doi:10.11659/jjssx.11E021020

·基础研究·

人原发性肺癌组织中 Rab 相互作用溶酶体蛋白基因甲基化检测及其临床意义

余纪会[1],高 税[2],王晓琼[1] (1.重庆医科大学附属第一医院健康管理中心,重庆 400016;2.重庆医科大学附属长寿人民医院呼吸与危重症医学科,重庆 401200)

[摘 要] **目的** 分析 Rab 相互作用溶酶体蛋白(RILP)在肺癌患者癌组织及肺癌细胞系中的表达及其甲基化情况,探索 RILP 基因的生物学功能。**方法** 收集重庆医科大学附属长寿人民医院 88 例肺癌患者的癌组织和癌旁组织标本,分别用免疫组化染色、荧光定量 PCR 检测 RILP 蛋白及 mRNA 表达水平。选取肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H19936 和 H460)和正常肺上皮细胞系(BEAS-2B),用荧光定量 PCR 检测 RILP mRNA 表达水平。用甲基化特异性 PCR 检测肺癌组织及细胞中 RILP 的甲基化。分析肺癌患者一般临床资料与 RILP 甲基化的关系。用空载体或人源 RILP 表达载体转染 A549 细胞,用克隆形成实验检测细胞增殖活性。**结果** 肺癌组织 RILP 高表达率为 13.64%,低于癌旁组织的 76.14%($P<0.05$),癌旁组织 RILP mRNA 表达水平高于肺癌组织($P<0.05$),正常肺上皮细胞系中 RILP mRNA 表达水平均高于肺癌细胞系($P<0.05$)。与正常肺上皮细胞系相比,RILP 基因在肺癌细胞系中出现了明显的甲基化。60.23%(53/88)的肺癌患者发生 RILP 基因甲基化。RILP 甲基化与 RILP 非甲基化患者肿瘤分化程度比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。A549 细胞过表达 RILP 后,其增殖活性明显受到抑制($P<0.05$)。**结论** RILP 可能作为抑癌基因在肺癌中发挥作用,并且受甲基化调控。

[关键词] Rab 相互作用溶酶体蛋白;肺癌;生物学标志物;甲基化

[中图分类号] R735.3 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-11-02

Detection of Rab interacting lysosomal protein gene methylation in human primary lung cancer and its clinical significance

YU Ji-hui[1],GAO Shui[2],WANG Xiao-qiong[1] (1. Health Management Center,First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University,Chongqing 400016,China;2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine,Changshou People's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University,Chongqing 401200,China)

Abstract: Objective To analyze the expression and methylation of Rab interacting lysosomal protein (RILP) in cancer tissues of lung cancer patients and lung cancer cell lines,and to explore the biological function of RILP gene. **Methods** The cancer tissue and paracancerous tissue samples of 88 patients with lung cancer in Changshou People's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University were collected,and the expression levels of RILP protein and mRNA were detected by immunohistochemical staining and fluorescence quantitative PCR respectively. Lung cancer cell lines (H1299, A549, H358, H19936 and H460) and normal lung epithelial cell line (BEAS-2B) were selected,and the expression levels of RILP mRNA were detected by fluorescence quantitative PCR. The methylation of RILP in lung cancer tissues and cells were detected by methylation-specific PCR. The relationship between general clinical data and RILP gene methylation in patients with lung cancer was analyzed. A549 cells were transfected with empty vector or human RILP expression vector, and the cell proliferation activity was detected by clone formation assay. **Results** The high expression rate of RILP in cancer tissues was 13.64%, which was lower than 76.14% in paracancerous tissues ($P<0.05$). The expression level of RILP mRNA in paracancerous tissues was higher than that in lung cancer tissues ($P<0.05$). The expression level of RILP mRNA in normal lung epithelial cell line was higher than that in lung cancer cell lines ($P<0.05$). Compared with normal lung epithelial cell line, RILP gene was significantly methylated in lung cancer cell lines. Methylation of RILP gene occurred in 60.23% (53/88) lung cancer patients. The differences in tumor differentiation between RILP methylated patients and RILP non-methylated patients were statistically significant ($P<0.05$). After overexpression of RILP, the proliferation activity of A549 cells was significantly inhibited ($P<0.05$). **Conclusion** RILP may play a role as a tumor suppressor gene in lung cancer, and this gene is regulated by methylation.

Keywords: Rab interacting lysosomal protein;lung cancer;biomarkers;methylation

---

[基金项目] 重庆市科卫联合医学科研项目(2020FYYX156)

[通信作者] 余纪会,E-mail:voy0667@163.com

原发性支气管肺癌简称肺癌,基于不同的组织病理学分型,肺癌主要分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC),其中 NSCLC 包括腺癌和鳞状细胞癌两种亚型[1-2]。目前,肺癌仍然是威胁人类生命和健康的恶性肿瘤之一,并且发病率呈现出上升之势[3-5]。肺癌的早期诊断率不到 20%,75%的肺癌患者确诊时已处于中晚期[6]。早期肺癌的治疗通常选择手术切除,晚期肺癌发生转移时主要采用化疗、靶向治疗和化疗联合免疫治疗[7-8]。尽管近年来肺癌的研究取得了很大的进展,但是患者的 5 年生存率仍未见明显提高[9-11],因此,有必要对肺癌的机制进行深入探讨。

Rab 相互作用溶酶体蛋白(Rab interacting lysosomal protein,RILP)是内吞途径的关键调节蛋白,在内体—溶酶体运输的调节中起着关键作用[12-13]。既往研究显示,RILP 可通过影响癌细胞的侵袭和迁移促进癌症进展,包括乳腺癌[14]、肝细胞癌[15]、宫颈癌[16]。然而 RILP 与 NSCLC 的关系既往少有报道。基因异常表达对癌症病因学至关重要,遗传和表观遗传变化的联合作用促进了人类癌症的发展[17]。基因甲基化作为表观遗传修饰的关键元素,在调节细胞功能和致癌过程中起着重要作用[18-19]。有研究发现,RILP 甲基化可能影响肺癌细胞的侵袭和迁移[20],但其具体机制尚未明确。本研究通过分析肺癌患者中 RILP 的表达水平和甲基化状态,旨在探讨其与肺癌发生发展的关系,以及其作为肺癌早期诊断指标的可能性,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

纳入 2018 年 3 月至 2020 年 3 月重庆医科大学附属长寿人民医院收治的 88 例原发性肺癌患者,均经组织病理学检查确诊。其中男 50 例,女 38 例;年龄(65.09 ±6.24)岁;鳞状细胞癌 48 例,腺癌 40 例;低分化 38 例,中分化 38 例,高分化 12 例;肿瘤分期Ⅰ期 36 例,Ⅱ期 25 例,Ⅲ期 25 例,Ⅳ期 2 例。术中留取肺癌组织及相应的癌旁组织(距离肺癌组织≥5 cm)。本研究经重庆医科大学附属长寿人民医院伦理委员会批准(2018003),患者均签署知情同意书。

1.2 肺癌细胞系及培养

选取 5 种肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H1993 和 H460)和正常肺上皮细胞系(BEAS-2B),在含 10%胎牛血清的 RPMI 1640(Gibico,美国)中培养。细胞在 T75 规格培养瓶中达到 80% 融合后以 1∶3传代培养,培养至 3 ~ 5 代的细胞用于后续实验。将 10 μmol/L 5-氮杂-2 脱氧胞苷添加到细胞培养基中,参照细胞去甲基化处理试剂盒(Sigma 公司,美国)对细胞进行去甲基化处理。

1.3 免疫组化染色检测 RILP 表达

肺癌组织及癌旁组织标本以福尔马林固定,石蜡包埋,采用切片机将包埋的组织蜡块连续切成 4 μm厚的切片。石蜡切片采用二甲苯脱蜡,分级乙醇脱水,然后用3% 过氧化氢使其内源性过氧化物酶活性猝灭 30 min,采用 10 mmol/L 柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复 2 min,随后以磷酸盐缓冲液冲洗切片,再用山羊血清封闭 15 min,将载玻片与兔抗 RILP 一抗(Proteintech,美国)以 1∶200 的稀释度在 4 ℃下孵育过夜,磷酸盐缓冲液清洗后,在室温下使用生物素化辣根过氧化物酶羊抗鼠/兔二抗孵育 20 min。切片用 3,3'-二氨基联苯胺四氢氯化物孵育 5 min,随后在自来水下清洗并用苏木精复染。最后,通过显微镜观察切片组织中的 RILP 蛋白表达。每张切片随机取 10 个视野,每个视野计数100 个癌细胞,根据细胞的染色强度及阳性细胞比例判断 RILP 表达情况。染色为阴性记 0 分,浅黄色记1 分,棕黄色记 2 分,棕褐色记 3 分;阳性细胞数为 0 ~ 10% 记 1 分,11% ~ 50% 记 2 分,51% ~ 80% 记 3 分,81% ~ 100% 记 4 分,将二者评分相乘得出最终结果:0 分为阴性,1 ~ 3 分为弱阳性,4 ~ 8 分为中等阳性,9 ~ 12 分为强阳性。其中 0 ~ 3 分为低表达,4 ~ 12 分为高表达。

1.4 荧光定量 PCR 检测 RILP mRNA 表达

根据产品说明书,使用 TRIZOL 试剂(Invitrogen,美国)从肺癌组织及癌旁组织中提取总 RNA;从肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H1993 和 H460)和正常肺上皮细胞系(BEAS-2B)中提取细胞总 RNA。采用 iScript-cDNA 合成试剂盒(Bio-Rad 公司,美国)合成单链 cDNA。用 SYBR-Green PCR 试剂盒(Bio-Rad 公司,美国)进行实时荧光定量 PCR 扩增反应,并使用 CFX96 实时 PCR 系统(Bio-Rad 公司,美国)进行检测,扩增引物序列见表 1。PCR 反应条件为:95 ℃ 5 min,95 ℃ 10 s,60 ℃ 15 s,72 ℃ 35 s,39 个循环。40 ℃延伸时采集荧光信号,PCR 产物经熔融曲线分析验证。使用 $2^{-\Delta\Delta ct}$ 法,通过管家基因 β-actin 值计算靶基因的相对表达水平。

表 1 扩增引物序列表

基因	引物序列
人源 RILP	正向:GAGCGGAATGAACTCAAAGCC
	反向:CCTCTGGTGTCCCTAACATCTTG
人源 β-actin	正向:CCTGACTGACTACCTCATGAAG
	反向:CGTAGCACAGCTTCTCCTTA

1.5 甲基化特异性 PCR 检测 RILP 基因的甲基化

为了验证 RILP 基因水平是否受 DNA 甲基化调控,通过甲基化特异性 PCR 对肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H1993 和 H460)、肺癌组织以及癌旁组织进行甲基化检测。采用 DNA 提取试剂盒(全式金生物技术有限公司,北京)提取肺癌组织、癌旁组织和肺癌细胞系 DNA,并以琼脂糖凝胶电泳对提取的 DNA 进行验证。利用 EpiMethy DNA 甲基化检测试剂盒(锐赛生物医药科技有限公司,上海)对产物修饰处理后进行 PCR 扩增,扩增引物序列见表 2。分析肺癌患者临床资料与 RILP 甲基化的关系。

表 2 扩增引物序列表

基因	引物序列
甲基化引物	正向:GGTAGTTTAAGGAGGTTACGGATC
	反向:AACTTATACCGCAACTCAACGTT
非甲基化引物	正向:GGTAGTTTAAGGAGGTTATGGATTG
	反向:CCAACTTATACCACAACTCAACATT

1.6 克隆形成实验检测细胞增殖活性

转染前,A549 细胞在 6 孔板中培养 24 h。根据转染试剂盒(赛默飞,美国)说明书,用空载体或人源 RILP 表达载体(淼灵生物科技有限公司,武汉)转染 A549 细胞。取转染后对数期细胞,以每孔 800 个细胞接种到 6 孔板中,以含 500 μg/mL G418 的生长培养基培养细胞,每 24 h 换液。14 d 后用 75% 乙醇固定细胞 30 min,并用 0.2% 结晶紫染色进行观察和计数。

1.7 统计学分析

数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。计数资料以频数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RILP 在肺癌组织及肺癌细胞系中的表达

免疫组化染色结果显示,肺癌组织 RILP 高表达率为 13.64%(12/88),癌旁组织 RILP 高表达率为 76.14%(67/88),二者比较差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。

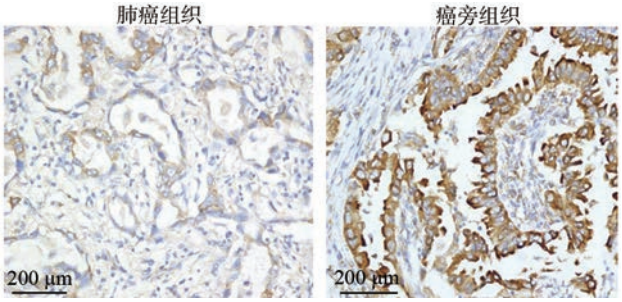
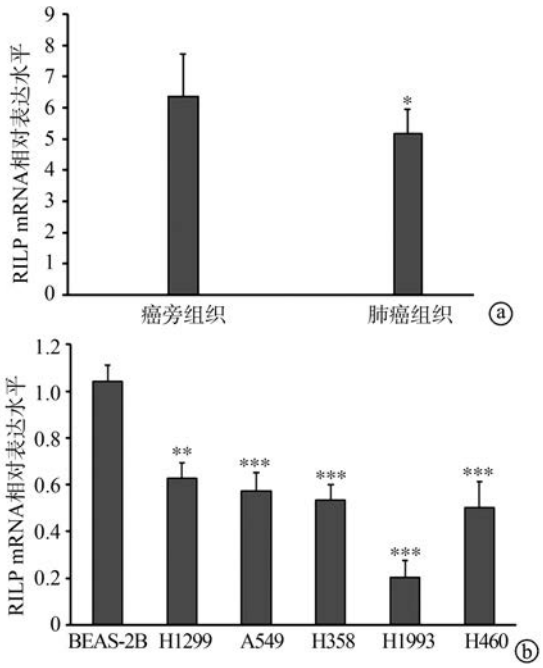


图 1 RILP 的免疫组化染色图

荧光定量 PCR 检测结果显示,癌旁组织 RILP mRNA 表达水平高于肺癌组织,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2a。正常肺上皮细胞系(BEAS-2B)中 RILP mRNA 表达水平高于肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H1993 和 H460),差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 2b。



a:癌旁组织和肺癌组织的 RILP mRNA 相对表达水平比较;b:正常肺上皮细胞系和肺癌细胞系 RILP mRNA 相对表达水平比较 *:与癌旁组织比较,$P<0.05$;**:与 BEAS-2B 比较,$P<0.01$;***:与 BEAS-2B 比较,$P<0.001$

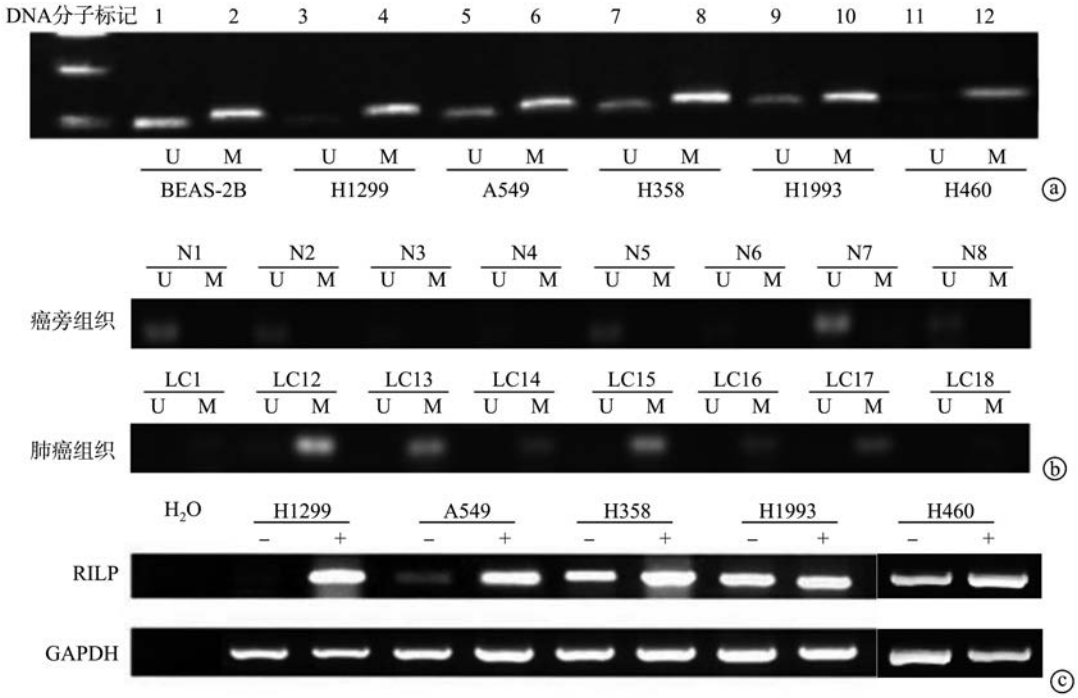
图 2 RILP mRNA 相对表达情况

2.2 RILP 基因甲基化检测

与正常肺上皮细胞系(BEAS-2B)相比,RILP 基因在肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H1993 和 H460)中出现了明显的甲基化,见图 3a;在肺癌组织中也出现了不同程度的 RILP 基因甲基化,而癌旁组织未发生 RILP 基因甲基化,肺癌组织与癌旁组织比较,出现较为明显的基化条带,见图 3b。为进一步探讨甲基化对 RILP 基因表达的调控,用甲基化转移酶抑制剂处理肺癌细胞系(H1299、A549、H358、H1993 和 H460),结果显示去甲基化处理后 RILP 基因表达水平升高(图 3c),说明 RILP 受甲基化调控。

2.3 RILP 基因甲基化与肺癌患者临床特征的相关性

60.23%(53/88)的肺癌患者发生 RILP 基因甲基化,39.77%(35/88)未发生甲基化。RILP 甲基化与 RILP 非甲基化患者肿瘤分化程度比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。提示 RILP 基因甲基化与肺癌恶性程度相关。



a:正常肺上皮细胞系和肺癌细胞系中 RILP 基因甲基化检测结果;b:肺癌组织及癌旁组织中 RILP 基因甲基化检测结果;c:去甲基化处理后肺癌细胞系中 RILP 基因的表达 U:非甲基化特异性引物;M:甲基化特异性引物;-:未甲基化转移酶抑制剂处理;+:甲基化转移酶抑制剂处理

图 3 RILP 基因甲基化检测结果

表 3 肺癌患者一般临床资料与 RILP 甲基化的关系(例)

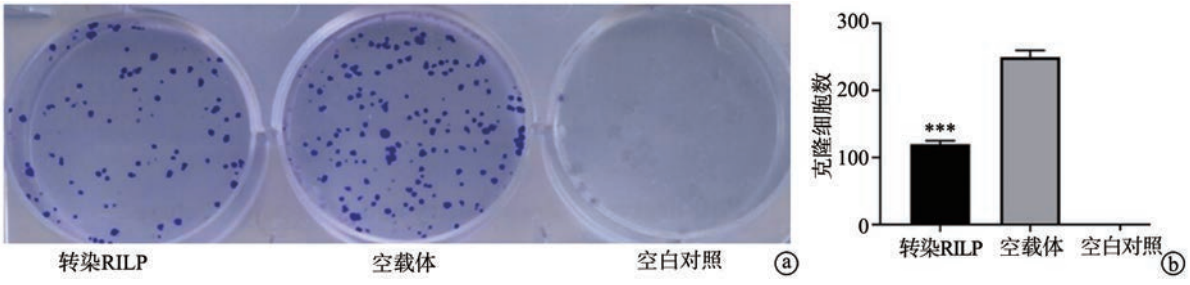
指标		n	RILP 甲基化 (n=53)	RILP 非甲基化 (n=35)	P
年龄	≥65 岁	60	37	23	0.686
	<65 岁	28	16	12	
性别	男	50	29	21	0.108
	女	38	27	11	
肿瘤类型	鳞状细胞癌	48	28	20	0.991
	腺癌	40	25	15	
肿瘤分化程度	低分化	38	29	9	0.013
	中分化	38	20	18	
	高分化	12	4	8	
肿瘤分期	Ⅰ期	36	15	21	0.626
	Ⅱ期	25	10	15	
	Ⅲ期	25	9	16	
	Ⅳ期	2	1	1	

2.4 克隆形成实验评估 RILP 对肺癌细胞的影响

A549 细胞过表达 RILP 基因后,其增殖能力明显受到抑制($P<0.05$),见图 4。提示 RILP 有明显的抑癌作用。

3 讨论

临床上,只有不到 20% 的肺癌患者获得早期诊断[5]。尽管引入了低剂量计算机断层扫描并实施了肺癌筛查计划,但就发病率和病死率而言,肺癌仍然是全世界癌症患者特异性死亡的主要原因[3]。肿瘤的发生发展存在广泛的遗传变化和相关的基因功能及活动失调,其中 DNA 甲基化是表征最好的表观遗传修饰元素之一,DNA甲基化可影响基因表达和基因组稳



a:各组细胞菌落图片;b:各组克隆细胞数比较 ***:与空载体比较,$P<0.001$

图 4 过表达 RILP 基因对肺癌细胞增殖能力的影响

定性,对肿瘤的发生发展具有重要影响[18]。越来越多的研究显示,组织、血液,甚至气道脱落上皮细胞的甲基化状态有望成为诊断肺癌的生物学标志物[21-22]。

RILP 作为囊泡运输的分子开关,在囊泡形成、转运、黏附和融合过程中起着重要作用[12]。RILP 通过其羧基末端区域与活化的三磷酸鸟苷结合,进一步与动力蛋白—动力蛋白运动复合体的黏合亚单位相互作用,以调控细胞质中的晚期内体或溶酶体的分布[12-13]。细胞迁移是一个对细胞极为重要的过程,由几个整合高度调节的事件组成,如细胞骨架重排、不对称极化、细胞黏附和扩散[23]。有研究表明,膜转运的改变可以影响细胞的生长和迁移,是人类癌症发展的重要原因之一[24]。另有研究显示,RILP 在乳腺癌中能起到肿瘤抑制作用,RILP 的缺失会促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭[14]。还有研究显示,沉默 RILP 也能加速肺癌细胞 H1299 迁移,提示 RILP 可能作为肿瘤抑制因子发挥作用[25]。本研究结果显示,RILP 在肺癌组织和肺癌细胞系中的表达均显著下调,提示 RILP 可能作为肿瘤抑制因子参与肺癌的发生发展。

肿瘤抑制基因启动子 CpG 岛中的异常 DNA 甲基化被认为是基因下调的主要机制,这会促使正常细胞发生癌变[26]。本研究发现,肺癌组织中 RILP 基因出现高甲基化,并且与肿瘤分化程度有关,提示 RILP 基因甲基化程度与肺癌恶性程度相关。本研究通过对肺癌细胞系甲基化转移酶抑制剂处理后,RILP 基因在 5 种肺癌细胞系中表达增加,说明 RILP 受甲基化调控。以上结果提示,基因甲基化机制可能是肺癌细胞中 RILP 表达调控的主要分子机制。本研究中克隆形成实验结果显示,RILP 可抑制肺癌细胞增殖,表明 RILP 在肺癌发生中具有抑制作用。提示 RILP 有望成为诊断肺癌的生物学标志物。

综上所述,RILP 可能作为抑癌基因在肺癌中发挥作用,并且受甲基化调控。本研究初步证明了 RILP 是肺癌潜在的生物学标志物,对肺癌早期诊断存在提示作用。然而本研究也存在一些局限性,如未分析 RILP 下游信号通路的变化,未对肺癌患者进行随访,没有分析 RILP 及其甲基化与患者生存预后的关系。未来需要开展细胞及动物实验,深入分析 RILP 的作用机制。

[参考文献]

[1] Thai AA,Solomon BJ,Sequist LV,et al. Lung cancer[J]. Lancet,2021,398(10299):535 - 554. doi:10.1016/S0140 - 6736(21)00312 - 3.

[2] Herbst RS,Morgensztern D,Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. Nature,2018,553 (7689):446 - 454. doi:10.1038/nature25183.

[3] Mattiuzzi C,Lippi G. Current cancer epidemiology[J]. J Epidemiol Glob Health,2019,9(4):217 - 222. doi:10.2991/jegh. k.191008.001.

[4] Tringali G, Milanese G, Ledda RE, et al. Lung cancer screening: evidence, risks, and opportunities for implementation[J]. Rofo, 2021, 193(10):1153 - 1161. doi:10.1055/a - 1382 - 8648.

[5] Kadara H,Tran LM,Liu B,et al. Early diagnosis and screening for lung cancer[J]. Cold Spring Harb Perspect Med,2021,11(9):a037994. doi:10.1101/cshperspect. a037994.

[6] Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non-small cell lung cancer:ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol,2018,29(Suppl 4):iv192 - iv237. doi:10.1093/annonc/mdy275.

[7] Hirsch FR,Scagliotti GV,Mulshine JL,et al. Lung cancer:current therapies and new targeted treatments[J]. Lancet,2017,389 (10066):299 - 311. doi:10.1016/S0140 - 6736(16)30958 - 8.

[8] Chen Z,Fillmore CM,Hammerman PS,et al. Non-small-cell lung cancers:a heterogeneous set of diseases[J]. Nat Rev Cancer,2014,14(8):535 - 546. doi:10.1038/nrc3775.

[9] Nooreldeen R, Bach H. Current and future development in lung cancer diagnosis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (16): 8661. doi: 10.3390/ijms22168661.

[10] Lee C,Kim S,Lee JS,et al. Next-generation sequencing reveals novel resistance mechanisms and molecular heterogeneity in EGFR-mutant non-small cell lung cancer with acquired resistance to EGFR-TKIs lung cancer[J]. Lung Cancer,2017,113:106 - 114. doi:10.1016/j. lungcan.2017.09.005.

[11] Schuette W, Schirmacher P, Eberhardt WEE, et al. Treatment decisions, clinical outcomes, and pharmacoeconomics in the treatment of patients with EGFR mutated stage Ⅲ/Ⅳ NSCLC in Germany: an observational study[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 135. doi: 10.1186/s12885 - 018 - 4032 - 3.

[12] Lin H, Guo X, Liu J, et al. Improving lipophagy by restoring Rab7 cycle:protective effects of quercetin on ethanol-induced liver steatosis [J]. Nutrients,2022,14(3):658. doi:10.3390/nu14030658.

[13] De D, Bhattacharyya SN. Amyloid-β oligomers block lysosomal targeting of miRNPs to prevent miRNP recycling and target repression in glial cells[J]. J Cell Sci,2021,134(11):jcs258360. doi:10.1242/jcs.258360.

[14] Wang Z,Zhou Y,Hu X,et al. RILP suppresses invasion of breast cancer cells by modulating the activity of RalA through interaction with RalGDS[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(10): e1923. doi: 10.1038/cddis.2015.266.

[15] Qi C,Zou L,Wang S,et al. Vps34 inhibits hepatocellular carcinoma invasion by regulating endosome-lysosome trafficking via Rab7-RILP and Rab11[J]. Cancer Res Treat,2022,54(1):182 - 198. doi:10.4143/crt.2020.578.

doi:10.11659/jjssx.11E021055

·基础研究·

不同剂量依达拉奉对防治七氟醚诱导术后认知功能障碍的研究

黄钰媛,韦雪梅,郑育秀,刘丽丽 (海南医学院第二附属医院麻醉科,海南 海口 570311)

[摘 要] **目的** 探究不同剂量依达拉奉对七氟醚诱导全麻术后认知功能障碍(POCD)的防治作用。**方法** 老龄雄性 Balb/c 小鼠 48 只,随机均分为对照组(Con 组)、七氟醚组(Sev 组)、七氟醚 + 依达拉奉低剂量组(Sev + Eda-L 组,6 $mg\cdot kg^{-1}$)、七氟醚 + 依达拉奉高剂量组(Sev + Eda-H 组,12 $mg\cdot kg^{-1}$)。采用多次麻醉/手术构建老龄小鼠 POCD 模型,期间给予不同剂量依达拉奉注射液。通过 Morris 水迷宫实验检测小鼠学习与记忆能力,采用相应试剂盒检测氧化/抗氧化因子、炎性细胞因子,采用免疫荧光检测海马中 Iba1 表达,采用 Western blot 检测海马组织中 TLR4/NF-κB 信号通路的蛋白表达。**结果** 与 Con 组相比,Sev 组小鼠逃避潜伏期显著较长,且穿越平台次数、在第Ⅰ象限停留的时间显著较少/短($P<0.05$)。与 Sev 组相比,Sev + Eda-L 组小鼠 Morris 水迷宫指标无明显变化($P>0.05$)。与 Sev 组相比,Sev + Eda-L 组小鼠海马中超氧歧化酶(SOD)活力及丙二醛(MDA)、Iba1、TLR4、p-NF-κB、NLRP3、IL-6、IL-1β、TNF-α 水平均无显著变化($P>0.05$)。而 Sev + Eda-H 组小鼠 Morris 水迷宫指标被显著正向调节($P<0.05$)。与 Sev 组相比,Sev + Eda-H 组小鼠海马中 SOD 活力显著增加($P<0.05$),MDA、Iba1、TLR4、p-NF-κB、NLRP3、IL-6、IL-1β、TNF-α 水平均显著降低($P<0.05$)。**结论**6 $mg\cdot kg^{-1}$依达拉奉对氧自由基的清除能力较弱,因此无法发挥防治 POCD 的作用,但当剂量达到 12 $mg\cdot kg^{-1}$时,依达拉奉能够有效清除氧自由基,抑制炎症信号通路,提高小鼠学习与记忆能力。

[关键词] 老龄;小鼠;术后认知功能障碍;依达拉奉;学习能力;记忆能力
[中图分类号] R742 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-11-10

Effects of different doses of edaravone on prevention of postoperative cognitive dysfunction induced by sevoflurane

HUANG Yu-yuan, WEI Xue-mei, ZHENG Yu-xiu, LIU Li-li (Department of Anesthesiology, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou Hainan 570311, China)

Abstract: Objective To investigate the preventive and therapeutic effects of different doses of edaravone on postoperative cognitive dysfunction (POCD) after sevoflurane induced general anesthesia. **Methods** Forty-eight aged male Balb/c mice were randomly divided into

[基金项目] 海南省基础与应用基础研究计划项目(818QN319)
[通信作者] 刘丽丽,E-mail:13307508090@163.com

[16] Bourhafour I, Benoulaid M, El Kacemi H, et al. Lumbosacral plexopathy: a rare long term complication of concomitant chemo-radiation for cervical cancer[J]. Gynecol Oncol Res Pract, 2015, 2: 12. doi: 10.1186/s40661-015-0019-9.

[17] Skourti E, Dhillon P. Cancer epigenetics: promises and pitfalls for cancer therapy[J]. FEBS J, 2022, 289(5): 1156-1159. doi: 10.1111/febs.16395.

[18] Ho PJ, Dorajoo R, Ivanković I, et al. DNA methylation and breast cancer-associated variants[J]. Breast Cancer Res Treat, 2021, 188(3): 713-727. doi: 10.1007/s10549-021-06185-9.

[19] Norollahi SE, Foumani MG, Pishkhan MK, et al. DNA methylation profiling of MYC, SMAD2/3 and DNMT3A in colorectal cancer[J]. Oman Med J, 2021, 36(6): e315. doi: 10.5001/omj.2020.93.

[20] Lin J, Zhou Y, Yin Y, et al. Methylation of RILP in lung cancer promotes tumor cell proliferation and invasion[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(2): 853-861. doi: 10.1007/s11010-020-03950-0.

[21] Hoang PH, Landi MT. DNA methylation in lung cancer: mechanisms and associations with histological subtypes, molecular alterations, and major epidemiological factors[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(4): 961. doi: 10.3390/cancers14040961.

[22] Liang R, Li X, Li W, et al. DNA methylation in lung cancer patients: opening a "window of life" under precision medicine[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 144: 112202. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112202.

[23] Paul CD, Mistriotis P, Konstantopoulos K. Cancer cell motility: lessons from migration in confined spaces[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(2): 131-140. doi: 10.1038/nrc.2016.123.

[24] Mercier V, Larios J, Molinard G, et al. Endosomal membrane tension regulates ESCRT-Ⅲ-dependent intra-lumenal vesicle formation[J]. Nat Cell Biol, 2020, 22(8): 947-959. doi: 10.1038/s41556-020-0546-4.

[25] Margiotta A, Progida C, Bakke O, et al. Rab7a regulates cell migration through Rac1 and vimentin[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2017, 1864(2): 367-381. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.11.020.

[26] Ferry L, Fournier A, Tsusaka T, et al. Methylation of DNA ligase 1 by G9a/GLP recruits UHRF1 to replicating DNA and regulates DNA methylation[J]. Mol Cell, 2017, 67(4): 500-565. doi: 10.1016/j.molcel.2017.07.012.

(编辑:魏 源)