

· 论 著 ·

利拉鲁肽通过下调 NF- κ B 及相关炎性因子 减轻糖尿病大鼠脑缺血损伤的研究*

勿坡巫且¹, 邓才洪^{2△}, 李伍基¹, 杨 林¹, 沈树安¹, 白子格¹

1. 四川省凉山彝族自治州第二人民医院神经内科, 四川西昌 615000;

2. 成都大学附属医院神经内科, 四川成都 610000

摘 要:目的 探讨利拉鲁肽减轻糖尿病大鼠脑缺血损伤的作用及机制。方法 实验动物为 SPF 级 SD 雄性大鼠 54 只, 分为假手术组(S 组)、糖尿病合并脑缺血组(Di 组)、利拉鲁肽干预糖尿病合并脑缺血组(Li 组), 每组 18 只。采用神经功能缺损评分对各组大鼠的神经功能进行评估; 采用 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法检测脑梗死面积; 采用过氧化氢还原法检测脑组织中的髓过氧化物酶(MPO)活性; 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测脑组织中的 IL-1 β 水平; 采用 Western blot 检测脑组织核转录因子- κ B(NF- κ B)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的蛋白表达水平。结果 神经功能缺损评分显示: S 组、Li 组和 Di 组分别为 0、(2.57 $\pm$ 0.64)、(3.50 $\pm$ 0.55)分, Di 组和 Li 组的评分均高于 S 组($P < 0.05$), Li 组的评分低于 Di 组($P < 0.05$)。TTC 染色显示: S 组、Li 组和 Di 组的梗死面积百分比分别为 0、(29.44 $\pm$ 2.52)%、(36.58 $\pm$ 4.85)%, Di 组和 Li 组的梗死面积百分比均高于 S 组($P < 0.05$), Di 组高于 Li 组($P < 0.05$); MPO 活性的测定: S 组、Di 组和 Li 组分别为(0.067 $\pm$ 0.003)、(0.973 $\pm$ 0.049)、(0.549 $\pm$ 0.420)U/mL, Di 组和 Li 组均高于 S 组($P < 0.05$), Li 组比 Di 组显著降低($P < 0.05$)。IL-1 β 水平的测定: S 组、Di 组和 Li 组分别为(35.43 $\pm$ 2.35)、(72.42 $\pm$ 6.13)、(56.94 $\pm$ 2.15)pg/mL, Di 组和 Li 组均高于 S 组($P < 0.05$), Li 组比 Di 组显著降低($P < 0.05$)。NF- κ B、TNF- α 蛋白表达的相对水平: Di 组和 Li 组均高于 S 组($P < 0.05$), Li 组比 Di 组显著降低($P < 0.05$)。结论 利拉鲁肽具有减轻糖尿病大鼠局灶性脑缺血损伤的作用, 其机制与降低 MPO 活性、降低 NF- κ B 及相关炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 的表达有关。

关键词: 利拉鲁肽; 糖尿病; 脑缺血; 髓过氧化物酶; 核转录因子- κ B; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-1 β

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.17.013

中图法分类号: R446.19

文章编号: 1673-4130(2021)17-2105-05

文献标志码: A

Liraglutide protects diabetes mellitus complicated with cerebral ischemia rats by downregulating inflammatory factor*

WUPO Wuqie¹, DENG Caihong^{2△}, LI Wuji¹, YANG Lin¹, SHEN Shu'an¹, BAI Zige¹

1. Department of Neurology, the Second People's Hospital of Liangshan, Xichang, Sichuan

615000, China; 2. Department of Neurology, the Affiliated Hospital & Clinical Medical

College of Chengdu University, Chengdu, Sichuan 610000, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of liraglutide in reducing cerebral ischemic damage in diabetic rats. **Methods** The experimental animals were 54 SPF male SD rats, which were divided into sham operation group (S group), diabetes combined with cerebral ischemia group (Di group), and liraglutide intervention diabetes combined with cerebral ischemia group (Li group), $n = 18$ in each group. The neurological deficit score was used to evaluate the neurological function of each group. The 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining method was used to detect the area of cerebral infarction; the hydrogen peroxide reduction method was used to detect the myeloperoxidase (MPO) activity in brain tissue; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the level of interleukin-1 β (IL-1 β) in brain tissue; Western blot was used to detect nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) in brain tissue and tumor necrosis factor- α

* 基金项目: 成都大学自然科学重点项目(2020YZ203)。

作者简介: 勿坡巫且, 男, 主治医师, 主要从事脑血管疾病的相关研究。△ 通信作者, E-mail: 2863171885@qq.com。

本文引用格式: 勿坡巫且, 邓才洪, 李伍基, 等. 利拉鲁肽通过下调 NF- κ B 及相关炎性因子减轻糖尿病大鼠脑缺血损伤的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(17): 2105-2108.

(TNF- α) protein expression level. **Results** The neurological deficit scores showed that the scores of S group, Li group and Di group were 0, (2.57 ± 0.64) , (3.50 ± 0.55) , respectively. The scores of Di group and Li group were higher than those of S group ($P < 0.05$), The score of Li group was lower than that of Di group ($P < 0.05$). TTC staining showed that the infarct area percentages of S group, Li group and Di group were 0, $(29.44 \pm 2.52)\%$, $(36.58 \pm 4.85)\%$, respectively, and the percentage of infarct areas of Di group and Li group were higher than that of S group ($P < 0.05$), the Li group is higher than that of Di group ($P < 0.05$). Measurement of MPO activity: the MPO activity of S group, Di group and Li group were (0.067 ± 0.003) , (0.973 ± 0.049) , (0.549 ± 0.420) U/mL, respectively; the Di and Li group were higher than S group ($P < 0.05$), the Li group was significantly lower than the Di group ($P < 0.05$). Determination of IL-1 β levels: the levels of the S group, Di group and Li group were (35.43 ± 2.35) , (72.42 ± 6.13) , (56.94 ± 2.15) pg/mL, respectively; the Di group and Li group were higher than S group ($P < 0.05$), the Li group was significantly lower than the Di group ($P < 0.05$). The relative levels of NF- κ B and TNF- α protein expression: the Di group and Li group were higher than S group ($P < 0.05$), the Li group was significantly lower than Di group ($P < 0.05$). **Conclusion** Liraglutide has certain protective effect on diabetes mellitus complicated with cerebral ischemia injury in rats. Its mechanism may be associated with the downregulation the activity of MPO, reduce the expression of NF- κ B, TNF- α and IL-1 β .

Key words: Liraglutide; diabetes mellitus; cerebral ischemia; myeloperoxidase; nuclear transcription factor- κ B; tumor necrosis factor- α ; interleukin-1 β

脑梗死属于缺血性脑血管疾病,是最常见的疾病之一,严重危害人类健康,其具有发病率高、致死率高、病死率高、复发率高等特点^[1]。糖尿病和缺血性脑血管病常常伴发,脑梗死患者发病时合并糖尿病的约占 20%^[2]。糖尿病可增加脑梗死患者的病死率、致死率和复发率^[3],因此推测糖尿病可能会促进脑梗死的发展与恶化。利拉鲁肽是一种治疗糖尿病的药物,是人工合成的胰高血糖素样肽(GLP-1)类似物,其同源序列与天然的 GLP-1 高度吻合^[4],具备天然 GLP-1 的各种生理作用。近年的研究发现利拉鲁肽可顺利透过人体的血脑屏障^[5],与脑内 GLP-1 受体(GLP-1R)相结合从而发挥抗炎、抗氧化应激等作用。本研究通过建立大脑中动脉缺血(MCAO)糖尿病大鼠模型,探讨了利拉鲁肽在糖尿病脑缺血中的抗炎作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验动物为 54 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,每只 280~320 g,8~10 周龄,购买于佛山市医学实验动物中心。

1.2 实验试剂 利拉鲁肽注射液购自丹麦诺和诺德生物科技有限公司;链脲佐菌素(STZ)、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)购自美国 Sigma 公司;髓过氧化物酶(MPO)过氧化氢还原法检测试剂盒、白细胞介素-1 β (IL-1 β)ELISA 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司;鼠源性抗体肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、兔源性抗体核转录因子- κ B(NF- κ B)购自美国 Santa 生物科技有限公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔 IgG 抗体购自北京中杉生物科技有限责任公司。

1.3 方法

1.3.1 实验分组 将 54 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法随机分成数量相等的 3 个组,分别为假手术组(S 组)、糖尿病合并脑缺血组(Di 组)、利拉鲁肽干预糖尿病合并脑缺血组(Li 组),每组 18 只。

1.3.2 糖尿病大鼠模型的制作 参照制备糖尿病大鼠模型相关文献^[6];Di 组和 Li 组大鼠高脂高糖饮食喂养 14 d 后,对其禁食禁饮 8 h 以上,左侧下腹部腔内注射 STZ 20 mg/kg,24 h 后再次同部位注射 STZ 35 mg/kg。密切动态观察大鼠症状和体征变化,采用罗氏血糖仪测定尾尖静脉血糖,若随机血糖 > 16.9 mmol/L 且伴有多饮、多尿、体质量下降等表现判定为糖尿病大鼠模型制作成功(7 d 内判定)。S 组大鼠腹腔注射等体积经灭菌处理的枸橼酸/枸橼酸钠缓冲液。Li 组大鼠糖尿病模型制作成功后再给予利拉鲁肽注射液 100 μ g/kg(每 12 小时给药 1 次),连续注射 7 d(包括 MCAO 手术日)。各组大鼠均连续监测血糖 14 d。

1.3.3 MCAO 模型制作 糖尿病大鼠模型制作成功后,Di 组和 Li 组(给予利拉鲁肽进行干预后)均采用 Longa 线栓法建立永久性 MCAO 模型。S 组将线栓插入距颈内外动脉分叉 10.0~12.0 mm 处,其余各组将线栓插入至颈动脉分叉处 (18.0 ± 0.5) mm(略感阻力为止)。

1.3.4 神经功能缺损评分及实验动物剔除 根据文献^[5]进行评分:0 分,无功能缺损体征;1 分,不能伸展对侧前爪子;2 分,向病灶对侧转圈圈;3 分,轻推鼠背时向瘫痪处倾倒;4 分,无自发活动和意识;5 分,死亡。在模型制作后 24 h 进行神经功能缺损评分,1~4 分视为制模成功,0 分和 5 分者剔除。

1.3.5 TTC 染色检测脑梗死面积 MCAO 模型建

立 48 h,随机取各组大鼠 6 只进行麻醉断头取脑(在冰上进行),脑组织置于-20℃冰箱中速冻 10 min,将大脑平均冠状切为 5 片,厚度约 2 mm。置于 2% TTC 磷酸盐缓冲液(PBS)内,37℃锡箔纸避光孵育 30 min,翻面染色,正常脑组织会被染成红色而梗死区不会被染色。4%多聚甲醛固定 12 h,随后拍照,照片采用 Image J 软件进行分析,计算脑梗死面积百分比。

1.3.6 脑组织 MPO 活性的检测 MCAO 模型建立 48 h 后,每组中随机取 6 只大鼠,断头取脑,取缺血区脑组织(S 组取手术侧)超声波粉碎(30 s,3 次),4℃12 000 r/min 离心 10 min,保持温度 20~25℃,按试剂盒说明要求操作,取上清液于分光光度计下立即进行扫描,检测吸光度,随后按公式计算 MPO 的活性。

1.3.7 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测脑组织中的 IL-1 β 水平 MCAO 术 48 h 麻醉断头取脑,取缺血区脑组织(S 组取手术侧),每组称取 100 mg,加入 9 倍体积 4℃0.9%生理盐水,用超声波粉碎机将标本制成组织匀浆,置入冷冻离心机,以 4℃、4 000 r/min 离心 10 min,取上清液用于检测,按试剂盒的说明书进行操作,随后在不同波长的分光光度仪中测定吸光度值。

1.3.8 脑组织 NF- κ B 和 TNF- α 蛋白的 Western blot 检测 各组分别取 6 只大鼠脑缺血组织作为检测标本,将所取标本与 SDS 裂解液按一定比例混合在冰上快速研磨 10 min,用脑组织匀浆器反复匀浆,置于 4℃冷冻离心机高速离心,以 12 000 r/min 离心 5 min,收集离心完成的上清液提取总蛋白(NF- κ B 进行核蛋白提取),应用标准的 BCA 法进行总蛋白定量。取处理好的样品加入等体积 2 $\times$ 电泳样品缓冲液均匀混合,以每条泳道上样 20~25 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,随后将蛋白电转至硝酸纤维膜上,用 5%全脱脂奶粉(溶解于 2 $\times$ PBS)封闭,常温下孵育 1 h,加入与抗原相对应一抗[兔抗大鼠 NF- κ B(1:600)或羊抗大鼠 TNF- α (1:500)],在 4℃摇床上缓慢振荡并孵育过夜;反复使用 PBS-T(1 L PBS 中加入 1 mL 吐温-20 溶液)洗膜 5 次,每次 10~12 min,随即加入含 HRP 标记的二抗[山羊抗兔(1:7 000),兔抗山羊(1:7 000)],避光条件下常温孵育 1 h;反复使用 PBS-T 洗膜 5 次,每次 10~12 min,用 ECL 显色剂显色,拍摄滤膜相片,用 HPIAS-1000 病理图文分析系统进行胶带图像分析,获取各组胶带显影的平均吸光度,将目的蛋白与内参蛋白(β -Actin)吸光度比值作为目标蛋白的相对表达水平。

1.3.9 统计学处理 采用 SPSS 13.5 软件包进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多个均数间的比较使用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组的血糖水平的变化 S 组注射前与注射后(监测血糖第 14 天时)血糖水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);Di 组、Li 组注射后(监测血糖第 14 天时)血糖水平均比注射前显著升高($P<0.05$);Li 组注射后(监测血糖第 14 天时)血糖水平低于 Di 组($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠腹腔注射 STZ 或枸橼酸/枸橼酸钠缓冲液前后血糖水平变化($\bar{x}\pm s$, $n=18$,mmol/L)

组别	注射前	注射后
S 组	4.77 $\pm$ 0.41	4.55 $\pm$ 0.55
Di 组	4.61 $\pm$ 0.34	27.31 $\pm$ 4.22 ^a
Li 组	4.79 $\pm$ 0.50	18.62 $\pm$ 3.24 ^{ab}

注:与同组腹腔注射前的血糖水平比较,^a $P<0.05$;与 Di 组比较,^b $P<0.05$;注射后是指监测血糖第 14 天时。

2.2 神经功能缺损评分 Di 组和 Li 组评分均高于 S 组($P<0.05$),Li 组评分低于 Di 组($P<0.05$),见表 2。

2.3 脑梗死面积 TTC 染色后 S 组无梗死区,其余组均有梗死区,见图 1。与 S 组比较,Di 组和 Li 组的梗死面积百分比显著增加($P<0.05$);与 Di 组比较,Li 组的梗死面积减小($P<0.05$),见表 2。

表 2 各组神经功能缺损评分及梗死面积百分比比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	神经功能缺损评分(分)	梗死面积百分比(%)
S 组	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Di 组	3.50 $\pm$ 0.55 ^a	36.58 $\pm$ 4.85 ^a
Li 组	2.57 $\pm$ 0.64 ^{ab}	29.44 $\pm$ 2.52 ^{ab}
<i>F</i>	11.43	8.463
<i>P</i>	<0.05	<0.05

注:与 S 组比较,^a $P<0.05$;与 Di 组比较,^b $P<0.05$ 。

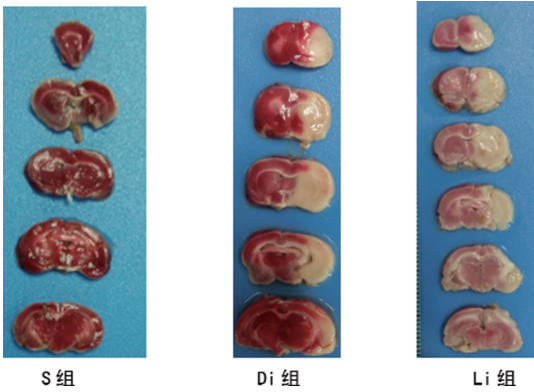


图 1 术后各组 48 h 的 TTC 染色结果

2.4 MPO 活性的测定 Di 组和 Li 组的脑组织 MPO 活性高于 S 组($P<0.05$);Li 组 MPO 活性低于 Di 组($P<0.05$),见表 3。

2.5 ELISA 检测脑组织 IL-1 β 水平 Di 组和 Li 组脑组织 IL-1 β 水平高于 S 组($P<0.05$);Li 组脑组织

IL-1 β 水平低于 Di 组 ($P<0.05$), 见表 3。

2.6 Western blot 检测脑组织中的 NF- κ B 和 TNF- α 蛋白表达水平 Di 组和 Li 组的 NF- κ B、TNF- α 蛋白

相对表达水平高于 S 组 ($P<0.05$); 与 Di 组比较, Li 组的 TNF- α 、NF- κ B 蛋白相对表达水平显著降低 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 3 组脑组织 MPO 活性、IL-1 β 水平及 NF- κ B、TNF- α 相对表达水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	MPO(U/mL)	IL-1 β (pg/mL)	NF- κ B	TNF- α
S 组	0.067 $\pm$ 0.003	35.43 $\pm$ 2.35	0.315 $\pm$ 0.048	0.307 $\pm$ 0.085
Di 组	0.973 $\pm$ 0.049 ^a	72.42 $\pm$ 6.13 ^a	72.420 $\pm$ 6.130 ^a	1.756 $\pm$ 0.515 ^a
Li 组	0.549 $\pm$ 0.042 ^{ab}	56.94 $\pm$ 2.15 ^{ab}	56.940 $\pm$ 2.150 ^{ab}	1.219 $\pm$ 0.317 ^{ab}
F	18.156	7.403	28.5	27.723
P	$P<0.05$	$P<0.05$	$P<0.05$	$P<0.05$

注:与 S 组比较, ^a $P<0.05$; 与 Di 比较, ^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

本研究发现利拉鲁肽可减少糖尿病脑缺血组织的梗死面积百分比和改善神经功能缺损评分, 显著降低缺血脑组织中 MPO 的活性和 IL-1 β 水平, 可显著下调 NF- κ B 和 TNF- α 蛋白的表达水平。利拉鲁肽具有抗炎作用, 利拉鲁肽下调上述炎症因子可能是保护糖尿病合并脑缺血患者神经细胞的机制之一。

糖尿病是严重威胁人类健康的慢性疾病, 易并发各类严重的血管疾病。曾有研究报道糖尿病是脑梗死发病或(和)预后不良的独立危险因素之一^[7]。本研究中, Di 组大鼠神经功能缺损评分比 Li 组大鼠更高, 梗死面积百分比更大, 提示糖尿病是导致脑缺血病情加重的重要因素之一。

利拉鲁肽为 GLP-1 长效类似物, 由基因重组技术合成, 半衰期为 13 h, 用于 2 型糖尿病患者的治疗。有研究显示, 利拉鲁肽可透过血脑屏障, 与颅内 GLP-1R 结合而发挥作用^[8]。国外学者研究发现利拉鲁肽有抗炎性反应的作用^[9]。利拉鲁肽能够通过抗氧化和抗炎效应上调血管内皮生长因子(VEGF), 显著减轻大脑中动脉阻塞所致的脑缺血再灌注损伤^[10]。利拉鲁肽可通过抗炎、抗凋亡和抗氧化应激等作用, 减少糖尿病大鼠脑缺血引起的神经细胞损伤, 是一个神经保护剂^[11]。研究表明, 利拉鲁肽通过一系列抗炎性反应、抗氧化应激作用, 可显著减轻糖尿病模型大鼠的脑缺血损伤程度。MPO 为中性粒细胞活化的标记物, 其活性是评价中性粒细胞在组织中浸润的关键指标^[12]。本研究显示, Di 组和 Li 组脑组织 MPO 活性均较 S 组显著升高, 神经功能缺损评分和脑梗死面积百分比显著增大, 表明中性粒细胞浸润与糖尿病合并脑缺血发生发展关系密切, 而利拉鲁肽干预后 MPO 活性下降, 神经功能缺损评分和脑梗死面积百分比均显著降低, 表明利拉鲁肽具有降低 MPO 活性的作用, 从而降低糖尿病合并脑缺血损伤的程度。

研究已证实 NF- κ B、TNF- α 、IL-1 β 为促炎症细胞因子, 在脑缺血发生、发展中发挥重要作用, 参与脑缺血损伤加重的过程^[13]。IL-1 β 在炎症启动阶段发挥关键作用。NF- κ B 是真核细胞中尤为重要的核转录因

子, 其参与了众多基因表达与调控。研究发现脑缺血后其表达显著上调, 随后促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 也表达上调, 从而加重炎症反应和脑缺血损伤, 故通过抑制 NF- κ B 蛋白表达可减轻脑缺血损伤。在本研究中, Di 组 NF- κ B、TNF- α 蛋白表达水平和 IL-1 β 表达水平均较 S 组显著增高, 提示其参与了糖尿病脑缺血损伤的病理过程, 利拉鲁肽干预后 NF- κ B、TNF- α 和 IL-1 β 表达水平均显著下调, 相应的神经功能缺损评分和脑梗死面积百分比也降低, 表明利拉鲁肽减轻糖尿病脑缺血大鼠的神经损伤可能与其下调炎症因子 NF- κ B、TNF- α 和 IL-1 β 相关。

本研究表明, 利拉鲁肽对糖尿病脑缺血损伤者神经功能的保护作用可能主要是通过下调炎症因子的表达水平实现的。因利拉鲁肽广泛应用于临床治疗, 是治疗糖尿病合并脑缺血的新途径, 本研究为探讨利拉鲁肽保护糖尿病脑缺血损伤者神经细胞的作用机制明确了方向。

参考文献

[1] Writing Group Members, MOZAFFARIAN D, BENJAMIN E J, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American heart association[J]. Circulation, 2016, 133(4): 447-454.

[2] THRIFT A G, THAYABARANATHAN T, HOWARD G, et al. Global stroke statistics[J]. Int J Stroke, 2017, 12(1): 13-32.

[3] KOFLER M, GAASCH M, RASS V, et al. The importance of probe location for the interpretation of cerebral microdialysis data in subarachnoid hemorrhage patients[J]. Neurocrit Care, 2020, 32(1): 135-144.

[4] DENG C, CAO J, HAN J, et al. Liraglutide activates the Nrf2/HO-1 antioxidant pathway and protects brain nerve cells against cerebral ischemia in diabetic rats[J]. Comput Intell Neurosci, 2018, 2018: 3094504.

[5] CARACI F, NICOLETTI F, COPANI A. Metabotropic glutamate receptors: the potential for therapeutic applications in Alzheimer's disease[J]. Curr Opin Pharmacol, 2018, 38: 1-7.

(下转第 2112 页)

者的研究中发现,miR-20a 水平的异常升高,并不是仅仅存在于肺癌患者中,肺癌、肝癌以及食管癌患者中均可发现 miR-20a 水平的异常升高。miR-20a 通过对局部组织的促癌基因以及抑癌基因的影响,进而造成肿瘤的发生。同时,miR-20a 还可调节缺氧肿瘤细胞的线粒体功能,进而促进肿瘤细胞的生长^[14],对于肿瘤的远处播散以及浸润均具有重要的意义^[15]。因此,通过对患者的 miR-20a 水平分析,有助于对肺癌患者进行诊断,但单独检测 miR-20a 不足以对肺癌进行确诊。

在对肺癌患者的联合诊断效能的分析中,联合诊断对肺癌患者的诊断特异度高于单独检测,两种方法的诊断可起到互补作用。

参考文献

[1] 汪育锦,黄静宇,胡卫东,等. 2 403 例肺癌临床流行病学分析[J]. 国际肿瘤学杂志,2019,46(8):460-465.

[2] SHRIVASTAVA S,SHRIVASTAVA P S. Exploring the Issue of Tobacco Epidemic and Impairment of Lung Health[J]. MAMC J Med Sci,2019,5(3):154-155.

[3] 冒楷,周晓琪,张海峰. 非小细胞肺癌患者术前 EBUS-TBNA 淋巴结分期与术后病理分期一致性探讨[J]. 现代肿瘤医学,2019,27(7):1158-1160.

[4] 夏贤斌,李坚,汪毅. 血浆 miRNA-20a 和 miRNA-210 对肺癌的诊断价值评价[J]. 江苏大学学报(医学版),2017,27(1):47-52.

[5] 赵宝祥,李华,张亚君,等. 血清癌胚抗原、神经元特异性烯醇化酶、microRNA-20a 和 microRNA-210 联合检测对早期小细胞肺癌的诊断价值[J]. 新乡医学院学报,2019,36(5):452-454.

[6] 中国肺癌防治联盟,中华医学会呼吸病学分会肺癌学组,

中国医师协会呼吸医师分会肺癌工作委员会. 肺癌筛查与管理中国专家共识[J]. 国际呼吸杂志,2019,39(21):1604-1615.

[7] DREWRY J L,LUCK B D,WILLETT R M,et al. Predicting kernel processing score of harvested and processed corn silage via image processing techniques[J]. Comp Electron Agric,2019,160:144-152.

[8] 王泽洲,张扬,莫森,等. 大型单中心医院登记的 7 753 例肺癌手术患者生存报告:基于第 8 版国际肺癌 TNM 分期标准[J]. 中国癌症杂志,2020,30(5):321-327.

[9] BHANDARI S,KUMAR R,PHAM D,et al. Treatment timing in small cell lung cancer,a national cancer database analysis[J]. Am J Clin Oncol,2020,43(5):362-365.

[10] 冀鲲鹏,任基伟,靳宏星. 能谱 CT 扫描在周围型肺癌分型中的应用[J]. 中国医学物理学杂志,2020,37(5):608-611.

[11] 留永健,陈闽江,孙雪峰,等. 临床疑似肺癌纵隔淋巴结转移 EBUS-TBNA 阴性患者的处理[J]. 中国肺癌杂志,2019,22(4):223-227.

[12] 陈坚平,康凯夫,吴国标,等. 应用 EBUS-TBNA 细胞块检查对肺癌的诊断价值及临床意义[J]. 现代医学,2016,44(6):813-815.

[13] REN S,RIVARD C J,YU H,et al. A miRNA panel predicts sensitivity of FGFR inhibitor in lung cancer cell lines[J]. Clin Lung Cancer,2018,19(5):450-456.

[14] SIM J,KIM Y,KIM H,et al. Identification of recurrence-associated microRNAs in stage I lung adenocarcinoma [J]. Medicine(Baltimore),2018,97(25):e10996.

[15] 夏贤斌. 肺癌患者血浆 miRNA-20a 和 miRNA-210 表达的诊断意义[D]. 镇江:江苏大学,2017.

(收稿日期:2020-11-12 修回日期:2021-05-08)

(上接第 2108 页)

[6] GOYAL S N,REDDY N M,PATIL K R,et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes: a clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics[J]. Chem Biol Interact,2016,244:49-63.

[7] ERECEDO-LOPEZ C D,CANTU-ALDANA A,PATEL N J,et al. Insulin in the management of acute ischemic stroke:a systematic review and meta-analysis[J]. World Neurosurg,2020,136:e514-e534.

[8] HOU J,MANAENKO A,HAKON J,et al. Liraglutide,a long-acting GLP-1 mimetic, and its metabolite attenuate inflammation after intracerebral hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2012,32(12):2201-2210.

[9] CANDEIAS E M,SEBASTIAO I C,CARDOSO S M,et al. Gut-brain connection:the neuroprotective effects of the anti-diabetic drug liraglutide[J]. World J Diabetes,2015,6

(6):807-827.

[10] BRIYAL S,SHAH S,GULATI A. Neuroprotective and anti-apoptotic effects of liraglutide in the rat brain following focal cerebral ischemia[J]. Neuroscience,2014,281:269-281.

[11] YU J,NI L,ZHANG X,et al. Surfactant protein D dampens lung injury by suppressing NLRP3 inflammasome activation and NF-κB signaling in acute pancreatitis [J]. Shock,2019,51(5):557-568.

[12] WU X B,SUN H Y,LUO Z L,et al. Plasma-derived exosomes contribute to pancreatitis-associated lung injury by triggering NLRP3-dependent pyroptosis in alveolar macrophages[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2020,1866(5):165685.

(收稿日期:2020-12-20 修回日期:2021-05-09)