: 酶标仪 (MB-530) 购自济南好来宝医疗器材有限公司, 双垂直电泳仪 (DYCZ-25D)、转印电泳仪 (DYCZ-40G) 购自北京六一仪器有限公司, 凝胶成像仪 (Gel Doc XR) 购自伯乐生命医学产品有限公司, 离心机 (FC5718 230V) 购自奥豪斯国际贸易 (上海) 有限公司。

1.2 STC 大鼠模型的建立 2017 年 10 月—2018 年 6

月于新疆维吾尔自治区中医药研究院进行实验。65 只大鼠随机数字表法分为 5 组: 对照组、模型组、推拿组、莫沙必利组、推拿联合莫沙必利组 (联合组), 每组 13 只。除对照组外, 其余各组大鼠采用肠神经节消融术造模, 大鼠麻醉后仰卧于手术台上, 无菌条件下取腹部正中切口, 长约 4 cm, 充分暴露结肠, 取宽度约 1 cm 双层纱布, 使用生理盐水完全浸湿, 包绕全部结肠, 纱布长度与肠管相当, 保持纱布湿润, 每 5 min 沿纱布长轴间隔约 1 cm 各滴 3 滴 0.25% 苯扎氯铵溶液, 其余器官用湿纱布覆盖、隔离, 共 30 min, 术后逐层关腹; 对照组不做处理, 相同条件下继续喂养。所有大鼠术后 12 h 恢复正常饲养, 自由进食、饮水, 给予青霉素钠 1 周, 注意观察大鼠排便、精神和营养状况。为确保实验结果可靠性和减少误差, 所有模型制备均由指定动物实验员完成, 且以粪粒干燥、粒形缩短、排便费力、日排便量低于对照组大鼠作为造模成功的标准。造模成功后, 对各组大鼠进行称重, 记为初始体质量, 推拿组按照特定方法进行腹部推拿。莫沙必利组大鼠予 0.15 mg/ml 莫沙必利 10 ml/kg 灌胃, 联合组每天予推拿 + 0.15 mg/ml 莫沙必利 10 ml/kg 灌胃, 每日 1 次, 连续给药 14 d。对照组及模型组只摆相同体位, 不进行腹部推拿。除莫沙必利组及联合组, 其余各组根据大鼠体质量予生理盐水 10 ml/kg 灌胃, 每日 1 次, 连续给予 14 d。

1.3 腹部推拿方法 根据参考文献[16]方法, 选用腹部推拿中核心手法“按法”“摩法”作为主要干预手法。为保证手法的一致性, 实验前应用 YF-3 手法测定仪采集操作手法信息, 对手法的用力大小、频率等进行标定, 建立手法操作模型。实验过程中由专人操作, 手法操作者除掌握手法要点外, 还需应用 YF-3 手法测定仪进行评测, 待其手法的力度大小、频率形成的波

形轨迹与手法模型基本一致后,方可用于实验大鼠。取穴参考《实验推拿学》^[17],选取大鼠的关元穴、中脘穴。腹部按法:手法操作者以右手食指、中指二指叠按置于关元穴上,余指并拢。以右手腕关节为支点,食、中二指掌指部主动施力,向耻骨联合脊柱方向徐徐按下,力量自轻至重,待指面感觉到大鼠腹部动脉轻微搏动,按而留之,完成此过程大约 30 s,后维持此时的压力及其所达到的深度,静待 1 min 后掌指部徐徐上提,直至完全离开受压部位,此过程大约持续 30 s。如此反复操作 2 次,共 4 min。腹部摩法:手法操作者肘关节自然屈曲,腕部放松,指掌自然伸直,食指、中指并拢。以食指、中指指面着于施术部位,以腕关节为中心,连同掌、指作环形摩动,并以中脘穴为圆心,做顺时针方向节律性环旋运动,频率宜缓,每分钟 20~30 次,操作 6 min,每天治疗 1 次,连续治疗 14 d。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 体质量、粪便含水率测定:实验期间大鼠正常饮食,每日收集各组大鼠粪便,称重后记为湿重,然后置于 90℃ 恒温干燥箱内干燥 3 h 至恒重,记为干重,并按照以下公式计算各组大鼠粪便含水率,粪便含水率 = (湿重 - 干重) / 湿重 × 100%; 在最后一次推拿及给药 24 h 后,再次对各组大鼠进行称重,记为最终体质量,计算各组大鼠体质量增加值(体质量增加值 = 最终体质量 - 初始体质量)。

1.4.2 血浆 SP、NO、5-HT 及 VIP 水平测定:采取大鼠眼眶后静脉丛血 2 ml 至肝素润洗过的离心管中,室温静置 5 min,然后离心取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 SP、NO、5-HT 及 VIP 水平。

1.4.3 大鼠肠推动率测定:每组取 6 只大鼠,禁食不禁水 24 h 后,每只大鼠予浓度为 100 g/L 的活性炭混悬液 1 ml 灌胃,1 h 后行乌拉坦腹腔注射麻醉,立即解剖,取出从幽门至直肠末端的全部肠道,测量肠道全长及幽门至黑色物质前端的距离,计算肠推动率(%) = 黑色物质自幽门至肠道末前端的距离 / 肠道全长 × 100%。

1.4.4 大鼠结肠组织蛋白检测:每组取 6 只大鼠,大鼠颈椎脱臼处死后迅速分离结肠组织,用生理盐水清洗干净肠道内容物,用滤纸吸干表面水分后,取部分结肠组织用于实时定量 PCR 检测,其余部分放入玻璃匀浆器中,加入 RIPA 蛋白裂解液,用玻璃匀浆器匀浆,直至充分裂解,4℃ 离心留取上清液,向其中加入 SDS 缓冲液,混匀后放入 100℃ 水浴 5 min,然后放入 -20℃ 储存备用。将冻存的结肠组织蛋白液于室温下融化后,采用 BCA 法测定蛋白浓度,处理好待测样品

后,取蛋白 50 μg 进行 SDS-PAGE 电泳分离、转膜,将分离的蛋白电转移至 PVDF 膜上。封闭液室温封闭 1 h,经 SCF、c-kit 及 GAPDH 抗体(1:1 000)孵育后,4℃ 过夜。PBST 充分洗膜后,加入二抗(1:2 000)室温孵育 1 h,PBST 清洗后显色液显影,利用凝胶成像仪成像后,进行灰度值检测。

1.4.5 大鼠结肠组织 RNA 检测:采用 RNA 提取试剂盒分别提取各组大鼠结肠组织的总 RNA。将提取的总 RNA 逆转录成 cDNA 后,荧光实时定量 PCR 检测各组大鼠结肠组织中 β-actin、5-HT₃R 和 5-HT₄R mRNA 的表达。各检测基因的实时定量 PCR 引物见表 1,实时定量 PCR 结果采用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。

表 1 实时定量 PCR 检测的基因引物序列

基因	引物名称	引物序列(5'-3')
5-HT ₃ R	正向引物	5'-CAAGCCACCAAGACTGATGA-3'
	反向引物	5'-AACCAGGGTGATGCTGTAGG-3'
5-HT ₄ R	正向引物	5'-CATTTCGGTGACCATGAG-3'
	反向引物	5'-GCCATCCTGCGTCTGGACCTG-3'
β-actin	正向引物	5'-CACTGTGTGGCGTACAGGT-3'
	反向引物	5'-TCATCACCATGGCAATGAG-3'

1.5 统计学方法 应用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析及 Graphpad prism 5 进行作图,应用 Image J 软件进行免疫印迹灰度值检测。正态分布计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量增加值比较 与对照组比较,模型组体质量增加值较高($P < 0.05$);与模型组比较,推拿组、莫沙必利组、联合组大鼠体质量增加值均依次降低($P < 0.05$),且与推拿组及莫沙必利组比较,联合组 STC 大鼠体质量增加值降低($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠体质量增加值比较 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	n	体质量增加值
对照组	13	11.26 ± 1.29
模型组	13	25.94 ± 2.46
推拿组	13	15.01 ± 1.14
莫沙必利组	13	14.28 ± 2.11
联合组	13	10.58 ± 1.67
F 值		1 910.958
P 值		0.021

2.2 各组大鼠粪便含水率比较 与对照组比较,模型组 STC 大鼠粪便含水率降低($P < 0.05$);与模型组比较,推拿组、莫沙必利组、联合组大鼠粪便含水率依次

升高 ($P < 0.05$), 且联合组大鼠较推拿组及莫沙必利组均显著升高 ($P < 0.05$), 但推拿组与莫沙必利组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 各组大鼠粪便含水率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	粪便含水率
对照组	13	65.29 ± 1.01
模型组	13	60.11 ± 1.14
推拿组	13	64.97 ± 0.98
莫沙必利组	13	65.19 ± 1.67
联合组	13	69.67 ± 1.13
F 值		81.938
P 值		0.018

2.3 各组大鼠血浆 SP、NO、5-HT 及 VIP 水平比较
与对照组比较, 模型组大鼠血浆 SP 水平降低 ($P < 0.05$), NO、5-HT 及 VIP 水平均升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 推拿组、莫沙必利组、联合组大鼠血浆 SP 水平均升高 ($P < 0.05$), NO、5-HT 及 VIP 水平均降低 ($P < 0.05$); 同时, 联合组较推拿组及莫沙必利组升高/降低显著 ($P < 0.05$), 但推拿组与莫沙必利组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

2.4 各组大鼠肠推动率比较
与对照组比较, 模型组大鼠肠推动率显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 推拿组、莫沙必利组、联合组大鼠肠推动率均显著升高 ($P < 0.05$), 同时, 联合组大鼠肠推动率较推拿组及莫沙必利组显著升高 ($P < 0.05$), 但推拿组与莫沙必利

组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 5。

2.5 各组大鼠结肠组织中 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 表达比较
与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 水平显著下降 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 推拿组、莫沙必利组、联合组大鼠结肠组织 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 水平均显著升高 ($P < 0.05$), 同时, 联合组较推拿组及莫沙必利组显著升高 ($P < 0.05$), 但推拿组与莫沙必利组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 6。

表 6 各组大鼠结肠组织中 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	5-HT ₃ R	5-HT ₄ R
对照组	6	1.00	1.00
模型组	6	0.49 ± 0.14	0.53 ± 0.29
推拿组	6	1.16 ± 0.19	1.08 ± 0.46
莫沙必利组	6	1.05 ± 0.22	1.13 ± 0.54
联合组	6	1.56 ± 0.19	1.71 ± 0.39
F 值		198.254	241.504
P 值		0.023	0.009

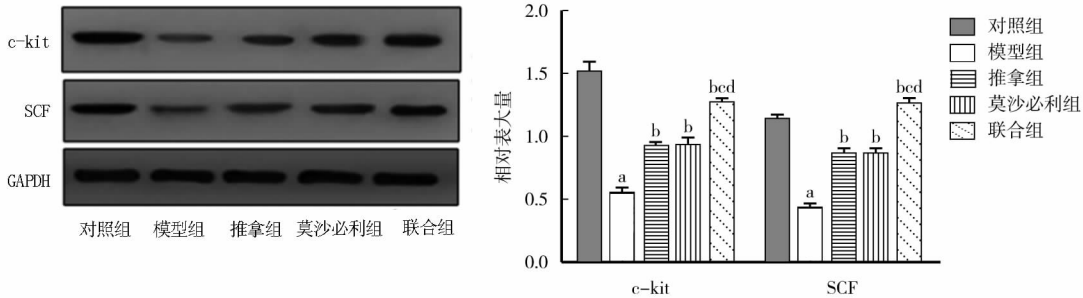
2.6 各组大鼠结肠组织 SCF、c-kit 蛋白水平比较
与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织 SCF、c-kit 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 推拿组、莫沙必利组、联合组均升高 ($P < 0.05$), 且联合组较推拿组及莫沙必利组升高 ($P < 0.05$), 但推拿组与莫沙必利组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。

表 4 各组大鼠血浆 SP、NO、5-HT 及 VIP 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)

组别	n	SP	NO	5-HT	VIP
对照组	6	65.41 ± 0.76	25.29 ± 1.49	33.41 ± 1.67	31.62 ± 1.84
模型组	6	31.62 ± 1.46	129.13 ± 2.19	168.22 ± 2.37	86.19 ± 1.13
推拿组	6	63.89 ± 2.31	54.59 ± 2.37	58.71 ± 2.17	31.98 ± 0.72
莫沙必利组	6	62.11 ± 2.89	51.11 ± 2.97	55.89 ± 3.10	32.68 ± 1.94
联合组	6	67.74 ± 2.55	24.69 ± 1.18	35.97 ± 2.99	27.29 ± 1.31
F 值		621.651	4 298.343	2 282.876	834.829
P 值		0.011	0.008	0.013	0.026

表 5 各组大鼠肠推动率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肠道全长 (cm)	碳末推进距离 (cm)	肠推动率 (%)
对照组	6	100.67 ± 4.98	83.39 ± 3.69	81.83 ± 2.44
模型组	6	100.19 ± 3.76	51.54 ± 2.87	51.33 ± 3.71
推拿组	6	99.48 ± 5.69	78.37 ± 4.19	80.91 ± 2.68
莫沙必利组	6	101.31 ± 4.10	81.26 ± 3.39	79.12 ± 1.67
联合组	6	99.89 ± 4.11	86.98 ± 2.37	86.63 ± 2.13
F 值		0.293	1547.361	1 123.684
P 值		0.880	0.018	0.022



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与推拿组比较,^c $P < 0.05$;与莫沙必利组比较,^d $P < 0.05$

图 1 各组大鼠结肠组织 SCF、c-kit 蛋白表达水平比较

3 讨论

STC 是由于大肠功能紊乱,传导失常而导致的排便周期延长和排便困难。临床以大便干结、排便次数减少、排便费力伴腹胀等为主要症状。目前,STC 的发病机制尚不能完全明确,其发病机制可能与肠神经系统及 cajal 间质细胞、中枢神经及自主神经系统调节功能障碍、激素水平异常等有关^[1-3]。此外,长期不良的生活习惯,如起居无规律、饮食过于精细、减肥、节食及缺少运动等,均可使肠道受刺激不足,排便动力缺乏,粪便在肠腔内滞留时间过久而形成慢传输型便秘^[4-8]。

5-HT 是参与调节胃肠道分泌和运动功能的重要神经递质和旁分泌信号分子。研究发现,5-HT 参与腹泻、便秘型肠易激综合征及慢传输型便秘的病理生理过程,5-HT₃ 受体(5-HT₃R)、5-HT₄ 受体(5-HT₄R)与胃肠道动力存在紧密联系,其分泌、转运异常都能引起胃肠道疾病,此外,5-HT₄ 受体激动剂可以增强小鼠结肠运动功能,增强肠道的传输功能^[9-12]。莫沙必利作为临床常用的 5-HT₄ 受体激动剂之一,其能够促进胃肠道平滑肌收缩和蠕动,同时具有增加近端结肠传输的功能^[13-16]。现代研究显示,肠神经递质失调是导致功能性便秘的主要病理变化之一,5-HT、NO、SP、VIP 是调节肠道功能的重要神经递质,可对肠道运动发挥兴奋或抑制作用进行调节。

中医学认为便秘多由饮食不节、情志失调等因素所致,其病位在大肠,与肺、脾、肾、肝相关。腹部推拿是中医特色疗法之一^[15]。穴位主要指人体经络线上特殊的点区部位,中医可以通过针灸或者推拿、点按、艾灸刺激相应的经络点治疗疾病。通过推拿按摩腹部穴位,可直接作用于胃肠,加速肠蠕动,减少肠道对粪便水分的吸收,同时也增强腹肌力量,从而有利于便秘的改善^[17-20]。

腹部推拿是中医学治疗胸腹部疾病的一种常见治疗手段,现代医学认为,使用促进胃肠道蠕动的药物能够治疗胃肠道蠕动功能异常疾病,而中医推拿学认为,通过相应按摩手法能够达到疏通经络、推行气血、扶伤止痛、祛邪扶正、调和阴阳的目的,两者概念虽不同,其本质相同,腹部推拿也间接借助外力促进了胃肠道的蠕动^[21]。本研究首次通过大鼠肠神经节消融术建立 STC 大鼠模型,对 STC 大鼠进行连续 14 d 的腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂莫沙必利干预后,观察其对大鼠体内 SCF/c-kit 信号通路的影响及 STC 大鼠体内相关指标的变化和疾病转归情况。结果表明,与模型组比较,推拿组、莫沙必利组、联合组 STC 大鼠粪便含水量显著增加,血浆 SP 水平显著升高,NO、5-HT 及 VIP 水平均显著降低,结肠组织中 5-HT₃R 及 5-HT₄R mRNA 水平、SCF、c-kit 水平均显著升高,且联合组大鼠各项指标转归效果均显著优于推拿组及莫沙必利组,提示腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂能协同促进胃肠道蠕动,进而强效改善 STC 大鼠症状,促进疾病转归。

综上所述,腹部推拿联合 5-HT₄ 受体激动剂能够调节 STC 大鼠体内 SCF/c-kit 信号通路,缓解 STC 大鼠疾病状态,改善其疾病转归。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马鑫文:提出研究思路、研究选题;王程:设计研究方案、研究流程;张瑞春:实施研究过程,数据收集;屈玉疆:进行文献调研与整理,数据分析;刘俊昌:修订论文、论文终审

参考文献

- [1] 王敏,孙庆.腹部推拿法治疗老年人功能性便秘的临床观察[J].天津中医药,2014,31(3):148-150. DOI:10.11656/j.issn.1672-1519.2014.03.07.
- [2] Surjanhata B, Guay L, Kuo B. Su1589 blunted contractility in slow transit constipation during awakening compared to healthy and normal transit constipation subjects as evaluated by wireless motility capsule

- [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):S535. DOI:10.1016/s0016-5085(16)31842-x.
- [3] Cangemi DJ, Flanagan R, Barshop K, et al. Colonic stool burden a useful surrogate for slow transit constipation as determined by a radio-paque transit study[J]. *Am J Gastroenterol*, 2019, 114(3):519-523. DOI: 10.14309/ajg.000000000000149.
- [4] 方晶,唐娅琴.腹部推拿结合神阙穴贴敷治疗高血压脑出血患者便秘的疗效观察[J]. *中国急救医学*, 2016, 36(z1):230-231. DOI:10.3969/j.issn.1002-1949.2016.z1.181.
- [5] 徐昭.腹部推拿对功能性便秘患者肠电的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2015, 42(3):521-523. DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2015.03.030.
- [6] 张迪,袁星星,王炳予,等.艾灸腹部穴位治疗脾肾阳虚型慢传输型便秘的疗效观察[J]. *针灸推拿医学:英文版*, 2017, 15(6):426-433. DOI:10.1007/s11726-017-1040-9.
- [7] Queiroz Machado V, Monteiro A, Pecanha A, et al. Slow transit constipation and lower urinary tract dysfunction[J]. *J Pediatr Urol*, 2015, 11(6):357-376. DOI: 10.1016/j.jpuro.2015.05.032.
- [8] Fan WC, Huang CC, Sung A, et al. Laparoscopic total colectomy with transrectal specimen extraction and intraabdominal ileorectal anastomosis for slow-transit constipation (with video) [J]. *J Visc Surg*, 2016, 153(4):309-310. DOI: 10.1016/j.jvisc.2016.05.007.
- [9] Lyubashina OA, Sivachenko IB. The 5-HT₄ receptor-mediated inhibition of visceral nociceptive neurons in the rat caudal ventrolateral medulla[J]. *Neuroscience*, 2017, 359(39):277-288. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.07.039.
- [10] 陈显韬,杜位良.补肺汤对慢传输型便秘模型大鼠结肠内 5-HT 和 SP 的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2019, 25(5):664-668. DOI:10.3969/j.issn.1007-6948.2019.05.002.
- [11] 孙建梅,顾立梅,李慧,等.运脾柔肝方对便秘型肠易激综合征大鼠 5-HT、VIP 及 SP 影响的实验研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2017, 33(5):524-528. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2017.0524.
- [12] 贡钰霞,王浩,侯毅,等.大剂量生白术配伍枳实对慢传输型便秘大鼠结肠 5-HT₃R、5-HT₄R 表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(8):988-992. DOI: 10.7661/j.cjim.20181210.235.
- [13] Pineda-Farias JB, Barragón-Iglesias P, Valdivieso-Sánchez A, et al. Spinal 5-HT₄ and 5-HT₆ receptors contribute to the maintenance of neuropathic pain in rats[J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(5):916-923. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.04.001.
- [14] 裴静波,乐芳华,潘建锋,等.益气宣肺通便方对阴虚肠燥型功能性便秘患者血清炎症因子及胃肠激素的影响[J]. *中国现代医生*, 2019, 57(3):26-29,33.
- [15] 辛建,初侃,徐国帅,等.不同术式治疗慢传输型便秘的效果及对术后腹泻影响的比较[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(6):580-584. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.06.010.
- [16] Dehghan M, Fatehi Poor A, Mehdipoor K, et al. Does abdominal massage improve gastrointestinal functions of intensive care patients with an endotracheal tube: A randomized clinical trial[J]. *Complement Ther Clin Pract*, 2018, 30(18):122-128. DOI: 10.1016/j.ctep.2017.12.018.
- [17] Yildirim D, Can G, Köknel Talu G. The efficacy of abdominal massage in managing opioid-induced constipation [J]. *Eur J Oncol Nurs*, 2019, 41(13):110-119. DOI: 10.1016/j.ejon.2019.05.013.
- [18] Cevik K, Cetinkaya A, Yigit Gökbek K, et al. The effect of abdominal massage on constipation in the elderly residing in rest homes[J]. *Gastroenterol Nurs*, 2018, 41(5):396-402. DOI: 10.1097/SGA.0000000000000343.
- [19] Siemens W, Gaertner J, Becker G. Advances in pharmacotherapy for opioid-induced constipation-a systematic review[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2015, 16(4):515-532. DOI: 10.1517/14656566.2015.995625.
- [20] 谭毅,袁龙健,符仲华.浮针疗法治疗功能性便秘的临床效果[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(27):155-158.
- [21] 徐伟杰,卢喜金,张岩,等.穴位刺激治疗氯氮平片所致动力性便秘的临床研究[J]. *中国现代医生*, 2019, 57(7):8-10,14.

(收稿日期:2019-10-19)

(上接 504 页)

- [16] Zhao Q, Huang J, Wang D, et al. Endothelium-specific CYP2J2 overexpression improves cardiac dysfunction by promoting angiogenesis via Jagged1/Notch1 signaling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 123:118-127. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2018.08.027.
- [17] Zhang Y, Hong G, Lee KS, et al. Inhibition of soluble epoxide hydrolase augments astrocyte release of vascular endothelial growth factor and neuronal recovery after oxygen-glucose deprivation[J]. *J Neurochem*, 2017, 140(5):814-825. DOI: 10.1111/jnc.13933.
- [18] Wang C, Liu W, Zhang X, et al. MEK/ERK signaling is involved in the role of VEGF and IGF1 in cardiomyocyte differentiation of mouse adipose tissue-derived stromal cells[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 228:427-434. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.11.199.
- [19] Tian X, Zhang N, Yan C, et al. CREG promotes vasculogenesis by activation of VEGF/PI3K/Akt pathway[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2014, 19:1215-1226. DOI:10.2742/4277.
- [20] 张丹丹,吴绍泽,吕佩源.血管内皮生长因子在血管性认知功能障碍中的研究[J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(2):212-216. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2017.02.028.

(收稿日期:2019-10-17)

新生儿 Barth 综合征致左室心肌致密化不全 1 例

刘小焯, 王炜, 李月梅

作者单位: 050000 河北医科大学(刘小焯);河北医科大学第二医院小儿内科(王炜、李月梅)

通信作者: 刘小焯, E-mail: liuxiaoye868@163.com

【关键词】 Barth 综合征; 心肌致密化不全; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.018

患儿,男,出生即时,出生体质量 2 400 g。患儿出生前 1 d 于当地查胎儿心脏超声示:胎儿全心大,双心室壁增厚,动脉导管走行迂曲、内径小,频谱异常,卵圆孔瓣部分与房间隔粘连,卵圆孔血流受限,三尖瓣中量反流,肺动脉前向血流信号减少,静脉导管频谱 A 波反向,考虑中度心力衰竭。遂就诊我院剖宫产娩出。患儿为第二胎,36⁺3 周,患儿母亲无特殊病史。曾育有一女,体健。家族中患儿姥姥及小姨所生男孩均未存活。查体:P 140 次/min, BP 62/34 mmHg。周身皮肤发绀,毛细血管再充盈时间 3 s, 心音有力,心前区未闻及杂音。心肌酶 CK-MB 228 U/L, 血 WBC 6.5 × 10⁹/L, N 0.9 × 10⁹/L, 血气分析示:pH 7.09, PCO₂ 68.4 mmHg, PO₂ 51.9 mmHg, K⁺ 3.96 mmol/L, Na⁺ 135 mmol/L, Ca²⁺ 1.36 mmol/L, GLU 1.8 mmol/L, Lac 6.65 mmol/L, HCO₃⁻ 15.8 mmol/L, BE -11 mmol/L; 经持续气道正压通气(CPAP)辅助呼吸、扩容、抗感染、纠正低血糖等处理,复查血气较前好转。出生后 8 h, 患儿频发呼吸暂停, 经皮 SaO₂ 不能维持在 85% 以上, BP 64/38 mmHg。胸部正位 X 线片:左肺透亮度减低,可见片状高密度影,纵隔投影区管状影,心影增大,两肺门显示不清。心脏超声检查示:全心扩大,左室收缩、舒张功能减低,左室心肌致密化不全,动脉导管未闭,卵圆孔未闭,二、三尖瓣重度关闭不全。心电图示窦性心动过速, PtfV1 阳性; P 波 II、III、aVF 略高尖, T 波 II、III、aVF、V4、V5 低平倒置。予以调整治疗方案为 NIPPV 辅助呼吸, 并给予抗心力衰竭等治疗。

患儿生后第 4 d, 病情出现恶化, 反应差, 肌张力低, BP 70/43 mmHg, 呼吸困难, 经皮 SaO₂ 不能维持。第 4 ~ 10 d, 患儿反复出现 HCO₃⁻、BE、Lac 显著异常, BE 值多次 < -24 mmol/L, Lac 多次 > 15 mmol/L, pro-BNP 20 300.00 pg/ml, 完善尿液有机酸谱分析、血液氨基酸及酯酰肉碱谱测定, 检测患儿及其父母的基因突变情况。生后第 11 d, 患儿病情加重, 最终因肺出血、心力衰竭、呼吸衰竭死亡。患儿基因检测结果回报: TAZ 基因 c.699 + 1G > T 半合子变异, 经 Sanger 验证, 患儿母亲携带该杂合变异(图 1)。患儿最终诊断 Barth 综合征。

讨论 Barth 综合征(Barth syndrome, BTHS)是一种罕见的 X 连锁隐性遗传的线粒体病^[1], 目前世界报道病例不足 200 例。它主要是由 X 染色体上的 TAZ 基因突变^[2], 导致体内 3-甲

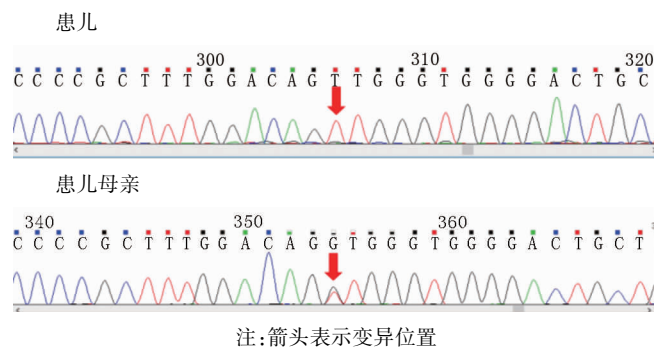


图 1 Barth 综合征患儿及其母亲 TAZ 基因测序图

基戊二酸堆积使线粒体氧化磷酸化障碍, 氧化磷酸化电子传递系统受损, 糖酵解增加, 丙酮酸蓄积还原成乳酸^[3], 继而出现一系列临床症状, 其中以心肌病、骨骼肌病及白细胞减少最为常见^[4]。Barth 综合征发病年龄多在婴儿期。临床表现无特异性, 容易造成误诊或漏诊, 病死率高。目前国内仅有 8 例报道, 均为婴儿期发病。本例患儿为生后即发病, 国内尚无报道。

心肌病是 Barth 综合征常见的临床表现之一, 可表现为不同的病理类型, 其中以扩张型心肌病、心内膜弹力纤维增生症及心肌致密化不全多见^[5]。多在婴儿期发病, 心力衰竭是导致患儿死亡的主要原因之一。Roberts 等^[6]报道 73 例 Barth 综合征患儿, 有心肌病者高达 69 例, 其中 1 岁以内发病者占 70%。目前我国报道的 Barth 综合征患儿共 8 例, 均伴有心肌病, 亦都在婴儿期发病^[7-8]。本例患儿同样存在心肌受损, 胎儿期即发现心脏扩大, 心力衰竭, 生后心脏超声确诊存在心肌致密化不全。动态心电图示房性早搏、室性早搏、房性心动过速、ST-T 改变。此患儿病情危重, 生后虽经积极抢救治疗仍未挽救生命, 最终死于心力衰竭。

Barth 综合征患儿多有 3-甲基戊二酸蓄积, 常有游离肉碱的消耗、降低。本例患儿在病情进展初期完善尿液有机酸谱分析、血液氨基酸及酯酰肉碱谱测定, 未发现游离肉碱水平低下及 3-甲基戊二酸的增高, 考虑与患儿出生日龄小、体内摄入氨基酸量较少、尚未发生有机酸蓄积有关, 但患儿病情进展急性期、给予肠外营养后, 出现反复、不易纠正的代谢性酸中毒、高乳酸血症提示有机酸蓄积。患儿后期出现反应差、肌力

低亦考虑与线粒体代谢障碍、发生肌肉病变有关。

Barth 综合征诊断主要依靠尿有机酸分析及基因检测。目前发现的 TAZ 基因突变约 160 种,我国目前报道患儿中发现 6 个突变位点^[7-8]。本例患儿为 TAZ 基因 c. 699 + 1G > T 半合子变异,该变异为经典剪切位点变异,会导致 mRNA 剪切位点发生改变。目前仅 Schlame 等^[9]报道 1 例男性 Barth 综合征患者体内检测到该变异,国内尚无报道。目前对于 Barth 综合征尚无有效的治疗方法,主要是对症支持治疗。通过积极的药物支持治疗,部分患者可长期存活^[10]。因此,早期诊断、早期治疗至关重要。建议对有心肌病变、严重的代谢紊乱患儿早期行基因检测,建议有家族史患儿母亲再次妊娠时,可通过胎盘绒毛或羊水细胞基因突变分析、羊水有机酸分析,对胎儿进行产前诊断,避免同类病患儿的再次出生。

参考文献

[1] Sag E, Kamasak T, Kaya G, et al. A rare clinical association: Barth syndrome and cystic fibrosis [J]. Turk J Pediatr, 2019, 61 (1): 134-138. DOI: 10. 24953/turkjped. 2019. 01. 023.

[2] 石琳,傅立军,黄美容,等. Barth 综合征 3 例临床表现及基因突变分析[J]. 临床儿科杂志, 2015, 33 (7): 614-617. DOI: 10. 3969 j. issn. 1000-3606. 2015. 07. 004.

[3] Agarwal P, Cole LK, Chandrakumar A, et al. Phosphokinome analysis of Barth syndrome lymphoblasts identify novel targets in the pathophysiology of the disease [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19 (7): 2026.

DOI: 10. 3390/ijms19072026.

[4] 宋金青, 马艳艳, 丁圆, 等. Barth 综合征导致幼儿心内膜弹力纤维增生症的临床特点及其 TAZ 基因突变 [J]. 中华妇幼临床医学杂志: 电子版, 2016, 12 (5): 535-539. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1673-5250. 2016. 05. 009.

[5] Ikon N, Ryan RO. Barth syndrome: Connecting connecting cardiolipin to cardiomyopathy [J]. Lipids, 2017, 52 (2): 99-108. DOI: 10. 1007/s11745-016-4229-7.

[6] Roberts AE, Nixon C, Steward CG, et al. The Barth syndrome registry: Distinguishing disease characteristics and growth data from a longitudinal study [J]. Am J Med Genet A, 2012, 158A (11): 2726-2732. DOI: 10. 1002/ajmg. a. 35609.

[7] 闫茹, 诸澎伟, 周坚. Barth 综合征 1 例临床及基因突变分析 [J]. 临床儿科杂志, 2019, 37 (6): 454-456. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-3606. 2019. 06. 013.

[8] 聂春霞, 李丽, 万程全. Barth 综合征一例 [J]. 中华儿科杂志, 2019, 57 (2): 146-147. DOI: 10. 3760/cma. J. issn. 0578-1310. 2019. 02. 016.

[9] Schlame M, Kelley RI, Feigenbaum A, et al. Phospholipid abnormalities in children with Barth syndrome [J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 42 (11): 1994-9. DOI: 10. 1016/j. jacc. 2003. 06. 015.

[10] Finsterer J. Barth syndrome: mechanisms and management [J]. Appl Clin Genet, 2019, 12: 95-106. DOI: 10. 2147/TACG. S171481.

(收稿日期: 2019 - 10 - 19)

罕见病病例

儿童肾骨外尤文肉瘤/外周原始神经外胚层肿瘤 1 例

杜青, 刘斌, 刘远梅

作者单位: 563000 贵州省遵义, 遵义医科大学附属医院小儿普胸泌外科

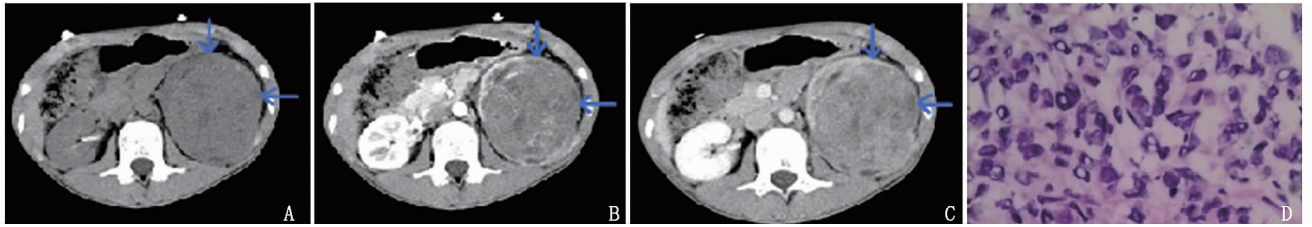
通信作者: 刘远梅, E-mail: yuanmei16@ aliyun. com

【关键词】 肾骨外尤文肉瘤; 外周原始神经外胚层肿瘤; 小圆细胞肿瘤; 诊断; 治疗

【DOI】 10. 3969 / j. issn. 1671-6450. 2020. 05. 019

患儿, 男, 13 岁, 因外伤致左侧腹部疼痛 10 余天入院。4 个月前患儿左侧腹部遭遇外伤, 当地医院考虑左肾挫裂伤, 行保守对症治疗, 病情稳定后出院。自诉 10 d 前倚靠桌椅后再次出现左侧腹部疼痛, 放射至左侧腰部, 疼痛剧烈。当地医院行 CT 示: 左肾挫裂伤合并肾出血。行卧床休息、止血等对症治疗, 左侧腹部仍疼痛明显, 伴呕吐、血尿, 遂急诊转入我院。查体: 急性疼痛面容, 神清, 消瘦, 腹平, 腹、腰部未触及包块, 左侧腹部腹肌紧张、压痛, 左肾区叩击痛。全腹部 CT (图 1A ~ C) 示左肾挫裂伤, 合并肾肿瘤不能除外; 血常规 Hb 126 g/L, WBC 13. 72 × 10⁹/L, N% 83. 5%, CRP 17. 5 mg/L。入院后予绝对卧床休息、抗炎、止血等治疗。入院后第 3 天患儿突发左侧腰部、腹部剧烈疼痛, 腹膜炎体征, 急查腹部 CT 示左肾出血, 腹腔积

液; 急查 Hb 82 g/L。考虑左肾破裂出血, 急诊行剖腹探查, 术中见左侧后腹膜巨大血肿, 左肾中下极巨大肿瘤 (8. 0 cm × 10 cm), 破溃出血, 肿瘤包膜内大量血凝块, 肿瘤为鱼肉状, 术中冰冻切片提示左肾恶性肿瘤, 行左肾及后腹膜肿瘤切除术; 术后病理诊断 (图 1D): 左肾骨外尤文肉瘤/外周原始神经外胚层肿瘤 (EOES/pPNET), 输尿管、血管断端未见肿瘤累及; 免疫组化: 肿瘤组织 Vimentin (+ +), CD56 (+ + +), CD99 (+ +), Bcl-2 (+ +), CD57 (-), CgA (-), CK7 (-), Desmin (-), EMA (-), LCA (-), NSE (-), S100 (-), SMA (-), STAT6 (-), Syn (-), WT-1 (-), CD34 (-)。术后患儿康复出院, 出院后 2 周小儿肿瘤内科行化疗, 随访至今 4 余月, 患儿恢复良好, 仍在坚持规范化疗。



注: A. CT 平扫左肾巨大肿块影, 并肿块内出血; B、C. 强化期肿块延迟强化, 强化程度不一, 以点状强化为主, 边缘坏死无强化; D. 肿瘤细胞呈小圆形紧密排列(HE 染色, $\times 10$)

图 1 患儿腹部 CT 及术后病理检查结果

讨论 尤文肉瘤(Ewing sarcomas, ES)/外周原始神经外胚层肿瘤(peripheral primitive neuroectodermal tumor, pPNET)是一种罕见的、高度恶性、进展快的小圆细胞肿瘤,属于尤文肉瘤肿瘤家族(Ewing sarcoma family tumor, ESFT),其家族主要包括 ES、pPNET、骨 pPNET 及骨外尤文肉瘤(extraosseous Ewing sarcomas, EOES)^[1]。ES 可能起源于胚胎时期中枢和交感神经系统外神经嵴,主要由原始神经外胚层细胞组成,并具有多向分化的能力,可发生于身体的各部位,多见于儿童及青少年,好发于四肢长骨、肋骨、骨盆及软组织,发生于实质性器官者罕见^[2],本例发生于肾脏,实属罕见。ES 无特异临床表现,诊断比较困难^[3]。本例患儿以肾外伤就诊,术后病理证实为肾尤文肉瘤,回顾整个病程,患儿既往有外伤病史,外伤保守治疗后频繁出现血尿、肾区及左侧腹部疼痛,且患儿消瘦体型特征,术前 CT 有肾挫伤出血,造成误诊。本病的临床特征及影像学检查缺乏特异性,临床靠组织病理学确诊,肾 EOES/pPNET 与起源于骨的尤文肉瘤相似,镜下表现为形态大小一致的小圆形、卵圆形和小梭形细胞,细胞核仁小、深染,胞质稀疏,核分裂相多见,瘤细胞多呈分叶状、不规则状或片状排列,排列紧密,瘤细胞间及周围散布薄层毛细血管^[4]。免疫组化以 CD99、NSE、Syn 和 FLI-1 高表达为诊断相对特异性指标^[5],Ashraf 等^[6]报道联合 CD99 和 FLI-1 高表达是确诊该病较为特异性且敏感的免疫指标,另外 EOES/pPNET 患者具有 t(11;22)和 q(q24;q12)特异性染色体异位,本例术后病理免疫组化 CD99(++)亦与文献报道相符。由于尤文肉瘤具有高度侵袭性、生长迅速、极易转移、恶性程度高等特点,最常见的转移部位为肺、骨及邻近软组织,目前最有效的治疗方法是手术切除肿瘤、术后化疗及局部放疗联合应用^[7],若无明显手术禁忌证,需尽可能的扩大切除肿瘤,术后放疗去除残存的微小病变。已有相关文献报道^[1],长春新碱、阿霉素、环磷酰胺(VAC)/异环磷酰胺和依托泊苷(IE)交替使用是 ES 的首选化疗方案,对于有转移灶者 VAC 为首选方案。本病治疗效果与患者年龄相关,术后复发率高达 40%^[8],预后因素还包括患者的肿瘤大小、肿瘤生长部位、手术广泛完整切除、转移灶存在及是否存在转录融合基因 EWS/FLI-1^[9-10]。据相关文献报道,年龄 < 16 岁,且经外科手术切除及联合化疗后,5 年生存率可高达 60%~70%^[11],若存在肿瘤转移,则 5 年生存率极低^[12]。总之,儿童肾 EOES/pPNET 极为罕见,易误诊,应早期诊断、早期手术及联合术后放疗,改善预后。

参考文献

- [1] 郭卫,王臻,郭征,等. 尤文肉瘤肿瘤家族(ESFT)临床循证诊疗指南[J]. 中华骨与关节外科杂志, 2018, 11(4):25-40. DOI: 10.3969/j.issn.2095-9958.2018.04.003.
- [2] 朱玉春,周伟,张阳,等. 肺骨外尤文肉瘤/原始神经外胚层肿瘤一例[J]. 临床放射学杂志, 2019, 38(6):1151-1152. DOI:10.13437/j.cnki.jcr.2019.06.052.
- [3] Weshi AE, Allam A, Ajarim D, et al. Extraskelletal ewing's sarcoma family of tumours in adults: Analysis of 57 patients from a single institution[J]. Clinical Oncology, 2010, 22(5):374-381. DOI: 10.1016/j.clon.2010.02.010.
- [4] 胡智斌,冯利波,张涛,等. 腹膜尤文肉瘤/原始神经外胚层肿瘤 5 例临床与影像学分析[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(9):940-942,946. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.09.018.
- [5] 何乐健,李佩娟. 外周原始神经外胚层瘤和尤文肉瘤的临床病理与免疫组化研究[J]. 诊断病理学杂志, 2000, 7(4):249-251. DOI:10.3969/j.issn.1007-8096.2000.04.004.
- [6] Ashraf MJ, Beigomi L, Azarpira N, et al. The small round blue cell tumors of the sinonasal area: Histological and Immunohistochemical findings[J]. Iranian Red Crescent Medical Journal, 2013, 15(6):455-461. DOI:10.5812/iremj.4735.
- [7] Van Mater D, Wagner L. Management of recurrent Ewing sarcoma: challenges and approaches [J]. 2019, 12: 2279-2288. DOI: 10.2147/OTT.S170585.
- [8] Bernstein M, Kovar H, Paulussen M, et al. Ewing's sarcoma family of tumors: current management[J]. Oncologist, 2006, 11(5):503-519. DOI:10.1634/theoncologist.11-5-503.
- [9] 邹雨珮,杨轶. 肺骨外尤文肉瘤/外周原始神经外胚层肿瘤 1 例[J]. 疑难病杂志, 2012, 11(4):306-307. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2012.04.031.
- [10] Xue R, Lewis VO, Moon BS, et al. Local recurrence of Ewing sarcoma: Is wide excision an acceptable treatment[J]. Journal of Surgical Oncology, 2019, 120(4):746-752. DOI:10.1002/jso.25615.
- [11] 何锋,艾波,廖永德. 小儿纵隔尤文肉瘤 1 例[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2018, 34(1):56-56. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2018.01.017.
- [12] Doroudinia A, Ahmadi S, Mehrian P, et al. Primary Ewing sarcoma of the kidney[J]. BMJ Case Reports, 2019, 12(1):227198. DOI: 10.1136/bcr-2018-227198.

(收稿日期:2019-10-15)

多脏器累及的重症系统性红斑狼疮 1 例

陈薇薇, 黄慧萍, 苏晓, 徐俊

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81603563); 上海市科学技术委员会项目(18401901000)

作者单位: 200071 上海中医药大学附属市中医医院风湿科

通信作者: 苏晓, E-mail: 0214@szy.sh.cn

【关键词】 系统性红斑狼疮, 重症; 狼疮性脑病; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.020

患者, 女, 19 岁。2011 年因淋雨后出现发热, 伴胸痛气急, 面部红斑, 光敏感, 外院诊断为系统性红斑狼疮(SLE), 予激素治疗后病情改善。后因劳累、不规则用药, 病情多次反复。2017 年 9 月 22 日出现双下肢浮肿, 伴胸闷痛, 遂至我院。入院后查白细胞 $3.38 \times 10^9/L$, 血红蛋白 $81 g/L$, 血清白蛋白 $19.5 g/L$, 尿蛋白 $5600 mg/24 h$, 肌酐 $122 \mu mol/L$, 双链 DNA 抗体(dsDNA) $800 U/ml$, 补体 C3 $0.35 g/L$, 补体 C4 $0.05 g/L$, 肺动脉压 $68 mmHg$, 胸片示胸腔积液, 诊断为多重要脏器累及的 SLE, 予甲泼尼龙(MP) $40 mg/d$ 。9 月 30 日出现头痛、呕吐, 急查头颅 CT 未见异常。10 月 1 日凌晨突发癫痫大发作、意识丧失, 头颅 MR 平扫示脑干、双侧小脑、丘脑、基底节、胼胝体及双侧大脑半球大面积异常信号, 多发弥漫性脱髓鞘改变, 考虑重症狼疮性脑炎, MP 加量至 $200 mg/d$ 静脉滴注, 意识渐转清。激素减量后 10 月 6 日凌晨出现右侧肢体抽搐, 头颅 MR 示左侧大脑半球

病灶范围增大。患者家属拒绝腰椎穿刺术, MP 加量至 $240 mg/d$, 血压最高 $190/110 mmHg$ 。10 月 10 日患者神志时清时昧, 肌力逐渐减退, 右上肢肌力 II 级, 双下肢肌力 I 级, 头颅 MR 平扫(图 1)提示狼疮性脑病加重, MP 加量至 $1 g/d$, 2 d 后神志清醒, 肌力逐渐恢复。后激素逐渐减量, 精神进一步改善。10 月 27 日开始出现血三系降低, 考虑激素减量后病情反跳, MP 加至 $160 mg/d$, 血三系渐上升。11 月 6 日头颅 MR 平扫(图 2): 双侧顶枕叶及左侧半卵圆区异常信号, 双侧大脑半球病灶明显缩小, 伴右侧顶枕叶少许出血改变, 出血性脑梗死改变。MP 逐渐减为 $80 mg/d$, 11 月 13 日血常规: 白细胞 $5.38 \times 10^9/L$, 血红蛋白 $76 g/L$, 红细胞 $2.62 \times 10^{12}/L$, 血小板 $198 \times 10^9/L$ 。尿蛋白 $2961 mg/24 h$, dsDNA(-)。因家属强烈要求出院于 11 月 15 日 MP 减至 $70 mg/d$ 。1 个月后门门诊复诊, MP 自行减至 $60 mg/d$, 拒绝复查指标, 加中药治疗。

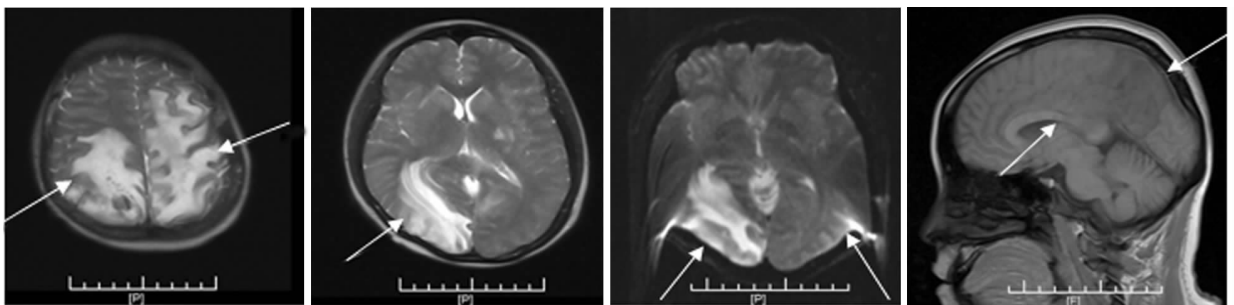


图 1 10 月 10 日头颅 MR 示脑干、双侧小脑、丘脑、基底节、胼胝体及双侧大脑半球大面积异常信号, 多发弥漫性脱髓鞘改变

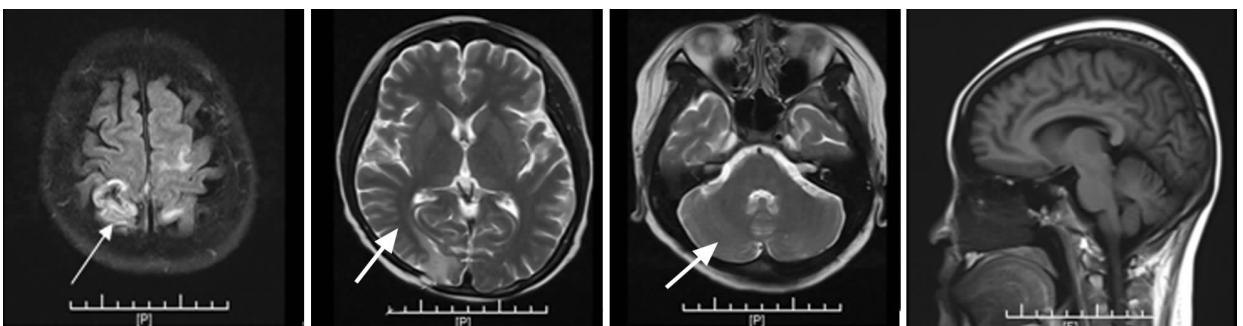


图 2 11 月 6 日头颅 MR 示双侧顶枕叶及左侧半卵圆区异常信号, 双侧大脑半球病灶明显缩小, 伴右侧顶枕叶少许出血改变

讨论 狼疮性脑病(neuropsychiatric systemic lupus erythematosus, NP-SLE)是SLE最严重的并发症,发生率为30%~40%^[1-2],其表现多样,进展快速,预后极差,病死率高达13.80%^[3-4]。狼疮性脑病发病机制尚不明确,目前认为可能与患者体内多种自身抗体和相应抗原结合,在补体参与情况下形成免疫复合物,沉积于血管壁引起脑血管炎,造成血管闭塞,病变部位缺血坏死等有关;也可能是抗心磷脂抗体直接作用血管内皮细胞和血小板磷脂成分,导致微小血栓形成,造成小梗死灶、出血、水肿、脑组织软化^[5]。

该病例为多脏器多系统(脑、肾、心、血液系统)累及,尤以重症脑炎为危急。入院前病情不稳定,劳累且未正规治疗,终至暴发。文献报道^[6-8],抗dsDNA(+),血红细胞减少,尿红细胞增加,尿素、肌酐增加,白蛋白/球蛋白降低,ALT、AST增加与狼疮脑病的发生相关,常出现在SLE的急性活动期。该患者入院后各项检查提示SLE活动、狼疮性肾炎,肺动脉高压,多系统累及,为狼疮性脑病高风险病例。在中剂量激素积极治疗的情况下,仍进一步发展累及脑干、小脑和大脑,累及面广且重,提示重症狼疮性脑病,病势凶险。治疗过程中多次反复,予超大剂量激素冲击治疗后病灶渐吸收。头颅MR为及时准确判断狼疮性脑病提供积极帮助,在患者症状和体征好转过程中及时检出脑梗死和脑出血病灶,对于病灶的观察较脑脊液检查更直观且定位准确,也无创性^[9-10]。脑脊液检查是狼疮性脑病的必检项目,可见蛋白和白细胞升高,但脑累及的部位和面积不如MR检查准确,且为有创检查。脑脊液检查对于诊断颅内感染具有优势^[11],因此尚需尽早开展腰椎穿刺术检测脑脊液协助诊断。该患者血压一度居高不下,可能是脑部血管炎造成血管压力升高,是狼疮性脑病活动的标志。激素不仅能恢复血脑屏障功能,调节血液循环,还能促进脑水肿的消散^[3]。当SLE各方面指征提示狼疮性脑病时,必须及时使用大剂量糖皮质激素冲击治疗才能在时间窗内有效控制病情。此例经过积极抢救治疗,致命的脑炎、肺动脉高压、肾功能不全均逆转。然而慢作用药物如利妥昔单抗注射液(美罗华)、环磷酰胺^[12]等未及时应用,仍有反复的风险。

参考文献

- [1] Stock AD, Wen J, Putterman C. Neuropsychiatric lupus, the blood brain barrier, and the TwEAK/Fn14 pathway[J]. *Front Immunol*, 2012, 4:484. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00484.

- [2] 曾淑菲,张洋洋,陈德臻,等.狼疮性脑病研究进展[J].*临床肾脏病杂志*, 2016, 16(11):701-704. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2016.11.015.
- [3] 罗靓,何英.狼疮脑病的临床治疗概述[J].*中国中医急症*, 2017, 26(1):91-94. DOI:10.3969/j.issn.1004-745X.2017.01.028.
- [4] Wang Z, Wang Y, Zhu R, et al. Long-term survival and death causes of systemic lupus erythematosus in China: A systematic review of observational studies[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(17):794. DOI: 10.1097/MD.0000000000000794.
- [5] 徐进,罗晓红.甲泼尼龙冲击治疗狼疮性脑病11例临床分析[J].*临床荟萃*, 2016, 31(4):430-431. DOI: 10.3969/j.issn.1004-583X.2016.04.020.
- [6] 荣霞,刘毅,黄向阳.系统性红斑狼疮肠道病变36例临床回顾性分析[J].*中华风湿病学杂志*, 2015, 19(4):238-241. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2015.04.005.
- [7] 龚天兰,马星卫.妊娠合并系统性红斑狼疮脑病、重度子痫前期一例[J].*罕少疾病杂志*, 2015, 22(1):53-54. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2015.01.21.
- [8] 李源,杨薇,杨林.神经精神狼疮的实验室检查[J].*中西医结合心血管病电子杂志*, 2018, 6(10):9-10. DOI:10.3969/j.issn.2095-6681.2018.10.006.
- [9] Bertsias GK, Ioannidis JPA, Aringer M, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus with neuropsychiatric manifestations; Report of a task force of the EULAR standing committee for clinical affairs[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2010, 69(12):2074-2082. DOI: 10.1136/ard.2010.130476.
- [10] Luyendijk J, Steens SCA, Ouwendijk WJN, et al. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus; Lessons learned from magnetic resonance imaging[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2011, 63(3):722-732. DOI: 10.1002/art.30157.
- [11] 刘敬敬,谈晓峰,林加湘.系统性红斑狼疮中枢神经系统感染与狼疮性脑病临床分析[J].*医学信息*, 2015, 28(41):109. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2015.41.143.
- [12] 江巧梨,张景凤,刘树军,等.狼疮性脑病1例并文献复习[J].*中国实验诊断学*, 2018, 22(1):42-43. DOI:10.3969/j.issn.1007-4287.2018.01.015.

(收稿日期:2019-11-06)

关于对冒用我刊名义进行非法征稿活动的郑重声明

近期发现网上有冒用我刊名义进行非法征稿活动的情况,我刊为此郑重声明如下:(1)疑难病杂志社地址设在石家庄,我社从未委托任何代理机构和个人开展组稿、征稿活动。(2)根据原国家新闻出版广电总局的有关规定,一种期刊只能在其出版地设立一个编辑部,其他任何冒用本刊名义,在网上进行征稿及组稿的活动,均属非法行为。(3)作者来稿,请直接通过本刊网站或邮箱发至本刊编辑部,本刊将尽快给予处理,谨防上当受骗。

电话:0311-85901735

E-mail: ynbzz@163.com

网址: http://www.ynbzz.com

胰岛素类似物致胰岛素自身免疫综合征 1 例

纪群, 方团育

作者单位: 570311 海口, 海南省人民医院内分泌科
通信作者: 方团育, E-mail: fangtuanyu_2010@163.com

【关键词】 胰岛素自身免疫综合征; 胰岛素类似物; 2 型糖尿病; 诊断; 治疗

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.021

患者, 男, 62 岁, 因“发现血糖升高 5 年, 再发低血糖 1 个月”于 2016 年 4 月 8 日就诊。患者于 2011 年发现血糖升高, 诊断“2 型糖尿病”, 予门冬胰岛素 30 降糖, 2013 年出现晕厥 1 次, 当时查血糖 2.1 mmol/L, 静脉补糖后好转, 并停用胰岛素, 改用瑞格列奈口服治疗 1 年, 无低血糖再发; 2015 年因血糖控制欠佳重新使用门冬胰岛素 30(早 18 U, 晚 14 U)治疗, 1 个月前再次出现晕厥, 为中餐前, 当时查血糖 2.3 mmol/L。急诊给予 50% 葡萄糖 20 ml 静脉注射, 并给予 10% 葡萄糖 500 ml 静脉滴注, 疑诊“胰岛素瘤”收住我科。既往否认甲状腺功能亢进及巯基药物使用史, 否认胰腺炎及糖皮质激素使用史, 否认自身免疫性疾病家族史, 有吸烟史。查体: T 36.6 °C, P 78 次/min, R 20 次/min, BP 136/70 mmHg。BMI 23 kg/m², 体型正常, 心肺腹查体未见明显异常, 双下肢无水肿。查 FPG 2.6 mmol/L, 2 h PG 12 mmol/L, 口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)、血糖、胰岛素、C 肽、胰岛素释放指数、胰岛素/C 肽变化见表 1。HbA_{1c} 0.66, 胰岛素自身抗体 (IAA) 80.03 IU/ml (正常参考值 0 ~ 20 IU/ml), 胰岛细胞抗体 (ICA)、谷氨酸脱羧酶抗体 (GADA)、肿瘤标志物阴性, 余检查未见明显异常。诊断为胰岛素类似物致胰岛素自身免疫综合征、2 型糖尿病。

遂停用胰岛素, 但低血糖无改善, 故应用糖皮质激素治疗, 初始给予泼尼松 5 mg/d, 仍有低血糖发作, 逐渐加量至 15 mg/d, 低血糖发作频率减少, 维持治疗 2 周后减量, 无低血糖再发, 1 个月后停药。同时予低糖低脂富纤维饮食、定时定量、少食多餐, 阿卡波糖 50 mg 口服, 每日 3 次。2016 年 5 月复查空腹胰岛素 358.4 pmol/L, 空腹 C 肽 0.7 nmol/L; 2017 年 6 月复查糖尿病免疫三项: IAA、ICA、GADA 均阴性, 胰岛素水平明显下降; 2019 年 5 月复查胰岛素水平进一步下降, 空腹胰岛素 100.5 pmol/L; 空腹 C 肽 0.79 nmol/L, 无明显低血糖。

讨论 经典的胰岛素自身免疫综合征 (insulin autoimmune syndrome, IAS) 是指在未使用外源性胰岛素情况下, 反复出现自发性低血糖的临床综合征, 多由含巯基的药物引起, 而本例为 2 型糖尿病患者, 在使用门冬胰岛素 30 后出现 IAS, 考虑为使用胰岛素类似物引起的胰岛素自身免疫综合征或称自身免疫性低血糖。该病最先在 1960 年由 Harwood^[1] 报道, 近年来我国也逐渐有相关报道^[2], 因其临床特征不典型极易误诊漏

表 1 OGTT 血糖、胰岛素、C 肽、胰岛素释放指数、胰岛素/C 肽变化

项目	0 min	60 min	120 min	180 min	240 min
血糖 (mmol/L)	6.47	11.57	13.05	11.55	2.2
胰岛素 (pmol/L)	4 702.00	5 003.00	5 840	>6 945	>6 945
C 肽 (nmol/L)	1.96	2.09	2.38	2.78	2.64
胰岛素释放指数	5.63	3.35	3.46	>4.66	>25.3
胰岛素/C 肽	2.39	2.39	2.45	>2.49	>2.63

注: 正常参考值, 血糖 3.9 ~ 6.1 mmol/L; 胰岛素 17.8 ~ 173 pmol/L; C 肽 0.37 ~ 1.47 nmol/L; 胰岛素释放指数 < 0.3; 胰岛素/C 肽 0.04 ~ 0.11

诊。该例患者的临床特征为 2 型糖尿病, 无甲状腺疾病、巯基类药物使用史, 曾使用门冬胰岛素后多次出现明显的自发性低血糖, 测胰岛素水平极高, 与 C 肽水平极度不平行, 有高滴度的 IAA, 且在停用胰岛素后仍反复低血糖, 不能用外源性胰岛素过量来解释, 使用糖皮质激素治疗后好转, 因此支持外源性胰岛素引起的 IAS。

IAS 患者常有反复低血糖与高血糖交替现象, 目前考虑出现这一临床表现的机制为 IAA 有低亲和力/高结合容量型和 高亲和力/低结合容量型 2 种类型^[3], 进餐或口服葡萄糖后人体血糖浓度升高, 刺激胰岛素分泌, 此时高亲和力/低结合容量型 IAA 与胰岛素在体内大量结合, 以致胰岛素不能释放, 引起血糖显著升高, 而后其结合位点转变为低亲和力/高结合容量型, 此时胰岛素与 IAA 结合的复合物在体内不稳定, 随着胰岛素与 IAA 的解离, 胰岛素释放增加, 出现低血糖症状^[4]。关于外源性胰岛素与胰岛素自身抗体结合及解离的机制, 研究表明^[5], 胰岛素抗体不饱和时外源性胰岛素可以与其结合而表现为胰岛素抵抗和高血糖, 当抗体结合能力达到饱和时或由于某些原因促进抗原抗体突然解离时, 则出现严重低血糖, 而更具体的机制还需进一步研究。

对于外源性胰岛素或胰岛素类似物致免疫性低血糖的疑似患者, 可参考以下诊断标准^[5]: (1) 糖尿病患者使用外源性胰岛素, 反复夜间及凌晨低血糖, 餐后表现为正常或较高血糖, 停用胰岛素无改善; (2) 血胰岛素、C 肽“分离现象”, OGTT 提示胰岛素明显升高, 但 C 肽水平未同步升高; (3) IAA 阳性;

(4) 排除其他原因低血糖。鉴别诊断应排除胰岛素瘤、B 型胰岛素抵抗、脆性糖尿病、胰岛素剂量过大等。首先,胰岛素瘤患者整体血糖水平偏低、IAA 阴性,影像学可见胰腺占位;但有极少部分 IAS 患者胰腺 CT 可见胰尾部饱满或增大,这与长期高胰岛素血症刺激胰腺增生有关,易误诊为胰岛素瘤^[5],故需结合病史综合鉴别。B 型胰岛素抵抗患者多有卵巢多囊样改变及高雄激素血症,胰岛素升高幅度小于 IAS 患者,IAA 阴性,确诊有赖于胰岛素受体抗体(IRA)阳性^[6],患者 C 肽水平尚可,排除脆性糖尿病;停用胰岛素后仍有低血糖再发,故可排除胰岛素剂量过大引起的低血糖。

确诊后首先给予停用胰岛素类似物,因 IAA 抗体滴度高,暂不予其他胰岛素注射。同时予少食多餐、低糖、高蛋白、高纤维饮食,阿卡波糖延缓碳水化合物吸收,密切监测血糖,此例患者停用胰岛素后低血糖未改善,应用糖皮质激素治疗 1 个月余,低血糖症状完全缓解。此外,还可使用血浆置换、胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、免疫抑制剂如环磷酰胺等^[7],也有报道指出,在糖皮质激素及血浆置换治疗无效的情况下,应用抗 CD20 单克隆抗体也能取得良好的疗效^[8]。

综上所述,外源性胰岛素或胰岛素类似物所致自身免疫综合征临床少见,因反复高血糖、低血糖交替的临床表现容易被误诊为脆性糖尿病或胰岛素剂量过大,也易误诊为胰岛素瘤、B 型胰岛素抵抗,故遇到此类患者临床医生需密切监测血糖,完善胰岛功能、糖尿病免疫三项(IAA、ICA、GADA)等检测,积极寻找病因,避免误诊漏诊,提高患者的生活质量。

参考文献

[1] Harwood R. Insulin-binding antibodies and “spontaneous” hypogly-

cemia[J]. N Engl J Med, 1960, 262(12): 978-979. DOI: 10.1056/NEJM196005122621908.

- [2] 平凡, 张化冰, 王林杰, 等. 外源性胰岛素诱发的自身免疫性低血糖病例总结并文献复习[J]. 中华糖尿病杂志, 2013, 5(6): 347-350. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2013.06.007.
- [3] Eguchi Y, Uchigata Y, Yao K, et al. Longitudinal changes of serum insulin concentration and insulin antibody features in persistent insulin autoimmune syndrome (Hirata's disease) [J]. Autoimmunity, 2009, 19(4): 279-284. DOI: 10.3109/08916939409071354.
- [4] Chu JP, Zheng XW, Lu J, et al. Insulin-induced autoimmune syndrome: A case report [J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2016, 12(5): 339. DOI: 10.3892/etm.2016.3767.
- [5] 赵向府, 庄晓明, 李然, 等. 外源性胰岛素诱发自身免疫性低血糖 3 例并文献复习[J]. 首都医科大学学报, 2014, 35(4): 521-525. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2014.04.028.
- [6] 孙亚楠, 陈颖, 赵文娟. 胰岛素类似物致胰岛素自身免疫综合征一例及治疗策略[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(10): 683-684. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2018.10.010.
- [7] 杨望荣, 罗佐杰, 梁敏, 等. 胰岛素类似物致 2 型糖尿病患者免疫性低血糖二例并文献复习[J]. 中华糖尿病杂志, 2013, 5(5): 306-308. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2013.05.013.
- [8] Jassam N, Amin N, Holland P, et al. Analytical and clinical challenges in a patient with concurrent type 1 diabetes, subcutaneous insulin resistance and insulin autoimmune syndrome [J]. Endocrinol Diabetes Metab Case Rep, 2014, 2014: 130086. DOI: 10.1530/EDM-13-0086.

(收稿日期: 2019-09-13)

误诊误治分析

误诊为慢性阻塞性肺疾病的气管鳞癌 1 例

刘代梅, 曾玉璇, 朱端, 唐春兰, 胡建林, 罗虎

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81670070); 国家自然科学基金青年基金项目(81702293); 重庆市

基础与前沿研究课题(cstc2016jcyA0286)

作者单位: 400038 重庆, 陆军军医大学第一附属医院呼吸与危重症医学科

通信作者: 罗虎, E-mail: luohuy@163.com

【关键词】 气管鳞癌; 慢性阻塞性肺疾病; 误诊

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.022

1 病例资料

患者, 女, 70 岁, 因“咳嗽、活动后气促 1 年余, 加重 4 月余”入院。患者于 2017 年 4 月无明显诱因出现活动后气促, 伴干咳, 无发热、盗汗、咯血、夜间阵发性呼吸困难等症状。患者自行口服头孢类药物, 症状未见缓解且反复发作。2018 年 3 月活动后气促加重到外院就诊, 行胸片检查未见明显异常, 肺功能检查提示重度混合性通气功能障碍, 大小气道气流重度受限, 弥散功能正常, 气道阻力增高, 支气管舒张试验阴性, 考虑

为支气管哮喘合并 COPD, 予以沙美特罗氟替卡松粉吸入剂治疗 3 个月, 症状未见缓解并加重, 于 2018 年 7 月入我院治疗。既往无吸烟史及长期粉尘接触史, 无支气管炎、支气管哮喘家族史。查体: R 22 次/min, 气管无明显偏移, 胸骨上窝可闻及哮鸣音; 胸骨对称, 双侧呼吸动度一致, 双肺均可闻及哮鸣音, 左肺呼吸音低。胸部 CT 示支气管隆突(平第 6 胸椎)片状不规则软组织密度影, 窄基底与气管相连, 向腔内凸起(图 1A)。纤维支气管镜检查示: 左主支气管开口约 90% 被肿物阻塞, 右主支

气管开口约 75% 被肿物阻塞(图 1B)。肿物活检病理诊断提示气管鳞癌。完善 EGFR、ALK 等常规基因检测未发现明确的驱动基因突变,头颅增强 MR、全身骨扫描等未见确切转移征象。

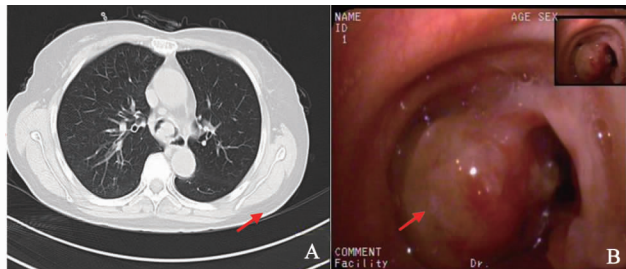


图 1 A. 胸部 CT 提示气管隆突部位占位性病变, B. 纤维支气管镜下可见隆突部位新生物, 双侧主支气管明显狭窄

胸外科建议行气管肿瘤切除术 + 气管重建术, 患者拒绝, 遂给予多西他赛联合卡铂 4 周期化疗, 并先后 2 次行显微镜下冷冻及高频电刀治疗, 症状缓解, 2018 年 10 月患者复查胸部 CT(图 2A)、气管成像(图 2B)和纤维支气管镜(图 2C), 均提示气管隆突部位肿瘤较前缩小, 双侧支气管管腔狭窄较前改善。复查肺功能基本正常, 小气道功能基本正常, 弥散功能正常, 肺容量减少, 气道阻力较高。患者目前仍定期复查和随访治疗中。

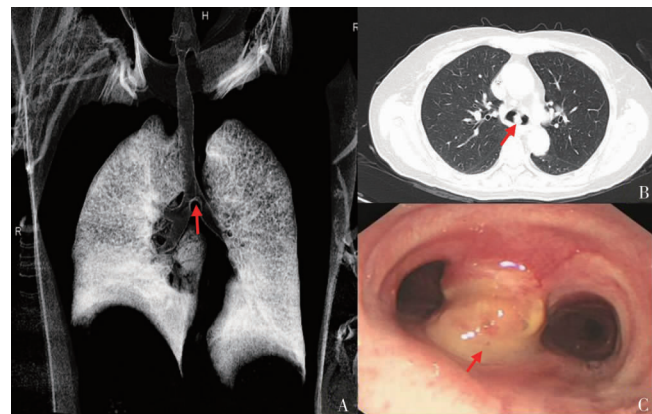


图 2 A, B. 胸部 CT 及气管成像提示气管隆突部位占位性病变较前明显缩小, 双侧支气管管腔狭窄较好; C. 纤维支气管镜提示气管肿瘤有缩小, 左右支气管管腔堵塞情况明显好转

2 讨论

2.1 原发性气管恶性肿瘤发病情况及类型 原发性气管恶性肿瘤属呼吸科罕见病, 发病率仅占呼吸道恶性肿瘤的 2%, 有报道称其男女发病率无明显差异^[1-2], 亦有研究显示男性发病率高于女性^[3-4]。原发性气管恶性肿瘤的发病机制尚未明确, 常见类型包括鳞癌及腺样囊性癌(共占 75%), 其他包括分化不良癌、黏液类上皮癌及类癌等^[5]。有学者首次报道了透明细胞癌这一少见的病理类型^[6]。

2.2 原发性气管恶性肿瘤的发病特点及误诊现状 原发性气管肿瘤患者以呼吸困难、咳嗽、气短、喘鸣等为主要表现, 个体表现因肿瘤的大小、部位等不同而各异。杨峰等^[7]对 48 例原

发性气管恶性肿瘤患者临床特点进行总结分析, 发现该类患者的症状主要为咳嗽(72.9%)、气促(58.3%)、咯血痰(29.1%)。丁银锋等^[8]回顾性分析显示, 43 例原发性气管肿瘤患者从出现气道阻塞症状至确诊间隔时间平均为(4.6 ± 3.9)个月, 首次就诊漏诊率为 41.9%(18/43), 最常误诊为支气管哮喘(11/43)。有学者指出^[9], 虽然早期原发性气管肿瘤患者的诊断较为困难, 但临床症状随病情发展可表现出特征性。常见症状主要包括呼吸困难(吸气性呼吸困难常见)、咳嗽(多为刺激性干咳)、咯血(多为血性痰)、喘鸣(双相均有, 且抗喘药治疗无效)。

2.3 本例气管鳞癌患者误诊分析 (1) 问诊不详。患者出现症状仅 1 年余, 且既往无慢性咳嗽史, 无支气管炎、哮喘家族史, 无吸烟史及长期粉尘接触史, 且无气道高反应性及过敏相关临床表现, 医生未详细了解患者病史, 诊断为 COPD 或支气管哮喘依据不足。(2) 查体不细。查体虽闻及双肺均有哮鸣音, 但未检查患者大气道呼吸音情况, 未区分呼气相和吸气相。(3) 检查结果分析欠缺。COPD 及支气管哮喘主要表现为小气道功能减退, 本例患者大小气道功能均减退, 未分析患者出现大气道功能减退的原因。(4) 复查随访不足。患者于外院接受沙美特罗氟替卡松粉吸入剂治疗期间, 症状未能缓解并曾 2 次复诊, 医生未能分析治疗效果不良的原因、纠正误诊。

参考文献

- [1] 陈力, 詹成, 金玉麟, 等. 原发性气管及主支气管恶性肿瘤的临床诊治[J]. 中国临床医学, 2017, 11(4): 56-61. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170051.
- [2] Bhattacharyya N. Contemporary staging and prognosis for primary tracheal malignancies: A population-based analysis [J]. Otolaryng Head Neck, 2004, 131(5): 639-642. DOI: 10.1016/j.otohns.2004.05.018.
- [3] Licht P. Tracheal cancer in Denmark: A nationwide study [J]. Eur J Cardio-Thoracic, 2001, 19(3): 339-345. DOI: 10.1016/S1010-7940(01)00597-8.
- [4] Honings J, Gaissert HA, Verhagen AF, et al. Undertreatment of tracheal carcinoma: Multidisciplinary audit of epidemiologic data [J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(2): 246-253. DOI: 10.1245/s10434-008-0241-3.
- [5] 路栋栋, 张蕾, 柴文成. 原发性气管肿瘤的临床特点及支气管镜的应用[J]. 锦州医科大学学报, 2019, 40(4): 51-55. DOI: 10.13847/j.cnki.lnmu.2019.04.017.
- [6] Bradley I, Grider DJ, Sameh A, et al. Primary tracheal hyalinizing clear cell carcinoma [J]. Lung Cancer, 2018, 125: 100-102. DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.09.009.
- [7] 杨峰, 罗为展, 李时悦, 等. 原发性气管恶性肿瘤 48 例临床分析[J]. 中国医药导报, 2015, 12(31): 82-84, 92.
- [8] 丁银锋, 陈龙, 黄海东, 等. 支气管镜介入治疗原发性气管肿瘤的临床分析[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(6): 435-439. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2017.06.008.
- [9] 钱文霞. 原发性气管肿瘤 3 例误诊分析及文献复习[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2009, 12(2): 307-308.

(收稿日期: 2019-10-15)

苍术麻黄汤及其组成成分在血脂异常治疗中的研究进展

李璐璐, 胡馨, 尚菊菊综述 刘红旭审校

基金项目: 许公岩、夏寿人青年人才基金(XX-201705)

作者单位: 100010 首都医科大学附属北京中医医院心脏中心

通信作者: 刘红旭, E-mail: lhx_@263.net

【摘要】 血脂异常是冠状动脉粥样硬化性心脏病和脑卒中等心脑血管疾病的重要独立危险因素。现代医学治疗血脂异常首选他汀类药物, 但其在肌病、肝脏损伤、新发糖尿病等方面仍有明确的不良反应发生。中医药在防治血脂异常方面具有独特的用药特色和潜在优势。中医认为血脂异常多以湿浊、痰浊、血浊为患。苍术麻黄汤为国家名老中医许公岩根据“湿家理脾为要”的思想指导创制而成。文章就苍术麻黄汤在调脂治疗中的机制、相关临床和实验进展进行综述, 以期对苍术麻黄汤及其组成成分在临床调脂治疗中的应用提供循证医学依据。

【关键词】 苍术麻黄汤; 血脂异常; 痰浊内阻证; 临床研究; 许公岩

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.023

Clinical research progress of Cangzhumahuang decoction and its components in the treatment of dyslipidemia Li Lulu, Hu Xin, Shang Jujie, Liu Hongxu. Heart Center, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China

Corresponding author: Liu Hongxu, E-mail: lhx_@263.net

Funding program: Xu Gongyan and Xia Shouren Youth Talent Foundation(XX-201705)

【Abstract】 Dyslipidemia is an important independent risk factor for cardiovascular and cerebrovascular diseases in coronary atherosclerotic heart disease and stroke. In modern medicine, statins are the first choice for the treatment of dyslipidemia, but there are still clear adverse reactions in myopathy, liver, and new-onset diabetes. Chinese medicine has unique medication characteristics and potential advantages in preventing and treating dyslipidemia. Chinese medicine believes that abnormal blood lipids are mostly caused by wet turbidity, phlegm and blood turbidity. Cangzhumahuang decoction was created by Mr. Xu Gongyan, a well-known national doctor of traditional Chinese medicine, under the ideological guidance of "wet the house to manage the spleen". This article reviews the etiology and pathogenesis, related clinical and experimental progress of Cangzhumahuang decoction in lipid-lowering therapy, in order to provide evidence-based medical evidence for the study of Cangzhumahuang decoction and its components in clinical lipid-lowering therapy.

【Key words】 Cangzhumahuang decoction; Dyslipidemia; Clinical research; Internal resistance of phlegm and turbidity; Xu Gongyan

血脂异常(dyslipidemia)是指由于血脂代谢或转运异常使血浆中一种或多种脂质过高或过低,包括血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平过高和/或高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平过低。血脂异常是造成冠状动脉粥样硬化性心脏病和脑卒中等心脑血管疾病发生的重要独立危险因素^[1]。近年来我国血脂异常的患病率呈逐年上升趋势^[3],戴璟等^[4]调查中国9省市成年人血脂异常流行特点研究提示,成年人血脂异常患病率水平

较高且增长速度快,预示未来中国成人血脂异常患病及相关疾病负担将继续加重。“中国成人血脂异常防治指南”及“血脂异常中西医结合诊疗专家共识”提出临床调脂达标、高胆固醇血症及高低密度脂蛋白胆固醇血症首选他汀类调脂药物^[4-5]。他汀类治疗高胆固醇血症及高低密度脂蛋白胆固醇血症在临床上应用广泛,疗效确切并具有较好的安全性,然而其在肌病、肝脏、新发糖尿病、神经系统病变等方面仍有明确的不良反应发生^[6-7]。中医对于血脂异常的治疗具有其独特

的整体观念、辨证施治的优势。近年来一些中药制剂的研究在治疗血脂异常方面显示明显的疗效,为患者治疗方案提供更多选择,也为中医治疗血脂异常提供了循证医学依据^[5]。苍术麻黄汤(苍麻汤)为国家名老中医许公岩(1903—1994 年)根据“湿家理脾为要”的思想指导创制而成,许公岩精于湿证辨治,并创制“苍麻丸”作为治疗湿证的代表方剂,主要治疗湿证,疗效确切^[8]。研究提示苍术麻黄汤中药物组成成分对血脂异常也有一定的疗效^[9-12]。现将苍术麻黄汤及其组成成分在血脂异常治疗中的临床应用进展进行综述,以挖掘传统中医药干预血脂异常的治疗价值。

1 中医对血脂异常病因病机的认识

中医学中并无“血脂异常”症候,多依据疾病不同阶段,按照其临床表现将血脂异常辨证为“痰浊”“血浊”“脾虚”“血瘀”“脉痹”“脱疽”“健忘”“眩晕”及“胸痹”等,散于历代医学典籍中^[13]。《灵枢·五癯津液别》云:“五谷之津液和合而为膏者,内渗入于骨空,补益脑髓,而下流于阴股。”中医认为:膏,为人食入五谷杂粮,由脾胃化生的水谷精微产生,也可称之为津液。随津液的流行及输布,有注骨空、补脑髓、润泽肌肤的作用。《辞源》中:“脂者,凝者曰脂,释者为膏”。故膏脂二者性质相同。由此可间接推出,膏脂类似于津液。

张志聪《灵枢集注》中云:“中焦之气,蒸津液化,其精微溢于外则皮肉膏肥,余于内则膏脂丰满。”生理条件下,脾位于中焦,可运化津液。肺有通调水道功能,两者均对于体内的水液代谢起疏通和调节作用。病理条件下,因脏腑功能失调或嗜食肥甘厚腻等,脂质不能正常输布全身,多余脂质停于皮下及血脉内。《景岳全书》曰:“五脏之病,虽俱能生痰,然无不由乎脾生。盖脾主湿,湿动则生痰,故痰之化,无不在脾。”但尤以脾脏为主,故有“脾为生痰之源”“脾无留湿不成痰”。同时在其他脏腑功能的调节下,如肝输泄、肾气化功能等,津液对人体各组织器官,起到滋润和濡养作用。在多种致病因素影响下,如嗜食肥甘厚腻、劳倦内伤、情志失调、年迈体衰等,均可致使脏腑功能失调,脾失健运,肝失疏泄,进一步导致津液输布异常,产生病理产物痰浊、淤血等,形成一系列病证。

“血脂异常中西医结合诊疗专家共识”^[5]中将血脂异常采用复合证型和单证型进行辨证。复合证型主要为痰浊内阻证、脾虚湿盛证等。单证型分为实证(血瘀证、痰浊证等)及虚证(气虚证、阴虚证等)。尹湘君等^[14]在研究近 40 年血脂异常中医证候动态演变规律中发现,血脂异常实证逐渐增多,近 10 年证候以

痰浊阻滞(21.75%)、气滞血瘀(12.67%)为主,证候要素以痰浊(30.40%)、血瘀(25.35%)为主,证候要素靶位以脾(58.69%)为多。

2 苍术麻黄汤组方及临床应用

中医认为痰饮水湿的形成多归于脾、肺、肾三脏功能失调,脾居于中焦,为后天之本,脾失健运的根本原因为痰饮水湿停聚。苍术麻黄丸(苍麻丸)为国家已故名老中医许公岩结合《金匱要略》创制而成。其药物组成为苍术、麻黄、桔梗、莱菔子。苍术麻黄汤与苍麻丸药物组成相同,汤剂具有制备简单易行,吸收快,能迅速发挥药效,可根据个体辨证施治,用药加减。许公岩经过多年的临床经验,结合张仲景《金匱要略·痉湿喝病脉证治篇》第二十条“湿家身烦痛,可与麻黄加术汤发其汗为宜”。张仲景以麻黄发表去其寒,白术健脾利湿,湿寒同治,表里同治,为湿家理脾之重要方药。本方组成以苍术代替白术以苦温燥湿,健脾化湿;麻黄以通肺气、利小便以通阳;莱菔子宽中下气,引气机下行以通脾气;桔梗宣肺化痰。方中选用苍术与麻黄相配,取苍术苦温以温燥健脾宣化水湿,取麻黄辛温以宣达肺气,两药合用具有健脾宣肺化湿之功效。诸药合用,为理脾化痰之要方,共奏健脾祛湿化痰之效。临床上多用于治疗呼吸系统的咳、痰、喘症,祛湿邪效果良好^[8,15]。在一项关于小剂量苍麻丸对支气管扩张症稳定期气道黏液高分泌状态的研究中,将 50 例支气管扩张症患者随机分为 2 组,对照组应用口服盐酸氨溴索,治疗组在对照组基础上增加使用小剂量苍麻丸。经过 6 个月的治疗后,治疗组在改善稳定期支气管扩张症的气道黏液高分泌状态,减少痰量,降低急性发作次数明显^[16]。

中医学认为血脂异常多因脾失健运等脏腑功能失调产生病理产物痰浊,异病同治,苍麻丸具有祛痰饮之功效,对治疗血脂异常可采取同种方法。张立^[17]通过动物实验证明,运用健脾祛痰化痰法可改善高脂雄性巴马小型猪的胆固醇。郑英宇等^[18]运用健脾祛痰化痰法可改善高脂雄性巴马小型猪血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、脑组织 ABCA1、ApoE 及 ApoA β 。由此证明运用健脾祛痰化痰的方法可改善血脂异常。苍术麻黄汤中的桔梗、莱菔子、苍术均包括在单味降脂中药分类中^[15,19]。在目前的药理研究中,各味中药均在机体代谢中产生独特的作用。

3 苍术麻黄汤中各味单药的调脂研究

3.1 苍术在调脂治疗中的作用

苍术味辛、苦,性温,入脾、胃经。具有芳香化浊、燥湿健脾作用,用于治疗脾为湿困、运化失司。《本草崇原》云:“凡欲补脾,则

用白术,凡欲运脾,则用苍术。”《神农本草经》云:“主风寒湿痹,死肌痠疽。作煎饵久服,轻身延年不饥。”由此可见,苍术辛香燥烈,祛肌表之风寒表邪,长于胜湿健脾。

颜德馨在治疗血脂异常时,强调调理患者血气,令其条达,气血平和。同时重视调补脾胃,补脾重在“健”字。其用药首推苍术和白术并重视苍术的运用,他认为苍术有良好的发汗、运脾、解郁的功效,运脾则首推苍术。苍术性味辛苦温,有燥湿健脾之功,苍术不仅入脾胃经,而且还归入肝经,既燥湿运脾,也能行气解郁,还可制约纠偏、化阴解凝、治肝取脾,可作为调脂基本药^[20]。蒋梅香等^[21]在对苍术-玄参降糖作用的有效部位筛选中发现,其中多糖组和正丁醇组能够显著降低小鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平,显著升高 HDL-C 水平。张明发等^[22]认为,苍术具有降低高血糖、高尿酸、高血压及保护心肌的作用,其降低心房收缩频率的作用被临床用于治疗窦性心动过速。

3.2 麻黄在调脂治疗中的作用 麻黄,辛,微苦,温。归肺、膀胱经。具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿的功效。用于风寒表实证,咳喘实证等。入肺经辛开苦降,可宣降肺气,散邪宣肺以止咳平喘。《本草纲目》云:“麻黄乃肺经专药,故治肺病多用之。”凡肺气壅遏所致的咳嗽气喘,无论寒、热、痰、饮及有无表证,均可应用。

王建军^[23]等研究发现,麻黄中麻黄生物碱类、非生物碱小分子类物质可降低血脂异常模型小鼠血清 TG、TC,升高 HDL-C,进而可能减少动脉粥样硬化的发病率,还能逆转肝脏脂肪变性,防止脂肪肝形成及减轻肝功能障碍,麻黄及其组成成分在单方应用时能改善血脂及脂肪肝等形成,在肝脏保护上相较于他汀具有一定的优势。周云云等^[24]研究发现,麻黄非生物碱组小鼠血清 TC、TG 水平显著降低,HDL-C 水平显著升高,说明麻黄非生物碱类成分具有降血脂作用;研究还发现麻黄可升高 SOD 活性,降低 MDA 水平,提示麻黄非生物碱类可通过清除自由基和抗脂质过氧化起保护肝脏的作用。因此,笔者认为麻黄中的主要成分麻黄非生物碱可通过降低 TC、TG,升高 HDL-C,而达到有效降血脂的作用,与他汀类药物相比还可具有保护肝脏的作用。

3.3 桔梗在调脂治疗中的作用 桔梗,苦,辛,平。归肺经。具有宣肺、祛痰、利咽、排脓之功效。用于咳嗽痰多,胸闷不畅,肺痈吐脓。张仲景《金匱要略》云:“咳而胸满,振寒脉数,咽干不渴,时出浊唾腥臭,久久吐脓如米粥者,为肺痈,桔梗汤主之。”本品能宣肺泄

邪以祛痰利咽,开宣肺气。

徐丽萍^[25]通过动物实验提出,桔梗总皂苷显著降低血脂异常大鼠的 TG、TC 水平,同时升高血脂异常大鼠 HDL-C 水平,对 LDL-C 水平也有降低作用。栾海艳等^[26]研究发现,与模型对照组比较,高剂量桔梗总皂苷可降低糖尿病肝病大鼠的 TG、TC 水平,升高 HDL-C,且降低丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平,说明桔梗总皂苷用于降血脂较为安全有效,且具有保护肝脏的作用。辛丹丹等^[27]通过动物实验对黄芪多糖、桔梗多糖、玉竹多糖和甘草多糖的降血脂作用研究表明,桔梗多糖具有显著降低血清 TC 和 TG 的作用。杨桂英等^[28]研究表明,桔梗皂苷降低血胆固醇的作用是通过低密度脂蛋白受体(LDL-R)转运胆固醇来实现的。高云芳等^[29]等研究表明,桔梗总皂苷具有明显降低 TC 的作用。

3.4 莱菔子在调脂治疗中的作用 莱菔子,甘,平。归肺、脾、胃经。具有降气化痰、消食除胀作用。用于咳喘痰多,胸闷食少。《医林纂要》云:“生用,吐风痰,宽胸膈,托疮疹;熟用,下气消痰,攻坚积,疗后重。”可见本药降气化痰之疗效上佳。

张国侠等^[30-31]研究证实,莱菔子水溶性生物碱能够提高 HDL-C 水平,并可有效降低小鼠血清丙二醛(MDA)水平,升高超氧化物歧化酶(SOD)水平,保护动脉内皮细胞,清除自由基,抑制脂质过氧化,从而对抗动脉粥样硬化的形成。其他研究表明,莱菔子含有芥子碱成分,以及甲硫醇为首的挥发油及脂肪酸,均具有降低血压、调节血脂、平喘祛痰等作用^[32]。王怀生等^[33]研究发现,以莱菔子为原料药的单药制剂清眩降压片对血脂异常具有预防和治疗作用。

以上研究可提示,苍术、麻黄、桔梗、莱菔子四味药物可通过不同的作用途径调节实验动物血脂水平,降低可溶性内皮细胞白细胞黏附分子,调节血管内皮功能,发挥延缓动脉硬化发生和进展的作用。具有较好的调脂作用,且安全性较好。

4 小结与展望

综上所述,苍术麻黄汤作为一种治疗痰湿阻滞证的方药,突出其中苍术与麻黄比例动态变化的用药精髓。其组方中苍术、麻黄、桔梗和莱菔子均具有较好的降脂作用,因此苍术麻黄汤可能通过调节 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平,降低 sICAM-1、sVCAM-1 所介导的单核细胞、中性粒细胞、淋巴细胞与血管内皮结合的炎性反应过程,调节血管内皮功能、预防内皮损伤,延缓动脉硬化的发生和进展。苍术麻黄汤对预防动脉硬化及心脑血管疾病有潜在的临床应用价值。

参考文献

[1] Kopin L, Lowenstein C. Dyslipidemia[J]. Ann Intern Med, 2017, 167(11):ITC81-ITC96. DOI: 10.7326/AITC201712050.

[2] 中国高血压调查研究组. 2012~2015 年我国 ≥35 岁人群血脂异常状况调查[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(7):681-687. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2019.07.011.

[3] 戴璟, 闵杰青, 杨云娟. 中国九省市成年人血脂异常流行特点研究[J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(2):114-118. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.02.009.

[4] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版)[J]. 中国循环杂志, 2016, 31(10):937-950. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2016.10.001.

[5] 中国中西医结合学会心血管病专业委员会动脉粥样硬化与血脂异常专业组. 血脂异常中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国全科医学, 2017, 20(3):262-269. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2017.03.002.

[6] 袁成莹, 侯原平, 常晶, 等. 他汀类药物在临床应用中的主要不良反应及防治策略[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(12):949-951. DOI:10.11915/j.issn.1671-5403.2018.12.220.

[7] 刘晓嘉. 他汀类药物所致不良反应及其相关影响因素的研究进展[J]. 北方药学, 2019, 16(2):157, 196. DOI:10.3969/j.issn.1672-8351.2019.02.122.

[8] 马家驹, 李雪, 张晓雷, 等. 许公岩苍麻丸临床思维探析[J]. 北京中医药, 2016, 35(10):951-953. DOI:10.16025/j.1674-1307.2016.10.014.

[9] 石珺, 胡衍园, 王清华. 复方苍术汤治疗老年肥胖或超重合并糖耐量异常 32 例临床观察[J]. 中医杂志, 2005, 46(1):24-25. DOI:10.3321/j.issn:1001-1668.2005.01.014.

[10] 于刚. 降血脂中药筛选及桔梗总皂苷降血脂活性研究[D]. 重庆:西南大学, 2009.

[11] 蒋明, 高久武司, 奥田拓道. 麻黄对脂肪细胞脂质代谢影响的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(5):46-48, 64. DOI:10.3321/j.issn:1001-5302.1999.05.020.

[12] 曹彦. 莱菔子水溶性生物碱防治高脂致动脉粥样硬化作用及机制的实验研究[D]. 长春:长春中医药大学, 2010.

[13] 梁音心. 从虚论治高脂血症浅析[J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(22):10. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8517.2011.22.008.

[14] 尹湘君, 何庆勇, 王阶, 等. 近 40 年血脂异常中医证候动态演变规律的研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(4):1523-1526.

[15] 许公岩. 痰湿每为祟苍麻乃良方[J]. 中国社区医师, 2002, 23(18):35.

[16] 马家驹, 陈明, 王玉光. 小剂量苍麻丸对支气管扩张症稳定期气道黏液高分泌状态的影响[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(6):742-745. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8552.2019.06.040.

[17] 张立. 健脾祛痰化痰法通过 miRNA-33 及其下游通路调控胆固醇代谢的实验研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2019.

[18] 郑英宇, 陈民. 健脾祛痰化痰中药对高脂雌性巴马小型猪血清 TC、TG、HDL、LDL、脑组织 ABCA1、ApoE 及 Aβ 影响随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2016, 30(4):81-85. DOI:10.13729/j.issn.1671-7813.2016.04.34.

[19] 韩梅, 高晟, 赵凯. 100 方降脂中药治疗高脂血症用药规律[J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(2):217-219. DOI: 10.16448/j.cjtc.2017.0069.

[20] 刘敏雯, 严夏. 颜德馨教授治疗高脂血症经验简介[J]. 新中医, 2010, 42(12):138-140.

[21] 蒋梅香, 刘颖新, 陈容, 等. 苍术-玄参药对糖尿病小鼠降糖作用有效部位筛选[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(9):18-20.

[22] 张明发, 沈雅琴. 苍术及其有效成分对心血管和代谢系统药理作用的研究进展[J]. 抗感染药学, 2017, 14(2):244-249. DOI:10.13493/j.issn.1672-7878.2017.02-002.

[23] 王建军, 周云云, 范彦博. 麻黄非生物碱类成分对小鼠胆固醇的影响[J]. 医药导报, 2011, 30(2):187-190. DOI:10.3870/yydb.2011.02.015.

[24] 周云云, 但红, 宋成武, 等. 麻黄非生物碱类成分对高脂血症模型小鼠脂质代谢的影响[J]. 湖北中医杂志, 2011, 33(6):3-5. DOI:10.3969/j.issn.1000-0704.2011.06.001.

[25] 徐丽萍. 桔梗总皂苷降血脂作用的研究[J]. 食品工业科技, 2007, (8):224-224. DOI:10.3969/j.issn.1002-0306.2007.08.069.

[26] 栾海艳, 张建华, 赵晓莲, 等. 桔梗总皂苷对 2 型糖尿病肝病大鼠糖脂代谢影响的研究[J]. 中成药, 2013, 35(6):1307-1309. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2013.06.047.

[27] 辛丹丹, 博·格日勒图, 娜日苏, 等. 四种天然多糖的降血脂作用研究[J]. 内蒙古师范大学学报:自然科学汉文版, 2012, 41(6):649-653, 674.

[28] 杨桂英, 吴敬涛. 桔梗皂苷对高胆固醇大鼠低密度脂蛋白受体的调节[J]. 泰山学院学报, 2015, 37(6):104-108. DOI:10.3969/j.issn.1672-2590.2015.06.020.

[29] 高云芳, 陈超, 张海祥, 等. 桔梗总皂苷对大鼠高脂血症的影响[J]. 中草药, 2000, 31(10):764-765. DOI:10.3321/j.issn:0253-2670.2000.10.025.

[30] 张国侠, 盖国忠. 莱菔子总生物碱对 Apo E 基因敲除小鼠血脂的影响[J]. 中国老年学, 2010, 30(6):844-845. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2010.06.056.

[31] 张国侠, 盖国忠. 莱菔子水溶性生物碱对 ApoE 基因敲除小鼠内皮细胞的抗氧化保护作用[J]. 中国老年学, 2010, 30(19):2811-2812. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2010.19.041.

[32] Peng Z, Liu M, Fang Z, et al. In vitro antioxidant effects and cytotoxicity of polysaccharides extracted from Laminaria japonica[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(5):1254-1259. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2012.04.006.

[33] 王怀生, 何忠梅, 丁云录, 等. 清眩降压片降血脂作用研究[J]. 人参研究, 2014, 26(3):23-29. DOI:10.3969/j.issn.1671-1521.2014.03.008.

(收稿日期:2020-03-16)

挥发性有机物检测在结直肠癌筛查中的研究进展

郭颖韵综述 田山,董卫国审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81572426)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科

通信作者: 董卫国, E-mail: dongweigu@whu.edu.cn

【摘要】 结直肠癌(CRC)是消化道最常见的恶性肿瘤,有效的早期筛查是降低CRC发病率和病死率的主要措施之一。挥发性有机物(VOC)作为机体的代谢产物,可用于包括肿瘤在内的多种疾病的诊断,其作为一种无创的筛查方式在CRC的早期诊断中有重要的临床应用前景。文章基于近年来国内外VOC的相关研究,就其在CRC诊断中的技术方法、检测样本及临床应用进行综述,同时展望VOC在CRC诊治中临床应用的研究方向。

【关键词】 结直肠癌;挥发性有机物;电子鼻;筛查

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.024

Research progress of VOC detection in colorectal cancer screening Guo Yingyun, Tian Shan, Dong Weigu. Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hebei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Dong Weigu, E-mail: dongweigu@whu.edu.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81572426)

【Abstract】 Colorectal cancer (CRC) is the most common malignant tumor in the digestive tract. Effective early screening is one of the main measures to reduce the incidence rate and mortality of CRC. Volatile organic compounds (VOC), as the metabolites of the body, can be used in the diagnosis of many diseases including tumors. As a non-invasive screening method, VOC has important clinical application prospects in the early diagnosis of CRC. Based on the related research of VOC at home and abroad in recent years, this paper summarizes the technical methods, test samples and clinical application of VOC in CRC diagnosis, and looks forward to the research direction of VOC clinical application in CRC diagnosis and treatment.

【Key words】 Colorectal cancer; Volatile organic Compounds; Electronic nose; Screening

结直肠癌(CRC)是消化道最常见的恶性肿瘤,据国际癌症研究机构制定的GLOBOACAN 2018统计数值显示,CRC为全球第三大常见癌症,病死率仅次于肺癌,居癌症相关死亡原因第二位^[1-2]。近年来,CRC在年轻人中的发病率逐渐攀升^[3],给社会带来了极大的经济和医疗负担。研究表明,早期诊断CRC及其癌前病变在提高5年生存率中起着重要作用[DukesA(T12N0M0)5年生存率93.2%,DukesC(T34N12M0)5年生存率47.7%]^[4]。因此,面向全民的CRC早期筛查,对CRC的防治至关重要。

根据美国癌症协会2018年新版指南,目前CRC的筛查主要包括以下6类项目:粪便免疫化学检测(FIT)、高敏感性隐血试验(HSgFOBT)、粪便DNA多靶点筛查、结肠镜检查、CT结肠成像、乙状结肠镜检查^[5]。其中结肠镜检查是诊断CRC的金标准,但是由于操作时患者难以耐受及检查费用高,限制了该项检

查的广泛应用^[6]。FIT是目前应用最广泛的无创筛查方法,具有较好的特异度,但敏感度差异较大(61%~91%),且坚持筛查的人数很少达到目标人群的70%^[7]。近年来,检测挥发性有机化合物(VOC)相关技术允许研究人员将挥发物与特定的病理生理变化联系起来^[8-9],VOC检测作为一种新型肿瘤筛查方法受到关注,这为非侵入性早期CRC筛查提供了新思路,现就VOC检测技术与CRC中的临床应用研究进展综述如下。

1 VOC产生及检测方法概述

1.1 VOC的产生 按照世界卫生组织的定义,VOC是指沸点在50~260℃之间,室温下饱和蒸气压超过133.32 Pa的易挥发性有机化合物。人体散发出的VOC成分复杂,主要包括烷烃类、烯醇类、醛酮类、醇类、芳香族类等^[10]。人体多种排泄物(呼出气体、尿液、粪便、汗水等)中均可检测到由感染、炎症反应、肿

瘤疾病和外部因素(如药物、饮食或微生物组成的变化)引起的 VOC 改变^[9]。1971 年,莱纳斯·鲍林(Linus Pauling)在人呼出气体中发现了上百种 VOC,从而开启了研究人体 VOC 的大门。VOC 可分为外源性和内源性两大类。其中外源性 VOC 占绝大多数,它们来源于外界环境,通过肺排泄至体外,不参与机体的代谢过程;而内源性 VOC 所占比例较少,为人体细胞代谢产物,经由血液到达肾小管上皮细胞、肺泡细胞、肠上皮细胞从而排出体外,其可直接反映体内组织细胞的代谢情况。

VOC 产生和改变的机制主要包括 3 种。第一种是微生物的代谢改变,晚期腺瘤和 CRC 中常伴随肠道菌群紊乱,从而导致 VOC 成分的改变^[11]。粪便中的 VOC 变化可反映肠道菌群的组成变化,Drees 等^[12]运用 VOC 分析技术可实现细菌感染早期快速诊断及感染细菌种类的识别,这为与微生物菌群失调有关的疾病中观察粪便 VOC 谱的差异提供了理论依据。Baxter 等^[13]在研究中观察到 CRC 患者中黏蛋白降解细菌——拟杆菌和阿克氏菌有所增加,黏蛋白降解菌株的富集可导致游离氨基酸的积累。第二种是肿瘤细胞的异常代谢,肿瘤细胞的典型特征是单克隆失控性增殖及代谢异常,在恶性生长过程中发生基因突变和蛋白质的表达异常,产生大量的活性氧(ROS)导致细胞膜中的多不饱和脂肪酸被过度氧化,脂肪酸发生过氧化可生成乙烷和戊烷。此外,体内亦存在肿瘤细胞的凋亡和坏死,这些过程都可能产生特异性的代谢产物从而导致 VOC 的改变^[14]。Batty 等^[15]对比健康人与高级别肠道上皮内瘤变患者的 VOC 后发现,由于肠道上皮内瘤变后细胞代谢的改变,VOC 中硫化氢、二甲基硫和二甲基二硫化物比例明显增高。

Sato 等^[16]研究表明,CRC 导致的结肠炎性反应同时会在 CRC 细胞中激活自噬,导致游离氨基酸的释放。第三种是正常细胞的代谢改变,如氧化应激增加、分解代谢增加和免疫激活。在癌症危险因素的刺激下,氧化应激压力增加和细胞色素 P450 酶被诱导激活,正常细胞内 ROS 和氧自由基生成和失活平衡失调,进而导致 ROS 的产生增加,细胞中多不饱和脂肪酸和蛋白质发生反应,与此同时 DNA、蛋白质都会发生过氧化,产生可被检测到的 VOC 差异^[17]。

1.2 VOC 检测方法 目前 VOC 检测主要有 3 种技术,3 种检测技术的原理及特点对比说明,见表 1。

1.2.1 气相色谱-质谱法(GC-MS): GC-MS 是成功用于综合分析 VOC 生物标志物化学表征的金标准平台^[18]。该技术包括样品收集、样品预浓缩和样品分析 3 个操作步骤。不同的样品有不同的收集方法,若采集对象为呼出气体,则主要运用在线实时采样分析、气袋采样、CO₂ 浓度监测采样方法;尿液、血液、粪便等样本的采样技术在相关文献均有报道;样品的预浓缩也是 VOC 检测中的一个重要环节,预浓缩利用多孔型材料的物理吸附能力,在样品流过富集材料时,通过提升温度使吸附样品迅速脱附并进入分析系统^[19],以达到富集样品中痕量 VOC 的目的。样品进入分析系统后,GC-MS 可以将样本中的可挥发分子进行分离,并且同时对样本进行性质和量化的检测。由于 GC-MS 技术可以鉴定样品的具体组成成分,进而提供关于样品组成的定性和定量信息,因此可将 CRC 患者与健康对照组进行代谢特征对比,从而寻找有意义的生物学标志物差异。该技术具有高效的优点,但因其高成本限制了其在临床中推广应用。

1.2.2 选择性离子流管质谱法(SIFT-MS): 是一种定

表 1 各种 VOC 检测技术及特点概览

检测方法	GC-MS	SIFT-MS	eNose
检测原理介绍	气相-色谱法和质谱法相耦合。气相色谱:利用物质在流动相与固定相之间的分配系数差异而实现分离,将混合物中各组分定量分析。质谱法:通过离子检测器测定其离子强度和质荷比得到分析物的质谱表以定性	质谱法与选择离子流管耦合。通过扫描研究者定义的特定质荷比(m/z)值范围在四极质谱仪内完成实时数据分析,并且可以根据前体和产物离子信号比率的比例实时计算微量化合物的绝对浓度	通过由特定材料制成的一系列传感器与 VOC 相互作用的差异进行 VOC 分析,产生一种称为“VOC 气味印记”疾病模式识别
样品处理	需要样品预处理与预浓缩	无需特殊处理	无需特殊处理
检测能力	高可重复性,提供样品定量和定性的信息	仅有效地分离 VOC 成分,缺点:提供的信息较少,不能确定分子种类	高可重复性,模式化识别疾病。缺点:不分离具体 VOC 成分
操作难易度	仅专业技术人员操作	专业技术人员和非专业技术人员都可操作	简单易操作,无需专业技术人员
检测样本速度	10 ~ 45 min/个样本	数秒钟 ~ 1 min/个样本	6 min/个样本
检测费用	耗费很高,主要用于样品预浓缩、技术操作、机器维护	耗费较高,仪器是 GS-MS 仪器价格的 2 倍	耗费较低廉
设备维护费用	需要日常校准维护,较高的维护费用	非常稳定,不需校准,较低的维护费用	易受环境干扰,较低的维护费用

注:GC-MS. 气相色谱-质谱法;SIFT-MS. 选择性离子流管质谱法;eNose. 电子鼻

量选择质谱技术,可以实时测量潮湿空气样品中微量气体分子的浓度。该技术的原理是质谱法与选择离子流管耦合,基于微波放电产生的前体离子(H_3O^+ , NO^+ 和 O_2^+)诱导化学电离并由四极质谱仪进行选择。首先使用四极质谱法选择它们的分析顺序,以微波放电产生前体离子,然后以预定的顺序用前体离子诱导化学电离反应,对待分析样品中的 VOC 进行电离分析。分析过程中前体离子和 VOC 在流管中相互作用并进入第二个四极质谱仪,通过扫描研究者定义的特定质荷比(m/z)值范围来完成实时数据分析,并且可以根据前体和产物离子信号比率实时计算微量化合物的绝对浓度^[20]。与 GC-MS 相比,因该技术分离的 VOC 较少,所以提供的关于 VOC 组成详细信息较 GC-MS 少,不能确定分子种类。但该技术无需样品预处理或标准混合物校准,具有实时测量,较低的维护成本,无需专业人员操作的优点^[21]。

1.2.3 电子鼻技术(electronic-nose technology, eNose):eNose 技术源于犬类嗅觉,eNose 技术不能识别单个 VOC,但它可以检测到不同化学类别(如烷烃、醇类和芳香族化合物)的组合。目前有不同种类的商用和定制 eNose,各包含 6~32 个传感器阵列,虽然其装置多种多样,但均有基于模式识别的共同点。E-Nose 技术以使用模式识别的方式来识别特定状态,具有操作简便、测量速度快且低成本的优点。该技术的缺点是无法提供绝对校准和计量资料,影响电子鼻在临床工作中的运用。

1.2.4 其他分析方法:Mozdiak 等^[22]首次运用气相色谱—离子迁移率光谱法(GC-IMS)联合非对称场离子迁移率光谱法(FAIMS)分析 CRC 患者尿液标本中的 VOC,结果显示,与粪便隐血试验(FOBT)相比,该方法具有更高的测试准确性和更高的敏感度,ROC 曲线下面积(AUC)达 98%(目前该方法在 VOC 检测中的研究和应用较少)。

2 VOC 在 CRC 早期诊断中的应用

2.1 尿液中 VOC 在 CRC 早期诊断中的应用 尿液中代谢产物浓度高、易收集的特点使其成为研究 CRC 中 VOC 良好的实验标本。Silva 等^[23]用 GC-MS 法对比了 33 例癌症患者(包括白血病 14 例,CRC 患者 12 例和淋巴瘤患者 7 例)和 21 例健康人尿液标本中 82 种 VOC 成分,结果表明,有 18 种 VOC 成分在 2 组间存在显著差异,包括己醛、2-甲基-3-苯基-2-丙烯醛(+),对异丙基苯(+),苯甲醚(+),4-甲基苯酚(+),1,2-二氢-1,1,6-三甲基萘(+)等,首次将尿液标本 VOC 检测应用于 CRC 诊断的研究。Westenbrink

等^[24]收集了 39 例 CRC 患者、35 例肠易激综合征患者及 18 例健康人的尿液标本进行 VOC 分析,结果发现 VOC 筛查 CRC 的敏感度和特异度分别为 78%、79%。Arasradnam 等^[25]分析 83 例 CRC 患者与 50 例健康人尿液标本中的 VOC,该研究中 VOC 分析诊断 CRC 的敏感度和特异度分别为 88%、60%。

2.2 粪便中 VOC 在 CRC 早期诊断中的应用 粪便作为直接反映肠道菌群改变及肠道细胞代谢改变的人体排泄物,同样也具有研究价值^[26]。De Meji 等^[27]利用 eNose 技术首次分析粪便标本中的 VOC,通过检测 157 例试验对象(40 例 CRC 患者,60 例晚期腺瘤,57 例健康人)的粪便标本,发现 CRC 患者粪便标本中的 VOC 成分与健康人存在显著差异;该方法对 CRC 和晚期腺瘤诊断的敏感度分别为 85% 和 62%,特异度分别为 87% 和 86%,并且具有良好的重复性。试验中 FIT 检测对 CRC 和晚期腺瘤诊断的特异度均为 100%,敏感度分别为 63% 和 7%。SIFT-MS 技术同样可用于检测粪便样品中的 VOC,并且已经在相关研究中应用^[15]。Bond 等^[28]对 137 例试验对象(60 例健康对照者,56 例腺瘤性息肉患者,21 例结直肠癌患者)粪便中 162 种 VOC 成分进行检测,丙-2-醇的浓度在癌症组患者中明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$),丙-2-醇作为标志物预测 CRC 的 AUC 为 0.76。当联合 3-甲基丁酸作为诊断标志物时,AUC 可达 0.82,敏感度和特异度分别为 87.9% 和 84.6%。结果表明 VOC 检测较英国目前临床应用的 CRC 粪便生物标志物检测具有更高的准确性。

2.3 血液/血清中 VOC 在 CRC 早期诊断中的应用 呼出气体中 VOC 检测的准确性容易受到肺部疾病、吸烟、饮食、环境暴露等因素的影响^[29]。血浆作为循环全身的内环境,机体对包括肿瘤在内的各种刺激所产生的 VOC 改变在进入呼出气体前可首先体现在血液中。检测血液/血清生物标志是筛查、诊断疾病应用已久的经典方法。代谢组学和检测技术的发展使得检测血液/血清中 VOC 用于疾病诊断成为可能。Wang 等^[30]研究了 36 例试验对象(16 例 CRC 患者,20 例健康人)血液标本中 VOC 成分的改变,基于 GC-MS 研究发现,CRC 患者血液中 3 种 VOC(苯基甲基氨基甲酸酯,乙基己醇和 6-叔丁基-2,2,9,9-四甲基-3,5-癸二烯-7-炔)的含量显著降低($P < 0.01$),1 种(1,4,4-四甲基-2,5-二甲基-环己烷)显著升高($P < 0.05$)。

2.4 呼出气体 VOC 在 CRC 早期诊断中的应用 呼出气体对于疾病的诊断价值早已被证实^[31],近年来国外研究发现,呼出气体 VOC 检测在乳腺癌、肺癌、胃癌

等肿瘤的诊断中具有重要临床意义^[32-34]。国内研究主要集中在 VOC 检测对于肺部疾病的诊断,研究证实该技术在肺癌、慢性阻塞性肺疾病及下呼吸道感染病原菌的诊断中具有临床意义^[35-37]。Amal 等^[38]研究表明,丙酮和乙酸乙酯的浓度在 CRC 组中升高,呼出气体 VOC 检测诊断 CRC 的敏感度、特异度和准确性可分别达到 85%、94% 和 91%。Marker 等^[39]对 150 例研究对象(100 例健康对照组,50 例 CRC 患者)进行呼出气体的 VOC 检测,试验发现丙醛可作为特异性 VOC 标志物,其对 CRC 诊断的敏感度和特异度分别为 96% 和 76%,对 CRC 复发诊断的敏感度和特异度为 71.4% 和 90.9%。这些研究证明了呼出气体 VOC 检测对 CRC 早期筛查及监测复发的重要意义。

3 VOC 研究方向展望

3.1 VOC 分析的方法学标准化 尽量避免因方法学的差异而产生偏差,同时也需要对最佳检测条件(如样本的选择、样本的温度、湿度、pH 等)进行摸索,以减少检测误差,提高可重复性。VOC 生物样品的选择需考虑操作的简便性、样本的可及性、患者的依从性及经济成本等,对于提高患者筛查率至关重要。

3.2 VOC 检测技术的改进和创新 在癌症筛查计划中,筛查手段的性价比具有重要意义。目前 VOC 检测的平均费用是 FIT 的数十倍,同样高于结肠镜检查价格。高昂的检测费用及对仪器设备的要求使 VOC 检测较难被接受,因此目前国内尚无关于 CRC 诊断方面的 VOC 研究。因此,便捷、低廉的仪器开发将会更快推动 VOC 检测在 CRC 诊断上的应用。

3.3 VOC 检测肿瘤标志物的统一性 目前对 CRC 筛查尚无统一的 VOC 标志物,寻找特异度和敏感度较高的 VOC 肿瘤生物标志物成为研究的关键。多项研究数据证明,VOC 与疾病之间的关系常反映在某一类 VOC,主要为饱和烃类(烷烃)、不饱和烃类、含氧类有机化合物、含硫类有机化合物和含氮类有机化合物,而非单独某一种 VOC。但是由于学者在考察 VOC 检测对 CRC 的诊断作用时所用标本不同,仪器设备不同,统计学方法不同等,导致分析结果不尽相同。所以尚需更全面地开展临床研究,收集足够数据来确定统一的 VOC 肿瘤标志物。

3.4 VOC 检测对于治疗和预后评估的作用 目前国内外 VOC 检测多用于疾病的诊断与鉴别诊断,关于 VOC 检测与药物治疗效果及预后之间的关系研究较少,这也是 VOC 检测需要进一步研究的方向。

4 小结

CRC 的早期筛查对于改善患者预后具有重要意义。

理想的 CRC 筛选方法应具有较好的依从性、敏感性和特异性,以及微创性和经济性。作为一种新型的 CRC 筛查方式,VOC 具有创伤小或无创伤、依从性高、准确性高等优点。同时,VOC 筛查手段的发展仍面临诸如检测费用高、操作流程未标准化、肿瘤标志物未统一化等挑战。但随着该领域学者不懈努力及代谢组学技术不断发展,人们防癌意识的提高,VOC 检测技术有望成为 CRC 筛查及早期诊断的重要辅助手段。

参考文献

- [1] 王宁,刘硕,杨雷,等. 2018 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2019,5(1):87-97. DOI:10.12151/jmcm.2019.01-10.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2018,68(6):394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [3] Wolf AMD, Fontham ETH, Church TR, et al. Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society[J]. CA Cancer J Clin,2018,68(4):250-281. DOI:10.3322/caac.21457.
- [4] Hassett MJ, Uno H, Cronin AM, et al. Survival after recurrence of stage I-III breast, colorectal, or lung cancer[J]. Cancer Epidemiol,2017,49:186-194. DOI:10.1016/j.canep.2017.07.001.
- [5] 张政,张澍田,李鹏. 2018 年美国癌症协会结直肠癌筛查指南解读[J]. 中国实用内科杂志,2018,38(9):814-816. DOI:10.19538/j.nk2018090107.
- [6] Whitlock EP, Lin JS, Liles E, et al. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U. S. Preventive Services Task Force[J]. Ann Intern Med,2008,149(9):638-658. DOI:10.7326/0003-4819-149-9-200811040-00245.
- [7] Stracci F, Zorzi M, Grazzini G. Colorectal cancer screening: tests, strategies, and perspectives[J]. Front Public Health,2014,2:210. DOI:10.3389/fpubh.2014.00210.
- [8] Deberardinis RJ and Thompson CB. Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us [J]. Cell,2012,148(6):1132-1144. DOI:10.1016/j.cell.2012.02.032.
- [9] Buszewski B, Keszy M, Ligor T, et al. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases[J]. Biomed Chromatogr,2007,21(6):553-566. DOI:10.1002/bmc.835.
- [10] Boshier PR, Priest OH, Hanna GB, et al. Influence of respiratory variables on the on-line detection of exhaled trace gases by PTR-MS [J]. Thorax,2011,66(10):919-920. DOI:10.1136/thx.2011.161208.
- [11] De boer NK, De meij TG, Oort FA, et al. The scent of colorectal cancer: detection by volatile organic compound analysis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol,2014,12(7):1085-1089. DOI:10.1016/j.cgh.2014.05.005.
- [12] Drees C, Vautz W, Liedtke S, et al. GC-IMS headspace analyses allow early recognition of bacterial growth and rapid pathogen differentiation in standard blood cultures [J]. Appl Microbiol Biotechnol,2019,103(21-22):9091-9101. DOI:10.1007/s00253-019-10181-x.

- [13] Baxter NT, Zackular JP, Chen GY, et al. Structure of the gut microbiome following colonization with human feces determines colonic tumor burden [J]. *Microbiome*, 2014, 2; 20. DOI: 10.1186/2049-2618-2-20.
- [14] Sun X, Shao K, Wang T. Detection of volatile organic compounds (VOCs) from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408 (11) : 2759-2780. DOI: 10.1007/s00216-015-9200-6.
- [15] Batty CA, Cauchi M, Lourenco C, et al. Use of the analysis of the volatile faecal metabolome in screening for colorectal cancer [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (6) : e0130301. DOI: 10.1371/journal.pone.0130301.
- [16] Sato K, Tsuchihara K, Fujii S, et al. Autophagy is activated in colorectal cancer cells and contributes to the tolerance to nutrient deprivation [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (20) : 9677-9684. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1462.
- [17] Ambrosone CB. Oxidants and antioxidants in breast cancer [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2000, 2 (4) : 903-917. DOI: 10.1089/ars.2000.2.4-903.
- [18] Weir TL, Manter DK, Sheflin AM, et al. Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (8) : e70803. DOI: 10.1371/journal.pone.0070803.
- [19] Phillips M, Herrera J, Krishnan S, et al. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans [J]. *Chromatog Biomed Sci Appl*, 1999, 729 (1-2) : 75-88. DOI: 10.1016/s0378-4347(99)00127-9.
- [20] Smith D, Spanel P. Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2005, 24 (5) : 661-700. DOI: 10.1002/mas.20033.
- [21] Bosch S, Berkhout DJ, Ben Larbi I, et al. Fecal volatile organic compounds for early detection of colorectal cancer: where are we now [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145 (1) : 223-234. DOI: 10.1007/s00432-018-2821-3.
- [22] Mozdiak E, Wicaksono AN, Covington JA, et al. Colorectal cancer and adenoma screening using urinary volatile organic compound (VOC) detection: Early results from a single-centre bowel screening population (UK BCSP) [J]. *Tech Coloproctol*, 2019, 23 (4) : 343-351. DOI: 10.1007/s10151-019-01963-6.
- [23] Silva CL, Passos M, Camara JS. Investigation of urinary volatile organic metabolites as potential cancer biomarkers by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Br J Cancer*, 2011, 105 (12) : 1894-1904. DOI: 10.1038/bjc.2011.437.
- [24] Westenbrink E, Arasaradnam RP, O'Connell N, et al. Development and application of a new electronic nose instrument for the detection of colorectal cancer [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 67 : 733-738. DOI: 10.1016/j.bios.2014.10.044.
- [25] Arasaradnam RP, McFarlane MJ, Ryan-Fisher C, et al. Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9) : e108750. DOI: 10.1371/journal.pone.0108750.
- [26] Garner CE, Ewer AK, Elasooud K, et al. Analysis of faecal volatile organic compounds in preterm infants who develop necrotising enterocolitis: A pilot study [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2009, 49 (5) : 559-565. DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181a3bfbcc.
- [27] De Meij TG, Larbi IB, van der Schee MP, et al. Electronic nose can discriminate colorectal carcinoma and advanced adenomas by fecal volatile biomarker analysis: proof of principle study [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134 (5) : 1132-1138. DOI: 10.1002/ijc.28446.
- [28] Bond A, Greenwood R, Lewis S, et al. Volatile organic compounds emitted from faeces as a biomarker for colorectal cancer [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 49 (8) : 1005-1012. DOI: 10.1111/apt.15140.
- [29] 陈一冰, 陈良安. 呼出气可挥发性有机化合物在诊断疾病中的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37 (22) : 1750-1756. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2017.22.015.
- [30] Wang C, Li P, Lian A, et al. Blood volatile compounds as biomarkers for colorectal cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15 (2) : 200-206. DOI: 10.4161/cbt.26723.
- [31] Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, et al. Diagnosis of helicobacter pylori infection: Current options and developments [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21 (40) : 11221-11235. DOI: 10.3748/wjg.v21.i40.11221.
- [32] Oakley-Girvan I, Davis SW. Breath based volatile organic compounds in the detection of breast, lung, and colorectal cancers: A systematic review [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 21 (1) : 29-39. DOI: 10.3233/CBM-170177.
- [33] Rudnicka J, Kowalkowski T, Buszewski B. Searching for selected VOCs in human breath samples as potential markers of lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2019, 135 : 123-129. DOI: 10.1016/j.lungcan.2019.02.012.
- [34] Xu ZQ, Broza YY, Ionsecu R, et al. A nanomaterial-based breath test for distinguishing gastric cancer from benign gastric conditions [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108 (4) : 941-950. DOI: 10.1038/bjc.2013.44.
- [35] 卢崇蓉, 胡燕婕, 陈恩国, 等. 肺癌患者呼出气体中特征性挥发性有机化合物的研究 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2010, 33 (2) : 104-108. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2010.02.006.
- [36] 严琼, 黄忠辉, 朱卫华, 等. 慢性阻塞性肺疾病的早期诊断生物标志物初筛 [J]. *中南医学科学杂志*, 2018, 46 (6) : 616-620. DOI: 10.15972/j.cnki.43-1509/r.2018.06.015.
- [37] 黄冬薇, 张德明, 王霞露, 等. 挥发性有机物检测应用于下呼吸道感染病原菌诊断价值的探讨 [J]. *中国现代医学杂志*, 2013, 23 (34) : 40-44.
- [38] Amal H, Leja M, Funke K, et al. Breath testing as potential colorectal cancer screening tool [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138 (1) : 229-236. DOI: 10.1002/ijc.29701.
- [39] Markar SR, Chin ST, Romano A, et al. Breath volatile organic compound profiling of colorectal cancer using selected ion flow-tube mass spectrometry [J]. *Ann Surg*, 2019, 269 (5) : 903-910. DOI: 10.1097/sla.0000000000002539.

免疫检查点抑制剂治疗卵巢癌的研究进展

李霞林, 付力宇综述 崔玉兰审校

作者单位: 150081 哈尔滨医科大学附属第二医院妇产科

通信作者: 崔玉兰, E-mail: C7011@163.com

【摘要】 免疫检查点抑制剂通过抑制免疫系统中抑制性信号通路免疫检查点发挥生物学作用, 在妇科肿瘤中的应用尚处于早期阶段, 是目前临床研究的一个活跃领域, 其治疗成功的关键在于识别潜在患者并从中获益。应用免疫检查点抑制剂抗 CTLA-4 抗体、抗 PD-1/PD-L1 抗体治疗卵巢癌, 单药应答率 10% ~ 15%, 联合治疗应答率有所提高。文章综述当前研究的最新临床数据结果, 以期对当前治疗给予用药指导, 并简要展望未来。

【关键词】 卵巢癌; 免疫检查点; 抗 CTLA-4 抗体; 抗 PD-1/PD-L1 抗体

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.025

Research progress of immuncheckpoint inhibitors in the treatment of ovarian cancer Li Xialin, Fu Liyu, Cui Yulan. Department of Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Province, Harbin 150000, China

Corresponding author: Cui Yulan, E-mail: c7011@163.com

【Abstract】 Immunosuppressive checkpoint inhibitors play a biological role by inhibiting the immunosuppressive signal pathway in the immune system. Their application in gynecological tumors is still at an early stage, which is an active field of clinical research at present. The key to the success of their treatment lies in identifying potential patients and benefiting from them. Anti CTLA-4 and anti PD-1/PDL-1 antibody were used to treat ovarian cancer. The response rate of single drug was 10% ~ 15%, and the response rate of combined treatment was improved. This article reviews the latest clinical data of the current research, in order to give medication guidance for the current treatment, and briefly looks forward to the future.

【Key words】 Ovarian cancer; Immune checkpoint; Anti CTLA-4 antibody; Anti PD-1/PDL-1 antibody

卵巢癌(OC)是常见的恶性肿瘤,发病率及病死率位居前列,严重威胁女性健康^[1]。口服避孕药可降低妇女罹患 OC 的风险,手术联合放化疗可使部分早期患者临床治愈,应用靶向分子药物可适当改善部分晚期复发和/或转移性患者的预后,但临床获益依旧有限,5 年生存率在 30% ~ 40%,寻找和开发新的治疗策略是重要而必要的。随着免疫调节分子在免疫系统和肿瘤微环境中研究的深入,肿瘤免疫治疗成为癌症治疗的新热点^[2]。免疫检查点抑制剂(ICIs)作为该研究领域的代表药物,有望让更多的患者临床获益,甚至成为肿瘤治疗的新模式。

1 免疫检查点和 ICIs

正常情况下人体免疫系统可识别、攻击和清除异质细胞如肿瘤细胞,肿瘤细胞同时也可采用多种方式规避上述作用,如激活免疫系统中抑制性信号通路,从而实现免疫逃逸^[3]。免疫检查点是免疫系统中抑制性信号通路的总称,包括细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋

白 4(CTLA-4)、程序性死亡受体 1(PD-1)、T 细胞免疫球蛋白和黏蛋白-3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3),当前研究主要集中在 CTLA-4/B7 和 PD-1 及其配体(PD-L1)^[4]。CTLA-4 可抑制 T 细胞在次级淋巴器官内的活化,PD-1/PD-L1 可在周围组织和肿瘤微环境中调节 T 细胞功能,因为 B7 分子表达在抗原提呈细胞(APCs)表面,而 PD-L1 表达于肿瘤细胞、APCs 等多种免疫应答相关细胞且在正常组织中表达较低,故 PD-1/PD-L1 信号比 CTLA-4 信号对肿瘤的特异性更强,抗 PD-1/PD-L1 抗体对健康组织的损伤更轻^[5]。

ICIs 是人源化或全人源化的人类免疫球蛋白 G(IgG)单克隆抗体,不同于传统直接作用于癌细胞的药物,其作用对象为人体免疫系统,通过与免疫检查点特异性结合阻断 CTLA-4/B7 和 PD-1/PD-L1 信号传导从而激活人体免疫系统、靶向清除肿瘤细胞^[3],具有对人体伤害较小、癌细胞清除效率较高、肿瘤耐药及复

发可能性较低等特点。

2 ICI 治疗 OC 临床试验结果

2.1 抗 CTLA-4 抗体 Ipilimumab 于 2011 年获批,是第一个抗 CTLA-4 抗体,也是第一个上市的 ICIs。Ipilimumab 的 I 期早期试验显示,2 例晚期 OC 患者在接受 3 mg/kg 剂量治疗后可使体内肿瘤标志物 CA-125 水平降低或者稳定,后续重复试验显示,9 例经预处理的患者疾病控制率(DCR)为 44% [包括部分缓解(PR)1 例,病情稳定(SD)3 例],有 2 例(22%)患者出现 3 级胃肠道毒性反应腹泻。鉴于其显示的积极临床益处,虽然患者量少,目前仍计划进行 II 期试验。

2.2 抗 PD-1 抗体

2.2.1 Nivolumab: 于 2014 年获批,是第一个上市的抗 PD-1 抗体。Nivolumab 分别以 1 mg/kg、3 mg/kg 剂量用于治疗铂耐药性上皮性卵巢癌(PREOC), I 期试验显示,接受治疗的患者 20 例,总体反应率(ORR)为 15%,DCR 为 45%,3~4 级治疗相关不良事件(AEs)发生率为 40%,包括发热、皮疹、疲劳、转氨酶升高、甲状腺功能异常等。3 mg/kg 和 1 mg/kg 剂量组均有 1 例患者发生严重的 AEs,分别为发热和深静脉血栓形成、定向障碍和步态障碍,但 3 mg/kg 的治疗剂量有着更好的反应率及相似的毒性^[6]。随后在一项关于复发性上皮性卵巢癌(REOC)的 II 期试验中,nivolumab 240 mg 联合贝伐珠单抗(一种抗血管生成药)10 mg/kg 治疗具有较好临床效益,ORR 在铂敏感和铂耐药人群中分别为 40.0%、28.9%,中位无进展生存期(PFS)为 8.1 个月,9 例(23.7%)患者出现 3~4 级 AEs,包括血清丙氨酸升高、肺炎等。联合用药显示出较好的临床活性,尤其是对铂敏感人群,但对于铂耐药人群可能需要其他的治疗组合策略^[7]。

2.2.2 Pembrolizumab: PD-L1 阳性晚期转移性卵巢癌(AMOC)患者的 I 期试验(Keynote-028)显示,10 mg/kg 剂量具有较好的临床疗效,PD-L1 阳性 AMOC 患者 26 例,治疗后 ORR 为 11.5%,DCR 为 38.5% [包括完全缓解(CR)1 例、PR 2 例、SD 7 例],中位 PFS 和总生存期(OS)分别为 1.9、13.8 个月,仅有 1 例(3.8%)患者出现 3 级 AEs 转氨酶水平升高^[8];随后以 200 mg/kg 剂量进行 Keynote100 II 期试验显示出类似疗效,通过对患者癌组织标本 PD-L1 的表达进行联合阳性评分(CPS)显示,CPS <1、1~9、≥10 分时各 ORR 分别为 5.0%、10.2%、17.1%,DCR 分别为 32.6%、38.1%、41.5%,PD-L1 阳性患者是 pembrolizumab 单药治疗的优势人群^[9]。Pembrolizumab 单药治疗常见的 AEs 包括疲劳、关节疼痛、甲状腺功能减退症等,剂

量的增加促进了 3 级以上 AEs 的发生(19.7% vs. 3.8%)。

另一项 pembrolizumab 联合尼拉帕尼(一种 PARP 抑制剂)治疗 REOC 的 I/II 期试验 TOPACIO/KEYNOTE-162 显示,可评估的患者 60 例,ORR 为 18%、DCR 为 65% (包括 CR 3 例、PR 8 例、SD 28 例),且 PD-L1 阳性患者具有更好的 ORR(21% vs. 10%)^[10]。Keynote 系列试验奠定了 pembrolizumab 用于妇科肿瘤治疗中的地位,也证实 PD-L1 是潜在的疗效预测性生物标志物。

2.3 抗 PD-L1 抗体

2.3.1 Avelumab: Avelumab 治疗复发性难治性 OC 患者 125 例的 I 期试验(NCT01772004)显示 ORR 为 9.6%,DCR 为 54.7% (包括 CR 1 例、PR 11 例和 SD 57 例),但 PD-L1 阳性患者较阴性患者并无明显改善的 ORR(12.3% vs. 5.9%),中位 PFS 和中位 OS 分别为 2.6、11.2 个月。此外,患者发生输液反应 25 例(20.0%),出现 AEs 患者 21 例(16.8%),为常见的疲劳、腹泻等,3~4 级 AEs 9 例(7.2%),其中 3 例为脂肪酶升高,但无患者因此死亡^[11]。

2.3.2 Durvalumab: Durvalumab 联合奥拉帕利(一种 PARP 抑制剂)和西地尼布(一种抗血管生成药)治疗晚期实体瘤的 I 期试验显示,9 例患者(OC 7 例,子宫内膜癌 1 例,三阴性乳腺癌 1 例)分组进行 3 种不同剂量组合治疗,ORR 为 44%,DCR 为 67% (PR 4 例,SD 3 例),且临床疗效与 PD-L1 表达相关。其中 3~4 级 AEs 包括血压增高、红细胞减少和淋巴细胞减少,未出现剂量限制性毒性(DLTs)^[12]。2019 年 EMSO 年会汇报了 durvalumab 联合奥拉帕利治疗的部分 II 期试验结果(NCT02734004),存在生殖系 BRCA 突变的铂敏感 REOC 患者用药后 ORR 为 71.9% (包括 CR 7 例),28 周 DCR 为 65.6%,中位 PFS 为 11.1 个月,中位持续缓解时间(DOR)为 10.2 个月,中位 OS 未达到预期,3~4 级 AEs 包括贫血、脂肪酶升高、中性粒细胞和淋巴细胞减少。但因不良反应,5 例患者停用奥拉帕尼,3 例患者停用 durvalumab。联合用药疗效可观,CR 高于预期,中位 PFS 和 DOR 也表现良好,虽然中位 OS 未达预期。目前这一队列已被扩大,以期进一步探讨这种化疗组合的持久性。

2.3.3 Atezolizumab: 一项 Atezolizumab I 期试验(PCD4989g)显示,其在 REOC 患者中具有较好的耐受性,AEs 大多为 1~2 级,未发现安全性隐患。12 例患者中有 2 例对治疗有应答,DOR 分别为 8.1、30.6 个月,其临床效益值得进一步研究^[13]。

3 目前关于 ICI 的临床研究

ICIs 单药治疗 ORR 为 10% ~ 15%, DCR 维持在 45% ~ 55%, 药物有效但并不理想; ICI 联合抗血管生成药或分子靶向药物治疗可提高药物疗效, 尤其是在铂敏感患者人群。目前临床研究的主要焦点是铂耐药患者人群, 研究趋势是将 ICI 与抗血管生成药物、化疗药和分子靶向药物联合应用。

3.1 ICI 与抗肿瘤药物联用 PREOC 是目前临床试验的主要焦点, 一项 III 期试验 JAVELIN Ovarian 200 (NCT02580058) 将聚乙二醇化脂质体阿霉素 (PLD) 单独或与 avelumab 联合用于对铂耐药或难治性疾病 (包括复发性卵巢癌、输卵管癌或腹膜癌), 且该项研究的患者选择将不再依赖于 PD-L1 的表达^[14]。另一项 II/III 期研究也尝试探索在 PLD 应用的基础上, 或联合贝伐珠单抗或联合 atezolizumab 或联合两者治疗 PREOC 的疗效和安全剂量 (NCT02839707)。也有研究将 pembrolizumab 与化疗药进行组合利用, 如 pembrolizumab 与紫杉醇联用 (NCT02440425)、与吉西他滨和顺铂联用 (NCT02608684), 以观察 ICI 是否能增加传统化疗药对铂耐药患者的治疗效果。此外, 一项以铂类联合贝伐珠单抗或单独或联合 atezolizumab (NCT02891824) 在复发性铂敏感性上皮性卵巢癌 (PSEOC) 患者的 III 期试验也正在进行。

还有一系列试验在未经治疗的晚期 OC 患者中进行, 探索 ICI 与标准化疗 (卡铂 + 紫杉醇) 联合或用于维持治疗中的作用, 如标准化疗联合 durvalumab 的 I/II 期试验 (NCT02726997), 标准化疗或单独或联用 avelumab 治疗和 avelumab 维持治疗或 avelumab 维持治疗 (NCT02718417) 的 III 期试验, 标准化疗联合贝伐珠单抗联合或不联合 atezolizumab 的 III 期临床试验 (NCT03038100)。此外也有将抗 PD-1 抗体与新辅助治疗相结合——患者在接受新辅助的标准化疗后, 间隔行肿瘤切除手术, 术后将 pembrolizumab 作为辅助治疗添加到治疗方案的 II 期试验 (NCT02520154)^[15]。

3.2 双重免疫治疗 抗 PD-1/PD-L1 抗体和抗 CTLA-4 抗体作用于不同的药物靶点, 联合应用并不冲突, 相关研究也正在展开, 如 nivolumab 单药或联合 ipilimumab 或联合 ipilimumab 和考比替尼 (MEK1 抑制剂) 用于治疗晚期实体恶性肿瘤 (NCT01928394); nivolumab 单药或与 ipilimumab 联合, 且将 nivolumab 用于维持治疗 PREOC (NCT02498600); tremelimumab (另一种尚未获批的抗 CTLA-4 抗体) 和 durvalumab 序贯使用或组合治疗 PREOC (NCT03026062)。

3.3 安全性 ICI 导致的 AEs 与其作用机制相关, 也

称免疫治疗相关不良反应 (irAEs), 有研究显示, 抗 CTLA-4 抗体导致的 irAEs 多与剂量相关, 且发生频率和严重程度比抗 PD-1/PD-L1 抗体更高。ICI 治疗 OC 常见 irAEs 包括输液反应、皮肤、消化、内分泌系统事件, 偶见于呼吸、神经系统事件等。相关指南推荐若出现下列表现之一: 皮疹 > 30%、严重的腹痛腹泻 > 4 次、肝功能改变超过正常值上限 3 倍, 需暂停 ICI 治疗并应用激素对症处理; 甲状腺功能改变者可继续应用 ICI, 但需视情况补充甲状腺激素或口服普萘洛尔等缓解症状。后续的研究需警惕严重 irAEs 的发生^[16]。

3.4 疗效预测 免疫治疗成功的关键在于识别潜在的患者并从中获益, 因此寻找合适的生物标志物有助于更好地指导治疗决策。肿瘤患者中研究较多的预测性生物标志物有 PD-L1、DNA 错配修复 (dMMR) 缺失、微卫星高度不稳定 (MSI-H)、肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 及特定基因突变 (如 BRCA 突变、POLE 突变) 等^[2], 但 OC 患者可获得的研究数据相对较少, 正在进行的各项研究有助于获取标志物。

4 结语

ICI 在 OC 患者中已显示出有治疗希望的前期结果, 在妇科其他肿瘤如宫颈癌、子宫内膜癌也显示出类似疗效, 并且 nivolumab 和 pembrolizumab 已获批准用于成人和儿童不可切除或转移的存在 MSI-H/dMMR 实体肿瘤的一线治疗, 2018 年、2019 年 NCCN 指南均推荐 pembrolizumab 用于存在 PD-L1 阳性、MSI-H 或 dMMR 的妇科癌症患者^[17-18]。

正在进行的临床试验将有助于找到最适合 ICI 治疗的 OC 类型以及明确最佳治疗组合方案、最佳用药时机、疗效影响因素及药物使用安全范围。总之, ICI 在妇科癌症中应用前景远大, 有望最终成为新的治疗模式, 最终实现个体化治疗。

参考文献

- [1] 李宁, 孔北华, 尹如铁, 等. 晚期上皮性卵巢癌一线维持治疗专家共识[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(10): 721-723. DOI: 10.13283/j.cnki.xdfckjz.2019.10.001.
- [2] 向阳, 宗丽菊. 免疫检查点抑制剂在妇科恶性肿瘤中的应用现状及展望[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35(1): 17-22. DOI: 10.19538/j.1k2019010105.
- [3] 李想. 肿瘤免疫中的“猫鼠游戏”——浅析 2018 年诺贝尔生理学或医学奖的发现[J]. 生物学杂志, 2019, 36(1): 7-10. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1736.2019.01.007.
- [4] 朱雪茹, 郑磊贞. 免疫检查点抑制剂治疗胃肠道恶性肿瘤的研究进展[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(9): 646-649. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2017.09.002.
- [5] Minion LE, Tewari KS. Cervical cancer - State of the science; From

- angiogenesis blockade to checkpoint inhibition[J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 148(3):609-621. DOI:10.1016/j.ygyno.2018.01.009.
- [6] Hamanishi J, Mandai M, Ikeda T, et al. Safety and antitumor activity of anti-PD-1 antibody, nivolumab, in patients with platinum-resistant ovarian cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(34):4015-4022. DOI:10.1200/JCO.2015.62.3397.
- [7] Liu JF, Herold C, Gray KP, et al. Assessment of combined nivolumab and bevacizumab in relapsed ovarian cancer: A phase 2 clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(12):1731-1738. DOI:10.1001/jamaoncol.2019.3343.
- [8] Varga A, Piha-Paul S, Ott PA, et al. Pembrolizumab in patients with programmed death ligand 1-positive advanced ovarian cancer: Analysis of KEYNOTE-028[J]. *Gynecol Oncol*, 2019, 152(2):243-250. DOI:10.1016/j.ygyno.2018.11.017.
- [9] Matulonis UA, Shapira-Frommer R, Santin AD, et al. Antitumor activity and safety of pembrolizumab in patients with advanced recurrent ovarian cancer: Results from the phase II KEYNOTE-100 study[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(7):1080-1087. DOI:10.1093/annonc/mdz135.
- [10] Essel KG, Moore KN. Niraparib for the treatment of ovarian cancer[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(8):727-733. DOI:10.1080/14737140.2018.1490180.
- [11] Disis ML, Taylor MH, Kelly K, et al. Efficacy and safety of avelumab for patients with recurrent or refractory ovarian cancer: Phase 1b results from the JAVELIN solid tumor trial[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(3):393-401. DOI:10.1001/jamaoncol.2018.6258.
- [12] Zimmer AS, Nichols E, Cimino-Mathews A, et al. A phase I study of the PD-L1 inhibitor, durvalumab, in combination with a PARP inhibitor, olaparib, and a VEGFR1-3 inhibitor, cediranib, in recurrent women's cancers with biomarker analyses[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1):197. DOI:10.1186/s40425-019-0680-3.
- [13] Liu JF, Gordon M, Veneris J, et al. Safety, clinical activity and biomarker assessments of atezolizumab from a Phase I study in advanced/recurrent ovarian and uterine cancers[J]. *Gynecol Oncol*, 2019, 154(2):314-322. DOI:10.1016/j.ygyno.2019.05.021.
- [14] Pujade-Lauraine E, Fujiwara K, Dychter SS, et al. Avelumab (anti-PD-L1) in platinum-resistant/refractory ovarian cancer: JAVELIN ovarian 200 Phase III study design[J]. *Future Oncol*, 2018, 14(21):2103-2113. DOI:10.2217/fon-2018-0070.
- [15] Pakish JB, Jazaeri AA. Immunotherapy in gynecologic cancers: Are we there yet[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2017, 18(10):59. DOI:10.1007/s11864-017-0504-y.
- [16] 广东省药学会. 免疫检查点抑制剂全程化药学服务指引(2019年版)[J/OL]. 今日药学. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1650.R.20191125.1637.002.html>, 2019-12-21.
- [17] 国家卫生健康委员会. 卵巢癌诊疗规范(2018年版)[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2019, 5(2):87-96. DOI:10.12151/jmcm.2019.02-12.
- [18] 周晖, 白守民, 林仲秋. 《2019NCCN 宫颈癌临床实践指南(第1版)》解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(9):1002-1009. DOI:10.19538/j.fk2018090114.

(收稿日期:2019-12-23)

撰写医学论文主体部分的要求

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

2 方法 描述研究对象(人或实验动物,包括对照组)的选择及其基本情况,以及研究所采用的方法(包括分组方法)。实验研究的论文常写成“材料与与方法”,临床研究论文常写成“资料与方法”。临床试验研究还应说明试验程序是否经所在单位或地区伦理学相关机构的批准,研究对象是否知情同意并签署知情同意书。

2.1 观察对象: 观察对象为患者,需注明病例和对照者来源、选择标准、一般情况、观察指标和疗效判断标准等。研究对象为实验动物,需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。

2.2 研究方法: 详述新创的方法及改良方法的改进之处,以备他人重复。采用他人方法,应以引用文献的方式给出方法的出处,无须详细描述。

2.3 药品与试剂: 药品及化学试剂使用通用名称,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位、生产时间及给药途径。

2.4 仪器、设备: 应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述工作原理。

2.5 统计学处理: 描述统计学方法及其选择依据,并说明所使用的统计学软件。

3 结果 “结果”是指实验所得数据、观察记录,经过综合分析和统计学处理的结果,而不是原始数据,更不是原始记录。按逻辑顺序在正文的文字、表格和图中描述所获得的结果。结果的叙述应实事求是,简洁明了,数据准确,层次清楚,逻辑严谨,不应与讨论内容相混淆。应着重总结重要的研究成果。以数据反映结果时,应注意不能只描述导数(如百分数),还应同时给出据以计算导数的绝对数。一般应对所得数据进行统计学处理,并给出具体的统计值,例如: $t = 2.85, P < 0.01$ 。

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

成人 Still 病临床诊治的研究进展

李施阳综述 张晓莉审校

基金项目: 辽宁省科学技术研究计划项目(2015020546)

作者单位: 110004 沈阳, 中国医科大学附属盛京医院风湿免疫科

通信作者: 张晓莉, E-mail: zhangxl3@sj-hospital.org

【摘要】 成人 Still 病(AOSD)是一种发病率低且病因未明的全身炎性反应性疾病。AOSD 的主要表现为发热、皮疹、咽痛和关节痛,但临床表现及预后差异性大。AOSD 缺乏特异的血清学和病理学表现,诊断及治疗主要依靠经验。而早期诊断、治疗及良好的疾病监测对于疾病的转归具有积极意义。文章主要就 AOSD 的实验室、影像学检查,疾病活动度监测,生物制剂应用的研究进展作一综述。

【关键词】 成人 Still 病;实验室指标;PET/CT;疾病活动度;生物制剂

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.05.026

Progress in clinical diagnosis and treatment of adult Still's disease Li Shiyang, Zhang Xiaoli. Department of Rheumatology and Immunology, Shengjing Hospital of China Medical University, Liaoning Province, Shenyang 110004, China

Corresponding author: Zhang Xiaoli, E-mail: zhangxl3@sj-hospital.org

Funding program: Liaoning science and technology research plan project (2015020546)

【Abstract】 Adult Still's disease (AOSD) is a systemic inflammatory response disease with low incidence rate and unknown etiology. The main manifestations of AOSD were fever, rash, pharyngeal pain and arthralgia, but there were significant differences in clinical manifestations and prognosis. AOSD lacks specific serological and pathological manifestations, and its diagnosis and treatment mainly depend on experience. Early diagnosis, treatment and good disease monitoring are of positive significance for the prognosis of the disease. This paper mainly reviews the research progress of AOSD in laboratory, imaging examination, disease activity monitoring, and application of biological agents.

【Key words】 Adult onset Still's disease; Laboratory index; PET/CT; Disease activity; Biological agents

成人 Still 病(adult-onset Still's disease, AOSD)的发病机制较为复杂,是一种罕见的有自身免疫因素参与的自身炎性反应性疾病。其发病率为(0.14 ~ 0.40)/10 万人,通常见于年轻人,发病高峰在 15 ~ 25 岁和 36 ~ 46 岁。AOSD 的主要表现为发热、皮疹、咽痛和关节痛等,并常伴有血白细胞升高、肝功能指标异常及铁蛋白增高等实验室检查异常。其预后差异很大,从良性预后到慢性破坏性多发性关节炎和/或严重器官受累,如嗜血细胞综合征(hemophagocytic syndrome, HPS)、急性呼吸窘迫综合征、心肌炎、肝功能衰竭和弥散性血管内凝血等。因为发病率低、临床表现各异,且缺乏特异性的诊断指标及临床特征,AOSD 往往不容易诊断。疾病诊断主要依靠特异度及敏感度相对高的 Yamaguchi 诊断标准,须排除感染、恶性肿瘤和风湿免疫疾病等疾病。其疾病活动性的判定也较困难,主要包括红细胞沉降率、C-反应蛋白等非特异性炎

性指标。本文主要就 AOSD 的实验室、影像学检查,疾病活动度监测,生物制剂治疗的研究进展综述如下,以期指导临床决策。

1 实验室和影像学指标

AOSD 是一种排他性诊断,缺乏典型的血清学和病理学表现。而风湿性疾病须早期诊断和治疗,以防止不可逆转的组织损伤。因此,AOSD 需要敏感的疾病监测指标,包括特异性血清学生物标志物和先进的影像学方法。

1.1 血清铁蛋白及糖化铁蛋白 血清铁蛋白是 AOSD 诊断的预测因子。与其他自身免疫性、感染性和肿瘤性疾病相比,AOSD 血清铁蛋白水平更高。血清铁蛋白升高 5 倍以上时,诊断 AOSD 的特异度为 41.0%、敏感度为 80.0%。糖化铁蛋白是一种特殊形式的铁蛋白,占总铁蛋白 50% ~ 80%。Feist 等^[1]报道,糖化铁蛋白水平明显下降($\leq 20\%$)对 AOSD 诊断

的敏感度为 78.0%, 特异度为 64.0%, 如果结合血清铁蛋白水平升高 5 倍以上, 特异度达 92.9%。但在疾病缓解几周至几个月后, 糖化铁蛋白仍可高于正常水平。

1.2 其他新发现实验室指标 (1) aS100A8 和 S100A9 在 AOSD 患者血清中水平升高, 与疾病的活动性和严重程度相关。研究报道 S100A8/A9 与白细胞计数、红细胞沉降率、C-反应蛋白、血清铁蛋白、疾病系统评分呈正相关^[2]。(2) sCD163 是一种巨噬细胞活化的标志物, 在 HPS、败血症等疾病血清中升高。在 AOSD 患者中 sCD163 血清水平亦显著升高, 与血清铁蛋白水平呈正相关^[3]。这一发现预示巨噬细胞可能主动分泌铁蛋白。(3) IL-18 不仅在 AOSD 患者血清中过度表达, 而且在肝脏、淋巴结中亦高表达, 其水平升高似乎与疾病活动和其他炎性血清学生物标志物(如铁蛋白和 CRP)相关^[4]。近年提出, IL-18 可作为脓毒症和 AOSD 鉴别诊断的标志物。与脓毒症相比, AOSD 患者血清 IL-18 明显升高, 截断值为 148.9 pg/ml, 对 AOSD 的诊断特异度为 78.3%, 敏感度为 88.6%^[5]。(4) CXCL10、CXCL13 在急性炎症反应中起重要作用, 故可能成为 AOSD 新的标志物^[6]。AOSD 患者的 CXCL10 和 CXCL13 水平高于类风湿关节炎(RA)患者或健康志愿者, 且升高水平与疾病活动、铁蛋白和疾病系统评分相关^[7]。然而, 上述实验室指标仍需要在更大的患者群体中证实。

1.3 ¹⁸F-FDG PET/CT ¹⁸F-FDG 是葡萄糖类似物, 代谢率增高的细胞多可摄取, 其中不仅局限于肿瘤细胞还包括各种炎性细胞。近年来, ¹⁸F-FDG PET/CT 已被用于诊断或监测风湿免疫性疾病的活动性, 如大动脉炎、类风湿关节炎、皮炎、AOSD 等^[8]。在 AOSD 中, ¹⁸F-FDG 主要积聚于骨髓、脾脏、淋巴结^[9]。此外, ¹⁸F-FDG 还可被心包、胸膜、唾液腺、眼睑、肌肉、关节、大血管和皮疹等部位摄取。这些部位高摄取并不是 AOSD 所特有。¹⁸F-FDG PET/CT 主要通过排除恶性疾病、指导淋巴结等活检及结合某些临床特征大大提高 AOSD 诊断的准确性。有报道称 AOSD 患者的 SUV_{max} 显著升高, 与风湿性关节炎和脊柱关节病差异有统计学意义。成人 Still 病的机制及病因尚不明确, 多脏器均可能受累。血管等部位¹⁸F-FDG 的摄取增加提示其为复杂疾病, 可能为今后机制或疾病本质提供研究方向。¹⁸F-FDG PET/CT 有助于疾病活动监测及评估治疗反应。Yamashita 等^[10]报道乳酸脱氢酶与脾脏 SUV_{max} 之间存在显著相关。国内有文献报道, 骨髓 SUV_{max}、C-反应蛋白、脾 SUV_{max} 与乳酸脱氢酶存在

显著相关^[11]。另外, 有部分研究进行¹⁸F-FDG PET/CT 随访, 显示治疗前后骨髓、脾脏和淋巴结高摄取病灶均有显著改善(SUV_{max} 水平下降)^[10]。

2 疾病活动度评分

AOSD 患者目前尚无统一的疾病活动度及治疗反应判断标准。Ruscitti 等^[12]提出的疾病系统评分标准主要根据临床表现进行疾病活动性评价, 分值从 0 ~ 12, 下列每多一种临床表现增加 1 分: 发热, 典型皮疹, 胸膜炎, 肺炎, 心包炎, 肝大或肝功能异常, 脾大, 淋巴结大, 白细胞计数 $\geq 150 \times 10^9/L$, 咽痛, 肌痛, 腹痛。评分越高疾病活动度越高, ≥ 2 分视为疾病活动。疾病诊断时较高的评分与并发症的存在及病死率升高显著相关。值得注意的是, 疾病系统评分 7.0 的截断值预示 AOSD 相关死亡风险高^[12]。但该评分未对不同的纳入指标进行加权, 尚未成为公认的评分标准^[13]。另外, 以关节表现为主要的患者可以参考类风湿关节炎相关的评分, 如 DAS-28、ACR-70、ACR-20 等评分。

3 诊断

AOSD 是一种排他性诊断, 尚无特异性诊断方法。国内外曾制定了许多标准, 但至今仍无统一公认的标准。目前推荐应用较多的是 Yamaguchi 诊断标准, 主要标准: 发热 $\geq 39^\circ\text{C}$ 并持续 1 周以上、关节疼痛持续 2 周以上、典型皮疹、WBC $\geq 15 \times 10^9/L$; 次要标准: 咽痛、淋巴结或者脾肿大、肝功能异常、RF 和 ANA 阴性; 确诊需要符合上述至少 5 项条件, 其中至少满足 2 项主要条件, 并排除恶性肿瘤、感染性疾病和其他风湿性疾病等。

4 治疗

AOSD 患者治疗通常选择非甾体抗炎药、糖皮质激素及改善病情抗风湿药(disease modifying antirheumatic drugs, DMARDs)。上述药物不能控制病情或出现严重危及生命的全身表现时, 具有不同作用靶点的生物制剂可作为另一种选择。另外, 中医治疗可能也提供一定思路。

4.1 IL-1 抑制制 IL-1 是 AOSD 发病机制中的关键细胞因子, 是治疗的重要靶点。目前, 主要有 3 种 IL-1 抑制剂用于临床: 阿那白滞素(anakinra, ANA)、康纳单抗、利纳西普。(1) ANA 是目前使用最广的 IL-1 受体抑制剂, 可同时阻断 IL-1 α 、IL-1 β 与 IL-1 受体结合, 半衰期短(4 ~ 6 h), 一般用法为 100 mg/d, 皮下注射。尽管缺乏大型的随机双盲对照试验, 现有研究表明, ANA 起效快且可明显缓解全身及关节症状, 尤其是全身症状, 并能减少激素及 DMARDs 用药^[14]。Colafrancesco 等^[15]共纳入 140 例患者, 分别收集 0、3、6

和 12 个月时的各项指标,观察到 ANA 有效缓解所有临床及血清学指标,疾病系统评分在各时间点均显著降低,且在 3 个月时即有显著效果。早期开始阿那白滞素治疗,效果更佳。缺点是停药后易复发,通常建议达到较长缓解期后谨慎延长注射间隔时间。阿那白滞素在大多数患者中耐受性良好,除了常见的注射点皮疹外,严重的不良反应(包括感染、肝脏毒性和 HPS)并不常见^[16]。(2)康纳单抗和利纳西普是 IL-1 长效抑制剂,半衰期分别为 26 d 和 8.6 d。康纳单抗建议用量为每次 150 mg,每 4 ~ 8 周皮下注射 1 次。利纳西普推荐用法为首次给予负荷量 220 mg,随后每周 160 mg 皮下注射。康纳单抗已批准用于全身型幼年特发性关节炎,同样多项随机双盲安慰剂对照试验证实利纳西普治疗该病亦有效^[17-18]。但二者在 AOSD 中的数据却有限。部分病例报道中,二者可有效控制 AOSD 患者的关节及全身症状,对 ANA 无效的难治性 AOSD 有效,且大多患者耐受性良好^[17-18]。

4.2 TNF- α 抑制剂 TNF- α 抑制剂是首先用于 AOSD 治疗的生物制剂。2001 年英夫利昔单抗首次用于 3 例 AOSD 患者治疗。依那西普及阿达木单抗随后也被用于 AOSD 的治疗,结果疗效明显且激素逐渐减量。尽管部分病例报道治疗效果欠佳,且少数患者可出现 HPS 等严重并发症,TNF- α 抑制剂对以关节症状为主的难治性 AOSD 仍是一种选择。当一种 TNF- α 抑制剂无效,替换为另一种 TNF- α 抑制剂时,大约 50% 的患者可能获益^[19]。

4.3 IL-6 抑制剂 目前 IL-6 抑制剂有托珠单抗(tocilizumab, TCZ)和 sarilumab,但已用于 AOSD 治疗的仅 TCZ。托珠单抗是一种重组人抗 IL-6 受体单克隆抗体,常规剂量为 5 ~ 8 mg/kg,每 2 ~ 4 周静脉滴注 1 次^[20]。托珠单抗对包括 TNF- α 抑制剂及 IL-1 抑制剂在内的难治性 AOSD 患者的全身及关节症状均有良好疗效。一项 Meta 分析纳入 147 例接受 TCZ 治疗的 AOSD 患者,结果表明患者病情缓解率达 85%,激素剂量减少,耐受性良好,停药后临床疗效甚至仍可持续 6 个月^[21]。此外,托珠单抗对 AOSD 相关并发症 HPS、肺动脉高压、全身炎性反应综合征等有效,但巨噬细胞活化综合征(MAS)被认为是托珠单抗治疗的不良反应^[22]。

4.4 其他生物制剂 (1)IL-18 是 AOSD 致病的关键因子,在疾病活动患者的血清中高表达。Tadekinig- α 是一种重组人 IL-18 结合蛋白,可通过与 IL-18 结合从而降低血清 IL-18 水平。最近的一项临床试验(NCT02398435)中,23 例 AOSD 患者随机分为 2 组,分

别接受 80 mg 和 160 mg tadekinig- α 治疗 12 周,并随访 4 周^[23]。研究结果表明,tadekinig- α 可明显缓解临床症状及降低血清指标,且具有良好的耐受性。(2)JAK 抑制剂已被用于多种风湿免疫性疾病治疗中^[24]。鲁索替尼是一种 JAK 抑制剂,对 JAK1 和 JAK2 亚型具有选择性。在动物实验模型中,鲁索替尼可使促炎细胞因子和促炎巨噬细胞减少,提高外周血细胞计数,从而可提高 HPS 生存率^[25]。HPS 是 AOSD 最常见的并发症,推测针对 JAK 通路的药物可用于未来的 AOSD 临床治疗。(3)Abatacept 是一种选择性共刺激调节剂,可与 CTLA-4 结合从而阻止 T 细胞活化。文献报道 4 例 Abatacept 治疗难治性 AOSD,而其中 2 例治疗无效而换用 TCZ 或利纳西普^[26]。(4)利妥昔单抗是一种嵌合性抗 CD20 单克隆抗体。利妥昔单抗可用于难治性 AOSD 患者治疗^[27]。然而在部分病例报道中,利妥昔单抗治疗 AOSD 患者效果不佳。

4.5 中医治疗 中医对 AOSD 的治疗尚无统一认识,但治疗上多从清热、补虚、解表、祛风和利湿等方面入手。其中尤以清热药(主要包括清热解毒药、清热凉血药)和补虚药(主要包括补气药、补阴药)为主,所用药材中,甘草、知母、牡丹皮、黄芩、生地黄、石膏等为高频使用药材^[28]。中医药有一定疗效,而现代药理研究从机制上可能提供进一步证据。比如中医治疗中,甘草有益气健脾,清热解毒等功效,而现代药理研究报道,甘草可能有类激素样、双向免疫调节的作用,故可抑制炎症反应^[29]。

5 小结

AOSD 缺乏特异的血清学和病理学表现,诊断主要依靠排除其他疾病。而疾病活动及治疗反应依靠非特异性炎性指标如 CRP、WBC、ESR、铁蛋白。特异的实验室及影像学指标发现可大大提高诊断准确性及更好监测疾病活动性。AOSD 的治疗策略是改善临床症状,预防器官损伤和危及生命的并发症,尽量减少治疗的不良反应。目前一线治疗包括非甾体抗炎药和糖皮质激素,有效率分别为 20% 和 60% 左右。而 40% ~ 45% 的患者出现糖皮质激素依赖和不良反应。近年 AOSD 新的生物标记物如 TNF- α 、IL-1、IL-18 等不断被发现,同时新的治疗靶点也逐渐被重视。但现有研究缺乏大型前瞻对照试验且部分病例结果并不理想,生物制剂仍为难治性 AOSD 患者带来了新的选择。期待今后进一步研究,更好指导临床决策。

参考文献

- [1] Feist E, Mitrovic S, Fautrel B. Mechanisms, biomarkers and targets for adult-onset Still's disease [J]. Nat Rev Rheumatol, 2018, 14

- (10):603-618. DOI:10.1038/s41584-018-0081-x.
- [2] Kim HA, An JM, Nam JY, et al. Serum S100A8/A9, but not foliastatin-like protein 1 and interleukin 18, may be a useful biomarker of disease activity in adult-onset Still's disease [J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(7):1399-1406. DOI:10.3899/jrheum.120079.
- [3] Colafrancesco S, Priori R, Alessandri C, et al. sCD163 in AOSD: A biomarker for macrophage activation related to hyperferritinemia [J]. *Immunol Res*, 2014, 60(2-3):177-183. DOI:10.1007/s12026-014-8563-7.
- [4] Kawaguchi Y, Terajima H, Harigai M, et al. Interleukin-18 as a novel diagnostic marker and indicator of disease severity in adult-onset Still's disease [J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(7):1716-1717. DOI:10.1002/1529-0131(200107)44:7<1716::AID-ART298>3.0.CO;2-I.
- [5] Priori R, Colafrancesco S, Alessandri C, et al. Interleukin 18: A biomarker for differential diagnosis between adult-onset Still's disease and sepsis [J]. *J Rheumatol*, 2014, 41(6):1118-1123. DOI:10.3899/jrheum.130575.
- [6] Mitrovic S, Fautrel B. New markers for adult-onset Still's disease [J]. *Joint Bone Spine*, 2018, 85(3):285-293. DOI:10.1016/j.jbspin.2017.05.011.
- [7] Han JH, Suh CH, Jung JY, et al. Association of CXCL10 and CXCL13 levels with disease activity and cutaneous manifestation in active adult-onset Still's disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17(1):260. DOI:10.1186/s13075-015-0773-4.
- [8] Li Y, Zhou Y, Wang Q. Multiple values of ¹⁸F-FDG PET/CT in idiopathic inflammatory myopathy [J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(10):2297-2305. DOI:10.1007/s10067-017-3794-3.
- [9] Dong MJ, Wang CQ, Zhao K, et al. ¹⁸F-FDG PET/CT in patients with adult-onset Still's disease [J]. *Clin Rheumatol*, 2015, 34(12):2047-2056. DOI:10.1007/s10067-015-2901-6.
- [10] Yamashita H, Kubota K, Takahashi Y, et al. Clinical value of ¹⁸F-fluoro-dexoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in patients with adult-onset Still's disease: A seven-case series and review of the literature [J]. *Mod Rheumatol*, 2014, 24(4):645-650. DOI:10.3109/14397595.2013.850998.
- [11] 赵倩倩, 关志伟, 冀肖健, 等. 成人 Still 病的 ¹⁸F-FDG PET/CT 表现 [J]. *中国医学影像学杂志*, 2017, 25(3):216-221. DOI:10.3969/j.issn.1005-5185.2017.03.014.
- [12] Ruscitti P, Cipriani P, Masеду F, et al. Adult-onset Still's disease: Evaluation of prognostic tools and validation of the systemic score by analysis of 100 cases from three centers [J]. *BMC Med*, 2016, 14(1):194. DOI:10.1186/s12916-016-0738-8.
- [13] Feist E, Mitrovic S, Fautrel B. Mechanisms, biomarkers and targets for adult-onset Still's disease [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(10):603-618. DOI:10.1038/s41584-018-0081-x.
- [14] Casta eda S, Aienza-Mateo B, Martín-Varillas JL, et al. Anakinra for the treatment of adult-onset Still's disease [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2018, 14(12):979-992. DOI:10.1080/1744666X.2018.1536548.
- [15] Colafrancesco S, Priori R, Valesini G, et al. Response to Interleukin-1 Inhibitors in 140 Italian Patients with Adult-Onset Still's Disease: A multicentre retrospective observational study [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8:369. DOI:10.3389/fphar.2017.00369.
- [16] Yoo DH. Treatment of adult-onset still's disease: up to date [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(9):849-866. DOI:10.1080/1744666X.2017.1332994.
- [17] Galozzi P, Baggio C, Bindoli S, et al. Development and role in therapy of canakinumab in adult-onset Still's disease [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9(2):1074-1084. DOI:10.3389/fphar.2018.01074.
- [18] Petryna O, Cush JJ, Efthimiou P. IL-1 Trap rilonacept in refractory adult onset Still's disease [J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71(12):2056-2057. DOI:10.1136/annrheumdis-2012-201409.
- [19] Aikawa NE, Ribeiro AC, Saad CG, et al. Is anti-TNF switching in refractory Still's disease safe and effective [J]. *Clin Rheumatol*, 2011, 30(8):1129-1134. DOI:10.1007/s10067-011-1735-0.
- [20] Li T, Gu L, Wang X, et al. A pilot study on tocilizumab for treating refractory adult-onset Still's disease [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(2):134-177. DOI:10.1038/s41598-017-13639-y.
- [21] Ma Y, Wu M, Zhang X, et al. Efficacy and safety of tocilizumab with inhibition of interleukin-6 in adult-onset Still's disease: A meta-analysis [J]. *Mod Rheumatol*, 2018, 28(5):849-857. DOI:10.1080/14397595.2017.1416924.
- [22] Tsuchida Y, Sumitomo S, Shoda H, et al. Macrophage activation syndrome associated with tocilizumab treatment in adult-onset Still's disease [J]. *Mod Rheumatol*, 2017, 27(3):556-557. DOI:10.1080/14397595.2016.1221875.
- [23] Gabay C, Fautrel B, Rech J, et al. Open-label, multicentre, dose-escalating phase II clinical trial on the safety and efficacy of tadekinig alfa (IL-18BP) in adult-onset Still's disease [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(6):840-847. DOI:10.1136/annrheumdis-2017-212608.
- [24] Banerjee S, Biehl A, Gadina M, et al. JAK-STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: Current and future prospects [J]. *Drugs*, 2017, 77(5):521-546. DOI:10.1007/s40265-017-0701-9.
- [25] Das R, Guan P, Sprague L, et al. Janus kinase inhibition lessens inflammation and ameliorates disease in murine models of hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. *Blood*, 2016, 127(13):1666-1675. DOI:10.1182/blood-2015-12-684399.
- [26] Ostrowski RA, Tehrani R, Kadanoff R. Refractory adult-onset still disease successfully treated with abatacept [J]. *J Clin Rheumatol*, 2011, 17(6):315-317. DOI:10.1097/RHU.0b013e31822c53ad.
- [27] Belfeki N, Smiti Khanfir M, Said F, et al. Successful treatment of refractory adult onset Still's disease with rituximab [J]. *Reumatismo*, 2016, 68(3):159-162. DOI:10.4081/reumatismo.2016.888.
- [28] 严瑶琦, 苗丽丽, 孙静, 等. 中药治疗成人斯蒂尔病的用药规律研究 [J]. *新中医*, 2018, 50(3):33-36. DOI:10.13457/j.cnki.jncm.2018.03.009.
- [29] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸及其苷元甘草次酸的糖皮质激素样作用 [J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(1):33-35. DOI:CNKI:SUN:GWZW.0.2011-01-007