

TLR4、TLR9 基因多态性与浅表性膀胱癌复发的关系

汪小明 杨占斌 凌凯南 王 波 陈 曦

摘 要 **目的** 探讨 Toll 样受体 4 (Toll - like receptor 4, TLR4)、Toll 样受体 9 (Toll - like receptor 9, TLR9) 基因多态性与浅表性膀胱癌肿瘤复发之间的关系。**方法** 选取 2013 年 3 月 ~ 2017 年 3 月笔者医院收治的 300 例膀胱癌患者为研究对象, 其中初发膀胱癌 150 例、复发膀胱癌 150 例, 同期选取 100 例体检健康者作为对照组, 利用限制性内切酶片段长度多态性 PCR (polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism, PCR - RFLP) 技术检测 TLR4、TLR9 基因多态性, 分析 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性与浅表性膀胱癌肿瘤复发之间的关系。**结果** 3 组 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性分布均符合 Hardy - Weinberg 平衡。与对照组比较, 初发膀胱癌组及复发膀胱癌组 TLR4 rs10759932 基因多态位点 T/C、C/C 基因型频率及 C 等位基因频率明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), T/T、T 等位基因明显升高 ($P < 0.05$), 且复发膀胱癌组 TLR4 rs10759932 基因多态位点 T/C、C/C 基因型频率及 C 等位基因频率明显低于初发膀胱癌组 ($P < 0.05$), T/T、T 等位基因明显高于初发膀胱癌组 ($P < 0.05$)。3 组 TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** TLR4 基因 rs10759932 多态性与浅表性膀胱癌肿瘤复发密切相关, 该基因位点 T/C、C/C 基因型及 C 等位基因可能会降低浅表性膀胱癌复发风险。

关键词 浅表性膀胱癌 复发 TLR4 TLR9 基因多态性

中图分类号 R737.14

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.08.016

Relationship between TLR4 and TLR 9 Gene Polymorphisms and Tumor Recurrence in Superficial Bladder Cancer. Wang Xiaoming, Yang Zhanbin, Ling Kainan, et al. Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi 530021, China

Abstract Objective To investigate the relationship between gene polymorphisms of Toll - like receptor 4 (TLR4) and Toll - like receptor 9 (TLR 9) and tumor recurrence in superficial bladder cancer. **Methods** Three hundred cases of bladder cancer patients in our hospital from March 2013 to March 2017 were selected as the research objects, including one hundred and fifty cases of primary bladder cancer and one hundred and fifty cases of recurrent bladder cancer. Meanwhile, one hundred healthy people were selected as the control group. TLR4 and TLR9 gene polymorphisms were detected by polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR - RFLP), and the relationship between TLR4 rs10759932, TLR9 1486T/C and C2848T gene polymorphisms and tumor recurrence in superficial bladder cancer was analyzed. **Results** The polymorphism distributions of TLR4 rs10759932, TLR9 1486T/C and C2848T in the three groups accorded with the Hardy - Weinberg balance. Compared with the control group, the T/C, C/C genotype and C allele frequencies of TLR4 rs10759932 in the the primary group and the recurrent groups were significantly decreased, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), T/T and T alleles were significantly increased ($P < 0.05$), and the T/C, C/C genotype and C allele frequencies of TLR4 rs10759932 in the the recurrent group was significantly lower than that in the primary group ($P < 0.05$), T/T and T allele was significantly higher than in primary group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the polymorphisms of TLR9 1486T/C and C2848T between the three groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The rs10759932 polymorphism of TLR4 gene is closely related to the recurrence of superficial bladder cancer, and the T/C, C/C genotype and C allele of this gene may reduce the risk of recurrence of superficial bladder cancer.

Key words Superficial bladder cancer; Recurrence; TLR4; TLR9; Gene polymorphism

膀胱癌是临床上最为常见的泌尿系统恶性肿瘤, 其中约 75% ~ 80% 者为浅表性膀胱癌。手术是膀胱

癌治疗的关键性手段^[1,2]。但膀胱癌因其具有多中心及多发性特点, 导致临床浅表性膀胱癌术后复发率可达 30% ~ 85%。研究表明, 肿瘤发生、发展及复发与肿瘤细胞通过多种途径逃避机体免疫监视有关, 探究肿瘤免疫逃逸机制对于临床攻克肿瘤具有十分重要的临床意义^[3]。Toll 样受体 (Toll - like receptors,

基金项目: 广西壮族自治区教育厅科研基金资助项目 (200911MS43)
作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院泌尿外科
通讯作者: 汪小明, 电子信箱: xiaomingwang1970@126.com

TLRs)在机体免疫系统中发挥关键性作用。研究表明,TLRs 基因多态性位点与宫颈癌、甲状腺乳头状瘤等多种肿瘤发生、发展密切相关^[4,5]。本研究旨在采用 PCR - RFLP 方法检测 TLR4、TLR9 基因多态性与浅表性膀胱癌肿瘤复发之间的关系,初步探究以 TLRs 为关键的肿瘤免疫逃逸可能机制,为进一步研究以 TLR 为基础的抗肿瘤免疫治疗浅表性膀胱癌肿瘤提供一定理论依据。

资料与方法

1. 研究对象:选取 2013 年 3 月~2017 年 3 月笔者医院收治的 300 例膀胱癌患者为研究对象,所有患者均经术后病理学检查确诊为浅表性膀胱癌者,其中男性 203 例,女性 97 例,患者年龄 42~79 岁,平均年龄 62.37 ± 5.74 岁,单发 187 例,多发 113 例,肿瘤分级 T_aG_1 81 例, T_aG_2 83 例, T_1G_1 69 例, T_1G_2 67 例。其中初发膀胱癌 150 例、复发膀胱癌 150 例,初发膀胱癌 150 例中,其中男性 107 例,女性 43 例,患者年龄 42~75 岁,平均年龄 61.45 ± 6.03 岁,复发膀胱癌 150 例中,男性 96 例,女性 54 例,患者年龄 46~79 岁,平均年龄 63.74 ± 5.27 岁。(1)纳入标准:①所有患者均为于笔者医院行手术治疗浅表性膀胱癌患者;②临床资料及术后随访资料完整者;③年龄 < 80 岁,性别不限;④患者及家属了解本研究,并同意签署知情同意书者。(2)排除标准:①排除浸润性膀胱癌者;②排除患有肝脏、肺、心脏、肾脏等严重疾病者;③排除合并其他恶性肿瘤者;④排除有放射线暴露史者。同期选取 100 例体检健康者作为对照组,其中男性 67 例,女性 33 例,年龄 40~76 岁,平均年龄 $59.46 \pm$

6.04 岁。本研究经笔者医院伦理委员会批准进行。

2. 主要试剂与仪器:DNA 提取试剂盒购自北京天根生物有限公司;无水乙醇、氯仿、异丙醇购自上海化学试剂公司;TaqDNA 聚合酶、dNTPs 购自日本 TaKaRa 公司;限制性内切酶 Bcc I 购自美国 New England BioLabs 公司;引物由上海生工生物技术公司合成。Gene Amp PCR System 2700 DNA 扩增仪购自美国 ABI 公司;电泳仪及电泳系统购自美国 Bio - Rad 公司;凝胶成像系统购自美国 UVP 公司。

3. 样本 DNA 的提取:利用 DNA 提取试剂盒提取各组受试者外周血液中 DNA,方法步骤严格按照 DNA 提取试剂盒说明书进行。所提 DNA A_{260}/A_{280} 均 > 1.7,所提 DNA 纯度较高,可用于后续试验研究。将 DNA 分装以免污染, - 20℃ 保存。

4. TLR4 rs10759932、TLR9 - 1486、C2848T 基因多态性分型:以上述 DNA 为模板,利用 PCR - RFLP 技术检测 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性,PCR 所需引物由上海生工有限公司合成。具体引物见表 1。PCR - RFLP 反应体系见表 2,将试剂加入已灭菌的 PCR 管中,按照下列反应条件进行扩增:95℃ 预变性 5min;94℃ 变性,30s;56℃ 退火,45s;72℃ 延伸,45s;35 个循环,72℃ 延伸 10min。采用限制性内切酶 Bcc I 对 PCR 扩增产物进行酶切。酶切体系总体积 15μl,向 10μl PCR 产物中加入 1.5μl 10 × 酶切缓冲液,限制性内切酶 0.5μl (5U),ddH₂O 3μl,37℃ 水浴过夜酶切。利用含溴乙锭预染的 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因型。

表 1 TLR4 rs10759932 和 rs11536889、TLR9 - 1486、C2848T 基因位点引物序列 ($\bar{x} \pm s$)

基因	上游引物 (5'→3')	下游引物 (5'→3')	扩增长度 (bp)
TLR4 rs10759932	TTTGTATAATTTGACTACCATTTGCGT	CATTTTTCACATCTTCACCAGC	139
TLR9 1486T/C	TTCATTTCATTCAGCCTTCACTCA	GAGTCAAAGCCACAGTCCACA	565
TLR9 C2848T	GCAGCACCTCAACTTCACC	GGCTGTGGATGTTGTTGTGG	360

表 2 PCR 反应体系 (50μl)

试剂	体积 (μl)
4dNTPs (2mmol/L)	4
MgCl ₂ (25mmol/L)	3
10 × Buffer	5
上游引物 (20μmol/L)	1
下游引物	1
RNase - Free Water	30.5
DNA 模板 (45ng/μl)	5
Taq 酶 (5U/μl)	0.5
总体积	50

5. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析,研究对象基因型与 Hardy - Weinberg 平衡的符合程度,各组间人群基因型及等位基因频率比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1.3 组基因型分布情况:经 PCR - RFLP 技术将 3 组样本 DNA 成功进行了基因型的分析,且经内切酶酶切得到的重复型均与理论相符,具体分型结果见

图 1 ~ 图 4。3 组 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、

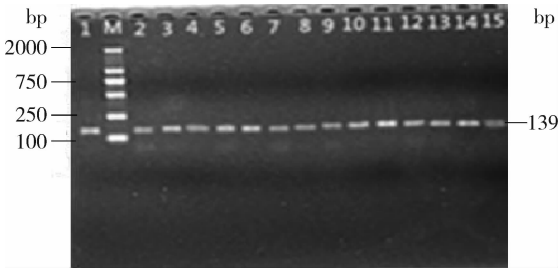


图 1 TLR4 rs10759932 PCR 产物电泳图
泳道 M. DNA 标志物;1 ~ 15. 特异性扩增条带

C2848T 基因多态性分布均符合 *Hardy - Weinberg* 平衡,可用于后续研究。

2.3 组 TLR4 rs10759932 位点基因多态性分布比较:与对照组比较,初发膀胱癌组及复发膀胱癌组 TLR4rs10759932 基因多态位点 T/C、C/C 基因型频率及 C 等位基因频率明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),T/T、T 等位基因明显升高 ($P < 0.05$),且复发膀胱癌组 TLR4rs10759932 基因多态位点 T/C、C/C 基因型频率及 C 等位基因频率明显低于初发膀胱癌组 ($P < 0.05$),T/T、T 等位基因明显高于初发膀胱癌组 ($P < 0.05$,表 3)。



图 2 TLR4 rs10759932 位点酶切电泳图
泳道 M. DNA 标志物;1 ~ 5. T/T 基因型;6. C/C 基因型;7 ~ 8. T/C 基因型

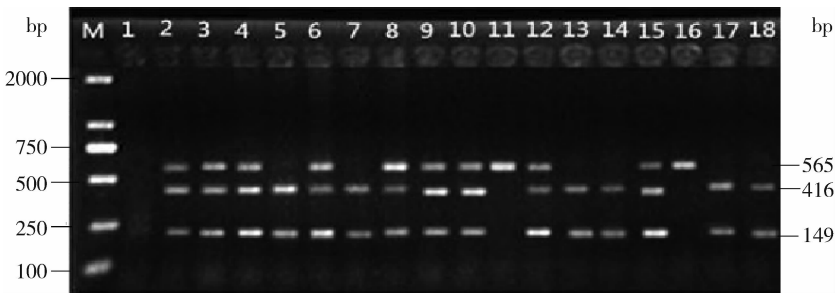


图 3 TLR9 1486T/C 位点酶切电泳图
泳道 M. DNA 标志物;1. 阴性对照;2,3,4,6,8,9,10,12,15. T/C 基因型;5,7,13,14,17,18. C/C 基因型;11,16. T/T 基因型

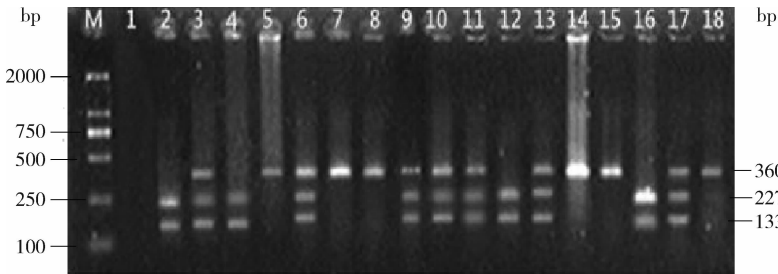


图 4 TLR9 C2848T 位点酶切电泳图
泳道 M. DNA 标志物;1. 阴性对照;2,4,12,16. T/T 基因型;3,6,9,10,11,13,17. C/T 基因型;5,7,8,14,15,18. C/C 基因型

3.3 组 TLR9 1486T/C 位点基因多态性分布比较:复发膀胱癌组、初发膀胱癌组及对照组 3 组 TLR9 1486T/C 基因多态性位点 T/C、C/C、T/T 基因型频率

及 C、T 等位基因频率比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$,表 4)。

表 3 3 组 TLR4 rs10759932 位点基因多态性分布比较结果[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率	
		C/C	T/C	T/T	C	T
复发膀胱癌组	150	5(3.33) * #	45(30.00) * #	100(66.67) * #	13(8.67) * #	119(79.33) * #
初发膀胱癌组	150	18(12.00) *	64(42.67) *	68(45.33) *	29(19.33) *	103(68.67) *
对照组	100	24(24.00)	59(59.00)	17(17.00)	37(37.00)	39(39.00)
χ^2		24.728	20.758	59.619	30.417	44.283
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, * *P* < 0.05; 与初发膀胱癌组比较, # *P* < 0.05

表 4 3 组 TLR9 1486T/C 位点基因多态性分布比较结果[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率	
		C/C	T/C	T/T	C	T
复发膀胱癌组	150	22(14.67)	79(52.67)	49(32.67)	68(45.33)	102(68.00)
初发膀胱癌组	150	15(10.00)	82(54.67)	53(35.33)	72(48.00)	97(64.67)
对照组	100	13(13.00)	60(60.00)	27(27.00)	51(51.00)	62(62.00)
χ^2		1.524	1.338	1.926	0.778	0.989
<i>P</i>		0.467	0.512	0.382	0.678	0.610

4.3 组 TLR9 C2848T 位点基因多态性分布比较: 复发膀胱癌组、初发膀胱癌组及对照组 3 组 TLR9 C2848T 基因多态性位点 C/T、C/C、T/T 基因型频率及 C、T 等位基因频率比较, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05, 表 5)。

表 5 3 组 TLR9 C2848T 位点基因多态性分布比较结果[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率	
		C/C	T/C	T/T	C	T
复发膀胱癌组	150	36(24.00)	83(55.33)	31(20.67)	76(50.67)	62(41.33)
初发膀胱癌组	150	37(24.67)	75(50.00)	38(25.33)	73(48.67)	71(47.33)
对照组	100	21(21.00)	49(49.00)	30(30.00)	49(49.00)	45(45.00)
χ^2		0.482	1.258	2.850	0.133	1.107
<i>P</i>		0.786	0.533	0.240	0.936	0.575

讨 论

浅表性膀胱癌手术治疗后居高不下的复发率是目前泌尿外科十分棘手的一项难题,也是肿瘤基础研究的重要热点及难点^[6]。肿瘤发生、发展及转归过程,与患者机体免疫功能关系密切^[7]。研究表明,正常生理情况下,机体免疫系统可发挥免疫监视作用,识别肿瘤细胞等非己抗原,从而产生免疫应答,破坏及清除肿瘤细胞,组织肿瘤细胞恶性增殖及进展^[8,9]。与此同时,肿瘤细胞可通过异常表达某些免疫分子等多种信号途径,逃避宿主免疫监视作用,促进肿瘤发生及发展。Ogiya 等^[10]研究指出,肿瘤复发与机体免疫功能及肿瘤细胞免疫逃逸之间存在密切关系。阐明肿瘤复发免疫学机制,对于降低临床恶性肿瘤复发率具有十分重要的积极意义。

目前,有关肿瘤细胞发生免疫逃逸的具体机制尚未完全阐明。TLRs 作为一类参与机体非特异性免疫

及连接特异性免疫与非特异性免疫的重要蛋白质分子,是近年来疾病免疫治疗研究的重要热点^[11]。TLRs 作为机体免疫系统主要的模式识别受体,一方面可激活机体先天性免疫反应,另一方可诱导 CD80 表达,为机体获得性免疫反应启动提供重要活化信号,从而发挥重要的免疫学功能。近年来,TLRs 基因多态性与肿瘤发生、发展及复发之间的相关性引起了国内外学者的广泛关注。研究表明,TLRs 内源性配体在机体肿瘤免疫中具有十分重要的作用,TLRs 可通过识别相应配体或者激动剂发挥肿瘤免疫作用,通过 TLRs 信号通路介导肿瘤免疫治疗是目前肿瘤研究的重大热点^[12,13]。基因多态性在机体细胞发生癌变过程中具有重要作用,可导致细胞增殖及分化调控异常,机体免疫监视功能缺陷以及 DNA 损伤及修复功能改变等^[14]。基于此,本研究旨在利用 PCR - RFLP 方法检测浅表性膀胱癌及其复发病例中 TLR4、

TLR9 单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP), 揭示膀胱癌人群 TLR 基因变异状态, 为进一步探索以 TLR 为基础的抗肿瘤免疫治疗提供依据。

TLR4 是位于人类 9 号染色体上的 TLRs 成员之一, 几乎在所有细胞系中均有分布, 主要表达于单核-吞噬细胞、淋巴细胞、粒细胞、上皮细胞、内皮细胞、树突状细胞等具有防御功能的宿主细胞上^[15]。研究表明, TLR4 基因多态性与人类呼吸系统、肿瘤等多种疾病发生密切相关^[16]。公欣海等^[17]研究结果显示, 通过脂多糖激活 T24 膀胱癌细胞系中 TLR4 信号通路, 可明显上调 B7-H1 基因表达, 从而参与膀胱癌肿瘤细胞发生免疫逃逸。Castaño-Rodríguez 等^[18]研究表明, TLR4 rs10759932 位点基因多态性与人类胃癌发病风险关系密切。范尧夫^[19]研究结果显示, TLR4 rs10759932 位点基因多态性与江苏地区居民胃癌癌前病变发病风险密切相关, 且 TLR4 rs10759932 位点 TC 基因型及 C 等位基因可明显降低胃癌癌前病变患者轻、中度肠上皮化生及低级别上皮瘤变的危险。Shen 等^[20]研究结果显示, TLR4 基因多态性与膀胱癌易感风险关系密切。目前, 有关 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性与浅表性膀胱癌复发相关研究尚未见报道。本研究利用 PCR-RFLP 方法, 将初发浅表性膀胱癌患者、复发性膀胱癌患者及健康对照组受试者 DNA 成功进行了 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因型的分析, 且经内切酶酶切得到的重复型均与理论相符, 3 组 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 可用于后续研究。

本研究结果显示, 与对照组比较, 初发膀胱癌组及复发膀胱癌组 TLR4rs10759932 基因多态位点 T/C、C/C 基因型频率及 C 等位基因频率明显降低, T/T、T 等位基因明显升高, 且复发膀胱癌组 TLR4rs10759932 基因多态位点 T/C、C/C 基因型频率及 C 等位基因频率明显低于初发膀胱癌组, T/T、T 等位基因明显高于初发膀胱癌组, 说明 TLR4rs10759932 基因多态性与浅表性膀胱癌患者术后复发密切相关, 推测携带该基因位点 T/C、C/C 基因型及 C 等位基因可能会降低浅表性膀胱癌复发风险, 而携带 T/T 基因型、T 等位基因可能会增加浅表性膀胱癌复发风险, TLR4rs10759932 可能通过某种机制参与浅表性膀胱癌肿瘤免疫逃逸。Singh 等研究

结果显示, TLR9 (G2848A) 基因的单核苷酸多态性与膀胱癌发病风险无关。本研究结果显示, TLR9 1486T/C、C2848T 位点基因多态性与浅表性膀胱癌术后复发无明显相关性, 该基因多态性是否在不同地区、种族及肿瘤之间存在差异, 值得后续实验进一步探究。

综上所述, 本研究利用 PCR-RFLP 方法, 初步探讨了 TLR4 rs10759932、TLR9 1486T/C、C2848T 基因多态性与浅表性膀胱癌复发之间的相关性, 结果显示, TLR4 基因 rs10759932 多态性与浅表性膀胱癌肿瘤复发密切相关, 该基因位点 T/C、C/C 基因型及 C 等位基因可能会降低浅表性膀胱癌复发风险。本研究仍存在样本量较少等不足之处, 后续研究将进一步扩大样本量, 完善本结论, 提高研究的准确性。

参考文献

- 1 韩苏军, 张思维, 陈万青, 等. 中国膀胱癌发病现状 & 流行趋势分析[J]. 癌症进展, 2013, 11(1): 89-95
- 2 兰海河, 张战宏, 胡新红. 经尿道膀胱肿瘤电切术后三种化疗方案治疗浅表性膀胱癌的疗效及安全性比较[J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(12): 2044-2046
- 3 刘权兴, 戴纪刚. 肿瘤免疫逃逸和免疫抑制的机制和免疫治疗策略的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2014, 37(4): 272-275
- 4 戴穹, 张旭, 董晖, 等. Toll 样受体 4 多态性调节白细胞介素 1- α 表达与宫颈癌相关性[J]. 解剖学杂志, 2014, 37(2): 166-169
- 5 李寅辉, 肖珊, 赛力克·马高维亚, 等. Toll 样受体 10 基因多态性与甲状腺乳头状癌的相关性[J]. 中华生物医学工程杂志, 2015, 21(2): 108-113
- 6 丁永锋, 邹传兵, 朱子军. 经尿道膀胱肿瘤电切加黏膜下注射吡柔比星及干扰素对浅表性膀胱癌复发的影响[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2016, 8(1): 8-10
- 7 Gettinger SN, Kowanetz M, Koeppen H, et al. Molecular, immune and histopathological characterization of NSCLC based on PDL1 expression on tumor and immune cells and association with response to the anti-PDL1 antibody MPDL3280A. [J]. Commun Acn, 2015, 47(4): 68-73
- 8 张亚楠, 季旭明, 韩晓春, 等. TGF- β 在肿瘤免疫微环境中的作用及研究进展[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(4): 8-10
- 9 孙洋, 李新宇, 顾恒. 人乳头瘤病毒感染与宿主免疫机制[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(12): 181-183
- 10 Ogiya R, Niikura N, Kumaki N, et al. Abstract P2-04-13: Difference of immune microenvironment between primary and recurrent tumours in breast cancer patients[J]. Cancer Res, 2017, 77(Supplement 4): P2-04-13
- 11 张娜, 靳广毅, 晋贞超, 等. Toll 样受体 7 激动剂 T7-利尿酸偶合物联合 ROR1 具有更强的抗乳腺癌作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(7): 876-880

(转第 10 页)

- 4 Guo X, Gao L, Zhang S, *et al.* Cardiovascular system changes and related risk factors in acromegaly patients: a case – control study [J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015(2):573643
- 5 Ramoslevi Am, Marazuela M. Cardiovascular comorbidities in acromegaly: an update on their diagnosis and management [J]. *Endocrine*, 2017, 55(2): 346 – 359
- 6 Pivonello R, Auriemma Rs, Grasso LF, *et al.* Complications of acromegaly: cardiovascular, respiratory and metabolic comorbidities [J]. *Pituitary*, 2017, 20(1): 46 – 62
- 7 Bogazzi F, Lombardi M, Strata E, *et al.* High prevalence of cardiac hypertrophy without detectable signs of fibrosis in patients with untreated active acromegaly: an in vivo study using magnetic resonance imaging [J]. *Clin Endocrinol:Oxf*, 2008, 68(3): 361 – 368
- 8 Silva CM, Gottlieb I, Volschan I, *et al.* Low frequency of cardiomyopathy using cardiac magnetic resonance imaging in an acromegaly contemporary cohort [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(12): 4447 – 4455
- 9 Gouya H, Vignaux O, Le Roux P, *et al.* Rapidly reversible myocardial edema in patients with acromegaly: assessment with ultrafast T₂ mapping in a single – breath – hold MRI sequence [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2008, 190(6): 1576 – 1582
- 10 Andreassen M, Faber J, Kjaer A, *et al.* Cardiac effects of 3 months treatment of acromegaly evaluated by magnetic resonance imaging and B – type natriuretic peptides [J]. *Pituitary*, 2010, 13(4): 329 – 336
- 11 Bogazzi F, Lombardi M, Strata E, *et al.* Effects of somatostatin analogues on acromegalic cardiomyopathy: results from a prospective study using cardiac magnetic resonance [J]. *J Endocrinol Invest*, 2010, 33(2): 103 – 108
- 12 Warszawski L, Kasuki L, Sa R, *et al.* Low frequency of cardiac arrhythmias and lack of structural heart disease in medically – naive acromegaly patients: a prospective study at baseline and after 1 year of somatostatin analogs treatment [J]. *Pituitary*, 2016, 19(6): 582 – 589
- 13 Winhofer Y, Wolf P, Krssak M, *et al.* No evidence of ectopic lipid accumulation in the pathophysiology of the acromegalic cardiomyopathy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(11): 4299 – 4306
- 14 Pennell DJ, Sechtem UP, Higgins CB, *et al.* Clinical indications for cardiovascular magnetic resonance (CMR): consensus panel report [J]. *Eur Heart J*, 2004, 25(21): 1940 – 1965
- 15 Rickers C, Wilke Nm, Jerosch – Herold M, *et al.* Utility of cardiac magnetic resonance imaging in the diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2005, 112(6): 855 – 861
- 16 Bellenger NG, Davies LC, Francis JM, *et al.* Reduction in sample size for studies of remodeling in heart failure by the use of cardiovascular magnetic resonance [J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2000, 2(4): 271 – 278
- 17 Abreu A, Tovar AP, Castellanos R, *et al.* Challenges in the diagnosis and management of acromegaly: a focus on comorbidities [J]. *Pituitary*, 2016, 19(4): 448 – 457
- 18 Lugo G, Pena L, Cordido F. Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly [J]. *Int J Endocrinol*, 2012, 2012(1):540398
- 19 Volterrani M, Desenzani P, Lorusso R, *et al.* Haemodynamic effects of intravenous growth hormone in congestive heart failure [J]. *Lancet*, 1997, 349(9058): 1067 – 1068
- 20 Fu ML, Tornell J, Schulze W, *et al.* Myocardial hypertrophy in transgenic mice overexpressing the bovine growth hormone (bGH) gene [J]. *J Intern Med*, 2000, 247(5): 546 – 552
- 21 Colao A, Ferone D, Marzullo P, *et al.* Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management [J]. *Endocr Rev*, 2004, 25(1): 102 – 152
- 22 Arias MA, Pachon M, Rodriguez – Padial L. Ventricular tachycardia in acromegaly [J]. *Rev Port Cardiol*, 2011, 30(2): 223 – 226
- 23 Powlson AS, Gurnell M. Cardiovascular disease and sleep – disordered breathing in acromegaly [J]. *Neuroendocrinology*, 2016, 103(1): 75 – 85

(收稿日期:2017 – 10 – 24)

(修回日期:2017 – 11 – 06)

(接第 71 页)

- 12 Newman MJ. Abstract 4286: Development of a safe and effective systemically administered multiple Toll – like receptor (TLR) agonist for anti – tumor immunotherapy[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(Suppl 15): 4286 – 4286
- 13 Diao Y, Wang X, Wan Y, *et al.* Antitumor activity of a novel small molecule TLR7 agonist via immune response induction and tumor microenvironment modulation. [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(2):793 – 795
- 14 徐晓明,尹春梅,严志凌,等. 云南汉族人群 TLR9 基因多态性与宫颈癌发生及发展的相关性[J]. *贵阳医学院学报*, 2017, 42(1):21 – 25
- 15 吴春香,薛超,廖蕴华,等. TLR4 基因 1837A/G 多态性与广西汉族人群原发抗中性粒细胞胞浆抗体相关性小血管炎的相关性[J]. *广东医学*, 2015(4):528 – 531
- 16 杨海波,甘丽英,谢恺庆. TLR4 基因 Asp299Gly 位点和 Thr399Ile 位点多态性与肺结核及结核性胸膜炎遗传易感性的研究[J]. *广西医科大学学报*, 2016, 33(2):217 – 220
- 17 公欣海,王永华,邵世修,等. TLR4 信号通路参与膀胱癌免疫逃逸机制的研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(16):1217 – 1220
- 18 Castaño – Rodríguez N, Kaakoush NO, Pardo AL, *et al.* Genetic polymorphisms in the Toll – like receptor signalling pathway in *Helicobacter pylori*, infection and related gastric cancer[J]. *Human Immunol*, 2014, 75(8):808 – 815
- 19 范尧夫. 胃癌癌前病变发病危险因素的流行病学调查及痰瘀阻滞型与 TLR4 基因多态性的相关性研究[D]. 南京:南京医科大学, 2013
- 20 Shen Y, Bu M, Zhang A, *et al.* Toll – like receptor 4 gene polymorphism downregulates gene expression and involves in susceptibility to bladder cancer[J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(4):2779 – 2784

(收稿日期:2017 – 11 – 17)

(修回日期:2017 – 11 – 27)