

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.001

指南与共识

编者按 心力衰竭是各种心脏疾病的终末阶段,严重影响国民健康。为提高我国心力衰竭的诊治、预防和管理水平,改善心力衰竭患者的预后,由国家心血管病中心发起,国家心血管病专家委员会心力衰竭专业委员会联合中国医师协会心力衰竭专业委员会及《中华心力衰竭和心肌病杂志》编辑委员会、《中国循环杂志》编辑委员会共同撰写的《国家心力衰竭指南 2023》正式发布。该指南总结分析了有关心力衰竭的国内外最新研究证据,介绍心力衰竭的定义、分类、分期评估、诊断、预防、治疗及管理,为提高我国心力衰竭综合管理水平提供了规范化指导。为使广大临床医师更好地理解并应用于临床实践,本刊特邀请专家对其主要内容和更新要点进行梳理和解读,以飨读者。

《国家心力衰竭指南 2023》专家解读

张静,马爱群



作者单位: 710061 西安,西安交通大学第一附属医院心血管内科

通信作者: 马爱群, E-mail: aiqun.ma@xjtu.edu.cn



马爱群,医学博士,博士生导师,二级教授/一级主任医师,教育部骨干教师,陕西省“三五人才”,陕西省卫生厅“二一五人才”。现任陕西省分子心脏病学重点实验室主任、陕西省心血管疾病质量控制中心主任。兼任陕西省全科医学会主任委员、中华医学会全科医学分会常务委员、《中国分子心脏病学杂志》副主编、《中华心力衰竭和心肌病杂志》副总编辑及《心血管疾病临床质量控制》主编。先后主持国家自然科学基金 4 项、科技部、卫生部、教育部项目 8 项及陕西省自然科学基金 4 项,国家重大项目“973”医学类专家组成员,并以主要成员参加国家、省部级研究课题 10 项。先后获得陕西省科学技术奖 3 项,中华医学科技奖及厅级科技成果奖 5 项,获得国家实用新型专利 1 项,软件著作权 2 项。共发表论文 300 余篇,其中 SCI 收录 130 多篇;主编(译)、参编专著 15 部,主编国家临床(助理)医师执业资格考试系列丛书 6 部。先后指导毕业博士研究生 65 名,硕士研究生 70 名。

【关键词】 心力衰竭;指南;专家解读

【中图分类号】 R541.6

【文献标识码】 A

心力衰竭是各种心脏疾病的终末阶段,患病率持续上升,已成为严重危害人类健康的重大心血管疾病之一。近年来,国内外有关心力衰竭的诊断、治疗、预防和管理等方面都取得了重大研究进展。如何正确和恰当地分析和诠释这些新的研究证据及治疗策略,提高临床医师对心力衰竭患者的管理水平,改善心力衰竭患者的预后,成为目前所面临的关键任务。在此背景下,国家心血管中心、国家心血管病专家委员会心力衰竭专业委员会、中国医师协会心力衰竭专业委员会和中华心力衰竭和心肌病杂志编辑委员会等编写了

《国家心力衰竭指南 2023》^[1](以下简称“新指南”),这是继《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018》(以下简称“2018 国家指南”)^[2]发表后时隔 5 年的再次更新。新指南结合国内外研究进展,全面介绍了心力衰竭的定义、分类、分期、流行病学、评估、诊断、预防、治疗和管理、心脏康复及长期随访,以及心力衰竭的医疗质量控制等,并增加了心肌病和心肌炎的诊断和治疗,期望提高我国心力衰竭的综合管理水平,进而改善我国心力衰竭患者的预后。本文将新指南中主要的更新及亮点进行以下梳理、总结。

1 心力衰竭的定义

心力衰竭是一种复杂的临床综合征,定义包含 3 个方面:(1)心脏结构和/或功能异常;(2)存在相应的临床症状和/或体征;(3)生物标志物或心脏影像学检查或血液动力学检查异常。新指南中心力衰竭的定义更加全面,包含 3 个方面:(1)核心内涵是心脏结构和/或功能异常导致心室充盈(舒张功能)和/或射血能力(收缩功能)受损;(2)由于舒张功能和/或收缩功能受损,产生相应的前向供血不足及后向大、小循环淤血等心力衰竭相关的临床症状和/或体征,包括心慌、乏力、气短、下垂性水肿等;(3)客观检查血液动力学表现为心室充盈压升高,安静或运动状态下影像学检查提示心源性的肺部或全身性淤血,通常伴有反映心房或心室壁压力增高的血钠肽水平升高,与 2018 国家指南中心力衰竭定义相比,新增了实验室检查及影像学检查等客观证据,强调了大、小循环淤血的主观症状和客观证据,心力衰竭概念的外延更加全面,临床可操作性更强。同时,应该强调的是目前心力衰竭定义仅适用于心力衰竭 C、D 两期。

2 心力衰竭的分类及分期

在心力衰竭的分类方面,新指南中根据患者初次评估时超声心动图检查的左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)水平,在原有 3 种基本类型^[3],即射血分数降低的心力衰竭(heart failure with reduced ejection fraction, HFrEF, LVEF \leq 40%)、射血分数轻度降低的心力衰竭(heart failure with mildly reduced ejection fraction, HFmrEF, 40% < LVEF < 50%)和射血分数保留的心力衰竭(heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF, LVEF \geq 50%)的基础上,除了考虑 LVEF 的水平,还结合临床、预后进行进一步细分,HFpEF 也可以进一步分为射血分数正常的心力衰竭(heart failure with normal ejection fraction, HFneEF, 50 \leq LVEF \leq 65%)和射血分数高于正常值的心力衰竭(heart failure with supra-normal ejection fraction, HFsnEF, LVEF > 65%)2 个亚型。此外,还有 3 种特殊类型的心力衰竭,包括“射血分数改善的心力衰竭(heart failure with improved ejection fraction, HFimpEF, 40% < LVEF < 50% 且较基线绝对值提高 \geq 10%)、射血分数恢复的心力衰竭(heart failure with recovered ejection fraction, HFrecEF, LVEF \geq 50% 且较基线绝对值提高 \geq 10%)、射血分数下降的心力衰竭(heart failure with decreased ejection fraction, HFdecEF, LVEF \leq 40% 且较基线绝对值降低 \geq 10%),共 7 类,见图 1。

以上根据 LVEF 分类,分为初诊评估和治疗后评

估 2 个不同阶段。初诊评估是指当诊医师首次接诊患者时评估,而不是患者首次就诊评估,否则无法进行评估,因为多数患者在就诊前可能已经在其他医师处就诊过多次,当然,先诊医师的评估可以作为参考。按照 LVEF 分为 HFrEF、HFmrEF、HFpEF 三大类,HFpEF 根据 LVEF 可以进一步分为 HFneEF、HFsnEF 两大类,即初诊可以分为 HFrEF、HFmrEF、HFneEF、HFsnEF 四大类,是当诊评估的基础;治疗后评估是在此基础上,根据治疗后 LVEF 值的变化进行相应分类定义。治疗后评估及治疗后何时进行评估合适,目前尚无明确规定,根据心力衰竭临床试验随访周期中 LVEF 变化的情况,结合临床观察,治疗开始 1 年内每 3 个月评估 1 次,1 年后每 6 个月评估 1 次,有利于患者治疗反应判断及治疗方案的调整,同时有利于患者预后判断。

HFrEF(LVEF \leq 40%)治疗后 LVEF 有 4 种转归:(1)LVEF 继续下降,即心力衰竭恶化,需要评估及调整治疗方案。(2)LVEF 恢复到 40% ~ 50%,如果恢复绝对值超过基线值 10% 以上,定义为 HFimpEF(LVEF 改善的心力衰竭),其与 HFmrEF 区别在于后者系指当诊的首次评估,确实有一部分患者心力衰竭长期处于 HFmrEF,是一个特殊的临床问题。而前者是心力衰竭治疗改善的中间阶段,临床上观察到一部分 HFimpEF 患者长期停留在此阶段,需要寻找其原因。(3)LVEF 值进一步改善, > 50% 且较基线值 > 10%,定义为 HFrecEF(LVEF 恢复的心力衰竭),一部分患者 LVEF 长期停留在此阶段,另一部分患者 LVEF 下降,心力衰竭恶化,这 2 组患者均应该寻找原因,调整治疗方案。(4)还有一部分患者进一步改善, LVEF > 65%,心力衰竭表现基本消失,目前指南对这一部分患者未作相关讨论,这部分患者关键临床问题是能否停药,根据临床观察,建议是不能停药。

HFmrEF(40% < LVEF < 50%)治疗后 LVEF 的转归:(1)LVEF 长期不变;(2)LVEF 下降, < 40%,定义为 HFrEF,前二者需要寻找原因,调整方案;(3)LVEF 改善,定义为 HFrecEF,与上述 HFrEF 的 HFrecEF 演变相同。

HFpEF(LVEF \geq 50%)治疗后 LVEF 的转归:(1)LVEF 下降,转化为 HFmrEF,当 LVEF 小于 40%,即是 HFrEF,这一转化过程往往有新的心脏损伤因素参与,故需要全面临床排查新的损伤因素;(2)LVEF 升高,达到 \geq 65%,则与 HFsnEF 一致,当超声心动图参数 E/e' > 8 时,可以定义为改善的 HFpEF(HFimpEF)。基于临床研究,无论是 HFsnEF 还是 HFimpEF 其预后均优于 LVEF 值 50% ~ 65% 的 HFpEF。

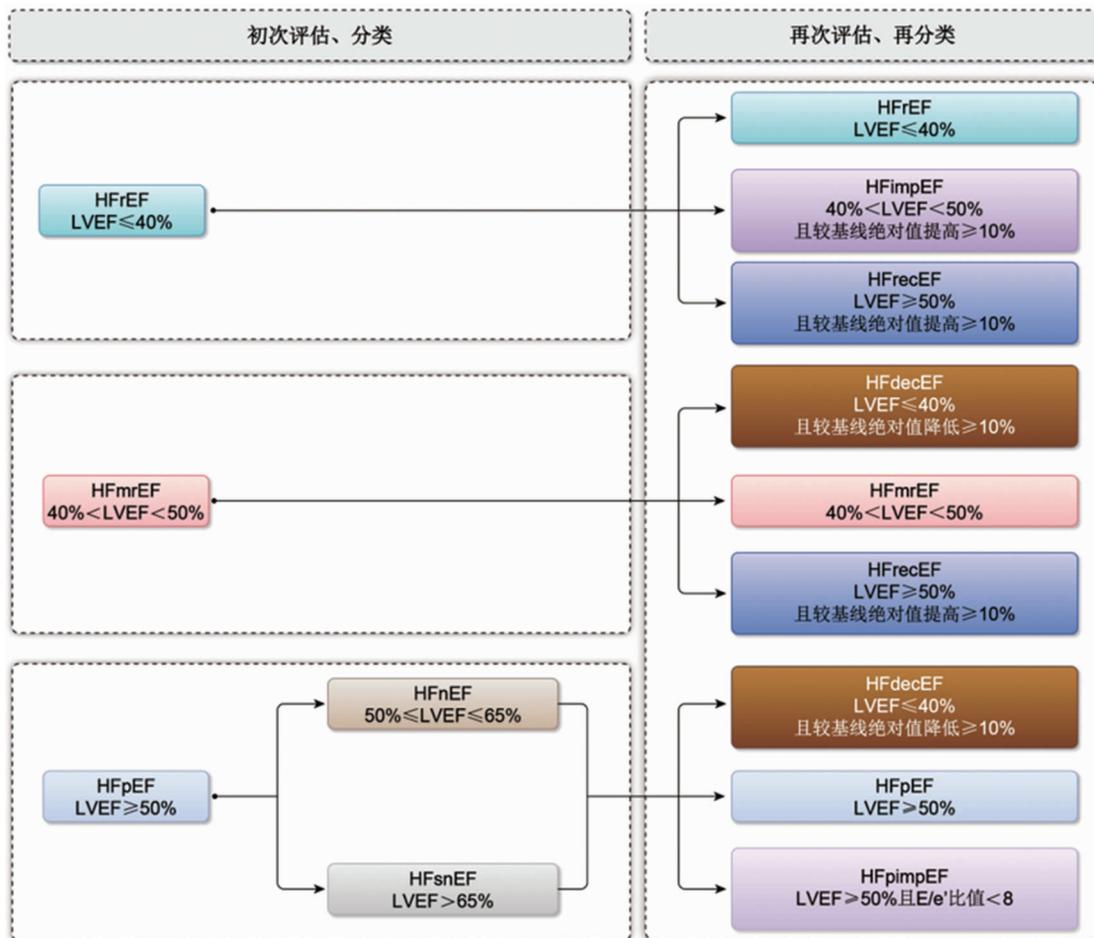


图 1 心力衰竭的分类^[1]

总之,尽管 LVEF 值是一个血流动力学心脏功能的物理表述指标,也未能考虑病因、病程等关键临床问题,并且还有待进一步完善,但是,这一分类有助于心力衰竭的临床治疗及预后判断,是临床应用后的共识,目前尚无更好的分类方法替代。在临床应用时需要注意的是,尽管 LVEF 与心脏功能状态相关,但是并非逻辑关系,在某些人群,LVEF < 40%,临床上仍然不出现心力衰竭症状,过去称为无症状心力衰竭,现在更多称之为左心室收缩功能不全。

新指南中心力衰竭分期仍然沿用 2018 国家指南中的 ABCD 四期^[3],即 A 期(心力衰竭风险期)、B 期(心力衰竭前期)、C 期(症状性心力衰竭)、D 期(晚期心力衰竭)。这种分期强调心力衰竭早期预防、早期干预及心力衰竭针对性的治疗。在临床应用中,A 期和 B 期是心血管其他专科诊治范畴,C 期和 D 期是心力衰竭主要业务范围,故有学者认为无症状就无心力衰竭。近年研究发现,在 B 期和 C 期之间存在心脏储备功能下降阶段,对心力衰竭早期发现极具意义。

3 心力衰竭的治疗

3.1 SGLT-2 抑制剂适用于全射血分数慢性心力衰竭

新指南中明确指出不论心力衰竭射血分数如何,钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (sodium-glucose cotransporter 2, SGLT-2) 抑制剂均给予 I 类 A 推荐。对于 SGLT-2 抑制剂的治疗作用给予充分的肯定,患者可应用范围更广、临床应用更为积极。

3.2 更新了 HFrEF 患者的治疗推荐

新指南强调了显著降低慢性 HFrEF 患者全因或心血管死亡风险的指南指导药物治疗 (guideline-directed management and therapy, GDMT),主要包括沙库巴曲缬沙坦 (sacubitril valsartan, ARNI)/血管紧张素转换酶抑制剂 (angiotensin-converting enzyme inhibitors, ACEI) 或血管紧张素 II 受体拮抗剂 (angiotensin II receptor blocker, ARB)、β 受体阻滞剂、醛固酮受体拮抗剂或盐皮质激素受体拮抗剂 (aldosterone receptor antagonist, MRA) 及 SGLT-2 抑制剂四类药物,称为“新四联”。推荐患者在血液动力学稳定并且无禁忌证情况下,尽早、小剂量、同时启

动“新四联”药物;如果患者不能耐受“新四联”药物同时启动,可以根据患者个体情况和药物特点个体化选择 1~2 种药物先启动,然后根据患者的耐受情况,在 4~6 周内序贯启动“新四联”药物。启动“新四联”药物治疗后应根据血压、心率等生命体征及肾功能、血钾等指标,评估患者的耐受性,滴定剂量至靶剂量或最大耐受剂量(I 类 B)。

在植入式心脏转复除颤起搏器(implantable cardioverter defibrillator, ICD)部分,对皮下 ICD 及可穿戴式 ICD 做了推荐(I 类 A);在心脏再同步化治疗部分,对希氏束起搏等生理性起搏做了推荐(I 类 A);强调在 GDMT 应用 3~6 个月后再评估心脏植入式电子设备指征(I 类 A)。

3.3 细化了 ARNI 在 HFrEF 中的治疗应用 新指南中对于 HFrEF 中 NYHA II~III 级的患者,优先推荐 ARNI,如果不能应用再考虑 ACEI,二者都不能应用再选择 ARB;而 2023 ESC 心力衰竭指南^[4]中建议首选 ACEI,而在使用 ACEI、 β -受体阻滞剂和 MRA 治疗后仍有症状的患者中再使用 ARNI 替换 ACEI^[5]。因此,在 ARNI 的使用上,欧洲指南更加谨慎,按照目前临床使用经验看,直接启动 ARNI 的安全性尚好。此外,新指南中 NYHA IV 级的患者并不优先推荐 ARNI, NYHA IV 级患者推荐 ACEI 或 ARB。LIFE 研究^[6]结果显示,与缬沙坦比较,ARNI 治疗严重 HFrEF (NYHA IV 级)患者,并不能显著降低 NT-proBNP 水平,且高血钾的

风险明显升高,与患者对 ARNI(即使是低剂量)的耐受性差有关,见表 1。

3.4 “新四联”之外治疗药物的推荐更新 在标准治疗基础上,LVEF < 45% 的心力衰竭患者应尽早加用维立西呱的 II a 类 B 推荐。2022 美国心力衰竭指南^[7]及 2023 ESC 心力衰竭指南中均指出对 NYHA II~IV 级的 LVEF \leq 45% 患者,尽管接受 GDMT,近期出现心力衰竭加重的高危患者,可考虑使用维立西呱减少心力衰竭住院和心血管死亡(II b 类 B),在推荐级别上有所不同。新指南中对于难治性心力衰竭中维立西呱的使用推荐等级更高,临床应用更加积极。在临床使用时一定需要强调适应证主要是难治性心力衰竭。

新指南中对于接受 GDMT 后仍有症状的 HFrEF 患者,建议应用地高辛,给予 II a 类 B 推荐,2023 ESC 心力衰竭指南给予 II b 类 B 推荐^[5]。《慢性心力衰竭“新四联”药物治疗临床决策路径专家共识》中强调通过血压水平而不是症状进行判断^[8],建议 HFrEF 患者收缩压小于 90 mmHg 时考虑增加地高辛。因此,新指南中地高辛的使用主要是通过患者症状决定,推荐等级更高,应用更加积极。

关于地高辛的使用,近年来一直存在争论,新指南更为积极客观,左心室扩大患者对地高辛反应更好,这是因为地高辛对于扩大的心室除增加心肌收缩力的正性肌力外,并不增加心肌耗氧量。

表 1 射血分数降低的心力衰竭药物治疗的推荐^[1]

药物种类或名称	推荐意见	推荐类别	证据级别
利尿剂	存在液体潴留证据的有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的 HFrEF 患者,推荐应用利尿剂治疗,消除液体潴留,改善心力衰竭症状,防止心力衰竭恶化	I 类	B 级
ACEI	对于既往或目前有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的 HFrEF 患者,如果不能应用 ARNI,推荐应用 ACEI,降低心力衰竭住院和死亡风险	I 类	A 级
ARNI	NYHA 心功能分级 II 级或 III 级的 HFrEF 患者,推荐应用 ARNI,降低心力衰竭住院和死亡风险	I 类	A 级
	NYHA 心功能分级 II 级或 III 级 HFrEF 患者,如果能够耐受 ACEI 或 ARB,推荐换用 ARNI,进一步降低心力衰竭住院和死亡风险	I 类	B 级
ARB	对于既往或目前有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的慢性 HFrEF 患者,如果对于 ACEI 不耐受或者不能应用 ARNI,推荐应用 ARB,降低心力衰竭住院和死亡风险	I 类	A 级
β 受体阻滞剂	对于既往或现在有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的 HFrEF 心衰,只要无禁忌证,推荐应用有循证医学研究证据的 β 受体阻滞剂(比索洛尔或美托洛尔或卡维地洛),降低心力衰竭住院和死亡风险	I 类	A 级
醛固酮受体拮抗剂	对于既往或现在有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的 HFrEF 患者,只要无禁忌证,推荐应用醛固酮受体拮抗剂,降低心力衰竭住院和死亡风险	I 类	A 级
SGLT-2 抑制剂	对于有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的 HFrEF 患者,无论是否存在糖尿病,推荐应用有循证医学证据的 SGLT-2 抑制剂(达格列净或恩格列净),降低心力衰竭住院和心血管死亡风险	I 类	A 级
维立西呱	对于有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级),近期发生过心力衰竭加重事件,LVEF < 45% 的心力衰竭患者推荐在标准治疗基础上尽早加用维立西呱,降低心血管死亡和心力衰竭住院风险	II a 类	B 级
伊伐布雷定	对于已达目标剂量或最大耐受剂量的 β 受体阻滞剂等 GDMT 后 NYHA 心功能分级 II~IV 级、LVEF \leq 35% 窦性心律、静息心率 \geq 70 次/min 患者,应该考虑应用伊伐布雷定,降低心力衰竭住院和心血管死亡风险	II a 类	B 级
	对于不能耐受或禁忌应用 β 受体阻滞剂患者,接受 GDMT 后 NYHA 心功能分级 II~IV 级、LVEF \leq 35%、窦性心律、静息心率 \geq 70 次/min 患者,应该考虑应用伊伐布雷定,降低心力衰竭住院和心血管死亡风险	II a 类	C 级
地高辛	对于应用 GDMT 后仍有症状(NYHA 心功能分级 II~IV 级)的 HFrEF 患者,应该考虑应用地高辛,降低心力衰竭住院风险,尤其是合并心房颤动伴快速心室率(>100 次/min)的患者	II a 类	B 级

4 心力衰竭并发症的治疗

4.1 心力衰竭合并 2 型糖尿病 对于 HFrEF、HFmrEF 或 HFpEF 合并 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的患者,推荐应用恩格列净、达格列净或索格列净等 SGLT-2 抑制剂,降低心力衰竭住院及心血管死亡风险 (I 类 A)。

4.2 心力衰竭合并慢性肾脏疾病 (1) SGLT-2 抑制剂在心力衰竭合并慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 患者中, 无论是否合并 T2DM, 均是 I 类 A 推荐;(2) 对于 $eGFR \geq 25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$ 且血钾 $\leq 5.0 \text{ mmol/L}$ 的症状性心力衰竭患者, 不能耐受螺内酯时, 可以考虑应用非奈利酮;(3) 对未接受透析治疗的 CKD 合并严重蛋白尿患者, 不论是否合并高血压, 均推荐应用 ACEI 或 ARB (I 类 A)。

4.3 心力衰竭合并铁缺乏 新指南中重点更新对心力衰竭患者合并铁缺乏上的治疗建议更为积极, 建议心力衰竭患者定期进行铁缺乏和贫血的筛查, 包括血常规、血清铁蛋白浓度和转铁蛋白饱和度 (I 类 C)。对于存在症状的 HFrEF 和 HFmrEF 铁缺乏的患者, 建议静脉补充铁剂作为 I 类 A 推荐用于缓解患者心力衰竭症状及改善患者生存质量。但在降低心力衰竭再住院风险方面, 静脉补充羧基麦芽糖铁等铁剂仍作为 II a 类 A 推荐。不推荐应用口服铁剂治疗心力衰竭患者的铁缺乏。心力衰竭伴有贫血的患者, 促红细胞生成素刺激因子会增加血栓栓塞风险, 且不降低心力衰竭死亡风险, 如果无其他适应证, 不推荐应用 (III 类 B)。静脉补铁治疗在 HFpEF 患者中尚缺乏数据, 有待进一步验证。2023 ESC 心力衰竭指南中也同样推荐静脉补铁用于合并铁缺乏症的 HFrEF 或 HFmrEF 患者, 二者是一致的。

4.4 心力衰竭合并心律失常 新指南着重更新了 HFrEF 合并心房颤动患者, 若高度怀疑为心律失常性心肌病, 建议行导管消融以改善心功能 (I 类 B); 提出了频发室性早搏诱导/加重心肌病应引起高度重视, 怀疑心肌病由频发且主要为单形性室性早搏所致的患者, 推荐导管消融 (I 类 C)。临床发现室性早搏超过 25%, 有可能引起心室重构, 而诱发心力衰竭, 当左心室扩大或者出现 HFrEF 时, 导管消融是比较好的选择。

4.5 心力衰竭合并瓣膜病 推荐心力衰竭和重度主动脉瓣狭窄患者行主动脉瓣介入术, 包括经导管主动脉瓣植入术或外科主动脉瓣置换术, 以降低病死率和改善症状 (I 类 B)。

5 心力衰竭的分期管理及质量控制

5.1 首次提出心力衰竭“易损期”概念及管理措施

新指南中首次提出心力衰竭“易损期”概念, 指心力衰竭住院患者在出院后 3 个月内, 发生心血管死亡或心力衰竭再住院的风险较高, 因此, 将这个时期称为心力衰竭 (出院后) 的“易损期”或急性心力衰竭和慢性心力衰竭之间的“过渡期”。同时详细介绍了“易损期”的管理措施, 包括出院前评估、出院前准备、出院后管理及早期强化治疗。

慢性心力衰竭在治疗和管理过程中, 治疗后患者症状减轻, 活动能力增加, 可以长期处于血流动力学稳定阶段。由于诱因及心脏新的损伤因素参与, 常常出现心脏功能恶化表现, 是患者就诊住院的常见原因。临床过程为血流动力学稳定期和血流动力学恶化期交替出现。血流动力学恶化严重者出现呼吸衰竭及循环衰竭, 称为急性心力衰竭, 需要按照急性心力衰竭救治。部分患者出现气短加重, 水肿加重, 活动能力下降, 称之为血流动力学恶化阶段, 需要查找引起血流动力学恶化的原因, 并有针对性的处理, 这一阶段的处理目标是稳定血流动力学, 对慢性心力衰竭血流动力学稳定阶段的治疗措施可以适当调整。

5.2 首次区分了晚期心力衰竭和终末期心力衰竭 晚期心力衰竭是指给予标准或优化的 GDMT、器械或外科治疗后患者仍然存在进行性和 (或) 持续性的严重心力衰竭症状, 常伴有反复心力衰竭住院, 体力活动严重受限, 生活质量差, 死亡率高, 需要采取进一步的干预措施, 包括左心室辅助装置或心脏移植, 治疗目的包括改善症状、提高生活质量、延长生命。

终末期心力衰竭包含在晚期心力衰竭中, 是晚期心力衰竭中更加严重的阶段, 往往伴发难以逆转的合并症, 如贫血、高度水肿、大量多浆膜腔积液 (心包腔、胸腔、腹腔)、心源性肝硬化、低蛋白血症、心源性恶液质等, 长期前向供血不足引起体温调节中枢和呼吸中枢功能失调, 出现低热、呼吸节律改变, 如潮式呼吸等, 在患者可以耐受的前提下, 可以考虑使用人工心脏及心脏移植, 但是能耐受者不多, 故以姑息治疗为主。

在临床实践中需要注意尽早识别晚期心力衰竭患者, 及早采取干预措施, 避免患者进展至终末期心力衰竭阶段。首次明确了晚期心力衰竭和终末期心力衰竭的区别和联系, 强调了要及时识别晚期心力衰竭患者, 给予更积极治疗, 避免进入终末期心力衰竭。

5.3 首次纳入了心力衰竭的医疗质量控制 首次将心力衰竭的医疗质量控制纳入心力衰竭指南, 强调了医疗质量控制对于提高我国心力衰竭整体诊疗水平的重要性。

6 心肌病和心肌炎的诊疗

新指南首次纳入了心肌病和心肌炎的诊疗。心肌病(原发性心肌病)是一组由遗传因素和(或)环境共同作用导致心肌形态(结构)和(或)功能异常的异质性心肌疾病,需要除外其他可以导致心肌上述改变的心脏疾病和全身性疾病及相关的心肌损害。心肌炎是一种由非缺血性病因引起的心肌组织局限性或弥漫性炎性疾病。首次将心肌病和心肌炎的诊疗纳入心力衰竭指南,强调了心肌病和心肌炎在心力衰竭病因中的重要地位。

综上所述,新指南根据 LVEF 对心力衰竭在原来 HFrEF、HFmrEF、HFpEF 三类基础上进行了更加详尽、细致的亚型分类。明确了 SGLT-2 抑制剂治疗慢性心力衰竭的一线地位,SGLT-2 抑制剂也是首个能降低不同射血分数的心力衰竭住院率的药物。确定了“新四联”药物在 HFrEF、HFimpEF 或 HFrecEF 治疗中的重要作用。对于心力衰竭合并 T2DM 或 CKD,明确了 SGLT-2 抑制剂在改善心力衰竭预后中的价值;在心力衰竭合并铁缺乏中,进一步证实了静脉补铁的重要价值。总之,新指南重点更新了心力衰竭的分类、分期、预防、不同心力衰竭分型的药物治疗、心力衰竭合并症管理等方面的临床推荐,内容全面,流程图详细,为心力衰竭临床治疗实践和管理提供了全面的理论指导。

参考文献

[1] 国家心血管病中心,国家心血管病专家委员会心力衰竭专业委员会,中国医师协会心力衰竭专业委员会,等. 国家心力衰竭指南 2023[J]. 中华心力衰竭和心肌病杂志,2023,7(4):215-311. DOI:

10.3760/cma.j.issn.101460-20231209-00052.

- [2] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J]. 中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.10.004.
- [3] 杨杰孚,王华,柴珂. 2018 中国心力衰竭诊断和治疗指南亮点[J]. 中国心血管病研究,2018,16(12):1057-1060. DOI:10.3969/j.issn.1672-5301.2018.12.001.
- [4] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2023 Focused update of the 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. G Ital Cardiol (Rome),2024,25(3):202-213. DOI:10.1093/eurheartj/ehad195.
- [5] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. Eur Heart J, 2021, 42(36):3599-3726. DOI:10.1093/eurheartj/ehab368.
- [6] Mann DL, Givertz MM, Vader JM, et al. Effect of treatment with sacubitril/valsartan in patients with advanced heart failure and reduced ejection fraction: A randomized clinical trial[J]. JAMA Cardiol,2022,7(1):17-25. DOI:10.1001/jamacardio.2021.4567.
- [7] Heidenreich PA, Bozkurt B, Aguilar D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines[J]. Circulation,2022,145(18):e895-e1032. DOI:10.1161/CIR.0000000000001063.
- [8] 中国医师协会心血管内科医师分会,中国心衰中心联盟,《慢性心力衰竭“新四联”药物治疗临床决策路径专家共识》工作组. 慢性心力衰竭“新四联”药物治疗临床决策路径专家共识[J]. 中国循环杂志,2022,37(8):769-781. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2022.08.003.

(收稿日期:2024-05-24)

作者·编者·读者

“诊疗指南、专家共识解读”专栏征稿

近年来,各类疾病的诊断治疗趋于规范化、标准化,相应的诊疗指南、专家共识也层出不穷,对该类临床诊疗指南及专家共识进行深度权威解读,可为国内同行提供相关参考证据,有助于临床医师更好地学习、理解并应用于临床实践,有利于规范临床诊疗活动,提高医疗服务水平。《疑难病杂志》近年组织策划了“中国专家共识”“指南解读”等栏目,邀请相关专家组织了一系列专栏文章,收到良好的效果,文章获得较高的下载率和引用率。2024 年我刊继续面向广大专家学者进行征稿,对最新修订的诊疗指南、专家共识进行解读,其内容包括:指南形成背景、指南重点内容解读、指南主要亮点等,字数 4 000 ~ 6 000 字。稿件一经专家审定,即可在《疑难病杂志》当期发表,稿酬从优,欢迎踊跃赐稿。

投稿邮箱:ynbzz@163.com

投稿系统:https://ynbz.cbpt.cnki.net

联系电话:(0311)85901735

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.002

神经系统疾病专题

血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平与急性脑梗死患者神经功能缺损的关系及对预后的预测价值

翟昱, 王芳, 沈红先, 李晓溪, 高凤娟, 倪军



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82271335)

作者单位: 210008 南京, 南京大学医学院附属鼓楼医院急诊科(翟昱、王芳、沈红先、李晓溪、高凤娟), 检验科(倪军)

通信作者: 李晓溪, E-mail: lixiaoxi0313@163.com

【摘要】目的 探讨血清长链非编码核糖核酸尿路上皮癌胚抗原 1(LncRNA UCA1)、神经元 PAS 结构域蛋白 4(NPASDP4)水平与急性脑梗死(ACI)患者神经功能缺损的关系及对预后的预测价值。**方法** 选取 2021 年 1 月—2023 年 6 月南京大学医学院附属鼓楼医院急诊科收治的 ACI 患者 163 例(ACI 组),根据美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分分为轻度($n=32$)、中度($n=73$)、重度缺损亚组($n=58$),另选取同期健康体检者 65 例作为健康对照组。根据 ACI 患者 90 d 预后分为不良预后亚组 52 例、良好预后亚组 111 例。采用实时荧光定量聚合酶链式反应与酶联免疫吸附法,检测血清 LncRNA UCA1 与 NPASDP4 水平。Spearman 相关性分析血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平与 ACI 患者 NIHSS 评分的相关性。多因素 Logistic 回归分析 ACI 患者不良预后的因素,受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 预测 ACI 患者不良预后的价值。**结果** 与健康对照组比较,ACI 组血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平升高($t/P=20.114/<0.001, 15.711/<0.001$)。血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平重度缺损亚组>中度缺损亚组>轻度缺损亚组($F/P=187.914/<0.001, 195.031/<0.001$)。ACI 患者血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平与 NIHSS 评分呈正相关($r/P=0.759/<0.001, 0.773/<0.001$)。随访 90 d,与良好预后亚组比较,不良预后亚组血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平升高($t/P=6.963/<0.001, 6.515/<0.001$)。年龄大、NIHSS 评分增加、LncRNA UCA1 和 NPASDP4 升高为 ACI 患者不良预后的独立危险因素[$OR(95\% CI)=1.107(1.043\sim 1.176), 1.098(1.049\sim 1.150), 3.479(1.941\sim 6.235), 1.959(1.398\sim 2.745)$]。血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 及二者联合预测不良预后的 AUC 分别为 0.777、0.789、0.870,二者联合大于血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 单独预测的 AUC($Z/P=3.312/0.001, 2.721/0.007$)。**结论** 血清 LncRNA UCA1 表达、NPASDP4 水平升高与 ACI 患者神经功能缺损加重和不良预后密切相关,血清 LncRNA UCA1 联合 NPASDP4 水平预测 ACI 患者不良预后的效能较高。

【关键词】 急性脑梗死;长链非编码核糖核酸尿路上皮癌胚抗原 1;神经元 PAS 结构域蛋白 4;神经功能缺损;预后

【中图分类号】 R743.3

【文献标识码】 A

Relationship between serum LncRNA UCA1 and NPASDP4 levels and neurological deficits in patients with acute cerebral infarction and their predictive value for prognosis Zhai Yu*, Wang Fang, Shen Hongxian, Li Xiaoxi, Gao Fengjuan, Ni Jun. * Department of Emergency, Nanjing University Medical School Affiliated Drum Tower Hospital, Jiangsu Province, Nanjing 210008, China

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82271335)

Corresponding author: Li Xiaoxi, E-mail: lixiaoxi0313@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between serum levels of long non coding ribonucleic acid urothelial carcinoma antigen 1(LncRNA UCA1) and neuronal PAS domain protein 4(NPADP4) and neurological dysfunction in patients with acute cerebral infarction (ACI), and their predictive value for prognosis. **Methods** A total of 163 patients with acute cerebral infarction (ACI) admitted to the Emergency Department of Nanjing University Medical School Affiliated Drum Tower Hospital from January 2021 to June 2023 (ACI group)[32 cases in mild, 73 cases in moderate, and 58 cases in severe defect subgroups, respectively] and 65 healthy individuals who underwent physical examinations during the same period (control group) were selected. ACI patients were divided into poor and good prognosis subgroups based on their 90-day prognosis, with 52 cases and 111 cases in each subgroup. Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction

and enzyme linked immunosorbent assay were used to detect the levels of serum LncRNA UCA1 and NPADP4. Spearman correlation analysis was conducted to investigate the correlation between serum LncRNA UCA1, NPADP4 levels and the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) scores of ACI patients. Multivariate logistic regression analysis was used to identify the factors contributing to poor prognosis in ACI patients, and ROC curve analysis was performed to evaluate the predictive value of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 for poor prognosis in ACI patients. **Results** Compared with the control group, the levels of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 increased in the ACI group ($t/P=20.114/ <0.001$, $15.711/ <0.001$). The levels of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 were higher in the severe defect subgroup than in the moderate defect subgroup than in the mild defect subgroup ($F/P=187.914/ <0.001$, $195.031/ <0.001$). The levels of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 in ACI patients were positively correlated with NIHSS scores ($r/P=0.759/ <0.001$, $0.773/ <0.001$). After a 90 day follow up, the incidence of poor prognosis in 163 patients with ACI was 31.90% (52/163). Compared with the good prognosis subgroup, the levels of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 were elevated in the poor prognosis subgroup ($t/P=6.963/ <0.001$, $6.515/ <0.001$). The independent risk factors for poor prognosis in ACI patients were age, increased NIHSS score, elevated LncRNA UCA1 and NPADP4 [$OR(95\% CI) = 1.107 (1.043 - 1.176)$, $1.098 (1.049 - 1.150)$, $3.479 (1.941 - 6.235)$, $1.959 (1.398 - 2.745)$]. The AUC predicted by serum LncRNA UCA1, NPADP4, and their combination were 0.777, 0.789, and 0.870, respectively. The AUC predicted by their combination was greater than that predicted by serum LncRNA UCA1 and NPADP4 alone ($Z/P=3.312/ <0.05$, $2.721/ <0.05$). **Conclusion** Elevated levels of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 are closely associated with worsening neurological deficits and poor prognosis in ACI patients. The combination of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 levels has high value in predicting poor prognosis in ACI patients.

【Key words】 Acute cerebral infarction; Long non coding ribonucleic acid urothelial carcinoma antigen 1; Neuronal PAS domain protein 4; Neurological deficit; Prognosis

卒中是我国居民脑血管疾病发生残疾和死亡的主要原因,其中急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)占有卒中病例的80%^[1-2]。尽管各种治疗策略不断优化和进步,但仍有部分患者预后较差^[3-4]。神经炎性反应和神经元损伤参与ACI发生发展^[5]。尿路上皮癌胚抗原1(urothelial carcinoma antigen 1, UCA1)是一种炎性反应相关长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA),通过靶向相关微小RNA(miRNA)发挥促进神经炎性反应的作用^[6-7]。其在ACI患者血清中表达升高^[8]。神经元PAS结构域蛋白4(neuronal PAS domain protein 4, NPASDP4)是一种转录因子,具有调节突触形成、维持神经元稳态等多种神经保护作用^[9]。实验报道,NPASDP4在大脑中动脉梗死大鼠脑组织中表达上调^[10]。然而关于血清LncRNA UCA1、NPASDP4水平与ACI患者神经功能缺损的关系及对预后的预测价值尚不清楚,基于此本研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2021年1月—2023年6月南京大学医学院附属鼓楼医院急诊科收治的ACI患者163例(ACI组),符合ACI诊断标准^[11],女52例、男111例,年龄31~85(58.32±10.12)岁;TOAST分型:不明原因型者47例,心源性栓塞者45例,大动脉闭塞型者61例,小动脉闭塞型者5例,其他原因型者5例;卒中分布:前循环者48例,后循环者115例;美国国立卫

生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale, NIHSS)评分^[12] 1~42分,中位数13(5,27)分。以NIHSS评分再分为轻度缺损亚组(NIHSS评分≤4分,32例)、中度缺损亚组(NIHSS评分5~20分,73例)、重度缺损亚组(NIHSS评分≥21分,58例)。另选取同期健康体检者65例作为健康对照组,女21例、男44例,年龄24~81(58.12±8.13)岁;2组性别和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(20201105009),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首次脑卒中;③发病至入院时间≤24h;④临床资料完备。(2)排除标准:①其他脑血管疾病,如短暂性脑缺血发作、脑出血、动脉瘤压迫、动静脉畸形、无症状性脑血管病、慢性脑缺血等;②既往脑血管疾病史;③合并双相情感障碍、癫痫、帕金森病、精神分裂症、阿尔茨海默病等神经系统疾病;④自身免疫性疾病、恶性肿瘤;⑤伴有严重心脏、肝脏、肾脏等重要器官功能损害;⑥滥用抗精神病药物史;⑦入院时有脑出血/出血倾向或严重凝血障碍。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清LncRNA UCA1、NPASDP4水平检测:于患者入院时和健康者体检时采集其空腹肘静脉血3ml,离心留取上层血清分别保存于2支试剂管中备用。1份血清利用上海奥陆生物科技有限公司提供的

TRIzol 试剂 (编号 NR0002) 提取总 RNA, 通过上海必宝生物科技有限公司提供的 Takara 试剂 (编号 R001A) 逆转录为互补 DNA, 并以此为模板, 参考 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 试剂 (武汉科昊佳生物科技有限公司, DRR041A) 说明书构建实时荧光定量聚合酶链式反应体系 (20 μ l): 模板 DNA 1 μ l、SYBR Green Master Mix (No Rox) 10 μ l、上游引物 1 μ l、下游引物 1 μ l、无菌超纯水 7 μ l; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min 1 次, 然后进行 40 次循环 (97 $^{\circ}$ C 10 s、60 $^{\circ}$ C 10 s、70 $^{\circ}$ C 30 s)。以 GAPDH 为内参, 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算血清 LncRNA UCA1 水平。LncRNA UCA1 上游引物: 5'-CATGCTTGACACTTGGTGCC-3', 下游引物: 5'-GGTCGCAGGTGGATCTCTTC-3'; GAPDH 上游引物: 5'-TGACCACAGTCCATGC-CATCAC-3', 下游引物: 5'-GCCTGCTTCACCACCTTCT-TGA-3'。另 1 份血清利用南京赛泓瑞生物科技有限公司提供的 NPASDP4 酶联免疫吸附法试剂盒 (编号 SEH526Mu03) 检测 NPASDP4 水平。

1.3.2 预后及分组: ACI 患者均参考《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[11] 接受相关治疗, 出院后通过门诊复查或电话随访 90 d, 根据改良 Rankin 量表评估神经功能缺损程度^[13], 并分为不良预后亚组 52 例 (>2 分) 和良好预后亚组 111 例 (\leq 2 分)。

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; 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* 检验或趋势方差分析, 组间两两比较使用 LSD 检验; Spearman 相关性分析血清 LncRNA UCA1 和 NPASDP4 水平与 ACI 患者 NIHSS 评分的相关性; 多因素 Logistic 回归分析 ACI 患者不良预后的影响因素; 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平对 ACI 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 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平比较 ACI 组血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平为 (3.07 \pm 1.16)、(5.48 \pm 1.96) μ g/L, 显著高于健康对照组的 (1.03 \pm 0.36)、(2.39 \pm 0.99) μ g/L, 差异有统计学意义 (*t*/P = 20.114/ < 0.001, 15.711/ < 0.001)。

2.2 3 亚组血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平比较 重度缺损亚组血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平 [(4.01 \pm 0.85)、(7.27 \pm 1.55) μ g/L] > 中度缺损亚组 [(2.96 \pm 0.80)、(5.02 \pm 1.11) μ g/L] > 轻度缺损亚组 [(1.63 \pm 0.62)、(3.30 \pm 1.15) μ g/L], 差异有统

计学意义 (*F*/*P* = 187.914/ < 0.001, 195.031/ < 0.001)。

2.3 ACI 患者 NIHSS 评分与血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平相关分析 Spearman 相关性分析结果, ACI 患者 NIHSS 评分与血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平呈正相关 (*r* = 0.759、0.773, *P* 均 < 0.001)。

2.4 不同预后 ACI 患者临床/病理资料比较 随访 90 d, 163 例 ACI 患者出现不良预后 52 例 (31.90%), 其中重度神经功能缺损 14 例、中度神经功能缺损 28 例、轻度神经功能缺损 10 例。与良好预后亚组比较, 不良预后亚组患者年龄、糖尿病占比、NIHSS 评分、LncRNA UCA1、NPASDP4 升高 (*P* < 0.05), 2 亚组患者性别、高血压、高脂血症、冠心病、心房颤动、吸烟、饮酒占比等比较, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见表 1。

2.5 ACI 患者不良预后的多因素 Logistic 回归分析 以 ACI 患者不良预后为因变量 (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: 年龄增大、NIHSS 评分增加、LncRNA UCA1 升高、NPASDP4 升高为 ACI 患者不良预后的独立危险因素 (*P* < 0.01), 见表 2。

表 2 ACI 患者不良预后的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 2 Multivariate Logistic regression analysis of adverse prognosis in ACI patients

变量	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
年龄大	0.102	0.031	11.128	0.001	1.107	1.043 ~ 1.176
糖尿病	0.728	0.682	1.140	0.286	2.071	0.544 ~ 7.883
NIHSS 评分增加	0.094	0.023	16.042	< 0.001	1.098	1.049 ~ 1.150
LncRNA UCA1 升高	1.247	0.298	17.548	< 0.001	3.479	1.941 ~ 6.235
NPASDP4 升高	0.672	0.172	15.266	< 0.001	1.959	1.398 ~ 2.745

2.6 血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平预测 ACI 患者不良预后的价值分析 绘制血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平单独与联合预测 ACI 患者不良预后的 ROC 曲线, 并计算和比较曲线下面积 (area under the curve, AUC), 结果显示血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 及二者联合预测的 AUC 分别为 0.777、0.789、0.870, 二者联合大于血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 单独预测的 AUC (*Z* = 3.312、2.721, *P* = 0.001、0.007), 见表 3 和图 1。

3 讨论

ACI 是脑血管阻塞引起特定脑区局部血流急剧减少而导致相应神经功能缺损的疾病, 其特点包括突发性言语不清、肢体无力或麻木、面部歪斜、视力模糊、意识丧失等, 严重时可危及生命^[2]。目前临床针对 ACI 主要依靠静脉溶栓和血管内治疗, 但现有治疗方法仍

表 1 不良预后亚组与良好预后亚组 ACI 患者临床/病理资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical/pathological data between poor prognosis subgroup and good prognosis subgroup of ACI patients

项 目		良好预后亚组 (n = 111)	不良预后亚组 (n = 52)	χ^2/t 值	P 值
性别 [例 (%)]	男	77 (69.37)	34 (65.38)	0.259	0.611
	女	34 (30.63)	18 (34.62)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)		56.19 \pm 10.01	62.89 \pm 8.86	4.113	<0.001
收缩压 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)		145.81 \pm 11.58	147.10 \pm 13.85	0.620	0.536
舒张压 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)		91.27 \pm 13.14	94.69 \pm 11.11	1.624	0.106
血管危险因素 [例 (%)]	高血压	53 (47.75)	32 (61.54)	2.699	0.100
	高脂血症	48 (43.24)	24 (46.15)	0.122	0.727
	糖尿病	15 (13.51)	15 (28.85)	5.543	0.019
	冠心病	9 (8.11)	4 (7.69)	0.000	1.000
	心房颤动	6 (5.41)	4 (7.69)	0.047	0.828
	吸烟	44 (39.64)	23 (44.23)	0.308	0.579
	饮酒	41 (36.94)	20 (38.46)	0.035	0.851
TOAST 分型 [例 (%)]	不明原因型	33 (29.73)	14 (26.92)	2.811	0.590
	其他原因型	3 (2.70)	2 (3.85)		
	心源性栓塞	33 (29.73)	12 (23.08)		
	大动脉闭塞型	40 (36.04)	21 (40.38)		
	小动脉闭塞型	2 (1.80)	3 (5.77)		
卒中分布 [例 (%)]	前循环	34 (30.63)	14 (26.92)	0.234	0.628
	后循环	77 (69.37)	38 (73.08)		
NIHSS 评分 ($\bar{x} \pm s$, 分)		12.59 \pm 10.71	25.13 \pm 12.56	6.222	<0.001
治疗方式 [例 (%)]	静脉溶栓	77 (69.37)	34 (65.38)	0.396	0.820
	机械取栓	19 (17.12)	11 (21.15)		
	桥接治疗	15 (13.51)	7 (13.46)		
总胆固醇 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		4.61 \pm 1.06	4.76 \pm 1.04	0.827	0.409
三酰甘油 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		1.68 \pm 0.23	1.78 \pm 0.63	1.091	0.280
高密度脂蛋白胆固醇 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		1.25 \pm 0.23	1.20 \pm 0.12	1.808	0.073
低密度脂蛋白胆固醇 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		2.86 \pm 0.71	3.03 \pm 0.54	1.563	0.120
血小板计数 ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)		238.05 \pm 83.28	225.00 \pm 36.26	1.393	0.166
白细胞计数 ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)		7.48 \pm 1.81	8.02 \pm 2.64	1.322	0.190
血红蛋白 ($\bar{x} \pm s$, g/L)		143.00 \pm 19.51	138.99 \pm 13.11	1.548	0.124
尿酸 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)		317.90 \pm 85.26	331.07 \pm 55.00	1.185	0.238
血肌酐 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)		72.10 \pm 17.45	77.54 \pm 19.72	1.778	0.077
LncRNA UCA1 ($\bar{x} \pm s$)		2.69 \pm 0.98	3.89 \pm 1.10	6.963	<0.001
NPASDP4 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)		4.87 \pm 1.80	6.78 \pm 1.64	6.515	<0.001

表 3 血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平对 ACI 患者不良预后的预测价值

Tab. 3 The predictive value of serum LncRNA UCA1 and NPADP4 levels for adverse prognosis in ACI patients

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
LncRNA UCA1	3.12	0.777	0.705 ~ 0.838	0.846	0.532	0.378
NPASDP4	5.09 $\mu\text{g/L}$	0.789	0.718 ~ 0.849	0.769	0.645	0.414
二者联合		0.870	0.808 ~ 0.917	0.808	0.811	0.619

然难以完全恢复已经损伤的神经功能,部分患者常遗留严重的功能障碍,面临高残疾和高死亡风险^[14]。因此早期评估 ACI 患者神经功能缺损程度和预后,对指导临床制定个体化治疗方案、康复计划及促进预后改善具有重要意义。

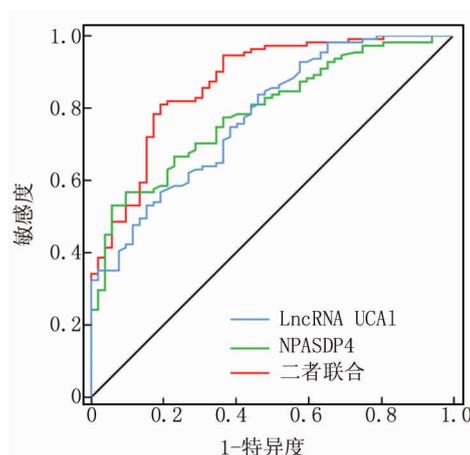


图 1 血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平预测 ACI 患者不良预后的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of predicting poor prognosis in ACI patients based on serum LncRNA UCA1 and NPADP4 levels

目前研究认为,炎症反应在 ACI 发生及发展过程中发挥至关重要的作用,炎症反应不仅能促进动脉粥样硬化斑块、血栓形成导致 ACI 发生,还能损害神经系统功能导致神经功能缺损加重和预后不良^[5]。LncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA,能作为竞争性内源性 RNA 与 miRNA 竞争结合,通过调控炎症反应等参与 ACI 进展^[15]。LncRNA UCA1 定位于人染色体 19p13.12 处,是最早在膀胱移行细胞癌中发现的 LncRNA,近年研究发现 LncRNA UCA1 不仅能作为癌基因参与恶性肿瘤发生发展过程,还在炎症反应中发挥重要作用^[16]。帕金森病大鼠脑中 LncRNA UCA1 高表达,下调 LncRNA UCA1 能抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路,减轻神经炎症反应和损伤^[17];敲低 LncRNA UCA1 能靶向 miR-671-5p/核转运蛋白亚基 $\alpha 4$ 通路,抑制神经元炎症反应和凋亡^[18]。这说明 LncRNA UCA1 参与神经炎症反应过程。LncRNA UCA1 在脑缺血缺氧细胞中表达上调,抑制 LncRNA UCA1 能靶向 miR-18a/Y 染色体性别决定区-盒转录因子 6 减轻神经元缺氧损伤^[19]。最近 Yan 等^[8]报道 ACI 患者血清 LncRNA UCA1 水平升高。因此推测血清 LncRNA UCA1 水平可能影响 ACI 患者神经功能缺损和预后。本研究结果显示,血清 LncRNA UCA1 水平升高会加重 ACI 患者神经功能缺损和增加不良预后风险。可能的原因如下:LncRNA UCA1 能促进炎症反应信号通路(如磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B)增强,加剧神经系统炎症反应^[17],并靶向下调 miR-18a-5p 促进神经炎症反应和神经细胞凋亡,进而导致神经功能缺损加重和预后不良^[8];LncRNA UCA1 能增强半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 等凋亡蛋白表达,诱导更多的神经细胞凋亡,最终导致病情加重和预后不良^[20]。

NPASDP4 是 bHLH-PAS (basic helix-loop-helix/Per-ARNT-SIM) 蛋白家族的一种活性依赖性转录因子,主要表达于调节记忆、情绪、行为、新功能和嗅觉的神经区域,在正常未受刺激的大脑中 NPASDP4 呈低水平表达,但当神经元受到刺激、损伤后,NPASDP4 可以被大量驱动表达,并通过神经元细胞类型特异性方式调节抑制性和兴奋性突触形成、控制脑源性神经营养因子表达等,维持神经系统稳定性^[9]。氯化钴诱导神经元损伤模型中,NPASDP4 过表达能保护神经细胞免受内源性和外源性神经毒素侵害,以维持神经元存活^[21]。敲除缺血性脑损伤小鼠神经元 NPASDP4 基因,可导致神经胶质细胞活化并释放炎症因子,促进神经系统炎症反应和神经元凋亡^[22]。这些研究表明

NPASDP4 具有重要的神经保护作用。最近 Xu 等^[23]研究指出,血清 NPASDP4 水平升高与 ACI 患者认知功能障碍发生有关。然而关于血清 NPASDP4 与 ACI 患者神经功能缺损和预后的关系尚未可知。本研究结果显示,血清 NPASDP4 水平升高会加重 ACI 患者神经功能缺损和增加不良预后风险。可能的原因如下,血清 NPASDP4 水平升高的机制是针对 ACI 患者神经系统损害的一种代偿反应,以通过维持神经元间信号传递、营养神经和抑制神经炎症反应等机制发挥重要的神经保护作用,故血清 NPASDP4 水平升高说明 ACI 患者神经系统损伤更严重,预后更差^[24-25]。

本研究还发现,高龄 ACI 患者不良预后风险更高,考虑与该类患者伴有多种基础疾病且身体状态较差有关^[26-27]。ROC 曲线显示,血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 联合预测 ACI 患者不良预后的 AUC 大于血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平单独预测。这说明检测血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 可以更准确地预测 ACI 患者预后。

综上,ACI 患者血清 LncRNA UCA1、NPASDP4 水平升高,与神经功能缺损程度和不良预后有关,血清 LncRNA UCA1 联合 NPASDP4 水平对 ACI 患者不良预后具有较高的预测价值。但本研究结果仍需多中心研究验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

翟昱:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王芳:提出研究思路,论文审核;沈红光:实施研究过程,数据收集,分析整理;李晓溪:数据收集,进行统计学分析;高凤娟:实施研究过程,进行文献调研与整理;倪军:论文修改

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]. 中国介入心脏病学杂志,2023,31(7):485-508. DOI:10.3969/j.issn.1004-8812.2023.07.002.
- [2] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等.缺血性卒中基层诊疗指南(2021 年)[J]. 中华全科医师杂志,2021,20(9):927-946. DOI:10.3760/cma.j.cn114798-20210804-00590.
- [3] 中国医师协会神经内科医师分会脑血管病专家组.急性缺血性卒中替奈普酶静脉溶栓治疗中国专家共识[J]. 中国神经精神疾病杂志,2022,48(11):641-651. DOI:10.3969/j.issn.1002-0152.2022.11.001.
- [4] 中国卒中学会,中国卒中学会神经介入分会,中华预防医学会卒中预防与控制专业委员会介入学组.急性缺血性卒中血管内治疗中国指南 2023[J]. 中国卒中杂志,2023,18(6):684-711. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2023.06.010.
- [5] 凌霄辉,许文杰,秦勇,等.急性脑梗死患者血清 miR-22-3p、NL-TP3 水平与炎症因子及预后不良的关系[J]. 疑难病杂志,2024,

- 23(1):86-92. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2024.01.015.
- [6] 曾名望,钟瑞蓬,蓝青海,等.非编码 RNA 在缺血性脑卒中的作用机制研究进展[J].中风与神经疾病杂志,2022,39(12):1133-1136. DOI:10.19845/j.cnki.zfysjbjzz.2022.0285.
- [7] Wu B,Zhou X. LncRNA UCA1 could regulate the progression of neuropathic pain by regulating miR-135a-5p[J]. Mutat Res,2023,827:111833. DOI:10.1016/j.mrfmmm.2023.111833.
- [8] Yan J,Gao Y,Huang J,et al. Loss of lncRNA UCA1 ameliorates the injury managed by cerebral ischemia-reperfusion by sponging miR-18a-5p[J]. Folia Neuropathol,2023,61(1):77-87. DOI:10.5114/fn.2022.122497.
- [9] 曾宁,李才正,夏勇,等.胞磷胆碱钠片联合电脑认知功能系统训练对脑卒中认知功能障碍患者血清 NPAS4、 γ -GGT 及 ICAM-1 的影响[J].临床和实验医学杂志,2022,21(22):2359-2363. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2022.22.003.
- [10] Takahashi H,Asahina R,Fujioka M,et al. Ras-like gem GTPase induced by Npas4 promotes activity-dependent neuronal tolerance for ischemic stroke[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2021,118(32):e2018850118. DOI:10.1073/pnas.2018850118.
- [11] 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.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.
- [12] Lyden P,Brott T,Tilley B,et al. Improved reliability of the NIH stroke scale using video training. NINDS TPA stroke study group[J]. Stroke,1994,25(11):2220-2226. DOI:10.1161/01.str.25.11.2220.
- [13] 张磊,刘建民.改良 Rankin 量表[J].中华神经外科杂志,2012,28(5):512.
- [14] 刘小蒙,李俊玉,何威,等.急诊急性缺血性脑卒中患者短期预后预测模型的构建及效能评估[J].中华急诊医学杂志,2024,33(1):51-58. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2024.01.009.
- [15] 郑继青,刘云,龙耀斌,等.lncRNA 介导 ceRNA 调控网络作用于缺血性脑卒中的研究进展[J].中华神经医学杂志,2021,20(11):1160-1166. DOI:10.3760/cma.j.cn115354-20210111-00023.
- [16] 王思宇,王宇.lncRNA UCA1 和 miRNAs 在消化系统肿瘤中的作用机制研究进展[J].解放军医学杂志,2021,46(12):1232-1238. DOI:10.11855/j.issn.0577-7402.2021.12.10.
- [17] Cai L,Tu L,Li T,et al. Downregulation of lncRNA UCA1 ameliorates the damage of dopaminergic neurons, reduces oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease through the inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol,2019,10(75):105734. DOI:10.1016/j.intimp.2019.105734.
- [18] Hao Z,Dang W,Zhu Q,et al. Long non-coding RNA UCA1 regulates MPP⁺-induced neuronal damage through the miR-671-5p/KPNA4 pathway in SK-N-SH cells[J]. Metab Brain Dis,2023,38(3):961-972. DOI:10.1007/s11011-022-01118-x.
- [19] Tian J,Xu H,Chen G,et al. Roles of lncRNA UCA1-miR-18a-SOX6 axis in preventing hypoxia injury following cerebral ischemia[J]. Int J Clin Exp Pathol,2017,10(8):8187-8198.
- [20] Lu M,Sun WL,Shen J,et al. LncRNA-UCA1 promotes PD development by upregulating SNCA[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(22):7908-7915. DOI:10.26355/eurrev_201811_16417.
- [21] Kasai S,Li X,Torii S,et al. Direct protein-protein interaction between Npas4 and IPAS mutually inhibits their critical roles in neuronal cell survival and death[J]. Cell Death Discov,2021,7(1):300. DOI:10.1038/s41420-021-00690-y.
- [22] Choy FC,Klaric TS,Leong WK,et al. Reduction of the neuroprotective transcription factor Npas4 results in increased neuronal necrosis, inflammation and brain lesion size following ischaemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2016,36(8):1449-1463. DOI:10.1177/0271678X15606146.
- [23] Xu Z,Weng X,Cao L,et al. Correlation analysis of serum 3-NT, NPASDP-4, and S100 β protein levels with cognitive function in patients diagnosed with cerebral infarction[J]. Altern Ther Health Med,2024,30(4):54-59.
- [24] Ke W,Zhang W,Chen M,et al. Advances in an immediate-early gene Npas4: Synaptic plasticity and associated neurological disorders[J]. Minerva Med,2023,7(24):08743. DOI:10.23736/S0026-4806.23.08743-8.
- [25] 李泽新,庞永斌.血清神经元特异性烯醇化酶神经元 PAS 结构域蛋白 4 谷氨酰转移酶及 S100 β 蛋白水平与急性脑卒中患者认知功能障碍的关联性分析[J].山西医药杂志,2021,50(7):1108-1111. DOI:10.3969/j.issn.0253-9926.2021.07.022.
- [26] 李波,徐世成,赵安容,等.颅内大动脉粥样硬化型急性脑梗死患者血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达与颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度的关系[J].疑难病杂志,2023,22(6):600-606. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.008.
- [27] 田广益,张中涛,李国龙,等.高脂血症合并急性脑梗死动脉粥样硬化患者 CT 血管造影影像表现及与临床症状和病情相关性[J].临床误诊误治,2023,36(9):95-101. DOI:10.3969/j.issn.1002-3429.2023.09.020.

(收稿日期:2024-05-22)

作者·编者·读者

撤稿声明

卢琳,何杰,李培培等在《疑难病杂志》2020 年第 8 期发表的论文“达格列净联合二甲双胍治疗肥胖 2 型糖尿病合并 OSAS 疗效及安全性的 Meta 分析”,经核查其中的数据存在严重错误,作者和课题组提出撤稿申请,现予以撤稿。

《疑难病杂志》编辑部
2024 年 9 月 18 日

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.003

神经系统疾病专题

急性缺血性脑卒中患者血清 TSG-6、ABCA1 预测溶栓后出血转化的价值及与短期预后的关系

陈慧昱, 鄂盈, 任鲜卉, 卫婧雅, 魏瑾



基金项目: 陕西省卫生健康委卫生健康科研项目(2022D0014)

作者单位: 710032 西安, 空军军医大学第一附属医院检验科(陈慧昱、魏瑾), 病理科(鄂盈), 神经内科(任鲜卉、卫婧雅)

通信作者: 魏瑾, E-mail: 471150590@qq.com

【摘要】 目的 急性缺血性脑卒中(AIS)患者血清肿瘤坏死因子 α 刺激基因6(TSG-6)、ATP结合盒亚家族A成员1(ABCA1)预测溶栓后出血转化(HT)的价值及与短期预后的关系。方法 选取2021年1月—2023年10月空军军医大学第一附属医院神经内科接受静脉溶栓的AIS患者185例(AIS组)和同期健康体检者100例(健康对照组), AIS患者根据溶栓后是否发生HT分为HT亚组56例和非HT亚组129例, 根据溶栓后3个月改良Rankin量表(mRS)评分分为不良预后亚组47例和良好预后亚组138例。采用酶联免疫吸附法检测血清TSG-6、ABCA1水平; 多因素Logistic回归分析AIS患者溶栓后HT的影响因素, Pearson法分析血清TSG-6、ABCA1水平与AIS患者mRS评分的相关性, 受试者工作特征(ROC)曲线分析二者对AIS患者溶栓后HT的预测价值。结果 与健康对照组比较, AIS组血清TSG-6水平升高, ABCA1水平降低($t/P=12.178/ <0.001, 25.944/ <0.001$)。185例AIS患者溶栓后HT发生率为30.27%(56/185)。与非HT亚组比较, HT亚组血清TSG-6水平升高, ABCA1水平降低($t/P=7.607/ <0.001, 6.784/ <0.001$)。随访3个月, 185例AIS患者溶栓后预后不良发生率为25.41%(47/185)。与良好预后亚组比较, 不良预后亚组血清TSG-6水平升高, ABCA1水平降低($t/P=6.876/ <0.001, 6.470/ <0.001$)。AIS患者mRS评分与血清TSG-6水平呈正相关($r/P=0.693/ <0.001$), 与ABCA1水平呈负相关($r/P=-0.671/ <0.001$)。美国国立卫生研究院卒中量表评分(NIHSS)增加、心源性栓塞、TSG6升高为AIS患者溶栓后HT的独立危险因素[OR(95%CI)=1.071(1.023~1.121)、2.907(1.077~7.845)、2.075(1.466~2.938)], ABCA1升高为保护因素[OR(95%CI)=0.900(0.858~0.945)]。血清TSG-6、ABCA1水平及二者联合预测AIS患者溶栓后HT的AUC分别为0.802、0.786、0.880, 二者联合的AUC大于血清TSG-6、ABCA1水平单独预测($Z/P=3.161/0.002, 3.298/0.001$)。结论 AIS患者血清TSG-6水平升高和ABCA1水平降低, 与溶栓后HT发生和短期预后不良相关, 血清TSG-6、ABCA1水平联合对AIS患者溶栓后HT的预测价值较高。

【关键词】 急性缺血性脑卒中; 肿瘤坏死因子 α 刺激基因6; ATP结合盒亚家族A成员1; 出血转化; 短期预后**【中图分类号】** R743.3 **【文献标识码】** A

The value of serum TSG-6 and ABCA1 in predicting hemorrhagic transformation after thrombolysis and its relationship with short term prognosis in patients with acute ischemic stroke Chen Huiyu*, E Ying, Ren Xianhui, Wei Jingya, Guo Jin. *Department of Laboratory, The First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Shaanxi Province, Xi'an 710032, China

Funding program: Shaanxi Provincial Health Commission Health Research Project (2022D0014)

Corresponding author: Guo Jin, E-mail: 471150590@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the value of serum tumor necrosis factor α stimulated gene 6(TSG-6) and ATP binding cassette subfamily A member 1(ABCA1) in predicting hemorrhagic transformation (HT) after thrombolysis and their relationship with short term prognosis in patients with acute ischemic stroke (AIS). **Methods** From January 2021 to October 2023, 185 patients with AIS who received intravenous thrombolysis in the Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University (AIS group) and 100 healthy subjects (control group) were selected. AIS patients were divided into HT subgroup (56 cases) and non-HT subgroup (129 cases) according to whether HT occurred after thrombolysis. According to the modified Rankin scale (mRS) at 3 months after thrombolysis, AIS patients were divided into poor prognosis subgroup (47 cases) and good prognosis subgroup (138 cases). Serum TSG-6 and ABCA1 levels were detected by en-

zyme linked immunosorbent assay. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the factors of HT after thrombolysis in AIS patients. Pearson method and ROC curve were used to analyze the correlation between serum TSG-6, ABCA1 levels and mRS score of AIS patients and their predictive value for HT after thrombolysis in AIS patients. **Results**

Compared with the control group, the serum TSG-6 level in the AIS group increased and the ABCA1 level decreased ($t/P=12.178/ <0.001$, $25.944/ <0.001$). The incidence of HT in 185 AIS patients after thrombolysis was 30.27% (56/185). Compared with the non-HT subgroup, the serum TSG-6 level was increased and the ABCA1 level was decreased in the HT subgroup ($t/P=7.607/ <0.001$, $6.784/ <0.001$). After 3 months of follow up, the incidence of poor prognosis after thrombolysis in 185 AIS patients was 25.41 % (47/185). Compared with the good prognosis subgroup, the serum TSG-6 level was increased and the ABCA1 level was decreased in the poor prognosis subgroup ($t/P=6.876/ <0.001$, $6.470/ <0.001$). The mRS score of AIS patients was positively correlated with serum TSG-6 level and negatively correlated with ABCA1 level ($r/P=0.693/ <0.001$, $-0.671/ <0.001$). Increased National Institutes of Health Stroke Scale score, cardiogenic embolism, and elevated TSG6 were independent risk factors for HT in AIS patients after thrombolysis, and elevated ABCA1 was a protective factor [OR (95% CI) = 1.071(1.023 - 1.121), 2.907(1.077 - 7.845), 2.075(1.466 - 2.938), 0.900(0.858 - 0.945)]. The AUC of serum TSG-6, ABCA1 levels and the combination of the two in predicting HT after thrombolysis in AIS patients were 0.802, 0.786 and 0.880, respectively. The AUC of the combination of the two was greater than that of serum TSG-6 and ABCA1 levels alone ($Z/P=3.161/0.002$, $3.298/0.001$). **Conclusion** The increase of serum TSG-6 level and the decrease of ABCA1 level in AIS patients are related to the occurrence of HT and poor short term prognosis. The combination of serum TSG-6 and ABCA1 levels has a higher predictive value for HT after thrombolysis in AIS patients.

【Key words】 Acute ischemic stroke; Tumor necrosis factor alpha stimulated gene 6; Adenosine triphosphate binding cassette subfamily A member 1; Hemorrhagic transformation; Short term prognosis

急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 是最常见的残疾和死亡原因之一^[1-2]。近年来随着静脉溶栓治疗策略不断优化, AIS 患者预后得到极大改善, 但溶栓后出血转化 (hemorrhagic transformation, HT) 仍然严重威胁其生命安全^[3]。神经炎性反应介导的血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 破坏是 HT 的重要原因^[4]。肿瘤坏死因子 α 刺激基因 6 (tumor necrosis factor- α stimulated gene 6, TSG-6) 是一种分泌蛋白, 通过结合透明质酸抑制炎症反应^[5]。实验报道, TSG-6 在大脑中动脉闭塞小鼠脑组织、外周血单核细胞和血浆中升高^[6]。ATP 结合盒亚家族 A 成员 1 (ATP binding cassette subfamily A member 1, ABCA1) 是一种细胞膜蛋白, 通过结合载脂蛋白调节信号通路抑制炎症反应^[7]。研究表明, ABCA1 基因多态性与中国汉族人群 AIS 易感性降低有关^[8]。然而, 关于血清 TSG-6、ABCA1 与 AIS 患者溶栓后 HT 和短期预后的关系报道较少, 文章对其进行研究, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 1 月—2023 年 10 月在空军军医大学第一附属医院神经内科接受静脉溶栓的 AIS 患者 185 例 (AIS 组), 符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[9] 标准。其中女 68 例、男 117 例; 年龄 31 ~ 80 (59.08 \pm 10.00) 岁; 饮酒史 47 例, 吸烟史 60 例; 心房颤动 35 例, 冠心病 42 例, 糖尿病 88 例, 高血压 123 例, 高脂血症 49 例; TOAST 分型: 心源性栓塞

57 例, 大动脉闭塞型 62 例, 小动脉闭塞型 3 例, 不明原因型 58 例, 其他原因型 5 例; 抗血栓治疗: 他汀类药物 27 例, 抗凝药物 5 例, 双联抗血小板聚集药物 11 例, 单联抗血小板聚集药物 24 例。另选择同期健康体检者 100 例作为健康对照组, 女 37 例, 男 63 例, 年龄 23 ~ 77 (58.82 \pm 8.31) 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 (20201206008), 入选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首次脑卒中; ③接受重组组织型纤溶酶原激活剂静脉溶栓, 具备相关适应证 (如时间窗 ≤ 4.5 h、有 AIS 导致的神经缺损症状等)^[10]; ④资料完整。(2) 排除标准: ①合并动脉瘤压迫、动静脉畸形、无症状性脑血管病、慢性脑缺血等其他脑血管疾病; ②既往脑血管疾病史; ③入院时有脑出血、出血倾向或严重凝血障碍; ④合并双相情感障碍、癫痫、帕金森病等神经系统疾病; ⑤伴有严重心脏、肝脏、肾脏等重要器官功能损害; ⑥静脉溶栓禁忌证 (如孕产妇、近 3 个月内颅内或椎管内手术、近 2 周有大型外科手术、主动脉夹层、48 h 内使用抗凝药物、严重低血糖或高血糖等)^[10]; ⑦自身免疫性疾病、恶性肿瘤。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 TSG-6、ABCA1 水平检测: 于 AIS 患者入院时和健康者体检时采集其肘静脉血 3 ml, 离心留取

上层血清待测,使用武汉华美生物工程有限公司 CUS-ABIO[®]提供的 TSG-6 酶联免疫吸附法试剂盒(批号 CSB-E17373r)和南京森贝伽生物科技有限公司提供的 ABCA1 酶联免疫吸附法试剂盒(批号 SBJ-H1086)检测 TSG-6、ABCA1 水平。

1.3.2 AIS 患者溶栓后 HT 判定及预后分组:AIS 患者溶栓后根据是否发生 HT 分为 HT 亚组 56 例和非 HT 亚组 129 例。HT 定义为 AIS 后头颅 CT/MR 未发现出血,但溶栓后 48 h 内发现颅内出血^[11]。患者出院后随访 3 个月,根据预后情况分为不良预后亚组 47 例和良好预后亚组 138 例。不良预后定义为改良 Rankin 量表(modified Rankin scale, mRS)评分(总分 0~6 分,得分越高功能越差或死亡)≥3 分^[12]。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 软件统计分析数据和 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;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;多因素 Logistic 回归分析 AIS 患者溶栓后 HT 的影响因素;Pearson 法分析血清 TSG-6、ABCA1 水平与 AIS 患者 mRS 评分的相关性;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 TSG-6、ABCA1 对 AIS 患者溶栓后 HT 的预测价值,DeLong 检验比较血清 TSG-6、ABCA1 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 TSG-6、ABCA1 水平比较 与健康对照组比较,AIS 组患者血清 TSG-6 水平升高,ABCA1 水平降低,差异有统计学意义(P<0.01),见表 1。

表 1 健康对照组、AIS 组血清 TSG-6、ABCA1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of serum TSG-6 and ABCA1 levels between healthy control group and AIS group

组 别	例数	TSG-6($\mu\text{g/L}$)	ABCA1(ng/L)
健康对照组	100	6.87 \pm 2.12	194.03 \pm 7.30
AIS 组	185	9.84 \pm 1.63	164.77 \pm 11.70
<i>t</i> 值		12.178	25.944
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 非 HT 亚组和 HT 亚组血清 TSG-6、ABCA1 水平比较 与非 HT 亚组比较,HT 亚组患者血清 TSG-6 水平升高,ABCA1 水平降低,差异有统计学意义(P<0.01),见表 2。

2.3 不同预后 AIS 患者血清 TSG-6、ABCA1 水平比较 与良好预后亚组比较,不良预后亚组血清 TSG-6 水平升高,ABCA1 水平降低,差异有统计学意义(P<

0.01),见表 3。

表 2 非 HT 亚组和 HT 亚组 AIS 患者血清 TSG-6、ABCA1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of serum TSG-6 and ABCA1 levels between non HT and HT subgroups of AIS patients

组 别	例数	TSG-6($\mu\text{g/L}$)	ABCA1(ng/L)
非 HT 亚组	129	9.31 \pm 1.45	168.22 \pm 10.72
HT 亚组	56	11.04 \pm 1.37	156.83 \pm 9.92
<i>t</i> 值		7.607	6.784
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

表 3 良好预后亚组、不良预后亚组 AIS 患者血清 TSG-6 水平升高、ABCA1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of serum TSG-6 levels and ABCA1 levels in AIS patients between the good prognosis subgroup and the poor prognosis subgroup

组 别	例数	TSG-6($\mu\text{g/L}$)	ABCA1(ng/L)
良好预后亚组	138	9.40 \pm 1.49	167.75 \pm 10.77
不良预后亚组	47	11.08 \pm 1.34	156.27 \pm 10.00
<i>t</i> 值		6.876	6.470
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.4 非 HT 亚组和 HT 亚组 AIS 患者临床/病理特点比较 185 例 AIS 患者溶栓后出现 HT 56 例,HT 发生率为 30.27%(56/185)。与非 HT 亚组比较,HT 亚组年龄更大,心房颤动比例、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、心源性栓塞比例升高,差异有统计学意义(P<0.05);2 亚组患者性别、饮酒史、吸烟史、血压、冠心病、糖尿病、高血压、高脂血症等资料比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表 4。

2.5 不同预后 AIS 患者血清 TSG-6、ABCA1 水平与 mRS 评分的相关性 随访 3 个月,185 例 AIS 患者溶栓后预后不良 47 例,不良预后发生率为 25.41%(47/185),mRS 评分 1~6(2.42 \pm 0.89)分。Pearson 相关性分析显示,血清 TSG-6 水平与 AIS 患者 mRS 评分呈正相关,与 ABCA1 水平呈负相关($r=0.693$ 、 -0.671 , P 均<0.001)。

2.6 AIS 患者溶栓后 HT 的多因素 Logistic 回归分析 以溶栓后 HT(是/否=1/0)为因变量,表 4 有差异项目[年龄、心房颤动(是/否=1/0)、NIHSS 评分、心源性栓塞(是/否=1/0)、TSG6 及 ABCA1(连续变量均原值录入)]为自变量,进行 Logistic 回归分析。结果显示:NIHSS 评分增加、心源性栓塞、TSG6 升高 AIS 患者溶栓后 HT 的独立危险因素,ABCA1 升高为独立保护因素(P<0.05),见表 5。

表 4 非 HT 亚组和 HT 亚组 AIS 患者临床/病理特点比较

Tab. 4 Comparison of clinical/pathological characteristics between non HT subgroup and HT subgroup AIS patients

项 目	非 HT 亚组 (n = 129)	HT 亚组 (n = 56)	χ^2/t 值	P 值
性别 [例 (%)]			0.276	0.599
男	80 (62.02)	37 (66.07)		
女	49 (37.98)	19 (33.93)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	57.76 ± 10.09	62.11 ± 9.20	2.764	0.006
饮酒史 [例 (%)]	30 (23.26)	17 (30.36)	1.039	0.308
吸烟史 [例 (%)]	39 (30.23)	21 (37.50)	0.941	0.332
收缩压 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)	145.30 ± 12.50	145.98 ± 14.56	0.323	0.747
舒张压 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)	92.02 ± 13.34	94.84 ± 10.94	1.389	0.166
NIHSS 评分 ($\bar{x} \pm s$, 分)	10.35 ± 4.91	19.70 ± 9.19	8.989	<0.001
病史 [例 (%)]				
心房颤动	18 (13.95)	17 (30.36)	6.850	0.009
冠心病	26 (20.16)	16 (28.57)	1.576	0.209
糖尿病	60 (46.51)	28 (50.00)	0.191	0.662
高血压	82 (63.57)	41 (73.21)	1.631	0.202
高脂血症	32 (24.81)	17 (30.36)	0.618	0.432
TOAST 分型 [例 (%)]			13.155	0.011
心源性栓塞	30 (23.26)	27 (48.21)	11.410	0.001
大动脉闭塞型	49 (37.98)	13 (23.21)	3.823	0.051
小动脉闭塞型	2 (1.55)	1 (1.79)	-	1.000
不明原因型	43 (33.33)	15 (26.79)	0.778	0.378
其他原因型	5 (3.88)	0	1.000	0.317
抗血栓治疗 [例 (%)]				
他汀类药物	19 (14.73)	8 (14.29)	0.006	0.938
抗凝药物	2 (1.55)	3 (5.36)	0.948	0.330
双联抗血小板聚集药物	6 (4.65)	5 (8.93)	0.627	0.428
单联抗血小板聚集药物	19 (14.73)	5 (8.93)	1.164	0.281
FPG ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	7.63 ± 2.96	7.71 ± 3.31	0.163	0.871
Hb ($\bar{x} \pm s$, g/L)	142.05 ± 19.00	138.84 ± 12.95	1.332	0.251
WBC ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	7.55 ± 3.18	8.04 ± 3.65	0.920	0.359
PLT ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	230.45 ± 84.72	224.92 ± 78.20	0.417	0.677
TC ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.49 ± 1.10	4.69 ± 1.04	1.174	0.242
TG ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.68 ± 0.23	1.76 ± 0.63	0.928	0.357
LDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.25 ± 0.26	1.21 ± 0.12	1.525	0.129
HDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.82 ± 0.73	2.97 ± 0.56	1.498	0.137
UA ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	316.06 ± 134.20	329.24 ± 124.28	0.627	0.531
SCr ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	74.45 ± 27.34	78.89 ± 29.03	0.996	0.321
NEUT ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	5.74 ± 0.49	5.58 ± 1.81	0.900	0.368
LYC ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	2.03 ± 0.89	1.86 ± 0.73	1.257	0.210

表 5 AIS 患者溶栓后 HT 的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5 Multivariate Logistic regression analysis of HT in AIS patients after thrombolysis

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄增加	0.636	0.443	2.063	0.151	1.889	0.793 ~ 4.500
心房颤动	0.770	0.588	1.717	0.190	2.161	0.682 ~ 6.841
NIHSS 评分增加	0.069	0.023	8.593	0.003	1.071	1.023 ~ 1.121
心源性栓塞	1.067	0.507	4.437	0.035	2.907	1.077 ~ 7.845
TSG6 升高	0.730	0.177	16.944	<0.001	2.075	1.466 ~ 2.938
ABCA1 升高	-0.105	0.025	18.272	<0.001	0.900	0.858 ~ 0.945

2.7 血清 TSG-6、ABCA1 水平对 AIS 患者溶栓后 HT 的预测价值 绘制血清 TSG-6、ABCA1 水平单独与联合预测 AIS 患者溶栓后 HT 的 ROC 曲线,并计算和比

较 AUC。结果显示:血清 TSG-6、ABCA1 水平及二者联合预测 AIS 患者溶栓后 HT 的 AUC 分别为 0.802、0.786、0.880,二者联合的 AUC 大于血清 TSG-6、ABCA1 水平单独预测,差异有统计学意义 ($Z = 3.161$ 、 3.298 , $P = 0.002$ 、 0.001),见表 6、图 1。

表 6 血清 TSG-6、ABCA1 水平对 AIS 患者溶栓后 HT 的预测价值

Tab. 6 The predictive value of serum TSG-6 and ABCA1 levels for HT in AIS patients after thrombolysis

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
TSG-6	10.58 $\mu\text{g/L}$	0.802	0.737 ~ 0.856	0.643	0.806	0.449
ABCA1	160.77 ng/L	0.786	0.720 ~ 0.843	0.875	0.581	0.456
二者联合		0.880	0.824 ~ 0.924	0.839	0.806	0.646

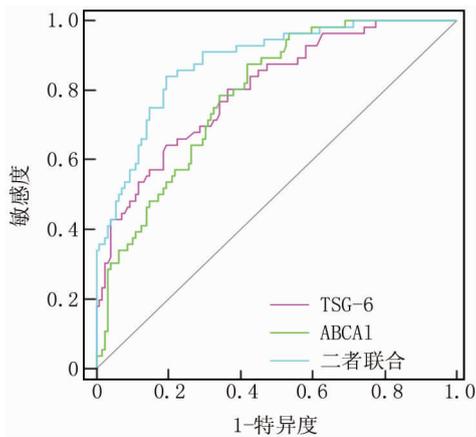


图 1 血清 TSG-6、ABCA1 水平预测 AIS 患者溶栓后 HT 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curves of serum TSG-6 and ABCA1 levels predicting HT in AIS patients after thrombolysis

3 讨论

AIS 是由于脑血管突发性阻塞导致大脑区域缺血和缺氧而引起的疾病,以突发性言语不清、肢体无力或麻木、面部歪斜、视力模糊、意识丧失等为主要临床表现^[9]。虽然时间窗内静脉溶栓能快速溶解血栓以恢复受阻血流,但部分患者因病理过程持续进展,加之溶栓药物发挥抗血栓作用的同时也能激活凝血级联反应和损伤 BBB,导致 HT 发生,HT 可使已恢复的神经功能再次恶化,增加残疾/死亡风险^[13]。本研究 AIS 患者溶栓后 HT 发生率为 30.27%,与张立娜等^[14]报道的 34.13% 相近,这说明 AIS 患者溶栓后 HT 发生率较高。早期、准确地预测 AIS 患者溶栓后 HT,对降低 HT 发生、挽救患者神经功能和改善预后意义重大。

神经炎症反应是 AIS 发生发展的重要病理机制,脑缺血引起的细胞损伤能释放炎症介质,刺激血管内皮细胞、胶质细胞、巨噬细胞等活化,导致更多的炎症介质被释放,加剧神经功能缺损程度,同时神经炎症反应能通过破坏血管内皮细胞功能和促进细胞外基质降解等破坏 BBB,使恢复的血流从破坏的 BBB 进入脑组织导致 HT^[4,11]。TSG-6 是主要由巨噬细胞、纤维母细胞、滑膜细胞、间充质干细胞等产生的一种炎症反应诱导蛋白,在正常组织或细胞中呈低表达,当存在炎症反应时被大量诱导表达,TSG-6 能通过结合细胞表面的 CD44 等透明质酸,抑制炎症细胞向炎症反应部位迁移和抑制 Toll 样受体/核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路活性,进而抑制炎症反应发展^[5]。实验报道,肿瘤坏死因子- α 诱导骨髓间充质干细胞 TSG-6 分泌,能抑制 NF- κ B 信号通路活化,拮抗星形活化胶质细胞的炎症反应,进而改善 BBB 损伤^[15]。蛛

网膜下腔出血大鼠模型中,骨髓间充质干细胞被炎症反应刺激而表达 TSG-6, TSG-6 能通过抑制 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶信号通路,缓解神经炎症反应和降低 BBB 通透性,进而降低再次脑出血风险^[16]。这些研究表明 TSG-6 在神经炎症反应和 BBB 损伤中发挥重要作用。最近 Qu 等^[17]报道,血浆 TSG-6 水平可能成为非心源性 AIS 的辅助诊断指标,并与患者病情严重程度相关。本研究结果显示,血清 TSG-6 水平升高会增加 AIS 患者溶栓后 HT 风险,并与预后不良有关。分析原因,血清 TSG-6 水平升高是机体针对炎症反应的一种代偿反应,当炎症反应存在时 TSG-6 大量表达能抑制炎症细胞迁移和 NF- κ B 信号通路活性,发挥抗炎作用^[5]。因此血清 TSG-6 水平越高间接反映 AIS 患者神经炎症反应更加严重,神经炎症反应通过破坏 BBB,导致溶栓后 HT 风险增加,同时神经炎症反应通过加剧神经功能损伤导致预后降低^[18-19]。

ABCA1 是由巨噬细胞、肝细胞、肠道上皮细胞等多种细胞产生的一种以 ATP 为能源调节细胞内胆固醇流出的跨膜蛋白,能与载脂蛋白相互作用激活 Janus 激酶 2/信号传导及转录激活蛋白 3、蛋白激酶 A/C、CDC42 等多条信号通路,促进胆固醇外排和代谢的同时发挥抗炎作用^[7]。如 ABCA1 在蛛网膜下腔出血小鼠中低表达,上调 ABCA1 能增强星形胶质细胞吞噬作用,显著减轻神经炎症反应,促进神经功能恢复^[20]。实验报道,上调 ABCA1 表达,能保持大脑中动脉闭塞再灌注小鼠 BBB 紧密连接蛋白的完整性,防止脑缺血后 BBB 功能障碍^[21]。这些研究表明 ABCA1 在神经炎症反应和 BBB 损伤中发挥重要作用。近年来多项研究均指出,ABCA1 基因多态性与我国人群 AIS 风险相关^[8,22]。本研究结果显示,血清 ABCA1 水平升高能降低 AIS 患者溶栓后 HT 风险,并与预后改善有关。究其原因,ABCA1 能与载脂蛋白 A1 相互作用激活多条信号通路,抑制炎症介质表达,缓解神经炎症反应以保护 BBB 功能,进而降低溶栓 HT 风险和改善预后^[23]。同时,ABCA1/载脂蛋白能促进高密度脂蛋白生成,维持脑内胆固醇稳态,促进 AIS 后髓鞘形成和神经细胞生成,进而修复神经损伤和改善预后^[24]。

本研究发现,年龄增加和心源性栓塞的 AIS 患者溶栓后 HT 风险更高,考虑与高龄患者脑血管功能更差和心源性栓塞者心输出量降低更易损害脑血管功能有关^[25]。ROC 曲线显示,血清 TSG-6、ABCA1 水平联合预测 AIS 患者溶栓后 HT 的 AUC 大于单独预测。这说明血清 TSG-6、ABCA1 水平可能成为 AIS 患者溶栓后 HT 的辅助预测指标,同时检测二者水平能更准

确地预测 AIS 患者溶栓后 HT 风险。

综上,血清 TSG-6 水平升高和 ABCA1 水平降低是 AIS 患者溶栓后 HT 的独立影响因素,与短期预后不良相关,二者联合预测 AIS 溶栓后 HT 的价值较高。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈慧昱:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;鄂盈:实施研究过程,资料搜集整理;任鲜卉:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;卫婧雅:进行统计学分析;毓瑾:分析试验数据,论文审核

参考文献

[1] 覃心如,邹伟,王穆. 中国居民 1990—2019 年缺血性脑卒中发病和死亡趋势年龄—时期—队列分析[J]. 中国公共卫生, 2023, 39(8): 1024-1031. DOI:10. 11847/zgggws1139489.

[2] 《中国卒中防治报告 2021》编写组,王陇德.《中国卒中防治报告 2021》概要[J]. 中国脑血管病杂志, 2023, 20(11): 783-792. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-5921. 2023. 11. 009.

[3] 李昕,杨建中. 急性缺血性脑卒中静脉溶栓后出血转化危险因素的研究进展[J/OL]. 中华脑血管病杂志:电子版, 2023, 17(1): 9-15. DOI:10. 11817/j. issn. 1673-9248. 2023. 01. 002.

[4] 何明月,陆菁菁. 炎症与急性缺血性脑卒中出血转化研究进展[J]. 中华神经科杂志, 2020, 53(9): 732-735. DOI:10. 3760/cma. j. cn113694-20191129-00748.

[5] 束金辉,张俊玲,赵俊,等. 肿瘤坏死因子 α 刺激基因/诱导蛋白-6 的抗炎作用研究进展[J]. 微生物与感染, 2021, 16(1): 57-62. DOI:10. 3969/j. issn. 1673-6184. 2021. 01. 008.

[6] Di Santo C, La Russa D, Greco R, et al. Characterization of the involvement of tumour necrosis factor (TNF)- α -stimulated gene 6 (TSG-6) in ischemic brain injury caused by middle cerebral artery occlusion in mouse[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6): 5800. DOI:10. 3390/ijms24065800.

[7] Wang J, Xiao Q, Wang L, et al. Role of ABCA1 in cardiovascular disease [J]. J Pers Med, 2022, 12(6): 1010. DOI:10. 3390/jpm12061010.

[8] Yang S, Jia J, Liu Y, et al. Genetic variations in ABCA1/G1 associated with plasma lipid levels and risk of ischemic stroke [J]. Gene, 2022, 823: 146343. DOI:10. 1016/j. gene. 2022. 146343.

[9] 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. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018 [J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1006-7876. 2018. 09. 004.

[10] Berge E, Whiteley W, Audebert H, et al. European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke [J]. Eur Stroke J, 2021, 6(1): 1-62. DOI:10. 1177/2396987321989865.

[11] 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. 中国急性脑梗死后出血转化诊治共识 2019 [J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(4): 252-265. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1006-7876. 2019. 04. 003.

[12] Zhang Y, Zhang G, Chen X. Elevated calcium after acute ischemic stroke predicts severity and prognosis [J]. Mol Neurobiol, 2024, 61(1): 266-275. DOI:10. 1007/s12035-023-03581-8.

[13] 赵浩,王敏博,张子豪. 血清 sLOX-1、ESM-1 对急性缺血性脑卒中患者 rt-PA 静脉溶栓后发生出血转化的预测价值[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(3): 333-337. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2024. 03. 011.

[14] 张立娜,王海虹,王适达. 血清 Occludin、Axl 水平与急性缺血性脑卒中溶栓后出血转化的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2024, 45(2): 246-249. DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2024. 02. 025.

[15] Tang B, Song M, Xie X, et al. Tumor necrosis factor-stimulated gene-6 (TSG-6) secreted by BMSCs regulates activated astrocytes by inhibiting NF- κ B signaling pathway to ameliorate blood brain barrier damage after intracerebral hemorrhage [J]. Neurochem Res, 2021, 46(9): 2387-2402. DOI:10. 1007/s11064-021-03375-1.

[16] Wan Y, Song M, Xie X, et al. BMSCs regulate astrocytes through TSG-6 to protect the blood-brain barrier after subarachnoid hemorrhage [J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 5522291. DOI:10. 1155/2021/5522291.

[17] Qu Y, Yang F, Meng F, et al. Plasma concentration of tumor necrosis factor-stimulated gene-6 as a novel diagnostic and 3-month prognostic indicator in non-cardioembolic acute ischemic stroke [J]. Front Immunol, 2022, 2(13): 713379. DOI:10. 3389/fimmu. 2022. 713379.

[18] Cui S, Ke L, Wang H, et al. TSG-6 alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury and blood-brain barrier disruption by suppressing ER stress-mediated inflammation [J]. Brain Res, 2023, 1817: 148466. DOI:10. 1016/j. brainres. 2023. 148466.

[19] Zhai L, Maimaitiming Z, Cao X, et al. Nitrogen-doped carbon nanocages and human umbilical cord mesenchymal stem cells cooperatively inhibit neuroinflammation and protect against ischemic stroke [J]. Neurosci Lett, 2019, 708: 134346. DOI:10. 1016/j. neutlet. 2019. 134346.

[20] Chen P, Lin MH, Li YX, et al. Bexarotene enhances astrocyte phagocytosis via ABCA1-mediated pathways in a mouse model of subarachnoid hemorrhage [J]. Exp Neurol, 2022, 358: 114228. DOI:10. 1016/j. expneurol. 2022. 114228.

[21] Nakagawa S, Aruga J. Sphingosine 1-phosphate signaling is involved in impaired blood-brain barrier function in ischemia-reperfusion injury [J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(3): 1594-1606. DOI:10. 1007/s12035-019-01844-x.

[22] Li J, Wen M, Zhang Z, et al. The R219K polymorphism of the ATP binding cassette subfamily a member 1 gene and susceptibility to ischemic stroke in Chinese population [J]. Open Med (Wars), 2020, 4(15): 274-282. DOI:10. 1515/med-2020-0039.

[23] Paseban T, Alavi MS, Etemad L, et al. The role of the ATP-binding cassette A1 (ABCA1) in neurological disorders: A mechanistic review [J]. Expert Opin Ther Targets, 2023, 27(7): 531-552. DOI:10. 1080/14728222. 2023. 2235718.

[24] Li L, Li R, Zacharek A, et al. ABCA1/ApoE/HDL signaling pathway facilitates myelination and oligodendrogenesis after stroke [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4369. DOI:10. 3390/ijms21124369.

[25] 刘源,刘星,禹红,等. 急性缺血性脑卒中患者血清 CKLF1、claudin-5 预测溶栓后出血转化的价值及与短期预后的关系[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(9): 902-908. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 09. 002.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.004

神经系统疾病专题

不同分型急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4 和 SIP 水平及其预后分析

朱静, 连宗德, 陈明, 周新艳, 李华敏, 黄灿



基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目 (B2023114)

作者单位: 523808 广东东莞, 东莞松山湖东华医院神经内科

通信作者: 黄灿, E-mail: 15905829@qq.com

【摘要】 **目的** 探究不同分型急性缺血性脑卒中患者血清骨桥蛋白(OPN)、白介素 1 受体关联激酶 4 (IRAK4) 和 1-磷酸鞘氨醇(SIP)水平及与改良 Rankin 量表(mRS)评分的关系。**方法** 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月东莞松山湖东华医院神经内科收治的急性缺血性脑卒中患者 150 例为病例组,根据分型分为大动脉粥样硬化型($n=23$)、小动脉闭塞型($n=52$)、心源性栓塞型($n=60$)、其他病因型($n=11$)及不明原因型($n=4$)。根据 mRS 评分分为预后良好亚组($n=117$)与预后不良亚组($n=33$)。另选取健康志愿者 120 例纳入健康对照组。采用酶联免疫吸附法检测 OPN、IRAK4、SIP 水平,记录患者神经功能缺损(NIHSS)评分、mRS 评分;Pearson 相关性分析 NIHSS 评分、mRS 评分与血清 OPN、IRAK4 和 SIP 的相关性;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 OPN、IRAK4 和 SIP 对急性缺血性脑卒中患者预后的预测价值。**结果** 与健康对照组比较,病例组血清 OPN、IRAK4 和 SIP 水平升高($t/P=25.882/<0.001, 14.910/<0.001, 50.674/<0.001$);不同类型急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4 和 SIP 比较,小动脉闭塞型>心源性栓塞型>其他病因型>大动脉粥样硬化型>不明原因型($F/P=60.344/<0.001, 17.798/<0.001, 67.339/<0.001, 124.678/<0.001$);与预后良好亚组比较,预后不良亚组血清 OPN、IRAK4 和 SIP 水平、NIHSS 评分显著更高($t/P=5.377/<0.001, 3.829/<0.001, 3.285/<0.001, 4.805/<0.001$);血清 OPN、IRAK4 和 SIP 水平与 NIHSS 评分、mRS 评分均呈正相关(NIHSS 评分: $r/P=0.459/0.009, 0.423/0.017, 0.525/<0.001$;mRS 评分: $r=0.493, 0.479, 0.487, P$ 均 <0.001);血清 OPN、IRAK4、SIP 及三者联合预测急性缺血性脑卒中患者预后价值 AUC 分别为 0.656、0.740、0.804、0.872,三者联合预测急性缺血性脑卒中预后的 AUC 大于 OPN、IRAK4、SIP 单独预测($Z/P=3.237/0.001, 5.181/0.001, 2.018/0.035$)。**结论** 急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4 和 SIP 水平升高,且小动脉闭塞型和心源性栓塞型分型 OPN、IRAK4、SIP 水平和 NIHSS 评分显著高于其他分型,血清 OPN、IRAK4 及 SIP 联合检测对急性缺血性脑卒中患者预后具有较高的预测价值。

【关键词】 急性缺血性脑卒中;骨桥蛋白;白介素 1 受体关联激酶 4;1-磷酸鞘氨醇;改良 Rankin 量表评分;神经功能缺损评分;预后

【中图分类号】 R743.3

【文献标识码】 A

The expression levels of serum OPN, IRAK4 and SIP in different types of acute ischemic stroke and their prognostic analysis Zhu Jing, Lian Zongde, Chen Ming, Zhou Xinyan, Li Huamin, Huang Can. Department of Neurology, Dongguan Songshan Lake Tungwah Hospital, Guangdong Province, Dongguan 523808, China

Funding program: Guangdong Medical Science and Technology Research Fund Project (B2023114)

Corresponding author: Huang Can, E-mail: 15905829@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression levels of serum osteopontin (OPN), interleukin 1 receptor associated kinase 4 (IRAK4) and sphingosine 1 phosphate (SIP) in patients with different types of acute ischemic stroke and their relationship with modified Rankin scale score (mRS). **Methods** One hundred and fifty patients with acute ischemic stroke admitted to the Department of Neurology of Dongguan Songshan Lake Tungwah Hospital from January 2022 to December 2023 were selected as the study group ($n=150$). According to the classification, they were divided into large artery atherosclerosis type ($n=23$), small artery occlusion type ($n=52$), cardiogenic embolism type ($n=60$), other etiological type ($n=11$) and unknown cause type ($n=4$). The level of SIP was detected by enzyme linked immunosorbent assay. The neurological deficit score (NIHSS) and mRS score were recorded. The expression levels of serum OPN, IRAK4 and SIP, and the

levels of serum OPN, IRAK4 and S1P in patients with different types of acute ischemic stroke and NIHSS score were compared. Pearson correlation analysis was used to analyze the relationship between serum S1P expression level and NIHSS score. The expression levels of serum OPN, IRAK4 and S1P and NIHSS scores in patients with different prognosis (mRs score) were compared. Pearson correlation analysis was used to analyze the relationship between mRs score and serum OPN, IRAK4 and S1P; the predictive value of serum OPN, IRAK4 and S1P for the prognosis of patients with acute ischemic stroke was analyzed by receiver operating curve (ROC). **Results** Compared with the healthy control group, the serum levels of OPN, IRAK4 and S1P in the study group were increased ($t/P=25.882/ <0.001$, $14.910/ <0.001$, $50.674/ <0.001$); Except for the unexplained type, the levels of serum OPN, IRAK4 and S1P in the large artery atherosclerosis type were lower than those in the small artery occlusion type, cardiogenic embolism type and other etiological type ($F/P=60.344/ <0.001$, $17.798/ <0.001$, $67.339/ <0.001$, $124.678/ <0.001$); Compared with the subgroup with good prognosis, the expression levels of serum OPN, IRAK4 and S1P and NIHSS score in the subgroup with poor prognosis were significantly higher ($t/P=5.377/ <0.001$, $3.829/ <0.001$, $3.285/ <0.001$, $4.805/ <0.001$). The expression levels of serum OPN ($r/P=0.459/0.009$, $0.493/ <0.001$), IRAK4 ($r/P=0.423/0.017$, $0.479/ <0.001$) and S1P ($r/P=0.525/ <0.001$, $0.487/ <0.001$) were positively correlated with NIHSS score and mRs score. The AUC of serum OPN, IRAK4, S1P and their combination in predicting the prognosis of patients with acute ischemic stroke were 0.656, 0.740, 0.804 and 0.872, respectively. The AUC of the combined prediction of acute ischemic stroke was greater than that of OPN ($Z=3.237$, $P=0.001$), IRAK4 ($Z=5.181$, $P=0.001$) and S1P ($Z=2.018$, $P=0.035$) alone. **Conclusion** The levels of OPN, IRAK4 and S1P in patients with acute ischemic stroke are increased, and the levels of OPN, IRAK4 and S1P and NIHSS score in small artery occlusion type and cardiogenic embolism type of acute ischemic stroke are significantly higher than those in other types. The combined detection of serum OPN, IRAK4 and S1P has a high predictive value for the prognosis of patients with acute ischemic stroke.

【Key words】 Acute ischemic stroke; Osteopontin; Interleukin 1 receptor associated kinase 4; Sphingosine 1 phosphate; Modified Rankin scale score; Neurological deficit score; Prognosis

脑卒中是我国居民死亡、残疾的首要病因,流行病学资料显示缺血性脑卒中为最常见卒中类型^[1-2]。缺血性脑卒中后脑损伤是涉及多种机制的病理生理过程,以中枢神经系统免疫细胞浸润、神经胶质细胞活化为特征,可致中枢神经细胞凋亡、血脑屏障破坏等改变进而诱发神经功能缺损^[3]。血清骨桥蛋白(osteopontin, OPN)和白介素 1 受体关联激酶 4(interleukin-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4)是临床评估急性缺血性脑卒中的重要因子,血清 OPN 水平升高可反映脑损伤和炎症反应程度,血清 IRAK4 与脑卒中后炎症反应密切相关^[4]。1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)是一种新型多效脂质因子,作为一种抗炎、促增殖、抗凋亡的信号分子在包括脑卒中在内的神经系统疾病中起重要作用^[5-6]。但血清 S1P 水平与急性缺血性脑卒中不同分型和预后的关系尚未明确,基于此,现分析血清 OPN、IRAK4、S1P 水平与不同分型急性缺血性脑卒中患者预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月东莞松山湖东华医院神经内科收治的急性缺血性脑卒中患者 150 例为病例组,男 115 例,女 35 例,年龄 26~72 (55.34 ± 12.88) 岁;住院时间(26.94 ± 12.88) d;根据急性缺血性脑卒中分型分为大动脉粥样硬化型 23 例,

小动脉闭塞型 52 例,心源性栓塞型 60 例,其他病因型 11 例及不明原因型 4 例;合并基础疾病:高脂血症 56 例,高血压 110 例,2 型糖尿病 41 例,吸烟史 130 例,饮酒史 97 例。选择与病例组患者性别、年龄相匹配的健康志愿者 120 例作为健康对照组,男 77 例,女 43 例,年龄 29~81 (55.96 ± 12.71) 岁。本研究已经获得医院伦理委员会批准(20210917),入选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《中国急性脑卒中临床研究规范共识 2018》的诊断标准^[7];②发病时间 < 72 h;③经头颅磁共振 DWI 序列检测有明确新发责任梗死灶;④肝肾等器官功能正常。(2)排除标准:①合并颅内器质性病变、脑外伤及其他外伤史;②合并神经系统变性;③合并周围血管病变;④急、慢性炎性感染性疾病;⑤存在恶性肿瘤患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 OPN、IRAK4 和 S1P 检测:于病例组入院第 2 d 清晨、健康对照组入组当日采集其空腹肘静脉血 5 ml,4℃ 条件下以 10 cm 为半径、3 000 r/min 转速离心 15 min,留取血清放入 -80℃ 的冰箱待测,以 DNM-9606 酶标分析仪(购自北京普朗新技术有限公司,京械注准 20172401029)、酶联免疫试剂盒(购自上

海科艾博生物技术有限公司, 货号: CB10657-Hu, CB17137-Hu, CB10016-Hu) 检测血清 OPN、IRAK4 和 S1P 水平。

1.3.2 神经功能评估: 以神经功能缺损评分 (NIH-SS)^[8] 对患者神经功能进行评估, 该评分内容包含意识水平、凝视、视野、面瘫、感觉、语言等, 总评分为 0 ~ 42 分, 分数越高, 神经缺损程度越严重。

1.3.3 预后评估及分组: 对急性缺血性脑卒中患者出院后随访 90 d, 随访时间截至 2024 年 3 月, 通过电话和门诊随访患者, 以改良 Rankin 量表 (modified Rankin Scale, mRS)^[9] 评价其预后。根据 mRS 评分分为预后良好亚组 117 例 (mRS 评分 ≤ 2 分) 和预后不良亚组 33 例 (mRS 评分 3 ~ 5 分)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间/组内数据比较采用独立/配对 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验; Pearson 分析血清 OPN、IRAK4、S1P 与 NIHSS 评分和 mRS 评分的相关性; 利用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 OPN、IRAK4 和 S1P 预测急性缺血性脑卒中预后的价值。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 OPN、IRAK4、S1P 水平比较 与健康对照组比较, 病例组患者血清 OPN、IRAK4 和 S1P 水平均升高 (*P* < 0.01), 见表 1。

2.2 不同分型急性缺血性脑卒中患者血清 S1P、

OPN、IRAK4 水平和 NIHSS 评分比较 急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4 和 S1P 比较, 小动脉闭塞型 > 心源性栓塞型 > 其他病因型 > 大动脉粥样硬化型 > 不明原因型 (*P* 均 < 0.01); NIHSS 评分比较, 小动脉闭塞型 > 心源性栓塞型 > 大动脉粥样硬化型 > 其他病因型 > 不明原因型 (*P* < 0.01), 见表 2。

表 1 健康对照组和病例组血清 OPN、IRAK4、S1P 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum OPN, IRAK4, and S1P levels between healthy control group and case group

组别	例数	OPN (μg/L)	IRAK4 (μg/L)	S1P (nmol/L)
健康对照组	120	5.13 ± 0.77	302.16 ± 39.02	398.77 ± 40.21
病例组	150	9.16 ± 1.56	375.76 ± 41.30	914.17 ± 325.49
<i>t</i> 值		25.882	14.910	50.674
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同预后急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4、S1P 水平和 NIHSS 评分比较 随访 90 d, 150 例急性缺血性卒中患者不良预后发生率为 22.00% (33/150)。预后不良亚组血清 OPN、IRAK4 和 S1P 水平、NIHSS 评分均高于预后良好亚组 (*P* < 0.01), 见表 3。

2.4 不同预后急性缺血性脑卒中患者临床资料比较 预后不良亚组患者年龄、三酰甘油 (TG) 高于预后良好亚组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 2 亚组性别、分型、住院天数、合并基础疾病、吸烟史、饮酒史、FPG 等比较差异无统计学意义 (*P* 均 > 0.05), 见表 4。

表 2 不同分型急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4、S1P 水平和 NIHSS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum OPN, IRAK4, S1P levels and NIHSS scores in patients with different subtypes of acute ischemic stroke

组别	例数	OPN (μg/L)	IRAK4 (μg/L)	S1P (nmol/L)	NIHSS (分)
大动脉粥样硬化型	23	7.06 ± 0.67	337.26 ± 28.9	1 540.45 ± 176.41	5.78 ± 0.95
小动脉闭塞型	52	10.33 ± 1.06	399.63 ± 39.61	2 087.94 ± 209.98	10.06 ± 1.36
心源性栓塞型	60	9.36 ± 1.01	378.16 ± 31.98	1 997.38 ± 190.40	9.45 ± 1.11
其他病因型	11	8.13 ± 0.82	351.03 ± 32.18	1 826.02 ± 210.37	4.36 ± 0.67
不明原因型	4	6.02 ± 0.61	318.95 ± 20.52	798.58 ± 55.31	2.75 ± 0.96
<i>F</i> 值		60.344	17.798	67.339	124.678
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 不同预后急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4、S1P 水平及 NIHSS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum OPN, IRAK4, S1P levels and NIHSS scores in patients with acute ischemic stroke with different prognoses

组别	例数	OPN (μg/L)	IRAK4 (μg/L)	S1P (nmol/L)	NIHSS (分)
预后良好亚组	117	8.83 ± 1.53	369.20 ± 40.64	1 869.30 ± 337.32	8.08 ± 2.43
预后不良亚组	33	10.34 ± 0.95	399.03 ± 35.17	2 073.27 ± 215.38	10.21 ± 1.41
<i>t</i> 值		5.377	3.829	3.285	4.805
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.001	<0.001

表 4 不同预后急性缺血性脑卒中患者临床资料比较

Tab. 4 Comparison of clinical data of acute ischemic stroke patients with different prognoses

项目		预后良好亚组(n=117)	预后不良亚组(n=33)	χ^2/t 值	P 值
性别[例(%)]	男	91(77.78)	24(72.73)	0.367	0.545
	女	26(22.22)	9(27.27)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		53.90 \pm 13.97	60.45 \pm 13.10	2.410	0.017
分型[例(%)]	大动脉粥样硬化型	20(17.09)	3(9.09)	2.831	0.586
	小动脉闭塞型	39(33.33)	13(39.39)		
	心源性栓塞型	48(41.03)	12(36.36)		
	其他病因型	7(5.98)	4(12.12)		
	不明原因型	3(2.56)	1(3.03)		
住院天数($\bar{x} \pm s$, d)		26.87 \pm 12.44	27.19 \pm 13.62	0.128	0.898
合并基础疾病[例(%)]	高脂血症	42(35.90)	14(42.42)	0.469	0.494
	高血压	86(73.50)	24(72.73)	0.008	0.929
	2 型糖尿病	36(36.77)	5(15.15)	3.161	0.075
吸烟史[例(%)]		102(87.18)	28(84.85)	0.121	0.728
饮酒史[例(%)]		76(64.96)	21(63.64)	0.020	0.889
FPG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		5.43 \pm 0.62	5.49 \pm 0.58	0.498	0.619
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		1.24 \pm 0.35	1.41 \pm 0.27	2.580	0.011

2.5 血清 OPN、IRAK4、S1P 水平与 NIHSS 评分、mRS 评分的相关性 Pearson 分析结果显示,急性缺血性脑卒中患者血清 OPN、IRAK4 和 S1P 水平与 NIHSS 评分、mRS 评分均呈正相关($P < 0.05$ 或 0.01),见表 5。

表 5 血清 OPN、IRAK4 和 S1P 水平与 NIHSS 评分、mRS 评分的相关性

Tab. 5 Correlation between serum OPN, IRAK4, and S1P levels and NIHSS score, mRS score

指标	NIHSS 评分		mRS 评分	
	r 值	P 值	r 值	P 值
OPN	0.459	0.009	0.493	<0.001
IRAK4	0.423	0.017	0.479	<0.001
S1P	0.525	<0.001	0.487	<0.001

2.6 血清 OPN、IRAK4 和 S1P 预测急性缺血性脑卒中患者预后的价值 绘制血清 OPN、IRAK4、S1P 及三者联合预测急性缺血性脑卒中患者预后价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 OPN、IRAK4、S1P 及三者联合预测急性缺血性脑卒中患者预后价值 AUC 分别为 0.656、0.740、0.804 和 0.872,三者联合预测急性缺血性脑卒中患者预后的 AUC 大于 OPN、IRAK4、S1P 单独检测($Z = 3.237$ 、 5.181 、 2.018 , $P = 0.001$ 、 0.001 、 0.035),见表 6、图 1。

3 讨论

急性缺血性脑卒中的发病机制是一个复杂而多因素的过程,首先,动脉粥样硬化是其重要的基础,因动脉壁上脂质的沉积、炎性反应等导致动脉内膜增厚、斑块形成,使血管管腔狭窄,血液流动受阻,当斑块破裂

表 6 血清 OPN、IRAK4 和 S1P 预测急性缺血性脑卒中患者预后的价值

Tab. 6 The value of serum OPN, IRAK4, and S1P in predicting the prognosis of patients with acute ischemic stroke

变量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
OPN	9.25 $\mu\text{g/L}$	0.656	0.395 ~ 0.923	0.658	0.667	0.325
IRAK4	380.00 $\mu\text{g/L}$	0.740	0.482 ~ 0.974	0.735	0.697	0.432
S1P	1 950.00 nmol/L	0.804	0.667 ~ 0.941	0.786	0.818	0.604
联合检测		0.872	0.817 ~ 0.912	0.863	0.848	0.711

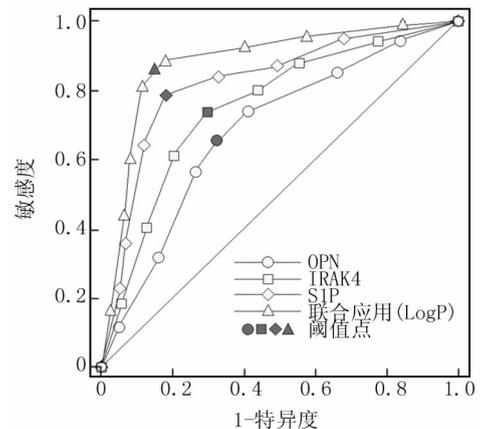


图 1 血清 OPN、IRAK4 和 S1P 对急性缺血性脑卒中患者预后预测价值 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of the prognostic value of serum OPN, IRAK4, and S1P in patients with acute ischemic stroke

时还会引发血小板聚集和血栓形成,进一步阻塞血管;其次,血管内皮细胞的功能障碍也起着关键作用,当内

皮细胞受损后,其抗凝和促纤溶功能下降,极易形成血栓,并且内皮细胞还参与血管舒缩调节,其功能异常可能导致血管痉挛,减少脑部供血;此外,血小板活性增强、凝血因子异常、血液黏稠度增高等均可促进血栓形成^[10]。目前为降低急性缺血性脑卒中的病死率,临床治疗原则强调超早期治疗,因此早期完成疾病诊断极为重要^[11]。

田章林等^[12]研究发现急性缺血性脑卒中患者的血清 IRAK4 表达增加,可作为早期诊断的敏感生物学指标之一。本研究发现相较于健康对照组,病例组患者血清 OPN、IRAK4、S1P 水平明显更高,提示 OPN、IRAK4、S1P 异常升高可作为急性缺血性脑卒中发生的标志。分析其原因如下:血清 OPN 通过促进血管内皮细胞的炎症反应和损伤,导致血管功能障碍,增加血栓形成的风险。OPN 还能调节血小板的活化和聚集,进一步加重脑血管的阻塞,同时诱导脑血管内皮细胞和神经细胞的凋亡,影响脑血管的正常功能,从而加剧脑卒中的病情^[13]。血清 IRAK4 作为炎症反应信号通路中的关键分子,在脑卒中发生后被激活,进而引发炎症反应的增强,还会参与免疫细胞的活化和调节,导致免疫细胞过度反应,加重脑缺血后的免疫损伤,并且其还可通过调节细胞因子的释放,进一步促进炎症反应的发展和脑损伤的加重,对脑卒中的病理过程和预后产生重要影响^[14]。S1P 可改善患者的脑血流动力学水平及氧代谢,同时降低急性缺血性脑卒中的氧浓度和氧需求量,是保护患者神经功能的基础,在脑血管疾病发病过程中,S1P 均有参与,当急性缺血性脑卒中患者发病后其会大量释放,起到改善患者神经损伤的效果^[15-16]。用 S1PR1 拮抗剂抑制 S1PR1 表达可以减弱脑内小胶质细胞 M1 型极化标志物表达及其促炎作用,进而增强 M2 型极化标志物表达及其抗炎作用,提示 S1PR1 可能是通过调控小胶质细胞 M1/M2 极化过程诱发缺血性脑卒中^[17]。

结合本研究不同分型患者的血清 OPN、IRAK4、S1P 表达差异结果分析,小动脉闭塞型、心源性栓塞型缺血性脑卒中患者 OPN、IRAK4、S1P 水平与 NIHSS 评分更高,提示小动脉闭塞型、心源性栓塞型 2 种分型的缺血性脑卒中患者病情发展更快且神经损伤更为严重,分析原因可能是小动脉闭塞型、心源性栓塞型脑卒中发生时,炎症反应被激活,炎症细胞释放多种炎症介质,加重炎症反应,进而导致 OPN、IRAK4、S1P 被大量释放,同时炎症反应造成内皮细胞功能障碍,内皮细胞损伤会导致 S1P 相关信号通路的紊乱,导致 S1P 高表达;另外血小板的活化也是一个关键因素,小动脉闭塞

型和心源性栓塞型的活化血小板更为复杂,会释放更多的 OPN、IRAK4、S1P^[18]。赵士娇等^[19]认为 OPN 水平与神经功能缺损程度呈正相关,并可有效预测患者的神经功能缺损程度。李桂芬等^[20]研究结果显示 IRAK4 表达水平升高会加重病情。周佳旭等^[21]研究发现,S1P 在缺氧患者中呈高表达水平,其可增加患者动脉和静脉血中血红蛋白及血氧饱和度,降低脑氧代谢率,进而帮助脑代谢向糖脂酵解转变,降低因缺氧而导致的脑损害。随着缺血性脑卒中的恢复,NIHSS 评分会逐渐降低,提示临床可通过 NIHSS 评分判断急性缺血性脑卒中的病情严重程度和神经功能状态^[22]。本研究中血清 OPN、IRAK4、S1P 水平和 NIHSS 评分均呈正相关,提示血清 OPN、IRAK4、S1P 水平与其神经损伤程度密切相关。分析原因可能是缺血性脑卒中后脑组织会因缺血缺氧而受到损伤,进而会导致神经功能障碍,而 NIHSS 评分是用于评估神经功能缺损程度的工具,随着脑卒中病情的严重程度增加,脑组织受损范围扩大,神经功能障碍也会更加明显,NIHSS 评分相应升高,因此与血清 OPN、IRAK4、S1P 表达变化趋势一致。

魏宏敏等^[23]研究显示,高血压性脑出血(HICH)患者预后不良组的 OPN 水平明显高于预后良好组,表示 OPN 水平与预后结局存在密切联系。李萍等^[24]研究发现 S1P 参与缺血性脑卒中后病理过程,与缺血性脑卒中后炎症反应、血管生成、血脑屏障功能改善等密切相关,提示 S1P 可作为治疗缺血性脑卒中的新靶点,对其预后具有重要影响。本研究还对急性缺血性脑卒中患者进行随访,发现相较于预后良好亚组,预后不良亚组患者血清 OPN、IRAK4、S1P 水平明显更高,S1P 可作用于血管平滑肌细胞,使其过度收缩、减少脑部血流量、加重脑组织的缺血缺氧状态,从而对预后产生不利影响;此外 S1P 可促进炎症反应的持续和加剧,在脑卒中后,过度的炎症反应会进一步损伤脑组织,而高 S1P 水平可能提升炎症细胞的活化和浸润,导致更多的炎症介质释放,使损伤难以修复,影响预后;同时,高 S1P 水平还可能影响血小板的功能,其可促使血小板过度活化和聚集,增加血栓形成的风险,阻碍脑部血管的再通,进一步恶化预后^[25]。OPN 急性增加能减轻血管钙化,而慢性 OPN 升高会增加不良心血管事件发生风险,白介素-1 α 诱导 OPN 表达后可促进巨噬细胞趋化、血管平滑肌细胞黏附迁移,进而加快动脉粥样硬化进展,以此增加心脏不良事件发生风险^[26]。同时,本研究还发现血清 S1P 对急性缺血性脑卒中患者预后具有较高的预测价值,且显著高于血清

OPN、IRAK4 检测,提示临床可将血清 S1P 作为急性缺血性脑卒中患者预后的评估指标。

综上所述,对于急性缺血性脑卒中患者而言,其血清 OPN、IRAK4、S1P 水平显著升高,且小动脉闭塞型、心源性栓塞型血清 OPN、IRAK4、S1P 水平显著高于其他分型;并且相较于血清 OPN、IRAK4、S1P 对急性缺血性脑卒中患者预后预测价值更高,值得在临床推广应用。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

朱静:提出研究方向,设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;连宗德:提出研究思路,实施研究过程,论文审核;陈明:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;周新艳:数据收集,分析整理;李华敏:数据收集,进行统计学分析;黄灿:实施研究过程,资料搜集整理

参考文献

[1] 黄乐恩,高庆春,陈珺茹,等.基于时频域特征的缺血性卒中脑自动调节鉴别模型[J].中国神经精神疾病杂志,2023,49(4):193-199. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2022.02.003.

[2] 秦雪娇,滕振杰,孙强,等.缺血性卒中患者血管周围间隙扩大与脑小血管病影像学标志物的相关性[J].中华行为医学与脑科学杂志,2021,30(8):701-707. DOI:10.3760/cma.j.cn371468-20210126-00057.

[3] Saini V, Guada L, Yavagal DR. Global epidemiology of stroke and access to acute ischemic stroke interventions[J]. Neurology, 2021, 97(20):6-16. DOI:10.1212/WNL.00000000000012781.

[4] Barthels D, Das H. Current advances in ischemic stroke research and therapies[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020, 1866(4):165260. DOI:10.1016/j.bbadis.2018.09.012.

[5] 李萍,付胜奇.1-磷酸鞘氨醇在缺血性卒中中的作用研究进展[J].中国卒中杂志,2023,18(7):829-836. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2023.07.014.

[6] Zhang W, Li Y, Li F, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor modulators in stroke treatment[J]. J Neurochem, 2022, 162(5):390-403. DOI:10.1111/jnc.15685.

[7] 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.中国急性脑卒中临床研究规范共识 2018[J].中华神经科杂志,2018,51(4):247-255. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.04.003.

[8] Ding L, Liu H, Jing J, et al. Lesion network mapping for neurological deficit in acute ischemic stroke[J]. Ann Neurol, 2023, 94(3):572-584. DOI:10.1002/ana.26721.

[9] Haggag H, Hodgson C. Clinimetrics: Modified Rankin Scale(mRS)[J]. J Physiother, 2022, 68(4):281. DOI:10.1016/j.jphys.2022.05.017.

[10] 张高祺,张华纲,樊东升.急性缺血性卒中早期复发的研究进展[J].中华内科杂志,2022,61(3):342-348. DOI:10.3760/cma.j.cn112138-20210402-00258.

[11] 衣丽华,董岩,郑丽莎,等.血清 MASP-3、MBL、SDMA 对老年急性缺血性脑卒中的诊断价值[J].疑难病杂志,2022,21(5):456-460,474. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.05.003.

[12] 田章林,龙波,熊密,等.急性缺血性脑卒中患者血清 IRAK4 的表达及与功能预后的相关性[J].中国实用神经疾病杂志,2022,25(10):1189-1195. DOI:10.12083/SYSJ.220968.

[13] 马青素,高岚,郭宁,等.脑卒中患者血清 BDNF、OPN、Ang II 水平与焦虑/抑郁的关系[J].国际精神病学杂志,2023,50(3):480-482. DOI:10.13479/j.cnki.jip.2023.03.052.

[14] 李桂芬,朱色营,葛永翔.急性缺血性脑卒中患者血清 IRAK4、ARG1、UCH-L1 的表达及其预测价值[J].中国疗养医学,2023,32(8):873-877. DOI:10.13517/j.cnki.ccm.2023.08.023.

[15] 李文波,崔明亮,常凤军,等.血清 1-磷酸鞘氨醇,神经肽 Y 与冠状动脉粥样硬化病变的关系及对功能性心肌缺血的预测研究[J].现代生物医学进展,2023,23(7):1369-1373. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2023.07.033.

[16] Xue T, Ji J, Sun Y, et al. Sphingosine-1-phosphate, a novel TREM2 ligand, promotes microglial phagocytosis to protect against ischemic brain injury[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(4):1885-1898. DOI:10.1016/j.apsb.2021.10.012.

[17] Gaire BP, Bae YJ, Choi JW. S1P1 Regulates M1/M2 polarization toward brain injury after transient focal cerebral ischemia[J]. Biomol Ther (Seoul), 2019, 27(6):522-529. DOI:10.4062/biomolther.2019.005.

[18] Nitzsche A, Poittevin M, Benarab A, et al. Endothelial S1P1 signaling counteracts infarct expansion in ischemic stroke[J]. Circ Res, 2021, 128(3):363-382. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.120.316711.

[19] 赵士娇,韩雪,高燕军.血浆骨桥蛋白、纤维蛋白原水平与急性脑梗死患者神经功能缺损程度及预后相关性的前瞻性研究[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(8):32-36. DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2018.08.008.

[20] 李桂芬,朱色营,葛永翔.急性缺血性脑卒中患者血清 IRAK4、ARG1、UCH-L1 的表达及其预测价值[J].中国疗养医学,2023,32(8):873-877. DOI:10.13517/j.cnki.ccm.2023.08.023.

[21] 周佳旭,金钰莹,高歌,等.1-磷酸鞘氨醇与心血管疾病的研究进展[J].中国药理学通报,2022,38(8):1127-1131. DOI:10.12360/CPB202109044.

[22] 黄建申,黄金武,黄智伟,等.PVIs、Sestrin2、Pannexin1 与急性脑梗死 NIHSS 评分关系及预测溶栓预后效能分析[J].疑难病杂志,2023,22(6):589-594. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.006.

[23] 魏宏敏,于继徐,柴永宏,等.骨桥蛋白与高血压性脑出血脑组织水肿程度和神经功能损伤及临床预后的相关性分析[J].神经疾病与精神卫生,2020,20(12):843-848. DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2020.12.002.

[24] 李萍,付胜奇.1-磷酸鞘氨醇在缺血性卒中中的作用研究进展[J].中国卒中杂志,2023,18(7):829-836. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2023.07.014.

[25] 李泽华,蒋路平,叶国红,等.ACS 患者 PCI 术后血清 S1P、补体 C3 水平及其预后评估的价值分析[J].中国循证心血管医学杂志,2022,14(6):689-692. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2022.06.11.

[26] 张丽冉,李艳华,夏瑞雪,等.急性脑梗死患者血清 OPN、NLRP3 水平与神经损伤和预后的关系[J].脑与神经疾病杂志,2021,29(8):502-506. DOI:10.23736/S0392-9590.17.03853-6.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.005

神经系统疾病专题

急性脑出血患者血清 Sestrin2、Omentin-1 水平变化及其与神经功能缺损程度和预后的相关性

周一凡, 闫一九, 王常州, 王临凤, 李中林

基金项目: 江苏省卫生健康委医学科科研项目(S2020041)

作者单位: 221004 江苏徐州, 徐州医科大学附属医院神经外科

通信作者: 李中林, E-mail: lizhonglinxuzhou163@yeah.net



【摘要】目的 探讨急性脑出血(ACH)患者血清应激诱导蛋白2(Sestrin2)、网膜素-1(Omentin-1)水平变化及其与神经功能缺损程度和预后的相关性。**方法** 选取2021年3月—2023年10月徐州医科大学附属医院神经外科收治的ACH患者153例为ACH组,同期健康体检者78例为健康对照组。ACH患者根据神经功能缺损程度分为轻度缺损亚组52例、中度缺损亚组61例、重度缺损亚组40例。随访3个月根据预后将ACH患者分为不良预后亚组41例和良好预后亚组112例。采用酶联免疫吸附法检测血清Sestrin2、Omentin-1水平;Spearman法分析ACH患者NIHSS评分与血清Sestrin2、Omentin-1水平的相关性;Logistic回归模型分析ACH患者不良预后的影响因素;并绘制ROC曲线评价血清Sestrin2、Omentin-1水平预测ACH患者不良预后的价值。**结果** 与健康对照组比较,ACH组血清Sestrin2水平升高、Omentin-1水平降低($t/P=9.721/ <0.001, 11.375/ <0.001$)。血清Sestrin2水平在轻、中、重度缺损亚组中依次升高,Omentin-1水平在其中依次降低($F/P=136.537/ <0.001, 297.024/ <0.001$)。与不良预后亚组比较,良好预后亚组患者血肿体积小、NIHSS评分低、血清Sestrin2水平降低、Omentin-1水平升高,差异有统计学意义($t/P=5.636/ <0.001, 6.440/ <0.001, 6.657/ <0.001, 6.104/ <0.001$)。ACH患者NIHSS评分与血清Sestrin2、Omentin-1水平分别呈负相关与正相关($r/P=-0.811/ <0.001, 0.829/ <0.001$);随访3个月,153例ACH患者不良预后发生率为26.80%。血肿体积增加、NIHSS评分升高、Sestrin2升高为ACH患者不良预后的独立危险因素[$OR(95\%CI)=1.219(1.093\sim1.360), 1.164(1.079\sim1.255), 1.647(1.218\sim2.227)$], Omentin-1升高为独立保护因素[$OR(95\%CI)=0.976(0.963\sim0.989)$];血清Sestrin2、Omentin-1水平及二者联合预测ACH患者不良预后的曲线下面积(AUC)分别为0.795、0.771、0.870,二者联合预测ACH患者不良预后的AUC最大($Z/P=2.493/0.013, 3.181/0.002$)。**结论** ACH患者血清Sestrin2水平升高、Omentin-1水平降低,与神经功能缺损程度加重和不良预后密切相关,血清Sestrin2联合Omentin-1水平预测其不良预后具有较高的价值。

【关键词】 急性脑出血;应激诱导蛋白2;网膜素-1;神经功能缺损程度;预后**【中图分类号】** R743.34**【文献标识码】** A

Changes in serum Sestrin2 and Omentin-1 levels in patients with acute cerebral hemorrhage and their correlation with the degree of neurological deficit and prognosis Zhou Yifan, Yan Yijiu, Wang Changzhou, Wang Linfeng, Li Zhonglin.

Department of Neurosurgery, Xuzhou Medical University Affiliated Hospital, Jiangsu Province, Xuzhou 221004, China

Funding program: Medical Research Project of Jiangsu Provincial Health Commission (S2020041)

Corresponding author: Li Zhonglin, E-mail: lizhonglinxuzhou163@yeah.net

【Abstract】 Objective To investigate the changes of serum Sestrin2 and Omentin-1 levels in patients with acute cerebral hemorrhage (ACH) and their correlation with the degree of neurological deficit and prognosis. **Methods** One hundred and fifty-three ACH patients admitted to the Department of Neurosurgery of the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University from March 2021 to October 2023 were selected as the ACH group and 78 cases of those who had health check-ups during the same period were selected as the healthy control group. ACH patients were divided into mild deficit subgroup of 52 cases, moderate deficit subgroup of 61 cases, and severe deficit subgroup of 40 cases according to the degree of neurological deficit. The ACH patients were divided into poor prognosis subgroup (41 cases) and good prognosis subgroup (112 cases) according to their prognosis at 3 month follow up. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect serum Sestrin2 and Omentin-1 levels; Spearman method was used to analyze the correlation between NIHSS score and serum levels of Sestrin2 and Omentin-1 in ACH patients; Logistic regression model was used to analyze the influencing fac-

tors of poor prognosis in ACH patients; and ROC curves were plotted to evaluate the serum Sestrin2, Omentin-1 levels to predict the value of poor prognosis in ACH patients. **Results** Compared with the healthy control group, the serum Sestrin2 level in the ACH group increased, while the Omentin-1 level decreased ($t/P=9.721/ <0.001$, $11.375/ <0.001$). Serum Sestrin2 levels increased sequentially in the mild, moderate, and severe deficit subgroups, while Omentin-1 levels decreased sequentially ($F/P=136.537/ <0.001$, $297.024/ <0.001$). Compared with the poor prognosis subgroup, the good prognosis subgroup had smaller hematoma volume, lower NIHSS score, lower serum Sestrin2 level, and higher Omentin-1 level, with statistically significant differences ($t/P=5.636/ <0.001$, $6.440/ <0.001$, $6.657/ <0.001$, $6.104/ <0.001$). The NIHSS score of ACH patients was negatively correlated and positively correlated with serum levels of Sestrin2 and Omentin-1, respectively ($r/P= -0.811/ <0.001$, $0.829/ <0.001$); After a 3 month follow up, the incidence of adverse prognosis in 153 ACH patients was 26.80%. The independent risk factors for poor prognosis in ACH patients were increased hematoma volume, elevated NIHSS score, and elevated Sestrin2, the independent protective factor was elevated Omentin-1 [$OR(95\% CI) = 1.219 (1.093 - 1.360)$, $1.164 (1.079 - 1.255)$, $1.647 (1.218 - 2.227)$, $0.976 (0.963 - 0.989)$]; The serum levels of Sestrin2 and Omentin-1, as well as the area under the curve (AUC) of their combined prediction of adverse prognosis in ACH patients, were 0.795, 0.771, and 0.870, respectively. The AUC of their combined prediction of adverse prognosis in ACH patients was the highest ($Z = 2.493$, 3.181 , $P = 0.013$, 0.002). **Conclusion** Elevated serum Sestrin2 levels and decreased serum Omentin-1 levels in ACH patients are closely related to the severity of neurological deficits and poor prognosis. The combination of serum Sestrin2 and Omentin-1 levels has high value in predicting poor prognosis.

【Key words】 Acute cerebral hemorrhage; Sestrin2; Omentin-1; Degree of neurological deficit; Prognosis

卒中是全球第二大致死和第三大致残的原因^[1-2]。急性脑出血(acute cerebral hemorrhage, ACH)是最严重的卒中类型,幸存者3个月时残疾率为28.6%、病死率为11.2%^[3]。入院时神经功能缺损程度决定着ACH患者预后^[4],因此及时评估ACH患者神经功能缺损程度和预后尤为重要。炎症反应、细胞凋亡和氧化应激等是ACH后神经功能持续恶化和预后降低的重要机制^[5-6]。应激诱导蛋白2(Sestrin2)是一种应激反应蛋白,能通过调节一系列信号传导通路发挥抗炎、抗凋亡和抗氧化等作用^[7]。网膜素-1(Omentin-1)是一种分泌型蛋白,亦能调节多条信号通路发挥抗炎、抗凋亡和抗氧化等作用^[8]。研究报道,血清Sestrin2、Omentin-1水平与急性缺血性脑卒中患者神经功能缺损程度和预后有关^[9-10]。现分析ACH患者血清Sestrin2、Omentin-1水平变化及其与神经功能缺损程度和预后的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2021年3月—2023年10月徐州医科大学附属医院神经外科收治的ACH患者153例作为ACH组,均符合《中国脑出血诊治指南(2019)》^[11]诊断标准。其中女70例、男83例,年龄35~83(57.60 ± 8.50)岁;出血部位:基底节78例,脑室内48例,脑叶内27例;基础疾病:高血压118例,糖尿病27例,高脂血症22例;美国国立卫生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale, NIHSS)评分1~37(13.79 ± 11.31)分。根据NIHSS评分再分为轻度缺损亚组52例(NIHSS评分 ≤ 4 分)、中度缺损亚

组61例(NIHSS评分5~20分)、重度缺损亚组40例(NIHSS评分 > 20 分)。另选择同期健康体检者78例为健康对照组,女36例、男42例,年龄24~75(57.43 ± 6.83)岁。2组人员性别和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[2021年(科)伦审第9号],受试者或家属知情同意并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 ≥ 18 岁;②首次卒中;③病历资料完整;④发病至入院时间 ≤ 6 h。(2)排除标准:①有神经系统疾病史(包括外伤性脑损伤、中枢神经系统感染、卒中、癫痫、帕金森病等);②严重的心、肺、肝、肾功能不全;③凝血功能异常;④近1个月内使用免疫抑制剂;⑤脑动脉瘤、动脉畸形或创伤所致出血;⑥妊娠期、哺乳期妇女;⑦恶性肿瘤、自身免疫性疾病、血液系统疾病;⑧院内死亡。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清Sestrin2、Omentin-1水平检测:于ACH组入院时和健康对照组体检时采集受试者肘静脉血3ml,离心留取上层血清,使用Multiskan™ FC全自动酶标仪(赛默飞世尔科技公司)和上海禾午生物科技有限公司提供的Human Sestrin2 ELISA Kit(货号TH1273)、上海烜雅生物科技有限公司提供的Human Omentin-1 ELISA Kit(货号XY2457A)检测Sestrin2、Omentin-1水平。

1.3.2 预后评估及分组:通过电话或门诊对ACH患者随访3个月,随访起始于2021年3月,截至2024年1月,随访结束时使用改良Rankin量表评估预后,根

据预后分为不良(改良 Rankin 量表 >2 分)和良好预后亚组(改良 Rankin 量表 ≤2 分)^[12]。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 软件处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验或单因素方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;Spearman 法分析 ACH 患者 NIHSS 评分与血清 Sestrin2、Omentin-1 水平的相关性;Logistic 回归模型分析 ACH 患者不良预后的影响因素;使用 MedCalc19.3.1 软件绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评价血清 Sestrin2、Omentin-1 水平对 ACH 患者不良预后的价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 Sestrin2、Omentin-1 水平比较 与健康对照组比较,ACH 组血清 Sestrin2 水平升高、Omentin-1 水平降低,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 1。

2.2 3 亚组血清 Sestrin2、Omentin-1 水平比较 轻度缺损亚组、中度缺损亚组、重度缺损亚组血清 Sestrin2 水平依次升高、Omentin-1 水平依次降低,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 2。

2.3 不同预后 ACH 患者临床资料及血清 Sestrin2、Omentin-1 水平比较 随访 3 个月,ACH 患者 153 例中出现不良预后 41 例(26.80%)。与不良预后亚组比

较,良好预后亚组患者血肿体积小、NIHSS 评分低、血清 Sestrin2 水平降低、Omentin-1 水平升高,差异有统计学意义(*P* < 0.01),其他临床资料 2 亚组患者比较,差异均无统计学意义(*P* > 0.05),见表 3。

表 1 健康对照组与 ACH 组血清 Sestrin2、Omentin-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab. 1 Comparison of serum Sestrin2 and Omentin-1 levels between healthy control group and ACH group

组别	例数	Sestrin2	Omentin-1
健康对照组	78	10.02 ± 2.02	260.74 ± 71.63
ACH 组	153	13.29 ± 3.07	149.49 ± 69.61
<i>t</i> 值		9.721	11.375
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

表 2 不同神经功能缺损程度 ACH 患者血清 Sestrin2、Omentin-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab. 2 Comparison of serum Sestrin2 and Omentin-1 levels in ACH patients with different degrees of neurological deficits

组别	例数	Sestrin2	Omentin-1
轻度缺损亚组	52	10.08 ± 1.56	226.96 ± 34.25
中度缺损亚组	61	14.12 ± 2.12	136.96 ± 25.55
重度缺损亚组	40	16.22 ± 1.71	67.90 ± 35.62
<i>F</i> 值		136.537	297.024
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

表 3 不同预后 ACH 患者临床资料及血清 Sestrin2、Omentin-1 水平差异比较

Tab. 3 Comparison of clinical data and serum Sestrin2 and Omentin-1 levels in patients with different prognosis

项目		良好预后亚组(<i>n</i> = 112)	不良预后亚组(<i>n</i> = 41)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]	男	59(52.68)	24(58.54)	0.415	0.519
	女	53(47.32)	17(41.46)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		56.79 ± 8.08	59.78 ± 9.29	1.943	0.054
饮酒史[例(%)]		39(34.82)	17(41.46)	0.571	0.450
吸烟史[例(%)]		31(27.68)	12(29.27)	0.038	0.846
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)		143.02 ± 19.73	150.02 ± 18.96	1.966	0.051
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)		90.16 ± 13.66	94.17 ± 10.07	1.971	0.052
基础疾病[例(%)]	高血压	83(74.11)	35(85.37)	2.156	0.142
	糖尿病	16(14.29)	11(26.83)	3.249	0.071
	高脂血症	14(12.50)	8(19.51)	1.199	0.274
出血部位[例(%)]	基底节	57(50.89)	21(51.22)	0.426	0.808
	脑室内	34(30.36)	14(34.15)		
	脑叶内	21(18.75)	6(14.63)		
发病至入院时间($\bar{x} \pm s$, h)		3.34 ± 1.38	3.76 ± 1.10	1.914	0.059
血肿体积($\bar{x} \pm s$, ml)		10.39 ± 4.95	22.30 ± 13.20	5.636	<0.001
NIHSS 评分($\bar{x} \pm s$, 分)		10.38 ± 9.19	23.12 ± 11.39	6.440	<0.001
白细胞计数($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)		9.68 ± 1.68	10.03 ± 1.81	1.097	0.274
血红蛋白($\bar{x} \pm s$, g/L)		140.07 ± 17.00	134.65 ± 15.75	1.780	0.077
血小板计数($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)		243.72 ± 31.00	235.12 ± 43.56	1.355	0.177
血肌酐($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)		76.45 ± 7.73	79.35 ± 9.34	1.938	0.054
血尿素氮($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		5.92 ± 1.08	6.33 ± 1.29	1.971	0.051
Sestrin2($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)		12.41 ± 2.67	15.70 ± 2.80	6.657	<0.001
Omentin-1($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)		168.17 ± 62.36	98.48 ± 63.07	6.104	<0.001

2.4 血清 Sestrin2、Omentin-1 水平与 NIHSS 评分相关性分析 ACH 患者 NIHSS 评分与血清 Sestrin2、Omentin-1 水平分别呈负相关与正相关 ($r_s = -0.811、0.829, P$ 均 <0.001)。

2.5 Logistic 回归模型分析 ACH 患者不良预后的影响因素 以 ACH 患者不良预后为因变量(赋值:是“1”;否“0”),以血肿体积、NIHSS 评分、血清 Sestrin2、Omentin-1 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:血肿体积增加、NIHSS 评分升高、Sestrin2 升高为 ACH 患者不良预后的独立危险因素,而 Omentin-1 升高为 ACH 患者不良预后的保护因素 ($P < 0.01$),见表 4。

表 4 Logistic 回归分析 ACH 患者不良预后的影响因素

Tab.4 Logistic regression analysis of factors influencing adverse prognosis in ACH patients

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
血肿体积增加	0.198	0.056	12.664	<0.001	1.219	1.093 ~ 1.360
NIHSS 评分升高	0.152	0.038	15.557	<0.001	1.164	1.079 ~ 1.255
Sestrin2 升高	0.499	0.154	10.495	<0.001	1.647	1.218 ~ 2.227
Omentin-1 升高	-0.024	0.007	12.331	<0.001	0.976	0.963 ~ 0.989

2.6 血清 Sestrin2、Omentin-1 水平预测 ACH 患者不良预后的价值 绘制血清 Sestrin2、Omentin-1 水平预测 ACH 患者不良预后价值的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 Sestrin2、Omentin-1 水平及二者联合预测 ACH 患者不良预后的 AUC 分别为 0.795、0.771、0.870,二者联合的 AUC 最大,与二者单独预测的 AUC 比较,差异有统计学意义 ($Z = 2.493、3.181, P = 0.013、0.002$),见表 5、图 1。

表 5 血清 Sestrin2、Omentin-1 水平预测 ACH 患者不良预后的价值

Tab.5 The value of serum Sestrin2 and Omentin-1 levels in predicting poor prognosis in ACH patients

指标	Cut-off	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
Sestrin2	14.76 $\mu\text{g/L}$	0.795	0.723 ~ 0.856	0.488	0.938	0.425
Omentin-1	141.05 $\mu\text{g/L}$	0.771	0.697 ~ 0.835	0.478	0.946	0.424
二者联合		0.870	0.806 ~ 0.919	0.732	0.830	0.562

3 讨论

ACH 是指在脑实质内突发非创伤性血管破裂引起的出血,主要病理表现为脑组织内血肿形成,以颅内压增高症状(头痛、呕吐、恶心)、意识障碍、神经功能障碍(面瘫、眼球偏斜、肢体瘫痪)等为主要临床表现^[11]。

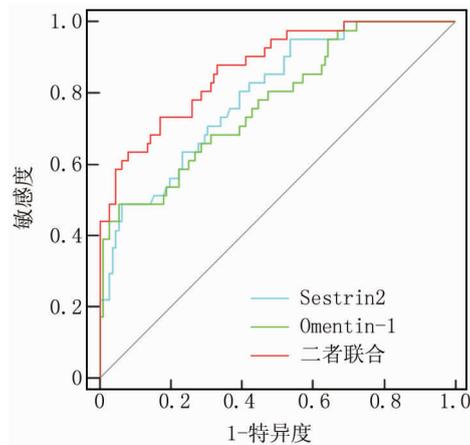


图 1 血清 Sestrin2、Omentin-1 水平预测 ACH 患者不良预后的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve for predicting poor prognosis in ACH patients based on serum Sestrin2 and Omentin-1 levels

ACH 多在活动中起病,可在短时间内引起严重的神经功能障碍,具有起病急、进展快和预后差的特点,尽管近年来高级影像学技术的应用和神经外科手术技术均取得较大进展,但 ACH 患者病死率仍然较高,且绝大多数存活患者遗留残疾^[13]。本研究中 26.80% 的患者出现不良预后,与鲍俊杰等^[14]报道的 24.40% 相近,提示 ACH 患者预后较差。因此有必要寻找可靠的指标,早期评估 ACH 患者神经功能缺损程度和预测其预后,以指导临床制定个体化治疗/康复方案,降低残疾/死亡风险。

炎症反应、细胞凋亡和氧化应激在 ACH 的发展过程中发挥至关重要的作用,急性脑出血后释放到脑组织中的血肿成分、细胞因子、血浆蛋白等能激活炎症反应,炎症反应及血红蛋白进入脑组织后能诱导氧自由基大量产生,导致氧化应激,与炎症反应形成恶性循环共同加速神经细胞凋亡,导致神经功能缺损,增加致残和致死风险^[5-6]。Sestrin2 是一种由细胞内 Sesn2 基因编码并在炎症反应、缺氧、氧化应激、DNA 损伤、辐射等应激条件下产生的新型应激诱导蛋白,活化的 Sestrin2 能激活细胞外调节蛋白激酶 1/2、丝裂原活化蛋白激酶/c-Jun 氨基末端激酶、核转录因子红系 2 相关因子 2/Kelch 样 ECH 相关蛋白 1、AMP 依赖蛋白激酶/哺乳动物雷帕靶蛋白等信号通路,发挥抗炎、抗凋亡和抗氧化等作用^[15]。创伤性脑损伤或急性脑缺血后,动物大脑皮质中 Sestrin2 的表达明显上调,但抑制 Sestrin2 会导致神经元凋亡和氧化应激^[16-17]。Sestrin2 在小鼠血管穿孔蛛网膜下腔出血模型的神经元和小胶质细胞中高表达,外源性重组 Sestrin2 能激活核转录

因子红系 2 相关因子 2 信号传导,抑制神经炎症反应和氧化应激^[18]。本研究结果显示,ACH 患者血清 Sestrin2 水平升高,并随着神经功能缺损程度加重而升高,并且会增加不良预后风险。鉴于 Sestrin2 在神经炎症反应、细胞凋亡和氧化应激中的保护作用,推测血清 Sestrin2 水平升高可能是机体对 ACH 的代偿反应。Sestrin2 在受到 ACH 后炎症反应、凋亡、氧化应激等因素刺激后被大量诱导表达,并通过调节一系列信号传导通路对抗神经炎症反应、细胞凋亡和氧化应激,保护神经功能^[19]。因此,较高的血清 Sestrin2 水平可能反映 ACH 患者面临更严重的神经功能缺损和更差的预后。

Omentin-1 是一种由脂肪组织产生并在肝、肠、心、脑等部位表达的脂肪细胞因子,能通过减少炎症反应介质、凋亡因子释放和清除氧自由基等发挥抗炎、抗凋亡、抗氧化的作用^[20]。Omentin-1 在脑缺血再灌注损伤细胞中低表达,重组人 Omentin-1 能减少凋亡分子和氧化应激分子表达,抑制神经元凋亡和氧化应激反应,以减轻神经损伤^[21]。敲除正常小鼠 Omentin-1 基因可导致神经胶质细胞活化和海马促炎细胞因子表达增加,补充 Omentin-1 能抑制脂多糖诱导的神经炎症反应^[22]。这些实验说明 Omentin-1 具有重要的神经保护作用。近年来国内外学者均指出,血清 Omentin-1 水平影响缺血性脑卒中患者病情和预后^[10,23]。本研究结果显示,ACH 患者血清 Omentin-1 水平降低,并随着神经功能缺损程度加重而降低,Omentin-1 升高能降低不良预后风险。分析原因,Omentin-1 能激活生长停滞特异性蛋白 6/Anexelekto 信号通路,抑制氧化应激和凋亡分子表达,减轻神经细胞损伤而改善神经功能缺损程度和预后^[21]。同时,Omentin-1 能抑制核 p65 积累和核因子- κ B 启动子活性来抑制核因子- κ B 信号通路,从而减轻神经功能缺损程度和降低不良预后风险^[24]。

本研究 ROC 曲线显示,血清 Sestrin2 联合 Omentin-1 水平预测 ACH 患者预后的 AUC 大于血清 Sestrin2、Omentin-1 水平单独预测。这说明血清 Sestrin2、Omentin-1 水平有助于预测 ACH 患者预后,二者同时检测能更加准确地进行预测。

综上所述,血清 Sestrin2 水平升高和 Omentin-1 水平降低与 ACH 患者神经功能缺损程度加重及不良预后有关,血清 Sestrin2 联合 Omentin-1 水平对其不良预后的预测价值较高。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

周一凡:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;闫一九:提出研究思路,分析试验数据;王常州:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;王临风:进行统计学分析;李中林:资料搜集整理,论文修改、论文审核

参考文献

- [1] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: A systematic analysis for the global burden of disease study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20 (10): 795-820. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.
- [2] 《中国卒中防治报告 2021》编写组,王陇德.《中国卒中防治报告 2021》概要[J]. *中国脑血管病杂志*, 2023, 20 (11): 783-792. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2023.11.009.
- [3] Special Writing Group of China Stroke Surveillance Report. China stroke surveillance report 2021 [J]. *Mil Med Res*, 2023, 10 (1): 33. DOI: 10.1186/s40779-023-00463-x.
- [4] 付伟伟,焦常新,张冠.血浆 Lp-PLA2 联合预后营养指数对急性脑出血患者预后的评估价值[J]. *山东医药*, 2023, 63 (28): 62-65. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2023.28.015.
- [5] 张瑛,周德生.脑出血后神经炎症的研究进展[J]. *中国急救医学*, 2022, 42 (4): 347-352. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2022.04.014.
- [6] 杨庆晓,关文明,宋彬,等.急性脑出血患者血清 ICAM-1、cFN 水平与炎症因子相关性及其预后的危险因素分析[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (6): 549-553, 558. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.003.
- [7] 杨永.应激诱导蛋白 Sestrin2 在多种病理过程中的作用研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41 (2): 410-414. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.024.
- [8] Hussein AA, Ahmed NA, Sakr HI, et al. Omentin roles in physiology and pathophysiology: An up-to-date comprehensive review [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2023, 11 (23): 1-14. DOI: 10.1080/13813455.2023.2283685.
- [9] 王庆,王永.急性缺血性脑卒中病人血清正五聚蛋白 3、Sestrin2 的表达及临床意义[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2023, 21 (15): 2862-2865. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2023.15.031.
- [10] 庄月,黄红伟.急性缺血性脑卒中患者入院时血清 omentin-1 水平与病情严重程度及预后的关系[J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43 (11): 1354-1358, 1363. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.11.016.
- [11] 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.
- [12] 张磊,刘建民.改良 Rankin 量表[J]. *中华神经外科杂志*, 2012, 28 (5): 512.
- [13] 杨庆晓,关文明,宋彬,等.急性脑出血患者血清 ICAM-1、cFN 水平与炎症因子相关性及其预后的危险因素分析[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (6): 549-553, 558. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.003.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 09. 006

神经系统疾病专题

血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 在急性脑出血患者病情评估和预后预测中的价值

胡娇, 王飞, 罗蓉, 阳靖, 李树林

基金项目: 湖南省自然科学基金(2023JJ60488)

作者单位: 410007 长沙, 湖南中医药大学第一附属医院急诊科(胡娇、王飞、罗蓉), 神经外科(阳靖、李树林)

通信作者: 王飞, E-mail: 459414837@qq.com



【摘要】目的 探究血清钙通道 $\alpha 2\delta-1$ 、消退素 D1 (RvD1) 水平在评估急性脑出血患者的病情和预后中的临床应用价值。**方法** 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月湖南中医药大学第一附属医院急诊科收治的急性脑出血患者 126 例为研究组, 根据随访 6 个月患者预后情况分为预后不良亚组 52 例和预后良好亚组 74 例; 另选取同期医院健康体检者 60 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法测定血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平; 多因素 Logistic 回归分析急性脑出血患者预后不良的影响因素; 受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平对急性脑出血预后不良的预测价值。**结果** 研究组血清 $\alpha 2\delta-1$ 水平高于健康对照组, 血清 RvD1 水平低于健康对照组 ($t = 28.379, 16.412, P$ 均 < 0.001); 随着病情加重, 急性脑出血患者血清 $\alpha 2\delta-1$ 水平逐渐上升, 血清 RvD1 水平逐渐降低 ($F = 109.100, 54.370, P$ 均 < 0.001); 126 例急性脑出血患者 6 个月预后不良发生率为 41.27% (52/126), 预后不良亚组患者年龄、发病至入院时间、NIHSS 评分、血肿体积、血清 $\alpha 2\delta-1$ 大于/高于预后良好亚组 ($t = 3.331, 27.914, 21.449, 6.056, 2.301, P$ 均 < 0.01), 血清 RvD1 水平低于预后良好亚组 ($t = 5.824, P < 0.001$); 多因素 Logistic 回归结果示, NIHSS 评分、血肿体积、 $\alpha 2\delta-1$ 升高为急性脑出血患者预后不良的独立危险因素 [$OR(95\% CI) = 2.361(1.694 \sim 3.101), 2.147(1.514 \sim 2.798), 1.665(1.262 \sim 2.995)$], RvD1 升高为独立保护因素 [$OR(95\% CI) = 0.389(0.255 \sim 0.662)$]; 血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平及二者联合预测急性脑出血患者预后不良的曲线下面积(AUC)分别为 0.756、0.780、0.841, 二者联合的 AUC 大于血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平单独预测 ($Z/P = 2.623/0.009, 2.127/0.033$)。**结论** 血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平可反映急性脑出血患者的病情程度, 可作为患者预后不良的辅助预测指标, 二者联合对急性脑出血患者的预后评估价值较高。

【关键词】 急性脑出血; 钙通道 $\alpha 2\delta-1$; 消退素 D1; 病情; 预后**【中图分类号】** R743.34 **【文献标识码】** A

The value of serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 in evaluating the condition and prognosis of patients with acute cerebral hemorrhage Hu Jiao*, Wang Fei, Luo Rong, Yang Jing, Li Shulin. * Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Hunan Province, Changsha 410007, China

Funding program: Hunan Provincial Natural Science Foundation (2023JJ60488)

Corresponding author: Wang Fei, E-mail: 459414837@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical application value of serum calcium channel $\alpha 2\delta-1$ and Resolvin D1 (RvD1) levels in evaluating the condition and prognosis of patients with acute cerebral hemorrhage. **Methods** A total of 126 patients with acute cerebral hemorrhage admitted to the Emergency Department of the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine from January 2022 to December 2023 were selected as the study group. According to the prognosis of patients followed up for 6 months, they were divided into 52 cases of poor prognosis subgroup and 74 cases of good prognosis subgroup. In addition, 60 healthy people who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as healthy control group. The levels of serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 were measured by enzyme linked immunosorbent assay. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of poor prognosis in patients with acute cerebral hemorrhage. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the predictive value of serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 levels on the poor prognosis of acute cerebral hemorrhage. **Results** The serum $\alpha 2\delta-1$ level in the study group was higher than that in the healthy control group, and the serum RvD1 level

was lower than that in the healthy control group ($t=28.379, 16.412, \text{all } P<0.001$). With the aggravation of the disease, the level of serum $\alpha 2\delta-1$ in patients with acute cerebral hemorrhage gradually increased, and the level of serum RvD1 gradually decreased ($F=109.100, 54.370, P<0.001$). The incidence of 6-month poor prognosis in 126 patients with acute cerebral hemorrhage was 41.27% (52/126). The age, NIHSS score, hematoma volume, serum $\alpha 2\delta-1$, and time from symptom onset to admission in the poor prognosis subgroup were higher than those in the good prognosis subgroup ($t=3.331, 27.914, 21.449, 6.056, 2.301, \text{all } P<0.05$), and the serum RvD1 level was lower than that in the good prognosis subgroup ($t=5.824, P<0.001$). Multivariate logistic regression results showed that high NIHSS score, large hematoma volume, and high $\alpha 2\delta-1$ were independent risk factors for poor prognosis in patients with acute cerebral hemorrhage [$OR(95\% CI) = 2.361(1.694 - 3.101), 2.147(1.514 - 2.798), 1.665(1.262 - 2.995)$], and high RvD1 was an independent protective factor [$OR(95\% CI) = 0.389(0.255 - 0.662)$]; the AUC of serum $\alpha 2\delta-1$, RvD1 levels and their combined prediction of poor prognosis in patients with acute cerebral hemorrhage were 0.756, 0.780 and 0.841, respectively. The area under the curve (AUC) of the combination of the two was greater than the AUC predicted by serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 levels alone ($Z=2.623, 2.127, P=0.009, 0.033$). **Conclusion** Serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 levels can reflect the severity of patients with acute cerebral hemorrhage, and can be used as an auxiliary predictor of poor prognosis. The combination of the two has a high value in evaluating the prognosis of patients with acute cerebral hemorrhage.

【Key words】 Acute intracerebral hemorrhage; Calcium channel $\alpha 2\delta-1$; Resolvin D1; State of illness; Prognosis

急性脑出血是一种以高血压动脉病变和脑淀粉样血管病变为主要病理生理表现的常见急症神经系统疾病^[1-2]。起病急、进展迅速,病情严重者可导致严重并发症及不良预后。钙通道 $\alpha 2\delta-1$ 是突触前电压门控钙通道(VGCCs)亚基之一,优先表达于大脑某些兴奋性神经元中,表达异常与脑梗死、脑出血等疾病中神经系统炎性反应和异常神经疼痛的产生有关^[3-4]。消退素(resolvin D1, RvD1)是一种内源性炎性反应促分解介质,与多种神经炎性疾病的发生发展关系密切^[5-6]。目前关于血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平与急性脑出血病情程度及预后相关性的研究较少,本研究通过探讨血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 与急性脑出血病情及预后的关系,期望为临床病情监测、改善患者预后提供一定依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月湖南中医药大学第一附属医院急诊科诊治的急性脑出血患者 126 例为研究组,男 72 例,女 54 例;年龄 32 ~ 86 (63.90 ± 12.70) 岁;病程 0.43 ~ 12.61 (6.41 ± 3.04) h。根据神经功能缺损情况将急性脑出血患者分为轻度亚组 32 例、中度亚组 46 例、中重度亚组 33 例、重度亚组 15 例。另纳入同期医院健康体检者 60 例为健康对照组,男 34 例,女 26 例;年龄 27 ~ 81 (62.56 ± 13.09) 岁。2 组性别、年龄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(YX-2021-42),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临床症状和体征符合《中国脑出血诊治指南(2019)》中急性脑出血

诊断标准^[7];②年龄 > 18 岁;③卒中症状出现后 24 h 内经头部 CT 确定为脑出血;④临床指标及随访资料完整者。(2) 排除标准:①具有颅内占位性病变或颅内肿瘤者;②既往有脑卒中史者;③严重心、肝、肾疾病患者;④合并严重感染性疾病、恶性肿瘤或免疫系统疾病的患者;⑤妊娠期或哺乳期妇女。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集:收集患者性别、年龄、身高、体重、质量、病程、发病至入院时间、临床症状、慢性疾病、既往病史、吸烟饮酒史、用药史、收缩压、舒张压、血糖等资料。

1.3.2 神经功能缺损评分和血肿部位体积检测:根据美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)^[8],评估患者神经功能缺损程度;行头部计算机断层扫描(通用电气 GE-256 排 CT),观察并记录血肿部位,根据血肿的长 × 宽 × 层数/2 计算脑出血的体积。

1.3.3 血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平检测:于患者入院时及健康对照组体检当日采集肘静脉血 5 ml,离心留取血清后 -80℃ 冰箱保存待测。采用酶联免疫吸附法测定血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平,测定所用试剂盒分别购自 My-biosource 公司和 SunRed 生物技术公司。

1.3.4 随访与预后分组:研究组入院后接受止血、吸收血肿、降低颅内压等相关治疗,待患者病情稳定出院后每月由专业医师或护理人员以患者入院复查或电话沟通咨询的方式进行定期随访,共随访 6 个月,随访截止日期 2024 年 4 月(死亡患者以死亡作为随访终点)。采用改良 Rankin 量表(modified Rankin scale, mRS)^[9]评估患者预后,总分值 0 ~ 6 分,≤2 分为预后

良好, >2 分为预后不良。根据 mRS 评分将急性脑出血患者分为预后良好亚组 74 例和预后不良亚组 52 例。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 软件整理和分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;多因素 Logistic 回归分析急性脑出血患者预后不良的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平对急性脑出血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 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平比较 研究组血清 $\alpha 2\delta-1$ 水平高于健康对照组,血清 RvD1 水平低于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

表 1 健康对照组与研究组血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 levels between healthy control group and study group

组别	例数	$\alpha 2\delta-1$ (ng/L)	RvD1 ($\mu\text{g/L}$)
健康对照组	60	202.74 \pm 39.52	2.32 \pm 0.58
研究组	126	888.50 \pm 184.56	1.09 \pm 0.33
<i>t</i> 值		28.379	16.412
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 不同病情急性脑出血患者血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平比较 伴随病情加重,急性脑出血患者血清 $\alpha 2\delta-1$ 水平逐渐升高,血清 RvD1 水平逐渐降低($P < 0.01$),

见表 2。

表 2 不同病情程度急性脑出血患者血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum levels of $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 in patients with acute cerebral hemorrhage of different disease severity

组别	例数	$\alpha 2\delta-1$ (ng/L)	RvD1 ($\mu\text{g/L}$)
轻度亚组	32	625.00 \pm 75.53	1.31 \pm 0.21
中度亚组	46	959.60 \pm 110.01	1.12 \pm 0.35
中重度亚组	33	993.10 \pm 94.85	1.03 \pm 0.25
重度亚组	15	1 002.30 \pm 130.77	0.66 \pm 0.15
<i>F</i> 值		109.100	54.370
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 不同预后急性脑出血患者临床/病理特征比较 随访 6 个月,126 例急性脑出血患者预后不良发生率为 41.27% (52/126)。预后不良亚组年龄、发病至入院时间、NIHSS 评分、血肿体积、血清 $\alpha 2\delta-1$ 高于预后良好亚组,血清 RvD1 水平低于预后良好亚组($P < 0.05$),见表 3。

2.4 多因素 Logistic 分析急性脑出血患者预后不良的影响因素 以急性脑出血患者是否发生预后不良为因变量(赋值:是为“1”;否为“0”),将表 3 中有差异项目作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示:NIHSS 评分升高、血肿体积较大、 $\alpha 2\delta-1$ 升高为急性脑出血患者预后不良的独立危险因素,RvD1 升高为独立保护因素($P < 0.05$),见表 4。

表 3 不同预后急性脑出血患者临床/病理特征比较

Tab. 3 Comparison of clinical/pathological characteristics of acute cerebral hemorrhage patients with different prognoses

项目	预后良好亚组($n = 74$)	预后不良亚组($n = 52$)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
男[例(%)]	41(55.41)	31(59.62)	0.221	0.638
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	60.85 \pm 11.47	68.24 \pm 13.31	3.331	0.001
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)	23.82 \pm 2.88	24.55 \pm 2.78	1.236	0.219
吸烟史[例(%)]	23(31.08)	16(30.77)	0.001	0.970
饮酒史[例(%)]	25(33.78)	21(40.38)	0.574	0.449
高血压[例(%)]	41(55.41)	30(57.69)	0.065	0.799
糖尿病[例(%)]	14(18.92)	11(21.15)	0.096	0.757
收缩压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	159.72 \pm 23.18	165.37 \pm 23.66	1.336	0.184
舒张压($\bar{x} \pm s$,mmHg)	87.73 \pm 15.44	92.45 \pm 16.21	1.655	0.100
既往使用他汀类药物[例(%)]	18(24.32)	12(23.08)	0.026	0.871
既往使用抗凝药物[例(%)]	7(9.46)	6(11.54)	0.143	0.706
既往使用抗血小板药物[例(%)]	11(14.86)	10(19.23)	0.419	0.517
发病至入院时间($\bar{x} \pm s$,h)	5.89 \pm 2.84	7.14 \pm 3.22	2.301	0.023
NIHSS 评分($\bar{x} \pm s$,分)	5.78 \pm 0.93	13.45 \pm 2.09	27.914	<0.001
血肿体积($\bar{x} \pm s$,ml)	13.87 \pm 1.73	24.12 \pm 3.56	21.449	<0.001
血糖($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	7.94 \pm 3.99	8.76 \pm 3.63	1.126	0.260
血清 $\alpha 2\delta-1$ ($\bar{x} \pm s$,ng/L)	814.80 \pm 191.42	993.20 \pm 109.45	6.056	<0.001
血清 RvD1 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)	1.22 \pm 0.29	0.91 \pm 0.30	5.824	<0.001

表 4 影响急性脑出血患者预后的多因素 Logistic 回归模型分析

Tab. 4 Multivariate Logistic regression model analysis of factors affecting the prognosis of patients with acute cerebral hemorrhage

自变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄大	0.309	0.810	1.431	0.231	1.362	0.912 ~ 1.933
NIHSS 评分高	0.859	0.196	6.526	0.011	2.361	1.694 ~ 3.101
血肿体积大	0.764	0.174	13.390	<0.001	2.147	1.514 ~ 2.798
发病至入院时间长	0.066	0.216	2.711	0.102	1.068	0.915 ~ 1.529
$\alpha 2\delta-1$ 高	0.510	0.274	7.880	0.005	1.665	1.262 ~ 2.995
RvD1 高	-0.944	0.155	11.592	0.001	0.389	0.255 ~ 0.662

2.5 血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平对急性脑出血患者预后不良的预测价值 绘制血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平单独与联合预测急性脑出血患者预后不良的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平及二者联合预测急性脑出血患者预后不良的 AUC 分别为 0.756、0.780、0.841,二者联合的 AUC 大于血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平单独预测 ($Z = 2.623, 2.127, P = 0.009, 0.033$),见表 5、图 1。

表 5 血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平对急性脑出血患者预后不良的预测价值

Tab. 5 The predictive value of serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 levels for poor prognosis in patients with acute cerebral hemorrhage

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
$\alpha 2\delta-1$	929.35 ng/L	0.756	0.672 ~ 0.840	0.654	0.743	0.397
RvD1	0.99 $\mu\text{g/L}$	0.780	0.694 ~ 0.865	0.673	0.824	0.497
二者联合		0.841	0.772 ~ 0.910	0.789	0.770	0.559

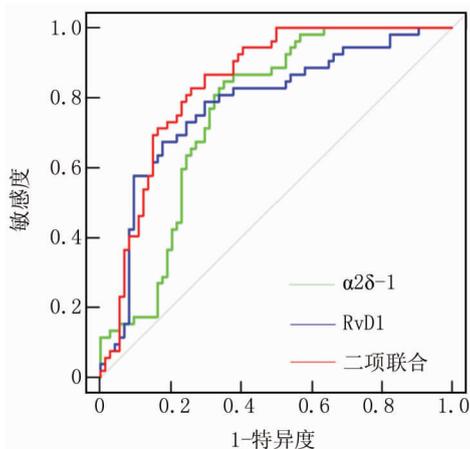


图 1 血清 $\alpha 2\delta-1$ 、RvD1 水平预测急性脑出血患者预后不良的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve for predicting poor prognosis in patients with acute cerebral hemorrhage based on serum $\alpha 2\delta-1$ and RvD1 levels

3 讨论

全球疾病负担研究显示,我国居民卒中终身发病风险达 39.9%,为全球第一位,成为严重危害我国居民生命与健康的公共卫生问题之一^[10]。脑出血是我国脑卒中发生的主要原因之一^[11]。本研究急性脑出血患者随访 6 个月后预后不良发生率为 41.27%,与 Li 等^[12]研究结果(42.96%)接近,而低于 Zhang 等^[13]报道的 3 个月内不良预后率(48.54%)。结果的差异可能由研究对象的病情轻重等差异所致。及早治疗、控制病情进展可大大改善患者预后。

$\alpha 2\delta-1$ 是 *Cacna2d1* 的基因编码产物,属糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定蛋白家族,是 VGCCs 的最重要组分,参与细胞内外的钙离子转运,在肌肉发育和突触生成中发挥重要作用。Zhang 等^[13]研究发现,急性脑出血患者血清 $\alpha 2\delta-1$ 浓度高于健康对照者,是与急性脑出血密切相关的潜在血清标志物。这与本研究的结果相符,提示 $\alpha 2\delta-1$ 与急性脑出血的发生有关。急性脑出血中的脑组织损伤(包括神经细胞损伤)可刺激神经元膜兴奋性增加,刺激神经细胞释放 $\alpha 2\delta-1$ 蛋白质^[14];急性脑出血伴炎性反应,炎性反应细胞和炎性反应介质的过表达及巨噬细胞、小胶质细胞的浸润可能会促发远程免疫反应,致使 $\alpha 2\delta-1$ 蛋白质的释放^[15];此外,急性脑出血后神经细胞会试图重建和修复受损的突触连接,诱发 $\alpha 2\delta-1$ 释放以参与突触的形成和修复^[16]。本研究还显示,伴随脑出血病情加重, $\alpha 2\delta-1$ 水平逐渐升高,提示 $\alpha 2\delta-1$ 参与急性脑出血的发展过程。分析原因: $\alpha 2\delta-1$ 可通过 C 末端结构域与磷酸化的 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDARs)形成复合物,调控 NMDARs 在细胞表面和突触膜上的转运,从而减少 NMDAR 通道的 Mg^{2+} 阻断,触发 Ca^{2+} 内流,促发神经元损伤^[17-18];新近研究还发现, $\alpha 2\delta-1$ 可与 GluA1 和 GluA2 相互作用,破坏 GluA1/GluA2 亚基的异质组装,改变突触后 AMPAR 亚基组成,形成 CP-AMPA 与突触长时间结合,导致神经元功能障碍和损伤^[19],从而诱发病情进展。动物实验亦证实^[20],*Cacna2d1* 敲除后,随着 $\alpha 2\delta-1$ 表达的降低,突触 NMDAR 活性正常化,可抑制神经元凋亡和炎性反应,改善神经功能。由此可见, $\alpha 2\delta-1$ 水平可用于监测脑出血患者的病情进展。

RvD1 为二十二碳六烯酸衍生而来的一种炎性反应促分解因子,是由脂质酸在环氧和氧化酶作用下产生的一类脂质中间产物,为一种特异性消炎介质(specialized pro-resolving mediators, SPM),在慢性炎性反应性疾病的消退阶段发挥抗炎活性^[21]。本研究结果发

现,急性脑出血患者血清 RvD1 水平低于健康对照组,提示 RvD1 可能参与急性脑出血的发生。这与 Li 等^[12]的研究结果相符。原因可能在于:急性脑出血可呈现脑血流灌注降低、脑细胞缺血缺氧、神经炎症反应等血脑屏障破坏的病理损害,小胶质细胞、星形胶质细胞被迅速激活,导致神经炎症因子的大量释放,从而耗竭中枢和外周系统中的 RvD1,致使循环 RvD1 水平降低。本研究还显示,伴随脑出血病情加重,RvD1 水平逐渐降低,提示 RvD1 参与急性脑出血的进展。分析原因:RvD1 可调控核因子- κ B 等信号通路,减少炎症反应细胞的活化、浸润及炎症反应介质释放,参与抑制脑出血患者的氧化应激和炎症反应损伤^[22-24];RvD1 还可通过增强巨噬细胞 FPR2-1L-10 通路改善巨噬细胞的吞噬功能,或调控巨噬细胞-神经元的互作,激活神经元 Nrf2/HO-1 通路,从而减轻神经元凋亡。另外,RvD1 还可为小胶质细胞吞噬中性粒细胞提供能量,并通过调控 ERK 信号通路抑制神经突触重塑,产生镇痛效果^[25]。RvD1 水平越低,代表在平衡炎症反应等病理状态中耗竭更严重,提示病情进展。有动物实验亦显示,外源性补充 RvD1 可明显减轻脑出血大鼠的神经炎症反应,改善神经功能缺损症状^[26]。由此可见,血清 RvD1 水平可作为评价急性脑出血患者病情进展的辅助指标。

本研究发现,NIHSS 评分、血肿体积和血清 α 2 δ -1 升高是急性脑出血预后不良的独立危险因素,而 RvD1 是升高预后不良的独立保护因素。提示 NIHSS 评分、血肿体积、血清 α 2 δ -1 和 RvD1 水平可能是评估急性脑出血患者发生预后不良的标志物。分析原因,NIHSS 评分高提示神经缺损症状更严重;血肿体积大者对脑实质的机械刺激更严重,更易导致脑部积水、血液灌注不足而引起更为严重的神经病变;以往研究发现,血清 α 2 δ -1 和 RvD1 水平与脑出血患者 NIHSS 评分和血肿体积具有相关性,提示二者可反映患者神经缺损等症状的严重程度,患者病情越严重,预后不良发生风险增高^[12-13]。本研究绘制的 ROC 曲线结果显示,血清 α 2 δ -1 和 RvD1 联合检测可提高急性脑出血患者不良预后的临床预测价值,辅助制定针对性干预策略。

综上所述,血清 α 2 δ -1、RvD1 水平与急性脑出血患者的病情程度及预后不良关系密切,参与了急性脑出血的发病与进展过程,两指标联合检测可提高对急性脑出血预后不良的预测价值。本研究仍存在一定局限:(1)研究为单中心小样本研究,研究对象相对较少,可能产生数据偏倚,可进一步开展多中心大样本研究。(2)随访时间相对较短,对急性脑出血的 9 个月

或更长时间的预后情况未作分析。(3)由于缺乏充足的机制研究证据,有必要开展更多基础研究揭示 α 2 δ -1 和 RvD1 在急性脑出血进展中的作用,同时探索以二者作为治疗靶点的潜在策略。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

胡娇:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王飞:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;罗蓉:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;阳靖:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析;李树林:进行文献调研与整理

参考文献

- [1] Magid-Bernstein J, Girard R, Polster S, et al. Cerebral hemorrhage: Pathophysiology, treatment, and future directions [J]. *Circ Res*, 2022, 130 (8) : 1204-1229. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 121. 319949.
- [2] 杨庆晓,关文明,宋彬,等. 急性脑出血患者血清 ICAM-1、cFN 水平与炎症因子相关性及其预后的危险因素分析[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (6) : 549-553, 558. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2019. 06. 003.
- [3] Luo Y, Ma H, Zhou JJ, et al. Focal cerebral ischemia and reperfusion induce brain injury through α 2 δ -1-Bound NMDA receptors [J]. *Stroke*, 2018, 49 (10) : 2464-2472. DOI: 10. 1161/STROKEAHA. 118. 022330.
- [4] Li J, Song G, Jin Q, et al. The α 2 δ -1/NMDA receptor complex is involved in brain injury after intracerebral hemorrhage in mice [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2021, 8 (7) : 1366-1375. DOI: 10. 1002/aen3. 51372.
- [5] 张本峥,张蒙,任怡雅,等. 消退素 D1 通过影响小胶质细胞代谢抑制神经炎症改善阿尔茨海默病认知功能[J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2019, 39 (5) : 629-635. DOI: 10. 7655/NYDX-BNS20190501.
- [6] Zaninelli TH, Fattori V, Saraiva-Santos T, et al. RvD1 disrupts nociceptor neuron and macrophage activation and neuroimmune communication, reducing pain and inflammation in gouty arthritis in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179 (18) : 4500-4515. DOI: 10. 1111/bph. 15897.
- [7] 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.
- [8] Anderson A, Klein J, White B, et al. Training and certifying users of the national institutes of health stroke scale [J]. *Stroke*, 2020, 51 (3) : 990-993. DOI: 10. 1161/STROKEAHA. 119. 027234.
- [9] Isaksson E, Wester P, Laska AC, et al. Validation of the simplified modified rankin scale questionnaire [J]. *Eur Neurol*, 2020, 83 (5) : 493-499. DOI: 10. 1159/000510721.
- [10] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20 (10) : 795-820. DOI: 10. 1016/S1474-4422 (21) 00252-0.
- [11] 《中国脑卒中防治报告》编写组. 《中国脑卒中防治报告 2019》概要 [J]. *中国脑血管病杂志*, 2020, 17 (5) : 272-281. DOI: 10.

- 3969/j. issn. 1672-5921. 2020. 05. 008.
- [12] Li W, Shan H, Ma Y, et al. Prognostic significance of serum resolvin D1 levels in patients with acute supratentorial intracerebral hemorrhage: A prospective longitudinal cohort study [J]. *Clin Chim Acta*, 2023, 547; 117446. DOI: 10. 1016/j. cca. 2023. 117446.
- [13] Zhang H, Wu ZS, Liu JQ, et al. Serum calcium channel subunit $\alpha 2\delta$ -1 concentrations and outcomes in patients with acute spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 527; 17-22. DOI: 10. 1016/j. cca. 2022. 01. 002.
- [14] Li J, Song G, Jin Q, et al. The $\alpha 2\delta$ -1/NMDA receptor complex is involved in brain injury after intracerebral hemorrhage in mice [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2021, 8 (7); 1366-1375. DOI: 10. 1002/acn3. 51372.
- [15] Wang W, Huang X, Zhang Y, et al. Transient compression injury triggers neuroinflammation in a new rat model of acute peripheral neuropathic pain [J]. *Pain Physician*, 2024, 27 (1); E131-E145.
- [16] Risher WC, Kim N, Koh S, et al. Thrombospondin receptor $\alpha 2\delta$ -1 promotes synaptogenesis and spinogenesis via postsynaptic Rac1 [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217 (10); 3747-3765. DOI: 10. 1083/jcb. 201802057.
- [17] Chen J, Li L, Chen SR, et al. The $\alpha 2\delta$ -1-NMDA receptor complex is critically involved in neuropathic pain development and gabapentin therapeutic actions [J]. *Cell Rep*, 2022, 38; 110308. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2022. 110308.
- [18] Zhou MH, Chen SR, Wang L, et al. Protein kinase C-mediated phosphorylation and $\alpha 2\delta$ -1 interdependently regulate NMDA receptor trafficking and activity [J]. *J Neurosci*, 2021, 41; 6415-6429. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 0757-21. 2021.
- [19] Li L, Chen SR, Zhou MH, et al. $\alpha 2\delta$ -1 switches the phenotype of synaptic AMPA receptors by physically disrupting heteromeric subunit assembly [J]. *Cell Rep*, 2021, 36 (3); 109396. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2021. 109396.
- [20] Li J, Song G, Jin Q, et al. The $\alpha 2\delta$ -1/NMDA receptor complex is involved in brain injury after intracerebral hemorrhage in mice [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2021, 8 (7); 1366-1375. DOI: 10. 1002/acn3. 51372.
- [21] Perucci LO, de Castro Pinto KM, da Silva SPG, et al. Longitudinal assessment of leukotriene B4, lipoxin A4, and resolvin D1 plasma levels in pregnant women with risk factors for preeclampsia [J]. *Clin Biochem*, 2021, 98; 24-28. DOI: 10. 1016/j. clinbiochem. 2021. 09. 002.
- [22] Zaninelli TH, Fattori V, Saraiva-Santos T, et al. RvD1 disrupts nociceptor neuron and macrophage activation and neuroimmune communication, reducing pain and inflammation in gouty arthritis in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179 (18); 4500-4515. DOI: 10. 1111/bph. 15897.
- [23] 夏杰, 薛继阳, 杜杰, 等. 消退素 D1 在大鼠肺缺血再灌注损伤中的作用及其机制 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99 (14); 1111-1115. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2019. 14. 015.
- [24] Zhang J, Chen J, Jiang Q, et al. Resolvin D1 attenuates inflammation and pelvic pain associated with EAP by inhibiting oxidative stress and NLRP3 inflammasome activation via the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16; 3365-3379. DOI: 10. 2147/JIR. S408111.
- [25] Li L, Cheng SQ, Sun YQ, et al. Resolvin D1 reprograms energy metabolism to promote microglia to phagocytize neutrophils after ischemic stroke [J]. *Cell Rep*, 2023, 42 (6); 112617. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2023. 112617.
- [26] Wei C, Guo S, Liu W, et al. Resolvin D1 ameliorates inflammation-mediated blood-brain barrier disruption after subarachnoid hemorrhage in rats by modulating A20 and NLRP3 inflammasome [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11; 610734. DOI: 10. 3389/fphar. 2020. 610734.

(收稿日期: 2024 - 05 - 28)

(上接 1053 页)

- [14] 鲍俊杰, 王光胜, 耿德勤, 等. 血清 CXCL12、CCCK-18 水平检测在急性脑出血患者预后评估中的价值 [J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2023, 18 (5); 629-632. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-6966. 2023. 05. 015.
- [15] 罗杰, 廖师师, 潘锐, 等. Sestrin2 在缺血再灌注损伤中作用的研究进展 [J]. *山东医药*, 2023, 63 (28); 107-111. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2023. 28. 027.
- [16] Liu X, Li M, Zhu J, et al. Sestrin2 protects against traumatic brain injury by reinforcing the activation of Nrf2 signaling [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40 (7); 1095-1111. DOI: 10. 1177/0960327120984224.
- [17] Yang J, Guo Q, Wang L, et al. POU domain class 2 transcription factor 2 inhibits ferroptosis in cerebral ischemia reperfusion injury by activating Sestrin2 [J]. *Neurochem Res*, 2023, 48 (2); 658-670. DOI: 10. 1007/s11064-022-03791-x.
- [18] Yang Y, Ding H, Yang C, et al. Sestrin2 provides cerebral protection through activation of Nrf2 signaling in microglia following subarachnoid hemorrhage [J]. *Front Immunol*, 2023, 1 (14); 1089576. DOI: 10. 3389/fimmu. 2023. 1089576.
- [19] Ala M, Eftekhari SP. Target sestrin2 to rescue the damaged organ: mechanistic insight into its function [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021; 8790369. DOI: 10. 1155/2021/8790369.
- [20] 刘璐, 毕鹏翔, 董妍, 等. 网膜素-1 与缺血性脑卒中中相关关系的研究进展 [J]. *中国血液流变学杂志*, 2020, 30 (3); 401-405. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-881X. 2020. 03. 035.
- [21] Niu X, Cheng Y, Zhang M, et al. Neuroprotective effects of omentin-1 against cerebral hypoxia/reoxygenation injury via activating GAS6/Axl signaling pathway in neuroblastoma cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 1 (9); 784035. DOI: 10. 3389/fcell. 2021. 784035.
- [22] Ji L, Zhang L, Liang Z, et al. Role of omentin-1 in susceptibility to anxiety and depression like behaviors [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2023, 574; 111990. DOI: 10. 1016/j. mce. 2023. 111990.
- [23] Yang J, Gao Y. Clinical relevance of serum omentin-1 levels as a biomarker of prognosis in patients with acute cerebral infarction [J]. *Brain Behav*, 2020, 10 (7); e01678. DOI: 10. 1002/brb3. 1678.
- [24] Wang J, Gao Y, Lin F, et al. Omentin-1 attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced U937 macrophages activation by inhibiting the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 679; 108187. DOI: 10. 1016/j. abb. 2019. 108187.

(收稿日期: 2024 - 05 - 09)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.007

神经系统疾病专题

血清 FAM19A5、IL-34 在血管性认知障碍患者中的表达及临床意义

张永慧, 孙咏捷, 郝喜娃, 梁芙茹, 李月春



基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2019MS06007)

作者单位: 014040 内蒙古包头, 包头市中心医院/内蒙古医科大学包头临床医学院神经内科

通信作者: 李月春, E-mail: cjing84@163.com

【摘要】目的 探讨血清序列相似家族 19 成员 5 (FAM19A5)、白介素-34 (IL-34) 在血管性认知障碍 (VCI) 患者中的表达及临床意义。**方法** 选取 2020 年 1 月—2022 年 12 月包头市中心医院神经内科收治的非痴呆血管性认知损害 (VCIND) 患者 125 例 (VCIND 组) 和同期体检健康者 58 例 (健康对照组), VCIND 组患者随访 1 年根据是否进展为血管性痴呆 (VaD) 分为 VaD 亚组 45 例和非 VaD 亚组 80 例, 采用酶联免疫吸附法检测血清 FAM19A5、IL-34 水平。通过多因素 Logistic 回归分析 VCIND 进展至 VaD 的影响因素, ROC 曲线分析血清 FAM19A5、IL-34 水平对 VCIND 进展至 VaD 的预测效能。**结果** 与健康对照组比较, VCIND 组血清 FAM19A5 水平升高, IL-34 水平降低 ($t = 19.808$ 、 15.706 , P 均 < 0.001)。随访 1 年, 125 例 VCIND 患者 VaD 发生率为 36.00% (45/125)。与非 VaD 亚组比较, VaD 亚组血清 FAM19A5 水平升高, IL-34 水平降低 ($t = 7.100$ 、 5.952 , P 均 < 0.001)。Logistic 回归分析结果表明, 年龄增加 ($OR = 1.137$, 95% CI 1.014 ~ 1.275)、FAM19A5 升高 ($OR = 1.079$, 95% CI 1.040 ~ 1.119) 为 VCIND 进展至 VaD 的独立危险因素 ($P < 0.05$), 蒙特利尔认知评估量表评分增加 ($OR = 0.603$, 95% CI 0.437 ~ 0.832)、IL-34 升高 ($OR = 0.737$, 95% CI 0.624 ~ 0.870) 为独立保护因素 ($P < 0.05$)。血清 FAM19A5、IL-34 水平联合预测 VCIND 进展至 VaD 的曲线下面积为 0.880, 大于血清 FAM19A5、IL-34 水平单独预测的 0.813、0.781 ($Z = 2.529$ 、 2.855 , P 均 < 0.05)。**结论** 血清 FAM19A5 水平升高和 IL-34 水平降低与 VCIND 进展至 VaD 密切相关, 血清 FAM19A5、IL-34 水平联合检测对 VCIND 进展至 VaD 有较高的预测效能。

【关键词】 血管性认知障碍; 序列相似家族 19 成员 5; 白介素-34; 预测价值**【中图分类号】** R743 **【文献标识码】** A

Expression and clinical significance of serum FAM19A5 and IL-34 in patients with vascular cognitive impairment

Zhang Yonghui, Sun Yongjie, Hao Xiwa, Liang Furu, Li Yuechun. Department of Neurology, Baotou Central Hospital/Baotou Clinical Medical College, Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia, Baotou 014040, China

Funding program: Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2019M06007)

Corresponding author: Li Yuechun, E-mail: cjing84@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression and clinical significance of serum family with sequence similarity 19 member 5 (FAM19A5) and interleukin 34 (IL-34) in patients with vascular cognitive impairment (VCI). **Methods** One hundred and twenty-five non-demented vascular cognitive impairment in non-dementia (VCIND) patients admitted to the Department of Neurology of Baotou Central Hospital (VCIND group) and 58 physically examined healthy people in the same time period (control group) were selected from January 2020 to December 2022, and the patients in the VCIND group were classified into the VaD subgroup (45 cases) and the non-VaD subgroup (80 cases) according to whether they progressed to vascular dementia (VaD) in the one year follow up. Serum FAM19A5 and IL-34 levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay. The factors of VCIND progression to VaD were analyzed by multifactorial logistic regression, and the predictive energy efficiency of serum FAM19A5 and IL-34 levels on the progression of VCIND to VaD was analyzed by ROC curve. **Results** Compared with the control group, serum FAM19A5 levels were increased and IL-34 levels were decreased in the VCIND group ($t = 19.808$, 15.706 , all $P < 0.001$). At 1 year follow up, the incidence of VaD in 125 VCIND patients was 36.00% (45/125). Serum FAM19A5 levels were increased and IL-34 levels were decreased in the VaD subgroup compared with the non-VaD subgroup ($t = 7.100$, 5.952 , all $P < 0.001$). Increased age ($OR = 1.137$, 95% CI : 1.014 to 1.275) and

elevated FAM19A5 ($OR = 1.079$, $95\% CI: 1.040$ to 1.119) were independent risk factors for progression of VCIND to VaD, and increased Montreal Cognitive Assessment Scale score ($OR = 0.603$, $95\% CI: 0.437$ to 0.832) and elevated IL-34 ($OR = 0.737$, $95\% CI: 0.624$ to 0.870) were independent protective factors ($P < 0.05$). The area under the curve for the combined prediction of VCIND progression to VaD by serum FAM19A5 and IL-34 levels was 0.880, which was greater than the 0.813 and 0.781 predicted by serum FAM19A5 and IL-34 levels individually ($t = 2.529$ and 2.855 , all $P < 0.05$). **Conclusion** Elevated serum FAM19A5 levels and decreased IL-34 levels were strongly associated with the progression of VCIND to VaD, and the combination of serum FAM19A5 and IL-34 levels had high predictive efficacy for the progression of VCIND to VaD.

【Key words】 Vascular cognitive impairment; Family with sequence similarity 19 member 5; Interleukin 34; Predictive value

血管性认知障碍 (vascular cognitive impairment, VCI) 是指因脑血管病变及其危险因素导致的临床卒中或亚临床血管性脑损伤,而引起涉及 ≥ 1 个认知域受损的临床综合征,我国因脑血管病的负担持续加重,近年来 VCI 发生率也持续增加^[1-2]。非痴呆血管性认知损害 (vascular cognitive impairment with no dementia, VCIND) 是 VCI 的早期阶段,若不积极控制病情发展则会进展为血管性痴呆 (vascular dementia, VaD), 严重损害患者认知功能和生存质量^[3]。因此及时预测 VCIND 患者进展 VaD 十分重要。研究表明,神经炎症反应参与 VCI 发生发展^[4]。序列相似家族 19 成员 5 (family with sequence similarity 19 member 5, FAM19A5/TAF5) 是一种新型神经因子,能通过影响免疫细胞活性促进神经炎症反应发生发展^[5]。研究报道,血清 FAM19A5 水平升高与 VaD 患者认知功能降低有关^[6]。白介素 (interleukin, IL)-34 是一种新型细胞因子,能影响炎症介质释放,抑制神经炎症反应和维持神经元功能^[7]。研究报道,血清 IL-34 水平降低与 VaD 患者认知功能降低有关^[8]。但关于血清 FAM19A5、IL-34 在 VCI 患者中的表达及临床意义尚缺乏报道,本研究旨在探讨 VCI 患者血清 FAM19A5、IL-34 水平变化及对 VCIND 进展至 VaD 的预测价值,以期临床预防 VaD 提供更多依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1 月—2022 年 12 月包头市中心医院神经内科收治的 VCIND 患者 125 例 (VCIND 组),符合《2019 年中国血管性认知障碍诊治指南》^[9] 诊断标准:符合国际血管性行为与认知障碍协会 VCI 诊断标准^[10],同时存在 ≥ 1 个认知域功能障碍,但不影响日常生活的独立性 (工具性日常生活能力轻度受损或正常)。男 67 例,女 58 例,年龄 $51 \sim 79$ (63.41 ± 4.88) 岁;受教育年限 $3 \sim 15$ 年,中位数 7.00 ($5.00, 9.00$) 年;体质量指数 $19.84 \sim 28.76$ (24.44 ± 1.74) kg/m^2 。另选择同期体检健康者 58 例 (健康对

照组),男 31 例,女 27 例,年龄 $42 \sim 78$ (63.12 ± 4.23) 岁;受教育年限 $4 \sim 15$ 年,中位数 7.00 ($5.00, 10.00$) 年;体质量指数 $18.62 \sim 27.52$ (24.24 ± 1.63) kg/m^2 。2 组性别、年龄、体质量指数、受教育年限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 (M2019053),受试者或其家属知情同意并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 ≥ 18 岁;②有完整的临床病历资料;③初次确诊为 VCI,且入院前未接受任何 VCI 相关治疗。(2) 排除标准:①存在重要器官功能严重损害;②合并其他神经系统疾病 (如脑炎、多发性硬化、抑郁症等);③颅内肿瘤或脑外伤;④妊娠期及哺乳期妇女;⑤正在使用抗胆碱能药物等影响认知功能的药物;⑥合并系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等自身免疫性疾病;⑦不接受随访或失访者;⑧视觉、言语、交流等障碍;⑨药物或酒精依赖者;⑩文盲患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集:收集并统计 VCIND 患者一般资料,包括性别、年龄、受教育年限、体质量指数、血压、吸烟、饮酒、糖尿病、高血压、卒中史、血脂四项、蒙特利尔认知评估量表 (MoCA) 评分 (总分值 $0 \sim 30$ 分,得分越低认知功能越差)^[11] 等资料。

1.3.2 血清 FAM19A5、IL-34 水平检测:VCIND 患者入院次日和健康对照组体检时采集空腹静脉血 3 ml,经 $3\ 000\ r/min$ 离心 $25\ min$ (半径 $15\ cm$),取上层血清储存于 $-80^\circ C$ 冰箱中。采用酶联免疫吸附法试剂盒 (武汉博欧特生物科技有限公司生产,批号:orb564979、orb314919) 检测血清 FAM19A5、IL-34 水平,严格按试剂盒说明书进行操作。

1.4 随访和分组 通过电话或门诊复查对 VCIND 患者随访 1 年,根据是否进展为 VaD 分为 VaD 亚组和非 VaD 亚组。VCIND 进展至 VaD 的诊断参考《2019 年中国血管性认知障碍诊治指南》^[9]:存在 ≥ 1 个认知域显著认知障碍,且严重程度影响日常生活的独立性。

1.5 统计学方法 选用 SPSS 28.0 软件进行统计分析、GraphPad Prism 8.0 软件进行制图。计数资料以频数或率(%)表示,采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;符合偏态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,采用 U 检验;多因素 Logistic 回归分析 VCIND 进展至 VaD 的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 FAM19A5、IL-34 水平对 VCIND 进展至 VaD 的预测能效,DeLong 检验比较血清 FAM19A5、IL-34 水平单独与联合预测的曲线下面积(AUC)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VCIND 组与健康对照组血清 FAM19A5、IL-34 水平比较 与健康对照组比较,VCIND 组血清 FAM19A5 水平升高,IL-34 水平降低($P < 0.01$),见表 1。

表 1 VCIND 组与健康对照组血清 FAM19A5、IL-34 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$)

Tab. 1 Comparison of serum FAM19A5 and IL-34 levels between VCIND group and healthy control group

组别	例数	FAM19A5	IL-34
健康对照组	58	104.51 ± 10.17	41.70 ± 6.29
VCIND 组	125	175.79 ± 26.48	29.01 ± 4.42
t 值		19.808	15.706
P 值		<0.001	<0.001

2.2 VaD 亚组与非 VaD 亚组一般资料和血清 FAM19A5、IL-34 水平比较 随访 1 年,125 例 VCIND

表 2 VaD 亚组与非 VaD 亚组一般资料和血清 FAM19A5、IL-34 水平比较

Tab. 2 Comparison of general information and serum FAM19A5 and IL-34 levels between VaD subgroup and Non VaD subgroup

项目	非 VaD 亚组 ($n = 80$)	VaD 亚组 ($n = 45$)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值	
性别[例(%)]	男	42(52.50)	25(55.56)	0.108	0.742
	女	38(47.50)	20(44.44)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	62.36 ± 4.57	65.27 ± 4.91	3.322	0.001	
受教育年限 [$M(Q_1, Q_3)$, 年]	7.00(6.00, 9.00)	6.00(5.00, 8.50)	1.390	0.164	
体质指数($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)	24.33 ± 1.88	24.62 ± 1.45	0.898	0.371	
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	145.64 ± 9.73	147.40 ± 10.74	0.936	0.351	
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	91.81 ± 6.85	92.96 ± 7.06	0.886	0.378	
吸烟[例(%)]	25(31.25)	18(40.00)	0.977	0.323	
饮酒[例(%)]	13(16.25)	11(24.44)	1.247	0.264	
糖尿病[例(%)]	15(18.75)	10(22.22)	0.217	0.641	
高血压[例(%)]	25(31.25)	17(37.78)	0.550	0.458	
卒中史[例(%)]	51(63.75)	31(68.89)	0.337	0.562	
总胆固醇($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.41 ± 0.71	4.53 ± 0.68	0.967	0.336	
三酰甘油($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.61 ± 0.20	1.67 ± 0.18	1.534	0.128	
高密度脂蛋白胆固醇($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.27 ± 0.15	1.24 ± 0.15	0.886	0.388	
低密度脂蛋白胆固醇($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.72 ± 0.21	2.78 ± 0.23	1.609	0.110	
MoCA 评分 [$M(Q_1, Q_3)$, 分]	23.00(21.00, 25.00)	22.00(19.00, 23.50)	3.141	0.002	
FAM19A5($\bar{x} \pm s$, ng/L)	166.01 ± 26.01	193.18 ± 16.68	7.100	<0.001	
IL-34($\bar{x} \pm s$, ng/L)	30.57 ± 4.10	26.24 ± 3.54	5.952	<0.001	

患者中有 45 例进展为 VaD, VaD 发生率为 36.00% (45/125)。与非 VaD 亚组比较, VaD 亚组年龄更大, MoCA 评分和 IL-34 水平更低, FAM19A5 水平更高($P < 0.01$), 2 亚组性别、受教育年限、体质量指数、血压等资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2.3 VCIND 进展至 VaD 的多因素 Logistic 回归分析

以是否进展 VaD (是/否 = 1/0) 为因变量, 以单因素分析中有差异项目 [年龄、MoCA 评分、FAM19A5、IL-34 (均原值录入)] 为自变量, 进行 Logistic 回归分析。结果显示: 年龄增加、FAM19A5 升高为 VCIND 进展至 VaD 的独立危险因素, MoCA 评分增加、IL-34 升高为独立保护因素($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 VCIND 进展至 VaD 的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3 Multivariate Logistic regression analysis of VCIND progression to VaD

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄增加	0.129	0.059	4.825	0.028	1.137	1.014 ~ 1.275
MoCA 评分增加	-0.506	0.164	9.522	0.002	0.603	0.437 ~ 0.832
FAM19A5 升高	0.076	0.019	16.672	<0.001	1.079	1.040 ~ 1.119
IL-34 升高	-0.305	0.085	12.943	<0.001	0.737	0.624 ~ 0.870

2.4 血清 FAM19A5、IL-34 水平对 VCIND 进展至 VaD 的预测能效 通过 Logistic 回归拟合血清 FAM19A5、IL-34 水平联合预测概率 [$\ln(P/1 - P) = -4.054 + 0.064 \times \text{FAM19A5} - 0.288 \times \text{IL-34}$]。绘制血清

FAM19A5、IL-34 水平预测 VCIND 进展至 VaD 的 ROC 曲线,并计算和比较 AUC。结果显示:血清 FAM19A5、IL-34 水平联合预测的 AUC 为 0.880, 大于血清 FAM19A5、IL-34 水平单独预测的 0.813、0.781 ($Z = 2.529/2.855, P = 0.011/0.004$), 见表 4、图 1。

表 4 血清 FAM19A5、IL-34 水平对 VCIND 进展至 VaD 的预测能效

Tab. 4 Predictive energy efficiency of serum FAM19A5 and IL-34 levels for VCIND progression to VaD

指 标	Cut-off	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
FAM19A5	174.66 ng/L	0.813	0.733 ~ 0.877	0.844	0.613	0.457
IL-34	29.10 ng/L	0.781	0.699 ~ 0.850	0.800	0.675	0.475
二者联合	0.38	0.880	0.810 ~ 0.931	0.867	0.788	0.654

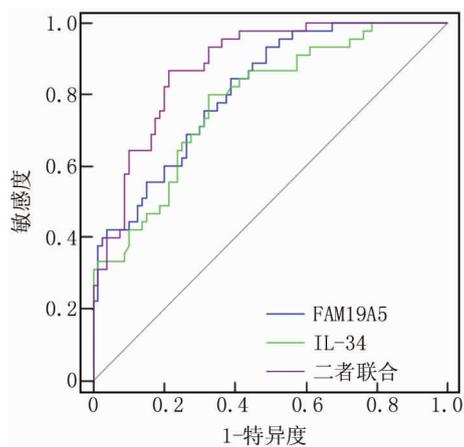


图 1 血清 FAM19A5、IL-34 水平预测 VCIND 进展至 VaD 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve for predicting VCIND progression to VaD based on serum FAM19A5 and IL-34 levels

3 讨论

VCI 涵盖了从 VCIND 到 VaD 的整个病理过程, VaD 是继阿尔茨海默病第 2 大常见痴呆原因,以严重认知损害、生活能力下降和精神行为症状为主要临床表现,并会增加躯体功能受损、基础疾病和死亡风险,迄今为止临床中尚无针对 VaD 病理的干预药物,这给患者及其家人带来心理、经济上的沉重负担,并严重影响患者的生活质量和社会功能^[12]。作为 VaD 病理进展的前期表现,VCIND 由于认知损害轻加之神经具有可塑性,该阶段及时干预有助于预防 VaD 发生,但 VCIND 起病隐匿且进展至 VaD 前缺乏典型症状,常导致未及时干预而进展为 VaD^[13-14]。虽然一些研究表明,某些血清指标有助于预测 VCIND 进展至 VaD,但

这些指标的特异度和敏感度仍存在争议,尚未成为临床上普遍接受的预测指标,因此需进一步研究和验证。

VCI 患者各阶段均存在不同程度的神经炎症反应,脑血管病变及其危险因素可通过破坏神经系统稳态、改变血脑屏障通透性、激活细胞反应信号等诱导神经胶质细胞(包括星形和小胶质细胞)活化,胶质细胞活化后可产生多种促炎细胞因子和炎症介质,诱导神经细胞凋亡和破坏神经信号传导等促进 VCI 发生发展^[4]。FAM19A5 是新近发现在脑内广泛表达的一种与 C-C 基序趋化因子配体 3 结构相似的特异性趋化因子,主要定位于下丘脑和海马区域,参与调节脑内免疫和神经细胞功能^[15]。FAM19A5 在肿瘤坏死因子- α 诱导的小鼠下丘脑和神经小胶质细胞中大量表达,下调 FAM19A5 可降低肿瘤坏死因子- α 诱导的神经系统炎症因子表达^[16]。FAM19A5 在抑郁症患者血清中升高,并与星形胶质细胞炎症反应相关^[17]。这些研究提示 FAM19A5 是神经炎症反应的重要参与者。帕金森病是痴呆的常见病因,近年来有学者指出,血浆 FAM19A5 升高与帕金森病的发生独立相关^[18]。Li 等^[6]也报道,血清 FAM19A5 水平随着 VaD 患者认知障碍加重而升高,是 VaD 认知功能的独立风险预测因子。因此推测血清 FAM19A5 可能与 VCIND 进展至 VaD 有关。本研究结果显示,VCIND 患者血清 FAM19A5 水平升高,是 VCIND 进展至 VaD 的独立危险因素,说明血清 FAM19A5 水平升高会增加 VCIND 进展至 VaD 的风险。其原因可能是, FAM19A5 在神经胶质细胞中表达,神经胶质细胞是神经炎症反应的核心,神经胶质细胞活化后引起 FAM19A5 大量表达,因此 FAM19A5 升高反映了神经胶质细胞活化,同时 FAM19A5 表达后又能促进活化的神经胶质细胞释放更多的促炎细胞因子表达,加剧 VCIND 患者神经细胞损害,进而增加 VCIND 进展至 VaD 的风险^[5,19]。

IL 是一大类可在细胞和组织中引发多种反应的免疫调节蛋白,其家族成员参与抗炎和促炎作用,在神经系统疾病中发挥重要作用^[20]。IL-34 是新近发现生物活性类似集落刺激因子-1 (colony stimulating factor-1, CSF-1) 但功能不完全相同的促炎细胞因子,能结合 CSF-1 受体激活磷酸肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B、c-Jun 氨基末端激酶、核因子- κ B 等炎症信号通路促进炎症反应,与类风湿关节炎、溃疡性结肠炎等多种炎症疾病有关^[21]。但近年研究发现 IL-34 可以作用于多种细胞,如神经元、胶质细胞和内皮细胞,以维持中枢神经系统的内稳态,如 IL-34 能通过自噬作用保护衰老诱导的小胶质细胞死亡和抑制神经炎症反应^[22]; IL-34 能恢

复被促炎细胞因子下调的紧密连接蛋白的表达水平来保护血脑屏障的完整性^[23];IL-34 在脑损伤和神经退行性病变中为神经元提供了强大的神经保护和生存信号^[24]。Wang 等^[8]指出,血清 IL-34 水平随着 VaD 患者认知障碍加重而降低,是 VaD 认知功能的独立危险预测因子。因此推测血清 IL-34 可能与 VCIND 进展至 VaD 有关。本研究结果显示,VCIND 患者血清 IL-34 水平降低,IL-34 升高是 VCIND 进展至 VaD 的独立保护因素,说明血清 IL-34 水平升高能降低 VCIND 进展至 VaD 的风险。分析原因:首先,IL-34 能通过结合 CSF-1 受体调节神经元生长、分化和存活,有助于维持神经系统的正常结构和功能,进而降低 VCIND 进展至 VaD 的风险^[23];其次,IL-34 是维持中枢神经系统稳态的重要因子,IL-34 能通过维持神经胶质细胞的稳态,抑制其活化及炎性介质释放,减少神经系统的炎症反应损伤而降低 VCIND 进展至 VaD 的风险^[22]。

本研究发现,年龄和 MoCA 评分能独立影响 VCIND 进展至 VaD,考虑原因:高龄患者神经功能和可塑性更差,因此更易发展为 VaD;MoCA 评分越高说明患者认知功能更好,因此未来 VaD 风险更低。ROC 曲线显示,血清 FAM19A5、IL-34 水平预测 VCIND 进展至 VaD 的 AUC 为 0.813、0.781,两者联合预测的 AUC 为 0.880,大于血清 FAM19A5、IL-34 水平单独预测。这说明血清 FAM19A5、IL-34 水平有助于预测 VCIND 进展至 VaD,二者联合能更准确地进行预测。

综上所述,VCIND 患者血清 FAM19A5 水平升高,IL-34 水平降低,是 VCIND 进展至 VaD 的独立影响因素,血清 FAM19A5、IL-34 水平联合预测 VCIND 进展至 VaD 的能效较高。但本研究为单中心研究,样本量较小,结果还需更大样本量证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张永慧:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;孙咏捷:提出研究思路,论文审核;郝喜娃:实施研究过程,数据收集、分析整理;梁芙茹:进行统计学分析;李月春:进行文献调研与整理

参考文献

- [1] 罗本燕,刘萍,刘晓燕. 血管性认知障碍[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54 (3): 267-271. DOI: 10. 3760/cma. j. cn113694-20201020-00794.
- [2] 国家卫生健康委办公厅. 血管性认知障碍的诊疗规范(2020年版)[J]. 全科医学临床与教育, 2021, 19 (3): 197-199. DOI: 10. 13558/j. cnki. issn1672-3686. 2021. 003. 002.
- [3] 王春旭,马静毅,顾超. 非痴呆型血管性认知障碍中西医结合治疗进展[J]. 山东中医药大学学报, 2023, 47 (3): 370-375. DOI: 10. 16294/j. cnki. 1007-659x. 2023. 03. 021.

- [4] 史钰,刘晓蕾. 神经炎症在血管性认知障碍发病机制中的作用研究进展[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2023, 30 (5): 362-367. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-2963. 2023. 05. 010.
- [5] Sarver DC, Lei X, Wong GW. FAM19A (TAFA): An emerging family of neurokinins with diverse functions in the central and peripheral nervous system[J]. ACS Chem Neurosci, 2021, 12 (6): 945-958. DOI: 10. 1021/acchemneuro. 0c00757.
- [6] Li J, Li S, Song Y, et al. Association of serum FAM19A5 with cognitive impairment in vascular dementia[J]. Dis Markers, 2020, 8(1): 8895900. DOI: 10. 1155/2020/8895900.
- [7] 王申,黄曼. IL-34 在中枢神经系统疾病中的作用[J]. 生命科学, 2021, 33 (8): 921-930. DOI: 10. 13376/j. cbls/2021100.
- [8] Wang Y, Lu W, Ning W, et al. Decreased levels of serum IL-34 associated with cognitive impairment in vascular dementia[J]. Biomed Res Int, 2021, 5 (21): 6793860. DOI: 10. 1155/2021/6793860.
- [9] 中国医师协会神经内科分会认知障碍专业委员会,《中国血管性认知障碍诊治指南》编写组. 2019 年中国血管性认知障碍诊治指南[J]. 中华医学杂志, 2019, 99 (35): 2737-2744. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2019. 35. 005.
- [10] Sachdev P, Kalaria R, O'Brien J, et al. Diagnostic criteria for vascular cognitive disorders: A VASCOG statement[J]. Alzheimer Dis Assoc Disord, 2014, 28 (3): 206-218. DOI: 10. 1097/WAD. 000000000000034.
- [11] Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, et al. The montreal cognitive assessment, MoCA: A brief screening tool for mild cognitive impairment[J]. J Am Geriatr Soc, 2005, 53 (4): 695-699. DOI: 10. 1111/j. 1532-5415. 2005. 53221. x.
- [12] 《中成药治疗血管性痴呆临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗血管性痴呆临床应用指南(2020年)[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41 (3): 273-279. DOI: 10. 7661/j. cjim. 20210114. 158.
- [13] 朱倩,姚洁,王尚臣,等. 血清 8-iso-PGF2 α 、Irisin、FND5 在血管性认知功能障碍患者中的表达及临床意义[J]. 河北医科大学学报, 2023, 44 (7): 781-785. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-3205. 2023. 07. 007.
- [14] 刘艳丽,李婷婷,王艳,等. 血清神经元特异性烯醇化酶对非痴呆性血管性认知障碍患者进展至血管性痴呆的预测价值[J]. 中国医药导报, 2017, 14 (4): 106-109, 122.
- [15] Hao Z, Yang S, Yin R, et al. Increased level of FAM19A5 is associated with cerebral small vessel disease and leads to a better outcome[J]. PeerJ, 2022, 5 (10): e13101. DOI: 10. 7717/peerj. 13101.
- [16] Kang D, Kim HR, Kim KK, et al. Brain-specific chemokine FAM19A5 induces hypothalamic inflammation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 523 (4): 829-834. DOI: 10. 1016/j. bbr. 2019. 12. 119.
- [17] Han KM, Tae WS, Kim A, et al. Serum FAM19A5 levels: A novel biomarker for neuroinflammation and neurodegeneration in major depressive disorder[J]. Brain Behav Immun, 2020, 7 (87): 852-859. DOI: 10. 1016/j. bbi. 2020. 03. 021.
- [18] 李雪宁. 基于血浆 FAM19A5 与影像组学预测帕金森及帕金森伴抑郁的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2022.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.008

神经系统疾病专题

血必净辅治抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎的效果及其对 Th1/Th2 免疫反应的影响

陈琳, 陈敏, 邢槐杰, 曾超胜



基金项目: 海南省重点研发项目(ZDYF2022SHFZ291)

作者单位: 570311 海口, 海南医科大学第二附属医院神经内科

通信作者: 陈琳, E-mail: reiy000@163.com

【摘要】 目的 探究血必净辅治抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)脑炎的效果及对辅助性 T 细胞 1 (Th1)/Th2 免疫反应变化的影响。方法 选取 2021 年 1 月—2023 年 12 月海南医科大学第二附属医院神经内科收治的抗 NMDAR 脑炎患者 120 例,通过随机数字表法分为观察组 60 例和对照组 60 例。对照组采用血浆置换治疗,观察组在对照组基础上加用血必净治疗,疗程均为 10 d。比较 2 组临床疗效、精神好转与症状改善时间、预后情况及不良反应总发生率,治疗前后 T 淋巴细胞亚群变化(CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺)、Th1[干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]与 Th2[白介素-6(IL-6)、白介素-4(IL-4)]相关细胞因子水平。结果 2 组患者临床疗效比较差异无统计学意义($P>0.05$);观察组精神好转、症状改善时间均短于对照组($t/P=3.935/<0.001, 3.720/<0.001$);治疗后观察组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均高于对照组($t/P=3.017/0.003, 5.062/<0.001, 3.211/0.002$);治疗后观察组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 水平均低于对照组,IL-4 高于对照组($t/P=4.911/<0.001, 4.489/<0.001, 3.289/0.001, 4.191/<0.001$);2 组患者预后情况、不良反应总发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 血必净辅助治疗抗 NMDAR 脑炎患者可有效改善症状,调节免疫功能,这一作用可能与 Th1/Th2 平衡改善有关,且安全性较好。

【关键词】 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎;血必净;辅助性 T 细胞;免疫功能**【中图分类号】** R742 **【文献标识码】** A

Study on the effect of Xuebijing on anti-NMDAR encephalitis and the changes of Th1/Th2 immune response Chen Lin, Chen Min, Xing Huaijie, Zeng Chaosheng. Department of Neurology, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570311, China

Funding program: Key Research Project of Hainan Province (ZDYF2022SHFZ291)

Corresponding author: Chen Lin, E-mail: reiy000@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of Xuebijing in treating N methyl D aspartate receptor (NMDAR) encephalitis and the changes of helper T cell 1 (Th1)/Th2 immune response. **Methods** One hundred and twenty patients with anti-NMDAR encephalitis admitted to the Department of Neurology of the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University from January 2021 to December 2023 were selected and divided into observation group (60 cases) and control group (60 cases) by random number table method. The control group was treated with plasma exchange, and the observation group was treated with Xuebijing on the basis of the control group. The course of treatment was 10 days. The clinical efficacy, mental improvement and symptom improvement time, relevant cytokine levels, prognosis and overall incidence of adverse reactions, changes in T lymphocyte subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺), Th1 [interferon- γ (IFN- γ), tumor necrosis factor- α (TNF- α)] and Th2 [interleukin-6 (IL-6), interleukin-4 (IL-4)] before and after treatment were compared between the two groups. **Results** There was no significant difference in clinical efficacy between the two groups ($P>0.05$). The time of mental improvement and symptom improvement in the observation group was shorter than that in the control group ($t/P=3.935/<0.001, 3.720/<0.001$). After treatment, the levels of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the observation group were higher than those in the control group ($t/P=3.017/0.003, 5.062/<0.001, 3.211/0.002$). After treatment, the levels of IFN- γ , TNF- α and IL-6 in the observation group were lower than those in the control group, and IL-4 was higher than that in the control group ($t/P=4.911/<0.001, 4.489/<0.001, 3.289/0.001, 4.191/<0.001$). There was no statistically significant difference in prognosis and total incidence of adverse reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Xuebijing can effec-

tively improve symptoms and regulate immune function in patients with anti-NMDAR encephalitis, which may be related to the improvement of Th1/Th2 balance, and the safety is good.

[Key words] Anti-N methyl D aspartate receptor encephalitis; *Xuebijing*; Helper T cells; Immune function

抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)脑炎为自身免疫性脑炎常见类型,发病机制是由于 NMDAR 异常暴露,激发产生自身抗体,透过受损血脑屏障进入中枢,对中枢神经元产生异常免疫反应,从而出现一系列神经、语言功能障碍,表现为精神异常、认知障碍、癫痫等^[1-2]。目前对于抗 NMDAR 脑炎免疫学特点认识欠缺,治疗以免疫球蛋白、激素、血浆置换等免疫疗法为主,但以上方式不良反应较大,费用较高,且对部分患者效果不理想。研究指出^[3],中成药血必净具有调节免疫、降低机体炎性反应、减轻血管内皮损害、改善微循环等作用;同时,笔者前期研究发现血必净可减轻抗 NMDAR 脑炎模型小鼠脑组织炎性反应,逆转辅助性 T 细胞 1(Th1)/Th2 免疫反应^[4],因此,血必净在药理作用上对治疗抗 NMDAR 脑炎具有帮助。但血必净用于抗 NMDAR 脑炎患者的临床治疗暂无报道。基于此,本研究探讨血必净辅助治疗抗 NMDAR 脑炎的效果,旨在为优化抗 NMDAR 脑炎临床治疗提供帮助,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 月海南医科大学第二附属医院神经内科收治的抗 NMDAR 脑炎患者 120 例,通过随机数字表法分为观察组 60 例和对照组 60 例。2 组患者的临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准(20201226318),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均符合抗 NMDAR 脑炎诊断标准^[5],即存在言语、认知障碍或精神行为异常、意识水平下降、癫痫发作、运动障碍、中枢性低通气或自主神经功能障碍,满足以上症状的一项或多项,且抗 NMDAR 抗体阳性;②依从性良好。(2)排除标准:①血液、内分泌系统疾病;②病毒性、细菌性脑炎;③存在其他免疫系统疾病;④神经系统疾病史;

⑤其他类型自身免疫性脑炎;⑥近期使用过激素、抗炎、免疫类药物;⑦对本研究涉及药物过敏。

1.3 治疗方法 2 组均予常规对症治疗,包括维持电解质和酸碱平衡、保持呼吸通畅、营养支持、抗癫痫等。在此基础上,对照组采用血浆置换治疗,于股静脉建立体外循环通路,以床旁血浆分离器(德国费森尤斯, P1dry),置换液为新鲜冰冻血浆,2 d 置换 1 次,每次置换 3~5 遍,连续治疗 5 次。治疗期间采用肝素抗凝,同时密切监测患者生命体征(血压、呼吸、心率);观察组在对照组基础上予以血必净注射液(天津红日药业股份有限公司,国药准字 Z20040033)50 ml 加 0.9% 氯化钠注射液 100 ml 静脉滴注,每天 1 次,连续治疗 10 d。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 临床症状改善时间:2 组精神好转(意识转清)、症状改善(口、面、舌不自主抽动、言语不利、抽搐等症状消失)时间。

1.4.2 血清 T 淋巴细胞亚群检测:治疗前、治疗结束后采取患者空腹肘静脉血 3 ml,离心留取血清,采用 Beckman Coulter 公司 CYTOM ICS FC500 流式细胞仪测定 CD3⁺、CD4⁺,计算 CD4⁺/CD8⁺。

1.4.3 血清 Th1/Th2 相关细胞因子水平检测:Th1 细胞因子包括干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α), Th2 细胞因子包括白介素-4(IL-4)、白介素-6(IL-6)。治疗前、治疗结束后采取患者空腹肘静脉血 3 ml,离心留取血清,采用酶联免疫吸附法测定 IFN- γ 、TNF- α 、IL-4、IL-6,试剂盒购自上海酶联生物公司。

1.4.4 预后评估标准:在治疗后 1 个月以 Rankin 修订量表评分(mRS)评估,分值为 0~6 分。0 分为完全无症状;1 分为无明显功能障碍;2 分为轻度残疾,可照料自己日常事务;3 分为中度残疾,但可独立行走;4 分为中重度残疾,不能独立行走;5 分为重度残疾,卧床;6 分为死亡。其中 0~3 分为预后良好,4~6 分为预后

表 1 对照组与观察组抗 NMDAR 脑炎患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between control group and observation group of anti NMDAR encephalitis patients

组别	例数	男[例(%)]	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	病程($\bar{x} \pm s$, d)	合并肿瘤[例(%)]
对照组	60	40(66.67)	36.53 \pm 6.49	22.85 \pm 1.52	9.76 \pm 1.58	24(40.00)
观察组	60	36(60.00)	37.61 \pm 6.19	22.74 \pm 1.49	9.51 \pm 1.42	28(46.67)
χ^2/t 值		0.574	0.933	0.400	0.912	0.543
P 值		0.449	0.353	0.690	0.364	0.461

不良。

1.4.5 不良反应总发生率:治疗结束后,统计 2 组治疗期间不良反应发生情况,包括皮肤瘙痒、皮肤潮红、血压异常、呼吸困难,比较不良反应发生率。不良反应总发生率 = (皮肤瘙痒例数 + 皮肤潮红例数 + 血压异常例数 + 呼吸困难的例数) / 总例数 × 100%。

1.5 临床疗效判断标准^[6] 治疗结束后评估疗效。(1) 显效:癫痫、精神异常、认知功能障碍等表现消失;(2) 有效:癫痫、精神异常、认知功能障碍等表现明显改善;(3) 无效:与上述标准不符。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数 × 100%。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。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;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 观察组临床总有效率为 86.67%,高于对照组的 73.33%,但差异无统计学意义($\chi^2 = 3.333, P = 0.068$),见表 2。

表 2 对照组与观察组抗 NMDAR 脑炎患者临床疗效比较 [例(%)]

Tab. 2 Comparison of clinical efficacy between control group and observation group in patients with anti NMDAR encephalitis

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	60	23(38.33)	21(35.00)	16(26.67)	73.33
观察组	60	28(46.67)	24(40.00)	8(13.33)	86.67

2.2 2 组患者精神好转、症状改善时间比较 观察组精神好转、症状改善(口、面、舌不自主抽动、言语不利、抽搐等症状消失)时间均短于对照组($P < 0.01$),见表 3。

表 3 对照组与观察组抗 NMDAR 脑炎患者精神好转、症状改善时间比较 ($\bar{x} \pm s, d$)

Tab. 3 Comparison of mental improvement and symptom improvement time between the control group and the observation group of anti NMDAR encephalitis patients

组别	例数	精神好转时间	症状改善时间
对照组	60	8.69 ± 2.53	12.09 ± 3.08
观察组	60	6.97 ± 2.25	10.12 ± 2.71
<i>t</i> 值		3.935	3.720
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 2 组患者 T 淋巴细胞亚群比较 治疗前 2 组 T 淋巴细胞亚群水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 10 d 后 2 组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均较治疗前升高,且观察组高于对照组($P < 0.01$),见表 4。

表 4 对照组与观察组抗 NMDAR 脑炎患者治疗前后 T 淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of T lymphocyte subsets between control group and observation group in patients with anti NMDAR encephalitis

组别	时间	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组 (<i>n</i> = 60)	治疗前	53.19 ± 4.81	36.37 ± 3.51	1.24 ± 0.42
	治疗后	60.12 ± 4.35	39.18 ± 3.93	1.55 ± 0.27
观察组 (<i>n</i> = 60)	治疗前	52.63 ± 4.42	35.89 ± 3.18	1.19 ± 0.38
	治疗后	62.47 ± 4.18	42.58 ± 3.41	1.73 ± 0.34
<i>t/P</i> 对照组内值		8.277/ <0.001	4.131/ <0.001	4.809/ <0.001
<i>t/P</i> 观察组内值		12.529/ <0.001	11.114/ <0.001	8.203/ <0.001
<i>t/P</i> 治疗后组间值		3.017/ 0.003	5.062/ <0.001	3.211/ 0.002

2.4 2 组患者血清 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较 治疗前 2 组血清 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、IL-4 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 10 d 后 2 组血清 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6 水平均低于治疗前,IL-4 水平高于治疗前,且观察组降低/升高幅度大于对照组($P < 0.01$),见表 5。

2.5 2 组预后情况比较 治疗 1 个月后,观察组预后良好率为 66.67% (44/60),对照组预后良好率为 53.33% (32/60),2 组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 2.222, P = 0.136$)。

2.6 2 组不良反应总发生率比较 观察组不良反应总发生率为 26.67%,对照组不良反应总发生率为 16.67%,2 组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.768, P = 0.184$),见表 6。

3 讨论

抗 NMDAR 脑炎是机体免疫系统对神经元产生异常免疫反应造成的中枢神经系统炎性疾病,病理学以炎性细胞浸润脑实质,并于血管周围形成袖套样结构为特征,目前我国抗 NMDAR 脑炎发生率逐渐升高,对患者日常生活产生了严重影响^[7-8]。因此对抗 NMDAR 脑炎患者需积极实施综合治疗以减轻临床症状,改善预后。

目前对于抗 NMDAR 脑炎尚缺乏美国食品药品监督管理局(FDA)认证的标准治疗方案,临床主要以免疫调节治疗为主,辅助筛查是否合并肿瘤,并予以切除^[9]。当前学者普遍认为及时实施免疫调节治疗能

表 5 对照组与观察组抗 NMDAR 脑炎患者治疗前后血清 Th1、Th2 相关细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab. 5 Comparison of serum Th1 and Th2 related cytokine levels between control group and observation group in patients with anti NMDAR encephalitis

组别	时间	IFN- γ	TNF- α	IL-6	IL-4
对照组 (n=60)	治疗前	20.25 \pm 4.72	17.18 \pm 3.69	23.21 \pm 3.79	19.97 \pm 3.37
	治疗后	16.05 \pm 3.28	13.19 \pm 2.08	15.76 \pm 3.54	23.97 \pm 3.59
观察组 (n=60)	治疗前	19.46 \pm 4.38	16.95 \pm 3.55	22.86 \pm 3.92	20.45 \pm 3.68
	治疗后	13.18 \pm 3.12	11.41 \pm 2.26	13.61 \pm 3.62	26.85 \pm 3.93
t/P 对照组内值		5.660/ <0.001	7.296/ <0.001	11.127/ <0.001	6.293/ <0.001
t/P 观察组内值		9.046/ <0.001	10.197/ <0.001	13.428/ <0.001	9.208/ <0.001
t/P 治疗后组间值		4.911/ <0.001	4.489/ <0.001	3.289/ 0.001	4.191/ <0.001

表 6 对照组与观察组不良反应总发生率比较 [例(%)]

Tab. 6 Comparison of total incidence of adverse reactions between the control group and the observation group

组别	例数	皮肤瘙痒	皮肤潮红	血压异常	呼吸困难	总发生率 (%)
对照组	60	2(3.33)	2(3.33)	3(5.00)	3(5.00)	16.67
观察组	60	7(11.67)	4(6.67)	1(1.67)	4(6.67)	26.67

促使抗 NMDAR 脑炎患者病情改善,降低致残率^[10]。血浆置换作为抗 NMDAR 脑炎一线治疗方法,也属于免疫治疗的一种,可降低外周血抗体浓度,并根据血—脑屏障抗体浓度梯度作用使脑脊液中抗体成分下降,从而使机体抗体浓度降低^[11]。且研究指出,血浆置换能降低抗 NMDAR 脑炎患者脑脊液中抗体滴度的 66%^[12]。但临床应用显示,对于鞘内的自身抗体血浆置换难以有效发挥作用,导致患者治疗效果欠佳,预后较差^[13]。因此,临床亟需寻找一种新的治疗方式,弥补免疫治疗的不足。血必净由赤芍、当归、红花、丹参、川芎 5 味中药提取物组成,临床用于脓毒症、急性重症胰腺炎、重症肺炎等多种危重疾病^[14]。目前,血必净用于抗 NMDAR 脑炎患者的临床治疗暂无报道。前期笔者通过建立抗 NMDAR 脑炎小鼠模型并采用血必净进行治疗发现,脑组织炎性细胞浸润明显减少,病情得到有效控制,同时能调节脑组织中辅助性 T 细胞水平^[4],因此认为血必净可能是治疗抗 NMDAR 脑炎的潜在药物。本研究在血浆置换的基础上对抗 NMDAR 脑炎患者辅以血必净治疗发现,其能促使症状改善,控制病情进展。这可能是由于血必净注射液能改善微循环,降低急性炎症反应时毛细血管通透性,从而减少炎性渗出,降低病理性损害,有助于病变部位的修复,从而有助于促使患者病情改善^[15]。在疗效及预后方面,采用血必净治疗后疗效并未提升,且预后情况也并未改善,这可能与本研究病例较少有关,后续可扩大样本量做进一步研究。研究指出^[16-17],抗 NMDAR 脑炎主要的神经病理学改变为脑实质内 T 细胞浸润,且患者多存在细胞免疫功能紊乱,免疫调节网络为失衡状态,表现为 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平降低。本研究

通过分析治疗前后 T 淋巴细胞亚群变化发现,2 组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均有所升高,但观察组升高更明显。由此说明血必净能调节免疫紊乱状况,改善患者免疫功能,这可能也是观察组促使病情改善的原因之一。此外,2 组不良反应发生率无显著差异,可见用药安全性较好。

既往研究证实^[18-19],免疫性疾病的发展是由促炎性细胞因子及抑炎性细胞因子介导的,与 Th1/Th2 型细胞间平衡改变有关,其中 Th1 介导细胞免疫,Th2 介导体液免疫,正常状态下 Th1、Th2 型细胞分泌的细胞因子维持动态平衡,而任意因子处于劣势状态,这一平衡便发生偏移,从而导致自身免疫性疾病的发生。有研究指出^[20],抗 NMDAR 脑炎患者 Th1/Th2 失衡,表现为 Th1 处于优势,Th2 处于劣势。Th1 细胞能分泌 INF- γ 、TNF- α 等细胞因子,在疾病初期可募集 Th17,促使其分泌 IL-17,参与组织炎症反应和免疫反应;而 Th2 可分泌 IL-6、IL-4 等,其中 IL-6 能促使抗体分泌,促使 T 细胞活化、增殖,导致抗体的产生,IL-4 则具有免疫调节作用,可保持免疫自稳、维持免疫耐受^[21]。本研究显示,治疗后观察组 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6 水平较对照组低,IL-4 较对照组高,由此推测血必净能通过调节 Th1/Th2 平衡,促使症状改善,调节免疫功能。但具体相关机制仍需后续深入研究。

综上所述,血必净治疗抗 NMDAR 脑炎患者可有效改善症状,调节免疫功能,这一作用可能与 Th1/Th2 平衡改善有关,且安全性较好。值得注意的是,抗 NMDAR 脑炎尚缺乏统一、标准治疗方案,加之患者病情往往较重,治疗时间较长,积极治疗后一般需要漫长康复锻炼,以改善预后效果。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈琳、陈敏:设计研究方案,实施研究过程,分析试验数据,论文撰写;邢槐杰:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析;曾超胜:课题设计,论文审核

参考文献

[1] Wu H, Yu H, Joseph J, et al. Neuroimaging and CSF findings in patients with autoimmune encephalitis: A report of eight cases in a single academic center [J]. *Neurol Int*, 2022, 14 (1): 176-185. DOI: 10. 3390/neurolint14010014.

[2] Abboud H, Probasco JC, Irani S, et al. Autoimmune encephalitis: Proposed best practice recommendations for diagnosis and acute management [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2021, 92 (7): 757-768. DOI:10. 1136/jnnp-2020-325300.

[3] 李钰昕,孙璐,刘迪,等.血必净注射液联合血液净化治疗全身炎症反应综合征的 Meta 分析 [J]. *中国急救医学*, 2022, 42 (3): 221-226. DOI:10. 3969/j. issn. 1002-1949. 2022. 03. 007.

[4] 陈琳,闫丽敏,邢槐杰,等.血必净对抗 N-甲基-D-天门冬氨酸受体脑炎小鼠海马神经元的保护作用及机制 [J]. *解剖学报*, 2024, 55 (3): 268-275. DOI:10. 16098/j. issn. 0529-1356. 2024. 03. 003.

[5] 中华医学会神经病学分会.中国自身免疫性脑炎诊治专家共识 [J]. *中华神经科杂志*, 2017, 50 (2): 91-98. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1006-7876. 2017. 02. 004.

[6] 方雅秀,郑东,谭燕,等.免疫球蛋白联合甲泼尼龙疗法对自身免疫性脑炎患者 T 淋巴细胞亚群、免疫球蛋白、IL-6 和 CXCL3 水平影响 [J]. *广州医药*, 2021, 52 (2): 84-88. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-8535. 2021. 02. 020.

[7] Uy CE, Binks S, Irani SR. Autoimmune encephalitis: Clinical spectrum and management [J]. *Pract Neurol*, 2021, 21 (5): 412-423. DOI:10. 1136/practneurol-2020-002567.

[8] Ellul MA, Wood G, Tooren HVD, et al. Update on the diagnosis and management of autoimmune encephalitis [J]. *Clin Med (Lond)*, 2020, 20 (4): 389-392. DOI:10. 7861/clinmed. 2020-0241.

[9] Qiao S, Wu HK, Liu LL, et al. Characteristics and prognosis of autoimmune encephalitis in the east of China: A multi-center study [J]. *Front Neurol*, 2021, 12 (1): 642078. DOI: 10. 3389/fneur. 2021. 642078.

[10] 周世芮.免疫球蛋白静滴联合注射用甲泼尼龙琥珀酸钠冲击治疗自身免疫性脑炎的临床效果 [J]. *河南医学研究*, 2020, 29 (1): 132-134. DOI:10. 3969/j. issn. 1004-437X. 2020. 01. 067.

[11] Ciano-Petersen NL, Muniz-Castrillo S, Vogrig A, et al. Immunomodulation in the acute phase of autoimmune encephalitis [J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2022, 178 (1-2): 34-47. DOI: 10. 1016/j. neurol. 2021. 12. 001.

[12] 姚涛,群森,程昭昭,等.抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎的临床特征及一线免疫治疗的短期预后分析 [J]. *医学研究生学报*, 2022, 35 (7): 730-734. DOI:10. 16571/j. cnki. 1008-8199. 2022. 07. 010.

[13] 秦近近,苗旺,滕军放.免疫吸附在自身免疫性脑炎的应用进展 [J]. *中华神经科杂志*, 2022, 55 (7): 764-769. DOI:10. 3760/cma. j. cn113694-20211105-00781.

[14] 高翔,刘梅梅,姚琪琪,等.大承气汤联合奥曲肽治疗急性重症胰腺炎的临床研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41 (2): 238-242. DOI:10. 13193/j. issn. 1673-7717. 2023. 02. 053.

[15] 林传钦,翟秀丽,张良福,等.血必净注射液治疗脓毒症急性肾损伤疗效及对炎性因子、循环、呼吸功能的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40 (7): 55-58. DOI:10. 13193/j. issn. 1673-7717. 2022. 07. 014.

[16] 刘磊,谢竹霄,王佳伟.自身免疫性脑炎的分类及诊治 [J]. *中国临床医生杂志*, 2021, 49 (6): 634-639. DOI:10. 3969/j. issn. 2095-8552. 2021. 06. 002.

[17] 张凯,王彩贞,刘康,等.儿童抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎的临床特征及其复发相关因素分析 [J]. *中国全科医学*, 2022, 25 (21): 2629-2634. DOI:10. 12114/j. issn. 1007-9572. 2022. 0047.

[18] 李红岩,侯振江,刘建凤,等. Th17/Treg 细胞及其细胞因子在神经系统自身免疫性疾病中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2021, 27 (5): 889-895, 900. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-2084. 2021. 05. 010.

[19] 曹小彩,余增渊,王盈红,等. sB7-H3 调控 Th1 细胞介导免疫应答对肺炎支原体肺炎患儿病情进展的影响 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32 (21): 3321-3325. DOI: 10. 11816/en. ni. 2022-220657.

[20] Zhang X, Shi S, Shen J, et al. Functional immunoregulation by heme oxygenase 1 in juvenile autoimmune diseases [J]. *Curr Gene Ther*, 2019, 19 (2): 110-116. DOI:10. 2174/1566523219666190710092935.

[21] 中华医学会神经病学分会神经感染性疾病与脑脊液细胞学组.中国自身免疫性脑炎诊治专家共识(2022 年版) [J]. *中华神经科杂志*, 2022, 55 (9): 931-949. DOI: 10. 3760/cma. j. cn113694-20220219-00118.

(收稿日期:2024-04-01)

(上接 1064 页)

[19] 李雪宁,马爱军.序列相似家族 19 成员 5 在神经系统疾病中的研究进展 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2021, 48 (4): 402-405. DOI:10. 16636/j. cnki. jinn. 1673-2642. 2021. 04. 017.

[20] Chhetri G. Emerging roles of IL-34 in neurodegenerative and neurological infectious disease [J]. *Int J Neurosci*, 2023, 133 (6): 660-671. DOI:10. 1080/00207454. 2021. 1963962.

[21] 王月,庄丽维. IL-34 与临床疾病关系的研究进展 [J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29 (10): 43-47. DOI:10. 3969/j. issn. 1005-8982. 2019. 10. 008.

[22] Berglund R, Cheng Y, Piket E, et al. The aging mouse CNS is protected by an autophagy-dependent microglia population promoted by IL-

34 [J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1): 383. DOI: 10. 1038/s41467-023-44556-6.

[23] Jin S, Sonobe Y, Kawanokuchi J, et al. Interleukin-34 restores blood-brain barrier integrity by upregulating tight junction proteins in endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (12): e115981. DOI:10. 1371/journal. pone. 0115981.

[24] Luo J, Elwood F, Britschgi M, et al. Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) signaling in injured neurons facilitates protection and survival [J]. *J Exp Med*, 2013, 210 (1): 157-172. DOI:10. 1084/jem. 20120412.

(收稿日期:2024-04-10)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 09. 009

神经系统疾病专题

复方磺胺甲噁唑与头孢曲松对合并发热的神经型布氏杆菌病患者疗效及脑脊液炎性因子水平影响的比较

刘波, 孙晓凤, 郑丽娇, 陈慧园, 石雪梅



基金项目: 省部共建中亚高发病因与防治国家重点实验室资助项目(SKL-HIDCA-2023-38)

作者单位: 841100 乌鲁木齐, 省部共建中亚高发病因与防治国家重点实验室(刘波、石雪梅); 830013 乌鲁木齐,

新疆医科大学第一附属医院感染科(孙晓凤、郑丽娇); 830000 新疆维吾尔自治区第三人民医院(陈慧园)

通信作者: 孙晓凤, E-mail: 603044576@qq.com

【摘要】 **目的** 观察复方磺胺甲噁唑与头孢曲松对合并发热的神经型布氏杆菌病患者疗效及脑脊液炎性因子水平影响的比较。**方法** 选取 2021 年 8 月—2023 年 12 月新疆医科大学第一附属医院感染科诊治合并发热的神经型布氏杆菌病患者 88 例作为研究对象, 随机数字表法分为对照组 ($n = 44$) 和观察组 ($n = 44$)。2 组患者均接受利福平、多西环素治疗, 对照组加用头孢曲松钠, 观察组加用复方磺胺甲噁唑, 患者均连续治疗 6 周。治疗前后比较 2 组异常症状、体征、血常规及生化指标、脑脊液炎性因子的变化; 治疗 6 周后比较 2 组患者治疗有效率及不良事件发生率。**结果** 观察组患者治疗总有效率高于对照组 (97.73% vs. 84.09%, $\chi^2/P = 4.950/0.026$); 治疗 6 周后, 2 组患者红细胞沉降率 (ESR)、血清 C 反应蛋白 (CRP) 及降钙素原 (PCT) 水平均低于治疗前, 且观察组均低于对照组 ($t/P = 5.342 / < 0.001$, $5.654 / < 0.001$, $5.543 / < 0.001$); 2 组患者脑脊液白介素 10 (IL-10)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 及干扰素 γ (IFN- γ) 水平均低于治疗前, 且观察组均低于对照组 ($t/P = 4.273 / < 0.001$, $3.140 / 0.002$, $2.650 / 0.010$); 2 组患者异常症状及体征、不良反应总发生率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 包含复方磺胺甲噁唑的三联药物治疗方案能够有效改善合并发热的神经型布氏杆菌病患者异常症状及体征, 明显降低患者脑脊液炎性因子水平, 提高整体临床治疗效果, 且不良反应发生率较低。

【关键词】 神经型布氏杆菌病; 复方磺胺甲噁唑; 头孢曲松; 炎性因子; 疗效**【中图分类号】** R741 **【文献标识码】** A

Comparison between compound sulfamethoxazole and ceftriaxone on therapeutic effects and influence on cerebrospinal fluid inflammatory factors in patients with neurogenic brucellosis complicated with fever Liu Bo*, Sun Xiaofeng, Zheng Lijiao, Chen Huiyuan, Shi Xuemei. * State Key Laboratory for the Cause and Control of High Incidence in Central Asia, Jointly Established by the Ministry and the Province, Xinjiang Province, Urumqi 841100, China

Funding program: Open Project of State Key Laboratory of Pathogenesis, Prevention and Treatment of High Incidence Diseases in Central Asia (SKL-HIDCA-2023-38)

Corresponding author: Sun Xiaofeng, E-mail: 603044576@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the impact of ceftriaxone and compound sulfamethoxazole on the therapeutic outcomes and levels of inflammatory markers in the cerebrospinal fluid of patients suffering from neuroborreliosis accompanied by fever. **Methods** From August 2021 to December 2023, 88 patients diagnosed with neuroborreliosis were admitted to our hospital and divided randomly into two groups: the standard treatment group ($n = 44$) and the combined treatment group ($n = 44$). Both groups received a treatment regimen consisting of rifampicin and doxycycline. Additionally, ceftriaxone sodium was administered to the standard treatment group, while the combined treatment group received compound sulfamethoxazole. Treatment was carried out continuously for a duration of 6 weeks. A comparative analysis was conducted on the demographic characteristics of the patients in the two groups, changes in abnormal symptoms and signs, as well as variations in blood routine and biochemical indexes and cerebrospinal fluid inflammatory markers before and after treatment. Furthermore, the study also assessed the treatment response rates and the occurrence of adverse events in both groups. **Results** The overall treatment efficacy in the combined therapy group reached 97.73%, surpassing significantly the efficacy observed in the standard treatment group (84.09%, $\chi^2/P = 4.950/0.026$). Post-treatment, the mean values of erythrocyte sedimentation

rate (ESR), serum C reactive protein (CRP), and procalcitonin (PCT) in the combined therapy group exhibited a significant decline compared to baseline levels and standard treatment group ($t/P = 5.342/ <0.001, 5.654/ <0.001, 5.543/ <0.001$). Furthermore, the average concentrations of interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interferon gamma (IFN- γ) in the cerebrospinal fluid of the combined therapy group were markedly lower post-treatment than those in the pre-treatment and standard treatment groups ($t/P = 4.273/ <0.001, 3.140/0.002, 2.650/0.010$). Moreover, there was no discernible difference in the total incidence of adverse reactions between the two groups (34.09% vs. 22.73%, $P > 0.05$). **Conclusion** The use of a combination of three drugs that include sulfamethoxazole has shown to be beneficial in alleviating the abnormal symptoms and signs in patients suffering from neuroborreliosis and fever. Furthermore, this regimen has demonstrated efficacy in reducing the levels of inflammatory factors in the cerebrospinal fluid, thereby enhancing the overall clinical outcomes. Compared to traditional treatments, the triple therapy has a lower incidence of adverse reactions, making it a safe and effective option with promising prospects for clinical applications.

【Key words】 Neuroborreliosis; Compound sulfamethoxazole; Ceftriaxone; Inflammatory factors; Therapeutic effect

布氏杆菌病的医治依然是全球范围内的医疗难题,同时也是我国正面临的一项重大公共卫生问题^[1]。神经型布氏杆菌病是由布氏杆菌感染神经系统导致的一种罕见且严重的并发症,其临床表现多样且复杂,但发病机制至今尚未完全明确^[2]。小胶质细胞的过度激活、星形胶质细胞异常增生、炎性细胞因子及趋化因子异常分泌、先天免疫活性增强等均可能导致该病发生、发展^[3-4]。国内外推荐三联抗生素治疗方案,但关于不同方案的疗效及安全性尚无明确优劣之分^[5-6]。基于此,现比较包含复方磺胺甲噁唑或头孢曲松在内的三联药物治疗方案对合并发热的神经型布氏杆菌病患者临床治疗效果、脑脊液中炎性因子表达水平的影响及不良反应发生率,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 8 月—2023 年 12 月新疆医科大学第一附属医院感染科诊治合并发热的神经型布氏杆菌病患者 88 例作为研究对象,随机数字表法分为对照组 ($n = 44$) 和观察组 ($n = 44$)。2 组患者性别比例、年龄、体质量指数、病程、最高体温、心率、收缩压、舒张压及基础病史情况等比较,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 (K202107-06),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患者持续性发热;②经凝集试验、胶体金免疫层析实验等诊断为布氏杆菌感染阳性;③存在神经系统受损的临床症状和体征;④临床资料及实验室检查结果完整且可调取;⑤患者意识清晰且具有正常理解、沟通能力。(2) 排除标准:①由其他脑部疾病导致的神经系统损伤;②合并任何类型良、恶性肿瘤;③合并自身免疫性疾病或凝血功能障碍;④合并严重心、肺、肝、肾等脏器功能障碍或衰竭;⑤入院时合并其他类型急、慢性感染性疾病;⑥临

床资料或检验结果缺失,且无法通过问诊等方式获取患者信息。

表 1 观察组与对照组合并发热的神经型布氏杆菌病患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between observation group and control group with fever in patients with neurogenic brucellosis

临床资料	观察组 ($n = 44$)	对照组 ($n = 44$)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男 25(56.82)	24(54.55)	0.046	0.830
	女 19(43.18)	20(45.45)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	39.61 \pm 2.32	39.64 \pm 2.04	0.049	0.961
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.20 \pm 1.46	23.44 \pm 1.23	0.845	0.400
病程[$M(Q_1, Q_3)$, 月]	20(19, 22)	20(17, 21)	1.085	0.278
最高体温($\bar{x} \pm s$, $^{\circ}C$)	38.15 \pm 0.62	38.20 \pm 0.50	0.603	0.548
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	129.25 \pm 6.42	126.89 \pm 5.29	1.884	0.063
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	76.23 \pm 4.02	77.80 \pm 4.00	1.836	0.070
心率($\bar{x} \pm s$, 次/min)	75.66 \pm 4.53	75.14 \pm 3.54	0.399	0.691
基础病史 [例(%)]	高血压 7(15.91)	6(13.64)	0.090	0.764
	糖尿病 5(11.36)	4(9.09)	0.124	0.725
	高脂血症 4(9.09)	5(11.36)	0.125	0.725

1.3 治疗方法 患者均接受利福平胶囊(沈阳红旗制药有限公司)联合盐酸多西环素片(江苏联环药业股份有限公司)作为基础治疗方案。利福平胶囊 0.3 g/次、盐酸多西环素片 0.1 g/次,每日 2 次,早晚服用,治疗 6 周。对照组患者在此治疗方案基础上联合应用头孢曲松钠(上海新亚药业有限)2 g + 用 0.9% 氯化钠注射液 250 ml 静脉滴注,每日 1 次,连续治疗 2 周后间隔 1 周再持续治疗 2 周。观察组患者在基础治疗方案上联合应用复方磺胺甲噁唑片(江苏平光制药有限公司,每片 0.4 g; 80 mg)2 片/次口服,每日 2 次,连续治疗 2 周天后间隔 1 周再持续治疗 2 周。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 异常症状及体征观察:记录患者乏力、头痛、关节肿胀、肌力下降、肌张力增高、腱反射活跃、病理征等情况。

1.4.2 血常规及 ESR、CRP、PCT 指标检测:分别于治疗前后清晨抽取患者肘静脉血 5 ml,以全自动血常规分析仪(购自南京贝登医疗股份有限公司,型号:BC-30S)测定患者外周血白细胞(white blood cells, WBC)、淋巴细胞(lymphocyte, LYM)计数及红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR);静脉血 3 ml 离心留取血清以全自动临床生化分析仪(购自济南欧莱博技术有限公司,型号:BK-400)测定 C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)及降钙素原(procalcitonin, PCT)表达水平。

1.4.3 脑脊液炎性因子检测:于治疗前后腰椎穿刺测定脑脊液压力并抽取患者脑脊液,以酶联免疫吸附法测定脑脊液中白介素(interleukin, IL)-6、IL-8、IL-10、TNF- α 及干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)的水平。所有试剂盒均购自天津肽链生物科技有限公司(货号:TL16564、TL16563、TL16579、TL16238、TL16315)。

1.4.4 不良事件发生率:记录患者治疗期间出现的任何药物相关不良事件(主要包括胃肠道反应、肝功能损伤、过敏、肾功能损伤等),并统计各不良事件的总发生率。

1.5 治疗效果评价 根据《布氏杆菌病诊疗指南(试行)》^[7]中对布氏杆菌病的治疗效果评价划分为:(1)显效,患者关节疼痛、发热、肢体运动功能障碍等异常症状及体征基本消失,布氏杆菌培养呈阴性,各脏器功能及检查恢复正常。(2)有效,患者关节疼痛、发热、肢体运动功能障碍等异常症状及体征显著缓解,布氏杆菌培养呈阴性,各脏器功能及检查基本恢复正常。(3)无效,患者异常症状及体征无明显好转或加重,布氏杆菌培养呈阳性。总有效率=(显效+有效)/总例数 \times 100%。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 27.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间比较采用 t 检验,治疗前后比较采用配对样本 t 检验;非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 描述,组间比较采用非参数秩和检验,治疗前后比较采用重复方差分析;计数资料以频数或率(%)描述,组间比较采用 χ^2 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 治疗 6 周后,观察组患者治疗总有效率为 97.73%,高于对照组的 84.09% ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 观察组与对照组合并发热的神经型布氏杆菌病患者临床疗效比较 [例(%)]

Tab. 2 Comparison of clinical efficacy between observation group and control group with fever in patients with neurogenic brucellosis

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	44	16(36.36)	27(61.36)	1(2.27)	97.73
对照组	44	13(29.55)	24(54.55)	7(15.91)	84.09
U/χ^2 值			$U = 1.413$		$\chi^2 = 4.950$
P 值			0.158		0.026

2.2 2 组患者异常症状及体征比较 治疗后 2 组患者乏力、头痛、关节肿胀、肌力下降、肌张力增高、腱反射活跃、病理征阳性患者比例均低于治疗前(χ^2/P 观察组内值 = 36.312/ < 0.001 、33.153/ < 0.001 、22.681/ < 0.001 、29.131/ < 0.001 、15.441/ < 0.001 、23.563/ < 0.001 、19.636/ < 0.001 ; χ^2/P 对照组内值 = 36.855/ < 0.001 、40.909/ < 0.001 、16.971/ < 0.001 、24.478/ < 0.001 、16.147/ < 0.001 、21.836/ < 0.001 、21.836/ < 0.001),但 2 组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 观察组与对照组合并发热的神经型布氏杆菌病患者异常症状及体征比较 [例(%)]

Tab. 3 Comparison of abnormal symptoms and signs in neurogenic brucellosis patients with fever between the observation group and the control group

项目		对照组 ($n = 44$)	观察组 ($n = 44$)	χ^2 值	P 值
乏力	治疗前	40(90.91)	39(88.64)	0.124	0.725
	治疗后	12(27.27)	11(25.00)	0.059	0.808
头痛	治疗前	37(84.09)	35(79.55)	0.306	0.580
	治疗后	7(15.91)	8(18.18)	0.080	0.777
关节肿胀	治疗前	23(52.27)	25(56.82)	0.183	0.669
	治疗后	5(11.36)	4(9.09)	0.124	0.725
肌力下降	治疗前	26(59.09)	27(61.36)	0.047	0.828
	治疗后	4(9.09)	3(6.82)	0.155	0.694
肌张力增高	治疗前	21(47.73)	22(50.00)	0.045	0.831
	治疗后	4(9.09)	5(11.36)	0.124	0.725
腱反射活跃	治疗前	23(52.27)	24(54.55)	0.046	0.831
	治疗后	3(6.82)	3(6.82)	0.001	0.999
病理征	治疗前	23(52.27)	20(45.45)	0.409	0.522
	治疗后	3(6.82)	2(4.55)	0.212	0.645

2.3 2 组患者血常规及 ESR、CRP、PCT 比较 2 组患者治疗后 WBC、LYM、ESR、血清 CRP 及 PCT 水平均显著低于治疗前($P < 0.01$);治疗 6 周后观察组患者 ESR、血清 CRP 及 PCT 水平均显著低于对照组($P < 0.01$),见表 4。

2.4 2 组脑脊液炎性因子比较 2 组患者治疗后脑脊液 IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α 及 IFN-γ 水平均显著低于治疗前 ($P < 0.01$); 治疗 6 周后观察组患者脑脊液 IL-10、TNF-α 及 IFN-γ 水平均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 见表 5。

2.5 2 组不良事件发生率比较 观察组患者不良反应总发生率为 34.09%, 高于对照组患者的 22.73%, 但 2 组比较差异无统计学意义 ($\chi^2/P = 1.397/0.237$), 见表 6。

3 讨论

神经型布氏杆菌病是一种罕见且严重的并发症, 但其临床症状并不明显^[8]。脑 MR 和脑脊液的检测结果在诊断上并没有明确的帮助, 且其发病原因至今仍不完全清楚, 治疗上主要依赖于常规型布氏杆菌病的治疗策略^[9]。既往研究表明, 布氏杆菌可能是通过直接或间接侵入血脑屏障, 从而诱导炎性细胞因子的分泌, 导致神经系统感染, 或者是炎性反应引发的神经胶质细胞线粒体功能障碍, 从而导致氧化应激损伤神经^[10-11]。因此, 基于抗菌疗法, 抑制促炎介质和炎性细胞因子、调控小

胶质细胞的激活以及切断炎性反应途径可能成为延缓神经型布氏杆菌病发展的关键治疗方法^[12-13]。

目前中枢型布氏杆菌病的主要治疗策略是联合使用具有强烈细胞和中枢系统渗透能力的抗生素, 其中最常用的是多西环素、利福平与氨基糖苷类、三代头孢或喹诺酮类药物中的一种进行联合治疗^[14]。复方磺胺甲噁唑作为布氏杆菌病患儿的首选推荐用药, 其安全性可能高于头孢三代或喹诺酮类药物, 但第三种药物的选择在神经型布氏杆菌病中的疗效及安全性尚未明确^[15-16]。因此寻找能够提高疗效、降低不良反应发生率的联合治疗方案也是临床亟待解决的重要问题。

对于神经型布氏杆菌病患者, 治疗时必须严格按照早期、联合、充足和持续的原则进行。在治疗过程中关键的一步是早期识别, 及时完成临床诊断, 以便能够尽早开始进行临床治疗^[17]。既往研究指出, 多西环素、利福平以及第三代头孢菌素应当被认为是治疗神经型布氏杆菌病的标准和首选药物。为了提升治疗效果和改善预后, 治疗方案应当至少持续 6 周, 并充分运用多种药物的联合应用。本研究发现, 不论接受头孢

表 4 观察组与对照组合并发热的神经型布氏杆菌病患者血常规及生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of blood routine and biochemical indicators between the observation group and the control group with fever in patients with neurogenic brucellosis

组别	时间	WBC ($\times 10^9/L$)	LYM ($\times 10^9/L$)	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	PCT ($\mu g/L$)
对照组 (n = 44)	治疗前	5.74 ± 0.55	2.40 ± 0.34	28.35 ± 2.51	13.31 ± 2.60	2.77 ± 0.40
	治疗后	5.16 ± 0.51	1.79 ± 0.40	15.85 ± 2.64	4.27 ± 0.98	0.54 ± 0.15
观察组 (n = 44)	治疗前	5.68 ± 0.52	2.41 ± 0.34	28.78 ± 2.87	13.94 ± 2.68	2.66 ± 0.49
	治疗后	5.09 ± 0.41	1.92 ± 0.38	12.79 ± 2.74	3.19 ± 0.81	0.39 ± 0.10
t/P 对照组内值		4.662/ <0.001	7.748/ <0.001	23.424/ <0.001	23.310/ <0.001	38.067/ <0.001
t/P 观察组内值		6.600/ <0.001	6.367/ <0.001	23.920/ <0.001	25.102/ <0.001	30.837/ <0.001
t/P 治后组间值		0.755/ 0.452	1.603/ 0.113	5.342/ <0.001	5.654/ <0.001	5.543/ <0.001

表 5 观察组与对照组合并发热的神经型布氏杆菌病患者脑脊液炎性因子比较 ($\bar{x} \pm s, ng/L$)

Tab. 5 Comparison of inflammatory factors in cerebrospinal fluid between observation group and control group with fever in patients with neurogenic brucellosis

组别	时间	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α	IFN-γ
对照组 (n = 44)	治疗前	144.18 ± 13.81	535.53 ± 62.41	4.83 ± 1.28	11.31 ± 2.55	802.59 ± 125.22
	治疗后	57.86 ± 11.04	205.16 ± 55.80	2.74 ± 0.83	4.35 ± 0.94	232.62 ± 63.35
观察组 (n = 44)	治疗前	144.46 ± 12.08	529.32 ± 70.04	4.96 ± 1.18	11.40 ± 3.60	794.09 ± 130.41
	治疗后	57.05 ± 10.16	215.30 ± 50.81	1.97 ± 0.87	3.70 ± 1.00	199.31 ± 54.24
t/P 对照组内值		31.440/ <0.001	23.262/ <0.001	9.997/ <0.001	17.247/ <0.001	26.413/ <0.001
t/P 观察组内值		43.004/ <0.001	27.358/ <0.001	14.113/ <0.001	13.460/ <0.001	27.233/ <0.001
t/P 治后组间值		0.356/ 0.723	0.892/ 0.375	4.273/ <0.001	3.140/ 0.002	2.650/ 0.010

表 6 观察组与对照组合并发热的神经型布氏杆菌病患者不良事件发生率比较 [例(%)]

Tab. 6 Comparison of adverse event rates in neurogenic brucellosis patients with fever between the observation group and the control group

组别	例数	胃肠道反应	肝功能损伤	过敏	肾功能损伤	总发生率 (%)
观察组	44	6(13.64)	2(4.55)	4(9.09)	3(6.82)	34.09
对照组	44	5(11.36)	1(2.27)	3(6.82)	1(2.27)	22.73

曲松还是复方磺胺甲噁唑三联治疗的患者,治疗后乏力、头痛、关节肿胀、肌力下降、肌张力增高、腱反射活跃、病理征阳性患者比例均低于治疗前,且组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。但联合复方磺胺甲噁唑治疗的患者 ESR、血清 CRP、PCT 及脑脊液 IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平均显著低于治疗前和对照组,且治疗总有效率显著较高、不良反应总发生率无明显增加,提示基于复方磺胺甲噁唑的三联治疗方案在合并发热的神经型布氏杆菌病患者中具有更显著的有效性及其安全性。利福霉素和利福喷丁是细胞内抗菌药物,可以穿越血脑屏障,进入患者的脑膜,而且它们的细胞毒性相对较低^[18]。头孢三代药物,以及多西环素、四环素等,都是常见的细胞外抗菌药物,通常会从不同种类的药物中挑选 1~2 种。通过联合用药的方式,不仅可以规避单一用药可能引发的耐药性问题,还能增强药物之间的协同效应^[19]。我国布氏杆菌病诊疗指南^[7]中提到,对于布氏杆菌病患儿,应首选复方磺胺甲噁唑作为第三联药物,且以往研究发现应用头孢曲松或复方磺胺甲噁唑可明显降低复发率,而本研究从多层次进一步论证了复方磺胺甲噁唑对于神经型布氏杆菌病患者的疗效及安全性更具有优势。

由于本研究的样本量相对较少,可能对研究结果造成一定偏倚,后期应开展多中心、样本量扩大研究以提高结论的可信度和准确性。此外,本研究缺少对复方磺胺甲噁唑减轻神经型布氏杆菌病患者炎症反应水平的具体机制,需要纳入更多炎症因子来描述患者接受三联治疗后机体炎症反应水平的改善程度。

综上,包含复方磺胺甲噁唑的三联药物治疗方案能够有效改善合并发热的神经型布氏杆菌病患者异常症状及体征,同时更有利于降低患者脑脊液炎症因子表达水平、提高整体临床治疗效果。该三联治疗方案的不良反应发生率较低,相比传统治疗方案具有安全、优效的特点,具有较为广阔的临床应用前景。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘波:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;孙晓凤、郑丽娇、陈慧园:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;石雪梅:进行统计学分析

参考文献

- [1] 刘文兴,步志高.中国布氏杆菌病的防控[J].中国科学:生命科学,2023,53(12):1713-1721.
- [2] 王丹,赵世刚.神经型布氏杆菌病的研究进展与分析[J].中国人兽共患病学报,2017,33(10):927-932. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2017.10.016.
- [3] Tao Z, Chen Q, Chen Y, et al. Epidemiological characteristics of human brucellosis - China, 2016-2019[J]. China CDC Wkly, 2021, 3

(6):114-119. DOI:10.46234/ccdcw2021.030.

- [4] 曹秀云,张哲林,石树君,等.神经型布氏杆菌病发病机制的研究进展[J].中国人兽共患病学报,2022,38(9):843-848. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2022.00.118.
- [5] 张永花,张红梅,再吐娜·买买提明.慢性布鲁菌病的临床特点和治疗策略[J].中国实用内科杂志,2021,41(11):946-948. DOI:10.19538/j.nk2021110108.
- [6] Al Jindan R. Scenario of pathogenesis and socioeconomic burden of human brucellosis in Saudi Arabia[J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(1):272-279. DOI:10.1016/j.sjbs.2020.09.059.
- [7] 中华人民共和国卫生部.布氏杆菌病诊疗指南(试行)[J].传染病信息,2012,25(6):323-324,359. DOI:10.3969/j.issn.1007-8134.2012.06.002.
- [8] 赵婷婷,赵世刚,苏霄,等.神经型布氏杆菌病的发病机制、诊断方法及预防[J].中国人兽共患病学报,2020,36(6):503-508. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.066.
- [9] 中华医学会放射学分会传染病学组,中国研究型医院学会感染与炎症放射学专业委员会,中国艾兹病性病防治协会艾兹病放射学专业委员会,等.影像学诊断布鲁氏菌性脊柱炎专家共识[J].中国医学影像技术,2023,39(7):961-965. DOI:10.13929/j.issn.1003-3289.2023.07.001.
- [10] 马紫恒,赵鹏翔,马雪梅,等.布氏杆菌病的病原学、流行病学及防治研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(1):28-32,42. DOI:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.01.005.
- [11] 杨丽玮,卢佩佩,西丽娜依·买买提,等.布氏杆菌感染者血清 Tim-3/HMGB1 与相关细胞因子的变化[J].疑难病杂志,2020,19(10):1016-1019. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.011.
- [12] 刘志国,王妙,崔步云,等.布氏杆菌病并发症及治疗研究进展[J].中国人兽共患病学报,2019,35(5):447-454. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2019.00.045.
- [13] Zhao J, Bi W, Xiao S, et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):5790. DOI:10.1038/s41598-019-42286-8.
- [14] Dar W, Wani M, Mir F, et al. Isolated neurobrucellosis-characteristic clinical and laboratory features [J]. Acta Neurol Belg, 2022, 122(6):1469-1475. DOI:10.1007/s13760-020-01573-2.
- [15] Turkoglu SA, Halicioğlu S, Sirmatel F, et al. Vasculitis and neurobrucellosis: Evaluation of nine cases using radiologic findings [J]. Brain Behav, 2018, 8(4):e00947. DOI:10.1002/brb3.947.
- [16] Spyrou A, Natsis KS, Papatichalis E, et al. Intraventricular haemorrhage and seizures in a patient with dementia: A case of chronic neurobrucellosis [J]. Age Ageing, 2019, 48(4):601-602. DOI:10.1093/ageing/afz020.
- [17] Esmal A, Elsherif M, Elegezy M, et al. Cognitive impairment and neuropsychiatric manifestations of neurobrucellosis [J]. Neurol Res, 2021, 43(1):1-8. DOI:10.1080/01616412.2020.1812805.
- [18] Rodriguez AM, Trotta A, Melnyczajko AP, et al. Brucella abortus-stimulated platelets activate brain microvascular endothelial cells increasing cell transmigration through the Erk1/2 pathway [J]. Pathogens, 2020, 9(9):708. DOI:10.3390/pathogens9090708.
- [19] Maji S, Manjunath N, Bahubali VH, et al. Neurobrucellosis: A neglected entity? An update from tertiary care Neurocentre of South East Asia [J]. J Neurol Sci, 2020, 411:116683. DOI:10.1016/j.jns.2020.116683.

(收稿日期:2024-05-11)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.010

神经系统疾病专题

颅内动脉瘤术后患者血清 VEGFs、MMPs 表达水平特征及对预后的预测效能

克力斯坦·夏依扎提, 王乐, 如克亚·白克力

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C428)

作者单位: 830000 乌鲁木齐, 新疆维吾尔自治区人民医院神经外科

通信作者: 如克亚·白克力, E-mail: 13999825251@139.com



【摘要】目的 探讨颅内动脉瘤术后患者血清血管内皮生长因子(VEGFs)、基质金属蛋白酶(MMPs)水平特征及对预后的预测效能。**方法** 选取 2021 年 12 月—2023 年 12 月就诊于新疆维吾尔自治区人民医院神经外科的颅内动脉瘤术后患者 121 例作为研究对象,根据术后 1 个月预后情况将患者分为预后良好组($n=92$)和预后不良组($n=29$)。采用化学发光免疫测定法检测 2 组患者血清 VEGFs、MMPs 表达谱水平;Spearman 相关性分析血清 VEGFs、MMPs 水平与颅内动脉瘤术后患者预后不良的相关性;Logistic 回归分析颅内动脉瘤术后患者预后不良的危险因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 VEGFs、MMPs 水平预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的价值。**结果** 预后不良组患者血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平均显著高于预后良好组患者($t/P=4.455/<0.001$ 、 $3.982/<0.001$ 、 $4.848/<0.001$ 、 $5.702/<0.001$ 、 $5.144/<0.001$);血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平均与颅内动脉瘤术后患者预后不良呈显著正相关($r/P=0.338/<0.001$ 、 $0.361/<0.001$ 、 $0.383/<0.001$ 、 $0.386/<0.001$ 、 $0.331/<0.001$);血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平升高均是颅内动脉瘤术后患者预后不良的独立危险因素[$OR(95\%CI)=1.142(1.011\sim 1.372)$ 、 $1.126(1.004\sim 1.276)$ 、 $1.027(1.002\sim 1.052)$ 、 $1.029(1.006\sim 1.052)$ 、 $1.026(1.006\sim 1.047)$];血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平独立及联合预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的 AUC 分别为 0.729、0.744、0.759、0.761、0.724、0.890,联合预测的效能大于各指标独立预测效能($Z/P=4.344/<0.001$ 、 $4.185/<0.001$ 、 $4.013/<0.001$ 、 $4.010/<0.001$ 、 $4.350/<0.001$)。**结论** 颅内动脉瘤术后患者血清 VEGFs、MMPs 表达水平与预后不良具有密切相关性。基于上述指标的联合预测模型对颅内动脉瘤术后患者不良预后具有较高预测价值。

【关键词】 颅内动脉瘤;血管内皮生长因子;基质金属蛋白酶;预后**【中图分类号】** R651.12 **【文献标识码】** A

Characteristics of VEGFs and MMPs levels in postoperative patients with intracranial aneurysm and their prognostic efficacy Kelisitan Xiayizhati, Wang Le, Rukeya Baikeli. Department of Neurosurgery, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Xinjiang, Urumqi 830000, China

Funding program: Natural Science Foundation in Xinjiang Uygur Autonomous Region(2021D01C428)

Corresponding author: Rukeya Baikeli, E-mail: 13999825251@139.com

【Abstract】 Objective To investigate the features of vascular endothelial growth factor (VEGFs) and matrix metalloproteinase (MMPs) concentrations in postoperative individuals with intracranial aneurysms and their prognostic predictive value. **Methods** During the period from December 2021 to December 2023, a total of 121 patients diagnosed with intracranial aneurysms were enrolled in our hospital and categorized into either the favorable prognosis group ($n=92$) or the unfavorable prognosis group ($n=29$). Comparative analyses were conducted to explore the distinctions in general clinical characteristics as well as the levels of serum VEGFs and MMPs expressions between these two groups. The study utilized Spearman correlation test and binary Logistic regression analysis to discover the potential risk factors linked to unfavorable postoperative results in individuals diagnosed with intracranial aneurysms. Moreover, the effectiveness of these risk factors in predicting the probability of an unfavorable postoperative outcome was evaluated through the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. **Results** The average serum levels of VEGF-1, VEGF-2, MMP-1, MMP-2, and MMP-9 were also significantly elevated in the poor prognosis group compared to the good prognosis group ($t/P=4.455/<0.001$, $3.982/<0.001$,

4.848/ <0.001 , 5.702/ <0.001 , 5.144/ <0.001). Spearman correlation analysis revealed a positive correlation between age, diabetes mellitus, and serum levels of VEGF-1, VEGF-2, MMP-1, MMP-2, and MMP-9 with poor prognosis among postoperative patients with intracranial aneurysms ($r/P=0.338/ <0.001 , 0.361/ <0.001 , 0.383/ <0.001 , 0.386/ <0.001 , 0.331/ <0.001). Additionally, multivariate Logistic regression analysis indicated that serum VEGF-1, VEGF-2, MMP-1, MMP-2, and MMP-9 were identified as pivotal risk factors for poor prognosis in patients with intracranial aneurysms post operation [$OR(95\% CI)=1.142(1.011-1.372)$, 1.126(1.004-1.276), 1.027(1.002-1.052), 1.029(1.006-1.052), 1.026(1.006-1.047)]. The AUC values for serum VEGF-1, VEGF-2, MMP-1, MMP-2, MMP-9 levels independently predicting poor prognosis in patients after intracranial aneurysm surgery were 0.729, 0.744, 0.759, 0.761, and 0.724 respectively, with a combined prediction AUC of 0.890. The efficacy of the combined prediction was greater than that of each individual marker ($Z/P=4.344/ <0.001 , 4.185/ <0.001 , 4.013/ <0.001 , 4.010/ <0.001 , 4.350/ <0.001). **Conclusion** The correlation between serum VEGFs and MMPs expression levels in postoperative intracranial aneurysm patients and poor prognosis is significant. Developing a predictive model incorporating these markers holds clinical importance in early assessment and prompt intervention for this patient population, ultimately enhancing outcomes. Furthermore, such a model represents a promising biological target for future therapeutic strategies.$$

【Key words】 Intracranial aneurysm; Vascular endothelial growth factor; Matrix metalloproteinase; Prognosis

颅内动脉瘤是临床常见的急危重症,动脉瘤破裂会引起严重的蛛网膜下腔出血,即使早期接受传统开颅夹闭术治疗,患者仍面临动脉瘤再出血风险^[1]。尽管随着以介入治疗在颅内动脉瘤患者中的应用,患者围手术期残死率有所下降,但目前关于动脉瘤患者介入治疗预后的评估及预测研究尚少,临床也缺乏具有较高特异度、敏感度的颅内动脉瘤预后预测标志物^[2-3]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGFs)在多种血管生成异常疾病的发生、发展过程中具有重要作用,既往研究发现颅内动脉瘤患者的瘤壁组织中 VEGF 表达水平较高,但 VEGFs 表达谱在颅内动脉瘤患者中的表达水平特征与预后的相关性尚不明晰^[4-5]。此外,虽然多种基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)已被证实在颅内动脉瘤组织中过表达,但 MMPs 家族亚型众多,各亚型在颅内动脉瘤患者血清中表达水平变化特征是否具有一致性,或何种 MMPs 亚型与患者预后密切相关仍缺少真实世界研究数据支撑^[6-7]。基于此,本研究旨在探究颅内动脉瘤术后患者血清 VEGFs、MMPs 表达谱特征及对预后的预测效能,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 12 月—2023 年 12 月就诊于新疆维吾尔自治区人民医院神经外科的颅内动脉瘤术后患者 121 例作为研究对象。根据术后 1 个月预后情况将患者分为预后良好组($n=92$)和预后不良组($n=29$)。2 组性别、体质量指数(BMI)、高血压史、动脉瘤直径、动脉瘤部位比较差异无统计学意义($P>0.05$);预后不良组患者年龄、糖尿病史、Hunt-Hess III 级比例高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。本研究已经获得医院伦理委员会批准

(KY20211123361),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经头颅影像学检查或血管造影检查确诊颅内动脉瘤,症状及体征符合指南中的诊断标准^[8];②符合颅内动脉瘤手术治疗指征,患者一般状况尚可;③首次确诊颅内动脉瘤,既往无颅脑手术治疗史;④患者临床资料及实验室检验指标均完整可取;⑤患者术后持续随访,能够了解患者预后情况。(2)排除标准:①未接受血管内介入栓塞术治疗,仅接受内科保守治疗者;②合并脑卒中、脑动脉夹层等脑血管疾病;③合并任何类型、任何部位恶性肿瘤;④合并凝血功能障碍或血液系统疾病;⑤合并自身免疫性疾病;⑥合并多脏器功能障碍。

1.3 治疗方法 患者入组后均接受血管介入治疗,术前全身麻醉并保持全身肝素化。选择一侧股动脉穿刺并行全脑血管造影及颅内动脉瘤 3D 旋转造影。根据动脉瘤的大小、位置、形态等确定治疗方案。术后自然中和肝素,密切监测患者生命体征和神经功能恢复情况,给予减轻颅内水肿、神经营养药物及抗脑血管痉挛等对症支持治疗。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 血清 VEGFs、MMPs 水平检测:于手术治疗前采集患者外周肘静脉血 3 ml,室温下离心留取上层血清,通过化学发光免疫测定法[全自动化学发光免疫分析检测仪(深圳迈瑞生物医疗公司,型号 CL-1000i)]检测血清中 VEGF-1、VEGF-2、VEGF-3、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-8、MMP-9 的表达水平。

1.4.2 随访与预后评估:患者术后 1 个月门诊随访,并进行格拉斯哥结果评分(Glasgow outcome scale, GOS)评估^[9],GOS 评分 ≥ 4 分为预后良好, ≤ 3 分为

表 1 预后良好组和预后不良组颅内动脉瘤术后患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between patients with good prognosis and those with poor prognosis after intracranial aneurysm surgery

项 目		预后良好组(n=92)	预后不良组(n=29)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	58(63.04)	20(68.97)	0.338	0.561
	女	34(36.96)	9(31.03)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		51.45 ± 7.89	53.51 ± 8.02	2.903	0.002
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)		24.21 ± 1.76	24.37 ± 1.88	0.195	0.862
合并基础疾病[例(%)]	高血压	32(34.78)	10(34.48)	0.001	0.976
	糖尿病	24(26.09)	14(48.28)	5.039	0.025
动脉瘤直径($\bar{x} \pm s$, mm)		5.31 ± 1.67	5.64 ± 1.82	1.646	0.106
动脉瘤部位[例(%)]	前交通动脉	8(8.70)	2(6.90)	0.530	0.991
	后交通动脉	12(13.04)	3(10.34)		
	大脑前动脉	21(22.83)	8(27.59)		
	大脑中动脉	20(21.74)	7(24.14)		
	大脑后动脉	17(18.48)	5(17.24)		
	椎基底动脉	14(15.22)	4(13.79)		
Hunt-Hess 分级[例(%)]	I 级	49(53.26)	10(34.48)	6.575	0.037
	II 级	34(36.96)	11(37.93)		
	III 级	9(9.78)	8(27.59)		

预后不良。

1.5 统计学方法 使用 SPSS 27.0 软件对数据进行分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;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; Spearman 相关性分析各差异性指标与颅内动脉瘤术后患者预后不良的相关性;多因素 Logistic 回归分析颅内动脉瘤术后患者预后不良的危险因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价各危险因素独立及联合对颅内动脉瘤术后患者预后不良的预测效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组血清 VEGFs、MMPs 表达水平比较 预后不良组血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平均显著高于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 2 预后良好组与预后不良组颅内动脉瘤术后患者 VEGFs、MMPs 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of VEGFs and MMPs expression profiles in postoperative intracranial aneurysm patients between the good prognosis group and the poor prognosis group

指 标	预后良好组(n=92)	预后不良组(n=29)	t 值	P 值
VEGF-1 (ng/L)	15.68 ± 3.48	19.24 ± 4.53	4.455	<0.001
VEGF-2 (ng/L)	11.27 ± 4.80	15.08 ± 3.37	3.982	<0.001
VEGF-3 (ng/L)	8.67 ± 1.87	8.58 ± 2.52	0.199	0.843
MMP-1 (ng/L)	119.80 ± 23.80	146.48 ± 31.57	4.848	<0.001
MMP-2 (ng/L)	160.43 ± 24.45	194.90 ± 38.51	5.702	<0.001
MMP-3 (ng/L)	88.92 ± 16.89	87.18 ± 23.26	0.440	0.661
MMP-8 (ng/L)	106.01 ± 24.82	104.97 ± 21.57	0.204	0.839
MMP-9 (μg/L)	258.04 ± 27.26	292.41 ± 42.05	5.144	<0.001

2.2 血清 VEGFs、MMPs 水平与颅内动脉瘤术后患者预后不良的相关性 Spearman 相关性分析显示,血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平均与颅内动脉瘤术后患者预后不良呈正相关($r/P = 0.338/ < 0.001$ 、 $0.361/ < 0.001$ 、 $0.383/ < 0.001$ 、 $0.386/ < 0.001$ 、 $0.331/ < 0.001$)。

2.3 多因素 Logistic 回归分析颅内动脉瘤术后患者预后不良的影响因素 以颅内动脉瘤术后患者预后为因变量(赋值:预后不良 = “1”;预后良好 = “0”)。以组间差异性指标为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平升高均是颅内动脉瘤术后患者预后不良的危险因素($P < 0.05$),见表 3。

表 3 多因素 Logistic 回归分析颅内动脉瘤术后患者预后不良的影响因素

Tab. 3 Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting poor prognosis in patients with intracranial aneurysms after surgery

自变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄	0.231	0.176	1.567	0.259	1.111	0.934 ~ 1.403
糖尿病史	0.057	0.041	1.247	0.286	1.078	0.987 ~ 1.258
Hunt-Hess 分级	0.131	0.089	1.097	0.341	1.104	0.905 ~ 1.302
VEGF-1 高	0.133	0.043	4.039	0.041	1.142	1.011 ~ 1.372
VEGF-2 高	0.119	0.034	4.465	0.036	1.126	1.004 ~ 1.276
MMP-1 高	0.027	0.012	4.588	0.032	1.027	1.002 ~ 1.052
MMP-2 高	0.028	0.011	6.190	0.013	1.029	1.006 ~ 1.052
MMP-9 高	0.026	0.010	6.403	0.011	1.026	1.006 ~ 1.047

2.4 血清 VEGFs、MMPs 水平预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的价值 绘制血清 VEGF-1、VEGF-2、

MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平及联合预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的 ROC 曲线,并计算曲线下面积 (AUC),结果显示:血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平及联合预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的 AUC 分别为 0.729、0.744、0.759、0.761、0.724、0.890,联合预测的 AUC 大于各指标独立预测的 AUC ($Z/P = 4.344 / < 0.001$ 、 $4.185 / < 0.001$ 、 $4.013 / < 0.001$ 、 $4.010 / < 0.001$ 、 $4.350 / < 0.001$),见表 4、图 1。

表 4 血清 VEGFs、MMPs 水平及联合预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的价值

Tab.4 Serum levels of VEGFs and MMPs and their combined predictive value for poor prognosis in patients with intracranial aneurysms after surgery

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
VEGF-1	18.11 ng/L	0.729	0.620 ~ 0.838	0.586	0.772	0.358
VEGF-2	13.86 ng/L	0.744	0.655 ~ 0.834	0.966	0.478	0.444
MMP-1	136.45 ng/L	0.759	0.648 ~ 0.870	0.586	0.870	0.456
MMP-2	188.03 ng/L	0.761	0.656 ~ 0.866	0.552	0.880	0.432
MMP-9	275.05 μg/L	0.724	0.610 ~ 0.837	0.448	0.978	0.426
联合预测		0.890	0.814 ~ 0.966	0.768	0.892	0.668

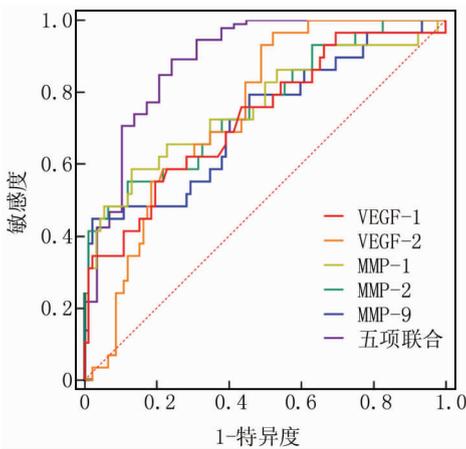


图 1 血清 VEGFs、MMPs 水平及联合预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of serum VEGFs, MMPs levels and their combined prediction of poor prognosis in patients with intracranial aneurysms after surgery

3 讨论

颅内动脉瘤破裂是一种常见的脑血管异常疾病,动脉瘤破裂引起的蛛网膜下腔出血往往会导致脑血管痉挛,是脑动脉瘤患者就诊的首要原因,也是最为严重的并发症^[10]。发生蛛网膜下腔出血的颅内动脉瘤患者将面临较高的致残、致死风险。目前颅内动脉瘤治

疗主要包括传统开颅手术及血管介入治疗^[11]。相较于传统手术方式,血管内介入治疗可以有效减少手术相关的伤害,避免对瘤体周围组织和血管造成机械性损伤或刺激,为术后康复效果提供更大的可能性^[12]。虽然早期介入治疗可有效提高颅内动脉瘤患者生存率,但部分患者仍伴随神经功能缺损及再次出血的风险,严重影响患者术后生活质量^[13]。因此,寻找具有较高预测效能的生物学标志物对于改善颅内动脉瘤患者手术预后,指导患者临床治疗具有重要意义。

VEGFs 的主要生理功能是刺激血管生长,促进血管内皮细胞的增殖和迁移,以及增强血管通透性,在血管生长中扮演着至关重要的角色^[14]。既往研究在颅内动脉瘤患者的瘤壁组织中检测到高水平的 VEGF 表达,与瘤壁发生炎症反应和病理学改变具有一定相关性^[15]。VEGFs 通过调节 MMPs 参与瘤壁血管的重建过程,这与后续的炎症反应和新血管形成密切相关^[16]。MMPs 是一类广泛表达于内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞中,以非酶原形式分泌的内切肽酶。既往研究表明,多种 MMPs 可以降解血管壁基底膜的细胞外基质成分,包括胶原蛋白和弹性蛋白,而动脉瘤的发展和破裂直接由血管内皮细胞的异常和细胞外基质的降解引起^[17-18]。因此,炎症反应相关因子 MMPs 可作为辅助诊断血管相关疾病和评估治疗效果的重要指标。但关于 VEGFs 和 MMPs 在颅内动脉瘤患者中的表达水平特征及对患者手术预后的预测价值尚缺乏系统性研究。

在本研究中,笔者观察到预后不良的颅内动脉瘤术后患者平均年龄、合并糖尿病比例、Hunt-Hess 较高分级比例及血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 水平均显著高于预后良好组患者。进一步通过 Spearman 相关性分析及多因素 Logistic 回归分析发现,血清 VEGF-1、VEGF-2、MMP-1、MMP-2、MMP-9 升高均是颅内动脉瘤术后患者预后不良的重要危险因素,且各因素独立及联合预测颅内动脉瘤术后患者预后不良的效能均较高。既往研究也提出颅内动脉瘤发病后供血区脑组织损伤过程中以 MMP-9 为代表的多种酶表达水平会发生显著改变,可作为脑血管损伤的敏感指标^[19]。MMP-1 和 MMP-2 主要分解构成血管壁框架的关键胶原蛋白等物质,在目前关注的动脉瘤与 MMPs 研究中扮演着重要角色^[20]。在颅内动脉瘤患者中,由于相关蛋白酶的缺乏,MMPs 被过度激活会导致动脉瘤壁的细胞外基质受损,进而促使动脉瘤的发生和破裂。VEGF-1、VEGF-2 一方面与异常血管增生密切相关,另一方面也与局部炎症反应、血管内皮功能

损伤及血管通透性变化密切相关。有研究发现, VEGF 会激活 MMP 进而诱导细胞外基质分解及血管脆性增加, 这与本研究中多种 VEGFs 及 MMPs 在预后较差颅内动脉瘤患者中表达水平平均偏高的结果具有一致性, 强调了 VEGF、MMP 与血管内皮损伤及患者预后的密切关联^[21]。

本研究仍存在一定不足。虽然介入治疗在临床中已普遍开展, 但仍有部分颅内动脉瘤患者不具有血管介入治疗指征, 因此仍需接受传统开颅手术治疗, 而手术方式也是影响患者预后的重要原因, 因此后续笔者将以手术方式分组, 对比不同 VEGFs 及 MMPs 在患者中的表达水平变化, 进一步阐明患者预后与 VEGFs、MMPs 的相关性。

综上所述, 颅内动脉瘤术后患者血清 VEGFs 及 MMPs 表达谱水平与预后不良具有密切相关性。基于上述指标的联合预测模型对于颅内动脉瘤术后患者早期诊断、及时治疗及改善患者预后均具有重要临床意义, 也是未来治疗的潜在生物学靶点。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

克力斯坦·夏依扎提: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 王乐: 分析试验数据, 资料搜集整理, 进行统计学分析; 如克亚·白克力: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核

参考文献

[1] 赵执, 张鸿祺. 颅内动脉瘤介入治疗术后复发相关危险因素及预测模型的研究进展[J]. 中国脑血管病杂志, 2023, 20(10): 696-700. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5921. 2023. 10. 007.

[2] 范然, 李一鸣. 高分辨血管壁成像评估颅内动脉瘤破裂风险的研究进展[J]. 国际医学放射学杂志, 2023, 46(2): 177-180. DOI: 10. 19300/j. 2023. Z19949.

[3] 张鸿运, 邵秋季, 李立, 等. 支架治疗颅内远端动脉瘤安全性和有效性分析[J]. 介入放射学杂志, 2022, 31(12): 1146-1150. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-794X. 2022. 12. 002.

[4] Fernández-Pérez I, Macías-Gómez A, Suárez-Pérez A, et al. The role of epigenetics in brain aneurysm and subarachnoid hemorrhage: A comprehensive review[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(6): 3433. DOI: 10. 3390/ijms25063433.

[5] Fang J, Cao Y, Ni J. Circulating inflammatory biomarkers and risk of intracranial aneurysm: A Mendelian randomization study[J]. Eur J Med Res, 2024, 29(1): 17. DOI: 10. 1186/s40001-023-01609-2.

[6] 门中华. VEGF 和 MMP-9 在颅内动脉瘤中的表达及临床意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(11): 1126-1128.

[7] 卢东, 陈红艳, 尚云非, 等. 早期颅内动脉瘤夹闭术的安全性评价及对基质金属蛋白酶 9 水平的影响[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2022, 29(7): 831-834. DOI: 10. 13455/j. cnki. cjeor. 2022. 07. 16.

[8] 中华医学会神经外科学分会神经介入学组. 颅内动脉瘤血管内介入治疗中国专家共识(2013)[J]. 中国脑血管病杂志, 2013,

10(11): 606-616. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2013. 39. 003.

[9] Wilson L, Boase K, Nelson LD, et al. A manual for the Glasgow Outcome Scale-Extended interview[J]. J Neurotrauma, 2021, 38(17): 2435-2446. DOI: 10. 1089/neu. 2020. 7527.

[10] 徐跃娇, 石广志, 魏俊吉, 等. 重症动脉瘤性蛛网膜下腔出血管理专家共识(2023)[J]. 中国脑血管病杂志, 2023, 20(2): 126-145. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5921. 2023. 02. 009.

[11] 唐晓宇, 文立利, 吴琪, 等. 颅内多发动脉瘤患者发生蛛网膜下腔出血的风险预测模型构建与验证分析[J]. 中国脑血管病杂志, 2022, 19(8): 513-523. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5921. 2022. 08. 001.

[12] 李儒焯, 齐斐, 陈超, 等. 血管介入治疗颅内动脉瘤的临床效果[J]. 中外医学研究, 2022, 20(23): 124-127. DOI: 10. 14033/j. cnki. cfmr. 2022. 23. 031.

[13] Jin J, Guo G, Ren Y, et al. Risk factors for recurrence of intracranial aneurysm after coil embolization: A meta-analysis[J]. Front Neurol, 2022, 13: 869880. DOI: 10. 3389/fneur. 2022. 869880.

[14] Ogawa Y, Watanabe M, Tominaga T. Pituitary adenomas associated with intracranial aneurysms; The clinical characteristics, therapeutic strategies, and possible effects of vascular remodeling factors[J]. J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg, 2022, 83(6): 555-560. DOI: 10. 1055/s-0041-1739232.

[15] Xu Z, Rui YN, Hagan JP, et al. Intracranial aneurysms; Pathology, genetics, and molecular mechanisms[J]. Neuromolecular Med, 2019, 21(4): 325-343. DOI: 10. 1007/s12017-019-08537-7.

[16] Roa JA, Sarkar D, Zanaty M, et al. Preliminary results in the analysis of the immune response after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 11809. DOI: 10. 1038/s41598-020-68861-y.

[17] Rojas HA, Fernandes KSDS, Ottone MR, et al. Levels of MMP-9 in patients with intracranial aneurysm: Relation with risk factors, size and clinical presentation[J]. Clin Biochem, 2018, 55: 63-68. DOI: 10. 1016/j. clinbiochem. 2018. 03. 005.

[18] Zou L, Hou Y, Yu B, et al. The effect of intravascular interventional embolization and craniotomy on MMP-2, MMP-9 and caspase3 in serum of intracranial aneurysm patients[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(6): 4511-4518. DOI: 10. 3892/etm. 2018. 6740.

[19] 邢文艾, 陈焕雄, 彭俊, 等. 颅内动脉瘤患者手术前后血清 Hcy、SICAM-1 及 MMP-9 变化与脑血管痉挛的相关性研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(14): 1477-1481. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-4695. 2022. 14. 006.

[20] López Fontanet J, Ayala Rodríguez SC, Oliver AL. Aflibercept for the treatment of macular edema secondary to idiopathic retinal vasculitis, aneurysms, and neuroretinitis syndrome[J]. Cureus, 2023, 15(4): e38154. DOI: 10. 7759/cureus. 38154.

[21] Wang W, Guo Z, Xie D, et al. Relationship between MMP-9 Gene polymorphism and intracranial aneurysm[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2022, 68(1): 14-18. DOI: 10. 14715/cmb/2022. 68. 1. 3.

(收稿日期: 2024 - 05 - 28)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.011

论著·临床

血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠心病患者冠状动脉病变关系及预测价值

秦道铎, 赵江峰, 杨旭明, 杨靖, 赵飞龙

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200568)

作者单位: 471003 河南洛阳, 河南科技大学第一附属医院心血管内科

通信作者: 杨旭明, E-mail: 276664103@qq.com



【摘要】目的 探讨冠心病患者血清趋化因子配体 18 (CCL18)、可溶性髓样细胞触发受体样转录因子-1 (sTLT-1) 水平与冠状动脉病变严重程度的相关性。**方法** 选取 2022 年 6 月—2023 年 6 月河南科技大学第一附属医院心血管内科行经皮冠状动脉造影的冠心病患者 110 例为冠心病组, 采用 SYNTAX 评分评估冠状动脉病变严重程度, 将患者分为轻度亚组 54 例、中度亚组 37 例、重度亚组 19 例。另选取同期医院健康体检者 110 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 CCL18、sTLT-1 表达水平; Spearman 法分析血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠状动脉病变严重程度的相关性; 多因素 Logistic 回归分析冠心病患者冠状动脉病变严重程度的影响因素; 受试者工作特征 (ROC) 曲线评估血清 CCL18、sTLT-1 水平对中重度冠状动脉病变的诊断价值。**结果** 冠心病组血清 CCL18、sTLT-1 水平均显著高于健康对照组 ($t/P = 7.505 / < 0.001, 8.537 / < 0.001$); 随着冠状动脉病变程度加重, 轻度亚组、中度亚组、重度亚组冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平依次升高 ($F/P = 24.542 / < 0.001, 28.067 / < 0.001$); 血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠状动脉病变严重程度呈正相关 ($r/P = 0.486 / < 0.001, 0.391 / < 0.001$); 多因素 Logistic 回归分析显示, CCL18 升高、sTLT-1 升高是冠状动脉病变严重程度的独立危险因素 [$OR(95\% CI) = 2.376(1.169 \sim 4.830), 2.695(1.494 \sim 4.862)$]; 血清 CCL18、sTLT-1 水平及二者联合诊断中重度冠状动脉病变的 AUC 分别为 0.748、0.721、0.813, 二者联合的 AUC 大于血清 CCL18、sTLT-1 各自单独诊断 ($Z/P = 2.139 / 0.032, 2.248 / 0.025$)。**结论** 冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平均明显升高, 二者与冠状动脉病变严重程度有关。

【关键词】 冠心病; 趋化因子配体 18; 可溶性髓样细胞触发受体样转录因子-1; 冠状动脉病变; 相关性; 预测价值

【中图分类号】 R541.4 **【文献标识码】** A

Serum CCL18 and sTLT-1 levels and clinical significance in patients with coronary artery disease Qin Daoduo, Zhao Jiangfeng, Yang Xuming, Yang Jing, Zhao Feilong. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Henan Province, Luoyang 471003, China

Funding program: Henan Medical Science and Technology Research Project (LHGJ20200568)

Corresponding author: Yang Xuming, E-mail: 276664103@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between serum levels of CC chemokine ligand 18 (CCL18) and soluble triggering receptor expressed on myeloid cell 1 (sTLT-1) in patients with coronary heart disease and the severity of coronary artery disease. **Methods** From June 2022 to June 2023, 110 patients with coronary heart disease who underwent percutaneous coronary angiography Department of cardiology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology were gathered as the coronary heart disease group, the SYNTAX score was applied to assess the severity of coronary artery disease, and patients were separated into mild subgroup (54 cases), moderate subgroup (37 cases), and severe subgroup (19 cases). Another 110 cases of health checkups in hospitals in the same period were selected as the healthy control group. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect the expression levels of serum CCL18 and sTLT-1; Spearman method was applied to analyze the correlation between serum CCL18, sTLT-1 levels and the severity of coronary artery disease; Logistic regression was applied to analyze the influencing factors of the severity of coronary artery disease; receiver operating characteristic (ROC) curve was applied to evaluate the diagnostic value of serum CCL18 and sTLT-1 levels for moderate to severe coronary artery disease. **Results** The serum levels of CCL18 and sTLT-1 in the coronary heart disease group were obviously higher than those in the control group ($t/P = 7.505 / < 0.001, 8.537 / <$

0.001)。As the degree of coronary artery disease increased, serum CCL18 and sTLT-1 levels increased sequentially in the mild, moderate, and severe subgroups of patients with coronary artery disease ($F/P=24.542/ <0.001, 28.067/ <0.001$)。There was a positive correlation between serum CCL18, sTLT-1 levels and both with the severity of coronary artery lesions ($r/P=0.486/ <0.001, 0.391/ <0.001$)。Multifactorial Logistic regression analysis showed that elevated CCL18 and elevated sTLT-1 were independent risk factors for the severity of coronary artery lesions [$OR(95\% CI)=2.376 (1.169 - 4.830), 2.695 (1.494 - 4.862)$]; the AUCs of serum CCL18 and sTLT-1 levels and the combination of the two for the diagnosis of moderate to severe coronary artery disease were 0.748, 0.721, and 0.813, respectively, and the AUCs of the combination of the two were greater than the AUCs of serum CCL18 and sTLT-1, each of which was diagnosed alone ($Z/P=2.139/0.032, 2.248/0.025$)。

Conclusion Serum CCL18 and sTLT-1 levels were significantly elevated in patients with coronary artery disease, and both were associated with the severity of coronary artery lesions。

【Key words】 Coronary heart disease; CC chemokine ligand 18; Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell 1; Coronary artery disease; Correlation; Predictive value

冠状动脉粥样硬化性心脏病简称冠心病,根据发病特点和治疗原则分为慢性冠状动脉疾病和急性冠状动脉综合征^[1-2]。冠心病早期通常无任何症状,仅表现为异常的 ST-T 改变^[3]。然而,随着疾病进展,冠状动脉病变严重程度不断加重,严重者可导致急性心肌梗死,对患者生活质量产生严重影响。因此,探究反映冠心病患者冠状动脉病变严重程度的相关生物学指标,对于疾病及时预防和治疗具有重大意义。趋化因子配体 18 (CCL18) 是炎症反应中重要的趋化因子,其在血清中表达水平升高通常预示着机体某部位的病理变化^[4]。血清中可溶性髓样细胞触发受体样转录因子-1 (sTLT-1) 表达水平可间接反映血小板膜 TLT-1 表达,与心脑血管疾病的发生发展息息相关^[5]。当前,国内外学者对血清 CCL18、sTLT-1 水平与疾病的关系已有大量研究。基于以上背景,本研究拟对冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平进行检测,进而评估二者的相关性以及与冠状动脉病变严重程度的相关性,以期对冠心病早发现、早防治提供科学依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2022 年 6 月—2023 年 6 月河南科技大学第一附属医院心血管内科行经皮冠状动脉造影的冠心病患者 110 例为冠心病组。另选取同期医院健康体检者 110 例为健康对照组。冠心病组 C 反应蛋白 (CRP)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平高于健康对照组 ($P < 0.01$) ; 2 组性别、年龄、体质指数 (BMI)、吸烟史、高血压史、糖尿病史、白细胞计数、血小板计数、血肌酐、空腹血糖、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、左心室射血分数 (LVEF) 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$) , 具有可比性,见表 1。本研究获得医院伦理委员会批准 (22051102), 入选者或家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 健康对照组与冠心病组临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between healthy control group and coronary heart disease group

项 目	健康对照组 (n = 110)	冠心病组 (n = 110)	ν/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男 62(56.36) 女 48(43.64)	64(58.18) 46(41.82)	0.074	0.785
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	59.50 \pm 12.34	61.32 \pm 11.49	1.132	0.259
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	24.79 \pm 2.59	24.55 \pm 2.37	0.717	0.471
吸烟史[例(%)]	40(36.36)	53(48.18)	3.148	0.076
高血压史[例(%)]	48(43.64)	62(56.36)	3.564	0.059
糖尿病史[例(%)]	30(27.27)	41(37.27)	2.516	0.113
CRP($\bar{x} \pm s$, mg/L)	0.76 \pm 0.18	2.95 \pm 0.27	70.783	<0.001
WBC($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	7.11 \pm 1.06	6.95 \pm 1.02	1.141	0.255
PLT($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	156.82 \pm 35.85	147.95 \pm 32.79	1.915	0.057
SCr($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	69.16 \pm 7.28	71.01 \pm 7.43	1.865	0.063
FPG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	5.86 \pm 1.06	6.02 \pm 1.15	1.073	0.284
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.26 \pm 0.21	1.97 \pm 0.35	18.244	<0.001
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.95 \pm 0.62	5.12 \pm 0.97	1.549	0.123
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.33 \pm 0.39	1.25 \pm 0.31	1.684	0.094
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.92 \pm 0.46	2.64 \pm 0.66	22.424	<0.001
LVEF($\bar{x} \pm s$, %)	54.72 \pm 15.52	51.06 \pm 14.67	1.797	0.074

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①年龄 > 18 岁; ②无冠状动脉造影禁忌证; ③符合《稳定性冠心病基层诊疗指南 (2020 年)》^[6] 中相关诊断标准; ④均为首次确诊。(2) 排除标准: ①有恶性肿瘤、肝肾功能不全、急慢性感染疾病者; ②既往有经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 史者; ③先天性心血管疾病者; ④既往服用降脂类药物者。

1.3 观测指标方法

1.3.1 血清 CCL18、sTLT-1 表达水平检测: 冠心病组患者于术前/健康对照组于体检当日采集空腹肘静脉血 4 ml, 离心留取上层血清待测。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 CCL18、sTLT-1 表达水平。CCL18 ELISA 试剂盒购自杭州联科生物技术股份有限

公司(批号 EK1148), sTLT-1 ELISA 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司(批号 ml038123), 具体检测步骤按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 冠状动脉造影及评估分组: 采用美国 GE Inno-va2100-IQ 平板探测器血管造影系统进行冠状动脉造影。采用 SYNTAX 评分评估冠状动脉病变严重程度, 分值越高病变越严重^[7]。根据评分将冠心病组患者分为轻度亚组 54 例(0~22 分)、中度亚组 37 例(23~32 分)、重度亚组 19 例(33 分及以上)。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 25.0 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, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用 *F* 检验; 计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验; Spearman 法分析血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠状动脉病变严重程度的相关性; 多因素 Logistic 回归分析冠状动脉病变严重程度的影响因素; 受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 CCL18、sTLT-1 水平对中重度冠状动脉病变的诊断价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 CCL18、sTLT-1 水平比较 冠心病组血清 CCL18、sTLT-1 水平均显著高于健康对照组, 差异均有统计学意义(*P* < 0.01), 见表 2。

表 2 健康对照组与冠心病组血清 CCL18、sTLT-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum CCL18 and sTLT-1 levels between healthy control group and coronary heart disease group

组别	例数	CCL18(μg/L)	sTLT-1 (ng/L)
健康对照组	110	54.35 ± 17.49	162.46 ± 52.69
冠心病组	110	75.33 ± 23.53	231.36 ± 66.25
<i>t</i> 值		7.505	8.537
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 不同冠状动脉病变严重程度冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平比较 随着冠状动脉病变程度加重, 轻度亚组、中度亚组、重度亚组冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平依次升高(*P* < 0.01), 见表 3。

2.3 血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠状动脉病变严重程度的相关性 Spearman 相关分析显示, 冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠状动脉病变严重程度呈正相关(*r* = 0.486、0.391, *P* < 0.001)。

2.4 多因素 Logistic 回归分析冠心病患者冠状动脉病变严重程度的影响因素 以冠状动脉病变严重程度为因变量(1 = 中重度, 0 = 轻度), 以上述 *P* < 0.05 项目

为自变量进行多因素 Logistic 回归分析, 结果显示: CCL18、sTLT-1 升高是冠心病患者冠状动脉病变严重程度的独立危险因素(*P* < 0.05), 见表 4。

表 3 不同冠状动脉病变严重程度冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum CCL18 and sTLT-1 levels in coronary heart disease patients with different severity of coronary artery disease

组别	例数	CCL18(μg/L)	sTLT-1 (ng/L)
轻度亚组	54	66.23 ± 19.90	203.55 ± 67.19
中度亚组	37	77.12 ± 24.91 ^a	237.82 ± 56.97 ^a
重度亚组	19	97.73 ± 31.14 ^{ab}	297.82 ± 81.65 ^{ab}
<i>F</i> 值		24.542	28.067
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注: 与轻度亚组比较, ^a*P* < 0.05; 与中度亚组比较, ^b*P* < 0.05。

表 4 多因素 Logistic 回归分析冠心病患者冠状动脉病变严重程度的影响因素

Tab. 4 Factors influencing the severity of coronary artery disease in patients with coronary heart disease using multiple Logistic regression analysis

变量	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
CCL18 升高	0.865	0.362	5.715	0.017	2.376	1.169 ~ 4.830
sTLT-1 升高	0.991	0.301	10.848	0.001	2.695	1.494 ~ 4.862
CRP 升高	0.748	0.408	3.358	0.067	2.112	0.949 ~ 4.699
TG 升高	0.623	0.388	2.576	0.109	1.964	0.871 ~ 3.988
LDL-C 升高	0.573	0.319	3.222	0.073	1.773	0.949 ~ 3.313

2.5 血清 CCL18、sTLT-1 水平对中重度冠状动脉病变的诊断价值 绘制血清 CCL18、sTLT-1 水平单独与联合诊断中重度冠状动脉病变的 ROC 曲线, 并计算曲线下面积(AUC), 结果显示: 血清 CCL18、sTLT-1 水平及二者联合诊断中重度冠状动脉病变的 AUC 分别为 0.748、0.721、0.813, 二者联合的 AUC 大于血清 CCL18、sTLT-1 各自单独诊断(*Z* = 2.139、2.248, *P* = 0.032、0.025), 见表 5、图 1。

表 5 血清 CCL18、sTLT-1 水平对冠心病患者中重度冠状动脉病变的诊断价值

Tab. 5 Diagnostic value of serum CCL18 and sTLT-1 levels for moderate to severe coronary artery disease in patients with coronary heart disease

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
CCL18	67.96 μg/L	0.748	0.656 ~ 0.826	0.839	0.574	0.413
sTLT-1	204.49 ng/L	0.721	0.628 ~ 0.803	0.911	0.482	0.393
二者联合		0.813	0.728 ~ 0.881	0.804	0.741	0.545

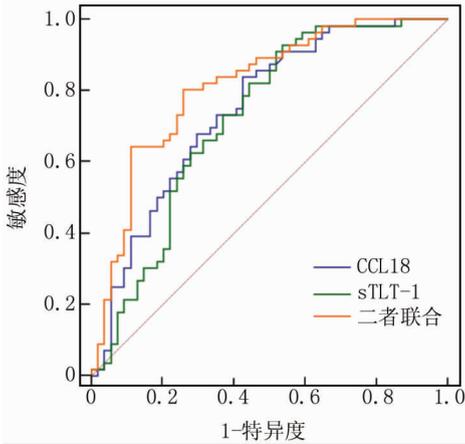


图 1 血清 CCL18、sTLT-1 水平诊断冠心病患者中重度冠状动脉病变的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum CCL18 and sTLT-1 levels for diagnosing moderate to severe coronary artery disease in patients with coronary heart disease

3 讨论

冠心病的发病机制主要是由于脂质代谢异常导致血液中的脂质沉着在原本光滑的冠状动脉内膜上^[8]。冠状动脉内膜被一些似粥样的脂类物质堆积,形成白色斑块,随着这些斑块逐渐增多,便会造成冠状动脉狭窄,致使血流受阻,进而心脏缺血,产生心绞痛^[9]。若动脉壁上的斑块溃疡或者破裂,便会形成血栓,阻断整个血管的血流,发生急性心肌梗死甚至猝死,部分冠心病患者发病是因为冠状动脉痉挛,产生变异性心绞痛,若痉挛超过 30 min,也可导致急性心肌梗死。因此,研究冠心病患者冠状动脉病变程度和血清相关因子水平的关系,对冠心病的防治具有重大意义。

CCL18 是巨噬细胞和树突状细胞分泌的一种趋化因子,属于低分子量蛋白质,可通过与特异性受体结合募集淋巴细胞移行到感染部位^[10]。管仁莘等^[11]在研究血清 CCL18 水平与维持性血液透析患者并发心血管事件关系中发现,维持性血液透析患者血清 CCL18 水平高于健康对照组,且血清 CCL18 水平是维持性血液透析患者发生不良心血管事件的危险因素。也有研究发现冠状动脉源性胸痛住院患者血清 CCL18 水平明显升高,并在动脉粥样硬化斑块中高表达,其可对患者病死率有一定的预测价值^[12]。另外,也有研究发现 CCL18 在急性冠状动脉综合征患者血清中明显升高,高水平 CCL18 与患者发生不良心血管事件有关,并参与患者慢性炎症反应,对急性冠状动脉综合征患者的诊断和预后有一定的评估价值。本研究发现,冠心病组血清 CCL18 水平升高,且随着冠状动脉病变严重程

度的增加, CCL18 水平明显升高,冠心病患者血清 CCL18 与冠状动脉病变严重程度具有正相关性,与上述学者研究相一致^[12],提示 CCL18 水平参与冠心病的发生,且与冠状动脉病变的严重程度密切相关,推测血清 CCL18 水平异常升高可能参与冠心病患者炎症反应,进而加重冠状动脉病变严重程度。且本研究进一步研究发现,血清 CCL18 水平是冠状动脉病变严重程度的危险因素。由此可见,血清 CCL18 水平与冠心病冠状动脉病变严重程度具有较强的相关性,可作为生物学指标反映冠心病冠状动脉病变的严重程度。

sTLT-1 是血小板表面的 TLT-1 发生裂解而产生的一种可溶性蛋白,能促进肌动蛋白的聚合而促使血小板黏附于内皮细胞上,是动脉粥样硬化的重要促进因子^[13-14]。钟晶等^[15]在研究 sTLT-1 对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者预后的预测价值时发现,血清 sTLT-1 水平增高提示急性 ST 段抬高型心肌梗死患者 PCI 术后发生主要不良心血管事件的概率增高。Bayrón-Marrero 等^[16]研究发现 sTLT-1 具有作为稳定冠状动脉疾病患者生物标志物的潜力,其水平异常升高会影响患者左心室功能,并导致心力衰竭。沈俐等^[17]在研究急性冠状动脉综合征患者血清 sTLT-1 表达情况时发现,急性心肌梗死患者和不稳定型心绞痛患者血清 sTLT-1 水平显著高于稳定型心绞痛和健康志愿者,血清 sTLT-1 表达水平升高与急性冠状动脉综合征的发生、发展密切相关。另外,也有研究发现冠状动脉疾病患者血清 sTLT-1 表达水平异常升高,高水平 sTLT-1 与患者炎症反应标志物表达呈正相关,其对预测冠状动脉疾病具有较高的敏感度和特异度^[18]。因此测定 sTLT-1 可对冠心病患者病情评估提供重要依据。本研究发现,冠心病组血清 sTLT-1 水平明显升高,且与冠状动脉病变严重程度有关,其与冠状动脉病变严重程度具有正相关性,这一结果与沈俐等^[17]和 Ali 等^[18]研究结果有一致性,提示血清 sTLT-1 水平与冠心病的发生有关,且对冠状动脉病变严重程度有一定的评估价值,推测 sTLT-1 可能通过加重冠心病炎症反应进而加重冠状动脉病变严重程度,且本研究进一步研究发现,血清 sTLT-1 水平是冠状动脉病变严重程度的危险因素。由此可见,血清 sTLT-1 可作为反映冠心病冠状动脉病变严重程度的生物学指标。

同时,本研究还发现,冠心病患者血清 CCL18、sTLT-1 水平具有正相关性,且二者联合对中重度冠状动脉病变的诊断价值优于血清 CCL18、sTLT-1 各自单独诊断,提示二者可能共同影响冠心病的发展,临床检测二者表达水平,对冠心病患者冠状动脉病变严重程

度的诊断具有一定价值。当血清 CCL18、sTLT-1 水平分别高于 67.96 $\mu\text{g/L}$ 、204.49 ng/L 时,临床需密切关注患者冠状动脉病变程度,及时进行治疗,进而改善患者预后。

综上所述,血清 CCL18、sTLT-1 水平与冠心病冠状动脉病变严重程度具有较强的相关性,且二者联合可作为生物学指标反映冠心病患者冠状动脉病变的严重程度。本次试验的局限性在于纳入样本量较少,后续将继续延长研究时间,并扩大样本量进一步对本研究结果进行验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

秦道铎:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;赵江峰、杨靖、赵飞龙:实施研究过程,收集数据并分析整理;杨旭明:提出研究思路,论文审核

参考文献

- [1] Liang F, Wang Y. Coronary heart disease and atrial fibrillation: A vicious cycle [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320 (1): 1-12. DOI: 10.1152/ajpheart.00702.2020.
- [2] Vancheri F, Longo G, Vancheri S, et al. Coronary microvascular dysfunction [J]. *J Clin Med*, 2020, 9 (9): 2880-2915. DOI: 10.3390/jcm9092880.
- [3] Bhatt DL, Lopes RD, Harrington RA. Diagnosis and treatment of acute coronary syndromes: A review [J]. *JAMA*, 2022, 327 (7): 662-675. DOI: 10.1001/jama.2022.0358.
- [4] Huang Y, Motta E, Nanvuma C, et al. Microglia/macrophage-derived human CCL18 promotes glioma progression via CCR8-ACP5 axis analyzed in humanized slice model [J]. *Cell Rep*, 2022, 39 (2): 110670. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110670.
- [5] Shen L, Yang T, Xia K, et al. P-selectin (CD62P) and soluble TREM-like transcript-1 (sTLT-1) are associated with coronary artery disease: A case control study [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2020, 20 (1): 387-393. DOI: 10.1186/s12872-020-01663-2.
- [6] 中华医学会,中华医学杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 稳定性冠心病基层诊疗指南(2020年) [J]. *中华全科医师杂志*, 2021, 20 (3): 265-273. DOI: 10.3760/cma.j.cn114798-20210120-00079.
- [7] 王钢,华琦. SYNTAX 积分临床应用进展 [J]. *中国心血管杂志*, 2015, 20 (1): 75-78.
- [8] Liu Y, Ye T, Chen L, et al. Systemic immune-inflammation index predicts the severity of coronary stenosis in patients with coronary heart disease [J]. *Coron Artery Dis*, 2021, 32 (8): 715-720. DOI: 10.

1097/MCA.000000000001037.

- [9] Shao C, Wang J, Tian J, et al. Coronary artery disease: From mechanism to clinical practice [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1177 (1): 1-36. DOI: 10.1007/978-981-15-2517-91.
- [10] Cardoso AP, Pinto ML, Castro F, et al. The immunosuppressive and pro-tumor functions of CCL18 at the tumor microenvironment [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2021, 60 (1): 107-119. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2021.03.005.
- [11] 管仁莘,刘维萍,李涛,等. 血清 YKL-40, CCL18 水平与维持性血液透析患者并发心血管事件的关系 [J]. *山东医药*, 2021, 61 (22): 23-26. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2021.22.006.
- [12] Nilsen DWT, Aarsetoey R, Poenitz V, et al. Chemokine ligand 18 predicts all-cause mortality in patients hospitalized with chest pain of suspected coronary origin [J]. *Int J Cardiol Cardiovasc Risk Prev*, 2024, 21 (1): 200264-200272. DOI: 10.1016/j.ijcrp.2024.200264.
- [13] Chang CM, Cheng KH, Wei TY, et al. Soluble TREM-like transcript-1 acts as a damage-associated molecular pattern through the TLR4/MD2 pathway contributing to immune dysregulation during sepsis [J]. *J Immunol*, 2023, 210 (9): 1351-1362. DOI: 10.4049/jimmunol.2200222.
- [14] Lin JC, Xu ZR, Chen ZH, et al. Low-soluble TREM-like transcript-1 levels early after severe burn reflect increased coagulation disorders and predict 30-day mortality [J]. *Burns*, 2021, 47 (6): 1322-1332. DOI: 10.1016/j.burns.2020.11.016.
- [15] 钟晶,孙冠杰,王新,等. 血清白细胞介素-33 和可溶性髓样细胞触发受体样转录因子-1 对急性 ST 段抬高型心肌梗死经皮冠状动脉介入术后患者预后的预测价值 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35 (6): 561-564. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2021.06.004.
- [16] Bayrón-Marrero Z, Branfield S, Menéndez-Pérez J, et al. The characterization and evaluation of the soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-like transcript-1 in stable coronary artery disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (17): 13632-13642. DOI: 10.3390/ijms241713632.
- [17] 沈俐,秦辉,夏珂,等. 急性冠脉综合征患者血清 sTLT-1 表达情况及其临床意义 [J]. *医学临床研究*, 2021, 38 (8): 1244-1246. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7171.2021.08.037.
- [18] Ali A, Mounika N, Nath B, et al. Platelet-derived sTLT-1 is associated with platelet-mediated inflammation in coronary artery disease patients [J]. *Cytokine*, 2024, 178 (1): 156581-156593. DOI: 10.1016/j.cyto.2024.156581.

(收稿日期:2024-06-14)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.012

论著·临床

血清 RAGE、PBEF 水平对重症肺炎患儿继发急性呼吸窘迫综合症的预测价值

王丽阳, 王艺隽, 刘欢, 衣兰云, 李慧玲, 司媛

基金项目: 黑龙江省卫生健康委科研课题(2019-235)

作者单位: 150001 哈尔滨, 哈尔滨市儿童医院呼吸二科

通信作者: 司媛, E-mail: 519943828@qq.com



【摘要】目的 探讨血清晚期糖基化终产物受体(RAGE)、前 B 细胞克隆增强因子(PBEF)水平对重症肺炎(SP)患儿继发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的预测价值。**方法** 选取 2020 年 1 月—2024 年 2 月哈尔滨市儿童医院呼吸科及重症监护室收治的 SP 患儿 875 例,根据是否继发 ARDS 分为 ARDS 组 83 例和非 ARDS 组 792 例。采用酶联免疫吸附法检测血清 RAGE、PBEF 水平。Pearson 相关系数分析血清 RAGE、PBEF 水平与儿童早期预警评分(PEWS)的相关性;以 SP 患儿继发 ARDS 为因变量,建立多因素非条件 Logistic 回归模型确定其影响因素;绘制 ROC 曲线评价血清 RAGE、PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 的价值。**结果** 875 例 SP 患儿入院 7 d 内继发 ARDS 83 例(9.49%)。与非 ARDS 组比较,ARDS 组血清 RAGE、PBEF 水平升高($t = 8.801, 9.082, P$ 均 < 0.001);血清 RAGE、PBEF 水平与 PEWS 评分均呈正相关($r = 0.691, 0.625, P$ 均 < 0.001);Logistic 回归分析结果表明,PEWS 评分增加、机械通气时间延长、氧指数增加、降钙素原升高、RAGE 升高和 PBEF 升高是 SP 患儿继发 ARDS 的独立危险因素[$OR(95\% CI) = 2.308(1.535 \sim 3.469), 2.525(1.619 \sim 3.938), 3.738(2.123 \sim 6.581), 6.916(3.034 \sim 15.768), 1.085(1.061 \sim 1.109), 1.464(1.303 \sim 1.646)$];RAGE、PBEF 及二者联合预测 SP 患儿继发 ARDS 的曲线下面积分别为 0.791、0.789、0.905,二者联合优于各自单独预测效能($Z = 4.256, 4.419, P$ 均 < 0.001)。**结论** SP 患儿血清 RAGE、PBEF 水平升高,两者均为其继发 ARDS 的独立危险因素,血清 RAGE 联合 PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 的价值较高。

【关键词】 重症肺炎;急性呼吸窘迫综合征;晚期糖基化终产物受体;前 B 细胞克隆增强因子;儿童

【中图分类号】 R725.6 **【文献标识码】** A

Predictive value of serum RAGE and PBEF levels in children with severe pneumonia secondary to acute respiratory distress syndrome Wang Liyang, Wang Yicong, Liu Huan, Yi Lanyun, Li Huiling, Si Yuan. Department of Respiratory, Harbin Children's Hospital, Heilongjiang Province, Harbin 150001, China

Funding program: Research Project of Heilongjiang Provincial Health Commission (2019-235)

Corresponding author: Si Yuan, E-mail: 519943828@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the predictive value of serum receptor for advanced glycation end products (RAGE) and pre B cell colony enhancing factor (PBEF) levels in children with severe pneumonia (SP) secondary to acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** Eight hundred and seventy-five cases of SP children admitted to the Respiratory Department and Intensive Care Unit of Harbin Children's Hospital from January 2020 to February 2024 were selected and divided into 83 cases in the ARDS group and 792 cases in the non-ARDS group according to whether they were secondary to ARDS. Serum RAGE and PBEF levels were detected by enzyme linked immunosorbent assay. Pearson's correlation coefficient was used to analyze the correlation between serum RAGE and PBEF levels and the scores of the pediatric early warning score (PEWS); a multifactorial unconditional logistic regression model was established to determine the factors influencing secondary ARDS in children with SP as the dependent variable; and ROC curves were plotted to evaluate the value of serum RAGE and PBEF levels in predicting secondary ARDS in children with SP. **Results** Eight hundred and seventy-five cases children with SP had secondary ARDS within 7 d of admission 83 (9.49%). Compared with the non-ARDS group, serum RAGE and PBEF levels were elevated in the ARDS group ($t = 8.801, 9.082, all P < 0.001$); and there was a positive correlation between serum RAGE and PBEF levels and PEWS scores ($r = 0.691, 0.625, all P < 0.001$); Independent risk factors for secondary ARDS in children with SP were increased PEWS score, prolonged duration of mechanical ventilation,

increased oxygen index, increased procalcitonin, increased RAGE, and increased PBEF [OR(95% CI) = 2.308 (1.535 - 3.469), 2.525 (1.619 - 3.938), 3.738 (2.123 - 6.581), 6.916 (3.034 - 15.768), 1.085 (1.061 - 1.109), 1.464 (1.303 - 1.646)]; The area under the curve of RAGE, PBEF and the combination of the two for predicting secondary ARDS in children with SP was 0.791, 0.789 and 0.905, respectively, and the combination of the two was superior to their respective individual predictive efficacy ($Z = 4.256, 4.419$, all $P < 0.001$). **Conclusion** Elevated serum RAGE and PBEF levels are independent risk factors for secondary ARDS in children with SP, and serum RAGE combined with PBEF levels have high value in predicting secondary ARDS in children with SP.

【Key words】 Severe pneumonia; Acute respiratory distress syndrome; Receptor for advanced glycation end products; Pre B cell colony enhancing factor; Children

肺炎是威胁儿童生命健康的常见呼吸道疾病,常因免疫系统发育不完善、呼吸道较窄、分泌物排除能力较差、抵抗力较弱等进展为重症肺炎(severe pneumonia, SP)^[1-2]。急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是 SP 患儿常见的并发症和死亡的重要原因^[3]。研究证实,炎性反应在肺炎并发 ARDS 过程中发挥至关重要的作用^[4]。晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end-products, RAGE)能通过结合多个配体激活炎性信号通路,放大炎性反应^[5]。前 B 细胞克隆增强因子(pre-B cell colony enhancing factor, PBEF)是一种多功能蛋白质,能通过诱导免疫细胞募集和增加炎性细胞因子释放,促进炎性反应的发生发展^[6]。RAGE、PBEF 水平升高与 SP 患者发病及病情进展有关^[7-8]。然而,关于血清 RAGE、PBEF 水平对 SP 患儿继发 ARDS 的预测价值鲜见报道,基于此本研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1 月—2024 年 2 月哈尔滨市儿童医院呼吸科及重症监护室收治的 SP 患儿 875 例,符合《儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)》^[9] 诊断标准,女 347 例、男 528 例,年龄 1 ~ 12 (6.59 ± 3.29) 岁; SP 类型:社区获得性肺炎 707 例,医院获得性肺炎 168 例;致病菌种数:1 种者 471 例,≥ 2 种者 404 例;发病季节:春季者 75 例,夏季者 319 例,秋季者 224 例,冬季者 257 例。本研究经医院伦理委员会批准(2020-03),患儿家属或监护人知情同意并签署同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合《儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)》^[9];②年龄 ≤ 14 岁;③资料完整。(2) 排除标准:①合并支气管肺发育不良、支气管炎、哮喘、肺栓塞、肺结核等其他肺疾病;②既往 ARDS;③合并人类免疫缺陷病毒、肝炎病毒等非肺炎病毒感染;④自身免疫疾病患儿;⑤合并心、肝、肾、脑等其他重要脏器功能损害;⑥ PICU 时间 < 24 h;⑦合并肺腺瘤样畸形、表面活性物质缺乏、膈疝等先天

性疾病或遗传性缺陷。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 RAGE、PBEF 水平检测:于入院时采集 SP 患儿静脉血 2 ml,离心留取上层血清,使用南京森贝伽生物科技有限公司提供的 RAGE、PBEF 酶联免疫吸附法试剂(货号 SBJ-H1779、SBJ_H0163)检测 RAGE、PBEF 水平。

1.3.2 ARDS 诊断及分组:参考《小儿急性呼吸窘迫综合征:小儿急性肺损伤会议共识推荐》^[10] 诊断 ARDS,包括以下 5 个方面:(1)除外围生期相关性肺疾病患儿;(2)病因明确的损害发生在 7 d 以内;(3)不能完全用液体超负荷或心力衰竭解释的呼吸衰竭;(4)胸部影像学发现与肺实质疾病一致的新发浸润影;(5)无创机械通气(持续气道压 > 5 cmH₂O、动脉血氧分压/吸入氧浓度 ≤ 300、脉氧饱和度/吸入氧浓度 ≤ 264)或有创机械通气(氧指数 ≥ 4、氧饱和度指数 ≥ 5)。根据 SP 患儿入院 7 d 内是否继发 ARDS 分为 ARDS 组和非 ARDS 组。

1.3.3 儿童早期预警评分(PEWS)^[11]:评分指标包括生理参数、临床症状和实验室检查等多个方面,如呼吸频率、心率、氧饱和度、体温、白细胞计数等,总分值 0 ~ 9 分,得分越高表示病情越严重。

1.4 统计学方法 选择 SPSS 28.0 软件统计分析数据。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 相关系数分析血清 RAGE、PBEF 水平与 PEWS 评分相关性;多因素非条件 Logistic 回归模型分析 SP 患儿继发 ARDS 的影响因素;使用 MedCalc19.3.1 软件绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评价血清 RAGE、PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 的价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患儿血清 RAGE、PBEF 水平比较 875 例 SP 患儿入院 7 d 内继发 ARDS 83 例(9.49%)。与非 ARDS 组比较,ARDS 组血清 RAGE、PBEF 水平显著升高($P < 0.01$),见表 1。

表 1 非 ARDS 组与 ARDS 组患儿血清 RAGE、PBEF 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

Tab. 1 Comparison of serum RAGE and PBEF levels between non-ARDS group and ARDS group children

组别	例数	RAGE	PBEF
非 ARDS 组	792	135.20 ± 15.57	10.44 ± 3.07
ARDS 组	83	159.75 ± 24.91	14.53 ± 3.98
t 值		8.801	9.082
P 值		<0.001	<0.001

2.2 2 组患儿临床资料比较 与非 ARDS 组比较, ARDS 组致病菌种数 ≥ 2 种比例、PEWS 评分、氧指数、CRP、PCT 水平更高,机械通气时间更长 ($P < 0.05$), 2 组患儿性别、年龄、早产、剖宫产、SP 类型、临床表现、发病季节、生命体征、PICU 时间、血小板计数、白细胞

计数、血红蛋白等比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

2.3 血清 RAGE、PBEF 水平与 PEWS 评分相关性分析 血清 RAGE、PBEF 水平与 PEWS 评分均呈正相关 ($r = 0.691, 0.625, P$ 均 < 0.001)。

2.4 SP 患儿继发 ARDS 的多因素非条件 Logistic 回归分析 以 SP 患儿继发 ARDS (是/否 = 1/0) 为因变量,表 1 和表 2 有差异项目 [致病菌种数 (≥ 2 种/1 种 = 1/0)、PEWS 评分、机械通气时间、氧指数、CRP、PCT、RAGE、PBEF] 为自变量(连续变量均原值录入),建立多因素非条件 Logistic 回归模型。结果显示,PEWS 评分增加、机械通气时间延长、氧指数增加、PCT 升高、RAGE 升高和 PBEF 升高为 SP 患儿继发 ARDS 的独立危险因素 ($P < 0.05$),见表 3。

表 2 非 ARDS 组与 ARDS 组患儿临床资料比较

Tab. 2 Comparison of clinical data between non-ARDS group and ARDS group children

项目		非 ARDS 组 ($n = 792$)	ARDS 组 ($n = 83$)	χ^2/t 值	P 值
性别 [例 (%)]	男	475 (59.97)	53 (63.86)	0.473	0.492
	女	317 (40.03)	30 (36.14)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)		6.62 ± 3.33	6.35 ± 2.80	0.714	0.476
早产 [例 (%)]		143 (18.06)	19 (22.89)	1.165	0.281
剖宫产 [例 (%)]		237 (29.92)	31 (37.35)	1.949	0.163
SP 类型 [例 (%)]	社区获得性肺炎	642 (81.06)	65 (78.31)	0.366	0.545
	医院获得性肺炎	150 (18.94)	18 (21.69)		
致病菌种数 [例 (%)]	≥ 2 种	355 (44.82)	49 (59.04)	6.106	0.013
	1 种	437 (55.18)	34 (40.96)		
临床表现 [例 (%)]	胸痛	53 (6.69)	7 (8.43)	0.357	0.550
	高热	608 (76.77)	70 (84.34)	2.468	0.116
	咳嗽	739 (93.31)	81 (97.59)	2.339	0.126
	喘促	231 (29.17)	30 (36.14)	1.748	0.186
	精神状态差	203 (25.63)	25 (30.12)	0.786	0.375
	肺不张	488 (61.62)	60 (72.29)	3.656	0.056
	胸膜炎	372 (46.97)	48 (57.83)	3.551	0.060
	发病季节 [例 (%)]	春季	68 (8.59)	7 (8.43)	1.033
生命体征	夏季	285 (35.98)	34 (40.96)		
	秋季	203 (25.63)	21 (25.30)		
	冬季	236 (29.80)	21 (25.30)		
	体温 ($\bar{x} \pm s, ^\circ\text{C}$)	37.44 ± 0.90	37.54 ± 0.91	0.902	0.367
心率 ($\bar{x} \pm s$, 次/min)	146.97 ± 30.73	150.95 ± 21.94	1.506	0.135	
呼吸频率 ($\bar{x} \pm s$, 次/min)	38.42 ± 13.60	39.47 ± 11.00	0.807	0.421	
PICU 时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	4.20 ± 2.56	4.57 ± 1.96	1.583	0.116	
机械通气时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	1.35 ± 0.77	2.20 ± 1.46	5.227	<0.001	
氧指数 ($\bar{x} \pm s$)	2.51 ± 0.51	3.06 ± 1.02	8.328	<0.001	
PLT ($\bar{x} \pm s, \times 10^9/\text{L}$)	272.54 ± 100.35	258.51 ± 95.83	1.217	0.224	
WBC ($\bar{x} \pm s, \times 10^9/\text{L}$)	11.88 ± 3.49	12.79 ± 4.17	1.912	0.059	
Hb ($\bar{x} \pm s, \text{g/L}$)	120.37 ± 25.53	116.00 ± 25.84	1.479	0.140	
CRP ($\bar{x} \pm s, \text{mg/L}$)	122.08 ± 59.05	153.05 ± 50.21	5.250	<0.001	
PCT ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)	1.53 ± 0.44	1.95 ± 0.49	8.091	<0.001	
PEWS ($\bar{x} \pm s$, 分)	5.20 ± 0.94	5.86 ± 0.86	6.062	<0.001	

注: PICU. 儿科重症监护病房; PEWS. 儿童早期预警评分; PCT. 降钙素原; CRP. C 反应蛋白; PLT. 血小板计数; Hb. 血红蛋白。

表 3 SP 患儿继发 ARDS 的多因素非条件 Logistic 回归分析

Tab. 3 Multivariate unconditional Logistic regression analysis of secondary ARDS in children with SP

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
致病菌种数 ≥ 2 种	0.502	0.376	1.782	0.182	1.653	0.790 ~ 3.456
PEWS 评分增加	0.836	0.208	16.165	<0.001	2.308	1.535 ~ 3.469
机械通气时间延长	0.926	0.227	16.676	<0.001	2.525	1.619 ~ 3.938
氧指数增加	1.318	0.289	20.863	<0.001	3.738	2.123 ~ 6.581
CRP 升高	0.006	0.003	3.821	0.051	1.006	0.999 ~ 1.013
PCT 升高	1.934	0.420	21.153	<0.001	6.916	3.034 ~ 15.768
RAGE 升高	0.081	0.011	51.362	<0.001	1.085	1.061 ~ 1.109
PBEF 升高	0.381	0.060	40.834	<0.001	1.464	1.303 ~ 1.646

2.5 血清 RAGE、PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 的 ROC 曲线分析 绘制血清 RAGE、PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 效能的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:RAGE、PBEF 及二者联合预测 SP 患儿继发 ARDS 的 AUC 分别为 0.791、0.789、0.905,二者联合优于各自单独预测效能($Z = 4.256$ 、 4.419 , P 均 <0.001),见表 4、图 1。

表 4 血清 RAGE、PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 的价值

Tab. 4 The value of serum RAGE and PBEF levels in predicting secondary ARDS in children with SP

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
RAGE	144.77 $\mu\text{g/L}$	0.791	0.763 ~ 0.818	0.735	0.735	0.470
PBEF	13.95 $\mu\text{g/L}$	0.789	0.761 ~ 0.816	0.602	0.869	0.471
二者联合		0.905	0.883 ~ 0.923	0.795	0.898	0.693

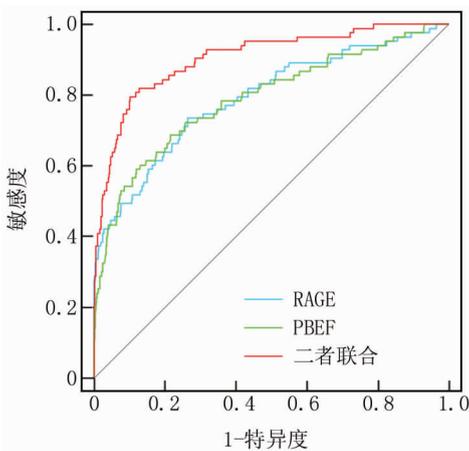


图 1 血清 RAGE、PBEF 水平预测 SP 患儿继发 ARDS 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve for predicting secondary ARDS in children with SP using serum RAGE and PBEF levels

3 讨论

ARDS 是一种由多种因素引起的严重肺部疾病,

其主要病理特征是弥漫性肺泡损伤和通透性增加,可导致肺泡—毛细血管膜水肿、广泛的肺部炎性反应、难治性低氧血症、进行性呼吸窘迫,最终引发多器官衰竭而死亡^[12]。SP 患儿由于肺实质炎性反应持续增强,可引发失控性炎性反应加剧肺组织结构损害引起 ARDS,且不同于成人患者,SP 患儿继发 ARDS 具有免疫系统不成熟、气道狭小、通气/血流比例失调更严重等特点,目前除机械通气外尚无特效的治疗方式,故病死率较高^[13-14]。寻找可靠的血清标志物,对降低 SP 患儿 ARDS 发生率和改善患儿预后具有重要意义。

肺炎是大量病原微生物侵入肺实质引起的宿主强烈免疫反应,随着肺炎病情的进展,受损肺组织细胞释放大量的炎性介质引发广泛的肺部炎性反应,进一步破坏肺泡、毛细血管内皮和增加肺泡—毛细血管膜的通透性,形成肺水肿阻碍气体交换,通过肺泡通气/血流比例失调导致气体交换障碍而促进 ARDS 的发生发展^[15]。RAGE 是一种多配体细胞表面受体,不仅能特异性结合晚期糖基化终末产物(AGEs),还能结合高迁移率族蛋白 1(HMGB1)等其他配体,激活下游核因子- κB (NF- κB)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等信号通路,增强炎性因子的释放以放大炎性反应^[5]。烟雾暴露诱导的小鼠肺炎模型中,敲除 RAGE 能阻断 NF- κB 信号通路,进而减轻肺部炎性反应和细胞凋亡^[16]。HMGB1/RAGE/NF- κB 信号通路激活能加剧缺氧诱导的急性肺损伤,而阻断该信号通路能改善大鼠肺损伤^[17]。盲肠结扎穿刺诱导的小鼠 ARDS 模型中,使用 RAGE 阻滞剂能抑制 HMGB1-RAGE 信号通路,减轻小鼠肺炎性反应损伤和细胞凋亡^[18]。临床研究指出,RAGE 水平升高与 SP 患者病情程度加重有关^[7];同时血清 RAGE 水平升高会增加脓毒症并发 ARDS 患者死亡风险^[19]。本研究中,继发 ARDS 的 SP 患儿血清 RAGE 水平升高,与 PEWS 评分呈正相关,说明 SP 患儿 ARDS 风险随着血清 RAGE 水平升高而增加。考虑原因,RAGE 能激活 AGEs/HMGB1/NF- κB /MAPK 信

号通路,促进炎性细胞的募集和活化,引起失控性炎性反应,增加肺泡一毛细血管膜的通透性,导致肺水肿和低氧血症,进而增加 SP 患儿继发 ARDS 的风险^[20]。同时,RAGE-AGEs/HMGB1/NF-κB/MAPK 信号通路还能上调细胞内活性氧水平,通过线粒体凋亡途径诱导肺血管内皮和肺泡上皮细胞凋亡,加剧肺部的结构性损伤和功能障碍,从而增加 SP 患儿继发 ARDS 的风险^[21]。

PBEF 是一种促进 B 细胞前体增殖的细胞因子,能结合其受体激活 NF-κB 等炎性反应信号通路,通过募集免疫细胞和增加促炎因子表达增强炎性反应^[6]。油酸尾静脉注射建立的急性肺损伤/ARDS 大鼠模型中,PBEF 上调能增加黏附分子表达,促进炎性细胞向肺内迁移和浸润,进而加剧肺部炎性反应损害^[22]。脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠模型中,PBEF 在肺泡上皮细胞和内皮细胞中大量表达,敲低 PBEF 能抑制 NF-κB 活化,进而减轻肺组织炎性反应^[23]。另一项实验发现^[24],肺血管内皮细胞中 PBEF 表达增加激活了 MAPK 信号通路,导致肺血管内皮细胞炎性反应、细胞凋亡增强和水通道蛋白 1 低表达。这些实验表明 PBEF 在肺炎性反应损伤中发挥重要作用。临床研究指出,血清 PBEF 水平升高与 SP 患者及脓毒症并发 ARDS 患者病情程度呈正相关^[8]。本研究中,继发 ARDS 的 SP 患儿血清 PBEF 水平升高,与 PEWS 评分均呈正相关,说明 SP 患儿 ARDS 风险随着血清 PBEF 水平升高而增加。分析原因可能是,PBEF 能激活 NF-κB 和 MAPK 等炎性反应信号通路,促进多种促炎细胞因子的产生加重肺部炎性反应,增加肺泡一毛细血管膜的通透性,导致肺水肿和低氧血症,从而增加 SP 患儿继发 ARDS 的风险^[23-24]。同时,PBEF 可以上调黏附分子表达,促进免疫细胞向肺部迁移和浸润,释放促炎介质造成广泛的肺组织损伤和炎性反应,进而增加 SP 患儿继发 ARDS 的风险^[22]。最后,PBEF 还能调节 c-Jun 氨基末端激酶、细胞外信号调节激酶、MAPK 等信号通路,抑制水通道蛋白 1 表达,削弱肺部液体转运功能加剧肺水肿对气体交换的损害,进而增加 SP 患儿继发 ARDS 的风险^[25]。

本研究结果还显示,PEWS 评分增加、机械通气时间延长、氧指数增加和 PCT 升高的 SP 患儿 ARDS 风险更高。考虑原因,PEWS 评分增加的 SP 患儿伴有更多的器官系统损害,可能伴有更严重的炎性反应,因此 ARDS 风险更高;机械通气时间延长和氧指数升高的 SP 患儿存在更严重肺损伤,因此 ARDS 风险更高;PCT 升高反映炎性反应更严重,会加剧肺部炎性反应损伤

而增加 ARDS 风险^[26]。

综上所述,血清 RAGE、PBEF 水平升高与 SP 患儿继发 ARDS 独立相关,二者联合对 SP 患儿继发 ARDS 有较高的预测价值。但本研究为单中心研究,其结果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

王丽阳:设计研究方案,实施研究过程,分析试验数据,论文撰写;王艺璁、司媛:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;刘欢:进行统计学分析;衣兰云:课题设计,论文撰写;李慧玲:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] Li ZJ,Zhang HY, Ren LL, et al. Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China [J]. Nat Commun, 2021, 12(1):5026. DOI:10.1038/s41467-021-25120-6.
- [2] 白心怡,李娟,李克晶,等.儿童重症肺炎危险因素及风险预测模型的构建[J].临床检验杂志,2023,41(9):692-699. DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2023.09.11.
- [3] 黎耀文,林洁琼,熊海茵,等.2020-2021 年深圳市儿童医院儿童重症肺炎流行病学与临床特征分析[J].新发传染病电子杂志,2023,8(3):53-58. DOI:10.19871/j.cnki.xferbzz.2023.03.011.
- [4] 吴素丽,何炜.急性呼吸窘迫综合症的炎症反应机制及机械通气治疗进展[J].武警医学,2023,34(2):177-180. DOI:10.3969/j.issn.1004-3594.2023.02.022.
- [5] 孙婧怡,孙亚冰,马礼兵.HMGB1/RAGE 信号与呼吸系统疾病及其研究进展[J].国际呼吸杂志,2020,40(3):229-234. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2020.03.014.
- [6] Recinella L, Orlando G, Ferrante C, et al. Adipokines: New potential therapeutic target for obesity and metabolic, rheumatic, and cardiovascular diseases [J]. Front Physiol, 2020, 10(11):578966. DOI:10.3389/fphys.2020.578966.
- [7] 张阳,郑庆凯,陈苗,等.重症肺炎患者外泌体 HMGB1/RAGE/NF-κB 基因表达及其与病情进展的关系[J].中华医院感染学杂志,2023,33(6):816-820. DOI:10.11816/cn.ni.2023-220838.
- [8] 谢娟,陆一鸣,施劲东,等.重症肺炎患者血浆内脂素的变化及临床意义[J].中华急诊医学杂志,2011,20(6):637-640. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2011.06.020.
- [9] 中华人民共和国国家健康委员会,国家中医药局.儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)[J].中华临床感染病杂志,2019,12(1):6-13. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2019.01.002.
- [10] Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference Group. Pediatric acute respiratory distress syndrome: Consensus recommendations from the pediatric acute lung injury consensus conference [J]. Pediatr Crit Care Med, 2015, 16(5):428-439. DOI:10.1097/PCC.0000000000000350.
- [11] 朱碧臻,陆国平.儿童早期预警评分[J].中华实用儿科临床杂志,2018,33(6):432-437. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.06.009.
- [12] Grasselli G, Calfee CS, Camporota L, et al. ESICM guidelines on acute respiratory distress syndrome: Definition, phenotyping and respiratory support strategies [J]. Intensive Care Med, 2023, 49(7):727-759. DOI:10.1007/s00134-023-07050-7. (下转 1099 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.013

论著·临床

血清 IL-19、VASH-1、NLR 在 2 型糖尿病肾病中的水平及临床意义

颜建军, 李利萍, 胡杨, 程木子, 程玲, 张文静, 张楠, 张丽莎



基金项目: 2022 年度河北省医学科学研究课题计划(20220486)

作者单位: 056002 河北省邯郸市第一医院内分泌一科

通信作者: 颜建军, E-mail: yanzhen9991@163.com

【摘要】目的 探讨血清白介素 19(IL-19)、血管生成抑制蛋白 1(VASH-1)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)在 2 型糖尿病肾病(T2DN)中的水平及意义。**方法** 选取 2020 年 12 月—2022 年 12 月在邯郸市第一医院内分泌一科治疗的 T2DN 患者 100 例作为 T2DN 组,同时收集单纯 2 型糖尿病(T2DM)患者 100 例作为 T2DM 组,比较 2 组血清 IL-19、VASH-1、NLR 水平,并分析血清 IL-19、VASH-1、NLR 对 T2DN 的预测价值。**结果** T2DN 组血清 IL-19、VASH-1、NLR 明显高于 T2DM 组($t/P=8.374/ <0.001, 8.277/ <0.001, 8.762/ <0.001$)。经二元 Logistic 回归分析,IL-19、VASH-1、NLR 升高是发生 T2DN 的危险因素[$OR(95\% CI) = 1.120(1.037 \sim 1.210), 1.006(1.001 \sim 1.012), 2.586(1.165 \sim 5.740), P < 0.05$]。受试者工作特征(ROC)曲线分析显示,IL-19、VASH-1、NLR 及三者联合预测 T2DN 的曲线下面积(AUC)分别为 0.807、0.799、0.822、0.854,约登指数分别为 0.520、0.490、0.550、0.740,IL-19 在最佳截断值对应的敏感度、特异度分别为 0.940、0.580,VASH-1 为 0.660、0.830,NLR 为 0.920、0.630,三者联合为 0.860、0.880。**结论** T2DN 患者血清 IL-19、VASH-1、NLR 水平升高,且血清 IL-19、VASH-1、NLR 三者联合对 T2DN 具有较高的预测价值。

【关键词】 2 型糖尿病肾病;白介素 19;血管生成抑制蛋白 1;中性粒细胞与淋巴细胞比值;诊断价值**【中图分类号】** R587.2**【文献标识码】** A

The levels and clinical significance of serum IL-19, VASH-1 and NLR in type 2 diabetic nephropathy Yan Jianjun, Li Liping, Hu Yang, Cheng Muzi, Cheng Ling, Zhang Wenjing, Zhang Nan, Zhang Lisha. Department of Endocrinology, Handan First Hospital, Hebei Province, Handan 056002, China

Funding program: Hebei Medical Science Research Project 2022(20220486)

Corresponding author: Yan Jianjun, E-mail: yanzhen9991@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the levels and significance of serum interleukin 19(IL-19), vasohibin-1 (VASH-1), neutrophil-to-lymphocyte ratio(NLR) in type 2 diabetic nephropathy(T2DN). **Methods** 100 patients with T2DN who were treated in our hospital from December 2020 to December 2022 were selected as the T2DN group, and 100 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) alone were collected as the T2DM group. The levels of serum IL-19, VASH-1, and NLR were compared among the two groups, and the predictive value of serum IL-19, VASH-1, and NLR for DN was analyzed. **Results**

The serum levels of IL-19, VASH-1, and NLR in the T2DN group were significantly higher than those in the T2DM group ($t/P=8.347/ <0.001, 8.277/ <0.001, 8.762/ <0.001$). According to binary Logistic regression analysis, high IL-19, VASH-1, and NLR are risk factors for T2DN [$OR(95\% CI) = 1.120(1.037 - 1.210), 1.006(1.001 - 1.012), 2.586(1.165 - 5.740), P < 0.05$]. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed that, The area under the curve (AUC) of serum IL-19, VASH-1, NLR and their combined prediction of T2DN were 0.807, 0.799, 0.822, 0.854, respectively. The Yoden indices were 0.520, 0.490, 0.550, 0.740. The sensitivity and specificity corresponding to the optimal critical values of IL-19 was 0.940 and 0.580, VASH-1 was 0.660 and 0.830, and NLR was 0.920 and 0.630, respectively. The combined sensitivity and specificity of the three methods was 0.860 and 0.880. **Conclusion** The serum IL-19, VASH-1, and NLR of T2DN patients are increased, and the combination of serum IL-19, VASH-1, and NLR has high predictive value for T2DN.

【Key words】 Type 2 diabetic nephropathy; Interleukin-19; Vasohibin-1; Neutrophil lymphocyte ratio; Diagnostic value

2 型糖尿病肾病 (type 2 diabetic nephropathy, T2DN) 是 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 患者最常见的并发症之一,其发病率在 T2DM 患者中相对较高^[1]。据研究表明,T2DN 的发病率为 30% ~ 40%^[2]。T2DN 可能会导致多种并发症,包括高血压、贫血、脂代谢紊乱、严重肾衰竭等。T2DN 的预后取决于许多因素,如早期诊断和治疗、良好的血糖和血压控制、保持合理的饮食和生活方式等^[3]。如果得到有效的治疗和管理,大部分患者可以控制疾病的进展,减缓肾损伤的程度,维持一定的肾功能,从而保证较好的生活质量^[4]。目前,T2DN 的诊断主要依靠尿蛋白定量、肾小球滤过率和肾脏组织学检查等手段^[5]。随着医学技术的发展,现在有许多非侵入性的方法可以直接评估肾小球滤过率和肾脏微循环,如血清肌酐 (serum creatinine, SCr)、尿肌酐 (urine creatinine, USr) 和尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血清肌酐清除率 (creatinine clearance rate, CCR)、尿液中微量白蛋白和尿肌酐比值等指标^[6]。此外,还可以应用尿蛋白定量、血浆和尿液中肾小球滤过率相关因子、血压和心血管系统功能状况等多种因素结合,进行综合评估^[7]。近年来,越来越多的研究表明,炎症反应在 DN 的发生和发展中起着重要作用。白介素 19 (interleukin-19, IL-19) 是一种趋化因子,参与机体的免疫调节和炎症反应等过程;血管生成抑制蛋白 1 (vasohibin-1, VASH-1) 是一种由内皮细胞生长抑制因子诱导的血管抑制素,可以通过抑制血管新生、改善内皮功能等多种途径发挥保护肾脏的作用;中性粒细胞/淋巴细胞比值 (neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR) 是一个反映机体免疫状态和炎症反应程度的指标,它通常被用来评估 T2DM 等慢性疾病的预后。本研究旨在探讨 IL-19、VASH-1 和 NLR 在 T2DN 中的水平及临床意义。通过对比分析糖尿病非肾病患者和 T2DN 患者血清中 IL-19、VASH-1 和 NLR 的水平,以期对 DN 的早期诊断和干预提供新的思路和方法,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 12 月—2022 年 12 月在邯郸市第一医院内分泌一科治疗的 T2DN 患者 100 例作为 T2DN 组,同时收集单纯 T2DM 患者 100 例作为 T2DM 组,2 组基线资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准 (HDYY-LL-KY2020-K08),入选者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 纳入标准:(1) T2DM 诊断均符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》^[8] 的诊断

标准;(2) T2DN 诊断均符合《中国糖尿病肾脏病防治指南(2021 年版)》^[9] 的诊断标准;(3) 年龄 18 ~ 75 岁。排除标准:(1) 合并感染;(2) 原发性肝肾功能不全;(3) 近 6 个月有不稳定性心绞痛、严重心律失常、心肌梗死、脑出血等心脑血管病变病史;(4) 未能稳定控制的高血压(定义为:收缩压 ≥ 160 mmHg 和/或舒张压 ≥ 100 mmHg);(5) 1 型糖尿病;(6) 1 个月内服用免疫调节剂;(7) 合并炎性肠病等肠道疾病;(8) 合并甲状腺功能异常;(9) 合并其他重大疾病。

表 1 2 组基线资料比较

Tab. 1 Comparison of general datas between two groups

项 目	T2DM 组 (n=100)	T2DN 组 (n=100)	t/χ^2 值	P 值	
性别[例(%)]	男	56(56.0)	54(54.0)	0.081	0.776
	女	44(44.0)	46(46.0)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	62.23 \pm 8.66	61.68 \pm 9.15	0.437	0.663	
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	26.21 \pm 3.39	26.51 \pm 3.15	0.648	0.518	

1.3 观察指标与方法

1.3.1 血清 IL-19、VASH-1 水平检测:所有检查对象均于前一天晚上禁食 12 h 后,于次日清晨空腹采集静脉血 5 ml 置于不含抗凝剂的真空采血管中,3 000 r/min 离心 10 min,取上清采用酶联免疫吸附试验测量血清 IL-19、VASH-1 水平。

1.3.2 NLR 测算:上述血清检测血常规,根据血常规中性粒细胞、淋巴细胞,计算 NLR。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。计数资料用频数或率 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验;通过受试者工作特征 (receiver operator characteristic, ROC) 曲线评估预测价值,曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 $>0.5 \sim 0.7$ 时评估准确性低, $>0.7 \sim 0.9$ 时有一定准确性, >0.9 时准确性较高。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 IL-19、VASH-1、NLR 比较 T2DN 组血清 IL-19、VASH-1、NLR 高于 T2DM 组 ($P < 0.01$),见表 2。

2.2 血清 IL-19、VASH-1 和 NLR 对 T2DN 发生的影响 以是否发生 T2DN (1 为发生 T2DN, 0 为未发生 T2DN) 为因变量,以 IL-19、VASH-1、NLR 等 3 项指标为自变量,构建 Logistic 回归模型,得出 IL-19、VASH-1、NLR 升高是发生 T2DN 的危险因素 ($P < 0.05$),见表 3。根据回归结果中的回归系数拟合三

项联合诊断的数值计算公式:三者联合 = IL-19 + (0.006/0.113) × VASH-1 + (0.950/0.113) × NLR。

表 2 2 组血清 IL-19、VASH-1、NLR 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum IL-19, VASH-1 and NLR between two groups

组别	例数	IL-19 (ng/L)	VASH-1 (ng/L)	NLR
T2DM 组	100	35.65 ± 5.70	507.74 ± 75.86	4.07 ± 0.55
T2DN 组	100	42.84 ± 6.42	615.27 ± 105.46	4.82 ± 0.66
<i>t</i> 值		8.374	8.277	8.762
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 3 血清 IL-19、VASH-1 和 NLR 对 T2DN 发生的影响分析

Tab. 3 Comparison of effects of serum IL-19, VASH-1 and NLR on T2DN occurrence

影响因素	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95% CI
常量	-12.054	1.765	46.641	<0.001	0.000	—
IL-19	0.113	0.039	8.294	0.004	1.120	1.037 ~ 1.210
VASH-1	0.006	0.003	4.730	0.030	1.006	1.001 ~ 1.012
NLR	0.950	0.407	5.452	0.020	2.586	1.165 ~ 5.740

2.3 血清 IL-19、VASH-1 和 NLR 对 T2DN 的预测价值分析 ROC 曲线分析显示,IL-19、VASH-1、NLR 预测 T2DN 的 AUC 分别为 0.807、0.799、0.822。进一步分析显示,三者联合预测 T2DN 的 AUC 为 0.854,预测准确性高,检验结果见表 4、5,图 1。当 IL-19 的截断值为 41.65 ng/L 时,敏感度为 0.940,特异度为 0.580;当 VASH-1 的截断值为 534.7 ng/L 时,敏感度为 0.660,特异度为 0.830;当 NLR 的截断值为 4.65 时,敏感度为 0.920,特异度为 0.630;三者联合的敏感度为 0.860,特异度为 0.880,见表 5。

表 4 血清 IL-19、VASH-1、NLR 预测 T2DN 的 ROC 检验结果

Tab. 4 ROC test results of serum IL-19, VASH-1 and NLR predicted T2DN

检验项目	标准误	渐近显著性水平	AUC	95% CI
IL-19	0.031	<0.001	0.807	0.746 ~ 0.868
VASH-1	0.032	<0.001	0.799	0.737 ~ 0.861
NLR	0.031	<0.001	0.822	0.761 ~ 0.882
三者联合	0.030	<0.001	0.854	0.795 ~ 0.914

表 5 血清 IL-19、VASH-1、NLR 预测 T2DN 的相关指标及截断值

Tab. 5 Related indicators and cut-off values of serum IL-19, VASH-1, and NLR for predicting T2DN

检验项目	截断值	AUC	敏感度	特异度	约登指数
IL-19	41.65 ng/L	0.807	0.940	0.580	0.520
VASH-1	534.70 ng/L	0.799	0.660	0.830	0.490
NLR	4.65	0.822	0.920	0.630	0.550
三者联合		0.854	0.860	0.880	0.740

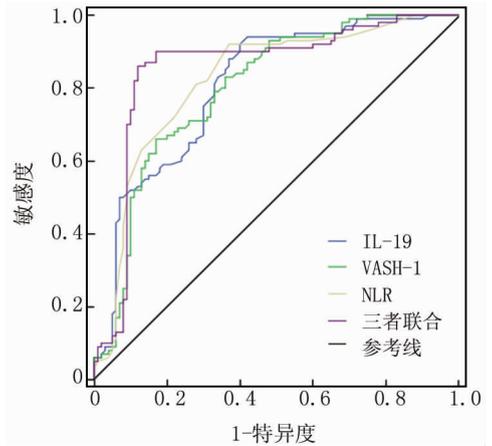


图 1 血清 IL-19、VASH-1、NLR 预测 T2DN 的 ROC 曲线分析
Fig. 1 ROC curve analysis of serum IL-19, VASH-1 and NLR for predicting T2DN

3 讨论

T2DN 好发人群主要是 40 岁以上的中老年人,尤其是存在高血压、高胆固醇等危险因素的人群^[10]。此外,有遗传史或家族史的人也容易发生 T2DN^[11]。如果 T2DN 得到有效的治疗和管理,大部分患者可以控制疾病的进展,减缓肾损伤的程度,维持一定的肾功能,从而保证较好的生活质量^[12-13]。患者尽早诊断 T2DN 并采取有效治疗是至关重要的,因为该病的早期诊断和治疗有助于减缓疾病进展速度,控制症状和并发症的出现。对于 T2DN 患者来说,严重程度越高,其预后也就相应越差。但是,即使在晚期,积极的治疗和管理仍然可以缓解症状,延缓疾病进展,提高生活质量。

本研究发现,T2DN 组血清 IL-19、VASH-1、NLR 明显高于 T2DM 组 ($P < 0.01$)。王智峰等^[14]也在研究中指出,T2DM 合并 DN 患者血清 VASH-1 明显高于 T2DM 患者,这可能是为了保护肾脏而产生的机制。同时,T2DN 患者的 NLR 水平通常也会升高,反映了机体的炎症反应和免疫状态的异常。提示这些指标可能作为该疾病的早期诊断和治疗过程中的有用指标。相比于单纯 T2DM 患者,T2DN 患者血清 IL-19、VASH-1、NLR 水平高的原因可能是由于肾脏受损引起了机体的免疫和炎症反应,促进了这些指标的增加^[15]。二元 Logistic 回归分析显示,IL-19、VASH-1、NLR 升高是发生 T2DN 的危险因素 ($P < 0.05$)。分析认为,IL-19 是一种细胞因子,参与多种炎症反应和免疫应答过程。持续的高血糖环境可能导致肾脏细胞损伤和炎症反应,而 IL-19 可能在炎症反应中发挥重要作用。因此,IL-19 的异常表达可能促进 T2DN 的发生和发展。

VASH-1 对肾脏微血管的形态和功能具有重要影响。在 T2DN 中,肾脏微血管的改变是一个关键的特征。因此,VASH-1 可能通过影响肾脏微血管的结构和功能,参与 T2DN 的发生。NLR 是免疫和炎症反应的标志物,可能通过识别体内的异常物质或损伤信号,触发炎症反应和免疫应答,而这在 T2DN 的发病机制中起到一定的作用。

本研究 ROC 曲线分析显示,IL-19、VASH-1、NLR 及其联合检测在预测 T2DN 方面展现出高价值,AUC 分别达到 0.807、0.799、0.822、0.854,约登指数亦表明其诊断效能显著,分别为 0.520、0.490、0.550 及 0.740。在最佳截断值下,各指标的敏感度与特异度均表现优异,尤其是三者联合检测,敏感度达 0.860,特异度 0.880,提示其综合诊断效能卓越。此结果强化了血清 IL-19、VASH-1、NLR 作为 T2DN 预测生物标志物的潜力,其高水平可能与糖尿病肾病进程中复杂的炎症反应及免疫系统失调紧密相关^[16]。IL-19 与 VASH-1 作为关键细胞因子,在细胞生长调控及免疫平衡中扮演重要角色,而 NLR 作为炎症反应状态的镜像,其升高进一步印证了体内免疫-炎症反应网络的失衡^[17]。三者联合预测表现出更高的准确性,可能源于它们能够互补信息,从不同维度反映疾病状态,有效减少单一指标可能带来的诊断偏倚。此外,这些指标的检测流程简便快捷,成本效益高,适宜大规模人群筛查,为 T2DN 的早期识别与干预策略的制定提供了有力支持。因此,将 IL-19、VASH-1、NLR 纳入 T2DN 的综合评估体系,有望显著提升疾病管理效率与改善患者预后。

综上所述,T2DN 患者血清 IL-19、VASH-1、NLR 水平升高,且血清 IL-19、VASH-1、NLR 三者联合对 T2DN 具有较高的预测价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

颜建军:设计研究方案,实施研究过程,数据收集、分析,统计学分析,论文撰写、终审;李利萍、胡杨:设计研究方案,论文撰写;程木子、程玲、张文静:实施研究过程,数据收集、分析;张楠、张丽莎:统计学分析

参考文献

[1] 刘东欣,江琴. 2 型糖尿病肾病患者血清 NF- κ B,MDA,FFA,visfatin 水平变化及肾功能状况分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2022,23(9):827-829. DOI:10.3969/j.issn.1009-587X.2022.09.024.

[2] 韩敬,顾津伊,聂君旭,等. 2 型糖尿病肾病患者血清 miR-27b-3p,miR-342-3p 表达特点及临床意义[J]. 天津医药,2022,50(10):1077-1082. DOI:10.11958/20220434.

[3] 李丹丹,陈晓莉,庞畅,等. 老年 2 型糖尿病肾病患者血清 OPN,VEGF,Hcy 与肾功能和认知功能障碍的关系分析[J]. 现代生物

医学进展,2023,23(16):3088-3092. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2023.16.017.

[4] 陈景荷,贾鑫娜. 2 型糖尿病肾病患者血清 NF- κ B 炎症信号通路与肾功能指标的相关性[J]. 医学临床研究,2023,40(12):1875-1877. DOI:10.3969/j.issn.1671-7171.2023.12.015.

[5] 阙秋纯,陆春丽,孙明谨,等. T2DM 患者不同亚型血清胆红素水平与糖尿病肾病的相关性研究[J]. 中国现代医生,2024,62(15):18-23,41. DOI:10.3969/j.issn.1673-9701.2024.15.004.

[6] 王智峰,李秋梅,姜啸,等. 2 型糖尿病合并糖尿病肾病患者血清血管生成抑制蛋白 1 浓度及其与尿白蛋白肌酐比值的相关性分析[J]. 中国综合临床,2022,38(3):268-273. DOI:10.3760/cma.j.cn101721-20210813-000072.

[7] 李雯翀,朱咏瑶,刘炳岗,等. 血清分泌型卷曲相关蛋白 4,血管生成抑制蛋白-1 对早期 2 型糖尿病肾病的诊断价值[J]. 中国医刊,2022,57(10):1124-1127. DOI:10.3969/j.issn.1008-1070.2022.10.022.

[8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2021,13(4):315-409. DOI:10.3760/cma.j.cn115791-20210221-00095

[9] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏病防治指南(2021 年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2021,13(8):762-784. DOI:10.3760/cma.j.cn115791-20210706-00369.

[10] 孙楠,瞿俊文,谢荟,等. 2 型糖尿病肾病患者血清 HIF-1 α ,ChREBP 与糖脂代谢,肾功能的关系及其诊断价值分析[J]. 现代生物医学进展,2024,24(4):641-645. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2024.04.008.

[11] 李鸣,乌仁斯琴,斯琴,等. 2 型糖尿病患者血清 FABP4,FOXO1 水平变化与糖尿病肾病发病风险的关系[J]. 山东医药,2022,62(29):77-79. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2022.29.019.

[12] 严翀,王杨,张令晖. 血清 TG,TPOAb 表达与 2 型糖尿病肾病及远期预后的相关性[J]. 疑难病杂志,2022,21(12):1248-1252,1258. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.12.005.

[13] 姚星辰,翟亚玲,高静歌,等. 微小病变性肾病合并 2 型糖尿病患者的临床病理特点及预后分析[J]. 中国全科医学,2021,24(2):183-189. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2020.00.451.

[14] 王智峰,李秋梅,姜啸,等. 2 型糖尿病合并糖尿病肾病患者血清血管生成抑制蛋白 1 浓度及其与尿白蛋白肌酐比值的相关性分析[J]. 中国综合临床,2022,38(3):268-273. DOI:10.3760/cma.j.cn101721-20210813-000072.

[15] 王勇军,黄干. 2 型糖尿病肾病患者血清白介素-1 受体拮抗剂、白介素-1 β 和超敏 C 反应蛋白的检测研究[J]. 中国现代医学杂志,2008,18(7):972-974,976. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2008.07.040.

[16] 黄新梅,陆敬雁,高红梅,等. 糖尿病肾病患者血清三叶因子 3 与血管生成抑制蛋白 1 的水平变化及临床意义[J/OL]. 中华临床医师杂志:电子版,2021,15(7):509-514. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2021.07.006.

[17] 徐维琳,周树,唐金海,等. 淋巴细胞/单核细胞比值在乳腺癌新辅助化疗疗效评估中的预测价值研究[J]. 中国肿瘤外科杂志,2023,15(1):1-6. DOI:10.3969/j.issn.1674-4136.2023.01.001.

(收稿日期:2024-02-22)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.014

论著·临床

GNRI 和 NLR、FAR 比值对进展期胃癌患者胃癌根治术后预后的评估价值

徐梅, 刘芳, 余前军, 宋辉, 范萍, 许丹



基金项目: 四川省干部保健科研项目(川干研 2021-1301)

作者单位: 610000 成都, 解放军西部战区总医院干部病房二科一病区(徐梅、刘芳、宋辉、范萍、许丹), 普通外科(余前军)

通信作者: 余前军, E-mail: www.418074918@qq.com

【摘要】目的 探讨营养风险指数(GNRI)和中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、循环纤维蛋白原与白蛋白比值(FAR)对进展期胃癌患者胃癌根治术后预后的评估价值。**方法** 回顾性分析2020年1月—2022年1月在解放军西部战区总医院收治的行胃癌根治术的进展期胃癌患者115例的临床资料。收集一般资料,包括性别、年龄、TNM分期、肿瘤直径、肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度以及有无淋巴结转移;检测其术前GNRI、NLR和FAR水平,随访1~3年后,采用Kaplan-Meier绘制生存曲线分析GNRI、NLR和FAR水平与预后的关系,COX风险比例回归分析影响患者预后的因素。**结果** 进展期胃癌患者GNRI水平与性别、年龄、肿瘤直径、TNM分期、肿瘤浸润深度以及是否合并淋巴结转移有关($t/P=54.308/<0.001, 31.021/<0.001, 27.002/<0.001, 17.573/<0.001, 11.376/<0.001, 37.377/<0.001$);NLR与年龄、肿瘤直径、TNM分期、肿瘤浸润深度、淋巴结转移有关($t/P=26.364/<0.001, 16.017/<0.001, 10.702/<0.001, 10.106/<0.001, 8.084/<0.001$);FAR与性别、肿瘤直径、TNM分期、淋巴结转移有关($t/P=4.154/<0.001, 5.091/<0.001, 3.776/<0.001, 5.564/<0.001$);Kaplan-Meier曲线分析结果显示,高GNRI组总生存率和无病生存率高于低GNRI组($P<0.05$),低NLR组和低FAR组生存率和无病生存率分别高于高NLR组和高FAR组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Cox比例风险回归显示,TNM分期为Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移、NLR和FAR高水平为影响进展期胃癌患者无进展生存时间的危险因素[$OR(95\%CI)=1.933(1.227\sim3.046), 2.396(1.293\sim4.443), 2.606(1.381\sim4.919), 2.754(1.494\sim5.076)$],GNRI高水平为影响进展期胃癌患者无进展生存时间的保护因素[$OR(95\%CI)=0.297(0.098\sim0.894)$]。**结论** 进展期胃癌患者术前GNRI低水平、NLR和FAR高水平与患者临床病理特征和预后有关。

【关键词】 进展期胃癌;胃癌根治术;营养风险指数;中性粒细胞与淋巴细胞比值;循环纤维蛋白原与白蛋白比值;预后

【中图分类号】 R735.2

【文献标识码】 A

Evaluation value of GNRI, NLR and FAR for prognosis of patients with advanced gastric cancer after radical gastrectomy Xu Mei*, Liu Fang, Yu Qianjun, Song Hui, Fan Ping, Xu Dan. * Department of Cadre Ward, Western Theater General Hospital of the PLA, Sichuan Province, Chengdu 610000, China

Funding program: Sichuan Provincial Cadre Health Research Project (Chuangang Research 2021-1301)

Corresponding author: Yu Qianjun, E-mail: www.418074918@qq.com

Corresponding author: Yu Qianjun, E-mail: www.418074918@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the evaluation value of geriatric nutritional risk index (GNRI), neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and fibrinogen to albumin ratio (FAR) for prognosis of patients with advanced gastric cancer after radical gastrectomy. **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical data of 115 elderly patients with gastric cancer undergoing radical gastrectomy in Western Theater Command General Hospital of the PLA between January 2020 and January 2022. The general data were analyzed, including age, gender, TNM staging, tumor size, tumor differentiation, depth of tumor invasion and lymph node metastasis. The levels of preoperative GNRI, NLR and FAR were detected. After 1-3 years of follow-up, relationship between GNRI, NLR, FAR and prognosis was analyzed by univariate analysis and Kaplan-Meier survival curves, and influencing factors of prognosis were analyzed by COX proportional hazard regression analysis. **Results** The levels of GNRI, NLR and FAR were correlated with gender, age, tumor diameter, TNM staging and lymph node metastasis (GNRI: $t/P=54.308/<0.001, 31.021/<0.001, 27.002/<0.001, 17.573/<0.001, 11.376/<0.001, 37.377/<0.001$;

NLR: $t/P = 26.364 / < 0.001$, $16.017 / < 0.001$, $10.702 / < 0.001$, $10.106 / < 0.001$, $8.084 / < 0.001$; FAR: $t/P = 4.154 / < 0.001$, $5.091 / < 0.001$, $3.776 / < 0.001$, $5.564 / < 0.001$). The results of Kaplan-Meier curve analysis showed that overall survival rate and progression-free survival rate in high GNRI group were higher than those in low GNRI group. The survival rate and progression-free survival rate in low NLR group and low FAR group were higher than those in high NLR group and high FAR group, respectively ($P < 0.05$). COX proportional hazard regression analysis showed that TNM staging at stage III-IV, lymph node metastasis, high levels of NLR and FAR were risk factor affecting progression-free survival, while high level of GNRI was a protective factor [OR (95% CI) = 1.933 (1.227 - 3.046), 2.396 (1.293 - 4.443), 2.606 (1.381 - 4.919), 2.754 (1.494 - 5.076), 0.297 (0.098 - 0.894)]. **Conclusion** In patients with advanced gastric cancer, level of preoperative GNRI is low, while levels of NLR and FAR are high. The three indexes are related to clinicopathological characteristics and prognosis of patients.

【Key words】 Advanced gastric cancer; Radical gastrectomy; Geriatric nutritional risk index; Neutrophil to lymphocyte ratio; Fibrinogen to albumin ratio; Prognosis

胃癌的病因较为复杂,地域、饮食、癌前病变和遗传等多种因素均可导致胃癌的发生^[1],其早期临床特征为上腹部轻度不适,随着时间推移病症加重,常伴有消瘦、上消化道出血等症状发生,预后较差^[2]。胃癌根治术是临床治疗进展期胃癌的普遍手段,它能够彻底清除原发肿瘤、淋巴结转移和受浸润的组织,使患者的临床症状得以改善^[3-4]。营养风险指数(geriatric nutritional risk index, GNRI)是针对住院老年患者开发的一种简易且客观的营养评估工具,该评分高低与体质量大小和血清白蛋白水平高低有关^[5-6]。中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)可以反映炎症反应,能作为预测恶性肿瘤等疾病临床转归的生物学指标^[7-8]。循环纤维蛋白原与白蛋白比值(fibrinogen to albumin ratio, FAR)可以同时反映机体凝血、炎症反应状况,能够作为判断恶性肿瘤预后的预测指标^[9-11]。本研究通过探讨 GNRI、NLR 和 FAR 对进展期胃癌患者胃癌根治术后预后的评估价值,旨在为临床胃癌根治术患者的手术预后提供一定的数据支撑,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2020 年 1 月—2022 年 1 月在解放军西部战区总医院收治的行胃癌根治术的进展期胃癌患者 115 例的临床资料。本研究经医院伦理委员会批准(2021ky126-7),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 选择标准 纳入标准:(1)患者均符合中华医学会肿瘤学分会和中华医学会杂志社颁布的《中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版)》中的疾病诊断标准^[12];(2)均于本院行胃癌根治术;(3)无急慢性感染病、血液和免疫系统疾病及重要脏器严重障碍等疾病;(4)临床资料完整。排除标准:(1)检查发现存在远处转移;(2)存在其他脏器恶性肿瘤或致死性疾病;(3)行姑息性胃部恶性肿瘤切除术。

1.3 治疗方法 根据患者具体情况和日本胃癌学会《胃癌治疗指南(第 3 版)》^[13]行胃癌根治术——选择全胃切除术、近端胃切除术或远端胃切除术并联合清扫胃周围淋巴结进行治疗。

1.4 检测方法与观察指标

1.4.1 临床资料收集:通过调取电子病历等相关资料采集和记录患者术前基础资料,包括性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤分化程度、TNM 分期、肿瘤浸润深度、肿瘤淋巴结转移等。

1.4.2 GNRI 值计算和 NLR、FAR 水平检测:抽取患者术前 2 份晨起空腹外周静脉血 6 ml,采用全自动血细胞分析装置 XN-1000(希森美康株式会社)测定其中一份中性粒细胞(N)和淋巴细胞(L)水平;另一份于 9 cm 半径,3 000 r/min,离心 10 min,取上清液,采用酶联免疫吸附法(试剂盒购自南京博研生物科技有限公司)检测患者血清白蛋白(Alb)和纤维蛋白原(FG)水平。其中, $BMI(kg/m^2) = 体质量(kg) / 身高(cm)^2$, $GNRI = 1.489 \times Alb(g/L) + 41.7 \times BMI/22$; $NLR = N/L$; $FAR = FG/Alb$ 。

1.4.3 随访:自患者入组之日开始随访,随访方式为经门诊或电话随访,随访截至 2023 年 1 月,所有患者均随访 1~3 年,随访记录患者的生存状态,包括生存、复发或死亡等。统计患者的总生存率、无病生存率、中位生存时间和中位无病生存时间。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计学软件分析数据,满足正态性且 2 组间方差齐的计量资料(GNRI、NLR 和 FAR)均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;采用 Kaplan-Meier 曲线进行生存分析,Log-rank 卡方检验比较患者生存情况;采用 Cox 风险比例回归对影响患者预后的因素进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同临床特征进展期胃癌患者 GNRI、NLR 和

FAR 的水平比较 115 例胃癌患者 GNRI、NLR、FAR 水平分别为 (95.84 ± 1.29) 、 (2.20 ± 0.13) 和 (0.082 ± 0.012) 。胃癌患者 GNRI 在不同性别、年龄、肿瘤直径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移差异有统计学意义 ($P < 0.01$)，NLR 水平在不同年龄、肿瘤直径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；FAR 水平在不同性别、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移差异有统计学意义 ($P < 0.01$)，见表 1。

2.2 GNRI 水平与进展期胃癌患者预后分析 采用中位数法，将患者分为 GNRI 高水平组 (57 例) 和 GNRI 低水平组 (58 例)。GNRI 高水平的胃癌患者死亡 31 例，总生存率为 30.19%，中位生存期为 26 个月，显著高于 GNRI 低水平患者的 18.97%，中位生存期为 15 个月，差异具有统计学意义 ($\text{Log-rank } \chi^2 = 4.158, P = 0.041$)。GNRI 高水平患者无病生存率为 28.07%，中位生存期为 18 个月，显著高于 GNRI 低水平患者 10.34%，中位生存期为 15 个月，差异具有统计学意义 ($\text{Log-rank } \chi^2 = 4.411, P = 0.036$)，见图 1。

2.3 NLR 水平与进展期胃癌患者预后分析 采用中位数法，将患者分为 NLR 低水平组 (57 例) 和 NLR 高水平组 (58 例)。NLR 低水平的胃癌患者死亡 31 例，总生存率为 32.94%，中位生存期为 26 个月，显著高于 NLR 高水平患者的 17.24%，中位生存期为 15 个月，差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 5.952, P = 0.015$)。NLR 低水平患者无病生存率为 28.03%，中位生存期为 18 个月，显著高于 NLR 高水平患者 8.50%，中位生存期为 15 个月，差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 4.039, P = 0.045$)，见图 2。

2.4 FAR 水平与进展期胃癌患者预后分析 采用中

位数法，将患者分为 FAR 低水平组 (57 例) 和 FAR 高水平组 (58 例)。FAR 低水平的胃癌患者死亡 31 例，总生存率为 28.03%，中位生存期为 26 个月，显著高于 FAR 高水平患者的 19.49%，中位生存期为 15 个月，差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 4.169, P = 0.041$)。FAR 低水平患者无病生存率为 28.08%，中位生存期为 17 个月，显著高于 FAR 高水平患者 9.62%，中位生存期为 15 个月，差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 4.099, P = 0.043$)，见图 3。

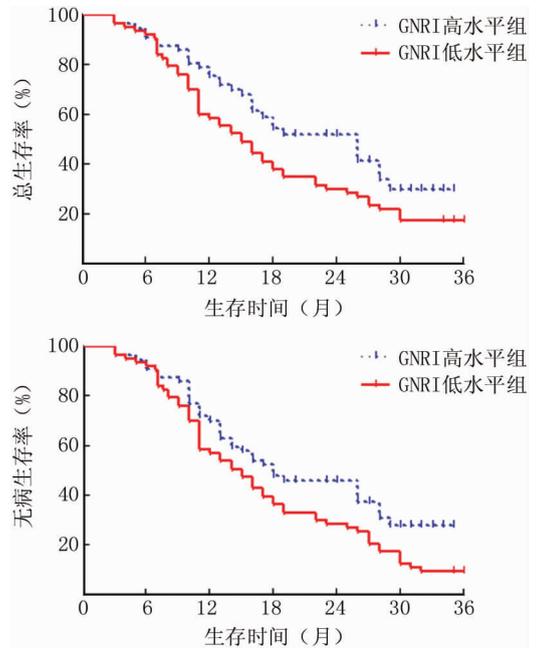


图 1 GNRI 水平与进展期胃癌患者预后分析

Fig. 1 GNRI levels and prognosis analysis of patients with advanced gastric cancer

表 1 不同临床特征进展期胃癌患者 GNRI、NLR 和 FAR 的水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of GNRI, NLR and FAR levels of advanced gastric cancer patients with different clinical characteristics

项目	例数	GNRI	t/P 值	NLR	t/P 值	FAR	t/P 值
性别	男	91	99.06 ± 1.21	54.308/ <0.001	2.19 ± 0.11	0.084 ± 0.009	4.154/ <0.001
	女	24	83.61 ± 1.35		2.23 ± 0.14		
年龄(岁)	≤65	56	99.71 ± 1.34	31.021/ <0.001	1.87 ± 0.14	0.081 ± 0.011	0.930/0.354
	>65	59	92.16 ± 1.27		2.51 ± 0.12		
肿瘤直径(cm)	≤3	53	99.58 ± 1.39	27.002/ <0.001	1.93 ± 0.15	0.076 ± 0.011	5.091/ <0.001
	>3	62	92.64 ± 1.36		2.43 ± 0.18		
肿瘤分化程度	高中分化	64	95.86 ± 1.09	0.233/0.816	2.22 ± 0.23	0.081 ± 0.006	1.649/0.102
	低分化	51	95.81 ± 1.21		2.17 ± 0.25		
TNM 分期	I ~ II 期	58	98.29 ± 1.53	17.573/ <0.001	2.02 ± 0.19	0.079 ± 0.009	3.776/ <0.001
	III ~ IV 期	57	93.34 ± 1.49		2.38 ± 0.17		
肿瘤浸润深度	T1 ~ T2	41	98.39 ± 1.76	11.376/ <0.001	2.01 ± 0.16	0.081 ± 0.005	1.813/0.073
	T3 ~ T4	74	94.42 ± 1.81		2.30 ± 0.14		
淋巴结转移	是	80	91.06 ± 2.05	37.377/ <0.001	2.32 ± 0.25	0.084 ± 0.005	5.564/ <0.001
	否	35	106.75 ± 2.12		1.92 ± 0.23		

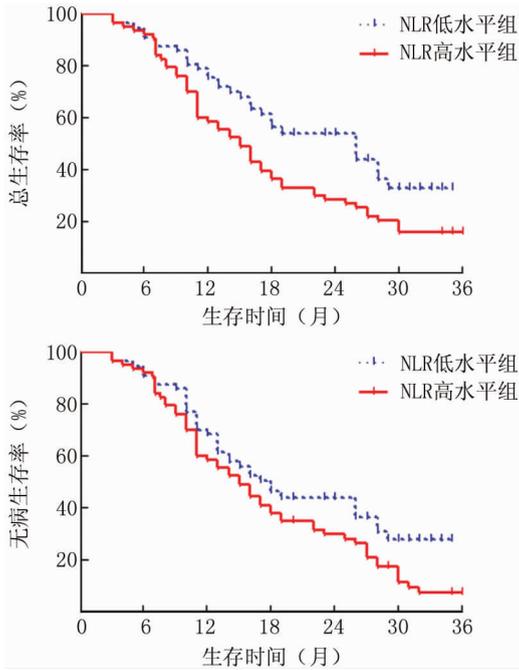


图 2 NLR 水平与进展期胃癌患者预后分析

Fig. 2 Analysis of NLR levels and prognosis in patients with advanced gastric cancer

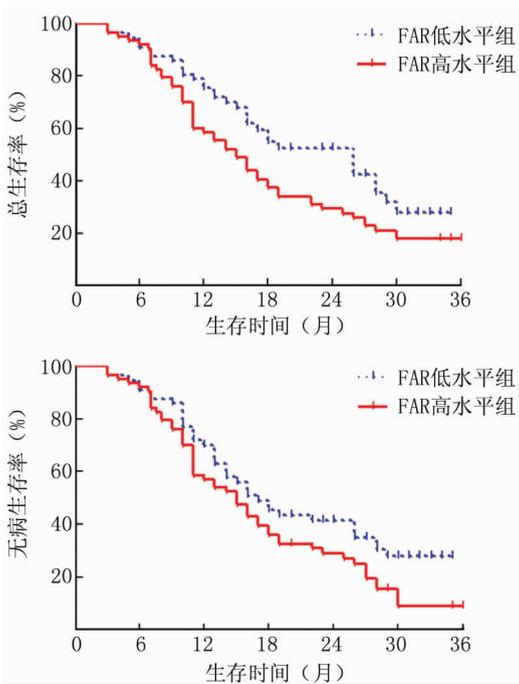


图 3 FAR 水平与进展期胃癌患者预后分析

Fig. 3 Analysis of FAR levels and prognosis in patients with advanced gastric cancer

2.5 相关指标对进展期胃癌患者预后情况的 Cox 风险回归分析 对影响无进展生存时间的因素进行变量赋值,性别(女=1,男=0)、年龄(>65岁=1,≤65岁=

0)、肿瘤直径(>3cm=1,≤3cm=0)、TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ期=1,Ⅰ~Ⅱ期=0)、肿瘤浸润深度(T3~T4=1,T1~T2=0)、淋巴结转移(有淋巴结转移=1,无淋巴结转移=0)。Cox 比例风险回归显示:TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移、NLR 和 FAR 高水平是影响进展期胃癌患者无进展生存时间的危险因素($P < 0.01$),GNRI 高水平为影响进展期胃癌患者无进展生存时间的保护因素($P < 0.05$),见表 2。

表 2 Cox 比例风险模型多因素分析影响进展期胃癌患者预后的因素

Tab. 2 Cox proportional hazards model multivariate analysis of factors affecting prognosis in patients with advanced gastric cancer

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
性别(女)	0.902	0.617	2.137	0.145	2.465	0.735 ~ 8.259
年龄(>65岁)	0.891	0.532	2.805	0.095	2.438	0.859 ~ 6.915
肿瘤直径(>3cm)	0.726	0.549	1.749	0.187	2.067	0.705 ~ 6.062
TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ)	0.659	0.232	8.069	0.005	1.933	1.227 ~ 3.046
肿瘤浸润深度T3~T4	0.723	0.368	3.860	0.050	2.061	1.002 ~ 4.239
有淋巴结转移	0.874	0.315	7.698	0.006	2.396	1.293 ~ 4.443
NLR 高	0.958	0.324	8.743	0.003	2.606	1.381 ~ 4.919
FAR 高	1.013	0.312	10.542	0.001	2.754	1.494 ~ 5.076
GNRI 高	-1.215	0.563	4.657	0.031	0.297	0.098 ~ 0.894

3 讨论

胃癌为我国发病率第二、死亡率第三的癌症,全球每年约 41% 的新增病例发生于中国^[14-15]。胃癌根治术能够延长患者生存时间,改善其生存质量,但创伤大、手术时间较长^[16]。GNRI 能够根据恶性肿瘤和心血管疾病患者血生化指标和 BMI 值客观衡量其营养状况,是一个简单的无需营养专家或患者合作的客观工具^[17-18]。NLR 已被证明是口腔癌、胃癌、结肠癌等多种癌症中潜在的生物标志物,直接反映了宿主全身的炎症反应,与恶性肿瘤患者生存率密切相关,且易在外周血中检出^[19-20]。炎症反应、营养状态和凝血功能异常影响着恶性肿瘤的发生发展,因此 FAR 可作为判断多种癌症预后的预测指标^[21-22]。

本研究结果显示,胃癌患者 GNRI 在不同性别、年龄、肿瘤直径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移方面有差异,NLR 水平在不同年龄、肿瘤直径、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移方面有差异,FAR 水平在不同性别、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移方面有差异。Kushiya 等^[23]研究表明,GNRI 与老年胃癌患者术后并发症的发生有关;Hirahara 等^[24]回顾性分析 297 例老年全腹腔镜胃癌根治术患者,其单因素结果显示,患

者总生存期和 GNRI 显著相关。本研究结果与之相符,提示 GNRI 参与了胃癌的发展过程,且年龄越大,受影响程度越大。本研究中,高 GNRI 组生存率和无病生存率高于低 GNRI 组($P < 0.05$)。提示 GNRI 水平上调,能够在一定程度上延缓胃癌恶性生物学行为,这可能是由于 GNRI 越高,患者营养越充分,自身抵抗力增强,抗癌能力增强。

本研究结果显示,NLR 水平与患者年龄、肿瘤直径、浸润深度、TNM 分期以及是否合并淋巴结转移相关。Miyamoto 等^[25]研究结果显示,术前 NLR 是影响胃癌患者预后的重要因素。多项研究已证实 NLR 与多种肿瘤不良临床结果显著相关^[26]。本研究结果与之相符,提示 NLR 参与了胃癌的恶性发展。本研究中,低 NLR 组 3 年生存率和无病生存率分别高于高 NLR 组($P < 0.05$)。提示 NLR 水平上调会促进肿瘤低分化,加重胃癌细胞的侵袭和迁移,推动其恶性发展。

本研究结果显示,FAR 水平与患者性别、肿瘤直径、TNM 分期以及是否合并淋巴结转移相关。研究表明,患者术前纤维蛋白原的水平是癌症预后的独立危险因素,与健康对照组比较,患者术前白蛋白和前白蛋白水平显著降低^[27]。本研究结果与之相符,提示 FAR 参与了胃癌的恶性发展。本研究中,低 FAR 组 3 年生存率和无病生存率分别高于高 FAR 组($P < 0.05$)。提示 FAR 水平上调可能通过某种机制调控胃癌的恶性发展,这可能是由于 FAR 综合反映了患者的炎症反应状态,前白蛋白和白蛋白半衰期较短,可用于评估机体的营养状态,纤维蛋白原(凝血因子 I)由肝脏产生,当机体患癌时,会产生大量促凝物质,加上肿瘤细胞产生的大量血管内皮损伤因子,进一步激发机体凝血活性,引起纤维蛋白原升高^[28]。

本研究结果显示,Cox 比例风险回归显示,TNM 分期为 I ~ II 期、无淋巴结转移、NLR 和 FAR 低水平、GNRI 高水平为影响进展期胃癌患者无进展生存时间的保护因素。提示 GNRI 低水平,NLR 和 FAR 高水平,TNM 分期为 III ~ IV 期、合并淋巴结转移会降低胃癌根治术患者 3 年无病生存率。

综上所述,进展期胃癌患者 GNRI 低水平,NLR 和 FAR 高水平,且 TNM 分期为 III ~ IV 期、有淋巴结转移为影响进展期胃癌患者无进展生存时间的危险因素。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

徐梅、刘芳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;余前军、许丹:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;宋辉:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;范萍:进行统计学分析

参考文献

- [1] Yeoh KG, Tan P. Mapping the genomic diaspora of gastric cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2022, 22(2): 71-84. DOI: 10.1038/s41568-021-00412-7.
- [2] Khanipouyani F, Akrami H, Fattahi MR. Circular RNAs as important players in human gastric cancer [J]. *Clinical and Translational Oncology*, 2021, 23(1): 10-21. DOI: 10.1007/s12094-020-02419-2.
- [3] Deng C, Zhang Z, Qi H, et al. Safety and efficacy of indocyanine green near-infrared fluorescent imaging-guided lymph nodes dissection during radical gastrectomy for gastric cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12(8): 917541. DOI: 10.3389/fonc.2022.917541.
- [4] Zhao J, Li K, Wang Z, et al. Efficacy and safety of indocyanine green tracer-guided lymph node dissection in minimally invasive radical gastrectomy for gastric cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12(8): 884011. DOI: 10.3389/fonc.2022.884011.
- [5] 马亚辉, 苗祥, 朱洪波, 等. 辅助化疗前基于老年营养风险指数预测老年胃癌患者预后的研究 [J]. *中国肿瘤临床*, 2023, 50(6): 319-324. DOI: 10.12354/j.issn.1000-8179.2023.20221023.
- [6] 张世瑶, 陈培培, 李莉, 等. 老年营养风险指数联合血浆纤维蛋白原与白蛋白比值对放化疗老年直肠癌患者的预后价值 [J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(2): 6-12. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.02.002.
- [7] 赵玲玲, 姚勇利, 林丽君, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值联合尿白蛋白与肌酐比值诊断糖尿病肾病的临床价值 [J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(11): 92-96. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.11.016.
- [8] 刘璐, 王希, 张维慧. 中性粒细胞与淋巴细胞比值在肺结核与细菌性社区获得性肺炎鉴别诊断中临床价值 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(3): 545-547. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2023.03.010.
- [9] 黄琴, 高艳蓉, 吕艳茹, 等. 系统免疫炎症指数、纤维蛋白原与白蛋白比值对晚期肺癌一线化疗患者预后的影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2023, 40(8): 1321-1328. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.08.009.
- [10] 张津瑜, 蔡炜龙, 郭仲鑫, 等. 纤维蛋白原与白蛋白比值联合 CA19-9 预测胃癌根治术患者预后的价值研究 [J]. *浙江医学*, 2023, 45(10): 1019-1023. DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2023.45.10.2022-1915.
- [11] 王承霞, 侯宁, 杨翔村, 等. 术前纤维蛋白原与淋巴细胞比值在胃癌神经侵犯预测价值研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2023, 38(2): 160-165. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.02.030.
- [12] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版) [J]. *中华医学杂志*, 2022, 102(16): 1169-1189. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220127-00197.
- [13] 胡祥. 日本《胃癌治疗指南》(第 3 版)解读 [J]. *中国实用外科学杂志*, 2010, 30(1): 25-30.
- [14] Thrift AP, El-Serag HB. Burden of gastric cancer [J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 18(3): 534-542. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.045.
- [15] 袁木发, 刘欣, 费素娟. 术后纤维蛋白原与白蛋白比值作为胃癌患者诊断指标的临床价值 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*,

2021, 30(6):622-627.

[16] Wang S, Xu L, Wang Q, et al. Postoperative complications and prognosis after radical gastrectomy for gastric cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *World Journal of Surgical Oncology*, 2019, 17(1):1-10. DOI:10.1186/s12957-019-1593-9.

[17] 贺晨露, 沈子园, 王颖, 等. 老年营养风险指数对老年弥漫性大 B 细胞淋巴瘤患者的预后影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(3):472-477. DOI:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.02.030.

[18] 姜道瑶, 赵旭东, 鲍磊, 等. 老年营养风险指数对急性缺血性脑卒中患者预后的预测价值[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2023, 25(1):35-38. DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2023.01.010.

[19] 陆通, 房钰, 刘浩楠, 等. 基于术前 PIV、NLR 和 CEA 水平对胃癌根治术后预后列线图预测模型的构建及评价[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(10):1869-1875. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2023.10.018.

[20] 陈挺, 闵琦, 张永杰. 血清胆碱酯酶水平和中性粒细胞/淋巴细胞比值与接受一线化疗晚期胃癌患者预后的相关性分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2022, 27(1):32-39. DOI:10.3969/j.issn.1009-0460.2022.01.006.

[21] Ding Y, Xue L. The potential value of fibrinogen to albumin ratio (FAR) in the assessment of inflammation in spondyloarthritis[J]. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2022, 23(1):1-9. DOI:10.1186/s12891-022-05797-6.

[22] 张雪, 张革红. 白蛋白、前白蛋白与纤维蛋白原的比值在肿瘤中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(20):3880-3884. DOI:

10.3969/j.issn.1672-4992.2023.20.032.

[23] Kushiya S, Sakurai K, Kubo N, et al. The preoperative geriatric nutritional risk index predicts postoperative complications in elderly patients with gastric cancer undergoing gastrectomy [J]. *In Vivo*, 2018, 32(6):1667-1672. DOI:10.21873/invivo.11430.

[24] Hirahara N, Matsubara T, Fujii Y, et al. Preoperative geriatric nutritional risk index is a useful prognostic indicator in elderly patients with gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2020, 11(24):2345. DOI:10.18632/oncotarget.27635.

[25] Miyamoto R, Inagawa S, Sano N, et al. The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) predicts short-term and long-term outcomes in gastric cancer patients [J]. *European Journal of Surgical Oncology*, 2018, 44(5):607-612. DOI:10.1016/j.ejso.2018.02.003.

[26] Campello E, Ilich A, Simioni P, et al. The relationship between pancreatic cancer and hypercoagulability: A comprehensive review on epidemiological and biological issues [J]. *British Journal of Cancer*, 2019, 121(5):359-371. DOI:10.1038/s41416-019-0510-x.

[27] 罗梦, 马小兰, 杨海鹏, 等. 术前白蛋白与纤维蛋白原比值对可根治性切除术后胃印戒细胞癌预后的预测价值[J]. *宁夏医学杂志*, 2023, 45(7):596-599. DOI:10.13621/j.1001-5949.2023.07.0596.

[28] 强金虎. 血浆前清蛋白、纤维蛋白原和铁蛋白在老年胃癌实验诊断中的价值分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(24):3045-3048, 3053. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.025.

(收稿日期:2024-01-19)

(上接 1089 页)

[13] 王志远, 赵喆, 李树军, 等. 2023 版“儿童急性呼吸窘迫综合征诊断及治疗指南(第 2 版)”解读[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2023, 38(10):749-754. DOI:10.3760/cma.j.cn101070-20230807-00075.

[14] 方伯梁, 樊超男, 钱素云. 儿童急性呼吸窘迫综合征机械通气策略研究现状[J]. *精准医学杂志*, 2023, 38(1):5-8, 13. DOI:10.13362/j.jpmed.202301002.

[15] Long ME, Mallampalli RK, Horowitz JC. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2022, 136(10):747-769. DOI:10.1042/CS20210879.

[16] Hirschi-Budge KM, Tsai KYF, Curtis KL, et al. RAGE signaling during tobacco smoke-induced lung inflammation and potential therapeutic utility of SAGEs [J]. *BMC Pulm Med*, 2022, 22(1):160. DOI:10.1186/s12890-022-01935-x.

[17] Gao J, Zhang Z, Yan JY, et al. Inflammation and coagulation abnormalities via the activation of the HMGB1-RAGE/NF- κ B and F2/Rho pathways in lung injury induced by acute hypoxia [J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52(2):67. DOI:10.3892/ijmm.2023.5270.

[18] He F, Gu L, Cai N, et al. The HMGB1-RAGE axis induces apoptosis in acute respiratory distress syndrome through PERK/eIF2 α /ATF4-mediated endoplasmic reticulum stress [J]. *Inflamm Res*, 2022, 71(10-11):1245-1260. DOI:10.1007/s00011-022-01613-y.

[19] 张新, 李忠, 韩海燕, 等. 血清 RAGE、CXCL16 在脓毒症并发急性呼吸窘迫综合征患者中的表达及预后价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2024, 45(4):420-425. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.007.

[20] 秘乐, 范绍辉, 徐宇, 等. HMGB1-TLR4/RAGE 信号通路在 ALL/

ARDS 中的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2021, 41(9):703-708. DOI:10.3760/cma.j.cn131368-20200420-00316.

[21] Twarda-Clapa A, Olezak A, Biaikowska AM, et al. Advanced glycation end-products (AGEs): Formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs [J]. *Cells*, 2022, 11(8):1312. DOI:10.3390/cells11081312.

[22] 刘畅, 张虹, 程鹏雁, 等. 前 B 细胞克隆增强因子对急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织细胞黏附分子的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2013, 25(3):159-163. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.03.010.

[23] Zhu Q, Zhang W, Mu D, et al. Effects of genistein on lipopolysaccharide-induced injury of mouse alveolar epithelial cells and its mechanism [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2020, 84(3):544-551. DOI:10.1080/09168451.2019.1697197.

[24] Ming GF, Ma XH, Xu DM, et al. PBEF promotes the apoptosis of pulmonary microvascular endothelial cells and regulates the expression of inflammatory factors and AQP1 through the MAPK pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(3):890-896. DOI:10.3892/ijmm.2015.2283.

[25] 王熙宇, 田时静. 前 B 细胞克隆增强因子在急性呼吸窘迫综合征中作用的研究进展 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(10):1369-1372. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.10.020.

[26] 莫继朋, 贾中芝, 汤艳, 等. 基于人工神经网络建立社区获得性肺炎并发急性呼吸窘迫综合征的预测模型 [J]. *中华危重病急救医学*, 2022, 34(4):367-372. DOI:10.3760/cma.j.cn121430-20210927-01406.

(收稿日期:2024-06-04)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.015

论著·临床

结直肠癌中 TUBB3、CCT8 表达与上皮间质转化及预后的关系

马云云,徐斌,沙巴义丁·吐尔逊,王东宏,刘洁



基金项目:新疆少数民族科技人才特殊培养计划科研项目(2021D03016)

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆医科大学附属中医医院肛肠科

通信作者:徐斌,E-mail:871704368@qq.com

【摘要】目的 探讨 3 型 β 微管蛋白(TUBB3)、含 TCP-1 的伴侣蛋白 8(CCT8)在结直肠癌(CRC)组织中的表达及与上皮间质转化(EMT)和预后的相关性。方法 回顾性选取 2018 年 1 月—2020 年 1 月新疆医科大学附属中医医院肛肠科诊治 CRC 患者 112 例。采用实时荧光定量 PCR 检测癌组织和癌旁组织 TUBB3、CCT8 mRNA 及 EMT 相关指标 N-钙黏素(N-cad)、E-钙黏素(E-cad)、转录因子 TWIST mRNA 的表达;免疫组织化学法检测 TUBB3、CCT8 蛋白水平;比较不同临床病理特征 CRC 中 TUBB3、CCT8 蛋白差异;Kaplan-Meier 曲线及 Cox 回归分析 TUBB3、CCT8 蛋白对 CRC 患者预后的影响。结果 CRC 癌组织 TUBB3、CCT8、N-cad、TWIST mRNA 表达高于癌旁组织,而 E-cad mRNA 低于癌旁组织($t=35.030, 38.353, 32.172, 32.405, 18.928, P$ 均 <0.001);CRC 癌组织中 TUBB3、CCT8 蛋白阳性率为 91.07% (102/112)、94.64% (106/112),高于癌旁组织 7.14% (8/112)、6.25% (7/112) ($\chi^2=157.836, 175.032, P$ 均 <0.001);CRC 中 TUBB3 mRNA 与 CCT8 mRNA 表达呈正相关($r=0.647, P<0.001$),CRC 中 TUBB3、CCT8 mRNA 表达与 N-cad、TWIST mRNA 表达呈正相关($r=0.667, 0.621, 0.703, 0.686, P$ 均 <0.001),与 E-cad mRNA 表达呈负相关($r=-0.641, -0.587, P$ 均 <0.001);低分化、TNM 分期 III 期、淋巴结转移的 CRC 中 TUBB3、CCT8 mRNA 表达高于高中分化、I~II 期、无淋巴结转移($t=20.327, 20.455, 21.101, 15.121, 14.985, 15.759, P$ 均 <0.001);CRC 患者 3 年 OS TUBB3 mRNA 高表达组为 43.33% (26/60),低于低表达组的 70.97% (44/62) (Log-rank $\chi^2=8.792, P=0.003$), CCT8 mRNA 高表达组患者 3 年 OS 为 42.86% (27/63),低于低表达组的 72.88% (43/59) (Log-rank $\chi^2=10.970, P<0.001$);TUBB3、CCT8 mRNA 升高及 TNM 分期 III 期、有淋巴结转移、低分化是 CRC 预后的独立危险因素[$HR(95\% CI)=1.334(1.103 \sim 1.613), 1.322(1.108 \sim 1.577), 1.435(1.161 \sim 1.773), 1.368(1.115 \sim 1.677), 1.315(1.054 \sim 1.641)$]。结论 CRC 中 TUBB3、CCT8 表达上调,两者可通过促进 EMT,促进 CRC 的恶性进展,是新的 CRC 预后评估标志物。

【关键词】 结直肠癌;3 型 β 微管蛋白;含 TCP-1 的伴侣蛋白 8;上皮间质转化;预后**【中图分类号】** R735.3⁺4 **【文献标识码】** A

The relationship between the expression of TUBB3, CCT8 and epithelial mesenchymal transition and prognosis in colorectal cancer

Ma Yunyun, Xu Bin, Sabayddin · Turson, Wang Donghong, Liu Jie. Department of Proctology, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang, Urumqi 830000, China

Funding program: Xinjiang Minority Science and Technology Talent Special Training Program Research Project (2021D03016)

Corresponding author: Xu Bin, E-mail: 871704368@qq.com

【Abstract】 Objective To explore type 3 β tubulin (TUBB3) and chaperone 8 containing TCP 1 (CCT8) in colorectal cancer (CRC) and their correlation with epithelial mesenchymal transition (EMT) and prognostic significance. **Methods** From January 2018 to January 2020, 112 patients with CRC were treated in the Department of Colorectal Surgery at the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Medical University were selected. Real time fluorescent quantitative PCR was used to detect TUBB3, CCT8 mRNA and EMT related indicators N cadherin (E cad), E cadherin (n cad), transcription factor twist mRNA expression. The expressions of TUBB3 and CCT8 proteins were detected by immunohistochemistry. The protein expressions of TUBB3 and CCT8 in CRC with different clinicopathological features were compared. Kaplan Meier curve and Cox regression analysis were used to analyze the effect of TUBB3 and CCT8 protein on the prognosis of CRC patients. **Results** The expressions of TUBB3 mRNA, CCT8 mRNA, N cad mRNA and TWIST mRNA in CRC tissues were

higher than those in adjacent tissues, while E cad mRNA was lower than that in adjacent tissues ($t/P=35.030, 38.353, 32.172, 32.405, 18.928, \text{all } P<0.001$). The positive rates of TUBB3 and CCT8 proteins in CRC tissues were 91.07% (102/112), 94.64% (106/112), which were higher than those in adjacent tissues [7.14% (8/112), 6.25% (7/112)], and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 157.836, 175.032, P<0.001$). There was a positive correlation between tubb3 mRNA and cct8 mRNA expression in CRC ($r=0.647, P<0.001$). The expression of TUBB3 mRNA and CCT8 mRNA in CRC was positively correlated with the expression of N-cad mRNA and TWIST mRNA ($r=0.667, 0.621, 0.703, 0.686, P<0.001$), and negatively correlated with the expression of E cad mRNA ($r=-0.641, -0.587, P<0.001$). The expressions of TUBB3 mRNA and CCT8 mRNA in CRC with TNM stage III, low differentiation and lymph node metastasis were significantly higher than those in CRC with stage I ~ II, high differentiation and no lymph node metastasis ($t/P=20.327, 20.455, 21.101, 15.121, 14.985, 15.759, \text{all } P<0.001$). The 3 year OS of CRC patients was 43.33% (26/60) in the TUBB3 mRNA high expression group, which was lower than 70.97% (44/62) in the low expression group (Log rank $\chi^2 = 8.792, P=0.003$), while the 3 year OS of CCT8 mRNA high expression group was 42.86% (27/63), which was lower than 72.88% (43/59) in the low expression group (Log rank $\chi^2 = 10.970, P<0.001$). TUBB3 mRNA increased, CCT8 mRNA increased, TNM stage III, poor differentiation and lymph node metastasis were independent risk factors for prognosis of CRC [$HR(95\% CI) = 1.334 (1.103 - 1.613), 1.322(1.108 - 1.577), 1.435 (1.161 - 1.773), 1.368 (1.115 - 1.677), 1.315 (1.054 - 1.641)$]. **Conclusion** TUBB3 and CCT8 are up-regulated in CRC, which can promote the malignant progression of CRC by promoting EMT, and are new markers for the prognosis of CRC.

【Key words】 Colorectal cancer; Type 3 β Tubulin; Chaperone 8 containing TCP-1; Epithelial mesenchymal transition; Prognosis

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全球常见的恶性肿瘤, 2020 年全球新发 180 万例, 死亡 90 万例^[1]。近年来新的手术方案及放化疗等的发展改善 CRC 患者的临床治疗效果, 但患者术后复发和转移的风险仍然较高, 远期预后较差^[2]。3 型 β 微管蛋白 (tubulin beta 3 class III, TUBB3) 属于 β -微管蛋白家族 III 类成员, 与 α 或 β 形成异源二聚体并组装形成微管, 参与神经发生和轴突的引导和维持^[3]。研究表明, 膀胱癌^[4]、前列腺癌^[5]等肿瘤中 TUBB3 的表达上调能够激活丝裂原活化的蛋白激酶途径, 促进肿瘤增殖、侵袭及化疗耐药性形成。含 TCP-1 的伴侣蛋白 8 (chaperonin containing TCP1 subunit 8, CCT8) 是 CCT 伴侣蛋白的 θ 亚基, 广泛表达于真核细胞中, 参与新合成蛋白质的转运和组装^[6]。研究表明, 肺癌中 CCT8 的过度表达与 AKT 相互作用并激活 AKT, 促进了癌细胞迁移和肿瘤转移^[7]。上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是 CRC 肿瘤细胞获得侵袭和转移潜能的重要机制^[8]。但目前 CRC 中 TUBB3、CCT8 表达及两者与 EMT 的关系尚不清楚。本研究旨在分析 CRC 中 TUBB3、CCT8 表达, 探讨两者与 EMT 的关系及临床意义, 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—2020 年 1 月新疆医科大学附属中医医院肛肠科诊治 CRC 患者 112 例, 男 70 例, 女 42 例; 年龄 24 ~ 80 (63.28 \pm 8.51) 岁; 均无 CRC 家族史, 无明显诱因; 高血压史 30 例, 糖尿病史 14 例; 病理类型: 腺癌 66 例, 黏液腺癌及其他

46 例; 肿瘤位置: 结肠 50 例, 直肠 62 例; 肿瘤分化程度: 高中分化 71 例, 低分化 41 例; TNM 分期: I + II 期 74 例, III 期 38 例; 有淋巴结转移 38 例, 无淋巴结转移 74 例。本研究已获得医院伦理委员会审核批准 (2023 伦审 132 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均接受 CRC 根治术, 术后病理确诊为 CRC; ②首次诊治, 患者入院前未接受任何肿瘤相关治疗; ③临床病理特征资料完整。(2) 排除标准: ①合并血液系统疾病、消化系统疾病及免疫系统缺陷类疾病; ②合并其他器官原发恶性肿瘤; ③单一肿瘤、多发肿瘤或者转移类型判断暂不明确者; ④失访患者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR 检测 TUBB3、CCT8 mRNA 及 EMT 相关指标 mRNA 表达: 将手术切除的癌组织及癌旁组织 (距癌灶 ≥ 5 cm) 从液氮中取出, 称取 50 mg, 加入 RIPA 裂解液 500 μ l 中剪碎, 组织匀浆器匀浆, 4 $^{\circ}$ C 离心留取上清, 采用 Trizol 法提取组织 RNA。微量分光光度计 (美国赛默飞公司, 型号 Narodrop2000) 测定 RNA 浓度及纯度, OD260/OD280 = 1.8 ~ 2.1。提取得到的 RNA 进行逆转录获得 cDNA, 并行实时荧光定量 PCR 反应 (仪器购自美国 ABI 公司, 型号 ABI7500)。引物由 Primer 3.0 软件设计并由华大公司合成, 序列见表 1。总体系体积共 10 μ l: cDNA 1 μ l, 纯水 3.2 μ l, SYBR qPCR Master Mix 5 μ l, 上游引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ l, 下游引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ l。上机反应按照 SYBR Premix Ex Taq TMI 试剂盒说明

(日本 TAKARA 公司,货号 RR820B)进行上机参数确定。PCR 程序为:95℃ 5 min;95℃ 30 s,60℃ 34 s,72℃ 34 s,40 个循环。以 GAPDH 为内参,2^{-ΔΔCt}法计算目的基因 TUBB3、CCT8 及 EMT 相关指标 E-钙黏素(E-cadherin,E-cad)、N-钙黏素(N-cadherin,N-cad)、转录因子 TWIST mRNA 相对表达量。

表 1 TUBB3、CCT8 及 EMT 相关指标、转录因子 TWIST 引物序列

Tab.1 TUBB3, CCT8, EMT related indicators, transcription factor TWIST primer sequences

基因	上游引物	下游引物
TUBB3 mRNA	5'-GGCCAAGGGTCACT-ACACG-3'	5'-GCAGTCGCAGTTTTG-ACACTC-3'
CCT8 mRNA	5'-AGGAGGGAGCGAAA-CACTTTT-3'	5'-GTTGCTGCATCGTTG-TCACA-3'
E-cad mRNA	5'-AGTTGGAGATGGCA-CAAAC-3'	5'-TGGAGGTACGAAGT-AGAGATGAG-3'
N-cad mRNA	5'-TTTTCTGATTCG-GCCATT-3'	5'-AACCATGCCATGCA-ATACTGA-3'
TWIST mRNA	5'-CCTTCGTGGTTCTGC-TGAC-3'	5'-GGCCCCAGAGATTG-GATGG-3'
GAPDH mRNA	5'-GGGTTAGCAATATC-TGGGAAGC-3'	5'-CCAAAGGGGCAAG-CAAAGAGA-3'

1.3.2 免疫组化检测 TUBB3 蛋白、CCT8 蛋白:留取癌组织和癌旁组织(距肿瘤边缘 >5 cm),4% 中性福尔马林固定 12 h,常规石蜡包埋,切片层厚 3 μm,按照常规免疫组织化学步骤(两步法免疫组化染色试剂盒购自北京中杉金桥生物科技公司,货号 PV9000),包括烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化、高压法抗原热修复、过氧化氢去除内源性过氧化物酶,TUBB3、CCT8 一抗稀释液(1:200,TUBB3 多克隆抗体购自武汉华美生物公司,货号 CSB-PA03874D0Rb,CCT8 单克隆抗体购自美国 Biotech 公司,货号 RD83086A),4℃ 过夜,二抗 37℃ 孵育 2 h,DAB 显色,苏木素复染,脱水透明后树脂封片。采用日本奥林巴斯公司 DX31 显微镜观察染色情况,利用 Image J 软件 IHC Profiler 插件对所有样本的染色情况进行自动化评分,将阳性细胞的平均灰度值(染色强度)和阳性面积百分比(染色面积)共同作为测量指标^[9],分为强阳性(灰度值 181~236),中阳性(灰度值 121~180),弱阳性(灰度值 61~120)和阴性(灰度值 0~60)。将强阳、中阳和弱阳性者计为阳性,阴性者计为阴性。

1.3.3 随访:所有 CRC 患者出院后进行门诊随访,每 3~6 个月 1 次,随访截止日期为 2023 年 2 月。记录门诊检查资料:血清标志物、B 型超声及 CT 等检查,评

估 CRC 肿瘤复发进展和患者的生存情况。随访终点为随访时间结束或患者死亡。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 25.0 软件分析统计数据。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;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;Pearson 相关分析各指标间的相关性;Kaplan-Meier 生存曲线分析 TUBB3、CCT8 mRNA 表达对 CRC 生存的影响;Cox 回归分析 CRC 预后影响因素。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CRC 癌组织和癌旁组织中 TUBB3、CCT8 mRNA 及 EMT 相关指标表达比较 CRC 癌组织 TUBB3、CCT8、N-cad、TWIST mRNA 表达高于癌旁组织,而 E-cad mRNA 低于癌旁组织,差异均有统计学意义(*P* < 0.01),见表 2。

表 2 CRC 癌组织和癌旁组织中 TUBB3、CCT8 mRNA 及 EMT 相关指标表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of TUBB3, CCT8 mRNA and EMT related markers expression in CRC cancer tissue and adjacent tissues

项 目	癌旁组织(<i>n</i> = 112)	癌组织(<i>n</i> = 112)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
TUBB3 mRNA	1.02 ± 0.24	2.65 ± 0.43	35.030	<0.001
CCT8 mRNA	0.91 ± 0.22	2.47 ± 0.37	38.353	<0.001
E-cad mRNA	2.04 ± 0.39	1.16 ± 0.30	18.928	<0.001
N-cad mRNA	0.80 ± 0.18	2.33 ± 0.47	32.172	<0.001
TWIST mRNA	1.19 ± 0.33	3.05 ± 0.51	32.405	<0.001

2.2 CRC 组织中 TUBB3、CCT8 蛋白表达比较 TUBB3、CCT8 蛋白主要位于细胞浆和细胞膜。CRC 癌组织中 TUBB3、CCT8 蛋白阳性率为 91.07% (102/112)、94.64% (106/112),高于癌旁组织 7.14% (8/112)、6.25% (7/112),差异具有统计学意义($\chi^2 = 157.836, 175.032, P$ 均 < 0.001),见图 1。

2.3 TUBB3、CCT8 与 EMT 相关指标的相关性分析 CRC 中 TUBB3 mRNA 与 CCT8 mRNA 表达呈正相关(*r* = 0.647, *P* < 0.001)。CRC 中 TUBB3、CCT8 mRNA 表达与 N-cad、TWIST mRNA 表达呈正相关(*r* = 0.667、0.621、0.703、0.686, *P* 均 < 0.001),与 E-cad mRNA 表达呈负相关(*r* = -0.641、-0.587, *P* 均 < 0.001)。

2.4 TUBB3、CCT8 mRNA 表达在不同 CRC 临床病理特征中的差异比较 低分化、TNM 分期 III 期、淋巴结转移的 CRC 中 TUBB3、CCT8 mRNA 表达高于高中分化、I~II 期、无淋巴结转移者,差异均有统计学意义(*P* < 0.01),见表 3。

表 3 TUBB3、CCT8 mRNA 表达在不同 CRC 临床病理特征中的差异比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of differences in TUBB3 and CCT8 mRNA expression in different clinical pathological characteristics of CRC

项目	例数	TUBB3 mRNA	t 值	P 值	CCT8 mRNA	t 值	P 值	
性别	男	70	2.69 ± 0.46	1.295	0.198	2.51 ± 0.35	1.387	0.168
	女	42	2.58 ± 0.39			2.41 ± 0.40		
年龄	<60 岁	44	2.60 ± 0.40	0.931	0.354	2.50 ± 0.35	1.687	0.094
	≥60 岁	68	2.68 ± 0.47			2.68 ± 0.40		
病理类型	腺癌	66	2.62 ± 0.44	1.000	0.319	2.44 ± 0.42	1.080	0.283
	黏液腺癌及其他	46	2.70 ± 0.38			2.52 ± 0.33		
肿瘤位置	结肠	50	2.67 ± 0.37	0.498	0.619	2.55 ± 0.34	1.936	0.055
	直肠	62	2.63 ± 0.46			2.41 ± 0.41		
肿瘤分化程度	高中分化	71	2.08 ± 0.33	20.327	<0.001	2.04 ± 0.30	15.121	<0.001
	低分化	41	3.64 ± 0.48			3.21 ± 0.52		
TNM 分期	I ~ II 期	74	2.10 ± 0.34	20.455	<0.001	2.08 ± 0.31	14.985	<0.001
	III 期	38	3.72 ± 0.49			3.23 ± 0.50		
淋巴结转移	有	38	3.68 ± 0.48	21.101	<0.001	3.29 ± 0.51	15.759	<0.001
	无	74	2.12 ± 0.30			2.05 ± 0.32		

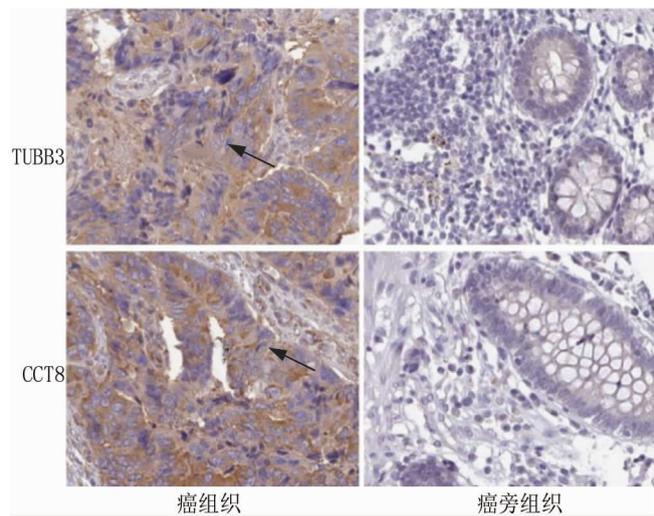


图 1 CRC 癌组织和癌旁组织中 TUBB3、CCT8 蛋白表达比较 (免疫组化, ×200)

Fig. 1 Comparison of TUBB3 and CCT8 protein expression in CRC cancer tissue and adjacent tissues (immunohistochemistry, × 200)

2.5 TUBB3、CCT8 mRNA 表达与 CRC 预后的关系
 随访中,死亡 42 例,3 年总生存率(overall survival, OS) 为 62.50% (70/112)。TUBB3 mRNA 高(≥ 2.65)、低表达(< 2.65)组 CRC 患者 3 年 OS 分别为 43.33% (26/60)、70.97% (44/62), 组间比较差异有统计学意义 ($\text{Log-rank } \chi^2 = 8.792, P = 0.003$)。CCT8 mRNA 高(≥ 2.47)、低表达(< 2.47)组 3 年 OS 分别为 42.86% (27/63)、72.88% (43/59), 组间比较差异具有统计学意义 ($\text{Log-rank } \chi^2 = 10.970, P < 0.001$), 见图 2。

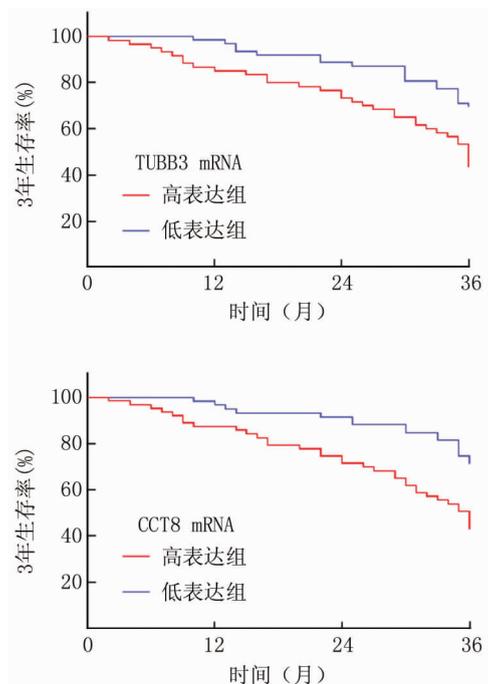


图 2 K-M 曲线分析 TUBB3、CCT8 mRNA 表达对 CRC 预后的影响

Fig. 2 K-M curve analysis of the impact of TUBB3 and CCT8 mRNA expression on CRC prognosis

2.6 CRC 预后影响的多因素 Cox 回归分析 以 CRC 预后为因变量(1 = 死亡, 0 = 生存), 以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量进行多因素 Cox 回归分析, 结果显示:TUBB3、CCT8 mRNA 升高, TNM 分期 III 期、有淋巴结转移、低分化是 CRC 预后的独立危险因素 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 4 CRC 预后影响的多因素 Cox 回归分析

Tab. 4 Multivariate Cox regression analysis of the prognostic impact of CRC

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
TNM III 期	0.361	0.108	11.173	<0.001	1.435	1.161 ~ 1.773
有淋巴结转移	0.313	0.104	9.058	<0.001	1.368	1.115 ~ 1.677
肿瘤分化程度低	0.274	0.113	5.879	<0.001	1.315	1.054 ~ 1.641
TUBB3 mRNA 高	0.288	0.097	8.815	<0.001	1.334	1.103 ~ 1.613
CCT8 mRNA 高	0.279	0.090	9.610	<0.001	1.322	1.108 ~ 1.577

3 讨论

我国 CRC 呈高发状态,每年新发病例达 37.6 万例,死亡约 19.1 万例^[10]。目前 CRC 的治疗包括手术、放化疗、免疫治疗、靶向治疗等。由美国癌症联合委员会提出的 TNM 分期被认为是预测结直肠癌复发和预后的有效方法。但 TNM 分期只考虑了肿瘤生长部位及转移位置,并没有考虑肿瘤微环境的改变,在临床上相同 TNM 分期的患者在生存时间上存在较大异质性,因而对 CRC 患者预后的评价是有限的^[11]。

TUBB3 是组成微管的蛋白之一,其作为细胞骨架和纺锤体的主要成分,能够促进细胞有丝分裂、信号传导等生物学作用。研究表明,TUBB3 能够激活 AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路,促进胆囊癌细胞的抗凋亡,促进胆囊癌的发生^[12]。本研究 CRC 中 TUBB3 表达升高,与既往学者在 CRC 肿瘤细胞中 TUBB3 表达升高的研究结果一致^[13],本研究进一步在组织水平证实 TUBB3 表达上调,表明 TUBB3 与 CRC 的发生关系密切。CRC 中 TUBB3 受非编码 RNA 的调控。研究发现,长链非编码 RNA RPPH1 在 CRC 组织中显著上调,其通过与 TUBB3 蛋白相互作用,抑制 TUBB3 的泛素化—蛋白酶体途径降解,导致 TUBB3 的蛋白表达升高,促进肿瘤细胞的侵袭和转移^[13]。本研究中,TUBB3 表达与 CRC 不良临床病理特征及 EMT 指标有关,提示 CRC 中 TUBB3 可能是通过促进肿瘤细胞的 EMT 过程,促进肿瘤的进展。TUBB3 的表达上调能够增强肿瘤对微环境应激(低氧水平、营养供应不足等)的适应性反应,促进肿瘤的存活和增殖。有研究表明,外泌体中非编码 RNA 能够上调 TUBB3 的表达,诱导 CRC 癌细胞发生 EMT,促进巨噬细胞 M2 型极化,导致肿瘤细胞的侵袭和转移^[13]。研究表明,TUBB3 能够促进结肠癌 HT-29 和 LS180 细胞系中转录因子 Snail、TWIST 等的表达,抑制上皮性标志物 E-cad 的表达,上调间质性标志物 N-cad 的表达,增强结肠癌细胞的侵袭转移能力^[14]。此外,TUBB3 转录后异常磷酸化或糖基化修饰可以调节其在肿瘤细胞

中的定位,影响细胞运动和耐药性。研究表明,前列腺癌中 TUBB3 蛋白 Y340 位点能被 SRC 激酶磷酸化激活,能够增加 TUBB3 蛋白的稳定性和胞浆内亚细胞定位,促进细胞有丝分裂,维持纺锤体稳定性,促进肿瘤转移和耐药的发生^[15]。本研究发现,TUBB3 能增加 CRC 患者不良预后的风险。分析其原因,TUBB3 的表达上调能够通过增加肿瘤细胞干性形成,增加细胞对化疗的抵抗力,降低 CRC 患者术后辅助治疗的有效性,增加术后肿瘤复发转移的风险,导致不良预后。研究表明,TUBB3 能够抑制 PTEN 的表达,增强肿瘤细胞对多西他赛化疗的耐药性,TUBB3 基因敲除能够重新恢复耐药癌细胞对多西他赛的敏感性^[16]。

CCT8 是真核细胞的 II 型伴侣蛋白,参与构成分子伴侣蛋白 TCP1 复合物,协助端粒的维持,促进细胞骨架蛋白微管蛋白、肌动蛋白的折叠和组装,维持蛋白质稳态和完整性^[17]。研究表明,肝癌中 CCT8 可上调增殖细胞核抗原、细胞周期蛋白 E 及周期蛋白依赖性激酶 2 的表达水平,加速细胞周期由 G1 期向 S 期的转变,促进癌细胞增殖^[18]。本研究 CRC 中 CCT8 表达升高,提示 CCT8 参与 CRC 的肿瘤发生过程。笔者分析,CCT8 的编码基因位于染色体 21q21.3,该基因位点是一种常见于消化道肿瘤及胃腺癌的扩增子,基因的扩增能够显著上调肿瘤中 CCT8 的表达。另外,CCT8 作为一种 II 型分子伴侣,可折叠信号转导和转录激活因子 3,促进其成熟和激活,加快癌细胞的细胞周期进程和血管生成,促进肿瘤发生^[19]。本研究中,CCT8 与不良临床病理特征及 EMT 指标有关,提示 CCT8 能诱导肿瘤 EMT 的发生,促进 CRC 肿瘤恶性进展。有学者报道,结肠癌肿瘤细胞中 CCT8 能与 LIM 和 Src 同源结构域 3 蛋白 1 相互作用,抑制野生型 p53 蛋白进入细胞核,拮抗野生型 p53 介导的细胞周期停滞,同时诱导 EMT 过程转录因子 TWIST 的表达,促进结肠癌细胞的增殖、转移和侵袭^[20]。另外,CCT8 还能够葡萄糖调节蛋白 94 的活化下,上调肝癌细胞中 c-Jun 转录因子,激活 EMT 信号通路促进癌细胞的迁移和侵袭,导致患者不良预后^[21]。本研究中,CCT8 表达与患者生存预后有关,分析其原因,CCT8 通过上调细胞支架蛋白 α -肌动蛋白和 β -微管蛋白表达,促进食管鳞癌细胞的迁移和侵袭,增强顺铂治疗的抵抗力,而 CCT8 基因敲除后, α -肌动蛋白和 β -微管蛋白表达下调,顺铂治疗的敏感性明显增加^[22]。本研究发现,CRC 中 TUBB3 与 CCT8 呈正相关。目前两者之间的相互作用关系尚不明确,笔者分析,两者在 CRC 中可能通过激活 EMT 过程,发挥协同促癌的生物效应,

但两者之间的具体作用关系仍有待今后进行深入的基础研究进一步证实。

综上所述,CRC 中 TUBB3 与 CCT8 mRNA 和蛋白表达均明显升高,两者与 CRC 患者 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移的临床病理特征有关,还与 CRC 癌组织中 EMT 指标有关,提示 TUBB3 与 CCT8 可能是通过促进 CRC 肿瘤细胞 EMT 的发生,促进肿瘤进展。另外,TUBB3、CCT8 mRNA 均是影响 CRC 患者不良预后的独立因素,有利于指导临床治疗方案和随访方案。但是本研究尚存在一定的局限性:(1)本研究未进行 CCT8 的体内体外实验,对 CCT8 促进 CRC 癌细胞 EMT 过程的机制仍需进一步研究;(2)本研究所收集试验样本量较小,仍需扩大样本量加以验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马云云、沙巴义丁·吐尔逊:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,论文修改;徐斌:设计研究方案,论文审修;王东宏:提出研究思路,分析试验数据;刘洁:进行统计学分析

参考文献

[1] Song M. Global epidemiology and prevention of colorectal cancer [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7 (7) : 588-590. DOI: 10.1016/S2468-1253 (22)00089-9.

[2] 翟晓璐,王妍,王斐,等. 循环肿瘤 DNA 检测对 II 期结直肠癌术后患者预后的预测价值[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31 (21) : 3968-3972. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-4992. 2023. 21. 012.

[3] 刘新福,尹婵,张辉,等. 胃癌组织中 ERCC 1、TS 和 TUBB3 与化疗药物体外药敏相关性的实验研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26 (2) : 166-169. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-4992. 2018. 02. 002.

[4] Namekawa T, Ikeda K, Horie-Inoue K, et al. ALDH1A1 in patient-derived bladder cancer spheroids activates retinoic acid signaling leading to TUBB3 overexpression and tumor progression [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146 (4) : 1099-1113. DOI: 10.1002/ijc.32505.

[5] Sun X, Zhang Y, Xin S, et al. NOTCH3 promotes docetaxel resistance of prostate cancer cells through regulating TUBB3 and MAPK signaling pathway [J]. *Cancer Sci*, 2023, 12 (8) : 1111-1123. DOI: 10.1111/cas.16040.

[6] 盖领,茅国新,吴锦伟,等. CCT8 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34 (7) : 1064-1067. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-5725. 2018. 07. 005.

[7] Wu Z, Deng L, Tao J, et al. CCT8 promotes cell migration and tumor metastasis in lung adenocarcinomas [J]. *J Cancer*, 2023, 14 (17) : 3238-3247. DOI: 10.7150/jca.87983.

[8] Gao H, Wei H, Yang Y, et al. Phase separation of DDX21 promotes colorectal cancer metastasis via MCM5-dependent EMT pathway [J]. *Oncogene*, 2023, 42 (21) : 1704-1715. DOI: 10.1038/s41388-023-02687-6.

[9] Varghese F, Bukhari AB, Malhotra R, et al. IHC Profiler: An open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (5) : 9680-9691. DOI: 10.1371/journal.

pone.0096801.

[10] 周宗磊,周茹珍. 1994—2019 年中国结直肠癌发病趋势与年龄-时期-队列模型分析[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2023, 31 (5) : 321-326. DOI: 10.16386/j. ejpcd. issn. 1004-6194. 2023. 05. 001.

[11] 韩晶,王贵英,张难,等. 肿瘤部位及临床病理特征对不同 TNM 分期行结直肠癌根治性切除术患者预后的影响研究[J]. *中国全科医学*, 2020, 23 (18) : 2275-2283. DOI: 10.12114/j. issn. 1007-9572. 2020. 00. 336.

[12] Liu Z, Li S, Dong J, et al. TUBB3 promotes growth and invasion of gallbladder cancer cells by Akt/mTOR signal pathway [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2021, 40 (2) : 23-33. DOI: 10.1615/JEnviron-PatholToxicolOncol.2021036821.

[13] Liang ZX, Liu HS, Wang FW, et al. LncRNA RPPH1 promotes colorectal cancer metastasis by interacting with TUBB3 and by promoting exosomes-mediated macrophage M2 polarization [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (11) : 829-836. DOI: 10.1038/s41419-019-2077-0.

[14] Sobierajska K, Wiczorek K, Ciszewski WM, et al. beta-III tubulin modulates the behavior of Snail overexpressed during the epithelial-to-mesenchymal transition in colon cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863 (9) : 2221-2233. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.05.008.

[15] Alfano A, Xu J, Yang X, et al. SRC kinase-mediated tyrosine phosphorylation of TUBB3 regulates its stability and mitotic spindle dynamics in prostate cancer cells [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14 (5) : 932-945. DOI: 10.3390/pharmaceutics14050932.

[16] Sekino Y, Han X, Kawaguchi T, et al. TUBB3 reverses resistance to docetaxel and cabazitaxel in prostate cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (16) : 3936-3948. DOI: 10.3390/ijms20163936.

[17] Betancourt MK, Collier MP, Leitner A, et al. A hierarchical assembly pathway directs the unique subunit arrangement of TRiC/CCT [J]. *Mol Cell*, 2023, 83 (17) : 3123-3139. DOI: 10.1016/j.molcel.2023.07.031.

[18] Cho HJ, Baek GO, Yoon MG, et al. Overexpressed proteins in HCC Cell-Derived Exosomes, CCT8, and Cofilin-1 Are potential biomarkers for patients with HCC [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2021, 11 (7) : 1221-1230. DOI: 10.3390/diagnostics11071221.

[19] Vallin J, Cordoba-Beldad CM, Grantham J. Sequestration of the transcription factor STAT3 by the molecular chaperone CCT: A potential mechanism for modulation of STAT3 phosphorylation [J]. *J Mol Biol*, 2021, 433 (13) : 1669-1678. DOI: 10.1016/j.jmb.2021.166958.

[20] Liao Q, Ren Y, Yang Y, et al. CCT8 recovers Wtp53-suppressed cell cycle evolution and EMT to promote colorectal cancer progression [J]. *Oncogenesis*, 2021, 10 (12) : 84-95. DOI: 10.1038/s41389-021-00374-3.

[21] Wei PL, Huang CY, Tai CJ, et al. Glucose-regulated protein 94 mediates metastasis by CCT8 and the JNK pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37 (6) : 8219-8227. DOI: 10.1007/s13277-015-4669-3.

[22] Yang X, Ren H, Shao Y, et al. Chaperonin-containing T-complex protein 1 subunit 8 promotes cell migration and invasion in human esophageal squamous cell carcinoma by regulating alpha-actin and beta-tubulin expression [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52 (6) : 2021-2030. DOI: 10.1007/s13277-015-4669-3.

(收稿日期:2024-01-23)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.016

论著·临床

ACLP、COL11A1 在胰腺癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系

马仰仰, 谢海燕, 陈晓泉, 张洁, 陈洪椿



基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2021JM-482)

作者单位: 710000 西安, 陕西省肿瘤医院中医科(马仰仰、谢海燕、陈晓泉); 712000 陕西咸阳, 陕西中医药大学附属医院肿瘤科(张洁、陈洪椿)

通信作者: 张洁, E-mail: zhang461567556@163.com

【摘要】目的 研究胰腺癌中主动脉羧肽酶类样蛋白(ACLP)、XI型胶原 $\alpha 1$ (COL11A1)表达及临床预后价值。**方法** 回顾性选择2019年1月—2021年1月陕西省肿瘤医院中医科和陕西中医药大学附属医院肿瘤科手术治疗的胰腺癌患者88例为研究对象。采用实时荧光定量PCR和免疫组织化学检测癌组织及癌旁组织中ACLP、COL11A1 mRNA表达和蛋白水平; Pearson相关分析ACLP mRNA与COL11A1 mRNA的相关性; Kaplan-Meier法分析ACLP、COL11A1表达对胰腺癌患者生存预后的影响; Cox回归分析胰腺癌预后的影响因素。**结果** 胰腺癌患者癌组织ACLP、COL11A1 mRNA的相对表达量高于癌旁组织($t/P = 31.058 / < 0.001, 27.642 / < 0.001$); 胰腺癌患者癌组织中ACLP、COL11A1阳性率分别为69.32%(61/88)、70.45%(62/88), 高于癌旁组织的9.09%(8/88)、6.82%(6/88), 差异有统计学意义($\chi^2 = 66.963, 75.155, P$ 均 < 0.001); 胰腺癌组织中ACLP mRNA与COL11A1 mRNA表达呈正相关($r = 0.642, P < 0.001$); TNM分期II B~III期、有淋巴结转移的胰腺癌组织中ACLP、COL11A1蛋白阳性率高于TNM分期I~II A期、无淋巴结转移(ACLP: $\chi^2/P = 19.704 / < 0.001, 12.908 / < 0.001$; COL11A1: $\chi^2/P = 22.440 / < 0.001, 14.569 / < 0.001$)。ACLP阳性组3年总生存率为22.95%(14/61), 低于阴性组44.44%(12/27), 差异有统计学意义(Log rank $\chi^2 = 5.433, P = 0.020$); COL11A1阳性组3年总生存率为20.97%(13/62), 低于阴性组50.00%(13/26), 差异有统计学意义(Log rank $\chi^2 = 7.281, P = 0.007$)。TNM分期II B~III期、淋巴结转移、ACLP阳性、COL11A1阳性是影响胰腺癌患者预后的独立危险因素[HR(95% CI) = 1.781(1.199~2.646), 1.962(1.172~3.285), 1.505(1.066~2.125), 1.568(1.117~2.201)]。**结论** 胰腺癌组织中ACLP、COL11A1 mRNA表达和蛋白水平均明显上调, 二者在胰腺癌的发生和进展中发挥促进作用, 是新的临床上评估胰腺癌患者预后的标志物。

【关键词】 胰腺癌; 主动脉羧肽酶类样蛋白; XI型胶原 $\alpha 1$; 预后**【中图分类号】** R735.9**【文献标识码】** A

The expression of ACLP and COL11A1 in pancreatic cancer tissues and their relationship with clinicopathological features and prognosis Ma Yangyang*, Xie Haiyan, Chen Xiaoquan, Zhang Jie, Chen Hongchun. * Department of Traditional Chinese and Western Medicine, Shaanxi Cancer Hospital, Shaanxi Province, Xi'an 710000, China

Funding program: Shaanxi Provincial Natural Science Basic Research Project (2021JM-482)

Corresponding author: Zhang Jie, E-mail: zhang461567556@163.com

【Abstract】 Objective To study the expression and clinical prognostic value of aortic carboxypeptidase like protein (ACLP) and collagen type XI alpha 1 chain (COL11A1) in pancreatic cancer. **Methods** From January 2019 to January 2021, 88 patients with pancreatic cancer who underwent surgical treatment in Shaanxi Cancer Hospital and Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine were selected as the study subjects. Real time fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry were used to detect the expression of ACLP and COL11A1 mRNA and protein in cancer tissues and adjacent tissues. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between ACLP mRNA and COL11A1 mRNA. Kaplan Meier method was used to analyze the effect of ACLP and COL11A1 expression on the survival and prognosis of patients with pancreatic cancer. Cox regression analysis was used to analyze the prognostic factors of pancreatic cancer. **Results** The relative expression levels of ACLP and COL11A1 mRNA in pancreatic cancer tissues were

higher than those in adjacent tissues ($t/P = 31.058 / < 0.001, 27.642 / < 0.001$); The positive rates of ACLP and COL11A1 in pancreatic cancer tissues were 69.32 % (61/88) and 70.45 % (62/88), respectively, which were higher than 9.09 % (8/88) and 6.82 % (6/88) in adjacent tissues ($\chi^2 = 66.963, 75.155, P < 0.001$); The expression of ACLP mRNA was positively correlated with that of COL11A1 mRNA in pancreatic cancer tissues ($r = 0.642, P < 0.001$); The positive rates of ACLP and COL11A1 protein in pancreatic cancer tissues with TNM stage IIB ~ III and lymph node metastasis were higher than those in pancreatic cancer tissues with TNM stage I ~ IIA and no lymph node metastasis (ACLP: $\chi^2/P = 19.704 / < 0.001, 12.908 / < 0.001$; COL11A1: $\chi^2/P = 22.440 / < 0.001, 14.569 / < 0.001$). The 3-year overall survival rate of ACLP positive group was 22.95% (14/61), which was lower than that of negative group 44.44% (12/27) (Log rank $\chi^2 = 5.433, P = 0.020$); The 3-year overall survival rate of COL11A1 positive group was 20.97 % (13 / 62), which was lower than that of negative group 50.00 % (13/26) (Log rank $\chi^2 = 7.281, P = 0.007$). TNM stage IIB ~ III, lymph node metastasis, ACLP positive and COL11A1 positive were independent risk factors affecting the prognosis of patients with pancreatic cancer [HR(95% CI) = 1.781(1.199 - 2.646), 1.962(1.172 - 3.285), 1.505(1.066 - 2.125), 1.568(1.117 - 2.201)]. **Conclusion** The mRNA and protein expressions of ACLP and COL11A1 are significantly up-regulated in pancreatic cancer tissues. They play a promoting role in the occurrence and progression of pancreatic cancer, and are new clinical markers for evaluating the prognosis of pancreatic cancer patients.

【Key words】 Pancreatic cancer; Aortic carboxypeptidase like protein; Collagen type XI alpha 1 chain; Prognosis

胰腺癌是高度恶性肿瘤,2020 年全球胰腺癌新发 50 万例,死亡 47 万例^[1]。近年来手术、化疗及放疗等治疗方法取得较大进步,但患者远期预后仍然较差^[2]。主动脉羧肽酶类样蛋白(aortic carboxypeptidase-like protein, ACLP)具有 N 末端信号肽、盘状结构域和非活性羧肽酶结构域,能够激活 Wnt 信号通路,与酒精性肝炎、肝硬化等关系密切^[3]。研究表明^[4],甲状腺癌中 ACLP 表达升高,其能通过骨形态发生蛋白 4 促进癌细胞上皮间质转化,导致肿瘤肺转移。XI 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type XI alpha 1 chain, COL11A1) 参与构成 XI 型胶原,与自身免疫疾病、恶性肿瘤等疾病有关^[5]。研究表明^[6], COL11A1 在乳腺癌、肺癌等肿瘤中的表达升高,其能与细胞外基质相互作用,促进癌细胞内无氧糖酵解,增强癌细胞的侵袭、转移和耐药性。目前胰腺癌中 ACLP、COL11A1 的表达及预后意义尚不明确。本研究分析胰腺癌中 ACLP、COL11A1 mRNA 表达和蛋白水平,探讨两者与临床预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析 2019 年 1 月—2021 年 1 月陕西省肿瘤医院中西医科和陕西中医药大学附属医院肿瘤科手术治疗的胰腺癌患者 88 例为研究对象,男 47 例,女 41 例,年龄 36 ~ 69(56.32 ± 6.31) 岁,均无家族遗传史;肿瘤最大径: < 4 cm 53 例, ≥ 4 cm 35 例; TNM 分期: I ~ II A 期 47 例, II B ~ III 期 41 例;高中分化程度 51 例,低分化程度 37 例;胰头部 56 例,胰体尾部 32 例;淋巴结转移 54 例,无淋巴结转移 34 例。本研究经医院伦理委员会批准通过(2022-KL30-01),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经组织病理检查确诊为胰腺导管腺癌;②既往无胰腺手术史、放化疗治疗史;③患者肝肾功能及心功能检查正常;④病例资料齐全。(2) 排除标准:①合并或既往存在其他恶性肿瘤,如十二指肠癌等;②经病理证实胰腺癌非胰腺来源;③合并急性胰腺炎、自身免疫疾病等;④有精神障碍性疾病,不能完成随访者。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 ACLP、COL11A1 mRNA 基因检测:术中留取患者部分癌组织及癌旁组织,提取组织总 RNA 并反转录后,行荧光定量 PCR 反应检测 ACLP、COL11A1 表达水平。PCR 反应仪器购自美国 ABI 公司(型号 ABI7500),SYBR Green Master Mix 试剂盒购自北京索莱宝公司(货号 SY1020)。ACLP、COL11A1 mRNA 的上下游引物由上海生工公司合成。引物序列见表 1。程序:95℃ 5 min、95℃ 30 s、62℃ 30 s、70℃ 40 s,共计 40 个循环。总体系:SYBR Green 5 μ l,上下游引物分别为 0.5 μ l,模版 1 μ l 和 DEPC 水 3 μ l。以 GAPDH 为内参,2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算 ACLP、COL11A1 mRNA 的相对表达量。

表 1 ACLP 和 COL11A1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences for ACLP and COL11A1		
基 因	上游引物	下游引物
ACLP	5'-ACCCTCGCATTGAC-CTTCC-3'	5'-TTTGTGCAAAATCCCCTT-GTTT-3'
COL11A1	5'-TAACATCGCTGACGG-GAAGTG-3'	5'-CCGTGATTCCATTGGTAT-CAACA-3'
GAPDH	5'-GTCCTCCAGGTCTA-CAAGGC-3'	5'-ACGGAACGGTAACATCAA-CATAG-3'

1.3.2 ACLP、COL11A1 蛋白检测:采用免疫组织化学法检测胰腺癌患者癌组织及癌旁组织中 ACLP、COL11A1 水平。将术中获取的癌组织及癌旁组织多聚甲醛固定,自动脱水机脱水后石蜡包埋。60℃烘箱中烤片 1 h,二甲苯脱蜡乙醇水化,0.01 mmol/L 枸橼酸钠溶液中抗原热修复,3% 双氧水室温孵育 10 min,3% 羊血清室温封闭 2 h,一抗 4℃ 孵育过夜,ACLP、COL11A1 一抗均购自 abcam 公司(货号 ab254973、ab289725),二抗 37℃ 孵育 1 h, DAB 显色 5 min,自来水终止,苏木素复染 1 min,脱水封片后置显微镜(日本奥林巴斯公司,型号 BX51)观察结果。结果由 2 位病理医师进行染色程度评分(无染色 0 分,浅黄色 1 分,深黄色 2 分,棕褐色 3 分)和染色范围评分(< 25% 1 分,25% ~ < 50% 2 分,50% ~ < 75% 3 分,≥ 75% 4 分),统计数据后计算评分的乘积,≥ 2 分为阳性,< 2 分为阴性。

1.3.3 随访:患者术后病理确诊后开始定期随访,3 个月或 6 个月门诊随访 1 次,随访 3 年,记录随访中患者死亡情况、死亡时间、死亡原因等信息。随访终止时间为 2024 年 2 月。研究终点为胰腺癌患者随访中发生死亡或随访终止。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用两独立样本 *t* 检验;Pearson 相关分析 ACLP mRNA 与 COL11A1 mRNA 的相关性;采用 Kaplan-Meier 曲线和 Cox 比例风险模型分析胰腺癌患者预后的影响因素。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌癌旁组织和癌组织中 ACLP、COL11A1 mRNA 表达比较 胰腺癌患者癌组织中 ACLP、COL11A1 mRNA 的相对表达量高于癌旁组织,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 2。

表 2 胰腺癌患者癌旁组织和癌组织中 ACLP、COL11A1 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of ACLP and COL11A1 mRNA expression in adjacent tissues and cancer tissues of pancreatic cancer patients

组 别	例数	ACLP	COL11A1
癌旁组织	88	1.51 ± 0.32	1.16 ± 0.31
癌组织	88	3.82 ± 0.62	3.15 ± 0.60
<i>t</i> 值		31.058	27.642
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001

2.2 胰腺癌癌旁组织和癌组织中 ACLP、COL11A1 蛋白水平比较 胰腺癌组织中 ACLP、COL11A1 的黄褐色染色位于细胞膜和细胞浆,其癌组织阳性率分别为 69.32% (61/88)、70.45% (62/88),高于癌旁组织的 9.09% (8/88)、6.82% (6/88),差异有统计学意义($\chi^2 = 66.963、75.155, P$ 均 < 0.001),见图 1。

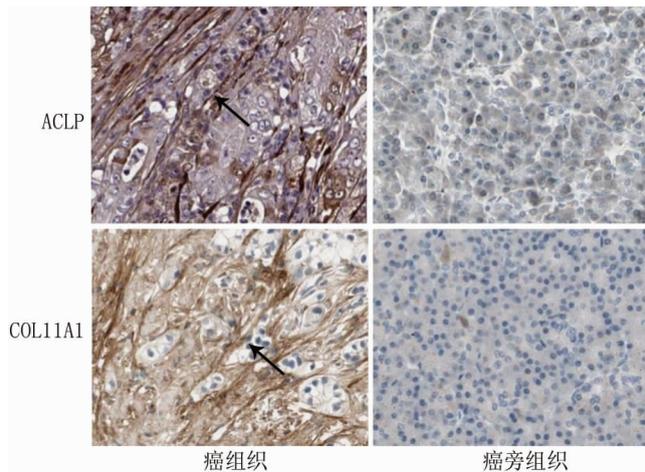


图 1 胰腺癌患者癌组织及癌旁组织中 ACLP、COL11A1 蛋白水平比较(免疫组化, × 200)

Fig. 1 Comparison of ACLP and COL11A1 protein levels in cancer tissues and adjacent tissues of pancreatic cancer patients (immunohistochemistry, × 200)

2.3 胰腺癌组织中 ACLP 与 COL11A1 mRNA 表达相关性 Pearson 相关分析显示,胰腺癌组织中 ACLP mRNA 与 COL11A1 mRNA 表达呈正相关($r = 0.642, P < 0.001$)。

2.4 胰腺癌组织中 ACLP、COL11A1 蛋白水平在不同临床病理特征中的差异 TNM 分期 II B ~ III 期、有淋巴结转移的胰腺癌组织中 ACLP、COL11A1 蛋白阳性率高于 TNM 分期 I ~ II A 期、无淋巴结转移,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 3。

2.5 癌组织中 ACLP、COL11A1 蛋白水平对胰腺癌患者预后的影响 胰腺癌患者 88 例至随访结束时死亡 72 例,3 年总生存率为 18.60% (16/88)。ACLP 阳性组 3 年总生存率为 22.95% (14/61),低于阴性组的 44.44% (12/27),差异有统计学意义(Log rank $\chi^2 = 5.433, P = 0.020$);COL11A1 阳性组 3 年总生存率为 20.97% (13/62),低于阴性组的 50.00% (13/26),差异有统计学意义(Log rank $\chi^2 = 7.281, P = 0.007$),见图 2。

2.6 Cox 回归分析胰腺癌预后影响因素 以患者预后为因变量(1 = 死亡,0 = 生存),以上述结果中 *P* < 0.05

表 3 胰腺癌组织中 ACLP、COL11A1 蛋白水平在不同临床/病理特征差异比较 [例(%)]

Tab.3 Comparison of ACLP and COL11A1 protein levels in pancreatic cancer tissues in different clinical/pathological characteristics

项目	例数	ACLP 阳性(n=61)	χ^2 值	P 值	COL11A1 阳性(n=62)	χ^2 值	P 值
性别	男	35(74.47)	1.258	0.262	36(76.60)	1.828	0.176
	女	26(63.42)			26(63.42)		
年龄	<60 岁	32(66.67)	0.349	0.555	32(66.67)	0.728	0.394
	≥60 岁	29(72.50)			30(75.00)		
分化程度	高中分化	33(64.71)	1.213	0.271	33(64.71)	1.926	0.165
	低分化	28(75.68)			29(78.38)		
肿瘤最大径	<4 cm	36(67.93)	0.122	0.727	35(66.04)	1.249	0.264
	≥4 cm	25(71.43)			27(77.14)		
肿瘤位置	胰头部	41(73.21)	1.099	0.294	42(75.00)	1.529	0.216
	胰体尾部	20(62.50)			20(62.50)		
TNM 分期	I ~ II A 期	23(48.94)	19.704	<0.001	23(48.94)	22.440	<0.001
	II B ~ III 期	38(92.68)			39(95.12)		
淋巴结转移	有	45(83.33)	12.908	<0.001	46(85.18)	14.569	<0.001
	无	16(47.06)			16(47.06)		

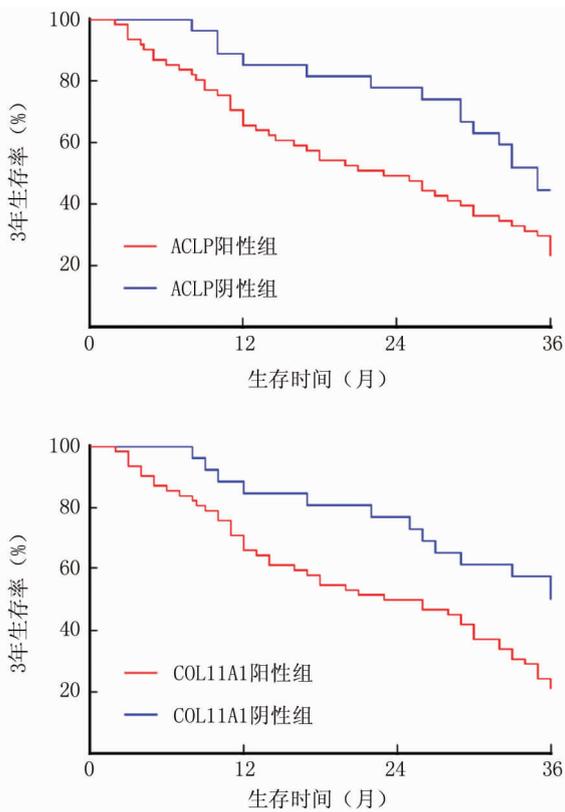


图 2 K-M 曲线分析 ACLP、COL11A1 蛋白水平对胰腺癌患者生存预后的影响

Fig.2 K-M curve analysis of the impact of ACLP and COL11A1 protein levels on the survival and prognosis of pancreatic cancer patients

项目为自变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示:TNM 分期 II B ~ III 期、淋巴结转移、ACLP 阳性、COL11A1 阳性是影响胰腺癌患者预后的独立危险因素($P < 0.01$),见表 4。

表 4 多因素 Cox 回归分析胰腺癌预后影响因素

Tab.4 Multifactor Cox regression analysis of prognostic factors of pancreatic cancer

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
TNM II B ~ III 期	0.577	0.202	8.159	<0.001	1.781	1.199 ~ 2.646
淋巴结转移	0.674	0.263	6.568	<0.001	1.962	1.172 ~ 3.285
ACLP 阳性	0.409	0.176	5.400	<0.001	1.505	1.066 ~ 2.125
COL11A1 阳性	0.450	0.173	6.766	<0.001	1.568	1.117 ~ 2.201

3 讨论

胰腺癌恶性程度高,侵袭能力强,多数患者确诊时已处于晚期,5 年生存率仅 9%^[7]。尽管胰腺癌的化疗、放疗、免疫治疗和靶向治疗等取得了很大的进展,但只有少数患者能从这些治疗中受益。TNM 分期系统普遍用于评估胰腺癌患者的预后风险,但这种分类方法主要关注患者临床病理特征,而未考虑分子因素^[8]。因此,迫切需要更准确、有效的生物标志物来识别高风险的患者,以采取不同干预措施,优化胰腺癌的临床治疗方案,改善患者治疗疗效及预后。

ACLP 编码基因位于人染色体 7p13,其作为主动脉羧肽酶样蛋白结合基质胶原,参与脂肪细胞分化的转录阻遏、伤口愈合和纤维化等过程^[9]。研究发现^[10],ACLP 在黑色素瘤、胶质母细胞瘤等恶性肿瘤中表达上调,其通过激活核因子 κB 途径,促进癌细胞增殖和转移。本研究中,胰腺癌中 ACLP mRNA 表达和蛋白水平上调,这与既往学者研究结果一致^[11],但该研究仅纳入 64 例患者,并且只是对 mRNA 水平进行检测,结果可能存在一定的偏倚,本研究在较大样本量基础上证实胰腺癌中 ACLP 蛋白水平上调,提示 ACLP 表达参与胰腺癌的疾病过程。研究表明^[12],胶质瘤中

LINC00511 能够作为分子支架,结合微小 RNA-15a-5p,使其下游靶点 ACLP mRNA 的稳定性增加,促进癌细胞的上皮间质转化,导致肿瘤侵袭和转移能力增强。胰腺癌中 ACLP 表达与 TNM 分期、淋巴结转移有关,提示 ACLP 参与胰腺癌的肿瘤进展。分析其机制,胰腺癌中 ACLP 的表达上调能够激活肿瘤微环境中肿瘤相关成纤维细胞,分泌产生细胞外基质,导致胰腺癌肿瘤微环境的纤维化,减少肿瘤杀伤 T 淋巴细胞的免疫浸润,同时活化的肿瘤相关成纤维细胞还分泌产生基质金属蛋白酶 1 和 3,促进癌细胞的体外侵袭和体内转移^[11]。另外,口腔鳞状细胞癌中转化生长因子 β 能够激活 ACLP 的表达,ACLP 进一步通过促进肿瘤相关成纤维细胞中胶原的表达,抑制肿瘤微环境中 CD8⁺T 细胞的浸润,导致肿瘤免疫逃逸和肿瘤恶性进展^[13]。本研究表明,ACLP 的表达与胰腺癌患者较差的生存预后有关,表明 ACLP 的表达是新的评估胰腺癌患者预后的指标。分析其原因,ACLP 的表达能够增强癌细胞对化疗等的抵抗性,导致患者不良预后。研究表明^[14],敲低癌细胞中 ACLP 的表达能够促进癌细胞膜的脂质过氧化和活性氧产生,导致铁死亡的发生,增强癌细胞对顺铂化疗治疗的敏感性。另外,ACLP 还能通过增加细胞增殖生物标志物 ki67 的表达、AKT 的磷酸化,加速裸鼠皮下移植肿瘤的生长和肺转移,促进乳腺癌的肿瘤进展,可作为潜在的预后标志物和新的治疗策略^[15]。

COL11A1 属于胶原家族,形成 XI 型胶原 α 链,是细胞外基质的主要成分之一,广泛表达于软骨、心脏、胸骨和动脉平滑肌细胞中。最近有研究报道^[16],COL11A1 的过表达可通过激活转化生长因子 β 通路,促进卵巢癌迁移、侵袭和肺转移,增强对顺铂和紫杉醇的耐药性,是预测卵巢癌预后的生物标志物。本研究中,胰腺癌中 COL11A1 mRNA 表达和蛋白水平上调,提示 COL11A1 参与胰腺癌的疾病过程。分析其机制,胰腺癌中配对相关同源异型盒 1 的表达显著上调,其能够结合 COL11A1 的启动子区域,在转录水平上调 COL11A1 的表达,激活下游 AKT 信号通路,促进癌细胞的增殖和间质纤维化^[17-18]。本研究中,TNM 分期 II B ~ III 期、淋巴结转移患者中 COL11A1 蛋白阳性率较高,提示 COL11A1 参与胰腺癌的肿瘤进展。分析其机制,COL11A1 能磷酸化激活糖原合成酶激酶 3 β ,上调转录因子 Snail 的表达,促进癌细胞的上皮-间质转化和细胞干性的形成,增强胰腺癌细胞的侵袭和迁移能力^[19]。此外,胰腺癌中 COL11A1 能够促进 Akt 蛋白 Ser473 位点的磷酸化,促进 CREB 介导的抗凋亡基

因 BCL-2 的表达,维持线粒体跨膜电位的稳定,抑制线粒体中细胞色素 C 的释放,减少线粒体介导的细胞凋亡,导致癌细胞的过度增殖^[20-21]。本研究中,COL11A1 与胰腺癌患者较差的生存预后有关,表明 COL11A1 的表达升高导致胰腺癌患者不良生存预后。这与既往学者利用生物信息学对 TCGA 和 GEO 数据库的分析结果一致^[22],但该研究仅基于 COL11A1 mRNA 的表达水平进行分析,未能对 COL11A1 蛋白水平的预后意义进行研究。笔者分析,COL11A1 的表达能够增加胰腺癌肿瘤微环境的纤维化程度和癌细胞的干性形成,降低化疗的敏感性,导致患者不良预后。研究表明^[23],卵巢癌细胞中 COL11A1 通过胶原受体盘状蛋白结构域受体 2 和整合素 $\alpha 1\beta 1$ 激活 Src-Akt 信号传导,促进热休克蛋白 27 的磷酸化激活,增强癌细胞对顺铂、吉西他滨等化疗药物的耐药性,导致患者不良预后。此外,COL11A1 还能够通过激活 AKT 信号通路,增强癌细胞对放疗的耐受性,降低放射治疗的疗效,导致患者不良生存预后^[17]。本研究中,胰腺癌中 ACLP mRNA 与 COL11A1 mRNA 呈正相关,目前胰腺癌中 ACLP 与 COL11A1 之间关系的机制还不清楚,笔者分析,两者可能在功能上存在协同的作用关系。ACLP 作为一种可溶性的糖蛋白,能够结合细胞外基质中 COL11A1 等胶原成分,激活肿瘤相关成纤维细胞,增强癌细胞的侵袭和迁移能力^[24],但两者具体作用仍有待进一步研究。

综上所述,胰腺癌中 ACLP、COL11A1 mRNA 表达和蛋白水平均明显上调,与 TNM 分期、淋巴结转移有关,在胰腺癌肿瘤的发生和疾病进展中发挥促进作用,检测两者表达有助于评估胰腺癌患者的生存预后,可作为潜在的胰腺癌预后标志物继续开展研究。本研究也存在一定的局限性。即在数据收集和样本量等方面尚有局限,需进一步通过外部数据集、自身临床资料及实验室研究进行验证,以提高临床参考价值,为胰腺癌诊疗及预后评估提供参考。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马仰仰:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;谢海燕:实施研究过程,资料搜集整理;陈晓泉:实施研究过程,资料搜集整理;张洁:进行文献调研与整理,论文修改;陈洪椿:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析

参考文献

- [1] Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: Understanding the role of lifestyle and inherited risk factors [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(7): 493-502. DOI: 10.1038/s41575-021-00457-x.
- [2] 秦瑞峰,薛佳栋,霍浩然,等. miR-141-3p 和 miR-22-3p 在胰腺癌

- 组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(3): 261-265. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 03. 010.
- [3] Teratani T, Tomita K, Suzuki T, et al. Aortic carboxypeptidase-like protein, a WNT ligand, exacerbates nonalcoholic steatohepatitis[J]. J Clin Invest, 2018, 128(4): 1581-1596. DOI: 10. 1172/JCI92863.
- [4] Ju G, Xing T, Xu M, et al. AEBP1 promotes papillary thyroid cancer progression by activating BMP4 signaling[J]. Neoplasia, 2024, 49(8): 1009-1022. DOI: 10. 1016/j. neo. 2024. 100972.
- [5] 季盼, 杨允博, 白茹梦, 等. 乳腺癌组织中 COL11A1 表达与 ER、PR、HER-2 和 Ki-67 的相关性分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2023, 28(12): 1004-1007. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-0460. 2023. 12. 008.
- [6] 赵田甜, 左玮, 淦鑫. miR-29a-3p 和 miR-144a-3p 下调人非小细胞肺癌细胞 COL11A1 表达并抑制其增殖、迁移和侵袭[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(12): 1696-1703. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-1978. 2020. 12. 013.
- [7] 帕成周, 张贵启, 邬善敏. 可变剪切事件在胰腺癌中的发生及其临床意义[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(2): 155-159. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 02. 011.
- [8] 黄菲菲, 杨馨奕, 秦振溜, 等. 基于铜死亡相关 lncRNAs 的胰腺癌预后模型构建与验证[J]. 肝胆胰外科杂志, 2024, 36(6): 348-359. DOI: 10. 11952/j. issn. 1007-1954. 2024. 06. 006.
- [9] Tiamson-Kassab M. ACLP response to the recommendations of the ACLP task force on lessons learned from COVID-19 pandemic[J]. J Acad Consult Liaison Psychiatry, 2021, 62(4): 375-376. DOI: 10. 1016/j. jaclp. 2021. 04. 005.
- [10] Li D, Liu Z, Ding X, et al. AEBP1 is one of the epithelial-mesenchymal transition regulatory genes in colon adenocarcinoma[J]. Biomed Res Int, 2021, 20(1): 3108-3123. DOI: 10. 1155/2021/3108933.
- [11] Li YX, Zhu XX, Wu X, et al. ACLP promotes activation of cancer-associated fibroblasts and tumor metastasis via ACLP-PPARgamma-ACLP feedback loop in pancreatic cancer[J]. Cancer Lett, 2022, 544(9): 2158-2172. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2022. 215802.
- [12] Liu Z, Tao B, Li L, et al. LINC00511 knockdown suppresses glioma cell malignant progression through miR-15a-5p/AEBP1 axis[J]. Brain Res Bull, 2021, 173(5): 82-96. DOI: 10. 1016/j. brainresbull. 2021. 05. 010.
- [13] Sekiguchi S, Yorozu A, Okazaki F, et al. ACLP activates cancer-associated fibroblasts and inhibits CD8⁺ T-Cell infiltration in oral squamous cell carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(17): 4303-4311. DOI: 10. 3390/cancers15174303.
- [14] Zhou Q, Wang X, Zhang Y, et al. Inhibition of AEBP1 predisposes cisplatin-resistant oral cancer cells to ferroptosis[J]. BMC Oral Health, 2022, 22(1): 478-485. DOI: 10. 1186/s12903-022-02503-9.
- [15] Li J, Ruan Y, Zheng C, et al. AEBP1 contributes to breast cancer progression by facilitating cell proliferation, migration, invasion, and blocking apoptosis[J]. Discov Med, 2023, 35(174): 45-56. DOI: 10. 24976/Discov. Med. 202335174. 6.
- [16] Wu YH, Huang YF, Chang TH, et al. COL11A1 activates cancer-associated fibroblasts by modulating TGF-beta3 through the NF-kappaB/IGFBP2 axis in ovarian cancer cells[J]. Oncogene, 2021, 40(26): 4503-4519. DOI: 10. 1038/s41388-021-01865-8.
- [17] Zhu M, Ye C, Wang J, et al. Activation of COL11A1 by PRRX1 promotes tumor progression and radioresistance in ovarian cancer[J]. Int J Radiat Biol, 2021, 97(7): 958-967. DOI: 10. 1080/09553002. 2021. 1928780.
- [18] Feldmann K, Maurer C, Peschke K, et al. Mesenchymal plasticity regulated by Prrx1 drives aggressive pancreatic cancer biology[J]. Gastroenterology, 2021, 160(1): 346-361. DOI: 10. 1053/j. gastro. 2020. 09. 010.
- [19] Wang H, Zhou H, Ni H, et al. COL11A1-driven epithelial-mesenchymal transition and stemness of pancreatic cancer cells induce cell migration and invasion by modulating the AKT/GSK-3beta/snail pathway[J]. Biomolecules, 2022, 12(3): 391-404. DOI: 10. 3390/biom12030391.
- [20] Wang H, Ren R, Yang Z, et al. The COL11A1/Akt/CREB signaling axis enables mitochondrial-mediated apoptotic evasion to promote chemoresistance in pancreatic cancer cells through modulating BAX/BCL-2 function[J]. J Cancer, 2021, 12(5): 1406-1420. DOI: 10. 7150/jca. 47032.
- [21] 余道武, 余天雾, 荷毅, 等. 胰腺癌组织 ICAM-1、LRG1、TRIM14 的表达及临床意义[J]. 临床误诊误治, 2022, 35(3): 49-53. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-3429. 2022. 03. 012.
- [22] Sun D, Jin H, Zhang J, et al. Integrated whole genome microarray analysis and immunohistochemical assay identifies COL11A1, GJB2 and CTRL as predictive biomarkers for pancreatic cancer[J]. Cancer Cell Int, 2018, 18(4): 174-181. DOI: 10. 1186/s12935-018-0669-x.
- [23] Heiserman JP, Nallanthighal S, Gifford CC, et al. Heat shock protein 27, a novel downstream target of collagen type XI alpha 1, synergizes with fatty acid oxidation to confer cisplatin resistance in ovarian cancer cells[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(19): 4855-4862. DOI: 10. 1186/s12935-018-0669-x.
- [24] Di Y, Chen D, Yu W, et al. Bladder cancer stage-associated hub genes revealed by WGCNA co-expression network analysis[J]. Hereditas, 2019, 156(7): 7-14. DOI: 10. 1186/s41065-019-0083-y.

(收稿日期: 2024-06-05)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.017

论著·基础

荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠 lncRNAs、mRNAs 表达的影响和生物学功能分析

马晓聪, 谢家诚, 黎敏航, 崔引航, 罗伟生

基金项目: 国家自然科学基金项目(82160834); 广西自然科学基金青年科学基金项目(2021GXNSFBA075020); 广西中医药大学“岐黄工程”高层次人才团队培育项目(2021005)

作者单位: 530011 南宁, 广西中医药大学附属瑞康医院

通信作者: 罗伟生, E-mail: 4011188@qq.com



【摘要】目的 基于高通量测序技术探讨荔枝核总黄酮(TFL)对肝纤维化大鼠差异 lncRNAs、mRNAs 表达的影响及其生物学功能分析。**方法** 2021 年 4—7 月于广西中医药大学实验动物中心进行实验, 建立肝纤维化大鼠模型, 将大鼠随机分为对照组(Control, $n = 6$)、模型组(Model, $n = 7$)和荔枝核总黄酮组(TFL, $n = 7$), TFL 组大鼠给予 TFL $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 干预 6 周。采用 HE 和 Masson 染色观察肝脏组织纤维化改变, ELISA 法测定血清透明质酸酶(HA)、IV 型胶原(IV-C)、层黏连蛋白(LN)、III 型前胶原(PC-III), RNA-seq 高通量测序技术筛选 Model 和 TFL 组差异表达 lncRNAs 和 mRNAs, cis 方式预测差异表达 lncRNAs 靶基因, GO 和 KEGG 对各差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 进行生物学功能富集分析。**结果** 纤维化评分比较, Model 组 > TFL 组 > Control 组 ($F = 14.420, P < 0.001$), 大鼠血清 HA、LN、IV-C 和 PC-III 水平比较, Model 组 > TFL 组 > Control 组 ($F = 47.055, 74.655, 177.328, 54.445, P$ 均 < 0.001)。共筛选出 Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNAs 73 个(上调 43 个, 下调 30 个), Model 组与 TFL 组差异表达 mRNAs 261 个(上调 150 个, 下调 111 个), 采用 cis 方式共预测到 Model 与 TFL 组 24 个靶基因; 差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 的生物学富集功能分析显示 TFL 通过参与昼夜节律、谷胱甘肽代谢泛醌、戊糖磷酸途径等信号通路发挥抗肝纤维化的作用。**结论** TFL 能够明显改善大鼠纤维化组织病理学形态, 降低血清 HA、IV-C、LN、PC-III 含量, 其作用机制可能与调控特定差异 lncRNAs 和 mRNAs 表达, 参与昼夜节律、谷胱甘肽代谢泛醌、戊糖磷酸途径等信号通路有关。

【关键词】 肝纤维化; 荔枝核总黄酮; 长链非编码 RNA; 基因表达; 生物信息学; 大鼠**【中图分类号】** R285.5; R575.2**【文献标识码】** A

Analysis of the effects of total flavonoids on differential lncRNAs and mRNAs based on high-throughput sequencing technology Ma Xiaocong, Xie Jiacheng, Li Minhang, Cui Yinhang, Luo Weisheng. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Guangxi Province, Nanning 530011, China

Funding program: National Natural Science Foundation of China(82160834); Youth Science Foundation of Guangxi Natural Science Foundation(2021GXNSFBA075020); Qhuang Project High-level Talent Team Cultivation Project, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine (2021005)

Corresponding author: Luo Weisheng, E-mail: 4011188@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of Total Flavonoids from Litchi Seed on the expression of differential lncRNAs and mRNAs in liver fibrosis rats using high-throughput sequencing technology and to analyze its biological functions. **Methods** Experiments was conducted at the experimental animal center of Guangxi University of Chinese Medicine from April 2021 to July 2021. A rat model of liver fibrosis was established, with rats randomly assigned to the control group (Control), model group (Model), and Total Flavonoids from Litchi Seed group (TFL). The TFL group was administered $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ of TFL for a total of 6 weeks. HE and Masson staining were used to observe liver tissue fibrosis changes. Serum levels of hyaluronidase (HA), type IV collagen (IV-C), laminin (LN), and type III procollagen (PC III) were measured using ELISA. RNA-seq high-throughput sequencing technology was used to identify differentially expressed lncRNAs and mRNAs between the Model and TFL groups. The cis method was used to predict target genes of differentially expressed lncRNAs. GO and KEGG analyses were conducted for biological function enrichment of the differentially expressed

lncRNAs target genes and mRNAs. **Results** Compared with the Model group, the TFL group exhibited a significant decrease in liver fibrosis score ($F=14.420, P<0.001$) and serum levels of HA, IV-C, LN, and PC-III ($F=47.055, 74.655, 177.328, 54.445, P<0.001$). A total of 73 differentially expressed lncRNAs (43 up-regulated, 30 down-regulated) were identified between the Model and TFL groups, along with 261 differentially expressed mRNAs (150 up-regulated, 111 down-regulated). Using the cis method, 24 target genes were predicted between the Model and TFL groups. Biological function enrichment analysis indicated that TFL plays an anti-liver fibrosis role by participating in signaling pathways such as circadian rhythm, glutathione metabolism, ubiquinone, and pentose phosphate. **Conclusion** TFL significantly improved the pathological morphology of fibrotic tissue in rats, reduced serum levels of HA, IV-C, LN, and PC-III, and exerted an anti-liver fibrosis effect. The mechanism of action may involve regulating the expression of specific differential lncRNAs and mRNAs and participating in signaling pathways such as circadian rhythms, glutathione metabolism, ubiquinone, and pentose phosphate.

【Key words】 Liver fibrosis; Total flavonoids from litchi chinensis seed; Long chain non-coding RNA; Gene expression; Bioinformatics; Rats

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是肝组织细胞外基质过度增生与沉积导致肝脏结构异常的疾病,可能演变为肝硬化和肝癌,目前缺乏特效药物。荔枝核总黄酮(total flavone from Litchi Chinensis Sonn, TFL)是一种抗 HF 有效成分,通过多个靶点和信号通路抑制 HF。长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA)在肝纤维化中发挥重要作用,但其作用机制尚需深入研究。本研究采用 RNA-seq 技术研究 HF 大鼠及 TFL 干预后肝组织中的 lncRNAs 和 mRNAs 表达,结合生物信息学方法揭示 TFL 抗 HF 的可能机制,报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物:SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只,体质量(220 ± 10)g,饲养于 SPF 级动物实验室,温度 $20 \sim 26$ °C,湿度 40% ~ 70%;实验大鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物许可证号 SCXK(湘)2019-0004,动物实验经广西中医药大学实验动物伦理委员会审批(DW2022014-005)。

1.1.2 实验药品、试剂:(1)药物:TFL 由广西中医药大学药学院药剂教研室提供,其原料荔枝核购于南宁市万药堂药物有限公司,经广西中医药大学药学鉴定为无患子科植物荔枝属荔枝 Litchi chinensis 的干燥成熟种子。参照冯宇等^[1]提取 TFL 的方法。(2)试剂:CCl₄(天津市恒兴化学试剂制造有限公司,货号:20190901);TRIZOL(赛默飞世尔科技有限公司,货号:15596018);特级初榨橄榄油(山东鲁花集团有限公司,货号:GB/T23347);大鼠透明质酸(HA)ELISA 试剂盒(货号:MM-0511R1)、大鼠层黏连蛋白(LN)ELISA 试剂盒(货号:MM-0852R1)、大鼠 IV 型胶原酶(IV-C)ELISA 试剂盒(货号:MM-61483R1)、大鼠 III 型前胶原蛋白(PC III)ELISA 试剂盒(货号:MM-20645R1),均购自江苏酶免实业有限公司。

1.1.3 实验仪器:ST16R 台式高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技公司),Milli-Q IQ7000 超纯水系统(法国默克公司),HM355S 全自动石蜡切片机(赛默飞世尔科技公司),Histocentre3 组织包埋机(赛默飞世尔科技公司),CKX41 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司),Epoch 酶标仪(美国伯腾仪器有限公司),Agilent 2100 Bioanalyzer 生物分析仪(美国安捷伦公司),ABI StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 系统(美国应用生物系统公司)。

1.2 动物造模与分组 于 2021 年 4—7 月在广西中医药大学实验动物中心进行实验。大鼠适应喂养 1 周后,参照课题组前期 HF 大鼠模型制备方法制备模型^[2],按照 CCl₄:橄榄油 = 4:6 配置 40% CCl₄ 溶液。造模方法:大鼠皮下注射 40% CCl₄,剂量为 0.3 ml/kg,每 3 日 1 次;每次皮下注射前称取各大鼠体质量,根据大鼠体质量调整 CCl₄ 溶液剂量;造模时间 8 周,造模期间观察大鼠毛发、神态、动作、饮食和生存情况。造模 8 周后,随机选取 3 只大鼠采集肝脏组织进行 Masson 染色,镜下随机选取视野观察肝脏组织病理学形态以判定模型是否成功。

将造模成功的大鼠 14 只随机分为模型组(Model 组)、荔枝核总黄酮组(TFL 组),每组 7 只,取正常大鼠 6 只作为空白对照组(Control 组)。给药剂量参照课题组前期研究^[2],TFL 组按 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃给药,共给药 6 周,均在相同时间段内维持大鼠体内血药浓度相对稳定,每 2 日称取大鼠体质量调整给药剂量。Control 组和 Model 组正常饲养。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 标本采集:大鼠末次灌胃结束后,禁食水 8 h,采用 4% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉取血,4 °C 下离心留取血清,保存于 -80 °C 冰箱待测。采血完毕后,从大鼠肝缘起向内(即中央汇

管区)剪出一小长条组织,分段剪开放入冻存管中,立即投入液氮中保存,采集结束后转移到 -80°C 冰箱待后续测序,剩余肝脏组织用4%多聚甲醛固定保存用于病理学形态检测。

1.3.2 肝组织纤维化评分:将甲醛固定的肝脏组织石蜡包埋,连续切片厚 $5\ \mu\text{m}$,然后用苏木精-伊红(HE)和 Masson 三色染色法对样本进行染色,研究肝脏组织学形态和纤维化变化。肝组织纤维化评分标准^[3]:0分,无纤维化;1分,汇管区纤维性扩大,但无纤维间隔形成;2分,汇管区纤维性扩大,少数纤维间隔形成;3分,多数纤维间隔形成,但无硬化结节;4分,肝硬化。

1.3.3 肝组织纤维化指标检测:上述血清采用 ELISA 方法检测各组大鼠血清 HA、LN、IV-C 和 PCⅢ含量,严格按照试剂盒说明书操作。

1.3.4 高通量 lncRNAs 和 mRNAs 测序:在 Model 组和 TFL 组中随机选取 3 只大鼠冻存的肝脏组织,提取总 RNA 并使用 Fragment Analyzer (Standard Sensitivity RNA Analysis Kit (15nt) (DNF-471)) 对总 RNA 浓度、RIN/RQN、28S/18S 检测。构建 lncRNA 文库,使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测文库的插入片段范围,同时使用 ABI StepOnePlusReal-Time PCR System (Taq-Man Probe) 对文库进行浓度的定量。检测合格的文库,加入 NaOH 变性成单链,按照预期上机数据量,稀释至一定的上机浓度。变性稀释后的文库加入到 FlowCell 内,与 FlowCell 上的接头杂交,在 cBot 上完成桥式 PCR 扩增,最后在 Illumina 测序系统进行上机测序;测序数据使用 <https://github.com/BGI-flexlab/SOAPnuke> 进行过滤,去除包含接头的 reads (接头污染),去除未知碱基 N 含量大于 5% 的 reads,去除低质量的 reads,过滤后的“Clean Reads”保存为 FASTQ 格式。

1.3.5 差异表达 lncRNAs 和 mRNAs 基因筛选及差异表达 lncRNAs 靶基因预测:通过 DESeq2 软件分析并鉴定差异表达基因 (DEGs),以 $\log_2\text{FC} > 1$ 和 Q 值 < 0.05

被认为是显著上调, $\log_2\text{FC} < 1$ 和 Q 值 < 0.05 被认为是显著下调,确定差异表达 lncRNA 和 mRNA 基因;本研究采用顺式 (cis) 方式通过位置关系预测差异 lncRNA 上下游 100 bp 的 mRNA 作为靶基因,通过对靶基因的功能富集分析,从而预测 lncRNA 的主要功能。

1.3.6 差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 的 GO 和 KEGG 富集分析:采用 GO 分析对差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 进行功能富集分析。从基因参与的生物学过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和涉及的分子功能 (molecular function, MF) 三方面进行 GO 功能注释,确定差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 的主要生物学功能;KEGG 数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 对差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 进行信号通路富集分析,确定差异表达 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 参与的生物学信号通路。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件分析处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- q 检验;采用 Mann-Whitney 检验各组间纤维化程度的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组大鼠肝脏组织病理学变化比较 HE 染色和 Masson 染色观察大鼠肝脏组织病理学形态并评估其纤维化评分。Control 组大鼠的肝脏组织样本显示完整的小叶结构,中央静脉清晰,肝索呈放射状,无坏死、炎症反应或纤维沉积;Model 组部分区域可见肝细胞排列紊乱,小叶结构破坏,间质内明显可见炎性细胞浸润,汇管区周围可见明显蓝紫色的纤维化染色,纤维间隔形成,但未完全包绕小叶,为典型肝纤维化病理表现;TFL 组炎性渗出、纤维间隔较 Model 组减少,小叶结构紊乱也有所恢复。纤维化评分 Model 组高于 TFL 组高于 Control 组 ($F = 14.420, P < 0.001$),见图 1~3。

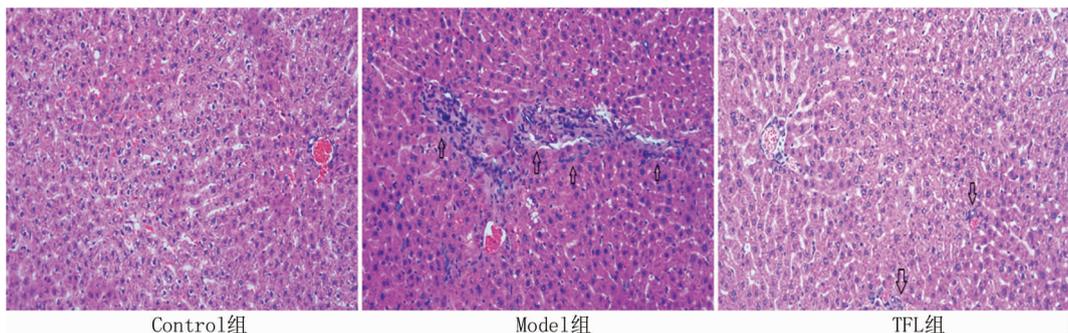


图 1 3 组大鼠肝组织纤维化程度比较 (HE 染色, $\times 100$)

Fig. 1 Comparison of the degree of liver fibrosis in three groups of rats (HE staining, $\times 100$)

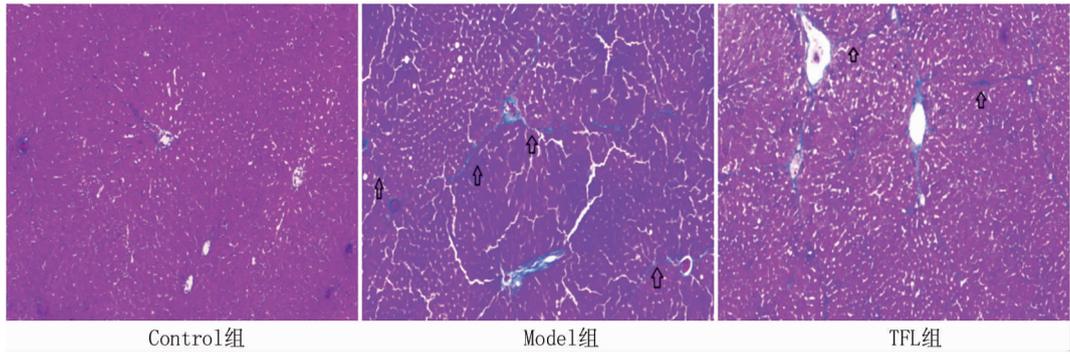
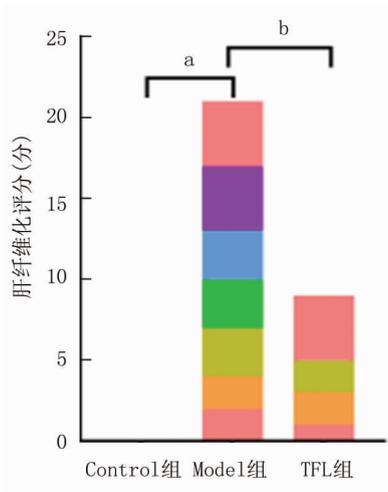


图 2 3 组大鼠肝组织纤维化程度比较 (Masson 染色, ×100)

Fig. 2 Comparison of the degree of liver fibrosis in three groups of rats (Masson staining, ×100)



注: Control 组大鼠肝组织纤维化评分为 0 分。与 Control 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 Model 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 3 3 组大鼠肝组织纤维化程度评分比较图

Fig. 3 Comparison of fibrosis degree scores of liver tissue in three groups of rats

2.2 3 组大鼠血清 HA、LN、IV-C 和 PC III 水平比较
大鼠血清 HA、LN、IV-C 和 PC III 水平 Model 组 > TFL 组 > Control 组 (P 均 < 0.01), 见表 1。

2.3 Model 组、TFL 组大鼠肝脏之间的转录组差异
提取总 RNA 并进行测序, 以揭示 Model 组与 TFL

组之间肝脏组织 lncRNA 和 mRNA 基因表达模式, 分别构建差异表达 lncRNA 和 mRNA 的聚类分析热图和火山图。其中, Model 组与 TFL 组比较, lncRNAs 差异表达共 73 个, 其中上调 43 个, 下调 30 个; mRNAs 差异表达共 261 个, 其中上调 150 个, 下调 111 个, 见图 4。

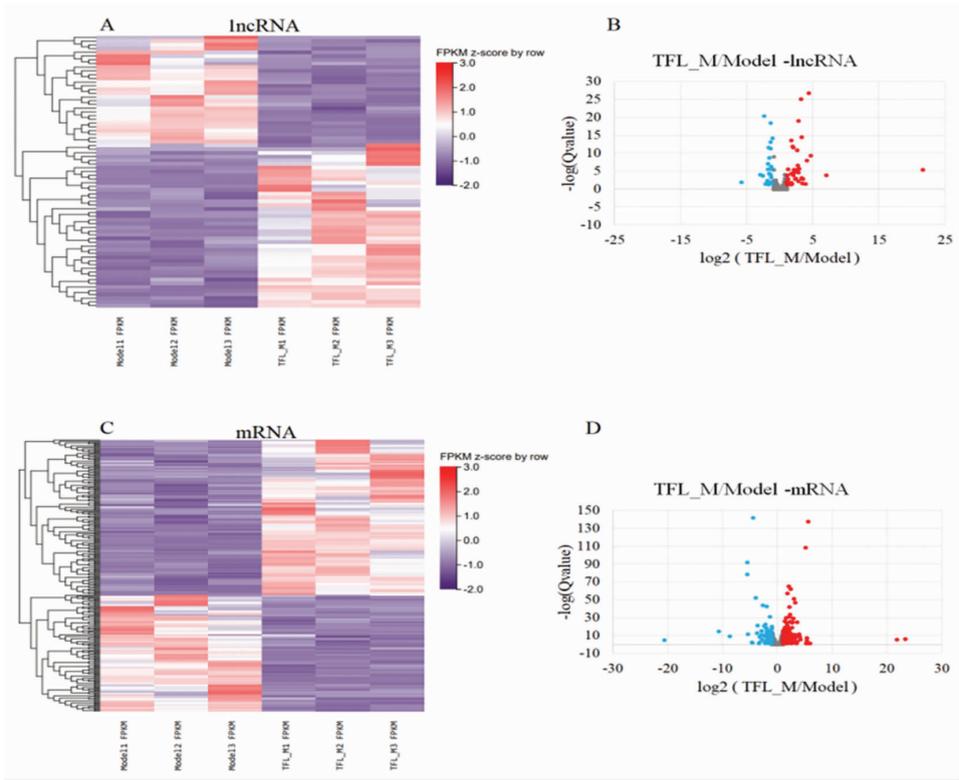
2.4 差异表达 lncRNAs 靶基因预测 通过位置关系, 即 cis 方式预测到 Model 组与 TFL 组 23 个靶基因, 靶基因数量及靶基因预测结果见表 2。

2.5 lncRNA 的潜在分子机制分析 为了进一步揭示 TFL 组治疗后的潜在分子机制, 通过对 lncRNA 靶基因进行 GO 分析, 发现差异表达 lncRNAs 靶基因参与 166 个 BP ($P < 0.05$), 其中显著富集 (Q 值 ≤ 0.05) 的 BP 有 125 个, 主要参与肾脏发育、平滑肌细胞迁移的正调控、肾小球系膜发育等 BP; 参与 26 个 CC, 主要包括溶酶体、胞浆、滑面内质网膜等; 参与 43 个分子功能 MF, 其中显著富集 (Q 值 ≤ 0.05) 的 MF 有 26 个, 包括血小板衍生生长因子激活相关受体活性、果糖-1-磷酸醛缩酶活性和甲酸四氢叶酸连接酶活性等。KEGG 分析发现差异表达 lncRNAs 靶基因富集在昼夜节律、叶酸形成碳库、戊糖磷酸途径、果糖和甘露糖代谢 4 条信号通路, 见图 5 (只列排名前 10 的生物学进程)。

表 1 3 组大鼠血清 HA、LN、IV-C、PC III 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum levels of HA, LN, IV-C, and PC III in three groups of rats

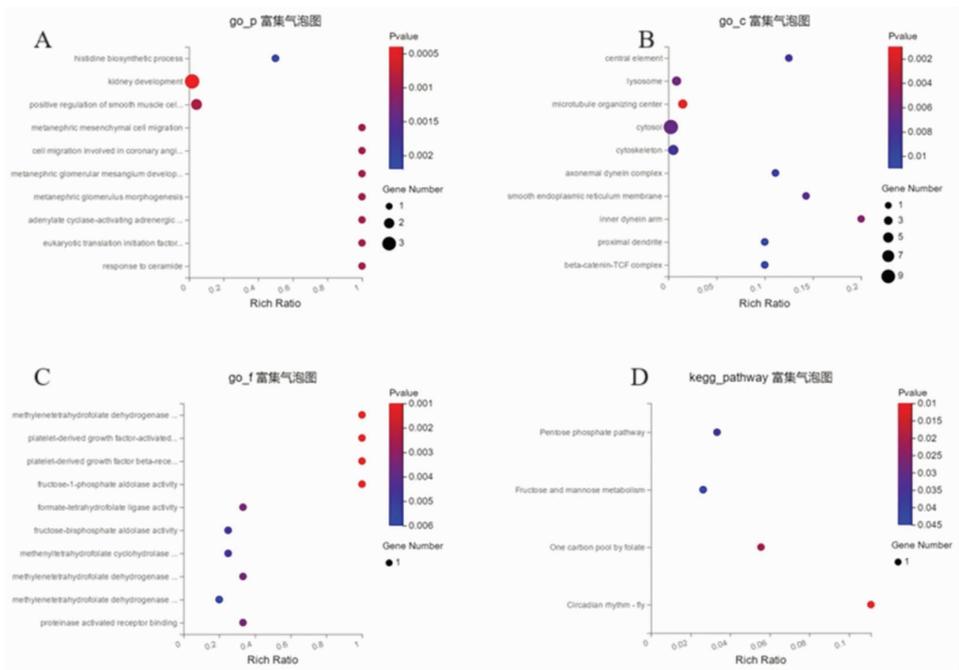
组别	n	HA (ng/L)	LN (μg/L)	IV-C (μg/L)	PC III (μg/L)
Control 组	6	404.85 ± 13.18	411.27 ± 15.76	6.47 ± 0.23	34.92 ± 1.60
Model 组	7	484.93 ± 17.25	509.47 ± 9.32	8.84 ± 0.11	44.94 ± 1.36
TFL 组	7	435.01 ± 14.31	458.61 ± 17.32	7.57 ± 0.30	40.25 ± 2.11
F 值		47.055	74.655	177.328	54.445
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001



注:A. Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNA 基因聚类分析热图;B. Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNA 基因火山图;C. Model 组与 TFL 组差异表达 mRNA 基因聚类分析热图;D. Model 组与 TFL 组差异表达 mRNA 基因火山图。

图 4 Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNAs 和 mRNAs 表达聚类热图和火山图

Fig. 4 Cluster heatmap and volcano plot of differential expression of lncRNAs and mRNAs between Model group and TFL group



注:A. Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNAs 靶基因 GO 富集中生物学过程图;B. GO 富集中细胞组分富集图;C. GO 富集中分子功能富集图;D. 差异表达的 lncRNA 靶基因 KEGG 的富集图。

图 5 Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNAs 靶基因 GO 和 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 5 Bubble plot of GO and KEGG enrichment analysis of differential expression of lncRNAs target genes between Model group and TFL group

表 2 Model 组与 TFL 组差异表达 lncRNAs 靶基因预测结果

Tab. 2 Prediction results of differentially expressed lncRNAs target genes between the Model group and TFL group

序号	基因符号	转录本 ID	类型	靶基因
1	LOC100909928	URS0000B24FE7; XR_353567.2	down	LOC108350772
2	LOC100910424	XR_594153.2	down	Pdcd6ip
3	LOC102547807	URS0000B2C19F; URS0000B2CA6A; XR_001842366.1; XR_001842367.1; XR_361964.3; XR_597303.2	up	LOC100909916
4	LOC102548271	XR_350628.3	up	Spon1
5	LOC102551726	XR_356366.3	up	Tle3
6	LOC102554269	XR_001838802.1; XR_001838803.1; XR_001838804.1; XR_001838805.1	up	Tmcc3
7	LOC102554669	URS0000B29310; XR_595259.2	down	Bri3
8	LOC102555188	XR_354013.3	down	Aldob
9	LOC102555480	XR_001842117.1; XR_361407.3; XR_597025.2	up	Pdgfrb
10	LOC102555570	XR_001839949.1	up	Tgif1;RGD1563667
11	LOC102555894	XR_354920.2	up	Mthfd1
12	LOC103691262	XR_590538.1	down	Syce1
13	LOC103693416	XR_594855.2	down	Hlf
14	LOC103693766	XR_001841406.1; XR_596252.2	up	Klfl2
15	LOC108350024	XR_001836737.1	down	Kenab1
16	LOC108350210	XR_001836982.1	up	Pde4d
17	LOC108350522	XR_001837367.1	down	Sulf2
18	LOC108351556	XR_001839051.1	down	Eif4b;Tns2
19*		URS0000B2B0B1	up	Vom2r7
20*		URS0000B21E2E	up	Btg1
21*		URS0000B30FF4	up	Dnah7

注：* 为新基因。

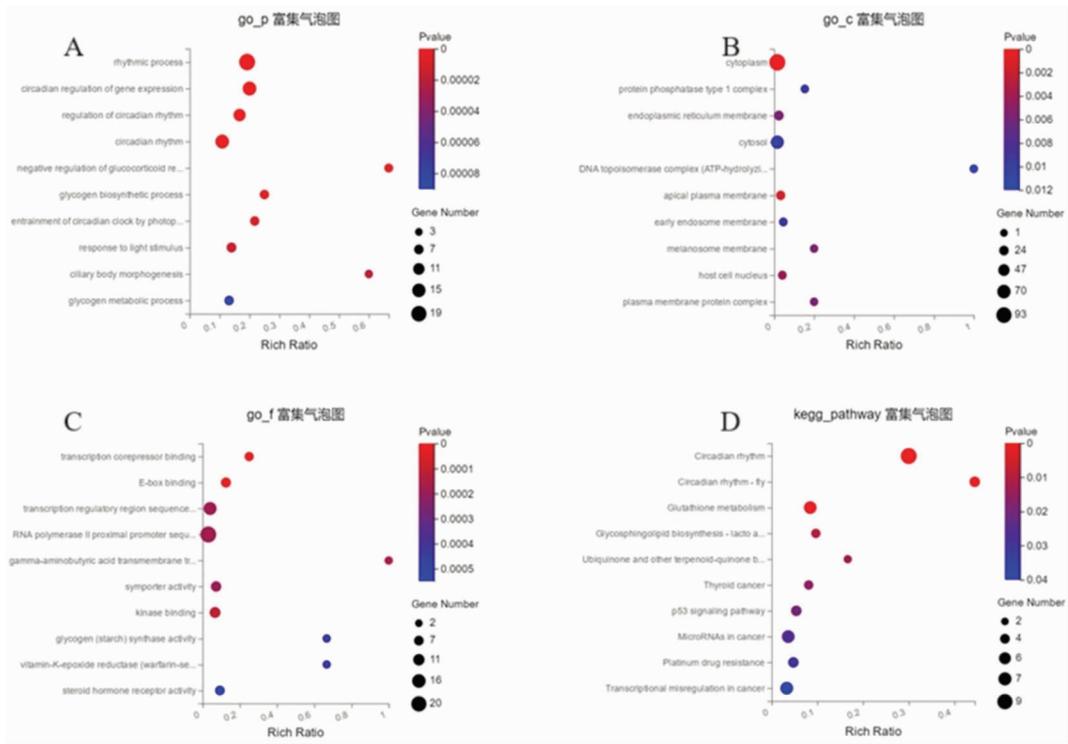
2.6 差异表达 mRNAs 的 GO 和 KEGG 富集分析

GO 分析发现 Model 组与 TFL 组差异表达 mRNAs 参与 397 个 BP ($P < 0.05$), 其中显著富集 (Q 值 ≤ 0.05) 的 BP 有 20 个, 主要包括节律过程、昼夜节律调节和糖皮质激素受体信号通路的负调控等 BP; 参与 51 个 CC ($P < 0.05$), 主要包括细胞质、顶端质膜和宿主细胞核等; 参与 165 个 MF, 其中显著富集 (Q 值 ≤ 0.05) 的 MF 有 12 个, 主要包括转录辅抑制因子结合、激酶结合、 γ -氨基丁酸跨膜转运蛋白活性等; KEGG 分析发现差异表达 mRNAs 富集在 15 条信号通路, 其中显著富集 (Q 值 ≤ 0.05) 的信号通路有 3 条, 主要包括昼夜节律、谷胱甘肽代谢泛醌和其他萜类醌生物合成, 见图 6 (只列排名前 10 的生物学进程和信号通路)。

3 讨论

本研究对 TFL 缓解 HF 进程进行了分析, 发现 TFL 可减缓 HF 进程, 降低炎症反应。TFL 组中低表达的 Tns2 和 Hlf 通过磷酸化进程延缓 HF 进程。RNA-seq 发现 73 个差异 lncRNA 和 261 个差异 mRNA, 差异表达基因主要富集于昼夜节律信号通路, 呈现出影响 HF 的潜在基因和调控网络。在 lncRNA 转录本中注释在血小板衍生生长因子激活相关受体活性、昼夜节律、戊糖磷酸途径的 23 种靶基因, 包括 Hlf、Eif4b 和 Tns2 相关基因。

HF 进程是一个高度协调的过程, 涉及极其复杂的信号调节网络。已发现包括 mRNA、miRNA 和 lncRNA 在内的多种分子通过多种信号通路以各种方



注:A. Model 组与 TFL 组差异表达 mRNAs 的 GO 富集中生物学过程图;B. GO 富集中细胞组分富集图;C. GO 富集中分子功能富集图;D. 差异表达 mRNAs 的 KEGG 富集图。

图 6 Model 组与 TFL 组差异表达 mRNAs 的 GO 和 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 6 Bubble plot of GO and KEGG enrichment analysis of differentially expressed mRNAs between the Model group and TFL group

式参与肝纤维化。如 LncRNA-ATB 可通过竞争性结合 miR-425-5p 激活肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC), 增加 I 型胶原产生来促进 HCV 诱导的 HF 发生。同时, LncRNA-MEG8 在活化的 HSC、损伤的肝细胞和 HF 组织中过表达, MEG8 可通过抑制 Notch 通路进而抑制肝细胞的 HSC 活化和 EMT 过程, 具有抗纤维化的作用^[4]。LncRNA-Gm5091 对乙醇诱导的 HSC 激活和炎症反应产生负调控作用, Gm5091/miR-27b/23b/24 可以减轻酒精性肝纤维化^[5]。通过 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 生物学功能分析表明, 昼夜节律信号通路在 TFL 干预前后均显著富集, 说明昼夜节律信号通路是 lncRNAs 介导 TFL 抗 HF 作用的重要靶点。许多证据表明昼夜节律的破坏是多种脏器从器质性损伤到纤维化的关键分子机制^[6-9], 肝脏正常状态下以昼夜节律的方式表达多种基因, 不同的基因功能受昼夜节律的直接或间接控制^[10], 通过生物信息学分析发现了在转录水平上控制肝脏中昼夜节律动力学的调节结构^[11]。

本研究发现 Clock、Cry2、Per1、Per2、Per3 和 Arntl 等基因显著富集在昼夜节律信号通路。HF 小鼠表现出日常节律的紊乱, 且其昼夜节律信号通路上的时钟

基因 Clock 和 Cry2 以及 2 个重要的时钟调节基因 PPAR- α 和 Cyp450 mRNA 水平显著降低; 胆汁淤积型大鼠长期暴露于完全黑暗环境可抑制胆道增生和 HF, 这与时钟基因 Per1、BMAL1、Clock 和 Cry1 在肝细胞和胆管细胞中的表达下调相关^[12-13]。酒精性肝损伤昼夜节律基因表达分析表明损伤程度与肝脏昼夜节律基因 Per1 的变异有关。Per2 基因也是肝脏昼夜节律系统的重要组成部分, Per2 可能通过调节小鼠 Cyp1A2 的表达, 在醋氨酚 (APAP) 诱导的肝毒性的日变化中发挥作用, Per2 表达下调会激活 HSC, 并通过 TRAIL-R2/DR5 途径抑制 HSC 的凋亡, 从而促进 HF。TGF- β /Smads 依赖的转录信号是 HF 发展过程中重要的细胞内介质, Smad3 在小鼠肝脏中以昼夜节律方式表达, 这取决于 Clock 与 Blml 的比值^[14-17]。时钟基因 Bmal1/Arntl 通过 IDH1/ α -kg 介导的糖酵解抑制 HF 中 HSC 的表型转化, 从而抑制 HF。由此可见昼夜节律信号通路的相关蛋白与 HF 密切相关, 而通过影响时钟基因的表达, 也可以对 HF 起到改善作用^[18-20]。当前研究中医药通过调控昼夜调节信号通路基因治疗 HF 的报道较少, 这也为下一步研究提供了思路。

综上所述, 本研究初步发现 TFL 对 HF 大鼠肝脏

组织差异 lncRNAs 和 mRNAs 表达谱的影响,推测 TFL 通过调控特定差异 lncRNAs 和 mRNAs 表达水平发挥抗肝纤维化的作用,这些 lncRNAs 靶基因和 mRNAs 涉及诸多生物学过程和信号通路,为后续的研究提供了新思路。后续研究将深入筛选关键差异表达 lncRNAs 和 mRNAs 并分析其作用机制,对其生物学功能所富集的信号通路上下游基因、蛋白调控机制进行分子生物学层面的验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马晓聪、谢家诚:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;黎敏航、罗伟生:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;崔引航:实施研究过程,资料搜集整理,统计分析

参考文献

[1] 冯宇,刘雪梅,罗伟生,等.大孔树脂纯化荔枝核总黄酮工艺研究[J].中草药,2019,50(9):2087-2093. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2019.09.012.

[2] 冯茵怡,严炯艺,夏星,等.荔枝核总黄酮对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的影响及作用机制和潜在 Q-marker 的预测[J].中国中药杂志,2020,45(23):5722-5731. DOI:10.19540/j.cnki.cjmm.20200720.401.

[3] 吴彬彬,徐小琴,顾星星,等.脂肪肝诊断中 ElastPQ 弹性成像技术检测肝硬度与肝纤维化评分及 FIB-4 指数的相关性分析[J].肝脏,2024,29(1):73-76. DOI:10.3969/j.issn.1008-1704.2024.01.022.

[4] Chen T, Lin H, Chen X, et al. LncRNA Meg8 suppresses activation of hepatic stellate cells and epithelial-mesenchymal transition of hepatocytes via the Notch pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020,521(4):921-927. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.11.015.

[5] Zhou B, Yuan W, Li X. LncRNA Gm5091 alleviates alcoholic hepatic fibrosis by sponging miR-27b/23b/24 in mice[J]. Cell Biol Int, 2018,42(10):1330-1339. DOI:10.1002/cbin.11021.

[6] 蒋云霞,罗伟生,蔡碧莲,等.荔枝核总黄酮对大鼠 HSC-T6 差异表达蛋白的筛选及生物信息学分析[J].时珍国医国药,2021,32(4):776-779. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2021.04.03.

[7] Giri A, Wang Q, Rahman I, et al. Circadian molecular clock disruption in chronic pulmonary diseases[J]. Trends Mol Med, 2022,28(6):513-527. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.383.

[8] Chen L, Xia S, Wang F, et al. m(6)A methylation-induced NR1D1 ablation disrupts the HSC circadian clock and promotes hepatic fibrosis[J]. Pharmacol Res, 2023,189:106704. DOI:10.1016/j.phrs.

2023.106704.

[9] 吴智煌.肝纤维化分子机制的研究进展[J].疑难病杂志,2023,22(4):445-448. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.04.021.

[10] Qu M, Zhang G, Qu H, et al. Circadian regulator BMAL1; CLOCK promotes cell proliferation in hepatocellular carcinoma by controlling apoptosis and cell cycle[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023,120(2):e2214829120. DOI:10.1073/pnas.2214829120.

[11] González-Fernández B, Sánchez DI, Crespo I, et al. Melatonin attenuates dysregulation of the circadian clock pathway in mice with CCl₄ (4)-induced fibrosis and human hepatic stellate cells[J]. Front Pharmacol, 2018,9:556. DOI:10.3389/fphar.2018.00556.

[12] Costa R, Mangini C, Domenie ED, et al. Circadian rhythms and the liver[J]. Liver Int, 2023,43(3):534-545. DOI:10.1111/liv.15501.

[13] 沈云海,付明生,刘秀平,等.n-3 多不饱和脂肪酸对大鼠酒精性脂肪肝炎炎症反应及肝纤维化的影响[J].疑难病杂志,2020,19(2):180-183,189. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.02.016.

[14] Xu L, Yang TY, Zhou YW, et al. Bmal1 inhibits phenotypic transformation of hepatic stellate cells in liver fibrosis via IDH1/α-KG-mediated glycolysis[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022,43(2):316-329. DOI:10.1038/s41401-021-00658-9.

[15] Zheng W, Chen C, Chen S, et al. Integrated analysis of long non-coding RNAs and mRNAs associated with peritendinous fibrosis[J]. J Adv Res, 2019,15:49-58. DOI:10.21203/rs.3.rs-38693/v1.

[16] 邓威,陈倩.不同病因肝纤维化治疗的研究进展[J].疑难病杂志,2021,20(9):957-962. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.09.022.

[17] 刘玮,连晶晶,李洁.恩替卡韦联合治疗对慢性乙型肝炎患者炎症反应、肝功能及肝纤维化的影响[J].临床误诊误治,2019,32(1):35-39. DOI:10.3969/j.issn.1002-3429.2019.01.009.

[18] 喻雪飞,李理,郑林鑫,等.博来霉素诱导小鼠肺纤维化中差异表达的 mRNA 及其与 lncRNA 的共表达网络关系[J].南方医科大学学报,2021,41(1):39-46. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2021.01.05.

[19] 刘梦,李志峰,冯宇,等.荔枝核化学成分的分离与鉴定[J].中草药,2019,50(15):3593-3597. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2019.15.012.

[20] Peng H, Wan LY, Liang JJ, et al. The roles of lncRNA in hepatic fibrosis[J]. Cell Biosci, 2018,8:63. DOI:10.1186/s13578-018-0259-6.

(收稿日期:2024-04-17)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.018

论著·基础

水蛭素对缺氧诱导心脏微血管内皮细胞间质转分化的作用及机制研究

刘依, 尹玉洁, 韩宁馨, 贾振华



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81973692)

作者单位: 050017 石家庄, 河北医科大学研究生学院(刘依、韩宁馨、贾振华); 石家庄, 络病研究与创新中药国家重点实验室(尹玉洁、贾振华); 石家庄, 国家中医药管理局重点研究室(心脑血管络病)(尹玉洁、贾振华); 石家庄, 河北省中西医结合医药研究院(尹玉洁、贾振华)

通信作者: 贾振华, E-mail: jzhjiazhenhua@163.com

【摘要】 目的 探讨通络药物水蛭素对缺氧诱导的人心脏微血管内皮细胞(HCMECs)间质转分化(EndMT)的作用及可能机制。方法 取常规培养的 HCMECs 细胞, 随机分为对照组、缺氧组、水蛭素组(包括 0、20、40、80、100 $\mu\text{g/ml}$ 5 个浓度)。对照组常规培养不做任何处理, 缺氧组置入低氧培养箱 72 h, 水蛭素组预加入 Hirudin 工作液, 4 h 后置入低氧培养箱 72 h。MTS 比色法检测 HCMECs 增殖能力; 倒置显微镜观察 HCMECs 形态; 免疫荧光鉴定 HCMECs 间质转分化情况, Western-blot 检测内皮间质转分化相关蛋白: 包括内皮细胞标记血小板-内皮细胞黏附分子(PECAM-1/CD31)、血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)、间质细胞标记 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、成纤维细胞特异性蛋白-1(FSP-1), 以及低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、Smad 同源物 2/3(Smad2/3)、锌指转录因子(snail)等相关信号通路的蛋白表达。结果 MTS 法检测显示, 缺氧显著抑制细胞活性($P < 0.01$), 水蛭素在 20 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内可提高细胞活性, 且呈现浓度依赖性, 当浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 时细胞活性最强($P < 0.01$)。各组细胞培养 72 h 后, 倒置显微镜下观察发现: 对照组细胞呈铺路石样或鹅卵石状结构, 缺氧组细胞由鹅卵石状结构变为分散的长梭形, 接近成纤维细胞形态, 水蛭素组长梭形细胞形态明显改善, 细胞恢复鹅卵石样。Western-blot 与免疫荧光结果显示: 与对照组比较, 缺氧组 CD31、VE-cadherin 蛋白水平降低($P < 0.01$), 且 vWF 表达减少, α -SMA、FSP-1 蛋白水平升高($P < 0.01$), 且 vimentin 表达增强; 与缺氧组比较, 水蛭素明显增加 CD31、VE-cadherin 蛋白表达($P < 0.01$), 并增强 vWF 表达, 下调 α -SMA、FSP-1 蛋白表达($P < 0.01$), 并减弱 vimentin 表达; 与对照组相比, 缺氧组信号通路 HIF-1 α 、TGF- β_1 、p-smad2/3、snail 蛋白表达均升高($P < 0.01$), 与缺氧组比较, 水蛭素下调 HIF-1 α 、TGF- β_1 、p-smad2/3、snail 蛋白表达($P < 0.01$)。结论 水蛭素可以改善缺氧诱导的 HCMECs 细胞发生 EndMT, 其机制可能与调控 HIF- α /TGF- β_1 /smad/snail 通路有关。

【关键词】 水蛭素; 缺氧; 人心脏微血管内皮细胞; 内皮间质转分化; 信号通路; 作用机制**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A

Effect and mechanism of hirudin on hypoxia induced interstitial transdifferentiation of cardiac microvascular endothelial cells Liu Yi*, Yin Yujie, Han Ningxin, Jia Zhenhua. * Graduate School of Hebei Medical University, Hebei Province, Shijiazhuang 050017, China

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81973692)

Corresponding author: Jia Zhenhua, E-mail: jzhjiazhenhua@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect and possible mechanism of the drug hirudin on hypoxia induced human microvascular endothelial cells (HCMECs) mesenchymal transition (EndMT). **Methods** HCMECs cells cultured conventionally were randomly divided into control group, Hypoxia group and Hirudin group. The control group was routinely cultured without any treatment. The hypoxic group was placed in a hypoxic incubator for 72h, and the Hirudin group was pre-added with Hirudin working solution, and then placed in a hypoxic incubator for 72h after 4h. The proliferation capacity of HCMECs was detected by MTS colorimetry. The morphology of HCMECs was observed by inverted microscope. Immunofluorescence identification of HCMECs interstitial trans differentiation, Western Blot detection of endothelial interstitial trans differentiation related proteins: Endothelial cells labeled platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM-1/CD31)

and vascular endothelial cadherin (VE-cadherin), and stromal cells labeled α smooth muscle actin (α -SMA) and fibroblast specific protein 1 (FSP-1). And the expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α), transforming growth factor β_1 (TGF- β_1), Smad homology 2/3 (Smad2/3), Zinc finger transcription factor (snail) related signaling pathways. **Results** MTS showed that hypoxia significantly inhibited cell activity ($P < 0.01$), and the cell activity was strongest when hirudin concentration was 100 $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0.01$). After 72h of cell culture in each group, the cells in the control group showed a pave-like or pebble-like structure under an inverted microscope, while the cells in the hypoxic group changed from pebble-like structure to dispersed long spindle shape, close to the shape of fibroblasts. Western Blot and immunofluorescence results showed: Compared with the normal group, the protein levels of CD31 and VE cadherin in hypoxia group were decreased ($P < 0.01$), and the expression of vWF was decreased. α -SMA and FSP-1 protein levels increased ($P < 0.01$) and vimentin expression was enhanced. Compared with hypoxia group, hirudin significantly increased the expression of CD31 and VE-cadherin ($P < 0.01$), enhanced the expression of vWF, and down-regulated α -SMA. The expression of FSP-1 protein ($P < 0.01$) decreased the expression of vimentin. Compared with the control group, hypoxic group of TGF- β_1 , HIF-1 α , p smad2/3, snail protein expression ($P < 0.01$) were higher, than to the hypoxia group, Cut HIF-1 α , hirudin TGF- β_1 , p smad2/3, snail protein expression ($P < 0.01$). **Conclusion** Hirudin can improve hypoxia induced EndMT in HCMECs cells, and the mechanism may be related to HIF- α /TGF- β_1 /smad/snail pathway.

【Key words】 Hirudin; Hypoxia; Human heart microvascular endothelial cells; Endothelial mesenchymal transdifferentiation; Signal pathway; Mechanism

心肌纤维化 (myocardial fibrosis, MF) 是心脏在缺血缺氧、炎症反应、代谢紊乱、心脏负荷过度等损伤下形成的病理变化^[1], 以心脏细胞外基质过量沉积、心室壁硬度增加、心室顺应性降低、心肌收缩或舒张功能障碍为主要特征, 与心功能不全的严重程度及不良预后密切相关^[2]。研究发现, 心肌梗死小鼠内皮细胞呈现 CD31⁺ PDGFR β ⁺ 特征, 内皮细胞标志物减少且成纤维细胞标志物增加^[3], 证实内皮间质转分化 (endothelial-mesenchymal transition, EndMT) 为肌成纤维细胞重要来源, 并参与心肌梗死后心肌纤维化。因此, 有效干预 EndMT 是预防和治疗心肌纤维化及心力衰竭另一重要举措。

虫类化瘀通络药是络病学说指导治疗微血管病变的代表, 清代叶天士曾高度评价虫类化瘀通络药物“凡病久入络, 血瘀凝滞, 草木之药不能深入细别络内之邪者, 皆可选用虫类通络”, 指出其“追拔沉混气血之邪”的独特疗效, 不同于丹参、赤芍等草木类活血化瘀药物。现代研究证实虫类药水蛭主要活性成分水蛭素 (hirudin) 具有抗凝、抗血小板活化、抗氧化应激、抑制炎症反应、调节脂代谢、保护血管内皮细胞及抑制心肌纤维化的作用^[4-9]。但其是否通过保护内皮细胞发挥调控 EndMT 的作用尚未可知, 本研究以缺氧诱导的人心脏微血管内皮细胞 (HCMECs) 为模型, 探讨水蛭素对缺氧诱导 HCMECs 发生 EndMT 的干预作用及其相关潜在机制, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞: HCMECs, 购于上海中乔新舟生

物科技有限公司。(2) 药品及试剂: 水蛭素浓缩液购于上海源叶生物科技有限公司 (纯度 $\geq 95\%$, 批号 S31625); BCA 蛋白浓度检测试剂盒购于上海碧云天生物公司; 内皮细胞专用培养基 (ECSM, 含 25 ml 胎牛血清、5 ml 内皮细胞生长因子、5 ml 青霉素/链霉素溶液), 购于上海中乔新舟生物科技有限公司; 鼠抗人 beta-Actin 购于武汉赛维尔生物科技有限公司; 兔抗人 vimentin 和鼠抗人 CD31 (PECAM-1) 购于美国 CST 公司; 兔抗人血管内皮钙黏蛋白 (VE-cadherin)、成纤维细胞特异性蛋白-1 (FSP-1)、鼠抗人低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、兔抗人转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、兔抗人 Smad 同源物 2/3 (smad2/3)、兔抗人锌指转录因子 (snail) 均购于美国 abcam 公司; 兔抗人 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、鼠抗人 vWF 购于美国 Proteintech 公司; 兔抗人 p-smad2/3 购于北京博奥森公司; 山羊抗兔 IgG H&L、山羊抗鼠 IgG H&L 均购于美国 abcam 公司; 山羊抗兔 IgG H&L (DyLight[®] 488)、山羊抗鼠 IgG H&L (DyLight[®] 594) 均购于美国 Proteintech 公司。(3) 仪器设备: Forma371 细胞培养箱、CO₂ 细胞培养箱 (美国 Thermo Scientific 公司); 多功能酶标仪 (美国 BioTek 公司); Odyssey 双色红外线成像仪 (美国 Li-COR 公司); 激光共聚焦显微镜 (德国 ZEISS 公司)。

1.2 细胞培养及分组处理 2023 年 1—6 月于河北以岭医药研究院进行实验。HCMECs 细胞接种于含 5% 胎牛血清的完全培养基中培养。显微镜下观察细胞生长至 80% 左右予以传代, 本实验用 6~7 代。取对数生长期的 HCMECs 细胞接种于 6 孔板中并分为

对照组、缺氧组及水蛭素组:对照组给予含 5% 胎牛血清的完全培养基培养,不做其余处理;缺氧组将含 5% 胎牛血清的完全培养基更换为无血清培养基,水蛭素组将含 5% 胎牛血清的完全培养基更换为含 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 水蛭素的无血清培养基,后 2 组均于 4 h 后置入 1% O_2 、5% CO_2 、95% N_2 、37 $^\circ\text{C}$ 的低氧培养箱中培养 72 h^[10]。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 MTS 法检测水蛭素对缺氧诱导 HCMECs 细胞生存活性影响:使用无血清培养基将水蛭素配制成 0、20、40、80、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度工作液,加入 96 孔细胞培养板,置于低氧培养箱中培养 72 h,MTS 法检测不同浓度水蛭素对缺氧诱导 HCMECs 细胞活性的影响,并筛选药物最佳作用浓度开展后续实验。

1.3.2 免疫荧光双染法鉴定 EndMT:将对数生长期的 HCMECs 以密度为 1×10^5 个/ml 接种于 3.5 cm 玻璃底培养皿中,待细胞贴壁后(24 h)给予各组细胞相应处理并继续培养 72 h。取出培养皿后,DPBS 清洗 1 次,4% 多聚甲醛固定 15 min,DPBS 清洗后 0.25% TrintonX-100 通透 5 min,DPBS 清洗,山羊血清室温封闭 1 h,加入鼠抗人 vWF(1:100)、兔抗人 vimentin(1:100)一抗共染,4 $^\circ\text{C}$ 过夜。DPBS 清洗后加入山羊抗鼠 IgG H&L (DyLight[®] 594) 和山羊抗兔 IgG H&L (DyLight[®] 488) 荧光二抗混合物(1:500)避光室温孵育 1 h。避光条件下,DAPI 核染 5 min,后用 ZEISS 激光共聚焦扫描显微镜进行检测。

1.3.3 Western-blot 检测 EndMT 相关蛋白及相关通路蛋白表达水平:各组细胞进行相应处理 72 h 后提取相应蛋白。BCA 蛋白定量试剂盒测定各组蛋白浓度并制样。各组取 30 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,后将蛋白转移至 PVDF 膜上。封闭液室温封闭 1 h,后分别加入鼠抗人 CD31、 β -actin,兔抗人 VE-cadherin、 α -SMA、FSP-1、HIF-1 α 、TGF- β_1 、p-smad2/3、smad2/3、snail、Tubulin 一抗(稀释比例均为 1:1 000),于 4 $^\circ\text{C}$ 冰箱过夜孵育。1 \times TBST 洗 3 次(10 min/次)后加入山羊抗兔 IgG H&L 与山羊抗鼠 IgG H&L 二抗(稀释比例 1:10 000)37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h。Odyssey 双色红外激光成像仪扫描图像,以 β -actin 和 Tubulin 作为内参,分析目的蛋白条带并进行统计分析。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 27.0 统计软件进行分析。符合正态分布计量数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;方差不齐组间两两比较采用 Dunnett's T3 法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学

意义。

2 结果

2.1 水蛭素对缺氧诱导的 HCMECs 活性的影响 MTS 法检测水蛭素对缺氧诱导 HCMECs 细胞活性的影响。结果显示,缺氧组 HCMECs 细胞活性显著低于对照组($P < 0.01$);与缺氧组比较,水蛭素在 20 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内可增加细胞活性,且呈现浓度依赖性,当水蛭素浓度在 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时显著增加细胞活性(分别为 60.23% 和 64.28%, $P < 0.01$),提示水蛭素对缺氧诱导的 HCMECs 损伤具有保护作用,见表 1。因此选择 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 水蛭素用于后续体外实验研究。

表 1 水蛭素对缺氧诱导的 HCMECs 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effects of hirudin on hypoxia induced HCMECs cell activity

组别	<i>n</i>	剂量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	细胞活性
对照组	6	-	100.00 \pm 0.00
缺氧组	6	-	54.68 \pm 3.67 ^a
水蛭素组	6	20	55.26 \pm 1.76
	6	40	57.28 \pm 3.92
	6	80	60.23 \pm 3.07 ^b
	6	100	64.28 \pm 4.42 ^b

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与缺氧组比较,^b $P < 0.01$ 。

2.2 形态学观察水蛭素对缺氧诱导的 HCMECs 的影响 光学显微镜观察 HCMECs 细胞形态变化,对照组呈鹅卵石样紧密排列,呈典型内皮细胞样形态;缺氧组呈长梭形、不规则多边形、大小不一,与肌成纤维细胞类似;水蛭素干预后,细胞形态明显好转,长梭形细胞明显减少。表明水蛭素可逆转缺氧诱导的 HCMECs 形态变化,见图 1。

2.3 水蛭素对缺氧诱导的 HCMECs 细胞 EndMT 的影响 采用免疫荧光双染法检测内皮细胞标志物 vWF 与间质细胞标志物 vimentin 表达,结果发现,缺氧组 vWF 表达明显减少,vimentin 表达明显增加;水蛭素组 vWF 表达明显增加,vimentin 表达明显减少,证实水蛭素能够改善缺氧诱导 HCMECs 细胞发生 EndMT,见图 2。

2.4 水蛭素对内皮细胞标志物 CD31、VE-cadherin 及间质细胞标志物 α -SMA、FSP-1 蛋白表达的影响 Western-blot 法检测发现,与对照组比较,缺氧组内皮细胞标志物 CD31、VE-cadherin 蛋白表达显著降低($P < 0.01$),间质细胞标志物 α -SMA、FSP-1 蛋白表达显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);与缺氧组相比,水蛭素组 CD31、VE-cadherin 蛋白表达显著升高($P < 0.01$), α -SMA、FSP-1 蛋白表达显著降低($P < 0.01$),见图 3、表 2。

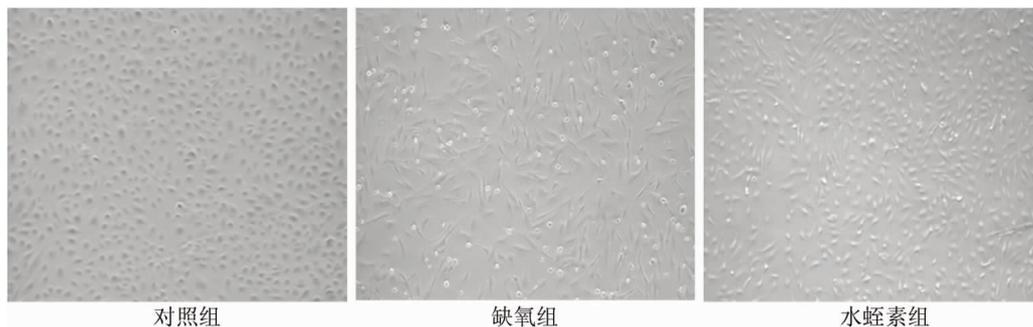
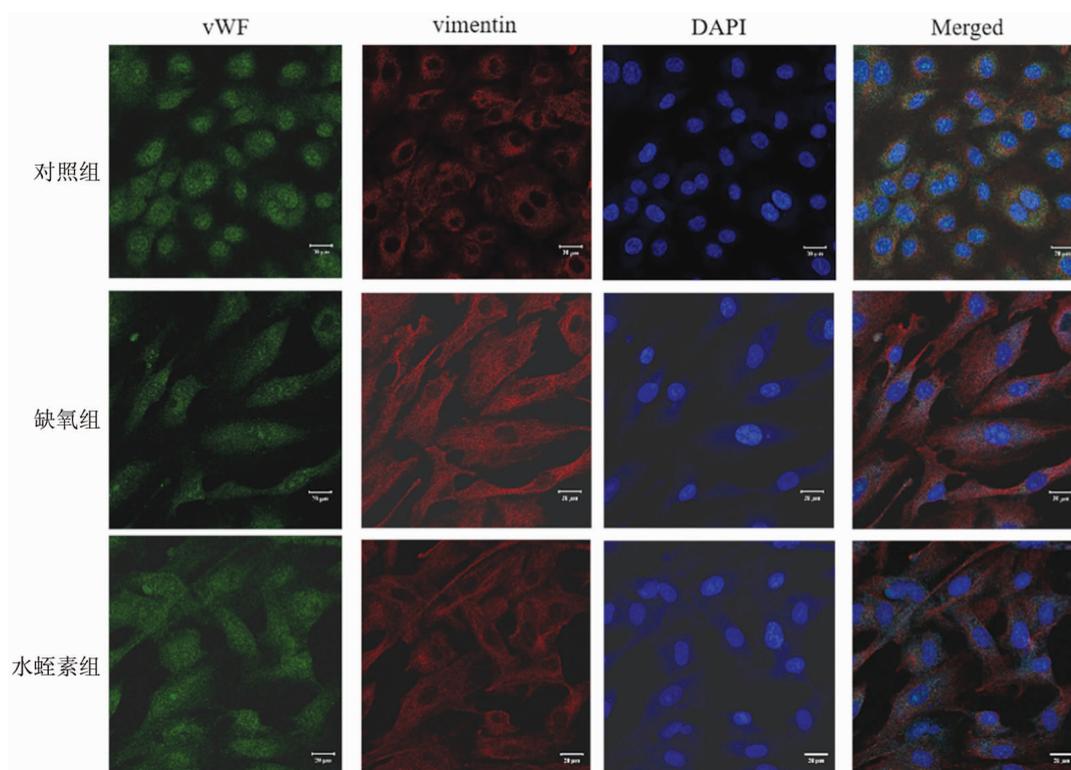


图 1 水蛭素对缺氧诱导的 HCMECs 细胞形态变化的影响

Fig. 1 The effect of hirudin on the morphological changes of HCMECs cells induced by hypoxia



注:绿色代表 vWF 阳性表达细胞;红色代表 vimentin 阳性表达细胞;蓝色代表 DAPI 染色的细胞核。

图 2 水蛭素对缺氧诱导的 EndMT 中 vWF 和 vimentin 表达的影响

Fig. 2 The effect of hirudin on the expression of vWF and vimentin in hypoxia induced EndMT

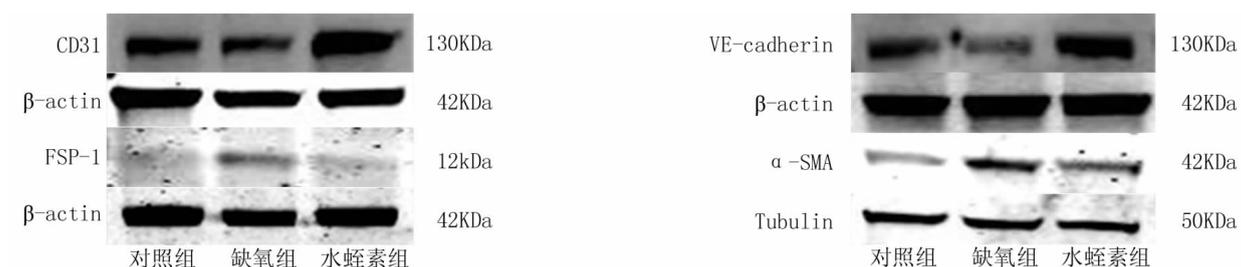


图 3 水蛭素对缺氧诱导的 CD31、VE-cadherin、FSP-1 和 α -SMA 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effects of hirudin on the expression of CD31, VE-cadherin, FSP-1, and α -SMA proteins induced by hypoxia

2.5 水蛭素对 HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail 信号通路的影响 Western-blot 法检测水蛭素对 HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail 通路相关蛋白表达的影响,与对照组相比,缺氧组 HCMECs 细胞 HIF-1 α 、TGF- β_1 、p-smad2/3、smad2/3、snail 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与缺氧组相比,水蛭素组 HIF-1 α 、p-smad2/3、smad2/3、TGF- β_1 、snail 相关蛋白表达显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。结果表明:缺氧成功激活 HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail 信号通路,水蛭素可抑制 HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail 信号通路相关蛋白表达,见图 4、表 3。

3 讨论

EndMT 被认为是包括 MF 在内的多种心血管疾病重要的病理生理环节^[11]。近年来,EndMT 对 MF 的作用受到越来越多的关注。研究发现,在心脏高压力负

荷小鼠模型中,大约 30% 成纤维细胞来源于内皮细胞,同时 EndMT 明显加重了心脏高压力负荷小鼠的病理性心肌纤维化病程。以往关于心脏 EndMT 的研究主要集中在体内和体外的人冠状动脉内皮细胞 (HCAECs) 或人脐静脉内皮细胞 (HUVECs),而对 HCMECs 研究较少^[12-13]。缺血性心脏疾病、糖尿病性心肌病和晚期心力衰竭患者中易出现 HCMECs 功能障碍,心肌供血减少,使心脏处于低氧的微环境,血管内皮细胞从血管分离,迁移到血管周围间隙或心脏间质组织,丢失内皮细胞标志物 VE-cadherin、CD-31、vWF 等,上调间质细胞标志物 α -SMA、Vimentin、FSP-1 等^[14],并获得间充质表型,增殖产生大量细胞外间质 (ECM) 沉积在血管周围和间质组织,导致心脏组织结构 and 功能障碍,供血进一步减少,恶化缺氧环境。研究发现,缺氧诱导 TGF- β 自分泌机制上调转录因子 snail,

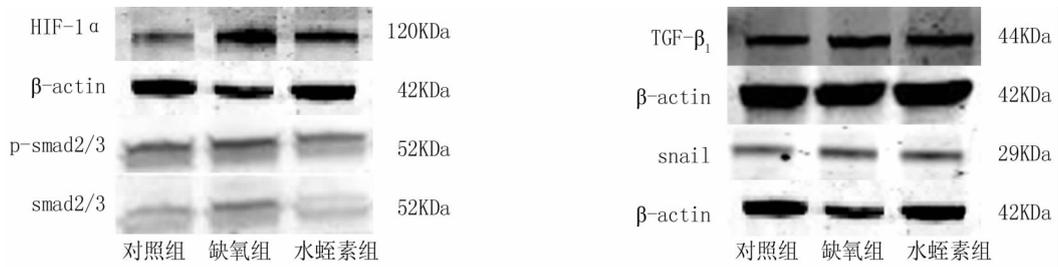


图 4 水蛭素对 HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail 信号通路相关蛋白表达的影响

Fig. 4 The effect of hirudin on the expression of proteins related to the HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail signaling pathway

表 2 水蛭素对缺氧诱导的 CD31、VE-cadherin、FSP-1 和 α -SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effects of hirudin on the expression of CD31, VE cadherin, FSP-1, and α -SMA proteins induced by hypoxia

组别	n	CD31	VE-cadherin	α -SMA	FSP-1
对照组	3	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
缺氧组	3	0.69 \pm 0.11 ^a	0.44 \pm 0.15 ^a	1.43 \pm 0.10 ^a	2.66 \pm 1.05 ^b
水蛭素组	3	1.93 \pm 0.24 ^c	0.76 \pm 0.40 ^c	0.92 \pm 0.18 ^c	0.72 \pm 0.25 ^c
F 值		54.801	21.183	15.127	22.454
P 值		<0.001	0.002	0.005	0.002

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与缺氧组比较,^c $P < 0.01$ 。

表 3 水蛭素对 HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effects of hirudin on the expression of proteins related to the HIF-1 α /TGF- β_1 /smad/snail signaling pathway

组别	n	HIF-1 α	TGF- β_1	p-smad2/3	snail
对照组	3	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
缺氧组	3	4.51 \pm 0.87 ^a	1.29 \pm 0.07 ^a	1.70 \pm 0.14 ^b	2.78 \pm 1.03 ^b
水蛭素组	3	1.48 \pm 0.18 ^c	0.87 \pm 0.09 ^d	1.14 \pm 0.12 ^d	1.33 \pm 0.21 ^d
F 值		41.076	32.761	23.975	131.043
P 值		<0.001	0.001	0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与缺氧组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$ 。

进而诱导 EndMT^[15]。因此,本实验构建了体外缺氧 72 h 诱导的 EndMT 模型,在缺氧条件下,HCMECs 的生存活性显著下降,间质细胞标志物 α -SMA、FSP-1、vimentin 表达上调,内皮细胞标志物 CD31、VE-cadherin、vWF 表达显著减少,表明缺氧严重损伤了 HCMECs,诱导了 EndMT。

HIF-1 α 是缺氧条件下细胞生存所必须的转录因子,研究发现缺氧通过 HIF-1 α 激活调节 EndMT 的转录因子 snail 刺激人冠状动脉内皮细胞 EndMT^[12]。HIF-1 α 在哺乳动物和细胞对缺氧的反应中起着关键作用^[16],也是诱导 EndMT 的关键介质。TGF- β 及其信号通路的激活是导致纤维化的主要因素,也是内皮细胞 EndMT 的公认信号通路^[8]。TGF- β /smad 通过与 HIF-1 α 相互作用,形成 smad-HIF-1 α 复合物,改变 TGF- β 的功能^[17]。在人冠状动脉内皮细胞中,HIF-1 α 和 TGF β RI/smard2/3 通过转录因子 snail 协同调节缺氧诱导的 EndMT^[18]。此外,HIF-1 α 激活经典的 TGF β RI/smard2/3 信号,最终促进辐射诱导的 EndMT^[19]。然而,HIF-1 α /TGF- β ₁/smad/snail 信号在低氧诱导的 EndMT 中的作用尚未完全阐明。本实验中,缺氧处理的 HCMECs 中 HIF-1 α 和 TGF- β ₁ 显著上调,TGF- β ₁ 下游通路 p-smad2/3、smad2/3、snail 均显著上调。因此,缺氧激活了 HIF-1 α /TGF- β ₁/smad/snail 信号通路。

络脉学说提出气虚血瘀是 AMI 基本病机^[20],但对 AMI 后 MF 病机尚缺乏深入阐述。《灵枢·百病始生》指出“虚邪之中人也,始于皮肤,……留而不去,传舍于肠胃之间,募原之间,留著于脉,稽留不去,息而成积,或著孙脉,或著络脉”,指出病邪不仅导致了络脉自身病变,又在此基础上继发了脏腑组织病变,导致“络息成积”。因此提出“气虚血瘀,络塞积成”是 AMI 后 MF 重要病机特点^[21-22]。这一过程与缺血缺氧损伤心脏微血管内皮细胞,进而通过 EndMT 转化为具有间充质表型细胞,发挥成纤维细胞作用,受损心肌区域过度沉积 ECM,继而发生 MF、脏器扩大等病理过程高度吻合。因此,EndMT 既是 AMI 后 MF 的关键病理环节,又是“孙络—微血管”损伤后“络塞积成”的促发因素。

络病理论认为,营卫不通血凝不流,血脉相传壅塞不通,败血凝痰,混处经络,病根深伏,属沉痾痼疾,非丹参、赤芍等一般草木活血化瘀药所能取效。必借虫类蠕动之力,啖血之性,走窜攻冲,搜剔络中混处之瘀浊。张仲景应用“飞者升,走者降,能搜剔血络,攻积除坚,用于络病痰瘀交结之痼疾”的虫类药搜剔化瘀

通络,清代叶天士继承并发扬了张仲景虫药之治“结聚血分成形,仲景有缓攻通络之法可宗”。水蛭作为虫类药的代表之一,以其破血逐瘀、搜风剔络之功效,在多种纤维化疾病的防治过程中发挥了独特的优势作用^[23-24]。水蛭素为水蛭的主要活性成分及药用成分,发挥了水蛭大部分药理作用,具有抗凝、抗血栓、抗血小板活化及调节脂质代谢、抑制炎症反应和氧化应激、保护内皮细胞及抗动脉粥样硬化等作用^[25]。有研究证实,水蛭素抑制单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠肾组织及 TGF- β 诱导的炎症反应、调节 EMT 相关蛋白、减少肾小管上皮细胞凋亡从而抑制肾组织和肾小管上皮细胞纤维化^[26]。课题组前期研究发现,通心络作为络脉学说指导防治血管病变的代表药物,有效抑制 AMI 后 EndMT 及心肌纤维化^[27-28],色谱特征指纹图谱显示水蛭素为通心络的重要化学成分^[29],可能在抑制 EndMT、减轻心肌纤维化中发挥重要作用。本实验证实,水蛭素能够增强缺氧条件下内皮细胞 CD31、VE-cadherin 蛋白表达,抑制间质细胞 α -SMA、FSP-1 蛋白表达,从而抑制 EndMT,保护心脏内皮细胞。综上所述,水蛭素对 HCMECs 具有保护作用,有效改善了缺氧诱导的 EndMT,其机制与调控 HIF-1 α /TGF- β ₁/smad/snail 通路有关,为水蛭素作为治疗心肌纤维化的潜在药物提供了有力证据。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘依:实施研究过程,文章撰写;尹玉洁:资料搜集整理,论文审核;韩宁馨:数据收集、分析,协助文章审阅;贾振华:课题设计,论文审核

参考文献

- [1] Tallquist MD, Cardiac fibroblast diversity [J]. *Annu Rev Physiol*, 2020, 82: 63-78. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021119-034527.
- [2] 李丽, 吴立玲. 心脏间质细胞在心肌纤维化中的作用机制及研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(8): 652-660. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2021.08.002.
- [3] Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis [J]. *Nat Med*, 2007, 3(8): 952-961. DOI: 10.1038/nm1613.
- [4] Trabold K, Makhoul S, Gambaryan S, et al. The direct thrombin inhibitors dabigatran and lepirudin inhibit GPIIb/IIIa-mediated platelet aggregation [J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119: 916-929. DOI: 10.1055/s-0039-1685139.
- [5] Chapman K, Favalaro EJ. Time dependent reduction in platelet aggregation using the multiplate analyser and hirudin blood due to platelet clumping [J]. *Platelets*, 2018, 29: 305-308. DOI: 10.1080/09537104.2017.1384540.
- [6] Hao W, Zhang HY, Chen J, et al. Hirudin protects against isoproterenol-induced myocardial infarction by alleviating oxidative via an Nrf2

- dependent manner [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162 : 425-435. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.06.097.
- [7] Han JR, Pang XX, Zhang YG, et al. Hirudin protects against kidney damage in streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats by inhibiting inflammation via P38 MAPK/NF- κ B pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14 : 3223-3234. DOI:10.2147/DDDT.S257613.
- [8] 王敏, 崔连群, 王晓军, 等. 水蛭素对凝血酶诱导血管内皮细胞与中性粒细胞表达黏附分子的影响 [J]. *中国新药杂志*, 2005, 14 (8) : 989-991. DOI:10.3321/j.issn:1003-3734.2005.08.013.
- [9] Yu CX, Wang WM, Jin X, Hirudin protects Ang II -induced myocardial fibroblasts fibrosis by inhibiting the extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24 : 6264-6272. DOI:10.12659/MSM.909044.
- [10] Yin YJ, Zhang Q, Zhao QF, et al. Tongxinluo attenuates myocardial fibrosis after acute myocardial infarction in rats via inhibition of endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019 : 6595437. DOI:10.1155/2019/6595437.
- [11] Maddaluno L, Rudini N, Cuttano R, et al. EndMT contributes to the onset and progression of cerebral cavernous malformations [J]. *Nature*, 2013, 498 : 492-496. DOI:10.1038/nature12207.
- [12] Xu XB, Tan XY, Tampe B, et al. Snail is a direct target of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF1alpha) in hypoxia-induced endothelial to mesenchymal transition of human coronary endothelial cells [J]. *Biol Chem*, 2015, 290 : 16653-16664. DOI: 10.1074/jbc.M115.636944.
- [13] Lee SW, Won JY, Kim WJ, et al. Snail as a potential target molecule in cardiac fibrosis; Paracrine action of endothelial cells on fibroblasts through snail and CTGF axis [J]. *Molecular therapy: The journal of the American Society of Gene Therapy*, 2013, 21 (9) : 1767-1777. DOI:10.1038/mt.2013.146.
- [14] Bischoff J. Endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Circ Res*, 2019, 124 (8) : 1163-1165. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.314813.
- [15] Zou J, Liu YH, Li BG, et al. Autophagy attenuates endothelial-to-mesenchymal transition by promoting Snail degradation in human cardiac microvascular endothelial cells [J]. *Bioscience Reports*, 2017, 37 (5) : BSR20171049. DOI:10.1042/BSR20171049.
- [16] Semenza GL. HIF-1, O(2), and the 3 PHDs: how animal cells signal hypoxia to the nucleus [J]. *Cell*, 2001, 107 (1) : 1-3. DOI:10.1016/S0092-8674(01)00518-9.
- [17] Huang YW, Chen ZC, Lu T, et al. HIF-1 α switches the functionality of TGF- β signaling via changing the partners of smads to drive glucose metabolic reprogramming in non-small cell lung cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40 : 398. DOI:10.1186/s13046-021-02188-y.
- [18] Xu XB, Tan XY, Hulshoff MS, et al. Hypoxia-induced endothelial-mesenchymal transition is associated with RASAL1 promoter hypermethylation in human coronary endothelial cells [J]. *FEBS Lett*, 2016, 590 : 1222-1233. DOI:10.1002/1873-3468.12158.
- [19] Good RB, Gilbane AJ, Trinder SL, et al. Endothelial to mesenchymal transition contributes to endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Pathol*, 2015, 185 : 1850-1858. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.03.019.
- [20] 尹玉洁, 张倩, 王亚芬, 等. 基于络病学说探析心肌梗死后心肌纤维化 [J]. *天津中医药*, 2019, 36 (5) : 421-425. DOI:10.11656/j.issn.1672-1519.2019.05.03.
- [21] 王康, 常丽萍, 尹玉洁, 等. 基于络病学说指导的急性心肌梗死后心肌纤维化中医病机及临床治疗探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27 (12) : 189-195. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211047.
- [22] 李红蓉, 贾振华, 魏聪, 等. 络病学说指导调和营卫气血治疗络病变方药数据挖掘及用药规律分析 [J]. *疑难病杂志*, 2019, 18 (1) : 80-85. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.01.019.
- [23] 王家兴, 任桐. 水蛭及其活性成分治疗脏器纤维化研究进展 [J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47 (5) : 213-216. DOI:10.13192/j.issn.1000-1719.2020.05.064.
- [24] 国家中医药管理局重大疑难疾病 (急性心肌梗死) 中西医临床协作试点项目组, 通心络防治急性 ST 段抬高型心肌梗死心肌无再流专家共识编制组. 中药通心络防治急性 ST 段抬高型心肌梗死心肌无再流中国专家共识 (2022 年) [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21 (7) : 675-682. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.07.002.
- [25] Jun RC, Xiao FX, Hui QZ, et al. Pharmacological activities and mechanisms of hirudin and its derivatives - a review [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12 : 660757. DOI:10.3389/fphar.2021.660757.
- [26] Xie Y, Lan F, Zhao J, et al. Hirudin improves renal interstitial fibrosis by reducing renal tubule injury and inflammation in unilateral ureteral obstruction (UUO) mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81 : 106249. DOI:10.1016/j.intimp.2020.106249.
- [27] Yin Y, Zhang Q, Zhao Q, et al. Tongxinluo attenuates myocardial fibrosis after acute myocardial infarction in rats via inhibition of endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019 : 6595437. DOI:10.1155/2019/6595437.
- [28] 袁国强, 常成成, 张凤虹, 等. 通心络防治急性心肌梗死再灌注后无再流研究进展 [J]. *疑难病杂志*, 2023, 22 (2) : 208-211. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2023.02.019.
- [29] 吴以岭. 络论 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2010.

(收稿日期: 2024 - 02 - 25)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.019

络病论坛

基于络病学说探讨儿童感染后闭塞性细支气管炎的发病与防治

卢志远,汪受传

基金项目: 国家中医药管理局全国名中医传承工作室建设项目(国中医药人教发[2018]119号)

作者单位: 210029 南京,南京中医药大学附属医院

通信作者: 汪受传, E-mail: wscnj@njucm.edu.cn



【摘要】 络病理论是研究内伤杂病及外感重症中的络病病机状态及辨证治疗的学术理论。儿童感染后闭塞性细支气管炎的发病机制符合中医络病学的理论内涵。小儿体虚,肺络疏薄,营卫失和为发病之本;外邪入里,肺气郁闭,痰瘀阻络为致病之机;余邪未尽,气阴耗伤,肺络受损为再病之根。通过总结临床经验,结合中医学治未病的学术思想,从络病学说探讨儿童感染后闭塞性细支气管炎的分期防治。

【关键词】 儿童感染后闭塞性细支气管炎;络病学说;治未病;发病机制;分期防治

【中图分类号】 R272 **【文献标识码】** A

Exploration of the pathogenesis and prevention and treatment of post infectious bronchiolitis obliterans in children based on collaterals disease theory Lu Zhiyuan, Wang Shouchuan. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Province, Nanjing 210029, China

Funding program: National Famous Traditional Chinese Medicine Inheritance Studio Construction Project of the State Administration of Traditional Chinese Medicine (Guozhong Medicine Renjiaofa [2018] No. 119)

Corresponding author: Wang Shouchuan, E-mail: wscnj@njucm.edu.cn

【Abstract】 Collaterals disease theory is an academic theory that studies the state of pathogenesis in miscellaneous diseases due to internal injury and severe exogenous diseases and the treatment based on syndrome differentiation. The pathogenesis of post infectious bronchiolitis obliterans in children conforms to the theoretical connotation of collaterals disease theory. Children's physical weakness, thinning of the lung collaterals and disharmony of nutrient qi and defensive qi are the root of the disease; exogenous pathogenic factors that enters the interior, the depressed lung qi and phlegm and blood stasis blocking collaterals are the disease-causing mechanism; the unresolved pathogenic factors, the undamaged qi and yin and the injury to the lung's collaterals are the root of the reoccurrence. Combined with the academic idea of preventive treatment of disease, the staging prevention and treatment of post infectious bronchiolitis obliterans is discussed in terms of Collaterals disease theory.

【Key words】 Post infectious bronchiolitis obliterans in children; Collaterals disease theory; Preventive treatment of disease; Pathogenesis; Staging prevention and treatment

闭塞性细支气管炎(bronchiolitis obliterans, BO)是指多种病因导致细支气管损伤后启动了炎症反应和纤维化过程,从而导致管腔部分或完全闭塞所致的慢性气流受限综合征,临床表现为持续或反复咳嗽、喘息、呼吸急促、呼吸困难、运动不耐受^[1-3]。下呼吸道感染所引起的感染后闭塞性细支气管炎(post infectious bronchiolitis obliterans, PIBO)是儿童 BO 最常见的形式,腺病毒和肺炎支原体感染是最常见病原和高危因素^[4-8]。目前儿童 PIBO 的西医治疗准则尚不明确,也缺少标准的治疗方法,然而其预后多取决于是否及时诊断及治疗,不可逆的气道阻塞一旦形成,则无有效的治疗措施。病程初期多采取糖皮

质激素全身应用,但也存在治疗无反应的可能和明显的不良反应。支气管肺泡灌洗对早期 PIBO 理论有效,但疗效并不确切,故亦不推荐为常规治疗手段。络病学说指导下内伤杂病及外感重症的诊疗已有多年,但应用于儿科疾病的研究尚不多见。本文结合中医学治未病的学术思想,从络病学说探讨儿童感染后闭塞性细支气管炎的发病机制与分期防治。

1 络病学说的理论内涵

络病是广泛存在于内伤杂病和外感重症中的病机状态,络病学说是研究其发生发展规律及辨证治疗的学术理论^[9]。诚如《医门法律·络脉论》所言,“十二经脉,前贤论之详矣,而络

脉则未之及,亦缺典也。”络病辨证在历代医籍虽有散在记载,但未形成完整体系。吴以岭致力于研究络病学说四十余载,构建外(体表阳络)一中(肌肉经脉)一内(脏腑阴络)的“三维立体网络系统”,提出“经气环流”的气络和“血液循环”的脉络功能系统,并以此为基础研究络病的病因、病机、辨证及治疗,概括久病入络、久痛入络、久瘀入络的发病特点,提出易滞易瘀、易入难出、易积成形的病机特点,阐明络气郁/虚滞、络脉瘀阻、络脉细急、络脉瘀塞、络息成积、热毒滞络、络脉损伤、络虚不荣的病机变化,并创立络病辨证八要,即辨发病因素、病程久暂、阴阳表里、寒热虚实、气病血病、络形络色、脏腑病机及理化检查;提出“络以通为用”的治疗原则,并总结古代医家用药经验,将通络药物分为七类,即流气畅络药、化痰通络药、散结通络药、祛痰通络药、祛风通络药、解毒通络药、营养络脉药^[10]。

2 从络病学说探析 PIBO 的发病机制

中医古籍虽未载有“感染后闭塞性细支气管炎”的病名,但根据其下呼吸道感染的病因特征、气道阻塞的病理改变及气流受限的临床表现,应将其归属于中医学“络病”范畴。儿童 PIBO 的发病机制符合络病学说的理论内涵,其病因责之外感,病位在肺络,小儿体虚,肺络疏薄,营卫失和为发病之本;外邪入里,肺气郁闭,痰瘀阻络为致病之机;余邪未尽,肺络受损,气阴耗伤为再病之根。

2.1 肺络疏薄、营卫失和为发病之本

络脉支横别出,逐层细分,外布肌肤,内至脏腑,渗贯气血,沟通内外。肺络既分属于络脉系统,又自成一脉,布散于肺脏及肺系组织,构成肺脏的有机部分。肺之气络以行气津,肺之血络以循营血,肺络与气道协同完成肺主气而司呼吸、朝百脉而助行血、宣降气机而通调水道的生理功能^[11-12]。《灵枢·营卫生会》曰:“人受气于谷,谷入于胃,以传与肺,五脏六腑,皆以受气,其清者为营,浊者为卫,营在脉中,卫在脉外。”营卫调和,脏腑坚固,气机条畅,内以滋养脏腑,外以抵御诸邪。《素问·评热病论》曰:“邪之所凑,其气必虚。”儿童 PIBO 属于下呼吸道感染引起的小气道疾病,常见病原体有腺病毒、肺炎支原体、麻疹病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒等^[7],遗传因素与免疫反应在其发生发展中起着重要作用^[13-14],故儿童 PIBO 的病因责之正虚外感,病位在肺脏络脉。《素问·皮部论》曰:“邪客于皮则腠理开,开则邪入于络脉,络脉满则入于经脉,经脉满则入舍于脏腑也。”小儿脏腑娇嫩,形气未充,尤以肺常不足,藩篱不密,卫外不固,加之寒温不知、调护失宜,故诸邪客犯,首犯体表阳络,腠理开泄,营卫失和,发热汗出,中传肌肉经脉,身痛不适,又因小儿肺络疏薄,正虚邪凑,深入阴络,内舍肺脏,稽留不去,咳嗽喘息,发为 PIBO。

2.2 邪郁肺闭、痰瘀阻络为致病之机

叶天士在《临证指南医案·积聚》中提出“初为气结在经,久则血伤入络”的“久病入络”观点。小儿发病容易,传变迅速,若六淫外袭,正虚邪入,迁延不愈,久则客舍肺络,络气郁滞,气化失常,津液停聚^[15]。《素问·痹论》曰:“病久入深,荣卫之行涩,经络时疏,故不通。”营卫不和,气血津液运化失常,肺之气络不畅,则气津凝滞为痰,肺之血络不通,则营血滞涩为瘀,痰瘀互结,肺络不通,胶痼难愈,易入难出,表现为反复的胸闷喘憋,痰涎壅盛难咯,进行

性的呼吸困难,甚则紫绀^[16]。肺功能长期呈持续性阻塞性通气障碍,HRCT 显示马赛克灌注征象^[1]。《临证指南医案·痹》又说:“外邪留着,气血皆伤,其化为败瘀凝痰,混处经络。”邪郁肺闭,痰瘀阻络,肺气不畅的络病发生发展关键与儿童 PIBO 的西医发病机制相符。现代医学认为儿童 PIBO 是下呼吸道感染引起小气道上皮细胞损伤,启动炎症反应和纤维化过程,细支气管管腔内纤维蛋白渗出物积聚,诱导成纤维细胞浸润,破坏气道基底细胞,胶原沉积和血管增生形成严重的气道阻塞,导致慢性气流受限^[13,17]。阻塞性通气功能障碍的临床表现与支气管周围纤维化、胶原沉积、血管增生的病理特征皆反映了络病易滞易瘀、易积成形的发病特点和络脉瘀阻、络脉瘀塞、络息成积的病机变化。

2.3 肺络受损,气阴耗伤为再病之根

《医碥·虚实寒热说》有言:“病者受苦久矣,未有久苦于病而元气不伤者也。”随访发现 PIBO 患儿的肺功能损伤可持续 8 年之久^[18],此因小儿稚阴稚阳,脏腑气血薄弱,邪气久留,泉张炽盛,与正相争,正虚邪胜,不能托邪外出,渐趋深入,积于脏腑,伏于经络,郁于气血,日久必再耗精气。《诸病源候论·久咳逆候》曰:“久咳嗽者,是肺极虚故也。”儿童 PIBO 已存有因感染导致的不可逆气道损伤,然久咳虚喘,必再损肺之络脉,继伤肺之气阴,病程日久,而见虚象,临床表现为咳喘无力,痰液清稀或干咳少痰,少气不足以息,自汗易汗,动则更甚,急性加重期或者重症患儿可表现为低氧血症。《诸病源候论·久咳逆上气候》谓:“久咳逆气,虚则邪乘于气……少时乃定,定后复发,连滞经久也。”肺络受损,气阴耗伤成为小儿再生他病之夙根。肺为五脏六腑之华盖,若肺之气阴两伤,络脉不荣,宣降失司,气机不畅,无力助心行血、助脾布散、助肝疏泄、助肾纳气,则五脏皆虚,正气愈损,不耐四时邪气,感邪即病,变生重症。PIBO 患儿因在病程第 1 年内常反复发生呼吸道感染,进一步加重咳嗽、喘息、呼吸急促和困难,甚有严重者由于急性呼吸道感染致使呼吸衰竭而死亡^[19]。

3 基于络病学说及治未病思想探讨 PIBO 的分期防治

《素问·四气调神大论》最早提出“圣人不治已病治未病,不治已乱治未乱”的治未病思想,《难经·七十七难》释“所谓治未病者,见肝之病,则知肝当传之与脾,故先实其脾气,无令得受肝之邪,故曰治未病焉”。《金匱要略·脏腑经络先后病脉证第一》进一步提出“四季脾旺不受邪”的观点。《备急千金要方·论诊候》载“古人善为医者,上医医未病之病,中医医欲病之病,下医医已病之病”,将疾病分为未病、欲病、已病三类。叶天士“务在先安未受邪之地”的观点是治未病思想在温病学的集中体现。因此,针对小儿肺络的生理特点及儿童 PIBO 的疾病特征,以“治未病”为指导思想,以“络以通为用”为治疗原则,提出分期防治此病。

3.1 治未病——调营卫、固肺络,培未病之本

小儿肺络疏薄,藩篱不密,卫外不固,营不内守,营卫失和,易罹外感;加之小儿脾胃虚弱,肠道脆薄,易为药食所伤,金土不能相生,脾气虚则肺络亦弱,此为易感未病之期。江育仁认为“易感儿病机关键不在邪多而在正虚”^[20],故针对未病期,营卫不和,肺脾两虚,以调营卫、固肺络、健脾气为原则,选用桂枝加龙骨牡蛎汤

(《金匱要略》)、玉屏风散(《世医得效方》)、四君子汤(《太平惠民和剂局方》)等方加减,常用桂枝、白芍、黄芪、白术、防风、党参、茯苓、煅龙骨、煅牡蛎、生姜、大枣、炙甘草等药,补肺固络、健脾益气。桂枝加龙骨牡蛎汤原治“男子失精,女子梦交”,江育仁认为此方具有燮理阴阳、和调营卫、潜阳固表的功效。“阴平阳秘,精神乃治”,营卫和调是易感儿童未病先防的前提,营血旺盛,卫外密固,则“正气存内,邪不可干”^[21]。玉屏风散是补肺固络、扶正御邪的代表方,具有多成分、多靶点、多通路的特点,可参与免疫反应,调节淋巴细胞亚群 Th1/Th2 平衡,提高 CD4⁺T 淋巴细胞比例,下调血清炎症因子水平,以提高易感儿童抗病能力^[22-24]。《太平惠民和剂局方》记载四君子汤主治“荣卫气虚,脏腑怯弱”,具有益气健脾,调营固卫之功。四君子汤可以修复十二指肠黏膜下神经节损伤,促进胃排空及体质量增长,还能调节肠道微环境稳态,调控肺肠组织细胞表面模式识别受体及 sIgA 表达,同时具有调节胃肠运动功能和胃肠激素的作用,助脾运化,培土生金,以达“四季脾旺不受邪”之效^[25-27]。

3.2 治欲病——驱外邪、畅肺络,防欲病之变 外感初起,多为风邪犯肺,辨证当分寒热。风寒犯肺,病势为浅,尚难郁闭络气,治以辛温发散,宣畅肺络,代表方剂为华盖散(《幼科发挥》)加减,小儿体属纯阳,心肝有余,风寒之邪由表入里,易于从阳化热,故不可过剂。风热犯肺,络气郁滞,治以辛凉轻宣,清热解郁,选用银翘散(《温病条辨》)加减;燥邪犯肺,偏于凉燥者,轻宣理肺用杏苏散(《温病条辨》)加减,偏于温燥者,清宣润肺用桑杏汤(《温病条辨》)加减^[28]。若外邪入里,络气郁滞,邪从热化,炼津为痰,痰热胶结,邪郁肺闭,发为肺炎喘嗽,此为儿童 PIBO 欲病之期,临证当截断扭转,先证而治,辨清痰热偏盛。痰热闭肺的代表方剂为麻黄杏仁甘草石膏汤(《伤寒论》)加减,功能宣泄肺络,止咳平喘,研究表明此方具有抑制炎症渗出、减轻肺水肿及肺组织损伤、改善肺组织通透性及肺通气功能的作用^[29-31],临床常用炙麻黄、苦杏仁、生石膏、桔梗宣肺止咳,桑白皮、地骨皮、葶苈子、射干泻肺平喘,前胡、旋覆花、枇杷叶、紫苏子降气涤痰,黄芩、贯众、虎杖、鱼腥草、蒲公英清肺解毒。热重而出现毒热闭肺者,关键在于热毒滞络,须苦寒直折,解毒通络,药用黄连、黄芩、栀子、虎杖、拳参、贯众、地龙、僵蚕等,方选黄连解毒汤(《肘后备急方》)加减,可以抑制炎症反应及氧化应激,激活自噬途径减轻急性肺损伤^[32-33]。痰重而阻塞肺络者,代表方剂为葶苈大枣泻肺汤(《金匱要略》)加减,临证酌加天竺黄、瓜蒌、浙贝母、胆南星等化痰之品,减少肺组织炎症渗出,涤痰通络^[34]。

3.3 治已病——化痰瘀、通肺络,祛既病之因 邪气入里而未解,肺炎喘嗽迁延不愈,气络郁滞,津聚为痰,久则血络不畅,滞涩为瘀,痰瘀胶结,络息成形,发展为儿童 PIBO。治疗当以开通肺络为主,然通络之法各有不同,高士宗在《医学真经·心腹痛》中言:“调气以和血,调血以和气,通也;下逆者使之上行,中结者使之旁达,亦通也;虚者助之使通,寒者温之使通,无非通之之法也。”由于儿童 PIBO 临床主要表现为持续或反复的咳嗽、喘息,故应调气以复肺之宣肃,药用桑白皮、葶苈子、射干、

前胡等肃肺泻肺为主,并伍以麻黄、苦杏仁、桔梗、生石膏等宣肺开肺,而调气之品常兼化痰之功,故能“气顺痰自消”,又“气为血之帅”,调气则能和血。痰瘀阻络为儿童 PIBO 致病之机,故临证治以化痰瘀,通肺络。研究表明,化痰、活血类中药及其提取物具有阻抑肺纤维化的作用^[35-37]。化痰通络当先辨痰之寒热燥湿,偏热痰者用胆南星、天竺黄、浙贝母、猴枣散;偏寒痰多用法半夏、天南星、白芥子、莱菔子;偏燥痰者用川贝母、瓜蒌、胖大海、罗汉果;偏湿痰多用陈皮、茯苓、苍术、薏苡仁;祛顽痰则选用葶苈子、青礞石、海浮石、海蛤壳。代表方剂有三子养亲汤(《韩氏医通》)、二陈汤(《太平惠民和剂局方》)等。化痰通络的代表方剂为桃红四物汤(《医宗金鉴》),此方主要通过调节血浆中的花生四烯酸、谷氨酸和谷氨酰胺代谢、三羧酸循环实现活血作用^[38],常选用丹参、川芎、郁金、桃仁、红花、红景天、牡丹皮、虎杖、三棱、莪术等化痰药,配伍地龙、僵蚕、水蛭、皂角刺、路路通等通络之品,并可佐以细辛、桂枝、薤白辛香走窜使入肺络,如叶氏所谓“攻坚垒,佐以辛香,是络病大旨”。

3.4 防再病——补气阴、荣肺络,防瘥后之复 儿童 PIBO 长期存在呼吸急促、呼吸困难、运动不耐受等肺功能损伤的表现,且病程中常伴发反复呼吸道感染,此因邪入肺络,久病难愈,虽药后邪减,但肺络已损,正气渐虚,故疾病后期常表现为气阴两虚之候,当辨清气虚或阴虚,或补气,或养阴,荣通肺络,兼清余邪。气虚者多为肺脾两虚,此因久病耗气,肺病及脾,肺气耗伤,卫外不固,脾气受损,运化失健,肺脾两虚,生化乏源,治以益气健脾,补肺固络,常用药如生晒参、党参、西洋参、黄芪、白术、茯苓、山药、五味子、红景天、甘草等,代表方剂为人参五味子汤(《幼幼集成》)加减,此方可下调血清 CRP、IL-1 β 水平,显著提高 IgG、IgA、IgM 水平,改善肺脾气虚的症状,调节机体免疫功能^[39-40]。阴虚者多为气阴两虚,此因邪热入络,耗气伤阴,正虚邪恋,治以益气养阴,清润肺络,常用药为沙参、黄芪、党参、冬虫夏草、天花粉、麦冬、玉竹、黄精、百合、生地黄、石斛等,方选沙参麦冬汤(《温病条辨》)加减,研究显示此方通过抑制促炎因子及促纤维化细胞因子的释放、改善肺组织促纤维化微环境,减轻肺组织炎症损伤及纤维化进程,促进防再病期气阴两虚状态的恢复^[41-43]。PIBO 患儿在恢复期还需采取饮食调养、体育锻炼、推拿敷贴等综合康复措施,注重瘥后防复,增强免疫力,恢复肺功能^[44]。

4 小结与展望

儿童 PIBO 的发病机制符合中医络病学说的理论内涵,针对儿童肺络的生理特点及感染后闭塞性细支气管炎的疾病特征,以“络以通为用”为治疗原则,并结合治未病的学术思想,施以分期防治。未病期调和营卫,固护肺络,选用桂枝加龙骨牡蛎汤、玉屏风散、四君子汤等预防方剂,调节免疫功能,提高抗病能力;欲病期截断扭转,驱邪畅络,选用麻黄杏仁甘草石膏汤、黄连解毒汤、葶苈大枣泻肺汤等防变方剂,先证而治,降低发病率;已病期调气活血,化痰祛瘀,通达肺络,选用三子养亲汤、二陈汤、桃红四物汤等治疗方剂,阻抑肺纤维化;防复期,补气养阴,荣通肺络,选用人参五味子汤、沙参麦冬汤等康复方剂,再配合综合康复措施,防瘥后之复,并恢复肺功能。

结合目前的研究现状,未来可利用免疫组学、代谢组学、蛋白质组学、影像组学等多组学技术,寻找 PIBO 炎症反应及纤维增生的特异性标志物,并通过总结临床经验及开展试验佐证,寻找可改善气道阻塞的中药复方、单味药及有效单体;从治未病的学术思想出发,将中医学络病理论与现代科学技术相融合,制定中西医结合个体化诊疗方案,为中医药分期防治儿童 PIBO 提供更加科学有效的理论与实践基础。

参考文献

- [1] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,中国医师协会呼吸医师分会儿科呼吸工作委员会,中国医药教育协会儿科专业委员会,等. 儿童闭塞性细支气管炎的诊断和治疗专家共识(2023)[J]. 中华儿科杂志,2023,61(9):786-793. DOI:10.3760/cma.j.cn112140-20230301-00146.
- [2] Kavaliunaite E, Aurora P. Diagnosing and managing bronchiolitis obliterans in children[J]. *Expert Rev Respir Med*,2019,13(5):481-488. DOI:10.1080/17476348.2019.1586537.
- [3] Flanagan F, Casey A, Reyes-Múgica M, et al. Post-infectious bronchiolitis obliterans in children[J]. *Paediatr Respir Rev*,2022,42:69-78. DOI:10.1016/j.prrv.2022.01.007.
- [4] 樊慧峰,卢根,陶建平. 腺病毒肺炎合并闭塞性细支气管炎的早期识别与治疗[J]. 中国小儿急救医学,2019,26(10):742-745. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2019.10.006.
- [5] 李慧. 感染后闭塞性细支气管炎患儿的临床特点及相关危险因素分析[D]. 广州:广州医科大学,2023.
- [6] 颜雅苹,曾强,陶建平,等. 67 例儿童感染后闭塞性细支气管炎的临床特征与随访研究[J]. 临床肺科杂志,2023,28(5):689-693. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2023.05.009.
- [7] Chan KC, Yu MW, Cheung TWY, et al. Childhood bronchiolitis obliterans in Hong Kong-case series over a 20-year period[J]. *Pediatr Pulmonol*,2021,56(1):153-161. DOI:10.1002/ppul.25166.
- [8] Yu X, Ma Y, Gao Y, et al. Epidemiology of adenovirus pneumonia and risk factors for bronchiolitis obliterans in children during an outbreak in Jilin, China[J]. *Front Pediatr*,2021,9:722885. DOI:10.3389/fped.2021.722885.
- [9] 吴以岭. 络病学概要[J]. 疑难病杂志,2004,3(1):37-39. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2004.01.017.
- [10] 吴以岭. 络病理论体系的构建[J]. 疑难病杂志,2005,4(6):349-350. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2005.06.014.
- [11] 贾振华,魏聪,李红蓉,等. 肺络病变证治研究[J]. 南京中医药大学学报,2019,35(5):484-490. DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0484.
- [12] 刘勇明,吕晓东,庞立健,等. 基于肺络构效理论的肺脏生理功能发微[J]. 中华中医药学刊,2017,35(10):2518-2520. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2017.10.014.
- [13] Jerkic SP, Brinkmann F, Calder A, et al. Postinfectious bronchiolitis obliterans in children: Diagnostic workup and therapeutic options: A workshop report[J]. *Can Respir J*,2020,2020:5852827. DOI:10.1155/2020/5852827.
- [14] Giubergia V, Salim M, Fraga J, et al. Post-infectious bronchiolitis obliterans and mannose-binding lectin insufficiency in Argentinean children[J]. *Respirology*,2015,20(6):982-986. DOI:10.1111/resp.12547.
- [15] 王亚瑞,李芳琳,孟志强,等. 从“玄府-肺络”分期辨治儿童闭塞性细支气管炎探析[J]. 中国中医急症,2023,32(8):1381-1383,1387. DOI:10.3969/j.issn.1004-745X.2023.08.015.
- [16] 路楠楠,牛玉灵,陈文霞. 基于“毒伤气络,血络瘀滞”分期论治儿童闭塞性细支气管炎[J]. 环球中医药,2022,15(10):1915-1918. DOI:10.3969/j.issn.1674-1749.2022.10.032.
- [17] Barker AF, Bergeron A, Rom WN, et al. Obliterative bronchiolitis[J]. *N Engl J Med*,2014,370(19):1820-1828. DOI:10.1056/NEJMra1204664.
- [18] Jerkic SP, Koc-Günel S, Herrmann E, et al. Long-term course of bronchial inflammation and pulmonary function testing in children with postinfectious bronchiolitis obliterans[J]. *Pediatr Pulmonol*,2021,56(9):2966-2972. DOI:10.1002/ppul.25547.
- [19] Yu J. Postinfectious bronchiolitis obliterans in children: Lessons from bronchiolitis obliterans after lung transplantation and hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Korean J Pediatr*,2015,58(12):459-465. DOI:10.3345/kjp.2015.58.12.459.
- [20] 郁晓维. 不在邪多而在正虚——江育仁教授防治呼吸道复感儿的经验[J]. 现代中医药,2004(4):7-9. DOI:10.3969/j.issn.1672-0571.2004.04.003.
- [21] 刘莉,汪受传. 江育仁教授关于儿童反复呼吸道感染“不在邪多而在正虚”观点探究[J]. 中医儿科杂志,2019,15(3):1-3. DOI:10.16840/j.issn1673-4297.2019.03.01.
- [22] 邱玺瑞,许思妍,晏扬天,等. 基于系统药理学探究玉屏风散治疗反复呼吸道感染的作用机制[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2023,25(2):580-594. DOI:10.11842/wst.20211213001.
- [23] 史俊祖,王雪峰,冯欣然. 玉屏风散化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物预测分析[J/OL]. 辽宁中医药大学学报:1-14 [2024-06-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20240322.1326.004.html>.
- [24] 李雅静,杜宇,白雅雯,等. 基于网络药理学研究玉屏风颗粒调节 IgA 肾病模型小鼠 Th1/Th2 平衡的作用机制[J]. 中医药导报,2024,30(3):1-8. DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2024.03.001.
- [25] 何桂花,钟子劭,余卫锋,等. 脾虚证功能性消化不良十二指肠黏膜下神经节损伤及四君子汤对其干预的研究[J]. 中华中医药学刊,2024,42(1):57-60,271-272. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2024.01.011.
- [26] 徐成灵. 四君子汤调节 Th17/Treg 平衡和肠道微环境干预哮喘的作用机制研究[D]. 昆明:云南中医药大学,2023.
- [27] 甘静宜,程飞,巩忠福,等. 四君子汤对脾虚大鼠胃肠运动功能和胃肠激素影响[J]. 中兽医医药杂志,2010,29(4):9-12. DOI:10.3969/j.issn.1000-6354.2010.04.002.
- [28] 吴以岭. 络病学[M]. 北京:中国中医药出版社,2017.02:113.
- [29] 赵媛. 苗青教授应用麻杏石甘汤经验及加味麻杏石甘汤干预急性肺损伤机理研究[D]. 北京:中国中医科学院,2024.
- [30] 侯雯倩,刘东玲,海洋,等. 麻杏石甘汤通过调节 MAPK/NF-κB 通路缓解 LPS 致急性肺损伤的炎症反应[J]. 中药药理与临床,2023,39(3):1-7. DOI:10.13412/j.cnki.zyl.20230220.002.
- [31] 孔繁华,张雪倩,刘疆生,等. 麻杏石甘汤加减联合经鼻高流量湿化氧疗治疗肺炎 I 型呼吸衰竭临床评价[J]. 中国药业,2023,32(12):105-108. DOI:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.12.026.
- [32] 马世河,惠普晟,龙漫. 基于网络药理学及分子对接技术探究黄连解毒汤治疗脓毒症的分子机制[J]. 西部中医药,2024,37(2):54-59. DOI:10.12174/j.issn.2096-9600.2024.02.12.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.020

综述

老年糖尿病患者合并肌肉减少症发病机制及治疗研究进展

杨伟综述 王洁妤审校



基金项目:北京市属医院科研培育计划项目(PX2022032);首都卫生发展科研专项自主创新项目(2024-2-1033);

国家自然科学基金青年项目(81600927)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院老年医学科

通信作者:杨伟,E-mail:yangw_79@163.com

【摘要】 肌肉减少症是一种与年龄相关的疾病,其特征是骨骼肌质量减少和功能丧失,被认为是 2 型糖尿病(T2DM)老年患者的一种新并发症。T2DM 会加速肌肉质量和功能的下降,同时肌肉减少症会导致葡萄糖代谢紊乱、身体活动减少,增加糖尿病的风险。然而,T2DM 与肌肉减少症之间涉及的具体机制尚未得到彻底研究。因此,文章就肌肉减少症和糖尿病相关的病理生理学机制和治疗策略作一综述,以提高老年糖尿病患者的生活质量和减少相关并发症的发生。

【关键词】 2 型糖尿病;肌肉减少症;诊断;治疗;老年人**【中图分类号】** R587.2 **【文献标识码】** A

Pathogenesis and treatment progress of sarcopenia in elderly diabetic patients Yang Wei, Wang Jieyu. Department of Geriatrics, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Funding program: Beijing Hospital Authority Scientific Research and Training Project (PX2022032); Capital's Funds for Health Improvement and Research, CFH (2024-2-1033); National Natural Science Foundation of China (81600927)

Corresponding author: Wang Jieyu, E-mail: yangw_79@163.com

【Abstract】 Sarcopenia, an age related disease characterized by loss of skeletal muscle mass and function, is considered an emerging complication in older patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). T2DM accelerates the loss of muscle mass and function^[1-2], while sarcopenia can lead to disrupted glucose metabolism, reduced physical activity, and an increased risk of diabetes. However, the specific mechanisms involved between T2DM and sarcopenia have not been thoroughly investigated. Therefore, this review aims to explore the pathophysiological mechanisms and treatment strategies associated with sarcopenia and diabetes in order to improve the quality of life and reduce the occurrence of related complications in elderly people with diabetes.

【Key words】 Type 2 diabetes mellitus; Sarcopenia; Diagnosis; Treatment; Elderly

2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种由胰岛素分泌和/或利用障碍导致的以慢性高血糖为特征的代谢性疾病。流行病学研究显示,全球约有 3.87 亿成年人患有糖尿病,预计到 2045 年将增加到 6.93 亿,这对家庭和社会产生了巨大的负担^[1-2]。研究发现,无论男女,老年糖尿病患者的肌肉质量和肌力均较低,T2DM 患者患肌肉减少症的风险是非糖尿病人群的 1.5~2 倍^[3]。肌肉减少症已被认为是 T2DM 的一种新型并发症。亚洲肌肉减少症工作组(Asian Working Group on Sarcopenia, AWGS)2014 年发布的共识将肌肉减少症定义为“随年龄增长而导致的骨骼肌减少加上肌肉力量和/或体能下降”,指的是随年龄增长而进展的骨骼肌丧失,伴随肌肉力量和/或功能减退的综合征^[4]。该疾病是一种进展性和系统性的骨骼肌疾病,与年龄呈正相关,并与老年人的跌倒、骨折、身体残疾和死亡等严重后果相关。肌肉减少症不仅会导致老年群体生活

质量降低,还会增加身体残疾乃至死亡的风险。根据 2019 年 AWGS 的最新诊断标准,中国疑似肌肉减少症、肌肉减少症和重度肌肉减少症的患病率分别为 38.5%、18.6% 和 8.0%。随着人口老龄化的进展,代谢及骨骼肌相关疾病的发病率及患病率逐年上升,估计在未来 30 年内,肌肉减少症的患病率将显著增加,成为重大的公共卫生问题。肌肉减少症与 T2DM 之间存在双向关系,互相增加对方的风险,并加重患者的功能衰退和残疾^[5]。最近的研究表明^[6],同时患肌肉减少症的 T2DM 患者较无肌肉减少症的患者病死率更高。因此,研究两者的病理机制至关重要。本综述旨在探讨与肌肉减少症和糖尿病相关的病理生理学机制和治疗策略,并为未来的研究提供指导,以提高老年糖尿病患者的生活质量和减少相关并发症的发生。

1 衰老与糖尿病及肌肉减少症的关系

衰老是导致糖尿病和肌肉减少症的最主要风险之一。衰

老过程的一个显著生理标志是骨骼肌质量和功能的逐渐丧失,该过程大约在 30 岁时开始,在 80 岁时累积至 30% ~ 50% 的极度丧失。肌肉量降低、脂肪增多与包括 T2DM 在内的代谢性疾病的高发病率相关联^[6]。骨骼肌富含负责吸收葡萄糖的葡萄糖转运体 4 (glucose transporters, GLUT4), 是葡萄糖清除的重要器官,约占葡萄糖清除的 80%。随着年龄的增长,骨骼肌质量和功能的丧失导致葡萄糖利用率下降,增加了 T2DM 的易感性。衰老过程中肌肉蛋白的合成与分解途径之间的不平衡导致了骨骼肌的损失。骨骼肌微观结构变化包括肌纤维的缩小和减少,尤其是 II 型肌纤维。衰老还促进了卫星细胞的减少,以及肌纤维从 II 型向 I 型的转变。这种变化在肌纤维的功能改变中尤为重要,特别是 II b 型肌纤维,它们释放的某些蛋白和肌激素直接影响葡萄糖代谢。与此同时,脂肪持续地从皮下转移到内脏导致脂肪细胞在骨髓、肝脏以及骨骼肌等部位的异位积累,这一趋势增加了肌肉减少症和胰岛素抵抗的发生风险^[7]。由于保护机制减弱或其他因素,衰老还伴随着炎症标志物和氧化应激的增加,这两者都被认为是糖尿病和肌肉减少症中重要的病理生理变化,尤其是与衰老相关的线粒体功能障碍和高级糖基化终产物可能对肌肉质量和血糖水平产生不利影响^[8-9]。衰老过程中激素水平的变化促成了慢性炎症反应,如降低的睾酮水平可影响肌肉中卫星细胞的自我更新能力,而男性糖尿病患者血清睾酮水平的下降更加明显。因此,衰老导致的睾酮缺乏与老年糖尿病患者肌肉减少症之间有着密切的关联。随着年龄的增长,机体的能量需求和摄入均会减少,不可避免地导致体质量及肌肉减少,从而对力量和身体表现产生不良影响,进一步影响了葡萄糖代谢^[10]。在衰老过程中久坐不动的生活方式也是骨骼肌量减少和胰岛素敏感性下降的重要原因。因此,在衰老的过程中,肌肉减少症与 T2DM 的发生发展机制存在紧密连接,形成恶性循环,加速患者的疾病进展,加重功能损伤和残疾。

2 T2DM 与肌肉减少症的机制关联

2.1 胰岛素抵抗 胰岛素抵抗是 T2DM 的主要机制,不仅导致血糖控制不佳,并且会对肌少症的各个因素产生不利影响。骨骼肌是胰岛素作用及胰岛素抵抗的主要器官之一,骨骼肌中的胰岛素抵抗是加剧 T2DM 患者肌肉减少症的最重要因素。MrOS 研究发现,≥65 岁的非 T2DM 男性若其胰岛素抵抗位于最高四分位数,则该患者在约 5 年内丧失 ≥5% 瘦体质量 (fat-free mass) 的风险增加 2 倍^[11]。胰岛素作用受损可促进蛋白质降解、阻碍蛋白质合成,导致肌肉质量和力量下降。肌蛋白合成主要由 2 个因子调控:类胰岛素生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF1) 和抑肌素。IGF1 的信号传递系统及一系列细胞内成分在骨骼肌增长的调控中扮演着至关重要的角色,阻断 IGF1-PI3K-Akt-mTOR 和 SC-Gαi2 路径可抑制蛋白质合成。肌肉中蛋白质主要的降解途径包括 ATP 依赖性泛素蛋白酶体途径、溶酶体自噬途径、半胱天冬酶水解途径和钙依赖性钙蛋白酶途径,受到 IL6/STAT、TNF&IL6/NFκB、肌肉抑制素/Smad2/3 和 FoxO1/3 信号途径调控^[12]。当发生胰岛素抵抗时,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin,

mTOR) 合成途径被抑制,同时高血糖水平可降低 E3 泛素连接酶 WWP1 的表达,WWP1 的降低会导致 KLF15 降解减慢,从而使 KLF15 的细胞丰度增加。KLF15 可促进骨骼肌质量下降,引起肌肉萎缩。当骨骼肌量减少时,胰岛素抵抗导致脂解增加,释放脂肪组织中的游离脂肪酸,抑制促进骨骼肌中蛋白质合成的生长激素一类胰岛素生长因子轴,同时胰岛素抵抗的增加导致异位脂肪积累并促进了抑制肌肉生成和增强肌肉分解的促炎因子的产生^[13]。因此,胰岛素抵抗的发生可通过抑制骨骼肌的合成,加速肌肉萎缩,诱导脂代谢紊乱和促进炎症反应等多种机制促进肌肉减少症的发生发展。

2.2 慢性炎症反应 T2DM 以慢性炎症反应为特点,炎症反应可加速肌肉质量和功能的衰退。在 T2DM 患者中,炎症反应标志物如白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子-α (TNF-α) 和 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 水平升高,激活 NF-κB 促进炎症反应细胞的渗透,通过 PI3K-Akt 途径下调蛋白质合成代谢,同时通过 FoxO 家族蛋白及其下游 E3 泛素连接酶上调蛋白质分解代谢。研究表明,IL-6、TNF-α 和 CRP 等促炎因子的增加对肌肉质量和功能产生负面影响^[12]。IL-6 能够增强肌肉的分解作用,长期低水平的 IL-6 通过负反馈机制控制信号转导和转录激活因子 3 的磷酸化,通过 JAK/STAT 和 NF-κB 依赖性途径导致肌肉中的蛋白质分解。在动物实验中,将低浓度的 IL-6 注入小鼠肌肉,接触 IL-6 的肌肉随后由于蛋白质的分解而发生萎缩。在弗雷明汉心脏研究 (Framingham heart study) 中,IL-6 水平与女性 2 年内的瘦体质量减少水平具有正相关性。在老年人中,IL-6 和 CRP 浓度处于最高三分之一的个体,5 年间其四肢瘦体质量的损失均超过 4 倍^[14]。因此,T2DM 导致的慢性炎症反应会促进肌肉减少症的发生发展。

2.3 氧化应激和线粒体损伤 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增加和抗氧化作用减少导致的氧化应激,是衰老和疾病发生发展的重要促进因素,也是 T2DM 的重要病理特征。T2DM 中的高血糖触发了 ROS 的增加,ROS 的积累可损害糖尿病大鼠的肌肉修复、卫星细胞分化和 DNA。此外,氧化应激可抑制 Akt/mTOR 途径及其下游靶点,进而抑制蛋白质合成并促进肌肉萎缩。氧化应激还可导致 Ca²⁺ 平衡的失调,激活非溶酶体的 Ca²⁺ 调节性钙蛋白酶。异常激活的钙蛋白酶可激活泛素-蛋白酶体路径,加速肌肉蛋白的降解,抑制 Akt 路径从而抑制肌肉蛋白的合成,导致肌肉萎缩。线粒体功能障碍与年龄和 T2DM 密切相关,线粒体作为细胞内的能量工厂,负责产生绝大部分的 ATP,是细胞代谢活动的核心。线粒体功能障碍可能导致能量代谢异常,进而影响细胞和组织的正常功能。线粒体功能障碍是胰岛 β 细胞凋亡和胰岛素分泌缺陷的重要原因之一。高血糖环境下,线粒体产生的 ROS 增多,导致氧化应激,这可能损伤 β 细胞,减少胰岛素的分泌。线粒体在调节葡萄糖摄取和利用中扮演着关键角色,功能障碍可能导致肌肉和其他组织对胰岛素的敏感性下降,加剧胰岛素抵抗。在肌少症患者中,线粒体功能障碍可能导致肌肉细胞的能量供应不足,影响肌肉收缩和维护。由于线粒体是肌肉细胞产生能量的主要场所,其功能障碍可能导致肌肉力量下降和耐力减少。研究表明,线粒体功

能障碍与肌肉细胞的凋亡和自噬有关,这可能导致肌量减少,是肌少症发展的重要机制之一。此外,线粒体功能障碍还可能影响肌肉的代谢功能,如葡萄糖的摄取和利用,这可能进一步加剧胰岛素抵抗和糖尿病的症状。

2.4 晚期糖基化终产物 (advanced glycosylation end product, AGEs) 增加 AGEs 是葡萄糖与蛋白质、脂质和核酸中的氨基团之间的非酶促反应形成的代谢产物。随着年龄的增长,骨骼肌内 AGEs 的浓度会持续增加^[15],导致骨骼肌质量减少和功能损伤。皮肤自体荧光是 AGEs 的一种常见替代测量方法,在涉及 T2DM 和肌少症的日本成人横断面研究中,与非肌少症 T2DM 患者对照组相比,T2DM 合并肌少症患者皮肤自体荧光更高,且与低肌肉力量和全身瘦体质量相关^[16]。此外,在年龄 >60 岁的参与者中,皮肤自体荧光与握力以及髌关节屈曲和外展力量呈负相关。该研究表明,AGEs 的积累可导致骨骼肌萎缩和功能障碍。相关机制研究表明,AGEs 通过结合骨骼肌细胞膜上的 AGE 受体,诱发炎症反应并通过细胞内信号传导激活 NADPH 氧化酶,增加了 ROS 促进了氧化应激,损害骨骼肌的质量和功能。此外 AGEs 还通过引起电荷变化和增加肌内蛋白质交联干扰肌肉收缩能力。AGEs 测量是否可用于检测由高血糖和衰老引起的骨骼肌病理变化,仍需进一步研究^[17]。

2.5 肌间脂肪 (intermuscular adipose tissue, IMAT) 增加 IMAT 是一种异位脂肪沉积,异位脂肪沉积是糖尿病的标志病理生理现象,与代谢不良或肌肉健康状况不佳密切相关。在糖尿病患者中,IMAT 含量的增加与胰岛素抵抗和代谢综合症的发展有关。高血糖状态可能导致脂肪代谢紊乱,增加 IMAT 的积累。IMAT 的增加影响肌肉对葡萄糖的摄取和利用,可能进一步加剧胰岛素抵抗,形成恶性循环,此外,IMAT 含量的增加与糖尿病患者的心血管并发症、肌肉力量下降和身体功能减退有关。脂肪积累促进脂联素分泌,激活炎症反应,导致骨骼肌中胰岛素信号传导和线粒体功能失调,脂质代谢障碍引起的线粒体形态异常导致膜硬化和 ROS 的增加,进而引起肌肉萎缩^[18]。此外,IMAT 由非收缩组织组成,渗透到肌肉中可严重影响骨骼肌的弹性。IMAT 的增加可能是肌少症发展的一个标志,因为随着肌肉质量的减少,脂肪组织在肌肉中所占比例可能上升。因此,在未来的干预研究中,IMAT 应被视为关键的结果测量指标^[19]。

2.6 肠道微生物失衡 肠道微生物失衡在胰岛素抵抗和 T2DM 的病理进展中扮演重要角色,T2DM 和糖尿病前期患者的肠道微生物组成和功能发生显著变化。肠道微生物失衡通过肠道通透性增加、低度内毒血症、短链脂肪酸或支链氨基酸代谢和胆酸代谢等多重机制参与 T2DM 的发生发展。近期研究显示,肠道微生物也可影响骨骼肌代谢。微生物产生的酚类结合物上调 GLUT4 和 PI3K,增加肌纤维中的葡萄糖吸收,诱导增加肌肉质量的合成代谢反应。通过摄入益生菌和益生元可调控肠道通透性和肠-肌轴,调节骨骼肌的质量和功能。因此,肠道微生物可能是肌肉减少症和糖尿病病理发生中的一个关键因素^[20]。

3 糖尿病伴发肌肉减少症的治疗

3.1 药物治疗 大多数降糖药物对肌肉减少症的作用还不明确。二甲双胍可增加 AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinases, AMPK) 活性,进而抑制肌肉生长中的关键因子—mTOR^[21]。然而,有研究表明,二甲双胍可能有助于 M2 型巨噬细胞的动员,在骨骼肌中发挥抗炎属性,可作为老年人阻力训练的辅助治疗药物^[22]。在 MrOS 研究中,相比于未使用胰岛素增敏剂和未治疗糖尿病的患者,使用二甲双胍或二甲双胍加噻唑烷二酮治疗的糖尿病男性患者的总瘦体质量和四肢瘦体质量的损失较轻^[11]。因此,目前尚不清楚二甲双胍对人类肌肉质量和力量的影响。胰岛素对年轻及非胰岛素抵抗糖尿病患者肌量和蛋白质代谢有促进作用;但对 T2DM 患者,胰岛素的效果尚未被明确。磺脲类药物在少部分患者中会导致肌肉萎缩,但是目前尚且缺乏控制条件下进行的临床试验对此进行深入探讨,格列奈类与磺脲类的作用机制相似,应避免使用^[23]。噻唑烷二酮类药物是广泛使用的胰岛素增敏剂,一些研究表明,噻唑烷二酮类药物对糖尿病患者的肌肉具有有益作用。吡格列酮能通过减少肌肉内脂肪含量和改善脂肪酸代谢增加骨骼肌的能量消耗,但会增加患者骨折和心力衰竭失代偿的风险^[24]。二肽基肽酶-4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 抑制剂对肌量和血糖控制有正面作用,该作用可能与增强胰高糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 的作用或抑制 DPP-4 活性有关。DPP-4 抑制剂的不良反应较少,且低血糖的风险极低,这类药物可能是未来伴有肌肉减少症的 T2DM 患者的首选治疗方案^[25]。GLP-1 受体激动剂具有抗炎和氧化的特性,但其对骨骼肌的作用机制仍有争议。钠-葡萄糖协同转运 2 抑制剂 (sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, SGLT2i) 已成为治疗老年 T2DM 患者的有效治疗选择。在动物实验中,SGLT2i 不仅改善了高血糖,还改善了肌肉中的脂肪酸代谢,从而防止了肌肉萎缩^[26]。

目前还没有获得批准用于治疗肌肉减少症的药物。潜在的治疗手段包括激素治疗,如透皮睾酮凝胶和选择性雄激素受体调节剂 (selective androgen receptor modulators, SARMs)。透皮睾酮凝胶能提高血清中的雄性激素浓度,对骨骼肌有明显的合成效应。然而,这些药物在前列腺腺体和精囊等区域有不良反应,在女性中有雌性化不良反应。因此,仅与骨骼肌雄激素受体结合的 SARMs 是一种更具前景的治疗选择。SARMs 在临床试验中展现出较强的疗效和安全性^[27]。其他正在临床试验中的肌肉减少症新型治疗包括活化素类型 II B 受体拮抗剂和肌肉生成抑制剂,这两类化合物均具有抑制肌肉生成素的作用。肌肉生成素是肌肉发生的负调控因子,抑制其活动可在多种动物模型中显著增加骨骼肌量。目前还需要进一步的研究来验证其安全性和有效性^[28]。

3.2 运动干预 即便未来批准了治疗肌肉减少症的药物,生活方式的调整可能仍是 T2DM 和肌肉减少症治疗的核心。运动是预防和治疗肌肉减少症最经济有效的生活方式干预措施。许多研究已表明,运动能通过减弱 NF- κ B 的活化来延缓肌肉丢失。有氧运动和阻力训练均能预防和治理随着年龄增长而出

现的肌量和力量的减少。有氧运动能降低糖化血红蛋白、空腹血糖和胰岛素抵抗的水平,同时改善骨骼肌的质量。阻力运动能有效增强肌肉力量,同时改善 T2DM 患者的胰岛素抵抗、减少脂肪积累并保持线粒体功能^[29-30]。目前的临床试验已证明,短期中等强度的阻力训练是一种有效且安全的运动方式。对于老年人和/或患有神经疾病的患者,进行高强度运动存在较大的困难,血流限制训练可以作为传统运动的替代方案。

3.3 营养干预 适量的能量和蛋白质摄入有助于预防肌量的减少。近期研究显示,支链氨基酸—缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸能够降低肌量减少的风险。其中,亮氨酸具有显著促进胰岛素分泌的特性,可提高葡萄糖的利用以帮助维持血糖平衡,且能增加肌肉蛋白合成所需的氨基酸可用性,减少肌肉蛋白的分解^[31]。因此,补充支链氨基酸、亮氨酸或富含亮氨酸的蛋白质是治疗老年人肌肉减少症最常见的干预措施之一。此外,摄入其他特定营养素,包括 Omega-3 脂肪酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)前体、维生素 D、含有抗炎和抗氧化剂的食物以及膳食纤维,可改善胰岛素敏感性、氧化应激和炎症反应,维持肌肉质量并改善血糖水平。其中,Omega-3 是多不饱和脂肪酸,主要来源于海洋鱼类,能增加健康老年人的肌肉质量和功能。Omega-3 可提高肌肉蛋白合成,同时减轻系统性炎症反应以保护肌肉。Omega-3 的补充,无论是单独使用还是与运动结合,都能显著改善代谢状态和肌肉健康^[32]。维生素 D 可以改善肌肉质量和功能,摄入足够的维生素 D 对老年糖尿病患者,尤其是患有肌肉减少症的患者具有积极的作用。但是目前,最佳剂量、给药频率及治疗持续时间尚未明确。在一项针对老年肌肉减少症患者的研究中,将锻炼与每日摄入乳清蛋白(22 g)、必需氨基酸(11 g,含 4 g 亮氨酸)及维生素 D(100 IU)结合,相较于单纯锻炼,可显著增加老年人群的瘦体质量,接受联合治疗的患者在手握力和 CRP 上改善显著。此外,研究表明,维生素 B₁ 和 B₁₂ 摄入不足会增加 T2DM 老年患者患肌肉减少症的风险,目前还需要进一步研究补充维生素 B₁ 和 B₁₂ 是否能改善代谢和肌肉健康状况^[33]。维生素 A 和 E 在不同研究中的效果仍有争议,需要进一步增加样本量。近期有研究报道低剂量的锂对 T2DM 和肌肉减少症可能有潜在益处,但具体机制还需进一步研究。

4 小结及展望

T2DM 与肌肉减少症之间有着多重双向联系,年龄增长、胰岛素抵抗、炎症反应、氧化应激、AGEs 积累、异位脂肪、维生素等因素显著影响肌肉健康,肌肉健康受损也可能导致 T2DM 的发展和恶化。对于同时患有这两种疾病的患者,目前可行干预的证据少,未来重要的研究方向包括深入探索两种疾病底层的细胞和分子路径及其相互作用、生物标志物的开发进展,以及在整个生命期的诊断准确性。

参考文献

- [1] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138: 271-281. DOI: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
- [2] Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes compli-
- [3] cations [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16(7): 377-390. DOI: 10.1038/s41581-020-0278-5.
- [4] Izzo A, Massimo E, Riccardi G, et al. A narrative review on sarcopenia in type 2 diabetes mellitus: Prevalence and associated factors [J]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 183. DOI: 10.3390/nu13010183.
- [5] Chen LK, Liu LK, Woo J, et al. Sarcopenia in Asia: Consensus report of the Asian Working Group for sarcopenia [J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2014, 15(2): 95-101. DOI: 10.1016/j.jamda.2013.11.025.
- [6] Tsekoura M, Kastrinis A, Katsoulaki M, et al. Sarcopenia and its impact on quality of life [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 987: 213-218. DOI: 10.1007/978-3-319-57379-3_19.
- [7] Mesinovic J, Zengin A, De Courten B, et al. Sarcopenia and type 2 diabetes mellitus: A bidirectional relationship [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 12: 1057-1072. DOI: 10.2147/DMSO.S186600.
- [8] McCormick R, Vasilaki A. Age-related changes in skeletal muscle: Changes to life-style as a therapy [J]. *Biogerontology*, 2018, 19(6): 519-536. DOI: 10.1007/s10522-018-9775-3.
- [9] Zamboni M, Gattazzo S, Rossi AP. Myosteatosis: A relevant, yet poorly explored element of sarcopenia [J]. *Eur Geriatr Med*, 2019, 10(1): 5-6. DOI: 10.1007/s41999-018-0134-3.
- [10] Par A, Hegyi JP, Vancsa S, et al. Sarcopenia - 2021: Pathophysiology, diagnosis, therapy [J]. *Orv Hetil*, 2021, 162(1): 3-12. DOI: 10.1556/650.2021.32015.
- [11] Jang HC. Sarcopenia, frailty, and diabetes in older adults [J]. *Diabetes Metab J*, 2016, 40(3): 182-189. DOI: 10.4093/dmj.2016.40.3.182.
- [12] Long DE, Peck BD, Martz JL, et al. Metformin to augment strength training effective response in seniors (MASTERS): Study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2017, 18(1): 192. DOI: 10.1186/s13063-017-1932-5.
- [13] Giha HA, Alamin OAO, Sater MS. Diabetic sarcopenia: Metabolic and molecular appraisal [J]. *Acta Diabetol*, 2022, 59(8): 989-1000. DOI: 10.1007/s00592-022-01883-2.
- [14] McBride MJ, Foley KP, D'souza DM, et al. The NLRP3 inflammasome contributes to sarcopenia and lower muscle glycolytic potential in old mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2017, 313(2): E222-E232. DOI: 10.1152/ajpendo.00060.2017.
- [15] Purnamasari D, Tetraswi EN, Kartiko GJ, et al. Sarcopenia and chronic complications of type 2 diabetes mellitus [J]. *Rev Diabet Stud*, 2022, 18(3): 157-165. DOI: 10.1900/RDS.2022.18.157.
- [16] Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review [J]. *Saudi Pharm J*, 2016, 24(5): 547-553. DOI: 10.1016/j.jsps.2015.03.013.
- [17] Mulder DJ, Water TV, Lutgers HL, et al. Skin autofluorescence, a novel marker for glycemic and oxidative stress-derived advanced glycation endproducts: An overview of current clinical studies, evidence, and limitations [J]. *Diabetes Technol Ther*, 2006, 8(5): 523-535. DOI: 10.1089/dia.2006.8.523.
- [18] Chen H, Ma J, Liu A, et al. The association between sarcopenia and fracture in middle-aged and elderly people: A systematic review and meta-analysis of cohort studies [J]. *Injury*, 2020, 51(4): 804-811. DOI: 10.1016/j.injury.2020.02.072.

- [18] Abbatecola AM, Paolisso G, Fattoretti P, et al. Discovering pathways of sarcopenia in older adults: A role for insulin resistance on mitochondria dysfunction [J]. *J Nutr Health Aging*, 2011, 15 (10): 890-895. DOI: 10.1007/s12603-011-0366-0.
- [19] Marcus RL, Addison O, Dibble LE, et al. Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals [J]. *J Aging Res*, 2012. DOI: 10.1155/2012/629637.
- [20] Utzschneider KM, Kratz M, Damman CJ, et al. Mechanisms linking the gut microbiome and glucose metabolism [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101 (4): 1445-1454. DOI: 10.1210/jc.2015-4251.
- [21] Van Krimpen SJ, Jansen FAC, Ottenheim VL, et al. The effects of pro-, pre-, and synbiotics on muscle wasting, a systematic review-gut permeability as potential treatment target [J]. *Nutrients*, 2021, 13 (4): 1115. DOI: 10.3390/nu13041115.
- [22] Musi N, Hirshman MF, Nygren J, et al. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2002, 51 (7): 2074-2081. DOI: 10.2337/diabetes.51.7.2074.
- [23] Fanzani A, Conraads VM, Penna F, et al. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: An update [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2012, 3 (3): 163-179. DOI: 10.1007/s13539-012-0074-6.
- [24] Aroda VR, Edelstein SL, Goldberg RB, et al. Long-term metformin use and vitamin B12 deficiency in the diabetes prevention program outcomes study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101 (4): 1754-1761. DOI: 10.1210/jc.2015-3754.
- [25] Cetrone M, Mele A, Tricarico D. Effects of the antidiabetic drugs on the age-related atrophy and sarcopenia associated with diabetes type II [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2014, 10 (4): 231-237. DOI: 10.2174/1573399810666140918121022.
- [26] Sanz-Canovas J, Lopez-Sampalo A, Cobos-Palacios L, et al. Management of type 2 diabetes mellitus in elderly patients with frailty and/or sarcopenia [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19 (14): 8677. DOI: 10.3390/ijerph19148677.
- [27] Papanicolaou DA, Ather SN, Zhu H, et al. A phase IIA randomized, placebo-controlled clinical trial to study the efficacy and safety of the selective androgen receptor modulator (SARM), MK-0773 in female participants with sarcopenia [J]. *J Nutr Health Aging*, 2013, 17 (6): 533-543. DOI: 10.1007/s12603-013-0335-x.
- [28] Solomon ZJ, Mirabal JR, Mazur DJ, et al. Selective androgen receptor modulators: Current knowledge and clinical applications [J]. *Sex Med Rev*, 2019, 7 (1): 84-94. DOI: 10.1016/j.sxmr.2018.09.006.
- [29] Burini RC, Anderson E, Durstine JL, et al. Inflammation, physical activity, and chronic disease: An evolutionary perspective [J]. *Sports Med Health Sci*, 2020, 2 (1): 1-6. DOI: 10.1016/j.smhs.2020.03.004.
- [30] Liu HW, Chang SJ. Moderate exercise suppresses NF-kappaB Signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1alpha axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 636. DOI: 10.3389/fphys.2018.00636.
- [31] Manders RJ, Little JP, Forbes SC, et al. Insulinotropic and muscle protein synthetic effects of branched-chain amino acids: Potential therapy for type 2 diabetes and sarcopenia [J]. *Nutrients*, 2012, 4 (11): 1664-1678. DOI: 10.3390/nu4111664.
- [32] Jayanama K, Theou O, Godin J, et al. Association of fatty acid consumption with frailty and mortality among middle-aged and older adults [J]. *Nutrition*, 2020, 70: 110610. DOI: 10.1016/j.nut.2019.110610.
- [33] Ganapathy A, Nieves JW. Nutrition and sarcopenia-what do we know? [J]. *Nutrients*, 2020, 12 (6): 1755. DOI: 10.3390/nu12061755.

(收稿日期: 2024-04-02)

(上接 1130 页)

- [33] 王腊, 江桂通, 王文佳, 等. 黄连解毒汤激活自噬减轻脓毒症大鼠急性肺损伤 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34 (9): 2080-2083. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2023.09.08.
- [34] 李广州, 邓娣, 刘强, 等. 中西医结合治疗慢性阻塞性肺疾病急性发作期痰瘀阻肺证疗效研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23 (8): 206-209. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2021.08.043.
- [35] 葛春蕾, 张兴彩, 李珂珂. 单味中药及其提取物在肺纤维化治疗中的研究进展 [J]. *中医药学报*, 2020, 48 (6): 67-72. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.200112.
- [36] 张骁, 马超亚, 廖锡庆. 活血化瘀类中药及其提取物防治矽肺研究进展 [J]. *中国职业医学*, 2023, 50 (2): 223-229. DOI: 10.20001/j.issn.2095-2619.20230420.
- [37] 张心月. 祛痰、化痰、补虚类中药对肺纤维化大鼠的作用机制探究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2022.
- [38] Ma Q, Li PL, Hua YL, et al. Effects of Tao-Hong-Si-Wu decoction on acute blood stasis in rats based on a LC-Q/TOF-MS metabolomics and network approach [J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32 (4): bmc.4144. DOI: 10.1002/bmc.4144.
- [39] 尤士军, 梁雪, 王春莲, 等. 人参五味子汤加减对肺炎支原体感染致大叶性肺炎 (肺脾气虚证) 患儿的疗效及炎症指标的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2023, 39 (24): 3281-3285. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.24.023.
- [40] 胡自然, 刘锋娟, 李璐, 等. 人参五味子汤治疗肺脾气虚证支气管哮喘患儿的疗效及对其气道炎症、免疫功能的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2024, 19 (4): 800-804, 811. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.240428.
- [41] 周燕萍, 邱明义, 胡作为, 等. 沙参麦冬汤对放射性肺炎大鼠血浆 IL-6, TNF- α , TGF- β_1 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20 (16): 165-168. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160165.
- [42] 高东阳. 沙参麦冬汤对实验性肺纤维化的干预作用和机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [43] 杨忠光, 梁鑫, 赵远桥. 沙参麦冬汤联合化疗对气阴两虚型肺癌患者免疫功能及炎症反应的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23 (16): 158-163. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160158.
- [44] 林丽丽, 冯璐, 黄克, 等. 儿童病毒性肺炎分期防治的中医药研究进展及策略探析 [J]. *南京中医药大学学报*, 2021, 37 (6): 949-957. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2021.0949.

(收稿日期: 2024-05-15)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.021

综述

幽门螺杆菌感染引发非酒精性脂肪性肝病机制的研究进展

王俊策综述 陈冬梅, 杨杰审校



基金项目: 贵阳市科技计划项目([2018]1-85 号)

作者单位: 550000 贵阳, 贵州医科大学临床医学学院消化内科(王俊策); 553000 贵州省六盘水市人民医院消化内科

(陈冬梅); 550000 贵阳, 贵州医科大学附属医院消化内科(杨杰)

通信作者: 陈冬梅, E-mail: cdm2117@163.com

【摘要】 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是引起肝功能异常较常见的疾病,通常由于各种原因引起肝脏代谢脂肪的能力减弱,致使摄入的脂类物质难以正常代谢,导致肝内脂肪过度沉积,病情进展或致肝硬化、肝细胞癌,随着临床对 NAFLD 研究范围的扩大,发现其与幽门螺杆菌(Hp)感染密切相关,文章就 Hp 感染在 NAFLD 中作用机制的研究进展作一综述,以为 NAFLD 的临床预防和治疗提供思路和参考。

【关键词】 非酒精性脂肪性肝病;幽门螺杆菌感染;作用机制

【中图分类号】 R575.5 **【文献标识码】** A

Research progress on the mechanism of non-alcoholic fatty liver disease induced by Helicobacter pylori infection

Wang Junce*, Chen Dongmei, Yang Jie. * Department of Gastroenterology, Clinical Medicine School of Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang 550000, China

Funding program: Guiyang Science and Technology Plan Project ([2018]1-85)

Corresponding author: Chen Dongmei, E-mail: cdm2117@163.com

【Abstract】 Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common disease that causes abnormal liver function. It is usually caused by various reasons that weaken the liver's ability to metabolize fat, making it difficult to metabolize the intake of lipid substances normally, resulting in excessive deposition of fat in the liver. This has been characterized as a global public health challenge event. The prevalence of NAFLD is on the rise globally, affecting 20% to 45% of the general population. There is currently no approved treatment plan for the progression of the disease or the development of liver cirrhosis or hepatocellular carcinoma. With the expansion of clinical research on NAFLD, it has been found that it is closely related to Helicobacter pylori (Hp) infection. This article reviews the research progress on the mechanism of Hp infection in NAFLD, providing new methods for the clinical prevention and treatment of NAFLD.

【Key words】 Nonalcoholic fatty liver disease; Helicobacter pylori infection; Mechanism

目前已发现,幽门螺杆菌(Hp)感染引起的胃溃疡约占70%,十二指肠溃疡高达80%,是导致非医源性消化性溃疡疾病的重要因素^[1-3]。人体感染Hp后,一般很难自行清除干净,往往会造成终生感染。非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种复杂的异质性疾病,大多数患者无任何症状,仅于体检时发现^[4]。目前估计NAFLD患病率为24%,是世界范围内最主要的肝脏疾病之一^[5]。有研究显示,我国NAFLD患病率在25%以上,已被认为是代谢综合征(MetS)的肝脏表现^[6-8],目前有更多的实验证据支持NAFLD和Hp密切相关^[9-11],虽然NAFLD患者感染的可能性较大,尚不清楚其确切机制,但现有几种说法。脂肪变性可能会对清除肝脏微生物造成损害的肝窦微循环形成干扰。NAFLD患者的先天免疫可能会因维生素D水平降低而损害^[12]。有证据表明,Kupffer细胞功能受损及其异常激活不仅可能导致NAFLD的发

展,而且会增加感染风险^[13-15]。同时胰岛素抵抗下小肠过度生长比率较高、小肠上皮连接紧密功能障碍导致肠道通透性增加等,均有可能进一步导致本病患者的感染风险^[16-17]。本文将综述Hp感染引发NAFLD的相关机制,以为临床诊断NAFLD及治疗该病的新靶点提供依据。

1 Hp感染与NAFLD相关性临床研究

Hp生存能力极强,是目前发现的唯一能够在胃中生存的细菌,常见的传播途径为口-口传播、胃-口传播、粪-口传播以及医源性传播,严重影响人体免疫功能,导致人体易感染其他疾病。NAFLD是一种慢性代谢应激性肝损伤疾病,大多数患者无症状,或仅有乏力、恶心、呕吐、食欲不振等非特异性症状。随着临床研究技术的进步,寻找Hp感染与NAFLD的相关性已成为热门的科学议题。Polyzos等^[18]发现与对照组比较,NAFLD患者的抗Hp IgG阳性率较高($P=0.038$)。与11例对

照受试者比较,只有 2 例 NAFLD 患者既没有血清 Hp IgG 阳性,也没有根除治疗史。在 Logistic 回归分析中, Hp 感染和 log (HOMA-IR) 均可独立预测 NAFLD。一项研究通过回归分析发现,幽门螺杆菌感染与 HOMA-IR 之间呈正相关趋势^[19]。多项研究证实, Hp 感染与 NAFLD、脂肪变程度呈正相关 ($P < 0.01$)^[20-22]。上述研究说明 Hp 感染可作为 NAFLD 独立危险因素,这有助于临床识别和理解 Hp 感染的特征及对 NAFLD 的影响,以便制定针对性治疗方案,获取理想的治疗效果。

2 Hp 感染引发 NAFLD 的机制和途径

2.1 胰岛素抵抗

自 1921 年发现胰岛素以来,人们的视角一直集中在肝脏中的胰岛素、骨骼肌和血糖控制上,刺激骨骼肌和脂肪组织吸收葡萄糖,抑制肝组织糖异生,发挥降糖作用。对于 NAFLD 与胰岛素抵抗的发生发展是否有关,王俊平等^[23]研究显示,72 例 NAFLD 患者血清 HOMA-IR 高于 102 例健康体检者。苏如婷等^[24]将非 NAFLD 组、轻度 NAFLD 组、中重度 NAFLD 组的 HOMA-IR 进行对照,发现轻度 NAFLD 组、中重度 NAFLD 组的 HOMA-IR 均高于非 NAFLD 组,而中重度 NAFLD 组高于轻度 NAFLD 组,相关分析还显示 NAFLD 的病变程度与 HOMA-IR 呈正相关。张勇等^[25]研究显示,89 例 NAFLD 患者空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数均高于 60 例无脂肪肝肥胖者,证实胰岛素抵抗指数与 NAFLD 密切相关。付淑姣等^[26]研究显示,NAFLD 组空腹胰岛素、HOMA-IR 均显著高于健康对照组 ($P < 0.05$)。考虑原因一方面为 Hp 感染刺激机体产生大量血管活性物质,增加机体氧化应激状态,通过多条途径作用于胰岛素信号通路,从而导致胰岛素抵抗发生。另一方面为 Hp 感染能够分泌毒素,诱导白介素-1 β 、白介素-6 等多种免疫因子,促进胃黏膜炎症反应状态,诱发胰岛素抵抗。

2.2 Kupffer 细胞功能受损

Kupffer 细胞是全身单核巨噬细胞系统的重要组成部分,约占巨噬细胞总数的 80%, Kupffer 细胞可通过突入内皮细胞下 Disse 间隙突起与肝细胞直接接触; Kupffer 细胞激活后吞噬功能增加,胞内会出现一些破损的红细胞和碎片。研究显示, Kupffer 细胞通过调整肝内炎症反应和免疫的平衡状态,影响肝内组织细胞的生理,诱发 NAFLD 的形成^[27-29]。此外, Hp 感染使 Kupffer 细胞功能受损可能在于 Hp 感染后通过影响胃上皮细胞和巨噬细胞的自噬过程所实现^[30]。

维生素 D 是一种基本营养素,也是类固醇荷尔蒙家族成员之一,起初科学家们认为维生素 D 与其他维生素一样,直到 1969 年发现细胞内存在维生素 D 特异性结合蛋白,维生素 D 先经肝脏羟化为骨化二醇(25-羟基维生素 D),然后在肾脏经 1 α -羟化酶进一步活化为骨化三醇(1,25-羟基维生素 D)后释放入血运输至靶器官,对促进骨骼发育和维持骨健康有重要作用^[31]。随着技术的不断进步和维生素 D 研究范围的不断拓展,有学者对维生素 D 防治 NAFLD 效果、维生素 D 与 Hp 感染相关性进行深入研究^[32],罗雯静等^[33]研究发现,维生素 D 能够调控 Kupffer 细胞极化,对防治 NAFLD 有着重要意义。周文艳等^[34]发现, Hp 阳性者的血清维生素 D 水平显著低于 Hp 阴性者,且维生素 D 水平正常者的 Hp 感染率明显低于偏低者 ($P < 0.05$)。赵炳超^[35]研究发现,感染 Hp 患者血清维生素 D 水平

低于 Hp 阴性者,且感染 Hp 患者血清维生素 D 水平越低则 Hp 根除率越低。这是由于临床通常使用抗生素来清除 Hp,以减少相关疾病的风险。然而, Hp 的治疗可能会对肠道菌群产生影响,从而干扰维生素 D 的吸收和代谢。

2.3 肠道屏障异常

胃肠道是人体最早发育的组织器官之一,具有丰富的内分泌细胞、自主神经、微血管和淋巴管。肠道屏障功能是防御病菌在肠道黏膜黏附和定植的重要防线,正常情况下,肠道共生菌与宿主可形成一个具有动态稳定性的微生态系统,肠道共生菌附着在宿主肠道表面黏膜层上,形成了一层由细菌构成的微生物屏障,它通过竞争性黏附等机制阻止肠腔内细菌、毒素等有害物质侵入人体,从而发挥重要的屏障功能。 Hp 感染后会在人胃内低 pH 环境中,产生大量毒素损伤胃黏膜,随后可能会出现肠化生或者异型增生,导致肠道微生物群发生改变。一项初步研究报道,幽门螺杆菌定植改变了胃微生物群,降低了生物多样性。考虑原因一方面为 Hp 通过干扰质子泵的表达,调节胃腔的酸度,从而使微环境与通常不能在胃中生长的微生物相容。另一方面为 Hp 可能通过动员抗菌肽或通过营养竞争来改变其他微生物群的生长。

近年来,越来越多的证据表明,肠道屏障异常是 NAFLD 发生和发展的重要因素,包括肠道通透性增加、小肠细菌过度生长、肠道菌群失调等^[36]。杨林辉等^[37]研究显示,非酒精性脂肪性肝炎患者肠球菌、肠杆菌的菌落数均高于健康成人,双歧杆菌、乳杆菌和拟杆菌的菌落数显著低于健康成人;血清内毒素、DAO、D-乳酸、TNF- α 水平方面,非酒精性脂肪性肝炎患者比健康成人更高。梁淑文等^[38]研究发现,NAFLD 患者双歧杆菌、乳杆菌的数量及 B/E 比值低于健康体检者,粪肠球菌与大肠杆菌的数量高于健康体检者。可能由于 Hp 感染期间存在的免疫细胞均为促炎细胞,其通过刺激 IL-12 的释放增强了促炎反应;或由于长期微生物感染、肠道菌群失调增加肠道通透性,造成内毒素经门静脉、肝脏进入体循环,激活肝脏中各种促炎基因和细胞因子。此外,当肠道屏障受损后大量细菌及其代谢物脂多糖(LPS)通过肝肠循环进入肝脏,LPS 会刺激 Kupffer 细胞和肝星状细胞并诱发 NAFLD。此外, Hp 可以分泌酸性物质,这种物质可以对胃黏膜产生刺激,使胃黏膜分泌大量胃酸,导致屏障功能受损,由此会促进外籍菌的优势繁殖,引起小肠细菌过度生长及肠道菌群失调^[39]。

2.4 血脂水平异常

血脂是构成细胞膜的重要成分,在脂质的运输和代谢上起着重要作用。大多数脂质的化学本质是脂肪酸和醇所形成的酯类及其衍生物。脂质积累是 NAFLD 的典型标志,脂质积累有助于氧化应激和促进炎症反应,它们共同诱导造成肝细胞死亡、炎症反应和纤维化发展的细胞应激途径,并最终形成 NAFLD^[40-41]。Benhamed 等^[42]研究发现,当脂肪变性大于 50% 时非酒精性脂肪性肝炎患者肝活检中 ChREBP 的表达增加,而当存在严重胰岛素抵抗时, ChREBP 表达减少,说明高表达的 ChREBP 影响肝脂肪变性与胰岛素抵抗。杨蕊旭等^[43]研究发现, NAFLD 患者血清脂质代谢与正常人之间有 77 种脂质存在明显差异 ($P < 0.05$),且 NAFLD 患者 LPI、Cer、TG 较正常人更高 ($P < 0.05$)。Carotti 等^[44]研究显示, LPS/Toll

样受体 4 (TLR4) 轴与 NAFLD 的发病机制有关, TLR4 在 NAFLD 患者肝细胞、胆管细胞和门/隔大细胞中的表达水平较高。黄庆菊等^[45]将 NAFLD 单因素分析具有统计学意义的项目作为自变量, 并进行二元 Logistic 回归分析, 发现 TG 是 NAFLD 的独立危险因素。任清波等^[46]显示, 未接受过任何治疗措施的非酒精性单纯性脂肪肝 (NAFL) 患者三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇均高于健康对照人群。考虑原因一方面是 Hp 感染后寄生在胃黏膜中分泌尿素酶, 侵蚀、破坏胃黏膜, 从而影响脂肪的消化和吸收, 导致血脂异常。另一方面 Hp 感染会抑制肝脏中的酶活性, 导致胆汁酸合成减少, 从而影响胆固醇的代谢。

3 小结与展望

NAFLD 作为严重的慢性肝脏疾病, 除了可直接导致失代偿期肝硬化、肝细胞癌和移植肝复发外, 还可影响其他慢性肝病的进展。Hp 是一种对生长环境要求十分苛刻的螺旋状微厌氧菌, 为世界上传播较为普遍的慢性致病菌之一, 是目前已知唯一能在人体胃内生存的微生物。Hp 感染除了导致胃肠道本身病变外, 还被猜测导致 NAFLD 疾病。经上述诸多研究发现, Hp 感染在 NAFLD 中的作用机制可能与胰岛素抵抗、Kupffer 细胞功能受损、肠道屏障异常、血脂水平异常等有关, 但部分研究在研究设计、样本大小方面都存在不同程度的局限性, 今后仍需要进行大样本量、多中心的试验, 以为 Hp 感染引发 NAFLD 的潜在机制提供理论依据和数据参考。

参考文献

- [1] Ansari S, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* virulence factors exploiting gastric colonization and its pathogenicity [J]. *Toxins (Basel)*, 2019, 11(11): 677. DOI: 10.3390/toxins11110677.
- [2] Suzuki H, Franceschi F, Nishizawa T, et al. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection [J]. *Helicobacter*, 2010, 11(Suppl 1): 46-51. DOI: 10.1111/j.1478-405X.2006.00430.x.
- [3] Myles A, Aggarwal A. Lack of association of single nucleotide polymorphisms in toll-like receptors 2 and 4 with enthesitis-related arthritis category of juvenile idiopathic arthritis in Indian population [J]. *Rheumatology International*, 2013, 33(2): 417-421. DOI: 10.1007/s00296-012-2396-2.
- [4] Araujo AR, Rosso N, Bedogni G, et al. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future [J]. *Liver International*, 2018, 38(S1): 47-51. DOI: 10.1111/liv.13643.
- [5] Olliver JR, Hardie LJ, Gong Y, et al. Risk factors, DNA damage, and disease progression in Barrett's esophagus. [J]. *Cancer Epidemiol, Biomarkers Prev*, 2005, 14(3): 620-625. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-04-0509.
- [6] Chen SH, He F, Zhou HL, et al. Relationship between nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome [J]. *J Dig Dis*, 2011, 12(2): 125-130. DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00487.x.
- [7] Chitturi S, Farrell G. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Seminars in Liver Disease*, 2001, 21: 27-42. DOI: 10.1055/s-2001-12927.
- [8] Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease: the "common soil"

- Hypothesis [J]. *Diabetes*, 1995, 44(4): 369-374. DOI: 10.2337/diab.44.4.369.
- [9] Samuel VT, Liu ZX, Qu X, et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(31): 32345-32353. DOI: 10.1074/jbc.M313478200.
- [10] Li Z, Yang S, Lin H, et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2010, 37(2): 343-350. DOI: 10.1053/jhep.2003.50048.
- [11] Barchetta I, Cimini FA, Cavallo MG. Vitamin D and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD): An update [J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3302. DOI: 10.3390/nu12113302.
- [12] Tang T, Sui Y, Lian M, et al. Pro-inflammatory activated Kupffer cells by lipids induce hepatic NKT cells deficiency through activation-induced cell death [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e81949. DOI: 10.1371/journal.pone.0081949.
- [13] Kremer M, Thomas E, Milton RJ, et al. Kupffer cell and interleukin-12-dependent loss of natural killer T cells in hepatosteatosis [J]. *Hepatology*, 2010, 51(1): 130-141. DOI: 10.1002/hep.23292.
- [14] Baffy G. Kupffer cells in non-alcoholic fatty liver disease: The emerging view [J]. *J Hepatol*, 2009, 51(1): 212-223. DOI: 10.1016/j.jhep.2009.03.008.
- [15] Vanderkerken K, Bouwens L, Rooijen NV, et al. The role of Kupffer cells in the differentiation process of hepatic natural killer cells [J]. *Hepatology*, 1995, 22(1): 283-290. DOI: 10.1002/hep.1840220139.
- [16] 蔡均均, 韩涛. 2013 年欧洲肝病学会肝硬化细菌感染的立场声明的概述 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2014(7): 588-591. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2014.07.003.
- [17] Miele L, Valenza V, La Torre G, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2009, 49(6): 1877-1887. DOI: 10.1002/hep.22848.
- [18] Polyzos SA, Kountouras J, Papatheodorou A, et al. *Helicobacter pylori* infection in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Metabolism Clinical & Experimental*, 2013, 62(1): 121-126. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.06.007.
- [19] Kountouras J, Polyzos SA, Zavos C, et al. The association between *Helicobacter pylori* infection and insulin resistance: A systematic review [J]. *Helicobacter*, 2011, 16(2): 79-88. DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00822.x.
- [20] 徐晖. 幽门螺杆菌感染与非酒精性脂肪性肝病的关系 [J]. *中国美容医学*, 2011, 20(z6): 69-70. DOI: 10.3969/j.issn.1008-6455.2011.z6.053.
- [21] 王砚砚, 于庆功, 刘昕欣, 等. 幽门螺杆菌感染与非酒精性脂肪性肝病的相关性 [J]. *医学临床研究*, 2019, 36(5): 919-921. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7171.2019.05.029.
- [22] 刘安楠, 王蕾蕾, 张晏, 等. 非酒精性脂肪性肝病与幽门螺杆菌感染的相关性 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2014, 23(12): 1451-1454. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2014.12.023.
- [23] 王俊平, 杨路亭. 非酒精性脂肪性肝病患者血清 Chemerin 水平与 HOMA-IR、hs-CRP 的相关性 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2017, 17(31): 60-61.

- [24] 苏如婷,韩晓骏.非酒精性脂肪肝病与胰岛素抵抗的相关性[J].实用医学杂志,2012,28(21):3551-3553. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2012.21.019.
- [25] 张勇,夏林莉.胰岛素抵抗与非酒精性脂肪性肝病的研究[J].临床和实验医学杂志,2010,9(20):1555. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2010.20.019.
- [26] 付淑姣,杨志欣.非酒精性脂肪肝病者血清 HMGB-1、IL-1 β 、Vaspin 水平与 HOMA-IR 的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(17):2132-2134,2138. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.17.020.
- [27] 徐柯,洪振丰. Kupffer 细胞在非酒精性脂肪性肝病形成中的作用[J].中国中医药现代远程教育,2010,8(9):57. DOI:10.3969/j.issn.1672-2779.2010.09.039.
- [28] Stienstra R, Saudale F, Duval C, et al. Kupffer cells promote hepatic steatosis via interleukin-1beta-dependent suppression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity[J]. Hepatology: Official Journal of the American Association for the Study of Liver Diseases, 2010,51(2):511-522. DOI:10.1002/hep.23337.
- [29] 张利利,向晓星. Kupffer 细胞在非酒精性脂肪性肝病发病机制中的作用[J].临床肝胆病杂志,2011,27(8):873-876. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2011.08.025.
- [30] 何丛,谢川,吕农华.幽门螺杆菌感染对不同细胞自噬影响的研究进展[J].微生物学报,2014,54(12):1391-1396. DOI:10.13343/j.cnki.wsxb.2014.12.001.
- [31] 宁志伟,王鸥,邢小平.维生素 D 的研究历史[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2018,11(1):39-43. DOI:10.3969/j.issn.1674-2591.2018.01.005.
- [32] Dortet L, Mostowy S, Cossart P. Recruitment of the major vault protein by InlK: A listeria monocytogenes strategy to avoid autophagy[J]. PLoS Pathogens, 2011,7(8):e1002168. DOI:10.1371/journal.ppat.1002168.
- [33] 罗雯静,董显文,赵巧素,等.维生素 D 调控 Kupffer 细胞极化在非酒精性脂肪性肝病防治中的作用[J].浙江医学,2023,45(9):916-921. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2023.45.9.2023-189.
- [34] 周文艳,宋红.血清维生素 D 与 Hp 感染的相关性探讨[J].中外医疗,2020,39(18):44-46. DOI:10.16662/j.cnki.1674-0742.2020.18.044.
- [35] 赵炳超.血清维生素 D 水平与幽门螺杆菌根除率的关系研究[J].中国实用医药,2022,17(16):53-55. DOI:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2022.16.014.
- [36] 何丛,谢川,吕农华.幽门螺杆菌感染对细胞自噬调控的研究进展[J].中华医学杂志,2014,94(24):1915-1917. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2014.24.019.
- [37] 杨林辉,蔡俊,刘国栋,等.非酒精性脂肪性肝炎患者肠道菌群失调与肠道通透性及血清内毒素的相关性研究[J].中国微生态学杂志,2012,24(9):801-804.
- [38] 梁淑文,王晓英,屈昌民,等.非酒精性脂肪性肝病患者胰岛素抵抗与肠道菌群失调相关性研究[J].中国医药,2016,11(1):83-86. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2016.01.020.
- [39] 唐君瑞,李明珂,曹光琼,等.非酒精性脂肪性肝病与幽门螺杆菌感染的相关性[J].疑难病杂志,2020,19(3):242-247. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.03.006.
- [40] 刘艳如,温晓华,高冕,等.非肥胖人群血浆致动脉硬化指数与非酒精性脂肪性肝病的相关性[J].临床误诊误治,2021,34(10):94-98. DOI:10.3969/j.issn.1002-3429.2021.10.021.
- [41] 喻江南,宋铃瑜,杨红,等.肠道菌群代谢产物琥珀酸对非酒精性脂肪性肝病小鼠的影响[J].疑难病杂志,2022,21(9):976-980. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.09.017.
- [42] Benhamed F, Denechaud PD, Lemoine M, et al. The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans[J]. Journal of Clinical Investigation, 2012,122(6):2176-2194. DOI:10.1172/JCI41636.
- [43] 杨蕊旭,胡春秀,宓余强,等.非酒精性脂肪性肝病者血清脂质组学研究[J].中华肝脏病杂志,2017,25(2):122-127. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2017.02.009.
- [44] Carotti S, Vespasiani-Gentilucci U, Perrone G, et al. Hepatic toll-like receptor 4 expression is associated with portal inflammation and fibrosis in patients with NAFLD[J]. Liver International, 2015,35(2):569-581. DOI:10.1111/liv.12531.
- [45] 黄庆菊,侯亚甜,王景瑞,等.老年非酒精性脂肪性肝病患者肝功能与血脂水平的相关性研究[J].中国现代药物应用,2022,16(20):28-31. DOI:10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2022.20.007.
- [46] 任清波,郇述玲,陈晶晶,等.非酒精性单纯性脂肪肝患者肝功及血脂代谢情况分析[J].山东医药,2016,56(17):92-93. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2016.17.034.

(收稿日期:2024-03-30)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.022

综述

跨膜 emp24 转运蛋白家族在人类恶性肿瘤中的研究进展

李俊蓉综述 刘琦,赵寒冰审校



基金项目:贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwbkj2022-050)

作者单位:550001 贵阳,贵州医科大学临床医学院(李俊蓉);贵州医科大学附属医院消化内科(刘琦、赵寒冰)

通信作者:赵寒冰, E-mail:2624351332@qq.com

【摘要】跨膜 emp24 转运蛋白(TMED)家族是一种跨膜蛋白,在早期胚胎发育、器官形成、先天免疫信号传导、细胞增殖等许多方面发挥重要作用。近年来, TMED 家族在恶性肿瘤方面的研究备受关注,其异常表达与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移及预后都有很大关系。最新研究发现, TMED 在不同恶性肿瘤中呈现出不同程度的表达,其中包括乳腺癌、肝癌、卵巢癌、结直肠癌、宫颈癌等,其促进肿瘤发展的机制十分复杂。文章就 TMED 在恶性肿瘤中的研究现状及作用机制进行综述,为肿瘤的预防和治疗提供新的思路。

【关键词】恶性肿瘤;跨膜 emp24 转运蛋白;标志物;早期诊断

【中图分类号】R730.2 【文献标识码】A

Research progress of transmembrane emp24 domain-containing protein family in human malignant tumors Li Junrong*, Liu Qi, Zhao Hanbing. *Clinical Medicine School of Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang 550001, China

Funding program: Science and Technology Fund Project of Guizhou Provincial Health Commission(gzwbkj2022-050)

Corresponding author: Zhao Hanbing, E-mail: 2624351332@qq.com

【Abstract】Transmembrane emp24 domain-containing protein(TMED) family, as a kind of transmembrane protein whose molecular weight is 24KDa, plays important roles in many aspects, such as early embryonic development, organ formation, innate immune signaling, cell proliferation and so on. In recent years, people have focused a lot on researches applications of TMED family in treating malignant tumor and its abnormal expressions are closely related to the occurrence, development, invasion, metastasis and prognosis of tumors. Recent researches have shown that TMED has expressions of different degrees in different malignant tumors, including breast cancer, liver cancer, ovarian cancer, colorectal cancer, cervical cancer, etc. It has a very complex mechanism in promoting tumor development. This thesis discusses the current research situations of the application of TMED in treating malignant tumors and its operational mechanism, contributing to the groundwork for the prevention and treatment.

【Key words】Malignant tumors; Transmembrane emp24 domain-containing protein; Markers; Early diagnosis

据全球癌症统计显示,全球癌症发病率及死亡率逐年增加,尽管目前关于恶性肿瘤的治疗不断取得进展,但患者的5年生存率仍低^[1]。因此,寻找早期诊断肿瘤和评估患者预后相关的标志物,探索肿瘤的发生机制对提升临床肿瘤的诊治水平具有重要意义。跨膜 emp24 转运蛋白(transmembrane emp24 domain-containing protein, TMED)家族是一种跨膜蛋白,存在于所有真核生物中,参与细胞分泌途径^[2]。许多研究表明, TMED 家族在多种恶性肿瘤及其他疾病中表达异常,并对肿瘤的转移和侵袭过程产生影响^[3,4]。TMED 家族在肿瘤的发生和发展过程中起着举足轻重的作用,但它的表达方式、确切功能以及作用机制,目前尚未明确。本文对 TMED 家族在恶性肿瘤发生和发展方面的最新研究进展进行综述,旨在为恶性肿瘤提供早期诊断的理论依据和准确的治疗靶点。

1 TMED 蛋白家族的结构

TMED 家族是蛋白家族中跨膜 emp24 结构域的成员。最初 TMED 家族称为 emp24 家族, TMED 蛋白家族是一组分子复合体,分为 α 、 β 、 γ 和 δ 4 个类型。10 个已知 TMED 基因存在于哺乳动物中,分别为 α 亚家族(TMED4, TMED9, TMED11)、 β 亚家族(TMED2)、 γ 亚家族(TMED1, TMED3, TMED5, TMED6, TMED7)和 δ 亚家族(TMED10)。TMED 蛋白在真核生物中结构保守,每个家族成员由四大片区组成:高尔基体动力学结构域、线圈结构域、单个跨膜结构域和一个胞质侧的短肽段。腔内结构由高尔基体动力学结构域和线圈结构域在 N 端共同构成, C 末端的小胞质部分含有能与外被体蛋白复合物相互作用的基序,使其调节内质网和高尔基体之间的双向运输^[4]。

2 TMED 蛋白家族的生理作用

TMED 家族在胚胎发育、器官形成、先天免疫信号传导、细胞增殖等多方面扮演着重要的角色。有研究发现, TMED1 能与 ST2 受体(Toll 样/IL-1 受体超家族的成员) 结合正向调节 IL-33 诱导 IL-8 和 IL-6 的产生。不仅如此, TMED2 还能增强 DNA 病毒诱导的干扰素基因刺激因子信号传导, 与先天免疫应答紧密关联。此外, TMED2 是小鼠胚胎和胎盘形态发生所必需的, 敲除 TMED2 基因后的突变胚胎在发育早期表现出发育异常。在具有扩张型心肌病的巴基斯坦患者中, 存在 TMED4 基因的等位缺失, 导致 TMED4 在心肌组织中高表达^[5]。TMED10 对哺乳动物大脑及内耳的发育起到一定的作用。TMED2 和 TMED10 对细胞增殖过程具有一定的影响^[6-7]。除此之外, 相关研究还发现 TMED4 可抑制柯萨奇 B 组 3 型病毒复制^[8]。

3 TMED 家族与恶性肿瘤

TMED 蛋白家族在人类各类疾病发展中也有参与, 如扩张型心肌病、阿尔茨海默病、缺血性脑卒中, 并在 β 细胞胰岛素分泌、调控信号通路、细胞信号传导和细胞生长中显示出特定作用^[9]。目前已有大量研究显示^[10-11], TMED 在多种肿瘤组织中表达异常, 同时也对肿瘤细胞的凋亡、侵袭、增殖和分化进行调控, 并参与调控多种信号路径^[12]。TMED 家族或可作为生物标志物用于早期诊断肿瘤^[13], 可为今后临床诊断和恶性肿瘤治疗提供新的理论指导。

3.1 TMED 家族与乳腺癌 乳腺癌作为女性发病率最高的恶性肿瘤, 远处转移的患者 5 年总生存率为 25% 左右^[14]。因此, 探索与乳腺癌相关的新型分子标志物对乳腺癌的诊断、治疗及预后至关重要。Lin 等^[15] 研究发现, 在乳腺癌组织与正常乳腺组织中 TMED2 表达存在很大差异, 乳腺癌总生存期减少和不良预后与 TMED2 mRNA 表达增多密切相关, 通过蛋白质免疫印迹法验证了 TMED2 蛋白水平升高时乳腺癌生存期减少, 并且 TMED2 增多的乳腺癌患者预后较差。还发现 TMED2 可通过靶向 KEAP1-NRF2 通路诱导乳腺癌顺铂耐药, 促进乳腺癌细胞增殖和迁移^[16]。此外, Fang 等^[17] 也提出, 在乳腺癌组织中 TMED2/3/4/9 的表达水平高于正常组织, 敲低 TMED2/3/4/9 可显著抑制乳腺癌细胞迁移和侵袭的能力, 且其异常表达与多种肿瘤抑制性免疫细胞的浸润和多种免疫检查点基因均呈负相关, 还可能与许多激酶、转录因子和 miRNA 的综合调控作用有关。Ju 等^[18] 在 BT549 和 MDA-MB-231 细胞系中观察到 TMED9 高表达, 而 TMED9 的低表达可以有效抑制细胞增殖和迁移能力, 还能增强这 2 种细胞对化疗药物吉西他滨的敏感度。因此 TMED2/3/4/9 具有促进乳腺癌细胞迁移和增殖的作用, 可能是治疗乳腺癌的一个新的靶点, 目前在这方面还有待更深入的研究。

3.2 TMED 家族与肝癌 肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 也是导致癌症相关死亡的疾病之一。传统化疗、放疗效果不佳, 预后不理想, 因此, 更加深入地探讨与肝癌病因相关的分子是创造可行治疗方法的必要条件^[19]。Xu 等^[20] 发现, N6-甲基腺嘌呤甲基转移酶可通过激活 Akt/GSK/ β -catenin 和 MEK/ERK/Slug 信号通路来促进 TMED2 在胆管细胞中的表达, 并促

进肝癌细胞的增殖和转移。董元杰等^[21] 研究发现, 肝细胞癌中 TMED5 低表达患者平均生存时间比高表达患者长, 提示 TMED5 可能与肝癌患者的不良预后有关。同时其他学者发现类似结果^[22], TMED5 可能起到调节细胞周期的作用, 也可调节哺乳动物雷帕霉素信号通路和转化生长因子信号通路。在敲低 TMED5 的 SMMC-5 和 Hep7721B 细胞中, 细胞的增殖、迁移和侵袭受到明显抑制, 并促进细胞凋亡的发生。有研究表明^[23], TMED9 在肝细胞癌中的表达显著影响细胞迁移、侵袭、增殖和集落形成能力。因此, TMED9 的表达在肝细胞癌中至关重要。

3.3 TMED 家族与卵巢癌 卵巢癌是妇科常见恶性肿瘤之一。其病死率高居妇科恶性肿瘤首位^[24]。TMED3 敲低可导致卵巢癌细胞活力和迁移能力降低, 以及细胞凋亡增加、抑制肿瘤生长, 其作用机制可能是通过调节 SMAD2 和 PI3K-AKT 信号通路介导的。体外研究显示^[25], TMED9 在卵巢癌上皮组织中的表达显著高于正常组织, 与不良临床病理参数呈正相关, 且对无病生存率和总生存期具有独立的预测能力。敲低 TMED9 可降低上皮卵巢癌细胞的迁移、侵袭、增殖和集落形成, 表明 TMED9 可能是一种预后标志物, 可作为靶向治疗卵巢癌的一个新方法。

3.4 TMED 家族与结直肠癌 结直肠癌是世界上男性第三常见癌症及女性第二常见癌症, 从正常的上皮发展到癌变的过程涉及众多细胞信号通路相关基因的改变。有研究报道, TMED3 缺失增加了 TMED9 水平, 延长了 TGF 信号转导, 并上调了具有迁移和侵袭作用的基因。Mishra 等^[26] 证明 TMED9 具有促进肿瘤转移功能, 其机制为驱动 CNH4/TGF α /GLI 信号通路来实现, 同时还抑制 TMED3-WNT-TCF 通路。在癌症发展过程中 TMED 蛋白可以相互调节, 因此可以认为 TMED9 是结直肠癌的致癌基因。但是, Wang 等^[13] 发现结直肠癌组织中 TMED3 表达上调, 并且 TMED3 表达与结直肠癌肿瘤大小、局部浸润深度和淋巴结转移呈正相关。但 TMED3 与结直肠癌的相关性及作用机制尚不完全明确, 还需进一步深入研究。除此以外, Sun 等^[27] 发现 TMED10 在结直肠癌的细胞迁移和侵袭过程中起着负向调控作用。进一步研究其机制发现, TMED10 可以直接与癌基因 PRL-3 相互作用, 影响 PRL-3 的易位过程, 研究发现敲除 TMED10 可消除 PRL-3 促进的结直肠癌细胞的迁移和侵袭。最新的研究表明^[28], 在结直肠癌患者组织中 TMED1 蛋白表达比正常组织高, 敲低 TMED1 可减少结直肠癌细胞的增殖和诱导细胞凋亡, 且与晚期预后不良呈正相关, TEMD1 还增加了癌细胞的耐药性。以上结果说明 TMED1 可能是一种潜在的抗癌治疗靶点, 但仍需要进一步研究其具体机制。

3.5 TMED 家族与肺癌 肺癌的发病率和病死率均居全球首位, 5 年生存率较低。按病理学可分为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) 和小细胞肺癌, 而肺腺癌和肺鳞癌是 NSCLC 最常见的类型^[29]。Feng 等^[30] 发现, TMED2 敲低可通过 TLR4/NF- κ B 信号转导增加细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖, 减少肿瘤体积, 降低肿瘤生物标志物和炎症因子水平, 从而抑制肺腺癌的发展, 因此, TMED2 可能通过 TLR4/NF- κ B 信号调节肺

腺癌的炎性反应,为肺腺癌的治疗提供新的策略。有研究发现,抑制 TMED3 在增强 NSCLC 细胞对化疗药物敏感性的同时,降低了 NSCLC 细胞增殖侵袭的能力,其机制可能是 TMED3 通过调整 AKT/GSK-3 β / β -catenin 轴信号传导来影响 NSCLC 的癌变^[31]。也有研究表明^[32],TMED3 在肺鳞状细胞癌组织中的表达上调,其表达与肿瘤进展呈正相关。且敲低 EZR 可以在体外抑制肺鳞状细胞癌的发展并减轻 TMED3 过表达诱导的肺鳞状细胞癌的发生。因此 TMED3 很可能成为肺癌靶向治疗的新靶标,但 TMED3 调节肺癌下游信号通路等具体机制方面还有待进一步探索。

3.6 TMED 家族与头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) 头颈部肿瘤指发生在口腔、鼻咽喉、颈部、食管上段的恶性肿瘤,多数为鳞状细胞癌,HNSCC 的局部复发和转移是导致患者不良预后的重要因素^[33]。此类疾病的发生发展与致癌病毒感染、烟草和酒精暴露密切相关^[34]。Gao 等^[35]发现 TMED2/9/10 在 HNSCC 患者中显著上调,且其上调与 HNSCC 预后呈负相关,其机制可能是通过影响肿瘤细胞的免疫微环境实现。TMED2 在舌鳞状细胞癌中发挥着促癌作用,其机制很可能是通过激发 Cal-27 细胞的迁移、侵袭及增殖能力而实现。也有实验显示 miR-5583-5p 表达升高时,TMED2 表达明显受到抑制,因此,TMED2 很可能是通过与 miR-5583-5p 形成靶向结合来促进舌鳞状细胞癌的迁移、侵袭、增殖及上皮间充质转化^[36]。Yang 等^[37]证实,TMED3 过表达与食管鳞癌患者的不良预后相关,当 TMED3 被敲除时,食管鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭受到抑制,而细胞凋亡在体外被促进,体内的致瘤机制也受到抑制。有研究表明^[38],头颈鳞状细胞癌中 TMED10 的表达明显比正常组织高,且与患者预后不良密切相关,其机制可能是通过 PI3K-Akt 信号通路促进头颈鳞状细胞癌发生发展。因此,可通过干预该通路作为新的治疗头颈鳞状细胞癌的手段。

3.7 TMED 家族与宫颈癌 宫颈癌发病率和病死率位于全球女性癌症的第 4 位。TMED2 在宫颈鳞癌患者中的表达较高,并且与较差的总体生存期和无复发生存期密切相关,因此 TMED2 可能在宫颈鳞癌的发生和发展中发挥重要作用。杨臻^[39]发现,miR-G-1 具有促进宫颈癌细胞在子宫颈增殖、迁移、侵袭和抑制癌细胞凋亡的能力;同时与癌细胞对顺铂的耐药性相关,而 TMED5 在 miR-G-1 促进宫颈癌细胞核自噬及恶性行为中起着重要的作用。此外,TMED5 通过激活 Wnt7b/ β -连环蛋白信号通路发挥对宫颈癌的促进作用。另一项研究证实^[40],TMED5 可作为 miR-183-5p 的靶标,通过 circ_0018289/miR-183-5p/TMED5 轴调控网络参与肿瘤的生长。以上研究表明,TMED 的潜在调控作用对宫颈癌的诊断和治疗具有重要价值。

4 小结与展望

TMED 家族在内质网—高尔基体的双向运输中扮演重要角色,在胚胎发育、器官形成、先天免疫信号传导、细胞增殖等多方面发挥着重要作用。尽管对 TMED 家族在人类恶性肿瘤中的研究还处于探索阶段,但是,越来越多的研究发现,在多种恶性肿瘤中,TMED 表达水平显著提高,并通过多种信号通路对肿

瘤细胞的凋亡、侵袭、增殖和分化等进行调控,可能会对肿瘤的进展、患者的存活率以及预后等方面产生影响。目前,人们对 TMED 在肿瘤发展中的调控作用机制及其转移相关途径的相互作用了解有限。未来需要对 TMED 家族在人类恶性肿瘤中的作用机制进行深入的研究和了解,揭示调控信号通路,以期转化为实际药物开发,为针对 TMED 的靶向治疗提供理论支持和实践指导。

参考文献

- [1] Zhang Y, Rungay H, Li M, et al. Nasopharyngeal cancer incidence and mortality in 185 countries in 2020 and the projected burden in 2040: Population-based global epidemiological profiling [J]. *JMIR Public Health Surveill*, 2023, 9: e49968. DOI: 10.2196/49968.
- [2] Mota DCAM, Cardoso IA, Mori RM, et al. Structural and thermodynamic analyses of human TMED1 (p24 γ 1) Golgi dynamics [J]. *Biochimie*, 2022, 192: 72-82. DOI: 10.1016/j.biochi.2021.10.002.
- [3] Zhou L, Li H, Yao H, et al. TMED family genes and their roles in human diseases [J]. *Int J Med Sci*, 2023, 20 (13): 1732-1743. DOI: 10.7150/ijms.87272.
- [4] Li Q, Liu X, Xing R, et al. Transmembrane p24 trafficking protein 10 (TMED10) inhibits mitochondrial damage and protects neurons in ischemic stroke via the c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathway [J]. *Exp Anim*, 2023, 72 (2): 151-163. DOI: 10.1538/expanim.22-0060.
- [5] Shakeel M, Irfan M, Khan IA. Rare genetic mutations in Pakistani patients with dilated cardiomyopathy [J]. *Gene*, 2018, 673: 134-139. DOI: 10.1016/j.gene.2018.06.019.
- [6] Yang X, Li S, Wu Y, et al. The circular RNA CDR1as regulate cell proliferation via TMED2 and TMED10 [J]. *BMC Cancer*, 2020, 20 (1): 312. DOI: 10.1186/s12885-020-06794-5.
- [7] Roberts BS, Satpute-Krishnan P. The many hats of transmembrane emp24 domain protein TMED9 in secretory pathway homeostasis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 10: 1096899. DOI: 10.3389/fcell.2022.1096899.
- [8] 徐忆莲. 宿主细胞蛋白 TMED4 抑制柯萨奇 B 组 3 型病毒复制的分子机制初探 [D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- [9] 黄汉文. TMED3 对人脊索瘤细胞活力、迁移和凋亡影响的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2021.
- [10] Sial N, Saeed S, Ahmad M, et al. Multi-omics analysis identified TMED2 as a shared potential biomarker in six subtypes of human cancer [J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14: 7025-7042. DOI: 10.2147/IJGM.S327367.
- [11] Chen X, Zhang W, Han X, et al. TMED3 stabilizes SMAD2 by counteracting NEDD4-mediated ubiquitination to promote ovarian cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2024, 63 (5): 803-816. DOI: 10.1002/mc.23689.
- [12] 张秀梅. TMED3 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进乳腺癌增殖和侵袭 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
- [13] Wang RF, Hong YG, Hao LQ, et al. Expression of TMED3 is independently associated with colorectal cancer prognosis [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23 (4): 286. DOI: 10.3892/etm.2022.11215.
- [14] Liang Y, Zhang H, Song X, et al. Metastatic heterogeneity of breast cancer: Molecular mechanism and potential therapeutic targets [J].

- Semin Cancer Biol, 2020, 60: 14-27. DOI: 10. 1016/j. semcancer. 2019. 08. 012.
- [15] Lin X, Liu J, Hu SF, et al. Increased expression of TMED2 is an unfavorable prognostic factor in patients with breast cancer [J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 2203-2214. DOI: 10. 2147/CMAR. S192949.
- [16] Liang C, Zhang HY, Wang YQ, et al. TMED2 induces cisplatin resistance in breast cancer via targeting the KEAP1-Nrf2 pathway [J]. Curr Med Sci, 2023, 43 (5): 1023-1032. DOI: 10. 1007/s11596-023-2777-7.
- [17] Fang Z, Song YX, Wo GQ, et al. Screening of the novel immune-suppressive biomarkers of TMED family and whether knockdown of TMED2/3/4/9 inhibits cell migration and invasion in breast cancer [J]. Ann Transl Med, 2022, 10 (23): 1280. DOI: 10. 21037/atm-22-5444.
- [18] Ju G, Xu C, Zeng K, et al. High expression of transmembrane P24 trafficking protein 9 predicts poor prognosis in breast carcinoma [J]. Bioengineered, 2021, 12 (1): 8965-8979. DOI: 10. 1080/21655979. 2021. 1990673.
- [19] Ge Y, Mu W, Ba Q, et al. Hepatocellular carcinoma-derived exosomes in organotropic metastasis, recurrence and early diagnosis application [J]. Cancer Lett, 2020, 477: 41-48. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2020. 02. 003.
- [20] Xu H, Lin X, Li Z, et al. VIRMA facilitates intrahepatic cholangiocarcinoma progression through epigenetic augmentation of TMED2 and PARD3B mRNA stabilization [J]. J Gastroenterol, 2023, 58 (9): 925-944. DOI: 10. 1007/s00535-023-02015-5.
- [21] 董元杰, 席子涵, 张粉, 等. TMED5、miR-652-3P 在原发性肝癌中的表达及临床价值 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32 (8): 697-701. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-0264. 2022. 08. 006.
- [22] Cheng X, Deng X, Zeng H, et al. Silencing of TMED5 inhibits proliferation, migration and invasion, and enhances apoptosis of hepatocellular carcinoma cells [J]. Adv Clin Exp Med, 2023, 32 (6): 677-688. DOI: 10. 17219/acem/156673.
- [23] Yang YC, Chien MH, Lai TC, et al. Proteomics-based identification of TMED9 is linked to vascular invasion and poor prognoses in patients with hepatocellular carcinoma [J]. J Biomed Sci, 2021, 28 (1): 29. DOI: 10. 1186/s12929-021-00727-5.
- [24] 郑静, 王登凤, 张杰, 等. 《卵巢透明细胞癌临床诊治中国专家共识(2022 年版)》解读 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2022, 35 (10): 887-891. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-0904. 2022. 10. 00.
- [25] Han GH, Yun H, Chung JY, et al. TMED9 expression level as a biomarker of epithelial ovarian cancer progression and prognosis [J]. Cancer Genomics Proteomics, 2022, 19 (6): 692-702. DOI: 10. 21873/cgp. 20352.
- [26] Mishra S, Bernal C, Silvano M, et al. The protein secretion modulator TMED9 drives CNIH4/TGF α /GLI signaling opposing TMED3-WNT-TCF to promote colon cancer metastases [J]. Oncogene, 2019, 38 (29): 5817-5837. DOI: 10. 1038/s41388-019-0845-z.
- [27] Sun S, Meng L, Xing X, et al. Anti-PRL-3 monoclonal antibody inhibits the growth and metastasis of colorectal adenocarcinoma [J]. J Cancer, 2023, 14 (13): 2585-2595. DOI: 10. 7150/jca. 81702.
- [28] Guo X, Zhou W, Jin J, et al. Integrative multi-omics analysis identifies transmembrane p24 trafficking protein 1 (TMED1) as a potential prognostic marker in colorectal cancer [J]. Biology (Basel), 2024, 13 (2): 83. DOI: 10. 3390/biology13020083.
- [29] Wang Y, Zou S, Zhao Z, et al. New insights into small-cell lung cancer development and therapy [J]. Cell Biol Int, 2020, 44 (8): 1564-1576. DOI: 10. 1002/cbin. 11359.
- [30] Feng L, Cheng P, Feng Z, et al. Transmembrane p24 trafficking protein 2 regulates inflammation through the TLR4/NF- κ B signaling pathway in lung adenocarcinoma [J]. World J Surg Oncol, 2022, 20 (1): 32. DOI: 10. 1186/s12957-021-02477-y.
- [31] Zhang D, Sun L, Zhang J. TMED3 exerts a protumor function in non-small cell lung cancer by enhancing the Wnt/ β -catenin pathway via regulation of AKT [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2021, 433: 115793. DOI: 10. 1016/j. taap. 2021. 115793.
- [32] Xie A, Xu X, Kuang P, et al. TMED3 promotes the progression and development of lung squamous cell carcinoma by regulating EZR [J]. Cell Death Dis, 2021, 12 (9): 804. DOI: 10. 1038/s41419-021-04086-9.
- [33] 荆燕蕾, 刘红刚. 头颈部鳞状细胞癌病理及分子生物学相关预后指标研究现状与进展 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2023, 39 (10): 1248-1252. DOI: 10. 13315/j. cnki. cjcep. 2023. 10. 021.
- [34] Johnson DE, Burtneess B, Leemans CR, et al. Head and neck squamous cell carcinoma [J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6 (1): 92. DOI: 10. 1038/s41572-020-00224-3.
- [35] Gao W, Zhang ZW, Wang HY, et al. TMED2/9/10 serve as biomarkers for poor prognosis in head and neck squamous carcinoma [J]. Front Genet, 2022, 13: 895281. DOI: 10. 3389/fgene. 2022. 895281.
- [36] 唐清华, 孙学辉, 李洪利, 等. TMED2 受 miR-5583-5p 调控在舌鳞状细胞癌细胞中发挥癌基因作用 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2021, 37 (8): 1085-1092. DOI: 10. 13865/j. cnki. cjbmb. 2021. 05. 1018.
- [37] Yang Y, Liu S, Xie C, et al. Trafficking protein TMED3 promotes esophageal squamous cell carcinoma [J]. Biomed J, 2023, 46 (2): 100528. DOI: 10. 1016/j. bj. 2022. 03. 013.
- [38] 邓西林. TMED10 在头颈鳞状细胞癌中的生物信息学及临床意义研究 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2023.
- [39] 杨臻. GRSF1 介导 miR-G-1 通过上调 TMED5 和 LMNB1 促进宫颈癌细胞的恶性行为及核自噬 [D]. 天津: 天津医科大学, 2019.
- [40] Zou H, Chen H, Liu S, et al. Identification of a novel circ_0018289/miR-183-5p/TMED5 regulatory network in cervical cancer development [J]. World J Surg Oncol, 2021, 19 (1): 246. DOI: 10. 1186/s12957-021-02350-y.

(收稿日期: 2024 - 04 - 20)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.023

综述

雄激素对男性神经保护机制的研究进展

刘雷综述 王宝龙审校

基金项目:天津市卫生健康科技项目(zc20185)

作者单位:300052 天津,天津医科大学(刘雷);天津医科大学总医院泌尿外科(刘雷、王宝龙)

通信作者:王宝龙, E-mail:29081591@qq.com



【摘要】 近年来,阿尔茨海默病、抑郁症、精神分裂症等部分神经系统疾病发病率显著升高,研究发现雄激素对男性神经细胞可能具有减轻炎症反应、抗氧化应激等保护作用,并且部分临床试验结果也表明,雄激素对男性阿尔茨海默病、抑郁症等部分神经系统疾病具有改善认知功能、缓解抑郁症状等效果。因此,学者们对雄激素可能存在的男性神经保护作用机制进行了相关探索,文章就雄激素对男性神经保护作用机制的研究进展作一综述。

【关键词】 雄激素;神经保护;作用机制;男性**【中图分类号】** R338 **【文献标识码】** A

Research progress on the protective mechanism of androgens on male nerves Liu Lei*, Wang Baolong. * Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Funding program: Tianjin Health Technology Project (zc20185)

Corresponding author: Wang Baolong, E-mail: 29081591@qq.com

【Abstract】 In recent years, the incidence of some neurological diseases such as Alzheimer's disease, depression and schizophrenia have increased significantly, which has attracted some scholars' attention. Subsequent studies have found that androgens may have protective effects on male nerve cells such as reducing inflammation and anti-oxidative stress. In addition, some clinical trial results also show that androgens can improve cognitive function and alleviate depressive symptoms in some neurological diseases, such as male Alzheimer's disease and depression. Therefore, scholars have explored the possible neuroprotective mechanism of androgens in males. This article reviews the research progress of androgens on the neuroprotective mechanism of males.

【Key words】 Androgen; Neuroprotection; Mechanism; Male

雄激素主要由男性的睾丸间质细胞分泌,受到下丘脑—垂体的负反馈系统调节,其在男性生殖系统的发育及性功能维持等方面发挥着重要作用,如促进阴茎生长和精子成熟、维持性欲等。此外,雄激素通过其促进肌肉生长、红细胞生成、骨骼生长等生理作用,在肌肉萎缩、再生障碍性贫血、骨质疏松等疾病中也有一定疗效。另外,随着世界人口老龄化加重以及社会竞争日益激烈,痴呆、抑郁症、精神分裂症等一些神经系统疾病的发病率显著上升,目前雌激素对于女性神经细胞的保护作用已被广泛研究,而雄激素对于男性神经细胞的潜在治疗作用也越来越受到人们的关注,已有多项研究表明,男性精神分裂症、阿尔茨海默病、抑郁症、多发性硬化症等神经系统疾病患者的血清睾酮水平往往低于正常同龄人。由此,人们推测雄激素可能对男性神经细胞有保护作用,并进行了相应的临床试验及机制研究。已有研究表明,雄激素对男性阿尔茨海默病、抑郁症、肌萎缩侧索硬化症的防治有一定效果^[1-3],既往研究已经证明雄激素对男性脑部尤其是海马体的突触连接和传递具有调节和保护作用,但除此之外可能还涉及一些其他机制。本文就雄激

素对男性神经保护作用机制的研究进展作一综述,为男性神经系统疾病的预防和治疗提供新的证据支持和思路。

1 雄激素及雄激素受体概述

人体内的雄激素包括睾酮、脱氢表雄酮和雄烯二酮等,其中睾酮大约占 95%。睾酮为一类固醇激素,主要由睾丸分泌,少部分来源于肾上腺。正常成年男性每天分泌 4~12 mg。睾酮在体内以 3 种形式呈现:游离睾酮、白蛋白结合睾酮、性激素结合球蛋白结合睾酮,其中游离睾酮和白蛋白结合睾酮具有生物学活性,并在体内发挥生理作用。睾酮在体内主要经靶细胞内的 5 α -还原酶转化为双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)使雄激素受体(AR)活化来发挥作用,但也有少量睾酮会由芳香化酶催化转变为雌激素并激活雌激素受体发挥作用。雄激素是引导胚胎时期男性表型及青春性成熟的关键因素。AR 是一种存在于胞浆和胞核的蛋白质,可与循环睾酮及局部合成的 DHT 结合发挥生物学效应,其有 3 个功能区:配体结合区、DNA 结合区、N-末端转录激活区。AR 在人体多个组织器官中都有所分布,如生殖器官、肝、肾、脑等,但其信号传导通路是十

分复杂且未被完全解释清楚的,尤其在非生殖器官或组织中。在大脑,AR 广泛分布于海马区、杏仁核、下丘脑、弓状核等部位,雄激素作为类固醇激素可以自由通过血脑屏障进入大脑,激活 AR 进而发挥生物学效应,其在脑的发育过程中可以永久改变脑的结构和功能,如有研究发现雄激素可激活 AR 引起的 mTOR 信号转导造成大脑放射状胶质细胞和兴奋性神经元数量的增加,并可能导致男女大脑体积的差异^[4]。此外,雄激素水平还被发现与青春期杏仁核和海马体的发育及 AR 分布情况密切相关^[5]。诸如此类,雄激素可通过激活 AR 在脑部发挥众多作用。然而,也有研究显示雄激素可通过独立于 AR 的途径影响神经功能^[6-7],不过其中的具体作用机制尚不明确,需要进一步研究。

2 雄激素对神经细胞保护的作用机制

2.1 促进神经营养因子表达

神经营养因子(neurotrophins, NT)是可影响神经元生长分化及功能完整性的一类蛋白质,包括脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)等,其中 BDNF 含量最高。BDNF 在体内分布广泛,但主要分布在中枢神经系统内的海马区和皮质,BDNF 具有改善神经重塑,促进突触连接,维持神经元存活,改善学习记忆等功能。大脑的海马区被认为与学习记忆、空间记忆等认知功能有着密切联系,有研究表明^[8],雄激素可以促进海马区和纹状体中脑组织 NT 的表达,这可能是通过直接激活海马区 AR 或经芳香化酶转化为雌激素并激活雌激素受体来间接提高 NT 含量的。Fainanta 等^[9]在雌性阉割大鼠的海马体中发现了 BDNF 水平的降低,并且 Muthu 等^[10]也在阉割雄性大鼠中发现 NT-4 的含量显著减少,而雄激素补充治疗组未见这种变化。值得注意的是,尽管雄激素被认为可能会提高 NT 的表达,但是其作用效果与雌激素相比相距甚远。另外,也有研究表明^[11],雄激素并未影响老年雄性大鼠海马体的 BDNF 水平,这可能与 BDNF 的表达相关性会随着年龄的增长而降低有关^[8]。甚至部分研究表明高剂量雄激素水平与血清 BDNF 呈负相关^[12]。研究结论的差异原因尚不明确,可能与样本数量、雄激素的浓度、性别差异、AR 的敏感性等因素有关。

2.2 保护线粒体功能

有研究显示,体内雄激素浓度与线粒体功能呈正相关^[13]。线粒体是真核细胞生物特有的一种双层膜细胞器,是细胞进行有氧呼吸制造能量的主要场所,此外还具有参与细胞信息传递、调控细胞生长凋亡等其他作用,线粒体与神经元功能也有着密切联系^[14-15]。线粒体功能障碍可表现为线粒体复合物活性降低、线粒体钙离子超负荷、活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增多等。血清雄激素浓度变化会引起线粒体功能的改变,例如线粒体内 Ca^{2+} 超载可引起线粒体损伤,而 Carter 等^[16]认为脑部雄激素可通过调节线粒体钠钙交换体和提高线粒体 ATP 合成效率来促进线粒体内的 Ca^{2+} 排出,维持线粒体 Ca^{2+} 稳态,从而减少神经细胞凋亡。此外, Yan 等^[17]发现雄激素缺乏会降低黑质线粒体复合物 I 的活性,之后通过实验证明雄激素可以使黑质线粒体复合物 V 活性提高,而且还发现雄激素可提高黑质和海马区线粒体含量并促进

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ -共激活因子-1 α (PGC-1 α)、核呼吸因子-1(NRF-1)、线粒体转录因子 A(TFAM)的表达以诱导线粒体生物合成^[18-19]。由此发现,雄激素可通过多种途径改善线粒体功能以保护神经细胞。

2.3 减少 β -淀粉样蛋白沉积

β -淀粉样蛋白(A β)由 β 淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经淀粉样蛋白途径由 β -分泌酶 1 和 γ -分泌酶依次水解而来,通常作为一种低水平的可溶性蛋白质存在于全身组织并循环于血液、脑脊液和脑间质液中,但是由 A β 的异常累积而组装成的寡聚体在细胞质沉积后可产生神经毒性作用,进而导致神经元变性和死亡,A β 被普遍认为在阿尔茨海默病的病情进展中起着关键作用,此外在脑卒中、颅脑损伤等一些其他神经系统疾病中也发现了 A β 的异常升高。A β 沉积后对神经细胞会产生较大损害,其作用机制包括促进脑细胞膜脂质过氧化、诱导小胶质细胞产生促炎因子、使胞内钙离子异常升高、促进乙酰胆碱等神经递质的水解等。A β 水平被认为与雄激素水平呈负相关^[20],雄激素可以减少 A β 的产生^[2],雄激素降低后 A β 含量会增加。由于 APP 既可经淀粉样蛋白途径水解为 A β ,又可经非淀粉样蛋白途径被 α -分泌酶水解为对神经具有保护作用的 sAPPa, Takayama 等^[21]认为雄激素很可能通过激活 AR 直接促进 APP 转化为 sAPPa 并抑制 A β 分泌从而减少 A β 的沉积。除了雄激素本身作用外,另一项针对人神经母细胞瘤的实验则表明雄激素的局部代谢产物之一 3 α -二醇也可通过 GABA 独立机制降低 A β 42 产生的神经毒性^[22]。然而,超生理浓度的雄激素反而可能会增加 A β 的积累损害认知功能^[23]。可见,雄激素对于男性 A β 的作用效果可能是多方面的,而且主要和雄激素浓度相关。

2.4 改善脑部血供保护神经细胞

有研究显示,雄激素可使离体的大动脉如主动脉和冠状动脉显著扩张^[24],在一些脑部血液供应障碍性疾病如缺血性脑卒中的患者体内也发现雄激素水平较正常人低^[25],并且也有研究报道雄激素水平与海马区的局部脑血流量(regional cerebral blood flow, rCBF)呈正相关^[26],以上这些研究表明雄激素可能通过改善血供,利于向脑部神经细胞提供氧气和营养物质,进而改善认知功能。Liu 等^[27]在对 646 例男性冠心病患者的试验中证明雄激素水平与生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)呈负相关,而 GDF-15 被认为在动脉粥样硬化的发生发展中起着重要作用,这表明雄激素很可能会预防并延缓动脉粥样硬化,防止血管闭塞,进而改善血流。Hu 等^[28]通过实验证明雄激素对 VSMCs 的 Ca^{2+} 具有非转录调节作用,并通过与血管平滑肌细胞的细胞膜相互作用来抑制电压门控钙通道导的 Ca^{2+} 流入,这可能是睾酮激素介导的血管扩张的机制之一。此外,雄激素还被认为可以促进血管内皮细胞生成 NO、内皮超极化因子、前列环素等舒血管物质而使血管扩张。除了以上几种常见机制外,由于血管本身的衰老也是血管僵硬、顺应性降低的重要原因之一,Chen 等^[29]认为雄激素可通过调节 Akt/FoxO1a 通路和 Gas6/Axl 通路来缓解血管平滑肌细胞衰老,进而保护血管和改善血流。然而,也有部分学者对此持不同见解,如 Mishra 等^[30]认为雄激素可通过 AR 介导的 ERK1/2 MAP 激酶途径下调血管紧张素 II-2

型受体表达,从而抑制血管扩张。Skogastierna 等^[31]则认为超生理浓度的雄激素会通过抑制内皮型一氧化氮合酶(eNOS)的表达而减少 NO 的产生,进而损害血管内皮功能。可见雄激素对于血管的收缩和舒张机制是较为复杂且矛盾的,但多数人依旧认为生理剂量的雄激素是有益于保护血管的。

2.5 减轻神经炎症反应 促炎因子是免疫细胞分泌的一类可诱发炎症反应的蛋白质,包括肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)、白介素-8(IL-8)等,可抑制神经元的生长分化及损伤修复,严重时可引起神经元死亡,而抗炎因子如 IL-4、IL-10 等则与之相反。大量研究表明精神分裂症、抑郁症、阿尔茨海默病等一些神经系统疾病患者体内的促炎因子含量高于正常人,这表明促炎因子的含量与认知功能有明显相关性,促炎因子可引起神经细胞功能障碍,这可能是由于促炎因子可导致神经细胞淀粉样蛋白沉积、脑动脉粥样硬化进而引起血流不畅、血脑屏障破坏等后果。雄激素被认为可以减轻神经炎症反应,Mohamad 等^[32]研究表明雄激素可以减少炎症细胞因子的含量,而雄激素低于正常水平则会使炎症因子水平升高。Yang 等^[33]通过小鼠实验证明雄激素可通过抑制 Toll 样受体 4 介导的 NF- κ B 和 MAPK p38 信号通路,进而抑制脑部小胶质细胞中脂多糖(LPS)诱导的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子的释放。反之,Shen 等^[34]通过实验也表明 LPS 也可通过抑制下丘脑—垂体—性腺(HPG)轴进而损害睾丸功能,所以雄激素可能会引起脑中促炎因子减少的良性循环。而 Peng 等^[35]还认为雄激素可与雌激素协同通过 Traf6/TAK1 轴抑制小胶质细胞产生的炎症反应。此外,雄激素除了可以抑制促炎因子外,也能促进抗炎因子如 IL-10 的生成^[36]。不过,也有部分人认为雄激素可以促进神经炎症反应,如 Kanwore 等^[37]认为雄激素可引起核因子 E2 相关因子 2(NRF2)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和 sirtuin 5(SIRT5)的表达上调,诱发大脑神经元和星形胶质细胞的炎症反应。

2.6 抗细胞氧化应激 ROS 是 O₂ 正常代谢所产生的副产物,在细胞内信号传导和维持体内稳态平衡等方面具有重要作用,生理浓度的 ROS 可以促进轴突再生,但是 ROS 的异常升高会使细胞受到严重损害,称为氧化应激(oxidative stress, OS)。与其他组织器官相比,脑组织似乎更容易受到氧化损伤,因为它有着高耗氧率、铁和过氧化脂肪酸含量较高、抗氧化能力弱等特点。OS 被发现与多种神经系统疾病有关,如阿尔茨海默病、肌萎缩侧索硬化症、多发性硬化症等,低水平的雄激素被认为与 OS 密切相关。Wang 等^[38]通过小鼠实验表明雄激素可降低全脑 OS 标志物 MDA 水平,并使抗氧化物质 SOD 和 GSH-Px 的活性升高,这与 Yan 等^[39]实验结果一致。雄激素也可抑制压力诱导的应激激素皮质酮的释放^[40],低浓度皮质酮可以抑制 OS,然而由于海马体易受到皮质酮的影响,高浓度皮质酮可通过诱导 ROS 的产生引起海马体损伤,目前皮质酮可促进 OS 已得到了学术界的普遍认可^[41-42],并且皮质酮也能通过干扰线粒体氧化磷酸化而损害神经元功能^[43-44]。值得注意的是,皮质酮也可反过来抑制雄激素的产生^[45],由此猜测,高水平的雄激素可能更不容易使皮质酮对神经元造成损害。雄激素的代谢产物之

一 3 α -二醇近来也发现可以保护神经细胞免受细胞外调节蛋白激酶(ERK)的磷酸化相关 OS 的影响^[46]。有趣的是,早些年也有研究表明 OS 的程度决定了雄激素对神经功能的作用效果^[47],即在低 OS 情况下,雄激素可起到神经保护作用,而高 OS 状态下雄激素会进一步加剧 OS 损害。因此,雄激素和 OS 之间似乎也存在着相互作用的关系。

3 小结与展望

雄激素与神经细胞功能状态有着密切联系,大量研究已经证明雄激素可通过多种机制保护男性神经细胞,这为防治部分男性神经系统疾病如阿尔茨海默病、精神分裂症、抑郁症等提供了新的证据支持,另外雄激素对脑卒中、颅脑损伤、多发性硬化症、非感染性神经炎等疾病的潜在治疗作用也可以做进一步临床研究。但是迄今为止,雄激素关于神经保护的作用机制也并未完全解释清楚,并且对雄激素的适用疾病、对象和疗效也尚有争议,仍需长期大量的临床试验进一步支持。而且由于人体的复杂性以及雄激素功能的多样性,补充雄激素很可能会因内分泌代谢紊乱而引起相应的并发症,如诱发男性的前列腺增生、心血管疾病等。此外,雄激素可以通过 AR 独立于雌激素途径保护神经,但仍有部分雄激素会经芳香化酶转化为雌激素,这部分被转化的雌激素在男性神经保护方面起着多大作用也不明确。更值得注意的是,近来也有学者认为高剂量的雄激素可能会造成严重的神经损害^[48-49]。总之,若将雄激素正式应用于临床,还需要更多的试验明确雄激素的适应证及疗效,并充分衡量应用雄激素的利弊,制定适用人群标准,明确雄激素使用阈值等,才能为雄激素补充治疗用于神经系统疾病保驾护航。

参考文献

- [1] Sun T, Peng R, Sun X, et al. Associations between Sex Hormones and Circulating Growth Differentiation Factor-15 in Male Patients with Major Depressive Disorder[J]. Brain Sci, 2021, 11(12):1612. DOI:10.3390/brainsci11121612.
- [2] Bianchi VE. Impact of testosterone on Alzheimer's disease[J]. World J Mens Health, 2022, 40(2):243-256. DOI:10.5534/wjmh.210175.
- [3] Lara A, Esperante I, Meyer M, et al. Neuroprotective Effects of Testosterone in Male Wobbler Mouse, a Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(5):2088-2106. DOI:10.1007/s12035-020-02209-5.
- [4] Kelava I, Chiaradia I, Pellegrini L, et al. Androgens increase excitatory neurogenic potential in human brain organoids[J]. Nature, 2022, 602(7895):112-116. DOI:10.1038/s41586-021-04330-4.
- [5] Vijayakumar N, Youssef G, Allen NB, et al. The effects of puberty and its hormones on subcortical brain development[J]. Compr Psychoneuroendocrinol, 2021, 7:100074. DOI:10.1016/j.cpnec.2021.100074.
- [6] Sankar JS, Hampson E. Androgen receptor polymorphism, mental rotation, and spatial visualization in men[J]. Psychoneuroendocrinology, 2021, 129:105239. DOI:10.1016/j.psyneuen.2021.105239.
- [7] Zhang Y, Chen M, Chen H, et al. Testosterone reduces hippocampal synaptic damage in an androgen receptor-independent manner[J]. J

- Endocrinol, 2023, 260 (2) : e230114. DOI: 10. 1530/JOE-23-0114.
- [8] Zhang KJ, Ramdev RA, Tuta NJ, et al. Dose-dependent effects of testosterone on spatial learning strategies and brain-derived neurotrophic factor in male rats [J]. Psychoneuroendocrinology, 2020, 121 : 104850. DOI: 10. 1016/j. psyneuen. 2020. 104850.
- [9] Fainanta T, Jaroenporn S, Wititsuwankul P, et al. Chronological molecular changes in neuronal communication in androgen-deficient rats [J]. J Mol Neurosci, 2019, 69 : 83-93. DOI: 10. 1007/s12031-019-01335-7.
- [10] Muthu SJ, Lakshmanan G, Seppan P. Influence of testosterone depletion on neurotrophin-4 in hippocampal synaptic plasticity and its effects on learning and memory [J]. Dev Neurosci, 2022, 44 (2) : 102-112. DOI: 10. 1159/000522201.
- [11] Jaeger ECB, Miller LE, Goins EC, et al. Testosterone replacement causes dose-dependent improvements in spatial memory among aged male rats [J]. Psychoneuroendocrinology, 2020, 113 : 104550. DOI: 10. 1016/j. psyneuen. 2019. 104550.
- [12] Bjornebekk A, Scarth M, Neupane SP, et al. Use of high-dose androgens is associated with reduced brain-derived neurotrophic factor in male weightlifters [J]. Neuroendocrinology, 2023, 113 (1) : 36-47. DOI: 10. 1159/000526418.
- [13] 沈洁, 易东. 雄激素与糖尿病和胰岛素抵抗关系的研究进展 [J]. 海南医学, 2016, 27 (18) : 3029-3031. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-6350. 2016. 18. 036.
- [14] De Oliveira LG, Angelo YS, Iglesias AH, et al. Unraveling the link between mitochondrial dynamics and neuroinflammation [J]. Front Immunol, 2021, 12 : 624919. DOI: 10. 3389/fimmu. 2021. 624919.
- [15] Shanmughapriya S, Langford D, Natarajaseenivasan K. Inter and intracellular mitochondrial trafficking in health and disease [J]. Ageing Res Rev, 2020, 62 : 101128. DOI: 10. 1016/j. arr. 2020. 101128.
- [16] Carteri RB, Kopczyński A, Rodolphi MS, et al. Testosterone administration after traumatic brain injury reduces mitochondrial dysfunction and neurodegeneration [J]. J Neurotrauma, 2019, 36 (14) : 2246-2259. DOI: 10. 1089/neu. 2018. 6266.
- [17] Yan W, Kang Y, Ji X, et al. Testosterone upregulates the expression of mitochondrial NDI and ND4 and alleviates the oxidative damage to the nigrostriatal dopaminergic system in orchietomized rats [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017 : 1202459. DOI: 10. 1155/2017/1202459.
- [18] Zhang T, Wang Y, Kang Y, et al. Testosterone enhances mitochondrial complex V function in the substantia nigra of aged male rats [J]. Ageing (Albany NY), 2020, 12 (11) : 10398-10414. DOI: 10. 18632/ageing. 103265.
- [19] Yan W, Zhang T, Kang Y, et al. Testosterone ameliorates age-related brain mitochondrial dysfunction [J]. Ageing (Albany NY), 2021, 13 (12) : 16229-16247. DOI: 10. 18632/ageing. 203153.
- [20] Khairy EY, Salama OA. Effect of exercise on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Sci Rep, 2023, 13 (1) : 14300. DOI: 10. 1038/s41598-023-41415-8.
- [21] Takayama KI, Fujiwara K, Inoue S. Amyloid precursor protein, an androgen-regulated gene, is targeted by RNA-binding protein PSF/SFPQ in neuronal cells [J]. Genes Cells, 2019, 24 (11) : 719-730. DOI: 10. 1111/gtc. 12721.
- [22] Mendell AL, Chung BYT, Creighton CE, et al. Neurosteroid metabolites of testosterone and progesterone differentially inhibit ERK phosphorylation induced by amyloid β in SH-SY5Y cells and primary cortical neurons [J]. Brain Res, 2018, 1686 : 83-93. DOI: 10. 1016/j. brainres. 2018. 02. 023.
- [23] Kaufman MJ, Kanayama G, Hudson JI, et al. Supraphysiologic-dose anabolic-androgenic steroid use: A risk factor for dementia [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2019, 100 : 180-207. DOI: 10. 1016/j. neubiorev. 2019. 02. 014.
- [24] Yue P, Chatterjee K, Beale C, et al. Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta [J]. Circulation, 1995, 91 (4) : 1154-1160. DOI: 10. 1161/01. cir. 91. 4. 1154.
- [25] Bhadra J, Seth S, Kulshrestha M, et al. Testosterone and estradiol in men with acute ischemic stroke: A North Indian case control [J]. Curr J Neurol, 2021, 20 (4) : 202-207. DOI: 10. 18502/cjn.v20i4. 8345.
- [26] Moffat SD, Resnick SM. Long-term measures of free testosterone predict regional cerebral blood flow patterns in elderly men [J]. Neurobiol Aging, 2007, 28 (6) : 914-920. DOI: 10. 1016/j. neurobiolaging. 2006. 04. 001.
- [27] Liu H, Lyu Y, Li D, et al. Potential relation between soluble growth differentiation factor-15 and testosterone deficiency in male patients with coronary artery disease [J]. Cardiovasc Diabetol, 2019, 18 (1) : 21. DOI: 10. 1186/s12933-019-0823-3.
- [28] Hu Z, Ma R, Gong J. Investigation of testosterone-mediated non-transcriptional inhibition of Ca^{2+} in vascular smooth muscle cells [J]. Biomed Rep, 2016, 4 (2) : 197-202. DOI: 10. 3892/br. 2015. 557.
- [29] Chen YQ, Zhao J, Jin CW, et al. Testosterone delays vascular smooth muscle cell senescence and inhibits collagen synthesis via the Gas6/Axl signaling pathway [J]. Age (Dordr), 2016, 38 (3) : 60. DOI: 10. 1007/s11357-016-9910-5.
- [30] Mishra JS, Hankins GD, Kumar S. Testosterone downregulates angiotensin II type-2 receptor via androgen receptor-mediated ERK1/2 MAP kinase pathway in rat aorta [J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2016, 17 (4) : 1470320316674875. DOI: 10. 1177/1470320316674875.
- [31] Skogastierna C, Hotzen M, Rane A, et al. A supraphysiological dose of testosterone induces nitric oxide production and oxidative stress [J]. Eur J Prev Cardiol, 2014, 21 (8) : 1049-1054. DOI: 10. 1177/2047487313481755.
- [32] Mohamad NV, Wong SK, Wan Hasan WN, et al. The relationship between circulating testosterone and inflammatory cytokines in men [J]. Ageing Male, 2019, 22 (2) : 129-140. DOI: 10. 1080/13685538. 2018. 1482487.
- [33] Yang L, Zhou R, Tong Y, et al. Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation [J]. Neurobiol Dis, 2020, 140 : 104814. DOI: 10. 1016/j. nbd. 2020. 104814.
- [34] Shen P, Ji S, Li X, et al. LPS-induced systemic inflammation caused mPOA-FSH/LH disturbance and impaired testicular function [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13 : 886085. DOI: 10. 3389/fendo. 2022. 886085.

- [35] Peng R, Dai W, Li D, et al. Gonadal hormone trigger the dynamic microglial alterations through Traf6/TAK1 axis that correlate with depressive behaviors [J]. *J Psychiatr Res*, 2022, 152: 128-138. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2022.06.026.
- [36] Mohamad NV, Wong SK, Wan Hasan WN, et al. The relationship between circulating testosterone and inflammatory cytokines in men [J]. *Aging Male*, 2019, 22 (2): 129-140. DOI: 10.1080/13685538.2018.1482487.
- [37] Kanwore K, Kanwore K, Guo X, et al. Testosterone upregulates glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) and promotes neuroinflammation to enhance glioma cell survival and proliferation [J]. *Inflamm Regen*, 2023, 43 (1): 49. DOI: 10.1186/s41232-023-00300-7.
- [38] Wang L, Pei JH, Jia JX, et al. Inhibition of oxidative stress by testosterone improves synaptic plasticity in senescence accelerated mice [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2019, 82 (20): 1061-1068. DOI: 10.1080/15287394.2019.1683988.
- [39] Yan XS, Yang ZJ, Jia JX, et al. Protective mechanism of testosterone on cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14 (4): 649-657. DOI: 10.4103/1673-5374.245477.
- [40] Green MR, Zeidan M, Hodges TE, et al. Age-dependent regulation by androgens of gene expression in the anterior hypothalamus and stress-induced release of adrenal hormones in adolescent and adult male rats [J]. *J Neuroendocrinol*, 2019, 31 (6): e12714. DOI: 10.1111/jne.12714.
- [41] Jiang Y, Botchway BOA, Hu Z, et al. Overexpression of SIRT1 inhibits corticosterone-induced autophagy [J]. *Neuroscience*, 2019, 411: 11-22. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2019.05.035.
- [42] Samad N, Rafeeqe M, Imran I. Free-L-Cysteine improves corticosterone-induced behavioral deficits, oxidative stress and neurotransmission in rats [J]. *Metab Brain Dis*, 2023, 38 (3): 983-997. DOI: 10.1007/s11011-022-01143-w.
- [43] Gong Q, Yan XJ, Lei F, et al. Proteomic profiling of the neurons in mice with depressive-like behavior induced by corticosterone and the regulation of berberine: Pivotal sites of oxidative phosphorylation [J]. *Mol Brain*, 2019, 12 (1): 118. DOI: 10.1186/s13041-019-0518-4.
- [44] Ruan Y, Cheng J, Dai J, et al. Chronic stress hinders sensory axon regeneration via impairing mitochondrial cristae and OXPHOS [J]. *Sci Adv*, 2023, 9 (40): eadh0183. DOI: 10.1126/sciadv.adh0183.
- [45] Ren L, Zhang Y, Xin Y, et al. Dysfunction in Sertoli cells participates in glucocorticoid-induced impairment of spermatogenesis [J]. *Mol Reprod Dev*, 2021, 88 (6): 405-415. DOI: 10.1002/mrd.23515.
- [46] Mendell AL, MacLusky NJ. The testosterone metabolite 3 α -androstenediol inhibits oxidative stress-induced ERK phosphorylation and neurotoxicity in SH-SY5Y cells through an MKP3/DUSP6-dependent mechanism [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 696: 60-66. DOI: 10.1016/j.neulet.2018.12.012.
- [47] Holmes S, Abbassi B, Su C, et al. Oxidative stress defines the neuroprotective or neurotoxic properties of androgens in immortalized female rat dopaminergic neuronal cells [J]. *Endocrinology*, 2013, 154 (11): 4281-4292. DOI: 10.1210/en.2013-1242.
- [48] Scarth M, Bjornebekk A. Androgen abuse and the brain [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2021, 28 (6): 604-614. DOI: 10.1097/MED.0000000000000675.
- [49] Zelleroth S, Nylander E, Nyberg F, et al. Toxic Impact of anabolic androgenic steroids in primary rat cortical cell cultures [J]. *Neuroscience*, 2019, 397: 172-183. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.11.035.

(收稿日期: 2024 - 04 - 07)

作者 · 编者 · 读者

《疑难病杂志》对形态学图片的质量和制作要求

作者提供的形态学图片既应用于论文的出版,也应用于论文的评审和编辑,除图片要足够的大小外,图像要能真实反映形态的原貌和特征。图片要清晰,对比度好,色彩正常。基本要求如下:

1. 图片必须是原始图像或由原始图像加工成的照片,图像要能显示出形态特征,必要时需加提示或特指符号(如箭头等)。
2. 数码照片的图像分辨率调整为 300 dpi 或以上,总像素至少要在 150 万 ~ 200 万像素或以上,图像文件用 tif 格式。
3. 图像要有简明扼要、规范的形态描述,但不能简单到只写“电子显微镜形态改变”之类。
4. 大体标本图片上应有标尺,显微镜图片应注明染色方法和图像的真正放大倍数,数码照片的放大率最好用比例尺来标注。
5. 插入到文本文件中的图片,在调整其大小时要保持原图像的宽/高比例(即先按下计算机的 Shift 键,再进行缩放操作)。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.09.024

综 述

从“气血”角度探讨阿尔茨海默病

许倩, 宋闯修综述 谭子虎, 杨琼审校



基金项目: 湖北省自然科学基金联合基金重点项目(2022CFD022); 湖北省自然科学基金联合基金青年项目(2022CFD143、2022CFD144); 武汉市科技计划应用基础前沿项目(2020020601012244)

作者单位: 430061 武汉, 湖北中医药大学(许倩、杨琼); 湖北中医药大学附属医院/湖北省中医院/湖北省中医药研究院(谭子虎、杨琼); 250000 济南, 山东第一医科大学附属颈肩腰腿痛医院(宋闯修)

通信作者: 杨琼, E-mail: 517222878@qq.com

【摘要】 阿尔茨海默病是以进行性认知功能损害为核心的疾病。现代医学研究表明阿尔茨海默病的发病与系统因素密切相关, 这与中医的整体观念不谋而合, 也为中西医发展融合、携手共进提供了良好契机。“气血理论”是中医整体观念框架的基石, 文章以“气血”为切入点, 深入剖析阿尔茨海默病发病的科学内涵, 以期为临床防治阿尔茨海默病提供新思路。

【关键词】 阿尔茨海默病; 整体观念; 气血; 血浊

【中图分类号】 R277.7 【文献标识码】 A

Systematic view of Alzheimer's disease from the theory of "Qi and blood" Xu Qian*, Song Chuangxiu, Tan Zihu, Yang Qiong.* Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Hubei Province, Wuhan 430061, China

Funding program: Key Project of Natural Science Foundation of Hubei Province (2022CFD022); Youth Project of Hubei Natural Science Foundation (2022CFD143, 2022CFD144); Wuhan Science and Technology Plan Application Foundation Frontier Project (2020020601012244)

Corresponding author: Yang Qiong, E-mail: 517222878@qq.com

【Abstract】 Alzheimer's disease is a disease with progressive cognitive impairment as the core. In recent years, studies have shown that the incidence of Alzheimer's disease is closely related to systematic factors, which coincides with the overall concept of traditional Chinese medicine, and also provides a good opportunity for the development and integration of Chinese and Western medicine. "Qi and blood theory" is the cornerstone of the theoretical framework of traditional Chinese medicine. This paper will take "Qi and blood" as the starting point, sort out the pathogenesis of Alzheimer's disease from the overall perspective of China and the West, and deeply analyze the scientific connotation of the pathogenesis of Alzheimer's disease, in order to provide new ideas for clinical prevention and treatment of Alzheimer's disease.

【Key words】 Alzheimer's disease; Holistic view; Qi and blood; Turbid blood

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的痴呆症,以记忆障碍、失语、失用、失认、执行功能障碍等全面性痴呆表现为特征^[1],影响了10%的65岁以上人群和33%的85岁以上人群^[2]。据估计,全世界60岁以上痴呆的年龄标准化患病率为5%~27%^[3]。到2050年,全球范围内痴呆症患病率将增加2倍,而根据AD的生物学定义,这一估计值将高出3倍,它将影响全世界大约1亿人^[4]。目前,还没有找到一种能够长期改善AD的治疗方法。老龄化社会的不断进展使得AD正在迅速成为本世纪最昂贵、最致命和负担最重的疾病之一。降低AD的发病率,实现其早期诊断和有效干预是我国“脑计划”的重要目标之一^[5]。

到目前为止,没有任何一种医学能够完美地解决疾病与健康问题^[6],不同医学之间的融通互补、相互借鉴成为必然。AD

在中医学中被称为“痴呆”“呆病”,《左传》中记载:“不慧,盖世所谓白痴”。《黄帝内经》指出痴呆概由年老而五脏虚衰所致,后世医家多从脏腑角度论治痴呆,而后经历了“虚劳致病”“痰瘀致病”“情志致病”等不断认知的过程。著名医家王清任在《医林改错》中提出“脑髓说”,中西医学对痴呆的认识由此产生碰撞。文章将以“气血”为切入点,从中西医整体观梳理AD的病机,以期为临床防治AD提供新思路。

1 AD的西医系统论

一直以来,中西医学碰撞的本质在于“系统论”和“还原论”^[7]。传统西医观点认为,AD是一种局限于中枢神经系统的疾病,以进行性认知功能损害为核心,最终常因继发躯体疾病或衰竭而死亡。目前研究涉及AD的发病机制主要有A β 斑块相关神经变性假说、tau蛋白假说、神经炎症反应假说、突触功

能障碍假说、线粒体功能障碍假说等^[8-9]。近年研究发现,单一的病理变化不能够完全解释 AD 所有的临床症状,AD 的相关病理改变并不局限于脑部异常,认知能力受分子机制学、社会人口学、生活方式、身心状态等多种因素影响。Harman 等^[10]学者认为老年人认知能力的下降是内在和外在因素作用的结果。内在因素主要是分子机制学中包括线粒体功能下降,氧化受损分子的积累和脑脂质成分的改变导致突触功能障碍;外在因素包括环境、饮食、缺乏运动以及心理压力。Bu 等^[11]将 AD 转基因小鼠与同窝野生型小鼠的循环系统融合互通,发现 A β 能够通过血液循环传递,进入脑内参与 AD 相关病理,并诱发神经损害,引起 AD 的发生。另一项研究也发现,单核细胞能够调节血液中 β -淀粉样蛋白水平,参与 AD 的病理过程^[12],而外周单核巨噬细胞的浸润入脑会抑制这一过程^[13]。全基因组关联研究显示适应性免疫和先天免疫都参与了 AD 的进展^[14]。大量现代医学的研究进展提示,AD 可能是一种由中枢与外周多因素引发的多系统和器官参与的综合性和整体性疾病。

2 AD 的中医整体观

中医学以整体观念为指导思想,发展形成了成熟完整的学术体系,注重人体自身的统一性以及人与自然和社会环境的高度统一性。衰老是生命的自然现象,AD 患者具有增龄性虚损的体质基础,这与气血阴阳亏虚、脏腑功能衰退密切相关。它是大脑的过度老化,是生物、社会、心理等多种因素长期综合作用的产物。

中医认为,痴呆病位在“脑”。《类证治裁》曰:“脑为元神之府,精髓之海,实记性所凭也。”脑居巅顶,赖五脏六腑的气血渗灌濡养脑窍,是实体与功能的结合体^[15],除建立在解剖学基础上的“脑”外,还包括脑髓、脊髓、骨髓等,与五脏功能密切相关。脑产生“神机”,发挥正常生理功能,必须依赖于脏腑的协同作用。肾与认知和精神情志活动关系密切,《医方集解》亦有言:“人之精神与志皆藏于肾,肾精不足则志气衰……”,脑功能正常有赖于肾精充盈、髓海充盛。精血同源,若气血充盛,则肾精满盛,神得其养,人体可维持正常神志活动,思维敏捷,智慧生生不息。脾与脑有共同的物质基础。脾气健运,气血丰沛,脑髓方能充盈;脾胃协调,气机升降有序,机体才能正常进行神志活动。正如《灵枢·五癯津液别论》所言:“五谷之津液,和合而为膏者,内渗入于骨空,补益脑髓,而下流于阴股”。肝主藏血、主疏泄,与思维情志活动关系密切。肝血对脑髓具有濡养和补充的双重作用,血足则神旺,能绸缪思虑,强记不忘;《辨证奇闻》曰:“脑气不足……必须大补其肝气……肝气足而脑气亦足也”,表明肝气对脑气亦具有补充促进作用。心主藏神,主脉的功能依存气血,正如《脾胃论》所言:“心主神,真气之别名也,得血则生,血生则脉旺”。肺为气之本,《素问·经脉别论》有云:“经气归肺,肺朝百脉。”肺可以调节全身气机、血液的运行及津液代谢。《难经》曰:“心者血,肺者气。血为荣,气为卫,相随上下,谓之荣卫。”心肺共同维持人体内气血的正常运行,以保证脑功能正常发挥。因此,脑与五脏功能关系密切,五脏精气充盛,则脑髓得到充养,神机自如。

3 “气血”与 AD

气血分散在人体各个器官、各个部位,沿经脉运行于全身,是人体的物质基础和能量源泉。中医和现代医学所指的“气血”皆为机体生命活动的驱动力,循环运行,与人体新陈代谢密切相关,二者具有很高的相似性。因此,可以从气血切入,进一步分析 AD 的病机及治法。

3.1 西医之“气血” 从西医角度来看,“气血”指的是维持生命基础的“能量”,讲的是循环、代谢的作用,是脑组织维持正常功能的前提。“能量”不仅是客观事实,也是当前研究人体功能时的思维出发点^[16]。围绕“气血”的论治,也就是平衡人体内部的“能量”。

疲劳是个体感知到的能量缺乏。研究发现,疲劳和 AD 有共同的大脑特征——海马萎缩和空周脑白质疏松症,疲劳可能是 AD 的前驱表现^[17]。随着年龄的增长,机体循环、代谢水平下降,在观察到认知障碍之前,AD 患者脑内就已发生代谢途径的转变^[18-19]。AD 患者的代谢损害会先于临床症状出现,伴有脑部血液循环、血流量、血液黏稠度的变化^[20],不可逆转地损害神经血管单位,造成脑灌注减少^[21-22],加速 AD 进展。有研究报道,血液中的组分或能调节参与机体学习和记忆的大脑海马体中新型脑细胞的形成,一种基于血液的检测技术或能在个体被临床诊断前 3.5 年就能预测患者患 AD 的风险^[23]。综上,“气血”循环代谢于周身,通过引发中枢与外周的多系统和器官功能障碍参与 AD 发病。

3.2 中医之“气血” 《素问·调经论篇》记载:“人之所有者,血与气耳。”大抵人之有生,以元气为根,气血为本。“气”本质属于无形虚体系统,与意识相通,与有形的人身实体组织共存^[24]。王清任言:“脑髓中一时无气,不但无灵机,必死一时;一刻无,必死一刻。”“血”由营气、津液与天然之气组成,不但具备西医所指的血液属性,还包含了一些功能属性。气主煦之,血主濡之,气血是构成、维持人体正常生命活动的基本物质,往往合而论之,不可分割。正如《难经本义》云:“气中有血,血中有气,气与血不可须臾相离,乃阴阳互根,自然之理也。”

脏腑虽分之五,然皆可以气血一以贯之;经络亦是为运行气血而存在的通道;四诊无不以气血为观察尺度;病机的内涵,均离不开气血的支撑;论治时,虽治疗途径和干预手段不同,但都聚焦于气血。由此不难看出,中医理论体系的各种观念无不以气血为核心,气血在生理上互生互化、在病理上相互影响,是中医整体观念和辨证论治的出发点和落脚点。

3.3 “气血失和”是 AD 发病的病理基础 《仁斋直指方论》载:“人之一身,所以得全其性命者,气与血也”,人之病未有不伤其气血者。中医“脑髓”的概念涵盖神经细胞及其基本结构与功能单位^[25]。气血作为脑髓的物质基础,二者失和势必影响脑功能,出现髓减脑消、脑失其用的痴呆症状。而现代医学研究认为,循环代谢障碍导致病理产物异常沉积是 AD 发生、发展的重要机制,这与中医学认为气血失和、浊邪内积、神机失用是其主要病机,是其发展、恶化的根本原因极为相似。“气血失和,浊邪内积”是建立在气血微观层面上的病理学概念,既揭示了疾病的病因病机,又贯穿于疾病的始终,进一步强化了“神一

“气血”的关系。

3.3.1 “气血失和,浊邪内积”:血气者,人之神也。血气充盈,血脉通利,则神机得养,精神聪慧。气血对人体精微物质的输布、水液的调节、糟粕的排泄起着十分重要的作用,任何一环出现问题都会造成浊邪的产生。目前环境污染、情志不畅、不良生活习惯、过用医药和老龄化等问题逐渐成为重要的致病因素。这些致病因素作用于人体,导致机体气血失调^[26],水谷运化失常,水谷精微积聚而产生糟粕等异常物质,以及由它们引起的一系列的血液循环障碍、血流变异常、内皮损伤等^[27]。

机体在各类致病因素的作用下,初期可没有任何的临床症状。一旦浊邪形成,积于脉中,随血上下、行于内外,浊阻气滞,新血不生,气血运行不畅,久之血管或血液异常变化,血不化神,浊伤神机,引发痴呆。浊积于上,则气化不利,痰浊积聚,上蒙清窍而神机失用;浊困于中,则运化失司,清气不升,浊气不降,中焦受邪而脑失充养;浊陷于下,则肾水不上济于心,肾精难充于脑,则心神失养,脑髓不足。因此,气血失调,浊邪内积是痴呆发生的病理基础。

3.3.2 气血行周身,浊邪伤五脏:既客之久,病变多端,浊邪可作为病理因素单独存在,也可作为致病因素伤及五脏,产生痰瘀毒邪,诸多病理产物胶结相兼,难以化解,可进一步加剧气机紊乱,加重浊邪积聚,有碍于神机的布散,使病机愈加复杂,缠绵难愈。正如《景岳全书·癫狂痴呆》记载:“痴呆症……其证则千奇万怪,无所不至。”

肾一肾者,精之处也。《类经图翼·大宝论》曰:“神由气化……即真阳之气也”,肾阳为人体阳气的根本所在。若浊邪伤肾,肾精亏虚,生髓不足,则脑窍失养,脑神颓废不用;浊为阴邪,积久易伤肾阳,阳气升发无力,不能振奋机体,可出现形体失养、神志失常等表现。

脾一血者,营气之化,脾之统也。气血失和,浊邪伤脾,一则气血生化乏源;二则统血职能失司,导致气血亏虚,络脉痹阻或血溢脉外,血不能发挥正常的濡神功能。再者,脾脏受累,影响津液运行输布,酿生痰湿浊邪,正所谓“血积既久,亦能化为痰水”。痰浊阻遏气机,凝聚上犯清窍,侵及脑神,脑神紊乱从而引发痴呆状态;而痰浊聚于血脉又可加重血浊,如此形成恶性循环。

心一心者,君主之官,神明出焉。《医学衷中参西录》曰:“人之神明有体用,神明之体藏于脑,神明之用出于心。”浊邪既成,存于心中,积于脉道,随血环周运行,浊血污心,阻碍气机,气血不畅,血不养神。另外,浊性黏滞,浊邪于脉管沉积,可使脉管增厚甚至堵塞,或侵犯血管内皮,损伤脉络,影响血管弹性及血流速度,加重血液及血管病变,继而加速阻滞脑络,使患者表现出痴呆症状。

肝一肝主一身之里。浊邪伤肝,藏血失职,髓海失充,血不养神,神机失用,出现愚笨呆傻等症状。随着病程日久,肝血亏虚导致疏泄功能失常,气血失调,结聚不得发越,升降失调,传化失司,进而加重浊邪内阻机体,脑窍郁闭,神明不能内守,加重认知功能障碍。

肺一肺主一身之气。浊邪伤肺,一身之气生成异常,或浊

阻气滞,一身之气壅遏难行,气血失去畅达流通之性,脑神失养。另外,浊邪污肺,治节失司,可变生它邪,导致营卫循环不利,传化失常而呆病作矣。见图 1。

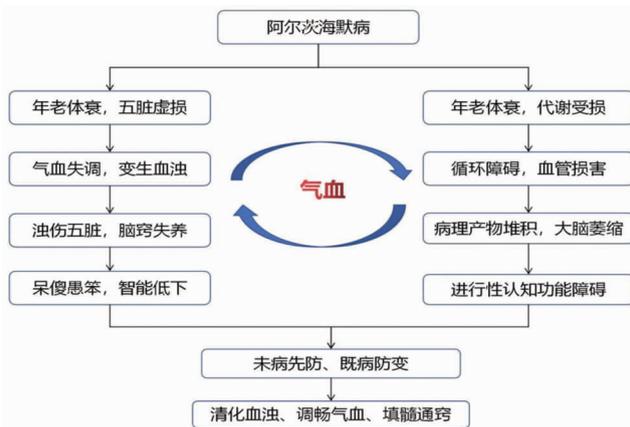


图 1 AD 的中医病机演变示意图

3.3.3 调畅气血、化浊通窍治疗 AD:目前,西医学对 AD 的研究及药物开发多是针对单靶点机制开展,包括乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂、N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂和靶向 $A\beta$ 的药物^[28],这些药物只能在一定程度上缓解患者的部分症状。相对于单靶点药物治疗来说,中医能将辨证思维和系统思维有机地结合运用,在 AD 临床症状复杂、多脏同病、多种危险因素并存的病理情况下发挥整体效应的独特优势,延缓病程进展。因此,从中医药中寻求 AD 的有效治法和方药成为最有希望的领域之一。

中医治病以“阴阳”为总纲,以辨“气血”为基础。从“气血”角度论治 AD,在痴呆症状较轻,仅存在血管危险因素时就应当调畅气血、清化浊邪,改善血液循环,改善机体代谢,预防其他病理产物生成和脑结构功能改变,阻断疾病的进展,具有未病先防、既病防变的意义。石文卿等^[29]以“清化血浊,益精填髓”法治疗老年性痴呆,发现患者的记忆力减退症状明显好转,定向力、理解力、计算力下降等症状较初诊时明显改善。数据挖掘研究也证实,历代医家治疗痴呆的配伍用药以调畅气血、调和阴阳为主^[30]。

4 小结与展望

关于 AD 的中医药现代化研究已取得一定进展,但由于缺乏详细的科学验证阐述,该系统所包含的内容并未详尽。中医与西医相互借鉴,融会贯通的治疗也并不尽如人意。医学总是在争议中前行,掌握多学科知识,从多角度看待问题,是寻求更有效治疗疾病的关键。“气血”作为中医学理论体系的基础,不但可以传承创新中医药理论的发展,还可以成为中西医结合的纽带和推动力。以气血为抓手,坚持和发展整体思维,不仅能为深入理解 AD 的发病机制提供新的视角,还可为疾病的早期防治提供新的思路。在未来研究中,聚焦开发应用调控全身气血的药物可能是早期干预、进一步攻克 AD 的关键,期待更多脑神经病学相关研究进一步探索这些问题。

参考文献

- [1] Rao RV, Subramaniam KG, Gregory J, et al. Rationale for a multi-factorial approach for the reversal of cognitive decline in Alzheimer's disease and mci: A review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1659. DOI: 10.3390/ijms24021659.
- [2] Ren Y, Savadlou A, Park S, et al. The impact of loneliness and social isolation on the development of cognitive decline and Alzheimer's Disease[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2023, 69: 101061. DOI: 10.1016/j.yfrne.2023.101061.
- [3] Graff-Radford J, Yong KXX, Apostolova LG, et al. New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers[J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(3): 222-234. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30440-3.
- [4] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10284): 1577-1590. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
- [5] Wang Y, Yin J, Wang G, et al. Responsibility and sustainability in brain science, technology, and neuroethics in China—a culture-oriented perspective[J]. *Neuron*, 2019, 101(3): 375-379. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.01.023.
- [6] 郑佳莉. 中医科学性问题分析[D]. 长春: 东北师范大学, 2024.
- [7] 祝世讷. 中医系统论基本原理阐释[J]. *山东中医药大学学报*, 2021, 45(1): 7-21. DOI: 10.16294/j.cnki.1007-659x.2021.01.002.
- [8] Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer's disease[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2020, 18(11): 1106-1125. DOI: 10.2174/1570159X18666200528142429.
- [9] 向杜炼, 许安萍, 唐银杉, 等. 电针治疗阿尔茨海默病的作用机制的研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(10): 2470-2472. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2018.10.059.
- [10] Harman MF, Martín MG. Epigenetic mechanisms related to cognitive decline during aging[J]. *J Neurosci Res*, 2020, 98(2): 234-246. DOI: 10.1002/jnr.24436.
- [11] Bu XL, Xiang Y, Jin WS, et al. Blood-derived amyloid- β protein induces Alzheimer's disease pathologies[J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23(9): 1948-1956. DOI: 10.1038/mp.2017.204.
- [12] Chen SH, Tian DY, Shen YY, et al. Amyloid-beta uptake by blood monocytes is reduced with ageing and Alzheimer's disease[J]. *Transl Psychiatry*, 2020, 10(1): 423. DOI: 10.1038/s41398-020-01113-9.
- [13] Yan P, Kim KW, Xiao Q, et al. Peripheral monocyte-derived cells counter amyloid plaque pathogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(11): e152565. DOI: 10.1172/JCI152565.
- [14] Gagliano SA, Pouget JG, Hardy J, et al. Genomics implicates adaptive and innate immunity in Alzheimer's and Parkinson's diseases[J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2016, 3(12): 924-933. DOI: 10.1002/acn3.369.
- [15] 任小巧. 探析中医“整体观念”在“脑卒中”防治中的价值[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(7): 880-882. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2019.07.008.
- [16] 滕云, 王建波, 李兴波, 等. 对血液循环概念的质疑[J]. *医学与哲学*, 2020, 41(13): 76-80. DOI: 10.12014/j.issn.1002-0772.2020.13.16.
- [17] Angioni D, Raffin J, Ousset PJ, et al. Fatigue in Alzheimer's disease: biological basis and clinical management—a narrative review[J]. *Ageing Clin Exp Res*, 2023, 35(10): 1981-1989. DOI: 10.1007/s40520-023-02482-z
- [18] 李栋, 黄晏, 周文霞, 等. 大脑胰岛素信号通路与葡萄糖代谢在阿尔茨海默病中的作用与关系[J]. *国际药学研究杂志*, 2016, 43(1): 26-32. DOI: 10.13220/j.cnki.jipr.2016.01.005.
- [19] Perluigi M, Tramutola A, Sharma N, et al. P 131 - Altered protein O-GlcNAcylation profile revealed by proteomics: Novel insights on protein signalling mechanisms in AD[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017, 108: S62. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.216.
- [20] Niu X, Guo Y, Chang Z, et al. The correlation between changes in gray matter microstructure and cerebral blood flow in Alzheimer's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2023, 15: 1205838. DOI: 10.3389/fnagi.2023.1205838.
- [21] Iturria-Medina Y, Sotero RC, Toussaint PJ, et al. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11934. DOI: 10.1038/ncomms11934.
- [22] Nortley R, Korte N, Izquierdo P, et al. Amyloid β oligomers constrict human capillaries in Alzheimer's disease via signaling to pericytes[J]. *Science*, 2019, 365(6450): eaav9518. DOI: 10.1126/science.aav9518.
- [23] Maruszak A, Silajdzic E, Lee H, et al. Predicting progression to Alzheimer's disease with human hippocampal progenitors exposed to serum[J]. *Brain*, 2023, 146(5): 2045-2058. DOI: 10.1093/brain/awac472.
- [24] 武敏, 姚亚娟, 任宗浩, 等. 基于“有形之血不能速生, 无形之气所当急固”探讨功能失调性子官出血的诊治[J]. *中国民间疗法*, 2021, 29(13): 8-10. DOI: 10.19621/j.cnki.11-3555/r.2021.1304.
- [25] 金红, 赵德喜. 中医脑髓学说发展沿革与国医大师任继学脑髓学说撷华[J]. *长春中医药大学学报*, 2023, 39(6): 616-620. DOI: 10.13463/j.cnki.cczzy.2023.06.007.
- [26] 王新陆, 王栋先. 血浊的病因病机及其对五脏功能的影响[J]. *天津中医药*, 2020, 37(1): 9-13. DOI: 10.11656/j.issn.1672-1519.2020.01.03.
- [27] 朱文浩, 王栋先, 王新陆. 论“浊邪”[J]. *云南中医学院学报*, 2015, 38(4): 28-30, 47. DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2015.04.007.
- [28] 霍俊婷, 宋士萍, 李薇, 等. 叶酸和维生素 B12 辅助治疗对阿尔茨海默病患者认知功能及血清细胞因子、神经递质的影响[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(2): 123-126. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.02.004.
- [29] 石文卿, 牛昱光, 韩萍, 等. 从血浊理论浅析老年性痴呆的发病机制及治疗思路[J]. *天津中医药*, 2023, 40(5): 592-595. DOI: 10.11656/j.issn.1672-1519.2023.05.09.
- [30] 易亚乔, 方锐, 葛金文, 等. 基于数据挖掘的历代医家痴呆相关病症用药规律分析[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(16): 3376-3381. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20180419.004.