

• 论 著 •

TIM-3 及其配体在子宫腺肌病组织中的表达及意义*

李 清, 彭 艳, 刘小玲

湖北省松滋市第二人民医院妇产科, 湖北荆州 434217

摘 要:目的 探讨 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白分子 3(TIM-3)及其配体半乳凝集素 9(Gal-9)在子宫腺肌病(UA)组织中的表达及意义。**方法** 选取 2019 年 9 月至 2021 年 9 月在该院因 UA 行子宫全切术的患者 50 例,术中剥离在位内膜组织(EU 组)和异位内膜组织(EC 组)。另选取因子宫颈上皮内瘤变Ⅲ级行子宫全切术的患者 50 例,术中取正常子宫内膜组织(对照组)。采用免疫印迹法检测组织中 TIM-3、Gal-9、白细胞介素(IL)-6、IL-8 蛋白表达水平;采用实时荧光定量 PCR 检测 TIM-3、Gal-9、IL-6、IL-8 基因表达水平。分析 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平与月经量和痛经的关系。**结果** EU 组和 EC 组 TIM-3、Gal-9、IL-6、IL-8 基因和蛋白表达水平均高于对照组,且 EC 组高于 EU 组($P<0.05$)。EU 组 TIM-3 蛋白表达水平分别与 IL-6、IL-8 蛋白呈正相关(r 分别为 0.297、0.325, $P<0.05$);Gal-9 蛋白表达水平也分别与 IL-6、IL-8 蛋白呈正相关(r 分别为 0.384、0.302, $P<0.05$)。EC 组 TIM-3 蛋白表达水平分别与 IL-6、IL-8 蛋白呈正相关(r 分别为 0.286、0.309, $P<0.05$);Gal-9 蛋白表达水平也分别与 IL-6、IL-8 蛋白呈正相关(r 分别为 0.357、0.311, $P<0.05$)。与月经量正常患者比较,EU 组和 EC 组中月经量过多患者 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平均较高($P<0.05$)。EU 组和 EC 组中痛经程度越高的患者 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平越高($P<0.05$)。**结论** TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平在 UA 病灶中明显上调,且与炎症因子 IL-6、IL-8 蛋白表达水平呈正相关,另外 TIM-3、Gal-9 蛋白还与患者月经量和痛经有关。

关键词: T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白分子 3; 半乳凝集素 9; 子宫腺肌病; 月经量; 痛经

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.18.017 **中图法分类号:**R711.74

文章编号:1673-4130(2022)18-2260-05 **文献标志码:**A

Expression and significance of TIM-3 and its ligand in adenomyosis tissues*

LI Qing, PENG Yan, LIU Xiaoling

Department of Gynecology and Obstetrics, Songzi Municipal Second People's Hospital, Jingzhou, Hubei 434217, China

Abstract: **Objective** To explore the expression and significance of T cell immunoglobulin and mucin molecule 3 (TIM-3) and its ligand galectin-9 (Gal-9) in adenomyosis (UA) tissues. **Methods** A total of 50 patients with hysterectomy due to UA in this hospital from September 2019 to September 2021 were selected, and the eutopic endometrial tissue (EU group) and ectopic endometrial tissue (EC group) were removed during the operation. In addition, 50 patients with total hysterectomy due to grade Ⅲ cervical intraepithelial neoplasia were selected, and the normal endometrial tissue was taken during the operation (control group). The Western blot was used to detect the protein expression levels of TIM-3, Gal-9, interleukin 6 (IL-6) and IL-8 in the tissues; the real-time quantitative fluorescent PCR method was used to detect the gene expression levels of TIM-3, Gal-9, IL-6 and IL-8. The relationship between TIM-3 and Gal-9 protein expression levels with the menstrual volume and algomenorrhea. **Results** The gene and protein expression levels of TIM-3, Gal-9, IL-6 and IL-8 in the EU group and EC group were higher than those in the control group, moreover the EC group was higher than the EU group ($P<0.05$). In the EU group, the TIM-3 protein expression level was positively correlated with IL-6 and IL-8 protein ($r=0.297, 0.325, P<0.05$); the Gal-9 protein expression level was also positively correlated with IL-6 and IL-8 protein respectively ($r=0.384, 0.302, P<0.05$). In the EC group, the TIM-3 protein expression level was positively correlated with IL-6 and IL-8 protein ($r=0.286, 0.309, P<0.05$); the Gal-9 protein expression level was also positively correlated with IL-6 and IL-8 protein respectively ($r=0.357, 0.311, P<0.05$). Compared with the patients with normal menstrual amount, the expression levels of TIM-3 and Gal-9 protein in patients with menorrhagia in the EU group and EC group were higher ($P<0.05$). The higher the degree of algomenorrhea, the higher the expression levels of TIM-3 and Gal-9 proteins

* 基金项目: 湖北省荆州市科技局科技项目(2018073)。

作者简介: 李清, 女, 主治医师, 主要从事妇产科疾病诊疗研究。

in the EU group and EC group ($P < 0.05$). **Conclusion** TIM-3 and Gal-9 protein expression levels are significantly up-regulated in UA lesions, moreover which are positively correlated with the expression levels of inflammatory factors IL-6 and IL-8 proteins. In addition, TIM-3 and Gal-9 proteins are also related to the menstrual volume and algomenorrhea.

Key words: T cell immunoglobulin and mucin molecule 3; galectin-9; adenomyosis; menstrual amount; algomenorrhea

子宫腺肌病(UA)是子宫内膜腺体和间质侵入子宫肌层,形成局部或弥漫性病灶的一种雌激素依赖性疾病,其发病机制目前尚未完全明确^[1]。免疫炎症损伤与 UA 密切相关,UA 病灶中可发现炎症细胞因子白细胞介素(IL)-6、IL-8 等表达水平升高^[1-2]。T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白分子 3(TIM-3)广泛表达于自然杀伤(NK)细胞、调节性 T(Treg)细胞、辅助性 T 细胞(Th)17 和树突状细胞等细胞表面,参与负性免疫调控^[3]。TIM-3 与卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、子宫内膜异位症和流产等密切相关^[4]。然而 TIM-3 与 UA 的关系既往少有报道。半乳凝集素 9(Gal-9)是 TIM-3 的主要配体之一,TIM-3 与之结合后产生很强的细胞免疫抑制作用^[5]。本研究采用免疫印迹法检测 UA 患者在位内膜组织和异位内膜组织 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平,采用实时荧光定量 PCR 检测 TIM-3、Gal-9 等基因表达水平,并分析 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平与炎症因子 IL-6、IL-8 的关系,旨在明确 TIM-3、Gal-9 蛋白在 UA 发病中的作用,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 9 月至 2021 年 9 月本院收治的因 UA 行子宫全切术的患者 50 例,年龄 34~55 岁、平均(44.89±5.48)岁,平均体质量指数(22.89±3.08)kg/m²,平均月经周期(27.43±4.00)d。术中剥离患者在位内膜组织(EU 组)和异位内膜组织(EC 组)。另外选取同期因宫颈上皮内瘤变Ⅲ级行子宫全切术的患者 50 例,术中取正常子宫内膜组织(对照组),患者年龄 31~56 岁、平均(45.12±6.04)岁,平均体质量指数(23.71±4.11)kg/m²,平均月经周期(27.29±3.74)d。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

患者均于子宫内膜增生期采集标本,所有子宫标本均经过病理检查证实,UA 患者证实存在 UA,对照组证实子宫肌层无异常。两组均排除急慢性感染性疾病、子宫内膜病变、盆腔炎、内分泌系统疾病、免疫代谢性疾病,入组前 3 个月内均未接受激素类药物治疗,且未放置宫内节育器。本研究已通过医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测 TIM-3、Gal-9、IL-6 和 IL-8 基因表达水平 采用 Trizol 法提取组织中的总 RNA,通过反转录获取 cDNA,随后用实时荧光定量试剂盒(上海蕊试生物技术有限公司)进行 PCR 扩增。反应条件:95 ℃ 30 min;94 ℃ 15 s、55 ℃ 30 s、

70 ℃ 30 s,共 40 个循环。操作严格按照试剂盒说明书进行,用 2^{-ΔΔCt} 法计算 TIM-3、Gal-9 等 mRNA 相对表达量。TIM-3 上游引物序列为 5'-CGAGCT-GAGTGCCTCCTGTC-3',下游引物序列为 5'-TCGCTGGCCGTGAGTCTGT-3';Gal-9 上游引物序列为 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3',下游引物序列 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3';IL-6 上游引物序列为 5'-AGCCACTCACCTCT-TCAGAAC-3,下游引物序列为 5'-GCCTCTTTGCT-GCTTTCACAC-3';IL-8 上游引物序列为 5'-CAA-GAGCCAGGAAGAAAC-3,下游引物序列为 5'-TG-GTCCACTCTCAATCAC-3';GAPDH(内参)上游引物序列为 5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGGC-3',下游引物序列为 5'-CAGGTCCAGACGCAGGATGGC-3'。

1.2.2 免疫印迹法检测组织中 TIM-3、Gal-9、IL-6 和 IL-8 蛋白表达水平 按照每 20 mg 组织加入 150 μL 裂解液的比例加入蛋白裂解液(北京索莱宝科技有限公司),冰上裂解 25 min,12 000×g 离心 15 min 后收集上清液。用 BCA 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)检测蛋白水平。经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE,北京索莱宝科技有限公司)后将蛋白转移至 PVDF 膜上,封闭 1 h,加入 TIM-3 抗体(1:500)、Gal-9 抗体(1:1 000)、IL-6 抗体(1:500)、IL-8 抗体(1:500)、GAPDH 内参抗体(1:1 000),抗体购于美国 Sigma 公司。4 ℃ 孵育过夜,弃去一抗,用 TBS/Tween 缓冲液(TBST)洗膜 3 次,随后加入二抗(1:500)温室孵育 2 h,弃去抗体,TBST 洗膜 3 次。以 GAPDH 为内参,用电化学发光(ECL)仪对蛋白成像,用 Image J 软件分析灰度值。

1.2.3 UA 患者月经量和痛经程度的评估 采用月经失血图评分法(PBAC)测定月经量:将患者使用后的卫生巾放入塑料袋,用 PBAC 进行评分,随后将卫生巾重新分类并填写表格。染血程度评分:1 分为轻度染血,即染血面积不足整个卫生巾的 1/3;5 分为中度染血,染血面积超过整个卫生巾的 1/3,但是不足 3/5;20 分为重度染血,即整个卫生巾都染血。血块大小评分:1 分为小血块,大约为 1 元硬币大小;5 分为大血块,超过 1 元硬币大小。记录上述评分、卫生巾数量、月经天数等,最后得出总分。总分超过 100 分为经量过多^[6]。用视觉模拟评分(VAS)评估痛经程度:总分为 0~10 分;轻度疼痛为 1~3 分;中度疼痛为 4~6 分;重度疼痛为 7~10 分^[7]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计处

理和分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验,两组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关进行相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组 TIM-3 mRNA、Gal-9 mRNA、IL-6 mRNA、IL-8 mRNA 表达水平比较 EU 组和 EC 组 TIM-3 mRNA、Gal-9 mRNA、IL-6 mRNA、IL-8 mRNA 表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$),且 EC 组高于 EU 组 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 3 组 TIM-3、Gal-9、IL-6、IL-8 蛋白表达水平比

较 EU 组和 EC 组 TIM-3、Gal-9、IL-6、IL-8 蛋白表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$),且 EC 组高于 EU 组 ($P < 0.05$)。见图 1、表 2。

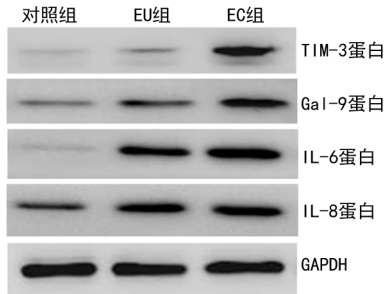


图 1 免疫印迹法检测蛋白表达情况

表 1 3 组 TIM-3 mRNA、Gal-9 mRNA、IL-6 mRNA、IL-8 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TIM-3 mRNA	Gal-9 mRNA	IL-6 mRNA	IL-8 mRNA
EU 组	50	3.09±1.15 [*]	5.00±1.75 [*]	4.70±1.21 [*]	5.87±1.17 [*]
EC 组	50	6.84±1.43 ^{*#}	7.56±2.01 ^{*#}	10.89±2.20 ^{*#}	9.45±1.00 ^{*#}
对照组	50	1.02±0.13	1.23±0.32	1.00±0.12	1.19±0.18

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与 EU 组比较,[#] $P < 0.05$ 。

表 2 3 组 TIM-3、Gal-9、IL-6、IL-8 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TIM-3 蛋白	Gal-9 蛋白	IL-6 蛋白	IL-8 蛋白
EU 组	50	0.67±0.10 [*]	0.76±0.11 [*]	1.03±0.11 [*]	1.32±0.20 [*]
EC 组	50	1.34±0.12 ^{*#}	1.42±0.19 ^{*#}	1.78±0.15 ^{*#}	1.65±0.19 ^{*#}
对照组	50	0.23±0.09	0.37±0.10	0.28±0.09	0.57±0.10

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与 EU 组比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.3 相关性分析 EU 组 TIM-3 蛋白表达水平分别与 IL-6、IL-8 蛋白表达水平呈正相关 (r 分别为 0.297、0.325, $P < 0.05$);Gal-9 蛋白表达水平也分别与 IL-6、IL-8 蛋白表达水平呈正相关 (r 分别为 0.384、0.302, $P < 0.05$)。EC 组 TIM-3 蛋白表达水平分别与 IL-6、IL-8 蛋白表达水平呈正相关 (r 分别为 0.286、0.309, $P < 0.05$);Gal-9 蛋白表达水平也分别

与 IL-6、IL-8 蛋白表达水平呈正相关 (r 分别为 0.357、0.311, $P < 0.05$)。

2.4 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平与月经量和痛经的关系 与月经量正常患者比较,EU 组和 EC 组中月经量过多患者 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平均较高 ($P < 0.05$)。EU 组和 EC 组中痛经程度越高的患者 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平越高 ($P < 0.05$)。见表 3、4。

表 3 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平与月经量的关系 ($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	EU 组		EC 组	
		TIM-3 蛋白	Gal-9 蛋白	TIM-3 蛋白	Gal-9 蛋白
月经量正常	11	0.60±0.24	0.69±0.15	1.10±0.26	0.98±0.21
月经量过多	39	0.79±0.16 [*]	0.84±0.40 [*]	1.67±0.97 [*]	1.78±0.39 [*]

注:与月经量正常患者比较,^{*} $P < 0.05$ 。

表 4 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平与痛经的关系 ($\bar{x} \pm s$)

痛经程度	<i>n</i>	EU 组		EC 组	
		TIM-3 蛋白	Gal-9 蛋白	TIM-3 蛋白	Gal-9 蛋白
轻度	7	0.41±0.10	0.61±0.18	0.89±0.24	0.67±0.11
中度	18	0.68±0.21 [*]	0.79±0.15 [*]	1.47±0.66 [*]	1.54±0.29 [*]
重度	25	0.82±0.37 ^{*#}	0.92±0.24 ^{*#}	1.86±0.51 ^{*#}	1.83±0.54 ^{*#}

注:与轻度比较,^{*} $P < 0.05$;与中度比较,[#] $P < 0.05$ 。

3 讨 论

UA 是女性常见的一种良性疾病,可表现为痛经、异常性子宫出血和盆腔疼痛等症状。越来越多研究表明,免疫炎症损伤与 UA 的发生、发展密切相关^[2,8]。本研究发现,TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平在 UA 病灶中明显上调。

TIM-3 是负性调控因子,阻断其表达可恢复免疫细胞功能,进而提高机体免疫功能^[9]。既往研究发现,TIM-3 与感染、肿瘤、妇科疾病、心脑血管疾病等密切相关^[4,10-11]。Gal-9 是 TIM-3 的配体,可以特异性识别 TIM-3 的 IgV 结构域及 N-连接糖链结构, Gal-9 与 TIM-3 结合后可以抑制 Th1 的免疫作用,抑制 NK 细胞的活性^[12]。UA 与恶性肿瘤有相似的生物学行为,如浸润、转移、种植等^[13-14]。既往研究发现,TIM-3/Gal-9 信号通路与肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移等密切相关^[15-16]。以上研究提示,TIM-3/Gal-9 通路可能参与了 UA 的发生、发展。

本研究发现,UA 在位内膜组织和异位内膜组织中 TIM-3、Gal-9 基因和蛋白表达水平明显高于正常子宫内膜组织,说明在位子宫内膜可能有较为丰富的血管,利于内膜腺体向肌层生长,促进 UA 发病。异位内膜组织 TIM-3、Gal-9 基因和蛋白表达水平高于在位内膜组织,可能是因为异位内膜组织可直接或间接激活 TIM-3/Gal-9 通路,具体的机制需要以后进行深入分析。在癌症的研究中,激活 TIM-3/Gal-9 通路可促进炎症因子 IL-6 和 IL-8 的表达^[17]。本研究同样发现,TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平分别与 IL-6、IL-8 蛋白呈正相关,说明 TIM-3/Gal-9 通路可诱导 UA 病灶组织发生免疫炎症反应,加强了内膜间质细胞增殖及浸润能力,使异位内膜弥漫型生长,导致 UA^[18]。月经量多和痛经是 UA 常见的症状^[19]。本研究还发现,与月经量正常患者比较,EU 组和 EC 组中月经量过多患者 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平均较高。EU 组和 EC 组中痛经程度越高的患者 TIM-3、Gal-9 蛋白表达水平越高。这提示 TIM-3/Gal-9 通路的异常激活可能不仅与 UA 发病有关,还与 UA 临床症状也有相关性。

本研究存在一些局限性:未对患者进行随访;未直接验证 TIM-3 和 Gal-9 蛋白与内膜细胞生物学行为的关系;未检测血清中 TIM-3 和 Gal-9 蛋白表达水平;本研究均于子宫内膜增生期采集标本,未采集分泌期标本,未检测不同月经周期患者 TIM-3 和 Gal-9 蛋白的表达水平。

综上所述,TIM-3 和 Gal-9 基因和蛋白在 UA 患者在位内膜组织和异位内膜组织中的表达水平均升高,并且与炎症因子 IL-6 和 IL-8 蛋白水平呈正相关,提示 TIM-3/Gal-9 炎症通路与 UA 内膜细胞的异位种植和侵袭密切相关,深入研究 TIM-3/Gal-9 通路的

作用机制,可能为进一步探讨 UA 的发病机制提供依据,并指导临床治疗。

参考文献

- [1] LACHETA J. Uterine adenomyosis: pathogenesis, diagnostics, symptomatology and treatment[J]. Ceska Gynekol, 2019, 84(3): 240-246.
- [2] BOURDON M, SANTULLI P, JELJELI M, et al. Immunological changes associated with adenomyosis: a systematic review[J]. Hum Reprod Update, 2021, 27(1): 108-129.
- [3] REZAZADEH H, ASTANEH M, TEHRANI M, et al. Blockade of PD-1 and TIM-3 immune checkpoints fails to restore the function of exhausted CD8(+) T cells in early clinical stages of chronic lymphocytic leukemia[J]. Immunol Res, 2020, 68(5): 269-279.
- [4] 段文杰, 苏雅婷, 牛雯娟, 等. Tim-3 在女性生殖系统相关疾病中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 20(29): 3690-3694.
- [5] ZHAO L, CHENG S, FAN L, et al. TIM-3: an update on immunotherapy [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 99: 107933.
- [6] HIGHAM J M, O'BRIEN P M, SHAW R W. Assessment of menstrual blood loss using a pictorial chart[J]. Br J Obstet Gynaecol, 1990, 97(8): 734-739.
- [7] 张秀艳, 柴亚娟, 纪利娜, 等. 神经生长因子及前列腺素 F-2 α 受体在腺肌病痛经患者宫颈组织中的表达[J]. 河北医药, 2019, 41(15): 2356-2358.
- [8] BAI Y, LIANG J, LIU W, et al. Possible roles of HLA-G regulating immune cells in pregnancy and endometrial diseases via KIR2DL4[J]. J Reprod Immunol, 2020, 142: 103176.
- [9] GUO Q, ZHAO P, ZHANG Z, et al. TIM-3 blockade combined with bispecific antibody MT110 enhances the anti-tumor effect of $\gamma\delta$ T cells[J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69(12): 2571-2587.
- [10] SALEH R, TOOR SM, ELKORD E. Targeting TIM-3 in solid tumors: innovations in the preclinical and translational realm and therapeutic potential[J]. Expert Opin Ther Targets, 2020, 24(12): 1251-1262.
- [11] GUO S, LI Y, WEI B, et al. Tim-3 deteriorates neuroinflammatory and neurocyte apoptosis after subarachnoid hemorrhage through the Nrf2/HMGB1 signaling pathway in rats [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(21): 21161-21185.
- [12] NASRI F, SADEGHI F, BEHRANVAND N, et al. Oridonin could inhibit inflammation and T-cell immunoglobulin and Mucin-3/Galectin-9 (TIM-3/Gal-9) autocrine loop in the acute myeloid leukemia cell line (U937) as compared to doxorubicin[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2020, 19(6): 602-611.
- [13] HABIBA M, PLUCHINO N, PETIGNAT P, et al. Adenomyosis and endometrial cancer: lit-(下转第 2268 页)

骨丢失及骨折愈合进展情况,但在发生急性骨折和并发症的情况下,分析时需要更加谨慎。

参考文献

[1] 张立海. 老年骨质疏松骨折的现状和挑战[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2020, 19(7): 481-484.

[2] 冯洋, 陈跃平, 章晓云, 等. 骨生长因子调控骨折愈合机制及在骨再生修复中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2018, 23(4): 613-620.

[3] 严伟, 王中汉, 刘贺. 骨重建失衡导致骨质疏松发生的作用机制及其药物治疗策略[J]. 中国组织工程研究, 2020, 25(30): 4866-4874.

[4] AN S, CHO S Y, KANG J, et al. Inhibition of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) can revert cellular senescence in human dermal fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(49): 31535-31546.

[5] XIAO D J, ZHOU Q, BI Y G, et al. Deficiency of PDK1 in osteoclasts delays fracture healing and repair[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(2): 1536-1546.

[6] 郑博, 蒋涛, 黄佳涌, 等. 我国中老年脆性髌部骨折及桡骨远端骨折骨质疏松诊断标准与 WHO 诊断标准的比较分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(10): 1299-1304.

[7] NAPOLI N, CONTE C, PEDONE C, et al. Effect of insulin resistance on BMD and fracture risk in older adults[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(8): 3303-3310.

[8] BARRON R L, OSTER G, GRAUER A, et al. Determinants of imminent fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis[J]. Osteoporos Int, 2020, 31(11): 2103-2111.

[9] OZAKI D, KUBOTA R, MAENO T, et al. Association between gut microbiota, bone metabolism, and fracture risk in postmenopausal Japanese women[J]. Osteoporos Int, 2021, 32(1): 145-156.

[10] CAMAL R I N, CÍCERO A M, ISSA J P M, et al. Bone fracture healing: perspectives according to molecular basis[J]. J Bone Miner Metab, 2021, 39(3): 311-338.

[11] MARMOR M T, DAILEY H, MARCUCIO R, et al. Biomedical research models in the science of fracture healing: pitfalls & promises[J]. Injury, 2020, 51(10): 2118-2128.

[12] NOVAK S, ROEDER E, SINDER B P, et al. Modulation of Notch1 signaling regulates bone fracture healing[J]. J Orthop Res, 2020, 38(11): 2350-2361.

[13] FOSTER A L, MORIARTY T F, ZALAVRAS C, et al. The influence of biomechanical stability on bone healing and fracture-related infection: the legacy of Stephan Perren[J]. Injury, 2021, 52(1): 43-52.

[14] INOUE S, TAKITO J, NAKAMURA M. Site-specific fracture healing: comparison between diaphysis and metaphysis in the mouse long bone[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(17): 9299.

[15] 陈伟, 李鹏, 万永建, 等. 创伤性骨折延迟愈合患者血清骨转化标志物的表达水平及意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2021, 40(2): 225-229.

[16] XIAO D, ZHOU Q, GAO Y, et al. PDK1 is important lipid kinase for RANKL-induced osteoclast formation and function via the regulation of the Akt-GSK3 β -NFATc1 signaling cascade[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(11): 4542-4557.

[17] MCMANUS S, BISSON M, CHAMBERLAND R, et al. Autophagy and 3-phosphoinositide-dependent kinase 1 (PDK1)-related kinome in pagetic osteoclasts[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(7): 1334-1343.

[18] BAI Y, ZHANG Q, ZHOU Q, et al. Effects of inhibiting PDK-1 expression in bone marrow mesenchymal stem cells on osteoblast differentiation in vitro[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(2): 118.

[19] BAI Y, ZHANG Q, CHEN Q, et al. Conditional knockout of the PDK-1 gene in osteoblasts affects osteoblast differentiation and bone formation[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(7): 5432-5445.

(收稿日期: 2021-12-23 修回日期: 2022-04-21)

(上接第 2263 页)

erature review[J]. Gynecol Obstet Invest, 2018, 83(4): 313-328.

[14] JIA L, LIU Y, HAN Y, et al. Differential expression and inhibitory effects of aquaporins on the development of adenomyosis[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(5): 3840-3850.

[15] KIKUSHIGE Y, MIYAMOTO T, YUDA J, et al. A TIM-3/Gal-9 autocrine stimulatory loop drives self-renewal of human myeloid leukemia stem cells and leukemic progression[J]. Cell Stem Cell, 2015, 17(3): 341-352.

[16] DONG J, CHENG L, ZHAO M, et al. Tim-3-expressing macrophages are functionally suppressed and expanded in oral squamous cell carcinoma due to virus-induced Gal-9 expression[J]. Tumour Biol, 2017, 39(5): 1010428317701651.

[17] WANG Z, YIN N, ZHANG Z, et al. Upregulation of T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3 (Tim-3) in monocytes/macrophages associates with gastric cancer progression[J]. Immunol Invest, 2017, 46(2): 134-148.

[18] SHAHRABI-FARAHANI M, SHAHBAZI S, MAHDIAN R, et al. K-Ras 4A transcript variant is up-regulated in eutopic endometrium of endometriosis patients during proliferative phase of menstrual cycle[J]. Arch Gynecol Obstet, 2015, 292(1): 225-229.

[19] 温相霞, 陈锦云, 余单, 等. 运动处方对 HIFU 术后子宫腺肌病患者痛经的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2019, 44(6): 759-764.

(收稿日期: 2021-12-23 修回日期: 2022-04-28)