

PIK3CA 对埃克替尼治疗 EGFR 基因突变的非小细胞肺癌病人的疗效预测

刘海涛, 李陆风, 李殿明, 刘佳慧

[摘要] **目的:**探讨 PIK3CA 对埃克替尼治疗 EGFR 基因突变的非小细胞癌(NSCLC)病人疗效预测价值。**方法:**首先应用 ARMS 法对确诊肺腺癌标本给予 EGFR 基因突变检测。对于 EGFR 检测阳性肺腺癌标本应用免疫组化蛋白定性法进行 PIK3CA 表达状态分析。对 EGFR 检测阳性者给予埃克替尼治疗,观察 PIK3CA 高表达组与低表达组埃克替尼治疗后的无进展生存期(PFS)。**结果:**在 62 例 EGFR 突变的肺癌病人中,48.38% 同时存在 PIK3CA 高表达。在 PIK3CA 表达阳性病人应用埃克替尼后中位疾病 PFS 10.5 个月(95% CI:5.6 ~ 15.4);PIK3CA 表达阴性的病人应用埃克替尼后中位疾病 PFS 17.0 个月(95% CI:10.1 ~ 23.8)。PIK3CA 低表达病人用埃克替尼治疗的应答率、中位 PFS、EGFR-TKIs 耐药率均有较高的趋势($\chi^2 = 7.16, P < 0.05$)。**结论:**在 EGFR 突变的接受埃克替尼治疗的 NSCLC 病人,检测 PIK3CA 表达状态有助于鉴别出 EGFR-TKIs 治疗有效较低的病人,提前进行干预,从而延长病人中位 PFS。

[关键词] 非小细胞肺癌;PIK3CA;埃克替尼

[中图分类号] R 734.2

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.08.010

Predicting the efficacy of taking icotinib in the non-small cell lung cancer patients with EGFR gene mutation by PIK3CA

LIU Hai-tao, LI Lu-feng, LI Dian-ming, LIU Jia-hui

(Department of Respiration and Critical Care, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:**To investigate the usage of PIK3CA in predicting the efficacy of taking icotinib in the non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with EGFR gene mutation. **Methods:**First, the ARMS method was used to detect the mutation of EGFR gene in the specimens of lung adenocarcinoma. Then, for EGFR-positive lung adenocarcinoma specimens, immunohistochemistry was used to analyze the expression status of PIK3CA. After that, icotinib was given to EGFR-positive patients, and progression-free survival (PFS) was observed for patients with high-expression PIK3CA and low-expression PIK3CA. **Results:**Among 62 lung cancer patients with EGFR mutation, 48.38% had high expression of PIK3CA. After applying icotinib in PIK3CA-positive patients, the median disease progression-free survival period reached 10.5 months(95% CI:5.6 - 15.4), and the median disease progression-free survival period for PIK3CA-negative patients taking icotinib was 17.0 months (95% CI:10.1 - 23.8). The response rate, median PFS, and EGFR-TKIs resistance rates of patients with low expression of PIK3CA increased significantly after taking icotinib, and the differences were significant($\chi^2 = 7.16, P < 0.05$). **Conclusions:**For the NSCLC patients who have received EGFR-TKIs treatment, the detection of the expression status of PIK3CA can help to identify the patients with low efficacy, so early intervention can be adopted to extend the PFS.

[Key words] non-small cell lung cancer;PIK3CA;icotinib

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)为治疗晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)提供了一种新

的治疗方法^[1]。EGFR-TKIs 是目前治疗包含外显子 19 缺失或外显子 21 L858R 突变 EGFR 突变的晚期 NSCLC 的一线治疗的最佳方案^[2]。与一线含铂双药方案和二线单药多西他赛或培美曲塞相比,应用第一代(吉非替尼、埃克替尼)和第二代 EGFR-TKIs(阿法替尼)治疗 EGFR 突变的病人,在临床观察中发现病人的客观反应率(objective response rate, ORR)、无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总体生存期(overall survival, OS)均取得较好疗效,在不同病人间存在显著的个体差异性,一部分病人经靶向治疗后病人的 PFS 可能会持续数年,而另一部分人可能在数周内病情进展,甚至疾病的病程

[收稿日期] 2019-06-30 [修回日期] 2019-08-01

[基金项目] 安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2019A0395);蚌埠医学院自然科学研究重点项目(BYKZ1631ZD)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 呼吸与危重症学科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 刘海涛(1981-),男,主治医师。

[通信作者] 李殿明,硕士研究生导师,主任医师,副教授。E-mail: 13956332091@139.com

呈爆发性加快进展^[3-4]。出现以上情况的主要生物学机制可能为病人存在与 EGFR 共同突变的相关的基因,该病人存在对第一代、第二代 EGFR-TKIs 的具有天然耐药基因^[5-7]。PIK3CA 是 EGFR 信号通路的下游关键传导基因,对细胞的存活、增殖和生长有重要作用。在临床前模型研究中发现的 EGFR-TKIs 耐药性与体内多个基因突变相关,在本研究中将观察 PIK3CA 与肺癌 EGFR-TKIs 靶向治疗的相关性。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选择 2015 年 9 月至 2018 年 6 月就诊于我院门诊或病房经电子支气管镜活检、CT 或 B 超引导下经皮肺穿刺、电子胸腔镜活检、胸腔穿刺胸腔积液病理或细胞学确诊为 NSCLC 病人。病理均由 2 位病理医师确诊,均为初始治疗,治疗未行化疗及放疗。经本实验室通过 PCR-ARMS 法在中晚期 NSCLC 病人的肿瘤病理组织中检测 EGFR 基因突变情况。同意将 EGFR-TKIs 治疗作为一线方案的病人被纳入研究,最终纳入 62 例 NSCLC 病人。男 21 例,女 41 例,年龄 49 ~ 83 岁。依据 TNM 分期,其中 IIIb 期 16 例,IV 期 46 例;根据病理类型分类,鳞癌 6 例,腺癌 56 例;有淋巴结转移者共有 50 例,无淋巴结转移者共有 12 例;吸烟 16 例,不吸烟 46 例。

1.2 试剂及检测方法

1.2.1 主要试剂及仪器 所使用的主要仪器设备 Leica-ASP200S 全自动脱水机,Leica 染色机 Autostainer XL,Leica-EG1150H 全自动包埋机,Leica RM2235 石蜡切片机,Sartorius PB-10 酸度计,Olympus BX41 生物显微镜,无水乙醇、二甲苯等购自上海麦克林生化试剂有限公司。

1.2.2 IHC 方法检测 PIK3CA 在确诊 NSCLC 标本中的表达情况 (1)切片脱蜡至水:经二甲苯 I、II、III,3 次,每次 5 min,要确保二甲苯足量有效;无水乙醇 2 次,每次 5 min;95% 乙醇 2 次,每次 5 min;蒸馏水 2 次,每次 5 min。(2)采用柠檬酸抗原修复法热修复后冷却至室温,PBS 洗 3 次,每次 5 min。(3)3% 过氧化氢封闭 15 min;30% 过氧化氢与蒸馏水 1:9 配置,新鲜配置,现配现用;(4)PBS 洗 3 次,每次 5 min;(5)15% 牛血清白蛋白封闭 30 min;(6)封闭后甩掉封闭液,加一抗孵育,4 °C 过夜;(7)室温平衡 30 min;(8)PBS 洗 3 次,每次 5 min;(9)二抗孵

育,37 °C,1 h;(10)PBS 洗 3 次,每次 5 min;(11)DAB 显色;(12)显色完毕置于蒸馏水,梯度浓度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.2.3 IHC 结果判定 PIK3CA 的表达产物位于细胞质和(或)细胞核中。细胞核和(或)细胞质的棕色染色为 PIK3CA 阳性染色,半定量积分法测定 PIK3CA 的表达。根据染色强度计算:0 分,无染色;1 分,低染色(淡黄色);2 分,中染色(棕黄色);3 分,强染色(棕褐色)。所有标本在低倍镜下选择阳性染色集中区域,随机选择 5 个高倍镜($\times 400$)视野。计算 100 个肿瘤细胞,每个样本按照标准 A 和标准 B 计算最终得分。 $A + B < 3$ 分,定义为 PIK3CA 蛋白表达显著减少或缺失(即表达失活或失活); $A + B > 3$ 分,定义为 PIK3CA 蛋白阳性表达^[8]。所有切片的染色结果由两名病理医生联合作出判定。

1.3 实验方法 所有病人均首先应用 PCR-ARMS 法进行 EGFR 基因常见突变位点检测,所有经检测阳性病人,依据 NCCN 肺癌治疗指南给予病人应用埃克替尼,并收集病人的病理资料,肿瘤基因型,EGFR-TKIs 的类型及剂量,给予病人建立随访档案。为进一步分析协同突变基因对于埃克替尼治疗疗效的影响。采用实体瘤反应评价标准(RECIST)(1.1 版)进行疗效评价。PFS 和 OS 按给予埃克替尼治疗时间计算。根据中国慈善总会病人的购药及赠药记录收集和管理数据,结果的数据截止日期是 2018 年 12 月 31 日。并对 EGFR 基因型和共存 PIK3CA 突变进行比对,给予病人进行 PFS 的数据采集。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验和生存分析。

2 结果

2.1 PIK3CA 阳性表达情况与其临床资料相关性 62 例肺癌组织标本作为实验组,PIK3CA 阳性表达者总数 30 例,阳性信号定位于细胞质,呈棕黄色或棕褐色,阳性率达 48.38%,阴性表达者 32 例(51.62%)(见图 1)。

2.2 PIK3CA IHC 表达情况与其临床资料相关性 PIK3CA 表达情况与性别、年龄、TNM 分期、淋巴结转移、脑转移、吸烟状态、病理类型及 EGFR 突变位点差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1)。

2.3 PIK3CA 表达与 NSCLC 病人应用埃克替尼的 PFS 的相关性 在 PIK3CA 表达阳性病人应用埃

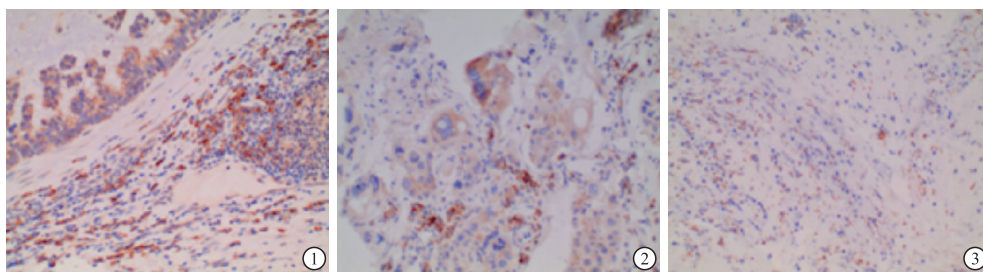


图1 PIK3CA阳性的NSCLC (腺癌) 图2 PIK3CA阳性的NSCLC (鳞癌) 图3 PIK3CA阴性的NSCLC

表1 PIK3CA 阳性表达情况与其临床资料比较

分组	PIK3CA		阳性率/%	χ^2	P
	+	-			
性别					
男	19	16	54.28	1.120	>0.05
女	11	16	40.74		
年龄					
≥60岁	16	21	43.24	0.792	>0.05
<60岁	14	11	56.00		
TNM分期					
Ⅲb期	7	9	43.75	0.186	>0.05
Ⅳ期	23	23	50.00		
淋巴结转移					
是	25	25	50.00	0.269	>0.05
否	5	7	41.66		
脑转移					
是	9	10	47.36	0.011	>0.05
否	21	22	48.83		
吸烟					
是	9	7	56.25	0.534	>0.05
否	21	25	45.65		
病理类型					
鳞癌	4	2	66.66	0.889	>0.05
腺癌	26	30	46.12		
突变位点					
19	19	18	51.35	0.071	>0.05
21	11	12	47.82		

克替尼后中位疾病 PFS 10.5 个月 (95% CI: 5.6 ~ 15.4); PIK3CA 表达阴性的病人应用埃克替尼后中位疾病 PFS 17.0 个月 (95% CI: 10.1 ~ 23.8)。PIK3CA 阳性表达较 PIK3CA 阴性表达的 EGFR-TKIs 耐药率明显升高, 2 组生存曲线差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.16, P < 0.05$)。

3 讨论

PIK3CA 是一种体细胞突变的癌基因, 现有研

究^[9]表明, PIK3CA 基因是定位于染色体 3q26.3 的癌基因, 是 1994 年由 VOLINIA 等利用原位杂交技术检测发现的。位于 EGFR 下游, 是 PI3K-Akt-mTOR 通路的核心分子之一, 其编码蛋白是 PI3Ks 催化亚单位 p110。DE LAURENTIIS 等^[10-13]研究发现致癌基因中 PIK3CA 突变频率较高, 在乳腺癌、结肠癌、卵巢癌和子宫内膜癌等都存在该基因的突变; VERENA 等^[14]利用焦磷酸测序试验显示, PIK3CA 第 9、20 号外显子存在 2 个基因突变; MARLENA 等^[15]通过体外细胞实验, 证实 PF-4989216 调控 PI3K 下游既而产生细胞凋亡、抑制细胞增殖、分化。突变的 PIK3CA 基因促进小细胞肺癌转移瘤的生长, NSCLC 组织中 PIK3CA 表达上调可能预示淋巴结转移、术后复发^[16]; WANG 等^[17]研究 PIK3CA 与 EGFR 基因共表达频率高, NSCLC PIK3CA 基因突变预后不良, 结合 PIK3CA 突变与 EGFR 野生亚群诊断价值, 提示 PIK3CA 基因突变可能决定 NSCLC 个体治疗策略。

在 171 例 EGFR 突变肿瘤病人的研究中, 有 20 例使用至少有限的综合基因组分析平台进行了测序^[18]。其中同时存在 10% PIK3CA 突变、5% PTEN 突变等。EGFR 突变型/PIK3CA 表达阴性肿瘤对 EGFR-TKIs 的应答率、PFS、EGFR-T790m TKI 耐药率和生存率均高于 EGFR 突变型/PIK3CA 表达阴性肿瘤。在临床样本收集显示在肺腺癌 EGFR 突变的病人中存在大量的并发突变, 在世界癌症肺腺癌基因组图谱数据显示 PIK3CA 突变是常见的并发突变^[19]。在先期的临床模型中, PIK3CA 基因突变/激活/超表达可以下游通路参与由表皮生长因子受体通路的调节, 改变机体对 EGFR-TKIs 治疗疗效影响^[20]。这种突变如何产生目前尚不清楚, 可能由于肿瘤细胞自身的肿瘤异质性或单个活检标本的采样差异性^[21]。但病人出现中位疾病 PFS 的时间更短, 这一影响需给予进一步研究, 拟在进一步扩大样本, 给予病人联合化疗及靶向治疗, 以改善病人的中位疾病 PFS。

本研究中,62例EGFR突变型的NSCLC肿瘤组织标本中,PIK3CA表达阳性为30例,阳性率为48.38%。这与MACHADO-RUGOLO等^[22]研究结果一致,在研究中发现除了p53和血管内皮生长因子外,在检测PIK3CA表达时,发现根据免疫组化检测的蛋白过表达与NGS检测的蛋白突变相结合的两种检测方法时,两种标本检测一致病例的比例很低,其在检测NSCLC中均发现类似现象,这与本研究中检测表达阳性率较高相一致。我们的数据表明,应用免疫组化检测PIK3CA蛋白质含量可能是作为测序检测突变率较低的基因的有效补充工具。

不同病人由于遗传、临床表型和药代动力学的差异,相同疾病的不同病人观察到临床疗效的显著差异。目前的指南和药物批准辅助诊断倾向于对NSCLC中EGFR突变进行有限的单基因分析,这限制了我们对最常见的同时发生的肿瘤抑制因子和/或癌基因突变如何影响EGFR-TKIs单药治疗的临床结果的认识。在既往的临床研究中发现PIK3CA及PTEN表达与晚期NSCLC病人对于埃克替尼治疗具有预见性,与晚期NSCLC病人对于EGFR-TKIs一/二线药物疗效具有预见性。因此,在本研究中探索在晚期EGFR突变NSCLC中进行EGFR突变检测及PIK3CA蛋白表达联合应用,将共突变谱与EGFR的反应/耐药性关联起来,在本实验中观察在EGFR突变阳性的且PIK3CA蛋白高表达,病人对EGFR-TKIs药物疗效减弱。

本研究结果表明在中晚期EGFR突变型NSCLC中2组病人PIK3CA表达与其性别、年龄、淋巴结转移、TNM分期差异无统计学意义。当随着检测技术的不断创新,以及奥希替尼^[23]、克唑替尼^[24]靶向药物的临床应用病人数量增加,以及细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4及程序性细胞死亡蛋白1免疫治疗应用于临床^[25],在临床上多个基因位点的联合检测将越来越普及。

总之,我们的小样本研究强调EGFR突变肿瘤具有明显的瘤内和瘤间异质性,同时存在重要的癌症相关基因突变。一些最常见伴随改变,包括PIK3CA基因突变/激活/超表达,可能改变EGFR-TKIs治疗病人的临床结果。本研究从蛋白表达水平,在EGFR突变的肺癌病人,检测PIK3CA在不同标本中表达的个体差异性,为目前的单一基因分析方法在致癌基因驱动的肺癌中增加预测和/或预后信息。同时突变,特别是PIK3CA突变,在EGFR突变的肺癌中很常见,可能会改变临床结果,全面的分

子分析能为单基因分析鉴定增加临床相关信息。在未来的临床治疗中通过对治疗前干预,为病人提供更好的用药指导,以进一步提高EGFR-TKIs疗效。

[参 考 文 献]

- [1] 钟锐, 郭麟, 江美林, 等. EGFR-TKIs获得性耐药的机制及其治疗的研究进展[J]. 肿瘤药学, 2017, 7(6): 641.
- [2] MAEMONDO M, INOUE A, KOBAYASHI K, *et al.* Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(25): 2380.
- [3] MOK TS, WU YL, THONGPRASERT S, *et al.* Gefitinib or carboplatin- paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(10): 947.
- [4] MITSUDOMI T, MORITA S, YATABE Y. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(2): 121.
- [5] COSTA DB, KOBAYASHI SS. Whacking a molecule: clinical activity and mechanisms of resistance to third generation EGFR inhibitors in EGFR mutated lung cancers with EGFR-T790M [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2015, 4(6): 809.
- [6] KOBAYASHI S, BOGGON TJ, DAYARAM T, *et al.* EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(8): 786.
- [7] NGUYEN KS, KOBAYASHI S, COSTA DB. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway [J]. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10(4): 281.
- [8] 倪琛琛, 于敏, 张志红. EGFR与PI3K/AKT信号通路相关蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(12): 1264.
- [9] BAEHMAN KE, ARGANI P, SAMUELS Y, *et al.* The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers [J]. *Cancer Biol Ther*, 2004, 3(8): 772.
- [10] DE LAURENTIIS A, PARDO OE, PALAMIDESSI A, *et al.* The catalytic class I(A) PI3K isoforms play divergent roles in breast cancer cell migration [J]. *Cell Signal*, 2011, 23(3): 529.
- [11] BABA Y, NOSHIO K, SHIMA K, *et al.* Phosphorylated AKT expression is associated with PIK3CA mutation, low stage, and favorable outcome in 717 colorectal cancers [J]. *Cancer*, 2011, 117(7): 1399.
- [12] DE MARCO C, RINALDO N, BRUNI P, *et al.* Multiple genetic alterations within the PI3K pathway are responsible for AKT activation in patients with ovarian carcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55362.
- [13] WEIGELT B, WARNE PH, LAMBROS MB, *et al.* PI3K pathway dependencies in endometrioid endometrial cancer cell lines [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(13): 3533.
- [14] VERENA S, JESSICA LU, JAN D, *et al.* Identification of uncommon PIK3CA mutations in lung cancer by using pyrosequencing [J]. *Diagn Mol Pathol*, 2013, 22(1): 22.

- [15] MARLENA W, SANGITA M, PRAMOD P, *et al.* targeting small cell lung cancer harboring mutation with PIK3CA a selective oral PI3K inhibitor PF-4989216[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(3): 631.
- [16] ZHAO Q, ZHANG B, SHAO YF, *et al.* Correlation between the expression levels of miR-1 and PIK3CA in non-small cell lung cancer and their relationship with clinical characteristics and prognosis[J]. *Future Oncol*, 2014, 10(1): 49.
- [17] WANG L, HU HC, PAN YJ, *et al.* PIK3CA mutations frequently coexist with EGFR/KRAS mutations in non-small cell lung cancer and suggest poor prognosis in EGFR/KRAS wildtype subgroup [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88291.
- [18] VANDERLAAN PA, RANGACHARI D, MOCKUS SM, *et al.* Mutations in TP53, PIK3CA, PTEN and other genes in EGFR mutated lung cancers; correlation with clinical outcomes[J]. *Lung Cancer*, 2017, 106(4): 17.
- [19] COLLISSON EA, CAMPBELL JD, Brooks AN. Cancer genome atlas research network. comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2014, 511(7): 543.
- [20] COSTA DB, HALMOS B, KUMAR A, *et al.* BIM mediates EGFR tyrosine kinase inhibitor-induced apoptosis in lung cancers with oncogenic EGFR mutations[J]. *PLoS Med*, 2007, 4(10): 1669.
- [21] MCGRANAHAN N, FAVERO F, DE BRUIN EC, *et al.* Clonal status of actionable driver events and the timing of mutational processes in cancer evolution [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 283(7): 54.
- [22] MACHADO-RUGOLO J, FABRO AT, ASCHERI D, *et al.* Usefulness of complementary next-generation sequencing and quantitative immunohistochemistry panels for predicting brain metastases and selecting treatment outcomes of non-small cell lung cancer[J]. *Hum Pathol*, 2019, 83(1): 177.
- [23] SULLIVAN I, PLANCHARD D. Osimertinib in the treatment of patients with epidermal growth factor receptor T790M mutation-positive metastatic non-small cell lung cancer: clinical trial evidence and experience[J]. *Ther Adv Respir Dis*, 2016, 10(6): 54.
- [24] DURUISSEAU M, BESSE B, CADRANEL J, *et al.* Overall survival with crizotinib and next-generation ALK inhibitors in ALK-positive non-small-cell lung cancer (IFCT-1302 CLINALK): a French nationwide cohort retrospective study [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 21903.
- [25] HELLMANN MD, NATHANSON T, RIZVI H, *et al.* Genomic features of response to combination immunotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(5): 843.

(本文编辑 刘畅)

(上接第 1014 页)

- [8] HUANG Y H, XIA Z X, WEI W, *et al.* The impact of leucoaraiosis on neurological function recovery in elderly patients with acute cerebral infarction: Clinical study involving 279 Chinese patients[J]. *J Int Med Res*, 2014, 42(3): 1223.
- [9] 郭岩, 张翠宏, 王海洋等. 伴心房颤动的急性脑梗死不同时间窗行重组组织型纤溶酶原激活剂静脉溶栓治疗的疗效观察 [J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(26): 2054.
- [10] KIZMAZOGLU C, AYDIN HE, SEVIN IE, *et al.* Neuroprotective Effect of Resveratrol on Acute Brain Ischemia Reperfusion Injury by Measuring Annexin V, p53, Bcl-2 Levels in Rats[J]. *J Korean Neurosurg Soc*, 2015, 58(6): 508.
- [11] 蒋娟莉, 张建. 急性脑梗死介入治疗后应用丁苯酞联合依达拉奉改善神经功能恢复的临床研究 [J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(16): 1884.
- [12] LEE XR, XIANG GL. Effects of edaravone, the free radical scavenger, on outcomes in acute cerebral infarction patients treated with ultra-early thrombolysis of recombinant tissue plasminogen activator [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2018, 167: 157.
- [13] 薛小慧. 依达拉奉对急性脑梗死病人氧自由基的清除效果及神经功能的影响 [J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2018, 6(5): 122.
- [14] WANG Y, YUAN L, LIU P, *et al.* Delayed hyperoxic ventilation attenuates oxygen-induced free radical accumulation during early reperfusion after global brain ischemia [J]. *Neuroreport*, 2015, 26(3): 131.
- [15] 刘昭淑, 周霞. 早期康复训练联合依达拉奉对脑出血患者氧自由基生成、神经损伤程度的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2017, 23(16): 2282.
- [16] CAI J, CAO S, CHEN J, *et al.* Progesterone alleviates acute brain injury via reducing apoptosis and oxidative stress in a rat experimental subarachnoid hemorrhage model [J]. *Neurosci Lett*, 2015, 600(1): 238.
- [17] 陈冬丽, 汪显琪, 李江, 等. 依达拉奉联合 Rt-PA 静脉溶栓对急性脑梗死病人氧化应激及自由基的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2017, 15(14): 1775.

(本文编辑 刘畅)