引用本文:张晶,安秀英,胡锋超.微小核糖核酸-200b-3p、血管内皮生长因子A在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其与复发转移相关性[J].安徽医药,2022,26(10):1954-1959.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.011.**
◇临床医学◇

微小核糖核酸-200b-3p、血管内皮生长因子A在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其与复发转移相关性

张晶[a],安秀英[b],胡锋超[b]
作者单位:河北省退役军人总医院,[a]肿瘤内科,[b]病理科,河北 邢台054000
基金项目:邢台市科技计划项目(2018ZC127)

摘要: 目的 探讨食管鳞状细胞癌组织中微小核糖核酸-200b-3p(miR-200b-3p)、血管内皮生长因子A(VEGFA)表达及其与复发转移的关系。**方法** 回顾性收集2013年12月至2015年12月于河北省退役军人总医院经手术切除且经组织病理证实的95例食管鳞状细胞癌病人的食管鳞状细胞癌组织及相应的癌旁正常组织。采用实时荧光定量PCR法检测组织中miR-200b-3p、VEGFA mRNA表达,采用免疫组化法检测组织中VEGFA表达。采用Pearson检验分析食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达的相关关系;随访5年,采用Kaplan-Meier法分析食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达与病人复发转移的关系,采用Cox比例风险模型分析影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的危险因素。**结果** 与癌旁正常组织比较,食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达水平明显降低[(1.00±0.24)比(0.67±0.18),$P<0.05$],VEGFA mRNA和VEGFA阳性率明显升高[(1.01±0.26)比(1.92±0.50)、(17.89%)比(78.95%),$P<0.05$]。食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达呈负相关($r=-0.39$,$P<0.05$)。与非复发转移组比较,复发转移组病人食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达水平明显降低[(0.78±0.20)比(0.53±0.14),$P<0.05$],VEGFA阳性率明显升高[(67.92%)比(92.86%),$P<0.05$]。食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达与病人组织分化程度、TNM分期有关($P<0.05$)。miR-200b-3p低表达者5年复发转移率(55.56%)明显高于高表达者(34.00%)($P<0.05$),VEGFA高表达者5年复发转移率(55.17%)明显高于低表达者(27.03%)($P<0.05$)。组织分化程度、miR-200b-3p低表达、VEGFA高表达是影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达下调,VEGFA表达上调,二者均可作为评定病人复发转移的临床参考指标。
关键词: 食管肿瘤; 癌,鳞状细胞; 血管内皮生长因子; 微小核糖核酸-200b-3p; 复发转移; 相关性

Expression of microRNA-200b-3p and vascular endothelial growth factor A in esophageal squamous cell carcinoma tissue and their correlation with recurrence and metastasis

ZHANG Jing[a],AN Xiuying[b],HU Fengchao[b]
Author Affiliation:[a]*Department of Medical Oncology,* [b]*Department of Pathology, Hebei General Hospital for Veterans, Xingtai,Hebei* 054000*, China*

Abstract: Objective To investigate the expression of microRNA-200b-3p (miR-200b-3p) and vascular endothelial growth factor A (VEGFA) in esophageal squamous cell carcinoma tissue and their relationship with recurrence and metastasis.**Methods** Esophageal squamous cell carcinoma tissue and corresponding adjacent normal tissue surgically resected and confirmed by histopathology of 95 patients, who were admitted to Hebei General Hospital for Veterans from December 2013 to December 2015, were collected retrospectively. The expressions of miR-200b-3p and VEGFA mRNA were detected by real-time fluorescence quantitative PCR, and the expression of VEGFA was detected by immunohistochemistry. Pearson test was used to analyze the correlation between miR-200b-3p and VEGFA mRNA expressions in patients with esophageal squamous cell carcinoma. After 5 years of follow-up, Kaplan-Meier method was used to analyze the relationship between the expressions of miR-200b-3p and VEGFA and the recurrence and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma; Cox proportional risk model was used to analyze the risk factors of recurrence and metastasis in patients with esophageal squamous cell carcinoma.**Results** Compared with normal adjacent tissues, miR-200b-3p expression level in esophageal squamous cell carcinoma tissues was significantly decreased [(1.00±0.24) *vs.* (0.67±0.18); $P<0.05$], VEGFA mRNA and VEGFA positive rates were significantly increased [(1.01±0.26) *vs.* (1.92±0.50), 17.89% *vs.* 78.95%; $P<0.05$]. There was a negative correlation between miR-200b-3p and VEGFA mRNA expressions in patients of esophageal squamous cell carcinoma ($r=-0.39$, $P<0.05$). Compared with non-recurrent metastasis group, the expression level of miR-200b-3p in recurrent metastasis group was significantly decreased [(0.78±0.20) *vs.* (0.53±0.14); $P<0.05$] , and the positive rate of VEGFA was significantly increased (67.92% *vs.* 92.86%;$P<0.05$). The expressions of miR-200b-3p and VEGFA in esophageal squamous cell carcinoma tissue was related to the degree of tissue differentiation and TNM staging (P<0.05). The 5-year recurrence and metastasis rateof patients with low expression of miR-200b-3p was significantly higher than that of patients with high expression(55.56% *vs.* 34.00%, P<0.05); the 5-year recurrence and metastasis rate of high expression of VEGFA was significantly higher than that of patients with low expression(55.17% *vs.* 27.03%, P<0.05). Tissue differentiation, low expression of miR-200b-3p and high expression of VEGFA were independent risk factors for recurrence and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (P<0.05).**Conclusion** The expression of miR-200b-3p was down regulated and the expression of VEGFA was up-regulated in esophageal squamous cell carcinoma tissue, both of which can be used as clinical reference indexes to evaluate the recurrence and metastasis of the disease.

Key words: Esophageal neoplasms; Carcinoma,squamous cell; Vascular endothelial growth factor; microRNA-200b-3p; Recurrence and metastasis; Correlation

食管鳞状细胞癌是发生在食管鳞状上皮的一种恶性肿瘤,病死率高,据统计,食管癌根治性手术治疗后,局部复发率仍在25%~60%[1-2]。目前,组织分化程度和TNM分期是临床医师判断食管鳞状细胞癌病人预后的主要指标,但临床常有预后与分期不符的现象[3-4]。因此,在分子水平上寻找敏感、特异的预后指标,提供个体化的预后信息,具有重要的临床意义。为了提高病人生存质量和生存时间,改善病人预后,寻找与食管鳞状细胞癌复发转移相关的分子标志物非常重要。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是迄今为止发现的特异性最高、作用最强的血管生长因子,其主要家族成员为血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA),生物学作用是促进血管内皮细胞增殖,诱导新生血管形成和增加血管的通透性,参与食管鳞状细胞癌发生、发展[5-6]。微小核糖核酸-200b-3p(microRNA-200b-3p, miR-200b-3p)属于微小核糖核酸(microRNA, miRNA),可参与细胞分化、代谢等生理病理过程。研究发现miR-200b-3p可通过靶向下调VEGFA表达,在胰腺癌细胞增殖、迁移等过程中发挥抑制作用[7]。但二者是否共同参与食管鳞状细胞癌病人复发转移,目前尚不清楚。因此,本研究通过检测食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达,并结合临床病理特征及随访资料,分析二者表达与病人复发转移的关系,为制定个体化治疗策略及改善食管鳞状细胞癌病人预后提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集2013年12月至2015年12月在河北省退役军人总医院接受手术切除且经组织病理证实的95例食管鳞状细胞癌病人为研究对象,收集食管鳞状细胞癌组织及相应的癌旁正常组织(距癌组织>5 cm,经HE染色显示无癌细胞浸润)。其中男性48例,女性47例;年龄(63.61±3.70)岁;按TNM分期标准[8] ⅠA~ⅡB期14例,ⅢA~ⅣA期81例;浸润深度T1~T2期28例,T3~T4期67例;肿瘤高分化15例,中低分化80例;有淋巴结转移46例,无淋巴结转移49例。纳入标准:病人在术前均为初治,均未有放化疗等抗肿瘤治疗且无手术禁忌;病人经病理诊断证实为食管鳞状细胞癌;均为R0切除病人;资料完整。排除标准:术后病理证实为高级别上皮内瘤变的病人;合并有其他恶性肿瘤者;合并患有心脏病、肝病、高血压等疾病者;随访资料缺失。

1.2 方法

1.2.1 miR-200b-3p、VEGFA mRNA表达情况检测 采用实时荧光定量PCR法检测各组织中miR-200b-3p、VEGFA mRNA表达,按照TRIzoI试剂盒(上海杰美基因医药科技有限公司)提取食管鳞状细胞癌及相应癌旁组织中总RNA,反转录得cDNA后进行扩增。miR-200b-3p正向引物:5′-GCCGCTAATACTGCCTGGTAATG-3′,反向引物:5′-GTGCAGGGTTCCGAGGT-3′;内参U6正向引物:5′-GCTTCGGCAGCACATATACTAA-3′,反向引物:5′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3′。VEGFA mRNA正向引物:5′-CGCTTCGGCAGCACATATAC-3′,反向引物:5′-AGGGGCCATGCTAATCTTCT-3′;内参GAPDH正向引物:5′-ACAACTTTGGTATCGTGGAAGG-3′,反向引物:5′-GCCATCACGCCACAGTTTC-3′。反应条件为:95 ℃、5 min,95 ℃、30 s,60 ℃、30 s,一共进行40个循环。重复3次,miR-200b-3p、VEGFA mRNA相对表达量以$2^{-\Delta\Delta Ct}$公式进行计算。本研究以miR-200b-3p相对表达量<均值者45例为低表达,≥均值者50例为高表达。

1.2.2 VEGFA表达情况检测 采用免疫组化法检测各组织中VEGFA表达情况。各组织标本固定后,石蜡包埋、切片,厚度约4 μm,展片后于60 ℃烘烤1 h;切片经常规二甲苯脱蜡,无水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、70%乙醇水化;然后石蜡切片采用枸橼酸钠缓冲液煮沸18 min进行抗原热修复;再滴加3%过氧化氢于室温孵育10 min,以阻断内源性过氧化物酶;而后经磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗3 min×3次,滴加1%牛血清白蛋白,孵育30 min封闭非特异性结合位点;吸弃封闭液(阴性对

照除外),然后滴加兔抗人VEGFA抗体,置于4 ℃冰箱过夜;取出切片经PBS冲洗5 min×3次,加入生物素标记的二抗,室温孵育40 min;再经PBS冲洗切片5 min×3次,DAB显色,10%苏木素进行复染;将切片置入70%乙醇、85%乙醇、95%乙醇、无水乙醇梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,于光学显微镜下观察拍照。

1.2.3 免疫组化染色结果判定[9] 每张染色切片结果均由两名病理医师进行结果判定。以细胞质或细胞核呈棕黄色颗粒为阳性显色。VEGFA由染色强度和阳性细胞百分比来进行评分。①细胞染色强度评分标准:0分(无染色),1分(弱阳性,浅黄色),2分(中阳性,棕黄色),3分(强阳性,棕褐色)。②阳性细胞百分比评分标准:0分(阳性细胞数<5%),1分(5%~25%),2分(26%~50%),3分(51%~75%),4分(>75%)。染色强度与阳性细胞百分比评分乘积为染色指数(staining index,SI),SI<3分为阴性,SI=3为弱阳性,3<SI<6为中阳性,SI≥6为强阳性。本研究以阴性和弱阳性为低表达,以中阳性和强阳性为高表达。

1.2.4 随访 所有病人均有完整的随访资料,对所有治疗出院后的病人进行复查或电话随访,每月1次,随访时间为5年,末次随访时间截至2020年12月31日,统计并记录病人复发转移情况。随访期间,发生复发转移42例(复发转移组)、未发生复发转移病人53例(非复发转移组)。

1.3 统计学方法 运用统计学软件SPSS 19.0对数据进行处理。计数资料以例(%)表示,采用χ^2检验或校正χ^2检验;计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,采用独立样本t检验或校正t检验。采用Pearson检验分析食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达的相关关系;采用Kaplan-Meier法分析食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达与病人复发转移的关系,采用Cox比例风险模型分析影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的危险因素。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管鳞状细胞癌组织与癌旁正常组织miR-200b-3p、VEGFA表达情况比较 食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达水平明显低于癌旁正常组织(P<0.05);VEGFA mRNA和VEGFA阳性率明显高于癌旁正常组织(P<0.05)。见表1,图1。

2.2 食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达的相关性 食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达呈负相关(r=−0.39,P<0.001)。见图2。

表1 食管鳞状细胞癌组织与癌旁正常组织miR-200b-3p、VEGFA表达情况

组别	例数	miR-200b-3p/$\bar{x} \pm s$	VEGFA mRNA/$\bar{x} \pm s$	VEGFA阳性率/例(%)
食管鳞状细胞癌组织	95	0.67±0.18	1.92±0.50	75(78.95)
癌旁正常组织	95	1.00±0.24	1.01±0.26	17(17.89)
$t(\chi^2)$值		10.72	15.74	(70.89)
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:miR-200b-3p为微小核糖核酸-200b-3p,VEGFA为血管内皮生长因子A。

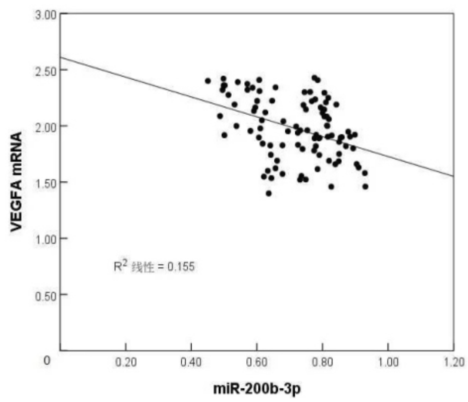

图2 食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达相关性

2.3 复发转移组与非复发转移组病人食管鳞状细胞癌组织miR-200b-3p、VEGFA表达情况比较 复发转移组病人食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达水平(0.53±0.14)明显低于非复发转移组(0.78±0.20)(t=6.87,P<0.001),VEGFA阳性率[92.86%(39/42)]明显高于非复发转移组[67.92%(36/53)](χ^2=8.76,P<0.05)。

2.4 miR-200b-3p、VEGFA表达与食管鳞状细胞癌病人临床病理参数的关系 食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达与病人年龄、性别、淋巴结转移、浸润深度无关(P>0.05),与病人组织分化程度、TNM分期有关(P<0.05)。见表2。

2.5 食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达与病人复发转移的关系 95例食管鳞状细胞癌病人5年内复发转移率为44.21%(42/95)。Kaplan-Meier曲线显示,miR-200b-3p低表达者5年复发转移率(55.56%)明显高于高表达者(34.00%)(χ^2=4.46,P=0.035);VEGFA高表达者5年复发转移率(55.17%)明显高于低表达者(27.03%)(χ^2=7.26,P=0.007)。见图3。

2.6 影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的危险因素 单因素分析显示,组织分化程度、TNM分期、miR-200b-3p低表达、VEGFA高表达均是影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的危险因素(P<0.05)。多

表2 miR-200b-3p、VEGFA表达与食管鳞状细胞癌病人临床病理参数的关系/例(%)

临床资料	例数	miR-200b-3p		χ^2值	*P*值	VEGFA		χ^2值	*P*值
		低表达(*n*=45)	高表达(*n*=50)			低表达(*n*=37)	高表达(*n*=58)		
年龄				0.15	0.694			1.17	0.280
<60岁	25	11(44.00)	14(56.00)			12(48.00)	13(52.00)		
≥60岁	70	34(48.57)	36(51.43)			25(35.71)	45(64.29)		
性别				0.51	0.475			0.30	0.583
男	48	21(43.75)	27(56.25)			20(41.67)	28(58.33)		
女	47	24(51.06)	23(48.94)			17(36.17)	30(63.83)		
组织分化程度				5.35	0.021			5.76	0.016
高	15	3(20.00)	12(80.00)			10(66.67)	5(33.33)		
中低	80	42(52.50)	38(47.50)			27(33.75)	53(66.25)		
淋巴结转移				3.00	0.083			0.65	0.420
有	46	26(56.52)	20(43.48)			16(34.78)	30(65.22)		
无	49	19(38.78)	30(61.22)			21(42.86)	28(57.14)		
TNM分期				7.21	0.007			4.43	0.035
ⅠA~ⅡB期	14	2(14.29)	12(85.71)			9(64.29)	5(35.71)		
ⅢA~ⅣA期	81	43(53.09)	38(46.91)			28(34.57)	53(65.43)		
浸润深度				2.16	0.141			0.93	0.334
T1~T2期	28	10(35.71)	18(64.29)			13(46.43)	15(53.57)		
T3~T4期	67	35(52.24)	32(47.76)			24(35.82)	43(64.18)		

注:miR-200b-3p为微小核糖核酸-200b-3p,VEGFA为血管内皮生长因子A。

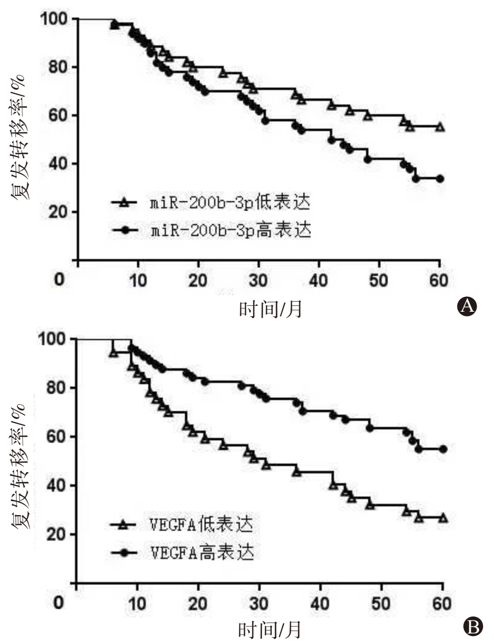

图3 食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p、VEGFA表达与病人复发转移的关系

因素分析显示,组织分化程度、miR-200b-3p低表达、VEGFA高表达是影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

3 讨论

食管癌是一种常见的、病死率高的恶性肿瘤,对人类生命健康造成严重威胁。我国食管癌死亡率位居第4位,其中90%是食管鳞状细胞癌,5年相对生存率低于40%。目前,组织分化程度和TNM分期是临床医师判断食管鳞状细胞癌病人预后的主要指标,但据不完全统计,当前约60%的病人临床分期与术后病理分期不符,存在一定的局限性[10]。因此寻找敏感、特异的分子预后指标,针对不同病人选择合适的个体化治疗方案,能提高远期生存率,同时还保证病人有较高的生活质量,对于临床及科学研究工作都有重大意义[11]。

表3 影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的危险因素分析

变量	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%*CI*	*P*值	*HR*	95%*CI*	*P*值
组织分化程度(中低比高)	2.55	(1.14,5.71)	0.023	3.01	(1.37,6.64)	0.006
TNM分期(ⅢA~ⅣA期比ⅠA~ⅡB期)	2.97	(1.15,7.63)	0.024	1.25	(0.69,2.25)	0.468
miR-200b-3p(低表达比高表达)	2.75	(1.11,6.81)	0.028	3.01	(1.35,6.74)	0.007
VEGFA(高表达比低表达)	2.90	(1.14,7.35)	0.025	2.93	(1.33,6.44)	0.008

注:miR-200b-3p为微小核糖核酸-200b-3p,VEGFA为血管内皮生长因子A。

VEGFA作为一种重要的血管新生诱导剂,主要生物学作用是促进血管内皮细胞增殖,诱导新生血管形成和增加血管的通透性,引起肿瘤细胞生长和转移,从而导致放疗的失败[12]。孙文泽等[13]研究表明,VEGF在食管鳞状细胞癌中高表达,并与食管鳞状细胞癌淋巴转移及TNM分期等临床病理特征密切相关。翁小坤等[14]研究表明,下调VEGFA对食管

癌细胞增殖有抑制作用。此外,Shen 等[15]研究指出,肌动蛋白纤维相关蛋白1-反义RNA1下调通过调控miR-498/VEGFA轴阻碍食管鳞状细胞癌细胞增殖和迁移,可作为诊断和治疗食管鳞状细胞癌的新型生物标志物。但VEGFA与食管鳞状细胞癌病人预后的关系研究较少。本研究结果显示,食管鳞状细胞癌组织中VEGFA mRNA和VEGFA阳性率远高于癌旁正常组织,其表达与病人组织分化程度、TNM分期有关,提示VEGFA可能与食管鳞状细胞癌发生、发展有一定的关联。进一步研究发现,复发转移组病人食管鳞状细胞癌组织中VEGFA阳性率远高于复发转移组,且Kaplan-Meier曲线显示VEGFA高表达者5年复发转移率远高于低表达者,提示VEGFA可能与食管鳞状细胞癌病人复发转移存在一定联系,其高表达可能对病人复发转移具有一定的提示作用。此外,Cox分析发现,VEGFA高表达是影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的独立危险因素,提示检测VEGFA可能有利于判断食管鳞状细胞癌病人复发转移情况。

miRNA是一种非编码RNA,其主要作用是在转录或转录后水平调控基因表达。研究发现miRNA与肿瘤发生和转移均有关[16-17]。miR-200b-3p是一种研究较多的miRNA,在结直肠癌、肝细胞癌等多种恶性肿瘤中发挥抑癌作用,其高表达可抑制肿瘤发生及转移[18-19]。但miR-200b-3p在食管鳞状细胞癌发生及复发转移中的作用尚不明确。因此,本研究采用实时荧光定量PCR法检测组织中miR-200b-3p表达,结果发现食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达水平远低于癌旁正常组织,其表达与病人组织分化程度、TNM分期有关,提示miR-200b-3p可能在食管鳞状细胞癌的发生发展中发挥重要作用,其具体的分子机制仍需进一步研究。进一步研究发现,复发转移组病人食管鳞状细胞癌组织中miR-200b-3p表达水平远低于非复发转移组,且Kaplan-Meier曲线显示miR-200b-3p低表达者5年复发转移率远高于高表达者,提示miR-200b-3p低表达可能与食管鳞状细胞癌病人复发转移有关。此外,Cox分析发现,miR-200b-3p低表达是影响食管鳞状细胞癌病人复发转移的独立危险因素,提示miR-200b-3p表达可能作为评估食管鳞状细胞癌病人复发转移的参照指标之一。

李庆贺等[7]研究报道,miR-200b-3p可通过靶向下调VEGFA表达参与胰腺癌发生、发展。但miR-200b-3p与VEGFA相互作用与食管鳞状细胞癌发生及病人预后的关系尚不清楚。本研究Pearson检验分析发现,食管鳞状细胞癌病人miR-200b-3p与VEGFA mRNA表达呈负相关,提示miR-200b-3p可能通过调控VEGFA参与食管鳞状细胞癌发生、发展,具体作用机制在今后需深入探讨。

综上所述,miR-200b-3p在食管鳞状细胞癌组织中表达下调,VEGFA表达上调,二者表达与病人组织分化程度、TNM分期有关,且二者均可能作为评估病人复发转移的临床指标。但miR-200b-3p、VEGFA在食管鳞状细胞癌发生、复发转移及预后中的具体作用机制,后期仍需进一步研究探讨。

(本文图1见插图10-2)

参考文献

[1] 宋雷雷,徐广峰,谢晖,等.食管鳞状细胞癌组织中miRNA-29a、miRNA-29b、miRNA-29c、VEGF-A表达变化及其相关性[J].山东医药,2017,57(45):1-4.

[2] CHEN M, XIA Y, TAN Y, et al. Downregulation of microRNA-370 in esophageal squamous-cell carcinoma is associated with cancer progression and promotes cancer cell proliferation via upregulating PIN1[J]. Gene, 2018, 661(1):68-77.

[3] 刘新波,康富标,曹娜娜,等.B7-H3分子表达与食管癌复发转移的相关性研究[J].解放军医药杂志,2019,31(10):23-26.

[4] LIN DC, WANG MR, KOEFFLER HP. Genomic and epigenomic aberrations in esophageal squamous cell carcinoma and implications for patients[J]. Gastroenterology, 2018, 154(2):374-389.

[5] MOHAMMADI F, JAVID H, AFSHARI AR, et al. Substance P accelerates the progression of human esophageal squamous cell carcinoma via MMP-2, MMP-9, VEGF-A, and VEGFR1 overexpression[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(6):4263-4272.

[6] KUMAGAI Y, TACHIKAWA T, HIGASHI M, et al. Chondromodulin-1 and vascular endothelial growth factor-A expression in esophageal squamous cell carcinoma: accelerator and brake theory for angiogenesis at the early stage of cancer progression[J]. Esophagus, 2020, 17(2):159-167.

[7] 李庆贺,刘慧纯,张家耀,等.miR-200b-3p下调VEGFA调控胰腺癌细胞增殖,侵袭,迁移和凋亡的分子机制研究[J].国际肿瘤学杂志,2019,46(11):649-656.

[8] 袁勇,陈龙奇.AJCC第八版食管癌分期系统更新解读[J].中华外科杂志,2017,55(2):109-113.

[9] 毕然,高立明,刘立杰,等.人核受体nr5a2和GPC3在胃癌组织中的表达及其临床意义[J].临床肿瘤学杂志,2015,20(12):1093-1098.

[10] 刘涛,郭建极,周华富,等.食管鳞状细胞癌患者复发转移与外周血循环肿瘤细胞的关系[J].中华实验外科杂志,2017,34(2):311-313.

[11] CONG QX, LI G, WANG YF, et al. DW-MRI for esophageal squamous cell carcinoma, correlations between ADC values with histologic differentiation and VEGF expression: a retrospective study[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):2770-2776.

[12] 吴旻,陆艳荣,张瑾熔.AGGF1和HIF-1α及VEGF表达与食管鳞癌放疗预后相关性研究[J].中华肿瘤防治杂志,2016,23(17):1159-1164.

[13] 孙文泽,苏进,施璠,等.EGFR与VEGF在食管鳞癌组织中的

表达及其与疗效的关系[J]. 现代肿瘤医学，2019，27(6)：981-985.
[14] 翁小坤，胡莉钧，孙菲，等. 下调血管内皮生长因子A对食管癌ECA-109细胞的辐射增敏作用[J]. 中华放射医学与防护杂志，2020，40(11)：813-819.
[15] SHEN W，YU L，CONG A，et al. Silencing lncRNA AFAP1-AS1 inhibits the progression of esophageal squamous cell carcinoma cells via regulating the miR-498/VEGFA axis[J]. Cancer Manag Res，2020，12(1)：6397-6409.
[16] MATUSZCAK C，LINDNER K，EICHELMANN AK，et al. microRNAs：key regulators of chemotherapy response and metastatic potential via complex control of target pathways in esophageal adenocarcinoma[J]. Surg Oncol，2018，27(3)：392-401.
[17] LI CY，ZHANG WW，XIANG JL，et al. Identification of microRNAs as novel biomarkers for esophageal squamous cell carcinoma：a study based on The Cancer Genome Atlas（TCGA）and bioinformatics[J]. Chin Med J（Engl），2019，132(18)：2213-2222.
[18] CHEN L，WANG X，ZHU Y，et al. miR-200b-3p inhibits proliferation and induces apoptosis in colorectal cancer by targeting Wnt1[J]. Mol Med Rep，2018，18(3)：2571-2580.
[19] MOH-MOH-AUNG A，FUJISAWA M，ITO S，et al. Decreased miR-200b-3p in cancer cells leads to angiogenesis in HCC by enhancing endothelial ERG expression[J]. Sci Rep，2020，10(1)：10418-10420.

（收稿日期：2021-05-31，修回日期：2021-08-23）

引用本文：李楠，张倩，杨国庆，等. 肾上腺静脉取血联合高效液相色谱-串联质谱法分析肾上腺激素代谢谱在原发性双侧肾上腺大结节增生诊断中的应用[J]. 安徽医药，2022，26(10)：1959-1963. **DOI：10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.012.**

◇临床医学◇

肾上腺静脉取血联合高效液相色谱-串联质谱法分析肾上腺激素代谢谱在原发性双侧肾上腺大结节增生诊断中的应用

李楠[1]，张倩[2]，杨国庆[3]，吕朝晖[3]，裴育[3]，李春霖[1]，谢雯春[4,5]，王凯[5]
作者单位：[1]中国人民解放军总医院第二医学中心内分泌科，北京100853；[2]中国人民解放军总医院第七医学中心老年医学科，北京100700；[3]中国人民解放军总医院第一医学中心内分泌科，北京100853；[4]中国科学院生物物理研究所，北京100101；[5]广东中科康仪生物技术有限公司，广东 佛山528000
通信作者：裴育，女，副主任医师，研究方向为内分泌代谢疾病的临床和基础，Email：baby.toe@163.com；李春霖，女，主任医师，博士生导师，研究方向为老年内分泌代谢疾病的临床及基础研究，Email：lichunlin301@163.com
基金项目：海南省自然科学基金青年基金项目（819QN374）

摘要： **目的** 探讨肾上腺静脉取血联合高效液相色谱-串联质谱法分析肾上腺激素代谢谱在原发性双侧肾上腺大结节增生中的作用。**方法** 对1例2019年7月于解放军总医院第一医学中心内分泌科就诊的双侧肾上腺占位病人进行临床分析，行内分泌激素检查、影像学分析、肾上腺静脉取血等，通过高效液相色谱-串联质谱法测定肾上腺局部和外周血肾上腺激素代谢谱情况。**结果** 病人血清皮质醇水平轻度升高，促肾上腺皮质激素水平低，小剂量地塞米松抑制试验未被抑制，肾上腺静脉取血得到的肾上腺局部促肾上腺皮质激素水平高于外周血，同时肾上腺激素代谢谱测定分析提示肾上腺局部类固醇激素水平升高，而周围血正常水平。**结论** 肾上腺静脉取血联合高效液相色谱-串联质谱法分析肾上腺激素代谢谱在双侧肾上腺大结节增生的诊断、治疗指导和病因学研究中有一定的帮助。
关键词： 肾上腺疾病； 库欣综合征； 肾上腺静脉取血； 高效液相色谱-串联质谱法（HPLC-MS）； 原发性双侧肾上腺大结节增生； 促肾上腺皮质激素； 醛固酮

Analysis of adrenal hormone profiling by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with adrenal vein sampling in the diagnosis of primary bilateral adrenal macronodular hyperplasia

LI Nan[1],ZHANG Qian[2],YANG Guoqing[3],LYU Zhaohui[3],PEI Yu[3],LI Chunlin[1],XIE Wenchun[4,5],WANG Kai[5]
Author Affiliations:[1]*Department of Endocrinology, The Second Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing* 100853, *China;*[2]*Department of Geriatircs, The Seventh Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing* 100700, *China;*[3]*Department of Endocrinology, The First Medical Center of*