

. 实验研究 .

# 贝伐珠单抗联合高压氧治疗小鼠胶质母细胞瘤的效果

王 鹏 刘 邦 鑫 张 剑 宁 陈 金 辉 常 洪 波 杨 晨

**【摘要】目的** 探讨贝伐珠单抗(Bev)联合高压氧(HBO)对小鼠胶质母细胞瘤(GBM)的治疗作用。**方法** 体外培养 U251 细胞,随机分为对照组、Bev 组(Bev 作用 24 h)、HBO 组(HBO 治疗 1 次)和 Bev+HBO 组(Bev 作用 24 h 后,接受 HBO 治疗 1 次),采用 MTT 法检测细胞增殖能力,采用划痕实验和 Transwell 小室实验检测细胞迁移和侵袭能力。取 100 只雄性 BALB/c 裸鼠,右侧纹状体注射 U251 细胞建立 GBM 模型,造模后 7 d 随机分为对照组(腹腔注射 PBS,3 次/周,连续 2 周)、Bev 组(腹腔注射 Bev,5 mg/kg,3 次/周,连续 2 周)、HBO 组(HBO 治疗,1 次/d,连续 2 周)、Bev+HBO 组(同时接受 Bev 和 HBO 处理 2 周);每组取 10 只小鼠记录生存时间;每组取 5 只小鼠,HE 染色测定肿瘤体积;每组取 5 只小鼠,CD34 免疫组化染色测定肿瘤组织微血管密度(MVD);每组取 5 只小鼠,PCR 检测肿瘤组织基质金属蛋白酶(MMP)9 mRNA 表达水平。**结果** Bev 对 U251 细胞增殖能力无明显影响( $P>0.05$ ),明显增强 U251 细胞迁移和侵袭能力( $P<0.01$ );明显降低肿瘤组织 MVD( $P<0.05$ ),明显增加肿瘤组织 MMP9 mRNA 表达水平( $P<0.05$ ),但对荷瘤小鼠肿瘤体积及生存时间无明显影响( $P>0.05$ )。HBO 明显抑制 U251 细胞增殖、迁移、侵袭能力( $P<0.01$ ),明显降低荷瘤小鼠肿瘤组织 MMP9 mRNA 表达水平( $P<0.01$ ),但对荷瘤小鼠生存时间、肿瘤体积及肿瘤组织 MVD 均无明显影响( $P>0.05$ )。Bev 联合 HBO 明显抑制 U251 细胞增殖、侵袭和迁移能力,明显降低荷瘤小鼠肿瘤组织 MVD 和 MMP9 mRNA 水平( $P<0.05$ ),明显缩小肿瘤体积( $P<0.05$ ),明显延长荷瘤小鼠的生存时间( $P<0.01$ )。**结论** 单独应用 Bev 或 HBO 对 GBM 小鼠肿瘤体积及生存时间无明显影响,但 Bev 联合 HBO 明显抑制小鼠 GBM 生长,明显延长小鼠生存时间。

**【关键词】** 胶质母细胞瘤;贝伐珠单抗;高压氧;细胞增殖;细胞侵袭;细胞迁移

**【文章编号】** 1009-153X(2021)09-0696-06 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; R 730.5

## Treatment of bevacizumab combined with hyperbaric oxygen therapy for a mouse model of glioblastoma

WANG Peng<sup>1</sup>, LIU Bang-xin<sup>2</sup>, ZHANG Jian-ning<sup>1</sup>, CHEN Jin-hui<sup>1</sup>, CHANG Hong-bo<sup>1</sup>, YANG Chen<sup>3</sup>. 1. Department of Neurosurgery, The First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 2. Department of Neurosurgery, General Hospital of Central Theater Command, PLA, Wuhan 430070, China; 3. Department of Hyperbaric Oxygen, The Sixth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

**【Abstract】 Objective** To explore the therapeutic effect of bevacizumab (Bev) combined with hyperbaric oxygen therapy (HBO) on a mouse model of glioblastoma (GBM). **Methods** U251 cells were cultured in vitro and randomly divided into control group, Bev group (treatment with Bev for 24 h), HBO group (treatment with HBO for one time) and Bev+HBO group (treatment with Bev for 24 h and then with HBO). MTT assay, transwell migration assay and wound healing assay were used to detect the proliferation, migration and invasion abilities of U251 cells. U251 cells were injected into the right striatum of 100 male BALB/c nude mice to establish the GBM models. 7 days after making the establishment, these mice were randomly divided into control group (intraperitoneal injection of PBS, 3 times per week for 2 weeks) and Bev group (intraperitoneal injection of Bev, 5 mg/kg, 3 times per week for 2 weeks), HBO group (HBO, 1 time per day for 2 weeks), Bev+HBO group (treatment with Bev and HBO for 2 weeks). Ten mice in each group were used to record survival time; 5 mice in each group were used to measure the tumor volume by HE staining; 5 mice in each group were used measure the tumor tissue microvessel density (MVD) by CD34 immunohistochemical staining; 5 mice in each group were used to detect the expression level of matrix metalloproteinase (MMP) 9 mRNA in tumor tissues by PCR. **Results** Bev had no significant effect on the proliferation of U251 cells ( $P>0.05$ ), but significantly enhanced the migration and invasion of U251 cells ( $P<0.01$ ). Bev significantly reduced tumor tissue MVD ( $P<0.05$ ) and significantly increased tumor tissue MMP9 mRNA expression levels ( $P<0.05$ ), but had no significant effect on tumor volume and survival time of GBM mice ( $P>0.05$ ). HBO significantly inhibited the proliferation, migration and invasion of U251 cells ( $P<0.01$ ). HBO significantly reduced the expression level of MMP9 mRNA in tumor tissues of GBM mice ( $P<0.01$ ), but it had no significant

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.09.014

基金项目:中国人民解放军总医院第六医学中心创新培育基金(CXPY201909)

作者单位:100853 北京,中国人民解放军总医院第一医学中心神经外科医学部(王 鹏、张剑宁、陈金辉、常洪波);430070 武汉,中国人民解放军中部战区总医院神经外科(刘邦鑫);100048 北京,中国人民解放军总医院第六医学中心高压氧科(杨 晨)

通讯作者:张剑宁,E-mail:jnzhang2005@yahoo.com.cn

effect on the survival time, tumor volume and tumor tissue MVD of GBM mice ( $P>0.05$ ). Bev combined with HBO significantly inhibited the proliferation, invasion and migration of U251 cells, significantly reduced MVD and MMP9 mRNA levels in tumor tissues and tumor volume of GBM mice ( $P<0.05$ ), and significantly prolonged the survival time of GBM mice ( $P<0.01$ ). **Conclusions** Bev or HBO alone has no significant effect on the tumor volume and survival time of GBM mice, but the combination of Bev and HBO significantly inhibits the tumor growth and significantly prolongs the survival time of GBM mice.

**【Key words】** Glioblastoma; Bevacizumab; Hyperbaric oxygen; Proliferation; Invasion

胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)是侵袭性极强的颅内恶性肿瘤,即使采用手术联合术后放疗化疗等综合治疗,中位生存时间仅 14 个月<sup>[1]</sup>。GBM 高表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),理论上抗 VEGF 治疗具有良好效果,但 III 期临床试验(AVAglio 和 RTOG 0825)表明,贝伐珠单抗(bevacizumab, Bev)、放疗和替莫唑胺的联合治疗方案,并未提高新诊断的 GBM 病人总生存期<sup>[2,3]</sup>。并且,抗 VEGF 靶向治疗后,胶质瘤细胞的侵袭能力明显增强<sup>[4,5]</sup>。高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)可抑制基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)的表达,从而抑制肿瘤细胞的浸润<sup>[6-9]</sup>。另外, HBO 可直接抑制肿瘤细胞增殖或通过提高放疗的敏感性,在多种肿瘤的治疗中发挥作用<sup>[10-12]</sup>。本文探讨 Bev 联合 HBO 对小鼠 GBM 的治疗作用。

## 1 材料与方法

1.1 细胞培养 GBM 细胞系 U251 细胞(中国人民解放军空军军医大学神经外科研究所章翔教授惠赠)用含 10 ml/L 胎牛血清(美国 Gibco 公司)的 DMEM(美国 Hyclone 公司)培养基培养。

1.2 MTT 法检测 Bev 作用浓度 将 U251 细胞接种至 24 孔板,每孔  $1 \times 10^4$  个细胞,1 d 后(细胞贴壁),加入不同浓度 Bev(0、2、4、6、8、10 mg/ml)。继续培养 2、4、6 d, MTT 试剂盒(美国 Sigma 公司)测定吸光度值,绘制细胞生长曲线,确定后续实验 Bev 的浓度。

1.3 分组及处理 将 U251 细胞分为 4 组:对照组、Bev 组、HBO 组和 Bev+HBO 组。HBO 处理方案:采用烟台豪特氧业设备有限公司的动物实验舱,按操作说明,在 30 min 内稳定升高至 0.2 MPa,持续 60 min,然后在 30 min 内降至常压后出舱,加压时注意氧舱温度不超过 37℃。对照组不进行任何处理;Bev 组加入 6 mg/ml 的 Bev 作用 24 h;HBO 组接受 1 次 HBO 治疗;Bev+HBO 组在加入 6 mg/ml 的 Bev 作用 24 h 后,接受 HBO 治疗 1 次。在 HBO 组和 Bev+HBO 组接受 HBO 治疗时,对照组和 Bev 组细胞从孵箱取出,放于室温(25℃)120 min。

1.4 MTT 法检测细胞增殖能力 将 U251 细胞接种至

24 孔板,每孔  $1 \times 10^4$  个细胞,每组接种 9 孔。24 h 后(细胞贴壁)行不同处理,继续培养 48 h,每组取 3 孔计数,以 MTT 法测定吸光度值。

1.5 划痕实验检测细胞迁移能力 以  $1 \times 10^5$  细胞/孔的密度,将 U251 细胞接种于 6 孔板中,生长至 90% 的融合度后,用 200  $\mu$ l 枪头垂直于六孔板底部划痕,无血清 DMEM 培养液洗去除划下的细胞,以无血清培养基培养。各组细胞行相应处理后,用倒置相差显微镜记录此时及 24 h 后细胞的迁移情况。

1.6 Transwell 实验检测细胞侵袭能力 基质胶(美国 BD 公司)包被的 Transwell 小室(美国 Millipore 公司)放入 24 孔培养板中,以  $5 \times 10^4$  细胞/孔的密度,将 U251 细胞接种至上室,孔径为 8  $\mu$ m 的滤膜将上室的细胞和下室的培养液隔开。各组行相应处理,以无血清培养基培养 24 h 后,将位于滤膜上层的细胞擦除,穿过滤膜,位于滤膜下部的细胞用龙胆紫(美国 Sigam 公司)染色后,倒置显微镜观察。

1.7 脑胶质瘤裸鼠原位移植瘤模型的建立及实验分组 取 100 只雄性 BALB/c 裸鼠[3~4 周龄, (14 $\pm$ 2)g, 斯贝福生物技术有限公司],参照文献[13, 14]在鼠立体定向仪(西安光学仪器厂)辅助下,通过微量进样器,将  $1 \times 10^6$  个 U251 细胞(2  $\mu$ l)注射到右侧纹状体,建立荷瘤动物模型。7 d 后将裸鼠随机分为对照组、Bev 组、HBO 组和 Bev+HBO 组,每组 25 只。对照组经腹腔注射 PBS, 3 次/周,连续 2 周;Bev 组腹腔注射 Bev(5 mg/kg, 3 次/周,连续 2 周;HBO 组接受 HBO 治疗,1 次/d,连续 2 周;Bev+HBO 组同时接受 Bev 和 HBO 处理 2 周。

1.8 小鼠存活时间分析 每组取 10 只小鼠,记录小鼠存活时间。

1.9 肿瘤体积的评估 造模后 21 d,每组取 5 只裸鼠采用 CO<sub>2</sub> 窒息法处死,参照文献[16],将小鼠脑组织从瘤细胞接种处一分为二,包埋后连续切三张切片,进行 HE 染色(图 1),使用 NIS-Elements 软件(日本尼康公司)计算每张图像中肿瘤面积,并取平均值,将瘤组织估算成一个球形,计算肿瘤组织的半径 r,按公式  $4\pi r^3/3$  计算肿瘤体积。

1.10 微血管密度(micro vessel density, MVD)的测定

造模后 21 d, 每组取 5 只裸鼠, 多聚甲醛灌注固定后分离肿瘤组织, 冰冻切片后, 采用 SP 法进行 CD34 免疫组织化学染色, 按试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)说明操作。参照 Weidner 等<sup>[17]</sup>报道方法测定 MVD, 高倍镜下( $\times 200$ )计数 CD34 阳性细胞数, 单位为个/HP。见图 2。

1.11 qPCR 检测肿瘤组织 MMP9 mRNA 的表达 造模后 21 d, 每组选取 5 只裸鼠采用 CO<sub>2</sub> 窒息法处死, 获取颅内肿瘤组织, 使用 TRIzol 试剂(日本 TaKaRa 公司)提取总 RNA。使用逆转录系统(日本 Toboyo 公司)逆转录成 cDNA。qPCR 使用 SYBR Premix EX Taq 试剂盒(日本 TaKaRa 公司)和 ABI PRISM 7300 qPCR 系统(美国 Applied Biosystems 公司), 以 GAPDH 为内参, 重复三次。采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 法量化分析。

1.12 统计学分析 采用 SPSS 19.0 进行分析; 定量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用方差分析和 *t* 检验; 非正态分布定量资料采用 Kruskal-Wallis H 检验; *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

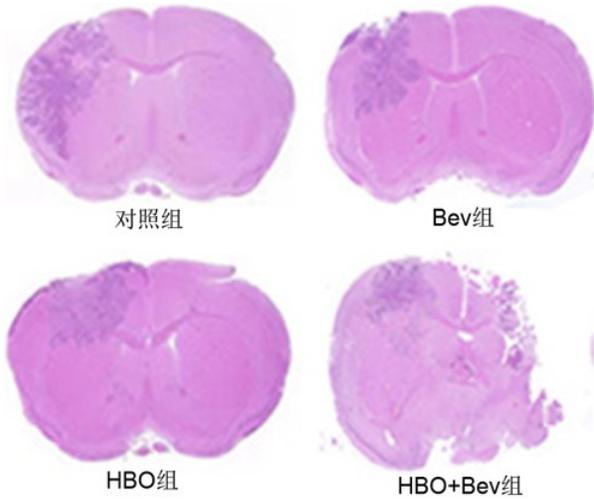


图 1 HE 染色测定荷瘤裸鼠肿瘤体积

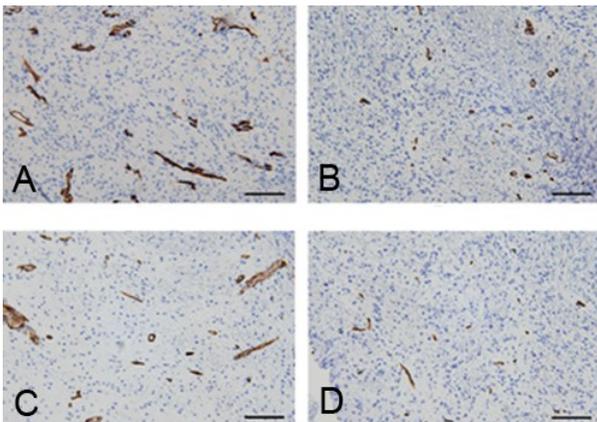


图 2 CD34 免疫组化染色测定荷瘤裸鼠微血管密度( $\times 200$ ) A. 对照组; B. Bev 组; C. HBO 组; D. HBO+Bev 组; 标尺为 100  $\mu$ m

## 2 结果

2.1 Bev 的作用浓度 0、2、4、6 mg/ml 的 Bev 处理 U251 细胞, 细胞增殖能力无明显差异(*P* > 0.05, 图 3); 8、10 mg/ml 的 Bev 处理 U251 细胞, 细胞增殖能力明显下降(*P* < 0.01, 图 3)。因此, 选用 6 mg/ml 的 Bev 进行后续实验。

2.2 HBO 联合 Bev 对 U251 细胞增殖能力的影响 与对照组相比, Bev 组 U251 细胞增殖能力无明显变化(*P* > 0.05, 图 4); 与对照组或 Bev 组相比, HBO 组 U251 细胞增殖能力明显下降(*P* < 0.01, 图 4)。与 HBO 组相比, HBO+Bev 组 U251 细胞增殖能力明显下降(*P* < 0.05, 图 4)。

2.3 HBO 联合 Bev 对体外培养 U251 细胞迁移和侵袭能力的影响 与对照组相比, Bev 组 U251 细胞迁移和

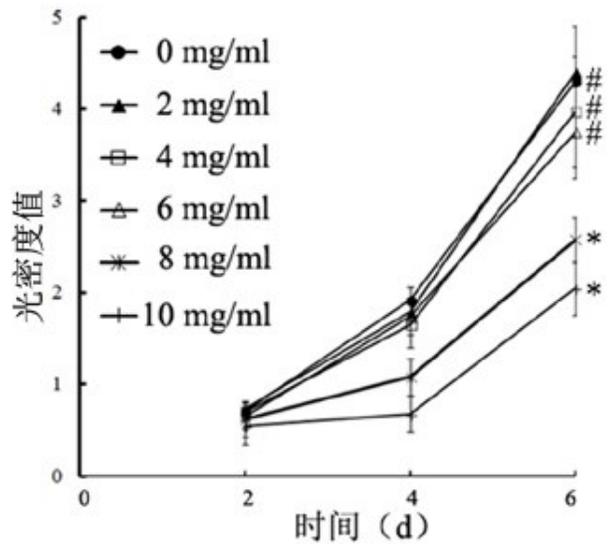


图 3 贝伐珠单抗作用 U251 细胞最佳浓度的确定与 0 mg/ml 组相应值比, \* *P* < 0.01, # *P* > 0.05

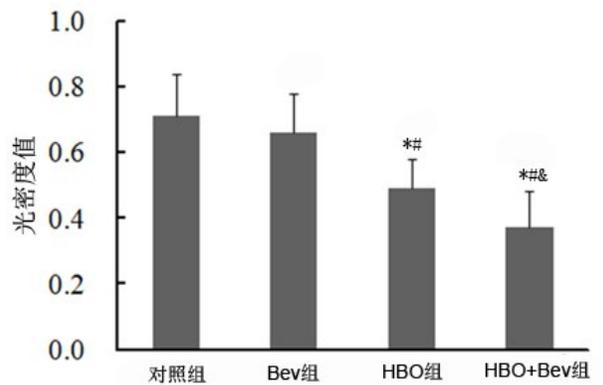


图 4 HBO 联合 Bev 对 U251 细胞增殖能力的影响 与对照组相比 \* *P* < 0.01; 与 Bev 组相比, # *P* < 0.05; 与 HBO 组相比, & *P* < 0.05; HBO. 高压氧; Bev. 贝伐珠单抗

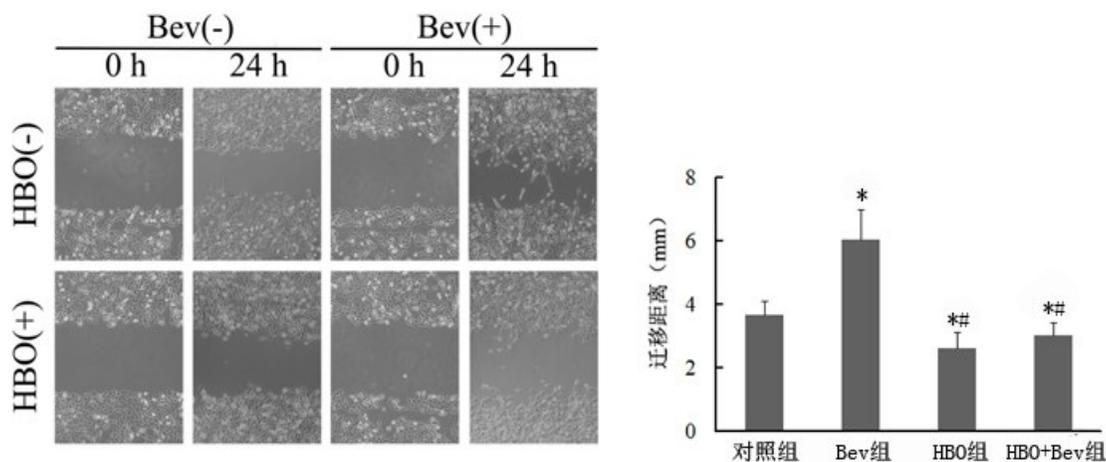


图5 HBO联合Bev对U251细胞迁移能力的影响

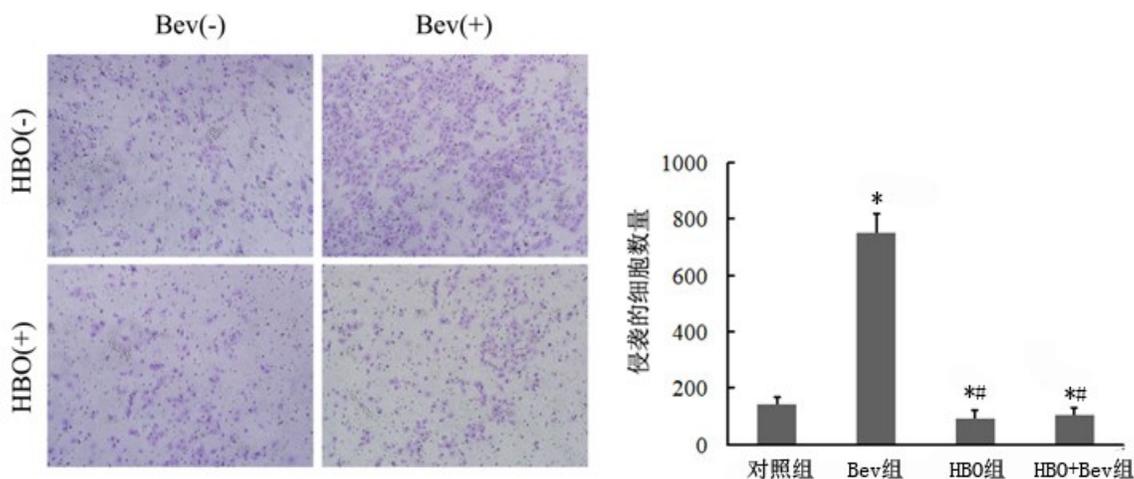
与对照组相比 \*  $P < 0.01$ ; 与Bev组相比, #  $P < 0.05$ ; HBO. 高压氧; Bev. 贝伐珠单抗

图6 HBO联合Bev对U251细胞侵袭能力的影响

与对照组相比 \*  $P < 0.01$ ; 与Bev组相比, #  $P < 0.05$ ; HBO. 高压氧; Bev. 贝伐珠单抗

侵袭能力均明显增加 ( $P < 0.01$ , 图 5、6), 而 HBO 组 U251 细胞迁移和侵袭能力均明显下降 ( $P < 0.01$ , 图 3、4); 与 Bev 组相比, Bev+HBO 组 U251 细胞迁移和侵袭能力明显下降 ( $P < 0.01$ , 图 5、6)。与 HBO 组相比, Bev+HBO 组细胞迁移和侵袭能力均无明显变化 ( $P > 0.05$ , 图 5、6)。

**2.4 HBO 联合 Bev 荷瘤裸鼠存活时间的影响** 对照组、Bev 组、HBO 组、Bev + HBO 组荷瘤裸鼠中位生存时间(四分位间距)分别为: 22(18~27)d、24(20~31)d、23(21~30)d、32(29~39)d。与对照组相比, Bev 组和 HBO 组荷瘤小鼠的生存时间延长, 但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。与对照组、HBO 组或 Bev 组相比, HBO 联合 Bev 组荷瘤裸鼠的存活时间明显延长 ( $P < 0.01$ )。

**2.5 HBO 联合 Bev 荷瘤裸鼠肿瘤体积的影响** 对照组、Bev 组、HBO 组、Bev+HBO 组荷瘤裸鼠的肿瘤体

积分别为:  $(32.47 \pm 2.09) \text{ mm}^3$ 、 $(27.51 \pm 4.76) \text{ mm}^3$ 、 $(26.78 \pm 4.24) \text{ mm}^3$ 、 $(16.27 \pm 3.03) \text{ mm}^3$ 。与对照组相比, Bev 组和 HBO 组荷瘤小鼠的肿瘤体积缩小, 但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。与对照组、HBO 组或 Bev 组相比, HBO+Bev 组荷瘤小鼠的肿瘤体积明显缩小 ( $P < 0.01$ )。

**2.6 HBO 联合 Bev 荷瘤裸鼠肿瘤体积的影响** 对照组、Bev 组、HBO 组、Bev+HBO 组荷瘤裸鼠的肿瘤 MVD 分别为:  $(40.17 \pm 7.68)$  个/HP、 $(28.50 \pm 7.06)$  个/HP、 $(35.50 \pm 5.17)$  个/HP、 $(26.17 \pm 6.11)$  个/HP。与对照组相比, Bev 组和 HBO+Bev 组 MVD 明显减少 ( $P < 0.05$ ), HBO 组 MVD 无明显变化 ( $P > 0.05$ ); Bev 组与 HBO+Bev 组 MVD 无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。

**2.7 HBO 联合 Bev 荷瘤裸鼠肿瘤 MMP9 mRNA 表达的影响** 与对照组相比, Bev 组 MMP9 mRNA 表达水

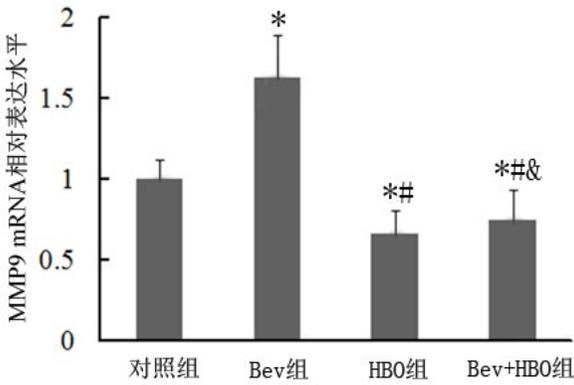


图 7 HBO 联合 Bev 对荷瘤裸鼠肿瘤组织 MMP9 mRNA 表达水平的影响  
与对照组相比 \*  $P < 0.01$ ; 与 Bev 组相比, #  $P < 0.05$ ; 与 HBO 组相比, &  $P < 0.05$ ; HBO. 高压氧; Bev. 贝伐珠单抗

平明显增加 ( $P < 0.01$ , 图 7), HBO 组 MMP9 mRNA 表达水平明显下降 ( $P < 0.01$ , 图 7); 与对照组和 Bev 组相比, HBO+Bev 组 MMP9 mRNA 表达水平明显下降 ( $P < 0.01$ , 图 7)。与 HBO 组相比, HBO+Bev 组 MMP9 mRNA 表达水平无明显变化 ( $P > 0.05$ , 图 7)。

### 3 讨论

GBM 属于血管形成极为活跃的实体瘤, VEGF 在血管形成中发挥重要作用, GBM 组织 VEGF 呈高表达。理论上, VEGF 单克隆抗体 Bev 对 GBM 有一定的治疗效果。实际上, Bev 联合替莫唑胺和放疗明显延长新诊断的 GBM 病人无进展生存期, 显示了 Bev 在胶质瘤治疗领域的潜力。然而, Bev 可诱导增强胶质瘤细胞侵袭性, 并使病人病情迅速恶化, 在临床应用中并不能明显延长病人总生存期。如果克服 Bev 导致的肿瘤细胞侵袭性增强, 并增强 Bev 对肿瘤细胞的抑制作用, 对增强 Bev 的治疗效果有利。

本文结果显示 HBO 明显抑制 Bev 导致的 U251 细胞侵袭性增强。以往大量研究显示 MMP9 在肿瘤细胞的侵袭和转移中发挥重要作用, 并与肿瘤细胞增殖能力相关<sup>[15]</sup>。MMP9 的表达水平随胶质瘤病理分级的增高而增加, 与 GBM 的侵袭性、增殖能力以及病人不良预后有着密切的关系; 抑制 MMP9, 肿瘤细胞的侵袭和增殖能力明显下降。HBO 可明显抑制缺血脑组织、脊髓损伤组织、糖尿病足、损伤血管组织 MMP9 的表达, 还可下调肿瘤细胞 MMP9 的表达, 抑制肿瘤细胞的浸润与转移<sup>[8,9,18]</sup>。本文结果显示, HBO 明显抑制 Bev 导致的 MMP9 表达上调, 提示 MMP9 在 HBO 抑制 Bev 导致的 U251 细胞侵袭性增强中发挥重要作用。

回顾性分析及荟萃分析显示 HBO 可导致肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞分裂增殖。本文结果显示, 与单独 HBO 或 Bev 相比, 二者联合应用使 U251 细胞的增殖能力明显下降, 荷瘤裸鼠的肿瘤体积明显缩小, 存活时间明显延长, 提示 HBO 与 Bev 联合应用, 可产生协同效应, 共同抑制 GBM 生长。本文还发现, Bev 可降低肿瘤组织 MVD, 但不能延长荷瘤裸鼠的存活时间, 与临床应用 Bev 治疗 GBM 的结论一致。HBO 对肿瘤组织 MVD 没有影响, 联合应用 Bev 与 HBO, 与单独使用 Bev 相比, 肿瘤组织 MVD 未见明显变化, 但肿瘤体积缩小, 荷瘤裸鼠存活时间明显延长, 提示 HBO 增强 Bev 对胶质瘤细胞的抑制效果, 与肿瘤组织内血管形成的关系不大, 其中涉及的机制有待进一步研究分析。

既往研究显示, HBO 可增强化疗药物的敏感性, 改善胶质瘤的放疗抗性, 抑制胶质瘤干细胞增殖, 并促进胶质瘤病人术后神经功能恢复, 因此将 HBO 作为胶质瘤辅助治疗的方法, 值得深入研究。

总之, HBO 可抑制 Bev 导致的胶质瘤细胞侵袭性增强, 又能增强 Bev 对胶质瘤细胞的抑制作用, 将 HBO 与 Bev 联合应用, 有助于增强 Bev 的治疗作用。

### 【参考文献】

- [1] 孟 亮, 陈谦学, 余小祥, 等. MS-275 对原代培养的胶质瘤细胞及其干细胞生物学行为和耐药性的影响[J]. 中国临床神经外科杂志, 2020, 25(6): 381-385.
- [2] 吴 蛟, 易 勇, 赵卓琳, 等. 贝伐珠单抗联合化疗治疗胶质母细胞瘤的 meta 分析[J]. 中国临床神经外科杂志, 2020, 25(2): 82-84.
- [3] Gilbert MR, Dignam JJ, Armstrong TS, et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma [J]. N Engl J Med, 2014, 370(8): 699-708.
- [4] Tomita Y, Kurozumi K, Yoo JY, et al. Oncolytic herpes virus armed with vasculostatin in combination with bevacizumab abrogates glioma invasion via the CCN1 and AKT signaling pathways [J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18(8): 1418-1429.
- [5] Otani Y, Ichikawa T, Kurozumi K, et al. Fibroblast growth factor 13 regulates glioma cell invasion and is important for bevacizumab-induced glioma invasion [J]. Oncogene, 2018, 37(6): 777-786.
- [6] 于秋红, 李冬果, 张 琪, 等. 高压氧对人胶质瘤 172 细胞生存的影响[J]. 中国康复, 2020, 35(6): 283-286.
- [7] Wang Y, Qi Y, Wei X, et al. Hyperbaric oxygen rescues

- lung cancer cells from chemical hypoxia-induced low differentiation and apoptosis resistance [J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44(8-9): 417-423.
- [8] 彭争荣, 王素娥, 刘娟, 等. 高压氧对鼻咽癌细胞 MMP-9 和 VEGF 表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2007, 22(11): 998-1001.
- [9] Lu Z, Ma J, Liu B, *et al.* Hyperbaric oxygen therapy sensitizes nimustine treatment for glioma in mice [J]. *Cancer Med*, 2016, 5(11): 3147-3155.
- [10] 兰川. 高压氧在恶性肿瘤治疗中的应用[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2011, 16(8): 510-512.
- [11] Zembruska K, Ostrowski RP, Matyja E. Hyperbaric oxygen increases glioma cell sensitivity to antitumor treatment with a novel isothiourea derivative in vitro [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(5): 2703-2716.
- [12] Xie Y, Zeng X, Wu X, *et al.* Hyperbaric oxygen as an adjuvant to temozolomide nanoparticle inhibits glioma growth by inducing G2/M phase arrest [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2018, 13(8): 887-898.
- [13] Chu SH, Zhou ZM, Karri S, *et al.* In vitro and in vivo radiosensitization of human glioma U251 cells induced by up-regulated expression of SLC22A18 [J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21(3): 103-109.
- [14] Shoji T, Saito R, Chonan M, *et al.* Local convection-enhanced delivery of an anti-CD40 agonistic monoclonal antibody induces antitumor effects in mouse glioma models [J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(8): 1120-1128.
- [15] 郝文炯, 罗卫, 白晓斌, 等. 苦参碱联合替莫唑胺对大鼠脑胶质瘤 MMP2、MMP9、VEGF 表达的影响[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2017, 22(9): 642-645.
- [16] Miyauchi JT, Caponegro MD, Chen DL, *et al.* Deletion of neuropilin 1 from microglia or bone marrow-derived macrophages slows glioma progression [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(3): 685-694.
- [17] Weidner N, Semple JP, Welch WR, *et al.* Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 1991, 324(1): 1-8.
- [18] Hou YN, Ding WY, Shen Y, *et al.* Effect of hyperbaric oxygen on MMP9/2 expression and motor function in rats with spinal cord injury [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 14926-14934.

(2021-02-03 收稿, 2021-08-13 修回)

(上接第 689 页)

这提示 PIK3CD-AS2 与胶质瘤的发生和恶性进展存在一定的关系。同时, 本文还发现 PIK3CD-AS2 高表达病人总生存期显著低于低表达病人。为验证数据库检索结果的可靠性, 我们收集 127 例临床胶质瘤病例进行分析, 结果与公共数据库检索结果相符, 进一步证实了 PIK3CD-AS2 作为胶质瘤分子生物学标志物的价值。

总之, lncRNA PIK3CD-AS2 在胶质瘤中高表达, 可作为胶质瘤病人预后生物学标志物。

#### 【参考文献】

- [1] Davis ME. Epidemiology and overview of gliomas [J]. *Semin Oncol Nurs*, 2018, 34(5): 420-429.
- [2] 邢士军, 王莉, 张丽君. IVIM-MRI 对人脑胶质瘤的病理分级及 IDH1 基因突变的评估价值 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2020, 25(12): 821-824.
- [3] 程飞飞, 刘江, 周红军. lncRNA RGMB-AS1 在脑胶质瘤预后评估中的价值 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2020, 25(4): 199-202.
- [4] Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, *et al.* Cbtrus statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the united states in 2013-2017 [J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(12 Suppl 2): iv1-iv96.
- [5] Alexander R P, Fang G, Rozowsky J, *et al.* Annotating non-coding regions of the genome [J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11(8): 559-571.
- [6] Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development [J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(1): 7-21.
- [7] Wu B, Yang C, Fang Y, *et al.* Long noncoding RNA DUXAP10 promotes the stemness of glioma cells by recruiting HuR to enhance Sox12 mRNA stability [J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(5): 840-849.
- [8] Cai H, Yu Y, Ni X, *et al.* LncRNA LINC00998 inhibits the malignant glioma phenotype via the CBX3-mediated c-Met/Akt/mTOR axis [J]. *Cell Death & Disease*, 2020, 11(12).
- [9] Zheng X, Zhang J, Fang T, *et al.* The long non-coding RNA PIK3CD-AS2 promotes lung adenocarcinoma progression via YBX1-mediated suppression of p53 pathway [J]. *Oncogenesis*, 2020, 9(3): 34.

(2021-02-25 收稿, 2021-06-08 修回)