

• 论 著 •

血清外泌体 miR-21 靶向 PTEN 激活 PI3K/AKT 信号通路 诱导肺癌细胞的生长和转移的机制分析*

张 茜, 同立宏, 马红霞[△]

新疆医科大学附属中医医院呼吸与危重症医学科, 新疆乌鲁木齐 830002

摘 要:目的 探讨肺癌患者血清外泌体 miR-21 对肺癌细胞生长和转移的影响及机制。方法 收集 18 例健康志愿者和 20 例肺癌患者的血清, 提取并鉴定血清外泌体(记为 Normal exo 和 LCA exo), qRT-PCR 检测 Normal exo 和 LCA exo 中 miR-21 的表达水平, 双荧光素酶报告基因实验检测 miR-21 与 PTEN 的靶向关系, 肺癌细胞 A549 中转染 miR-NC(miR-NC 组)、miR-21 mimic(miR-21 组)、miR-21 mimic+PTEN 质粒(miR-21+PTEN 组)后, CCK8 法检测细胞增殖, Transwell 小室法检测细胞迁移和侵袭能力, Western blot 检测 PTEN 蛋白表达。将 10 $\mu\text{g/mL}$ 时 Normal exo 和 LCA exo 及等体积的 PBS(Normal exo 组、LCA exo 组、PBS 组)与 A549 细胞共孵育, 检测细胞中 miR-21 表达, PTEN 蛋白表达, 细胞增殖、迁移和侵袭能力。A549 细胞与 10 $\mu\text{g/mL}$ 时 LCA exo 共孵育后转染 PTEN 质粒(LCA exo+PTEN 组), 然后检测细胞增殖、迁移和侵袭能力。Western blot 检测 PBS 组、Normal exo 组、LCA exo 组和 LCA exo+PTEN 组 A549 细胞中磷酸酰肌醇 3-激酶(PI3K)和蛋白激酶 B(AKT)磷酸化水平。结果 Normal exo 和 LCA exo 符合外泌体的结构及生物学特征。LCA exo 组中 miR-21 表达显著高于 Normal exo 组($P<0.001$)。PTEN 为 miR-21 的靶基因, 与 miR-NC 组比较, miR-21 组 A549 细胞 PTEN 表达下调($P<0.001$), 细胞增殖、迁移、侵袭能力显著增加($P<0.05$)。与 miR-21 组比较, miR-21+PTEN 组细胞增殖、迁移、侵袭能力显著降低($P<0.05$)。相比于 PBS 组, LCA exo 组细胞 PTEN 表达显著下调($P<0.001$), 细胞增殖、迁移、侵袭能力显著增加($P<0.05$), PI3K 和 AKT 磷酸化水平显著增加($P<0.001$); 与 LCA exo 组比较, LCA exo+PTEN 组 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力显著降低($P<0.05$), PI3K 和 AKT 磷酸化水平显著降低($P<0.001$)。结论 肺癌患者血清外泌体传递 miR-21 靶向 PTEN 促进肺癌细胞的生长和转移。

关键词:肺癌; 血清外泌体; miR-21; 生长; 转移; 磷酸酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.12.016

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2022)12-1479-07

文献标志码:A

Serum exosomes miR-21 targets PTEN to activate PI3K/AKT signaling pathway to induce the growth and metastasis of lung cancer cells*

ZHANG Qian, TONG Lihong, MA Hongxia[△]

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Traditional
Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830002, China

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of serum exosomes miR-21 on the growth and metastasis of lung cancer cells. **Methods** The serum of 18 healthy volunteers and 20 patients with lung cancer were collected. The serum exosomes (Normal exo and LCA exo) were extracted and identified. The expression levels of miR-21 in Normal exo and LCA exo were detected by qRT-PCR. The targeted relationship between miR-21 and PTEN was detected by dual luciferase reporter gene assay. Lung cancer cell line A549 were transfected miR-21 NC (miR-NC group), miR-21 mimic (miR-21 group) and miR-21 mimic+PTEN plasmids (miR-21+PTEN group), cell proliferation was detected by CCK8 method, cell migration and invasion were detected by Transwell chamber method, and PTEN protein expression was detected by Western blot. In addition, 10 $\mu\text{g/mL}$ Normal exo, LCA exo and PBS (Normal exo group, LCA exo group, PBS group) were incubated with A549, the expression of miR-21, PTEN protein, cell proliferation, migration and invasion were detected. After incubating with 10 $\mu\text{g/mL}$ LCA exo, A549 were transfected with PTEN plasmid (LCA exo+PTEN group), cell proliferation, migration and invasion were detected. Western blot was used to detect the phosphorylation levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and protein kinase (AKT) in A549 cells of PBS group,

* 基金项目:新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(2020D04030)。

作者简介:张茜,女,主治医师,主要从事呼吸疾病方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: xwx96556@163.com。

normal exo group, LCA exo group and LCA exo+PTEN group. **Results** Normal exo and LCA exo were consistent with the structure and biological characteristics of exosomes. The expression of miR-21 in LCA exo was significantly higher than that in Normal exo group ($P < 0.001$). PTEN was the target gene of miR-21. Compared with miR-NC group, PTEN expression was down regulated in miR-21 group ($P < 0.001$), and cell proliferation, migration and invasion were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with miR-21 group, the proliferation, migration and invasion ability of miR-21+PTEN group were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with PBS group, the expression of PTEN in LCA exo group was significantly down regulated ($P < 0.001$), the proliferation, migration and invasion of A549 cells were significantly increased ($P < 0.05$), and the phosphorylation levels of PI3K and AKT were significantly increased ($P < 0.001$). Compared with LCA exo group, the proliferation, migration and invasion of A549 cells in LCA exo+PTEN group were significantly decreased ($P < 0.05$). The phosphorylation levels of PI3K and AKT were significantly decreased ($P < 0.001$). **Conclusion** The serum exosomes of lung cancer patients deliver miR-21 targeting PTEN to promote the growth and metastasis of lung cancer cells.

Key words: lung cancer; serum exosomes; miR-21; growth; metastasis; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase signaling pathway

肺癌是常见且病死率较高的恶性肿瘤,其发病率位居恶性肿瘤之首,根据病理特征可将其分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌,肺癌的治疗除了传统的手术和放疗外,一些针对经典肿瘤靶点的药物及针对免疫检查点类药物的成功研发均为肺癌的治疗提供了帮助,但是肺癌患者 5 年生存率仍然较低,约为 15%^[1-3],因此探讨肺癌发生机制,研究新型治疗手段对于肺癌患者至关重要。肿瘤外泌体是一类由肿瘤细胞分泌的纳米级囊泡,可存在于血液、唾液、泪液等体液中,外泌体内含多种遗传物质,包括微小 RNA (miRNA)、长链非编码 RNA (lncRNA)、DNA、环状 RNA (circRNA) 等,其中血清外泌体中 miRNA 与肿瘤的病理机制密切相关,并且具有用于肿瘤诊断和治疗的潜力^[4-5]。有研究显示,miR-21 在肺癌中高表达^[6],亦有学者报道,miR-21 可诱导肿瘤相关成纤维细胞的形成而促进肺癌的发展^[7],亦可调控蛋白激酶 B (AKT)/磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT)/半胱氨酸蛋白酶 3/基质金属蛋白酶 (MMP)-2/MMP-9 信号通路而促进肺癌的生长和转移^[8]。本文探讨了血清外泌体中 miR-21 的表达水平,以及对肺癌细胞生长和转移的影响及机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 20 例肺癌患者的血液标本以及 18 例健康志愿者血液标本。肺癌患者纳入标准:经活检标本病理检查确诊为肺癌、未接受过手术、化疗、放疗等治疗,本研究获得本院伦理委员会批准,患者签署知情同意书。人肺癌细胞 A549 (中国科学院上海细胞库); Transwell 小室 (购自美国 Corning 公司); CCK8 试剂盒 (沈阳万类生物技术有限公司); 蛋白酪氨酸磷酸酶基因 (PTEN)、磷酸化磷酸酰肌醇 3-激酶 (p-PI3K)、PI3K、p-AKT、AKT、CD9、CD63、TSG101、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 一抗、IgG 二抗 (武汉三鹰生物技术有限公司), 双荧光素酶报告基因试验检测试剂盒 (英国 Abcam 公司), Trans Ex-

oTM Serum/Plasma Exosome Kit (北京全式金科技有限公司), ExoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit (德国 QIAGEN 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组 A549 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,分为 miR-NC 组 (转染 miR-NC)、miR-21 组 (转染 miR-21 mimic) 和 miR-21+PTEN 组 (转染 miR-21 mimic 后再转染 PTEN 质粒), Normal exo 组 (A549 细胞与 10 $\mu\text{g/mL}$ Normal exo 共孵育 48 h)、LCA exo 组 (A549 细胞与 10 $\mu\text{g/mL}$ LCA exo 共孵育 48 h)、LCA exo+PTEN 组 (A549 细胞与 10 $\mu\text{g/mL}$ LCA exo 共孵育 48 h 后转染 PTEN 质粒)、PBS 组 (A549 细胞中加入等体积 PBS 培养 48 h)。按照上述分组,使用 Lipofectamine 2000 试剂进行转染。

1.2.2 外泌体提取与鉴定 将 20 例肺癌患者的血液标本及 18 例健康志愿者血液标本置于无菌试管中,放置 30 min 取上层血清,血清外泌体提取使用 TransExoTM Serum/Plasma Exosome Kit 试剂盒。在透射电镜下观察外泌体的结构, Western blot 鉴定外泌体标志蛋白 CD9、CD63、TSG101。

1.2.3 qRT-PCR 使用 ExoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit 提取血清外泌体 miRNA, 使用 miRNA cDNA Synthesis Kit 试剂盒和 EvaGreen miRNA qPCR MasterMix 试剂盒进行 miR-21 逆转录反应和 qRT-PCR 反应, 使用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算 miR-21 表达。引物序列见表 1。

1.2.4 双荧光素酶报告基因试验 TargetScan 数据库预测 miR-21 与 PTEN 结合位点, 构建 PTEN 野生型 (pGL3-PTEN WT 组)、突变型质粒 (pGL3-PTEN MUT 组) 及空白质粒 (pGL3-control 组), 并使用 Lipofectamine 2000 转染试剂将上述质粒转染进 293T 细胞, 再用 RNA 转染试剂将 miR-21 mimic 和 miR-NC 转染至上述 293T 细胞, 使用双荧光素酶报告基

因检测试剂盒检测荧光强度。

表 1 引物序列表

基因	序列
miR-21	正向:CGCGGTAGCTTATCAGACTGATG
	反向:CAGTGCAGGGTCCGAGGTG
U6	正向:CTCGCTTCGGCAGCACA
	反向:AACGCTTCACGAATTTGCGT

1.2.5 CCK8 法检测细胞增殖能力 将转染后或者与外泌体孵育后的各组 A549 细胞接种至 96 孔板,每孔 1 000 个/100 微升,于细胞培养箱中培养 0、24、48、72 h 后,取出对应的 96 孔板,每孔加入 10 μL 的 CCK8 溶液,于细胞培养箱中孵育 4 h 后,用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度值(A 值)。

1.2.6 Transwell 小室法检测细胞迁移和侵袭能力 取各组 A549 细胞用 RPMI-1640 空白培养基稀释,然后以 10 000 个/200 微升接种至 Transwell 小室中(或铺 Matrigel 胶的 Transwell 小室),小室置于 600 μL 含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 的 24 孔板中,然后转移至细胞培养箱中 72 h,取出后用 PBS 清洗小室,底部滴加无水甲醛固定 30 min,底部滴加结晶紫溶液染色 10 min,清洗小室,晾干,显微镜下观察并拍照。

1.2.7 Western blot 检测 PTEN 蛋白表达 取各组 A549 细胞 1×10⁴ 个加入 200 μL RIPA 冰上裂解 30 min,12 000 r/min,离心 15 min,取上清液为细胞总蛋白,BCA 试剂盒进行蛋白定量,取 10 μg 蛋白,SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白,然后转膜,封闭 2 h,PVDF 膜与 PTEN、p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、CD9、CD63、TSG101 抗体 4 ℃过夜孵育,TBST 洗膜后,二抗室温孵育 1.5 h,洗膜后用 ECL 试剂盒显影,拍照,用 Image J 软件对曝光结果进行定量分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 外泌体的鉴定结果 透射电镜观察到 Normal exo 组和 LCA exo 组外泌体粒径在 30~100 nm,具有双层膜结构,呈“杯托”样,并且表达外泌体标志蛋白 CD9、CD63、TSG101。见图 1、图 2。

2.2 肺癌患者血清外泌体中 miR-21 高表达 qRT-PCR 检测结果显示,与 Normal exo 组比较,LCA exo 组中 miR-21 表达上调($P < 0.001$)。见图 3。

2.3 PTEN 为 miR-21 的靶基因 双荧光素酶报告基因检测结果显示,pGL3-PTEN WT 组 293T 细胞

转染 miR-21 mimic 后相对荧光强度低于转染 miR-NC 的细胞($P < 0.001$),而 pGL3-PTEN MUT 组 293T 细胞转染 miR-NC 和 miR-21 mimic 后相对荧光强度无明显变化。Western blot 检测结果显示,相比于 miR-NC 组,miR-21 组 A549 细胞 PTEN 表达水平下调($P < 0.001$)。见图 4。

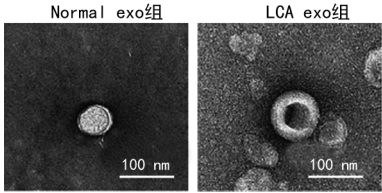


图 1 透射电镜鉴定外泌体

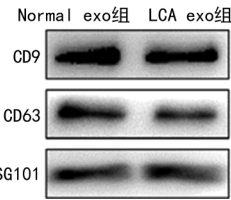
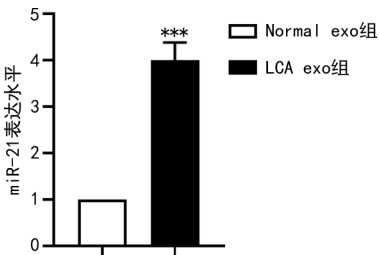
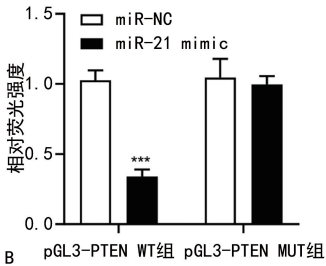
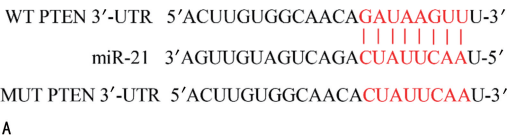


图 2 Western blot 鉴定外泌体

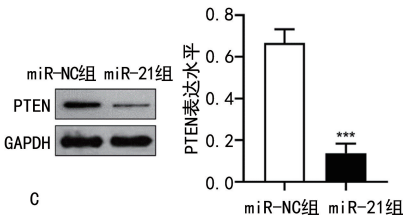


注:*** $P < 0.001$ 。

图 3 qRT-PCR 检测 Normal exo 组和 LCA exo 组中 miR-21 的表达



B pGL3-PTEN WT组 pGL3-PTEN MUT组



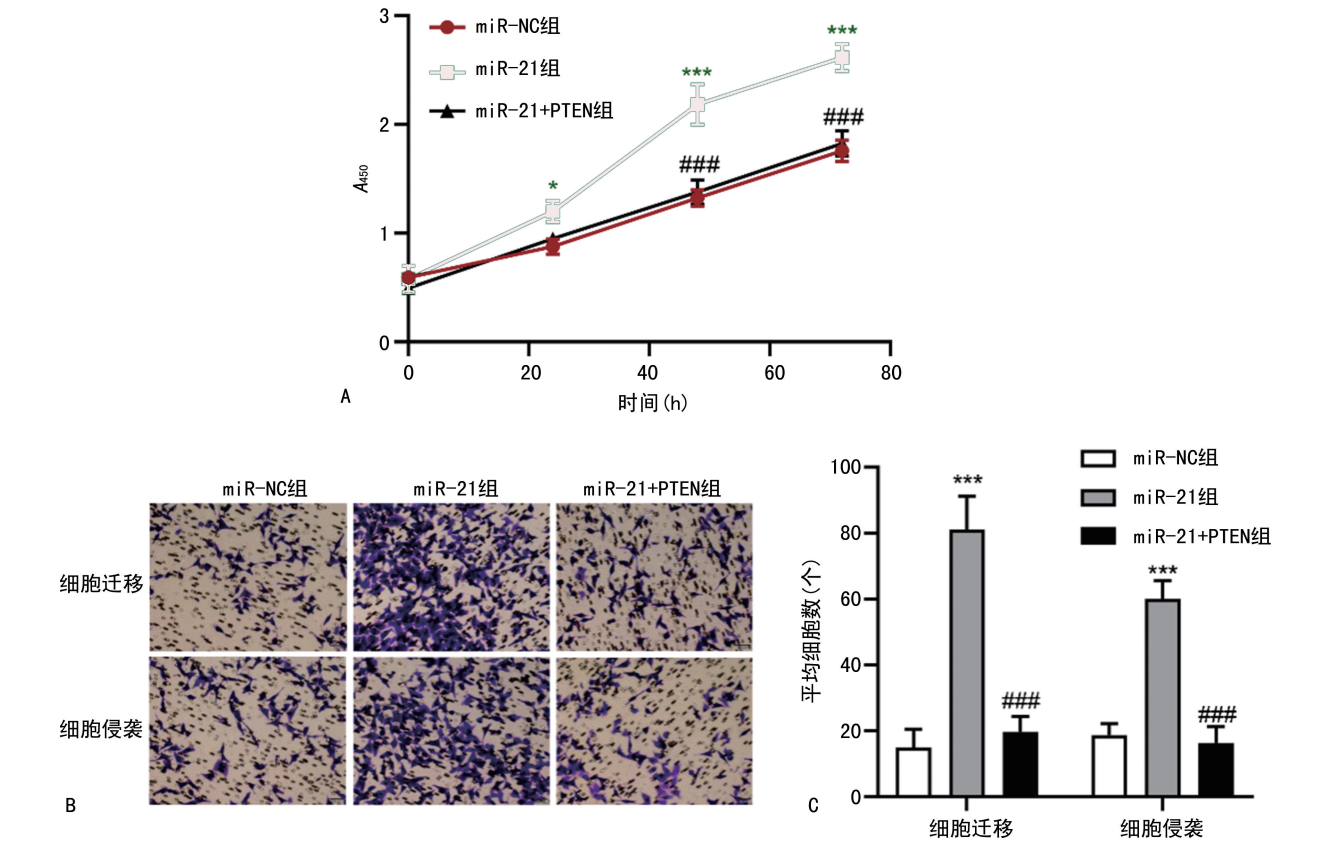
C miR-NC组 miR-21组

注:A 为数据库预测 miR-21 和 PTEN mRNA 的靶向结合位点;B 为双荧光素酶报告基因试验;C 为 Western blot 检测 miR-21 对 PTEN 蛋白表达的影响;与 miR-NC 组比较,*** $P < 0.001$ 。

图 4 miR-21 靶向抑制 PTEN 表达

2.4 miR-21 靶向 PTEN 促进肺癌细胞的生长和转移能力 CCK8、细胞迁移和侵袭检测结果显示,相比于 miR-NC 组,miR-21 组 A549 细胞在 24、48、72 h 的 A 值显著增加($P<0.05$),细胞迁移和侵袭数显著

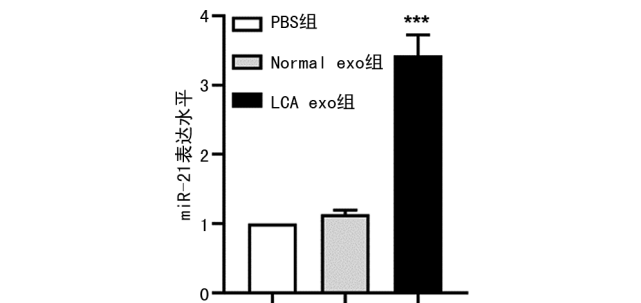
增加($P<0.001$);相比于 miR-21 组,miR-21+PTEN 组细胞在 48、72 h 的 A 值显著下降($P<0.01$),细胞迁移和侵袭数显著减少($P<0.001$)。见图 5。



注:A为3组细胞在不同时间点的A值变化情况;B为显微镜观察3组细胞迁移和侵袭情况($\times 20$);C为3组细胞迁移和侵袭数的比较。与miR-NC组比较,*** $P<0.001$;与miR-21组比较,### $P<0.001$ 。

图5 miR-21 靶向 PTEN 抑制肺癌细胞生长和转移能力

2.5 肺癌患者血清外泌体转移 miR-21 至肺癌细胞情况 qRT-PCR 检测结果显示,相比于 PBS 组,LCA exo 组 A549 细胞中 miR-21 表达水平显著上调($P<0.001$),而 Normal exo 组 A549 细胞中 miR-21 表达水平与 PBS 组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),说明肺癌患者血清外泌体可转移 miR-21 至肺癌细胞中。见图 6。



注:与 PBS 组比较,*** $P<0.001$ 。

图6 qRT-PCR 检测各组 A549 细胞中 miR-21 表达

2.6 血清外泌体传递 miR-21 调控 PTEN 表达而促

进肺癌的生长和转移能力 CCK8、Transwell 及 Western blot 检测结果显示,与 PBS 组比较,LCA exo 组 A549 细胞 A 值在 24、48、72 h 显著增加($P<0.05$),细胞迁移和侵袭数显著增加($P<0.001$),PTEN 表达水平显著下调($P<0.001$),而 Normal exo 组细胞增殖、迁移、侵袭能力及 PTEN 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。LCA exo+PTEN 组 A549 细胞 PTEN 表达上调($P<0.001$),A 值在 24、48、72 h 显著低于 LCA exo 组($P<0.05$),细胞迁移和侵袭数显著低于 LCA exo 组($P<0.001$),说明血清外泌体 miR-21 调控 PTEN 表达而促进肺癌的生长和转移。见图 7。

2.7 血清外泌体传递 miR-21 靶向 PTEN 而激活 PI3K/AKT 信号通路 与 PBS 组比较,LCA exo 组 A549 细胞中 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 显著增加($P<0.001$),而 Normal exo 组无显著变化;与 LCA exo 组比较,LCA exo+PTEN 组 A549 细胞 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 显著降低($P<0.001$),

提示 LCA exo 可通过转移 miR-21 调控 A549 细胞 PTEN 表达而激活 PI3K/AKT 信号通路。见图 8。

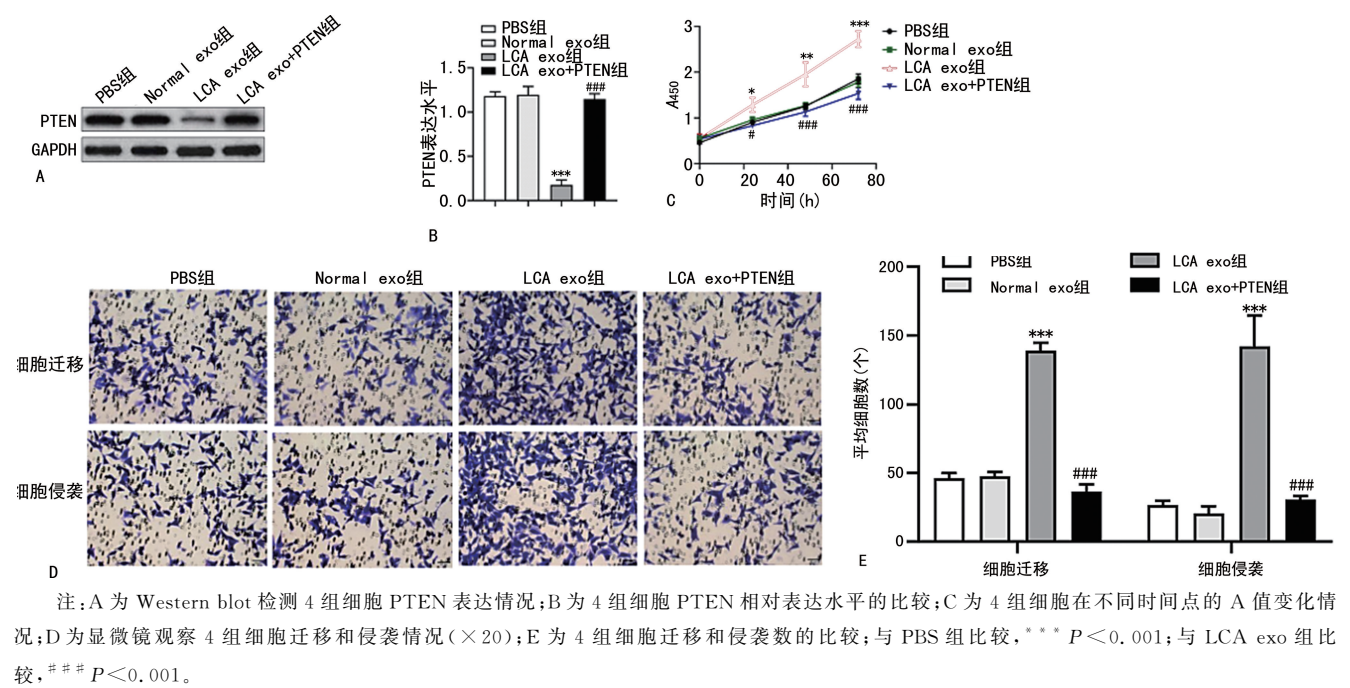


图 7 LCA exo 可抑制 PTEN 表达而促进肺癌细胞的生长和转移

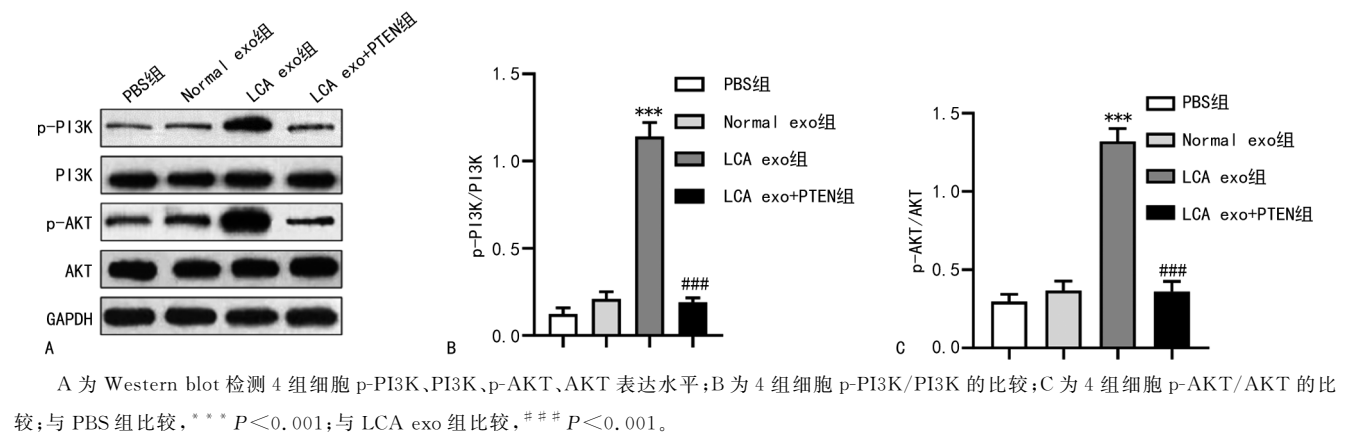


图 8 LCA exo 抑制 PTEN 激活 PI3K/AKT 信号通路

3 讨 论

外泌体是一类由多种活细胞分泌的纳米级囊泡,可在生理状态下和病理状态下调控机体的生长发育以及疾病的发生发展,外泌体可存在于血液、脑脊液、腹水、唾液等体液中^[9-10]。外泌体内含多种遗传物质,如 miRNA、lncRNA、circRNA 等。其中,外泌体 miRNA 在肺癌的发生发展过程中发挥多种生物学调控功能。研究表明,经化疗后的肺癌患者血清外泌体中 miR-208a 高表达,而抑制 P21/AKT/mTOR 信号通路,进而促进肺癌细胞的生长和转移及化疗耐受^[11]。亦有研究表明,非小细胞肺癌患者血清外泌体中 miR-17-5p 表达高于健康人血清外泌体,外泌体 miR-17-5p 具有用于非小细胞肺癌诊断的潜力,将其与传统标志物联合使用,以提高肺癌早期诊断的灵敏度和特异性^[12]。

肺癌患者血清外泌体中的 miRNA 能够作为肺癌诊断和治疗的新型靶点,有研究显示,肺癌患者血清外泌体中 miR-96 作为预测顺铂耐药的标志物,从而为肺癌患者提供更精准的治疗方案,miR-96 的靶向抑制剂可改善肺癌细胞对顺铂的耐药情况^[13]。miR-21 已经被报道可调控肝癌、卵巢癌、乳腺癌等肿瘤的进展,如肿瘤微环境中外泌体 miR-21 可诱导早期肝癌的转移,miR-21 可靶向 PTEN 而促进卵巢癌的增殖和迁移,亦可作为乳腺癌诊断的潜在靶点^[14-16]。在肺癌中,miR-21 可调控脂肪酸的代谢而促进非小细胞肺癌的增殖^[17],也可调控 PTEN/AKT/GSK3 β 信号通路而促进肺癌的生长和上皮间质转化^[18]。本研究首先提取并鉴定了来自健康志愿者和肺癌患者血清中的外泌体,然后检测发现肺癌患者血清外泌体中

miR-21 表达增加,在肺癌细胞 A549 中转染 miR-21 mimic 后,细胞增殖、迁移和侵袭能力均显著增加,说明 miR-21 具有促进肺癌生长和转移的能力。miRNA 是一类可调控肿瘤发生发展的 RNA,其调控机制在靶向结合与靶基因 mRNA 的 3'UTR 区域,而抑制靶基因的翻译^[19]。本研究通过双荧光素酶报告基因试验验证了 PTEN 为 miR-21 的靶基因,并且发现 miR-21 可抑制 PTEN 表达来促进肺癌细胞的生长和转移能力。研究发现,肺癌患者血清外泌体可转移 miR-21 至 A549 细胞中而促进 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力,但是将与外泌体共孵育的 A549 细胞转染 PTEN 质粒后,细胞的增殖迁移和侵袭能力均下降,说明肺癌患者血清外泌体可通过转移 miR-21 调控 PTEN 的表达而影响细胞的生长和转移能力。

PI3K/AKT 信号通路是调控肺癌的重要信号通路,研究表明,PI3K/AKT/mTOR 信号通路可作为非小细胞肺癌的治疗靶点^[20],PI3K/AKT 信号通路抑制剂可显著抑制肺癌的发生发展^[21],亦可诱导肿瘤血管新生而促进肿瘤的生长^[22]。PTEN 作为 PI3K/AKT 信号的调控因子,可抑制 PI3K 和 AKT 的磷酸化水平而抑制 PI3K/AKT 信号通路,进而抑制肿瘤的生长^[23]。本研究发现肺癌患者血清外泌体和 miR-21 可显著提高 p-PI3K 和 p-AKT 水平,即激活 PI3K/AKT 信号通路,而过表达 PTEN 可抑制外泌体对该通路的激活。

综上所述,血清外泌体能够通过传递 miR-21 而调控 PTEN/PI3K/AKT 信号通路,进而促进肺癌的生长和转移,但是其在临床诊断和治疗的应用还需进一步探究。

参考文献

- [1] NASIM F, SABATH B F, EAPEN G A. Lung Cancer[J]. Med Clin North Am, 2019, 103(3): 463-473.
- [2] HOUSTON T. Screening for Lung cancer[J]. Med Clin North Am, 2020, 104(6): 1037-1050.
- [3] OUDKERK M, LIU S, HEUVELMANS M A, et al. Lung cancer LDCT screening and mortality reduction-evidence, pitfalls and future perspectives[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(3): 135-151.
- [4] JOYCE D P, KERIN M J, DWYER R M. Exosome-encapsulated microRNAs as circulating biomarkers for breast cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 139(7): 1443-1448.
- [5] ZOU X, WEI J, HUANG Z, et al. Identification of a six-miRNA panel in serum benefiting pancreatic cancer diagnosis[J]. Cancer Med, 2019, 8(6): 2810-2822.
- [6] BICA-POP C, COJOCNEANU-PETRIC R, MAGDO L, et al. Overview upon miR-21 in lung cancer: focus on NSCLC[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(19): 3539-3551.
- [7] KUNITA A, MORITA S, IRISA T U, et al. MicroRNA-21 in cancer-associated fibroblasts supports lung adenocarcinoma progression[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 8838-8851.
- [8] LI H, ZHAO J, JIA X, et al. miR-21 promotes growth, invasion and migration of lung cancer cells by AKT/P-AKT/cleaved-caspase 3/MMP-2/MMP-9 signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(4): 692-700.
- [9] WORTZEL I, DROR S, KENIFIC C M, et al. Exosome-Mediated Metastasis: Communication from a Distance[J]. Dev Cell, 2019, 49(3): 347-360.
- [10] ZHANG L, YU D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2019, 1871(2): 455-468.
- [11] TANG Y, CUI Y, LI Z, et al. Radiation-induced miR-208a increases the proliferation and radioresistance by targeting p21 in human lung cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 12(35): 7-20.
- [12] ZHANG Y, ZHANG Y, YIN Y, et al. Detection of circulating exosomal miR-17-5p serves as a novel non-invasive diagnostic marker for non-small cell lung cancer patients[J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(8): 152466-152476.
- [13] WU H, ZHOU J, MEI S, et al. Circulating exosomal microRNA-96 promotes cell proliferation, migration and drug resistance by targeting LMO7[J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(6): 1228-1236.
- [14] TIAN X P, WANG C Y, JIN X H, et al. Acidic Microenvironment Up-Regulates Exosomal miR-21 and miR-10b in Early-Stage Hepatocellular Carcinoma to Promote Cancer Cell Proliferation and Metastasis[J]. Theranostics, 2019, 9(7): 1965-1979.
- [15] LIU H Y, ZHANG Y Y, ZHU B L, et al. miR-21 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells through PTEN/PI3K/AKT[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(10): 4149-4155.
- [16] HAN J G, JIANG Y D, ZHANG C H, et al. A novel panel of serum miR-21/miR-155/miR-365 as a potential diagnostic biomarker for breast cancer[J]. Ann Surg Treat Res, 2017, 92(2): 55-66.
- [17] NI K, WANG D, XU H, et al. miR-21 promotes non-small cell lung cancer cells growth by regulating fatty acid metabolism[J]. Cancer Cell Int, 2019, 19(1): 1-10.
- [18] DAI L, CHEN F, ZHENG Y, et al. miR-21 regulates growth and EMT in lung cancer cells via PTEN/Akt/GSK3 β signaling[J]. Front Biosci, 2019, 24(11): 1426-1439.
- [19] POWROZEK T, MALECKA-MASSALSKA T. MiRNA and lung cancer radiosensitivity: a mini-review[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(19): 8422-8428.
- [20] TAN A C. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(3): 511-518.

发展,改善患者病情转归,从而发挥治疗作用。

综上所述,使用 Diode 激光联合替硝唑对牙周炎患者进行治疗,能够降低患者牙周指数 GI、SBI、PLI 以及疼痛程度,同时能够改善患者咬合功能,抑制氧化应激状态,减轻患者炎症反应,降低 MRP-8/14、PGE2 水平,联合治疗效果显著,为临床治疗牙周炎提供一定依据。

参考文献

[1] 彭思斯,曾庆雯,白新娜,等. 综合治疗重度牙周炎患牙临床疗效的个案报道[J]. 实用口腔医学杂志,2021,37(1):130-132.

[2] HERRERA D,ALONSO B,LEON R,et al. Antimicrobial therapy in periodontitis;the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm[J]. J Clin Periodontol,2008,35(8):45-66.

[3] AGARWAL A,SAXENA A,GUMMALURI S S,et al. Clinical and microbiological evaluation of 940-nm diode laser as an adjunct to modified Widman flap for the management of chronic periodontitis: a 6-month randomized split-mouth clinical trial[J]. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects Spring,2021,15(2):133-139.

[4] 蒲洁华,王诗维,吴宗玉. 盐酸米诺环素软膏联合替硝唑治疗慢性牙周炎(CP)的临床疗效及安全性探讨[J]. 贵州医药,2020,44(12):1921-1922.

[5] 刘扬,洪礼琳. 应用 Diode 激光联合根面平整治疗重度慢性牙周炎 46 例[J]. 安徽医药,2020,24(4):791-795.

[6] 中华口腔医学会牙周病学专业委员会. 重度牙周炎诊断标准及特殊人群牙周病治疗原则的中国专家共识[J]. 中华口腔医学杂志,2017,52(2):67-71.

[7] 张火召,曹小军. 口腔种植修复对慢性牙周炎患者牙周指数及 MMP 水平的影响[J]. 当代医学,2021,27(6):142-143.

[8] 周峰,陈虎,曾静. 附子大黄细辛汤联合清化汤治疗牙周炎疗效观察及对疼痛评分的影响[J]. 新中医,2019,51(9):65-68.

[9] 赵莹,刘冀,周林. 聚维酮碘含漱液和氯己定含漱液分别联合牙周基础治疗对慢性牙周炎治疗效果的比较[J]. 实用口腔医学杂志,2021,37(4):505-508.

[10] CARVALHO C V,SARAIVA L,BAUER F P F,et al. Orthodontic treatment in patients with aggressive periodontitis[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop,2018,153(4):550-557.

[11] 金月,金明光. 应用 Diode 激光联合根面平整治疗重度慢性牙周炎的效果及安全性研究[J]. 医学食疗与健康,2020,18(14):58.

[12] 刘钦赞,庞真贞,李晔. 盐酸米诺环素软膏联合替硝唑治疗对慢性牙周炎患者龈沟液中 IL-10、TGF-β 及外周血 Th17、Treg 水平的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(9):966-969.

[13] 韩冰,由力,伏群,等. 半导体激光辅助牙周基础治疗对中、重度慢性牙周炎的临床疗效观察[J]. 临床口腔医学杂志,2021,37(4):222-226.

[14] 周洋,王飞,王飞虎,等. 种植修复对慢性牙周炎牙列缺损患者牙周指数及炎性因子的影响[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2021,18(2):189-192.

[15] 王家焱,邹华丽,曾启新,等. 牙周基础治疗对重度牙周炎患者松动牙临床牙周指标与咬合能力的影响[J]. 广西医学,2018,40(23):2775-2778.

[16] 段立江,聂於凯. 牙周组织再生术配合正畸治疗对糖尿病伴慢性牙周炎患者血清 sICAM-1 及氧化应激水平的影响[J]. 贵州医药,2020,44(5):689-692.

[17] 蔡春芳. 重度牙周炎伴前牙缺失应用不同材料牙周夹板治疗后血清氧化应激、骨代谢及炎症反应指标变化[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(4):519-523.

[18] 冉碧红,龙晓玲,冉萌. 盐酸米诺环素软膏联合布洛芬治疗老年人慢性牙周炎的疗效及对患者炎性因子的影响[J]. 海南医学,2021,32(7):881-884.

[19] 何詠,符箐,周美芳. 透明质酸钠凝胶治疗慢性牙周炎临床疗效观察及对血清炎性因子变化的影响[J]. 中国医师进修杂志,2021,44(8):723-726.

[20] 周智妍,郭敬茹,马平,等. MRP-8/14 在侵袭性牙周炎患者唾液和血清中的表达及其意义[J]. 现代医学,2020,48(6):685-690.

[21] 陈飞,史金先,焦鹏,等. 牙周炎患者血清中内脂素和 PGE2 水平检测及其与牙周炎活动性的关系[J]. 吉林大学学报(医学版),2018,44(3):563-567.

(收稿日期:2021-10-18 修回日期:2022-01-21)

(上接第 1484 页)

[21] CHEN K,SHANG Z,DAI A L,et al. Novel PI3K/Akt/mTOR pathway inhibitors plus radiotherapy:Strategy for non-small cell lung cancer with mutant RAS gene[J]. Life Sci,2020,15(255):117816-117829.

[22] CHENG H W,CHEN Y F,WONG J M,et al. Cancer cells increase endothelial cell tube formation and survival

by activating the PI3K/Akt signalling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res,2017,36(1):27-39.

[23] HU M,ZHU S,XIONG S,et al. MicroRNAs and the PTEN/PI3K/Akt pathway in gastric cancer[J]. Oncol Rep,2019,41(3):1439-1454.

(收稿日期:2021-11-11 修回日期:2022-02-08)