

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.009

神经系统疾病专题

# 急性脑梗死患者外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路变化与预后的相关性分析

张欢, 祝善尧, 葛伟, 洪斌, 刘爽



基金项目: 安徽高校协同创新项目(GXXT-2021-083)

作者单位: 238000 安徽省合肥市, 安徽医科大学附属巢湖医院神经内科

通信作者: 张欢, E-mail: zh542043314@126.com

**【摘要】目的** 分析急性脑梗死(ACI)患者外周血 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Keap1)-核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/抗氧化反应元件(ARE)信号通路变化与预后的相关性。**方法** 选取 2020 年 6 月—2022 年 3 月安徽医科大学附属巢湖医院神经内科诊治 ACI 患者 110 例作为研究对象,根据溶栓后 3 个月的改良 Rankin 量表(mRs)评分分为近期预后良好组与近期预后不良组,随访 1 年 ACI 是否复发分为远期预后良好组与远期预后不良组,比较不同近远期预后组溶栓前、溶栓后 7 d、溶栓后 3 个月外周血 Keap1、醌氧化还原酶 1(NQO1)、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量、神经功能缺损(NIHSS)评分,分析各蛋白与 NIHSS 评分的相关性,受试者工作特征曲线(ROC)评价各蛋白对预后的预测价值。**结果** 110 例 ACI 患者,近期预后良好患者 78 例,近期预后不良患者 32 例;随访 1 年,失访 6 例,远期预后良好患者 83 例,远期预后不良患者 21 例。近远期预后不良组溶栓后 7 d、3 个月 Keap1 蛋白相对表达量、NIHSS 评分高于近远期预后良好组,NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量低于近远期预后良好组( $P$  均  $< 0.001$ );溶栓后 7 d、3 个月 Keap1 蛋白相对表达量与 NIHSS 评分呈正相关( $r = 0.684, 0.702, P$  均  $< 0.001$ ),NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量与 NIHSS 评分呈负相关(7 d:  $r = -0.615, -0.628, -0.609$ , 3 个月:  $r = -0.631, -0.657, -0.629$ ,  $P$  均  $< 0.001$ );溶栓后 7 d 的 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量及四者联合预测近期预后的 AUC 为 0.803、0.717、0.800、0.765、0.907,四者联合优于各蛋白单独预测( $Z/P = 2.105/0.026, 2.413/0.004, 2.113/0.021, 2.205/0.016$ );溶栓后 3 个月 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量及四者联合预测远期预后不良的 AUC 为 0.766、0.765、0.812、0.767、0.927,四者联合优于各蛋白单独预测( $Z/P = 2.238/0.010, 2.241/0.008, 2.115/0.019, 2.231/0.012$ );溶栓后 3 个月的外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白预测远期预后的 AUC 与溶栓后 7 d 的外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白预测近期预后的 AUC 比较,差异无统计学意义( $Z/P = 0.102/0.563$ )。**结论** ACI 患者外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路变化与神经功能缺损程度、近远期预后显著相关,可从相关蛋白含量变化的角度有效预测近远期预后情况。

**【关键词】** 脑梗死,急性;Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1;核因子 E2 相关因子 2;抗氧化反应元件;预后**【中图分类号】** R743.33**【文献标识码】** A

**Correlation analysis between changes in the Keap1-Nrf2/ARE signaling pathway in peripheral blood and prognosis in patients with acute cerebral infarction** Zhang Huan, Zhu Shanyao, Ge Wei, Hong Bin, Liu Shuang. Department of Neurology, Chaohu Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei Province, Chaohu 238000, China

Corresponding author: Zhang Huan, E-mail: zh542043314@126.com

Funding program: Anhui University Collaborative Innovation Project (GXXT-2021-083)

**【Abstract】 Objective** To investigate the correlation between changes in the Kelch like epichlorohydrin related protein 1 (Keap1) nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2)/antioxidant response element (ARE) signaling pathway in peripheral blood of patients with acute cerebral infarction (ACI) and prognosis.**Methods** One hundred and ten patients with ACI diagnosed and treated in the Department of Neurology, Chaohu Hospital, Anhui Medical University, from June 2020 to March 2022 were selected as the research subjects. According to the modified Rankin Scale (mRs) scores three months after thrombolysis, they were divided into a group with good short-term prognosis and a group with poor short-term prognosis. Whether ACI recurred after one year of follow-up was divided into a group with good long-term prognosis and a group with poor long-term prognosis. Different short-term and long-term prognosis groups were compared before and 7 days after thrombolysis. After 3 months of thrombolysis, the relative expression levels of Keap1, quinone oxidoreductase 1 (NQO1), Nrf2, ARE proteins,

and neurological impairment (NIHSS) scores in peripheral blood were analyzed. The correlation between each protein and NIHSS score was analyzed, and the predictive value of each protein on prognosis was evaluated using the subject operating characteristic curve (ROC). **Results** One hundred and ten ACI patients, 78 with good recent prognosis, and 32 with poor recent prognosis; Following up for 1 year, 6 cases were lost, 83 cases had good long-term prognosis, and 21 cases had poor long-term prognosis. The relative expression level of Keap1 protein and NIHSS score in the group with poor short-term and long-term prognosis after thrombolysis at 7 days and 3 months were higher than those in the group with good short-term and long-term prognosis, while the relative expression levels of NQO1, Nrf2, and ARE proteins were lower than those in the group with good short-term and long-term prognosis ( $P < 0.001$ ). The relative expression of Keap1 protein was positively correlated with NIHSS score 7 days and 3 months after thrombolysis ( $r = 0.684, 0.702, P < 0.001$ ), while the relative expression of NQO1, Nrf2, and ARE protein was negatively correlated with NIHSS score (7 d:  $r = -0.615, -0.628, -0.609$ , 3 months:  $r = -0.631, -0.657, -0.629, P < 0.001$ ). The relative expression levels of Keap1, NQO1, Nrf2, and ARE proteins 7 days after thrombolysis, as well as the AUC of the combination of the four for predicting short-term prognosis, were 0.803, 0.717, 0.800, 0.765, and 0.907. The combination of the four was better than the individual prediction of each protein ( $Z/P = 2.105/0.026, 2.413/0.004, 2.113/0.021, 2.205/0.016$ ). The relative expression levels of Keap1, NQO1, Nrf2, and ARE proteins at 3 months after thrombolysis, as well as the combined prediction of AUC for poor long-term prognosis, were 0.766, 0.765, 0.812, 0.767, and 0.927. The combination of the four proteins was better than the individual prediction of each protein ( $Z/P = 2.238/0.010, 2.241/0.008, 2.115/0.019, 2.231/0.012$ ). There was no statistically significant difference ( $Z/P = 0.102/0.563$ ) between the predicted long-term prognosis of peripheral blood Keap1-Nrf2/ARE protein at 3 months after thrombolysis and the predicted short-term prognosis of peripheral blood Keap1-Nrf2/ARE protein at 7 days after thrombolysis. **Conclusion** The changes in the Keap1-Nrf2/ARE signaling pathway in peripheral blood of ACI patients are significantly correlated with the degree of neurological impairment and short-term and long-term prognosis, which can effectively predict the short-term and long-term prognosis from the perspective of changes in related protein content.

**【Key words】** Cerebral infarction; acute; Kelch-like epichlorohydrin-associated protein-1; Nuclear factor E2-related factor 2; Antioxidant response element; Prognosis

近年来,随着溶栓、介入等再灌注治疗手段的迅速发展,急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)的治疗效果得到显著提高,但临床实践中仍有部分患者遗留不同程度神经功能缺损,难以获得良好的预后<sup>[1-2]</sup>。有研究统计,ACI患者静脉溶栓治疗后近期预后不良发生率高达42.70%,需给予重视<sup>[3]</sup>。因此,及早有效预测ACI患者预后情况成为研究热点。目前,大量研究表明,ACI患者发生发展过程中与神经功能缺损相关的环节较多,包括氧化应激反应、炎症反应、细胞凋亡等<sup>[4-5]</sup>。其中, Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Kelch-like epichlorohydrin-related protein-1, Keap1)-核因子E2相关因子2(nuclear factor E2 correlation factor 2, Nrf2)/抗氧化反应元件(antioxidant reaction element, ARE)是一种调控机体氧化应激反应、调节下游氧化/抗氧化因子表达的重要信号通路,能维持脑梗死后细胞内氧化还原平衡状态<sup>[6]</sup>。但关于该信号通路与ACI患者预后的关系仍缺乏确切的证据。为此,现分析ACI患者Keap1-Nrf2/ARE信号通路变化与预后的相关性,旨在为临床预测预后提供更多思路,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2020年6月—2022年3月安徽

医科大学附属巢湖医院神经内科诊治ACI患者110例作为研究对象,其中男63例,女47例,年龄48~85(66.92±3.66)岁;梗死部位:前循环68例,后循环42例;神经功能缺损评分(National Institutes of Health Stroke Score, NIHSS)5~22(14.97±2.19)分;发病至溶栓时间1~4.5(2.73±0.41)h。根据溶栓后3个月改良Rankin量表评分评估短期预后,近期预后良好患者78例,mRs评分(1.81±0.17)分,近期预后不良患者32例,mRs评分(3.35±0.33)分;随访1年,失访6例,根据ACI是否复发统计,远期预后良好患者83例,mRs评分(1.75±0.24)分,远期预后不良患者21例,mRs评分(3.24±0.31)分。近、远期预后良好患者mRs评分低于近、远期预后不良患者,差异有统计学意义( $t = 32.212, 23.898, P$ 均 $< 0.001$ )。远期预后良好患者83例,男48例,女35例,年龄48~85(65.83±4.12)岁;发病至溶栓时间1~4.5(2.65±0.51)h;诱因:情绪剧烈波动35例,劳累26例,精神紧张15例,其他7例;合并症:高血压15例,糖尿病9例,高脂血症12例。远期预后不良患者21例,男12例,女9例,年龄49~85(67.01±4.54)岁;发病至溶栓时间1~4.5(2.77±0.53)h;诱因:情绪剧烈波动10例,劳累6

例,精神紧张 3 例,其他 2 例;合并症:高血压 5 例,糖尿病 3 例,高脂血症 4 例。2 组一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经医院伦理委员会批准(2020031286),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:发病 4.5 h 内,CT 检查无责任脑梗死病灶;符合 ACI 相关诊断标准<sup>[7]</sup>;具备静脉溶栓指征;无颅脑既往治疗史。(2)排除标准:合并脑出血、脑外伤等其他颅脑疾病的患者;参与本研究 4 周前有服用免疫抑制剂、抗凝等药物的患者;伴有严重全身性疾病的患者;存在凝血功能障碍、自身免疫疾病、呼吸道疾病的患者;合并恶性肿瘤的患者。

1.3 治疗与分组 患者入院后均根据实际情况给予相应对症治疗与支持治疗;发病 4.5 h 内给予阿替普酶静脉溶栓治疗,阿替普酶 0.9 mg/kg,最大剂量控制在 90 mg,静脉注射 10%,持续性静脉泵入 90%,于 1 h 内泵完。溶栓后 24 h 给予阿司匹林(拜耳医药保健有限公司)100 mg/d 口服,阿托伐他汀 20 mg/次口服,依达拉奉右莰醇 30 mg + 生理盐水 100 ml 静脉滴注,均为 2 次/d。以溶栓后 3 个月的改良 Rankin 量表(modified Rankin scale, mRs)评分<sup>[8]</sup>作为近期预后的评估依据,mRs 评分  $\leq 2$  分判定为近期预后良好,mRs 评分  $> 2$  分判定为近期预后不良。随访 1 年,以 ACI 是否复发作为远期预后的评估标准,复发的判定标准<sup>[9]</sup>:患者出现新的神经功能缺损症状,经头颅 MR、CT 检查证实出现新的脑梗死病灶。无复发判定为远期预后良好,复发判定为远期预后不良。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白

水平检测:于溶栓前及溶栓后 7 d、3 个月抽取患者肘静脉血 5 ml,采用免疫印迹法检测 Keap1、醌氧化还原酶 1 [NAD(P)H Quinone oxidoreductase 1, NQO1]、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量,试剂盒购自深圳市亚辉龙生物科技有限公司。严格按照试剂盒说明书操作,采用 QuantityOne 软件测定灰度值,计算蛋白条带灰度值与内条带灰度值比值,以此表示目的蛋白相对表达量。

1.4.2 病情程度评定:采用 NIHSS 评分<sup>[10]</sup>,其内容包括意识程度、回答问题的能力、遵从指令的能力、眼球运动、视野、面部肌力、上肢运动功能、下肢运动功能、肢体协调、感觉功能、语言、构音、感觉忽视等。评分范围为 0 ~ 42 分,分数越高表示神经受损越严重。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件处理数据。正态分布计量资料以  $\bar{x} \pm s$  描述,不同时间、组间、交互作用采用重复测量方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Spearman/Pearson 对变量进行相关性分析;预测价值采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白对近远期预后的预测价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同近期预后组溶栓前后外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白表达、NIHSS 评分比较 2 组溶栓后 7 d、溶栓后 3 个月 Keap1 蛋白相对表达量、NIHSS 评分低于溶栓前,NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量高于溶栓前( $P < 0.01$ );近期预后不良组溶栓后 7 d、3 个月 Keap1 蛋白相对表达量、NIHSS 评分高于近期预后良好组,NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量低于近期预后良好组( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 不同近期预后组 ACI 患者溶栓前后外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白表达、NIHSS 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of Keap1-Nrf2/ARE protein expression and NIHSS score in peripheral blood between different short-term prognosis groups before and after thrombolysis

组别	时间	Keap1	NQO1	Nrf2	ARE	NIHSS 评分(分)
近期预后良好组 (n = 78)	溶栓前	1.06 ± 0.15	0.70 ± 0.13	0.15 ± 0.05	0.15 ± 0.04	14.87 ± 2.89
	溶栓后 7 d	0.49 ± 0.09	1.32 ± 0.21	1.09 ± 0.22	1.16 ± 0.24	9.26 ± 1.76
	溶栓后 3 个月	0.17 ± 0.05	1.96 ± 0.30	1.41 ± 0.27	1.61 ± 0.29	5.01 ± 1.21
近期预后不良组 (n = 32)	溶栓前	1.08 ± 0.13	0.73 ± 0.10	0.14 ± 0.04	0.16 ± 0.05	15.20 ± 3.16
	溶栓后 7 d	0.70 ± 0.11	1.08 ± 0.17	0.84 ± 0.19	0.89 ± 0.20	12.10 ± 2.03
	溶栓后 3 个月	0.41 ± 0.08	1.55 ± 0.24	1.12 ± 0.21	1.20 ± 0.22	7.69 ± 1.64
F/P 近期预后良好组内值		1 436.755/ <0.001	615.115/ <0.001	810.746/ <0.001	912.867/ <0.001	443.201/ <0.001
F/P 近期预后不良组内值		306.170/ <0.001	168.423/ <0.001	299.032/ <0.001	301.096/ <0.001	81.708/ <0.001
t/P 溶栓后 7 d 组间值		10.402/ <0.001	5.735/ <0.001	5.622/ <0.001	5.611/ <0.001	7.346/ <0.001
t/P 溶栓后 3 个月组间值		19.003/ <0.001	6.875/ <0.001	5.434/ <0.001	7.187/ <0.001	9.474/ <0.001

2.2 不同远期预后组溶栓前后外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白表达、NIHSS 评分变化比较 2 组溶栓后 7 d、溶栓后 3 个月 Keap1 蛋白相对表达量、NIHSS 评分低于溶栓前, NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量高于溶栓前 ( $P < 0.01$ ); 远期预后不良组溶栓后 7 d、3 个月 Keap1 蛋白相对表达量、NIHSS 评分高于远期预后良好组, NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量低于远期预后良好组 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

2.3 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白与 NIHSS 评分的关系 ACI 患者溶栓后 7 d、3 个月 Keap1 蛋白相对表达量与 NIHSS 评分呈正相关 ( $P < 0.01$ ), NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量与 NIHSS 评分呈负相关 ( $P < 0.01$ ), 见表 3。

表 3 ACI 患者 NIHSS 评分与外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白的关系 ( $r/P$ )

Tab. 3 Relationship between NIHSS score and peripheral blood Keap1-Nrf2/ARE protein

指 标	NIHSS 评分	
	溶栓后 7 d	溶栓后 3 个月
Keap1	0.684/ <0.001	0.702/ <0.001
NQO1	-0.615/ <0.001	-0.631/ <0.001
Nrf2	-0.628/ <0.001	-0.657/ <0.001
ARE	-0.609/ <0.001	-0.629/ <0.001

2.4 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白对近远期预后的预测价值

2.4.1 近期预后的预测价值: 绘制溶栓后 7 d 的外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白对 ACI 患者预测价值的 ROC 曲线, 并计算曲线下面积 (AUC), 结果显示, 溶栓后 7 d 的 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白及四者联合预测近

期预后不良的 AUC 为 0.803、0.717、0.800、0.765、0.907, 四者联合优于各蛋白单独预测价值 ( $Z/P = 2.105/0.026$ 、 $2.413/0.004$ 、 $2.113/0.021$ 、 $2.205/0.016$ ), 见表 4、图 1。

表 4 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白对 ACI 患者近期预后的预测价值

Tab. 4 Predictive value of Keap1-Nrf2/ARE protein in peripheral blood for short-term prognosis

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
Keap1	0.61	0.803	0.716 ~ 0.872	0.906	0.538	0.445
NQO1	1.15	0.717	0.623 ~ 0.798	0.844	0.538	0.382
Nrf2	0.92	0.800	0.713 ~ 0.870	0.750	0.769	0.519
ARE	0.96	0.765	0.675 ~ 0.841	0.844	0.615	0.459
四者联合		0.907	0.837 ~ 0.954	0.719	0.936	0.655

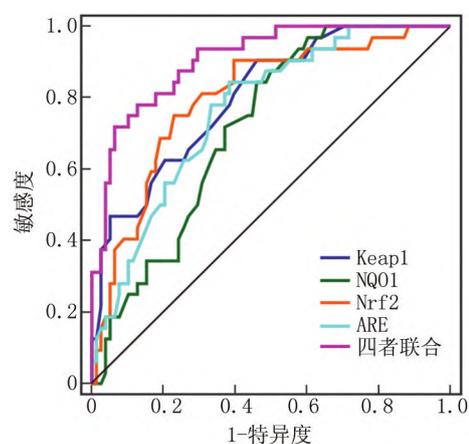


图 1 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白预测 ACI 患者近期预后的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of Keap1-Nrf2/ARE protein in peripheral blood for predicting short-term prognosis

表 2 不同远期预后组 ACI 患者溶栓前后外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白表达、NIHSS 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of Keap1-Nrf2/ARE protein expression and NIHSS score in peripheral blood before and after thrombolysis in different long-term prognosis groups

组 别	时间	Keap1	NQO1	Nrf2	ARE	NIHSS 评分(分)
远期预后良好组 (n=83)	溶栓前	1.05 ± 0.14	0.70 ± 0.15	0.15 ± 0.05	0.16 ± 0.05	14.82 ± 3.04
	溶栓后 7 d	0.51 ± 0.12	1.40 ± 0.24	1.13 ± 0.23	1.15 ± 0.26	9.08 ± 2.12
	溶栓后 3 个月	0.15 ± 0.05	1.44 ± 0.28	1.47 ± 0.29	1.67 ± 0.32	4.96 ± 1.43
远期预后不良组 (n=21)	溶栓前	1.09 ± 0.12	0.71 ± 0.11	0.13 ± 0.04	0.15 ± 0.03	15.31 ± 3.20
	溶栓后 7 d	0.68 ± 0.10	1.05 ± 0.21	0.82 ± 0.18	0.91 ± 0.22	12.23 ± 2.59
	溶栓后 3 个月	0.44 ± 0.11	1.15 ± 0.25	1.10 ± 0.24	1.18 ± 0.27	7.80 ± 1.84
F/P 远期预后良好组内值		1399.858/ <0.001	272.093/ <0.001	838.449/ <0.001	849.391/ <0.001	386.947/ <0.001
F/P 远期预后不良组内值		186.469/ <0.001	28.236/ <0.001	171.416/ <0.001	147.052/ <0.001	44.157/ <0.001
t/P 溶栓后 7 d 组间值		5.982/ <0.001	6.112/ <0.001	5.740/ <0.001	3.889/ <0.001	5.809/ <0.001
t/P 溶栓后 3 个月组间值		17.934/ <0.001	4.327/ <0.001	5.392/ <0.001	6.454/ <0.001	7.653/ <0.001

2.4.2 远期预后的预测价值:绘制溶栓后 3 个月的外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白对 ACI 患者预测价值的 ROC 曲线,并计算 AUC,结果显示,溶栓后 3 个月的 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白及四者联合预测近期预后不良的 AUC 为 0.766、0.765、0.812、0.767、0.927,四者联合优于各蛋白单独预测价值 ( $Z/P = 2.238/0.010$ 、 $2.241/0.008$ 、 $2.115/0.019$ 、 $2.231/0.012$ ),见表 5、图 2。溶栓后 3 个月的外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白预测远期预后的 AUC 与溶栓后 7 d 的外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白预测近期预后的 AUC 比较,差异无统计学意义 ( $Z/P = 0.102/0.563$ )。

表 5 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白对 ACI 患者远期预后的预测价值

Tab.5 Predictive value of Keap1-Nrf2/ARE protein in peripheral blood for long-term prognosis

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
Keap1	0.35	0.766	0.676 ~ 0.842	0.571	0.933	0.504
NQO1	1.71	0.765	0.673 ~ 0.841	0.762	0.759	0.521
Nrf2	1.24	0.812	0.723 ~ 0.882	0.809	0.723	0.532
ARE	1.36	0.767	0.674 ~ 0.844	0.714	0.759	0.473
四者联合		0.927	0.859 ~ 0.969	0.952	0.868	0.820

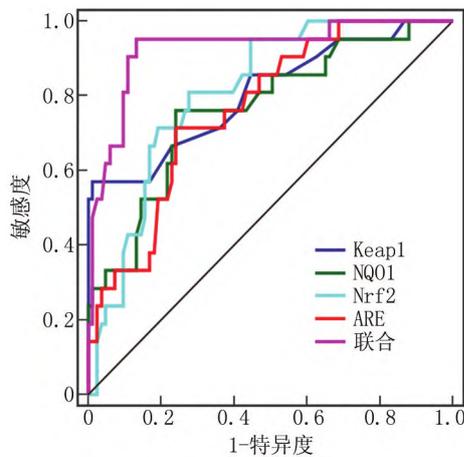


图 2 外周血 Keap1-Nrf2/ARE 蛋白预测 ACI 患者远期预后的 ROC 曲线

Fig.2 ROC curve of Keap1-Nrf2/ARE protein in peripheral blood for predicting long-term prognosis

### 3 讨论

临床普遍认为,ACI 发生发展机制较为复杂,其中公认的是除了病程中脑局部缺氧缺血直接导致的神经组织损害,还会在受损脑组织缺血再灌注基础上致使氧化应激反应被激活、氧自由基过多释放,造成脑细胞膜脂质过氧化,从而形成微循环障碍、加剧脑细胞结构

破坏,成为间接造成神经组织损害的主要原因之一<sup>[11-13]</sup>。因此,积极探索氧化应激反应相关信号通路在 ACI 患者中的变化成为临床重要研究方向。

Keap1-Nrf2/ARE 信号通路属于机体内重要的氧化应激信号通路,其中 Keap1、Nrf2 是机体氧化/抗氧化状态的重要调节中枢因子,ARE 与 Nrf2 具有协调效应,参与氧化应激反应发生发展过程,NQO1 是受 Nrf2/ARE 调控的抗氧化酶,能通过催化体内多种代谢途径达到抗氧化目的<sup>[14-15]</sup>。既往国内外均有研究证实,Keap1-Nrf2/ARE 信号通路可通过调控局部脑细胞氧化应激损伤在脑血管疾病中发挥重要作用<sup>[16-17]</sup>。田琴等<sup>[18]</sup>报道表明,缺血性脑卒中患者外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路呈异常表达状态,与神经损伤密切相关。本研究发现,ACI 患者溶栓后近期 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量均与 NIHSS 评分密切相关,可见外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白水平改变与 ACI 患者神经功能缺损程度变化情况显著相关,是由于机体受到氧化应激刺激会立即修饰 Keap1 半胱氨酸残基,降低 Nrf2 稳定性,导致 Keap1 与 Nrf2 发生解离,促使 Nrf2 结合细胞核内的 ARE,加快 Nrf2/ARE 之间的协调效应活化进程,调控超氧化物歧化酶、NQO1 等下游基因的表达,参与神经功能损伤过程<sup>[19-21]</sup>;在氧自由基大量释放时会造成过多的 Nrf2 在细胞内蓄积,逐渐向细胞核内转位,识别 ARE,启动 NQO1 等多种抗氧化酶表达,发挥阻碍氧自由基生成作用,从而在 ACI 患者神经组织损伤发生及修复过程中产生相应作用<sup>[22-23]</sup>。

同时,本研究发现 ACI 患者溶栓后近期 Keap1 蛋白相对表达量、NIHSS 评分明显降低,NQO1、Nrf2、ARE 蛋白相对表达量明显升高,其变化机制在于静脉溶栓后 ACI 患者脑部微循环、神经功能得到有效修复,脑细胞氧化应激反应损伤有所减轻,促使 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白水平随之改善,这与该信号通路参与 ACI 氧化应激反应、神经功能损伤修复间接影响预后改善有关。此外,本研究创新性尝试探讨外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白对 ACI 患者近远期预后的预测价值,结果发现,溶栓后 7 d 的 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白联合预测近期预后的 AUC 最大,溶栓后 3 个月的 Keap1、NQO1、Nrf2、ARE 蛋白联合预测远期预后不良的 AUC 最大,均优于各蛋白单独预测,提示临床可通过检测外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白水平变化有效预测 ACI 患者近远期预后情况,有利于及早采取针对性干预措施,降低预后不良风险。不足之处:纳入样本量偏少,可能造成

数据偏倚,且未对比外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路  
与常规影响因素预测预后价值的优劣,今后需收集更多  
病例,做进一步探究与分析,以获取更可靠的数据支持。

综上所述,ACI 患者外周血 Keap1-Nrf2/ARE 信号  
通路变化与近远期预后显著相关,可作为有效预测近  
远期预后情况的重要辅助途径,能为临床制定改善预  
后方案提供可靠的参考依据。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

张欢:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;祝善尧:提  
出研究思路,分析试验数据,论文审核;葛伟、洪斌:实施研究过  
程,资料搜集整理,论文修改;刘爽:进行统计学分析

**参考文献**

- [1] Zheng X, Zhang Y, Man Y, et al. Clinical features, risk factors, and early prognosis for wallerian degeneration in the descending pyramidal tract after acute cerebral infarction[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30 ( 2 ): 105480. DOI: 10. 1016/j. jstrokecerebrovasdis. 2020. 105480.
- [2] Chen LL, Wang WT, Zhang S, et al. Cohort study on the prognosis of acute cerebral infarction in different circulatory systems at 1-year follow-up[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21 ( 1 ): 521. DOI: 10. 1186/s12872-021-02291-0.
- [3] 吴巧玲, 黄丹红, 叶腾芳. 急性脑梗死静脉溶栓治疗后近期预后不良的影响因素分析[J]. *中国医院统计*, 2020, 27 ( 3 ): 215-217. DOI: 10. 3969/j. issn. 10065253. 2020. 03. 006.
- Wu QL, Huang DH, Ye TF. Investigation analysis on risk factors of poor prognosis of acute cerebral infarction patients after treatment with venous thrombolysis [ J ]. *Chin J Hosp Statist*, 2020, 27 ( 3 ): 215-217. DOI: 10. 3969/j. issn. 10065253. 2020. 03. 006.
- [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] Shi Y, Han L, Zhang X, et al. Selenium alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by regulating oxidative stress, mitochondrial fusion and ferroptosis [ J ]. *Neurochem Res*, 2022, 47 ( 10 ): 2992-3002. DOI: 10. 1007/s11064-022-03643-8.
- [6] Zhu X, He L, Gao W, et al. Neuroprotective investigation of tanshinone in the cerebral infarction model in the Keap1-Nrf2/ARE pathway [ J ]. *Cell Cycle*, 2023, 22 ( 4 ): 390-402. DOI: 10. 1080/15384101. 2022. 2119687.
- [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.
- Neurology Branch of Chinese Medical Association, Cerebrovascular Group Neurology Branch of Chinese Medical Association. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute ischemic stroke 2018 [ J ]. *Chin J Neurol*, 2018, 51 ( 9 ): 666-682. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1006-7876. 2018. 09. 004.
- [8] Broderick JP, Adeoye O, Elm J. Evolution of the modified rankin scale and its use in future stroke trials [ J ]. *Stroke*, 2017, 48 ( 7 ): 2007-2012. DOI: 10. 1161/STROKEAHA. 117. 017866.
- [9] 逯青丽, 刘仲仲, 刘佩, 等. 西安地区急性复发性脑梗死患者的临床特征及 1 年预后分析 [ J ]. *中国卒中杂志*, 2021, 16 ( 8 ): 787-792. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-5765. 2021. 08. 006.
- Lu QL, Liu ZZ, Liu P, et al. Clinical characteristics and 1-year prognosis of patients with acute recurrent cerebral infarction in Xi'an [ J ]. *Chin J Stroke*, 2021, 16 ( 8 ): 787-792. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-5765. 2021. 08. 006.
- [10] Amalia L, Dalimonthe NZ. Clinical significance of Platelet-to-White Blood Cell Ratio ( PWR ) and National Institute of Health Stroke Scale ( NIHSS ) in acute ischemic stroke [ J ]. *Heliyon*, 2020, 6 ( 10 ): e05033. DOI: 10. 1016/j. heliyon. 2020. e05033.
- [11] Wang Q, Tian S, Xiao D, et al. Correlation of serum RBP4 level with oxidative stress and unstable carotid plaque in patients with cerebral infarction [ J ]. *Transl Neurosci*, 2022, 13 ( 1 ): 354-360. DOI: 10. 1515/tnsci-2022-0252.
- [12] 晏立娜, 李佳艳, 陈奕菲, 等. 血清 IL-6、SDF-1 水平与急性脑梗死患者 rt-PA 静脉溶栓治疗短期预后的相关性 [ J ]. *疑难病杂志*, 2021, 20 ( 12 ): 1229-1233. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 12. 010.
- Yan LN, Li JY, Chen YF, et al. Correlation between serum IL-6, SDF-1 levels and short-term prognosis of rt-PA intravenous thrombolytic therapy in patients with acute cerebral infarction [ J ]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2021, 20 ( 12 ): 1229-1233. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 12. 010.
- [13] 玄洪雷, 啜红斐, 李珊珊, 等. 血小板—纤维蛋白凝块强度、P-选择素与急性脑梗死患者复发的相关性及其预测价值 [ J ]. *疑难病杂志*, 2021, 20 ( 10 ): 1008-1011, 1016. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 008.
- Xuan HL, Chuai HF, Li SS, et al. Analysis of the correlation between ADP-induced platelet-fibrin clot strength, P-selectin and recurrence in patients with acute cerebral infarction and its predictive value [ J ]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2021, 20 ( 10 ): 1008-1011, 1016. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 10. 008.
- [14] Rampin A, Carrabba M, Mutoli M, et al. Recent advances in keap1/nrf2-targeting strategies by phytochemical antioxidants, nanoparticles, and biocompatible scaffolds for the treatment of diabetic cardiovascular complications [ J ]. *Antioxid Redox Signal*, 2022, 36 ( 10-12 ): 707-728. DOI: 10. 1089/ars. 2021. 0134.
- [15] You L, Peng H, Liu J, et al. Catalpol protects ARPE-19 cells against oxidative stress via activation of the Keap1/Nrf2/ARE pathway [ J ]. *Cells*, 2021, 10 ( 10 ): 2635. DOI: 10. 3390/cells10102635.
- [16] 孙亦轩, 王俊力, 邵卫. Keap1-Nrf2-ARE 通路在阿尔茨海默病发病机制中的潜在作用 [ J ]. *河北医学*, 2022, 28 ( 10 ): 1754-1757. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6233. 2022. 10. 032.
- Sun YX, Wang JL, Shao W. Potential role of the Keap1-Nrf2-ARE pathway in the pathogenesis of Alzheimer's disease [ J ]. *Hebei Med*, 2022, 28 ( 10 ): 1754-1757. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-6233. 2022. 10. 032.
- [17] Wang D, Peng X, Yang A, et al. Edaravone promotes nerve function recovery after acute cerebral infarction in rats via targeting Keap1-Nrf2/ARE [ J ]. *Panminerva Med*, 2021, 63 ( 3 ): 384-385. DOI: 10. 23736/S0031-0808. 19. 03694-2.

(下转 619 页)

- [12] 田伟,李峰,张彬. STRAP 在人脑胶质瘤组织中的表达及临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志,2020,25(8):510-512,516. DOI: 10.13798/j.issn.1009-153X.2020.08.005.  
Tian W, Li F, Zhang B. Expression of serine threonine kinase receptor associated protein in human glioma tissues and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Clinical Neurosurgery, 2020, 25(8): 510-512, 516. DOI: 10.13798/j.issn.1009-153X.2020.08.005.
- [13] 周祥,王仲伟,常海刚,等. ITGA3 在脑胶质瘤中的表达及其对预后的评估价值[J]. 中华神经医学杂志,2022,21(3):232-241. DOI:10.3760/cma.j.cn115354-20211012-00654.  
Zhou X, Wang ZW, Chang HG, et al. Integrin alpha 3 expression in glioma and its prognostic value in glioma patients[J]. Chinese Journal of Neuromedicine, 2022, 21(3): 232-241. DOI: 10.3760/cma.j.cn115354-20211012-00654.
- [14] 康鹏,原林皓,彭嘉宜,等. 甲基转移酶样 7B 在中国人群脑胶质瘤中的表达及预后分析[J]. 中华神经外科杂志,2020,36(6):587-592. DOI:10.3760/cma.j.cn112050-20191125-00498.  
Kang P, Yuan LH, Peng JY, et al. Expression and prognostic characteristics of methyltransferase-like 7B in Chinese glioma patients[J]. Chinese Journal of Neurosurgery, 2020, 36(6): 587-592. DOI: 10.3760/cma.j.cn112050-20191125-00498.
- [15] 宋旭东,罗波,陈华轩,等. miR-105 联合 MMP-2 预测脑胶质瘤术后复发的临床价值分析[J]. 东南大学学报:医学版,2022,41(5):615-623. DOI:10.3969/j.issn.1671-6264.2022.05.003.  
Song XD, Luo B, Chen HX, et al. The clinical value of miR-105 in combination with MMP-2 predicting the postoperative recurrence of glioma of the brain[J]. Journal of Southeast University: Medical Science Edition, 2022, 41(5): 615-623. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2022.05.003.
- [16] Qiu W, Guo X, Li B, et al. Exosomal miR-1246 from glioma patient body fluids drives the differentiation and activation of myeloid-derived suppressor cells [J]. Mol Ther, 2021, 29(12): 3449-3464. DOI: 10.1016/j.ymthe.2021.06.023.
- [17] 王雯,蒲育,赵东利. RIOK2 与食管鳞状细胞癌根治术后患者预后的关系[J]. 国际消化病杂志,2021,41(5):365-369. DOI:10.3969/j.issn.1673-534X.2021.05.011.  
Wang W, Pu Y, Zhao DL. Relationship between RIOK2 and prognosis of patients after radical resection of esophageal squamous cell carcinoma[J]. International Journal of Digestive Diseases, 2021, 41(5): 365-369. DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2021.05.011.
- [18] Wang CB, Lorente-Macias A, Wells C, et al. Towards a RIOK2 chemical probe: cellular potency improvement of a selective 2-(acylamino)pyridine series [J]. RSC Med Chem, 2020, 12(1): 129-136. DOI: 10.1039/d0md00292e.
- [19] Messling JE, Agger K, Andersen KL, et al. Targeting RIOK2 ATPase activity leads to decreased protein synthesis and cell death in acute myeloid leukemia [J]. Blood, 2022, 139(2): 245-255. DOI: 10.1182/blood.2021012629.
- [20] Matsuzaki Y, Naito Y, Miura N, et al. RIOK2 contributes to cell growth and protein synthesis in human oral squamous cell carcinoma [J]. Curr Oncol, 2022, 30(1): 381-391. DOI: 10.3390/curroncol30010031.
- [21] Yu M, Hu X, Yan J, et al. RIOK2 inhibitor nsc139021 exerts anti-tumor effects on glioblastoma via inducing skp2-mediated cell cycle arrest and apoptosis [J]. Biomedicines, 2021, 9(9): 1244. DOI: 10.3390/biomedicines9091244.
- [22] Zhao B, Ye X, Yang Y, et al. Knockdown of ER- $\alpha$ 36 expression inhibits glioma proliferation, invasion and epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Anat Rec (Hoboken), 2022, 305(2): 321-332. DOI: 10.1002/ar.24723.

(收稿日期:2023-02-18)

(上接 612 页)

- [18] 田琴,田文芳,柳春霞. 缺血性脑卒中患者外周血中 Keap1-Nrf2/ARE 通路功能的变化及临床意义[J]. 海南医学院学报,2018,24(3):421-424. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20180207.001.  
Tian Q, Tian WF, Liu CX. The changes and clinical significance of Keap1-Nrf2/ARE pathway function in peripheral blood in patients with ischemic stroke [J]. J Hainan Med Univ, 2018, 24(3): 421-424. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20180207.001.
- [19] 王亚楠,刘佳,张林,等. Keap1/Nrf2/ARE 信号通路调控线粒体分裂在脑缺血/再灌注损伤中的作用[J]. 国际麻醉学与复苏杂志,2020,41(4):321-325. DOI: 10.3760/cma.j.cn321761-20190415-00001.  
Wang YN, Liu J, Zhang L, et al. Effects of Kelch-like ECH-associated protein 1/nuclear factor-E2-related factor 2/antioxidant response element signaling pathway on the regulation of mitochondrial fission in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Int J Anesth Resusc, 2020, 41(4): 321-325. DOI: 10.3760/cma.j.cn321761-20190415-00001.
- [20] 张立攀,朱云亮. 丁苯酞软胶囊联合脑蛋白水解物对急性脑梗死患者 NIHSS 评分及 Keap1-Nrf2/ARE 信号传导通路的影响[J]. 河北医学,2020,26(9):1454-1460. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2020.09.012.  
Zhang LP, Zhu YL. Effects of Butylphthalide Soft Capsule combined with Brain Protein Hydrolysate on NIHSS score and Keap1-Nrf2/ARE signaling pathway in patients with acute cerebral infarction[J]. Hebei Med, 2020, 26(9): 1454-1460. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2020.09.012.
- [21] Zhang X, Yuan M, Yang S, et al. Enriched environment improves post-stroke cognitive impairment and inhibits neuroinflammation and oxidative stress by activating Nrf2-ARE pathway [J]. Int J Neurosci, 2021, 131(7): 641-649. DOI: 10.1080/00207454.2020.1797722.
- [22] 姚娟,吴平安,李芸,等. Keap1-Nrf2-ARE 信号通路及其激活剂的研究进展[J]. 中国药理学通报,2019,35(10):1342-1346. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.10.003.  
Yao J, Wu PA, Li Y, et al. Research progress of small molecule activators in Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway [J]. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35(10): 1342-1346. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.10.003.
- [23] Shi M, Wang J, Bi F, et al. Diosmetin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury through Keap1-mediated Nrf2/ARE signaling pathway activation and NLRP3 inflammasome inhibition [J]. Environ Toxicol, 2022, 37(6): 1529-1542. DOI: 10.1002/tox.23504.

(收稿日期:2023-02-16)