

# 白血病中钙黏蛋白的表观遗传学调控\*

邓 怡 综述, 张 曦<sup>△</sup> 审校

(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

**关键词:** 表观遗传学; 钙黏蛋白; 白血病; 微环境

**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.09.056 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)09-1348-04

造血微环境提供必要信号支持, 调控白血病的发生与进展<sup>[1]</sup>。白血病细胞与造血微环境之间, 可以通过细胞与细胞或细胞与细胞外基质黏附实现相互作用, 促进白血病细胞静止、归巢、耐药, 并激活抗凋亡相关通路<sup>[2-4]</sup>, 通过对黏附分子干扰可以使白血病细胞重新对化疗药物敏感<sup>[5-6]</sup>。因此, 黏附分子在白血病形成和进展过程中起到了重要作用。

钙黏蛋白超家族是一类重要的黏附分子, 拥有超过 350 个成员, 包括经典钙黏蛋白、桥粒钙黏蛋白、原钙黏蛋白、钙黏素相关蛋白等, 它们的主要功能是介导细胞间  $Ca^{2+}$  依赖的同型或异型黏附, 同时参与多条信号通路调节, 从而协调和调控相互黏附细胞间的行为<sup>[7]</sup>。近年有许多研究表明, 除了细胞遗传学异常外, 表观遗传也在调控白血病钙黏蛋白表达中发挥了重要作用, 进而影响白血病细胞的黏附、迁移、耐药、分化等过程, 这也可能成为表观遗传药物应用于白血病临床治疗的理论支撑, 本文就白血病中钙黏蛋白的表观遗传调控进行综述。

## 1 表观遗传学概况

表观遗传学是指非基于 DNA 序列改变的可遗传基因表达变化, 它对于健康细胞功能维持和器官发育是必须可少的, DNA 甲基化和组蛋白修饰是最重要的表观遗传事件。DNA 甲基化主要发生在 5' 端 CpG 岛胞嘧啶的 5 位碳原子上 (5mC), 通过 DNA 甲基转移酶 (DNMTs) 催化形成, DNMT3A 和 DNMT3B 催化从头甲基化, 而 DNMT1 则在染色体复制和修复过程中识别半甲基化 DNA 以维持 DNA 甲基化, DNA 甲基化通常与基因沉默相关<sup>[8]</sup>。组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 构成核心组蛋白, 而 H1 组蛋白主要起连接作用, 组蛋白修饰常发生在氨基端, 包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等化学修饰<sup>[9]</sup>。组蛋白乙酰化通常使转录活化, 而甲基化则可能产生激活或抑制效应, 例如: H3K4me 与基因转录活化相关, 而 H3K9me 和 H3K27me 则抑制转录。此外, 染色体重塑、非编码 RNA 等机制也属于表观遗传学的范畴<sup>[10]</sup>, 它们间还能够通过相互作用共同调节相关基因表达。

## 2 白血病中 E-cadherin 表观遗传学调控

E-cadherin (CDH1) 编码基因定位于人类染色体 16q22.1, 它编码的蛋白主要表达于上皮组织中。在造血系统中 E-cadherin 表达于骨髓基质细胞 (BMSCs) 和 CD34<sup>+</sup> 干细胞, 并且介导了 CD34<sup>+</sup> 细胞与 BMSCs 相互作用, E-cadherin 还表达于红系祖细胞, 体外研究证实其对于红细胞生成有重要作用<sup>[11]</sup>。由此可见, E-cadherin 在造血发生过程中发挥了重要作用。E-cadherin 被认为能够抑制肿瘤形成、侵袭和转移, 其机制包括直接黏附作用和抑制致癌信号通路 (如  $\beta$ -catenin 通路、EGFR

通路)<sup>[7,12]</sup>。

多种实体肿瘤常表现出 E-cadherin 基因 CpG 岛异常甲基化导致其表达减少或缺失<sup>[13-14]</sup>, 白血病细胞中也发生了同样的改变。白血病细胞株 (HL-60, U937, KG1a, A301) 和病例标本与健康对照相比, E-cadherin 基因 CpG 岛发生了明显甲基化同时 E-cadherin 表达减少<sup>[15]</sup>。Melki 等<sup>[15]</sup> 还对 E-cadherin 基因 29 个 CpG 位点进行了甲基化分析, 发现在白血病中 E-cadherin 基因甲基化具有异质性, 有的标本仅发生有限位点甲基化而有的标本甲基化则发生在所有可检测位点。体外研究表明, 去甲基化药物 zebularine 能够使白血病细胞株 E-cadherin 基因甲基化程度降低, 并且能够使沉默的 E-cadherin 基因重新表达<sup>[16]</sup>。使用去甲基化药物后, 还可以观察到白血病细胞增殖减少和细胞死亡增加, 但是在白血病中还存在多个抑癌基因 (TSG) 甲基化, 因此这并不能仅归结为 E-cadherin 基因的重新活化。在急性髓系白血病 (AML) 中 E-cadherin 低表达已被证实是一个独立的不良预后因素<sup>[17]</sup>, 但是 E-cadherin 基因高甲基化的临床意义仍有争论。Shimamoto 等<sup>[18]</sup> 认为 E-cadherin 高甲基化与不良预后相关, E-cadherin 基因高甲基化 AML 患者获得更少的完全缓解、中位生存时间和 5 年无病生存率, 而 Deneberg 等<sup>[19]</sup> 则认为, E-cadherin 基因的甲基化状态与 AML 临床预后无关, 而全基因组甲基化状态则是一个独立预后因素。

除 DNA 甲基化外, 组蛋白修饰同样参与调控白血病细胞中 E-cadherin 表达。体外研究发现, 慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 样本中 E-cadherin 表达较健康对照组减少, 使用组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (HDACi) MS-275 后, CLL 细胞 E-cadherin 启动子区域乙酰化 H3 和 H4 组蛋白增加, 同时 E-cadherin 表达也增加, HDAC 能够降低组蛋白乙酰化程度引起基因沉默, 在 CLL 细胞中除 HDAC4 外, HDAC1-9 的表达都显著增加, 表明 CLL 中 E-cadherin 沉默与组蛋白低乙酰化相关<sup>[20]</sup>。组蛋白去甲基化酶 LSD1 能够使 H3K4me1-2 和 H3K9me1-2 去甲基化, 体外研究表明, 在 AML 细胞株中加入 LSD1 抑制剂后, E-cadherin 基因启动子区域转录活化标志 H3K4me1-2 增加, 被沉默的 E-cadherin 重新表达, 提示组蛋白甲基化修饰同样参与了 E-cadherin 表达调控<sup>[21]</sup>。有趣的是, 在 NB4、KG1 细胞株中使用去甲基化药物 zebularine 后, E-cadherin 基因甲基化降低的同时其启动子区域 H3K4me3 和 H4ac 明显升高<sup>[16]</sup>, 提示 DNA 甲基化和组蛋白修饰可能在 E-cadherin 表达调控过程中起协同作用, 联合使用表观遗传药物也许能取得更好的治疗效果。体内研究也表明 LSD1 转基因小鼠, 经过  $\gamma$  射线照

\* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81270569); 重庆市基础与前沿研究计划重点项目 (cstc2015jcyjBX0077)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: zhangxxi@sina.com。

射后更早和更多进展为 T 淋巴细胞白血病/淋巴瘤(T-LBL), 这表明 LSD1 过量表达在白血病发生上可能扮演了第一次打击的角色, 抑癌基因的表现遗传沉默可能是肿瘤形成中的早期事件<sup>[22]</sup>。Lakshmikuttyamma 等<sup>[23]</sup>发现, H3K9 甲基转移酶 SUV39H1 抑制剂和 shRNA 能够使 AML 细胞株 E-cadherin 表达升高, 同时 E-cadherin 启动子区域 H3K9me 减少, 但基因的甲基化状态没有发生变化, 因此他们认为 H3K9me 是一个起始事件引起了 E-cadherin 异常甲基化并导致 AML 细胞 E-cadherin 沉默, 也就是说 H3K9 甲基化修饰在 E-cadherin 的表现遗传沉默过程中发挥了主导作用, 但是这个观点还需要更多证据支持。

近来有研究显示, MicroRNA 也参与了白血病细胞 E-cadherin 表达调控。miR-9 和 miR-590 被证实参与了白血病细胞 E-cadherin 的表达调控<sup>[24-25]</sup>, 而 miR-320a 则可以通过结合至慢性髓系白血病(CML) BCR-ABL 基因 mRNA 的 3' UTR 抑制其表达, 进而抑制 K562 细胞的增殖、迁移和侵袭并诱导其凋亡。BCR-ABL 基因能够使 CML 细胞发生上皮间质转化(EMT)改变, miR-320a 能够通过抑制 BCR-ABL 基因的抑制进而调控 K562 细胞的 EMT 过程, 从而上调细胞 E-cadherin 表达<sup>[26]</sup>。

### 3 表观遗传调控白血病中原钙黏蛋白表达

原钙黏蛋白(PCDHs)根据基因结构不同分为成簇型 PCDHs 和非成簇型 PCDHs, 非成簇型 PCDHs 的编码基因分散在基因组中, 成簇型 PCDHs 的编码基因则分布在  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  三个成簇位点, PCDHs 大约包括 80 个成员, 构成钙黏蛋白超家族中最大的亚组<sup>[27]</sup>。PCDHs 包括 6~7 个胞外串联重复结构域, 1 个跨膜结构域和 1 个胞内结构域, 与经典钙黏蛋白相比, 它的胞外同源黏附结构域常发生选择性剪切而胞内不存在 p120-catenin 和  $\beta$ -catenin 结合域<sup>[7]</sup>。

多个 PCDHs(如: PCDH8、PCDH9、PCDH10)被认为是抑癌基因, 在宫颈癌瘤前病变中能够观察到 PCDH10 异常甲基化, 这提示 PCDH10 的表现遗传改变可能是肿瘤形成的一个早期事件<sup>[28]</sup>。体外研究发现, 白血病细胞株及临床标本中 PCDH10 基因存在高甲基化并引起基因沉默<sup>[29]</sup>, Narayan 等<sup>[30]</sup>对白血病细胞株和临床标本研究表明, 大部分急性淋巴细胞白血病(ALL)患者和 ALL 细胞株中 PCDH10 基因发生甲基化并引起 PCDH10 表达降低, 去甲基化药物和 HDACi 单独或联合使用能够使大部分 ALL 细胞株 PCDH10 表达升高, 这表明 DNA 甲基化和组蛋白修饰都参与了 PCDH10 沉默。hBex1 是肿瘤坏死因子受体超家族成员, Ding 等<sup>[31]</sup>发现 hBex1 能够通过调控 PCDH10 而影响细胞死亡, 耐药白血病细胞株中 hBex1 表达减少, Narayan 等<sup>[28]</sup>也发现低表达 PCDH10 的 ALL 细胞株较高表达的细胞株对传统化疗药物更加耐药, 因此 PCDH10 表达减少可能与白血病细胞耐药相关。此外, 近期研究提示, 初诊时 PCDH17 基因高甲基化与儿童白血病不良预后相关。

### 4 表观遗传调控白血病中 T-cadherin 表达

CDH13(T-cadherin)是一个特别的钙黏蛋白, 与其他钙黏蛋白相比, 它缺少跨膜和胞内结构域, 而是通过糖磷脂酰肌醇(GPI)锚定在细胞膜上<sup>[7, 32]</sup>。CDH13 高甲基化和表达降低发生在多种肿瘤, 如: 乳腺癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌等, 因此 CDH13 被认为是一个抑癌基因。在 CML 中 CDH13 启动子也被发现存在高甲基化并导致其表达降低, CML 细胞 CDH13

表达和 BCR-ABL 融合基因表达及 CML 的多个临床参数(如: 危险分层、对治疗的反应和预后)都表现出负相关。随着髓系白血病的进展或复发, CDH13 异常甲基化患者的比例逐渐增加, 这提示慢性期或缓解期髓系白血病患者可能有必要使用表观遗传药物<sup>[32]</sup>。多种病毒感染[如人乳头瘤病毒、人类疱疹病毒 4 型、猴空泡病毒 40(SV40)]被认为与肿瘤发生相关。Shivapurkar 等<sup>[33]</sup>发现部分白血病和淋巴瘤患者(约 30%~40%)SV40DNA 序列阳性, SV40 序列阳性样本中多个肿瘤相关基因(CDH1、CDH13、p16、DcR1、DcR2、CRBP、DAP-kinase)启动子甲基化显著增加, 而且 SV40 阳性患者的甲基化指数(MI=甲基化基因数/研究的基因数)也较阴性患者显著增加, 这项研究建立了致癌病毒和血液肿瘤表观遗传改变之间的联系, 并提示病毒感染极有可能在血液肿瘤发生上起到了重要作用。

### 5 小结与展望

过去数十年, 由于化疗药物、治疗技术和治疗策略的进步, 白血病的预后有了很大提高, 但复发和难治白血病仍然是摆在我们面前的难题。近年来, 随着钙黏蛋白在白血病中重要意义和作用机制研究的不断进展, 表明钙黏蛋白调节异常赋予白血病细胞耐药、干细胞特征、侵袭转移等性质, 使得钙黏蛋白可能成为白血病诊断和预后的分子标志和潜在的治疗靶点。表观遗传机制参与了白血病中多种钙黏蛋白的表达调控, 通过表观遗传药物可以使得沉默的钙黏蛋白重新表达, 可能有助于提高白血病患者治疗效果、改善预后。

E-cadherin 是白血病中研究较多的钙黏蛋白, 其表达减少被认为参与了白血病形成和进展。已有去甲基化药物和 HDACi 用于临床治疗血液肿瘤, 它们在体外实验中都被证实能够上调 E-cadherin 表达。除了 DNA 甲基化和组蛋白乙酰化修饰, 组蛋白甲基化是另一个参与 E-cadherin 调控的重要表观遗传机制, 一些针对组蛋白甲基化的表观遗传药物正在进行早期临床研究。E-cadherin 表达减少或缺失涉及多个表观遗传机制的相互作用, 联合使用表观遗传药物治疗血液肿瘤的研究也取得了令人鼓舞的进展。然而, 目前对于表观遗传调控白血病中 PCDHs 和 T-cadherin 表达的认识还主要集中在 DNA 甲基化方面, 去甲基化药物也可能通过影响 PCDHs 和 T-cadherin 表达在白血病治疗中发挥作用, 同时是否有其他表观遗传调控机制参与 PCDHs 和 T-cadherin 调控仍值得进一步研究。总之, 目前对于白血病中钙黏蛋白表达的表现遗传调控认识还比较有限, 对它们表现遗传调控的深入研究将帮助我们开发更加有效的治疗策略, 进一步提高血液肿瘤的治疗效果。

### 参考文献

- [1] Schepers K, Campbell TB, Passegue E. Normal and leukemic stem cell niches: insights and therapeutic opportunities[J]. Cell Stem Cell, 2015, 16(3): 254-267.
- [2] Chen C, Zhang X, Wang M, et al. Stromal cells attenuate the cytotoxicity of imatinib on Philadelphia chromosome-positive leukemia cells by up-regulating the VE-cadherin/ $\beta$ -catenin signal[J]. Leuk Res, 2014, 38(12): 1460-1468.
- [3] Singh V, Erb U, Zoller M. Cooperativity of CD44 and CD49d in leukemia cell homing, migration, and survival offers a means for therapeutic attack[J]. J Immunol, 2013, 191(10): 5304-5316.

- [4] Zhang B, Li M, McDonald T, et al. Microenvironmental protection of CML stem and progenitor cells from tyrosine kinase inhibitors through N-cadherin and Wnt- $\beta$ -catenin signaling[J]. *Blood*, 2013, 121(10): 1824-1838.
- [5] Hsieh T, Gang J, Geng H, et al. Integrin alpha4 blockade sensitizes drug resistant pre-B acute lymphoblastic leukemia to chemotherapy[J]. *Blood*, 2013, 121(10): 1814-1818.
- [6] Hsieh T, Gang J, Shishido N, et al. Effects of the small-molecule inhibitor of integrin alpha4, TBC3486, on pre-B-ALL cells[J]. *Leukemia*, 2014, 28(10): 2101-2104.
- [7] Van Roy F. Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(2): 121-134.
- [8] Van der WG, Venkiteswaran M, Chen H, et al. Local chromatin microenvironment determines DNMT activity: from DNA methyltransferase to DNA demethylase or DNA dehydroxymethylase[J]. *Epigenetics*, 2015, 10(8): 671-676.
- [9] Michalak M, Visvader E. Dysregulation of histone methyltransferases in breast cancer -Opportunities for new targeted therapies? [J]. *Mol Oncol*, 2016, 10(10): 1497-1515.
- [10] Piletic K, Kunej T. MicroRNA epigenetic signatures in human disease[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(10): 2405-2419.
- [11] Lee J, Li N, Evans M, et al. Biomechanical force in blood development: extrinsic physical cues drive pro-hematopoietic signaling[J]. *Differentiation*, 2013, 86(3): 92-103.
- [12] Petrova I, Schecterson L, Gumbiner M. Roles for E-cadherin cell surface regulation in cancer[J]. *Mol Biol Cell*, 2016, 27(21): 3233-3244.
- [13] Liu J, Sun X, Qin S, et al. CDH1 promoter methylation correlates with decreased gene expression and poor prognosis in patients with breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(4): 2635-2643.
- [14] Zhang C, Li J, Huang T, et al. Meta-analysis of DNA methylation biomarkers in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 81255-81267.
- [15] Melki R, Vincent C, Brown D, et al. Hypermethylation of E-cadherin in leukemia[J]. *Blood*, 2000, 95(10): 3208-3213.
- [16] Savickiene J, Treigyte G, Jonusiene V, et al. Epigenetic changes by zebularine leading to enhanced differentiation of human promyelocytic leukemia NB4 and KG1 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 359(1/2): 245-261.
- [17] Zhang TJ, Zhou JD, Ma JC, et al. CDH1 (E-cadherin) expression independently affects clinical outcome in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(1): 123-131.
- [18] Shimamoto T, Ohyashiki H, Ohyashiki K. Methylation of p15(INK4b) and E-cadherin genes is independently correlated with poor prognosis in acute myeloid leukemia [J]. *Leuk Res*, 2005, 29(6): 653-659.
- [19] Deneberg S, Grovdal M, Karimi M, et al. Gene-specific and global methylation patterns predict outcome in patients with acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2010, 24(5): 932-941.
- [20] Jordaan G, Liao W, Sharma S. E-cadherin gene re-expression in chronic lymphocytic leukemia cells by HDAC inhibitors[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 88.
- [21] Murray-Stewart T, Woster M, Casero A. The re-expression of the epigenetically silenced e-cadherin gene by a polyamine analogue lysine-specific demethylase-1 (LSD1) inhibitor in human acute myeloid leukemia cell lines[J]. *Amino Acids*, 2014, 46(3): 585-594.
- [22] Wada T, Koyama D, Kikuchi J, et al. Overexpression of the shortest isoform of histone demethylase LSD1 primes hematopoietic stem cells for malignant transformation [J]. *Blood*, 2015, 125(24): 3731-3746.
- [23] Lakshmikuttyamma A, Scott A, Decoteau F, et al. Reexpression of epigenetically silenced AML tumor suppressor genes by SUV39H1 inhibition [J]. *Oncogene*, 2010, 29(4): 576-588.
- [24] Miao H, Ji Q, Zhang H, et al. miR-590 promotes cell proliferation and invasion in t-cell acute lymphoblastic leukaemia by inhibiting RB1 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 39527-39534.
- [25] Nishioka C, Ikezoe T, Pan B, et al. miR-9 plays a role in IL-10-mediated expression of e-cadherin in acute myelogenous leukemia cells[J/OL]. *Cancer Sci*, 2017 [2016-12-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- [26] Xishan Z, Ziying L, Jing Du, et al. MicroRNA-320a acts as a tumor suppressor by targeting BCR/ABL oncogene in chronic myeloid leukemia[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12460.
- [27] Shan M, Su Y, Kang W, et al. Aberrant expression and functions of protocadherins in human malignant tumors [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10): 12969-12981.
- [28] Narayan G, Scotto L, Neelakantan V, et al. Protocadherin PCDH10, involved in tumor progression, is a frequent and early target of promoter hypermethylation in cervical cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009, 48(11): 983-992.
- [29] Ying JM, Gao ZF, Li HY, et al. Frequent epigenetic silencing of protocadherin 10 by methylation in multiple haematologic malignancies[J]. *Br J Haematol*, 2007, 136(6): 829-832.
- [30] Narayan G, Freddy AJ, Xie DX, et al. Promoter Methylation-Mediated inactivation of PCDH10 in acute lymphoblastic leukemia contributes to chemotherapy resistance [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2011, 50(12): 1043-1053.
- [31] Ding K, Su Y, Pang L, et al. Inhibition of apoptosis by downregulation of hBex1, a novel mechanism, contributes to the chemoresistance of Bcr/Abl+ leukemic cells[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(1): 35-42.

[32] Mu J, Xie R, Shen F, et al. Cadherin-13 in primary and blast crisis chronic myeloid leukaemia; declining expression and negative correlation with the BCR/ABL fusion gene[J]. Br J Biomed Sci, 2009, 66(1):20-24.

[33] Shivapurkar N, Takahashi T, Reddy J, et al. Presence of simian virus 40 DNA sequences in human lymphoid and

hematopoietic malignancies and their relationship to aberrant promoter methylation of multiple genes[J]. Cancer Res, 2004, 64(11):3757-3760.

(收稿日期:2017-01-11 修回日期:2017-03-19)

• 综 述 •

## 心率变异性分析及镇痛/伤害性刺激平衡指数评价镇痛水平

杨丽娜<sup>1</sup>综述, 岳云<sup>2</sup>, 冯艺<sup>1</sup>审校

(1. 北京大学人民医院麻醉科 100044; 2. 首都医科大学附属北京朝阳医院麻醉科 100020)

**关键词:** 麻醉深度; 心率变异性分析; 镇痛/伤害性刺激指数; 疼痛管理

**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.09.057 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)09-1351-03

疼痛作为继血压、呼吸、脉搏、体温之后的“第五大生命体征”, 目前对于疼痛的研究越来越被重视。疼痛是患者的主观感受, 复杂的生理反应、社会预期值过高、焦虑情绪、慢性病史及表达能力有限等因素都在一定程度上限制了医务人员对于患者疼痛状态的客观评估。此前尚无有效的监测手段可用于监测患者的镇痛水平并在一定程度上指导镇痛药物的使用。目前有望通过心率变异性分析(HRV)得到的镇痛/伤害性刺激平衡指数(ANI)成为评价疼痛刺激对机体影响强度的客观指标, 完善麻醉深度的监测, 保障患者安全。

### 1 HRV

HRV 是指逐次心搏间期的微小差异, 由于自主神经系统对心脏窦房结的调控作用, 使得心搏间期心率变异性存在几十毫秒的差异和波动, 它的变化代表了交感神经和副交感神经从中枢神经系统发出传导至心脏窦房结这一过程的水平。大量实验报道指出, HRV 可用于评价自主神经系统(ANS)活性。

典型的 HRV 光谱图包括两个主要的光谱变量样本函数: 低频部分(LF)和低频部分(HF)<sup>[1]</sup>。有实验选择性地应用交感神经和副交感神经受体阻滞剂进行研究, 认为 HRV 大于 0.15 Hz 的 HF 完全由副交感神经组成, 而 LF 则由交感神经和副交感神经共同组成。HRV 具有一定的临床应用价值, HRV 的下降可用于预测心血管疾病或老年疾病的远期病死率等。越来越多的证据表明, 在成人中, 疼痛可引起 HRV 的下降, 特别是 HF 能量的下降, 预示着当不愉快刺激或情绪存在时, 迷走神经张力出现下降趋势<sup>[2-3]</sup>。

Logier 等<sup>[4]</sup>指出, HRV 可用于表示术中镇痛和伤害性刺激的平衡情况。他们通过 HRV 分析编辑了一种可用于评价镇痛/伤害性刺激平衡的计算法则, 并由此设计了一款检测设备(Physio Doloris), 应用 ANI 评价患者的镇痛/伤害性刺激平衡状态。

### 2 ANI 基本原理

ANI 是通过 RR 间期的实时分析与计算得出的。监护仪根据公认数值发出 256 Hz 采样率的数字化模拟信号用以捕捉心电图<sup>[5]</sup>。由临界值挑选法选出自主 R 波。将 RR 间期可视化后便可检测到异常 R 波或异位起搏波形的 R 波。异位起搏波形的 R 波通过演算可人为被替换为与 R 波左右相邻的正常 R 波<sup>[4]</sup>。此后系统再对重新定义的数据进行小波转换分析。与经典的傅里叶转换相比, 小波转换可以对不稳定的信号进行分析, 因此对于瞬时变化的 HRV 更加适用。通过对 RR

间期能量的每一等级的小波参数进行平方和计算, 便可得到 HF 与 LF。HF 与 LF 之和代表信号的总能量<sup>[6]</sup>。HF、LF 的绝对数值以及标准化单位在经过系统分析后可用于描绘 HRV 的不同成分, 用于解释研究对象在接受伤害性刺激之后的反应<sup>[7]</sup>。

此外小波转换也可以作为带通滤波器加以使用。在没有相对位移的情况下, 小波转换可以排除信号中一个或多个频率区间, 从而保留研究所需区间部分。为了实现带通滤波, 实验采用了 4 个参数的 Daubechie 小波分析<sup>[6]</sup>, 直接对不同能级的数据进行时时计算。每一能级相对应不同的频率区间, 再对选定的能级进行小波转换的逆运算, 得到相应时间区间下有相对意义的滤波信号(即 HF)<sup>[8]</sup>。

因 HRV 中 HF 完全由副交感神经组成, 故副交感神经张力可通过计算曲线下面积进行评估<sup>[9]</sup>。检测图形的最大值及最小值, 在 16 秒窗口中得到包围在最大值及最小值之间的曲线下面积(AUC) T1、T2、T3、T4。定义:  $AUC_{min} = \min(T1, T2, T3, T4)$ 。ANI 为其所示面积占总窗口面积的百分比, 数值在 0~100 之间;  $ANI = 100 \times (\alpha \times AUC_{min} + \beta) / 12.8$  (当  $\alpha = 5.1, \beta = 1.2$  时可保证呼吸对 RR 间期影响的有效性与 ANI 定量测定方法之间存在一定相关性。)镇痛充足情况下副交感神经张力相对较高, 曲线下面积相对较大。然而镇痛不足情况下副交感神经张力相对较低, 故曲线下面积缩小, 引起心率及血压升高。

### 3 ANI 的临床研究

目前已有多项临床研究应用 ANI 观察患者在全身麻醉、分娩等情况下的镇痛及伤害性刺激的平衡情况。ANI 数值为 50~70 时认为患者镇痛效果满意, ANI 数值低于 50 时认为患者镇痛不足, 有可能引起高血流动力学反应。

**3.1 全身麻醉** 2009 年 Jeanne 等<sup>[10]</sup>应用 ANI 观察了 49 名全凭静脉麻醉下接受手术的患者术中情况。应用丙泊酚及不同阿片类药物(舒芬太尼、阿芬太尼、瑞芬太尼)进行麻醉维持, 术中在患者对手术刺激出现反应时(体动、咳嗽、心率或收缩压较术前升高 20%), 舒芬太尼组及阿芬太尼组单次追加相应镇痛药物, 瑞芬太尼组则在术中逐渐降低输注速率。笔者将麻醉稳定后尚未接受手术刺激前的患者情况定义为“无疼痛刺激”, 将“镇痛充足”定义为随后的 30 min 内不需要阿片类药物注射镇痛, 将“镇痛不足”定义为随后的 5 min 内需要阿片类药物注射镇痛。为了评价 HRV 是否在镇痛不足前有所变化, 出