



**主管**  
中华人民共和国国家  
卫生健康委员会

**主办**  
中国医师协会

**编辑**  
疑难病杂志编辑委员会

**顾问**  
王永炎 张运 李春岩 张伯礼  
葛均波 于金明 张英泽 刘良  
王琦 丛斌 黄璐琦 李佃贵

**名誉总编辑**  
吴以岭

**总编辑**  
贾振华

**社长 主编**  
马智

**出版**  
疑难病杂志社  
050035 石家庄市天山大街238号  
电话(传真):(0311)85901735  
E-mail: ynbzz@163.com  
网址: http://www.ynbzz.com

**印刷**  
石家庄市汇昌印刷有限公司

**发行范围**  
国内外公开发行  
国内: 中国邮政集团有限公司  
河北省报刊发行局  
海外总发行: 中国国际图书贸易  
集团有限公司  
海外发行代号: M6888

**订购**  
全国各地邮政局(所)  
邮发代号: 18-187  
网址: http://bk.11185.cn

**零售**  
疑难病杂志编辑部

**广告发布登记号**  
石高新 13010120190001号

**定价**  
每期12.00元 全年144.00元

**中国标准连续出版物号**  
ISSN 1671-6450  
CN 13-1316/R

### 目次

#### 论著·临床

血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 与射血分数保留心力衰竭患者  
临床疗效及预后的关系 ..... 李慧 刘国兵 刘佩 段勇 曾海涛 1117

帕金森病患者血清 ESM-1、ET-1 表达与认知功能的关系  
..... 李敏 黎玉环 罗洁 张俊杰 郑永强 1124

多模态监测对急性脑梗死患者脑颈血流动力学及神经功能预后的  
评估 ..... 王婧 陈蕾 王俊力 陈国华 梅俊华 1129

血清 miR-216a、ANGPTL4 水平与新生儿急性呼吸窘迫综合征  
病情严重程度和预后的关系 ..... 姜梨梨 付杰 郑爱华 刘军 1135

特发性肺间质纤维化急性加重患者呼吸道微生态成分与  
不良预后的关系 ..... 陈榕 王旭 舒静 莫尚尧 邓浩 1141

人血白蛋白联合目标导向性补液对脓毒性休克并发急性  
呼吸窘迫综合征的治疗效果 ..... 王磊 李冀 唐娟 陈春蔓 1147

基于决策曲线分析系统性炎症因子对2型糖尿病的预测价值  
..... 阿孜古丽·买合买提 米日古丽·吾木哈斯木  
穆叶斯尔·哈斯木 李雪梅 潘亚丽 1153

度拉糖肽联合达格列净对早期糖尿病肾病尿蛋白排泄率及  
血清炎症因子的影响  
..... 邢建东 姚艳琴 王静茹 马春明 陈海丽 李银玉 1158

腹膜透析患者血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平与腹主动脉钙化的  
相关性分析 ..... 李涛 谢赛 虞典元 江志锋 李丹 1163

血清 miR-301a、miR-197 与 GDM 患者炎症细胞因子的相关性及其  
预测妊娠结局的 ROC 分析 ..... 吴海芳 张海波 黄素静 韩一桐 1169

2022年版权归疑难病杂志社所有

本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点,除非特别声明;未经本刊编辑部许可,不得任意转载和摘编;本刊如有印刷问题,请向本社调换

## 论著·基础

干扰脊椎蛋白 2 表达抑制肺腺癌细胞增殖和转移能力的研究

..... 李艳光 任明明 牛洁婷 唐国杰 孙震 孔繁义 宋翔 1174

杞月茶对卵巢储备功能下降大鼠卵巢组织 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响 ..... 肖慧 刘宇 朱英英 李军 1180

## 荟萃分析

完全血运重建对急性 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者预后影响的 Meta 分析

..... 闫奎坡 张剑剑 郭雨晴 1186

## 罕见病例

“慌张样步态”舞蹈病—棘红细胞增多症 1 例并文献复习 ..... 刘一文 韩永升 1193

盆腔尤因肉瘤 1 例 ..... 付汉川 霍威 王杰 李宏岩 1195

表现为反复发热、低血糖的糖原累积症 Ib 型 1 例并文献复习 ..... 任潇亚 丁圆 王峤 巩纯秀 1196

## 综述

胶质细胞球形包涵体 Tau 蛋白病的颅脑影像学特点 ..... 范雪怡 钱海蓉 1198

益生菌治疗炎性肠病的研究进展 ..... 杨敏琪 张吉翔 董卫国 1202

中性粒细胞胞外诱捕网在脓毒症中的作用机制与靶点 ..... 王瀚黎 田圆 梁群 1206

盆腔器官脱垂术后新发压力性尿失禁研究现状 ..... 王东升 郭佳恒 段永飞 于磊 1211

SUV39H1 的生物学功能研究进展 ..... 简俊 刘修恒 王磊 1216

Nephrin 在足细胞狭缝隔膜上的作用研究进展 ..... 吴慧敏 钟建 1220

作者·编者·读者 ..... 1210

期刊基本参数: CN13-1316/R \* 2002 \* m \* A4 \* 112 \* zh \* P \* ¥12.00 \* 1 500 \* 22 \* 2022 - 11

本期责任编辑: 赵建逸 英文编辑: 马晓海

# CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly      Established in June 2002      Volume 21, Number 11      18 November, 2022

## Responsible Institution

National Health Commission of  
the People's Republic of China

## Sponsor

Chinese Medical Doctor Association

## Editing

Editorial Board of Chinese Journal of Difficult  
and Complicated Cases

## Adviser

Wang Yongyan Zhang Yun Li Chunyan  
Zhang Boli Ge Junbo Yu Jinming  
Zhang Yingze Liu Liang Wang Qi  
Cong Bin Huang Luqi Li Dianguai

## Honorary Editor-in-Chief

Wu Yiling

## Editor-in-Chief

Jia Zhenhua

## Managing Director

Ma Zhi

## Publishing

Publishing House of Chinese Journal of  
Difficult and Complicated Cases  
238 Tianshan Street, Shijiazhuang  
050035, China  
Tel(Fax):(0311)85901735  
E-mail: ynbzz@163.com  
http://www.ynbzz.com

## Printing

Shijiazhuang Huichang Printing House

## Overseas Distributor

China International Book  
Trading Corporation  
Code No.M6888

## Overseas Price

\$ 12.00 per issue; \$ 144.00 a year

## CSSN

ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2022 by Publishing House of Chinese  
Journal of Difficult and Complicated Cases

All articles published represent the opinions of the  
authors, do not reflect the official policy of the editor-  
ial board, unless clearly specified.

## CONTENTS

### Original Artical: Clinical Research

**The relationship between serum Endostatin, CTRP3, FGF21 and clinical  
efficacy and prognosis of heart failure patients**

**with preserved ejection fraction**

..... *Li Hui, Liu Guobing, Liu Pei, et al* 1117

**The relationship between the expression of serum ESM-1, ET-1 and  
cognitive function in patients with Parkinson's disease**

..... *Li Min, Li Yuhuan, Luo Jie, et al* 1124

**Prognostic evaluation of cerebral neck hemodynamics and neurological function  
in patients with acute cerebral infarction by multimodal monitoring**

..... *Wang Jing, Chen Lei, Wang Junli, et al* 1129

**The relationship between serum miR-216a, ANGPTL4 levels and the  
severity and prognosis of neonatal acute respiratory distress syndrome**

..... *Jiang Lili, Fu Jie, Zheng Aihua, et al* 1135

**Relationship between respiratory microecological components and adverse  
prognosis in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary**

**interstitial fibrosis** ..... *Chen Rong, Wang Xu, Shu Jing, et al* 1141

**Effect of human albumin combined with targeted fluid infusion on septic  
shock complicated with acute respiratory distress syndrome**

..... *Wang Lei, Li Ji, Tang Juan, et al* 1147

**Predictive value of systemic inflammatory factors in type 2 diabetes mellitus  
based on decision curve analysis**

..... *Aziguli · Maihemaiti, Miriguli · Wumuhasimu,  
Muyesier · Hasimu, Li Xuemei, et al* 1153

**Effect of dulaglutide combined with daggligin on urinary protein excretion  
rate and serum inflammatory factors in patients with early diabetic**

**nephropathy** ..... *Xing Jiandong, Yao Yanqin, Wang Jingru, et al* 1158

|   |   |      |
|---|---|------|
| <b>Correlation between serum levels of lncRNA MEG3, miR-223 and abdominal aortic calcification in peritoneal dialysis patients</b> .....  | <i>Li Tao, Xie Sai, Yu Dianyuan, et al</i>              | 1163 |
| <b>Correlation between serum miR-301a, miR-197 and inflammatory cytokines in GDM patients and ROC analysis for predicting pregnancy outcome</b> .....   | <i>Wu Haifang, Zhang Haibo, Huang Sujing, et al</i>     | 1169 |
| <b>Original Artical: Basic Research</b>   |   |      |
| <b>Inhibition of proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma cells by interfering with the expression of spinal protein 2</b> .....   | <i>Li Yanguang, Ren Mingming, Niu Jieting, et al</i>    | 1174 |
| <b>Effects of Qiyue Tea on the expression of Bax and Bcl 2 proteins in ovarian tissue of rats with decreased ovarian reserve</b> .....  | <i>Xiao Hui, Liu Yu, Zhu Yingying, et al</i>            | 1180 |
| <b>Meta Analysis</b>  |   |      |
| <b>Meta analysis of the effect of complete revascularization on the prognosis of patients with acute ST segment elevation myocardial infarction complicated with multi vessel disease</b> ..... | <i>Yan Kuipo, Zhang Jianjian, Guo Yuqing</i>            | 1186 |
| <b>Rare Case Report</b>   |   |      |
| <b>Panic gait chorea acanthocytosis: a case report and literatures review</b> .....   | <i>Liu Yiwen, Han Yongsheng</i>                         | 1193 |
| <b>A case of pelvic Ewing's sarcoma</b> .....   | <i>Fu Hanchuan, Huo Wei, Wang Jie, et al</i>            | 1195 |
| <b>Glycogen storage disease type Ib with repeated fever and hypoglycemia: a case report and literatures review</b> .....  | <i>Ren Xiaoya, Ding Yuan, Wang Qiao, et al</i>          | 1196 |
| <b>Review</b>   |   |      |
| <b>Brain imaging features of glial spherical inclusion body Tau proteinopathy</b> .....   | <i>Fan Xueyi, Qian Hairong</i>                          | 1198 |
| <b>Research progress of probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease</b> .....   | <i>Yang Minqi, Zhang Jixiang, Dong Weiguo</i>           | 1202 |
| <b>Mechanism and target of neutrophil extracellular trap net in sepsis</b> .....  | <i>Wang Hanli, Tian Yuan, Liang Qun</i>                 | 1206 |
| <b>Research status of new stress urinary incontinence after pelvic organ prolapse surgery</b> .....   | <i>Wang Dongsheng, Guo Jiaheng, Duan Yongfei, et al</i> | 1211 |
| <b>Research progress on biological functions of SUV39H1</b> .....   | <i>Jian Jun, Liu Xiuheng, Wang Lei</i>                  | 1216 |
| <b>Research progress on the role of Nephtrin on the slit membrane of podocytes</b> .....  | <i>Wu Huimin, Zhong Jian</i>                            | 1220 |

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.001

论著·临床

# 血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 与射血分数保留心力衰竭患者临床疗效及预后的关系

李慧, 刘国兵, 刘佩, 段勇, 曾海涛

基金项目: 湖南省自然科学基金青年项目(2019JJ80111)

作者单位: 410015 长沙市第三医院/湖南中医药大学附属长沙医院心血管内科

通信作者: 曾海涛, E-mail: haitaotiger@163.com

**【摘要】目的** 探讨血清内皮抑素(Endostatin)、补体 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 3(CTRP3)、成纤维细胞生长因子 21(FGF21)与射血分数保留的心力衰竭(HFpEF)患者临床疗效的关系及预测预后不良的价值。**方法** 选择 2019 年 5 月—2022 年 2 月长沙市第三医院/湖南中医药大学附属长沙医院心血管内科收治的 HFpEF 患者 158 例(HFpEF 组)和体检心功能正常的志愿者 107 例(健康对照组)。HFpEF 患者接受常规抗心力衰竭治疗,根据疗效分为有效亚组 122 例和无效亚组 36 例,随访的 152 例患者根据预后情况分为预后良好亚组 122 例和预后不良亚组 30 例。比较各组血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平,不同预后 HFpEF 患者超声心动图特点;多因素 Logistic 回归分析影响 HFpEF 患者预后不良的危险因素,受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 预测 HFpEF 患者发生预后不良的价值。**结果** HFpEF 组血清 Endostatin、FGF21 水平高于健康对照组,血清 CTRP3 水平低于健康对照组( $t/P=9.585/<0.001, 13.798/<0.001, 42.478/<0.001$ )。无效亚组血清 Endostatin、FGF21 水平高于有效亚组,血清 CTRP3 水平低于有效亚组( $t/P=32.125/<0.001, 9.681/<0.001, 21.620/<0.001$ )。预后不良亚组心房颤动、美国纽约心脏病协会(NYHA)IV 级比例,血清 Endostatin、FGF21、氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP)水平,二尖瓣舒张早期血流峰值(E)/舒张晚期血流峰值(A)比值、E/二尖瓣环舒张早期心肌速度(e)比值高于预后良好亚组 [ $t(\chi^2)/P=23.149/<0.001, 7.557/0.006, 22.081/<0.001, 5.234/<0.001, 9.840/<0.001, 8.216/<0.001, 5.087/<0.001$ ], 血清 CTRP3、左心室射血分数(LVEF)、e' 低于预后良好亚组( $t/P=12.597/<0.001, 2.963/0.004, 5.978/<0.001$ )。多因素 Logistic 回归分析结果显示,心房颤动及血清 Endostatin、FGF21、NT-proBNP 升高是 HFpEF 患者预后不良的危险因素 [ $OR(95\% CI)=2.241(1.445\sim 3.475), 1.047(1.014\sim 1.081), 1.034(1.005\sim 1.063), 1.063(1.028\sim 1.100)$ ], CTRP3 升高是其保护因素 [ $OR(95\% CI)=0.954(0.933\sim 0.976)$ ];血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 及三者联合预测 HFpEF 患者预后的曲线下面积(AUC)分别为 0.741、0.703、0.654、0.837,三者联合应用诊断效能较单项指标高 ( $Z/P=3.963/<0.001, 4.617/<0.001, 3.422/<0.001$ )。**结论** HFpEF 患者血清 Endostatin、FGF21 水平增高,CTRP3 水平降低,与抗心力衰竭临床疗效及预后不良有关,且是 HFpEF 患者预后不良的危险因素。

**【关键词】** 射血分数保留心力衰竭;内皮抑素;补体 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 3;成纤维细胞生长因子 21;预后

【中图分类号】 R541.6

【文献标识码】 A

**The relationship between serum Endostatin, CTRP3, FGF21 and clinical efficacy and prognosis of heart failure patients with preserved ejection fraction** Li Hui, Liu Guobing, Liu Pei, Duan Yong, Zeng Haitao. Department of Internal Medicine-Cardiovascular, Changsha Third Hospital/Changsha Hospital Affiliated to Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Hunan Province, Changsha 410015, China

Corresponding author: Zeng Haitao, E-mail: haitaotiger@163.com

Funding program: Hunan Natural Science Foundation Youth Program (2019JJ80111)

**【Abstract】 Objective** To investigate the relationship between serum endostatin, complement C1q/tumor necrosis factor related protein 3 (CTRP3), fibroblast growth factor 21 (FGF21) and the clinical efficacy of heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) and the value of predicting poor prognosis.**Methods** From May 2019 to February 2022, 158 HFpEF patients (HFpEF group) and 107 volunteers (healthy control group) with normal cardiac function were selected from the Cardiovascular Department of Changsha Third Hospital/Changsha Hospital Affiliated to Hunan University of Traditional Chi-

nese Medicine. Patients with HFpEF were treated with conventional anti heart failure therapy. According to the efficacy, they were divided into 122 effective subgroups and 36 ineffective subgroups. 152 follow-up patients were divided into 122 good prognosis subgroups and 30 poor prognosis subgroups according to the prognosis. The levels of serum Endostatin, CTRP3 and FGF21 in each group were compared, and the echocardiographic characteristics of HFpEF patients with different prognosis were compared; Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the risk factors affecting the poor prognosis of HFpEF patients. The subjects' work characteristic curve (ROC) was used to analyze the value of serum Endostatin, CTRP3, FGF21 in predicting the poor prognosis of HFpEF patients. **Results** The serum Endostatin and FGF21 levels in HFpEF group were higher than those in healthy control group, while the serum CTRP3 levels were lower than those in healthy control group ( $t/P = 9.585 / <0.001, 13.798 / <0.001, 42.478 / <0.001$ ). The level of serum Endostatin and FGF21 in the ineffective subgroup was higher than that in the effective subgroup, and the level of serum CTRP3 was lower than that in the effective subgroup ( $t/P = 32.125 / <0.001, 9.681 / <0.001, 21.620 / <0.001$ ). Atrial fibrillation, NYHA class IV ratio, serum Endostatin, FGF21, N-terminal pro brain natriuretic peptide (NT-proBNP) levels, early diastolic peak flow (E)/late diastolic peak flow (A) ratio, and early diastolic myocardial velocity (e') ratio of E/mitral annulus in the subgroup with poor prognosis were higher than those in the subgroup with good prognosis [ $t(\chi^2) / P = 23.149 / <0.001, 7.557 / 0.006, 22.081 / <0.001, 5.234 / <0.001, 9.840 / <0.001, 8.216 / <0.001, 5.087 / <0.001$ ], serum CTRP3, left ventricular ejection fraction (LVEF), e' were lower than the subgroups with good prognosis ( $t/P = 12.597 / <0.001, 2.963 / 0.004, 5.978 / <0.001$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that atrial fibrillation and elevated serum Endostatin, FGF21, NT-proBNP were risk factors for poor prognosis of HFpEF patients [ $OR(95\% CI) = 2.241(1.445 - 3.475), 1.047(1.014 - 1.081), 1.034(1.005 - 1.063), 1.063(1.028 - 1.100)$ ], and elevated CTRP3 was a protective factor [ $OR(95\% CI) = 0.954(0.933 - 0.976)$ ]; The AUC of serum Endostatin, CTRP3, FGF21 and their combination to predict the prognosis of HFpEF patients were 0.741, 0.703, 0.654 and 0.837, respectively. The diagnostic efficacy of their combination was higher than that of single index ( $Z/P = 3.963 / <0.001, 4.617 / <0.001, 3.422 / <0.001$ ). **Conclusion**

The increase of serum Endostatin and FGF21 levels and the decrease of serum CTRP3 levels in HFpEF patients are related to the clinical efficacy of anti-heart failure and poor prognosis, and are risk factors for poor prognosis in HFpEF patients.

**【Key words】** Heart failure with preserved ejection fraction; Endostatin; Complement C1q/ tumor necrosis factor associated protein 3; Fibroblast growth factor 21; Efficacy; Prognosis

射血分数保留的心力衰竭(heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF)是指左心室射血分数(LVEF)  $\geq 50\%$  的心力衰竭类型,与射血分数降低的心力衰竭(heart failure with reduced ejection fraction, HFrEF)比较,HFpEF 临床诊断率低,合并症多,预后与 HFrEF 类似甚至更差<sup>[1-2]</sup>。

内皮抑素(Endostatin)主要通过抑制内皮细胞增殖迁移,诱导内皮细胞凋亡,发挥抗血管生成作用,现有研究发现,较高的血清 Endostatin 水平与左心室收缩舒张功能障碍有关<sup>[3]</sup>。动物研究显示,补体 C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白 3(complement C1q/ tumor necrosis factor associated protein 3, CTRP3)在心肌梗死后表现下调,给予外源性 CTRP3 可减少心肌细胞凋亡,促使新生血管生成,改善心肌血流灌注<sup>[4]</sup>。成纤维细胞生长因子 21(fibroblast growth factor 21, FGF21)是一种具有调节糖脂代谢功能的细胞因子,在心脏损伤反应中呈高表达,与心血管事件发病风险增高有关<sup>[5]</sup>。本研究拟检测 HFpEF 患者血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平,分析其与 HFpEF 临床疗效及预后的关系,以期为临床 HFpEF 患者治疗及改善预后提供参

考,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2019 年 5 月—2022 年 2 月长沙市第三医院/湖南中医药大学附属长沙医院心血管内科收治 HFpEF 患者 158 例作为 HFpEF 组,男 56 例,女 102 例,年龄 58 ~ 77(67.24  $\pm$  5.06)岁;体质指数 19 ~ 28(22.89  $\pm$  1.72) kg/m<sup>2</sup>;美国纽约心脏病协会(NYHA)分级:Ⅱ级 53 例,Ⅲ级 47 例,Ⅳ级 58 例。另选择医院体检心功能正常的志愿者 107 例为健康对照组,男 41 例,女 66 例,年龄 55 ~ 76(66.98  $\pm$  5.11)岁;体质指数 20 ~ 28(22.98  $\pm$  1.65) kg/m<sup>2</sup>。2 组性别、年龄、体质指数比较差异无统计意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究已经获得医院伦理委员会批准[2019 伦(审)ZX023],受试者及其家属均知情同意且签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①符合“中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018”中 HFpEF 诊断标准<sup>[6]</sup>:具有典型心力衰竭症状和体征(水肿、端坐呼吸、夜间阵发性呼吸困难等)、LVEF  $\geq 50\%$ 、超声心动图提示左心室肥厚、左心房扩大和/或舒张功能不全,并排除心

脏瓣膜病、心包疾病、肥厚型心肌病、浸润性心肌病等；②NYHA 分级 II ~ IV 级；③年龄 ≥ 18 岁。(2) 排除标准：①LVEF < 50% 或既往 LVEF 下降至 40% 以下；②心房颤动、严重心律失常、心肌梗死；③近 6 周内行冠状动脉介入手术；④先天性心脏病患者、风湿性心脏病、免疫系统疾病；⑤未控制的高血压和高血糖。

### 1.3 检测指标与方法

1.3.1 治疗方法：根据患者具体情况采用对症处理，适当选用抗心力衰竭药物，以纠正诱因及缓解症状，给予利尿剂、ACEI/ARB 类及 β 受体阻滞剂等药物，根据患者具体病情调节药物搭配及用量加减。

1.3.2 血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 和其他实验室指标检测：HFpEF 患者入组后（治疗前）及健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 3 ml，注入不含任何抗凝剂的干燥试管，室温下静置 30 min 离心留取血清并 -80℃ 储存备检。采用 Varioskan LUX 多功能酶标仪（美国赛默飞公司）以酶联免疫吸附试验检测血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平，Endostatin 试剂盒购自卡迈舒（上海）生物科技有限公司，CTRP3 试剂盒购自上海齐态生物科技有限公司，FGF21 试剂盒购自武汉菲恩生物科技有限公司。酶联免疫吸附试验检测血清氨基末端脑钠肽前体（NT-proBNP）水平（试剂盒购自上海康郎生物科技有限公司），AU680 全自动生化分析仪（美国贝克曼库尔特公司）检测血肌酐（SCr）、尿素氮（BUN）水平，LH750 全自动血细胞分析仪（美国贝克曼库尔特公司）检测血红蛋白（Hb）水平。

1.3.3 超声心动图检测：采用 Vivid E9 心脏超声诊断仪（美国 GE 公司），三维矩阵探头（频率 1.5 ~ 3.5 MHz），心尖四腔采集 3 个心动周期图像，双 Simpson 法测量 LVEF、双脉冲多普勒超声心动图技术测量二尖瓣舒张早期血流峰值（E）、舒张晚期血流峰值（A），二尖瓣环舒张早期心肌速度（e'），计算 E/A 比值、E/e' 比值。

1.3.4 随访情况：HFpEF 患者出院后均进行电话随访，每月 1 次，随访截至 2022 年 6 月。统计随访期间 HFpEF 患者不良事件发生情况（心源性死亡和心力衰竭再入院），并根据不良事件发生情况将 HFpEF 患者分为预后良好亚组和预后不良亚组。

1.4 临床疗效判定标准<sup>[7]</sup> 显效，心力衰竭基本控制或 NYHA 分级提高 ≥ 2 级；有效，NYHA 分级提高 1 级；无效，NYHA 分级提高 < 1 级；恶化，心功能恶化。以显效 + 有效为有效亚组，无效 + 恶化为无效亚组。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 25.00 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，组间比较

采用独立样本 *t* 检验；计数资料以频数或率（%）表示，组间比较采用  $\chi^2$  检验；多因素 Logistic 回归分析 HFpEF 患者预后不良的危险因素；受试者工作特征（ROC）曲线分析血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 预测 HFpEF 患者预后不良的价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平比较 HFpEF 组血清 Endostatin、FGF21 水平高于健康对照组（*P* < 0.01），血清 CTRP3 水平低于健康对照组（*P* < 0.05），见表 1。

表 1 HFpEF 组和健康对照组血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of serum Endostatin, CTRP3, FGF21 levels between HFpEF group and healthy control group

| 组别         | 例数  | Endostatin (μg/L) | CTRP3 (μg/L)   | FGF21 (ng/L)   |
|------------|-----|-------------------|----------------|----------------|
| 健康对照组      | 107 | 126.35 ± 31.05    | 427.12 ± 49.41 | 182.05 ± 20.17 |
| HFpEF 组    | 158 | 169.45 ± 42.08    | 206.05 ± 26.03 | 226.35 ± 32.06 |
| <i>t</i> 值 |     | 9.585             | 42.478         | 13.798         |
| <i>P</i> 值 |     | <0.001            | <0.001         | <0.001         |

2.2 不同疗效 HFpEF 患者血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平比较 158 例 HFpEF 患者均完成治疗，其中有效亚组 36 例，无效亚组 122 例。无效亚组血清 Endostatin、FGF21 水平高于有效亚组（*P* < 0.01），血清 CTRP3 水平低于有效亚组（*P* < 0.01），见表 2。

表 2 无效亚组与有效亚组血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of serum Endostatin, CTRP3, FGF21 levels between ineffective subgroups and effective subgroups

| 组别         | 例数  | Endostatin (μg/L) | CTRP3 (μg/L)  | FGF21 (ng/L)   |
|------------|-----|-------------------|---------------|----------------|
| 有效亚组       | 36  | 133.16 ± 6.24     | 222.76 ± 3.09 | 211.41 ± 12.19 |
| 无效亚组       | 122 | 180.16 ± 8.09     | 201.12 ± 9.48 | 230.76 ± 10.01 |
| <i>t</i> 值 |     | 32.125            | 21.620        | 9.681          |
| <i>P</i> 值 |     | <0.001            | <0.001        | <0.001         |

2.3 不同预后 HFpEF 患者超声心动图特点比较 随访中 6 例患者失联，余 152 例 HFpEF 患者中预后不良 30 例（预后不良亚组），预后良好 122 例（预后良好亚组）。预后不良亚组 E/A 比值、E/e' 比值高于预后良好亚组（*P* < 0.01），LVEF、e' 低于预后良好亚组（*P* < 0.01），见表 3。

2.4 不同预后 HFpEF 患者的临床/病理特征比较

表 3 不同预后 HFpEF 患者超声心动图指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of echocardiographic indexes in HFpEF patients with different prognosis

| 组别     | 例数  | LVEF (%)     | E/A 比值      | e(cm/s)     | E/e 比值       |
|--------|-----|--------------|-------------|-------------|--------------|
| 预后良好亚组 | 122 | 55.02 ± 3.18 | 1.85 ± 0.41 | 6.23 ± 1.03 | 17.52 ± 1.53 |
| 预后不良亚组 | 30  | 53.21 ± 2.07 | 2.51 ± 0.32 | 5.03 ± 0.77 | 19.52 ± 3.08 |
| t 值    |     | 2.963        | 8.216       | 5.978       | 5.087        |
| P 值    |     | 0.004        | <0.001      | <0.001      | <0.001       |

预后不良亚组心房颤动、NYHA IV 级比例及血清 Endostatin、FGF21、NT-proBNP 水平高于预后良好亚组 ( $P < 0.01$ ), CTRP3 低于预后良好亚组 ( $P < 0.01$ ), 2 亚组性别、年龄、体质量指数、吸烟史、饮酒史、心血管疾病家族史、高血压、2 型糖尿病、高脂血症、冠心病、脑梗死、肺部感染、SCr、BUN、Hb 等比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

2.5 HFpEF 患者预后不良的多因素 Logistic 回归分析 将上述结果中  $P < 0.05$  项目为自变量[心房颤动(赋值:0 = 否, 1 = 是), NYHA 分级(赋值:0 = II ~ III 级, 1 = IV 级), 血清 Endostatin、NT-proBNP、CTRP3、FGF21(均原值输入)], 此外, 超声心动图指标因相互间有强共线作用, 仅纳入 LVEF 和 E/e 比值(亦均原值输入)。以 HFpEF 患者预后结局(预后不良为“1”, 预

后良好为“0”)为因变量, 代入 Logistic 回归方程, 结果显示, 心房颤动及血清 Endostatin、NT-proBNP、FGF21 升高是 HFpEF 患者预后不良的危险因素 ( $P < 0.05$ ), CTRP3 升高是保护因素 ( $P < 0.01$ ), 见表 5。

表 5 HFpEF 患者预后不良的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 5 Multivariate logistic regression analysis of poor prognosis of HFpEF patients

| 因素           | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | P 值    | OR 值  | 95% CI        |
|--------------|-----------|-------|--------|--------|-------|---------------|
| 常数           | -0.087    | 0.038 | 5.214  | 0.022  | -     | -             |
| 心房颤动         | 0.807     | 0.224 | 13.002 | <0.001 | 2.241 | 1.445 ~ 3.475 |
| Endostatin 高 | 0.046     | 0.016 | 8.102  | 0.004  | 1.047 | 1.014 ~ 1.081 |
| CTRP3 高      | -0.047    | 0.012 | 16.367 | <0.001 | 0.954 | 0.933 ~ 0.976 |
| FGF21 高      | 0.033     | 0.014 | 5.310  | 0.021  | 1.034 | 1.005 ~ 1.063 |
| NT-proBNP 高  | 0.061     | 0.017 | 12.468 | <0.001 | 1.063 | 1.028 ~ 1.100 |

2.6 血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 预测 HFpEF 患者预后不良的价值分析 ROC 曲线分析结果显示, 血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 及三者联合预测 HFpEF 患者的 AUC 分别为 0.741、0.703、0.654、0.837, 其中三者联合应用诊断效能较单项指标高 ( $Z/P = 3.963 / < 0.001$ 、 $4.617 / < 0.001$ 、 $3.422 / < 0.001$ ), 见表 6、图 1。

### 3 讨论

HFpEF 作为心力衰竭的一个重要亚型, 具有不同

表 4 不同预后 HFpEF 患者的临床/病理特征比较

Tab. 4 Comparison of clinical/pathological characteristics of HFpEF patients with different prognosis

| 项目   | 预后良好亚组 (n = 122) | 预后不良亚组 (n = 30) | $\chi^2$ 值 | P 值    |        |
|--|------------------|-----------------|------------|--------|--------|
| 性别[例(%)]                                     | 男                | 41(33.61)       | 12(40.00)  | 0.433  | 0.510  |
|  | 女                | 81(66.39)       | 18(60.00)  |        |        |
| 年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)                     | 66.98 ± 5.11     | 67.62 ± 5.09    | 0.615      | 0.540  |        |
| 体质量指数( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> ) | 22.71 ± 3.21     | 23.41 ± 3.06    | 1.080      | 0.282  |        |
| 吸烟史[例(%)]                                    | 81(66.39)        | 17(56.67)       | 0.995      | 0.319  |        |
| 饮酒史[例(%)]                                    | 72(59.02)        | 13(43.33)       | 2.403      | 0.121  |        |
| 心血管疾病家族史[例(%)]                               | 21(17.21)        | 10(33.33)       | 2.240      | 0.134  |        |
| 基础疾病[例(%)]                                   | 高血压              | 89(72.95)       | 21(70.00)  | 0.105  | 0.746  |
|  | 2 型糖尿病           | 83(68.03)       | 20(66.67)  | 0.021  | 0.886  |
|  | 高脂血症             | 79(64.75)       | 19(63.33)  | 0.022  | 0.884  |
|  | 心房颤动             | 10(8.20)        | 13(43.33)  | 23.149 | <0.001 |
|  | 冠心病              | 68(55.74)       | 15(50.00)  | 0.320  | 0.572  |
|  | 脑梗死              | 27(22.13)       | 8(26.67)   | 0.280  | 0.597  |
|  | 肺部感染             | 15(12.30)       | 5(16.67)   | 0.403  | 0.526  |
| NYHA 分级[例(%)]                                | II ~ III 级       | 82(67.21)       | 12(40.00)  | 7.557  | 0.006  |
|  | IV 级             | 40(32.79)       | 18(60.00)  |        |        |
| Endostatin( $\bar{x} \pm s$ , $\mu$ g/L)     | 164.62 ± 5.21    | 189.11 ± 6.32   | 22.081     | <0.001 |        |
| CTRP3( $\bar{x} \pm s$ , $\mu$ g/L)          | 208.71 ± 4.32    | 195.25 ± 8.02   | 12.597     | <0.001 |        |
| FGF21( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)               | 224.67 ± 5.37    | 234.32 ± 6.54   | 8.433      | <0.001 |        |
| SCr( $\bar{x} \pm s$ , $\mu$ mol/L)          | 74.12 ± 12.59    | 75.24 ± 13.60   | 0.430      | 0.668  |        |
| BUN( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)               | 5.61 ± 1.03      | 5.75 ± 1.13     | 0.654      | 0.514  |        |
| Hb( $\bar{x} \pm s$ , g/L)                   | 105.02 ± 9.07    | 102.26 ± 8.15   | 1.522      | 0.130  |        |
| NT-proBNP( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)           | 151.02 ± 25.74   | 205.40 ± 32.24  | 9.840      | <0.001 |        |

表 6 血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 预测 HFpEF 患者预后不良的价值分析

Tab. 6 Analysis of the value of serum Endostatin, CTRP3 and FGF21 in predicting poor prognosis of HFpEF patients

| 指标         | cut-off 值* | AUC(95% CI)           | 敏感度   | 特异度   | 约登指数  | 单独检验 Z/P      |
|------------|------------|-----------------------|-------|-------|-------|---------------|
| Endostatin | 175 μg/L   | 0.741 (0.543 ~ 0.936) | 0.733 | 0.738 | 0.471 | 3.963/ <0.001 |
| CTRP3      | 200 μg/L   | 0.703 (0.456 ~ 0.942) | 0.700 | 0.697 | 0.397 | 4.617/ <0.001 |
| FGF21      | 180 ng/L   | 0.654 (0.360 ~ 0.939) | 0.633 | 0.672 | 0.305 | 3.422/ 0.001  |
| 三者联合       | —          | 0.837 (0.691 ~ 0.981) | 0.833 | 0.844 | 0.677 | 5.828/ <0.001 |

注: \* 为适当取整后数值

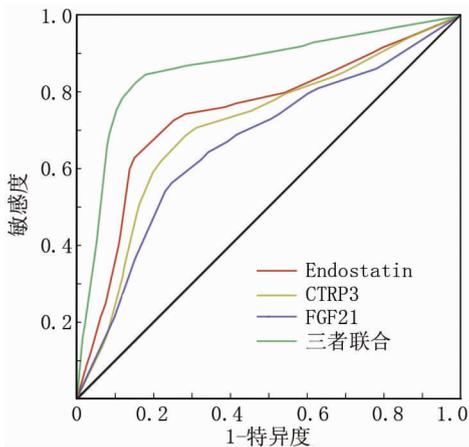


图 1 血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 及联合预测 HFpEF 患者预后的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum Endostatin, CTRP3, FGF21 and joint prediction of prognosis of HFpEF patients

于 HFrEF 的临床特点和预后,表现为 HFpEF 女性患者占比更高,年龄更大,合并症多,住院率高<sup>[8]</sup>。与 HFrEF 比较, HFpEF 患者虽然 LVEF 偏高,但左心室收缩功能储备与 HFrEF 类似<sup>[9]</sup>,即便接受与 HFrEF 同样的治疗, HFpEF 患者总住院率和心血管相关病死率并未降低<sup>[10-12]</sup>。HFpEF 临床治疗面临着巨大的挑战,早期评估 HFpEF 治疗疗效有助于优化临床治疗方案,改善患者预后。

研究表明,冠状动脉微血管损伤和功能障碍与 HFpEF 发生和进展有关<sup>[13-15]</sup>, Endostatin 是一种具有抗血管生成作用的内源性糖蛋白,为胶原 18 分子 C 末端部分,由胶原 18 降解产生,其氨基末端部分具有抗血管生成活性,羧基末端部分则发挥抗纤维化作用<sup>[16]</sup>。Endostatin 主要通过抑制内皮细胞迁移、阻止内皮细胞与细胞外基质中纤连蛋白和 I 型胶原蛋白黏附发挥抗血管生成作用,同时 Endostatin 还可调节促血管生成因子表达,在维持脉管系统稳态中发挥重要作用, Endostatin 功能失调将导致脉管系统损伤<sup>[17]</sup>。本研究发现, Endostatin 在 HFpEF 患者中升高,可能为 HFpEF 心肌细胞缺氧会引发促血管生成反应,导致

Endostatin 水平增高。进一步分析发现, Endostatin 与抗心力衰竭及预后有关,推测原因为: Endostatin 增高导致血管生成和抗血管生成间失衡,抗血管生成因子表达增加,引起微血管生成减少和功能障碍,最终导致心肌血流灌注降低,进而加剧心肌细胞缺血缺氧,促使 HFpEF 患者对抗心力衰竭治疗反应性低和预后不良。Gouya 等<sup>[18]</sup>报道也指出血清 Endostatin 水平增高与心力衰竭患者全因死亡率独立相关。

CTRP3 属于脂肪因子家族成员,可提高胰岛素敏感性,增强胰岛素介导的葡萄糖摄取,减少肝细胞糖异生,维持葡萄糖稳态,抑制高糖诱导的氧化应激, CTRP3 还具有抗炎作用,抑制单核细胞和脂肪细胞中脂肪酸、脂多糖和 Toll 样受体介导的炎症反应,此外 CTRP3 在血管损伤后可促进血管壁血管平滑肌细胞增殖,促进新生血管生成<sup>[19]</sup>。CTRP3 主要由心外膜脂肪组织分泌,可通过抑制性 Toll 样受体和核因子 κB 信号通路,减少炎症脂肪细胞因子分泌,减弱胰岛素抵抗和肥胖,减轻全身慢性炎症反应,并通过促进磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/内皮型一氧化氮通路激活,下调肿瘤坏死因子-α 和白介素-6 表达,抑制氧化低密度脂蛋白诱导的内皮炎性反应,延缓动脉粥样硬化进展,减缓冠状动脉疾病的发生和进展<sup>[20-21]</sup>。本研究发现, CTRP3 与 HFpEF 也存在密切关系, HFpEF 组血清 CTRP3 水平降低,且对临床治疗反应低下,与预后不良有关。体外研究显示,高糖诱导的糖尿病性心肌病心肌细胞中 CTRP3 表达水平降低,上调 CTRP3 表达可抑制心肌细胞凋亡,促使心肌细胞增殖<sup>[22]</sup>,抑制心力衰竭进展,表明 CTRP3 在心力衰竭发病过程中发挥保护作用机制。分析心血管梗塞、心肌缺血引起的心肌收缩障碍是 HFpEF 发病的主要原因<sup>[23-24]</sup>。CTRP3 可能通过改善心肌收缩功能,抗心肌细胞凋亡、促新生血管生成、改善心肌血流灌注,抗炎和抗动脉粥样硬化等途径抑制 HFpEF 进程, CTRP3 缺乏将加重 HFpEF 心功能损伤和病情进展,导致临床治疗反应低下和预后不良。

FGF21 是成纤维细胞生长因子家族的成员,为一

种有效的葡萄糖和脂质代谢调节剂,主要由肝脏、脂肪组织、骨骼肌和心脏分泌,具有调节糖脂代谢、增强胰岛素敏感性的作用<sup>[25]</sup>。FGF21 与心血管疾病也存在着直接或间接的联系,现有研究显示,FGF21 可激活棕色脂肪组织活化,加速富含胆固醇的脂蛋白周转,降低胆固醇水平,抑制动脉粥样硬化病变进程,与冠状动脉粥样硬化性疾病密切相关<sup>[26]</sup>。本研究结果表明,血清 FGF21 水平增高与 HFpEF 患者抗心力衰竭治疗后疗效差及预后不良有关,说明 FGF21 增加可能导致 HFpEF 发生并对临床治疗反应低下,是 HFpEF 患者预后不良的主要危险因素。分析机制为:FGF21 升高可减少沉默信息调节因子 1 的去乙酰化酶活性,削弱沉默信息调节因子 1 与肝激酶 B1 和叉头盒蛋白 O1 相互作用,增加沉默信息调节因子 1 靶蛋白的乙酰化水平,加重血管紧张素 II 诱导的心肌肥大<sup>[27]</sup>,FGF21 水平升高还可促进心脏细胞中活性氧的产生,促进氧化应激反应、炎性反应和心肌细胞肥大<sup>[28]</sup>。FGF21 在心力衰竭发生时可能出现应激性合成增加以延缓心力衰竭进程,HFpEF 心功能越差,临床治疗反应越低,FGF21 合成越多,因此 FGF21 可作为临床治疗反应及预后的生物学指标。

本研究 Logistic 回归分析结果提示,心房颤动、NT-proBNP 与 HFpEF 患者预后不良也存在密切关系,NT-proBNP 是公认的心力衰竭的生物学标志物,是心力衰竭患者预后不良的标志物<sup>[23]</sup>。心房颤动是 HFpEF 患者最常合并的心律失常,如不加以治疗、控制病情,可能导致心率、节律紊乱,甚至引发血栓,进而导致不良预后。ROC 曲线分析结果显示,血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 单独及联合预测 HFpEF 患者预后均具有一定价值,且联合检测预测效能更高,表明血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 与 NT-proBNP 均可作为 HFpEF 患者预后预测的生物学标志物。

综上,HFpEF 患者血清 Endostatin、FGF21 水平增高,CTRP3 水平降低,高 Endostatin 和 FGF21 水平、低 CTRP3 水平与 HFpEF 患者临床抗心力衰竭治疗效果差及预后不良发生有关,血清 Endostatin、CTRP3、FGF21 在预测 HFpEF 患者预后不良方面具有较高价值,可作为预测 HFpEF 患者预后的标志物。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

李慧:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写与修改;刘国兵、刘佩:实施研究过程,资料搜集整理;段勇:数据处理,进行统计学分析;曾海涛:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

## 参考文献

- [1] Upadhyay B,Kitzman DW. Heart failure with preserved ejection fraction:New approaches to diagnosis and management[J]. Clin Cardiol,2020,43(2):145-155. DOI:10.1002/clc.23321.
- [2] 高曼,白文楼,成思瑶,等.血管紧张素受体脑啡肽酶抑制剂治疗射血分数保留的心力衰竭的最新证据[J].中国全科医学,2021,24(23):2967-2971. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.587.
- [3] Gao M,Bai WL,Cheng SY,et al. Recent evidence of angiotensin receptor enkephalin inhibitors in heart failure with preserved ejection fraction[J]. Chinese General Practice,2021,24(23):2967-2971. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.587.
- [4] Ruge T,Carlsson AC,Ingelsson E,et al. Circulating endostatin and the incidence of heart failure[J]. Scand Cardiovasc J,2018,52(5):244-249. DOI:10.1080/14017431.2018.1483080.
- [5] 丁爱梅,曹祯,王向明,等.血浆 CTRP3、angptl2 水平与老年慢性心力衰竭患者左心室重构的相关性[J].疑难病杂志,2021,20(9):894-898. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.09.007.
- [6] Ding AM,Cao Z,Wang XM,et al. Correlation between plasma CTRP3,angptl2 levels and left ventricular remodeling in elderly patients with chronic heart failure[J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases,2021,20(9):894-898. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.09.007.
- [7] Gu L,Jiang W,Zheng R,et al. Fibroblast growth factor 21 correlates with the prognosis of dilated cardiomyopathy[J]. Cardiology,2021,146(1):27-33. DOI:10.1159/000509239.
- [8] 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.
- [9] Heart Failure Group,Chinese Society of Cardiology,Chinese Medical Association,Heart Failure Committee,Chinese Journal of Cardiology Editorial Board. Chinese Guidelines for the diagnosis and treatment of heart failure 2018[J]. Chinese Journal of Cardiology,2018,46(10):760-789. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.10.004.
- [7] 李莉. NT-proBNP 联合血清 HCY 检测在心力衰竭患者治疗及预后评估中的应用[J].临床心血管病杂志 2018,34(4):334-337. DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.04.006.
- [8] Li L. Serum NT-proBNP and homocysteine levels in prognosis assessment of patients with heart failure[J]. Journal of Clinical Cardiology,2018,34(4):334-337. DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.04.006.
- [8] Nair N. Epidemiology and pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction[J]. Rev Cardiovasc Med,2020,21(4):531-540. DOI:10.31083/j.rcm.2020.04.154.
- [9] 边长勇,尹宗亮,李涛,等.射血分数保留与射血分数降低的充血性心力衰竭患者左室结构和功能比较[J].心脏杂志,2015,27(5):588-591. DOI:10.13191/j.chj.2015.0162.
- [9] Bian CY,Yin ZX,Li T,et al. Differences and similarities in left ventricular structures and left ventricular systolic functions between heart failure patients with preserved or reduced ejection fraction[J]. Chinese Heart Journal,2015,27(5):588-591. DOI:10.13191/j.chj.

- 2015.0162.
- [10] 李畅. 2 型糖尿病相关射血分数保留性心力衰竭的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(6):631-635. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.06.022.
- Li C. Research progress of type 2 diabetes-related heart failure with preserved ejection fraction[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20(6):631-635. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.06.022.
- [11] Solomon SD, McMurray JJV, Anand IS, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition in heart failure with preserved ejection fraction[J]. N Engl J Med, 2019, 381(17):1609-1620. DOI: 10.1056/NEJMoa1908655.
- [12] 王峥, 韩淑芳, 姚天明. 沙库巴曲缬沙坦治疗高龄慢性心力衰竭合并糖尿病患者临床疗效及安全性分析[J]. 临床军医杂志, 2021, 49(5):539-542. DOI:10.16680/j.1671-3826.2021.05.17.
- Wang Z, Han SF, Yao TM. Efficacy and safety of sacubitril-valsartan in the treatment of elderly patients with chronic heart failure and diabetes[J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2021, 49(5):539-542. DOI:10.16680/j.1671-3826.2021.05.17.
- [13] Paulus WJ, Tschöpe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation[J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 62(4):263-271. DOI:10.1016/j.jacc.2013.02.092.
- [14] 余鹏, 曾文飞, 林凯玲, 等. 血清 sST2, apelin 和 CPP 水平与心力衰竭患者预后的相关性分析[J]. 中国临床医学, 2021, 28(4):581-587. DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210078.
- Yu P, Zeng WF, Lin KL, et al. Correlation analysis between serum levels of sST2, apelin, and CPP and the prognosis of heart failure[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021, 28(4):581-587. DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210078.
- [15] 刘倩, 翟玉婷, 刘洁银, 等. 重组人脑利钠肽治疗保留射血分数心力衰竭患者临床效果观察[J]. 临床军医杂志, 2021, 49(12):1295-1297, 1301. DOI:10.16680/j.1671-3826.2021.12.02.
- Liu Q, Zhai YT, Liu JY, et al. Clinical effect of recombinant human brain natriuretic peptide on patients with heart failure with preserved ejection fraction[J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2021, 49(12):1295-1297, 1301. DOI:10.16680/j.1671-3826.2021.12.02.
- [16] Zhang Z, Liu X, Shen Z, et al. Endostatin in fibrosis and as a potential candidate of anti-fibrotic therapy[J]. Drug Deliv, 2021, 28(1):2051-2061. DOI:10.1080/10717544.2021.1983071.
- [17] Walia A, Yang JF, Huang YH, et al. Endostatin's emerging roles in angiogenesis, lymphangiogenesis, disease, and clinical applications[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1850(12):2422-2438. DOI:10.1016/j.bbagen.2015.09.007.
- [18] Gouya G, Siller-Matula JM, Fritzer-Szekeres M, et al. Association of endostatin with mortality in patients with chronic heart failure[J]. Eur J Clin Invest, 2014, 44(2):125-135. DOI:10.1111/eci.12197.
- [19] Li Y, Wright GL, Peterson JM. C1q/TNF-related protein 3 (CTRP3) function and regulation[J]. Compr Physiol, 2017, 7(3):863-878. DOI:10.1002/cphy.c160044.
- [20] Si Y, Fan W, Sun L. A review of the relationship between CTRP family and coronary artery disease[J]. Curr Atheroscler Rep, 2020, 22(6):22. DOI:10.1007/s11883-020-00840-0.
- [21] 李文邦, 刘希金, 刘佳月, 等. 沙库巴曲缬沙坦对慢性心力衰竭患者运动耐量的影响[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(6):392-395. DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2022.06.010.
- Li WB, Liu XJ, Liu JY, et al. Effect of sacubitril valsartan on exercise tolerance in patients with chronic heart failure[J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2022, 39(6):392-395. DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2022.06.010.
- [22] Song Y, Mai H, Lin Y, et al. MiR-144 affects proliferation and apoptosis of high glucose-induced AC16 cardiomyocytes by regulating CTRP3/JNK signaling[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(2):142-152.
- [23] Mishra S, Kass DA. Cellular and molecular pathobiology of heart failure with preserved ejection fraction[J]. Nat Rev Cardiol, 2021, 17(6):400-423. DOI:10.1038/s41569-020-00480-6.
- [24] 崔泽岩, 臧艳静, 高淑娜. 血清糖类抗原 125、氨基末端脑钠肽前体和尿酸联合检测对慢性心力衰竭合并心房颤动患者预后的评估价值[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(2):97-100. DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2021.02.008.
- Cui YZ, Zang YJ, Gao SN. Value of combined detection of serum carbohydrate antigen 125, N-terminal pro-brain natriuretic peptide and uric acid in prognosis evaluation of patients with chronic heart failure and atrial fibrillation[J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2021, 38(2):97-100. DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2021.02.008.
- [25] 李健, 余兰, 周宇, 等. 超重或肥胖 2 型糖尿病患者成纤维细胞生长因子 21 水平与微血管并发症的相关性研究[J]. 重庆医学, 2022, 51(13):2216-2221, 2226. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.13.012.
- Li J, Yu L, Zhou Y, et al. Correlation between fibroblast growth factor 21 level and microvascular complications in overweight or obese patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Chongqing Medicine, 2022, 51(13):2216-2221, 2226. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.13.012.
- [26] 高宏伟, 王远, 冯高洁, 等. FGF-21 与心血管疾病发生发展的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(3):262-267. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2020.03.016.
- Gao HW, Wang Y, Feng GJ, et al. Relationship between FGF-21 and the development of cardiovascular disease[J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2020, 28(3):262-267. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2020.03.016.
- [27] Li S, Zhu Z, Xue M, et al. Fibroblast growth factor 21 protects the heart from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and dysfunction via SIRT1[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865(6):1241-1252. DOI:10.1016/j.bbdis.2019.01.019.
- [28] Planavila A, Redondo-Angulo I, Ribas F, et al. Fibroblast growth factor 21 protects the heart from oxidative stress[J]. Cardiovasc Res, 2015, 106(1):19-31. DOI:10.1093/cvr/cvu263.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.002

论著·临床

# 帕金森病患者血清 ESM-1、ET-1 表达与认知功能的关系

李敏,黎玉环,罗洁,张俊杰,郑永强

基金项目:湖北省卫生健康委员会面上项目(WJ2019M065)

作者单位:443000 湖北省宜昌市第二人民医院/三峡大学第二人民医院神经内科

通信作者:李敏,E-mail:ldtygv@163.com

**【摘要】**目的 分析帕金森病患者血清内皮细胞特异性分子-1(ESM-1)、内皮素-1(ET-1)表达水平及其与认知功能的关系。方法 选取2019年1月—2021年3月湖北省宜昌市第二人民医院/三峡大学第二人民医院神经内科诊治的帕金森病患者103例作为帕金森组,另选取同期医院健康体检者97例为健康对照组。收集受试者临床资料,并采用ELISA法检测受试者血清ESM-1、ET-1水平,蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评估受试者的认知功能,Pearson法分析帕金森病患者血清ESM-1、ET-1水平与MoCA总分的相关性,Logistic回归分析帕金森病患者发生认知功能障碍的影响因素。结果 2组受试者年龄、受教育年限、体质量指数及男性、高血脂、高血压、糖尿病、吸烟、饮酒、家族史比例比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。帕金森组血清ESM-1水平、MoCA量表语言、注意、视空间与执行能力、命名、延迟记忆、抽象思维、定向力及总分均低于健康对照组( $t=6.382, 15.873, 46.561, 22.847, 30.155, 44.552, 26.094, 8.356, 25.573, P$ 均 $<0.001$ ),血清ET-1水平高于健康对照组( $t=9.520, P<0.001$ );Hoehn-Yahr分期Ⅲ期、Ⅳ期、Ⅴ期帕金森病患者血清ESM-1水平依次降低,血清ET-1水平依次升高( $F=18.146, 21.854, P$ 均 $<0.001$ );帕金森病患者血清ESM-1水平与MoCA总分呈正相关( $r=0.416, P<0.001$ ),血清ET-1水平与MoCA总分呈负相关( $r=-0.358, P<0.001$ );Logistic回归分析显示,Hoehn-Yahr分期高、帕金森综合评分量表第3部分(UPDRS Ⅲ)评分高、血清ET-1水平高均是帕金森病患者认知功能障碍的独立危险因素[ $OR(95\%CI)=1.670(1.232\sim 2.263), 1.362(1.033\sim 1.796), 1.813(1.307\sim 2.515)$ ],血清ESM-1高为其独立保护因素[ $OR(95\%CI)=0.624(0.486\sim 0.802)$ ]。结论 帕金森病患者血清ESM-1表达下降,ET-1表达升高,二者水平均与MoCA量表评分相关,是帕金森病患者认知障碍的独立危险因素。

**【关键词】** 帕金森病;内皮细胞特异性分子-1;内皮素-1;认知功能;相关性;影响因素**【中图分类号】** R742.5 **【文献标识码】** A

**The relationship between the expression of serum ESM-1, ET-1 and cognitive function in patients with Parkinson's disease** Li Min, Li Yuhuan, Luo Jie, Zhang Junjie, Zheng Yongqiang. Department of Neurology, Yichang Second People's Hospital/the Second People's Hospital of Three Gorges University, Hubei Province, Yichang 443000, China

Corresponding author: Li Min, E-mail: ldtygv@163.com

Funding program: General Project of Hubei Health Commission (WJ2019M065)

**【Abstract】 Objective** To analyze the expression level of endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1), endothelin-1 (ET-1) and their relationship with cognitive function in patients with Parkinson's disease. **Methods** From January 2019 to March 2021, 103 patients with Parkinson's disease diagnosed and treated by the Department of Neurology of Yichang Second People's Hospital/Second People's Hospital of Three Gorges University in Hubei Province were selected as the Parkinson's group, and 97 patients with physical examination in hospitals at the same time were selected as the healthy control group. The clinical data of the subjects were collected, and the serum ESM-1 and ET-1 levels of the subjects were detected by ELISA. The cognitive function of the subjects was evaluated by Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA). Pearson's method was used to analyze the correlation between the serum ESM-1 and ET-1 levels of Parkinson's disease patients and the total MoCA score. Logistic regression was used to analyze the influencing factors of cognitive dysfunction in Parkinson's disease patients. **Results**

There was no significant difference in age, years of education, body mass index, male, hyperlipidemia, hypertension, diabetes, smoking, drinking and family history between the two groups ( $P>0.05$ ). The serum ESM-1 level, MoCA scale language, atten-

tion, visual space and executive ability, naming, delayed memory, abstract thinking, orientation and total score in Parkinson's group were lower than those in the healthy control group ( $t=6.382, 15.873, 46.561, 22.847, 30.155, 44.552, 26.094, 8.356, 25.573, P<0.001$ ), and the serum ET-1 level was higher than that in the healthy control group ( $t=9.520, P<0.001$ ); In Hoehn Yahr stage III, IV and V Parkinson's disease patients, the serum ESM-1 level decreased in turn, and the serum ET-1 level increased in turn ( $F=18.146, 21.854, P<0.001$ ); The serum ESM-1 level in patients with Parkinson's disease was positively correlated with the total MoCA score ( $r=0.416, P<0.001$ ), and the serum ET-1 level was negatively correlated with the total MoCA score ( $r=-0.358, P<0.001$ ); Logistic regression analysis showed that high Hoehn Yahr stage, high UPDRS III score and high serum ET-1 level were independent risk factors for cognitive dysfunction in patients with Parkinson's disease [OR (95% CI) = 1.670(1.232 - 2.263), 1.362 (1.033 - 1.796), 1.813 (1.307 - 2.515)], and high serum ESM-1 was an independent protective factor [OR (95% CI) = 0.624 (0.486 - 0.802)]. **Conclusion** The expression of ESM-1 in serum of patients with Parkinson's disease decreased, and the expression of ET-1 increased. Both levels were related to MoCA score, which was an independent risk factor for cognitive impairment in patients with Parkinson's disease.

**【Key words】** Parkinson's disease; Endothelial cell specific molecule-1; Endothelin-1; Cognitive function; Correlation; Influencing factor

帕金森病是一种多因素神经退行性疾病,主要是由多巴胺能黑质纹状体系统受损导致运动活动恶化,该病随着年龄的增长发病率不断上升<sup>[1-2]</sup>。认知障碍是帕金森病患者最常见、最重要的非运动症状,研究显示,帕金森病患者在注意力及记忆力等认知领域下降速度明显快于同年龄层的无帕金森病者<sup>[3]</sup>。部分帕金森病患者在初诊时已出现轻度认知障碍,随着疾病的不断进展可发展为痴呆,对患者的生活质量造成严重影响<sup>[4]</sup>。内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 是一种内源性血管收缩肽,通过内皮素受体 A 或 B 发挥作用,ET-1 高表达与认知功能减退有关<sup>[5]</sup>。内皮细胞特异性分子-1 (endothelial cell specific molecule-1, ESM-1) 具有广泛的生物学活性,在炎症疾病及内皮依赖性病理障碍中发挥作用,被认为是内皮细胞激活的新标志物,其水平与阿尔茨海默病的生理病理过程有关<sup>[6]</sup>。现分析帕金森病患者血清 ESM-1、ET-1 水平及其与认知功能障碍的相关性,旨在为临床治疗提供相关支持,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 1 月—2021 年 3 月湖北省宜昌市第二人民医院/三峡大学第二人民医院神经内科诊治的帕金森病患者 103 例作为帕金森组,男 57 例,女 46 例,年龄 62 ~ 81 (71.08 ± 7.25) 岁;病程 (4.78 ± 1.52) 年;Hoehn-Yahr 分期<sup>[7]</sup>: III 期 36 例,IV 期 44 例,V 期 23 例;帕金森综合评分量表第 3 部分 (UPDRS III) 评分 18 ~ 37 (26.90 ± 8.14) 分。另选取同期医院健康体检者 97 例为健康对照组,男 51 例,女 46 例,年龄 60 ~ 82 (68.94 ± 7.62) 岁。2 组性别、年龄、受教育年限、体质量指数及高血脂、高血压、糖尿病、吸烟、饮酒、家族史占比比较,差异均无统计学意义

( $P>0.05$ ),具有可比性,见表 1。本研究获得医院伦理委员会批准 (20181205),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 健康对照组与帕金森组临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between healthy control group and Parkinson's group

| 项 目  | 健康对照组<br>(n = 97) | 帕金森组<br>(n = 103) | $\chi^2/t$ 值 | P 值   |
|--|-------------------|-------------------|--------------|-------|
| 男/女(例)                                       | 51/46             | 57/46             | 0.153        | 0.695 |
| 年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)                     | 68.94 ± 7.62      | 71.08 ± 7.25      | 1.084        | 0.280 |
| 受教育年限( $\bar{x} \pm s$ , 年)                  | 8.57 ± 1.34       | 8.26 ± 1.18       | 1.739        | 0.084 |
| 高血脂[例(%)]                                    | 9(9.28)           | 15(14.56)         | 1.321        | 0.250 |
| 高血压[例(%)]                                    | 13(13.40)         | 16(15.53)         | 0.183        | 0.669 |
| 糖尿病[例(%)]                                    | 28(28.87)         | 30(29.13)         | 0.017        | 0.896 |
| 吸烟[例(%)]                                     | 17(17.53)         | 22(21.36)         | 0.468        | 0.494 |
| 饮酒[例(%)]                                     | 8(8.25)           | 14(13.59)         | 1.458        | 0.227 |
| 体质量指数( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> ) | 22.85 ± 3.10      | 23.37 ± 3.28      | 1.151        | 0.251 |
| 家族史[例(%)]                                    | 2(2.06)           | 7(6.80)           | 1.620        | 0.203 |

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①符合“中国帕金森病的诊断标准(2016 版)”相关诊断标准<sup>[8]</sup>;②临床资料完整;③可配合本次研究。(2) 排除标准:①有颅脑外伤史、脑部手术或卒中史者;②合并恶性肿瘤者;③合并自身免疫性疾病者;④合并血液系统疾病者;⑤合并心、肝、肾重要脏器功能障碍者。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 ESM-1、ET-1 水平检测:2 组受试人员入组时采集空腹肘静脉血 5 ml,低温(4℃)离心收集上层血清,于 -70℃ 冰箱保存待测。采用 ELISA 法检测血清 ESM-1、ET-1 水平,严格按照试剂盒说明书操作,人 ESM-1 ELISA 试剂盒购自上海盖宁生物科技有限公司,人 ET-1 ELISA 试剂盒购自上海远慕生物科技有限公司。

1.3.2 认知功能检测:采用蒙特利尔认知评估量表(Montreal cognitive assessment scale, MoCA)检测受试者的认知功能。MoCA 量表包括 8 个认知域:语言(3 分)、注意(6 分)、视空间与执行能力(5 分)、命名(3 分)、延迟记忆(5 分)、抽象思维(2 分)、定向力(6 分)及瞬时记忆,其中瞬时记忆不计分。总分 30 分,分值越低表示认知功能越差,≥26 分为认知功能正常。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件处理数据。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  描述,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,有差异时以 SNK-*q* 检验进行两两比较;计数资料以频数或率(%)描述,组间比较采用  $\chi^2$  检验;Pearson 法分析血清 ESM-1、ET-1 水平与认知功能的相关性;Logistic 回归分析帕金森病发生认知功能障碍的影响因素。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组血清 ESM-1、ET-1 水平比较 帕金森组患者血清 ESM-1 水平低于健康对照组,ET-1 水平高于健康对照组(*P* < 0.01),见表 2。

表 2 健康对照组与帕金森组血清 ESM-1、ET-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.2 Comparison of serum ESM-1 and ET-1 levels between healthy control group and Parkinson's group

| 组别         | 例数  | ESM-1(μg/L) | ET-1(ng/L)    |
|------------|-----|-------------|---------------|
| 健康对照组      | 97  | 0.68 ± 0.19 | 58.31 ± 15.62 |
| 帕金森组       | 103 | 0.53 ± 0.14 | 82.17 ± 19.48 |
| <i>t</i> 值 |     | 6.382       | 9.520         |
| <i>P</i> 值 |     | <0.001      | <0.001        |

2.2 不同 Hoehn-Yahr 分期帕金森病患者血清 ESM-1、ET-1 水平比较 Hoehn-Yahr 分期 III 期、IV 期、V 期帕金森病患者血清 ESM-1 水平依次降低(*P* < 0.01),而血清 ET-1 水平依次升高(*P* < 0.01),见表 3。

表 3 不同 Hoehn-Yahr 分期帕金森病患者血清 ESM-1、ET-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.3 Comparison of serum ESM-1 and ET-1 levels in patients with Parkinson's disease at different Hoehn Yahr stages

| 分期         | 例数 | ESM-1(μg/L) | ET-1(ng/L)     |
|------------|----|-------------|----------------|
| III 期      | 36 | 0.62 ± 0.14 | 67.97 ± 18.04  |
| IV 期       | 44 | 0.52 ± 0.16 | 83.26 ± 19.85  |
| V 期        | 23 | 0.39 ± 0.11 | 102.31 ± 21.04 |
| <i>F</i> 值 |    | 18.146      | 21.854         |
| <i>P</i> 值 |    | <0.001      | <0.001         |

2.3 2 组 MoCA 评分比较 帕金森组 MoCA 量表中

语言、注意、视空间与执行能力、命名、延迟记忆、抽象思维、定向力及总分均显著低于健康对照组(*P* < 0.01),见表 4。

表 4 健康对照组与帕金森组 MoCA 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.4 Comparison of MoCA scores between healthy control group and Parkinson's group

| 项目       | 健康对照组(n=97)  | 帕金森组(n=103)  | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|----------|--------------|--------------|------------|------------|
| 语言       | 2.61 ± 0.39  | 1.87 ± 0.26  | 15.873     | <0.001     |
| 注意       | 5.76 ± 0.24  | 3.28 ± 0.47  | 46.561     | <0.001     |
| 视空间与执行能力 | 4.55 ± 0.38  | 3.09 ± 0.51  | 22.847     | <0.001     |
| 命名       | 2.74 ± 0.16  | 2.12 ± 0.13  | 30.155     | <0.001     |
| 延迟记忆     | 3.95 ± 0.53  | 1.21 ± 0.32  | 44.552     | <0.001     |
| 抽象思维     | 1.83 ± 0.16  | 1.22 ± 0.17  | 26.094     | <0.001     |
| 定向力      | 5.58 ± 0.26  | 5.20 ± 0.37  | 8.356      | <0.001     |
| 总分       | 27.02 ± 2.91 | 17.99 ± 2.03 | 25.573     | <0.001     |

2.4 血清 ESM-1、ET-1 水平与认知功能的相关性 Pearson 相关分析显示,帕金森病患者血清 ESM-1 水平与 MoCA 总分呈正相关(*r* = 0.416, *P* < 0.001),血清 ET-1 水平与 MoCA 总分呈负相关(*r* = -0.358, *P* < 0.001)。

2.5 Logistic 回归分析影响帕金森病患者发生认知功能障碍的因素 以是否存在认知功能障碍为因变量,以 Hoehn-Yahr 分期、UPDRS III 评分及血清 ESM-1、ET-1 水平为自变量,Logistic 回归分析显示,Hoehn-Yahr 分期高、UPDRS III 评分高、血清 ET-1 水平高均是帕金森病患者认知功能障碍的独立危险因素(*P* < 0.05),血清 ESM-1 高是其独立保护因素(*P* < 0.01),见表 5。

表 5 影响帕金森病患者认知功能障碍的多因素 Logistic 回归分析

Tab.5 Multifactor Logistic regression analysis of cognitive dysfunction in patients with parkinson's disease

| 指标             | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | <i>P</i> 值 | OR 值  | 95% CI        |
|----------------|-----------|-------|--------|------------|-------|---------------|
| Hoehn-Yahr 分期高 | 0.513     | 0.155 | 10.946 | 0.001      | 1.670 | 1.232 ~ 2.263 |
| UPDRS III 评分高  | 0.309     | 0.141 | 4.801  | 0.028      | 1.362 | 1.033 ~ 1.796 |
| 血清 ESM-1 高     | -0.472    | 0.128 | 13.575 | <0.001     | 0.624 | 0.486 ~ 0.802 |
| 血清 ET-1 高      | 0.595     | 0.167 | 12.693 | <0.001     | 1.813 | 1.307 ~ 2.515 |

## 3 讨论

帕金森病发生机制复杂,可受到环境、遗传、炎性反应及氧化应激等因素的影响,但具体机制尚未明确,其主要病理变化是中脑黑质致密部神经元的进行性退化,患者残存神经细胞的多巴胺合成能力下降<sup>[9-10]</sup>。随着人口老龄化,该病发生率不断增加,患者主要表现为运动障碍,在疾病进展过程中,非运动症状如认知障

碍、抑郁等加重,严重影响患者的生活质量。帕金森病主要影响机体的注意力、执行能力、情景学习、记忆及视觉空间能力,研究表明,25%~30%的患者在疾病发作时即存在认知缺陷,且约 50% 的患者在发病 3~5 年内认知能力显著下降,约 75% 的患者在确诊 10 年内会发展为痴呆,对患者及家庭带来极大的伤害<sup>[11]</sup>。因此,尽早发现并判断患者病情,实施早期干预,对提高患者生活质量、改善认知功能有重要意义。

ET-1 是内皮细胞产生的激素,具有收缩气管、支气管,促进血管平滑肌增殖的作用,且是血管内皮损伤的血清标志物<sup>[12-13]</sup>。血管损伤可导致血小板黏附和聚集性增加,血流速度减缓,从而加重缺氧,导致认知功能下降。研究发现,2 型糖尿病伴认知障碍患者血清 ET-1 水平高于单纯糖尿病患者,ET-1 可通过影响患者血管内皮功能参与认知障碍的疾病进展<sup>[14]</sup>。ET-1 也可作为神经多肽参与人体行为调节,通过作用于神经细胞、刺激兴奋性氨基酸释放,引发钙内流导致细胞凋亡,还可通过促进花生四烯酸代谢或加重炎症反应产生大量氧自由基,导致脑损伤加重,研究发现,ET-1 表达升高可导致脑白质及脑皮质损伤<sup>[15-17]</sup>。王雅楠等<sup>[18]</sup>研究表明,认知正常组、认知障碍组缺血性脑小血管病患者血清 ET-1 水平高于对照组,认知障碍组患者血清 ET-1 水平高于认知正常组,血清 ET-1 水平与患者认知功能障碍独立相关。本结果显示,帕金森病患者血清 ET-1 水平较健康对照组高,Hoehn-Yahr 分期Ⅲ期、Ⅳ期、Ⅴ期患者血清 ET-1 水平依次升高,且患者血清 ET-1 水平与 MoCA 总分呈负相关,ET-1 升高是影响帕金森病患者认知功能障碍的独立危险因素,与王雅楠等<sup>[18]</sup>研究相似,提示血清 ET-1 水平与患者认知功能有关,可能是因为 ET-1 浓度升高,血管受到刺激长时间收缩发生病变,引起血管缺血,导致患者病情加重。

ESM-1 是一种可溶性蛋白聚糖,与人类炎症反应、肿瘤等疾病密切相关,可作为评估多种疾病病情程度的生物学标志物<sup>[19-20]</sup>。ESM-1 表达于内皮细胞,其水平与多种恶性肿瘤的肿瘤分期、疾病严重程度相关<sup>[21-22]</sup>。ESM-1 可能参与内皮细胞依赖的病理生理过程,内皮细胞可维持血液流动状态,参与新生血管形成、代谢调节、调节血管张力及物质交换,影响抗血栓形成及内分泌功能<sup>[23]</sup>。血管内皮功能障碍与认知功能有关,ESM-1 在机体病理生理过程中积极参与内皮细胞与白细胞的相互作用,发挥抗炎、保护血管的作用,其可作为血管内皮功能障碍的潜在标志物<sup>[24]</sup>。任宏<sup>[6]</sup>研究发现,阿尔茨海默病患者血清 ESM-1 水平低于对照组,推测 ESM-1 水平下降导致血管保护、抗炎

作用降低,从而导致患者预后较差。本研究中,帕金森病患者血清 ESM-1 水平低于健康对照组,与任宏<sup>[6]</sup>研究类似,提示 ESM-1 水平可能参与帕金森病发生。进一步研究发现,Hoehn-Yahr 分期Ⅲ期、Ⅳ期、Ⅴ期患者血清 ESM-1 水平依次降低,其水平与患者 MoCA 总分呈正相关,且血清 ESM-1 升高是帕金森病患者认知功能障碍的独立保护因素,提示血清 ESM-1 水平下降可能引发内皮细胞功能障碍,血管保护功能下降,加剧患者病情进展。

综上所述,帕金森病患者血清 ESM-1 表达下降,ET-1 表达升高,二者水平均与 MoCA 量表评分相关,是帕金森病患者认知障碍的独立危险因素。监测二者水平,可能有助于预测帕金森病患者认知障碍,并且尽早进行对应的治疗,对于提高患者生活质量意义重大。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

李敏:研究构思,实施研究过程,论文撰写;黎玉环、罗洁、张俊杰:数据获取,统计分析,论文修改;郑永强:课题设计,论文终审和指导

**参考文献**

- [1] Jankovic J, Tan EK. Parkinson's disease: etiopathogenesis and treatment [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2020, 91 (8): 795-808. DOI: 10.1136/jnnp-2019-322338.
- [2] Pajares M, Rojo AI, Manda G, et al. Inflammation in Parkinson's disease: mechanisms and therapeutic implications [J]. *Cells*, 2020, 9 (7): 1687-1718. DOI: 10.3390/cells9071687.
- [3] Aarsland D, Creese B, Politis M, et al. Cognitive decline in Parkinson disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13 (4): 217-231. DOI: 10.1038/nrneuro.2017.27.
- [4] 彭泽艳,董舒阳,周华东. 脑白质病变与帕金森病伴认知功能障碍发生的相关性 [J]. *重庆医学*, 2018, 47 (24): 3146-3150. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.24.006.  
Peng ZY, Dong SY, Zhou HD. Correlation between cerebral white matter lesions and occurrence of Parkinson's disease complicating cognitive impairment [J]. *Chongqing Medicine*, 2018, 47 (24): 3146-3150. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.24.006.
- [5] 董彬,薛承景,赵雅宁,等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征合并高血压性脑出血患者血浆内皮素 1 和同型半胱氨酸水平及其对认知功能的影响研究 [J]. *中国全科医学*, 2017, 20 (21): 2578-2582. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.21.y06.  
Dong B, Xue CJ, Zhao YN, et al. The changes of plasma endothelin-1 and homocysteine in patients of hypertensive cerebral hemorrhage combined obstructive sleep apnea hypopnea and its effects on cognitive dysfunction [J]. *Chin Gen Prac*, 2017, 20 (21): 2578-2582. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.21.y06.
- [6] 任宏. 内皮细胞特异性分子-1 水平与阿尔茨海默病患者抑郁的相关性 [J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29 (13): 80-83. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.13.015.  
Ren H. Association of serum endocellular-specific molecule-1 levels

- with depression in alzheimer's disease[J]. *Chin J Mod Med*, 2019, 29 (13): 80-83. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-8982. 2019. 13. 015.
- [7] 白莹莹, 张红菊, 李中林, 等. 伴快速眼动睡眠期行为障碍的帕金森患者蓝斑下核与运动脑区功能连接的分析[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99 (13): 993-997. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2019. 13. 007.
- Bai YY, Zhang HJ, Li ZL, et al. Abnormal functional connectivity between sublaterodorsal nucleus and the motor cortex in Parkinson's disease with rapid-eye-movement sleep behavior disorder [J]. *Natl Med J China*, 2019, 99 (13): 993-997. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2019. 13. 007.
- [8] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组, 中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍专业. 中国帕金森病的诊断标准(2016 版) [J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49 (4): 268-271. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2019. 13. 007.
- Parkinson Disease and Dyskinesia Group, Neurology Branch, Chinese Medical Association, Major of Parkinson's Disease and Dyskinesia, Neurologist Branch, Chinese Medical Association. Diagnostic criteria for Parkinson's disease in China (2016 Edition) [J]. *Chin J Neurol*, 2016, 49 (4): 268-271. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2019. 13. 007.
- [9] Walter J, Bolognin S, Antony PMA, et al. Neural stem cells of Parkinson's disease patients exhibit aberrant mitochondrial morphology and functionality [J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 12 (5): 878-889. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2019. 03. 004.
- [10] Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease [J]. *Eur J Neurol*, 2020, 27 (1): 27-42. DOI: 10. 1111/ene. 14108.
- [11] da Silva FC, Iop RDR, de Oliveira LC, et al. Effects of physical exercise programs on cognitive function in Parkinson's disease patients: a systematic review of randomized controlled trials of the last 10 years [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (2): e0193113. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0193113.
- [12] Liu T, Liao XZ, Zhou MT. Ulinastatin alleviates traumatic brain injury by reducing endothelin-1 [J]. *Transl Neurosci*, 2021, 12 (1): 1-8. DOI: 10. 1515/tnsci-2021-0001.
- [13] Diwakar L, Gowaikar R, Chithanathan K, et al. Endothelin-1 mediated vasoconstriction leads to memory impairment and synaptic dysfunction [J]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1): 4868-4880. DOI: 10. 1038/s41598-021-84258-x.
- [14] 戈艳蕾, 刘聪辉, 李真真, 等. 老年 2 型糖尿病伴阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征病人血浆 NGAL 及内皮素-1 水平与认知功能障碍的相关性研究 [J]. *实用老年医学*, 2018, 32 (11): 1068-1069. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-9198. 2018. 11. 020.
- Ge YL, Liu CH, Li ZZ, et al. Correlation between plasma NGAL and endothelin-1 levels and cognitive dysfunction in elderly patients with type 2 diabetes and obstructive sleep apnea hypopnea syndrome [J]. *Practical Geriatrics*, 2018, 32 (11): 1068-1069. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-9198. 2018. 11. 020.
- [15] 吕佩源. 着力提升老龄人群认知障碍与痴呆防控水平 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19 (8): 757-759. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 08. 001.
- [16] 朱晓颖, 戈艳蕾, 刘聪辉, 等. 血清 8-iso-PGF2 $\alpha$ , ET-1 水平与 OSAHS 患者合并认知功能障碍的相关性 [J]. *广东医学*, 2019, 40 (4): 463-467. DOI: 10. 13820/j. cnki. gdx. 20183651.
- Zhu XY, Ge YL, Liu CH, et al. The correlations between serum 8-iso-PGF2 $\alpha$  and ET-1 levels and cognitive dysfunction in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2019, 40 (4): 463-467. DOI: 10. 13820/j. cnki. gdx. 20183651.
- [17] 宋娟, 李雨珊, 吴曦. 定量磁化率成像在帕金森病诊断、评估及手术方面的应用 [J]. *中国临床医学*, 2020, 27 (4): 693-696. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2020. 20190573.
- Song J, Li YS, Wu X. Application of quantitative susceptibility mapping in diagnosis, evaluation and operation of Parkinson disease [J]. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2020, 27 (4): 693-696. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2020. 20190573.
- [18] 王雅楠, 范少凯, 牛雪芬, 等. 缺血性脑小血管病患者一氧化氮、内皮素-1 和尿酸与血管性认知障碍的相关性 [J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2019, 22 (5): 463-468. DOI: 10. 11723/mtgyx1007-9564. 2019. 05. 004.
- Wang YN, Fan SK, Niu XF, et al. Association of nitric oxide, endothelin-1 and uric acid with vascular cognitive impairment in patients with ischemic cerebral small vessel diseases [J]. *Chinese Journal of Coal Industry Medicine*, 2019, 22 (5): 463-468. DOI: 10. 11723/mtgyx1007-9564201905004.
- [19] Wei P, Zong B, Liu X, et al. The relationship between the level of serum ESM-1 and Lp-PLA2 in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Clin Transl Sci*, 2021, 14 (1): 179-183. DOI: 10. 1111/cts. 12838.
- [20] Zhang Y, Chen P, Cai S, et al. Decreased expression of endothelial cell specific molecule-1 in lung tissue in emphysematous mice and stable COPD patients [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2020, 23 (12): 1610-1617. DOI: 10. 22038/ijbms. 2020. 44243. 10384.
- [21] Kim KH, Lee HH, Yoon YE, et al. Clinical validation of serum endocan (ESM-1) as a potential biomarker in patients with renal cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 9 (1): 662-667. DOI: 10. 18632/oncotarget. 23087.
- [22] 苗蕾, 徐瑛, 王建民, 等. 经颅彩色超声参数在帕金森病诊断中应用价值 [J]. *临床军医杂志*, 2021, 49 (1): 50-51, 54. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2021. 01. 14.
- [23] 权青云, 张愉, 张贵云, 等. 通心络胶囊对血管性认知功能障碍患者血管内皮功能和氧化应激的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2018, 17 (2): 129-132. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 02. 006.
- Quan QY, Zhang Y, Zhang GY, et al. Influences of Tongxinluo capsules on vascular endothelial function and oxidative stress in patients with vascular cognitive impairment [J]. *Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases*, 2018, 17 (2): 129-132. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2018. 02. 006.
- [24] 刘秋梅, 李博. 内皮细胞特异分子-1 与微血管心绞痛的研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2018, 39 (2): 286-290. DOI: 10. 16806/j. cnki. issn. 1004-3934. 2018. 02. 040.
- Liu QM, Li B. Endothelial cell specific molecule-1 and microvascular angina [J]. *Advances in Cardiovascular Diseases*, 2018, 39 (2): 286-290. DOI: 10. 16806/j. cnki. issn. 1004-3934. 2018. 02. 040.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 11. 003

论著 · 临床

# 多模态监测对急性脑梗死患者脑颈血流动力学及神经功能预后的评估

王婧, 陈蕾, 王俊力, 陈国华, 梅俊华

基金项目: 武汉市卫计委医学科研项目(WX18D52)

作者单位: 430033 武汉市第一医院神经内科

通信作者: 梅俊华, E-mail: xiaomeijh@163.com

**【摘要】目的** 探讨多模态监测对急性脑梗死患者脑颈血流动力学及神经功能预后的评估价值。**方法** 选择 2019 年 8 月—2021 年 3 月武汉市第一医院神经内科收治急性脑梗死患者 78 例作为研究对象, 进行多模态 MR 监测, 根据改良 Rankin 量表(mRS)、灌注异常情况和颈动脉狭窄程度分组。比较各组急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标变化, Spearman 法分析急性脑梗死患者颈动脉狭窄程度、神经功能预后情况与脑颈血流动力学指标的相关性。**结果** 预后良好组( $n=40$ )与预后不良组( $n=38$ )患者相对局部脑血流量(rCBF)差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 预后不良组患者相对平均通过时间(rMTT)、对比剂达峰时间(rTTP)均明显高于预后良好组, 相对局部脑血容量(rCBV)明显低于预后良好组( $t/P=10.258/<0.001$ 、 $12.646/<0.001$ 、 $6.635/<0.001$ ); 预后不良患者 rCBV 值随灌注异常分期升高而降低, 差异有统计学意义( $F/P=8.125/0.002$ ), 而不同分期患者之间 rCBF、rMTT、rTTP 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 随着颈动脉狭窄程度加重 rMTT、rTTP 值逐渐升高, 差异有统计学意义( $F/P=3.015/0.001$ 、 $2.926/0.009$ ), 而 rCBV、rCBF 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 经 Spearman 相关性分析显示, 急性脑梗死患者 rMTT、rTTP 值与神经功能预后及颈动脉狭窄程度均呈显著正相关(rMTT:  $r/P=0.851/<0.001$ 、 $0.789/<0.001$ ; rTTP:  $r/P=0.986/<0.001$ 、 $0.450/0.004$ )。 **结论** 多模态 MR 监测可有效地对急性脑梗死患者脑颈血流动力学和颈动脉狭窄程度进行评价, 对其预后不良的诊断和预防也具有重要的临床意义。

**【关键词】** 脑梗死, 急性; 多模态监测; 血流动力学; 神经功能预后; 相关性**【中图分类号】** R743.33 **【文献标识码】** A

**Prognostic evaluation of cerebral neck hemodynamics and neurological function in patients with acute cerebral infarction by multimodal monitoring** Wang Jing, Chen Lei, Wang Junli, Chen Guohua, Mei Junhua. Department of Neurology, Wuhan First Hospital, Hubei Province, Wuhan 430033, China

Corresponding author: Mei Junhua, E-mail: xiaomeijh@163.com

Funding program: Medical Research Project of Wuhan Health and Family Planning Commission (WX18D52)

**【Abstract】 Objective** To explore the prognostic value of multimodal monitoring on cerebral neck hemodynamics and neurological function in patients with acute cerebral infarction. **Methods** Seventy-eight patients with acute cerebral infarction admitted to the Department of Neurology of Wuhan First Hospital from August 2019 to March 2021 were selected as the subjects for multimodal MR monitoring. They were grouped according to the modified Rankin Scale (mRS), perfusion abnormalities and carotid stenosis. To compare the changes of cerebral and neck hemodynamics in patients with acute cerebral infarction in each group, Spearman method was used to analyze the correlation between the degree of carotid stenosis and the prognosis of neurological function and cerebral and neck hemodynamics in patients with acute cerebral infarction. **Results** There was no significant difference in relative regional cerebral blood flow (rCBF) between the patients with good prognosis ( $n=40$ ) and those with poor prognosis ( $n=38$ ) ( $P>0.05$ ). The relative mean transit time (rMTT) and contrast medium peak time (rTTP) of patients with poor prognosis were significantly higher than those with good prognosis ( $t/P=10.58/<0.001$ ,  $12.646/<0.001$ ,  $6.635/<0.001$ ); The rCBV value decreased with the increase of the stage, and the difference was statistically significant ( $F/P=8.125/0.002$ ). There was no significant difference in rCBF, rMTT, rTTP between patients with different stages of cerebral neck blood flow ( $P>0.05$ ); The rMTT and rTTP values increased gradually with the severity of carotid stenosis ( $F/P=3.015/0.001$ ,  $2.926/0.009$ ), but there was no significant difference between rCBV and rCBF ( $P>0.05$ ); Spearman corre-

lation analysis showed that the rMTT and rTTP values in patients with acute cerebral infarction were positively correlated with the prognosis of neurological function and the degree of carotid stenosis (rMTT:r/P=0.851/<0.001,0.789/<0.001; rTTP:r/P=0.986/<0.001,0.450/0.004). **Conclusion** Multimodal MR monitoring can effectively evaluate the cerebral carotid hemodynamics and the degree of carotid stenosis in patients with acute cerebral infarction, and has important clinical significance in the diagnosis and prevention of poor prognosis.

**【Key words】** Cerebral infarction,acute; Multimodal monitoring; Hemodynamics; Neurological prognosis; Correlation

急性脑梗死是临床常见的一种脑血管疾病,多呈现不同程度的眩晕、肢体麻木无力、头痛、头晕、肢体感觉障碍及偏瘫等临床症状<sup>[1-2]</sup>。该病多在安静时或睡眠中病发,一般需要几天才可发展到高峰期,一旦患者出现大脑半球较大面积水肿、缺血及梗死,容易累及小脑和脑干,甚至可出现脑疝,危及患者生命健康<sup>[3]</sup>。在急性脑梗死早期,MR 和 CT 可对病变进行较好显示,但对其血流动力学的判断价值相对较差<sup>[4]</sup>。相关研究显示<sup>[5-6]</sup>,数字减影血管造影(DSA)可对血管管腔进行评价,CT 灌注(CTP)等方法可对脑组织血流动力学进行评估,但此种方法价格相对昂贵,且需要大剂量对比剂和大量射线暴露,对患者健康危害相对较大。而近年,随着多模态 MR 技术的不断发展,其可通过多个 MR 功能成像序列对病变情况进行综合评价和诊断,可为疾病诊断提供更多的相关信息<sup>[7]</sup>。现分析多模态监测对急性脑梗死患者脑颈血流动力学及神经功能预后的评估价值,为其临床诊治提供参考,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2019 年 8 月—2021 年 3 月武汉市第一医院神经内科收治急性脑梗死患者 78 例作为研究对象,男 49 例,女 29 例,年龄 42~71(59.86±5.23)岁;合并症:高血脂 35 例,高血糖 33 例,高血压 61 例;临床表现:头晕 15 例,头痛伴有不同程度视物不清 9 例,肢体无力 32 例;病变部位:脑大动脉和颈内动脉主干梗死 38 例,脑部深穿支动脉梗死 40 例。所

有患者均符合“中国急性缺血性脑卒中诊治指南”<sup>[8]</sup>中关于急性脑梗死的诊断标准。以改良 Rankin 量表评分(mRS 评分)<sup>[9]</sup>为依据进行分组,mRS<2 分为预后良好组,mRS≥2 分为预后不良组。2 组患者一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性,见表 1。本研究经医院医学伦理委员会审核批准(190506),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发病时间 4.5~54.0 h;②MR 检查前未进行相关溶栓治疗。(2)排除标准:①存在慢性肝肾及心脏疾病;②早期存在明显的意识障碍和大面积梗死;③造影剂过敏;④存在脑外伤、脑肿瘤、颅内出血及其他脑部病变;⑤凝血功能障碍;⑥体质极差、躁动不能配合检查者。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 影像学检查:通过 Siemens verio 3.0 T 磁共振仪(西门子公司)对患者头颅进行常规 MRA 和 MR 检查、颈动脉 PWI 检查及 HR-MR 成像检查。采用颈动脉专用的 8 通道线圈对患者颈动脉 HRI 成像进行测定,以血管狭窄处为中心进行三维时间飞跃法 MR 血管成像:层数 48 层,FOV:350 mm×263 mm×350 mm,层厚 1.0 mm;TE/TR 为 4.17/29 ms,时间 45 min 36 s;T1-BB 12 层,TE/TR 为 13/750 ms,时间 7 min 3 s;TSE-T2 12 层,FOV 24 mm×160 mm×160 mm,层厚 2.0 mm,TE/TR 为 60/3 500 ms,时间 4 min 19 s。之后选取颅脑颈内动脉系供血范围,通过 PWI 对患者的

表 1 预后良好组及预后不良组患者临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between patients with poor prognosis and patients with good prognosis

| 项目                     | 预后良好组(n=40) | 预后不良组(n=38) | $t/\chi^2$ 值 | P 值   |
|------------------------|-------------|-------------|--------------|-------|
| 性别(男/女)                | 26/14       | 23/15       | 0.030        | 0.862 |
| 年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁) | 58.57±6.24  | 58.35±5.76  | 0.162        | 0.872 |
| 病程( $\bar{x}\pm s$ ,h) | 8.28±1.42   | 8.37±1.13   | 0.309        | 0.758 |
| 合并症[例(%)]              |             |             |              |       |
| 高血脂                    | 19(47.50)   | 16(42.11)   | 0.063        | 0.802 |
| 高血糖                    | 18(45.00)   | 15(39.47)   | 0.070        | 0.791 |
| 高血压                    | 30(75.00)   | 31(81.58)   | 0.184        | 0.668 |
| 临床表现[例(%)]             |             |             |              |       |
| 头晕                     | 8(12.12)    | 7(18.42)    | 0.012        | 0.912 |
| 头痛伴视物不清                | 4(10.00)    | 5(13.16)    | 0.007        | 0.935 |
| 肢体无力                   | 15(37.50)   | 17(44.74)   | 0.176        | 0.675 |
| 病变部位[例(%)]             |             |             |              |       |
| 脑大动脉和颈内动脉主干            | 20(50.00)   | 18(47.37)   | 0.001        | 0.995 |
| 脑部深穿支动脉                | 21(52.50)   | 19(50.00)   | 0.001        | 0.996 |

横断位进行扫描,采用钆喷酸葡甲胺盐作为对比剂,流速 3.5~4.0 ml/s,0.2 ml/kg,之后采用双筒高压注射器,通过肘前静脉快速注入,层数 15 层;FOV:77 mm × 230 mm × 230 mm,层厚 4.0 mm,TE/TR 为 30/1 500 ms,反转角 90°,扫描 60 个时相,时间 1 min 38 s。图像处理:在 VPD MRI-Plaque View™ V2.1 软件中导入颈动脉斑块成像的相关数据,在 MATLAB 工作站中导入 PWI 灌注原始数据,之后通过 Syngo MMWP 软件对其进行分析处理,得到相关数据。之后由 2 名经验丰富的高年资影像学医师对所有患者影像图像进行阅片,对脑组织灌注情况和管腔狭窄情况进行分析。

1.3.2 血流动力学指标:通过上述软件预处理,分析计算信号—时间曲线,之后选择灌注高峰、灌注开始点、灌注结束点和灌注基线,通过软件自动计算出对比剂达峰时间(TTP)、平均通过时间(MTT)、局部脑血容量(CBV)、局部脑血流量(CBF);并根据灌注图,结合 DWI 和 T2WI,选定病灶的中心区域,对患侧和镜像健侧区域的血流动力学参数[局部脑血容量(rCBV)、局部脑血流量(rCBF)、相对平均通过时间(rMTT)、对比剂达峰时间(rTTP),均为相对值,即患侧灌注值/健侧镜像区域灌注值]进行测定。

1.3.3 颈动脉狭窄程度评价:通过北美症状性颈动脉内膜切除试验法<sup>[10]</sup>对颈动脉狭窄程度进行评价,血管狭窄率=(血管远端正常直径-狭窄段最窄直径)/血管远端正常直径 × 100%。根据血管狭窄率将其分为轻度(0%~29%)、中度(30%~69%)、重度(70%~99%)、闭塞(100%)。

1.3.4 随访预后情况:发病后 90 d 通过 mRS 评分对患者预后情况进行评价,总分 0~5 分,以 mRS < 2 分为预后良好,mRS ≥ 2 分为预后不良。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行

统计学分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较行 *t* 检验,多组间比较采用 *F* 检验;通过 Spearman 法对急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标与神经功能预后情况、颈动脉狭窄程度的相关性进行分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

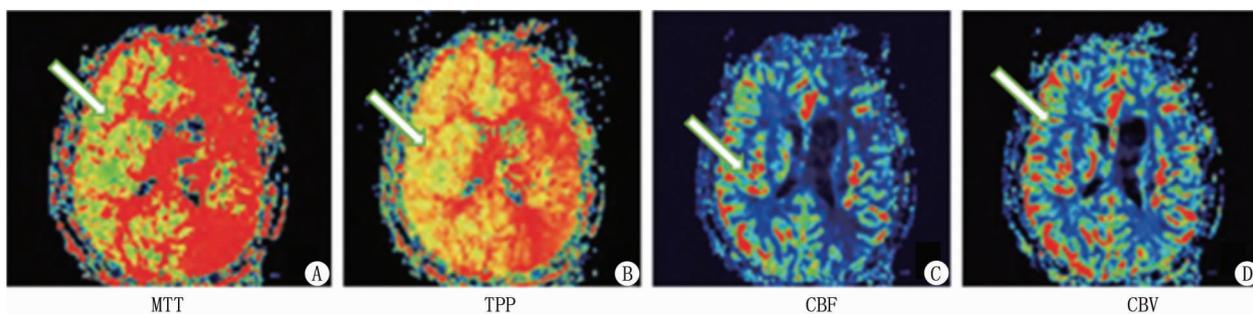
2.1 不同预后患者脑颈血流动力学指标比较 预后不良组患者 rMTT、rTTP 值均明显高于预后良好组,rCBV 值低于预后良好组,差异均有统计学意义(*P* < 0.01),2 组患者 rCBF 值比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 1、图 1。

表 1 不同神经功能预后急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of cerebral neck hemodynamic indexes in patients with acute cerebral infarction after different neurological functions

| 组别         | 例数 | rCBV        | rCBF        | rMTT        | rTTP        |
|------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 预后良好组      | 40 | 1.05 ± 0.09 | 1.00 ± 0.14 | 0.98 ± 0.06 | 0.95 ± 0.05 |
| 预后不良组      | 38 | 0.89 ± 0.12 | 0.95 ± 0.15 | 1.62 ± 0.38 | 1.16 ± 0.09 |
| <i>t</i> 值 |    | 6.635       | 1.523       | 10.258      | 12.646      |
| <i>P</i> 值 |    | <0.001      | 0.066       | <0.001      | <0.001      |

2.2 不同灌注异常并神经功能预后不良急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标比较 根据图 1C、D 可将灌注异常分为 3 期:Ⅰ期(CBV 和 CBF 基本正常,TTP 和 MTT 相对较为延迟)、Ⅱ期(CBF 轻度变化或者正常,CBV 升高,TTP 和 MTT 相对较为延迟)和Ⅲ期(CBF 轻度减轻,CBV 基本正常或者减轻,TTP 和 MTT 相对较为延迟),其中Ⅰ期 6 例、Ⅱ期 24 例、Ⅲ期 8 例,通过各个分期的血流动力学指标比较发现,3 期患者之间 rCBF、rMTT、rTTP 比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),



注:患者,男,62岁,颈动脉粥样硬化患者,左侧颈内动脉起始段管腔重度狭窄。箭头所示为梗死核心区及周围缺血半暗带区。A、B.左侧颞顶叶、额叶的 TTP 和 MTT 均呈现显著延长状态;C、D.左侧颞顶叶和额叶的 CBV、CBF 呈现一定降低

图 1 脑颈动脉血流动力学多模态监测图

Fig. 1 Cerebral neck hemodynamic multimodal monitoring chart

rCBV 值比较 I 期高于 II 期高于 III 期, 差异均有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 见表 2。

表 2 不同灌注异常并神经功能预后不良急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of cerebral neck hemodynamic indexes in patients with acute cerebral infarction with abnormal perfusion and poor neurological prognosis

| 组别         | 例数 | rCBV        | rCBF        | rMTT        | rTTP        |
|------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| I 期        | 6  | 1.05 ± 0.02 | 0.93 ± 0.03 | 1.19 ± 0.05 | 1.06 ± 0.03 |
| II 期       | 24 | 1.22 ± 0.08 | 0.93 ± 0.11 | 1.52 ± 0.35 | 1.09 ± 0.05 |
| III 期      | 8  | 0.89 ± 0.05 | 0.78 ± 0.06 | 1.41 ± 0.16 | 1.03 ± 0.02 |
| <i>F</i> 值 |    | 8.125       | 2.859       | 1.025       | 2.129       |
| <i>P</i> 值 |    | 0.002       | 0.079       | 0.352       | 0.118       |

2.3 不同颈动脉狭窄程度急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标比较 随着颈动脉狭窄程度逐渐加重, 患者 rMTT、rTTP 时间依次延长 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 而 rCBV、rCBF 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。

表 3 不同颈动脉狭窄程度急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of cerebral neck hemodynamic indexes in patients with acute cerebral infarction with different carotid artery stenosis

| 组别         | 例数 | rCBV        | rCBF        | rMTT        | rTTP        |
|------------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 轻度         | 8  | 1.01 ± 0.03 | 0.95 ± 0.12 | 1.00 ± 0.06 | 0.96 ± 0.04 |
| 中度         | 24 | 1.05 ± 0.18 | 0.96 ± 0.06 | 1.20 ± 0.11 | 1.02 ± 0.05 |
| 重度         | 24 | 1.06 ± 0.19 | 0.98 ± 0.12 | 1.42 ± 0.16 | 1.08 ± 0.06 |
| 闭塞         | 22 | 1.08 ± 0.21 | 1.01 ± 0.16 | 1.66 ± 0.21 | 1.16 ± 0.09 |
| <i>F</i> 值 |    | 0.326       | 0.312       | 3.015       | 2.926       |
| <i>P</i> 值 |    | 0.753       | 0.785       | 0.001       | 0.009       |

2.4 急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标与神经功能预后情况、颈动脉狭窄程度的关系 经 Spearman 相关性分析显示, 急性脑梗死患者 rMTT、rTTP 与神经功能预后和颈动脉狭窄程度均呈现一定正相关 ( $P < 0.05$ ), 而与 rCBV、rCBF 无相关性 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

### 3 讨论

急性脑梗死的重要病理学基础为动脉粥样硬化, 其是由各种因素引发内膜损伤, 进而致使血管壁出现各种异常反应, 是一个慢性炎症反应过程<sup>[11]</sup>。动脉粥样硬化是经过平滑肌细胞增殖, 细胞因子释放, 炎症刺激, 以及最后脂肪和巨噬细胞的堆积而形成<sup>[12]</sup>。当机体出现颈动脉粥样硬化后, 会引起相应血管出现管腔狭窄, 进而降低血流量, 而机体通过毛细血管、小静脉、小动脉的收缩和扩张来对脑组织血流量的相对稳定和

表 4 急性脑梗死患者脑颈血流动力学指标与神经功能预后情况、颈动脉狭窄程度的关系

Tab. 4 The relationship between cerebral and neck hemodynamic indexes and prognosis of neurological function, degree of carotid stenosis in patients with acute cerebral infarction

| 项目   | 神经功能预后     |            | 颈动脉狭窄程度    |            |
|------|------------|------------|------------|------------|
|      | <i>r</i> 值 | <i>P</i> 值 | <i>r</i> 值 | <i>P</i> 值 |
| rCBV | 0.315      | 0.103      | 0.179      | 0.276      |
| rCBF | 0.238      | 0.197      | 0.166      | 0.292      |
| rMTT | 0.851      | $< 0.001$  | 0.789      | $< 0.001$  |
| rTTP | 0.986      | $< 0.001$  | 0.450      | 0.004      |

平衡进行维持调节<sup>[13-15]</sup>。如果管腔狭窄一直持续, 脑灌注压会呈现逐渐降低的趋势, 逐步超出了机体自身的代偿能力, 损伤供血区域的神经元功能, 严重时可能形成脑梗死<sup>[16-17]</sup>。

HR-MR 斑块成像可以利用颈动脉专用的线圈对血管狭窄的区域进行多序列、多参数、无层间距、薄层、大矩阵及小 FOV 成像, 通过对相关管腔直径进行测定, 并对管腔的狭窄程度进行评估<sup>[18-19]</sup>。临床多项研究证实<sup>[20-22]</sup>, PWI 技术可以准确显示脑梗死前期的血流动力学。本研究结果显示, 不同分期的灌注异常患者仅 rCBV 值差异具有统计学意义, 且相关性研究显示, 患者管腔狭窄程度与 rMTT 和 rTTP 值呈现一定相关性。提示血管管腔狭窄越严重, 患者颈颈血流动力学异常灌注越显著。这可能是由于大脑供血区中存在多个脑部功能区, 颈动脉闭塞或重度狭窄将致使脑供血严重不足, 不给予及时有效干预, 可致使脑部供血区出现较大面积的梗死, 危及机体健康<sup>[23-24]</sup>。Ikenouchi 等<sup>[25]</sup> 研究显示, 脑梗死患者患侧和健侧的 CBV、TTP、MTT 值差异显著 ( $P < 0.05$ ), 同时闭塞组脑梗死患者的 TTP、MTT 值延长相对更为显著, 与本研究结果一致。另外, Spearman 相关性分析显示, 急性脑梗死患者 rMTT、rTTP 值与神经功能预后呈现一定正相关, 也表明脑血流动力学异常且灌注值变化越显著, 预后不良的风险也相对越高。本研究中血流动力学指标 MTT、TTP 可以对脑灌注和代偿情况进行较好评价。对于轻中度狭窄患者, 虽然其血流量相对减少, 但血流速度相对提升, 可以对供血区域的脑血流量进行一定补偿<sup>[26]</sup>。对于闭塞及重度狭窄患者, 尽管血流速度得到一定提高, 但由于管腔堵塞严重, 代偿出现不足, 此时大多数患者会出现脑组织自身小血管收缩或扩张, 形成相应的旁路侧支, 建立代偿机制, 这样可以平衡和稳定体内的脑灌注压, 表现为 TTP 和 MTT 一定程度延长<sup>[27]</sup>。如果梗阻长期存在或侧支循环建立不健全, 脑

灌注压过高,代偿机制不足以维持时,脑细胞葡萄糖摄取和供氧量严重不足,神经元出现坏死、不可逆崩裂,肿胀、细胞水—钠潴留,进而造成脑梗死的发生<sup>[28]</sup>。

根据以上论述,临床对于急性脑梗死患者,可以通过高分辨率的 MR 对其颈动脉管腔的狭窄程度进行评价。其狭窄程度越轻,表明出现脑血流动力学异常的几率越低,发生低灌注卒中的风险也越低,此时应该尽量避免给予患者进行血管支架植入术,以免围术期血管脱落斑块,造成血栓及动脉性卒中的发生。应给予内膜剥脱、抗血小板或他汀类药物进行治疗。当狭窄程度过高时,患者容易出现较大面积的低灌注性卒中,此时应及时给予血管重塑对颅内供血情况进行改善。

综上所述,多模态 MR 监测是一种无辐射、无创、高分辨率、一站式扫描的影像学手段,可有效地对急性脑梗死患者脑颈血流动力学和颈动脉狭窄程度进行评价,对其预后不良的诊断和预防也具有重要的临床意义。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

王婧、梅俊华:提出研究方向、研究思路,研究选题,设计方案、研究流程,撰写论文;陈蕾、陈国华:实施研究过程,数据收集,分析整理;王俊力:进行文献调研与整理

**参考文献**

[1] Deguchi I, Osada T, Kimura H, et al. A case of acute cerebral infarction associated with an accessory middle cerebral artery in a patient who underwent thrombectomy[J]. *Acute Medicine & Surgery*, 2020, 7(1):156-162. DOI:10.1002/ams2.459.

[2] Kao CN, Liu YW. Acute cerebral infarction caused by atrial thrombus originating from left upper pulmonary vein stump after left upper lobe trisegmentectomy[J]. *General Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2020, 68(2):206-207. DOI:10.3995/jstroke.10427.

[3] Wei CJ, Zou CY, Wang ZM, et al. Association between serum lipoprotein levels and cognitive impairment in acute cerebral infarction: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine*, 2020, 99(20):e20178. DOI:10.1097/MD.00000000000020178.

[4] Kilin F, Won SY, Spyrtantis A, et al. Thromboembolic infarction caused by an unknown patent foramen ovale 30 years after VA shunt insertion: a case report and review of the literature[J]. *Acta Neurochirurgica*, 2019, 161(7):1381-1384. DOI:10.1007/s00701-019-03946-w.

[5] 申小亮,赵本好,陈三丽.急性脑梗死临床诊断中 MRI、多层螺旋 CT 与数字减影血管造影的比较[J]. *分子影像学杂志*, 2021, 44(4):691-694. DOI:10.12122/j.issn.1674-4500.2021.04.23.

Shen XL, Zhao BH, Chen SL. Comparison of MRI, multi-slice spiral CT and digital subtraction angiography in the clinical diagnosis of acute cerebral infarction[J]. *Journal of Molecular Imaging*, 2021, 44(4):691-694. DOI:10.12122/j.issn.1674-4500.2021.04.23.

[6] 王道仁. CT 与磁共振成像对多发性脑梗死诊断价值对比研

究[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(11):1803-1804. DOI:10.11655/zgywylc2019.11.017.

Wang DR. Comparative study on the diagnostic value of CT and magnetic resonance imaging in multiple cerebral infarction [J]. *Chinese Medicine and Clinical Medicine*, 2019, 19(11):1803-1804. DOI:10.11655/zgywylc2019.11.017.

[7] 李盖,周伟,傅昱,等.多层螺旋 CT 血管成像对下肢动脉不同狭窄程度的诊断价值及与下肢动脉钙化的相关性研究[J]. *中国医学装备*, 2021, 18(8):60-64. DOI:10.3969/J. ISSN.1672-8270.2021.08.014.

Li G, Zhou W, Fu Y, et al. The diagnostic value of multi-slice spiral CT angiography in different degrees of stenosis of lower extremity arteries and its correlation with lower extremity arterial calcification[J]. *China Medical Equipment*, 2021, 18(8):60-64. DOI:10.3969/J. ISSN.1672-8270.2021.08.014.

[8] 刘鸣,贺茂林.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4):246-257. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2015.04.002.

Liu M, He ML. Guidelines for the diagnosis and treatment of acute ischemic stroke in China 2014 [J]. *Chinese Journal of Neurology*, 2015, 48(4):246-257. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2015.04.002.

[9] 张磊,刘建民.改良 Rankin 量表[J]. *中华神经外科杂志*, 2012, 28(5):512.

Zhang L, Liu JM. Modified Rankin scale [J]. *Chinese Journal of Neurosurgery*, 2012, 28(5):512.

[10] 张祖建,张勇,陈淑君,等. MSCTA、2D DSA 和 3D DSA 对颈动脉狭窄测量差异比较的实验研究[J]. *重庆医学*, 2015, 44(3):359-361, 365. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.03.024.

Zhang ZJ, Zhang Y, Chen SJ, et al. An experimental study on the comparison of carotid artery stenosis measurement differences between MSCTA, 2D DSA and 3D DSA [J]. *Chongqing Medical Science*, 2015, 44(3):359-361, 365. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.03.024.

[11] 李志红,杨小华,管萍,等.苦碟子辅助神经营养因子对脑梗死后神经功能缺损患者脑血灌注量,血管内皮及神经功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(2):7-10, 15. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.02.001.

Li ZH, Yang XH, Guan P, et al. Effects of Kudiezi adjuvant neurotrophic factor on cerebral blood perfusion, vascular endothelium and neurological function in patients with neurological deficit after cerebral infarction [J]. *Journal of Difficult and Difficult Diseases*, 2020, 19(2):7-10, 15. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.02.001.

[12] Li L, Ren S, Hao X, et al. Efficacy of minimally invasive intervention in patients with acute cerebral infarction [J]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2019, 73(1):22-26. DOI:10.1097/FJC.0000000000000625.

[13] Zhang D, Wu X, Tang J, et al. Hemodynamics is associated with vessel wall remodeling in patients with middle cerebral artery stenosis [J]. *European Radiology*, 2021, 32(1):5234-5242. DOI:10.1007/s00330-020-07607-w.

[14] 苏晴,蔡新宇,杨波.可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白联合

- CHA2DS<sub>2</sub>-VASc 评分对非瓣膜性心房颤动患者急性脑梗死的预测价值[J]. 中国医药, 2021, 16(1): 5-9. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 01. 002.
- Su Q, Cai XY, Yang B. Predictive value of soluble growth stimulation expressed gene 2 protein combined with CHA2 DS<sub>2</sub>-VASc score on acute cerebral embolism in patients with nonvalvular atrial fibrillation [J]. China Medicine, 2021, 16(1): 5-9. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2021. 01. 002.
- [15] 马松华, 马丹, 陆健美, 等. 磁共振液体反转恢复序列与弥散加权成像不匹配对进展性脑梗死的预测价值[J]. 中国临床医学, 2020, 27(1): 95-97. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2020. 20191290.
- [16] 王占强, 徐莉, 周利, 等. 尿激酶超选择性动脉内溶栓后应用尤瑞克林对急性后循环脑梗死脑血流动力学的影响[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(3): 236-240. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2016. 03. 005.
- Wang ZQ, Xu L, Zhou L, et al. The effect of urokinase superselective intra-arterial thrombolysis on cerebral hemodynamics of acute posterior circulation cerebral infarction with uricrine after urokinase superselective intra-arterial thrombolysis[J]. Journal of Difficult and Difficult Diseases, 2016, 15(3): 236-240. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2016. 03. 005.
- [17] 沈茹, 张丽梅, 李曙光. IL-6/CTRP3 对急性脑梗死出血性转化的预测价值[J]. 中国临床医学, 2020, 27(4): 603-607. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2020. 20201494.
- Shen R, Zhang LM, Li SG. Prediction of hemorrhagic transformation in acute cerebral infarction by IL-6/CTRP3 [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2020, 27(4): 603-607. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2020. 20201494.
- [18] 王旭超, 徐敏, 孙兆男, 等. 基于 HR-MRI 对轻度狭窄的基底动脉斑块特征与临床症状关系的研究[J]. 磁共振成像, 2019, 10(8): 561-565. DOI: 10. 12015/issn. 1674-8034. 2019. 08. 001.
- Wang XC, Xu M, Sun ZN, et al. Study on the relationship between the characteristics of mildly stenotic basilar artery plaque and clinical symptoms based on HR-MRI [J]. Magnetic Resonance Imaging, 2019, 10(8): 561-565. DOI: 10. 12015/issn. 1674-8034. 2019. 08. 001.
- [19] 姚芳兰, 屈慧, 樊丹丹. 急性脑梗死近期预后与首次美国国立卫生院神经功能缺损评分相关性研究[J]. 临床军医杂志, 2021, 49(2): 221-223. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2021. 02. 40.
- [20] Zhang T, Tang R, Liu S, et al. Plaque characteristics of middle cerebral artery assessed using strategically acquired gradient echo (STAGE) and vessel wall MR contribute to misery downstream perfusion in patients with intracranial atherosclerosis [J]. European Radiology, 2021, 31(1): 65-75. DOI: 10. 1007/s00330-020-07055-6.
- [21] Legrand L, Turc G, Edjlali M, et al. Benefit from revascularization after thrombectomy according to FLAIR vascular hyperintensities-DWI mismatch [J]. European Radiology, 2019, 29(10): 5567-5576. DOI: 10. 1007/s00330-019-06094-y.
- [22] 贾红, 陈要起. 低剂量替格瑞洛治疗进展性脑梗死的疗效及安全性评价[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(8): 563-565. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 08. 020.
- [23] Otto AM, Ciampa ML, Martin ED. Lacunar cerebral infarction following endovascular interventions for phlegmasia cerulea dolens [J]. Journal of Vascular Surgery Cases and Innovative Techniques, 2021, 7(12): 536-539. DOI: 10. 1016/j. jvscit. 2021. 06. 010.
- [24] 袁长红, 吴晓宇, 陈长春, 等. 急性脑梗死静脉溶栓后早期神经功能恶化的危险因素及预测模型分析[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(6): 396-398. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 06. 011.
- [25] Ikenouchi H, Yoshimoto T, Hamano E, et al. Postprandial cerebral infarction resolved by extracranial-intracranial bypass surgery-ScienceDirect [J]. eNeurologicalSci, 2020, 21(6): 100283. DOI: 10. 1016/j. ensci. 2020. 100283.
- [26] 崔羽, 冉娟娟, 王益, 等. 脑小血管病患者多模态磁共振成像特征及其与认知功能损伤的相关性分析[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(4): 43-48. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 04. 010.
- Cui Y, Ran JJ, Wang Y, et al. Multimodal magnetic resonance imaging features and their correlation with cognitive impairment in patients with cerebral small vessel disease [J]. Journal of Practical Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases, 2020, 28(4): 43-48. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 04. 010.
- [27] 唐小平, 肖新兰, 龚良庚, 等. 基于临床/多模态 MRI 的大脑中动脉粥样硬化性狭窄缺血性卒中风险评估系统[J/OL]. 功能与分子医学影像学杂志: 电子版, 2019, 8(2): 1631-1639. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-2252. 2019. 02. 002.
- Tang XP, Xiao XL, Gong LG, et al. Risk assessment system for ischemic stroke in middle cerebral atherosclerotic stenosis based on clinical/multimodal MRI [J/OL]. Journal of Functional and Molecular Medical Imaging: Electronic Edition, 2019, 8(2): 1631-1639. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-2252. 2019. 02. 002.
- [28] 周保纯. 心肺复苏后患者预后影响因素分析和脑多模态监测对神经功能预后的评估[D]. 苏州: 苏州大学, 2019.

(收稿日期: 2022-05-17)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.004

论著·临床

# 血清 miR-216a、ANGPTL4 水平与新生儿急性呼吸窘迫综合征病情严重程度和预后的关系

姜梨梨, 付杰, 郑爱华, 刘军

基金项目: 安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2019b054)

作者单位: 236800 安徽省亳州市人民医院儿科

通信作者: 刘军, E-mail: bzliujun157@163.com

**【摘要】** 目的 分析血清微小 RNA-216a(miR-216a)、血管生成素样蛋白 4(ANGPTL4)水平与新生儿急性呼吸窘迫综合征(ARDS)病情严重程度和预后的关系。方法 选取 2019 年 7 月—2022 年 3 月亳州市人民医院新生儿重症监护室收治的 ARDS 新生儿 160 例为 ARDS 组,根据氧指数(OI)分为轻度亚组 62 例、中度亚组 53 例、重度亚组 45 例,根据预后情况分为预后良好亚组 103 例和预后不良亚组 57 例,另选取同期医院健康新生儿 36 例作为健康对照组。比较各组血清 miR-216a、ANGPTL4 水平, Spearman 相关系数分析 ARDS 新生儿血清 miR-216a、ANGPTL4 水平与 OI 的相关性,多因素 Logistic 回归分析 ARDS 新生儿预后不良的影响因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 miR-216a、ANGPTL4 水平对 ARDS 新生儿预后不良的预测价值。结果 ARDS 组血清 miR-216a 水平低于健康对照组,而 ANGPTL4 水平高于健康对照组( $t/U=21.964, 9.242, P$  均  $<0.001$ )。轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-216a 水平依次降低, ANGPTL4 水平依次升高( $F/H=55.257, 85.768, P$  均  $<0.001$ )。Spearman 相关系数分析显示, ARDS 新生儿血清 miR-216a 水平与 OI 呈负相关, ANGPTL4 水平与 OI 呈正相关( $r_s = -0.635, 0.693, P$  均  $<0.001$ )。多因素 Logistic 回归分析显示,胎龄延长、Apgar 评分增加及血清 miR-216a 升高为 ARDS 新生儿预后不良的独立保护因素[ $OR(95\% CI) = 0.855(0.761 \sim 0.960), 0.685(0.495 \sim 0.947), 0.864(0.784 \sim 0.952)$ ],机械通气时间延长、OI 升高及血清 ANGPTL4 升高为其独立危险因素[ $OR(95\% CI) = 1.289(1.063 \sim 1.562), 1.891(1.190 \sim 3.004), 1.314(1.152 \sim 1.498)$ ]。ROC 曲线分析显示,血清 miR-216a、ANGPTL4 及二者联合预测 ARDS 新生儿预后不良的曲线下面积分别为 0.796、0.792、0.902,二者联合预测价值高于各自单独预测( $Z/P=3.818/ <0.001, 3.484/0.001$ )。结论 ARDS 新生儿血清 miR-216a 水平降低、ANGPTL4 水平升高,且与病情加重和预后不良密切相关,可作为 ARDS 新生儿预后不良的辅助预测指标。

**【关键词】** 急性呼吸窘迫综合征;微小 RNA-216a;血管生成素样蛋白 4;病情;预后;新生儿**【中图分类号】** R725.6 **【文献标识码】** A

**The relationship between serum miR-216a, ANGPTL4 levels and the severity and prognosis of neonatal acute respiratory distress syndrome** Jiang Lili, Fu Jie, Zheng Aihua, Liu Jun. Department of Pediatrics, Bozhou People's Hospital, Anhui Province, Bozhou 236800, China

Corresponding author: Liu Jun, E-mail: bzliujun157@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Anhui Health Commission (AHWJ2019b054)

**【Abstract】 Objective** To analyze the relationship between serum microRNA-216a(miR-216a), angiopoietin like protein 4(ANGPTL4) levels and the severity and prognosis of neonatal acute respiratory distress syndrome(ARDS). **Methods**

One hundred and sixty ARDS neonates admitted to the Neonatal Intensive Care Unit of Bozhou People's Hospital from July 2019 to March 2022 were selected as the ARDS group. According to the oxygen index(OI), they were divided into 62 mild subgroups, 53 moderate subgroups, and 45 severe subgroups. According to the prognosis, they were divided into 103 good subgroups and 57 poor subgroups. In addition, 36 healthy neonates in the same period were selected as the healthy control group. The levels of serum miR-216a and ANGPTL4 in each group were compared. Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation between serum miR-216a, ANGPTL4 and OI in ARDS neonates. Multivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of poor prognosis in ARDS neonates. Subjects' work characteristic curve(ROC) was used to analyze the predictive value of serum miR-216a and ANGPTL4 levels for poor prognosis in ARDS neonates. **Results** The serum

miR-216a level in the ARDS group was lower than that in the healthy control group, while the serum AngPTL4 level was higher than that in the healthy control group ( $t/U=21.964, 9.242, P<0.001$ ). The level of serum miR-216a in mild, moderate and severe subgroups decreased in turn, and the level of ANGPTL4 increased in turn ( $F/H=55.257, 85.768, P<0.001$ ). Spearman correlation coefficient analysis showed that the serum miR-216a level of ARDS neonates was negatively correlated with OI, and the ANGPTL4 level was positively correlated with OI ( $r_s = -0.635, 0.693, P<0.001$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that prolonged gestational age, increased Apgar score and increased serum miR-216a were independent protective factors for poor prognosis of ARDS neonates [ $OR(95\% CI) = 0.855(0.761 - 0.960), 0.685(0.495 - 0.947), 0.864(0.784 - 0.952)$ ], prolonged mechanical ventilation time, increased OI and increased serum ANGPTL4 were independent risk factors [ $OR(95\% CI) = 1.289(1.063 - 1.562), 1.891(1.190 - 3.004), 1.314(1.152 - 1.498)$ ]. ROC curve analysis showed that the area under the curve of serum miR-216a, ANGPTL4 and their combination to predict the poor prognosis of ARDS neonates were 0.796, 0.792 and 0.902 respectively, and their combined predictive value was higher than that of their individual prediction ( $Z/P = 3.818 / < 0.001, 3.484 / 0.001$ ). **Conclusion** The lower serum miR-216a level and the higher ANGPTL4 level in ARDS neonates are closely related to the aggravation of the disease and poor prognosis, which can be used as an auxiliary predictor of poor prognosis in ARDS neonates.

**【Key words】** Acute respiratory distress syndrome; MicroRNA-216a; Angiopoietin-like 4; Condition; Prognosis; Neonatal

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是由肺泡表面活性剂的原发性或继发性减少引起的一种以气体交换异常和急性低氧性呼吸衰竭为特征的呼吸系统疾病, 进展快、预后差, 严重威胁新生儿生命安全, 病死率 9.6% ~ 15.2%<sup>[1-2]</sup>。研究表明, 失控性炎症反应介导的弥漫性肺泡损伤、肺通透性增加等参与 ARDS 发生发展<sup>[3]</sup>。微小 RNA (microRNA, miRNA) 参与多种细胞因子转录调控, 在炎症反应中扮演重要角色<sup>[4]</sup>。miR-216a 是一种高度保守的 miRNA, 研究报道 miR-216a 能通过增加内皮细胞通透性参与急性胰腺炎并发急性肺损伤<sup>[5]</sup>。血管生成素样蛋白 4 (angiopoietin like 4, ANGPTL4) 是一种血管生成刺激因子, 在空气污染诱导的小鼠肺损伤中, ANGPTL4 表达上调与小鼠肺部炎症反应、肺泡数量减少和肺功能损伤有关<sup>[6]</sup>。然而, 关于 miR-216a、ANGPTL4 在人类 ARDS 中的临床意义尚无研究报道, 现分析 ARDS 新生儿血清 miR-216a、ANGPTL4 水平与病情严重程度及预后的关系, 以确定 miR-216a、ANGPTL4 是否可以作为 ARDS 新生儿预后的生物标志物, 报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 7 月—2022 年 3 月亳州市人民医院新生儿重症监护室 (NICU) 收治的 ARDS 新生儿 160 例为 ARDS 组, 男 106 例, 女 54 例, 日龄 3 ~ 17 (9.96 ± 2.71) d; 胎龄 25 ~ 41 (36.61 ± 3.72) 周; 分娩方式: 阴道分娩 77 例, 剖宫产 83 例; 出生体质量 1.98 ~ 3.71 (2.65 ± 0.51) kg; ARDS 病因: 误吸 36 例, 脓毒症 61 例, 肺炎 36 例, 胎粪吸入 15 例, 其他原因 12

例; 出生后 5 min 时 Apgar 评分: 4 ~ 10 [8.00 (7.00, 9.00)] 分; 机械通气时间: 1 ~ 15 [7.00 (5.00, 9.00)] d。另选取同期健康新生儿 36 例为健康对照组, 男 23 例, 女 13 例, 日龄 1 ~ 20 (10.03 ± 1.98) d; 分娩方式: 阴道分娩 20 例, 剖宫产 16 例; 出生体质量 2.15 ~ 4.41 (2.83 ± 0.79) kg。2 组新生儿性别、日龄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 (2019 毫伦字 0154), 受试儿家属或监护人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 2017 年国际性多中心多学科协作组“新生儿急性呼吸窘迫综合征蒙特勒标准”<sup>[7]</sup> 诊断标准; ②发病 (明确或可疑临床损伤出现后) 时间 ≤ 7 d。(2) 排除标准: ①先天性疾病; ②膈疝、肺发育不良、肺腺瘤样畸形等遗传性缺陷; ③脑性过度换气; ④恶性肿瘤; ⑤严重肝肾功能障碍; ⑥资料不全。

## 1.3 检测指标与方法

1.3.1 血清 miR-216a、ANGPTL4 水平检测: 收集 ARDS 新生儿入 NICU 后 6 h 内、健康新生儿入组时股静脉血 3 ml, 离心留取血清分置 2 份, 保存于 -80℃ 冰箱中待测。一份血清标本用于 qPCR, Trizol 试剂盒 (武汉科昊佳生物科技有限公司) 提取血清总 RNA, 纯度、浓度合格后反转录试剂盒 (日本 TaKaRa Bio 公司) 逆转录合成 cDNA, 根据 SYBR Green qPCR Mix 试剂盒 (南京欧凯生物科技有限公司) 进行 PCR 扩增: miR-216a 上游引物: 5'-TAATCTCAGCTGGCAACTGTGA-3', 下游引物: 5'-TCACAGTTGCCAGCTGAGATTA-3'; 以 U6 为内参; 反应条件: 95℃ 预变性 90 s, 95℃ 变性 30 s、

63℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 15 s, 循环 40 次后采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算血清 miR-216a 表达量。另一份血清标本采用 ELISA 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司)检测 ANGPTL4 水平。

1.3.2 病情和预后分组: ARDS 新生儿入 NICU 后首次机械通气时计算氧指数(oxygenation index, OI) = 吸入氧浓度 × 平均气道压 × 100/动脉血氧分压, 参考“新生儿急性呼吸窘迫综合征蒙特勒标准”<sup>[7]</sup> 将 ARDS 新生儿分为轻度亚组 62 例(OI 4 ~ < 8)、中度亚组 53 例(OI 8 ~ < 16)、重度亚组 45 例(OI ≥ 16)。所有 ARDS 新生儿均参考文献[8]接受机械通气、高频振荡通气、肺表面活性物质替代、体外膜肺氧合等治疗, 根据病情危重放弃治疗、转院、死亡或痊愈出院分为预后良好亚组 103 例和预后不良亚组 57 例。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较采用  $\chi^2$  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* 或 *F* 检验, 偏态分布的计量资料以  $M(Q_1, Q_3)$  表示, 组间比较采用 *U* 或 *H* 检验, 事后多重比较均行 Bonferroni 校正; Spearman 相关系数分析 ARDS 新生儿血清 miR-216a、ANGPTL4 水平与 OI 的相关性; 多因素 Logistic 回归分析 ARDS 新生儿预后不良的影响因素; 受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 miR-216a、ANGPTL4 水平对 ARDS 新生儿预后不良的预测价值, 曲线下面积(AUC)比较采用 Hanley & McNeil 检验。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组血清 miR-216a、ANGPTL4 水平比较 ARDS 组血清 miR-216a 水平低于健康对照组(1.95 ± 0.32 vs. 3.84 ± 0.49), 而 ANGPTL4 水平高于健康对照组[472.84 (201.47, 743.10) μg/L vs. 61.70 (52.89, 87.69) μg/L] (*t/U* = 21.964, 9.242, *P* 均 < 0.001)。

2.2 不同病情严重程度 ARDS 新生儿血清 miR-216a、ANGPTL4 水平比较 轻度亚组、中度亚组、重度亚组新生儿血清 miR-216a 水平依次降低, 而 ANGPTL4 水平依次升高(*P* 均 < 0.01), 见表 1。

2.3 ARDS 新生儿血清 miR-216a、ANGPTL4 水平与 OI 的相关性 160 例 ARDS 新生儿 OI 为 4.23 ~ 23.50 [9.91 (6.60, 16.49)], Spearman 相关系数分析显示, ARDS 新生儿血清 miR-216a 与 OI 水平呈负相关( $r_s = -0.635, P < 0.001$ ), 血清 ANGPTL4 水平与 OI 呈正相关( $r_s = 0.693, P < 0.001$ )。

2.4 不同预后 ARDS 新生儿的临床/病理特征比较 预后不良亚组患儿胎龄、出生体质量、Apgar 评分及血

表 1 不同病情严重程度 ARDS 新生儿血清 miR-216a、ANGPTL4 水平比较

Tab. 1 Comparison of serum miR-216a and ANGPTL4 levels in neonates with ARDS of different severity

| 组别           | 例数 | miR-216a<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | ANGPTL4<br>[ $M(Q_1, Q_3), \mu\text{g/L}$ ] |
|--------------|----|---------------------------------|---|
| 轻度亚组         | 62 | 2.20 ± 0.27                     | 198.40 (163.90, 378.70)                     |
| 中度亚组         | 53 | 1.88 ± 0.23                     | 475.25 (323.13, 676.24)                     |
| 重度亚组         | 45 | 1.70 ± 0.23                     | 946.17 (705.25, 1265.49)                    |
| <i>F/H</i> 值 |    | 55.257                          | 85.768                                      |
| <i>P</i> 值   |    | < 0.001                         | < 0.001                                     |

注: miR-216a. 微小 RNA-216a; ANGPTL4. 血管生成素样蛋白 4

清 miR-216a 水平低于预后良好亚组, 机械通气时间、OI 及血清 ANGPTL4 水平高于预后良好亚组 (*P* < 0.01), 2 亚组患儿性别、日龄、ARDS 病因、剖宫产比例比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见表 2。

2.5 ARDS 新生儿预后不良的多因素 Logistic 回归分析 以预后情况(不良为“1”, 良好为“0”)为因变量, 以胎龄、出生体质量、Apgar 评分、机械通气时间、OI、miR-216a、ANGPTL4 为自变量, 多因素 Logistic 回归分析显示, 胎龄延长、Apgar 评分增加及血清 miR-216a 升高为 ARDS 新生儿预后不良的独立保护因素, 机械通气时间延长、OI 升高及血清 ANGPTL4 升高为其独立危险因素 (*P* < 0.05), 见表 3。

2.6 血清 miR-216a、ANGPTL4 水平预测 ARDS 新生儿预后不良的价值 绘制 ROC 曲线结果显示, 血清 miR-216a、ANGPTL4 及二者联合预测 ARDS 新生儿预后不良的 AUC 分别为 0.796、0.792、0.902, 二者联合预测价值较单独预测高 ( $Z = 3.818, 3.484, P$  均 < 0.001), 见表 4、图 1。

表 4 血清 miR-216a、ANGPTL4 水平单独与联合预测 ARDS 新生儿预后不良的价值

Tab. 4 The value of serum miR-216a and ANGPTL4 levels alone and jointly in predicting the poor prognosis of newborns with ARDS

| 指标       | Cut-off 值   | AUC   | 95% CI        | 敏感度   | 特异度   | Youden 指数 |
|----------|-------------|-------|---------------|-------|-------|-----------|
| miR-216a | 1.70        | 0.796 | 0.725 ~ 0.856 | 0.491 | 0.961 | 0.452     |
| ANGPTL4  | 864.91 μg/L | 0.792 | 0.721 ~ 0.852 | 0.474 | 0.951 | 0.425     |
| 二者联合     | —           | 0.902 | 0.845 ~ 0.943 | 0.947 | 0.680 | 0.627     |

## 3 讨论

ARDS 是临床常见的危重症, 不同于儿童和成人的 ARDS 以肺容积减少, 肺顺应性降低, 通气/血流比值失常为主要病理特征, 新生儿 ARDS 以广泛性肺泡

表 2 不同预后 ARDS 新生儿临床/病理特征比较

Tab.2 Comparison of clinical/pathological characteristics of ARDS neonates with different prognosis

| 项 目                          | 预后良好亚组 (n = 103)      | 预后不良亚组 (n = 57)         | $\chi^2/t/U$ 值 | P 值    |           |
|------------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------|--------|-----------|
| 性别(男/女)                      | 65/38                 | 41/16                   | 1.278          | 0.258  |           |
| 胎龄( $\bar{x} \pm s$ , 周)     | 36.75 $\pm$ 3.18      | 34.98 $\pm$ 3.86        | 2.942          | 0.004  |           |
| 分娩方式[例(%)]                   | 阴道分娩                  | 22(38.60)               | 3.220          | 0.073  |           |
|                              | 剖宫产                   | 48(46.60)               |                |        | 35(61.40) |
| 日龄( $\bar{x} \pm s$ , d)     | 9.83 $\pm$ 2.86       | 10.18 $\pm$ 2.41        | 0.761          | 0.448  |           |
| 出生体质量( $\bar{x} \pm s$ , kg) | 2.73 $\pm$ 0.36       | 2.51 $\pm$ 0.43         | 3.334          | 0.001  |           |
| ARDS 病因[例(%)]                | 误吸                    | 12(21.05)               | 0.433          | 0.980  |           |
|                              | 脓毒症                   | 38(36.89)               |                |        | 23(40.35) |
|                              | 肺炎                    | 24(23.30)               |                |        | 12(21.05) |
|                              | 胎粪吸入                  | 9( 8.74)                |                |        | 6(10.53)  |
|                              | 其他原因                  | 8( 7.77)                |                |        | 4( 7.02)  |
| Apgar 评分(分) *                | 8.00(8.00, 9.00)      | 7.00( 6.00, 9.00)       | 3.280          | 0.001  |           |
| 机械通气时间(d) *                  | 7.00(4.00, 8.00)      | 8.00( 7.00,10.00)       | 4.113          | <0.001 |           |
| OI *                         | 7.17(5.92,11.25)      | 16.50(10.28,19.75)      | 7.224          | <0.001 |           |
| miR-216a( $\bar{x} \pm s$ )  | 2.08 $\pm$ 0.29       | 1.74 $\pm$ 0.27         | 7.339          | <0.001 |           |
| ANGPTL4( $\mu$ g/L) *        | 339.09(178.92,624.30) | 743.91(422.69,1 200.15) | 6.112          | <0.001 |           |

注:OI. 氧指数;miR-216a. 微小 RNA-216a;ANGPTL4. 血管生成素样蛋白 4; \* 为  $M(Q_1, Q_3)$

表 3 ARDS 新生儿预后不良的多因素 Logistic 回归分析

Tab.3 Multivariate Logistic regression analysis of bad prognosis of ARDS newborn

| 因 素         | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | P 值    | OR 值  | 95% CI        |
|-------------|-----------|-------|--------|--------|-------|---------------|
| 胎龄延长        | -0.157    | 0.059 | 4.069  | 0.044  | 0.855 | 0.761 ~ 0.960 |
| 出生体质量增加     | -0.135    | 0.079 | 2.918  | 0.088  | 0.874 | 0.749 ~ 1.020 |
| Apgar 评分增加  | -0.378    | 0.165 | 5.240  | 0.022  | 0.685 | 0.495 ~ 0.947 |
| 机械通气时间延长    | 0.254     | 0.098 | 6.685  | 0.010  | 1.289 | 1.063 ~ 1.562 |
| OI 升高       | 0.637     | 0.236 | 16.557 | <0.001 | 1.891 | 1.190 ~ 3.004 |
| miR-216a 升高 | -0.147    | 0.050 | 17.428 | <0.001 | 0.864 | 0.784 ~ 0.952 |
| ANGPTL4 升高  | 0.273     | 0.067 | 13.070 | <0.001 | 1.314 | 1.152 ~ 1.498 |

注:OI. 氧指数;miR-216a. 微小 RNA-216a;ANGPTL4. 血管生成素样蛋白 4

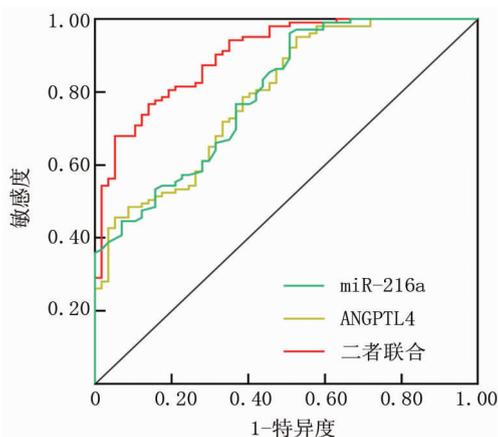


图 1 血清 miR-216a、ANGPTL4 水平单独与联合预测 ARDS 新生儿预后不良的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of serum miR-216a and ANGPTL4 levels alone and jointly predicting poor prognosis of ARDS neonates

萎陷和嗜伊红透明膜形成为主要病理特征,且新生儿 ARDS 具备免疫功能低下、支气管肺发育不良易感性、

肺生物学和成熟度差等差异和胎粪吸入综合征、呛奶、新生儿窒息、坏死性小肠结肠炎等独特触发因素<sup>[9]</sup>。尽管 2017 年世界上首次将新生儿 ARDS 与儿童和成人 ARDS 分离,并开发了独立的“蒙特勒标准”<sup>[7]</sup>,但新生儿 ARDS 仍然缺乏特异性的治疗方式,病死率较高<sup>[10-12]</sup>。研究表明,各种病因能直接或间接通过炎症反应损伤肺泡上皮细胞和血管内皮细胞,同时黏附于受损血管内皮的中性粒细胞能迁移至肺泡腔和肺间质,进一步促进炎症介质释放,引起失控性炎症反应,加重肺泡损伤和肺血管通透性,恶化肺功能<sup>[3]</sup>。

miRNA 是一类长度为 18 ~ 25 个核苷酸的小分子,通过与 mRNA 的 3'-非翻译区互补配对调控基因表达,在 ARDS 发生发展中发挥重要作用<sup>[13-15]</sup>。miR-216a 定位于人染色体 2p16.1,是先天和适应性免疫反应的调节剂,多项研究报道 miR-216a 在炎症反应相关疾病中异常表达,如 Liu 等<sup>[16]</sup> 研究报道,miR-216a 在支气管肺炎中表达下调,能通过下调转化生长因子  $\beta$

受体 2 抑制转化生长因子  $\beta_1$  信号传导减轻脂多糖诱导的支气管上皮细胞炎性反应。贾磊等<sup>[17]</sup> 研究报道, miR-216a 在表皮葡萄球菌感染致腹膜透析相关腹膜炎中表达下调, 能靶向高迁移率族蛋白 B1 抑制腹膜炎性反应。上述研究表明, miR-216a 在多种疾病中具有抗炎作用。且近年一项细胞实验也显示, miR-216a 高表达可能通过抑制炎症反应改善肺内皮细胞通透性<sup>[5]</sup>。本研究中观察到 ARDS 新生儿血清 miR-216a 表达下调, 提示 miR-216a 可能参与 ARDS 发生。“蒙特勒标准”认为氧合指数易受呼吸机压力参数影响, 且在高频振荡通气下不能有效获得呼气终末正压, 因此推荐使用 OI 量化评估新生儿 ARDS 严重程度, OI 越高反映 ARDS 新生儿低氧血症和呼吸窘迫症状越严重<sup>[7]</sup>。本研究结果显示, ARDS 新生儿血清 miR-216a 水平随着病情加重而降低, 其水平升高为 ARDS 新生儿预后不良的独立保护因素, 说明 miR-216a 水平与新生儿 ARDS 病情严重程度和预后密切相关, 分析与 miR-216a 能通过抗炎作用抑制肺部炎症反应发展, 减轻肺泡损伤和肺血管通透性有关, miR-216a 水平越高肺功能越好, 因此预后不良风险降低, 其机制可能与 miR-216a 能抑制相关信号通路传导有关。Janus 激酶 2/信号转导和转录激活子 3 (JAK2/STAT3) 和核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路是参与 ARDS 的重要促炎信号通路<sup>[18-19]</sup>。Kong 等<sup>[20]</sup> 通过脂多糖诱导急性肺损伤发现, miR-216a 能通过降低 JAK2/STAT3 和 NF- $\kappa$ B 磷酸化信号, 抑制 JAK2/STAT3 和 NF- $\kappa$ B 信号传导减轻肺部炎症反应损伤。

ANGPTL 是一类结构与血管生成素相似的分泌蛋白家族, ANGPTL4 主要由肝脏和脂肪表达, 能通过抑制脂蛋白脂肪酶调节脂代谢, 在代谢相关疾病中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。近年研究发现, ANGPTL 不仅参与脂代谢调节, 还具有调节炎症反应和血管通透性等作用, 敲低 ANGPTL4 通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制促炎细胞因子表达, 上调 ANGPTL4 能通过增强炎症反应导致血管内皮通透性增加<sup>[22-23]</sup>。在肺损伤研究模型中发现, ANGPTL4 在无菌性急性肺损伤过程中被大量激活和转录, 参与肺部炎症反应和肺泡损伤<sup>[24]</sup>。另一项肺炎球菌性肺炎研究中, 外源性给予 ANGPTL4 抗体治疗能减轻肺炎球菌性肺炎的肺水肿和肺损伤<sup>[25]</sup>。上述研究表明, ANGPTL4 在肺损伤中发挥重要作用。本研究结果显示, ARDS 新生儿血清 ANGPTL4 水平升高, 提示 ANGPTL4 可能参与 ARDS 发生, 可能与 ARDS 发生后 ANGPTL4 被激活和转录有关。进一步分析发现, ARDS 新生儿血清 ANGPTL4 随着病情加重

而升高, 是 ARDS 新生儿预后不良的独立危险因素, 说明血清 ANGPTL4 水平与新生儿 ARDS 病情严重程度及预后密切相关, 分析与 ANGPTL4 能通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通路参与肺部炎症反应和增加肺血管通透性有关。Guo 等<sup>[26]</sup> 通过脂多糖诱导急性肺损伤发现, 沉默 ANGPTL4 能靶向沉默信息调节因子 2 相关酶 1 抑制 NF- $\kappa$ B 信号激活, 改善肺部炎症反应和肺通透性。本研究结果还显示, 胎龄延长、Apgar 评分增加为 ARDS 新生儿预后不良的独立保护因素, 机械通气时间延长、OI 升高为独立危险因素, 分析是胎龄越长的 ARDS 新生儿肺部发育更成熟, Apgar 评分越高反映 ARDS 新生儿供氧状况更好, 因此预后更好, 而机械通气时间越长和 OI 越高反映 ARDS 新生儿病情越危重, 因此预后越差。本研究 ROC 曲线分析显示, 血清 miR-216a、ANGPTL4 水平单独预测 ARDS 新生儿预后不良的 AUC 分别为 0.796、0.792, 均不足 0.80, 而二者联合预测 ARDS 新生儿预后不良的 AUC 增加至 0.902, 说明血清 miR-216a、ANGPTL4 水平均能作为 ARDS 新生儿预后不良的辅助预测指标, 且联合检测血清 miR-216a、ANGPTL4 水平对 ARDS 新生儿预后不良的辅助预测价值更高。

综上所述, ARDS 新生儿血清 miR-216a 水平降低, ANGPTL4 水平升高, 二者与 ARDS 新生儿病情严重程度及预后密切相关, 可作为 ARDS 新生儿预后评估的生物标志物。但本研究样本量较少, 还需多中心大样本研究进一步证实。

**利益冲突:** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

姜梨梨: 设计研究方案, 实施研究过程, 收集整理资料, 论文撰写; 付杰: 课题设计, 监督研究过程, 进行统计学分析, 论文修改; 郑爱华、刘军: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核

**参考文献**

- [1] 郭静雨, 陈龙, 史源. 基于“蒙特勒标准”的新生儿急性呼吸窘迫综合征的单中心回顾性研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(12): 1267-1272. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2007027.
- [2] Guo JY, Chen L, Shi Y. A single-center retrospective study of neonatal acute respiratory distress syndrome based on the Montreux definition[J]. Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(12): 1267-1272. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2007027.
- [3] 张永芳, 于新桥, 廖建华, 等. 鄂西南地区新生儿急性呼吸窘迫综合征临床流行病学调查[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(9): 942-947. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2003271.
- [4] Zhang YF, Yu XQ, Liao JH, et al. A clinical epidemiological investigation of neonatal acute respiratory distress syndrome in southwest Hubei, China[J]. Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(9): 942-947. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2003271.
- [5] Kaku S, Nguyen CD, Htet NN, et al. Acute respiratory distress syndrome: Etiology, pathogenesis, and summary on management[J]. J

Intensive Care Med, 2020, 35 ( 8 ): 723-737. DOI: 10.1177/0885066619855021.

[4] 叶瑞贤,薛如君,梁景耀,等. microRNA 在炎症性皮肤病中作用的研究进展[J]. 中华皮肤科杂志,2021,54(2):178-182. DOI: 10.35541/cjd.20190864.

Ye RX,Xue RJ,Liang JY,et al. Role of microRNAs in inflammatory skin diseases[J]. J Clin Oncol, 2021, 54 ( 2 ): 178-182. DOI: 10.35541/cjd.20190864.

[5] 朱惠云,宋英晓,孔祥毓,等. 微小 RNA-216a 在急性胰腺炎并发肺损伤患者中的表达水平及其对内皮细胞通透性的影响[J]. 中华胰腺病杂志, 2020, 20 ( 4 ): 250-253. DOI: 10.3760/cma.j.cn115667-20200701-00104.

Zhu HY, Song YX, Kong XY, et al. MiR-216a expression in acute pancreatitis patients with lung injury and its effect on the permeability of endothelial cell[J]. Chin J Pancreatol, 2020, 20(4):250-253. DOI: 10.3760/cma.j.cn115667-20200701-00104.

[6] de Barros Mendes Lopes T, Groth EE, Veras M, et al. Pre-and postnatal exposure of mice to concentrated urban PM 2.5 decreases the number of alveoli and leads to altered lung function at an early stage of life[J]. Environ Pollut, 2018, 10(241):511-520. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.05.055.

[7] De Luca D, van Kaam AH, Tingay DG, et al. The Montreux definition of neonatal ARDS: biological and clinical background behind the description of a new entity[J]. Lancet Respir Med, 2017, 5(8):657-666. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30214-X.

[8] 中国医师协会新生儿科医师分会.“新生儿急性呼吸窘迫综合征”蒙特勒标准(2017年版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(19): 1456-1458. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2017.19.004.

Chinese Medical Doctor Association Neonatologist Branch. “Neonatal Acute Respiratory Distress Syndrome” Montreux Criteria (2017 Edition) [J]. Chin J Appl Clin Pediatr, 2017, 32 ( 19 ): 1456-1458. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2017.19.004.

[9] 亚太卫生健康协会儿科医学分会, 亚太卫生健康协会儿科医学分会重症超声医学专业委员会, 世界重症超声联盟中国联盟, 等. 新生儿呼吸窘迫综合征超声诊断与分度专家共识[J]. 中国小儿急救医学, 2021, 28(7):545-551. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2021.07.001.

The Society of Pediatrics, Asia-Pacific Health Association, The Division of Critical Ultrasound, Society of Pediatrics, Asia-Pacific Health Association, The World Interactive Network Focused On Critical Ultrasound China Branch, et al. Expert consensus on ultrasound diagnosis and gradation of neonatal respiratory distress syndrome[J]. Pediatric Emergency in China Medicine, 2021, 28(7):545-551. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2021.07.001.

[10] 徐慈,李亚茜,项涛,等. 血浆 FGF23 及 Ang2 水平预测急性呼吸窘迫综合征患者并发急性肾损伤的价值分析[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(11):1126-1130. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.11.010.

Xu C, Li YQ, Xiang T, et al. Analysis of the value of plasma FGF23 and Ang2 levels in predicting acute kidney injury in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20(11):1126-1130. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.11.010.

[11] 唐勇,刘川. 连续性血液净化联合抗菌药治疗急性呼吸窘迫综合

征并肺部感染的临床疗效[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(10):89-92. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.10.016.

Tang Y, Liu C. Clinical Efficacy of Continuous Blood Purification Combined with Anti-bacterial Agents in the Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome with Pulmonary Infection[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2020, 28(10):89-92. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.10.016.

[12] De Luca D, Tingay DG, van Kaam AH, et al. Epidemiology of neonatal acute respiratory distress syndrome: Prospective, multicenter, international cohort study[J]. Pediatr Crit Care Med, 2022, 23(7): 524-534. DOI: 10.1097/PCC.0000000000002961.

[13] 宋然,祁红辉,李雪,等. 急性呼吸窘迫综合征患者血清 KL-6、sTM 水平与病情及预后的关系研究[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(7):670-675. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.07.006.

Song R, Qi HH, Li X, et al. Study on the relationship between serum KL-6 and sTM levels and the condition and prognosis of patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20 ( 7 ): 670-675. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.07.006.

[14] 孙博睿,张文美,朱光发. microRNA 在 ALL/ARDS 发病机制中调节作用的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2021, 41(6):451-454. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20200731-00677.

Sun BR, Zhang WM, Zhu GF. Research progress of microRNA regulation in the pathogenesis of ALL/ARDS [J]. Int J Respir, 2021, 41(6):451-454. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20200731-00677.

[15] 苏莹,刘洋,刘敏. 极低及超低出生体质量新生儿重度支气管肺发育不良的危险因素分析[J]. 中国医药, 2020, 15(9):1368-1372. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.09.010.

Su Y, Liu Y, Liu M. Risk factors of severe bronchopulmonary dysplasia in very low and extremely low birth weight infants [J]. China Medicine, 2020, 15 ( 9 ): 1368-1372. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.09.010.

[16] Liu S, Li J, Hu L. MiR-216a-5p alleviates LPS-induced inflammation in the human bronchial epithelial cell by inhibition of TGF-β1 signaling via down-regulating TGFBR2 [J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2021, 49(5):64-71. DOI: 10.15586/aei.v49i5.458.

Jia L, Liu B, Li WG. The role of miR-216a-5p in HMGB1-mediated peritoneal dialysis-associated peritonitis induced by Staphylococcus epidermidis infection [J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(11): 1028-1034. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20218421.

[17] 贾磊,刘冰,李卫光. miR-216a-5p 在 HMGB1 介导的表皮葡萄球菌感染致腹膜透析相关腹膜炎中的作用[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(11): 1028-1034. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20218421.

[18] Wang X, Yang B, Li Y, et al. AKR1C1 alleviates LPS-induced ALI in mice by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(6):833. DOI: 10.3892/mmr.2021.12473.

[19] Tung YT, Wei CH, Yen CC, et al. Aspirin attenuates hyperoxia-induced acute respiratory distress syndrome (ARDS) by suppressing pulmonary inflammation via the NF-κB signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2022, 17 ( 12 ): 793107. DOI: 10.3389/fphar.2021.793107.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.005

论著·临床

# 特发性肺间质纤维化急性加重患者呼吸道微生态成分与不良预后的关系

陈榕, 王旭, 舒静, 莫尚尧, 邓浩

基金项目: 四川省卫生健康科研课题(19pj223)

作者单位: 637000 四川省南充市中心医院呼吸与危重症医学科(陈榕、舒静、莫尚尧、邓浩), 南充市中心医院嘉陵分院内一科(王旭)

通信作者: 陈榕, E-mail: xiaochong2005@sohu.com

**【摘要】目的** 分析特发性肺间质纤维化急性加重患者呼吸道微生态成分与不良预后的关系。**方法** 选取 2020 年 1 月—2021 年 1 月四川省南充市中心医院呼吸与危重症医学科诊治特发性肺间质纤维化急性加重患者 98 例作为研究组, 并根据预后情况分为预后良好亚组 54 例和预后不良亚组 44 例, 另外选取同期特发性肺间质纤维化稳定期患者 50 例作为对照组。检测并比较 2 组患者及不同预后特发性肺间质纤维化急性加重患者体内细菌丰度(chao 指数、sobs 指数、ace 指数)、多样性(shannon 指数、simpson 指数)、菌门(拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、放线菌门)的表达变化, 受试者工作特征曲线(ROC)分析微生态成分对特发性肺间质纤维化急性加重患者不良预后的诊断价值。**结果** 与对照组比较, 研究组 chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数及拟杆菌门、放线菌门占比降低( $t = 6.361$ 、 $8.253$ 、 $4.440$ 、 $6.483$ 、 $18.680$ 、 $10.610$ ,  $P$  均  $< 0.001$ ), simpson 指数及厚壁菌门、变形菌门占比均升高( $t = 6.955$ 、 $14.230$ 、 $13.730$ ,  $P$  均  $< 0.001$ )。与预后良好亚组比较, 预后不良亚组 chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数及拟杆菌门、放线菌门占比降低( $t = 6.709$ 、 $8.061$ 、 $4.653$ 、 $11.530$ 、 $11.540$ 、 $5.083$ ,  $P$  均  $< 0.001$ ), simpson 指数及厚壁菌门、变形菌门占比升高( $t = 3.776$ 、 $4.390$ 、 $8.017$ ,  $P$  均  $< 0.001$ )。ROC 曲线显示, chao 指数、sobs 指数、ace 指数、simpson 指数、shannon 指数、拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、放线菌门及联合检测诊断特发性肺间质纤维化急性加重患者不良预后的 AUC 为  $0.709$ 、 $0.751$ 、 $0.679$ 、 $0.709$ 、 $0.777$ 、 $0.724$ 、 $0.732$ 、 $0.688$ 、 $0.697$ 、 $0.908$ , 联合检测价值高于单项指标检测。**结论** 呼吸道微生态成分与特发性肺间质纤维化急性加重患者病情相关, 且微生物成分紊乱可影响患者预后, 检测其表达可对患者不良预后进行诊断。

**【关键词】** 特发性肺间质纤维化, 急性加重; 呼吸道微生态成分; 不良预后**【中图分类号】** R563.1<sup>+</sup>3**【文献标识码】** A

**Relationship between respiratory microecological components and adverse prognosis in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis** Chen Rong\*, Wang Xu, Shu Jing, Mo Shangyao, Deng Hao. \* Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Nanchong Central Hospital, Sichuan Province, Nanchong 637000, China  
Corresponding author: Chen Rong, E-mail: xiaochong2005@sohu.com

Funding program: Sichuan Health Research Project (19pj223)

**【Abstract】 Objective** To analyze the relationship between respiratory microecological components and adverse prognosis in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis. **Methods** From January 2020 to January 2021, 98 patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis diagnosed and treated by the Department of Respiratory and Critical Care Medicine of Nanchong Central Hospital in Sichuan Province were selected as the study group, and were divided into 54 subgroups with good prognosis and 44 subgroups with poor prognosis according to the prognosis. In addition, 50 patients with stable idiopathic pulmonary fibrosis were selected as the control group. Detect and compare the expression changes of bacterial abundance (chao index, sobs index, ace index), diversity (shannon index, simpson index), and bacteria (Bacteroides, Firmicutes, Proteus, Actinomycetes) in the two groups of patients and patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis with different prognosis. The diagnostic value of microecological components in the poor prognosis of patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis was analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** Compared with the control group, the chao index, sobs index, ace index, shannon index and the proportion of Bacteroides and Actinomycetes in the study group decreased ( $t = 6.361$ ,  $8.253$ ,  $4.440$ ,  $6.483$ ,  $18.680$ ,

10.610,  $P < 0.001$ ), and the simpson index and the proportion of Firmicutes and Proteus increased ( $t = 6.955, 14.230, 13.730, P < 0.001$ ). Compared with the subgroup with good prognosis, the chao index, sobs index, ace index, shannon index and the proportion of Bacteroides and Actinomycetes in the subgroup with poor prognosis decreased ( $t = 6.709, 8.061, 4.653, 11.530, 11.540, 5.083, P < 0.001$ ), and the simpson index and the proportion of Firmicutes and Proteus increased ( $t = 3.776, 4.390, 8.017, P < 0.001$ ). ROC curve shows that the AUC of chao index, sobs index, ace index, simpson index, shannon index, Bacteroides, Firmicutes, Proteus, Actinomycetes and their combined detection for the diagnosis of adverse prognosis in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis is 0.709, 0.751, 0.679, 0.709, 0.777, 0.724, 0.732, 0.688, 0.697, 0.908, and the combined detection value is higher than that of single indicator detection. **Conclusion** Respiratory microecological composition is related to the condition of patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis, and the disorder of microbial composition can affect the prognosis of patients. Detection of its expression can diagnose the poor prognosis of patients.

**【Key words】** Idiopathic pulmonary interstitial fibrosis, acute exacerbation; Microecological components of respiratory tract; Poor prognosis

特发性肺纤维化为特发性肺炎中常见类型, 发病率逐年升高, 且预后较差, 临床病死率高, 治疗不及时, 可发展为弥漫性的间质性肺纤维化, 对患者生命安全造成威胁<sup>[1-2]</sup>。随着病情的发展, 其可逐渐进展为低氧血症、心肺功能衰竭, 导致患者死亡<sup>[3]</sup>。临床研究显示<sup>[4]</sup>, 呼吸道菌群主要由共生、病原微生物组成, 肺部菌群的负荷、丰度、多样性可受到病情严重程度、机体生理功能影响, 菌群变化特点在肺部疾病的发生、发展、急性发作中具有重要作用, 且微生态失衡可对疾病的预后造成影响。病情重、全身情况差患者机体内常伴有感染的发生, 可致机体肺部微生物群落改变, 促进不良预后的发生<sup>[5]</sup>。基于此, 现分析特发性肺间质纤维化急性加重患者呼吸道微生态成分与不良预后的关系, 报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1 月—2021 年 1 月四川省南充市中心医院呼吸与危重症医学科诊治特发性肺间质纤维化急性加重患者 98 例作为研究组, 男 55 例, 女 43 例, 年龄 50 ~ 75 (65.32 ± 4.85) 岁; BMI 19 ~ 23 (23.22 ± 4.36) kg/m<sup>2</sup>; 随访 1 年, 再以患者预后情况分为预后良好亚组 54 例、预后不良亚组 44 例。另外选取同期特发性肺间质纤维化稳定期患者 50 例作为对照组, 男 28 例, 女 22 例, 年龄 52 ~ 74 (64.98 ± 4.77) 岁; BMI 19 ~ 24 (23.57 ± 4.61) kg/m<sup>2</sup>。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审核批准 (2020 伦审第 063 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: 研究组患者符合“特发性肺纤维化急性加重诊断和治疗中国专家共识”<sup>[6]</sup>中对于特发性肺间质纤维化急性加重期的诊治标准, 患者经 CT 检查确诊, 近期存在不明原因呼吸困

难, 肺功能恶化。(2) 排除标准: 患者为过敏性肺炎, 存在结节病、结缔组织病, 近期使用免疫抑制剂, 存在冠心病、糖尿病等慢性疾病。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 呼吸道微生态成分检测: (1) 呼吸道菌群标本采集、DNA 提取: 患者入住 ICU 24 h 内, 采用纤维支气管镜 (奥林巴斯有限公司生产, BF-P60 型) 检查肺泡灌洗液, 使用生理盐水冲洗患者支气管肺泡, 对回收液进行冲洗, 4℃ 保存。将冲洗液离心弃去上层清液留取沉淀物, 采用无菌磷酸盐缓冲液 200 μl 对沉淀物进行重悬, 后使用 DNA 提取试剂盒 (上海晶诺生物科技有限公司)、PCR 扩增试剂盒 (北京天根生化科技有限公司) 对悬浮物中 DNA 进行抽取。(2) 菌群测序评定: 采用高通量测序平台 (武汉基诺赛克科技有限公司, 型号 HiSeq TM2000) 对细菌丰度、多样性、菌群门进行分析, 根据基因表达标签分类细菌物种, 对群落丰度、多样性进行分析。采用 Mothur 对群落多样性进行计算, 使用 Alpha 多样性根据实际观测到的分类操作单元 (OTU) 数目进行评估, 群落丰度采用 chao 指数、sobs 指数、ace 指数, 丰度与数值相关, 可反映群落丰度; 采用 shannon 指数、simpson 指数对群落多样性进行评估, 判断样品中物种丰度、物种均匀度, 数值越大, 多样性越低。

1.3.2 预后情况: 对患者进行 1 年的随访, 时间截至 2022 年 2 月。患者咳嗽、咯痰、肺部啰音症状缓解, 胸部 X 线片检测异常影像减少为预后良好, 患者临床症状未发生变化, 胸部 X 线片检查异常影像增多为预后不良。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件包对数据进行统计分析处理。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  $\chi^2$  检验; 以受试者工作特征

曲线(ROC)分析呼吸道微生态成分对特发性肺间质纤维化急性加重患者不良预后的诊断价值,并计算曲线下面积(AUC)。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组临床特征比较 2 组患者性别、年龄、病程、BMI、饮酒、吸烟、有无治疗史比较,差异无统计学意义(P>0.05)。研究组患者 TLC、VC、FEV<sub>1</sub>/FVC、IFN-γ 低于对照组,病情程度重、干咳、胸闷、有家族遗传史比例及 BMI、TNF-α、IL-4 高于对照组,差异均有统计学意义(P<0.05),见表 1。

2.2 2 组微生态丰度、多样性、菌门比较 与对照组比较,研究组 chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon

指数及拟杆菌门、放线菌门占比降低,simpson 指数及厚壁菌门、变形菌门占比升高(P<0.01),见表 2。

2.3 不同预后亚组间微生态丰度、多样性、菌门比较 随访 1 年研究组患者预后良好 54 例、预后不良 44 例。与预后良好亚组比较,预后不良亚组 chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数及拟杆菌门、放线菌门占比降低,simpson 指数及厚壁菌门、变形菌门占比升高(P<0.01),见表 3。

表 3 不同预后亚组患者呼吸道微生态丰度、多样性、菌门比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of respiratory microecology abundance, diversity, and bacteria of patients with different prognosis sub-groups

| 项 目        | 预后良好亚组<br>(n=54) | 预后不良亚组<br>(n=44) | t 值    | P 值   |
|------------|------------------|------------------|--------|-------|
| chao 指数    | 168.62 ± 48.14   | 122.01 ± 35.14   | 6.709  | 0.001 |
| sobs 指数    | 192.31 ± 53.14   | 131.02 ± 38.14   | 8.061  | 0.001 |
| ace 指数     | 268.14 ± 75.15   | 213.01 ± 64.37   | 4.653  | 0.001 |
| simpson 指数 | 0.62 ± 0.14      | 0.73 ± 0.18      | 3.776  | 0.001 |
| shannon 指数 | 2.68 ± 0.92      | 1.22 ± 0.61      | 11.530 | 0.001 |
| 拟杆菌门(%)    | 25.63 ± 7.24     | 12.63 ± 2.01     | 11.540 | 0.001 |
| 厚壁菌门(%)    | 54.25 ± 18.21    | 72.14 ± 22.14    | 4.390  | 0.001 |
| 变形菌门(%)    | 8.26 ± 2.57      | 12.94 ± 3.21     | 8.017  | 0.001 |
| 放线菌门(%)    | 8.27 ± 2.44      | 6.27 ± 1.02      | 5.083  | 0.001 |

表 2 对照组与研究组患者呼吸道微生态丰度、多样性、菌门比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of respiratory microecological abundance, diversity and bacteria between the control group and the study group

| 项 目        | 对照组(n=50)      | 研究组(n=98)      | t 值    | P 值   |
|------------|----------------|----------------|--------|-------|
| chao 指数    | 198.62 ± 52.63 | 147.85 ± 42.14 | 6.361  | 0.001 |
| sobs 指数    | 239.14 ± 73.62 | 156.95 ± 46.95 | 8.253  | 0.001 |
| ace 指数     | 295.63 ± 79.14 | 239.14 ± 70.02 | 4.440  | 0.001 |
| simpson 指数 | 0.51 ± 0.12    | 0.68 ± 0.15    | 6.955  | 0.001 |
| shannon 指数 | 3.01 ± 1.02    | 1.97 ± 0.87    | 6.483  | 0.001 |
| 拟杆菌门(%)    | 53.62 ± 17.25  | 18.62 ± 4.97   | 18.680 | 0.001 |
| 厚壁菌门(%)    | 30.22 ± 8.05   | 66.42 ± 17.02  | 14.230 | 0.001 |
| 变形菌门(%)    | 3.45 ± 1.08    | 10.36 ± 3.47   | 13.730 | 0.001 |
| 放线菌门(%)    | 13.65 ± 4.24   | 7.98 ± 2.27    | 10.610 | 0.001 |

2.4 呼吸道微生态成分对特发性肺间质纤维化急性加重患者不良预后的诊断价值 绘制 ROC 曲线,结果

表 1 对照组与研究组患者临床特征比较

Tab. 1 Comparison of clinical characteristics between the control group and the study group

| 项 目  |                          | 对照组(n=50)    | 研究组(n=98)    | χ <sup>2</sup> /t 值 | P 值    |
|--|--------------------------|--------------|--------------|---------------------|--------|
| 性别[例(%)]                                   | 男                        | 28(56.00)    | 55(56.12)    | 0.001               | 0.989  |
|  | 女                        | 22(44.00)    | 43(43.88)    |                     |        |
| 年龄[例(%)]                                   | ≤65 岁                    | 23(46.00)    | 52(53.06)    | 0.660               | 0.416  |
|  | >60 岁                    | 27(54.00)    | 46(46.94)    |                     |        |
| 病程( $\bar{x} \pm s$ , 年)                   |                          | 1.34 ± 0.20  | 1.36 ± 0.22  | 0.591               | 0.539  |
| BMI( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> ) |                          | 23.57 ± 4.61 | 23.22 ± 4.36 | 0.453               | 0.651  |
| 病情严重程度[例(%)]                               | 轻                        | 20(40.00)    | 22(22.44)    | 8.335               | 0.015  |
|  | 中                        | 18(36.00)    | 30(30.61)    |                     |        |
|  | 重                        | 12(24.00)    | 46(46.93)    |                     |        |
| 饮酒[例(%)]                                   |                          | 22(44.00)    | 42(42.86)    | 0.018               | 0.894  |
| 吸烟[例(%)]                                   |                          | 30(60.00)    | 49(50.00)    | 1.330               | 24.873 |
| 干咳[例(%)]                                   |                          | 2(4.00)      | 68(69.39)    | 56.788              | 0.001  |
| 胸闷[例(%)]                                   |                          | 3(6.00)      | 55(56.12)    | 34.902              | 0.001  |
| 肺功能( $\bar{x} \pm s$ )                     | TLC(L)                   | 64.29 ± 7.29 | 55.94 ± 6.24 | 7.268               | 0.001  |
|  | VC(L)                    | 66.14 ± 7.33 | 52.97 ± 6.31 | 11.360              | 0.001  |
|  | FEV <sub>1</sub> /FVC(%) | 60.03 ± 7.12 | 42.14 ± 5.31 | 17.220              | 0.001  |
| 炎性因子( $\bar{x} \pm s$ )                    | TNF-α(ng/L)              | 10.02 ± 1.03 | 15.97 ± 2.33 | 17.200              | 0.001  |
|  | IL-4(ng/L)               | 52.03 ± 6.22 | 79.62 ± 8.14 | 21.030              | 0.001  |
|  | IFN-γ(ng/L)              | 29.14 ± 3.41 | 20.01 ± 2.55 | 18.320              | 0.001  |
| 既往治疗史[例(%)]                                |                          | 18(36.00)    | 42(42.85)    | 0.910               | 0.340  |
| 家族遗传史[例(%)]                                |                          | 25(50.00)    | 68(69.39)    | 5.329               | 0.020  |

显示, chao 指数、sobs 指数、ace 指数、simpson 指数、shannon 指数、拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、放线菌门及联合检测诊断特发性肺间质纤维化急性加重患者不良预后的 AUC 为 0.709、0.751、0.679、0.709、0.777、0.724、0.732、0.688、0.697、0.908, 联合检测价值高于单项指标检测, 见表 4。

### 3 讨论

特发性肺间质纤维化是以侵袭肺泡壁为主的, 肺泡组织、周边支撑结构病变疾病的总称, 随着临床病情的不断发展, 患者出现呼吸困难、刺激性咳嗽症状<sup>[7-8]</sup>。临床对于特发性肺间质纤维化发病机制尚未明确, 相关研究显示, 慢性炎性反应、细胞外基质过度沉积可导致特发性肺间质纤维化的发展<sup>[9-11]</sup>。

TNF- $\alpha$  为炎性反应调节因子, 可刺激超氧化物的产生, 使成纤维细胞增殖速度加快, 促进胶原蛋白的合成, TNF- $\alpha$  可结合肺泡上皮细胞, 使肺泡上皮细胞凋亡、再生、坏死, 导致 TNF- $\alpha$  产生, 使其发生纤维化。IL-4 主要是由杀伤 T 细胞产生, 在免疫反应中具有重要作用, IL-4 可使纤维细胞增殖, 到最后肺组织重构, 降低肺功能<sup>[12-13]</sup>。IFN- $\gamma$  可抵抗病毒的产生, 并对免疫系统进行调控。研究显示<sup>[14]</sup>, 呼吸道微生态平衡主要是由微生物进入呼吸道、呼吸道微生物的清除、微生态生长环境 3 个因素决定的, 决定因素平衡失调后, 可使患者呼吸道生态发生变化。在健康机体环境内, 不适于细菌生长, 机体内细菌繁殖较少, 机体出现疾病后, 可导致微生物生长环境发生变化, 呼吸道微生物菌群大量繁殖<sup>[15]</sup>。呼吸道微生态失调与呼吸系统疾病的发生密切相关, 在慢性呼吸系统疾病患者中, 多数患者伴有胃肠道功能紊乱, 且部分炎性肠病患者呼吸道症状较为严重, 肠道免疫健康可对患者肺部健康造成影响<sup>[16]</sup>。疾病发生后, 患者肠道、呼吸道微生态环境

发生改变, 导致微生物组成发生变化, 肠道微生物菌群可通过对肺部微生物免疫应答的调控影响呼吸系统疾病的发生。研究显示<sup>[17-18]</sup>, 益生菌可使细胞免疫、体液免疫增强, 对机体内免疫应答进行调节, 预防慢性呼吸系统疾病的发展。本研究发现, 2 组患者 TLC、VC、FEV<sub>1</sub>/FVC、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IFN- $\gamma$  表达水平具有一定差异性, 可导致患者不良预后。相关学者研究显示<sup>[19-21]</sup>, 机体呼吸道内菌群系统较为复杂, 肺部微生态平衡遭到破坏后, 患者可出现肺部疾病, 导致其不良结局, 特发性肺间质纤维化急性加重期患者预后较差, 且患者病情不稳定, 机体内生理系统较为紊乱, 对患者体内微生态平衡造成破坏, 导致不良预后的发生, 与本研究结果一致, 表明特发性肺间质纤维化急性加重期患者呼吸道微生态失调后可造成预后不良的发生。

研究显示<sup>[22-24]</sup>, 肺部微生态的稳定性主要取决于菌群的组成、丰度、多样性, 呼吸道微生态多样性、定植, 可对黏膜纤毛清除功能进行破坏, 使黏液生成量增加, 肺部菌群受到破坏, 并损伤气道上皮, 导致机体出现免疫反应, 造成恶性循环。chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数、simpson 指数为 Alpha 多样性指数, sobs 指数、chao 指数、ace 指数可反映群落丰富度, chao 指数可对物种总数进行估计, chao 指数越大, 表明物种越多, shannon 指数、simpson 指数可对菌群多样性进行判定, 样品中物种丰富度、物种均匀度可对 chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数、simpson 指数造成影响。本研究发现, chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数在特发性肺间质纤维化急性加重患者体内表达降低, simpson 指数升高, 且预后不良患者体内 chao 指数、sobs 指数、ace 指数、shannon 指数降低, simpson 指数升高。相关学者研究表明<sup>[25-27]</sup>, 肺炎、肺囊性纤维化、特发性肺间质纤维化发生时, 可导致患

表 4 呼吸道微生态成分对特发性肺间质纤维化急性加重患者不良预后的诊断价值

Tab. 4 Diagnostic value of respiratory microecological components for poor prognosis of patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis

| 变 量        | cut-off 值 | OR(95% CI)           | P 值    | 敏感度   | 特异度   | 约登指数  |
|------------|-----------|----------------------|--------|-------|-------|-------|
| chao 指数    | 152.63    | 0.709(0.605 ~ 0.813) | <0.001 | 0.682 | 0.648 | 0.330 |
| sobs 指数    | 179.24    | 0.751(0.653 ~ 0.849) | <0.001 | 0.727 | 0.722 | 0.449 |
| ace 指数     | 256.31    | 0.679(0.573 ~ 0.786) | <0.001 | 0.886 | 0.852 | 0.738 |
| simpson 指数 | 0.64      | 0.709(0.602 ~ 0.815) | <0.001 | 0.796 | 0.778 | 0.574 |
| shannon 指数 | 2.43      | 0.777(0.683 ~ 0.872) | <0.001 | 0.841 | 0.815 | 0.656 |
| 拟杆菌门       | 20.34     | 0.724(0.547 ~ 0.795) | <0.001 | 0.864 | 0.759 | 0.623 |
| 厚壁菌门       | 60.03     | 0.732(0.624 ~ 0.825) | <0.001 | 0.773 | 0.741 | 0.574 |
| 变形菌门       | 9.22      | 0.688(0.567 ~ 0.724) | <0.001 | 0.796 | 0.796 | 0.592 |
| 放线菌门       | 8.03      | 0.697(0.602 ~ 0.847) | <0.001 | 0.818 | 0.870 | 0.688 |
| 联合检测       | -         | 0.908(0.842 ~ 0.975) | <0.001 | 0.909 | 0.907 | 0.816 |

者菌群多样性、群落负荷发生改变,破坏肺部菌群、黏膜纤毛清除功能,导致机体出现免疫反应,加重患者病情,与本研究保持一致,表明特发性肺间质纤维化急性加重期是由共生菌减少、致病菌繁殖导致的,且可导致患者不良预后。ROC 曲线显示,Chao 指数、Sobs 指数、Ace 指数、Shannon 指数、Simpson 指数、各菌门占比情况联合诊断特发性肺间质纤维化急性加重期患者不良预后具有较高诊断价值。

综上所述,呼吸道微生态成分变化与特发性肺间质纤维化急性加重期患者不良预后相关,对其呼吸道微生态成分进行分析,可用于临床特发性肺间质纤维化急性加重期患者不良预后的诊断,具有较高的使用价值。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

陈榕:设计研究方案,提出研究思路,实施研究过程,论文撰写、审核;王旭:分析试验数据,进行统计学分析;舒静、莫尚尧、邓浩:资料搜集整理

**参考文献**

[1] Spagnolo P, Kropski JA, Jones MG, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: Disease mechanisms and drug development [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 222: 107798. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107798.

[2] Shenderov K, Collins SL, Powell JD, et al. Immune dysregulation as a driver of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(2): e143226. DOI: 10.1172/JCI43226.

[3] Zhang Y, Lu P, Qin H, et al. Traditional Chinese medicine combined with pulmonary drug delivery system and idiopathic pulmonary fibrosis: Rationale and therapeutic potential [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111072. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111072.

[4] 郑君. 呼吸道菌群与黏膜免疫在哮喘发病机制中的作用 [J]. *国际儿科学杂志*, 2022, 49(4): 249-253. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2022.04.008.

Zheng J. The role of respiratory tract flora and mucosal immunity in the pathogenesis of asthma [J]. *International Journal of Pediatrics*, 2022, 49(4): 249-253. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2022.04.008.

[5] 王四姣, 邵长周. 支气管扩张症和下呼吸道菌群的研究进展 [J]. *中国临床医学*, 2019, 26(1): 141-144. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20181203.

Wang SJ, Shao CZ. Progress in bronchiectasis and lower respiratory tract flora [J]. *Clinical Medicine in China*, 2019, 26(1): 141-144. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20181203.

[6] 中华医学会呼吸病学分会间质性肺病学组, 中国医师协会呼吸医师分会间质性肺疾病工作委员会. 特发性肺纤维化急性加重诊断和治疗中国专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(26): 2014-2023. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.26.005.

Interstitial Pulmonary Disease Group, Respiratory Disease Branch of Chinese Medical Association, Interstitial Pulmonary Disease Working Committee, Respiratory Physician Branch of Chinese Medical Doctor

Association. The Chinese expert consensus on the diagnosis and treatment of acute aggravation of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Chinese Medical Journal*, 2019, 99(26): 2014-2023. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.26.005.

[7] 刘薇, 张玲, 鲍洁, 等. 特发性肺间质纤维化患者预后不良的影响因素及预测价值 [J]. *川北医学院学报*, 2022, 37(4): 426-429. DOI: 10.3969/j.issn.1005-3697.2022.04.004.

Liu W, Zhang L, Bao J, et al. Impact factors and predictive value of poor prognosis in patients with idiopathic pulmonary interstitial fibrosis [J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2022, 37(4): 426-429. DOI: 10.3969/j.issn.1005-3697.2022.04.004.

[8] 赖德清, 袁亚迪, 谢晓梅, 等. 心肺康复运动训练对特发性肺间质纤维化患者心肺功能的影响研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2021, 29(10): 86-91. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.222.

Lai DQ, Yuan YD, Xie XM, et al. Effects of cardiopulmonary rehabilitation exercise training on cardiopulmonary function in patients with idiopathic pulmonary interstitial fibrosis [J]. *Journal of Practical Cardiology*, 2021, 29(10): 86-91. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.222.

[9] 张帆, 韩卫全, 庞艳, 等. 系统性硬化症合并肺间质病变患者外周血中 IL-8、CXCR1、CXCR2 的表达及意义 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(1): 21-25. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.006.

Zhang F, Han WQ, Pang Y, et al. Expression and significance of IL-8, CXCR1 and CXCR2 in peripheral blood of patients with systemic sclerosis and pulmonary interstitial disease [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2020, 19(1): 21-25. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.006.

[10] 顾一丹, 任允璇, 章朱峰, 等. 基于网络药理学与分子对接探索人参-五味子配伍治疗特发性肺间质纤维化的分子机制 [J]. *山东科学*, 2022, 35(1): 28-36. DOI: 10.3976/j.issn.1002-4026.2022.01.005.

Gu YD, Ren YY, Zhang ZF, et al. Exploring the molecular mechanism of ginseng-andra compatibility in the treatment of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Shandong Science*, 2022, 35(1): 28-36. DOI: 10.3976/j.issn.1002-4026.2022.01.005.

[11] 范林建, 丁光辉, 马洪方, 等. 抗肺合剂辅助治疗特发性肺间质纤维化的疗效观察 [J]. *湖南师范大学学报: 医学版*, 2020, 17(5): 176-179. DOI: 10.3969/j.issn.1673-016X.2020.05.052.

Fan LJ, Ding GH, Ma HF, et al. Observation of the efficacy of antipulmonary fibrosis in idiopathic pulmonary interstitial fibrosis [J]. *Journal of Hunan Normal University: Medical edition*, 2020, 17(5): 176-179. DOI: 10.3969/j.issn.1673-016X.2020.05.052.

[12] 左艳华, 刘靓, 许化恒, 等. 结缔组织病相关性间质性肺炎患者唾液糖链抗原与 T 细胞亚群水平变化及其临床意义 [J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(3): 336-337. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2021.03.36.

[13] 赖德清, 袁亚迪, 谢晓梅, 等. 心肺康复运动训练对特发性肺间质纤维化患者心肺功能的影响研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2021, 29(10): 86-91. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.222.

Lai DQ, Yuan YD, Xie XM, et al. Effect of Cardiopulmonary Rehabilitation Exercise Training on Cardio-pulmonary Function in Patients

- with Idiopathic Pulmonary Fibrosis[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2021, 29(10):86-91. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.222.
- [14] 盛美玲, 汪群智. 慢性阻塞性肺疾病急性加重风险高危及低危患者呼吸道微生态系统差异分析[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(12):1787-1790. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2020.12.002. Sheng ML, Wang QZ. Analysis of respiratory microecosystem differences in patients at high risk of acute aggravation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Journal of Clinical Pulmonary Sciences, 2020, 25(12):1787-1790. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2020.12.002.
- [15] 王睿珊, 陈毅斐. 重症肺炎机械通气患者上呼吸道微生态差异性分析及死亡危险因素分析[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(3):340-341, 344. DOI:10.16680/j.1671-3826.2020.03.37. Wang RS, Chen YF. Analysis of microecological differences of upper respiratory tract and death risk factors in mechanically ventilated patients with severe pneumonia[J]. Journal of Clinical Military Medicine, 2020, 48(3):340-341, 344. DOI:10.16680/j.1671-3826.2020.03.37.
- [16] Flerlage T, Boyd DF, Meliopoulos V, et al. Influenza virus and SARS-CoV-2: pathogenesis and host responses in the respiratory tract[J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19(7):425-441. DOI:10.1038/s41579-021-00542-7.
- [17] 彭纯颖, 陆国平. 儿童呼吸机相关性肺炎的下呼吸道微生态研究进展[J]. 中国小儿急救医学, 2020, 27(1):55-58. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2020.01.012. Peng CY, Lu GP. Progress in the microecology of the lower respiratory tract of ventilator-associated pneumonia in children[J]. Chinese Pediatric Emergency Medicine, 2020, 27(1):55-58. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2020.01.012.
- [18] 李冰玉, 肖纯凌, 李新鸣, 等. 沈阳市夏冬季慢性阻塞性肺疾病患者上呼吸道微生态状况[J]. 中国微生物学杂志, 2019, 31(3):269-272. DOI:10.13381/j.cnki.cjm.201903005. Li BY, Xiao CL, Li XM, et al. Microecological status of the upper respiratory tract in patients with chronic obstructive pulmonary disease in summer and winter in Shenyang[J]. The Chinese Journal of Microecology, 2019, 31(3):269-272. DOI:10.13381/j.cnki.cjm.201903005.
- [19] 汪亚南, 曹玲. 呼吸道微生态及其与呼吸道疾病关系的研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(3):231-233. DOI:10.3760/cma.j.cn101070-20200815-01347.
- [20] 王辉, 叶彩虹, 马焕丽, 等. 吸烟介导的 COPD 呼吸道微生态失调对 Treg/Th17 失衡的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(3):437-440, 444. DOI:10.3969/j.issn.1674-6929.2021.03.026.
- [21] 孙僮, 富建华. 呼吸道微生态与新生儿疾病关系的研究进展[J]. 中国小儿急救医学, 2020, 27(9):688-692. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2020.09.012.
- [22] Hage R, Gautschi F, Steinack C, et al. Combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE) clinical features and management[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2021, 16:167-177. DOI:10.2147/COPD.S286360.
- [23] Goos T, De Sadeleer LJ, Yserbyt J, et al. Progression in the management of non-idiopathic pulmonary fibrosis interstitial lung diseases, where are we now and where we would like to be[J]. J Clin Med, 2021, 10(6):1330. DOI:10.3390/jcm10061330.
- [24] Redente EF, Black BP, Backos DS, et al. Persistent, progressive pulmonary fibrosis and epithelial remodeling in mice[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2021, 64(6):669-676. DOI:10.1165/ajrmb.2020-0542MA.
- [25] Luppi F, Kalluri M, Faverio P, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis beyond the lung: understanding disease mechanisms to improve diagnosis and management[J]. Respir Res, 2021, 22(1):109. DOI:10.1186/s12931-021-01711-1.
- [26] Yao C, Guan X, Carraro G, et al. Senescence of alveolar type 2 cells drives progressive pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021, 203(6):707-717. DOI:10.1164/rccm.202004-1274OC.
- [27] Valenzi E, Tabib T, Papazoglou A, et al. Disparate interferon signaling and shared aberrant basaloid cells in single-cell profiling of idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis-associated interstitial lung disease[J]. Front Immunol, 2021, 12(7):59-61. DOI:10.3389/fimmu.2021.595811. eCollection 2021.

(收稿日期:2022-07-20)

(上接 1140 页)

- [20] Kong F, Sun Y, Song W, et al. MiR-216a alleviates LPS-induced acute lung injury via regulating JAK2/STAT3 and NF- $\kappa$ B signaling[J]. Hum Cell, 2020, 33(1):67-78. DOI:10.1007/s13577-019-00289-7.
- [21] Fernández-Hernando C, Suárez Y. ANGPTL4: a multifunctional protein involved in metabolism and vascular homeostasis[J]. Curr Opin Hematol, 2020, 27(3):206-213. DOI:10.1097/MOH.0000000000000580.
- [22] Qin L, Zhang R, Yang S, et al. Knockdown of ANGPTL-4 inhibits inflammatory response and extracellular matrix accumulation in glomerular mesangial cells cultured under high glucose condition[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1):3368-3373. DOI:10.1080/21691401.2019.1649274.
- [23] Lu Q, Lu P, Chen W, et al. ANGPTL-4 induces diabetic retinal inflammation by activating Profilin-1[J]. Exp Eye Res, 2018, 166:140-150. DOI:10.1016/j.exer.2017.10.009.
- [24] Hung CF, Holton S, Chow YH, et al. Pericyte-like cells undergo transcriptional reprogramming and distinct functional adaptations in acute lung injury[J]. FASEB J, 2021, 35(4):e21323. DOI:10.1096/fj.201903192RR.
- [25] Li L, Foo BJW, Kwok KW, et al. Antibody treatment against angiotensin-like 4 reduces pulmonary edema and injury in secondary pneumococcal pneumonia[J]. mBio, 2019, 10(3):e02469-18. DOI:10.1128/mBio.02469-18.
- [26] Guo L, Li S, Zhao Y, et al. Silencing angiotensin-like protein 4 (ANGPTL4) protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulating SIRT1/NF- $\kappa$ B pathway[J]. J Cell Physiol, 2015, 230(10):2390-2402. DOI:10.1002/jcp.24969.

(收稿日期:2022-06-25)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.006

论著·临床

# 人血白蛋白联合目标导向性补液对脓毒性休克并发急性呼吸窘迫综合征的治疗效果

王磊, 李冀, 唐娟, 陈春蔓

基金项目: 海南省卫生健康行业科研项目(20A200151)

作者单位: 570311 海口, 海南省肿瘤医院重症医学科

通信作者: 李冀, E-mail: ggglji@163.com

**【摘要】目的** 分析人血白蛋白联合目标导向性补液治疗脓毒性休克并发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者的效果。**方法** 选取2020年2月—2021年10月海南省肿瘤医院重症医学科诊治脓毒性休克合并ARDS患者76例,以区组随机分组法分为对照组、观察组,各38例。2组均进行常规干预,其中对照组另采用目标导向性补液,观察组在对照组基础上输注人血白蛋白。统计2组住重症监护病房(ICU)时间、机械通气时间、去甲肾上腺素用量、补液量;记录治疗6、12、24 h液体平衡量、血气状态[动脉氧分压(PaO<sub>2</sub>)、氧合指数(OI)]、血流动力学变化(心率、平均动脉压、中心静脉压)及液体负平衡时间。检测治疗前、治疗后24 h血清白蛋白水平、炎症指标[C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)]及肺泡灌洗液白蛋白水平,比较2组1个月后病死率。**结果** 观察组机械通气时间、补液量低于对照组( $t/P=6.801/<0.001, 17.383/<0.001$ ),2组住ICU时间、去甲肾上腺素用量比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );2组治疗6 h液体平衡量均为正平衡,治疗12 h液体平衡量有所提高,治疗24 h液体平衡量明显下降( $F/P=46.986/<0.001, 39.492/<0.001$ ),且观察组液体平衡量低于对照组( $t/P=6.608/<0.001$ ),液体负平衡时间短于对照组( $t/P=5.406/<0.001$ );治疗24 h观察组血清白蛋白高于对照组( $t/P=5.314/<0.001$ ),肺泡灌洗液白蛋白及血清CRP、PCT水平低于对照组( $t/P=3.485/0.001, 2.288/0.025, 2.361/0.021$ );治疗6、12、24 h 2组心率均持续降低,PaO<sub>2</sub>、OI、平均动脉压、中心静脉压水平均持续升高( $P$ 均 $<0.01$ ),且治疗24 h后观察组心率低于对照组,PaO<sub>2</sub>、OI、平均动脉压、中心静脉压水平高于对照组( $t/P=3.351/0.001, 2.678/0.009, 2.409/0.018, 3.929/<0.001, 3.443/0.001$ );2组病死率比较差异无统计学意义( $P=1.000$ )。**结论** 人血白蛋白联合目标导向性补液治疗脓毒性休克合并ARDS患者,可缩短机械通气时间及液体负平衡时间,提高血清白蛋白水平,减少蛋白渗漏,改善血流动力学及血气状态,减轻炎症反应,具有临床应用价值。

**【关键词】** 脓毒性休克;急性呼吸窘迫综合征;目标导向性补液;人血白蛋白;血流动力学

**【中图分类号】** R631<sup>+</sup>.4 **【文献标识码】** A

**Effect of human albumin combined with targeted fluid infusion on septic shock complicated with acute respiratory distress syndrome** Wang Lei, Li Ji, Tang Juan, Chen Chunman. Department of Critical Care Medicine, Hainan Cancer Hospital, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Li Ji, E-mail: ggglji@163.com

Funding program: Hainan Health Industry Scientific Research Project (20A200151)

**【Abstract】 Objective** To analyze the effect of human serum albumin combined with targeted fluid infusion on septic shock patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** From February 2020 to October 2021, 76 patients with septic shock and ARDS diagnosed and treated by the Department of Severe Medicine of Hainan Cancer Hospital were selected. They were randomly divided into control group and observation group with 38 patients in each group. Routine intervention was carried out in both groups, in which target oriented fluid infusion was used in the control group, and human serum albumin was infused in the observation group on the basis of the control group. The time spent in intensive care unit (ICU), mechanical ventilation time, norepinephrine dosage and fluid infusion volume of the two groups were counted; The fluid balance volume, blood gas status [arterial partial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>), oxygenation index (OI)], hemodynamic changes (heart rate, mean arterial pressure, central venous pressure) and fluid negative balance time were recorded at 6h, 12h and 24h after treatment. Serum albumin level, inflammatory index [C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT)] and alveolar lavage fluid

albumin level were measured before and 24 hours after treatment, and the mortality of the two groups was compared one month later. **Results** The time of mechanical ventilation and the amount of fluid infusion in the observation group were significantly lower than those in the control group ( $t/P=6.801/< 0.001, 17.383/< 0.001$ ). There was no significant difference between the two groups in the time spent in the ICU and the amount of norepinephrine ( $P>0.05$ ); The fluid balance in both groups was positive at 6h, increased at 12h, decreased significantly at 24h ( $F/P=46.986/< 0.001, 39.492/< 0.001$ ), and the fluid balance in the observation group was lower than that in the control group ( $t/P=6.608/<0.001$ ), and the time of negative fluid balance was shorter than that in the control group ( $t/P=5.406/< 0.001$ ); After 24 hours of treatment, the serum albumin in the observation group was higher than that in the control group ( $t/P=5.314/<0.001$ ), and the levels of albumin in alveolar lavage fluid, CRP and PCT in serum were lower than those in the control group ( $t/P=3.485/0.001, 2.288/0.025, 2.361/0.021$ ); At 6,12 and 24 hours after treatment, the heart rate of the two groups continued to decrease, and PaO<sub>2</sub>, OI, mean arterial pressure and central venous pressure increased on average ( $P<0.01$ ). After 24 h treatment, the heart rate of the observation group was lower than that of the control group, and the levels of PaO<sub>2</sub>, OI, mean arterial pressure and central venous pressure were higher than those of the control group ( $t/P=3.351/0.001, 2.678/0.009, 2.409/0.018, 3.929/<0.001, 3.443/0.001$ ); There was no significant difference in mortality between the two groups ( $P=1.000$ ). **Conclusion** The combination of human serum albumin and targeted fluid infusion in the treatment of septic shock with ARDS can shorten the time of mechanical ventilation and liquid negative balance, increase the level of serum albumin, reduce protein leakage, improve hemodynamics and blood gas status, and reduce inflammatory reaction, which has clinical application value.

**【Key words】** Septic shock; Acute respiratory distress syndrome ; Goal-directed fluids; Human albumin; Hemodynamics

脓毒性休克(septic shock)是脓毒症引发组织灌注不足导致的综合征,其中 25% ~ 50% 患者合并急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)<sup>[1]</sup>。补液是改善机体低灌注的关键方案,对促使循环血容量恢复有重要意义,但补液不足或过量均可增加死亡风险,且脓毒性休克合并 ARDS 患者在进行液体复苏时易加剧肺水肿,组织缺氧风险高。目标导向性补液可根据患者血流动力学变化调整补液量,可为临床治疗方案制定提供合理依据,该方案中“尽可能将监测指标控制在正常范围内以提高救治效率”的思路是脓毒症/脓毒性休克的主要治疗原则。近年来有研究认为,低蛋白血症是导致脓毒症疾病患者预后较差的重要因素,纠正低蛋白血症对改善患者器官功能有明显收益<sup>[2]</sup>。现分析人血白蛋白联合目标导向性补液对脓毒性休克合并 ARDS 患者的临床疗效,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 2 月—2021 年 10 月海南省肿瘤医院重症医学科诊治脓毒性休克合并 ARDS 患者 76 例,以区组随机分组法分为对照组、观察组,各 38 例。2 组性别、年龄、病程、家族史、吸烟史、饮酒史、既往治疗史、冠心病、高血压、糖尿病、代偿期/失代偿期、感染部位、急性生理与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)、序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)、红细胞计数(RBC)、血小板计数(PLT)、白细胞计数(WBC)、血肌酐(SCr)比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性,见表 1。

本研究经医院伦理委员会批准(20200108012),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

表 1 对照组与观察组临床资料比较

Tab.1 Comparison of clinical data between the control group and the observation group

| 项 目                                      | 对照组<br>(n=38)      | 观察组<br>(n=38)      | $\chi^2/t$ 值 | P 值   |
|--|--------------------|--------------------|--------------|-------|
| 男/女(例)                                   | 24/14              | 21/17              | 0.490        | 0.484 |
| 年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)                 | 57.51 $\pm$ 7.66   | 59.38 $\pm$ 7.28   | 1.091        | 0.279 |
| 病程( $\bar{x} \pm s$ , d)                 | 3.89 $\pm$ 0.88    | 3.75 $\pm$ 0.91    | 0.682        | 0.498 |
| 家族史[例(%)]                                | 3(7.89)            | 1(2.63)            | 0.264        | 0.608 |
| 吸烟史[例(%)]                                | 10(26.32)          | 8(21.05)           | 0.291        | 21.05 |
| 饮酒史[例(%)]                                | 6(15.79)           | 7(18.42)           | 0.093        | 0.761 |
| 既往治疗史[例(%)]                              | 2(5.26)            | 1(2.63)            | 0.000        | 1.000 |
| 冠心病[例(%)]                                | 3(7.89)            | 4(10.53)           | 0.000        | 1.000 |
| 高血压[例(%)]                                | 8(21.05)           | 10(26.32)          | 0.291        | 0.590 |
| 糖尿病[例(%)]                                | 6(15.79)           | 4(10.53)           | 0.461        | 0.497 |
| 代偿期/失代偿期                                 | 22/16              | 20/18              | 0.213        | 0.645 |
| 感染部位 皮肤软组织                               | 3(7.89)            | 2(5.26)            | 1.089        | 0.780 |
| [例(%)] 胸腹部                               | 22(57.90)          | 23(60.53)          |              |       |
| 尿道                                       | 11(28.95)          | 9(23.68)           |              |       |
| 其他                                       | 2(5.26)            | 4(10.53)           |              |       |
| APACHEII评分( $\bar{x} \pm s$ , 分)         | 26.23 $\pm$ 3.06   | 25.65 $\pm$ 2.84   | 0.856        | 0.395 |
| SOFA 评分( $\bar{x} \pm s$ , 分)            | 9.94 $\pm$ 2.82    | 10.23 $\pm$ 2.44   | 0.479        | 0.633 |
| RBC( $\bar{x} \pm s, \times 10^{12}/L$ ) | 3.09 $\pm$ 0.37    | 3.18 $\pm$ 0.41    | 1.005        | 0.318 |
| PLT( $\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$ )    | 110.09 $\pm$ 34.07 | 116.53 $\pm$ 36.34 | 0.845        | 0.400 |
| WBC( $\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$ )    | 11.04 $\pm$ 3.03   | 12.21 $\pm$ 3.81   | 1.482        | 0.143 |
| SCr( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol}/L$ )  | 101.86 $\pm$ 28.76 | 108.09 $\pm$ 25.06 | 1.007        | 0.317 |

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:符合脓毒性休克及 ARDS 诊断标准<sup>[3-4]</sup>;有明确感染灶,且合并全身炎

性反应综合征;年龄 > 18 岁;住重症监护病房(intensive care unit, ICU)时间 > 24 h。(2) 排除标准:股动脉置管禁忌;慢性肾功能不全史;入院前发生急性肾损伤;入院 24 h 死亡;治疗 28 d 自主终止治疗或失访;精神疾病史;需立即进行手术;合并终末期疾病;心源性休克;年龄 > 75 岁;合并肺栓塞、肺不张或经肺叶切除术治疗;凝血功能障碍;存在活动性出血;危及生命的低氧血症;锁骨下或右颈内静脉留置中心静脉导管禁忌。

1.3 治疗方法 2 组均常规干预。在常规干预基础上对照组采用目标导向性补液治疗:常规评估患者血乳酸、平均动脉压、中心静脉压及血氧饱和度水平,入住 ICU 后首次检测,此后 6、12、24 h 分别检测,若进行额外干预则需在干预后 30 min 进行检测;根据检测结果进行补液(生理盐水注射液),维持中心静脉压 8 ~ 12 mmHg,而后静脉泵注去甲肾上腺素维持平均动脉压 > 65 mmHg;中心静脉压及平均动脉压达标后,若血乳酸清除率 < 10%、中心静脉血氧饱和度 < 70% 则给予多巴酚丁胺 5 ~ 15  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。观察组在对照组基础上输注人血白蛋白(20%),先输注生理盐水注射液,后输注人血白蛋白。2 组进行补液时均遵循“先快后慢、少量多次”原则。2 组均在末次补液 8 h 后进行肺泡灌洗。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 临床治疗观察:记录 2 组患者住 ICU 时间、机械通气时间、去甲肾上腺素用量、补液量等。

1.4.2 液体平衡变化:治疗 6、12、24 h 记录 2 组液体平衡变化情况及液体负平衡时间。液体平衡量 = 入量 - 出量。入量包括鼻饲或口入总量、静脉补液量,出量包括尿量、引流量、经消化道丢失量。

1.4.3 白蛋白检测:检测血清白蛋白及肺泡灌洗液白蛋白水平。采集患者治疗前及治疗 24 h 空腹静脉血 4 ml,肺泡灌洗后采集肺泡灌洗液,均离心留取上层液体,选择 e-1080 全自动酶联免疫分析仪及配套试剂盒(上海聚慕医疗器械有限公司)以酶联免疫法检测白蛋白水平。

1.4.4 炎症因子检测:治疗前及治疗 24 h 采集空腹静脉血 4 ml,离心采集血清,选择 e-1080 全自动酶联免疫分析仪及配套试剂盒以酶联免疫法检测 C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)水平。

1.4.5 血气分析检测:治疗前及治疗 6、12、24 h 采用德国西门子 RAPIDPoint500 血气分析仪检测动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)、氧合指数(OI)。

1.4.6 血流动力学检测:治疗前及治疗 6、12、24 h 以德国 PULSION 公司生产的 PICCO 监测仪进行血流动力学监测,记录心率、平均动脉压、中心静脉压。

1.4.7 随访预后:统计 2 组治疗后 1 个月死亡情况,计算病死率。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件处理数据。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组内比较采用配对 *t* 检验,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间、多时间点比较采用重复测量方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验(其中病死率以 Fisher 确切概率法计算)。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组治疗相关指标比较 观察组机械通气时间、补液量低于对照组(P < 0.05),2 组患者住 ICU 时间、去甲肾上腺素用量比较,差异无统计学意义(P > 0.05),见表 2。

2.2 2 组液体平衡量及负平衡时间比较 2 组治疗 6 h 后液体平衡量均为正平衡,治疗 12 h 后有所提高,治疗 24 h 后明显下降(P < 0.01),且治疗后观察组均低于对照组(P < 0.01),见表 3。观察组液体负平衡时间短于对照组[(2.54 ± 0.81)d vs. (3.71 ± 1.06)d](*t* = 5.406, P < 0.001)。

2.3 2 组治疗前后白蛋白水平比较 与治疗前比较,治疗 24 h 观察组血清白蛋白显著升高,对照组降低(P 均 < 0.01),且观察组高于对照组(P < 0.01),见表 4。观察组肺泡灌洗液白蛋白低于对照组,差异有统计学意义[(1.42 ± 0.46) mg/ml vs. (1.80 ± 0.49) g/L](*t*/P = 3.485/0.001)。

表 2 对照组与观察组治疗相关指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of treatment related indicators between the control group and the observation group

| 组别         | 例数 | 住 ICU 时间(d)  | 机械通气时间(h)      | 去甲肾上腺素用量( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) | 补液量(ml)           |
|------------|----|--------------|----------------|--|-------------------|
| 对照组        | 38 | 17.29 ± 5.14 | 174.36 ± 22.19 | 1.14 ± 0.36  | 6 034.69 ± 546.71 |
| 观察组        | 38 | 15.58 ± 4.67 | 142.38 ± 18.65 | 1.08 ± 0.33  | 4 126.84 ± 398.57 |
| <i>t</i> 值 |    | 1.518        | 6.801          | 0.757  | 17.383            |
| <i>P</i> 值 |    | 0.133        | <0.001         | 0.451  | <0.001            |

**表 3** 对照组、观察组治疗 6、12、24 h 液体平衡量比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{ml}$ )

**Tab. 3** Comparison of fluid balance time recorded at 6h, 12h and 24h after treatment between the control group and the observation group

| 组别               | 时间      | 液体平衡量             |
|------------------|---------|-------------------|
| 对照组<br>(n=38)    | 治疗 6 h  | 641.08 ± 168.42   |
|                  | 治疗 12 h | 1 037.65 ± 233.46 |
|                  | 治疗 24 h | 876.61 ± 181.29   |
| 观察组<br>(n=38)    | 治疗 6 h  | 443.57 ± 151.69   |
|                  | 治疗 12 h | 825.07 ± 195.03   |
|                  | 治疗 24 h | 612.13 ± 167.35   |
| F/P 对照组内值        |         | 46.986/ <0.001    |
| F/P 观察组内值        |         | 39.492/ <0.001    |
| t/P 治疗 24 h 后组间值 |         | 6.608/ <0.001     |

**表 4** 对照组与观察组治疗前后血清白蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{g/L}$ )

**Tab. 4** Comparison of serum albumin levels between the control group and the observation group before and after treatment

| 组别              | 时间      | 白蛋白           |
|-----------------|---------|---------------|
| 对照组<br>(n=38)   | 治疗前     | 30.48 ± 2.93  |
|                 | 治疗 24 h | 28.44 ± 3.02  |
| 观察组<br>(n=38)   | 治疗前     | 30.15 ± 2.76  |
|                 | 治疗 24 h | 31.87 ± 2.59  |
| t/P 对照组内值       |         | 2.989/ 0.004  |
| t/P 观察组内值       |         | 2.801/ 0.007  |
| t/P 治疗 24 h 组间值 |         | 5.314/ <0.001 |

**2.4 2 组治疗前后血清炎性指标比较** 与治疗前比较,治疗 24 h 2 组血清 CRP、PCT 水平均降低,且观察组低于对照组 ( $P < 0.05$ ),见表 5。

**表 5** 对照组与观察组治疗前后血清炎性指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab. 5** Comparison of serum inflammatory indicators between the control group and the observation group before and after treatment

| 组别              | 时间      | CRP(mg/L)      | PCT(μg/L)      |
|-----------------|---------|----------------|----------------|
| 对照组<br>(n=38)   | 治疗前     | 191.38 ± 40.07 | 6.14 ± 0.65    |
|                 | 治疗 24 h | 155.29 ± 30.72 | 3.36 ± 0.51    |
| 观察组<br>(n=38)   | 治疗前     | 182.67 ± 32.03 | 6.26 ± 0.71    |
|                 | 治疗 24 h | 140.06 ± 27.21 | 3.08 ± 0.46    |
| t/P 对照组内值       |         | 4.337/ <0.001  | 13.313/ <0.001 |
| t/P 观察组内值       |         | 6.250/ <0.001  | 15.916/ <0.001 |
| t/P 治疗 24 h 组间值 |         | 2.288/ 0.025   | 2.513/ 0.014   |

**2.5 2 组治疗前后血气分析比较** 与治疗前比较,治疗 6、12、24 h 2 组 PaO<sub>2</sub>、OI 依次提高,且观察组均高于对照组 ( $P < 0.01$ ),见表 6。

**表 6** 对照组与观察组治疗前后血气状态比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{mmHg}$ )

**Tab. 6** Comparison of blood gas status between the control group and the observation group before and after treatment

| 组别               | 时间      | PaO <sub>2</sub> | OI             |
|------------------|---------|------------------|----------------|
| 对照组<br>(n=38)    | 治疗前     | 58.31 ± 9.05     | 156.02 ± 24.31 |
|                  | 治疗 6 h  | 65.59 ± 7.28     | 186.35 ± 26.15 |
|                  | 治疗 12 h | 72.06 ± 7.11     | 215.88 ± 30.04 |
| 观察组<br>(n=38)    | 治疗 24 h | 76.02 ± 6.59     | 233.81 ± 32.81 |
|                  | 治疗前     | 56.82 ± 8.29     | 150.06 ± 21.06 |
|                  | 治疗 6 h  | 69.41 ± 8.15     | 199.72 ± 22.57 |
|                  | 治疗 12 h | 76.08 ± 7.64     | 235.67 ± 33.06 |
|                  | 治疗 24 h | 80.21 ± 7.04     | 252.73 ± 35.61 |
| F/P 对照组内值        |         | 40.072/ <0.001   | 54.816/ <0.001 |
| F/P 观察组内值        |         | 65.641/ <0.001   | 94.817/ <0.001 |
| t/P 治疗 24 h 后组间值 |         | 2.678/ 0.009     | 2.409/ 0.018   |

**2.6 2 组治疗前后血流动力学比较** 与治疗前比较,治疗 6、12、24 h 2 组心率依次降低,平均动脉压、中心静脉压水平依次提高,且观察组改善程度优于对照组 ( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 7。

**表 7** 对照组与观察组治疗前后血流动力学比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab. 7** Comparison of hemodynamics between the control group and the observation group before and after treatment

| 组别               | 时间      | 心率<br>(次/min)   | 平均动脉压<br>(mmHg) | 中心静脉压<br>(mmHg) |
|------------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 对照组<br>(n=38)    | 治疗前     | 121.06 ± 11.35  | 55.29 ± 4.57    | 7.28 ± 1.44     |
|                  | 治疗 6 h  | 107.34 ± 9.63   | 64.16 ± 4.42    | 7.83 ± 1.19     |
|                  | 治疗 12 h | 96.22 ± 9.51    | 68.30 ± 4.28    | 8.67 ± 1.12     |
| 观察组<br>(n=38)    | 治疗 24 h | 89.36 ± 8.41    | 73.35 ± 5.74    | 9.79 ± 1.41     |
|                  | 治疗前     | 123.58 ± 10.74  | 54.38 ± 4.26    | 7.06 ± 1.51     |
|                  | 治疗 6 h  | 101.75 ± 10.43  | 68.91 ± 4.81    | 8.49 ± 1.26     |
|                  | 治疗 12 h | 90.37 ± 8.66    | 73.14 ± 4.53    | 10.07 ± 1.31    |
|                  | 治疗 24 h | 83.22 ± 7.54    | 78.47 ± 5.62    | 10.85 ± 1.27    |
| F/P 对照组内值        |         | 76.543/ <0.001  | 97.653/ <0.001  | 27.241/ <0.001  |
| F/P 观察组内值        |         | 133.541/ <0.001 | 174.062/ <0.001 | 60.351/ <0.001  |
| t/P 治疗 24 h 后组间值 |         | 3.351/ 0.001    | 3.929/ <0.001   | 3.443/ 0.001    |

**2.7 2 组病死率比较** 治疗后 1 个月,观察组未出现死亡病例,对照组死亡 2 例(5.26%),2 组病死率比较差异无统计学意义 ( $P = 1.000$ )。

### 3 讨论

液体复苏是脓毒性休克治疗的重要措施,补液的目的旨在提供有效循环量,确保器官、组织有效灌注,维持机体内环境稳定<sup>[5]</sup>。目标导向性补液是根据患者血流动力学变化进行有计划、有目标的补液方案,部分研究表明其在改善组织灌注、促进血流动力学稳定方面具有积极效果,过去十几年在脓毒症/脓毒性休克

患者液体复苏方案中居于主导地位<sup>[6-7]</sup>。但国外相关报道指出<sup>[8-10]</sup>,目标导向性液体复苏治疗脓毒症/脓毒性休克患者的收益情况仍存在一定争议,如何进一步提高治疗效果是临床研究重点方向。白蛋白是天然胶体,具有抗炎、抗氧化、提高血浆胶体渗透压、维持酸碱平衡等多种生物学作用,近年来关于在液体复苏基础上联合白蛋白输注的研究不断增多<sup>[11-13]</sup>。

脓毒性休克合并 ARDS 可导致全身炎症反应综合征,分泌大量 CRP、PCT、I 型干扰素、肿瘤坏死因子- $\alpha$  等炎症介质,通过炎症级联反应损伤肺泡,提高肺微血管通透性,造成蛋白渗漏,诱导出现低蛋白血症<sup>[14-16]</sup>。白蛋白是急性时相炎症反应蛋白,出现炎症反应后其浓度迅速降低,有研究指出<sup>[17-18]</sup>,低蛋白血症是导致感染性休克患者出现心肌损伤的独立危险因素;另有报道表明<sup>[19-20]</sup>,血清白蛋白水平降低会增加脓毒症患者死亡风险。本研究采用人血白蛋白联合目标导向性补液治疗脓毒性休克合并 ARDS 患者,结果显示在目标导向治疗基础上联合人血白蛋白有助于提高患者血清白蛋白水平,改善肺毛细血管蛋白渗漏症状,减轻炎症反应,改善血气状态,其原因可能在于血清白蛋白水平提高可增加胶体渗透压,对降低毛细血管通透性有一定作用,从而减少蛋白渗漏,改善通气。

脓毒性休克合并 ARDS 发病后由于病原微生物大量繁殖而导致微循环障碍,促使细胞外液分布异常,导致血小板聚集及毛细血管渗漏,影响血流动力学<sup>[21]</sup>。目标导向性补液可保持循环血量,纠正组织缺氧及低灌注,可在一定程度上平衡血流动力学。常规补液一般以生理盐水、林格氏液为主,但本研究发现,在生理盐水基础上联合人血白蛋白可进一步改善血流动力学指标。目前临床研究一致认为<sup>[22-23]</sup>,尽快达到液体负平衡状态对改善脓毒症/脓毒性休克患者预后、降低病死率有积极作用。有数据证实<sup>[24]</sup>液体平衡量为 -500 ml/d 对脓毒性休克患者收益最大。本研究发现,观察组液体平衡量及补液量均较低,且能缩短液体负平衡时间及机械通气时间,说明人血白蛋白联合目标导向性补液对改善患者预后积极作用。分析其机制在于:白蛋白联合生理盐水可明显提高胶体渗透压,诱导组织间隙水分向血管反流,既能改善血流动力学,又有助于调节液体平衡;同时白蛋白能提高内皮细胞活性,削弱中性粒细胞黏附性,降低毛细血管通透性,对预防水肿有积极作用。另外,2 组治疗后 1 个月病死率比较差异无统计学意义,可能与本研究所选病例偏少有关,有待临床多中心选取病例进一步分析输注人血白蛋白对脓毒性休克合并 ARDS 患者的生存收益价值。

综上,人血白蛋白应用于脓毒性休克合并 ARDS 患者具有一定价值,联合目标导向性补液可减少液体平衡量及补液量,促使快速达到液体负平衡,且能改善血流动力学,提高血清白蛋白水平,减轻炎症反应,改善血气状态,减少蛋白渗漏,缩短机械通气时间。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

王磊:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李冀:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;唐娟:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;陈春蔓:进行统计学分析

**参考文献**

- [1] 湛振业,蔡海荣,梁兴民,等. 脓毒症并发急性呼吸窘迫综合征的危险因素分析[J]. 山西医药杂志,2021,50(20):2896-2898. DOI:10.3969/j.issn.0253-9926.2021.20.012.
- Zhan ZY, Cai HY, Liang XM, et al. Analysis of risk factors of sepsis complicated with acute respiratory distress syndrome[J]. Shanxi Med J, 2021, 50(20):2896-2898. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2021.20.012.
- [2] 刘名胜,邢柏. 脓毒症性与非脓毒症性急性肾损伤行 CRRT 治疗患者临床特征及预后影响因素对比分析[J]. 山东医药,2020,60(14):60-64. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2020.14.018.
- Liu MS, Xing B. Comparative analysis of clinical characteristics and prognostic factors in patients with sepsis and non sepsis acute renal injury treated with CRRT[J]. Shandong Med J, 2020, 60(14):60-64. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2020.14.018.
- [3] 中国医师协会急诊医师分会,中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J]. 中国急救医学,2018,38(9):741-756. DOI:10.3969/j.issn.1002-1949.2018.09.001.
- Emergency Physician Branch of Chinese Medical Doctor Association, Shock and Sepsis Professional Committee of China Research Hospital Association. Chinese guidelines for emergency treatment of sepsis/septic shock (2018) [J]. Chin J Critical Care Med, 2018, 38(9):741-756. DOI:10.3969/j.issn.1002-1949.2018.09.001.
- [4] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断与治疗指南(2006)[J]. 中华内科杂志,2007,46(5):430-435. DOI:10.3760/j.issn:0578-1426.2007.05.037.
- Severe Medicine Branch of Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of acute lung injury/Acute respiratory distress syndrome(2006) [J]. Chin J Intren Med, 2007, 46(5):430-435. DOI:10.3760/j.issn:0578-1426.2007.05.037.
- [5] Tapia P, Gatica S, Cortés-Rivera C, et al. Circulating endothelial cells from septic shock patients convert to fibroblasts are associated with the resuscitation fluid dose and are biomarkers for survival prediction[J]. Crit Care Med, 2019, 47(7):942-950. DOI:10.1097/CCM.0000000000003778.
- [6] 孟德维,杨雅楠,褚雄兵. PiCCO 为导向的液体复苏策略在创伤性休克急性期中的应用评价[J]. 解放军预防医学杂志,2019,37(12):130-131. DOI:CNKI:SUN:JYYX.0.2019-12-052.
- Meng DW, Yang YN, Chu XB. Evaluation of PiCCO oriented fluid resuscitation strategy in the acute stage of traumatic shock [J]. J Pre-

- ventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2019, 37 (12): 130-131. DOI: CNKI; SUN: JYYX. 0. 2019-12-052.
- [7] 柯慧娟, 吴爽, 马琴琴, 等. 重症超声引导下液体复苏与早期目标导向治疗对复苏效果血流动力学和氧化代谢指标的影响[J]. 中国急救医学, 2021, 41 (8): 676-682. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-1949. 2021. 08. 006.
- Ke HJ, Wu S, Ma QQ, et al. Effects of ultrasound guided fluid resuscitation and early target oriented therapy on hemodynamics and oxygen metabolism [J]. Chin J Critical Care Med, 2021, 41 (8): 676-682. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-1949. 2021. 08. 006.
- [8] PRISM Investigators, Rowan KM, Angus DC, et al. Early, goal-directed therapy for septic shock - A patient-level Meta-analysis [J]. N Engl J Med, 2017, 376 (23): 2223-2234. DOI: 10. 1056/NEJMoa1701380.
- [9] Chen X, Zhu W, Tan J, et al. Early outcome of early-goal directed therapy for patients with sepsis or septic shock: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Oncotarget, 2017, 8(16): 27510-27519. DOI: 10. 1056/NEJMoa010307.
- [10] Winters ME, Sherwin R, Vilke GM, et al. Does early goal-directed therapy decrease mortality compared with standard care in patients with septic shock [J]. J Emerg Med, 2017, 52 (3): 379-384. DOI: 10. 1016/j. jemermed. 2016. 10. 028.
- [11] Tigabu BM, Davari M, Kebriaeezadeh A, et al. A Cost-effectiveness analysis of albumin in septic shock; A patient-level data analysis [J]. Clin Ther, 2019, 41 (11): 2297-2307. DOI: 10. 1016/j. clinthera. 2019. 08. 023.
- [12] Hariri G, Joffre J, Deryckere S, et al. Albumin infusion improves endothelial function in septic shock patients: A pilot study [J]. Intensive Care Med, 2018, 44(5): 669-671. DOI: 10. 1007/s00134-018-5075-2.
- [13] Park CHL, de Almeida JP, de Oliveira GQ, et al. Lactated Ringer's versus 4% Albumin on Lactated Ringer's in early sepsis therapy in cancer patients: A pilot single-center randomized trial [J]. Crit Care Med, 2019, 47 (10): e798-e805. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000003900.
- [14] 梁凌, 齐馨馨, 梁晓辉, 等. 红细胞分布宽度与血小板计数比值对成人脓毒症患者预后的判断价值[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(7): 690-693, 698. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 07. 010.
- Liang L, Qi XX, Liang XH, et al. The value of red blood cell distribution width and platelet count ratio in judging the prognosis of adult patients with sepsis [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20(7): 690-693, 698. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 07. 010.
- [15] 陈城, 崔静, 纪小奇, 等. 脓症患者预后危险因素分析[J]. 临床军医杂志, 2021, 49 (1): 61-63. DOI: 10. 16680/j. 1671-3826. 2021. 01. 18.
- [16] 邓慧兰, 韩文慧, 王辉, 等. 微小 RNA-145-5p 与脓毒症急性肺损伤的相关性研究 [J]. 临床内科杂志, 2021, 38 (8): 552-555. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 08. 016.
- Deng HL, Han WH, Wang H, et al. Study on the correlation between microRNA-145-5p and acute lung injury in sepsis [J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2021, 38(8): 552-555. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 08. 016.
- [17] 方翔, 王锦权, 陶小根, 等. 感染性休克引起心肌损伤的临床研究[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54 (5): 771-775. DOI: 10. 19405/j. cnki. issn1000-1492. 2019. 05. 023.
- Fang X, Wang JQ, Tao XY, et al. Clinical study of myocardial injury induced by septic shock [J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2019, 54 (5): 771-775. DOI: 10. 19405/j. cnki. issn1000-1492. 2019. 05. 023.
- [18] 张继松, 王聿明, 祁星, 等. 中性粒细胞膜脂蛋白对脓毒症/脓毒性休克患者预后的预测作用 [J]. 临床内科杂志, 2021, 38 (10): 662-665. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 10. 005.
- Zhang JS, Wang YM, Qi X, et al. Predictive effect of neutrophil gelatinase-associated apolipoprotein on prognosis in patients with sepsis/septic shock [J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2021, 38 (10): 662-665. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 10. 005.
- [19] 余丽萍, 徐剑, 邓晓静, 等. 白细胞、血小板以及血清白蛋白水平对老年脓毒症预后的评估价值 [J]. 实用老年医学, 2020, 34 (8): 786-788, 792. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-9198. 2020. 08. 008.
- She LP, Xu J, Deng XJ, et al. The prognostic value of leukocyte, platelet and serum albumin levels in elderly sepsis [J]. Pract Geriatr, 2020, 34(8): 786-788, 792. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-9198. 2020. 08. 008.
- [20] 周燕南, 周思颖, 慕婉晴, 等. 血清炎症标志物连续监测联合序贯器官衰竭评分对肺部感染所致脓症患者预后的评估价值 [J]. 中国临床医学, 2021, 28 (3): 364-369. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2021. 20202056.
- Zhou YN, Zhou SY, Mu WQ, et al. Evaluation of the prognosis of pneumonia induced sepsis by continuous detection of serum inflammatory markers combined with sequential organ failure assessment score [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021, 28 (3): 364-369. DOI: 10. 12025/j. issn. 1008-6358. 2021. 20202056.
- [21] 郑永信, 桑岭, 黎毅敏. 脓毒症相关急性呼吸窘迫综合征的研究进展 [J]. 临床内科杂志, 2021, 38 (9): 580-583. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 09. 002.
- Zheng YX, Sang L, Li YM. Advances in sepsis associated acute respiratory distress syndrome [J]. J Clinical Internal Medicine, 2021, 38(9): 580-583. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 09. 002.
- [22] Sakr Y, Rubatto Birri PN, Kotfis K, et al. Higher fluid balance increases the risk of death from sepsis: Results from a large international audit [J]. Crit Care Med, 2017, 45 (3): 386-394. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000002189.
- [23] Shen Y, Ru W, Huang X, et al. Time-related association between fluid balance and mortality in sepsis patients: Interaction between fluid balance and haemodynamics [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10390. DOI: 10. 1038/s41598-018-28781-4.
- [24] 徐彦立, 张思森, 刘青, 等. 早期充分液体复苏达标后不同液体负平衡对脓毒性休克预后的影响 [J]. 实用医学杂志, 2019, 35 (17): 2755-2760. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5725. 2019. 17. 017.
- Xu YL, Zhang SS, Liu Q, et al. Effect of different negative fluid balance on the prognosis of septic shock after early full fluid resuscitation [J]. J Clin Med, 2019, 35 (17): 2755-2760. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5725. 2019. 17. 017.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.007

论著·临床

# 基于决策曲线分析系统性炎症因子对 2 型糖尿病的预测价值

阿孜古丽·买合买提,米日古丽·吾木哈斯木,穆叶斯尔·哈斯木,李雪梅,潘亚丽

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2020D01C259)

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区妇幼保健院内分泌科

通信作者:米日古丽·吾木哈斯木,E-mail:1064032415@qq.com

**【摘要】目的** 基于决策曲线分析系统性炎症因子对 2 型糖尿病的预测价值。**方法** 选取 2021 年 1 月—2022 年 1 月新疆维吾尔自治区妇幼保健院内分泌科新诊断 2 型糖尿病患者 63 例为 2 型糖尿病组,同期医院健康体检者 51 例为健康对照组,比较 2 组临床资料及血清系统性炎症因子 [C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-6(IL-6)、IL-8、IL-1 $\beta$ 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)] 表达水平。采用多因素 Logistic 回归分析影响 2 型糖尿病的独立危险因素,受试者工作特征曲线(ROC)分析血清系统性炎症因子预测 2 型糖尿病的价值。绘制决策曲线,分析独立预测指标及联合预测模型预测 2 型糖尿病的净收益情况。**结果** 2 型糖尿病组患者体质量指数(BMI)、腰围、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)及三酰甘油(TG)明显高于健康对照组 [ $t(\chi^2)/P = 2.765/0.013, 2.858/0.011, 4.566/ <0.001, 3.675/ <0.001, 2.178/0.024$ ]; 2 型糖尿病组患者血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 及 MCP-1 表达水平明显高于健康对照组 ( $t/P = 4.513/ <0.001, 4.789/ <0.001, 5.698/ <0.001, 2.453/0.017, 2.378/0.019$ ); 多因素 Logistic 回归分析结果显示,CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 升高为 2 型糖尿病的独立危险因素 [ $OR(95\% CI) = 2.543(1.345 \sim 3.789), 2.167(1.145 \sim 3.578), 2.645(1.256 \sim 4.527)$ ]; ROC 曲线分析结果显示,CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 及三者联合预测 2 型糖尿病的曲线下面积(AUC)为 0.784、0.743、0.846、0.947,三者联合预测效能较单项指标高 ( $Z = 10.234, 12.992, 13.455, P$  均  $<0.001$ ); 决策曲线分析结果显示,在大多数合理阈值概率范围内,CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 及三者联合预测对 2 型糖尿病均具有良好的净获益。**结论** 血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 用于预测新诊断 2 型糖尿病具有较高的临床价值和净收益,并且联合预测的价值最高。

**【关键词】** 糖尿病,2 型;系统性炎症因子;决策曲线**【中图分类号】** R587.1**【文献标识码】** A

**Predictive value of systemic inflammatory factors in type 2 diabetes mellitus based on decision curve analysis** Aziguli · Maïhemaiti, Miriguli · Wumuhasimu, Muesier · Hasimu, Li Xuemei, Pan Yali. Department of Endocrinology, Xinjiang Uygur Autonomous Region Maternal and Child Health Hospital, Xinjiang Province, Urumqi 830001, China  
Corresponding author: Miriguli · Wumuhasimu, E-mail: 1064032415@qq.com  
Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2020D01C259)

**【Abstract】 Objective** To explore the predictive value of systemic inflammatory factors in type 2 diabetes based on decision curve. **Methods** From January 2021 to January 2022, 63 patients with type 2 diabetes newly diagnosed by the Endocrinology Department of Xinjiang Uygur Autonomous Region Maternal and Child Health Hospital were selected as the type 2 diabetes group, and 51 patients with hospital health examination at the same time were selected as the healthy control group. The clinical data and serum systemic inflammatory factors [C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6), IL-8, IL-1  $\beta$ , monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)] of the two groups were compared. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the independent risk factors affecting type 2 diabetes mellitus, and the value of serum systemic inflammatory factors in predicting type 2 diabetes mellitus was analyzed by the subject's work characteristic curve (ROC). Draw decision curve, analyze independent prediction index and joint prediction model to predict the net income of type 2 diabetes. **Results** Body mass index (BMI), waist circumference, insulin resistance index (HOMA-IR), glycosylated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) and triacylglycerol (TG) in patients with type 2 diabetes were significantly higher than those in healthy controls [ $t(\chi^2)/P = 2.765/0.013, 2.858/0.011, 4.566/ <0.001, 3.675/ <0.001, 2.178/0.024$ ], The expression levels of serum

CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 and MCP-1 in patients with type 2 diabetes mellitus were significantly higher than those in the healthy control group ( $t/P=4.513/<0.001, 4.789/<0.001, 5.698/<0.001, 2.453/0.017, 2.378/0.019$ ); The results of multi-factor logistic regression analysis showed that CRP and TNF- $\alpha$ , the increase of IL-6 was an independent risk factor for type 2 diabetes mellitus [ $OR(95\% CI)=2.543 (1.345-3.789), 2.167 (1.145-3.578), 2.645 (1.256-4.527)$ ]; ROC curve analysis results show that the area under the curve (AUC) of CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6 and the three combined predictors of type 2 diabetes mellitus was 0.784, 0.743, 0.846, 0.947, which was higher than that of single indicator ( $Z=10.234, 12.992, 13.455, P<0.001$ ); The analysis results of the decision curve show that within most reasonable threshold probabilities, CRP and TNF- $\alpha$ , IL-6 and their combined prediction have good net benefits for type 2 diabetes. **Conclusion** Serum CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6 has a high clinical value and net income in predicting newly diagnosed type 2 diabetes mellitus, and the value of joint prediction is the highest.

**【Key words】** Diabetes, type 2; Systemic inflammatory factors; Decision curve

2 型糖尿病是临床上最常见的内分泌疾病,其主要发病机制与胰岛素抵抗、胰岛  $\beta$  细胞功能受损、胰岛素分泌不足和全身低度的炎性反应状态密切相关<sup>[1-2]</sup>。国际糖尿病联合会相关流行病学调查结果显示,截至 2019 年全球共有 4.87 亿成年人患有糖尿病,预计到 2045 年将达 6.93 亿,未来这一数字还将持续增长,因此糖尿病已成为严重威胁人类健康的公共卫生问题<sup>[3]</sup>。我国成人糖尿病患病率为 22.7%,其中 90% 以上为 2 型糖尿病,糖尿病发病率的不断增长,长期高血糖可引发血管内皮功能障碍、动脉粥样硬化及糖尿病肾病,成为糖尿病致死率和致残率居高不下的主要原因<sup>[4-6]</sup>。因此,早期发现 2 型糖尿病的危险因素,并对其进行干预,对于降低糖尿病的发病率和致死率具有重要的意义。相关研究显示<sup>[7]</sup>,全身低度炎性反应可以激活蛋白 B 抗体,导致胰岛素信号转导受阻诱发胰岛素抵抗产生高血糖。Zaidi 等<sup>[8]</sup>研究也显示,由于长期高血糖状态,糖尿病前期患者体内可释放大量炎性因子,炎性因子相互作用可引起炎性级联反应,促进糖尿病的发生发展。本研究通过检测新诊断 2 型糖尿病患者血清系统性炎症因子表达水平,拟探讨系统性炎症因子对 2 型糖尿病的预测价值,现报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 1 月—2022 年 1 月新疆维吾尔自治区妇幼保健院内分泌科新诊断 2 型糖尿病患者 63 例为 2 型糖尿病组,同期医院健康体检者 51 例为健康对照组。2 型糖尿病组患者体质量指数 (BMI)、腰围、胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)、糖化血红蛋白 (HbA<sub>1c</sub>) 及三酰甘油 (TG) 明显高于健康对照组 ( $P<0.05$ ),而 2 组受试者性别、年龄、吸烟史、饮酒史、高血压、冠心病、脑梗死、糖尿病家族史、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 比较,差异无统计学意义 ( $P>$

0.05),见表 1。本研究经医院伦理委员会批准 (K20201224285),受试者及家属均知情同意并签署知情同意书。

表 1 健康对照组与 2 型糖尿病组临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between healthy control group and type 2 diabetes group

| 项 目                                      | 健康对照组<br>( $n=51$ ) | 2 型糖尿病组<br>( $n=63$ ) | $t/\chi^2$ 值 | $P$ 值  |
|--|---------------------|-----------------------|--------------|--------|
| 性别(男/女)                                  | 34/17               | 46/17                 | 0.954        | 0.217  |
| 年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)                   | 52.5 $\pm$ 5.4      | 53.3 $\pm$ 6.1        | 0.456        | 0.678  |
| BMI( $\bar{x}\pm s$ ,kg/m <sup>2</sup> ) | 22.4 $\pm$ 1.8      | 25.8 $\pm$ 2.1        | 2.765        | 0.013  |
| 腰围( $\bar{x}\pm s$ ,cm)                  | 77.5 $\pm$ 4.2      | 84.3 $\pm$ 4.9        | 2.858        | 0.011  |
| 吸烟史[例(%)]                                | 12(23.53)           | 20(31.75)             | 0.567        | 0.578  |
| 饮酒史[例(%)]                                | 10(19.61)           | 23(36.51)             | 0.874        | 0.314  |
| 高血压[例(%)]                                | 8(15.69)            | 13(20.63)             | 0.823        | 0.345  |
| 冠心病[例(%)]                                | 5(9.80)             | 10(15.87)             | 0.321        | 0.724  |
| 脑梗死[例(%)]                                | 5(9.80)             | 8(12.70)              | 0.264        | 0.883  |
| 糖尿病家族史[例(%)]                             | 9(17.65)            | 16(25.40)             | 0.487        | 0.634  |
| HOMA-IR( $\bar{x}\pm s$ )                | 1.5 $\pm$ 0.3       | 4.7 $\pm$ 0.6         | 4.566        | <0.001 |
| HbA <sub>1c</sub> ( $\bar{x}\pm s$ ,%)   | 5.1 $\pm$ 0.3       | 7.7 $\pm$ 0.5         | 3.675        | <0.001 |
| TG( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)              | 1.3 $\pm$ 0.2       | 1.8 $\pm$ 0.4         | 2.178        | 0.024  |
| TC( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)              | 4.3 $\pm$ 0.7       | 4.8 $\pm$ 0.9         | 1.564        | 0.093  |
| LDL-C( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)           | 2.4 $\pm$ 0.3       | 2.6 $\pm$ 0.4         | 1.019        | 0.187  |
| HDL-C( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)           | 1.6 $\pm$ 0.3       | 1.3 $\pm$ 0.3         | 0.964        | 0.289  |

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:首次诊断 2 型糖尿病患者;确诊前未口服任何降糖药物或注射任何胰岛素进行治疗。(2) 排除标准:1 型糖尿病;妊娠期糖尿病;存在严重的精神障碍;合并恶性肿瘤;合并自身免疫性疾病服用激素治疗者;入组时合并急慢性感染。1.3 系统性炎症因子检测 糖尿病患者入组后、健康对照组体检当日采集空腹肘静脉血 5 ml,室温下放置 10 min,然后离心取上清液,并置于低温冰箱中保存待测。采用免疫比浊法检测 C 反应蛋白 (CRP),试剂盒购自上海谷研生物科技有限公司;使用 HM-SY96S 酶联免疫分析仪 (山东恒美电子科技有限公司) 采用酶

联免疫吸附 (ELISA) 法检测血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-6 (IL-6)、IL-1 $\beta$ 、IL-8 及单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 表达水平,试剂盒购自北京世纪沃德生物科技有限公司。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计学软件对数据进行分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料以频数或率 (%) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用多因素 Logistic 回归分析影响 2 型糖尿病的因素;绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 分析炎症因子预测 2 型糖尿病的临床价值,并计算曲线下面积 (AUC);采用 R4.1.2 统计分析软件,以独立预测因素预测 2 型糖尿病的净受益率为纵坐标,高风险阈值为横坐标,绘制决策曲线,分析独立预测指标及联合预测模型预测 2 型糖尿病的净收益情况。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组血清系统性炎症因子表达水平比较 2 型糖尿病组患者血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 及 MCP-1 表达水平明显高于健康对照组 ( $P < 0.05$ ),而 2 组血清 IL-1 $\beta$  表达水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 健康对照组与 2 型糖尿病组血清系统性炎症因子表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of the expression level of serum systemic inflammatory factors between healthy control group and type 2 diabetes group

| 项目                   | 健康对照组 (n=51)    | 2 型糖尿病组 (n=63)  | $t/\chi^2$ 值 | P 值    |
|----------------------|-----------------|-----------------|--------------|--------|
| CRP (mg/L)           | 1.4 $\pm$ 0.2   | 2.5 $\pm$ 0.4   | 4.513        | <0.001 |
| TNF- $\alpha$ (ng/L) | 16.3 $\pm$ 4.2  | 26.7 $\pm$ 5.7  | 4.789        | <0.001 |
| IL-6 (ng/L)          | 10.5 $\pm$ 2.1  | 17.8 $\pm$ 3.5  | 5.698        | <0.001 |
| IL-8 (ng/L)          | 31.5 $\pm$ 6.2  | 37.6 $\pm$ 6.8  | 2.453        | 0.017  |
| IL-1 $\beta$ (ng/L)  | 20.1 $\pm$ 3.8  | 25.2 $\pm$ 4.7  | 1.876        | 0.075  |
| MCP-1 (ng/L)         | 100.3 $\pm$ 8.4 | 126.7 $\pm$ 9.7 | 2.378        | 0.019  |

2.2 影响 2 型糖尿病的多因素 Logistic 回归分析 以是否为 2 型糖尿病为因变量,以上述结果中有统计学意义的指标: BMI、腰围、HOMA-IR、TG、HbA<sub>1c</sub>、CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 及 MCP-1 为自变量代入多因素 Logistic 回归模型,结果显示,CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 升高为 2 型糖尿病的危险因素 ( $P < 0.05$ ),见表 3。

2.3 系统性炎症因子预测 2 型糖尿病的价值 以是否为 2 型糖尿病为状态变量,以 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 为检验变量,绘制 ROC 曲线,结果显示,血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 及三者联合预测 2 型糖尿病的曲线下面积为

0.784、0.743、0.846、0.947,三者联合预测 2 型糖尿病的价值大于各自单独预测者 ( $Z = 10.234, 12.992, 13.455, P$  均  $< 0.001$ ),见表 4、图 1。

表 3 影响 2 型糖尿病的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3 Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting type 2 diabetes

| 变量                | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | P 值    | OR 值  | 95% CI        |
|-------------------|-----------|-------|--------|--------|-------|---------------|
| CRP               | 0.895     | 0.332 | 8.766  | 0.005  | 2.543 | 1.345 ~ 3.789 |
| BMI               | 0.356     | 0.112 | 1.998  | 0.187  | 1.134 | 0.844 ~ 1.387 |
| 腰围                | 0.326     | 0.089 | 1.344  | 0.245  | 1.097 | 0.785 ~ 1.267 |
| HOMA-IR           | 0.456     | 0.126 | 2.889  | 0.132  | 1.567 | 0.935 ~ 1.976 |
| TG                | 0.512     | 0.114 | 3.144  | 0.084  | 1.784 | 0.912 ~ 1.894 |
| HbA <sub>1c</sub> | 0.623     | 0.234 | 3.215  | 0.072  | 2.017 | 0.965 ~ 2.287 |
| TNF- $\alpha$     | 0.783     | 0.256 | 6.456  | 0.011  | 2.167 | 1.145 ~ 3.578 |
| IL-8              | 0.574     | 0.218 | 3.472  | 0.063  | 1.994 | 0.943 ~ 2.757 |
| MCP-1             | 0.552     | 0.177 | 2.768  | 0.156  | 1.882 | 0.969 ~ 2.549 |
| IL-6              | 0.955     | 0.456 | 12.347 | <0.001 | 2.645 | 1.256 ~ 4.527 |

表 4 系统性炎症因子预测 2 型糖尿病的价值比较

Tab. 4 Comparison of the value of systemic inflammatory factors in predicting type 2 diabetes

| 变量            | Cut-off 值 | AUC   | 95% CI        | 敏感度   | 特异度   | Youden 指数 |
|---------------|-----------|-------|---------------|-------|-------|-----------|
| CRP           | 2.1 mg/L  | 0.784 | 0.752 ~ 0.875 | 0.845 | 0.812 | 0.657     |
| TNF- $\alpha$ | 22.4 ng/L | 0.743 | 0.682 ~ 0.854 | 0.826 | 0.774 | 0.600     |
| IL-6          | 14.4 ng/L | 0.846 | 0.783 ~ 0.912 | 0.895 | 0.865 | 0.760     |
| 三者联合          | —         | 0.947 | 0.916 ~ 0.985 | 0.945 | 0.882 | 0.827     |

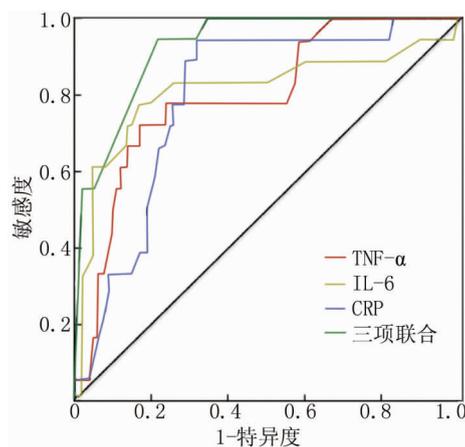


图 1 系统性炎症因子预测 2 型糖尿病的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of systemic inflammatory factors predicting type 2 diabetes

2.4 系统性炎症因子预测 2 型糖尿病的决策曲线 绘制决策曲线分析结果显示,在大多数合理阈值概率范围内,血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 及三者联合预测对 2 型糖尿病均具有良好的净获益,并且联合预测的总体净效益高于单一指标的净效益,见图 2。

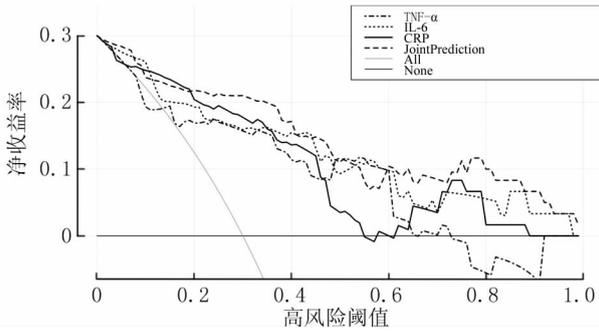


图 2 系统性炎症因子预测 2 型糖尿病的决策曲线

Fig. 2 Decision curve of systemic inflammatory factors predicting type 2 diabetes

### 3 讨论

近年来血清中各种系统性炎症因子如 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$  及 MCP-1 因其操作简便、快捷、重复性高、准确有效等优点被临床广泛应用于各种感染、炎症反应诊断及恶性肿瘤的预后评估当中。相关研究显示<sup>[9-10]</sup>, 糖尿病患者体内持续的高血糖状态可引起白介素、肿瘤坏死因子、趋化因子及生长因子等相关炎症因子释放, 造成血液炎症因子水平的上升, 形成糖尿病患者体内的慢性炎症反应微环境, 而这些炎症因子相互作用可引起炎症级联反应, 使得机体炎症反应加重, 促进血管炎症反应和肾小球纤维化, 导致肾小球基膜增厚、尿蛋白排泄、肾小球滤过率降低, 加速肾小球硬化, 发展为糖尿病肾病, 提示慢性炎症反应可能是糖尿病肾病发生发展的重要因素<sup>[11-13]</sup>。但目前临床有关血清系统性炎症因子表达水平与新诊断 2 型糖尿病的报道并不多见。本研究尝试探讨系统性炎症因子对 2 型糖尿病的预测价值, 为 2 型糖尿病的早期诊断和预防提供新思路。

CRP 是一种急性反应蛋白, 作为反映机体非特异性炎症反应的标志物, 在诊断急性感染及组织损伤等方面具有很高的敏感度。相关文献报道<sup>[14-15]</sup>, 早期 2 型糖尿病患者体内存在胰岛素抵抗, 胰岛素抵抗可导致氧化应激损伤、血管炎症反应、血管内皮细胞损伤, 这可能是导致早期 2 型糖尿病患者血清 CRP 表达水平升高的主要原因。TNF- $\alpha$  是一种 II 型跨膜蛋白, 由浸润的单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、内皮细胞和树突状细胞等细胞分泌, 与 TNF 受体 1 和 TNF 受体 2 结合参与复杂的炎症反应和免疫反应, 同时 TNF- $\alpha$  也是一种重要的炎症介质, 能够抑制和杀伤肿瘤细胞, 也能促进恶性肿瘤细胞增殖分化及侵袭转移, 参与机体炎症病理损伤, 当机体发生炎症反应和恶性肿瘤时,

其血清表达水平会升高<sup>[16]</sup>。此外, TNF- $\alpha$  还参与介导了胰岛素抵抗的分子机制。IL-6 主要由单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞和系膜细胞等细胞分泌, 是参与炎症反应、免疫反应的多效性促炎细胞因子, 在调节机体的炎症反应和免疫反应中发挥重要作用。相关文献报道<sup>[17-18]</sup>, IL-6 参与介导了机体胰岛素抵抗, 血清 IL-6 表达水平升高后可诱导糖异生增加, 导致高血糖的发生和胰岛素代偿性增高, 并降低机体组织对胰岛素的敏感性, 此外, 长期高血糖刺激可导致肾脏固有细胞和足细胞分泌 IL-6。IL-6 通过影响足细胞和系膜细胞的细胞外基质动力学刺激系膜细胞增殖, 从而促进系膜扩张和基膜增厚, 调节纤维连接蛋白的表达, 增强血管内皮细胞通透性。梁懿玑<sup>[19]</sup>的研究结果显示, 血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 表达水平升高可独立预测糖化血红蛋白水平, 血糖随着 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平的升高而升高, 而高水平的 TNF- $\alpha$  和 IL-6 会作用于肝脏, 使 CRP 合成增加, 形成炎症级联反应, 加剧机体炎症反应, 导致胰岛  $\beta$  细胞减少。本研究结果显示, CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 3 个指标为新诊断 2 型糖尿病具有独立预测因素, 并且 ROC 曲线分析和决策曲线分析均显示血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达水平用于预测新诊断 2 型糖尿病具有较高的临床价值和净收益。提示 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 3 个炎症因子及其介导的慢性低度炎症反应在 2 型糖尿病的发生发展中发挥着关键作用, 而控制这些血清炎症因子则是有效预防 2 型糖尿病的关键。而如何及早地发现并控制这些炎症因子值得进一步研究和探讨。

综上所述, 血清 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 为新诊断 2 型糖尿病具有独立预测因素, 3 个指标用于预测新诊断 2 型糖尿病具有较高的临床价值和净收益, 并且联合预测的价值最高。

**利益冲突:** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

阿孜古丽·买合买提: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 米日古丽·吾木哈斯木: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 穆叶斯尔·哈斯木: 实施研究过程, 资料搜集整理, 论文修改, 进行统计学分析; 李雪梅、潘亚丽: 课题设计, 论文撰写

**参考文献**

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38 (4): 292-344. DOI: 10.19538/j. nk2018040108.
- Diabetes branch of Chinese Medical Association. Guidelines for the prevention and treatment of type 2 diabetes in China (2017 Edition) [J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 2018, 38 (4): 292-344. DOI: 10.19538/j. nk2018040108.
- [2] 吴晓缺, 孙静. 糖尿病患者自我管理现状及影响因素分析 [J]. 现

- 代医药卫生, 2018, 34(2):283-285. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2018.02.044.
- Wu XQ, Sun J. Analysis of self-management status and influencing factors of diabetes patients [J]. *Modern Medicine and Health*, 2018, 34(2):283-285. DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2018.02.044.
- [3] Zobel EH, Ripa RS, von Scholten BJ, et al. Effect of liraglutide on expression of inflammatory genes in type 2 diabetes [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):18522. DOI:10.1038/s41598-021-97967-0.
- [4] 周婉, 叶山东, 陈超. 血清维生素 D 水平与 2 型糖尿病周围神经病变的关系 [J]. *安徽医学*, 2018, 39(4):392-395. DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2018.04.004.
- Zhou W, Ye SD, Chen C. Relationship between serum vitamin D level and peripheral neuropathy in type 2 diabetes [J]. *Anhui Medical Journal*, 2018, 39(4):392-395. DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2018.04.004.
- [5] 戴慧敏, 刘伟, 吴培红, 等. 2 型糖尿病“全科-专科”分级诊疗协作管理模式及开展现状研究 [J]. *中国全科医学*, 2018, 21(10):1188-1192. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2018.10.009.
- Dai HM, Liu W, Wu PH, et al. Research on the "general practice specialist" hierarchical diagnosis and treatment cooperation management model and development status of type 2 diabetes [J]. *Chinese General Practice*, 2018, 21(10):1188-1192. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2018.10.009.
- [6] 王鲁仔. 2 型糖尿病合并早期糖尿病肾病的相关危险因素分析 [J]. *影像研究与医学应用*, 2018, 2(5):209-211. DOI:10.3969/j.issn.2096-3807.2018.05.136.
- Wang LH. Analysis of related risk factors of type 2 diabetes complicated with early diabetes nephropathy [J]. *Imaging Research and Medical Applications*, 2018, 2(5):209-211. DOI:10.3969/j.issn.2096-3807.2018.05.136.
- [7] Grabez M, Skrbic R, Stojiljkovic MP, et al. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of polyphenols on the outcomes of inflammatory factors and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2022, 23(2):57. DOI:10.31083/j.rcm2302057.
- [8] Zaidi H, Byrkjeland R, Njerve IU, et al. Adiponectin in relation to exercise and physical performance in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease [J]. *Adipocyte*, 2021, 10(1):612-620. DOI:10.1080/21623945.2021.1996699.
- [9] 吴小慧, 刘菲, 段忠心. 生脉散对 2 型糖尿病大鼠炎性因子及胰岛素抵抗的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(9):895-899. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2018.09.006.
- Wu XH, Liu F, Duan ZX. Effect of Shengmai Powder on inflammatory factors and insulin resistance in type 2 diabetes rats [J]. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*, 2018, 26(9):895-899. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2018.09.006.
- [10] Chuar PF, Ng YT, Phang SCW, et al. Tocotrienol-rich vitamin E (Tocovid) improved nerve conduction velocity in type 2 diabetes mellitus patients in a phase II double-blind, randomized controlled clinical trial [J]. *Nutrients*, 2021, 13(11):3770. DOI:10.3390/nu13113770.
- [11] 陈薇, 鲍官虎. NGAL 测定在糖尿病肾脏疾病中的价值及其与炎性因子的相关性 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(8):1276-1280. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.08.023.
- Chen W, Bao GH. The value of NGAL determination in diabetes kidney disease and its correlation with inflammatory factors [J]. *Journal of Anhui Medical University*, 2018, 53(8):1276-1280. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.08.023.
- [12] Akbari M, Hassan-Zadeh V. The inflammatory effect of epigenetic factors and modifications in type 2 diabetes [J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(2):345-362. DOI:10.1007/s10787-019-00663-9.
- [13] Kang C, Qiao Q, Tong Q, et al. Effects of exenatide on urinary albumin in overweight/obese patients with T2DM: a randomized clinical trial [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):20062. DOI:10.1038/s41598-021-99527-y.
- [14] 王有秀, 冯彩滑, 蔡成英, 等. 老年 2 型糖尿病病人炎性因子及 25 羟维生素 D 水平与骨质疏松症的关系研究 [J]. *实用老年医学*, 2020, 34(2):133-136. DOI:10.3969/j.issn.1003-9198.2020.02.008.
- Wang YX, Feng CH, Cai CY, et al. Study on the relationship between inflammatory factors, 25 hydroxyvitamin D levels and osteoporosis in elderly patients with type 2 diabetes [J]. *Practical Geriatrics*, 2020, 34(2):133-136. DOI:10.3969/j.issn.1003-9198.2020.02.008.
- [15] 郭星荣, 冯烈, 王民登, 等. 持续胰岛素皮下输注对 2 型糖尿病肾病患者体内炎性因子的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(7):1583-1585. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2018.07.021.
- Guo XR, Feng L, Wang MD, et al. Effect of continuous subcutaneous insulin infusion on inflammatory factors in patients with type 2 diabetes nephropathy [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2018, 38(7):1583-1585. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2018.07.021.
- [16] Tang Z, Ming Y, Wu M, et al. Effects of caloric restriction and rope-skipping exercise on cardiometabolic health: A pilot randomized controlled trial in young adults [J]. *Nutrients*, 2021, 13(9):3222. DOI:10.3390/nu13093222.
- [17] 程雅洁, 温建艳, 田晓利, 等. 2 型糖尿病合并抑郁患者炎性因子和胰岛素抵抗指数的变化及其临床意义 [J]. *中国生化药物杂志*, 2017, 37(6):72-73. DOI:10.3969/j.issn.1005-1678.2017.06.025.
- Cheng YJ, Wen JY, Tian XL, et al. Changes of inflammatory factors and insulin resistance index in type 2 diabetes patients with depression and their clinical significance [J]. *Chinese Journal of Biochemical Medicine*, 2017, 37(6):72-73. DOI:10.3969/j.issn.1005-1678.2017.06.025.
- [18] Huang TH, Ke CH, Chen CC, et al. The effects of freshwater clam (*Corbicula fluminea*) extract on serum tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in prediabetic patients in Taiwan [J]. *Mar Drugs*, 2022, 20(4):261. DOI:10.3390/md20040261.
- [19] 梁懿彤. 2 型糖尿病血糖与炎性因子相关性分析 [J/OL]. *实用妇科内分泌电子杂志*, 2017, 4(27):83, 86. DOI:10.3969/j.issn.2095-8803.2017.27.055.
- Liang YJ. Correlation analysis between blood glucose and inflammatory factors in type 2 diabetes [J]. *Journal of Practical Gynecological Endocrinology*, 2017, 4(27):83, 86. DOI:10.3969/j.issn.2095-8803.2017.27.055.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.008

论著·临床

# 度拉糖肽联合达格列净对早期糖尿病肾病尿蛋白排泄率及血清炎性因子的影响

邢建东,姚艳琴,王静茹,马春明,陈海丽,李银玉

基金项目:大同市重点研发计划项目(2018082)

作者单位:037000 山西省大同市第五人民医院内分泌科(邢建东、王静茹、马春明、陈海丽、李银玉),影像科(姚艳琴)

通信作者:邢建东,E-mail:xzokie@163.com

**【摘要】目的** 观察度拉糖肽联合达格列净对早期糖尿病肾病尿蛋白排泄率及血清炎性因子的影响。**方法** 选取 2021 年 1—10 月山西省大同市第五人民医院内分泌科诊治早期糖尿病肾病患者 120 例,按随机数字表法分为对照组和观察组,各 60 例。对照组患者给予达格列净治疗,观察组患者在对照组的基础上加用度拉糖肽治疗。比较 2 组患者治疗前后肾功能[肾小球滤过率(GFR)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)及尿蛋白排泄率]、炎性因子水平[转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )]、血糖水平[餐后 2 h 血糖(2 hPG)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)]、血脂水平[总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)],以及不良反应发生率。**结果** 与治疗前比较,治疗后 2 组 BUN、UA、尿蛋白排泄率均降低,GFR 均升高,且观察组改善优于对照组( $t=6.215、20.742、8.955、12.431,P$  均 $<0.001$ );治疗后 2 组血清 TGF- $\beta_1$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  均降低,且观察组低于对照组( $t=12.139、18.351、13.889,P$  均 $<0.001$ );治疗后 2 组餐后 2 h 血糖、空腹血糖、糖化血红蛋白水平均降低,且观察组低于对照组( $t=6.835、8.849、5.425,P$  均 $<0.001$ );治疗后 2 组血清 TC、TG、LDL-C 均降低,观察组 HDL-C 升高,且观察组改善优于对照组( $t=4.225、15.746、4.243、4.121,P$  均 $<0.001$ );2 组患者不良反应发生率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 在达格列净治疗的基础上增加度拉糖肽,能有效减轻早期糖尿病肾病患者炎性反应,改善患者肾功能,调节血糖、血脂,且安全有效。

**【关键词】** 糖尿病肾病;达格列净;度拉糖肽;替米沙坦;尿蛋白排泄率;炎性因子**【中图分类号】** R587.2 **【文献标识码】** A

**Effect of dulaglutide combined with daggligin on urinary protein excretion rate and serum inflammatory factors in patients with early diabetic nephropathy** Xing Jiandong\*, Yao Yanqin, Wang Jingru, Ma Chunming, Chen Haili, Li Yinyu. \* Department of Endocrinology, the Fifth People's Hospital of Datong, Shanxi Province, Datong 037000, China

Corresponding author: Xing Jiandong, E-mail: xzokie@163.com

Funding program: Datong Key R&amp;D Projects (2018082)

**【Abstract】 Objective** To observe the effect of dulaglutide combined with dagelin on urinary protein excretion rate and serum inflammatory factors in patients with early diabetic nephropathy. **Methods** From January to October 2021, 120 patients with early diabetic nephropathy diagnosed and treated by the Department of Endocrinology of the Fifth People's Hospital of Datong, Shanxi Province, were selected and divided into the control group and the observation group according to the random number table method, with 60 patients in each group. The patients in the control group were treated with daggligin combined with telmisartan, and the patients in the observation group were treated with dulaglutide on the basis of the control group. The renal function [glomerular filtration rate (GFR), urea nitrogen (BUN), uric acid (UA) and urinary protein excretion rate] and the level of inflammatory factors [transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )], Blood glucose level (2h postprandial blood glucose, fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin), blood lipid level [total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)] were compared between the two groups before and after treatment, and the incidence of adverse reactions. **Results** Compared with that before treatment, the excretion rates of BUN, UA, GFR and urinary protein in the two groups decreased after treatment, but the excretion rates of BUN, UA and urinary protein in the observation group were lower than those in the control group, and GFR was higher than those in the control group ( $t=6.215, 20.742, 8.955, 12.431, P<$

0.001)。Serum TGF- $\beta_1$ , IL-6, TNF- $\alpha$  of the two groups after treatment was lower in the observation group than in the control group ( $t=12.139, 18.351, 13.889, P<0.001$ )。After treatment, the levels of blood glucose, fasting blood glucose and glycosylated hemoglobin at 2h after meal in both groups decreased, and those in the observation group were lower than those in the control group ( $t=6.835, 8.849, 5.425, P<0.001$ )。After treatment, serum TC, TG, LDL-C in both groups decreased, HDL-C in the observation group increased, and the improvement in the observation group was better than that in the control group ( $t=4.225, 15.746, 4.243, 4.121, P<0.001$ )。There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ( $P>0.05$ )。 **Conclusion** On the basis of treatment with dagelin combined with telmisartan, the addition of dulaglutide can effectively reduce the level of serum inflammatory factors and urinary protein excretion rate in patients with early diabetic nephropathy, reduce inflammatory reaction, improve renal function, regulate blood sugar, and is safe and effective.

**【Key words】** Diabetic nephropathy; Dapagliflozin; Dulaglutide; Telmisartan; Urinary protein excretion rate; Inflammatory factor

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy) 为糖尿病最严重、最常见的一种并发症,是导致终末期肾病的首要因素<sup>[1-2]</sup>。徐华等<sup>[3]</sup>研究显示,早期诊断糖尿病肾病能够有效减少终末期肾病的危险性。因此,早期治疗可有效阻止疾病进展,改善患者生活质量,提高存活率<sup>[4]</sup>。替米沙坦为特异性血管紧张素 II 受体拮抗剂,也是临床治疗糖尿病肾病的一线药物,能够有效抑制肾小球硬化进程。达格列净能够抑制葡萄糖吸收,促进糖尿排泄,进而降低血糖水平;此外,还可降低血压、尿酸、尿蛋白等,保护肾脏<sup>[5]</sup>。目前,联合用药一直为临床治疗糖尿病肾病常用方案<sup>[6]</sup>。近期有学者研究提出,达格列净联合替米沙坦治疗糖尿病肾病虽然有效,但是效果一般,为了探讨更加有效的治疗方法,本研究在达格列净联合替米沙坦治疗的基础上,加用度拉糖肽治疗早期糖尿病肾病患者,并探究其对患者尿蛋白排泄率及血清炎症因子的影响,现报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 1—10 月山西省大同市第五人民医院内分泌科诊治早期糖尿病肾病患者 120 例,采用随机数字表法分为观察组和对照组,各 60 例。观察组男 42 例,女 18 例,年龄 35~68 (45.23 $\pm$ 5.12) 岁;体质量指数 22.78~25.13 (23.57 $\pm$ 2.11) kg/m<sup>2</sup>;糖尿病病程 1~7 (3.57 $\pm$ 1.02) 年;基础疾病:高血压 12 例,高血脂 15 例;分期: I 期 32 例, II 期 28 例。对照组男 39 例,女 21 例,年龄 32~70 (46.01 $\pm$ 5.21) 岁;体质量指数 22.43~25.01 (23.62 $\pm$ 2.17) kg/m<sup>2</sup>;糖尿病病程 1~8 (3.62 $\pm$ 1.08) 年;基础疾病:高血压 9 例,高血脂 16 例;分期: I 期 35 例, II 期 25 例。2 组性别、年龄、体质量指数、糖尿病病程、基础疾病、分期等资料比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准 (2020-0926),患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 早期糖尿病肾病诊断标准<sup>[7]</sup>:肾小球滤过率基本正常;持续性微量蛋白尿 (尿

白蛋白与肌酐比值为 30~300 mg/g, 3~6 个月内进行 3 次检测,至少有 2 次超过临界值)。(2) 纳入标准:① 所有患者经血糖、尿蛋白排泄率等相关检查均符合“中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南”<sup>[7]</sup> 诊断标准及“中国 2 型糖尿病防治指南”<sup>[8]</sup> 分型及诊断标准;② 无精神疾病、家族遗传史或意识障碍患者。(3) 排除标准:① 合并其他肾脏疾病患者;② 近期发生过糖尿病急性并发症患者;③ 合并严重良性肿瘤、恶性肿瘤及免疫系统、血液系统、肝脏系统疾病患者;④ 6 个月内有过脑血管病史、外伤及手术病史患者。

1.3 治疗方法 对照组患者入组后给予降糖药物、控制饮食、餐后运动等常规治疗,同时予达格列净片 (阿斯利康制药有限公司生产) 10 mg/次,每天 1 次口服,替米沙坦片 (重庆莱美药业股份有限公司生产) 40 mg/次,每天 1 次口服,若患者血压控制不理想,可将剂量增加至 80 mg/次,每天 1 次。观察组在对照组治疗基础上给予度拉糖肽 (德国礼来制药有限公司) 每周 1.5 mg 皮下注射。2 组均连续治疗 3 个月。

## 1.4 检测指标与方法

1.4.1 肾功能检测:于治疗前后抽取患者空腹肘静脉血 3 ml,分离血清,取上层清液,以酶法检测尿素氮 (BUN)、尿酸 (UA) 水平,并计算肾小球滤过率 (GFR)。于治疗前后留取患者 24 h 尿液,将其混匀后抽取 5 ml,以免免疫比浊法检测尿蛋白水平,并计算尿蛋白排泄率。

1.4.2 血清炎症因子检测:上述血清以酶联免疫吸附法检测血清转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )、白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平。

1.4.3 血糖水平检测:取上述血清以高压液相色谱法检测糖化血红蛋白 (HbA<sub>1c</sub>) 水平,以葡萄糖氧化酶法检测患者餐后 2 h 血糖 (2 hPG)、空腹血糖 (FPG) 水平。

1.4.4 血脂水平检测:取上述血清,采用全自动生化分析仪 (日本日立公司 7180 型),使用配套试剂,以酶联免疫吸附法检测患者血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油

(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。

1.4.5 不良反应发生率:记录并比较 2 组患者腹泻、腹痛、恶心呕吐、低血压、低血糖等不良反应的发生情况。

1.5 统计学方法 使用 SPSS 22.0 软件统计分析数据。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组内及组间比较采用  $t$  检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组治疗前后肾功能指标比较 与治疗前比较,治疗后 2 组 BUN、UA、尿蛋白排泄率水平均明显降低, GFR 升高( $P < 0.01$ );与对照组比较,观察组 BUN、UA、尿蛋白排泄率水平明显降低, GFR 明显升高( $P < 0.01$ ),见表 1。

2.2 2 组治疗前后血清炎性因子水平比较 与治疗前比较,2 组治疗后血清 TGF- $\beta_1$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平均明显降低( $P < 0.01$ ),且观察组低于对照组( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 对照组与观察组糖尿病肾病患者治疗前后血清炎性因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.2 Comparison of serum inflammatory factor levels between the control group and the observation group before and after treatment of diabetic nephropathy patients

| 组别                | 时间  | TGF- $\beta_1$ ( $\mu\text{g/L}$ ) | IL-6( $\text{ng/L}$ ) | TNF- $\alpha$ ( $\text{ng/L}$ ) |
|-------------------|-----|------------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| 对照组<br>( $n=60$ ) | 治疗前 | 150.42 $\pm$ 12.41                 | 141.26 $\pm$ 10.64    | 31.76 $\pm$ 4.51                |
|                   | 治疗后 | 123.76 $\pm$ 9.11                  | 126.78 $\pm$ 8.49     | 26.75 $\pm$ 3.14                |
| 观察组<br>( $n=60$ ) | 治疗前 | 151.85 $\pm$ 12.57                 | 142.57 $\pm$ 10.76    | 32.12 $\pm$ 4.56                |
|                   | 治疗后 | 105.64 $\pm$ 7.12                  | 100.53 $\pm$ 7.12     | 19.23 $\pm$ 2.78                |
| $t/P$ 对照组内值       |     | 13.414/ <0.001                     | 8.240/ <0.001         | 7.062/ <0.001                   |
| $t/P$ 观察组内值       |     | 24.777/ <0.001                     | 15.239/ <0.001        | 18.696/ <0.001                  |
| $t/P$ 治疗后组间值      |     | 12.139/ <0.001                     | 18.351/ <0.001        | 13.889/ <0.001                  |

2.3 2 组治疗前后血糖水平比较 与治疗前比较,治

疗后 2 组 2 hPG、FPG、HbA<sub>1c</sub> 水平均明显降低( $P < 0.01$ ),且观察组低于对照组( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 3 对照组与观察组糖尿病肾病患者治疗前后血糖水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.3 Comparison of blood glucose levels of diabetic nephropathy patients in the control group and the observation group before and after treatment

| 组别                | 时间  | 2 hPG<br>(mmol/L) | FPG<br>(mmol/L)  | HbA <sub>1c</sub><br>(%) |
|-------------------|-----|-------------------|------------------|--------------------------|
| 对照组<br>( $n=60$ ) | 治疗前 | 14.68 $\pm$ 2.21  | 12.41 $\pm$ 1.92 | 8.53 $\pm$ 1.52          |
|                   | 治疗后 | 10.27 $\pm$ 1.57  | 8.53 $\pm$ 1.67  | 6.49 $\pm$ 1.24          |
| 观察组<br>( $n=60$ ) | 治疗前 | 14.57 $\pm$ 2.14  | 12.62 $\pm$ 2.03 | 8.42 $\pm$ 1.46          |
|                   | 治疗后 | 8.51 $\pm$ 1.23   | 6.14 $\pm$ 1.26  | 5.37 $\pm$ 1.01          |
| $t/P$ 对照组内值       |     | 12.601/ <0.001    | 11.811/ <0.001   | 8.055/ <0.001            |
| $t/P$ 观察组内值       |     | 19.017/ <0.001    | 21.008/ <0.001   | 13.308/ <0.001           |
| $t/P$ 治疗后组间值      |     | 6.835/ <0.001     | 8.849/ <0.001    | 5.425/ <0.001            |

2.4 2 组治疗前后血脂水平比较 与治疗前比较,治疗后 2 组患者血清 TC、TG 及 LDL-C 明显降低,观察组血清 HDL-C 水平明显升高( $P < 0.01$ ),且观察组改善程度优于对照组( $P < 0.01$ ),见表 4。

2.5 2 组不良反应发生率比较 治疗期间 2 组患者均无高血压、电解质紊乱及急性肾损伤情况发生。2 组患者不良反应发生率比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.502, P = 0.114$ ),见表 5。

## 3 讨论

糖尿病作为一种慢性疾病在临床较为常见,全球患病率可达 7.2% ~ 11.4%<sup>[9]</sup>。随着病情进展,糖尿病可出现大血管及微血管并发症,如糖尿病肾病、神经病变、外周动脉病变、心血管病变及视网膜病变等,对患者生活质量可产生严重影响<sup>[10]</sup>。Zhang 等<sup>[11]</sup>研究显示,我国糖尿病患者约 10.8% 合并慢性肾脏病,糖尿病肾病也是临床导致患者死亡的一项重要原因。因此,严格控制糖尿病患者血糖的同时还应积极保护患

表 1 对照组与观察组糖尿病肾病患者治疗前后肾功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 Comparison of renal function of diabetic nephropathy patients in the control group and the observation group before and after treatment

| 组别                | 时间  | BUN(mmol/L)     | UA( $\mu\text{mol/L}$ ) | GFR(ml/min)        | 尿蛋白排泄率(mg/g)       |
|-------------------|-----|-----------------|-------------------------|--------------------|--------------------|
| 对照组<br>( $n=60$ ) | 治疗前 | 6.61 $\pm$ 1.27 | 377.12 $\pm$ 20.41      | 83.11 $\pm$ 6.23   | 282.49 $\pm$ 19.76 |
|                   | 治疗后 | 5.42 $\pm$ 1.12 | 298.36 $\pm$ 16.21      | 108.42 $\pm$ 10.15 | 167.89 $\pm$ 16.23 |
| 观察组<br>( $n=60$ ) | 治疗前 | 6.72 $\pm$ 1.35 | 378.42 $\pm$ 20.56      | 82.54 $\pm$ 6.12   | 281.56 $\pm$ 20.12 |
|                   | 治疗后 | 4.21 $\pm$ 1.01 | 241.58 $\pm$ 13.67      | 96.75 $\pm$ 9.71   | 143.52 $\pm$ 13.45 |
| $t/P$ 对照组内值       |     | 5.444/ <0.001   | 23.407/ <0.001          | 27.021/ <0.001     | 34.715/ <0.001     |
| $t/P$ 观察组内值       |     | 11.532/ <0.001  | 42.931/ <0.001          | 32.860/ <0.001     | 44.181/ <0.001     |
| $t/P$ 治疗后组间值      |     | 6.215/ <0.001   | 20.742/ <0.001          | 342.501/ <0.001    | 8.955/ <0.001      |

表 4 对照组与观察组糖尿病肾病患者治疗前后血脂水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

Tab. 4 Comparison of blood lipid levels of diabetic nephropathy patients in the control group and the observation group before and after treatment

| 组 别             | 时 间 | TC             | TG             | HDL-C         | LDL-C         |
|-----------------|-----|----------------|----------------|---------------|---------------|
| 对照组<br>(n = 60) | 治疗前 | 6.98 ± 1.21    | 4.41 ± 0.52    | 0.96 ± 0.45   | 4.21 ± 0.79   |
|                 | 治疗后 | 5.24 ± 1.06    | 2.58 ± 0.47    | 1.05 ± 0.44   | 3.85 ± 0.71   |
| 观察组<br>(n = 60) | 治疗前 | 7.17 ± 1.04    | 4.33 ± 0.46    | 0.93 ± 0.42   | 4.25 ± 0.82   |
|                 | 治疗后 | 4.43 ± 1.04    | 1.14 ± 0.53    | 1.37 ± 0.41   | 3.33 ± 0.63   |
| t/P 对照组内值       |     | 8.379/ <0.001  | 20.223/ <0.001 | 1.108/ 0.270  | 2.625/ 0.010  |
| t/P 观察组内值       |     | 14.430/ <0.001 | 35.210/ <0.001 | 5.807/ <0.001 | 6.891/ <0.001 |
| t/P 治疗后组间值      |     | 4.225/ <0.001  | 15.746/ <0.001 | 4.121/ <0.001 | 4.243/ <0.001 |

表 5 对照组与观察组糖尿病肾病不良反应发生率比较 [例(%)]

Tab. 5 Comparison of adverse reaction rate of diabetic nephropathy patients between the control group and the observation group

| 组 别 | 例数 | 腹泻      | 上腹痛     | 恶心呕吐    | 低血压     | 低血糖     | 不良反应率(%) |
|-----|----|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| 对照组 | 60 | 1(1.67) | 0       | 0       | 1(1.67) | 1(1.67) | 5.00     |
| 观察组 | 60 | 1(1.67) | 1(1.67) | 2(3.33) | 2(3.33) | 2(3.33) | 13.33    |

者肾功能,以免导致肾功能恶化进而出现肾衰竭。

血管紧张素转化酶抑制剂可有效减少尿蛋白排泄,阻止早期糖尿病肾病进一步发展,目前已由中华医学会糖尿病分会及美国糖尿病学会推荐为首选药物<sup>[5,12]</sup>。其中替米沙坦即为临床常用的血管紧张素转化酶抑制剂。达格列净为钠—葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂,其降糖机制尤其适合用于血糖控制不佳糖尿病患者的联合用药,可减少其他降糖药剂量<sup>[13]</sup>。任虎君等<sup>[14]</sup>研究显示,达格列净不仅可有效控制血糖,还可保护患者肾脏功能,以防肾功能恶化,适用于糖尿病肾病患者。度拉糖肽是一种新型长效 GLP-1 受体激动剂的降糖药物,属于基因融合蛋白,近年来有学者研究认为<sup>[15]</sup>,此种药物不仅能够增加胰岛 β 细胞内环磷酸腺苷水平,且对改善胰岛素抵抗,促进胰岛素分泌,以及对改善胰岛的形态,调控胰岛细胞的增殖凋亡也具有一定的作用,另外对改善糖尿病患者肾脏功能也具有显著的效果,在达格列净联合替米沙坦治疗的基础上增加度拉糖肽可有效提高治疗效果。

本结果显示,2 组治疗餐后 2 h 血糖、空腹血糖、糖化血红蛋白水平及 TC、TG、LDL-C、尿蛋白排泄率、BUN、UA 水平均明显降低,GFR 明显升高,且观察组改善效果优于对照组。与万磊<sup>[16]</sup>研究结果一致。此结果说明,度拉糖肽联合达格列净、替米沙坦治疗早期糖尿病肾病可有效降低血糖、血脂及尿蛋白排泄率,改善肾功能。可能是因为替米沙坦可通过抑制血管紧张素 I 向血管紧张素 II 转换,进而减缓机体降解缓激肽,使循环系统血压降低,肾脏血流动力学得到改善,进而保护肾脏<sup>[17]</sup>;达格列净能够抑制肾脏近曲小管内钠—

葡萄糖协同转运蛋白 2 活性,进而降低上皮细胞对葡萄糖的重吸收,使尿糖排泄增加,进而达到降低血糖的目的。在此基础上增加 GLP-1 受体激动剂度拉糖肽共同作用于胰岛细胞,能够进一步起到改善胰岛素抵抗及肾功能的作用,降低血糖、血脂水平及尿蛋白排泄率,进一步提高临床疗效。

炎症反应在糖尿病肾病的发生、发展过程中起重要作用<sup>[18-19]</sup>。其中 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6、TNF-α 为临床常见的促炎因子,多项研究显示 IL-6 与糖尿病微血管病变的发生关系密切;TNF-α 能够通过细胞凋亡、坏死及肾损伤产生肾脏细胞毒性作用,影响肾小球血液流变学,影响肾功能;TGF-β<sub>1</sub> 与多种炎症疾病的发生关系密切,其水平升高提示炎症反应的发生<sup>[20]</sup>。本结果显示,2 组治疗后血清 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6、TNF-α 水平均明显降低,且观察组低于对照组。分析其原因,可能是因为达格列净联合替米沙坦可缓解糖尿病肾病的临床症状,减轻患者炎症反应,但是关于度拉糖肽对炎症反应的影响尚不明确。另外本研究还发现,2 组患者不良反应比较差异无统计学意义,这提示在达格列净联合替米沙坦治疗的基础上增加度拉糖肽不增加不良反应,且度拉糖肽自身还具有保护肝肾功能的作用,但容易引起低血糖或胃肠不适,因此临床应用中应针对患者具体的情况给予最佳的方案治疗。

综上所述,度拉糖肽联合达格列净治疗早期糖尿病肾病,可有效降低血清炎症因子水平及尿蛋白排泄率,减轻炎症反应,改善患者肾功能,调节血糖,阻止糖尿病肾病进一步发展,安全有效。但是本研究纳入样本量相对较少,可能会导致研究结果出现偏倚,还需在

以后研究中扩大样本量验证本研究结果。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

邢建东、姚艳琴、李银玉:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;马春明:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;陈海丽:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;王静如:进行统计学分析

**参考文献**

- [1] Papadopoulou-Marketou N, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: a review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2017, 33(2):104-107. DOI:10.1002/dmrr.2841.
- [2] Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9):905-906. DOI:10.1056/NEJMc1602469.
- [3] 徐华, 陈佳, 梁英杰, 等. 丹红注射液联合替米沙坦治疗早期糖尿病肾病患者的临床疗效观察[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 522(11):133-135. DOI:10.13192/j.issn.1000-1719.2020.11.037.  
Xu H, Chen J, Liang YJ, et al. Clinical observation of Danhong injection combined with telmisartan in the treatment of patients with early diabetic nephropathy[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 522(11):133-135. DOI:10.13192/j.issn.1000-1719.2020.11.037.
- [4] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 糖尿病肾病防治专家共识(2014年版)[J]. *中华糖尿病杂志*, 2014, 6(11):792-801. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2014.11.004.  
Microvascular Complications Group of Diabetes Branch of Chinese Medical Association. Expert consensus on the prevention and treatment of diabetic nephropathy (2014 edition)[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2014, 6(11):792-801. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2014.11.004.
- [5] 朱晓亮. 达格列净治疗早期糖尿病肾病的疗效和安全性观察[J]. *糖尿病新世界*, 2019, 22(19):11-13. DOI:10.16658/j.cnki.1672-4062.2019.19.011.  
Zhu XL. Efficacy and safety observation of dapagliflozin in the treatment of early diabetic nephropathy[J]. *Diabetes New World*, 2019, 22(19):11-13. DOI:10.16658/j.cnki.1672-4062.2019.19.011.
- [6] 王晓燕, 万廷信, 李银霞, 等. 阿托伐他汀联合达格列净治疗糖尿病肾病的疗效及安全性分析[J]. *药物评价研究*, 2022, 45(2):337-342. DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2022.02.020.  
Wang XY, Wan TQ, Li YX, et al. Efficacy and safety of atorvastatin combined with dagliquin on diabetic nephropathy[J]. *Drug Evaluation Research*, 2022, 45(2):337-342. DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2022.02.020.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J]. *中华糖尿病杂志*, 2019, 11(1):15-28. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2019.01.004.  
Microvascular Complications Group of Diabetes Branch of Chinese Medical Association. Clinical guidelines for the prevention and treatment of diabetic kidney disease in China[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2019, 11(1):15-28. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.

2019.01.004.

- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4):292-344. DOI:10.19538/j.nk2018040108.  
Diabetes Branch of Chinese Medical Association. Guidelines for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes in China (2017 Edition)[J]. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine*, 2018, 38(4):292-344. DOI:10.19538/j.nk2018040108.
- [9] Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 128:40-50. DOI:10.1016/j.diabres.2017.03.024.
- [10] 李思佳, 孙小蒙. 血管内皮生长因子与糖尿病肾病关系的研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 25(3):105-109. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2019.03.020.  
Li SJ, Sun XM. Research progress on the relationship between vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy[J]. *Medical Review*, 2019, 25(3):105-109. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2019.03.020.
- [11] Zhang L, Wang F, Wang L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey[J]. *Lancet*, 2012, 379(9818):815-822. DOI:10.1016/S0140-6736(12)60033-6.
- [12] 隋超, 陈亚镇, 赖貽旺. 血管紧张素转化酶抑制剂联合 SGLT-2 抑制剂治疗糖尿病肾病效果研究[J]. *临床军医杂志*, 2018, 46(12):1437-1438. DOI:10.16680/j.1671-3826.2018.12.15.  
Sui C, Chen YZ, Lai YW. Effect of ACEI combined with SGLT-2 inhibitor on diabetic nephropathy proteinuria[J]. *Clinical Journal of Medical Officers*, 2018, 46(12):1437-1438. DOI:10.16680/j.1671-3826.2018.12.15.
- [13] 郭琳, 李强. 胰岛素联合治疗的新选择——基础胰岛素 + SGLT-2 抑制剂[J]. *药品评价*, 2016, 18(5):53-60. DOI:10.3969/j.issn.1672-2809.2016.05.011.  
Guo L, Li Q. A new choice for combination therapy with insulin: Adding SGLT-2 inhibitors to basal insulin[J]. *Drug Evaluation*, 2016, 18(5):53-60. DOI:10.3969/j.issn.1672-2809.2016.05.011.
- [14] 任虎君, 张佳佳, 程杨阳, 等. 达格列净治疗 2 型糖尿病肾病患者的临床观察[J]. *华南国防医学杂志*, 2019, 33(12):838-841. DOI:10.13730/j.issn.1009-2595.2019.12.009.  
Ren HJ, Zhang JJ, Cheng YY, et al. Clinical observation of dagliejing in the treatment of type 2 diabetes nephropathy[J]. *Military Medical Journal of South China*, 2019, 33(12):838-841. DOI:10.13730/j.issn.1009-2595.2019.12.009.
- [15] 周灿, 李青. GLP-1 受体激动剂周制剂度拉糖肽对早期糖尿病肾病的影响[J]. *湖南师范大学学报:医学版*, 2021, 18(6):85-87. DOI:10.3969/j.issn.1673-016X.2021.06.025.  
Zhou C, Li Q. The effect of GLP-1 receptor agonist - Trulicity on early diabetic nephropathy[J]. *Journal of Hunan Normal University: Medical Sciences*, 2021, 18(6):85-87. DOI:10.3969/j.issn.1673-016X.2021.06.025.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.009

论著·临床

# 腹膜透析患者血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平与腹主动脉钙化的相关性分析

李涛, 谢赛, 虞典元, 江志锋, 李丹

基金项目: 孝感市自然科学基金(XGKJ2021010085)

作者单位: 432000 湖北孝感, 武汉科技大学附属孝感医院肾脏内科

通信作者: 谢赛, E-mail: xs10250510@163.com

**【摘要】目的** 探讨腹膜透析患者血清长链非编码 RNA MEG3(lncRNA MEG3)、微小 RNA-223(miR-223)水平与腹主动脉钙化(AAC)的关系。**方法** 选取 2020 年 9 月—2021 年 9 月武汉科技大学附属孝感医院肾脏内科收治的腹膜透析患者 100 例为研究对象,根据腹部 CT 检查结果将其分为 AAC 组 52 例和非 AAC 组 48 例;同时将 AAC 组患者分为轻度 AAC 亚组 31 例和重度 AAC 亚组 21 例。采用实时荧光定量 PCR 法检测 2 组血清 lncRNA MEG3、miR-223 表达, Pearson 法或 Spearman 法评估腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3、miR-223 与一般资料及生化指标的相关性, ROC 曲线评价血清 lncRNA MEG3、miR-223 对腹膜透析患者发生 AAC 的预测价值;采用 Logistic 回归分析腹膜透析患者发生 AAC 的影响因素。**结果** AAC 组年龄、糖尿病比例、血磷(P)、腹主动脉钙化评分及血清 lncRNA MEG3 高于非 AAC 组 [ $t(\chi^2)/P=6.465/<0.001$ 、 $5.364/0.021$ 、 $2.639/0.010$ 、 $31.766/<0.001$ 、 $8.428/<0.001$ ], 25-羟维生素 D3 及血清 miR-223 低于非 AAC 组 ( $t/P=14.847/<0.001$ 、 $8.461/<0.001$ ); 重度 AAC 亚组血清 lncRNA MEG3 及腹主动脉钙化评分高于轻度 AAC 亚组, 血清 miR-223 低于轻度 AAC 亚组 ( $t=5.728, 19.959, 6.934, P$  均  $<0.001$ ); 腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3 与 miR-223 水平呈负相关 ( $r=-0.552, P<0.001$ )。腹膜透析 AAC 患者年龄、糖尿病、血磷、腹主动脉钙化评分与 lncRNA MEG3 呈正相关 ( $r/P=0.513/0.004, 0.496/0.010, 0.504/0.008, 0.522/0.001$ ), 与 miR-223 呈负相关 ( $r/P=-0.502/0.006, -0.495/0.010, -0.491/0.009, -0.514/0.003$ ); 25-羟维生素 D3 与血清 lncRNA MEG3 呈负相关 ( $r/P=-0.512/0.008$ ), 与 miR-223 呈正相关 ( $r/P=0.514/0.006$ )。血清 lncRNA MEG3、miR-223 及二者联合预测腹膜透析患者发生 AAC 的曲线下面积(AUC)分别为 0.898、0.823、0.942, 二者联合预测价值高于单项预测 ( $Z/P=1.667/0.048, 2.441/0.007$ ); 血清 lncRNA MEG3 水平升高是影响腹膜透析患者发生 AAC 的独立危险因素 [ $OR(95\%CI)=2.648(1.445\sim 4.852)$ ], miR-223 水平升高是其保护因素 [ $OR(95\%CI)=0.884(0.830\sim 0.941)$ ]。**结论** lncRNA MEG3、miR-223 分别是腹膜透析患者发生 AAC 的独立影响因素, 检测两指标变化有助于预测腹膜透析患者 AAC 的发生及其严重程度。

**【关键词】** 腹主动脉钙化; 腹膜透析; 长链非编码 RNA MEG3; 微小 RNA-223; 相关性**【中图分类号】** R459.5 **【文献标识码】** A

**Correlation between serum levels of lncRNA MEG3, miR-223 and abdominal aortic calcification in peritoneal dialysis patients** Li Tao, Xie Sai, Yu Dianyuan, Jiang Zhifeng, Li Dan. Department of Nephrology, Xiaogan Hospital, Wuhan University of Science and Technology, Hubei Province, Wuhan 432000, China

Corresponding author: Xie Sai, E-mail: xs10250510@163.com

Funding program: Xiaogan Natural Science Foundation (XGKJ2021010085)

**【Abstract】 Objective** To investigate the relationship between serum levels of long chain non coding RNA MEG3 (lncRNA MEG3), microRNA-223 (miR-223) and abdominal aortic calcification (AAC) in peritoneal dialysis patients. **Methods**

From September 2020 to September 2021, 100 peritoneal dialysis patients admitted to the Department of Nephrology of Xiaogan Hospital affiliated to Wuhan University of Science and Technology were selected as the research objects. According to the results of abdominal CT, they were divided into 52 AAC patients and 48 non AAC patients. At the same time, the patients in AAC group were divided into mild AAC subgroup (31 cases) and severe AAC subgroup (21 cases). The expression of serum lncRNA MEG3 and miR-223 in the two groups was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. The correlation between serum lncRNA MEG3 and miR-223 in peritoneal dialysis patients with AAC and general data and biochemical indicators was

evaluated by Pearson or Spearman methods. The predictive value of serum lncRNA MEG3 and miR-223 in peritoneal dialysis patients with AAC was evaluated by ROC curve; Logistic regression was used to analyze the influencing factors of AAC in peritoneal dialysis patients. **Results** Age, diabetes ratio, phosphorus (P), abdominal aortic calcification score and serum lncRNA MEG3 in AAC group were higher than those in non AAC group [ $t(\chi^2)/P = 6.465 / < 0.001, 5.364 / 0.021, 2.639 / 0.010, 31.766 / < 0.001, 8.428 / < 0.001$ ], 25 hydroxyvitamin D3 and serum miR-223 were lower than those in non AAC group ( $t/P = 14.847 / < 0.001, 8.461 / < 0.001$ ); Serum lncRNA MEG3 and abdominal aortic calcification scores in severe AAC subgroup were higher than those in mild AAC subgroup, and serum miR-223 was lower than those in mild AAC subgroup ( $t = 5.728, 19.959, 6.934, P < 0.001$ ); There was a negative correlation between serum lncRNA MEG3 and miR-223 levels in AAC patients undergoing peritoneal dialysis ( $r = -0.552, P < 0.001$ ). Age, diabetes, P, abdominal aortic calcification score of AAC patients undergoing peritoneal dialysis were positively correlated with lncRNA MEG3 ( $r/P = 0.513 / 0.004, 0.496 / 0.010, 0.504 / 0.008, 0.522 / 0.001$ ), and negatively correlated with miR-223 ( $r/P = -0.502 / 0.006, -0.495 / 0.010, -0.491 / 0.009, -0.514 / 0.003$ ); 25 hydroxyvitamin D3 was negatively correlated with serum lncRNA MEG3 ( $r/P = -0.512 / 0.008$ ) and positively correlated with miR-223 ( $r/P = 0.514 / 0.006$ ). The area under the curve (AUC) of serum lncRNA MEG3, miR-223 and their combination in predicting AAC in peritoneal dialysis patients were 0.898, 0.823 and 0.942, respectively. The combined predictive value of the two was higher than that of single prediction ( $Z/P = 1.667 / 0.048, 2.441 / 0.007$ ); The elevated level of serum lncRNA MEG3 is an independent risk factor for AAC in peritoneal dialysis patients [ $OR(95\% CI) = 2.648 (1.445 - 4.852)$ ], and the elevated level of miR-223 is a protective factor [ $OR(95\% CI) = 0.884 (0.830 - 0.941)$ ]. **Conclusion** lncRNA MEG3 and miR-223 are independent influencing factors of AAC in peritoneal dialysis patients respectively. Detection of the changes of these two indicators can help predict the occurrence and severity of AAC in peritoneal dialysis patients.

**【Key words】** Abdominal aorta calcification; Peritoneal dialysis; Long non-coding RNA MEG3; microRNA-223; Correlation

腹膜透析可治疗终末期肾脏病,但其治疗过程中会出现血管钙化等并发症<sup>[1-2]</sup>。血管钙化会增加血管脆性及心血管疾病的发病率<sup>[3]</sup>。因此如何有效预防腹膜透析患者腹主动脉钙化(abdominal aortic calcification, AAC)是临床医师需关注的重点。长链非编码 RNA MEG3 (long non-coding RNA MEG3, lncRNA MEG3)在癌症中较为常见,可通过调节微小 RNA-1930-5p (microRNA-1930-5p, miR-1930-5p)/混合系白血病 Trithorax 家族 1 (mixed lineage leukemia Trithorax 1, Mllt1)轴,导致脑出血后脑微血管内皮细胞功能障碍<sup>[4-5]</sup>。微小 RNA-223 (microRNA-223, miR-223)是一种与炎症反应密切相关的 miRNA,可通过调节血管平滑肌细胞轴导致严重的冠状动脉病变<sup>[6]</sup>。然而 lncRNA MEG3、miR-223 与血管钙化的相关性目前尚缺乏研究报道,因此,本文旨在探讨腹膜透析患者 lncRNA MEG3、miR-223 与 AAC 的相关性,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 9 月—2021 年 9 月武汉科技大学附属孝感医院肾脏内科收治的腹膜透析患者 100 例为研究对象,依据腹膜透析患者是否出现 AAC 分为 AAC 组 52 例 (52.00%) 和非 AAC 组 48 例 (48.00%)。2 组性别、体质量指数 (BMI)、透析时间、收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP)、高血压、疾病类型、肾病

家族史、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、血红蛋白 (Hb)、白蛋白 (Alb)、血钙 (Ca) 比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。AAC 组年龄、糖尿病比例、血磷 (P)、腹主动脉钙化评分高于非 AAC 组 ( $P < 0.05$ ), 25-羟维生素 D3 低于非 AAC 组 ( $P < 0.01$ ), 见表 1。本研究经医院伦理委员会批准 (202008-05), 且患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①接受腹膜透析  $\geq 3$  个月者; ②患者一般资料齐全; ③1 个月内未使用激素、免疫抑制剂及其他血液制品治疗者。(2) 排除标准: ①近期内有创伤史、手术史或急性感染史者; ②有影响钙、磷代谢的相关疾病、恶性肿瘤及肝硬化者; ③有精神障碍性疾病或行动不便, 无法配合完成研究者。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集及生化指标检测: 收集患者性别、年龄、BMI、透析时间、收缩压、舒张压、高血压、糖尿病、腹主动脉钙化评分、疾病类型等一般资料。采用 Cobas 6000 型全自动生化分析仪 (瑞士罗氏公司) 检测 Ca、P、HDL-C、LDL-C、TC、TG、Hb、Alb 水平, 采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测 25-羟维生素 D3 水平, 按试剂盒 (上海远慕生物科技有限公司) 说明进行操作。

表 1 非 AAC 组和 AAC 组临床资料及生化指标比较

Tab. 1 Comparison of clinical data and biochemical indicators between non AAC group and AAC group

| 项 目   | 非 AAC 组 (n = 48) | AAC 组 (n = 52) | $t/\chi^2$ 值 | P 值    |
|---|------------------|----------------|--------------|--------|
| 男性 [例 (%) ]                                 | 24 (50.00)       | 25 (48.08)     | 0.037        | 0.848  |
| 年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)                   | 50.76 ± 12.58    | 65.48 ± 10.14  | 6.465        | <0.001 |
| BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> ) | 22.95 ± 3.14     | 23.07 ± 3.05   | 0.194        | 0.847  |
| 透析时间 ( $\bar{x} \pm s$ , 月)                 | 45.48 ± 12.74    | 48.26 ± 15.18  | 0.988        | 0.326  |
| SBP ( $\bar{x} \pm s$ , mmHg)               | 132.47 ± 13.26   | 135.29 ± 14.09 | 1.029        | 0.306  |
| DBP ( $\bar{x} \pm s$ , mmHg)               | 82.64 ± 9.72     | 85.20 ± 9.85   | 1.307        | 0.194  |
| 高血压 [例 (%) ]                                | 43 (89.58)       | 45 (86.54)     | 0.219        | 0.640  |
| 糖尿病 [例 (%) ]                                | 2 ( 4.17)        | 10 (19.23)     | 5.364        | 0.021  |
| 疾病类型 [例 (%) ]                               |                  |                |              |        |
| 高血压肾损害                                      | 13 (27.08)       | 10 (19.23)     | 1.732        | 0.785  |
| 糖尿病肾病                                       | 18 (37.50)       | 19 (36.54)     |              |        |
| 肾小球肾炎                                       | 15 (31.25)       | 19 (36.54)     |              |        |
| 多囊肾   | 1 ( 2.08)        | 3 ( 5.77)      |              |        |
| 梗阻性肾病                                       | 1 ( 2.08)        | 1 ( 1.92)      |              |        |
| 肾病家族史 [例 (%) ]                              | 0                | 2 ( 3.85)      | 1.884        | 0.170  |
| HDL-C ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)           | 1.02 ± 0.21      | 0.96 ± 0.20    | 1.463        | 0.147  |
| LDL-C ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)           | 2.24 ± 0.70      | 2.25 ± 0.68    | 0.072        | 0.942  |
| TC ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)              | 4.05 ± 0.52      | 4.12 ± 0.58    | 0.634        | 0.528  |
| TG ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)              | 1.27 ± 0.42      | 1.32 ± 0.54    | 0.514        | 0.609  |
| Hb ( $\bar{x} \pm s$ , g/L)                 | 96.43 ± 20.04    | 98.75 ± 18.72  | 0.599        | 0.551  |
| Alb ( $\bar{x} \pm s$ , g/L)                | 35.93 ± 2.76     | 34.86 ± 3.45   | 1.704        | 0.092  |
| P ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)               | 1.24 ± 0.31      | 1.43 ± 0.40    | 2.639        | 0.010  |
| Ca ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)              | 2.02 ± 0.29      | 2.04 ± 0.27    | 0.357        | 0.722  |
| 25-羟维生素 D3 ( $\bar{x} \pm s$ , nmol/L)      | 12.46 ± 3.01     | 5.42 ± 1.56    | 14.847       | <0.001 |
| 腹主动脉钙化评分 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)             | 2.06 ± 0.43      | 6.56 ± 0.89    | 31.766       | <0.001 |

1.3.2 血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平检测:收集所有腹膜透析患者入组时清晨空腹肘静脉血 5 ml,室温放置 30 min,离心收集血清并置于 -80℃ 冻存。RNA 提取试剂盒(北京康瑞纳生物科技有限公司)提取总 RNA 后,按照反转录试剂盒(北京伊塔生物科技有限公司)说明书进行反转录合成 cDNA,将得到的 cDNA 样品通过 7500 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)检测血清 lncRNA MEG3、miR-223 表达,其引物序列见表 2。

表 2 lncRNA MEG3、miR-223 及内参 GAPDH、U6 引物序列

Tab. 2 lncRNA MEG3, miR-223 and internal reference GAPDH, U6 primer sequences

| 基因          | 上游引物                         | 下游引物                           |
|-------------|------------------------------|--------------------------------|
| miR-223     | 5'-GTGAGAGTCCAGTATCG-CCGC-3' | 5'-GCGAGACAGATTCGCT-CACTAC-3'  |
| U6          | 5'-GCACGGACATGATACAG-CATC-3' | 5'-TGGTATCACCGGCACTC-CGTGTC-3' |
| lncRNA MEG3 | 5'-GTGGCAATGTACGCAG-GAAG-3'  | 5'-GTAGCAGCGAACGTCGC-GACA-3'   |
| GAPDH       | 5'-CGACGCCTGGAGATCA-CACA-3'  | 5'-GGTCGGCGACACTCCGA-TCA-3'    |

1.4 AAC 评估及分组 所有腹膜透析患者接受腹部

CT 检查,根据腹主动脉走行区出现密度大于 130 Hu 的斑块为 AAC<sup>[7]</sup>;腹主动脉钙化评分及分组:依据 Kaupila 等<sup>[8]</sup>的半定量评分系统进行评分,依次评价 L1 ~ 4 每个节段腹主动脉前壁、后壁钙化的严重程度,根据该节段钙化累及范围给予 1 分(范围 <1/3)、2 分(范围 1/3 ~ 2/3)和 3 分(范围 >2/3),总得分为 0 ~ 24 分,当腹主动脉钙化评分 >4 分时定义为重度 AAC,否则为轻度 AAC。根据检查结果将 AAC 组患者分为重度 AAC 亚组 21 例和轻度 AAC 亚组 31 例。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件分析数据。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,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 法或 Spearman 法评估腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3、miR-223 与临床资料及生化指标的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC)评价血清 lncRNA MEG3、miR-223 对腹膜透析患者发生 AAC 的预测价值,曲线下面积(AUC)比较采用 *Z* 检验;采用 Logistic 回归分析腹膜透析患者发生 AAC 的影响因素。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 非 AAC 组和 AAC 组血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平比较 AAC 组血清 lncRNA MEG3 高于非

AAC 组,血清 miR-223 低于非 AAC 组 ( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 3 非 AAC 组和 AAC 组血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of serum levels of lncRNA MEG3 and miR-223 between non AAC group and AAC group

| 组别         | 例数 | lncRNA MEG3 | miR-223     |
|------------|----|-------------|-------------|
| 非 AAC 组    | 48 | 1.01 ± 0.21 | 1.01 ± 0.20 |
| AAC 组      | 52 | 1.46 ± 0.31 | 0.68 ± 0.19 |
| <i>t</i> 值 |    | 8.428       | 8.461       |
| <i>P</i> 值 |    | <0.001      | <0.001      |

2.2 重度 AAC 亚组和轻度 AAC 亚组血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平比较 重度 AAC 亚组血清 lncRNA MEG3 高于轻度 AAC 亚组 ( $P < 0.01$ ),血清 miR-223 低于轻度 AAC 亚组 ( $P < 0.01$ ),见表 4。

表 4 轻度 AAC 组和重度 AAC 组血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 4 Comparison of serum lncRNA MEG3 and miR-223 levels between mild AAC group and severe AAC group

| 组别         | 例数 | lncRNA MEG3 | miR-223     |
|------------|----|-------------|-------------|
| 轻度 AAC 亚组  | 31 | 1.26 ± 0.24 | 0.82 ± 0.19 |
| 重度 AAC 亚组  | 21 | 1.76 ± 0.39 | 0.47 ± 0.16 |
| <i>t</i> 值 |    | 5.728       | 6.934       |
| <i>P</i> 值 |    | <0.001      | <0.001      |

2.3 不同亚组 AAC 特点比较 重度 AAC 亚组腹主动脉钙化评分高于轻度 AAC 亚组 [(11.30 ± 1.75)分 vs. (3.35 ± 0.61)分] ( $t = 19.959, P < 0.001$ )。

2.4 腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3、miR-223 与临床资料及生化指标的相关性 Pearson 法分析结果显示,腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3 与 miR-223 呈负相关 ( $r = -0.552, P < 0.001$ )。Spearman 法及 Pearson 法分析结果显示,腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3 与年龄、糖尿病、磷、腹主动脉钙化评分呈正相关,与 25-羟维生素 D3 呈负相关 ( $P < 0.05$ );血清 miR-223 与年龄、糖尿病、磷、腹主动脉钙化评分呈负相关,与 25-羟维生素 D3 呈正相关 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

2.5 血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平预测腹膜透析患者发生 AAC 的价值 以腹膜透析患者是否发生 AAC 为状态变量,以血清 lncRNA MEG3、miR-223 及二者联合预测概率值为检验变量,绘制 ROC 曲线结果显示,血清 lncRNA MEG3、miR-223 及二者联合预测腹

膜透析患者发生 AAC 的 AUC 分别为 0.898、0.823、0.942,二者联合预测腹膜透析患者发生 AAC 的价值大于单项预测 ( $Z/P = 1.667/0.048, 2.441/0.007$ ),见表 6、图 1。

表 5 腹膜透析 AAC 患者血清 lncRNA MEG3、miR-223 与一般资料及生化指标的相关性

Tab. 5 Correlation between serum lncRNA MEG3, miR-223 and general data and biochemical indicators in peritoneal dialysis AAC patients

| 指标                     | 年龄     | 糖尿病    | 血磷     | 25-羟维生素 D3 | 腹主动脉钙化评分 |
|------------------------|--------|--------|--------|------------|----------|
| lncRNA MEG3 <i>r</i> 值 | 0.513  | 0.496  | 0.504  | -0.512     | 0.522    |
| <i>P</i> 值             | 0.004  | 0.010  | 0.008  | 0.008      | 0.001    |
| miR-223 <i>r</i> 值     | -0.502 | -0.495 | -0.491 | 0.514      | -0.514   |
| <i>P</i> 值             | 0.006  | 0.010  | 0.009  | 0.006      | 0.003    |

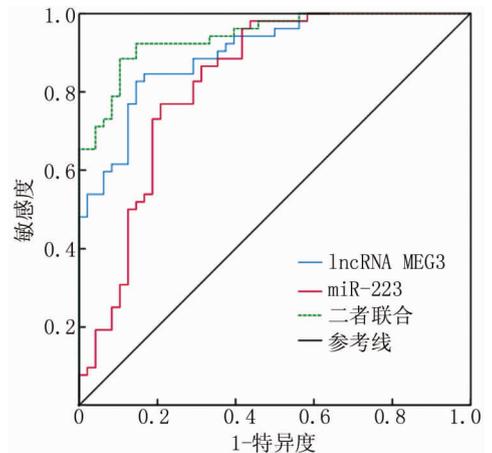


图 1 血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平预测腹膜透析患者发生 AAC 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of predicting AAC in peritoneal dialysis patients by serum levels of lncRNA MEG3 and miR-223

表 6 血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平预测腹膜透析患者发生 AAC 的价值

Tab. 6 the value of serum lncRNA MEG3, miR-223 levels in predicting AAC in peritoneal dialysis patients

| 变量          | Cut-off 值 | AUC   | 95% CI        | 敏感度   | 特异度   | Youden 指数 |
|-------------|-----------|-------|---------------|-------|-------|-----------|
| lncRNA MEG3 | 1.18      | 0.898 | 0.840 ~ 0.956 | 0.827 | 0.854 | 0.681     |
| miR-223     | 0.84      | 0.823 | 0.738 ~ 0.909 | 0.769 | 0.792 | 0.561     |
| 二者联合        | —         | 0.942 | 0.901 ~ 0.984 | 0.885 | 0.856 | 0.781     |

2.6 Logistic 回归分析腹膜透析患者发生 AAC 的影响因素 以腹膜透析患者是否发生 AAC 为因变量,以上述分析结果中有统计学意义的变量 lncRNA MEG3、

miR-223、年龄、糖尿病、磷、25-羟维生素 D3 为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示 lncRNA MEG3 高表达是影响腹膜透析患者发生 AAC 的独立危险因素 ( $P < 0.01$ ),miR-223 高表达是影响腹膜透析患者发生 AAC 的保护因素 ( $P < 0.01$ ),见表 7。

表 7 Logistic 回归分析腹膜透析患者发生 AAC 的影响因素

Tab. 7 Logistic regression analysis of influencing factors of AAC in peritoneal dialysis patients

| 影响因素          | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | P 值    | OR 值  | 95% CI        |
|---------------|-----------|-------|--------|--------|-------|---------------|
| lncRNA MEG3 高 | 0.974     | 0.309 | 9.932  | 0.002  | 2.648 | 1.445 ~ 4.852 |
| miR-223 高     | -0.123    | 0.032 | 14.846 | <0.001 | 0.884 | 0.830 ~ 0.941 |
| 年龄大           | 0.265     | 0.226 | 1.379  | 0.240  | 1.304 | 0.837 ~ 2.031 |
| 糖尿病           | 0.097     | 0.130 | 0.558  | 0.455  | 1.102 | 0.854 ~ 1.422 |
| 磷高            | 0.160     | 0.164 | 0.947  | 0.331  | 1.173 | 0.851 ~ 1.618 |
| 25-羟维生素 D3 高  | 0.127     | 0.248 | 0.261  | 0.610  | 1.135 | 0.698 ~ 1.845 |

### 3 讨论

既往研究显示,年龄、高血压、血脂水平、炎症反应、钙磷代谢紊乱等因素影响血管钙化<sup>[9-10]</sup>。血管内膜出现的钙化主要集中在大动脉,此血管钙化主要与动脉粥样硬化斑块形成及衰老有关<sup>[11]</sup>。CT 检查是检出血管钙化的常用手段,不仅清晰度好、分辨率高,还能对血管钙化程度进行定量研究<sup>[12]</sup>。本研究通过 CT 检查结果发现,100 例腹膜透析患者中,52 例发生 AAC,其发生率为 52.00%,与文献报道的 AAC 发病率基本一致<sup>[8]</sup>。然而 CT 检查价格昂贵且会增加腹膜透析患者辐射暴露的风险,导致其临床应用受限。因此需进一步探索更为便捷、有效且廉价的生化指标。

miR-223 可通过外泌体形式进入血管平滑肌细胞,进而抑制平滑肌细胞的异常增殖和迁移<sup>[13]</sup>。韩迎春等<sup>[14]</sup> 研究显示,miR-223 可降低炎症反应,敲除 miR-223 后将使血管炎性反应水平升高,同时促进动脉粥样硬化疾病进展。Zhang 等<sup>[15]</sup> 研究结果显示,细胞焦亡可导致内皮功能障碍,lncRNA MEG3 可抑制 miR-223 功能,增强血管炎性细胞焦亡,进而导致内皮功能障碍,促进动脉粥样硬化进展。本研究结果提示,腹膜透析患者血清 lncRNA MEG3 升高、miR-223 降低可能与 AAC 的发生有关,且相关性结果提示二者可能在 ACC 病情发展中发挥协同作用。陈珍珍等<sup>[16]</sup> 研究表明,lncRNA MEG3 既可以通过促进内皮细胞增殖来调节血管内皮损伤,同时也能通过增加炎症介质促进内皮细胞凋亡。结合既往研究及本研究结果推测,部分患者在长期腹膜透析的过程中体内炎症水平升高,病理状态造成 lncRNA MEG3 表达出现代偿性升高,

lncRNA MEG3 负向调控靶基因 miR-223 使其表达水平降低,进而抑制血管内皮细胞的增殖及迁移,阻止血管损伤修复,加速血管钙化。

此外,根据本研究相关性及多因素结果进一步推测 lncRNA MEG3、miR-223 虽与年龄、糖尿病等因素相关,但仍是独立于年龄、糖尿病等因素的 2 个 AAC 标志物,且与年龄、糖尿病等因素相比,lncRNA MEG3、miR-223 与 AAC 发生的相关性更高。本研究 ROC 曲线结果进一步表明联合检测血清 lncRNA MEG3、miR-223 水平有助于预测腹膜透析患者发生 AAC,当 lncRNA MEG3 临界值  $> 1.18$ ,miR-223 临界值  $< 0.84$  时,腹膜透析患者发生 AAC 的风险较高,可警示临床医师进一步明确诊断,采取相应措施。此外,血清 lncRNA MEG3、miR-223 在不同严重程度 AAC 患者中的表达差异性进一步表明两指标不仅能有效预测 AAC 的发生,而且 lncRNA MEG3 升高、miR-223 降低可提示钙化程度增加,但其相关作用机制仍待基础研究进一步证实。

综上所述,腹膜透析患者中 AAC 的发生率为 52.00%,发生 AAC 的腹膜透析患者血清 lncRNA MEG3 升高、miR-223 降低。lncRNA MEG3、miR-223 有望成为预测腹膜透析患者发生 AAC 的标志物,但本研究中的预测截断值仍需进一步优化。此外,受病例数限制,本研究中未能排除其他影响钙化的相关因素,今后将增加样本量,排除干扰因素的影响。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李涛:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;谢赛:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;虞典元、江志锋、李丹:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

- [1] Tang SCW, Lai KN. Peritoneal dialysis: the ideal bridge from conservative therapy to kidney transplant [J]. J Nephrol, 2020, 33 (6): 1189-1194. DOI:10.1007/s40620-020-00787-0.
- [2] 周长菊,曹娟,章旭,等.维持性腹膜透析患者血管钙化的发生情况与相关因素研究[J].国际泌尿系统杂志,2019,39(5):860-864. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4416.2019.05.025.  
Zhou CJ, Cao J, Zhang X, et al. The incidence and related factors of vascular calcification in patients with maintenance peritoneal dialysis [J]. International Journal of Urology and Nephrology, 2019, 39 (5): 860-864. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4416.2019.05.025.
- [3] Fonseca LF, Araújo AB, Quadros KRDS, et al. AGEs accumulation is related to muscle degeneration and vascular calcification in peritoneal dialysis patients [J]. J Bras Nefrol, 2021, 43 (2): 191-199. DOI:10.1590/2175-8239-JBN-2020-0119.
- [4] 李醒,黄俊星. lncRNA MEG3 作为 miR-21 的 ceRNA 在恶性肿瘤中的作用 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2020, 47 (1): 35-38. DOI: 10.

- 3760/cma. j. issn. 1673-422X. 2020. 01. 006.
- Li X, Huang JX. Role of lncRNA MEG3 as ceRNA of miR-21 in cancer[J]. *J Int Oncol*, 2020, 47(1):35-38. DOI:10.3760/cma. j. issn. 1673-422X. 2020. 01. 006.
- [5] Li Z, Han L, Liang Q, et al. Long noncoding RNA MEG3 contributes to dysfunction of brain microvascular endothelial cells after intracerebral hemorrhage by regulating the miR-1930-5p/MLL1 axis[J]. *Brain Res Bull*, 2021, 166(1):1-11. DOI:10.1016/j.brainresbull. 2020. 10. 002.
- [6] Zhang Y, Wang YF, Zhang L. Reduced platelet miR-223 induction in kawasaki disease leads to severe coronary artery pathology through a miR-223/PDGFR $\beta$  vascular smooth muscle cell axis[J]. *Circ Res*, 2020, 127(7):855-873. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 120. 316951.
- [7] Hendriks EJE, De Jong PA, Beulens JWJ, et al. Annularity of aortoiliac arterial calcification and risk of all-cause and cardiovascular mortality[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2018, 11(11):1718-1719. DOI:10.1016/j.jcmg. 2018. 01. 029.
- [8] Kauppi LA, Polak JF, Cupples LA, et al. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study[J]. *Atherosclerosis*, 1997, 132(2):245-250. DOI:10.1016/s0021-9150(97)00106-8.
- [9] 贺晓雯, 徐玉祥, 张九芝, 等. 行维持性血液透析治疗的患者血清骨桥蛋白, 血管内皮生长因子, 基质金属蛋白酶 9 水平及其与血管钙化的关系[J]. *广西医学*, 2020, 42(8):934-937. DOI:10.11675/j. issn. 0253-4304. 2020. 08. 02.
- He XW, Xu YX, Zhang JZ, et al. Serum levels of osteopontin, vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase 9 and their relationship with vascular calcification in patients undergoing maintenance hemodialysis[J]. *Guangxi Medical Journal*, 2020, 42(8):934-937. DOI:10.11675/j. issn. 0253-4304. 2020. 08. 02.
- [10] Meléndez-Ramírez G, Soto ME, Meave A, et al. Aortic calcification in takayasu arteritis: risk factors and relationship with activity and vascular lesion. It is not only an aging question[J]. *J Clin Rheumatol*, 2021, 27(6S):S265-S273. DOI:10.1097/RHU.0000000000001527.
- [11] Duan M, Zhao WL, Zhou L, et al. Omics research in vascular calcification[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 511(1):319-328. DOI:10.1016/j.cca. 2020. 10. 022.
- [12] Zhang L, Li L, Feng G, et al. Advances in CT techniques in vascular calcification[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8:716822. DOI:10.3389/fcvm. 2021. 716822.
- [13] Su F, Shi M, Zhang J, et al. MiR-223/NFAT5 signaling suppresses arterial smooth muscle cell proliferation and motility in vitro[J]. *Ageing (Albany NY)*, 2020, 12(24):26188-26198. DOI:10.18632/ag- ing. 202395.
- [14] 韩迎春, 李扬, 张继超, 等. 敲除 miR-223 促进血管炎性反应和动脉粥样硬化的发生[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(4):310-315. DOI:10.3969/j. issn. 1007-3949. 2020. 04. 009.
- Hai YC, Li Y, Zhang JC, et al. miR-223 deficiency aggravates vascular inflammation and atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(4):310-315. DOI:10.3969/j. issn. 1007-3949. 2020. 04. 009.
- [15] Zhang Y, Liu X, Bai X, et al. Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 axis[J]. *J Pineal Res*, 2018, 64(2):e12449. DOI:10.1111/jpi. 12449.
- [16] 陈珍珍, 齐超, 王珺楠. 长链非编码 RNA 母系表达基因 3 在心血管病中的作用[J]. *国际心血管病杂志*, 2019, 46(3):134-136. DOI:10.3969/j. issn. 1673-6583. 2019. 03. 002.
- Chen ZZ, Qi C, Wang JN. The role of long non-coding RNA MEG3 in cardiovascular disease[J]. *Int J Cardiovasc Dis*, 2019, 46(3):134-136. DOI:10.3969/j. issn. 1673-6583. 2019. 03. 002.
- (收稿日期:2022-07-15)
- 
- (上接 1162 页)
- [16] 万磊. 分析 2 型糖尿病肾病患者采用度拉糖肽联合达格列净的临床效果[J]. *糖尿病新世界*, 2022, 25(8):8-11. DOI:10.16658/j. cnki. 1672-4062. 2022. 08. 008.
- Wan L. Analysis of the clinical effect of dulaglutide combined with Da-pagliflozin in patients with type 2 diabetic nephropathy[J]. *Diabetes New World*, 2022, 25(8):8-11. DOI:10.16658/j. cnki. 1672-4062. 2022. 08. 008.
- [17] 黄秀丽, 吴艳, 喻荷淋, 等. 替米沙坦联合前列地尔对糖尿病肾病氧化应激、免疫炎症反应及肾功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(7):705-708, 713. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 07. 014.
- Huang XL, Wu Y, Yu HL, et al. Effects of telmisartan combined with alprostadil on oxidative stress, immune inflammatory response and renal function in diabetic nephropathy[J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2020, 19(7):705-708, 713. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2020. 07. 014.
- [18] 李钰艳, 吴艳, 喻荷淋, 等. 依那普利联合苯磺酸氨氯地平对糖尿病肾病伴高血压患者血清炎症因子及肾功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(8):761-764. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 08. 002.
- Li YY, Wu Y, Yu HL, et al. The impact of inflammatory factors and renal function of enalapril combined with amlodipine besylate for diabetic nephropathy with hypertension[J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2021, 20(8):761-764. DOI:10.3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 08. 002.
- [19] 王婧, 李晓雁, 刘丽, 等. 血液灌流联合血液透析对糖尿病肾病患者的有效性和安全性[J]. *临床内科杂志*, 2021, 38(4):230-232. DOI:10.3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 04. 005.
- Wang J, Li XY, Liu L, et al. Effectiveness and safety of hemoperfusion combined with hemodialysis in patients with diabetic nephropathy[J]. *Journal of Clinical Internal Medicine*, 2021, 38(4):230-232. DOI:10.3969/j. issn. 1001-9057. 2021. 04. 005.
- [20] 魏燕, 金剑虹, 侯鹏超. 利拉鲁肽联合替米沙坦治疗糖尿病肾病患者的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(2):106-109. DOI:10.13699/j. cnki. 1001-6821. 2020. 02. 003.
- Wei Y, Jin JH, Hou PC. Clinical trial of liraglutide combined with telmisartan in the treatment of patients with diabetic nephropathy[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2020, 36(2):106-109. DOI:10.13699/j. cnki. 1001-6821. 2020. 02. 003.
- (收稿日期:2022-06-29)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.010

论著·临床

# 血清 miR-301a、miR-197 与 GDM 患者炎性细胞因子的相关性及其预测妊娠结局的 ROC 分析

吴海芳, 张海波, 黄素静, 韩一栩

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(19A200009)

作者单位: 570311 海口, 海南医学院第二附属医院产科

通信作者: 韩一栩, E-mail: hanyx11@163.com

**【摘要】**目的 探讨血清微小 RNA-301a (miR-301a)、miR-197 与妊娠期糖尿病 (GDM) 患者炎性细胞因子的相关性及其预测妊娠结局的受试者工作特征曲线 (ROC) 分析。**方法** 选取 2020 年 1 月—2021 年 1 月于海南医学院第二附属医院产科行产检并分娩的确诊 GDM 孕妇 45 例为观察组, 并按照妊娠结局分为良好亚组 25 例和不良亚组 20 例, 另选取同时期在医院产检并分娩的健康孕妇 45 例为对照组。检测 2 组孕妇白细胞计数 (WBC) 及血清 miR-301a、miR-197、白介素-1 (IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、C 反应蛋白 (CRP) 水平, 采用 Pearson 法分析血清 miR-301a、miR-197 与 WBC、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 的相关性, Logistic 回归分析影响 GDM 患者妊娠结局的危险因素, 绘制 ROC 曲线分析血清 miR-301a、miR-197 对 GDM 患者妊娠结局的预测价值。**结果** 观察组血清 miR-301a 高于对照组, miR-197 低于对照组 ( $t = 16.542/75.445, P$  均  $< 0.001$ ), WBC 及血清 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平均高于对照组 ( $t = 9.297/40.910/31.633/14.860/12.258, P$  均  $< 0.001$ ); 血清 miR-301a 与 WBC、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平呈正相关 ( $r/P = 0.523/ < 0.001, 0.542/ < 0.001, 0.325/0.009, 0.196/0.002, 0.145/0.034$ ), 血清 miR-197 与 WBC、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平呈负相关 ( $r = -0.251, -0.673, -0.374, -0.258, -0.546, P$  均  $< 0.001$ ); 血清 miR-301a 高表达、miR-197 低表达均是影响 GDM 患者妊娠结局的独立危险因素 [ $OR(95\% CI) = 22.692(2.056 \sim 250.385), 12.833(1.143 \sim 144.119)$ ]; 血清 miR-301a、miR-197 及二者联合预测 GDM 患者妊娠结局的 AUC 分别为 0.785、0.804、0.954, 二者联合预测的 AUC 均高于单项检测 ( $Z = 5.239/4.263, P$  均  $< 0.001$ )。**结论** 血清 miR-301a、miR-197 的异常表达与妊娠期糖尿病的发生发展有关, 二者联合检测对于预测妊娠结局的价值较高, 可作为治疗妊娠期糖尿病的重要靶点。

**【关键词】** 妊娠期糖尿病; 微小 RNA-301a; 微小 RNA-197; 炎性细胞因子; 相关性; 妊娠结局**【中图分类号】** R714.256 **【文献标识码】** A

**Correlation between serum miR-301a, miR-197 and inflammatory cytokines in GDM patients and ROC analysis for predicting pregnancy outcome** Wu Haifang, Zhang Haibo, Huang Sujing, Han Yixu. Department of Obstetrics, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Province, Haikou 570311, China

Corresponding author: Han Yixu, E-mail: hanyx11@163.com

Funding program: Hainan Health and Family Planning Industry Research Project (19A200009)

**【Abstract】 Objective** To explore the correlation between serum microRNA-301a (miR-301a), miR-197 and inflammatory cytokines in patients with gestational diabetes (GDM), and to analyze the receiver operating characteristic curve (ROC) that predicts pregnancy outcome. **Methods** From January 2020 to January 2021, 45 pregnant women with GDM who were diagnosed and delivered in the Obstetrics Department of the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College were selected as the observation group, and were divided into 25 good subgroups and 20 bad subgroups according to pregnancy outcomes. Another 45 healthy pregnant women who were delivered in the hospital during the same period were selected as the control group. White blood cell count (WBC), serum miR-301a, miR-197, interleukin-1 (IL-1), IL-6, and tumor necrosis factor were detected in the two groups of pregnant women.  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), C-reactive protein (CRP) level, serum miR-301a, miR-197 and WBC, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  were analyzed by Pearson method, Correlation of CRP, logistic regression analysis of the risk factors affecting the pregnancy outcome of GDM patients, and ROC curve analysis of the predictive value of serum miR-301a and miR-197 on the pregnancy outcome of GDM patients. **Results** The serum miR-301a in the observation group was higher than that in the

control group, and miR-197 was lower than that in the control group ( $t = 16.542, 75.445, P < 0.001$ ). WBC and serum IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP levels were higher than those in the control group ( $t = 9.297, 40.910, 31.633, 14.860, 12.258, P < 0.001$ ). Serum miR-301a and WBC, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP level was positively correlated ( $r/P = 0.523 / < 0.001, 0.542 / < 0.001, 0.325 / 0.009, 0.196 / 0.002, 0.145 / 0.034$ ). Serum miR-197 was associated with WBC, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP levels were negatively correlated ( $r = -0.251, -0.673, -0.374, -0.258, -0.546, P < 0.001$ ). High expression of miR-301a and low expression of miR-197 in serum are independent risk factors affecting pregnancy outcome of GDM patients [ $OR(95\% CI) = 22.692 (2.056 - 250.385), 12.833 (1.143 - 144.119)$ ]. The AUC of serum miR-301a, miR-197 and their combination in predicting the pregnancy outcome of GDM patients were 0.785, 0.804 and 0.954, respectively. The AUC of their combination was higher than that of single detection ( $Z = 5.239, 4.263, P < 0.001$ ). **Conclusion** The abnormal expression of serum miR-301a and miR-197 is related to the occurrence and development of gestational diabetes. The combined detection of miR-301a and miR-197 is of high value in predicting pregnancy outcome, and can be used as an important target for the treatment of gestational diabetes.

**【Key words】** Gestational diabetes mellitus; MicroRNA-301-a; MicroRNA-197; Inflammatory cytokines; Correlation; Pregnancy outcomes

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)会引发孕晚期流产、难产、先兆子痫及心血管疾病等不良结局,并且患儿为巨大儿、低血糖、窒息、合并代谢综合征的风险随之增高,严重威胁母婴健康<sup>[1]</sup>。临床研究表明,胰岛素抵抗是 GDM 的主要发病机制<sup>[2]</sup>。白细胞计数(WBC)是最常见的炎性指标因子,有研究证明,WBC 可作为 GDM 的预测因子;白介素-1(IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在 GDM 患者血清和胎盘组织中表达异常;C 反应蛋白(CRP)主要由肝细胞合成,主要用于反映炎性反应。微小 RNA(miRNA)可参与多种疾病的发生和发展过程。多项研究证实,多种 miRNA 与 2 型糖尿病的发生、进展密切相关<sup>[3-4]</sup>,但是其与 GDM 相关性研究的报道较少。因此,现分析血清 miR-301a、miR-197 与 GDM 患者炎性细胞因子的相关性,及预测妊娠结局的价值,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1 月—2021 年 1 月于海南医学院第二附属医院产科行产检并分娩的确诊 GDM 孕妇 45 例为观察组,并按照妊娠结局分为良好亚组 25 例和不良亚组 20 例。另选取同时期在医院产检并分娩的健康孕妇 45 例为对照组。3 组年龄、体质指数、孕周等一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。本研究经医院伦理委员会批准(KY20191226318),受试者及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观察组均符合“妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)”<sup>[5]</sup>中相关诊断标准,0、1、2、3 h 血糖界值分别为 5.3、10.0、8.6、7.8 mmol/L,2 个及以上时点  $\geq$  上述数值诊断为 GDM;②研究期间未服用糖皮质激素进行治疗。(2)

排除标准:①合并严重神经精神损害者;②存在严重免疫系统疾病者;③合并心、肝、肾等器质病变者。

表 1 3 组一般资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of three groups of general data

| 组别   | 例数 | 年龄(岁)            | 体质指数(kg/m <sup>2</sup> ) | 孕周(kg/m <sup>2</sup> ) |
|------|----|------------------|--------------------------|------------------------|
| 对照组  | 45 | 28.22 $\pm$ 3.12 | 21.15 $\pm$ 2.34         | 38.02 $\pm$ 1.01       |
| 良好亚组 | 25 | 29.01 $\pm$ 2.03 | 21.95 $\pm$ 2.01         | 37.56 $\pm$ 0.96       |
| 不良亚组 | 20 | 29.13 $\pm$ 2.11 | 22.04 $\pm$ 2.43         | 37.92 $\pm$ 0.85       |
| F 值  |    | 1.149            | 1.543                    | 1.867                  |
| P 值  |    | 0.322            | 0.220                    | 0.161                  |

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-301a、miR-197 检测:采集孕妇 24 ~ 28 周时晨起空腹静脉血 5 ml,离心取上层血清,采用 Trizol 试剂盒提取总 RNA,加入 Trizol 充分混匀后静置,乙醇沉淀并清洗 RNA,加入焦碳酸二乙酯(DEPC)水溶解 RNA。取总 RNA 2  $\mu$ l 作为模板,采用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,每个检测样本设 3 个复孔,以 U6 位内参照。miRNA 表达量以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示,其中  $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{U6}$ 。试剂盒由杭州碧云天公司提供。

1.3.2 WBC 及血清 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 检测:上述血清,采用酶联免疫吸附法检测 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平;采用全自动细胞分析仪(sysmex XE500)测定 WBC 水平。试剂盒由杭州碧云天公司提供。

1.3.3 妊娠结局:统计观察组孕妇的妊娠结局,妊娠结局不良是指产妇发生产后出血、产褥感染及新生儿窒息、围产儿死亡等不良事件;妊娠结局良好是指生产顺利,母婴均无不良事件发生。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件统计分析数据。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较

采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 法分析血清 miR-301a、miR-197 水平与炎症细胞因子水平相关性;采用 Logistic 回归分析影响妊娠期糖尿病患者妊娠结局因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析 miR-301a、miR-197 预测妊娠期糖尿病患者妊娠结局的价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组血清 miR-301a、miR-197 水平比较 观察组血清 miR-301a 高于对照组,miR-197 低于对照组( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 对照组与观察组产妇产血清 miR-301a、miR-197 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of serum miR-301a and miR-197 levels between the control group and the observation group

| 组 别        | 例数 | miR-301a    | miR-197     |
|------------|----|-------------|-------------|
| 对照组        | 45 | 0.11 ± 0.01 | 7.02 ± 0.44 |
| 观察组        | 45 | 0.26 ± 0.06 | 1.86 ± 0.13 |
| <i>t</i> 值 |    | 16.542      | 75.445      |
| <i>P</i> 值 |    | <0.001      | <0.001      |

2.2 2 组炎症因子水平比较 观察组 WBC 及血清 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平均高于对照组( $P < 0.01$ ),见表 3。

2.3 观察组妊娠结局 良好亚组 25 例妊娠结局良好,母婴均无不良事件发生;不良亚组 20 例妊娠结局不良,其中产妇发生产后出血 12 例,产后发生产褥感染 7 例,新生儿发生窒息 1 例。

2.4 血清 miR-301a、miR-197 水平与炎症细胞因子相关性分析 Pearson 相关性分析结果显示,血清 miR-301a 与 WBC、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平呈正相关( $P < 0.05$ ),血清 miR-197 与 WBC、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、

CRP 水平呈负相关( $P < 0.01$ ),见表 4。

2.5 影响 GDM 患者妊娠结局的多因素 Logistic 回归分析 以 GDM 患者妊娠结局为因变量,以上述结果中  $P < 0.05$  项目为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,血清 miR-301a 升高、miR-197 降低均是影响 GDM 患者妊娠不良结局的独立危险因素( $P < 0.05$ ),见表 5。

表 5 影响 GDM 患者妊娠不良结局的多因素 Logistic 回归分析  
Tab. 5 Multi factor Logistic regression analysis of the influence of on the adverse pregnancy outcome of GDM patients

| 因 素             | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | <i>P</i> 值 | OR 值   | 95% CI          |
|-----------------|-----------|-------|--------|------------|--------|-----------------|
| WBC 高           | 0.486     | 0.289 | 2.828  | 0.093      | 1.626  | 0.923 ~ 2.865   |
| IL-1 高          | 0.655     | 0.337 | 3.778  | 0.053      | 1.925  | 0.994 ~ 3.727   |
| IL-6 高          | 1.383     | 1.251 | 1.222  | 0.270      | 3.987  | 0.343 ~ 46.292  |
| TNF- $\alpha$ 高 | 1.417     | 1.250 | 1.285  | 0.258      | 4.125  | 0.356 ~ 47.799  |
| CRP 高           | 0.169     | 0.101 | 2.800  | 0.095      | 1.184  | 0.971 ~ 1.443   |
| miR-301a 高      | 3.122     | 1.225 | 6.495  | 0.011      | 22.692 | 2.056 ~ 250.385 |
| miR-197 低       | 2.552     | 1.234 | 4.277  | 0.039      | 12.833 | 1.143 ~ 144.119 |

2.6 血清 miR-301a、miR-197 对 GDM 患者妊娠结局的预测价值 绘制 ROC 曲线结果显示,血清 miR-301a、miR-197 及二者联合预测 GDM 患者妊娠结局的 AUC 分别为 0.785、0.804、0.954,二者联合预测的 AUC 均高于单项检测( $Z = 5.239、4.263, P$  均  $< 0.001$ ),见图 1、表 6。

表 6 血清 miR-301a、miR-197 对妊娠结局的预测价值

Tab. 6 The predictive value of serum miR-301a and miR-197 on pregnancy outcome

| 变 量        | Cut-off 值 | AUC   | 95% CI        | 敏感度   | 特异度   | Youden 指数 |
|------------|-----------|-------|---------------|-------|-------|-----------|
| miR-301a 高 | 0.119     | 0.785 | 0.686 ~ 0.865 | 0.778 | 0.867 | 0.644     |
| miR-197 低  | 6.829     | 0.804 | 0.707 ~ 0.880 | 0.889 | 0.689 | 0.578     |
| 二者联合       | —         | 0.954 | 0.888 ~ 0.987 | 0.911 | 0.907 | 0.818     |

表 3 对照组与观察组产妇产炎症因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of inflammatory factor levels between control group and observation group

| 组 别        | 例数 | WBC( $\times 10^9/L$ ) | IL-1 (ng/L)    | IL-6 (ng/L)   | TNF- $\alpha$ ( $\mu g/L$ ) | CRP (g/L)   |
|------------|----|------------------------|----------------|---------------|-----------------------------|-------------|
| 对照组        | 45 | 7.25 ± 1.52            | 98.63 ± 8.52   | 67.52 ± 5.24  | 6.31 ± 1.25                 | 3.75 ± 0.96 |
| 观察组        | 45 | 9.96 ± 1.23            | 189.63 ± 12.25 | 109.17 ± 7.11 | 12.07 ± 2.28                | 6.63 ± 1.25 |
| <i>t</i> 值 |    | 9.297                  | 40.910         | 31.633        | 14.860                      | 12.258      |
| <i>P</i> 值 |    | <0.001                 | <0.001         | <0.001        | <0.001                      | <0.001      |

表 4 血清 miR-301a、miR-197 水平与炎症细胞因子水平相关性分析

Tab. 4 Correlation analysis between serum miR-301a, miR-197 levels and inflammatory cytokine levels

| 项 目      | WBC        |            | IL-1       |            | IL-6       |            | TNF- $\alpha$ |            | CRP        |            |
|----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------------|------------|------------|------------|
|          | <i>r</i> 值 | <i>P</i> 值 | <i>r</i> 值 | <i>P</i> 值 | <i>r</i> 值 | <i>P</i> 值 | <i>r</i> 值    | <i>P</i> 值 | <i>r</i> 值 | <i>P</i> 值 |
| miR-301a | 0.523      | 0.001      | 0.542      | <0.001     | 0.325      | 0.009      | 0.196         | 0.002      | 0.145      | 0.034      |
| miR-197  | -0.251     | <0.001     | -0.673     | <0.001     | -0.374     | <0.001     | -0.258        | <0.001     | -0.546     | <0.001     |

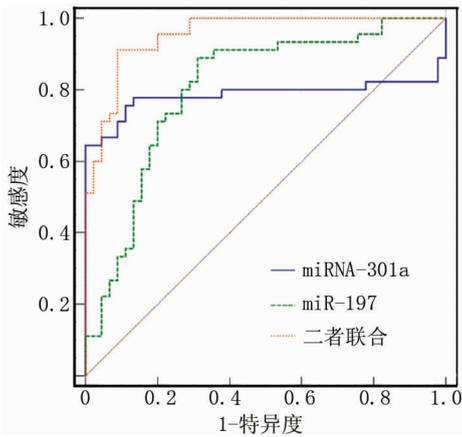


图 1 血清 miR-301a、miR-197 预测妊娠结局的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum miR-301a and miR-197 to predict pregnancy outcome

### 3 讨论

GDM 与妊娠结局密切相关。既往有研究结果显示,胰岛素抵抗是 GDM 发病的关键环节,多数孕妇的胰岛素分泌量可维持正常的糖代谢,而少数孕妇无法代偿上述变化,出现胰岛素抵抗,最终导致 GDM 的发生<sup>[6]</sup>。越来越多的研究表明,糖尿病患者存在体内细胞因子介导的慢性炎症反应,巨噬细胞、单核细胞及炎症因子可能参与糖尿病及其并发症的发生和发展<sup>[7-8]</sup>。GDM 患者体内存在相同的发病机制,少数 GDM 患者在妊娠后期会发展成 2 型糖尿病,因此这种免疫反应诱发的炎症反应也加重了 GDM 患者的胰岛素抵抗。随着基因检测技术的推广,miRNA 在 GDM 发病中的作用逐渐成为 GDM 研究的重点内容。

miRNA 是一种单链的非编码 RNA,由 19~25 个核苷酸组成,miRNA 基因可位于整个基因组的任何位置,也可位于蛋白编码基因的内含子,但不论来自何处,其生物合成的过程基本相同<sup>[9]</sup>。miRNA 基因可参与人体正常的生理过程,miRNA 对神经元的发育重塑、树突棘的发育、杏仁核依赖记忆的形成及神经细胞有丝分裂后的存活均有重要作用<sup>[10]</sup>。有研究也证实 miRNA 与低分化乳腺癌、胃癌等多种癌症相关,其在糖代谢异常、胰岛素分泌、胰岛素抵抗等的发生过程中发挥了必不可少的作用<sup>[11]</sup>。另外 miRNA 可由胎盘分泌,并且稳定存在于母体,可通过调控细胞增殖、分化、凋亡等过程,参与胰岛素抵抗、糖代谢等妊娠期糖尿病的发病机制中,使其发生胎盘异常、胎儿血管内皮损伤等病理学改变,还可影响胎儿生长发育,对胎儿和母胎造成严重影响。其中 miR-301a、miR-197 是非常典型的 miRNA 基因,有学者证实,miR-301a、miR-197 水平

与机体炎症反应和免疫反应有关,miR-301a 水平升高,miR-197 水平降低,会导致促炎因子水平升高,损害有关器官结构和功能。本研究结果显示,观察组 WBC 及血清 miR-301a、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 水平高于对照组,miR-197 低于对照组,Manani 等<sup>[12]</sup>研究表明,miRNA 在 GDM 患者妊娠过程中发挥代谢和发育调节剂功能,可能参与其发病和妊娠结局等过程。Pearson 相关性分析结果显示,miR-301a 与炎症因子水平呈正相关,miR-197 与炎症因子水平呈负相关,表明血清 miR-301a、miR-197 的异常表达与妊娠期糖尿病的发生发展有关,其可作为预测和治疗妊娠期糖尿病的重要靶点,与张帮林等<sup>[13]</sup>研究结果一致。

正常妊娠期间,T 细胞的平衡从促炎性 Th1 转变为抗炎性 Th2,当机体免疫功能紊乱时,保护性抗炎因子水平降低,胰岛  $\beta$  细胞功能紊乱<sup>[14]</sup>。miR-301a 水平增加导致促炎因子水平升高,T 细胞的平衡性转换受阻,引发胰岛素抵抗。血清 IL-6 可通过 NF- $\kappa$ B 炎症信号传导通路参与炎症反应,促使糖皮质激素分泌,升高血糖<sup>[15]</sup>。血清 CRP 与胰岛素抵抗密切相关,其会扰乱胰岛素合成和分泌机制,进而导致胰岛素抵抗加重<sup>[16]</sup>。血清 TNF- $\alpha$  介导免疫炎症反应多个过程。上述结果进一步证实了血清 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CRP 是促使胰岛素抵抗的重要炎症因子<sup>[17]</sup>。本研究结果还显示,二者联合预测 GDM 患者妊娠结局的诊断价值极高,提示血清 miR-301a、miR-197 有望作为 GDM 的潜在诊断指标,但这需要进一步扩大样本量及长期随访研究证实。

综上,血清 miR-301a、miR-197 的异常表达与妊娠期糖尿病的发生发展有关,其可通过调节抗炎和促炎的失衡导致妊娠期糖尿病的发生,二者联合检测对妊娠结局的预测价值较高,可作为治疗妊娠期糖尿病的重要靶点。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

吴海芳:课题设计,实施研究过程,论文撰写;张海波:提出研究思路,论文审核,实施研究过程,进行统计学分析;黄素静:实施研究过程,数据收集;韩一翔:实施研究过程,参与论文修改

参考文献

- [1] 范婷婷,冯素文,金额,等. 妊娠期糖尿病产妇分娩的新生儿出生后 24 小时内血糖变化规律与护理对策[J]. 中华护理杂志, 2020,55(10):1490-1496. DOI:10.3761/j.issn.0254-1769.2020.10.008.
- Fan TT, Feng SW, Jin Y, et al. Analysis of blood glucose changes and nursing countermeasures in 24 hours after birth of the neonates delivered by mothers with gestation diabetes[J]. Chin J Nurs, 2020,55

- (10):52-58. DOI:10.3761/j.issn.0254-1769.2020.10.008.
- [2] 黄晓燕,张高芝,臧循雄.妊娠期糖尿病孕妇血糖、糖化血红蛋白与甲状腺功能的相关性[J].中国妇幼保健,2018,33(4):760-763. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2018.04.13.  
Huang XY,Zhang GZ,Zang XX. Correlations between blood glucose, glycosylated hemoglobin and thyroid function in pregnant women with gestational diabetes mellitus[J]. Maternal and Child Health Care of China,2018,33(4):760-763. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2018.04.13.
- [3] 禩文婷,陈丽霞,黎美金,等.妊娠期糖尿病患者胎盘来源外泌体 miRNA 表达分析[J].中国实用妇科与产科杂志,2020,36(1):90-92. DOI:10.19538/j.fk2020010121.  
Xuan WT,Chen LX,Li MJ,et al. Analysis of miRNA expression of placenta-derived exosomes in patients with gestational diabetes mellitus[J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetri,2020,36(1):90-92. DOI:10.19538/j.fk2020010121.
- [4] 卢敏,王英,陈青,等.炎症及脂肪细胞因子与妊娠期糖尿病发病的相关性及在产褥期的变化[J].中国妇幼保健,2018,33(8):1767-1770. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2018.08.29.  
Lu M,Wang Y,Chen Q,et al. Correlations between inflammatory cytokines and adipocytokines and onset of gestational diabetes mellitus and the changes during postpartum period[J]. Maternal and Child Health Care of China,2018,33(8):1767-1770. DOI:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2018.08.29.
- [5] 中华医学会妇产科学分会产科学组,中华医学会围产医学分会妊娠合并糖尿病协作组.妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)[J].中华妇产科杂志,2014,49(8):561-569. DOI:10.3969/j.issn.1672-7851.2014.11.002.  
Obstetrics And Gynecology Group of Obstetrics and Gynecology Branch of Chinese Medical Association,Pregnancy combined diabetes collaboration group of Perinatal Medicine Branch of Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of gestational comorbid diabetes mellitus (2014)[J]. Chin J Obstet Gynecol,2014,49(8):561-569. DOI:10.3969/j.issn.1672-7851.2014.11.002.
- [6] 靳思思,靳绵绵,张一平.联合检测血清 miR-21 和 miR-25 对 2 型糖尿病肾病的诊断价值[J].华南国防医学杂志,2020,34(4):228-231. DOI:10.13730/j.issn.1009-2595.2020.04.002.  
Jin SS,Jin MM,Zhang YP. Diagnostic value of combined detection of serum miR-21 and miR-25 in type 2 diabetic nephropathy[J]. Mil Med J S Chin,2020,34(4):228-231. DOI:10.13730/j.issn.1009-2595.2020.04.002.
- [7] Samandari N,Mirza AH,Nielsen LB,et al. Circulating microRNA levels predict residual beta cell function and glycaemic control in children with type 1 diabetes mellitus[J]. Diabetologia,2017,60(2):1-10. DOI:10.1007/s00125-016-4156-4.
- [8] 卫华,段思柳,冯香艳,等.妊娠期糖尿病患者产后血清相关细胞因子与糖代谢异常的关系[J].中国计划生育学杂志,2018,26(9):837-840. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2018.09.018.  
Wei H,Duan SL,Feng XY,et al. Relationship between postpartum serum related cytokines and abnormal glucose of patients with gestational diabetes[J]. Chin J Fam Plann,2018,26(9):837-840. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2018.09.018.
- [9] 朱邦,陈如昌,朱晓丹.急性肺栓塞患者血清 miRNAs 标志物检测及 miR-134 的临床价值[J].全科医学临床与教育,2018,16(6):617-620. DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2018.06.005.  
Zhu B,Chen RC,Zhu XD. Detection of serum miRNAs markers and clinical value of miR-134 in patients with acute pulmonary embolism[J]. Clinical Education of General Practice,2018,16(6):617-620. DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2018.06.005.
- [10] 王庆高,何亚州,李丽娟,等. miR-197 在慢性心力衰竭中的生物信息学分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(5):723-728. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2020.05.005.  
Wang QG,He YZ,Li LJ,et al. Bioinformatics analysis of miR-197 in chronic heart failure[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio/Cerebrovascular Disease,2020,18(5):723-728. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2020.05.005.
- [11] Chung E,Jesse F,Marza AD,et al. Responses of pro-inflammatory cytokines, acute phase proteins and cytological analysis in serum and cerebrospinal fluid during haemorrhagic septicaemia infection in buffaloes[J]. Tropical Animal Health & Production,2019,27(51):1773-1782. DOI:10.1007/s11250-019-01870-w.
- [12] Manani SM,Virzi GM,Clementi A,et al. Pro-inflammatory cytokines: A possible relationship with dialytic adequacy and serum albumin in peritoneal dialysis patients[J]. Clin Kidney J,2016,9(1):153-157. DOI:10.1093/ckj/sfv137.
- [13] 张帮林,郑琳,刘育欣,等.血清 miRNA-145,miRNA-21 和 miRNA-197 对非小细胞肺癌的诊断价值[J].肿瘤研究与临床,2021,33(7):513-517. DOI:10.3760/cma.j.cn115355-20201228-00734.
- [14] 明艳,张祖艳,胡莉,等.血清游离 miRNA-132 及 miRNA-301a 水平与妊娠期糖尿病相关性研究[J].中国医药科学,2019,9(4):87-90,142. DOI:10.3969/j.issn.2095-0616.2019.04.026.
- [15] 赵骏达,郭春风,马俊旗.微小 RNA-132-3p 对妊娠期糖尿病患者胎盘线粒体功能和葡萄糖代谢的影响[J].中国医药,2019,14(12):1873-1877. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.12.028.  
Zhao JD,Guo CF,Ma JQ. Influence of microRNA-132-3p on mitochondrial function and glucose metabolism of placenta in patients with gestational diabetes mellitus[J]. China Medicine,2019,14(12):1873-1877. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.12.028.
- [16] Tang WF,Huang RT,Chien KY,et al. Host MicroRNA miR-197 plays a negative regulatory role in the enterovirus 71 infectious cycle by targeting the ran protein[J]. Journal of Virology,2016,90(3):1424. DOI:10.1128/JVI.02143-15.
- [17] 王钱虎,陈锂,彭亮.血清 miRNA-21、Smad1 联合尿 NGAL 检测对早期糖尿病肾病的诊断价值[J].浙江实用医学,2018,23(5):321-323. DOI:10.3969/j.issn.1007-3299.2018.05.003.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.011

论著·基础

# 干扰脊椎蛋白 2 表达抑制肺腺癌细胞增殖和转移能力的研究

李艳光,任明明,牛洁婷,唐国杰,孙震,孔繁义,宋翔

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20211362)

作者单位:061000 河北省沧州市中心医院胸外科(李艳光、任明明、唐国杰、孙震、孔繁义、宋翔),老年内科(牛洁婷)

通信作者:宋翔,E-mail:yoursx@126.com

**【摘要】目的** 分析脊椎蛋白 2 (SPON2) 在肺腺癌细胞中的表达及其对肺腺癌细胞增殖和转移的影响。**方法** 2021 年 1 月—2022 年 4 月于沧州市中心医院进行实验,收集 2015 年 1 月—2016 年 12 月医院胸外科行手术切除的肺腺癌组织及其配对的癌旁组织样本各 86 份,采用免疫组织化学法(IHC)检测肺腺癌组织和配对的癌旁组织中 SPON2 表达水平,并分析 SPON2 的表达与肺腺癌患者临床病理参数和预后的关系。培养肺腺癌细胞 A549,分为 si-NC 组(转染 NC siRNA)和 si-SPON2 组(转染 SPON2 siRNA),Western-blot 检测 2 组细胞中 SPON2、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1)、细胞周期蛋白依赖激酶 4 (CDK4)、基质金属蛋白酶 7 (MMP-7)、MMP-9 的表达;CCK8 实验和集落形成实验检测 2 组细胞的增殖能力;流式细胞仪检测 2 组细胞周期;Transwell 实验检测 2 组细胞的转移能力。**结果** 与癌旁组织比较,肺腺癌组织中 SPON2 阳性表达率显著上调( $\chi^2 = 5.821, P = 0.016$ )。在肺腺癌 T 分期 T3 ~ 4 期、N 分期 N1 ~ 2 期、TNM 分期 III ~ IV 期患者中 SPON2 表达分别高于 T1 ~ 2 期、N0 期、I ~ II 期( $\chi^2/P = 7.481/0.006, 5.331/0.021, 9.139/0.003$ )。与低表达 SPON2 的肺腺癌患者比较,高表达 SPON2 的肺腺癌患者预后较差,差异具有统计学意义( $\chi^2 = 4.877, P = 0.027$ )。si-SPON2 组细胞中 SPON2 的表达明显高于 si-NC 组( $t = 28.343, P < 0.001$ )。与 si-NC 组比较,si-SPON2 组 A549 细胞的增殖和转移能力降低,细胞周期阻滞在 G0/G1 期,cyclinD1、CDK4、MMP-7、MMP-9 表达减少,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** SPON2 在肺腺癌中表达上调,可能通过调控细胞周期相关蛋白及转移相关蛋白促进肺腺癌的增殖和转移能力,可能是治疗肺腺癌的潜在靶点。

**【关键词】** 肺腺癌;脊椎蛋白 2;增殖;转移;作用机制**【中图分类号】** R734.2 **【文献标识码】** A

**Inhibition of proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma cells by interfering with the expression of spinal protein 2** Li Yanguang\*, Ren Mingming, Niu JiETING, Tang Guojie, Sun Zhen, Kong Fanyi, Song Xiang. \* Department of Thoracic Surgery, Cangzhou Central Hospital, Hebei Province, Cangzhou 061000, China

Corresponding author: Song Xiang, E-mail: yoursx@126.com

Funding program: Hebei Medical Science Research Project Plan (20211362)

**【Abstract】 Objective** To analyze the expression of spinal protein 2 (SPON2) in lung adenocarcinoma cells and its effect on the proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma cells.**Methods** From January 2021 to April 2022, the experiment was carried out in Cangzhou Central Hospital. 86 lung adenocarcinoma tissues and their paired adjacent tissue samples were collected from January 2015 to December 2016, respectively. Immunohistochemical method (IHC) was used to detect the expression level of SPON2 in lung adenocarcinoma tissues and paired adjacent tissues, and analyze the relationship between the expression of SPON2 and clinical pathological parameters and prognosis of lung adenocarcinoma patients. Lung adenocarcinoma cells A549 were cultured and divided into si NC group (transfected with NC siRNA) and si SPON2 group (transfected with SPON2 siRNA). Western blot was used to detect the expression of SPON2, cyclin D1, cyclin dependent kinase 4 (CDK4), matrix metalloproteinase 7 (MMP-7), and MMP-9 in the two groups; CCK8 test and colony formation test were used to detect the proliferation ability of the two groups of cells; The cell cycle was detected by flow cytometry; Transwell test was used to detect the metastatic ability of the two groups of cells.**Results** Compared with the adjacent tissues, the positive expression rate of SPON2 in lung adenocarcinoma tissues was significantly increased ( $\chi^2 = 5.821, P = 0.016$ ). The expression of SPON2 in lung adenocarcinoma patients with T stage T3-4, N stage N1-2, TNM stage III-IV was higher than that of T1-2, N0, I-II,

respectively ( $\chi^2/P=7.481/0.006, 5.331/0.021, 9.139/0.003$ ). Compared with lung adenocarcinoma patients with low expression of SPON2, lung adenocarcinoma patients with high expression of SPON2 have a poor prognosis, and the difference is statistically significant ( $\chi^2=4.877, P=0.027$ ). The expression of SPON2 in si-SPON2 group was significantly higher than that in si-NC group ( $t=28.343, P<0.001$ ). Compared with the si NC group, the proliferation and metastasis of A549 cells in the si SPON2 group decreased, the cell cycle was blocked in G0/G1 phase, and the expression of cyclinD1, CDK4, MMP-7, and MMP-9 decreased, with significant differences ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The up-regulated expression of SPON2 in lung adenocarcinoma may promote the proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma by regulating cell cycle related proteins and metastasis related proteins, which may be a potential target for the treatment of lung adenocarcinoma.

**【Key words】** Lung adenocarcinoma; Spinal protein 2; Proliferation; Metastasis; Mechanism

肺癌是全球癌症相关死亡的主要原因之一,发病率也较高,肺癌主要有 2 个亚型:小细胞肺癌和非小细胞肺癌(NSCLC),肺腺癌是最普遍的 NSCLC 类型。尽管近几十年来,包括免疫疗法、放疗和手术切除治疗在内的多种治疗手段已使疗效大大提高,但肺腺癌的临床治疗效果仍然不满意,其总体 5 年生存率 <15%<sup>[1]</sup>。目前肺腺癌的发病机制尚未完全明确,因此了解肺腺癌的发病机制并确定 NSCLC 患者有效疗法的潜在机制具有重要意义。脊椎蛋白 2 (spondin2, SPON2), 也称为 Mindin、Dil1 或 M-Spondin, 是一种细胞外基质蛋白, 已知与整联蛋白受体结合, 可调节免疫功能<sup>[2]</sup>。最近研究表明, 在包括结直肠癌、肝癌和胃癌等各种恶性肿瘤中, SPON2 表达上调<sup>[3-5]</sup>。在结直肠癌中, SPON2 可通过激活整联蛋白  $\beta 1$ /PYK2 轴来促进单核细胞的细胞骨架重塑和细胞迁移, 以促进结直肠癌的恶性进展。在胃癌中 Notch 信号通路激活通过增加 SPON2 表达促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力。SPON2 具有抗肿瘤治疗分子靶点的潜力。Yuan 等<sup>[6]</sup>报道 SPON2 在肺腺癌组织中表达上调, 其高表达与肺腺癌患者不良临床病理参数相关, 但是 SPON2 在肺腺癌中发挥的具体作用和分子机制尚不清楚。因此, 本研究旨在获得 SPON2 作为肺腺癌治疗的潜在分子靶点提供实验室依据, 报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料 (1) 研究对象: 病理组织: 收集 2015 年 1 月—2016 年 12 月河北省沧州市中心医院胸外科行手术切除的肺腺癌组织及其配对的癌旁组织样本各 86 份, 用于免疫组织化学法检测。细胞系: 肺腺癌细胞系 A549 购自美国 ATCC 细胞库。(2) 试剂、试剂: 甲苯及乙醇购自天津风船试剂公司; IHC DAKO 试剂盒购自丹麦; DMEM-F12 培养基、胎牛血清、青霉素/链霉素和 BCA 蛋白浓度检测试剂盒均购自美国 Thermo 公司; SPON2 siRNA 购自上海吉凯基因有限公司; Lip2000 转染试剂购自美国 Invitrogen 公司; CCK8 试剂购自美国 sigma 公司; 细胞周期检测试剂盒购自上海碧云天

试剂有限公司; PARP 蛋白裂解试剂和 ECL 化学发光试剂盒购自北京索莱宝试剂公司; Transwell 小室购自美国 coring 公司; PVDF 膜购自美国 millipore 试剂公司; SPON2 一抗 (IHC: ab215451)、SPON2 一抗 (western blotting: ab171955) 和 GAPDH 一抗 (ab171955) 抗体购自英国 Abcam 公司。(3) 仪器设备: Transwell 小室购自美国 coring 公司; 酶标仪 (型号 Varioskan LUX) 购自美国 Thermo 公司; 加湿培养箱 (型号 BIC-100 型) 购自上海儒一恒温公司; 显微镜 (型号 DM2700M) 购自德国 Leica 公司; 流式细胞仪 (型号 FACSVia) 购自美国 BD 公司。本实验严格遵守赫尔辛基宣言及人体临床组织的使用, 经医院人体实验机构伦理委员会批准 (201402104), 患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 实验方法 2021 年 1 月—2022 年 4 月于河北省沧州市中心医院进行实验。

1.2.1 细胞培养: 采用 DMEM-F12 培养基培养肺腺癌细胞系 A549, 并添加 10% 胎牛血清和青霉素/链霉素 100 U/ml, 放置在含有 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 加湿培养箱中培养。细胞融合度为 90% 时, 采用胰酶消化收集细胞, 进行细胞传代, 用于后续实验。

1.2.2 SPON2 siRNA 转染细胞: 处于对数期生长的肺腺癌细胞系 A549 消化后, 以  $2.0 \times 10^5$  个细胞铺至 6 孔板中, 分为 si-NC 组和 si-SPON2 组, 放置在含有 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 加湿培养箱中培养。各组细胞贴壁更换为无血清培养基待转染, 采用 lip2000 转染试剂按照说明书分别将 5  $\mu$ g NC siRNA 转染至 si-NC 组, 5  $\mu$ g SPON2 siRNA 转染至 si-SPON2 组。放置在含有 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 加湿培养箱中培养, 12 h 后更换培养基继续培养。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 免疫组织化学法 (IHC) 检测 SPON2 蛋白表达: 采用 4% 聚氧甲基固定待检测的肺腺癌组织及其配对的癌旁组织样本 1 h, 通过乙醇梯度脱水并浸润石蜡制成 5  $\mu$ m 的石蜡切片。石蜡切片经烤片 1 h 后浸入二甲苯中脱蜡 30 min, 然后经乙醇梯度水化 20 min。

在枸橼酸钠抗原修复液中高温煮沸 3 min, 冷却后放置内源性过氧化物酶液中孵育 30 min 封闭非特异性抗原, PBS 冲洗 3 次, 每次 3 min, 后将切片在 4℃ 下与 SPON2 一抗抗体 (1:100) 孵育过夜, PBS 冲洗 3 次, 每次 3 min, 后经二抗 37℃ 孵育 30 min, 然后经显色及苏木精复染后封片。2 位病理学医生采用以下标准评估 IHC 结果: 包括染色强度 0 分 (阴性), 1 分 (弱阳性), 2 分 (中度阳性) 和 3 分 (强阳性)。染色面积: 0 分 (<5%), 1 分 (5%~25%), 2 分 (>25%~50%), 3 分 (>50%~75%) 和 4 分 (>75%)。将染色强度得分乘以染色面积得分来计算 SPON2 蛋白的最终表达评分。染色得分定义如下: 得分  $\geq 3$  分为高表达,  $\leq 2$  分为低表达。

**1.3.2 CCK8 实验和集落形成实验检测 A549 细胞增殖能力:** (1) CCK8 实验: 将 si-NC 组和 si-SPON2 组 A549 细胞以每孔 2 000 个细胞、培养基 150  $\mu\text{l}$  铺至 96 孔板中, 每组设置 6 个平行复孔。在 24、48、72 和 96 h 时分别加入 CCK8 溶液 10  $\mu\text{l}$ , 放置在含有 5%  $\text{CO}_2$  的 37℃ 加湿培养箱中继续培养 2 h。震荡混匀后采用酶标仪测量 0、24、48、72、96 h 时每孔细胞 450 nm 处的吸光度值 (OD 值)。(2) 集落形成实验: 将 si-NC 组和 si-SPON2 组 A549 细胞以每孔 300 个细胞、2 ml 铺至 6 孔板中, 每组设置 3 个平行复孔, 放置在含有 5%  $\text{CO}_2$  的 37℃ 加湿培养箱中继续培养, 每 2 d 更换 1 次新鲜培养基。肉眼观察到细胞克隆团后, 终止培养, PBS 洗 3 次, 无水乙醇固定 30 min, 并用 1% 结晶紫染色 10 min, 计数细胞克隆团数目。

**1.3.3 流式细胞术检测细胞周期分布率:** 收集 si-NC 组和 si-SPON2 组 A549 细胞, 采用 4℃ 的 PBS 洗涤 2 次后, 以每管  $5 \times 10^5$  个细胞收集至流式细胞管中, 每组设置 3 个平行复孔。采用缓冲液 500  $\mu\text{l}$  重新悬浮细胞后, 加入碘化丙啶染色液 (PI) 25  $\mu\text{l}$  和 RNase A 10  $\mu\text{l}$  混匀, 常温避光孵育 30 min, 流式细胞仪测定细胞周期分布率。

**1.3.4 Transwell 实验检测穿膜细胞数目:** 收集 si-NC 组和 si-SPON2 组 A549 细胞, PBS 洗涤 2 次后, 以每孔  $1.0 \times 10^6$  个细胞重悬至无血清培养基 100  $\mu\text{l}$  中, 并均匀加至 Transwell 小室上室的膜中, 再放入含有 500  $\mu\text{l}$  完全培养基的 Transwell 小室下室中, 放置在含有 5%  $\text{CO}_2$  的 37℃ 加湿培养箱中。培养 12 h 后终止培养, 擦掉 Transwell 小室上室中未穿过膜的细胞, PBS 将下室面的细胞洗 3 次后, 放入甲醇溶液中 15 min 以固定细胞, 结晶紫染色 15 min。PBS 洗 3 次后, 显微镜下计数穿膜细胞数目。

**1.3.5 Western-blot 检测蛋白表达:** 收集 si-NC 组和 si-SPON2 组 A549 细胞, PBS 洗涤 2 次后, 加入 PARP 蛋白裂解液, 充分裂解细胞。低温高速离心, 吸取上清液。采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测得细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1)、细胞周期蛋白依赖激酶 4 (CDK4)、基质金属蛋白酶 7 (MMP-7)、MMP-9 浓度, 加入蛋白上样缓冲液煮沸使蛋白变性。采用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白质, 采用湿转将蛋白转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。PVDF 与 5% 封闭液室温孵育 2 h 后, 分别与一抗稀释液 4℃ 孵育过夜、二抗稀释液室温孵育 1 h。最终采用 ECL 试剂盒显示曝光蛋白条带。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 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  $\chi^2$  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; Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, Log-Rank 分析 SPON2 表达对患者预后的影响。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肺腺癌组织及其癌旁组织中 SPON2 表达比较** IHC 结果显示, 肺腺癌组织中 SPON2 的阳性表达率为 59.30% (51/86), 高于癌旁组织中的阳性表达率 43.02% (37/86), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.821, P = 0.016$ ), 见图 1。

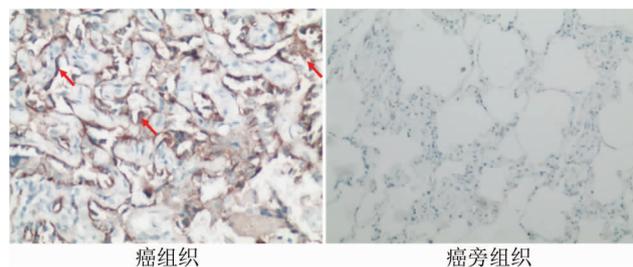


图 1 肺腺癌组织、癌旁组织中 SPON2 的表达比较 (免疫组织化学染色,  $\times 200$ )

**Fig. 1** Comparison of SPON2 expression in lung adenocarcinoma tissues and adjacent tissues (immunohistochemical staining,  $\times 200$ )

**2.2 2 组肺腺癌细胞 SPON2 表达比较** qRT-PCR 结果显示, si-SPON2 组细胞中 SPON2 的表达量为  $(1.00 \pm 0.03)$ , 明显高于 si-NC 组的  $(0.41 \pm 0.02)$  ( $t = 28.343, P < 0.001$ )。

**2.3 SPON2 对肺腺癌细胞增殖能力的影响** CCK8 实验检测结果显示, 与 si-NC 组比较, si-SPON2 组细胞增殖活性在不同时间 (24、48、72、96 h) 显著降低 ( $P <$

0.05), 见表 1; 集落形成实验检测结果显示, si-SPON2 组肺腺癌细胞的克隆形成数目为  $(50.67 \pm 8.75)$  个, 低于 si-NC 组的  $(117.33 \pm 14.09)$  个, 差异有统计学意义 ( $t = 6.961, P < 0.001$ ), 见图 2。

表 1 si-NC 组和 si-SPON2 组不同时点肺腺癌细胞 450 nm OD 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of 450 nm OD values of lung adenocarcinoma cells in si NC group and si SPON2 group at different time points

| 时间(h) | si-NC 组<br>(n=6) | si-SPON2 组<br>(n=6) | t 值    | P 值    |
|-------|------------------|---------------------|--------|--------|
| 0     | 0.18 ± 0.01      | 0.18 ± 0.01         | 0.000  | 1.000  |
| 24    | 0.41 ± 0.04      | 0.34 ± 0.05         | 2.678  | 0.021  |
| 48    | 0.67 ± 0.04      | 0.54 ± 0.09         | 3.127  | 0.014  |
| 72    | 0.92 ± 0.07      | 0.61 ± 0.08         | 6.006  | <0.001 |
| 96    | 1.28 ± 0.05      | 0.68 ± 0.10         | 12.453 | <0.001 |

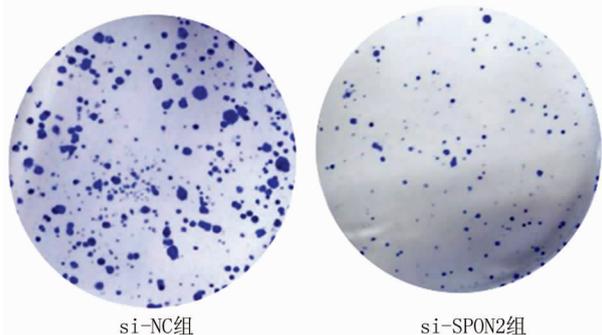


图 2 2 组肺腺癌细胞的克隆形成数目比较

Fig. 2 Comparison of the number of clones of lung adenocarcinoma cells in two groups

2.4 SPON2 对肺腺癌细胞周期的影响 流式细胞仪检测结果显示, 与 si-NC 组比较, si-SPON2 组 G0/G1 期的细胞分布增加 ( $P < 0.01$ ), G2/M 期的细胞分布增加 ( $P < 0.05$ ), S 期的细胞分布减少 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 si-NC 组和 si-SPON2 组肺腺癌细胞各个细胞周期细胞比率比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Tab. 2 Comparison of cell cycle cell ratios of lung adenocarcinoma cells in si NC group and si SPON2 group

| 细胞周期    | si-NC 组<br>(n=3) | si-SPON2 组<br>(n=3) | t 值   | P 值    |
|---------|------------------|---------------------|-------|--------|
| G0/G1 期 | 44.82 ± 3.52     | 68.29 ± 2.88        | 8.938 | <0.001 |
| G2/M 期  | 8.83 ± 3.01      | 15.22 ± 2.09        | 3.020 | 0.029  |
| S 期     | 46.35 ± 4.32     | 16.49 ± 3.67        | 9.124 | <0.001 |

2.5 抑制 SPON2 对肺腺癌细胞转移能力的影响

Transwell 实验检测结果显示, si-SPON2 组肺腺癌细胞的穿膜数目为  $(20.33 \pm 4.87)$  个, 少于 si-NC 组的  $(58.67 \pm 9.63)$  个, 差异有统计学意义 ( $t = 6.154, P = 0.002$ ), 见图 3。

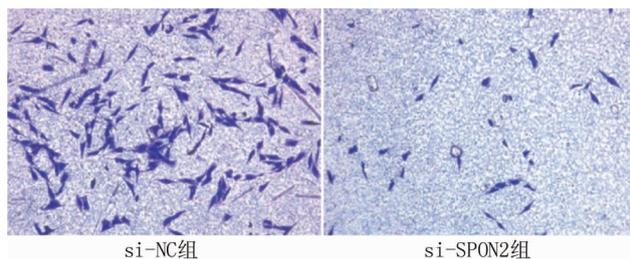


图 3 抑制 SPON2 对肺腺癌细胞转移能力的影响

Fig. 3 Inhibiting the influence of SPON2 on the metastatic ability of lung adenocarcinoma cells

2.6 抑制 SPON2 对肺腺癌细胞中细胞周期相关蛋白和转移相关蛋白的影响 Western-blot 实验检测结果显示, 与 si-NC 组比较, si-SPON2 组肺腺癌细胞 CyclinD1、CDK4、MMP-7、MMP-9 表达均减少, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见图 4、表 3。

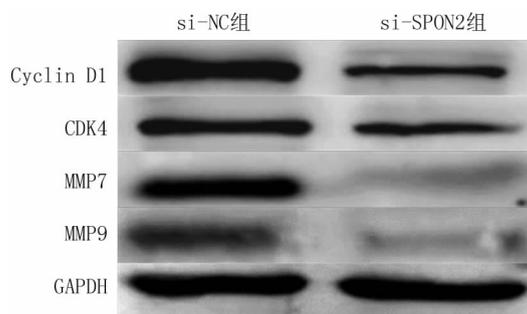


图 4 抑制 SPON2 对肺腺癌细胞周期相关蛋白和转移相关蛋白表达的影响

Fig. 4 the effect of inhibiting SPON2 on the expression of cell cycle related proteins and metastasis related proteins in lung adenocarcinoma cells

表 3 si-NC 组和 si-SPON2 组肺腺癌细胞周期相关蛋白和转移相关蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of cell cycle related proteins and metastasis related proteins in lung adenocarcinoma between si NC group and si SPON2 group

| 蛋白        | si-NC 组<br>(n=3) | si-SPON2 组<br>(n=3) | t 值    | P 值    |
|-----------|------------------|---------------------|--------|--------|
| Cyclin D1 | 1.02 ± 0.21      | 0.21 ± 0.08         | 6.243  | 0.002  |
| CDK4      | 0.43 ± 0.09      | 0.18 ± 0.05         | 4.206  | 0.008  |
| MMP-7     | 0.79 ± 0.10      | 0.09 ± 0.03         | 11.613 | <0.001 |
| MMP-9     | 0.63 ± 0.15      | 0.11 ± 0.04         | 5.802  | 0.002  |

2.7 SPON2 表达在肺腺癌患者不同临床病理参数间比较 在肺腺癌 T 分期 T3 ~ 4 期、N 分期 N1 ~ 2 期、TNM 分期 III ~ IV 期患者中 SPON2 表达高于 T1 ~ 2 期、N0 期、I ~ II 期,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),在不同性别、年龄患者中的表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 4。

表 4 SPON2 在肺腺癌组织中的表达水平与临床病理参数之间的关系 [例(%)]

Tab. 4 The relationship between the expression level of SPON2 in lung adenocarcinoma tissue and clinical pathological parameters

| 项 目    | 例数         | SPON2 | $\chi^2$ 值 | P 值   |       |
|--------|------------|-------|------------|-------|-------|
| 性别     | 男          | 41    | 22(53.66)  | 1.034 | 0.309 |
|        | 女          | 45    | 29(64.44)  |       |       |
| 年龄     | ≤60 岁      | 36    | 19(52.78)  | 1.092 | 0.296 |
|        | >60 岁      | 50    | 32(64.00)  |       |       |
| T 分期   | T1 ~ 2     | 54    | 26(48.15)  | 7.481 | 0.006 |
|        | T3 ~ 4     | 32    | 25(78.13)  |       |       |
| N 分期   | N0         | 58    | 29(50.00)  | 5.331 | 0.021 |
|        | N1 ~ 2     | 28    | 22(78.57)  |       |       |
| TNM 分期 | I ~ II 期   | 52    | 25(48.08)  | 9.139 | 0.003 |
|        | III ~ IV 期 | 34    | 26(76.47)  |       |       |

2.8 SPON2 表达与肺腺癌患者预后的关系 与低表达 SPON2 的肺腺癌患者比较,高表达 SPON2 的肺腺癌患者预后较差,差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.877, P = 0.027$ ),见图 5。

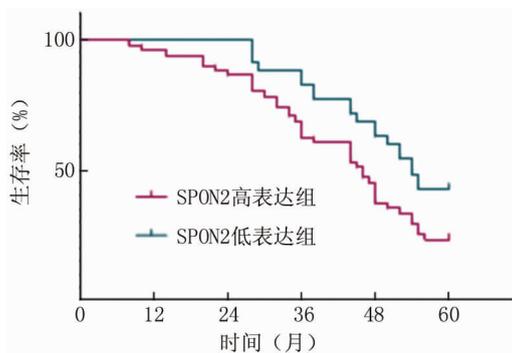


图 5 不同 SPON2 表达的肺腺癌患者预后生存曲线比较

Fig. 5 Comparison of prognosis and survival curves of lung adenocarcinoma patients with different SPON2 expressions

### 3 讨论

SPON2 通过直接与细菌和病毒病原体结合,引发先天免疫反应,是一种宿主先天免疫调节剂,是编码细胞外基质蛋白的 F-Spondin 超家族成员<sup>[7]</sup>。研究表明其表达异常在肿瘤进展中发挥重要作用,既往研究报道,在肾透明细胞癌和肝细胞肝癌中 SPON2 过表达,

其中在肾透明细胞癌中 SPON2 表达与患者分期、组织分级和复发均显著相关<sup>[8]</sup>,在肝细胞肝癌组织中 SPON2 的高表达与患者肿瘤较大及患者预后较差相关<sup>[4]</sup>,可作为肾透明细胞癌和肝细胞肝癌预后生物标志物。同时 Yuan 等<sup>[6]</sup>研究发现,在肺腺癌中 SPON2 蛋白的过表达与肿瘤分化、阳性淋巴结转移、较高的血清癌胚抗原(CEA)水平和整体存活率不佳相关。本研究结果显示,SPON2 在肺腺癌组织中的表达显著高于其配对的癌旁组织,SPON2 在 T 分期、N 分期、TNM 分期较高及预后较差的肺腺癌组织中表达相对较高,并是肺腺癌患者预后不良的独立危险因素,与已有的报道具有一致性<sup>[6,9]</sup>,均提示 SPON2 可以用作监测肺腺癌预后的生物标志物,但对于某个临床病理特征的不一致,可能是由样本量及样本来源的区域不同而导致的,后续本研究会继续扩大样本量进行验证。

SPON2 具有驱动肺腺癌发生发展的生物学功能,而不仅仅是显示患者预后不良的生物标志物。查阅文献显示,SPON2 在结直肠癌、胃癌等恶性肿瘤中促进肿瘤的进展,其中在胃癌中 SPON2 与 Cyclin D1 的启动子区结合,促进其转录水平增加,促进胃癌细胞的增殖<sup>[3,9]</sup>。结合 Yuan 等<sup>[6]</sup>的研究及本研究结果,SPON2 在 T 分期和 TNM 分期晚期的肺腺癌患者中表达升高,提示 SPON2 可能促进肺腺癌细胞的增殖。本研究 CCK8 实验和集落形成实验结果均显示,抑制 SPON2 的表达可抑制肺腺癌细胞的增殖能力。在正常生理过程中,细胞周期具有严密的调控机制,当细胞周期调控失调时,细胞增殖能力增加,是肿瘤发生发展的重要机制之一<sup>[10-12]</sup>。本研究结果显示,抑制 SPON2 的表达后,肺腺癌细胞周期阻滞在 G0/G1 期,表明 SPON2 促进肺腺癌的周期进展进而促进细胞增殖。细胞周期相关蛋白 Cyclin D1、CDK4 是调控 G0/G1 期转换的关键蛋白,CDK4 与 Cyclin D1 结合形成复合物,并表现出激酶活性,促进下游蛋白磷酸化,驱动细胞周期进展<sup>[13-15]</sup>。本研究抑制 SPON2 的表达后,肺腺癌细胞中 Cyclin D1 和 CDK4 蛋白表达降低,表明 SPON2 通过增加 Cyclin D1 和 CDK4 蛋白的表达促进细胞周期的进展,导致细胞增殖能力增加。与徐正磊等<sup>[9]</sup>报道的 SPON2 促进胃癌细胞中 Cyclin D1 的表达一致,但是本研究未对 SPON2 和 cyclinD1 直接结合进行相关研究。

研究发现,SPON2 对于募集淋巴细胞和引发免疫反应至关重要,尤其是在肿瘤相关的巨噬细胞(TAM)浸润中。TAM 是肿瘤与免疫微环境之间复杂相互作用的关键调节剂,包括肿瘤的迁移调控<sup>[16]</sup>,提示

SPON2 与肿瘤迁移相关。新近研究表明,SPON2 在细胞迁移和肿瘤进展中具有复杂的作用,在肝细胞癌(HCC)的肿瘤微环境中,SPON2- $\alpha$ 4 $\beta$ 1 整合素信号传导激活增加 F-肌动蛋白的重组并促进 M1 样表型巨噬细胞的浸润,而 SPON2- $\alpha$ 5 $\beta$ 1 整合素信号传导失活并防止 F-肌动蛋白组装,抑制 HCC 细胞迁移能力,研究结果表明,在肝细胞癌中 SPON2 充当抑癌因子,并利用不同的信号通路在肝细胞肝癌的微环境中执行双重功能<sup>[4]</sup>。但是在结直肠癌中 SPON2 通过促进 M2 样表型巨噬细胞的浸润,以促进肿瘤细胞的转移。此外 SPON2 可促进胃癌和肾透明细胞癌的侵袭转移能力<sup>[3]</sup>。而在本研究中干扰 SPON2 的表达,肺腺癌细胞的转移能力显著降低,与在结直肠癌和胃癌中的报道一致,也与肺腺癌 N 分期较高的患者癌组织中 SPON2 表达较高一致。细胞外基质的降解是细胞入侵和转移开始的信号,基质金属蛋白酶(MMP)是参与细胞外基质降解和转移的重要分子<sup>[17]</sup>,在胃癌组织中 SPON2 与 MMP-9 表达呈正比<sup>[18]</sup>,本研究结果显示抑制 SPON2 的表达,肺腺癌细胞中 MMP-7、MMP-9 蛋白表达降低,提示 SPON2 通过调控基质金属蛋白酶 MMP-7、MMP-9 蛋白促进肺腺癌细胞转移能力。

综上所述,SPON2 在肺腺癌组织中表达升高,与肺腺癌患者不良病理参数和预后相关,SPON2 通过调控细胞周期相关蛋白和基质金属蛋白酶促进肺腺癌细胞增殖和转移能力。SPON2 具有作为肺腺癌患者预后不良生物标志物和分子靶点的重要意义。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

李艳光:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;任明明:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;牛洁婷:进行统计学分析;唐国杰:课题设计,论文审核;孙震:实施研究过程,分析试验数据;孔繁义:资料搜集整理,论文修改;宋翔:提出研究思路,分析试验数据

**参考文献**

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6):394-424. DOI:10.3322/caac.21492.

[2] Li N, Liu S, Zhang Y, et al. Transcriptional activation of matricellular protein spondin2 (SPON2) by brg1 in vascular endothelial cells promotes macrophage chemotaxis[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 794. DOI:10.3389/fcell.2020.00794.

[3] Jiang H, Guo W, Huang K, et al. Screening of radiotracer for diagnosis of colorectal cancer liver metastasis based on MACC1-SPON2[J]. Abdom Radiol (NY), 2021, 46 (7): 3227-3237. DOI: 10.1007/s00261-021-03015-w.

[4] Zhang YL, Li Q, Yang XM, et al. SPON2 promotes M1-like macrophage recruitment and inhibits hepatocellular carcinoma metastasis by distinct Integrin-Rho GTPase-Hippo pathways[J]. Cancer Res, 2018, 78 (9): 2305-2317. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2867.

[5] Kang HG, Kim WJ, Noh MG, et al. SPON2 is upregulated through notch signaling pathway and promotes tumor progression in gastric cancer[J]. Cancers (Basel), 2020, 12 (6): 1439. DOI:10.3390/cancers12061439.

[6] Yuan X, Bian T, Liu J, et al. Spondin2 is a new prognostic biomarker for lung adenocarcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8 (35): 59324-59332. DOI:10.18632/oncotarget.19577.

[7] Kahvecioglu S, Ersoy A, Ustundag Y, et al. The comparison spondin 2 levels in primary glomerular diseases [J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2020, 31 (5): 1014-1024. DOI: 10.4103/1319-2442.301166.

[8] Ma HM, Yu M, Wu C, et al. Overexpression of spondin-2 is associated with recurrence-free survival in patients with localized clear cell renal cell carcinoma[J]. Dis Markers, 2020, 2020:5074239. DOI: 10.1155/2020/5074239.

[9] 徐正磊,王立生,洪英财,等. SPON2 上调 Cyclin D1 表达对胃癌细胞影响的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2022, 29 (7): 481-487. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2022.07.06.

Xu ZL, Wang LS, Hong YC, et al. SPON2 promotes the growth of gastric cancer by up-regulating Cyclin D1 expression[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2022, 29 (7): 481-487. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2022.07.06.

[10] Liu J, Peng Y, Wei W. Cell cycle on the crossroad of tumorigenesis and cancer therapy[J]. Trends Cell Biol, 2022, 32(1): 30-44. DOI: 10.1016/j.tcb.2021.07.001.

[11] 祝巧良,卢春来,古杰,等. 高表达 CXCR4 可通过乳酸脱氢酶 A 磷酸化诱导肺腺癌细胞产生吉非替尼耐药[J]. 中国临床医学, 2021, 28 (3): 408-415. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210068.

Zhu QL, Lu CL, Gu J, et al. Overexpression of CXCR4 induces resistance to gefitinib in lung adenocarcinoma cells via enhancing lactate dehydrogenase A phosphorylation [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021, 28 (3): 408-415. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210068.

[12] 陈珑,王翠英,王琳,等. 奥希替尼治疗不同中性粒细胞/淋巴细胞比值的 T790 M 基因突变肺腺癌骨转移患者的疗效比较[J]. 临床内科杂志, 2021, 38 (1): 59-61. DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2021.01.016.

[13] 贾春丽,路鹏霏,邱萍,等. 肺腺癌中核黄素转运体 2 基因和蛋白表达及功能的生物信息学分析[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(6): 579-583. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.06.009.

Jia CL, Lu PF, Qiu P, et al. Bioinformatics analysis of the expression and function of riboflavin transporter 2 in lung adenocarcinoma[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2021, 20(6): 579-583. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.06.009.

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 11. 012

论著 · 基础

# 杞月茶对卵巢储备功能下降大鼠卵巢组织 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响

肖慧, 刘宇, 朱英英, 李军

基金项目: 2018 国家重点研发计划课题任务 (2018YFC1704106); 北京中医药大学新奥奖励基金课题 (2019-XAJLJJ-013);

北京中医药大学东直门医院三名工程教学类资助基金青年教学名师项目 (405120413)

作者单位: 100700 北京中医药大学东直门医院妇科/郭志强传承工作室/北京中医药薪火传承“3+3 工程”郭志强名中医传承工作站

通信作者: 李军, E-mail: 1441731976@qq.com

**【摘要】** **目的** 探讨杞月茶治疗卵巢储备功能下降大鼠的潜在机制。**方法** 2021 年 3—5 月于北京中医药大学东直门医院中心实验室进行实验。6 周龄 SD 大鼠 24 只, 随机数字表法分为空白组、模型组、杞月茶组、戊酸雌二醇片 (补佳乐) 组, 每组 6 只。除空白组外, 其余大鼠腹腔注射 VCD 160 mg/kg 制备卵巢储备功能下降 (DOR) 模型, 造模成功后, 杞月茶组予杞月茶 24 g/kg 剂量灌胃, 补佳乐组予补佳乐 0.12 mg/kg 灌胃, 空白组及模型组予生理盐水 3 ml/kg 灌胃, 连续灌胃 4 周。干预结束后, ELISA 检测各组大鼠血清促卵泡激素 (FSH)、雌二醇 ( $E_2$ )、抗苗勒管激素 (AMH) 的含量, 取卵巢组织采用 HE 染色观察卵巢形态, 免疫组织化学法检测卵巢 Bax 与 Bcl-2 蛋白表达, 蛋白印迹法检测卵巢 Bcl-2/Bax 表达水平。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠中初次级卵泡减少, 闭锁卵泡增多; 杞月茶组及补佳乐组初次级卵泡及成熟卵泡较多, 闭锁卵泡较模型组减少。与空白组比较, 模型组卵巢体质量指数、AMH 水平降低, FSH 水平升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 杞月茶组及补佳乐组卵巢体质量指数、AMH 水平升高, FSH 水平降低 ( $P < 0.05$ )。Bax 蛋白主要表达在颗粒层细胞、黄体及间质, 模型组大鼠较空白组表达升高, 杞月茶组及补佳乐组较模型组表达降低 ( $P < 0.05$ )。模型组 Bcl-2/Bax 比值较空白组降低 ( $P < 0.05$ ); 杞月茶组及补佳乐组 Bcl-2/Bax 比值高于模型组 ( $P < 0.05$ )。**结论** 杞月茶可降低 DOR 大鼠血清中 FSH 水平、升高 AMH 水平, 与下调卵巢组织中细胞凋亡因子 Bax 的表达有关。

**【关键词】** 卵巢储备功能下降; 杞月茶; 性激素; Bcl-2 蛋白; Bax 蛋白; 大鼠**【中图分类号】** R711.75**【文献标识码】** A

**Effects of Qiyue Tea on the expression of Bax and Bcl 2 proteins in ovarian tissue of rats with decreased ovarian reserve** Xiao Hui, Liu Yu, Zhu Yingying, Li Jun. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

Corresponding author: Li Jun, E-mail: 1441731976@qq.com

Funding program: 2018 National Key R &amp; D Program Task (2018YFC1704106); Project of the New Olympic Award Fund of Beijing University of Traditional Chinese Medicine (2019-XAJLJJ-013); “Sanming” Young Teachers Project of the Engineering Teaching Fund of Dongzhimen Hospital of Beijing University of traditional Chinese medicine (405120413)

**【Abstract】 Objective** To explore the potential mechanism of Qiyue Tea in the treatment of rats with decreased ovarian reserve. **Methods** From March to May 2021, experiments will be conducted in the central laboratory of Dongzhimen Hospital, Beijing University of Traditional Chinese Medicine. Twenty-four 6-week-old SD rats were randomly divided into blank group, model group, Qiyue Tea group, and estradiol valerate tablet (Provalo) group, with 6 rats in each group. Except for the blank group, the other rats were intraperitoneally injected with VCD 160 mg/kg to establish a model of decreased ovarian reserve (DOR). The rats in the control group were given 0.12 mg/kg of Procyone by gavage, and the blank group and the model group were given 3 ml/kg of normal saline by gavage for 4 weeks. After the intervention, the serum levels of follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol ( $E_2$ ) and anti-Müllerian hormone (AMH) were detected by ELISA. The protein expressions of Bax and Bcl 2 in the ovary were detected, and the expression level of Bcl 2/Bax in the ovary was detected by Western blotting. **Results** Compared with the blank group, the number of primary and secondary follicles in the model group decreased and the number of atretic follicles increased; the Qiyue Tea group and the Bujiale group had more primary and mature follicles, and fe-

wer atretic follicles than the model group. Compared with the blank group, the ovarian BMI and AMH levels in the model group decreased, while the FSH level increased ( $P < 0.05$ ). FSH level decreased ( $P < 0.05$ ). Bax protein was mainly expressed in the granulosa cells, corpus luteum and interstitium. Compared with the blank group, the expression of Bax protein in the model group was higher than that in the blank group. The ratio of Bcl 2/Bax in the model group was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ); the ratio of Bcl 2/Bax in the *Qiyue* Tea group and Bujiale group was higher than that in the model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Qiyue* Tea can reduce the level of FSH and increase the level of AMH in serum of DOR rats, which is related to down-regulating the expression of apoptosis factor Bax in ovarian tissue.

**【Key words】** Decreased ovarian reserve; *Qiyue* Tea; Sex hormones; Bcl-2 protein; Bax protein, Rats

卵巢储备功能下降 (decreasing ovarian reserve, DOR) 是指卵巢内存留的可募集的卵泡数量减少, 卵巢产生卵子的能力减弱, 卵母细胞质量下降, 导致生育能力下降。卵巢功能减退临床表现为月经周期紊乱、闭经、潮热、失眠、不孕等症状。DOR 没有统一的诊断标准, 实验室检测中常以基础 FSH 水平升高但未达到绝经期的水平, AMH 水平降低, 窦卵泡计数减少为标准<sup>[1]</sup>。辅助生殖技术协会临床结果报告系统 (SART CORS) 称<sup>[2]</sup>, 2004—2011 年诊断为 DOR 的人数从 19% 增加到 26%, 而年龄在 40 岁以下的诊断人数增加了 42%。DOR 是一个复杂的临床现象, 其病因不详, 受年龄、遗传、自身免疫和环境因素的影响<sup>[3]</sup>。目前治愈较为困难, 已成为妇科内分泌相关领域关注的难点及热点问题。

前期动物实验研究发现<sup>[4]</sup>, 杞月茶能够改善 DOR 模型大鼠的性激素水平, 并探索出药物的适宜浓度, 本研究在此基础上, 进一步研究杞月茶改善大鼠卵巢储备功能的机制, 报道如下。

## 1 材料及方法

1.1 材料 (1) 动物及分组: SPF 级雌性 SD 大鼠 24 只 [北京维通利华, 动物许可证号: SCXK (京) 2016-0011], 6 周龄, 体质量 190 ~ 210 g, 动物伦理审查批号 (21-23)。(2) 试剂: 1,4-乙炔基-1-环己烯二环氧化物 (VCD, sigma BCBV1352), 戊酸雌二醇片 [补佳乐, 拜耳医药保健有限公司广州分公司], 杞月茶 (枸杞子 15 g, 月季花 10 g) 免煎颗粒 (北京康仁堂药业有限公司)。血清促卵泡激素 (FSH)、雌二醇 ( $E_2$ )、抗苗勒管激素 (AMH) 酶联免疫试剂盒 (BLUE GENE 公司)、兔抗 BCL-2 抗体 (Proteintech SJ08108)、小鼠 BAX 抗体 (Proteintech SJ08109)。(3) 仪器设备: 离心机 (上海赵迪生物科技有限公司, 型号 AXTGL16M)、切片机 (德国 H93, 型号 RM2126)、石蜡包埋机 (德国 Leica EG1160)、显微镜 (日本 ECLIPSE LV100POL 公司, 型号 50IPOL)、全自动酶标仪 (美国 BioTek 公司, 型号 ELx800)、水浴锅 (江苏金坛市荣华仪器公司, 型号 SHA-C)。

1.2 实验方法 2021 年 3—5 月于北京中医药大学东直门医院中心实验室进行实验。大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、杞月茶组、补佳乐组, 每组 6 只, 屏障环境喂养。除空白组外, 其余大鼠进行卵巢储备功能下降造模<sup>[5]</sup>: 按 VCD 160 mg/kg 予大鼠腹腔注射, 每日 1 次, 连续给药 5 d。大鼠卵巢储备功能下降模型造模成功判断标准: 每日做阴道脱落细胞涂片, 观察动情周期。腹腔注射结束 1 个动情周期后动情期紊乱者, 认为造模成功。造模成功后, 杞月茶组予杞月茶 24 g/kg 剂量灌胃, 补佳乐组予补佳乐 0.12 mg/kg 灌胃, 空白组及模型组正常饮食并予生理盐水 3 ml/kg 灌胃, 各组均每天 1 次, 连续灌胃 4 周, 每周停止灌胃 1 d<sup>[4]</sup>。模型组 1 只大鼠在实验第 33 天意外死亡。

## 1.3 观察指标与方法

1.3.1 大鼠一般情况观察: 记录大鼠体质量、双侧卵巢体质量指数、子宫体质量指数<sup>[6]</sup>、饮食活动情况, 光镜下观察阴道上皮脱落细胞变化情况 & 动情周期变化。

1.3.2 性激素水平检测: 大鼠最后 1 次给药后, 禁食 12 h, 腹腔注射 0.4% 戊巴比妥 1 ml/100 g, 大鼠麻醉后, 75% 酒精消毒腹部皮肤, 打开腹腔, 腹主动脉取血 4 ml, 离心取血清, 以酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 FSH、 $E_2$ 、AMH 的含量。

1.3.3 卵巢形态学观察: 选取大鼠右侧卵巢, 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋、切片, HE 染色, 普通光学显微镜观察卵巢组织形态学变化。

1.3.4 卵巢颗粒细胞 (granulosa cell, GC) 凋亡因子 Bcl-2、Bax 免疫组化检测: 各组随机选取 3 只大鼠右侧卵巢组织石蜡切片脱蜡, 用 PBS 冲洗 3 次, 3%  $H_2O_2$  室温孵育 10 min, 蒸馏水冲洗, 滴加 Fas、FasL 单克隆抗体, 37℃ 孵育 1 ~ 2 h, PBS 冲洗 2 min × 3 次, 分别滴加 1:1 000、1:400 稀释的一抗 Bax、Bcl-2, 37℃ 孵育 1 h, PBS 冲洗 2 min × 3 次, 滴加第二代生物素标记二抗工作液, 37℃ 孵育 30 min, PBS 冲洗 2 min × 3 次, DAB 显色剂显色, 自来水充分冲洗, 苏木精复染、封片。免疫组化染色后, 细胞质为棕色或深棕色为阳性标记。使

用高倍显微镜随机选择 5 个视网膜视野用 IPP 6.0 软件定量测量各个指标平均光密度 (IOD)。

1.3.5 卵巢颗粒细胞 Bcl-2/Bax 蛋白印迹检测: 蛋白印迹法检测卵巢颗粒细胞 Bcl-2/Bax 表达水平, 取出左侧卵巢组织 (-80℃ 冰箱保存), 取 50 μg 蛋白在冰浴条件下加入细胞裂解液提取总蛋白并测定浓度, 待检测蛋白样品上样量为 10 μl, 打开电泳装置, 浓缩胶恒压 90 V, 约 120 min; 分离胶恒压 120 V, 通过预染蛋白 marker 来确定电泳停止时间。湿转法转膜条件: 300 mA 恒流; 0.45 μm 孔径 PVDF 膜, 转膜时间 90 min。封闭: 将膜完全浸没于 5% BSA-TBST 中, 水平摇床孵育 1 h。加入稀释 1:10 000、1:1 000 的 Bax 及 Bcl-2 一抗, 4℃ 水平摇床孵育过夜, Beta actin 作为内参。次日, TBST 洗膜洗 3 次, 每次 10 min。加入 1:10 000 稀释的二抗, 室温孵育 45 min。洗膜同上。ECL 滴加到膜的蛋白面, 反应 3 min; 胶片曝光显影 2 min, 定影。利用 IPP 6.0 软件定量测量平均光密度。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件对数据进行分析处理。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组比较采用 ANOVA 方差分析, 组间两两比较采用 LSD *t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较 大鼠造模后出现躁动表现, 阴道上皮脱落细胞处于动情间期, 经干预后可见明显动情周期。各组间大鼠体质量比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与空白组比较, 模型组卵巢体质量指数降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 杞月茶组、补佳乐组卵巢体质量指数升高 ( $P < 0.05$ ), 但杞月茶组与补佳乐组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 各组大鼠子宫体质量指数比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

2.2 各组大鼠血清性激素水平比较 与空白组比较, 模型组血清 FSH 水平升高, AMH 水平降低 ( $P < 0.05$ );

表 1 各组大鼠一般情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of general conditions of rats in each group

| 组别         | <i>n</i> | 体质量 (g)        | 卵巢体质量指数 ( $10^{-3} \times 100\%$ ) | 子宫体质量指数 ( $10^{-3} \times 100\%$ ) |
|------------|----------|----------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 空白组        | 6        | 314.17 ± 39.66 | 0.127 ± 0.02                       | 0.381 ± 0.10                       |
| 模型组        | 6        | 282.67 ± 36.57 | 0.086 ± 0.03 <sup>a</sup>          | 0.337 ± 0.13                       |
| 杞月茶组       | 5        | 307.40 ± 33.86 | 0.108 ± 0.01 <sup>b</sup>          | 0.383 ± 0.05                       |
| 补佳乐组       | 6        | 300.00 ± 29.24 | 0.117 ± 0.02 <sup>b</sup>          | 0.437 ± 0.11                       |
| <i>F</i> 值 |          | 1.058          | 4.488                              | 1.014                              |
| <i>P</i> 值 |          | 0.389          | 0.015                              | 0.407                              |

注: 与空白组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

与模型组比较, 杞月茶组及补佳乐组血清 FSH 水平降低, AMH 水平升高 ( $P < 0.05$ ), 但杞月茶组与补佳乐组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 各组血清  $E_2$  水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

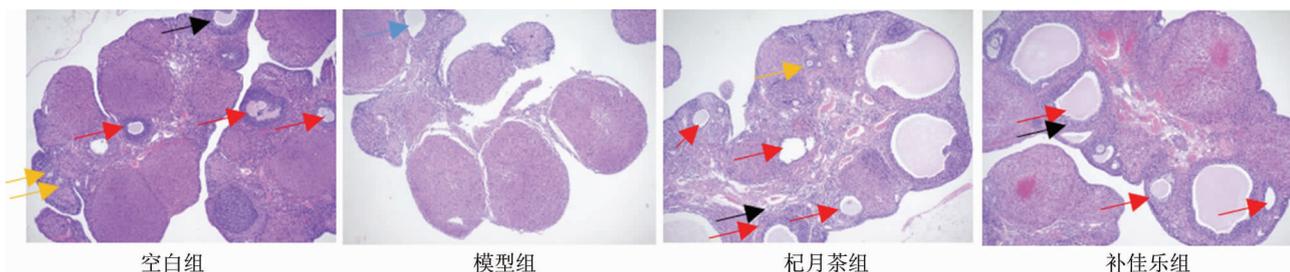
表 2 各组大鼠血清性激素水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of serum sex hormone levels of rats in each group

| 组别         | <i>n</i> | FSH (μg/L)               | $E_2$ (ng/L)   | AMH (μg/L)               |
|------------|----------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| 空白组        | 6        | 5.69 ± 1.59              | 113.93 ± 33.97 | 1.86 ± 0.13              |
| 模型组        | 6        | 7.97 ± 1.34 <sup>a</sup> | 102.03 ± 12.95 | 1.38 ± 0.30 <sup>a</sup> |
| 杞月茶组       | 5        | 5.89 ± 1.26 <sup>b</sup> | 110.62 ± 9.70  | 1.72 ± 0.17 <sup>b</sup> |
| 补佳乐组       | 6        | 5.39 ± 1.90 <sup>b</sup> | 134.94 ± 25.51 | 1.67 ± 0.20 <sup>b</sup> |
| <i>F</i> 值 |          | 3.394                    | 2.159          | 5.460                    |
| <i>P</i> 值 |          | 0.039                    | 0.126          | 0.007                    |

注: 与空白组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

2.3 各组大鼠卵巢形态学比较 空白组可见较多原始卵泡及初次级卵泡, 颗粒细胞多, 未见明显闭锁卵泡; 模型组大鼠卵巢可见少量初次级卵泡及少量原始卵泡, 颗粒细胞较少, 可见较多闭锁卵泡; 杞月茶组及补佳乐组初次级卵泡及成熟卵泡较多, 颗粒细胞及闭锁卵泡较模型组减少, 见图 1。



注: 原始卵泡; 初次级卵泡; 颗粒细胞; 闭锁卵泡

图 1 各组大鼠卵巢形态比较 (HE 染色, ×40)

Fig. 1 Comparison of ovarian morphology of rats in each group (HE staining, ×40)

2.4 大鼠卵巢颗粒细胞中 Bcl-2、Bax 凋亡因子及其 Bcl-2/Bax 蛋白表达比较 卵巢颗粒细胞免疫组化中, 各组 Bax 蛋白主要表达在颗粒层细胞、黄体及间质。与空白组比较, 模型组 Bax 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 杞月茶组及补佳乐组 Bax 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而杞月茶组与补佳乐组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); Bcl-2 蛋白主要表达在各级卵泡的细胞核中, 其表达在各组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 2、表 3。为进一步明确 Bcl-2 及 Bax 蛋白在卵巢组织中的表达, 同时进行了组织蛋白印迹检测, 与空白组比较, 模型组 Bcl-2/Bax 凋亡因子比值降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 杞月茶组及补佳乐组 Bcl-2/Bax 凋亡因子比值显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而杞月茶组与补佳乐组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3、表 3。

表 3 各组大鼠卵巢组织细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 The protein expression levels of Bcl-2 and Bax in ovarian tissue cells of rats in each group

| 组别   | n | Bcl-2(IOD)  | Bax(IOD)                   | Bcl-2/Bax                |
|------|---|-------------|----------------------------|--------------------------|
| 空白组  | 3 | 5.37 ± 2.82 | 27.73 ± 9.22               | 0.90 ± 0.32              |
| 模型组  | 3 | 5.22 ± 5.29 | 55.93 ± 37.34 <sup>a</sup> | 0.37 ± 0.20 <sup>a</sup> |
| 杞月茶组 | 3 | 4.64 ± 3.18 | 32.23 ± 11.77 <sup>b</sup> | 0.80 ± 0.15 <sup>b</sup> |
| 补佳乐组 | 3 | 4.92 ± 2.82 | 31.91 ± 13.66 <sup>b</sup> | 0.85 ± 0.28 <sup>b</sup> |
| F 值  |   | 0.081       | 5.465                      | 4.101                    |
| P 值  |   | 0.970       | 0.002                      | 0.049                    |

注: 与空白组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

### 3 讨论

在 DOR 的治疗上, 西医主要采用激素替代疗法, 但仅具有改善症状、促进月经来潮的作用, 对于改善生育能力方面疗效有限。多项研究显示, 中医在 DOR 的

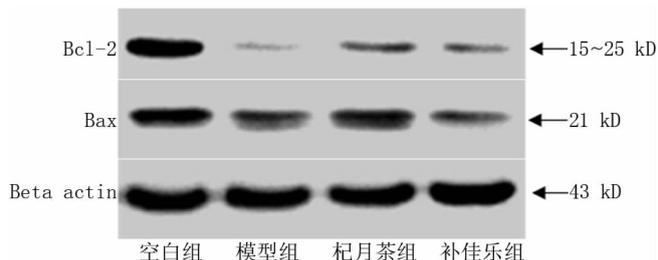


图 3 各组大鼠卵巢组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达电泳图

Fig. 3 The electrophoresis of Bcl-2 and Bax protein expression in ovarian tissue of rats in each group

治疗中发挥着良好的作用。中医认为, 该病在病机上多以肾精亏虚、天癸不足为其根本, 并可伴有肝郁、脾虚、血瘀等证<sup>[7]</sup>。

郭志强认为, 卵巢储备功能下降的病机是以肝肾阴虚为主, 兼见脾肾阳虚、肝郁化火、心肾不交等<sup>[8]</sup>。其发生与现代女性的一些不良生活习惯有关。王云欢<sup>[9]</sup>通过对临床病例数据挖掘, 分析出女性卵巢功能低下与性生活、情绪、锻炼及睡眠有密切关系, 郭氏中药序贯疗法可有效改善患者月经、妊娠率、改良中医症状评分、卵巢直径等, 临床疗效满意, 并基于此提出滋补肝肾、养血柔肝的治疗方法。实验采用郭志强临床常用滋补养肝法的君臣药——“枸杞子”和“月季花”制备代茶饮“杞月茶”, 具有补肾填精养血、柔肝疏肝、理气活血的作用, 可从根本上调理肝肾, 刺激卵巢发育和卵泡生长, 在缓解症状的同时提高一定的生育能力<sup>[4]</sup>。

颗粒细胞(GC)的增殖、凋亡及激素分泌与卵泡的发育、卵母细胞的成熟密切相关。已有研究表明, Bcl-2家族成员在调节卵巢细胞凋亡、决定卵巢颗粒细胞和卵泡寿命等方面发挥重要作用<sup>[10-12]</sup>。其中, Bcl-2

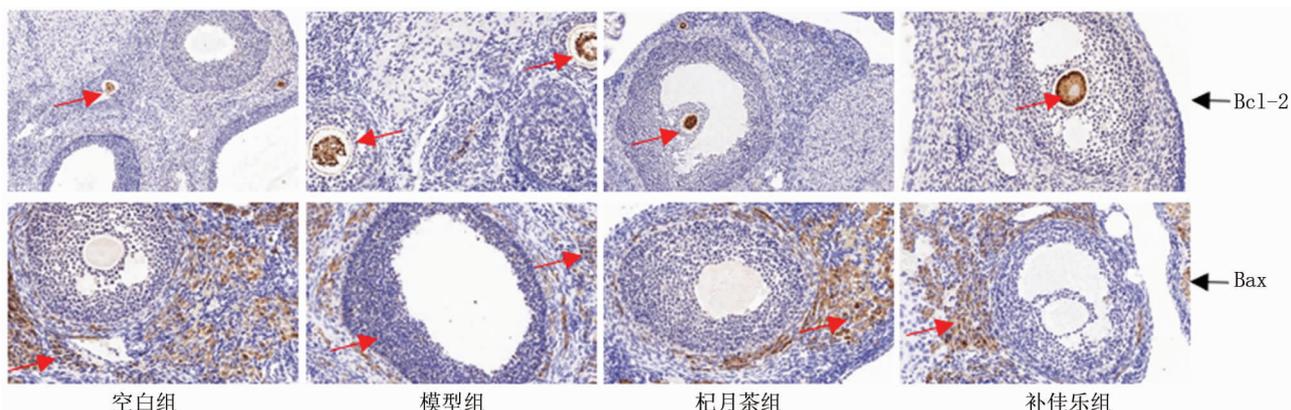


图 2 各组大鼠卵巢组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达情况比较(免疫组化染色, ×400)

Fig. 2 Comparison of Bcl-2 and Bax protein expression in ovarian tissue of rats in each group (immunohistochemical staining, ×400)

是一种抑制细胞凋亡、延长细胞存活的细胞内蛋白,而 Bax 是 Bcl-2 同源基因,过度表达的 Bax 可促进细胞凋亡<sup>[13-15]</sup>。

卵巢颗粒细胞在卵泡生长中起到重要作用,相关激素均由卵巢颗粒细胞卵泡分泌,或在其上表达<sup>[16-18]</sup>。卵泡的生长主要是由 FSH 调节的,FSH 由垂体分泌,负责卵巢卵泡的刺激和生长,而卵泡刺激激素受体(FSHR)主要在卵泡颗粒细胞上表达。E<sub>2</sub> 由卵泡中的卵泡膜细胞和卵巢颗粒细胞产生,E<sub>2</sub> 水平升高对下丘脑—垂体—卵巢轴 FSH 分泌呈负反馈调节。AMH 可由原发性和继发性卵泡的颗粒细胞分泌,并抑制原始卵泡生长的发育,调控卵泡的发育速度。FSH 和 E<sub>2</sub> 是主要的抗凋亡因子<sup>[19]</sup>。因此在 VCD 造模法诱导的 DOR 大鼠模型存在卵泡闭锁,AMH 水平降低,FSH 水平升高现象,干预后可改善 DOR 大鼠内分泌紊乱,改善卵巢状态,且补佳乐及杞月茶治疗效果相当。

Bcl-2 家族已被证明在调节卵巢生殖细胞的命运中起着至关重要的作用。Bax 是 Bcl-2 同源基因,二者互为拮抗作用,Bax 蛋白表达水平上调,Bcl-2 活性下降会促进细胞凋亡。Bax 对原始生殖细胞、卵原细胞和卵母细胞凋亡有着重要作用<sup>[13]</sup>。Bax 可从原始卵泡开始出现,而 Bcl-2 仅出现在原始卵泡向次级卵泡转化过程中,进而导致原始卵泡闭锁<sup>[19]</sup>。Bcl-2 可通过抑制胚胎生殖细胞或生长卵泡的凋亡来增加原始卵泡数量,以潜在地延长卵巢功能和生育能力。其编码的蛋白主要存在于细胞质内,受到凋亡信号诱导后,其结构可发生改变,转移至线粒体膜上并形成通道,从而诱导细胞凋亡<sup>[20]</sup>。

多项研究中卵巢中 Bax 蛋白表达水平显著升高,Bcl-2 蛋白表达水平降低,导致 GC 凋亡增加,导致大量闭锁卵泡<sup>[16]</sup>,与本结果部分相似。一项研究表明,细胞质 Bcl-2 阳性可阻止细胞凋亡,而细胞核 Bcl-2 阳性可抑制转录因子和核因子  $\kappa$ B 的活化,从而诱导细胞凋亡<sup>[21]</sup>。本结果中 Bcl-2 主要表达在细胞核中,其可能是导致细胞凋亡的另一因素。

综上,杞月茶及补佳乐可降低 DOR 大鼠血清中 FSH 水平、升高 AMH 水平,两者治疗效果与下调细胞凋亡因子 Bax 在卵巢组织中的表达有关。杞月茶与补佳乐治疗效果之间差别不大,但杞月茶代茶饮更为便捷,更适合大众保健的需求,可从中医治未病角度出发,防止 DOR 的进一步进展。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

肖慧:实施研究过程,数据收集、分析,论文撰写;刘宇:协

助实验实施、数据收集;朱英英:协助数据分析;李军:提出研究思路和研究选题,设计研究方案、研究流程,设计论文框架,论文修订及审核

#### 参考文献

- [1] Pastore LM, Christianson MS, Stelling J, et al. Reproductive ovarian testing and the alphabet soup of diagnoses: DOR, POI, POF, POR, and FOR[J]. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2018, 35(1):17-23. DOI:10.1007/s10815-017-1058-4.
- [2] Devine K, Mumford SL, Wu M, et al. Diminished ovarian reserve in the United States assisted reproductive technology population: diagnostic trends among 181,536 cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System[J]. *Fertility and Sterility*, 2015, 104(3):612-619. DOI:10.1016/j.fertnstert.2015.05.017.
- [3] Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide[J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2017, 217(2):129-140. DOI:10.1016/j.ajog.2017.02.027.
- [4] 郭丽璇,李军,张茹,等.“杞月茶”对卵巢储备功能下降影响的研究及探讨[J]. *吉林中医药*, 2020, 40(5):610-613. DOI:10.13463/j.cnki.jlzyy.2020.05.015.
- Guo LX, Li J, Zhang R, et al. Study on the effect of Qiyue Tea on the Decreasing Ovarian Reserve[J]. *Jinlin Journal of Transitional Chinese Medicine*, 2020, 40(5):610-613. DOI:10.13463/j.cnki.jlzyy.2020.05.015.
- [5] 陆樱瑜,沈明洁,李佳慧,等.卵巢储备功能下降动物模型研究进展[J]. *生殖医学杂志*, 2014, 23(12):996-999. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2014.12.017.
- Lu MY, Shen MJ, Li JH, et al. Progress in animal models of diminished ovarian reserve[J]. *Journal of Reproductive Medicine*, 2014, 23(12):996-999. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2014.12.017.
- [6] Gao L, Zhao F, Zhang Y, et al. Diminished ovarian reserve induced by chronic unpredictable stress in C57BL/6 mice[J]. *Gynecological Endocrinology: the Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 2020, 36(1):49-54. DOI:10.1080/09513590.2019.1631274.
- [7] 王月娇,徐莲薇,刘小菲,等.卵巢储备功能下降的中医研究进展[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(6):1047-1050.
- Wang YJ, Xu LW, Liu XF, et al. Advances in research on the etiology of decline in ovarian reserve[J]. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2021, 27(6):1047-1050.
- [8] 李军,王必勤,薛晓鸥,等.郭志强治疗卵巢储备功能低下性不孕的临床思路[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2015, 21(4):467-468.
- Li J, Wang BQ, Xue XO, et al. Guo Zhiqiang's clinical ideas for the treatment of infertility with low ovarian reserve function[J]. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2015, 21(4):467-468.
- [9] 王云欢.郭氏中药序贯疗法治疗卵巢储备功能低下的临床观察[D].北京:北京中医药大学,2018.
- [10] Liew SH, Vaithyanathan K, Hutt KJ. Taking control of the female fertile lifespan: a key role for Bcl-2 family proteins[J]. *Reproduction, Fertility, and Development*, 2016, 28(7):864-871. DOI:10.

- 1071/RD14326.
- [11] 尹燕,金志春,杨雅琴,等. 补肾益气 and 血方对大鼠卵巢储备功能的影响与作用机制[J]. 中国计划生育学杂志,2021,29(2):221-225,423. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2021.02.002.  
Yin Y, Jin ZC, Yang YQ, et al. Effect and mechanism of BSYQH prescription on ovarian reserve function of rats[J]. Chinese Journal of Family Plannin, 2021,29(2):221-225,423. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2021.02.002.
- [12] 王月娇,徐莲薇,刘小菲,等. 卵巢储备功能下降的中医研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志,2021,27(6):1047-1050.  
Wang YJ, Xu LW, Liu XF, et al. Advances in Research on the Etiology of Decline in Ovarian Reserve[J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2021,27(6):1047-1050.
- [13] Pena-Blanco A, García-Súez AJ. Bax, Bak and beyond-mitochondrial performance in apoptosis [J]. The FEBS Journal, 2018, 285 (3): 416-431. DOI:10.1111/febs.14186.
- [14] 汪倩,卢鸽,李红晓,等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路探讨艾灸对卵巢储备功能减退大鼠的炎症调控机制[J]. 北京中医药大学学报,2021,44(3):280-288. DOI:10.3969/j.issn.1006-2157.2021.03.014.  
Jiang Q, Lu G, Li XH, et al. Inflammatory regulation mechanism of moxibustion on rats with diminished ovarian reserve based on Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2021,44(3):280-288. DOI:10.3969/j.issn.1006-2157.2021.03.014.
- [15] 安东,刘丽敏. 补肾类中成药治疗卵巢储备功能下降的 Meta 分析[J]. 中国老年学杂志,2021,41(20):4425-4431. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2021.20.029.
- [16] Ling L, Feng X, Wei T, et al. Human amnion-derived mesenchymal stem cell (hAD-MSC) transplantation improves ovarian function in rats with premature ovarian insufficiency (POI) at least partly through a paracrine mechanism[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2019, 10(1):46. DOI:10.1186/s13287-019-1136-x.
- [17] FAN Xingyan, 于莎,汪云,等. 高孕激素促排卵与克罗米芬微刺激方案在卵巢低储备患者取卵周期的可控性比较[J]. 中国临床医学,2021,28(4):539-543. DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210409.  
FAN XY, Yu S, Wang Y, et al. Controllability comparison between progestin-primed ovarian stimulation and mild stimulation protocols in patients with diminished ovarian reserve in oocytes retrieval cycle [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021,28(4):539-543. DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210409.
- [18] 徐海霞,朱春兰,唐虹. 艾灸联合中药对多囊卵巢综合征不孕症患者卵巢储备功能的影响[J]. 上海针灸杂志,2021,40(5):571-575. DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2021.05.0571.  
Xu HX, Zhu CL, Tang H. Effect of Moxibustion Combined with Chinese Medication on Ovarian Reserve Function in Patients with Infertility Due to Polycystic Ovary Syndrome [J]. Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion, 2021, 40 (5): 571-575. DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2021.05.0571.
- [19] Regan SLP, Knight PG, Yovich JL, et al. Granulosa cell apoptosis in the ovarian follicle—a changing view[J]. Frontiers In Endocrinology, 2018,9:61. DOI:10.3389/fendo.2018.00061.
- [20] Peng H, Zeng L, Zhu L, et al. Zuogui Pills inhibit mitochondria-dependent apoptosis of follicles in a rat model of premature ovarian failure [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 238: 111855. DOI:10.1016/j.jep.2019.111855.
- [21] Pallavi N, Nalabolu GRK, Hiremath SKS. Bcl-2 and c-Myc expression in oral dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study to assess tumor progression [J]. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP, 2018, 22 (3): 325-331. DOI: 10.4103/jomfp. JOMFP\_197\_18.
- (收稿日期:2022-05-08)

(上接 1179 页)

- [14] Sun F, Li N, Tong X, et al. Ara-c induces cell cycle G1/S arrest by inducing upregulation of the INK4 family gene or directly inhibiting the formation of the cell cycle-dependent complex CDK4/cyclin D1 [J]. Cell Cycle, 2019, 18 (18): 2293-2306. DOI: 10.1080/15384101.2019.1644913.
- [15] 付茂月,雷开键,贾钰铭,等. 多西他赛联合顺铂治疗晚期肺腺癌患者的临床疗效及其对免疫功能的影响[J]. 实用心脑血管病杂志,2021,29(8):48-53. DOI:10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.164.  
Fu MY, Lei KJ, Jia YM, et al. Clinical Efficacy of Docetaxel Combined with Cisplatin in the Treatment of Advanced Lung Adenocarcinoma and the Impact on Immune Function of Patients[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2021, 29 (8): 48-53. DOI:10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.164.
- [16] Pan Y, Yu Y, Wang X, et al. Tumor-associated macrophages in tumor immunity [J]. Front Immunol, 2020, 11: 583084. DOI: 10.3389/fimmu.2020.583084.
- [17] Abdel-Hamid NM, Abass SA. Matrix metalloproteinase contribution in management of cancer proliferation, metastasis and drug targeting [J]. Mol Biol Rep, 2021, 48(9): 6525-6538. DOI: 10.1007/s11033-021-06635-z.
- [18] Jin C, Lin JR, Ma L, et al. Elevated spondin-2 expression correlates with progression and prognosis in gastric cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(6): 10416-10424. DOI: 10.18632/oncotarget.14423.
- (收稿日期:2022-06-20)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.013

荟萃分析

# 完全血运重建对急性 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者预后影响的 Meta 分析

闫奎坡, 张剑剑, 郭雨晴

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81303073); 河南省科技攻关项目(192102310161, 182102310291); 河南省中医药科学研究专项课题(2017ZY2017, 2016ZY3003, 2016ZY2051, 2017ZY2017); 河南省卫生健康委国家中医临床研究基地科研专项(2021JDZX2006, 2021JDZX081, 2021JDZX038); 河南省首批青苗人才培养项目[豫中医科教(2018)16号]

作者单位: 450000 郑州, 河南中医药大学第一附属医院心脏中心(闫奎坡); 河南中医药大学第一临床医学院(张剑剑、郭雨晴)  
通信作者: 闫奎坡, E-mail: ykp19821122@163.com

**【摘要】** 目的 应用系统评价分析完全血运重建治疗方法对急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)合并多支血管病变患者的预后及影响。方法 检索中国知网、万方数据、维普中文数据库、PubMed、Embase、Cochrane Library 等数据库建立至 2021 年 1 月, 纳入关于完全血运重建和仅罪犯血管介入治疗合并多支血管病变的急性 ST 段抬高型心肌梗死预后比较的随机对照试验的相关文献。依据选择标准筛选文献、提取资料后, 使用 Revman5.3 软件进行 Meta 分析。结果 最终纳入 18 篇随机对照试验, 共 11 106 例患者, 其中完全血运重建组 4 680 例, 仅罪犯血管经皮冠状动脉介入治疗组 6 426 例。Meta 分析结果显示, 完全血运重建组在主要心血管事件(MACE) ( $RR = 0.60, 95\% CI 0.52 \sim 0.71, P < 0.001$ )、全因死亡( $RR = 0.68, 95\% CI 0.58 \sim 0.81, P < 0.001$ )、心因死亡( $RR = 0.62, 95\% CI 0.49 \sim 0.78, P < 0.001$ )、再发心肌梗死( $RR = 0.78, 95\% CI 0.67 \sim 0.92, P = 0.003$ )、再次血运重建( $RR = 0.48, 95\% CI 0.35 \sim 0.65, P < 0.001$ )、再发心绞痛( $RR = 0.66, 95\% CI 0.47 \sim 0.93, P = 0.02$ )发生率与仅罪犯血管 PCI 组比较均显著降低, 差异有统计学意义; 而 2 组术后心力衰竭( $RR = 0.64, 95\% CI 0.25 \sim 1.62, P = 0.35$ )、冠状动脉旁路移植手术(CAGB) ( $RR = 0.64, 95\% CI 0.58 \sim 1.66, P = 0.94$ )、出血( $RR = 1.19, 95\% CI 0.88 \sim 1.46, P = 0.33$ )、造影剂肾病( $RR = 1.59, 95\% CI 0.94 \sim 2.71, P = 0.18$ )的发生率比较差异无统计学意义。结论 完全血运重建治疗策略能有效减少合并多支血管病变的 STEMI 患者的 MACE、全因死亡、心因死亡、再发心肌梗死、再次血运重建、心绞痛发生率, 在一定程度上能够改善预后, 且安全有效。

**【关键词】** 心肌梗死, ST 段抬高型; 多支血管病变; 完全血运重建; 罪犯血管介入; 预后; Meta 分析

**【中图分类号】** R542.2<sup>+</sup>2 **【文献标识码】** A

**Meta analysis of the effect of complete revascularization on the prognosis of patients with acute ST segment elevation myocardial infarction complicated with multi vessel disease** Yan Kuipo<sup>\*</sup>, Zhang Jianjian, Guo Yuqing. <sup>\*</sup>The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Henan Province, Zhengzhou 450000, China

Corresponding author: Yan Kuipo, E-mail: ykp19821122@163.com

Funding program: Youth Fund Program of National Natural Science Foundation of China (81303073); Science and Technology Research Project of Henan Province (192102310161, 182102310291); Henan Traditional Chinese Medicine (2017ZY2017, 2016ZY3003, 2016ZY2051, 2017ZY2017); Scientific Research of National Clinical Research Base of Traditional Chinese Medicine of Henan Provincial Health Commission (2021JDZX2006, 2021JDZX081, 2021JDZX038); The First Batch of Young Talent Training Projects in Henan Province(2018-16)

**【Abstract】 Objective** The prognosis and influence of complete revascularization on patients with acute ST segment elevation myocardial infarction (STEMI) complicated with multi vessel disease were analyzed by systematic evaluation. **Methods** Search CNKI, Wanfang data, Vip Chinese database, PubMed, Embase, Cochrane Library and other databases until January 2021, and include relevant literature on randomized controlled trials for comparing the prognosis of complete revascularization and only criminal vascular interventional treatment of acute ST segment elevation myocardial infarction with multiple vascular diseases. After selecting literature and extracting data according to selection criteria, meta-analysis was conducted with Revman 5.3 software. **Results** Finally, 18 randomized controlled trials were included, with a total of 11 106 patients, including 4 680

patients in the complete revascularization group and 6 426 patients in the criminal vessel percutaneous coronary intervention group. Meta analysis showed that in the complete revascularization group, major cardiovascular events (MACE) ( $RR = 0.60$ ,  $95\% CI 0.52 - 0.71$ ,  $P < 0.001$ ), all-cause death ( $RR = 0.68$ ,  $95\% CI 0.58 - 0.81$ ,  $P < 0.001$ ), cardiac death ( $RR = 0.62$ ,  $95\% CI 0.49 - 0.78$ ,  $P < 0.001$ ), recurrent myocardial infarction ( $RR = 0.78$ ,  $95\% CI 0.67 - 0.92$ ,  $P = 0.003$ ), revascularization ( $RR = 0.48$ ,  $95\% CI 0.35 - 0.65$ ,  $P < 0.001$ ) The incidence of recurrent angina pectoris ( $RR = 0.66$ ,  $95\% CI 0.47 - 0.93$ ,  $P = 0.02$ ) was significantly lower than that in the criminal vessel PCI group, with a statistically significant difference; There was no significant difference between the two groups in the incidence of postoperative heart failure ( $RR = 0.64$ ,  $95\% CI 0.25 - 1.62$ ,  $P = 0.35$ ), coronary artery bypass grafting (CAGB) ( $RR = 0.64$ ,  $95\% CI 0.58 - 1.66$ ,  $P = 0.94$ ), bleeding ( $RR = 1.19$ ,  $95\% CI 0.88 - 1.46$ ,  $P = 0.33$ ), and contrast nephropathy ( $RR = 1.59$ ,  $95\% CI 0.94 - 2.71$ ,  $P = 0.18$ ). **Conclusion** Complete revascularization treatment strategy can effectively reduce the incidence of MACE, all-cause death, cardiac death, recurrent myocardial infarction, revascularization, angina pectoris in STEMI patients with multi vessel disease, and can improve the prognosis to a certain extent, and it is safe and effective.

**【Key words】** Myocardial infarction, ST-segment elevated; Multivessel disease; Complete revascularization; Culprit artery intervention; Prognosis; Meta-analysis

急性 ST 段抬高型心肌梗死 (ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI) 是冠状动脉粥样硬化性心脏病的严重类型,是导致死亡和致残的主要原因。其早期治疗可有效挽救大面积心肌,治疗的关键是缩短心肌缺血时间,尽快实现有效的心肌再灌注<sup>[1]</sup>。针对 STEMI 患者,直接经皮冠状动脉介入 (percutaneous coronary intervention, PCI) 治疗 STEMI 患者的再灌注策略已成首选方案<sup>[2-4]</sup>。同时有研究发现,约 50% 的 STEMI 患者同时合并多支血管病变 (multivessel disease, MVD),而 MVD 与单支血管病变相比明显增加 STEMI 患者 PCI 术中风险和术后短期死亡风险,是 STEMI 患者预后不良的因素之一<sup>[5-7]</sup>。虽然优先选择 PCI 术治疗 STEMI 患者已达成共识,但目前针对合并多支血管病变的 STEMI 患者的介入策略存在争议。有大量研究表明,采取完全血运重建治疗可以改善血流动力学稳定的 STEMI 合并多支血管病变患者预后,减少术后不良事件<sup>[8-9]</sup>,而且根据欧洲心脏病学会的最新指导方针,对非罪犯血管直接进行 PCI 治疗的推荐等级已升至 II a 级<sup>[10]</sup>;但也有研究显示,由于多支血管病变的复杂性、手术难度较高等原因,增加了早期干预非梗死相关血管对合并多支血管病变的 STEMI 患者的治疗风险,预后无明显获益<sup>[11-13]</sup>。针对目前临床中存在的此 2 种治疗策略,本文旨在通过对纳入的随机对照试验进行 Meta 分析,以评估完全血运重建治疗策略对合并 MVD 的 STEMI 患者的预后疗效,为临床介入治疗提供循证医学证据,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 文献检索 通过检索中国知网、万方数据、维普中文数据库、PubMed、Embase、Cochrane Library,筛选有关 SETMI 合并 MVD 的随机对照试验研究。主要的

英文检索词包括:complete、culprit、infarct related artery、STEMI、PCI、AMI、percutaneous coronary intervention、revascularization、multivessel disease、MVD、randomized controlled trial;主要的中文检索词包括:急性 ST 段抬高型心肌梗死、多支血管病变、罪犯血管、介入治疗、PCI、血运重建、随机对照试验等。检索日期从各数据库建立至 2021 年 1 月,检索中未对语言做任何限制。

1.2 选择标准 纳入标准:(1)研究对象符合 STEMI 合并多支血管病变的诊断标准;(2)比较完全血运重建和仅罪犯血管血运重建的随机对照试验;(3)研究的结局指标含有:主要心血管不良事件 (MACE)、全因死亡率、心因死亡率、再发心肌梗死率、再次血运重建、再发心绞痛、术后心力衰竭、冠状动脉旁路移植手术 (CABG)、脑卒中、大出血和造影剂诱发肾病等。

排除标准:(1)临床诊断不符合急性 STEMI 合并 MVD 者;(2)研究对象有慢性完全闭塞性病变、心源性休克、严重瓣膜性疾病等;(3)非随机对照的临床研究;(4)综述、社论、信函、观察性研究、非人类研究及未报告不良心脏事件的研究。

1.3 资料提取与文献质量评价 由 2 名研究者独立评价纳入的文献及提取数据,并由第 3 名研究者进行检查核对。如果有分歧,三者共同讨论并作出决定。从文献中提取的内容包含:第一作者、发表年度、实施研究的国家或地区、样本量、各组患者年龄、性别构成、病程、随访时间、研究的主要结局指标等。使用改良的 Jadad 量表从随机方法、分配隐藏、盲法、数据偏倚、选择性报告结果、其他偏倚等几个方面评估纳入研究文献的质量。最高得分为 7 分,1~3 分为低质量文献,4~7 分为高质量文献。

1.4 统计学方法 使用 Revman5.3 软件分析纳入的

文献数据。计数资料采用相对危险度 (RR) 为效应测量指标, 计量资料采用标准化均数差 (SMD), 两者均以 95% 可信区间 (CI) 表示; 采用  $\chi^2$  检验各纳入研究结果间的异质性。当  $P > 0.1, I^2 < 50%$  则说明无明显异质性, 采用固定效应模型; 若  $P \leq 0.1, I^2 \geq 50%$  则提示存在异质性, 分析其异质性来源后采用随机效应模型。若纳入研究文献数量大于 10 篇, 绘制漏斗图评价发表偏倚。

## 2 结果

2.1 纳入文献基本情况及质量评价 利用检索词初步检索到 523 篇英文文献和 78 篇中文文献, 通过删重文献 79 篇, 筛选标题和摘要后排除 315 篇文献, 进一步阅读全文后排除 189 篇文献。最终共纳入 18 篇文

献, 11 106 例患者, 其中完全血运重建组 4 680 例, 仅罪犯血管血运重建组 6 426 例。18 项研究<sup>[14-31]</sup>均为随机对照试验, 10 篇文献<sup>[16, 20, 23-25, 27-31]</sup>提及使用随机数字法, 8 篇文献<sup>[14, 15, 17-19, 21, 22, 26]</sup>提及盲法, 1 篇文献<sup>[16]</sup>未提及是否有失访情况。纳入文献基本特征及质量评价结果见表 1。

## 2.2 Meta 分析结果

2.2.1 2 组 MACE 的评价: 14 项研究<sup>[14-23, 25-26, 28, 31]</sup>报道了 MACE 发生率, 经异质性检验, 各研究间异质性较大 ( $P = 0.01, I^2 = 52%$ ), 故采用随机效应模型进行分析, 结果表明完全血运重建组 MACE 发生率低于仅罪犯血管 PCI 组, 差异有统计学意义 ( $RR = 0.60, 95\% CI 0.52 \sim 0.71, P < 0.001$ ), 见图 1、表 2。

表 1 纳入文献基本情况及质量评价结果

Tab. 1 Basic Information of Included Documents and Quality Evaluation Results

| 作者                        | 发表时间 (年) | 国家或地区  | 样本量  | 人数 CR        |                                | 年龄 CR                 |                  | 男/女 (例) CR            |              | 治疗措施对比    | 完全血运重建时间节点 | 随访时间 (月) | 结局指标 | Jadad 评分 |
|---------------------------|----------|--------|------|--------------|--------------------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|--------------|-----------|------------|----------|------|----------|
|                           |          |        |      | IRA-only     | IRA-only                       | IRA-only              | IRA-only         |                       |              |           |            |          |      |          |
| Di Mario <sup>[14]</sup>  | 2004     | 意大利和英国 | 69   | 52<br>17     | 63.5 ± 12.4<br>65.3 ± 7.4      | 46/6<br>14/3          | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时             | 12           | ①②③④⑤⑧    | 4          |          |      |          |
| Politi <sup>[15]</sup>    | 2010     | 意大利    | 149  | 65<br>84     | 64.5 ± 11.7<br>66.5 ± 13.2     | 50/80<br>64/84        | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时             | 30           | ①②③④⑤⑧    | 5          |          |      |          |
| Ghani <sup>[16]</sup>     | 2012     | 荷兰     | 119  | 79<br>40     | 62 ± 10<br>61 ± 11             | 64/80<br>33/41        | CR vs. IRA-only  | 住院期间                  | 36           | ①②④⑤⑧     | 3          |          |      |          |
| Wald <sup>[17]</sup>      | 2013     | 英国     | 465  | 234<br>231   | 62 (32 ~ 92)<br>62 (33 ~ 90)   | 177/157<br>186/145    | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时             | 23           | ①②③④⑤⑥    | 5          |          |      |          |
| Hlinomaz <sup>[18]</sup>  | 2015     | 捷克     | 214  | 106<br>108   | NA<br>NA                       | 80/26<br>72/26        | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术后 3 ~ 40 d 内  | 38           | ①②④⑥      | 5          |          |      |          |
| Engstrom <sup>[19]</sup>  | 2015     | 丹麦     | 627  | 314<br>313   | 64 (37 ~ 94)<br>63 (34 ~ 92)   | 251/314<br>255/313    | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术后 2 d 内       | 27           | ①②③④⑤⑧    | 5          |          |      |          |
| Gershlick <sup>[20]</sup> | 2015     | 英国     | 296  | 150<br>146   | 64.6 ± 11.2<br>65.3 ± 11.9     | 128/22<br>112/34      | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时或住院期间        | 12           | ①②④⑤⑦⑨⑩   | 4          |          |      |          |
| Hamza <sup>[21]</sup>     | 2016     | 埃及和美国  | 100  | 50<br>50     | 56.4 ± 11.5<br>52.2 ± 10.6     | 41/9<br>43/9          | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时或术后 3 d 内    | 6            | ①②④⑤⑨⑩    | 6          |          |      |          |
| Smits <sup>[22]</sup>     | 2017     | 欧洲和亚洲  | 885  | 295<br>590   | 62 ± 10<br>61 ± 10             | 233/62<br>450/140     | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时或术后 72 h 内   | 36           | ①②③④⑤⑧⑨   | 6          |          |      |          |
| 高翔宇 <sup>[23]</sup>       | 2017     | 中国     | 318  | 126<br>192   | 61.8 ± 10.0<br>64.1 ± 9.5      | 98/28<br>136/56       | ECR vs. IRA-only | 急诊 PCI 术后 5 ~ 14 d    | 12           | ①②③④⑤     | 3          |          |      |          |
| 朱家赫 <sup>[24]</sup>       | 2017     | 中国     | 390  | 139<br>251   | 69.8 ± 6.7<br>71.5 ± 7.7       | 94/45<br>149/102      | CR vs. IR        | 住院期间或出院后 30 d 内       | 36           | ①③④⑤      | 3          |          |      |          |
| 许晓明 <sup>[25]</sup>       | 2018     | 中国     | 326  | 131<br>195   | 60.41 ± 11.03<br>59.82 ± 11.27 | 113/18<br>173/22      | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时             | 36           | ①②③④⑤⑥⑦⑨  | 3          |          |      |          |
| Mehta <sup>[26]</sup>     | 2019     | 加拿大    | 4041 | 2016<br>2025 | 61.6 ± 10.7<br>62.4 ± 10.7     | 1623/393<br>1602/1423 | CR vs. IRA-only  | PCI 术后 70 h 内         | 36           | ①②③④⑤⑥⑦⑨⑩ | 6          |          |      |          |
| 吴方辉 <sup>[27]</sup>       | 2019     | 中国     | 122  | 61<br>61     | 70.6 ± 6.5<br>71.3 ± 6.2       | 34/27<br>33/28        | CR vs. IR        | 住院期间                  | 36           | ②③④⑤      | 4          |          |      |          |
| 刘宇 <sup>[28]</sup>        | 2019     | 中国     | 592  | 341<br>251   | 61.6 ± 11.9<br>60.5 ± 10.9     | 258/83<br>186/65      | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术后 5.2 ± 2.2 d | 105.0 ± 13.6 | ①②④⑤⑧     | 3          |          |      |          |
| 乔锐 <sup>[29]</sup>        | 2019     | 中国     | 215  | 85<br>130    | 72.20 ± 5.57<br>72.37 ± 5.35   | 80/5<br>121/9         | CR vs. IR        | 急诊 PCI 术时             | 36           | ②③④⑤⑥⑦⑨   | 3          |          |      |          |
| 聂毛晓 <sup>[30]</sup>       | 2019     | 中国     | 281  | 77<br>204    | 65.9 ± 6.5<br>68.2 ± 6.2       | 41/36<br>112/92       | CR vs. IRA-only  | 急诊 PCI 术时             | 24.9 ± 5.8   | ③④⑤       | 3          |          |      |          |
| 周鹤 <sup>[31]</sup>        | 2019     | 中国     | 1897 | 359<br>1538  | NA<br>NA                       | 290/69<br>1179/339    | CR vs. IR        | 急诊 PCI 术时             | 24           | ①②④⑨      | 3          |          |      |          |

注: CR, 完全血运重建; ECR, 早期完全血运重建; IR, 不完全血运重建; IRA-only, 仅罪犯血管血运重建; NA, 未提及。结局指标: ①MACE; ②全因死亡; ③心源性死亡; ④再发心肌梗死; ⑤再次血运重建; ⑥心绞痛; ⑦心力衰竭; ⑧CABC 术; ⑨出血; ⑩造影剂肾病

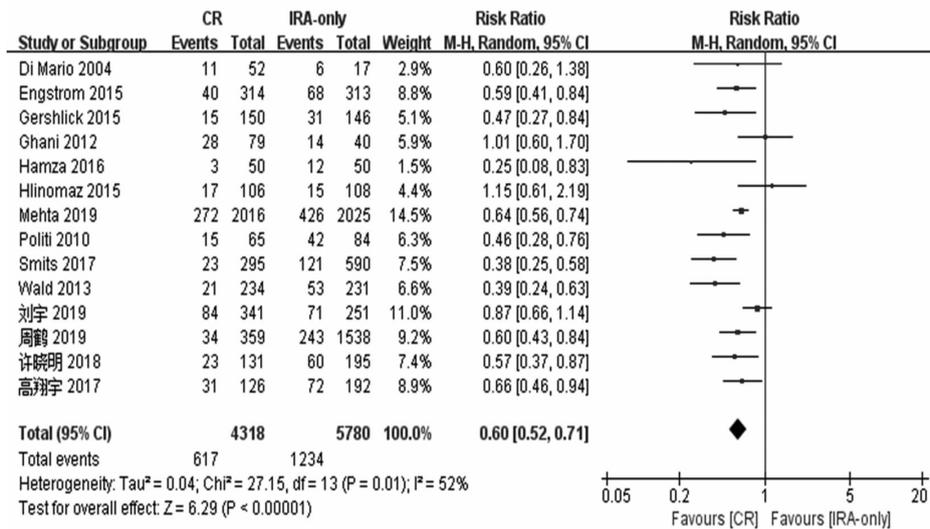


图 1 2 组患者术后 MACE 的评价森林图

Fig. 1 Forest chart for evaluation of MACE of patients in two groups after operation

2.2.2 2 组全因死亡的评价:17 项研究<sup>[14-29,31]</sup>描述了全因死亡情况,经异质性检验各研究间异质性较小 ( $P = 0.04, I^2 = 40%$ ),采用固定效应模型进行分析,结果显示完全血运重建组全因死亡发生率低于仅罪犯血管 PCI 组,差异具有统计学意义 ( $RR = 0.68, 95% CI 0.58 \sim 0.81, P < 0.001$ ),见表 2。

2.2.3 2 组心因死亡的评价:13 项研究<sup>[14-17,19,22-27,29,30]</sup>描述了心因死亡情况,经异质性检验各研究间异质性较小 ( $P = 0.24, I^2 = 20%$ ),采用固定效应模型进行分析后显示,完全血运重建组心因死亡率低于仅罪犯血管 PCI 组,差异有统计学意义 ( $RR = 0.62, 95% CI 0.49 \sim 0.78, P < 0.001$ ),见表 2。

2.2.4 2 组再发心肌梗死的评价:18 项研究<sup>[14-31]</sup>描述了再发心肌梗死情况,经异质性检验各研究间无明显异质性 ( $P = 0.14, I^2 = 27%$ ),采用固定效应模型进行分析后显示,完全血运重建组再发心肌梗死率低于仅罪犯血管 PCI 组,差异有统计学意义 ( $RR = 0.78, 95% CI 0.67 \sim 0.92, P < 0.001$ ),见表 2。

2.2.5 2 组再次血运重建的评价:15 项研究<sup>[15-17,19-30]</sup>描述了再次血运重建情况,经异质性检验各研究间具有异质性 ( $P < 0.1, I^2 = 76%$ ),采用随机效应模型进行分析后发现,完全血运重建组再次血运重建率低于仅罪犯血管 PCI 组,差异具有统计学意义 ( $RR = 0.48, 95% CI 0.35 \sim 0.65, P < 0.001$ ),见表 2。

2.2.6 2 组再发心绞痛的评价:4 项研究<sup>[17,25,26,29]</sup>报道了再发心绞痛,经异质性检验各研究间具有异质性 ( $P = 0.04, I^2 = 64%$ ),故应用随机效应模型进行分析,

完全血运重建组再发心绞痛率低于仅罪犯血管 PCI 组,差异具有统计学意义 ( $RR = 0.66, 95% CI 0.47 \sim 0.93, P = 0.02$ ),见表 2。

2.2.7 2 组术后心力衰竭的评价:3 项研究<sup>[20,25-26]</sup>报道了术后心力衰竭,经异质性检验各研究间具有异质性 ( $P = 0.1, I^2 = 56%$ ),故应用随机效应模型进行分析,结果显示 2 组术后心力衰竭率比较,差异无统计学意义 ( $RR = 0.64, 95% CI 0.25 \sim 1.62, P = 0.35$ ),见表 2。

2.2.8 2 组 CABG 术的评价:6 项研究<sup>[14-16,19,22,28]</sup>描述了 CABG 术情况,经异质性检验各研究间不具有异质性 ( $P = 0.19, I^2 = 32%$ ),故采用固定效应模型进行 Meta 分析,结果显示 2 组术后 CABG 术情况比较差异无统计学意义 ( $RR = 0.64, 95% CI 0.58 \sim 1.66, P = 0.94$ ),见表 2。

2.2.9 2 组术后出血情况的评价:7 项研究<sup>[20-22,25-26,29,31]</sup>报道了术后出血,经异质性检验各研究间无明显异质性 ( $P = 0.87, I^2 = 0$ ),采用固定效应模型进行 Meta 分析,结果显示 2 组术后出血情况比较差异无统计学意义 ( $RR = 1.19, 95% CI 0.88 \sim 1.46, P = 0.33$ ),见表 2。

2.2.10 2 组术后造影剂肾病的评价:3 项研究<sup>[20,21,26]</sup>报道了术后造影剂肾病情况,经异质性检验各研究间无明显异质性 ( $P = 0.76, I^2 = 0$ ),采用固定效应模型进行 Meta 分析,结果显示 2 组术后造影剂肾病情况比较差异无统计学意义 ( $RR = 1.59, 95% CI 0.94 \sim 2.71, P = 0.18$ ),见表 2。

表 2 完全血运重建治疗对 STEMI 合并多支血管病患者预后的 Meta 分析结果

Tab.2 Meta analysis results of prognosis of patients with STEMI combined with multi vessel disease after complete revascularization therapy

| 结局指标   | 纳入病例数 | 异质性检验结果    |                         | 效应模型   | Meta 分析结果   |                     |            |
|--------|-------|------------|-------------------------|--------|-------------|---------------------|------------|
|        |       | <i>P</i> 值 | <i>I</i> <sup>2</sup> 值 |        | <i>RR</i> 值 | 效应量(95% <i>CI</i> ) | <i>P</i> 值 |
| MACE   | 1851  | 0.01       | 52%                     | 随机效应模型 | 0.60        | 0.52~0.71           | <0.001     |
| 全因死亡   | 671   | 0.04       | 40%                     | 随机效应模型 | 0.68        | 0.58~0.81           | <0.001     |
| 心因死亡   | 303   | 0.24       | 20%                     | 固定效应模型 | 0.62        | 0.49~0.78           | <0.001     |
| 再发心肌梗死 | 610   | 0.14       | 27%                     | 固定效应模型 | 0.78        | 0.67~0.92           | <0.001     |
| 再次血运重建 | 885   | <0.1       | 76%                     | 随机效应模型 | 0.48        | 0.35~0.65           | <0.001     |
| 再发心绞痛  | 388   | 0.04       | 64%                     | 随机效应模型 | 0.66        | 0.47~0.93           | 0.02       |
| 心力衰竭   | 137   | 0.1        | 56%                     | 随机效应模型 | 0.64        | 0.25~1.62           | 0.35       |
| CABG 术 | 57    | 0.19       | 32%                     | 固定效应模型 | 0.64        | 0.58~1.66           | 0.94       |
| 术后出血   | 269   | 0.87       | 0                       | 固定效应模型 | 1.19        | 0.88~1.46           | 0.33       |
| 造影剂肾病  | 57    | 0.76       | 0                       | 固定效应模型 | 1.59        | 0.94~2.71           | 0.18       |

2.3 敏感性分析 采用逐个移除研究的方法,并将新的组合结果与原始分析结果进行比较,敏感性分析显示各结果基本稳定。

2.4 发表偏倚 以术后 MACE 评价为例对本次纳入的文献进行风险偏倚评估,偏倚图示各研究整体呈左右对称分布,提示无明显的发表性偏倚,结果可信,见图 2。

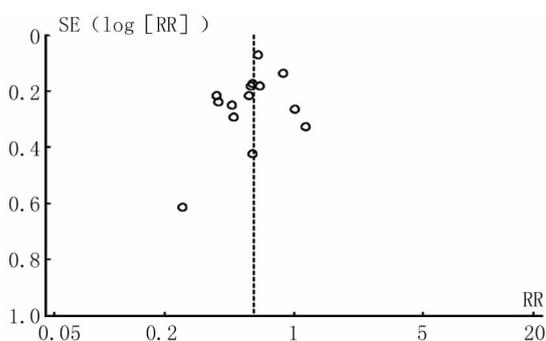


图 2 2 组术后 MACE 评价的漏斗图

Fig.2 Funnel chart of MACE evaluation after 2 groups of surgery

### 3 讨论

50%左右的 STEMI 患者合并 MVD,与单支血管病变人群相比,该人群的病死率和再发非致命性心肌梗死的发生率较高,这可能是由于非梗死相关血管斑块的不稳定性、心肌灌注减少和心室收缩功能减退所致<sup>[32]</sup>。最新指南提出建议,当此类患者进行紧急罪犯血管(IRA)血运重建时,可依据非 IRA 病变的严重程度和供血范围同时进行血运重建,或在出院前考虑对非 IRA 病变的血运重建,属于 II a 推荐, B 级证据<sup>[33]</sup>。显然对于 STEMI 合并多支病变的患者 PCI 策略中,选择完全血运重建还是仅处理罪犯血管的血运重建至今仍有争议。

PCI 能够有效降低 STEMI 患者的病死率和进行再次血运重建的几率,但合并 MVD 患者的预后比单支血管病变(SVD)患者差。完全血运重建策略理论认为不稳定斑块可出现在梗死相关动脉或非梗死相关动脉,处理非梗死相关动脉可以减少非梗死相关血管在急性期及之后不良事件的发生,使患者受益。然而,当 STEMI 患者接受“*One-time PCI*”时,应考虑 2 个方面,一是其可能为患者带来的收益,二是因其局限性带来的手术风险。一次干预罪犯血管与非罪犯血管的“*One-time PCI*”局限性在于:患者处于急性冠状动脉综合征(ACS)时全身为高凝状态;干预非靶血管后支架血栓形成风险较高;非靶血管干预时如果出现无复流、慢血流,往往恶化血流动力学与临床症状;术中造影剂用量增多、术中曝光时间增加。同时,在急诊 PCI 中,有时识别罪犯血管困难;有时 STEMI 本身即为多罪犯血管病变;非罪犯血管病变不稳定时,AMI 后发生闭塞风险较高,一次干预后可避免再次心肌梗死;血流动力学不稳定时,罪犯血管干预后同时干预主要供血血管的非靶病变有可能提高生存率;完全性血运重建治疗可能更好地改善急性心肌梗死患者的症状和预后;一次性干预较分次干预策略降低了手术费用。

即便如此,目前指南仍更倾向于直接 PCI 只处理罪犯血管的推荐策略,即 STEMI 的“*Culprit-only PCI*”;对于合并多支病变的 STEMI 患者,早期研究提示仅对罪犯病变进行干预,但推荐一次性 PCI 处理的优先级并不高,大多数情况下仍建议延期、分次进行 PCI,即“*Staged PCI*”。除此之外,治疗决策应取决于非罪犯血管病变的复杂性及其非梗死相关动脉的供血范围,并提示临床中尽可能做非罪犯血管的 FFR 评估,以决定是否需分次 PCI 处理。

针对该问题,部分大型临床研究正在进行,同时已经有部分文献进行荟萃分析及系统评价,但早期的临

床研究及 Meta 分析有一定的局限性,如临床研究大多以回顾性、观察性研究为主,较少采用完全随机对照试验;另外普遍存在试验样本较小、入选标准差异大的问题,以上原因都可能导致研究结果出现偏倚。截至目前,新的研究及证据已经发表,为更好的提供临床证据,课题组检索数据库,收集相关文献,纳入 18 篇质量较高中英文文献,旨在评价完全血运重建与仅罪犯血管血运重建策略对 STEMI 合并 MVD 患者的临床预后。Meta 分析结果显示,与仅罪犯血管 PCI 组比较,完全血运重建组明显降低 MACE、全因死亡、心因死亡、再发心肌梗死、再次血运重建、再发心绞痛发生率,有效改善患者预后,减少术后风险。本研究共纳入 18 项随机对照试验研究,包含了 11 106 例患者,是迄今为止关于完全血运重建治疗合并多支血管病变的 STEMI 患者荟萃分析中纳入文献最多、样本量最大、最新的研究,同时敏感性分析显示各项结局指标基本稳定,更具有统计学价值,可为临床介入治疗提供可靠的循证依据。尽管如此,本次 Meta 分析存在一定的局限性。首先,由于纳入研究的相关数据不尽相同,且不够具体详细,因此未对结局指标按照性别、年龄、合并症及完全血运重建时间等差异进行亚组分析;再者,纳入的文献来自不同国家和地区,各研究之间罪犯血管、使用球囊、支架和术者水平均存在差异,可能会影响研究评价结果。

目前,随着介入技术的不断成熟及介入治疗的开展,已使越来越多的 STEMI 患者受益,急诊 PCI 术成为治疗急性 ST 段抬高型心肌梗死患者的首选措施,而合并多支血管病变的 STEMI 治疗策略仍然存在很大争议,尽管多项指南提高了早期干预非梗死相关血管的推荐等级,但具体血运重建策略的选择依然是学术界讨论的热点。本研究虽然存在一定程度的局限性,但在一定程度上可以为临床治疗提供依据。在系统评价分析中可以看到完全血运重建策略与仅罪犯血管血运重建相比,明显降低了合并 MVD 的 STEMI 患者的术后 MACE、死亡率、心肌梗死复发率、再次血运重建率及心绞痛复发率,有重要的临床价值。

综上所述,对 STEMI 合并多支血管病变患者的非罪犯血管早期干预是安全、有效的,能有效改善患者预后。当然,为了进一步全面地评价完全血运重建策略的有效性、安全性,仍然需要更多高质量、多中心、大样本、前瞻性的随机对照试验研究,尤其是完全血运重建的时机应该得到重视,希望该策略能够更安全可靠地得到应用,使更多的患者从中获益。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

## 作者贡献声明

闫奎坡:设计研究思路,论文撰写,论文审核;张剑剑:统计学分析,论文撰写,论文审核;郭雨晴:资料搜集整理,论文修改

## 参考文献

- [1] Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018) [J]. *Circulation*, 2018, 138 (20): e618-e651. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000617.
- [2] Ibanez B, James S, Agewall S, et al. 2017 ESC guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39 (2): 119-177. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx393.
- [3] O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [J]. *Circulation*, 2013, 127 (4): e362-425. DOI: 10.1161/CIR.0b013e3182742cf6.
- [4] Task Force Members, Windecker S, Kolh P, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) [J]. *Eur Heart J*, 2014 35 (37): 2541-2619. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu278.
- [5] Park DW, Clare RM, Schulte PJ, et al. Extent, location, and clinical significance of non-infarct-related coronary artery disease among patients with ST-elevation myocardial infarction [J]. *JAMA*, 2014, 312 (19): 2019-2027. DOI: 10.1001/jama.2014.15095.
- [6] Jang JS, Spertus JA, Arnold SV, et al. Impact of multivessel revascularization on health status outcomes in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and multivessel coronary artery disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66 (19): 2104-2113. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.08.873.
- [7] Toma M, Buller CE, Westerhout CM, et al. Non-culprit coronary artery percutaneous coronary intervention during acute ST-segment elevation myocardial infarction: insights from the APEX-AMI trial [J]. *Eur Heart J*, 2010, 31 (14): 1701-1707. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq129.
- [8] Gershlick AH, Banning AS, Parker E, et al. Long-Term Follow-Up of Complete Versus Lesion-Only Revascularization in STEMI and Multivessel Disease: The CvLPRIT Trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 74 (25): 3083-3094. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.10.033.
- [9] Mehta SR, Wang J, Wood DA, et al. Complete Revascularization vs Culprit Lesion-Only Percutaneous Coronary Intervention for Angina-Related Quality of Life in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: Results From the COMPLETE Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA Cardiol*, 2022, e223032. DOI: 10.1001/jamac-

- ardio. 2022. 3032.
- [10] Ibanez B, James S, Agewall S, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(2):119-177. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx393.
- [11] Zhang D, Song X, Lv S, et al. Culprit vessel only versus multivessel percutaneous coronary intervention in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction and multivessel disease [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92316. DOI: 10.1371/journal.pone.0092316.
- [12] Lee HW, Hong TJ, Yang MJ, et al. Comparison of infarct-related artery vs multivessel revascularization in ST-segment elevation myocardial infarction with multivessel disease: Analysis from Korea Acute Myocardial Infarction Registry [J]. *Cardiol J*, 2012, 19(3):256-266. DOI: 10.5603/cj.2012.0047.
- [13] Bagai A, Thavendirathan P, Shariief W, et al. Non-infarct-related artery revascularization during primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis [J]. *Am Heart J*, 2013, 166(4):684-693. e1. DOI: 10.1016/j.ahj.2013.07.027.
- [14] Di Mario C, Mara S, Flavio A, et al. Single vs multivessel treatment during primary angioplasty: results of the multicentre randomised HEPACOAT for cuLPrit or multivessel stenting for Acute Myocardial Infarction (HELP AMI) Study [J]. *Int J Cardiovasc Intervent*, 2004, 6(3-4):128-133. DOI:10.1080/14628840310030441.
- [15] Politi L, Sgura F, Rossi R, et al. A randomised trial of target-vessel versus multi-vessel revascularisation in ST-elevation myocardial infarction: major adverse cardiac events during long-term follow-up [J]. *Heart*, 2010, 96(9):662-667. DOI:10.1136/hrt.2009.177162.
- [16] Ghani A, Dambrink JH, van t Hof AW, et al. Treatment of non-culprit lesions detected during primary PCI: long-term follow-up of a randomised clinical trial [J]. *Neth Heart J*, 2012, 20(9):347-353. DOI:10.1007/s12471-012-0281-y.
- [17] Wald DS, Morris JK, Wald NJ, et al. Randomized trial of preventive angioplasty in myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(12):1115-1123. DOI:10.1056/NEJMoa1305520.
- [18] Hlinomaz O, Groch L, Polokova K, et al. Multivessel coronary disease diagnosed at the time of primary PCI for STEMI: complete revascularization versus conservative strategy: PRAGUE 13 trial [C]. Paris, European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions, 2015.
- [19] Engstrom T, Kelbaek H, Helqvist S, et al. Complete revascularisation versus treatment of the culprit lesion only in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and multivessel disease (DANAMI-3—PRIMULTI): an open-label, randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2015, 386(9994):665-671. DOI: 10.1016/s0140-6736(15)60648-1.
- [20] Gershlick AH, Khan JN, Kelly DJ, et al. Randomized trial of complete versus lesion-only revascularization in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for STEMI and multivessel disease: the CvLPRIT trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65(10):963-972. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.12.038.
- [21] Hamza M, Mahmoud N, Elgendy IY. A randomized trial of complete versus culprit-only revascularization during primary percutaneous coronary intervention in diabetic patients with acute st elevation myocardial infarction and multi vessel disease [J]. *J Interv Cardiol*, 2016, 29(3):241-247. DOI:10.1111/joic.12293.
- [22] Smits PC, Abdel-Wahab M, Neumann FJ, et al. Fractional flow reserve-guided multivessel angioplasty in myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(13):1234-1244. DOI: 10.1056/NEJMoa1701067.
- [23] 高翔宇, 陈晖, 王永亮, 等. 早期完全血运重建对合并多支血管病变的急性 ST 段抬高型心肌梗死患者的预后影响 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2017, 19(10):1043-1047. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2017.10.009.
- [24] 朱家赫, 于彤彤, 孙兆青. 完全血运重建策略对老年急性 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者预后的影响 [J]. *中国医科大学学报*, 2017, 46(3):227-231. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2017.03.009.
- [25] 许晓明, 李超, 裘淼涵, 等. 急性 ST 段抬高型心肌梗死多支病变患者不完全血运重建与完全血运重建治疗策略的对比 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(11):1305-1309. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2018.11.07.
- [26] Mehta SR, Wood DA, Storey RF, et al. Complete revascularization with multivessel PCI for myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(15):1411-1421. DOI:10.1056/NEJMoa1907775.
- [27] 吴方辉, 张江武, 谢志辉, 等. 完全血运重建策略对老年急性 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者预后的影响 [J]. *中国卫生工程学*, 2019, 18(2):291-292.
- [28] 刘宇, 王乐丰, 杜胜利, 等. 住院期间完全血运重建与仅罪犯血管血运重建对 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者远期预后的影响 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(4):226-331. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2019.04.004.
- [29] 乔锐, 王海昌. 血运重建策略对老年急性 ST 段抬高型心肌梗死冠脉多支血管病变患者预后影响 [J]. *临床军医杂志*, 2019, 47(5):496-498. DOI:10.16680/j.1671-3826.2019.05.17.
- [30] 聂毛晓, 陈青, 赵全明. 直接完全血运重建对老年急性 ST 段抬高型心肌梗死合并多支血管病变患者预后影响的前瞻性分析 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(5):530-533. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2019.05.05.
- [31] 周鹤, 王斌, 梁振洋, 等. 不同介入治疗策略对急性 ST 段抬高性心肌梗死合并多支病变患者长期预后影响 [J]. *临床军医杂志*, 2019, 47(10):1057-1059. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2019.10.16.
- [32] 王淋. STEMI 合并多支血管病变急诊 PCI 策略研究进展 [J]. *现代医药卫生*, 2019, 35(13):2000-2004. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2019.13.025.
- [33] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 (2019) [J]. *中华心血管病杂志*, 2019, 47(10):766-783. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2019.10.003.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.014

罕见病例

# “慌张样步态”舞蹈病—棘红细胞增多症 1 例并文献复习

刘一文, 韩永升

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(8177425); 安徽省自然科学基金项目(1808085MH245);

安徽省重点研究面上攻关项目(S202004a07020061)

作者单位: 230012 合肥, 安徽中医药大学研究生院(刘一文); 230031 安徽省中西医结合医院(韩永升)

通信作者: 韩永升, E-mail: hyssp@126.com

【关键词】 舞蹈病—棘红细胞增多症; 慌张步态; 运动障碍; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R555+.1; R745 【文献标识码】 B

患者, 男, 49 岁。因“不自主乱动、努嘴吐舌 8 年, 前跄步态 1 年余”于 2021 年 9 月 20 日入院。患者 8 年前无明显诱因出现双上肢不自主甩动, 后发展至四肢不自主乱动, 伴有耸肩、挤眉弄眼、唇舌咬伤, 并逐渐加重。3 年前基因检测 VPS13A 存在纯合突变(图 1), 明确诊断为舞蹈病—棘红细胞增多症, 主要予以氟哌啶醇抗舞蹈病治疗后, 上述症状有所缓解。1 年前患者行走时出现短暂发作性慌张步态, 该异常步态出现频率逐渐增多。查体: 神清, 言语含糊, 舌尖可见溃疡状创面, 安静状态下可见不自主挤眉弄眼、努嘴吐舌、转颈耸肩动作, 四肢可见不自主乱动。四肢肌力正常、肌张力减弱, 双侧膝腱反射消失, 双侧巴宾斯基征未引出, 腹壁反射减弱, 指鼻试验及跟膝胫试验欠稳准, 双手快复轮替动作笨拙。汉密尔顿焦虑量表评分 16 分, 抑郁量表评分 24 分。实验室检查: AST 109 U/L, CK 1 971 U/L, CK-MB 86 U/L, LDH 422 U/L; 末梢血涂片棘红细胞占比约 20% (图 2A)。扫描电镜: 棘状红细胞占比约 30% (图 2B)。头颅 MR 示: 两侧侧脑室前角扩大、双侧尾状核萎缩(图 3)。肌电图: 多处神经感觉传导轻度减慢。步态及平衡检测: 步态周期异常、站立平衡能力减退。因患者出现类似帕金森病(PD)样慌张步态, 考虑与抗舞蹈病用药有关, 治疗上先予以氟哌啶醇逐渐减量, 慌张样步态未见改善, 同时四肢乱动等舞蹈症状加重; 换服胍丁苯那嗪抗舞蹈病治疗, 效果欠佳。后治疗上继续予以氟哌啶醇、利培酮抗舞蹈病治疗, 巴氯芬、安坦改善运动障碍, 文拉法辛、艾地苯醌改善精神症状等综合对症处理。半年后随访, 患者四肢不自主乱动、唇舌咬伤、言语/吞咽障碍等情况较前明显改善, 慌张样步态发生频率亦较前减少。

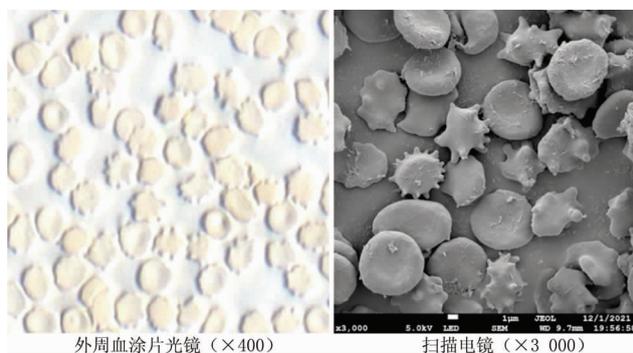


图 2 患者外周血见大量棘状红细胞

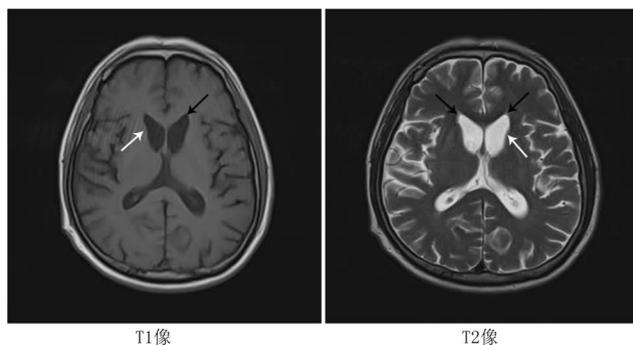


图 3 头颅 MR 提示两侧侧脑室前角扩大、双侧尾状核萎缩

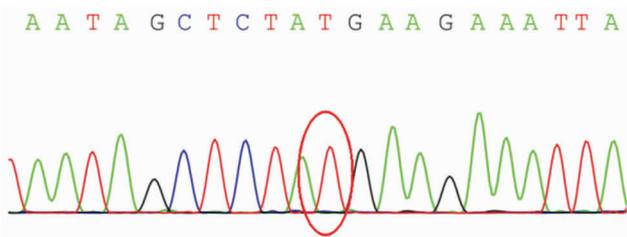


图 1 患者 chr9:79972668 处存在 c.7867C>T 的纯合突变

**讨论** 舞蹈病—棘红细胞增多症(Chorea - acanthocytosis, CHAC)为一罕见的神经变性疾病,以渐进性运动增多和红细胞形态异常改变为临床表现。其特征是各种神经系统功能障碍,例如癫痫发作和与基底节相关的运动障碍、周围神经病、痴呆、精神病和言语/吞咽困难<sup>[1]</sup>。

现已明确 CHAC 是由编码 Chorein 蛋白质的 VPS13A 基因突变引起,其遗传形式一般符合常染色体隐性遗传(AR)<sup>[2]</sup>。口面部肌张力障碍,如进食障碍及舌和嘴唇的咬伤是 CHAC 典型的临床症状<sup>[3]</sup>。棘红细胞增多亦为本病的主要特征之一,但不是所有 CHAC 患者都伴有棘红细胞增多,且棘红细胞增多可

能在疾病早期并不出现<sup>[4]</sup>。本例患者曾在外院行棘红细胞检查未见异常,而在其他医院检查棘红细胞占比显著增多,可见外周血涂片因检测方法不当而误差较大,建议行扫描电镜明确诊断。CK 升高是 CHAC 典型的肌酶异常表现,其水平升高的机制尚不清楚,可能与神经源性肌肉萎缩、自主运动和癫痫有关。Sorrentino 等<sup>[4]</sup>报道发现,CHAC 患者存在神经源性肌肉萎缩。Limos 等<sup>[5]</sup>通过组织学证实其肌肉变化是由于慢性失神经支配的继发性改变。Melone 等<sup>[6]</sup>发现 CHAC 肌肉中的 tT-Gase 水平明显升高,从而使异肽键过度交联导致构象变化,导致膜扭曲,增加 CK 的释放与棘细胞增多。目前在 CHAC 中还没有发现明显的表型相关性,高 CK 水平、棘细胞计数亦不能预测疾病的严重程度<sup>[7]</sup>。MR 提示纹状体萎缩对诊断 CHAC 意义较大,但 MR 表现可显著晚于临床症状。PET 分析能够在早期发现 CHAC 患者尾状核、壳核和额叶皮质的血流和葡萄糖代谢的减少,即使此时头颅 MR 未表现出明显异常<sup>[8,9]</sup>。

CHAC 患者常伴有智力减退及精神异常。Bruneau 等<sup>[10]</sup>研究发现,CHAC 伴有皮质下痴呆,具有思维不连贯、执行力注意力障碍、记忆力减退及判断力缺乏等特点。精神症状常以社会行为异常和个性改变最为常见,常见强迫、焦虑、抑郁、妄想、情绪不稳、注意力涣散等临床表现。本例患者汉密尔顿焦虑与抑郁量表的测试结果表明存在焦虑和抑郁状态,这提醒患者家属及医生应当关注 CHAC 患者的心理健康。患者慌张步态发作时的步态周期显著缩短,约为其正常步态周期的 22.1%。睁闭眼站立平衡能力均减退,即使其 Berg 平衡功能评分正常。步态及平衡障碍病理机制复杂,与大脑神经网络受损,大脑皮质及皮质下深部核团结构如丘脑等低代谢和凋亡病变、小脑前庭系统受损等有关<sup>[11]</sup>。患者双手快复轮替动作笨拙、指鼻试验及跟膝胫试验欠稳准,腹壁反射减弱,这些均提示 CHAC 患者的颅内外神经广泛受损。

本病需与其他神经棘红细胞增多症相鉴别。CHAC 和麦克劳德综合征(MLS)多有 CK 和肝酶的升高,或伴有癫痫发作及周围神经的损害。但 CHAC 以严重的口唇咬伤为特点,MLS 以心脏损害为特点且为 X 连锁隐性遗传性疾病,仅发生于男性,鉴别诊断主要依靠红细胞表面 Kell 抗原,正常表达则可以排除 MLS。类亨廷顿病 2 型的认知功能障碍表现突出、泛酸激酶相关的神经退行性疾病发病年龄较小,且有其独特的“虎眼征”。临床上诊断困难时,基因检测是帮助患者确诊的可靠方法。

本病尚无有效的治疗方法,目前只能根据已提出的可能发病机制给予对症治疗。根据本病有多巴胺活动过度、胆碱能活动受抑制及脑内  $\gamma$ -氨基丁酸减少等生化改变。可选用对抗多巴胺能药物或多巴胺受体拮抗剂、胆碱能药物、增加脑内酪氨酸含量的制剂、神经营养药物、抗抑郁药物等。另外肉毒毒素注射治疗可以改善 CHAC 口面部肌张力障碍,苍白球内侧部、腹后外侧部脑深部电刺激术(DBS)可能是改善舞蹈样动作的有效方法<sup>[12-13]</sup>。

本病例诊断过程曲折,患者病程中后期出现了慌张样步态

且伴有平衡障碍,这对认识 CHAC 患者临床运动障碍的多样性意义较大。希望通过对该病例诊疗过程的梳理,加深神经内科医生对该病的认识,提高对该病的诊疗水平。

## 参考文献

- [1] Jung HH, Danek A, Walker RH. Neuroacanthocytosis syndromes[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2011, 6:68. DOI:10.1186/1750-1172-6-68.
- [2] Rampoldi L, Dobson-Stone C, Rubio JP, et al. A conserved sorting-associated protein is mutant in chorea-acanthocytosis[J]. *Nat Genet*, 2001, 28(2):119-120. DOI:10.1038/88821.
- [3] Liu J, Bader B, Danek A. Neuroacanthocytosis in china: a review of published reports[J]. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*, 2014, 4:248. DOI:10.7916/D8Q23XDX.
- [4] Sorrentino G, De Renzo A, Miniello S, et al. Late appearance of acanthocytes during the course of chorea-acanthocytosis[J]. *J Neurol Sci*, 1999, 163(2):175-178. DOI:10.1016/S0022-510X(99)00005-2.
- [5] Limos LC, Ohnishi A, Sakai T, et al. "Myopathic" changes in chorea-acanthocytosis. Clinical and histopathological studies[J]. *J Neurol Sci*, 1982, 55(1):49-58. DOI:10.1016/0022-510X(82)90169-1.
- [6] Melone MA, Di Fede G, Peluso G, et al. Abnormal accumulation of tTGase products in muscle and erythrocytes of chorea-acanthocytosis patients[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002, 61(10):841-848. DOI:10.1093/jnen/61.10.841.
- [7] Bohlega S, Al-Jishi A, Dobson-Stone C, et al. Chorea-acanthocytosis: clinical and genetic findings in three families from the Arabian peninsula[J]. *Mov Disord*, 2003, 18(4):403-407. DOI:10.1002/mds.10361.
- [8] Delecluse F, Deleval J, Gérard JM, et al. Frontal impairment and hypoperfusion in neuroacanthocytosis[J]. *Arch Neurol*, 1991, 48(2):232-234. DOI:10.1001/archneur.1991.00530140130031.
- [9] Connolly BS, Hazrati LN, Lang AE. Neuropathological findings in chorea-acanthocytosis: new insights into mechanisms underlying parkinsonism and seizures[J]. *Acta Neuropathol*, 2014, 127(4):613-615. DOI:10.1007/s00401-013-1241-3.
- [10] Bruneau MA, Lépérance P, Chouinard S. Schizophrenia-like presentation of neuroacanthocytosis[J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2003, 15(3):378-380. DOI:10.1176/jnp.15.3.378.
- [11] Casula EP, Pellicciari MC, Ponzio V, et al. Cerebellar theta burst stimulation modulates the neural activity of interconnected parietal and motor areas[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:36191. DOI:10.1038/srep36191.
- [12] Paucar M, Lindestad PA, Walker RH, et al. Teaching Video NeuroImages: Feeding dystonia in chorea-acanthocytosis[J]. *Neurology*, 2015, 85(19):e143-e144. DOI:10.1212/WNL.0000000000002108.
- [13] Miquel M, Spampinato U, Latxague C, et al. Short and long term outcome of bilateral pallidal stimulation in chorea-acanthocytosis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e79241. DOI:10.1371/journal.pone.0079241.

(收稿日期:2022-03-06)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.015

罕见病病例

## 盆腔尤因肉瘤 1 例

付汉川, 霍威, 王杰, 李宏岩

作者单位: 130000 长春, 吉林大学中日联谊医院泌尿外科

通信作者: 李宏岩, E-mail: LihY99@mails.jlu.edu.cn

【关键词】 尤因肉瘤; 盆腔肿物; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R738.7 【文献标识码】 B

患者,女,24岁,因“下腹痛1周”于2020年10月20日入院。查体:T 36.5℃,P 86次/min,R 15次/min,BP 126/80 mmHg。左下腹部可触及一直径约10cm的包块,质韧,不活动,有压痛,无反跳痛。实验室检查:血PLT  $322 \times 10^9/L$ ,ALT 58.19 IU/L,PT 13.3s。盆腔彩色超声:膀胱左前方探及大小10.4cm × 9.7cm的混合回声,其内未见明显血流信号。MR:盆腔内见团状异常信号影,大小11.3cm × 8.7cm × 10.2cm,信号不均匀,T1WI、T2WI均呈高信号,内见多发条片状稍长T2信号影。于10月30日行盆腔肿物切除术,术中见一巨大囊实性肿物,肿物与腹膜、膀胱前壁及耻骨联合粘连较重,完整分离肿物并切除。术后病理:小圆细胞恶性肿瘤伴坏死,局部脉管内见瘤栓。免疫组化:CD99(+),NSE(+),NKX2.2(+),Bcl-2(+),CyclinD1(+),Ki67(60%+),Fli-1(弱+)。病理诊断:盆腔尤因肉瘤。患者术后下腹部肿块及疼痛消失,手术切口恢复欠佳,渗液较多。术后2个月行PET/CT:(1)盆腔多发代谢增高结节及肿物,部分融合,最大截面11.7cm × 7.6cm,伴摄取增高,病变与腹盆壁、邻近肠管、膀胱、左侧附件分界不清,考虑肿瘤复发。下腹部及盆腔肠管浆膜面、壁腹膜软组织,伴代谢增高,考虑转移。下腹壁皮下软组织结节,伴代谢增高,考虑转移;余斑片索条影,伴代谢增高,倾向术后改变。(2)左侧髂血管旁多发淋巴结,伴代谢增高,倾向转移。患者采用异环磷酰胺+表柔比星+阿帕替尼联合化疗。随访患者12个月,未见肿瘤进一步复发、转移。

**讨论** 尤因肉瘤(Ewing's sarcoma,ES)是一种起源于神经外胚层的恶性肿瘤,发生率位居儿童及青少年骨组织恶性肿瘤的第二位,仅次于骨肉瘤<sup>[1]</sup>。尽管如此,ES发病率在美国10~14岁的儿童中仅占癌症的3.5%,在15~19岁儿童中占2.3%,恶性程度较高,预后较差。ES的发病机制暂不明确,少数病例可能存在遗传性癌症倾向,尚未发现特定的环境暴露为ES的危险因素。尤因肉瘤主要分为骨尤因肉瘤及骨外尤因肉瘤(extraskeletal Ewin's sarcoma,EES)。前者好发于四肢骨干、脊柱等部位,因其具有较典型的临床表现及影像学表现,因此术前诊断的准确性较高。后者较为少见,主要是指原发于骨组织外的尤因肉瘤,目前报道的发生部位包括肾脏、输尿管、膀胱、小肠等<sup>[2-5]</sup>。EES多发于青年人,年龄在15~30岁<sup>[6]</sup>,男性

多见。EES临床表现并不明显,主要表现为深部组织肿块,偶尔可伴有局部疼痛。在影像学上EES失去典型的葱皮样改变,在CT及MR上也无明显特异性。因此通过X线、CT、MR诊断此疾病较局限,对于EES术前确诊率低。对于此类患者的诊断主要依靠病理诊断和免疫组化。EES在光镜下主要由小圆细胞组成,其特点是可见菊形团,一般为Homer-Wright型,为此病的典型组织学表现。免疫组化中Mic2 CD99,NKX2.2具有相对特异性<sup>[7-8]</sup>。此外90%的EES具有特征性的染色体易位t(11;12)(q24;q12)<sup>[9]</sup>。本例患者属于典型的EES,术前仅结合其相关临床表现及辅助检查误诊率较高,对于此类患者的诊断仍依赖于医生临床经验及病理结果。

由于尤因肉瘤高度恶性,预后与多方面因素有关,如肿瘤部位、大小及对放疗敏感度等。EES较原发于骨的尤因肉瘤对放疗有较好的反应,因此目前多采用手术完整切除、局部放疗和全身化疗的综合治疗,可有效提高患者生存率和生存质量<sup>[10]</sup>。本例患者采用术后联合化疗,目前疗效较好。

## 参考文献

- [1] 龚洪洋,余欣,赵媛媛,等. 儿童右示指不典型尤因肉瘤误诊一例[J]. 中华手外科杂志, 2020,36(5):345-346. DOI:10.3760/cma.j.cn311653-20191028-00296.
- [2] Dogra PN,Goel A,Kumar R,et al. Extrasosseous Ewing's sarcoma of the kidney [J]. Urol Int, 2002,69(2):150-152. DOI:10.1159/000065566.
- [3] 宋宏程,孙宁,张潍平,等. 原发性输尿管尤因肉瘤/原始神经外胚层肿瘤一例报告[J]. 中华泌尿外科杂志, 2015,36(10):791-792. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6702.2015.10.019.
- [4] Tonyali S,Yazici S,Yesilirmak A,et al. The Ewing's sarcoma family of tumors of urinary bladder: A case report and review of the literature[J]. Balkan Med J, 2016,33(4):462-466. DOI:10.5152/balkanmedj.2016.16533.
- [5] 孙艳花,杨雅洁,张萌,等. 小肠原发性尤因肉瘤1例并文献复习[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018,34(12):1389-1391. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2018.12.026.
- [6] Raney RB,Asmar L,Newton WJ,et al. Ewing's sarcoma of soft tissues in childhood: a report from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study, 1972 to 1991 [J]. J Clin Oncol, 1997,15(2):574-582. DOI:10.1200/JCO.1997.15.2.574.

- [7] Riggi N, Stamenkovic I. The biology of Ewing sarcoma[J]. *Cancer Lett*, 2007, 254(1): 1-10. DOI:10. 1016/j. canlet. 2006. 12. 009.
- [8] Baker ND, Dorfman DM. Ewing's sarcoma of the sacrum[J]. *Skeletal Radiol*, 1996, 25(3): 302-304. DOI:10. 1007/s002560050085.
- [9] 李晓楠, 谢丰培, 杨清海, 等. 子宫 Ewing 肉瘤 1 例并文献复习[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2017, 33(2): 199-201. DOI:10. 13315/j. cnki. cjcep. 2017. 02. 020.
- [10] Takenaka S, Naka N, Obata H, et al. Treatment outcomes of Japanese patients with Ewing sarcoma: differences between skeletal and extra-skeletal Ewing sarcoma[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2016, 46(6): 522-528. DOI:10. 1093/jjco/hyw032.

(收稿日期:2022-03-12)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.016

罕见病病例

## 表现为反复发热、低血糖的糖原累积症 I b 型 1 例并文献复习

任潇亚, 丁圆, 王娇, 巩纯秀

作者单位: 100045 国家儿童医学中心/首都医科大学附属北京儿童医院内分泌遗传代谢科

通信作者: 巩纯秀, E-mail: chunxiugong@sina.com

【关键词】 糖原累积症, I b 型; SCL37A4 基因变异; 低血糖; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R587.3 【文献标识码】 B

患儿,男,7个月23天,因“反复发热、发现低血糖7个月,发育倒退2个月”入院。患儿出生后11d出现病理性黄疸,15d出现发热,于当地住院治疗期间发现血糖降低(0.7 mmol/L)、代谢性酸中毒和高乳酸血症,予静脉维糖治疗,住院1d后家长要求自动出院,后未再监测血糖,无抽搐发作。出生1个月时患儿右侧腹股沟区出现脓疱疹,逐渐破溃,伴发热,就诊当地医院予退热药、外敷药对症(具体不详),约1周后热退,伤口愈合。出生3个月家中监测体温发现,每月无明显诱因出现低热持续2~7d自行退热,未诊治。近2个月,患儿每次低热即伴呕吐,无腹泻腹胀,四肢软渐无力,体质量不增、精神差、拒食来院就诊。其母G1P0为葡萄胎,人工流产;行肺部检查发现“滋养细胞瘤”,予全身化疗3个月,停化疗后1个月怀孕本患儿。患儿出生后1个月开始抬头,3个月会翻身,6个月会坐,近2个月发育倒退,目前竖头不稳,不能翻身,不会坐。体格检查:体质量6 kg,皮肤弹性差、皮下脂肪菲薄,肝肋下4 cm,剑突下5 cm,质韧,四肢肌张力低。入院后次日即发现反复低血糖,中性粒细胞计数 $1.49 \times 10^9/L$ ,血氨 $137 \mu\text{mol/L}$ (参考值 $18 \sim 72 \mu\text{mol/L}$ )、乳酸 $7.76 \text{ mmol/L}$ (参考值 $0.5 \sim 2.2 \text{ mmol/L}$ )、尿酸 $509.9 \mu\text{mol/L}$ (参考值 $119 \sim 416 \mu\text{mol/L}$ )、三酰甘油 $21.7 \mu\text{mol/L}$ (参考值 $0.4 \sim 1.7 \mu\text{mol/L}$ )、血气分析pH 7.285,碱剩余(BE)  $-9.1 \text{ mmol/L}$ (参考值 $5.2 \text{ mmol/L}$ );低血糖时予胰高血糖素刺激血糖无升高。骨髓穿刺、血尿筛查未见异常。腹部CT提示肝脏明显增大,实质密度不均,肝左叶斑片状低密度灶,双肾明显增大。全外显子检测发现患儿为SCL37A4基因复合杂合突变,c.1123+2dup(ACMG PP3-C1)来源父亲,该未报道位点位于内含子区;位点c.68T>G(p.L23R)(ACMG PP3 A1+B1)为已报道的致病变异来源母亲。诊断为糖原累积症Ib型。

入院后予静脉输注葡萄糖维持血糖,同时鼻饲蔼儿舒(雀

巢深度水解奶粉)70~90 ml/次,每3h1次,加用生玉米淀粉5~10 g/次,每天3次,但患儿因腹泻严重随后停用,改为麦芽糊精3~5g/次,每天3次,仍有腹泻,4d减停。粒细胞集落刺激因子间断治疗,每周2次,中性粒细胞可维持正常,入院25d仍有间断低血糖,后加用醋酸氢化可的松 $15 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 口服,5d后血糖平稳,逐渐减停。停药后患儿再次间断奶前低血糖,对症治疗后患儿精神反应、四肢肌张力好转,肝酶、血脂正常,肝脏回缩至肋下0.5 cm。后转外院行肝脏移植,随访肝移植术后当天,即停用静脉维糖,正常饮食状态下,血糖平稳,目前口服甲泼尼龙片6 mg/d,他克莫司1 mg/次,每12h1次。现在11月龄,肌力、肌张力恢复正常,精神状态良好,身高71 cm,体质量7.25 kg。

讨论 糖原累积症Ib型(glycogen storage disease type I b, GSD I b)罕见,是由SLC37A4基因突变引起的一种常染色体隐性遗传病<sup>[1]</sup>。目前全球报道GSD I b患者160余例,人类基因突变数据库(HGMD)收录的SCL37A4基因突变有80余种,主要为错义突变。白种人最常见C.1015G>T(G339C)和c.1042-1043delCT,日本人群50%的基因突变为c.352T>C(W118R)<sup>[2]</sup>。中国人群中目前报道的GSD I b型病例SCL37A4基因变异较少。

GSD I型发病率约1/100 000,其中Ib型超过20%<sup>[3,4]</sup>。SLC37A4基因突变导致葡萄糖-6-磷酸转移酶(glucose-6-phosphate transporter, G6PT)突变,影响G6PT将6-磷酸葡萄糖转运至内质网<sup>[5]</sup>,临床表现为糖代谢异常,中性粒细胞减少或中性粒细胞功能障碍(反复感染),粒细胞计数和功能异常可诱发自身免疫性疾病,严重影响患者生存质量<sup>[6]</sup>。该例患者临床表现为反复低血糖,肝脏和肾脏增大,生长发育落后,合并高尿酸、高脂血症、高乳酸、高氨血症、代谢性酸中毒等需考虑糖原累积症I型,其中Ia型最为常见,但该患儿就诊时精神反应弱、四

肢肌张力低、发育落后较 I a 型重,同时结合患儿生后反复发热,需考虑存在中性粒细胞功能障碍可能,入院后监测患儿血常规发现中性粒细胞减少(最低至  $0.53 \times 10^9/L$ ),间断使用集落细胞刺激因子治疗,中性粒细胞可维持在正常低值,进一步完善基因学检测后提示患儿为 SCL37A4 基因突变,符合 GSD I b 型诊断。

目前临床上无 GSD I 型特效治疗药物,主要通过饮食控制,促进机体通过糖酵解等途径消耗大量的 6-磷酸葡萄糖,促进糖原分解。治疗目标是维持餐前血糖在  $3.5 \sim 4.0 \text{ mmol/L}$ ,随着血糖控制,乳酸血症、高三酰甘油血症可好转<sup>[7]</sup>。饮食以多糖碳水化合物为主,尽量避免摄入单、双糖。少食多餐,尤其需要注意夜间加餐,防止清晨空腹低血糖。婴儿期可能需要鼻饲喂养,持续静脉输注葡萄糖,其饮食干预中需要频繁喂养,使用生玉米淀粉或添加麦芽糊精的无乳糖配方奶粉维持血糖。该患儿住院期间口服生玉米淀粉及麦芽糊精后仍有间断低血糖,不能完全脱离静脉葡萄糖,予醋酸氢化可的松试验性控制血糖,期间患儿血糖平稳,逐渐脱离静脉维糖。文献报道部分 GSD I b 型患者合并中性粒细胞减少,但其发病机制并不清楚。合并中性粒细胞减少者,可使用粒细胞集落刺激因子对症治疗,但要注意监测有无脾脏增大、骨质疏松等,一些文献报道显示脾肿大是使用粒细胞集落刺激因子的严重并发症。另外,文献报道肝移植治疗能缓解低血糖和乳酸酸中毒发作,并改善高三酰甘油血症和高尿酸血症<sup>[8]</sup>。肝移植指征是患者出现代谢控制不良、肝功能衰竭、生长受限或持续中性粒细胞减少<sup>[9]</sup>。研究肝移植预后,发现 1 年、5 年、10 年生存率分别为 82%、76% 和 64%,移植术后死亡原因多与术后免疫治疗相关并发症相关<sup>[10-11]</sup>。但肝移植并不能完全解决患者生长迟缓及中性粒细胞功能障碍。

综上所述,GSD I b 型患儿表现为难以纠正的反复低血糖、中性粒细胞减少、高乳酸血症、高脂血症和肝脏肿大等。基因检查能明确诊断,并分析病变基因的来源。当此类患儿出现难以纠正低血糖,除使用生玉米淀粉/麦芽糊精等喂养外,可尝试使用泼尼松改善血糖,若仍有代谢控制不良、肝功能衰竭等表现时,可考虑肝脏移植。

#### 参考文献

[1] Davis MK, Valentine JF, Weinstein DA, et al. Antibodies to CBirl are associated with glycogen storage disease type Ib [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2010, 51 ( 1 ): 14-18. DOI: 10. 1097/

MPG. 0b013e3181c15f78.

- [2] Froissart R, Piraud M, Boudjemline AM, et al. Glucose-6-phosphatase deficiency [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2011, 6: 27. DOI:10. 1186/1750-1172-6-27.
- [3] Chou JY, Jun HS, Mansfield BC. Glycogen storage disease type I and G6Pase- $\beta$ deficiency: etiology and therapy [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2010, 6(12): 676-688. DOI:10. 1038/nrendo. 2010. 189.
- [4] Rak JP, Visser G, Labrune P, et al. Glycogen storage disease type I; diagnosis, management, clinical course and outcome. Results of the European Study on Glycogen Storage Disease Type I (ESGSD I) [J]. *Eur J Pediatr*, 2002, 61(Suppl 1): S20-34. DOI:10. 1007/s00431-002-0999-4.
- [5] van de Werve G, Lange A, Newgard C, et al. New lessons in the regulation of glucose metabolism taught by the glucose 6-phosphatase system [J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267(6): 1533-1549. DOI:10. 1046/j. 1432-1327. 2000. 01160. x.
- [6] Melis D, Della Casa R, Balivo F, et al. Involvement of endocrine system in a patient affected by glycogen storage disease 1b: speculation on the role of autoimmunity [J]. *Ital J Pediatr*, 2014, 40(1): 30. DOI:10. 1186/1824-7288-40-30.
- [7] Rake JP, Visser G, Labrune P, et al. Guidelines for management of glycogen storage disease type I - European Study on Glycogen Storage Disease Type I (ESGSD I) [J]. *Eur J Pediatr*, 2002, 161(Suppl 1): S112-119. DOI: 10. 1007/s00431-002-1016-7.
- [8] Melis D, Pivonello R, Cozzolino M, et al. Impaired bone metabolism in glycogen storage disease type I is associated with poor metabolic control in type 1a and with granulocyte colony-stimulating factor therapy in type 1b [J]. *Horm Res Paediatr*, 2014, 81(1): 55-62. DOI: 10. 1159/000351022.
- [9] Squires JE. When considering liver transplant for children with glycogen storage disease 1b [J]. *Liver Transpl*, 2020, 26(1): 12-13. DOI: 10. 1002/lt. 25688.
- [10] Maheshwari A, Rankin R, Segev DL, et al. Outcomes of liver transplantation for glycogen storage disease: a matched-control study and a review of literature [J]. *Clin Transplant*, 2012, 26(3): 432-436. DOI: 10. 1111/j. 1399-0012. 2011. 01549. x.
- [11] Boers SJ, Visser G, Smit PG, et al. Liver transplantation in glycogen storage disease type I [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2014, 9:47. DOI: 10. 1186/1750-1172-9-47.

(收稿日期:2022-03-23)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.017

综 述

# 胶质细胞球形包涵体 Tau 蛋白病的颅脑影像学特点

范雪怡综述 钱海蓉审校

基金项目: 首都卫生发展科研专项(首发 2020-2-5115)

作者单位: 100048 北京,解放军总医院第六医学中心神经内科(范雪怡、钱海蓉); 510006 广州,华南理工大学医学院(范雪怡、钱海蓉)

通信作者: 钱海蓉, E-mail: biqhr@hotmail.com

**【摘要】** 胶质细胞球形包涵体 Tau 蛋白病(GGT)是一种 4R-Tau 蛋白病,发病罕见,其临床表现和神经病理具有异质性,与阿尔茨海默病、额颞叶痴呆及进行性核上性麻痹等多种神经变性疾病具有重叠之处,诊断困难,目前主要依赖于尸检。迄今为止,由于详细报道 GGT 影像学表现的文献数量有限,对该病影像学上的认识多局限于额颞叶萎缩、白质高信号等非特异性征象。因此,文章对近 5 年报道的 GGT 病例的影像学资料进行回顾,提取相对特异性的影像学征象,以期为临床识别 GGT 提供一定的参考价值。

**【关键词】** 胶质细胞球形包涵体 Tau 蛋白病;影像学;诊断**【中图分类号】** R742 **【文献标识码】** A

**Brain imaging features of glial spherical inclusion body Tau proteinopathy** Fan Xueyi, Qian Hairong. Department of Neurology, the Sixth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China/School of Medicine, South China University of Technology, Guangdong Province, Guangzhou 510006, China

Corresponding author: Qian Hairong, E-mail: biqhr@hotmail.com

Funding program: Capital Funds for Health Development and Research (2020-2-5115)

**【Abstract】** Glial globular inclusion body Tau proteinopathy (GGT) is a 4R-Tau proteinopathy, which is rare. Its clinical manifestations and neuropathology are heterogeneous. It overlaps with Alzheimer's disease, frontotemporal dementia, progressive supranuclear palsy and other neurodegenerative diseases, and is difficult to diagnose. At present, it mainly depends on autopsy. Up to now, due to the limited number of documents that reported the imaging manifestations of GGT in detail, the understanding of imaging of GGT is mostly limited to the non-specific signs such as frontotemporal lobe atrophy and white matter hyperintensity. Therefore, the article reviews the imaging data of GGT cases reported in recent 5 years, extracts relatively specific imaging signs, and hopes to provide some reference value for clinical identification of GGT.

**【Key words】** Glial spherical inclusion body Tau proteinopathy; Imaging; Diagnosis

2011 年, Ahmed 等<sup>[1]</sup>首次提出了胶质细胞球形包涵体 Tau 蛋白病(globular glial tauopathy, GGT)的概念,该病临床特征与运动神经元病(motor neuron disease, MND)和/或额颞叶痴呆(frontotemporal dementia, FTD)重叠,病理特征与进行性核上性麻痹(progressive supranuclear palsy, PSP)重叠,诊断困难,确诊依赖于病理及分子诊断,现参考相关研究及文献,综述该病的影像学特点,希望从中提取相对特异性的影像学征象,为临床识别 GGT 提供一定的参考。

## 1 GGT 概述

1.1 Tau 蛋白病概述 Tau 蛋白病(tauopathies)是一组神经退行性疾病,其神经病理学特征是过度磷酸化的微管相关蛋白 Tau 在神经元或胶质细胞中的异常沉积<sup>[2,4]</sup>,可分为原发性和继发性 Tau 蛋白病。原发性 Tau 蛋白病可以用现在的额颞叶变性-tau(frontotemporal lobar degeneration-tau, FTLT-tau)分类来概括,主要病理学特征是神经元和神经胶质细胞 tau 包涵体<sup>[5,6]</sup>。

根据构成 Tau 包涵体的 Tau 蛋白同种异构体的主要类型比例,又可将原发性 Tau 蛋白病分为 3R-Tau 蛋白病、4R-Tau 蛋白病和混合性 3R/4R-Tau 蛋白病<sup>[3,6]</sup>。继发性 Tau 蛋白病是指继发于其他致病蛋白的病理性 Tau 蛋白沉积,最常见的疾病形式是阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD),其病理性 Tau 蛋白主要沉积在神经元中<sup>[2,7]</sup>。

1.2 GGT 定义及分型 胶质细胞球形包涵体 Tau 蛋白病(GGT)这一术语由 Ahmed 等<sup>[1]</sup>于 2011 年首次提出,并在 2013 年形成诊断 GGT 的共识建议<sup>[8]</sup>。GGT 是一种罕见的 4R-Tau 蛋白病,其神经病理学特征是广泛分布于全脑灰、白质的 Tau 蛋白阳性胶质细胞球状包涵体(globular glial inclusions, GGIs),包括少突胶质细胞球形包涵体(globular oligodendroglial inclusions, GOIs)和星形胶质细胞球形包涵体(globular astrocytic inclusions, GAIs)<sup>[8,9]</sup>。GOIs 银染(如 Gallyas)呈阳性,GAIs 多呈阴性或仅为弱阳性<sup>[2,8]</sup>。GAIs 在结构上与进行性核上性麻痹

(progressive supranuclear palsy, PSP) 的星形胶质细胞簇状包涵体高度相似,但后者银染为阳性,可进行鉴别<sup>[10]</sup>。

根据 GGIs 的分布区域及主要类型,可将 GGT 分为 3 个亚型: I 型,GGIs 主要分布于额颞叶,白质内见大量的 GOIs, GAI 稀少; II 型,GGIs 主要分布于运动皮质和皮质脊髓束,GOIs 和 GAI 均有,且 GOIs 数量多于 GAI; III 型,GGIs 主要分布于额颞叶、运动皮质和皮质脊髓束,灰质内见大量的 GAI,GOIs 相对较少<sup>[8]</sup>。由于细胞内 Tau 蛋白包涵体的形成可导致细胞功能障碍,而少突胶质细胞是构成髓鞘的重要组成部分,星形胶质细胞也可通过突触和神经元代谢功能参与神经退行性改变过程,因此,显著的脑白质退行性改变是所有 GGT 亚型的共同病理学特征<sup>[1]</sup>。

1.3 GGT 相关流行病学 根据 2021 年 Forrest 等<sup>[11]</sup>对既往已报道的 GGT 病例数据的综述、分析,GGT 好发于中老年人群,无明显性别差异,发病年龄为(65 ± 11)岁,其中女性发病年龄较男性早约 6 岁,病程为(7 ± 3)年。目前大部分 GGT 病例为散发性病例,但少数家族性病例与微管相关蛋白 Tau 基因(MAPT)的不同突变相关<sup>[12]</sup>。由于 GGT 发病罕见,目前相关的发病率及患病率等流行病学数据尚未见报道。既往一项回顾性研究发现,在 181 例 FTLD-tau 患者中,GGT 患者仅 11 例,所占比例 < 10%<sup>[13]</sup>。

1.4 GGT 的临床表现 GGT 的临床表现与 GGIs 的分布模式密切相关: I 型的临床表现为典型的 FTD,并不伴有皮质脊髓束受累症状; II 型的临床表现以反映运动皮质受累和皮质脊髓束变性的锥体束征为特点; III 型的临床表现为 FTD 和 MND 的组合<sup>[8]</sup>。上述 3 个亚型对应的临床表现反映了 GGT 的临床疾病谱,即 MND 和 FTD 分别为谱系的两端,可伴或不伴锥体外系受损症状的疾病谱<sup>[1,8]</sup>。在该疾病谱中,GGT 常见的临床表现主要有原发性进行性失语症(primary progressive aphasia, PPA)、行为变异型额颞叶痴呆(behavioral variant frontotemporal dementia, bvFTD)、上运动神经元体征、记忆障碍、Richardson 综合征、帕金森综合征和皮质基底节综合征(corticobasal syndrome, CBS),以前两者最常见<sup>[11]</sup>。

1.5 GGT 的诊断及治疗 由于 GGT 在神经病理及临床表现上异质性显著,确诊依赖于病理及分子诊断,临床诊断困难,目前主要的确诊手段是尸检。迄今为止,针对 4R-Tau 蛋白病的发病机制,相关的疾病修正疗法正在挖掘,如已用于临床的抑制 Tau 蛋白表达的反义寡核苷酸疗法,正在开发的 Tau 裂解抑制剂疗法、Tau 乙酰化抑制剂疗法及 Tau 激酶抑制剂疗法等<sup>[14]</sup>。但至今为止,尚未有针对 GGT 的疾病修正疗法,对于 GGT 的治疗仍以对症支持治疗为主,旨在减轻患者症状并保存患者在日常生活中的功能,治疗方式包括药物、运动、物理和语言治疗等<sup>[15]</sup>。

综上所述,GGT 发病罕见,研究进展相对缓慢,相关的认识仍处于不断探索、完善阶段,临床识别和诊断困难重重。而影像学检查可以在一定程度上直观地反映神经退行性疾病的演变过程并发现疾病相对特异的影像学征象,对疾病的识别和诊断起到重要的辅助作用。但目前已报道的 GGT 相关的影像学

资料数量有限,GGT 相对特异的影像学征象尚待挖掘。本文主要对近 5 年报道的 GGT 病例的影像学资料进行综述,希望从中提取相对特异性的影像学征象,为临床识别 GGT 提供一定的参考价值。

## 2 GGT 的影像学表现

既往研究显示,GGT 的主要影像学检查手段为颅脑磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、<sup>18</sup>F 脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描(<sup>18</sup>Fluorodeoxyglucose positron emission tomography, <sup>18</sup>F FDG-PET)和单光子发射计算机断层扫描(single photon emission computed tomography, SPECT),最常用及最主要的影像学检查方式是颅脑 MR。

2.1 MR 2016 年 Burrell 等<sup>[13]</sup>对 11 例 GGT 病例(I 型 3 例, II 型 2 例, III 型 6 例)的临床及神经影像学资料进行分析,其中 9 例进行了头颅 MR 检查,影像图像上均表现为对称或非对称的额颞叶萎缩,且非对称性额颞叶萎缩均以左半球明显;另外,上述 9 例患者中有 6 例的 MR 图像还显示了顶叶萎缩征象。2021 年 Forrest 等<sup>[11]</sup>在广泛的文献回顾中也得到了相似的结论,即 GGT 患者在影像上的表现主要为额颞叶萎缩,部分患者可同时伴有顶叶和/或中央前回皮质萎缩。然而在影像学特征上,额颞叶萎缩并非特异性影像征象,也是多种神经变性性疾病如 AD、FTD 等共同的影像学表现,因此与 GGT 各亚型相关性或指向性较强的影像学征象尚待发掘。

本文对近 5 年报道的具有较详细影像学资料描述并具有尸检神经病理学诊断的 16 例 GGT 病例的影像学特征进行总结回顾<sup>[16-25]</sup>。在 16 例 GGT 患者中,男性 9 例(56.25%),发病年龄 43 ~ 81 岁[中位数及四分位间距:70.50(57.25, 75.50)],病程 4 ~ 12 年[6(5, 8)],GGT 亚型分型及临床表现具体如下:(1) I 型 5 例<sup>[16-18]</sup>,临床表现分别为 PPA( $n = 2$ )、CBS、bvFTD、FTD;(2) II 型 7 例<sup>[18-21]</sup>,临床表现分别为原发性侧索硬化(primary lateral sclerosis, PLS)、CBS( $n = 2$ )、FTD、上下运动神经元征伴非自主运动( $n = 2$ )、MND 伴痴呆;(3) III 型 2 例<sup>[22-23]</sup>,临床表现分别为进行性核上性麻痹—理查森综合征合并 PLS、非流利性/语法错乱性原发性进行性失语合并舞蹈病;(4) 神经病理表现为 GGT I 型和 II 型组合患者 1 例<sup>[24]</sup>,临床表现为语义性痴呆;(5) 文献未注明 GGT 病理学分型 1 例<sup>[25]</sup>,临床表现为偏侧上神经元损害为特点的 MND-Mills 综合征(MND-Mills' syndrome),该综合征属于 MND 的特殊变异型。上述大部分病例的临床表现与 Forrest 等<sup>[11]</sup>总结的结论具有一致性。回顾上述 16 个病例文献中的影像学资料,发现上述 GGT 各亚型病例均存在不同程度的额颞叶萎缩征象,并多以左侧为著( $n = 8$ ),其中部分额叶萎缩病例以海马萎缩最为严重( $n = 2$ ),部分额叶萎缩的病例以中央前回萎缩为著( $n = 3$ );大部分病例可出现不同程度的脑室周围和/或皮质下白质高信号改变( $n = 9$ ),部分病例可同时合并顶叶、大脑脚、中脑及内囊等脑区萎缩及侧脑室扩张征象。上述 16 例患者的影像学征象与 Burrell 等<sup>[13]</sup>和 Forrest 等<sup>[11]</sup>总结的 GGT 影像学特点具有一致性,特异性程度较低。

值得关注的是,2022 年 Keller 等<sup>[16]</sup>回顾的 3 例老年男性

GGT 患者的临床及影像学资料,经尸检确认 3 例患者均为 GGT I 型,其中 2 例临床表现为非典型 PPA,1 例表现为 CBS。3 个病例的 MR 图像上除了具有不同程度的颞叶或顶叶萎缩、侧脑室扩大及脑室周围白质高信号等非特异性征象,还伴随 3 个相对特异性的征象:(1)矢状位 FLAIR 序列可见沿整个胼胝体底部分布的条带状高信号;(2)胼胝体局灶性萎缩,其中胼胝体前部萎缩与语言功能丧失有关,后部萎缩与视觉空间功能障碍和失用症相关;(3)不符合诊断 PSP 的轻一中度中脑萎缩。Keller 等<sup>[16]</sup>推测上述 3 个征象和脑室周围白质高信号联合出现时,可以较特异地诊断 I 型 GGT,但该推断仍需进一步研究确认。

GGT 平均病程为(7±3)年<sup>[4]</sup>,相对较长,但目前已报道的 GGT 病例的影像学资料几乎均在单一时间节点获得,相关的可反映疾病动态变化过程的影像学随访资料非常少。Hasegawa 等<sup>[21]</sup>报道了 1 例病程为 8 年的 II 型 GGT 病例,该病例在发病后的第 3 年行头颅 MR 检查示双侧中央前回局灶性萎缩(右侧为著)、双侧中央前回白质区和皮质下白质弥漫性高信号,并伴有双侧中央前回皮质表面铁沉积(右侧为著)。4 年后,即在病程的第 7 年随访 MR 示脑萎缩及白质高信号程度均加重,脑萎缩累及双侧额叶及大脑脚(右侧为著),双侧额叶至顶叶皮质下白质高信号范围弥漫性扩展。2021 年 Ohno 等<sup>[19]</sup>报道了 1 例头颅 MR 上呈现快速进展的额颞叶萎缩、严重白质高信号改变的 II 型 GGT 病例。该病例在发病后的 5 年内由双侧额叶轻度萎缩快速进展为重度萎缩且合并脑室系统明显扩张,而最初的老年轻性脑室周围轻度白质高信号改变也快速进展为弥漫性的脑室周围、深部白质高信号灶,并且累及额叶皮质下的白质区(包括 U 型纤维)。上述 2 例 II 型 GGT 病例在疾病发展过程中具有相似的影像学变化特点,即前后 2 次 MR 随访间隔≤5 年的进展较快的额颞叶萎缩及白质高信号改变。由于目前已报道的 GGT 病例相关的影像学随访资料非常少,而 GGT 各亚型共同的神经病理学特征是严重的白质病变,所以这种随访间隔≤5 年较快速进展的额颞叶萎缩及白质高信号改变征象是否是 II 型 GGT 或各亚型 GGT 所共有的较特异性的影像征象还需要未来进一步的观察研究加以确认。

2.2 SPECT/PET SPECT 和 PET 检查在 GGT 上应用较少,一般与 MR 结合,主要用于识别 GGT 病例低灌注或低代谢的脑区,如使用<sup>99m</sup>Tc-二半胱氨酸乙酯(<sup>99m</sup>Tc-ethyl cysteinyl dimmer,<sup>99m</sup>Tc-ECD) SPECT 脑血流灌注显像检测灌注减少的脑区<sup>[14, 16]</sup>,使用<sup>18</sup>F FDG-PET 识别代谢降低的脑区<sup>[18, 21, 23]</sup>。GGT 患者在 SPECT/PET 中显示低灌注或低代谢的脑区,一般与 MR 或病理上显示的脑萎缩区域相一致,并可进一步提示受累最严重的脑区。而 GGT 患者受累最严重的脑区往往与临床症状相对应,对于 GGT 的临床诊断具有较好的提示和辅助作用。此外,基于 PET 的 Tau 示踪剂成像技术利用 Tau 配体与体内病理性 Tau 聚集体靶向结合原理而成像,达到活体内无创性组织病理学层次的分子成像水平,可以辅助疾病的诊断、分期乃至治疗,目前已应用于 AD 和部分非 AD Tau 病,如 PSP、皮质基底节变性和 Pick 病等<sup>[26-29]</sup>,但尚未见运用于辅助诊断 GGT。开发针对中枢神经系统胶质细胞内病理性 Tau 蛋白聚合体的示踪剂,

在未来或许是寻找辅助活体诊断 GGT 及其亚型的生物标志物的新方向。

### 3 总结与展望

GGT 各亚型在影像学上,均表现为额颞顶叶萎缩和白质高信号等非特异性征象。而矢状位 FLAIR 序列沿整个胼胝体底部分布的高信号带、胼胝体局灶性萎缩、轻一中度中脑萎缩和脑室周围白质高信号 4 个联合征象,可能是 I 型 GGT 的特异性影像表现。因此,如临床疑诊 I 型 GGT 时,可增扫 MR 矢状位 FLAIR 序列以明确胼胝体是否具有高信号带,这或许对于该病的诊断及鉴别诊断具有一定的提示价值。而头颅 MR 随访间隔≤5 年出现较快速进展的额颞叶萎缩和白质高信号改变,可能对 II 型 GGT 具有一定的识别价值。鉴于支撑上述观点的病例数量太少,这些征象是否是 GGT 相应亚型中普遍存在的特异性征象还需要在接下来的研究中扩大样本量进一步观察。

由于多数 GGT 病例的影像学检查只在整个病程中的单一时间节点进行,所获得的影像学资料并不能反映该病整个病程中影像学征象的动态演变过程,也不利于 GGT 神经影像学标志物的挖掘。因此未来,对疑诊 GGT 患者定期进行影像学复查,并总结和提取各亚型 GGT 相应的特异性神经影像学征象是非常有意义和必要的。此外,开发适用于 GGT 的基于 PET 的 Tau 示踪剂成像技术,以期实现活体水平的 GGT 影像—病理学诊断,或许是未来 GGT 影像学检查具有潜力的发展方向。

### 参考文献

- Ahmed Z, Doherty KM, Silveira-Moriyama L, et al. Globular glial tauopathies (GGT) presenting with motor neuron disease or frontotemporal dementia: an emerging group of 4-repeat tauopathies [J]. *Acta Neuropathol*, 2011, 122(4): 415-428. DOI: 10.1007/s00401-011-0857-4.
- Chung DC, Roemer S, Petrucelli L, et al. Cellular and pathological heterogeneity of primary tauopathies [J]. *Mol Neurodegener*, 2021, 16(1): 57. DOI: 10.1186/s13024-021-00476-x.
- Chung DC, Carlomagno Y, Cook CN, et al. Tau exhibits unique seeding properties in globular glial tauopathy [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2019, 7(1): 36. DOI: 10.1186/s40478-019-0691-9.
- 王鲁宁, 朱明伟, 冯枫. Tau 蛋白病: 一组渐受关注的神经系统退行性疾病 [J]. *中华内科杂志*, 2018, 57(10): 700-701. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.10.002.
- Wang LN, Zhu MW, Feng F. Tauopathy: the gradually concerned neurodegenerative diseases [J]. *Chin J Intern Med*, 2018, 57(10): 700-701. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.10.002.
- Ling H. Untangling the tauopathies: Current concepts of tau pathology and neurodegeneration [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2018, 46(Suppl 1): S34-S38. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2017.07.031.
- Götz J, Halliday G, Nisbet RM. Molecular pathogenesis of the tauopathies [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 239-261. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012936.
- 张颖冬. 原发性 Tau 蛋白病的新分类 [J]. *临床神经病学杂志*, 2020, 33(6): 401-406. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1648.2020.06.001.
- Zhang YD. A new classification of primary tauopathy [J]. *J Clin Neu-*

- rol, 2020, 33(6): 401-406. DOI:10.3969/j.issn.1004-1648.2020.06.001.
- [8] Ahmed Z, Bigio EH, Budka H, et al. Globular glial tauopathies (GGT): consensus recommendations [J]. *Acta Neuropathol*, 2013, 126(4):537-544. DOI: 10.1007/s00401-013-1171-0.
- [9] 冯枫,张熙,王鲁宁. 全脑胶质细胞 Tau 蛋白病的研究进展 [J]. *中华内科杂志*, 2018, 57(10): 763-765. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.10.015.
- Feng F, Zhang X, Wang LN. Advances in globular glial tauopathies [J]. *Chin J Intern Med*, 2018, 57(10):763-765. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.10.015.
- [10] Shi Y, Zhang W, Yang Y, et al. Structure-based classification of tauopathies [J]. *Nature*, 2021, 598(7880): 359-363. DOI:10.1038/s41586-021-03911-7.
- [11] Forrest SL, Kril JJ, Kovacs GG. Association between globular glial tauopathies and frontotemporal dementia-expanding the spectrum of gliocentric disorders: a review [J]. *JAMA Neurol*, 2021, 78(8): 1004-1014. DOI:10.1001/jamaneurol.2021.1813.
- [12] Ferrer I, Andrés-Benito P, Zelaya MV, et al. Familial globular glial tauopathy linked to MAPT mutations: molecular neuropathology and seeding capacity of a prototypical mixed neuronal and glial tauopathy [J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 139(4): 735-771. DOI: 10.1007/s00401-019-02122-9.
- [13] Burrell JR, Forrest S, Bak TH, et al. Expanding the phenotypic associations of globular glial tau subtypes [J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2016, 4:6-13. DOI:10.1016/j.dadm.2016.03.006.
- [14] Rösler TW, Tayaranian Marvian A, Brendel M, et al. Four-repeat tauopathies [J]. *Prog Neurobiol*, 2019, 180:101644. DOI:10.1016/j.pneurobio.2019.101644.
- [15] Stamelou M, Respondek G, Giagkou N, et al. Evolving concepts in progressive supranuclear palsy and other 4-repeat tauopathies [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(10): 601-620. DOI: 10.1038/s41582-021-00541-5.
- [16] Keller J, Kavkova A, Matej R, et al. Corpus callosum hypersignals and focal atrophy: Neuroimaging findings in globular glial tauopathy type I [J]. *Eur J Neurol*, 2022, 29(1): 324-328. DOI: 10.1111/ene.15090.
- [17] Hirano M, Iritani S, Fujishiro H, et al. Globular glial tauopathy Type I presenting with behavioral variant frontotemporal dementia [J]. *Neuropathology*, 2020, 40(5): 515-525. DOI: 10.1111/neup.12668.
- [18] Erro ME, Zelaya MV, Mendioroz M, et al. Globular glial tauopathy caused by MAPT P301T mutation: clinical and neuropathological findings [J]. *J Neurol*, 2019, 266(10): 2396-2405. DOI:10.1007/s00415-019-09414-w.
- [19] Ohno Y, Ikeda T, Sakurai K, et al. Rapid progression of white matter signal changes and frontotemporal atrophy in globular glial tauopathy [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2021, 80(5): 480-483. DOI: 10.1093/jnen/nlaa151.
- [20] Tanaka H, Kawakatsu S, Toyoshima Y, et al. Globular glial tauopathy Type II: Clinicopathological study of two autopsy cases [J]. *Neuropathology*, 2019, 39(2): 111-119. DOI:10.1111/neup.12532.
- [21] Hasegawa I, Takeda A, Hatsuta H, et al. An autopsy case of globular glial tauopathy presenting with clinical features of motor neuron disease with dementia and iron deposition in the motor cortex [J]. *Neuropathology*, 2018, 38(4):372-379. DOI:10.1111/neup.12457.
- [22] Liu AJ, Chang JE, Naasan G, et al. Progressive supranuclear palsy and primary lateral sclerosis secondary to globular glial tauopathy: a case report and a practical theoretical framework for the clinical prediction of this rare pathological entity [J]. *Neurocase*, 2020, 26(2):91-97. DOI:10.1080/13554794.2020.1732427.
- [23] Kim EJ, Lee MJ, Lee JH, et al. Globular glial tauopathy presenting as non-fluent/agrammatic variant primary progressive aphasia with chorea [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2017, 44: 159-161. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2017.09.006.
- [24] Kon T, Mori F, Arai A, et al. Atypical globular glial tauopathy with a combination of types I and II pathology [J]. *Neuropathology*, 2019, 39(2):127-134. DOI:10.1111/neup.12536.
- [25] Marsili L, Dickson DW, Espay AJ. Globular glial tauopathy may be mistaken for corticobasal syndrome-pointers for the clinician [J]. *Mov Disord Clin Pract*, 2018, 5(4): 439-441. DOI: 10.1002/mdc3.12634.
- [26] Cassinelli PG, Roytman M, Chiang GC, et al. Overview of tau PET molecular imaging [J]. *Curr Opin Neurol*, 2022, 35(2):230-239. DOI:10.1097/WCO.0000000000001035.
- [27] Riley KJ, Graner BD, Veronesi MC. The tauopathies: Neuroimaging characteristics and emerging experimental therapies [J]. *J Neuroimaging*, 2022, 32(4):565-581. DOI:10.1111/jon.13001.
- [28] Maschio C, Ni R. Amyloid and Tau positron emission tomography imaging in Alzheimer's Disease and other tauopathies [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14:838034. DOI:10.3389/fnagi.2022.838034.
- [29] Leuzy A, Chiotis K, Lemoine L, et al. Tau PET imaging in neurodegenerative tauopathies-still a challenge [J]. *Mol Psychiatry*, 2019, 24(8):1112-1134. DOI:10.1038/s41380-018-0342-8.

(收稿日期:2022-06-28)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.018

综 述

# 益生菌治疗炎性肠病的研究进展

杨敏琪,张吉翔综述 董卫国审校

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81870392)

作者单位:430060 武汉大学人民医院消化内科

通信作者:董卫国,E-mail:dongweigu@whu.edu.cn

**【摘要】** 炎性肠病( IBD)是一种涉及环境、饮食、遗传、肠道菌群等多种因素的慢性肠道炎性疾病。我国 IBD 发病率逐渐升高,但氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂、生物制剂等现有治疗方法存在价格高、安全性低、不良反应明显、治疗作用有限等缺点。现已发现益生菌在调节肠道菌群、减轻肠道炎症反应、调节肠道免疫等方面功效显著,现就肠道菌群与 IBD 的关系、益生菌在 IBD 治疗中的临床应用及其作用机制予以综述。

**【关键词】** 炎性肠病;肠道菌群;益生菌;治疗**【中图分类号】** R574 **【文献标识码】** A

**Research progress of probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease** Yang Minqi, Zhang Jixiang, Dong Weigu. Department of Gastroenterology, Renmin Hospital, Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Dong Weigu, E-mail: dongweigu@whu.edu.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81870392)

**【Abstract】** Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic intestinal inflammatory disease involving environment, diet, genetics, intestinal flora and other factors. The incidence of IBD is gradually increasing in China, but the existing treatment methods such as aminosalicylic acid, glucocorticoid, immunosuppressant and biological agents have shortcomings such as high price, low safety, obvious adverse reactions and limited therapeutic effect. It has been found that probiotics have significant effects in regulating intestinal flora, reducing intestinal inflammatory response, regulating intestinal immunity, etc. This article reviews the relationship between intestinal flora and IBD, the clinical application of probiotics in the treatment of IBD and its mechanism.

**【Key words】** Inflammatory bowel disease; Intestinal flora; Probiotic; Therapy

炎性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚未阐明的慢性非特异性肠道炎性疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。UC 主要为局限于黏膜和黏膜下层的连续性炎症反应,病变多自直肠开始,可累及全结肠甚至末段回肠;CD 则为节段性的肉芽肿性炎症反应,可累及消化道任何部位,但多常见于末段回肠和邻近结肠。IBD 的传统治疗方法包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂、生物制剂等,都可抑制肠道炎症反应,但存在价格高、安全性低、不良反应明显、治疗作用有限等缺点。近年来,越来越多的研究人员注意到益生菌在治疗 IBD 中的显著作用。本文就肠道菌群与 IBD 的关系、益生菌在 IBD 治疗中的临床应用及其作用机制作一综述。

## 1 肠道菌群与 IBD

1.1 肠道菌群 人体肠道微生物群由 10 万亿~100 万亿微生物组成,其数量约为人体细胞的 10 倍<sup>[1]</sup>。肠道菌群种类多达 1 000 余种,主要分为厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门、变形菌门<sup>[2]</sup>,其中拟杆菌门和厚壁菌门为优势菌门。在消化道的不同

部位,细菌的种类和数量均存在差异,从胃到结肠,细菌的数量逐渐增加,结肠的细菌数量约为  $10^{12}$  CFU/ml,以厚壁菌门和拟杆菌门为主<sup>[3]</sup>。近年来,肠道菌群被认为是一种“内分泌器官”,它们在维持肠道正常生理活动中发挥重要作用,包括营养代谢、促进机体免疫系统的成熟、参与脑-肠轴调节等功能;其与机体为相互依存的共生关系。研究表明,吸烟、饮食、抗生素的使用及情绪的变化等因素均可作用于肠道菌群,引起有益菌的丰度下降,致病菌的丰度升高,从而引起肠道炎症反应<sup>[4]</sup>。

1.2 菌群与 IBD 许多研究表明,IBD 的发病机制为在环境、遗传、饮食、肠道菌群等因素的作用下,启动了肠道免疫反应,破坏肠道免疫稳态<sup>[5-6]</sup>,进而引起肠道慢性炎症反应。近年来,肠道菌群与 IBD 的关系越来越受到重视。一些动物实验表明,在肠道无菌的条件下,遗传易感小鼠不会发生肠道炎症反应;此外,IBD 最好发于肠道细菌数量最多的部位,且在肠道细菌数量最多和丰富度最大的部位疾病活动最明显<sup>[7]</sup>;抗生素治疗可在一定程度上使 IBD 患者获得临床改善<sup>[8]</sup>;益生菌、粪菌移植(faecal microbiota transplantation, FMT)等调节肠道菌群的方式

也被证明是安全且有效的方法<sup>[9]</sup>。以上均可说明肠道菌群与 IBD 发病的相关性,但肠道菌群与 IBD 之间并非简单的因果关系。研究发现,IBD 患者存在不同程度的肠道菌群失调,主要表现为总体微生物多样性降低,肠道有益细菌数量减少,致病细菌数量增多<sup>[6, 10]</sup>。IBD 患者肠道菌群中,厚壁菌门丰度减少,而变形菌门,包括大肠杆菌丰度增加<sup>[5]</sup>。一项研究表明,病变部位不同的患者,其肠道菌群存在差异;有研究表明,疾病活动度越高的患者,其肠道中肠杆菌数目也越多,但未发现 UC 患者疾病活动度指数与肠道菌群间有明显关联;此外,病程较长的 IBD 患者的肠道菌群中变形杆菌的丰度增加<sup>[11]</sup>,即 IBD 患者的病变部位、疾病活动度及病程等均可在一定程度上影响肠道菌群。综上所述,肠道菌群与 IBD 关系密切且相互影响。因此,治疗肠道菌群失调越来越成为 IBD 综合治疗中不可或缺的角色。

## 2 益生菌在 IBD 治疗中的临床应用

根据国际益生菌和益生元科学学会 (ISAPP) 发表的共识声明,益生菌是指“当施以足够量时对宿主健康有益的活的微生物”<sup>[12]</sup>。益生菌种类繁多,人体内就有超过 400 种。从目前已报道的益生菌来看,大致可分为以下 5 类:乳杆菌类,如干酪乳杆菌、植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌等;双歧杆菌类,如长双歧杆菌、短双歧杆菌等;芽孢杆菌类,如布拉地芽孢杆菌、丁酸梭状芽孢杆菌等;链球菌属:如嗜热链球菌;肠球菌属,如耐久肠球菌、粪肠球菌等<sup>[13]</sup>。已有大量研究证实,益生菌在缓解或治疗 IBD 中起到重要作用。有研究表明,益生菌可提升肠道黏膜自身预防机制,且可拮抗致病菌的致病作用,还可以控制炎症因子的释放及短时间内恢复肠道菌群<sup>[14]</sup>。

**2.1 益生菌作用于 UC** 大量临床研究表明,益生菌及其制剂对于 UC 患者的活动期诱导临床缓解和缓解期预防复发均有一定作用<sup>[15]</sup>。日本的一项多中心试验结果显示,长双歧杆菌可有效促进轻至中度活动性 UC 患者的临床缓解<sup>[16]</sup>。乳酸杆菌 GG 在缓解 UC 效果方面与美沙拉嗪差异无明显统计学意义,但在延缓 UC 复发方面则更有优势<sup>[17]</sup>。一项研究评估了不同条件下益生菌对 IBD 患者的疗效,结果显示不同益生菌在不同条件下对 UC 患者均有明显疗效<sup>[18]</sup>。VSL#3 是一种益生菌混合物,其已被证实可减轻肠道炎症反应及促进肠黏膜修复<sup>[19]</sup>。Akermansia 菌是一种属于疣状结直肠菌门的益生菌,对宿主肠道炎症反应有着显著的缓解或治疗作用,已有动物实验证实其可显著改善葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的急性结肠炎小鼠的症状<sup>[20]</sup>,未来有望成为治疗 UC 的有效制剂。但目前益生菌在维持 UC 患者的临床缓解方面尚未显示出明显优势<sup>[21]</sup>。

**2.2 益生菌作用于 CD** 有研究表明,益生菌对于 CD 活动期的治疗及缓解期的维持方面未有明确优势<sup>[22]</sup>。一项对照试验表明,布拉迪酵母菌可使 CD 患者的肠道屏障功能得到一定程度的改善<sup>[23]</sup>。研究发现,给 CD 患者补充可产生丁酸盐的细菌可增加患者肠上皮屏障的完整性<sup>[24]</sup>。CD 患者在接受回肠切除术和回结肠吻合术后 30 d 内接受 VSL#3 治疗,其 90 d 和 365 d 内镜复发率及结肠黏膜促炎细胞因子水平均降低,早期使用 VSL#3 治疗能获得更好的疗效<sup>[25]</sup>。在一项研究中,将 61 例 CD

患者随机分为 2 组,分别给予益生菌补充剂及安慰剂,结果显示 2 组患者之间的黏膜炎症标志物水平及临床疾病活动度没有明显差异,亦未观察到严重的不良反应<sup>[8]</sup>。益生菌对于 CD 是否具有治疗作用仍存在争议,需要进一步的研究来证实。

## 3 益生菌治疗 IBD 的作用机制

随着对益生菌的研究越来越深入,其缓解或治疗 IBD 的机制也逐渐被揭示出来。其在 IBD 中的作用机制如下。

**3.1 调节肠道菌群** 肠道菌群失调是促进 IBD 发生与发展的一个重要因素,研究发现,益生菌能够通过 Toll 样受体促进 Th1 细胞分化,进而改变黏膜免疫系统,增强肠道保护功能,增加肠道菌群多样性<sup>[7]</sup>。有研究表明,植物乳杆菌 Q7 的细胞外囊泡 (EV) 可调节肠道微生物群,增加肠道中乳酸杆菌、双歧杆菌等有益细菌的丰度并降低变形杆菌等有害细菌的丰度<sup>[26]</sup>。益生菌还可通过竞争营养、拮抗等方式与肠道微生物群相互作用,降低致病菌活性,以及产生某些抑菌性物质,如有机酸,直接抑制病原菌的生长<sup>[27]</sup>。上述研究表明,益生菌可以通过调节肠道菌群影响 IBD 的发生和发展。

**3.2 调节肠道免疫,减轻肠道炎症反应** 宿主与肠道菌群之间的互利共生关系被破坏,肠道免疫稳态被破坏,可导致 IBD 的发生。免疫和炎症反应需要细胞因子的参与,IL-6 是一个关键的炎症反应因子,其水平在 IBD 中升高<sup>[28]</sup>;TNF- $\alpha$  是 IBD 的重要调节因子,也是调节肠上皮细胞增殖和凋亡的主要因子;IL-10 可限制并最终终止 T 细胞对微生物病原体的过度反应,以防止慢性炎症反应和组织损伤。梭状芽孢杆菌属会影响结肠中上皮内淋巴细胞 (IELs) 的积累并增加 Treg 细胞的数量,从而抑制炎症细胞因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-12、IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6) 的表达,并上调抑制性细胞因子 (IL-10) 的表达,此外,丁酸梭菌产生的丁酸盐可以通过抑制组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 直接促进 Tregs 的分化<sup>[29-30]</sup>。研究表明,DSS 诱导的结肠炎小鼠应用 Q7-EV 下调了 Toll 样受体 4 (TLR4) 及 MyD88 基因表达,与配体结合后,MyD88 依赖性信号转导可能导致 NF- $\kappa$ B 的磷酸化,从而调节 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  转录因子的水平,即 Q7-EV 通过调节 TLR4-MyD88-NF- $\kappa$ B 途径改善了结肠炎<sup>[26]</sup>。一项评估了不同益生菌在二硝基苯磺酸 (DNBS) 结肠炎模型中的抗炎作用的实验结果显示,IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  与 miR-155 和 miR-223 之间存在正相关性,EcN 能够显著降低 miR-155 和 miR-223 的上调表达<sup>[31]</sup>。最近有证据表明,益生菌可以通过调节树突状细胞 (DC) 的成熟和产生耐受性 DC (tolDC) 来影响免疫调节,反过来又可能抑制炎症反应。脆弱双歧杆菌衍生的外膜囊泡 (OMV) 的多糖 A (PSA) 能够通过影响 DC 来改善 DSS 诱导的小鼠的结肠炎<sup>[32]</sup>。综上,益生菌及其代谢产物可通过多种途径调节肠道免疫功能,减轻肠道炎症反应。

**3.3 增加机体抗氧化能力** 氧化应激在 IBD 相关组织损伤中起重要作用。氧化系统主要包括产生过量的 ROS,可诱发氧化应激,引起脂质过氧化,导致结肠黏膜损伤<sup>[33]</sup>。SOD 是一种重要的过氧化物分解酶,其可以抑制肠道中的脂质过氧化,并通过降低氧自由基的水平来稳定细胞膜<sup>[34]</sup>。植物乳杆菌 ZS62 通过改善肠道氧化应激对 DSS 诱导的 IBD 发挥缓解作用,其可促

进 GSH-Px 的产生并催化  $H_2O_2$  的分解,从而消除过氧化应激产物,防止 ROS 介导的细胞损伤,同时可以通过增加体内 T-SOD、Cu/Zn SOD 和 Mn SOD 的水平来清除自由基<sup>[35]</sup>。Nrf2 信号通路在细胞抗氧化防御中起着至关重要的作用,在生理条件下,细胞质蛋白伴侣 Keap1 与 Nrf2 相互作用以保持静止状态。在发生氧化应激时,Nrf2 能够从 Keap1 中逸出并转移到细胞核并诱导一系列抗氧化酶(SOD、CAT 和 GSH)基因的转录,布拉氏酵母菌可促进 Nrf2 信号传导激活,减轻氧化应激导致的结肠损伤<sup>[36]</sup>。总之,上述研究证实了益生菌在增加肠道抗氧化应激能力中的重要作用。

**3.4 降低肠道通透性,增强肠道屏障功能** 肠道屏障由单层柱状上皮细胞组成,这些细胞由紧密连接蛋白(TJP)连接,包括 occludin、ZO-1、claudin 等。分泌蛋白黏蛋白-2(MUC-2)也是结肠中保护性黏液层的主要成分。UC 中 TJP 复杂性受损和 TJP 的下调可能是导致肠屏障功能障碍的重要机制<sup>[37]</sup>。研究表明,双歧杆菌可上调 ZO-1、MUC-2、Claudin-3 和 E Cadherin-1 这 4 种 TJP 的水平<sup>[38]</sup>,植物乳杆菌-12 也通过上调 MUC-2 表达来增强肠道屏障功能<sup>[39]</sup>。在 DSS 诱导的结肠炎小鼠中,MUC-2 水平与 Akkermansia 菌丰度呈正相关,可通过补充 Akkermansia 菌增加结肠黏液层厚度,加强结肠黏膜屏障<sup>[20]</sup>。短链脂肪酸(SCFAs)是肠道微生物的代谢产物,包括乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐等,具有缓解炎症反应、保护肠道屏障功能、维持上皮完整性等重要作用。丁酸梭菌可以通过丁酸激酶(buk)途径产生丁酸盐,这可能是其发挥肠上皮保护作用的机制之一<sup>[30]</sup>。另一项研究表明,在急性肠道损伤后,IL-17A 可以通过调节 TJP 水平来降低肠道通透性并保持屏障完整性<sup>[40]</sup>。有研究证实,丁酸梭菌 588(CBM 588)显著促进了结肠固有层(cLP)中产生 IL-17A 的  $\gamma\delta T$  细胞和 CD4 细胞的扩增,这有助于保持肠道上皮屏障的完整性<sup>[37]</sup>。综上所述,益生菌可通过上调 TJP 水平、增加肠道黏液层厚度等方式发挥其肠道保护作用来缓解或治疗 IBD。

#### 4 总结与展望

越来越多的研究证实益生菌在调节肠道菌群、调节肠道免疫,减轻肠道炎症反应、增加机体抗氧化能力、降低肠道通透性、增强肠道屏障功能等方面发挥重要作用,益生菌或可成为缓解或治疗 IBD 的新手段。但目前仍有很多问题需要解决,如益生菌的给药剂量、给药间隔及疗程等,且其不良反应尚存在争议,未来需要更多的临床试验进行进一步探究。

#### 参考文献

[1] Li D, Wang P, Wang P, et al. The gut microbiota: A treasure for human health[J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(7):1210-1224. DOI: 10.1016/j.biotechadv. 2016. 08. 003.

[2] 冉艳,肖莫凡,陈思玮,等. 肠道菌群与炎症性肠病的研究进展[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2021, 30(1): 6-9. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-5709. 2021. 01. 002.

Ran Y, Xiao MF, Chen SW, et al. Research progress of gut microbiota and inflammatory bowel disease[J]. *Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2021, 30(1): 6-9. DOI: 10.3969 /j. issn. 1006-5709. 2021. 01. 002.

[3] Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functional-

ities[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(3):473-493. DOI:10. 1007/s00018-018-2943-4.

[4] Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of disease: Inflammatory bowel diseases[J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(1):155-165. DOI: 10.1016/j. mayocp. 2018. 09. 013.

[5] Ni J, Wu GD, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(10): 573-584. DOI: 10. 1038/nrgastro. 2017. 88.

[6] Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, et al. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. *Immunol Rev*, 2017, 279(1):70-89. DOI:10. 1111/imr. 12567.

[7] Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The microbiome and inflammatory bowel disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(1):16-27. DOI:10. 1016/j. jaci. 2019. 11. 003.

[8] Bjarnason I, Sission G, Hayee B. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of a multi-strain probiotic in patients with asymptomatic ulcerative colitis and Crohn's disease[J]. *Inflammopharmacology*, 2019, 27(3):465-473. DOI:10. 1007/s10787-019-00595-4.

[9] Eindor-Abarbanel A, Healey GR, Jacobson K. Therapeutic advances in gut microbiome modulation in patients with inflammatory bowel disease from pediatrics to adulthood[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22):12506. DOI:10. 3390/ijms222212506.

[10] Halfvarson J, Brislawn CJ, Lamendella R, et al. Dynamics of the human gut microbiome in inflammatory bowel disease[J]. *Nat Microbiol*, 2017, 2:17004. DOI:10. 1038/nmicrobiol. 2017. 4.

[11] Imhann F, Vich Vila A, Bonder MJ, et al. Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease[J]. *Gut*, 2018, 67(1):108-119. DOI: 10. 1136/gutjnl-2016-312135.

[12] Salminen S, Collado MC, Endo A, et al. The international scientific association of probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(9):649-667. DOI: 10. 1038/s41575-021-00440-6.

[13] 徐康,王哲,薛志朋,等. 益生菌缓解或治疗炎症性肠病的作用及机制研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022. DOI: 10. 13386/j. issn1002-0306. 2021090166.

Xu K, Wang Z, Xue ZP, et al. Research progress on the effect and mechanism of probiotics in alleviating or treating inflammatory bowel disease[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022. DOI: 10. 13386/j. issn1002-0306. 2021090166.

[14] 刘靖伟,殷云勤. 炎症性肠病相关肠道菌群失调的机制及治疗的研究进展[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2022, 21(5):397-400. DOI:10. 11915/j. issn. 1671-5403. 2022. 05. 086.

Liu JW, Yin YQ. Research progress on mechanism and treatment of inflammatory bowel disease-related intestinal flora imbalance[J]. *Chin J Mult Organ Dis Elderly*, 2022, 21(5):397-400. DOI:10. 11915 /j. issn. 1671-5403. 2022. 05. 086.

[15] Kaur L, Gordon M, Baines PA, et al. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, 3(3):CD005573. DOI:10. 1002/14651858. CD005573. pub3.

[16] Tamaki H, Nakase H, Inoue S, et al. Efficacy of probiotic treatment

- with *Bifidobacterium longum* 536 for induction of remission in active ulcerative colitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial [J]. *Dig Endosc*, 2016, 28 ( 1 ) : 67-74. DOI: 10.1111/den.12553.
- [17] Zocco MA, dal Verme LZ, Cremonini F, et al. Efficacy of *Lactobacillus GG* in maintaining remission of ulcerative colitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 23 ( 11 ) : 1567-1574. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02927.x.
- [18] Ganji-Arjenaki M, Rafieian-Kopaei M. Probiotics are a good choice in remission of inflammatory bowel diseases: A meta analysis and systematic review [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233 ( 3 ) : 2091-2103. DOI: 10.1002/jcp.25911.
- [19] Popov J, Caputi V, Nandeesh N, et al. Microbiota-immune interactions in ulcerative colitis and colitis associated cancer and emerging microbiota-based therapies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 ( 21 ) : 11365. DOI: 10.3390/ijms222111365.
- [20] Chen T, Wang R, Duan Z, et al. *Akkermansia muciniphila* protects against psychological disorder-induced gut microbiota-mediated colonic mucosal barrier damage and aggravation of colitis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 723856. DOI: 10.3389/fcimb.2021.723856.
- [21] Iheozor-Ejiogor Z, Kaur L, Gordon M, et al. Probiotics for maintenance of remission in ulcerative colitis [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, 3 ( 3 ) : CD007443. DOI: 10.1002/14651858.CD007443.pub3.
- [22] Limketkai BN, Akobeng AK, Gordon M, et al. Probiotics for induction of remission in Crohn's disease [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, 7 ( 7 ) : CD006634. DOI: 10.1002/14651858.CD006634.pub3.
- [23] Jakubczyk D, Leszczyńska K, Górka S. The effectiveness of probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease (IBD)-A Critical Review [J]. *Nutrients*, 2020, 12 ( 7 ) : 1973. DOI: 10.3390/nu12071973.
- [24] Geirnaert A, Calatayud M, Grootaert C, et al. Butyrate-producing bacteria supplemented in vitro to Crohn's disease patient microbiota increased butyrate production and enhanced intestinal epithelial barrier integrity [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 ( 1 ) : 11450. DOI: 10.1038/s41598-017-11734-8.
- [25] Fedorak RN, Feagan BG, Hotte N, et al. The probiotic VSL#3 has anti-inflammatory effects and could reduce endoscopic recurrence after surgery for Crohn's disease [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2015, 13 ( 5 ) : 928-935. DOI: 10.1016/j.cgh.2014.10.031.
- [26] Hao H, Zhang X, Tong L, et al. Effect of extracellular vesicles derived from *Lactobacillus plantarum* Q7 on gut microbiota and ulcerative colitis in mice [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 777147. DOI: 10.3389/fimmu.2021.777147.
- [27] Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16 ( 10 ) : 605-616. DOI: 10.1038/s41575-019-0173-3.
- [28] Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16 ( 5 ) : 448-457. DOI: 10.1038/ni.3153.
- [29] Zhao Q, Yang WR, Wang XH, et al. *Clostridium butyricum* alleviates intestinal low-grade inflammation in TNBS-induced irritable bowel syndrome in mice by regulating functional status of lamina propria dendritic cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25 ( 36 ) : 5469-5482. DOI: 10.3748/wjg.v25.i36.5469.
- [30] Stoeva MK, Garcia-So J, Justice N, et al. Butyrate-producing human gut symbiont, *Clostridium butyricum*, and its role in health and disease [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13 ( 1 ) : 1-28. DOI: 10.1080/19490976.2021.1907272.
- [31] Algieri F, Garrido-Mesa J, Vezza T, et al. Intestinal anti-inflammatory effects of probiotics in DNBS-colitis via modulation of gut microbiota and microRNAs [J]. *Eur J Nutr*, 2021, 60 ( 5 ) : 2537-2551. DOI: 10.1007/s00394-020-02441-8.
- [32] Baradaran Ghavami S, Asadzadeh Aghdaei H, Sorrentino D, et al. Probiotic-induced tolerogenic dendritic cells: A novel therapy for inflammatory bowel disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 ( 15 ) : 8274. DOI: 10.3390/ijms22158274.
- [33] Den Hartog G, Chattopadhyay R, Ablack A, et al. Regulation of Rac1 and reactive oxygen species production in response to infection of gastrointestinal epithelia [J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12 ( 1 ) : e1005382. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005382.
- [34] Shi C, Yue F, Shi F, et al. Selenium-containing amino acids protect dextran sulfate sodium-induced colitis via ameliorating oxidative stress and intestinal inflammation [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 85-95. DOI: 10.2147/JIR.S288412.
- [35] Pan Y, Ning Y, Hu J, et al. The preventive effect of *Lactobacillus plantarum* ZS62 on DSS-induced IBD by regulating oxidative stress and the immune response [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9416794. DOI: 10.1155/2021/9416794.
- [36] Gao H, Li Y, Sun J, et al. *Saccharomyces boulardii* ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice by regulating NF- $\kappa$ B and Nrf2 signaling pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1622375. DOI: 10.1155/2021/1622375.
- [37] Hagiwara M, Kuroki Y, Ariyoshi T, et al. *Clostridium butyricum* modulates the microbiome to protect intestinal barrier function in mice with antibiotic-induced dysbiosis [J]. *iScience*, 2020, 23 ( 1 ) : 100772. DOI: 10.1016/j.isci.2019.100772.
- [38] Din AU, Hassan A, Zhu Y, et al. Inhibitory effect of *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521 on colitis and its mechanism [J]. *J Nutr Biochem*, 2020, 79: 108353. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2020.108353.
- [39] Sun M, Liu Y, Song Y, et al. The ameliorative effect of *Lactobacillus plantarum*-I2 on DSS-induced murine colitis [J]. *Food Funct*, 2020, 11 ( 6 ) : 5205-5222. DOI: 10.1039/d0fo00007h.
- [40] Lee JS, Tato CM, Joyce-Shaikh B, et al. Interleukin-23-independent IL-17 production regulates intestinal epithelial permeability [J]. *Immunity*, 2015, 43 ( 4 ) : 727-738. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.09.003.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.019

综 述

## 中性粒细胞胞外诱捕网在脓毒症中的作用机制与靶点

王瀚黎, 田圆综述 梁群审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81974557, 81774276); 黑龙江中医药大学“优秀创新人才支持计划”科研项目(2018RCL16); 黑龙江中医药大学校级科技创新研究平台项目(2018pt06)

作者单位: 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学

通信作者: 梁群, E-mail: liangqun1@sina.com

**【摘要】** 中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)是一种新的杀灭病原体的网状染色质结构,它在脓毒症的病理过程中起到了重要的作用。在脓毒症的病理过程中,NETs 杀灭病原体的同时也可能会引发炎症级联反应,并对凝血功能造成影响,还可以直接造成血管内皮的损伤与渗漏。文章对 NETs 在脓毒症中的作用机制、已经过证实的通路及目前的干预手段进行综述,并分析了未来可能的研究方向。希望通过对脓毒症中 NETs 的讨论,为今后脓毒症的研究与治疗提供新的思路。

**【关键词】** 脓毒症;中性粒细胞胞外诱捕网;免疫功能;凝血功能;内皮损伤

**【中图分类号】** R631<sup>+</sup>.2 **【文献标识码】** A

**Mechanism and target of neutrophil extracellular trap net in sepsis** Wang Hanli, Tian Yuan, Liang Qun. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Heilongjiang Province, Harbin 150040, China

Corresponding author: Liang Qun, E-mail: liangqun1@sina.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81974557, 81774276); Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine "Outstanding Innovative Talents Support Plan" Scientific Research Project (2018RCL16); Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine's School Level Scientific and Technological Innovation Research Platform Project (2018pt06)

**【Abstract】** Neutrophil extracellular entrapment nets (NETs) are a new kind of net chromatin structure that can kill pathogens, and they play an important role in the pathological process of sepsis. In the pathological process of sepsis, NETs may also cause inflammatory cascade reactions while killing pathogens, which may affect the coagulation function, and may also directly cause damage and leakage of vascular endothelium. This article reviews the mechanism of NETs in sepsis, the proven pathways and current interventions, and analyzes the possible future research directions. It is hoped that the discussion of NETs in sepsis will provide new ideas for the research and treatment of sepsis in the future.

**【Key words】** Sepsis; Neutrophil extracellular traps; Immune function; Coagulation function; Endothelial injury

脓毒症(sepsis)是由于严重感染的生理反应失调所引起的危及生命的器官功能障碍<sup>[1]</sup>。脓毒症未得到及时救治可导致严重脓毒症、休克及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),脓毒症患者的住院时间更长,其住院期间病死率更高<sup>[2]</sup>。脓毒症的发病率与病死率高,发病机制复杂,是重症医学领域的重点研究对象,对脓毒症的成因、进展及其临床治疗的研究和探讨在不断深入。最新的研究认为,中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)在这一进程中发挥了重要的作用<sup>[3]</sup>。本文以 NETs 的研究作为切入点,探讨其在脓毒症病理过程中的角色。

## 1 NETs 的发现与研究现状

1.1 NETs 的发现、定义与结构 自 2004 年,Brinkmann 等使用脂多糖(LPS)来诱导家兔外周循环中的中性粒细胞,首次发现

了中性粒细胞胞外诱捕网,这是免疫系统中新发现的一种消灭病原体的方式<sup>[4,5]</sup>。这种新的免疫细胞杀伤病原微生物的机制是由核 DNA 构成了其结构骨架,在核 DNA 的骨架上附着有抗菌肽、组蛋白等多种杀菌因子,这些成分在 NETs 捕获并杀死病原微生物的过程中起到了关键的作用<sup>[6]</sup>。在电子显微镜中可以看到,核 DNA 丝的直径为 15 ~ 17 nm,其上镶嵌的多种球形杀菌因子直径约 25 nm,其中有多种组蛋白和中性粒细胞弹性酶(NE)<sup>[7]</sup>。在中性粒细胞中各类组蛋白约占蛋白总数的 70%,其他成分还包含组织蛋白酶 G 等<sup>[8,9]</sup>。其他研究表明,NETs 中还含有基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、组织因子(TF)、血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)和纤维蛋白原(Fibrinogen, Fg)等成分<sup>[9,12]</sup>。

1.2 NETs 的生成 目前已有 3 种途径被证明可以诱导 NETs

生成,并且不同的诱导方式使得 NETs 的形成方式出现了差异<sup>[13]</sup>:(1)金黄色葡萄球菌诱导中性粒细胞核膜的破裂,核膜形成的囊泡包裹着 DNA 转移至细胞膜上,这些囊泡与细胞膜融合并向细胞外释放其中包裹的 DNA,便形成了 NETs,这一过程需要 30~60 min 的时间<sup>[14]</sup>。在这一方式中,中性粒细胞的细胞核和细胞膜并不会遭到完全的破坏,细胞的活性和吞噬功能是被保留下来的,所以也称为活性 NETs<sup>[15]</sup>。(2)在肉豆蔻酸酯(PMA)介导下,中性粒细胞核膜发生了降解,其中包裹的染色体去致密化,最终在经过 3~4 h 后导致整个细胞的裂解;另一些研究则表明这种去致密化的途径受到 NE 和髓过氧化物酶(MPO)协同的影响<sup>[16-17]</sup>,而以上这一过程中,被激活的中性粒细胞变为扁平,染色质裂解,进而死亡,所以也被称为自杀性 NETs<sup>[15]</sup>。(3)还有一种由 ROS 依赖的中性粒细胞释放线粒体 DNA 的 NETs 形成机制,该机制未完全阐明,有待进一步研究<sup>[18]</sup>。

中性粒细胞是人体免疫防御的主阵地,NETs 被证明在杀灭病原微生物的过程中作用显著<sup>[19]</sup>,是免疫系统的重要一环;NETs 在脓毒症病理过程中,除了杀灭病原体,对凝血功能、血管内皮也有影响<sup>[20-21]</sup>。此外,NETs 在其他炎性反应、免疫等相关疾病中,也有较为广泛的影响;NETs 参与动脉粥样硬化的病理过程<sup>[22]</sup>;NETs 在系统性红斑狼疮、糖尿病、阿尔茨海默病、肿瘤当中都发挥着作用<sup>[23-26]</sup>。

## 2 NETs 作用途径机制

在脓毒症的病理过程中,对于人体免疫系统具体是如何发挥作用的并没有定论,目前较为公认的观点是 Bone 提出的:人体促炎反应和抗炎反应之间的失衡在脓毒症病理过程中扮演了重要角色,在二者交替制衡的复杂机制过后,最终导致致命性的免疫抑制;而过往的研究已经证实,NETs 在这一过程中发挥了其特有的作用<sup>[27]</sup>。目前认为其在杀灭病原体的同时也造成了凝血功能障碍并使血管内皮损伤<sup>[28-30]</sup>。

**2.1 NETs 杀灭病原微生物** NETs 杀灭病原微生物的主要原理是通过其网状结构来捕获和固定病原体,这样就可以阻止病原体在人体内无序的扩散,并使其长时间暴露于局部的高浓度抗菌蛋白中以便各种杀菌成分对病原体进行杀伤。实验证明,NETs 可以快速地杀灭病原微生物,其具备迅速地隔离病原微生物表面结合阳离子的能力,可以破坏病原微生物细胞膜的完整性并溶解细胞,可以在几分钟内杀灭病原微生物<sup>[26]</sup>;在 NETs 杀伤的过程中,DNA 结构完整性非常重要,一旦 DNA 结构被破坏,脱氧核糖核酸酶(DNase)会导致 NETs 失去杀菌能力,在体外试验中,向细菌中添加经过稀释的 DNA 后,通过干预 DNase 的水平,细菌的生存率会随着 DNase 水平的降低而降低<sup>[31]</sup>。在较早的一项临床试验中,也有研究者指出,循环中的游离 DNA(cfDNA)水平与多器官功能障碍评分、白细胞计数和 MPO 水平相关联,但是其具体关系受限于样本量并未得出有效的结论,在该项研究中 cfDNA 与患者病死率呈正相关<sup>[32]</sup>。

而作为 NETs 中重要的杀菌成分——组蛋白<sup>[6]</sup>,它的抗菌能力是在 1942 年被首次发现的,组蛋白中有 2 个 H2A-H2B 二聚体和 1 个 H3-H4 四聚体<sup>[33-34]</sup>,H2A-H2B 的抗体可以拮抗

NETs 的杀伤作用。H2A 以 2 mg/L 的浓度可以在半小时内杀死金黄色葡萄球菌,其效果甚至优于一些经典抗生素<sup>[35-36]</sup>。但在组蛋白杀灭病原体的同时,其在血液中的浓度被认为与脓毒症病死率呈正相关,并且纯化的组蛋白可以直接对心、肺等脏器造成损伤,也介导了强烈的炎性级联反应,促进凝血反应,而尚没有特定靶点或者药物可以及时阻断这一系列反应,对脓症患者来说,凶险的免疫抑制会不可避免的发生,这是致命的<sup>[33-37]</sup>。

**2.2 NETs 与脓毒症凝血功能障碍** 脓毒症可诱发全身凝血系统激活,最终导致严重的凝血功能障碍,在脓毒症的初期,炎性因子大量释放进入外周循环促使机体进入一种高凝状态,在这种状态下与凝血相关物质将会被大量消耗,所以在接下来的疾病进程中,患者将处于一种异常的病理性低凝状态,并在下一个阶段出现继发性纤溶亢进<sup>[38]</sup>。而 NETs 在这一过程中主要起到促凝作用,它会增加血小板黏附、活化和聚集的程度,促使血小板血栓形成,这一过程本身是一种人体防御机制,它的作用在于可以将病原体隔离在一个相对固定的区域内并进行直接的杀伤,但这一机制同时也可能会导致 DIC 的发生几率增加<sup>[39]</sup>。也有研究表明,另一种模式也会增加血栓的生成,以往的实验中,NETs 的各个组成成分已经被证明可以激活凝血系统,McDonald 等<sup>[40]</sup>则在小鼠的脓毒症模型中观测到了对于 NETs、血小板、凝血酶之间相互作用的一条轴线,血小板血栓的空间位置和 NETs 空间位置有明显关联性,NETs 的增加促进了小鼠血管内凝血的发展。另一项研究中则证实<sup>[41]</sup>革兰阴性菌释放的脂多糖可以快速的激活血小板,并诱导中性粒细胞迁移到感染部位,并通过与血小板的相互作用形成聚集体。LPS 激活中性粒细胞,释放 NETs,并在 TF 的作用下,形成血小板血栓,并破坏血管内皮。

**2.3 NETs 在脓毒症中造成血管内皮损伤** 内皮细胞是血管与组织间的屏障,对感染起到了防御作用,血管内皮通透性升高被认为会加重脓毒症炎性反应与免疫反应。关于 NETs 是如何调节血管内皮通透性的,目前的研究仍处于早期阶段,仅对其具体的影响和可能的机制进行探讨<sup>[42]</sup>。研究表明,肽基精氨酸脱亚胺酶 4(PAD4)直接干预 NETs 的生成,通过这种途径来抑制 NETs,可以明显地降低脓毒症小鼠的肺损伤程度和肺血管通透性<sup>[43]</sup>。有研究证明,NETs 的组成成分之一——瓜氨酸化组蛋白 3 通过破坏细胞间的黏附连接而导致微血管的渗漏,使血管内皮功能出现障碍,并增加了白蛋白渗出<sup>[44-45]</sup>。在另一些研究中,NETs 当中富含的 NE 和基质金属蛋白酶等也会破坏内皮细胞的连接,会进一步增加其渗透性<sup>[46]</sup>。在健康献血者的血液中进行试验,可以观察到随着血管内皮细胞和 NETs 接触时间的延长,血管内皮细胞的损伤程度明显加重,并且在更早的试验中脓症患者血液中也观察到了类似的现象<sup>[47-49]</sup>。

## 3 干预 NETs 来治疗脓毒症

cfDNA 被报道可以作为感染性疾病的敏感性临床检测指标<sup>[28]</sup>。Dawulieti 等<sup>[50]</sup>发现脓毒症的促炎反应是被 cfDNA 影响的,它可能是通过第三代聚酰胺-胺树状大分子(PAMAM-G3)来调节的,该项研究中证实,PAMAM-G3 在体外和 CLP 小鼠模型

中都可以阻断 Toll 样受体 9 (TLR9) 活化,这是一种可以清除促炎物质的聚合物,可以显著地降低脓毒症患者肿瘤坏死因子  $\alpha$  水平,所以 PAMAM-G3 可能具有对脓毒症的治疗潜力<sup>[51]</sup>。

Toll 样受体 4 (TLR4) 是脓毒症的经典通路,它存在于血小板中,并可以直接诱导 NETs 的生成,而通过抑制 TLR4 的手段进行干预,可以改善脓毒症患者的预后<sup>[52]</sup>,这可能是治疗脓毒症的潜在靶点。对 TLR4 的干预可以影响早期脓毒症中的炎症级联反应<sup>[53]</sup>,但是对其彻底阻断也有可能就会导致机体对内毒素的免疫反应完全失灵,所以笔者认为对其在临床中的应用应采取谨慎态度。

PAD4 可以影响 NETs 的形成,敲除 PAD4 基因的脓毒症小鼠模型抑制了 NETs 的生成,存活率提高,器官功能障碍程度降低<sup>[54-55]</sup>。另有研究则证实应用 PAD4 抑制剂既可以影响小鼠中性粒细胞中的整合素相互作用蛋白-3 (kindlin-3),又可以抑制由 NETs 引起的免疫血栓形成<sup>[56]</sup>。因此,PAD4 可能是抑制 NETs 和减少血栓生成的治疗靶点。这也是在脓毒症的治疗过程中比较受到关注的内容。

NLRP3 炎性小体(一种检测致病微生物和应激源的复合蛋白)与白介素-1 $\beta$  之间存在交互作用,即 NLRP3 炎性小体可以激活 IL-1 $\beta$ ,反之亦然<sup>[57]</sup>。而白介素-1 $\beta$  是 NETs 的关键诱导因子,则可以认为干预 NLRP3 炎性小体也可以干预 NETs 的水平,进而实现对脓毒症的治疗。格列本脲原本是治疗糖尿病的一种药物,但是在研究中发现其可以阻断 NLRP3 炎性小体的激活,但在临床研究发现其抑制 NLRP3 炎性小体激活所需剂量过高,会造成较为严重的低血糖<sup>[58]</sup>;但格列本脲的一种中间底物——16673-34-0,既可以阻断 NLRP3 炎性小体又不会造成低血糖,它可能会成为一种潜在的替代药物<sup>[59]</sup>。另一种潜在的药物是秋水仙碱,它可以抑制 P2X7 ATP 受体上的 NLRP3 炎性小体,并对中性粒细胞的多项功能有调控作用<sup>[60]</sup>,这也对脓毒症的治疗提供了可能的方向。

而针对前文中提到的组蛋白与 NE 等成分,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)可以阻断 NETs 的生成<sup>[61]</sup>,NE 抑制剂则已被证实脓毒症急性肺损伤和弥漫性血管内溶血方面是非常有潜力的<sup>[62]</sup>。

#### 4 总结与展望

综上所述,NETs 在脓毒症病理过程中起到了重要的作用,其对病原体进行杀伤,且其杀伤病原体的效果可能强于一些典型抗菌类药物。但是也不可以放任 NETs 无限增长,因为在人体中 NETs 数量的增加也会显著增加血管中免疫血栓的形成,增加 DIC 的风险,且会造成血管内皮损伤,这都会升高脓毒症患者病死率。所以对于通过干预 NETs 的生成和调节其表达来治疗脓毒症的方法应该是谨慎的,但也是非常值得深入探讨的。目前来看,根据对患者指标的衡量来控制 NETs 的水平可能是较适合的治疗方式,这也意味着对能够敏感体现 NETs 水平的有特异性且便于测量的生物标志物将会是非常有价值的;而对 NETs 影响血管内皮功能的研究可能是未来的研究方向。并且在其他领域的研究中发现,除中性粒细胞外,嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞、巨噬细胞均被观察到可以释放胞

外诱捕网,所以认为胞外诱捕网可能是一种免疫相关细胞的特殊机制,但是其具体的功能和可能的干预措施均有待研究。相信通过对 NETs 研究的深入,并合理干预 NETs 的水平,可以使患者获得健康。

#### 参考文献

- [1] Singer M, Deuschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8):801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014) [J]. 中华内科杂志, 2015, 54(6):557-581. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2015.06.021.
- [3] Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and trends of sepsis in US hospitals using clinical vs claims data, 2009—2014 [J]. JAMA, 2017, 318(13):1241-1249. DOI: 10.1001/jama.2017.13836.
- [4] Cheng Z, Abrams ST, Toh J, et al. The critical roles and mechanisms of immune cell death in sepsis [J]. Front Immunol, 2020, 11:1918. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01918.
- [5] Brostjan C, Oehler R. The role of neutrophil death in chronic inflammation and cancer [J]. Cell Death Discov, 2020, 6:26. DOI: 10.1038/s41420-020-0255-6.
- [6] Sonogo F, Castanheira FV, Ferreira RG, et al. Paradoxical roles of the Neutrophil in sepsis: Protective and Deleterious [J]. Front Immunol, 2016, 7:155. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00155.
- [7] Huang H, Zhang H, Onuma AE, et al. Neutrophil elastase and neutrophil extracellular traps in the tumor microenvironment [J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1263:13-23. DOI: 10.1007/978-3-030-44518-8\_2.
- [8] De Buhr N, Von Köckritz-Blickwede M. Detection, visualization, and quantification of neutrophil extracellular traps (NETs) and NET markers [J]. Methods Mol Biol, 2020, 2087:425-442. DOI: 10.1007/978-1-0716-0154-9\_25.
- [9] Varricchi G, Modestino L, Poto R, et al. Neutrophil extracellular traps and neutrophil-derived mediators as possible biomarkers in bronchial asthma [J]. Clin Exp Med, 2022, 22(2):285-300. DOI: 10.1007/s10238-021-00750-8.
- [10] Zhang H, Zhou Y, Qu M, et al. Tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps promote immunothrombosis and disease progression in sepsis-induced lung injury [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11:677902. DOI: 10.3389/fcimb.2021.677902.
- [11] Becker RC, Phillip Owens A 3rd, Sadayappan S. The potential roles of von Willebrand factor and neutrophil extracellular traps in the natural history of hypertrophic and hypertensive cardiomyopathy [J]. Thromb Res, 2020, 192:78-87. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.05.003.
- [12] Kapoor S, Opneja A, Nayak L. The role of neutrophils in thrombosis [J]. Thromb Res, 2018, 170:87-96. DOI: 10.1016/j.thromres.2018.08.005.
- [13] 周琦, 孙慧娟, 刘树民. 中性粒细胞胞外诱捕网的形成及其在自身免疫性疾病中的作用 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21):5568-5575. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20210726.702.
- [14] Bhattacharya M, Berends ETM, Chan R, et al. Staphylococcus aureus biofilms release leukocidins to elicit extracellular trap formation and evade neutrophil-mediated killing [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(28):7416-7421. DOI: 10.1073/pnas.1721949115.

- [15] Alasmari SZ. In vivo imaging of neutrophil extracellular traps (NETs): Visualization methods and outcomes[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 4192745. DOI:10.1155/2020/4192745.
- [16] Bonaventura A, Liberale L, Carbone F, et al. The pathophysiological role of neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases[J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118 ( 1 ) : 6-27. DOI: 10.1160/TH17-09-0630.
- [17] Gocho T, Mori H, Islam MM, et al. Removal of circulating neutrophil extracellular trap components with an immobilized polymyxin B filter: A preliminary study[J]. *Shock*, 2020, 54(1):44-49. DOI:10.1097/SHK.0000000000001476.
- [18] Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease[J]. *Nat Med*, 2016, 22 ( 2 ) : 146-153. DOI:10.1038/nm.4027.
- [19] 曹维嘉, 邵子玮, 段孟洮, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网 (NETs) 及其在相关炎症疾病的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35 ( 5 ) : 635-638. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2019.05.025.
- [20] Reyes-García AML, Aroca A, Arroyo AB, et al. Neutrophil extracellular trap components increase the expression of coagulation factors[J]. *Biomed Rep*, 2019, 10(3):195-201. DOI:10.3892/br.2019.1187.
- [21] Ma Y, Yang X, Chatterjee V, et al. Role of neutrophil extracellular traps and vesicles in regulating vascular endothelial permeability[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:1037. DOI:10.3389/fimmu.2019.01037.
- [22] Mostafa MN, Osama M. The implications of neutrophil extracellular traps in the pathophysiology of atherosclerosis and atherothrombosis[J]. *Exp Biol Med ( Maywood )*, 2020, 245 ( 15 ) : 1376-1384. DOI: 10.1177/1535370220945989.
- [23] Frangou E, Vassilopoulos D, Boletis J, et al. An emerging role of neutrophils and NETosis in chronic inflammation and fibrosis in systemic lupus erythematosus ( SLE ) and ANCA-associated vasculitides ( AAV ): Implications for the pathogenesis and treatment[J]. *Autoimmun Rev*, 2019, 18 ( 8 ) : 751-760. DOI: 10.1016/j.autrev.2019.06.011.
- [24] De Vries JJ, Hoppenbrouwers T, Martinez-Torres C, et al. Effects of diabetes mellitus on fibrin clot structure and mechanics in a model of acute neutrophil extracellular traps ( NETs ) formation[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19):7107. DOI:10.3390/ijms21197107.
- [25] Manda-Handzlik A, Demkow U. The brain entangled: The contribution of neutrophil extracellular traps to the diseases of the central nervous system[J]. *Cells*, 2019, 8(12):1477. DOI:10.3390/cells8121477.
- [26] Masucci MT, Minopoli M, Del Vecchio S, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps ( NETs ) in tumor progression and metastasis[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1749. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01749.
- [27] Camicia G, Pozner R, de Larranaga G. Neutrophil extracellular traps in sepsis [ J ]. *Shock*, 2014, 42 ( 4 ) : 286-294. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000221.
- [28] Halverson TW, Wilton M, Poon KK, et al. DNA is an antimicrobial component of neutrophil extracellular traps[J]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(1):e1004593. DOI:10.1371/journal.ppat.1004593.
- [29] Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18 ( 2 ) : 134-147. DOI: 10.1038/nri.2017.105.
- [30] Thanabalasurair A, Scott BNV, Peiseler M, et al. Neutrophil extracellular traps confine *Pseudomonas aeruginosa* ocular biofilms and restrict brain invasion[J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25 ( 4 ) : 526-536, e4. DOI:10.1016/j.chom.2019.02.007.
- [31] Angeletti A, Volpi S, Bruschi M, et al. Neutrophil extracellular traps-DNase balance and autoimmunity [ J ]. *Cells*, 2021, 10 ( 10 ) : 2667. DOI:10.3390/cells10102667.
- [32] Jackson Chornenki NL, Coke R, Kwong AC, et al. Comparison of the source and prognostic utility of cfDNA in trauma and sepsis [ J ]. *Intensive Care Med Exp*, 2019, 7 ( 1 ) : 29. DOI:10.1186/s40635-019-0251-4.
- [33] Doolin T, Gross S, Siryaporn A. Physical mechanisms of bacterial killing by histones[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1267:117-133. DOI: 10.1007/978-3-030-46886-6\_7.
- [34] Thiam HR, Wong SL, Wagner DD, et al. Cellular mechanisms of NETosis[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2020, 36: 191-218. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-020520-111016.
- [35] Sol A, Skvirsky Y, Blotnick E, et al. Actin and DNA protect histones from degradation by bacterial proteases but inhibit their antimicrobial activity[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1248. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01248.
- [36] Wang C, Wei Z, Han Z, et al. Neutrophil extracellular traps promote cadmium chloride-induced lung injury in mice [ J ]. *Environ Pollut*, 2019, 254 ( Pt A ) : 113021. DOI:10.1016/j.envpol.2019.113021.
- [37] Lu NF, Jiang L, Zhu B, et al. Elevated plasma histone H4 levels are an important risk factor in the development of septic cardiomyopathy [ J ]. *Balkan Med J*, 2020, 37 ( 2 ) : 72-78. DOI:10.4274/balkanmedj.galenos.
- [38] Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction [ J ]. *Thromb Res*, 2012, 129 ( 3 ) : 290-295. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.10.013.
- [39] Martinod K, Deppermann C. Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease [ J ]. *Platelets*, 2021, 32 ( 3 ) : 314-324. DOI:10.1080/09537104.2020.1817360.
- [40] McDonald B, Davis RP, Kim SJ, et al. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice [ J ]. *Blood*, 2017, 129 ( 10 ) : 1357-1367. DOI: 10.1182/blood-2016-09-741298.
- [41] Chen Z, Zhang H, Qu M, et al. Review: The emerging role of Neutrophil extracellular traps in sepsis and sepsis-associated thrombosis [ J ]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 653228. DOI:10.3389/fcimb.2021.653228.
- [42] Ma Y, Yang X, Chatterjee V, et al. Role of Neutrophil extracellular traps and vesicles in regulating vascular endothelial permeability [ J ]. *Front Immunol*, 2019, 10:1037. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01037.
- [43] Liang Y, Pan B, Alam HB, et al. Inhibition of peptidylarginine deiminase alleviates LPS-induced pulmonary dysfunction and improves survival in a mouse model of lethal endotoxemia [ J ]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 833:432-440. DOI:10.1016/j.ejphar.2018.07.005.
- [44] Meegan JE, Yang X, Beard RS Jr, et al. Citrullinated histone 3 causes endothelial barrier dysfunction [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*,

- 2018,503(3):1498-1502. DOI:10.1016/j.bbr.2018.07.069.
- [45] Pieterse E, Rother N, Garsen M, et al. Neutrophil extracellular traps drive endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(7):1371-1379. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309002.
- [46] Chen J, Zhu Z, Li Q, et al. Neutrophils enhance cutaneous vascular dilation and permeability to aggravate psoriasis by releasing matrix metalloproteinase 9 [J]. *J Invest Dermatol*, 2021, 141(4):787-799. DOI:10.1016/j.jid.2020.07.028.
- [47] Gordon MH, Chauvin A, Boisvert FM, et al. Proteolytic processing of the epithelial adherens junction molecule E-cadherin by Neutrophil elastase generates short peptides with novel wound-healing bioactivity [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2019, 7(2):483-486, e8. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.10.012.
- [48] Gupta AK, Joshi MB, Philippova M, et al. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(14):3193-3197. DOI:10.1016/j.febslet.2010.06.006.
- [49] Camargo JF, Ahmed AA, Lindner MS, et al. Next-generation sequencing of microbial cell-free DNA for rapid noninvasive diagnosis of infectious diseases in immunocompromised hosts [J]. *F1000Res*, 2019, 8:1194. DOI:10.12688/f1000research.19766.4.
- [50] Dawulieti J, Sun M, Zhao Y, et al. Treatment of severe sepsis with nanoparticulate cell-free DNA scavengers [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(22):eaay7148. DOI:10.1126/sciadv.aay7148.
- [51] Eteshola EOU, Landa K, Rempel RE, et al. Breast cancer-derived DAMPs enhance cell invasion and metastasis, while nucleic acid scavengers mitigate these effects [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26:1-10. DOI:10.1016/j.omtn.2021.06.016.
- [52] Schattner M. Platelet TLR4 at the crossroads of thrombosis and the innate immune response [J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(5):873-880. DOI:10.1002/JLB.MR0618-213R.
- [53] Huang W, Huang L, Wen M, et al. Long noncoding RNA DILC is involved in sepsis by modulating the signaling pathway of the interleukin6/signal transducer and activator of transcription 3/Tolllike receptor 4 axis [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6):5775-5783. DOI:10.3892/mmr.2018.9559.
- [54] Franck G, Mawson TL, Folco EJ, et al. Roles of PAD4 and NETosis in experimental atherosclerosis and arterial injury: Implications for Superficial Erosion [J]. *Circ Res*, 2018, 123(1):33-42. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.117.312494.
- [55] Biron BM, Chung CS, Chen Y, et al. PAD4 deficiency leads to decreased organ dysfunction and improved survival in a dual insult model of hemorrhagic shock and sepsis [J]. *J Immunol*, 2018, 200(5):1817-1828. DOI:10.4049/jimmunol.1700639.
- [56] Yan Y, Yang H, Hu X, et al. Kindlin-3 in platelets and myeloid cells differentially regulates deep vein thrombosis in mice [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(17):6951-6959. DOI: 10.18632/aging.102229.
- [57] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(8):477-489. DOI:10.1038/s41577-019-0165-0.
- [58] Marchetti C, Chojnacki J, Toldo S, et al. A novel pharmacologic inhibitor of the NLRP3 inflammasome limits myocardial injury after ischemia-reperfusion in the mouse [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 63(4):316-322. DOI:10.1097/FJC.0000000000000053.
- [59] Zahid A, Li B, Kombe AJK, et al. Pharmacological inhibitors of the NLRP3 inflammasome [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:2538. DOI:10.3389/fimmu.2019.02538.
- [60] Leung YY, Yao Hui LL, Kraus VB. Colchicine—update on mechanisms of action and therapeutic uses [J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2015, 45(3):341-350. DOI:10.1016/j.semarthrit.2015.06.013.
- [61] Hamam HJ, Palaniyar N. Post-translational modifications in NETosis and NETs-mediated diseases [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(8):369. DOI:10.3390/biom9080369.
- [62] Sahebnaasagh A, Saghafi F, Safdari M, et al. Neutrophil elastase inhibitor (sivelestat) may be a promising therapeutic option for management of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome or disseminated intravascular coagulation in COVID-19 [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2020, 45(6):1515-1519. DOI:10.1111/jcpt.13251.

(收稿日期:2022-06-23)

作者 · 编者 · 读者

## 关于对冒用我刊名义进行非法征稿活动的郑重声明

近期发现网上有冒用我刊名义进行非法征稿活动的情况,我刊为此郑重声明如下:(1)疑难病杂志社地址设在石家庄,我社从未委托任何代理机构和个人开展组稿、征稿活动。(2)根据原国家新闻出版广电总局的有关规定,一种期刊只能在其出版地设立一个编辑部,其他任何冒用本刊名义,在网上进行征稿及组稿的活动,均属非法行为。(3)作者来稿,请直接通过本刊网站或邮箱发至本刊编辑部,本刊将尽快给予处理,谨防上当受骗。

电话:0311-85901735

E-mail: ynbzz@163.com

网址: http://www.ynbzz.com

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.020

综 述

# 盆腔器官脱垂术后新发压力性尿失禁研究现状

王东升,郭佳恒,段永飞综述 于磊审校

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82002686)

作者单位:710021 西安,西安医学院研究生院(王东升、郭佳恒);710032 西安,空军军医大学第一附属医院泌尿外科  
(王东升、郭佳恒、段永飞、于磊)

通信作者:于磊,E-mail:yulei1234abcd@163.com

**【摘要】** 盆腔器官脱垂(POP)手术修复后出现新发压力性尿失禁(SUI)的患者越来越多,对患者生活质量造成影响。而隐匿性 SUI 与新发 SUI 的发生紧密相关,如果术前不能及时诊断,不仅产生不必要的纠纷,还会增加术后新发 SUI 的风险。术前压力试验筛查隐匿性 SUI,同时预防性行抗尿失禁手术虽然降低了新发 SUI 的发生,但增加了患者负担及不良事件发生,而对于脱垂修复是否同期联合抗尿失禁手术一直以来存在争议。现就诊疗过程中常被忽略的隐匿性 SUI 及 POP 术后新发 SUI 的研究现状进行综述,旨在为 POP 和 SUI 患者的诊疗提供参考。

**【关键词】** 新发压力性尿失禁;隐匿性压力性尿失禁;盆腔器官脱垂;压力性尿失禁

**【中图分类号】** R694.+.54 **【文献标识码】** A

**Research status of new stress urinary incontinence after pelvic organ prolapse surgery** Wang Dongsheng\*, Guo Jiaheng, Duan Yongfei, Yu Lei. \* School of Graduate, Xi'an Medical University, Shaanxi Province, Xi'an 710021, China

Corresponding author: Yu Lei, E-mail: yulei1234abcd@163.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82002686)

**【Abstract】** There are more and more patients with new stress urinary incontinence (SUI) after pelvic organ prolapse (POP) surgical repair, which affects the quality of life of patients. The occult SUI is closely related to the occurrence of new SUI. If it cannot be diagnosed in time before surgery, it will not only cause unnecessary disputes, but also increase the risk of new SUI after surgery. Preoperative stress test was used to screen occult SUI, and preventive anti incontinence surgery reduced the incidence of new SUI, but increased the burden of patients and adverse events. Whether prolapse repair should be combined with anti-incontinence surgery has always been controversial. This article reviews the research status of occult SUI and new SUI after POP, which are often ignored in the diagnosis and treatment process, to provide reference for the diagnosis and treatment of POP and SUI patients.

**【Key words】** De novo stress urinary incontinence; Occult stress urinary incontinence; Pelvic organ prolapse; Stress urinary incontinence

盆腔器官脱垂(pelvic organ prolapse,POP)和压力性尿失禁(stress urinary incontinence,SUI)是常见的女性盆底功能障碍性疾病,严重影响其身心健康。据报道,高达 54% 的 POP 患者合并 SUI<sup>[1]</sup>,在临床诊疗中发现部分患者在 POP 修复后 SUI 好转或消失,但有 25% 重度 POP 患者在盆底重建术后出现了新发压力性尿失禁(de novo SUI)<sup>[2]</sup>。这类患者术前常无 SUI 或存在隐匿性压力性尿失禁(occult stress urinary incontinence,OSUI),而 OSUI 是新发 SUI 的重要危险因素,OSUI 的患者在 POP 被修复后出现新发 SUI 的风险更高<sup>[3]</sup>,虽然预防性抗尿失禁手术可以降低新发 SUI 的风险,但关于脱垂手术是否同期行抗尿失禁手术仍然存在争议,说法不一<sup>[4]</sup>。因此选择最佳的手术时间和手术方式显得尤为重要,术前筛查 OSUI,提前预测新发 SUI 风险的患者,脱垂修复的同时行抗尿失禁手术可以降低新发 SUI

的发病率,明显改善患者生活质量,同时减少不必要的纠纷。本文就 OSUI 及新发 SUI 的发病情况、检查及治疗等方面予以综述。

## 1 隐匿性压力性尿失禁

1.1 发病率 OSUI 是指无 SUI 症状的 POP 患者,将盆腔器官脱垂还纳后行 Valsalva 或咳嗽等增加腹压动作时出现的尿失禁症状。研究表明,当膀胱充盈液体 300 ml 时,采用子宫托、徒手复位、卵圆钳、棉纱布和窥阴器以达到将脱垂组织还纳的目的后,OSUI 的检出率分别为 6%、16%、21%、20% 和 30%<sup>[5]</sup>。根据阴道固定术及复位术(colpopexy and urinary reduction efforts, CARE)的研究结果,36% 的 OSUI 患者在术前尿动力学检查中被发现,70%~80% 重度 POP 患者有可能存在 OSUI<sup>[6]</sup>。据报道,OSUI 发病率 6%~83%<sup>[7]</sup>,造成差异较大的原因主要为没

有统一的诊断标准和检出方法。

1.2 机制 目前防止 OSUI 的发病机制尚不明确,可能与 POP 导致尿道梗阻,或与尿道括约肌收缩功能障碍有关<sup>[8]</sup>。1983 年,Richardson 首次提出了隐匿性尿失禁的概念,同时解释了 POP 掩盖 OSUI 的机制。即重度脱垂会增加尿道闭合压达到阻塞或压迫尿道的目的,一旦脱垂纠正后,患者的尿道闭合压显著降低,漏尿也随之出现<sup>[9-10]</sup>。最近发表的研究结果显示,Ⅲ型膀胱膨出会导致尿道扭转,由于近端尿道扭转和膀胱颈下降,而膀胱后角保持不变,导致了尿道梗阻,进一步解释了上一机制。同时该研究表明,膀胱颈的功能解剖相比脱垂的大小对 OSUI 的发病起更重要的作用<sup>[11]</sup>。

1.3 压力试验 理想状态下在膀胱充盈尿液 300 ml 时咳嗽或 Valsalva 动作行压力试验筛查 OSUI,常用子宫托、手法复位、卵圆钳、棉纱布和窥阴镜等方法复位脱垂。患者体位通常采用截石位,也可采用站立位或坐位。在复位过程中应谨慎操作,否则人为造成膀胱尿道过度拉伸或尿道阻塞。根据 Visco 等<sup>[12]</sup>研究,子宫托放置是预测 OSUI 敏感度最低的方法之一,其中子宫托的敏感度为 5%,但特异度最高(96%);而棉纱布(79%)及窥阴器(50%)阳性预测值较高。因此,临床常用棉纱布复位脱垂,因其方便、经济,且效果及预测准确度优于其他复位方法。子宫托检出率和敏感度低的原因是放置子宫托增加了最大尿道闭合压和功能性尿道长度,从而增加了尿道对排尿的抵抗作用<sup>[13]</sup>。但 Chughtai 等<sup>[14]</sup>研究显示,仅通过 1 周非卧床子宫托试验就可以发现 20% OSUI,是一种近似通过脱垂手术获得的解剖结果,而且这种方法在门诊上简单、有效。但不管采用何种方式复位脱垂都不能完全准确预测 OSUI,因为它们都无法完全模拟脱垂术后的解剖学状态。因此,建议在压力试验时联合 2 种以上的方法筛查以提高准确性,为临床诊断提供建议。

## 2 新发压力性尿失禁

2.1 流行病学 新发压力性尿失禁是指术前无尿失禁症状,POP 修复后出现的 SUI 症状。据报道,新发 SUI 的发病率可达 16%~51%。根据术前是否发现 OSUI 决定了术后新发 SUI 发病率的不同。Alas 等<sup>[15]</sup>报道,对术前检查无 OSUI 的 274 例患者进行 POP 手术,结果发现术后新发 SUI 的发病率只有 9.9%。而患有 OSUI 的女性在 POP 术后有 54% 的患者出现新发 SUI<sup>[16]</sup>。因此,术前无 OSUI 的 POP 患者在脱垂修复后发生新发 SUI 的风险相对存在 OSUI 的患者较低。修复脱垂术式不同也导致新发 SUI 发病率不同。据统计,单独行腹腔镜骶骨固定术治疗 POP 患者术后新发 SUI 的发生率为 7.5%~33.0%<sup>[17]</sup>。根据 Kusuda 等<sup>[18]</sup>报道,机器人辅助骶骨固定术与经阴道网片手术对比,虽然两者术后并发症并无明显差异,但新发 SUI 发病率差异较大(5.4%和 25.6%)。可见新发 SUI 的发病率波动很大,主要与是否合并 OSUI、脱垂修复的术式及预防性抗尿失禁手术有关。

POP 伴随 SUI 的高发病率常由多个流行病学风险导致。研究表明,高龄、产次增加和家族史是两者主要的共同危险因素<sup>[6]</sup>。与之相关新发 SUI 的流行病学研究增多,有研究报道,

脱垂术后新发 SUI 的主要危险因素:年龄较大(>50 岁),子宫托试验阳性、既往盆腔手术史、肥胖、绝经、中重度尿道梗阻和糖尿病<sup>[19]</sup>。国内有研究报道,糖尿病史、巨大胎儿分娩史、盆腔手术史、盆底重建手术方式是新发 SUI 的危险因素<sup>[20]</sup>。而最新的一项关于 POP 术后新发尿失禁的危险因素系统评价显示,子宫托检测阳性、年龄>50 岁、最大尿道闭合压<60 cmH<sub>2</sub>O 是 POP 术后新发 SUI 最重要的危险因素<sup>[19]</sup>。因此,临床诊疗中应充分考虑可能导致新发 SUI 的危险因素,在手术谈话中告知患者相应风险,为手术干预提供建议,及时采取预防措施减少新发 SUI 的发生。

2.2 预测因子 在脱垂手术的同时行预防性抗尿失禁手术,可以降低新发 SUI 的发生,但同样会增加并发症的发生<sup>[21]</sup>。因此,对 POP 患者术前进行预测,可以选择性地对高度怀疑的新发 SUI 患者行预防性抗尿失禁手术。近年来,新发 SUI 预测因子的研究增多,各种方法层出不穷。据报道,POP-Q 分度中 Aa 指示点>1.5 cm 和 Ba 指示点>2.5 cm 在一定程度上可以预测新发 SUI 的发生<sup>[22]</sup>。有学者构建了 POP 术后新发 SUI 的预测模型,其包含 7 个预测因子:年龄、胎次、BMI、术前压力测试阳性、抗尿失禁手术、急迫性尿失禁、糖尿病,此模型预测效果优于术前压力测试和专家预测等<sup>[23]</sup>,而有学者对此模型进行外部验证,其在经阴道脱垂手术后预测新发 SUI 方面表现较差,还需前瞻性研究并结合其他预测因子来提高预测能力<sup>[24]</sup>。Kuribayashi 等<sup>[25]</sup>报道,中度及以上的尿道梗阻是经阴道植入网片治疗 POP 术后新发 SUI 的独立预测因子,其敏感度和阳性预测值分别为 29% 和 70%,但此研究入组患者较少且仅随访 6 个月,敏感度和阳性预测值较低。最近有学者研究表明,低最大尿道闭合压(<40 cmH<sub>2</sub>O)是腹腔镜骶骨固定术后新发 SUI 的预测因素,且在老年患者(≥70 岁)中更加普遍<sup>[17]</sup>。总之,关于预测因子的研究大多数存在局限性,没有标准的预测模型被广泛应用于临床,还需更多研究进一步验证,期待可靠性较高的预测方法为抗尿失禁手术提供指导意见。

2.3 尿动力学检查 尿动力学检查(urodynamics,UDS)在筛查 OSUI 或预测术后新发 SUI 中的作用尚不明确。UDS 包括最大膀胱容量、腹压漏尿点压、最大逼尿肌压力、残余尿、最大尿流率等,同时还可以区别膀胱出口梗阻和膀胱逼尿肌功能障碍<sup>[26]</sup>。Sierra 等<sup>[27]</sup>报道,UDS 有助于评估行经腹腔镜骶骨固定术是否同期需要行尿失禁手术,回顾性分析 441 例接受经腹腔镜骶骨固定术的患者,一组术前 UDS 诊断为 SUI 204 例,其中包括 OSUI 患者,接受骶骨固定术联合尿失禁手术;另一组 UDS 未诊断 SUI 的患者 237 例,只接受骶骨固定术,结果显示,2 组术后总 SUI 发生率较低且相近(13.4%和 13.3%)。说明 UDS 在指导脱垂手术的手术方式选择上有一定的意义。美国泌尿学协会(AUA)建议重度 POP 患者进行术前 UDS,并进行脱垂复位,以评估是否存在隐匿性尿失禁<sup>[28]</sup>。然而,有研究对比使用 UDS 检查和压力试验以评估 OSUI 的效果,结果显示,压力试验和 UDS 检测 OSUI 的敏感度分别为 88.9% 和 87.3%。因此,两者在识别 OSUI 上的价值相同,没有必要专门使用 UDS 鉴别 OSUI<sup>[29]</sup>。同时,一项 630 例 SUI 患者行 UDS 检查的随机试验

表明,术前 UDS 检查与否对于 SUI 患者的治疗成功率没有影响,已作为反对常规使用 UDS 单独评估尿失禁的证据<sup>[30]</sup>。

目前关于 UDS 预测术后新发 SUI 的文献存在争议。因此,不推荐将 UDS 作为所有 POP 患者术前常规检查,因其增加患者不必要的负担,并且有一定几率的并发症,如排尿困难、尿路感染等。但 UDS 可以帮助临床医师对部分患者提供决策,OSUI 患者在 POP 修复后出现新发 SUI 的风险较高,因此,计划同期行预防性尿失禁手术的患者可行 UDS 检查<sup>[26]</sup>。对患有神经系统疾病、膀胱顺应性受损等危险因素的患者,也需行 UDS 检查<sup>[31]</sup>。但术前 UDS 检查对二期行抗尿失禁手术患者的新发 SUI 能否准确预测,还有待进一步研究。

**2.4 手术选择 脱垂手术联合预防性抗尿失禁手术**这一问题,一直存在争议。一部分观点认为,如果对所有脱垂患者行预防性抗尿失禁手术,可以降低术后新发 SUI 的风险,但存在过度治疗可能,而且会导致排尿功能障碍等风险。另一部分观点认为,分期手术存在发生后新发 SUI 的风险,加重医疗矛盾等。因此,同步或分期手术仍然没有统一的判断标准,未达成共识。

**Burch 阴道悬吊术:**根据 CARE 的研究表明,入组 322 例术前无 SUI 而选择骶骨固定术治疗 POP 的女性患者,随机分为 Burch 术组和对照组,结果显示,随访 3 个月 Burch 术组发生新发 SUI 风险为 23.8%,而对照组术后新发 SUI 为 44.1%,而 2 组急性尿失禁的发生率差异不大。因此,经腹骶骨固定术同时进行 Burch 阴道悬吊术可显著降低新发 SUI 的风险<sup>[32]</sup>。此后,研究者对上述试验患者进行 2 年随访,结果显示,预防性 Burch 阴道悬吊术的优势 2 年后仍然存在。然而 CARE 研究的 7 年随访结果表明,骶骨固定术联合 Burch 术并未提供显著的临床效益<sup>[33]</sup>。同时另一项骶骨固定术的回顾性研究表明,对入组 47 例患者进行 Burch 阴道悬吊术,其中 33 例(70%)无尿失禁,而这 33 例中有 19 例(40%)为隐匿性尿失禁,其余 14 例(30%)存在明显的尿失禁症状,结果显示,术后平均随访 34 个月中只有 3 例(6.4%)出现新发 SUI<sup>[34]</sup>。因此,这些研究表明行骶骨固定术的同时预防性行 Burch 术在短期内能降低新发 SUI 发病率。但 Costantini 等<sup>[35]</sup>的研究结果与此结论相反,入组 66 例术前无 SUI 的重度 POP 患者,行骶骨固定术时加用 Burch 阴道悬吊术,术后平均随访 39.5 个月,结果显示 Burch 组新发 SUI 发病率高达 35%。此研究结果与上述研究结果矛盾,可能是样本量、随访时间、入组标准不同等因素造成的。根据另一项研究结果,腹腔镜骶骨固定术同时加用 Burch 阴道悬吊术有增加直肠膨出的风险<sup>[36]</sup>。近期的一篇 Meta 分析中,研究者对 2 717 例患者进行了 19 项随机对照试验,评估脱垂手术时伴或不伴 SUI 手术的影响,结果显示,在接受骶骨固定术的患者中,联合 Burch 阴道悬吊术的益处尚不明确[ $RR(95\% CI) = 1.31(0.19 \sim 9.01)$ ]<sup>[37]</sup>。基于以上研究,经腹骶骨固定术联合 Burch 术对降低新发 SUI 的作用存在争议,且有相应的风险存在。

**尿道中段悬吊术 (midurethral sling, MUS):**近年来,随着 POP 和 SUI 手术治疗的研究越来越多,MUS 也已经成为治疗

SUI 的金标准,并取代了膀胱颈悬吊术<sup>[38-39]</sup>。Wei 等<sup>[21]</sup>进行一项 OPUS 试验,入组 337 例 POP-Q 分度  $\geq$  II 度且无 SUI 的脱垂患者,并且接受经阴道脱垂修补,随机分为耻骨后尿道中段悬吊术组(TVT)和未行 TVT 手术组,结果显示,术后 3 个月 TVT 组和对照组的 SUI 发生率分别为 23.6% 和 49.4%,虽然术后 12 个月对新发 SUI 的作用存在(27.3% 和 43.0%),但其导致了不良事件发生,与对照组相比,TVT 组膀胱穿孔(6.7% vs. 0)、膀胱排空不全(3.7% vs. 0)、严重出血(3.1% vs. 0)、尿路感染(31.0% vs. 18.3%)发生率均较高。Schierlitz 等<sup>[40]</sup>对存在 OSUI 或无症状尿动力学 SUI 的患者进行多中心随机对照研究,以评估 TVT 手术能否改善 OSUI 或无症状尿动力学 SUI 的尿控效果,结果显示,随访 6 个月 TVT 组术后新发 SUI 发生率为 0,而对照组为 7%。随访 2 年后,TVT 组术后新发 SUI 发生率为 0,而对照组为 9.3%。并且 2 组的生活质量评分均有改善,组间无明显差异。同样 Baessler 等<sup>[37]</sup>的荟萃分析显示,术前有 SUI 的 POP 患者,经阴道修补术同期行 MUS 术时,可以降低术后新发 SUI 的主观发生率[ $RR(95\% CI) = 0.30(0.19 \sim 0.48)$ ],并可能进一步减少抗尿失禁手术的需要[ $RR(95\% CI) = 0.04(< 0.01 \sim 0.74)$ ]。术前存在 OSUI 的患者,预防性 MUS 可以改善 OSUI 术后的主观新发 SUI 发生率,似乎对 OSUI 有利[ $RR(95\% CI) = 0.38(0.26 \sim 0.55)$ ]。术前无 SUI 的 POP 患者,在接受阴道脱垂手术时,预防性 MUS 的益处尚不明确[ $RR(95\% CI) = 0.69(0.47 \sim 1.00)$ ]。总的来说,对所有患者行预防性手术将导致过度治疗的风险,需要合理的选择性手术,对术前存在 OSUI 或者合并 SUI 的 POP 患者,经阴道修补同时行 MUS 手术可以显著降低新发 SUI 的风险,但进行预防性 MUS 手术都应谨慎评估益处和风险,告知患者存在术后并发症可能。

目前用于治疗 SUI 的主要术式为 Burch 术和 MUS 术,前者是通过抬高膀胱颈,以达到恢复膀胱尿道后角来治疗尿失禁;MUS 术包括 TVT 和 TVT-O 术式,不恢复尿道角度和位置,而是通过加强过度活动的尿道中段达到控尿的目的。回顾 2 种术式在治疗新发 SUI 方面的研究,Fusco 等<sup>[41]</sup>的一篇荟萃分析比较了 Burch 和 MUS 术治疗 SUI 的效果,结果显示,接受 MUS 治疗的患者总体治愈率[ $RR(95\% CI) = 0.59(0.45 \sim 0.79)$ ]和客观治愈率[ $RR(95\% CI) = 0.51(0.34 \sim 0.76)$ ]明显高于 Burch 术,TVT 和 TVT-O 治愈率相对较高,但 TVT 导致膀胱穿孔、盆腔血肿、尿路感染、下尿路症状等并发症增加,TVT-O 的风险则相对较小。因此,虽然 Burch 术和 MUS 术都可以降低新发 SUI 风险,但 TVT-O 因其创伤小、操作简单、并发症少且效果显著,已经成为治疗新发 SUI 的标准术式。

**2.5 其他治疗** 近些年,随着人们意识到盆底重建术及尿道中段悬吊术置入网片后可能出现的严重并发症,替代材料的研究增多。Roman 等<sup>[42]</sup>进行了一项治疗 POP 和 SUI 的替代材料的研究,比较了“聚丙烯、聚偏氟乙烯”2 种常用材料和“聚乳酸、聚氨酯网片”2 种替代材料,使用兔子模型,将 4 种材料分别植入动物体内,结果显示,90 d 后聚丙烯和聚偏氟乙烯网片出现持续的慢性炎性反应,而聚乳酸和聚氨酯网片与宿主结合良好,炎性反应降低。在新方法治疗 SUI 方面,干细胞相关研究

出现,尤其以肌源性干细胞治疗 SUI 研究增多。有学者研究表明,通过从 16 例 SUI 患者中提取上臂肌肉来源干细胞,注射入尿道括约肌中,随访 2 年 SUI 治疗成功率为 75%,50% 的患者治愈,25% 的患者病情好转,且少量的干细胞注射也可取得很好的治疗效果<sup>[43]</sup>。同时骨髓间充质干细胞、羊水干细胞、尿源性干细胞等研究也有报道。尽管这些研究结果提供了新的治疗方向,但要全面推广于临床治疗,还需要进一步研究。

### 3 总结和展望

总之,术前无 SUI 症状的 POP 患者行压力试验筛查 OSUI,提前诊断及处理,以降低新发 SUI 的风险。有新发 SUI 风险的需要预防行抗尿失禁手术时可以术前行 UDS 检查,帮助提供决策。在治疗方面,对于高度怀疑的 OSUI 的 POP 患者或者存在 SUI 病史,但随着脱垂加重而消失的患者,建议行同期抗尿失禁手术。而无法预测术后是否出现新发 SUI 的 POP 患者,应准备分期手术,避免过度治疗出现的各种风险。因此,倾向于在脱垂手术时选择性联合抗尿失禁手术,推荐联合 TVT-O 术治疗新发 SUI。临床医师要评估各种可能的风险,比如发生术后新发 SUI 可能、后续尿失禁手术的风险,以及增加手术后患者的接受度等。告知患者风险及益处,根据医生的评估结果和患者的选择偏好,以确保抗尿失禁手术的收益大于其潜在风险,准确制定手术方案。

目前尚无标准的诊断 OSUI 和预测新发 SUI 风险的方法,随着医学进一步发展和更多相关的随机对照研究出现,期待制定 OSUI 诊断的“金标准”,且在治疗新发 SUI 方面有更规范的选择,相信未来有相应的替代材料和更多的新方法出现,为治疗 POP 合并 SUI 的患者提供更多的选择。

### 参考文献

- [1] Wong JWH, Ramm O. Urinary incontinence and pelvic organ prolapse[J]. Clin Obstet Gynecol, 2021, 64(2): 314-320. DOI: 10.1097/GRF.0000000000000615.
- [2] Wang SY, Cao TT, Wang RZ, et al. Incidence and risk factors of de novo stress urinary incontinence after pelvic floor reconstruction: A nested case-control study[J]. Chin Med J (Engl), 2017, 130(6): 678-683. DOI: 10.4103/0366-6999.201592.
- [3] Espuna-Pons M, Diez-Itza I, Anglès-Acedo S, et al. Cough stress tests to diagnose stress urinary incontinence in women with pelvic organ prolapse with indication for surgical treatment[J]. Neurourol Urodyn, 2020, 39(2): 819-825. DOI: 10.1002/nau.24288.
- [4] Pecchio S, Novara L, Sgro LG, et al. Concomitant stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse surgery: Opportunity or overtreatment[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2020, 250: 36-40. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.04.057.
- [5] Horosz E, Pomian A, Zwierzchowska A, et al. Does previous pelvic organ prolapse surgery influence the effectiveness of the sub-urethral sling procedure[J]. J Clin Med, 2020, 9(3): 653. DOI: 10.3390/jcm9030653.
- [6] Cohn JA, Smith AL. Management of occult urinary incontinence with prolapse surgery[J]. Curr Urol Rep, 2019, 20(5): 23. DOI: 10.1007/s11934-019-0885-5.
- [7] Malak M. The role of anti-incontinence surgery in management of oc-

- cult urinary stress incontinence[J]. Int Urogynecol J, 2012, 23(7): 823-825. DOI: 10.1007/s00192-011-1563-4.
- [8] Long CY, Hsu SC, Wu TP, et al. Urodynamic comparison of continent and incontinent women with severe uterovaginal prolapse[J]. J Reprod Med, 2004, 49(1): 33-37.
- [9] Khayyami Y, Lose G, Klarskov N. Prolapse reduction deteriorates the urethral closure mechanism[J]. Int Urogynecol J, 2019, 30(3): 489-493. DOI: 10.1007/s00192-018-3647-x.
- [10] Muniz KS, Pilkinton M, Winkler HA, et al. Prevalence of stress urinary incontinence and intrinsic sphincter deficiency in patients with stage IV pelvic organ prolapse[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2021, 47(2): 640-644. DOI: 10.1111/jog.14574.
- [11] Karjalainen PK, Gillor M, Dietz HP. Predictors of occult stress urinary incontinence[J]. Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2020, 61(2): 263-269. DOI: 10.1111/ajo.13290.
- [12] Visco AG, Brubaker L, Nygaard I, et al. The role of preoperative urodynamic testing in stress-continent women undergoing sacrocolpopexy: the Colpopexy and Urinary Reduction Efforts (CARE) randomized surgical trial[J]. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct, 2008, 19(5): 607-614. DOI: 10.1007/s00192-007-0498-2.
- [13] Klein J, Stoddard M, Rardin C, et al. The role of pessaries in the treatment of women with stress urinary incontinence: A systematic review and Meta-analysis[J]. Female Pelvic Med Reconstr Surg, 2022, 28(6): e171-e178. DOI: 10.1097/SPV.0000000000001180.
- [14] Chughtai B, Spettel S, Kurman J, et al. Ambulatory pessary trial unmasks occult stress urinary incontinence[J]. Obstet Gynecol Int, 2012, 2012: 392027. DOI: 10.1155/2012/392027.
- [15] Alas AN, Chinthakanan O, Espaillet L, et al. De novo stress urinary incontinence after pelvic organ prolapse surgery in women without occult incontinence[J]. Int Urogynecol J, 2017, 28(4): 583-590. DOI: 10.1007/s00192-016-3149-7.
- [16] Goessens E, Deriemaeker H, Cammu H. The use of a vaginal pessary to decide whether a mid urethral sling should be added to prolapse surgery[J]. Journal of Urology, 2020, 203(3): 598-603. DOI: 10.1097/ju.0000000000000575.
- [17] Yoshio Y, Hayashi T, Tokiwa S, et al. Predictive urodynamic factors for de novo stress urinary incontinence after laparoscopic sacrocolpopexy for pelvic organ prolapse[J]. Low Urin Tract Symptoms, 2021, 13(4): 498-504. DOI: 10.1111/luts.12401.
- [18] Kusuda M, Kagami K, Takahashi I, et al. Comparison of transvaginal mesh surgery and robot-assisted sacrocolpopexy for pelvic organ prolapse[J]. BMC Surg, 2022, 22(1): 268. DOI: 10.1186/s12893-022-01702-z.
- [19] Moosavi SY, Samad-Soltani T, Hajebrahimi S, et al. Determining the risk factors and characteristics of de novo stress urinary incontinence in women undergoing pelvic organ prolapse surgery: A systematic review[J]. Turk J Urol, 2020, 46(6): 427-435. DOI: 10.5152/tud.2020.20291.
- [20] 方露雪, 曹莉莉, 赵娜, 等. 盆腔器官脱垂患者盆底重建手术后新发压力性尿失禁相关影响因素分析[J]. 局解手术学杂志, 2017, 26(4): 290-294. DOI: 10.11659/jjssx.02E017075.

Fang LX, Cao LL, Zhao N, et al. Analysis of related factors of de novo

- stress urinary incontinence after pelvic floor reconstruction for patients with pelvic organ prolapse[J]. *J Reg Anat Oper Surg*, 2017, 26(4): 290-294. DOI:10.11659/jjssx.02E017075.
- [21] Wei JT, Nygaard I, Richter HE, et al. A midurethral sling to reduce incontinence after vaginal prolapse repair[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(25):2358-2367. DOI:10.1056/NEJMoa111967.
- [22] 刘成, 吴文英, 杨青, 等. Aa, Ba 指示点对盆底重建手术时隐匿性压力性尿失禁的诊断及预后价值[J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(6): 415-419. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2015.06.004.
- Liu C, Wu WY, Yang Q, et al. POP-Q indication points, Aa and Ba, involve in diagnosis and prognosis of occult stress urinary incontinence complicated with pelvic organ prolapse[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2015, 50(6): 415-419. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2015.06.004.
- [23] Jelovsek JE, Chagin K, Brubaker L, et al. A model for predicting the risk of de novo stress urinary incontinence in women undergoing pelvic organ prolapse surgery[J]. *Obstet Gynecol*, 2014, 123(2 Pt 1): 279-287. DOI:10.1097/AOG.0000000000000094.
- [24] Yasa C, Gungor Ugurlucan F, Dural O, et al. External validation of a model predicting de novo stress urinary incontinence after pelvic organ prolapse surgery[J]. *Neurourol Urodyn*, 2021, 40(2): 688-694. DOI:10.1002/nau.24608.
- [25] Kuribayashi M, Kitagawa Y, Narimoto K, et al. Predictor of de novo stress urinary incontinence following TVM procedure: A further analysis of preoperative voiding function [J]. *International Urogynecology Journal*, 2013, 24(3): 407-411. DOI:10.1007/s00192-012-1882-0.
- [26] Ballert KN. Urodynamics in pelvic organ prolapse: when are they helpful and how do we use them[J]. *Urol Clin North Am*, 2014, 41(3): 409-417. DOI:10.1016/j.ucl.2014.04.001.
- [27] Sierra T, Sullivan G, Leung K, et al. The negative predictive value of preoperative urodynamics for stress urinary incontinence following prolapse surgery [J]. *Int Urogynecol J*, 2019, 30(7): 1119-1124. DOI:10.1007/s00192-018-03864-y.
- [28] Winters JC, Dmochowski RR, Goldman HB, et al. Urodynamic studies in adults: AUA/SUFU guideline[J]. *J Urol*, 2012, 188(6 Suppl): 2464-2472. DOI:10.1016/j.juro.2012.09.081.
- [29] Hwang SM, de Toledo LGM, da Silva Carramao S, et al. Is urodynamics necessary to identify occult stress urinary incontinence[J]. *World J Urol*, 2019, 37(1): 189-193. DOI:10.1007/s00345-018-2366-8.
- [30] Nager CW, Brubaker L, Litman HJ, et al. A randomized trial of urodynamic testing before stress-incontinence surgery[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(21): 1987-1997. DOI:10.1056/NEJMoa1113595.
- [31] Tran H, Chung DE. Incidence and management of de novo lower urinary tract symptoms after pelvic organ prolapse repair[J]. *Curr Urol Rep*, 2017, 18(11): 87. DOI:10.1007/s11934-017-0732-5.
- [32] Heesakkers JP, Vierhout ME. Prolapse surgery: which technique and when[J]. *Curr Opin Urol*, 2011, 21(4): 281-285. DOI:10.1097/
- MOU.0b013e3283476eee.
- [33] Lazarou G, Minis E, Grigorescu B. Outcomes of stress urinary incontinence in women undergoing TOT versus Burch colposuspension with abdominal sacrocolpopexy[J]. *Int Urogynecol J*, 2019, 30(2): 245-250. DOI:10.1007/s00192-018-3668-5.
- [34] Wille S, Braun M, Heidenreich A, et al. Sacral colpopexy with concurrent Burch colposuspension in patients with vaginal vault prolapse[J]. *Urol Int*, 2006, 76(4): 339-344. DOI:10.1159/000092059.
- [35] Costantini E, Zucchi A, Giannantoni A, et al. Must colposuspension be associated with sacropexy to prevent postoperative urinary incontinence[J]. *European Urology*, 2007, 51(3): 788-794. DOI:10.1016/j.eururo.2006.08.034.
- [36] Gadonneix P, Ercoli A, Salet-Lizée D, et al. Laparoscopic sacrocolpopexy with two separate meshes along the anterior and posterior vaginal walls for multicompartiment pelvic organ prolapse[J]. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*, 2004, 11(1): 29-35. DOI:10.1016/s1074-3804(05)60006-0.
- [37] Baessler K, Christmann-Schmid C, Maher C, et al. Surgery for women with pelvic organ prolapse with or without stress urinary incontinence[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 8: CD013108. DOI:10.1002/14651858.CD013108.
- [38] Solarte JD, Diaz CA, Beltran CA. Lateral cut as management of late voiding dysfunction syndrome post sling: "more than a cut" - video article[J]. *International Urogynecology Journal*, 2022, 33(3): 741-744. DOI:10.1007/s00192-021-04993-7.
- [39] Yao J, Tse V. Twenty-five years of the midurethral sling: Lessons Learned[J]. *Int Neurourol J*, 2022, 26(2): 102-110. DOI:10.5213/inj.2142086.043.
- [40] Schierlitz L, Dwyer PL, Rosamilia A, et al. Pelvic organ prolapse surgery with and without tension-free vaginal tape in women with occult or asymptomatic urodynamic stress incontinence: a randomised controlled trial [J]. *Int Urogynecol J*, 2014, 25(1): 33-40. DOI:10.1007/s00192-013-2150-7.
- [41] Fusco F, Abdel-Fattah M, Chapple CR, et al. Updated systematic review and Meta-analysis of the comparative data on colposuspensions, pubovaginal slings, and midurethral tapes in the surgical treatment of female stress urinary incontinence [J]. *European Urology*, 2017, 72(4): 567-591. DOI:10.1016/j.eururo.2017.04.026.
- [42] Roman S, Urbánková I, Callewaert G, et al. Evaluating alternative materials for the treatment of stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse: A comparison of the in vivo response to meshes implanted in rabbits[J]. *The Journal of Urology*, 2016, 196(1): 261-269. DOI:10.1016/j.juro.2016.02.067.
- [43] Stangel-Wojcikiewicz K, Jarocho D, Piwowar M, et al. Autologous muscle-derived cells for the treatment of female stress urinary incontinence: a 2-year follow-up of a Polish investigation [J]. *Neurourol Urodyn*, 2014, 33(3): 324-330. DOI:10.1002/nau.22404.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.021

综 述

# SUV39H1 的生物学功能研究进展

简俊综述 刘修恒,王磊审校

基金项目:国家自然科学基金青年项目(82000639)

作者单位:430060 武汉大学人民医院泌尿外科

通信作者:王磊,E-mail:drwanglei@whu.edu.cn

**【摘要】** SUV39H1 是第一个被发现的人类组蛋白赖氨酸甲基转移酶(HMT),能够特异性甲基化 H3K9,参与异染色质的形成和基因的沉默,进而发挥表观遗传调控作用。近年研究发现,SUV39H1 同时具有抑癌效应和致癌效应,在肿瘤发生发展的调控中发挥重要作用。此外,在诸多疾病过程中均发现 SUV39H1 的异常表达,表明其广泛参与各种病理生理过程。文章回顾了近年有关 SUV39H1 与各类疾病过程联系的研究,总结了 SUV39H1 在生长发育及疾病发生发展过程中的调控机制,为相关疾病的诊断及治疗提供新的思路。

**【关键词】** SUV39H1;H3K9 甲基化;人类组蛋白赖氨酸甲基转移酶;表观遗传修饰

**【中图分类号】** R34 **【文献标识码】** A

**Research progress on biological functions of SUV39H1** Jian Jun, Liu Xiuheng, Wang Lei. Department of Urology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Wang Lei, E-mail: drwanglei@whu.edu.cn

Foundation program: Youth Project of National Natural Science Foundation of China(82000639)

**【Abstract】** SUV39H1 is the first human histone lysine methyltransferase (HMT) discovered, which can specifically methylate H3K9, participate in the formation of heterochromatin and gene silencing, and then play an epigenetic role in regulation. Recent studies have found that SUV39H1 has both anti-tumor and carcinogenic effects, and plays an important role in the regulation of tumor occurrence and development. In addition, abnormal expression of SUV39H1 was found in many disease processes, indicating that it is widely involved in various pathophysiological processes. This article reviews the research on the relationship between SUV39H1 and various disease processes in recent years, summarizes the regulation mechanism of SUV39H1 in the process of growth, development and disease occurrence and development, and provides new ideas for the diagnosis and treatment of related diseases.

**【Key words】** SUV39H1; H3K9 methylation; Human histone lysine methyltransferase; Epigenetic modification

SUV39H1 是第一个人类组蛋白赖氨酸甲基转移酶(human histone lysine methyltransferase, HMT),是果蝇位置效应变异因子 Su(var)3-9 和裂殖酵母沉默因子 Clr4 的人类同源物,于 2000 年首次被发现<sup>[1]</sup>。它由 1 个催化活性的 SET 结构域和 1 个染色质结构域组成,在进化上较为保守,可以特异性催化 H3K9 甲基化,产生 H3K9me3,招募异染色质蛋白 1(HPI),通过 N 端与 HPI 相互作用,在异染色质形成和基因转录抑制中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。而且 SUV39H1 可以甲基化不同的非组蛋白底物蛋白,调节蛋白活性、稳定性及蛋白-蛋白相互作用。此外,以往的研究发现,SUV39H1 在小鼠生殖细胞的发育和细胞周期的调控中有着重要作用<sup>[3]</sup>。通常认为,SUV39H1 可能是一种肿瘤抑制因子,通过促进细胞衰老和抑制细胞增殖所需基因,参与各种类型肿瘤的发生发展<sup>[4]</sup>。越来越多的研究表明,在部分类型的肿瘤中,SUV39H1 可能也发挥致癌作用。与癌旁正常组织比较,其在肝癌、结肠癌、膀胱癌等肿瘤组织中被发现表达上

调<sup>[5-7]</sup>。随着研究的不断深入,SUV39H1 在生长发育、糖尿病、白血病、免疫防御、血管内皮功能障碍等诸多领域的调控作用被发现,有望为相关疾病的诊断及治疗提供一个新的靶点。

## 1 SUV39H1 的基本结构

SUV39H1 由 1 个 C 端的 SET 结构域和 1 个 N 端的染色质结构域组成,其氨基酸序列高度保守。SET 结构域具有催化活性,大约由 130 个氨基酸组成,能够与甲基提供体 S-腺苷-L-甲硫氨酸结合并将其甲基转移到赖氨酸残基上使其甲基化<sup>[8]</sup>。SUV39H1 的染色质结构域是 1 个包含大约 50 个氨基酸的保守模块,与其他染色质结构域具有约 30% 的同源性序列和约 40% 的相似性序列,N 端由 3 个反向平行链组成 1 个  $\beta$  折叠,C 端为 1 个长  $\alpha$  螺旋。作为甲基化赖氨酸相互作用结构域,它能够特异性识别 H3K9me2/3 并与其结合,但结合亲和力比其他染色质结构域弱<sup>[9-10]</sup>。此外,在 SET 结构域完整存在的情况下,SUV39H1 的染色质结构域的突变或者缺失同样会导致酶活性

降低,这提示染色质结构域对 SUV39H1 的催化活性至关重要<sup>[11]</sup>。有研究利用设计的染色质模板发现了 SUV39H1 的两步作用激活开关。首先,染色质结构域识别 H3K9me3 导致酶锚定在染色质上。其次,与 H3K9me3 相互作用使 SET 结构域的甲基化活性激活。这一过程为 H3K9me2/3 扩散到扩展的异染色质区域建立了一个正反馈回路<sup>[12]</sup>。

## 2 SUV39H1 功能

2.1 SUV39H1 在肿瘤发生发展中的调控作用 目前,各种肿瘤的治疗面临巨大挑战,急需新的治疗靶点的开发应用。SUV39H1 与肿瘤的联系日益受到关注,过去的研究倾向于认为 SUV39H1 发挥肿瘤抑制因子的作用,近年的研究发现 SUV39H1 可能也发挥致癌作用。

2.1.1 SUV39H1 抑制肿瘤的发生发展:转移性进展是宫颈癌导致死亡的主要原因,在迁移的宫颈癌细胞中,SUV39H1 的水平较低,而 SUV39H1 的敲除则会增强宫颈癌细胞的迁移能力<sup>[13]</sup>,这提示 SUV39H1 可以作为宫颈癌预后的预测因子。SMAD3 是参与多种免疫信号通路激活的关键胞内介质,SUV39H1 通过催化生成 H3K9me3 与 DNMT1 的启动子区域直接作用降低其表达,上调 SMAD3 的表达,抑制宫颈癌的发展<sup>[14]</sup>。另一研究发现,SUV39H1 通过 SUV39H1-DNMT3A-Tim-3/galectin-9 轴,降低 Tim-3 和 galectin-9 的表达,稳定肿瘤微环境,抑制宫颈癌的发展<sup>[15]</sup>。表观遗传调控在白血病的发生发展中起重要作用,SUV39H1 在多种白血病中均下调,敲低 SUV39H1 导致白血病干细胞(LSCs)数量增加,加速疾病进展。过表达 SUV39H1 则导致 Hoxb13 和 Six1 失活,以及 Hoxa9/Meis1 下游靶基因逆转,延长白血病的潜伏期并降低 LSCs 的数量,减缓白血病的进展<sup>[16]</sup>。miR-125a-5p 在胃癌中表达较低,SUV39H1 可以诱导 miR-125a-5p 去甲基化,导致其重新激活,在体外抑制细胞增殖、侵袭和迁移,在体内抑制肿瘤的进展<sup>[17]</sup>。

2.1.2 SUV39H1 促进肿瘤的发生发展:在上皮性卵巢癌(EOC)组织中,miR-520a-3p 过表达能抑制肿瘤细胞的生长和转移,过表达 SUV39H1 则可以逆转 miR-520a-3p 的作用,促进 EOC 的发展。SUV39H1 亦被证实与卵巢癌的预后相关,高表达的 SUV39H1 能够促进癌细胞的增殖,并导致卵巢癌患者预后不良<sup>[18]</sup>。在肾透明细胞癌中(ccRCC),敲低或者药物抑制 SUV39H1 可以诱导铁聚集和脂质过氧化,引发铁死亡,进而导致 ccRCC 细胞破坏。SUV39H1 缺失亦可上调二肽基肽酶-4(DPP4)的表达,诱导铁死亡,发挥上述作用<sup>[2]</sup>。乙肝病毒感染后,相当一部分患者会进展为肝癌,而 SUV39H1 也被认为参与肝癌的发生<sup>[5]</sup>。为了研究两者在肝癌发展过程中是否存在相互作用,有研究使用 HBV 复制模型,通过构建乙肝病毒 X 蛋白(HBx)和 SUV39H1 表达质粒,发现 HBx 的共激活域与 SUV39H1 的 PostSET 和 SET 结构域相互作用,表现出协同效应,促进肝癌的发生<sup>[19]</sup>。Fas 及其配体 FasL 诱导的凋亡途径,是细胞毒性 T 淋巴细胞诱导肿瘤细胞凋亡进而抑制肿瘤发展的主要机制之一,而 H3K9me3 在 Fas 的启动子处沉积则能抑制其表达。在人类结肠癌(CRC)中,抑制 SUV39H1 可以显著增加颗粒酶 B、穿孔素、FasL 和 IFN 的表达,通过增强免疫监测和

CTL 的杀伤作用,诱导肿瘤细胞的凋亡<sup>[7]</sup>。SUV39H1 的选择性抑制剂 F5446 通过降低 Fas 启动子处的 H3K9me3 沉积,增加 Fas 的表达,促进 CTL 诱导的肿瘤细胞的凋亡<sup>[20]</sup>。前列腺癌在男性癌症相关死因中位居第二,其高致死率很大程度上与转移相关。有研究发现,二甲双胍能够通过抑制 SUV39H1 表达,降低整合素  $\alpha V$  和  $\beta_1$  蛋白,及其下游磷酸化的黏附激酶(FAK)水平,进而抑制前列腺癌细胞的迁移<sup>[21]</sup>。在鼻咽癌组织中 SUV39H1 表达显著升高,枸杞皂苷能降低其表达,通过 SUV39H1/JAK2/STAT3 通路抑制鼻咽癌细胞的增殖和侵袭,增加凋亡<sup>[22]</sup>。黑色素瘤是最具侵袭性和最难治疗的肿瘤之一,SUV39H1 通过与 DNA 甲基转移酶 3A 相互作用促进视网膜母细胞瘤基因(RB)1 启动子 CpG 岛甲基化,降低 RB mRNA 和蛋白的含量。RB 数量的减少反过来减轻 E2F1 的转录抑制,使 PIN1 水平增加,使人角质形成细胞向肿瘤细胞转化,并通过 RAF1-MEK-ERK 信号通路激活黑色素瘤的发生<sup>[23]</sup>。

2.2 SUV39H1 对糖尿病并发症的影响 全球有数亿糖尿病患者,糖尿病的各种并发症严重损害人体各组织器官,其中心血管并发症发病率及病死率均位居前列。有研究表明,SUV39H1 可以保护糖尿病患者血糖控制后的血管平滑肌细胞免受代谢记忆和促炎表型的影响,而 SUV39H1 通过补体 C3 和 PIN3 调控 ERK1/2 磷酸化促进糖尿病大鼠动脉损伤后的血管平滑肌细胞的迁徙和增殖及新生内膜的形成<sup>[24]</sup>。这为糖尿病血管损伤提供了新的治疗靶点。大约有 40% 的糖尿病患者会进展为糖尿病肾病(DN),甚至发展为终末期肾病(ESRD)。DN 机制复杂,多种治疗方案的疗效不佳。而 SUV39H1 在 DN 患者的肾小管细胞中表达增高,高糖环境下过表达 SUV39H1 使 H3K9me 水平升高,炎症因子表达减少,细胞凋亡减少。提示 SUV39H1 可以通过表观遗传调控减少肾脏的炎症反应及肾脏细胞的凋亡,从而在 DN 中发挥保护作用<sup>[25]</sup>。

2.3 SUV39H1 参与生长发育过程 在牙的发育过程中,Lhx8 通过作用于 SUV39H1,识别成牙本质分化相关基因,并通过甲基化其启动子上的 H3K9 抑制基因表达,维持细胞的未分化状态并促进细胞增殖<sup>[26]</sup>。有研究发现,SUV39H1 在猪体细胞核移植(SCNT)胚胎中的水平高于体外受精胚胎<sup>[27]</sup>。抑制 SUV39H1 的表达可以促进德保猪胚胎成纤维细胞(PFFs)增殖,使 PFFs 中 CyclinA2、CyclinB 和 PCNA 的表达显著增加,同时显著提高德保猪 SCNT 胚胎的卵裂率、囊胚率和囊胚总细胞数<sup>[28]</sup>。使用毛壳素特异性抑制 SUV39H1 可降低核移植胚胎中 H3K9me3 的表达,激发其发育潜能<sup>[29]</sup>。H3K9me3 是 SCNT 有效重编程的主要障碍<sup>[30]</sup>,CRL4 E3 泛素连接酶在卵母细胞中的表达对生育能力至关重要,DCAF13 是 CRL4 的衔接子,能够靶向 SUV39H1 的多泛素化和蛋白酶体降解,降低 H3K9me3 的生成并促进合子基因的表达,促进 SCNT 胚胎的重编程<sup>[31]</sup>。

2.4 SUV39H1 促进血管内膜增生 血管损伤后,血管内膜的增生是血管修复的重要过程,而病理性的内膜增生是许多增生性血管疾病的病理基础。有研究通过构建下调 SUV39H1 的慢病毒载体和过表达 SUV39H1 的腺病毒载体,并在体外转染培养的血管平滑肌细胞(VSMCs)和颈动脉球囊损伤的大鼠,发现

在血管紧张素 II (Ang II) 刺激后, SUV39H1 和 DNA 抑制剂 3 (Id3) 的表达明显增加。SUV39H1 下调抑制 Ang II 刺激的 VSMCs 的迁移和增殖, 拮抗 Id3 的产生, 促进 p21 和 p27Kip1 的表达, 进而抑制内膜增生, 而过表达 SUV39H1 则促进血管内膜的增生<sup>[32]</sup>。

**2.5 SUV39H1 促进特发性脊柱侧凸患者小关节软骨细胞增殖**  
特发性脊柱侧凸 (IS) 是一种病因不明的复杂疾病。有研究发现, IS 患者的 SUV39H1 水平显著升高, 它通过增加 H3K9me3, 增加 II 型胶原 (COL2A1) 和 B 细胞淋巴瘤 (Bcl2) 基因, 降低 miR-15a 的表达, 促进软骨细胞增殖。这种软骨细胞增殖失调可以导致脊柱生长异常, 参与 IS 的发生发展<sup>[33]</sup>。

**2.6 SUV39H1 对心肌肥厚的抑制作用** 肥厚型心肌病表现为左心室肥厚并伴有舒张功能障碍, 导致进行性心力衰竭。Kindlin-2 可以与 SUV39H1 相互作用, 将其招募到 GATA4 启动子上, 通过 H3K9me3 抑制其表达, 保护心肌免受病理性肥大同时也能避免异丙肾上腺素 (ISO) 处理引起的心肌肥大。而敲除 Kindlin-2 与 SUV39H1 的小鼠心肌则较早出现病理性肥厚, 且 ISO 处理加速肥厚过程<sup>[34]</sup>。

**2.7 SUV39H1 对病原体侵袭的抵抗作用** 宿主对病原体入侵的防御机制复杂多样, 随着研究的不断深入, 越来越多的新的防御机制被发现, 有望为未来的抗感染治疗提供更多的策略。有研究发现, SUV39H1 能够与分枝杆菌结合, 使分枝杆菌组蛋白白蛋白 HupB 三甲基化, 降低分枝杆菌的黏附能力。同时使分枝杆菌形成生物膜的能力显著降低, 并降低分枝杆菌在宿主细胞内的存活能力<sup>[35]</sup>。SUV39H1 在亚洲鲈鱼的鳃、脾脏和肾脏中高表达, 用虹彩病毒感染亚洲鲈鱼后, SUV39H1 基因的表达发生改变, 在其基因的 3' UTR 检测到 3 个 SNPs 和 1 个 indel, 而该 indel 被证明与对虹彩病毒的抗性显著相关, 该 DNA 标记可用于选择对虹彩病毒有抗性的鱼苗<sup>[31]</sup>。

**2.8 SUV39H1 促进 HPV 感染** 固有免疫对病原体侵袭的防御至关重要, 肿瘤相关病毒对固有免疫的破坏有利于癌变发生, 高危人乳头瘤病毒 (HPV) 能同时触发固有免疫的多个效应体的表观遗传沉默促进病毒感染及癌症的发生。HPV E7 癌蛋白能上调 SUV39H1 的表达, 使宿主细胞 RIG-I、cGAS 和 STING 基因的表观遗传沉默, 阻止干扰素分泌, 破坏固有免疫, 促进病毒感染及癌变的发生。而药物抑制或者敲除 SUV39H1 则可以恢复固有免疫, 抵御病毒侵袭<sup>[36]</sup>。

**2.9 SUV39H1 对结肠炎的促进作用** 肠道上皮屏障的损伤是胃肠道炎性反应的关键病理生理过程。山姜素 (Alpinetin) 能够改善结肠炎时的肠道屏障稳态。其机制为山姜素激活芳香烃受体 (AhR), 降低 SUV39H1 的表达, 促进 TSC2 的表达, 抑制 mTORC1 信号通路的激活, 抑制肠上皮细胞 (IECs) 的凋亡, 保护肠上皮屏障, 改善结肠炎<sup>[37]</sup>。

**2.10 SUV39H1 对内皮细胞功能的影响** 一氧化氮 (NO) 在内皮细胞内通过内皮一氧化氮合成酶 (eNOS) 催化合成, 具有松弛平滑肌、抑制炎症反应等作用。过表达的 II 类反式激活因子 (C II TA) 可以与 SUV39H1 相互作用并将其招募到 eNOS 启动子, 通过产生大量 H3K9me3 抑制 eNOS 转录, 使 NO 生成减少。

而 SUV39H1 沉默则可以消除 eNOS 的抑制, 增加 NO 的生成<sup>[38]</sup>。

### 3 总结与展望

组蛋白作为染色质的重要组成部分, 其 N 端从核小体核心突出, 易发生各种翻译后修饰。而赖氨酸甲基化则是组蛋白共价修饰的重要环节, 在基因表达的调控过程中发挥重要作用。组蛋白赖氨酸甲基转移酶 SUV39H1 通过调控 H3K9 的三甲基化, 抑制基因转录, 调控基因的表达在生长发育、免疫防御、疾病调控等方面发挥重要作用。本文综述的一系列研究揭示了 SUV39H1 与各类疾病发生发展的联系, 阐述了 SUV39H1 作为疾病诊断及治疗新靶点的潜在价值。但由于现阶段对疾病机制及 SUV39H1 认识的不足, 以及实验方法和技术的局限性, 仍有许多问题亟待解决。如 SUV39H1 能够通过多个途径限制宫颈癌细胞的迁移, 抑制其发展, 但 SUV39H1 同时能促进 HPV 的感染及癌变的发生; SUV39H1 在不同疾病的调控过程中可能发挥相反的作用; 由于 SUV39H1 分布的广泛性, 调控其表达可能带来众多无法预料的目标靶点以外的影响。这为未来的研究提示了新的方向, 相信随着研究的不断深入, SUV39H1 的功能作用将被更深入地理解。

### 参考文献

- [1] Weirich S, Khella MS, Jeltsch A. Structure, activity and function of the Suv39h1 and Suv39h2 protein lysine methyltransferases [J]. *Life*, 2021, 11 (7): 703. DOI: 10.3390/life11070703.
- [2] Wang J, Yin X, He W, et al. SUV39H1 deficiency suppresses clear cell renal cell carcinoma growth by inducing ferroptosis [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021, 11 (2): 406-419. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.09.015.
- [3] Sun F, Wen Y, Wang L, et al. An indel in the Suv39h1 gene is associated with resistance to iridovirus in the Asian seabass [J]. *Aquaculture*, 2020, 529: 735611. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2020.042.
- [4] Rao VK, Pal A, Taneja R. A drive in SUVs: From development to disease [J]. *Epigenetics*, 2017, 12 (3): 177-186. DOI: 10.1080/15592294.2017.1281502.
- [5] Chiba T, Saito T, Yuki K, et al. Histone lysine methyltransferase SUV39H1 is a potent target for epigenetic therapy of hepatocellular carcinoma [J]. *International Journal of Cancer*, 2015, 136 (2): 289-298. DOI: 10.1002/ijc.28985.
- [6] Yang Z, He L, Lin K, et al. The KMT1A-GATA3-STAT3 circuit is a novel self-renewal signaling of human bladder cancer stem cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23 (21): 6673-6685. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0882.
- [7] Lu C, Yang D, Klement JD, et al. SUV39H1 represses the expression of cytotoxic T-lymphocyte effector genes to promote colon tumor immune evasion [J]. *Cancer Immunology Research*, 2019, 7 (3): 414-427. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0882.
- [8] Wang T, Xu C, Liu Y, et al. Crystal structure of the human SUV39H1 chromodomain and its recognition of histone H3K9me2/3 [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (12): e52977. DOI: 10.1371/journal.pone.0052977.
- [9] Kudithipudi S, Schuhmacher MK, Kebede AF, et al. The SUV39H1 protein lysine methyltransferase methylates chromatin proteins in-

- involved in heterochromatin formation and VDJ recombination[J]. *Acs Chemical Biology*, 2017, 12 (4) : 958-968. DOI: 10. 1021/acscchembio. 6b01076.
- [10] Saha N, Muntean AG. Insight into the multi-faceted role of the SUV family of H3K9 methyltransferases in carcinogenesis and cancer progression[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875 (1) : 188498. DOI:10. 1016/j. bbcan. 2020. 188498.
- [11] Muller MM, Fierz B, Bittova L, et al. A two-state activation mechanism controls the histone methyltransferase Suv39h1 [J]. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(3) :188-193. DOI: 10. 1038/nchembio. 2008.
- [12] Rodrigues C, Pattabiraman C, Vijaykumar A, et al. A SUV39H1-low chromatin state characterises and promotes migratory properties of cervical cancer cells[J]. *Experimental Cell Research*, 2019, 378 (2) : 206-216. DOI:10. 1016/j. yexcr. 2019. 02. 010.
- [13] Zhang L, Tian S, Zhao M, et al. SUV39H1-mediated DNMT1 is involved in the epigenetic regulation of SMAD3 in cervical cancer[J]. *Anti-cancer Agents In Medicinal Chemistry*, 2021, 21(6) :756-765. DOI:10. 2174/1871520620666200721110016.
- [14] Zhang L, Tian S, Zhao M, et al. SUV39H1-DNMT3A-mediated epigenetic regulation of Tim-3 and galectin-9 in the cervical cancer[J]. *Cancer Cell International*, 2020, 20; 325. DOI: 10. 1186/s12935-020-01380-y.
- [15] Chu Y, Chen Y, Guo H, et al. SUV39H1 regulates the progression of MLL-AF9-induced acute myeloid leukemia[J]. *Oncogene*, 2020, 39 (50) :7239-7252. DOI:10. 1038/s41388-020-01495-6.
- [16] Cai M, Chen Q, Shen J, et al. Epigenetic silenced miR-125a-5p could be self-activated through targeting Suv39H1 in gastric cancer[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2018, 22 (10) :4721-4731. DOI:10. 1111/jcmm. 15847.
- [17] Li J, Shao W, Zhao J. MiR-520a-3p inhibits malignant progression of epithelial ovarian cancer by targeting SUV39H1 expression[J]. *Human Cell*, 2021, 34 (2) : 570-578. DOI: 10. 1007/s13577-020-00455-2.
- [18] 王佩琦, 张一帆, 吕育纯. SUV39H1 在卵巢癌中的表达及其对卵巢癌增殖能力的影响[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2019, 20 (5) :431-432. DOI:10. 13390/j. issn. 1672-1861. 2019. 05. 016. Wang PQ, Zhang YF, Lyu YC. Expression of SUV39H1 in ovarian cancer and its effect on the proliferation of ovarian cancer cells[J]. *Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology*, 2019, 20 (5) :431-432. DOI:10. 13390/j. issn. 1672-1861. 2019. 05. 016.
- [19] Takeuchi Y, Tsuge M, Tsumura K, et al. Signal activation of hepatitis B virus-related hepatocarcinogenesis by up-regulation of SUV39h1[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2020, 222(12) :2061-2070. DOI:10. 1093/infdis/jiaa317.
- [20] Lu C, Klement JD, Yang D, et al. SUV39H1 regulates human colon carcinoma apoptosis and cell cycle to promote tumor growth[J]. *Cancer Letters*, 2020, 476; 87-96. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2020. 02. 004.
- [21] Yu T, Wang C, Yang J, et al. Metformin inhibits SUV39H1-mediated migration of prostate cancer cells [J]. *Oncogenesis*, 2017, 6 (5) : e324. DOI:10. 1038/oncsis. 2017. 28.
- [22] 胡鹏刚, 张昌明. 枸杞皂苷通过调控 Suv39H1/JAK2/STAT3 通路对鼻咽癌细胞增殖、侵袭和凋亡的影响[J]. *现代检验医学杂志*, 2021, 36 (6) : 27-33. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2021. 06. 006.
- Hu PG, Zhang CM. Lycium Barbarum Baily Saponins affect proliferation, invasion and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells by regulating the Suv39H1/JAK2/STAT3 pathway[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(6) :27-33. DOI:10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2021. 06. 006.
- [23] Kim G, Kim J, Lim S, et al. SUV39H1/DNMT3A-dependent methylation of the RB1 promoter stimulates PIN1 expression and melanoma development[J]. *Faseb Journal*, 2018, 32(10) :5647-5660. DOI:10. 1096/fj. 201700645RRRRR.
- [24] Zhang J, Yang J, Xu C, et al. Down-regulation of Suv39h1 attenuates neointima formation after carotid artery injury in diabetic rats[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(1) :973-983. DOI:10. 1111/jcmm. 14809.
- [25] Wang J, Yan W, Peng X, et al. Functional role of SUV39H1 in human renal tubular epithelial cells under high-glucose ambience [J]. *Inflammation*, 2018, 41(1) :1-10. DOI:10. 1007/s10753-017-0657-7.
- [26] Zhou C, Chen D, Ren J, et al. FGF8 and BMP2 mediated dynamic regulation of dental mesenchyme proliferation and differentiation via Lhx8/Suv39h1 complex[J]. *Journal of Cellular And Molecular Medicine*, 2021, 25(6) :3051-3062. DOI:10. 1111/jcmm. 16351.
- [27] Jeong P, Sim B, Park S, et al. Chaetocin improves pig cloning efficiency by enhancing epigenetic reprogramming and autophagic activity [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (14) :4836. DOI:10. 3390/ijms21144836.
- [28] Cao L, Dai X, Huang S, et al. Inhibition of Suv39h1/2 expression improves the early development of Debao porcine somatic cell nuclear transfer embryos [J]. *Reproduction In Domestic Animals*, 2021, 56 (7) :992-1003. DOI:10. 1111/rda. 13942.
- [29] 王婷, 李海艳, 刘晨, 等. 毛壳素对猪核移植胚胎体外发育潜能的影响研究[J]. *中国兽医科学*, 2021, 51 (6) :792-797. DOI:10. 16656/j. issn. 1673-4696. 2021. 0103. Wang T, Li HY, Liu C, et al. Effects of chaetocin treatment on in vitro developmental potential of nuclear transfer embryos of pig[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2021, 51 (6) :792-797. DOI:10. 16656/j. issn. 1673-4696. 2021. 0103.
- [30] Matoba S, Liu Y, Lu F, et al. Embryonic development following somatic cell nuclear transfer impeded by persisting histone methylation [J]. *Cell*, 2014, 159(4) :884-895. DOI: 10. 1016/j. cell. 2014. 09. 055.
- [31] Zhang Y, Zhao L, Zhang J, et al. DCAF13 promotes pluripotency by negatively regulating SUV39H1 stability during early embryonic development [J]. *Embo Journal*, 2018, 37 (18) :e9898118. DOI: 10. 15252/embj. 201898981.
- [32] Zhang J, Chen J, Yang J, et al. Suv39h1 downregulation inhibits neointimal hyperplasia after vascular injury [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 288;76-84. DOI: 10. 1016/j. atherosclerosis. 2019. 06. 909.
- [33] Li J, Yang G, Liu S, et al. Suv39h1 promotes facet joint chondrocyte proliferation by targeting miR-15a/Bcl2 in idiopathic scoliosis patients [J]. *Clinical Epigenetics*, 2019, 11 (1) :107. DOI:10. 1186/s13148-019-0706-1.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.11.022

综 述

# Nephrin 在足细胞狭缝隔膜上的作用研究进展

吴慧敏综述 钟建审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82060820)

作者单位: 530001 南宁, 广西中医药大学研究生院(吴慧敏); 530023 南宁, 广西中医药大学第一附属医院肾病科(钟建)

通信作者: 钟建, E-mail: zhongjian@medmail.com.cn

**【摘要】** Nephrin 是第一个被确定为狭缝隔膜(SD)细胞外成分分子,被认为是SD细胞外部分的主体, Nephrin不仅作为细胞外SD过滤网络的核心成分,而且通过其短胞内区域的相互作用介导足细胞中重要的细胞信号通路。它与SD上的其他组成蛋白在结构和功能上有着密切的联系,在SD的结构组织、功能调节等方面有重要作用。Nephrin在足细胞狭缝隔膜上的功能障碍与几种肾小球性蛋白尿的发生有关, Nephrin可能成为治疗肾小球性蛋白尿新疗法的目标。文章就Nephrin、SD的特征及二者之间的联系进行综述。

**【关键词】** Nephrin; 狭缝隔膜; 蛋白尿**【中图分类号】** R692 **【文献标识码】** A

**Research progress on the role of Nephrin on the slit membrane of podocytes** Wu Huimin\*, Zhong Jian. \* Graduate School of Guangxi University of traditional Chinese Medicine, Guangxi Province, Nanni 530001, China

Corresponding author: Zhong Jian, E-mail: zhongjian@medmail.com.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82060820)

**【Abstract】** Nephrin is the first molecule identified as the extracellular component of the slit septum (SD), and is considered to be the main body of the extracellular part of SD. Nephrin not only acts as the core component of the extracellular SD filtering network, but also mediates important cellular signaling pathways in podocytes through the interaction of its short intracellular regions. It is closely related to other components of SD in structure and function, and plays an important role in the structure, organization and function regulation of SD. The dysfunction of Nephrin on the foot cell slit membrane is related to the occurrence of several glomerular albuminuria, and Nephrin may become the target of new therapy for glomerular albuminuria. This article reviews the characteristics of Nephrin and SD and the relationship between them.

**【Key words】** Nephrin; The slit diaphragm; Proteinuria

蛋白尿是肾脏疾病最重要的症状之一,其中大部分为肾小球性蛋白尿。肾小球性蛋白尿与肾小球滤过屏障的病理损伤有关,肾小球滤过屏障由3层组成:肾小球内皮细胞、肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)和肾小球脏层上皮细胞(足细胞)。过去20余年的研究表明,第三层足细胞是最后的屏障<sup>[1]</sup>。足细胞是GBM外层终末分化的上皮细胞,对于肾小球滤过屏障的完整性至关重要,它们是阻止蛋白质和大分子进入尿液的主要屏障。

## 1 狭缝隔膜的特征

狭缝隔膜(slit diaphragms, SD)是足细胞间一种特殊的细胞-细胞连接,与突触有共同的特点。足细胞的足突覆盖GBM的外侧,邻近足细胞的足突重叠呈交叉指状。在相邻的交叉指状足突之间形成的“滤过缝”是一个高度专业化的缝隙连接,称为狭缝隔膜,SD具有大小和电荷选择性滤过作用,所以滤过屏障的选择性滤过作用依赖于SD的完整性,它形成了蛋白质泄漏的主要尺寸屏障。早期的电子显微镜研究表明<sup>[2]</sup>,狭缝膜片

呈现出拉链状的亚结构,交替周期性的跨桥从对侧足细胞质膜延伸出来,证明相邻足突是指间的。发育分析显示,毛细血管袢阶段出现SD,并逐渐取代紧密连接。Nephrin、NEPH1、P-cadherin、FAT和Ephrin-B1为形成狭缝隔膜分子筛的细胞外成分。其中,ZO-1、podocin、CD2AP、MAGI和Par复合物等胞质蛋白被鉴定为连接SD和细胞骨架的支架蛋白。SD不仅起到防止蛋白尿的过滤器作用,还起到复杂的信号中枢的作用,将不同的化学和机械刺激转移到足细胞。足细胞骨架失调或SD的完整性丧失可导致足细胞足突消失,这是足细胞疾病中最常见的病理学发现<sup>[3-4]</sup>。

## 2 Nephrin 的特征

Nephrin是在研究先天性肾病综合征芬兰型时发现的,它是第一个被确定为SD细胞外成分分子<sup>[5]</sup>, Nephrin被认为是SD细胞外部分的主体。编码Nephrin的基因NPHS1由Kestila及其同事首次克隆。人类Nephrin被分配到染色体19,由19q13.1上的NPHS1基因编码,具有端粒到着丝粒的取向。

NPHS1 主要定位于肾小球,但在睾丸、中枢神经系统、胰腺、胎盘、心脏和淋巴组织中也有表达<sup>[6-7]</sup>。NPHS1 基因大小为 26 kb,共包含 29 个外显子,由 1 241 个残基的跨膜蛋白组成,含胞内区、跨膜区和胞外区 3 个功能域。胞内区含 9 个酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 残基,其中 Tyr1176、Tyr1193、Tyr1210 具有被胞内酪氨酸激酶 Src 磷酸化的潜力,与含 SH2、SH3 结构的结合蛋白的亲合力显著增加,参与多种细胞信号转导<sup>[8]</sup>。Nephrin 有 1 个很长的细胞外结构域,由 8 个 C2 型 IgG 样结构域 (Ig 区) 及 1 个 III 型纤维蛋白区域组成。每个 Ig 区含 2 个半胱氨酸残基,可与 Nephrin 分子或其他蛋白形成二硫键,与对侧足突的 Nephrin 分子或与其他 SD 蛋白发生嗜同性或异性结合,正是这些 IgG—IgG 界面形成了围绕肾小球毛细血管的拉链状 SD 网,形成了筛状结构<sup>[9]</sup>。

Nephrin 是足细胞中维持 SD 正常结构的关键分子。Nephrin 与许多其他足细胞和 SD 蛋白相互作用,还介导足细胞中重要的细胞信号通路。Nephrin 的缺失或氨基酸序列的改变<sup>[10-11]</sup>,会导致 SD 的破坏,进而产生大量尿蛋白。在许多成人发病的肾小球疾病中,Nephrin 的表达发生改变<sup>[12-14]</sup>。一项关于诱导性 Nephrin 基因敲除的小鼠模型研究,观察到获得性长期 Nephrin 敲除影响肾小球足细胞、系膜细胞和基质、GBM 和内皮细胞的所有成分,这表明 Nephrin 在基础条件下及在肾小球疾病中对肾小球功能至关重要<sup>[7]</sup>。这些研究表明,Nephrin 是 SD 的关键功能分子,其功能障碍是人类肾小球疾病蛋白尿的常见致病机制之一。

### 3 Nephrin 与 SD 上其他分子的联系

#### 3.1 Nephrin 与 SD 细胞外成分其他分子的联系

3.1.1 Nephrin 与 NEPH1: NEPH1 是 SD 细胞外成分的另一个关键分子。通过基因捕获鉴定出 NEPH1 为 Nephrin 相关蛋白。它是一种跨膜蛋白,包含 5 个细胞外 IgG 结构域<sup>[15]</sup>。NEPH1 敲除小鼠肾小球足细胞足突消失,产生蛋白尿,在大量足突消失和蛋白尿为特征的实验动物模型中,如原发性局灶性节段性肾小球硬化、微小病变肾病综合征及阿霉素肾病和嘌呤霉素氨基核苷肾病,NEPH1 降低<sup>[16]</sup>,说明 NEPH1 对维持 SD 的屏障功能也是必不可少的。

NEPH1 和 Nephrin 相互作用鉴于 NEPH1 和 Nephrin 的共定位和结构相似性。Nephrin 的细胞质结构域直接与 NEPH1 的细胞质结构域相互作用,形成顺式同源寡聚体<sup>[17]</sup>。一项利用高分辨率超微结构的成像研究显示<sup>[18]</sup>,SD 中可能的 Nephrin 和 NEPH1 成分的排列:单个 NEPH1 分子似乎以 23 nm 的宽度形成靠近肾小球基底膜连接的下部,而单个 Nephrin 分子以 45 nm 的宽度在更顶端形成相邻的连接。这些 Nephrin 和 NEPH1 复合物间隔 7 nm,形成 2 层结构,将 SD 与其他类似 Nephrin—Nephrin 的细胞—细胞黏附模块区分开来。通过这些结构,结合 Nephrin 和 NEPH1 重复 Ig 折叠固有的灵活性,表明 SD 可能代表高度动态的细胞—细胞连接,在肾滤过装置内形成可调节的屏障。

3.1.2 Nephrin 与 Ephrin-B1: Ephrin-B1 是 Eph-Ephrin 家族中的一种蛋白。Ephrin 和 Eph 是作为受体—配体对发挥作用的

膜结合蛋白。Ephrins 分为 2 个亚类,B 型 Ephrins 有 1 个跨膜结构域和 1 个包含 4 个酪氨酸残基的短细胞质区域,C 端有 1 个 PDZ 结构域结合基序。Fukusumi 等<sup>[19]</sup>研究表明,Ephrin-B1 在 SD 上表达,Ephrin-B1 参与维持 SD 分子的正确分子排列和 SD 的屏障功能。Ephrin-B1 细胞特异性条件敲除 (cell specific conditional knockout, CKO) 小鼠改变了 SD 成分的表达,足突消失并出现轻度但显著的蛋白尿,提示 Ephrin-B1 在维持 SD 的结构和屏障功能方面起着关键作用。

Ephrin-B1 通过其胞外结构域与 Nephrin 结合,Ephrin-B1—Nephrin 复合物在维持 SD 的结构和屏障功能方面起着至关重要的作用<sup>[20]</sup>。细胞外 Nephrin 刺激不仅使 Nephrin 磷酸化,而且使 Nephrin 结合的 Ephrin-B1 磷酸化<sup>[21]</sup>。这表明 SD 上的 Ephrin-B1 作为信号分子传递 Nephrin 检测到的信号。

#### 3.2 Nephrin 与 SD 细胞骨架连接的多种支架蛋白的联系

3.2.1 Nephrin 与 CD2AP: CD2AP 是最初在 T 淋巴细胞分子 CD2 中发现的一种具有多个蛋白质—蛋白质相互作用结构域的细胞内蛋白<sup>[22]</sup>,包括 3 个 Src 同源 3 (Src homology 3, SH3) 结构域和富含脯氨酸和盘绕的线圈区域,它与参与各种信号传导和囊泡转运过程的许多蛋白质相互作用,从而参与细胞骨架重塑的调节、胞质分裂、细胞凋亡和内吞作用。在肾小球中,CD2AP 是一种 80 kDa 的 SD 相关支架蛋白<sup>[23]</sup>,CD2AP 直接与肌动蛋白相互作用,表明 CD2AP 可能起到将膜蛋白 (如 Nephrin) 连接到肌动蛋白细胞骨架的作用,从而稳定狭缝隔膜,被认为是 SD 复合物的“稳定剂”。缺乏 CD2AP 的小鼠出现足突缺失、严重蛋白尿及肾小球硬化等形态学改变<sup>[24]</sup>。

CD2AP 可以通过其 C 末端结构域与 Nephrin 相互作用。CD2AP 的 N 端结构域可以与 p85 结合,并促进 Nephrin 诱导的 AKT 信号传导,从而保护足细胞免于凋亡<sup>[25]</sup>。最近, Tossidou 等<sup>[26]</sup>报道 CD2AP 是 VEGF-A 刺激的受体酪氨酸激酶的磷酸化靶点,并证明了 CD2AP SH3-1 结构域 Y10 位酪氨酸的磷酸化可以改变 CD2AP 对 Nephrin 的亲合力,对 CD2AP 的功能发挥是不可或缺的。并表明 CD2AP 和 Nephrin 之间存在一种精细调节的亲近平衡,这种平衡受受体酪氨酸激酶刺激的影响。

3.2.2 Nephrin 与 Podocin: Podocin (由 NPHS2 编码) 仅在足细胞中表达,在 SD 复合体中作为支架蛋白。Podocin 是一种完整的膜蛋白,其 N 端和 C 端结构域都指向胞浆。Podocin 缺陷小鼠在产前或出生后 5 周内死亡<sup>[6]</sup>。电子显微镜显示足突与巨大系膜硬化融合,Nephrin 表达显著降低。

Podocin 通过其 C 末端结构域与位于质膜特定脂筏微结构域的 Nephrin 的细胞质部分结合,使其能够形成 SD 并执行其信号传递功能。Podocin 可与 Nephrin、NEPH1 和 CD2AP 相互作用。

3.2.3 Nephrin 与 MAGI 蛋白: MAGI 蛋白 (MAGI-1, MAGI-2, MAGI-3) 属于膜相关鸟苷酸激酶蛋白 (MAGUK) 家族,具有分子支架功能,通过连接细胞表面受体和细胞骨架来协调信号复合物。MAGI-1 与连接黏附分子 4 (junctional adhesion molecule 4, JAM4) 相互作用,共同提供了紧密连接的黏附机制,并且 MAGI-1 和 JAM-4 都在足细胞中表达<sup>[27]</sup>。免疫电镜显示,MAGI-1 的

定位局限于 SD, 而 JAM4 分布在 SD 和根尖膜上。

体外相互作用实验表明, MAGI-1 通过中间 PDZ 结构域和 Nephtrin 羧基末端结合<sup>[28]</sup>。据了解, MAGI-1 在 SD 上与 Nephtrin 和 JAM4 形成一个三部复合体。MAGI-2 也在足细胞中表达, 是在足细胞中表达的多域支架蛋白之一<sup>[29]</sup>。Shirata 等<sup>[30]</sup>报道, MAGI2-CKO 小鼠表现出 SD 破坏, 足突形态异常和足细胞凋亡, 导致足细胞丢失。Yamada 等<sup>[31]</sup>最近的一项研究表明, MAGI-2 通过 PDZ 结构域与其他支架蛋白一起协调 Nephtrin 和 NEPH1 的定位。

**3.2.4 Nephtrin 与 Par-3/Par-6/ aPKC:** 在几种细胞类型中, Par-3/Par-6/ aPKC 是调节细胞极性的核心。Par-3 和 aPKC 在足细胞 SD 上表达, 而 NEPH1—Nephtrin 复合物与 Par-复合物结合。

最近, Takamura 等<sup>[20]</sup>证实, Par-3 与 Nephtrin 相互作用, 而 Par-6 与 SD 上的另一种跨膜蛋白 Ephrin-B1 结合, Ephrin-B1 通过胞外部分与 Nephtrin 相互作用。使用显性阴性 aPKC 结构的小鼠显示出显著的蛋白尿, 并且在使用 aPKC 抑制剂的隔离肾小球中检测到足突结构的缺失。这些观察清楚地表明, NEPH1—Nephtrin—Par 复合物对于维持 SD 的屏障功能是必不可少的。

**3.2.5 Nephtrin 与 NHERF2:** Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换调节因子 2 (Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger regulatory factor 2, NHERF2) 是 NHERF 蛋白质的一种亚型, 最初通过使用 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换器 3 (NHE3) 的细胞质尾部进行双杂交筛选来鉴定<sup>[32]</sup>。NHERF 蛋白质是将质膜蛋白与 ezrin/radixin/moesin (ERM) 家族成员连接起来的支架蛋白, 从而将其与肌动蛋白细胞骨架连接起来。NHERF2 的功能是调节其结合膜蛋白的表面表达<sup>[33]</sup>。

最近 Fukusumi 等<sup>[21]</sup>研究发现, NHERF2 不仅在根尖膜上表达, 而且在 SD 上也表达, NHERF2 通过 Ephrin-B1 与 Nephtrin—Ephrin-B1 复合物相互作用, Nephtrin—Ephrin-B1—NHERF2 复合物与 ezrin 相互作用。Nephtrin—Ephrin-B1—NHERF2—ezrin—actin 的连接是连接 SD 与肌动蛋白细胞骨架的关键连接之一, 并且这种连接在维持交叉指状足突和 SD 方面起着重要作用。并发现刺激 SD、Nephtrin 和 Ephrin-B1 的磷酸化可导致 NHERF2 和 ezrin 的去磷酸化, 并破坏 Nephtrin—Ephrin-B1—NHERF2—ezrin—actin 复合物。Ephrin-B1 的磷酸化和随后的 NHERF2 的去磷酸化是导致蛋白尿和足突消失的关键起始事件。

#### 4 Nephtrin 磷酸化在 SD 建立的信号平台

狭缝隔膜的作用不仅是一个屏障, 也是一个信号平台, 将信号传递到细胞内部。Nephtrin 是 SD 细胞外结构域的关键跨膜蛋白。Nephtrin 除了作为物理屏障的作用外, 还在 SD 内发挥着中央信号平台的作用。Nephtrin 具有几个酪氨酸残基, 这些酪氨酸通常相互独立协调信号传播, 但有时也可以协同工作。将诱导信号通路的酪氨酸残基分为 2 组。A 类酪氨酸包括 Y1114 (YEES) 和 Y1138/9 (YYRS), 而 B 类酪氨酸是 YdxV 基序, 包括 Y1176 (YDEV)、Y1193 (YDEV) 和 Y1217 (YDQV) (人类编号系统)。Nephtrin 的酪氨酸残基可被 Src 家族激酶磷酸化, 包括 Src、Fyn、Lyn 和 Yes<sup>[34]</sup>。A 类酪氨酸的磷酸化诱导与 p85/PI3K

的结合, 最终导致 Akt 和 Rac1 的激活和 Cofilin 的招募, 从而影响足细胞内肌动蛋白和局部黏附动力学<sup>[35]</sup>。B 类酪氨酸磷酸化的影响是最广泛的。B 类酪氨酸磷酸化导致 Nck、PLC- $\gamma$ 1 和 ShcA 的招募。Nck 是一种含 SH2/SH3 的适配蛋白, Nck 随后招募 Pak 和 N-W ASp<sup>[8]</sup>, 允许在 Nephtrin 上聚合肌动蛋白。也有报道 Nephtrin 在这个基团的酪氨酸残基处磷酸化, 与另一个含有蛋白 PLC- $\gamma$ 1 的 SH2/SH3 相连<sup>[36]</sup>。至于 Nephtrin 酪氨酸的磷酸化是否与足细胞损伤的促进或保护有关, 目前尚缺乏共识, 了解到磷酸化在基线、损伤和恢复中存在位点特异性差异。

酪氨酸磷酸化的 Nephtrin 诱导 2 种形式的肌动蛋白结构<sup>[9]</sup>。一种形式是板状足, 其中观察到二维肌动蛋白网格。板状足与足细胞的足突消失有关, 并由第一组酪氨酸的磷酸化介导。另一种形式是肌动蛋白聚合物的生长 (在 Nephtrin 产生肌动蛋白尾), 这被认为与足突的稳定和 SD 结构的维持有关。肌动蛋白尾部的产生基本上是通过 B 类酪氨酸的磷酸化来介导的。B 类酪氨酸磷酸化水平的降低在人类肾小球疾病中被检测到。最近的研究表明, 与人类 B 类酪氨酸残基相对应的小鼠编号系统的 3 个酪氨酸残基 Y1191、Y1208 和 Y1232 在敲入小鼠后转化为苯丙氨酸, 发生进行性蛋白尿并伴有结构变化<sup>[37]</sup>。结果表明, 这些酪氨酸的磷酸化可稳定足细胞形态。

Nephtrin 酪氨酸的磷酸化受多种酪氨酸磷酸酶的负调控。在几种致病状态下也能检测到酪氨酸磷酸酶水平的改变。蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (protein tyrosine phosphatase 1B, PTP-1B) 可直接去磷酸化 B 类的酪氨酸, 在大鼠嘌呤霉素氨基核苷肾病 (PAN) 中上调<sup>[38]</sup>。含 SH2 结构域的磷酸酶 1 (phosphatase 1 of SH2 domain, SHP-1) 在糖尿病肾病模型中升高, SHP-1 可以使 B 类的酪氨酸脱磷酸化<sup>[39]</sup>。Cl-Ten 最近被鉴定为 Nephtrin 酪氨酸磷酸酶, 靶向 A 类酪氨酸 (Y1114 和 Y1138), 在糖尿病肾病中也上调<sup>[40]</sup>。最近的一项研究表明<sup>[41]</sup>, Nephtrin 信号通路导致整合素  $\beta$ 1 的激活。这一发现提示 Nephtrin 介导的信号调节足细胞附着在肾小球基底膜上。最近 Martin 等<sup>[42]</sup>的研究发现, 足细胞损伤后, Nephtrin 磷酸化出现短暂上升, 并与表面 Nephtrin 减少相关, 导致过滤屏障渗漏。揭示了足细胞损伤期间 Nephtrin 酪氨酸磷酸化的瞬时变化、Nephtrin 定位和肾小球滤过屏障完整性之间的体内相关性。总之, Nephtrin 磷酸化决定了集群内效应蛋白的组成, 以动态调节 Nephtrin 周转和足细胞健康。

#### 5 总结

综上所述, 足细胞是肾小球滤过最后的屏障, 足细胞细胞骨架失调或 SD 的完整性丧失可导致足细胞足突消失, 导致蛋白质泄漏。Nephtrin 是 SD 上重要的组成蛋白, 它与 SD 上的其他组成蛋白在结构和功能上有着密切的联系, 对维持 SD 的正常结构和功能发挥着关键性作用, Nephtrin 应该是蛋白尿新疗法最重要的靶点。Nephtrin 也在 SD 内发挥着中央信号平台的作用, Nephtrin 的磷酸化调控该区域的几个保守酪氨酸残基影响信号转导通路, 信号通路的改变是足细胞损伤的重要途径之一。虽然 Nephtrin 信号通路的病理意义尚不明确, 但多项研究表明 Nephtrin 各酪氨酸残基的磷酸化水平受到严格调控。Nephtrin 的磷酸化水平受 PTP-1B 和 Cl-Ten 等磷酸酶活性的调

控。这些磷酸酶可能成为蛋白尿新的治疗靶点。

参考文献

[1] Menzel S, Moeller MJ. Role of the podocyte in proteinuria [J]. *Pediatric Nephrology*, 2011, 26 (10) : 1775-1780. DOI: 10. 1007/s00467-010-1725-5.

[2] Garg P. A review of podocyte biology [J]. *American Journal of Nephrology*, 2018, 47 (1) : 3-13. DOI: 10. 1159/000481633.

[3] Yu SM, Nissaisorakarn P, Husain I, et al. Proteinuric kidney diseases: A podocyte's slit diaphragm and cytoskeleton approach [J]. *Frontiers in Medicine*, 2018, 5 : 221. DOI: 10. 3389/fmed. 2018. 00221.

[4] 雷静, 何平. 膜性肾病足细胞损伤机制及治疗进展 [J]. *中国医师进修杂志*, 2019, 42 (6) : 567-572. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4904. 2019. 06. 022.

Lei J, He P. Podocyte injury mechanism and treatment progress in membranous nephropathy [J]. *Chinese Journal of Medical Continuing*, 2019, 42 (6) : 567-572. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4904. 2019. 06. 022.

[5] Tanigawa S, Islam M, Sharmin S, et al. Organoids from nephrotic disease-derived iPSCs identify impaired NEPHRIN localization and slit diaphragm formation in kidney podocytes [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11 (3) : 727-740. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2018. 08. 003.

[6] Li X, He JC. An update: The role of Neph1 inside and outside the kidney [J]. *Science China Life Sciences*, 2015, 58 (7) : 649-657. DOI: 10. 1007/s11427-015-4844-1.

[7] Li X, Chuang PY, D'Agati VD, et al. Neph1 preserves podocyte viability and glomerular structure and function in adult kidneys [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2015, 26 (10) : 2361-2377. DOI: 10. 1681/ASN. 2014040405.

[8] Venkatarreddy M, Cook L, Abuarquob K, et al. Neph1 regulates lamellipodia formation by assembling a protein complex that includes Ship2, filamin and lamellipodin [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (12) : e28710. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0028710.

[9] Martin CE, Jones N. Neph1 signaling in the podocyte: An updated view of signal regulation at the slit diaphragm and beyond [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018, 9 : 302. DOI: 10. 3389/fendo. 2018. 00302.

[10] Kandasamy Y, Smith R, Lumbers ER, et al. Neph1-a biomarker of early glomerular injury [J]. *Biomarker Research*, 2014, 2 (1) : 1-8. DOI: 10. 1186/2050-7771-2-21.

[11] 李涵, 葛许华, 缪红军. 足细胞损伤机制的研究进展 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2022, 42 (2) : 291-295.

Li H, Ge XH, Miao HJ. Research progress of podocyte injury mechanism [J]. *Journal of Nanjing Medical University: Natural Science Edition*, 2022, 42 (2) : 291-295.

[12] George B, Holzman LB. Signaling from the podocyte intercellular junction to the actin cytoskeleton [J]. *Seminars in Nephrology*, 2012, 32 (4) : 307-318. DOI: 10. 1016/j. semnephrol. 2012. 06. 002.

[13] 崔静, 李文娜, 娄景秋, 等. 特发性膜性肾病患者肾组织 M 型磷脂酶 A2 受体和 Neph1 的表达及其对预后的影响 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31 (3) : 333-335. DOI: 10. 13315/j. cnki. cjcep. 2015. 03. 026.

Cui J, Li WN, Lou JQ, et al. Expression of M-type phospholipase A2 receptor and nephrin in renal tissue of patients with idiopathic membranous nephropathy and its influence on prognosis [J]. *Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, 31 (3) : 333-335. DOI: 10. 13315/j. cnki. cjcep. 2015. 03. 026.

[14] 王颖超, 赵宗江, 赵敬, 等. 糖尿病肾病大鼠足细胞 nephrin 与 CD2AP 蛋白及其 mRNA 表达的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2014, 15 (2) : 107-109.

Wang YC, Zhao ZJ, Zhao J, et al. Effects of Tangshenping on nephrin and Cd in podocytes of rats with diabetes nephropathy 2AP protein and its mRNA expression [J]. *Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine on Nephropathy*, 2014, 15 (2) : 107-109.

[15] Arif E, Rathore YS, Kumari B, et al. Slit diaphragm protein Neph1 and its signaling [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289 (14) : 9502-9518. DOI: 10. 1074/jbc. M113. 505743.

[16] Hulkko J, Patrakka J, Lal M, et al. Neph1 is reduced in primary focal segmental glomerulosclerosis, minimal change nephrotic syndrome, and corresponding experimental animal models of adriamycin-induced nephropathy and puromycin aminonucleoside nephrosis [J]. *Nephron Extra*, 2014, 4 (3) : 146-154. DOI: 10. 1159/000365091.

[17] Heikkila E, Ristola M, Havana M, et al. Trans-interaction of nephrin and Neph1/Neph3 induces cell adhesion that associates with decreased tyrosine phosphorylation of nephrin [J]. *Biochemical Journal*, 2011, 435 (3) : 619-628. DOI: 10. 1042/BJ20101599.

[18] Grahammer F, Wigge C, Schell C, et al. A flexible, multilayered protein scaffold maintains the slit in between glomerular podocytes [J]. *JCI Insight*, 2016, 1 (9) : e86177. DOI: 10. 1172/jci. insight. 86177.

[19] Fukusumi Y, Zhang Y, Yamagishi R, et al. Neph1-binding Ephrin-B1 at the slit diaphragm controls podocyte function through the JNK pathway [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2018, 29 (5) : 1462-1474. DOI: 10. 1681/ASN. 2017090993.

[20] Takamura S, Fukusumi Y, Zhang Y, et al. Partitioning-Defective-6-Ephrin-B1 interaction is regulated by Neph1-mediated signal and is crucial in maintaining slit diaphragm of podocyte [J]. *The American Journal of Pathology*, 2020, 190 (2) : 333-346. DOI: 10. 1016/j. ajpath. 2019. 10. 015.

[21] Fukusumi Y, Yasuda H, Zhang Y, et al. Neph1-Ephrin-B1-Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger regulatory factor 2-Ezrin-Actin axis is critical in podocyte injury [J]. *The American Journal of Pathology*, 2021, 191 (7) : 1209-1226. DOI: 10. 1016/j. ajpath. 2021. 04. 004.

[22] Wasik AA, Polianskyte-Prause Z, Dong M, et al. Septin 7 forms a complex with CD2AP and nephrin and regulates glucose transporter trafficking [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2012, 23 (17) : 3370-3379. DOI: 10. 1091/mbc. e11-12-1010.

[23] 王进雅. miR-939 阻断剂通过调控 CD2AP 治疗肾病综合征的作用及机制 [D]. 南京: 南京医科大学, 2019.

[24] Tossidou I, Niedenthal R, Klaus M, et al. CD2AP regulates SUMOylation of CIN85 in podocytes [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2012, 32 (6) : 1068-1079. DOI: 10. 1128/MCB. 06106-11.

[25] Ha TS, Hong EJ, Han GD. Diabetic conditions downregulate the expression of CD2AP in podocytes via PI3K/Akt signalling [J]. *Diabetes/metabolism Research and Reviews*, 2015, 31 (1) : 50-60. DOI: 10. 1002/dmrr. 2562

- [26] Tossidou I, Teng B, Worthmann K, et al. Tyrosine phosphorylation of CD2AP affects stability of the slit diaphragm complex[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2019, 30(7):1220-1237. DOI: 10.1681/ASN.2018080860.
- [27] Van Itallie CM, Anderson JM. Architecture of tight junctions and principles of molecular composition[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2014, 36:157-165. DOI:10.1016/j.semedb.2014.08.011.
- [28] Excoffon KJ, Avila CL, Alghamri MS, et al. The magic of MAGI-1: A scaffolding protein with multi signalosomes and functional plasticity[J]. *Biology of the Cell*, 2022, 114(7):185-198. DOI: 10.1111/boc.202200014.
- [29] Empitu MA, Kadariswantiningsih IN, Aizawa M, et al. MAGI-2 and scaffold proteins in glomerulopathy[J]. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2018, 315(5):F1336-F1344. DOI:10.1152/ajprenal.00292.2018.
- [30] Shirata N, Ihara K, Yamamoto-Nonaka K, et al. Glomerulosclerosis induced by deficiency of membrane-associated guanylate kinase inverted 2 in kidney podocytes [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2017, 28(9):2654-2669. DOI: 10.1681/ASN.2016121356.
- [31] Yamada H, Shirata N, Makino S, et al. MAGI-2 orchestrates the localization of backbone proteins in the slit diaphragm of podocytes[J]. *Kidney International*, 2021, 99(2):382-395. DOI:10.1016/j.kint.2020.09.027.
- [32] Sarker R, Valkhoff VE, Zachos NC, et al. NHERF1 and NHERF2 are necessary for multiple but usually separate aspects of basal and acute regulation of NHE3 activity[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2011, 300(4):C771-C782. DOI: 10.1152/ajpcell.00119.2010.
- [33] Kostovska I, Trajkovska KT, Cekovska S, et al. Nephlin and podocalyxin-new podocyte proteins for early detection of secondary nephropathies[J]. *BANTAO Journal*, 2016, 14(1):11-16. DOI:10.1515/bj-2016-0003.
- [34] Amata I, Maffei M, Pons M. Phosphorylation of unique domains of Src family kinases [J]. *Frontiers in genetics*, 2014, 5:181. DOI:10.3389/fgene.2014.00181.
- [35] Huang G, Lv J, Li T, et al. Notoginsenoside R1 ameliorates podocyte injury in rats with diabetic nephropathy by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2016, 38(4):1179-1189. DOI:10.3892/ijmm.2016.2713.
- [36] Kanda S, Harita Y, Shibagaki Y, et al. Tyrosine phosphorylation-dependent activation of TRPC6 regulated by PLC- $\gamma$ 1 and nephrin: effect of mutations associated with focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2011, 22(11):1824-1835. DOI:10.1091/mbc.e10-12-0929.
- [37] New LA, Martin CE, Scott RP, et al. Nephrin tyrosine phosphorylation is required to stabilize and restore podocyte foot process architecture [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2016, 27(8):2422-2435. DOI:10.1681/ASN.2015091048.
- [38] Aoudjit L, Jiang R, Lee TH, et al. Podocyte protein, nephrin, is a substrate of protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *Journal of Signal Transduction*, 2011, 2011:376543. DOI:10.1155/2011/376543.
- [39] Denhez B, Lizotte F, Guimond M, et al. Increased SHP-1 protein expression by high glucose levels reduces nephrin phosphorylation in podocytes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(1):350-358. DOI: 10.1074/jbc.M114.612721.
- [40] Lee J, Koh A, Jeong H, et al. C1-Ten is a PTPase of nephrin, regulating podocyte hypertrophy through mTORC1 activation [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1):1-13. DOI:10.1038/s41598-017-12382-8.
- [41] Dlugos CP, Picciotto C, Lepa C, et al. Nephrin signaling results in integrin  $\beta$ 1 activation [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2019, 30(6):1006-1019. DOI:10.1681/ASN.2018040362.
- [42] Martin CE, New LA, Phippen NJ, et al. Multivalent nephrin-Nck interactions define a threshold for clustering and tyrosine-dependent nephrin endocytosis [J]. *Journal of Cell Science*, 2020, 133(4):s236877. DOI:10.1242/jcs.236877.

(收稿日期:2022-06-11)

(上接 1219 页)

- [34] Qi L, Chi X, Zhang X, et al. Kindlin-2 suppresses transcription factor GATA4 through interaction with SUV39H1 to attenuate hypertrophy[J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(12):890. DOI:10.1038/s41419-019-2121-0.
- [35] Yaseen I, Choudhury M, Sritharan M, et al. Histone methyltransferase SUV39H1 participates in host defense by methylating mycobacterial histone-like protein HupB [J]. *Embo Journal*, 2018, 37(2):183-200. DOI:10.15252/embj.201796918.
- [36] Lo Cigno I, Calati F, Borgogna C, et al. Human papillomavirus E7 oncoprotein subverts host innate immunity via SUV39H1-mediated epigenetic silencing of immune sensor genes [J]. *Journal Of Virology*, 2020, 94(4):e01812-194. DOI:10.1128/JVI.01812-19.
- [37] Miao Y, Lv Q, Qiao S, et al. Alpinetin improves intestinal barrier homeostasis via regulating AhR/suv39h1/TSC2/mTORC1/autophagy pathway [J]. *Toxicology And Applied Pharmacology*, 2019, 384:114772. DOI:10.1016/j.taap.2019.114772.
- [38] Weng X, Zhang Y, Li Z, et al. Class II transactivator (CIIITA) mediates IFN-gamma induced eNOS repression by enlisting SUV39H1 [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta-gene Regulatory Mechanisms*, 2019, 1862(2):163-172. DOI:10.1016/j.bbaggm.2019.01.005.

(收稿日期:2022-01-07)