【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 001

论著 · 临床

血清 CXCR7、SGK1 水平与急性心肌梗死经皮冠状动脉介入治疗术后预后不良的关系

杨余，卫慧，谭晓，孙晓艳，李秀珍

基金项目：江苏省卫生健康委医学科研项目（S2020083）

作者单位：210011　南京，南京医科大学第二附属医院急诊科（杨余、卫慧、谭晓），心血管病中心（孙晓艳），心内科（李秀珍）
通信作者：李秀珍，E-mail：lixiuzhen0806@ njmu. edu. cn

【摘　要】 **目的**　探讨血清 C-X-C 基序趋化因子受体 7（CXCR7）、血清/糖皮质激素调节激酶 1（SGK1）水平与急性心肌梗死（AMI）经皮冠状动脉介入治疗（PCI）术后预后不良的关系。**方法**　选取 2020 年 9 月—2022 年 12 月于南京医科大学第二附属医院急诊科接受 PCI 术的 AMI 患者 100 例为 AMI 组，同期医院健康体检者 50 例为健康对照组，根据 PCI 术后 1 年预后情况将 AMI 患者分为预后不良亚组 30 例和预后良好亚组 70 例。采用酶联免疫吸附法检测血清 CXCR7、SGK1 水平；多因素 Logistic 回归分析 AMI 患者 PCI 术后预后不良的影响因素；建立受试者工作特征（ROC）曲线评价血清 CXCR7、SGK1 水平对 AMI 患者 PCI 术后预后不良的预测价值。**结果**　与健康对照组比较，AMI 组血清 CXCR7 水平降低，SGK1 水平升高（t/P = 9.613/ < 0.001、9.955/ < 0.001）；100 例 AMI 患者 PCI 术后 1 年不良预后发生率为 30.00%（30/100）；与预后良好亚组比较，预后不良亚组血清 CXCR7 水平降低，SGK1 水平升高（t/P = 6.254/ < 0.001、5.329/ < 0.001）。多因素 Logistic 回归显示，Gensini 评分高、KILLIP 分级≥Ⅲ级、SGK1 升高为 AMI 患者 PCI 术后预后不良的独立危险因素［OR（95% CI）= 1.071（1.025 ~ 1.119）、4.501（1.172 ~ 17.282）、1.132（1.046 ~ 1.224）］，CXCR7 升高为独立保护因素［OR（95% CI）= 0.956（0.926 ~ 0.987）］。血清 CXCR7、SGK1 及二者联合预测 AMI 患者 PCI 术后预后不良的 AUC 分别为 0.794、0.779、0.902，二者联合的 AUC 大于血清 CXCR7、SGK1 单独预测（Z/P = 3.062/0.002、2.930/0.003）。**结论**　AMI 患者血清 CXCR7 水平降低、SGK1 水平升高，是 PCI 术后不良预后的影响因素，二者联合对其预测价值较高。

【关键词】 急性心肌梗死；经皮冠状动脉介入治疗；C-X-C 基序趋化因子受体 7；血清/糖皮质激素调节激酶 1；预后不良

【中图分类号】 R542.2⁺2　　【文献标识码】 A

Relationship between serum CXCR7 and SGK1 levels and poor prognosis after percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction

Yang Cuan, Wei Hui, Tan Xiao, Sun Xiaoyan, Li Xiuzhen. *Department of Emergency, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu Province, Nanjing* 210011, *China*

Funding program: Medical Research Project of Jiangsu Provincial Health Commission (S2020083)

*Corresponding author: Li Xiuzhen, E-mail: lixiuzhen*0806@ *njmu. edu. cn*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the relationship between serum C-X-C motif chemokine receptor 7 (CXCR7), serum/glucocorticoid-regulated kinase 1 (SGK1) levels and poor prognosis after acute myocardial infarction (AMI) percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods**　One hundred AMI patients who underwent PCI in the Emergency Department of the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from September 2020 to December 2022 were selected as the AMI group and 50 healthy medical check-ups in the hospital during the same period as the healthy control group, and the AMI patients were classified into 30 cases in the poor-prognosis subgroup and 70 cases in the good-prognosis subgroup according to the prognosis at 1 year after PCI. Serum CXCR7 and SGK1 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay; multifactorial logistic regression was used to analyze the influencing factors of poor prognosis after PCI in patients with AMI; and a receiver operating characteristic (ROC) curve was established to evaluate the predictive value of serum CXCR7 and SGK1 levels for poor prognosis after PCI in patients with AMI. **Results**　Compared with the healthy control group, serum CXCR7 levels were decreased and SGK1 levels were increased in the AMI group (t/P = 9.613/ < 0.001, 9.955/ < 0.001); the incidence rate of poor prognosis at 1 year after PCI in 100 patients with AMI was 30.00% (30/100); and compared with the subgroup with a good prognosis, the subgroup with a poor prognosis had a decreased serum CXCR7

levels were decreased and SGK1 levels were increased (t/P = 6.254/ < 0.001, 5.329/ < 0.001). Multifactorial logistic regression showed that high Gensini score, KILLIP classification ≥ grade Ⅲ, and elevated SGK1 were independent risk factors for poor prognosis after PCI in patients with AMI[*OR (95% CI)* = 1.071 (1.025 − 1.119), 4.501 (1.172 − 17.282), 1.132 (1.046 − 1.224)], and elevated CXCR7 was an independent protective factor[*OR (95% CI)* = 0.956 (0.926 − 0.987)]. The AUCs of serum CXCR7, SGK1, and the combination of the two for predicting poor prognosis of PCI in patients with AMI were 0.794, 0.779, and 0.902, respectively, and the AUCs of the combination of the two were greater than those predicted by the serum CXCR7 and SGK1 levels alone (Z/P = 3.062/0.002, 2.930/0.003). **Conclusion**　Reduced serum CXCR7 levels and increased SGK1 levels in AMI patients are independently associated with their poor prognosis after PCI, and the combination of the two has a high predictive value for them.

【Key words】　Acute myocardial infarction; Percutaneous coronary intervention; C-X-C motif chemokine receptor 7; Serum/glucocorticoid-regulated kinase 1; Poor prognosis

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是冠心病中最严重的类型及致残、致死的主要原因,2020 年我国患冠心病者为 1 139 万,病死率为 262.79/10 万,居心血管疾病死亡第 3 位,对社会经济造成了沉重负担[1]。虽然经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)已成为 AMI 的首选治疗方法之一,但仍有 25.3% ~31.7% 的患者在 PCI 术后 1 年内出现主要不良心脏事件,影响患者预后[2-3]。研究证实[4],动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是 AMI 发生发展的根本原因。C-X-C 基序趋化因子受体 7(C-X-C motif chemokine receptor 7, CXCR7)是一种非典型趋化因子受体,能结合其配体通过抗炎、促血管修复等作用抑制 AS 形成[5]。血清/糖皮质激素调节激酶 1(serum/glucocorticoid regulated kinase 1, SGK1)是一种蛋白激酶,能调控免疫细胞促进炎性反应诱导 AS 形成[6]。研究发现[7],CXCR7 在 AMI 小鼠心脏中表达下调;SGK1 在 AMI 患者冠状动脉内血栓和外周血中高表达[8]。然而,关于血清 CXCR7、SGK1 水平与 AMI 患者 PCI 术后预后的关系鲜见报道。本文探讨了血清 CXCR7、SGK1 水平与 AMI 患者 PCI 术后预后不良的关系,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2020 年 9 月—2022 年 12 月于南京医科大学第二附属医院急诊科接受 PCI 术的 AMI 患者 100 例为 AMI 组,男 54 例,女 46 例,年龄 41 ~82 (60.74 ±7.82)岁;吸烟史 49 例,饮酒史 31 例;非 ST 段抬高型 53 例,ST 段抬高型 47 例。AMI 组均参考《中国经皮冠状动脉介入治疗指南(2016)》[9]接受 PCI 术,根据 PCI 术后 1 年预后将 AMI 患者分为预后不良亚组 30 例和预后良好亚组 70 例。另选择同期医院健康体检者 50 例为健康对照组,男 29 例,女 21 例,年龄 32 ~77(60.42 ±5.21)岁。AMI 组与健康对照组性别、年龄比较差异无统计学意义,具有可比性(P > 0.05)。本研究已经获得医院伦理委员会批准(2020-K-Y-236-01),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①年龄≥18 岁;②初次发生 AMI;③符合 AMI 诊断标准[10];④病例资料完整;⑤接受 PCI 术治疗。(2)排除标准:①既往血运重建失败或病变血管未能成功再通;②合并其他心脏疾病;③院内死亡;④合并急慢性感染性疾病;⑤合并恶性肿瘤;⑥自身免疫性疾病或近期行免疫抑制治疗者;⑦PCI 术禁忌证(凝血功能障碍、缺少心脏外科支持、无局限性狭窄的弥散性病变等);⑧合并严重肝肾功能障碍;⑨不能接受随访,失访;⑩发病至入院时间 > 12 h。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 CXCR7、SGK1 水平检测:收集 PCI 术前 AMI 患者和健康对照组体检当日空腹肘静脉血 3 ml,离心留取上层血清,使用全自动酶标仪(型号 Multiskan™ FC,赛默飞世尔科技公司)和试剂盒[上海钰博生物科技有限公司提供的 Human CXCR7 ELISA Kit(批号 2047566)和武汉益普生物科技有限公司提供的 Human SGK1 ELISA Kit(批号 1869995)],通过酶联免疫吸附法检测血清 CXCR7、SGK1 水平。

1.3.2　随访:术后通过电话、微信、门诊复查等方式进行为期 1 年的随访,以 2023 年 12 月或发生主要不良心脏事件(血运重建、再发心绞痛/心肌梗死、心源性死亡、支架内血栓/再狭窄、心力衰竭等)[11]为截断点。

1.4　统计学方法　选用 SPSS 28.0 软件进行统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验;多因素 Logistic 回归分析 AMI 患者 PCI 术后预后不良的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 CXCR7、SGK1 水平对 AMI 患者预后不良的预测价值。P < 0.05 为差

异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 CXCR7、SGK1 水平比较　AMI 组血清 CXCR7 水平低于健康对照组，血清 SGK1 水平高于健康对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 1。

表 1　健康对照组与 AMI 组血清 CXCR7、SGK1 水平比较　（$\bar{x}\pm s$，ng/L）

Tab. 1　Comparison of serum CXCR7 and SGK1 levels between healthy control group and AMI group

组　别	例数	CXCR7	SGK1
健康对照组	50	214.14 ± 47.81	24.92 ± 6.34
AMI 组	100	143.67 ± 28.33	40.12 ± 12.36
t 值		9.613	9.955
P 值		<0.001	<0.001

2.2　不同预后 AMI 患者血清 CXCR7、SGK1 水平比较　随访 1 年，100 例 AMI 患者 PCI 术后预后不良发生率为 30.00%（30/100）。预后不良亚组血清 CXCR7 水平低于预后良好亚组，血清 SGK1 水平高于预后良好亚组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 2。

表 2　预后良好亚组与预后不良亚组血清 CXCR7、SGK1 水平比较　（$\bar{x}\pm s$，ng/L）

Tab. 2　Comparison of serum CXCR7 and SGK1 levels between the good prognosis subgroup and the poor prognosis subgroup

组　别	例数	CXCR7	SGK1
预后良好亚组	70	153.67 ± 22.56	36.30 ± 10.31
预后不良亚组	30	120.93 ± 27.09	49.02 ± 12.31
t 值		6.254	5.329
P 值		<0.001	<0.001

2.3　不同预后 AMI 患者临床/病理特征比较　2 亚组 AMI 患者性别、年龄、吸烟、饮酒、AMI 类型、合并基础疾病、罪犯血管、PCI 类型、Hb、WBC、PLT、AST、ALT、血脂四项（TC、TG、HDL-C、LDL-C）、SCr、出院后应用药物比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。预后不良亚组 Gensini 评分、肌酸激酶同工酶（CK-MB）、心肌肌钙蛋白 I（cTnI）、KILLIP 分级≥Ⅲ级比例均低于预后良好亚组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 3。

2.4　多因素 Logistic 回归分析 AMI 患者 PCI 术后预后不良的因素　以 AMI 患者 PCI 术后预后为因变量（赋值：不良为“1”；良好为“0”），以上述结果中有差异项目［Gensini 评分、CK-MB、cTnI、KILLIP 分级（≥Ⅲ级/<Ⅲ级 = 1/0）、CXCR7、SGK1］为自变量，进行 Logistic回归分析。结果显示：Gensini 评分高、KILLIP 分级≥Ⅲ级、SGK1 升高为 AMI 患者 PCI 术后预后不良的独立危险因素，CXCR7 升高为独立保护因素（$P<0.05$），见表 4。

表 4　多因素 Logistic 回归分析 AMI 患者 PCI 术后预后不良的因素

Tab. 4　Multivariate Logistic regression analysis of factors contributing to poor prognosis after PCI in AMI patients

变　量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
Gensini 评分高	0.069	0.022	9.355	0.002	1.071	1.025 ~ 1.119
CK-MB 升高	0.006	0.004	2.486	0.115	1.006	0.998 ~ 1.015
cTnI 升高	0.070	0.042	2.708	0.100	1.072	0.987 ~ 1.165
KILLIP 分级≥Ⅲ级	1.504	0.686	4.803	0.028	4.501	1.172 ~ 17.282
CXCR7 升高	−0.045	0.016	7.861	0.005	0.956	0.926 ~ 0.987
SGK1 升高	0.124	0.040	9.456	0.002	1.132	1.046 ~ 1.224

2.5　血清 CXCR7、SGK1 水平预测 AMI 患者 PCI 术后预后不良的价值　绘制血清 CXCR7、SGK1 水平单独与联合预测 AMI 患者 PCI 术后预后不良的 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 CXCR7、SGK1 及二者联合预测 AMI 患者 PCI 术后预后不良的 AUC 分别为 0.794、0.779、0.902，二者联合的 AUC 大于血清 CXCR7、SGK1 水平单独预测的 AUC，差异有统计学意义（Z = 3.062、2.930，P = 0.002、0.003），见表 5、图 1。

表 5　血清 CXCR7、SGK1 水平预测 AMI 患者 PCI 术后预后不良的价值

Tab. 5　The value of serum CXCR7 and SGK1 levels in predicting poor prognosis after PCI in AMI patients

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
CXCR7	149.79 ng/L	0.794	0.702 ~ 0.869	0.967	0.529	0.495
SGK1	41.47 ng/L	0.779	0.685 ~ 0.855	0.700	0.743	0.443
二者联合		0.902	0.827 ~ 0.953	0.900	0.771	0.671

3　讨　论

近年来 PCI 相关技术、器械等取得一定进展，PCI 术成为改善 AMI 患者预后的首选血运重建方法，但随着 PCI 术的广泛使用，仍然有部分患者术后出现不良心脏事件，致残和致死率升高[12]。Gensini 评分、心功能评估、动脉粥样硬化性心血管疾病危险因素控制情况等虽然有助于预测 AMI 患者 PCI 术后预后，但存在计算复杂或不能全面反映患者预后等局限性，血清指标作为一种简便易行的检测方法，具有简便、快捷等优点，在临床实践中具有广泛的应用前景[13]。

表 3　不同预后 AMI 患者临床/病理特征比较

Tab. 3　Comparison of clinical/pathological characteristics of AMI patients with different prognoses

项　目		预后良好亚组(n=70)	预后不良亚组(n=30)	χ^2/t 值	P 值
性别[例(%)]	男	36(51.43)	18(60.00)	0.621	0.431
	女	34(48.57)	12(40.00)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)		59.77±7.46	63.00±8.29	1.918	0.058
吸烟[例(%)]		32(45.71)	17(56.67)	1.008	0.315
饮酒[例(%)]		20(28.57)	11(36.67)	0.835	0.361
AMI 类型[例(%)]	非 ST 段抬高型	41(58.57)	12(40.00)	2.908	0.088
	ST 段抬高型	29(41.43)	18(60.00)		
基础疾病[例(%)]	高脂血症	21(30.00)	11(36.67)	0.429	0.513
	糖尿病	16(53.33)	9(30.00)	0.571	0.450
	高血压	36(51.43)	18(60.00)	0.621	0.431
罪犯血管[例(%)]	左前降支	32(45.71)	13(43.33)	1.495	0.827
	左回旋支	7(10.00)	2(6.67)		
	右冠状动脉	25(35.71)	13(43.33)		
	左前降支+右冠状动脉	4(5.71)	2(6.67)		
	左回旋支+右冠状动脉	2(2.86)	0		
KILLIP 分级[例(%)]	≥Ⅲ级	8(11.43)	10(33.33)	6.827	0.009
	<Ⅲ级	62(88.57)	20(66.67)		
PCI 术类型[例(%)]	斑块旋切取栓术	12(17.14)	4(13.33)	0.238	0.888
	球囊扩张成形术	14(20.00)	6(20.00)		
	冠状动脉支架植入术	44(62.86)	20(66.67)		
Hb($\bar{x}\pm s$,g/L)		141.67±12.24	138.30±13.29	1.277	0.223
WBC($\bar{x}\pm s$, $\times10^9$/L)		9.07±3.41	8.32±3.77	0.939	0.350
PLT($\bar{x}\pm s$, $\times10^9$/L)		174.46±17.20	183.63±23.20	1.946	0.055
CK-MB($\bar{x}\pm s$,U/L)		225.09±102.65	173.65±100.80	2.326	0.022
cTnI($\bar{x}\pm s$,μg/L)		19.04±10.55	12.64±9.44	3.002	0.003
AST($\bar{x}\pm s$,U/L)		66.28±45.27	49.69±27.92	1.862	0.070
ALT($\bar{x}\pm s$,U/L)		42.19±20.63	35.05±18.38	1.715	0.090
TC($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		4.52±0.39	4.68±0.37	1.930	0.056
TG($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		1.60±0.25	1.69±0.23	1.598	0.113
HDL-C($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		1.15±0.17	1.11±0.28	0.650	0.519
LDL-C($\bar{x}\pm s$,μmol/L)		3.17±0.28	3.29±0.27	1.977	0.051
SCr($\bar{x}\pm s$,μmol/L)		71.29±18.10	77.38±13.89	1.648	0.103
Gensini 评分($\bar{x}\pm s$,分)		60.37±21.15	36.58±22.89	4.869	<0.001
出院后应用药物[例(%)]	双联抗血小板治疗	67(95.71)	30(100.00)		0.552*
	血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素受体阻滞剂	34(48.57)	17(56.67)	0.551	0.458
	血管紧张素受体-脑啡肽酶抑制剂	4(5.71)	2(6.67)	0.000	1.000
	β 受体阻滞剂	59(84.29)	25(83.33)	0.000	1.000
	他汀类药物	69(98.57)	29(96.67)		0.512*

注:血红蛋白(Hb);白细胞计数(WBC);血小板计数(PLT);天门冬氨酸氨基转移酶(AST);丙氨酸氨基转移酶(ALT);心肌肌钙蛋白 I(cTnI);总胆固醇(TC);三酰甘油(TG);高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C);低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C);血肌酐(SCr)。* 为 Fisher 检验。

AS 不仅是 AMI 发生的病理基础,还能加重冠状动脉狭窄,影响 PCI 术后血流灌注效果,降低心功能,导致多种主要不良心脏事件发生,氧化应激、血脂紊乱、炎性反应、细胞凋亡、内皮功能障碍等与 AS 密切相关[14]。CXCR7/非典型趋化因子受体(ACKR)是主要由内皮细胞、血小板、免疫细胞产生的一种 G 蛋白偶联受体,能结合其唯一受体 C-X-C 趋化因子配体 12(CXCL12)调节免疫反应、炎性反应、血管修复等生物学过程[5]。三氯化铁诱导的 AS 小鼠模型中,上调 CXCR7水平能减少血小板和中性粒细胞活化,抑制血小板聚集和炎性因子产生,进而抑制 AS 进展[15],说明 CXCR7 具有抗 AS 作用。研究指出,CXCR7 血小板表面暴露高的 AMI 患者具有更高的生存潜力[16]。本研究结果显示,AMI 患者血清中 CXCR7 水平降低,而 CXCR7 升高能降低 AMI 患者 PCI 术后预后不良风险。分析原因,CXCR7 能结合 CXCL12 抑制炎性反应和保

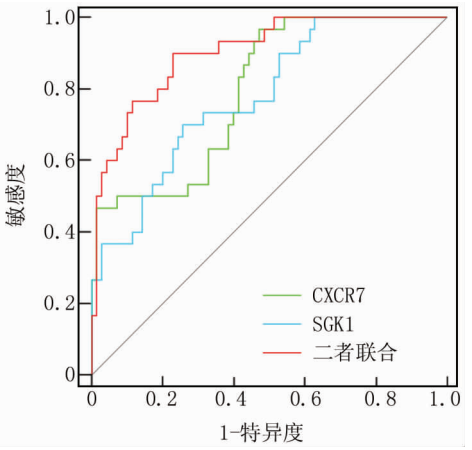


图 1　血清 CXCR7、SGK1 水平预测 AMI 患者 PCI 术后预后不良的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve for predicting poor prognosis of PCI in AMI patients based on serum CXCR7 and SGK1 levels

护血管内皮功能，通过降低冠状动脉血管壁内 AS 斑块和血栓形成，改善患者预后[15]。炎性反应和血管内皮损伤是 AMI 患者心功能进一步恶化的重要原因[17]。CXCR7/CXCL12 介导的抗炎和血管内皮保护作用，能促进心脏损伤后血管生成和减少心肌细胞凋亡，改善 AMI 患者心功能，降低预后不良风险[18]。

SGK1 是由肝细胞、心肌细胞、肾小管上皮细胞等产生的一种丝氨酸/苏氨酸激酶，参与钠离子转运、细胞增殖、细胞凋亡、炎性反应、脂质代谢等多种病理生理过程[6]。有学者鉴定 SGK1 为 AMI 患者血管内皮细胞功能障碍的关键基因[19]。AS 细胞模型中，SGK1/Ras 相关 C3 肉毒菌毒素底物 1 能诱导单核/巨噬细胞向泡沫细胞转化，进而促进 AS 发生发展[20]，说明 SGK1 具有促 AS 作用。蛋白质谱分析发现，SGK1 在 ST 段抬高型心肌梗死患者血栓中高度表达[21]。本研究结果显示，AMI 患者血清 SGK1 水平升高，能增加 AMI 患者 PCI 术后预后不良风险。分析原因，SGK1 能促进单核/巨噬细胞异常活化，通过血管炎性反应和泡沫细胞形成加重冠状动脉微循环功能障碍（AS 形成狭窄或阻塞动脉），增加 PCI 术后预后不良风险[19-20]。同时 SGK1 能激活核因子-κB 通路，促进心肌炎性反应和细胞凋亡，降低 AMI 患者预后[21]。最近 SGK1 被鉴定为 TGF-β_1 驱动心脏成纤维细胞的重要调节因子，SGK1 高表达可激活 TGF-β_1 促进 AMI 患者心肌纤维化，导致心功能持续恶化，降低 AMI 患者预后[22]。

本研究结果还显示，Gensini 评分增加、KILLIP 分级≥Ⅲ级的 AMI 患者 PCI 术后预后不良风险更高。分析原因，Gensini 评分增加说明 AMI 患者冠状动脉狭窄更严重，KILLIP 分级≥Ⅲ级说明 AMI 患者心功能更差，因此 PCI 术后预后不良风险更高[23-24]。ROC 曲线显示，血清 CXCR7、SGK1 水平联合预测 AMI 患者 PCI 术后不良预后的 AUC 为 0.902，大于单独预测的 0.794、0.779。说明检测血清 CXCR7、SGK1 水平有助于预测 AMI 患者 PCI 术后不良预后，联合检测能更准确地进行预测。

综上所述，血清 CXCR7 水平降低、SGK1 水平升高与 AMI 患者 PCI 术后预后不良密切相关，二者联合对其预测价值较高。但本研究结果还需多中心研究验证其可靠性。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨余、李秀珍：提出研究思路，设计研究方案，实施研究过程，分析试验数据，论文撰写，论文审核；卫慧、谭晓、孙晓艳：课题设计，资料搜集整理，论文修改，进行统计学分析

参考文献

[1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2022 概要[J]. 中国循环杂志，2023，38(6)：583-612. DOI：10.3969/j.issn.1000-3614.2023.06.001.

[2] 王昊，石岩，刘凯. 血浆 CHOP、Neu5Ac 水平与急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入术后预后的关系[J]. 山东医药，2023，63(34)：73-76. DOI：10.3969/j.issn.1002-266X.2023.34.017.

[3] 魏燕，胡丽君，何涛，等. 血清 ITLN-1、XBP1S 水平对心肌梗死 PCI 患者预后的预测价值[J]. 河北医药，2023，45(17)：2571-2575. DOI：10.3969/j.issn.1002-7386.2023.17.002.

[4] Makover ME, Shapiro MD, Toth PP. There is urgent need to treat atherosclerotic cardiovascular disease risk earlier, more intensively, and with greater precision: A review of current practice and recommendations for improved effectiveness[J]. Am J Prev Cardiol, 2022, 8(12): 100371. DOI: 10.1016/j.ajpc.2022.100371.

[5] Koch C, Engele J. Functions of the CXCL12 receptor ACKR3/CXCR7-what has been perceived and what has been overlooked[J]. Mol Pharmacol, 2020, 98(5): 577-585. DOI: 10.1124/molpharm.120.000056.

[6] 孟琴琴，郭美亮，袁定芬，等. SGK1 功能的研究进展及临床意义[J]. 医学综述，2020，26(3)：427-432. DOI：10.3969/j.issn.1006-2084.2020.03.003.

[7] Zhang S, Yue J, Ge Z, et al. Activation of CXCR7 alleviates cardiac insufficiency after myocardial infarction by promoting angiogenesis and reducing apoptosis[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 7(127): 110168. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110168.

[8] 张凝之. 急性 ST 段抬高型心肌梗死患者冠状动脉内血栓及外周动脉血中 SGK1 表达的研究[D]. 大连：大连医科大学，2020.

[9] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组，中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会，中华心血管病杂志编辑委员会. 中国经皮冠状动脉介入治疗指南(2016)[J]. 中华心血管病杂志，2016，44(5)：382-400. DOI：10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2016.05.006.

（下转 912 页）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 002

论著 · 临床

创伤性颅脑损伤患者血清锌、维生素 E 与病情程度及预后的关系

张春满, 梁晨, 曹慧琴, 杨延庆, 胡国良, 折刚刚, 韦玮

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2024SF-YBXM-047)
作者单位: 716000　陕西延安, 延安大学附属医院神经外科
通信作者: 韦玮, E-mail: Ydfysjwkww@ 163. com

【摘　要】 **目的**　探讨创伤性颅脑损伤(TBI)患者血清锌、维生素 E 与病情程度及预后的关系。**方法**　选取 2020 年 1 月—2023 年 8 月延安大学附属医院神经外科收治的 TBI 患者 135 例为 TBI 组, 根据格拉斯哥昏迷量表(GCS)评分分为轻度 TBI 亚组(GCS 评分 13 ~ 15 分, 54 例)、中度 TBI 亚组(GCS 评分 9 ~ 12 分, 45 例)、重度 TBI 亚组(GCS 评分 3 ~ 8 分, 36 例), 再根据患者 90 d 预后分为不良预后亚组(35 例)和良好预后亚组(100 例), 另选同期体检健康者 100 例为健康对照组。采用锌比色法与高效液相色谱法检测血清锌、维生素 E 水平; 比较 TBI 组与健康对照组和不同病情程度 TBI 患者血清锌、维生素 E 水平; 采用 Spearman 相关系数分析血清锌、维生素 E 水平与 GCS 评分的相关性; 多因素 Logistic 回归分析影响 TBI 患者不良预后的因素; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价血清锌、维生素 E 水平对 TBI 患者 90 d 死亡的预测价值。**结果**　与健康对照组比较, TBI 组血清锌、维生素 E 水平降低(t/P = 10.836/ < 0.001、10.160/ < 0.001); 不同病情程度 TBI 患者血清锌、维生素 E 水平比较, 轻度 TBI 亚组 > 中度 TBI 亚组 > 重度 TBI 亚组(F/P = 41.858/ < 0.001、104.911/ < 0.001)。135 例 TBI 患者 90 d 不良预后发生率为 25.93%(35/135); 血清锌、维生素 E 水平与 GCS 评分均呈正相关(r_s = 0.709/ < 0.001、0.698/ < 0.001); GCS 评分增加、血清锌升高、维生素 E 升高为 TBI 患者不良预后的独立保护因素[OR(95% CI) = 0.809(0.690 ~ 0.950)、0.706(0.590 ~ 0.845)、0.726(0.599 ~ 0.880)], 基底池异常、中线移位≥5 mm 为 TBI 患者不良预后的独立危险因素[OR(95% CI) = 5.989(1.492 ~ 24.036)、3.378(1.045 ~ 10.922)]; 血清锌、维生素 E 水平及二者联合预测 TBI 患者不良预后的 AUC 分别为 0.783、0.774、0.856, 二者联合的 AUC 大于血清锌、维生素 E 水平单独预测(Z/P = 2.580/0.010、2.727/0.006)。**结论**　TBI 患者血清锌、维生素 E 水平降低, 与病情程度加重和预后不良有关, 二者联合对 TBI 患者不良预后有良好的预测价值。

【关键词】 创伤性颅脑损伤; 血清锌; 维生素 E; 病情程度; 预后
【中图分类号】 R651.1+5　　【文献标识码】 A

Relationship between serum zinc and vitamin E and the extent of disease and prognosis in patients with traumatic craniocerebral injury

Zhang Chunman, Liang Chen, Cao Huiqin, Yang Yanqing, Hu Guoliang, She Ganggang, Wei Wei. Department of Neurosurgery, Yan'an University Affiliated Hospital, Shaanxi Province, Yan' an 716000, *China*
Funding program: Shaanxi Province Key R&D Program Project (2024*SF-YBXM*-047)
Corresponding author: Wei Wei, E-mail: Ydfysjwkww@ 163. *com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the relationship between serum zinc and vitamin E and the degree of condition and prognosis of patients with traumatic craniocerebral injury (TBI). **Methods**　One hundred and thirty five TBI patients admitted to the Department of Neurosurgery of the Affiliated Hospital of Yan'an University from January 2020 to August 2023 were selected as the TBI group, and the TBI patients were classified into the mild TBI group (GCS score of 13 to 15, 54 cases), the moderate TBI group (GCS score of 9 to 13, 45 cases), and the severe TBI group (GCS score 3 to 8, 36 cases), TBI patients were divided into poor prognosis group (35 cases) and good prognosis group (100 cases) based on 90d prognosis, and another 100 physically healthy people in the time period were selected as the control group. Serum zinc and vitamin E levels were measured by zinc colorimetry and high-performance liquid chromatography. To compare the serum zinc and vitamin E levels between the TBI group and the control group and TBI patients with different degrees of disease, and to analyze the correlation between serum zinc and vitamin E levels and the Glasgow Coma Scale (GCS) by using Spearman's correlation coefficients; to incorporate the items that differed in the one-way analyses into the multifactorial logistic regres-

sion model to determine the factors that affect the poor prognosis of the TBI patients; and to plot the receiver operating characteristic (ROC) curves to evaluate the predictive value of serum zinc and vitamin E levels on 90d death in patients with TBI. **Results** Compared with the control group, serum zinc and vitamin E levels were significantly lower in the TBI group (t/P = 10.836/ < 0.001, 10.160/ < 0.001); patients' serum zinc and vitamin E levels were higher in the mild TBI subgroup than in the moderate TBI subgroup than in the severe TBI subgroup (F/P = 41.858/ < 0.001, 104.911/ < 0.001); the incidence of 90d poor prognosis in 135 TBI patients was 25.93% (35/135) as of November 2023 at follow-up; serum zinc and vitamin E levels were positively correlated with GCS scores (r_s = 0.709/ < 0.001, 0.698/ < 0.001). Increased GCS score, elevated zinc, and elevated vitamin E were independent protective factors for poor prognosis in patients with TBI [*OR(95% CI)* = 0.809 (0.690 – 0.950), 0.706 (0.590 – 0.845), 0.726 (0.599 – 0.880)], and abnormal basal pool and midline shift ≥5 mm were independent risk factors for poor prognosis in patients with TBI [*OR(95% CI)* = 5.989 (1.492 – 24.036), 3.378 (1.045 – 10.922)]. The AUCs of serum zinc and vitamin E levels and the combination of the two for predicting poor prognosis in patients with TBI were 0.783, 0.774, and 0.856, respectively, and the AUCs of the combination of the two were greater than those predicted by serum zinc and vitamin E levels alone (Z/P = 2.580/0.010, 2.727/0.006). **Conclusion** Reduced serum zinc and vitamin E levels in patients with TBI are associated with increased degree of disease and poor prognosis, and the combination of the two has good predictive value for poor prognosis in patients with TBI.

【**Key words**】 Traumatic craniocerebral injury; Serum zinc; Vitamin E; Degree of illness; Prognosis

创伤性颅脑损伤(traumatic brain injury, TBI)是颅脑因直接或间接暴力因素引起的一种神经外科急症,我国发病率与患病率约 207.8/10 万和 342.3/10 万[1]。TBI 进展快、恢复慢,进展为重度 TBI 的患者病死率超过 20%,残疾率超过 50%[2-3]。故及时评估 TBI 患者病情程度和预测预后尤为重要。研究证实[4],氧化应激和炎性反应在 TBI 后继发性脑损伤中发挥重要的作用。锌是一种微量金属,能作为抗氧化剂抑制神经元损伤和凋亡,对维持脑功能至关重要[5]。实验显示[6],重复性轻度 TBI 小鼠神经元中锌缺乏,补充锌有助于恢复神经功能。维生素 E 是一种脂溶性抗氧化剂,通过抑制活性氧生成抑制神经元损伤和促进其修复[7]。TBI 动物模型中,服用维生素 E 能减少氧化应激和改善学习、记忆[8]。本研究探讨 TBI 患者血清锌、维生素 E 与病情程度及预后的关系,以期为改善 TBI 患者预后提供更多理论依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2020 年 1 月—2023 年 8 月延安大学附属医院神经外科收治的 TBI 患者 135 例(TBI 组),女 53 例,男 82 例,年龄 18 ~ 82(54.44 ± 11.00)岁;创伤原因:交通事故 69 例,高处坠落 51 例,打击 12 例,其他 3 例;基础疾病:冠心病 15 例,糖尿病 13 例,高血压 20 例;格拉斯哥昏迷量表(Glasgow coma scale, GCS)评分 3 ~ 15 分,中位数12.00(8.00,14.00)分。轻度 TBI 亚组(GCS 评分13 ~ 15 分,54 例)、中度 TBI 亚组(GCS 评分 9 ~ 12 分,45 例)、重度 TBI 亚组(GCS 评分 3 ~ 8 分,36 例)。另选择同期体检健康者 100 例为健康对照组,女 35 例,男 65 例,年龄 18 ~ 77 (54.24 ± 8.32)岁。2 组性别、年龄比较差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(S-S20200047),受试者或其家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①年龄≥18 岁;②颅脑 CT/MR 确诊为 TBI;③受伤后 12 h 内入院;④资料完整。(2)排除标准:①肝肾功能异常者;②合并急慢性感染;③既往脑卒中或继发性颅脑损伤;④近 3 个月内手术史;⑤妊娠及哺乳期妇女;⑥血液系统疾病;⑦2 周内使用过免疫抑制剂、维生素制剂、微量元素制剂、抗氧化药物;⑧合并阿尔茨海默病、帕金森病等神经系统疾病;⑨拒绝随访或失访;⑩恶性肿瘤;⑪合并其他部位或脏器损害;⑫既往颅脑手术史。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清锌、维生素 E 水平检测:于 TBI 患者入院时和健康对照组体检时采集空腹肘静脉血 3 ml,离心留取上层血清待测,以亚科因(武汉)生物技术有限公司提供的锌比色法试剂盒(编号:KTB2140)和上海杰美基因医药科技有限公司提供的维生素 E 高效液相色谱法试剂盒(编号:GMS19071.2)检测血清锌、维生素 E 水平。

1.3.2　随访和分组:通过门诊复查、电话、微信等方式对 TBI 患者随访 90 d,根据格拉斯哥预后量表(Glasgow prognostic scale, GPS),该量表分值1 ~ 5 分,得分越低表示预后越差,分为不良预后亚组(GPS≤3 分,35 例)和良好预后亚组(GPS > 3 分,100 例),随访截止于 2023 年 11 月。

1.4　统计学方法　选用 SPSS 28.0 软件统计分析数

据。计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较行 q 检验;不服从正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,2 组间采用曼惠特尼 U 检验;Spearman 相关性分析血清锌、维生素 E 水平与 GCS 评分的相关性;多因素 Logistic 回归模型分析影响 TBI 患者不良预后的因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价血清锌、维生素 E 水平对 TBI 患者不良预后的预测价值,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清锌、维生素 E 水平比较　与健康对照组比较,TBI 组血清锌、维生素 E 水平降低($P < 0.01$),见表 1。

表 1　健康对照组与 TBI 组血清锌、维生素 E 水平比较　($\bar{x} \pm s$, μmol/L)

Tab. 1　Comparison of serum zinc and vitamin E levels between healthy control group and TBI group

组　别	例数	锌	维生素 E
健康对照组	100	20.32 ± 1.25	35.94 ± 7.80
TBI 组	135	16.50 ± 3.83	27.33 ± 3.74
t 值		10.836	10.160
P 值		< 0.001	< 0.001

2.2　3 亚组 TBI 患者血清锌、维生素 E 水平比较　不同病情程度 TBI 患者血清锌、维生素 E 水平比较,轻度 TBI 亚组 > 中度 TBI 亚组 > 重度 TBI 亚组(P 均 < 0.01),见表 2。

表 2　不同病情程度 TBI 患者血清锌、维生素 E 水平比较　($\bar{x} \pm s$, μmol/L)

Tab. 2　Comparison of serum zinc and vitamin E levels in TBI patients with different degrees of illness

组　别	例数	锌	维生素 E
轻度 TBI 亚组	54	18.98 ± 2.55	30.61 ± 2.39
中度 TBI 亚组	45	16.28 ± 1.98	26.45 ± 1.81
重度 TBI 亚组	36	13.05 ± 4.43	23.50 ± 1.78
F 值		41.858	104.911
P 值		< 0.001	< 0.001

2.3　不同预后 TBI 患者临床资料比较　随访至 2023 年 11 月,TBI 患者不良预后发生率为 25.93%(35/135)。与良好预后亚组比较,不良预后亚组患者年龄大、糖尿病比例高、GCS 评分低、基底池异常比例高、中线移位≥5 mm 比例高、血清锌低、维生素 E 低($P < 0.05$),而性别、血压、受伤至入院时间、创伤原因等资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

2.4　血清锌、维生素 E 水平与 GCS 评分的关系　Spearman 相关性分析显示,血清锌、维生素 E 水平与 GCS 评分均呈显著正相关($r_s = 0.709$、0.698, P 均 < 0.001)。

2.5　多因素 Logistic 回归分析 TBI 患者不良预后的因素　以 TBI 患者预后(不良/良好 = 1/0)为因变量,以上述结果中 $P < 0.05$ 项目[年龄、糖尿病(有/无 = 1/0)、GCS 评分、基底池异常(是/否 = 1/0)、中线移位≥5 mm(是/否 = 1/0)、血清锌、维生素 E(连续变量均原值录入)]为自变量建立 Logistic 回归模型,分析结果显示:GCS 评分增加、血清锌升高、维生素 E 升高为 TBI 患者不良预后的独立保护因素,基底池异常、中线移位≥5 mm 为 TBI 患者不良预后的独立危险因素($P < 0.05$),见表 4。

表 4　多因素 Logistic 回归分析 TBI 患者不良预后的因素

Tab. 4　Multivariate Logistic regression analysis of factors contributing to poor prognosis in TBI patients

变　量	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
年龄增加	0.030	0.031	0.893	0.345	1.030	0.969 ~ 1.095
糖尿病	0.932	0.879	1.125	0.289	2.540	0.454 ~ 14.222
GCS 评分增加	−0.211	0.082	6.683	0.010	0.809	0.690 ~ 0.950
基底池异常	1.790	0.709	6.374	0.012	5.989	1.492 ~ 24.036
中线移位≥5mm	1.217	0.599	4.133	0.042	3.378	1.045 ~ 10.922
血清锌升高	−0.348	0.092	14.333	< 0.001	0.706	0.590 ~ 0.845
维生素 E 升高	−0.320	0.098	10.603	0.001	0.726	0.599 ~ 0.880

2.6　血清锌、维生素 E 水平预测 TBI 患者不良预后的价值　绘制血清锌、维生素 E 水平预测 TBI 患者不良预后的价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清锌、维生素 E 水平及二者联合预测 TBI 患者不良预后的 AUC 分别为 0.783、0.774、0.856,二者联合预测的 AUC 大于血清锌、维生素 E 水平单独预测($Z = 2.580$、2.727, $P = 0.010$、0.006),见表 5、图 1。

表 5　血清锌、维生素 E 水平对 TBI 患者不良预后的预测价值

Tab. 5　The predictive value of serum zinc and vitamin E levels for poor prognosis in TBI patients

指　标	*Cut-off*	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	Youden 指数
血清锌	17.21 μmol/L	0.783	0.704 ~ 0.849	0.886	0.630	0.516
维生素 E	27.67 μmol/L	0.774	0.694 ~ 0.841	0.829	0.600	0.429
二者联合		0.856	0.786 ~ 0.911	0.886	0.750	0.636

3　讨　论

TBI 是临床常见的严重神经系统损伤,患者常因颅内血肿、颅内压增高、神经结构损害等引起吞咽障

表 3　不同预后 TBI 患者临床资料比较

Tab. 3　Comparison of clinical data of TBI patients with different prognoses

项　目		良好预后亚组(n = 100)	不良预后亚组(n = 35)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别[例(%)]	男	64(64.00)	18(51.43)	1.718	0.190
	女	36(36.00)	17(48.57)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		53.34 ± 11.16	57.57 ± 10.03	2.085	0.041
血压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	收缩压	122.19 ± 11.65	118.26 ± 11.17	1.736	0.085
	舒张压	84.19 ± 5.51	82.54 ± 3.66	1.643	0.103
受伤至入院时间[$M(Q_1, Q_3)$,h]		6.00(3.00,7.75)	6.00(4.00,8.00)	1.644	0.100
创伤原因[例(%)]	交通事故	50(50.00)	19(54.29)	0.337	0.953
	高处坠落	39(39.00)	12(34.29)		
	打击	9(9.00)	3(8.57)		
	其他	2(2.00)	1(2.86)		
基础疾病[例(%)]	冠心病	10(10.00)	5(14.29)	0.146	0.703
	糖尿病	6(6.00)	7(20.00)	4.341	0.037
	高血压	13(13.00)	7(20.00)	1.007	0.316
GCS 评分[$M(Q_1, Q_3)$,分]		13.00(9.00,14.00)	9.00(4.00,11.00)	4.855	<0.001
行开颅手术[例(%)]		59(59.00)	14(40.00)	3.769	0.052
颅脑影像表现[例(%)]	蛛网膜下腔出血	70(70.00)	27(77.14)	1.401	0.236
	基底池异常	57(57.00)	30(85.71)	9.329	0.002
	中线移位≥5 mm	42(42.00)	24(68.57)	7.326	0.007
	脑挫伤	54(54.00)	22(62.86)	0.827	0.363
	颅腔积气	27(27.00)	14(40.00)	2.072	0.150
	颅内血肿	41(41.00)	8(22.86)	3.691	0.055
	颅底骨折	48(48.00)	18(51.43)	0.122	0.727
实验室指标	血红蛋白($\bar{x} \pm s$,g/L)	116.94 ± 18.84	113.22 ± 28.21	0.726	0.472
	白细胞计数[$M(Q_1, Q_3)$, $\times 10^9$/L]	11.29(8.66,14.32)	12.41(10.01,14.98)	1.388	0.165
	白蛋白($\bar{x} \pm s$,g/L)	38.48 ± 5.49	37.98 ± 5.55	0.468	0.641
	活化部分凝血活酶时间($\bar{x} \pm s$,s)	35.68 ± 6.38	36.21 ± 5.52	0.438	0.662
	凝血酶原时间($\bar{x} \pm s$,s)	19.91 ± 4.69	18.87 ± 4.17	1.165	0.246
	国际标准化比值($\bar{x} \pm s$)	1.29 ± 0.37	1.32 ± 0.29	0.495	0.622
	C 反应蛋白[$M(Q_1, Q_3)$,mg/L]	12.54(10.07,15.26)	14.04(10.76,18.32)	1.948	0.051
	降钙素原[$M(Q_1, Q_3)$,μg/L]	0.54(0.24,0.75)	0.57(0.38,0.73)	0.808	0.419
	总胆红素($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	6.60 ± 1.38	6.14 ± 1.22	1.739	0.084
	直接胆红素($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	3.16 ± 1.44	3.51 ± 1.53	1.209	0.229
	丙氨酸氨基转移酶[$M(Q_1, Q_3)$,U/L]	30.30(19.32,43.63)	33.61(20.79,48.48)	1.132	0.258
	天门冬氨酸氨基转移酶[$M(Q_1, Q_3)$,U/L]	35.69(28.46,42.38)	39.19(32.98,43.68)	1.220	0.222
	血钾($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	4.09 ± 1.01	3.71 ± 1.29	1.573	0.122
	血钠($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	138.36 ± 13.54	139.36 ± 15.06	0.365	0.715
	血钙($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	2.30 ± 0.45	2.29 ± 0.38	0.155	0.877
	血清锌($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	17.46 ± 3.46	13.74 ± 3.53	5.443	<0.001
	血肌酐($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	72.71(65.75,79.58)	81.51(69.26,89.59)	1.931	0.054
	血清维生素 E($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	28.23 ± 3.58	24.76 ± 2.88	5.167	<0.001

碍、自主呼吸抑制、意识障碍,是全球健康损失、残疾和死亡的主要原因之一[9]。尽管近年来高压氧、大骨瓣开颅手术等治疗手段不断的改进,一定程度上改善了 TBI 患者预后,但由于缺乏有效治疗手段来阻止或逆转 TBI 的病理过程,导致其致残、病死率仍然较高[10-11]。虽然神经影像学检查、神经系统评估等可以提供一定的信息,但其在患者病情评估和预后方面仍有局限性;基底池异常、中线移位≥5 mm 虽然反映 TBI 患者预后不良,但不能进行量化评价[12]。

各种暴力因素引起颅脑原发性损伤后,脑组织机械撕裂和压力变化过程中会产生大量的氧自由基等活性氧物质诱发氧化应激,损伤脑细胞蛋白质和核酸等分子的同时,激活炎性级联反应,破坏血脑屏障和加剧神经元损伤、凋亡,从而促进继发性脑损伤的发展[13]。锌是人体中含量仅次于铁的微量元素,主要由小肠通过吸收多种富含锌的食物获取,是许多酶的结构和催化中心的组成部分,这些酶参与代谢、消化、免疫和 DNA 合成等过程。人体中锌对神经系统功能的影响尤为突出,可作为超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等多种抗氧化酶的辅因子,帮助神经细胞清除自由

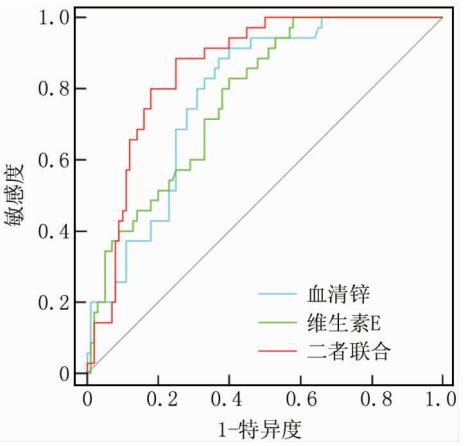


图 1　血清锌、维生素 E 水平预测 TBI 患者不良预后的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve of predicting poor prognosis in TBI patients based on serum zinc and vitamin E levels

基和有害氧化物质,保护神经细胞免受氧化损伤;也可作为神经发育和传导因子,促进神经修复和信号传导[14-15]。氧化应激诱导的大鼠脑损伤模型中,增加锌摄入能防止脑内氧化/抗氧化失衡和氧化应激,从而防止神经系统细胞损伤[16]。重复性轻度 TBI 小鼠海马体齿状回和 CA3 区域的游离锌离子低表达,补充锌可以修复神经功能损伤[5]。TBI 大鼠模型中,富含锌食物喂养或补锌能促进神经细胞增殖[17]。因此推测血清锌可能影响 TBI 患者病情和预后。本研究结果显示,TBI 患者血清锌水平降低,不同病情程度 TBI 患者随着病情加重血清锌水平呈依次降低趋势,并会增加不良预后风险,说明血清锌水平升高能改善 TBI 病情和预后。分析原因,锌能作为抗氧化酶辅因子,清除自由基等活性氧物质抑制神经系统氧化应激及炎性反应损伤,降低神经功能损伤,进而改善病情和预后[18];同时,锌能控制细胞周期促进神经元增殖、分化,并通过增强谷氨酸受体、γ-氨基丁酸等多种神经递质受体的活性促进神经信号传递,以促进修复受损神经系统和维持其功能,降低病情程度和改善预后[19]。值得注意的是,有报道指出急性脑损伤(脑卒中、创伤、癫痫等)患者可能出现细胞内锌浓度增加[20]。这可能与 TBI 引起细胞损伤和应激反应,使细胞内锌释放或体内锌重新分配、利用,转移到受损细胞中参与修复过程有关,故细胞内锌浓度会增加,并引起血清锌浓度降低,但这还需进一步研究。

维生素 E 是由 α/β/γ/δ-生育酚等多种生物活性化合物组成的一种脂溶性维生素,以生育酚与生育三烯酚形式存在,对维持神经系统正常功能至关重要,维生素 E 能作为脂溶性抗氧化剂清除自由基和其他有害氧化物质,保护神经细胞不受氧化损伤,同时通过维持细胞膜的稳定性和完整性,确保神经信号传导和细胞内外物质交换,以维持神经元的正常功能[21]。中毒性脑水肿小鼠模型中,上调维生素 E 能减少脑组织氧化损伤[22]。脑缺血/再灌注损伤大鼠模型中,腹腔注射维生素 E 能改善神经炎性反应和改善空间记忆[23]。张诚等[24]报道,大剂量维生素 E 治疗能减轻急性颅脑损伤患者氧化应激、神经损伤,改善神经营养。然而关于血清维生素 E 与 TBI 患者病情程度和预后的关系尚不清楚。本研究结果显示,TBI 患者血清维生素 E 水平降低,不同病情程度 TBI 患者随着病情加重维生素 E 水平呈依次降低趋势,并会增加不良预后风险,说明血清维生素 E 水平升高能改善 TBI 病情和预后。分析原因,维生素 E 能作为抗氧化剂,可清除氧自由基等活性氧物质对神经细胞的损伤,保护神经元和其他脑细胞的完整性,从而促进脑损伤的康复。另外,维生素 E 可以维持神经细胞膜的稳定性和完整性,缓解炎性反应、氧化应激等病理因素对神经细胞的损伤,促进神经细胞修复和再生,进而改善病情程度和预后[25]。国外学者 Khalili 等[26]也报道,补充维生素 E 能降低重度 TBI 患者病死率和重症监护病房住院时间。

本研究结果还发现,GCS 评分、基底池异常、中线移位≥5 mm 能独立影响 TBI 患者预后。考虑原因是 GCS 评分越高说明 TBI 患者脑损伤程度更轻,因此不良预后风险更低;基底池异常和中线移位≥5 mm 说明脑组织受损程度加重,颅内压增高,可进一步加重神经功能障碍导致预后不良[27-28]。ROC 曲线显示,血清锌、维生素 E 水平有助于预测 TBI 患者预后,同时检测血清锌、维生素 E 水平可以更准确地预测 TBI 患者预后。

综上所述,TBI 患者血清锌、维生素 E 水平降低会加重病情程度和降低预后,二者联合对 TBI 患者不良预后有良好的预测价值。但本研究仍存在一些不足之处:首先,由于样本量有限,结果的可靠性和代表性可能受到限制,这还需多中心、大样本研究进行验证;其次,本研究未能纳入所有影响 TBI 患者预后的相关因素,可能不足以完全反映血清锌、维生素 E 水平与 TBI 患者预后的关系,未来需要更严谨的研究设计和更充分的数据支持。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张春满、曹慧琴:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;梁晨、韦玮:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;杨延庆、

胡国良、折刚刚：提出研究思路，分析试验数据，论文审核

参考文献

[1] 阮霄睿，成佩霞，胡国清. 2000—2019 年我国颅脑创伤的发病率与患病率趋势分析[J]. 中华神经外科杂志，2021，37(12)：1223-1229. DOI：10.3760/cma.j.cn112050-20210509-00223.

[2] Gao G, Wu X, Feng J, et al. Clinical characteristics and outcomes in patients with traumatic brain injury in China: A prospective, multicentre, longitudinal, observational study[J]. Lancet Neurol, 2020, 19(8): 670-677. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30182-4.

[3] 邢靖松，李贞兰. 中国创伤性颅脑损伤患者流行病学特点及康复治疗研究进展[J]. 中华物理医学与康复杂志，2022，44(9)：844-847. DOI：10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.09.021.

[4] 曾子桓，张灏，陈伟强，等. 颅脑损伤后继发性脑损伤发病机制的研究进展[J]. 中国临床神经外科杂志，2019，24(12)：777-779. DOI：10.13798/j.issn.1009-153X.2019.12.022.

[5] Li Z, Liu Y, Wei R, et al. The important role of zinc in neurological diseases[J]. Biomolecules, 2022, 13(1): 28. DOI: 10.3390/biom13010028.

[6] Neely CLC, Barkey RE, Hernandez CM, et al. Prophylactic zinc supplementation modulates hippocampal ionic zinc and partially remediates neurological recovery following repetitive mild head injury in mice[J]. Behav Brain Res, 2022, 7(430): 113918. DOI: 10.1016/j.bbr.2022.113918.

[7] Higgins MR, Izadi A, Kaviani M. Antioxidants and exercise performance: With a focus on vitamin E and C supplementation[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(22): 8452. DOI: 10.3390/ijerph17228452.

[8] Wu A. Vitamin E protects against oxidative damage and learning disability after mild traumatic brain injury in rats[J]. Neurorehabil Neural Repair, 2010, 24(3): 290-298. DOI: 10.1177/1545968309348318.

[9] Maas AIR, Menon DK, Manley GT, et al. Traumatic brain injury: progress and challenges in prevention, clinical care, and research[J]. Lancet Neurol, 2022, 21(11): 1004-1060. DOI: 10.1016/S1474-4422(22)00309-X.

[10] 中国康复医学会高压氧康复专业委员会，解放军总医院第六医学中心. 颅脑创伤高压氧治疗的专家共识[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志，2021，28(3)：271-275. DOI：10.3760/cma.j.cn311847-20190521-00123.

[11] 中国医师协会神经损伤培训委员会，中华医学会神经外科分会颅脑创伤学组，中国医师协会神经修复学专业委员会颅脑创伤修复学组. 中国成人重型颅脑损伤大骨瓣开颅手术标准技术专家共识[J]. 中华神经创伤外科电子杂志，2020，6(2)：68-75. DOI：10.3877/cma.j.issn.2095-9141.2020.02.002.

[12] 李志良，李来兴，刘启瑞. 血清 Apelin-13 联合 Rotterdam-CT 评分对颅脑损伤患者病情及预后的评估价值[J]. 河北医学，2023，29(1)：120-126. DOI：10.3969/j.issn.1006-6233.2023.01.023.

[13] 孙姝玲，闫晋琪，郭利涛，等. 重型颅脑损伤患者血清 PTX3、IMA 水平与术后脑梗死的相关性[J]. 疑难病杂志，2021，20(5)：461-464，469. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2021.05.006.

[14] Wang B, Fang T, Chen H. Zinc and central nervous system disorders[J]. Nutrients, 2023, 15(9): 2140. DOI: 10.3390/nu15092140.

[15] Kumar V, Kumar A, Singh K, et al. Neurobiology of zinc and its role in neurogenesis[J]. Eur J Nutr, 2021, 60(1): 55-64. DOI: 10.1007/s00394-020-02454-3.

[16] Brzóska MM, Koziowska M, Rogalska J, et al. Enhanced zinc intake protects against oxidative stress and its consequences in the brain: A study in an in vivo rat model of cadmium exposure[J]. Nutrients, 2021, 13(2): 478. DOI: 10.3390/nu13020478.

[17] Cope EC, Morris DR, Gower-Winter SD, B et al. Effect of zinc supplementation on neuronal precursor proliferation in the rat hippocampus after traumatic brain injury[J]. Exp Neurol, 2016, 5(279): 96-103. DOI: 10.1016/j.expneurol.2016.02.017.

[18] Liu S, Wang N, Long Y, et al. Zinc homeostasis: An emerging therapeutic target for neuroinflammation related diseases[J]. Biomolecules, 2023, 13(3): 416. DOI: 10.3390/biom13030416.

[19] Park MK, Choi BY, Kho AR, et al. The protective role of glutathione on zinc-induced neuron death after brain injuries[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 2950. DOI: 10.3390/ijms24032950.

[20] Kim YH, Eom JW, Koh JY. Mechanism of zinc excitotoxicity: A focus on AMPK[J]. Front Neurosci, 2020, 9(14): 577958. DOI: 10.3389/fnins.2020.577958.

[21] Kolnik S, Wood TR. Role of vitamin E in neonatal neuroprotection: A comprehensive narrative review[J]. Life (Basel), 2022, 12(7): 1083. DOI: 10.3390/life12071083.

[22] 徐天胜，罗超红，金晓霞，等. 维生素 E 对 1,2-二氯乙烷中毒性脑水肿保护作用的研究[J]. 中国工业医学杂志，2019，32(1)：15-19. DOI：10.13631/j.cnki.zggyyx.2019.01.002.

[23] Salehi C, Seiiedy M, Soraya H, et al. Pretreatment with bisoprolol and vitamin E alone or in combination provides neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2021, 394(4): 685-695. DOI: 10.1007/s00210-020-02007-9.

[24] 张诚，李建明，赵耘华，等. 大剂量维生素 C 和维生素 E 对急性颅脑损伤病人神经损伤、神经营养及氧化应激的影响[J]. 中国临床神经外科杂志，2020，25(12)：844-846，850. DOI：10.13798/j.issn.1009-153X.2020.12.009.

[25] Da Cunha Germano BC, De Morais LCC, Idalina Neta F, et al. Vitamin E and its molecular effects in experimental models of neurodegenerative diseases[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(13): 11191. DOI: 10.3390/ijms241311191.

[26] Khalili H, Abdollahifard S, Niakan A, et al. The effect of vitamins C and E on clinical outcomes of patients with severe traumatic brain injury: A propensity score matching study[J]. Surg Neurol Int, 2022, 11(13): 548. DOI: 10.25259/SNI_932_2022.

[27] 李宝，王志军，邢笑源，等. 创伤性颅脑损伤患者外周血 sTREM-1、MIP-1α 水平及与预后的关系[J]. 疑难病杂志，2019，18(12)：1221-1224，1230. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2019.12.008.

[28] 吴钟其，王小言，符兴科，等. 外周血 miRNA-124 表达水平与创伤性颅脑损伤病情严重程度及预后的关系[J]. 中华保健医学杂志，2023，25(1)：87-90. DOI：10.3969/j.issn.1674-3245.2023.01.024.

（收稿日期：2024－04－24）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 003

论著 · 临床

血小板与淋巴细胞比值联合血栓弹力图对自发性脑出血患者术后下肢深静脉血栓的预测价值

巩亚楠,扎米热 · 库尔班,王亮,蒋珊石,苏娜

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2022D01C224)

作者单位: 830011　乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院医学检验中心(巩亚楠、扎米热 · 库尔班、苏娜),神经外科(王亮、蒋珊石)
通信作者: 苏娜,E-mail:95453090@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探究血小板与淋巴细胞比值(PLR)联合血栓弹力图(TEG)对自发性脑出血患者术后下肢深静脉血栓(LDVTE)的预测价值。**方法**　选取 2020 年 6 月—2023 年 6 月新疆医科大学第一附属医院神经外科收治自发性脑出血手术患者 83 例临床资料;根据患者 LDVTE 发生情况分为血栓组(n = 19)和非血栓组(n = 64);比较患者 PLR 值及 TEG 参数[凝血形成速率(α 角度)、凝血最终强度(MA 值)、血凝块开始形成时间(K 值)、凝血反应时间(R 值)];分析 PLR 与 TEG 相关参数的相关性;绘制各指标对 LDVTE 预测价值的受试者工作曲线(ROC)并进行比较。**结果**　血栓组患者 PLR 值、α 角度和 MA 值均显著高于非血栓组(t/P = 6.225/ < 0.001, 4.290/ < 0.001, 3.596/ < 0.001),K 值和 R 值显著低于非血栓组(t/P = 3.847/ < 0.001, 3.281/0.002);PLR 与 α 角度、MA 值之间呈正相关(r/P = 0.402/ < 0.001, 0.624/ < 0.001);与 K 值呈负相关(r/P = − 0.320 /0.003);与 R 值无显著相关性(r/P = − 0.104/ 0.349);PLR、α 角度、MA 值、K 值、R 值及五项联合预测患者术后发生 LDVTE 的 AUC 分别为 0.789、0.782、0.792、0.795、0.737、0.919,五项联合优于各自单独预测效能(Z/P = 2.627/0.009, 3.007/0.002, 1.999/0.046, 2.092/0.036, 3.256/0.001)。**结论**　PLR 和 TEG 均与自发性脑出血术后患者 LDVTE 有关,可作为预测 LDVTE 发生的参考指标。

【关键词】 自发性脑出血;下肢深静脉血栓;血小板与淋巴细胞比值;血栓弹力图
【中图分类号】 R446.11;R540.4　　【文献标识码】 A

The predictive value of platelet-to-lymphocyte ratio combined with thromboelastography for postoperative lower extremity deep venous thrombosis in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage

*Gong Yanan**, *Zamire Kuerban*, *Wang Liang*, *Jiang Shanshi*, *Su Na*. **Medical Testing Center*, *The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University*, *Urumqi* 830054, *China*

Funding program: *Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region* (2022*D*01*C*224)

Corresponding author: *Su Na*, *E-mail*: 95453090@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　Exploring the predictive value of platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) combined with thromboelastography (TEG) for postoperative deep vein thrombosis (LDVTE) in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage. **Methods**　The clinical data of 83 patients with spontaneous intracerebral hemorrhage admitted to the Department of Neurology of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from June 2020 to June 2023 were continuously selected. According to the occurrence of LDVTE, the patients were divided into thrombosis group (n = 19) and non-thrombosis group (n = 64). PLR values and TEG data were compared and analyzed. The correlation between PLR and TEG related indicators was analyzed. The receiver operating curve (AUC) of PLR, TEG and their combination was drawn and the predictive value of each index was evaluated. **Results**　The PLR value, **α** Angle and MA value in the thrombosis group were significantly higher than those in the non-thrombosis group (t/P = 6.225/ < 0.001, 4.290/ < 0.001, 3.596/ < 0.001), K value and R value were significantly lower than those of non-thrombosis group (t/P = 3.847/ < 0.001, 3.281/0.002); PLR was positively correlated with **α** Angle and MA (r/P = 0.402/ < 0.001, 0.624/ < 0.001). And negatively correlated with K value (r/P = − 0.320/0.003). There was no significant correlation with R value (r/P = − 0.104/0.349). The AUC of PLR, **α** Angle, MA value, K value, R value and the combination of the five factors to predict LDVTE after surgery were 0.789, 0.782, 0.792, 0.795, 0.737, 0.919, respectively, and the combination of the five factors was significantly better than their individual prediction efficacy (Z/P = − 2.627/0.009, − 3.007/0.002, − 1.999/0.046, − 2.092/0.036, − 3.256/0.001). **Conclusion**　PLR and TEG are both related

to LDVTE in patients after cerebral hemorrhage surgery, which can be used as reference indicators to predict the occurrence of LDVTE. PLR combined with TEG has a higher predictive value.

【**Key words**】 Spontaneous intracerebral hemorrhage; Deep venous thrombosis of the lower extremity; Platelets to lymphocyte ratio; Thrombus elastic figure

自发性脑出血(spontaneous intracerebral hemorrhage, SICH)是脑卒中的一种类型,发病率仅次于缺血性脑卒中[1]。其引发的残疾或死亡病例占到了脑卒中相关残疾或死亡的 50%[2]。尽管近年来脑出血诊疗方法得到了规范和更新,但其预后仍不理想[3-4]。其中,止血药物和长期卧床都增加了患者下肢深静脉血栓(lower deep vein thromboembolism, LDVTE)和肺栓塞的发生风险[5-6]。研究显示,脑出血后 3 个月内深静脉血栓的发生率为 2.0% ~ 12.5%[7],而颅脑术后下肢深静脉血栓风险甚至可达 47.7%[8]。因此,识别脑出血术后深静脉血栓高危患者对于改善患者预后十分重要。血小板与淋巴细胞比值(platelet to lymphocyte ratio, PLR)是一种链接炎性反应和血栓的新型指标,可用于多种疾病的炎性反应和死亡预测[9]。PLR 可反映机体炎性反应、血栓形成和血小板活化状态[10-12]。而脑出血的一项病理特征是脑血肿引起的炎性浸润,炎性因子与凝血因子之间的相互作用也增加了血栓风险[13]。因此,PLR 与脑出血后全身血栓的形成密切相关[14]。血栓弹力图(thromboelastography, TEG)作为一种分析实时凝血参数的常用技术已被应用于静脉血栓的临床检测中[15-16]。其可全面监测机体凝血因子、纤维蛋白原、血小板的水平和功能状况,在评估血栓形成方面较传统指标更为敏感可靠[17-18]。现分析 PLR 联合 TEG 参数对 SICH 患者术后 LDVTE 的预测价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2020 年 6 月—2023 年 6 月新疆医科大学第一附属医院神经外科收治自发性脑出血手术患者 83 例临床资料,根据患者脑出血后 1 个月内双下肢深静脉超声结果分为血栓组($n = 19$)和非血栓组($n = 64$)。2 组患者的性别、年龄、BMI、吸烟史及手术方式等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究已通过医院伦理委员会审核批准(20200517082),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①诊断为自发性脑出血[1];②年龄 18 ~ 70 岁;③脑出血病情严重并采用手术治疗方案;④病历资料完整。(2)排除标准:①存在脑血管器质性病变者;②深静脉血栓病史者;③凝血功能障碍疾病者;④具有严重心、肝、肾等疾病者。

表 1　非血栓组和血栓组临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between non thrombotic and thrombotic groups

项　目		非血栓组($n = 64$)	血栓组($n = 19$)	χ^2/t 值	P 值
性别[例(%)]	男	42(65.63)	13(68.42)	0.051	0.821
	女	22(34.37)	6(31.58)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		58.05 ± 6.55	59.21 ± 6.18	0.689	0.493
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)		22.31 ± 2.39	23.37 ± 2.11	1.742	0.085
吸烟史[例(%)]		31(48.44)	13(68.42)	2.349	0.125
手术方式[例(%)]	开颅血肿清除	43(67.19)	12(63.16)	0.408	0.816
	微创手术	17(26.56)	5(26.32)		
	其他	4(6.25)	2(10.52)		

1.3　观测指标与方法

1.3.1　PLT、LC、PLR 检测:于患者外科治疗后次日清晨采取空腹肘静脉血 10 ml(枸橼酸钠抗凝管),并使用 SYSmex XN - 3000 血球流水线及其配套试剂测定血小板计数(plastocyte, PLT)和淋巴细胞计数(lymphocyte count, LC),并计算 PLR, PLR = PLT/LC。

1.3.2　TEG 参数检测:另取上述静脉血 2 ml 置于抗凝管中,并使用血栓弹力图仪(乐普北京医疗器械股份有限公司, CFMSLEPU-8800)检测患者凝血形成速率(α 角度)、凝血最终强度(MA 值)、血凝块开始形成时间(K 值)和凝血反应时间(R 值)。

1.3.3　LDVTE 判定:在术后 12 h 内及 3、7、14 d 怀疑患有 LDVTE 时行下肢深静脉超声检查,发现深静脉血栓即纳入血栓组。

1.4　统计学方法　采用 Graphpad Prism 8.0 软件统计处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 或 Fisher 精确检验;采用 R 软件(4.2.1)、pROC(1.18.0)和 ggplot2(3.3.6)对 PLR 与 TEG 相关参数之间相关性进行 Spearman 秩相关分析;受试者工作特征(ROC)曲线分析 PLR 和 TEG 预测患者术后发生下肢深静脉血栓的价值。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组 PLR 比较　非血栓组 PLR 为(97.58 ± 26.69),血栓组患者 PLR 为(149.51 ± 45.76),血栓组显著高于非血栓组($t/P = 6.225/ < 0.001$)。

2.2　2 组 TEG 参数比较　与非血栓组比较,血栓组患

者 α 角度和 MA 值均升高，K 值和 R 值均降低（$P < 0.01$），见表 2。

表 2　非血栓组和血栓组 TEG 参数比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of TEG parameters between non thrombotic and thrombotic groups

组　别	例数	α 角度	MA 值	K 值	R 值
非血栓组	64	65.67 ± 5.14	63.09 ± 4.87	1.53 ± 0.36	5.51 ± 0.77
血栓组	19	71.40 ± 5.00	67.79 ± 4.24	1.18 ± 0.25	4.80 ± 0.66
t 值		4.290	3.596	3.847	3.281
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.002

2.3　PLR 与 TEG 参数相关性分析　PLR 与 α 角度和 MA 值之间呈正相关（$r/P = 0.402/ < 0.001$，$0.624/ < 0.001$）；与 K 值呈负相关（$r/P = -0.320/0.003$）；与 R 值无显著相关性（$r/P = -0.104/0.349$）。

2.4　PLR 和 TEG 预测患者术后发生 LDVTE 的价值　绘制 PLR 和 TEG 预测患者术后发生 LDVTE 的价值 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：PLR、α 角度、MA 值、K 值、R 值及五项联合预测患者术后发生 LDVTE 的 AUC 分别为 0.789、0.782、0.792、0.795、0.737、0.919，五项联合优于各自单独预测效能（$Z/P = 2.627/0.009$，$3.007/0.002$，$1.999/0.046$，$2.092/0.036$，$3.256/0.001$），见表 3、图 1。

表 3　PLR 和 TEG 预测患者术后发生 LDVTE 的价值分析

Tab. 3　Value analysis of PLR and TEG in predicting postoperative LDVTE in patients

预测指标	*Cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
PLR	132.480	0.789	0.649 ~ 0.930	0.938	0.684	0.622
α 角度	67.550	0.782	0.668 ~ 0.897	0.609	0.842	0.451
MA 值	64.400	0.792	0.676 ~ 0.907	0.734	0.842	0.576
K 值	1.425	0.795	0.689 ~ 0.902	0.766	0.895	0.661
R 值	5.233	0.737	0.609 ~ 0.865	0.656	0.789	0.446
五项联合		0.919	0.840 ~ 0.998	0.906	0.895	0.801

3　讨　论

深静脉血栓不及时诊治可能会导致复发性静脉血栓、慢性静脉功能不全、静脉溃疡、静脉淤滞综合征和血栓形成后综合征等，严重降低患者的生活质量。此外，血栓脱落甚至可能危及生命。本研究中，脑出血手术治疗的 83 例患者中有 19 例（22.9%）在术后并发了 LDVTE。在国内研究中，脑出血术后下肢深静脉血栓的发生率为 20.2% ~ 26.4%[19-21]。这些数据都提示脑出血术后 LDVTE 的发病率较高。目前 LDVTE 的诊断主要通过下肢血管超声检查明确，但是由于早期缺乏特异性症状，患者往往在确诊时血栓已经形成，失去了最佳治疗时机。因此，脑出血患者术后 LDVTE 的早期检测、诊断和预测迫切需要寻找到可行、客观和方便的标志物[22]。

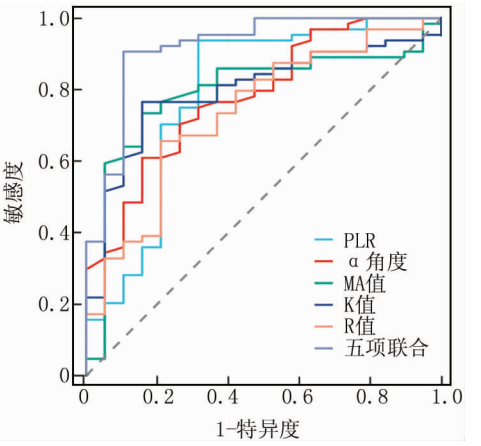


图 1　PLR 和 TEG 预测 SICH 患者术后发生 LDVTE 的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curves of PLR and TEG predicting postoperative LDVTE in SICH patients

深静脉血栓形成的发病机制尚不完全清楚，然而，越来越多研究表明，血栓形成与炎性反应、白细胞和血小板之间存在错综复杂的联系。炎性刺激可激活内皮细胞，引发促炎表型，导致血细胞（主要是血小板和中性粒细胞）募集到血管壁，并最终导致血栓形成[23]。动物和临床研究表明，脑出血早期血肿成分可通过激活小胶质细胞启动炎性信号传导，随后释放促炎细胞因子和趋化因子以促进外周炎性浸润[24]。该炎性级联反应进一步加剧脑内损伤，与之伴随的是外周血生物学指标的改变[25-26]。因此，PLR 可以在一定程度上反映脑出血后损伤的严重程度，这为其成为预后指标奠定了基础。既往研究已经建立起了炎性反应与血栓形成之间的联系。炎性反应可使机体进入高凝状态并促进血栓形成，而血栓形成的产物又可诱发炎性反应，从而形成正反馈环路，推动血栓形成进程[27-28]。值得注意的是，PLR 作为同时反映机体高凝和炎性反应状态的指标，可以更准确地反映血栓进程。本研究中，血栓组 PLR 显著高于非血栓组，这可能是由于脑出血后机体凝血—炎性反应平衡发生改变，导致外周血小板增多而外周淋巴细胞浸润至中枢所致。因此，本研究表明 PLR 作为一项简易有效的早期检测指标，可以作为脑出血患者术后 LDVTE 的早期监测手段。

近些年来，TEG 在神经外科的应用逐渐得到普及。与本研究类似，Hvas 等[29]和 Tjerkstra 等[30]的研究也发现 TEG 与脑出血后再出血、迟发性脑缺血和深

静脉血栓等不良结局密切相关。TEG 可以提供实时止血分析,包括从初始凝血酶激活到纤维蛋白凝块形成的动力学和凝块稳定性信息[31]。相较于传统的凝血指标(PT 和 APTT 等),TEG 对高凝状态的判断更加全面和准确。研究表明 TEG 提示高凝状态的患者发生静脉血栓的风险增加 1 倍,且预测静脉血栓的敏感度可达 0.919,其中高 MA 值提示院内深静脉血栓和肺栓塞的风险分别增加了 3.6 倍和 6.7 倍[32]。因此,对脑出血术后患者进行 TEG 检测是有必要的。

本研究也存在一定局限性。脑出血患者术后深静脉血栓形成的影响因素十分复杂,无法对其进行一一分析,但是本研究提供了一个简单可靠的预测手段,对临床具有一定指导意义。此外,本研究仅从统计学角度对 PLR 和 TEG 的预测价值进行了分析,未能从机制角度进行深入研究。综上,PLR 和 TEG 均与脑出血术后患者 LDVTE 有关,可作为预测 LDVTE 发生的参考指标,其中二者联合预测的临床价值较高。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

巩亚楠:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;扎米热·库尔班:实施研究过程,数据收集;王亮:实施研究过程,数据收集;蒋珊石:资料整理,进行统计学分析;苏娜:研究指导,论文审核

参考文献

[1] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑出血诊治指南(2019)[J]. 中华神经科杂志,2019,52(12):994-1005. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2019.12.003.

[2] Planton M, Raposo N, Danet L, et al. Impact of spontaneous intracerebral hemorrhage on cognitive functioning: An update[J]. Rev Neurol (Paris), 2017, 173(7-8):481-489. DOI:10.1016/j.neurol.2017.06.010.

[3] El-Sherif AM, Rashad A, Rabie MM, et al. Resource utilization in management of spontaneous intracerebral hemorrhage without systemic risk factors. Does early surgical decompression matter[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2023, 231:107829. DOI:10.1016/j.clineuro.2023.107829.

[4] Bai Q, Sheng Z, Liu Y, et al. Intracerebral haemorrhage: From clinical settings to animal models[J]. Stroke Vasc Neurol, 2020, 5(4):388-395. DOI:10.1136/svn-2020-000334.

[5] Dong C, Li Y, Ma Z. Venous thromboembolism after spontaneous intracerebral hemorrhage and the status quo of anticoagulation in this population: Aretrospective casecontrol study from a tertiary hospital in China[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2023, 231:107839. DOI:10.1016/j.clineuro.2023.107839.

[6] Li J, Wang D, Wang W, et al. In-hospital venous thromboembolism is associated with poor outcome in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage: Amulticenter, prospective study[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2020, 29(8):104958. DOI:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104958.

[7] Li L, Murthy SB. Cardiovascular events after intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2022, 53(7):2131-2141. DOI:10.1161/STROKEAHA.122.036884.

[8] Su ZJ, Wang HR, Liu LQ, et al. Analysis of risk factors for postoperative deep vein thrombosis after craniotomy and nomogram model construction[J]. World J Clin Cases, 2023, 11(31):7543-7552. DOI:10.12998/wjcc.v11.i31.7543.

[9] 吴薇,肖影,王健,等. CRP/Alb、NLR、PLR 联合检测对重症急性胰腺炎合并 ARDS 的预测价值[J]. 疑难病杂志,2023,22(9):951-955. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.09.011.

[10] Walzik D, Joisten N, Zacher J, et al. Transferring clinically established immune inflammation markers into exercise physiology: Focus on neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio and systemic immune-inflammation index[J]. Eur J Appl Physiol, 2021, 121(7):1803-1814. DOI:10.1007/s00421-021-04668-7.

[11] Dong G, Huang A, Liu L. Platelet-to-lymphocyte ratio and prognosis in STEMI: Ameta-analysis[J]. Eur J Clin Invest, 2021, 51(3):e13386. DOI:10.1111/eci.13386.

[12] Kuplay H, Erdogan SB, Bastopcu M, et al. The neutrophil-lymphocyte ratio and the platelet-lymphocyte ratio correlate with thrombus burden in deep venous thrombosis[J]. J Vasc Surg Venous Lymphat Disord, 2020, 8(3):360-364. DOI:10.1016/j.jvsv.2019.05.007.

[13] Lattanzi S, Brigo F, Trinka E, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in acute cerebral hemorrhage: A system review[J]. Transl Stroke Res, 2019, 10(2):137-145. DOI:10.1007/s12975-018-0649-4.

[14] Wen H, Chen Y. The predictive value of platelet to lymphocyte ratio and D-dimer to fibrinogen ratio combined with WELLS score on lower extremity deep vein thrombosis in young patients with cerebral hemorrhage[J]. Neurol Sci, 2021, 42(9):3715-3721. DOI:10.1007/s10072-020-05007-y.

[15] Wang C, Liu Q, Sun L, et al. Application of thrombelastography in primary total knee and total hip replacement: Aprospective 87 patients study[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2019, 30(6):281-290. DOI:10.1097/MBC.0000000000000839.

[16] Bai CW, Ruan RX, Pan S, et al. Application of thromboelastography in comparing coagulation difference of rivaroxaban and enoxaparin for thromboprophylaxis after total hip arthroplasty[J]. J Orthop Surg (Hong Kong), 2021, 29(3):1872678258. DOI:10.1177/23094990211042674.

[17] Kim Y, Patel SS, McElroy IE, et al. A systematic review of thromboelastography utilization in vascular and endovascular surgery[J]. J Vasc Surg, 2022, 75(3):1107-1115. DOI:10.1016/j.jvs.2021.11.037.

[18] Drumheller BC, Stein DM, Moore LJ, et al. Thromboelastography and rotational thromboelastometry for the surgical intensivist: Anarrative review[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2019, 86(4):710-721. DOI:10.1097/TA.0000000000002206.

[19] 方晓萌,袁巧玲,王硕. 严重自发性脑出血患者术后下肢深静脉血栓形成的危险因素分析[J]. 中国卒中杂志,2023,18(8):891-897. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2023.08.007.

[20] 李华晓,麦浩坚,宋同均,等. D-二聚体联合血栓弹力图预测脑出血后下肢深静脉血栓形成的应用价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(3):410-413. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.

2020. 03. 007.

[21] 戴余凡,陈华英,王惠萍,等. 老年脑出血患者术后发生下肢深静脉血栓的危险因素[J]. 医疗装备,2023,36(19):109-111. DOI:10. 3969/j. issn. 1002-2376. 2023. 19. 036.

[22] Mackman N. New insights into the mechanisms of venous thrombosis [J]. J Clin Invest, 2012, 122 (7): 2331-2336. DOI: 10. 1172/JCI60229.

[23] Heit JA. Epidemiology of venous thromboembolism[J]. Nat Rev Cardiol,2015,12(8):464-474. DOI:10. 1038/nrcardio. 2015. 83.

[24] Zhou Y, Wang Y, Wang J, et al. Inflammation in intracerebral hemorrhage: From mechanisms to clinical translation[J]. Prog Neurobiol, 2014,115:25-44. DOI:10. 1016/j. pneurobio. 2013. 11. 003.

[25] Bolton WS, Gharial PK, Akhunbay-Fudge C, et al. Day 2 neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios for prediction of delayed cerebral ischemia in subarachnoid hemorrhage[J]. Neurosurg Focus,2022,52(3):E4. DOI:10. 3171/2021. 12. FOCUS21642.

[26] Ray B, Ross SR, Danala G, et al. Systemic response of coated-platelet and peripheral blood inflammatory cell indices after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and long-term clinical outcome[J]. J Crit Care,2019,52:1-9. DOI:10. 1016/j. jcrc. 2019. 03. 003.

[27] Branchford BR, Carpenter SL. The role of inflammation in venous thromboembolism[J]. Front Pediatr, 2018, 6: 142. DOI: 10. 3389/fped. 2018. 00142.

[28] Favas TT, Dev P, Chaurasia RN, et al. Neurological manifestations of COVID-19: Asystematic review and meta-analysis of proportions[J]. Neurol Sci, 2020, 41 (12): 3437-3470. DOI: 10. 1007/s10072-020-04801-y.

[29] Hvas CL, Hvas AM. Viscoelastic testing in the clinical management of subarachnoid hemorrhage and intracerebral hemorrhage[J]. Semin Thromb Hemost, 2022, 48 (7): 828-841. DOI: 10. 1055/s-0042-1756191.

[30] Tjerkstra MA, Wolfs AE, Verbaan D, et al. A systematic review of viscoelastic testing in patients with subarachnoid hemorrhage[J]. World Neurosurg, 2023, 175: 102-112. DOI: 10. 1016/j. wneu. 2023. 03. 108.

[31] 宋永财,卫永鲲,杨立峰,等. 血栓弹力图参数联合 D-二聚体对胸腰椎结核术后并发深静脉血栓形成的预测作用[J]. 疑难病杂志,2021,20(2):171-175. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 014.

[32] Mao C, Xiong Y, Fan C. Comparison between thromboelastography and conventional coagulation assays in patients with deep vein thrombosis[J]. Clin Chim Acta, 2021, 520: 208-213. DOI: 10. 1016/j. cca. 2021. 06. 019.

(收稿日期:2024 - 03 - 19)

(上接 901 页)

[10] 国医师协会急诊医师分会,国家卫健委能力建设与继续教育中心急诊学专家委员会,中国医疗保健国际交流促进会急诊急救分会. 急性冠脉综合征急诊快速诊治指南(2019)[J]. 中华急诊医学杂志,2019,28(4):421-428. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2019. 04. 003.

[11] 何文凤,薛成,郑健康,等. 急性心肌梗死患者不同时间窗 PCI 临床疗效及血清 PⅠCP、PⅢNP、sLOX-1、IL-17 水平比较[J]. 山东医药, 2022, 62 (29): 47-50. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2022. 29. 011.

[12] 中国康复医学会心脏介入治疗与康复专业委员会,世界中医药学会联合会心脏康复专业委员会,世界中医药学会联合会介入心脏病学专业委员会. 经皮冠状动脉介入术后中西医结合心脏康复专家共识[J]. 中国康复医学杂志, 2022, 37 (11): 1517-1528. DOI:10. 3969/j. issn. 1001-1242. 2022. 11. 013.

[13] Nishi M, Uchino E, Okuno Y, et al. Robust prognostic prediction model developed with integrated biological markers for acute myocardial infarction[J]. PLoS One, 2022, 17 (11): e0277260. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0277260.

[14] 中华心血管病杂志(网络版)编辑委员会. 动脉粥样硬化斑块的筛查与临床管理专家共识[J]. 中华心血管病杂志:网络版, 2022,5(1):1-13. DOI:10. 3760/cma. j. cn116031. 2022. 1000123.

[15] Cebo M, Dittrich K, Fu X, et al. Platelet ACKR3/CXCR7 favors antiplatelet lipids over an atherothrombotic lipidome and regulates thromboinflammation[J]. Blood, 2022, 139 (11): 1722-1742. DOI: 10. 1182/blood. 2021013097.

[16] Rath D, Chatterjee M, Meyer L, et al. Relative survival potential of platelets is associated with platelet CXCR4/CXCR7 surface exposure and functional recovery following STEMI[J]. Atherosclerosis, 2018, 11(278):269-277. DOI:10. 1016/j. atherosclerosis. 2018. 10. 008.

[17] 韩培天,杜彬彬,张津宁,等. 心肌缺血时间对急性心肌梗死患者 PCI 术后血清 sCD40L、sP-sel 及心肌重构的影响[J]. 疑难病杂志,2022,21(2):114-118. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 02. 002.

[18] Zhang S, Yue J, Ge Z, et al. Activation of CXCR7 alleviates cardiac insufficiency after myocardial infarction by promoting angiogenesis and reducing apoptosis[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 7 (127): 110168. DOI:10. 1016/j. biopha. 2020. 110168.

[19] Xiang J, Shen J, Zhang L, et al. Identification and validation of senescence-related genes in circulating endothelial cells of patients with acute myocardial infarction[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 12(9): 1057985. DOI:10. 3389/fcvm. 2022. 1057985.

[20] 张海福. 冠心病患者外周血单核细胞 SGK1/RAC1 通路的表达情况及其向泡沫细胞转化中作用的研究[D]. 杭州:杭州师范大学,2021.

[21] Cai M, Zhang N, Yang D, et al. High expression of SGK1 in thrombosis of acute ST-segment elevation myocardial infarction: Based on proteomics analysis of intracoronary thrombosis[J]. Rev Port Cardiol, 2022, 41(4):271-279. DOI:10. 1016/j. repc. 2021. 02. 023.

[22] González-Herrera F, Catalán M, Anfossi R, et al. SGK1 is necessary to FoxO3a negative regulation, oxidative stress and cardiac fibroblast activation induced by TGF-β1 [J]. Cell Signal, 2023, 9 (109): 110778. DOI:10. 1016/j. cellsig. 2023. 110778.

[23] 王玮,张林叶,刘冉. 血清 Hcy、Cys-C 水平与急性心肌梗死患者冠脉病变程度及预后的关系研究[J]. 湖南师范大学学报:医学版,2022,19(1):206-210. DOI:10. 3969/j. issn. 1673-016X. 2022. 01. 060.

[24] 李娇,肖晓霞,卿琪,等. PCSK6、Corin 在急性心肌梗死患者血清中的表达水平及其预后意义[J]. 疑难病杂志,2023,22(11): 1153-1159. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 11. 007.

(收稿日期:2024 - 04 - 22)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 004

论著 · 临床

下肢动脉硬化闭塞症患者支架植入术后血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 与 1 年内支架内再狭窄相关性研究

那顺孟和，玉海，陈恕，王磊，姚顺，李巍，云昕裔

基金项目：内蒙古自治区自然科学基金（2019MS06134）

作者单位：010020　呼和浩特，北京大学肿瘤医院内蒙古医院/内蒙古医科大学附属肿瘤医院血管外科（那顺孟和、玉海、陈恕），介入科（王磊、姚顺、李巍、云昕裔）

通信作者：玉海，E-mail：Yuhai202310@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨下肢动脉硬化闭塞症（LEASO）患者支架植入术后血清长链非编码 RNA（LncRNA）-肺腺癌转移相关转录本 1（MALAT1）、LncRNA-X 失活特异性转录本（XIST）与 1 年内支架内再狭窄（ISR）的相关性。**方法**　回顾性选取 2018 年 1 月—2022 年 12 月在内蒙古医科大学附属肿瘤医院血管外科行支架植入术的 LEASO 患者 147 例作为研究对象，根据 1 年内是否发生 ISR 分为 ISR 组 41 例和无 ISR 组 106 例，采用实时荧光定量 PCR 检测术后血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平；通过 Pearson 法分析 LEASO 患者血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平与管腔直径缩小率的相关性；多因素 Logistic 回归分析 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的影响因素；ROC 曲线分析血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平对 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的预测价值。**结果**　随访 1 年，147 例 LEASO 患者支架植入术后 ISR 发生率为 27.89%（41/147）；与无 ISR 组比较，ISR 组血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST水平升高（t/P = 5.949/ < 0.001、5.927/ < 0.001）；Pearson 相关性分析显示，LEASO 患者血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平与管腔直径缩小率呈正相关（r/P = 0.596/ < 0.001、0.588/ < 0.001）；多因素 Logistic 回归显示，糖尿病和 C 反应蛋白、LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 升高为 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的独立危险因素［OR（95% CI）= 3.185（1.155 ~ 8.781）、1.187（1.003 ~ 1.404）、1.433（1.199 ~ 1.713）、1.575（1.242 ~ 1.998）］；ROC 曲线显示，血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平联合预测 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的曲线下面积为0.906，大于血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平单独预测的 0.799、0.786（Z/P = 3.176/0.002、3.513/ < 0.001）。**结论**　LEASO 患者支架植入术后血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平升高是 1 年内 ISR 的独立危险因素，血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平联合对 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 有较高的预测价值。

【关键词】 下肢动脉硬化闭塞症；支架植入术；支架内再狭窄；长链非编码 RNA-肺腺癌转移相关转录本 1；长链非编码 RNA-X 失活特异性转录本

【中图分类号】 R543.5　　【文献标识码】 A

Correlation of serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST with in-stent restenosis at 1 year after stenting in patients with lower limb atherosclerotic occlusive disease

Nashun Menghe, Yu Hai, Chen Shu, Wang Lei, Yao Shun, Li Wei, Yun Xinyi. *Department of Vascular Surgery, Peking University Cancer Hospital Inner Mongolia Hospital, Huhhot* 010020, *China*

Funding program: Inner Mongolia Autonomous Region Natural Science Foundation (2019*MS*06134)

*Corresponding author: Yu Hai, E-mail: Yuhai*202310@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the correlation between serum long-chain non-coding RNA (LncRNA)-metastasis-adenocarcinoma metastasis-associated transcript 1 (MALAT1), LncRNA-X inactivation specific transcript (XIST) and in-stent restenosis (ISR) within 1 year after stenting in patients with lower extremity arteriosclerosis obliterans (LEASO). **Methods**　One hundred and forty-seven LEASO patients who underwent stent implantation in the Department of Vascular Surgery of the Affiliated Cancer Hospital of Inner Mongolia Medical University from January 2018 to December 2022 were selected as the study subjects, and they were divided into the ISR group (41 cases) and the no-ISR group (106 cases) based on the occurrence of ISR within 1 year, and the real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the postopera-

tive serum LncRNA-MALAT1, LncRNA-XIST levels; the correlation between serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels and lumen diameter reduction rate in LEASO patients was analyzed by Pearson's method, the factors of ISR within 1 year after stent implantation in LEASO patients were analyzed by multifactorial logistic regression, and ROC curves were plotted to analyze the serum LncRNA-MALAT1, The predictive value of LncRNA-XIST levels for ISR within 1 year after stenting in LEASO patients. **Results** At 1-year follow-up, the incidence of ISR after stenting was 27.89% (41/147) in 147 LEASO patients; serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels were elevated in the ISR group compared with the no-ISR group (t/P = 5.949/ < 0.001, 5.927/ < 0.001); Pearson's correlation showed a positive correlation between serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels and the rate of lumen diameter reduction in LEASO patients (r/P = 0.596/ < 0.001, 0.588/ < 0.001); Multifactorial logistic regression showed that diabetes mellitus and elevated C-reactive protein, LncRNA-MALAT1, and LncRNA-XIST were independent risk factors for ISR within 1 year of stent implantation in patients with LEASO[*OR (95% CI)* = 3.185 (1.155 − 8.781), 1.187 (1.003 − 1.404), 1.433 (1.199 − 1.713), 1.575 (1.242 − 1.998)]; The ROC curve showed that the area under the curve for the combined serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels predicting ISR within 1 year after stent implantation in LEASO patients was 0.906, which was greater than that predicted by the serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels alone, which was 0.799 and 0.786 (Z/P = 3.176 /0.002, 3.513/ < 0.001). **Conclusion** Elevated serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels after stent implantation in LEASO patients are independent risk factors for ISR within 1 year, and the combination of serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels has a high predictive value for ISR within 1 year after stent implantation in LEASO patients.

【Key words】 Lower extremity arteriosclerosis obliterans; Stent implantation; In-stent restenosis; Long non-coding RNA-lung adenocarcinoma metastasis-associated transcript 1; Long non-coding RNA-X inactive specific transcript

下肢动脉硬化闭塞症(lower extremity arteriosclerosis obliterans, LEASO)是下肢动脉硬化引起供血动脉狭窄或闭塞而导致的外周动脉疾病,随着我国人口老年龄化加剧和多种慢性病的流行,LEASO 发病率呈逐年上升趋势[1-3]。支架植入术是 LEASO 常规治疗方式,但术后仍有部分患者因支架内再狭窄(in-stent restenosis, ISR)而降低预后[4]。研究表明,支架内新生动脉粥样硬化(neo-atherosclerosis, NAS)参与 ISR 的发生,而长链非编码 RNA(long noncoding RNA, LncRNA)在其中发挥至关重要的作用[5-6]。LncRNA-肺腺癌转移相关转录本 1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)、LncRNA-X 失活特异性转录本(X inactive specific transcript, XIST)是高度保守的 LncRNA,被发现参与冠心病、缺血性脑卒中等动脉粥样硬化性心血管疾病过程[7-8]。研究报道,LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 在动脉粥样硬化小鼠模型或细胞模型中高表达,并促进了动脉粥样硬化发展[9-10]。然而,血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 与 LEASO 患者支架植入术后 ISR 的关系尚未得到研究和讨论,本研究对 LEASO 患者支架植入术后血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 与 1 年内 ISR 的关系及预测价值进行研究,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　回顾性选取 2018 年 1 月—2022 年 12 月在内蒙古医科大学附属肿瘤医院血管外科行支架植入术的 LEASO 患者 147 例作为研究对象,根据 1 年内是否发生 ISR 分为 ISR 组和无 ISR 组。与无 ISR 组比较,ISR 组吸烟、糖尿病、高血压比例和 CRP 水平更高,踝肱指数更低($P < 0.05$);2 组患者性别、年龄、病程、饮酒、TASC Ⅱ分型等资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(2022 伦审第 32 号),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①年龄 40 ~ 80 岁;②符合《下肢动脉硬化闭塞症诊治指南》[11]诊断标准;③临床资料完整;④血管狭窄超过 50% 且初次接受支架植入术;⑤病变部位为股浅—腘动脉段;⑥支架植入术成功(动脉病变完成扩张,残余狭窄不足 20%)。(2)排除标准:①先天性下肢畸形;②出血倾向或严重凝血障碍;③合并血栓闭塞性脉管炎、急性肢体缺血等其他外周动脉疾病或既往下肢骨折者;④精神异常;⑤妊娠及哺乳期妇女;⑥免疫性疾病、恶性肿瘤或近 3 个月内使用免疫抑制剂;⑦不能配合随访或失访;⑧支架植入术禁忌证(如严重凝血功能障碍,严重心、肝、肾功能障碍、碘过敏等)及支架材料过敏病史;⑨手术行内膜剥脱、人工血管转流术等开放手术。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平检测:患者完成支架植入术后 1 d 采集肘静脉血 3 ml,经 3 000 r/min 离心(半径 15 cm)10 min,留取血清用上海闪晶分子生物科技有限公司提供的 Trizol 试剂(货号:ZN00801)提取总 RNA,Thermo 超微量紫外分光光

表 1　无 ISR 组、ISR 组下肢动脉硬化闭塞症患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between the non ISR group and the ISR group of patients with lower limb arteriosclerosis obliterans

项　目		无 ISR 组(n=106)	ISR 组(n=41)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别[例(%)]	男	76(71.70)	26(63.41)	0.955	0.328
	女	30(28.30)	15(36.59)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)		59.34±7.19	61.83±5.94	1.972	0.051
病程[$M(Q_1,Q_3)$,月]		4.00(3.00,6.25)	5.00(4.00,7.00)	1.746	0.081
吸烟[例(%)]		34(32.08)	20(48.78)	4.980	0.026
饮酒[例(%)]		23(21.70)	15(36.59)	3.418	0.064
TASCⅡ分型[例(%)]	A 型	17(16.04)	4(9.76)	1.841	0.066
	B 型	34(32.08)	9(21.95)		
	C 型	42(39.62)	20(48.78)		
	D 型	13(12.26)	8(19.51)		
基础疾病[例(%)]	冠心病	32(30.19)	15(36.59)	0.556	0.456
	高脂血症	28(26.42)	14(34.15)	0.866	0.352
	糖尿病	23(21.70)	18(43.90)	7.248	0.007
	高血压	48(45.28)	28(68.29)	6.268	0.012
双侧病变[例(%)]		13(12.26)	10(24.39)	3.294	0.070
完全闭塞[例(%)]		32(30.19)	20(48.78)	3.405	0.065
踝肱指数($\bar{x}\pm s$)		0.70±0.11	0.65±0.08	3.409	<0.001
血管病变长度($\bar{x}\pm s$,cm)		8.78±1.26	9.05±1.82	0.872	0.387
支架数量($\bar{x}\pm s$,个)		2.11±0.89	2.17±0.83	0.373	0.709
支架长度($\bar{x}\pm s$,mm)		198.52±60.67	219.98±77.79	1.589	0.117
CRP($\bar{x}\pm s$,mg/L)		8.51±1.57	10.38±1.74	6.282	<0.001
Alb($\bar{x}\pm s$,g/L)		38.50±2.34	37.07±4.60	1.896	0.064
Hb($\bar{x}\pm s$,g/L)		129.61±25.93	125.64±22.25	0.863	0.389
FPG($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		5.72±1.55	6.08±1.68	1.233	0.219
TC($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		5.01±0.80	5.25±0.63	1.788	0.076
TG($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		1.55±0.23	1.62±0.30	1.466	0.145
HDL-C($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		1.01±0.38	0.96±0.29	0.775	0.440
LDL-C($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		2.79±0.54	2.98±0.56	1.825	0.070
D-D($\bar{x}\pm s$,mg/L)		0.53±0.25	0.60±0.27	1.489	0.139
术后使用药物[例(%)]	他汀类物	49(46.23)	18(43.90)	0.064	0.800
	抗凝药物	52(49.06)	25(60.98)	1.684	0.194
	抗血小板药物	28(26.42)	17(41.46)	3.152	0.076

注:TASCⅡ.泛大西洋协作组织共识Ⅱ分型。

度计[武汉科昊佳生物科技有限公司,货号:ND-ONE-W(A30221)]鉴定 RNA 纯度和浓度合格后,将 RNA 用上海羽哚生物科技有限公司提供的逆转录试剂(货号:YDTEZ436)逆转录为互补 DNA。参考 2×SYBR Green qPCR 试剂(上海宇玫博生物科技有限公司,编号:UR32071)构建反应体系[2×SYBR Green qPCR Master Mix(ROX1)5 μl、正反向引物各 0.2 μl、互补 DNA 1 μl、ddH_2O 补足到 10 μl],反应程序:热启动酶活化 95 ℃ 5 min 1 次,解链 95 ℃ 10 s、退火 60 ℃ 30 s、延伸 60 ℃ 30 s 40 次。按照 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算血清中LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平。LncRNA-MALAT1上游引物:5′-GGAGAAAUUAUCCUUGGUGUGU-3′,下游引物:5′-TTTGTTGTAAAGCTGCTTTTCCTC-3′; LncRNA- XIST 上游引物:5′-ACGCTGCATGTGTCCTTAG-3′,下游引物:5′-GAGCCTCTTATAAGCTGTTTG-3′;内参 GAPDH 上游引物:5′-ATCACTGCCACCCAGAAGAC-3′,下游引物:5′-TTTCTAGACGGCAGGTCAGG-3′。

1.3.2　ISR 判断标准:LEASO 患者完成支架植入术出院后,通过电话或门诊复查随访 1 年,通过数字减影血管造影检查支架管腔血管狭窄率,将管腔血管狭窄率超过 50% 定义为 ISR[12],同时记录 LEASO 患者管腔直径缩小率[(术前管腔直径 - 术后管腔直径)/术前管腔直径×100%]。

1.4　统计学方法　选用 SPSS 28.0 软件对数据进行统计分析和 MedCalc19.3.1 软件制图。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 或 Fisher 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验;偏态分布的计量资料以 $M(Q_1,Q_3)$ 表示,比较采用 U 检验;多因素 Logistic 回归分析 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 发生的因素;Pearson 法分析 LEASO 患者血

清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平与管腔直径缩小率的相关性；ROC 曲线分析血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平对 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的预测价值，Delong 检验比较血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平单独与联合预测的曲线下面积（area under the curve，AUC）。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平比较　随访 1 年，147 例 LEASO 患者支架植入术后发生 ISR 41 例（27.89%）。与无 ISR 组比较，ISR 组血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平升高（$P<0.05$），见表 2。

表 2　无 ISR 组、ISR 组 LEASO 患者血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 2　Comparison of serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels between the non ISR group and the ISR group in LEASO patients

组　别	例数	LncRNA-MALAT1	LncRNA-XIST
无 ISR 组	106	1.54 ± 0.28	1.34 ± 0.27
ISR 组	41	2.01 ± 0.47	1.63 ± 0.26
t 值		5.949	5.927
P 值		<0.001	<0.001

2.2　LEASO 患者血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平与管腔直径缩小率的相关性　147 例 LEASO 患者支架植入术后 1 年的管腔直径缩小率为（34.35 ± 11.07）%。Pearson 相关性显示，LEASO 患者血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平与术后 1 年管腔直径缩小率呈正相关（$r=0.596$、0.588，P 均 <0.001）。

2.3　LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的多因素 Logistic 回归分析　以 1 年内发生 ISR（是/否 = 1/0）为因变量，上述有差异项目［吸烟（是/否 = 1/0）、糖尿病（有/无 = 1/0）、高血压（有/无 = 1/0）、踝肱指数、CRP、LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST（连续变量原值录入）］为自变量，进行 Logistic 回归分析。结果显示：糖尿病和 CRP、LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 升高为 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的独立危险因素（$P<0.05$），见表 3。

2.4　血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平对 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的预测价值　通过 Logistic 回归拟合血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平预测概率［Ln(P/1 − P) = −14.167 + 0.372 × LncRNA-MALAT1 + 0.455 × LncRNA-XIST］。绘制血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平单独与联合预测 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的 ROC 曲线，并计算和比较 AUC。结果显示：血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平联合预测的 AUC 为 0.906，大于血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平单独预测的 0.799、0.786（Z/P = 3.176/0.002、3.513/<0.001），见表 4、图 1。

表 3　LEASO 患者支架植入术后 1 年内发生 ISR 的多因素 Logistic回归分析

Tab. 3　Multivariate Logistic regression analysis of ISR occurrence within 1 year after stent implantation in LEASO patients

变　量	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
吸烟	0.891	0.565	2.493	0.114	2.439	0.806 ~ 7.374
糖尿病	1.158	0.517	5.010	0.025	3.185	1.155 ~ 8.781
高血压	0.935	0.564	2.748	0.097	2.546	0.843 ~ 7.690
踝肱指数增加	−0.376	0.258	2.121	0.145	0.687	0.414 ~ 1.139
CRP 升高	0.171	0.086	3.972	0.046	1.187	1.003 ~ 1.404
LncRNA-MALAT1 升高	0.360	0.091	15.665	<0.001	1.433	1.199 ~ 1.713
LncRNA-XIST 升高	0.454	0.121	14.007	<0.001	1.575	1.242 ~ 1.998

表 4　血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平对 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的预测价值

Tab. 4　The predictive value of serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels for ISR within 1 year after stent implantation in LEASO patients

指　标	*Cut-off*	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
LncRNA-MALAT1	>1.81	0.799	0.725 ~ 0.860	0.707	0.811	0.519
LncRNA-XIST	>1.43	0.786	0.711 ~ 0.849	0.854	0.613	0.467
二者联合		0.906	0.847 ~ 0.948	0.756	0.925	0.681

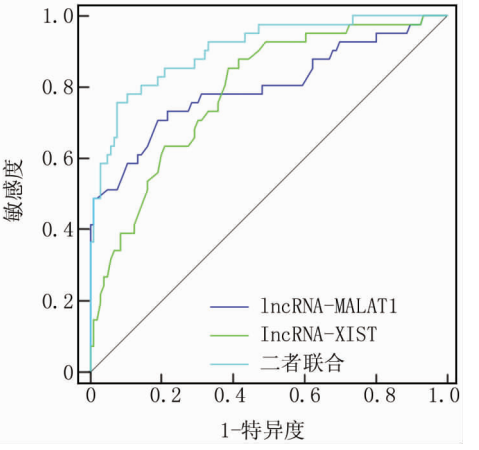


图 1　血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平预测 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的 ROC 曲线

Fig. 1　Serum LncRNA-MALAT1 and LncRNA-XIST levels predict the ROC curve of ISR within 1 year after stent implantation in LEASO patients

3　讨　论

LEASO 是临床常见的下肢慢性血管疾病，若不及时救治则会增加截肢以及心肌梗死、脑卒中等心脑血管疾病风险[13]。支架植入术是 LEASO 患者血管腔介入治疗最常用的方法，能通过支架扩张作用扩大狭窄/闭塞血管腔，改善血流通道和下肢缺血症状，但支架植入术后 ISR 仍然是血管外科医师面临的巨大挑战[4]。本研究 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 发生率为 27.89%，与李立涛等[14]报道的 28.0% 相近，说明 LEASO 患者支架植入术后 ISR 风险较高。早期、准确地预测 LEASO 患者支架植入术后 ISR 发生，对预防术后 ISR 和降低患者截肢风险意义重大。

支架内 NAS 是 ISR 发生的根本原因，不同于天然动脉粥样硬化的长期形成过程，支架内 NAS 通常因支架植入相关炎性反应、内皮损伤/功能失调、血流动力学变化等因素短期内形成，且进展更快、程度更重，故极易引起支架内血栓形成和管腔狭窄，导致 ISR 发生[4-5]。近年来 LncRNA 在心血管疾病中的作用也越来越受到重视，能靶向下调或抑制其调控的靶基因，通过影响炎性反应、内皮细胞/平滑肌细胞功能、氧化应激、细胞凋亡等促进动脉粥样硬化的发生发展[15]。LncRNA-MALAT1 定位于人染色体 11q13.1，在高脂饮食诱导的动脉粥样硬化小鼠动脉斑块中高表达，敲低 LncRNA-MALAT1 能减少促炎因子表达和泡沫细胞形成，进而抑制动脉粥样硬化发展[16]。动脉粥样硬化细胞模型中，LncRNA-MALAT1 过表达能促进血管平滑肌细胞增殖、迁移，以加剧动脉粥样硬化进程[17]。这些研究提示，LncRNA-MALAT1 与动脉粥样硬化密切相关。有学者报道，血清 LncRNA-MALAT1 水平升高是 2 型糖尿病患者并发下肢动脉粥样硬化的独立影响因子[18]。故推测血清 LncRNA-MALAT1 可能与 LEASO 患者支架植入术后 ISR 有关。本研究结果显示，LEASO 患者血清 LncRNA-MALAT1 水平与管腔直径缩小率呈正相关，且 LncRNA-MALAT1 升高为 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的独立危险因素，说明血清 LncRNA-MALAT1 水平升高会增加 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 发生风险。分析原因，LncRNA-MALAT1 能诱导核因子-κB 信号通路活化和中性粒细胞胞外陷阱形成，释放大量炎性介质损伤血管内皮，导致支架内 NAS 形成而增加 ISR 风险[9,19]。同时，LncRNA-MALAT1 能抑制核转录因子红系 2 相关因子 2/谷胱甘肽过氧化物酶 4 抗氧化途径，通过氧化应激促进血管平滑肌细胞增殖、迁移，导致支架内 NAS 形成而增加 ISR 风险[17]。

LncRNA-XIST 定位于人染色体 Xq13.2，在氧化低密度脂蛋白刺激血管内皮细胞模型中高表达，通过增强白介素-1、半胱氨酸蛋白酶-1、NOD 样受体热蛋白结构域蛋白 3 表达促进内皮细胞焦亡及动脉粥样硬化进展[20]。同时 LncRNA-XIST 过表达能诱导内皮细胞增殖、凋亡、炎性反应和氧化应激，以加剧动脉粥样硬化发展[21]。氧化低密度脂蛋白刺激血管平滑肌细胞模型中，敲低 LncRNA-XIST 能抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移，进而抑制动脉粥样硬化发展[22]。但关于 LncRNA-XIST 与 LEASO 患者支架植入术后发生 ISR 的关系尚未可知。本研究结果显示，LEASO 患者血清 LncRNA-XIST 水平与管腔直径缩小率呈正相关，且 LncRNA-XIST 升高为 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的独立危险因素，说明血清 LncRNA-XIST 水平升高会增加 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 风险。分析原因，LncRNA-XIST 能活化肿瘤坏死因子受体相关因子 6 和核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2 信号通路，通过炎性反应破坏血管内皮细胞功能，增加支架内 NAS 形成而促进 ISR 发生[21,23]。此外，LncRNA-XIST 还能上调骨形态发生蛋白 9 表达和 Toll 样受体 4 信号通路活化，刺激血管平滑肌细胞增殖和迁移，引起支架内新生内膜增生和动脉粥样硬化，增加 ISR 发生风险[24-25]。

本研究结果还显示，糖尿病和 CRP 升高的 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 风险更高，考虑糖尿病患者高血糖能激活炎性因子、氧化应激等刺激支架内 NAS 形成，CRP 升高说明 LEASO 患者支架植入术存在更强的炎性反应，炎性反应损伤血管壁刺激支架内 NAS 形成，进而增加 ISR 发生风险[26-27]。ROC 曲线显示，血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平预测 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的 AUC 为 0.799、0.786，二者联合预测的 AUC 为 0.906，大于血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平单独预测。这说明血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平有助于 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 预测，同时检测血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平能更准确地预测 ISR 风险。

综上所述，支架植入术后血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平升高与 LEASO 患者 1 年内 ISR 发生密切相关，血清 LncRNA-MALAT1、LncRNA-XIST 水平联合预测 LEASO 患者支架植入术后 1 年内 ISR 的价值较高。但本研究为单中心小样本量研究，可能影响结果的可靠性，还需多中心大样本研究验证。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

那顺孟和：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；玉海：

提出研究思路,分析试验数据,论文审核;陈恕:实施研究过程,资料搜集整理;王磊:数据收集整理,进行统计学分析;姚顺:实施研究过程,论文撰写;李巍:进行文献调研与整理;云昕裔:论文修改

参考文献

[1] 郑月宏,宋希涛. 下肢动脉硬化闭塞症治疗进展与展望[J]. 中华外科杂志, 2021, 59 (12): 961-964. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112139-20210923-00453.

[2] Adou C, Magne J, Gazere N, et al. Global epidemiology of lower extremity artery disease in the 21st century (2000-2021): A systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Prev Cardiol, 2023, 12 (11): zwad381. DOI: 10. 1093/eurjpc/zwad381.

[3] 国家心血管病专家委员会血管外科专业委员会下肢动脉疾病学组,中国医药教育协会血管外科专业委员会. 股腘动脉闭塞症的诊断和治疗中国专家共识[J]. 中国循环杂志, 2022, 37(7): 669-676. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-3614. 2022. 07. 003.

[4] 张鹏,段琛,王旭光,等. 下肢动脉硬化闭塞症介入术后血管再狭窄的影响因素及防治进展[J]. 国际外科学杂志, 2023, 50(3): 145-148. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115396-20221222-00430.

[5] 付超,王艳,徐红梅,等. 支架内新生动脉粥样硬化:现状、危险因素、防治与未来[J]. 心血管康复医学杂志, 2023, 32(3): 298-301. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-0074. 2023. 03. 21.

[6] 韩爽,陈宇,张伟丽. 长链非编码 RNA 的竞争性内源 RNA 调控模式在动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29 (3): 185-192. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-3949. 2021. 03. 001.

[7] 王婧妍,黄彬涛,高大,等. 急性髓系白血病患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达及临床意义[J]. 疑难病杂志, 2023, 22 (10): 1056-1060. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 10. 009.

[8] Farzaneh M, Anbiyaee O, Azizidoost S, et al. The mechanisms of long non-coding RNA-XIST in ischemic stroke: Insights into functional roles and therapeutic potential[J]. Mol Neurobiol, 2023, 11 (6): 1. DOI: 10. 1007/s12035-023-03740-x.

[9] Shi Z, Zheng Z, Lin X, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates the progression of atherosclerosis by miR-330-5p/NF-κB signal pathway[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021, 78 (2): 235-246. DOI: 10. 1097/FJC. 0000000000001061.

[10] Hu WN, Duan ZY, Wang Q, et al. The suppression of ox-LDL-induced inflammatory response and apoptosis of HUVEC by lncRNA XIAT knockdown via regulating miR-30c-5p/PTEN axis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23 (17): 7628-7638. DOI: 10. 26355/eurrev_201909_18886.

[11] 中华医学会外科学分会血管外科学组. 下肢动脉硬化闭塞症诊治指南[J]. 中华医学杂志, 2015, 95 (24): 1883-1896. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2015. 24. 004.

[12] 王宜梅,张梦强,陈志鹏,等. C 反应蛋白与血清白蛋白的比值与下肢动脉硬化闭塞症患者股腘支架置入术后再狭窄的相关性研究[J]. 中华外科杂志, 2023, 61 (12): 1058-1064. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112139-20230815-00047.

[13] Sun J, Deng Q, Wang J, et al. Novel insight into long-term risk of major adverse cardiovascular and cerebrovascular events following lower extremity arteriosclerosis obliterans[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 4(9): 853583. DOI: 10. 3389/fcvm. 2022. 853583.

[14] 李立涛,曾桂强,易江枫. ABI、HEART 和 TIMI 评分对下肢动脉硬化闭塞症患者支架置入术后再狭窄的预测价值[J]. 国际外科学杂志, 2022, 49 (3): 187-193. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115396-20210907-00351.

[15] 杨鑫,胡炎伟. 长链非编码 RNA 在动脉粥样硬化发生发展中的作用机制及临床价值[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46 (7): 741-747. DOI: 10. 3760/cma. j. cn114452-20230202-00061.

[16] 贾雪凌,范玉华,潘昱,等. 白藜芦醇调控长链非编码 RNA MALAT1抗动脉粥样硬化[J]. 中国药理学通报, 2019, 35 (1): 35-40. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-1978. 2019. 01. 009.

[17] Liao Z, Ni Z, Cao J, et al. LncRNA MALAT1-targeting antisense oligonucleotide ameliorates the AngII-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration via Nrf2/GPX4 antioxidant pathway [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2023, 12 (12): 1521. DOI: 10. 1097/FJC. 0000000000001521.

[18] Li J, Wang C, Shao C, et al. Expression and diagnostic value of lncRNA MALAT1 and NLRP3 in lower limb atherosclerosis in diabetes [J]. BMC Endocr Disord, 2024, 24 (1): 28. DOI: 10. 1186/s12902-024-01557-w.

[19] Gao H, Wang X, Lin C, et al. Exosomal MALAT1 derived from ox-LDL-treated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps to aggravate atherosclerosis[J]. Biol Chem, 2020, 401 (3): 367-376. DOI: 10. 1515/hsz-2019-0219.

[20] 杨晨. 长链非编码 RNA XIST 抑制 miR-22 促进 ox-LDL 诱导的内皮细胞焦亡[D]. 长沙:南华大学, 2021.

[21] Zhao J, Cui L, Sun J, et al. Notoginsenoside R1 alleviates oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis, inflammatory response, and oxidative stress in HUVECS through modulation of XIST/miR-221-3p/TRAF6 axis[J]. Cell Signal, 2020, 12 (76): 109781. DOI: 10. 1016/j. cellsig. 2020. 109781.

[22] Zhang Y, Tang Y, Yan J. LncRNA-XIST promotes proliferation and migration in ox-LDL stimulated vascular smooth muscle cells through miR-539-5p/SPP1 axis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 9911982. DOI: 10. 1155/2022/9911982.

[23] Xu X, Ma C, Liu C, et al. Knockdown of long noncoding RNA XIST alleviates oxidative low-density lipoprotein-mediated endothelial cells injury through modulation of miR-320/NOD2 axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503 (2): 586-592. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2018. 06. 042.

[24] Mo L, Jiang HB, Tian GR, et al. The proliferation and migration of atherosclerosis-related HVSMCs were inhibited by downregulation of lncRNA XIST via regulation of the miR-761/BMP9 axis[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38 (1): 18-29. DOI: 10. 1002/kjm2. 12456.

[25] Yang K, Xue Y, Gao X. LncRNA XIST promotes atherosclerosis by regulating miR-599/TLR4 axis[J]. Inflammation, 2021, 44 (3): 965-973. DOI: 10. 1007/s10753-020-01391-x.

[26] 李治君,吴松,李成,等. 血清微小 RNA-128-3p 在下肢动脉硬化闭塞症介入术后支架内再狭窄中的临床意义[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26 (10): 1-6. DOI: 10. 7619/jcmp. 20220021.

[27] 苏晓雪,袁晓庆,赵士博,等. 下肢动脉硬化性闭塞介入术后支架内再狭窄的危险因素 Meta 分析[J]. 血管与腔内血管外科杂志, 2022, 8 (8): 926-934. DOI: 10. 19418/j. cnki. issn2096-0646. 2022. 08. 07.

(收稿日期:2024 - 04 - 01)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 005

论著 · 临床

血清 FIZZ2 对 AECOPD 患者合并呼吸衰竭的诊断及预后评估分析

李植霖, 牛莉, 武自旺, 高文雅, 张理中

基金项目: 甘肃省卫生行业科研项目(GSWSKY-2019-25)
作者单位: 735100　甘肃省嘉峪关市第一人民医院急诊科
通信作者: 武自旺, E-mail: 1432409180@qq.com

【摘　要】 **目的**　探讨血清发现于炎性反应区 2(FIZZ2)对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者合并呼吸衰竭(RF)的诊断及预后评估价值。**方法**　选择 2020 年 2 月—2023 年 2 月嘉峪关市第一人民医院急诊科收治的 AECOPD 合并 RF 患者 186 例作为 RF 组,将未发生 RF 的 AECOPD 患者 186 例作为非 AF 组。采用酶联免疫吸附法测定血清 FIZZ2、降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)水平,根据 AECOPD 合并 RF 患者入组 60 d 存活情况分为死亡亚组(56 例)和存活亚组(130 例)。通过 Pearson 相关性分析 FIZZ2 与 PCT、CRP 的相关性,Logistic 回归分析影响 AECOPD 合并 RF 患者预后的因素,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 FIZZ2 预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的价值。**结果**　RF 组血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平高于非 RF 组(t/P = 58.968/ < 0.001、16.260/ < 0.001、10.382/ < 0.001),死亡亚组血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平高于存活亚组(t/P = 5.164/ < 0.001、4.141/ < 0.001、12.354/ < 0.001)。Pearson 相关性分析显示,AECOPD 合并 RF 患者血清 FIZZ2 水平与 PCT、CRP 水平均呈正相关(r/P = 0.452/ < 0.001、0.427/ < 0.001)。多因素 Logistic 回归分析显示,PCT、FIZZ2、APACHE Ⅱ 评分升高是 AECOPD 合并 RF 患者预后不良的危险因素[OR(95% CI) = 1.680(1.111 ~ 2.541)、1.921(1.147 ~ 3.217)、2.547(1.278 ~ 5.078)]。血清 FIZZ2、PCT、CRP 及三者联合预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的 AUC 分别为 0.842、0.794、0.846、0.925,三者联合优于各自单独预测(Z/P = 3.465/0.001、2.399/0.016、2.194/0.028)。**结论**　AECOPD 合并 RF 患者血清 FIZZ2 水平升高,且与预后不良有关,在 AECOPD 合并 RF 患者预后预测中具有较高价值。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病,急性加重期;呼吸衰竭;发现于炎性反应区 2;炎性因子;预测价值
【中图分类号】 R563.3;R563.8;R446.11　　【文献标识码】 A

Diagnosis and prognosis assessment of serum FIZZ2 in patients with AECOPD complicated with respiratory failure

Li Zhilin, Niu Li, Wu Ziwang, Gao Wenya, Zhang Lizhong. Department of Emergency, Jiayuguan First People's Hospital, Gansu Province, Jiayuguan 735100, *China*
*Funding program: Gansu Province Health Industry Research Project (GSWSKY-*2019-25)
Corresponding author: Wu Ziwang, E-mail: 1432409180@*qq.com*

【**Abstract**】 **Objective**　To evaluate the diagnostic and prognostic value of serum found in inflammatory zone 2 (FIZZ2) in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) with respiratory failure (RF). **Methods**　One hundred and eighty-six cases of AECOPD patients with RF treated in the Emergency Department of Jiayuguan First People's Hospital from February 2020 to February 2023 were selected as the RF group and 186 cases of AECOPD patients without RF were selected as the non-AF group. Serum levels of FIZZ2, procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) were determined by enzyme-related immunosorbent assay. Survival of patients with AECOPD combined with RF within 60 days was analyzed. According to survival, patients with AECOPD combined with RF were divided into death subgroup (56 cases) and survival subgroup (130 cases). Pearson correlation analysis was conducted to analyze the correlation between FIZZ2 and PCT and CRP. The factors affecting the prognosis of AECOPD patients with RF and the value of FIZZ2 in predicting the prognosis of AECOPD patients with RF were analyzed. **Results**　The levels of serum FIZZ2, PCT and CRP in RF group were higher than those in non-RF group (t/P = 58.968/ < 0.001, 16.260/ < 0.001, 10.382/ < 0.001). The levels of serum FIZZ2, PCT and CRP in death subgroup were higher than those in survival subgroup (t/P = 5.164/ < 0.001, 4.141/ < 0.001,

12.354/ < 0.001). Serum FIZZ2 levels were positively correlated with PCT and CRP levels in patients with AECOPD and RF (r/P = 0.452/ < 0.001, 0.427/ < 0.001). High PCT, high FIZZ2 and high APACHE Ⅱ scores were risk factors for poor prognosis in patients with AECOPD and RF[*OR (95% CI)* = 1.680 (1.111 – 2.541), 1.921 (1.147 – 3.217), 2.547 (1.278 – 5.078)]. Serum FIZZ2, PCT, CRP and combined to predict the prognosis of patients with AECOPD combined RF AUC were 0.842, 0.794, 0.846, 0.925, combined slightly better than their individual predictions (Z/P = 3.465/0.001, 2.399/0.016, 2.194/0.028). **Conclusion** The increase of serum FIZZ2 level in patients with AECOPD combined with RF is associated with poor prognosis, and has a high value in predicting the prognosis of patients with AECOPD combined with RF.

【Key words】 Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; Respiratory failure; Found in inflammatory zone 2; Inflammatory factors; Predictive value

慢性阻塞性肺疾病急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)是慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)不良预后的主要驱动因素,频繁 AECOPD 加速肺功能衰退,增加呼吸衰竭(respiratory failure, RF)和死亡的风险[1-2]。尽管使用机械通气治疗,但 AECOPD 合并 RF 患者中仍有 1/5 ~ 1/3 在院内死亡[3]。发现于炎性反应区 2(Found in inflammatory zone 2, FIZZ2)在缺氧诱导的肺血管重构中发挥重要作用,能促进微血管平滑肌细胞的增殖,并能强烈收缩肺血管,导致肺动脉高压[4],FIZZ2 在气道炎性反应和重构过程中也具有关键作用,通过促进成纤维细胞增殖和分化导致细胞外基质蛋白沉积,促使气道重构和哮喘的发生[5]。但是 FIZZ2 在 AECOPD 合并 RF 的报道并不多见,鉴于其与呼吸系统疾病的关系,本研究拟探讨 FIZZ2 对 AECOPD 患者合并 RF 的诊断及预后评估价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2020 年 2 月—2023 年 2 月嘉峪关市第一人民医院急诊科收治的 AECOPD 合并 RF 患者 186 例作为 RF 组,男 121 例,女 65 例,年龄 51 ~ 75 (63.09 ± 10.32)岁,AECOPD 病程 4 ~ 10 (7.13 ± 2.33)年。另随机选择同期医院收治的未发生 RF 的 AECOPD 患者 186 例为非 AF 组,男 116 例,女 70 例,年龄 50 ~ 77 (63.13 ± 10.49)岁,AECOPD 病程 4 ~ 9 (7.21 ± 2.19)年。2 组患者基线资料比较差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性。本研究已经获得医院伦理委员会批准(2020-SR-31),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①符合 AECOPD 诊断标准[6];②经动脉血气分析诊断为呼吸衰竭[7];③年龄 18 ~ 80 岁。(2)排除标准:①创伤、休克、脓毒症、心血管疾病等引起的 RF;②合并心、肝、肾等重要脏器功能不全;③合并恶性肿瘤;④合并自身免疫性疾病。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 FIZZ2、降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)水平测定:于患者入院后次日晨采集空腹肘静脉血 3 ml,离心(美国赛默飞公司生产的 Scientific™ 台式离心机)留取上清液,－80℃保存备检。采用酶联免疫吸附法测定血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平(FIZZ2 试剂盒购自上海蓝基生物科技有限公司,PCT、CRP 试剂盒购自上海臻科生物科技有限公司)。

1.3.2　临床结局判断及分组:统计 AECOPD 合并 RF 患者入组 60 d 存活情况,根据存活情况分为死亡亚组(56 例)和存活亚组(130 例)。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 Student-t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较使用 χ^2 检验;Pearson 相关性分析 FIZZ2 与 PCT、CRP 的相关性;构建多因素 Logistic 回归方程,分析 AECOPD 合并 RF 患者预后的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线,获得 FIZZ2 预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的效能。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平比较　RF 组血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平高于非 RF 组(P < 0.01),见表 1。

表 1　RF 组和非 RF 组 AECOPD 患者血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum FIZZ2, PCT, and CRP levels between RF and non RF AECOPD patients

组　别	例数	FIZZ2(ng/L)	PCT(μg/L)	CRP(mg/L)
非 RF 组	186	52.24 ± 14.52	0.81 ± 0.20	12.02 ± 2.43
RF 组	186	161.60 ± 20.71	1.23 ± 0.29	15.32 ± 3.59
t 值		58.968	16.260	10.382
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.2　2 亚组血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平比较　死亡亚组血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平显著高于存活亚组($P<0.01$),见表 2。

表 2　死亡亚组和存活亚组 AECOPD 合并 RF 患者血清 FIZZ2、PCT、CRP 水平比较　($\bar{x}\pm s$)

Tab. 2　Comparison of serum FIZZ2, PCT, and CRP levels in AECOPD patients with RF between the death and survival subgroups

组　别	例数	FIZZ2(ng/L)	PCT(μg/L)	CRP(mg/L)
存活亚组	130	159.37 ± 8.47	1.19 ± 0.21	14.67 ± 1.12
死亡亚组	56	166.77 ± 10.03	1.32 ± 0.16	16.83 ± 1.03
t 值		5.164	4.141	12.354
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3　血清 FIZZ2 与 PCT、CRP 水平的相关性分析　AECOPD 合并 RF 患者血清 FIZZ2 水平与 PCT、CRP 水平均呈正相关($r=0.452$、0.427, P 均 <0.001)。

2.4　2 亚组临床资料比较　死亡亚组 GOLD 3 ~ 4 级比例、APACHE Ⅱ 评分、$PaCO_2$、机械通气时间≥7 d 比例高于存活亚组, PaO_2 低于存活亚组, 2 组性别、年龄、基础疾病、COPD 病程、机械通气模式等比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.5　多因素 Logistic 回归方程分析影响 AECOPD 合并 RF 患者预后的因素　以 AECOPD 合并 RF 患者预后为因变量(赋值:0 = 存活, 1 = 死亡),以 GOLD 分级(赋值:0 = 1 ~ 2 级, 1 = 3 ~ 4 级)、APACHE Ⅱ 评分、$PaCO_2$、机械通气时间(赋值: 0 为 <7 d, 1 为≥7 d)、PaO_2、FIZZ2、PCT、CRP 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:PCT、FIZZ2、APACHE Ⅱ 评分升高是 AECOPD 合并 RF 患者预后不良的独立危险因素($P<0.01$),见表 4。

表 4　多因素 Logistic 回归方程分析影响 AECOPD 合并 RF 患者预后的因素

Tab. 4　Multivariate Logistic regression equation analysis of factors affecting the prognosis of AECOPD combined with RF patients

项　目	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR(95% CI)
常量	9.356	3.007	9.680	<0.001	—
GOLD 3 ~ 4 级	0.406	0.391	1.078	0.733	1.501(0.697 ~ 3.230)
PaO_2 低	0.335	0.306	1.198	0.653	1.397(0.767 ~ 2.547)
$PaCO_2$ 高	0.271	0.224	1.463	0.526	1.311(0.845 ~ 2.034)
机械通气时间≥7d	0.206	0.198	1.082	0.702	1.228(0.834 ~ 1.811)
CRP 高	0.198	0.177	1.251	0.603	1.218(0.862 ~ 1.724)
PCT 高	0.519	0.211	6.050	0.009	1.680(1.111 ~ 2.541)
FIZZ2 高	0.653	0.263	6.164	0.006	1.921(1.147 ~ 3.217)
APACHEⅡ评分高	0.935	0.352	7.055	<0.001	2.547(1.278 ~ 5.078)

2.6　血清 FIZZ2 预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的价值分析　绘制血清 FIZZ2、PCT、CRP 预测 AECOPD 合并 RF 患者预后价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 FIZZ2、PCT、CRP 及三者联合预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的 AUC 分别为 0.842、0.794、0.846、0.925,三者联合优于各自单独预测价值($Z=3.465$、2.399、2.194, $P=0.001$、0.016、0.028),见表 5、图 1。

表 3　存活亚组与死亡亚组 AECOPD 合并 RF 患者临床资料比较

Tab. 3　Comparison of clinical data between survival subgroup and death subgroup of AECOPD patients with concomitant RF

项　目		存活亚组($n=130$)	死亡亚组($n=56$)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	82(63.08)	39(69.64)	0.742	0.389
	女	48(36.92)	17(30.36)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)		63.08 ± 9.72	63.12 ± 10.09	0.025	0.980
基础疾病[例(%)]	高血压	84(64.62)	33(58.93)	0.542	0.461
	糖尿病	86(66.15)	35(62.50)	0.230	0.632
	高脂血症	79(60.77)	29(51.79)	1.297	0.255
GOLD 分级[例(%)]	1 ~ 2 级	79(60.77)	20(35.71)	9.869	0.002
	3 ~ 4 级	51(39.23)	36(64.29)		
COPD 病程($\bar{x}\pm s$,年)		7.09 ± 2.11	7.21 ± 2.03	0.360	0.719
APACHE Ⅱ 评分($\bar{x}\pm s$,分)		9.12 ± 2.49	13.02 ± 3.16	9.011	<0.001
PaO_2($\bar{x}\pm s$,mmHg)		62.35 ± 8.17	52.03 ± 6.98	8.242	<0.001
$PaCO_2$($\bar{x}\pm s$,mmHg)		43.05 ± 7.65	49.05 ± 8.12	4.816	<0.001
机械通气模式[例(%)]	有创	80(61.54)	37(66.07)	0.345	0.557
	无创	50(38.46)	19(33.93)		
机械通气时间[例(%)]	≥7 d	52(40.00)	32(57.14)	4.644	0.031
	<7 d	78(60.00)	24(42.86)		

表 5　血清 FIZZ2、PCT、CRP 预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的价值分析

Tab. 5　Value analysis of serum FIZZ2, PCT, and CRP in predicting the prognosis of AECOPD patients with RF

指　标	*cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
PCT	1.23 μg/L	0.842	0.782 ~ 0.891	0.821	0.823	0.645
FIZZ2	163.02 ng/L	0.794	0.728 ~ 0.849	0.768	0.792	0.560
CRP	15.72 mg/L	0.846	0.786 ~ 0.894	0.839	0.861	0.701
三者联合		0.925	0.877 ~ 0.958	0.982	0.777	0.759

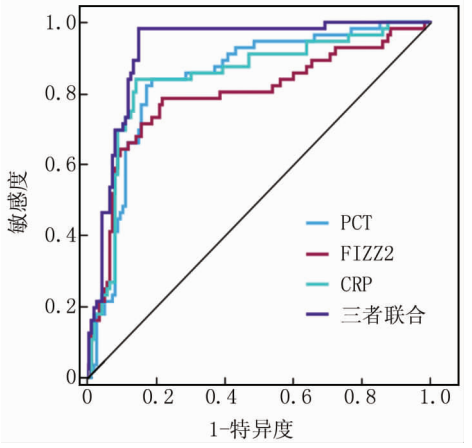


图 1　三项指标预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的 ROC 图

Fig. 1　ROC curve of three indicators predicting the prognosis of AECOPD combined with RF patients

3　讨　论

COPD 是一种高发病率、高病死率的疾病，由呼吸道气流受限引起，具有不可逆性和进行性等特点。AECOPD 是一种以气道功能和呼吸症状迅速恶化为特征的临床状态，是 COPD 患者住院和死亡的主要原因[8-9]。AECOPD 急性加重期间呼吸肌弹性降低和阻力负荷增加，另外高气道阻力和通气障碍导致二氧化碳潴留和高碳酸血症，引起人体组织酸中毒进一步损害呼吸肌功能，形成恶性循环，导致 RF 发生[10]。合并 RF 的 AECOPD 患者往往需要接受保护性肺通气治疗，但机械通气可造成呼吸机相关性肺炎、呼吸机相关性肺损伤和机械通气脱机困难等，加剧 RF，长期气管插管降低患者的生活质量，导致预后不良[11]。因此有必要探寻 AECOPD 合并 AF 相关生物学标志物，以早期发现和干预并改善患者预后。

FIZZ2 是与炎性反应相关的缺氧诱导有丝分裂因子，其基因位于染色体 3q13.1，在肠道、肺脏、心脏、肾脏等组织以及气道上皮细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞、T 细胞及巨噬细胞等中广泛表达，调节葡萄糖代谢、先天适应性免疫、炎性反应、牙釉质形成等病理生理过程[12]。FIZZ2 作为缺氧诱导有丝分裂因子的类似物特异性表达于肺组织内，其过表达可促使肺部炎性反应、诱导肺血管内皮细胞和平滑肌细胞增殖，刺激成纤维细胞迁移和胶原沉积，与肺部炎性反应以及肺血管重构密切相关[13]。既往研究显示，FIZZ2 上调局灶黏附激酶和生存素的表达，促进人肺动脉平滑肌细胞增殖[14]。转化生长因子-β_1 激活 SMAD2/3/4 信号通路诱导 FIZZ2 转录，促进肺动脉内皮细胞的内皮—间充质转化，促使内皮细胞增殖、迁移和侵袭，引起气道重构和肺纤维化[15]。在肺动脉高压大鼠模型中 FIZZ2 过表达可激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白和蛋白激酶 C/丝裂原活化蛋白激酶途径，引起右心室收缩压、右心室肥厚指数升高以及肺小动脉增厚，加剧肺血管重构和肺动脉高压[16]。FIZZ2 在哮喘患者中表达增高，且随着哮喘严重程度的增加而增加，并在支气管激发试验后进一步增加[17]。社区获得性肺炎患者血清 FIZZ2 水平显著增高，在重症患者中 FIZZ2 水平更高，FIZZ2 对社区获得性肺炎危险分层和预后均有较高预测价值[18]。可见 FIZZ2 在呼吸系统疾病中具有广泛的生物学效应，但是 FIZZ2 在 AECOPD 以及 RF 的报道十分少见。

本研究显示，RF 组血清 FIZZ2 水平高于非 RF 组，表明 FIZZ2 水平增高可能与 AECOPD 患者发生 RF 有关，FIZZ2 可能作为 AECOPD 患者 RF 风险的识别标志物。Ruan 等[19]研究认为 AECOPD 高碳酸血症和呼吸性酸中毒可引起低氧血症，在缺氧刺激下活性氧大量产生，导致氧化损伤，进一步激活浸润免疫细胞和炎性细胞，增加中性粒细胞的黏附性，并促使炎性因子释放，引起和加剧肺部炎性反应，导致 RF。FIZZ2 可能通过损伤相关分子模式—晚期糖基化终末产物通路促使辅助性 T 细胞 2 活化并分泌细胞因子 IL-4，还可直接上调炎性细胞因子 IL-1β、IL-1ra、IL-16 和 IL-17 以及 CXC 趋化因子配体(CXCL)-1、CXCL-2、CXCL-9、CXCL-10 和 CXCL-13、巨噬细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞集落刺激因子、基质金属蛋白酶组织抑制物-1 和髓系细胞触发受体-1 的表达，促进肺部炎性反应[20]。本研究相关性分析也显示 FIZZ2 水平与 PCT、CRP 呈正相关，表明 FIZZ2 与 AECOPD 患者炎性反应有关，提示 FIZZ2 可能通过诱导肺部炎性反应，促使 AECOPD 患者发生 RF。

进一步分析发现，死亡亚组血清 FIZZ2 水平高于存活亚组，FIZZ2 水平增高是 AECOPD 合并 RF 患者不良预后的危险因素，表明 FIZZ2 是 AECOPD 合并 RF 患者预后的警示性标志物。ROC 分析显示血清 FIZZ2

预测 AECOPD 合并 RF 患者预后的 AUC 为 0.794，与 PCT 相当，可见 FIZZ2 在 AECOPD 合并 RF 患者预后分析中具有较高价值，有助于临床早期识别不良预后风险，完善治疗策略，最终改善患者预后。Logistic 回归分析中 PCT、APACHE Ⅱ 评分升高与 AECOPD 合并 RF 患者预后不良也有关，说明强炎性反应和病情加重增加 AECOPD 合并 RF 患者预后不良风险。

综上，AECOPD 合并 RF 患者血清 FIZZ2 水平增高，FIZZ2 与 PCT、CRP 呈正相关，是 AECOPD 合并 RF 患者预后不良的独立危险因素，在诊断以及预后预测中均具有较高价值，是 AECOPD 合并 RF 潜在的生物学标志物。本研究探讨了 FIZZ2 在 AECOPD 合并 RF 中的应用价值，可能为临床诊治提供了新的标志物和潜在靶点。但也存在不足之处，FIZZ2 在 AECOPD 合并 RF 中的作用机制尚不清楚，仍需开展进一步基础研究加以证实。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李植霖：研究构思，实施研究过程，论文撰写；牛莉：提出研究方向，分析试验数据，论文审核；武自旺、高文雅：实施研究过程，数据收集，分析整理；张理中：实施研究过程，论文修改

参考文献

[1] Vogelmeier CF, Criner GJ, Martinez FJ, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report: GOLD executive summary[J]. Eur Respir J, 2017, 49(3): 1700214. DOI: 10.1164/rccm.201701-0218PP.

[2] 钟明媚，李秀，丁震. 红细胞分布宽度对 AECOPD 合并 Ⅱ 型呼吸衰竭患者的预测价值[J]. 安徽医学，2020，41(4)：395-398. DOI：10.3969/j.issn.1000-0399.2020.04.010.

[3] Osadnik CR, Tee VS, Carson-Chahhoud KV, et al. Non-invasive ventilation for the management of acute hypercapnic respiratory failure due to exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 7(7): CD004104. DOI: 10.1002/14651858.CD004104.pub4.

[4] Han L, Song N, Hu X, et al. Inhibition of RELM-β prevents hypoxia-induced overproliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells by reversing PLC-mediated KCNK3 decline[J]. Life Sci, 2020, 246: 117419. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117419.

[5] Fang CL, Yin LJ, Sharma S, et al. Resistin-like molecule-β (RELM-β) targets airways fibroblasts to effect remodelling in asthma: From mouse to man[J]. Clin Exp Allergy, 2015, 45(5): 940-952. DOI: 10.1111/cea.12481.

[6] 慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治专家组. 慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治中国专家共识(2014 年修订版)[J]. 国际呼吸杂志，2014，34(1)：1-11. DOI：10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2014.01.001

[7] 叶任高，陆再英. 内科学[M]. 6 版. 北京：人民卫生出版社，2005：134-135.

[8] Qian Y, Cai C, Sun M, et al. Analyses of factors associated with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: A review[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2023, 18: 2707-2723. DOI: 10.2147/COPD.S433183.

[9] 苏睿，张丽艳，高志利，等. 急性加重期慢性阻塞性肺疾病患者血清 CXCL10 和 CXCL11 水平变化及临床意义[J]. 疑难病杂志，2022，21(4)：383-388. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.010.

[10] 俞新，张宇锋，王聪，等. 桑翘清肺方联合西医常规疗法辅以机械通气对慢性阻塞性肺疾病急性加重呼吸衰竭患者肺功能及气道炎症的影响[J]. 国际中医中药杂志，2024. DOI：10.3760/cma.j.cn115398-20230529-00353.

[11] 包东亮，谢清，王莲. 血清 PCT、D-D 及 BNP 水平与 AECOPD 合并呼吸衰竭患者病情严重程度的相关性[J]. 标记免疫分析与临床，2020，27(2)：288-292. DOI：10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2020.02.023.

[12] Hosoya A, Takahama A, Nakamura H. Localization of RELM-β/FIZZ2 is associated with cementum formation[J]. Anat Rec (Hoboken), 2017, 300(10): 1865-1874. DOI: 10.1002/ar.23636.

[13] 段旦. RELMβ 与疾病[J]. 临床与病理杂志，2019，39(2)：395-399. DOI：10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.027.

[14] Lin C, Li X, Luo Q, et al. RELM-β promotes human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation via FAK-stimulated surviving[J]. Exp Cell Res, 2017, 351(1): 43-50. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.12.021.

[15] Jiang Y, Zhou X, Hu R, et al. TGF-β_1-induced SMAD2/3/4 activation promotes RELM-β transcription to modulate the endothelium-mesenchymal transition in human endothelial cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2018, 105: 52-60. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.08.005.

[16] Tian H, Liu L, Wu Y, et al. Resistin-like molecule β acts as a mitogenic factor in hypoxic pulmonary hypertension via the Ca^{2+}-dependent PI3K/Akt/mTOR and PKC/MAPK signaling pathways[J]. Respir Res, 2021, 22(1): 8. DOI: 10.1186/s12931-020-01598-4.

[17] 张玲慧，孙洁，高晓粉，等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期血清炎性标志物的研究进展[J]. 临床误诊误治，2018，31(5)：109-111. DOI：10.3969/j.issn.1002-3429.2018.05.028.

[18] Chen L, Luo Q, Shang Y, et al. Predictive and prognostic utility of the serum level of resistin-like molecule beta for risk stratification in patients with community-acquired pneumonia[J]. Pathogens, 2021, 10(2): 122. DOI: 10.3390/pathogens10020122.

[19] Ruan Z, Li D, Hu Y, et al. The association of renin-angiotensin system blockades and mortality in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease and acute respiratory failure: A retrospective cohort study[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2022, 17: 2001-2011. DOI: 10.2147/COPD.S370817.

[20] Lin Q, Johns RA. Resistin family proteins in pulmonary diseases[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2020, 319(3): L422-L434. DOI: 10.1152/ajplung.00040.2020.

(收稿日期：2024－05－07)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 006

论著 · 临床

血清表面活性剂蛋白 D、甘露糖对急性呼吸窘迫综合征患者预后预测的临床意义

魏瑶娜，段炜，梁磊，王鹏飞

基金项目：山西省卫生健康科研课题(2019M041)
作者单位：030000　太原，山西白求恩医院(山西医学科学院)呼吸与危重症医学科
通信作者：王鹏飞，E-mail：wangpengfei724@126.com

【摘　要】 **目的**　探究血清表面活性剂蛋白 D(SPD)、甘露糖水平预测急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者预后的价值。**方法**　回顾性收集 2020 年 2 月—2022 年 3 月山西白求恩医院呼吸与危重症医学科诊治 ARDS 患者 112 例(ARDS 组)的临床资料，根据病情程度分为轻度亚组($n=42$)、中度亚组($n=38$)、重度亚组($n=32$)，又根据患者 28 d 生存预后分为生存亚组($n=81$)和死亡亚组($n=31$)，以同期健康体检者 60 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 SPD、甘露糖水平；多因素 Logistic 回归分析 ARDS 患者 28 d 死亡预后影响因素；采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 SPD、甘露糖预测 ARDS 患者预后的价值。**结果**　ARDS 组患者血清 SPD、甘露糖水平低于健康对照组($t=26.641$、22.185，P 均 <0.001)；轻度亚组、中度亚组和重度亚组血清 SPD、甘露糖水平依次降低($F/P=142.650/<0.001$，$84.621/<0.001$)；与生存亚组比较，死亡亚组 ARDS 患者 SOFA 评分、APACHE Ⅱ 评分升高，血清 SPD、甘露糖降低($t/P=4.366/<0.001$，$6.470/<0.001$，$6.099/<0.001$，$8.586/<0.001$)；SOFA 评分升高、APACHE Ⅱ 评分升高是影响 ARDS 患者预后的危险因素[$OR(95\%CI)=1.423(1.088\sim1.862)$，$1.511(1.140\sim2.004)$]，血清 SPD 升高、甘露糖升高是保护因素[$OR(95\%CI)=0.564(0.445\sim0.715)$，$0.618(0.474\sim0.807)$]；血清 SPD、甘露糖及二者联合预测 ARDS 患者 28 d 死亡预后的 AUC 分别为 0.826、0.895、0.949，二者联合的 AUC 大于单指标检测($Z=5.021$、4.432，$P<0.001$、0.002)。**结论**　ARDS 患者血清 SPD、甘露糖水平降低，两者与患者病情严重程度相关，两项联合能有效评估 ARDS 患者的预后。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征；表面活性剂蛋白 D；甘露糖；预后；预测价值
【中图分类号】 R563.8　　【文献标识码】 A

The clinical significance of serum SPD and mannose in predicting the prognosis of patients with acute respiratory distress syndrome

Wei Yaona, Duan Wei, Liang Lei, Wang Pengfei. Department of Respiratory and Critical Care, Shanxi Norman Bethune Hospital (Shanxi Academy of Medical Sciences), Shanxi Province, Taiyuan 030000, *China*
Funding program: *Shanxi Province Health Research Project* (2019*M*041)
Corresponding author: *Wang Pengfei*, *E-mail*: *wangpengfei*724@126. *com*

【**Abstract**】 **Objective**　The purpose of this study is to investigate the predictive value of serum surfactant protein D (SPD) and mannose levels in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) in terms of prognosis. **Methods**　A retrospective collection was conducted on 112 ARDS patients (ARDS group) who received treatment in Respiratory and Critical Care Medicine Department of Shanxi Norman Bethune Hospital (Shanxi Academy of Medical Sciences) from February 2020 to March 2022. According to the severity of the ARDS patients, they were divided into mild subgroup ($n=42$), moderate subgroup ($n=38$), and severe subgroup ($n=32$), as well as survival subgroup ($n=81$) and death subgroup ($n=31$) based on the prognosis. 60 healthy individuals were taken as the healthy control group. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum SPD and mannose levels. The prognostic factors of ARDS patients and the prognostic evaluation value of serum SPD and mannose were analyzed using statistical analysis. **Results**　The serum SPD and mannose levels in the ARDS group were (162.21 ± 21.78) μg/L and (130.65 ± 19.90) ng/L, respectively, lower than those in the healthy control group (252.34 ± 45.70) μg/L and (227.14 ± 37.21) ng/L ($t=26.641$, 22.185, $P<0.001$). The serum levels of SPD and mannose in the mild, moderate, and severe subgroups decreased significantly in sequence($F/P=142.650/<0.001$, $84.621/<0.001$). Compared with the healthy control group, the SOFA score and APACHE Ⅱ score of ARDS patients in the death group were higher, while serum SPD and mannose were lower($t/P=4.366/<0.001$, $6.470/<0.001$, $6.099/<0.001$, $8.586/<0.001$). SOFA score and APACHE Ⅱ score were risk factors affecting the 28 day mortality prognosis of ARDS patients,

while serum SPD and mannose were protective factors [*OR (95% CI)* = 1.423 (1.088 – 1.862), 1.511 (1.140 – 2.004), 0.564 (0.445 – 0.715), 0.618 (0.474 – 0.807)]. The area under the curve (AUC) for predicting the 28 day mortality prognosis of ARDS patients with serum SPD and mannose combination was 0.949, which was greater than single indicator detection of 0.826 and 0.895 (Z = 5.021, 4.432, P < 0.001, 0.002). **Conclusion**　The serum levels of SPD and mannose in ARDS patients decrease, which are correlated with the severity of the patient's condition. The combination of serum SPD and mannose has good predictive value for the prognosis of ARDS patients.

【**Key words**】 Acute respiratory distress syndrome; Surfactant protein D; Mannose; Prognosis; Predictive value

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是重症监护室常见的危重疾病,具有起病急、进展快及预后差等特点,具有较高的致死率和致残率[1-2]。表面活性剂蛋白 D(surfactant protein D, SPD)属于肺泡表面活性物质相关蛋白,参与调节表面活性物质的代谢,发挥调节免疫、炎性反应等生物学效应[3]。研究表明,在 SPD 基因敲除小鼠中,气道对由臭氧和烟草暴露引起的炎性反应显著增加,肺泡巨噬细胞的脂质稳态失调,加重组织氧化应激程度[4]。甘露糖是以聚合物形式存在的单糖,能抑制中性粒细胞活化,在炎性反应中发挥重要调节作用[5]。研究表明,甘露糖能抑制细菌脂多糖诱导的转化生长因子 β_1 的产生,在急性肺损伤中发挥保护作用[6]。目前 ARDS 患者血清 SPD、甘露糖水平与病情程度及预后的关系尚不清楚。本研究检测血清 SPD、甘露糖水平,分析两者评估患者病情程度和预后的价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　回顾性收集 2020 年 2 月—2022 年 3 月山西白求恩医院(山西医学科学院)呼吸与危重症医学科诊治 ARDS 患者 112 例(ARDS 组)的临床资料,男 71 例,女 41 例;年龄 38 ~ 79(66.43 ± 6.30)岁;体质量指数(BMI)19.41 ~ 29.30(24.46 ± 2.55)kg/m^2;病程 2 ~ 13(6.12 ± 2.01)d;吸烟史 44 例,饮酒史 42 例;高血压史 26 例,糖尿病史 13 例;ARDS 病因:肺部感染 57 例,脓毒症 36 例,重症胰腺炎 19 例;根据氧合指数,分为轻度亚组 42 例(201 ~ 300 mmHg),中度亚组 38 例(101 ~ 200 mmHg)和重度亚组 32 例(≤100 mmHg);均无家族遗传史。以同期健康体检者 60 例为健康对照组,男 40 例,女 20 例;年龄 36 ~ 78(66.11 ± 6.25)岁;BMI 19.25 ~ 29.11(24.21 ± 2.32)kg/m^2。本研究已经获得医院伦理委员会批准(K202243),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①ARDS 的诊断符合中华医学会重症医学分会 2006 年制定的《急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南》中的 ARDS 标准[7];②年龄 > 18 岁;③进入重症监护病房大于 3 d 者。(2)排除标准:①妊娠、哺乳期女性,合并急性心力衰竭、恶性肿瘤、肺栓塞、自身免疫性疾病等疾病;②伴有急性创伤、心脑血管意外、肝肾等脏器功能障碍及精神障碍性疾病;③临床和实验室检查资料缺失者;④患者家属消极治疗,拒绝相关治疗和检查。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 SPD、甘露糖水平检测:患者入院后次日、健康者体检时清晨采取空腹肘静脉血 5 ml,室温静置 1 h 后,离心留取上层血清备测。采用 ELISA 法检测血清 SPD、甘露糖水平。SPD 的 ELISA 试剂盒购自上海抚生生物科技公司,型号 A103609;甘露糖 ELISA 试剂盒购自上海一研生物公司,货号 EY-01H1210。按照常规步骤进行,结束后以酶标仪(购自美国 PerkinElmer 公司,型号 Victor X3)检测样品的浓度值。

1.3.2　APACHE Ⅱ 评分及 SOFA 评分:记录入院 24 h 内患者的急性生理和慢性健康状况评分系统 Ⅱ(APACHE Ⅱ 评分),序贯器官衰竭估计评分(SOFA 评分)。根据患者 28 d 的生存状态,分为生存亚组(n = 81)和死亡亚组(n = 31)。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件分析统计数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验,3 组比较采用 F 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用卡方检验;Logistic 回归分析影响 ARDS 患者 28 d 死亡预后的因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标对 ARDS 患者 28 d 死亡预后的评估价值。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 SPD、甘露糖比较　ARDS 组患者血清 SPD、甘露糖分别为(162.21 ± 21.78)μg/L、(130.65 ± 19.90)ng/L,低于健康对照组的(252.34 ± 45.70)μg/L、(227.14 ± 37.21)ng/L,差异具有统计学意义(t = 26.641、22.185, P 均 < 0.001)。

2.2　不同病情程度 ARDS 患者血清 SPD、甘露糖比较　轻度亚组、中度亚组和重度亚组血清 SPD、甘露糖水平依次显著降低(P 均 < 0.01),见表 1。

2.3　生存亚组与死亡亚组 ARDS 患者临床资料比较　与生存亚组比较,死亡亚组 ARDS 患者 SOFA 评分、APACHE Ⅱ 评分较高,血清 SPD、甘露糖较低,差异具有统计学意义(P 均 < 0.01),见表 2。

表 1　不同病情程度 ARDS 患者血清 SPD、甘露糖比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum SPD and mannose levels in ARDS patients with different degrees of illness

组　别	例数	SPD(μg/L)	甘露糖(ng/L)
轻度亚组	42	200.75 ± 23.74	158.98 ± 23.08
中度亚组	38	160.54 ± 22.69	129.65 ± 21.20
重度亚组	32	113.61 ± 18.68	94.65 ± 17.94
F 值		142.650	84.621
P 值		<0.001	<0.001

2.4　Logistic 回归分析影响 ARDS 患者 28 d 死亡预后的因素　以 ARDS 患者 28 d 死亡预后为因变量(1 = 死亡,0 = 生存),以 SOFA 评分、APACHE Ⅱ 评分、血清 SPD、甘露糖(原值录入)为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示:SOFA 评分升高、APACHE Ⅱ 评分升高是影响 ARDS 患者预后的危险因素,血清 SPD 升高、甘露糖升高是保护因素(P <0.01),见表 3。

2.5　血清 SPD、甘露糖预测 ARDS 患者 28 d 死亡的价值　绘制血清 SPD、甘露糖预测 ARDS 患者 28 d 死亡的价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 SPD、甘露糖及二者联合预测 ARDS 患者 28 d 死亡预后的 AUC 分别为 0.826、0.895、0.949,二者联合的 AUC 大于单指标检测(Z = 5.021、4.432,P <0.001、0.002),见表 4、图 1。

表 3　Logistic 回归分析影响 ARDS 患者 28 d 死亡预后的因素

Tab. 3　Logistic regression analysis of factors affecting the 28 day mortality prognosis of ARDS patients

变　量	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
SOFA 评分高	0.353	0.137	6.639	<0.001	1.423	1.088 ~ 1.862
APACHEⅡ评分高	0.413	0.144	8.226	<0.001	1.511	1.140 ~ 2.004
SPD 高	−0.572	0.121	22.347	<0.001	0.564	0.445 ~ 0.715
甘露糖高	−0.481	0.136	12.509	<0.001	0.618	0.474 ~ 0.807

3　讨　论

ARDS 是多种原因引起的急性弥漫性肺损伤和急性呼吸衰竭,表现为呼吸窘迫、顽固性低氧血症。ARDS 治疗上多采用允许性高碳酸血症和保护性肺通气策略、早期应用抗生素、良好的液体管理和其他脏器支持等策略,但患者预后仍然较差,病死率较高[8]。目前临床上以氧合指数来判定 ARDS 患者病情严重程

表 2　生存亚组与死亡亚组 ARDS 患者临床资料比较

Tab. 2　Comparison of clinical data between the survival subgroup and the death subgroup of ARDS patients

项　目		生存亚组(n = 81)	死亡亚组(n = 31)	t/χ^2 值	*P* 值
男[例(%)]		51(62.96)	20(64.52)	0.023	0.879
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		65.96 ± 6.35	67.65 ± 6.14	1.271	0.206
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)		24.56 ± 2.60	24.20 ± 2.49	0.663	0.509
ARDS 病因[例(%)]	肺部感染	41(50.62)	16(51.61)	0.022	0.989
	脓毒症	26(32.10)	10(32.26)		
	重症胰腺炎	14(17.28)	5(16.13)		
吸烟史[例(%)]		30(37.04)	14(45.16)	0.620	0.431
饮酒史[例(%)]		29(35.80)	13(41.94)	0.360	0.549
高血压史[例(%)]		16(19.75)	10(32.26)	1.967	0.161
糖尿病史[例(%)]		8(14.29)	5(19.23)	0.325	0.568
心率($\bar{x} \pm s$,次/min)		92.34 ± 9.13	91.87 ± 8.60	0.248	0.805
动脉血氧分压($\bar{x} \pm s$,mmHg)		86.50 ± 9.06	88.19 ± 9.51	0.871	0.386
动脉血二氧化碳分压($\bar{x} \pm s$,mmHg)		37.04 ± 4.33	35.32 ± 5.02	1.798	0.075
氧合指数($\bar{x} \pm s$,mmHg)		151.30 ± 20.17	144.24 ± 19.63	1.669	0.098
LVEF($\bar{x} \pm s$,%)		58.04 ± 4.22	56.96 ± 4.50	1.190	0.237
白细胞计数($\bar{x} \pm s$, ×10^9/L)		12.86 ± 1.91	12.15 ± 1.79	1.790	0.076
血小板计数($\bar{x} \pm s$, ×10^9/L)		109.63 ± 12.54	112.08 ± 11.92	1.918	0.058
C 反应蛋白($\bar{x} \pm s$,mg/L)		72.56 ± 11.23	76.05 ± 10.87	1.484	0.141
降钙素原($\bar{x} \pm s$,ng/L)		0.27 ± 0.04	0.28 ± 0.03	1.261	0.210
血肌酐($\bar{x} \pm s$,μmol/L)		114.12 ± 18.23	109.78 ± 16.90	1.149	0.253
血尿素氮($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		5.40 ± 1.25	5.26 ± 1.30	0.525	0.601
总胆固醇($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		4.75 ± 1.03	4.64 ± 1.02	0.507	0.613
三酰甘油($\bar{x} \pm s$,mmol/L)		1.61 ± 0.43	1.52 ± 0.41	1.004	0.318
SOFA 评分($\bar{x} \pm s$,分)		4.81 ± 0.61	5.50 ± 1.03	4.366	<0.001
APACHE Ⅱ 评分($\bar{x} \pm s$,分)		17.08 ± 2.70	20.91 ± 3.06	6.470	<0.001
SPD($\bar{x} \pm s$,μg/L)		169.76 ± 20.68	142.48 ± 22.45	6.099	<0.001
甘露糖($\bar{x} \pm s$,ng/L)		141.05 ± 19.66	103.48 ± 23.31	8.586	<0.001

表 4　血清 SPD、甘露糖预测 ARDS 患者 28 d 死亡的价值分析

Tab. 4　Value analysis of serum SPD and mannose in predicting 28 day mortality in ARDS patients

变　量	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
SPD	145.62 μg/L	0.826	0.781 ~ 0.844	0.784	0.827	0.611
甘露糖	104.34 ng/L	0.895	0.850 ~ 0.939	0.829	0.836	0.665
二者联合		0.949	0.901 ~ 0.985	0.927	0.813	0.740

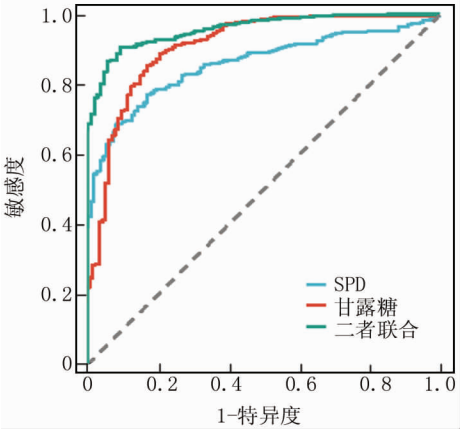


图 1　血清 SPD、甘露糖预测 ARDS 患者 28 d 死亡的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve of serum SPD and mannose predicting 28 day mortality in ARDS patients

度，但该指标对于预后的提示作用有限[9]。因此，寻求有助于 ARDS 预后评估的简便、可靠、特异性的血清指标，对于指导 ARDS 患者的临床治疗意义重大。

SPD 属于哺乳动物 C 型外源性凝集素类家族成员，是由 4 个亚单位通过 N 端连接寡糖组合而成的低聚物，介导钙依赖的受体及配体结合，在免疫调节、炎性反应、减少氧自由基的产生及清除凋亡细胞等过程中发挥生物学效应[10]。SPD 基因 5 号外显子区域 rs2243639 多态性位点的 G 等位基因能够增加慢性阻塞性肺气肿和急性肺损伤的发生风险，是潜在的评估 ARDS 的生物标志物[11]。本研究中，ARDS 患者血清 SPD 降低，并且病情越重，血清 SPD 降低越显著，与既往研究结果一致[4]，该研究证实 COPD 小鼠模型的支气管肺泡灌洗液和血清中 SPD 水平降低，且在 SPD 基因敲除小鼠中观察到动物对臭氧和烟草暴露引起的肺组织高脂质泡沫巨噬细胞的大量聚集和气道炎性反应的增加。上述结果均提示 SPD 降低可促进 ARDS 病情的发生发展。分析其原因，细菌、病毒等感染肺泡上皮细胞后，造成细胞损伤，SPD 分泌减少，血清 SPD 水平下降，而 SPD 的水平降低进一步加重肺泡上皮细胞损伤，血—支气管肺泡屏障功能丧失，血管通透性增加，肺泡内大量渗出液积聚，加重 ARDS 患者病情程度[12]。另外，SPD 作为 C 型凝集素，能够与巨噬细胞表面分子 CD91、CD14 相互作用，调节巨噬细胞的免疫反应，而 SPD 水平降低导致巨噬细胞过度激活，白介素 1 及白介素 6 等促炎细胞因子分泌增加，大量炎性因子导致肺泡上皮细胞的严重脱落、坏死和黏液纤毛清除停止，增加细菌等病原体感染的风险，加重肺泡上皮损伤及 ARDS 患者病情[13]。本研究中，SPD 升高是影响 ARDS 患者 28 d 死亡预后的保护因素。分析其原因，SPD 可以结合到 Toll 样受体 4 上，通过竞争性抑制脂多糖诱导的下游炎性反应信号通路转导，减轻 ARDS 患者肺组织的炎性反应损伤[14]。此外，SPD 能通过胶原蛋白区域及凝集素区域与结合信号调节蛋白 1a 结合，激活 SH2 结构域的肌醇 5-磷酸酶 1 的磷酸酶活性，抑制 p38/丝裂原活化蛋白激酶途径及核因子 κB 途径，抑制肺部炎性反应[15]。在 SPD 基因敲除小鼠构建的模型中，采用人 SPD 重组片段进行治疗，发现其可减少脂质沉积以及肺泡巨噬细胞积累，减少趋化因子和促炎因子的产生，抑制肺泡Ⅱ型细胞增生，降低小鼠的肺损伤程度[16]。因此，SPD 可能成为 COPD 一种新的治疗选择，对指导 ARDS 治疗有重要意义。

甘露糖是葡萄糖的 C2 差向异构体，在细胞内被己糖激酶磷酸化生成 6-磷酸甘露糖，参与蛋白糖基化修饰、调节肠道稳态等生物学过程[17]。本研究中，ARDS 患者血清甘露糖水平降低，并与患者病情程度有关，提示甘露糖的降低促进 ARDS 疾病的发生发展。研究发现[18]，血清甘露糖水平的降低能够增加入住重症监护室患者 ARDS 的发生风险，患者生存率显著降低。笔者分析，甘露糖水平的降低加重 ARDS 患者肺组织的损伤，导致患者病情程度的加重。既往研究发现，甘露糖能够抑制肺泡上皮细胞中髓过氧化物酶活性，恢复超氧化物歧化酶的活性，减轻肺组织中中性粒细胞、巨噬细胞等炎性细胞的浸润，抑制肿瘤坏死因子-α 和白介素-10 的产生，减轻肺水肿和肺泡中的蛋白渗出，改善肺部的组织损伤[19]。另外，甘露糖可通过降低 3-磷酸甘油醛水平，直接抑制巨噬细胞肿瘤坏死因子-α 的产生，通过蛋白 N-糖基化的正常化抑制病理性内质网应激，维持上皮细胞结构的完整性和免疫代谢的稳态[5]。本研究中，甘露糖升高是影响 ARDS 患者 28 d 死亡预后的保护因素。分析其机制，甘露糖能够激活 AMP 活化蛋白激酶，抑制 Gasdermin 家族成员 E 介导的细胞焦亡，发挥肺组织的保护效应。研究表明，己糖胺生物合成途径中的甘露糖水平增加能够上调其代谢产物 N-乙酰葡糖胺-6-磷酸的水平，继而结合 AMP 活化蛋白激酶，促进肝激酶 B1 磷酸化活化 Gasdermin 家族成员 E 的 Thr6 位点，介导 Gasdermin 家

族成员 E 切割天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶-3，抑制细胞焦亡的发生，减轻组织的炎性反应性损伤[20]。另有学者发现，甘露糖能够以剂量依赖的方式阻断促炎性巨噬细胞的氧化应激反应，减轻巨噬细胞的过度激活和吞噬作用，减轻组织炎性反应损伤[21]。本研究中，血清 SPD、甘露糖联合对 ARDS 患者 28 d 死亡预后具有较高的预测价值，两者联合预测具有良好的区分度及准确度，能够评估 ARDS 患者预后情况，从而辅助临床决策。

综上，ARDS 患者血清 SPD、甘露糖水平降低，病情越重，二者水平降低更显著，两者参与 ARDS 的发生发展过程。SOFA 评分、APACHE Ⅱ 评分升高是影响 ARDS 患者 28 d 死亡预后的危险因素，血清 SPD、甘露糖水平升高是保护因素。血清 SPD、甘露糖联合对 ARDS 患者 28 d 死亡预后具有较好的预测价值。但本研究存在一定的局限，为单中心研究，样本较单一，可能存在一定的数据偏倚。另外经笔者的内部验证提示该预测模型的预测值良好，但由于未收集到足够多的数据，所以该研究缺少外部验证，还需要进一步得到更多数据的支持认可。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

魏瑶娜、王鹏飞：提出研究方向，研究思路，研究选题，实施研究过程，数据收集，论文撰写；段炜、梁磊：实施研究过程，文献调研与整理，数据收集，分析整理

参考文献

[1] 王皓飞，胡文瀚，宋倩文，等. 肺泡灌洗液和血浆中外泌体含量与早期急性呼吸窘迫综合征患者肺损伤严重程度及预后的关系[J]. 中华医学杂志，2022，102(13)：935-941. DOI：10.3760/cma.j.cn112137-20211105-02448.

[2] 张龙玉，梁连春，马春华，等. 脓毒症并发急性呼吸窘迫综合征患者血清 FGF21、SP-A 表达及其与预后的关系[J]. 临床和实验医学杂志，2023，22(1)：8-12. DOI：10.3969/j.issn.1671-4695.2023.01.003.

[3] Hou X, Zhang X, Zhang Z. Role of surfactant protein-D in ocular bacterial infection[J]. Int Ophthalmol, 2022, 42(11): 3611-3623. DOI: 10.1007/s10792-022-02354-x.

[4] Hsieh MH, Chen PC, Hsu HY, et al. Surfactant protein D inhibits lipid-laden foamy macrophages and lung inflammation in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(1): 38-50. DOI: 10.1038/s41423-022-00946-2.

[5] Xiao P, Hu Z, Lang J, et al. Mannose metabolism normalizes gut homeostasis by blocking the TNF-alpha-mediated proinflammatory circuit[J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(2): 119-130. DOI: 10.1038/s41423-022-00955-1.

[6] Liu SS, Gao Y, Yin SP, et al. Expression of Narcissus pseudonarcissus lectin and mannose receptor positive macrophages predict progression and prognosis of patients with gastric cancer[J]. Transl Cancer Res, 2020, 9(10): 5979-5993. DOI: 10.21037/tcr-20-1459.

[7] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南(2006)[J]. 中华急诊医学杂志，2007，16(4)：343-349. DOI：10.3760/j.issn:1671-0282.2007.04.002.

[8] 强蕾. APRV 和 SIMV + PSV 机械通气模式对于急性呼吸窘迫综合征患者治疗效果的影响[J]. 中国社区医师，2020，36(25)：59-60. DOI：10.3969/j.issn.1007-614x.2020.25.029.

[9] 李茂新，李秋玲，刘嘉欣. 急性呼吸窘迫综合征的诊疗研究进展[J]. 疑难病杂志，2021，20(3)：304-309. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2021.03.021.

[10] Salvioni L, Testa F, Sulejmani A, et al. Surfactant protein D (SP-D) as a biomarker of SARS-CoV-2 infection[J]. Clin Chim Acta, 2022, 537: 140-145. DOI: 10.1016/j.cca.2022.10.013.

[11] Rizvi Z, Choudhry N, Gondal AJ, et al. Association of surfactant protein D single nucleotide polymorphisms rs721917, rs2243639, rs3088308 with recurrent aphthous stomatitis in pakistani population[J]. Genes (Basel), 2023, 14(5): 1119-1129. DOI: 10.3390/genes14051119.

[12] Peukert K, Seeliger B, Fox M, et al. SP-D serum levels reveal distinct epithelial damage in direct human ARDS[J]. J Clin Med, 2021, 10(4): 737-748. DOI: 10.3390/jcm10040737.

[13] Peukert K, Sauer A, Seeliger B, et al. Increased alveolar epithelial damage markers and inflammasome-regulated cytokines are associated with pulmonary superinfection in ARDS[J]. J Clin Med, 2023, 12(11): 3649-3659. DOI: 10.3390/jcm12113649.

[14] Hou X, Zhang X, Zhang Z. Role of surfactant protein-D in ocular bacterial infection[J]. Int Ophthalmol, 2022, 42(11): 3611-3623. DOI: 10.1007/s10792-022-02354-x.

[15] Kishore U, Bulla R, Maden T. Editorial: Odyssey of surfactant proteins SP-A and SP-D: Innate immune surveillance molecules[J]. Front Immunol, 2020, 11(8): 394-408. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00394.

[16] Attias CS, Kingma PS, Whitsett JA, et al. SP-D loaded PLGA nanoparticles as drug delivery system for prevention and treatment of premature infant's lung diseases[J]. Int J Pharm, 2020, 585(6): 1193-1207. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119387.

[17] Kyriakdes R, Jones P, Somani BK. Role of d-mannose in the prevention of recurrent urinary tract infections: Evidence from a systematic review of the literature[J]. Eur Urol Focus, 2021, 7(5): 1166-1169. DOI: 10.1016/j.euf.2020.09.004.

[18] Wei Y, Huang H, Zhang R, et al. Association of serum mannose with acute respiratory distress syndrome risk and survival[J]. JAMA Netw Open, 2021, 4(1): 2034-2049. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.34569.

[19] Fagbohun OF, Thilakarathna WPDW, Zhou J, et al. Sea cucumber and blueberry extracts suppress inflammation and reduce acute lung injury through the regulation of NF-κB/MAPK/JNK signaling pathway in lipopolysaccharide-treated C57BL/6 Mice[J]. Molecules, 2024, 29(7): 1511-1520. DOI: 10.3390/molecules29071511.

[20] Ai YL, Wang WJ, Liu FJ, et al. Mannose antagonizes GSDME-mediated pyroptosis through AMPK activated by metabolite GlcNAc-6P[J]. Cell Res, 2023, 33(12): 904-922. DOI: 10.1038/s41422-023-00848-6.

[21] Wang J, Jalali MN, Wang C, et al. D-mannose suppresses oxidative response and blocks phagocytosis in experimental neuroinflammation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(44): 1119-1128. DOI: 10.1073/pnas.2107663118.

（收稿日期：2024－04－12）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 007

论著 · 临床

胃息肉切除术前 GAS、MTL、PGs 及 Ghrelin 水平特征对术后胃息肉复发的预测价值

杨玲和，张梦霞，乔琨，高峰

作者单位：830000　乌鲁木齐，新疆维吾尔自治区人民医院消化内科/新疆消化系统疾病临床医学研究中心
通信作者：高峰，E-mail：1531878764@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探讨胃息肉切除术前胃泌素（GAS）、胃动素（MTL）、胃蛋白酶原（PGs）及胃饥饿素（Ghrelin）水平对术后胃息肉复发的预测价值。**方法**　选择 2019 年 5 月—2021 年 12 月新疆维吾尔自治区人民医院消化内科诊治胃息肉切除术后患者 128 例作为研究对象，患者均在术后持续随访 2 年，根据胃息肉是否复发划分为未复发组（n = 86）和复发组（n = 42）。检测并比较 2 组患者手术治疗前 GAS、MTL、PGs 及 Ghrelin 等胃肠激素水平；通过 Spearman 相关性分析、单因素及多因素 Logistic 回归分析筛选出胃息肉患者术后复发的独立危险因素，并通过受试者工作特征（ROC）曲线评估各危险因素独立及联合预测胃息肉复发的价值。**结果**　复发组患者内镜下手术时间、存在多个胃息肉比例、最大胃息肉直径 > 2 cm 比例均显著高于未复发组（$Z/\chi^2/P$ = 3.453/0.001、5.965/0.015、7.342/0.007）；术前血清 GAS、MTL、PGⅠ、PGⅡ及 Ghrelin 均显著高于未复发组患者（t/P = 7.736/ < 0.001、5.984/ < 0.001、6.326/ < 0.001、6.420/ < 0.001、6.326/ < 0.001）；Spearman 相关性分析表明，胃息肉切除术治疗患者内镜下手术时间、存在多个胃息肉、最大胃息肉直径 > 2 cm、血清 GAS、MTL、PGⅠ、PGⅡ及 Ghrelin 均与术后胃息肉复发呈正相关（r/P = 0.306/ < 0.001、0.216/0.014、0.239/0.006、0.563/ < 0.001、0.453/ < 0.001、0.486/ < 0.001、0.484/ < 0.001、0.458/ < 0.001）；多因素 Logistic 回归分析发现，血清 GAS、MTL、PGⅠ、PGⅡ及 Ghrelin 升高均是胃息肉术后患者疾病复发的重要独立危险因素［OR（95% CI）= 1.394（1.086 ~ 1.789）、1.098（1.031 ~ 1.169）、1.081（1.026 ~ 1.139）、1.793（1.264 ~ 2.542）、1.059（1.007 ~ 1.114）］；血清 GAS、MTL、PGⅠ、PGⅡ、Ghrelin 及五项联合预测胃息肉切除术后患者疾病复发的 AUC 分别为 0.846、0.778、0.799、0.798、0.781 及 0.984，五项联合预测的价值大于各指标独立预测的价值（Z/P = 3.014/ < 0.001、3.666/ < 0.001、3.354/ < 0.001、3.355/ < 0.001、3.462/ < 0.001）。**结论**　胃息肉术后患者血清 GAS、MTL、PGs 及 Ghrelin水平与胃息肉复发存在显著相关性，密切监测患者胃肠激素水平变化对于早期预测胃息肉复发、及时干预、改善患者预后均具有重要临床意义。

【关键词】 胃息肉；胃肠激素；术后复发；预测价值
【中图分类号】 R573　　【文献标识码】 A

Predictive value of GAS, MTL, PGs and Ghrelin levels before resection of gastric polyps on postoperative recurrence of gastric polyps

Yang Linghe, Zhang Mengxia, Qiao Kun, Gao Feng. Department of Gastroenterology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, *China*
Corresponding author: Gao Feng, E-mail: 1531878764@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the predictive value of preoperative gastrin (GAS), motilin (MTL), pepsinogen (PGs) and Ghrelin levels in postoperative recurrence of gastric polyps. **Methods**　One hundred and twenty-eight patients who underwent gastric polypectomy at People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region between May 2019 and December 2021 were included in this study. All patients were followed up for a duration of 2 years. Based on the recurrence of gastric polyps, they were categorized into two groups: non-recurrent group (n = 86) and recurrent group (n = 42). The general clinical information, as well as surgical and pathological data, were collected and compared between the two groups. Additionally, the levels of gastrointestinal hormones such as GAS, MTL, PGs, and Ghrelin were measured and compared prior to the operation. Spearman correlation analysis, univariate, and multivariate Logistic regression analysis were conducted to identify the risk factors for postoperative recurrence of gastric polyps. Furthermore, the independent and combined predictive value for gastric polyp recurrence was evaluated using a receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results**　The recurrent group showed significantly longer duration for endoscopic operations, a higher prevalence of multiple gastric pol-

yps, and a higher proportion of patients with a maximum gastric polyp diameter > 2cm compared to the non-recurrent group ($Z/\chi^2/P$ = 3.453/0.001, 5.965/0.015, 7.342/0.007). Additionally, the average preoperative serum levels of GAS, MTL, PG Ⅰ, PG Ⅱ, and Ghrelin were significantly higher in the recurrent group compared to the non-recurrent group (t/P = 7.736/ < 0.001, 5.984/ < 0.001, 6.326/ < 0.001, 6.420// < 0.001, 6.326/ < 0.001). Spearman correlation analysis showed that endoscopic operation time, multiple gastric polyps, maximum diameter of gastric polyps > 2 cm, serum GAS, MTL, PG Ⅰ, PG Ⅱ and Ghrelin were positively correlated with postoperative recurrence of gastric polyps (r/P = 0.306/ < 0.001, 0.216/0.014, 0.239/0.006, 0.563/ < 0.001, 0.453/ < 0.001, 0.486/ < 0.001, 0.484/ < 0.001, 0.458/ < 0.001). Multivariate Logistic regression analysis, indicated that elevated serum levels of GAS, MTL, PG Ⅰ, PG Ⅱ, and Ghrelin were significant risk factors for recurrence in postoperative patients with gastric polyps [*OR (95% CI)* = 1.394 (1.086 − 1.789), 1.098 (1.031 − 1.169), 1.081 (1.026 − 1.139), 1.793 (1.264 − 2.542), 1.059 (1.007 − 1.114)]. Furthermore, the predictive efficacy of serum levels of GAS, MTL, PG Ⅰ, PG Ⅱ, and Ghrelin in determining disease recurrence after gastric polypectomy was noteworthy, with improved accuracy when combined together (Z = 3.014/ < 0.001, 3.666/ < 0.001, 3.354/ < 0.001, 3.355/ < 0.001, 3.462/ < 0.001). **Conclusion**　The presence of gastric polyps in postoperative patients has been found to have a significant correlation with the levels of serum GAS, MTL, PGs, and Ghrelin. In order to predict and prevent the recurrence of gastric polyps, it is clinically important to closely monitor the levels of gastrointestinal hormones in these patients. This timely intervention can greatly improve the prognosis and overall outcome.

【Key words】　Gastric polyps; Gastrointestinal hormones; Postoperative recurrence; Predictive value

胃息肉患者早期通常不会伴随特异性症状,部分患者随着疾病进展可能会出现食欲不振、上腹部疼痛等症状[1]。目前,胃息肉的诊断主要依赖于胃镜检查和病理活检[2]。由于症状的隐匿性和胃镜检查的普及率有限,许多胃息肉患者在被确诊时已存在多发情况[3]。镜下切除手术仍是目前胃息肉的主要治疗方法,但患者术后存在较高复发风险[4]。既往研究中,胃泌素(gastrin,GAS)、胃动素(motilin,MTL)及胃蛋白酶原(pepsinogen,PG)等胃肠激素因其检测的快捷性及准确性,被广泛应用于癌前病变与胃癌的筛查[5-7]。此外,胃饥饿素(Ghrelin)作为生长素促分泌素受体的内源性配体,除参与胃肠动力障碍性疾病的发生发展外,可能也与胃良、恶性增生性疾病有关[8-9]。基于此,本研究旨在探讨胃息肉切除术前胃肠激素水平特征对术后胃息肉复发的预测价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　回顾性选取 2019 年 5 月—2021 年 12 月新疆维吾尔自治区人民医院消化内科诊治胃息肉切除术后患者 128 例作为研究对象,根据胃息肉切除术后 2 年内是否复发分为未复发组(n = 86)和复发组(n = 42)。2 组患者性别、年龄、吸烟史、饮酒史、合并基础疾病、手术类型、术中出血量、病变部位等比较,差异均无统计学意义(P > 0.05);复发组患者内镜下手术时间、存在多个胃息肉比例、最大胃息肉直径 > 2 cm比例均高于未复发组,差异有统计学意义(P < 0.05),见表 1。本研究经医院医学伦理委员会审批(KY20240227041),全部患者或家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①所有患者均接受胃镜检查确诊为胃息肉[10];②符合胃镜下黏膜切除术、黏膜下剥离术等胃息肉手术治疗指证[11];③术前实验室检验结果、手术相关指证等病例资料均完整可取;④首次接受胃息肉手术治疗。(2)排除标准:①合并幽门螺杆菌、乙型肝炎病毒等慢性感染;②既往接受过胃镜下治疗;③合并胃穿孔、十二指肠穿孔等胃镜检查及治疗的绝对禁忌证;④合并克罗恩病、胃食管反流病等消化道系统疾病;⑤入院时患者意识模糊,无法开展镜下手术治疗;⑥合并消化系统或任何部位恶性肿瘤;⑦患者术后失访或全因性死亡。

1.3　观察指标与方法　胃肠激素检测:患者均于手术治疗前抽取空腹肘静脉血 3 ml,在室温下离心获得上层血清,通过酶联免疫吸附法及对应试剂盒测定各组患者血清中 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 的表达水平。其中 GAS、MTL、PG Ⅰ试剂盒购自上海优科唯生物科技有限公司(货号 YKW-10647、YKW-10648、YKW-10650);PG Ⅱ试剂盒购自上海禹绍生物科技有限公司(货号 YS-F10515);Ghrelin 试剂盒购自上海欣维宇生物科技有限公司(货号 XWY13405)。所有样本均在玉衡星曜-200B 全波长多功能酶标仪(购自南京炯创科技有限公司)中进行 OD 值检测。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 27.0 软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;非正态分布计量资料以 M(Q_1,Q_3)表示,组间比较采用 M-W 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;Spearman 相关性检验、单因素及多因素 Logistic 回归分析筛选出

胃息肉患者术后复发的危险因素；受试者工作特征（ROC）曲线评价各危险因素独立及联合对胃息肉患者术后复发的预测效能。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组患者胃肠激素指标比较　复发组患者术前血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 均高于未复发组患者（$P<0.01$），见表 2。

2.2　疾病特征、胃肠激素水平与胃息肉切除术后患者疾病复发的相关性　Spearman 相关性分析表明，胃息肉切除术治疗患者内镜下手术时间、存在多个胃息肉、最大胃息肉直径 > 2 cm、胃肠激素（血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin）均与术后胃息肉复发呈显著正相关（r/P = 0.306/<0.001、0.216/0.014、0.239/0.006、0.563/<0.001、0.453/<0.001、0.486/<0.001、0.484/<0.001、0.458/<0.001）。

2.3　多因素 Logistic 回归分析胃息肉术后患者疾病复发的危险因素　以胃息肉术后患者疾病复发为因变量（赋值：是为“1”；否为“0”），以上述结果中 $P<0.05$ 项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示：血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 升高均是胃息肉术后患者疾病复发的独立危险因素（$P<0.05$），见表 3。

表 3　多因素 Logistic 回归分析胃息肉术后患者疾病复发的影响因素

Tab. 3　Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting disease recurrence in patients after gastric polyp surgery

项　目	β 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
内镜下手术时间长	0.163	0.087	3.548	0.060	1.177	0.933 ~ 1.395
胃息肉多个	0.234	0.111	2.134	0.156	1.413	0.913 ~ 2.345
胃息肉直径 > 2 cm	0.301	0.144	2.213	0.152	1.342	0.945 ~ 1.891
GAS 高	0.332	0.127	6.815	0.009	1.394	1.086 ~ 1.789
MTL 高	0.094	0.032	8.544	0.003	1.098	1.031 ~ 1.169
PG Ⅰ高	0.078	0.027	8.644	0.003	1.081	1.026 ~ 1.139
PG Ⅱ高	0.584	0.178	10.738	0.001	1.793	1.264 ~ 2.542
Ghrelin 高	0.057	0.026	4.993	0.025	1.059	1.007 ~ 1.114

表 1　未复发组与复发组患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between non recurrence group and recurrence group patients

项　目		未复发组（n = 86）	复发组（n = 42）	Z/χ^2 值	*P* 值
性别［例（%）］	男	44（51.16）	24（57.14）	0.405	0.524
	女	42（48.84）	18（42.86）		
年龄［$M(Q_1, Q_3)$，岁］		51（48，54）	52（49，55）	1.323	0.186
吸烟史［例（%）］		34（39.53）	18（42.86）	0.129	
饮酒史［例（%）］		27（31.40）	15（35.71）	0.239	0.625
合并基础疾病［例（%）］	高血压	31（36.05）	19（45.24）	1.002	0.317
	糖尿病	23（26.74）	16（38.10）	1.716	0.190
手术类型［例（%）］	黏膜切除术	28（32.56）	16（38.10）	0.384	0.536
	黏膜下剥离术	58（67.44）	26（61.90）		
术中出血量［例（%）］	<100 ml	55（63.95）	22（52.38）	1.577	0.209
	≥100 ml	31（36.05）	20（47.62）		
病变部位［例（%）］	胃窦	9（10.47）	5（11.90）	0.318	0.853
	胃体	33（38.37）	14（33.33）		
	胃底	44（51.16）	23（54.76）		
内镜下手术时间［$M(Q_1, Q_3)$，min］		44（41，47）	49（43，52）	3.453	0.001
胃息肉数量［例（%）］	单个	42（48.84）	11（26.19）	5.965	0.015
	多个	44（51.16）	31（73.81）		
最大胃息肉直径［例（%）］	≤2 cm	62（72.09）	20（47.62）	7.342	0.007
	>2 cm	24（27.91）	22（52.38）		

表 2　未复发组与复发组患者间胃肠激素指标比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of gastrointestinal hormone indicators between patients in the non recurrent group and the recurrent group

组　别	例数	GAS（pmol/L）	MTL（ng/L）	PG Ⅰ（μg/L）	PG Ⅱ（μg/L）	Ghrelin（pmol/L）
未复发组	86	22.56 ± 3.16	242.06 ± 20.53	170.08 ± 21.99	14.37 ± 3.04	166.79 ± 19.79
复发组	42	27.97 ± 4.66	265.91 ± 22.43	197.48 ± 25.01	18.32 ± 3.68	192.25 ± 24.34
t 值		7.736	5.984	6.326	6.420	6.326
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4　血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 预测胃息肉切除术后患者疾病复发的价值　绘制血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 预测胃息肉切除术后患者疾病复发的价值 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ、Ghrelin 及五项联合预测胃息肉切除术后患者疾病复发的 AUC 分别为 0.846、0.778、0.799、0.798、0.781 及 0.984，五项联合预测的价值大于各指标独立预测的价值（Z/P = 3.014/ < 0.001、3.666/ < 0.001、3.354/ < 0.001、3.355/ < 0.001、3.462/ < 0.001），见表 4、图 1。

表 4　胃肠激素独立及联合预测胃息肉切除术后患者疾病复发的价值

Tab. 4　The value of independent and combined gastrointestinal hormones in predicting disease recurrence in patients after gastric polypectomy

项　目	*cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
GAS	26.68 pmol/L	0.846	0.771 ~ 0.922	0.667	0.930	0.597
MTL	259.52 ng/L	0.778	0.691 ~ 0.865	0.643	0.791	0.434
PG Ⅰ	178.31 μg/L	0.799	0.717 ~ 0.881	0.810	0.686	0.496
PG Ⅱ	16.70 μg/L	0.798	0.712 ~ 0.884	0.738	0.779	0.517
Ghrelin	178.67 pmol/L	0.781	0.696 ~ 0.867	0.714	0.744	0.459
五项联合		0.984	0.969 ~ 0.999	0.885	0.900	0.785

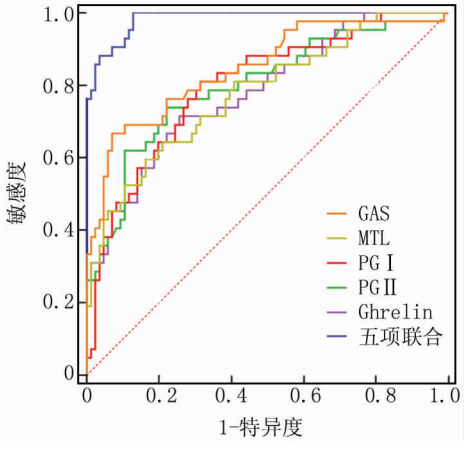


图 1　胃肠激素独立及联合预测胃息肉切除术后患者疾病复发的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curves of independent and combined prediction of disease recurrence in patients undergoing gastric polypectomy using gastrointestinal hormones

3　讨　论

胃息肉为胃黏膜上皮组织乳头状、突起状异常生长的组织。大部分胃息肉患者临床症状不典型，但随着胃息肉逐渐增大，患者罹患胃癌的风险也逐渐增加，因此在发现胃息肉后应及时进行手术切除治疗避免疾病进展[12]。尽管随着胃镜检查及镜下治疗技术的不断发展，胃息肉患者术后恢复较快且预后良好，但仍有研究报道胃息肉患者术后仍存在较高的复发风险[13]。影响胃息肉切除术后患者复发的因素较多，既往研究认为息肉大小、息肉病理类型等均与术后胃息肉复发及息肉癌变存在相关性，但上述指标存在检查复杂、主观判断程度影响较大等不足[14]。因此，寻找具有预测胃息肉切除术后复发价值的血清学检验指标以指导息肉的治疗及术后随访具有一定临床价值。

在本研究中，胃息肉术后复发患者内镜下手术时间、存在多个胃息肉比例、最大胃息肉直径 > 2 cm 比例均显著高于未复发组患者，但上述因素均不是影响患者胃息肉复发的危险因素，与既往研究结论具有差异。既往研究发现，如果患者胃息肉的直径超过2 cm，特别是患有腺瘤性息肉的情况下，存在着较高的癌变风险[15]。随着息肉直径的增大，癌变的概率也会增加。腺瘤性息肉组织中含有绒毛状组织，该组织可能具有细胞分裂和生长速度较快的特点[16]。因此，这种组织在生长过程中有可能发生恶变，并且可能发展成为不受机体调控的异常增生组织。此外，胃镜下息肉切除术可能存在不完全切除的风险，从而增加了术后复发的可能性。一些接受高频电凝电切术治疗的患者可能由于息肉边缘结构在胃镜下不清晰，导致病变组织切除不完整，进而也会增加复发的风险[17]。

此外，复发组患者血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 均显著高于未复发组患者，Spearman 相关性分析及多因素 Logistic 回归分析发现，血清 GAS、MTL、PG Ⅰ、PG Ⅱ及 Ghrelin 升高均是胃息肉术后患者疾病复发的重要危险因素，且各因素独立及联合预测胃息肉切除术后患者疾病复发的效能均较高。分析原因，胃窦 G 细胞合成并分泌 GAS，其主要生理作用是直接或间接促进胃酸分泌，并在增殖、分化和血管生成方面对胃黏膜上皮细胞起到促进作用。此外，GAS 在胃癌和胃神经内分泌肿瘤的发生和发展中也具有一定预测价值。既往研究表明，高 GAS 血症被认为是癌前病变的一个重要预测指标，这提示 GAS 可能是增生性胃底腺息肉复发的一个重要危险因素[18]。PG 是一种胃蛋白酶前体，主要包括 PG Ⅰ和 PG Ⅱ亚型。PG Ⅰ和 PG Ⅱ均反映胃黏膜的腺体数量和胃黏膜在不同部位的分泌水平。当胃黏膜发生萎缩、化生或癌变时，会导致血清中的 PG Ⅰ水平下降。以往的研究认为，PG 可以作为浅表性胃炎、糜烂性胃炎、消化性溃疡等胃部疾病的初步筛查指标和治疗监测指标。当胃黏膜受到刺激或发

生炎性反应时,胃黏膜细胞的分泌能力会增强,导致 PG 的血清水平显著升高[19]。循环 Ghrelin 主要来源于胃,其通过刺激食欲和促进脂肪积聚来增加体质量,同时可以促进胃肠运动和胃酸分泌。在肿瘤、肥胖和胃肠道功能紊乱等疾病中,Ghrelin 的作用也越来越受到关注,但其具体作用仍存在一些争议[20]。有研究认为,Ghrelin 介导的细胞因子抑制作用与许多消化系统疾病的临床预后有关。例如,萎缩性胃炎患者的血浆 Ghrelin 浓度明显降低,并且与胃黏膜病变的严重程度相关[21]。然而,慢性胃炎患者的血浆 Ghrelin 水平却明显升高。因此,关于 Ghrelin 对于胃息肉患者术后复发的预测价值仍有待进一步探究。

由于本研究仅在单中心纳入符合要求的患者并进行随访,最终纳入的病例数相对较少,后期将通过与其他中心合作开展多中心大样本量的研究,以进一步明确本研究结论的准确性,并验证基于 GAS、MTL、PGs 及 Ghrelin 预测模型的有效性。综上所述,胃息肉患者术前 GAS、MTL、PGs 及 Ghrelin 水平与术后胃息肉复发存在显著相关性,密切监测患者胃肠激素水平变化对于早期预测胃息肉复发、及时干预、改善患者预后均具有重要临床意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨玲和:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;张梦霞、乔琨:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析;高峰:课题设计,论文审核

参考文献

[1] 柏鸽,周喜汉,于莹莹,等. 胃息肉发病相关因素研究进展[J]. 山东医药, 2020, 60 (24): 100-103. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2020. 24. 027.

[2] Carneiro F. Familial and hereditary gastric cancer, an overview[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2022, 21 (10): 58-59. DOI: 10. 1016/j. bpg. 2022. 101800.

[3] 李转,苏红霞,路红,等. 胃息肉的诊治进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2020, 29 (1): 93-98. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5709. 2020. 01. 021.

[4] 牟肖梅. 无痛胃镜下治疗胃息肉的应用进展[J]. 中国实用医药, 2021, 16 (17): 203-205. DOI: 10. 14163/j. cnki. 11-5547/r. 2021. 17. 076.

[5] Waldum H, Fossmark R. Gastritis, gastric polyps and gastric cancer[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (12): 6548. DOI: 10. 3390/ijms22126548.

[6] 卢燕军,刘学文,刘华峰,等. 胃泌素-17 和血清胃蛋白酶原对胃癌及癌前病变的诊断价值[J]. 基层医学论坛, 2022, 26 (31): 63-65. DOI: 10. 19435/j. 1672-1721. 2022. 31. 021.

[7] 莫辛,李剑钢,郭宝峰. 胃癌根治术后血清微小 RNA-92a、X 型胶原 α1 链、胃泌素、胃动素水平与其预后的关系[J]. 中国临床医生杂志, 2024, 52 (1): 68-71. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-8552. 2024. 01. 020.

[8] Takemi S, Sakata I, Kuroda K, et al. The important role of ghrelin on gastric contraction in Suncus murinus[J]. Endocr J, 2017, 64 (Suppl.): S11-S14. DOI: 10. 1507/endocrj. 64. S11.

[9] 陈吉,崔晓婷. 瘦素和胃促生长素在胃黏膜癌变过程中表达及相关性的研究[J]. 国际消化病杂志, 2018, 38 (1): 42-47. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-534X. 2018. 01. 010.

[10] 唐文娟,李永强,陈慧婷,等.《欧洲胃肠内镜学会关于上消化道及肝胰腺胆道的内镜下组织活检指南》解读[J]. 广州医药, 2023, 54 (5): 14-20. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-8535. 2023. 03. 003.

[11] 孟立峰. 无痛胃镜下手术治疗胃息肉的研究进展[J]. 中国城乡企业卫生, 2022, 37 (8): 50-52. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6586. 2024. 05. 021.

[12] 苏红霞,李转,关泉林,等. 胃息肉发生相关危险因素的研究现状[J]. 兰州大学学报:医学版, 2020, 46 (3): 69-74. DOI: 10. 13885/j. issn. 1000-2812. 2020. 03. 012.

[13] 孟立峰. 无痛胃镜下手术治疗胃息肉的研究进展[J]. 中国城乡企业卫生, 2022, 37 (8): 50-52. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6586. 2024. 05. 021.

[14] Kim Y, Kang S, Ahn JY, et al. Risk factors associated with recurrence of gastric hyperplastic polyps: a single-center, long-term, retrospective cohort study[J]. Surg Endosc, 2023, 37 (10): 7563-7572. DOI: 10. 1007/s00464-023-10194-8

[15] 覃姝媚,徐杨. 胃息肉临床诊治研究进展[J]. 中南大学学报:医学版, 2020, 45 (1): 74-78. DOI: 10. 11817/j. issn. 1672-7347. 2020. 180521.

[16] Forté E, Petit B, Walter T, et al. Risk of neoplastic change in large gastric hyperplastic polyps and recurrence after endoscopic resection [J]. Endoscopy, 2020, 52 (6): 444-453. DOI: 10. 1055/a-1117-3166.

[17] Joao M, Areia M, Alves S, et al. Gastric hyperplastic polyps: A benign entity? Analysis of recurrence and neoplastic transformation in a cohort study[J]. GE Port J Gastroenterol, 2021, 28 (5): 328-335. DOI: 10. 1159/000514714.

[18] Chen H, Wu Y, Ma Y, et al. Analysis of risk factors for postoperative bleeding and polyp recurrence in adolescents with gastric polyps treated with endoscopic mucosal resection: A retrospective cohort study [J]. Transl Pediatr, 2023, 12 (3): 375-386. DOI: 10. 21037/tp-23-43.

[19] Rehfeld JF. Gastrin and the moderate hypergastrinemias[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (13): 6977. DOI: 10. 3390/ijms22136977.

[20] Deloose E, Verbeure W, Depoortere I, et al. Motilin: From gastric motility stimulation to hunger signalling[J]. Nat Rev Endocrinol, 2019, 15 (4): 238-250. DOI: 10. 1038/s41574-019-0155-0.

[21] Gasenko E, Bogdanova I, Sjomina O, et al. Assessing the utility of pepsinogens and gastrin-17 in gastric cancer detection[J]. Eur J Cancer Prev, 2023, 32 (5): 478-484. DOI: 10. 1097/CEJ. 0000000000000791.

(收稿日期:2024 - 05 - 03)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 008

论著 · 临床

血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平与老年糖尿病肾病患者肾脏损伤及预后的相关性

赵辽辽，曹丽，常露元，刘瑜瑜，思雅芳

基金项目：陕西省重点研发计划项目（2019-YBSF-568）
作者单位：719000　陕西榆林，西安交通大学第一附属医院榆林医院肾病学科
通信作者：常露元，E-mail：1002395814@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探讨血清长链非编码 RNA（LncRNA）无远端同源框 6 反义 RNA 1（Dlx6os1）、LncRNA 牛磺酸上调基因 1（TUG1）水平与老年糖尿病肾病（DN）患者肾脏损伤及预后的相关性。**方法**　选取 2019 年 1 月—2021 年 1 月西安交通大学第一附属医院榆林医院肾病学科收治的老年 DN 患者 201 例作为 DN 组，同期单纯 T2DM 患者 112 例作为单纯 T2DM 组，同期体检健康的老年人 105 例作为健康对照组，随访 3 年根据预后将老年 DN 患者分为不良预后亚组（61 例）和良好预后亚组（140 例）。检测血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 和肾脏损伤指标［计算肾小球滤过率（eGFR）、尿白蛋白肌酐比（UACR）］水平；采用 Spearman 相关系数分析血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平与老年 DN 患者肾损伤的相关性；以老年 DN 患者预后为因变量，建立多因素非条件 Logistic 回归模型分析其影响因素，并绘制受试者工作特征（ROC）曲线评价血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平对其的预测价值。**结果**　健康对照组、单纯 T2DM 组、DN 组血清 LncRNA Dlx6os1 和 UACR 水平依次升高，血清 LncRNA TUG1 和 eGFR 依次降低（F/P = 870.484/ <0.001、566.671/ <0.001、271.117/ <0.001、196.722/ <0.001）；Spearman 相关性显示，老年 DN 患者血清 LncRNA Dlx6os1 水平与 eGFR 呈负相关、与 UACR 呈正相关（r/P = −0.816/ <0.001、0.809/ <0.001），血清 LncRNA TUG1 水平与 eGFR 呈正相关、与 UACR 呈负相关（r/P = 0.832/ <0.001、−0.806/ <0.001）；随访截至 2024 年 1 月，老年 DN 患者 201 例不良预后发生率为 30.35%（61/201）；多因素非条件 Logistic 回归显示，慢性肾脏病≥4 期、UACR 升高、LncRNA Dlx6os1 升高为老年 DN 患者不良预后的独立危险因素［OR（95% CI）= 5.758（1.480 ~ 22.401）、1.013（1.005 ~ 1.022）、1.426（1.201 ~ 1.693）］，eGFR 升高、LncRNA TUG1 升高为保护因素［OR（95% CI）= 0.958（0.939 ~ 0.978）、0.418（0.254 ~ 0.689）］；ROC 曲线显示，血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 及二者联合预测老年 DN 患者不良预后的 AUC 分别为 0.774、0.777、0.852，二者联合预测的 AUC 最大（Z/P = 2.930/0.003、3.335/0.001）。**结论**　老年 DN 患者血清 LncRNA Dlx6os1 水平升高、LncRNA TUG1 水平降低，与肾脏损伤加重和不良预后风险增加有关，血清 LncRNA Dlx6os1 联合 LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的效能较高。

【关键词】 糖尿病肾病；长链非编码 RNA；无远端同源框 6 反义 RNA 1；牛磺酸上调基因 1；肾脏损伤；预后；老年人
【中图分类号】 R587.2　　【文献标识码】 A

Correlation of serum LncRNA Dlx6os1 and LncRNA TUG1 levels with renal injury and prognosis in elderly patients with diabetic nephropathy

Zhao Liaoliao, Cao Li, Chang Luyuan, Liu Yuyu, Si Yafang. Department of Nephrology, Yulin Hospital, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Province, Yulin 719000, *China*
Funding program: Shaanxi Province Key R&D Program Project (2019-*YBSF*-568)
Corresponding author: Chang Luyuan, E-mail: 1002395814@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the correlation between serum long non-coding RNA (LncRNA) distal-less homeobox 6 antisense RNA 1 (Dlx6os1), LncRNA taurine up-regulated gene 1 (TUG1) levels and renal injury and prognosis in elderly diabetic nephropathy (DN) patients. **Methods**　Two hundred and one elderly DN patients admitted to the Department of Nephrology, Yulin Hospital, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from January 2019 to January 2021 were selected as the DN group, 112 patients with pure T2DM during the same period as the pure T2DM group, and 105 healthy elderly people with physical examination during the same period as the control group, and the elderly DN patients were divided into a poor prognosis subgroup (61 cases) according to the 3-year prognosis and a good prognosis subgroup (140 cases). The levels of serum LncRNA Dlx6os1, LncRNA TUG1 and renal injury indicators［estimated glomerular filtration rate (eGFR), urinary albumin creatinine ratio (UACR)］were detected; the correlation between the levels of serum

LncRNA Dlx6os1 and LncRNA TUG1 and renal injury of the elderly patients with DN was analyzed using Spearman's correlation coefficient; a multifactorial unconditional Logistic regression model to analyze the influence factors with the elderly DN patients' prognosis as the dependent variable, a multifactorial unconditional Logistic regression model was established to analyze the influencing factors, and the predictive value of serum LncRNA Dlx6os1 and LncRNA TUG1 levels was evaluated by plotting the receiver operating characteristics (ROC) curves. **Results**　Serum LncRNA Dlx6os1 and UACR levels were sequentially increased and serum LncRNA TUG1 and eGFR were sequentially decreased in the control, T2DM-only, and DN groups (F/P = 870.484/ < 0.001, 566.671/ < 0.001, 271.117/ < 0.001, 196.722/ < 0.001); Spearman's correlation showed that serum LncRNA Dlx6os1 levels were negatively correlated with eGFR and positively correlated with UACR in elderly DN patients (r/P = −0.816/ < 0.001, 0.809/ < 0.001), and serum LncRNA TUG1 levels were positively correlated with eGFR and negatively correlated with UACR (r/P = 0.832/ < 0.001, −0.806/ < 0.001); Follow-up as of January 2024, the incidence of poor prognosis in 201 cases of elderly DN patients was 30.35% (61/201); multifactorial unconditional logistic regression showed that chronic kidney disease stage 4, high UACR, and high LncRNA Dlx6os1 were the independent risk factors for poor prognosis in elderly DN patients [*OR (95% CI)* = 5.758 (1.480 − 22.401), 1.013 (1.005 − 1.022), 1.426 (1.201 − 1.693)], and high eGFR and high LncRNA TUG1 were the independent protective factors [*OR (95% CI)* = 0.958 (0.939 − 0.978), 0.418 (0.254 − 0.689)]; ROC curves showed that the AUCs of serum LncRNA Dlx6os1, LncRNA TUG1, and the combination of the two for predicting poor prognosis in elderly DN patients were 0.774, 0.777, and 0.852, respectively, and the AUCs for the combination of the two were the largest (Z/P = 2.930/0.003, 3.335/0.001). **Conclusion**　Elevated serum LncRNA Dlx6os1 levels and reduced LncRNA TUG1 levels in elderly DN patients are associated with increased risk of aggravated renal injury and poor prognosis, and serum LncRNA Dlx6os1 in combination with LncRNA TUG1 levels are of high value for predicting poor prognosis in elderly DN patients.

【Key words】　Diabetic nephropathy; Long non-coding RNA; Distal-less homeobox 6 antisense RNA 1; Taurine up-regulated gene 1; Kidney injury; Prognosis; Elderly

糖尿病是以高糖为特征的代谢性疾病，2020 年我国 2.604 亿老年人口中超过 30% 为糖尿病患者，其中 2 型糖尿病（type 2 diabetes mellitus，T2DM）占比超过 95%[1-2]。糖尿病肾病（diabetic nephropathy，DN）是糖尿病的主要微血管并发症，严重威胁糖尿病患者生命安全[3]。长链非编码 RNA（long noncoding RNA，LncRNA）能通过调控多种机制参与 DN 的发生发展[4]。无远端同源框 6 反义 RNA 1（distal-less homeobox 6 antisense RNA 1，Dlx6os1）是首个报道参与器官发生并在神经细胞发育中发挥作用的 LncRNA，在 DN 大鼠模型中高表达，并促进 DN 细胞纤维化和炎性反应[5]。牛磺酸上调基因 1（taurine up-regulated gene 1，TUG1）是最早鉴定参与人类疾病的 LncRNA 之一，在 DN 大鼠中低表达，能抑制 DN 细胞纤维化[6]。然而，关于血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平与老年 DN 患者肾脏损伤及预后的相关性鲜见报道，本文对其进行研究，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　回顾性选取 2019 年 1 月—2021 年 1 月西安交通大学第一附属医院榆林医院肾病学科收治的老年 DN 患者 201 例作为 DN 组，女 63 例，男 138 例，年龄 65 ~ 90（75.28 ± 6.21）岁；T2DM 病程 32 ~ 219 个月，中位数 87.00（63.00，127.00）个月；慢性肾脏病分期[7]：1 期 49 例，2 期 69 例，3 期 55 例，4 期 28 例。选择同期单纯 T2DM 患者 112 例作为单纯 T2DM 组，女 35 例，男 77 例，年龄 65 ~ 88（74.80 ± 5.27）岁；T2DM 病程 4 ~ 63 个月，中位数 27.00（13.50，42.00）个月。另选择同期体检健康的老年人 105 例作为健康对照组，女 33 例，男 72 例，年龄 65 ~ 83（74.76 ± 6.07）岁。3 组性别、年龄差异无统计学意义（P > 0.05），具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准（2024033），受试者或家属自愿签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　（1）纳入标准：①年龄≥65 岁；②符合 T2DM[8] 和 DN[9] 诊断标准；③临床病历完整。（2）排除标准：①DN 患者已发展为终末期肾病（ESRD），慢性肾脏病分期 5 期或接受透析治疗；②多囊肾等先天性肾病或合并过敏性紫癜肾炎、狼疮性肾炎、肾病综合征等其他肾疾病；③1 型糖尿病等其他糖尿病类型；④妊娠及哺乳期妇女；⑤近期使用肾毒性药物；⑥恶性肿瘤；⑦血液系统疾病；⑧伴有尿路损伤、感染或梗阻等影响蛋白尿疾病；⑨不能接受随访或失访的老年 DN 患者；⑩自身免疫性疾病。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平检测：于患者入院次日、体检者于体检日清晨采集空腹肘静脉血 3 ml，离心留取血液上清液。取部分血清加入 Trizol 试剂［翌圣生物科技（上海）股份有限公司，货号 19201ES60］提取总 RNA，紫外分光光度计（美国 Quawell，型号 Q5000）鉴定其合格后，利用北京兴怡雅创生物技术有限公司提供的 LnRcute LncRNAcDNA 第

一链合成试剂(货号 KR202)转录合成 cDNA。参考荧光定量 PCR 试剂(北京百奥莱博科技有限公司,货号 WE0147-NAB)说明书进行扩增,2 × Super TaqMan OneStep Buffer 12.5 μl、上游引物 0.5 μl、下游引物 0.5 μl、Probe 0.5 μl、Super OneStep Enzyme 1 μl、cDNA 1 μl、RNase-Free Water 补充至 25 μl;反应条件:逆转录 40 ℃ 20 min 循环 1 次,PCR 预变性 90 ℃ 5 min 循环 1 次,变性 95 ℃ 15 s、退火/延伸 60 ℃ 45 s ,共计循环 40 次。以 GAPDH 为内参,上游引物:5′-CTGATGCCCCCATGTTCGT-3′,下游引物 5′-GCAGGAGGCATTGCTGATGA-3′, LncRNA Dlx6os1 上游引物:5′-GTTCTTATTCCAGCCATTGACCTT-3′, 下游引物 5′-AACTCCTAATTCCTTCTTCCTACCT-3′; LncRNA TUG1 上游引物:5′-AAGCACAGTGCAACACCAAG-3′,下游引物 5′-CAGATGGTGCCAGCAATAGA-3′, 以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 表达水平。

1.3.2　肾脏损伤指标水平检测:于患者入院次日、体检者于体检日清晨采集空腹肘静脉血 3 ml 和中段尿液,离心留取血液和尿液上清液。上述血液和尿液上清液使用肌酐 PA 速率比色法试剂(上海雅吉生物科技有限公司,货号 L1189)检测血清和尿液肌酐水平,尿白蛋白免疫比浊法试剂(深圳市拓普生物科技有限公司,货号 E038-1-1)检测尿白蛋白水平。根据简化 MDRD 方程[10]计算 eGFR = 170 × 血肌酐(μmol/L) − 1.234 × (年龄) − 0.179 × (0.79 女性);计算尿白蛋白肌酐比(urinary albumin to creatinine ratio, UACR) = 尿白蛋白(mg/L)/尿肌酐(g/L)。

1.3.3　预后及分组:通过电话或门诊复查对老年 DN 患者随访 3 年,随访起始于 2019 年 1 年,截至 2024 年 1 月。根据是否发展为 ESRD(eGFR < 15 ml · min^{-1} · 1.73m^{-2}或透析治疗)将老年 DN 患者分为不良和良好预后亚组[11]。

1.4　统计学方法　选用 SPSS 28.0 软件统计分析数据。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行 Student's t 或 One Way Anova 检验,多组间两两比较采用 LSD 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ^2 检验; Spearman 相关系数分析血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平与老年 DN 患者肾损伤的相关性;多因素 Logistic 回归模型分析老年 DN 患者预后的影响因素;应用 MedCalc19.3.1 软件绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评价血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的效能。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　3 组血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 和肾脏损伤指标水平比较　健康对照组、单纯 T2DM 组、DN 组血清 LncRNA Dlx6os1 和 UACR 水平依次升高,血清 LncRNA TUG1 和 eGFR 依次降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

2.2　血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平与老年 DN 患者肾损伤的相关性　Spearman 相关性分析显示,老年 DN 患者血清 LncRNA Dlx6os1 水平与 eGFR 呈负相关,与 UACR 呈正相关(r_s = −0.816、0.809, P 均 < 0.001);血清 LncRNA TUG1 水平与 eGFR 呈正相关,与 UACR 呈负相关(r_s = 0.832、−0.806, P 均 < 0.001)。

2.3　不同预后老年 DN 患者临床资料比较　截至 2024 年 1 月,201 例老年 DN 患者有 61 例进展为 ESRD,不良预后发生率为 30.35% (61/201)。不良预后亚组患者慢性肾脏病 ≥ 4 期比例、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、血肌酐(SCr)高于良好预后亚组,差异有统计学意义($P < 0.01$),2 亚组性别、年龄、T2DM 病程、吸烟、血压、DN 家族史、空腹血糖(FPG)、血脂四项、白蛋白(Alb)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.4　DN 组中 2 亚组血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 和肾脏损伤指标水平比较　与良好预后亚组比较,不良预后亚组患者血清 LncRNA Dlx6os1 和 UACR 水平升高,血清 LncRNA TUG1 和 eGFR 降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

2.5　老年 DN 患者不良预后的多因素非条件 Logistic 回归分析　以老年 DN 患者预后(不良/良好 = 1/0)为因变量,上述结果中有差异项目[慢性肾脏病 ≥ 4 期(是/否 = 1/0)、HbA_{1c}、SCr、eGFR、UACR、LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1(连续变量均原值录入,血肌酐与 eGFR 为衍生关系,故不纳入血肌酐)]为自变量,建

表 1　3 组血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 和肾脏损伤指标水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum LncRNA Dlx6os1, LncRNA TUG1, and kidney injury index levels among three groups

组　别	例数	LncRNA Dlx6os1	LncRNA TUG1	eGFR(ml · min^{-1} · 1.73m^{-2})	UACR(mg/g)
健康对照组	105	1.01 ± 0.06	1.04 ± 0.16	109.25 ± 7.32	7.36 ± 3.57
单纯 T2DM 组	112	1.49 ± 0.20	0.72 ± 0.15	92.00 ± 7.12	22.24 ± 6.60
DN 组	201	2.21 ± 0.32	0.50 ± 0.11	63.01 ± 23.71	100.44 ± 63.61
F 值		870.484	566.671	271.117	196.722
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

表 2　不良预后亚组与良好预后亚组患者临床资料比较

Tab. 2　Comparison of clinical data between poor prognosis subgroup and good prognosis subgroup patients

项　目		良好预后亚组(n=140)	不良预后亚组(n=61)	χ^2/t 值	P 值
性别[例(%)]	男	93(66.43)	45(73.77)	1.064	0.302
	女	47(33.57)	16(26.23)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)		74.73±6.20	76.56±6.09	1.932	0.055
T2DM 病程($\bar{x}\pm s$,月)		91.90±42.06	105.36±49.84	1.843	0.068
慢性肾脏病≥4 期[例(%)]		10(7.14)	18(29.51)	17.726	<0.001
吸烟[例(%)]		42(30.00)	24(39.34)	1.682	0.195
收缩压($\bar{x}\pm s$,mmHg)		146.12±19.36	149.77±7.94	1.894	0.060
舒张压($\bar{x}\pm s$,mmHg)		86.59±12.80	89.67±9.37	1.695	0.092
DN 家族史[例(%)]		14(10.00)	11(18.03)	2.517	0.113
基础病[例(%)]	高血压	32(22.86)	22(36.07)	3.773	0.052
	高脂血症	11(7.86)	8(13.11)	1.372	0.241
	冠心病	11(7.86)	10(16.39)	3.309	0.069
FPG($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		9.27±1.52	9.78±1.72	1.964	0.052
HbA_{1c}($\bar{x}\pm s$,%)		7.63±1.09	8.37±1.32	4.160	<0.001
TC($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		5.11±1.50	5.26±1.79	0.583	0.562
TG($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		1.89±0.67	2.02±0.63	1.288	0.199
HDL-C($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		1.15±0.25	1.14±0.28	0.274	0.784
LDL-C($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		2.87±0.66	2.99±0.55	1.265	0.207
SCr($\bar{x}\pm s$,μmol/L)		163.00±42.10	198.96±72.73	3.607	0.001
Alb($\bar{x}\pm s$,g/L)		34.38±4.63	32.67±6.76	1.804	0.075

表 3　2 亚组 DN 患者血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 和肾脏损伤指标水平比较　($\bar{x}\pm s$)

Tab. 3　Comparison of serum LncRNA Dlx6os1, LncRNA TUG1, and renal injury index levels in two subgroups of DN patients

组　别	例数	LncRNA Dlx6os1	LncRNA TUG1	eGFR($ml\cdot min^{-1}\cdot 1.73m^{-2}$)	UACR(mg/g)
良好预后亚组	140	2.12±0.30	0.53±0.10	69.78±20.09	85.31±49.92
不良预后亚组	61	2.43±0.27	0.42±0.10	47.48±24.24	135.16±77.15
t 值		6.935	7.154	6.303	5.465
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

立非条件 Logistic 回归模型,结果显示,慢性肾脏病≥4 期、UACR 升高、LncRNA Dlx6os1 升高为老年 DN 患者不良预后的独立危险因素,eGFR 升高、LncRNA TUG1 升高为保护因素(P<0.01),见表 4。

2.6　血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的价值　绘制血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 及二者联合预测老年 DN 患者不良预后的 AUC 分别为 0.774、0.777、0.852,二者联合预测的 AUC 最大,差异有统计学意义(Z=2.930、3.335,P=0.003、0.001),见表 5、图 1。

3　讨　论

DN 作为慢性进展性疾病,即使积极应用药物控制血糖、血压和降低尿蛋白,仍有 20% ~30% 患者会发生 ESRD,进而增加 DN 患者心脑血管疾病和全因死亡风险[12-13]。老年 DN 患者因糖尿病知晓率低、治疗依从性差、伴存多种心血管疾病危险因素、日常生活活

表 4　老年 DN 患者不良预后的多因素非条件 Logistic 回归分析

Tab. 4　Multivariate unconditional Logistic regression analysis of poor prognosis in elderly DN patients

变　量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
慢性肾脏病≥4 期	1.751	0.693	6.380	0.012	5.758	1.480 ~ 22.401
HbA_{1c} 高	0.449	0.230	3.806	0.051	1.565	0.998 ~ 2.457
eGFR 高	−0.043	0.010	17.188	<0.001	0.958	0.939 ~ 0.978
UACR 高	0.013	0.004	9.062	0.003	1.013	1.005 ~ 1.022
LncRNA Dlx6os1 高	0.355	0.087	16.442	<0.001	1.426	1.201 ~ 1.693
LncRNA TUG1 高	−0.872	0.254	11.742	<0.001	0.418	0.254 ~ 0.689

表 5　血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的价值

Tab. 5　The value of serum LncRNA Dlx6os1 and LncRNA TUG1 levels in predicting poor prognosis in elderly DN patients

指　标	$Cut\text{-}off$ 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
LncRNA Dlx6os1	2.18	0.774	0.710 ~ 0.830	0.820	0.621	0.441
LncRNA TUG1	0.45	0.777	0.713 ~ 0.832	0.639	0.764	0.404
二者联合		0.852	0.796 ~ 0.898	0.836	0.743	0.579

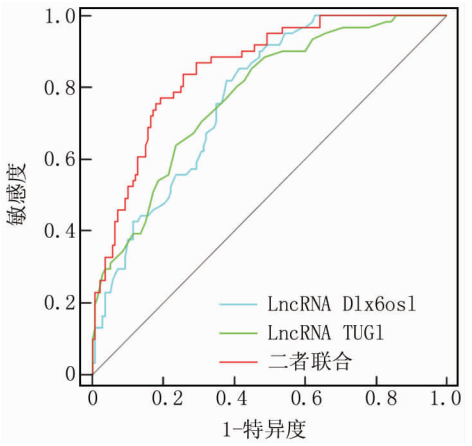


图 1　血清 LncRNA Dlx6os1、LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve of predicting poor prognosis in elderly DN patients based on serum LncRNA Dlx6os1 and LncRNA TUG1 levels

动能力受限等原因，更容易出现肾脏损伤加重，导致严重不良后果[14]。本研究中 30.35% 的老年 DN 患者出现不良预后，稍高于董小伟等[15]报道的 26.25%，考虑与本研究 DN 患者均为老年人有关。

肾脏损伤是 DN 的重要临床表现，以 eGFR 进行性降低和/或持续性蛋白尿（UACR 升高）为主要临床表现[14]。本研究结果显示，健康对照组、单纯 T2DM 组、DN 组 eGFR 依次降低和 UACR 依次升高，且均能独立影响老年 DN 患者预后。说明 DN 患者肾脏明显损伤，且不良预后风险随着肾脏损伤加重而增加，符合其病理变化结果。LncRNA 是长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA，能通过调控微小 RNA（miRNA）在转录和转录后水平上调控多种生物活性，已被证实参与糖尿病及 DN 等的发生发展[4]。LncRNA Dlx6os1 定位于人染色体 7q21.3，有学者发现，LncRNA Dlx6os1 在高糖诱导的小鼠肾小球系膜细胞中高表达，且 LncRNA Dlx6os1靶向的 mRNA 在凋亡和炎性反应相关途径中富集，进一步实验发现敲低 LncRNA Dlx6os1 能抑制小鼠肾小球系膜细胞炎性反应和纤维化[16]。高糖诱导的足细胞损伤模型中，抑制 LncRNA Dlx6os1 能减少足细胞凋亡[17]。高糖诱导的小鼠肾小球系膜细胞模型中，抑制 LncRNA Dlx6os1 能减轻肾小球系膜细胞纤维化和炎性反应[5]。一项临床研究报道，血清 LncRNA Dlx6os1 水平可能作为 DN 诊断的生物标志物[18]。本研究结果显示，老年 DN 患者血清 LncRNA Dlx6os1 水平升高，与 eGFR 呈负相关，与 UACR 呈正相关，是不良预后的独立危险因素，说明血清 LncRNA Dlx6os1 水平升高与肾脏损伤加重及不良预后风险增加有关。分析原因，LncRNA Dlx6os1 能靶向 miR-346 激活糖原合酶激酶-3β，过度活化的糖原合酶激酶-3β 能产生多种促炎因子损伤肾小管、肾小球，加速肾小管、肾小球细胞凋亡和纤维化，导致肾脏损伤加重和不良预后风险增加[19]。同时 LncRNA Dlx6os1 还能上调环磷腺苷反应元件结合蛋白，增加促炎因子、促纤维化基因和促凋亡基因表达，加剧肾脏炎性反应、纤维化和凋亡，进而加重肾损伤和降低预后[20]。

LncRNA TUG1 定位于人染色体 22q12.2，研究发现 LncRNA TUG1 在高糖诱导的小鼠胰岛 β 细胞中下调，上调 LncRNA TUG1 能促进胰岛 β 细胞增殖和抑制凋亡[21]。在 DN 小鼠模型和高糖诱导的肾小管上皮细胞模型中，上调LncRNA TUG1 能减轻肾小管上皮细胞内质网应激和凋亡[22]。高糖诱导的人肾皮质近曲小管上皮细胞模型中，上调 LncRNA TUG1 能减轻细胞炎性反应和纤维化[23]。这些研究提示 LncRNA TUG1 参与糖尿病过程，且与 DN 有关。临床研究报道，DN 患者血清LncRNA TUG1 水平降低，诊断 T2DM 肾病的 AUC 为0.871[24]。本研究结果显示，老年 DN 患者血清LncRNA TUG1 水平降低，与 eGFR 呈正相关，与 UACR 呈负相关，是不良预后的独立危险因素，说明其水平升高与肾脏损伤减轻和不良预后风险降低有关。分析原因，LncRNA TUG1 能结合 TUG1 结合元件增加过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子 1α 转录，改善线粒体能量维持细胞稳态，减轻肾细胞内质网应激和凋亡，进而改善肾脏损伤和预后[25]。LncRNA TUG1 能靶向 miR-145-5p 上调双特异性磷酸酶 6，抑制肾细胞炎性反应和纤维化，进而改善肾脏损伤和预后[23]。同时，LncRNA TUG1 能通过调节线粒体能量和抑制内质网应激、细胞凋亡等，促进胰岛素分泌和信号传递，减轻高血糖对肾脏的损害，降低肾脏损伤和不良预后风险[26]。

本研究结果还显示，慢性肾脏病≥4 期的老年 DN 患者不良预后风险更高，考虑与该类患者肾脏损伤更严重有关。ROC 曲线显示，血清 LncRNA Dlx6os1 联合 LncRNA TUG1 水平预测老年 DN 患者不良预后的曲线下面积为 0.852，大于二者单独预测的 0.774、0.777，说明二者同时检测能更准确地预测老年 DN 患者预后，指导临床医师进行防治。

综上所述，血清 LncRNA Dlx6os1 水平升高及 LncRNA TUG1 水平降低与老年 DN 患者肾脏损伤加重有关，为其不良预后的独立危险因素，血清 LncRNA Dlx6os1 联合 LncRNA TUG1 水平对老年 DN 患者不良

预后有较高的预测价值。但本研究也存在选择偏倚，还需进一步多中心研究验证。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

赵辽辽、常露元：提出研究思路，设计研究方案，实施研究过程，分析试验数据，论文撰写，论文审核；曹丽、刘瑜瑜、思雅芳：资料搜集整理，论文修改，课题设计，进行统计学分析

参考文献

[1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2022, 183: 109119. DOI: 10.1016/j. diabres. 2021. 109119.

[2] 中国老年 2 型糖尿病防治临床指南编写组，中国老年医学学会老年内分泌代谢分会，中国老年保健医学研究会老年内分泌与代谢分会，等. 中国老年 2 型糖尿病防治临床指南（2022 年版）[J]. 中华内科杂志，2022，61（1）：12-50. DOI：10. 3760/cma. j. cn112138-20211027-00751.

[3] 中华医学会全科医学分会，《中国糖尿病肾脏病基层管理指南》编写专家组. 中国糖尿病肾脏病基层管理指南[J]. 中华全科医师杂志，2023，22（2）：146-157. DOI：10. 3760/cma. j. cn114798-20221101-01037.

[4] 邵明玮，卫芳祎，宋怡，等. 长链非编码 RNA 在糖尿病肾病中的研究进展与展望[J]. 中华内分泌代谢杂志，2021，37（11）：1020-1024. DOI：10. 3760/cma. j. cn311282-20201216-00831.

[5] Chen YX, Zhu SY, Huang C, et al. LncRNA Dlx6os1 accelerates diabetic nephropathy progression by epigenetically repressing SOX6 via recruiting EZH2 [J]. Kidney Blood Press Res, 2022, 47 (3): 177-184. DOI: 10. 1159/000520490.

[6] 陈生晓，甘艳，邝才花，等. LncRNA TUG1 靶向调节 miR-21/PTEN 轴抑制糖尿病肾病大鼠肾纤维化的作用机制研究[J]. 东南大学学报：医学版，2023，42（2）：218-227. DOI：10. 3969/j. issn. 1671-6264. 2023. 02. 007.

[7] 上海慢性肾脏病早发现及规范化诊治与示范项目专家组. 慢性肾脏病筛查诊断及防治指南[J]. 中国实用内科杂志，2017，37（1）：28-34. DOI：10. 19538/j. nk2017010108.

[8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南（2017 年版）[J]. 中华糖尿病杂志，2018，10（1）：4-67. DOI：10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2018. 01. 003.

[9] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J]. 中华糖尿病杂志，2019，11（1）：15-28. DOI：10. 3760/cma. j. issn. 1674-5809. 2019. 01. 004.

[10] 全国 EGFR 课题协作组. MDRD 方程在我国慢性肾脏病患者中的改良和评估[J]. 中华肾脏病杂志，2006，22（10）：589-595. DOI：10. 3760/j. issn：1001-7097. 2006. 10. 002.

[11] 苗素芳，张维娜，张姣姣. 血清 Zonulin 和 Metrnl 水平与糖尿病肾病患者病情及预后的关系[J]. 新疆医科大学学报，2023，46（11）：1513-1518. DOI：10. 3969/j. issn. 1009-5551. 2023. 11. 018.

[12] 中华医学会肾脏病学分会专家组. 糖尿病肾脏疾病诊断、预后评估和生物标志物应用专家共识[J]. 中华肾脏病杂志，2022，38（8）：771-784. DOI：10. 3760/cma. j. cn441217-20220106-00112.

[13] 何德娇，凌娜，李正翔，等. LncRNA ZEB1-AS1 和 LncRNA SOX2OT 在糖尿病肾病患者中的表达及与肾功能的相关性研究[J]. 疑难病杂志，2024，23（7）：809-813. DOI：10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2024. 07. 009.

[14] 国家老年医学中心，中华医学会老年医学分会，中国老年保健协会糖尿病专业委员会. 中国老年糖尿病诊疗指南（2024 版）[J]. 中华糖尿病杂志，2024，16（2）：147-189. DOI：10. 3760/cma. j. cn115791-20240112-00020.

[15] 董小伟，房勃龙，齐琳，等. 尿铜蓝蛋白、肾损伤因子 1 与糖尿病肾病患者肾功能的关系及对预后不良的预测价值研究[J]. 现代生物医学进展，2023，23（11）：2083-2088. DOI：10. 13241/j. cnki. pmb. 2023. 11. 016.

[16] Cheng L, Cheng J, Peng W, et al. Long non-coding RNA Dlx6os1 serves as a potential treatment target for diabetic nephropathy via regulation of apoptosis and inflammation [J]. Exp Ther Med, 2020, 20 (4): 3791-3797. DOI: 10. 3892/etm. 2020. 9112.

[17] 刘文秀，吴彩斌，冯朵，等. 抑制 lncRNA DLX6-AS1 通过靶向 miR-200a 减轻高糖诱导的足细胞损伤[J]. 中国老年学杂志，2022，42（23）：5848-5853. DOI：10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2022. 23. 046.

[18] 胡奕芳. 糖尿病肾病中长链非编码 RNA DLX6-AS1 的表达及临床意义的研究[D]. 郑州：郑州大学，2018.

[19] Guo J, Zheng W, Liu Y, et al. Long non-coding RNA DLX6-AS1 is the key mediator of glomerular podocyte injury and albuminuria in diabetic nephropathy by targeting the miR-346/GSK-3β signaling pathway [J]. Cell Death Dis, 2023, 14 (2): 172. DOI: 10. 1038/s41419-023-05695-2.

[20] Zheng W, Guo J, Lu X, et al. cAMP-response element binding protein mediates podocyte injury in diabetic nephropathy by targeting lncRNA DLX6-AS1 [J]. Metabolism, 2022, 129: 155155. DOI: 10. 1016/j. metabol. 2022. 155155.

[21] Long J, Badal SS, Ye Z, et al. Long noncoding RNA Tug1 regulates mitochondrial bioenergetics in diabetic nephropathy [J]. J Clin Invest, 2016, 126 (11): 4205-4218. DOI: 10. 1172/JCI87927.

[22] Meng D, Wu L, Li Z, et al. LncRNA TUG1 ameliorates diabetic nephropathy via inhibition of PU. 1/RTN1 signaling pathway [J]. J Leukoc Biol, 2022, 111 (3): 553-562. DOI: 10. 1002/JLB. 6A1020-699RRR.

[23] Wang T, Cui S, Liu X, et al. LncTUG1 ameliorates renal tubular fibrosis in experimental diabetic nephropathy through the miR-145-5p/dual-specificity phosphatase 6 axis [J]. Ren Fail, 2023, 45 (1): 2173950. DOI: 10. 1080/0886022X. 2023. 2173950.

[24] 陈昕彦，于萌，李湘，等. LncRNA TUG1 在糖尿病肾病患者中的表达及临床意义[J]. 安徽医学，2022，43（11）：1323-1327. DOI：10. 3969/j. issn. 1000-0399. 2022. 11. 018.

[25] Shen H, Ming Y, Xu C, et al. Deregulation of long noncoding RNA (TUG1) contributes to excessive podocytes apoptosis by activating endoplasmic reticulum stress in the development of diabetic nephropathy [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (9): 15123-15133. DOI: 10. 1002/jcp. 28153.

[26] 杨阳，吕幸，彭俊华. 牛磺酸上调基因 1 在糖尿病及其并发症中的研究进展[J]. 现代检验医学杂志，2022，37（6）：198-204. DOI：10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2022. 06. 038.

（收稿日期：2024－05－14）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 009

论著 · 临床

妊娠期糖尿病患者血清 Xenin-25、CTRP12 水平及对妊娠结局的影响

张杰, 王静, 刘启航, 祝静, 吴斌, 陈小芬

基金项目: 四川省科技计划项目(20RKX0095)
作者单位: 637000　南充, 川北医学院附属医院生殖医学科
通信作者: 陈小芬, E-mail: 462582378@ qq. com

【摘　要】 **目的**　分析妊娠期糖尿病(GDM)患者血清神经降压素相关肽(Xenin-25)、C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 12(CTRP12)与妊娠结局的关系。**方法**　选取 2021 年 2 月—2022 年 2 月川北医学院附属医院生殖医学科诊治的 GDM 患者 92 例为 GDM 组, 再根据是否发生不良妊娠结局, 分为预后不良亚组($n = 34$)和预后良好亚组($n = 58$)。以同期健康妊娠妇女 50 例为正常妊娠组。采用酶联免疫吸附法检测血清 Xenin-25、CTRP12 水平; Pearson 相关性分析血清 Xenin-25、CTRP12 与糖代谢指标的相关性; 多因素 Logistic 回归分析影响 GDM 患者不良妊娠结局的因素; 受试者工作特征曲线评价血清 Xenin-25、CTRP12 对妊娠结局的预测价值。**结果**　GDM 组血清 Xenin-25、CTRP12 低于正常妊娠组, 而空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、空腹胰岛素(FINS)及稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)水平均高于正常妊娠组($t/P = 16.046/ < 0.001$, $22.114/ < 0.001$, $11.510/ < 0.001$, $13.666/ < 0.001$, $12.101/ < 0.001$, $14.413/ < 0.001$); GDM 组血清 Xenin-25、CTRP12 表达与 FPG、FINS、HbA_{1c} 及 HOMA-IR 呈显著负相关(Xenin-25: $r/P = -0.665/ < 0.001$, $-0.598/ < 0.001$, $-0.567/ < 0.001$, $-0.702/ < 0.001$; CTRP12: $r/P = -0.579/ < 0.001$, $-0.622/ < 0.001$, $-0.667/ < 0.001$, $-0.725/ < 0.001$); 预后不良亚组血清 Xenin-25、CTRP12 低于预后良好亚组, HOMA-IR 高于预后良好亚组($t/P = 6.783/ < 0.001$, $17.997/ < 0.001$, $15.146/ < 0.001$); 血清 CTRP12 升高、Xenin-25升高是影响 GDM 患者不良妊娠结局的独立保护因素[OR(95% CI) = 0.646(0.499 ~ 0.837), 0.619(0.465 ~ 0.824)], HOMA-IR 升高是危险因素[OR(95% CI) = 1.353(1.110 ~ 1.649)]。血清 Xenin-25、CTRP12 及二者联合预测 GDM 患者不良妊娠结局的 AUC 分别为 0.828、0.815、0.870, 二者联合优于各自单独预测效能($Z = 4.113$、4.327, $P = 0.003$、0.001)。**结论**　GDM 孕妇血清 Xenin-25、CTRP12 水平降低, 均参与 GDM 的疾病过程, 二者联合对 GDM 患者不良妊娠结局具有较高的评估价值。

【关键词】 妊娠期糖尿病; Xenin-25; C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 12; 妊娠结局
【中图分类号】 R714.256　　【文献标识码】 A

The expression of serum Xenin-25 and CTRP12 in patients with gestational diabetes and the effects on pregnancy outcome

Zhang Jie, Wang Jing, Liu Qihang, Zhu Jing, Wu Bin, Chen Xiaofen. Department of Reproductive Medicine, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Sichuan Province, Nanchong 637000, *China*
Funding program: Sichuan Provincial Science and Technology Plan Project (20*RKX*0095)
Corresponding author: Chen Xiaofen, E-mail: 462582378@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the relationship between serum neurotensin related peptide (Xenin-25), complement C1 tumor necrosis factor related protein 12(CTRP12) and pregnancy outcome in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods**　Ninety-two GDM patients diagnosed and treated in the Reproductive Medicine Department of the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College from February 2021 to February 2022 were selected as the GDM group. According to the presence or absence of adverse pregnancy outcomes, they were divided into poor prognosis subgroup ($n = 34$) and good prognosis subgroup ($n = 58$). A total of 50 healthy pregnant women in the same period were enrolled as the normal pregnancy group. Serum Xenin-25 and CTRP12 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between serum Xenin-25, CTRP12 and glucose metabolism indexes. Multivariate Logistic regression was used to analyze the factors affecting adverse pregnancy outcomes in GBM patients. Receiver operating characteristic curve was used to evaluate the predictive value of serum Xenin-25 and CTRP12 for pregnancy outcome. **Results**　The levels of serum Xenin-25 and CTRP12 in the GDM group were lower than those in the control group, while the levels of fasting plasma glucose (FPG), glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}), fasting insulin (FINS) and

homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) were higher than those in the control group (t/P = 16.046/ <0.001, 22.114/ <0.001, 11.510/ <0.001, 13.666/ <0.001, 12.101/ <0.001, 14.413/ <0.001). Serum Xenin-25 and CTRP12 levels were negatively correlated with FPG, HbA_{1c}, FINS and HOMA-IR in GDM group (Xenin-25: r/P = −0.665/ <0.001, −0.598/ <0.001, −0.567/ <0.001, −0.702/ <0.001; CTRP12: r/P = −0.579/ <0.001, −0.622/ <0.001, −0.667/ <0.001, −0.725/ <0.001); Compared with the good prognosis subgroup, the poor prognosis subgroup had lower serum CTRP12 and Xenin-25 and higher HOMA-IR (t/P = 6.783/ <0.001, 17.997/ <0.001, 15.146/ <0.001). High serum CTRP12 and Xenin-25 were independent protective factors for adverse pregnancy outcomes in GDM patients [*OR (95% CI)* = 0.646 (0.499 − 0.837), 0.619 (0.465 − 0.824)], and high HOMA-IR was risk factor [*OR (95% CI)* = 1.353 (1.110 − 1.649)]. The AUC of serum Xenin-25, CTRP12 and their combination for predicting adverse pregnancy outcomes in GDM patients were 0.828, 0.815 and 0.870, respectively. The combination of xenin-25 and CTRP12 was superior to their individual prediction efficacy (Z/P = 4.113/0.003, 4.327/0.001). **Conclusion**　GDM patients have decreased serum CTRP12 and Xenin-25 levels, which are involved in the disease process of GDM. The combination of CTRP12 and Xenin-25 has a high evaluation value for adverse pregnancy outcomes in GDM patients.

【Key words】　Gestational diabetes; Xenin-25; Complement C1 tumor necrosis factor related protein 12; Pregnancy outcome

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是妊娠期常见的并发症,近年来发病率呈逐年升高的趋势[1]。GDM 可引起母儿感染、早产、胎儿呼吸窘迫综合征等并发症,危害巨大[2]。Xenin-25 是一种神经降压素相关肽,表达于哺乳动物肠道分泌细胞及肺、心脏等组织中,具有调控胃肠动力、刺激胰腺外分泌等多种生理作用[3]。研究表明,Xenin-25 能够增强胰岛素分泌、诱导饱腹效应以及恢复机体对胰岛素的敏感性,是潜在的诊断 GDM 的血清标志物[4-5]。C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 12(C1q tumor necrosis factor related protein 12, CTRP12)属于脂肪因子超家族成员,主要由脂肪组织产生,具有胰岛素增敏及抗炎等重要生物学功能[6]。研究表明,CTRP12 通过激活肝脏 AKT 信号通路,促进脂肪细胞中的糖摄取,减少脂肪组织中巨噬细胞的聚集,减轻炎性反应、改善胰岛素抵抗[7]。目前 GDM 患者血清 Xenin-25、CTRP12 水平与临床预后的意义尚不清楚。本研究旨在分析 GDM 患者血清 Xenin-25、CTRP12 水平对不良妊娠结局的评估价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2021 年 2 月—2022 年 2 月川北医学院附属医院生殖医学科诊治的 GDM 患者 92 例为 GDM 组,年龄 22 ~ 36(26.73 ± 4.80)岁,分娩孕周 37 ~ 41(39.01 ± 1.01)周,有孕产史 47 例,孕前体质量指数(BMI)18.31 ~ 27.62(23.29 ± 2.62) kg/m^2。选取同期医院定期产检的健康妊娠妇女 50 例为正常妊娠组,年龄 23 ~ 35(26.42 ± 5.06)岁,分娩孕周 37 ~ 42(39.04 ± 1.46)周,有孕产史 22 例,孕前 BMI 18.25 ~ 27.87(23.41 ± 2.58) kg/m^2;均无明显诱因及糖尿病家族史。2 组年龄、分娩孕周、孕产史、孕前 BMI 比较,差异均无统计学意义(P > 0.05),具有可比性。本研究已经获得医院伦理委员会批准(伦审[2020]101 号),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①GDM 诊断符合 2015 年国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)标准[8]:妊娠 24 ~ 28 周,血糖值满足下述任意 1 条或多条(FPG ≥ 5.1 mmol/L, 口服 75 g 糖耐量试验 1 h 血糖 ≥ 10.0 mmol/L,口服糖耐量试验 2 h 血糖 ≥ 8.5 mmol/L);②妊娠期首次诊断,单胎妊娠,自然受孕;③妊娠前无内外科疾病,妊娠期无其他合并症。(2)排除标准:①合并感染、发热或其他系统感染;②心、肝、肾、甲状腺功能异常;③孕前有高血压、糖尿病及心脏病等基础疾病;④有自身免疫疾病及代谢性疾病;⑤B 型超声提示胎儿发育畸形。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 Xenin-25、CTRP12 水平检测:2 组均于孕 24 ~ 28 周产检时,取清晨空腹外周静脉血 5 ml ,4℃离心留取血清待测。采用酶联免疫吸附试验检测血清 Xenin-25、CTRP12 水平。Xenin-25 试剂盒购自北京康肽生物科技公司(货号 FEK-04-74);CTRP12 试剂盒购自天津赛培森生物科技公司(货号 SPS-10176)。操作步骤按试剂盒说明进行。实验结束后用酶标仪(购自美国 Bio-rad 公司,型号 Model550 型)检测样品浓度。

1.3.2　不良妊娠结局判断:包括胎膜早破、早产、胎儿生长受限、胎儿体质量异常(出生体质量 ≥ 4 000 g 的巨大儿或 < 2 500 g 的低体质量儿)、羊水异常(羊水 ≥ 2 000 ml 和羊水 < 300 ml)、胎儿宫内窘迫。根据是否发生不良妊娠结局,分为预后不良亚组(n = 34)和预后良好亚组(n = 58)。

1.4　统计学方法　利用 SPSS 26.0 软件分析数据。

计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用卡方检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;Pearson 相关性分析血清 Xenin-25、CTRP12 与糖代谢指标的相关性;多因素 Logistic 回归分析影响 GDM 患者不良妊娠结局的因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 Xenin-25、CTRP12 对 GDM 孕妇不良妊娠结局的评估价值。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 Xenin-25、CTRP12 及糖代谢指标比较

与正常妊娠组比较,GDM 组血清 FPG、HbA_{1c}、FINS 及 HOMA-IR 水平均较高,血清 Xenin-25、CTRP12 较低,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1　正常妊娠组与 GDM 组血清 Xenin-25、CTRP12 及糖代谢指标比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum Xenin-25, CTRP12, and glucose metabolism indicators between the control group and GDM group

项　目	正常妊娠组 ($n=50$)	GDM 组 ($n=92$)	t 值	P 值
FPG(mmol/L)	4.17 ± 0.33	5.12 ± 0.53	11.510	<0.001
FINS(pmol/L)	7.61 ± 1.30	14.11 ± 3.67	12.101	<0.001
HbA_{1c}(%)	5.03 ± 0.52	6.31 ± 0.54	13.666	<0.001
HOMA-IR	2.01 ± 0.56	3.81 ± 0.78	14.413	<0.001
Xenin-25(ng/L)	223.08 ±44.26	122.34 ±30.16	16.046	<0.001
CTRP12(ng/L)	413.80 ±56.80	226.46 ±42.89	22.114	<0.001

2.2　GDM 组血清 Xenin-25、CTRP12 与糖代谢指标的相关性

GDM 组血清 Xenin-25、CTRP12 水平与 FPG、HbA_{1c}、FINS 及 HOMA-IR 均呈负相关($P<0.01$),见表 2。

表 2　GDM 组血清 Xenin-25、CTRP12 与糖代谢指标的相关性

Tab. 2　Correlation between serum Xenin-25, CTRP12 and glucose metabolism indicators in GDM group

项　目	Xenin-25		CTRP12	
	r 值	P 值	r 值	P 值
FPG	−0.665	<0.001	−0.579	<0.001
FINS	−0.598	<0.001	−0.622	<0.001
HbA_{1c}	−0.567	<0.001	−0.667	<0.001
HOMA-IR	−0.702	<0.001	−0.725	<0.001

2.3　不同妊娠结局 GDM 患者临床资料比较

与预后良好亚组比较,预后不良亚组 HOMA-IR 较高,血清 Xenin-25、CTRP12 较低,差异均具有统计学意义($P<0.01$);2 亚组其他资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3　不同妊娠结局 GDM 患者临床资料比较

Tab. 3　Comparison of clinical data of GDM patients with different pregnancy outcomes

项　目	预后良好亚组 ($n=58$)	预后不良亚组 ($n=34$)	t/χ^2 值	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	26.66 ±4.78	26.84 ±4.84	0.174	0.863
孕周($\bar{x} \pm s$,周)	39.03 ±1.01	38.98 ±0.97	0.233	0.817
孕前BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)	23.25 ±2.75	23.37 ±2.69	0.204	0.839
孕产史[例(%)]	29(50.00)	18(52.94)	0.074	0.785
收缩压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	122.71 ±12.74	125.59 ±11.34	1.089	0.279
舒张压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	78.59 ±7.80	80.41 ±6.17	1.163	0.248
HOMA-IR($\bar{x} \pm s$)	3.34 ±0.38	4.62 ±0.41	15.146	<0.001
FPG($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	5.05 ±0.55	5.24 ±0.52	1.631	0.106
HbA_{1c}($\bar{x} \pm s$,%)	6.24 ±0.55	6.43 ±0.43	1.727	0.088
FINS($\bar{x} \pm s$,pmol/L)	13.57 ±3.54	15.03 ±3.78	1.862	0.066
TC($\bar{x} \pm s$,μmol/L)	5.19 ±1.25	5.38 ±1.31	0.691	0.491
TG($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.55 ±0.45	1.62 ±0.36	0.773	0.442
HDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.61 ±0.41	1.57 ±0.35	0.476	0.635
LDL-C($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.78 ±0.70	1.99 ±0.62	1.447	0.151
Xenin-25($\bar{x} \pm s$,ng/L)	139.15 ±32.27	93.67 ±28.80	6.783	<0.001
CTRP12($\bar{x} \pm s$,ng/L)	287.94 ±44.26	121.58 ±40.14	17.997	<0.001

2.4　多因素 Logistic 回归分析 GDM 患者不良妊娠结局的影响因素

以 GDM 患者妊娠结局为因变量(不良 = 1,良好 = 0),以 Xenin-25、CTRP12、HOMA-IR 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果表明,HOMA-IR升高是 GDM 患者不良妊娠结局的独立危险因素,血清 CTRP12 升高、Xenin-25 升高是保护因素($P<0.01$),见表 4。

表 4　多因素 Logistic 回归分析 GDM 患者不良妊娠结局的影响因素

Tab. 4　Factors influencing adverse pregnancy outcomes in GBM patients analyzed by multiple Logistic regression analysis

变　量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
Xenin-25 高	−0.437	0.132	10.960	<0.001	0.646	0.499 ~ 0.837
CTRP12 高	−0.480	0.146	10.879	<0.001	0.619	0.465 ~ 0.824
HOMA-IR 高	0.302	0.101	8.941	<0.001	1.353	1.110 ~ 1.649

2.5　血清 Xenin-25、CTRP12 评估 GDM 患者不良妊娠结局的价值

绘制血清 Xenin-25、CTRP12 评估 GDM 患者不良妊娠结局价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 Xenin-25、CTRP12 及二者联合预测 GDM 患者不良妊娠结局的 AUC 分别为 0.828、0.815、0.870,二者联合优于各自单独预测效能($Z=4.113$、4.327,$P=0.003$、0.001),见表 5、图 1。

3　讨　论

GDM 是孕妇常见的代谢性疾病,多在妊娠中晚期被诊断,占妊娠合并糖尿病人群的 90% 以上,会给孕

表 5　血清 Xenin-25、CTRP12 预测 GDM 患者不良妊娠结局的 ROC 分析

Tab. 5　ROC analysis of predicting adverse pregnancy outcomes in GDM patients using serum Xenin-25 and CTRP12

指　标	*Cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
Xenin-25	112.17 ng/L	0.828	0.810 ~ 0.889	0.722	0.813	0.535
CTRP12	201.34 ng/L	0.815	0.833 ~ 0.921	0.751	0.812	0.563
二者联合		0.870	0.833 ~ 0.921	0.804	0.782	0.586

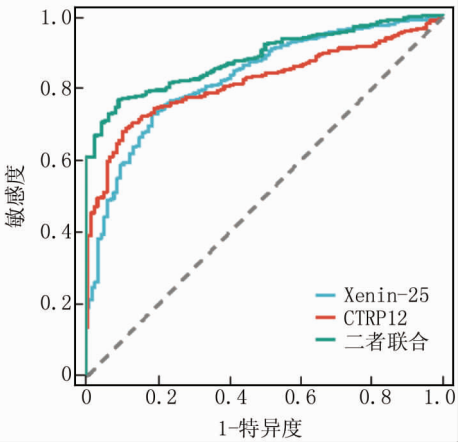


图 1　血清 Xenin-25、CTRP12 预测 GDM 患者不良妊娠结局的 ROC 曲线分析

Fig. 1　ROC curve analysis of predicting adverse pregnancy outcomes in GDM patients using serum Xenin-25 and CTRP12

妇及胎儿带来较大危害，造成胎儿生长发育异常。目前除了控制血糖外，尚无有效的方法来减少 GDM 的发生率[9]。因此，加强对 GDM 发生发展因素和机制的研究，寻找能够科学有效监测和评估不良妊娠结局的血清生物学指标，有利于 GDM 的积极诊治及减少母儿各类不良妊娠结局的发生。

Xenin-25 由葡萄糖依赖性促胰岛素多肽产生细胞分泌，调节肠道离子转运和结肠平滑肌活动[10]。研究表明，Xenin-25 的作用是由神经降压素受体 1 介导的，其参与延迟胃排空、减少食物摄入、增加肠道运动及增强胆囊收缩并增强胰腺外分泌功能[3]。研究表明，Xenin-25 通过神经中继作用，减少 2 型糖尿病患者的胃排空，调节胃肠功能和葡萄糖稳态[4]。本研究中，GDM 患者血清 Xenin-25 降低，表明其参与 GDM 的疾病过程，与既往研究结果一致[5]。分析原因，Xenin-25 由嗜铬粒蛋白阳性的肠内分泌 K 细胞亚群分泌产生，该细胞分泌合成 35 个氨基酸的前体 Xenin，降解为 Xenin-25 后释放入血，而 GDM 发生时，前体 Xenin 的翻译过程受明显抑制，导致具有生物活性 Xenin-25 释放减少，血清 Xenin-25 水平降低[11]。本研究中，GDM 患者血清 Xenin-25 与糖代谢指标呈负相关，表明其降低加重 GDM 患者糖代谢紊乱。其原因与 Xenin-25 的糖代谢调节能力减弱有关。研究表明，Xenin-25 一方面能够结合人胃纵肌 PGP9.5 阳性神经纤维上的 Xen 受体，延迟胃排空，抑制食欲，控制机体能量平衡和胃转运过程，另一方面还可以增强胃肠道内分泌细胞的胰岛素释放能力，降低血糖，改善 GDM 患者血糖水平[12]。本研究中，血清 Xenin-25 水平升高是影响 GDM 患者不良妊娠结局的独立保护因素，表明其降低增加不良妊娠结局的风险。原因可能是血清 Xenin-25 的降低加重机体糖代谢紊乱程度，持续高糖会导致胎儿葡萄糖代谢和脂肪代谢异常，进而增加巨大儿、胎膜早破等不良妊娠结局的发生风险，增加胎儿窘迫的发生率。有研究发现，Xenin-25 能与胰腺 β 细胞上的乙酰胆碱 M3 受体信号结合，促进胰腺 β 细胞分泌胰岛素，还能增强葡萄糖依赖性促胰岛素多肽的促胰岛素分泌作用[13-14]。因此，GDM 患者血清 Xenin-25 降低参与促进机体糖代谢紊乱，增加不良妊娠结局的发生风险，是潜在的血清生物标志物。

CTRP12 是一种具有抗糖尿病作用的脂肪因子，表达于白色脂肪组织，可通过激活肝脏和脂肪组织中磷脂酰肌醇 3 激酶/Akt 信号通路，抑制糖异生、促进葡萄糖摄取，改善胰岛素敏感性[15]。本研究中，GDM 患者血清 CTRP12 降低，提示高糖环境能够下调 CTRP12 的表达，这与既往研究类似[16]。GDM 患者促炎因子的释放能抑制 CTRP12 的水平。高血糖状态下，细胞内葡萄糖自氧化及糖基化终末产物的形成使活性氧生成增加，大量活性氧可造成血管细胞氧化应激损伤，加重脂质过氧化，大量促炎细胞因子表达升高能够加重妊娠炎性反应状态，抑制 CTRP12 的水平，加重胰岛素抵抗[17]。另外，血清 CTRP12 与 GDM 患者糖代谢指标呈负相关。研究表明，多囊卵巢综合征患者血清中 CTRP12 的表达下调能够减少脂肪组织中的葡萄糖摄取，促进胰岛素抵抗，引起高胰岛素血症和糖耐量受损，而在体外用胰岛素或胰岛素增敏剂（如二甲双胍）处理皮下脂肪组织后，CTRP12 的表达和分泌显著增加[18]。本研究中，血清 CTRP12 水平升高是影响 GDM 患者不良妊娠结局的独立保护因素，提示其降低增加 GDM 患者不良妊娠结局的风险。研究表明，CTRP12 基因敲除的小鼠的内脏脂肪库内总巨噬细胞标志物（F4/80）和促炎性 M1 巨噬细胞标志物（如 CD68）的浸润增加，血清肿瘤坏死因子 α 水平较高，局部脂肪组织功能改变，全身胰岛素敏感性降低，患者容易发生泌尿和生殖道感染，增加自发性早产和胎膜早破的风险，导致 GDM 孕妇妊娠不良结局的发

生,而通过补充 CTRP12 能够改善脂肪组织炎性反应,CTRP12 以旁分泌的方式作用于巨噬细胞,减弱其活化的能力从而进一步发挥抗炎作用,避免 GDM 孕妇孕期体质量的过度增长,降低妊娠不良结局的发生风险[7,19]。研究表明,通过饮食干预和胰岛素联合能够有效升高 GDM 孕妇血清 CTRP12 水平,减少剖宫产率及产后出血、胎膜早破和其他不良妊娠结局的发生率,同时巨大儿、胎儿窘迫、新生儿窒息、新生儿低血糖和其他不良围产期结局的风险也显著降低[16]。本研究结果显示,血清 Xenin-25、CTRP12 联合检测的 AUC 达 0.870,敏感度为 0.804,特异度为 0.782,结果表明二者联合对 GDM 孕妇不良妊娠结局的发生具有较高的预测价值。

综上所述,GDM 孕妇血清 Xenin-25、CTRP12 降低与不良妊娠结局的发生有关,二者联合检测对 GDM 患者不良妊娠结局具有较高的预测价值,对于减少 GDM 母儿病死率,保护母儿生命健康,均具有潜在的临床价值。本研究的局限在于未收集孕妇个人的饮食、生活习惯等临床资料,因而未研究生活习惯和饮食对 GDM 孕妇血清 Xenin-25、CTRP12 水平的影响,未来可考虑进行前瞻性随机对照临床试验,进一步揭示血清 Xenin-25、CTRP12 的临床意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张杰:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王静:资料搜集整理,分析试验数据;刘启航:实施研究过程,资料搜集整理;祝静:进行统计学分析;吴斌:论文审核;陈小芬:论文修改

参考文献

[1] Moon JH, Jang HC. Gestational diabetes mellitus: Diagnostic approaches and maternal-offspring complications[J]. Diabetes Metab J, 2022, 46(1): 3-14. DOI: 10.4093/dmj.2021.0335.

[2] 卢霞,何晓丽,玛依努尔古丽·热西提,等. 妊娠期糖尿病患者血清 HGF、IL-10 对不良妊娠结局预测价值[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(2): 182-186, 192. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.02.013.

[3] Craig SL, Irwin N, Gault VA. Xenin and related peptides: Potential therapeutic role in diabetes and related metabolic disorders[J]. Clin Med Insights Endocrinol Diabetes, 2021, 14(7): 7129-7136. DOI: 10.1177/11795514211043868.

[4] Chowdhury S, Reeds DN, Crimmins DL, et al. Xenin-25 delays gastric emptying and reduces postprandial glucose levels in humans with and without type 2 diabetes[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2014, 306(4): 301-309. DOI: 10.1152/ajpgi.00383.2013.

[5] Kucukhas GN, Komuroglu AU, Dirik D, et al. Maternal serum xenin-25 levels in gestational diabetes mellitus[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(20): 9902-9907. DOI: 10.26355/eurrev_202310_34168.

[6] 韩俊霞,王秋萍,成兴波. 血清 CTRP12 水平与 2 型糖尿病和肥胖的相关性研究[J]. 中国血液流变学杂志, 2020, 30(3): 326-328. DOI: 10.3969/j.issn.1009-881X.2020.03.015.

[7] Tan SY, Lei X, Little HC, et al. CTRP12 ablation differentially affects energy expenditure, body weight, and insulin sensitivity in male and female mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2020, 319(1): 146-162. DOI: 10.1152/ajpendo.00533.2019.

[8] Hod M, Kapur A, Sacks DA, et al. The international federation of gynecology and obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2015, 131(3): 173-211. DOI: 10.1016/S0020-7292(15)30033-3.

[9] 王怡,孙云,赵飞,等. 妊娠期糖尿病的发病机制和治疗现状[J]. 现代妇产科进展, 2024, 33(3): 219-222. DOI: 10.13283/j.cnki.xdfckjz.2024.03.014.

[10] Kuwahara Y, Takahashi K, Akai M, et al. Minimum biological domain of xenin-25 required to induce anion secretion in the rat ileum[J]. Peptides, 2022, 147(9): 1706-1718. DOI: 10.1016/j.peptides.2021.170680.

[11] Beumer J, Bauza-Martinez J, Veth TS, et al. Mapping prohormone processing by proteases in human enteroendocrine cells using genetically engineered organoid models[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(46): 2082-2091. DOI: 10.1073/pnas.2212057119.

[12] Perry RA, Craig SL, Gault VA, et al. A novel neurotensin/xenin fusion peptide enhances beta-cell function and exhibits antidiabetic efficacy in high-fat fed mice[J]. Biosci Rep, 2021, 41(8): 275-284. DOI: 10.1042/BSR20211275.

[13] Craig SL, Perry RA, Vyavahare SS, et al. A GIP/xenin hybrid in combination with exendin-4 improves metabolic status in db/db diabetic mice and promotes enduring antidiabetic benefits in high fat fed mice[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 171(8): 1137-1143. DOI: 10.1016/j.bcp.2019.113723.

[14] Craig SL, Perry RA, Vyavahare SS, et al. A GIP/xenin hybrid in combination with exendin-4 improves metabolic status in db/db diabetic mice and promotes enduring antidiabetic benefits in high fat fed mice[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 171(9): 1137-1153. DOI: 10.1016/j.bcp.2019.113723.

[15] 刘禹彤,潘佳秋,孙赫聪,等. 新诊断 2 型糖尿病患者血清 CTRP12 水平与相关因素分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2019, 40(24): 3075-3077. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1256.2019.24.015.

[16] Yang N, Guo R, Guo Y, et al. Effects of dietary intervention combined with insulin aspart on serum nesfatin-1 and CTRP12 levels and pregnancy outcomes in pregnant women with gestational diabetes mellitus[J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(42): 3549-3458. DOI: 10.1097/MD.0000000000035498.

[17] Zhou MQ, Jin E, Wu J, et al. CTRP12 ameliorated lipopolysaccharide-induced cardiomyocyte injury[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2020, 68(2): 133-139. DOI: 10.1248/cpb.c19-00646.

[18] Gou S, Mao X, Liu J. Multi-faceted roles of C1q/TNF-related proteins family in atherosclerosis[J]. Front Immunol, 2023, 14(9): 1253-1263. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1253433.

[19] Ogawa H, Ohashi K, Ito M, et al. Adipolin/CTRP12 protects against pathological vascular remodelling through suppression of smooth muscle cell growth and macrophage inflammatory response[J]. Cardiovasc Res, 2020, 116(1): 237-249. DOI: 10.1093/cvr/cvz074.

(收稿日期:2024-02-25)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 010

论著 · 临床

非布司他联合吲哚美辛对痛风性关节炎患者血尿酸、疼痛程度及氧化应激水平的影响

潘爱平,靳晓萍,加孜热亚 · 再依拿提

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2020D01C130)
作者单位: 830001　乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区人民医院内分泌与代谢病科
通信作者: 靳晓萍,E-mail:Leonchen82@163.com

【摘　要】 **目的**　探究非布司他联合吲哚美辛对痛风性关节炎患者血尿酸、疼痛程度及氧化应激水平的影响。**方法**　选取 2022 年 1 月—2023 年 5 月新疆维吾尔自治区人民医院内分泌与代谢病科收治的痛风性关节炎患者 86 例,按随机数字表法分为对照组($n=43$)和观察组($n=43$)。对照组患者接受非布司他片口服,观察组患者在此基础上联合吲哚美辛片口服,2 组均持续治疗 1 个月。评价 2 组患者的临床疗效,通过视觉模拟评分法(VAS)评估患者治疗前、治疗 2 周及 1 个月时关节疼痛程度;比较 2 组患者治疗前后肾功能指标[血清肌酐(SCr)、血尿酸(UA)、尿素氮(BUN)]、血清炎性指标[白介素 1β(IL-1β)、核苷酸寡聚化结构域样受体蛋白 3(NALP3)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)]、氧化应激指标[血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)]及不良事件发生率。**结果**　观察组治疗总有效率高于对照组(88.37% vs. 69.77%,$\chi^2/P=4.497/0.034$);治疗 2 周后,2 组患者 VAS 评分均低于治疗前,且观察组低于对照组($t/P=5.324/<0.001$);治疗 1 个月后 2 组患者血清 UA 及 SCr 水平较治疗前降低,且观察组低于对照组($t/P=3.081/0.003$、$2.692/0.009$);2 组血清 IL-1β 及 NALP3 水平较治疗前降低,且观察组低于对照组($t/P=5.587/<0.001$、$2.465/0.016$);2 组血清 GSH-Px 及 SOD 水平较治疗前升高,血清 MDA 降低,且观察组高于/低于对照组患者($t/P=3.709/<0.001$、$3.655/<0.001$、$3.653/<0.001$);观察组疼痛消失时间短于对照组($t/P=4.025/<0.001$);观察组药物相关不良事件总发生率低于对照组,但差异无统计学意义(11.63% vs. 18.60%,$\chi^2/P=0.816/0.366$)。**结论**　非布司他联合吲哚美辛对痛风性关节炎患者的肾功能改善具有更显著的效果,同时可有效降低患者炎性反应及氧化应激水平,有利于提高患者临床疗效且具有较好的临床安全性。

【关键词】 痛风性关节炎;非布司他;吲哚美辛;尿酸;疼痛;氧化应激
【中图分类号】 R589.7;R453　　【文献标识码】 A

Effects of febuxostat combined with indomethacin on serum uric acid, pain and oxidative stress in gouty arthritis patients

Pan Aiping, Jin Xiaoping, Jiazireya Zaiyinati. Department of Endocrinology and Metabolism, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001, *China*
Funding program: Natural Science Foundation in Xinjiang Uygur Autonomous Region(2020*D*01*C*130)
*Corresponding author: Jin Xiaoping, E-mail: Leonchen*82@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the effect of febuxostat combined with indomethacin on serum uric acid, pain and oxidative stress in gouty arthritis patients. **Methods**　A total of 86 patients with gouty arthritis were included in our hospital. They were randomly divided into observation group ($n=43$) and control group ($n=43$). Patients in the control group received febuxostat tablets orally, and patients in the observation group received indomethacin tablets orally on this basis. All patients continued treatment for 1 month. Visual analogue scale (VAS) was used to assess the degree of joint pain before treatment, 2 weeks and 1 month after treatment. Serum creatinine (SCr), uric acid (UA), urea nitrogen (BUN) and other renal function indexes were compared between the two groups before and after treatment. Serum interleukin 1**β** (IL-1**β**), NACHT-LR-PYD-containing protein3 (NALP3), tumor necrosis factor-**α** (TNF-**α**) and other inflammatory markers; Glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in serum were related to oxidative stress. Clinical efficacy and adverse event incidence were evaluated. **Results**　The total effectiveness rate of the observation group stood at 88.37%, outshining the control group's rate of 69.77% ($\chi^2/P=4.497/0.034$). Following a 2-week treatment period, both groups witnessed a decrease in average VAS scores compared to pre-treatment levels ($t/P=5.324/<0.001$). Moreover,

the observation group displayed lower average serum levels of UA and Scr in comparison to the control group (t/P = 3.081/0.003, 2.692/0.009). In addition, the observation group exhibited reduced average serum levels of IL-1 β and NALP3 post-treatment, surpassing both pre-treatment levels and those of the control group (t/P = 5.587/ < 0.001, 2.465/0.016). Conversely, the average serum levels of GSH-Px and SOD saw an increase compared to pre-treatment levels and exceeded those of the control group. Meanwhile, the average serum MDA levels decreased, falling below the control group's levels (t/P = 3.709/ < 0.001, 3.655/ < 0.001, 3.653/ < 0.001). Additionally, the observation group experienced a shorter average pain disappearance time than the control group (t/P = 4.025/ < 0.001). Furthermore, the total occurrence of drug-related adverse events was lower in the observation group, albeit the variance was not deemed statistically significant in comparison to the control group (11.63% vs 18.60%, χ^2/P = 0.816/0.366). **Conclusion** Febuxostat combined with indomethacin has more significant effect on renal function improvement in patients with gouty arthritis. Meanwhile, the combination therapy can effectively reduce the inflammatory level and oxidative stress level of patients, which is conducive to improving the clinical efficacy of patients and has good clinical safety. It has certain clinical application value for patients with gouty arthritis.

【**Key words**】 Gouty arthritis; Febuxostat; Indomethacin; Uric acid; Pain; Oxidative stress

痛风的病情严重程度不一,累及器官、组织多样,患者大多伴有不同程度的炎性反应,可能导致痛风结节、尿酸性肾病等[1-2],而痛风性关节炎是痛风患者及尿酸代谢异常患者中最常见的症状[3]。近年来,痛风的发病率显著增加,与饮食习惯、生活规律等因素有关[4]。痛风患者可能会逐渐出现关节畸形,而早期干预对于降低患者致残率十分重要[5]。目前,降低尿酸是治疗痛风的主要原则,传统药物以别嘌醇为主,但对于肝、肾功能损伤的患者具有应用限制[6]。非布司他是一种新型尿酸生成抑制剂,可通过抑制黄嘌呤氧化酶来降低患者血尿酸水平[7]。吲哚美辛作为常用的非甾体消炎止痛药,可以迅速缓解多种原因导致的疼痛并减轻机体的炎性反应水平,对于痛风患者对症治疗也具有一定应用价值[8]。但关于非布司他联合吲哚美辛对痛风患者治疗过程中炎性反应水平、氧化应激水平调控作用的研究尚不多见。基于此,本研究旨在探究非布司他联合吲哚美辛对痛风性关节炎患者血尿酸、疼痛程度及氧化应激水平的影响,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2022 年 1 月—2023 年 5 月新疆维吾尔自治区人民医院内分泌与代谢病科收治的痛风性关节炎患者 86 例,按随机数字表法分为对照组(n = 43)和观察组(n = 43)。2 组患者性别比例、年龄、病程、基础疾病患病率、吸烟史比例等比较差异均无统计学意义(P > 0.05),具有可比性,见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(KY20211221462),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①符合痛风性关节炎的临床诊断标准[9];②患者临床资料完整,可接受连续随访;③入组前 1 个月内未自行服用过降尿酸药物;④入组时存在明显的关节疼痛;⑤能够接受本研究制定的治疗方案。(2)排除标准:①合并原发性肾脏疾病或肾功能障碍;②合并急性感染性疾病;③对非布司他或吲哚美辛过敏者;④合并神经、精神类疾病或睡眠障碍;⑤合并任何类型、任何部位的恶性肿瘤。

表 1　对照组与观察组痛风性关节炎患者临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between control group and observation group of gouty arthritis patients

组　别		对照组(n = 43)	观察组(n = 43)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	27(62.79)	28(65.12)	0.050	0.822
	女	16(37.21)	15(34.88)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		41.16 ± 7.21	42.19 ± 6.35	0.698	0.487
病程($\bar{x} \pm s$,月)		17.07 ± 6.84	17.93 ± 6.03	0.619	0.538
基础疾病	高血压	19(44.19)	17(39.53)	0.191	0.662
[例(%)]	糖尿病	14(32.56)	15(34.88)	0.052	0.820
吸烟史[例(%)]		29(67.44)	30(68.77)	0.054	0.816

1.3　治疗方法　所有患者入组后进行痛风相关卫生宣教,要求患者戒酒并限制动物内脏、鱼类等高嘌呤饮食。对照组患者给予非布司他片(杭州朱养心药业有限公司)40 mg/次口服, 每日 1 次。观察组患者在此治疗方案基础上联合应用吲哚美辛片(临汾奇林药业有限公司)25 mg/次口服,每日 3 次,至疼痛消失时停止用药。2 组疗程均为 1 个月,治疗 2 周及治疗结束后随访并进行相关检查。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　疼痛消失时间:记录 2 组患者疼痛消失时间,以启动药物治疗算起,无明显疼痛且至少维持 24 h 判定为疼痛消失。

1.4.2　疼痛程度评价:通过视觉模拟评分法(visual analogue score, VAS)评估患者治疗前、治疗 2 周及 1 个月时受累关节疼痛程度[10]。VAS 评分范围 0 ~ 10

分,0 分表示完全无痛感,10 分表示难以忍受的疼痛。患者的 VAS 评分是各受累关节 VAS 评分的平均分。

1.4.3　肾功能指标检测:分别于治疗前及治疗 1 个月后抽取患者外周静脉血 6 ml,其中 3 ml 以全自动生化分析仪(济南好来宝医疗器材有限公司,型号:K-1200B)检测血尿酸(uric acid,UA)、血肌酐(serum creatinine,SCr)及血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)。

1.4.4　炎性相关指标检测:上述静脉血 3 ml,离心收集上层血清以酶联免疫吸附法检测白介素 1β(interleukin-1,IL-1β)、核苷酸寡聚化结构域样受体蛋白 3(NACHT-LR-PYD-containing protein 3,NALP3)及肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)。炎性相关指标检测试剂盒均购自上海梵态生物科技有限公司(货号:FT-P21158R、FT-P34913R、FT-P32761R)。

1.4.5　氧化应激相关指标检测:上述血清样本以全自动化学发光免疫分析仪(北京瑞科中仪科技有限公司,型号 CL 900i)检测血清谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)及丙二醛(malondialdehyde,MDA)。

1.4.6　药物相关不良反应:记录患者治疗 1 个月内药物相关不良反应,包括下肢水肿、疲劳、皮疹、消化道症状、焦虑等。

1.5　临床疗效判断标准　通过临床症状及实验室检验结果判断临床疗效[11]。(1)显效:患者临床症状及体征完全消失,UA 在正常范围内;(2)有效:患者临床症状及体征明显减轻,UA 较治疗前改善 >50%;(3)无效:患者临床症状、体征及 UA 较治疗前无变化甚至加重。其中治疗总有效率 =(显效 + 有效)/总例数 ×100%。

1.6　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗前后比较采用配对样本 t 检验,2 组间比较采用 Student-t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组疼痛消失时间及临床疗效比较　观察组疼痛消失时间短于对照组(21.30 d ± 2.89 d vs. 18.70 d ± 3.11 d, t/P = 4.025/ <0.001);观察组患者治疗总有效率为 88.37%,高于对照组的 69.77%($P<0.05$),见表 2。

2.2　2 组治疗前后 VAS 评分比较　治疗 2 周后,2 组患者 VAS 评分均低于治疗前,且观察组低于对照组($P<0.05$)。治疗 1 个月后 2 组患者 VAS 评分比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 2　对照组与观察组痛风性关节炎患者临床疗效比较　[例(%)]

Tab. 2　Comparison of pain disappearance time and clinical efficacy between control group and observation group of gouty arthritis patients

组　别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	43	10(23.26)	20(46.51)	13(30.23)	69.77
观察组	43	14(32.56)	24(55.81)	5(11.63)	88.37
U/χ^2 值			$U=3.567$		$\chi^2=4.497$
P 值			0.211		0.034

表 3　对照组与观察组痛风性关节炎患者治疗前后 VAS 评分比较　($\bar{x} \pm s$,分)

Tab. 3　Comparison of VAS scores between control group and observation group patients before and after treatment

组　别	例数	治疗前	治疗 2 周	治疗 1 个月
对照组	43	7.30 ± 1.47	6.02 ± 1.03[a]	1.93 ± 0.59[ab]
观察组	43	7.19 ± 1.50	4.86 ± 0.99[a]	1.81 ± 0.55[ab]
t 值		0.363	5.324	0.946
P 值		0.718	<0.001	0.347

注:与治疗前比较,[a]$P<0.001$;与治疗 2 周比较,[b]$P<0.001$。

2.3　2 组治疗前后肾功能指标比较　与治疗前比较,治疗 1 个月后 2 组血清 UA、SCr 及 BUN 水平均降低,观察组患者血清 UA 及 SCr 水平低于对照组患者($P<0.01$),血清 BUN 水平 2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4　对照组与观察组痛风性关节炎患者治疗前后肾功能指标比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4　Comparison of renal function indicators between the control group and the observation group of gouty arthritis patients before and after treatment

组　别	时间	UA(μmol/L)	SCr(μmol/L)	BUN(mmol/L)
对照组	治疗前	573.17 ± 75.07	140.68 ± 26.63	8.83 ± 2.01
(n = 43)	治疗后	361.95 ± 51.42	96.19 ± 22.71	6.64 ± 1.89
观察组	治疗前	557.29 ± 53.98	136.62 ± 28.84	8.67 ± 2.07
(n = 43)	治疗后	331.14 ± 40.71	84.30 ± 17.98	6.43 ± 1.69
t/P 对照组内值		15.350/ <0.001	8.777/ <0.001	4.561/ <0.001
t/P 观察组内值		20.750/ <0.001	10.471/ <0.001	5.288/ <0.001
t/P 治疗后组间值		3.081/ 0.003	2.692/ 0.009	0.544/ 0.588

2.4　2 组治疗前后炎性相关指标比较　与治疗前比较,治疗 1 个月后 2 组血清 IL-1β、NALP3、TNF-α 水平均降低,且观察组患者血清 IL-1β 及 NALP3 水平低于对照组($P<0.01$, $P<0.05$),血清 TNF-α 水平 2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 5。

表 5　对照组与观察组痛风性关节炎患者治疗前后炎性相关指标比较　($\bar{x} \pm s$, μg/L)

Tab. 5　Comparison of inflammatory related indicators between the control and observation groups of gouty arthritis patients before and after treatment

组　别	时间	IL-1β	NALP3	TNF-α
对照组	治疗前	6.53 ± 2.40	7.64 ± 2.06	7.23 ± 2.57
(n = 43)	治疗后	3.46 ± 1.37	7.02 ± 0.72	4.62 ± 1.57
观察组	治疗前	6.19 ± 2.35	7.93 ± 1.53	7.97 ± 2.12
(n = 43)	治疗后	2.13 ± 0.59	6.58 ± 0.92	4.14 ± 1.19
t/P 对照组内值		15.920/ < 0.001	2.745/ 0.035	4.632/ < 0.001
t/P 观察组内值		18.169/ < 0.001	5.588/ < 0.001	7.480/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		5.587/ < 0.001	2.465/ 0.016	1.606/ 0.112

2.5　2 组治疗前后氧化应激相关指标比较　与治疗前比较,治疗 1 个月后 2 组血清 GSH-Px 及 SOD 水平升高、MDA 降低,且观察组升高/降低幅度大于对照组($P < 0.01$),见表 6。

表 6　对照组与观察组痛风性关节炎患者治疗前后氧化应激相关指标比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6　Comparison of oxidative stress-related indicators between the control group and the observation group of gouty arthritis patients before and after treatment

组　别	时间	GSH-Px (μmol/L)	SOD (U/ml)	MDA (μmol/L)
对照组	治疗前	78.23 ± 10.68	115.86 ± 13.68	7.92 ± 2.13
(n = 43)	治疗后	114.15 ± 10.66	120.28 ± 10.17	5.81 ± 1.93
观察组	治疗前	78.43 ± 9.65	112.95 ± 14.03	7.90 ± 2.26
(n = 43)	治疗后	123.75 ± 13.21	128.48 ± 10.62	4.34 ± 1.79
t/P 对照组内值		7.011/ < 0.001	2.092/ 0.043	5.866/ < 0.001
t/P 观察组内值		10.914/ < 0.001	4.749/ < 0.001	7.667/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		3.709/ < 0.001	3.655/ < 0.001	3.653/ < 0.001

2.6　2 组药物不良事件发生率比较　观察组药物不良事件总发生率为 11.63%,对照组为 18.60%,2 组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.816$, $P = 0.366$),见表 7。

3　讨　论

痛风常见于男性,尤其是 40 岁以上的男性,并且有明显的家族遗传倾向[12]。痛风的发病与高尿酸血症密切相关,大多是由嘌呤代谢紊乱和尿酸排泄障碍引起的[13]。既往研究认为尿酸的生成可以分为内源性和外源性两种方式。内源性尿酸主要来自于氧化分解的 DNA 和 RNA 中的嘌呤,约占总尿酸的 80%;而外源性尿酸则主要由食物中的核苷酸分解产生的[14]。当摄入过多嘌呤食物后,机体新陈代谢过程无法有效将嘌呤排出体外,导致嘌呤结晶体在肾脏中积聚并堆积于软组织中[15]。在诱因的作用下,积聚在软组织中的尿酸结晶体会释放出来,引发免疫系统的过敏反应,从而导致炎性反应,并波及多个组织和器官[16]。

尿酸盐在关节囊、滑囊、软骨、骨质和其他组织中沉积,导致痛风性关节炎病变和炎性反应,其主要症状包括关节疼痛和发热[17]。快速缓解疼痛和退热是治疗痛风性关节炎的关键,但降低体内尿酸水平仍然是治疗痛风和高尿酸血症的主要原则。非布司他的有效成分是非布佐司他,其为一种黄嘌呤氧化酶抑制剂,能够降低机体血清中的尿酸水平,同时不会抑制嘌呤和嘧啶合成和代谢过程中涉及的其他酶类活性[18]。虽然吲哚美辛在临床上常用于解热镇痛,但对于痛风性关节炎的止痛效果尚未进行充分的研究[19]。本研究发现,治疗 2 周后接受非布司他及吲哚美辛治疗的患者 VAS 评分显著低于治疗前及对照组患者,患者血清 UA、SCr、IL-1β、NALP3 及 MDA 水平较治疗前均显著降低且低于对照组患者,而血清 GSH-Px 及 SOD 水平较治疗前均显著升高且高于对照组患者。此外,与对照组比较,观察组疼痛消失时间较短,临床治疗总有效率较高。分析原因,随着痛风患者血尿酸水平的提高,会增加合并肾脏疾病的发生风险,进而导致肾功能下降和肌酐等指标的异常。在痛风发作过程中,炎性反应发挥着重要的作用。其中,胞浆蛋白复合体 NALP3 与尿酸结合并形成 NALP3 蛋白寡聚体的炎性复合物,并借助凋亡相关斑点样蛋白半胱天冬酶的结合,最终释放出IL-1β并引发炎性细胞的大规模聚集,加剧身体内的炎性反应,从而加重痛风患者的病情[20]。

非布司他作为一种全新的黄嘌呤氧化酶抑制剂,其分子结构与嘌呤不同,在选择性抑制黄嘌呤氧化酶的不同氧化和还原形式方面具有更高的效能, 可显著

表 7　对照组与观察组患者药物相关不良事件发生率比较　[例(%)]

Tab. 7　Comparison of incidence of drug-related adverse events between control group and observation group patients

组　别	例数	下肢水肿	疲劳	皮疹	消化道症状	焦虑	总发生率(%)
对照组	43	2(4.65)	2(4.65)	1(2.33)	2(4.65)	1(2.33)	18.60
观察组	43	1(2.33)	1(2.33)	0	2(4.65)	1(2.33)	11.63

抑制次黄嘌呤—黄嘌呤和黄嘌呤—尿酸的氧化反应从而降低血尿酸水平，治疗痛风和高尿酸血症非常有效[21-22]。此外，非布司他与黄嘌呤氧化酶的结合不受钼原子氧化还原状态的影响，避免了因钼原子自发氧化而导致失效的问题。在药物安全性方面，由于非布司他具有非嘌呤分子结构，不需要大剂量的重复给药来维持血药浓度，因此极大减少了药物在体内积累而引起的不良反应[23]。吲哚美辛作为一种非甾体抗炎药，可通过抑制环氧酶来减少前列腺素合成，具有良好的抗炎、解热和镇痛作用，因此联合应用吲哚美辛对于多种炎性指标及氧化应激水平也具有更显著的抑制作用。

本研究也存在局限性，仅在单中心建立前瞻性队列研究，最终纳入符合标准的病例数较少，因此对研究结论可能造成一定偏倚。尽管如此，本研究仍认为非布司他联合吲哚美辛对痛风性关节炎患者的肾功能改善具有更显著的效果，同时该联合治疗方案可有效降低患者炎性反应水平及氧化应激水平，有利于提高患者临床疗效且具有较好的临床安全性，对于痛风性关节炎患者具有一定临床应用价值。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

潘爱平：设计研究方案，论文撰写；靳晓萍：课题设计，论文撰写；加孜热亚·再依拿提：实施研究过程，资料搜集整理，论文修改，进行统计学分析

参考文献

[1] Amatucci AJ, Padnick-Silver L, LaMoreaux B, et al. Comparison between early-onset and common gout: A systematic literature review[J]. Rheumatol Ther, 2023, 10(4): 809-823. DOI: 10.1007/s40744-023-00565-x.

[2] 林泽玉，徐林. 痛风致骨破坏机制的研究与进展[J]. 中国组织工程研究，2024，28(8)：1295-1300. DOI：10.12307/2024.207.

[3] 张雨宁，照日格图，温斌. 痛风性关节炎的中西医研究进展[J]. 新疆中医药，2023，41(1)：120-123.

[4] 苏朝霞，谢丽锋，庄新娟. 高尿酸血症的流行病学特点及常见并发症[J]. 名医，2023(5)：51-53.

[5] 陆军帅，高礼层，徐小彬，等. 痛风性膝关节炎的外科治疗进展[J]. 中国实用医药，2023，18(16)：171-173. DOI：10.14163/j.cnki.11-5547/r.2023.16.047.

[6] 林玉仙，黄逸薇，熊建华，等. 治疗痛风药物的研究进展[J]. 中国乡村医药，2021，28(24)：87-88. DOI：10.3969/j.issn.1006-5180.2021.24.046.

[7] 黄清华，严采馨，林翠婷，等. 降尿酸药物对高尿酸血症合并多系统并发症的影响研究进展[J]. 中国医院药学杂志，2022，42(9)：957-960. DOI：10.13286/j.1001-5213.2022.09.17.

[8] 杨巧玉，毛益屏，陈艳巧，等. 痛风方联合吲哚美辛治疗湿热蕴结型痛风 60 例临床观察[J]. 湖南中医杂志，2020，36(9)：9-11，23. DOI：10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2020.09.003.

[9] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志，2020，36(1)：1-13. DOI：10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2020.01.001.

[10] Sun R, Lu J, Li H, et al. Evaluation of febuxostat initiation during an acute gout attack: A prospective, randomized clinical trial[J]. Joint Bone Spine, 2020, 87(5): 461-466.

[11] 林淑芃.《中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)》解读[J]. 临床内科杂志，2020，37(6)：460-462. DOI：10.3969/j.issn.1001-9057.2020.06.022.

[12] Singh JA. Patient perspectives in gout: A review[J]. Curr Opin Rheumatol, 2019, 31(2): 159-166. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000583.

[13] Towiwat P, Chhana A, Dalbeth N. The anatomical pathology of gout: A systematic literature review[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2019, 20(1): 140. DOI: 10.1186/s12891-019-2519-y.

[14] Ramirez MEG, Bargman JM. Treatment of asymptomatic hyperuricemia in chronic kidney disease: A new target in an old enemy-A review[J]. J Adv Res, 2017, 8(5): 551-554. DOI: 10.1016/j.jare.2017.04.006.

[15] Karantas ID, Miliotou AN, Siafaka PI. An updated review for hyperuricemia and gout management; special focus on the available drug delivery systems and clinical trials[J]. Curr Med Chem, 2023. DOI: 10.2174/0929867331666230809143758.

[16] Pan J, Shi M, Ma L, et al. Mechanistic insights of soluble uric acid-related kidney disease[J]. Curr Med Chem, 2020, 27(30): 5056-5066. DOI: 10.2174/0929867326666181211094421.

[17] Zhou Y, Zhao M, Pu Z, et al. Relationship between oxidative stress and inflammation in hyperuricemia: Analysis based on asymptomatic young patients with primary hyperuricemia[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(49): e13108. DOI: 10.1097/MD.0000000000013108.

[18] Wilson L, Saseen JJ. Gouty arthritis: A review of acute management and prevention[J]. Pharmacotherapy, 2016, 36(8): 906-922. DOI: 10.1002/phar.1788.

[19] Shin A, Choi SR, Han M, et al. Cardiovascular safety associated with febuxostat versus allopurinol among patients with gout: Update with accumulated use of febuxostat[J]. Semin Arthritis Rheum, 2022, 56: 152080. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2022.152080.

[20] Zeng L, Qasim A, Neogi T, et al. Efficacy and safety of pharmacologic interventions in patients experiencing a gout flare: A systematic review and network meta-analysis[J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2021, 73(5): 755-764. DOI: 10.1002/acr.24402.

[21] Zhang X, Ding H, Hu G, et al. Simiaosan alleviates the symptoms of gouty arthritis via the NALP3/IL-1β pathway[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(3): 223. DOI: 10.3892/mmr.2021.11862.

[22] 胡梦婷，干佳琦，潘飞，等. 血清 CysC、MCP-1 与高尿酸血症患者非布司他治疗效果的相关性[J]. 疑难病杂志，2022，21(10)：1047-1052. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2022.10.009.

[23] Guan X, Zhang S, Liu J, et al. Cardiovascular safety of febuxostat and allopurinol in patients with gout: A meta-analysis[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 998441. DOI: 10.3389/fphar.2022.998441.

(收稿日期：2024－03－14)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 011

论著 · 临床

维持性血液透析患者血清 FGF23、D-ser 水平与听力障碍的相关性研究

杨振昊,范伟峰,吴青,张丽红,余莹,杨麟,牛建英

基金项目: 上海市科学技术委员会科研项目计划(202140316)

作者单位: 200240　上海,复旦大学附属上海市第五人民医院肾内科(杨振昊、牛建英); 上海,国家老年疾病临床医学研究中心(范伟峰、吴青、张丽红、余莹、杨麟、牛建英)

通信作者: 牛建英,E-mail:njyphd2008@163. com

【摘　要】 **目的**　探讨维持性血液透析(MHD)患者血清成纤维细胞生长因子 23(FGF23)、D-丝氨酸(D-ser)水平与听力障碍的相关性。**方法**　选取 2021 年 1 月—2023 年 12 月复旦大学附属上海市第五人民医院肾内科收治 MHD 患者 80 例,其中合并听力障碍 40 例作为听力障碍组,未合并听力障碍 40 例为非听力障碍组,同期医院体检健康者 40 例为健康对照组;采用酶联免疫吸附法与高效液相色谱荧光法检测血清 FGF23 与 D-ser 水平;通过 Spearman/Pearson 相关系数分析 MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平与平均听阈(PTA)的相关性,多因素 Logistic 回归分析 MHD 患者听力障碍的影响因素,ROC 曲线分析血清 FGF23、D-ser 水平对 MHD 患者听力障碍的预测价值。**结果**　血清 FGF23、D-ser 水平比较,听力障碍组 > 非听力障碍组 > 健康对照组(F/P = 69. 767/ < 0. 001、307. 552/ < 0. 001);Spearman/Pearson 相关性显示,MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平与 PTA 呈正相关(r_s/P =0.649/ <0.001、0.669/ <0.001)。多因素 Logistic 回归分析显示,透析龄长、FGF23 高、D-ser 高为 MHD 患者听力障碍的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.036(1.007 ~ 1.065)、1.018(1.006 ~ 1.029)、1.526(1.145 ~ 2.033)];ROC 曲线显示,血清 FGF23、D-ser水平及二者联合预测 MHD 患者听力障碍的曲线下面积(AUC)分别为 0.773、0.788、0.880,二者联合大于二者各自单独预测(Z/P =2.409/0.016、2.344/0.019)。**结论**　MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平升高是听力障碍的独立危险因素,二者联合预测 MHD 患者听力障碍的价值较高。

【关键词】 维持性血液透析;听力障碍;成纤维细胞生长因子 23;D-丝氨酸;预测价值

【中图分类号】 R692.5　　【文献标识码】 A

Study on the correlation between serum FGF23 and D-ser levels and hearing impairment in maintenance hemodialysis patients

*Yang Zhenhao**, *Fan Weifeng*, *Wu Qing*, *Zhang Lihong*, *Yu Ying*, *Yang Lin*, *Niu Jianying*. * *Department of Nephrology*, *Fudan University Affiliated Shanghai Fifth People's Hospital*, *Shanghai* 200240, *China*

Funding program: *Research Project Plan of Shanghai Municipal Commission of Science and Technology* (202140316)

Corresponding author: *Niu Jianying*, *E-mail*: *njyphd*2008@163. *com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the correlation between serum fibroblast growth factor 23 (FGF23) and D-serine (D-ser) levels and hearing impairment in maintenance hemodialysis (MHD) patients. **Methods**　Forty MHD patients with combined hearing impairment admitted to the Department of Nephrology of Shanghai Fifth People's Hospital Affiliated to Fudan University from January 2021 to December 2023 were selected as the hearing-impaired group, 40 MHD patients without combined hearing impairment were selected as the non-hearing-impaired group, and 40 healthy patients with physical examination were selected as the healthy control group; Serum FGF23 and D-ser levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay with high performance liquid chromatography fluorescence; The correlation between serum FGF23 and D-ser levels and PTA in MHD patients was analyzed by Spearman/Pearson correlation coefficients, the factors of hearing impairment in MHD patients were analyzed by multifactorial logistic regression, and the predictive value of serum FGF23 and D-ser levels for hearing impairment in MHD patients was analyzed by ROC curves. **Results**　Serum FGF23 and D-ser levels were higher in the hearing-impaired group than in the non-hearing-impaired group and the control group, and serum FGF23 and D-ser levels were higher in the non-hearing-impaired group than in the control group (F/P = 69.767/ < 0.001, 307.552/ 0.001). Spearman/Pearson correlation showed a positive correlation between serum FGF23 and D-ser levels and PTA in patients with MHD (r_s/P = 0.649/ < 0.001,0.669/ < 0.001). Multifactorial logistic regression showed that prolonged dialysis age,

elevated FGF23, and elevated D-ser were independent risk factors for hearing impairment in MHD patients [*OR (95% CI)* = 1.036 (1.007 – 1.065), 1.018 (1.006 – 1.029), and 1.526 (1.145 – 2.033)]; The ROC curves showed that the area under the curve (AUC) of serum FGF23, D-ser levels and the combination of the two predicted hearing impairment in MHD patients were 0.773, 0.788, 0.880, respectively, and that the combination of the two was greater than the AUCs predicted by each of the serum FGF23 and D-ser levels alone (Z = 2.409, 2.344, P = 0.016, 0.019). **Conclusion**　Elevated serum FGF23 and D-ser levels in MHD patients are independent risk factors for hearing impairment, and the combined serum FGF23 and D-ser levels are of high value in predicting hearing impairment in MHD patients.

【Key words】 Maintenance hemodialysis; Hearing impairment; Fibroblast growth factor 23; D-serine; Predictive value

慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)是全球性健康问题,影响全球 9.1% 的人群[1]。CKD 特点是肾功能进行性恶化,最终可进展为终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)或尿毒症,近几十年来我国 ESRD 发病率呈持续上升趋势[2]。维持性血液透析(maintenance hemodialysis, MHD)虽然作为首选肾脏替代治疗方式极大地延长了 ESRD 患者生存时间,但听力障碍仍然是 MHD 患者残疾程度加重和生活质量下降的重要原因[3],故及时预测 MHD 患者听力障碍尤为重要。成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)23 是一种内分泌激素,参与多种矿物质代谢调节,既往研究发现,CKD 患者 FGF23 水平升高会引起血管钙化、动脉粥样硬化和神经系统认知障碍等一系列肾外损伤[4-5]。研究报道,FGF23 在慢性肾功能衰竭伴听力损伤的大鼠肾组织和耳蜗中高表达[6]。D-丝氨酸(D-serine, D-ser)是一种非必需氨基酸,在神经发育、神经毒性、学习记忆等方面发挥着重要的调节作用[7]。研究也表明,D-ser 具有肾毒性,可用于多种肾脏疾病诊断和预后评估,与疾病进展密切相关[8]。然而,FGF23、D-ser 与 MHD 患者听力障碍的关系尚不清楚,本研究旨在探讨 MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平与听力障碍的关系及预测价值,以期为 MHD 患者听力障碍的临床预防和治疗提供新的思路,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2021 年 1 月—2023 年 12 月复旦大学附属上海市第五人民医院肾内科诊治血液透析期间接受纯音测听的 MHD 患者,选择合并听力障碍的 MHD 患者 40 例(听力障碍组):男 29 例,女 11 例,年龄 40 ~ 76(55.65 ± 8.00)岁;体质量指数 18.20 ~ 27.70(22.65 ± 2.51) kg/m^2;透析龄 14 ~ 100 个月,中位数 50.50(33.50, 75.00)个月;ESRD 病因:狼疮性肾炎 1 例,糖尿病肾病 14 例,高血压肾病 7 例,慢性肾小球肾炎 11 例,其他 7 例。按照 1∶1 比例选择未合并听力障碍的 MHD 患者 40 例为非听力障碍组:男 18 例,女 22 例,年龄 18 ~ 79(52.70 ± 11.35)岁;体质量指数 18.05 ~ 27.87(23.35 ± 2.39) kg/m^2;透析龄 6 ~ 72 个月,中位数 42.00(24.00, 49.50)个月;ESRD 病因:狼疮性肾炎 1 例,糖尿病肾病 11 例,高血压肾病 9 例,慢性肾小球肾炎 13 例,其他 6 例。另选择同期体检健康者 40 例作为健康对照组:男 27 例,女 13 例,年龄 24 ~ 72(55.41 ± 7.61)岁;体质量指数 18.10 ~ 27.27 (22.53 ± 2.44) kg/m^2。3 组性别、年龄、体质量指数比较差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准[(2020)伦审第 182 号],受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①年龄 > 18 岁;②符合《慢性肾脏病筛查诊断及防治指南》[9] ESRD 诊断标准;③资料完整;④听力障碍符合世界卫生组织诊断标准[10];⑤规律进行血液透析≥6 个月(4 ~ 5 h/次、2 ~ 3 次/周)。(2)排除标准:①精神疾病史;②长期噪声暴露史或耳毒性药物(如氨基糖苷类抗生素、抗肿瘤药、解热镇痛药、抗疟药等使用时间 > 30 d)使用史;③联合腹膜透析治疗;④急性中耳炎病史;⑤近 1 个月内有感染、炎性疾病或使用免疫抑制剂、激素制剂;⑥耳聋家族史;⑦妊娠及哺乳期妇女;⑧恶性肿瘤患者;⑨近期大手术。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 FGF23、D-ser 水平检测:患者于入院次日晨/健康者于体检时收集空腹肘静脉血 3 ml,离心留取上层血清使用酶联免疫吸附法试剂盒(编号 BJ024513,上海邦景实业有限公司)检测 FGF23 水平;参考 D-ser 高效液相色谱荧光试剂盒(编号 D486392,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)检测 D-ser 水平。

1.3.2　听力障碍检测:患者于入院次日晨/健康者于体检时使用双声道诊断型纯音听力计(上海麦森医疗科技有限公司,型号:GSI 61)进行 500 Hz、1 000 Hz、2 000 Hz和 4 000 Hz 的纯音气导测听,计算平均听阈(4 个频率气导听阈的平均值),连续测量 3 次取平均值。平均听阈(pure tone average, PTA) > 25 dBHL 定义为听力障碍[10]。

1.4　统计学方法　选用 SPSS 28.0 软件对数据进行统计分析和 GraphPad Prism 8.0 软件制图。计数资料

以频数或率(%)表示,比较使用χ^2检验;偏态分布计量资料用$M(Q_1, Q_3)$表示,采用U或H检验,符合正态分布的计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,2 组比较采用t检验,多组比较采用F检验,组间两两比较采用U或 LSD 检验;Spearman/Pearson 相关系数分析 MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平与 PTA 的相关性;多因素 Logistic 回归分析 MHD 患者听力障碍的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 FGF23、D-ser 水平对 MHD 患者听力障碍的预测价值,Delong 检验比较血清 FGF23、D-ser 水平单独与联合预测的曲线下面积(area under the curve, AUC)。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　3 组血清 FGF23、D-ser 水平和 PTA 比较　血清 FGF23、D-ser 水平比较,听力障碍组 > 非听力障碍组 > 健康对照组($P < 0.01$);听力障碍组 PTA 高于非听力障碍组和健康对照组($P < 0.01$),非听力障碍组与健康对照组 PTA 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2　2 组 MHD 患者临床资料比较　与非听力障碍组比较,听力障碍组透析龄延长,Alb 水平降低($P < 0.05$),2 组患者性别、年龄、体质量指数、血压、慢性肾病家族史、ESRD 病因等资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1　3 组受试者血清 FGF23、D-ser 水平和 PTA 比较

Tab. 1　Comparison of serum FGF23, D-ser levels, and PTA among three groups

组　别	例数	FGF23[$M(Q_1, Q_3)$, ng/L]	D-ser($\bar{x} \pm s$, μmol/L)	PTA($\bar{x} \pm s$, dBHL)
健康对照组	40	29.88(14.60, 41.31)	2.00 ± 0.70	17.52 ± 2.95
非听力障碍组	40	114.50(64.84, 134.46)	9.41 ± 2.54	20.06 ± 3.01
听力障碍组	40	174.06(117.61, 238.35)	11.85 ± 1.82	43.51 ± 10.07
F 值		69.767	307.552	206.878
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 2　听力障碍组与非听力障碍组 MHD 患者临床资料比较

Tab. 2　Comparison of clinical data between the hearing impairment group and the non hearing impairment group

项　目		非听力障碍组(n = 40)	听力障碍组(n = 40)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别[例(%)]	男	22(55.00)	29(72.50)	2.650	0.104
	女	18(45.00)	11(27.50)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		52.70 ± 11.35	55.65 ± 8.00	1.343	0.183
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)		23.35 ± 2.39	22.65 ± 2.51	0.540	0.590
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)		146.18 ± 15.94	151.35 ± 21.57	1.220	0.226
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)		81.53 ± 8.39	84.68 ± 10.63	1.471	0.145
透析龄[$M(Q_1, Q_3)$, 月]		42.00(24.00, 49.50)	50.50(33.50, 75.00)	2.652	0.008
慢性肾病家族史[例(%)]		2(5.00)	5(12.50)	0.626	0.429
ESRD 病因[例(%)]	狼疮性肾炎	1(2.50)	1(2.50)	1.053	0.902
	糖尿病肾病	11(27.50)	14(35.00)		
	高血压肾病	9(22.50)	7(17.50)		
	慢性肾小球肾炎	13(32.50)	11(27.50)		
	其他	6(15.00)	7(17.50)		
吸烟史[例(%)]		10(25.00)	13(32.50)	0.549	0.459
饮酒史[例(%)]		9(22.50)	13(32.50)	1.003	0.317
Hb($\bar{x} \pm s$, g/L)		103.15 ± 19.79	95.74 ± 18.65	1.724	0.089
甲状旁腺素[$M(Q_1, Q_3)$, ng/L]		751.38(440.81, 1 035.55)	930.34(572.90, 1 340.97)	1.694	0.090
血钙($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		2.26 ± 0.18	2.28 ± 0.21	0.539	0.592
血磷($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		2.30 ± 0.60	2.36 ± 0.63	0.476	0.635
Alb($\bar{x} \pm s$, g/L)		39.57 ± 3.51	37.20 ± 3.67	2.956	0.004
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		5.05 ± 0.87	5.24 ± 0.63	1.147	0.255
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		2.06 ± 0.79	2.24 ± 0.91	0.934	0.353
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		0.98 ± 0.28	0.91 ± 0.29	1.103	0.274
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		2.58 ± 0.42	2.75 ± 0.50	1.667	0.100
BUN($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		19.26 ± 5.99	21.34 ± 5.73	1.588	0.116
UA($\bar{x} \pm s$, μmol/L)		390.29 ± 100.04	412.76 ± 91.78	1.047	0.298
SCr($\bar{x} \pm s$, μmol/L)		937.92 ± 274.92	956.76 ± 268.39	0.310	0.757

2.3　MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平与 PTA 的相关性分析　Spearman/Pearson 相关性显示，MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平与 PTA 呈正相关（r_s = 0.649、0.669，P 均 < 0.001）。

2.4　MHD 患者听力障碍的多因素 Logistic 回归分析　以听力障碍（是/否 = 1/0）为因变量，表 1、表 2 有差异项目［透析龄、Alb、FGF23、D-ser（均原值录入）］为自变量，进行 Logistic 回归分析。结果显示：透析龄长、FGF23 高、D-ser 高为 MHD 患者听力障碍的独立危险因素（P < 0.05），见表 3。

表 3　MHD 患者听力障碍的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3　Multivariate Logistic regression analysis of hearing impairment in MHD patients

变　量	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
透析龄长	0.035	0.014	6.140	0.013	1.036	1.007 ~ 1.065
Alb 高	−0.147	0.088	2.831	0.092	0.863	0.727 ~ 1.025
FGF23 高	0.018	0.006	9.443	0.002	1.018	1.006 ~ 1.029
D-ser 高	0.423	0.147	8.318	0.004	1.526	1.145 ~ 2.033

2.5　血清 FGF23、D-ser 水平预测 MHD 患者听力障碍的价值　绘制血清 FGF23、D-ser 水平预测 MHD 患者听力障碍价值的 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 FGF23、D-ser 水平及二者联合预测 MHD 患者听力障碍的 AUC 分别为 0.773、0.788、0.880，二者联合大于血清 FGF23、D-ser 水平各自单独预测的 AUC（Z = 2.409、2.344，P = 0.016、0.019），见表 4、图 1。

表 4　血清 FGF23、D-ser 水平预测 MHD 患者听力障碍的价值

Tab. 4　Value of serum FGF23 and D-ser levels in predicting hearing impairment in MHD patients

指　标	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	Youden 指数
FGF23	134.53 ng/L	0.773	0.666 ~ 0.859	0.724	0.775	0.500
D-ser	10.84 μmol/L	0.788	0.682 ~ 0.871	0.775	0.775	0.550
二者联合		0.880	0.788 ~ 0.942	0.854	0.775	0.629

3　讨　论

听力障碍是指耳部结构、听觉神经或听觉中枢功能异常导致的听力下降或丧失，以听力减退、听力损失、听力困难或完全失聪为临床表现[11]。MHD 虽然能通过半透膜原理排除 ESRD 患者体内多余代谢废物和电解质，达到维系生命的目的，但 MHD 患者由于长期液体和电解质紊乱、血流动力学改变等易引起听觉系统或内耳组织损伤，导致听力障碍[12]。听力障碍可

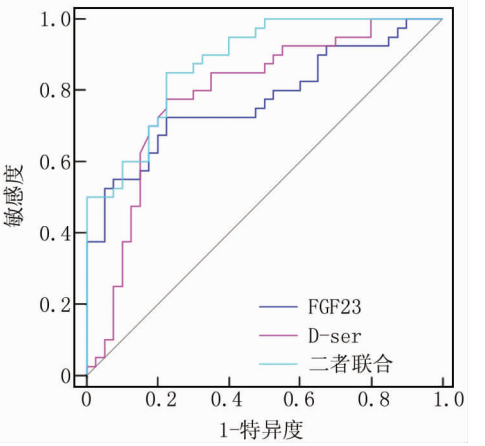


图 1　血清 FGF23、D-ser 水平预测 MHD 患者听力障碍的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve for predicting hearing impairment in MHD patients based on serum FGF23 and D-ser levels

影响生活、社交和其他身体功能，包括语言沟通困难、学习和工作受限、社交活动受阻、认知能力下降、心血管疾病风险增加等，严重影响其心理健康和生活质量[13-14]。目前尚缺乏可靠的指标预测 MHD 患者听力障碍，因此迫切需要寻找能早期、准确预测 MHD 患者听力障碍的血液标志物，对减少 MHD 患者听力障碍风险和改善预后意义重大。

目前认为，MHD 患者听力障碍可能与肾损伤、电解质紊乱、血流动力学改变、氧化应激、炎性反应等有关，耳蜗血管纹同肾单位一样具有上皮结构和紧密接触的血管供应，同时与肾小球一样发挥液体和电解质的主动转运等作用，故 MHD 患者长期肾功能不足引起的毒素堆积能沉积于耳蜗毛细血管导致耳蜗损伤；电解质紊乱损伤听觉神经系统导致听力损伤；血流动力学改变引起内耳微循环灌流障碍导致听力损伤；氧化应激、炎性反应损伤耳蜗内组织和结构导致听力损伤[12,15]。FGF23 主要是由骨细胞和一些肾小管细胞产生的一种内分泌因子，能通过抑制肾小管对磷的重吸收以促进磷的排泄，同时抑制肾脏对维生素 D 的活化以降低钙的吸收和利用，因此 FGF23 在矿物质离子紊乱中发挥重要作用[16]。FGF23 异常升高可导致矿物质离子代谢紊乱诱导血管钙化，是 MHD 患者血管钙化的重要危险因素，与心血管疾病和死亡风险增加有关[17]。此外，FGF23 还可增加白介素-1β 释放而促进炎性反应[18]。在 CKD 小鼠模型中，白介素-1β 诱导的肾损伤能上调 FGF23 表达[19]。有学者通过 RNA 测序发现，FGF23/克洛索信号轴可能参与调节内耳毛细胞功能[20]。更重要的是，最近 Li 等[6]实验发现，慢性

肾功能衰竭伴听力损伤的大鼠肾组织和耳蜗中 FGF23 表达升高,且与平均听阈增加和听觉脑干反应降低呈正相关。因此推测血清 FGF23 可能与 MHD 患者听力障碍有关。本研究结果显示,MHD 患者血清 FGF23 水平升高,与 PTA 呈正相关,是听力障碍的独立危险因素,说明血清 FGF23 水平升高会增加 MHD 患者听力障碍风险。分析原因,高水平 FGF23 能诱导矿物质离子代谢异常引起电解质紊乱,导致听神经异常兴奋、收缩性血管痉挛、内耳细胞电位异常等,干扰听觉神经的传导而增加 MHD 患者听力障碍风险[12]。FGF23 水平升高与炎性反应有关(包括 FGF23 促进炎性反应和炎性反应刺激引起 FGF23 升高),炎性反应诱导耳蜗的侧壁血管纹、螺旋缘、螺旋神经节等免疫细胞活化,破坏耳蜗结构和功能,导致 MHD 患者听力障碍风险增加[21]。

D-ser 主要是由大脑Ⅱ型星形胶质细胞表达的一种神经递质,通过体循环运输途径扩散至全身器官组织,主要由肾脏排泄,当肾功能下降时肾脏 D-ser 排泄降低,会引起 D-ser 在血液中蓄积,且 D-ser 的代谢产物(羟基丙酮酸盐和过氧化氢)随着浓度升高而大量蓄积,通过肾毒性作用加剧肾损伤[8]。研究指出,肾组织 D-ser 高表达能通过氧化应激反应促进急性肾损伤[22]。血清和尿液中 D-ser 水平与肾功能降低密切相关[23]。同时作为神经递质,D-ser 能结合 N-甲基-D-天冬氨酸受体参与突触可塑性、神经发育、兴奋性神经传递等众多神经功能调节,但过量 D-ser 也能引起兴奋性神经毒性,导致神经发育缺陷和神经变性[24]。实验报道,豚鼠耳蜗内灌注 D-ser 可降低听觉神经纤维的声音诱发活性,而敲除 D-ser 基因可以保护小鼠免受噪音引起的永久性听力损失[25]。因此推测血清D-ser 可能与 MHD 患者听力障碍有关。本研究结果显示,MHD 患者血清 D-ser 水平升高,与 PTA 呈正相关,是听力障碍的独立危险因素,说明血清 D-ser 水平升高会增加 MHD 患者听力障碍风险。分析其原因,血清 D-ser 水平升高反映肾功能损伤加重,通过增加体内毒素蓄积损伤耳蜗毛细血管,增加 MHD 患者听力障碍风险[12];另外,高水平 D-ser 能产生更多的过氧化氢,破坏细胞内氧化—还原平衡引起氧化应激,氧化应激损伤耳蜗内组织和结构导致 MHD 患者听力障碍风险增加[23];而且高水平 D-ser 能结合 N-甲基-D-天冬氨酸受体引起兴奋性神经毒性,损伤听觉神经而增加 MHD 患者听力障碍风险[25]。

本研究结果还显示,透析龄长的 MHD 患者听力障碍风险更高,考虑与透析龄长的 MHD 患者液体和电解质紊乱、血流动力学改变时间更长有关。ROC 曲线显示,血清 FGF23、D-ser 水平联合预测 MHD 患者听力障碍的 AUC 大于血清 FGF23、D-ser 水平单独预测。提示血清 FGF23、D-ser 水平有助于预测 MHD 患者听力障碍,同时检测血清 FGF23、D-ser 水平可以更准确地预测 MHD 患者听力障碍。

综上所述,MHD 患者血清 FGF23、D-ser 水平升高,与听力障碍发生密切相关,血清 FGF23、D-ser 水平联合对 MHD 患者听力障碍有较高的预测价值。但本研究为单中心小样本量研究,结果还需多中心大样本研究验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨振昊:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;范伟峰:分析试验数据,论文审核;吴青:实施研究过程,资料搜集整理;张丽红:进行统计学分析;余莹、杨麟:课资料搜集整理,论文撰写;牛建英:论文修改

参考文献

[1] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: A systematic analysis for the global burden of disease study 2017[J]. Lancet, 2020, 395 (10225): 709-733. DOI: 10. 1016/S0140-6736 (20) 30045-3.

[2] 王丽媛,徐洁,唐小铁,等. 美托洛尔联合治疗慢性肾脏疾病预后不良与 IL-6、RDW 及高尿酸血症的相关性分析[J]. 疑难病杂志,2020,19(3):252-256. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 03. 008.

[3] Fan W, Zhong X, Wu Q, et al. Association between hearing loss and physical performance in patients on maintenance hemodialysis[J]. Kidney Res Clin Pract, 2024, 43(3): 358-368. DOI: 10. 23876/j. krcp. 22. 231.

[4] Cannata-Andía JB, Martín-Carro B, Martín-Vírgala J, et al. Chronic kidney disease-mineral and bone disorders: Pathogenesis and Management[J]. Calcif Tissue Int, 2021, 108(4): 410-422. DOI: 10. 1007/s00223-020-00777-1.

[5] 陈惠霞,王玮玮,党珊,等. 血清 HO-1、HIF-1 α 及 FGF23 对腹膜透析患者血管钙化的影响[J]. 中国血液净化,2023,22(8):574-578. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-4091. 2023. 08. 002.

[6] Li J, Nie J, Zhou Z, et al. Changes of FGF23 and hearing in chronic renal failure and their correlation analysis[J]. Cytokine, 2024, 174: 156478. DOI: 10. 1016/j. cyto. 2023. 156478.

[7] 陈珍珍,王伟,唐震宇. D-丝氨酸在抑郁症中的作用研究进展[J]. 南昌大学学报:医学版,2021,61(1):73-77,99. DOI:10. 13764/j. cnki. ncdm. 2021. 01. 016.

[8] 梁艳,金娟,龚建光,等. D-丝氨酸与肾功能不全关系的研究进展[J]. 浙江医学,2022,44(19):2110-2114. DOI:10. 12056/j. issn. 1006-2785. 2022. 44. 19. 2021-385.

[9] 上海慢性肾脏病早发现及规范化诊治与示范项目专家组. 慢性肾脏病筛查诊断及防治指南[J]. 中国实用内科杂志,2017,37(1):28-34. DOI:10. 19538/j. nk2017010108.

(下转 960 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 012

论著 · 临床

急性髓系白血病患者血清 LncRNA PVT1、miR-486-5p 表达及预后价值

陈珊, 安和兵, 王腾飞, 宗广帅, 周蕾

基金项目: 河北省卫生健康委科研基金项目(20200492)
作者单位: 075100　河北张家口, 河北北方学院附属第二医院检验科(陈珊、安和兵), 血液科(王腾飞、宗广帅、周蕾)
通信作者: 安和兵, E-mail: 15933333307@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨急性髓系白血病(AML)患者血清长链非编码 RNA PVT1 基因 (LncRNA PVT1)、微小 RNA-486-5p(miR-486-5p)表达水平与疾病病理特征和预后的关系。**方法**　回顾性选取 2017 年 4 月—2019 年 3 月河北北方学院附属第二医院血液科就诊的 AML 患者 100 例为 AML 组, 选取同期健康体检者 100 例为健康对照组, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测血清 LncRNA PVT1、miR-486-5p 相对表达量; 采用 Pearson 相关法分析 AML 患者血清 LncRNA PVT1 与 miR-486-5p 水平的相关性; Kaplan-Meier 法分析 AML 患者生存曲线; 采用 Cox 回归分析评价影响 AML 患者预后的危险因素。**结果**　AML 组患者 LncRNA PVT1 水平高于健康对照组, miR-486-5p 水平低于健康对照组(t/P = 15.403/ < 0.001、18.305/ < 0.001)。Pearson 相关性分析显示, AML 患者 LncRNA PVT1 与 miR-486-5p水平呈负相关(r = −0.261, P < 0.01); 不同白细胞计数、骨髓原始细胞比率、NCCN 危险分层患者 LncRNA PVT1、miR-486-5p 水平比较差异有统计学意义(LncRNA PVT1: t/P = 2.934/0.004, 2.901/0.005, 10.985/ < 0.001; miR-486-5p: t/P = 2.598/0.012, 2.604/0.012, 8.593/ < 0.001)。LncRNA PVT1 高水平表达者 3 年总生存率低于 LncRNA PVT1 低水平表达者(χ^2/P = 14.16/ < 0.001), miR-486-5p 高水平表达者 3 年总生存率高于 miR-486-5p 低水平表达者(χ^2/P = 16.82/ < 0.001)。Cox 回归分析显示, LncRNA PVT1 高表达、miR-486-5p 低表达、NCCN 危险分层高是急性髓系白血病患者预后不良的危险因素[RR(95% CI) = 1.982(1.148 ~ 2.993), 1.668(1.085 ~ 2.641), 1.659(1.068 ~ 2.602)]。**结论**　AML 患者 LncRNA PVT1 高表达, miR-486-5p 低表达, 二者水平与白细胞计数、骨髓原始细胞比率、NCCN 危险分层和患者预后有关。

【关键词】 急性髓系白血病; 长链非编码 RNA PVT1 基因; 微小 RNA-486-5p; 病理特征; 预后
【中图分类号】 R733.71　　【文献标识码】 A

Expression and prognostic value of serum LncRNA PVT1, miR-486-5p in patients with acute myeloid leukocyte

Chen Shan, An Hebing, Wang Tengfei, Zong Guangshuai, Zhou Lei. *Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Province, Zhangjiakou* 075100, *China*
Funding program: Research Fund Project of Hebei Provincial Health Commission (20200492)
Corresponding author: An Hebing, E-mail: 15933333307@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the relationship between the serum expression levels of long non-coding RNAPVT1 gene (LncRNAPVT1) and microRNA-486-5p (miR-486-5p) in plasma and the pathological characteristics and prognosis of acute myeloid leukemia (AML) patients. **Methods**　One hundred patients with AML were selected as AML group and 100 healthy subjects were selected as healthy control group. The relative expression levels of serum LncRNA PVT1 and miR-486-5p were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). Pearson correlation method was used to evaluate the correlation between serum LncRNA PVT1 and miR-486-5p in AML patients and its relationship with pathological characteristics. Kaplan-Meier method was used to analyze the survival curve of AML patients, and Cox regression analysis was used to evaluate the risk factors affecting the prognosis of AML patients. **Results**　The levels of LncRNA PVT1 in AML experimental group patients were higher than those in the healthy control group. the levels of miR-486-5p in AML experimental group patients were lower than those in the healthy control group (t/P = 15.403/ < 0.001、18.305/ < 0.001). Pearson correlation analysis showed that LncRNA PVT1 was negatively correlated with miR-486-5p level in AML group (r = −0.261, P < 0.01). There were statistically significant differences in leukocyte count, bone marrow original cell ratio, prognostic risk stratification, LncRNA PVT1 and miR-486-5p levels in AML group (LncRNA PVT1: t/P = 2.934/0.004, 2.901/0.005, 10.985/ < 0.001; miR-486-5p: t/P = 2.598/0.012, 2.604/0.012, 8.593/ < 0.001). The 3-year overall survival rate of those

with high expression of LncRNA PVT1 was lower than those with low expression of LncRNA PVT1($\chi^2/P = 14.160/ < 0.001$), and the 3-year overall survival rate of those with high expression of miR-486-5p was higher than that of those with low expression of miR-486-5p($\chi^2/P = 16.820/ < 0.001$). Comprehensive analysis of study data showed that high level of LncRNA PVT1 expression and low level of miR-486-5p expression were risk factors for poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia[$RR(95\% CI) = 1.982(1.148 - 2.993), 1.668(1.085 - 2.641), 1.659(1.068 - 2.602)$]. **Conclusion**　The high expression of LncRNA PVT1 and low expression of miR-486-5p in AML patients are related to white blood cell count, bone marrow primitive cell ratio, risk stratification of prognosis and patient prognosis.

【**Key words**】 Acute myeloid leukemia; Long non-coding RNA PVT1 gene; Micro RNA-486-5p; Pathological characteristics; Prognosis

急性白血病是一种由于造血干细胞基因突变而形成的原始细胞恶性克隆性疾病,其发生和发展涉及多种基因和信号通路的异常,急性白血病的发生可能与遗传、环境、生活方式等多种因素有关[1]。急性髓系白血病(acute myeloid leukemia ,AML)是成人急性白血病最常见类型,尽管 AML 的诊治在近年来取得一定进展,但长期生存率仍较低[2],主要受累细胞为骨髓细胞,AML 的发病率和病死率相对较高,且随着年龄的增长而增加。目前,化疗仍然是 AML 的主要治疗方式,但存在耐药性、预后差、复发率高等缺点,严重影响了治疗效果,因此寻找新的生物标志物为临床提供新的诊断和评估显得尤为重要[3]。近年研究表明[4-5],长链非编码 RNA(LncRNA)、微小 RNA(miRNA)与 AML 关系密切,参与白血病细胞增殖、生长、分化、凋亡等过程。LncRNA PVT1 位于染色体 8q24,研究表明其在正常组织中低水平表达,在各种恶性肿瘤和肿瘤细胞系中高表达,如前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、胃癌和白血病等[6-8],可用于多种恶性肿瘤的诊断和预后预测。miR-486-5p 是近年新发现的一种 miRNA,研究报道其在结直肠癌、胃癌、肝癌等多种肿瘤中发挥抑癌因子的作用,可作为癌症诊断新型生物标志物[9-10],但在急性髓系白血病中的作用未见相关报道。本研究拟观察 AML 患者血清中 LncRNA PVT1、miR-486-5p 的表达水平,分析二者与临床病理特征及预后的关系,报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　回顾性分析 2017 年 4 月—2019 年 3 月河北北方学院附属第二医院血液科就诊的 AML 患者 100 例,作为 AML 组,其中男 54 例,女 46 例,年龄 38 ~ 70(56.68 ± 8.25)岁,选取同期健康体检者 100 例为健康对照组,其中男 55 例,女 45 例,年龄36 ~ 70(55.89 ± 8.41)岁;2 组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会审批通过(202021),全部受试者及其家属均知情并签署知情并同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①AML 诊断符合《成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2017 年版)》[10];② 经骨髓细胞形态学、免疫学、染色体检查确诊者;③初诊患者,入院前未接受任何抗肿瘤治疗;④年龄 > 18 岁;⑤可配合治疗;⑥临床资料完整。(2)排除标准: ①合并其他恶性肿瘤者;②合并其他血液疾病者;③严重心、肝、肺、肾病等患者;④患急性早幼粒细胞白血病;⑤既往多药过敏史或过敏性体质者。

1.3　检测指标与方法

1.3.1　临床资料收集:收集患者性别、年龄、实验室检查、骨髓穿刺检查等信息,并进行美国国立综合癌症网络(NCCN)危险分层,记录患者基本信息。

1.3.2　血清 LncRNA PVT1、miR-486-5p 表达水平检测:全部受试者早晨空腹采集肘静脉血 10 ml,3 500 r/min离心 15 min(山东百欧公司型号 TDL-420R 离心机),分离血清 -80 ℃保存待测,采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测血清 LncRNA PVT1、miR-486-5p 相对表达量,根据试剂盒说明书进行操作,提取总 RNA,在设定好反应体系的荧光定量 PCR 仪连续检测荧光并进行扩增,反应条件为 94 ℃ 5 min,94 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s;72 ℃ 30 s,共 40 个扩增循环;相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算。将 LncRNA PVT1 基因内参设定为 GAPDH,miR-486-5p 内参设定为 U6,分析时将内参设定为 1,得到 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 的相对定量值。引物序列由上海生工合成,见表 1。

表 1　LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 引物序列

Tab. 1　Primer sequences of LncRNA PVT1 and miR-486-5p

基因	上游引物	下游引物
miR-486-5p	5′-GTCGTATCCAGTGCAGGGGT-3′	5′-CTCAACTGGTGTCGTGGA-3′
U6	5′-GAAACACCGTGCTCGCTT-3′	5′-TGCTAATCTTCTCTGTATCG-3′
LncRNA PVT1	5′-GCCTTCCCTCCTTCTGGAAG-3′	5′-GGTCCAGGTGGAGTCATG-3′
GAPDH	5′-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3′	5′-GCTTCACCACCTTCTTGATGTC-3′

1.4　生物信息学分析　采用 Starbase 2.0 软件预测 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 之间是否存在结合位点。

1.5　治疗及随访　患者入院后，均按照诊疗指南给予规范化治疗，包括柔红霉素、阿糖胞苷等药物治疗。出院后，对其进行 24 个月门诊电话随访，随访频率每月 1 次，记录患者预后情况。

1.6　统计学方法　采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验；计数资料以频数或率(%)表示，比较采用 χ^2 检验；Pearson 相关分析 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 水平的相关性；采用 Cox 回归分析评价影响 AML 预后的危险因素，中位数比较采用非参数检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组 LncRNA PVT1 及 miR-486-5p 表达水平比较　结果表明，AML 组 LncRNA PVT1 相对表达水平显著高于健康对照组($P<0.01$)，AML 组 miR-486-5p 相对表达水平显著低于健康对照组($P<0.01$)，见表 2。

2.2　LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 结合位点预测　Starbase 2.0 软件分析结果显示，AML 患者血清中 LncRNA PVT1 值上调时 miR-486-5p 值呈负向下调，推测 LncRNA PVT1 可能负向调控 miR-486-5p 影响 AML 的形成且共同参与 AML 的进展，说明 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 存在结合位点，见图 1。

2.3　AML 患者 LncRNA PVT1 与 miR-486-5p 表达水平的相关性　Pearson 相关分析显示，LncRNA PVT1 与 miR-486-5p 相对表达水平呈负相关($r=-0.261$，$P<0.01$)。

表 2　健康对照组与 AML 组 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 相对表达量比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Comparison of relative expression levels of LncRNA PVT1 and miR-486-5p between healthy control group and AML group

组　别	例数	LncRNA PVT1	miR-486-5p
健康对照组	100	1.12 ± 0.44	1.07 ± 0.37
AML 组	100	3.83 ± 1.79	0.35 ± 0.16
t 值		15.403	18.305
P 值		<0.001	<0.001

图 1　LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 结合位点预测

Fig. 1　Prediction of LncRNA PVT1 and miR-486-5p binding sites

2.4　AML 患者 LncRNA PVT1、miR-486-5p 表达水平与临床病理特征的关系　结果发现，不同白细胞计数、骨髓原始细胞比例、NCCN 危险分层 AML 患者血清 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)，而不同性别、年龄、血红蛋白、血小板计数、髓外病变患者比较，差异无统计学意义($P>0.05$)，见表 3。

表 3　LncRNA PVT1、miR-486-5p 血清表达水平与 AML 患者临床病理特征关系　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3　Relationship between serum expression levels of LncRNA PVT1 and miR-486-5p and clinical pathological characteristics of AML patients

病理特征		例数	LncRNA PVT1	t/F 值	P 值	miR-486-5p	t/F 值	P 值
性别	男	54	3.74 ± 1.86	0.936	0.996	0.35 ± 0.16	0.067	0.947
	女	46	3.75 ± 1.69			0.35 ± 0.18		
年龄(岁)	<60	48	3.77 ± 1.86	0.275	0.985	0.36 ± 0.17	0.058	0.786
	≥60	52	3.78 ± 1.73			0.35 ± 0.16		
血红蛋白(g/L)	<60	55	3.74 ± 1.88	1.153	0.975	0.35 ± 0.16	0.106	0.915
	≥60	45	3.72 ± 1.69			0.35 ± 0.17		
白细胞计数(个/L)	$<10\times10^9$/L	48	3.24 ± 1.78	2.934	0.004	0.40 ± 0.21	2.598	0.012
	$\geq10\times10^9$/L	52	4.23 ± 1.66			0.31 ± 0.08		
血小板计数(个/L)	$<50\times10^9$/L	45	3.68 ± 1.82	0.318	0.751	0.36 ± 0.18	0.534	0.595
	$\geq50\times10^9$/L	55	3.79 ± 1.77			0.35 ± 0.16		
骨髓原始细胞比率(%)	<50	44	3.22 ± 1.77	2.901	0.005	0.40 ± 0.22	2.604	0.012
	≥50	56	4.20 ± 1.68			0.31 ± 0.08		
髓外病变	有	41	3.60 ± 1.79	0.637	0.526	0.37 ± 0.18	1.138	0.519
	无	59	3.83 ± 1.78			0.35 ± 0.15		
NCCN 危险分层	低风险	25	2.66 ± 1.72	10.985	<0.001	0.45 ± 0.27	8.593	<0.001
	中风险	35	3.68 ± 1.60			0.34 ± 0.08		
	高风险	40	4.53 ± 1.61			0.30 ± 0.07		

2.5　AML 患者血清 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 表达水平与预后的关系　AML 患者以 LncRNA PVT1 基因表达量的中位值 3.415 作为界值，高于中位值为高表达（46 例），低于中位值为低表达（54 例）；以 miR-486-5p 基因表达量的中位值 0.320 作为界值，高于中位值为高表达（41 例），低于中位值为低表达（59 例），计算各组总生存率。2 年的随访结果显示，100 例 AML 患者存活 62 例，总生存率为 62.00%，其中 LncRNA PVT1 低表达组生存率 75.93%（41/54），LncRNA PVT1 高表达组生存率 45.65%（21/46），2 组差异有统计学意义（$\chi^2 = 14.160$，$P < 0.001$）。miR-486-5p 低表达组生存率 40.68%（24/59），miR-486-5p 高表达组生存率 92.68%（38/41），2 组差异有统计学意义（$\chi^2 = 16.820$，$P < 0.001$）。见图 2、图 3。

2.6　Cox 回归分析 AML 患者预后的危险因素　以 AML 患者预后为因变量（1 = 不良，0 = 良好），将单因素分析结果中有差异的项目作为自变量纳入多因素 Cox 回归分析，结果显示，NCCN 危险分层高、LncRNA PVT1 高表达、miR-486-5p 低表达是 AML 患者不良预后的危险因素（$P < 0.05$），见表 4。

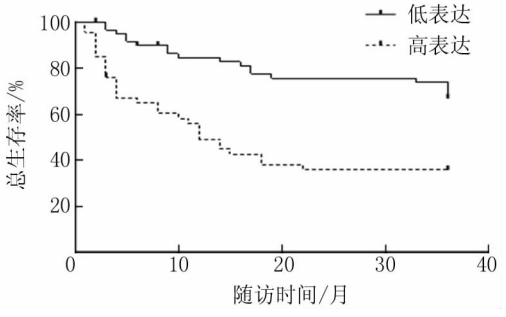


图 2　K-M 曲线分析 LncRNA PVT1 血清表达水平与 AML 患者预后的关系

Fig. 2　K-M curve analysis of the relationship between serum expression level of LncRNA PVT1 and prognosis of AML patients

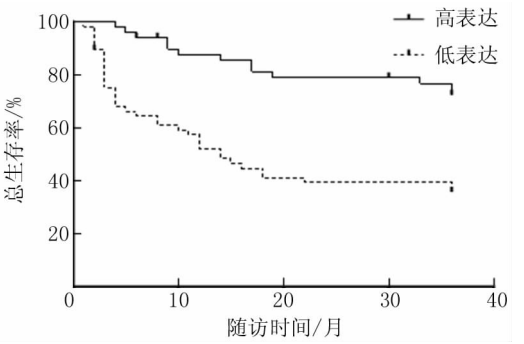


图 3　K-M 曲线分析 miR-486-5p 血清表达水平与 AML 患者预后的关系

Fig. 3　K-M curve analysis of the relationship between miR-486-5p serum expression level and prognosis of AML patients

3　讨　论

AML 是造血干细胞或祖细胞中特定细胞转录、表观遗传、点突变、遗传突变等导致的恶性肿瘤[11]，主要表现为骨髓衰竭引起的贫血、出血、感染、发热及肝、脾、淋巴结等器官功能障碍[12]。目前，造血干细胞移植仍然是 AML 最有效的治疗手段，但受限于造血干细胞来源和经济条件的影响，临床未能有效开展[13]，随着医学技术的不断进步，联合序贯化疗、靶向药物治疗、免疫治疗等多种治疗方案显著提高了 AML 的治愈率，缓解率可达 50% ~ 80%[2]，但仍有部分 AML 患者不能达到完全缓解或出现多次复发，因此研究 AML 的治疗和预后，开发新的与 AML 预后相关的生物标志物，制定靶向治疗方案显得尤为重要。

长链非编码 RNA（LncRNA）是长度 > 200 bp 且不编码蛋白质的 RNA 亚类，研究表明 LncRNA 在细胞的生长、分化和疾病发生中起着关键作用[14-15]。已有大量文献报道 LncRNA 与恶性肿瘤的复发、转移和预后关系密切，多种生物标志物被认为可以作为肿瘤诊断和预后的检测方法。PVT1 是一种位于染色体 8q24 的 LncRNA，被认为是 MYC 的激活因子，c-MYC 可以结合

表 4　多因素 Cox 回归分析 AML 患者预后的危险因素

Tab. 4　Multivariate Cox regression analysis of risk factors for prognosis in AML patients

变　量	回归系数	标准误	WALD 值	*P* 值	*RR*（95% *CI*）
白细胞计数高	−0.246	0.672	0.134	0.715	0.782（0.509 ~ 1.421）
骨髓原始细胞比率大	−0.205	0.837	0.060	0.806	0.814（0.558 ~ 1.502）
NCCN 高风险	1.007	0.333	9.147	0.002	1.659（1.068 ~ 2.602）
LncRNA PVT1 高表达	1.548	0.610	6.443	0.011	1.982（1.148 ~ 2.993）
miR-486-5p 低表达	2.038	0.825	6.018	0.013	1.668（1.085 ~ 2.641）

到 PVT1 的启动子区域并促进其转录[16-17]。最早发现 LncRNA PVT1 在前列腺癌中表达上调，有研究陆续报道 LncRNA PVT1 在肺癌、乳腺癌、结肠癌、胃癌和胰腺癌等高表达，且表达量与肿瘤的恶性程度和预后不良相关[18-19]。近年有研究表明 LncRNA PVT1 也参与了血液系统疾病，如 Zeng 等[20]报道急性早幼粒细胞白血病患者外周血细胞 PVT1 高表达，敲低 PVT1 可抑制白血病细胞的增殖。本研究观察到 AML 患者外周血 PVT1 表达异常升高，与上述文献报道一致，推测 PVT1 可以作为 AML 有潜力的肿瘤生物标志物。

近年来，微小 RNA（miRNA）在肿瘤发生和发展中的作用备受关注，miRNA 通过细胞增殖、生长、分化、细胞凋亡、细胞周期等过程，影响肿瘤疾病进程[21]。miR-486-5p 是近年新发现的一种 miRNA，可以通过与靶基因的 3′UTR 结合，抑制靶基因的表达，从而参与肿瘤的发生和发展。有研究报道 miR-486-5p 在结直肠癌、胃癌、肝癌等多种肿瘤中发挥抑癌因子的作用，且 miR-486-5p 具有较高稳定性及特异性，可以作为肿瘤诊断和预后的新型生物标记物[22]。研究表明在急性白血病中，miR-486-5p 的表达水平可能受到多种因素的影响，如性别、年龄、疾病分期、治疗方式等，此外，miR-486-5p 可能通过调节细胞周期、影响细胞凋亡等方式参与急性白血病的发生和发展，Ninawe 等[23]报道 miR-486-5p 在慢性粒细胞白血病（CML）患者中发挥抑癌因子的作用，影响 CML 的进程，miR-486-5p 表达高的患者预后良好。本研究观察到 AML 患者外周血 miR-486-5p 表达下调，提示 miR-486-5p 低水平与 AML 有关。

Luo 等[24]研究报道结肠癌中 LncRNA PVT1 上调，miR-486-5p下调，PVT1 通过调控 miR-486-5p/CDK4 轴促进 5-FU 的耐药性。本研究生物信息学分析结果显示 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 存在结合位点，AML 患者血清中 LncRNA PVT1 上调，miR-486-5p 下调，相对表达水平呈负相关，笔者因此推测 LncRNA PVT1 与 miR-486-5p 可能共同参与 AML 的进展，LncRNA PVT1 可能负向调控 miR-486-5p 影响 AML 形成。本研究进一步观察到 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 表达量与 WBC 计数、骨髓原始细胞比例、NCCN 危险分层有关，与患者性别、年龄、血红蛋白、血小板计数、髓外病变无关，提示 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 表达与 AML 临床病理特征相关。2 年随访结果表明 LncRNA PVT1 高水平表达、miR-486-5p 低水平表达和 AML 患者不良预后密切相关，监测 AML 患者血清中 LncRNA PVT1 和 miR-486-5p 的表达水平，可以有效地评估患者的预后，为制定 AML 患者的有效治疗方案提供了依据。

综上所述，AML 患者血清中 LncRNA PVT1 高水平表达和 miR-486-5p 低水平表达，与 AML 患者的预后危险分层及疾病的病理特征进展关系密切，同时血清中 miR-486-5p 高表达提示患者生存率较高，预后较好，但 LncRNA PVT1 调控 miR-486-5p 参与 AML 发生发展的具体机制还需进一步研究。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈珊：设计研究方案，实施研究过程，分析试验数据，论文撰写；安和兵：提出研究思路、分析试验数据，论文审核，论文修改；王腾飞、宗广帅、周蕾：实施研究过程、资料收集整理、进行统计学分析、论文撰写

参考文献

[1] Pelcovits A, Niroula R. Acute myeloid leukemia: A review[J]. R I Med J, 2020, 103(3): 38-40. DOI: 10.1007/s00520-021-06119-7.

[2] 邱林，马军. 急性髓系白血病靶向治疗研究进展[J]. 白血病·淋巴瘤, 2022, 31(4): 197-203. DOI: 10.3760/cma.j.cn115356-20220210-00033.

[3] Paul S, Short NJ. Central nervous system involvement in adults with acute leukemia: Diagnosis, prevention, and management[J]. Curr Oncol Rep, 2022, 24(4): 1-10. DOI: 10.1007/S11912-022-01220-4.

[4] Nojima T, Proudfoot NJ. Mechanisms of LncRNA biogenesis as revealed by nascent transcriptomics[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(6): 389-406. DOI: 10.1038/s41580-021-00447-6.

[5] Diener C, Keller A, Meese E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: From cells to clinic[J]. Trends Genet, 2022, 38(6): 613-626. DOI: 10.1093/nar/gkae003.

[6] Umemori M, Kurata M, Yamamoto A, et al. The expression of MYC is strongly dependent on the circular PVT1 expression in pure gleason pattern 4 of prostatic cancer[J]. Med Mol Morphol, 2020, 53(3): 156-167. DOI: 10.1007/s00795-020-00243-9.

[7] 王速捷，刘俊，许波，等. 宫颈癌组织 PVT1 表达及其作用[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(14): 1145-1150, 1165. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcpt.2020.14.07.

[8] 刘晶晶，陆娟，张彬彬，等. 卵巢癌组织中 lncRNA-PVT1、miR-31 的表达变化及其临床意义[J]. 山东医药, 2019, 59(36): 58-60. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.36.014.

[9] Sun B, Guo S. miR-486-5p serves as a diagnostic biomarker for sepsis and its predictive value for clinical outcomes[J]. Inflamm Res, 2021, 30(14): 3687-3695. DOI: 10.2147/JIR.S323433.

[10] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 成人急性髓系白血病（非急性早幼粒细胞白血病）中国诊疗指南（2017 年版）[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(3): 177-182. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.03.001.

[11] 尹薇，王欣. 急性髓系白血病患者血浆 lncRNA SNHG16、miR-183-5p 水平与病理特征和预后的关系[J]. 山东医药, 2022, 62(34): 1-5. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2022.34.001.

[12] DiNardo CD, Erba HP, Freeman SD, et al. Acute myeloid leukaemia

[J]. Lancet, 2023, 401(10393): 2073-2086. DOI: 10.1016/s0140-6736(23)00108-3.

[13] 仲照东. 急性髓系白血病造血干细胞移植后复发的预防及治疗[J]. 临床血液学杂志, 2022, 35(5): 375-379. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2022.05.015.

[14] 曲梦媛, 张丽君, 姜楠, 等. LncRNA BCYRN1 调节 miR-363-3p/PAX6 轴对非小细胞肺癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 河北医药, 2023, 45(21): 3205-3210, 3216. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2023.21.001.

[15] Bridges MC, Daulagala AC, Kourtidis A. LNCcation: LncRNA localization and function[J]. Cell Biol, 2021, 220(2): e202009045. DOI: 10.1083/jcb.202009045.

[16] Jin K, Wang S, Zhang Y, et al. Long non-coding RNA PVT1 interacts with MYC and its downstream molecules to synergistically promote tumorigenesis[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(21): 4275-4289. DOI: 10.1007/s00018-019-03222-1.

[17] Palcau AC, Canu V, Donzelli S, et al. CircPVT1: A pivotal circular node intersecting long non-coding-PVT1 and c-MYC oncogenic signals[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 33. DOI: 10.1186/s12943-022-01514-y.

[18] 王速捷, 刘俊, 许波, 等. 宫颈癌组织 PVT1 表达及其作用[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(14): 1145-1150, 1165. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcpt.2020.14.07.

[19] 刘晶晶, 陆娟, 张彬彬, 等. 卵巢癌组织中 lncRNA-PVT1、miR-31 的表达变化及其临床意义[J]. 山东医药, 2019, 59(36): 58-60. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.36.014.

[20] Zeng C, Yu X, Lai J, et al. Overexpression of the long non-coding RNA PVT1 is correlated with leukemic cell proliferation in acute promyelocytic leukemia[J]. Hematol Oncol, 2015, 8(4): 126. DOI: 10.1186/s13045-015-0223-4.

[21] 王婧妍, 黄彬涛, 高大, 等. 急性髓系白血病患者血清 LncRNA XIST、miR-196b 表达及临床意义[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(10): 1056-1060. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.009.

[22] Sun B, Guo S. miR-486-5p serves as a diagnostic biomarker for sepsis and its predictive value for clinical outcomes[J]. Inflamm Res, 2021, 30(14): 3687-3695. DOI: 10.2147/JIR.S323433.

[23] Ninawe A, Guru SA, Yadav P, et al. miR-486-5p: A prognostic biomarker for chronic myeloid leukemia[J]. ACS Omega, 2021, 6(11): 7711-7718. DOI: 10.1021/acsomega.1c00035.

[24] Luo Z, Chen R, Hu S, et al. PVT1 promotes resistance to 5-FU in colon cancer via the miR-486-5p/CDK4 axis[J]. Oncol Lett, 2022, 24(2): 280. DOI: 10.3892/OL.2022.13400.

(收稿日期: 2024-03-22)

(上接 954 页)

[10] 全国防聋治聋技术指导组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会, 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会, 等. 老年听力损失诊断与干预专家共识(2019)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 54(3): 166-173. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2019.03.002.

[11] 李克勇, 宋远航, 黄沪涛, 等. 1990—2019 年全球和中国听力损失疾病负担分析[J]. 职业卫生与应急救援, 2023, 41(4): 414-420. DOI: 10.16369/j.oher.issn.1007-1326.2023.04.005.

[12] Agrawal M, Singh CV. Sensorineural hearing loss in patients with chronic kidney disease: A comprehensive review[J]. Cureus, 2023, 15(11): e48244. DOI: 10.7759/cureus.48244.

[13] 丁永军, 杨蕊, 陈始明. 听力障碍与轻度认知功能障碍患病率之间的关系[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2021, 29(2): 236. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7299.2021.02.029.

[14] Greenberg D, Rosenblum ND, Tonelli M. The multifaceted links between hearing loss and chronic kidney disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2024, 20(5): 295-312. DOI: 10.1038/s41581-024-00808-2.

[15] Sarin V, Sharma A, Chopra I. High frequency hearing loss in chronic renal disease: A cross-sectional study[J]. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg, 2022, 74(Suppl 3): 4046-4052. DOI: 10.1007/s12070-021-02811-6.

[16] 徐慈, 李亚茜, 项涛, 等. 血浆 FGF23 及 Ang2 水平预测急性呼吸窘迫综合征患者并发急性肾损伤的价值分析[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(11): 1126-1130. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.11.010.

[17] 王艺凯, 郭利伟. 成纤维细胞因子 23-Klotho 轴在血管钙化中的作用机制研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(11): 1083-1086. DOI: 10.7683/xxyxyxb.2023.11.015.

[18] Krick S, Grabner A, Baumlin N, et al. Fibroblast growth factor 23 and Klotho contribute to airway inflammation[J]. Eur Respir J, 2018, 52(1): 1800236. DOI: 10.1183/13993003.00236-2018.

[19] McKnight Q, Jenkins S, Li X, et al. IL-1β drives production of FGF-23 at the onset of chronic kidney disease in mice[J]. J Bone Miner Res, 2020, 35(7): 1352-1362. DOI: 10.1002/jbmr.4003.

[20] Wang Y, Lyu J, Qian X, et al. Involvement of DMP1 in the precise regulation of hair bundle formation in the developing cochlea[J]. Biology (Basel), 2023, 12(4): 625. DOI: 10.3390/biology12040625.

[21] 刘宇超, 尹时华. 炎症因子及其相关信号通路在内耳疾病中的研究进展[J]. 中华耳科学杂志, 2021, 19(3): 506-510. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2922.2021.03.020.

[22] Tseng YS, Liao CH, Wu WB, et al. N-methyl-d-aspartate receptor hyperfunction contributes to d-serine-mediated renal insufficiency[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2021, 320(5): F799-F813. DOI: 10.1152/ajprenal.00461.2020.

[23] Kawamura M, Hesaka A, Taniguchi A, et al. Measurement of glomerular filtration rate using endogenous d-serine clearance in living kidney transplant donors and recipients[J]. EClinical Medicine, 2021, 12(43): 101223. DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.101223.

[24] 谭茹尹, 韦庆臣, 罗佐杰. D-丝氨酸的氧化代谢途径与疾病关系的研究进展[J]. 广东医学, 2018, 39(10): 1575-1577, 1582. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2018.10.033.

[25] Wang J, Serratrice N, Lee CJ, et al. Physiopathological relevance of D-serine in the mammalian cochlea[J]. Front Cell Neurosci, 2021, 12(15): 733004. DOI: 10.3389/fncel.2021.733004.

(收稿日期: 2024-03-29)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 013

论著 · 临床

通心络胶囊治疗脓毒症疗效及对微循环的影响

刘玉金，董敬，孙雅莹，张薇，吴艳松，王志勇，李运超

基金项目：国家自然科学基金（82130123）；河北省中医药管理局科研计划（2019194）

作者单位：050091　石家庄，河北以岭医院/国家中医药管理局中医络病学重点学科/国家中医药管理局区域中医诊疗中心（心血管）（刘玉金、董敬、张薇、吴艳松、王志勇、李运超）；064100　河北唐山，玉田县医院（孙雅莹）

通信作者：刘玉金，E-mail：liuyujin5833@126.com

【摘　要】 **目的**　观察通心络胶囊对脓毒症患者临床疗效和微循环指标的影响。**方法**　选取 2018 年 11 月—2021 年 10 月河北以岭医院 ICU 收治的脓毒症患者 60 例，按照随机数字表法分为观察组和对照组，各 30 例。2 组均给予西医常规治疗，观察组加用通心络胶囊，疗程均 7 d。分别于入 ICU 0、6、24、48、72 h 检测大循环参数（MAP、CVP 及 $ScvO_2$）、微循环参数（$Pcv\text{-}aCO_2$、$Pcv\text{-}aCO_2/Ca\text{-}cvO_2$、Lac、CRT）及 APACHE-Ⅱ、SOFA 评分、机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率。**结果**　观察组临床疗效总有效率显著高于对照组（100.0% vs. 66.7%，$\chi^2=8.857$，$P=0.003$）；2 组 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点大循环参数 MAP、CVP 及 $ScvO_2$ 组内比较均具有统计意义（P 均 <0.001）；而组间比较皆无统计意义（P 均 >0.05）。对照组 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点 $Pcv\text{-}aCO_2$ 组内比较差异具有统计学意义（$P=0.006$），$Pcv\text{-}aCO_2/Ca\text{-}cvO_2$ 组内比较无统计学意义（$P=0.261$）；观察组 $Pcv\text{-}aCO_2$ 及 $Pcv\text{-}aCO_2/Ca\text{-}cvO_2$ 组内比较差异均具有统计学意义（P 均 <0.05）；2 组 $Pcv\text{-}aCO_2$ 及 $Pcv\text{-}aCO_2/Ca\text{-}cvO_2$ 在 0、6、24 h 组间比较差异均无统计学意义（$P>0.05$），但 48 及 72 h 组间比较均具有统计学意义（P 均 <0.05），观察组均优于对照组。2 组 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点 Lac、CRT 组内比较均具有统计学意义（P 均 <0.001）；2 组 0、6、24、48 h Lac 组间比较均无统计学意义（P 均 >0.05），72 h Lac 组间比较差异具有统计学意义（$P=0.036$），观察组优于对照组；2 组 0、6、24 h CRT 组间比较均无统计学意义（P 均 >0.05），48 及 72 h CRT 组间比较差异均具有统计学意义（P 均 <0.05），观察组均优于对照组。2 组 7 d 与 1 d 组内比较 APACHE-Ⅱ及 SOFA 评分差异均有统计学意义（P 均 <0.001）；2 组 APACHE-Ⅱ与 SOFA 评分 1 d 组间比较差异均无统计学意义（P 均 >0.05）；7 d 时 APACHE-Ⅱ评分组间比较差异无统计学意义（$P>0.05$），SOFA 评分组间比较差异有统计学意义（$P=0.010$），观察组优于对照组。2 组在机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率方面比较差异均无统计学意义（P 均 >0.05）。**结论**　通心络胶囊能够改善脓毒症患者微循环障碍，缓解病情，改善中医证候临床疗效，但未能缩短机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率。

【关键词】 脓毒症；微循环障碍；通心络胶囊；中西医结合疗法

【中图分类号】 R459.7；R631⁺.2　　【文献标识码】 A

Effects of *Tongxinluo* Capsule on sepsis and microcirculation parameters

*Liu Yujin**, *Dong Jing*, *Sun Yaying*, *Zhang Wei*, *Wu Yansong*, *Wang Zhiyong*, *Li Yunchao*. **Yiling Hospital of Hebei Province*, *Key Disciplines of State Administration of TCM for Collateral Disease*, *National Administration of Traditional Chinese Medicine (TCM) Regional TCM Diagnosis and Treatment Center*, *Hebei Province*, *Shijiazhuang* 050091, *China*

Funding program: *National Natural Science Foundation of China* (82130123); *Research Program of Hebei Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine* (2019194)

Corresponding author: *Liu Yujin*, *E-mail*: *liuyujin*5833@126.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effects of *Tongxinluo* Capsule on major circulation parameters (MAP, CVP and $ScvO_2$), micro circulation parameters ($Pcv\text{-}aCO_2$, $Pcv\text{-}aCO_2/Ca\text{-}cvO_2$, Lac, CRT), clinical efficacy, APACHE-Ⅱ, SOFA score, mechanical ventilation time, ICU admission time and 28-day mortality in septic patients. **Methods**　Sixty patients with sepsis were randomly divided into treatment group and control group, 30 cases in each group, both groups were given conventional western medicine, the treatment group plus *Tongxinluo* Capsule, the control group plus placebo, 4 capsules, 3 times a day, the course of treatment for 7 days. Blood samples were collected at 0, 6, 24, 48 and 72 hours after ICU admission respectively, and relevant research indexes were detected. **Results**　The total effective rate of treatment group was significantly higher than that of control group (100.0% vs. 66.7%, $\chi^2=8.857$, $P=0.003$). The intra-group comparisons of large cycle parameters MAP, CVP and $ScvO_2$ at different time points of 0h, 6h, 24h, 48h and 72 h in the both groups were all sta-

tistically significant (all $P<0.001$), and no significance between the two groups (all $P>0.05$). In the control group, Pcv-aCO_2 was significantly different in the above 5 different time points ($P=0.006$), but no significance in Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 ($P=0.261$). The intra-group comparisons of Pcv-aCO_2 and Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 in treatment group were all statistically significant (all $P<0.05$). There were no significances in Pcv-aCO_2 and Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 between the 2 groups at 0h, 6h and 24h (all $P>0.05$), but there were significances between the 48h and 72h (all $P<0.05$), and the treatment group was superior to the control group. Lac and CRT were statistically significant in the above 5 different time points with intra-group comparisons of the both groups (all $P<0.001$). There were no significances in Lac levels between the 2 groups at 0h, 6h, 24h and 48 h (all $P>0.05$), but there was a statistically significant difference between the groups at 72 h ($P=0.036$), and the treatment group was better than the control group. No significances were found in CRT between groups at 0h, 6h and 24h (all $P>0.05$), but there were significances between groups at 48h and 72 h (all $P<0.05$), and the treatment group was superior to the control group. There were no significant differences in APACHE-Ⅱ and SOFA scores between the two groups before treatment (P all >0.05). There were significant differences before and after treatment with intra-group comparison of both groups (all $P<0.001$). After 7 days of treatment, there was no significant difference in APACHE-Ⅱ scores among groups ($P>0.05$), while significant difference was found in SOFA scores among groups ($P=0.010$). The treatment group was better than the control group. But there were no significant differences in mechanical ventilation time, ICU admission time and 28-day mortality between the two groups (all $P>0.05$).**Conclusion**　*Tongxinluo* Capsule can improve the microcirculation disorder of sepsis patients, relieve the condition and improve the clinical efficacy of TCM syndromes, but it cannot shorten the mechanical ventilation time, ICU admission time and 28-day mortality.

【Key words】 Sepsis; Microcirculation disorder; *Tongxinluo* Capsule; Combined therapy of Chinese and Western medicine

脓毒症是危重患者的首要死因,研究显示混合静脉血与动脉血二氧化碳分压差(Pv-aCO_2)或中心静脉血与动脉血二氧化碳分压差(Pcv-aCO_2)与动静脉氧含量差(Ca-cvO_2)的比值(Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2)升高与脓毒症患者早期微循环功能障碍相关[1],并与预后密切相关。而直观评估外周灌注的毛细血管再充盈时间(capillary refill time,CRT)延长亦与预后不良相关[2]。所以有效改善微循环紊乱可能会开启脓毒症治疗的新靶点。通心络胶囊对心脑肾等器官微血管功能具有明确的保护作用[3-4],而其对严重感染所致脓毒症,即新病入络患者微循环障碍和组织灌注的影响尚未得到研究。本研究旨在前瞻性地探讨通心络胶囊对脓毒症患者氧气、二氧化碳代谢衍生参数及血乳酸(Lac)、CRT是否具有影响,并观察其临床疗效,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　筛选2018 年11 月—2021 年10 月河北以岭医院重症医学科(ICU)收治的脓毒症患者 60 例,按随机数字表法分为观察组和对照组各 30 例。因入 ICU 72 h 内出现应激性溃疡5 例,其中对照组 3 例,观察组 2 例,均予以剔除,最终入选 55 例符合纳入标准的脓毒症患者。2 组性别、年龄、感染部位、合并症、生命体征、机械通气(MV)、持续肾脏替代治疗(CRRT)、应用血管活性药物等方面比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05),具有可比性,见表 1。本研究得到医院伦理委员会批准(2018LCKY-010),受试者或其家属知情同意并签属知情同意书。

表 1　2 组脓毒症患者入组时基线资料比较

Tab. 1　Comparison of baseline data between two groups of sepsis patients upon enrollment

项　目	对照组 ($n=27$)	观察组 ($n=28$)	χ^2/t 值	P 值
男性[例(%)]	17(62.96)	17(60.71)	0.029	0.864
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	69.74 ±11.37	68.36 ±12.51	0.429	0.670
肺感染[例(%)]	24(88.89)	24(85.71)	0.000	1.000
尿路感染[例(%)]	3(11.11)	2(7.14)	0.002	0.966
胆道感染[例(%)]	3(10.71)	1(3.70)	0.232	0.630
血流感染[例(%)]	1(3.70)	1(3.57)	0.000	1.000
高血压[例(%)]	8(29.63)	14(50.00)	2.377	0.123
糖尿病[例(%)]	9(33.33)	10(35.71)	0.034	0.853
冠心病[例(%)]	8(29.63)	10(35.71)	0.231	0.631
神经系统疾病[例(%)]	6(22.22)	6(21.43)	0.005	0.943
慢性心衰[例(%)]	5(18.52)	5(17.86)	0.000	1.000
慢性肾功能不全[例(%)]	3(11.11)	4(14.29)	0.000	1.000
心率($\bar{x}\pm s$,次/min)	118.56 ±17.84	117.89 ±19.80	0.130	0.897
呼吸($\bar{x}\pm s$,次/min)	31.37 ± 6.20	30.25 ± 5.68	0.699	0.488
体温($\bar{x}\pm s$,℃)	37.88 ± 1.21	38.09 ± 1.19	0.642	0.524
机械通气[例(%)]	21(77.78)	22(78.57)	0.005	0.943
肾脏替代治疗[例(%)]	9(33.33)	10(35.71)	0.034	0.853
血管活性药物[例(%)]	21(77.78)	21(75.00)	0.059	0.808

1.2　选择标准

1.2.1　诊断标准:脓毒症的诊断标准参照"中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)"[5],对于感染或疑似感染患者,当脓毒症相关序贯器官衰竭(sequential organ failure assessment,SOFA)评分较基线上升≥2

分可诊断为脓毒症。中医诊断标准参照参考文献[6]辨证为正气虚衰、瘀毒内阻证,主症包括气促、发热、神疲、脉虚、疼痛,次症包括肿块、痛处不移、出血、懒言、自汗、舌象瘀斑或紫黯,脉沉弦或沉迟。

1.2.2　纳入标准:(1)符合脓毒症诊断标准;(2)年龄≥18 岁。

1.2.3　排除标准:(1)合并慢性阻塞性肺疾病;(2)合并上消化道应激性溃疡;(3)有禁食医嘱者;(4)恶性肿瘤晚期;(5)妊娠或哺乳期妇女;(6)对研究药物成分过敏。

1.2.4　剔除标准:治疗 72 h 内出现上消化道应激性溃疡者。

1.3　治疗方法　2 组患者均按照"中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南"[5]给予相应治疗:(1)基本生命体征评估、中心静脉导管置入;(2)全面寻找感染源,抗生素应用前留取痰、血、尿等标本送微生物培养和药物敏感试验;(3)第 1 h 内根据感染部位和可能病原体,静脉应用抗微生物药物;(4)初始液体复苏,3 h 内给予 0.9% 氯化钠注射液 30 ml/kg,根据血流动力学参数和心、肾合并症情况评估液体反应性,确定液体量及输注速度或给予限制性液体管理;(5)根据复苏表现,给予血管活性药物;(6)根据呼吸衰竭或急性肾损伤程度,应用机械通气或肾脏替代治疗。观察组在此基础上给予通心络胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司,批号:A1804031,规格:每粒装 0.26 g)4 粒,每日 3 次,口服或鼻饲;对照组给予通心络胶囊安慰剂(内容物颜色、形态与通心络胶囊一致,石家庄以岭药业股份有限公司,批号:A1804031,规格:每粒装 0.26g)4 粒,每日 3 次,口服或鼻饲。2 组疗程均为 1 周。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　全身血流动力学参数:详细记录患者入 ICU 0、6、24、48、72 h 的心率(HR)、呼吸(RR)、体温(T)、平均动脉压(MAP)、中心静脉压(CVP)、中心静脉血与动脉血血气分析相关指标[氧分压(PO_2)、二氧化碳分压(PCO_2)、血氧饱和度(SaO_2)、中心静脉血氧饱和度($ScvO_2$)]。

1.4.2　氧气与二氧化碳衍生参数:根据上述时间节点动脉及中心静脉血气分析指标计算 Pcv-aCO_2 及 Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2。Pcv-aCO_2 及(Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2)计算公式如下[7]:Pcv-aCO_2 = $PcvCO_2$ − $PaCO_2$;Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 = ($PcvCO_2$ − $PaCO_2$)/(CaO_2 − $CcvO_2$);动脉血氧含量(CaO_2) = (1.34 × SaO_2 × Hb) + (0.003 × PaO_2);中心静脉血氧含量($CcvO_2$) = (1.34 × $ScvO_2$ × Hb) + (0.003 × $PcvO_2$)。

1.4.3　组织灌注参数:Lac 由动脉血气分析测得;CRT 测量方法为监测医师通过对患者右手食指远端指骨施加固定压力 10 s,然后松手,以手机计时器记录手指腹面恢复正常颜色的时间,测量 2 次取平均值[2]。监测医师在临床试验开始前,进行 CRT 测量方法的培训。

1.4.4　APACHE-Ⅱ与 SOFA 评分:APACHE-Ⅱ评分根据《实用重症医学》提供的评分表[8];SOFA 评分根据中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南提供的评分表[5]。

1.4.5　机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率:由研究者依据病历如实记录患者机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率。

1.5　疗效评价标准　中医证候积分根据文献[6]分为无、轻、中、重 4 级,主症分别计 0、2、4、6 分,次症分别计 0、1、2、3 分,总积分 0 ~ 51 分。治愈:证候积分降低 ≥ 90%,实验室指标正常;显效:证候积分降低 70% ~ <90%,实验室指标趋于正常;有效:证候积分降低 30% ~ <70%,实验室指标好转;无效:证候积分降低 < 30%,实验室指标未好转甚至恶化。总有效率 = (治愈 + 显效 + 有效)/总例数 × 100%。

1.6　统计学方法　应用 SAS 9.1 统计软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,若为非正态分布,则以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用非参数秩和检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 或 U 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组患者临床疗效比较　观察组临床疗效总有效率为 100%,显著高于对照组的 66.7%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2　2 组脓毒症患者临床疗效比较　[例(%)]

Tab. 2　Comparison of clinical efficacy between two groups of sepsis patients

组　别	例数	治愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	27	2(7.4)	11(40.8)	5(18.5)	9(33.3)	18(66.7)
观察组	28	3(10.7)	17(60.7)	8(28.6)	0	28(100.0)
U/χ^2 值			$U = 3.297$			$\chi^2 = 8.857$
P 值			0.001			0.003

2.2　2 组患者全身血流动力学参数比较　2 组患者入 ICU 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点全身血流动力学参数 MAP、CVP 及 $ScvO_2$ 组内比较均具有统计学意义（P 均 <0.01）；2 组患者入 ICU 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点 MAP、CVP 及 $ScvO_2$ 组间比较均无统计学意义（P 均 >0.05），见表 3。

表 3　2 组脓毒症患者不同时间点 MAP、CVP 及 $ScvO_2$ 变化比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 3　Comparison of changes in MAP, CVP, and $ScvO_2$ levels in two groups of sepsis patients at different time points

组　别	时间	MAP（mmHg）	CVP（cmH_2O）	$ScvO_2$（%）
对照组	0 h	64.74 ± 10.05	6.48 ± 2.72	61.24 ± 12.02
（n = 27）	6 h	73.41 ± 5.83	8.52 ± 2.39	70.75 ± 4.90
	24 h	80.93 ± 7.26	9.81 ± 1.69	72.37 ± 6.27
	48 h	81.41 ± 8.67	10.00 ± 1.39	71.41 ± 6.45
	72 h	86.63 ± 8.84	9.96 ± 1.56	73.09 ± 4.76
观察组	0 h	62.71 ± 7.81	6.29 ± 3.43	58.18 ± 8.99
（n = 28）	6 h	73.82 ± 5.81	8.39 ± 2.15	70.10 ± 4.71
	24 h	80.64 ± 8.14	9.86 ± 1.84	72.96 ± 6.23
	48 h	83.46 ± 7.54	10.18 ± 1.56	73.23 ± 3.70
	72 h	85.32 ± 8.56	9.71 ± 1.76	73.18 ± 3.82
F/P 对照组内值		28.690/ <0.001	15.200/ <0.001	11.670/ <0.001
F/P 观察组内值		40.660/ <0.001	14.240/ <0.001	34.570/ <0.001

2.3　2 组患者氧气与二氧化碳衍生参数比较　对照组患者入 ICU 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点 Pcv-aCO_2 组内比较差异具有统计学意义（P <0.01），Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 组内比较无统计学意义（P >0.05）。观察组患者 Pcv-aCO_2 及 Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 组内比较差异均具有统计学意义（P 均 <0.01）。2 组患者在入 ICU 0、6、24 h 组间比较均无统计学意义，但在 48 及 72 h比较，观察组优于对照组（P <0.05），见表 4。

2.4　2 组患者组织灌注参数比较　2 组患者入 ICU 0、6、24、48 及 72 h 不同时间点组织灌注参数 Lac、CRT 组内比较均具有统计学意义（P 均 <0.01）。2 组患者入 ICU 0、6、24、48 h Lac 组间比较均无统计学意义（P 均 >0.05），72 h Lac 组间比较具有统计学意义，观察组优于对照组（P <0.01）；2 组患者入 ICU 0、6、24 h CRT 组间比较均无统计学意义（P 均 >0.05），48 及 72 h CRT 组间比较均具有统计学意义，观察组均优于对照组（P 均 <0.05），见表 5。

2.5　2 组患者 APACHE-Ⅱ与 SOFA 评分比较　观察组与对照组 1 d 与 7 d 组内比较 APACHE-Ⅱ及 SOFA 评分差异均有统计学意义（P 均 <0.05）。观察组与对照组 APACHE-Ⅱ与 SOFA 评分在 1 d 组间比较，差异均无统计学意义（P 均 >0.05）；在 7 d 时 SOFA 评分组间比较差异有统计学意义（P <0.05），观察组优于对照组，见表 6。

表 4　2 组脓毒症患者不同时间点 Pcv-aCO_2 和 Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 变化比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 4　Comparison of changes in Pcv-aCO_2 and Pcv-aCO_2/Ca cvO_2 at different time points in two groups of sepsis patients

组　别	时间	Pcv-aCO_2（mmHg）	Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2
对照组	0 h	6.92 ± 2.70	1.54 ± 0.59
（n = 27）	6 h	5.41 ± 1.92	1.31 ± 0.63
	24 h	5.39 ± 1.99	1.28 ± 0.49
	48 h	5.23 ± 1.68	1.25 ± 0.48
	72 h	4.94 ± 1.86	1.26 ± 0.53
观察组	0 h	6.99 ± 2.31	1.53 ± 0.64
（n = 28）	6 h	5.38 ± 1.33	1.30 ± 0.50
	24 h	4.83 ± 1.65	1.22 ± 0.50
	48 h	4.18 ± 1.41	1.01 ± 0.38
	72 h	4.05 ± 1.37	0.98 ± 0.36
F/P 对照组内值		3.800/0.006	1.330/0.261
F/P 观察组内值		14.510/ <0.001	6.100/0.001
t/P 治疗后 6 h 组间值		0.060/0.949	0.030/0.978
t/P 治疗后 24 h 组间值		1.130/0.264	0.470/0.639
t/P 治疗后 48 h 组间值		2.530/0.014	2.070/0.043
t/P 治疗后 72 h 组间值		2.030/0.047	2.340/0.025

表 5　2 组脓毒症患者不同时间点 Lac 及 CRT 变化比较

Tab. 5　Comparison of Lac and CRT changes at different time points in two groups of sepsis patients

组　别	时间	Lac［$M(Q_1, Q_3)$，mmol/L］	CRT（$\bar{x} \pm s$，s）
对照组	0 h	4.20（2.10，6.70）	4.12 ± 1.33
（n = 27）	6 h	3.60（1.90，5.10）	3.69 ± 1.13
	24 h	2.90（1.70，4.20）	3.03 ± 0.97
	48 h	2.40（1.70，3.20）	2.83 ± 1.04
	72 h	1.90（1.50，2.50）	2.57 ± 1.08
观察组	0 h	4.30（2.75，6.55）	4.10 ± 1.08
（n = 28）	6 h	3.25（2.20，5.15）	3.58 ± 1.11
	24 h	2.50（1.60，3.70）	2.91 ± 0.93
	48 h	2.15（1.40，2.75）	2.25 ± 0.72
	72 h	1.60（1.00，2.05）	1.97 ± 0.66
F/P 对照组内值		24.854/ <0.001	8.930/ <0.001
F/P 观察组内值		46.524/ <0.001	26.320/ <0.001
t/P 治疗后 6 h 组间值		0.093/0.926	0.350/0.727
t/P 治疗后 24 h 组间值		0.337/0.736	0.490/0.630
t/P 治疗后 48 h 组间值		1.070/0.284	2.420/0.023
t/P 治疗后 72 h 组间值		2.103/0.036	2.450/0.021

2.6　2 组机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率比较　观察组与对照组在机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率方面比较均无统计学意义（P 均 >0.05），见表 7。

表 6　2 组脓毒症患者 APACHE-Ⅱ与 SOFA 评分比较　($\bar{x} \pm s$, 分)

Tab. 6　Comparison of APACHE-Ⅱ and SOFA scores between two groups of sepsis patients

组　别	时间	APACHE-Ⅱ	SOFA
对照组	1 d	26.70 ± 7.88	10.67 ± 4.15
(n = 27)	7 d	15.89 ± 6.89	6.78 ± 3.99
观察组	1 d	26.43 ± 8.31	9.18 ± 3.64
(n = 28)	7 d	12.89 ± 4.52	4.29 ± 2.89
t/P 对照组内值		6.840/ < 0.001	9.010/ < 0.001
t/P 观察组内值		10.480/ < 0.001	7.310/ < 0.001
t/P 治疗后 1 d 组间值		0.126/0.900	1.415/0.163
t/P 治疗后 7 d 组间值		1.900/0.064	2.658/0.010

表 7　2 组脓毒症患者机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率比较

Tab. 7　Comparison of mechanical ventilation time, ICU hospitalization time, and 28-day mortality rate between two groups of sepsis patients

组　别	例数	机械通气时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	ICU 住院时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	28 d 病死率 (%)
对照组	27	8.14 ± 5.90	14.83 ± 5.80	29.63
观察组	28	7.40 ± 5.29	12.56 ± 4.40	25.00
t/χ^2 值		0.488	1.639	0.149
P 值		0.627	0.107	0.700

3　讨　论

脓毒症基本病理生理机制为感染导致的机体炎性反应失调,血管内皮细胞受损,微循环血流分布异常,循环血容量不足,组织缺血缺氧,灌注不足,最终可引发多器官功能衰竭。尽早地抗感染,液体复苏,进行早期目标导向治疗,以改善大循环血流动力学为目标,并不足以进一步改善微循环和降低病死率[9-10],显然在脓毒症阶段存在着大循环与微循环之间的失协调,积极地改善微循环灌注,是防止其向多器官功能障碍发展的重要措施。中医认为正气亏虚、邪毒侵袭、络脉闭阻是脓毒症的基本病机,所以扶正、解毒、化瘀、通络是治疗此病的根本法则。中西医结合疗法可能有助于改善脓毒症微循环障碍。

有研究报道 Pcv-aCO$_2$ 升高与脓毒症休克早期小血管灌注比例(percentage of small perfused vessels, PPV)下降相关[11],而 Pcv-aCO$_2$/Ca-cvO$_2$ 升高则与脓毒症休克患者早期微循环局部氧消耗下降和微血管反应性降低及舌下微循环参数如总血管密度(total vascular density, TVD)、灌注血管密度(perfused vessel density, PVD)、微血管流动指数(microvascular flow index, MFI)、PPV 降低和异质性指数(heterogeneity index, HI)升高相关[1,12]。本研究前瞻性地调查了通心络胶囊与安慰剂对脓毒症患者大循环及微循环相关指标的影响,结果显示与西医常规治疗的对照组比较,通心络治疗并未能改善患者 MAP、CVP 及 ScvO$_2$ 等大循环指标变化,但氧气与二氧化碳衍生参数 Pcv-aCO$_2$、Pcv-aCO$_2$/Ca-cvO$_2$ 在 48 和 72 h 均显著低于对照组,而且通心络胶囊显著改善了 48 及 72 h 的 CRT 值。考虑通心络胶囊可能通过保护血管内皮细胞功能而改善脓毒症患者微循环障碍从而降低入 ICU 后 48、72 h Pcv-aCO$_2$ 及 Pcv-aCO$_2$/Ca-cvO$_2$ 水平。万荣文等[13]研究显示参麦注射液及血必净对重症脓毒症患者 6、12、24 h 微循环指标(TVD、PVD、MFI)均起到一定的改善作用。胡超[14]观察到参附注射液能够显著改善早期阳气亏虚型脓毒症患者舌下微循环。本研究亦显示具有益气活血通络作用的通心络胶囊能够改善脓毒症患者入 ICU 48、72 h Pcv-aCO$_2$ 及 Pcv-aCO$_2$/Ca-cvO$_2$ 水平,表明通心络治疗能够改善脓毒症患者微循环障碍,这可能与益气活血化瘀中药制剂调节炎性反应与氧化应激,保护血管内皮功能有关[15-16]。

乳酸是葡萄糖酵解产物,脓毒症时由于组织缺氧,微循环灌注不足,导致乳酸生成增多。乳酸增高提示脓毒症患者存在组织灌注不足,而且与病死率独立相关[17];亦有研究揭示即使血乳酸在正常参考范围之内的轻度升高(1 ~ 2 mmol/L),仍然存在着微循环障碍,病死率也同样增加[18]。而益气回阳中药参附注射液及活血化瘀中药血必净注射液能够显著降低脓毒症患者血乳酸水平[14,19]。本研究发现通心络胶囊治疗 72 h时,Lac 水平显著低于对照组,表明通心络能够改善脓毒症患者微循环灌注及乳酸代谢。通心络胶囊为益气化瘀通络的代表药物,通过网络药理学研究发现其具有抗炎、舒张血管、保护血管内皮细胞、抗血小板聚集、及免疫调节等作用[20],而改善器官微循环灌注可能促进了乳酸清除。

CRT 为简便易得且能够直观观测的临床微循环指标,集束化救治脓毒症休克患者 6 h 后,CRT 延长是患者死亡的独立危险因素[2]。Lavillegrand 等[21]研究显示补充维生素 C 也能迅速改善脓毒性休克患者微血管反应性和外周组织灌注,并改善 CRT,这可能与其促进多巴胺向去甲肾上腺素的转化,促进内源性儿茶酚胺合成,介导 NO 合成与利用增加,保护血管内皮功能有关。本研究显示通心络胶囊显著改善了 CRT 的变化趋势,其机制可能是通过益气活血通络作用,增加机体各器官及四肢末梢的微循环灌注而减轻器官损伤,改善病情,所以与对照组比较能够显著降低 SOFA 评分,虽然 APACHE-Ⅱ评分差异无统计学意义,但有

降低趋势。而血必净注射液不但降低了老年脓毒症休克患者 SOFA 和 APACHE-Ⅱ评分,并且降低了 28 d 病死率[19]。但与对照组比较,观察组并没有降低机械通气时间、ICU 住院时间及 28 d 病死率。分析原因可能是前者排除了慢性心力衰竭、呼吸衰竭及慢性肝肾疾病终末期脏器功能不全的患者,而本研究中患者往往合并多种慢性基础疾病,但通心络显著改善了气虚瘀毒证的中医证候疗效。

虽然通心络胶囊能够显著改善脓毒症患者微循环灌注及与微循环密切相关的氧气与二氧化碳衍生参数,并能显著降低 SOFA 评分,改善中医证候疗效,但通心络作为口服剂型,很难在脓毒症的治疗中即刻发挥疗效,本研究中氧气与二氧化碳衍生参数及乳酸均在用药 48 或 72 h 才显著改善。该药也不能用于合并上消化道应激性溃疡出血或有禁食医嘱的脓毒症患者,故而限制了其在 ICU 患者当中的应用。因本研究为单中心的小样本临床观察,所以其结果还需要在更大的人群中得到证实。

利益冲突:本文作者除孙雅莹外,其他作者可能存在利益冲突,但所有作者皆从事重症医学工作,在此研究开展之前从未在脓毒症患者中应用通心络胶囊,此研究是本着科学研究的精神,观察益气通络中成药能否改善属正气虚衰、瘀毒内阻证脓毒症患者的微循环指标。

作者贡献声明

刘玉金:课题设计,论文撰写与修改;董敬、孙雅莹、李运超、张薇:病历资料收集;吴艳松、王志勇:统计学分析

参考文献

[1] Mesquida J, Esinal C, Saludes P, et al. Central venous-to-arterial carbon dioxide difference combined with arterial-to-venous oxygen content difference ($PcvaCO_2/CavO_2$) reflects microcirculatory oxygenation alterations in early septic shock[J]. J Crit Care, 2019, 53: 162-168. DOI: 10.1016/j.jcrc.2019.06.013.

[2] 李晓倩,马玉仓,曹磊,等. 毛细血管再充盈时间对脓毒性休克患者预后价值[J]. 微循环学杂志,2023,33(1):71-75. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1740.2023.01.014.

[3] Wu H, Wu Y, Zhang F, et al. Observation of changes in the number of myocardial capillaries in rabbits after treatment of acute myocardial infarction by Tongxinluo superfine powder[J]. J Tradit Chin Med, 2018, 38(3): 406-411.

[4] Chang L, Hu L, Wei C, et al. Chinese medicine Tongxinluo capsule protects against blood-brain barrier disruption after ischemic stroke by inhibiting the low-density lipoprotein receptor-related protein 1 pathway in mice[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2020, 29(9): 105071. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105071.

[5] 曹钰,柴艳芬,邓颖,等. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J]. 临床急诊杂,2018,19(9):567-588. DOI: 10.13201/j.issn.1009-5918.2018.09.001.

[6] 李俊虎,董妍,张凤雅,等. 扶正解毒汤辅助治疗脓毒症休克效果及对炎性因子和 sCD14、HMGB1 水平的影响[J]. 中华中医药学刊,2023,41(9):247-250. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2023.09.054.

[7] Mesquida J, Saludes P, Gruartmoner G, et al. Central venous-to-arterial carbon dioxide difference combined with arterial-to-venous oxygen content difference is associated with lactate evolution in the hemodynamic resuscitation process in early septic shock[J]. Crit Care, 2015, 19(1): 126. DOI: 10.1186/s13054-015-0858-0.

[8] 刘大为. 实用重症医学[M]. 北京:人民卫生出版社,2017:1117.

[9] 沈延飞,蔡国龙. 脓毒症相关微循环障碍的研究进展[J/OL]. 中华重症医学电子杂志:网络版,2020,6(2):160-164.

[10] Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock[J]. N Engl J Med, 2015, 372(14): 1301-1311. DOI: 10.1056/NEJMoa1500896.

[11] Osina-Tascon GA, Umana M, Bermudez WF, et al. Can venous-to-arterial carbon dioxide differences reflect microcirculatory alterations in patients with septic shock[J]. Intensive Care Med, 2016, 42(2): 211-221. DOI: 10.1007/s00134-015-4133-2.

[12] 孔德琼. Pcv-aCO_2/Ca-cvO_2 在脓毒症休克复苏早期与微循环相关性研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2020.

[13] 万荣文,龙华君,管燕,等. 参麦注射液及血必净对重症脓毒症患者微循环的影响[J]. 深圳中西医结合杂志,2021,31(5):81-82. DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.05.034.

[14] 胡超. 参附注射液改善脓毒性休克急性阳虚证患者舌下微循环的临床研究[D]. 南京:南京中医药大学,2023.

[15] 杨珊,赵暖暖,杨鑫,等. 人参活性成分及药理作用研究进展[J]. 中医药导报,2023,29(1):105-107,116. DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2023.01.019.

[16] 杨飞宇,郭力恒,张敏州,等. 基于"四证四法"辨治脓毒症心肌病的研究进展[J]. 中华中医药杂志,2022,37(8):4263-4268.

[17] Thomas-Rueddel DO, Poidinger B, Weiss M, et al. Hyperlactatemia is an independent predictor of mortality and denotes distinct subtypes of severe sepsis and septic shock[J]. J Crit Care, 2015, 30(2): 439.e1-6.

[18] 周航向,袁佳,张倩,等. 脓毒症相关性脑病发生的影响因素及其列线图风险模型构建[J]. 疑难病杂志,2023,22(12):1245-1250. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.12.003.

[19] 刘莉莉,刘明,李娟. 血必净注射液对老年脓毒症休克患者乳酸清除率的影响[J]. 中国医药科学,2021,11(21):115-118. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0616.2021.21.029.

[20] 秘红英. 基于数据挖掘的吴以岭教授治疗冠心病心绞痛医案分析及通心络胶囊网络药理学研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2018.

[21] Lavillegrand JR, Raia L, Urbina T, et al. Vitamin C improves microvascular reactivity and peripheral tissue perfusion in septic shock patients[J]. Crit Care, 2022, 26(1): 25. DOI: 10.1186/s13054-022-03891-8.

(收稿日期:2024-01-22)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 014

论著 · 临床

母体血清 GDF-15、ANGPTL8 对胎儿先天性心脏病产前诊断的临床意义

宋筱玉，颉丽，唐中锋，葛婷婷，林晓娟

基金项目：甘肃省自然科学基金（22JR5RA726）
作者单位：730050　兰州，甘肃省妇幼保健院产前诊断中心
通信作者：林晓娟，E-mail：1943202435@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探讨血清生长分化因子-15（GDF-15）、血管生成素样蛋白 8（ANGPTL8）在先天性心脏病（CHD）胎儿母体中的表达及其诊断胎儿 CHD 的价值。**方法**　收集 2020 年 1 月—2023 年 3 月甘肃省妇幼保健院产前诊断中心产前筛查疑似胎儿 CHD 的 120 例孕妇作为研究对象，根据产前彩色多普勒超声心动图诊断结果分为 CHD 组（$n=86$）和非 CHD 组（$n=34$）。比较 2 组血清 GDF-15、ANGPTL8 水平；多因素 Logistic 回归分析胎儿 CHD 发病的影响因素；ROC 曲线分析血清 GDF-15、ANGPTL8 对胎儿 CHD 的诊断效能。**结果**　与非 CHD 组比较，CHD 组血清 GDF-15、ANGPTL8 水平显著升高（$t/P=7.860/<0.001$、$7.334/<0.001$）；多因素 Logistic 回归分析结果显示，孕次≥3 次、CHD 家族史及血清 GDF-15、ANGPTL8 升高均是胎儿 CHD 发病的危险因素［OR（95% CI）= 1.383（1.082 ~ 1.767），1.596（1.148 ~ 2.218），3.596（1.694 ~ 7.633），3.175（1.571 ~ 6.417）］；血清 GDF-15、ANGPTL8 及二者联合预测胎儿 CHD 的 AUC 分别为 0.805、0.835、0.903，二者联合诊断胎儿 CHD 优于血清 GDF-15、ANGPTL8 各自单独诊断（$Z=2.052$、2.219，$P=0.040$、0.027）。**结论**　CHD 胎儿的母体血清 GDF-15、ANGPTL8 水平显著升高，二者联合对胎儿 CHD 具有较高的辅助诊断潜能。

【关键词】 胎儿先天性心脏病；生长分化因子-15；血管生成素样蛋白 8；产前诊断
【中图分类号】 R714.53　　【文献标识码】 A

Clinical significance maternal serum GDF-15 and ANGPTL8 for prenatal diagnosis of fetal congenital heart disease

Song Xiaoyu, Jie Li, Tang Zhongfeng, Ge Tingting, Lin Xiaojuan. Prenatal Diagnosis Center, Gansu Maternal and Child Health Hospital, Gansu Province, Lanzhou 730050, *China*
Funding program: Gansu Provincial Natural Science Foundation (22*JR5RA*726)
Corresponding author: Lin Xiaojuan, E-mail: 1943202435@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the expression of serum growth differentiation factor-15 (GDF-15) and angiopoietin-like protein 8 (ANGPTL8) in the mother with fetal congenital heart disease (CHD), and the value of them combined in the diagnosis of fetal CHD. **Methods**　A total of 120 pregnant women suspected of fetal CHD who underwent prenatal screening in our hospital from January 2020 to March 2023 were collected as research subjects. They were separated into CHD group ($n=86$) and non-CHD group ($n=34$) based on the results of Color Doppler echocardiography. The expression levels of serum GDF-15 and ANGPTL8 were compared between the two groups; Multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of fetal CHD; ROC curve was applied to analyze the diagnostic efficacy of serum GDF-15 and ANGPTL8 in fetal CHD. **Results**　Compared with the non CHD group, the serum levels of GDF-15 and ANGPTL8 in the CHD group were obviously increased ($t/P=7.860/<0.001$, $7.334/<0.001$). Multivariate Logistic regression analysis showed that gravidity, family history of CHD, GDF-15 and ANGPTL8 were the influencing factors of fetal CHD［$OR(95\%\ CI)=1.383$（1.082 − 1.767），1.596（1.148 − 2.218），3.596（1.694 − 7.633），3.175（1.571 − 6.417）］. The AUC of serum GDF-15, ANGPTL8 and their combination in the diagnosis of fetal CHD was 0.805,0.835 and 0.903, the combination of serum GDF-15 and ANGPTL8 in the diagnosis of fetal CHD was better than GDF-15. ANGPTL8 was independently predicted ($Z=2.052$, 2.219, $P=0.040$, 0.027). **Conclusion**　The maternal serum GDF-15 and ANGPTL8 levels in fetal CHD are obviously elevated. Color Doppler echocardiography combined with maternal serum GDF-15 and ANGPTL8 has high diagnostic potential for fetal CHD.

【Key words】 Fetal congenital heart disease; Growth differentiation factor-15; Angiopoietin-like protein 8; Prenatal diagnosis

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是婴儿出生时就存在的心脏结构和功能问题,影响约1%的活产婴儿[1]。据统计,全球每年有135万婴儿出生时患有CHD,且其患病率呈持续上升的趋势,病死率很高[2]。心脏在胚胎发育早期发育,尽早的产前诊断对告知家长胎儿CHD的发生、治疗措施的制定、预后的改善至关重要[3]。因此,迫切需要寻找合适的方法尽早对CHD胎儿进行产前诊断。彩色多普勒超声心动图是一种无创、方便的技术,能够更好地帮助观察胎儿心脏情况,对胎儿CHD具有良好的诊断价值[4]。生长分化因子-15(GDF-15)属于转化生长因子-β基因家族,在心血管疾病中呈高表达[5]。血管生成素样蛋白8(ANGPTL8)是一种分泌性蛋白,参与葡萄糖、脂质代谢,在心血管疾病中发挥重要作用[6]。然而,目前GDF-15、ANGPTL8在CHD胎儿的孕妇血清中表达,以及二者联合在胎儿CHD诊断中的价值尚不清晰。因此,本研究通过检测彩色多普勒超声心动图产前诊断为CHD胎儿的孕妇血清中GDF-15、ANGPTL8的水平,分析二者联合对胎儿CHD辅助诊断的价值,为尽早发现CHD胎儿并进行监护,改善患者结局提供参考依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　收集2020年1月—2023年3月甘肃省妇幼保健院产前诊断中心产前筛查疑似CHD胎儿的孕妇120例作为研究对象,根据产前彩色多普勒超声心动图诊断结果分为CHD组($n=86$)和非CHD组($n=34$)。CHD组孕次≥3次的比例、有CHD家族史的比例显著高于非CHD组($P<0.05$);2组孕妇年龄、孕前BMI、产次、高血压史、糖尿病史比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究通过医院医学伦理委员会批准(2019-1118),孕妇家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①CHD组符合CHD的诊断标准[7]及彩色多普勒超声心动图指征;②均定期产检;③活产成功分娩。(2)排除标准:①孕期用药或受到感染患者;②多胎妊娠孕妇;③病历资料不全的孕妇;④免疫系统疾病患者。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　彩色多普勒超声心动图检查:以彩色多普勒超声仪(型号:HELX S2000,德国Siemens公司),设置好探头频率后,对孕妇取不同切面检查:胎儿心脏的大小、位置、血流、心房及心室情况,由具有5年以上工作经验的影像学医师判定是否为胎儿CHD。

表1　非CHD组与CHD组孕妇临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between non-CHD and CHD groups

项　目		非CHD组($n=34$)	CHD组($n=86$)	t/χ^2值	P值
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)		27.86±3.43	28.23±2.65	0.649	0.517
孕前BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m^2)		22.85±4.79	22.74±4.68	0.115	0.908
孕次[例(%)]	≥3	2(5.88)	20(23.26)	4.435	0.035
	<3	32(94.12)	67(76.74)		
产次[例(%)]	≥2	6(17.65)	24(27.91)	1.368	0.242
	<2	28(82.35)	62(72.09)		
CHD家族史[例(%)]		3(8.82)	26(30.23)	6.094	0.014
高血压史[例(%)]		5(14.71)	17(19.77)	0.417	0.518
糖尿病史[例(%)]		1(2.94)	9(10.47)	1.086	0.179

1.3.2　血清GDF-15、ANGPTL8水平检测:采集孕妇清晨空腹肘静脉血3~5 ml,离心留取血清放入-20℃冰箱中保存待检。利用多功能酶标仪(型号:SuPerMax 3100、上海闪谱生物科技公司)以GDF-15、ANGPTL8酶联免疫试剂盒(货号:ml038171,ml063491,上海酶联生物科技有限公司),检测血清GDF-15、ANGPTL8水平。

1.4　统计学方法　采用SPSS 25.0软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$描述,2组间比较采用独立样本t检验;多因素Logistic回归分析胎儿CHD发病的影响因素;ROC曲线分析血清GDF-15、ANGPTL8诊断胎儿CHD的效能。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2组孕妇血清GDF-15、ANGPTL8水平比较　与非CHD组比较,CHD组血清GDF-15、ANGPTL8水平显著升高($P<0.01$),见表2。

表2　非CHD组与CHD组孕妇血清GDF-15、ANGPTL8水平比较　($\bar{x}\pm s$,μg/L)

Tab. 2　Comparison of serum GDF-15 and ANGPTL8 expression levels between non-CHD and CHD pregnant women

组　别	例数	GDF-15	ANGPTL8
非CHD组	34	568.74±68.83	3.73±0.98
CHD组	86	682.57±72.49	5.24±1.03
t值		7.860	7.334
P值		<0.001	<0.001

2.2　胎儿 CHD 彩色多普勒超声心动图检查　疑似胎儿 CHD 的孕妇 120 例中，发现 CHD 胎儿的孕妇 86 例，其中法洛四联征 21 例，房间隔缺损 19 例，室间隔缺损 18 例，主动脉弓狭窄 12 例，心内膜垫缺损 7 例，其他类型 9 例。

2.3　多因素 Logistic 回归分析胎儿 CHD 发病的影响因素　以是否发生胎儿 CHD 为因变量（赋值：是为 1，否为 0），以孕次（赋值：≥3 次为 1，<3 次为 0）、CHD 家族史（赋值：有为 1，无为 0）、GDF-15（连续变量）、ANGPTL8（连续变量）为自变量进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示孕次≥3 次、CHD 家族史及血清 GDF-15、ANGPTL8 升高均是胎儿 CHD 发病的危险因素（$P<0.01$），见表 3。

表 3　多因素 Logistic 回归分析胎儿 CHD 发病的影响因素

Tab. 3　Multivariate Logistic regression analysis of the influencing factors of fetal CHD incidence

项　目	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
孕次≥3 次	0.324	0.125	6.729	0.009	1.383	1.082～1.767
CHD 家族史	0.468	0.168	7.744	0.005	1.596	1.148～2.218
GDF-15 高	1.280	0.384	11.108	0.001	3.596	1.694～7.633
ANGPTL8 高	1.155	0.359	10.356	0.001	3.175	1.571～6.417

2.4　血清 GDF-15、ANGPTL8 对胎儿 CHD 的诊断效能　绘制血清 GDF-15、ANGPTL8 对胎儿 CHD 的诊断效能 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 GDF-15、ANGPTL8 及二者联合预测胎儿 CHD 的 AUC 分别为 0.805、0.835、0.903，二者联合诊断胎儿 CHD 优于血清 GDF-15、ANGPTL8 各自单独诊断（$Z=2.052$、2.219，$P=0.040$、0.027），见表 4、图 1。

表 4　血清 GDF-15、ANGPTL8 对胎儿 CHD 的诊断效能

Tab. 4　Diagnostic efficacy of serum GDF-15 and ANGPTL8 for fetal CHD

项　目	*cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
GDF-15	647.75 μg/L	0.805	0.723～0.872	0.651	0.882	0.534
ANGPTL8	4.67 μg/L	0.835	0.756～0.897	0.721	0.853	0.574
二者联合		0.903	0.835～0.949	0.954	0.824	0.777

3　讨　论

CHD 是最常见的出生异常，在我国其患病率估计为每 1 000 例活产儿中有 9 例，且约 30% 为危重病例，在婴儿期可导致死亡或需要有创干预[8]。产前诊断和胎儿干预作为预防胎儿 CHD 发病和病死的重要手段越来越受到重视[9]。彩色多普勒超声心动图能够

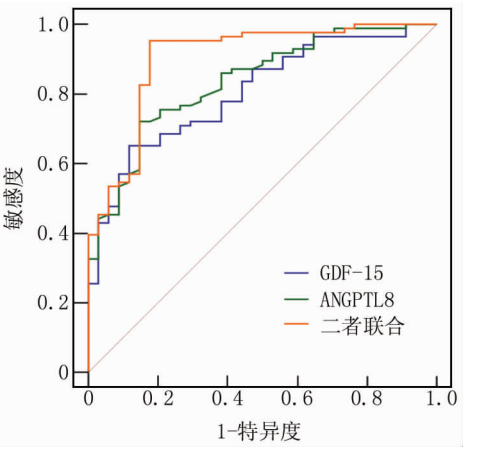


图 1　血清 GDF-15、ANGPTL8 诊断胎儿 CHD 的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curves of serum GDF-15 and ANGPTL8 for diagnosing fetal CHD

系统扫描胎儿发育中的心脏结构，评估血流指标和参数，在胎儿 CHD 的产前诊断中具有良好的效果，能够帮助心脏科医生评估和管理整个妊娠期胎儿心脏功能，以充分制定治疗方案，然而其存在一定的滞后性，诊断效能有待进一步提高[10]。研究表明，血清学指标检测简单、方便、可重复，孕早期母体血清筛查结果对胎儿 CHD 的产前诊断具有较高的辅助诊断效能[11]。

GDF-15 是参与多个系统调节的细胞因子，在多种人体组织中均有表达，是线粒体功能障碍的标志，可以反映细胞应激途径的改变，在多种疾病中发挥关键作用[12]。Dalos 等[13]发现，GDF-15 在冠心病患者血清中显著升高，尤其是在左心室射血分数高度受损的患者中，可以作为冠心病诊断和临床随访的生物标志物。Echouffo-Tcheugui 等[14]发现，糖尿病患者 GDF-15 水平显著升高，且 GDF-15 高表达的患者发生心力衰竭的风险更高，GDF-15 可以促使低密度脂蛋白氧化，具有促动脉粥样硬化作用，反映患者的线粒体功能障碍、心肌纤维化、内皮功能障碍，导致心力衰竭的发生。Wang 等[15]发现，在冠状动脉疾病患者中 GDF-15 水平显著升高，患者出院 1 年内心血管死亡、心力衰竭、出血等不良结局的风险增加，可能是冠状动脉疾病患者不良预后的生物标志物，并可用于完善上述临床结局的风险评估。Kato 等[16]发现，动脉粥样硬化性心血管疾病患者 GDF-15 显著高表达，较高的 GDF-15 水平与心血管事件死亡、心力衰竭住院发生率增加显著相关，GDF-15 响应细胞应激和炎性反应，可以作为心血管疾病诊断、预后评估的生物标志物。本研究发现，与非 CHD 组比较，CHD 组血清 GDF-15 水平显著升高，提示 GDF-15 可能通过响应细胞应激和炎性反应，介导

胎儿 CHD 的发生。

ANGPTL8 主要由人体肝脏和脂肪组织产生和分泌,介导代谢调节、氧化应激、炎性反应等多种生物学进程[17]。Horn 等[18]发现,脓毒症患者外周血 ANGPTL8 水平显著升高,ANGPTL8 参与炎性反应,影响脂质重新分配到脂肪组织中,介导患者的代谢紊乱、胰岛素抵抗,进而促进脓毒症的发生、发展。Zhang 等[19]发现,肝硬化和肝细胞癌患者 ANGPTL8 表达水平显著升高,ANGPTL8 介导炎性反应、肝脂肪变性、肝纤维化,介导肝硬化和肝细胞癌的发生、发展。Jiao 等[20]发现,ANGPTL8 在人和小鼠动脉粥样硬化病变中表达增加,ANGPTL8 在动脉粥样硬化斑块的巨噬细胞中过表达,导致胆固醇摄取增加和外流减少,引起泡沫细胞形成和胆固醇积累增加,促进动脉粥样硬化。Yuan 等[21]发现,妊娠期糖尿病患者孕晚期血清、脐血血清、胎盘 ANGPTL8 表达均显著升高,ANGPTL8 促进下游基因磷酸化来加速糖原合成,改善葡萄糖耐量并增加胰岛素敏感性,通过抑制脂蛋白脂肪酶活性来调节脂质代谢,从而增加血清中三酰甘油水平并降低其游离脂肪酸水平,介导妊娠期糖尿病的病情进展。本研究发现,ANGPTL8 在胎儿 CHD 孕妇血清中显著高表达,提示其可能通过介导炎性反应、脂质代谢等过程,促进胎儿 CHD 的发生。Ruszaia 等[22]发现,GDF-15、ANGPTL8 均为妊娠期糖尿病患者发病的血清标志物,均可影响糖类和血脂代谢,导致妊娠期糖尿病的发生。本研究发现,血清 GDF-15、ANGPTL8 二者联合诊断胎儿 CHD 的 AUC 为 0.903,敏感度为 0.954,特异度为 0.824,二者联合诊断胎儿 CHD 优于各自单独诊断,提示二者均可能介导患者的糖类和血脂代谢导致疾病的发生,可作为胎儿 CHD 产前诊断的血清生物学标志物。多因素 Logistic 回归分析,结果显示孕次、CHD 家族史、GDF-15、ANGPTL8 均是胎儿 CHD 发病的影响因素,提示临床上应密切关注上述因素,以尽早发现胎儿 CHD。

综上所述,胎儿 CHD 的母体血清 GDF-15、ANGPTL8水平显著升高,二者联合对胎儿 CHD 具有较高的诊断潜能。此外,本研究存在样本量小、样本来源单一等问题,GDF-15、ANGPTL8 参与胎儿 CHD 发生的具体机制尚不清晰,后续将重新设计试验,进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

宋筱玉、颉丽:实施研究;采集、分析和解释数据,文章撰写;唐中锋、葛婷婷:采集、分析和解释数据;林晓娟:文章审核、修改

参考文献

[1] Huang H, Cai M, Wang Y, et al. SNP array as a tool for prenatal diagnosis of congenital heart disease screened by echocardiography: Implications for precision assessment of fetal prognosis[J]. Risk Manag Healthc Policy, 2021, 14 (1): 345-355. DOI: 10.2147/RMHP.S286001.

[2] Liu Y, Chen S, Zühlke L, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: Updated systematic review and meta-analysis of 260 studies[J]. Int J Epidemiol, 2019, 48(2): 455-463. DOI: 10.1093/ije/dyz009.

[3] 邢园园,薛红元,叶玉泉. 基于人工智能三维超声心动图评价心脏功能和疾病的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(6): 646-650. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.06.020.

[4] Rocha LA, Bravo-Valenzuela NJ, Rolo LC, et al. Functional cardiac measurements performed by two-dimensional Doppler echocardiography in normal fetuses: Determination of Z-scores and future prospects[J]. Ann Pediatr Cardiol, 2019, 12(3): 233-239. DOI: 10.4103/apc.APC_173_18.

[5] Eddy AC, Trask AJ. Growth differentiation factor-15 and its role in diabetes and cardiovascular disease[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2021, 57(1): 11-18. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.11.002.

[6] Sylvers-Davie KL, Davies BSJ. Regulation of lipoprotein metabolism by ANGPTL3, ANGPTL4, and ANGPTL8[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2021, 321 (4): 493-508. DOI: 10.1152/ajpendo.00195.2021.

[7] 中国医师协会儿科医师分会先天性心脏病专家委员会,中华医学会儿科学分会心血管学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童常见先天性心脏病介入治疗专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(1): 17-24. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2015.01.004.

[8] Pan F, Li J, Lou H, et al. Geographical and socioeconomic factors influence the birth prevalence of congenital heart disease: A population-based cross-sectional study in Eastern China[J]. Curr Probl Cardiol, 2022, 47(11): 101341-101358. DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2022.101341.

[9] 金立臣,温林林,韩喆,等. Th 细胞分化特异性转录因子在低体质量先天性心脏病患儿肺血流异常发病机制中的作用[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(4): 344-347, 352. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.005.

[10] Kamel H, Yehia A. First trimester fetal echocardiography limitations and its expected clinical values[J]. Egypt Heart J, 2020, 72(1): 16-22. DOI: 10.1186/s43044-020-00049-1.

[11] Chen CP, Chen SW, Wang LK, et al. Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a de novo deletion of 4q34.1→qter associated with low PAPP-A and low PlGF in the first-trimester maternal serum screening, congenital heart defect on fetal ultrasound and a false negative non-invasive prenatal testing (NIPT) result[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2022, 1(6): 1039-1043. DOI: 10.1016/j.tjog.2022.08.006

[12] May BM, Pimentel M, Zimerman LI, et al. GDF-15 as a biomarker in cardiovascular disease[J]. Arq Bras Cardiol, 2021, 116(3): 494-500. DOI: 10.36660/abc.20200426.

(下转 975 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 015

论著 · 临床

血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 联合诊断宫颈癌的价值分析

王汇博, 陈慧君, 朱敏

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82173909)
作者单位: 430071　武汉, 武汉大学中南医院妇产科(王汇博、陈慧君), 检验科(朱敏)
通信作者: 陈慧君, E-mail: lunwen202402@163.com

【摘　要】 **目的**　探究宫颈癌患者血清中同种异体移植物炎性因子 1(AIF-1)、B 细胞特异性莫洛尼白血病毒插入位点 1(Bmi-1)、甘露聚糖结合凝集素相关蛋白 19(MAP19)水平变化及对宫颈癌患者的诊断价值。**方法**　选取 2023 年 1—12 月武汉大学中南医院妇产科收治宫颈癌患者 180 例为观察组, 另选取同期健康体检者 180 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 2 组研究对象血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平; 比较宫颈癌不同分期患者血清中 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平对宫颈癌的诊断价值。**结果**　与健康对照组比较, 观察组患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平上升(t = 13.054、13.598、10.601, P 均 < 0.001); 不同分期宫颈癌患者血清中 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平随分期升高而升高(F = 32.001、8.232、10.602, P 均 < 0.001); 宫颈癌患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 高水平在病理低分化、HPV 阳性、FIGO Ⅲ ~ Ⅳ期和淋巴结转移中比例升高(AIF-1: χ^2 = 41.162、27.607、13.718、23.824, P 均 < 0.001; Bmi-1: χ^2 = 33.563、22.060、22.599、18.451, P 均 < 0.001; MAP19: χ^2 = 49.585、14.913、25.545、13.605, P 均 < 0.001); 血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平及三者联合预测宫颈癌病变的 AUC 分别为 0.759、0.726、0.751、0.839, 三者联合优于各自单独预测价值(Z = 2.499、3.363、2.749, P = 0.012、< 0.001、0.016)。**结论**　宫颈癌患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平显著上升, 且随宫颈癌分期升高而升高, 三者联合对宫颈癌具有较高的诊断效能。

【关键词】 宫颈癌; 同种异体移植物炎性因子 1; B 细胞特异性莫洛尼白血病毒插入位点 1; 甘露聚糖结合凝集素相关蛋白 19; 诊断
【中图分类号】 R737.33; R446.11　　【文献标识码】 A

Diagnostic value of combination of serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 in patients with cervical cancer

*Wang Huibo**, *Chen Huijun*, *Zhu Min*. * *Department of Obstetrics and Gynecology*, *Wuhan University Central South Hospital*, *Hubei Province*, *Wuhan* 430071, *China*
Funding program: *National Natural Science Foundation of China* (82173909)
Corresponding author: *Chen Huijun*, *E-mail*: *lunwen*202402@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the expression levels of allograft inflammatory factor-1 (AIF-1), B-cell specific moloney leukemia virus insertion site 1 (Bmi-1), and mannose-binding lectin associated protein 19 (MAP19) in serum, and their combined diagnostic value in cervical cancer patients. **Methods**　A total of 180 cervical cancer patients admitted from January 2023 to December 2023 were regarded as the observation group, and another 180 healthy volunteers who underwent physical examinations during the same period were selected as the control group. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect the expression levels of AIF-1, Bmi-1, and MAP19 in the serum of two groups. The expression levels of AIF-1, Bmi-1 and MAP19 in different stages of cervical cancer were compared. Spearman was applied to analyze the relationship between the expression levels of AIF-1, Bmi-1, MAP19 in serum with the incidence of cervical cancer. Receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to analyze the diagnostic value of serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 expression levels for cervical cancer. **Results**　Compared with the control group, the expression levels of serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 in the observation group were increased (t = 13.054, 13.598, 10.601, P < 0.001); The expression levels of AIF-1, Bmi-1 and MAP19 in serum of patients with cervical cancer increased with the increase of stage (F = 32.001, 8.232, 10.602, P < 0.001). the proportion of high expression levels of serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 in cervical cancer pa-

tients increased in pathological low differentiation, HPV positivity, FIGO stages III-IV, and lymph node metastasis, while the proportion of low expression levels increased in pathological moderate to high differentiation, HPV negativity, FIGO stages Ⅰ-Ⅱ, and no lymph node metastasis (AIF-1: χ^2 = 41.162, 27.607, 13.718, 23.824, P < 0.001, Bmi-1: χ^2 = 33.563, 22.060, 22.599, 18.451, P < 0.001, MAP19: χ^2 = 49.585, 14.913, 25.545, 13.605, P < 0.001); The AUC for predicting cervical cancer lesions by serum AIF-1, Bmi-1, MAP19 expression levels, and their combination were 0.759, 0.726, 0.751, and 0.839, respectively, with the combination being better than each individual prediction (Z = 2.499, 3.363, 2.749, P = 0.012, < 0.001, 0.016). **Conclusion**　The expression levels of AIF-1, Bmi-1, and MAP19 in the serum of cervical cancer patients are obviously increased, the expression levels of AIF-1, Bmi-1 and MAP19 in serum increased with the increase of cervical cancer stage, and the combination of the three has high diagnostic efficacy for cervical cancer.

【Key words】　Cervical cancer; Allograft inflammatory factor-1; B-cell specific moloney leukemia virus insertion site 1; Mannose-binding lectin associated protein 19; Diagnosis

宫颈癌是全球女性第四大恶性肿瘤，2020 年全球新增患者 60.41 万，死亡 34.18 万[1]；中国新增 11 万，死亡 6 万，特点为负担大、年轻化、城乡差异和低生存率[2]。预防方法包括人乳头瘤病毒（HPV）疫苗接种和筛查，但存在接种率和筛查率低的问题[3]。快速诊断生物标志物的发现对早期诊断和提高患者生存质量具有重要意义。同种异体移植物炎性因子 1（AIF-1）、B 细胞特异性莫洛尼白血病毒插入位点 1（Bmi-1）、甘露聚糖结合凝集素相关蛋白 19（MAP19）是潜在的宫颈癌生物标志物，它们在宫颈癌患者血清中的表达水平上升[4-6]，与多种免疫反应和肿瘤发生有关[7-9]。目前，宫颈癌的生物标志物种类有限，诊断效能有待提高。本研究旨在检测这些标志物在宫颈癌患者血清中的水平及其诊断效能，为临床诊断提供参考，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2023 年 1—12 月武汉大学中南医院妇产科收治宫颈癌患者 180 例为观察组，年龄 27 ~ 62（38.52 ± 6.52）岁，体质量指数（BMI）（22.65 ± 4.76）kg/m^2；遵循国际妇产科联合会（FIGO）分期系统进行分期[10]：Ⅰ期 32 例、Ⅱ期 78 例、Ⅲ期 52 例、Ⅳ期 18 例。另选择同期健康体检者 180 例为健康对照组，年龄 29 ~ 62（39.24 ± 6.21）岁，BMI（22.84 ± 4.81）kg/m^2。2 组受试者年龄、BMI 比较差异无统计学意义（P > 0.05）。本研究已经获得医院伦理委员会批准（2022-137），受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　（1）纳入标准：①影像学及病理学确诊为原发性宫颈癌[11]；②年龄≥18 岁；③首次确诊无抗肿瘤治疗史。（2）排除标准：①合并其他妇科肿瘤；②合并免疫系统疾病；③合并其他器官器质性病变。

1.3　观测指标与方法　患者入院第 2 天清晨/健康对照组体检当天采集空腹肘静脉血 5 ml，4℃下离心收集上清液 －80℃保存备用。采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平，检测方法参照说明书。AIF-1、Bmi-1、MAP19 检测试剂盒均购自上海泽叶生物科技有限公司，酶标仪购自美国 BioTek 公司。另收集观察组患者病理分化、病理类型、HPV 感染、FIGO 分期、肿瘤直径、肌层浸润、脉管浸润、淋巴结转移、神经浸润等临床指标并分析比较。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 25.0 软件分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，2 组间比较采用 t 检验；计数资料以频数或率（%）表示，组间比较采用 χ^2 检验；绘制受试者工作特征（ROC）曲线分析血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平对宫颈癌的诊断效能。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平比较　与健康对照组比较，观察组患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平升高（P < 0.01），见表 1。

表 1　健康对照组和观察组血清中 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 1　Comparison of AIF-1, Bmi-1, and MAP19 levels in serum between healthy control group and observation group

组　别	例数	AIF-1（ng/L）	Bmi-1（ng/L）	MAP19（μg/L）
健康对照组	180	69.71 ± 14.34	257.63 ± 51.42	134.75 ± 20.30
观察组	180	91.26 ± 16.88	340.17 ± 63.15	160.46 ± 25.43
t 值		13.054	13.598	10.601
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.2　不同分期宫颈癌患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平比较　宫颈癌患者血清中 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平Ⅰ期 < Ⅱ期 < Ⅲ期 < Ⅳ期，差异均有统计学意义（P < 0.01），见表 2。

表 2　不同分期宫颈癌患者血清中 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Comparison of serum levels of AIF-1, Bmi-1, and MAP19 in patients with cervical cancer at different stages

分期	例数	AIF-1(ng/L)	Bmi-1(ng/L)	MAP19(μg/L)
Ⅰ期	32	78.68 ± 9.18	295.69 ± 54.97	145.68 ± 22.82
Ⅱ期	78	88.84 ± 11.37	335.26 ± 58.29	160.06 ± 25.38
Ⅲ期	52	97.27 ± 12.34	357.64 ± 66.51	172.59 ± 30.47
Ⅳ期	18	112.58 ± 15.67	383.70 ± 71.35	190.37 ± 35.16
F 值		32.001	8.232	10.602
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3　血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平在不同临床/病理特征中差异比较　根据宫颈癌患者血清 AIF-1 水平的平均数 91.26 ng/L、Bmi-1 水平的平均数 340.17 ng/L、MAP19 水平的平均数 160.46 μg/L 分组。AIF-1 水平 < 91.26 ng/L 为低水平组、≥91.26 ng/L 为高水平组，Bmi-1 水平 < 340.17 ng/L 为低水平组、≥340.17 ng/L 为高水平组，MAP19 水平 < 160.46 μg/L 为低水平组、≥160.46 μg/L 为高水平组。结果表明：宫颈癌患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 高水平在病理低分化、FIGOⅢ~Ⅳ期、HPV 阳性和淋巴结转移中比例升高($P < 0.05$)，而血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平在不同年龄、BMI、病理类型、肿瘤直径、肌层浸润、脉管浸润、神经浸润中比例比较，差异无统计学意义($P > 0.05$)，见表 3。

2.4　血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平诊断宫颈癌病变价值分析　绘制血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平诊断宫颈癌价值的 ROC 曲线，并计算曲线下面积(AUC)，结果显示：血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平及三者联合预测宫颈癌病变的 AUC 分别为 0.759、0.726、0.751、0.839，三者联合优于各自单独预测价值($Z = 2.499$、3.363、2.749，$P = 0.012$、< 0.001、0.016)，见表 4、图 1。

表 4　血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平诊断宫颈癌价值分析

Tab. 4　Analysis of the diagnostic value of serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 levels for cervical cancer

变　量	*Cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
AIF-1	80.782 ng/L	0.759	0.710 ~ 0.808	0.750	0.628	0.378
Bmi-1	337.590 ng/L	0.726	0.673 ~ 0.780	0.739	0.672	0.411
MAP19	141.159 μg/L	0.751	0.708 ~ 0.800	0.772	0.656	0.428
三者联合		0.839	0.799 ~ 0.878	0.672	0.839	0.511

表 3　血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平在不同临床/病理特征中差异比较　[例(%)]

Tab. 3　Comparison of differences in serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 levels in different clinical/pathological features

临床病理特征		例数	AIF-1			Bmi-1			MAP19		
			高表达(n = 98)	低表达(n = 82)	χ^2/P 值	高表达(n = 101)	低表达(n = 79)	χ^2/P 值	高表达(n = 95)	低表达(n = 85)	χ^2/P 值
年龄(岁)	≥40	58	30(30.61)	28(34.15)	0.255/0.613	35(34.65)	23(29.11)	0.623/0.430	33(34.74)	25(29.41)	0.582/0.445
	<40	122	68(69.39)	54(65.85)		66(66.35)	56(70.89)		62(65.26)	60(70.59)	
BMI(kg/m^2)	≥23	84	48(48.98)	36(43.90)	0.462/0.497	42(41.58)	42(53.16)	2.388/0.122	47(49.47)	37(43.53)	0.637/0.425
	<23	96	50(51.02)	46(56.10)		59(58.42)	37(46.87)		48(50.53)	48(56.47)	
分化程度	中高分化	59	12(12.24)	47(57.32)	41.162/<0.001	15(14.85)	44(55.70)	33.563/<0.001	9(9.47)	50(58.82)	49.585/<0.001
	低分化	121	86(87.76)	35(42.68)		86(85.15)	35(44.30)		86(90.53)	35(41.18)	
病理类型	腺癌	62	37(37.76)	25(30.49)	1.044/0.307	32(31.68)	30(37.97)	0.777/0.378	35(36.84)	27(31.76)	0.512/0.474
	鳞癌	118	61(62.24)	57(69.51)		69(68.32)	49(62.03)		60(63.16)	58(68.24)	
HPV	阳性	148	94(95.92)	54(65.85)	27.607/<0.001	95(94.06)	53(67.09)	22.060/<0.001	88(92.63)	60(70.59)	14.913/<0.001
	阴性	32	4(4.08)	28(34.15)		6(5.94)	26(32.91)		7(7.37)	25(29.41)	
FIGO 分期	Ⅰ~Ⅱ期	87	35(35.71)	52(63.41)	13.718/<0.001	33(32.67)	54(68.35)	22.599/<0.001	29(30.53)	58(68.24)	25.545/<0.001
	Ⅲ~Ⅳ期	93	63(64.29)	30(36.59)		68(67.33)	25(31.65)		66(69.47)	27(31.76)	
肿瘤直径(cm)	≥4	66	32(32.65)	34(41.46)	1.492/0.222	34(33.66)	32(40.51)	0.894/0.344	36(37.89)	30(35.29)	0.131/0.718
	<4	114	66(67.35)	48(58.54)		67(66.34)	47(59.49)		59(62.11)	55(64.71)	
肌层浸润	浅层	96	48(48.98)	48(58.54)	1.638/0.201	51(50.50)	45(59.96)	0.745/0.388	47(49.47)	49(57.65)	1.204/0.273
	深层	84	50(51.02)	34(41.46)		50(49.50)	34(43.04)		48(50.53)	36(42.35)	
脉管浸润	有	23	16(16.33)	7(8.54)	2.431/0.119	15(14.85)	8(10.13)	0.888/0.346	14(14.74)	9(10.59)	0.693/0.405
	无	157	82(83.67)	75(91.46)		86(85.15)	71(89.87)		81(58.26)	76(89.41)	
淋巴结转移	有	41	36(36.73)	5(6.10)	23.824/<0.001	35(34.65)	6(7.59)	18.451/<0.001	32(33.68)	9(10.59)	13.605/<0.001
	无	139	62(63.27)	77(93.90)		66(65.35)	73(92.41)		63(66.32)	76(89.41)	
神经浸润	有	29	18(18.37)	11(13.41)	0.810/0.368	17(16.83)	12(15.19)	0.088/0.766	16(16.84)	13(15.29)	0.080/0.778
	无	151	80(81.63)	71(86.59)		84(83.17)	67(84.81)		79(83.16)	72(84.71)	

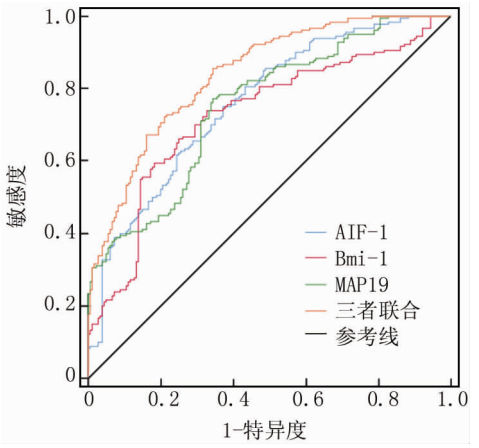


图 1　血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平诊断宫颈癌病变价值的 ROC 曲线

Fig. 1　ROC curve of the diagnostic value of serum AIF-1, Bmi-1, and MAP19 levels for cervical cancer lesions

3　讨　论

宫颈癌是全球女性高发的恶性肿瘤之一，患病早期往往症状不明显，容易忽视，错过最佳治疗时间，病情发展时常伴随接触性出血、阴道流血等典型症状，并随着病情进展，伴随尿频、尿急等泌尿系统症状，晚期患者常极度消瘦、排便困难并且伴随着大出血等症状，严重威胁女性生命[12]。近年来宫颈癌患者逐渐呈现年轻化趋势，宫颈癌的发病率也在不断提高[13]，这与国家大力推行的两癌筛查政策有关。早期诊断并给予针对治疗，可以显著降低女性病死率，因此找到早期诊断宫颈癌生物标志物是目前迫于解决的问题。

本研究显示宫颈癌患者血清中 AIF-1 水平显著升高，且高 FIGO 分期患者血清水平高于低分期患者，与王强珍等[14]的研究一致。AIF-1 作为一种钙结合蛋白，通过调节巨噬细胞的功能，参与伤口愈合和免疫反应[15]；研究发现 AIF-1 的升高可能与 HPV 感染引发的免疫反应有关[16]，这一发现提示 AIF-1 可能在宫颈癌的发展中起到关键作用。先前研究已表明 AIF-1 在多种炎性反应和免疫反应中发挥作用，本研究进一步强调了其在宫颈癌免疫微环境中的潜在角色，临床需关注 AIF-1 水平异常升高。

本研究发现宫颈癌患者血清中 Bmi-1 水平显著上调，且其水平随宫颈癌 FIGO 分期升高而升高，与欧武英等[17]和陈慧等[18]的研究结果相符。Bmi-1 作为一种致癌因子，可能通过影响细胞周期和促进肿瘤细胞的恶性表型来参与宫颈癌的发展[19]。研究发现 Bmi-1 的上调可能与其在促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡和维持肿瘤干细胞特性中的作用有关[20]。尽管 Bmi-1 在多种肿瘤中的作用已被广泛研究，本研究特别强调了其在宫颈癌中的临床意义，尤其是与病理分化、FIGO 分期、HPV 感染和淋巴结转移状态的相关性。

本研究发现 MAP19 在宫颈癌患者血清中的水平显著提高，且患者 FIGO 分期越高其水平越高，与 Maestri 等[21]的研究一致。MAP19 作为补体系统的一部分，由甘露糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶(MAPS)2 基因表达，可能通过调节免疫反应来影响宫颈癌的发展[22]，但其具体机制仍需进一步阐明。其他研究发现 MAP19 的升高可能与其在激活补体免疫系统和参与免疫反应中的作用有关[23]，这可能在宫颈癌的发生中起到促进作用。MAP19 在多种肿瘤中的作用已被广泛研究，本研究特别强调了其在宫颈癌中的临床意义，是与宫颈癌发生发展相关的重要因子。

本研究发现，血清中 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平变化与病理分化程度、FIGO 分期、HPV 阳性和淋巴结转移有关，提示其可能在宫颈癌的恶性进展中发挥作用。ROC 曲线分析表明，采用 AIF-1、Bmi-1、MAP19 三者联合诊断宫颈癌的 AUC 值为 0.839，高于任一指标单独诊断。提示三者联合诊断效能较高，可为临床诊断宫颈癌提供重要参考。

综上所述，宫颈癌患者血清 AIF-1、Bmi-1、MAP19 水平上升，三者水平与病理分化、FIGO 分期、HPV 阳性和淋巴结转移有关，三者联合对宫颈癌具有较高的诊断价值。但本研究存在样本数较少，患者个体差异较大、未深入研究三者参与宫颈癌发病时的作用机制等不足，后续需要深入研究探讨。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王汇博：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；陈慧君：实施研究过程，资料搜集整理，论文修改；朱敏：进行统计学分析

参考文献

[1]　王苏蒙，闫慧姣，任文辉，等. 中国宫颈癌防控进展[J]. 中国预防医学杂志，2023，24(12)：1366-1370. DOI：10.16506/j.1009-6639.2023.12.017.

[2]　Volkova LV, Pashov AI, Omelchuk NN. Cervical carcinoma: Oncobiology and biomarkers[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(22): 12571-12596. DOI: 10.3390/ijms222212571.

[3]　彭思影，姚星妹，阴建，等. HPV 疫苗在小年龄女性中应用的研究进展[J]. 中华疾病控制杂志，2023，27(7)：833-837，868. DOI：10.16462/j.cnki.zhjbkz.2023.07.015.

[4]　王淑芳，闫玉伟，王秀艳，等. 宫颈癌患者血清 TAGLN2 和 AIF1 表达及临床诊断价值[J]. 河北医药，2023，45(8)：1190-1193. DOI：10.3969/j.issn.1002-7386.2023.08.015.

[5]　Tong YQ, Liu B, Zheng HY, et al. BMI-1 autoantibody as a new potential biomarker for cervical carcinoma[J]. PLoS One, 2011, 6

(11):e27804. DOI:10.1371/journal.pone.0027804.

[6] 康婷,刘易婷,刘敏,等. 血清甘露聚糖结合凝集素相关蛋白 19 和三叶因子 3 及精子相关抗原 9 水平对宫颈癌患者术后 2 年复发的预测价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2022,36(10):1047-1050. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2022.10.018.

[7] Wang L,Zhao X,Zheng H,et al. AIF-1,a potential biomarker of aggressive tumor behavior in patients with non-small cell lung cancer[J]. PLoS One,2022,17(12):e0279211. DOI:10.1371/journal.pone.0279211.

[8] Herzog AE,Somayaji R,Nör JE. Bmi-1:A master regulator of head and neck cancer stemness[J]. Front Oral Health,2023,4(1):1080255-1080267. DOI:10.3389/froh.2023.1080255.

[9] Vils SR,Troldborg A,Hvas AM,et al. Platelets and the lectin pathway of complement activation in patients with systemic lupus erythematosus or antiphospholipid syndrome[J]. TH Open,2023,7(2):e155. DOI:10.1055/a-2087-0314.

[10] 周晖,白守民,林仲秋.《2018 NCCN 宫颈癌临床实践指南(第一版)》解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2017,33(12):1255-1261. DOI:10.19538/j.fk2017120111.

[11] 周琦,吴小华,刘继红,等. 宫颈癌诊断与治疗指南(第四版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2018,34(6):613-622. DOI:10.19538/j.fk2018060111.

[12] 赵爽,陈号,赵方辉. 全球子宫颈癌前病变及宫颈癌治疗指南制订现状的系统综述[J]. 中华医学杂志,2022,102(22):1666-1676. DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20211106-02466.

[13] Wong RW,Ng JHY,Han KC,et al. Cervical carcinomas with serous-like papillary and micropapillary components:Illustrating the heterogeneity of primary cervical carcinomas[J]. Mod Pathol,2021,34(1):207-221. DOI:10.1038/s41379-020-0627-8.

[14] 王强珍. 血清 TFF3、AIF-1 和 S100-A11 水平在宫颈癌早期诊断和预后评估中的临床价值[J]. 检验医学与临床,2023,20(2):198-202. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.02.013.

[15] Baranzini N,Monti L,Vanotti M,et al. AIF-1 and RNASET2 play complementary roles in the innate immune response of medicinal leech[J]. J Innate Immun,2019,11(2):150-167. DOI:10.1159/000493804.

[16] Maděrka M,Dvorák V,Hambálek J,et al. Elevated serum concentrations of S100-A11 and AIF-1 in cervical dysplasia patients[J]. Ceska Gynekol,2021,86(1):11-15. DOI:10.48095/cccg202111.

[17] 欧武英,李春芸,周君霞,等. BMI-1、C-myc 表达与宫颈病变病理类型及 HPV 感染的关系[J]. 中华医院感染学杂志,2022,32(9):1370-1374. DOI:10.11816/cn.ni.2022-210982.

[18] 陈慧,叶丽君,喻长法,等. Beclin1 C-myc 及 Bmi-1 检测在宫颈癌诊断中的价值[J]. 中国妇幼保健,2021,36(5):1159-1161. DOI:10.19829/j.zgfybj.issn.1001-4411.2021.05.059.

[19] Xu J,Li L,Shi P,et al. The crucial roles of Bmi-1 in cancer:Implications in pathogenesis,metastasis,drug resistance,and targeted therapies[J]. Int J Mol Sci,2022,23(15):8231-8253. DOI:10.3390/ijms23158231.

[20] Lozneanu L,Balan RA,Pavaleanu I,et al. BMI-1 expression heterogeneity in endometriosis-related and non-endometriotic ovarian carcinoma[J]. Int J Mol Sci,2021,22(11):6082-6096. DOI:10.3390/ijms22116082.

[21] Maestri CA,Nisihara R,Mendes HW,et al. MASP-1 and MASP-2 serum levels are associated with worse prognostic in cervical cancer progression[J]. Front Immunol,2018,9(1):2742-2747. DOI:10.3389/fimmu.2018.02742.

[22] Mistegaard CE,Jensen L,Christiansen M,et al. Low levels of the innate immune system proteins MASP-2 and MAp44 in patients with common variable immunodeficiency[J]. Scand J Immunol,2022,96(3):e13196. DOI:10.1111/sji.13196.

[23] LaFon DC,Thiel S,Kim YI,et al. Classical and lectin complement pathways and markers of inflammation for investigation of susceptibility to infections among healthy older adults[J]. Immun Ageing,2020,17(1):18-27. DOI:10.1186/s12979-020-00189-7.

(收稿日期:2024-04-16)

(上接 970 页)

[13] Dalos D,Spinka G,Schneider M,et al. New cardiovascular biomarkers in ischemic heart Disease-GDF-15,a probable predictor for ejection fraction[J]. J Clin Med,2019,8(7):924-934. DOI:10.3390/jcm8070924.

[14] Echouffo-Tcheugui JB,Daya N,Ndumele CE,et al. Diabetes,GDF-15 and incident heart failure:the atherosclerosis risk in communities study[J]. Diabetologia,2022,65(6):955-963. DOI:10.1007/s00125-022-05678-6.

[15] Wang J,Zhang T,Xu F,et al. GDF-15 at admission predicts cardiovascular death,heart failure,and bleeding outcomes in patients with CAD[J]. ESC Heart Fail,2023,1(1):1-10. DOI:10.1002/ehf2.14484.

[16] Kato ET,Morrow DA,Guo J,et al. Growth differentiation factor 15 and cardiovascular risk:Individual patient meta-analysis[J]. Eur Heart J,2023,44(4):293-300. DOI:10.1093/eurheartj/ehac577.

[17] Hu L,Wei J,Zhang Y,et al. ANGPTL8 is a negative regulator in pathological cardiac hypertrophy[J]. Cell Death Dis,2022,13(7):621-634. DOI:10.1038/s41419-022-05029-8.

[18] Horn P,Radtke S,Metzing UB,et al. Associations of Betatrophin/ANGPTL8 with septic dyslipidemia in human peritonitis:An explorative analysis[J]. Biomedicines,2022,10(12):3151-3161. DOI:10.3390/biomedicines10123151.

[19] Zhang Z,Yuan Y,Hu L,et al. ANGPTL8 accelerates liver fibrosis mediated by HFD-induced inflammatory activity via LILRB2/ERK signaling pathways[J]. J Adv Res,2023,47(1):41-56. DOI:10.1016/j.jare.2022.08.006.

[20] Jiao X,Yang Y,Li L,et al. Angiopoietin-like protein 8 accelerates atherosclerosis in ApoE-/- mice[J]. Atherosclerosis,2020,307(1):63-71. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2020.06.014.

[21] Yuan J,Zhang D,Wang Y,et al. Angiopoietin-like 8 in gestational diabetes mellitus:Reduced levels in third trimester maternal serum and placenta,increased levels in cord blood serum[J]. Int J Endocrinol,2022,1(1):1113811-1113819. DOI:10.1155/2022/1113811.

[22] Ruszaia M,Pilszyk A,Niebrzydowska M,et al. Novel biomolecules in the pathogenesis of gestational diabetes mellitus 2.0[J]. Int J Mol Sci,2022,23(8):4364-4383. DOI:10.3390/ijms222111578.

(收稿日期:2024-05-10)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 016

论著 · 临床

高胆红素血症新生儿血清 G6PD、IGF-1 水平与病情程度及听力损伤程度的关系

邓佳平, 罗汉清, 汪茹, 施芬

基金项目: 武汉市卫生健康委医疗卫生科研项目(WX17C28)
作者单位: 431400　武汉市新洲区人民医院小儿内科
通信作者: 罗汉清, E-mail:498552992@ qq. com

【摘　要】 **目的**　分析高胆红素血症新生儿血清葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)水平与病情程度及听力损伤程度的关系。**方法**　选取 2022 年 12 月—2023 年 12 月武汉市新洲区人民医院小儿内科收治的高胆红素血症新生儿 102 例的临床资料,根据病情严重程度分为轻症组(n = 41)、中症组(n = 33)和重症组(n = 28),采用 ELISA 法检测血清 G6PD、IGF-1 水平,采用 Pearson 法分析血清 G6PD、IGF-1 水平与患儿胆红素水平以及听力阈值之间的相关性;采用 Logistic 回归分析患儿听力损伤程度的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 G6PD、IGF-1 对患儿听力损伤程度的诊断价值。**结果**　高胆红素血症中/重症组患儿的 G6PD、IGF-1 水平较轻症组患儿均显著降低(F/P = 51.881/ < 0.001, 42.334/ < 0.001),听力损伤中、重度亚组患儿的血清 G6PD、IGF-1 水平较轻度亚组显著降低(F/P = 26.243/ < 0.001, 22.454/ < 0.001);G6PD、IGF-1 与患儿胆红素水平以及听力阈值均呈负相关(G6PD: r/P = −0.421/ < 0.001, −0.405/ < 0.001;IGF-1: r/P = −0.437/ < 0.001, −0.422/ < 0.001);血清 G6PD、IGF-1 及二者联合诊断患儿听力损伤程度的 AUC 分别为 0.780、0.800、0.884,二者联合优于各自单独诊断价值(Z = 2.905、2.109, P = 0.004、0.035);胆红素、UCB 升高是患儿听力损伤程度的独立危险因素[OR(95% CI) = 1.354(1.111 ~ 1.650), 1.157 (1.022 ~ 1.309)],G6PD、IGF-1 升高为患儿听力损伤程度的独立保护因素[OR(95% CI) = 0.864 (0.773 ~ 0.966), 0.864(0.773 ~ 0.966)]。**结论**　在高胆红素血症新生儿中,血清 G6PD、IGF-1 水平随病情程度加重显著降低,且两者对患儿听力损伤程度具有辅助诊断价值,是患儿听力损伤程度的影响因素。

【关键词】 高胆红素血症;葡萄糖-6-磷酸脱氢酶;胰岛素样生长因子-1;病情程度;听力损伤;新生儿
【中图分类号】 R722.1　　【文献标识码】 A

Relationship between serum G6PD and IGF-1 levels with the severity of the disease and hearing loss in newborns with hyperbilirubinemia

Deng Jiaping, Luo Hanqing, Wang Ru, Shi Fen. Department of Pediatric Medicine, Xinzhou District People's Hospital, Hubei Province, Wuhan 431400, *China*
Funding program: Wuhan Municipal Health Commission Healthcare Research Project (*WX*17*C*28)
Corresponding author: Luo Hanqing, E-mail: 498552992@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To explore and analyze the relationship between serum levels of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) with the severity of disease and hearing loss in neonates with hyperbilirubinemia. **Methods**　Clinical data of 102 newborns with high bilirubin admitted to Department of Pediatric Medicine, Xinzhou District People's Hospital from December 2022 to December 2023 were collected and assigned into mild group (n = 41), moderate group (n = 33), and severe group (n = 28) based on the severity of their condition. Serum G6PD and IGF-1 levels were detected using ELISA, the general clinical data of the children were collected, receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to analyze the diagnostic value of G6PD and IGF-1 in assessing the degree of hearing loss of the patient's condition, Logistic was applied to analyze the factors influencing the degree of hearing loss in children, Pearson method was applied to analyze the correlation between serum G6PD, IGF-1 levels, bilirubin level, and hearing thresholds in children. **Results**　The levels of G6PD and IGF-1 in the moderate and severe groups were obviously lower than those in the mild group (F/P = 51.881/ < 0.001, 42.334/ < 0.001); the serum G6PD and IGF-1 levels of children in the moderate and severe subgroups were obviously lower than those in the mild subgroup (F/P = 26.243/ < 0.001, 22.454/ < 0.001), G6PD and IGF-1 were

negatively correlated with bilirubin level and hearing thresholds in children (G6PD: $r/P = -0.421/<0.001$, $-0.405/<0.001$, IGF-1: $r/P = -0.437/<0.001$, $-0.422/<0.001$); the AUC of serum G6PD, IGF-1, and their combination in the diagnosis of the degree of hearing loss of disease was 0.780, 0.800, and 0.884, respectively, the combined diagnosis was obviously better than the individual diagnosis of G6PD and IGF-1 ($Z = 2.905$, 2.109, $P = 0.004$, 0.035); Bilirubin and UCB were independent risk factors for the degree of hearing impairment in children [*OR(95% CI)* = 1.354 (1.111 – 1.650), 1.157 (1.022 – 1.309)], and G6PD and IGF-1 were independent protective factors for the degree of hearing impairment in children [*OR(95% CI)* = 0.864 (0.773 – 0.966), 0.864 (0.773 – 0.966)]. **Conclusion**　In newborns with hyperbilirubinemia, serum levels of G6PD and IGF-1 obviously decrease with the degree of hearing loss of disease, and both have auxiliary diagnostic value for the severity of disease, which are influencing factors for the degree of hearing loss in children.

【Key words】　Hyperbilirubinemia; Glucose-6-phosphate dehydrogenase; Insulin-like growth factor-1; Degree of illness; Hearing loss; Newborn

高胆红素血症是新生儿期最常见的代谢并发症[1]，是新生儿重症监护室治疗的主要原因，也是新生儿听力损失的重要危险因素。在早产儿中，高胆红素血症与听力损失之间关系的临床意义已被广泛报道[2-3]。不及时治疗可能会导致脑部疾病，诱发神经损伤，造成神经发育迟缓和残疾，甚至死亡[4-5]，因此需要高效、准确的生物标志物判定患儿的病情发展程度，并进行治疗。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（glucose-6-phosphate dehydrogenase，G6PD）是磷酸戊糖途径（pentose phosphate pathway，PPP）中唯一的限速酶。G6PD 是病毒复制和血管平滑肌功能的调节因子[6]。有研究表明，新生儿 G6PD 缺乏会增加高胆红素血症的风险，并可能导致胆红素诱发神经功能障碍[7]。胰岛素样生长因子-1（insulin-like growth factor-1，IGF-1）是特征最明显的生长因子之一，较低的 IGF-1 水平与感音神经性听力损失等疾病有关[8-9]。目前，有关 G6PD、IGF-1 在高胆红素血症患儿临床研究中尚不清晰，因此，本研究通过检测患儿 G6PD、IGF-1 水平，并且分析两者与病情程度及听力损伤程度的关系，以期为临床提供参考依据，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2022 年 12 月—2023 年 12 月武汉市新洲区人民医院小儿内科收治的新生儿高胆红素血症患儿 102 例的临床资料，根据患儿的病情严重程度将其分为轻症组（$n = 41$）、中症组（$n = 33$）和重症组（$n = 28$）[10]。轻症组与中/重症组患儿的性别、胎龄、日龄比较差异无统计学意义（$P > 0.05$），但中/重症组患儿的总胆红素（TB）、尿素氮（BUN）、血肌酐（SCr）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、未结合胆红素（UCB）水平高于轻症组（$P < 0.05$），见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准（2022-110806），患儿家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　（1）纳入标准：①符合高胆红素血症诊断标准[11]；②出生日龄 1 ~ 30 d。（2）排除标准：①脏器功能障碍患儿；②低体质量儿、先天性畸形儿；③临床资料不全；④窒息缺氧性疾病、感染性疾病。

表 1　轻症组及中/重症组高胆红素血症患儿临床资料比较

Tab. 1　Comparison of clinical data between mild and moderate/severe hyperbilirubinemia patients

项　目		轻症组（$n = 41$）	中/重症组（$n = 61$）	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	21(44.68)	33(70.21)	0.091	0.763
	女	20(48.78)	28(68.29)		
胎龄($\bar{x} \pm s$，周)		36.74 ± 3.70	36.25 ± 3.68	0.658	0.512
日龄($\bar{x} \pm s$，d)		4.42 ± 0.47	4.31 ± 0.44	1.204	0.231
TB($\bar{x} \pm s$，μmol/L)		237.65 ± 15.95	325.64 ± 33.54	15.634	<0.001
BUN($\bar{x} \pm s$，mmol/L)		2.30 ± 0.25	2.47 ± 0.26	3.288	0.001
SCr($\bar{x} \pm s$，μmol/L)		46.32 ± 4.89	59.65 ± 6.32	11.399	<0.001
ALT($\bar{x} \pm s$，U/L)		52.42 ± 5.47	75.32 ± 7.65	16.526	<0.001
AST($\bar{x} \pm s$，g/L)		43.21 ± 4.58	52.64 ± 5.86	8.672	<0.001
UCB($\bar{x} \pm s$，μmol/L)		217.36 ± 13.98	304.98 ± 31.51	16.713	<0.001

1.3　观测指标与方法

1.3.1　酶联免疫法检测血清 G6PD、IGF-1 水平：于患儿入院后次日清晨采集空腹肘静脉血 5 ml，离心收集上层清液，-20℃保存备用。采用酶联免疫吸附试剂盒检测患儿血清 G6PD、IGF-1 水平（上海联迈生物有限公司；货号 G-06165X、YS-T10032）。

1.3.2　听性脑干反应检测：采用尔听美耳酷灵 ABR 听力筛查仪（型号：耳酷灵 Type1077，南京医恩特仪器责任有限公司）在电屏蔽隔声室检查患儿听力，测定 ABR 反应阈值，并将听力异常的 62 例患儿根据听力损伤程度分为轻度亚组（$n = 27$）、中度亚组（$n = 20$）和重度亚组（$n = 15$），所有操作均按照仪器说明书严格进行[12]。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件统计分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述，2 组间比较行 t 检验，多组比较采用 F 检验，进一步两两比较采用 SNK-q 检验；计数资料以频数或率（%）表示，比较行 χ^2 检验；采用 Pearson 法分析血清 G6PD、IGF-1 与患儿胆红素水平、听力阈值的相关性；采用 Logistic 回归分析影响患儿听力损伤程度的因素；绘制受试者工作特征（ROC）曲线分析血清 G6PD、IGF-1 对患儿听力损伤程度的诊断价值。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　不同病情程度高胆红素血症患儿 G6PD、IGF-1 水平比较　患儿血清 G6PD、IGF-1 水平轻症组 > 中症组 > 重症组，差异均有统计学意义（$P < 0.01$），见表 2。

表 2　不同病情程度高胆红素血症患儿 G6PD、IGF-1 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2　Comparison of G6PD and IGF-1 levels in children with different degrees of hyperbilirubinemia

组　别	例数	G6PD（U/L）	IGF-1（μg/L）
轻症组	41	2.84 ± 0.30	39.65 ± 4.10
中症组	33	2.64 ± 0.30	36.87 ± 3.79
重症组	28	2.13 ± 0.25	31.35 ± 3.25
F 值		51.881	42.334
P 值		< 0.001	< 0.001

2.2　不同听力损伤程度患儿血清 G6PD、IGF-1 比较　在高胆红素血症新生儿 102 例中，听力异常患儿 62 例（60.80%）。重度亚组血清 G6PD、IGF-1 水平低于中度亚组低于轻度亚组，而听力阈值重度亚组高于中度亚组高于轻度亚组（P 均 < 0.01），见表 3。

表 3　不同听力损伤程度高胆红素血症患儿血清 G6PD、IGF-1 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 3　Comparison of G6PD and IGF-1 levels in children with hyperbilirubinemia of different degrees of hearing impairment

组　别	例数	G6PD（U/L）	IGF-1（μg/L）	听力阈值（dB nHL）
轻度亚组	27	2.89 ± 0.31	39.84 ± 4.21	36.54 ± 3.75
中度亚组	20	2.70 ± 0.29	37.03 ± 3.86	51.28 ± 5.39
重度亚组	15	2.22 ± 0.24	31.44 ± 3.28	73.25 ± 7.65
F 值		26.243	22.454	221.317
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.3　血清 G6PD、IGF-1 与 TB 水平以及听力阈值相关性　经 Pearson 法分析结果显示，G6PD、IGF-1 与患儿的 TB 水平及听力阈值均呈负相关（$P < 0.01$），见表 4。

表 4　血清 G6PD、IGF-1 与 TB 水平及听力阈值的相关性

Tab. 4　Correlation between serum G6PD, IGF-1, TB levels, and hearing threshold

指　标	TB 水平		听力阈值	
	r 值	P 值	r 值	P 值
G6PD	−0.421	< 0.001	−0.405	< 0.001
IGF-1	−0.437	< 0.001	−0.422	< 0.001

2.4　Logistic 多因素回归分析影响患儿听力损伤程度的因素　以患儿听力损伤程度为因变量（赋值：轻度为“1”；中/重度为“0”），以 TB、BUN、SCr、ALT、AST、UCB、G6PD、IGF-1 水平（均为实测值）为自变量进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示：TB、UCB 高是患儿听力损伤程度的独立危险因素，G6PD、IGF-1 高为患儿听力损伤程度的独立保护因素（$P < 0.05$），见表 5。

表 5　Logistic 多因素回归分析高胆红素血症患儿听力损伤程度的影响因素

Tab. 5　Logistic regression multivariate analysis of factors influencing the degree of hearing loss in children with hyperbilirubinemia

变　量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
TB 高	0.303	0.101	9.004	0.003	1.354	1.111 ~ 1.650
BUN 高	0.216	0.124	3.032	0.082	1.241	0.973 ~ 1.582
SCr 高	0.005	0.027	0.034	0.853	1.005	0.953 ~ 1.060
ALT 高	0.129	0.097	1.776	0.183	1.138	0.941 ~ 1.376
AST 高	0.314	0.228	1.898	0.168	1.369	0.876 ~ 2.140
UCB 高	0.146	0.063	5.358	0.021	1.157	1.022 ~ 1.309
G6PD 高	−0.146	0.057	6.577	0.010	0.864	0.773 ~ 0.966
IGF-1 高	−0.282	0.125	5.103	0.024	0.754	0.590 ~ 0.963

2.5　血清 G6PD、IGF-1 对患儿听力损伤程度的诊断价值　绘制血清 G6PD、IGF-1 对患儿听力损伤程度的诊断价值 ROC 曲线，并计算曲线下面积（AUC），结果显示：血清 G6PD、IGF-1 及二者联合诊断患儿听力损伤程度的 AUC 分别为 0.780、0.800、0.884，二者联合优于各自单独诊断价值（$Z = 2.905$、2.109，$P = 0.004$、0.035），见表 6、图 1。

表 6　血清 G6PD、IGF-1 对高胆红素血症患儿听力损伤程度的诊断价值

Tab. 6　Diagnostic value of serum G6PD and IGF-1 for the degree of hearing loss of hyperbilirubinemia in children

指　标	*cut-off* 值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
G6PD	2.76 U/L	0.780	0.687 ~ 0.856	0.803	0.659	0.462
IGF-1	39.07 μg/L	0.800	0.709 ~ 0.873	0.853	0.634	0.487
二者联合		0.884	0.806 ~ 0.939	0.787	0.829	0.616

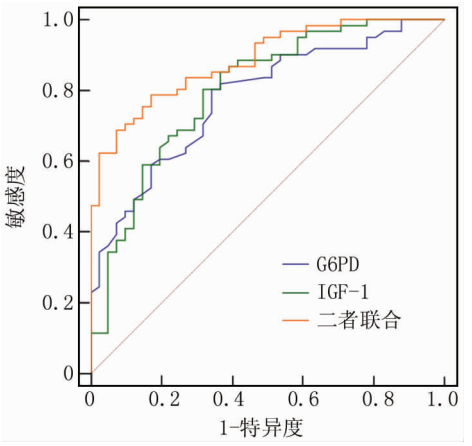


图 1　血清 G6PD、IGF-1 对患儿听力损伤程度诊断的 ROC 曲线分析

Fig. 1　ROC curve analysis of serum G6PD and IGF-1 for diagnosing the degree of hearing loss of pediatric disease

3　讨　论

新生儿胆红素生成比成人快，排泄比成人慢，血清中生理性未结合胆红素升高，从而导致高胆红素血症发生[13]。多种因素可导致新生儿高胆红素血症的发生，包括同种免疫、肠道菌群失调、遗传改变和环境因素，通常在出生后第 1 周出现[14]。胆红素为脂溶性时，高水平的胆红素可穿过血脑屏障，对中枢神经系统造成损害，也会对听觉系统产生毒性作用，其中许多损害是可逆的。研究表明，脑干、下丘脑和上橄榄复合体中的听觉神经核特别容易受到胆红素的影响，这些结构的病变可能导致感音神经性听力损失[4,15]。新生儿高胆红素血症是导致终生神经发育障碍的主要原因。如果发现有效的风险评估和预防工具以及诊断和治疗工具，新生儿高胆红素血症应该是可以预防的[16]。

G6PD 是 PPP 氧化分支的第一个限速酶，用于核苷酸合成的核糖 5-磷酸的合成代谢、还原性脂质生物合成的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸的再生及解毒活性氧的谷胱甘肽的再生[17]。G6PD 在哺乳动物组织中普遍表达，在免疫细胞和睾丸中表达最高，其在肿瘤中也经常上调[18-19]。G6PD 缺乏会在儿童期导致溶血性贫血，伴有严重的新生儿高胆红素血症，这是 G6PD 缺乏最致命的后果，可导致慢性胆红素脑病和痉挛性脑瘫[20]。本研究结果显示，重症高胆红素血症患儿 G6PD 水平降低，与曹楚江等[21]研究结果相似。表明 G6PD 水平与患儿病情程度有关，推测 G6PD 水平降低，氧化—抗氧化平衡被破坏、过氧化还原酶 2 的循环受损，从而影响胆红素的清除[7]，通过 ROC 曲线分析也发现 G6PD 对患儿听力损伤程度具有一定辅助诊断价值。对于听力损伤患儿，G6PD 水平随患儿听力损伤程度增加而降低，且进一步分析显示，G6PD 是患儿听力损伤程度的影响因素，推测 G6PD 水平降低，导致耳蜗氧化损伤，毛细胞和神经元损失，从而损伤听觉神经。

IGF-1 是哺乳动物生长所必需的 70 个氨基酸的多肽分裂原，主要在肝脏中产生，是出生后身体生长的主要调节因子，主要由肝脏合成并分泌进入体循环[22-23]。IGF-1 对大脑发育、认知功能、能量代谢和伤口愈合至关重要[24-25]，是神经发生和听力发育的重要调节剂。IGF-1 治疗保护耳蜗毛细胞免于凋亡并诱导支持细胞的增殖[26]。本研究结果显示，重症高胆红素血症患儿 IGF-1 水平降低，表明 IGF-1 水平与病情程度有关，参与调控患儿病情进展，与韩涓等[27]研究结果相似。推测胆红素水平升高，导致肝脏受损，减少肝脏合成并分泌 IGF-1，通过 ROC 曲线分析，IGF-1 对患儿听力损伤程度具有一定辅助诊断价值。对于听力损伤患儿，IGF-1 水平随患儿听力损伤程度增加而降低，且进一步分析显示，IGF-1 是患儿听力损伤程度的影响因素，表明 IGF-1 作为神经营养因子以及听力发育的调节剂，肝脏受损时水平降低，从而影响患儿的听觉神经发育，造成患儿听力损伤。此外，G6PD、IGF-1 联合诊断患儿听力损伤程度的特异度及 AUC 高于 G6PD、IGF-1 单独诊断，表明二者联合对患儿听力损伤程度具有更高的辅助诊断价值。

综上所述，在高胆红素血症新生儿中，G6PD、IGF-1 水平随患儿病情程度加重显著降低，且二者对患儿听力损伤程度具有辅助诊断价值，是患儿听力损伤程度的影响因素。但本研究有关 G6PD、IGF-1 在高胆红素血症新生儿的作用机制及调控患儿听力损伤的作用机制尚不清晰，需进一步深入研究。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

邓佳平：课题设计，设计研究方案，实施研究过程，分析试验数据，论文撰写；罗汉清：提出研究思路，实施研究过程及论文指导，论文审核及修改；汪茹：数据采集和病史资料搜集整理；施芬：试验操作

参考文献

[1]　Javorka K, Matasová K, Javorka M, et al. Mechanisms of cardiovascular changes of phototherapy in newborns with hyperbilirubinemia [J]. Physiol Res, 2023, 72 (S1): S1-S9. DOI: 10.33549/physiolres.935018.

[2]　Oyinwola OI, Mukhtar-Yola M, Olusesi AD, et al. Automated ABR screening for hearing loss and its clinical determinants among newborns with hyperbilirubinemia in National Hospital, Abuja, Nigeria[J]. Niger J Clin Pract, 2023, 26(9): 1249-1256. DOI: 10.4103/njcp.

njcp_449_22.

[3] Nam GS, Kwak SH, Bae SH, et al. Hyperbilirubinemia and follow-up auditory brainstem responses in preterm infants[J]. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2019, 12 (2): 163-168. DOI: 10. 21053/ceo. 2018. 00899.

[4] Kair LR, Phillipi CA. Simplifying hyperbilirubinemia risk estimation [J]. Pediatrics, 2021, 147(5): e2020046284. DOI: 10. 1542/peds. 2020-046284.

[5] Khurshid F, Rao SP, Sauve C, et al. Universal screening for hyperbilirubinemia in term healthy newborns at discharge: A systematic review and meta-analysis[J]. J Glob Health, 2022, 12: 12007-12032. DOI: 10. 7189/jogh. 12. 12007.

[6] Meng Q, Zhang Y, Hao S, et al. Recent findings in the regulation of G6PD and its role in diseases [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 932154-932166. DOI: 10. 3389/fphar. 2022. 932154.

[7] Lee HY, Ithnin A, Azma RZ, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal hyperbilirubinemia: insights on pathophysiology, diagnosis, and gene variants in disease heterogeneity[J]. Front Pediatr, 2022, 10: 875877-875889. DOI: 10. 3389/fped. 2022. 875877.

[8] Yoshida T, Delafontaine P. Mechanisms of IGF-1-mediated regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy[J]. Cells, 2020, 9(9): 1970-1994. DOI: 10. 3390/cells9091970.

[9] Celaya AM, Rodríguez-de la Rosa L, Bermúdez-Munoz JM, et al. IGF-1 haploinsufficiency causes age-related chronic cochlear inflammation and increases noise-induced hearing loss[J]. Cells, 2021, 10(7): 1686-1701. DOI: 10. 3390/cells10071686.

[10] 李芳, 张冬梅. 高胆红素血症新生儿血清 NSE UCBβ_2-MG 及 BUN 水平变化与病情严重程度的关系[J]. 河北医学, 2020, 26(11): 1789-1792. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6233. 2020. 11. 07.

[11] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(10): 745-748. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2014. 10. 006.

[12] 杨丽, 李坤, 杨蓉, 等. 血清胆红素和甲状腺素水平与新生儿听力损失程度的相关性[J]. 海南医学, 2023, 34(1): 63-67. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-6350. 2023. 01. 016.

[13] Guzelkaya M, Onal E, Gelinci E, et al. A zebrafish model for studying the mechanisms of newborn hyperbilirubinemia and bilirubin-induced neurological damage[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1275414-1275424. DOI10. 3389/fcell. 2023. 1275414.

[14] Eghbalian F, Hasanpour-Dehkordi A, Raeisi R. The effects of clofibrate on neonatal jaundice: a systematic review[J]. Int J Prev Med, 2022, 13(1): 3-8. DOI: 10. 4103/ijpvm. IJPVM_407_20.

[15] Karimzadeh P, Fallahi M, Kazemian M, et al. Bilirubin induced encephalopathy[J]. Iran J Child Neurol, 2020, 14(1): 7-19. DOI: org/10. 22037/ijcn. v14i1. 27890.

[16] Alkén J, Hakansson S, Ekéus C, et al. Rates of extreme neonatal hyperbilirubinemia and kernicterus in children and adherence to national guidelines for screening, diagnosis, and treatment in sweden [J]. JAMA Netw Open, 2019, 2(3): e190858. DOI: 10. 1001/jamanetworkopen. 2019. 0858.

[17] Yang HC, Stern A, Chiu DT. G6PD: A hub for metabolic reprogramming and redox signaling in cancer[J]. Biomed J, 2021, 44(3): 285-292. DOI: 10. 1016/j. bj. 2020. 08. 001.

[18] Ghergurovich JM, García-Canaveras JC, Wang J, et al. A small molecule G6PD inhibitor reveals immune dependence on pentose phosphate pathway[J]. Nat Chem Biol, 2020, 16(7): 731-739. DOI: 10. 1038/s41589-020-0533-x.

[19] Yang HC, Wu YH, Yen WC, et al. The redox role of G6PD in cell growth, cell death, and cancer[J]. Cells, 2019, 8(9): 1055-1083. DOI: 10. 3390/cells8091055.

[20] Wisnumurti DA, Sribudiani Y, Porsch RM, et al. G6PD genetic variations in neonatal hyperbilirubinemia in Indonesian Deutromalay population[J]. BMC Pediatr, 2019, 19(1): 506-513. DOI: 10. 3390/cells8091055.

[21] 曹楚江, 蔡红兵, 阳华英. 血清 β_2-MG、TSB/ALB、G6PD 与新生儿高胆红素血症病情严重程度和其相关急性肾损伤的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(23): 2907-2911. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 23. 018.

[22] Dees WL, Hiney JK, Srivastava VK. IGF-1 influences gonadotropin-releasing hormone regulation of puberty[J]. Neuroendocrinology, 2021, 111(12): 1151-1163. DOI: 10. 1159/000514217.

[23] 柏璐, 常海霞, 王霞, 等. 金属硫蛋白联合纳米碳酸钙治疗铅中毒患儿对其智力及血清 IgE、IGF-1 的影响[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(7): 740-744. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 07. 013.

[24] Guan J, Li F, Kang D, et al. Cyclic glycine-proline (cGP) normalises insulin-like growth factor-1 (IGF-1) function: Clinical significance in the ageing brain and in age-related neurological conditions[J]. Molecules, 2023, 28 (3): 1021-1036. DOI: 10. 3390/molecules28031021.

[25] 石红蕾, 汪学静, 齐凤芹, 等. sdEEG 联合血清谷氨酰胺、IGF-1 检测对儿童癫痫的诊断价值[J]. 临床误诊误治, 2023, 36(7): 134-137. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-3429. 2023. 07. 028.

[26] Lin YC, Lin YY, Chen HC, et al. Ultrasound microbubbles enhance the efficacy of insulin-like growth factor-1 therapy for the treatment of noise-induced hearing loss[J]. Molecules, 2021, 26(12): 3626. DOI: 10. 3390/molecules26123626.

[27] 韩涓, 储开东, 丁小芳, 等. 血清 NPY、IGF-1 和 PCT 检测对新生儿高胆红素血症的临床价值[J]. 肝脏, 2022, 27(12): 1322-1326. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-1704. 2022. 12. 019.

(收稿日期: 2024 - 04 - 19)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 017

论著 · 临床

血清 HSP60、HSP70 水平与原发性免疫性血小板减少症患儿 Th17/Treg 细胞和预后的关系

陈信发,万佳倩,王春文,常明春,李林

基金项目: 2021 年度云南省基础研究计划青年项目(Q20210213000143)
作者单位: 678000　云南省保山市人民医院儿科
通信作者: 李林,E-mail:308107967@ qq. com

【摘　要】 **目的**　分析血清热休克蛋白 60(HSP60)、热休克蛋白 70(HSP70)与原发性免疫性血小板减少症(ITP)患儿辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞(Th17/Treg)和预后的关系。**方法**　选取 2020 年 6 月—2022 年 6 月保山市人民医院儿科诊治的 ITP 患儿 128 例作为病例组,另选同期体检健康儿童 60 例作为健康对照组。检测并比较 2 组血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞水平。Pearson 法分析血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞的相关性。ITP 患儿出院后随访 1 年,根据不同预后情况分为预后良好亚组(107 例)和预后不良亚组(21 例)。收集 ITP 患儿的临床资料,采用单因素、多因素 Logistic 回归模型分析 ITP 患儿预后的影响因素,并构建风险预测列线图模型。建立受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞对 ITP 患儿预后的预测价值。**结果**　病例组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞显著高于健康对照组($t/Z/P$ = 20. 445/ < 0. 001、17. 467/ < 0. 001、5. 823/ < 0. 001)。Pearson 相关分析显示,血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞呈正相关(r/P = 0. 417/ < 0. 001、0. 348/ < 0. 001)。多因素 Logistic 回归分析显示,HSP60 高、HSP70 高、Th17/Treg 高为 ITP 患儿预后不良的独立危险因素[OR(95% CI) = 1. 177(1. 041 ~ 1. 331),1. 181(1. 038 ~ 1. 343),9. 895(2. 171 ~ 68. 177)],初诊时 PLT 计数偏高则为保护因素[OR(95% CI) = 0. 848(0. 726 ~ 0. 990)]。ROC 曲线分析结果显示,初诊时 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平及列线图模型的曲线 AUC 分别为 0. 793、0. 730、0. 787、0. 840、0. 975;Bootstrap 法(B = 1 000)对列线图模型进行内部验证显示,Bias-corrected 预测曲线与 Ideal 线基本重合,该模型预测能力较好。决策曲线显示,该模型的阈值概率范围为 0. 01 ~ 0. 98,其净收益率 > 0,高于两条无效线。**结论**　IPT 患儿血清 HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平均明显升高,血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 呈显著正相关。初诊时 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平是 ITP 患儿预后不良的影响因素,且基于 HSP60、HSP70 等独立危险因素构建的列线图模型对 ITP 患儿预后不良具有较好的预测价值。

【关键词】 原发性免疫性血小板减少症;热休克蛋白 60;热休克蛋白 70;Th17/Treg 细胞;预后;列线图
【中图分类号】 R725. 5　　【文献标识码】 A

Study on the correlation between serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells and prognosis in children with primary immune thrombocytopenia

Chen Xinfa, Wan Jiaqian, Wang Chunwen, Chang Mingchun, Li Lin. Department of Pediatrics, Baoshan People's Hospital, Yunnan Province, Baoshan 678000, *China*
Funding program: Youth project of Yunnan Basic Research Program in 2021 (*Q*20210213000143)
Corresponding author: Li Lin, E-mail: 308107967@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To analyzed the relationship between serum heat shock protein 60 (HSP60), heat shock protein 70 (HSP70) and helper T cell 17/regulatory T cell (Th17/Treg) cells and prognosis in children with primary immune thrombocytopenia (ITP). **Methods**　One hundred and twenty-eight ITP children diagnosed and treated in the Department of Pediatrics, Baoshan People's Hospital from June 2020 to June 2022 were selected as observation group, and 60 healthy children in the same period were selected as control group. The levels of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells were detected and compared between two groups. The correlation between serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells was analyzed by Pearson method. ITP children were followed up for 1 year after discharge, and were divided into good prognosis subgroup and poor prognosis subgroup according to different prognosis. The clinical data of ITP children were collected, the influencing factors of prognosis in ITP children were analyzed by univariate and multivariate Logistic regression models, and the risk prediction nomogram model was constructed. The predictive value of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells on the

prognosis of ITP children was analyzed by established receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The levels of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells in observation group were significantly higher than those in control group ($t/Z/P$ = 20.445/ < 0.001, 17.467/ < 0.001, 5.823/ < 0.001). Pearson analysis showed that, serum HSP60 and HSP70 were positively correlated with Th17/Treg cells (r/P = 0.417/ < 0.001, 0.348/ < 0.001). Multivariate Logistic regression analysis showed that, high HSP60, high HSP70, and high Th17/Treg levels were independent risk factors [OR (95% CI) = 1.177 (1.041 − 1.331), 1.181 (1.038 − 1.343), 9.895 (2.171 − 68.177)] for poor prognosis in ITP children, and high PLT count at initial diagnosis was a protective factor [OR (95% CI) = 0.848 (0.726 − 0.990)]. The results of ROC curve analysis showed that, the AUC of PLT count, HSP60, HSP70, Th17/Treg level and nomogram model at the initial diagnosis were 0.793, 0.730, 0.787, 0.840 and 0.975 respectively. The Bootstrap method (B = 1 000) was used to verify the nomogram model internally, the Bias-corrected prediction curve was basically coincident with the Ideal line, and the prediction ability of the model was better. The decision curve shows that, the threshold probability range of the model was 0.01 − 0.98, and its net return rate was > 0, which was higher than the two invalid lines. **Conclusion** The levels of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg in IPT children are significantly increase, and serum HSP60 and HSP70 are positively correlated with Th17/Treg. PLT count, HSP60, HSP70 and Th17/Treg levels at initial diagnosis are the influencing factors of poor prognosis in ITP children, and the nomogram model based on independent risk factors such as HSP60 and HSP70 has a good predictive value for poor prognosis in ITP children.

【Key words】 Primary immune thrombocytopenia; Heat shock protein 60; Heat shock protein 70; Th17/Treg cells; Prognosis; Nomogram

原发性免疫性血小板减少症(primary immune thrombocytopenia ,ITP)为儿童血液系统常见病[1]。多数预后良好,但仍有 20% 可转为慢性 ITP[2-3]。ITP 发病机制尚未明确,研究表明,ITP 发病可能涉及免疫细胞、细胞因子及基因改变[4-6]。研究表明,辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)失衡与 ITP 的发生发展密切相关[7-8]。热休克蛋白 60(HSP60)是一类进化上高度保守的蛋白质家族,在应激状态下 HSP60 过表达或异位表达,作为一种自身抗原被免疫系统识别,诱发机体保护性免疫应答[9-10]。研究表明,HSP60 可激活 Th1 分化,参与 1 型糖尿病发生发展过程[11]。HSP70 是一种分子量约为 70 kD 的热休克蛋白,在免疫应答中,HSP70 通过与免疫细胞表面的受体结合,激活细胞内的信号转导途径,进一步调节免疫细胞的活化、增殖和分化等过程[12]。相关研究表明,表征良好的诱导型 HSP70 为自身免疫性疾病的治疗靶点,且参与调节免疫反应[13]。推测 HSP60、HSP70 可能通过调控 Th17/Treg 细胞而参与 ITP 患儿的病情进展,因此本研究旨在探讨血清 HSP60、HSP70 水平与 ITP 患儿 Th17/Treg 细胞及预后的关系,以期为 ITP 患儿病情及预后评估提供参考依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2020 年 6 月—2022 年 6 月保山市人民医院儿科诊治的 ITP 患儿 128 例作为病例组,男 71 例,女 57 例,年龄 < 3 岁 84 例、≥3 岁 44 例;病程 2 ~ 19 个月,中位病程 7 个月;有明显诱因 82 例(上呼吸道感染 45 例、疫苗接种 19 例、下呼吸道感染 11 例、胃肠道感染 7 例),无明显诱因 46 例;疾病分期:新诊断 11 例,持续性 73 例,慢性 44 例;家族遗传史 25 例。另选取同期体检健康儿童 60 例作为健康对照组,男 37 例,女 23 例,年龄 < 3 岁 39 例、≥3 岁 21 例。2 组性别、年龄等资料比较差异无统计学意义(P > 0.05)。本研究经医院伦理委员会审核批准(BSCT-MIRB2020-051),受试儿童家长知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①ITP 诊断标准符合《儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗规范(2019 年版)》[14];②首次确诊,入组前未进行任何治疗;③年龄 1 ~ 14 岁,临床资料齐全;④患儿依从性良好。(2)排除标准:①既往有血栓病史或凝血功能障碍;②继发性血小板减少性疾病;③患有内分泌疾病、其他血液系统疾病;④患有其他自身免疫性疾病;⑤合并恶性肿瘤;⑥严重心、肝、肾功能障碍。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞检测:患儿于入院次日清晨及健康儿童体检当日采集空腹静脉血 4 ml,离心留取上清液储存于 −20 ℃冰箱待用。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 HSP60、HSP70 水平;采用流式细胞术检测 Th17、Treg 水平,并计算 Th17/Treg。HSP60 试剂盒购自上海富雨生物科技有限公司,HSP70 试剂盒购自上海科顺生物科技有限公司,Th17 试剂盒购自北京寰宇科创生物科技发展有限公司,Treg 试剂盒购自上海烜雅生物科技有限公司。操作步骤均按试剂盒说明书严格进行。

1.3.2　预后判定标准及分组：ITP 患儿出院后 1 年内持续进行门诊复查及电话随访，以进行预后状况判定。参照《儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议》中 ITP 疗效判断标准[15]，根据血液 PLT 检查结果可分为完全反应、有效、激素依赖、无效。其中，治疗后 PLT≥100×10^9/L，且无出血表现，判为完全反应；治疗后 PLT≥30×10^9/L，且较基线增加 2 倍以上，无出血表现，判为有效；持续接受皮质激素治疗，维持 PLT≥30×10^9/L 或避免出血情况，判为激素依赖；治疗后 PLT < 30×10^9/L，或 PLT 较基线增加不足 2 倍，有出血表现，判为无效。判断疗效时至少检测 2 次 PLT，间隔 7 d 以上。1 年内完全反应或有效判定为预后良好，纳入预后良好亚组；1 年内形成激素依赖或无效判定为预后不良，纳入预后不良亚组。

1.4　统计学方法　应用 SPSS 26.0 软件统计分析数据。计数资料以频数或率（%）表示，比较行 χ^2 检验；符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较行 t 检验，偏态分布的计量资料以 $M(Q_1,Q_3)$ 表示，比较行秩和检验；采用 Pearson 法分析血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 的相关性；单因素、多因素 Logistic 回归模型分析 ITP 患儿预后的影响因素，并构建风险预测列线图模型，建立受试者工作特征（ROC）曲线分析模型预测 ITP 患儿预后不良的效能；利用 rms 包绘制风险预测列线图模型和校准曲线，利用 Rstudio 中 rmda 程序包绘制临床决策曲线。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞比较　病例组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞均高于健康对照组（$P<0.01$），见表 1。

表 1　健康对照组与病例组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞比较

Tab. 1　Comparison of serum HSP60, HSP70 levels, and Th17/Treg cells in the healthy control group and case group

组　别	例数	HSP60（$\bar{x}\pm s$, μg/L）	HSP70（$\bar{x}\pm s$, μg/L）	Th17/Treg［$M(Q_1,Q_3)$］
健康对照组	60	26.36 ± 5.97	28.29 ± 5.21	0.47(0.36,0.63)
病例组	128	47.83 ± 7.03	50.16 ± 9.01	0.75(0.54,1.06)
t/Z 值		20.445	17.467	5.823
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2　血清 HSP60、HSP70 水平与 Th17/Treg 细胞的相关性　Pearson 法分析结果显示，血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 呈正相关（$r=0.417$、0.348，P 均 <0.001）。

2.3　不同预后 ITP 患儿临床资料差异比较　随访 1 年，患儿预后不良 21 例（预后不良亚组），预后良好 107 例（预后良好亚组）。与预后不良亚组比较，预后良好亚组患儿年龄 <3 岁比例、初诊 PLT 计数及初诊 ALC 均高，而 HSP60、HSP70、Th17/Treg 均低（P 均 <0.01），2 亚组其他资料比较差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 2。

表 2　不同预后 ITP 患儿临床资料比较

Tab. 2　Comparison of clinical data of ITP patients with different prognoses

项　目		预后良好亚组（$n=107$）	预后不良亚组（$n=21$）	$\chi^2/Z/t$ 值	P 值
性别［例（%）］	男	59(55.14)	12(57.14)	1.275	0.259
	女	48(44.86)	9(42.86)		
年龄	<3 岁	77(71.96)	7(33.33)	11.612	0.001
［例（%）］	≥3 岁	30(28.04)	14(66.67)		
初诊 PLT($\bar{x}\pm s$, $\times10^9$/L)		29.56 ± 6.50	22.52 ± 5.34	4.655	<0.001
初诊 ALC($\bar{x}\pm s$, $\times10^9$/L)		3.01 ± 1.36	2.16 ± 0.59	4.623	<0.001
出血分数($\bar{x}\pm s$, 分)		1.88 ± 0.65	1.90 ± 0.62	0.169	0.866
治疗前 Th($\bar{x}\pm s$, %)		35.59 ± 5.07	34.43 ± 5.06	0.959	0.339
治疗前 Ts($\bar{x}\pm s$, %)		28.16 ± 5.15	29.67 ± 4.76	1.241	0.217
治疗前 T($\bar{x}\pm s$, %)		69.04 ± 9.32	69.90 ± 9.51	0.389	0.698
治疗前 B($\bar{x}\pm s$, %)		18.37 ± 4.90	17.24 ± 4.68	0.977	0.330
治疗前 NK($\bar{x}\pm s$, %)		11.27 ± 3.35	10.86 ± 3.21	0.521	0.603
HSP60($\bar{x}\pm s$, μg/L)		46.41 ± 5.95	55.10 ± 7.75	4.870	0.002
HSP70($\bar{x}\pm s$, μg/L)		48.36 ± 7.23	59.37 ± 11.48	4.238	<0.001
Th17/Treg［$M(Q_1,Q_3)$］		0.69(0.50,0.92)	1.30(1.01,1.45)	4.919	<0.001

注：PLT. 血小板计数；ALC. 淋巴细胞绝对值；Th. 辅助性 T 细胞；Ts. 抑制性 T 细胞；T. T 细胞；B. B 细胞；NK. 自然杀伤细胞。

2.4　ITP 患儿预后不良的多因素 Logistic 分析　以 ITP 患儿预后不良为因变量（赋值：是为“1”；否为“0”），以上述结果中 $P<0.05$ 项目年龄、初诊 PLT 计数、初诊 ALC、HSP60、HSP70、Th17/Treg 为自变量，纳入二元 Logistic 回归模型中，分析结果显示：HSP60 高、HSP70 水平高、Th17/Treg 细胞高（赋值：实际值）为 ITP 患儿预后不良的独立危险因素，初诊 PLT 高则为保护因素（$P<0.05$），见表 3。

表 3　ITP 患儿预后不良的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3　Multivariate Logistic regression analysis of poor prognosis in children with ITP

变　量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄	0.663	0.935	0.502	0.478	1.941	0.310 ~ 12.138
初诊 PLT 高	−0.165	0.079	0.378	0.036	0.848	0.726 ~ 0.990
初诊 ALC 高	0.928	0.500	3.446	0.063	2.529	0.950 ~ 6.734
HSP60 高	0.163	0.063	6.807	0.009	1.177	1.041 ~ 1.331
HSP70 高	0.166	0.066	6.430	0.011	1.181	1.038 ~ 1.343
Th17/Treg 高	2.292	1.301	6.897	0.007	9.895	2.171 ~ 68.177

2.5　ITP 患儿预后不良风险列线图模型构建　依据上述多因素 Logistic 分析结果的影响因素构建 ITP 患儿预后不良风险列线图模型，见图 1。

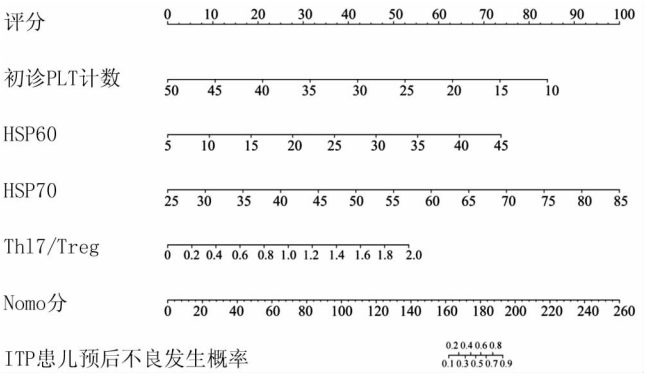


图 1　ITP 患儿预后不良发生风险的列线图

Fig. 1　Column chart of the risk of poor prognosis in children with ITP

2.6　ITP 患儿预后不良风险预测多模型分析　依据列线图风险预测模型得到列线图模型指标，分别将初诊 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平及列线图模型指标作为检验变量，并以组别作为状态变量。建立 ROC 曲线分析各项模型的区分度。结果显示，初诊 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平及列线图模型的曲线下面积（AUC）分别为 0.793、0.730、0.787、0.840、0.975，经 DeLong 法比较发现，列线图模型 AUC 均高于初诊 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 的 AUC，差异均有统计学意义（Z/P = 3.687/ < 0.001、3.481/ < 0.001、3.214/0.001、2.709/0.007），见表 4、图 2。Bootstrap 法（B = 1 000）对列线图模型进行内部验证显示，Bias-corrected 预测曲线与 Ideal 线基本重合，该模型预测能力较好，见图 3。决策曲线显示，该模型的阈值概率范围为 0.01 ~ 0.98，其净收益率 > 0，高于两条无效线，见图 4。

表 4　ITP 患儿预后不良风险预测多模型分析

Tab. 4　Multiple model analysis for predicting the risk of poor prognosis in children with ITP

检验变量	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
初诊 PLT	27.5×10^9/L	0.793	0.700 ~ 0.886	0.664	0.810	0.474
HSP60	49.34 μg/L	0.730	0.593 ~ 0.866	0.916	0.524	0.444
HSP70	53.73 μg/L	0.787	0.663 ~ 0.912	0.714	0.776	0.490
Th17/Treg	0.935	0.840	0.738 ~ 0.943	0.814	0.766	0.576
列线图模型	0.133	0.975	0.950 ~ 0.999	0.952	0.897	0.849

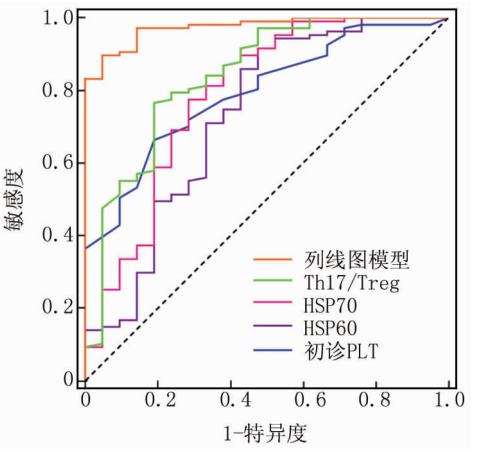


图 2　ITP 患儿预后不良风险预测多模型 ROC 曲线

Fig. 2　ROC curve of multiple models for predicting the risk of poor prognosis in children with ITP

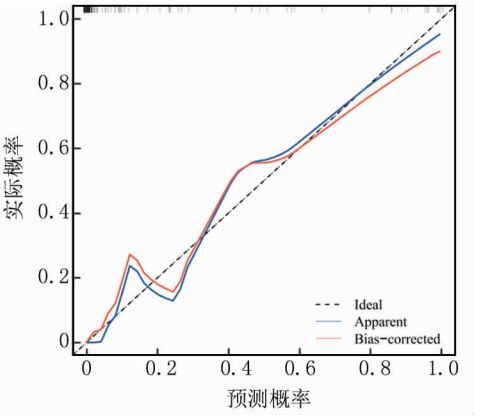


图 3　列线图风险预测模型的校准曲线

Fig. 3　Calibration curve of the column chart risk prediction model

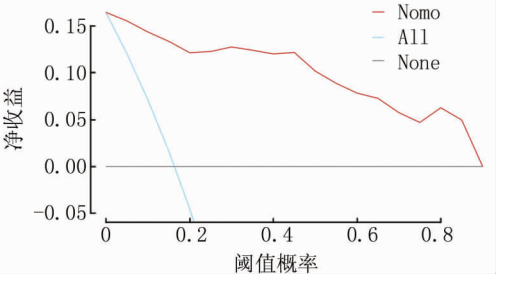


图 4　列线图风险预测模型的决策曲线

Fig. 4　Decision curve of risk prediction model using column chart

3　讨　论

ITP 是一种儿童常见的出血性疾病，其中部分患儿在治疗后可能无法完全缓解，进而发展为慢性 ITP，慢性 ITP 病程迁延或反复，导致患儿生活质量明显降

低并影响其生命安全。近年来,ITP 发病机制研究取得了一定进展,但其具体机制仍尚未完全明确。目前认为,ITP 发生与免疫调节失衡有关,特别是 Th17/Treg 平衡机制;Th17 细胞能够分泌多种促炎细胞因子,参与自身免疫性疾病的发生,而 Treg 细胞则具有免疫抑制作用,能够维持免疫系统的稳态[16]。热休克蛋白(HSPs)是一类在细胞受到应激刺激时表达增加的蛋白质,具有多种生物学功能,包括参与蛋白质折叠、转运和降解,以及调控细胞凋亡和免疫应答等。HSP60、HSP70 为其中重要成员,在多种疾病的发生发展中扮演着重要角色[17-18]。本研究通过检测 ITP 患儿血清 HSP60、HSP70 水平以及 Th17/Treg 细胞比例变化,分析它们之间的相关性,并探讨这些指标与 ITP 患儿预后的关系。有助于深入了解 ITP 的发病机制,为寻找新的治疗靶点和方法提供理论依据。

本研究中,ITP 患儿血清 HSP60、HSP70 及 Th17/Treg 细胞水平较健康儿童更高,表明在 ITP 患儿中免疫系统的应激反应可能更加剧烈,导致 HSP60 和 HSP70 表达水平发生异常改变。同时,Th17/Treg 细胞在 ITP 患儿中的活化状态也可能更加活跃,进一步加剧了机体免疫应答。HSP60 和 HSP70 作为应激反应的产物,可能对 Th17/Treg 细胞的活化起到一定的促进作用[19]。Hu 等[9]研究发现,HSP60 和 HSP70 在应激反应中发挥着关键作用,当细胞受到刺激时,HSP60 和 HSP70 表达水平显著升高,以保护细胞免受损伤。在 ITP 患儿中,HSP60 和 HSP70 的高水平表达可能反映了细胞应激状态的加剧和免疫应答的异常增强。杨莹莹等[20]研究显示,HSP60、HSP70 在 ITP 呈高表达状态,血清水平明显升高。当 ITP 患儿的细胞受到免疫系统的攻击时,会产生应激反应,导致 HSP60 和 HSP70 的表达水平升高,二者可以保护细胞免受进一步的损伤,并促进细胞的修复和再生。然而,在 ITP 患儿中,由于免疫系统的异常活化,应激反应可能过度增强,导致 HSP60 和 HSP70 的高水平表达,这种过度表达可能与预后不良相关[21]。一方面,高水平的 HSP60 和 HSP70 可能进一步加剧免疫应答的异常增强,导致 ITP 患儿的病情恶化[9-10]。另一方面,高水平的 HSP60 和 HSP70 可能与其他免疫分子相互作用,促进炎性反应和免疫应答的异常活化,从而对预后产生不利影响[22-23]。Th17/Treg 细胞是免疫系统中的 2 种重要细胞类型,在免疫应答和免疫调节中起着关键作用[24]。相关研究发现[25],Th17 细胞主要参与抵抗真菌和细菌感染的免疫应答,而 Treg 细胞则通过分泌抑制性细胞因子如白介素-10 和转化生长因子-β 来调节其他免疫细胞的活化。Gu 等[26]研究表明,在 ITP 患儿中,高水平的 Th17/Treg 可能意味着免疫系统的失衡和过度活化。Th17 细胞在 ITP 患儿中可能过度活化,导致炎性反应增强,从而加剧病情。同时,Treg 细胞可能无法有效抑制其他免疫细胞的活化,导致免疫系统失衡。这种免疫系统的失衡和过度活化进一步加剧了 ITP 患儿的病情和预后不良的风险。ITP 是一种免疫介导的血小板减少综合征,其特征为外周血中血小板减少,骨髓中巨核细胞成熟障碍[27]。ITP 初诊过程中,PLT 计数是一个重要的参考指标,PLT 计数偏高意味着患儿的止血能力较好,可降低出血风险;还可减少感染和血栓形成的概率,维持患儿免疫功能正常,使其更不易受到感染的侵袭[28]。相关研究发现,初诊时 PLT 计数低的患儿更易发展为慢性 ITP,病程延长且容易反复,易导致预后不良[29]。所以,初诊时 PLT 计数偏高为 ITP 患儿预后不良的独立保护因素。进一步经 ROC 曲线分析各项指标及模型的价值,提示构建的列线图模型在预测 ITP 患儿预后不良方面较初诊时 PLT 计数、HSP60、HSP70、Th17/Treg 各指标单独检测具有更好的效能。并经内部验证及决策分析提示该列线图模型稳定性良好且有较高收益率。这表明该模型在不同的阈值概率下都具有较好的预测效果和实际应用价值。

综上所述,IPT 患儿血清 HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平均明显升高,血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 呈显著正相关。高 HSP60、高 HSP70、高 Th17/Treg 水平是 ITP 患儿预后不良的独立危险因素,初诊时 PLT 计数偏高则是 ITP 患儿预后不良的独立保护因素。基于 HSP60、HSP70 等独立危险因素构建的列线图模型对 ITP 患儿预后不良具有较好的预测价值。本研究也存在一定局限性:首先,本研究样本来源于单一医院,样本量相对较小,且随访时间较短,可能存在一定的地域性和选择性偏倚,期待多中心更大规模的样本及更长时间随访的研究,以完善模型的多中心验证与优化;其次,影响 ITP 患儿预后的因素复杂,本研究纳入的因素由于条件的限制可能存在一定局限性,未来仍需进一步完善资料收集,纳入更多的变量,以提高结论的普遍性和可靠性;再次,本研究仅初步揭示了血清 HSP60、HSP70 水平与 ITP 患儿 Th17/Treg 细胞和预后的关系,其具体作用机制尚未完全清楚,仍需要更多的体内和体外实验加以进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈信发:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,论文修

改;万佳倩:实施研究过程,资料搜集整理;王春文、常明春:进行统计学分析;李林:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

[1] Grace RF, Lambert MP. An update on pediatric ITP: Differentiating primary ITP, IPD, and PID[J]. Blood, 2022, 140(6): 542-555. DOI: 10.1182/blood.2020006480.

[2] 尹萌萌,刘爱国,张艾,等. 儿童慢性原发性免疫性血小板减少症[J]. 临床儿科杂志,2020,38(8):631-635. DOI:10.3969/j.issn.1000-3606.2020.08.018.

[3] Deshayes S, Godeau B. Second-line and beyond: treatment options for primary persistent and chronic immune thrombocytopenia[J]. Platelets, 2020,31(3):291-299. DOI:10.1080/09537104.2019.1636018.

[4] 潘旭旭,孙若文,王弘. 原发性免疫性血小板减少症的发病机制及治疗进展[J]. 实用药物与临床,2020,23(2):181-185. DOI:10.14053/j.cnki.ppcr.202002020.

[5] 李明伟,刘玉,岳迎宾,等. 淋巴细胞及其亚群、NK 细胞与儿童原发性免疫性血小板减少症复发的相关性研究[J]. 现代生物医学进展,2023,23(16):3054-3057,3015. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2023.16.010.

[6] Sun M, Wang X, Zhang N, et al. Imbalance of follicular regulatory T (Tfr) cells/follicular helper T (Tfh) cells in adult patients with primary immune thrombocytopenia[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2023,248(11):959-965. DOI:10.1177/15353702231168142.

[7] 王建峰,杨楠楠. 脓毒症患者外周血 Th1/Th2 和 Th17/Treg 平衡变化及临床意义[J]. 锦州医科大学学报,2021,42(2):86-89. DOI:10.13847/j.cnki.lnmu.2021.02.019.

[8] 黄宝山,徐佳丽,姜帅,等. ITP 患儿免疫球蛋白、淋巴细胞亚群及 Th17/Treg 的表达分析[J]. 重庆医学,2022,51(17):2961-2965. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.17.018.

[9] Hu C, Yang J, Qi Z, et al. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities[J]. MedComm (2020),2022,3(3):e161. DOI:10.1002/mco2.161.

[10] 王鑫,李云霞,张伟,等. S100A1、HSP60 在透明细胞肾细胞癌高级别转化及预后预测中的作用[J]. 临床与实验病理学杂志,2023,39(3):281-286. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2023.03.006.

[11] Meziane FZ, Dali-Sahi M, Dennouni-Medjati N, et al. Molecular mimicry between varicella, measles virus and Hsp60 in type 1 diabetes associated HLA-DR3/DR4 molecules[J]. Diabetes Metab Syndr, 2020,14(6):1783-1789. DOI:10.1016/j.dsx.2020.08.009.

[12] Albakova Z, Armeev GA, Kanevskiy LM, et al. HSP70 multi-functionality in cancer[J]. Cells, 2020, 9(3): 587. DOI: 10.3390/cells9030587.

[13] Tukaj S, Sitko K. Heat shock protein 90 (Hsp90) and Hsp70 as potential therapeutic targets in autoimmune skin diseases[J]. Biomolecules, 2022,12(8):1153. DOI:10.3390/biom12081153.

[14] 国家卫生健康委. 儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗规范(2019 年版)[J]. 全科医学临床与教育,2019,17(12):1059-1062. DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.012.002.

[15] 中华医学会儿科学分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议[J]. 中华儿科杂志,2013,51(5):382-384. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2013.05.013.

[16] 汪嘉佳,李哲,江继发,等. 外周血 Treg 细胞、Th17 细胞在成人原发性免疫性血小板减少症中的变化及意义[J]. 山东医药,2021,61(28):74-77. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2021.28.018.

[17] Zimbone S, Di Rosa MC, Chiechio S, et al. Exploring the role of Hsp60 in alzheimer's disease and type 2 diabetes: Suggestion for common drug targeting[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(15): 12456. DOI: 10.3390/ijms241512456.

[18] Mouawad N, Capasso G, Ruggeri E, et al. Is It still possible to think about HSP70 as a therapeutic target in onco-hematological diseases[J]. Biomolecules, 2023, 13(4): 604. DOI: 10.3390/biom13040604.

[19] Cwiklinska H, Cichalewska-Studzinska M, Selmaj KW, et al. The heat shock protein HSP70 promotes Th17 genes' expression via specific regulation of microRNA[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8): 2823. DOI: 10.3390/ijms21082823.

[20] 杨莹莹,王宏茹,王丽芳,等. 热休克蛋白 70 在肿瘤中的作用研究进展[J]. 新乡医学院学报,2022,39(9):883-887. DOI:10.7683/xxyxyxb.2022.09.018.

[21] Caruso Bavisotto C, Cappello F, Macario AJL, et al. Exosomal HSP60: A potentially useful biomarker for diagnosis, assessing prognosis, and monitoring response to treatment[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2017, 17(9): 815-822. DOI: 10.1080/14737159.2017.1356230.

[22] Zininga T, Ramatsui L, Shonhai A. Heat shock proteins as immunomodulants[J]. Molecules, 2018, 23(11): 2846. DOI: 10.3390/molecules23112846.

[23] 穆志龙,高颖,卫丽,等. 热休克蛋白 60、70 在川崎病冠状动脉病变中的表达及意义[J]. 陕西医学杂志,2020,49(9):1117-1120. DOI:10.3969/j.issn.1000-7377.2020.09.016.

[24] Kargar M, Torabizadeh M, Purrahman D, et al. Regulatory factors involved in Th17/Treg cell balance of immune thrombocytopenia[J]. Curr Res Transl Med, 2023, 71(2): 103389. DOI: 10.1016/j.retram.2023.103389.

[25] 周正菊,张友山,梁彩霞,等. ITP 患者外周血 Th9、Th17 和 Treg 细胞水平及 IL-9、IL-17 和 TGF-β 表达在 ITP 发病中的作用[J]. 中国实验血液学杂志,2019,27(1):180-184. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2019.01.029.

[26] Gu H, Chen Z, Shi X, et al. Increased proportion of Th17/Treg cells at the new diagnosed stage of chronic immune thrombocytopenia in pediatrics: The pilot study from a multi-center[J]. Eur J Pediatr, 2021, 180(11): 3411-3417. DOI: 10.1007/s00431-021-04121-z.

[27] 王峰,娜斯曼·尼加提,黎瞳,等. 影响儿童原发性免疫性血小板减少症临床预后因素的研究[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2021,26(2):93-97. DOI:10.3969/j.issn.1673-5323.2021.02.007.

[28] 尹萌萌,刘爱国,张艾,等. 儿童原发性免疫性血小板减少症凝血功能分析[J]. 医学研究杂志,2021,50(5):104-107. DOI:10.11969/j.issn.1673-548X.2021.05.025.

[29] 张姮,魏宇婷,方拥军. 原发性免疫性血小板减少症儿童生活质量及其影响因素研究进展[J]. 中国实用儿科杂志,2021,36(2):99-103. DOI:10.19538/j.ek2021020605.

(收稿日期:2024-03-21)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 018

论著 · 临床

血清 LncRNA NEAT1、TFF1 在视网膜母细胞瘤中的表达及预后评估价值

万宇，邹云春，王岚，李娜，何艺岚，王淑

基金项目：四川省卫生健康科研课题普及项目（19PJ224）

作者单位：637000　四川南充，首都医科大学附属北京安贞医院南充医院眼科（万宇、邹云春、王岚、李娜、何艺岚），儿科（王淑）
通信作者：王岚，E-mail：187195689@ qq. com

【摘　要】 **目的**　分析视网膜母细胞瘤（Rb）患儿血清长链非编码 RNA 核内富集转录物 1（LncRNA NEAT1）、三叶因子 1（TFF1）表达及预后评估价值。**方法**　选取 2018 年 1 月—2021 年 1 月首都医科大学附属北京安贞医院南充医院眼科手术治疗的 Rb 患儿 85 例作为 Rb 组，以同期体检健康者 60 例为健康对照组。采用实时荧光定量 PCR 检测血清 LncRNA NEAT1 水平，采用酶联免疫吸附试验检测血清 TFF1；分析血清 LncRNA NEAT1、TFF1 与临床病理特征的关系；Cox 回归分析 Rb 预后影响因素；受试者工作特征（ROC）曲线分析血清 LncRNA NEAT1、TFF1 对 Rb 患儿预后的评估价值。**结果**　Rb 组血清 LncRNA NEAT1 水平高于健康对照组，血清 TFF1 低于健康对照组（t/P = 38.305/ < 0.001、34.858/ < 0.001）。与肿瘤直径 < 20 mm、病理分化型 Rb 患儿比较，肿瘤直径 ≥ 20 mm、未分化型 Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 较高，TFF1 较低（LncRNA NEAT1：t/P = 17.925/ < 0.001，16.848/ < 0.001；TFF1：t/P = 12.505/ < 0.001，8.120/ < 0.001）。血清 LncRNA NEAT1 高表达组 3 年无进展生存率低于低表达组（57.50% vs. 88.89%），TFF1 低表达组 3 年无进展生存率低于高表达组（57.14% vs. 90.70%）（Log rank χ^2/P = 13.551/ < 0.001、15.310/ < 0.001）。病理未分化型、血清 LncRNA NEAT1 升高是影响 Rb 预后的危险因素，血清 TFF1 升高是其保护因素［HR（95% CI）= 1.523（1.147 ~ 2.024），1.473（1.108 ~ 1.957），0.612（0.413 ~ 0.908）］；血清 LncRNA NEAT1、TFF1 及二者联合预测 Rb 预后的曲线下面积分别为 0.836、0.861、0.921，二者联合大于血清 LncRNA NEAT1、TFF1 单项检测（Z = 4.823、4.312，P 均 < 0.001）。**结论**　Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 升高，血清 TFF1 水平降低，两者与肿瘤最大径及病理分型有关，均是影响 Rb 患儿预后的因素，两者联合有助于评估患者预后。

【关键词】 视网膜母细胞瘤；长链非编码 RNA 核内富集转录物 1；三叶因子 1；预后预测；儿童
【中图分类号】 R739.7　　【文献标识码】 A

The expression and prognostic value of serum LncRNA NEAT1 and TFF1 in retinoblastoma

Wan Yu, Zou Yunchun, Wang Lan, Li Na, He Yilan, Wang Shu. *Department of Ophthalmology, Beijing Anzhen Hospital Affiliated to Capital Medical University Nanchong Hospital, Sichuan Province, Nanchong* 637000, *China*

Funding program: Sichuan Province Health Research Project Popularization Project (19*PJ*224)

Corresponding author: Wang Lan, E-mail: 187195689@ *qq. com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the expression and prognostic value of serum long chain non coding RNA nuclear enriched transcript 1 (LncRNA NEAT1) and trefoil factor 1 (TFF1) in children with retinoblastoma (Rb). **Methods**　Eighty-five Rb patients who underwent ophthalmic surgery at Ophthalmology Department of Beijing Anzhen Hospital Affiliated to Capital Medical University Nanchong Hospital from January 2018 to January 2021 were selected as the Rb group, while 60 healthy individuals who underwent physical examinations during the same period were selected as the healthy control group. Real time fluorescence quantitative PCR was used to detect serum LncRNA NEAT1 levels, and enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum TFF1 levels; the relationship between serum LncRNA NEAT1, TFF1 and clinical pathological characteristics was analyzed; the evaluation value of serum LncRNA NEAT1 and TFF1 in Rb patients was analyzed by job characteristic curve of subjects. **Results**　The serum LncRNA NEAT1 in the Rb group was (3.12 ± 0.43) higher than that in the healthy control group (0.82 ± 0.21), the serum TFF1 of the Rb group was (22.14 ± 4.61) μg/L, which was lower than that of the healthy control group (64.01 ± 9.63) μg/L (t/P = 38.305/ < 0.001, 34.858/ < 0.001). Compared with patients with tumor diameter < 20 mm and pathologically differentiated Rb, patients with tumor diameter ≥ 20 mm and

undifferentiated Rb had higher serum LncRNA NEAT1 and lower TFF1 (Lnc RNANEAT1: t/P = 17.925/ < 0.001, 16.848/ < 0.001; TFF1: t/P = 12.505/ < 0.001, 8.120/ < 0.001). The 3-year progression free survival rate of the high expression group of serum LncRNA NEAT1 was lower than that of the low expression group (57.50% vs. 88.89%), and the 3-year progression free survival rate of the low expression group of TFF1 was lower than that of the high expression group (57.14% vs. 90.70%) (Log rank χ^2/P = 13.551/ < 0.001, 15.310/ < 0.001); Pathologically undifferentiated type and high serum LncRNA NEAT1 were risk factors affecting the prognosis of Rb, while high serum TFF1 was a protective factor [*HR (95%)CI* = 1.523 (1.147 – 2.024), 1.473 (1.108 – 1.957), 0.612 (0.413 – 0.908)]; The area under the curve of serum LncRNA NEAT1, TFF1, and their combined prediction of Rb prognosis were 0.836, 0.861, and 0.921, respectively, which were larger than the single detection of serum LncRNA NEAT1 and TFF1 (Z = 4.823, 4.312, P < 0.001). **Conclusion**　Serum LncRNA NEAT1 levels increase and serum TFF1 levels decrease in Rb patients, both of which are related to the maximum tumor diameter and pathological classification, and are factors affecting the prognosis of Rb patients. The combination of the two can help evaluate the prognosis of patients.

【Key words】　Retinoblastoma; Long chain non coding RNA nuclear enriched transcript 1; Trefoil factor 1; Prediction of prognosis; Children

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)是儿童常见的原发性眼内恶性肿瘤,全球发病率为 1/28 000 ~ 1/16 000[1]。目前 Rb 治疗包括手术、化疗等,但肿瘤耐药仍然是治疗失败的主要原因[2]。长链非编码 RNA 核内富集转录物 1(long non-coding RNA nuclear paraspeckle assembly transcript 1, LncRNA NEAT1)定位于核旁斑,参与 mRNA 的编辑及基因表达调控[3]。研究表明,LncRNA NEAT1 在胶质瘤、结直肠癌中表达上调,其能与磷酸甘油酸激酶 1 的 M1 结构域相互作用,促进胶质瘤糖酵解及增殖[4-5]。三叶因子 1(trefoil factor 1, TFF1)属于三叶因子家族成员,参与促进胃肠黏膜上皮的分化、迁移及修复等生物学过程的调控[6]。研究表明,乳腺癌中 TFF1 的表达下调能够诱导转录因子插头框 A1 的表达,促进肿瘤增殖及侵袭转移[7]。目前 Rb 中血清 LncRNA NEAT1、TFF1 表达及其临床预后评估价值尚不清楚。本研究通过检测 Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1、TFF1 水平,分析两者与临床特征的关系,探讨两者的预后评估价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 1 月—2021 年 1 月首都医科大学附属北京安贞医院南充医院眼科手术治疗的 Rb 患儿 85 例作为 Rb 组,男 50 例,女 35 例;年龄 1 ~ 7 (2.76 ± 0.61)岁;病程 2 d ~ 4 年,平均(161.23 ± 41.12)d;病变部位:左侧 41 例,右侧 44 例;肿瘤直径:≥20 mm 41 例, < 20 mm 44 例;生长方式:内生型 42 例,外生型 43 型;肿瘤分期:眼内期 56 例,青光眼期 18 例,眼外期 11 例;病理分型:未分化型 28 例,分化型 57 例;均无 Rb 家族遗传史。以同期体检健康儿童 60 例为健康对照组,男 36 例,女 24 例;年龄 1 ~ 7 (2.81 ± 0.72)岁。2 组受试人员性别、年龄比较差异无统计学意义(P > 0.05)。本研究通过医院伦理委员会审核批准(20180102-2),受试儿家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①均为单眼发病,年龄≥1 岁,经病理学明确诊断为视网膜母细胞瘤;②首次诊治;③均有完善的眼部 CT、MR 眼底检查、病理学检查及随访资料。(2)排除标准:①既往接受化疗、局部放疗等治疗;②合并先天性心脏病、血液系统疾病及遗传代谢性疾病等;③合并其他恶性肿瘤。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　血清 LncRNA NEAT1 检测:采用实时荧光定量 PCR 法(实时荧光定量 PCR 仪购自美国赛默飞公司,型号 StepOnePlus。SYBR Green Premix ExTaq II 试剂盒购自日本 Takara 公司,货号 RR820A)。于患儿入院时和健康对照组体检时采集空腹肘静脉血 4 ml,离心留取上层血清待测。采用 Trizol 试剂提取血清中 RNA,分光光度计(美国赛默飞公司,型号 NanoDrop2000)检测 RNA 纯度合格后,将 RNA 反转录为 cDNA 进行后续反应。引物由深圳华大公司设计合成。引物序列:LncRNA NEAT1 上游 5′- GGCGGGGACTACAGAGGATT-3′、下游 5′- CGGAGTAGAGAATACGTCCTGC-3′,GAPDH 上游 5′- GTGCGCGGTGTCTGGTAAA-3′、下游 5′- GCTTAACGGAAACCGAACCC-3′。反应体系 10 μl:cDNA 1 μl,2 × SYBR Green Premix ExTaq II 5 μl,上游和下游引物分别 0.5 μl,DEPC 水 3 μl。程序:94℃ 5 min,94℃ 30 s,65℃ 34 s,70℃ 30 s,共计 35 个循环。$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算组织中 LncRNA NEAT1 的相对表达量。

1.3.2　血清 TFF1 检测:采用酶联免疫吸附试验检测。上述血清按照 TFF1 试剂盒(上海抚生生物科技公司,货号 A101622)说明书中实验步骤进行操作。反应结束后采用多功能酶标仪(购自美国赛默飞公司,

型号 Varioskan LUX)检测 450 nm 处的吸光度值,参考标准品构建的标准曲线,计算样品浓度。

1.3.3　治疗效果及预后评估:患儿住院期间均接受初始经眼动脉灌注化学药物联合局部治疗(激光或冷冻)。化疗方案采用卡铂 + 马法兰 + 拓扑替康化疗方案,4 周为 1 疗程,共 4 个疗程。患儿出院后进行定期门诊和电话随访,每 3 ~6 个月 1 次,随访 3 年,随访截止至 2024 年 2 月。记录患儿随访期内肿瘤复发(肿瘤退化后瘤体再次生长或出现视网膜下种植复发)、新发(治疗随访期间出现新发肿瘤)、转移及死亡情况,并记录患儿自出院至出现肿瘤复发、新发、转移及死亡的时间。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 24.0 软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;采用 Kaplan Meier 法(K-M 曲线)分析 LncRNA NEAT1、TFF1 表达与 Rb 患儿预后的关系;Cox 回归分析筛选影响 Rb 预后的因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 LncRNA NEAT1、TFF1 水平对 Rb 患儿预后的评估价值。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 LncRNA NEAT1、TFF1 比较　Rb 组血清 LncRNA NEAT1 为(3.12 ±0.43),高于健康对照组的(0.82 ±0.21);Rb 组血清 TFF1 为(22.14 ±4.61) μg/L,低于健康对照组的(64.01 ±9.63) μg/L(t/P = 38.305/ <0.001、34.858/ <0.001)。

2.2　不同临床病理特征血清 LncRNA NEAT1、TFF1 比较　与肿瘤直径 <20 mm、病理分化型 Rb 患儿比较,肿瘤直径≥20 mm、未分化型 Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 升高,而血清 TFF1 降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

2.3　血清 LncRNA NEAT1、TFF1 与 Rb 患儿预后的关系　85 例 Rb 患儿随访结束时,出现肿瘤进展 22 例,其中死亡 5 例,复发 12 例,转移 5 例。血清 LncRNA NEAT1 高表达(≥3.12)患者 3 年无进展生存率低于低表达(<3.12)患者[57.50%(23/40) vs. 88.89%(40/45)](Log rank χ^2 = 13.551, $P < 0.001$)。TFF1 低表达(<22.14 μg/L)患者的 3 年无进展生存率低于高表达(≥22.14 μg/L)患者[57.14%(24/42) vs. 90.70%(39/43)](Log rank χ^2 = 15.310, $P < 0.001$),见图 1、2。

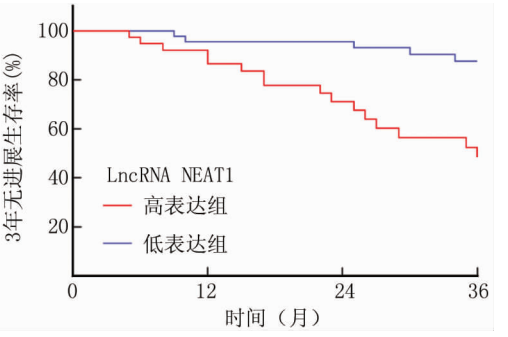


图 1　LncRNA NEAT1 高、低表达组 3 年无进展生存率的 K-M 曲线

Fig. 1　K-M curve analysis of the difference in 3-year progression free survival rate between LncRNA NEAT1 high and low expression groups

表 1　不同临床病理特征 Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1、TFF1 比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum LncRNA NEAT1 and TFF1 with different clinical pathological features

项　目		例数	LncRNA NEAT1	t 值	P 值	TFF1(μg/L)	t 值	P 值
性别[例(%)]	男	50	3.15 ±0.40	0.754	0.453	22.62 ±4.57	1.170	0.246
	女	35	3.08 ±0.45			21.45 ±4.66		
年龄	<3 岁	45	3.17 ±0.41	1.193	0.236	22.26 ±4.59	0.246	0.806
	≥3 岁	40	3.06 ±0.44			22.01 ±4.78		
病变部位	左侧	41	3.19 ±0.44	1.483	0.142	22.30 ±4.65	0.310	0.757
	右侧	44	3.05 ±0.43			21.99 ±4.57		
肿瘤直径	≥20 mm	41	3.98 ±0.40	17.925	<0.001	15.69 ±4.22	12.505	<0.001
	<20 mm	44	2.32 ±0.45			28.15 ±4.91		
生长方式	内生型	42	3.20 ±0.47	1.692	0.094	22.85 ±5.07	1.394	0.167
	外生型	43	3.04 ±0.40			21.44 ±4.23		
肿瘤分期	眼内期	56	3.06 ±0.40	3.150	0.123	22.01 ±4.58	0.114	0.900
	青光眼期	18	3.18 ±0.44			22.20 ±4.64		
	眼外期	11	3.33 ±0.46			22.70 ±4.68		
病理分型	未分化型	28	4.20 ±0.46	16.848	<0.001	16.25 ±4.23	8.120	<0.001
	分化型	57	2.59 ±0.39			25.03 ±4.89		

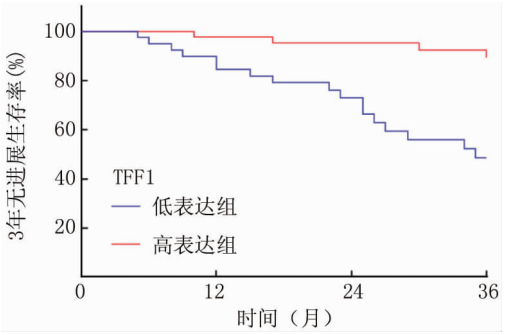


图 2　TFF1 高、低表达组 3 年无进展生存率的 K-M 曲线

Fig. 2　K-M curve analysis of the difference in 3-year progression free survival rate between TFF1 high and low expression groups

2.4　多因素 Cox 回归分析影响 Rb 预后的因素　以 Rb 不良预后为因变量(赋值:是为“1”;否为“0”),以上述结果中 $P<0.05$ 项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:病理未分化型、血清 LncRNA NEAT1 升高是影响 Rb 预后的危险因素,血清 TFF1 升高是保护因素($P<0.01$),见表 2。

表 2　多因素 Cox 回归分析影响 Rb 预后的因素

Tab. 2　Factors influencing Rb prognosis in multivariate Cox regression analysis

项　目	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*HR* 值	95% *CI*
肿瘤直径≥20 mm	0.208	0.114	3.329	0.102	1.231	0.985 ~ 1.539
病理未分化型	0.421	0.145	8.430	<0.001	1.523	1.147 ~ 2.024
LncRNA NEAT1 高	0.387	0.145	7.123	<0.001	1.473	1.108 ~ 1.957
TFF1 高	−0.491	0.201	5.967	<0.001	0.612	0.413 ~ 0.908

2.5　血清 LncRNA NEAT1、TFF1 对 Rb 预后的评估价值　绘制血清 LncRNA NEAT1、TFF1 对 Rb 预后的评估价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 LncRNA NEAT1、TFF1 及二者联合预测 Rb 预后的 AUC 分别为 0.836、0.861、0.921,二者联合预测 Rb 预后的 AUC 大于血清 LncRNA NEAT1、TFF1 单项检测($Z=4.823$、4.312,P 均 <0.001),见表 3、图 3。

表 3　血清 LncRNA NEAT1、TFF1 对 Rb 预后的评估价值

Tab. 3　Evaluation value of serum LncRNA NEAT1 and TFF1 for Rb prognosis

项　目	截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	约登指数
LncRNA NEAT1	3.12	0.836	0.791 ~ 0.864	0.794	0.811	0.605
TFF1	20.14 μg/L	0.861	0.830 ~ 0.897	0.813	0.818	0.631
二者联合		0.921	0.891 ~ 0.945	0.881	0.795	0.676

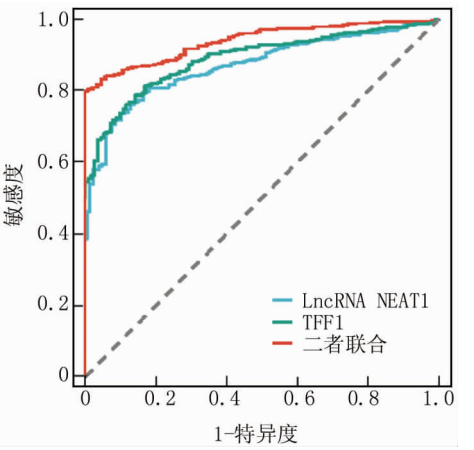


图 3　ROC 曲线分析血清 LncRNA NEAT1、TFF1 对 Rb 预后的评估价值

Fig. 3　ROC curve analysis of the prognostic value of serum LncRNA NEAT1 and TFF1 for Rb

3　讨　论

Rb 是小儿最常见的视网膜恶性肿瘤,与 Rb 基因突变有关,5 岁以下儿童最为常见。目前 Rb 的临床治疗主要以手术、化疗等综合治疗为主,5 年生存率为 60% ~90%[8]。但由于肿瘤存在异质性,不同患儿治疗的反应存在较大差异,并且长期化疗可能形成化疗耐药[9]。因此,深入研究 Rb 疾病机制,寻找能够评估 Rb 患儿预后的相关标志物,对于指导临床治疗意义重大。

LncRNA NEAT1 又称为核富含转录因子 1,是由 RNA 聚合酶Ⅱ转录的长度为 3.7 kb 的非编码 RNA,参与核小体的生物发生和维持、染色质重塑及基因表达调控,在应激反应、免疫疾病及恶性肿瘤等发生过程中发挥关键作用[10]。本研究中,Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 升高,这与既往学者在 Rb 肿瘤组织和肿瘤细胞系中检测结果一致[11],但该研究纳入的 Rb 患儿例数仅 32 例,样本量较少,本研究在较大样本量基础上进一步证实 Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 升高,提示 LncRNA NEAT1 参与 Rb 的肿瘤疾病过程。Rb 患儿中 LncRNA NEAT1 水平升高与其转录水平显著增强有关。研究表明,肿瘤的过度增殖引起肿瘤微环境处于缺血缺氧的状态,癌组织中缺氧诱导因子 2A 表达升高,其能够结合 LncRNA NEAT1 的启动子区域,促进 LncRNA NEAT1 的表达,进而促进肿瘤上皮间质转化,促进肿瘤细胞的迁移、侵袭和转移能力[12]。有学者在 Rb 肿瘤细胞系 Y79, WERI-Rb1 中发现,LncRNA NEAT1 通过分子支架结合微小 RNA-124,抑制天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶-3 和-9 活性,抑制癌细胞凋亡、促进 Rb 的进展[11]。本研究中,血清 LncRNA NEAT1 与

Rb 患儿肿瘤直径、病理分型有关，表明 LncRNA NEAT1 能够促进 Rb 肿瘤的恶性进展。分析其机制，LncRNA NEAT1 的表达上调能够激活癌细胞中增殖及侵袭等基因的表达，导致肿瘤进展。研究表明，Rb 中 LncRNA NEAT1 的表达上调通过结合微小 RNA-148b-3p，增加 Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶 1 mRNA 的稳定性，促进 Rb 癌细胞的增殖和侵袭，并抑制细胞凋亡，导致肿瘤进展[13]。此外，Rb 癌细胞中 LncRNA NEAT1 还能够作为分子海绵结合微小 RNA-106a，增加缺氧诱导因子-1α 的 mRNA 稳定性及表达水平，促进 Rb 癌细胞的增殖、侵袭和血管形成，导致肿瘤转移[14]。本研究中，血清 LncRNA NEAT1 高表达 Rb 患儿预后较差，表明检测血清 LncRNA NEAT1 水平有助于评估 Rb 患儿预后。分析其原因，LncRNA NEAT1 能够结合微小 RNA-9-5p 抑制其表达，引起精子相关抗原 9 的表达水平升高，促进癌细胞对顺铂耐药性的形成[15]。此外，LncRNA NEAT1 还能促进癌细胞干性形成，增加癌细胞对化疗药物的耐药性，导致患儿不良预后。有学者通过抑制结直肠癌中 LncRNA NEAT1 的表达，降低组蛋白的乙酰化水平，抑制染色质重塑，下调乙醛脱氢酶 1 和 c-Myc 的表达，增加癌细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感性[16]。因此，Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 的表达升高与患儿疾病进展有关，有助于评估患儿的预后，是潜在的 Rb 肿瘤治疗靶点。

TFF1 是三叶因子家族成员，其作为一种小分子多肽，参与胃肠道平滑肌蠕动、黏膜保护修复及神经调节过程。研究表明，胃癌中的 TFF1 下调能促进肿瘤血管内皮细胞的增殖及迁移，促进肿瘤血管的形成，导致肿瘤转移，是潜在的肿瘤预后相关标志物[17]。本研究中，Rb 患儿血清 TFF1 降低，这与既往研究报道的 Rb 癌组织中 TFF1 表达降低的结果一致[18]，该研究对 273 例 Rb 患儿癌组织进行免疫组化染色检测，结果表明 40% 的 Rb 癌组织中 TFF1 表达缺失或降低，提示 TFF1 的表达下调参与 Rb 的肿瘤过程。Rb 中 TFF1 表达下调的原因与表观遗传学调控异常有关。研究表明，Rb 癌细胞中 TFF1 基因启动子区域呈现高甲基化的现象，导致 TFF1 的表达下调，而在利用去甲基化药物 5-Aza-dC 处理 Rb 细胞系后，TFF1 启动子 CpG 二核苷酸的甲基化程度降低，TFF1 表达上调[19]。本研究中，肿瘤直径≥20 mm、未分化型 Rb 患儿血清 TFF1 下调更为明显，提示 TFF1 的表达降低促进 Rb 的肿瘤进展。分析其原因，Rb 中 TFF1 作为一种抑癌基因，其表达下调促进 Rb 肿瘤的进展。研究表明，Rb 肿瘤细胞系 Y79 和 RB355 中 TFF1 的表达下调能够抑制天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶 3 的活化，抑制 Rb 癌细胞的凋亡，促进肿瘤过度增殖[20]。另外，Rb 肿瘤细胞中 TFF1 的过表达能够下调微小 RNA-18a，激活 p53 的转录活性，增强癌细胞的侵袭和迁移能力[20]。本研究中，血清 TFF1 升高是影响 Rb 患儿预后的保护因素，表明检测血清 TFF1 水平有助于评估 Rb 患儿预后，这与既往学者报道癌组织 TFF1 表达下调的 Rb 患儿肿瘤复发率和病死率较高的结果一致[18]。分析其原因，过表达 TFF1 能够诱导癌细胞转化生长因子 β 和 Smad2/3 的磷酸化激活，上皮标志物 E-钙黏蛋白的表达上调，N-钙黏蛋白、波形蛋白及锌指 E-盒结合同源盒 1 和 2 的表达下调，肿瘤发生间质上皮转化，同时基质金属蛋白酶-2 和 9 的表达下调，癌细胞的转移潜能和侵袭性减弱[21]。临床研究证实，在化疗敏感的 Rb 患儿中血清 TFF1 水平明显降低，检测 Rb 患儿血清 TFF1 的水平有助于评估化疗治疗的疗效[22]。因此，血清 TFF1 水平降低参与促进 Rb 的疾病进展，可能是新的评估 Rb 预后的血清标志物。本研究中，血清 LncRNA NEAT1、TFF1 联合预测 Rb 预后的曲线下面积明显较大，提示两者联合对 Rb 患儿的预后具有较高的预测价值，可能有助于辅助临床医生评估患儿预后。

综上所述，Rb 患儿血清 LncRNA NEAT1 升高，血清 TFF1 水平降低，两者与肿瘤最大径及病理分型有关，在 Rb 肿瘤发生发展中均发挥重要作用。未分化型、血清 LncRNA NEAT1 是影响 Rb 预后的危险因素，血清 TFF1 是保护因素。血清 LncRNA NEAT1、TFF1 联合对 Rb 预后具有较高的评估价值，有利于指导临床诊治。本研究的局限为样本量有限，不能对不同分型的 Rb 患儿进行分层分析，未来将设计大样本多中心临床研究，分析血清 LncRNA NEAT1、TFF1 的临床应用价值。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

万宇：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；邹云春：提出研究思路，分析试验数据，论文审核；王岚：实施研究过程，资料搜集整理；李娜：实施研究过程，资料搜集整理，进行统计学分析；何艺岚：进行文献调研与整理；王淑：论文修改

参考文献

[1] Koochakzadeh L, Yekta A, Hashemi H, et al. Epidemiological aspect of retinoblastoma in the world: A review of recent advance studies [J]. Int J Ophthalmol, 2023, 16(6): 962-968. DOI: 10.18240/ijo.2023.06.20.

[2] 刘冬悦，金眉，阴捷，等. 经眼动脉灌注化学药物治疗与经静脉全身化学药物治疗对单眼晚期视网膜母细胞瘤的临床疗效初探 [J]. 中华眼底病杂志，2022，38(3)：187-190. DOI：10.3760/cma.j.cn511434-20220131-00057.

[3] 陈芳芳,张芳,张秀芹,等. COPD 合并肺部感染危险因素及血浆 LncRNA NEAT1 表达水平[J]. 中华医院感染学杂志,2021,31(17):2673-2677. DOI:10.11816/cn.ni.2021-203598.

[4] 周建华,胡涛,陈宇,等. lncRNA NEAT1 在人脑胶质瘤的表达变化及其与病人预后的关系[J]. 中国临床神经外科杂志,2019,24(3):148-150,161. DOI:10.13798/j.issn.1009-153X.2019.03.007.

[5] Azizidoost S, Ghaedrahmati F, Anbiyaee O, et al. Emerging roles for lncRNA-NEAT1 in colorectal cancer[J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1):209-217. DOI:10.1186/s12935-022-02627-6.

[6] 郭殿华,程芃,陈卿奇,等. Hp 感染及胃黏膜 TFF1/GKN2 表达与慢性胃炎 OLGA/OLGIM 分期的关系[J]. 中华医院感染学杂志,2023,33(4):527-531. DOI:10.11816/cn.ni.2023-213632.

[7] Yi J, Ren L, Li D, et al. Trefoil factor 1 (TFF1) is a potential prognostic biomarker with functional significance in breast cancers[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 124(5):1098-1107. DOI:10.1016/j.biopha.2020.109827.

[8] Atima MO, Idakwo U, Komolafe O, et al. Presentation pattern and survival rate of retinoblastoma following chemotherapy: A prospective study[J]. BMC Pediatr, 2023, 23(1):538-549. DOI:10.1186/s12887-023-04347-w.

[9] 俞依琳,葛盛芳,范佳燕. 视网膜母细胞瘤化疗耐药的研究进展[J]. 国际眼科杂志,2023,23(10):1653-1657. DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.10.10.

[10] 李雪莲,冷凌涵,张丽涓,等. 老年脓毒症相关性脑病患者血清外泌体 LncNEAT1、LncSOX2OT 表达及对临床预后评价[J]. 疑难病杂志,2023,22(10):1072-1077. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.012.

[11] Wang L, Yang D, Tian R, et al. NEAT1 promotes retinoblastoma progression via modulating miR-124[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(9):15585-15593. DOI:10.1002/jcb.28825.

[12] Zheng X, Zhang Y, Liu Y, et al. HIF-2alpha activated lncRNA NEAT1 promotes hepatocellular carcinoma cell invasion and metastasis by affecting the epithelial-mesenchymal transition[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(4):3247-3256. DOI:10.1002/jcb.26481.

[13] Lu H, Zhang Z, Lu Y, et al. LncRNA NEAT1 Acts as an miR-148b-3p sponge to regulate ROCK1 inhibition of retinoblastoma growth[J]. Cancer Manag Res, 2021, 13(8):5587-5597. DOI:10.2147/CMAR.S271326.

[14] Liu Y, Xin Z, Zhang K, et al. LncRNA NEAT1 promotes angiogenesis of retinoblastoma cells through regulation of the miR-106a/HIF-1alpha axis[J]. Heliyon, 2024, 10(6):2765-2773. DOI:10.1016/j.heliyon.2024.e27653.

[15] Yan P, Su Z, Zhang Z, et al. LncRNA NEAT1 enhances the resistance of anaplastic thyroid carcinoma cells to cisplatin by sponging miR-9-5p and regulating SPAG9 expression[J]. Int J Oncol, 2019, 55(5):988-1002. DOI:10.3892/ijo.2019.4868.

[16] Zhu Y, Hu H, Yuan Z, et al. LncRNA NEAT1 remodels chromatin to promote the 5-Fu resistance by maintaining colorectal cancer stemness[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(11):962-974. DOI:10.1038/s41419-020-03164-8.

[17] Shi Y, Huang X, Chen G, et al. miR-632 promotes gastric cancer progression by accelerating angiogenesis in a TFF1-dependent manner[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1):14-22. DOI:10.1186/s12885-018-5247-z.

[18] Aschero R, Ganiewich D, Lamas G, et al. Immunohistochemical expression of TFF1 is a marker of poor prognosis in retinoblastoma[J]. Pediatr Blood Cancer, 2024, 71(1):3071-30777. DOI:10.1002/pbc.30717.

[19] Philippeit C, Busch M, Dunker N. Epigenetic control of trefoil factor family (TFF) peptide expression in human retinoblastoma cell lines[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34(3):1001-1014. DOI:10.1159/000366316.

[20] Busch M, Grosse-Kreul J, Wirtz JJ, et al. Reduction of the tumorigenic potential of human retinoblastoma cell lines by TFF1 overexpression involves p53/caspase signaling and miR-18a regulation[J]. Int J Cancer, 2017, 141(3):549-560. DOI:10.1002/ijc.30768.

[21] Lee DY, Song MY, Kim EH. Trefoil factor 1 suppresses epithelial-mesenchymal transition through inhibition of TGF-beta signaling in gastric cancer cells[J]. J Cancer Prev, 2021, 26(2):137-144. DOI:10.15430/JCP.2021.26.2.137.

[22] Busch MA, Haase A, Alefeld E, et al. Trefoil family factor peptide 1-A new biomarker in liquid biopsies of retinoblastoma under therapy[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(19):4828-4835. DOI:10.3390/cancers15194828.

(收稿日期:2024-05-15)

作者·编者·读者

撤稿声明

崔本科、王岩、卢云凤、杜鹃、翟羽涵等在《疑难病杂志》2024 年第 4 期发表的论文“沉默 TUFM 通过 AMPK/mTOR 信号通路调控线粒体自噬对肺源性心脏病模型大鼠肺动脉高压的影响”,发现剽窃 Wei R, Lv X, Fang C, Liu C, Ma Z, Liu K 等在 *Oxid Med Cell Longev* 2022 年 7 月发表的“Silencing TUFM Inhibits Development of Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertension by Regulating Mitochondrial Autophagy via AMPK/mTOR Signal Pathway”论文,作者承认并道歉,编辑部认定为不端行为,予以撤稿。

《疑难病杂志》编辑部

2024 年 8 月 18 日

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 019

论著 · 基础

秦岭箭叶淫羊藿对骨质疏松大鼠骨代谢及胫骨骨微结构的影响

李永志, 韩礼军, 李智斌, 郭东, 李伟, 张博栋

基金项目: 陕西省中医药管理局课题项目(2021-GJ-JC015)
作者单位: 726000　陕西省商洛市中医医院骨伤二科
通信作者: 韩礼军, E-mail: 18049148580@163.com

【摘　要】 **目的**　探究秦岭箭叶淫羊藿(EPI)对骨质疏松(OP)大鼠骨代谢及胫骨骨微结构的影响。**方法**　2023 年 8 月—2024 年 1 月于西安迪赛生物医药有限责任公司实验室进行实验,将 50 只大鼠随机分为 Sham 组、Model 组、EPI 低剂量(EPI-L)组、EPI 高剂量(EPI-H)组、EPI-H + YC-1[缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)抑制剂)]组;除 Sham 组外,其余组采用双侧卵巢切除术构建 OP 大鼠模型。ELISA 检测大鼠血清白介素 10(IL-10)、IL-6、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、血钙(Ca)、血磷(P)、骨保护素(OPG)、骨钙素(OCN)、碱性磷酸酶(ALP);双能 X 射线骨密度仪检测大鼠胫骨密度(BMD);Micro-CT 检测胫骨骨微结构;HE 染色观察胫骨组织形态;Western blot 检测骨形成蛋白(BMP-2)、Runt 相关转录因子 2(Runx2)、半胱氨酸蛋白酶-3(cleaved caspase-3)、HIF-1α、血管内皮生长因子(VEGF)、血管内皮生长因子受体 2(VEGFR-2)蛋白水平。**结果**　与 Sham 组比较,Model 组大鼠胫骨骨微结构和骨组织形态明显受损,血清 IL-6、TNF-α、ALP 水平、胫骨骨表面积与体积比、骨小梁分离度和胫骨骨组织 cleaved caspase-3 蛋白表达水平显著升高(P 均 <0.05),血清 IL-10、OPG、OCN、Ca 和 P 水平、胫骨 BMD、骨小梁厚度、胫骨骨组织 BMP-2、Runx2、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达水平显著降低(P 均 <0.05);与 Model 组比较,EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠胫骨骨微结构和骨组织形态受损明显减轻,血清 IL-6、TNF-α、ALP 水平、胫骨骨表面积与体积比、骨小梁分离度、胫骨骨组织 cleaved caspase-3 蛋白表达水平显著降低(P 均 <0.05),血清 IL-10、OPG、OCN、Ca 和 P 水平、胫骨 BMD、骨小梁厚度、胫骨骨组织 BMP-2、Runx2、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达水平显著升高(P 均 <0.05);与 EPI-H 组比较,EPI-H + YC-1 组上述指标均被部分逆转(P 均 <0.05)。**结论**　EPI 可降低 OP 大鼠炎性反应,调节骨代谢平衡,改善胫骨骨微结构,可能与激活 HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路有关。

【关键词】 骨质疏松;箭叶淫羊藿;骨代谢;胫骨;骨微结构;大鼠
【中图分类号】 R681　　【文献标识码】 A

Experimental study on the effects of epimedium sagittatum on bone metabolism and tibial bone microstructure in osteoporosis rats

Li Yongzhi, Han Lijun, Li Zhibin, Guo Dong, Li Wei, Zhang Bodong. Department of Orthopedics and Traumatology, Shangluo Traditional Chinese Medicine Hospital, Shaanxi Province, Shangluo 726000, *China*
Funding program: Project of Traditional Chinese Medicine Administration of Shaanxi Province (2021-*GJ-JC*015)
Corresponding author: Han Lijun, E-mail: 18049148580@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the effects of epimedium sagittatum (EPI) on bone metabolism and tibial bone microstructure in osteoporosis (OP) rats. **Methods**　Rats were randomly separated into Sham group, Model group, EPI low-dose (EPI-L) group, EPI high-dose (EPI-H) group, and EPI-H + YC-1 (HIF-1**α** inhibitor) group. Bilateral oophorectomy was performed to construct an OP rat model. ELISA was applied to detect serum IL-10, IL-6, TNF-**α**, serum calcium (Ca), serum phosphorus (P), osteoprotegerin (OPG), osteocalcin (OCN), and alkaline phosphatase (ALP) in rats. Dual energy X-ray bone density instrument was applied to detect tibial bone density (BMD) in rats. Micro CT was applied to detect the microstructure of tibia bone. HE staining was applied to observe the morphology of tibial tissue. Bone morphogenetic protein (BMP-2), RUNt-associated transcription factor 2 (Runx2), and cysteine proteinase-3 (cleaved) were detected by Western blot Protein levels of caspase-3, hypoxia inducible factor HIF-1**α** (HIF-1**α**), vascular endothelial growth factor (VEGF), and vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2). **Results**　Compared with the Sham group, the microstructure and tissue morphol-

ogy of the tibia of rats in the Model group were obviously damaged, the ratio of tibial bone surface area to volume, trabecular separation, serum IL-6, TNF-α, ALP levels, and tibial bone tissue cleaved caspase-3 protein expression level were obviously increased (all $P<0.05$), the bone trabecular thickness, serum IL-10, OPG, OCN, S-Ca and S-P levels, tibial BMD, tibial bone tissue BMP-2, Runx2, HIF-1α, VEGF, and VEGFR-2 protein expression levels were obviously reduced (all $P<0.05$). Compared with the Model group, the damage to the microstructure and tissue morphology of the tibia of rats in the EPI-L and EPI-H groups was obviously reduced, the ratio of tibial bone surface area to volume, trabecular separation, serum IL-6, TNF-α, ALP levels, and tibial bone tissue cleaved caspase-3 protein expression level were obviously reduced (all $P<0.05$), the bone trabecular thickness, serum IL-10, OPG, OCN, S-Ca and S-P levels, tibial BMD, tibial bone tissue BMP-2, Runx2, HIF-1α, VEGF, and VEGFR-2 protein expression levels were obviously increased (all $P<0.05$). Compared with EPI-H group, the above indexes were partially reversed in EPI-H + YC-1 group (all $P<0.05$). **Conclusion**　EPI can reduce inflammatory reaction, regulate bone metabolism balance, and improve tibial bone microstructure in OP rats, possibly by activating the HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 signaling pathway.

【**Key words**】 Osteoporosis; Epimedium sagittatum; Bone metabolism; Tibia; Bone microstructure; Rat

骨质疏松(osteoporosis, OP)是一种骨代谢疾病,主要特点是骨密度降低、骨组织微结构变形、骨骼变脆[1]。目前临床针对 OP 的治疗方案效果不佳,中医药因不良反应小而被广泛研究[2]。秦岭箭叶淫羊藿(EPI)为秦岭地区生长的野生淫羊藿,具有温肾益阳、强筋骨的药理特性,研究显示淫羊藿可促进 OP 患者间充质干细胞增殖和成骨分化[3-4]。淫羊藿总黄酮可改善血清骨代谢指标和骨微结构,缓解 OP 症状[5]。研究显示缺氧诱导因子 HIF-1α(HIF-1α)/血管内皮生长因子(VEGF)/血管内皮生长因子受体 2(VEGFR-2)信号通路参与血管生成和成骨分化过程[6]。He 等[7]研究显示激活 VEGFR-2 可促进血管生成和成骨分化,进而有效治疗 OP。因此本研究通过建立 OP 大鼠模型来探讨 EPI 是否可通过调控 HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路来改善 OP 大鼠骨代谢和胫骨骨微结构,报道如下。

1　材料与方法

1.1　材料　(1)实验动物:SD 雌性大鼠 60 只,8 ~ 10 周龄,体质量 320 ~ 350 g,购自华中科技大学动物实验室,生产许可证号 SCXK(鄂) 2021-0009。饲养环境:光照 12 h/d,相对湿度 50% ~ 65%,饲养温度(22 ± 2)℃。(2)药物、试剂:EPI(货号:A1197194-31)购自陕西昊辰生物科技有限公司;HIF-1α 抑制剂(YC-1,货号:HY-146540)购自美国 MCE 公司;白介素 10(IL-10)、IL-6、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、血清钙(Ca)、血清磷(P)、骨保护素(OPG)、骨钙素(OCN)、碱性磷酸酶(ALP) ELISA 试剂盒(货号:B3506、B4781、B1432、TS2104、TS2109、H3817-2、TS2104、TS5217)购自上海初态生物科技有限公司;HE 染色试剂(HE0072)购自上海白益生物科技有限公司;骨形成蛋白(BMP-2)、Runt 相关转录因子 2(Runx2)、半胱氨酸蛋白酶-3(cleaved caspase-3)、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2、β 肌动蛋白(β-actin)一抗及二抗(货号:ab284387、ab92336、ab2302、ab308443、ab32152、ab245725、ab8226、ab172730)均购自英国 Abcam 公司;(3)设备仪器:SkyScan Micro-CT 三位结构扫描购自上海自束蕴仪器有限公司;DXA-800E 双能 X 射线骨密度仪购自江苏品源医疗有限公司。本研究经西安迪赛生物医药有限责任公司实验室医学伦理委员会审核通过(202307-1056)。

1.2　实验方法　2023 年 8 月—2024 年 1 月于西安迪赛生物医药有限责任公司实验室进行实验。随机选取大鼠 50 只进行 OP 造模:将大鼠麻醉后俯卧位固定,背部剃毛并消毒,背部切开暴露两侧卵巢并切除,青霉素粉消毒,缝合皮肤。造模成功标志:造模组大鼠腰椎骨密度显著低于 Sham 组大鼠。术毕大鼠死亡 3 只,选取造模成功后的大鼠 40 只随机分为 Model 组、EPI 低剂量(EPI-L)组、EPI 高剂量(EPI-H)组、EPI-H + YC-1 组,每组 10 只。原剩余大鼠 10 只作为 Sham 组,仅切除卵巢周围少许脂肪[6]。EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠予 EPI(水煎煮液)1.5 g/kg 和 3.0 g/kg 分别灌胃[8],EPI-H + YC-1 组大鼠予 EPI 液 3 g/kg 灌胃并腹膜给予 YC-1 5 mg/kg[9],Sham 组和 Model 组同方式给予等体积生理盐水,1 d/次,给药 10 周。

1.3　观测指标与方法　实验结束后大鼠腹主动脉取血 5 ml,备测;断头处死大鼠,取出双侧胫骨,备测。

1.3.1　ELISA 法检测血清 IL-10、IL-6、TNF-α、Ca、P、OPG、OCN、ALP 水平:上述大鼠血液离心留取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书要求依次加入反应试剂、终止试剂和显色试剂,酶标仪检测各指标吸光值,根据标准曲线计算相应指标水平。

1.3.2　胫骨密度检测:取大鼠右侧胫骨用双能 X 射

线骨密度仪直接检测胫骨密度(BMD)。

1.3.3　胫骨微结构检测:取大鼠左侧胫骨,用 4% 多聚甲醛固定 48 h,清洗后用 Micro-CT 扫描机对左侧胫骨进行扫描,扫描参数(300 uA、50 kV、8 m),扫描完成后用机载软件分析骨表面积与体积比、骨小梁厚度及骨小梁分离度。

1.3.4　观察骨组织形态:取大鼠右侧胫骨,用 EDTA 溶液脱钙处理 30 d,脱钙完全后,脱水、包埋、切片,脱蜡、HE 染色,透明后封片,显微镜下观察骨组织形态。

1.3.5　Western blot 检测骨组织相关蛋白水平:称取大鼠右侧胫骨骨组织,研磨提取总蛋白并对其定量,热水浴将蛋白变性后进行电泳,转至 PVDF 膜,封闭 2 h,加入 BMP-2、Runx2、cleaved caspase-3、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2、β-actin 一抗孵育过夜(4 ℃),二抗孵育,ECL 显色,用 Image J 软件定量分析 BMP-2、Runx2、cleaved caspase-3、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白水平。

1.4　统计学方法　采用 GraphPad Prism 8.0.1 软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,组内两两比较采用 SNK-q 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　各组大鼠血清 IL-10、IL-6、TNF-α 水平的比较　Model 组大鼠血清 IL-6 和 TNF-α 水平显著高于 Sham 组,IL-10 水平显著低于 Sham 组($P<0.05$);EPI-L 组、EPI-H 组大鼠血清 IL-6 和 TNF-α 水平显著低于 Model 组,IL-10 水平显著高于 Model 组($P<0.05$);EPI-H + YC-1 组大鼠血清中 IL-6 和 TNF-α 水平显著高于 EPI-H 组,IL-10 水平显著低于 EPI-H 组($P<0.05$),见表 1。

2.2　各组大鼠血清 OPG、OCN、ALP、Ca、P 水平的比较　Model 组大鼠血清 ALP 水平显著高于 Sham 组,OPG、OCN、Ca 和 P 水平显著低于 Sham 组($P<0.05$);EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠血清 ALP 水平显著低于 Model 组,OPG、OCN、Ca 和 P 水平显著高于 Model 组($P<0.05$);EPI-H + YC-1 组大鼠血清 ALP 水平显著高于 EPI-H 组,OPG、OCN、Ca 和 P 水平显著低于 EPI-H组($P<0.05$),见表 2。

2.3　各组大鼠胫骨 BMD 的比较　Model 组大鼠胫骨 BMD(0.29 ± 0.02) g/cm^2 水平显著低于 Sham 组(0.41 ± 0.05) g/cm^2($t=7.047$, $P<0.001$);EPI-L 组(0.34 ± 0.03) g/cm^2 和 EPI-H 组(0.38 ± 0.03) g/cm^2 大鼠胫骨 BMD 水平显著高于 Model 组($t=4.385$、7.894, P 均 <0.001);EPI-H + YC-1 组(0.32 ± 0.03) g/cm^2 大鼠胫骨 BMD 水平显著低于 EPI-H 组($t=4.472$, $P<0.001$)。

表 1　各组大鼠血清 IL-10、IL-6、TNF-α 水平的比较　($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Tab. 1　Effects of EPI on serum IL-10, IL-6, and TNF-α levels in rats

组　别	n	IL-10	IL-6	TNF-α
Sham 组	10	84.59 ± 10.63	27.82 ± 3.41	36.75 ± 4.32
Model 组	10	18.47 ± 2.42^a	118.64 ± 14.58^a	158.62 ± 19.84^a
EPI-L 组	10	43.38 ± 5.27^b	85.29 ± 9.74^b	114.37 ± 15.76^b
EPI-H 组	10	69.75 ± 8.51^{bc}	53.61 ± 7.29^{bc}	77.49 ± 9.53^{bc}
EPI-H + YC-1 组	10	40.26 ± 5.39^d	92.78 ± 11.67^d	121.28 ± 18.46^d
F 值		130.759	57.731	41.170
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,$^aP<0.05$;与 Model 组比较,$^bP<0.05$;与 EPI-L 组比较,$^cP<0.05$;与 EPI-H 组比较,$^dP<0.05$。

表 2　各组大鼠血清 OPG、OCN、ALP、Ca、P 水平的比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Effects of EPI on serum OPG, OCN, ALP, Ca, P levels in rats

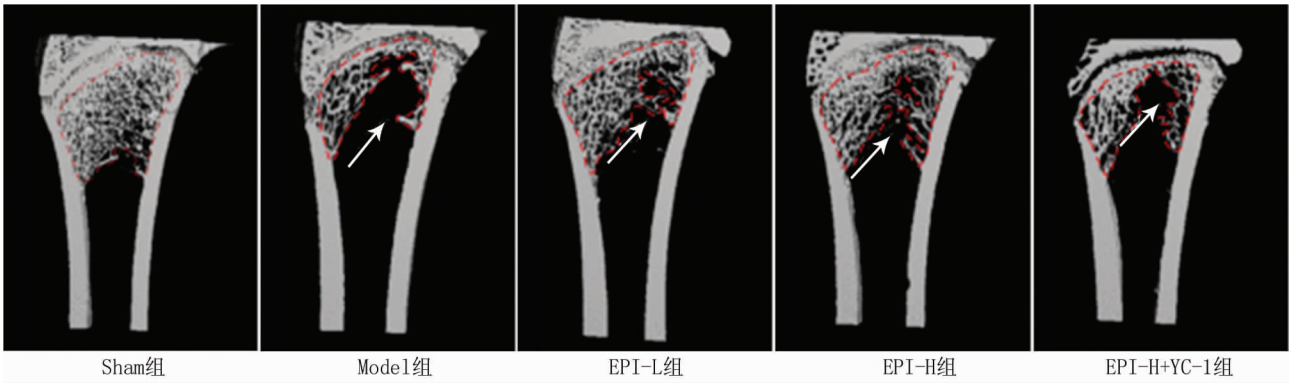
组　别	n	OPG(ng/L)	OCN(μg/L)	ALP(U/L)	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)
Sham 组	10	11.83 ± 0.91	16.93 ± 1.28	42.16 ± 3.59	2.18 ± 0.13	2.87 ± 0.14
Model 组	10	4.65 ± 0.27^a	7.51 ± 0.63^a	87.47 ± 5.23^a	1.34 ± 0.06^a	1.52 ± 0.09^a
EPI-L 组	10	6.54 ± 0.58^b	10.26 ± 1.14^b	72.83 ± 4.36^b	1.62 ± 0.07^b	1.93 ± 0.12^b
EPI-H 组	10	9.17 ± 0.82^{bc}	13.27 ± 1.46^{bc}	56.78 ± 4.62^{bc}	1.87 ± 0.08^{bc}	2.38 ± 0.15^{bc}
EPI-H + YC-1 组	10	5.76 ± 0.43^d	9.68 ± 1.12^d	75.36 ± 5.11^d	1.53 ± 0.06^d	1.83 ± 0.12^d
F 值		116.817	44.423	67.935	104.793	85.230
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,$^aP<0.05$;与 Model 组比较,$^bP<0.05$;与 EPI-L 组比较,$^cP<0.05$;与 EPI-H 组比较,$^dP<0.05$。

2.4　各组大鼠胫骨骨微结构的比较　Sham 组大鼠胫骨骨微结构完整；Model 组大鼠骨小梁明显减少且排列不规则，间距增大，骨陷窝增大；EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠胫骨骨微结构形态有明显改善；EPI-H + YC-1 组大鼠胫骨骨微结构损伤程度显著高于 EPI-H 组。Model 组大鼠胫骨骨表面积与体积比和骨小梁分离度显著高于 Sham 组，骨小梁厚度显著低于 Sham 组（$P<0.05$）；EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠胫骨骨表面积与体积比和骨小梁分离度显著低于 Model 组，骨小梁厚度显著高于 Model 组（$P<0.05$）；EPI-H + YC-1 组大鼠胫骨骨表面积与体积比和骨小梁分离度显著高于 EPI-H 组，骨小梁厚度显著低于 EPI-H 组（$P<0.05$），见图 1、表 3。

2.5　各组大鼠胫骨骨组织形态的比较　Sham 组大鼠胫骨骨组织形态完好；Model 组大鼠胫骨骨小梁间隙明显变宽，骨小梁疏松且薄；与 Model 组比较，EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠胫骨骨组织形态有明显好转；EPI-H + YC-1 组大鼠胫骨骨组织形态损伤程度显著高于 EPI-H 组，见图 2。

2.6　各组大鼠胫骨骨组织 BMP-2、Runx2、cleaved caspase-3、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达的比较　Model 组大鼠胫骨骨组织中 cleaved caspase-3 蛋白表达水平显著高于 Sham 组，BMP-2、Runx2、HIF-1α、



注：箭头指向骨小梁丢失减少。

图 1　各组大鼠胫骨骨微结构的变化（×10）

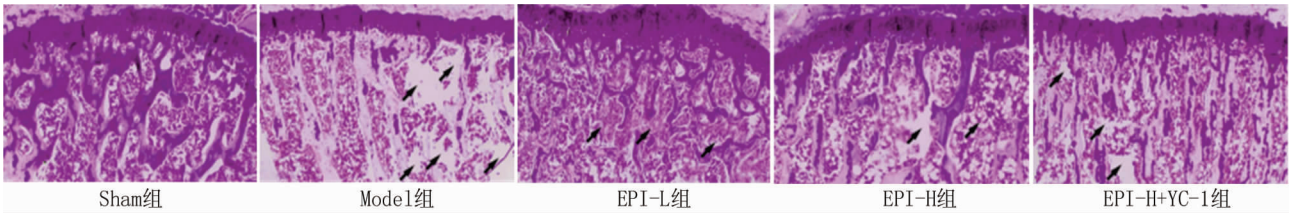
Fig. 1　Changes of tibia bone microstructure in each group of rats（×10）

表 3　各组大鼠胫骨骨微结构参数的比较　（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 3　Comparison of tibia bone microstructure parameters in each group of rats

组　别	n	骨表面积与体积比（1/mm）	骨小梁厚度（μm）	骨小梁分离度（μm）
Sham 组	10	27.38 ± 1.03	129.36 ± 4.87	325.62 ± 16.53
Model 组	10	32.57 ± 1.12[a]	104.27 ± 2.46[a]	842.56 ± 32.71[a]
EPI-L 组	10	30.81 ± 0.94[b]	113.62 ± 3.74[b]	659.84 ± 25.27[b]
EPI-H 组	10	28.46 ± 0.75[bc]	121.48 ± 4.32[bc]	438.73 ± 18.62[bc]
EPI-H + YC-1 组	10	31.24 ± 0.86[d]	109.74 ± 2.68[d]	713.29 ± 23.48[d]
F 值		34.102	45.636	435.196
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注：与 Sham 组比较，[a]$P<0.05$；与 Model 组比较，[b]$P<0.05$；与 EPI-L 组比较，[c]$P<0.05$；与 EPI-H 组比较，[d]$P<0.05$。

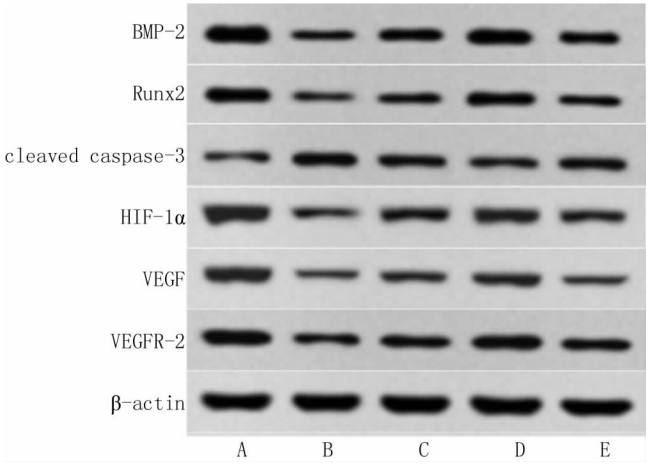


注：箭头指向骨小梁吸收。

图 2　各组大鼠胫骨骨组织形态（HE 染色，×400）

Fig. 2　Morphology of tibia bone tissue in each group of rats（HE staining，× 400）

VEGF、VEGFR-2 蛋白表达水平显著低于 Sham 组($P<0.05$);EPI-L 组和 EPI-H 组大鼠胫骨骨组织中 cleaved caspase-3 蛋白表达水平显著低于 Model 组,BMP-2、Runx2、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达水平显著高于 Model 组($P<0.05$);EPI-H + YC-1 组大鼠胫骨骨组织中 cleaved caspase-3 蛋白表达水平显著高于 EPI-H 组,BMP-2、Runx2、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达水平显著低于 EPI-H 组($P<0.05$),见图 3、表 4。



注:A. Sham 组;B. Model 组;C. EPI-L 组;D. EPI-H 组;E. EPI-H + YC-1 组。

图 3　Western-blot 检测各组大鼠胫骨骨组织 BMP-2、Runx2、cleaved caspase-3、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达

Fig. 3　Western blot analysis of BMP-2, Runx2, cleared caspase-3, HIF-1 α, VEGF, and VEGFR-2 protein expression in tibial bone tissue of rats in each group

3　讨　论

OP 是一种中老年人常见的骨退行性疾病,据统计我国 50 岁以上的 OP 患者患病率约为 20%,65 岁以上绝经女性患病率已超过 50%[10]。随着我国人口老龄化的加剧,OP 患病人数还在逐年上升,给家庭带来巨大经济和生活负担,同时也给社会带来巨大的医疗压力[11]。目前针对 OP 的治疗尚无较好的治疗方式,主要采用骨矿化促进剂、骨形成剂、骨吸收剂和激素类药物,但具有较大的不良反应,长期服用可引起其他多种类型的疾病,还有致癌风险[12]。因此开发新的药物用于 OP 的治疗是医学研究者的工作重点。中药因其特有的优势逐渐被广大医学研究者探究,EPI 是一种天然中草药,具有强筋骨祛风湿,补肾、通经络、缓解痹痛的功效[13]。Gao 等[13]研究表明,淫羊藿苷可促进骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化,提高 OP 的治疗效果。Huang 等[14]研究表明,淫羊藿可抑制破骨细胞分化,减轻卵巢切除导致的骨质流失,有效改善 OP 症状。推测 EPI 对 OP 大鼠具有一定改善作用。

本研究通过双能 X 线检测、Micro-CT 扫描和 HE 染色发现造模大鼠胫骨 BMD 显著降低,骨小梁明显减少且排列不规则,骨小梁间隙明显变宽,骨小梁疏松且薄,骨陷窝增大,提示 OP 造模成功。EPI 干预后可显著改善胫骨骨微结构和骨组织形态。OP 发生时体内雌激素合成降低,机体衰老,炎性因子过量合成释放,促进破骨细胞分化,造成骨质丢失,炎性因子还会诱发血管免疫性反应,造成血管损伤,引起成骨组织细胞缺血死亡,加速 OP 发展[15]。本研究结果显示,OP 大鼠血清炎性因子 IL-6 和 TNF-α 水平显著升高,抗炎因子 IL-10 水平显著降低,表明 OP 可引起炎性反应发生。EPI 干预后可显著降低炎性因子水平,提高抗炎因子水平,减轻炎性反应。骨代谢是成骨细胞造骨和破骨细胞吸收骨的动态过程,该平衡被打破后可引起骨代谢疾病,OP 发生造成骨代谢异常,引起骨质流失。Ca、P、OCN、OPG 和 ALP 为骨代谢检测指标,Ca 和 P

表 4　各组大鼠胫骨骨组织 BMP-2、Runx2、cleaved caspase-3、HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达的比较　($\bar{x}\pm s$)

Tab. 4　Comparison of rats in each group of BMP-2, Runx2, cleared caspase-3, HIF-1 α, VEGF, and VEGFR-2 protein expression in tibial bone tissue in each group of rats

组　别	n	BMP-2	Runx2	cleaved caspase-3	HIF-1α	VEGF	VEGFR-2
Sham 组	10	1.18 ± 0.15	0.92 ± 0.10	0.21 ± 0.03	1.07 ± 0.14	0.97 ± 0.13	0.89 ± 0.10
Model 组	10	0.43 ± 0.06[a]	0.35 ± 0.05[a]	0.78 ± 0.10[a]	0.39 ± 0.05[a]	0.36 ± 0.06[a]	0.29 ± 0.04[a]
EPI-L 组	10	0.68 ± 0.09[b]	0.54 ± 0.08[b]	0.62 ± 0.09[b]	0.63 ± 0.08[b]	0.58 ± 0.07[b]	0.46 ± 0.07[b]
EPI-H 组	10	0.91 ± 0.11[bc]	0.76 ± 0.09[bc]	0.43 ± 0.06[bc]	0.84 ± 0.11[bc]	0.76 ± 0.09[bc]	0.69 ± 0.08[bc]
EPI-H + YC-1 组	10	0.62 ± 0.08[d]	0.49 ± 0.06[d]	0.67 ± 0.09[d]	0.56 ± 0.07[d]	0.52 ± 0.07[d]	0.40 ± 0.06[d]
F 值		51.832	56.246	28.680	53.591	50.791	69.010
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组比较,[a]$P<0.05$;与 Model 组比较,[b]$P<0.05$;与 EPI-L 组比较,[c]$P<0.05$;与 EPI-H 组比较,[d]$P<0.05$。

为骨骼的基本组成成分,含量减少时会引起骨密度降低,影响骨骼形成,促进 OP 发展;ALP 由成骨细胞合成并分泌,发生肝脏或骨骼疾病后会引起其异常升高;OCN 是由成骨细胞产生的非胶原蛋白,具有维持骨矿化的作用;OPG 又称破骨细胞抑制因子,可减少破骨细胞形成[16]。本研究结果显示,EPI 干预后可显著降低 ALP 水平,提高 OPG、OCN、Ca 和 P 水平,改善 OP 大鼠骨代谢异常。BMP2 和 Runx2 为骨诱导细胞因子,在骨形成和成骨细胞生成过程中发挥重要作用,BMP2 可诱导成骨细胞分化和促进骨形成,促进骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞;Runx2 是成骨细胞的转录激活因子,可促进成骨细胞增殖和分化;OP 发生时成骨细胞大量凋亡,cleaved caspase-3 为凋亡调控蛋白,可激活细胞凋亡级联反应,促进细胞凋亡[17-19]。本研究结果显示,EPI 干预后可显著提高 BMP-2 和 Runx2 蛋白表达,降低 cleaved caspase-3 蛋白表达,促进骨髓间充质干细胞成骨分化和骨形成,降低细胞凋亡。提示 EPI 可降低 OP 大鼠炎性反应,调节骨代谢平衡,改善胫骨骨微结构[20]。

研究显示,HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路是一条参与血管生成的信号通路,活化的 HIF-1α 可调控 VEGF 表达,VEGF 与 VEGFR-2 特异性结合后可促进血管生成,加速组织愈合和细胞增殖[21]。Ren 等[22]研究表明,提高 VEGF 表达可改善 OP 大鼠骨组织微形态,调节骨形成和骨吸收,缓解 OP。Zheng 等[23]研究表明,提高 VEGF 表达可促进 OP 大鼠血管和成骨生成,加速骨修复。本研究结果显示,OP 大鼠 HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达水平显著降低,HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路被抑制,EPI 干预后可激活 HIF-1α、VEGF、VEGFR-2 蛋白表达。为进一步验证 EPI 的作用靶点,本研究在 EPI 干预基础上用 HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路抑制剂 YC-1 进行干预,结果显示,YC-1 可减弱 EPI 对 OP 大鼠骨代谢及胫骨骨微结构的改善作用。提示 EPI 对 OP 大鼠的改善作用可能是通过激活 HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路实现的。

综上所述,EPI 可能通过激活 HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 信号通路来降低 OP 大鼠炎性反应,调节骨代谢平衡,改善胫骨骨微结构。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李永志、韩礼军:科研设计、数据分析整理以及文章撰写、修改;李智斌、郭东:实验手术指导及文章审阅;李伟、张博栋:实验实施、数据收集及协助文章审阅

参考文献

[1] Humphrey MB, Russell L, Danila MI, et al. 2022 American college of rheumatology guideline for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. Arthritis Rheumatol, 2023, 75(12): 2088-2102. DOI: 10.1002/art.42646.

[2] He J, Xu S, Zhang B, et al. Gut microbiota and metabolite alterations associated with reduced bone mineral density or bone metabolic indexes in postmenopausal osteoporosis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(9): 8583-8604. DOI: 10.18632/aging.103168.

[3] Tong X, Wang Y, Dong B, et al. Effects of genus Epimedium in the treatment of osteoarthritis and relevant signaling pathways[J]. Chin Med, 2023, 18(1): 92-101. DOI: 10.1186/s13020-023-00788-8.

[4] Xia SL, Ma ZY, Wang B, et al. Icariin promotes the proliferation and osteogenic differentiation of bone-derived mesenchymal stem cells in patients with osteoporosis and T2DM by upregulating GLI-1[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 500-512. DOI: 10.1186/s13018-023-03998-w.

[5] 张冬雪,曲帅,王明月,等. 淫羊藿总黄酮联合骨营养剂抗骨质疏松作用探讨[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(12): 1797-1804. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.12.015.

[6] 吴永铁,申雄成. 高良姜素促进骨质疏松模型大鼠骨折愈合的机制研究[J]. 中国药房, 2023, 34(19): 2365-2370. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.19.11.

[7] He Y, Kam H, Wu X, et al. Dual effect of aucubin on promoting VEGFR2 mediated angiogenesis and reducing RANKL-induced bone resorption[J]. Chin Med, 2023, 18(1): 108-117. DOI: 10.1186/s13020-023-00786-w.

[8] Dai Z. Study on the protective effect and mechanism of the rhizoma drynariae-epimedium formula on osteoarthritis in rats[J]. Contrast Media Mol Imaging, 2022, 2022: 2869707-2869718. DOI: 10.1155/2022/2869707.

[9] 郭彦芳,董秀芳,王瑜龙,等. 木犀草素抑制 HIF-1α/NLRP3 信号通路对脑卒中大鼠认知障碍和神经细胞凋亡的影响[J]. 热带医学杂志, 2022, 22(9): 1196-1202, 1325. DOI: 10.19526/j.cnki.1005-8915.20240120.

[10] Li J, Chen X, Lu L, et al. The relationship between bone marrow adipose tissue and bone metabolism in postmenopausal osteoporosis[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2020, 52(3): 88-98. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.02.003.

[11] Chakrabarti K, McCune WJ. Glucocorticoid-induced osteoporosis in premenopausal women: Management for the rheumatologist[J]. Curr Opin Rheumatol, 2023, 35(3): 161-169. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000934.

[12] Zhang AS, Khatri S, Balmaceno-Criss M, et al. Medical optimization of osteoporosis for adult spinal deformity surgery: A state-of-the-art evidence-based review of current pharmacotherapy[J]. Spine Deform, 2023, 11(3): 579-596. DOI: 10.1007/s43390-022-00621-6.

(下转 1001 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 020

罕少见病例

Adams-Oliver 综合征 5 型合并 IgA 肾病 1 例并文献复习

史慧远，宋纯东，张博

基金项目：国家自然科学基金（82074493）；河南省中医药科学研究重大专项（2023ZYZD02）；河南省卫生健康委员会国家中医临床研究基地科研专项（2022JDZX003）；河南省中医药学科领军人才项目（豫卫中医函（2021）8 号）

作者单位：450000　郑州，河南中医药大学第一附属医院儿科医院（史慧远、宋纯东、张博）；河南中医药大学儿科医学院（史慧远）
通信作者：宋纯东，E-mail：scd670918@126.com

【摘　要】 报道 1 例 Adams-Oliver 综合征 5 型合并 IgA 肾病患儿的临床资料，并进行文献复习。

【关键词】 Adams-Oliver 综合征 5 型；NOTCH1 基因；IgA 肾病；诊断；治疗
【中图分类号】 R725.9　　【文献标识码】 B

Adams-Oliver syndrome type 5 complicated with IgA nephropathy: A case report and literature review

*Shi Huiyuan**, *Song Chundong*, *Zhang Bo*. **Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Henan Province, Zhengzhou* 450000, *China*

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82074493); *Key Research Project of Traditional Chinese Medicine in Henan Province* (2023*ZYZD*02); *National Clinical Research Base of Traditional Chinese Medicine, Henan Provincial Health Commission* (2022*JDZX*003); *Henan Province Chinese Medicine discipline leading Talents project* (*Yuwei Chinese Medicine Letter* (2021) *No.* 8)

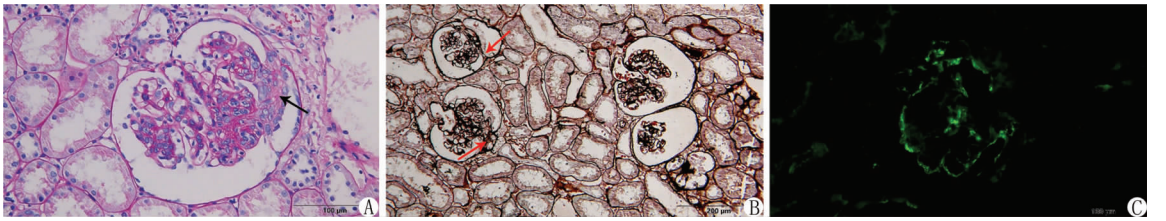
*Corresponding author: Song Chundong, E-mail: scd*670918@126.*com*

【Abstract】 The clinical data of a child with Adams-Oliver syndrome type 5 complicated with IgA nephropathy were reported and the literature was reviewed.

【Key words】 Adams-Oliver syndrome type 5; NOTCH1 gene; IgA nephropathy; Diagnosis; Treatment

患儿，男，9 岁，主因“皮疹、水肿 2 周，尿检异常 4 d，肉眼血尿 1 d”于 2022 年 3 月 22 日入院。患儿 2 周前出现双眼睑及双下肢水肿，偶伴有阵发性咳嗽，痰少，饮食及睡眠尚可，近 1 d 发现酒红色尿，24 h 尿量 800 ~ 1 000 ml，无尿频、尿急、尿痛等不适症状，大便正常。患儿足月因胎儿过大行剖宫产，出生体质量 4.75 kg，生后确诊为“先天性心脏病”，2 岁时因反复咳喘诊断为“支气管哮喘”。父母体健，否认近亲结婚，母亲妊娠期无患病或特殊用药，否认家庭遗传病史，1 弟 1 妹，均体健。

入院查体：神志清楚，精神尚可。面部及胸部可见毛细血管扩张性大理石样皮肤，眼睑及双下肢水肿，双下肢散在米粒样大小皮疹，色淡红，压之不褪色；胸廓呈鸡胸；心脏听诊于胸骨左缘第三肋间可闻及收缩期杂音；肺部听诊呼吸音粗，可闻及哮鸣音；腹部查体无异常；四肢无畸形，有杵状指；四肢肌张力及神经系统查体未见异常。血常规无明显异常；尿常规示尿隐血（+），镜检红细胞（+++++），尿蛋白（++），尿蛋白浓度 1 762.73 mg/L，尿微量白蛋白 850.90 mg/L，24 h 尿蛋白定量 1.091 g/24 h，N-乙酰葡萄糖苷酶（NAG）49.44 U/L；肝功能检查示 TP 40.6 g/L，Alb 13.8 g/L；乳酸激酶同工酶 33.4 ng/L，乳酸脱氢酶 266.0 U/L。心脏彩色超声示房间隔缺损（中央型），卵圆孔未闭，全心增大，三尖瓣少量反流，肺动脉增宽，肺动脉高压（轻度），诊断为先天性心脏病；肺部 CT 示多发支气管扩张，考虑支气管肺炎；肝胆胰脾彩色超声示肝内门静脉发育畸形，肝实质弥漫性回声改变，胆囊壁增厚，脾大；门静脉血管成像示血管发育异常；双肾及肾血管彩色超声示双肾体积增大、右肾结石。行肾脏活检穿刺术，病理检查结果示肾小球中可见纤维细胞性新月体、节段球囊粘连（图 1A、B）；免疫荧光可见 IgA、C3 沉积，小球系膜和节段毛细血管壁颗粒、小团块状沉积（图 1C），根据牛津分级 M1E1S1T0C1 诊断为Ⅳ级 IgA 肾病。全外显子组基因测序：先证者 NOTCH1 基因存在 c. 6459-6460delinsTT（p. Gln2154Ter，402）杂合变异，编码区第 6459-6460 位碱基缺失后插入 TT，导致第 2154 号氨基酸由谷氨酰胺变异为终止密码子，为截断突变，Clin Var 数据库未见报道。家系位点验证结果显示患儿父亲和母亲临床表型正常，患儿为新发突变（图 2）。根据患者临床症状及相关检查，确诊为 Adams-Oliver 综合征 5 型合并 IgA 肾病。患儿全身多脏器（心脏、肺、肝脏、脾脏、肾脏）病变及异常，合并感染、低蛋白血症、低氧血症等，进行抗感染、抑制异常免疫等对症支持治疗，症状好转后于 4 月 13 日出院，4 月 27 日于外院行心脏修复术，术后恢复良好。此后因多次发热、感染分别于 2023 年 5 月 17 日、2024 年 1 月 4 日至医院抗感染治疗。



注：A、B. 肾小球可见纤维细胞性新月体（图 A 黑色箭头示）、节段球囊粘连（图 B 红色箭头示）（A. PAS 染色，×252；B. PASM-Masson 染色，×63）；C. 免疫荧光检查示较强团块状沉积（×252）

图 1　患儿肾脏活检病理结果

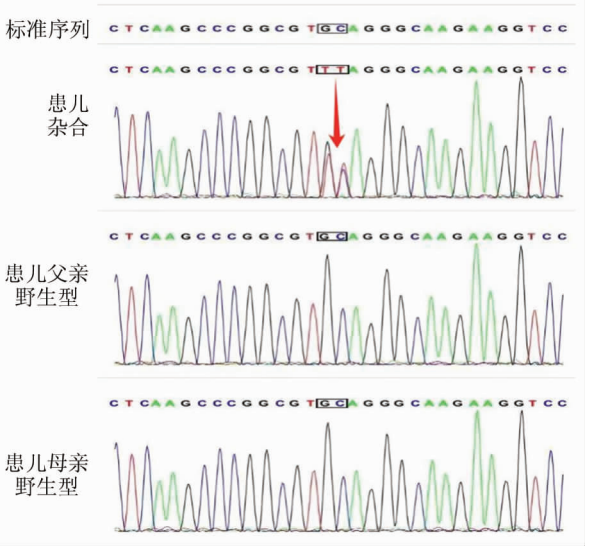


图 2　患儿及其父母基因位点变异 Sanger 测序图

讨　论　Adams-Oliver 综合征（Adams-Oliver syndrome，AOS，MIM100300）是一种以先天性表皮发育不全（scalp aplasia cutis congenita，ACC）和末端横肢缺损（transverse terminal limb defects，TTLD）为特征的罕见病，或伴有心血管畸形、先天性毛细血管扩张、面部异常、眼科异常、肾脏异常等的先天性多系统发育异常疾病[1]，在活产儿中的发生率约为 0.44/100 000 ~ 1/10 000[2]。

该病病因尚未完全明确，研究发现与基因突变相关，目前已发现该病的致病基因有 6 种[3]，其中 4 种为染色体显性遗传，2 种为常染色体隐性遗传，NOTCH1 基因突变为显性遗传，其突变导致的 AOS 在已知的 6 种基因中占比最高，约占 23%，主要临床表现为心脏缺陷及心血管异常[4]；引起该病的突变方式有错义变体、致病性移码、剪接位点突变、缺失变异、无义突变等，主要突变方式是杂合突变[5]。在既往 AOS 病例报道中[6]，ACC 约占 80%，TTLD 约占 85%，先天性心脏病约占 23%，先天性毛细血管扩张症约占 20%，中枢神经系统异常约占 30%，眼部异常约占 7% 及其他血管异常（如肝门静脉硬化伴门脉高压和食管静脉曲张等）占 14%。以“NOTCH1”“AOS 5 型”为关键词检索中国知网、万方数据库、PubMed、中华医药期刊全文数据库，检索时间从建库至 2023 年 12 月 1 日，共检索到 7 篇[1, 4, 7-11] 34 例，加上本例，共 35 例。35 例患者中，心脏缺陷 19 例，先天性毛细血管扩张 10 例；门静脉异常 6 例；神经系统发育异常 5 例；颅内血管病变 2 例；T 淋巴细胞减少 1 例。

NOTCH1 是位于人染色体 9q34 上的 34 个外显子基因，编码神经源性位点缺口同源蛋白 1（Notch1）[12]。Notch1 蛋白是 Notch 信号通路的关键影响因子，此信号通路是一种单向传导、普遍存在且进化保守的细胞内途径，参与多种细胞功能的调节[13]。Notch 信号传导对于许多胚胎结构和器官的正常发育至关重要，尤其是血管系统和心脏[14]。Notch 信号通路以多种方式调节心脏发育，包括心脏循环以及房室管、瓣膜、心肌小梁、流出道、冠状血管和房室结的发育等[15]；Notch 信号通路与其他细胞通路协同调控表皮细胞的增殖、分化、迁移和凋亡，由于异常调节或过度活化或低活化的直接突变，导致 Notch 上调或下调的经典和非经典 Notch 信号传导的任何破坏都可以诱导皮肤病[16]。此外，NOTCH1 信号通路在 IgA 肾病中也发挥着重要作用。既往研究报道发现，在 IgA 肾病患者中，肾小管上皮细胞胞浆中 Notch1、Jagged1 蛋白表达均明显增强，且随着 Notch 信号通路的活化，肾纤维化程度的加重，进一步加重 IgA 肾病的肾损伤[17]。

目前对于 AOS 无特异性治疗，只能对受累系统进行针对性治疗，如出现先天性心脏畸形和某些血管畸形可以通过一系列标准的外科手术加以改善，建议对所有疑似 AOS 病例进行多学科评估，包括完整的临床检查（皮肤病学和神经学评价）、脑 MR 或 CT 扫描、X 线、肝脏生化、超声心动图和眼科检查。其预后与多系统受累的严重程度有关，对于明确诊断的患儿，要注意其预后及可能尚未出现的其他系统受累，长期随访，定期复查。

综上，NOTCH1 基因不同位点出现的变异导致的 AOS 5 型患者的临床表现不尽相同，本例患儿是以心血管系统受累为主，无四肢肢端缺损的表现等。本案例扩大了 NOTCH1 的基因变异谱，但目前对该病缺乏特异性的治疗方法，应注意早期明确诊断，未来的研究需要对儿童期诊断的个体进行随访，定期进行心血管系统的监测，以及对高危亲属进行评估，并向个人和家庭提供有关遗传疾病的性质、模式和影响的信息。

参考文献

[1] Stittrich AB, Lehman A, Bodian DL, et al. Mutations in NOTCH1 cause Adams-Oliver syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2014, 95(3): 275-284. DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.07.011.

[2] Snape KM, Ruddy D, Zenker M, et al. The spectra of clinical phenotypes in aplasia cutis congenita and terminal transverse limb defects [J]. Am J Med Genet A, 2009, 149A(8): 1860-1881. DOI: 10.

1002/ajmg. a. 32708.

[3] Shaheen R, Faqeih E, Sunker A, et al. Recessive mutations in DOCK6, encoding the guanidine nucleotide exchange factor DOCK6, lead to abnormal actin cytoskeleton organization and Adams-Oliver syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2011, 89(2): 328-333. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2011. 07. 009.

[4] Hassed S, Li S, Mulvihill J, et al. Adams-Oliver syndrome review of the literature: Refining the diagnostic phenotype[J]. Am J Med Genet A, 2017, 173(3): 790-800. DOI: 10. 1002/ajmg. a. 37889.

[5] Meester JAN, Verstraeten A, Alaerts M, et al. Overlapping but distinct roles for NOTCH receptors in human cardiovascular disease[J]. Clin Genet, 2019, 95(1): 85-94. DOI: 10. 1111/cge. 13382.

[6] Dehdashtian A, Dehdashtian M. Adams-Oliver syndrome: A case with full expression[J]. Pediatr Rep, 2016, 8(2): 6517. DOI: 10. 4081/pr. 2016. 6517.

[7] Southgate L, Sukalo M, Karountzos ASV, et al. Haploinsufficiency of the NOTCH1 receptor as a cause of Adams-Oliver syndrome with variable cardiac anomalies[J]. Circ Cardiovasc Genet, 2015, 8(4): 572-581. DOI: 10. 1161/CIRCGENETICS. 115. 001086.

[8] Huang S, Yang L, Zhao L, et al. Novel in-frame deletion mutation in NOTCH1 in a Chinese sporadic case of Adams-Oliver syndrome [J]. DNA Cell Biol, 2020, 39(5): 783-789. DOI: 10. 1089/dna. 2019. 5200.

[9] Chapman G, Moreau JLM, I P E, et al. Functional genomics and gene-environment interaction highlight the complexity of congenital heart disease caused by Notch pathway variants[J]. Hum Mol Genet, 2020, 29(4): 566-579. DOI: 10. 1093/hmg/ddz270.

[10] DuDOIgnon B, Huber C, Michot C, et al. Expanding the phenotype in Adams-Oliver syndrome correlating with the genotype[J]. Am J Med Genet A, 2020, 182(1): 29-37. DOI: 10. 1002/ajmg. a. 61364.

[11] Meester JAN, Sukalo M, Schroder KC, et al. Elucidating the genetic architecture of Adams-Oliver syndrome in a large European cohort [J]. Hum Mutat, 2018, 39(9): 1246-1261. DOI: 10. 1002/humu. 23567.

[12] Talora C, Campese AF, Bellavia D, et al. Notch signaling and diseases: An evolutionary journey from a simple beginning to complex outcomes[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1782(9): 489-497. DOI: 10. 1016/j. bbadis. 2008. 06. 008.

[13] Algaze C, Esplin ED, Lowenthal A, et al. Expanding the phenotype of cardiovascular malformations in Adams-Oliver syndrome[J]. Am J Med Genet A, 2013, 161A(6): 1386-1389. DOI: 10. 1002/ajmg. a. 35864.

[14] Siebel C, Lendahl U. Notch signaling in development, tissue homeostasis, and disease[J]. Physiol Rev, 2017, 97(4): 1235-1294. DOI: 10. 1152/physrev. 00005. 2017.

[15] Zhou XL, Liu JC. Role of Notch signaling in the mammalian heart [J]. Braz J Med Biol Res, 2014, 47(1): 1-10. DOI: 10. 1590/1414-431X20133177.

[16] Gratton R, Tricarico PM, Moltrasio C, et al. Pleiotropic role of Notch signaling in human skin diseases[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4214. DOI: 10. 3390/ijms21124214.

[17] 王军,李良志,谭琴兰,等. Notch 信号通路在 IgA 肾病肾间质纤维化中的表达和意义[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2019, 20(2): 5. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-587X. 2019. 02. 007.

(收稿日期:2024 - 02 - 23)

(上接 998 页)

[13] Gao J, Xiang S, Wei X, et al. Icariin promotes the osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells through regulating sclerostin and activating the Wnt/β-Catenin signaling pathway[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 6666836-6666847. DOI: 10. 1155/2021/6666836.

[14] Huang JM, Wang Z, Qi GB, et al. Icaritin ameliorates RANKL-mediated osteoclastogenesis and ovariectomy-induced osteoporosis[J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(19): 10213-10236. DOI: 10. 18632/aging. 205068.

[15] Lv W, Yu M, Yang Q, et al. Total flavonoids of Rhizoma drynariae ameliorate steroid induced avascular necrosis of the femoral head via the PI3K/AKT pathway[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(5): 345-356. DOI: 10. 3892/mmr. 2021. 11984.

[16] 义明东,唐新桥,张强. 橙皮苷通过抗炎和抗氧化对骨质疏松大鼠模型的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024, 29(3): 190-201. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2024. 03. 15.

[17] 甘坤宁,张波,贺辉,等. 绝经后骨折患者血清骨碱性磷酸酶、I 型前胶原和骨形态发生蛋白 2 水平与骨质疏松程度的相关性[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(8): 845-849, 855. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 08. 013.

[18] 王金玲,黄夏荣,屈萌艰,等. 运动训练老年骨质疏松大鼠骨量及骨微结构的变化[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(5): 676-682. DOI: 10. 12307/2022. 1020.

[19] 杨鑫,李源力,蒋萍,等. 漆黄素对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响[J]. 临床误诊误治, 2023, 36(7): 38-43. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-3429. 2023. 07. 010.

[20] 赵海燕,张慧莉,汪晓妹,等. 阿托伐他汀对老年 2 型糖尿病合并骨质疏松患者血清 Hb、NLR、PLR 及骨代谢指标的影响[J]. 疑难病杂志, 2022, 21(12): 1242-1247. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 12. 004.

[21] Zhang W, Sun L, Gao H, et al. Mechanism of the HIF-1α/VEGF/VEGFR-2 pathway in the proliferation and apoptosis of human haemangioma endothelial cells[J]. Int J Exp Pathol, 2023, 104(5): 258-268. DOI: 10. 1111/iep. 12485.

[22] Ren LJ, Zhu XH, Tan JT, et al. MiR-210 improves postmenopausal osteoporosis in ovariectomized rats through activating VEGF/Notch signaling pathway[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2023, 24(1): 393-405. DOI: 10. 1186/s12891-023-06473-z.

[23] Zheng S, Zhou C, Yang H, et al. Melatonin accelerates osteoporotic bone defect repair by promoting osteogenesis-angiogenesis coupling [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13(2): 826660-826672. DOI: 10. 3389/fendo. 2022. 826660.

(收稿日期:2024 - 04 - 10)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 021

综　述

凝血功能紊乱在脓毒症心肌损伤发病机制中作用研究进展

廖夕茗综述　杨国辉审校

基金项目：贵州省科学技术基金（gzwjk2020-1-026）
作者单位：550001　贵阳，贵州医科大学（廖夕茗）；贵州医科大学附属医院内科 ICU（廖夕茗、杨国辉）
通信作者：杨国辉，E-mail：guohuiy2006@126.com

【摘　要】 脓毒症是各种感染引起的宿主反应失调进而导致危及生命的器官功能障碍，全球发病率和病死率居高不下。脓毒症引起的心肌损伤（SIMI）是其最严重的并发症之一，其复杂的病理生理机制涉及过度炎性反应、氧化应激、线粒体损伤、细胞凋亡、细胞自噬及凝血功能紊乱等。其中凝血功能紊乱在发病机制中具有重要作用，早期识别和治疗凝血功能紊乱，对改善患者心脏功能和预后至关重要。文章就凝血功能紊乱在 SIMI 中的角色作一综述，探讨其作为治疗新靶点的可能性，为临床提供参考。

【关键词】 脓毒症；心肌损伤；凝血功能紊乱；发病机制
【中图分类号】 R542.2；R363.2+1　　【文献标识码】 A

Progress in the study of the role of coagulation dysfunction in the pathogenesis of sepsis-induced myocardial injury

Liao Ximing, Yang Guohui. *Guizhou Medical University/Department of Internal Medicine ICU, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang* 550001, *China*
*Funding program: Guizhou Science and Technology Fund (gzwjk*2020-1-026)
*Corresponding author: Yang Guohui, E-mail: guohuiy*2006@126.*com*

【**Abstract**】 Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to various infections, with persistently high global incidence and mortality rates. Myocardial injury induced by sepsis is among its most severe complications, with its complex pathophysiological mechanisms involving excessive inflammatory responses, oxidative stress, mitochondrial damage, cell apoptosis, autophagy, and coagulation dysfunction. Coagulation dysfunction plays an indispensable role, where its early recognition and treatment are crucial for improving cardiac function and prognosis in patients. The article reviews the role of coagulation dysfunction in sepsis-induced myocardial injury (SIMI), discussing its potential as a new therapeutic target, providing a reference for clinical practice.

【**Key words**】 Sepsis; Myocardial injury; Coagulation dysfunction; Pathogenesis

脓毒症（sepsis）是宿主对感染反应失控而导致的器官功能障碍，是急危重症患者主要死亡原因之一[1]，长期以来一直是全球临床医学研究的重点领域。2017 年全球共有约 4 890 万例脓毒症患者，其中约有 1 100 万患者死于脓毒症相关原因，占全球死亡总数的近 20%[2]。脓毒症心肌损伤（sepsis-induced myocardial injury，SIMI）是由脓毒症引起的一种可逆的心肌功能障碍，是脓毒症最严重的并发症之一，主要表现为心肌收缩和舒张功能障碍[3]。脓毒症所致心肌损伤的患病率可高达 50%[4]。SIMI 发病机制仍未完全阐明，目前主要包括过度炎性反应、氧化应激、线粒体损伤、细胞凋亡、细胞自噬、微循环障碍及凝血功能的激活等可能机制[5-6]，尚可能有其他多种因素参与，各种机制之间也会相互影响。其中凝血功能紊乱在其中所扮演的角色仍需深入探索，因此本文综述凝血功能紊乱在 SIMI 中的作用，为临床医生提供参考，旨在探讨从凝血功能紊乱角度干预 SIMI 的病理生理过程可能成为治疗该病的新靶点。

1　脓毒症心肌损伤及发病机制

1.1　SIMI 定义　SIMI 的定义是脓毒症引起的左心和右心心肌收缩和舒张功能障碍，可导致微循环障碍和组织灌注不足加重[7]。目前 SIMI 尚无统一的诊断标准，临床中常采取传统的生物标志物如肌钙蛋白、氨基末端脑钠肽前体（NT-proBNP）等以及超声心动图来识别心肌损伤，特别是超声心动图可以评估左心室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）和室壁运动，从而判断心肌是否有损伤或功能不全[8-9]。

1.2　SIMI 发病机制　当病原体入侵机体后，产生大量病原体相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns，PAMPs）及损伤相关分子模式（damage-associated molecular patterns，DAMPs），触发应激及炎性反应，产生大量细胞因子、补体，导致线粒体功能障碍、细胞代谢紊乱，进而导致心肌细胞自噬、凋亡、坏死、心功能受损[3]。

1.2.1　过度炎性反应：SIMI 与过度炎性反应密切相关，当脓毒

症发生时,大量的促炎细胞因子如肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-6(IL-6)等产生,抑制心肌收缩,增加细胞凋亡,从而加重心肌功能障碍[10]。同时,促炎信号通路的激活也是 SIMI 病理生理的关键,肾素血管紧张素系统(RAS)通过丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、核因子 κB(NF-κB)和 Toll 样受体 4(TLR4)信号通路介导炎性反应,引起心肌细胞炎性反应损伤,其中 TLR4/NF-κB 被确认为炎性反应激活诱导的关键通路[11-12]。因此,基于减轻脓毒症的心肌炎性反应是改善 SIMI 的策略之一。

1.2.2　氧化应激:在脓毒症状态下,多种炎性因子的激活导致大量含氧活性物质(ROS)的产生,ROS 产生和线粒体抗氧化防御能力之间的不平衡进一步导致 ROS 和氧化应激的积累[13]。ROS 不仅损伤血管内皮,还可通过环腺苷酸(cAMP)/蛋白激酶 A(PKA)和环鸟苷酸(cGMP)/蛋白激酶 G(PKG)信号通路及氧化心磷脂释放细胞色素 C,损害线粒体代谢,并诱导其凋亡途径的激活,破坏线粒体功能,加剧心肌损伤[7,14]。核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)信号通路也参与了氧化应激的调节,其在 SIMI 期间的低表达加剧了 ROS 的产生[15]。Zhang 等[16]研究发现,抗白介素-16 中和抗体通过 Nrf2 信号通路调节氧化应激,从而改善小鼠的心脏功能及死亡率。因此,减轻氧化应激是治疗 SIMI 的有效手段之一。

1.2.3　线粒体损伤:心脏富含线粒体,线粒体参与能量供应和细胞内钙的调节,在脓毒症背景下,线粒体损伤导致能量供应不足、钙稳态失衡、氧化应激、线粒体自噬失调,共同加剧心肌细胞损伤。脓毒症诱导线粒体中 calpain-1 的积累,阻碍 ATP 合成并导致线粒体损伤[17]。脓毒症时激活的补体系统促使心肌细胞内钙超载触发了线粒体渗透性转换孔(mPTP)的开放,导致线粒体膜电位降低、线粒体肿胀以及线粒体外膜破裂,从而诱导心肌细胞凋亡信号的激活[18-19]。线粒体损伤时释放大量的 ROS,导致细胞内的抗氧化能力减弱,引起氧化应激,进一步加重线粒体损伤[20]。PTEN 诱导的激酶 1(PINK1)/Parkin 通路直接参与识别并标记受损线粒体,促进其自噬降解,以维持心肌细胞内环境的稳定[21]。因此调控线粒体自噬,帮助维持心肌细胞的功能,为 SIMI 提供了一种新的治疗途径。

1.2.4　心肌细胞凋亡:心肌细胞凋亡在 SIMI 中起着决定性作用,涉及复杂的分子机制和信号通路。在 SIMI 中,凋亡相关蛋白的表达和活化是心肌细胞凋亡的主要驱动因素。研究发现,抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)的表达下降,而促凋亡蛋白如 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和半胱天冬酶-3(Caspase-3)的活性增加,导致心肌细胞凋亡[22-23]。Xu 等[24]的研究证实,参附注射液能够通过提升 Bcl-2 蛋白表达,降低 BH3 相互作用结构域死亡促进因子(Bid)、t-Bid 和 caspase-9 的表达,有效抑制 SIMI 小鼠心肌细胞的凋亡,从而改善 SIMI。SIMI 中心肌细胞凋亡的调控涉及多个信号通路,MAPK 信号通路的激活促进心肌细胞凋亡,而 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的激活则抑制心肌细胞凋亡;Xie 等[25]研究证实,虾青素能够通过调节 MAPK 和 PI3K/AKT/mTOR/GSK-3β 信号通路的传导,减少心肌细胞凋亡,从而有效减轻 SIMI。因此,针对心肌细胞凋亡的治疗策略为改善心肌损伤提供了潜在靶点。

1.2.5　心肌细胞自噬:自噬是一种保守的细胞内降解机制,通过溶酶体途径清除受损的细胞器和蛋白质,对于维持心肌细胞稳态和功能至关重要[7]。自噬的调控涉及多个信号通路,包括自噬的负调控和正调控途径。mTOR 信号通路是自噬的主要调控因子之一,通常抑制自噬过程。在脓毒症模型中,抑制 mTOR 信号通路可以增强自噬,改善心脏功能障碍[26]。AMPK 是细胞能量状态的感应器,其激活可以促进自噬。研究表明,AMPK 的激活和随后的 ULk1 磷酸化是启动心肌细胞自噬的关键步骤。在 SIMI 中,通过激活 AMPK 促进自噬,可能对减轻心肌损伤和改善心脏功能具有保护作用[27]。因此,深入掌握心肌细胞自噬调控的复杂机制,有助于开发潜在的治疗策略,以防止脓毒症引起的心脏损害。

SIMI 的发病机制是多方面、多层次的。这些机制相互作用、相互影响,尚可能有其他多种因素参与,共同导致心肌细胞的损伤和心脏功能的下降。因此,针对 SIMI 的治疗需要采取多方面的策略,深入理解这些复杂的发病机制对于开发新的治疗方法和提高脓毒症患者的生存率具有重要意义。

2　凝血功能紊乱与脓毒症心肌损伤

2.1　脓毒症凝血功能紊乱　在脓毒症中,凝血激活几乎是普遍事件,表现在脓毒症的早期阶段,并随着疾病进展而恶化[28],因此,对脓毒症引发的凝血功能紊乱的病理生理学机制进行梳理。

2.1.1　血管内皮损伤:血管内皮细胞损伤是脓毒症病理过程的中心事件,其导致了血管通透性增加、凝血级联反应的激活、组织水肿以及重要器官的灌注受损[29]。正常情况下,内皮细胞通过分泌抗凝和促凝物质维持血液流动性和防止血栓形成[30]。脓毒症发生时,内皮细胞通过表达组织因子和黏附分子,释放血管性血友病因子(von willebrand factor, vWF)和凝血因子Ⅷ,促进了血栓反应[31];同时,糖萼为保护血管内皮细胞和维持血管通透性的屏障,脓毒症时糖萼的降解和脱落导致内皮屏障功能受损,增加了血管通透性,暴露了血管基底膜,促进了血小板黏附和激活,进一步激活凝血级联反应[32];此外,内皮细胞损伤还导致抗纤溶机制受损,如活化蛋白 C 的活化,减弱了其对凝血因子Ⅴa 和Ⅷa 的抑制作用,进一步加剧了凝血功能紊乱[33]。

2.1.2　凝血激活:凝血的激活包括外源性和内源性 2 条途径。在脓毒症中,炎性反应刺激导致单核细胞和巨噬细胞表面组织因子(tissue factor, TF)的表达增加,是触发外源性凝血途径的关键因素。TF 作为凝血启动因子,与血浆中的凝血因子Ⅶa 结合,形成 TF/fⅦa 复合物,激活因子 X 转化为其活化形式 Xa,Xa 是关键的凝血酶,它促进可溶性纤维蛋白原转变为纤维蛋白,形成血栓[34]。同时,吞噬细胞(如单核细胞和巨噬细胞)通过释放富含 TF 和磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs),在其膜表面表达,从而启动内源性凝血激活过程,加剧脓毒症的凝血功能紊乱[35]。

2.1.3　纤溶系统失衡:在正常情况下,纤溶系统通过纤溶酶原激活物和纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)的平衡作用,维持血液的流动性和防止过度凝血[36]。在脓毒症条件下,纤溶系统受损,导致血栓的溶解过程受到抑制,从而促进了组织微循环中血栓的形成。这种平衡向

抑制纤维蛋白溶解的转变，主要是由于 PAI-1 的过量产生，PAI-1 水平的升高抑制了纤溶酶原激活，阻碍了纤维蛋白的正常分解，进而增加了微血管内血栓的风险[37]。凝血功能紊乱是脓毒症关键病理生理过程，涉及血管内皮损伤、凝血激活、纤溶系统失衡等多个环节，导致微血栓形成，严重时甚至可能导致弥散性血管内凝血（DIC）乃至多器官功能障碍综合征（multiple organ dysfunction syndrome，MODS）[28]。因此，深入理解凝血功能紊乱的机制对于开发针对性的治疗策略和改善脓毒症患者的临床预后具有重要意义。

2.2　凝血功能紊乱与脓毒症心肌损伤的关系　凝血功能紊乱与心肌损伤之间的关联是一个高度复杂且相互作用的过程，尤其是在脓毒症中。凝血功能紊乱不仅是脓毒症患者常见的并发症，也是 SIMI 发展的重要促进因素。

2.2.1　炎性反应与凝血功能紊乱的相互作用：脓毒症引起的全身性炎性反应释放大量炎性因子，包括 TNF-α、IL-1、IL-6 等，这些细胞因子不仅增强炎性反应，还直接激活凝血系统，促使血管内皮细胞和单核细胞等表达 TF，TF 与血浆中的 FⅦ结合，形成 TF-FⅦa 复合物，激活 FX，进一步促进凝血酶的生成，导致纤维蛋白生成和血栓形成，减少心肌细胞的氧气和营养供应，促进缺氧性损伤[34,38]。同时，凝血系统的激活不仅是炎性反应过程的结果，也能反过来促进炎性反应，形成一个相互促进的恶性循环[39]。凝血酶是凝血过程中的关键酶，其不仅能将纤维蛋白原转变为纤维蛋白形成血栓，还能直接作用于血管内皮细胞和免疫细胞等，产生和释放更多的炎性因子，加剧炎性反应，从而抑制心肌收缩，增加心肌细胞凋亡[40]。此外凝血酶还可以直接作用于心肌细胞，通过与心肌细胞表面的蛋白酶活化受体（protease-activated receptors，PARs）相结合，激活心肌细胞内的信号传导途径，导致细胞应激反应、炎性反应增强和细胞凋亡，造成心肌损伤[41]。这种相互作用突显了炎性反应和凝血之间复杂的关联，以及它们在 SIMI 中的重要作用。

2.2.2　血管内皮损伤：脓毒症中，炎性介质和氧化应激等因素通过影响细胞内信号通路，如 p38 丝裂原活化蛋白激酶和细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）通路的活化，导致内皮细胞骨架重组，细胞形态改变，以及细胞连接松弛，从而增加血管通透性[42]。此外，糖萼的结构和功能受损，减弱了血管壁的防护屏障，使血浆成分和水分更易渗透到组织间隙，从而引发组织水肿和增加血管通透性[43]。血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）作为一种促进血管生长的因子，脓毒症发生时 VEGF 水平上调，可直接作用于内皮细胞，增加其通透性[44]。这些因素共同导致心肌组织间隙压力增加，干扰了氧气和营养物质的正常交换，并可能导致心脏填充受阻及心脏输出量下降，从而影响心肌细胞的正常代谢和功能，增加心脏负担，进一步损害心脏。同时，脓毒症引起的内皮细胞损伤还促使 vWF 释放到血管腔内，vWF 作为一种大型多聚体蛋白，在血管损伤部位通过与血小板表面的 GPIb 受体结合，促进血小板的黏附；vWF 还能桥接血小板与暴露的胶原蛋白，增强血小板之间的聚集，促进微血栓的形成，这进一步加剧心肌损伤[45]。这些过程共同构成了脓毒症中血管内皮功能障碍对心脏功能的影响，揭示了治疗脓毒症时对维护血管内皮稳定性和防止微血栓形成的重要性。

2.2.3　微血栓形成：微血栓的形成是脓毒症中凝血功能紊乱的直接后果，主要影响心肌微循环，削减心肌细胞所需的氧气和营养供应，进而促进了缺氧性损伤的发生。这些微血栓不仅阻碍血流，引起心肌细胞供血不足，还能加剧局部的炎性反应[46]。在这个过程中，局部炎性反应的加剧进一步损害心肌细胞，其通过氧化应激、炎性因子释放等机制，直接和间接地影响心肌细胞的生存和功能。同时还进一步激活凝血系统，加速微血栓的形成。

2.2.4　血流动力学改变：在脓毒症中，炎性反应细胞的激活显著增加诱导型一氧化氮合酶（iNOS）的表达，导致一氧化氮（NO）的产生急剧增加，这一过程引发全身血管扩张和血压的显著下降，进而减少冠状动脉的血流量，降低心肌的氧气供应，尤其在脓毒症引起的低血压状况下更为明显；此外，过量的一氧化氮还通过 cGMP 依赖途径干扰心肌细胞内的钙离子调节，从而降低心肌收缩力，导致心功能障碍[6]。这些变化共同作用，加剧了脓毒症对心脏功能的负面影响。凝血功能紊乱导致血液黏稠度增加，影响了血液在血管中的流动性，增加了心脏泵血的负担，导致心脏输出量减少。此外，血流动力学的变化，如微血栓形成和血管阻力的增加，迫使心脏加大做功以维持适当的血流量，不仅增加了心肌的氧耗，而且在氧气供应不能满足需求的情况下，还可能导致心肌缺氧损伤。此外，即使在微循环障碍解除后，血流的突然恢复也可能引发缺血再灌注损伤，这种损伤涉及大量自由基的产生、钙离子超载以及炎性反应的加剧，从而对心肌细胞造成进一步损害[47]。

3　小结与展望

凝血功能紊乱不仅加剧了 SIMI，还可能进一步恶化脓毒症的整体病情，增加患者的死亡风险。因此，对于 SIMI 患者而言，早期识别和治疗凝血功能紊乱，以及针对其引起的病理生理变化采取有效的干预措施，对于改善 SIMI 患者的心脏功能和整体预后至关重要。未来的研究需要进一步深入探讨凝血功能紊乱与 SIMI 之间的具体相互作用机制，以发现更多潜在的治疗靶点，开发出更为有效的治疗策略，从而为 SIMI 患者提供更好的治疗方案，减轻心肌损伤，改善患者生存率。

参考文献

[1]　Bode C, Weis S, Sauer A, et al. Targeting the host response in sepsis: Current approaches and future evidence[J]. Crit Care, 2023, 27(1): 478. DOI: 10.1186/s13054-023-04762-6.

[2]　Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: Analysis for the Global Burden of Disease Study[J]. Lancet, 2020, 395(10219): 200-211. DOI: 10.1016/s0140-6736(19)32989-7.

[3]　聂时南. 脓毒症心肌病——从发病机制到临床管理[J]. 医学研究生学报, 2022, 35(5): 449-454. DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2022.05.001.

[4]　Lin YM, Lee MC, Toh HS, et al. Association of sepsis-induced cardiomyopathy and mortality: A systematic review and meta-analysis[J]. Annals of Intensive Care, 2022, 12(1): 112. DOI: 10.1186/s13613-

022-01089-3.

[5] 黄颖,唐立丽,关于琳,等. 脓毒症心肌损伤发病机制及治疗研究进展[J]. 实用医学杂志,2023,39(14):1848-1852. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2023.14.021.

[6] Kakihana Y, Ito T, Nakahara M, et al. Sepsis-induced myocardial dysfunction: Pathophysiology and management[J]. Journal of Intensive Care, 2016, 4: 22. DOI: 10.1186/s40560-016-0148-1.

[7] 周颖,杨国辉. 自噬在脓毒症心肌功能障碍发病机制中的作用研究进展[J]. 疑难病杂志,2023,22(7):776-781. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.07.022.

[8] 颜培夏,王媛媛. HMGB1, cTnⅠ, CK-MB 及 NT-proBNP 对脓毒症心肌损伤的诊断价值[J]. 重庆医学,2023,52(5):737-741. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.05.021.

[9] 王晶,谭睿,於江泉,等. 超声心动图在脓毒症心肌病中的应用进展[J/OL]. 中华临床医师杂志:电子版,2021,15(6):464-469. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2021.06.011.

[10] Habimana R, Choi I, Cho HJ, et al. Sepsis-induced cardiac dysfunction: A review of pathophysiology[J]. Acute Crit Care, 2020, 35(2): 57-66. DOI: 10.4266/acc.2020.00248.

[11] Ning L, Rong J, Zhang Z, et al. Therapeutic approaches targeting renin-angiotensin system in sepsis and its complications[J]. Pharmacol Res, 2021, 167: 105409. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105409.

[12] Chen H, Liu Q, Liu X, et al. Berberine attenuates septic cardiomyopathy by inhibiting TLR4/NF-κB signalling in rats[J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 121-128. DOI: 10.1080/13880209.2021.1877736.

[13] Stanzani G, Duchen MR, Singer M. The role of mitochondria in sepsis-induced cardiomyopathy[J]. Biochim Biophys Acta, Mol Basis Dis, 2019, 1865(4): 759-773. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.10.011.

[14] Dudek J. Role of cardiolipin in mitochondrial signaling pathways[J]. Front Cell Dev Biol, 2017, 5: 90. DOI: 10.3389/fcell.2017.00090.

[15] Bi CF, Liu J, Yang LS, et al. Research progress on the mechanism of sepsis induced myocardial injury[J]. Journal of inflammation research, 2022, 15: 4275-4290. DOI: 10.2147/jir.S374117.

[16] Zhang J, Yang Z, Liang Z, et al. Anti-Interleukin-16 neutralizing antibody treatment alleviates sepsis-induced cardiac injury and dysfunction via the nuclear factor erythroid-2 related factor 2 pathway in mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 6616422. DOI: 10.1155/2021/6616422.

[17] Zhang M, Wang G, Peng T. Calpain-mediated mitochondrial damage: An emerging mechanism contributing to cardiac disease[J]. Cells, 2021, 10(8): 2024. DOI: 10.3390/cells10082024.

[18] Lin Y, Xu Y, Zhang Z. Sepsis-induced myocardial dysfunction (SIMD): The pathophysiological mechanisms and therapeutic strategies targeting mitochondria[J]. Inflammation, 2020, 43(4): 1184-1200. DOI: 10.1007/s10753-020-01233-w.

[19] Zetoune FS, Ward PA. Role of complement and histones in sepsis[J]. Frontiers in Medicine, 2020, 7: 616957. DOI: 10.3389/fmed.2020.616957.

[20] Zhou Q, Xie M, Zhu J, et al. PINK1 contained in huMSC-derived exosomes prevents cardiomyocyte mitochondrial calcium overload in sepsis via recovery of mitochondrial Ca^{2+} efflux[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2021, 12(1): 269. DOI: 10.1186/s13287-021-02325-6.

[21] Shi J, Chen Y, Zhi H, et al. Levosimendan protects from sepsis-inducing cardiac dysfunction by suppressing inflammation, oxidative stress and regulating cardiac mitophagy via the PINK-1-Parkin pathway in mice[J]. Annals of Translational Medicine, 2022, 10(4): 212. DOI: 10.21037/atm-22-483.

[22] Liu AB, Li SJ, Yu YY, et al. Current insight on the mechanisms of programmed cell death in sepsis-induced myocardial dysfunction[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1309719. DOI: 10.3389/fcell.2023.1309719.

[23] Chiong M, Wang ZV, Pedrozo Z, et al. Cardiomyocyte death: Mechanisms and translational implications[J]. Cell Death Dis, 2011, 2(12): e244. DOI: 10.1038/cddis.2011.130.

[24] Xu P, Zhang W Q, Xie J, et al. Shenfu injection prevents sepsis-induced myocardial injury by inhibiting mitochondrial apoptosis[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 261: 113068. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113068.

[25] Xie WJ, Hou G, Wang L, et al. Astaxanthin suppresses lipopolysaccharide-induced myocardial injury by regulating MAPK and PI3K/AKT/mTOR/GSK3β signaling[J]. Molecular Medicine Reports, 2020, 22(4): 3338-3346. DOI: 10.3892/mmr.2020.11443.

[26] Qiao Y, Wang L, Hu T, et al. Capsaicin protects cardiomyocytes against lipopolysaccharide-induced damage via 14-3-3γ-mediated autophagy augmentation[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 659015. DOI: 10.3389/fphar.2021.659015.

[27] Mao JY, Su LX, Li DK, et al. The effects of UCP2 on autophagy through the AMPK signaling pathway in septic cardiomyopathy and the underlying mechanism[J]. Annals of Translational Medicine, 2021, 9(3): 259. DOI: 10.21037/atm-20-4819.

[28] Iba T, Umemura Y, Wada H, et al. Roles of coagulation abnormalities and microthrombosis in sepsis: Pathophysiology, diagnosis, and treatment[J]. Arch Med Res, 2021, 52(8): 788-797. DOI: 10.1016/j.arcmed.2021.07.003.

[29] Bermejo-Martin JF, Martín-Fernandez M, López-Mestanza C, et al. Shared features of endothelial dysfunction between sepsis and its preceding risk factors (aging and chronic disease)[J]. Journal of Clinical Medicine, 2018, 7(11): 400. DOI: 10.3390/jcm7110400.

[30] Radeva MY, Waschke J. Mind the gap: Mechanisms regulating the endothelial barrier[J]. Acta Physiol (Oxf), 2018, 222(1). DOI: 10.1111/apha.12860.

[31] Steinert M, Ramming I, Bergmann S. Impact of von willebrand factor on bacterial pathogenesis[J]. Frontiers in Medicine, 2020, 7: 543. DOI: 10.3389/fmed.2020.00543.

[32] Martin L, Koczera P, Zechendorf E, et al. The endothelial glycocalyx: New diagnostic and therapeutic approaches in sepsis[J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 3758278. DOI: 10.1155/2016/3758278.

[33] Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. The endothelium in sepsis[J]. Shock, 2016, 45(3): 259-270. DOI: 10.1097/shk.0000000000000473.

[34] Mcgee MP, Chou T. Surface-dependent coagulation enzymes. Flow kinetics of factor Xa generation on live cell membranes[J]. J Biol Chem, 2001, 276(11): 7827-7835. DOI: 10.1074/jbc.M003275200.

(下转 1010 页)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 022

综　述

脓毒症相关急性肾损伤发病机制的研究进展

闫娅婷,谭睿敏,付优综述　杜全胜审校

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(H2020307040);河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目(ZF2024008)

作者单位:063210　河北唐山,华北理工大学(闫娅婷);050057　石家庄,河北省人民医院重症医学科(闫娅婷、谭睿敏、付优、杜全胜)

通信作者:杜全胜,E-mail:dqs888@126.com

【摘　要】 脓毒症是临床上常见的危重疾病,往往会导致多脏器受损,严重时甚至危及生命。肾脏作为脓毒症最常受累的靶器官之一使得脓毒症相关的急性肾损伤(SAKI)更容易对患者的预后产生不良影响。SAKI 的发病过程十分复杂,发病机制至今尚未完全阐清,涉及免疫炎性反应、氧化应激、细胞凋亡、内皮细胞功能障碍、血流动力学异常、线粒体质量控制失调等多个方面。文章就 SAKI 发病机制的研究进展进行综述,以期找到 SAKI 有效治疗新靶点。

【关键词】 脓毒症;急性肾损伤;发病机制

【中图分类号】 R692;R631^{+}.2　　【文献标识码】 A

Research progress on the pathogenesis of sepsis-associated acute kidney injury

*Yan Yating**, *Tan Ruimin*, *Fu You*, *Du Quansheng*. **North China University of Science and Technology*, *Hebei Province*, *Tangshan* 063210; *China/Department of Intensive Care Medicine*, *Hebei General Hospital*, *Shijiazhuang* 050057, *China*

Funding program: *Natural Science Foundation of Hebei Province* (*H*2020307040); *Hebei Provincial Government Sponsored Clinical Medicine Excellent Talent Training Project* (*ZF*2024008)

Corresponding author: *Du Quansheng*, *E-mail*: *dqs*888@126.*com*

【**Abstract**】 Sepsis is a common and critical disease in clinical practice, which often leads to multi-organ dysfunction and even life-threatening in severe cases. As one of the most commonly affected target organs of sepsis, sepsis-associated acute kidney injury (SAKI) has a more serious impact on the prognosis of patients. The pathogenesis of SAKI is very complex, involving immune inflammatory response, oxidative stress, apoptosis, endothelial cell dysfunction, hemodynamic abnormalities, mitochondrial quality control disorders and other aspects, so the pathogenesis of SAKI has not been fully elucidated. This article discusses the research progress on the pathogenesis of SAKI and briefly reviews it, in order to find new targets for the effective treatment of SAKI.

【**Key words**】 Sepsis; Acute kidney injury; Pathogenesis

脓毒症是机体在感染过程中产生的非适应性应答,可导致包括心脏、肺脏、肾脏、肝脏以及中枢神经系统等在内的多器官功能障碍,严重时可致休克甚至死亡。研究证实,急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)在重症监护病房(intensive care unit, ICU)脓毒症患者中十分常见,死亡风险高达 48%[1]。目前,肾脏已被公认是脓毒症发生过程中最容易受累的靶器官[2]。基于脓毒症特殊且复杂的病理生理机制使得脓毒症相关的急性肾损伤(sepsis-associated acute kidney injury, SAKI)具有区别于其他类型 AKI 的独特特征,但其发病机制至今尚未完全阐明[3]。当前,对 SAKI 发病机制的认识包括全身免疫炎性反应失调、氧化应激、血流动力学改变、肾微血管内皮细胞功能障碍和肾小管上皮细胞损伤、线粒体质量控制失调等方面。深入探究 SAKI 的病理生理机制在揭示其发病机制方面发挥着重要作用。

AKI 是多种导致肾脏结构和功能损伤的疾病之一,轻度的 AKI 便可造成肾功能骤降最终导致不良预后。2012 年肾脏疾病改善全球结果(kidney disease: Improving global outcomes, KDIGO)指南提出出现下列情况中的 1 种便可定义为急性肾损伤,包括:48 h 内血钾升高≥0.3 mg/dl(≥26.51 mmol/L);监测/预测前 7 d内肌酐升高≥基线的 1.5 倍;尿量≤0.5 ml · kg^{-1} · h^{-1}且持续 6 h[4]。脓毒症是危重患者发生 AKI 的最常见原因,2023 年《急性疾病质量倡议》共识声明将在诊断脓毒症后 7 d 内发生的急性肾损伤定义为 SAKI[2,4-5]。SAKI 在 ICU 的发病率及病死率很高。因此,明确 SAKI 的发病机制有助于早期识别并治疗 SAKI。现就 SAKI 发病机制作一综述,旨在为该病的防治提供理论基础和治疗新靶点。其发病机制包括免疫炎性反应、氧化应激、肾血流动力学变化、肾脏微血管功能障碍、肾细胞凋亡、线粒体质量控制失调等多个方面,具体如下。

1　免疫紊乱和系统炎性反应

目前认为,脓毒症的发病机制之一是机体通过自身病原体相关模式分子(PAMPs)和损伤相关模式分子(DAMPs)如脂多糖(LPS)、脂磷壁酸和孔蛋白与模式识别受体(PRRs)如 Toll 样受体(TLR)与 NOD 样受体(NLR)、维甲酸诱导基因-I(RIG-I)受体结合的方式诱导体液和细胞介导的全身炎性反应。TLR4 信号传导通路在机体炎性反应中发挥着重要作用。肾小管上皮细胞上存在 TLR4,因此,类似的机制很可能在 SAKI 中发挥作用。研究表明,TLR4 被激活后会通过 2 种途径传递信号,其一是经髓样分化因子 88(MyD88) 依赖通路,其二是非依赖 MyD88-β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白(TRIF)通路。通过核转录因子-κB(NF-κB)转位及活化细胞内转录激活因子激活蛋白-1(AP-1),刺激相关炎性因子如肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白介素 1(IL-1)和白介素 6(IL-6)等的生成及释放,进而影响肾脏代谢、循环、内皮细胞及肾小管的功能[6]。核苷酸结合的寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎性小体在介导炎性反应方面同样扮演着至关重要的角色。Li 等[7]证实 NLRP3 在脓毒症患者的肾组织中高度表达,并且在脂多糖脓毒症小鼠模型中发现,敲除 NLRP3 基因可以有效减轻肾脏炎性反应,进而减轻内毒素诱导的 SAKI,表明 NLRP3 可能是 SAKI 的一个潜在治疗靶点。Zhou 等[8]研究发现,CXC 型趋化因子 8(CXCL8)拮抗剂[CXCL8(3-72)K11R/G31P]通过 NF-κB 和受体型酪氨酸蛋白激酶 2-转录激活蛋白 3(JAK2-STAT3)通路可以抑制促炎因子释放,保护肾功能。

最新的研究发现,线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)也被归类为 DAMPs 的一种。脓毒症发生时,mtDNA 从损伤组织中释放出来并激活 TLR9,参与细胞因子的产生、脾细胞凋亡和肾脏损伤[9]。化学解偶联剂 BAM15 可以减少中性粒细胞凋亡和 mtDNA 释放,有效预防和治疗炎性反应及肾损伤[10]。这些发现均证明,在脓毒症早期积极干预并抑制炎性反应及炎性相关因子的产生和释放对于维护肾脏健康和预防 SAKI 具有良好的作用。

2　氧化应激

活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)是体内氧化应激代谢过程中产生的化学物质,当其在体内过度积累且不能被抗氧化酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)等及时消除时就会造成氧化和抗氧化失衡,从而使细胞发生脂质过氧化反应,引起 DNA 损伤断裂、蛋白质及酶变性等,最终导致细胞坏死及组织损伤[3]。Nadeem 等[11]在 LPS 诱导的 AKI 小鼠模型中研究发现,树突状细胞(dendritic cell, DC)通过激活 TLR4 使 Bruton 酪氨酸激酶(Bruton's tyrosine kinase, BTK)显著增加并诱导氧化应激,促进 SAKI 的发展。另外,在一项对脓毒症大鼠的研究中指出,通过抑制诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在肾脏的表达也可以减少 ROS 产生从而减轻肾损伤[12]。目前研究还发现,辅酶 Q10、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4(NOX4)拮抗剂等可以通过改善线粒体功能[13-14],继而减少炎性反应、氧化应激,保护肾功能,降低死亡率。这些研究发现均为探索 SAKI 治疗新靶点提供了可靠依据。

总之,多项研究证明,氧化应激也参与了 SAKI 的发病过程。炎性反应和氧化应激在 SAKI 的发病过程中密不可分,线粒体也同样参与其中。

3　肾血流动力学变化

肾血流量(renal blood flow, RBF)取决于心输出量(cardiac output, CO)和全身有效循环血量。既往认为肾脏低灌注是造成急性肾损伤的主要原因,通过监测全身血流动力学参数如 CO 和血管阻力,快速恢复足够的肾脏灌注有助于治疗和预防 SAKI[15]。目前认为,高 CO 的全身性血管扩张是人类脓毒症主要的病理生理表现,这种血管扩张也可能影响到肾脏的传入动脉和传出动脉,如果传出动脉扩张的比例大于传入动脉,那么肾小球滤过压就会降低,进而降低肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR),造成肾小球滤过功能受损,最终造成少尿和小溶质清除能力的丧失,损害肾脏[16]。这也表明即使 RBF 增加,GFR 也可能减少并导致肾功能障碍。然而 Benes 等[17]在 SAKI 猪模型研究中观察到,肾脏血管阻力进行性增加,即心输出量保持不变或增加时,肾脏血流并没有相应地增加反而减少,最终导致了血流重新分配。上述这些研究结论之间的矛盾性目前只能用相关人类数据缺乏及动物数据的异质性和模型依赖性来做出解释。因此,必须重新评估对 SAKI 的一贯认知。同时,在人类 SAKI 中肾脏血流究竟发生了什么变化也亟待明确。

肾脏独特的血管系统使其在脓毒症发生时,即使全身大循环没有明显改变,微循环也会受到一定的影响。学者们就此提出 SAKI 的发生可能与肾脏微循环血流动力学的不稳定同样相关。

4　肾脏微血管功能障碍

内皮细胞位于循环血管的内壁以分隔血浆与血管组织,通过合成和分泌多种生物活性物质来维持微血管系统的结构并调节血液流动。研究发现,在脓毒症期间,炎性反应和氧化应激通过破坏血管内皮—钙黏素等内皮糖萼蛋白使得内皮细胞完整性受损、微血管通透性增加,最终损害组织器官[18]。在肾脏中肾小球、肾动脉和管周毛细血管内等处均有内皮细胞排列[19]。因此,内皮细胞功能障碍可能与 SAKI 的发生发展同样密切相关。在多项 CLP 诱导的脓毒症动物模型研究中观察到血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达水平显著增高,增高的 VEGF 随之与其受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)结合破坏内皮细胞间连接,增加内皮细胞通透性、募集炎性细胞。与此同时,促凝血酶、纤维蛋白和组织因子水平升高并沉积在肾小球及肾动脉处,最终造成凝血失衡、微血管血栓形成而损害肾脏微循环[20]。另有研究称,肾素—血管紧张素—醛固酮系统(RAAS)在 SAKI 的发病机制中可能发挥着类似的作用。醛固酮通过上调血管紧张素Ⅱ1 型受体(AT1-R)的表达来介导甚至加剧血管紧张素Ⅱ对肾脏微血管内皮细胞的损害,造成肾脏微血栓形成及凝血级联过度激活。AT1-R 的抑制和血管紧张素转换酶抑制剂 Val-

sartan 的应用可以减少瘀血诱导的静脉血栓的形成,改善肾脏微循环[12]。最近在猪脓毒症模型中还证实,人脐带间充质干细胞(Huc-MSCs)治疗可以减轻肾小管和内皮损伤,增加内皮的完整性和预防炎性反应[21]。

因此,肾脏血管内皮功能障碍可能是脓毒症所致 AKI 的重要发病环节,了解内皮细胞的结构及合成分泌的各种活性物质在 SAKI 发生发展中的作用使得靶向治疗 SAKI 成为可能。

5　肾细胞凋亡

在 LPS 诱导的肾损伤小鼠模型中发现,肌醇依赖酶 1(IRE1)的含量显著增加并最终导致内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激,持续的 ER 应激可上调促凋亡基因 CHOP 的表达,引起 Ca^{2+} 稳态失衡及促凋亡因子细胞色素 C 释放,并促进促凋亡因子半胱氨酸—天冬氨酸蛋白酶 9(caspase-9)活化,继而活化下游 caspase-3 等凋亡相关分子,引发肾小管上皮细胞凋亡[22]。另有研究发现,脓毒症相关的 AKI 中 Fas/FasL、TNF-α/TNFR1 的表达水平升高或凋亡抑制蛋白 c-FLIP 表达水平降低,都会使 caspase-3 含量明显增多,继而造成肾细胞凋亡[23]。上述发现均证明脓毒症引起的急性肾功能损伤或与肾小管上皮细胞的凋亡(renal tubular epithelial cells, TECs)紧密相关。与此同时,caspases 在凋亡过程中至关重要。黄芪甲苷、姜黄素等可显著降低 caspase-3,减少肾细胞凋亡[24-25]。

近期也有研究表明,线粒体或与细胞凋亡有关联。线粒体应激(如氧化应激、钙超载)时,通过释放细胞色素 C 等促凋亡因子,促使 caspase-9 活化,继而导致肾小管上皮细胞凋亡[26]。Tan 等[27]证明,柳穿鱼黄素(pectolinarigenin)可以通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路和线粒体功能障碍改善 SAKI。因此,通过改善通路相关的线粒体功能障碍来防止脓毒症诱导的肾小管损伤是治疗 SAKI 的又一新方向。

6　线粒体质量控制失调

线粒体是一种特殊的双层膜结构,其主要功能是通过三羧酸循环和氧化磷酸化反应生成 ATP 以维持细胞正常工作。另外,线粒体在细胞凋亡、炎性反应和氧化应激、细胞信号转导和钙信号调节等方面也发挥着重要作用。已有研究表明,线粒体质量控制失调(如线粒体生物合成、线粒体融合/分裂和线粒体自噬)造成的线粒体功能障碍也参与了 SAKI 的发病过程[28]。

6.1　线粒体生物发生　线粒体生物发生是指 mtDNA 的复制和新线粒体的产生,它对于替换受损的线粒体蛋白及在机体需要时提高能量供应至关重要。过氧化物酶体增殖激活物受体共同激活因子-1α(peroxisome proliferator activated receptors coactivator-1α, PGC-1α)在整个线粒体生物发生过程中发挥着至关重要的作用,PGC-1α 高度表达于肾脏近端肾小管上皮细胞。PGC-1α 可通过激活下游过氧化物酶体增殖物激活物受体(PPAR)、核呼吸因子-1 和-2(NRF1、NRF2)以及雌激素相关受体 α(ERRα)等转录因子参与肾脏细胞线粒体的修复再生。PGC-1α 的表达受多种因素如寒冷、体育锻炼、营养状态等的影响[29-30]。在脂多糖诱导和盲肠结扎穿孔的小鼠模型中发现 PGC-1α 在肾脏的表达受到抑制,且抑制程度与肾脏的损伤程度相关。从机制上讲,PGC-1α 的这种抑制可导致肾小管上皮细胞死亡、代偿性增殖、促炎因子表达、NF-κB 活化和间质炎性细胞的浸润[31]。有研究还发现氧化应激可上调肾脏近端小管 PGC-1α 的表达,过表达或上调 PGC-1α 水平有助于促进线粒体功能障碍的恢复[32]。上述结果均表明 PGC-1α 调控线粒体生物合成机制在 SAKI 中发挥着重要作用。未来,线粒体生物发生可能成为有效治疗 SAKI 的新方向。

6.2　线粒体的分裂和融合　线粒体不是只有自己 DNA 的孤立细胞结构,而是一个可以动态控制自身融合和分裂过程的结构,通过确保 mtDNA 的完整性来维持其正常形态同时控制能量代谢。线粒体融合是线粒体间膜相融合的过程,参与优化线粒体功能并减少线粒体应激,线粒体融合蛋白 1(mitofusion-1, Mfn-1)、线粒体融合蛋白 2(mitofusion-2, Mfn-2)及视神经萎缩蛋白 1(optic atrophy-1, Opa-1)主要调控着此过程。而线粒体分裂则是线粒体的分离,在细胞凋亡中起到重要作用,主要受动力相关蛋白 1(dynamin-related protein 1, Drp-1)和分裂蛋白 1(fission protein-1, Fis-1)的调控。当线粒体过度异常的分裂或融合将导致线粒体碎片化(MF),进而引起线粒体肿胀甚至破裂,随后 mtDNA 及促细胞凋亡因子如细胞色素 C 释放,最终导致线粒体功能障碍而造成肾小管上皮细胞的损伤[33-34]。Zheng 等[35]在体内实验性肾缺血再灌注损伤模型中观察到 Drp-1 磷酸化增强可以诱导线粒体过度分裂最终导致线粒体生物能量学失调。Drp-1 抑制剂线粒体分化抑制因子 1(mitochondrial division inhibitor-1, Mdivi-1)、线粒体的抗氧化剂 MitoQ197 等可通过抑制线粒体碎裂进而减轻线粒体和肾脏损伤及肾小管细胞凋亡,保护肾功能[36]。

6.3　线粒体自噬　有丝分裂吞噬是选择性自噬的一种,其作用是清除受损的或多余的线粒体,在维持线粒体数量及能量代谢、防止 ROS 过度积累及细胞凋亡、抑制炎性反应等方面发挥着重要作用。目前,已经提出了 2 条主要的吞噬分裂途径。第一条是线粒体外膜蛋白同源性磷酸酶—张力蛋白诱导的激酶 1(phosphatase and tensin homologue-induced putative kinase 1, PINK1)-E3 泛素连接酶 Parkin 途径。正常情况下,PINK1 在线粒体内低表达。一旦线粒体受损,PINK1 就会发生磷酸化并大量积聚于线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, MOM),通过招募并激活胞浆中的 Parkin 使其与受损的线粒体结合以诱导和促进损伤线粒体的自噬,清除受损线粒体[28,37]。研究发现,激活的 Sirtuin 1(SIRT1)可作为一种关键的线粒体脱乙酰化酶通过 PINK1 /Parkin 途径调节线粒体自噬[38]。Tang 等[39]在缺血性 AKI 小鼠体内和体外模型中的肾近端小管细胞中观察到了线粒体自噬现象,而在分别或同时敲除小鼠 PINK1 和 PARK2 后观察到上述自噬现象消失,线粒体表现出更为严重的损伤。总之,研究显示在 AKI 期间 PINK1-PARK2 介导的线粒体自噬在线粒体质量控制、肾小管细胞存活和肾脏健康方面发挥着积极作用。因此,在 SAKI 过程中通过增强分裂吞噬作用的靶向治疗方法可能是一种有前景的治疗策略。另一条是 BCL2 相互作用蛋白 3(BCL2/adenovirus E1B 19-kDa interacting protein 3, BNIP3)/Nip 样蛋白 X(Nip3-like protein X, NIX)或 FUNDC1 的 Parkin 非依赖途径。在氧气不足的情况下,NIX 和

BNIP3 可被低氧诱导因子-1 激活,激活的 NIX 和 BNIP3 随之促使自噬体清除受损的线粒体[28,37,40]。目前 Parkin 非依赖途径尚未在 SAKI 中发现,值得进一步研究。

脓毒症是否改变线粒体融合和分裂之间的平衡,是否影响线粒体功能及患者预后还远未完全清楚。因此,未来还需要大量研究来破译线粒体动力学在人类脓毒症相关的急性肾损伤中的奥秘。

7 展　望

导致 SAKI 发生发展的病理生理学机制仍未完全阐明。因此,未来需要更多高质量研究来进一步探索 SAKI 的潜在信号机制以期找到有希望的治疗靶点,并开发出有效药物以降低 SAKI 的高病死率,改善患者的预后。

参考文献

[1] Donaldson LH, Vlok R, Sakurai K, et al. Quantifying the impact of alternative definitions of sepsis-associated acute kidney injury on its incidence and outcomes: A systematic review and meta-analysis[J]. Critical Care Medicine, 2024, DOI: 10.1097/CCM.0000000000006284.

[2] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.

[3] Peerapornratana S, Manrique-Caballero CL, Gómez H, et al. Acute kidney injury from sepsis: Current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment[J]. Kidney International, 2019, 96(5): 1083-1099. DOI: 10.1016/j.kint.2019.05.026.

[4] Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury[J]. Nephron Clinical Practice, 2012, 120(4): c179-c184. DOI: 10.1159/000339789.

[5] Zarbock A, Nadim MK, Pickkers P, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: Consensus report of the 28th Acute Disease Quality Initiative workgroup[J]. Nature Reviews Nephrology, 2023, 19(6): 401-417. DOI: 10.1038/s41581-023-00683-3.

[6] Vallés PG, Gil Lorenzo AF, Garcia RD, et al. Toll-like receptor 4 in acute kidney injury[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(2): 1415. DOI: 10.3390/ijms24021415.

[7] Li Z, Wang X, Peng Y, et al. Nlrp3 deficiency alleviates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury via suppressing renal inflammation and ferroptosis in mice[J]. Biology, 2023, 12(9): 1188. DOI: 10.3390/biology12091188.

[8] Zhou Y, Xu W, Zhu H. CXCL8(3-72) K11R/G31P protects against sepsis-induced acute kidney injury via NF-κB and JAK2/STAT3 pathway[J]. Biological Research, 2019, 52(1): 29. DOI: 10.1186/s40659-019-0236-5.

[9] Tsuji N, Agbor-Enoh S. Cell-free DNA beyond a biomarker for rejection: Biological trigger of tissue injury and potential therapeutics[J]. The Journal of Heart and Lung Transplantation, 2021, 40(6): 405-413. DOI: 10.1016/j.healun.2021.03.007.

[10] Tsuji N, Tsuji T, Yamashita T, et al. BAM15 treats mouse sepsis and kidney injury, linking mortality, mitochondrial DNA, tubule damage, and neutrophils[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2023, 133(7): e152401. DOI: 10.1172/JCI152401.

[11] Nadeem A, Ahmad SF, Al-Harbi NO, et al. Bruton's tyrosine kinase inhibition attenuates oxidative stress in systemic immune cells and renal compartment during sepsis-induced acute kidney injury in mice[J]. International Immunopharmacology, 2020, 90: 107123. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107123.

[12] Songür HS, Kaya SA, Altinisik YC, et al. Alamandine treatment prevents LPS-induced acute renal and systemic dysfunction with multi-organ injury in rats via inhibiting iNOS expression[J]. European Journal of Pharmacology, 2023, 960: 176160. DOI: 10.1016/j.ejphar.2023.176160.

[13] Soltani R, Alikiaie B, Shafiee F, et al. Coenzyme Q10 improves the survival and reduces inflammatory markers in septic patients[J]. Bratislava Medical Journal, 2021, 121(2): 154-158. DOI: 10.4149/BLL_2020_022.

[14] Wang Y, Ding Z, Tu Y, et al. Poldip2/Nox4 mediates lipopolysaccharide-induced oxidative stress and inflammation in human lung epithelial cells[J]. Mediators of Inflammation, 2022, 2022: 6666022. DOI: 10.1155/2022/6666022.

[15] Post EH, Kellum JA, Bellomo R, et al. Renal perfusion in sepsis: From macro-to microcirculation[J]. Kidney International, 2017, 91(1): 45-60. DOI: 10.1016/j.kint.2016.07.032.

[16] Fani F, Regolisti G, Delsante M, et al. Recent advances in the pathogenetic mechanisms of sepsis-associated acute kidney injury[J]. Journal of Nephrology, 2018, 31(3): 351-359. DOI: 10.1007/s40620-017-0452-4.

[17] Benes J, Chvojka J, Sykora R, et al. Searching for mechanisms that matter in early septic acute kidney injury: an experimental study[J]. Critical Care, 2011, 15(5): R256. DOI: 10.1186/cc10517.

[18] Pierce RW. Letter in response to "Vascular endothelial cadherin shedding is more severe in sepsis patients with severe acute kidney injury"[J]. Critical Care, 2019, 23(1): 167. DOI: 10.1186/s13054-019-2455-0.

[19] Fels B, Kusche-Vihrog K. It takes more than two to tango: Mechanosignaling of the endothelial surface[J]. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2020, 472(4): 419-433. DOI: 10.1007/s00424-020-02369-2.

[20] Lampugnani MG, Dejana E, Giampietro C. Vascular endothelial (VE)-cadherin, endothelial adherens junctions, and vascular disease[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2018, 10(10): a029322. DOI: 10.1101/cshperspect.a029322.

[21] Ramos Maia DR, Otsuki DA, Rodrigues CE, et al. Treatment with human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in a pig model of sepsis-induced acute kidney injury: effects on microvascular endothelial cells and tubular cells in the kidney[J]. Shock, 2023, 60(3): 469-477. DOI: 10.1097/SHK.0000000000002191.

[22] Chen G, Li X, Huang M, et al. Thioredoxin-1 increases survival in sepsis by inflammatory response through suppressing endoplasmic reticulum stress[J]. Shock, 2016, 46(1): 67-74. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000570.

[23] Li C, Wu J, Li Y, et al. Cytoprotective effect of heat shock protein 27 against Lipopolysaccharide-induced apoptosis of renal epithelial HK-2 cells[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2017, 41(6): 2211-2220. DOI: 10.1159/000475636.

[24] Feng M, Lv J, Zhang C, et al. Astragaloside IV protects sepsis-induced acute kidney injury by attenuating mitochondrialdysfunction and apopto-

sis in renal Tubular Epithelial Cells[J]. Current Pharmaceutical Design, 2022, 28(34): 2825-2834. DOI: 10.2174/1381612828666220902123755.

[25] Zhu H, Wang X, Wang X, et al. Curcumin attenuates inflammation and cell apoptosis through regulating NF-κB and JAK2/STAT3 signaling pathway against acute kidney injury[J]. Cell Cycle, 2020, 19(15): 1941-1951. DOI: 10.1080/15384101.2020.1784599.

[26] Bennett CF, Latorre-Muro P, Puigserver P. Mechanisms of mitochondrial respiratory adaptation[J]. Nature Reviews. Molecular Cell Biology, 2022, 23(12): 817-835. DOI: 10.1038/s41580-022-00506-6.

[27] Tan Z, Liu Q, Chen H, et al. Pectolinarigenin alleviated septic acute kidney injury via inhibiting Jak2/Stat3 signaling and mitochondria dysfunction [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 159: 114286. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114286.

[28] Zhang L, Miao M, Xu X, et al. From physiology to pathology: The role of mitochondria in acute kidney injuries and chronic kidney diseases [J]. Kidney Diseases, 2023, 9(5): 342-357. DOI: 10.1159/000530485.

[29] Jannig PR, Dumesic PA, Spiegelman BM, et al. SnapShot: Regulation and biology of PGC-1α[J]. Cell, 2022, 185(8): 1444-1444. e1. DOI: 10.1016/j.cell.2022.03.027.

[30] Green DR, Levine B. To be or not to be? How selective autophagy and cell death govern cell fate[J]. Cell, 2014, 157(1): 65-75. DOI: 10.1016/j.cell.2014.02.049.

[31] Tran M, Tam D, Bardia A, et al. PGC-1α promotes recovery after acute kidney injury during systemic inflammation in mice[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2011, 121(10): 4003-4014. DOI: 10.1172/JCI58662.

[32] Fontecha-Barriuso M, Martín-Sánchez D, Martinez-Moreno JM, et al. PGC-1α deficiency causes spontaneous kidney inflammation and increases the severity of nephrotoxic AKI[J]. The Journal of Pathology, 2019, 249(1): 65-78. DOI: 10.1002/path.5282.

[33] Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, et al. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2020, 21(4): 204-224. DOI: 10.1038/s41580-020-0210-7.

[34] Tanriover C, Copur S, Ucku D, et al. The mitochondrion: A promising target for kidney disease[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(2): 570. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020570.

[35] Zheng QY, Li Y, Liang SJ, et al. LIGHT deficiency attenuates acute kidney disease development in an in vivo experimental renal ischemia and reperfusion injury model[J]. Cell Death Discovery, 2022, 8: 399. DOI: 10.1038/s41420-022-01188-x.

[36] Hao S, Huang H, Ma RY, et al. Multifaceted functions of Drp1 in hypoxia/ischemia-induced mitochondrial quality imbalance: From regulatory mechanism to targeted therapeutic strategy[J]. Military Medical Research, 2023, 10: 46. DOI: 10.1186/s40779-023-00482-8.

[37] Garza-Lombó C, Pappa A, Panayiotidis MI, et al. Redox homeostasis, oxidative stress and mitophagy[J]. Mitochondrion, 2020, 51: 105-117. DOI: 10.1016/j.mito.2020.01.002.

[38] Deng Z, He M, Hu H, et al. Melatonin attenuates sepsis-induced acute kidney injury by promoting mitophagy through SIRT3-mediated TFAM deacetylation[J]. Autophagy, 2024, 20(1): 151-165. DOI: 10.1080/15548627.2023.2252265.

[39] Tang C, Han H, Yan M, et al. PINK1-PRKN/PARK2 pathway of mitophagy is activated to protect against renal ischemia-reperfusion injury[J]. Autophagy, 2018, 14(5): 880-897. DOI: 10.1080/15548627.2017.1405880.

[40] Wang Y, Cai J, Tang C, et al. Mitophagy in Acute Kidney Injury and Kidney Repair [J]. Cells, 2020, 9(2): 338. DOI: 10.3390/cells9020338.

（收稿日期：2024－04－13）

（上接 1005 页）

[35] Iba T, Ogura H. Role of extracellular vesicles in the development of sepsis-induced coagulopathy[J]. Journal of Intensive Care, 2018, 6: 68. DOI: 10.1186/s40560-018-0340-6.

[36] 白凡，白欢. 脓毒症相关凝血功能紊乱的研究进展[J]. 临床检验杂志，2023，41(8)：618-623. DOI：10.13602/j.cnki.jcls.2023.08.13.

[37] Napolitano F, Giudice V, Selleri C, et al. Plasminogen system in the pathophysiology of sepsis: Upcoming biomarkers[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(15): 12376. DOI: 10.3390/ijms241512376.

[38] Zhang YY, Ning BT. Signaling pathways and intervention therapies in sepsis[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2021, 6(1): 407. DOI: 10.1038/s41392-021-00816-9.

[39] Stark K, Massberg S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology[J]. Nat Rev Cardiol, 2021, 18(9): 666-682. DOI: 10.1038/s41569-021-00552-1.

[40] Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: Challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms[J]. Blood, 2019, 133(9): 906-918. DOI: 10.1182/blood-2018-11-882993.

[41] Heuberger DM, Schuepbach RA. Protease-activated receptors (PARs): Mechanisms of action and potential therapeutic modulators in PAR-driven inflammatory diseases[J]. Thrombosis Journal, 2019, 17: 4. DOI: 10.1186/s12959-019-0194-8.

[42] Simoneau B, Houle F, Huot J. Regulation of endothelial permeability and transendothelial migration of cancer cells by tropomyosin-1 phosphorylation[J]. Vascular cell, 2012, 4(1): 18. DOI: 10.1186/2045-824x-4-18.

[43] Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, et al. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability[J]. Crit Care, 2015, 19(1): 26. DOI: 10.1186/s13054-015-0741-z.

[44] Tang AL, Peng Y, Shen MJ, et al. Prognostic role of elevated VEGF in sepsis: A systematic review and meta-analysis[J]. Frontiers in Physiology, 2022, 13: 941257. DOI: 10.3389/fphys.2022.941257.

[45] Chen J, Chung DW. Inflammation, von Willebrand factor, and ADAMTS13[J]. Blood, 2018, 132(2): 141-147. DOI: 10.1182/blood-2018-02-769000.

[46] Yajnik V, Maarouf R. Sepsis and the microcirculation: The impact on outcomes[J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2022, 35(2): 230-235. DOI: 10.1097/aco.0000000000001098.

[47] He J, Liu D, Zhao L, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury: Mechanisms of injury and implications for management (Review) [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2022, 23(6): 430. DOI: 10.3892/etm.2022.11357.

（收稿日期：2024－02－27）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 023

综　述

胃癌细胞与肿瘤微环境信号交互机制研究进展

刘亚琴,邓柯综述　刘琦,彭湃澜审校

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(82060541);贵州省科技厅支撑项目(黔科合支撑【2021】一般 089)
作者单位: 550004　贵阳,贵州医科大学临床医学院(刘亚琴、邓柯); 贵州医科大学附属医院消化内科(刘琦、彭湃澜)
通信作者: 彭湃澜,E-mail:pengpailan@163. com

【摘　要】 胃癌是常见的上消化道恶性肿瘤之一,由于早期阶段缺乏明显特异性症状,患者在初诊时大多已进展至局部晚期或全身转移,错过了最佳治疗时机。肿瘤不仅是一种不受控制的细胞增殖疾病,也是微环境失调导致的疾病,一系列研究揭示了肿瘤微环境对肿瘤的发生、发展和转移具有重要影响。文章对近年来胃癌细胞与肿瘤微环境信号交互机制的研究进展进行综述。

【关键词】 胃癌;肿瘤微环境;信号交互;免疫调节
【中图分类号】 R735.2　　【文献标识码】 A

Research progress in the signal interaction mechanism between gastric cancer cells and the tumor microenvironment

Liu Yaqin *, *Deng Ke*, *Liu Qi*, *Peng Pailan*. * *College of Clinical Medicine*, *Guizhou Medical University*, *Guizhou Province*, *Guiyang* 550004, *China*
Funding program: *National Natural Science Foundation of China*(82060541); *Guizhou Provincial Department of Science and Technology Supported Project*(*Guizhou Science and Technology Planning*[2021] *General* 089)
Corresponding author: *Peng Pailan*, *E-mail*: *pengpailan@163. com*

【**Abstract**】 Gastric cancer, as one of the common upper gastrointestinal malignancies, often misses the optimal treatment window as patients tend to progress to advanced local stages or systemic metastasis at the time of initial diagnosis due to a lack of specific symptoms in the early stage. During the occurrence and development of gastric cancer, the tumor acts not only as an uncontrollable cell proliferation disease but also as a disorder resulting from a disturbed microenvironment. A series of studies have revealed that the tumor microenvironment plays a significant role in the initiation, progression, and metastasis of the tumor. This article provides a review of the recent research advancements in the interaction mechanisms between gastric cancer cells and the tumor microenvironment signaling.

【**Key words**】 Gastric cancer; Tumor microenvironment; Signal interaction mechanism; Immune regulation

胃癌(gastric cancer, GC)是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一,严重危害人类的生命健康[1]。尽管在过去几年中,GC 的诊断和治疗取得了明显的进展,但 GC 患者的病死率仍然很高,根据国际癌症研究署发布的 GLOBOCAN 2020 癌症死亡率,其排名全球第四[2]。大多数 GC 死亡原因不是原发肿瘤,而是肿瘤转移,GC 的发生和发展是一个复杂的多步骤过程,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)作为肿瘤生长和转移的关键因素,与 GC 细胞之间存在复杂的信号交互机制,TME 在 GC 的发展中起着至关重要的作用。TME 包括周围的细胞、细胞外基质、血管和免疫细胞等,它们通过多种信号通路与 GC 细胞相互作用,影响 GC 的生物学行为[3-5]。因此,深入了解 GC 细胞与 TME 的信号交互机制具有重要意义。本研究旨在综述其最新研究进展,更好地揭示 GC 细胞与 TME 之间的复杂关系,为开发更有效的治疗策略和药物提供新的靶点和方向。

1　肿瘤微环境概述

TME 是指肿瘤细胞生长和增殖的局部环境,与癌症的发生发展密切相关,包括内皮细胞、免疫细胞、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、成纤维细胞(CAFs)、淋巴细胞、骨髓来源的炎性细胞和信号分子等[6]。不同的细胞和分子在肿瘤发生发展中作用各异,内皮细胞主要为肿瘤的发展提供营养,通过响应如 VEGF 等血管生成因子,促进新血管形成,为肿瘤提供氧气和营养,在胃癌的血管生成中起到关键作用[7];免疫细胞主要参与各种免疫反应,包括 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)和巨噬细胞等,它们在胃癌的抗肿瘤免疫反应中发挥作用,但肿瘤细胞能够通过多种机制逃避免疫监视,肿瘤细胞可能通过表达 PD-L1 等分子,抑制免疫细胞的活性,从而逃避免疫监视[8]。其中,巨噬细胞协助肿瘤细胞逃避免疫监视,从而促进肿瘤细胞进入循环系统发生全身转移[9];CAFs 诱导 TME 内缺氧,导致 ECM 硬化与退化,进而影响肿瘤细胞增殖、迁移和侵

袭以及血管生成[10]。胃癌的 TME 是一个高度复杂和动态的生态系统,它通过免疫抑制、代谢重编程、ECM 重构及免疫逃避等多种机制影响肿瘤的发展。了解和靶向 TME 中的关键成分,如肿瘤细胞、免疫细胞、ECM 等,可能为胃癌的治疗提供新的策略。TME 通过影响细胞内遗传物质和表观遗传变化促进癌症的发生发展,其在 GC 诊断及治疗领域的关注度越来越高[11]。因此,探究 TME 与 GC 信号交互之间的机制对于改善癌症患者的预后有重大意义。

2　胃癌细胞与免疫细胞的相互作用

2.1　Tregs 对胃癌细胞的免疫抑制作用　调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)是 T 淋巴细胞的一个亚群,根据其发育起源和生物学特征的差异,Tregs 可被划分为 2 种类型:天然调节性 T 细胞(nTregs)和诱导调节 T 细胞(iTregs)[12]。nTregs 起源于胸腺,通过核因子 κB(NF-κB)等转录因子发挥介导免疫耐受的功能,而 iTregs 在外周环境中发育,并受到 TME 中抑制性细胞因子 IL-2 和 TGF-β 的刺激,进而有助于 GC 细胞逃避免疫监视[13]。Tregs 在 GC 的发展中起着关键作用,可作为 GC 患者的预后生物标志物,并对 GC 细胞具有免疫抑制作用。Tregs 在调节 TME 中的免疫细胞活性起着关键作用,可以抑制细胞毒性 T 细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞的活性,减弱它们对 GC 细胞的攻击,降低免疫应答,使肿瘤细胞逃避免疫系统的监视和清除,改变肿瘤局部的免疫微环境,营造有利于肿瘤生长和转移的环境[14]。Vaddepally 等[15]发现帕博利珠单抗、纳武利尤单抗等通过靶向 T 细胞上的 PD-1 受体来抑制 PD-1,激活免疫系统,增强肿瘤识别和攻击能力,在 GC 患者中表现出临床可用性,表明通过靶向 Tregs 相关的免疫检查点,可恢复免疫细胞的功能,进一步对 GC 细胞具有免疫抑制作用。

2.2　巨噬细胞的极化状态对肿瘤生长的影响　肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是主要的 TME 免疫细胞,参与免疫调节、血管生成、细胞外基质重塑等过程,在 GC 进展中起关键作用[16]。根据受到细胞因子或炎性因子刺激的不同,TAMs 会展现出不同的表型和功能特征,即具有抗肿瘤效应的经典活化型巨噬细胞(M1 型)、促肿瘤效应的替代活化型巨噬细胞(M2 型),在大多数恶性肿瘤中,TAMs 更倾向于发挥 M2 型类似的功能,仅少数倾向 M1 型[17]。M2 型 TAMs 主要由白介素-4(IL-4)、IL-13、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)和转化生长因子 β(TGF-β)等细胞因子诱导极化,通过复杂的自分泌或旁分泌促进肿瘤进展,相关研究发现,极化的 M2 巨噬细胞通过分泌 TGF-β_1 诱导转移前生态位形成并促进 GC 转移,从而产生 TGF-β_1/JUN/CAP2 正反馈环路以持续激活 CAP2 表达,CAP2 是介导 GC 细胞与 TAMs 之间相互作用的关键分子[18]。CLEC4E 的表达与 GC 中多种免疫细胞浸润呈显著正相关,尤其是巨噬细胞的浸润水平,可通过改变免疫浸润来影响 GC 预后[19]。有报道称,成纤维细胞生长因子 2(FGF2)可促进巨噬细胞极化为 M2/TAM 表型,Qin 等[20]发现丝氨酸蛋白酶 PRSS23 通过正向调节 FGF2 分泌来增强 TAM 浸润从而促进 GC 进展。此外,另一项研究确定了 IGFBP7 通过增强 FGF2 分泌和激活 FGF2/FGFR1/PI3K/Akt 信号传导在调节 TAMs 浸润中的新作用[21]。这些研究表明,TAMs 靶向策略可能有效预防和治疗 GC 患者。

3　胃癌细胞与细胞外基质的信号交互

3.1　细胞外基质成分对胃癌细胞迁移和侵袭的影响　ECM 主要由细胞分泌的蛋白质和多糖组成,它在细胞与细胞之间、细胞与环境之间起着重要的连接作用,对细胞的生长、分化、迁移、凋亡等生物学过程具有重要影响[22]。ECM 作为 TME 主要组成部分,它的失衡是癌症中一个重要的特征[23]。胶原蛋白是 ECM 中含量最多的蛋白质,构成细胞外基质的骨架,与肿瘤的生长、转移及维持肿瘤微环境有关,在 GC 中,胶原蛋白的降解和重组可能促进肿瘤细胞的迁移和侵袭[24]。ECM 成分和结构的改变可以显著影响免疫细胞的浸润和功能,从而影响肿瘤的免疫逃逸。在胶原纤维生成过程中,TAMs 展现出显著的功能适应性,它们通常与 CAFs 相互作用,通过沉积、交联和排列原纤维胶原来熟练地参与细胞外基质的形成,这种相互作用不仅涉及免疫反应,而且积极地塑造了肿瘤的结构,对 GC 的发展和进展具有重要影响[3]。CAFs 是 TME 的主要成分,它们可以分泌多种细胞外基质成分,如胶原蛋白、纤连蛋白等,这些分泌物会改变细胞外基质的组成和结构,在癌症中发挥着突出且多样化的肿瘤支持作用[25]。细胞外基质的组成和结构改变与胃癌细胞的生物学行为密切相关,了解细胞外基质成分对胃癌细胞迁移和侵袭的影响过程有助于开发针对 ECM 改变的胃癌治疗策略。

3.2　细胞外基质与胃癌细胞信号交互的关键分子和通路　TME 中的 ECM 不仅为细胞提供机械支持,确保其结构完整性,而且还充当生长因子、细胞因子和其他信号分子的储存库。参与 ECM 和 GC 细胞之间信号交互的关键分子包括整合素家族、生长因子、基质金属蛋白酶等。此外,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/AKT 通路以及 Wnt 信号通路在 ECM 与 GC 细胞的信号交互中也发挥着重要作用。这些分子和通路共同调节 ECM 的合成和降解,进而影响癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。整合素由 α 和 β2 个亚基组成,它们参与 ECM 的黏附,从而影响肿瘤的迁移、侵袭和增殖等行为[26]。整合素 α5 与 β1 亚基结合形成的 α5β1 整合素在多种肿瘤侵袭和转移中扮演关键角色。研究表明[27],通过单克隆抗体或敲除整合素 α5,可抑制弥漫型 GC 细胞与 CAFs 的体外相互作用及小鼠腹膜播散,且与患者生存期相关,意味着整合素 α5 可作为预后标志物,有助于评估疾病进展和治疗反应。Lee 等[28]强调了小管间质性肾炎抗原样 1 与整合素 β1 的相互作用可加速弥漫型胃癌进展。生长因子如 EGF、TGF-β 调控 GC 细胞的生长、分化和迁移,在肿瘤进程中发挥核心作用。表皮生长因子受体(EGFR)促进 GC 的增殖发展,其过表达与 GC 的不良预后有关,是 GC 治疗的重要靶点[29];以及 VEGF 可介导肿瘤血管生成,促进肿瘤的发生发展[30]。Zhang 等[31]证实了 CD47 在胃癌组织中的高表达,观察到抗 CD47 免疫疗法可维持肿瘤血管生成系统,胃癌中 VEGF 和 CD47 的表达呈正相关,通过使用双特异性融合蛋白 SIRPα-VEGFR1 同时靶向 CD47 和 VEGF 或结合 2 种单靶点药物,可以有效抑制肿瘤生长,预防术

后癌症复发,并显著延长患者生存期。TGF-β 可促进 EMT 过程,并赋予肿瘤细胞干细胞特性,增加治疗耐药性。Jang 等[32]发现通过抑制 TGF-β 信号转导,可以逆转 GC 细胞系和小鼠异种移植模型中的间充质/干细胞样行为,并提高其对治疗的敏感性,表明它是 GC 治疗的潜在靶点,有望为开发新策略克服难治性 GC 提供思路。在癌症进程中,基质金属蛋白酶(MMPs)被发现参与 ECM 的降解,这些酶能够破坏 ECM 的结构,可以使 GC 细胞更容易突破基底膜,侵入周围组织,进而发生转移[33]。ECM 的异常表达和降解会影响 GC 的发生和结局。在 3D 基质培养物和动物模型研究中[34],发现 FBN1 的 K672 位点琥珀酰化修饰通过阻碍与 MMP2 结合来增强 FBN1 稳定性,进而减少其降解,导致在肿瘤组织中积累,累积的 FBN1 通过影响 ECM 结构和功能促进肿瘤侵袭和转移,与 GC 不良预后紧密相关。因此,开发针对 FBN1 琥珀酰化位点的单克隆抗体可能成为治疗 GC 的有效策略,通过干预 FBN1 的琥珀酰化修饰来抑制肿瘤进展。鉴于 TME 的复杂性,单一靶点的治疗效果可能有限,因此,未来的研究方向将聚焦于联合疗法或针对多个分子途径和信号通路的综合策略。

4　代谢重编程

4.1　TME 下胃癌细胞代谢重编程　GC 的持续恶化与癌细胞能量代谢方式的转变密切相关,GC 细胞可能通过调控 TME 中的葡萄糖、氨基酸和脂质等多种代谢途径的失衡,并通过激活特定的信号通路、关键蛋白和基因来促进癌细胞的增殖、侵袭和转移[35]。在 GC 中,葡萄糖代谢提供能量并作为宏量营养素生物合成所需的代谢中间体,脂质代谢有助于维持细胞稳态,而氨基酸代谢则参与调控细胞信号转导。这种代谢重编程不仅影响癌细胞自身的能量需求和生物合成,而且通过改变 TME 的免疫细胞功能和免疫分子活性,进一步促进肿瘤的免疫逃逸和进展。

4.2　葡萄糖代谢　GC 发生和发展中,葡糖糖代谢主要与糖酵解和乳酸代谢密切相关。肿瘤细胞通过代谢重编程适应 TME 变化,以满足生长和增殖的能量需求,倾向于通过糖酵解途径产生三磷酸腺苷(ATP),即“Warburg 效应”[4]。糖酵解的改变在 TME 中导致 GC 细胞和免疫细胞的营养和能量失衡,使肿瘤细胞得以经历免疫逃逸等过程,因此,糖酵解在 TME 中的作用不容小觑。葡萄糖转运蛋白 3(GLUT3)为葡萄糖摄取到细胞质中的关键因子,可激活 STAT3 通路并上调糖酵解相关基因如 SLC2A1、LDHA、HK2 和 PKM2 的表达,从而减少了肿瘤杀伤、降低了肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)和 $CD8^+$ T 细胞的活性,导致肿瘤免疫抑制和 GC 细胞增殖[36]。靶向糖酵解和 GLUT1 可以促进 $CD8^+$ T 细胞向效应细胞的分化与激活,GLUT1 的失活可能引发细胞代谢的重编程,导致氧化磷酸化(OXPHOS)增加和活性氧(ROS)过量产生,最终可能通过 TNF-α 介导的途径引发细胞死亡,与胃癌发生发展有关[37]。肿瘤细胞相关经典信号通路 PI3K/Akt/mTOR 是引起 Warburg 效应关键通路[38]。近期学者提出[39],阻断免疫检查点可抑制肿瘤细胞糖酵解,从而加强免疫细胞的免疫效应。因此,通过联合靶向肿瘤细胞异常糖酵解阻断能量供给和免疫检查点解除免疫抑制是实现 GC 治疗有效性的重点。乳酸代谢途径中,乳酸(LA)主要通过以下 2 种机制促进 GC 的发生和发展:其一,高浓度 LA 抑制 TME 中免疫细胞的抗肿瘤作用,促进 GC 细胞的免疫逃逸[40]。肿瘤浸润 Treg 细胞通过在 Foxp3 存在下增加脂肪酸氧化(FAO)水平来抑制糖酵解并启动 OXPHOS 代谢重编程,从而诱导对 TME 的低血糖和高 LA 特性的耐受性,有助于 GC 的免疫抑制[13]。其二,LA 稳定缺氧 TME 中的缺氧诱导因子-1(HIF-1),促进 TAMs 向 M2 样极化,参与胃癌的进展[41]。GC 细胞通过 MCT1 在 TME 中吸收 LA,依赖 LDHB 诱导 HIF-1α 积累,进而激活 PKA/CREB 通路诱导 TAMs 向 M2 样极化,并激活 VEGF/VEGFR2 通路或直接刺激内皮细胞,促进肿瘤血管生成,加速 GC 细胞生长[42]。研究表明[43],靶向 MCT1 和 MCT4 可增强免疫检查点抑制剂(ICB)治疗,MCT 和 ICB 联合使用可提高 TME 的 pH 值并增加免疫细胞浸润,从而增强肿瘤治疗的疗效。因此,TME 中的 LA 浓度很可能是肿瘤耐药性的关键因素,深入探究 LA 如何影响免疫细胞对于优化免疫治疗至关重要。综上所述,高度糖酵解的 GC 细胞通过 LA 积累和缺氧环境降低免疫细胞的活性和数量,从而助力 GC 逃避免疫监视,并增强其药物耐受性。

4.3　脂质代谢　脂质在生物膜合成、细胞生长、增殖和迁移等过程中扮演着关键角色。在 GC 中,代谢重编程导致的脂质代谢异常会破坏细胞稳态并调节免疫细胞功能,主要涉及脂肪酸(FA)转运异常和胆固醇代谢失调,这些异常与胃癌的恶性进展密切相关[44]。目前,GC 的 FA 代谢酶包括脂肪酸转位酶 CD36 和肉碱棕榈酰转移酶(CPT1A),它们通过重新连接 FA 代谢来调节 GC 的 TME[45]。过表达的 CD36 通过与载脂蛋白 C-II(APOC2)合作诱导 EMT,激活 PI3K-AKT-mTOR 轴促进 GC 细胞对 FA 的摄取,最终导致 GC 细胞的免疫逃逸和腹膜转移[5]。在 GC 胆固醇代谢中,TME 中的免疫细胞可受到影响,HMGCR 过表达于 TILs 导致 $CD8^+$ T 细胞胆固醇积聚,激活 ER-XBP1 并产生 TGF-β、VEGF 和 Kyn,诱导 PD-1 等免疫检查点高表达,耗竭 $CD8^+$ T 细胞,促进 GC 免疫逃逸[46]。因此,靶向胆固醇代谢可影响细胞免疫功能,利用药物靶向治疗缓解 GC 的免疫抑制,可能成为 GC 治疗的新兴策略。

4.4　氨基酸代谢　氨基酸是蛋白质生物合成的关键,是生物体的必需营养素。研究发现谷氨酰胺(Gln)、色氨酸(Trp)、精氨酸(Arg)及其衍生物在 GC 中高表达,GC 细胞对多种氨基酸的代谢进行重新编程以支持其自身恶性行为的发展,Gln 是众多代谢途径的枢纽,通过调节细胞免疫反应为 GC 的恶性发展奠定基础,Trp 诱导多种细胞因子和通路介导的 GC 免疫抑制,Arg 代谢物可干扰 TME 中免疫细胞的状态[34]。不同氨基酸通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控胃癌发生发展,Gln 代谢通过激活 PI3K/Akt/mTOR 通路参与调节胃癌细胞增殖、生长、侵袭和转移,这表明 Gln 调控该通路对抑制胃癌的发生具有良好作用[47]。Arg 能通过参与调控 mTOR 信号通路影响 GC 发生发展的过程。靶向氨基酸代谢途径及相关信号通路可能是未来 GC 的替代免疫疗法。

5　信号通路调控

肿瘤微环境中的免疫细胞、ECM 及代谢产物之间相互作用

可以影响信号通路的活性,进一步影响 GC 的增殖、存活和侵袭等行为。TME 相关信号通路如 PI3K/Akt/mTOR、MAPK/ERK、Wnt/β-catenin 等与 GC 的发生、发展密切相关。具体来说,PI3K/Akt/mTOR 信号通路在 GC 细胞中被广泛激活,与 GC 细胞凋亡、自噬和存活有关,促进了肿瘤细胞的增殖、生存和侵袭能力[5]。TAMs 与 GC 细胞之间的相互作用通过 CXCL5/PI3K/AKT/mTOR 通路促进 GC 的化疗耐药性,因此,靶向 TAMs 并阻断 TAMs 和 GC 细胞之间的细胞间串扰可能是 GC 患者的前瞻性治疗策略[16]。APOC2 是脂蛋白脂肪酶三酰甘油代谢的关键激活剂,参与 TME 的脂质代谢,APOC2 通过 CD36 介导的 PI3K/Akt/mTOR 信号激活促进 GC 细胞侵袭、迁移和增殖,APOC2 与 CD36 合作,诱导 EMT 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路促进 GC 进展,APOC2-CD36 轴可能是治疗侵袭性 GC 的潜在靶点[5]。MAPK/ERK 信号通路则参与调节细胞增殖和血管生成,对肿瘤生长和转移至关重要[48]。Lian 等[49]报道,IL-8 通过 ROS/NF-κB 和 ROS/MAPK 轴(ERK1/2,p38)/AP-1 轴分泌可刺激 GC 肿瘤微环境中的内皮细胞增殖和血管生成。PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 2 条信号通路对 GC 细胞功能相互作用调控癌症的发生发展[50],抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的活性会导致 MAPK/ERK 信号通路的代偿激活,反之亦然。Wnt/β-catenin 与胃癌干细胞的自我更新和分化能力相关,可能影响肿瘤的复发和耐药性[51]。以及其他通路,如 HIF-1α 信号通路在低氧条件下激活,促进肿瘤的血管生成和代谢适应[52]。PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 免疫检查点信号通路均在肿瘤免疫逃逸中起关键作用[15],是当前肿瘤免疫治疗的重要靶点。了解信号通路在胃癌中的作用对于开发新的治疗策略至关重要,包括靶向治疗、免疫治疗以及两者的联合应用。通过干预这些信号通路,可以改变肿瘤微环境,抑制肿瘤生长,提高治疗效果。

6　总结及展望

上述最新研究成果为全面理解胃癌细胞与肿瘤微环境的相互作用提供了新的视角,并为胃癌的诊断和治疗提供了潜在的靶点和策略。由于胃癌细胞与 TME 之间交互机制非常复杂,涉及多种细胞类型、代谢重编程、信号通路,包括细胞与细胞、细胞与基质、细胞与分子等多层次的交互,PI3K/Akt/mTOR、Wnt/β-catenin、MAPK/ERK 等多种信号通路参与其中,它们之间的相互关系和调控机制复杂,全面理解和解析这些相互作用极为重要。胃癌患者之间存在很大的异质性,不同患者的肿瘤微环境可能存在差异,且 TME 具有复杂性,单一靶点的治疗效果可能有限,因此,联合疗法或针对多个分子途径和信号通路的策略可能是未来探索的方向。未来的研究需要深入探索胃癌细胞与肿瘤微环境的相互作用具体机制,以及如何通过干预这些相互作用来开发新的治疗策略,精准靶向肿瘤细胞,最终改善胃癌患者的预后。

参考文献

[1] Guan WL, He Y, Xu RH. Gastric cancer treatment: Recent progress and future perspectives[J]. Journal of Hematology Oncology, 2023, 16(1):57. DOI:10.1186/s13045-023-01451-3.

[2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249. DOI:10.3322/caac.21660.

[3] Du W, Xia X, Hu F, et al. Extracellular matrix remodeling in the tumor immunity[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14:1340634. DOI:10.3389/fimmu.2023.1340634.

[4] Zheng S, Li H, Li Y, et al. The emerging role of glycolysis and immune evasion in gastric cancer[J]. Cancer Cell International, 2023, 23(1):317. DOI:10.1186/s12935-023-03169-1.

[5] Wang C, Yang Z, Xu E, et al. Apolipoprotein C-II induces EMT to promote gastric cancer peritoneal metastasis via PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Clinical and Translational Medicine, 2021, 11(8): e522. DOI:10.1002/ctm2.522.

[6] De Visser KE, Joyce JA. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth[J]. Cancer Cell, 2023, 41(3):374-403. DOI:10.1016/j.ccell.2023.02.016.

[7] 刘一凡,林佳静,林源,等. VEGF/VEGFR2 促进人胃癌组织微血管生成的研究[J]. 宁夏医学杂志, 2023, 45(12):1068-1070, 1185. DOI:10.13621/j.1001-5949.2023.12.1068.

[8] Jiang T, Xia Y, Li Y, et al. TRIM29 promotes antitumor immunity through enhancing IGF2BP1 ubiquitination and subsequent PD-L1 downregulation in gastric cancer[J]. Cancer Letters, 2023, 581: 216510. DOI:10.1016/j.canlet.2023.216510.

[9] Jiang Q, Xiao D, Wang A, et al. CLEC4E upregulation in gastric cancer: A potential therapeutic target correlating with tumor-associated macrophages[J]. Heliyon, 2024, 10(5):e27172. DOI:10.1016/j.heliyon.2024.e27172.

[10] Zhang H, Yue X, Chen Z, et al. Define cancer-associated fibroblasts (CAFs) in the tumor microenvironment: New opportunities in cancer immunotherapy and advances in clinical trials[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1):159. DOI:10.1186/s12943-023-01860-5.

[11] 高田宇,樊勇,高远飞,等. 肿瘤微环境对胃癌化疗耐药的影响[J]. 生命的化学, 2023, 43(10):1591-1598. DOI:10.13488/j.smhx.20230250.

[12] Kumar V, Ramnarayanan K, Sundar R, et al. Single-cell atlas of lineage states, tumor microenvironment and subtype-specific expression programs in gastric cancer[J]. Cancer discovery, 2021, 12(3):670-691. DOI:10.1158/2159-8290.CD-21-0683.

[13] Wang B, Zhang Z, Liu W, et al. Targeting regulatory T cells in gastric cancer: Pathogenesis, immunotherapy, and prognosis[J]. Biomedicine Pharmacotherapy, 2022, 158: 114180. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.114180.

[14] Negura I, Pavel-Tanasa M, Danciu M. Regulatory T cells in gastric cancer: Key controllers from pathogenesis to therapy[J]. Cancer Treatment Reviews, 2023, 120: 102629. DOI: 10.1016/j.ctrv.2023.102629.

[15] Vaddepally RK, Kharel P, Pandey R, et al. Review of indications of FDA-Approved Immune checkpoint inhibitors per NCCN guidelines with the level of evidence[J]. Cancers, 2020, 12(3):738. DOI:10.3390/cancers12030738.

[16] Su P, Jiang L, Zhang Y, et al. Crosstalk between tumor-associated macrophages and tumor cells promotes chemoresistance via CXCL5/PI3K/AKT/mTOR pathway in gastric cancer[J]. Cancer Cell Inter-

national, 2022, 22(1): 290. DOI: 10.1186/s12935-022-02717-5.

[17] Xiong X, Xie X, Wang Z, et al. Tumor-associated macrophages in lymphoma: From mechanisms to therapy[J]. International Immunopharmacology, 2022, 112: 109235. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109235.

[18] Zhang G, Gao Z, Guo X, et al. CAP2 promotes gastric cancer metastasis by mediating the interaction between tumor cells and tumor-associated macrophages[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2023, 133(21): e166224. DOI: 10.1172/JCI166224.

[19] Jiang Q, Xiao D, Wang A, et al. CLEC4E upregulation in gastric cancer: A potential therapeutic target correlating with tumor-associated macrophages[J]. Heliyon, 2024, 10(5): e27172. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e27172.

[20] Qin S, Wang Z, Huang C, et al. Serine protease PRSS23 drives gastric cancer by enhancing tumor associated macrophage infiltration via FGF2[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 955841. DOI: 10.3389/fimmu.2022.955841.

[21] Li D, Xia L, Huang P, et al. Cancer-associated fibroblast-secreted IGFBP7 promotes gastric cancer by enhancing tumor associated macrophage infiltration via FGF2/FGFR1/PI3K/AKT axis[J]. Cell Death Discovery, 2023, 9(1): 17. DOI: 10.1038/s41420-023-01336-x.

[22] Deng Z, Guo T, Bi J, et al. Transcriptome profiling of patient-derived tumor xenografts suggests novel extracellular matrix-related signatures for gastric cancer prognosis prediction[J]. Journal of Translational Medici, 2023, 21(1): 638. DOI: 10.1186/s12967-023-04473-0.

[23] Huang J, Zhang L, Wan D, et al. Extracellular matrix and its therapeutic potential for cancer treatment[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2021, 6(1): 153. DOI: 10.1038/s41392-021-00544-0.

[24] 仇建玲, 吴胜文, 俞进友, 等. 胶原蛋白Ⅴ型 2 链对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭及肿瘤生长的调控作用[J]. 安徽医药, 2024, 28(2): 280-285, 429. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2024.02.015.

[25] Huang Y, Xu X, Lu Y, et al. The phase separation of extracellular matrix protein matrilin-3 from cancer-associated fibrobasts contributes to gastric cancer invasion[J]. FASEB J, 2024, 38(2): e23406. DOI: 10.1096/fj.202301524R.

[26] Liu F, Wu Q, Dong Z, et al. Integrins in cancer: Emerging mechanisms and therapeutic opportunities[J]. Pharmacology Therapeutics, 2023, 247: 108458. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2023.108458.

[27] Miyamoto S, Nagano Y, Miyazaki M, et al. Integrin α5 mediates cancer cell-fibroblast adhesion and peritoneal dissemination of diffuse-type gastric carcinoma[J]. Cancer Lett, 2022, 526: 335-345. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.11.008.

[28] Lee D, Ham IH, Oh HJ, et al. Tubulointerstitial nephritis antigen-like 1 from cancer-associated fibroblasts contribute to the progression of diffuse-type gastric cancers through the interaction with integrin β1[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 154. DOI: 10.1186/s12967-024-04963-9.

[29] Ma H, Wu J, Zhou M, et al. Inhibition of glutamine uptake improves the efficacy of cetuximab on gastric cancer[J]. Integrative Cancer Therapies, 2021, 20: 15347354211045349. DOI: 10.1177/15347354211045349.

[30] Abouelnazar FA, Zhang X, Zhang J, et al. SALL4 promotes angiogenesis in gastric cancer by regulating VEGF expression and targeting SALL4/VEGF pathway inhibits cancer progression[J]. Cancer Cell International, 2023, 23(1): 149. DOI: 10.1186/s12935-023-02985-9.

[31] Zhang K, Xu Y, Chang X, et al. Co-targeting CD47 and VEGF elicited potent anti-tumor effects in gastric cancer[J]. Cancer Immunol Immunother, 2024, 73(4): 75. DOI: 10.1007/s00262-024-03667-9.

[32] Jang E, Shin MK, Kim H, et al. Clinical molecular subtyping reveals intrinsic mesenchymal reprogramming in gastric cancer cells[J]. Experimental Molecular Medicine, 2023, 55(5): 974-986. DOI: 10.1038/s12276-023-00989-z.

[33] Yuan C, Yuan J, Xiao H, et al. Genomic analysis of matrix metalloproteinases affecting the prognosis and immunogenic profile of gastric cancer[J]. Frontiers in Genetics, 2023, 14: 1128088. DOI: 10.3389/fgene.2023.1128088.

[34] Wang X, Shi X, Lu H, et al. Succinylation inhibits the enzymatic hydrolysis of the extracellular matrix protein fibrillin 1 and promotes gastric cancer progression[J]. Advanced Science, 2022, 9(27): e2200546. DOI: 10.1002/advs.202200546.

[35] Shang Z, Ma Z, Wu E, et al. Effect of metabolic reprogramming on the immune microenvironment in gastric cancer[J]. Biomedicine Pharmacotherapy, 2024, 170: 116030. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.116030.

[36] Min KW, Kim DH, Son BK, et al. High SLC2A1 expression associated with suppressing CD8 T cells and B cells promoted cancer survival in gastric cancer[J]. PLoS One, 2021, 16(3): e0245075. DOI: 10.1371/journal.pone.0245075.

[37] Wu L, Jin Y, Zhao X, et al. Tumor aerobic glycolysis confers immune evasion through modulating sensitivity to T cell-mediated bystander killing via TNF-α[J]. Cell Metabolism, 2023, 35(9): 1580-1596.e9. DOI: 10.1016/j.cmet.2023.07.001.

[38] Wang YY, Zhou YQ, Xie JX, et al. MAOA suppresses the growth of gastric cancer by interacting with NDRG1 and regulating the Warburg effect through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Cellular Oncology (Dordrecht), 2023, 46(5): 1429-1444. DOI: 10.1007/s13402-023-00821-w.

[39] Zappasodi R, Serganova I, Cohen IJ, et al. CTLA-4 blockade drives loss of Treg stability in glycolysis-low tumours[J]. Nature, 2021, 591(7851): 652-658. DOI: 10.1038/s41586-021-03326-4.

[40] Yang H, Zou X, Yang S, et al. Identification of lactylation related model to predict prognostic, tumor infiltrating immunocytes and response of immunotherapy in gastric cancer[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1149989. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1149989.

[41] Li M, Li G, Yang X, et al. HIF in gastric cancer: Regulation and therapeutic target[J]. Molecules, 2022, 27(15): 4893. DOI: 10.3390/molecules27154893.

[42] Bai R, Li Y, Jian L, et al. The hypoxia-driven crosstalk between tumor and tumor-associated macrophages: Mechanisms and clinical treatment strategies[J]. Molecular Cancer, 2022, 21(1): 177. DOI: 10.1186/s12943-022-01645-2.

（下转 1024 页）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 024

综　述

染色质重塑:在疾病机制与治疗中的新视角

陈卉综述　王季石审校

基金项目:国家自然科学基金(81960032、82170168、82370168);国家血液系统疾病临床医学研究中心转化研究课题(2021WWB01);北京白求恩公益基金委(国家级)(B19153DT);贵州省卫健委科学技术基金项目(Gzwjkj2019-2-011);贵州医科大学附属医院 NSFC 面上基金培育计划项目(Gyfynsfc-2021-3)

作者单位:550001　贵阳,贵州医科大学;550004　贵阳,贵州医科大学附属医院血液科;550005　贵阳,贵州省造血干细胞移植中心实验室

通信作者:王季石,E-mail:wangjishi9646@163.com

【摘　要】 染色质重塑是调节基因表达和维持基因组稳定性的关键机制。近年来,随着表观遗传学研究的深入,染色质重塑在疾病的发生、发展及其治疗中的作用受到了广泛关注。特别是在癌症、神经系统疾病和代谢疾病等疾病中,染色质重塑因子的异常活动已被证明与疾病的机制密切相关。文章对其研究进展进行综述。

【关键词】 染色质重塑;疾病;机制;治疗

【中图分类号】 R363.2　　【文献标识码】 A

Chromatin remodeling: new perspectives in disease mechanisms and therapy

Chen Hui, Wang Jishi. *Guizhou Medical University, Guiyang* 550001, *China*

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81960032, 82170168, 82370168), *National Key Clinical Medical Research Center for Blood Diseases Transformation Research Project* (2021*WWB*01), *Beijing Bethune Charitable Foundation Commission* (*National Level*) (*B*19153*DT*), *Science and Technology Fund Project of Guizhou Provincial Health Commission* (*Gzwjkj*2019-2-011), *Affiliated Hospital of Guizhou Medical University NSFC General Project Cultivation Plan Project* (*Gyfynsfc*-2021-3)

*Corresponding author: Wang Jishi, E-mail: wangjishi*9646@163.*com*

【Abstract】 Chromatin remodeling is a critical mechanism for regulating gene expression and maintaining genomic stability. In recent years, with the advancement of epigenetics research, the role of chromatin remodeling in the pathogenesis, progression, and treatment of diseases has garnered widespread attention. Particularly in diseases such as cancer, neurodegenerative disorders, and developmental abnormalities, the aberrant activity of chromatin remodeling factors has been demonstrated to be closely associated with disease mechanisms.

【Key words】 Chromatin remodeling; Disease; Mechanisms; Treatment

在现代医学研究中,染色质重塑是理解细胞功能及其在疾病中作用的核心。染色质重塑调节基因的访问性和表达能力,影响细胞命运、分化及对环境变化的响应能力[1]。染色质重塑在维持细胞内环境稳定中至关重要,其异常与多种疾病有关,包括癌症、神经系统疾病和代谢疾病等。因此,深入了解染色质重塑的分子机制对于揭示疾病机制和开发新疗法具有重要意义。

1　染色质重塑的基本机制

1.1　组蛋白修饰　组蛋白修饰是染色质重塑和基因表达调控中的一个核心机制,涉及一系列的化学变化,这些变化发生在组蛋白的氨基酸残基上,可以改变染色质的物理状态和功能。组蛋白修饰影响 DNA 和蛋白质之间的相互作用,进而调控基因的表达,这些修饰包括但不限于乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化和小分子泛素样修饰物(small ubiquitin-like modifier, SUMO)化等[2]。组蛋白乙酰化主要发生在组蛋白 H3 和 H4 的赖氨酸残基上,由组蛋白乙酰转移酶(HATs)催化,而去乙酰化则由组蛋白去乙酰化酶(HDACs)催化。乙酰化通常导致染色质结构变得松散,使得转录因子等调控蛋白更容易访问 DNA,从而促进基因的表达[3]。组蛋白甲基化通常发生在赖氨酸和精氨酸残基上,由组蛋白甲基转移酶催化。根据甲基化的位点和程度(单甲基、双甲基或三甲基),它可以促进或抑制基因表达[4]。如组蛋白 H3 的第 4 位赖氨酸三甲基化(H3K4me3)与基因启动区的活性标志相关,而组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸三甲基化(H3K27me3)则与沉默基因相关[5]。组蛋白磷酸化发生在赖氨酸、精氨酸或酪氨酸残基上,由组蛋白激酶(如 Aurora B 激酶)催化[6]。磷酸化的增加通常与染色质凝聚、细胞周期事件

(如染色体凝聚和分离)及 DNA 损伤响应有关,它可以改变染色质的结构,从而影响基因表达[7]。泛素化和 SUMO 化涉及在组蛋白上添加泛素或 SUMO。这些修饰通常涉及蛋白质的降解、定位或功能的调节,对于细胞应对环境变化、保持基因表达的正确模式至关重要。泛素化通常与蛋白质的降解相关,而 SUMO 化则影响蛋白质的稳定性和功能[8]。这些组蛋白修饰形成了一种复杂的"密码",称为组蛋白代码,通过这种方式,细胞能够精细调控基因表达,响应内外环境的变化。这些修饰不是孤立存在的,它们之间相互作用和协调,共同影响染色质的状态和功能,是细胞功能和命运决定中不可或缺的一部分。

1.2　染色质重塑复合体

1.2.1　染色质重塑复合体家族:染色质重塑复合体大致可以分为 4 个主要家族,每个家族根据它们特有的结构特征和功能被区分开来。(1)SWI/SNF 家族:该家族的复合体通过滑动或者重塑核小体来增加特定基因区域的可访问性,从而促进转录因子的结合和基因的表达。SWI/SNF 复合体在细胞的分化和发育中发挥着重要作用[9]。(2)ISWI 家族:ISWI 复合体通过滑动核小体来调整 DNA 在核小体之间的空间,影响染色质的高级结构和功能。ISWI 复合体通常与转录抑制和基因沉默有关[10]。(3)CHD 家族:CHD 复合体含有色素结构域和螺旋酶结构域,它们可以移动核小体,影响染色质的紧密程度。CHD 复合体在 DNA 损伤修复和基因表达调控中起着关键作用[11]。(4)INO80 家族:INO80 复合体参与核小体重塑和重新定位,对维持基因组稳定性和调节基因表达至关重要[12]。它们在 DNA 修复、转录调控和细胞周期控制中发挥作用。

1.2.2　染色质重塑复合体的作用机制:(1)核小体重定位。复合体可以将核小体沿 DNA 移动,改变核小体之间的距离,从而调节基因的表达[13]。研究发现,染色质重塑复合体,通过 ATP 依赖的方式改变核小体的位置和组成,从而调控基因表达。这些复合体的活动涉及核小体的移动、组蛋白的替换及转录因子的访问,这些都是基因表达调控的关键环节[14]。(2)核小体重塑。复合体能够改变核小体的结构,使得某些 DNA 区域变得更加易于或者难以被转录机器访问[15]。(3)组蛋白替换。某些复合体能够促进特定变异形式的组蛋白替换标准组蛋白,从而影响基因表达[16]。对染色质重塑过程中关键蛋白的深入了解为开发新的治疗方法提供了可能。如针对特定染色质重塑因子的小分子抑制剂或激活剂可能成为治疗某些癌症类型的有效手段[17]。(4)与转录因子协作。重塑复合体可以与特定的转录因子协作,共同调节特定基因的表达[18]。染色质重塑复合体通过这些机制,能够在不改变 DNA 序列的情况下,调节基因的活性,影响细胞的行为和命运。这一过程是生物体对环境变化做出快速响应的关键机制之一,也是细胞保持其特性和功能的重要方式。

1.3　DNA 甲基化

1.3.1　DNA 甲基化的功能:(1)基因沉默。DNA 甲基化通常与基因的沉默相关联。当转录启动区的 CpG 岛发生甲基化时,可以阻碍转录因子的结合,从而抑制基因表达[19]。这是一种常见的基因调控机制,用于控制细胞分化和维持组织特异性的基因表达模式。(2)X 染色体失活。在哺乳动物中,雌性个体具有 2 条 X 染色体,而雄性只有 1 条。为了剂量补偿,其中 1 条 X 染色体在雌性细胞中会通过 DNA 甲基化被失活,保证 X 染色体上基因表达的水平与雄性相似[20]。(3)基因印记。基因印记是一种父源或母源特异性的基因表达模式,这种模式依赖于特定基因区域的 DNA 甲基化状态。基因印记的甲基化模式在配子形成期间被建立,并在生命早期维持稳定,调控着基因印记的表达[21]。(4)发育与疾病。DNA 甲基化在细胞分化和器官发育过程中起到了关键作用[22]。

1.3.2　DNA 甲基化的机制:(1)招募共抑制复合体。甲基化 DNA 可以招募含有甲基化 DNA 结合域的蛋白质,这些蛋白质进一步招募组蛋白去乙酰化酶和其他抑制因子,导致染色质结构紧凑,抑制基因表达[23]。(2)改变 DNA 构象。甲基化还可以直接改变 DNA 的物理构象,影响转录因子等蛋白质的结合能力[24]。(3)影响组蛋白修饰。DNA 甲基化状态可以影响相邻组蛋白的修饰模式,如通过甲基化介导的沉默复合体的招募,进一步加强基因沉默[25]。DNA 甲基化是表观遗传学中的一个核心概念,它通过多种机制调节基因表达和染色质的状态,对维持正常的生理功能和发展以及疾病的形成和进展有深远的影响。

1.4　RNA 介导的染色质重塑　RNA 介导的染色质重塑是一种复杂且细微的机制,涉及各种 RNA 分子(如 siRNA、miRNA、lncRNA 等)在基因表达调控和染色质结构调整中的作用[26]。这种机制使得 RNA 不仅是编码蛋白质的信息传递者,还是调控基因表达和染色质状态的重要因素。siRNA 和 miRNA 主要通过 RNA 干扰途径调控基因表达。这些短小的 RNA 分子能够与特定的 mRNA 序列互补配对,通过促进 mRNA 的降解或阻止其被翻译来降低特定基因的表达水平。此外,siRNA 还可以直接作用于染色质,引导染色质修饰酶复合体到特定基因区域,导致该区域的组蛋白被甲基化或去乙酰化,从而抑制基因表达[27]。lncRNA 的作用机制更为多样和复杂。一些 lncRNA 可以作为染色质修饰的引导分子,将染色质修饰酶(如组蛋白甲基转移酶、去乙酰化酶等)定位到特定的基因区域,影响该区域的表观遗传状态和基因表达。如一些 lncRNA 通过与 PRC2 相互作用,引导其到特定的基因靶点,促进该区域的 H3K27 甲基化,导致基因沉默[28]。除此之外,lncRNA 还可以通过形成 RNA-DNA 三链结构直接影响染色质结构,或作为分子海绵吸收 miRNA,阻断 miRNA 对其靶标 mRNA 的抑制作用,间接影响基因表达[29]。lncRNA 也参与染色质的三维结构重塑,通过与染色质结构保持蛋白的相互作用,影响染色质环的形成和维持,进而调控基因表达[30]。

1.5　三维染色质结构的变化

1.5.1　三维染色质结构的层级:DNA 绕着核心组蛋白形成核小体,是染色质结构的基本单元;核小体进一步组织成更为紧密的结构,形成 30 nm 染色质纤维:染色质在更高层次上被组织成拓扑相关结构域(topologically associating domains, TADs),这些是内部相互作用较强但与相邻区域相互作用较少的区域。TADs 通过维持基因和其调控元件的空间距离来促进或限制基

因表达[31]。染色体领域是染色体在细胞核中进一步组织成相互分隔的领域,如 A/B 染色体领域,其中 A 领域通常与基因活性较高相关,而 B 领域则与基因沉默相关[32]。

1.5.2　染色质结构的动态变化:染色质结构并非是静态的,而是根据细胞的需求发生动态变化。如在基因表达、DNA 复制和修复过程中,染色质结构会发生调整,以便必要的蛋白质可以访问 DNA。在细胞分化和发育过程中,长期的基因表达变化通常伴随着染色质结构的重组,从而锁定特定的细胞状态[33]。

1.5.3　调控机制:三维染色质结构的调控涉及多种机制,包括 CTCF 蛋白、组蛋白修饰、染色质重塑复合体和 RNA 分子。CTCF 是一种广泛研究的染色质结构保持蛋白,它可以结合到 DNA 上,帮助维持 TADs 的边界[32]。组蛋白修饰可以影响染色质的物理状态和三维结构,进而调节基因的可访问性和表达[34]。染色质重塑复合体可以重新排列核小体,改变染色质的高级结构[35]。如前所述,lncRNA 等 RNA 分子也参与染色质结构的调控,通过各种机制影响染色质的空间组织[36]。这些机制不是孤立工作的,它们之间相互作用,共同参与调控染色质的结构和功能,进而控制基因的表达和决定细胞命运。

2　染色质重塑与疾病的联系

2.1　癌症　染色质重塑与多种类型的癌症密切相关,因为它涉及到基因表达的调控,特别是控制细胞增殖、死亡、分化和 DNA 修复机制的基因。在胃癌中,染色质重塑因子如 SWI/SNF 复合体在未分化/去分化胃癌中的表达与肿瘤的预后有关[37]。染色质重塑因子,特别是染色质修饰酶,如组蛋白去乙酰化酶,其异常活性与前列腺癌的发展相关[38]。包括急性髓细胞白血病和慢性髓性白血病在内的某些白血病类型,与染色质重塑相关基因的突变有关[39]。染色质重塑相关的基因突变,如 ARID1A(与上皮性卵巢癌高度相关)的突变,已在卵巢癌中被识别[40]。这些癌症类型中的染色质重塑异常通常涉及组蛋白的化学修饰(如甲基化和乙酰化)、染色质重塑因子的表达水平变化,以及染色质结构的改变。这些变化可以导致基因表达程序的重编,促进肿瘤的形成和进展。

2.2　神经系统疾病　染色质重塑在神经系统的发育和功能中扮演着核心角色。异常的染色质重塑与多种神经系统疾病有关,包括如阿尔茨海默病和亨廷顿病等神经退行性疾病[14,41],也与染色质重塑异常有关,异常的染色质重塑可能导致神经元中基因表达的失调,从而影响神经细胞的功能和存活。精神分裂症和双相情感障碍的确切原因尚不完全清楚,但研究显示,与染色质重塑相关基因的异常表达或功能失调可能与这些疾病的发展有关[42]。这些基因参与调节基因表达,通过改变染色质的状态来影响神经元的功能和可塑性。雷特综合征(Rett syndrome,Rett 综合征)是一种神经发育障碍疾病,主要影响女性,它是由 MECP2 基因突变引起的,该基因编码一个参与 DNA 甲基化和染色质重塑的蛋白[43]。这些疾病展示了染色质重塑在神经系统正常运作中的重要性,以及当这一过程出现异常时,可能导致一系列严重的神经退行性和神经发育疾病。

2.3　代谢疾病　染色质重塑对于维持细胞的代谢状态和适应性至关重要。在代谢疾病的背景下,染色质重塑异常可能导致基因表达模式的改变,影响细胞和器官的正常代谢功能。2 型糖尿病与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能下降有关。研究表明,染色质重塑在调节胰岛素靶基因的表达中发挥作用。如组蛋白去乙酰化酶和甲基转移酶的异常活动可能导致胰岛素敏感性基因的表达改变,从而与 2 型糖尿病的发病机制相关[44]。肥胖症是全球性的健康问题,与多种代谢疾病的风险增加有关,包括心血管疾病和 2 型糖尿病。染色质重塑在调控脂肪细胞分化和能量平衡中起着关键作用。某些转录因子和染色质重塑复合体,参与调控脂肪生成基因的表达,其异常可能导致能量储存和消耗的失衡[45-46]。非酒精性脂肪肝是一种与代谢综合征紧密相关的疾病,可进展为更严重的肝脏疾病。染色质重塑在调节肝脏代谢基因的表达中发挥作用。如染色质重塑异常可能导致肝脏中脂质代谢相关基因的表达失调,从而促进脂肪沉积和肝损伤[47]。上述代谢疾病的研究说明染色质重塑在维持细胞和组织代谢平衡中的重要性。通过研究染色质重塑与代谢疾病之间的关系,可以揭示疾病的分子机制,并可能为开发新的治疗方法提供靶点。

3　小结与展望

染色质重塑是遗传和表观遗传学的关键研究领域,涉及 DNA 在细胞核中的组织调整,对基因表达和细胞功能具有重要影响。随着科技进步,未来研究将聚焦于三个主要方向。

3.1　技术创新方面　如 Hi-C 及其衍生技术,使研究者能在全基因组水平探索染色质空间组织[48]。期望未来技术能提供更高分辨率和通量,深入理解染色质结构变化如何影响基因表达。如 CRISPR/Cas9 系统被用于实现染色质的定点修饰和编辑,进而实现对基因组结构和功能的精准操控[49]。通过结合高通量测序技术和生物信息学方法,实现了对染色质三维结构的高分辨率测序,揭示了基因组内部的空间结构和染色质重塑的原理[50]。ChIP 技术通过改进实验步骤和生物信息学分析,提高了对染色质蛋白质定位和相互作用的分辨率和准确性,为染色质重塑的研究提供了重要的工具[51]。单细胞染色质组学技术通过结合单细胞分离和高通量测序技术,实现了对单个细胞染色质结构和基因组互作的分析,揭示了细胞间染色质重塑的动态变化[52]。

3.2　潜在治疗方法　针对特定染色质修饰酶的抑制剂,如 HDAC 抑制剂和 DNA 甲基转移酶抑制剂,已用于治疗某些癌症类型[53]。CRISPR/Cas9 系统可以用来针对染色质重塑相关基因进行精确的编辑,从而修复异常的染色质结构或调节基因表达水平[54]。使用药物干预来调节染色质修饰酶的活性,从而改变染色质结构和基因表达[55]。使用 RNA 干扰技术来沉默染色质重塑相关基因的表达,从而影响染色质结构和功能[56]。开发针对染色质重塑相关抗原的免疫疗法,如 CAR-T 细胞疗法,以加强机体对肿瘤细胞的免疫应答[57]。未来的研究将探索更多靶向染色质状态调控因子的药物,以治疗更多疾病。

3.3　未解决的科学问题　尽管染色质状态变化与基因表达变化的相关性已被发现,但这种关系的因果性仍然模糊。未来研究需深入探讨这种机制。同时,研究将关注在不同条件下表观遗传标志的变异如何影响染色质状态和基因表达,及其对疾病

发展的贡献。

总之,染色质重塑研究的进步不仅能够提高对疾病机制的理解,还有助于开发新的诊断工具和治疗方法。这些研究有潜力改变对多种疾病的治疗方式,特别是目前缺乏有效治疗方法的疾病。此外,通过揭示基因表达调控的新层面,染色质重塑的研究可为未来医学研究和临床实践提供新的视角和策略,推动精准医疗和个体化治疗的发展。

参考文献

[1] Klemm SL, Shipony Z, Greenleaf WJ. Chromatin accessibility and the regulatory epigenome[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(4): 207-220. DOI: 10.1038/s41576-018-0089-8.

[2] Kim HM, Zheng X, Lee E. Experimental insights into the interplay between histone modifiers and p53 in regulating gene expression[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(13): 11032. DOI: 10.3390/ijms241311032.

[3] Wu D, Qiu Y, Jiao Y, et al. Small molecules targeting hats, hdacs, and brds in cancer therapy[J]. Front Oncol, 2020, 10: 560487. DOI: 10.3389/fonc.2020.560487.

[4] Yang C, Zhang J, Ma Y, et al. Histone methyltransferase and drug resistance in cancers[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 173. DOI: 10.1186/s13046-020-01682-z.

[5] Di Nisio E, Lupo G, Licursi V, et al. The Role of histone lysine methylation in the response of mammalian cells to ionizing radiation[J]. Front Genet, 2021, 12: 639602. DOI: 10.3389/fgene.2021.639602.

[6] Krenn V, Musacchio A. The aurora B kinase in chromosome Bi-Orientation and spindle checkpoint signaling[J]. Front Oncol, 2015, 5: 225. DOI: 10.3389/fonc.2015.00225.

[7] Jeffery NN, Davidson C, Peslak SA, et al. Histone H2A. X phosphorylation and caspase-initiated chromatin condensation in late-stage erythropoiesis[J]. Epigenetics Chromatin, 2021, 14(1): 37. DOI: 10.1186/s13072-021-00408-5.

[8] Huang CH, Yang TT, Lin KI. Mechanisms and functions of SUMOylation in health and disease: A review focusing on immune cells[J]. J Biomed Sci, 2024, 31(1): 16. DOI: 10.1186/s12929-024-01003-y.

[9] Alfert A, Moreno N, Kerl K. The BAF complex in development and disease[J]. Epigenetics Chromatin, 2019, 12(1): 19. DOI: 10.1186/s13072-019-0264-y.

[10] Yan L, Wu H, Li X, et al. Structures of the ISWI-nucleosome complex reveal a conserved mechanism of chromatin remodeling[J]. Nat Struct Mol Biol, 2019, 26(4): 258-266. DOI: 10.1038/s41594-019-0199-9.

[11] Xiong X, Lai X, Li A, et al. Diversity roles of CHD1L in normal cell function and tumorigenesis[J]. Biomark Res, 2021, 9(1): 16. DOI: 10.1186/s40364-021-00269-w.

[12] Beckwith SL, Schwartz EK, García-Nieto PE, et al. The INO80 chromatin remodeler sustains metabolic stability by promoting TOR signaling and regulating histone acetylation[J]. PLoS Genet, 2018, 14(2): e1007216. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007216.

[13] Pardal AJ, Piquerez SJM, Dominguez-Ferreras A, et al. Immunity onset alters plant chromatin and utilizes EDA16 to regulate oxidative homeostasis[J]. PLoS Pathog, 2021, 17(5): e1009572. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009572.

[14] Clapier CR, Iwasa J, Cairns BR, et al. Mechanisms of action and regulation of ATP-dependent chromatin-remodelling complexes[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18(7): 407-422. DOI: 10.1038/nrm.2017.26.

[15] Brahma S, Henikoff S. RNA Polymerase II, the BAF remodeler and transcription factors synergize to evict nucleosomes[J]. bioRxiv, 2023. DOI: 10.1101/2023.01.22.525083.

[16] Martire S, Banaszynski LA. The roles of histone variants in fine-tuning chromatin organization and function[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(9): 522-541. DOI: 10.1038/s41580-020-0262-8.

[17] Moorman HR, Reategui Y, Poschel DB, et al. IRF8: Mechanism of action and health implications[J]. Cells, 2022, 11(17). DOI: 10.3390/cells11172630.

[18] Leszczyński P, Smiech M, Parvanov E, et al. Emerging roles of PRDM factors in stem cells and neuronal system: Cofactor dependent regulation of PRDM3/16 and FOG1/2 (Novel PRDM Factors)[J]. Cells, 2020, 9(12): 2603. DOI: 10.3390/cells9122603.

[19] Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond[J]. Nat Rev Genet, 2012, 13(7): 484-492. DOI: 10.1038/nrg3230.

[20] Kawashima S, Hattori A, Suzuki E, et al. Methylation status of genes escaping from X-chromosome inactivation in patients with X-chromosome rearrangements[J]. Clin Epigenetics, 2021, 13(1): 134. DOI: 10.1186/s13148-021-01121-6.

[21] Bartolomei MS, Oakey RJ, Wutz A. Genomic imprinting: An epigenetic regulatory system[J]. PLoS Genet, 2020, 16(8): e1008970. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008970.

[22] Slieker RC, Roost MS, van Iperen L, et al. DNA methylation landscapes of human fetal development[J]. PLoS Genet, 2015, 11(10): e1005583. DOI: 10.1371/journal.pgen.1005583.

[23] Guarrera S, Fiorito G, Onland-Moret NC, et al. Gene-specific DNA methylation profiles and LINE-1 hypomethylation are associated with myocardial infarction risk[J]. Clin Epigenetics, 2015, 7: 133. DOI: 10.1186/s13148-015-0164-3.

[24] Zhang J, Sheng H, Hu C, et al. Effects of DNA methylation on gene expression and phenotypic traits in cattle: A review[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(15): 11882. DOI: 10.3390/ijms241511882.

[25] Zhao L, Zhou Q, He L, et al. DNA methylation underpins the epigenomic landscape regulating genome transcription in Arabidopsis[J]. Genome Biol, 2022, 23(1): 197. DOI: 10.1186/s13059-022-02768-x.

[26] Tang Y, Wang J, Lian Y, et al. Linking long non-coding RNAs and SWI/SNF complexes to chromatin remodeling in cancer[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 42. DOI: 10.1186/s12943-017-0612-0.

[27] Fu Y, Chen J, Huang Z. Recent progress in microRNA-based delivery systems for the treatment of human disease[J]. ExRNA, 2019, 1(1): 24. DOI: 10.1186/s41544-019-0024-y.

[28] Gao N, Li Y, Li J, et al. Long Non-Coding RNAs: The regulatory mechanisms, research strategies, and future directions in cancers[J]. Front Oncol, 2020, 10: 598817. DOI: 10.3389/fonc.2020.598817.

[29] Pranjal K, Nikita B. lncRNAs: Role in regulation of gene expression[M]//Fumiaki U. Gene Expression. Rijeka; IntechOpen. 2022: Ch. 4.

[30] Luo H, Zhu G, Fung TK, et al. Hottip lncrna reinforces ctcf defined chromatin boundaries and drives wnt target gene expression in aml leukemogenesis[J]. Blood, 2019, 134 (Supplement_1): 277. DOI: https://doi.org/10.1182/blood-2019-127323.

[31] Razin SV, Ulianov SV. Gene functioning and storage within a folded genome[J]. Cell Mol Biol Lett, 2017, 22: 18. DOI: 10.1186/s11658-017-0050-4.

[32] Ling X, Liu X, Jiang S, et al. The dynamics of three-dimensional chromatin organization and phase separation in cell fate transitions and diseases[J]. Cell Regen, 2022, 11(1): 42. DOI: 10.1186/s13619-022-00145-4.

[33] Chang W, Zhao Y, Rayêe D, et al. Dynamic changes in whole genome DNA methylation, chromatin and gene expression during mouse lens differentiation[J]. Epigenetics Chromatin, 2023, 16(1): 4. DOI: 10.1186/s13072-023-00478-7.

[34] de Bruijn S. Global organization starts locally: Chromatin remodelers regulate genome architecture[J]. Plant Cell, 2022, 34(7): 2576-2577. DOI: 10.1093/plcell/koac128.

[35] Guofei C, Qing D, Kexin G, et al. Chromatin dynamics: Chromatin remodeler, epigenetic modification and diseases[M]//Tao H. Epigenetics. Rijeka: IntechOpen. 2022: Ch. 1.

[36] Mangiavacchi A, Morelli G, Orlando V. Behind the scenes: How RNA orchestrates the epigenetic regulation of gene expression[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1123975. DOI: 10.3389/fcell.2023.1123975.

[37] Zhang Z, Li Q, Sun S, et al. Clinicopathological and prognostic significance of SWI/SNF complex subunits in undifferentiated gastric carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2022, 20(1): 383. DOI: 10.1186/s12957-022-02847-0.

[38] Crea F, Sun L, Mai A, et al. The emerging role of histone lysine demethylases in prostate cancer[J]. Mol Cancer, 2012, 11: 52. DOI: 10.1186/1476-4598-11-52.

[39] Yu J, Li Y, Zhang D, et al. Clinical implications of recurrent gene mutations in acute myeloid leukemia[J]. Exp Hematol Oncol, 2020, 9: 4. DOI: 10.1186/s40164-020-00161-7.

[40] Xu S, Tang C. The role of ARID1A in tumors: Tumor initiation or tumor suppression? [J]. Front Oncol, 2021, 11: 745187. DOI: 10.3389/fonc.2021.745187.

[41] Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, et al. Huntington disease[J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1: 15005. DOI: 10.1038/nrdp.2015.5.

[42] Schroeder FA, Lewis MC, Fass DM, et al. A selective HDAC 1/2 inhibitor modulates chromatin and gene expression in brain and alters mouse behavior in two mood-related tests[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71323. DOI: 10.1371/journal.pone.0071323.

[43] Shah RR, Bird AP. MeCP2 mutations: Progress towards understanding and treating Rett syndrome[J]. Genome Med, 2017, 9(1): 17. DOI: 10.1186/s13073-017-0411-7.

[44] Yang Y, Luan Y, Feng Q, et al. Epigenetics and beyond: Targeting histone methylation to treat type 2 diabetes mellitus[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 807413. DOI: 10.3389/fphar.2021.807413.

[45] Dreier MR, Walia J, de la Serna IL. Targeting SWI/SNF complexes in cancer: Pharmacological approaches and implications[J]. Epigenomes, 2024, 8(1): 7. DOI: 10.3390/epigenomes8010007.

[46] Pant R, Firmal P, Shah VK, et al. Epigenetic regulation of adipogenesis in development of metabolic syndrome[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 619888. DOI: 10.3389/fcell.2020.619888.

[47] Rodríguez-Sanabria JS, Escutia-Gutiérrez R, Rosas-Campos R, et al. An update in epigenetics in metabolic-associated fatty liver disease[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8: 770504. DOI: 10.3389/fmed.2021.770504.

[48] Lafontaine DL, Yang L, Dekker J, et al. Hi-C 3.0: Improved protocol for genome-wide chromosome conformation capture[J]. Curr Protoc, 2021, 1(7): e198. DOI: 10.1002/cpz1.198.

[49] Qin P, Parlak M, Kuscu C, et al. Live cell imaging of low- and non-repetitive chromosome loci using CRISPR-Cas9[J]. Nat Commun, 2017, 8: 14725. DOI: 10.1038/ncomms14725.

[50] Contessoto VG, Cheng RR, Onuchic JN. Uncovering the statistical physics of 3D chromosomal organization using data-driven modeling[J]. Curr Opin Struct Biol, 2022, 75: 102418. DOI: 10.1016/j.sbi.2022.102418.

[51] Amatori S, Fanelli M. The current state of chromatin immunoprecipitation (ChIP) from FFPE tissues[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1103. DOI: 10.3390/ijms23031103.

[52] Stuart T, Srivastava A, Madad S, et al. Single-cell chromatin state analysis with Signac[J]. Nat Methods, 2021, 18(11): 1333-1341. DOI: 10.1038/s41592-021-01282-5.

[53] Hu C, Liu X, Zeng Y, et al. DNA methyltransferase inhibitors combination therapy for the treatment of solid tumor: Mechanism and clinical application[J]. Clin Epigenetics, 2021, 13(1): 166. DOI: 10.1186/s13148-021-01154-x.

[54] van Tol N, van der Zaal BJ. Artificial transcription factor-mediated regulation of gene expression[J]. Plant Sci, 2014, 225: 58-67. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.05.015.

[55] Huang Y, Yu SH, Zhen WX, et al. Tanshinone I, a new EZH2 inhibitor restricts normal and malignant hematopoiesis through upregulation of MMP9 and ABCG2[J]. Theranostics, 2021, 11(14): 6891-6904. DOI: 10.7150/thno.53170.

[56] Napoli S. Targeting promoter-associated RNAs by siRNAs[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1543: 209-219. DOI: 10.1007/978-1-4939-6716-2_11.

[57] Chohan KL, Siegler EL, Kenderian SS. CAR-T cell therapy: The efficacy and toxicity balance[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2023, 18(2): 9-18. DOI: 10.1007/s11899-023-00687-7.

（收稿日期：2024－02－27）

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 08. 025

综　述

灯盏乙素通过调控 TGF-β 信号通路抑制脏器纤维化的研究进展

李鹏宇,夏瑜综述　李飞审校

基金项目:云南省科技厅科技计划项目(202101AY070001-040)

作者单位:650500　昆明,昆明医科大学第一临床医学院(李鹏宇、夏瑜);昆明医科大学(李飞)
通信作者:李飞,E-mail:lifeii@ kmmu. edu. cn

【摘　要】 灯盏乙素(SCU)在抑制脏器纤维化方面的研究取得了显著的进展,文章对灯盏乙素通过 TGF-β 信号通路在调控脏器纤维化中的作用机制进行深入探讨,并详述了灯盏乙素对肝、肺、心脏和肾等脏器纤维化的抑制效应,为揭示灯盏乙素在治疗脏器纤维化疾病中的机制提供了深刻的认识。

【关键词】 灯盏乙素;转化生长因子-β 信号通路;脏器纤维化
【中图分类号】 R453　　【文献标识码】 A

Research progress of inhibiting organ fibrosis by regulating TGF-β signaling pathway

*Li Pengyu**, *Xia Yu*, *Li Fei*.
**The First Clinical Medical College*, *Kunming Medical University*, *Yunnan Province*, *Kunming* 650500, *China*

Funding program: *Science and Technology Plan Project of Yunnan Provincial Science and Technology Department* (202101*AY*070001-040)

Corresponding author: *Li Fei*, *E-mail*: *lifeii@ kmmu. edu. cn*

【**Abstract**】 In recent years, significant advancements have been made in the study of Scutellarin's role in inhibiting organ fibrosis. The article delves into the mechanisms by which Scutellarin regulates organ fibrosis through the TGF-**β** signaling pathway. It provides a detailed discussion of Scutellarin's inhibitory effects on liver, lung, heart, and kidney fibrosis, offering profound insights into the mechanisms underlying Scutellarin ' s therapeutic potential in treating organ fibrosis diseases.

【**Key words**】 Scutellarin; TGF-**β** signaling pathway; Organ fibrosis

纤维化是由细胞损伤和炎性反应引发的组织病理学现象,核心特征是细胞外基质过度沉积,是多种慢性疾病的共同特征[1]。流行病学研究显示,纤维化疾病呈全球性分布,且发病率逐年增加[2]。脏器纤维化导致纤维结缔组织增加、实质细胞减少,最终影响器官结构和功能,引起器官衰竭甚至导致患者死亡。脏器纤维化涉及体内多个信号通路,其中转化生长因子β(transforming growth factor-β,TGF-β)信号通路作为关键调控因子发挥着重要作用[3],其激活可引导细胞向成纤维细胞分化,促进基质蛋白合成,从而加速纤维化的发生[4]。灯盏乙素(scutellarin, SCU)作为一种植物提取物,其主要活性成分具有抗炎性反应、抗氧化和抗纤维化的作用[5-6]。近年研究表明[3],灯盏乙素可能通过影响 TGF-β 的表达,达到抑制脏器纤维化的效果,有望成为治疗脏器纤维化的有效药物,文章对其研究进展进行综述。

1　TGF-β 信号通路及其在脏器纤维化中的调控机制

TGF-β 属于转化生长因子超家族的二聚体多肽生长因子,对于生物体的生长和发育至关重要。目前已鉴定出 3 种亚型,分别是 TGF-β_1、TGF-β_2 和 TGF-β_3,其中 TGF-β_1 占据主导地位[7]。TGF-β 通路的下游是 Smads 蛋白家族,包括 Smad1、Smad2、Smad3、Smad5、Smad8、Smad9 等受体激活型,Smad4 通用型和 Smad6、Smad7 抑制型等蛋白。在 TGF-β_1 信号传导中,Smad2、3、4、7 扮演着不可或缺的信号传递角色。在生理状态下,TGF-β_1 处于不活跃状态,然而,在不同刺激的影响下,TGF-β_1 会被大量释放和激活,然后通过进一步的磷酸化来活化 TGF-βR Ⅰ激酶,激活的 TGF-βR Ⅰ会提高 Smad2/3 的磷酸化水平,接着与 Smad4 结合形成 Smad2/3-4 复合体,最终进入细胞核,以调控下游靶基因的转录。这一信号传导过程是 TGF-β_1 发挥其生物学功能的重要步骤。

脏器纤维化是由长期组织损伤或慢性炎性反应引起的正常组织结构被纤维组织替代,进而导致肝脏、肺脏、心脏和肾脏等多个器官功能减弱或丧失的病理过程。因此,对脏器纤维化的深入研究对于治疗相关疾病具有重要的意义。在脏器纤维化的过程中,TGF-β 信号通路的异常激活成为关键的调控节点。该通路通过多种机制直接参与脏器纤维化的调控。首先,

TGF-β 促进成纤维细胞的分化,使其转变为活跃的纤维母细胞,增强基质合成能力;其次,TGF-β 刺激基质细胞分泌大量胶原蛋白和纤维连接蛋白,导致纤维结缔组织的沉积;此外,TGF-β 还能抑制基质降解酶的活性,从而阻碍纤维结缔组织的正常降解,进一步促进脏器纤维化的进程[8-11]。

2　灯盏乙素的生物活性与药理学特性

灯盏乙素是一种从黄芩中提取的黄酮类化合物[12]。其化学结构包括多种成分,其中以总黄酮、迷迭香酸和精油等为主。灯盏乙素化学结构的分析表明,总黄酮是灯盏乙素的重要组成部分,在药理学上表现出多种生物活性,可通过清除自由基、调节氧化还原平衡等途径发挥抗氧化作用,可以保护细胞免受氧化损伤,这种抗氧化性质使得灯盏乙素在细胞保护方面展现出潜在的医学应用价值。灯盏乙素还表现出显著的抗炎作用,抑制炎性因子产生和细胞因子的释放,从而减轻炎性反应[13],为其在药物开发领域中的潜在应用提供了坚实的基础。迷迭香酸则被认为参与了多种细胞信号通路的调控,可能与灯盏乙素抑制脏器纤维化的作用密切相关[14]。此外,精油等成分也可能在灯盏乙素的药理学特性中发挥一定的作用。

3　灯盏乙素对不同脏器纤维化的调控作用

3.1　肝纤维化　肝脏纤维化是各种慢性肝病进展中的一种病理过程,其特征为肝内纤维生成与降解的失衡,导致过量胶原在肝脏积聚[15]。这一过程通常伴随着炎性反应,并有可能进一步发展为肝硬化。在肝纤维化的发展过程中,纤维组织的过度积累可能会引起肝功能的进行性损害,最终影响患者的整体健康状况。据报道[16],我国部分研究队列中患病率高达 6.9%,严重损害了人民生命健康,对患者的生活质量产生了较大的影响。当肝组织受到损伤时,会释放大量的 TGF-β_1,TGF-β_1 的存在促使肝脏中的星状细胞(hepatic stellate cell,HSC)活化,一旦星状细胞被激活,会产生和分泌更多的 TGF-β_1。激活的 TGF-β_1 通过信号传导进入细胞核,使得 Smad2 和 Smad3 被磷酸化,磷酸化的 Smad2/3 与 Smad4 结合,形成的复合物会启动或抑制特定基因的表达。通过这一信号传导过程,特别是通过 TGF-β_1 激活的 Smad 蛋白家族,可诱导胶原蛋白等胶原类蛋白的产生。上述过程最终导致肝纤维化,胶原蛋白在肝组织中逐渐积聚,形成瘢痕组织产生[17]。

王烁等[18]通过高脂高糖喂养 32 周后构建肝纤维化大鼠模型,经过 Western blot 证实 TGF-β 蛋白的表达水平较正常组织升高,并且给予灯盏乙素干预后 TGF-β 蛋白表达降低。因此研究者得出结论:TGF-β 参与肝纤维化的发生发展过程,且灯盏乙素对其会产生抑制作用,进而缓解肝纤维化。此外,王银辉等[19]研究发现灯盏乙素对猪血引起的免疫性肝纤维化具有较好的治疗效果。白娟等[20]发现灯盏花注射液可以显著减少纤维增生,降低胶原含量的变化。表明灯盏花注射液可能通过降低生成的肝内胶原,减少肝内胶原的沉积,从而改善肝脏纤维化。

3.2　肺纤维化　特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis,IPF)是一种不可逆的慢性呼吸系统疾病,以炎性反应和广泛的肺纤维化重构为特征[21]。特发性肺纤维化患者预后差,目前认为可能与细胞外基质(extracellular matrix,ECM)沉积、炎性反应、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、血管新生异常、氧化应激损伤以及细胞自噬等有关[22-23]。

作为肺纤维化疾病进展中最有效的诱导因子,一方面,TGF-β_1 可与 TGF-β 受体结合,激活成纤维细胞,引发 EMT 并加速细胞外基质的大量积累。另一方面,TGF-β_1 还提升了Ⅰ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅹ型胶原及蛋白聚糖、纤维连接蛋白表达水平,使得特发性肺纤维化的程度加剧。这种多方面的影响使得 TGF-β_1 在肺纤维化的发展过程中扮演着关键的角色[24]。研究证实[25],黄酮类是中药治疗 IPF 的主要有效成分,中药治疗的特点在于多通路、多靶点与多层次。除了对 TGF-β/Smad 信号通路的调节外,这些中药成分还能减轻炎性反应和氧化应激,改善细胞外基质的沉积,抑制上皮间质转化和血管新生,同时 MAPK、PI3K/Akt 等信号通路也得到了研究者的关注。

3.3　心肌纤维化　心肌梗死后心脏重构是慢性心力衰竭最常见的潜在因素,而全球范围内,慢性心力衰竭的患病率和病死率均居高不下。纤维化也被认为是心肌梗死后心室功能进行性恶化的主要决定因素[26]。赵博等[9]发现灯盏花素可能通过调节 TGF-β_1/Smads 通路使得急性心肌梗死大鼠心室重构得到缓解,这一研究证实 TGF-β_1 是灯盏花素发挥作用的潜在靶点。TGF-β_1 是一种关键的信号分子,通过激活心脏成纤维细胞的增殖和胶原蛋白的产生来诱导心脏纤维化[27]。Pan 等[3]通过冠状动脉结扎大鼠后模拟心肌梗死后心脏纤维化,给予灯盏乙素进行挽救实验。通过测定心肌成纤维细胞的数量和胶原含量以及经过 Western blot 检测蛋白表达,定量逆转录检测 mRNA 表达水平等手段进行评估,研究表明灯盏乙素改善心肌梗死大鼠心功能,抑制 TGF-β_1 的表达,减少间质纤维化。灯盏乙素通过 TGF-β 在心肌纤维化的应用也逐渐受到研究者的关注与肯定。

3.4　肾纤维化　肾纤维化(renal fibrosis,RF)主要表现为肾小管萎缩和肾小球硬化,是肾脏疾病演变至终末肾衰竭的主要病理过程[28]。当肾脏组织受到损伤时,肾间质将出现炎性细胞浸润,同时肾小管上皮细胞可能会经历凋亡。与此同时,源自肾小管上皮间质转化的肌成纤维细胞聚集,导致细胞外基质生成和降解失衡,最终导致肾纤维化的发生。

据报道,超过 1/3 的间质成纤维细胞实际上来源于肾小管 EMT[29]。EMT 是导致肾间质纤维化的中心环节之一[30]。TGF-β_1 在肾脏纤维化中起着重要的作用,被广泛认为是纤维化的主要因素之一。它通过促进细胞外基质的合成并抑制其降解,导致肾脏细胞与基质之间的增强黏附。这种作用会导致肾脏固有细胞凋亡和炎性细胞的浸润。TGF-β_1 通过 Smad 依赖和非依赖 2 个途径协同调控靶基因的转录和蛋白表达,从而诱导肾脏纤维化过程。在非依赖途径中,细胞外信号调节激酶通路发挥重要作用[31]。因此,抑制 TGF-β_1 及其介导的信号通路可能有助于延缓甚至逆转肾脏纤维化过程。这一发现为治疗肾脏纤维化提供了新的策略和方向。

综上,灯盏乙素作为一种潜在的治疗脏器纤维化的药物,通过调控 TGF-β 信号通路展现了显著的应用前景。研究表明,灯盏乙素能有效抑制 TGF-β 信号通路的活性,从而减缓不同脏器的纤维化进程,尤其在肝、肺、心脏和肾等方面显示出良好的干预效果。

4　小结与展望

脏器纤维化作为肝硬化、肺纤维化等慢性疾病的共同特征,一直以来都是临床难以解决的难题。药物治疗、手术治疗及细胞治疗等传统的治疗手段在脏器纤维化晚期情况下治疗效果并不十分理想。因此,寻找新的治疗策略,尤其是具有针对性和高效性的药物,成为当前脏器纤维化治疗的迫切需求。

灯盏乙素不仅具有抗氧化和抗炎作用,研究发现其通过抑制 TGF-β 信号通路影响纤维细胞的活性及基质的合成。此外,灯盏乙素作为一种天然植物提取物,具有较好的生物相容性和安全性。这些特性使得灯盏乙素成为一种潜在的抗纤维化药物,有望干预脏器纤维化的进程。

尽管目前研究已经取得一定进展,但仍有局限性无法突破。首先,动物模型的选择和细胞模型的局限性可能导致实验结果在临床应用中的转化存在一定的不确定性。因此,未来的研究可以考虑使用更多种类的动物模型,甚至尝试人体器官或 3D 细胞培养系统,以更好地模拟真实的生理情况。其次,脏器纤维化是一个涉及多个信号通路和细胞类型相互作用的复杂过程。未来的研究可以进一步扩展调查灯盏乙素在其他关键信号通路上的影响,以更全面地了解其在脏器纤维化治疗中的机制。

综上所述,灯盏乙素通过调控 TGF-β 信号通路抑制脏器纤维化,有望成为治疗脏器纤维化的有效药物。未来的研究可以进一步深化灯盏乙素在纤维化过程多层次的抑制效应,优化临床应用方案,并不断拓展相关领域的研究。

参考文献

[1] 杨靖,李英,曾莉,等. 中医药治疗纤维化疾病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2024,30(3):270-278. DOI:10. 13422/j. cnki. syfjx. 20231837.

[2] Rosenbloom J, Macarak E, Piera-Velazquez S, et al. Human fibrotic diseases: Current challenges in fibrosis research[J]. Methods in Nolecular Niology (Clifton, NJ) 2017, 1627(3): 1-23. DOI: 10. 1007/978-1-4939-7113-8_1.

[3] Pan Z, Zhao W, Zhang X, et al. Scutellarin alleviates interstitial fibrosis and cardiac dysfunction of infarct rats by inhibiting TGFβ1 expression and activation of p38-MAPK and ERK1/2[J]. British Journal of Pharmacology, 2011, 162(3): 688-700. DOI: 10. 1111/j. 1476-5381. 2010. 01070. x.

[4] Hung PH, Hsu YC, Chen TH, et al. The histone demethylase inhibitor GSK-J4 is a therapeutic target for the kidney fibrosis of diabetic kidney disease via DKK1 modulation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(16): 9407. DOI: 10. 3390/ijms23169407.

[5] Hong H, Liu GQ. Scutellarin attenuates oxidative glutamate toxicity in PC12 cells[J]. Planta Medica, 2004, 70(5): 427-431. DOI: 10. 1055/s-2004-818970.

[6] Sun JB, Li Y, Cai YF, et al. Scutellarin protects oxygen/glucose-deprived astrocytes and reduces focal cerebral ischemic injury[J]. Neural Regeneration Research, 2018, 13(8): 1396-1407. DOI: 10. 4103/1673-5374. 235293.

[7] Kim CR, Kim YM, Lee MK, et al. Pyropia yezoensis peptide promotes collagen synthesis by activating the TGF-β/Smad signaling pathway in the human dermal fibroblast cell line Hs27[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2017, 39(1): 31-38. DOI: 10. 3892/ijmm. 2016. 2807.

[8] Aref-Eshghi E, Liu M, Harper PE, et al. Overexpression of MMP13 in human osteoarthritic cartilage is associated with the SMAD-independent TGF-β signalling pathway[J]. Arthritis Research & Therapy, 2015, 17(1): 264. DOI: 10. 1186/s13075-015-0788-x.

[9] 赵博,彭建军,李广平,等. 灯盏花素通过 TGF-β1/Smads 通路减轻急性心肌梗死大鼠心室重构[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(4):410-414. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-484X. 2021. 04. 006.

[10] Liu A, Wang L, Feng Q, et al. Low expression of GSTP1 in the aqueous humour of patients with primary open-angle glaucoma[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2021, 25(6): 3063-3079. DOI: 10. 1111/jcmm. 16361.

[11] Du Y, Xiao H, Wan J, et al. Atorvastatin attenuates TGF-β1 induced fibrogenesis by inhibiting Smad3 and MAPK signaling in human ventricular fibroblasts[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2020, 46(2): 633-640. DOI: 10. 3892/ijmm. 2020. 4607.

[12] 朱子焕,李子豪,罗丽丹,等. 灯盏花乙素抗肿瘤药理作用及机制研究进展[J]. 湖北科技学院学报:医学版,2023,37(4):364-368,272. DOI:10. 16751/j. cnki. 2095-4646. 2023. 04. 0364.

[13] 张明昊,赵绅,杜婧雯,等. 灯盏花素通过调控 TGF-β1 介导的 Smad 和 ERK 通路干预肾纤维化大鼠的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2022,33(10):1347-1356. DOI:10. 19378/j. issn. 1003-9783. 2022. 10. 008.

[14] 赵荣蓉. 促进肌成纤维细胞成脂分化抑制衰老心脏纤维化的作用及机制[D]. 郑州:郑州大学,2022.

[15] Noureddin M, Wright EC, Alter HJ, et al. Association of IL28B genotype with fibrosis progression and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C: A longitudinal analysis[J]. Hepatology (Baltimore, Md), 2013, 58(5): 1548-1557. DOI: 10. 1002/hep. 26506.

[16] 樊慧丰,周秀彦. 代谢相关性脂肪性肝病肝纤维化的无创评估进展[J]. 现代消化及介入诊疗,2023,28(5):658-661. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-2159. 2023. 05. 025.

[17] Inagaki Y, Okazaki I. Emerging insights into transforming growth factor beta Smad signal in hepatic fibrogenesis[J]. Gut, 2007, 56(2): 284-292. DOI: 10. 1136/gut. 2005. 088690.

[18] 王烁. 灯盏乙素调控 NLRP3/IL-1β/TGF-β1 信号通路改善肥胖导致的大鼠肝纤维化的实验研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2023.

[19] 王银辉,耿玲,李辉. 灯盏乙素抗大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(10):1999-2003. DOI:10. 4268/cjcmm20151029.

[20] 白娟,李淑玲. 灯盏花液对实验性大鼠肝纤维化防治作用的研究[J]. 中国中医药信息杂志,2000,(5):34-35. DOI:10. 3969/j. issn. 1005-5304. 2000. 05. 018.

[21] 康冬梅,高勇,马继芳,等. 特发性肺间质纤维化并发肺气肿的风险模型构建与评价[J]. 疑难病杂志,2022,21(12):1236-1241. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.12.003.

[22] Mei Q, Liu Z, Zuo H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: An update on pathogenesis[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 797292. DOI:10.3389/fphar.2021.797292.

[23] Ma H, Wu X, Li Y, et al. Research progress in the molecular mechanisms, therapeutic targets, and drug development of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 963054. DOI: 10.3389/fphar.2022.963054.

[24] 胡晓玲,陈斯宁,陆珏. 中医药靶向 TGF-β1/Smads 信号通路防治特发性肺纤维化研究进展[J]. 山西中医,2023,39(2):65-67. DOI:10.20002/j.issn.1000-7156.2023.02.026.

[25] 李智慧,余学庆,杨曙光,等. 中药有效成分治疗特发性肺纤维化的机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(22):181-192. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.20230605.

[26] Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction[J]. Annual Review of Medicine, 1995, 46: 455-466. DOI: 10.1146/annurev.med.46.1.455.

[27] Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling[J]. Cardiovascular Research, 2007, 74(2): 184-195. DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.10.002.

[28] Liu Y, Su YY, Yang Q, et al. Stem cells in the treatment of renal fibrosis: A review of preclinical and clinical studies of renal fibrosis pathogenesis[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2021, 12(1): 333. DOI:10.1186/s13287-021-02391-w.

[29] LeBleu VS, Taduri G, O'Connell J, et al. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis[J]. Nature Medicine, 2013, 19(8): 1047-1053. DOI:10.1038/nm.3218.

[30] Rastaldi MP, Ferrario F, Giardino L, et al. Epithelial-mesenchymal transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies[J]. Kidney International, 2002, 62(1): 137-146. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2002.00430.x.

[31] Li Q, Ming Y, Jia H, et al. Poricoic acid a suppresses TGF-β1-induced renal fibrosis and proliferation via the PDGF-C, Smad3 and MAPK pathways[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2021, 21(4): 289. DOI:10.3892/etm.2021.9720.

(收稿日期:2023-12-20)

(上接 1015 页)

[43] Babl N, Decking SM, Voll F, et al. MCT4 blockade increases the efficacy of immune checkpoint blockade[J]. Journal for Immunotherapy of Cancer, 2023, 11(10): e007349. DOI: 10.1136/jitc-2023-007349.

[44] Cui MY, Yi X, Zhu DX, et al. The role of lipid metabolism in gastric cancer[J]. Front Oncol, 2022, 12: 916661. DOI: 10.1136/jitc-2023-007349.

[45] Aoki T, Kinoshita J, Munesue S, et al. Hypoxia-induced CD36 expression in gastric cancer cells promotes peritoneal metastasis via fatty acid uptake[J]. Annals of Surgical Oncology, 2022, 30(5): 3125-3136. DOI:10.1245/s10434-022-12465-5.

[46] Zhang M, Wei T, Zhang X, et al. Targeting lipid metabolism reprogramming of immunocytes in response to the tumor microenvironment stressor: A potential approach for tumor therapy[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 937406. DOI:10.3389/fimmu.2022.937406.

[47] 易曼婷,李东芳. 氨基酸代谢调控胃癌 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的研究进展[J]. 中国临床研究,2024,37(2):188-191,196. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2024.02.005.

[48] Ren X, Feng C, Wang Y, et al. SLC39A10 promotes malignant phenotypes of gastric cancer cells by activating the CK2-mediated MAPK/ERK and PI3K/AKT pathways[J]. Experimental Molecular Medicine, 2023, 55(8): 1757-1769. DOI: 10.1038/s12276-023-01062-5.

[49] Lian S, Li S, Zhu J, et al. Nicotine stimulates IL-8 expression via ROS/NF-κB and ROS/MAPK/AP-1 axis in human gastric cancer cells[J]. Toxicology, 2022, 466: 153062. DOI: 10.1016/j.tox.2021.153062.

[50] Morgos DT, Stefani C, Miricescu D, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR and MAPK signaling pathways in gastric cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(3): 1848. DOI: 10.3390/ijms25031848.

[51] Liao W, Wen Y, Wang J, et al. Gallic acid alleviates gastric precancerous lesions through inhibition of epithelial mesenchymal transition via Wnt/β-catenin signaling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2022, 302: 115885. DOI:10.1016/j.jep.2022.115885.

[52] Li J, Xia Y, Sun B, et al. Neutrophil extracellular traps induced by the hypoxic microenvironment in gastric cancer augment tumour growth[J]. Cell Communication and Signaling, 2023, 21(1): 86. DOI:10.1186/s12964-023-01112-5.

(收稿日期:2024-04-12)