

· 论 著 ·

ccfDNA 中 RERG 甲基化状态检测在诊断鼻咽癌中的临床意义*

李宏丰¹, 李刚¹, 云惟琳¹, 张前飞¹, 张秋叶²

文昌市人民医院: 1. 耳鼻咽喉科; 2. 检验科, 海南文昌 571300

摘要:目的 研究循环细胞游离 DNA(ccfDNA) 中 RAS 样雌激素调节生长抑制因子(RERG) 基因甲基化状态检测在诊断鼻咽癌中的临床意义。**方法** 选取 2020 年 1 月至 2021 年 6 月在该院就诊的 100 例(病理学诊断)原发性鼻咽癌患者作为鼻咽癌组, 同时选取 97 例非癌志愿者作为对照组。提取活检组织 DNA 和 ccfDNA, 通过实时荧光定量 PCR 法 DNA 甲基化分析(qAMP)检测组织 DNA 和 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率。绘制受试者工作特征(ROC) 曲线评价 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率对鼻咽癌的诊断价值。**结果** 基于 TCGA 数据库中来自于头颈部鳞状细胞癌(HNSC) 组织标本的 RNA-Seq 转录本数据相应患者临床资料, HNSC 组织标本中 RERG mRNA 表达明显低于正常组织, RERG mRNA 甲基化 β 值高于正常组织 ($P < 0.001$)。在临床试验中, 鼻咽癌组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率高于对照组 [0.127(0.095, 0.175) vs. 0.023(0.014, 0.036), $P < 0.001$]。经 ROC 曲线分析, 检测 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率诊断鼻咽癌的曲线下面积(AUC) 为 0.990(95%CI: 0.980~0.999)。ccfDNA 和肿瘤组织中 RERG mRNA 甲基化率呈正相关($r = 0.407, P < 0.001$)。鼻咽癌患者 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率在不同肿瘤 T 分期、N 分期、TNM 分期及 EB 病毒(EBV)DNA 状态人群之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化状态可能为鼻咽癌筛查中潜在的血液学生物标志物。

关键词: 循环细胞游离 DNA; RAS 样雌激素调节生长抑制因子; 甲基化; 鼻咽癌; 实时荧光定量 PCR 法 DNA 甲基化分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.09.005

中图法分类号: R446.8

文章编号: 1673-4130(2022)09-1046-06

文献标志码: A

Clinical significance of RERG methylation status detection in circulating cell-free DNA for diagnosing nasopharyngeal carcinoma*

LI Hongfeng¹, LI Gang¹, YUN Weilin¹, ZHANG Qianfei¹, ZHANG Qiuye²

1. Department of E. N. T.; 2. Department of Clinical Laboratory, Wenchang People's Hospital, Wenchang, Hainan 571300, China

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of Ras-related and estrogen-regulated growth inhibitor (RERG) methylation status detection in circulating cell-free DNA (ccfDNA) for the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. **Methods** A total of 100 patients diagnosed as the primary nasopharyngeal carcinoma in the hospital from January 2020 to June 2021 were collected as nasopharyngeal carcinoma group, while 97 noncancer volunteers were also recruited to this study as the control group. The DNA and ccfDNA in biopsy tissues were both extracted, and the methylation rate of RERG mRNA was detected by the quantitative analysis of DNA methylation using real-time PCR (qAMP). Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the predictive value of RERG methylation status in ccfDNA for nasopharyngeal carcinoma.

Results Based on the clinical information of patients corresponding to the RNA-Seq transcript data from the head and neck squamous-cell carcinoma (HNSC) tissues samples in the TCGA database, the expression of RERG mRNA in HNSC tissues was significantly lower than that in normal tissues and the beta value of RERG mRNA methylation was also higher than that in normal tissues ($P < 0.001$). In clinical trials, the methylation rate of ccfDNA RERG mRNA in nasopharyngeal carcinoma group was higher than that in control group [0.127 (0.095, 0.175) vs. 0.023 (0.014, 0.036), $P < 0.001$]. ROC curve results showed that the area

* 基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(16A200006)。

作者简介: 李宏丰, 男, 主治医师, 主要从事耳鼻咽喉方向的研究。

本文引用格式: 李宏丰, 李刚, 云惟琳, 等. ccfDNA 中 RERG 甲基化状态检测在诊断鼻咽癌中的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43

under curve (AUC) of methylation rate of RERG mRNA in ccfDNA for the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma was 0.990(95%CI:0.980-0.999). The methylation rate of RERG mRNA in ccfDNA and tumor tissues was positively correlated ($r=0.407, P<0.001$). Besides, the differences of methylation rate of RERG mRNA in ccfDNA in patients with different status of T stage, N stage, TNM stage and EBV DNA were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The methylation status of RERG mRNA in ccfDNA may be a promising blood biomarker for nasopharyngeal carcinoma screening.

Key words: circulating cell-free DNA; Ras-related and estrogen-regulated growth inhibitor; methylation; nasopharyngeal carcinoma; quantitative analysis of DNA methylation using real-time PCR

鼻咽癌在我国南方和东南亚地区高度流行,年发病率为 15/100 000~50/100 000^[1]。然而,由于发病部位隐匿,多数患者早期无症状或仅表现出非特异性症状,80%以上的鼻咽癌患者在晚期(Ⅲ或Ⅳ期)才被首次确诊,这导致患者生存率大大降低^[2-3]。因此,鼻咽癌的早期诊断是一个重大的临床挑战。异常的 DNA 甲基化已被报道为鼻咽癌等癌症的一种重要病变机制,甚至在癌变早期就能够检测到^[4]。循环细胞游离 DNA(ccfDNA)是存在于循环体液中游离状态的 DNA,被认为与细胞的坏死、凋亡等相关^[5]。近年来 ccfDNA 甲基化检测作为一种液体活组织检查技术已成为疾病诊疗中的研究热点^[6]。在许多癌症类型中,RAS 样雌激素调节生长因子(RERG)基因普遍以“全基因组”或“整体”DNA 高甲基化的形式出现,进而导致 RERG 蛋白低表达。因此,RERG 基因高甲基化是许多癌症常见的特征性甲基化变化之一^[7-8]。在本研究中,笔者利用实时荧光定量 PCR 法 DNA 甲基化分析(qAMP)评估 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化状态作为预期的鼻咽癌筛选生物标志物的潜力。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 6 月本院 100 例经组织学确诊的原发性鼻咽癌患者作为鼻咽癌组,另选取 97 例年龄、性别相匹配的非癌志愿者作为对照组。本研究已获本院医学伦理审查委员会批准通过(批准号:2019-10-07)。所有参与者均签署书面知情同意书,并接受内窥镜检查。鼻咽癌组纳入标准:经病理活检和影像学检查确诊为鼻咽癌,为初诊患者且具有完整的病历资料。鼻咽癌组排除标准:(1)既往接受过放疗化疗或有其他恶性肿瘤病史,如非鼻咽癌头颈部恶性肿瘤或下腔静脉癌;(2)合并有严重心脑血管疾病、肝、肾、肺、胃肠等基础疾病。对照组纳入标准:年龄、性别与鼻咽癌组患者人群相匹配,经血液和超声等相关检查排除任何恶性肿瘤的临床证据。对照组排除标准:(1)存在恶性肿瘤的临床证据和高危因素(鼻咽癌病史、吸烟、饮酒、经常食用腌制或盐渍食品);(2)存在有毒化学品等职业暴露;(3)合并有严重心脑血管疾病、肝、肾、肺、胃肠等基础疾病。鼻咽癌组中男 67 例,女 33 例;年龄 19~78 岁,

平均(51.27±14.99)岁;根据 AJCC/UICC 第 8 版分期系统^[9],进行临床分期:TNM 分期 I~II 期 34 例,III~IV 期 66 例;T1 分期 25 例,T2 分期 34 例,T3 分期 30 例,T4 分期 11 例;N0/1 分期 55 例,N2/3 分期 45 例;M0 分期 100 例;Charlson 合并症指数中位值 1 分(范围:0~3 分)。对照组中男 63 例,女 34 例;年龄 19~81 岁,平均(50.79±15.19)岁;Charlson 合并症指数中位值 1 分(范围:0~3 分),对照组 EB 病毒(EBV)检测均为阴性。两组年龄、性别构成、Charlson 合并症指数比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血液采集 采集患者入院时静脉外周血 5 mL 于乙二胺四乙酸(EDTA)管中。血液在 4℃下 3 500 r/min 离心 10 min,收集血浆,然后在 4℃下 20 000 r/min 离心 10 min,去除额外的细胞碎片和来自受损血细胞的基因组核酸污染。活检标本和血浆保存在-80℃,备用。另外收集鼻咽癌组患者 EBV 检测结果,包括衣壳抗原-早期抗原免疫球蛋白 A(VCA-IgA)、早期抗原-早期抗原免疫球蛋白 A(EA-IgA)、核心抗原(EBNA1-IgA)、EBV DNA 拷贝数。

1.2.2 活检组织 DNA 和 ccfDNA 提取 将活检标本用核糖核酸酶处理后,利用 QIAamp DNA Mini 试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取总 RNA 游离基因组 DNA。组织 DNA 用超净水洗脱。对于血浆样品,用 NanoDrop 2000 超微量分光光度计测定 414 nm 处的光密度值(溶血临界值为 0.13)。使用 QIAamp MinElute ccfDNA Mini 试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取 ccfDNA,每个受试者的血浆标本 2 mL(1 毫升/柱)用于 DNA 提取,每个色谱柱用 30 μL 超净水洗脱。从一份 200 μg 的组织标本中提取的组织 DNA 平均水平为 50~240 ng,从一份血浆标本中提取的 ccfDNA 平均水平为 3 ng。

1.2.3 RERG 基因甲基化率检测 通过 qAMP 法量化基因启动子甲基化率^[10]。使用 EpiTect Methyl II DNA restriction Kit(德国 Qiagen 公司),用甲基化敏感和/或甲基化依赖的限制性内切酶对分离的 ccfDNA 进行处理,包括非酶(Mo)、甲基化敏感酶(Ms)、甲基化依赖酶(Md)和甲基化敏感依赖酶(Msd)。反

应消化液在 37 °C 孵化过夜。培养后,在 65 °C 加热灭活酶 20 min 后停止反应。采用 RT2 SYBR Green ROX qPCR Mastermix(德国 Qiagen 公司)和 Epi-Tect Methyl II PCR Primer Assay(德国 Qiagen 公司)分别对 Mo、Ms、Md 和 Msd 4 项指标进行甲基化定量 PCR。数据分析模板用于计算甲基化率和数据质量控制。甲基化定量 PCR 的阈值周期值由制造商提供的数据分析电子表格计算,只有当单错校正和双错校验结果为“通过”(意味着限制性内切酶是活跃的,能有效地消化 DNA)时,才使用目标基因的甲基化率进行统计分析。

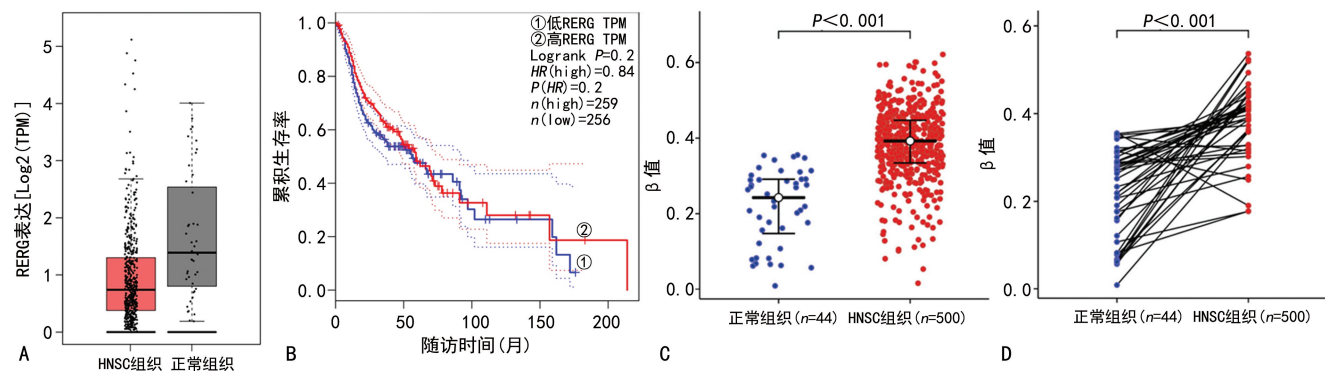
1.2.4 生物信息学分析 这项研究包括来自 TCGA 数据库(https://portal.gdc.cancer.gov)的两组数据, RNA-Seq 转录本数据和来自头颈部鳞状细胞癌(HNSC)标本的相应患者临床数据(HTSeq-FPKM 类型)通过数据传输工具(GDC 癌症数据共享系统)获得,共下载了 528 例 HNSC 患者 HNSC 组织和 44 例正常组织的 RNA-Seq 数据。将 HTSeq-FPKM 数据转换为 TPM(每百万转录本读数)进行分析。根据 HNSC 患者 RERG mRNA 的中位表达值,分为低表达组和高表达组。这项研究使用 R 软件从 GEO 数据库中下载了 GSE41613 数据表中的 RERG mRNA 表达数据和临床数据,作为生存分析的外部验证。通过 Kaplan-Meier 分析评估 RERG mRNA 的预后意义。此外 RERG mRNA 的拷贝数变异(CNV)和甲基化水

平数据是通过 cBioPortal 网络平台(https://www.cbioportal.org/)获得的。利用 SMART 网络平台(http://www.bioinfo-zs.com/smartapp/)分析和比较 TCGA 数据中 RERG mRNA 在 HNSC 组织和正常组织中的甲基化水平。使用 MethSurv 在线工具(https://biit.cs.ut.ee/methsurv/)分析 RERG mRNA 甲基化水平的预后价值。 β 值表明 DNA 甲基化程度从 0(未甲基化)到 1(完全甲基化)不等。不同的 β 值最佳截断值已被认为表明超甲基化(β 值:0.50~0.70)或低甲基化(β 值:0.25~0.30)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行数据处理及统计分析,呈偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用非参数检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,并分析曲线下面积(AUC)、灵敏度及特异度以确认 RERG mRNA 甲基化率的诊断效能。采用 Spearman 相关分析 ccfDNA 和组织中 RERG mRNA 甲基化率的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCGA 数据库资料分析 基于 TCGA 数据库的两组数据, HNSC 组织中 RERG mRNA 表达明显低于正常组织,见图 1A。RERG mRNA 在 HNSC 组织中的表达情况与患者总生存预后无关($P > 0.05$),见图 1B。此外, HNSC 组织中 RERG mRNA 甲基化 β 值高于正常组织($P < 0.001$),见图 1C、D。



注:A为 RERG 在 HNSC 组织和正常组织中的表达差异;B为 Kaplan-Meier 曲线分析 RERG mRNA 表达与 HNSC 患者生存预后的关系;C为 RERG mRNA 在 HNSC 组织和正常组织中甲基化差异;D为 RERG mRNA 在 HNSC 组织及其配对的癌旁组织中甲基化差异。

图 1 基于 TCGA 数据库分析 RERG mRNA 在 HNSC 组织中的表达和甲基化情况

2.2 鼻咽癌组和对照组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率比较 鼻咽癌组和对照组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率分别为 0.127(0.095, 0.175)和 0.023(0.014, 0.036),鼻咽癌组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率高于对照组($Z = -11.881, P < 0.001$),见图 2。经 ROC 曲线分析, ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率诊断鼻咽癌的 AUC 为 0.990(95%CI:0.980~0.999),最佳截断值为 0.059,此时灵敏度和特异度分别为 93.0%和 100.0%,见图 3。

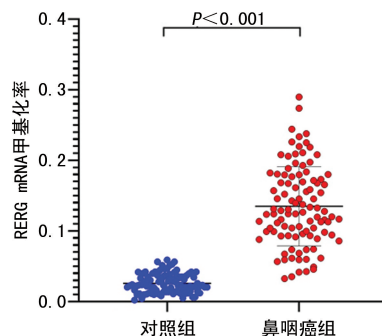


图 2 两组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率比较

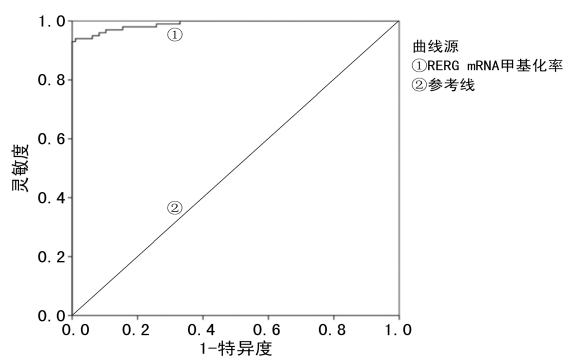
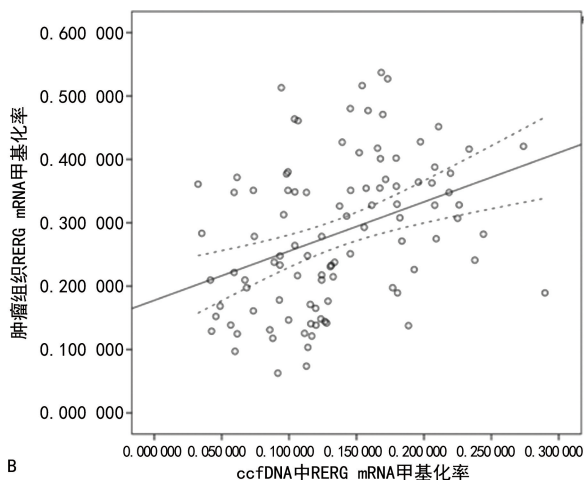
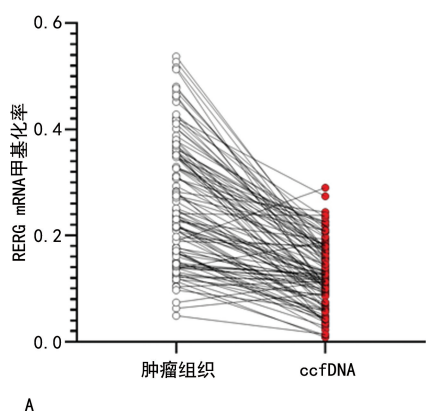


图 3 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率诊断鼻咽癌的 ROC 曲线

2.3 鼻咽癌患者 ccfDNA 和肿瘤组织中 RERG mRNA



注:A 为肿瘤组织和 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率比较;B 为 Spearman 相关分析散点图。

图 4 鼻咽癌组患者 ccfDNA 和组织中 RERG mRNA 甲基化率的关系

表 1 鼻咽癌患者 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率与临床病理特征的关系 [$M(P_{25}, P_{75})$]

临床病理特征	n	RERG mRNA 甲基化率	Z	P
年龄				
≤50 岁	47	0.127(0.095, 0.164)	-0.867	0.386
>50 岁	53	0.131(0.096, 0.195)		
性别				
男	67	0.128(0.089, 0.182)	-1.254	0.201
女	33	0.141(0.093, 0.180)		
吸烟				
是	43	0.127(0.102, 0.161)	-0.117	0.981
否	57	0.124(0.090, 0.180)		
饮酒				
是	24	0.148(0.093, 0.192)	-1.894	0.051
否	76	0.131(0.074, 0.181)		
Charlson 合并症指数				
0~<2 分	56	0.138(0.099, 0.180)	-0.474	0.526
2~3 分	44	0.126(0.086, 0.174)		
T 分期				
T1/2 期	59	0.098(0.069, 0.120)	-7.289	<0.001
T3/4 期	41	0.180(0.157, 0.209)		

NA 甲基化率情况及相关性 鼻咽癌组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率低于肿瘤组织[0.127(0.095, 0.175) vs. 0.278(0.184, 0.364), $Z = -8.369, P < 0.001$]. Spearman 相关分析结果显示, ccfDNA 和肿瘤组织中 RERG mRNA 甲基化率呈正相关($r = 0.407, P < 0.001$), 见图 4。

2.4 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化状态与鼻咽癌患者临床特征的关系 鼻咽癌患者 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率在不同肿瘤 T 分期、N 分期、TNM 分期及 EBV DNA 状态人群之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

续表 1 鼻咽癌患者 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率与临床病理特征的关系 [$M(P_{25}, P_{75})$]

临床病理特征	n	RERG mRNA 甲基化率	Z	P
N 分期				
N0/1 期	55	0.114(0.074, 0.134)	-3.260	0.001
N2/3 期	45	0.161(0.113, 0.188)		
TNM 分期				
I ~ II 期	34	0.102(0.069, 0.124)	-11.288	<0.001
III ~ IV 期	66	0.171(0.104, 0.208)		
VCA-IgA 抗体				
阴性	24	0.145(0.099, 0.192)	-1.227	0.220
阳性	76	0.115(0.064, 0.176)		
EA-IgA 抗体				
阴性	49	0.136(0.089, 0.172)	-0.428	0.669
阳性	53	0.124(0.099, 0.180)		
EBNA1-IgA 抗体				
<3.24 S/CO	51	0.145(0.096, 0.180)	-1.589	0.112
≥3.24 S/CO	49	0.120(0.094, 0.162)		
EBV DNA				
<121.90 copy/mL	49	0.111(0.080, 0.128)	-8.616	<0.001
≥121.90 copy/mL	51	0.168(0.119, 0.207)		

3 讨 论

鼻咽癌是一种发生于鼻咽组织的高度浸润性肿瘤,由于鼻咽癌早期相对无症状,很多患者在疾病晚期才被确诊。筛查识别早期鼻咽癌可能会改善患者治疗结果,因此寻求新的能够预测鼻咽癌的生物指标对于及时采取措施进行预防和治疗鼻咽癌具有重要的临床意义。

癌症诊断的“金标准”是组织活检,这种方法为侵入性,可能造成患者不适,且存在潜在并发症风险^[11]。此外,肿瘤活检的可及性有限,不能反映肿瘤内部的异质性或肿瘤进化过程中新的亚克隆的出现。然而,液体活检是一种很有前途的方法,可以克服这些缺点。世界范围内人类癌症的发病率和死亡率较高,大部分与确诊较晚而导致治疗干预效果较差有关。而 ccfDNA 则为癌症患者的早期诊断提供了一种非侵入性的途径^[12]。ccfDNA 是由与细胞或细胞片段无关的双链核酸短片段组成。ccfDNA 在血浆和血清中以 0.1~20.0 kb 的多核苷酸链存在。创伤、脑卒中及剧烈运动等刺激因素都可以引起 ccfDNA 水平明显增加^[13]。健康人血液中 ccfDNA 水平范围为 0~100 ng/mL。相比之下,癌症患者体内的 ccfDNA 水平平均高出 4~40 倍,上限超过 1 000 ng/mL。肿瘤细胞普遍存在无限增殖能力,这也部分解释了患者较高的血浆 ccfDNA 水平^[14]。RERG 位于 12p12 染色体上,编码一个小的 Ras 超家族 GTP 结合和水解蛋白(GTPase)。RERG 在多种正常组织中广泛表达,但在胰腺癌、乳腺癌、食管癌等肿瘤组织中则缺失表达^[8,15-16]。此外,ZHAO 等^[17]结合甲基 DNA 结合域捕获技术和 cDNA 微阵列分析,发现了一种在鼻咽癌组织中表达下调的特异性高甲基化基因-RERG,并借助于体外细胞实验证实 RERG 在 HK1、C666-1 细胞株中的异位表达对细胞增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力,以及外细胞信号调节激酶(ERK)/核因子 κ B (NF- κ B) 具有明显的抑制作用,说明 RERG 在鼻咽癌组织中常因为 CpG 岛甲基化而表达沉默,并通过抑制 ERK/NF- κ B 信号通路发挥抑癌基因的活性。上述数据都支持 RERG 作为鼻咽癌治疗新的分子靶点。在本研究中,笔者利用 TCGA 数据库分析,证实 RERG mRNA 在 HNSC 组织中表达下调,且普遍存在基因高甲基化。然后进一步利用 qAMP 检测了临床标本中 RERG mRNA 甲基化率,证实鼻咽癌组 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率高于对照组,肿瘤组织和 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率呈正相关,且 ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率与肿瘤进展及 EBV 感染有关。ZHAO 等^[17]研究曾证实,在 EBV 相关的 NPC 细胞系中,RERG 经常被甲基化,导

致 RERG 表达下调,进而通过 ERK/NF- κ B 信号通路促进细胞增殖、集落形成和迁移。本研究结果显示,ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率略低于肿瘤组织,原因之一可能是 ccfDNA 不仅来自肿瘤细胞,部分也可能来自正常细胞。同时,标本类型之间的这种差异可能也包含生物学检测技术的偏差,例如限制性脱氧核糖核酸进入血液循环,或次优的血浆标本处理导致溶血。为了尽量控制误差,本研究使用的非溶血性血浆可以防止血细胞中的核酸污染。此外经 ROC 曲线分析,ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化率用于诊断鼻咽癌的 AUC 为 0.990(95%CI:0.980~0.999),说明其具有较好的诊断效能。

综上所述,ccfDNA 中 RERG mRNA 甲基化鼻咽癌筛查中一个潜在的血液学生物标志物;虽然本研究标本数量有限,而且缺乏连续监测数据,但是最终的结果也为评估利用 qAMP 检测 ccfDNA 中基因甲基化率作为鼻咽癌特异性表观遗传标志物的大标本筛选方法提供了科学依据。

参考文献

- [1] PAUL P, DEKA H, MALAKAR A K, et al. Nasopharyngeal carcinoma: understanding its molecular biology at a fine scale[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2018, 27(1): 33-41.
- [2] XIAO Z, CHEN Z. Deciphering nasopharyngeal carcinoma pathogenesis via proteomics[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2019, 16(6): 475-485.
- [3] 王萌, 肖杰, 夏芳, 等. 诱导化疗对局部晚期鼻咽癌患者营养状况和生活质量的影响[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2021, 28(6): 695-698.
- [4] HAN B, YANG X, ZHANG P, et al. DNA methylation biomarkers for nasopharyngeal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2020, 15(4): e0230524.
- [5] 陈霜, 马蓉, 马彩玲. 循环肿瘤 DNA 在妇科恶性肿瘤中的应用[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2021, 13(6): 28-30.
- [6] 王锋, 丁艳, 张焕基. 循环游离 DNA 甲基化模式分析在心肌梗死中的研究进展[J]. *新医学*, 2021, 52(4): 229-233.
- [7] SIMANSHU D K, NISSLEY D V, MCCORMICK F. RAS proteins and their regulators in human disease[J]. *Cell*, 2017, 170(1): 17-33.
- [8] XIONG Y, HUANG H, CHEN S, et al. ERK5-regulated RERG expression promotes cancer progression in prostatic carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(2): 1160-1168.
- [9] HUANG S H, O'SULLIVAN B. Overview of the 8th edition TNM classification for head and neck cancer[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2017, 18(7): 40.
- [10] 谭玉娥, 刘鑫. IRF4、ELMO1、CLIP4 和 MSC 启动子甲基化水平在胃癌早期筛查中的应用价值分析[J]. *河北医药*, 2021, 43(2): 182-186.

外周血中 S-100 β 水平可在一定程度上反映脑组织损伤程度。Gal-1 是半乳糖结合家族蛋白的一员,在机体组织和细胞中广泛分布^[13]。报道显示, Gal-1 通过抑制蛋白激酶 C 的表达提高细胞对缺血谷氨酸毒性的耐受能力,并通过促进神经干细胞增殖,进而维持神经系统氧化还原平衡,促进神经元再生^[14]。本研究结果显示,对照组、单纯 LI 组、高血压合并 LI 组血清 Gal-1、S-100 β 水平逐渐升高,且与 IMT 呈正相关,可见高血压合并 LI 患者动脉粥样硬化情况可能与血清 Gal-1、S-100 β 水平有关,反之也提示血清 Gal-1、S-100 β 水平可能影响高血压合并 LI 患者心脑血管疾病进程。对比分析不同预后的高血压合并 LI 患者血清 Gal-1、S-100 β 水平,结果显示预后不良组血清 Gal-1、S-100 β 水平明显高于预后良好组,经 ROC 曲线分析显示,血清 Hcy、Gal-1、S-100 β 3 项指标联合评估高血压合并 LI 患者预后的 AUC 为 0.885,具有较高价值。

综上所述,血清 Hcy、Gal-1、S-100 β 水平与高血压合并 LI 患者动脉粥样硬化程度具有一定相关性,且用于评估其预后具有较高价值。

参考文献

- [1] 赵海霞,李林. 血浆同型半胱氨酸水平与高血压腔隙性脑梗死预后的关系[J]. 心脑血管病防治, 2020, 20(2): 86-88.
- [2] 葛冰磊,俞善春,金纪伟. 急性缺血性脑卒中患者血清 Hcy、GAL3、MCP-1 表达及其临床意义[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(6): 101-105.
- [3] 邵玉红,刘晶,杨柳. 血清 S-100B 蛋白在急性脑梗塞的动态变化相关性探讨[J]. 临床检验杂志, 2019, 8(3): 86.
- [4] HAMIK W, HILMANTO D, RAHAYUNINGSIH S E. Relationship between serum zinc and homocysteine in children with nephrotic syndrome[J]. Paediatrica Indonesiana, 2019, 59(2): 98-103.
- [5] 王宁夫,章金娟. 高血压诊断与治疗[M]. 杭州:浙江大学出版社, 2014: 31-35.
- [6] 中国脑梗死急性期康复专家共识组. 中国脑梗死急性期康复专家共识[J]. 实用心脑血管病杂志, 2016, 38(1): 1-6.
- [7] 卢军栋,苏鹏,王峥,等. 注射用丹参多酚酸对急性脑梗死的疗效及对患者血清 NSE 及 S-100 β 蛋白的影响[J]. 药物评价研究, 2019, 42(2): 283-286.
- [8] 吴湘军,郑海燕,朱亚兰. 血清同型半胱氨酸、尿酸、超敏 C 反应蛋白水平与腔隙性脑梗死患者颈动脉粥样硬化程度的关系探讨[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17(2): 220-223.
- [9] PLESSIS J, NIENABER-ROUSSEAU C, LAMMERTYN L, et al. The relationship of circulating homocysteine with fibrinogen, blood pressure and other cardiovascular measures in African adolescents[J]. J Ped, 2021, 12(3): 515-519.
- [10] 陈南耀,余丹. H 型高血压伴急性脑梗死患者血清指标与颈动脉内膜中层厚度变化的关系研究[J]. 中华保健医学杂志, 2019, 21(2): 119-121.
- [11] SEMBIRING R L, MAPPAWARE N A, USMAN A N. Relationship between characteristics and obstetric history with hypertension in pregnancy[J]. Enfermeria Clinica, 2020, 30(12): 31-34.
- [12] 吴小杨,黄良彬,沈沸. 腔隙性脑梗死伴脑白质病变患者血清 miR-206、BDNF 水平与认知功能受损的关系[J]. 现代医学, 2019, 47(1): 4-8.
- [13] FEITOSA A, MOTA G M A, BARROSO W S, et al. Relationship between office isolated systolic or diastolic hypertension and white-coat hypertension across the age spectrum: a home blood pressure study[J]. J Hypert, 2020, 38(6): 1211-1216.
- [14] POLOZOVA E I, PUZANOVA E V, SESKINA A A. Relationship between immunological alterations, hypoxia and inflammation in arterial hypertension combined with metabolic syndrome[J]. Med Immunol, 2020, 22(5): 1003-1008.
- [15] HUANG L, TANG X, SHI X, et al. miR-532-5p promotes breast cancer proliferation and migration by targeting RERG[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(1): 400-408.
- [16] ZHANG Y, REN S, YUAN F, et al. miR-135 promotes proliferation and stemness of oesophageal squamous cell carcinoma by targeting RERG[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(sup2): 1210-1219.
- [17] ZHAO W, MA N, WANG S, et al. RERG suppresses cell proliferation, migration and angiogenesis through ERK/NF- κ B signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1): 88-96.

(收稿日期: 2021-10-12 修回日期: 2022-01-12)

(上接第 1050 页)

- [11] CHOW J C, NGAN R K, CHEUNG K M, et al. Immunotherapeutic approaches in nasopharyngeal carcinoma[J]. Expert Opin Biol Ther, 2019, 19(11): 1165-1172.
- [12] CROWLEY E, DI NICOLANTONIO F, LOUPAKIS F, et al. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2013, 10(8): 472-484.
- [13] CRISTIANO S, LEAL A, PHALLEN J, et al. Genome-wide cell-free DNA fragmentation in patients with cancer[J]. Nature, 2019, 570(7761): 385-389.
- [14] KUSTANOVICH A, SCHWARTZ R, PERETZ T, et al. Life and death of circulating cell-free DNA[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(8): 1057-1067.

(收稿日期: 2021-10-11 修回日期: 2022-01-21)