文章编号:1000-5404(2013)19-2051-05

论著

肺结核患儿外周血单个核细胞中 microRNA 表达的初步研究

杨先涛,张祯祯,詹 学,朱朝敏 (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院感染科,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿科学重庆市重点实验室,重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地)

[摘要] **目的** 探讨肺结核患儿与健康儿童外周血单核细胞中 microRNA 表达水平的差异及在儿童肺结核中的诊断价值。**方法** 提取肺结核及健康儿童外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC)中 RNA,进行 microRNA 芯片检测,筛选出差异表达的 microRNA,并用实时荧光定量 PCR 进行验证,运用 t 检验对结果进行分析,对目标 microRNA 进行生物信息学初步分析。**结果** 通过 microRNA 芯片检测到 21 个差异表达的 microRNA,15 个表达上调,6 个表达下调,最终选取 6 个 microRNA(hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-144、hsa-miR-342-5p、hsa-miR-31、hsa-miR-33a、hsa-miR-142-3p)。经实时荧光定量 PCR 验证,与正常组相比,肺结核患儿 PBMC 中 hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-144 表达上调($P<0.05$),hsa-miR-342-5p、hsa-miR-31 表达下调($P<0.05$)。生物信息学初步分析提示 4 种 microRNA 在结核与宿主细胞相互作用的相关信号通路中可能有发挥一定的作用。**结论** 与成人肺结核中 microRNA 表达相比,儿童肺结核有其特异表达的 microRNA,并可能参与结核病发生、发展的相关的一些信号通路,可作为儿童肺结核潜在的诊断价值。

[关键词] 儿童;肺结核;microRNA;诊断;外周血单个核细胞
[中图法分类号] R392.12; R446.9; R529.9 [文献标志码] A

microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from pulmonary tuberculosis children

Yang Xiantao, Zhang Zhenzhen, Zhan Xue, Zhu Chaomin (Department of Infectious Diseases, Key Laboratory of Child Development and Disorders of Ministry of Education, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression differences of microRNAs in the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) between children with pulmonary tuberculosis (PTB) and healthy controls in order to evaluate the potential value of microRNAs in PTB diagnosis. **Methods** Total RNAs were extracted from the PBMCs derived from the blood of PTB children and healthy controls. Human microarrays were employed to screen the microRNAs that were differently expressed, and then RT-qPCR was carried out to qualify the expression levels. Students' t-test was applied to screen out the microRNAs with deferential expression levels. Bioinformatics analysis was performed to understand microRNA-mRNA interaction network. **Results** Analysis of expression profiles showed that the expression of 21 microRNAs was significantly altered in the PBMCs from PTB children compared with healthy control. Among them, 15 microRNAs were up-regulated and 6 were down-regulated. RT-qPCR indicated that among the 6 microRNAs we chose (hsa-miR-193a-3p, hsa-miR-144, hsa-miR-342-5p, hsa-miR-31, hsa-miR-33a and hsa-miR-142-3p), hsa-miR-193a-3p and hsa-miR-144 were upregulated ($P<0.05$), while hsa-miR-342-5p and hsa-miR-31 were downregulted in the PTB children ($P<0.05$). Bioinformatics analysis showed that these 4 microRNAs played certain roles in the signalling circuits in molecular interaction networks interactional signal pathway networks between PTB and the host cells. **Conclusion** Compared with adult tuberculosis microRNA expressions, childhood pulmonary tuberculosis shows some different performances and has some correlations with some signaling pathway and these microRNAs might be considered as potential biomarkers of childhood PTB diagnosis.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81071406)
[通信作者] 朱朝敏,电话:(023)63624014,E-mail:zhuchaomin2013@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130902.1130.001.html(2013-09-02)

[**Key words**] children; pulmonary tuberculosis; microRNA; diagnosis; peripheral blood mononuclear cells

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81071406). Corresponding author: Zhu Chaomin, Tel: 86-23-68484014, E-mail: zhuchaomin2013@163.com

结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis, MTB)感染所致的结核病是威胁人类健康的重大公共卫生问题,也是全球致死性疾病之一[1]。2011年全球870万人感染了结核病,约140万人死亡[2]。儿童结核在整个结核病的流行中约占10%[3]。相对于成人来说,儿童结核病有其自身的特点,在结核的免疫学发病机制、临床表现和转归,特别是流行病学的研究中具有特殊的重要价值。临床上儿童结核表现往往不典型,诊断方法局限,早期诊断困难,因此亟待寻找新的分子标志物用于结核早期诊断。

microRNA是一类长度仅有23 nt的非编码单链内源性小分子RNA,能够通过与靶mRNA特异性的碱基配对引起靶mRNA的降解或者抑制其翻译,从而对基因进行转录后表达的调控[4]。多项研究发现,microRNA在疾病发生、发展中具有重要的调节作用[5-7]。已有研究发现了一批在结核杆菌与宿主相互作用中特异表达并发挥相关调节作用的microRNA[8-13]。但迄今为止,尚少见与儿童结核病相关的microRNA的研究。由于儿童在初染结核后的免疫反应与成人的差别,故在感染后发病快,进展迅速,而且结核表现不典型。由此我们推断,儿童结核感染后,与成人有不同的microRNA的表达。本研究应用Agilent表达谱芯片,通过生物信息学方法分析和鉴定儿童肺结核患者外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)特异性microRNA,应用实时荧光定量PCR进行验证,并评估其作为生物标志物的准确性和可行性,旨在为外周血microRNA作为生物标志物用于儿童肺结核的临床诊断提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2012年4-7月于重庆医科大学附属儿童医院感染科临床确诊为肺结核的0~8岁的患儿6例作为实验组,平均年龄2.5岁,实验组信息见表1。临床诊断标准依据2006年《儿童肺结核的临床诊断标准和治疗方案》[14]。对照组来源为9例4~7岁门诊进行健康体检的儿童,近期无结核接触史,无感染史。经伦理委员会批准,征得家长同意之后,抽取静脉血2 mL用于实验研究。

1.2 方法

1.2.1 RNA提取 提取PBMC(细胞数$>1\times10^6$),每管加入1 mL Trizol,用枪头将管底细胞团吹打至溶液澄清,冰上静置5 min充分反应。每管加入200 μL氯仿,上下剧烈颠倒混匀,静置分层,4 ℃ 12 000 r/min离心15 min。取上层水相550 μL,转移至无酶EP管中,加入等体积异丙醇,-20 ℃孵育20 min,4 ℃ 12 000 r/min离心15 min,可见管底白色片状沉淀,吸弃上层液体,加入1 mL 75%乙醇,轻弹管底,使沉淀悬浮,保存于-80 ℃,送至上海伯豪生物技术公司进行microRNA表达谱芯片实验。

1.2.2 芯片检测PBMC中microRNA的表达 提取的RNA经完整性、浓度及纯度检测合格后进行microRNA芯片表达谱检测。实验组每2个样本和对照组每3个样本通过简单随机化分为3组,每组3块芯片,于上海伯豪生物技术有限公司进行Agilent human microRNA芯片检测。对杂交后芯片扫描并读取数据,运用Gene Spring软件对数据进行归一化处理。

1.2.3 RT-qPCR验证 选取hsa-miR-144、hsa-miR-193a、hsa-miR-342-5p、hsa-miR-33a、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-31进行RT-qPCR验证。逆转录使用Oligo-dT引物,37 ℃,60 min,95 ℃,5 min反应。荧光定量PCR反应以U6为内参,反向为miScript通用引物,正向引物序列分别为hsa-miR-342-5p: 5′-AGGGGTGCTATCTGTGATTGA-3′, hsa-miR-193a-3p: 5′-AACTGGCCTACAAAGTCCCAGT-3′, hsa-miR-144: 5′-CGGCTACAGTATAGATGATGTACTAAA-3′, hsa-miR-33a: 5′-GTGCATTGTAGTTGCATTGCA-3′, hsa-miR-142-3p: 5′-TGTAGTGTTTCCTACTTTATGGAAA-3′, hsa-miR-31: 5′-AGGCAAGATGCTGGCATAG-3′, U6: 5′-TTCGTGAAGCGTTCCATATTTT-3′。扩增条件为:95 ℃,15 min,94 ℃,15 s, 55 ℃,30 s, 72 ℃,30 s, 40个循环。每样本均做3个平行复管,取其平均值分析,获得的各样本表达量均由标准曲线转换为相对定量值,管家基因U6表达量进行标准归一化处理。以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示每个microRNA的相对表达量。

1.2.4 靶基因预测及功能分析 通过microRNA靶标数据库TargetScan(http://www.targetscan.org/), miRanda(http://

表1 实验组样本信息

性别	年龄	临床表现	接触史	结核杆菌培养	连续3次胃液抗酸杆菌	结核菌素试验	CT	诊断
女	6个月	咳嗽、吼喘	有	-	+	+++	左肺节段性实变,见空洞影,纵隔及肺门淋巴结肿大	肺结核
男	8岁	发热、咳嗽、头痛、	无	-	-	++	纵隔淋巴结明显肿大	肺结核
男	2岁	发热	有	+	-	+	左肺实变,纵隔肺门淋巴结肿大	肺结核
男	2岁	发热、咳嗽	有	-	+	-	双肺广泛病变,伴纵隔肺门淋巴结肿大,坏死及部分钙化	肺结核
男	1个月	发热、口吐白沫	有	-	+	-	双肺广泛病变,左侧腋窝结节状软组织影	肺结核
男	3岁	咳嗽	有	-	-	++++	左肺病变伴肺内纵隔钙化影及左侧胸膜病变	肺结核

表 2 肺结核患儿 PBMC 特异性表达的 microRNA

microRNAs	FC	*P* 值	microRNAs	FC	*P* 值
hsa-miR-503[a]	37.373 676 31	0.026 807 224	hsa-miR-21 *[a]	3.092 358 539	0.019 547 813
hsa-miR-193a-3p[a]	14.737 397 42	0.002 135 512	hsa-miR-424[a]	2.673 046 621	0.025 163 178
hsa-miR-324-5p[a]	9.507 305 371	0.046 357 049	hsa-miR-29b[a]	2.445 516 163	0.001 863 385
hsa-miR-136[a]	7.128 404 148	0.033 679 443	hsa-miR-142-5p[a]	2.223 223 003	0.010 544 636
hsa-miR-33a[a]	5.060 027 176	0.003 664 341	hsa-miR-342-3p[b]	0.440 762 585	0.048 994 723
hsa-miR-141[a]	4.877 711 511	0.000 393 416	hsa-miR-150[b]	0.384 108 466	0.008 412 960
hsa-miR-17 *[a]	4.840 078 344	0.032 765 805	hsa-miR-342-5p[b]	0.316 720 642	0.005 942 255
hsa-miR-34a[a]	4.493 758 517	0.039 763 671	hsa-miR-564[b]	0.052 817 809	0.047 075 722
hsa-miR-144[a]	4.302 542 471	0.001 347 956	hsa-miR-95[b]	0.041 409 443	0.000 286 025
hsa-miR-32[a]	4.067 581 821	0.044 360 117	hsa-miR-31[b]	0.016 597 077	0.028 067 289
hsa-miR-142-3p[a]	3.751 994 813	0.005 011 450			

a：表达上调的 microRNA；b：表达下调的 microRNA

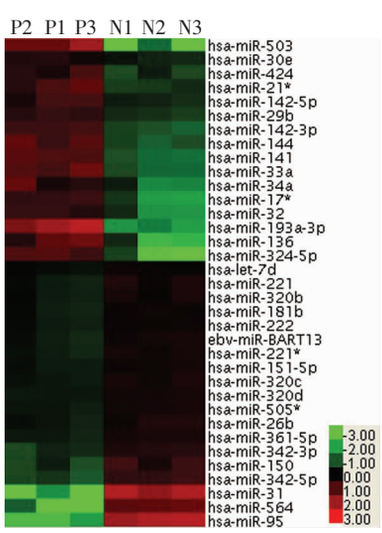
www.microrna.org/）预测目标 microRNA 的靶基因，找出两个数据库靶基因的交集，用 SAS 中 Annonation 分析系统分别对各个 microRNA 的靶基因进行功能分析及基于 KEGG 和 Biocarta 的 Pathway 富集分析。

1.2.5 统计学方法 采用 SAS 数据分析系统对芯片扫描结果进行倍数分析和 *t* 检验差异基因表达分析。SPSS 17.0 统计软件对组间数据进行独立样本 *t* 检验，$P<0.05$ 为有统计学差异。SDS 2.4 软件对荧光定量 PCR 结果进行比较和统计分析。

2 结果

2.1 microRNA 表达谱芯片检测 PBMC 中 microRNA 的表达

根据 microRNA 表达谱芯片结果，设定在实验组/对照组差异表达倍数（foldchange，FC）>2 且 $P<0.05$ 的条件下，3 次重复实验，共得到 21 个儿童肺结核特异表达的 microRNA，15 个在本组芯片中表达上调，6 个表达下调，见表 2。进行聚类分析得到表达上调及表达下调的 microRNA 聚类热图。见图 1。

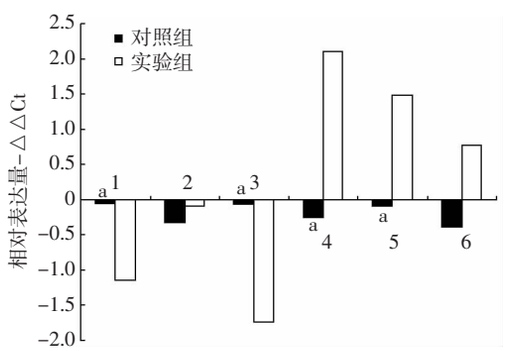


N：对照组；P：实验组 右侧色阶表示 microRNA 的相对表达量：红色表示高表达，绿色表示低表达

图 1 microRNA 差异表达聚类热图

2.2 实时荧光定量 PCR 验证芯片结果

对芯片结果进行实时荧光定量 PCR 验证，得到 6 种 microRNA 在实验组与对照组的相对表达量，进行转换得以 $-\triangle\triangle Ct$ 表示的各 microRNA 相对表达量柱形图（图 2）。hsa-miR-33a、has-mi-144、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-142-3p 表达上调，hsa-miR-342-5p、hsa-miR-31 表达下调，与芯片结果一致。经 *t* 检验分析，hsa-miR-144、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-342-5p、hsa-miR-31 表达差异有统计学意义（$P<0.05$）。hsa-miR-33a、hsa-miR-142-3p 差异无统计学意义（$P>0.05$）。



1：hsa-miR-342-5p；2：hsa-miR-33a；3：hsa-miR-31；4：hsa-miR-193a-3p；5：hsa-miR-144；6：hsa-miR-142-3p

a：$P<0.05$，microRNA 的表达差异有统计学意义

图 2 6 种 microRNA 在实验组与对照组的相对表达量

2.3 microRNA-mRNA 相互作用分析

经 TargetScan、miRanda 预测得到 2 个数据库交集的靶基因。hsa-miR-342-5p 靶基因有 33 个，hsa-miR-144 靶基因 63 个，hsa-miR-193a-3p 靶基因 9 个，hsa-miR-31 靶基因 13 个。SAS 功能分析显示，这些靶基因功能分别富集在分子合成、转录活性调节、细胞及细胞器生成、生理节律的调节、生长调控及代谢过程的调节等方面。Pathway 结果显示相关靶基因可能参与到 MAPK、JAK-STAT、NF-κB、TGF-β、WNT、PPAR 及相关代谢调节的信号通路中。通过功能富集分析及 Pathway 分析显示，hsa-miR-342-5p、hsa-miR-144、hsa-miR-193a-3p 均参与了 MAPK 信号传导通路，hsa-miR-144 还参与了 JAK-STAT 及 Wnt 信号传导通路，hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-31 参与了 NF-κB 信号传导通路。

3 讨论

本研究通过 microRNA 表达谱芯片，从肺结核患儿与健康儿童 PBMC 中筛选出了 21 种特异表达的

microRNA,并结合已报道与结核相关的 microRNA 研究及各种疾病中相关 microRNA 研究,选取 hsa-miR-144 等6个进行 RT-qPCR 验证,提示 hsa-miR-144、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-342-5p、hsa-miR-31 4种 microRNA 在肺结核患儿与健康对照组间的表达有统计学差异($P<0.05$)。

结核免疫主要是细胞免疫,是由单核巨噬细胞参与的一个复杂的免疫应答过程[15]。2011年研究发现结核感染过程中人类巨噬细胞能产生特异性的 microRNA 反应[16],并发现 microRNA 能在肺结核感染患者的血液中被检测到。Ma 等[17]通过让小鼠感染结核分枝杆菌后分析其体内 miR-29 及 IFN-γ 的表达水平及相互关系,提出 miR-29 是以 IFN-γ 为靶标来抑制结核杆菌感染引起的免疫反应。

多个课题组进行了成人肺结核相关的 microRNA 表达差异的研究。张立群等[18]从成人肺结核 PBMC 中筛选出了26个差异表达的 microRNA。Liu 等[9]利用寡核苷酸为基础的芯片分析技术,在肺结核患者 PBMC 中找出了28种上调和2种下调的 microRNAs。综合各种因素,在上调的 microRNA 中选取 mir-144 * 进行了分析,通过功能分析发现 mir144 * 可以抑制 IFN-γ 和 TNF-α 的产生,从而对 T 细胞增殖产生抑制作用。同时,Wang 等[12]利用基因芯片对活动性肺结核、潜伏期结核及健康对照组间进行 microRNA 表达的研究,发现17种 microRNAs 在3组间有差异表达,hsa-miR-144 在活动性肺结核组与健康组的比较中表达上调,并通过 qPCR 进行了证实。在其进行的 microRNA-Gene-Network 研究中,hsa-miR-144 的23个靶基因表达均下调。该研究提示 hsa-miR-144 可能参与结核的发生。然而,Wu 等[10]对 PBMC 予以 PPD 诱导刺激后测定 microRNA 的表达情况,hsa-miR-144、hsa-miR-141、hsa-miR-29b 均为表达下调。与其他研究类似[9-10,12],本研究发现 hsa-miR-144、hsa-miR-29b、hsa-miR-141、hsa-miR-21 *、hsa-miR-424 在结核患儿外周血中表达水平明显上调,提示这些 microRNAs 可能为结核特异性 microRNA,而其在结核感染中所起的作用有待进一步研究。由于目前对于结核相关 microRNA 研究主要集中于成人,对于儿童结核感染后 microRNA 变化了解不多,这些 microRNA 是否为儿童感染后特异 microRNA,还需要进一步验证。

结核分枝杆菌是一种典型的胞内致病菌,在其感染宿主细胞的过程中,激活或抑制了复杂的信号传导通路,从而实现抑制机体免疫应答,达到感染的目的。已有文献报道,结核分枝杆菌感染宿主后通过与宿主固有受体如 Toll 样受体等的相互作用,激活或抑制 MAPK、JAK-STAT、NF-κB 等信号通路,发挥抗炎及抗菌效应[19-24]。结核分枝杆菌感染宿主后激活 MAPK 信号通路,促进 TNF-α、IL10 和单核细胞趋化因子(MCP-1)等细胞炎症因子的合成,增强抗结核活性[20,23]。JAK/STAT 通路与调控细胞增殖、分化和凋亡等多种生理功能相关,结核分枝杆菌可通过诱导 JAK/STAT 通路的激活,诱导感染的巨噬细胞凋亡[19]。另有研究报道,MTB 感染小鼠巨噬细胞后,通过 IFN-γ 与 LAM 的共同刺激,激活 NF-κB 通路,诱导可诱导性 NO 合酶和 NO 的产生[21],从而发挥抗结核效应。本研究通过 microRNA 相关靶基因功能分析及 Pathway 富集分析,发现差异表达 microRNA 主要参与了 JAK/STAT、MAPK、NF-κB 等结核感染相关信号通路,提示结核杆菌可能通过 microRNA 调控相关信号通路,从而抑制机体免疫应答,达到感染目的。分析发现 hsa-miR-144 及 hsa-miR-193a-3p 分别参与了两条信号传导通路,提示其可能是结核感染中的重要作用点,可以进一步对其进行相关功能的研究。

综上所述,通过本研究发现了一批在肺结核患儿中差异表达的 microRNA,这些 microRNA 可能作为一种新的分子诊断方法用于儿童结核的诊断中,为结核的临床诊断提供新的思路。

参考文献:

[1] Glaziou P, Floyd K, Raviglione M. Global burden and epidemiology of tuberculosis[J]. Clin Chest Med, 2009, 30(4): 621-636, vii.

[2] WHO. Global Tuberculosis Control Report 2012[R]. Geneva: WHO, 2012.

[3] Chauhan L S, Arora V K. Management of pediatric tuberculosis under the revised national tuberculosis control programme[J]. Indian J Pediatr, 2004, 71(4): 341-343.

[4] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233.

[5] Li Q J, Chau J, Ebert P J, *et al*. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection[J]. Cell, 2007, 129(1): 147-161.

[6] Lu L F, Boldin M P, Chaudhry A, *et al*. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses[J]. Cell, 2010, 142(6): 914-929.

[7] Thai T H, Calado D P, Casola S, *et al*. Regulation of the germinal center response by microRNA-155[J]. Science, 2007, 316(5824): 604-608.

[8] Spinelli S V, Diaz A, D'Attilio L, *et al*. Altered microRNA expression levels in mononuclear cells of patients with pulmonary and pleural tuberculosis and their relation with components of the immune response [J]. Mol Immunol, 2013, 53(3): 265-269.

[9] Liu Y, Wang X, Jiang J, *et al*. Modulation of T cell cytokine production by miR-144 * with elevated expression in patients with pulmonary tuberculosis[J]. Mol Immunol, 2011, 48(9/10): 1084-1090.

[10] Wu J, Lu C, Diao N, *et al*. Analysis of microRNA expression profiling identifies miR-155 and miR-155 * as potential diagnostic markers for active tuberculosis: a preliminary study [J]. Hum Immunol, 2012, 73(1): 31-37.

[11] Fu Y, Yi Z, Wu X, *et al*. Circulating microRNAs in patients with active pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(12): 4246-4251.
[12] Wang C, Yang S, Sun G, *et al*. Comparative miRNA expression profiles in individuals with latent and active tuberculosis[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e25832.
[13] Ghorpade D S, Leyland R, Kurowska-Stolarska M, *et al*. MicroRNA-155 is required for Mycobacterium bovis BCG-mediated apoptosis of macrophages[J]. Mol Cell Biol, 2012, 32(12): 2239-2253.
[14] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童肺结核的临床诊断标准和治疗方案(试行)[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(4): 249-251.
[15] Dorhoi A, Reece S T, Kaufmann S H. For better or for worse: the immune response against Mycobacterium tuberculosis balances pathology and protection[J]. Immunol Rev, 2011, 240(1): 235-251.
[16] Sharbati J, Lewin A, Kutz-Lohroff B, *et al*. Integrated microRNA-mRNA-analysis of human monocyte derived macrophages upon Mycobacterium avium subsp. hominissuis infection[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e20258.
[17] Ma F, Xu S, Liu X, *et al*. The microRNA miR-29 controls innate and adaptive immune responses to intracellular bacterial infection by targeting interferon-gamma[J]. Nat Immunol, 2011, 12(9): 861-869.
[18] 张立群, 孙照刚, 高孟秋, 等. 肺结核患者外周血单核细胞中差异表达miRNA的筛选[J]. 中国防痨杂志, 2011, 33(11): 729-733.
[19] Rojas M, Olivier M, Garcia L F. Activation of JAK2/STAT1-alpha-dependent signaling events during Mycobacterium tuberculosis-induced macrophage apoptosis[J]. Cell Immunol, 2002, 217(1/2): 58-66.
[20] Song C H, Lee J S, Lee S H, *et al*. Role of mitogen-activated protein kinase pathways in the production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-10, and monocyte chemotactic protein-1 by Mycobacterium tuberculosis H37Rv-infected human monocytes[J]. J Clin Immunol, 2003, 23(3): 194-201.
[21] Morris K R, Lutz R D, Choi H S, *et al*. Role of the NF-kappaB signaling pathway and kappaB cis-regulatory elements on the IRF-1 and iNOS promoter regions in mycobacterial lipoarabinomannan induction of nitric oxide[J]. Infect Immun, 2003, 71(3): 1442-1452.
[22] Kim K H, Yang C S, Shin A R, *et al*. Mycobacterial Heparin-binding Hemagglutinin Antigen Activates Inflammatory Responses through PI3-K/Akt, NF-kappaB, and MAPK Pathways[J]. Immune Netw, 2011, 11(2): 123-133.
[23] Jo E K, Yang C S, Choi C H, *et al*. Intracellular signalling cascades regulating innate immune responses to Mycobacteria: branching out from Toll-like receptors[J]. Cell Microbiol, 2007, 9(5): 1087-1098.
[24] Korbel D S, Schneider B E, Schaible U E. Innate immunity in tuberculosis: myths and truth[J]. Microbes Infect, 2008, 10(9): 995-1004.

(**收稿**:2013-03-17;**修回**:2013-04-20)
(编辑 黄 超)

文章编号:1000-5404(2013)19-2055-01

个案与短篇

原发性额窦癌侵及颅内、眼眶及筛窦1例

李育平, 张恒柱, 佘 磊, 王晓东, 严正村, 姜扬扬, 庞陆军 (225001 江苏 扬州,扬州大学临床医学院神经外科)

[**关键词**] 原发性额窦癌;鳞癌
[**中图法分类号**] R739.62 [**文献标志码**] B

原发性额窦癌临床十分罕见,其发病率仅为鼻窦恶性肿瘤的0.3%[1]。该病恶性程度高、进展快、预后极差,加之额窦临近解剖结构复杂,手术全切困难,复发率较高[2]。我科于2012年12月收治1例原发额窦癌患者,现报告如下。

1 临床资料

患者,男性,66岁,因"额部肿物进行性增大4个月伴疼痛1个月"入院。患者入院前4个月前额肿胀,无压痛,当时未予以重视。入院前1个月患者自觉肿块逐渐增大伴疼痛,当地医院行头颅CT检查示:左侧额部大小约4 cm×6 cm肿块影,额骨骨质破坏,患者为求诊治转至我院。入院查体:左侧前额见皮下肿物,右侧眶内侧缘、眶外侧缘,左侧眶内侧缘均可触及肿块,质地硬,活动度差。左侧瞳孔直径3.0 mm,光反射灵敏,左眼视力正常;右眼睑下垂,睁眼困难。头颅MRI平扫+增强示:额窦区不规则肿块,呈长T_1长T_2信号,肿块侵犯颅内伴骨质破坏,大小约54 mm×76 mm;左侧额叶见大片不规则水肿信号;MRI增强扫描见肿块明显强化(图1)。鉴于患者前额部颅内外占位伴颅骨破坏,考虑恶性肿瘤或转移癌。2012年12月患者于全麻下行颅内外占位切除术,牵开皮瓣后见下方肿瘤侵及颅骨并侵犯颅内,颅骨破坏约5 cm×6 cm。全切颅外肿瘤并扩大骨窗至正常骨质约7 cm×8 cm。术中探查并切除侵及左侧额叶、筛窦、右侧眶内及上矢状窦肿瘤。肿瘤切除后,双氧水冲洗筛窦,电凝筛窦黏膜,明胶海绵填塞筛窦,并采用颞肌肌肉浆封堵漏口。术后病理报告示:浸润性鳞状细胞癌。术后患者双眼视力正常,双侧对光反射灵敏。术后患者行胸部、腹部CT、盆腔脏器超声筛查未发现其他病灶,术后4周给予放疗(30 Gy/15F)。结合病理、头颅MRI及术后原发灶筛查结果,本例患者最终诊断为原发性额窦癌。术后2个月复查头颅MRI平扫+增强示肿瘤少部分残留,有复发征象(图2),现随访半年,患者带瘤生存。

(下转2059页)

[**通信作者**] 张恒柱,电话:(0514)87373755,E-mail:zhanghengzhu@sina.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130902.1538.003.html(2013-09-02)