

引用本文:张贵,尚蕾,李晓玲,等.磷酸化的MAPK作用激酶1表达与鼻咽癌发生发展及预后的关系[J].安徽医药, 2022, 26(5): 1031-1034. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.043.



◇临床医学◇

磷酸化的MAPK作用激酶1表达与鼻咽癌发生发展及预后的关系

张贵¹,尚蕾¹,李晓玲¹,代文意¹,李颖²

作者单位:¹南阳市中心医院耳鼻咽喉科,河南 南阳 473000;

²郑州大学附属儿童医院、河南省儿童医院、

郑州儿童医院耳鼻咽喉科,河南 郑州 450007

摘要: 目的 探讨磷酸化的MAPK作用激酶1(pMnK1)表达与鼻咽癌病人发生发展及预后的关系。方法 选取2015年1月至2017年7月南阳市中心医院收集的90例鼻咽癌病理学标本、90例经病理学检查证实鼻部慢性炎症的鼻黏膜组织(对照组),应用免疫组化染色分析检测pMnK1蛋白表达,并按年龄、性别、组织学类型、临床分期、淋巴结转移情况进行分组分析,分析pMnK1蛋白阳性与阴性表达的鼻咽癌病人2年生存率及预后。结果 鼻咽癌组的pMnK1蛋白阳性率74.44%高于对照组的26.67%,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同TNM分期、淋巴结转移的鼻咽癌组的pMnK1蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);经2年随访,pMnK1蛋白阳性的鼻咽癌病人失访4例、阴性病人失访1例,pMnK1蛋白阳性的鼻咽癌病人2年生存率61.90%与阴性病人的77.27%,差异无统计学意义($P > 0.05$);pMnK1蛋白阳性的鼻咽癌病人的生存时间20.0个月短于阴性组23.0个月,差异有统计学意义[Log-rank(Mantel-Cox)=3.285, $P < 0.05$]。结论 鼻咽癌组织中pMnK1蛋白呈高表达,并且与肿瘤的发生发展及不良预后关系密切。

关键词: 鼻咽肿瘤; 磷酸化的MAPK作用激酶1; 预后

Relationship between the expression of phosphorylated MAP kinase integrating kinase 1 and the occurrence, development and prognosis of nasopharyngeal carcinoma

ZHANG Gui¹, SHANG Lei¹, LI Xiaoling¹, DAI Wenyi¹, LI Ying²

Author Affiliations:¹Department of Otorhinolaryngology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan 473000, China;

²Department of Otorhinolaryngology, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan Children's Hospital, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan 450007, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the expression of phosphorylated MAP kinase integrating kinase 1 (p-MnK1) and the occurrence, development and prognosis of nasopharyngeal carcinoma (NPC) patients. **Methods** A total of 90 pathological specimens of nasopharyngeal carcinoma and 90 nasal mucosa tissues (control group) with chronic inflammation confirmed by pathological examination were selected from Nanyang Central Hospital from January 2015 to July 2017. The expression of p-MnK1 protein was detected by immunohistochemical staining, and grouped according to age, sex, histological type, clinical stage, and lymph node metastasis. The 2-year survival rate and prognosis of NPC patients with positive and negative expression of p-MnK1 protein were analyzed. **Results** The positive rate of p-MnK1 protein in the NPC group was 74.44%, which was significantly higher than that in the control group (26.67%, $P < 0.05$). The positive rate of p-MnK1 protein in the NPC group with different TNM stages and lymph node metastasis was compared, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After 2-years of follow-up, 4 patients with p-MnK1 protein-positive NPC were lost to follow-up, 1 patient with negative p-MnK1 protein was lost to follow-up, and 1 patient with p-MnK1 protein-positive NPC was lost to follow-up. The 2-year survival rate of p-MnK1 protein-positive NPC patients was 61.90% and 77.27% of negative patients, and the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). The survival time of p-MnK1 protein-positive NPC patients was 20.0 months shorter than that of the negative group (23.0 months), and the difference was statistically significant [log-rank (Mantel-Cox) = 3.285, $P < 0.05$]. **Conclusion** The high expression of p-MnK1 protein in NPC tissue is closely related to the occurrence and development of tumors and poor prognosis.

Key words: Nasopharyngeal neoplasms; Phosphorylated MAPK interacting kinase 1; Prognosis

鼻咽癌(NPC)是东南亚及我国南部发病率较高的头颈部恶性肿瘤疾病^[1]。鼻咽部结构隐匿,发病

一般源于鼻咽部的咽隐窝和顶后壁,早期临床症状不明显,一旦确诊大多数发展为中晚期,临床症状复杂多样^[2]。颈部淋巴结转移是较常见,放化疗是鼻咽癌治疗的首选方案,但局部复发和远处转移率仍较高,是影响预后的主要因素^[3-4]。NPC发病机制目前尚未明确,研究信号转导分子在鼻咽癌发生发展机制中的作用,寻找能准确反应鼻咽癌诊断、病情发展程度、淋巴结转移、TNM分期等分析诊断标志物是临床热点。有研究报道^[5-6]MAPK/MnK信号转导通路与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关,而MnK1激酶磷酸化是该信号转导途径激活的关键。为进一步确定MAPK/MnK信号转导通路在鼻咽癌发病机制中的作用,本研究对比分析鼻咽癌病人与对照组血清pMnK1蛋白阳性率差异及与TNM分期、淋巴转移的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年1月至2017年7月南阳市中心医院收集的90例鼻咽癌病理学标本为鼻咽癌组、90例经病理学检查证实鼻部慢性炎症的鼻黏膜组织为对照组。鼻咽癌组,年龄(58.2±9.1)岁,范围为44~75岁,男74例、女16例;TNM I期20例、II期35例、III期28例、IV期7例;分化型非角化型癌18例、未分化癌72例;淋巴结转移阳性44例、阴性46例。对照组年龄(59.0±12.0)岁,范围为42~75岁;男70例、女20例。两组年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 入选标准 (1)鼻咽癌的诊断标准参考2015年NCCN临床实践指南中鼻咽癌的诊断标准;(2)纳入对象的年龄≤75岁;(3)病人经鼻咽喉镜取鼻咽部组织进行病理学活检证实;(4)病人或其近亲属知情同意;(5)本研究符合《赫尔透辛基宣言》相关伦理及保密原则。

1.3 排除标准 (1)转移性、复发性鼻咽癌病人;(2)在获取标本前具有放化疗史、免疫学治疗病史;(3)伴有其他系统的重大疾病;(4)免疫疾病或长期使用糖皮质激素治疗的病人。

1.4 免疫组化染色方法及评价标准 (1)用二甲苯将石蜡切片透明5 min,并泡2次;依次用100%,95%,75%,50%乙醇梯度复水,每次浸泡2 min,最后用自来水冲洗。(2)柠檬酸高压1.5 min以修复组织。(3)PBS冲洗3次,每次3~5 min。除去PBS液,向每张切片中加50 μL 3%过氧化氢以阻断内源性过氧化物,并在室温条件下孵育10 min, PBS冲洗3次,每次3 min,除去PBS液。(4)50 μL非免疫山羊血清分别滴加至每张切片,室温下孵育10 min,直接甩去血清。(5)均向每张切片中加入50 μL的第一抗体

pMnK1抗体(美国Abcam公司,1:100稀释),置于室温条件下孵育60 min。PBS冲洗3次,每次3~5 min。除去PBS液,再加入50 μL即用型MaxVision试剂,室温下孵育15 min。(6)PBS冲洗3次,每次3 min。(7)除去PBS液,加100 μL DAB显色液(新配制),作用5 min,显微镜下观察。(8)自来水冲洗,并用苏木素复染,自来水冲洗后返蓝,浓度梯度乙醇以脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。(9)镜下阅片、摄像。

免疫组化结果判定:pMnK1蛋白阳性着色表达于细胞核、细胞质,呈黄色、棕黄色、褐色表达,(1)根据着色强度:0分为无色、1分为淡黄色、2分为棕黄色、3分为褐色、黑色;(2)根据阳性细胞比例:阳性细胞数目所占比例≤10%为1分、阳性细胞所占比例11%~50%为2分、阳性细胞数51%~75%为3分、阳性细胞数所占比例>75%为4分,两种积分相乘总分<3分为阴性、≥3分为阳性。

1.5 统计学方法 采用SPSS 21.0版本对本研究的数据进行统计学处理,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示符合正态分布的计量资料,两组间分析采用 t 检验;计数资料组间分析采用 χ^2 检验;生存分析采用Kaplan-Meier法,生存时间比较采用Log-rank法; $P<0.05$ 说明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌组织与对照组的pMnK1蛋白阳性率比较 鼻咽癌组的pMnK1蛋白阳性率74.44%高于对照组的26.67%,差异有统计学意义($\chi^2=41.10, P<0.05$)。见表1。

表1 鼻咽癌组织与对照组的pMnK1蛋白阳性率比较/例(%)

组别	例数	pMnK1蛋白	
		阳性	阴性
对照组	90	24(26.67)	66(73.33)
鼻咽癌组	90	67(74.44)	23(25.56)

2.2 鼻咽癌组织pMnK1蛋白阳性率表达与病理学特征的关系 不同TNM分期、淋巴结转移的鼻咽癌组的pMnK1蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);在不同年龄、性别、不同组织学类型的鼻咽癌组的pMnK1蛋白阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 预后情况分析 经2年随访,pMnK1蛋白阳性的鼻咽癌病人失访4例、阴性病人失访1例,pMnK1蛋白阳性的鼻咽癌病人2年生存率61.90%与阴性病人的77.27%差异无统计学意义($\chi^2=1.71, P=0.191$)。见表3。pMnK1蛋白阳性的鼻咽癌病人的生存时间20.0个月短于阴性组23.0个月,差异有统

表2 鼻咽癌组织pMnK1蛋白阳性率表达与病理学特征的关系

因素	pMnK1 阳性 (n=67)		pMnK1 阴性 (n=23)		χ^2 值	P值
	例数	%	例数	%		
年龄					1.50	0.221
≥60岁	28	68.29	13	31.71		
<60岁	39	79.59	10	20.41		
性别					0.33	0.565
男	56	75.68	18	24.32		
女	11	68.75	5	31.25		
TNM分期					6.01	0.014
I期+II期	36	65.45	19	34.55		
III期+IV期	31	88.57	4	11.43		
淋巴结转移					6.43	0.011
阳性	38	86.36	6	13.64		
阴性	29	63.04	17	36.96		
组织学类型					2.10	0.147
分化型非角化型癌	11	61.11	7	38.89		
未分化癌	56	77.78	16	22.22		

计学意义[Log-rank (Mantel-Cox)=3.285, $P<0.05$]。见图1。

表3 鼻咽癌组织pMnK1蛋白表达与2年生存率的关系/例(%)

pMnK1 蛋白	例数	生存	死亡
阳性	63	39(61.90)	24(38.10)
阴性	22	17(77.27)	5(22.73)

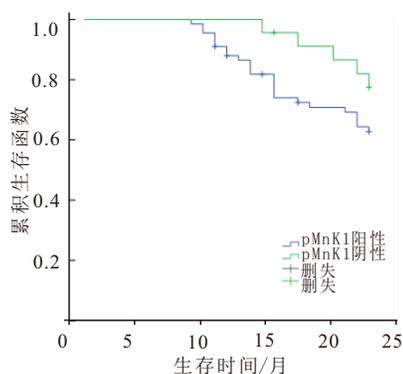


图1 pMnK1蛋白不同表达程度病人的生存函数图

3 讨论

鼻咽癌是源于鼻黏膜上皮的恶性肿瘤,其发病率呈逐年上升趋势。影响鼻咽癌发病的因素复杂,包括:环境、饮食习惯、生活方式等,鼻咽癌发病率与地区有关,一般好发于东南亚和中国南部,男性发病率约为女性的2倍,集中于40~50岁^[7-8]。由于鼻咽部结构隐匿,故早起临床症状不明显,部分病人早期偶有涕中带血,时有时无,瘤体增大可阻塞鼻孔后出现单侧性鼻塞,继而表现为双侧。若鼻咽

癌起源于咽隐窝,随着瘤体增大可阻塞压迫咽鼓管咽口,表现为耳鸣、声音嘶哑、耳闷、听力下降。瘤体通过咽隐窝处的破裂口可转移至颅内,首先侵袭第V、VI脑神经,接着侵袭第II、III、IV脑神经,表现为面部麻木、眼球活动受限、上睑下垂等一系列神经累及症状。瘤体进一步侵犯、转移,可侵袭第IX、X、XI、XII脑神经,临床表现为软腭瘫痪、呛咳、伸舌偏斜等症状^[9-10]。临床诊断一般以临床症状为基础结合可全面、精确显示瘤体大小、范围、部位的CT等影像学检查、病理学检查结果确诊,且正确率较高。寻找新的灵敏度高、特异性好的血清学诊断指标辅助诊断鼻咽癌,对提高鼻咽癌诊断正确率,降低诊断阴性率、误诊率、漏诊率等具有重要意义。

鼻咽癌的发生发展是由多基因多步骤进行的动态过程,其发病机制复杂,目前尚未完全阐明。真核细胞翻译起始因子-4E(eIF4E)是AKT/mTOR信号通道、MAPK/MnK信号通路的中心集结点,AKT/mTOR信号通路激活可诱导eIF4E活性异常表达,进一步激活肿瘤相关蛋白(VEGF、MMP-9、bcl-2等)的表达,促进恶性肿瘤的发生发展^[11]。有研究报道^[12]eIF4E的异常表达与多种人类恶性肿瘤如肺癌、乳腺癌、结直肠癌、鼻咽癌等。MAPK作用激酶1(pMnK1)是催化eIF4E磷酸化的主要激酶。pMnK1通过促进与eIF4E相互结合,形成pMnK1-eIF4E复合物,促进eIF4E Ser-209磷酸化,增强与mRNA帽型结构的亲和力,提高mRNA帽性依赖蛋白的翻译效率,最终促进肿瘤相关蛋白合成,是肿瘤生长增殖的关键过程。有研究报道^[13]eIF4E磷酸化活性异常高表达可促进细胞因子、炎症因子的表达,是多种恶性肿瘤预后差的标志。有研究通过给予MnK1抑制剂发现恶性肿瘤的生长速度减慢,肿瘤转移得到控制。说明MnK1抑制剂可通过MnK1失活,特异性靶向抑制eIF4E磷酸化,进而抑制细胞增殖促进细胞凋亡,抑制肠癌移植瘤的生长和黑色素瘤的肺转移。本研究结果发现,鼻咽癌病人较对照组病人相比,pMnK1蛋白阳性率显著上升,且与TNM分期、淋巴结转移有关。与既往研究报道一致^[14-15]。说明MnK1磷酸化水平与鼻咽癌细胞增殖、转移、生存期密切相关。提示,临床可针对抑制MnK1磷酸化活性药物靶向抑制恶性肿瘤细胞增殖分化,诱导肿瘤细胞凋亡,从而特异性抗癌,提高治疗效果的同时,降低不良反应的发生。本研究结果还发现,pMnK1蛋白表达阳性的鼻咽癌病人其生存时间显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$),说明抑制MnK1磷酸化是治疗鼻咽癌延长病人生存期的重要治疗思路。

综上所述,鼻咽癌组织中pMnK1蛋白呈高表

达,并且与肿瘤的发生发展及不良预后关系密切。本研究创新处,不仅从分子机制确定 pMnK1 蛋白水平在鼻咽癌诊断和病情评估中的临床价值,且为鼻咽癌的靶向治疗提供新的思路,具有重要的临床指导意义。

参考文献

- [1] KANG M, ZHOU P, LONG J, et al. A new staging system for nasopharyngeal carcinoma based on intensity-modulated radiation therapy (IMRT)[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55):94188-94196.
- [2] RAMAYANTI O, JUWANA H, VERKUIJLEN SA, et al. Epstein-Barr virus mRNA profiles and viral DNA methylation status in nasopharyngeal brushings from nasopharyngeal carcinoma patients reflect tumor origin [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140 (1) : 149-162.
- [3] 伍红良,刘芳贤,王文华,等. CT引导下微波凝固术治疗鼻咽癌肺转移[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(2):173-177.
- [4] 黄中,邵汛帆,郑乃莹. VEGF 基因调控 TGF- β 1 信号转导通路在鼻咽癌转移中的机制及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(6):991-994.
- [5] KUMAR R, KHANDELWAL N, THACHAMVALLY R, et al. Role of MAPK/MNK1 signaling in virus replication[J]. *Virus Research*, 2018, 253:48-61.
- [6] 周丹. 鼻咽癌血清或血浆标志物研究进展[J]. *实验与检验医学*, 2012, 30(1):37-39.
- [7] 吴鹏. 局部晚期鼻咽癌辅助化疗的研究进展[J]. *癌症进展*, 2018, 16(8):940-943, 966.
- [8] 洪朝欣,陈斌,罗丹凤,等. 常规放疗与调强放疗对中晚期鼻咽癌患者早期不良反应及生存质量的影响[J]. *医学临床研究*, 2018, 35(2):401-403.
- [9] HOU Y, ZHU Q, LI Z, et al. The FOXM1-ABCC5 axis contributes to paclitaxel resistance in nasopharyngeal carcinoma cells [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8 (3) : e2659. DOI: 10.1038/cd-dis.2017.53.
- [10] 郑军,张春燕,张毅强,等. 鼻咽癌组织 p-eIF4E 和 p-4EBP1 高表达与预后不良正相关[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(4):531-535.
- [11] 李刚,刘莹,种铁,等. eIF4E 在肾透明细胞癌组织中的表达及意义[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2019, 40(1):106-110, 125.
- [12] AVANZINO BC, FUCHS G, FRASER CS. Cellular cap-binding protein, eIF4E, promotes picornavirus genome restructuring and translation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(36):9611-9616.
- [13] 韩杨,宋冠华,田静,等. TRIM22 靶向调控 eIF4E 在 NB4 细胞系定向分化过程中的作用与机制[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2017, 44(4):251-256.
- [14] 林帆,董良,王伟明,等. eIF4E 在肿瘤中的生物学功能及靶向治疗的研究现状[J]. *医学综述*, 2017, 23(8):1485-1489, 1495.
- [15] 李茉莉. 鼻咽癌患者的 MKK4、MACC1、p-IRE1 蛋白表达水平及其临床意义研究[J]. *实验与检验医学*, 2019, 37(1):23-26.

(收稿日期:2020-02-11,修回日期:2020-03-23)

引用本文:汪卫兵,孙爱娇,徐煌,等. 右美托咪定平均有效剂量及 95% 有效剂量的测定对预防学龄前期儿童麻醉苏醒期躁动的意义[J]. *安徽医药*, 2022, 26(5):1034-1038. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.044.

◇ 药物与临床 ◇



右美托咪定平均有效剂量及 95% 有效剂量的测定对预防学龄前期儿童麻醉苏醒期躁动的意义

汪卫兵,孙爱娇,徐煌,余红平,肖敬波

作者单位:安庆市立医院麻醉科,安徽 安庆 246003

通信作者:孙爱娇,女,副主任医师,研究方向为心血管重症医学临床治疗, Email: sunaijiao19781007@126.com

摘要: 目的 探讨右美托咪定平均有效剂量(ED50)及 95% 有效剂量(ED95)测定对预防学龄前期儿童行扁桃体和(或)腺样体切除术麻醉苏醒期躁动的意义。方法 选取 2019 年 8—12 月安庆市立医院拟在全身麻醉下行扁桃体和(或)腺样体切除术的学龄前期患儿 60 例,均为美国麻醉医师协会(ASA) I ~ II 级,第一例患儿完成气管插管后,采用右美托咪定 $0.6 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 持续静脉输注,直到手术结束停止输注。根据 Dixon 序贯法,若患儿发生苏醒期躁动则为无效剂量,则下一例患儿采用高一剂量,若患儿未发生苏醒期躁动则为有效剂量,则下一例患儿采用低一级剂量,相邻剂量相差 $0.05 \mu\text{g}$ 。儿童苏醒期躁动采用儿童术后躁动评分量表(PAED),PAED ≥ 12 分定义为麻醉苏醒期躁动。结果 根据 Dixon-Massey 公式计算,右美托咪定用于预防学龄前期儿童苏醒期躁动的 ED50 为 $0.41 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (95% CI: 0.38~0.44),利用 Probit 回归预测其 ED95 为 $0.57 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (95% CI: 0.52~0.70)。所有患儿未发生镇静时间延长、呼吸抑制及拔管时间延迟等并发症,心动过缓是主要并发症。结论 对于预防学龄前期儿童苏醒期躁动,合适的右美托咪定剂量非常重要。ED50 和 ED95 测定能有效预防学龄前期儿童苏醒期躁动,而且未出现类似成人的并发症。

关键词: 右美托咪定; 平均有效量; 扁桃体切除术; 全身麻醉; 儿童,学龄前