

# 术后结合替莫唑胺对神经胶质瘤患者血清 miR-181b 及 miR-497 的影响

叶云\*, 支枫, 马涛

常州市第一人民医院神经外科, 江苏 常州 213003

**[摘要]** 目的:分析神经胶质瘤患者术后结合替莫唑胺对血清 miR-181b 及 miR-497 表达的影响。方法:将收治的 76 例神经胶质瘤术后患者随机分为 A、B 两组。其中 A 组(38 例)采用司莫司汀方法治疗, B 组(38 例)采用司莫司汀联合替莫唑胺的方法治疗。观察比较两组患者的临床疗效, 术后 1、2、3 年生存率, Karnofsky 评分。同时收集患者治疗前、治疗后的血清样本, 以检测 miR-181b 及 miR-497 表达的变化。结果: B 组患者的客观有效率明显高于 A 组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); B 组中位生存期以及术后 1、2、3 年生存率明显高于 A 组( $P < 0.05$ ); B 组术后的 Karnofsky 评分显著高于 A 组( $P < 0.05$ )。术后血清 miR-181b 浓度明显提高[术后( $162.34 \pm 51.79$ )fmol/L vs. 术前( $91.37 \pm 40.41$ )fmol/L,  $P < 0.05$ ]; 术后血清 miR-497 明显提高[术后( $166.23 \pm 53.68$ )fmol/L vs. 术前( $88.36 \pm 36.72$ )fmol/L,  $P < 0.05$ ]。结论: 术后结合替莫唑胺能够提高神经胶质瘤患者血清 miR-181b 及 miR-497 的表达, 延长患者生存期。

**[关键词]** 替莫唑胺; 神经胶质瘤; miR-181b; miR-497

**[中图分类号]** R739.41

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)09-1226-03

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20180911

## Effects of temozolomide combined with postoperative treatment on serum miR-181b and miR-497 levels in patients with glioma

Ye Yun\*, Zhi Feng, Ma Tao

Department of Neurosurgery, Changzhou First People's Hospital, Changzhou 213003, China

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of temozolomide combined with postoperative treatment on serum miR-181b and miR-497 levels in patients with glioma. **Methods:** Seventy-six patients with postoperative glioma were randomly divided into two groups, namely, group A ( $n=38$ ) and group B ( $n=38$ ). Patients in group A were treated with semustine and those in group B were treated with semustine combined with temozolomide. After the treatment, the effective rate, 1-year, 2-year and 3-year survival rates, Karnofsky scores in the two groups were compared. The serum samples of patients in B group were collected to detect the changes of miR-181b and miR-497 expression before and after treatment. **Results:** Objective response rate and disease control rate in group B were significantly higher than those in group A ( $P < 0.05$ ). The median survival time in group A was shorter than that in group B. And 1-year, 2-year and 3-year survival rates after the operation in group A were significantly lower than those in group B ( $P < 0.05$ ). Karnofsky scores after the treatment was significantly lower in group A than that in group B ( $P < 0.05$ ). The serum levels of miR-181b were significantly increased after operation [postoperative ( $162.34 \pm 51.79$ )fmol/L vs. preoperative ( $91.37 \pm 40.41$ )fmol/L,  $P < 0.05$ ]. The serum levels of miR-497 were significantly increased after operation [postoperative ( $166.23 \pm 53.68$ )fmol/L vs. preoperative ( $88.36 \pm 36.72$ )fmol/L,  $P < 0.05$ ]. **Conclusion:** Temozolomide combined with postoperative treatment can improve the expression of miR-181b and miR-497 in serum of patients with glioma, and miR-181b and miR-497 can be used for the diagnosis and prognosis of glioma.

**[Key words]** temozolomide; glioma; miR-181b; miR-497

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(09): 1226-1228, 1251]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81302197)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: yxzwy1119@163.com

神经胶质瘤是高度血管化及血管生成依赖性生长的人类肿瘤,是临床上常见的原发性颅内恶性肿瘤。神经胶质瘤具有发病率高、复发率高、病死率高以及治愈率低的特点<sup>[1]</sup>。临床上多采用手术切除以及化疗进行治疗,患者生存率有所提高。近年来研究表明,微小RNA(miRNA)对人脑胶质瘤干细胞具有一定调控作用,其中miR-181b及miR-497在神经胶质瘤患者血清中的表达量低,对治疗效果具有诊断意义<sup>[2-3]</sup>。

1970年以来,治疗神经胶质瘤的化疗药物以硝基脲类药物为主,目前此类药物已产生很大耐药性,不利于治疗,因此寻找新的治疗策略刻不容缓<sup>[4]</sup>。替莫唑胺具有很强的抗血管活性以及抑制肿瘤生长的作用,是目前治疗神经胶质瘤的首选特效化疗药物<sup>[5]</sup>。但是替莫唑胺的作用持续时间短,单独用药效果不是很理想,临床上倾向于多种药物联合应用以提高疗效。因此,本研究对神经胶质瘤患者采用术后结合替莫唑胺化疗的方法进行治疗,研究其对miR-181b及miR-497表达的影响,旨在为临床上神经胶质瘤疾病的诊断以及预后提供有利的实验依据。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

收集2011年5月—2016年5月常州市第一人民医院神经外科收治的神经胶质瘤患者76例,随机分为A、B两组,每组38例。A组男21例,女17例,年龄25~67岁,平均(43.1±2.8)岁;肿瘤部位位于额叶者17例,颞叶者7例,枕叶者6例,顶叶者8例;病理分级标准:Ⅱ级21例,Ⅲ级11例,Ⅳ级6例。B组患者男23例,女15例,年龄25~66岁,平均(43.5±2.4)岁;肿瘤部位位于额叶者18例,颞叶者9例,枕叶者5例,顶叶者6例;病理分级标准:Ⅱ级22例,Ⅲ级10例,Ⅳ级6例。两组患者的性别、年龄、组织病理学变化等基本资料差异不显著( $P > 0.05$ ),具有可比性。研究方案报经医院伦理委员会批准。

纳入标准:入组患者均已经病理学证实确诊为神经胶质瘤;年龄18~80岁;预计生存时间超过3个月。排除标准:具有放化疗禁忌证者;伴有严重心、肝、肾等实质性器官疾病者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 治疗

A组患者采用司莫司汀治疗,静脉滴注,0.1 g/m<sup>2</sup>,1次/d,6周为1个疗程。B组患者采用司莫司汀结合替莫唑胺治疗,静脉滴注司莫司汀(0.1 g/m<sup>2</sup>,1次/d)

的同时口服替莫唑胺,50 mg/m<sup>2</sup>,1次/d,治疗4周为1个疗程。采集患者治疗前、治疗后配对血清标本,置于-80℃保存,以备荧光定量PCR检测血清中miR-181b及miR-497的表达量。

#### 1.2.2 观察指标

临床疗效:根据RECIST对神经胶质瘤的评估标准<sup>[6]</sup>,病灶完全消失且维持时间在1个月以上为完全缓解(complete response, CR);病灶体积缩小超过50%,且维持时间在1个月以上为部分缓解(partial response, PR);病灶体积降低不足50%,且(或)增大≤25%为稳定(stable disease, SD);病灶增大>25%或者有新增病灶为进展(progress disease, PD)。观察客观有效率(objective response rate, ORR)、疾病控制率(disease control rate, DCR),其中ORR=(CR+PR)/总例数;DCR=(CR+PR+SD)/总例数。

术后生存情况:分别统计两组患者术后1、2、3年生存率,主要采用电话随访、门诊的方式进行统计。生活质量:采用Karnofsky评分量表在术后6个月对两组患者生存质量进行评估。血清miR-181b及miR-497表达量:治疗后6个月,采用RT-qPCR对两组患者血清中miR-181b及miR-497表达量进行测定。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行数据处理,计量资料采用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验,治疗前后比较采用配对 $t$ 检验,等级资料比较采用秩和检验,计数资料组间比较采用卡方检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者临床疗效比较

B组ORR显著高于A组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组患者DCR差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表1)

### 2.2 两组患者治疗前后生活质量评分比较

治疗前,两组患者Karnofsky评分差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后,两组Karnofsky评分均有所提高,且B组高于A组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表2)。

### 2.3 两组患者3年内生存率比较

随访发现,A组中位生存期为10.8个月,显著低于B组的14.9个月,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后A组的1、2、3年生存率显著低于B组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表3)。

表1 两组患者临床疗效比较

Table 1 Comparison of clinical efficacy between two groups

组别	CR(例)	PR(例)	SD(例)	PD(例)	ORR(%)	DCR(%)
A组(n=38)	2	18	9	7	52.6	76.3
B组(n=38)	4	25	6	3	76.3	92.1
$w\chi^2$ 值		1.940			4.650	1.830
P值		0.051			0.031	0.174

表2 两组患者治疗前后生活质量评分比较

Table 2 Comparison of life quality scores before and after treatment in two groups

组别	治疗前	治疗后	t值	P值
A组(n=38)	50.23 ± 4.98	54.28 ± 7.14	2.868	0.006
B组(n=38)	49.82 ± 5.25	59.74 ± 6.34	7.429	<0.001
t值	0.349	3.525		
P值	0.728	0.001		

表3 两组患者生存率比较

Table 3 Comparison of survival rate between two groups [n(%)]

组别	1年	2年	3年
A组(n=38)	18(47.4)	12(31.6)	8(21.1)
B组(n=38)	27(71.1)	20(52.6)	17(44.7)

## 2.4 血清 miR-181b 及 miR-497 qRT-PCR 检测结果

治疗前,两组患者血清 miR-181b 及 miR-497 表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后,B组患者血清 miR-181b 及 miR-497 表达水平均显著高于A组,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ,表4)。

表4 两组患者治疗前后血清 miR-181b 及 miR-497 表达水平比较

Table 4 Comparison of serum miR-181b and miR-497 levels between two groups before and after treatment (fmol/L)

组别	miR-181b		miR-497	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	90.42 ± 4.81	143.21 ± 11.34	87.54 ± 5.12	140.15 ± 4.83
B组	91.37 ± 4.43	162.34 ± 12.79	88.36 ± 6.71	166.23 ± 3.68
t值	0.896	6.899	0.599	26.476
P值	0.373	<0.001	0.551	<0.001

## 3 讨论

近年来,随着医疗水平的提高及相关基础科学研究的进步,肿瘤治疗也取得了显著进展,多种肿瘤患者的生存期显著延长,肿瘤患者的生存质量得

到改善。但中枢神经系统肿瘤的治疗及预后仍很不理想,病死率较高。神经胶质瘤是临床上常见的颅内恶性肿瘤,是一种高度血管化及血管生成依赖性生长的肿瘤,具有恶性程度高、侵袭性生长、与正常脑组织之间界限不明显等特点。目前,临床最常用、最基本的治疗方法是开颅手术切除肿瘤,手术以最大限度切除肿瘤、保护肿瘤周围的正常组织、降低术后复发率、提高术后生存质量为原则,但因其与正常脑组织界限不明显,且常常处于重要功能区,切除部分较大者极易造成功能损伤,影响预后<sup>[7]</sup>。因此通常在开颅手术后,使用化疗药物,以提高治愈率,但目前神经胶质瘤化疗的效果不理想,主要是因为肿瘤细胞对化疗药物产生了耐药<sup>[8-9]</sup>。替莫唑胺是一种新型口服烷化剂,能够通过血脑屏障,生物利用度高,是目前治疗神经胶质瘤的新型有效药物。为此,本研究旨在分析术后结合替莫唑胺对神经胶质瘤患者的临床疗效,同时通过分析血清 miR-181b 及 miR-497 的变化情况,对其可能的作用机制进行初步探讨。

本研究结果表明,替莫唑胺与司莫司汀联合使用后,B组患者的 ORR、DCR 均明显高于 A 组( $P < 0.05$ );B 组中位生存期延长,术后 1、2、3 年生存率也明显提高( $P < 0.05$ );B 组术后生存质量也明显高于 A 组。这表明替莫唑胺联合其他化疗药物的治疗效果比单独使用化疗药物的效果好,与相关研究基本一致<sup>[10-12]</sup>。

近年来,有研究表明人脑胶质瘤干细胞的自我更新和分化受微小 RNA(miRNA)的调控,某些 miRNA 能够诱导胶质瘤细胞凋亡,抑制细胞生长,限制胶质瘤细胞增殖<sup>[13-15]</sup>。因此可通过检测某些 miRNA 的表达量来反映胶质瘤的治疗效果或者疾病进展。本研究采用 qRT-PCR 法检测到 miR-181b 及 miR-497 在神经胶质瘤患者血清中的含量显著降低,而治疗后患者血清中 miR-181b 及 miR-497 的含量较治疗前显著增多,结果表明结合替莫唑胺的治疗方法能够提高神经胶质瘤患者血清 miR-181b 及

(下转第 1251 页)

- tion[J]. *Periton Dialysis Int*, 1995, 15(1):61-64
- [8] Alhosaini M, Walter JS, Singh S, et al. Hypomagnesemia in hemodialysis patients: role of proton pump inhibitors [J]. *Am J Nephrol*, 2014, 39(3):204-209
- [9] Walder RY, Landau D, Meyer P, et al. Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia[J]. *Nat Genet*, 2002, 31(2):171-174
- [10] Schmulen AC, Lerman M, Pak CY, et al. Effect of 1, 25-(OH)2D3 on jejunal absorption of magnesium in patients with chronic renal disease [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 1980, 238(4):G349-G352
- [11] De BF, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. Regulation of magnesium balance: lessons learned from human genetic disease [J]. *CKJ*, 2012, 5(Suppl 1):i15-i24
- [12] Ye H, Zhang X, Guo Q, et al. Prevalence and factors associated with hypomagnesemia in Southern Chinese continuous ambulatory peritoneal dialysis patients [J]. *Periton Dialysis Int*, 2013, 33(4):450-454
- [13] 金咏菊,雷娟,王颖,等. 血液透析患者血镁水平及相关营养状况分析[J]. *中国血液净化*, 2015, 14(11):658-661
- [收稿日期] 2017-08-16

(上接第1228页)

miR-497的表达,亦表明血清miR-181b及miR-497具有评估手术效果、判断患者预后的潜能。血清中miRNA含量稳定,检测血清中miRNA的含量对于患者无创伤性,更利于临床广泛应用。

综合上述分析,可以得出结论,术后结合替莫唑胺可显著提高神经胶质瘤患者生存率,同时能够上调miR-181b及miR-497表达水平,具有一定临床应用价值。

#### [参考文献]

- [1] 王 韡. 曲古菌素A调控Survivin干预神经胶质瘤凋亡的研究[D]. 长春:吉林大学,2014
- [2] Lin X, Yang B, Liu W, et al. Interplay between PCBP2 and miRNA modulates ARHGDI1 expression and function in glioma migration and invasion[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15):19483-19498
- [3] 郑雪娇. miR-497抑制脑胶质瘤细胞增殖的作用研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2014
- [4] 韩 煜. 原发性胶质母细胞瘤中错配修复基因hMSH6的表达和对预后的影响[D]. 天津:天津医科大学,2016
- [5] 刘晓阳. 甘草素对替莫唑胺诱导胶质瘤细胞凋亡的增敏作用及机制研究[D]. 长春:吉林大学,2016
- [6] 郑 劫,江龙委,姚 露,等. DC-CIK细胞治疗晚期结肠癌的临床疗效[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22(4):459-464
- [7] Mikuni N, Miyamoto S. Surgical treatment for glioma: extent of resection applying functional neurosurgery [J]. *Neurol Med Chir(Tokyo)*, 2010, 50(9):720-726
- [8] 孙红军. 异甘草素对SHG44人脑胶质瘤干细胞增殖和分化的影响及机制研究[D]. 兰州:甘肃中医药大学,2016.
- [9] Wang F, Huang N, Yang Q, et al. Reversal of doxorubicin-resistance by *Salvia miltiorrhizaligustrazine* in the SHG44/doxorubicin glioma drug-resistant cell line [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4):4708-4714
- [10] 王 雷,魏 盾,孟凡斌,等. 神经胶质瘤术后放疗同步替莫唑胺化疗的临床疗效及安全性评估[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2014, 6(6):762-765
- [11] 胡大玲,张 寅. FoxO3在复发胶质母细胞瘤中的表达及其对替莫唑胺耐药性的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(11):1389-1394
- [12] Abe T, Nakahara Y, Kouguchi M, et al. Expression of drug resistance genes associated with hypoxia in human glioma [J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(6):52
- [13] 李 平,赵 兵,吴德俊,等. microRNA-181b影响U87胶质瘤干细胞对替莫唑胺化疗耐受性的实验研究[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(7):2957-2962
- [14] 管晓翠,张春妮,王 成,等. 星形细胞瘤患者癌组织和血清miR-497表达下降及其临床意义[J]. *临床检验杂志*, 2013, 31(2):127-130
- [15] Jia P, Cai H, Liu X, et al. Long non-coding RNA H19 regulates glioma angiogenesis and the biological behavior of glioma-associated endothelial cells by inhibiting microRNA-29a[J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(2):359-369
- [收稿日期] 2017-02-27