

目次

● 论著与临床报道 ●

- 组蛋白甲基转移酶 NSD2 对胃癌细胞增殖、迁移、顺铂耐药及肿瘤免疫的影响 高翊轩,张春梅,冯冬梅,刘琦,邓多,潘云 (1)
- D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的作用研究
..... 陈凤,王腾飞,曹开美,彭铁立,齐玲,宋美慧 (10)
- TRIM40 对人胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响
..... 李玟,赵禹博,马佳纯,母红叶,宋美慧,齐玲,张梦阳 (16)
- 青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制研究
..... 张倩,白恒宇,杨祥,高俪原,徐秀泉 (23)
- 白色念珠菌对 M2 巨噬细胞极化逆转作用的研究
..... 台立,汤兴丽 (32)
- 牡丹皮精油纳米颗粒在日化品中的除螨功效及安全性检测
..... 任至立,滕俏,赵金红,李媛媛 (37)
- 雏菊叶龙胆酮的抑菌作用研究
..... 陈雪晴,张嵘嵘,马丽,孙加燕,查元,慈傲特,朱金燕 (44)
- HBV C 反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果
..... 韦武均,肖树荣,邓益斌,
罗艳红,许桂丹,胡仁统,彭彬,农顺强,陈晓昊 (50)
- 天麻素通过 NF- κ B 通路缓解大鼠脑缺血引发的肝损伤
..... 陈昭莹,胡蓉,李凤舜,产翠翠 (56)
- 基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A 对抑郁样小鼠模型改善作用的研究
..... 李赛,宋侨,姜雪,陆夏枫,彭诗倩,张敬芳,许迪,左湘 (61)

主管单位 右江民族医学院
主办单位 右江民族医学院
主编 黄龙坚
执行主编 黄俊杰
编辑 右江民族医学院
学报编辑部
出版 右江民族医学院
学报编辑部
广西百色市城乡
路 98 号
邮编:533000
电话:0776-2843414
E-mail:yyxb1979@126.com
http://xb.ymun.edu.cn/
印刷 南宁市彩印厂
国内发行 广西壮族自治区邮
政书报刊发行局
订购 全国各地邮政局
代码 48-310

中国标准连续出版物号:

ISSN 1001-5817
CN 45-1085/R

定价 10.00 元

正交实验设计优化及己多糖提取工艺	陈彩云, 谢先进, 李安琪, 檀圆圆, 丁浩, 方源孝, 李晨曦, 孙淑萍	(65)
醛固酮/肾素比值与高血压患者心脏损害的相关性研究	梁晓莹, 童嫫, 雒虹邴, 杨阳	(71)
不同修补材料对颅骨缺损患者情绪、认知功能改善及并发症的对比分析	张辉, 邓明亮, 邵东奇, 姜之全, 娄飞云	(76)
老年住院患者衰弱与甲状腺激素的关系研究	雒虹邴, 梁晓莹, 童嫫, 张杨毅, 曹晓倩, 王乃梅	(82)
靶向高通量测序技术在结核分枝杆菌及其耐药性快速检测中的应用	罗兰波, 黄丽花, 周游, 胡敏, 眭文娴, 陈桂彬, 石柳春, 杨小兵	(87)
4 种衰弱筛查工具在维持性血液透析患者中的应用效果比较	杨丹, 迟晨汝, 陈梦奇, 邵明, 黄孝华, 周志庆, 刘欢, 王翠珍	(92)
我国慢性病临床路径实施效果的横断历史研究	周佳佳, 王军永, 刘霞	(98)
基于 PMC 指数模型的广西养老政策量化评价研究	孔帅, 黄龙坚	(103)
综合生物信息学分析肺腺癌中 HSPB1 表达及调控网络	欧阳苏杭, 梁华清, 黄丽清, 黄月华, 谭有将, 屈迟文, 王荣	(111)
生物信息学分析 KRT6B 在泛癌组织中的表达及其意义	钱格格, 杨亚雯, 李嘉慧, 况云舒, 章雯, 芮雨童, 陈麒麟, 赵森, 孙恩涛, 陈冰	(118)
环境重金属联合暴露风险分层以及青少年肾脏健康的关联研究	张玲, 翁雨洁, 王峙, 袁敏	(124)
2018—2023 年某教学医院医务人员血源性职业暴露特征分析	张培金, 蔡东珍, 秦丹, 李燕, 吴群, 张晓娟, 尹慧, 钟芳, 雷健, 谢贝贝	(132)
国内近 20 年 ICU 气管插管研究热点与趋势分析——基于 CiteSpace 的可视化分析	莫锦, 宋长春, 李席	(138)
肿瘤坏死因子- α 基因 rs1800630 多态性与 Graves 病易感性的 Meta 分析	孙玲玲, 凌烈锋, 徐蕾	(144)

● 中医药现代研究 ●

基于数据挖掘技术分析针灸治疗脑损伤后意识障碍的选穴规律	李庚, 刘双丽, 范硕辰, 邵露, 蒋贤根, 曹洋, 潘雷	(149)
探析桂枝加龙骨牡蛎汤治疗心阳虚遗精的中医辨证施治	李欣阳, 王洪武	(156)

●医学综述●

HMGB1、氧化应激对细胞自噬和凋亡作用的研究进展 甘慧芳,覃月秋 (160)

地中海贫血患者免疫功能受损机制的研究进展 ... 荆钰鑫,文卓敏,林国武,农顺强,梁丽梅,周伟杰 (165)

近视与儿童青少年眼部生物学参数的相关性研究现状..... 赵朝阳,郝少峰,李会琳 (169)

●医学教育研究●

民族医科院校研究生的多学科融合团队教学模式面临的挑战与对策
..... 黄永毅,周文婷,曾红,莫小强,莫颂轶,覃洪含,黄衍强 (174)

●临床护理●

带 T 管的胆管结石患者出院准备度现状及与应对效能相关性分析
..... 朱敏,韩雅婷,范慧敏,柏心如,陶秀彬,王晓晔 (177)

手术室护士围术期非计划性低体温防护知信行现状及影响因素分析
..... 梁巨光,韦春萱,黄稳,李巧莉,何万军,蒋国永 (182)

心脏外科手术患者运动恐惧现状及影响因素分析
..... 罗桂荣,罗前颖,李丽娟,林珊珊,刘效刚,何银连,李燕飞,陈宏明,罗世官,罗春苗 (186)

《右江民族医学院学报》稿约 (封二)

《右江民族医学院学报》入选 2024《中国学术期刊影响因子年报》统计源期刊 (封三)

本期责任编辑 钟琳 覃洪含 覃黎黎

本期微机排版 卢娇红

期刊基本参数: CN45-1085/R * 1979 * b * A4 * 192 * zh * P * ¥10.00 * 500 * 33 * 2025-02

MAIN CONTENTS

Responsible Institution

Youjiang Medical University
for Nationalities

Sponsor

Youjiang Medical University
for Nationalities

Editor-in-Chief

Huang Longjian

Executive Editor-in-Chief

Huang Junjie

Edited

Editorial Board, Journal of
Youjiang Medical University
for Nationalities

Published

Editorial Board, Journal of
Youjiang Medical University
for Nationalities, No. 98,
Chengxiang Road, Baise
533000, Guangxi, China
Tel:0776-2843414
E-mail:yyxb1979@126.com
http://xb.ymun.edu.cn/

Printed

Nanning Color Printing
Factory

Domestic Distribution

Guangxi Post Publishing
Bureau

Subscribe

China Post Offices
throughout the Country
No. 48-310

China Standard Serial Num- ber

ISSN 1001-5817
CN 45-1085/R

Price ¥10.00

- Effects of Histone Methyltransferase NSD2 on proliferation, migration, cisplatin resistance, and tumor immunity in gastric cancer cells GAO Yixuan, ZHANG Chunmei, FENG Dongmei, LIU Qi, DENG Duo, PAN Yun (1)
- Study on the effects of D-limonene on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer PANC-1 cells CHEN Feng, WANG Tengfei, CAO Kaimei, PENG Tieli, QI Ling, SONG Meihui (10)
- The effects of TRIM40 on proliferation, migration, and invasion of human pancreatic cancer cells LI Wen, ZHAO Yubo, MA Jiachun, MU Hongye, SONG Meihui, QI Ling, ZHANG Mengyang (16)
- Study on the mechanism of indigo naturalis regulating ferroptosis for the treatment of traumatic brain injury ZHANG Qian, BAI Hengyu, YANG Xiang, GAO Liyuan, XU Xiuquan (23)
- Study on the reversal effect of *Candida albicans* on M2 macrophage polarization TAI Li, TANG Xingli (32)
- Detection of the acaricidal efficacy and safety of Moutan Cortex essential oil nanoparticles in daily chemical products REN Zhili, TENG Qiao, ZHAO Jinhong, LI Yuanyuan (37)
- Study on the antibacterial activity of Bellidifolin CHEN Xueqing, ZHANG Zhengrong, MA Li, SUN Jiayan, ZHA Yuan, CI Aote, ZHU Jinyan (44)
- Inhibitory effect of HBV C antigene locked nucleic acid on viral activity in transgenic mice in vivo WEI Wujun, XIAO Shurong, DENG Yibin, LUO Yanhong, XU Guidan, HU Rentong, PENG Bin, NONG Shunqiang, CHEN Xiaohao (50)
- Gastrodin alleviates liver injury induced by cerebral ischemia in rats via the NF- κ B pathway CHEN Zhaoying, HU Rong, LI Fengshun, CHAN Cuicui (56)
- Study on the improvement effect of Saikosaponin A on depression-like mouse model based on the brain-gut axis theory LI Sai, SONG Qiao, JIANG Xue, LU Xiaofeng, PENG Shiqian, ZHANG Jingfang, XU Di, ZUO Xiang (61)

本文引文格式:高翊轩,张春梅,冯冬梅,等.组蛋白甲基转移酶 NSD2 对胃癌细胞增殖、迁移、顺铂耐药及肿瘤免疫的影响[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):1-9.

【论著与临床报道】

组蛋白甲基转移酶 NSD2 对胃癌细胞增殖、 迁移、顺铂耐药及肿瘤免疫的影响

高翊轩¹,张春梅²,冯冬梅²,刘琦¹,邓多¹,潘云²

(1. 大理大学基础医学院,云南 大理 671000;
2. 大理大学第一附属医院,云南 大理 671000)

摘要:目的 探究核受体结合 SET 结构域蛋白 2(Nuclear receptor-binding SET domain-containing protein 2, NSD2)在胃癌(gastric cancer, GC)中的表达模式及其对胃癌细胞生物学行为、顺铂耐药及肿瘤免疫的影响。方法 生物信息学分析胃癌中 NSD2 表达量及对预后、胃癌免疫细胞及免疫因子的影响;RT-qPCR 检测胃及胃癌细胞系中 NSD2 表达量;使用 NSD2 抑制剂(LEM-14、UNC6934)建立 NSD2 低表达胃癌细胞模型,Western Blot 检测细胞系 NSD2 抑制效率;CCK-8、克隆形成实验和划痕愈合实验测 NSD2 表达对胃癌细胞的增殖及迁移能力的影响;CCK-8 实验检测 NSD2 对顺铂耐药的影响。结果 GEPIA2 数据库/UALCAN 网站分析结果显示,NSD2 在胃癌组织中表达高于癌旁组织($P < 0.05$);Kaplan-Meier Plotter 结果提示 NSD2 低表达的胃癌患者有较好的预后($P < 0.05$);抑制 NSD2 表达后胃癌细胞的增殖及迁移能力受到显著抑制($P < 0.05$);NSD2 的表达促进胃癌细胞系顺铂(HGC-27)耐药($P < 0.05$),提高顺铂 IC50($P < 0.001$);TISDIB 分析提示 NSD2 抑制 CD4 及 CD8 免疫细胞浸润,与 PD-L1、CTLA4 表达呈正相关。结论 NSD2 在胃癌组织和细胞系中高表达,高表达的胃癌患者预后较差;NSD2 促进胃癌细胞增殖及迁移能力、顺铂耐药及增加顺铂 IC50、促进胃癌细胞免疫逃逸。

关键词:胃肿瘤;核受体结合 SET 结构域蛋白 2;顺铂耐药;肿瘤免疫浸润

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0001-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.001

Effects of Histone Methyltransferase NSD2 on proliferation, migration, cisplatin resistance, and tumor immunity in gastric cancer cells

GAO Yixuan¹, ZHANG Chunmei², FENG Dongmei², LIU Qi¹, DENG Duo¹, PAN Yun²

(1. School of Basic Medical Sciences, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China;
2. The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, Yunnan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression pattern of Nuclear receptor-binding SET domain-containing protein 2 (NSD2) in gastric cancer (GC) and its effects on the biological behavior of GC cells, cisplatin resistance, and tumor immunity. **Methods** Bioinformatics analysis was conducted to explore NSD2 expression in GC and its effects on prognosis, immune cells, and immune factors in GC. RT-qPCR was used to detect NSD2 expression in gastric tissues and GC cell lines. NSD2 inhibitor (LEM-14, UNC6934) was used to establish gastric cancer cell models with low NSD2 expression, and Western Blot was employed to detect the inhibi-

基金项目:国家自然科学基金项目(82160044);云南省科技厅基础研究专项(202401AT070073);云南省教育厅科学研究基金项目(2024J0843)

第一作者:高翊轩,在读硕士研究生,研究方向:DNA 损伤与肿瘤免疫,E-mail:doctortrees@qq.com

通讯作者:张春梅,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤免疫,E-mail:zhangchunmeiemail@163.com

tion efficiency of NSD2 in cell lines. CCK-8, clone formation, and wound healing assays were performed to assess the effects of NSD2 expression on the proliferation and migration abilities of GC cells. CCK-8 assay was used to detect the impact of NSD2 on cisplatin resistance. **Results** Analysis results from the GEPIA2 database and UALCNA website showed that NSD2 expression was higher in GC tissues than in adjacent non-cancerous tissues ($P < 0.05$). Kaplan-Meier Plotter results suggested that GC patients with low NSD2 expression had better prognosis ($P < 0.05$). After inhibiting the expression of NSD2, the proliferation and migration abilities of GC cells were significantly inhibited ($P < 0.05$). The expression of NSD2 promoted cisplatin resistance in GC cell lines (HGC-27) ($P < 0.05$) and increased the cisplatin IC50 ($P < 0.001$). TISDIB analysis suggested that NSD2 inhibited the infiltration of CD4 and CD8 immune cells and was positively correlated with the expression of PD-L1 and CTLA4. **Conclusion** NSD2 is highly expressed in GC tissues and cell lines, and patients with high NSD2 expression have poor prognosis. NSD2 promotes GC cell proliferation and migration, enhances cisplatin resistance, increases cisplatin IC50, and facilitates immune escape in GC cells.

Key words: gastric cancer; nuclear receptor-binding SET domain-containing protein 2; cisplatin resistance; tumor immune infiltration

胃癌(gastric cancer,GC)是最常见的恶性肿瘤之一,2020 年全球有 1 089 103 例新发胃癌病例,约 768 793 例死亡,相当于全球每 13 例胃癌新发病例中就有 1 例死亡^[1]。大多数新病例发生在发展中国家,2022 年中国胃癌新发病例约为 482 万,死亡人数约为 321 万^[2]。胃癌主要的治疗方式为手术治疗、化疗、分子靶向治疗和免疫治疗,顺铂作为胃癌一线化疗药物,顺铂能与 DNA 结合,引起交叉联结,产生 DNA-铂复合物,造成 DNA 损伤,激活 DNA 损伤反应诱导线粒体凋亡,并抑制细胞有丝分裂。以顺铂为基础的化疗常用于晚期胃癌的治疗,尽管有一致的初始反应率,但顺铂治疗经常导致化疗耐药的发展,导致治疗失败,因此探寻顺铂耐药机制对解决顺铂耐药具有重要意义^[3]。核受体结合 SET 结构域蛋白 2(nuclear receptor-binding SET domain-containing protein 2, NSD2)又名 MMSET 或 WHSC1,是组蛋白甲基转移酶 NSD 蛋白家族成员,利用 SET 结构域催化 H3K36 二甲基化(H3K36me2)发挥基因调控作用^[4]。NSD2 作为致癌基因在前列腺癌、结直肠癌、肝癌和肾癌等实体瘤中呈现高表达,正向调节细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化,在发病机制和疾病进展中发挥重要作用^[4-7]。NSD2 也参与 DNA 损伤修复(DNA damage and repair,DDR)过程,NSD2 介导第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten,PTEN)在 K349 位点的二甲基化,二甲基化的 PTEN 被 P53 结合蛋白 1(P53 binding protein,53BP1)的结构域识别,将 PTEN 引入 DNA 损伤位点,通过磷酸化组蛋白 H2AX(γ -H2A histone family member X, γ -H2AX)调控 DNA 双链断裂损伤修复^[8-9]。DDR 抑制剂如共济失调毛细血管扩张突变基因(ataxia telangi-

ectasia-mutated gene, ATR)抑制剂,通过放大 DNA 损伤和产生免疫原性新抗原,激活 T 细胞反应进而触发炎症因子释放,导致免疫原性癌细胞死亡^[10]。NSD2 抑制剂药物开发虽然还处于早期,令人惊喜的是,目前已有 LEM-14、UNC6934 及 MR837 等选择性抑制 NSD2 的药物,并且选择性 NSD2 抑制剂 KTX1001 已经进入临床试验阶段^[11]。本研究利用生物信息及胃癌细胞系研究 NSD2 在胃癌与正常胃黏膜中表达差异,分析 NSD2 表达水平与生存预后相关性,利用体外细胞功能实验探究 NSD2 基因对 HGC-27、SNU-216 细胞系生物学行为及顺铂耐药影响,旨在探索 NSD2 在胃癌表达的临床意义及其作用机制,为胃癌治疗提供新靶点及逆转顺铂耐药提高胃癌患者预后提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试剂 RPMI 1640 培养基(C118755000BT)、DMEM 培养基(C11995500BT)、胎牛血清 FBS(SH30396.03)、青霉素-链霉素(SH40003.01)、胰酶(SH40002.01)、PBS(SH303256.01)、Trizol(15596026)等试剂购于美国赛默飞世尔科技公司;DMSO(D8371)、RIPA 裂解液及 PMSF(R0010)等试剂购于中国北京索莱宝科技有限公司;UNC6934(SML2813)购于德国西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;LEM-14(HY-114340)、顺铂(HY-17394)购于美国 MCE;CCK-8(BS350B)购于中国兰杰柯科技有限公司;TBST(G0004)、结晶紫(G1014)、转膜液(G2028)、电泳液(G2081)等购于中国武汉赛维尔生物科技有限公司;中性福尔马林固定液购于中国雨露实验器材有限公司;无水甲醇(分析纯)购于中国天津市风船化学试剂科技有限公司;ECL 化学发光试剂盒(P0018A)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(P0012A)购于中国上海

碧云天生物技术股份有限公司; NSD2 antibody (ab75359) 购于艾博抗(上海)贸易有限公司; HRP Anti-Mouse 二抗 (SA00001-1)、 β -actin antibody (66009-1) 购于中国武汉三鹰生物技术有限公司; 无水乙醇(67630)、异丙醇(64175)均为分析纯, 购于中国成都市科隆化学品有限公司; DEPC 水(Y1821)、SYBR Green 试剂盒(FP205)、FastKing cDNA Kit(KR116) 购于中国天根生化科技(北京)有限公司; β -actin、NSD2 引物购于中国生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 细胞培养及分组 人胃癌细胞系 HGC-27 购自武汉普赛诺生物科技有限公司, 人胃癌细胞系 SNU-216 购自武汉华尔纳生物科技有限公司, 均在含有 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素的 RPMI 1640 培养基中培养; 人胃癌细胞 AGS/正常胃组织细胞 GES-1 由山东大学齐鲁医院张娣博士后惠赠, 均在含有 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基中培养。NSD2 抑制剂(LEM-14、UNC6934)使用 DMSO 溶解, LEM-14 使用浓度为 132 μ M, UNC6934 使用浓度为 1.48 μ M, 设置 1:800 DMSO 组以排除溶剂对实验的影响。

1.3 生物信息学分析胃癌中 NSD2 相对表达量、预后及与免疫细胞和免疫因子相关性 在 GEPIA2 网站 (<http://gepia2.cancer-pku.cn/>) Expression DIY 板块的 Box Plot 页面, 选择癌症类型 STAD 及输入基因名称 NSD2, 根据肿瘤组织和癌旁组织中 NSD2 基因相对表达量, 通过 *t* 检验对差异进行分析; UALCAN 网站 (<https://ualcan.path.uab.edu/index.html>) 的 TCGA 版块选择胃腺癌/NSD2 分析肿瘤组织和癌旁组织中 NSD2 基因相对表达量; Kaplan-Meier Plotter 网站 (<https://kmplot.com/analysis/>) 分析 NSD2 表达对胃癌预后影响, 点击基因芯片的 Gastric cancer 版块, 输入基因名称 WHSC1, 分别选择 223472 及 209052 数据集进行总生存率(overall survival, OS)分析; NSD2 在胃癌中对免疫细胞及细胞因子相关性结果均来自 TISIDB 网站 (<http://cis.hku.hk/TISIDB>)。

1.4 RT-qPCR 实验检测正常胃黏膜细胞及胃癌细胞系 NSD2 在 mRNA 水平表达情况 Trizol 法提取细胞系总 RNA; 12 孔板细胞融合至 90% 时提取 RNA, 每孔添加 500 μ L Trizol 溶液, 冰上静置 5 min, 吸取样本到 1.5 mL EP 管中, 每管添加 200 μ L 氯仿替代物混匀, 室温静置 15 min, 12 000 r/min 离心 15 min, 吸取上层液体 200 μ L 至新 1.5 mL EP 管中(离心后样品分三层, 分别为: 最上层是 RNA, 中间层的蛋白质及最下层的有机物), 切勿吸取蛋白质及有机物, 加入

200 μ L 异丙醇混匀, 室温静置 15 min, 1 200 r/min 离心 15 min, 白色沉淀为所需 RNA, 弃去上清, 75% 乙醇清洗 3 次, 7 500 r/min 离心 5 min, 弃去上清后室温晾干, 加入 20 μ L DEPC 水溶解 RNA, Nanodrop 2000 测定 RNA 样品纯度和浓度; 根据天根逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA, 根据天根 SYBR Green 试剂盒说明书进行实时荧光定量 PCR; 以 β -actin 为内参, 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算出 mRNA 相对表达量, RT-qPCR 引物序列, 见表 1。

表 1 NSD2 及 β actin 引物序列

基因名称	引物序列
NSD2	Forward primer: 5'-ACTCTCAAAAGACGGCAGA-3'
	Reverse primer: 5'-TGGTGTGTAGCGTGCTCTC-3'
β actin	Forward primer: 5'-CCTGGCACCCAGCACAAT-3'
	Reverse primer: 5'-GGGCCGGACTCGTCATAC-3'

1.5 Western Blot 实验 NSD2 抑制剂的抑制效率 提取胃癌细胞系总蛋白, SDS-PAGE 分离蛋白质, 并湿转至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉摇床 80 r/min 室温孵育 2 h, 一抗 4 $^{\circ}$ 孵育过夜, 根据一抗种属选择二抗, 二抗室温孵育 2 h, 滴加 ECL 发光液至 PVDF 膜上, BIO-RAD 凝胶成像仪显影, 使用 ImageJ 软件分析其灰度值。

1.6 CCK-8 检测 NSD2 对胃癌细胞增殖及顺铂耐药影响 将 SNU-216 与 HGC-27 胃癌细胞系以 5×10^3 个/孔细胞接种至 96 孔板, 每个组别设 5 个复孔, 以 3% DMSO 组作为阳性对照组, 胃癌细胞增殖实验组: 分别给予 NSD2 抑制剂 UNC6934 和 LEM-14 处理, 培养 0 h、24 h、48 h、72 h 后, 弃去含有 NSD2 抑制剂的完全培养基, CCK-8 试剂与 RPMI 1640 培养基按 1:10 比例配置 CCK-8 混合物, 每孔添加 100 μ L 混合物, CO₂ 培养箱孵育 90 min, 吸取 90 μ L 上清液到新的 96 孔板后, 向原 96 孔板添加含有 NSD2 抑制剂完全培养基 100 μ L 继续培养, 含有 CCK-8 混合物 96 孔板检测 450 nm 处吸光度值; 顺铂耐药组: 给予 UNC6934 处理 24 h, 再给予 0 μ M、10 μ M、20 μ M、40 μ M、80 μ M 及 160 μ M 的顺铂培养 24 h 后, 进行 CCK-8 实验, 检测 450 nm 处吸光度值以分析 NSD2 表达对顺铂耐药影响。

1.7 集落形成实验检测 NSD2 表达对胃癌细胞系克隆形成能力影响 将 SNU-216 与 HGC-27 胃癌细胞系以 200 个/孔细胞接种至 12 孔板, 每组 3 个复孔, 待单个细胞增殖至 8 h, 给予 NSD2 抑制剂 UNC6934 (30 μ M) 和 LEM-14 (132 μ M) 处理, CO₂ 培养箱培养, 每隔 3 d 更换含有对应药物的新培养基, 至单个细胞增

殖到 6 代时(大约 7 d 左右),中性福尔马林固定 10 min,0.1%结晶紫染色 15 min,PBS 漂洗 3 次,80 r/min 震荡,10 分钟/次;拍照并用 ImageJ 计算克隆形成数量,使用 GraphPad Prism 统计并作图。

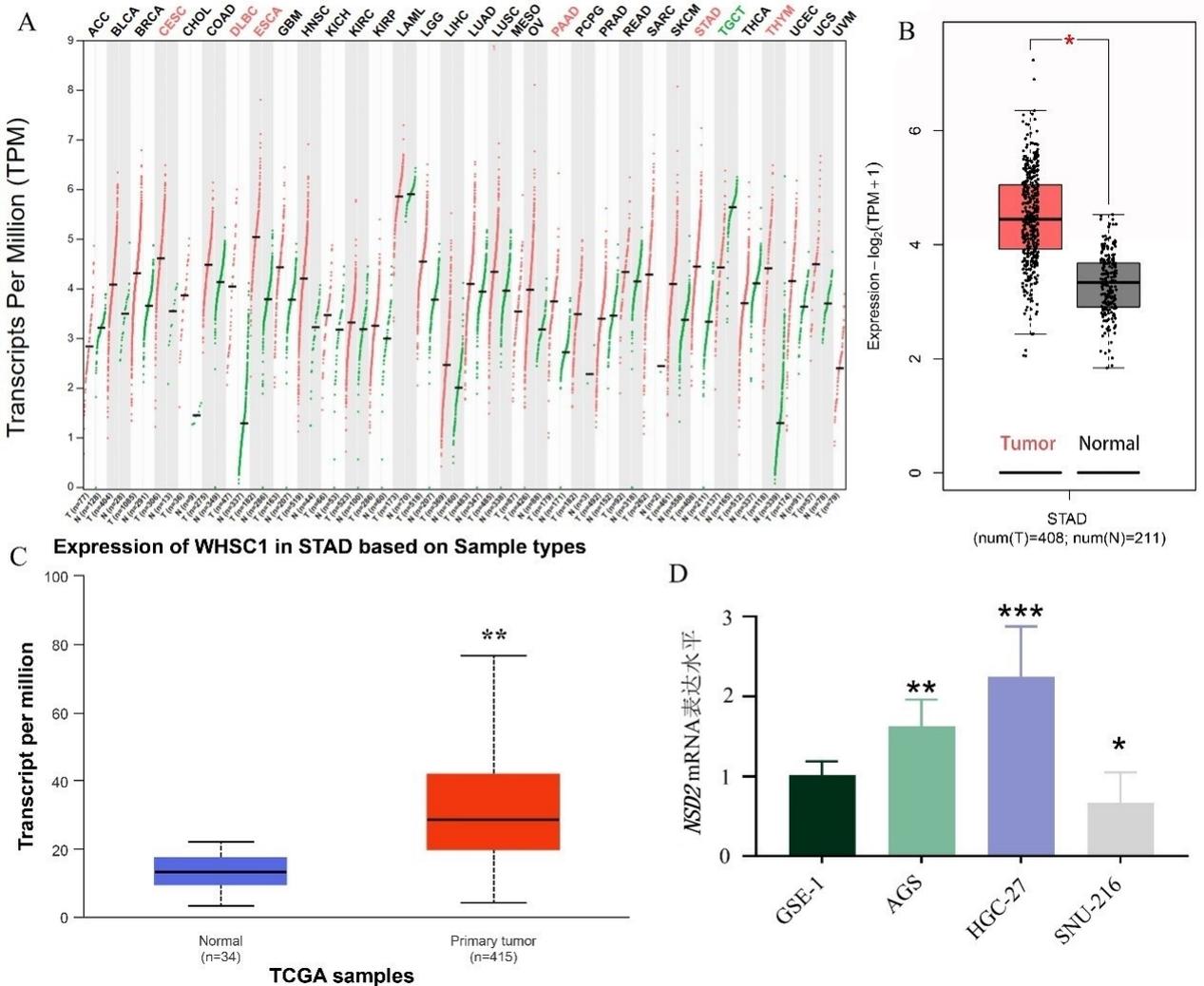
1.8 划痕愈合实验研究 NSD2 表达对胃癌细胞系迁移能力影响 SNU-216 和 HGC-27 细胞接种至 12 孔板,待细胞密度达到 95%时使用含有 2%血清培养基进行处理,并给予 NSD2 抑制剂 UNC6934 和 LEM-14 处理,用 10 μ L 枪头在孔板内画“十”字划痕,分别在给予 NSD2 抑制剂后 0 h、6 h、12 h、24 h、和 30 h(或 36 h)时,在显微镜 400 倍下的同一位置进行拍照,用 ImageJ 软件分析细胞平均迁移距离,迁移距离=0 h 平均距离-相应时间平均距离。

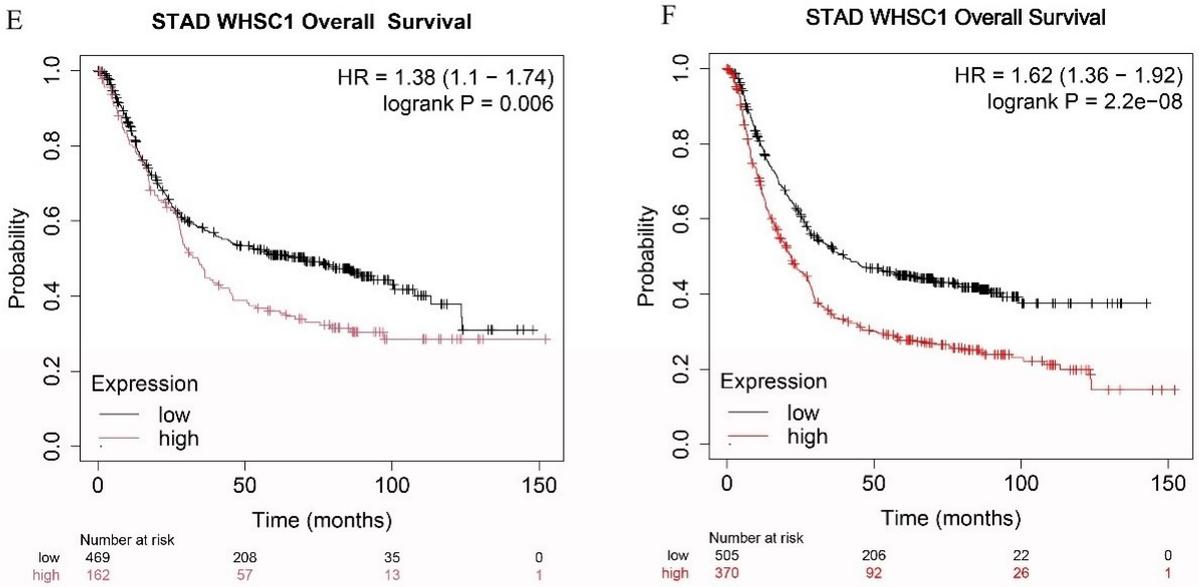
1.9 统计学方法 上述实验均独立重复 3 次,所有图表均采用 GraphPad Prism 10.1、ImageJ 软件进行统计学分析,两组间均数比较采用 *t* 检验,使用 Kaplan-Meier 方法描述 OS 曲线。以 $P < 0.05$ 差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 NSD2 基因在胃癌组织中高表达 GEPIA2 和 UALCAN 分析 NSD2 在胃癌组织中的表达情况,结果显示,NSD2 基因在胃癌中表达显著高于癌旁组织 ($P < 0.05$),见图 1A~图 1C;RT-qPCR 检测正常胃黏膜细胞 GSE-1 和胃癌细胞系 AGS、HGC-27 及 SNU-216 中 NSD2 mRNA 水平,如图 1D 所示,与正常胃黏膜细胞 GSE-1 相比,AGS 与 HGC-27 细胞系的 NSD2 表达水平显著上调,SNU-216 细胞系 NSD2 表达水平下调,差异具有统计学意义($t = 3.210, P < 0.01$; $t = 5.327, P < 0.001$; $t = 2.316, P < 0.05$)。Kaplan-Meier Plotter 网站分析 NSD2 表达对胃癌预后影响,223472 及 209052 两个数据集分析都提示,NSD2 低表达的胃癌患者具有较好预后,见图 1E、图 1F。



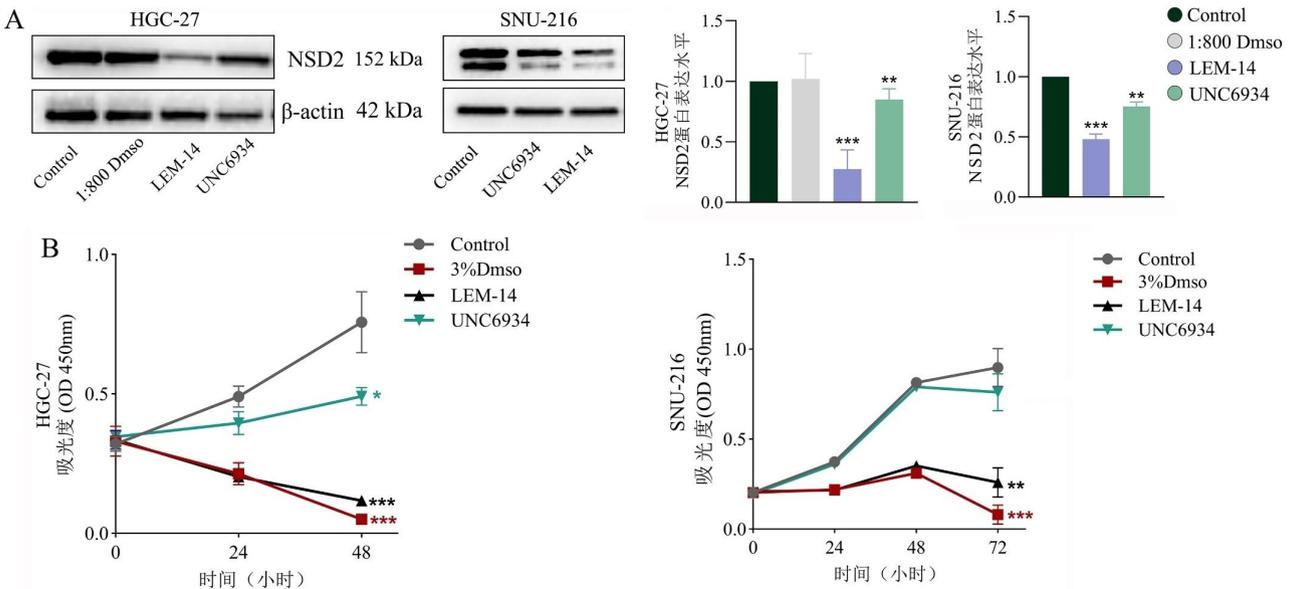


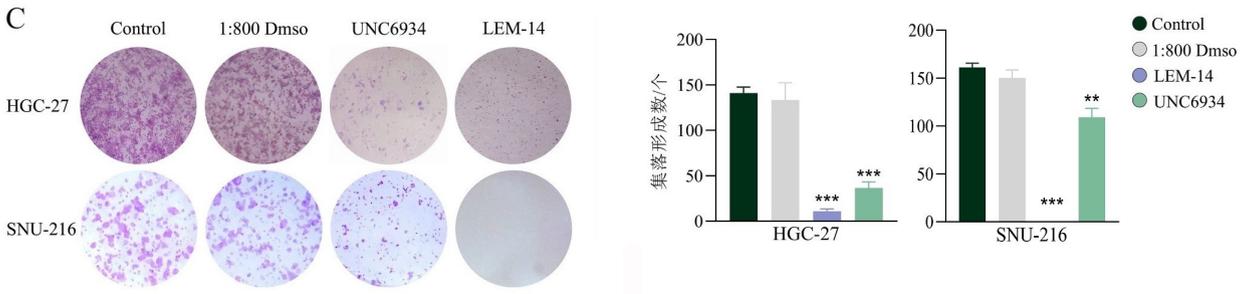
注:A,B为 GEPIA2 分析 NSD2 在泛癌中的表达,其中 NSD2 在胃癌中表达显著高于癌旁组织;C为 UALCNA 分析显示 NSD2 在胃癌中高表达;D为 RT-PCR 检测正常胃黏膜细胞 GSE-1 和胃癌细胞系 AGS、HGC-27 及 SNU-216 中 NSD2 的 mRNA 水平; E,F为 Kaplan-Meier Plotter 中 223472(E)及 209052(F)数据集 OS 分析结果显示 NSD2 低表达胃癌患者预后较好。与 GSE-1 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 NSD2 在胃癌中高表达及与胃癌不良预后相关

2.2 NSD2 促进胃癌细胞增殖及集落形成 为探究 NSD2 表达对胃癌细胞增殖及克隆集落形成能力的影响,首先,使用 NSD2 抑制剂(LEM-14、UNC6934)处理细胞系 24 h,构建 NSD2 低表达胃癌细胞模型用于后续的细胞实验,Western Blot 检测 SNU-216 与 HGC-27 两株胃癌细胞系中 NSD2 蛋白表达水平,实验结果显示:在 HGC-27 和 SNU-216 细胞系中,抑制

剂组(LEM-14 与 UNC6934 组)中 NSD2 表达均显著降低,见图 2A。CCK-8 实验探究 NSD2 表达对胃癌增殖能力影响,结果显示,与 Control 组比较,抑制 NSD2 表达后胃癌细胞系生长速度显著减慢($P < 0.05$),见图 2B。与此同时,集落形成实验结果表明:UNC6934 及 LEM-14 组集落形成数量比 Control 组显著减少($P < 0.01$),见图 2C。



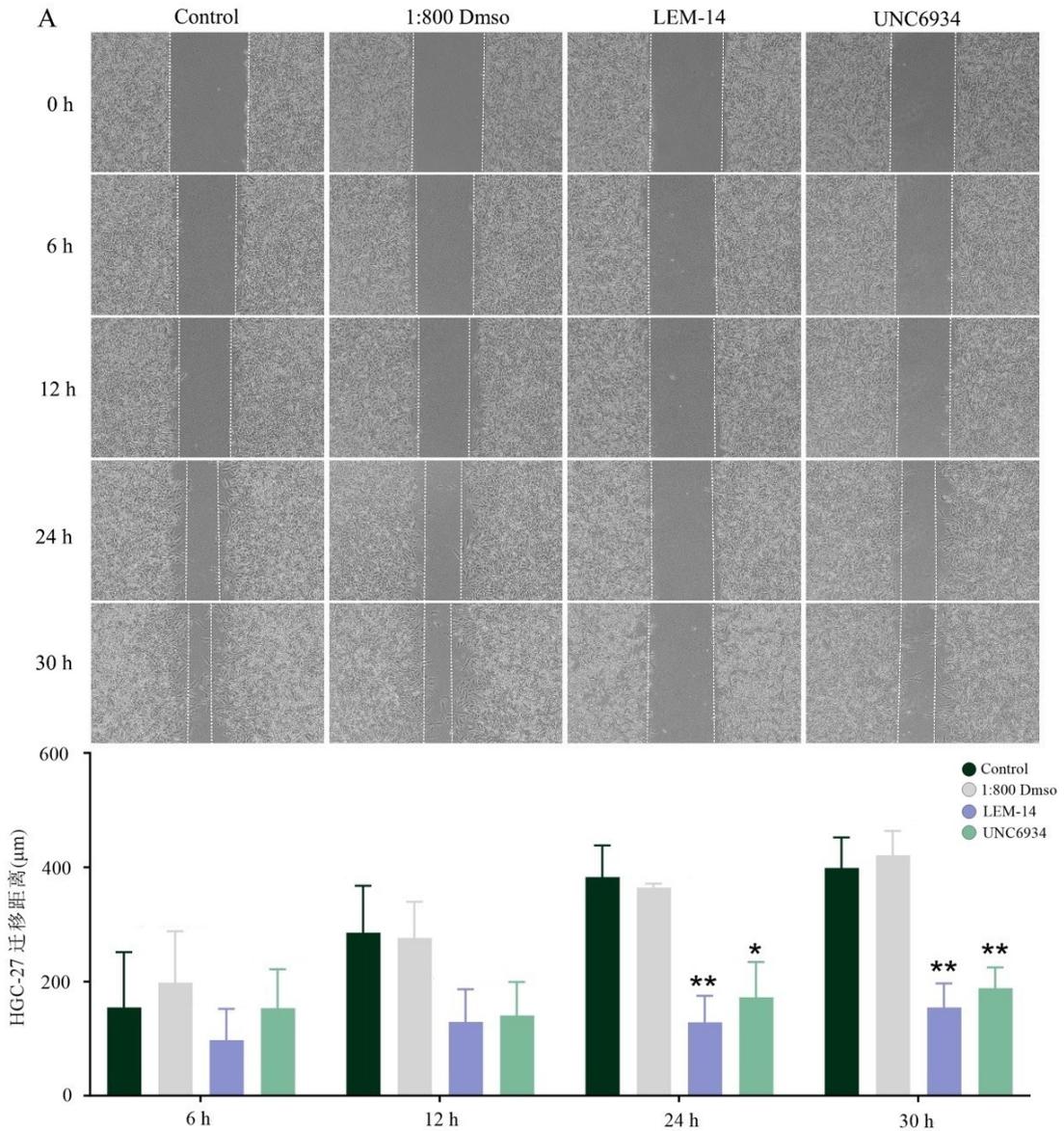


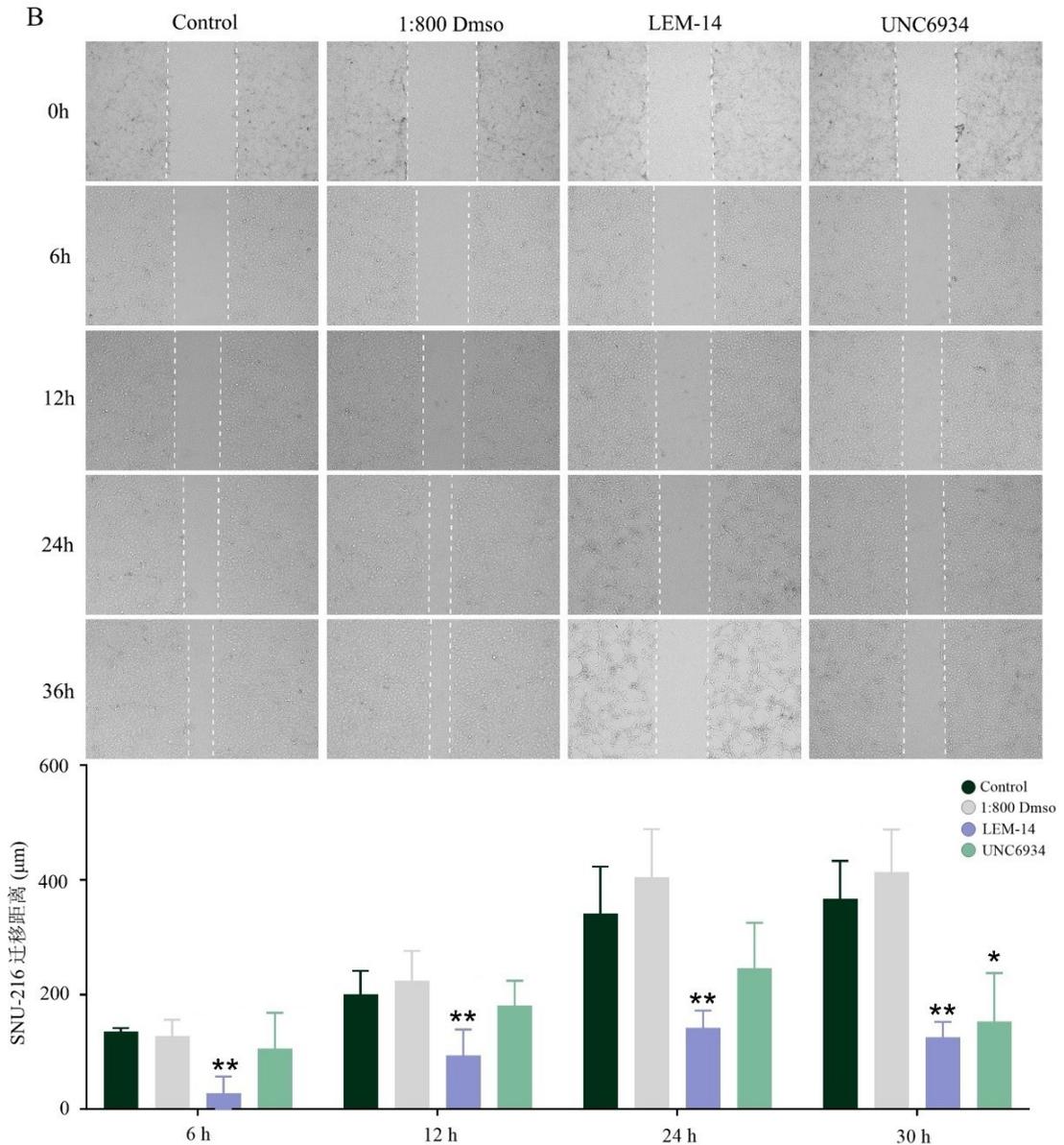
注:A为 Western Blot 法检测 LEM-14 及 UNC6934 在 HGC-27、SNU-216 细胞系抑制效率;B为 CCK-8 法检测 NSD2 对 HGC-27、SNU-216 细胞系增殖影响;C为集落形成实验检测 NSD2 对 HGC-27 与 SNU-216 细胞系克隆形成能力影响。与 Control 组比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 2 NSD2 促进胃癌细胞系的增殖及克隆能力

2.3 NSD2 促进胃癌细胞迁移能力 为探究抑制 NSD2 表达对胃癌迁移能力影响,使用 NSD2 抑制剂 UNC6934 和 LEM-14 处理细胞系 24 h 后,划痕愈合

实验记录胃癌细胞的迁移情况,结果表明,在 HGC-27 和 SNU-216 细胞系中,UNC6934 及 LEM-14 组迁移能力显著低于 Control 组($P < 0.05$),见图 3A、图 3B。





注: A 为划痕愈合实验检测 NSD2 对 HGC-27 细胞系迁移能力影响($\times 400$);

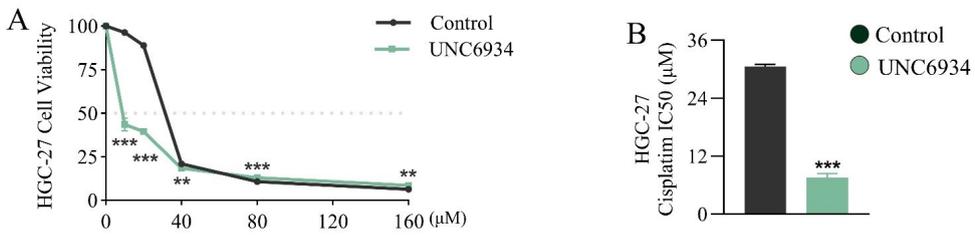
B 为划痕愈合实验检测 NSD2 对 SNU-216 细胞系迁移能力影响($\times 400$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 NSD2 促进胃癌细胞系的迁移能力

2.4 NSD2 促进胃癌细胞系顺铂耐药 为探究 NSD2 表达对胃癌细胞系顺铂耐药影响(IC_{50}),用 NSD2 抑制剂 UNC6934 处理 HGC-27 胃癌细胞系 24 h 后,再给予 $10 \sim 160 \mu M$ 浓度梯度顺铂处理 24 h,结果表明,随着顺铂浓度的增加,Control 组及 UNC6934 组细胞存活率呈下降趋势,顺铂浓度在 $10 \sim 40 \mu M$ 时,UNC6934 处理增强了顺铂引起的细胞数量减少,即增强胃癌细胞系对顺铂敏感性,表明 NSD2 高表达促进顺铂耐药($P < 0.001$),见图 4A。然而,当顺铂浓度在 $80 \sim 160 \mu M$ 时,NSD2 表达导致细胞对顺铂敏感性影响差距缩小($P < 0.05$),见图 4B。此外,与 Control 组相比,UNC6934 组顺铂 IC_{50} 显著降低,差异具有统

计学意义($t = 47.42, P < 0.001$)。

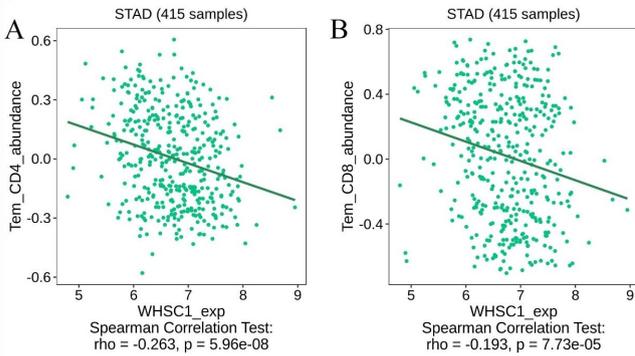
2.5 在胃癌中 NSD2 与 CD4、CD8 细胞浸润呈负相关,与 PD-L1、CTLA4 表达呈正相关 NSD2 参与 DNA 损伤修复,且当 DNA 修复缺陷引起基因组不稳定,引发炎症信号而增强抗肿瘤免疫^[12]。因此,进一步利用 TISIDB 网站探究 NSD2 与胃癌免疫细胞及免疫因子分泌关系。TISIDB 分析结果显示,NSD2 与 CD4 细胞及 CD8 细胞浸润呈负相关,见图 5A、图 5B,与免疫检查点程序性死亡受体-配体 1(programmed cell death-ligand 1,PD-L1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4,CTLA4)的表达呈正相关,见图 5C。



注:A、B为 CCK-8 法检测 NSD2 对胃癌细胞系 HGC-27 顺铂耐药及 IC50 影响。

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

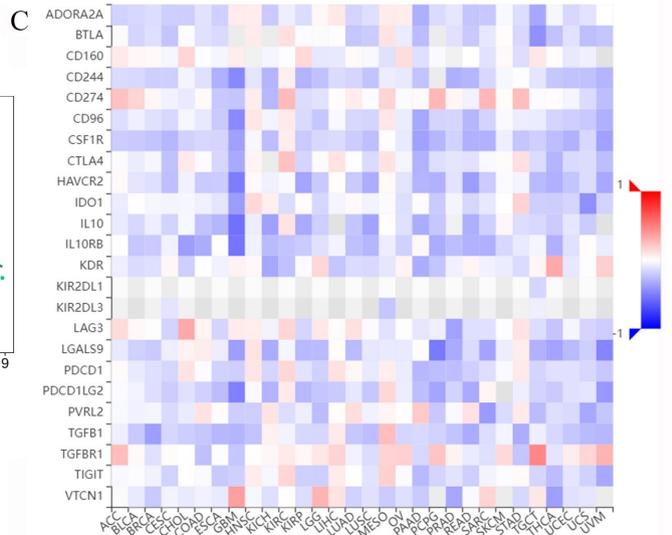
图 4 NSD2 促进胃癌细胞系顺铂耐药



注:A、B为 TISIDB 分析 NSD2 对胃癌中 CD4、CD8 细胞浸润影响;

C 为 TISIDB 分析 NSD2 与免疫检查点相关性。

图 5 NSD2 促进胃癌细胞的免疫逃逸



3 讨论

NSD2 作为组蛋白甲基化转移酶在多类型癌症中通过突变或过表达增强催化活性而发挥促肿瘤细胞增殖、转移及肿瘤形成的关键作用^[13-14]。在本研究中, GEPIA2、UALCNA 数据库分析结果表明, NSD2 在胃癌组织中的表达高于癌旁组织, 且 NSD2 高表达水平与胃癌较差预后相关, 该结果与文献报道的前列腺癌和肺腺癌结果一致^[15]。进一步体外细胞生物学行为实验结果证实, NSD2 抑制剂 LEM-14 及 UNC6934 可抑制胃癌细胞的增殖及迁移能力。LEM-14 作为 NSD2 特异性抑制剂, 可抑制 NSD2 引起的 H3K36 甲基化, IC₅₀ 为 132 μM, 对核受体结合 SET 结构域蛋白 1 (nuclear receptor-binding SET domain-containing protein 1, NSD1) 和核受体结合 SET 结构域蛋白 3 (nuclear receptor-binding SET domain-containing protein 3, NSD3) 无效, 通过 2 个氢键、1 个芳香氢键及 3 个阳离子相互作用与 NSD2 活性结构域紧密结合^[16-17]。UNC6934 与 H3K36me₂ 竞争性结合 NSD2 的 PWWP1 结构域, 拮抗 NSD2 与核小体 H3K26me₂ 的相互作用^[18]。因此, LEM-14 及 UNC6934 作为 NSD2 抑制剂有望成为提高胃癌临床疗效的新药物。

当 DNA 损伤发生时, 由 NSD2 介导的 H3K36me₂ 在 DNA 双链断裂 (DNA double-strand break, DSB) 处积累, 并在 DNA 双链损伤处招募早期 DNA 修复组件奈梅亨断裂综合征蛋白 1 (Nijmegen breakage syndrome protein 1, NBS1) 和 Ku70; NSD2 既可以使 H4K20 甲基化通过募集 53BP1 促进 DNA 损伤反应; NSD2 又可介导 PTEN 在 K349 位点的二甲基化, 将 PTEN 引入 DNA 损伤位点, 通过去磷酸化 γ-H2AX 调控 DNA 双链断裂的有效修复^[19-20]; XUE W H 等^[21] 的研究表明 NSD2 通过 LncRNA MACCI-AS1 和 FOXD2-AS1 介导食管鳞癌的顺铂耐药; 本研究利用 CCK-8 实验检测 NSD2 表达对顺铂耐药影响, 抑制 NSD2 表达后增强胃癌细胞对顺铂敏感性而降低其耐药性, 表现为顺铂 IC₅₀ 降低及胃癌细胞增殖抑制率显著增加。顺铂是临床癌症化疗首选药物, 通过干扰 DNA 修复机制造成 DNA 损伤, 诱导癌细胞凋亡^[22]。然而, 肿瘤细胞通过获得对顺铂造成的损害抗性, 产生遗传和表观遗传变化, 导致耐药的产生和癌细胞内的抗性机制刺激^[23]。本实验证实 NSD2 抑制剂与顺铂联合使用可有效抑制胃癌细胞的增殖, NSD2 作为非同源末端链接和同源重组修复所必须的蛋白, 可能通

过促进 DNA 损伤的修复介导顺铂耐药,因此,NSD2 有望成为预测胃癌顺铂药物敏感生物学指标。NSD2 抑制剂与顺铂联合治疗有效增强顺铂药物敏感性,可为胃癌药物联合治疗提供新的前景。此外,DNA 损伤修复缺陷可诱导基因组不稳定性,DNA 直接或间接形成微核随后渗透到细胞质中,激活胞质 DNA 感受器,触发免疫炎症信号,增强抗肿瘤免疫,从而实现癌症免疫治疗,而 DNA 损伤修复抑制剂与免疫检查点抑制剂联合治疗可大幅度提高临床治疗效果^[24]。本研究通过分析 NSD2 表达与胃癌免疫细胞、免疫因子关联,认为 NSD2 可能通过调节 CD4/8 T 细胞或免疫检查点 PD-L1、CTLA4,影响胃癌细胞免疫逃逸。

综上所述,NSD2 抑制剂可抑制胃癌细胞的增殖和迁移能力影响胃癌预后,又可能通过调节肿瘤微环境中的免疫细胞或免疫检查点,抑制胃癌细胞免疫逃逸而提高胃癌患者预后,还可与顺铂联合治疗可提高临床疗效,这为胃癌治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] YANG W J,ZHAO H P,YU Y,et al. Updates on global epidemiology,risk and prognostic factors of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*,2023,29(16):2452-2468.

[2] XIA C F,DONG X S,LI H,et al. Cancer statistics in China and United States,2022:profiles,trends,and determinants[J]. *Chin Med J (Engl)*,2022,135(5):584-590.

[3] GALLUZZI L,SENOVILLA L,VITALE I,et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance [J]. *Oncogene*,2012,31(15):1869-1883.

[4] ZHAO L H,LI Q,HUANG Z J,et al. Identification of histone methyltransferase NSD2 as an important oncogenic gene in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*,2021,12(11):974.

[5] YAN J,ZHANG M Y,LIN J,et al. WHSC1 is involved in DNA damage,cellular senescence and immune response in hepatocellular carcinoma progression[J]. *J Cell Mol Med*,2023,27(10):1436-1441.

[6] WANT M Y,TSUJI T,SINGH P K,et al. WHSC1/NSD2 regulates immune infiltration in prostate cancer[J]. *J Immunother Cancer*,2021,9(2):e001374.

[7] HAN X,PIAO L H,XU X S,et al. NSD2 promotes renal cancer progression through stimulating Akt/erk signaling [J]. *Cancer Manag Res*,2020,12:375-383.

[8] ZHANG J F,LEE Y R,DANG F B,et al. PTEN methylation by NSD2 controls cellular sensitivity to DNA damage [J]. *Cancer Discov*,2019,9(9):1306-1323.

[9] PEI H D,ZHANG L,LUO K T,et al. MMSET regulates histone H4K20 methylation and 53BP1 accumulation at DNA damage sites[J]. *Nature*,2011,470(7332):124-128.

[10] ZHU L L,LIU J W,CHEN J,et al. The developing landscape of combinatorial therapies of immune checkpoint blockade with DNA damage repair inhibitors for the treatment of breast and ovarian cancers[J]. *J Hematol*

Oncol,2021,14(1):206.

- [11] MA Z H,BOLINGER A A,CHEN H Y,et al. Drug discovery targeting nuclear receptor binding SET domain protein 2 (NSD2)[J]. *J Med Chem*,2023,66(16):10991-11026.
- [12] TOPCHU I,PANGENI R P,BYCHKOV I,et al. The role of NSD1, NSD2, and NSD3 histone methyltransferases in solid tumors[J]. *Cell Mol Life Sci*,2022,79(6):285.
- [13] SONG D,LAN J Q,CHEN Y Q,et al. NSD2 promotes tumor angiogenesis through methylating and activating STAT3 protein[J]. *Oncogene*,2021,40(16):2952-2967.
- [14] HE C,LIU C,WANG L,et al. Histone methyltransferase NSD2 regulates apoptosis and chemosensitivity in osteosarcoma[J]. *Cell Death Dis*,2019,10(2):65.
- [15] SENGUPTA D,ZENG L Y,LI Y M,et al. NSD2 dimethylation at H3K36 promotes lung adenocarcinoma pathogenesis[J]. *Mol Cell*,2021,81(21):4481-4492. e9.
- [16] SHEN Y P,MORISHITA M,LEE D,et al. Identification of LEM-14 inhibitor of the oncoprotein NSD2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2019,508(1):102-108.
- [17] ZHANG L,ZHA X M. Recent advances in nuclear receptor-binding SET domain 2 (NSD2) inhibitors:an update and perspectives [J]. *Eur J Med Chem*,2023,250:115232.
- [18] DILWORTH D,HANLEY R P,DE FREITAS R F,et al. A chemical probe targeting the PWWP domain alters NSD2 nucleolar localization[J]. *Nat Chem Biol*,2022,18(1):56-63.
- [19] FNU S,WILLIAMSON E A,DE HARO L P,et al. Methylation of histone H3 lysine 36 enhances DNA repair by nonhomologous end-joining[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2011,108(2):540-545.
- [20] HAJDU I,CICCIA A,LEWIS S M,et al. Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1 is involved in the cellular response to DNA damage[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2011,108(32):13130-13134.
- [21] XUE W H,SHEN Z B,LI L F,et al. Long non-coding RNAs MACC1-AS1 and FOXD2-AS1 mediate NSD2-induced cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*,2021,23:592-602.
- [22] DASARI S,TCHOUNWOU P B. Cisplatin in cancer therapy:molecular mechanisms of action [J]. *Eur J Pharmacol*,2014,740:364-378.
- [23] LUGONES Y,LOREN P,SALAZAR L A. Cisplatin resistance:genetic and epigenetic factors involved[J]. *Biomolecules*,2022,12(10):1365.
- [24] CHEN M T,LINSTRAS R,VAN VUGT M. Genomic instability,inflammatory signaling and response to cancer immunotherapy[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*,2022,1877(1):188661.

收稿日期:2024-10-28;修回日期:2024-11-29

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:陈凤,王腾飞,曹开美,等. D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1):10-15, 22.

【论著与临床报道】

D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的作用研究

陈凤^{1,2}, 王腾飞^{1,2}, 曹开美^{1,2}, 彭铁立², 齐玲², 宋美慧²

(1. 大理大学基础医学院, 云南 大理 671000;
2. 广州医科大学附属清远医院, 清远市人民医院消化内科, 广东 清远 511518)

摘要:目的 探讨 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的影响, 并阐明其机制。方法 将胰腺癌 PANC-1 细胞分为对照组、D-柠檬烯组和 N-乙酰半胱氨酸干预组。通过 CCK-8 法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞增殖能力的影响, 结晶紫染色法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞克隆形成能力的影响, 荧光探针检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞活性氧 (ROS) 水平的影响, EdU 染色法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞增殖能力的影响, Annexin V/PI 双染法检测 D-柠檬烯诱导 PANC-1 细胞的凋亡情况, Western Blot 法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞凋亡蛋白 PARP、Caspase-3 及 Bax 表达的影响。结果 CCK-8 法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的增殖能力呈剂量依赖性降低。结晶紫染色法发现 D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的克隆形成能力减弱。荧光探针检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的 ROS 含量增加, D-柠檬烯组添加 ROS 清除剂 N-乙酰半胱氨酸后, ROS 含量减少。EdU 染色法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的增殖能力降低, 添加 N-乙酰半胱氨酸干预后抑制 D-柠檬烯的作用。Annexin V/PI 双染法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的凋亡率升高, N-乙酰半胱氨酸干预后 D-柠檬烯的促凋亡作用减弱。Western Blot 法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的凋亡相关蛋白 (PARP、Caspase-3、Bax) 的表达升高, N-乙酰半胱氨酸干预后凋亡相关蛋白的表达降低。结论 D-柠檬烯对胰腺癌细胞的抑制增殖和诱导凋亡的作用可能通过调控 ROS 发挥作用。

关键词: D-柠檬烯; 胰腺肿瘤; 细胞增殖; 细胞凋亡; 活性氧

中图分类号: R736.7 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2025)01-0010-07
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.002

Study on the effects of D-limonene on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer PANC-1 cells

CHEN Feng^{1,2}, WANG Tengfei^{1,2}, CAO Kaimei^{1,2}, PENG Tieli², QI Ling², SONG Meihui²

(1. School of Basic Medical Sciences, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China;
2. Department of Gastroenterology, Qingyuan People's Hospital, Affiliated Qingyuan Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of D-limonene on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer PANC-1 cells and elucidate its mechanisms. **Methods** The pancreatic cancer PANC-1 cells were divided into a control group, a D-limonene group, and an N-acetylcysteine (NAC) intervention group. The CCK-8 assay was used to detect the effect of D-limonene on the proliferation ability of PANC-1 cells. Crystal violet staining was employed to assess the impact of D-limonene on the clonogenic ability of PANC-1 cells. A fluorescent probe was used to detect changes in reactive oxygen species (ROS) levels in PANC-1 cells treated with D-limonene. The EdU staining method was applied to evaluate the effect of D-limonene on the proliferation capacity of PANC-1 cells. Apoptosis in PANC-1 cells induced by D-limonene was detected using the An-

基金项目: 国家自然科学基金项目(82203351); 广东省基础与应用基础研究基金项目(221A1515111095)

第一作者: 陈凤, 在读硕士研究生, 研究方向: 免疫学, E-mail: 13769516431@163.com

通讯作者: 宋美慧, 博士, 研究方向: DNA 损伤修复与肿瘤, E-mail: songmei-hui.gzhmu@foxmail.com

nexin V/PI double staining method. Western Blot analysis was conducted to investigate the influence of D-limonene on the expression of apoptosis-related proteins PARP, Caspase-3, and Bax in PANC-1 cells. **Results** The CCK-8 assay revealed a dose-dependent decrease in the proliferation ability of PANC-1 cells in the D-limonene group. Crystal violet staining showed a weakened clonogenic ability of PANC-1 cells in the D-limonene group. The fluorescent probe detected that the ROS content in PANC-1 cells of the D-limonene group increased. After adding the ROS scavenger NAC to the D-limonene group, the ROS content decreased. EdU staining indicated a decreased proliferation capacity of PANC-1 cells in the D-limonene group, and the inhibitory effect of D-limonene was attenuated by NAC intervention. Annexin V/PI double staining demonstrated an increased apoptosis rate in PANC-1 cells treated with D-limonene, while the pro-apoptotic effect of D-limonene was weakened after NAC intervention. Western Blot analysis showed elevated expression levels of apoptosis-related proteins (PARP, Caspase-3, and Bax) in PANC-1 cells treated with D-limonene, which were decreased upon NAC intervention ($P < 0.05$). **Conclusion** D-limonene may exert its effects on inhibiting proliferation and inducing apoptosis in pancreatic cancer cells through regulating ROS.

Key words: D-limonene; pancreatic cancer; cell proliferation; cell apoptosis; reactive oxygen species

胰腺癌是一种常见的恶性肿瘤^[1],近年来发病率不断上升,据预测到 2030 年,胰腺癌将成为导致癌症相关死亡的第二大原因^[2]。胰腺癌以综合治疗为主,早期手术切除仍是一种较为有效的治疗手段,但因大多患者发现就处于晚期,仅有 15%~20% 患者可手术切除治疗^[3-4]。化疗是晚期胰腺癌的主要治疗手段,但胰腺癌对大多数化疗药物耐药且副作用较大。因此需要寻找新型抗胰腺癌药物。近年,天然产物是新药分子的一个重要来源,为新药研发提供了很多结构新颖的活性分子。从天然产物中寻找抗癌有效成分已经成为研究热点^[5],其中萜类化合物是种类最多的一类天然物质。D-柠檬烯是一种天然的功能单萜,广泛存在于柑橘、甜橙、柚等植物中,它具有调节氧化应激、抗炎及抗癌作用^[6-7],对人体安全且耐受^[8]。研究证明 D-柠檬烯抑制癌细胞增殖,促进细胞凋亡^[9],然而 D-柠檬烯对胰腺癌细胞的作用及机制少见报道。本研究旨在探究 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖的影响,并初步探讨其作用机制,为探索胰腺癌治疗新药开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 N-乙酰半胱氨酸(N-Acetylcysteine, NAC, 美国 Selleck 生物科技有限公司), D-柠檬烯(D-limonene, 美国 Sigma 公司), DMEM 高糖培养基、链霉素/青霉素和胰蛋白酶(美国 GIBCO 公司), 胎牛血清(澳大利亚 ExCell Bio 公司), 12% SDS-PAGETM 蛋白预制胶(南京艾思易生物科技有限公司), BCA 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), RIPA Lysis Buffer(康为世纪生物科技有限公司), Super ECL Plus 超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司), 2,7-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA, 上海碧云天生物技术股份有限公司), CCK8 试剂盒(亚科因生

物技术有限公司), Cleaved Caspase-3、PARP、Bax、 α -Tubulin 抗体和 HRP 标记二抗(美国 Cell Signaling 公司), Annexin V/PI 凋亡试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司), CO₂ 恒温培养箱(新加坡 ESCD 公司), 倒置荧光显微镜(德国 Zeiss 公司), 电泳系统(美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 细胞培养与分组 PANC-1 细胞购自美国 ATCC 细胞库, 细胞分为对照组(0 μ M 组)、D-柠檬烯组(200 μ M、400 μ M、600 μ M 组)、D-柠檬烯+NAC 组(600 μ M+NAC 组)。细胞置于含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基中, 待融合 80% 时, 制成单细胞悬液用于后续实验。D-柠檬烯溶于二甲基亚砜(DMSO)中, D-柠檬烯与 DMSO 的比例为 1:5 配制成原液浓度为 1028 mM。使用 DMEM 完全培养基稀释终浓度为 0 μ M、200 μ M、400 μ M、600 μ M 处理细胞(所有浓度的 DMSO 含量都 < 1/1000, 为安全剂量)。NAC 原液浓度是 200 mM, 用 DMEM 完全培养基稀释成终浓度为 2 mM。

1.3 CCK-8 法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞增殖能力的影响 细胞接种于 96 孔板中, 每孔数量为 8×10^3 个。在 37 $^{\circ}$ C 恒温、5% CO₂ 浓度及饱和湿度环境下培养。细胞贴壁后, 加入 D-柠檬烯, 浓度分别为 0 μ M、200 μ M、400 μ M、600 μ M。每组设 3 个平行复孔, 作用 24 h 后, 换液为含 10 μ L CCK-8 的培养基, 孵育 2 h, 酶标仪 450 nm 处测吸光度值(A)。计算细胞的存活率(V) = (A 加药组 - A 空白组) / (A 未加药组 - A 空白组) $\times 100\%$, D-柠檬烯作用于 PANC-1 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)通过 GraphPad Prism 计算。

1.4 细胞克隆形成法检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的克隆形成能力 将细胞以每孔 500 个数量接种于 6 孔板中, 细胞贴壁后, 加入 D-柠檬烯, 浓度分别为

0 μM 、200 μM 、400 μM 和 600 μM 处理 24 h, 继续于恒温培养箱培养 14 d。4% 多聚甲醛固定, 0.5% 结晶紫染液染色, 显微镜下观察, 扫描拍照, 统计细胞克隆数目, 集落形成率 = (加药组集落数/未加药组集落数) $\times 100\%$ 。

1.5 检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的 ROS 含量 细胞以每孔 1×10^5 个接种于铺有爬片的 6 孔板中, 待细胞完全贴壁后, 加入 D-柠檬烯 0 μM 、400 μM 、600 μM , 以及 D-柠檬烯 600 μM + NAC 处理 PANC-1 细胞 24 h, 分别向各组细胞中加入 1 mL DCFH-DA (10 μM); 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中避光孵育 30 min; PBS 洗涤细胞 2 次; 多聚甲醛固定, DAPI 复染, 激光共聚焦显微镜拍照, 随机取 5 个视野进行统计分析。

1.6 EdU 法检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的增殖能力 细胞分组处理同 1.5, 待药物作用细胞 24 h 后, 按 1000 : 1 的比例稀释 EdU 溶液, 制备成 50 μM EdU 培养基在温箱孵育 2 h 后。经固定和透化后, 加入 EdU, 室温孵育 30 min, 复染。荧光显微镜检测 EdU 阳性百分比, 随机取 3 个视野进行统计分析。

1.7 Annexin V-FITC/PI 检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的凋亡率 取 PANC-1 细胞, 按照每孔 2×10^4 个细胞的密度接种于 8 孔腔室盖玻片中, 每孔添加 200 μL 完全培养基, 待细胞贴壁后, D-柠檬烯 0 μM 、400 μM 、600 μM , 以及 D-柠檬烯 600 μM + NAC 处理 PANC-1 细胞 24 h。每孔加入 2 μL 的 Annexin V-FITC 和 2 μL 的 PI 染液, 避光室温孵育 30 min 后, 荧光显微镜拍摄, 随机取 3 个视野计数阳性细胞和全部细胞, 阳性细胞所占百分比即为细胞凋亡率。

1.8 Western Blot 检测 PANC-1 细胞 PARP、Cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达 使用对数生长期的 PANC-1 细胞, 以每孔 2×10^5 个的细胞密度接种于 6 cm 皿中, 待细胞生长至 70% ~ 80% 的密度, D-柠檬烯 0 μM 、400 μM 、600 μM , 以及 D-柠檬烯 600 μM +

NAC 处理 PANC-1 细胞 24 h。收集细胞并裂解细胞以提取细胞总蛋白, BCA 试剂盒定量, 加入 Loading buffer, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性。上样进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜后。5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h, 加入一抗 (1 : 1000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 二抗 (1 : 2000) 孵育 1.5 h, TBST 洗涤 3 次, 凝胶成像系统拍照, 3 次重复结果使用 ImageJ 软件对目的蛋白和内参的条带灰度值进行统计, 两个条带的灰度值比即为目标蛋白的相对表达水平。

1.9 统计学方法 使用 GraphPad Prism 8 软件作图和统计分析, 胰腺癌细胞增殖能力、克隆形成率、ROS 含量、细胞凋亡率、蛋白表达水平, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 实验结果

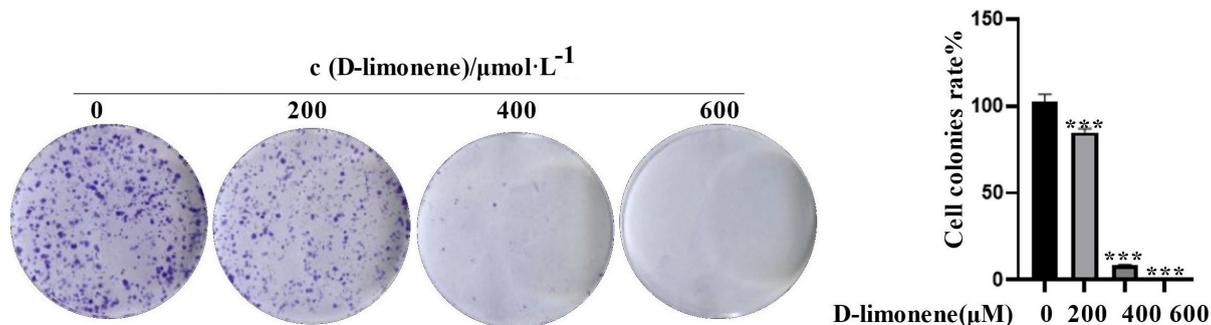
2.1 D-柠檬烯抑制胰腺癌细胞的增殖能力 结果如表 1 所示, CCK8 结果显示, 与 0 μM 相比, 200 μM 、400 μM 、600 μM D-柠檬烯组胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖能力均减弱, 并呈明显的剂量依赖性, 计算 IC_{50} 值为 505.9 μM 。

表 1 D-柠檬烯抑制胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖能力

D-柠檬烯/ μM	n	细胞存活率/%
0	3	100.00 \pm 3.02
200	3	91.66 \pm 8.29
400	3	74.71 \pm 6.00 ^a
600	3	31.71 \pm 5.73 ^b

注: ①表内计量资料数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示; ②与 0 μM 比较, a: P < 0.01, b: P < 0.001。

2.2 D-柠檬烯抑制胰腺癌细胞的克隆形成能力 结果如图 1, 克隆形成实验发现, 与对照组相比, D-柠檬烯组的 PANC-1 细胞的克隆形成能力减弱 (P < 0.001), 且呈浓度依赖性。

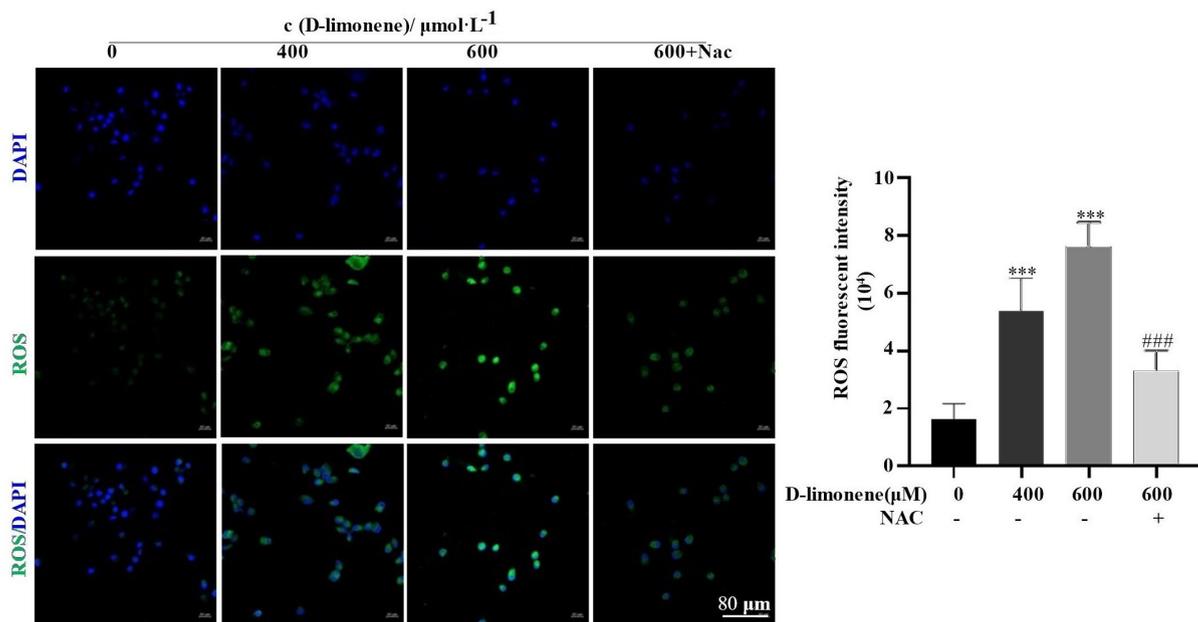


注: 与 0 μM 组相比较, *** P < 0.001, n = 3。

图 1 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞克隆形成的影响

2.3 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞 ROS 的影响 结果如图 2 所示,DCFH-DA 法检测发现,与对照组相比,D-柠檬烯组胰腺癌 PANC-1 细胞的 ROS 含量升高

($P < 0.001$)。且随着 D-柠檬烯浓度增加,胰腺癌 PANC-1 细胞的 ROS 含量进一步升高。而添加 NAC 后,PANC-1 细胞内 ROS 的含量降低($P < 0.001$)。

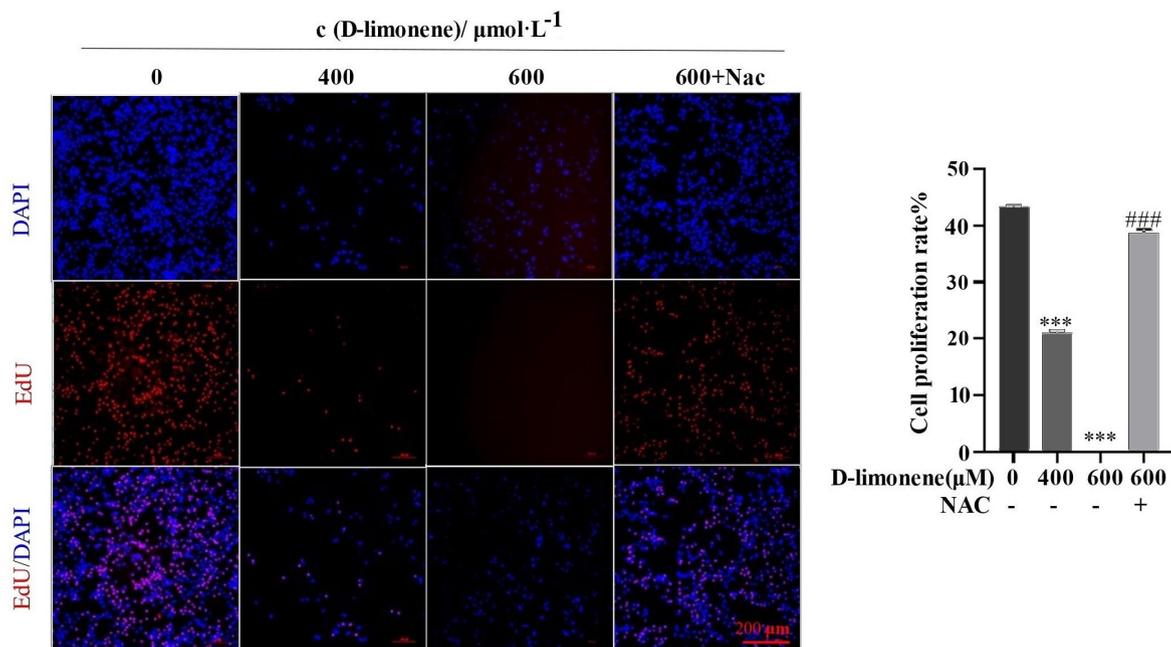


注:与 0 μM 组相比较,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 5$ 。

图 2 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞 ROS 的影响

2.4 NAC 干预后 D-柠檬烯对胰腺癌细胞增殖的影响 结果如图 3 所示,EdU 染色实验显示,与对照组

相比,D-柠檬烯组的 PANC-1 细胞增殖能力减弱,添加 NAC 干预后细胞增殖能力有所提高($P < 0.001$)。



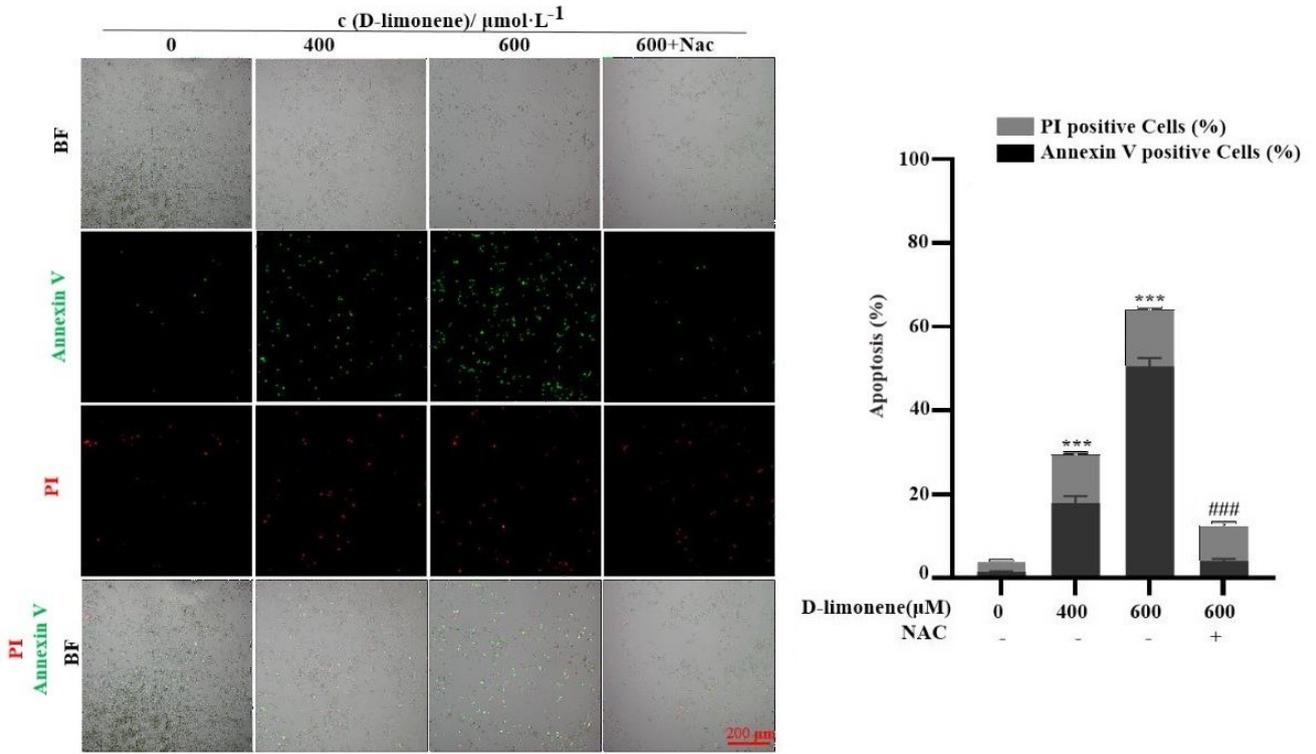
注:与 0 μM 组相比,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 3 D-柠檬烯对 PANC-1 胞增殖形成的影响(10×)

2.5 NAC 干预后 D-柠檬烯对胰腺癌细胞凋亡的影响 结果如图 4 所示,Annexin V/PI 双染法检测发

现,与对照组相比,D-柠檬烯组胰腺癌 PANC-1 细胞的凋亡率升高($P < 0.001$)。D-柠檬烯组添加 NAC 后,

胰腺癌细胞的凋亡率降低 ($P < 0.001$)。

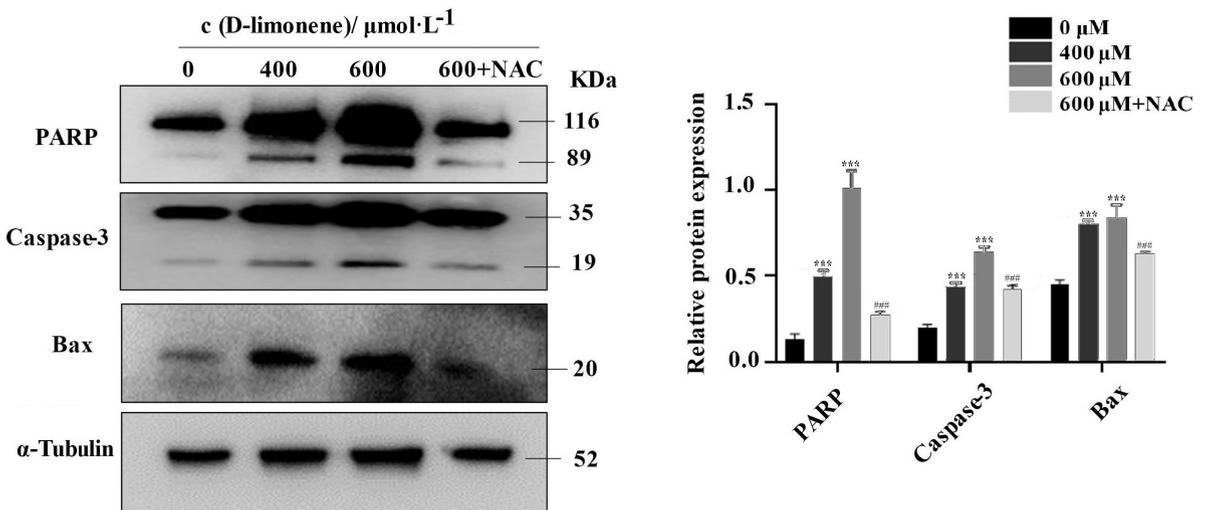


注:与 0 μM 组相比,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 4 D-柠檬烯诱导胰腺癌 PANC-1 细胞的凋亡情况(10×)

2.6 D-柠檬烯通过 ROS 诱导胰腺癌细胞凋亡 结果如图 5 所示,Western Blot 检测发现,与对照组相比,D-柠檬烯组的 PARP、Caspase-3、Bax 蛋白表达均明显升高。随着 D-柠檬烯浓度增加,胰腺癌 PANC-1 细胞

的 PARP、Caspase-3、Bax 蛋白表达进一步升高 ($P < 0.001$)。D-柠檬烯组添加 NAC 后,胰腺癌 PANC-1 细胞 PARP、Caspase-3、Bax 蛋白表达降低 ($P < 0.001$)。



注:与 0 μM 组相比,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 5 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞蛋白表达的影响

3 讨论

胰腺癌作为最致命的癌症之一^[10]。在临床中面临着发病率、复发率、死亡率高,手术切除率低等难题,

因此寻找新的化疗药物对其进行防治是减低胰腺癌患者死亡率的关键。近年来天然化合物展现出显著的抗肿瘤活性和低毒性^[11],在抗肿瘤治疗中发挥举足轻重

的作用,越来越受到关注。D-柠檬烯是一种具有芳香气味的单环萜烯^[12],已被证明在多种肿瘤细胞可以通过自噬、诱导细胞凋亡和周期阻滞发挥抑制增殖作用^[13]。在结直肠癌细胞中,D-柠檬烯通过抑制 Akt 信号通路,激活线粒体凋亡信号通路^[14]。在肝癌细胞中,D-柠檬烯增强 M6P/IGF-2 和 TGF- β 1 的表达,并与细胞凋亡有关^[15]。徐耀庭等^[16]发现 D-柠檬烯对人膀胱癌细胞具有显著的抑制作用,它能使细胞停滞于 S 期,诱导细胞凋亡。也有报道 D-柠檬烯通过诱导肺癌细胞的自噬和凋亡而表现出抗肿瘤活性^[9],也有体内实验表明 D-柠檬烯可以通过抑制氧化应激和炎症反应从而抑制小鼠雄性睾丸损伤^[17]。本研究应用不同浓度的 D-柠檬烯处理后,CCK-8 和克隆形成实验发现,胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖能力呈剂量依赖性下降。这初步说明了 D-柠檬烯抑制胰腺癌细胞的增殖能力,但其机制不明。ROS 是氧化代谢产生的化学活性含氧分子,在细胞信号传导中发挥着重要作用。高浓度的 ROS 可以触发细胞凋亡^[18]。多种天然化合物通过激活 ROS 从而诱导肿瘤细胞凋亡。YANG L P 等^[19]发现雷公藤红素可以通过增加 ROS 水平从而诱导肿瘤细胞凋亡;肖丹等^[20]发现黄芩苷通过诱导 ROS 发生抑制人 T 细胞淋巴瘤的增殖并促进凋亡;王玲等^[21]发现 D-柠檬烯可以通过调控细胞内活性氧和 Caspase-3 蛋白的表达诱导胃癌细胞凋亡。有报道称^[22],基于 ROS 升高产生的氧化应激可诱导细胞凋亡。本研究采用了不同浓度的 D-柠檬烯处理胰腺癌 PANC-1 细胞,观察 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞 ROS 的影响,结果显示,随着 D-柠檬烯浓度增加,ROS 含量增加。D-柠檬烯组添加 ROS 清除剂 NAC 干预后,ROS 含量减少。进一步研究发现,随着 D-柠檬烯浓度增加,PANC-1 细胞凋亡率增加,添加 NAC 干预后可抑制 D-柠檬烯的作用。以上表明,在 D-柠檬烯介导 PANC-1 细胞凋亡过程中,ROS 发挥着一定调控作用。细胞凋亡是一种受调节的细胞死亡形式,其特征是半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶的激活、蛋白质和 DNA 的降解以及膜的改变。有两条基本的信号通路:内源性和外源性。细胞凋亡细胞内微环境的紊乱,如 DNA 损伤、ROS 超载和氧化应激,会激活线粒体内在凋亡途径^[23]。线粒体内在凋亡途径的关键事件是 Caspase 的激活,启动 Caspase 级联反应,切割细胞中 α -tubulin、PARP 等底物,最终导致细胞凋亡。细胞内 ROS 的产生已经被证明可以促进细胞周期阻滞、激活多种信号通路、诱导线粒体功能障碍等方式,从而诱导细胞凋亡^[24]。本研究发现,D-柠檬烯处理后胰腺癌细胞 PANC-1 中的 PARP、Caspase-3 以及 Bax 蛋白表达增加。添加 NAC 干预后,胰腺癌细胞 PANC-1 中

PARP、Caspase-3 以及 Bax 蛋白表达水平明显下降。提示 D-柠檬烯诱导胰腺癌 PANC-1 细胞凋亡的作用可能通过调控 ROS 发挥作用。综上,本研究证实了 D-柠檬烯可能是一种有效的抗胰腺癌 PANC-1 细胞的天然化合物,并且,D-柠檬烯可能通过激活 ROS 介导的线粒体凋亡途径促使 PANC-1 细胞发生凋亡。本研究为胰腺癌的治疗提供了一种新的策略,有助于提高胰腺癌患者的生存率。

参考文献:

- [1] ANSARI D, TINGSTEDT B, ANDERSSON B, et al. Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow [J]. *Future Oncol*, 2016, 12(16): 1929-1946.
- [2] WUNGKI P, AKHIL C, EILEEN M O. Pancreatic cancer: a review [J]. *JAMA*, 2021; 326(9): 851-862.
- [3] CAI J, CHEN H D, LU M, et al. Advances in the epidemiology of pancreatic cancer: trends, risk factors, screening, and prognosis [J]. *Cancer Lett*, 2021, 520: 1-11.
- [4] SINGHI A D, KOAY E J, CHARI S T, et al. Early detection of pancreatic cancer: opportunities and challenges [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(7): 2024-2040.
- [5] LUO Z W, YIN F C, WANG X B, et al. Progress in approved drugs from natural product resources [J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22(3): 195-211.
- [6] 黄巧娟, 孙志高, 龙勇, 等. D-柠檬烯抗癌机制的研究进展 [J]. *食品科学*, 2015, 36(7): 240-244.
- [7] ZHANG X Z, WANG L, LIU D W, et al. Synergistic inhibitory effect of berberine and d-limonene on human gastric carcinoma cell line MGC803 [J]. *J Med Food*, 2014, 17(9): 955-962.
- [8] CHEBET J J, EHIRI J E, MCCLELLAND D J, et al. Effect of d-limonene and its derivatives on breast cancer in human trials: a scoping review and narrative synthesis [J]. *BMC Cancer*, 2021; 21(1): 902.
- [9] YU X, LIN H Y, WANG Y, et al. D-limonene exhibits antitumor activity by inducing autophagy and apoptosis in lung cancer [J]. *Oncotargets Ther*, 2018, 11: 1833-1847.
- [10] KLATTE D C F, WALLACE M B, LÖHR M, et al. Hereditary pancreatic cancer [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2022, 58-59: 101783.
- [11] 焦泉慧, 钟凌云, 程子文, 等. 中药及其天然产物通过靶向铁死亡治疗癌症研究进展 [J]. *医药导报*, 2024, 43(3): 408-413.
- [12] 宋琨燕, 李金梦, 鄢烽, 等. 柑橘皮中 d-柠檬烯的提取及在食品保鲜中的应用研究进展 [J]. *食品工业*, 2023, 44(7): 217-221.
- [13] MANDAL D, SAHU B R, PARIJA T. Combination of tamoxifen and D-limonene enhances therapeutic efficacy in breast cancer cells [J]. *Med Oncol*, 2023; 40(8): 216.

(下转第 22 页)

本文引文格式:李玟,赵禹博,马佳纯,等. TRIM40 对人胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):16-22.

【论著与临床报道】

TRIM40 对人胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

李玟^{1,2}, 赵禹博³, 马佳纯², 母红叶^{2,4}, 宋美慧², 齐玲², 张梦阳²

1. 大理大学药学院, 云南 大理 671000;
2. 广州医科大学附属清远医院, 清远市人民医院消化内科, 广东 清远 511518;
3. 广州医科大学附属清远医院, 清远市人民医院神经外科, 广东 清远 511518;
4. 遵义医科大学, 贵州 遵义 563000)

摘要:目的 探讨 TRIM40 在胰腺癌细胞中的表达及其对 MIA PaCa-2 细胞生物学行为的影响。方法 采用 Western Blot 实验检测胰腺癌细胞中 TRIM40 的蛋白表达水平; 免疫荧光联合激光共聚焦显微镜观察 MIA PaCa-2 细胞和 PANC-1 细胞中 TRIM40 蛋白表达和分布; 使用慢病毒 TRIM40 感染 MIA PaCa-2 细胞过表达 TRIM40, 通过 qRT-PCR 实验检测 TRIM40 的表达以验证感染效率; 采用 CCK-8、伤口愈合、Transwell 小室、平板克隆实验分别检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖、迁移、侵袭、克隆形成能力的变化。结果 与胰腺正常导管上皮(HPDE)细胞相比, 胰腺癌细胞中的 TRIM40 水平显著降低。采用 CCK-8、伤口愈合、Transwell 小室、平板克隆实验结果显示, 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖、迁移、侵袭、克隆形成能力显著降低。结论 TRIM40 在胰腺癌细胞中的表达显著低于 HPDE 细胞, 过表达 TRIM40 可抑制胰腺癌细胞增殖、迁移、侵袭、克隆形成能力。

关键词:胰腺肿瘤; TRIM40; 肿瘤细胞增殖; 肿瘤细胞迁移; 肿瘤细胞侵袭

中图分类号: R735.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2025)01-0016-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.003

The effects of TRIM40 on proliferation, migration, and invasion of human pancreatic cancer cells

LI Wen^{1,2}, ZHAO Yubo³, MA Jiachun², MU Hongye^{2,4},
SONG Meihui², QI Ling², ZHANG Mengyang²

1. School of Pharmacy, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China;
2. Department of Gastroenterology, Qingyuan People's Hospital, Affiliated Qingyuan Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China;
3. Department of Neurosurgery, Qingyuan People's Hospital, Affiliated Qingyuan Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China;
4. Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of TRIM40 in pancreatic cancer cells and its effects on the biological behavior of MIA PaCa-2 cells. **Methods** Western Blot assay was used to detect the protein expression level of TRIM40 in pancreatic cancer cells; immunofluorescence combined with laser confocal microscopy was used to observe the expression and distribution of TRIM40 protein in MIA PaCa-2 and PANC-1 cells. Lentivirus-mediated TRIM40 was used to infect MIA PaCa-2 cells to overexpress TRIM40, and qRT-PCR was

基金项目:国家自然科学基金项目(82203351);广东省基础研究委员会基础与应用基础研究基金项目(2021A1515111095)

第一作者:李玟,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤的发病机制及其靶点验证,E-mail:2296544282@qq.com

通讯作者:张梦阳,博士,研究方向:肿瘤微环境与细胞互作、炎症疾病与干细胞治疗研究,E-mail:zhangmengyang1018@163.com

performed to verify the infection efficiency by detecting TRIM40 expression. The effects of TRIM40 overexpression on the proliferation, migration, invasion, and colony formation abilities of MIA PaCa-2 cells were assessed using CCK-8, wound healing, Transwell chamber, and colony formation assays, respectively. **Results**

Compared with human pancreatic ductal epithelial (HPDE) cells, the level of TRIM40 in pancreatic cancer cells was significantly reduced. The results of CCK-8, wound healing, Transwell chamber, and colony formation assays showed that the proliferation, migration, invasion, and colony formation abilities of MIA PaCa-2 cells were significantly decreased after overexpressing TRIM40. **Conclusion** The expression of TRIM40 in pancreatic cancer cells is significantly lower than that in HPDE cells, and overexpression of TRIM40 inhibits the proliferation, migration, invasion, and colony formation abilities of pancreatic cancer cells.

Key words: pancreatic neoplasms; tripartite motif-containing protein 40; tumor cell proliferation; tumor cell migration; tumor cell invasion

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是胰腺癌最常见的种类^[1], 预计到 2030 年, PDAC 将成为癌症相关死亡的第二大常见原因^[2]。手术切除后再进行辅助化疗是 PDAC 的最佳治疗方法^[3], 但是 PDAC 诊断较晚, 常在患者发生转移后才被诊断出来^[4], 所以预后不良, 5 年总生存率约为 11%^[5-6]。因此, 深入研究 PDAC 的生长及转移机制和寻找新的分子靶标至关重要。

TRIM40 是一种 E3 泛素连接酶, 属于 TRIM 家族的一员。TRIM 家族参与多种细胞信号转导过程, 调节癌症的发生、进展和治疗耐药性, 在不同的人类癌症类型中可表现出致癌或抑癌的功能。此外, TRIM 家族成员具有作为癌症诊断和预后的生物标志物的潜力^[7]。TRIM 家族由 1 个 N 端 RING 结构域、1 个或 2 个 B-box 基序和 α 螺旋结构域组成, 后面是从 N 端到 C 端的高度可变的羧基末端结构域。RING 结构域是催化中心, 通过介导蛋白质-蛋白质相互作用来发挥作用。RING 的二聚化通常是泛素连接酶活性的先决条件^[8]。TRIM 家族成员参与多种细胞活动和过程, 包括 mRNA 抑制和 mRNA 定位^[9]、自噬^[10-11]、细胞焦亡、细胞凋亡^[12]、细胞周期和有丝分裂^[13]、DNA 损伤反应^[14]、病毒感染^[15]、免疫激活和炎症过程^[16-17]。研究表明, TRIM40 直接靶向 Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1 (ROCK1) 使其降解, 最终导致了炎症性肠病的发展。缺乏 RING、B-box 或 C 末端结构域的突变体 TRIM40 促进 ROCK1 降解的能力受损。研究表明, TRIM40 缺陷的雄性小鼠对硫酸葡聚糖钠 (DSS) 诱导的结肠炎具有高度抵抗力^[18]。但关于 TRIM40 在胰腺癌中发挥作用及具体分子机制尚未阐明。本研究探讨 TRIM40 在胰腺癌细胞系中的表达, 通过在胰腺癌 MIA PaCa-2 细胞中过表达 TRIM40 分析其对细胞增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力的影响, 为胰腺癌的诊断和治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人胰腺正常导管上皮细胞 HPDE、人源胰腺癌 PANC-1、MIA PaCa-2 细胞(美国 ATCC 细胞库)。

1.2 主要试剂与仪器 DMEM 高糖培养基、链霉素/青霉素和胰蛋白酶(美国 GIBCO 公司), 胎牛血清(澳大利亚 ExCell Bio 公司), 4%~8% FuturePAGE TM 蛋白预制胶(南京艾思易生物科技有限公司), 嘌呤霉素(上海碧云天生物技术有限公司), TRIM40(上海吉玛制药技术有限公司), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), RIPA Lysis Buffer(康为世纪生物科技有限公司), CCK-8 试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司), SuperKine 超敏型 ECL 发光液(亚科因生物技术有限公司), GAPDH 抗体(货号: 60004-1-Ig)、Goat Anti-Rabbit IgG 抗体(货号: SA00001-2)、Goat Anti-Mouse IgG 抗体(货号: SA00001-1)、TRIM40 抗体(货号: 67073-1-1g)(武汉三鹰生物技术有限公司), CO₂ 恒温培养箱(ESCO 公司), 冷冻离心机(广州火元医疗器械有限公司), 共聚焦激光显微镜(Zeiss 公司), 伯乐 Gel Doc XR+凝胶成像系统(美国 BIO-RAD 公司), 金属浴(上海一恒科技有限公司), 酶标仪(SPECTOR Star 公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 在人胰腺正常导管上皮细胞 HPDE、人胰腺癌细胞株 PANC-1 和 MIA PaCa-2 添加了 10% 的胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素新鲜配置的 DMEM 培养基中培养, 培养条件为 37 °C, 5% CO₂, 培养至一定密度即 80% 左右后, 取对数生长期的细胞进行后续的接种处理。

1.3.2 Western Blot 实验 收集生长状态良好的 HPDE、MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞, 加入 RIPA 裂解液提取蛋白, 采用 BCA 试剂盒进行浓度测定及定量。将取出的 SDS-PAGE 凝胶于电泳槽固定, 以总蛋白量为 30 ng 上样, 恒压 160 V、50 min 进行电泳。然后将分离后的蛋白质采用湿法进行转膜, 将转膜后的

PVDF 膜在 5% 脱脂牛奶中室温封闭 2 h, 用 TBST 10 分/次, 洗 3 次, 加入 TRIM40 (1 : 3 000) 或 GAPDH (1 : 10 000) 抗体中 4 °C 缓慢孵育过夜。第 2 天, 取出膜用 TBST 洗 3 次, 加入二抗 (1 : 10 000) 室温摇床孵育 2 h, 使用凝胶成像仪进行显影成像, 使用 ImageJ 软件读取目的蛋白和内参蛋白灰度值, 以目标蛋白和内参蛋白的净光密度比值作为相对表达量, 进行半定量分析及绘图。

1.3.3 免疫荧光实验 将 PANC-1 和 MIA PaCa-2 细胞铺板于免疫荧光小皿中央, 培养 24 h 后, 用 PBS 洗 5 min, 洗 3 次, 多聚甲醛固定 30 min, 再次用 PBS 洗, Triton X-100 透化 5 min, PBS 洗干净, 5% BSA 封闭 2 h 后, 加入用 1% BSA 配制的 TRIM40 (1 : 200) 抗体 4 °C 过夜孵育。次日, 用 PBST 洗净, 避光孵育兔二抗 (1 : 500) 2 h, PBST 洗 3 次, DAPI 避光染核 5 min, 用 PBST 洗净, 在共聚焦显微镜下观察 TRIM40 的表达和定位情况并拍照。

1.3.4 构建稳转细胞株 取对数生长期的 MIA PaCa-2 细胞接种到 24 孔板中, 37 °C、5% CO₂ 培养 16~24 h, 细胞汇合度约 50%~60% 用带 GFP tag 绿色荧光蛋白标签的慢病毒 TRIM40 感染, 16 h 后换液, 感染 72 h 可观察荧光强度并加入嘌呤霉素筛选感染的细胞株, 以 1 mg/mL 逐步增加至 10 mg/mL, 约 15 d 左右可构建成功, 并进行感染效率测定, 后续培养以嘌呤霉素 5 mg/mL 作为维持浓度。

1.3.5 qRT-PCR 实验 用 Trizol 法提取总 RNA, 并使用反转录试剂盒 (Takara) 将其反转录为 cDNA。qRT-PCR 使用 SYBR Green qPCR 法在 PCR 仪器中进行。以 GAPDH 为内参, 使用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达水平, 见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Gene	Sequence (5' to 3')
TRIM40 Fw	TCTATGTGTGGAATGCCTGGTGTCT
TRIM40 Rv	GAGTCGTTCTTGTAGTGGCTGAG
GAPDH Fw	GGACGTGCAGGGCAACTACC
GAPDH Rv	AGCCGACGATGAGAAAGGGG

1.3.6 细胞增殖实验 将处于对数生长期的细胞消化稀释, 配制为 1 000 个/孔 (1×10⁴ 个/mL) 的细胞悬液, 以 100 微升/孔接种到 96 孔板中, 每组至少 3 个复孔, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。培养 48 h 后每孔加入 10 μL 的 CCK8 试剂, 于培养箱中避光孵育 2 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 波长处测定吸光度值, 进行统计分析。

1.3.7 克隆形成实验 将处于对数生长期的细胞消化稀释, 配制为 1 000 个/孔的细胞悬液, 接种到 6 孔

板中, 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养, 每间隔 3 d 进行换液, 连续培养 14 d。用 PBS 洗涤后多聚甲醛固定 15 min, 1% 的结晶紫染色 15 min, 晾干后拍照。

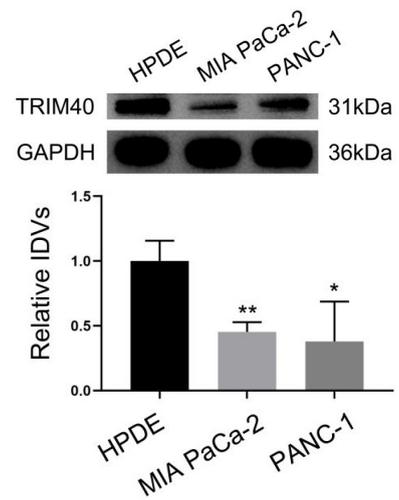
1.3.8 细胞划痕实验 将处于对数生长期的细胞消化稀释, 配制 3.5×10⁴ 个/孔的细胞悬液, 吸取 70 μL 均匀铺在伤口愈合插件里, 待细胞汇合度为 90% 左右, 拔下伤口愈合插件, PBS 清洗, 加入培养基, 于 0 h 和 24 h 分别进行拍照。

1.3.9 Transwell 实验 迁移实验: 在 Transwell 小室的上室加入 1×10⁵ 个悬浮于 100 μL 无血清培养基的细胞, 下室加入 600 μL 完全培养基。37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 48 h 后取出小室, PBS 洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 1% 的结晶紫染色 5 min, 用湿棉签擦掉上室中未穿过来的细胞, 并用 PBS 洗涤干净。在倒置显微镜下观察拍照并计数。侵袭实验: 在 Transwell 上室膜预涂 100 μL 基质胶, 在 37 °C 下静置 2 h, 待其凝固后吸去多余基质胶。后续步骤同迁移实验。

1.3.10 统计学方法 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用独立样本 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌细胞中 TRIM40 蛋白表达水平及 TRIM40 蛋白表达和定位情况 与 HPDE 细胞相比, MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞中 TRIM40 的蛋白表达水平显著降低 (*P* < 0.01 或 *P* < 0.05)。MIA PaCa-2 细胞中 TRIM40 蛋白表达更低, 且 MIA PaCa-2 细胞状态佳, 细胞增殖快, 易培养, 故选择 MIA PaCa-2 细胞进行后续实验。免疫荧光联合激光共聚焦显微镜观察显示, TRIM40 在 MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞中主要分布在细胞质。见图 1 和图 2。



注: 与 HPDE 组相比, * *P* < 0.01, ** *P* < 0.05; *n* = 3。

图 1 Western Blot 法检测不同细胞中 TRIM40 蛋白表达

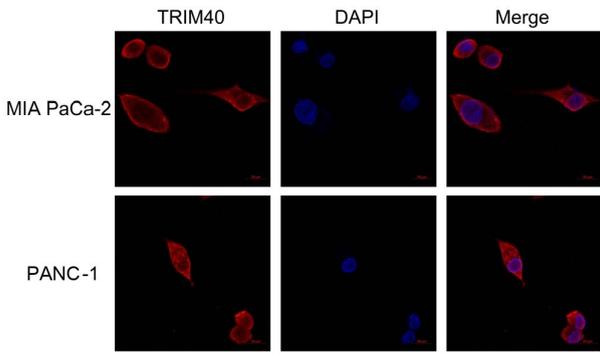
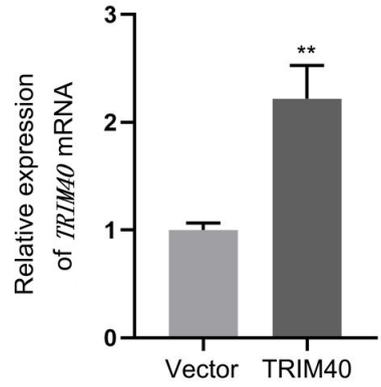


图 2 免疫荧光实验检测 MIA PaCa-2 细胞和 PANC-1 细胞中 TRIM40 蛋白表达(标尺=20μm)

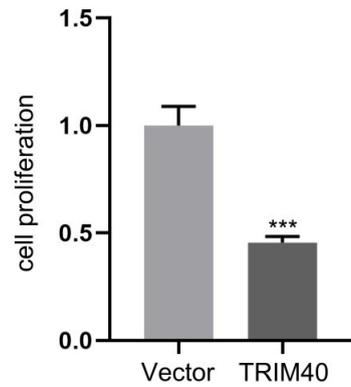


注:与 Vector 组相比, ** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

图 3 qRT-PCR 实验检测 2 组 MIA PaCa-2 细胞中 TRIM40 的表达

2.2 MIA PaCa-2 细胞过表达 TRIM40 的转染效率
在 MIA PaCa-2 细胞中过表达 TRIM40 后通过 qRT-PCR 实验检测 TRIM40 mRNA 的表达,结果显示,与 Vector 组比较,过表达 TRIM40 组细胞中 TRIM40 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.3 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖和克隆形成能力的变化 CCK-8 实验检测细胞增殖能力,与对照组比较,细胞接种培养 48 h 后,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞增殖活性显著降低 ($P < 0.001$)。平板克隆形成实验结果显示,与 Vector 组相比,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞克隆形成数明显减少 ($P < 0.01$)。见图 4 和图 5。



注:与 Vector 组相比, *** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

图 4 CCK-8 法检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖能力变化

注:与 Vector 组相比, ** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

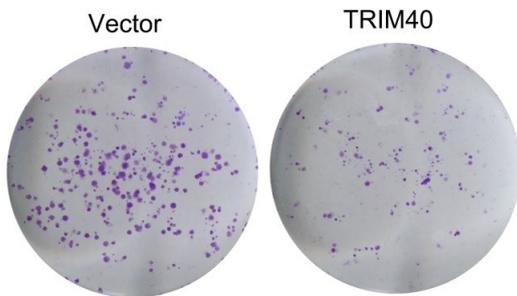
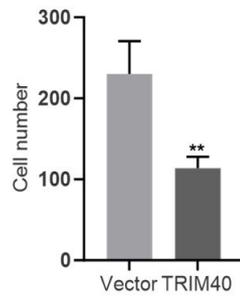


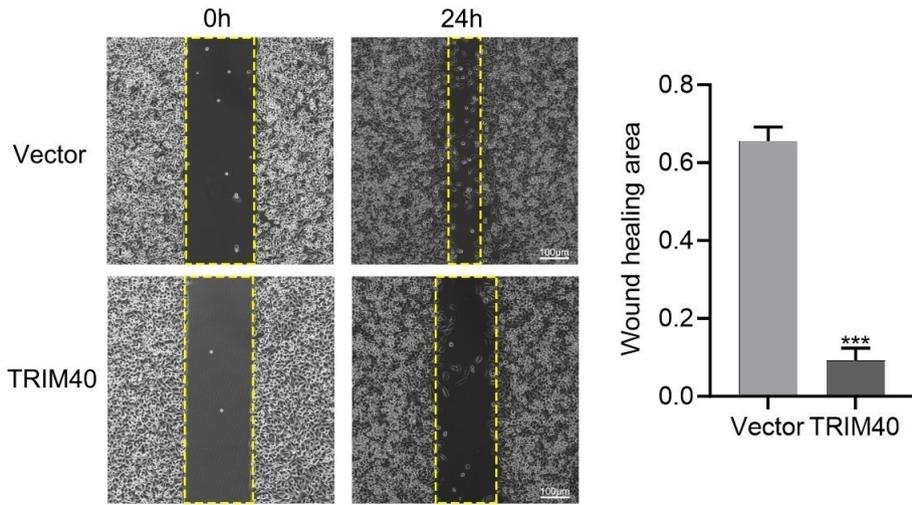
图 5 平板克隆实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞克隆形成能力变化(结晶紫)



2.4 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞划痕愈合能力变化 划痕后 24 h 观察,与对照组比较,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞划痕距离更宽,面积更大,划痕愈合能力明显降低 ($P < 0.001$)。见图 6。

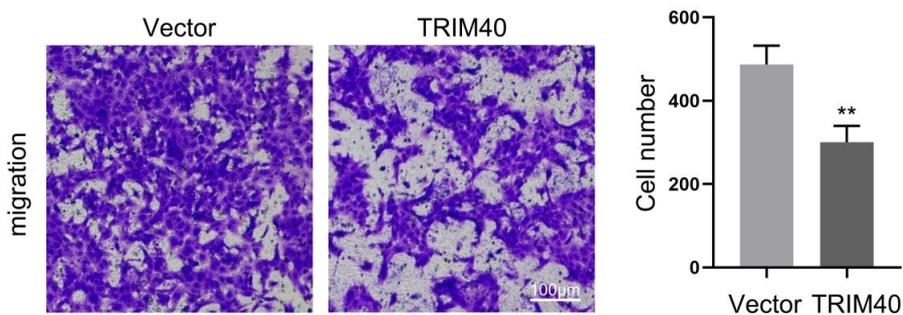
2.5 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞迁移和侵

袭能力变化 Transwell 实验结果显示,与对照组比较,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞的迁移和侵袭能力均显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。见图 7 和图 8。



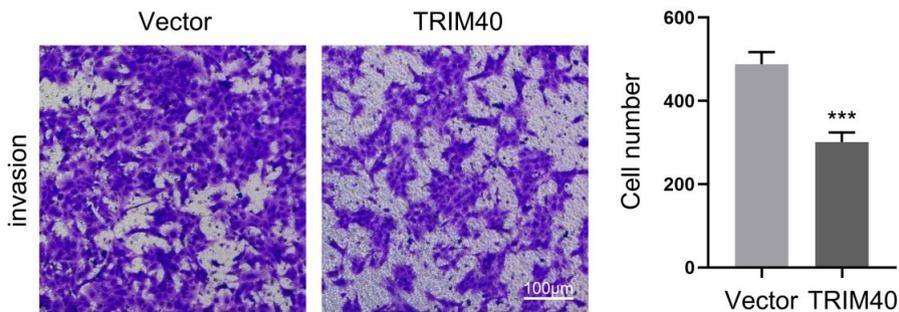
注:与 Vector 组相比,*** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

图 6 划痕实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞划痕愈合情况(标尺 = 100 μm)



注:与 Vector 组相比,** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

图 7 Transwell 小室实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞迁移情况



注:与 Vector 组相比,*** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

图 8 Transwell 小室实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞侵袭情况(标尺 = 100 μm)

3 讨论

PDAC 是一种致死性恶性肿瘤,由于 PDAC 在早期基本无症状,超过 80% 的患者通常被诊断时已为晚期或转移期,因此无法进行手术干预^[19-20]。此外,接受肿瘤完全切除的患者常在术后 2 年内出现局部或远处复发^[21]。其他治疗策略,如联合化疗、分子靶向药物和免疫检查点抑制剂,由于存在化疗和免疫耐药,疗效有限^[22-24]。因此亟待寻求新的诊断标志物及临床治疗靶点。

近年来,TRIM40 作为 TRIM 家族的重要成员,逐

渐成为肿瘤研究领域的热点对象。RNA-seq 分析表明,TRIM40 的表达在大多数人体组织中基本表达沉默^[18],在多种肿瘤中表达异常。如在炎症性肠病、食管癌中,TRIM40 的表达水平显著升高,且与肿瘤的分级、分期和预后密切相关^[18,25]。相反,在某些肿瘤如结直肠癌、IgA1 肾病中,TRIM40 的表达则显著降低^[26-27]。这些结果表明,TRIM40 在不同肿瘤中可能发挥不同的生物学功能。其通过结构域与其他蛋白质相互作用,参与如感染、炎症、信号转导、转录调控、泛素化修饰等多种细胞生物学过程^[26,28-30]。一些研究表

明 TRIM40 在抗病毒免疫中具有抑制作用^[31-32]。此外,TRIM40 通过泛素化使 NLRP3 炎症小体失活,抑制 IgA1 诱导的肾小球系膜细胞增殖^[27]。Riok3 通过其 RIO 结构域与 E3 连接酶 TRIM40 的 CC 结构域相互作用,促进 TRIM40 介导的 K48 和 K27 连接的泛素化,并诱导随后的 RIG-I 和 MDA5 蛋白酶体降解^[28]。糖尿病性视网膜病变是糖尿病患者常见的微血管并发症,研究表明 TRIM40 参与了糖尿病性视网膜病变的进展。在高糖条件下,TRIM40 和其效应蛋白 p-DAB1 的表达水平呈负相关,TRIM40 增强了 K48 连接的 DAB1 的泛素化,从而促进了 DAB1 的降解,研究揭示了 TRIM40 作为 Reelin/DAB1 信号通路干预的潜在治疗靶点,有助于糖尿病性视网膜病变的治疗^[33]。为了探究 TRIM40 与胰腺癌之间的关系,本研究通过 Western Blot 实验在 3 种胰腺癌细胞中检测 TRIM40 的表达,结果显示 TRIM40 在胰腺癌细胞的蛋白的表达显著低于 HPDE 细胞;免疫荧光染色结果显示,TRIM40 蛋白主要分布在胰腺癌细胞的细胞质中。为了进一步研究 TRIM40 对胰腺癌细胞的生物学行为的影响,本课题组使用 TRIM40 慢病毒感染并构建稳定过表达 TRIM40 的 MIA PaCa-2 细胞系进行后续检测。结果显示,过表达 TRIM40 后降低了 MIA PaCa-2 细胞的增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力。本研究结果表明:TRIM40 通过抑制细胞增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力在胰腺癌中发挥重要作用,提示过表达 TRIM40 可能是胰腺癌的潜在治疗方法。本研究结果为胰腺癌的靶向治疗提供了理论依据,但 TRIM40 调控胰腺癌细胞生物学行为的具体机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] KLEEFF J, KORC M, APTE M, et al. Pancreatic cancer [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16022.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.

[3] CONROY T, HAMMEL P, HEBBAR M, et al. FOLFIRINOX or gemcitabine as adjuvant therapy for pancreatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(25): 2395-2406.

[4] MUCCIOLO G, ARAOS HENRÍQUEZ J, JIHAD M, et al. EGFR-activated myofibroblasts promote metastasis of pancreatic cancer [J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(1): 101-118.

[5] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.

[6] HALBROOK C J, LYSSIOTIS C A, PASCA DI MAGLIANO M, et al. Pancreatic cancer: advances and challenges [J]. *Cell*, 2023, 186(8): 1729-1754.

[7] HUANG N, SUN X L, LI P, et al. TRIM family contrib-

ute to tumorigenesis, cancer development, and drug resistance [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2022, 11(1): 75.

[8] MERONI G, DIEZ-ROUX G. TRIM/RBCC, a novel class of 'single protein RING finger' E3 ubiquitin ligases [J]. *Bioessays*, 2005, 27(11): 1147-1157.

[9] CONNACHER R P, GOLDSTROHM A C. Molecular and biological functions of TRIM-NHL RNA-binding proteins [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021, 12(2): e1620.

[10] KUMAR S, CHAUHAN S, JAIN A, et al. Galectins and TRIMs directly interact and orchestrate autophagic response to endomembrane damage [J]. *Autophagy*, 2017, 13(6): 1086-1087.

[11] MANDELL M A, SAHA B, THOMPSON T A. The tripartite nexus: autophagy, cancer, and tripartite motif-containing protein family members [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 308.

[12] WAN T T, LI X D, LI Y B. The role of TRIM family proteins in autophagy, pyroptosis, and diabetes mellitus [J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(5): 913-926.

[13] VENUTO S, MERLA G. E3 Ubiquitin Ligase TRIM Proteins, Cell Cycle and Mitosis [J]. *Cells*, 2019, 8(5): 510.

[14] MCAVERA R M, CRAWFORD L J. TIF1 proteins in genome stability and cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(8): 2094.

[15] CHAUHAN S, JENA K K, MEHTO S, et al. Innate immunity and inflammophagy: balancing the defence and immune homeostasis [J]. *Febs J*, 2022, 289(14): 4112-4131.

[16] DI RIENZO M, ROMAGNOLI A, ANTONIOLI M, et al. TRIM proteins in autophagy: selective sensors in cell damage and innate immune responses [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(3): 887-902.

[17] KIMURA T, JAIN A, CHOI S W, et al. TRIM-directed selective autophagy regulates immune activation [J]. *Autophagy*, 2017, 13(5): 989-990.

[18] KANG S J, KIM J, PARK A, et al. TRIM40 is a pathogenic driver of inflammatory bowel disease subverting intestinal barrier integrity [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 700.

[19] WINTER J M, CAMERON J L, CAMPBELL K A, et al. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: a single-institution experience [J]. *J Gastrointest Surg*, 2006, 10(9): 1199-1210; discussion 210-1.

[20] FORGENSEN J. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators [J]. *J Gastrointest Surg*, 2001, 5(6): 681.

[21] HESSMANN E, BUCHHOLZ S M, DEMIR I E, et al. Microenvironmental determinants of pancreatic cancer [J]. *Physiol Rev*, 2020, 100(4): 1707-1751.

[22] IACOBUZIO-DONAHUE C A, FU B J, YACHIDA S,

- et al. DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(11):1806-1813.
- [23] PIPAS J M, ZAKI B I, MCGOWAN M M, et al. Neoadjuvant cetuximab, twice-weekly gemcitabine, and intensity-modulated radiotherapy (IMRT) in patients with pancreatic adenocarcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(11):2820-2827.
- [24] HUANG X, TANG T Y, WANG X, et al. Calreticulin couples with immune checkpoints in pancreatic cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2020, 10(1):36-44.
- [25] JI Y L, LI F X, ZHANG H, et al. Targeting TRIM40 signaling reduces esophagus cancer development: a mechanism involving in protection of oroxylin A [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 137:112362.
- [26] HU F Y, ZHAO L L, WANG J Y, et al. TRIM40 interacts with ROCK1 directly and inhibits colorectal cancer cell proliferation through the c-Myc/p21 axis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2024, 1871(8):119855.
- [27] SHEN J J, WU Q, LIANG T Y, et al. TRIM40 inhibits IgA1-induced proliferation of glomerular mesangial cells by inactivating NLRP3 inflammasome through ubiquitination [J]. *Mol Immunol*, 2021, 140:225-232.
- [28] SHEN Y, TANG K J, CHEN D D, et al. Riok3 inhibits the antiviral immune response by facilitating TRIM40-mediated RIG-I and MDA5 degradation [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(12):109272.
- [29] JIA X Z, ZHAO C Y, ZHAO W. Emerging roles of MHC class I region-encoded E3 ubiquitin ligases in innate immunity [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:687102.
- [30] PAN Q, XIE Y, ZHANG Y, et al. EGFR core fucosylation, induced by hepatitis C virus, promotes TRIM40-mediated-RIG-I ubiquitination and suppresses interferon-I antiviral defenses [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):652.
- [31] ZHAO C Y, JIA M T, SONG H, et al. The E3 ubiquitin ligase TRIM40 attenuates antiviral immune responses by targeting MDA5 and RIG-I [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(6):1613-1623.
- [32] YANG H G, MENG L, AI D B, et al. Acetic acid alleviates the inflammatory response and liver injury in septic mice by increasing the expression of TRIM40 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4):2789-2798.
- [33] XU X Z, LAN X M, FU S H, et al. TRIM40 ameliorates diabetic retinopathy through suppressing inflammation via Reelin/DAB1 signaling disruption; a mechanism by proteasomal degradation of DAB1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 664:117-127.

收稿日期:2024-11-26;修回日期:2024-12-28

(本文编辑 钟琳)

(上接第 15 页)

- [14] JIA S S, XI G P, ZHANG M, et al. Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(1):349-354.
- [15] GIRI R K, PARIJA T, DAS B R. D-limonene chemoprevention of hepatocarcinogenesis in AKR mice; inhibition of c-jun and c-myc [J]. *Oncol Rep*, 1999, 6(5):1123-1127.
- [16] 徐耀庭, 李劲松, 顾炜, 等. D-柠檬烯诱导人膀胱癌细胞周期阻滞及凋亡的研究 [J]. *中国医学工程*, 2010, 18(3):6-9.
- [17] YANG Y P, HONG Y, HAN J, et al. D-limonene alleviates oxidative stress injury of the testis induced by arsenic in rat [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2024, 202(6):2776-2785.
- [18] SHAN M H, QIN J F, JIN F F, et al. Autophagy suppresses isoprenaline-induced M2 macrophage polarization via the ROS/ERK and mTOR signaling pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 110:432-443.
- [19] YANG L P, HAO J, CHEN D. Role of oxidative stress in anti-cancer activity of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Tradit Med Res*, 2021, 6(6):50.
- [20] 肖丹, 钟华, 徐岚, 等. 黄芩苷通过诱导 ROS 发生抑制人 T 细胞淋巴瘤的增殖并促进凋亡 [J]. *肿瘤*, 2020, 40(8):541-548.
- [21] 王玲, 张秀珍. D-柠檬烯对人胃癌 MGC803 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *生命科学仪器*, 2009, 7(1):26-28.
- [22] CHEN X, ZHAO Y, LUO W, et al. Celastrol induces ROS-mediated apoptosis via directly targeting peroxiredoxin-2 in gastric cancer cells [J]. *Theranostics*, 2020, 10(22):10290-10308.
- [23] LING Z P, PAN J P, ZHANG Z F, et al. Small-molecule Molephantin induces apoptosis and mitophagy flux blockage through ROS production in glioblastoma [J]. *Cancer Lett*, 2024, 592:216927.
- [24] CHANG T M, CHI M C, CHIANG Y C, et al. Promotion of ROS-mediated apoptosis, G2/M arrest, and autophagy by naringenin in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(3):1093-1109.

收稿日期:2024-09-25;修回日期:2024-10-21

(本文编辑 钟琳)

本文引文格式:张倩,白恒宇,杨祥,等.青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制研究[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):23-31.

【论著与临床报道】

青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制研究

张倩¹,白恒宇¹,杨祥²,高俪原²,徐秀泉¹

(1. 亳州学院,安徽 亳州 236800;
2. 江苏省张家港市中医医院,江苏 张家港 215600)

摘要:目的 利用网络药理学和分子对接技术,从铁死亡角度探讨青黛治疗颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)的分子机制,揭示新的治疗靶点。方法 利用 TCMSP、PubChem 和 SwissTargetPrediction 数据库筛选青黛的活性成分和作用靶点。利用 GeneCards 和 OMIM 数据库,获取与 TBI 相关的靶点。使用 Venny 2.1 软件对青黛活性成分靶点和 TBI 靶点取交集。利用 Cytoscape 3.10.0 软件构建“青黛-活性成分-作用靶点”网络。将交集靶点导入 STRING 平台构建靶点间的蛋白相互作用(PPI)网络。利用 Metascape 数据库进行 GO 和 KEGG 分析。运用 GeneCards 和 FerrDb 数据库获得铁死亡基因靶点,利用 STRING、Metascape 数据库和 Cytoscape 3.10.0 软件对青黛活性成分、铁死亡、TBI 三者综合分析,并通过 AutoDockTools 1.5.7 软件和 PyMOL 软件进行分子对接验证。结果 青黛活性成分 9 个,对应靶点 254 个,TBI 靶点 1 969 个,交集靶点 109 个。铁死亡靶点 1 225 个,三者交集靶点 32 个。PPI 网络分析发现氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、表皮生长因子受体(EGFR)、原癌基因(SRC)、人类表皮生长因子受体 2(ERBB2)、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1(PARP1)等 5 个靶点是青黛调控铁死亡治疗 TBI 的主要靶点。分子对接结果表明靶点 PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1 与青黛的活性成分有较好的结合性。结论 青黛可能通过调控铁死亡治疗颅脑损伤。

关键词:网络药理学;分子对接;青黛;铁死亡;颅脑损伤

中图分类号:R651 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0023-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.004

Study on the mechanism of indigo naturalis regulating ferroptosis for the treatment of traumatic brain injury

ZHANG Qian¹, BAI Hengyu¹, YANG Xiang², GAO Liyuan², XU Xiuquan¹

(1. Bozhou University, Bozhou 236800, Anhui, China; 2. Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Province, Zhangjiagang 215600, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of indigo naturalis in the treatment of traumatic brain injury (TBI) from the perspective of ferroptosis using network pharmacology and molecular docking techniques, and to reveal new therapeutic targets. **Methods** The active ingredients and targets of indigo naturalis were screened using the TCMSP, PubChem, and SwissTargetPrediction databases. Targets related to TBI were obtained from the GeneCards and OMIM databases. The intersection of indigo naturalis active ingredient targets and TBI targets was obtained using Venny 2.1 software. The “indigo naturalis-active ingredient-target” network was constructed using Cytoscape 3.10.0 software. The intersection targets were imported into the STRING platform to construct a protein-protein interaction (PPI) network among these targets. GO and KEGG analyses were performed using the Metascape database. Ferroptosis gene targets were obtained from the GeneCards and FerrDb databases. Comprehensive analysis of indigo naturalis active ingredients, ferroptosis, and TBI was performed using the STRING, Metascape databases, and Cytoscape 3.10.0 software, and molec-

基金项目:国家自然科学基金项目(82204929);安徽省高等学校自然科学基金重大项目(2023AH040316)

第一作者:张倩,硕士,研究方向:心脑血管药理学,E-mail:17855355879@163.com

通讯作者:徐秀泉,博士,副教授,研究方向:中药材中微量成分研究,E-mail:xxq781026@ujns.edu.cn

ular docking validation was conducted using AutoDockTools 1.5.7 software and PyMOL software. **Results** Nine active ingredients of indigo naturalis were identified, corresponding to 254 targets, while 1 969 targets were associated with TBI, with 109 targets in the intersection. There were 1 225 ferroptosis targets, and 32 targets were common to all three categories. PPI network analysis revealed that peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), epidermal growth factor receptor (EGFR), proto-oncogene (SRC), human epidermal growth factor receptor 2 (ERBB2), and poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) were the main targets in the treatment of TBI via ferroptosis regulation by indigo naturalis. The results of molecular docking showed that the targets PPARG, EGFR, SRC, ERBB2, and PARP1 had good binding affinity with the active ingredients of indigo naturalis. **Conclusion** Indigo naturalis may treat TBI by regulating ferroptosis.

Key words: network pharmacology; molecular docking; indigo naturalis; ferroptosis; traumatic brain injury

颅脑损伤(traumatic brain injury, TBI)是指外力冲击导致脑组织受损的情况,是一种常见且严重的损伤疾病。TBI可分为局部损伤和弥漫性损伤两类。局部损伤影响特定区域的神经组织和脑血管,可能导致神经纤维断裂和细胞死亡;弥漫性损伤则涉及更广泛的脑部受损。近年来,交通事故的增加使 TBI 发生率上升。由于 TBI 治疗难度大、费用高,且患者往往有后遗症,因此 TBI 在我国损伤类疾病中具有较高的死亡率和致残率^[1-4]。青黛(indigo naturalis),一种深蓝色的干粉或发酵产品,源自爵床科的马蓝、蓼科的蓼蓝及十字花科的菘蓝等植物的叶或茎叶^[5]。青黛在古印度被用作原始染料,传入中国后常被用于画眉,后发现其具有显著的清热解毒、凉血消斑以及泻火定惊等功效^[6]。现代药理学研究发现,青黛具有抗炎、抗氧化、抗菌、免疫调节等活性^[7]。目前治疗 TBI 的手段有手术和药物治疗,抗氧化类中药治疗方法被证明能降低死亡率,具有一定治疗作用及减少并发症^[8]。而青黛中的靛玉红、 β -谷甾醇等成分具有抗氧化、抗炎、抗病毒等作用^[9]。铁死亡是一种新发现的细胞死亡方式,其核心在于铁依赖的脂质过氧化。在 Fe^{2+} 或脂氧合酶的作用下,细胞膜上的不饱和脂肪酸发生过氧化,最终导致细胞死亡^[10]。青黛的活性成分靛玉红、 β -谷甾醇等可以调控核心酶谷胱甘肽过氧化物酶 4,增加细胞内的活性氧(ROS)水平,降低脂质过氧化从而抑制铁死亡的发生^[11]。网络药理学是一门基于系统生物学和信息技术的学科。通过多化合物协同作用和药物再利用,精简了药物发现的过程,大大加快了临床转化的速度^[12]。本研究基于网络药理学分析对青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制进行探讨,并利用分子对接技术验证,以期为后续青黛治疗颅脑损伤的体内外研究提供思路。

1 材料与方法

1.1 青黛活性成分及靶点的筛选 使用中药系统药理学数据库及分析平台 TCMSP(<https://old.tcmsp-e.com/>),以“青黛”为关键词检索其化学成分。根据药物在体内的动态变化,设定青黛活性成分的筛选条件

为口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 。接着在 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中搜索活性成分的 SMILE name,并导入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>)中,获取单个靶点与基因名。

1.2 颅脑损伤相关靶点的收集及交集基因的获取 将“Traumatic Brain Injury”作为关键词在 OMIM(<http://www.omim.org/>)数据库与 Genecards(<https://www.genecards.org/>)数据库检索疾病靶点信息。使用 Venny 2.1(<http://bioinfogp.cnb.cu/tools/venny/index.html>)将二者靶点取交,二者共同的靶点即为青黛治疗 TBI 的潜在靶点。

1.3 “青黛—活性成分—作用靶点”网络构建 利用 Cytoscape V3.10.0 软件构建“青黛—活性成分—作用靶点”的网络图。

1.4 PPI 网络分析 将上述收集到的交集基因输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),并限定筛选种类为“Homo sapiens”,获得 PPI 网络图。将 PPI 网络数据导入 Cytoscape V3.10.0 软件,对数据进行筛选并进行可视化处理。

1.5 GO 和 KEGG 基因富集分析 将青黛活性成分与 TBI 相关基因的交集靶点导入 Metascape(<https://metascape.org/>)数据库,获得基因本体(Gene Ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)途径通路富集分析结果。然后,将这些结果导入微生信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制富集分析图。

1.6 铁死亡调控基因获取及与青黛、TBI 三者靶点综合分析 以“ferroptosis”为关键词在 GeneCards 和 FerrDb 数据库(<http://www.zhounan.org/ferrdb/>)筛选铁死亡相关靶点。利用 Venny 2.1 把青黛与 TBI 的交集靶点与铁死亡的靶点取交,获得三者的共同靶点。将上述的公共靶点导入到 STRING 数据库,限定筛选条件为人类种类,得到 PPI 网络图。将公共靶点

基因输入 Metascape 数据库,得到 GO 功能和 KEGG 通路富集结果,并导入 Venny 2.1 平台获得 GO 和 KEGG 富集图。

1.7 分子对接 在 TCMSP 数据库获取青黛活性成分的 InChIKey,并输入 PubChem 数据库获得其二维结构。使用 Chem3D 将其转换为优化后的三维结构,作为分子对接的配体。然后,在 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)数据库中获取人类核心靶点的蛋白 ID,并在 PDB(<https://www.rcsb.org/>)数据库中

找到相应的三维结构,作为分子对接的受体。使用 AutoDockTools-1.5.7 软件对受体进行加氢和去水处理后进行分子对接,最终用 PyMOL 软件进行可视化。

2 结果

2.1 青黛有效成分及靶点的筛选 在 TCMSP 数据库中搜索得到青黛的 9 个活性成分,将 9 个有效成分输入 SwissTargetPrediction 数据库得到靶点 366 个,将重复、无效靶点去除后得到 254 个靶点。将青黛 9 个有效活性成分编号为 QD1~QD9,见表 1。

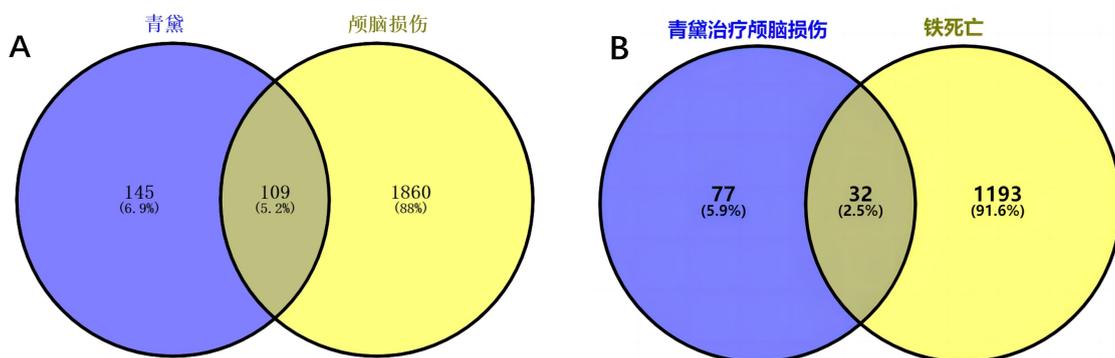
表 1 青黛活性成分信息

编号	MOL ID	化合物名称	OB%	DL
QD1	MOL011100	bisindigotin(双靛蓝素)	41.66	0.39
QD2	MOL011105	indican(靛苷)	34.9	0.23
QD3	MOL011332	10h-indolo,[3,2-b],quinoline	54.57	0.22
QD4	MOL011335	Isoindigo(异靛蓝)	94.3	0.26
QD5	MOL001781	Indigo(靛蓝)	38.2	0.26
QD6	MOL001810	6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b]quinazolin-12-one(青黛酮)	45.28	0.89
QD7	MOL002309	Indirubin(靛玉红)	48.59	0.26
QD8	MOL000358	beta-sitosterol(β -谷甾醇)	36.91	0.75
QD9	MOL002322	Isovitexin(异牡荆素)	31.29	0.72

注:OB%为口服生物利用度,DL为药物相似性。

2.2 青黛与颅脑损伤交集靶点的筛选 在 OMIM 数据库与 Genecards 数据库中共得到 3 030 个 TBI 靶点,去除重复项和 Relevance score 值低的基因靶点后得到 1 969 个靶点。将青黛活性成分靶点和 TBI 靶点导入 Venny 在线工具分析,共 109 个交集靶点(见图

1A)。以“ferroptosis”为关键词,在 GeneCards 和 FerrDb 数据库中筛选铁死亡靶点,合并、去除重复项共得 1 225 个靶点,并将这 1 225 个铁死亡靶点和青黛、TBI 的共同靶点导入 Venny 在线工具分析,获得 32 个共同靶点(见图 1B)。



注:A为青黛与颅脑损伤交集靶点韦恩图;B为青黛、铁死亡与颅脑损伤交集靶点韦恩图。

图 1 青黛活性成分靶点、颅脑损伤及铁死亡靶点韦恩图

2.3 “青黛—活性成分—靶点”网络构建 利用 Cytoscape V3.10.0 软件构建了“青黛—活性成分—靶点”网络图(见图 2)。在网络图中,位于中心位置的 represent 青黛,周围的节点则分别代表青黛的有效活性成分,而椭圆形则表示这些活性成分所共同指向的交集靶点。边线则清晰地展示了青黛活性成分与这些交集靶点之间的相互作用和关联。

2.4 PPI 网络构建 将青黛活性成分靶点和 TBI 疾

病的基因靶点交集基因靶点输入 STRING 数据库中,获得 PPI 网络图,共 109 个节点、877 条边。将 PPI 网络中的数据输入到 Cytoscape V3.10.0 中,用 CytoNCA 插件进行筛选,得到 Closeness 值为 0.004523, Betweenness 值为 117.981651, Degree 值为 16.091743。然后以这 3 个数值为标准,筛选出 10 个数值最大的靶点为 GAPDH、CASP3、SRC、PPARG、MMP9、ESR1、SIRT1、GSK3B、HSPA5、MAPK1(见图 3)。

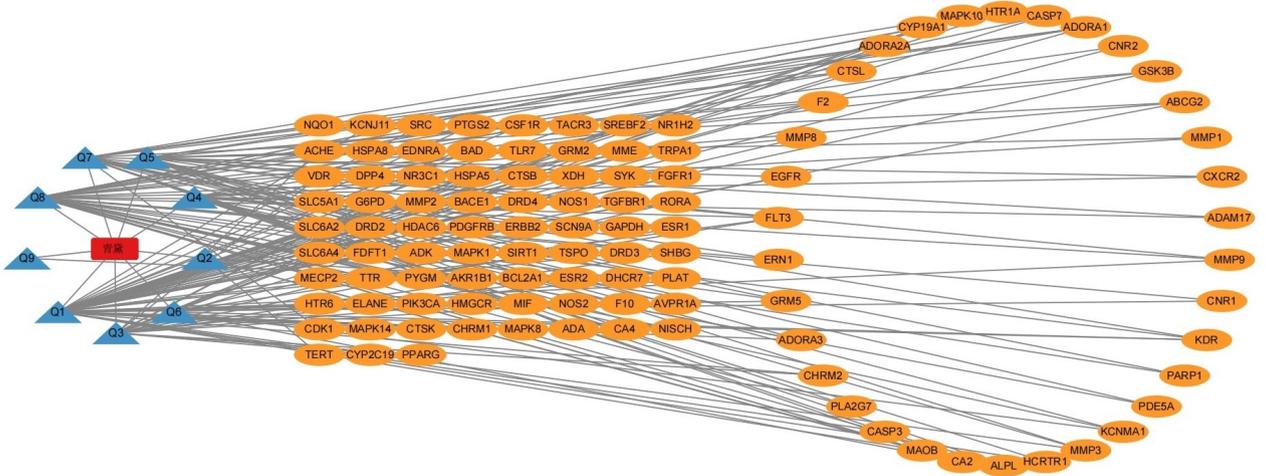


图 2 “青黛—活性成分—靶点”网络图

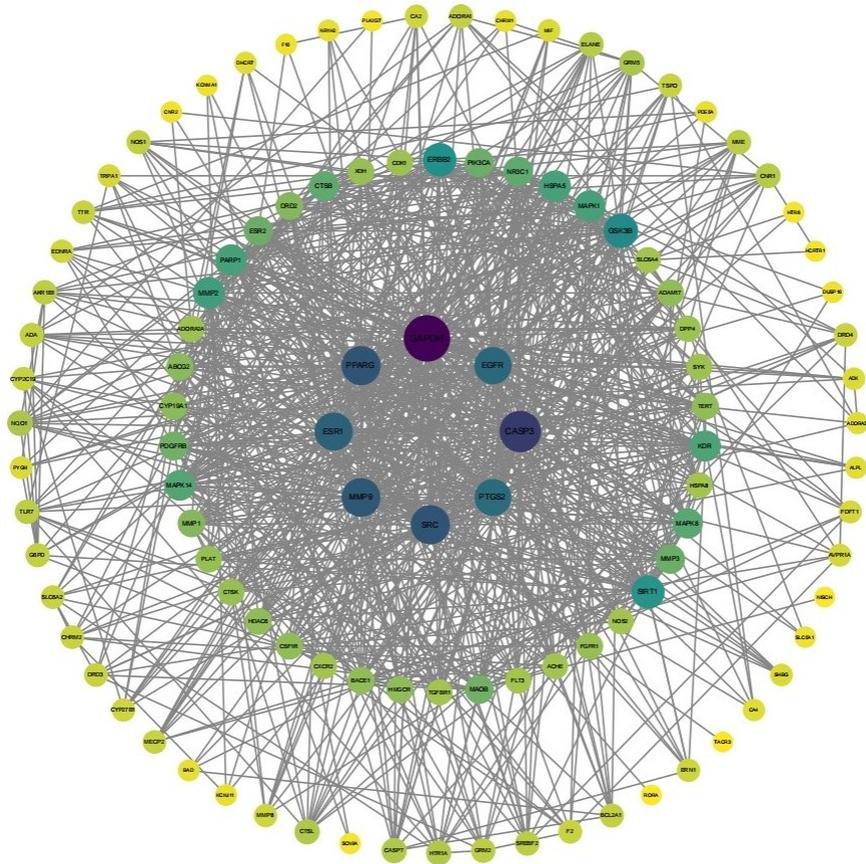
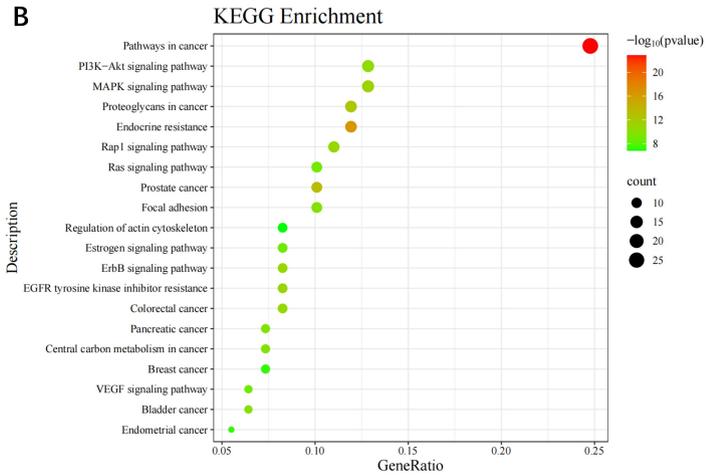
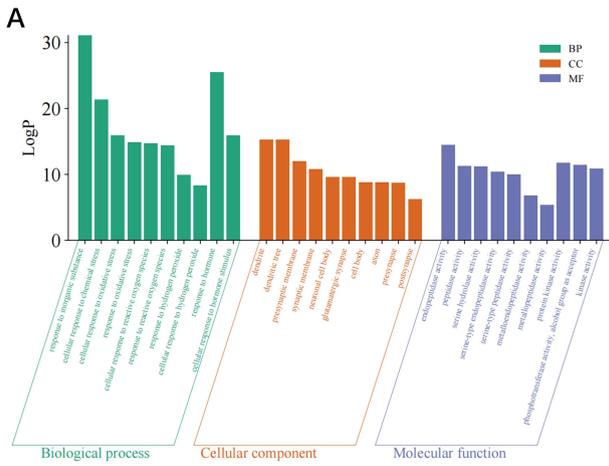


图 3 青黛治疗颅脑损伤作用基因靶点 PPI 网络图

2.5 GO 和 KEGG 富集分析 将青黛活性成分靶点与 TBI 靶点的交集靶点导入 Metascape 数据库, 获得 GO 生物和 KEGG 通路富集分析结果。将上述富集结果导入微生信, 并设 x 轴为 FDR, y 轴为 Term, 生成 GO 柱状图(见图 4A)和 KEGG 气泡图(见图 4B)。GO 分别从生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)、分子功能(molecular

function, MF)3 个层面进行分析。其结果显示, MF 包括细胞对蛋白激酶活性、肽链内切酶活性和酶活性等的作用; CC 分析表明, 靶点主要分布在树突和突触前膜等; BP 包括对无机物质的反应、对激素的反应和细胞对化学压力的反应。KEGG 结果显示, 青黛治疗颅脑损伤的通路主要包括 PI3K-Akt 信号通路、VEGF 信号通路、MAPK 信号通路等。



注:A为GO富集分析;B为KEGG通路富集分析。

图4 GO功能、KEGG通路富集分析

2.6 铁死亡基因获取及与青黛、TBI三者靶点综合分析 将32个青黛调控铁死亡治疗TBI的作用靶点输入STRING数据库,限定筛选种类为“Homo sapiens”,获得PPI网络图和数据,将数据导入Cytoscape V3.10.0软件中进行筛选,获得数值前十的靶点为PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1、ESR1、SIRT1、GSK3B、HSPA5、MAPK1(见图5)。在Metascape数据库输入这32个基因靶点,进行GO生物富集和KEGG通路富集分析,然后将结果的前20名数据输入微生信平台,绘制GO富集柱状图(见图6A)和KEGG通路富集分析的气泡图(见图6B)。GO结果显示, MF包括细胞对蛋白激酶活性、核受体结合和磷酸转移酶活性等;CC分析表明,靶点主要分布在受体复合物、黏着斑和细胞基质结等;BP包括对激素的反应、酶联受体蛋白信号通路和生长因子反应等。KEGG富集分析得到MAPK、PI3K-Akt等信号通路。

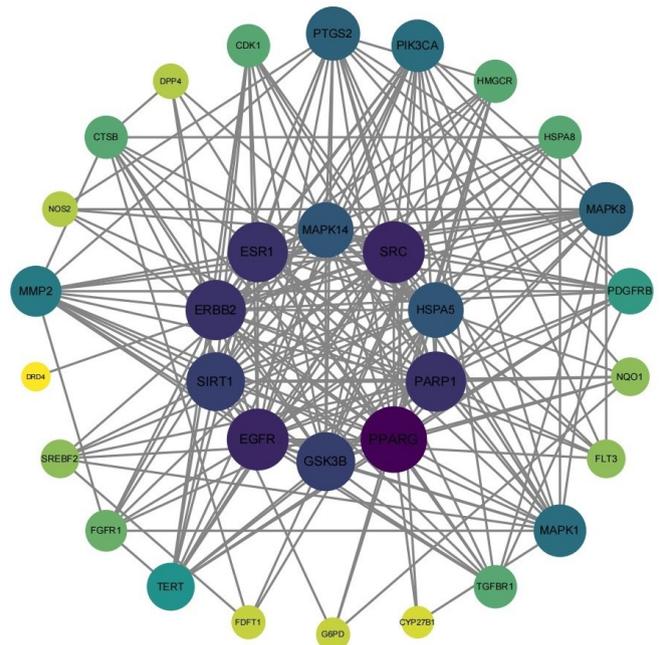
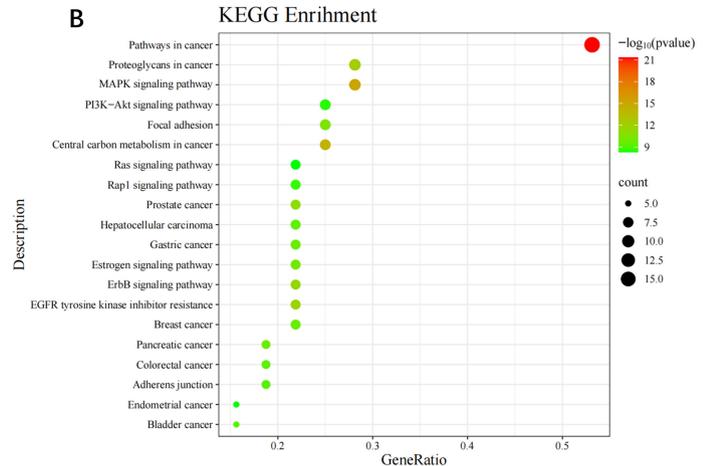
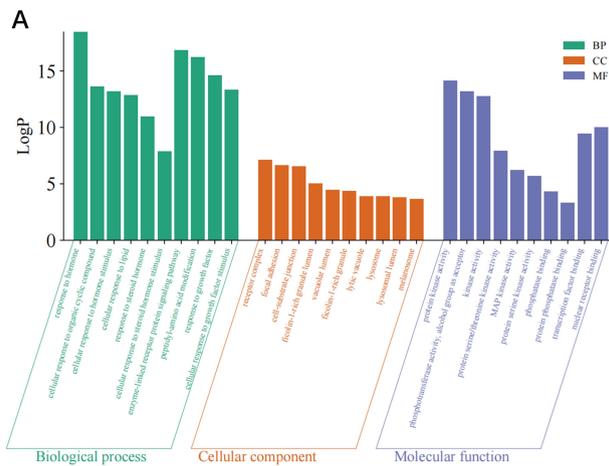


图5 青黛通过调控铁死亡治疗脑损伤的靶点PPI网络图



注:A为铁死亡GO富集分析柱状图;B为铁死亡KEGG通路富集分子气泡图。

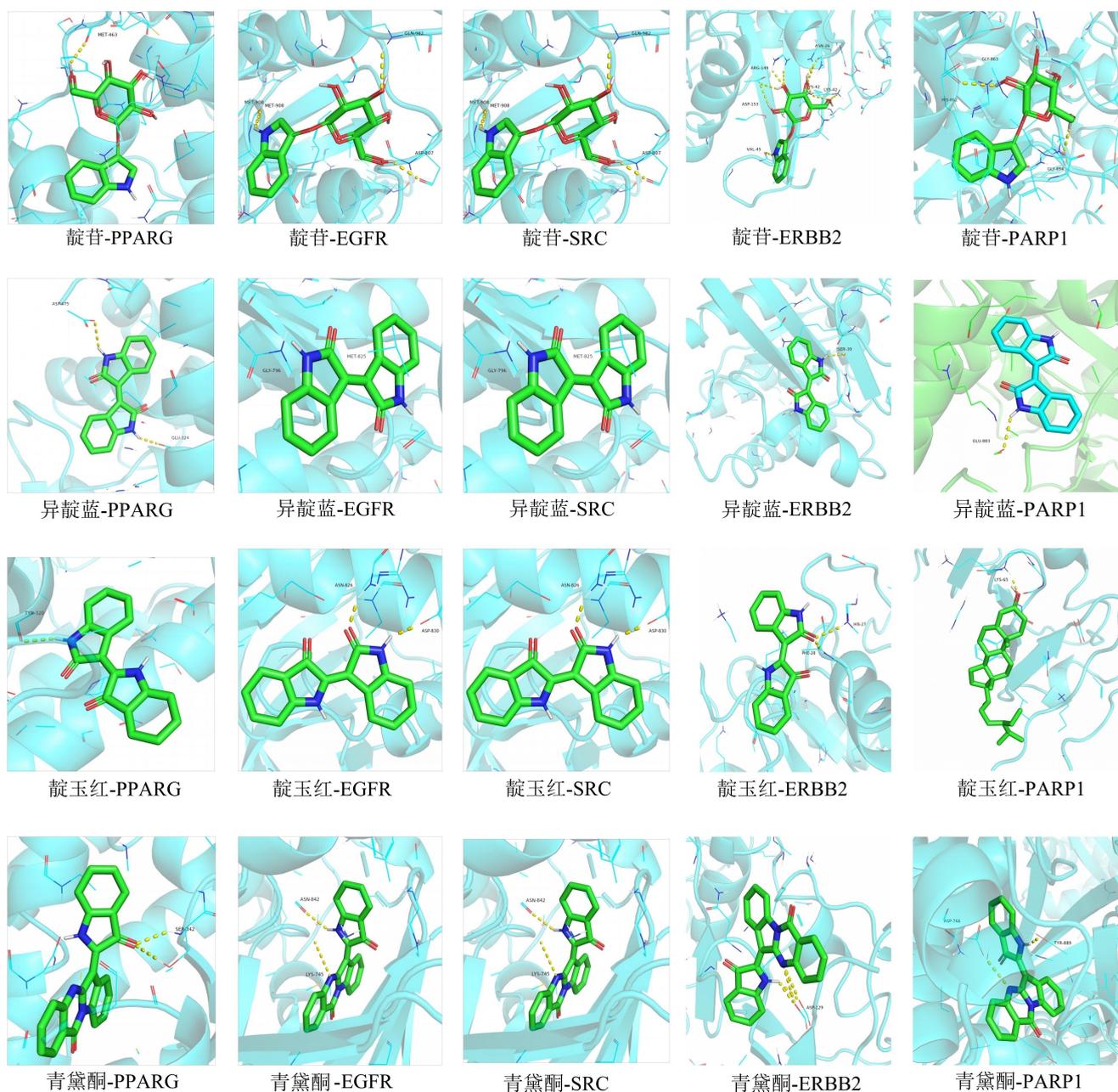
图6 铁死亡GO功能、KEGG通路富集分析

2.7 分子对接 分子对接可以验证青黛在调控铁死亡治疗颅脑损伤中的作用。结合能是评估青黛活性成分与其靶点形成稳定构象的重要指标,结合能越低,构象越稳定。在分子对接中,选用铁死亡、青黛和 TBI 公共靶点的 23 个交集靶点中的前 5 个(PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1)作为受体。配体则选用青黛有效成分中异靛蓝(Isoindigo)、靛玉红(indirubin)、青黛酮(6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b]quinazolin-12-one)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol)和靛苷(indican)。将配体和受体整理后使用 AutoDockTools-1.5.7 软件进行分子对接,对接结果显示 72% 的成分

和靶点对应的结合能 < -7 kcal/mol,有 24% 的成分结合能 < -9 kcal/mol(见表 2),该结果证实了上述分析结果的准确性。使用 PyMOL 软件对结合能 < -5 kcal/mol 的结果进行可视化处理(见图 7)。

表 2 分子对接结合能 单位:kcal/mol

活性化合物	PPARG	EGFR	SRC	ERBB2	PARP1
靛苷	-6.4	-5.1	-6.2	-5.2	-7.8
异靛蓝	-8.5	-7.4	-9.1	-8.2	-7.9
靛玉红	-7.5	-6.1	-8.2	-6.9	-6.8
青黛酮	-10.9	-10.7	-10.1	-7.5	-9.2
β -谷甾醇	-8.2	-7.0	-8.0	-7.7	-9.0



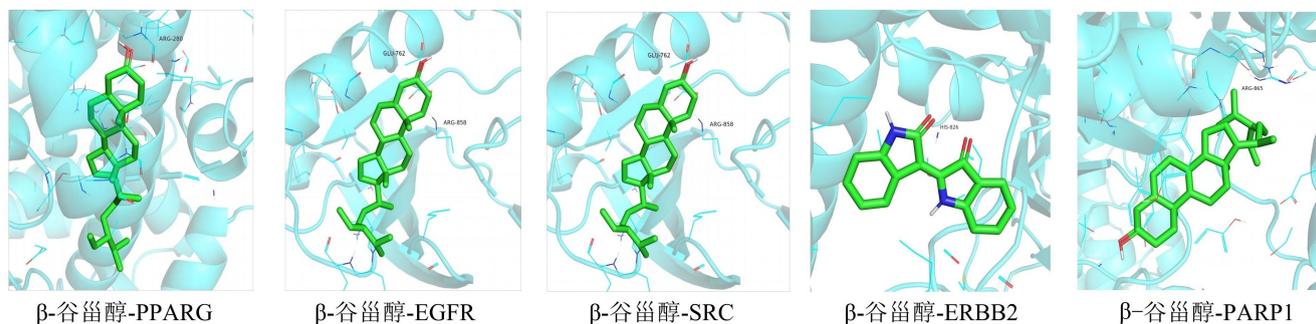


图 7 分子对接可视化

3 讨论

铁死亡作为一种新兴的程序性细胞死亡方式,近年来收到越来越多的关注。铁是人体最重要的微量元素之一,在新陈代谢中起着重要作用。已知铁缺乏和铁超载都会引起多种疾病,包括过量的亚铁离子促进脂质过氧化,产生脂质活性氧(ROS),诱导铁死亡^[13-14]。有研究表明^[15-16],铁死亡在多种疾病中起重要作用,包括肿瘤、中风、颅脑损伤、冷应激、急性肾衰竭和神经变性。TBI是由头部受击或震动引起的神经功能损伤,临床表现多种多样,增加了开发能够有效改善患者短期和长期生活质量的治疗方法的难度。因此,目前高达2%的人口生活在先前的创伤性脑损伤后果中^[17]。TBI由机械引起的损伤涉及细胞死亡、水肿、氧化应激、铁积累、内质网应激、炎症和免疫反应等复杂的级联反应^[18]。近年来的研究表明,铁死亡与TBI后的神经损伤及其复杂的病理生理过程密切相关。靶向铁死亡具有潜在的治疗价值,因为铁死亡通路在TBI后被激活并参与神经细胞死亡^[19]。网络药理学通过综合分析多个数据库,以中药药效理论为基础,合理组合中药成分,确定治疗方案,这与中药“多成分、多靶点、多作用趋势”的理论一致^[20]。本研究将网络药理学方法与分子对接相结合,分析青黛治疗TBI中铁死亡相关靶点的分子机制。

通过数据库的检索,筛选出青黛的9个有效活性成分,最终得到青黛治疗颅脑损伤的重要活性成分靛玉红、 β -谷甾醇、异靛蓝、青黛酮。并筛选了5个与铁死亡相关的颅脑损伤中心基因:PPARG、EGFR、SRC、ERBB2和PARP1,作为青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的核心靶点。AHMADIAN M等^[21]的研究发现过氧化物酶体增殖体激活受体 γ (PPARG)是一种配体激活的转录因子,它决定了人类疾病中的脂质代谢,对铁死亡和免疫耐受至关重要。PPARG的不同下游靶基因分别介导铁死亡和细胞凋亡^[22]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是上皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)在细胞增殖和信号转导中的受体。EGFR信号通路在细胞生

长、增殖和分化等生理过程中起着关键作用^[23]。SUN H等^[24]发现抑制EGFR可加速软骨细胞铁死亡和ECM降解,而加入铁抑制素-1可逆转这一过程,表明EGFR在调节软骨细胞铁死亡中发挥关键作用。CIR-OTTI C等^[25]的研究表明,类固醇受体共激活剂(SRC)维持NRF2在细胞核中的定位,从而促进与氧化应激反应和铁死亡相关的NRF2靶基因的表达,激活SRC依赖的NRF2有助于抑制铁死亡。WANG C等^[26]研究发现Cdc25A通过PKM2的去磷酸化提高ErbB2水平,抑制宫颈癌细胞中依赖自噬的铁死亡,ErbB2可以作为宫颈癌治疗的靶点。同时,靛玉红抑制Src/Stat3信号通路,减少恶性胰腺癌细胞凋亡^[27],抑制EGFR的激活和EGF诱导的表皮角质细胞CDC25B基因的表达^[28]。研究发现 β -谷甾醇可通过增加PPARG的表达增强胰岛素抵抗,保护心肌细胞免受损伤,预防高血脂症^[29]。PPARG、EGFR和SRC等靶点可能与TBI的铁死亡发生发展相关,而靛玉红和 β -谷甾醇等可能抑制这些基因在TBI的表达来发挥治疗作用。KEGG富集分析结果显示,MAPK信号通路在TBI的铁死亡中至关重要。MAPK家族是一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可以在广泛的炎症反应中介导一系列酶促反应^[30]。有研究表明,在小胶质细胞中,NLRP3炎性小体持续释放促炎细胞因子(IL-1 β 和IL-18),能够过度激活MAPK通路中p38丝裂原活化蛋白激酶(p38/MAPK)的表达,导致损伤脑中多种促炎细胞因子的持续释放,并在TBI后导致长期认知和情绪障碍^[31]。在新生大鼠缺氧缺血模型中,TLR4-p38 MAPK通路被激活,促进促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6和IL-18的产生,同时降低谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)的表达,导致神经炎症和铁死亡^[32]。分子对接结果显示,青黛活性成分靛玉红、异靛蓝、 β -谷甾醇、青黛酮、靛苷与PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1这5个核心靶点的结合能均 < -5 kcal/mol,这种结合不仅体现了青黛成分与靶点之间的高亲和力,还预示了其潜在的药理活性。靛玉红具有抗炎、抗癌和神经保护作用,已在多种实验模型中显示出对神经系统的保护作用

用^[33]。研究表明^[34],靛玉红能够通过抑制炎症因子和减轻氧化应激反应来促进脑损伤的修复。 β -谷甾醇是植物甾醇类化合物,可发挥抗炎及促进修复的作用治疗颅脑损伤^[35]。有研究发现^[36], β -谷甾醇可有效减轻 TBI 后的继发性损伤,其机制可能与抑制铁死亡途径介导的氧化应激和脂质代谢紊乱有关。LIU L 等^[37]研究发现靛苷显著减轻了神经细胞的氧化损伤,降低了炎症反应,改善了细胞存活率。此外,靛苷还通过调控抗氧化酶的表达和抑制脂质过氧化,减轻了由自由基引发的神经损伤。

综上所述,本研究鉴定出 5 个与铁死亡相关的颅脑损伤关键基因:PPARG、EGFR、SRC、ERBB2 和 PARP1;通过分子对接预测,发现青黛的异靛蓝、靛玉红、青黛酮和靛苷高度靶向这 5 个基因;基于网络药理学研究,为探索颅脑损伤的分子机制提供了新方向,揭示了潜在的治疗靶点。然而,由于中药成分的多样性和复杂的作用机制,单靠网络药理学预测存在局限性,还需进一步的体内外实验验证。

参考文献:

[1] LU Y J, JARRAHI A, MOORE N, et al. Inflammaging, cellular senescence, and cognitive aging after traumatic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2023, 180:106090.

[2] ZHAO Z A, YAN L L, WEN J, et al. Cellular and molecular mechanisms in vascular repair after traumatic brain injury: a narrative review [J]. *Burns Trauma*, 2023, 11: tkad033.

[3] TAHERI S, KARACA Z, MEHMETBEYOGLU E, et al. The role of apoptosis and autophagy in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis after traumatic brain injury (TBI)[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24):15699.

[4] ZHU X L, CHENG J, YU J T, et al. Nicotinamide mononucleotides alleviated neurological impairment via anti-neuroinflammation in traumatic brain injury[J]. *Int J Med Sci*, 2023, 20(3):307-317.

[5] ZHANG Q H, XIE J, LI G F, et al. Psoriasis treatment using indigo naturalis: progress and strategy[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 297:115522.

[6] YANG Q Y, ZHANG T, HE Y N, et al. From natural dye to herbal medicine: a systematic review of chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications of indigo naturalis[J]. *Chin Med*, 2020, 15(1):127.

[7] YANG Q Y, MA L L, ZHANG C, et al. Exploring the mechanism of indigo naturalis in the treatment of ulcerative colitis based on TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway and gut microbiota[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 674416.

[8] DAVIS C K, VEMUGANTI R. Antioxidant therapies in traumatic brain injury [J]. *Neurochem Int*, 2022, 152:

105255.

[9] LIN Y K, CHEN H W, YANG S H, et al. Protective effect of indigo naturalis extract against oxidative stress in cultured human keratinocytes[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(3):893-896.

[10] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4):266-282.

[11] YOKOTE A, IMAZU N, UMENO J, et al. Ferroptosis in the colon epithelial cells as a therapeutic target for ulcerative colitis[J]. *J Gastroenterol*, 2023, 58(9):868-882.

[12] NOGALES C, MAMDOUH Z M, LIST M, et al. Network pharmacology: curing causal mechanisms instead of treating symptoms[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2):136-150.

[13] DIXON S J, OLZMANN J A. The cell biology of ferroptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(6):424-442.

[14] LIU J, KANG R, TANG D L. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis[J]. *FEBS J*, 2022, 289(22):7038-7050.

[15] ZHANG Y D, LAN J, ZHAO D X, et al. Netrin-1 upregulates GPX4 and prevents ferroptosis after traumatic brain injury via the UNC5B/Nrf2 signaling pathway[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(1):216-227.

[16] CHENG H, WANG P F, WANG N, et al. Neuroprotection of NRF2 against ferroptosis after traumatic brain injury in mice[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(3):731.

[17] LU Y J, JARRAHI A, MOORE N, et al. Inflammaging, cellular senescence, and cognitive aging after traumatic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2023, 180:106090.

[18] XIE B S, WANG Y Q, LIN Y, et al. Inhibition of ferroptosis attenuates tissue damage and improves long-term outcomes after traumatic brain injury in mice[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(4):465-475.

[19] LIU Y, ZHAO Z R, GUO J Q, et al. Anacardic acid improves neurological deficits in traumatic brain injury by anti-ferroptosis and anti-inflammation[J]. *Exp Neurol*, 2023, 370:114568.

[20] NOGALES C, MAMDOUH Z M, LIST M, et al. Network pharmacology: curing causal mechanisms instead of treating symptoms[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2):136-150.

[21] AHMADIAN M, SUH J M, HAH N, et al. PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future [J]. *Nat Med*, 2013, 19(5):557-566.

[22] HAN L, BAI L L, QU C J, et al. PPARG-mediated ferroptosis in dendritic cells limits antitumor immunity[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 576:33-39.

[23] LEE, C K, WU, Y L, DING P N, et al. Impact of specific epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations and clinical characteristics on outcomes after treatment with

- EGFR tyrosine kinase inhibitors versus chemotherapy in EGFR-mutant lung cancer; a meta-analysis [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(17): 1958-1965.
- [24] SUN H, PENG G X, CHEN K H, et al. Identification of EGFR as an essential regulator in chondrocytes ferroptosis of osteoarthritis using bioinformatics, in vivo, and in vitro study[J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19975.
- [25] CIROTTI C, TADDEI I, CONTADINI C, et al. NRF2 connects Src tyrosine kinase to ferroptosis resistance in glioblastoma [J]. *Life Sci Alliance*, 2023, 7(1): e202302205.
- [26] WANG C, ZENG J, LI L J, et al. Cdc25A inhibits autophagy-mediated ferroptosis by upregulating ErbB2 through PKM2 dephosphorylation in cervical cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11): 1055.
- [27] NAM S, WEN W, SCHROEDER A, et al. Dual inhibition of Janus and Src family kinases by novel indirubin derivative blocks constitutively-activated Stat3 signaling associated with apoptosis of human pancreatic cancer cells [J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(3): 369-378.
- [28] HSIEH W L, LIN Y K, TSAI CN, et al. Indirubin, an acting component of indigo naturalis, inhibits EGFR activation and EGF-induced CDC25B gene expression in epidermal keratinocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2012, 67(2): 140-146.
- [29] LIN F X, XU L H, HUANG M Z, et al. β -sitosterol protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via targeting PPAR γ /NF- κ B signalling [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 2679409.
- [30] CHEN Y, FANG Z M, YI X, et al. The interaction between ferroptosis and inflammatory signaling pathways [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(3): 205.
- [31] KODALI M, MADHU L N, REGER R L, et al. Intranasally administered human MSC-derived extracellular vesicles inhibit NLRP3-p38/MAPK signaling after TBI and prevent chronic brain dysfunction [J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 108: 118-134.
- [32] ZHU K Y, ZHU X, SUN S H, et al. Inhibition of TLR4 prevents hippocampal hypoxic-ischemic injury by regulating ferroptosis in neonatal rats [J]. *Exp Neurol*, 2021, 345: 113828.
- [33] LAI J L, LIU Y H, LIU C, et al. Indirubin inhibits lps-induced inflammation via TLR4 abrogation mediated by the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 1-12.
- [34] WANG C, YANG P, WANG J, et al. Evidence and potential mechanism of action of indigo naturalis and its active components in the treatment of psoriasis [J]. *Ann Med*, 2024, 56(1): 2329261.
- [35] TANG X, YAN T, WANG S, et al. Treatment with β -sitosterol ameliorates the effects of cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing cholesterol overload, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(3): 642-649.
- [36] 杜俊凯, 关红, 李治延, 等. β -谷甾醇对创伤性脑损伤大鼠的保护作用及对铁死亡-脂质代谢途径的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2024, 24(1): 38-45.
- [37] HAUPT M, GERNER S T, BÄHR M, et al. Neuroprotective strategies for ischemic stroke-future perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4334.

收稿日期: 2024-07-29; 修回日期: 2024-09-19

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:台立,汤兴丽.白色念珠菌对 M2 巨噬细胞极化逆转作用的研究[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):32-36.

【论著与临床报道】

白色念珠菌对 M2 巨噬细胞极化逆转作用的研究

台立,汤兴丽

(皖南医学院基础医学院,安徽 芜湖 241002)

摘要:目的 探究高温灭活的白色念珠菌对人外周血来源的 M2 巨噬细胞极化逆转的作用,并探讨其作用位点是否与 Dectin-1 相关。方法 分离健康人外周血单核细胞,并在体外将其分化为 M2 型巨噬细胞。利用高温灭活的白色念珠菌刺激 M2,通过 ELISA 法测定其 M2 相关特征的变化;利用抗 Dectin-1 抗体对该过程进行阻断,判断 Dectin-1 是否参与该过程。结果 经过热灭活白色念珠菌预处理的 M2 巨噬细胞再一次接触到外来刺激物 LPS 时,会分泌更多的炎症细胞因子,并且白色念珠菌对 M2 巨噬细胞的刺激作用具有剂量依赖性,即 M2 巨噬细胞对 LPS 的反应性也随着白色念珠菌的刺激浓度的升高而增大。除此之外,Dectin-1 的抗体可以阻断白色念珠菌对 M2 巨噬细胞的极化逆转作用。结论 高温灭活的白色念珠菌处理后的 M2 巨噬细胞,其极化状态发生了明显改变,由抑炎性的状态逐渐转变为促炎性的状态,并且 Dectin-1 参与了此过程。

关键词: M2 巨噬细胞;白色念珠菌;极化

中图分类号: R329.24

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2025)01-0032-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.005

Study on the reversal effect of *Candida albicans* on M2 macrophage polarization

TAI Li, TANG Xingli

(School of Basic Medical Sciences, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of heat-inactivated *Candida albicans* on the polarization reversal of M2 macrophages derived from human peripheral blood and to investigate whether its site of action is related to Dectin-1. **Methods** Monocytes isolated from the peripheral blood of healthy individuals were differentiated into M2 macrophages in vitro. Heat-inactivated *Candida albicans* was used to stimulate M2 macrophages, and changes in M2-related characteristics were measured by ELISA. Anti-Dectin-1 antibodies were used to block this process to determine whether Dectin-1 was involved. **Results** M2 macrophages pretreated with heat-inactivated *Candida albicans* secreted more inflammatory cytokines when re-exposed to the foreign stimulus LPS. The stimulatory effect of *Candida albicans* on M2 macrophages exhibited a dose-dependent relationship, meaning that the reactivity of M2 macrophages to LPS increased with the concentration of *Candida albicans* stimulation. In addition, antibodies against Dectin-1 could block the polarization reversal effect of *Candida albicans* on M2 macrophages. **Conclusion** M2 macrophages treated with heat-inactivated *Candida albicans* showed a significant change in polarization state, gradually transitioning from an anti-inflammatory to a pro-inflammatory state, and Dectin-1 was involved in this process.

Key words: M2 macrophages; *Candida albicans*; polarization

基金项目: 皖南医学院中青年科研项目(WK202221)

第一作者: 台立,实验师,研究方向:自身免疫病,E-mail:taili0902@163.com

通讯作者: 汤兴丽,实验师,研究方向:医学微生物学,E-mail:107547969@qq.com

巨噬细胞在机体的固有免疫应答和适应性免疫应答过程中都发挥着关键性的作用,巨噬细胞具有很强的可塑性和异质性。血液中的单核细胞在体内外不同微环境的影响下,可以显著改变其生物学功能,分化为不同的亚群,即 M1 和 M2。其中 M1 型巨噬细胞能够释放大量的促炎性细胞因子,在机体中发挥细胞毒作用和导致组织损伤;M2 型巨噬细胞能够分泌抑炎性的细胞因子,在机体中发挥免疫调节作用和组织修复的功能^[1]。体内巨噬细胞极化状态的不平衡能构成许多病理过程,包括肿瘤发展、自身免疫病和慢性炎症疾病。但在近年的许多文献报道中,发现 M2 型巨噬细胞在某些疾病的发展过程中发挥着促炎性的作用。在类风湿性关节炎病人关节滑膜组织中,有相当一部分的 M2 细胞能够产生促炎性细胞因子 TNF- α ^[2];除此之外,在小鼠的心肌炎模型中也发现了小鼠 M2 型巨噬细胞上的 TLR4、IL-1 β 等标志物的表达相对高于 M1 型巨噬细胞^[3],以上研究成果皆提示了 M2 型巨噬细胞在机体某些特定的病理性状况下扮演着活化而不是抑制性的角色。白色念珠菌是人类共生微生物群不可分割的一部分,在机体微环境产生变化时,白色念珠菌的入侵会导致机体发生炎症反应和黏膜表面感染^[4]。据相关报道,白色念珠菌及其配体 β -葡聚糖(β -glucan)能够诱导单核细胞功能重组,导致其炎症细胞因子产生增加^[5]。作为一种病原相关分子模式, β -glucan 已被发现可触发巨噬细胞的吞噬作用并且诱导其产生炎性细胞因子^[6-7]。此外, β -glucan 与其主要模式识别受体 Dectin-1 结合能够形成吞噬突触,进而导致直接的细胞抗菌反应^[8]。然而,白色念珠菌是否影响组织中巨噬细胞的极化目前尚不清楚。

本次研究证实了经过热处理的白色念珠菌预刺激 M2 巨噬细胞后,当其再次接触刺激因子时能够诱发产生大量的炎性细胞因子。这种现象是具有剂量依赖性的,并且 Dectin-1 的抗体可以阻断这一现象,这提示 Dectin-1 可能与白色念珠菌诱导 M2 巨噬细胞极化逆转有关,为后续研究提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 M2 巨噬细胞的分化与培养 采集健康人外周血于 EDTA 抗凝管中,利用人淋巴细胞分离液经过密度梯度离心将血液中的 PBMC 分离出来。采用单核细胞阳选试剂盒将 PBMC 中的 CD14⁺ 单核细胞分离出来。对提取出的单核细胞进行计数,每孔以 5×10^5 个细胞的密度接种在 24 孔板中;同时加入 20 ng/mL 细胞因子 M-CSF 培养 6 d,再加入 20 ng/mL 细胞因子 IL-4 继续分化 1 d,更换 1640 培养基静息。即分化完成的 M2 型巨噬细胞,可用于后续处理。分化成功的 M2 巨噬细胞,重新提取计数重悬于 1640 培养基并接种于 96 孔板中,每个孔接种 5×10^4 个细胞,同时加

入相应的刺激物于二氧化碳培养箱中培养 12 h,收取上清液后再加入含 100 ng/mL LPS 的 1640 完全培养基中,刺激 24 h 后再收取上清液,收集上清液储存于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱待测。在阻断实验中,将细胞与 Dectin-1 抗体(购自 Abcam 公司)提前共同培养 2 h,再加入相应的刺激物,其余步骤与上述一致。

1.2 流式细胞术鉴定 M2 巨噬细胞 将体外分化的 M2 型巨噬细胞收集起来并计数,取适量细胞分装在 EP 管中,将流式抗体(CD14、CD163、CD206 购自 Biotrend 公司)用 PBS 1 : 50 稀释,在放置细胞的 EP 管中加入相应抗体于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 染色 30 min,期间每隔 10 min 混匀 1 次,染色结束后,每管加入 1 mL PBS 离心 500 g/5 min 洗去多余抗体,弃去上清液,最后加入荧光抗体保存液,利用流式细胞仪进行检测。

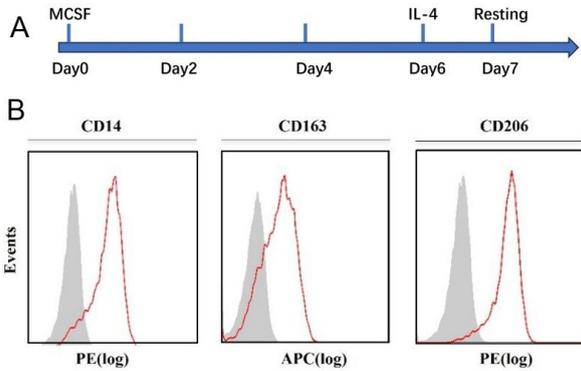
1.3 酶联免疫吸附实验(ELISA) 采用细胞因子 ELISA 检测试剂盒检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 细胞因子(购自 eBioscience 公司)的释放情况。具体检测步骤如下,包被:将捕获抗体用包被液稀释,在酶标板中每孔加入 100 μL 包被液, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱过夜,次日取出甩尽液体备用;用 0.05% PBST 重复洗板 3 次,每次 3 min,甩干;封闭:用 5% 脱脂奶封闭检测孔,每孔加入 230 μL ,放置 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 封闭 2 h 后甩干;加样:将标准品按照递减倍数稀释成 7 个不同浓度梯度,TNF- α 标准品第一孔浓度为 1 000 pg/mL,其余为 300 pg/mL,最后一孔浓度为 0,每个孔中加入 100 μL ;同时在其余的孔中加入待测细胞上清液,然后在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h;甩干待测样品后用 0.05% PBST 重复洗板 3 次,每次 3 min,甩干;加入检测抗体:将检测抗体稀释至要求倍数,每个孔加入 100 μL , $37\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 1 h,甩干后用 0.05% PBST 重复洗板 3 次,每次 3 min,甩干;加入 Avidin-HRP:Avidin-HRP 用稀释液稀释至要求倍数,每个孔加入 100 μL , $37\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 30 min;甩干后用 0.05% PBST 重复洗板 3 次,每次 3 min,甩干;显色:在每个孔中加入 100 μL TMB 显色液,室温显色 5~10 min 后注入 50 μL 终止液以终止显色反应;读数:使用酶标仪测定波长为 450 nm 处的吸收度值,根据标准曲线和相应稀释倍数对上清液中细胞因子含量进行计算。

1.4 统计学方法 本实验数据采用 GraphPad Prism 5 软件处理,组间比较采用方差分析和两样本的 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 人单核细胞来源的 M2 巨噬细胞的分化及表型的鉴定 按照上述介绍的方式体外分化人 M2 巨噬细胞,染上相应的流式抗体并对其进行表型分析鉴定,流式结果显示 M2 巨噬细胞表面的特异性标志物 CD14、CD163 和 CD206 均是高表达,提示 M2 巨噬细胞在体

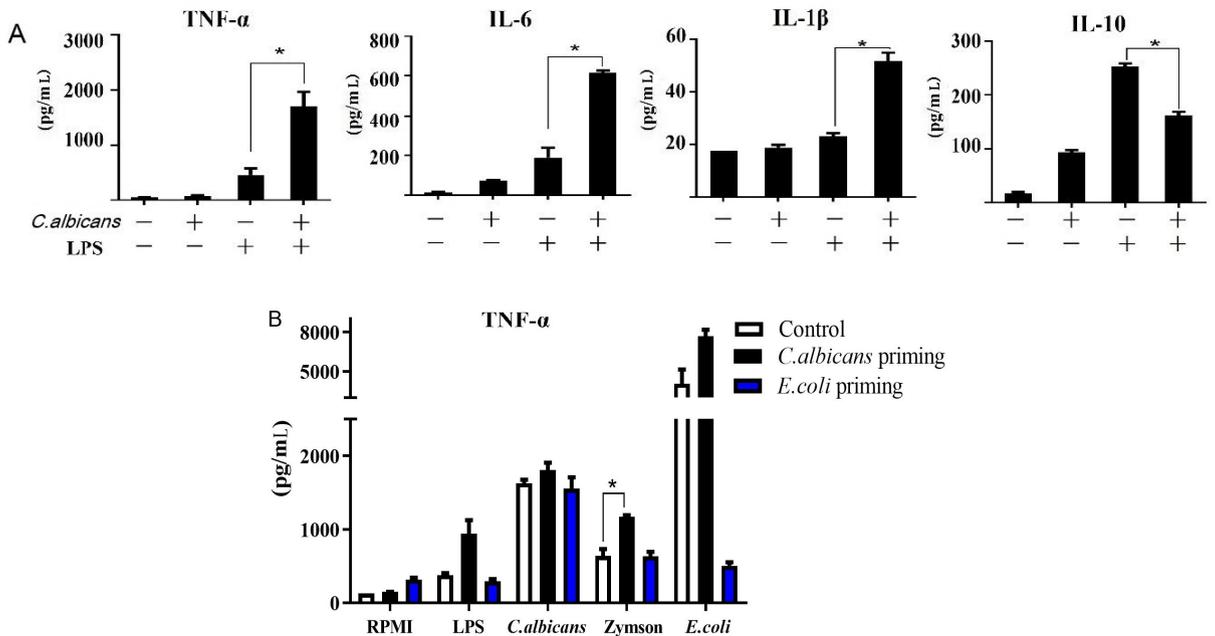
外分化成功,见图 1A 和图 1B。



注:A 为 M2 巨噬细胞在体外的分化步骤;
B 为流式鉴定分化完成后的 M2 巨噬细胞。

图 1 M2 巨噬细胞的分化及鉴定

2.2 白色念珠菌刺激 M2 巨噬细胞诱导其释放大量炎性细胞因子 白色念珠菌经过 95 °C 水浴处理 30 min 后使其灭活,然后计数并保存于 PBS 中。首先



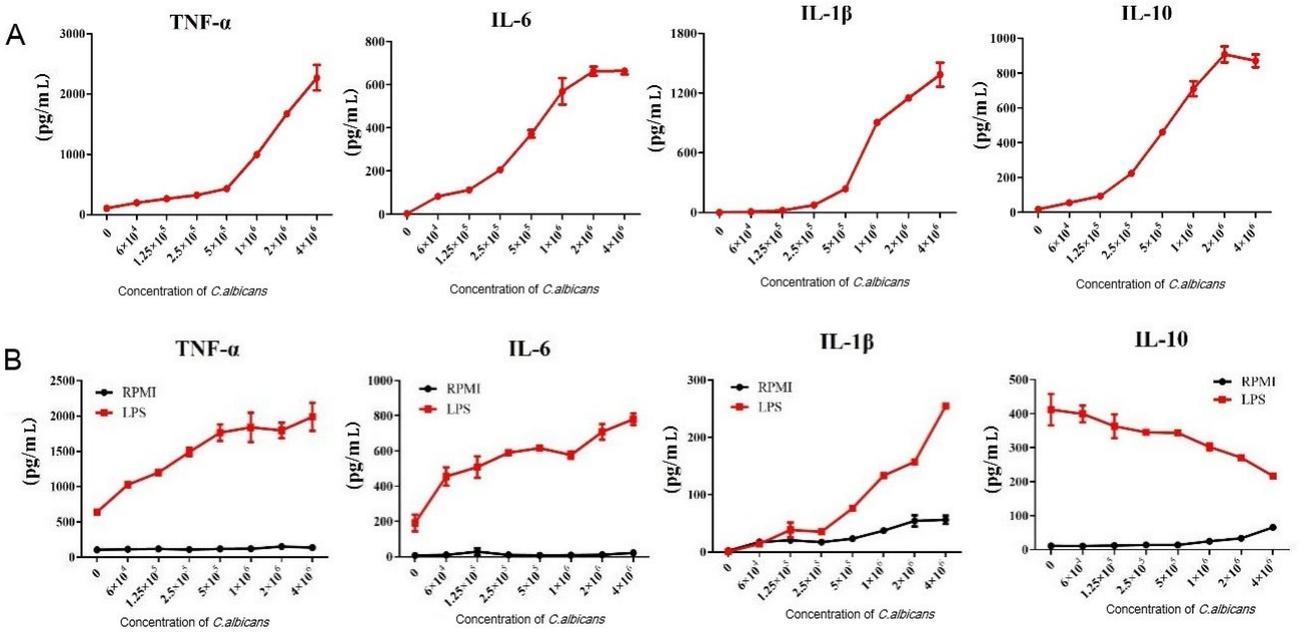
注:A 为白色念珠菌处理后的 M2 再次接受 LPS 刺激,其两轮上清液中细胞因子的含量;B 为大肠杆菌(*E. coli*)预刺激的 M2 再次接受其他刺激物处理,两轮上清液中细胞因子 TNF- α 的含量变化;RPMI 为 RPMI 1640 培养基;* $P < 0.05$ 。

图 2 白色念珠菌刺激 M2 细胞诱导其释放大量炎性细胞因子

2.3 白色念珠菌对 M2 巨噬细胞的刺激具有剂量依赖性 首先将 M2 巨噬细胞培养于 96 孔板,每孔铺 5×10^4 个细胞。用不同浓度 (0.6×10^4 、 1.2×10^5 、 2.5×10^5 、 5×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 4×10^6 /mL) 的白色念珠菌处理 18 h 后收集其上清液,同时再用 10 ng/mL 的 LPS 对其进行二轮刺激 24 h,再收集上清液。利用 ELISA 试剂盒对以上两轮上清液中细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10) 的释放进行检测,结果如下:随着白色念珠菌浓度升高,M2 巨噬细胞释放的促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 浓度逐渐升高,而抑炎性细胞

将 M2 巨噬细胞培养于 96 孔板,每孔铺 5×10^4 个细胞。用浓度为 5×10^5 个/毫升的白色念珠菌处理 M2 巨噬细胞 18 h 后收集其上清液,同时再用 10 ng/mL 的 LPS 对其进行二轮刺激 24 h,再收集上清液。利用 ELISA 试剂盒对以上两轮上清液中细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10) 的分泌进行检测,结果如下:经过白色念珠菌预处理的 M2 巨噬细胞,再次接受 LPS 的刺激时,促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的释放都有明显的升高,而抑炎性细胞因子 IL-10 的释放却有明显的降低。随后,又用大肠杆菌 (*E. coli*) 对 M2 巨噬细胞进行预处理 18 h,再用不同的刺激剂如 LPS、酵母聚糖 (zymosan)、白色念珠菌、大肠杆菌 (*E. coli*) 对其进行二轮刺激 24 h,检测其上清液中 TNF- α 的释放,结果表明只有白色念珠菌预处理的 M2 巨噬细胞再次接受其他刺激时才能释放大量的 TNF- α 。以上结果显示了白色念珠菌能促进 M2 巨噬细胞产生更多的促炎性细胞因子,见图 2A 和图 2B。

因子 IL-10 浓度逐渐降低。当再次接受 LPS 的刺激后,其促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的释放随着白色念珠菌的浓度升高而升高;反之,抑炎性细胞因子 IL-10 的释放却随着白色念珠菌的浓度升高而降低。以上结果说明了白色念珠菌处理后的 M2 巨噬细胞,其极化状态发生了明显改变,由抑炎性的状态逐渐转变为促炎性的状态。这意味着经过白色念珠菌的刺激,M2 巨噬细胞的极化状态发生了逆转,见图 3A 和 3B。

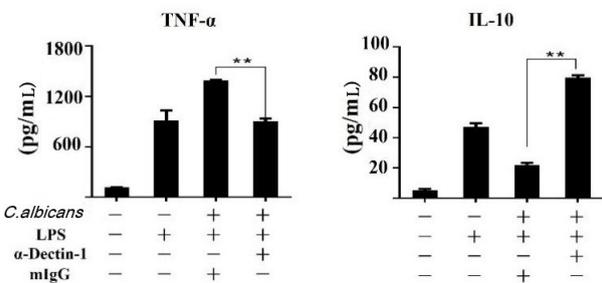


注：A 为不同剂量的白色念珠菌刺激 M2 后其上清液中各细胞因子的分泌量；

B 为再次接受 LPS 刺激时，其上清液中各细胞因子的分泌量。

图 3 白色念珠菌对 M2 巨噬细胞的刺激具有剂量依赖性

2.4 Dectin-1 对热处理白色念珠菌介导的 M2 巨噬细胞极化逆转的影响 为了阐明加热白色念珠菌对 M2 巨噬细胞极化逆转作用的机制，首先关注到 β-葡聚糖受体 Dectin-1，通过使用抗 Dectin-1 抗体来测定 Dectin-1 对热处理白色念珠菌介导的 M2 巨噬细胞极化逆转的影响。首先将 M2 巨噬细胞培养于 96 孔板，每孔铺 5 × 10⁴ 个细胞，将细胞与抗 Dectin-1 (30 μg/mL) 抗体和同型对照 mIgG (30 μg/mL) 共培养 2 h，再加入热处理的白色念珠菌刺激 18 h 后收集其上清液，同时用 10 ng/mL 的 LPS 进行二次刺激 24 h，之后收集上清液。利用 ELISA 试剂盒对以上两轮上清液中细胞因子 (TNF-α、IL-10) 的释放进行检测，结果发现抗 Dectin-1 抗体明显消除了白色念珠菌介导的 M2 巨噬细胞 TNF-α 释放增加以及 IL-10 释放降低的现象，说明了 Dectin-1 参与了此过程，为后续机制层面的研究提供了新的靶点，见图 4。



注：* * P < 0.01.

图 4 加入抗 Dectin-1 抗体后上清液中细胞因子含量的变化

3 讨论

白色念珠菌是人类共生微生物群不可分割的一部分。据报道，在肠炎模型中遇到白色念珠菌会导致肠道炎症的严重程度增加^[9]，β-葡聚糖受体 Dectin-1 参与了这种作用，该受体的多态性与溃疡性结肠炎的严重程度有关^[10]，但与溃疡性肠炎或克罗恩病易感性无关^[11]。有文献报道，白色念珠菌之所以可以和人类共生，其原因在于白色念珠菌可以诱导且增强单核细胞的促炎反应^[12]，并且白色念珠菌还可以驯化单核细胞，使其在预先接触白色念珠菌或 β-葡聚糖后对微生物成分表现出增强和持续的反应。这种作用是由 Dectin-1 受体/Rf-1 通路介导的，致使 p38 等信号分子能更快、更有效地激活^[5]。微生物对宿主免疫细胞的慢性刺激导致免疫增强功能状态，从而增加对感染的抵抗力或免疫耐受性，后者可能在预防组织损伤方面发挥作用。了解这两种影响之间的相互作用可以让人们更好地了解真菌是如何适应人体免疫系统的。白色念珠菌可能通过促进耐受性或通过扩大炎症，导致克罗恩病的产生^[13]。在近期研究中，白色念珠菌并不能诱导细胞产生耐受，相反它可以促进人单核细胞对细菌菌落的炎性增强反应。这种促进可能与单核细胞内的白色念珠菌相关的表观遗传学重编程有关^[5]。因此，真菌微生物可能对黏膜部位的宿主防御状态产生积极影响。当先前由白色念珠菌引起的黏膜部位的白细胞遇到潜在的病原定植时，宿主通过增强炎症反应（即通过募集和激活活性免疫细胞以及通过诱导黏膜炎的扩张）来增强防御。

巨噬细胞作为机体重要的免疫细胞之一,在免疫应答中发挥着非常重要的作用。血液中的单核细胞受体内不同微环境的影响下,能够分化成具有不同形态和功能的表型,主要包括两大类,即经典活化型巨噬细胞 M1 和替代活化型巨噬细胞 M2。在机体正常情况下,M1/M2 细胞处于动态平衡,调节机体免疫应答有条不紊地进行。当 M1/M2 细胞数量出现失衡,就会导致机体的病理变化。当 M1 型巨噬细胞数量显著增加时,会引起机体产生慢性炎症性疾病,而当 M2 型巨噬细胞数量增加时,则会导致机体产生严重的免疫抑制^[1]。但在近年的许多文献报道中发现 M2 型巨噬细胞在某些疾病的发展过程中扮演着促炎性的角色。在类风湿性关节炎病人关节滑膜组织中,有相当一部分的 M2 细胞能够产生促炎性细胞因子 TNF- α ^[2];除此之外,在肿瘤微环境中,肿瘤相关巨噬细胞的某些表型也更类似于具有强大免疫抑制活性的 M2 巨噬细胞^[14]。据报道^[15], β -葡聚糖可通过激活 Dectin-1 将肿瘤相关巨噬细胞转化为 M1 样巨噬细胞,因此是癌症免疫治疗药物的一个有吸引力的靶点。所有这些都表明 M2 细胞在某些特定的病理条件下是活跃的而不是抑制性的,这值得进一步探索。

本次研究证明了人类单核细胞来源的 M2 巨噬细胞与白色念珠菌预培养后再次接受外界刺激时可以产生大量的促炎细胞因子。由此可知,白色念珠菌可能诱导 M2 巨噬细胞从抑炎型到促炎型的“炎症转换”,并在 LPS 和其他刺激物刺激后表现出促炎细胞因子的产生增强。这种作用是剂量依赖性的,且该途径与白色念珠菌细胞壁成分 β -葡聚糖的结合受体 Dectin-1 有关。这一现象为后续探究真菌感染等疾病提供了潜在的治疗靶点。

参考文献:

[1] LUO M,ZHAO F K,CHENG H,et al. Macrophage polarization:an important role in inflammatory diseases[J]. Front Immunol,2024,15:1352946.

[2] CUTOLO M,CAMPITIELLO R,GOTELLI E,et al. The role of M1/M2 macrophage polarization in rheumatoid arthritis synovitis[J]. Front Immunol,2022,13:867260.

[3] FUNES S C,RIOS M,ESCOBAR-VERA J,et al. Implications of macrophage polarization in autoimmunity[J]. Immunology,2018,154(2):186-195.

[4] ARKOWITZ R A,BASSILANA M. Recent advances in understanding *Candida albicans* hyphal growth [J].

F1000Res,2019,8:F1000 Faculty Rev-700.

[5] LEONHARDT J,GROBE S,MRRX C,et al. *Candida albicans* β -glucan differentiates human monocytes into a specific subset of macrophages[J]. Front Immunol,2018,9:2818.

[6] MATA-MARTÍNEZ P,BERGÓN-GUTIÉRREZ M,DEL FRESNO C. Dectin-1 signaling update: new perspectives for trained immunity [J]. Front Immunol, 2022, 13: 812148.

[7] LIU X H,XU Y J,LI Y,et al. Ferumoxytol- β -glucan inhibits melanoma growth via interacting with dectin-1 to polarize macrophages into M1 phenotype[J]. Int J Med Sci,2021,18(14):3125-3139.

[8] SAHASRABUDHE N M, DOKTER-FOKKENS J, DE VOS P. Particulate β -glucans synergistically activate TLR4 and Dectin-1 in human dendritic cells[J]. Mol Nutr Food Res,2016,60(11):2514-2522.

[9] POULAIN D, SENDID B, STANDAERT-VITSE A, et al. Yeasts: neglected pathogens [J]. Dig Dis, 2009, 27 (Suppl. 1):104-110.

[10] ILIEV I D,FUNARI V A,TAYLOR K D,et al. Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis[J]. Science, 2012, 336 (6086):1314-1317.

[11] DE VRIES H S,PLANTINGA T S,VAN KRIEKEN J H,et al. Genetic association analysis of the functional c. 714T>G polymorphism and mucosal expression of dectin-1 in inflammatory bowel disease [J]. PLoS One, 2009,4(11):e7818.

[12] BAYS D J,JENKINS EN,LYMAN M,et al. Epidemiology of invasive candidiasis[J]. Clin Epidemiol,2024,16: 549-566.

[13] BONIFAZI P,ZELANTE T,D'ANGELO C,et al. Balancing inflammation and tolerance in vivo through dendritic cells by the commensal *Candida albicans*[J]. Mucosal Immunol,2009,2(4):362-374.

[14] DONG H L,YANG Y Y,GAO C H,et al. Lactoferrin-containing immuno complex mediates antitumor effects by resetting tumor-associated macrophages to M1 phenotype[J]. J Immunother Cancer,2020,8(1):e000339.

[15] LIU M,LUO F L,DING C L,et al. Dectin-1 activation by a natural product β -glucan converts immunosuppressive macrophages into an M1-like phenotype[J]. J Immunol,2015,195(10):5055-5065.

收稿日期:2024-06-25;修回日期:2024-09-23

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:任至立,滕俏,赵金红,等.牡丹皮精油纳米颗粒在日化品中的除螨功效及安全性检测[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):37-43.

【论著与临床报道】

牡丹皮精油纳米颗粒在日化品中的除螨功效及安全性检测

任至立¹,滕俏²,赵金红^{2,3},李媛媛^{2,3}

1. 皖南医学院公共卫生学院,安徽 芜湖 241002;
2. 皖南医学院医学寄生虫学教研室,安徽 芜湖 241002;
3. 安徽省生物大分子重点实验室,安徽 芜湖 241002

摘要:目的 制备牡丹皮精油二氧化硅纳米颗粒并研究其对粉尘螨的抑杀作用,同时进行皮肤刺激性实验,以期获得一种新型杀螨洗护用品。方法 将制备的牡丹皮精油纳米颗粒添加于不同日化产品中,采用接触法和趋避法测定其对粉尘螨的抑杀活性,并进行家兔皮肤刺激实验。结果 添加了牡丹皮精油纳米颗粒的洗衣液和洗衣粉对粉尘螨的接触死亡率分别为 95.17%和 96.17%,趋避率分别为 82.11%和 81.19%;在皮肤刺激试验中,皮肤反应积分均值为 0,皮肤刺激强度为无刺激性。结论 牡丹皮精油二氧化硅纳米颗粒在洗涤产品中对粉尘螨具有良好的触杀活性和趋避活性,无皮肤刺激性。

关键词:牡丹皮精油;纳米颗粒;日化品;杀螨活性;家兔皮肤刺激

中图分类号:R284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-5817(2025)01-0037-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.006

Detection of the acaricidal efficacy and safety of Moutan Cortex essential oil nanoparticles in daily chemical products

REN Zhili¹, TENG Qiao², ZHAO Jinhong^{2,3}, LI Yuanyuan^{2,3}

1. School of Public Health, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
2. Department of Medical Parasitology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
3. Anhui Key Laboratory of Biological Macromolecules, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To prepare Moutan Cortex essential oil-loaded mesoporous silica nanoparticles and investigate their acaricidal activity against *Dermatophagoides farinae*, as well as to conduct skin irritation tests, aiming to develop a novel acaricidal personal care product. **Methods** The Moutan Cortex essential oil-loaded mesoporous silica nanoparticles were added to different daily chemical products, and their acaricidal activity against *Dermatophagoides farinae* was measured by contact and repellency assays, and skin irritation tests were performed on rabbits. **Results** The contact mortality rates of *Dermatophagoides farinae* for laundry detergent and washing powder containing Moutan Cortex essential oil-loaded mesoporous silica nanoparticles were 95.17% and 96.17%, respectively, while the repellency rates were 82.11% and 81.19%, respectively. In the skin irritation test, the mean skin reaction score was 0, indicating no skin irritation. **Conclusion** Moutan Cortex essential oil-loaded mesoporous silica nanoparticles exhibit good contact and repellent activity against *Dermatophagoides farinae* in washing products and cause no skin irritation.

Key words: Moutan Cortex essential oil; nanoparticles; daily chemical products; acaricidal activity; rabbit skin irritation

基金项目:安徽省高校学科(专业)拔尖人才学术资助项目(gxbjZD2020071);芜湖市科技计划重点研发项目(2021yf38);皖南医学院 2022 年度校中青年基金项目(WK202216)

第一作者:任至立,大学生,E-mail:16224531782@qq.com

共同通讯作者:李媛媛,硕士,实验师,研究方向:植物源杀螨剂,E-mail:hnlyy198717@163.com

共同通讯作者:赵金红,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:医学螨类,人兽共患寄生虫病的基础和临床研究,E-mail:zha-
ojh@wnmc.edu.cn

牡丹皮(moutan cortex)为毛茛科植物牡丹(*Paeonia × suffruticosa Andr.*)的干燥根皮,性微寒,具有凉血解毒、活血化瘀等功效,还有抗肿瘤、抗心律失常、增强免疫力和保护脑组织缺血的作用^[1-4]。最新的研究表明^[5],牡丹皮精油含有多种可作为杀螨剂的生物活性化合物,其主要化合物是丹皮酚,是一种潜在的植物性杀螨剂。植物挥发油是一种相较于传统化学药剂更为绿色环保、安全高效的杀螨剂,长期使用对人类更健康^[6],亦被认为是螨类防治的理想替代品。但由于挥发油的疏水性和易降解、易挥发性,在实际杀螨应用中遇到了困难。纳米载药系统利用纳米技术将药物封装吸附于由高分子材料组成的纳米载体上,既能保护药物免受环境降解,还能减轻药物对人体的刺激性和毒性^[7-8]。纳米技术应用于精油的封装是控制精油稳定性的有效途径,也是目前制剂开发及未来改善植物精油性能的热点^[9]。且另一项研究表明,牡丹皮精油在介孔二氧化硅纳米颗粒中具有显著的稳定性^[10]。因此基于牡丹皮精油的纳米材料具有作为纳米杀螨剂产品的潜力,并可应用于防螨领域。粉尘螨(*Dermatophagoides farinae*)普遍存在于人类居住和工作的室内环境中,是房舍螨类的主要成员^[11],常见的孳生物有谷物残屑、动物皮屑、衣物和地毯灰尘等。粉尘螨是螨类变应原的主要来源之一,其分泌物、排泄物以及虫体死亡后的降解产物都能成为过敏原,可以诱发 IgE 介导的变态反应^[12-13],引起过敏性哮喘、过敏性鼻炎及荨麻疹等^[14-15]。据报道^[16],约 60%~80%的过敏性疾病患者对粉尘螨过敏,严重危害人类健康。

近年来,将天然植物提取物应用于日用品中符合大部分消费者绿色环保的消费理念^[17]。目前市面上有些洗衣液中添加了各类除螨剂,其主要成分具有良好的稳定性和配伍性,并且能很好地与洗衣液中的其他活性成分有机配伍^[18-19]。但除螨剂成分大多为植物提取物(如挥发油),其降解速度快、挥发性强等问题尚待解决。鉴于牡丹皮的抗寄生虫等特性及二氧化硅作为载药系统的应用潜力,本研究用二氧化硅纳米颗粒包裹牡丹皮精油后,应用于日化品中,拟探究其对粉尘螨的抑杀作用,并对产品的安全性进行评测,旨在开发出绿色、安全、高效的新型除螨洗护产品。

1 材料

1.1 主要实验试剂及器材 市售 3 种常见洗衣液、洗衣粉品牌均购于超市(其主要成分包括表面活性剂、粘合剂、防腐剂、香精等且品牌间成分无明显差异,下文分别用 A、B、C 表示,其中洗衣液均符合 QB/T 1224 行业标准,洗衣粉均符合 GB/T 13171.1 国家标准);牡丹根皮购于安徽省亳州市安徽大西北中药饮片有限公司;乙醚和无水硫酸钠均购于江苏省无锡市展望化

工试剂有限公司;体式显微镜 SZX7 购于日本 OLYMPUS 公司;Fwl35/177 型中草药粉碎机购于天津市泰斯特仪器有限公司;RE-52A 旋转蒸发器购于上海亚荣生化仪器厂;4500MP 扫描电子显微镜购于日本株式会社日立制作所;MiniFlex600 台式 X 射线衍射仪购于日本理学株式会社。

1.2 实验动物 家兔 8 只,体重 1.5~2 kg,雌雄各半,由皖南医学院实验动物房提供。许可证号:SYXK(皖)2023-005。所有动物适应性饲养 7 d 后开始试验。实验条件:温度 20~25 ℃。伦理审批号 WNMC-AWE-2023494。

1.3 粉尘螨的采集和饲养 试验所用粉尘螨采自学生宿舍地面、床上及空调里的灰尘,分离鉴定后饲养在 50 mm×30 mm 称量瓶中,通过自行配制的饲料进行喂养。饲料中含有玉米粉、小麦胚芽和面包酵母,混合比例为 10:10:1。在(25±1) ℃、(75±5)% 相对湿度的黑暗条件下,将装有粉尘螨的称量瓶置于恒温培养箱中。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 27.0 版软件对所有实验数据进行统计学分析。计量资料数据用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间采用 *t* 检验,多组间采用单因素方差分析等统计学方法对实验结果数据进行分析。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 方法

2.1 牡丹皮精油纳米颗粒的制备及分析 通过水蒸气蒸馏法提取牡丹皮精油,采用溶胶-凝胶法制备介孔二氧化硅纳米颗粒,然后将牡丹皮精油和纳米颗粒混合离心并超声振荡制备牡丹皮精油介孔二氧化硅纳米颗粒成品。对牡丹皮精油进行包裹后,通过 X 射线衍射、扫描电子显微镜及热重分析 3 种方法检测了牡丹皮精油介孔二氧化硅纳米颗粒的物理特性。

2.2 牡丹皮精油纳米颗粒日化产品对粉尘螨的抑杀活性

2.2.1 不同品牌洗涤日化品对粉尘螨的触杀试验 参照 NY/T 1151.2-2006《农药登记卫生用杀虫剂室内药效试验方法及评价 第 2 部分:灭螨和驱螨剂》^[20] 国家标准描述的灭螨方法开展触杀实验。选用市面上 A、B、C 3 种不同品牌的洗衣液、洗衣粉,用纯净水将两种日化品稀释成 10% 浓度,用双面胶带将直径 7.0 cm 圆形滤纸粘贴 90 mm×15 mm 培养皿底部,取 200 μL 不同种类日化品溶液均匀湿润滤纸后,将 200 只大小均匀的粉尘螨放置于滤纸中央,滤纸周围用凡士林包围,防止螨逃逸。30 min 时在培养皿中心放入螨虫饲料 0.05 g,将培养皿放置在温度为(25±1) ℃和相对湿度(75±5)% 的培养箱内保存。24 h 后在体式显微镜下观察螨体,计数死亡螨数。如粉尘螨的螨

体对毛发针的刺激没有反应,被认为已经死亡。所有实验重复 3 次。触杀死亡率计算公式为: $P = R/N \times 100\%$, 其中 R 为平均死亡螨数, N 为试验所有螨数。

2.2.2 牡丹皮精油纳米颗粒日化产品对粉尘螨的触杀试验 选取上述杀螨效果略好的品牌洗衣液和洗衣粉溶液,向其中分别添加等量牡丹皮精油纳米颗粒及空白介孔二氧化硅并配置成浓度为 0.167 mg/mL 相应溶液。具体操作同 2.2.1。

2.2.3 牡丹皮精油纳米颗粒日化产品对粉尘螨的趋避试验 根据《农药登记卫生用杀虫剂室内药效试验方法及评价 第 2 部分:灭螨和驱螨剂》国家标准描述的驱螨试验方法开展实验。取配置好的两种添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品溶液以及添加等量介孔二氧化硅的日化品溶液,将直径为 2.5 cm 的圆形滤纸沿中线剪成两个半圆,其中一个半圆分别滴加 50 μ L 牡丹皮精油纳米颗粒日化品溶液,另一个半圆滴加 50 μ L 等量空白硅日化品溶液作为对照。用透明胶带将两个半圆重新粘合,使用双面胶带将其粘贴在培养皿底部。将 30 只大小均匀的螨放置于两个半圆的中线处,圆形滤纸周围用凡士林包围。处理 3 h、6 h、12 h、24 h 后在体式显微镜下观察每个半圆的螨虫数。所有实验重复 3 次。用两个半圆(处理区和对照区)上粉尘螨的选择来描述趋避活性。趋避率计算公式为: $P_c = (1 - N_t / N_o) \times 100\%$, 其中 N_t 为处理区平均螨数, N_o 为对照区平均螨数。

2.3 牡丹皮精油纳米颗粒日化产品的皮肤刺激检测

2.3.1 家兔单次给药皮肤刺激实验 选 4 只家兔,雌雄对半,采用自体自身对比法。试验前 24 h 在每只家兔脊背两侧相同部位备皮,通过医用胶布绷带划分为六个小格,其中每一小格面积为 2.0 cm \times 2.0 cm,总共分为左区 1、2、3 及右区 1、2、3。进行破损皮肤的刺激性研究时,在右 1、2、3 三处用药部位用刀片划“十”字并以渗血为度。取之前配好的混有牡丹皮精油纳米颗粒日化产品溶液和无添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化产品溶液 0.2 mL 直接涂布于已去毛的皮肤上,其中左 1、2 区域为牡丹皮 1 组,即正常皮肤涂抹添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组,右 1、2 区域为牡丹皮 2 组,即破损皮肤涂抹添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组,左 3 区域为对照 1 组,即正常皮肤涂抹无添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组,右 3 区域为对照 2 组,即破损皮肤涂抹无添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组。用二层纱布和一层玻璃纸贴敷,时间为 4 h。贴敷结束后除去受试物,并在去除药物后 1 h、24 h、48 h、72 h 在自然光线下肉眼观察并记录涂敷部位有无红斑和水肿等情况。

2.3.2 家兔多次给药皮肤刺激实验 实验动物处理

及给药途径具体操作同 2.3.1。给药途径为连续给药 7 d,每天给药 1 次且均在同一部位。牡丹皮 3 组即多次给药正常皮肤涂抹添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组,牡丹皮 4 组即多次给药破损皮肤涂抹添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组,对照 3 组即多次给药正常皮肤涂抹无添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组,对照 4 组即多次给药破损皮肤涂抹无添加牡丹皮精油纳米颗粒的日化品组。其中牡丹皮 3 组对应单次给药皮肤刺激实验中牡丹皮 1 组部位,牡丹皮 4 组对应牡丹皮 2 组部位。同时在每天清洗药物后 1 h 观察并记录涂药部位有无红斑及水肿情况,并于第 7 天清洗药物后 1 h、24 h、48 h 和 72 h 观察并记录涂药部位皮肤情况。

2.3.3 评价标准 单次、多次给药皮肤性试验均按表 1、表 2 进行皮肤刺激反应评分及刺激强度评价。每次去除药物后 1 h 肉眼观察涂抹部位有无红斑、水肿、色素沉着等情况及其发生和消退时间,并对红斑及水肿进行评分。根据评分结果计算观察期限内每天每只家兔每块实验区域刺激积分均值。在单次皮肤刺激性实验中,牡丹皮 1、2 组实验区域分别为左 1、左 2 及右 1、右 2 之和,且一共用了雌雄两只家兔,其区域总数均为 4;对照 1、2 组分别为左 3、右 3,其区域总数均为 2。多次皮肤刺激性实验中牡丹皮及对照 3、4 组原理同单次中 1、2 组。其中皮肤刺激强度评价分值=(红斑总分+水肿总分)/实验区域总数。

表 1 皮肤刺激反应评分标准

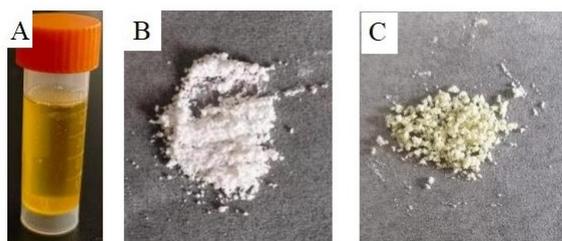
刺激反应	分值
红斑	
无红斑	0
轻度红斑(勉强可见)	1
中度红斑(明显可见)	2
重度红斑	3
紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
水肿	
无水肿	0
轻度水肿(勉强可见)	1
中度水肿(明显隆起)	2
重度水肿(皮肤隆起 1 mm,轮廓清楚)	3
严重水肿(皮肤隆起 1 mm 以上并有扩大)	4
最高总分值	8

表 2 皮肤刺激强度评价标准

分值	评价
0~0.49	无刺激性
0.5~2.99	轻度刺激性
3.0~5.99	中度刺激性
6.0~8.00	重度刺激性

3 结果

3.1 牡丹皮精油二氧化硅纳米颗粒的表征 水蒸气蒸馏法最终提取的牡丹皮精油为一种黄色挥发油(见图 1A)。溶胶-凝胶法最终获得一种干燥的白色沉淀物,即介孔二氧化硅纳米颗粒(见图 1B)。将牡丹皮精油和介孔二氧化硅纳米颗粒混合离心并超声振荡,制得的牡丹皮精油介孔二氧化硅纳米颗粒,为一种淡黄色颗粒状固体(见图 1C)。



注:A. 牡丹皮精油;B. 介孔二氧化硅纳米颗粒;
C. 牡丹皮精油二氧化硅纳米颗粒。

图 1 牡丹皮精油纳米颗粒成品

3.2 牡丹皮精油二氧化硅纳米颗粒的特性

3.2.1 X 射线衍射(XRD) 纳米材料的 XRD 谱图。结果显示,在 $15 \sim 35^\circ (2\theta)$ 之间存在一个宽且弥散的波峰,这与 BALAURE P C 等^[21]的研究结果相似。宽峰为非晶体介孔硅纳米颗粒的特征峰,从一方面证实了牡丹皮精油介孔二氧化硅纳米颗粒的形成。

3.2.2 扫描电子显微镜(SEM) 结果表明,制备得到的纳米颗粒的形状大致为球形,粒径约为 150 nm,颗粒大小分布较为均匀,且纳米颗粒间有一定的聚集趋势。

3.2.3 热重分析(TGA) 通过热重分析测定了牡丹皮精油在介孔硅纳米颗粒中的包裹量,并与比表面积分析结果相关联。可以观察到,随着温度的升高,牡丹皮精油在纳米材料中逐渐挥发,纳米材料的质量逐渐降低。第一阶段的质量降低基本可以认为是介孔材料中的水分蒸发,而 500°C 后介孔硅纳米材料的质量趋

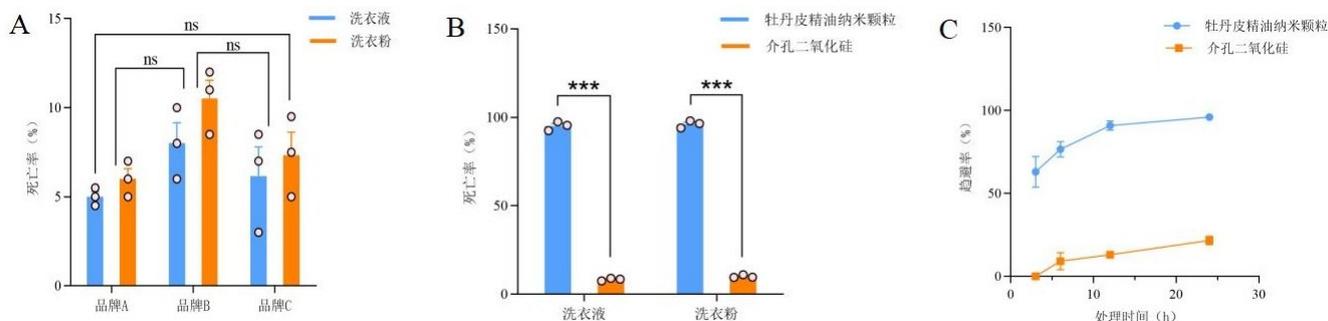
于稳定,此时牡丹皮精油已基本挥发完。

3.3 3 种不同品牌洗涤日化品对粉尘螨的触杀效果

通过接触死亡率生物测定法评价了 A、B、C 3 种不同品牌洗衣液、洗衣粉溶液对粉尘螨 24 h 的触杀毒性,结果表明,3 种品牌的日化品溶液对螨抑杀作用均较弱,且 3 种品牌两两之间比较,其除螨效果差异均无统计学意义($P > 0.05$)。其中经过品牌 B 洗衣液处理后的粉尘螨校正死亡率(8.00 ± 1.15)%比品牌 A、C(5.00 ± 0.29)%和(6.17 ± 1.64)%略高,经过品牌 B 洗衣粉处理后的粉尘螨校正死亡率(10.50 ± 1.04)%也略高于两种品牌(6.00 ± 0.58)%和(7.33 ± 1.30)%,结果见图 2A。故选择品牌 B 进行下一步触杀试验。

3.4 牡丹皮精油纳米颗粒日化品对粉尘螨的触杀效果 通过接触死亡率生物测定法评估添加了牡丹皮精油纳米颗粒的洗衣液 B 和洗衣粉 B 对粉尘螨 24 h 的触杀毒性,结果表明,添加牡丹皮精油纳米颗粒的洗衣液 B 和洗衣粉 B 对粉尘螨的触杀校正杀螨率分别为(95.17 ± 1.45)%和(96.17 ± 1.17)%,而仅添加空白硅对照组的校正杀螨率分别为(8.33 ± 0.44)%和(10.07 ± 0.47)%,见图 2B。实验结果表明,添加了牡丹皮精油纳米颗粒的日化产品对粉尘螨的触杀效果极强,且介孔二氧化硅对粉尘螨无明显抑杀作用,两者之间差异有统计学意义($P < 0.001$)。

3.5 牡丹皮精油纳米颗粒日化产品对粉尘螨的趋避效果 通过趋避生物测定法检测添加牡丹皮精油纳米颗粒的洗衣液 B 和洗衣粉 B 的趋避作用,分别处理粉尘螨 3 h、6 h、12 h、24 h 后,计算平均趋避率。实验结果表明,添加牡丹皮精油纳米颗粒的洗衣液 B 和洗衣粉 B 对粉尘螨趋避率分别为(82.11 ± 6.37)%和(81.19 ± 8.92)%,空白硅对照组的趋避率分别为(12.50 ± 4.82)%和(9.52 ± 4.32)%,见图 2C。证明牡丹皮精油纳米颗粒对粉尘螨的趋避效果远高于介孔二氧化硅($P < 0.001$)。



注:A. 3 种日化品作用粉尘螨的接触死亡率;B. 牡丹皮精油纳米颗粒日化品作用粉尘螨 24 h 后接触死亡率;C. 牡丹皮精油纳米颗粒日化品作用粉尘螨 3 h、6 h、12 h、24 h 后平均趋避率。*** $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 2 测定日化品溶液及牡丹皮精油纳米颗粒对粉尘螨的抑杀活性

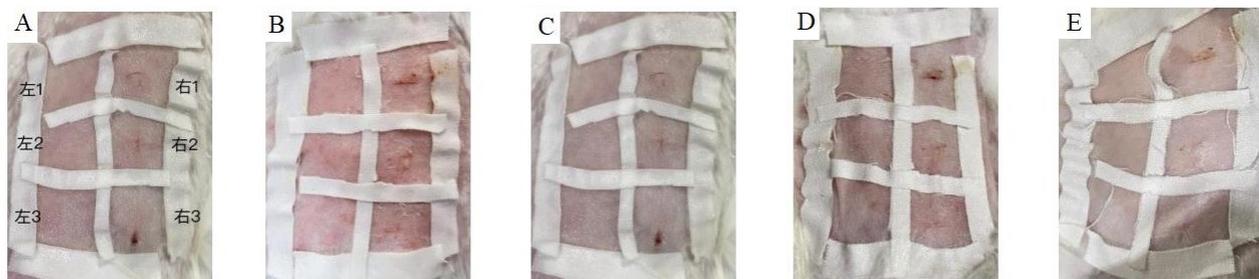
3.6 单次给药皮肤刺激试验 单次给药后,牡丹皮 1 组、对照 1 组及对照 2 组在观察期内均未出现给药部位皮肤红斑和水肿情况,平均反应值均为 0。用药后第 3 天观察发现牡丹皮 2 组划伤部位出现轻度红斑但无水肿,至第 4 天皮肤完全恢复正常,如图 3 所示。按相应评分标准对皮肤红斑和水肿进行评分,两组的平

均反应均值分别为 0 分和 0.0625 分, P 均 < 0.49 分,表明无刺激性,见表 3。其中图 A 为家兔皮肤刺激性实验划分区域示意图,见图 4B~图 4E 分别为同一部位给药并去除药物后 1 h、24 h、48 h、72 h 观察记录的家兔皮肤情况。给药后家兔精神状态、活动、呼吸等生命体征均未见明显异常。

表 3 牡丹皮精油日化品溶液单次给药皮肤刺激反应积分及平均反应值

单位:分

组别	实验区域(块)	积分总和				平均反应值				每区域每天平均分
		1 h	24 h	48 h	72 h	1 h	24 h	48 h	72 h	
牡丹皮 1 组	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
对照 1 组	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
牡丹皮 2 组	4	0	0	1	0	0	0	0.25	0	0.0625
对照 2 组	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0



注:A. 皮肤刺激性实验划分区域示意图;B. 给药后 1 h 皮肤;
C. 给药后 24 h 皮肤;D. 给药后 48 h 皮肤;E. 给药后 72 h 皮肤。

图 3 单次给药皮肤刺激性试验各时段的皮肤情况

3.7 多次给药皮肤刺激试验 连续多次给药后,对照 3 组、对照 4 组给药部位均未出现皮肤红斑、水肿等情况,两者平均反应均值均为 0 分。牡丹皮 3 组在连续给药的第 3 天出现轻度红斑但无水肿,至第 6 天皮肤恢复正常,其平均反应均值为 0.125 分。牡丹皮 4 组

在连续给药的第 2 天出现轻度红斑,且第 3 天出现轻度水肿,至第 6 天给药 1 h 后皮肤恢复正常,其平均反应均值为 0.2 分。两组的平均反应均值均 < 0.49 分,表明无刺激性。给药后家兔无其他异常反应,试验结果见表 4、表 5。

表 4 牡丹皮精油日化品溶液多次给药皮肤刺激反应积分

单位:分

组别	实验区域(块)	给药时间/d						结束给药后/h			
		1	2	3	4	5	6	1	24	48	72
牡丹皮 3 组	4	0	0	1	2	1	1	0	0	0	0
对照 3 组	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
牡丹皮 4 组	4	0	1	2	3	1	1	0	0	0	0
对照 4 组	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表 5 牡丹皮精油日化品溶液多次给药皮肤刺激平均反应值

单位:分

组别	实验区域(块)	给药时间/d						结束给药后/h				每区域每天平均分
		1	2	3	4	5	6	1	24	48	72	
牡丹皮 3 组	4	0	0	0.25	0.5	0.25	0.25	0	0	0	0	0.125
对照 3 组	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
牡丹皮 4 组	4	0	0.25	0.5	0.75	0.25	0.25	0	0	0	0	0.2
对照 4 组	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

4 讨论

洗涤用品与日常生活密不可分。近年来一剂多用的功能性液体洗涤用品得到了迅速发展,在保证原有清洁功能的基础上附加其他的辅助功能,从而增强产品的实用性,日益受到人们的青睐。

本研究通过水蒸气蒸馏法从牡丹皮中提取牡丹皮精油,通过溶胶-凝胶法制备介孔二氧化硅纳米颗粒,包裹牡丹皮精油而获得牡丹皮精油二氧化硅纳米颗粒。选用市面上 3 种不同品牌的洗衣液、洗衣粉,通过触杀法得出 3 种品牌的日化品溶液对粉尘螨均无明显抑杀活性,从中选出杀螨效果相对较好的品牌 B 进行下一步实验。通过接触死亡率生物测定和趋避死亡率测定两种方法评估添加了牡丹皮精油纳米颗粒的洗衣液 B 和洗衣粉 B 对粉尘螨的抑杀作用,实验表明其具有良好的杀螨活性,具有作为新型生物杀螨剂产品的潜力,值得在未来的螨类防治领域中进一步推广应用。

为保证添加了牡丹皮精油纳米颗粒的日化品具备良好的安全性且对人体无害,本次研究进行了家兔皮肤刺激性试验。分为单次皮肤刺激实验和多次皮肤刺激实验,单次皮肤刺激试验考察被检物对皮肤的直接刺激性,多次皮肤刺激试验则检测被检物对皮肤中长期的慢性累积性刺激。在单性皮肤刺激实验中,经过 24 h 连续完整皮肤和破损皮肤给药,家兔正常皮肤和破损皮肤的实验结果评价为无刺激性。为进一步确保其安全性,进行了多次给药皮肤刺激实验,经过连续 7 d 的给药,实验组中仅个别家兔的破损皮肤部位出现轻度红斑及轻度水肿等现象,随后恢复正常,评价为无刺激性。综上所述,可认为牡丹皮精油纳米颗粒外用时对皮肤刺激性反应较小,作为日化产品添加较为安全。

牡丹皮精油作为一种天然植物提取物,具有美白、消炎、清热凉血等功效,还可以提高生物的血清抗氧化能力和肠道免疫功能^[22]。KIM H K 等^[23]通过接触和熏蒸生物测定法,表明牡丹皮提取物对粉尘螨和屋尘螨成虫具有较强的杀螨活性,并证实牡丹皮提取物中的有效成分为丹皮酚和苯甲酸。CHE Z P 等^[24]通过对牡丹皮精油中主要成分丹皮酚进行结构修饰,制备了多种丹皮酚酯衍生物,并评估了这些化合物对玉米黏虫、大豆孢囊线虫和辣椒疫霉的抑杀活性,进一步证实了牡丹皮精油主要成分的有效性。为了进一步验证纯牡丹皮精油和纳米材料对粉尘螨的杀螨效果,本课题组前期进行了接触性和熏蒸性杀螨率生物测定^[25]。研究表明,牡丹皮精油中的主要成分丹皮酚对粉尘螨具有较强的杀螨效果,相同浓度下牡丹皮精油纳米颗粒的杀螨率随时间增加上升较为显著,而纯精油的杀螨率随时间升高不明显。证明了牡丹皮精油纳米制剂

在短时间内的接触杀螨活性比纯精油低,但在长期实验中表现更为优秀。纳米载药系统利用纳米技术将药物包封吸附于由高分子材料组成的纳米载体上,形成粒径范围在 10~1000 nm 之间的药物递送系统,其能保护药物免受环境降解,连续控制释放药物,还能减轻药物对人体的刺激性和毒性,提高药物有效利用率,实现药物减量^[26-27]。将纳米技术应用于挥发油的包封是控制挥发油稳定性的有效途径,也是目前制剂开发及未来改善植物挥发油性能的热点。

随着人们生活质量的不断提高,消费者对身体健康的关注程度也越来越高,使得除螨成为当今有害生物防治的新关注点。本研究在牡丹皮精油纳米颗粒的除螨作用研究基础上,鉴于其高效除螨、稳定性强等优点,将制备好的成品添加于市售洗涤用品中,旨在开发一种新型高效、安全无害的除螨洗护产品,为前期牡丹皮精油纳米颗粒在日化产品中的进一步开发提供了理论参考,也对后期其他产品的应用和开发提供了新的思路,展现了牡丹皮精油纳米颗粒在日化行业的一定应用价值。

参考文献:

- [1] 张淑雅,李勇慧,李佳,等. 五种方法提取的牡丹皮挥发油成分比较[J]. 现代食品科技,2020,36(12):103-110.
- [2] 李星元,王正,赵奎,等. 响应面法优化水蒸气蒸馏提取牡丹根皮挥发油工艺[J]. 科技与创新,2020,4:16-17,20.
- [3] CHE T F, HSU J T, WU K C, et al. A systematic identification of anti-inflammatory active components derived from Mu Dan Pi and their applications in inflammatory bowel disease[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):17238.
- [4] LV Q H, LI S F, WEI H L, et al. Identification of the natural product paeonol derived from peony bark as an inhibitor of the Salmonella enterica serovar Typhimurium type III secretion system[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(4):1673-1682.
- [5] EKIERT H, KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ M, SZOPA A. Paeonia × suffruticosa (moutan peony)-a review of the chemical composition, traditional and professional use in medicine, position in cosmetics industries, and biotechnological studies[J]. Plants, 2022, 11(23):3379.
- [6] CAI J, YAN R, SHI J C, et al. Antifungal and mycotoxin detoxification ability of essential oils: a review[J]. Phytother Res, 2022, 36(1):62-72.
- [7] HO T M, RAZZAGHI A, RAMACHANDRAN A, et al. Emulsion characterization via microfluidic devices: a review on interfacial tension and stability to coalescence[J]. Adv Colloid Interface Sci, 2022, 299:102541.
- [8] ZHAO S Q, WANG Z Y, WANG X F, et al. Characterization of nanoemulsions stabilized with different emulsifiers

- and their encapsulation efficiency for oregano essential oil: tween 80, soybean protein isolate, tea saponin, and soy lecithin[J]. *Foods*, 2023, 12(17): 3183.
- [9] 王慧贤, 梁郭栋, 郭瑞峰, 等. 纳米材料在缓控释农药中的应用[J]. *山西农业科学*, 2020, 48(11): 1861-1865.
- [10] TENG Q, LI Y Y, CAI Y Y, et al. A potential acaricide of Moutan Cortex essential oil encapsulated in nanoemulsion and mesoporous silica nanoparticles against the house dust mite *Dermatophagoides farinae* [J]. *J Pest Sci*, 2024, <https://doi.org/10.1007/s10340-024-01820-y>
- [11] 汪梅青, 陈辉, 姚润, 等. 江苏省徐州地区地脚粉中粉螨孳生现况调查[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2021, 32(5): 629-632.
- [12] OKAMOTO Y, KATO M, ISHII K. Safety and effectiveness of a 300 IR house dust mite sublingual tablet: descriptive 4-year final analysis of a post-marketing surveillance in Japan [J]. *Immunotherapy*, 2023, 15(16): 1401-1414.
- [13] 黄娜娜, 陈德盛, 常可欣, 等. 粉尘螨 Der p7 基因的克隆表达、纯化及过敏原性鉴定[J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2018, 58(6): 5-10.
- [14] 牛栋玲, 赵亚娥, 张宛钰, 等. 粉尘螨 HSP16-1 原核表达体系构建与温度应激响应功能鉴定[J]. *热带病与寄生虫学*, 2021, 19(2): 64-69, 81.
- [15] 邵凤勤, 陈春英, 张庆华, 等. 儿童过敏性鼻炎过敏原调查和相关危险因素分析[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(18): 4299-4302.
- [16] CALDERÓN M A, LINNEBERG A, KLEINE-TEBBE J, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(1): 38-48.
- [17] 郭香香, 胥鑫萌, 张恺欣, 等. 几种植物提取物在抗衰老化妆品中的应用[J]. *中国洗涤用品工业*, 2021(4): 94-97.
- [18] 徐健, 陶宏兵, 林家洪, 等. 植物除螨剂在洗护产品中的性能研究与应用[J]. *日用化学品科学*, 2021, 44(12): 44-49.
- [19] 林家洪, 杨丽华, 刘永龙, 等. 一种复合型天然除螨抑菌微乳性能研究及在洗护产品中的应用[J]. *日用化学品科学*, 2021, 44(4): 33-35.
- [20] NY/T 1151. 2-2006, 农药登记卫生用杀虫剂室内药效试验方法及评价. 第 2 部分: 灭螨和驱螨剂[S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2006. <http://std.samr.gov.cn>
- [21] BALAURE P C, BOARCA B, POPESCU R C, et al. Bioactive mesoporous silica nanostructures with anti-microbial and anti-biofilm properties [J]. *Int J Pharm*, 2017, 531(1): 35-46.
- [22] BAI M M, LIU H N, WANG S S, et al. Dietary *Moutan cortex radices* improves serum antioxidant capacity and intestinal immunity and alters colonic microbiota in weaned piglets [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 679129.
- [23] KIM H K, TAK J H, AHN Y J. Acaricidal activity of *Paeonia suffruticosa* root bark-derived compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(26): 7857-7861.
- [24] CHE Z P, GUO X L, LI Y H, et al. Synthesis of paeonol ester derivatives and their insecticidal, nematocidal, and anti-oomycete activities [J]. *Pest Manag Sci*, 2022, 78(8): 3442-3455.
- [25] ZOU M H, XUE Q Q, Teng Q, et al. Acaricidal activities of paeonol from Moutan Cortex, dried bark of *Paeonia × suffruticosa*, against the grain pest mite *Aleuroglyphus ovatus* (Acari: Acaridae) [J]. *Exp Appl Acarol*, 2023, 91(4): 615-628.
- [26] NECHIKKATTU R, KONG J, LEE Y S, et al. Tunable multi-responsive nano-gated mesoporous silica nanoparticles as drug carriers [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, 208: 112119.
- [27] 王慧贤, 梁郭栋, 郭瑞峰, 等. 纳米材料在缓控释农药中的应用[J]. *山西农业科学*, 2020, 48(11): 1861-1865.

收稿日期: 2024-07-29; 修回日期: 2024-10-17

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:陈雪晴,张峥嵘,马丽,等. 雏菊叶龙胆酮的抑菌作用研究[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):44-49.

【论著与临床报道】

雏菊叶龙胆酮的抑菌作用研究

陈雪晴¹,张峥嵘²,马丽¹,孙加燕¹,查元¹,慈傲特¹,朱金燕¹

(1. 安庆医药高等专科学校药学院,安徽 安庆 246052;

2. 安徽中医药大学中医学院,安徽 合肥 230012)

摘要:目的 探讨雏菊叶龙胆酮的抑菌作用及机制。方法 雏菊叶龙胆酮作用大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌后,通过微量稀释法测定最低抑菌浓度(MIC)、最低杀菌浓度(MBC),进行耐药性诱导,以荧光染料4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)、碘化丙啶(PI)检测菌的死活情况,扫描电镜观察细胞形态,利用RT-PCR分析大肠杆菌外输泵基因*AcrA*、*AcrB*的表达。结果 雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌MIC分别为50 μg/mL、100 μg/mL、100 μg/mL;MBC分别为200 μg/mL、250 μg/mL、250 μg/mL。作用于金黄色葡萄球菌和白色念珠菌时随着诱导代数的增加,未出现耐药性。Live/Dead染色结果显示雏菊叶龙胆酮能够透过细胞膜,且随着药物浓度的增加,死亡的菌细胞数逐渐增加。扫描电镜显示雏菊叶龙胆酮对3种菌的形态具有不同程度的影响,其中大肠杆菌细胞菌体的表面形态出现明显的溶解和坍塌,随着浓度的增加,大部分菌体严重皱缩、干瘪、扭曲变形、菌体表面凹凸不平,且可降低大肠杆菌其外排泵基因*AcrA*、*AcrB*的相对表达量($P < 0.01$)。结论 雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌均具有一定抑菌作用,细菌对其不易产生耐药性,其中对大肠杆菌的抑菌活性最佳,主要通过损伤大肠杆菌细胞形态,改变细菌细胞膜的通透性。且对大肠杆菌耐药菌的外排泵基因表达量具有抑制作用。

关键词:雏菊叶龙胆酮;抑菌作用;大肠杆菌;金黄色葡萄球菌;白色念珠菌

中图分类号:R285 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0044-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.007

Study on the antibacterial activity of Bellidifolin

CHEN Xueqing¹, ZHANG Zhengrong², MA Li¹, SUN Jiayan¹, ZHA Yuan¹, CI Aote¹, ZHU Jinyan¹

(1. School of Pharmacy, Anqing Medical College, Anqing 246052, Anhui, China;

2. School of Chinese Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the antibacterial activity and mechanism of Bellidifolin. **Methods**

After treating *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), and *Candida albicans* (*C. albicans*) with Bellidifolin, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by the microdilution method. Drug resistance induction was conducted, and the viability of bacteria was detected using fluorescent dyes 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) and propidium iodide (PI). The cell morphology was observed by scanning electron microscopy (SEM), and the expression of the efflux pump genes *AcrA* and *AcrB* in *E. coli* was analyzed by RT-PCR. **Results** The MIC of Bellidifolin against *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* was 50 μg/mL, 100 μg/mL and 100 μg/mL, respectively. The MBCs were 200 μg/mL, 250 μg/mL and 250 μg/mL, respectively. No drug resistance was observed in *S. aureus* and *C. albicans* with increasing induction generations. The results of live/dead staining showed that Bellidifolin could penetrate the cell membrane, and the number of dead bacterial cells increased with the concentration of the drug. SEM showed that it had different degrees of influence on the morphology of the three kinds of bacteria, among which the surface morphology of *E. coli* cells showed obvious dissolution and collapse. With the in-

基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(2022AH052544,2023AH053424)

第一作者:陈雪晴,讲师,研究方向:药效物质基础,E-mail:chenxq1105@sina.com

crease of concentration, most of the bacteria were seriously shrunken, shriveled, distorted and uneven on the surface. Furthermore, Bellidifolin reduced the relative expression of the efflux pump genes *AcrA* and *AcrB* in *E. coli* ($P < 0.01$)

Conclusion Bellidifolin has a certain antibacterial effect against *E. coli*, *S. aureus*, and *C. albicans*. Bacteria are not prone to develop resistance to it. Among them, it has the best antibacterial activity against *E. coli*, mainly by damaging the cell morphology of *E. coli* and changing the permeability of the bacterial cell membrane, and has a certain inhibitory effect on the expression of the efflux pump genes of drug-resistant *E. coli*.

Key words: Bellidifolin; antibacterial activity; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌均为常见致病菌。大肠杆菌(*E. coli*)是一种革兰阴性条件致病菌,为临床常见多重耐药细菌^[1];金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)是一种常见的革兰阳性致病菌,可感染人体多个部位,引发皮肤感染和心内膜炎等疾病^[2];白色念珠菌(*Candida albicans*)是最常见的人类真菌病原体,是一种存在于人类口腔、胃肠道和生殖器黏膜表面和皮肤的共生酵母菌,可以从黏膜到全身感染^[3-4],随着抗生素的广泛长期使用导致各种菌的耐药性不断增强,迫切需要新的抗菌药物来解决抗生素耐药问题^[5]。雏菊叶龙胆酮为天然四氧代吡啶类化合物,主要分布于龙胆科獐牙菜属、假龙胆属及龙胆属植物中,具有多种药理学活性。HU T Y 等^[6]研究表明雏菊叶龙胆酮能够抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中 P38、ERK 和 JNK 蛋白激酶的磷酸化,降低 P38、ERK 和 JNK 蛋白激酶的磷酸化水平而发挥抗炎作用;REN K 等^[7]报道雏菊叶龙胆酮对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞损伤具有保护作用,可能机制和激活 H9c2 细胞 Nrf2/ARE 通路有关。LI S Q 等^[8]验证了 Bellidifolin 可降低细胞凋亡率,降低乳酸脱氢酶、肌酸激酶和丙氨酸氨基转移酶水平,具有保护心肌细胞损伤作用;该化合物还具有抗心肌纤维化作用,抑制心肌成纤维细胞的增殖^[9-10]。目前对于该单体化合物的研究大多集中于心血管系统保护方面,对于抗菌作用的相关报道较少,因此本文初步研究了雏菊叶龙胆酮对不同致病菌的抑菌活性,旨在为开发抗菌感染药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌,购自湖南亚大丰晖材料有限公司。

1.1.2 试剂 琼脂粉(北京索莱宝科技有限公司);PI 染料(北京索莱宝科技有限公司);DAPI 染料(北京索莱宝科技有限公司);TSB 培养基(青岛海博生物技术有限公司);LB 培养基(青岛海博生物技术有限公司);PBS(Angle'Gene);无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司);雏菊叶龙胆酮来自前期研究结果^[11]。

1.1.3 主要实验仪器 恒温培养摇床(上海一恒 THZ100);酶标仪(Thermo Fisher);倒置荧光显微镜(Nikon);多重实时荧光定量 PCR 仪(美国 life technologies 公司);扫描电子显微镜(HITACHI);临界点干燥仪(Quorum);激光共聚焦显微镜(Zeiss LSM 710, German);高速冷冻离心机(Sigma);紫外分光光度计(Beckman)。

1.2 最低抑菌浓度(MIC)与最低杀菌浓度(MBC)测定 将细菌活化后接种于液体培养基中,并在 37 °C, 160 r/min 的摇床中过夜培养。将培养后的细菌用培养基稀释至 1×10⁴ CFU/mL。将雏菊叶龙胆酮用灭菌后的超纯水进行配制,再进行梯度稀释。取 100 μL 雏菊叶龙胆酮溶液于 96 孔板中,然后加入 100 μL 的测试菌液,放置于 37 °C, 160 r/min 的摇床中培养(白色念珠菌 24 h, 大肠杆菌培养 18 h, 金黄色葡萄球菌 24 h)。阴性对照是除去雏菊叶龙胆酮溶液,只含有测试菌液的孔。用酶标仪进行吸光度的测定,在 λ 为 570 nm、600 nm 时进行光密度测定。实验重复 3 次进行。以杀灭 99%(菌落数低于 5)的最低杀菌浓度为 MBC。

1.3 耐药性研究 实验中将第 1 次经过药物处理的金黄色葡萄球菌/白色念珠菌视为第 1 代,然后每次从第 N 次处理的能长出菌的最小浓度下取出细菌液涂布于 YM 培养基中过夜生长并配制为第 N+1 代菌液。每次实验的 96 孔板通过酶标仪测定菌在 570 nm 处的吸光度值。取第 N 代生长的细菌配制为菌液(浓度为 2.5104 CFU/mL),并配制不同浓度梯度的雏菊叶龙胆酮溶液,并均匀加入到无菌 96 孔板中,每孔 100 μL,每个浓度设置 6 平行。以不加药物的菌液作为阴性对照,37 °C 培养 24 h 后,用酶标仪读取吸光度值(570 nm)。对于初次参与实验的菌株标记为第 0 代菌株,完成第 1 次 MIC 实验后,吸取适量 1/2 MIC 浓度下的浑浊液接种于新鲜的 LB 固体培养基中,37 °C 过夜培养。第 2 天选取单菌落接种于 LB 培养基中进行培养,至对数生长期时进行第 2 次 MIC 实验,并将菌株标记为第 1 代。以此类推进行诱导,实验诱导

至第 30 代。

1.4 Live/Dead 染色测定 培养好细菌,用 PBS 洗涤,低速离心收集得到细菌沉淀,1500 r/min 离心 5 min,收集细菌,用 PBS 重悬,再次离心,去除上清液,加入 250 μ L PBS 重悬细菌加入 50 μ L PI 染液,避光孵育 20 min。将 PI 染液用 PBS 稀释 10 倍,配制成至终浓度为 5 μ g/mL 的 PI 染色液。向孔板内加入适量 PI 染色工作液覆盖细菌,室温避光孵育 5~10 min,弃去染色工作液,用 PBS 覆盖细菌,用荧光显微镜观察,死细菌或凋亡晚期细菌的核呈红色荧光。

1.5 扫描电镜观察菌形态变化 将菌溶液分别与雏菊叶龙胆酮作用,将等体积的菌液与一定浓度的雏菊叶龙胆酮共同孵育,在 37 $^{\circ}$ C,160 r/min 下,孵育 2 h。以 8000 r/min 的速度离心 3 min,用 PBS 缓冲液进行离心洗涤,洗涤 3 遍。固定好的样品经 0.1 M 磷酸缓冲液(PB)(pH 7.4)漂洗 3 次,每次 15 min。0.1 M PB(pH 7.4)配制 1% 锇酸室温避光固定 1~2 h。0.1 M PB(pH 7.4)漂洗 3 次,每次 15 min。用乙醇溶液(30%、50%、70%、80%、90%、95%和 100%)进行梯度脱水,4 $^{\circ}$ C 保存。

1.6 细胞膜相关基因表达量测定 AcrAB-TolC 系统是大肠杆菌最主要的外输泵,由周质膜融合蛋白(AcrA)、内膜转运蛋白(AcrB)和外膜通道蛋白(TolC)组成,是大肠杆菌产生多重耐药性的生理基础,AcrA 和 AcrB 在该系统中发挥重要作用^[12-13]。采用 Primer Premier 6.0 和 Beacon designer 7.8 软件进行定量 PCR 引物设计,然后进行合成,引物序列见表 1,由南京奥青生物技术有限公司合成。以 16S rRNA 为内参基因,以不加药物组为空白对照。总 RNA 提取:将菌株培养基中过夜培养后,配制为菌液(浓度为 2.5×10^5 CFU/mL)。将雏菊叶龙胆酮配制为一定浓度的溶液,取 1 000 μ L 菌液与等量雏菊叶龙胆酮溶液混合,37 $^{\circ}$ C 摇床培养 2 h 后取出,经 8 000 r/min 离心 5 min,PBS 洗涤 3 次以去除残留的雏菊叶龙胆酮溶液,对于所收集的菌沉淀,按照试剂盒提取总 RNA。提取后的总 RNA 利用紫外分光光度计检测其纯度(OD260/OD280 为 1.8~2.0 时符合要求)并计算其浓度,新制备的总 RNA 溶液置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。每个样品重复 3 次,各个基因的相对表达水平以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行统计分析。

表 1 RT-PCR 引物

基因	引物名称	引物序列	大小
16s rRNA	16s rRNA-F	5'-AGTACGGCCGCAAGGTAAA-3'	100 bp
	16s rRNA-R	5'-CCAGGTAAGGTCTTCGCGT-3'	100 bp
AcrA	AcrA-F	5'-GAGTACGATCAGGCTCTGGC-3'	125 bp
	AcrA-R	5'-CCGCTAATCGGAGAGGTGAC-3'	125 bp
AcrB	AcrA-F	5'-GCGGTTCTACTGGTGCTATCT-3'	122 bp
	AcrA-R	5'-GGCAATCGGTTTCAGCATGG-3'	122 bp

1.7 统计学方法 采用 GaphPad Prism 8.0 统计软件进行分析,数值用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MIC 和 MBC 测定结果 实验结果表明,雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌均

有抑制作用,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌 MIC 分别为 50 μ g/mL、100 μ g/mL、100 μ g/mL(见图 1);MBC 分别为 200 μ g/mL、250 μ g/mL、250 μ g/mL(见图 2)。结果表明雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌的抑菌效果最佳。

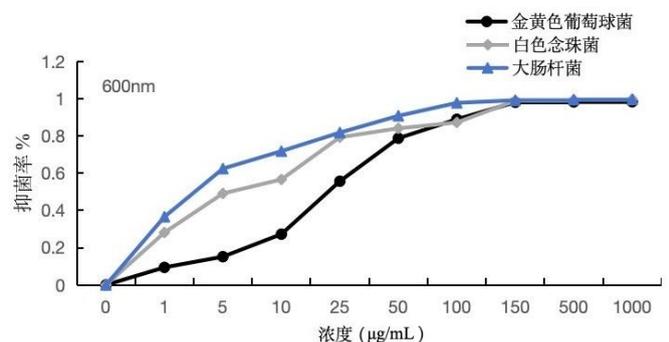
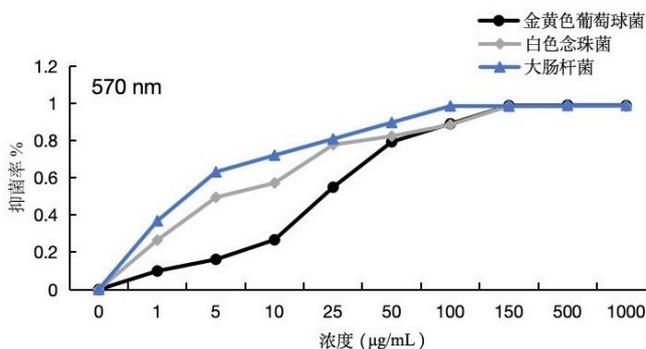


图 1 雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌情况

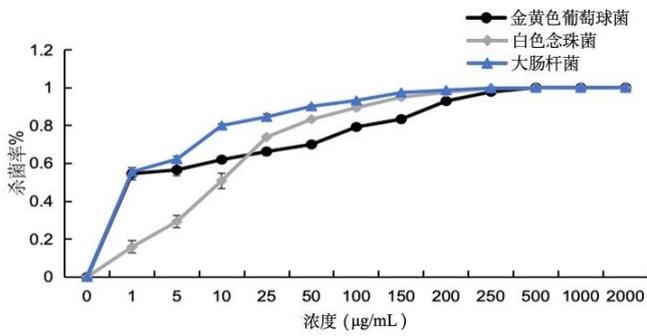


图 2 雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀菌情况

2.2 雏菊叶龙胆酮的耐药性 结果如图 3 所示, 雏菊叶龙胆酮诱导至第 30 代时没有显示出耐药性, 表明雏菊叶龙胆酮作用于革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和真菌白色念珠菌时, 其耐药性不会随代数递增, 表明雏菊叶龙胆酮具有较好的耐药性。

2.3 Live/Dead 染色分析 通过染色观察细菌细胞的存活情况。PI 可对 DNA 染色, 但是 PI 不能穿过未破裂的膜, 但能穿透凋亡晚期细菌及死细菌的破损细菌膜, 因此 PI 常用于死细胞的核染色, 发射的荧光为

红光。DAPI 能够透过完整的细胞膜, 与 DNA 结合在荧光显微镜下呈现蓝色荧光, 常用于活细胞染色。采用荧光显微镜观察大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌经雏菊叶龙胆酮作用后细胞的存活情况, 结果如图 4 所示, 3 种菌在雏菊叶龙胆酮作用下, 死亡细胞数量呈现随浓度升高而增加的梯度变化趋势, 表明该化合物对 3 种菌均具有抑制作用。

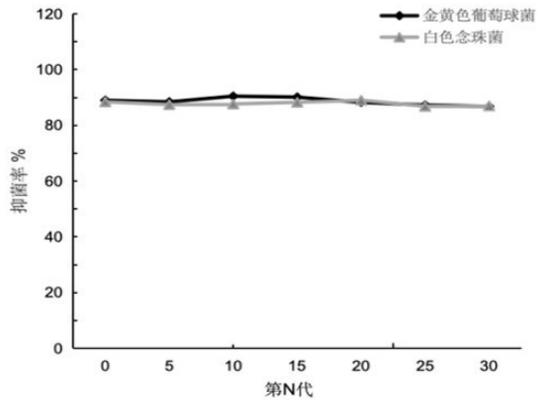


图 3 雏菊叶龙胆酮对细菌和真菌的耐药性

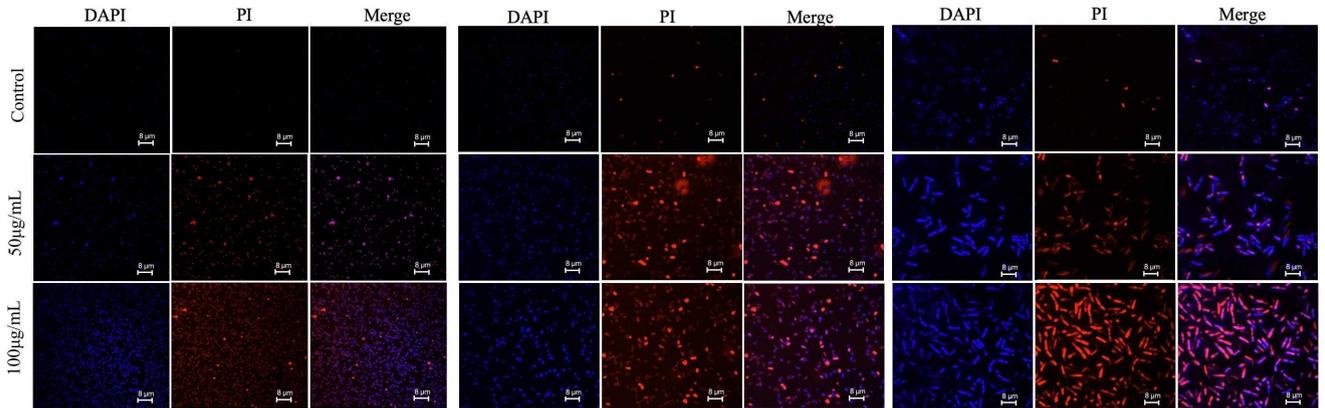


图 4 3 种菌在雏菊叶龙胆酮孵育后的 Live/Dead 染色情况

2.4 雏菊叶龙胆酮对菌形态的影响 为了进一步探究雏菊叶龙胆酮的抗菌机制, 将雏菊叶龙胆酮(50 μg/mL 和 100 μg/mL)分别作用于大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌后, 使用扫描电镜进行分析, 观察菌体表面是否发生变化。扫描电镜结果显示(见图 5), 雏菊叶龙胆酮作用后大肠杆菌细胞菌体表面形态发生了明显改变, 对照组(Control 组)中细菌形态规则、外观饱满、表面光滑致密(见图 5A~图 5C), 而加药(50 μg/mL 组)处理后菌体出现了溶解和坍塌的现象(见图 5D~图 5F), 且随着浓度(100 μg/mL 组)的增加, 其大部分菌体严重皱缩、干瘪、扭曲变形, 菌体表面凹凸不平(见图 5G~图 5I); 对比金黄色葡萄球菌和白色

念珠菌, 金黄色葡萄球菌菌体也有个别出现溶解的现象(见图 5G), 白色念珠菌出现界限不清, 均随着浓度的增加而增多(见图 5H), 但是雏菊叶龙胆酮作用在大肠杆菌时的破坏效果更显著(见图 5I)。因此, 相比较而言, 雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌的作用效果更强一些。

2.5 雏菊叶龙胆酮对基因相对表达量的影响 从基因的层面探讨雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌细胞膜的影响, 由图 6 可知, 与空白对照组相比较, 雏菊叶龙胆酮作用后大肠杆菌其外排泵基因 *AcrA*、*AcrB* 的相对表达量均降低 ($P < 0.01$), 且呈浓度剂量依赖。表明雏菊叶龙胆酮可以降低大肠杆菌外排系统基因 *AcrA*、*AcrB* 的表达。

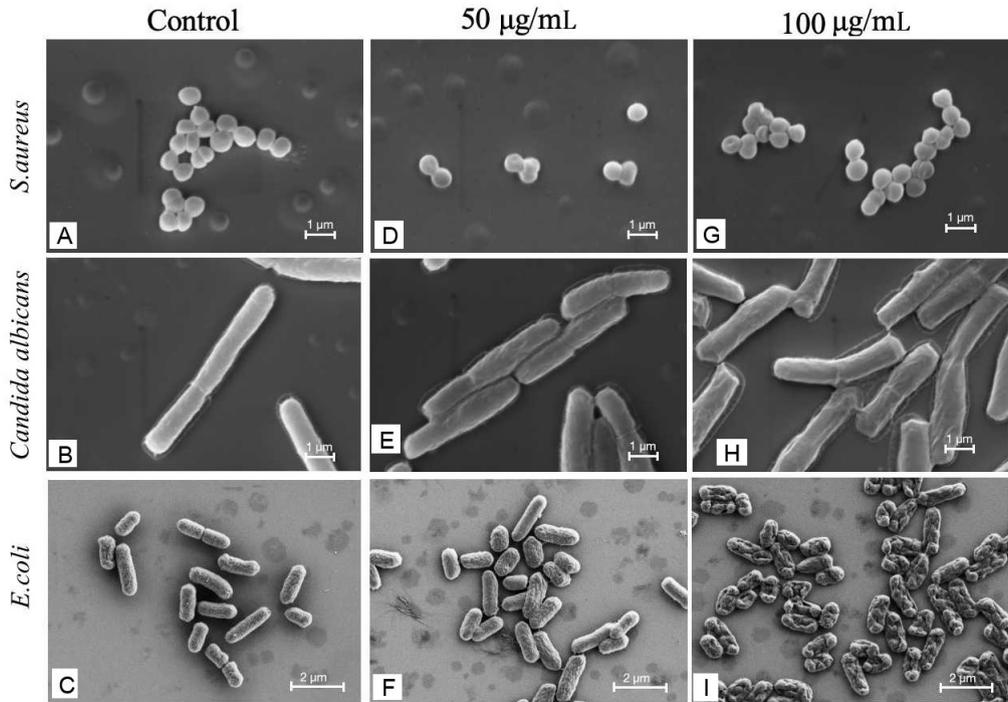
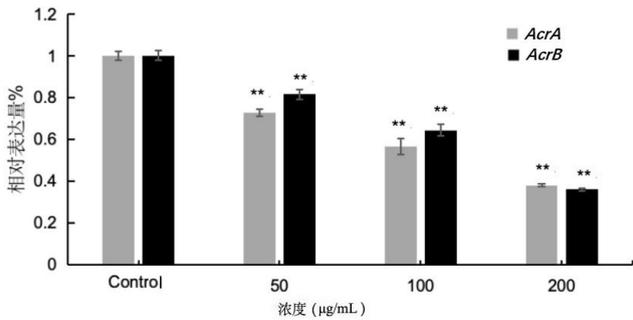


图 5 雏菊叶龙胆酮处理前后菌形态变化的扫描电镜结果



注:与 Control 组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 6 雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌相关基因表达的影响

3 讨论

抗菌药物普遍面临着局限,包括抗菌谱窄、显著的副作用、低生物利用度以及容易发生耐药性等问题,因此,寻找具有更广泛的抗菌覆盖、副作用小且耐药性更强的新型抗菌药物已变得至关重要^[14-15]。中药在我国已有几千年的应用历史且具有价格低廉、毒副作用小、不易产生耐药性等优势,随着现代化提取分离技术的飞速发展,中药抗菌活性成分的单体已应用于临床的研究中。天然呋酮是莽草酸途径的下游次级代谢产物,具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒等多方面的药理活性^[16],雏菊叶龙胆酮是天然呋酮类化合物,广泛分布于龙胆科药用植物中,具有呋酮类化合物的“特权结构”^[17],对该化合物急性毒性实验结果显示无毒、无致突变性作用,安全可靠^[18]。吕丽娟等^[19]初步研究了雏菊叶龙胆酮对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肠炎沙门氏菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性,发现雏菊叶龙胆酮具

备显著的抗菌效果,且随着浓度的增加该化合物的抑制效果增强,有望成为一种有效的抗菌剂;LIMA B 等^[20]对 Bellidifolin 等呋酮类单体化合物的抗菌活性实验研究结果表明 Bellidifolin 对石膏样小孢子菌、红色毛癣菌、毛癣菌具有抑制作用。

本实验初步探究了雏菊叶龙胆酮对几种常见致病菌大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及白色念珠菌的抗菌活性。结果表明,雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌均具有抑制作用且耐药性较好,其中对大肠杆菌的作用效果最好,它能够透过细菌细胞膜,明显改变大肠杆菌细胞菌体表面形态,随着浓度的增加,其大部分菌体出现严重皱缩、干瘪、扭曲变形等损伤,与未经处理的平整光滑的菌体形成鲜明的对比,能够降低大肠杆菌其外排泵基因 *AcrA*、*AcrB* 的相对表达,表明雏菊叶龙胆酮对大肠杆菌耐药菌的外排泵基因表达有抑制作用。

综上,雏菊叶龙胆酮对细菌和真菌均具有一定抑制作用,同时具有较好的耐药性,未来期望深入探明雏菊叶龙胆酮抗菌作用特点和机制,加快中药单体抗菌的开发和利用。

参考文献:

- [1] 蓝怡,戴圆圆,余艳妮,等. 苦丁茶对大肠杆菌的抑菌作用及其机制研究[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(5): 741-746.
- [2] 易雪丽,陈晓颖,韦家柱,等. 金银花对金黄色葡萄球菌体外抑菌作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2024, 46(1): 48-51.

- [3] LOPES J P, LIONAKIS M S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*[J]. Virulence, 2022, 13(1):89-121.
- [4] PEREIRA R, DOS SANTOS FONTENELLE RO, DE BRITO E S, et al. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance [J]. J Appl Microbiol, 2021, 131(1):11-22.
- [5] AHMAD-MANSOUR N, LOUBET P, POUGET C, et al. *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments[J]. Toxins (Basel), 2021, 13(10):677.
- [6] HU T Y, JU J M, MO L H, et al. Anti-inflammation action of xanthenes from *Swertia chirayita* by regulating COX-2/NF- κ B/MAPKs/Akt signaling pathways in RAW 264, 7 macrophage cells[J]. Phytomedicine, 2019, 55:214-221.
- [7] REN K, SU H, LV L J, et al. Effects of four compounds from *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten on hydrogen peroxide-induced injury in H9c2 cells[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019:2692970.
- [8] LI S Q, HUANG C Y, LI X, et al. Bellidifolin from *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten protects H9c2 cells from hydrogen peroxide-induced injury via the PI3K-Akt signal pathway[J]. Toxicol Rep, 2022, 9:1655-1665.
- [9] YANG H X, SUN J H, YAO T T, et al. Bellidifolin ameliorates isoprenaline-induced myocardial fibrosis by regulating TGF- β 1/smads and p38 signaling and preventing NR4A1 cytoplasmic localization [J]. Front Pharmacol, 2021, 12:644886.
- [10] YAO T T, YANG H X, SUN J H, et al. Bellidifolin inhibits SRY-related high mobility group-box gene 9 to block TGF- β signalling activation to ameliorate myocardial fibrosis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022:6841276.
- [11] 陈雪晴, 尤蓉蓉, 何丹丹, 等. 藏药印度獐牙菜化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(24):5112-5116.
- [12] 赵子玉, 张鹏, 王春光, 等. 黄芩苷对大肠杆菌 AcrB 外排泵的抑制作用及其机制[J]. 中国兽医学报, 2022, 42(9):1861-1868.
- [13] 尹秀玲, 白迎春, 张立永, 等. 加减三黄汤对耐药大肠杆菌 *acrA* mRNA 表达水平的影响[J]. 中国兽医杂志, 2012, 48(6):60-63.
- [14] XIE J L, POLVI E J, SHEKHAR-GUTURJA T, et al. Elucidating drug resistance in human fungal pathogens [J]. Future Microbiol, 2014, 9(4):523-542.
- [15] SORGO A G, HEILMANN C J, DEKKER H L, et al. Effects of fluconazole on the secretome, the wall proteome, and wall integrity of the clinical fungus *Candida albicans*[J]. Eukaryot Cell, 2011, 10(8):1071-1081.
- [16] 樊冬梅, 刘越, 唐丽. 天然(口山)酮类化合物生物活性的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(3):503-510.
- [17] LESCH B, BRÄSE S. A short, atom-economical entry to tetrahydroxanthrenones[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2004, 43(1):115-118.
- [18] 赵维, 韩华锐, 赵雅婵, 等. 天然活性成分雏菊叶龙胆酮的研究进展[J]. 中国现代中药, 2016, 18(5):666-673, 677.
- [19] 吕丽娟, 朱华玲, 王艳芳, 等. 尖叶假龙胆中雏菊叶龙胆酮的分离、表征及抗菌活性研究(英文)[J]. 化学研究与应用, 2015, 27(12):1811-1816.
- [20] LIMA B, SÁNCHEZ M, LUNA L, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of *Gentianella Multicaulis* collected on the Andean Slopes of San Juan Province, Argentina[J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2012, 67(1-2):29-38.

收稿日期:2024-07-27;修回日期:2024-09-23

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式: 韦武均, 肖树荣, 邓益斌, 等. HBV C 反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1): 50-55.

【论著与临床报道】

HBV C 反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果

韦武均¹, 肖树荣², 邓益斌¹, 罗艳红¹, 许桂丹¹, 胡仁统¹, 彭彬³, 农顺强⁴, 陈晓昊¹

1. 右江民族医学院附属医院医学检验中心, 广西高校桂西高发病临床分子诊断研究重点实验室, 百色市高发病临床分子诊断与研发重点实验室, 广西肝胆疾病临床医学研究中心, 广西 百色 533000;
2. 广西中医药大学第一附属医院检验科, 广西 南宁 530000;
3. 桂林医学院附属医院检验科, 广西 桂林 541000;
4. 广西百色市人民医院, 右江民族医学院附属西南医院检验科, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨基于 HBV C 反基因锁核酸(Antigene LNA)对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果。方法 将 24 只 HBV 转基因小鼠随机分为 4 组($n=6$), 分别为反基因锁核酸(Antigene LNA)组、拉米夫定(3TC)组、无关序列(NC)组和空白(Blank)组。其中 Antigene LNA 组、NC 组和 Blank 组小鼠按 0.5 $\mu\text{g/g}$ 注射剂量, 分别在第 1 天、第 3 天和第 5 天通过尾静脉注射 400 μL 5% GLU-阳离子聚合物-Antigene LNA、400 μL 5% GLU-阳离子聚合物一无关序列、400 μL 5% GLU-阳离子聚合物; 而 3TC 组小鼠按 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的拉米夫定溶液每天灌胃 2 次, 连续 7 d。采用实时荧光定量 PCR 检测血清 HBV DNA, 磁微粒化学发光法检测血清 HBeAg、HBsAg, 免疫组化检测肝脏 HBsAg、HBcAg 细胞阳性率, HE 染色观察肝、肾组织细胞变化。结果 治疗后的第 7 天, 与 3TC 组、NC 组、Blank 组比较, Antigene LNA 组血清 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 抑制率明显降低, 差异有统计学意义($P<0.001$)。肝脏组织 HBsAg、HBcAg 阳性细胞百分比显著下降($P<0.001$)。小鼠肝、肾组织细胞结构无明显变化。结论 Antigene LNA 能有效抑制体内 HBV 病毒活性, 为 HBV 基因治疗提供新的治疗策略。

关键词:反基因锁核酸; 转基因小鼠; 乙型肝炎病毒

中图分类号: R373.21

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2025)01-0050-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.008

Inhibitory effect of HBV C antigene locked nucleic acid on viral activity in transgenic mice in vivo

WEI Wujun¹, XIAO Shurong², DENG Yibin¹, LUO Yanhong¹, XU Guidan¹,
HU Rentong¹, PENG Bin³, NONG Shunqiang⁴, CHEN Xiaohao¹

1. Clinical Laboratory Center, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities; Guangxi Colleges and Universities Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnosis for High-Incidence Diseases in Western Guangxi; Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnosis and Research for High-Incidence Diseases in Baise; Guangxi Clinical Research Center for Hepatobiliary Diseases, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi, China; 3. Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541000, Guangxi, China;
4. Department of Laboratory Medicine, Baise People's Hospital, The Affiliated Southwest Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

基金项目:广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0538); 百色市科学研究与技术开发计划项目(百科 20213242)

第一作者:韦武均, 副主任技师, 研究方向: 肝病基因诊断与生物治疗, E-mail: wjw1433@163.com

通讯作者:邓益斌, 医学博士, 教授, 博士、硕士研究生导师, 研究方向: 基因诊断与治疗, E-mail: dengyb75@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory effect of HBV C Antigen locked nucleic acid (Antigene LNA) on viral activity in transgenic mice in vivo. **Methods** Twenty-four HBV transgenic mice were randomly divided into four groups ($n=6$): Antigene locked nucleic acid (Antigene LNA) group, Lamivudine (3TC) group, negative control sequence (NC) group, and Blank (Blank) group. Mice in the Antigene LNA group, NC group, and Blank group were injected with 400 μL of 5% glucose (GLU)-cationic polymer-Antigene LNA, 400 μL of 5% GLU-cationic polymer-non-specific sequence, and 400 μL of 5% GLU-cationic polymer, respectively, via tail vein injection at a dose of 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ on days 1, 3, and 5. Mice in the 3TC group were gavage with lamivudine solution at a concentration of 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ twice daily for 7 consecutive days. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect serum HBV DNA, while magnetic particle chemiluminescence immunoassay was employed to measure serum HBeAg and HBsAg. Immunohistochemical staining was performed to determine the positive rates of HBsAg and HBcAg cells in liver tissue, and HE staining was used to observe histological changes in liver and kidney tissues. **Results** On day 7 post-treatment, compared with the 3TC, NC, and Blank groups, the Antigene LNA group showed significantly decreased inhibition rates of serum HBeAg, HBV DNA, and HBsAg ($P < 0.001$). The percentage of HBsAg- and HBcAg-positive hepatocytes decreased markedly ($P < 0.001$). No significant changes were observed in the histological structure of liver and kidney tissues in mice. **Conclusion** Antigene LNA can effectively inhibit HBV viral activity in vivo and provides a novel therapeutic strategy for HBV gene therapy.

Key words: Antigene locked nucleic acid; transgenic mice; hepatitis B virus

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是一种引起慢性肝病的病毒,长期感染可导致肝硬化及肝细胞癌(HCC),其感染是全球范围内肝病的主要病因之一。HBV 的感染途径主要为血液传播、母婴传播及性传播。病毒的长期刺激能够引发慢性炎症反应,导致肝细胞的损伤和免疫逃逸,从而加剧肝脏的病理变化,并最终可能导致肝癌的发生^[1]。目前,针对 HBV 的治疗主要包括抗病毒药物如核苷(酸)类药物和干扰素治疗,这些药物能够有效抑制病毒的复制,减缓病情进展。然而,现有治疗方法尚未能完全清除病毒,且部分患者可能出现抗药性^[2]。因此,寻找能够实现功能性治愈的新疗法成为研究的热点。最近的研究发现,通过靶向 HBV 基因的核酸药物能够在动物模型中显著抑制 HBV 基因的表达,为治疗提供了新的思路^[3-4]。HBV 通过改变脂质转运途径来感染肝细胞,这一发现为进一步研究病毒的感染机制和开发新的抗病毒策略提供理论基础^[5]。

反基因锁核酸(Antigene LNA),使其能够与靶目标双链 DNA 中的同聚嘧啶或同聚嘌呤区域特异性结合,形成三螺旋分子结构,从而阻断靶基因的复制和转录,最终达到抑制靶基因表达的效果^[6]。锁核酸(LNA)具有热稳定性高、脂溶性好、亲和力强、抗核酸酶降解能力、低细胞毒性等优点的带环状结构核苷酸衍生物^[7-9]。前期研究发现 Antigene LNA 在肝细胞癌细胞系中成功阻断 HBV S 基因的表达,抑制病毒复制并减少 HBsAg 的合成^[10]。表明 Antigene LNA 通过特异性干预 HBV 基因表达,展示其在抗 HBV 治

疗中的潜在应用。为进一步探讨 Antigene LNA 抗病毒效果,基于 HBV C 编码链设计合成 Antigene LNA 序列,通过阳离子聚合物介导 Antigene LNA 转染,经尾静脉注射将 Antigene LNA 导入 HBV 转基因小鼠肝细胞核内,观察其在体内对病毒活性的抑制作用,旨在找到一种有效的 HBV 治疗药物。

1 材料和方法

1.1 动物 使用 HBV 转基因小鼠 ayw 型 24 只,其中雄性 12 只,体重 25~33 g;雌性 12 只,体重 20~26 g,购自中国人民解放军南部战区空军医院,实验动物生产许可证号为 SCXK(军)2017-0016。伦理审批号:(YYFY-LL-2023-121)。

1.2 试剂 所用试剂包括阳离子聚合物转染试剂(in vivo-jetPEI, Polyplus 公司);Antigene LNA(由上海生工合成,批号:111231052);HBsAg 定量检测试剂盒(郑州安图生物工程有限公司,批号:20190612);HBV DNA 定量测定试剂盒(湖南圣湘生物科技有限公司,批号:20153400083)。

1.3 方法

1.3.1 Antigene LNA 片段设计、合成与修饰 从 NCBI/Genome 数据库获取 ayw 型 HBV 全基因序列(U95551.1;GI:2182117)。根据 Antigene LNA 的作用原理,使用 RNA structure 软件设计针对 HBV C 编码 2404~2418nt 位点的 Antigene LNA 片段。通过 Walk 功能选择自由能值较小的片段,并进行同源性分析,随后将其与无关序列(5'-ATACCTGTAGCTCG-TA-3')一同送至上海生工进行合成和纯化。修饰后

的纯化片段如下: Antigen LNA 15bp: 5'-CGA * CGCGGCGA * T * TGA * -3', 其中“*”表示修饰的位置。

1.3.2 阳离子聚合物介导 Antigen LNA 转染药物制备与拉米夫定(3TC)溶液的配制 阳离子聚合物的使用量与 Antigen LNA 的量按 0.16 μL : 1 μg , 将 10% 葡萄糖溶液中的阳离子聚合物稀释至最终浓度为 5%, 制成 200 μL 的溶液; 同时, 将 10% 葡萄糖(GLU)中的 Antigen LNA 混合液稀释至终浓度为 5%, 制成 200 μL 的溶液; 将两者混合均匀后, 在室温下静置 10 min 备用。取 0.1 g 的 3TC 磨碎后与 10 ml ddH₂O 搅拌溶解 20 min, 室温放置 1 h, 用 0.22 μm 微孔过滤器中过滤, 配制成为 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 3TC 溶液, 立即使用或置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.3 体内实验 将 24 只 HBV 转基因小鼠随机分为 4 组 ($n = 6$), 分别为反基因锁核酸 (Antigen LNA) 组、拉米夫定(3TC)组、无关序列(NC)组和空白 (Blank) 组。其中 Antigen LNA 组、NC 组和 Blank 组小鼠按 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 注射剂量, 分别在第 1 天、第 3 天和第 5 天通过尾静脉注射 400 μL 5% GLU-阳离子聚合物-Antigen LNA、400 μL 5% GLU-阳离子聚合物-无关序列、400 μL 5% GLU-阳离子聚合物; 而 3TC 组小鼠按 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的拉米夫定溶液每天灌胃 2 次, 连续 7 d。于给药前及给药后 1 d、3 d、5 d 和 7 d, 通过小鼠眶静脉采血, 室温下静置 60 min 后, 使用离心机以 12 000 r/min 的速度离心 10 min, 收集血清并保存于无菌 EP 管中, 存放于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。给药后第 10 天, 将小鼠温和处死, 取肝脏和肾脏进行包埋处理, 并置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.4 HBV 转基因小鼠血清 DNA 含量检测 采用 PCR-荧光探针法进行血清 DNA 检测。将 10 μL 小鼠血清样本与 5 μL 核酸释放剂混合均匀, 静置 10 min。然后向每个试管中加入 40 μL PCR 混合液 (包含 38 μL 反应液、2 μL 酶混合液和 0.2 μL 内标), 盖好管盖, 2 000 r/min 离心 30 s。扩增条件设置为: 50 $^{\circ}\text{C}$ 预

变性 2 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 退火 31 s, 进行 45 个循环; 最后 25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 s。所有操作严格按照试剂盒说明书进行。通过标准曲线计算每个样品中的 HBV DNA 含量, 并进一步计算抑制率。

1.3.5 HBV 转基因小鼠血清中 HBeAg、HBsAg 含量检测 采用磁微粒化学发光法检测小鼠血清中的 HBeAg、HBsAg, 按照仪器和试剂盒说明书进行操作, 计算抑制率。

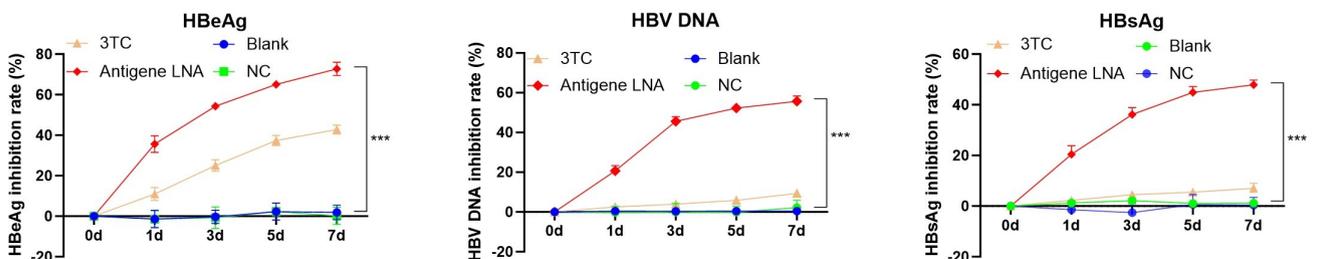
1.3.6 检测 HBV 转基因小鼠肝脏组织细胞 HBsAg、HBcAg 表达 将包埋好的小鼠肝脏组织进行快速切片, 采用免疫组织化学法进行操作, 并进行 DAB 染色, 具体步骤按试剂盒说明书执行。通过荧光显微镜观察肝脏组织中 HBsAg、HBcAg 阳性细胞的着色情况, 以评估 Antigen LNA 对肝脏组织细胞中 HBsAg、HBcAg 表达的抑制效果。

1.3.7 HE 染色 通过 HE 染色技术, 对小鼠肝脏和肾脏组织进行包埋和切片处理, 随后使用苏木素和伊红进行染色。置电子显微镜观察, 评估肝脏和肾脏组织细胞结构的变化情况, 从而判断 Antigen LNA 对小鼠主要肝、肾组织结构的影响。

1.4 统计学分析 所有实验数据均使用 GraphPad Prism 10.1.2 版本统计软件进行分析, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组之间的均数比较采用 t 检验, 多组间不同时间点的比较应用重复测量方差分析, $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。抑制率 (%) 的计算公式: (N 注射前 - N 注射后) / N 注射前 $\times 100\%$ (其中 N 表示小鼠实验数)。

2 结果

2.1 Antigen LNA 对转基因小鼠体内 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 的抑制作用 治疗后第 1 天、第 3 天、第 5 天和第 7 天, Antigen LNA 组血清 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 的抑制率与 3TC 组、NC 组、Blank 组比较, 结果显示, Antigen LNA 对 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 的抑制效果明显, 且第 7 天表现出显著的抑制效果 ($P < 0.001$), 见图 1。



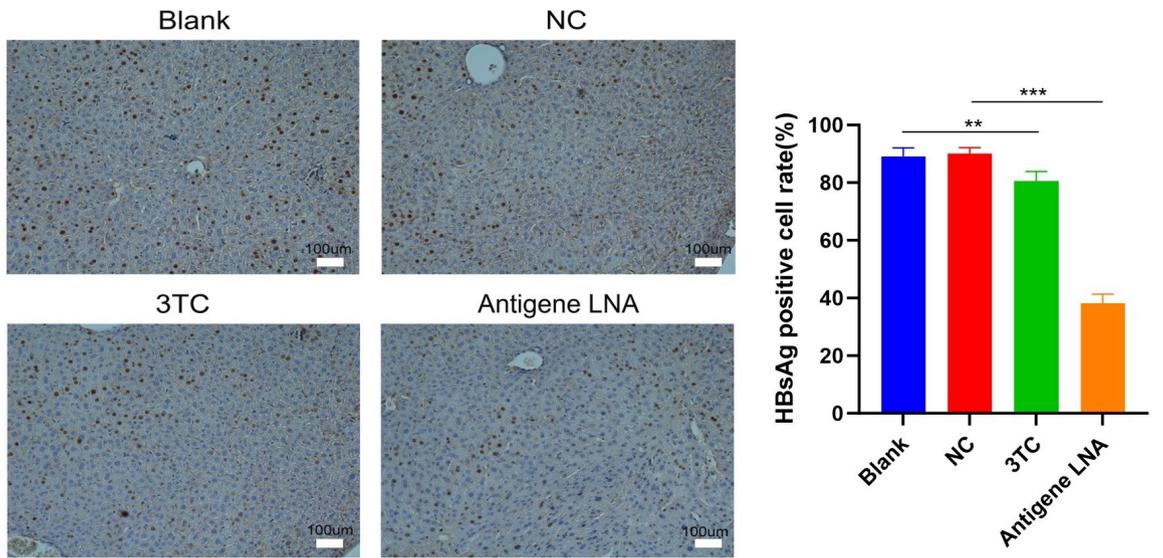
注: Antigen LNA 为反基因锁核酸组, 3TC 为拉米夫定组, NC 为无关序列组, Blank 为空白组, *** $P < 0.001$ 。

图 1 各组转基因小鼠体内的 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 水平 ($n = 6$)

2.2 Antigen LNA 对转基因小鼠肝脏组织细胞 HBsAg 和 HBcAg 表达的影响 HBsAg 呈褐色颗粒状,主要分布在肝细胞的细胞质中。与 NC 组比较, Antigen LNA 组的 HBsAg 阳性细胞百分比有所下降 ($P < 0.001$); 与 Blank 组比较, 3TC 组 HBsAg 阳性细胞百分比显著下降 ($P < 0.01$), 见图 2。结果表明, 反基因 LNA 对 HBV 病毒 HBsAg 表达有抑制作用, 且抑制作用显著。HBcAg 呈黄色颗粒状, 主要分布在肝细胞核内。与 NC 组比较, Antigen LNA 组 HBcAg 阳性细胞百分比显著下降 ($P < 0.001$), 与

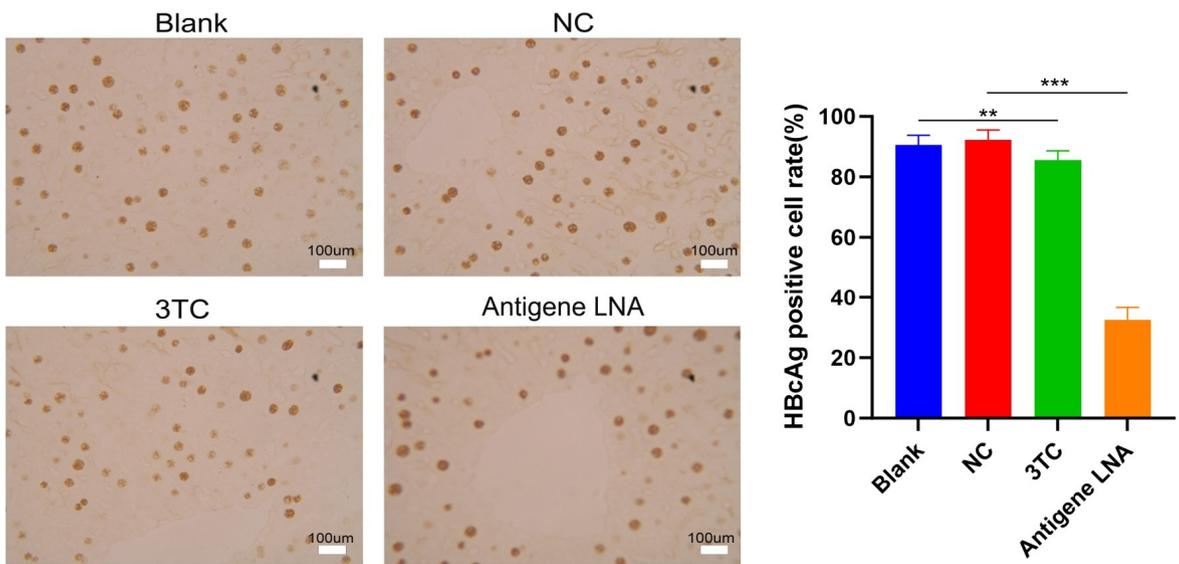
Blank 组比较, 3TC 组 HBcAg 阳性细胞百分比显著下降 ($P < 0.01$), 见图 3。结果表明, 反基因 LNA 对 HBV 病毒 HBcAg 的表达有抑制作用, 且抑制作用显著。

2.3 观察 Antigen LNA 对转基因小鼠肝、肾组织细胞结构的变化情况 HE 切片染色观察发现 Antigen LNA 组转基因小鼠肝、肾组织细胞结构与 3TC 组、NC 组、Blank 组对比, 无明显改变。见图 4。表明反基因 LNA 对小鼠肝、肾组织细胞结构无明显影响。



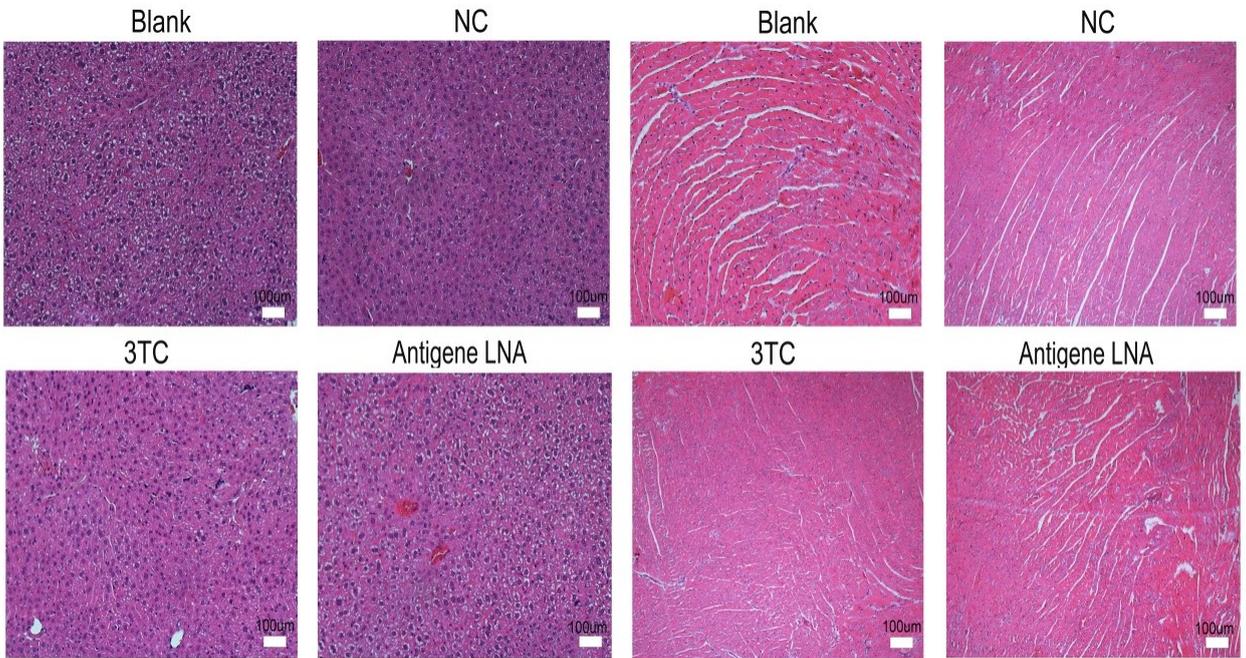
注: Antigen LNA 为反基因锁核酸组, 3TC 为拉米夫定组, NC 为无关序列组, Blank 为空白组, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$ 。

图 2 免疫组化检测转基因小鼠肝细胞 HBsAg 的表达 ($n = 6, \times 200$)



注: Antigen LNA 为反基因锁核酸组, 3TC 为拉米夫定组, NC 为无关序列组, Blank 为空白组, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$ 。

图 3 免疫组化检测转基因小鼠肝细胞 HBcAg 的表达 ($n = 6, \times 200$)



注: Antigen LNA 为反基因锁核酸组, 3TC 为拉米夫定组, NC 为无关序列组, Blank 为空白组。

图 4 HE 染色观察转基因小鼠肝(左)、肾(右)组织细胞结构变化情况 ($n=6, \times 200$)

3 讨论

HBV 感染是全球公共卫生问题, 可为无症状、急性或慢性, 导致严重的感染结局, 包括肝硬化和肝细胞癌。HBV 是一种部分双链 DNA 病毒, 属于嗜肝 DNA 病毒科, HBV 分为 9 种基因型和至少 35 种亚基因型^[11]。具有 4 个开放阅读框(ORF), 分别是 S 区、C 区、P 区和 X 区, 其中 C 区是一个高度保守的区域, 成为基因治疗中较为理想的靶点^[12-14]。HBV C 区的 C 基因在病毒的装配、成熟和分泌过程中起着至关重要的作用, 因此, 抑制 C 基因的表达可能有助于减少 HBV 抗原的合成并阻断病毒的复制。

本研究结果表明, 针对 HBV C 基因同聚嘌呤区 2404~2418nt 位点, 设计合成反基因 LNA 在转基因小鼠模型中显著抑制 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 表达, 且抑制作用随时间逐渐增强。与 3TC 组、NC 组和 Blank 组相比, 反基因 LNA 在第 7 天对 HBeAg、HBV DNA 和 HBsAg 的抑制率分别达到 72.67%、55.68% 和 47.87%, 显示出较强的抗病毒效果。研究提示, 反基因 LNA 可能通过特异性结合 HBV DNA, 干扰病毒的复制和蛋白合成, 从而发挥其对病毒的抑制作用。免疫组化结果进一步证实, 反基因 LNA 显著降低肝细胞内 HBsAg 和 HBeAg 的表达, 表明其对病毒蛋白的翻译和组装过程具有直接抑制作用。与近年来关于锁核酸(LNA)在基因沉默和抗病毒治疗中的应用研究一致^[15-16], 进一步支持反基因 LNA 作为潜在抗 HBV 治疗策略的可行性。评估反基因 LNA 抑制病毒效果的同时, 还对其安全性进行分析。HE 染色结果显示,

反基因 LNA 治疗组小鼠的肝、肾组织细胞结构与对照组相比无明显改变。表明反基因 LNA 在有效抑制 HBV 复制的同时, 未对肝肾功能造成明显损害, 具有一定的安全性, 无明显毒副作用。与既往研究报道的 LNA 类化合物低毒性和高稳定性的特点相符^[17], 为其进一步临床转化提供重要依据。然而, 长期使用反基因 LNA 是否会对其其他器官或系统产生潜在影响仍需进一步研究。

尽管本研究初步证实反基因 LNA 在 HBV 转基因小鼠体内的抑制病毒效果和无明显毒副作用, 但仍存在一些局限性。首先, 本研究样本量较小, 且仅在动物模型中进行验证, 未来需要扩大样本量并在临床患者中进一步验证其疗效。其次, 反基因 LNA 的具体作用机制尚未完全阐明, 如具体如何直接与病毒基因组结合发挥作用仍需深入探索。此外, 反基因 LNA 的长期疗效和耐药性也是未来研究的重要方向。未来的研究可以结合多组学技术进一步揭示其作用机制, 并探索双靶点、多靶点抑制病效果, 及与其他病毒药物联合使用的潜力。

综上所述, 本研究系统评估针对 HBV C 基因同聚嘌呤区 2404~2418nt 位点设计合成的反基因 LNA 能够有效抑制体内 HBV 病毒活性。该研究为 HBV 提供一种有效的靶向治疗策略, 旨在发现潜在的抗病毒反基因药物分子, 从而有望从源头上控制 HBV 病毒, 同时为反基因治疗提供新的策略。

参考文献:

- [1] LOK ASF. Toward a functional cure for hepatitis B[J]. *Gut Liver*, 2024, 18(4): 593-601.
- [2] WANG Q, WANG T, CAO L, et al. Inherent symmetry and flexibility in hepatitis B virus subviral particles[J]. *Science*, 2024, 385(6714): 1217-1224.
- [3] SULLIVAN M O, CHEN W. Engineering hepatitis B virus (HBV) protein particles for therapeutic delivery[J]. *Methods Mol Biol*, 2024, 2720: 115-126.
- [4] JAVANBAKHT H, MUELLER H, WALTHER J, et al. Liver-targeted anti-HBV single-stranded oligonucleotides with locked nucleic acid potently reduce HBV gene expression in vivo[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 441-454.
- [5] ESSER K, CHENG X, WETTENGEL J M, et al. Hepatitis B virus targets lipid transport pathways to infect hepatocytes[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2023, 16(2): 201-221.
- [6] AKHTER M Z, RAJESWARI M R. Triplex forming oligonucleotides targeted to hmgal selectively inhibit its expression and induce apoptosis in human cervical cancer[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2017, 35(4): 689-703.
- [7] HARA T, KODAMA T, TAKEGAKI Y, et al. Synthesis and properties of 7-deazapurine- and 8-aza-7-deazapurine-locked nucleic acid analogues: effect of the glycosidic torsion angle[J]. *J Org Chem*, 2017, 82(1): 25-36.
- [8] SAITO K, SHIMADA N, MARUYAMA A. Cooperative enhancement of deoxyribozyme activity by chemical modification and added cationic copolymer[J]. *Sci Technol Adv Mater*, 2016, 17(1): 437-442.
- [9] XU Y, VILLA A, NILSSON L. The free energy of locking a ring: Changing a deoxyribonucleoside to a locked nucleic acid[J]. *J Computat Chem*, 2017, 38(15): 1147-1157.
- [10] DENG Y B, QIN H J, LUO Y H, et al. Antiviral effect of hepatitis B virus S/C gene loci antisense locked nucleic acid on transgenic mice in vivo[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 10087-10095.
- [11] KRAMVIS A, KOSTAKI E G, HATZAKIS A, et al. Immunomodulatory function of HBeAg related to short-sighted evolution, transmissibility, and clinical manifestation of hepatitis B virus[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2521.
- [12] LIN C L, KAO J H. Hepatitis B virus genotypes and variants[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5(5): a021436.
- [13] ZAMOR P J, LANE A M. Interpretation of HBV serologies[J]. *Clin Liver Dis*, 2021, 25(4): 689-709.
- [14] ZHANG M, ZHANG Z, IMAMURA M, et al. Infection courses, virological features and IFN- α responses of HBV genotypes in cell culture and animal models[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(6): 1335-1345.
- [15] GANE E. The roadmap towards cure of chronic hepatitis B virus infection[J]. *J R Soc N Z*, 2022, 52(2): 129-148.
- [16] GE R B, HEINONEN J E, SVAHN M G, et al. Zorro locked nucleic acid induces sequence-specific gene silencing[J]. *FASEB J*, 2007, 21(8): 1902-1914.
- [17] NIMESH S, GUPTA N, CHANDRA R. Cationic polymer based nanocarriers for delivery of therapeutic nucleic acids[J]. *J Biomedical Nanotechnol*, 2011, 7(4): 504-520.

收稿日期: 2024-11-13; 修回日期: 2024-12-15

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:陈昭莹,胡蓉,李凤舜,等.天麻素通过 NF- κ B 通路缓解大鼠脑缺血引发的肝损伤[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):56-60.

【论著与临床报道】

天麻素通过 NF- κ B 通路缓解大鼠脑缺血引发的肝损伤

陈昭莹¹,胡蓉¹,李凤舜¹,产翠翠²

(1. 皖南医学院临床医学院,安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医学院基础医学院,安徽 芜湖 241002)

摘要:目的 本实验主要基于 NF- κ B 通路探讨天麻素对脑缺血所致肝损伤大鼠的作用原理和机制。方法 对 40 只健康 SD 成年雄性大鼠进行随机分组:正常对照组(NORM)、假手术组(SHAM)、脑缺血模型组(MCAO)和天麻素治疗组(GAS)。除正常对照组外,其余组别均采用栓塞大鼠右侧大脑中动脉的方法复制局灶性脑缺血模型。造模成功后,天麻素治疗组大鼠给予天麻素注射液每日 10 mg/kg 腹腔内注射,持续 2 周;假手术组大鼠每日给予等量的生理盐水腹腔内注射,持续 2 周;脑缺血模型组大鼠不予任何治疗。称取大鼠的肝脏重量和体质量计算肝脏指数;采用 HE 染色法对各组大鼠肝组织进行病理变化测定;采用 Western Blot 法对各组大鼠肝组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和核因子- κ B p65(NF- κ B p65)的蛋白表达水平进行测定。结果 与正常对照组和假手术组相比,脑缺血模型组和天麻素治疗组的肝组织显示出显著的水肿和炎性损伤,并且肝组织中的 NF- κ B p65 和 TNF- α 的蛋白表达水平也明显上升;与脑缺血模型组相比,天麻素治疗组肝组织的炎性损伤程度有所缓解,其肝组织中 NF- κ B p65 与 TNF- α 的蛋白表达水平也有所下降。结论 脑缺血能够导致肝组织炎性损伤,NF- κ B 信号通路中的 NF- κ B p65 和 TNF- α 可能参与了炎性反应的发生过程;天麻素能减轻脑缺血大鼠的肝损伤,其机制可能是抑制了 NF- κ B 信号通路中炎性因子的表达,从而发挥对肝损伤的修复作用。

关键词:天麻素;脑卒中;肝损伤;肿瘤坏死因子- α ;NF- κ B

中图分类号:R743

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0056-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.009

Gastrodin alleviates liver injury induced by cerebral ischemia in rats via the NF- κ B pathway

CHEN Zhaoying¹, HU Rong¹, LI Fengshun¹, CHAN Cuicui²

(1. School of Clinical Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

2. School of Basic Medical Sciences, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of action of gastrodin on liver injury induced by cerebral ischemia in rats via the NF- κ B pathway. **Methods** Forty healthy adult male SD rats were randomly divided into four groups: normal control group (NORM), sham operation group (SHAM), cerebral ischemia model group (MCAO, induced by middle cerebral artery occlusion) and gastrodin treatment group (GAS). Except for the NORM group, focal cerebral ischemia models were established by occluding the right middle cerebral artery in the other groups. After successful modeling, rats in the GAS group received daily intraperitoneal injections of gastrodin at a dose of 10 mg/kg for 2 weeks. Rats in the SHAM group received daily intraperitoneal injections of an equal volume of saline for 2 weeks, while rats in the MCAO group received no treatment. The liver weight and body weight of rats were measured to calculate the liver index. HE staining was used to determine the pathological changes of liver tissues in each group. Western Blot analysis was performed to measure the protein expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B

基金项目:安徽省大学生创新创业训练计划项目(S202310368021)

第一作者:陈昭莹,大学生,E-mail:13685554405@163.com

通讯作者:产翠翠,硕士,讲师,研究方向:神经生物学,E-mail:1085114571@qq.com

p65) in liver tissues of rats in each group. **Results** Compared with the NORM group and SHAM group, the liver tissue of the MCAO group and the GAS group showed significant edema and inflammatory injury, accompanied by increased protein expression levels of NF- κ B p65 and TNF- α in liver tissues. Compared with the MCAO group, the degree of inflammatory injury in the liver tissues of the GAS group was alleviated, and the protein expression levels of NF- κ B p65 and TNF- α in the liver tissues were also decreased. **Conclusion** Cerebral ischemia can lead to inflammatory injury in liver tissues, and NF- κ B p65 and TNF- α in the NF- κ B signaling pathway may be involved in the occurrence of the inflammatory response. Gastrodin can alleviate liver injury in rats with cerebral ischemia, and its mechanism may be to inhibit the expression of inflammatory factors in the NF- κ B signaling pathway, thus playing a role in repairing liver injury.

Key words: gastrodin; ischemic stroke; liver injury; TNF- α ; NF- κ B

脑卒中是一种广为人知的脑血管疾病,不仅是导致高致死率与高致残率的主要原因之一,其复杂多变的病理机制更是医学界长期关注的焦点。脑卒中根据临床表现可分为两大类:出血性脑卒中和缺血性脑卒中,后者更是占据了全部病例的 80%^[1],其高发性与严重性不容忽视。经研究表明,有些缺血性脑卒中的患者可并发肝损伤^[2],但是目前多数研究并未明确其发生机制,因此值得关注与研究。在脑卒中发生后,患者的生理功能发生改变:宿主免疫功能的紊乱、代谢系统的失衡、蛋白质合成能力的下降、肝转录因子的减少以及活化凝血因子清除功能的受损,这些变化共同作用于肝脏,使其损伤并发生功能障碍^[3]。目前可知肝损伤和缺血性脑卒中的主要病理因素是免疫功能受损:在脑缺血中,免疫反应所产生的炎症介质可通过机体的体内外循环发挥其作用,大量扩散的炎症因子可导致全身炎症反应,是肝损伤的主要原因^[2,4]。因此脑卒中所导致的肝损伤,与机体内部的炎症介质存在密切的关联。既往多数研究表明,核因子- κ B (NF- κ B) 通路是控制细胞免疫、炎症、应激反应和其他生理过程的主要通路之一,对免疫反应、炎症反应有重要作用^[5-6]。NF- κ B 家族的转录因子在调控免疫应答和炎症过程中扮演着核心角色,尤其是其中核因子- κ B p65 (NF- κ B p65)与肿瘤坏死因子- α (TNF- α),它们共同在促进炎症反应方面展现出显著的作用^[7-8]。天麻素提取于我国传统中药天麻,可通过抗氧化反应、抗炎反应、抑制细胞凋亡等多种途径,对机体中枢神经系统发挥良好的药理活性,并展现出强大的抗脑缺血潜力^[9-10]。已有研究初步揭示了天麻素可以通过抑制 NF- κ B 信号传导,而降低促炎因子 TNF- α 的表达水平从而在缺血性脑损伤中发挥作用^[11-12]。此外,还有研究表明天麻素对肝脏也有保护、改善作用^[13]。因此在治疗缺血性脑卒中的同时,能否缓解其引发的肝损伤是一个值得深度研究和探索的问题。为此,本研究采用栓塞右侧大脑中动脉的方法构建大鼠脑缺血模型,对天麻素治疗缺血性脑卒中引发的肝损伤的效果进行观察。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 选取 40 只健康清洁级 SD 雄性成年大鼠[长沙市天勤生物技术有限公司;SCXK(湘 2022-0011)],大鼠体质量(200 \pm 20) g,经过 1 周的适应性喂养后将它们随机分为 4 个组别:正常对照组(NORM 组)、假手术组(SHAM 组)、脑缺血模型组(MCAO 组)以及天麻素治疗组(GAS 组),每组 10 只。实验过程严格遵照 2006 年中华人民共和国科技部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》和有关伦理学规定(审批号:WNMC-AWE-2023134)。

1.2 主要仪器与试剂 MCAO 线栓(型号为 2432A 2,北京西浓科技有限公司),BX51 正置显微镜、Imagepro Express C 图像分析系统(OLYMPUS),Western Blot 仪器(Bio-Rad),石蜡切片机(Leica),苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、特超敏 ECL 化学发光试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),电热恒温培养箱(型号为 DNP-9162,上海三发科学仪器有限公司),NF- κ B p65 抗体(Affinity Biosciences),天麻素注射液(天辽,规格:5 mL:500 mg,西南药业股份有限公司),TNF- α 抗体(Affinity Biosciences)。

1.3 实验方法

1.3.1 制备模型 让大鼠在实验室环境中适应 1 周,随后采取 MCAO 法制备大鼠脑缺血模型。手术前 24 h 起对大鼠做禁食处理,手术时将选中的 SD 大鼠称重,根据大鼠体重计算药品使用量,随后对大鼠进行麻醉,采取腹腔内注射戊比妥钠试剂(30 mg/kg)。麻醉后,将大鼠仰卧位固定于手术台,确定颈部手术部位,作正中纵向切口,并用镊子将颈总、外、内 3 条动脉分离出来,由颈内动脉缓慢插入提前做好消毒和标记的栓线,在确保线栓的尖端已顺利通过大脑中动脉的起始部位后,进行线栓的结扎操作,随后按照层次逐步缝合大鼠颈部组织,以完成手术过程。假手术组仅将大鼠颈总、颈内和颈外等血管剥离而不做线栓处理,并将其暴露与手术组大鼠同等时间后再做缝合处理。手术完成后待大鼠从麻醉状态中完全恢复意识,随后对其

进行神经功能评估,并观察其是否存在神经功能损伤的表现,如站立行走不稳、出现跛行等,有则提示模型制备成功。

1.3.2 治疗方法 在造模成功后 24 h,将其中天麻素治疗组大鼠进行腹腔内注射天麻素(10 mg/kg),每日 1 次,持续注射 2 周。其它组别大鼠不做任何治疗。

1.3.3 组织取材 天麻素治疗组治疗结束后,将各组的大鼠进行麻醉,麻醉后处死并将其头身分离,取出大鼠肝脏,分成两个等份。一个样本使用 4%多聚甲醛进行固定,以便后续进行 HE 染色;另一个样本放入冻存管置于 -80°C 的冰箱冷冻保存,以用于后续 Western Blot 检测。

1.3.4 HE 染色 将提前固定好的肝组织用石蜡进行包埋处理,之后用石蜡切片机将其切片并放置于载玻片上。在载玻片彻底晾干之后,首先浸泡在二甲苯和酒精中进行脱蜡处理,随后使用苏木精-伊红染色剂进行组织染色。成功完成染色后,再次使用二甲苯和酒精对组织进行脱水处理,接着在室温下晾干。最后,将制备完成的切片用树脂进行封固,以便长期保存和观察。将封好的切片置于光学显微镜下,观察肝组织的结构特征和可能存在的病理学变化。

1.3.5 肝脏指数 从各组大鼠中取出肝脏组织,进行精确称重以获取肝质量,并测量每只大鼠的体重以获取体质量。数据统计后计算各组大鼠肝脏指数,肝脏指数 = (肝质量/体质量) $\times 100\%$ 。

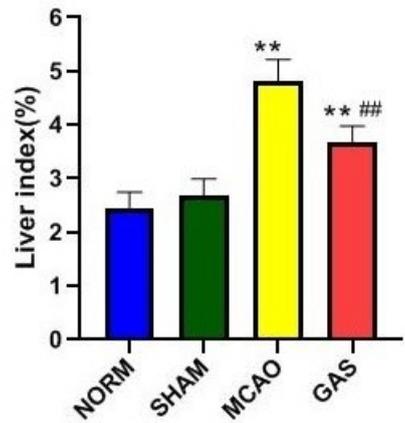
1.3.6 Western Blot 检测 将提前装入冻存管里的肝组织取出并进行裂解处理,然后再经过多次研磨和离心处理,最后提取细胞上清液,测定蛋白质含量。第一步:先制备分离胶,再配制浓缩胶,待分离胶凝固后将浓缩胶灌入胶板,并立即将梳子插入胶板,在室温环境下待其凝固。第二步:待胶板完全凝固后,将梳子取出,在适当的泳道打入定量的蛋白样品,之后将胶板泡入装有电泳液(按比例配制)的电泳装置中,插入电极后进行电泳。第三步:观察电泳情况,等蛋白跑开后停止电泳,取出胶板并泡入转膜液(按比例配制)中,根据目的蛋白的分子量确定其位置进行切胶并制作夹心三明治,置于低温环境的转膜装置中并加入转膜液,随后插入电极进行转膜。第四步:转膜成功完成后,将膜条带取出并用 TBST 溶液清洗取出的膜条带 3 次(10 分钟/次)。然后,将膜条带浸泡在用 TBST 稀释的 5% 脱脂牛奶中进行封闭处理,约 2.5 h。第五步:封闭完成后,将膜条带取出并用 TBST 清洗膜条带 3 次(10 分钟/次),随后将其浸泡在一抗中 4°C 孵育 16 h 左右过夜。第六步:孵育完成后,将膜条带取出并用 TBST 清洗膜条带 3 次(10 分钟/次),随后将其泡入二抗中,并室温孵育约 2 h。第七步:孵育完成后,将膜条带取出并用 TBST 清洗膜条带 3 次(10 分钟/次)。第八

步:将膜条带显影、曝光,并观察其结果。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 18.0 统计分析软件进行数据分析。计量资料通过 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏指数 MCAO 组和 GAS 组肝脏指数,与 NORM 组和 SHAM 组相比,呈现出明显上升的趋势($P < 0.01$);与 MCAO 组相比,GAS 组肝脏指数有所下降($P < 0.01$),见图 1。



注:与 NORM 组和 SHAM 组相比,** $P < 0.01$;
与 MCAO 组相比,## $P < 0.01$; $n = 10$ 。

图 1 各组大鼠的肝脏指数

2.2 HE 染色 NORM 组与 SHAM 组的肝组织结构完整,有明显的放射状肝索结构,无明显肿胀、充血等病理性改变;在 MCAO 组中可以观察到肝索结构消失,同时肝组织的间质中有大量炎症细胞浸润,细胞间隙明显缩小;GAS 组肝索结构相对于模型组而言较为清晰和明显,呈放射状排列,且细胞间隙变大,同时炎症细胞浸润数量有所降低,见图 2。

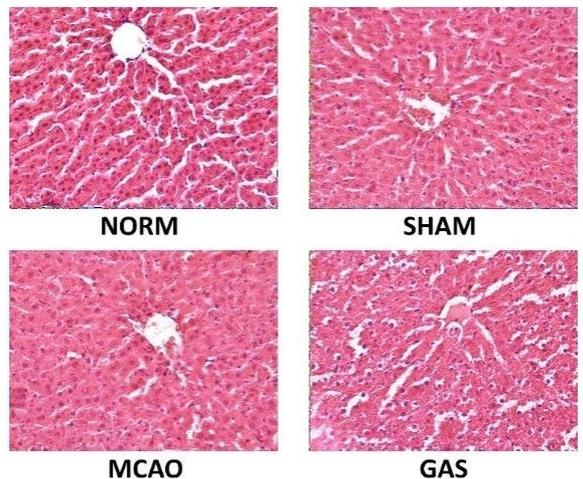
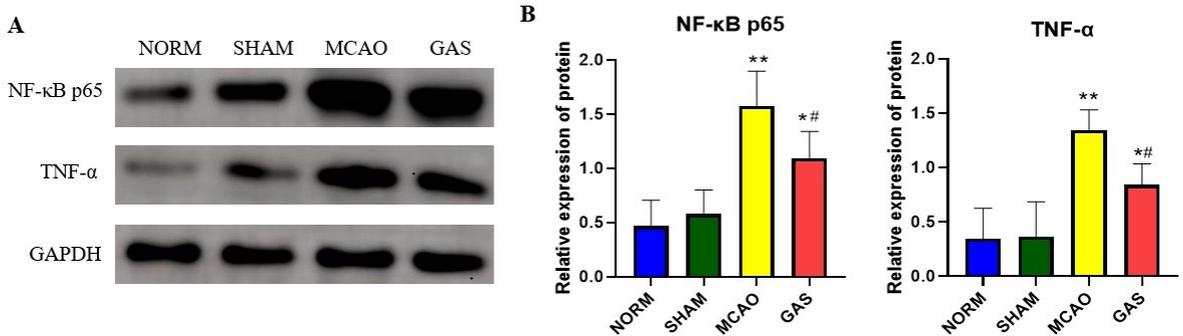


图 2 肝组织 HE 染色结果($\times 400$)

2.3 NF- κ B p65 和 TNF- α 蛋白的表达水平 Western Blot 检测结果显示, MCAO 组 ($P < 0.01$) 和 GAS 组 ($P < 0.05$) 的 NF- κ B p65 和 TNF- α 的表达水平, 与 NORM 组和 SHAM 组相比较均呈现出显著增加。

而 NORM 组与 SHAM 组之间, NF- κ B p65 和 TNF- α 的表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 MCAO 组相比, GAS 组中 NF- κ B p65 和 TNF- α 的表达水平明显下降 ($P < 0.05$), 见图 3。



注: A 为 Western Blot 检测 NF- κ B p65 和 TNF- α 蛋白的表达水平; B 为 NF- κ B p65 和 TNF- α 的蛋白相对表达量; 与 NORM 组和 SHAM 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 MCAO 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠肝组织 NF- κ B p65 和 TNF- α 蛋白表达情况

3 讨论

肝脏是人的重要器官, 具有解毒和代谢功能, 脑卒中发生后会引起全身各脏器的连锁反应, 而肝脏首当其冲。研究表明, 脑卒中发生后肝脏内的有害物质较其他器官明显增多, 且肝损伤早期即可发生^[14]。因此肝损伤是脑卒中的并发症之一, 肝损伤和脑损伤会相互影响, 互相促进, 对机体产生严重影响^[2, 15]。同时也有研究表明, 缺血性脑卒中可引起肝组织水肿, 同时促炎因子可引起炎症反应, 从而导致肝损伤^[16]。这与本实验研究结果相吻合, 本次实验采用了线栓法阻塞大鼠右侧大脑中动脉, 以此制备了局灶性脑缺血的模型, 成功模拟了人类脑卒中的病理状态。大鼠肝脏指数结果显示 MCAO 组大鼠肝脏指数显著升高, 说明脑缺血使肝脏出现了明显水肿, 而这一结果也得到了肝脏组织 HE 染色结果的支持。HE 染色结果显示 MCAO 组大鼠肝组织表现出明显肿胀, 原本清晰有序的肝索结构变得模糊甚至消失, 并且有广泛的炎症细胞浸润。

目前很多研究指出, 脑卒中引发肝损伤的机制很可能与免疫反应所释放的大量炎症因子紧密相关, 并且机体能够借助各种错综复杂的信号通路精密合作对炎症反应进行有效地调节^[17-18]。因此本实验为探究脑卒中所致肝损伤的具体炎性机制, 特意选取了促炎症因子 NF- κ B p65 和 TNF- α 。NF- κ B p65 是 NF- κ B 家族中的诱导转录因子之一, 它可经过经典信号通路参与炎症反应^[19]。TNF- α 是一种重要的促炎症因子, 可调节机体免疫反应, 促进炎症部位的氧化应激^[20]。并且 TNF- α 在肝损伤和脑卒中时均有表达, 同时可以激发和促进免疫炎性反应的发生^[21-22]。同时已有研究表明, NF- κ B 可促进 TNF- α 的释放, 从而介导内皮细胞

坏死性凋亡, 加速对血脑屏障的破坏^[21], 被激活的 NF- κ B p65 也可加重血脑屏障的损伤^[23]。当 NF- κ B 通路被激活时, 促炎因子 TNF- α 会大量产生, 而 NF- κ B 表达降低时, TNF- α 的表达也会降低, 二者趋势相同^[24]。本实验的 Western Blot 结果与此相符: MCAO 组和 GAS 组的促炎因子 NF- κ B p65 和 TNF- α 蛋白的表达较 NORM 组和 SHAM 组有明显上升, 同时二者的变化趋势相同, 可合理推断二者为协同合作。以往的研究结果也表明, 脑缺血会引起大鼠血液中的 TNF- α 水平上升、IL-10 水平下降^[25]。因此, 可推测脑缺血致肝损伤中促炎因子 TNF- α 的表达由 NF- κ B 信号通路控制。

天麻素是我国传统中药天麻的提取物, 有研究表明其有治疗中风的功效, 可以防治部分中枢神经系统疾病^[9-10]。有研究结果显示, 天麻素可以通过 NF- κ B 信号通路有效地抑制促炎因子 TNF- α 的表达水平, 这一机制在减轻缺血性脑卒中及其引发的炎症反应和组织损伤中具有至关重要的作用^[11-12]。同时亦有研究表明天麻素具有保护受损肝组织的作用^[13]。例如 LV H M 等^[26]的研究表明, 天麻素可通过抑制机体的炎症反应对受损的肝脏进行修复。这与本研究结果显示相同, Western Blot 结果显示与 NORM 组和 SHAM 组相比, GAS 组的 NF- κ B p65 和 TNF- α 蛋白的表达水平呈现出明显上升的趋势, 然而, 当与 MCAO 组相比较时, 这两种蛋白表达有显著下降。同时肝脏指数和 HE 染色显示 GAS 组与 MCAO 组相比, 肝组织水肿明显缓解, 肝组织内肝索等结构破坏有所减轻, 炎症细胞浸润明显减少, 这直接反映了天麻素对肝组织结构的保护和炎症反应的抑制作用。以往的研究结果也表明, 天麻素可下调脑缺血大鼠血液中的 TNF- α 水

平、上调 IL-10 水平^[25]。由此可合理推测,天麻素可以通过调控 NF- κ B 信号通路,有效调节促炎因子的表达水平,进而减轻炎症反应对肝脏造成的损伤,同时,它也展现出了显著的肝脏保护作用。

综上所述,天麻素在应对脑缺血及其并发症方面展现出了潜在的治疗价值,其机制可能是通过对 NF- κ B 信号通路的精细调控,具体是通过抑制 NF- κ B 通路中的关键亚基——NF- κ B p65 的活性,进而影响下游促炎因子 TNF- α 的表达水平,从而在一定程度上缓解由脑缺血引发的炎症反应,并对伴随的肝损伤产生积极的治疗作用。这一发现不仅为揭示脑缺血并发肝损伤的复杂病理生理过程提供了初步的理论依据,也启示了天麻素作为潜在治疗药物的广阔前景。然而,值得注意的是,NF- κ B 通路作为细胞内重要的信号转导网络,其涉及的因子众多,相互作用复杂。因此,仅仅聚焦于 NF- κ B p65 的抑制作用,尚不足以全面阐释天麻素在脑缺血及其并发症治疗中的全部机制。未来的研究亟需进一步深入,以探索该通路中其他因子的具体作用方式,以及它们是否也参与了天麻素的治疗效应。

参考文献:

- [1] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990—2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019[J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795-820.
- [2] 薛佩彤. 依达拉奉对缺血性脑卒中大鼠致肝损伤保护作用的研究[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2017.
- [3] ALEXANDER K S, ZAKAI N A, LIDOFKY S D, et al. Non-alcoholic fatty liver disease, liver biomarkers and stroke risk: the reasons for geographic and racial differences in stroke cohort [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (3): e0194153.
- [4] ANRATHER J, IADECOLA C. Inflammation and stroke: an overview[J]. *Neurotherapeutics*, 2016, 13(4): 661-670.
- [5] HOESEL B, SCHMID J A. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer[J]. *Mol Cancer*, 2013, 12: 86.
- [6] YU H, LIN L B, ZHANG Z Q, et al. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 209.
- [7] NAPETSCHNIG J, WU H. Molecular basis of NF- κ B signaling[J]. *Annu Rev Biophys*, 2013, 42: 443-468.
- [8] SARKAR F H, LI Y W, WANG Z W, et al. NF-kappaB signaling pathway and its therapeutic implications in human diseases[J]. *Int Rev Immunol*, 2008, 27(5): 293-319.
- [9] 张成宸, 石京山. 天麻的酚类成分及其中枢神经药理作用研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(2): 167-174.
- [10] ZHAN H D, ZHOU H Y, SUI Y P, et al. The rhizome of *Gastrodia elata* blume—an ethnopharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 361-385.
- [11] 程阳阳, 孔维佳. 天麻素防治缺血性脑损伤的机制研究进展[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(6): 48-52.
- [12] FU J Y, LU Z T, WU G, et al. *Gastrodia elata* specific miRNA attenuates neuroinflammation via modulating NF- κ B signaling pathway[J]. *Int J Neurosci*, 2024, 134 (12): 1652-1662.
- [13] 瞿思铭, 曾仲. 天麻素在肝脏损伤中的应用及其研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2017, 34(2): 298-300.
- [14] 郭力维, 粟劲松. 缺血性脑卒中后肝损伤与肠源性内毒素血症的相关性分析[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 19(15): 107.
- [15] DUAN H L, GENG X K, DING Y C. Hepatic responses following acute ischemic stroke: a clinical research update [J]. *Brain Circ*, 2023, 9(2): 57-60.
- [16] 徐欣萍, 朱玉群, 啜佳然. 缺血性脑卒中大鼠肝脏和肠黏膜损伤的实验研究[J]. *医学临床研究*, 2012, 29(6): 1024-1026.
- [17] ZHAO H K, WU L, YAN G F, et al. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6 (1): 263.
- [18] 白娜, 颜桂林, 刘文华, 等. 基于 JAK/STAT 信号通路的中药治疗慢性萎缩性胃炎药理机制研究进展[J]. *环球中医药*, 2024, 17(7): 1406-1411.
- [19] SUN S C. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(9): 545-558.
- [20] ZELOVÁ H, HOŠEK J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(7): 641-651.
- [21] CHEN A Q, FANG Z, CHEN X L, et al. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 487.
- [22] PRATIM DAS P, MEDHI S. Role of inflammasomes and cytokines in immune dysfunction of liver cirrhosis[J]. *Cytokine*, 2023, 170: 156347.
- [23] SUN T L, DONG W P, JIANG G H, et al. Cordyceps militaris improves chronic kidney disease by affecting TLR4/NF- κ B redox signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7850863.
- [24] 史哲. 一线抗结核药物诱导小鼠肝损伤对肝细胞 NF- κ B 表达的影响[D]. 唐山: 华北理工大学, 2015.
- [25] 产翠翠, 范心雨, 龚鑫. 天麻素对脑缺血致心肌损伤及 NGF/TrkA 表达的影响[J]. *右江民族医学院学报*, 2022, 44(3): 341-345.
- [26] LV H M, LIU Y Y, ZHANG B X, et al. The improvement effect of gastrodin on LPS/GalN-induced fulminant hepatitis via inhibiting inflammation and apoptosis and restoring autophagy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106627.

收稿日期: 2024-08-14; 修回日期: 2024-09-23

(本文编辑 钟琳)

本文引文格式:李赛,宋侨,姜雪,等.基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A 对抑郁样小鼠模型改善作用的研究[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):61-64.

【论著与临床报道】

基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A 对抑郁样小鼠模型改善作用的研究

李赛¹, 宋侨¹, 姜雪¹, 陆夏枫¹, 彭诗倩¹, 张敬芳¹, 许迪², 左湘¹

(1. 长沙医学院临床学院, 湖南 长沙 410219;

2. 湘潭大学外语学院, 湖南 湘潭 411105)

摘要:目的 本文基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A(Saikosaponin A, SSA)对脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的抑郁相关表型小鼠的改善的药理作用及相关机制。方法 将 C57BL/6 雄性小鼠随机分成 4 个组,即空白对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水+LPS)、柴胡皂苷 A 组(柴胡皂苷 A+LPS)、氟西汀组(氟西汀+LPS)。用脂多糖(LPS)诱发小鼠抑郁模型;用强迫游泳实验、悬尾实验、蔗糖偏好实验评价小鼠的抑郁样行为;采用 ELISA 检测 SSA 和 LPS 处理对小鼠血清内皮质酮(CORT)和下丘脑促性腺激素(CRH)的表达水平;用 HE 染色法,对海马区进行观察。结果 模型组小鼠在强迫游动不动时间、悬尾静止时间、蔗糖偏好等方面与空白对照组比较差异有统计学意义($P < 0.001$);HE 染色可见凋亡细胞数量增多、排列无序、形态不规则;5-HT 水平降低($P < 0.001$),CORT 升高($P < 0.001$),CRH 升高($P < 0.001$);柴胡皂苷 A 组小鼠经柴胡皂苷 A 干预后与模型组比较,其悬尾静止时间明显缩短($P < 0.001$);HE 组织学观察发现,组织结构较为规整,凋亡较少,但有较多的正常细胞存在;5-HT 水平在小鼠中升高($P < 0.001$),CORT 和 CRH 水平显著降低($P < 0.001$)。结论 柴胡皂苷 A 通过脑-肠轴抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴缓解小鼠的抑郁样行为。

关键词:柴胡皂苷 A; 脑肠轴; 抑郁症; 脂多糖

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0061-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.010

Study on the improvement effect of Saikosaponin A on depression-like mouse model based on the brain-gut axis theory

LI Sai¹, SONG Qiao¹, JIANG Xue¹, LU Xiaofeng¹, PENG Shiqian¹,
ZHANG Jingfang¹, XU Di², ZUO Xiang¹

(1. School of Clinical Medicine, Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan, China;

2. School of Foreign Studies, Xiangtan University, Xiangtan 411105, Hunan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the pharmacological effects and underlying mechanisms of Saikosaponin A (SSA) on lipopolysaccharide (LPS)-induced depression-related phenotypes in mice based on the brain-gut axis theory. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: blank control group (saline), model group (saline+LPS), SSA group (SSA+LPS), and fluoxetine group (fluoxetine+LPS). A mouse depression model was induced by LPS. Depression-like behaviors were assessed using the forced swim test, tail suspension test, and sucrose preference test. ELISA was used to detect the expression levels of corticosterone (CORT) in the serum and corticotropin-releasing hormone (CRH) in the hypothalamus of mice treated with SSA and LPS. The hippocampus was observed by HE staining. **Results** There were statistically

基金项目:湖南省大学生创新创业训练计划项目(湘教通[2023]237号-4074)

第一作者:李赛,大学生, E-mail:LS16717325977@163.com

通讯作者:左湘,硕士,主治医师,研究方向:神经精神等疾病, E-mail:952313276@qq.com

significant differences in the immobility time during the forced swimming, the static time during the tail suspension, and the sucrose preference of the mice between the model group and the blank control group ($P < 0.001$). HE staining showed an increased number of apoptotic cells, disordered arrangement, and irregular morphology; the 5-HT level decreased ($P < 0.001$), the CORT level increased ($P < 0.001$), and the CRH level increased ($P < 0.001$). After the intervention of SSA in the mice of the SSA group, compared with the model group, the static time during the tail suspension was significantly shortened ($P < 0.001$). HE histological observation found that the tissue structure was relatively regular, with fewer apoptotic cells, and there were more normal cells; the 5-HT level in the mice increased ($P < 0.001$), and the levels of CORT and CRH decreased significantly ($P < 0.001$). **Conclusion** SSA alleviates depression-like behaviors in mice by inhibiting the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis through the brain-gut axis.

Key words: Saikosaponin A; brain-gut axis; depression disorder; lipopolysaccharide

抑郁是一种常见的高复发率的心理疾病,其复发的危险程度随发病时间的延长而增高。临床往往表现为患者出现心境低落、快感缺乏、睡眠困难、外出活动减少等^[1]。目前抑郁症的病因研究主要集中在单胺神经递质减少、下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴改变等^[2]。已有研究证实^[3],肠道菌群不仅影响胃肠功能,还被称为人体“第二大脑”,对中枢神经系统起着至关重要的调控。肠道菌群是 HPA 轴活化的关键因素,HPA 轴活化也可影响肠道菌群结构,增加肠道通透性调节肠道运动及黏液生成,实现双向调节^[4]。探究“微生物-肠-脑”轴在抑郁状态下对大脑功能的影响对于开发治疗抑郁症的药物具有重要意义。

柴胡皂苷 A(Saikosaponin A, SSA)是柴胡中分离出来的在体内外皆具有生物活性的成分之一,SSA 对于炎症疾病、肿瘤、免疫系统疾病、神经系统疾病、病毒感染性疾病等皆具有药理活性^[5]。已有研究^[6]显示,SSA 可上调抑郁症大鼠大脑中单胺类神经递质的含量,减少神经元凋亡,从而产生抗抑郁效应。本实验通过 SSA 药物干预观察脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导抑郁相关表型小鼠改善,探讨柴胡皂苷 A 通过脑-肠轴调控 HPA 轴缓解小鼠的抑郁样行为。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 由长沙市天勤生物技术有限公司供应的 24 只 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠体重为 (20 ± 3) g, 6~7 周龄,动物许可证:SCXK(湘)2022-0011,动物伦理号:2023046。室温在 $21 \sim 24$ °C,相对湿度 50%~60%,保持 12 h 明暗循环。

1.1.2 试剂与仪器 柴胡皂苷 A(批号 nkI-00012221104)购于成都钠钬锂物技术有限公司;脂多糖购于上海麦克林生物化学技术有限公司;柴胡皂苷 A 溶解在 0.9%生理盐水(8 mg/mL)中;脂多糖溶解在 0.9%生理盐水中(0.1 mg/mL);RIPA 断裂缓冲剂(上海碧云天生物技术有限公司);0.01 M 磷酸缓冲剂(pH 7.4,

MPBS);4%的聚甲氧基;低温保存液(在 0.01 MPBS 中溶解 30%乙二醇);ELISA 试剂盒购于安徽乐奥生物技术有限公司(批号:230720);酶标仪(Labsystems 公司);洗板机(Thermmo Labsystems 公司);离心机(湖南湘仪实验仪器有限公司);电动匀浆机(上海弗鲁克科技发展有限公司)。

1.2 分组

1.2.1 动物分组 小鼠适应喂养 7 d 后,将其随机分为 4 组($n = 6$):空白对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水+LPS)、柴胡皂苷 A 组(柴胡皂苷 A+LPS)、氟西汀组(氟西汀+LPS)。

1.2.2 给药及造模 小鼠随机分为 4 组($n = 6$):空白组对照组、模型组、氟西汀组、柴胡皂苷 A 组(干预药品均溶解于生理盐水中。每隔 24 h 灌胃 1 次(1 次/天),空白组对照组和模型组生理盐水灌胃,氟西汀组灌胃 25 mg/kg 盐酸氟西汀,柴胡皂苷 A 组灌胃 30 mg/kg 柴胡皂苷 A,连续灌胃 12 d。这一药剂量及方式参考已有研究^[6],实验过程中未观察到动物死亡及健康状况受影响等现象。灌胃后 12 d,以 LPS 腹腔注射法制作小鼠模型,每组均给予 0.83 mg/kg LPS^[7],连续 2 d(1 次/日);对照组给予相同剂量的生理盐水;在末次 LPS 注入 12 h 后,通过动物行为学检测,评估小鼠的抑郁症状。

1.3 实验方法

1.3.1 行为学实验 实验于末次注射 LPS 12 h 后进行。每一次试验之前,将小鼠放置 30 min 适应环境。行为学实验结束 24 h 后,处死小鼠,采取眼球取血,保留小鼠海马体,并于 -80 °C 储存,备用。

1.3.2 强迫游泳实验 这是一种具有代表性的试验,常用来评价动物的抑郁症状行为。将小鼠放置于水深 (10 ± 1) cm,水温 (25 ± 1) °C 的烧杯中,使小鼠的脚不会与烧杯底部接触。秒表计时 6 min,取后 4 min 内小鼠静止不动时间。每一次试验结束后,更换新水,以免先前小鼠遗留的气味信号对试验结果产生干扰。

1.3.3 悬尾实验 本课题组前期研究发现,C57BL/6

小鼠存在大量尾部爬行现象,因此,本课题组研制了一种能阻止其向尾部爬行的阻爬器。试验时,小鼠的头离地 15 cm,用秒表对实验动物在 6 min 内的行为学进行了记录,取后 4 min 后的静止不动进行统计。

1.3.4 蔗糖偏好实验 在实验正式开始前,先对所有小鼠进行蔗糖适应性培训 1 h,每笼中放置 2 个 500 mL 的水瓶,其中一瓶为 2% 的蔗糖水,每 0.5 h 更换水瓶位置避免小鼠位置偏好。在试验前和试验结束后,将瓶子的重量进行统计,得出对蔗糖的偏好 = 蔗糖溶液消耗 / (蔗糖溶液消耗 + 纯水消耗) × 100%。

1.3.5 HE 染色 行为学试验结束后,麻醉后断颈处死小鼠,开颅取出脑组织,用固定液固定 48 h 以上。梯度酒精脱水,苏木精染色 6 min,纯净水冲洗干净,分化液分化 30 s,纯净水返蓝 10 min;伊红染色 2 min,纯净水冲洗 10 min,乙醇脱水,二甲苯透明,封片。透明后,石蜡包埋连续冠状切片,片厚约 4 μm,通过光学显微镜观察病理形态。

1.3.6 ELISA 法 收集小鼠外周血,选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂,混合 10~20 min 后,离心 20

min(3 500 r/min),吸取上层血清,保存于 -20 °C 冰箱待测。检测血清中 5-羟色胺(5-HT)、皮质酮(CORT)、下丘脑促性腺激素释放激素(CRH)水平。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血清 5-HT、CORT、CRH 含量对比结果 模型组小鼠血清内 5-HT 水平明显低于空白对照组($P < 0.001$);与模型组相比较,药物干预氟西汀组和柴胡皂苷 A 组小鼠血清内 5-HT 均有不同程度的增高($P < 0.001$)。与空白对照组相比,模型组小鼠血清中 CORT 显著增加($P < 0.001$);与模型组相比,药物干预氟西汀组和柴胡皂苷 A 组小鼠血清内 CORT 有不同程度的降低,柴胡皂苷 A 组小鼠降低更明显($P < 0.001$)。与空白对照组对比,模型组小鼠血清内 CRH 含量明显增加($P < 0.001$);与模型组相比,药物干预氟西汀组和柴胡皂苷 A 组小鼠血清内 CRH 含量下降($P < 0.001$)。见表 1。

表 1 各组小鼠血清 5-HT、CORT、CRH 含量对比

组别	n	5-HT/(pg · mL ⁻¹)	CORT/(pg · mL ⁻¹)	CRH/(pg · mL ⁻¹)
模型组	6	63.53 ± 7.13 ^a	238.26 ± 7.13 ^a	19.20 ± 2.54 ^a
空白对照组	6	100.60 ± 6.21	100.61 ± 6.21	7.72 ± 1.55
柴胡皂苷 A 组	6	81.65 ± 10.51 ^b	81.65 ± 10.51 ^b	13.57 ± 1.84 ^b
氟西汀组	6	92.18 ± 6.43	92.18 ± 6.43	11.21 ± 1.16

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与空白对照组比较,a: $P < 0.001$;与模型组比较,b: $P < 0.001$ 。

2.2 柴胡皂苷 A 对 LPS 致急性抑郁小鼠行为学的影响。

2.2.1 柴胡皂苷 A 对抑郁小鼠悬尾静止时间的影响

柴胡皂苷 A 组的悬尾静止时间较空白对照组明显增加($P < 0.001$)。与模型组比较,柴胡皂苷 A 组的悬尾静止时间明显缩短($P < 0.001$)。见表 2。

表 2 各组小鼠行为学实验结果

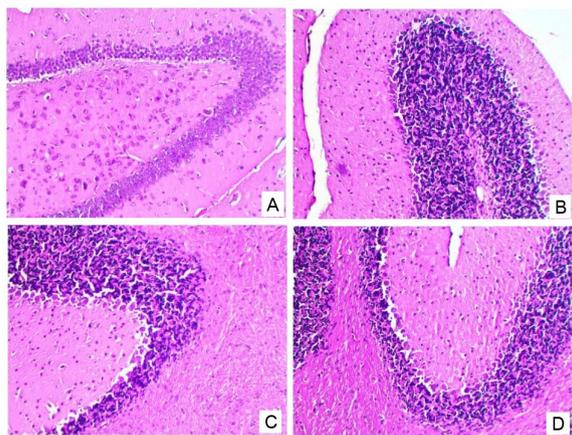
组别	n	悬尾静止时间/s	强迫游泳不动时间/s	小鼠蔗糖偏好/%
模型组	6	159.03 ± 11.82 ^a	147.98 ± 8.99 ^a	45.75 ± 3.83 ^a
空白对照组	6	73.05 ± 10.51	47.67 ± 4.42	82.33 ± 2.23
柴胡皂苷 A 组	6	138.52 ± 4.82 ^b	122.47 ± 12.29 ^b	63.43 ± 1.96 ^b
氟西汀组	6	125.07 ± 5.48	97.97 ± 23.47	70.79 ± 2.89

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与空白对照组比较,a: $P < 0.001$;与模型组比较,b: $P < 0.001$ 。

2.2.2 柴胡皂苷 A 对抑郁小鼠强迫游泳不动时间的影响 与空白对照组比较,模型组小鼠强迫游泳不动时间明显增加($P < 0.001$)。柴胡皂苷 A 组能明显缩短小鼠的运动不动时间($P < 0.001$)。见表 2。

2.2.3 柴胡皂苷 A 对抑郁小鼠蔗糖偏好的影响 该模型组小鼠对蔗糖的偏好程度低于空白对照组($P < 0.001$)。柴胡皂苷 A 组可使小鼠对蔗糖的偏好增加($P < 0.001$)。见表 2。

2.3 柴胡皂苷 A 对小鼠海马病理形态的影响 空白对照组的细胞呈圆形、规则排列,无明显的凋亡现象。在模型组中,凋亡细胞较正常对照组多,细胞呈圆锥状、无序、染色深。与模型组相比,柴胡皂苷 A 组细胞排列相对规则,凋亡细胞较少,可见大量正常细胞,见图 1。



注:A为空白对照组;B为模型组;
C为柴胡皂苷A组;D为氟西汀组。

图1 HE染色(×200倍)

3 讨论

抑郁症作为最为重要的精神疾病之一,对人类健康有着重要影响。抑郁症通常起病慢,复发率高,并且复发风险随着发作次数的增加而增加^[8]。近年来,抑郁症病因学和治疗等领域的研究受到广泛关注,虽有进展但仍然无法找到其确切的发病机制^[1]。脑-肠轴(GBA)是肠道微生物群与中枢神经系统之间的双向通信通道,通过调节肠道微生物菌群是改善中枢神经系统疾病的关键^[9],主要依赖迷走神经途径、免疫途径和神经内分泌途径,通过干预肠道微生物群调控HPA轴、调节神经递质、改善炎症从而实现对中枢神经系统自下而上的调节^[10-11]。

柴胡具有多重药理作用,主要包括对炎症疾病、肿瘤、免疫系统疾病、神经系统疾病、病毒感染性疾病等作用^[5]。对离体心脏缺血一再灌注损伤、疾病诱发的疼痛起到改善和缓解作用^[12-13]。近年来,中医治疗抑郁症已取得显著疗效。柴胡中具有抗抑郁作用的活性物质如SSA、SSB2和SSD,因此探究柴胡皂苷A的抗抑郁机制对中药柴胡的开发利用有重大意义。

本实验以“微生物-肠-脑”轴模型为理论基础,通过建立脂多糖诱导小鼠模型,通过空白对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水+LPS)、柴胡皂苷A组(柴胡皂苷A+LPS)、氟西汀组(氟西汀+LPS)4组的对比实验说明了柴胡皂苷A在强迫游泳实验、悬尾实验、蔗糖偏好实验中均可以改善小鼠抑郁样行为。LPS引起的小鼠抑郁样行为与HPA持续亢进,进一步导致CRH、CORT水平升高,而柴胡皂苷A预处理通过抑制HPA降低小鼠体内CORT、CRH水平,提高5-HT水平从而改善小鼠的抑郁样行为。抑郁样行为往往伴随有探索求生欲望行为减退,实验研究表明,柴胡皂苷A可以通过调节抑郁症大鼠辅助性T细胞17和调节性T细胞的失衡及炎症细胞因子的分泌减轻大鼠的抑郁程度^[14]。本实验研究中,LPS增加小鼠的抑郁样行为包括有增加悬尾和强迫游泳的静止不动时间,连

续9d灌胃柴胡皂苷A,则显著改善抑郁样行为。本实验通过病理切片观察海马区细胞形态发现,LPS模型组的细胞出现大量凋亡,细胞排列紊乱,且染色加深,而柴胡皂苷A给药组细胞形态较规则,边缘清晰,表明柴胡皂苷A具有神经保护作用。

综上所述,柴胡皂苷A能够改善小鼠的抑郁样行为,其作用机制与通过改善小鼠肠道菌群从而调控抑制HPA降低小鼠体内CORT、CRH水平,提高5-HT水平有关。实验还证明了柴胡皂苷A高剂量无副作用,安全可靠,为临床有效防治抑郁症提供了新的治疗方法和理论基础。

参考文献:

- [1] 尹一淑,刘军莲,王佳平,等. 抑郁症相关发病机制研究进展[J]. 医学综述,2022,28(12):2368-2372.
- [2] 田萍,张薇,李开言,等. 地黄对慢性不可预知温和应激模型大鼠抑郁样行为及海马单胺类神经递质的影响[J]. 中国中药杂志,2022,47(17):4691-4697.
- [3] YANG Z L, LI J J, GUI X H, et al. Updated review of research on the gut microbiota and their relation to depression in animals and human beings[J]. Mol Psychiatry, 2020,25(11):2759-2772.
- [4] DU Y, GAO X R, PENG L, et al. Crosstalk between the microbiota-gut-brain axis and depression[J]. Heliyon, 2020,6(6):e04097.
- [5] 肖丽霞,周辉年,龙勃,等. 柴胡皂苷A的药理活性和作用机制研究现状及进展[J]. 生物医学转化,2021,2(4):60-66.
- [6] 赵慧源,田诗琪,翟春影,等. 柴胡皂苷a对抑郁模型大鼠脑内神经递质及行为学的影响[J]. 中国医学创新,2021,18(34):28-32.
- [7] 许一凡,张雨恒,余雪瑞,等. 甘麦大枣汤通过调控炎症改善LPS诱导的小鼠急性抑郁样行为[J]. 中药药理与临床,2019,35(5):6-11.
- [8] 杨潇,董再全,王瑜,等. 抑郁症病因学和治疗学的研究进展[J]. 中国科学:生命科学,2022,52(11):1678-1691.
- [9] 廖师师,罗杰,图拉妮萨·喀迪尔,等. 肠道微生物群-肠-脑轴间的双向交流途径研究进展[J]. 山东医药,2022,62(9):98-101.
- [10] 韦玉彬. 嗜酸乳杆菌通过脑肠轴对帕金森小鼠运动障碍改善作用及机制研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2022.
- [11] 王伟龙,党心雨,刘立,等. 基于脑肠轴理论探讨龙牡安神方对慢性束缚应激焦虑模型小鼠的影响[J]. 中医临床研究,2022,14(32):39-43.
- [12] 邢颖,张冬芹,杨静云,等. 柴胡皂苷在离体大鼠I/R后心肌保护作用的研究[J]. 心血管康复医学杂志,2022,31(4):479-484.
- [13] 谈英,杨晓娟,韩晓妮,等. 基于网络药理学的柴胡镇痛作用机制初探[J]. 中国药学杂志,2019,54(2):98-104.
- [14] 郭旭彤,安继东,梅建强. 柴胡皂苷A对抑郁症大鼠Treg和Th17免疫平衡的影响[J]. 海南医学院学报,2020,26(22):1686-1690.

收稿日期:2024-07-03;修回日期:2024-09-19

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:陈彩云,谢先进,李安琪,等. 正交实验设计优化及己多糖提取工艺[J].
右江民族医学院学报, 2025, 47(1): 65-70, 97.

【论著与临床报道】

正交实验设计优化及己多糖提取工艺

陈彩云¹, 谢先进², 李安琪¹, 檀圆圆², 丁浩², 方源孝¹, 李晨曦¹, 孙淑萍^{1,3}

1. 皖南医学院药学院, 安徽 芜湖 241002;
2. 皖南医学院研究生学院, 安徽 芜湖 241002;
3. 皖南医学院天然日化研究所, 安徽 芜湖 241002)

摘要: **目的** 探讨正交实验优化及己的多糖提取工艺。 **方法** 采用水提醇沉法提取及己多糖。多糖含量的测定采用苯酚-硫酸法, 利用单因素及正交实验优化及己多糖提取的料液比、温度、时间和次数, 以精密度、重复性、稳定性、加样回收率多个方法学实验, 验证多糖含量测定方法的可行性。通过单因素实验优化及己多糖的醇沉时间及醇沉浓度。 **结果** 优化出及己多糖的最佳水提工艺条件为: 提取料液比 1:30, 提取温度 100 °C, 提取 3 次, 提取时间 1.5 h。确定及己多糖的最优醇沉条件为 75% 乙醇浓度, 醇沉后静置 18 h。 **结论** 本研究提取工艺优化合理, 能最大程度提高及己多糖的提取率, 为进一步分离纯化及己多糖奠定基础。

关键词: 及己多糖; 水提醇沉; 单因素实验; 正交实验; 工艺优化

中图分类号: R343 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2025)01-0065-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.011

Optimization of *Chloranthus serratus* polysaccharides extraction technology by orthogonal experimental design

CHEN Caiyun¹, XIE Xianjin², LI Anqi¹, TAN Yuanyuan², DING Hao²,
FANG Yuanxiao¹, LI Chenxi¹, SUN Shuping^{1,3}

1. School of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
2. Graduate School, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
3. Institute of Natural Daily Chemicals, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To optimize the extraction technology of *Chloranthus serratus* (*C. serratus*) polysaccharides by orthogonal experimental design. **Methods** The polysaccharides of *C. serratus* were extracted by the method of water extraction and alcohol precipitation. The polysaccharides contents were determined by phenol-sulfuric acid method. The solid-liquid ratio, temperature, time, and number of extractions for the extraction of *C. serratus* polysaccharides were optimized through single-factor and orthogonal experiments. The feasibility of the polysaccharide content determination method was verified through precision, reproducibility, stability, and sample recovery rate experiments. The alcohol precipitation time and concentration for *C. serratus* were optimized through single-factor experiments. **Results** The optimum water extraction conditions of *C. serratus* polysaccharides were determined as follows: the solid-liquid ratio was 1:30, the extraction temperature was 100 °C, extracted for 3 times, the extraction time was 1.5 h. The optimal conditions for alcohol precipitation of *C. serratus* polysaccharides were determined to be a 75% ethanol concentration, followed by

基金项目: 安徽省教育厅重点教研项目(2023jyxm0655); 安徽省研究生创新创业实践项目(2022cxcsj181); 皖南医学院重点教研项目(2022jyxm06)

第一作者: 陈彩云, 在读硕士研究生, 研究方向: 新药新产品研发, E-mail: cy18303750127@163.com

通讯作者: 孙淑萍, 博士, 教授, 研究方向: 中药有效成分的提取和分离, E-mail: sun5587001@163.com

static precipitation for 18 hours. **Conclusion** The extraction process optimization in this study is reasonable and can maximize the extraction rate of *C. serratus* polysaccharides, laying a foundation for further isolation and purification of *C. serratus* polysaccharides.

Key words: *Chloranthus serratus* polysaccharides; water extraction and alcohol precipitation; single-factor experiments; orthogonal experiments; process optimization

及己 (*Chloranthus serratus*) 为金粟兰科 (*Chloranthaceae*) 金粟兰属的多年生草本植物, 常生长于广西、安徽、湖南及福建等地。《现代中药学词典》记载及己根部或全草能促进血液循环, 具有舒筋活络、消炎镇痛、治疗疮毒、骨折以及风湿等作用, 对类风湿性关节炎、关节痛和皮肤炎症等疾病均具有较好的疗效^[1]。研究表明及己具有明显的抗炎活性^[2]; 及己根醇提取物对完全弗氏佐剂诱导的大鼠关节炎具有明显抗炎作用^[3], 其水分离部位也有着良好的抗炎效果^[4]。常见的多糖主要有植物、动物以及微生物多糖, 主要存在于动植物体内和微生物细胞壁中^[5]。天然中草药中的多糖成分具有调节免疫^[6]、消炎止痛^[7]、减轻氧化损伤^[8]和预防肿瘤^[9]等多种生物活性。前期实验显示及己粗多糖在体内抗炎实验中能显著减轻角叉菜胶诱导的大鼠足趾肿胀以及脏器指数变化; 在体外抗炎实验中能有效减少脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞的细胞形态变化, 减轻炎症带来的损伤。

目前对及己多糖提取工艺优化的研究较少, 本研究旨在利用单因素实验和正交实验筛选并优化及己多糖的提取工艺, 为进一步探索及己的抗炎功效成分提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 干燥及己根(亳州药材市场, 产地: 中国云南), 及己被年四辉教授(皖南医学院)确定为真品; 无水葡萄糖(20220410, 上海展云化工有限公司); 浓硫酸(YD20220809, 天津市永大化学试剂有限公司)、无水乙醇(YD20220819, 天津市永大化学试剂有限公司)和苯酚(YD20220908, 天津市永大化学试剂有限公司); 纯化水等。

1.2 实验仪器 粉碎机(武义海纳电器有限公司); 分析天平(德国花潮高科控股集团有限公司); 真空干燥箱(上海合恒仪器设备有限公司); HH-4 数显恒温水浴锅(常州荣华仪器制造有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州予创仪器设备有限公司); UV-5100 型紫外可见分光光度计(郑州嘉谱仪器设备有限公司)等。

1.3 及己多糖的制备 将干燥的及己根放入粉碎机粉碎, 过 60 目药筛, 即得及己根粗粉。精密称取适量及己根粗粉置于圆底烧瓶中, 加入一定体积纯化水, 提前浸泡 0.5 h, 按规定时间在水浴锅中微沸提取, 离心

抽滤, 继续加水提取并离心抽滤数次。将所得滤液减压浓缩至溶液体积的 1/3。将浓缩后的及己水提液定容至 100 mL, 再加入一定体积无水乙醇, 4 °C 静置一段时间, 恢复室温后进行抽滤, 即得及己多糖。

1.4 葡萄糖标准曲线的制作 精密称取少许无水葡萄糖粉末加入纯化水配制成 0.1 mg/mL 标准溶液, 分别向 8 支试管中量取 0.1~0.8 mL 上述溶液, 补充纯化水至 1 mL, 对照组直接加入 1 mL 纯化水。每组先分别加入 1 mL 现配制 5% 苯酚溶液, 震荡数秒, 再加入浓硫酸溶液 5 mL, 再次震荡, 常温下放置 0.5 h 后检测在 490 nm 波长下的 OD 值。由图 1 所知, 以葡萄糖浓度(mg/mL)为横坐标, OD 值为纵坐标作标准曲线, 得到曲线回归方程 $Y = 7.1476X + 0.0171$, 相关系数 $R^2 = 0.9980$, 吸光度线性关系良好。

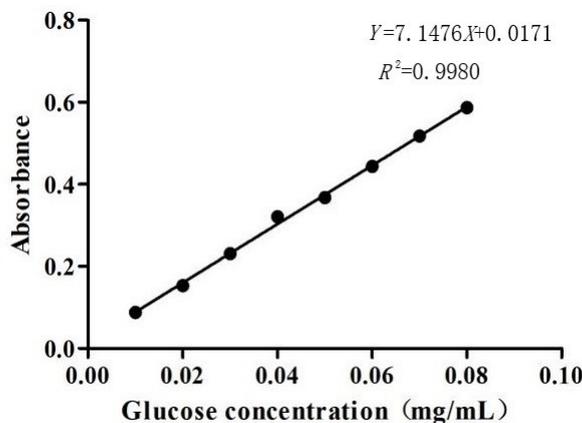


图 1 葡萄糖标准曲线 ($n = 6$)

1.5 水提后及己多糖提取率计算 将 1.3 项中浓缩后的及己水提液定容至 100 mL, 吸取 0.2 mL 再稀释至 10 mL。向试管中加入 1 mL 稀释液, 其余操作同 1.4 项, 通过回归方程求出相应的多糖浓度。多糖提取率(%) = 多糖浓度 $C \times$ 溶液体积 $V \times$ 稀释倍数 $n /$ 样品质量 $M \times 100\%$ 。

1.6 醇沉后及己多糖含量计算 精密称取 1.3 项中及己多糖 1 mg, 纯化水溶解, 再定容至 10 mL。向试管中加入 1 mL 溶解液, 其余操作同 1.4 项, 醇沉后干燥后及己多糖含量的计算公式为: 多糖含量 = 多糖浓度 \times 溶液体积 / 多糖质量 $\times 100\%$ 。

1.7 及己多糖水提工艺优化

1.7.1 及己多糖水提预实验 在圆底烧瓶中进行提

取,精密称取及己根粗粉 3 g,加入 75 mL 纯化水,提前浸泡 0.5 h,水浴锅设置为 100 ℃,煮沸提取 1 h,离心抽滤。继续加水提取 1 次,离心抽滤,将两次的滤液减压浓缩至溶液体积的 1/3,保存于 4 ℃ 冰箱内待用。

1.7.2 单因素实验考察 固定其他条件同 1.7.1 项,分别选取不同提取料液比(1:10 mL/g,1:15 mL/g,1:20 mL/g,1:25 mL/g,1:30 mL/g,1:40 mL/g),提取次数(1 次、2 次、3 次、4 次),提取温度(50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃、100 ℃)以及提取时间(0.5 h、1.0 h、1.5 h、2.0 h、2.5 h)进行提取,计算水提后及己多糖提取率,考察各单因素实验对多糖提取率的影响。

1.7.3 正交实验考察 在单因素实验的基础上,采用正交实验对及己多糖的水提过程进行研究。将提取温度(A)、提取料液比(B)、提取时间(C)以及提取次数(D)作为 4 个因素,以 $L_9(3^4)$ 表设计正交试验,其因素水平见表 1。

表 1 水提工艺正交实验设计水平

水平	因素			
	A	B	C	D
	提取温度/℃	料液比	提取时间/h	提取次数
1	80	1:25	1.0	1
2	90	1:30	1.5	2
3	100	1:35	2.0	3

1.8 及己多糖醇沉工艺优化

1.8.1 及己多糖醇沉预实验 按优化后的水提工艺获得及己多糖水提液,将浓缩的水提液定容至 100 mL,调配无水乙醇,使乙醇体积分数最终保持在 75%,醇沉静置 12 h,抽滤。

1.8.2 单因素实验考察 固定其余条件同 1.8.1 项,分别选取不同醇沉浓度(55%、65%、75%、85%)及醇沉静置时间(12 h、18 h、24 h、30 h)进行醇沉操作,计算醇沉后及己多糖含量,考察各个单因素对多糖含量的影响。

1.9 方法学考察

1.9.1 精密度实验 精密量取适量及己多糖水提液,按 1.5 项操作测定 OD 值,连续测定 6 次,计算 RSD 值。

1.9.2 重复性实验 精密量取适量及己多糖水提液,平均分 6 份,按 1.5 项操作测定 OD 值,计算 RSD 值。

1.9.3 稳定性实验 精密量取适量及己多糖水提液,按 1.5 项操作测定 OD 值,每 10 min 测定 1 次,共测定 12 次,计算 RSD 值。

1.9.4 加样回收率实验 精密量取 6 份相同多糖含量的及己多糖水提液,各加入一定含量的葡萄糖溶液,

按 1.5 项操作测定 OD 值,统计多糖回收率以及 RSD 值。

1.10 统计学方法 采用软件 SPSS 22.0 进行数据分析,方差分析进行样本均数间差异的评估, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各单因素对多糖提取率的影响

2.1.1 提取料液比对多糖提取率的影响 提取料液比不断上升,及己多糖提取率呈现出先升高后降低的明显变化趋势,当料液比为 1:30 时,提取率达到峰值,此后再提高料液比,提取率会有所下降,结果见图 2。这可能是由于随着提取料液比上升,水提液中其他杂质溶出变快,影响到多糖的溶出;且提取料液比过大时会延长提取液浓缩时间,进而增加了多糖在提取过程中的损失。基于此为提高多糖的提取效率,选用 1:25、1:30 以及 1:35 作为正交实验提取料液比的水平。

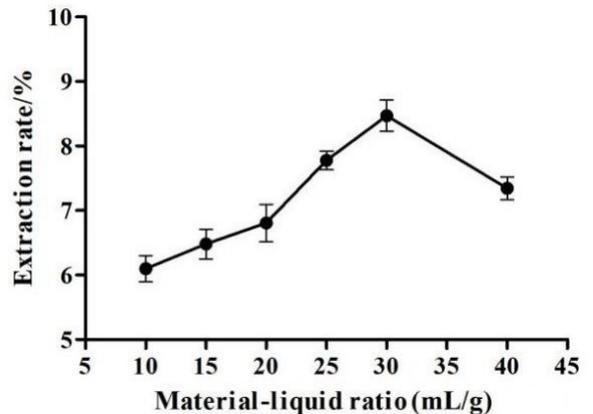


图 2 料液比对多糖提取率的影响 ($n=6$)

2.1.2 提取次数对多糖提取率的影响 随着提取次数不断的增加,多糖提取率逐步上升。当提取次数为 3 次时,提取率出现顶点,继续增加提取次数,提取率出现小幅度下降,结果见图 3。这可能是由于随着提取次数增多,水提液的量不断增大,导致水提液浓缩时间大幅延长,从而多糖出现降解。因此,选择 1 次、2 次、3 次作为正交实验提取次数的水平。

2.1.3 提取温度对多糖提取率的影响 随着提取温度不断上升,及己多糖提取率逐步增高。当温度达到 100 ℃ 时仍未出现下降,结果见图 4。这可能是由于温度升高有助于多糖分子的热运动,使其更易从植物细胞中溶出,且在当前实验条件下,100 ℃ 尚未对多糖结构造成破坏,所以提取率未下降,基于此,选择 80 ℃、90 ℃、100 ℃ 3 个水平的提取温度进行正交实验。

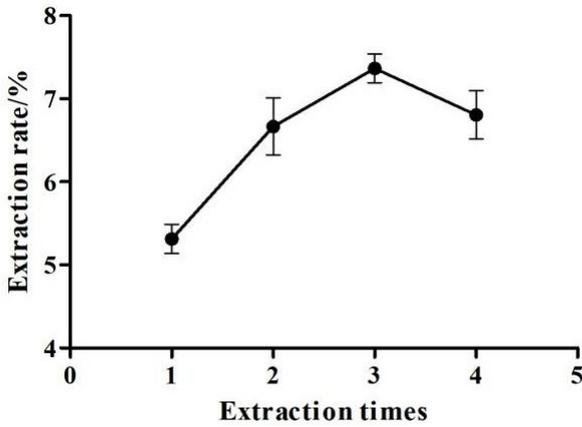


图 3 提取次数对多糖提取率的影响 (n=6)

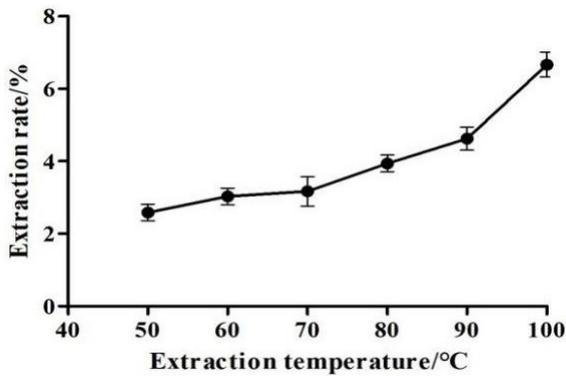


图 4 提取温度对多糖提取率的影响 (n=6)

2.1.4 提取时间对多糖提取率的影响 由图 5 可知,当提取时间不断增加,及己多糖提取率上升趋势明显,当时间到达 1.5 h 时,提取率出现顶点,再延长提取时间多糖提取率开始下降。这可能是因为提取时间的延长会使相关杂质阻碍多糖成分的溶出,并间接导致提取液的浓缩步骤受到影响,使多糖提取率大幅度降低。因此,选择 1.0 h、1.5 h、2.0 h 作为提取时间进行正交实验。

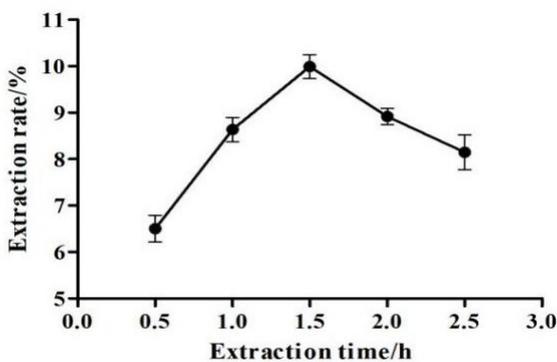


图 5 提取时间对多糖提取率的影响 (n=6)

2.2 正交实验结果分析 由表 2 可知,各单因素对多糖提取率有明显的影 响,其中可排序为 A>D>C>B,即提取温度>提取次数>提取时间>提取料液比,并

得出及己多糖的水提方案为 A3B2C3D3。根据 2.1 单因素考察的结果可知理论上的最佳水提条件为 A3B2C2D3,即提取料液比为 1:30,100℃提取 3 次,每次 1.5 h,提取时间与正交实验中的结果不相同。表 3 的方差分析表明提取温度对多糖提取率有显著性影响 (P<0.05),提取时间的影响并不明显,因此确定及己水提的最佳条件如下:提取料液比为 1:30,提取温度为 100℃,提取次数为 3 次,提取时间为每次 1.5 h。按优化后的提取工艺进行操作,获得的多糖提取率为 12.30%,高于其他条件所得提取率。

表 2 正交实验结果 (n=6)

实验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	2.30
2	1	2	2	2	4.13
3	1	3	3	3	5.67
4	2	1	2	3	8.20
5	2	2	3	1	7.44
6	2	3	1	2	6.30
7	3	1	3	2	11.80
8	3	2	1	3	11.61
9	3	3	2	1	8.03
K ₁	12.10	22.30	20.21	17.77	
K ₂	21.94	23.18	20.36	22.23	
K ₃	31.44	20.00	24.91	25.48	
k ₁	4.033	7.433	6.737	5.923	
k ₂	7.313	7.727	6.787	7.410	
k ₃	10.480	6.667	8.303	8.493	
R	6.447	1.060	1.566	2.570	

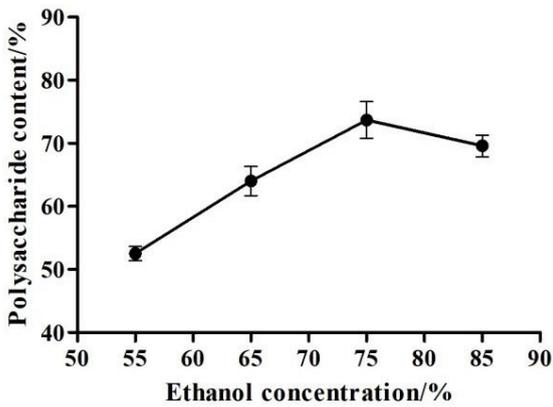
表 3 正交实验方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	62.346	2	31.173	34.686	*
B	1.797	2	0.899	1.000	
C	4.757	2	2.379	2.647	
D	9.989	2	4.994	5.557	
误差	1.797	2			

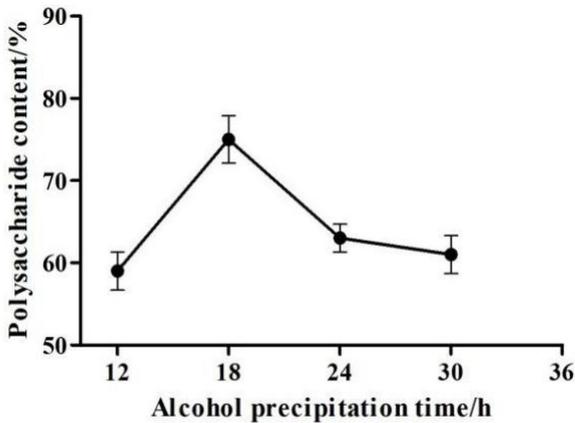
注:F_{0.01}(2,2)=99,F_{0.05}(2,2)=19,*代表 P<0.05。

2.3 及己多糖醇沉工艺优化结果

2.3.1 醇沉浓度对多糖含量的影响 如图 6 所示,当醇沉浓度达到 75%前多糖含量随浓度的升高而不断增大,在浓度为 75%时多糖含量出现顶点,达到 73.70%。当醇沉浓度继续升至为 85%时多糖含量出现减少。多糖醇沉过程中存在乙醇浓度临界值,当醇沉浓度较低时,多糖含量与之形成正相关;当浓度超过临界值后,多糖含量将不再上升。高浓度乙醇溶液甚至会导致其他杂质沉析并裹挟相关多糖,从而影响多糖含量。综合考虑乙醇溶液用量和多糖含量,选择 75%乙醇浓度作为最佳醇沉浓度。

图 6 醇沉浓度对多糖含量的影响 ($n=6$)

2.3.2 醇沉静置时间对多糖含量的影响 如图 7 所示,当醇沉静置时间达到 18 h 前,多糖含量呈直线上升趋势,在 18 h 时达到最高。当醇沉静置时间超过 18 h 后,随着醇沉静置时间的不断增加,多糖含量呈逐渐下降趋势。这可能是由于醇沉静置时间延长后,一些大分子颗粒出现相互作用,并裹挟多糖发生沉淀,导致多糖的含量降低。因此,选择 18 h 作为最佳醇沉静置时间。

图 7 醇沉静置时间对多糖含量的影响 ($n=6$)

2.4 方法学考察结果分析

2.4.1 精密度实验结果 由表 4 可知,对及己多糖水提液进行 6 次检测所得平均 OD 值为 0.348, RSD 值为 0.557%。这表明该实验方法精密度良好,能够满足定量分析的需求。

2.4.2 重复性实验结果 由表 5 可知,对 6 份及己多糖水提液进行检测后所得平均 OD 值为 0.327, RSD 值为 1.439%,表明该实验方法重复性好,能够满足定量分析的要求。

2.4.3 稳定性实验结果 由表 6 可知,对及己多糖水提液每 10 min 检测 6 次,连续检测 120 min,所得平均 OD 值为 0.353, RSD 值为 0.628%,表明溶液在 2 h 内显色性质稳定。

表 4 精密度实验结果 ($n=6$)

编号	OD 值
1	0.347
2	0.347
3	0.347
4	0.348
5	0.348
6	0.352
RSD/%	0.557

表 5 重复性实验结果 ($n=6$)

编号	OD 值
1	0.329
2	0.330
3	0.330
4	0.331
5	0.319
6	0.324
RSD/%	1.439

表 6 稳定性实验结果

时间/min	OD 值	RSD/%
0	0.358	
10	0.357	
20	0.353	
30	0.353	
40	0.354	
50	0.353	
60	0.351	0.628
70	0.352	
80	0.353	
90	0.350	
100	0.352	
110	0.352	
120	0.352	

2.4.4 加样回收率实验结果 由表 7 可知,相关多糖的平均回收率可达到 98.43%, RSD 值为 1.344%,表明该含量测定方法准确度较高。

表 7 加样回收率实验结果 ($n=6$)

编号	样品多糖/g	葡萄糖/g	实际量/g	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.218	0.50	0.702	96.80		
2	0.218	1.00	1.188	97.00		
3	0.218	1.50	1.696	98.53	98.43	1.344
4	0.218	2.00	2.223	100.25		
5	0.218	2.50	2.688	98.80		
6	0.218	3.00	3.194	99.20		

3 讨论

多糖的提取与纯化会影响多糖的结构和药理活性,因此优化多糖提取与纯化方法是探索多糖的前提^[10]。常见的多糖提取方法包含水提取法^[11]、碱提取法^[12]、超声提取法^[13]、酶提取法^[14]以及微波辅助提取法^[15]等。其中水提取法因提取工艺简单、生产成本低而受到广泛的使用^[16]。常用的多糖含量测定方法有蒽酮-硫酸法^[17]、苯酚-硫酸法^[18]、3,5-二硝基水杨酸法(DNS)^[19]以及色谱法^[20]等。苯酚-硫酸法由于操作简易、稳定性好、灵敏度高而被广泛采用^[21]。影响多糖提取工艺的因素主要有提取料液比^[22]、提取温度^[23]、提取时间^[24]以及提取次数^[25]等。本实验通过水提取法提取及己多糖,并以己多糖提取率为考察指标,通过单因素和正交实验各工艺参数优化以上 4 个因素的提取条件,结果显示在提取料液比为 1:30,100℃提取 3 次,每次 1.5 h 时该多糖提取率可达到 12.30%,该优化条件合理有效。精密度、重复性、稳定性和加样回收率实验等方法学考察进一步验证了该含量测定方法的可行性。影响多糖醇沉工艺的因素众多,主要有醇沉浓度^[26]以及醇沉静置时间^[27]两种,其中醇沉浓度的升高会加快多糖沉淀的形成,影响多糖的溶解,因此需要优化提取多糖的醇沉浓度^[28]。本实验以多糖含量为指标,利用单因素实验优化上述两种因素的最佳条件,结果表明该多糖的最佳醇沉条件为 75%乙醇浓度,醇沉静置 18 h。

综上所述,本实验优化了及己多糖的提取工艺,为进一步对及己抗炎活性成分的组成进行分析奠定基础,为及己多糖的质量控制以及多糖后续的分纯化提供了有力的参考依据。

参考文献:

[1] SUN S P, ZHANG J H, LI H X, et al. Anti-inflammatory activity of the water extract of *Chloranthus serratus* roots in LPS-stimulated RAW264. 7 cells mediated by the Nrf2/HO-1, MAPK and NF- κ B signaling pathways[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113880.

[2] HU R K, YAN H, FEI X Y, et al. Modulation of glucose metabolism by a natural compound from *Chloranthus japonicus* via activation of AMP-activated protein kinase [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 778.

[3] SUN S P, LI S L, DU Y Y, et al. Anti-inflammatory effects of the root, stem and leaf extracts of *Chloranthus serratus* on adjuvant-induced arthritis in rats[J]. Pharm Biol, 2020, 58(1): 528-537.

[4] SUN S P, DU Y Y, YIN C L, et al. Water-separated part of *Chloranthus serratus* alleviates lipopolysaccharide-induced RAW264. 7 cell injury mainly by regulating the

MAPK and Nrf2/HO-1 inflammatory pathways[J]. BMC Complement Altern Med, 2019, 19(1): 343-355.

[5] 李青青, 陈晨, 曹艳亭, 等. 红芽芋多糖提取工艺优化及其抗氧化活性的研究[J]. 江西农业大学学报, 2022, 44(5): 1272-1282.

[6] WANG N F, JIA G G, WANG X F, et al. Fractionation, structural characteristics and immunomodulatory activity of polysaccharide fractions from *Asparagus (Asparagus officinalis L.)* skin [J]. Carbohydr Polym, 2021, 256: 117514.

[7] WANG S Z, HE F, WU H M, et al. Health-promoting activities and associated mechanisms of polygonati rhizoma polysaccharides[J]. Molecules, 2023, 28(3): 1350.

[8] CHANG Y D, ZHANG J Z, JIN Y, et al. Effects of dietary supplementation of Chinese yam polysaccharide on carcass composition, meat quality, and antioxidant capacity in broilers[J]. Animals (Basel), 2023, 13(3): 503.

[9] LU Y F, CHEN Z X, LIN Q M, et al. Anti-colon cancer effects of *Spirulina* polysaccharide and its mechanism based on 3D models[J]. Int J Biol Macromol, 2023, 228: 559-569.

[10] 李容, 覃福礼, 吕佳窈, 等. 川木瓜多糖的提取及醇沉工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(4): 328-331.

[11] 杨军宣, 张毅, 吕珊珊, 等. 减压内部沸腾法提取黄精多糖的工艺[J]. 中成药, 2016, 38(2): 460-463.

[12] 宝力道, 朱景涛, 赵玉英. 4 种提取方法对广枣多糖含量及性质的影响[J]. 中成药, 2022, 44(5): 1596-1599.

[13] 温爱平, 杨来秀, 王玉华, 等. 紫花高乌头多糖提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中药材, 2016, 39(11): 2576-2578.

[14] 许彬, 陈平, 陈新. 酶法提取竹节参中多糖成分的工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(13): 1549-1551.

[15] 史高峰, 李娜, 陈学福, 等. 微波辅助提取枸杞中总多糖的工艺研究[J]. 中成药, 2011, 33(3): 521-524.

[16] 刘蕾, 冯素香, 刘富岗, 等. 泽兰多糖水提工艺的优化 [J]. 中成药, 2018, 40(12): 2763-2766.

[17] 谢心文, 门磊, 孙怡, 等. 蒽酮-硫酸法测定复方木鸡颗粒中粗多糖[J]. 中成药, 2019, 41(7): 1685-1687.

[18] 林好, 桂蜀华, 于兵兵, 等. 不同炮制工艺熟地黄多糖单糖分析及其对卵巢颗粒细胞的影响[J]. 中成药, 2019, 41(12): 2958-2963.

[19] 王法琴, 陆逸林, 毛春芹, 等. 3 种比色法测定五味子中多糖[J]. 中成药, 2015, 37(4): 814-818.

[20] 赵春霞, 余河水, 王春华, 等. 中药中糖类定性及定量研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(9): 2184-2192.

[21] YUE F F, ZHANG J R, XU J X, et al. Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method[J]. Front Nutr, 2022, 9: 963318.

(下转第 97 页)

本文引文格式:梁晓莹,童嫫,雒虹邴,等.醛固酮/肾素比值与高血压患者心脏损害的相关性研究[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):71-75.

【论著与临床报道】

醛固酮/肾素比值与高血压患者心脏损害的相关性研究

梁晓莹¹,童嫫¹,雒虹邴¹,杨阳²

(1. 承德医学院,河北 承德 067000;

2. 河北省承德市中心医院,河北 承德 067000)

摘要:目的 研究醛固酮/肾素(aldosterone to renin ratio,ARR)与高血压患者心脏损害的相关性,并分析ARR是否为高血压患者心脏损害的独立危险因素。方法 回顾分析2019年1月至2024年6月在承德市中心医院就诊的高血压患者178例,收集患者的临床资料,完善高血压五项或高血压三项检查,计算ARR值,按照ARR中位数值大小分为高ARR组($ARR \geq 3.47$)和低ARR组($ARR < 3.47$),每组各89例;完善生化常规、心脏彩超检查。ARR与高血压心脏损害各指标相关性采用Spearman相关分析;采用多元线性逐步回归分析ARR与左心室后壁厚度(LVPWT)、左心室质量指数(LVMI)关系;用二元Logistic回归分析ARR与左心室肥厚(LVH)的关系。结果 两组年龄、性别、身高、体重、体重指数(BMI)、体表面积(BSA)、高血压病程、血糖、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)、左心房内径(LAD)、室间隔厚度(IVST)、左心室舒张末期内径(LVEDd)、左心室质量(LVM)方面差异均无统计学意义($P > 0.05$);在醛固酮(ALD)、肾素活性(PRA)、左心室后壁厚度(LVPWT)、左心室质量指数(LVMI)、左心室肥厚(LVH)方面差异有统计学意义($P < 0.05$)。Spearman相关分析显示,ARR与LVPWT($r_s = 0.366, P < 0.001$)、LVMI($r_s = 0.228, P = 0.002$)、LVH($r_s = 0.296, P < 0.001$)呈正相关。行多元逐步回归分析结果表明,ARR($\beta = 0.298, P < 0.001$)、体重($\beta = 0.171, P = 0.017$)与LVPWT呈独立正相关;ARR($\beta = 0.231, P = 0.001$)、高血压病程($\beta = 0.218, P = 0.002$)与LVMI呈独立正相关,BSA($\beta = -0.198, P = 0.005$)与LVMI呈独立负相关。行二元Logistic回归分析显示,ARR($OR = 1.160, 95\% CI : 1.056 \sim 1.274, P = 0.002$)、高血压病程($OR = 1.090, 95\% CI : 1.021 \sim 1.164, P = 0.010$)与LVH呈独立正相关。结论 ARR升高可以作为LVPWT增大、LVMI增加、LVH的危险因素。

关键词:醛固酮/肾素;醛固酮;肾素活性;高血压;心脏损害

中图分类号:R544.1

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0071-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.012

Study on the association between aldosterone to renin ratio and cardiac damage in hypertensive patients

LIANG Xiaoying¹, TONG Lei¹, LUO Hongli¹, YANG Yang²

(1. Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei, China;

2. Chengde Central Hospital of Hebei Province, Chengde 067000, Hebei, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between aldosterone to renin ratio (ARR) and cardiac damage in hypertensive patients and analyze whether ARR is an independent risk factor for cardiac damage in these patients. **Methods** A retrospective analysis was performed on 178 hypertensive patients who were treated in Chengde Central Hospital from January 2019 to June 2024. The clinical data were collected, and the five-item or three-item hypertension tests were completed to calculate the ARR value. Patients were divided into a high ARR group ($ARR \geq 3.47$) and a low ARR group ($ARR < 3.47$) according to the median value of ARR,

基金项目:承德市科技支撑计划项目(202002A009)

第一作者:梁晓莹,在读硕士研究生,研究方向:老年医学,E-mail:liangxiaoying1102@163.com

通讯作者:杨阳,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:老年医学,E-mail:yangyangzxr@163.com

with 89 patients in each group. Routine biochemical tests and echocardiography were completed. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between ARR and various indicators of hypertensive cardiac damage. Multiple linear stepwise regression analysis was used to analyze the relationship between ARR and left ventricular posterior wall thickness (LVPWT) and left ventricular mass index (LVMI). Binary Logistic regression analysis was used to analyze the relationship between ARR and left ventricular hypertrophy (LVH). **Results** There were no significant differences between the two groups in age, gender, height, weight, body mass index (BMI), body surface area (BSA), course of hypertension, blood glucose, triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), left atrial diameter (LAD), interventricular septal thickness (IVST), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDd), and left ventricular mass (LVM) ($P > 0.05$). However, there were significant differences in aldosterone (ALD), plasma renin activity (PRA), LVPWT, LVMI, and LVH between the two groups ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that ARR was positively correlated with LVPWT ($r_s = 0.366, P < 0.001$), LVMI ($r_s = 0.228, P = 0.002$), and LVH ($r_s = 0.296, P < 0.001$). Multiple stepwise regression analysis showed that ARR ($\beta = 0.298, P < 0.001$) and weight ($\beta = 0.171, P = 0.017$) were independently and positively correlated with LVPWT; ARR ($\beta = 0.231, P = 0.001$) and the course of hypertension ($\beta = 0.218, P = 0.002$) were independently and positively correlated with LVMI, and BSA ($\beta = -0.198, P = 0.005$) was independently and negatively correlated with LVMI. Binary Logistic regression analysis showed that ARR ($OR = 1.160, 95\% CI : 1.056 \sim 1.274, P = 0.002$) and the course of hypertension ($OR = 1.090, 95\% CI : 1.021 \sim 1.164, P = 0.010$) were independently and positively correlated with LVH. **Conclusion** Elevated ARR can be considered as a risk factor for increased LVPWT, increased LVMI, and LVH.

Key words: aldosterone to renin ratio; aldosterone; plasma renin activity; hypertension; cardiac damage

高血压是全球最重要的公共健康问题之一。2023 年《全球高血压报告》显示^[1], 高血压影响全球 1/3 成年人。1990 年到 2019 年间, 全球高血压人数增加了一倍, 从 6.5 亿增至 13 亿。中国高血压调查数据显示^[2], 2018 年我国 18 岁及以上居民高血压加权患病率为 27.5%。持续高血压会导致心、肾、周围血管等器官的损害, 可引起如左心室肥厚、周围动脉硬化、肾小球滤过率降低、微量白蛋白尿甚至发生心肌梗死、肾功能不全、视网膜病变等。而肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS 系统)是水-电解质平衡及高血压的发生发展的重要因素。醛固酮/肾素(aldosterone to renin ratio, ARR)目前主要用于原发性醛固酮增多症(primary aldosteronism, PA)的筛查^[3]。研究表明, PA 患者较原发性高血压患者靶器官损害的发生更早、程度更重。DUFFY S J 等^[4]研究结果显示, 醛固酮增多和低肾素型高血压会增加靶器官损害风险。ARR 同时考虑了醛固酮(ALD)和肾素活性(PRA)的影响, 可能更能反映高血压的靶器官损害。本研究通过探讨 ARR 与高血压心脏损害的相关性, 为 ARR 作为临床评估或提示高血压心脏损害提供依据, 并进行早期干预。

1 对象与方法

1.1 对象

1.1.1 入选标准 ①年龄 ≥ 18 岁且 ≤ 80 岁患者; ②

高血压定义: 依据《中国高血压防治指南(2018 修订版)》, 在不服用降压药条件下, 测量非同日 3 次诊室血压, 收缩压 ≥ 18.62 kPa 和(或)舒张压 ≥ 11.97 kPa^[5]; ③完善 ARR 筛查前的准备工作: 纠正低钾血症; 正常钠盐饮食; 停用对 ARR 影响较大药物(包括保钾及排钾利尿剂、醛固酮受体拮抗剂等)至少 4 周; 停用血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、钙通道阻滞剂至少 2 周, 然后完善高血压三项或者高血压五项的患者。

1.1.2 排除标准 ①白大衣高血压; ②严重心脏病: 扩张型心肌病、肥厚型心肌病、急性冠脉综合征、中重度以上瓣膜狭窄及关闭不全、急性心力衰竭、主动脉夹层等; ③除原醛外的其他继发性高血压, 如肾动脉狭窄、肾素瘤等; ④妊娠期高血压患者; ⑤服用避孕药、糖皮质激素、非甾体抗炎药、甘草制剂的高血压人群; ⑥不能配合检查的患者。

1.2 方法

1.2.1 分组 回顾分析 2019 年 1 月至 2024 年 6 月在承德市中心医院就诊的高血压患者 178 例, 收集患者的临床资料, 所有患者均空腹 8 h 以上, 抽取立位静脉血, 采用安图生物 AUTO LUMO A2000 全自动化学发光测定仪检测立位血浆醛固酮浓度(ng/dL)和血浆肾素活性(ng/L), 计算 $ARR = \text{醛固酮浓度} / \text{肾素活性}$, 统计得出 ARR 中位数为 3.47, 按照 ARR 中位数

分为两组,即高 ARR 组 89 例,其中男性 27 例,女性 62 例;低 ARR 组 89 例,其中男性 39 例,女性 50 例。

1.2.2 病史采集及体格检查 在入院 24 h 内收集入选患者的临床资料,包括姓名、性别、年龄、身高、体重、高血压病程、血糖情况,并计算体重指数(BMI)、体表面积(BSA)。

1.2.3 实验室检查 采集入选患者的空腹静脉血液标本,采用全自动生化分析仪测定患者 TG、TC、LDL-c 及血糖。

1.2.4 心脏彩超的检查和测定 用飞利浦彩色多普勒超声检查仪(型号:IE33)测量左心房内径(LAD)、室间隔厚度(IVST)、左心室舒张末期内径(LVEDd)、左心室后壁厚度(LVPWT),采用 Devereux 的左心室重量校正公式: $LVM(g) = 0.8 \times 1.04 \times [(IVST + LVPWT + LVEDd)^3 - LVEDd^3] + 0.6$, 计算左心室重量指数: $LVM I(g/m^2) = LVM/BSA [IVST, LVPWT, LVEDd(cm)]^{[6]}$ 。采用心脏彩超评估高血压左心室肥厚^[7]: $LVM I \geq 120 g/m^2$ (女), $LVM I \geq 125 g/m^2$ (男)。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。评价计量资料的正态性,正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,方差齐性时采用独立样本 t 检验;不符合正态分布的计量资料以 $[M(P_{25} \sim P_{75})]$ 表示,组间比较用非参数检验中 Mann-Whitney U 检验;计数资料以频数(n)和百分比($\%$)表示,组间率的比较采用 χ^2 检验。ARR 与心脏彩超指标的相关性采用 Spearman 相关分析。应用多元线性逐步回归分析 ARR 与 LVPWT、LVMI 的关系;应用多因素二元 Logistic 回归分析 LVH 的影响因素。检验水准按 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的临床资料比较 高 ARR 组患者 ALD 大于低 ARR 组患者,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);高 ARR 组患者 PRA 小于低 ARR 组患者,差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。两组患者在性别、年龄、身高、体重、BMI、BSA、高血压病程、血糖、TG、TC、LDL-c 方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者一般临床资料的比较

项目	高 ARR 组 ($n = 89$)	低 ARR 组 ($n = 89$)	$t/Z/\chi^2$	P
年龄/岁	58.37±9.96	56.34±10.11	1.351	0.178
性别			3.468	0.063
女	62(69.66)	50(56.18)		
男	27(30.34)	39(43.82)		
身高/cm	165.00(159.50~170.00)	163.00(158.00~171.00)	-0.017	0.986
体重/kg	70.00(60.00~77.00)	70.00(61.50~80.00)	-0.674	0.500
BMI/($kg \cdot m^{-2}$)	25.20(23.15~27.70)	25.40(23.75~28.55)	-1.154	0.249
BSA/ m^2	1.72(1.59~1.89)	1.74(1.61~1.88)	-0.451	0.652
高血压病程/年	7.00(2.00~15.50)	7.00(1.00~10.00)	-0.815	0.415
血糖/($mmol \cdot L^{-1}$)	5.50(4.85~6.35)	5.70(5.10~6.40)	-1.376	0.169
TG/($mmol \cdot L^{-1}$)	1.61(1.19~2.40)	1.64(1.27~2.34)	-0.463	0.644
TC/($mmol \cdot L^{-1}$)	4.70(4.10~5.20)	4.70(4.00~5.40)	-0.485	0.628
LDL-c/($mmol \cdot L^{-1}$)	2.56(1.96~2.99)	2.51(2.05~3.32)	-0.919	0.358
ALD/($ng \cdot dL^{-1}$)	15.59(12.10~21.55)	13.41(9.30~18.08)	-2.610	0.009
PRA/($ng \cdot L^{-1}$)	2.78(1.37~3.74)	9.63(6.10~23.84)	-10.150	<0.001

注:①表内正态分布计量资料数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,非正态分布计量资料数据以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,计数资料数据用 $[n(\%)]$ 表示。②TG:甘油三酯;TC:总胆固醇;LDL-c:低密度脂蛋白胆固醇;ALD:醛固酮;PRA:肾素活性。

2.2 两组患者高血压心脏损害指标比较 高 ARR 组患者的 LVPWT、LVMI 及 LVH 的发生率均大于低 ARR 组患者,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组患者在 LAD、IVST、LVEDd、LVM 方面差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

2.3 ARR 与心脏损害的相关性分析 采用 Spearman 相关性分析 ARR 与心脏损害的相关性。结

果表明,ARR 与 LVPWT ($r_s = 0.366, P < 0.001$)、LVMI ($r_s = 0.228, P = 0.002$)、LVH ($r_s = 0.296, P < 0.001$) 正相关,与 LAD ($r_s = 0.011, P = 0.889$)、IVST ($r_s = 0.104, P = 0.168$)、LVEDd ($r_s = 0.044, P = 0.558$)、LVM ($r_s = 0.123, P = 0.102$) 不相关,见表 3。

表 2 两组患者心脏损害指标比较

项目	高 ARR 组 (n=89)	低 ARR 组 (n=89)	Z/ χ^2	P
LAD/cm	3.80(3.50~3.90)	3.80(3.55~3.90)	-0.281	0.779
IVST/cm	1.00(1.00~1.00)	1.00(1.00~1.00)	-0.801	0.423
LVEDd/cm	4.50(4.30~4.80)	4.60(4.30~4.80)	-0.009	0.993
LVPWT/cm	1.00(1.00~1.05)	1.00(1.00~1.00)	-4.847	<0.001
LVM/g	164.45(147.83~188.02)	158.81(147.83~176.04)	-0.991	0.322
LVMl/(g·m ⁻²)	92.88(87.28~104.75)	90.60(83.14~98.76)	-2.068	0.039
LVH			7.469	0.006
有	17(19.10)	5(5.62)		
无	72(80.90)	84(94.38)		

注:①非正态分布计量资料数据以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示。②LAD:左房内径;IVST:室间隔厚度;LVEDd:左心室舒张末期内径;LVPWT:左心室后壁厚度;LVM:左心室质量;LVMl:左心室质量指数;LVH:左心室肥厚。

表 3 ARR 与高血压心脏损害指标的 Spearman 相关性

项目	相关系数 (r_s)	P
LAD	0.011	0.889
IVST	0.104	0.168
LVEDd	0.044	0.558
LVPWT	0.366	<0.001
LVM	0.123	0.102
LVMl	0.228	0.002
LVH	0.296	<0.001

注:LAD:左房内径;IVST:室间隔厚度;LVEDd:左心室舒张末期内径;LVPWT:左心室后壁厚度;LVM:左心室质量;LVMl:左心室质量指数;LVH:左心室肥厚。

2.4 LVPWT、LVMl 与各因素的多元逐步回归分析

分别以 LVPWT、LVMl 为因变量,以 ARR、性别(男 1,女 0)、年龄、身高、体重、BMI、BSA、高血压病程、血糖、TG、TC、LDL-c 为自变量进行多元线性逐步回归分析。结果表明,ARR($\beta=0.298, P<0.001$)、体重($\beta=0.171, P=0.017$)与 LVPWT 呈独立正相关,见表 4。ARR($\beta=0.231, P=0.001$)、高血压病程($\beta=0.218, P=0.002$)与 LVMl 呈独立正相关,BSA($\beta=-0.198, P=0.005$)与 LVMl 呈独立负相关,见表 5。

表 4 LVPWT 的多元线性逐步回归分析

自变量	B	SE	β	t	P
常量	0.952	0.021	-	44.380	<0.001
ARR	0.003	0.001	0.298	4.184	<0.001
体重	0.001	0.000	0.171	2.400	0.017

表 5 LVMl 的多元线性逐步回归分析

自变量	B	SE	β	t	P
常量	113.353	8.976	-	12.628	<0.001
ARR	0.662	0.201	0.231	3.285	0.001
高血压病程	0.381	0.122	0.218	3.113	0.002
BSA	-14.114	5.008	-0.198	-2.818	0.005

2.5 LVH 的多因素 Logistic 回归分析 以 LVH 为因变量,以 ARR、年龄、性别、身高、体重、BMI、BSA、高血压病程、血糖、TG、TC、LDL-c 为自变量行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,ARR 越高,LVH 的风险

越高,差异具有统计学意义($P=0.002$);高血压病程越长,左心室肥厚风险越高,差异具有统计学意义($P=0.010$),见表 6。

表 6 LVH 的多因素 Logistic 回归分析

自变量	b	SE	Wald χ^2	P	OR (95% CI)
ARR	0.149	0.048	9.651	0.002	1.160(1.056~1.274)
高血压病程	0.086	0.033	6.659	0.010	1.090(1.021~1.164)

3 讨论

高血压是常见的心血管疾病,是心力衰竭、冠心

病、主动脉夹层等心血管事件的重要原因。高血压的心脏损害主要是心肌重塑,而心肌重塑的特征是心肌

肥厚^[8]。高血压心脏损害受血管生物学的各种因素如 RAAS 系统、内皮功能障碍、前血栓形成过程和炎症过程等因素共同影响,尤其是 RAAS 系统的过度激活对高血压心脏损害起关键作用。RAAS 系统通过炎症免疫、氧化应激和纤维化等机制,促进心脏重塑的发生发展^[9-11]。RAAS 系统不仅存在于循环系统中,也存在于局部组织中,而局部组织中的 RAAS 系统在高血压所致左心室肥厚的发生、发展中发挥重要作用。ALD 是 RAAS 系统的终产物,ALD 水平升高会使活性氧簇水平升高,从而激活细胞生长、迁移、炎症和胶原沉积等信号途径,最终导致心室肥厚。国外有一关于动物实验研究发现,高血压大鼠心脏内的 ALD 会增加心肌肥厚的风险^[12]。另有临床研究证实,PA 患者与 PH 患者相比,PA 患者左心室壁厚度增加及左心室舒张功能下降更快、更明显^[13],其机制是 ALD 通过 MRs 受体发挥作用,从而导致血管损伤,促进心脏的纤维化^[14],最终导致心室肥厚。由此可见,国内外的研究多为 ALD 对高血压心脏损害的影响,关于 ARR 对高血压心脏损害的研究较少。研究显示,与 ALD 相比,ARR 有更好的重复性^[15]。有研究证实,ARR 升高反映了 ALD 相对 PRA 过多,ARR 比 ALD 更能增加心血管疾病的风险^[16-17]。徐茵等^[18]研究发现 ARR 与 LVMI 正相关,与本研究结果一致。本研究还发现,ARR 升高是 LVPWT 增加的独立危险因素。但国内多项研究^[18-19]并未发现 ARR 与 LVPWT 有明显相关性,所纳入对象较为局限和各实验设计方法的不同可能是造成上述差异的原因之一。本研究还显示,ARR 升高将增加左心室肥厚的风险,可能是由于 ARR 升高,导致 ALD 相对增多,从而诱导心肌肥大所致。

综上所述,ARR 与高血压心脏损害有明显相关性,且有一定的预测价值,但由于本研究样本量过少,因此,需要进一步扩大样本量,进行多中心研究,收集更广泛、更全面的数据,才能得出更可靠结论,才能进一步确定 ARR 能否预测高血压心脏损害。

参考文献:

[1] World Health Organization. Global report on hypertension: the race against a silent killer[EB/OL]. (2023-09-19)[2023-09-19]https://www.who.int/publications/i-item/9789240081062.

[2] 张梅,吴静,张笑,等. 2018 年中国成年居民高血压患病与控制状况研究[J]. 中华流行病学杂志,2021,42(10): 1780-1789.

[3] GYAMLANI G, HEADLEY CM, NASEER A, et al. Primary aldosteronism: diagnosis and management[J]. Am J Med Sci, 2016, 352(4): 391-398.

[4] DUFFY S J, BIEGELSEN E S, EBERHARDT R T, et al. Low-renin hypertension with relative aldosterone excess is associated with impaired NO-mediated vasodilation[J]. Hypertension, 2005, 46(4): 707-713.

[5] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟, 中国医疗保健国际交流促进会高血压病分会, 等. 中国高血压防治指南(2024 年修订版)[J]. 中华高血压杂志(中英文), 2024, 32(7): 603-700.

[6] DE SIMONE G, DANIELS S R, DEVEREUX R B, et al. Left ventricular mass and body size in normotensive children and adults: assessment of allometric relations and impact of overweight[J]. J Am Coll Cardiol, 1992, 20(5): 1251-1260.

[7] 陈磊, 张鑫, 叶润宇, 等. 高血压靶器官损害评估新进展[J]. 中华高血压杂志, 2021, 29(10): 1002-1009.

[8] BLACK H R, ELLIOTT W J, WEBER M A, et al. One-year study of felodipine or placebo for stage 1 isolated systolic hypertension[J]. Hypertension, 2001, 38(5): 1118-1123.

[9] NADIR NADIR M. Aortic Stenosis, left ventricular remodeling, and renin-angiotensin system blockade[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(25): 2984.

[10] SUO Y, ZHANG Y, WANG Y Y, et al. Renin-angiotensin system inhibition is associated with reduced risk of left atrial appendage thrombosis formation in patients with atrial fibrillation[J]. Cardiol J, 2018, 25(5): 611-620.

[11] GOEL S S, KLEIMAN N S, ZOGHBI W A, et al. Renin-angiotensin system blockade in aortic stenosis: implications before and after aortic valve replacement[J]. J Am Heart Assoc, 2020, 9(18): e016911.

[12] TAKEDA Y, YONEDA T, DEMURA M, et al. Cardiac aldosterone production in genetically hypertensive rats[J]. Hypertension, 2000, 36(4): 495-500.

[13] TSIIOUFIS C, TSIACHRIS D, DIMITRIADIS K, et al. Myocardial and aortic stiffening in the early course of primary aldosteronism[J]. Clin Cardiol, 2008, 31(9): 431-436.

[14] SASANO H, SUZUKI T, MORIYA T. Pathology of primary aldosteronism[J]. Nihon Rinsho, 2005, 63(3): 283-287.

[15] 李川, 周嘉, 梁杏欢, 等. 醛固酮与肾素的比值在原发性醛固酮增多症与原发性高血压鉴别中的应用[J]. 中华高血压杂志, 2015, 23(6): 582-585.

[16] SATOH M, KIKUYA M, OHKUBO T, et al. Aldosterone-to-renin ratio as a predictor of stroke under conditions of high sodium intake: the Ohasama study[J]. Am J Hypertens, 2012, 25(7): 777-783.

[17] SATOH M, HIROSE T, IMAI Y, et al. Is high prorenin levels related to relative aldosterone excess? [J]. Am J Hypertens, 2013, 26(2): 153.

[18] 徐茵, 程云鹏, 刘佳, 等. 原发性高血压患者醛固酮与肾素活性比值和夜间血压及靶器官损害的关系[J]. 中华高血压杂志, 2020, 28(7): 624-629.

[19] 张彩艳, 赵雅静, 郭子宏, 等. 醛固酮与肾素比值与原发性高血压患者肾损害的相关性研究[J]. 医学研究杂志, 2022, 51(8): 52-56.

收稿日期: 2024-09-13; 修回日期: 2024-10-30

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:张辉,邓明亮,邵东奇,等.不同修补材料对颅骨缺损患者情绪、认知功能改善及并发症的对比分析[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):76-81,86.

【论著与临床报道】

不同修补材料对颅骨缺损患者情绪、认知功能改善及并发症的对比分析

张辉,邓明亮,邵东奇,姜之全,娄飞云

(蚌埠医科大学第一附属医院神经外科,安徽 蚌埠 233000)

摘要:目的 分析在颅骨缺损修补术中不同材料对患者术后情绪及认知功能的改善及并发症发生率,在选择颅骨缺损修补材料时为医师和患者提供参考依据。方法 回顾性分析于2019年7月至2024年1月在本院行颅骨缺损修补术治疗的125例患者临床资料,根据术中使用钛网或聚醚醚酮,分成A组(钛网)91例和B组(聚醚醚酮)34例。分析两组患者一般临床资料,依据汉密尔顿焦虑量表、汉密尔顿抑郁量表、蒙特利尔认知评估量表的分值评价情绪和认知功能情况,并发症发生情况。结果 两组患者术前的汉密尔顿焦虑量表、汉密尔顿抑郁量表、蒙特利尔认知评估量表分值对比差异并无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。两组患者术后1个月与术后3个月、术后6个月时较术前在情绪、认知功能方面有显著改善($P<0.01$);并且B组情绪及认知功能改善明显优于A组($P<0.01$)。B组并发症发生率低于A组($P<0.05$)。结论 在颅骨缺损修补中使用聚醚醚酮材料,能显著改善患者的情绪及认知功能,降低术后并发症发生率,改善患者术后生活质量。

关键词:颅骨缺损;钛网;聚醚醚酮

中图分类号:R651.11

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0076-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.013

Comparative analysis of different repair materials for mood, cognitive function improvement, and complications in patients with cranial defects

ZHANG Hui, DENG Mingliang, SHAO Dongqi, JIANG Zhiquan, LOU Feiyun

(Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical University, Bengbu 233000, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To analyze the improvement of patients' postoperative mood and cognitive function as well as the incidence of complications associated with different materials used in cranial defect repair surgery, and to provide a reference for physicians and patients in selecting cranial defect repair materials. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the clinical data of 125 patients who underwent cranial defect repair surgery in the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical University from July 2019 to January 2024. Patients were divided into two groups based on the intraoperative use of titanium mesh or polyetheretherketone (PEEK), with Group A (titanium Mmesh) comprising 91 patients and Group B (PEEK) comprising 34 patients. The general clinical data of the two groups were analyzed. The mood and cognitive function were evaluated based on the scores of the Hamilton Anxiety Scale (HAMA), Hamilton Depression Scale (HAMD), and Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA). The occurrence of complications was also recorded. **Results**

基金项目:安徽省财政支持项目/重点项目(AHWJ2023A10099)

第一作者:张辉,主治医师,研究方向:神经肿瘤与重症,E-mail:1033204824@qq.com

通讯作者:娄飞云,硕士,主任医师,副教授,研究方向:神经肿瘤与重症,E-mail:lffy888@126.com

There were no statistically significant differences in the scores of HAMA, HAMD, and MoCA between the two groups before surgery ($P > 0.05$), indicating comparability. At 1 month, 3 months, and 6 months after surgery, the mood and cognitive function of both groups were significantly improved compared with those before surgery ($P < 0.01$). Moreover, Group B demonstrated significantly better improvements in mood and cognitive function than Group A ($P < 0.01$). The incidence of complications in Group B was lower than that in Group A ($P < 0.05$). **Conclusion** The use of PEEK materials in cranial defect repair can significantly improve patients' mood and cognitive function, reduce the incidence of postoperative complications, and enhance patients' postoperative quality of life.

Key words: cranial defect; titanium mesh; polyetheretherketone

颅骨缺损修补术是神经外科常见的手术方式,其采用各种修补材料重建颅骨的完整性,从而达到保护脑组织,改善神经功能和美观的目标^[1]。颅骨缺损不仅会对患者的神经功能和认知能力造成损害,还会影响患者的自我形象,从而出现焦虑或抑郁的心理情绪,导致社会交往功能障碍,严重影响患者的生活质量^[2]。在手术修补材料中,多采用如自体骨瓣、金属钛网、聚醚醚酮(polyetheretherketone, PEEK)等高分子合成材料和新型生物兼容材料,以完成颅骨缺损的修补^[3]。在不同的修补材料之间,其对患者术后情绪、认知功能的改善和术后并发症的发生率可能存在差异。对于选择何种修补材料,目前尚缺乏明确的指导性依据,因此,有必要进行深入研究、分析和对比钛网和 PEEK 的临床效果。

本研究旨在通过对比分析使用不同修补材料的颅骨缺损患者术前和术后的情绪和认知功能评价及术后并发症发生率,为临床医师在选择颅骨缺损修复材料时提供有价值的参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集蚌埠医科大学第一附属医院神经外科 2019 年 7 月至 2024 年 1 月共 125 例行颅骨修补术的患者,纳入标准:①神经系统疾病(如肿瘤、外伤、自发性脑出血等)引起的颅骨缺损;②具备完善术前颅骨 CT 三维重建等影像学检查资料;③颅骨缺损时间 >3 个月;④初次手术切口愈合良好。排除标准:①严重基础疾病及精神疾病患者;②皮肤缺损或愈合不良、感染,无法一期缝合;③颅骨修补术前出现感染征象的患者;④意识障碍、失语状态、无法配合完成量表测定或失去随访的患者。患者及家属手术知情同意,并签字确认。两组患者的随访时间 6~36 个月,通过门诊随诊或电话随访。本研究经蚌埠医科大学第一附属医院伦理委员会批准,伦理批准号:伦科批字(2024)第 422 号。

1.2 数据采集与材料定制 两组患者在均使用高分辨 CT 进行层厚 1 mm 扫描,采集医学数字成像和通信数据,储存至独立光盘中;A 组(钛网)由西安康拓医

疗技术有限公司生产的内固定钛网板系统,由六角形核心单元钛网板和接骨螺钉组成,采用符合 GB/T13810 标准规定的 TA2G 纯钛材料制成,接骨螺钉采用符合 GB/T13810 标准规定的 TC4 钛合金材料制成。灭菌方式为:高压蒸汽灭菌,参数为 121~126 °C, 30 min。B 组(PEEK)由深圳迈普再生医学科技有限公司生产的颅颌面修补系统,由颅颌面骨板组成,采用符合 YY/T 0660-2008 的 PEEK 材料制作而成,产品为三维结构,外形结构与缺损部位相匹配,植入后使用颅颌面连接片和固定钉固定。灭菌方式为:高压蒸汽灭菌,参数为 121 °C, 30 min 或 134 °C, 4 min。

1.3 分组、手术方法 分组:根据使用的修补材料分成 A 组(钛网)91 例和 B 组(PEEK)34 例。手术方法:在全身麻醉后,手术切口常规沿原切口设计。首先使用电刀及消融电极进行游离皮瓣的形成,游离颞肌,轻柔地分离硬脑膜与颞肌之间的间隙,避免损伤硬脑膜,造成脑脊液漏,充分暴露骨窗边缘。A 组将钛网按照正确方向放置,完全覆盖缺损部位,沿四周使用钛钉固定,紧密贴敷颅骨;B 组将 PEEK 材质颅骨板嵌入颅骨缺损部位,使用颅骨连接片及钛钉与周围正常颅骨妥善固定。生理盐水反复冲洗术野,彻底止血,另戳孔留置皮下引流管,逐层缝合,皮肤消毒后,干净纱布覆盖后,包扎。术后治疗上予以止血剂、预防性抗癫痫治疗及营养补液等常规术后治疗。

1.4 术后治疗及观察指标 术后 24 h 内复查头颅 CT 平扫,观察颅内情况,72 h 内根据引流管引流情况拔除皮下引流管,按照外科切口处理原则,按时更换切口敷料及拆除缝线。观察指标:在术前及术后随访 1 个月、3 个月、6 个月采用汉密尔顿焦虑量表(HAMA)、汉密尔顿抑郁量表(HAMD)、蒙特利尔认知评估量表(MoCA),对患者的焦虑、抑郁情绪及认知功能进行评价并记录分析。记录两组患者术后并发症,包括癫痫、继发性颅内出血、切口愈合情况等。

1.5 量表的效度、信度 (1)HAMA^[4]量表:①信度:HAMA 的 Cronbach's α 系数一般在 0.77~0.92 之间,表明量表具有良好的内部一致性。重测信度也

较高,通常在0.76~0.96之间。②效度:HAMA的效度得到了广泛验证。结构效度(构念效度)通过与其他焦虑量表(如贝克焦虑量表)的相关性得到支持。它也具有良好的区分效度,能够有效区分焦虑症患者和非焦虑症人群。(2)HAMD量表^[5]:①信度:HAMD的Cronbach's α 系数通常在0.75~0.92之间,表明该量表具有良好的内部一致性。重测信度通常在0.81~0.98之间,表明其具有良好的稳定性。②效度:HAMD的效度通过与其他抑郁量表(如贝克抑郁量表)的高相关性得到了验证。其区分效度也得到了良好的证明,能够区分不同程度的抑郁症患者。(3)MoCA量表^[6]:①信度:MoCA的Cronbach's α 系数在0.83左右。重测信度通常在0.79~0.92之间,表明其具有良好的稳定性。②效度:MoCA的效度在不同研究中得到了验证,尤其是它对轻度认知障碍的筛查效度较高。MoCA与简易精神状态检查等其他认知量表之间的相关性表明了它的构念效度。

1.6 统计学方法 运用SPSS 27.0统计软件进行数据分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,进行 t 检验,计数资料用[$n(\%)$]表示,进行 χ^2 检验,两组不同时间节点采用重复测量方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 两组患者的一般资料对比差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表2 两组患者术前及术后不同时间节点 HAMA 情况重复测量方差分析结果

组别	n	术前	术后1个月	术后3个月	术后6个月
A组	91	28.19 \pm 5.11	27.63 \pm 5.37	26.30 \pm 5.66	22.45 \pm 4.25
B组	34	29.09 \pm 5.56	25.26 \pm 4.52	23.76 \pm 4.24	17.79 \pm 3.67
F		0.733	5.196	5.613	31.888
P		0.394	0.024	0.019	<0.001

注:表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;满足Mauchly球形度检验,两两比较均经Bonferroni校正。

2.3 两组患者术前和术后 HAMD 分值比较 术前不同组间 HAMD 差异无统计学意义,术后1个月、3个月、6个月不同组间 HAMD 存在统计学差异,见表3。整体检验中:组间($F = 10.549$)、时间效应($F = 94.781$)、组间 \times 时间交互作用($F = 6.156$), $P <$

表3 两组患者术前及术后不同时间节点 HAMD 情况重复测量方差分析结果

组别	n	术前	术后1个月	术后3个月	术后6个月
A组	91	22.33 \pm 5.27	22.30 \pm 2.64	17.23 \pm 3.84	16.49 \pm 4.09
B组	34	23.68 \pm 6.79	20.97 \pm 2.43	15.29 \pm 2.83	12.88 \pm 4.15
F		1.375	6.530	7.158	19.188
P		0.243	0.012	0.008	<0.001

注:表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;由于不满足Mauchly球形度检验,重复测量方差分析采用格林豪斯-盖斯勒校正;两两比较均经Bonferroni校正。

表1 两组患者一般资料比较

影响因素	A组	B组	t/χ^2	P
性别			1.487	0.223
男	64(70.33)	20(58.82)		
女	27(29.67)	14(41.18)		
年龄/岁	52.02 \pm 10.58	47.97 \pm 12.63	1.804	0.074
病程/月	7.71 \pm 4.84	6.00 \pm 6.46	1.603	0.112
缺损面积/cm ²	55.90 \pm 18.26	48.87 \pm 19.27	1.884	0.062
位置			0.410	0.522
左侧	46(50.55)	15(44.12)		
右侧	45(49.45)	19(55.88)		
病因			3.798	0.284
外伤	48(52.75)	24(70.59)		
脑血管意外	32(35.16)	8(23.53)		
肿瘤	8(8.79)	2(5.88)		
其他	3(3.30)	0(0.00)		

注:表内计数资料数据用[$n(\%)$]表示,计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2.2 两组患者术前和术后 HAMA 分值比较 两组术前 HAMA 对比差异无统计学意义,术后1个月、3个月、6个月不同组间 HAMA 差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。整体检验中:组间($F = 20.219$)、时间效应($F = 50.796$)、组间 \times 时间交互作用($F = 5.126$), $P < 0.001$,不同时间存在统计学意义,同组患者不同时间 HAMA 存在统计学差异。时间和组别对 HAMA 存在统计学意义,两组间 HAMA 随着时间的变化趋势不同,B组优于A组。

0.001,不同时间存在统计学意义,同组不同时间 HAMD 存在统计学差异。时间和组别对 HAMD 存在统计学意义,两组间 HAMD 随着时间的变化趋势不同,B组优于A组。

2.4 两组患者术前和术后 MoCA 分值比较 术前不同组间 MoCA 无统计学意义,术后 1 个月、3 个月、6 个月不同组间 MoCA 存在统计学差异,见表 4。整体检验中:组间($F = 17.789$)、时间效应($F = 71.066$),

$P < 0.05$,不同时间存在统计学意义,同组不同时间 MoCA 存在统计学差异。组间 \times 时间交互作用($F = 1.417$), $P > 0.05$,时间和组别对 MoCA 分不存在统计学意义,两组间 MoCA 随着时间的变化趋势相同。

表 4 两组患者术前及术后不同时间节点 MoCA 情况重复测量方差分析结果

组别	n	术前	术后 1 个月	术后 3 个月	术后 6 个月
A 组	91	18.84 \pm 4.69	15.88 \pm 3.59	19.07 \pm 2.38	22.99 \pm 2.46
B 组	34	19.18 \pm 4.62	18.03 \pm 4.55	20.97 \pm 3.15	24.85 \pm 2.17
F		0.132	7.648	13.202	15.083
P		0.717	0.007	<0.001	<0.001

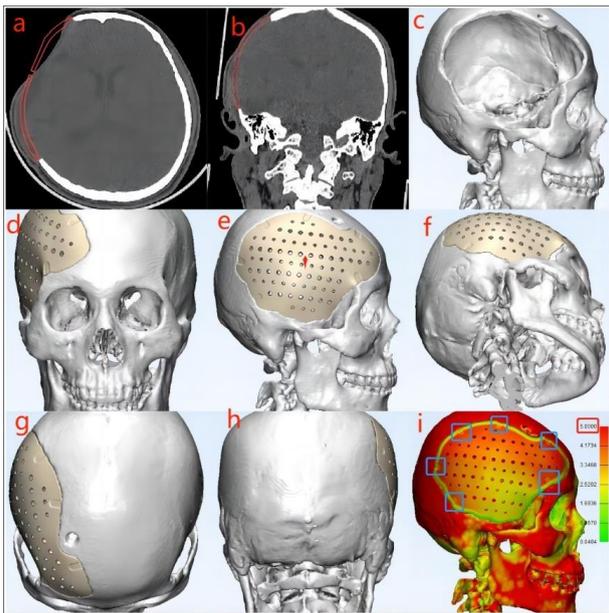
注:表内计量资料数据以($\bar{x}\pm s$)表示;由于不满足 Mauchly 球形度检验,重复测量方差分析采用格林豪斯-盖斯勒校正;两两比较均经 Bonferroni 校正。

2.5 两组患者术后并发症对比分析 两组患者术后并发症发生率相对比,差异有统计学意义($P = 0.034$),见表 5。

表 5 两组患者术后并发症发情况分析

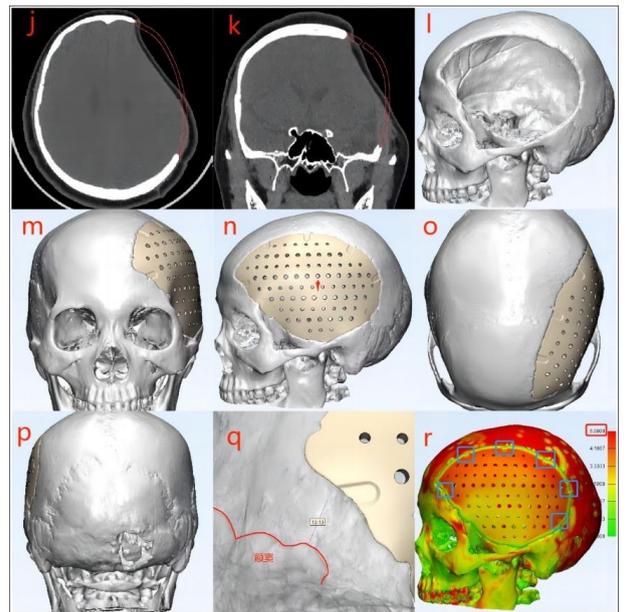
组别	n	颅内 血肿	皮下积液 及切口愈 合不良	颅内 感染	癫痫	颞肌 萎缩	合计
A 组	91	1	7	2	10	4	24(26.37)
B 组	34	0	1	0	1	1	3(8.82)
χ^2							4.502
P							0.034

2.6 典型病例资料 病例 1:男性,40 岁。该患者为右侧额颞顶部颅骨缺损 PEEK 材料修补计划方案,假体厚度约为 2~5 mm,假体整体间隙设计为 0.5~0.6 mm,孔径为 3 mm/4 mm 穿插设计,共设计 6 处钛连接片凹槽,见图 1。病例 2:女性,53 岁。该患者为左侧额颞部颅骨缺损 PEEK 材料修补计划方案,假体厚度约为 2~4.5 mm,假体与骨窗边缘间隙设计为 0.5~0.6 mm,孔径为 3 mm/4 mm 穿插设计,共设计 6 处钛连接片凹槽,见图 2。



注:a 为术前薄层 CT 扫描轴位,红线为计算机构建颅骨完整性;b 为冠状位切面,红线为虚拟构建颅骨;c 为 CT 三维重建出颅骨缺损部位,右侧面观;d 为模拟假体植入后颅骨正面观;e 为右侧面观;f 为底面观;g 为顶面观;h 为后面观;i 为 6 处钛连接片凹槽位置。

图 1 右侧额颞顶部颅骨缺损 PEEK 材料修补计划方案



注:j 为术前薄层 CT 扫描轴位,红线为计算机构建颅骨完整性;k 为冠状位切面,红线为虚拟构建颅骨;l 为 CT 三维重建出颅骨缺损部位,左侧面观;m 为模拟假体植入后颅骨正面观;n 为左侧面观;o 为顶面观;p 为后面观;q 为测量额窦与假体之间的距离,避免螺钉植入窦腔内;r 为 6 处钛连接片凹槽位置。

图 2 左侧额颞部颅骨缺损 PEEK 材料修补计划方案

3 讨论

颅骨去骨瓣减压术是在急性颅脑损伤、颅脑肿瘤、大面积脑梗死和自发性脑出血等各种临床情况下控制颅内压升高的重要手术干预措施。短期目标效果通过扩大颅腔容积,缓冲急性颅内压升高,解除脑组织移位导致的脑疝,从而挽救患者生命。颅骨去骨瓣减压术后形成颅骨缺损可产生一系列复杂的病理生理变化,包括脑血流灌注、脑组织氧合和自动调节的变化、脑脊液循环改变等。正常情况下,颅骨的完整性有助于维持颅内压力的稳定,但当颅骨发生缺损时,因颅腔容积的改变直接影响颅内压力。局部压力的不平衡导致脑组织受压或松弛,影响脑功能^[7]。其次,完整的颅骨提供了对脑组织的保护和支撑,但在颅骨缺损时可出现脑组织可能会由于压力差而疝出,从而引起脑组织的损伤和功能障碍。最后,脑脊液是脑和脊髓周围的液体,主要起到保护和支撑的作用^[8]。当发生颅骨缺损时,脑脊液可能会通过缺损处泄漏出来,导致脑脊液压力不稳定,可能引起颅内感染或皮下积液、穿通畸形等并发症。颅骨缺损可对患者外观容貌产生负面影响,随着体位的改变,颅内压发生变化,使缺损部位膨出或凹陷,令患者感到无助和沮丧,出现焦虑、抑郁、自卑等心理问题,造成患者情绪障碍和认知功能下降,影响患者的生活质量和社会交往。

情绪和认知是神经系统的关键组成部分和功能,可以对个体独立性、生活质量和社会交往产生重大影响。情绪稳定是精神心理健康的体现,认知功能的评价应包括记忆、语言、注意力、视觉空间功能和执行功能,是个体行为和能力的综合表现^[9]。颅骨缺损是认知功能下降的常见原因,通过颅内压波动、脑血流量减少、脑脊液动力学和脑代谢改变等机制影响认知功能。癫痫是颅骨缺损的另一重要临床症状,脑皮层失去颅骨的保护作用及一系列病理生理变化,导致大脑皮层受到直接或者间接刺激,导致神经元异常放电,产生相应的癫痫症状。癫痫发作的不可预知性和控制性,严重影响患者的心理健康和社会交往,产生和加重患者焦虑和抑郁的情绪障碍^[10]。刘雷震等^[11]认为:现代医学模式为生物心理社会医学模式,是一种综合性的医学模式,它将人的健康问题视为生物学、心理学和社会学因素的综合影响。与传统的生物医学模式相比,生物—心理—社会医学模式强调健康与疾病是多种因素相互作用的结果。生物因素指的是人体的生理结构、功能和生化过程,心理因素涉及个体的情绪、认知和行为,包括心理健康、应对能力、态度和信念等。个人所在的社会环境、家庭背景、文化背景、个人的经济状况、接受教育水平、工作条件以及社会支持等方面构成了社会因素。颅骨缺损在生理、心理和社会交往 3 个方

面影响患者的健康状态,因此,颅骨修补术作为治疗颅骨缺损的二次手术,不仅重建了脑组织的物理保护,而且恢复了颅骨的完整轮廓,美化外观,改善情绪和认知功能,有利于患者维持社会和家庭功能,提高生活质量。两组患者术前在焦虑、抑郁状态和认知能力方面没有统计学差异,术后 1 个月、3 个月和 6 个月 HAMA 和 HAMD 得分在两组间存在显著差异,且随着时间推移,两组的焦虑和抑郁变化趋势不同,其中 B 组表现优于 A 组。尽管术后 MoCA 得分在两组间也存在显著差异,但时间和组别的交互作用不显著,两组的认知能力变化趋势一致,较术前明显改善。本研究认为可能存在以下因素:①焦虑和抑郁状态、认知能力的改善,虽然是一个长期过程,但术后立刻就能观察到改善,并未受到手术及住院过程的影响,顺利完成手术会对患者心理状态产生积极影响;②术后 3 个月,患者经过复查及休养,未见明显的术后并发症,缓解患者焦虑和抑郁的状态,同时积极参与生活中,逐步改善认知能力;③两组患者术后 6 个月的对比,差异具有统计学意义。两组对比分析体现出 PEEK 材料的优越性,主要原因在:首先,PEEK 材料作为新型高分子材料,更好的组织相容性,通过 3D 打印实现个性化修补计划;其次,PEEK 材料对脑组织损伤小,完全契合缺损,降低术后并发症发生率,促进患者术后恢复;最后,PEEK 材料满足了患者对实现颅骨完整的生理需要,同时也满足了患者的心理需求,减轻患者焦虑和抑郁情绪,提高患者的精神状态,促进患者社会交往,进一步改善患者的认知能力。

CHEN K 等^[12]学者指出颅骨缺损带来的一系列问题突出了颅骨修补的重要性,颅骨修补材料的选择是最具争议的因素之一。选择合适的材料非常重要,需要考虑到其生物相容性、强度、耐久性,以及对大脑功能、颅骨形状和对切口的愈合影响等因素。在临床实践中,使用的修补材料包括自体骨、钛网、PEEK、复合骨水泥和其他异种移植材料。自体骨移植具有成本低、坚固和生物相容性高的优点。然而,自体骨的储存和骨吸收是影响在临床实践中广泛使用的重要因素^[13]。钛是一种有色惰性金属,与其他合成颅骨成形材料相比,钛同样具有高强度、高生物相容性,可通过基于计算机模型重建,定制出厚度 0.5~0.7 mm 的钛网板,与缺损部位的紧密贴敷,不会影响外观整体性,且其具有无磁性及射线透过性,术后 CT 和 MRI 经过程序化处理仍可以提供清晰的图像^[14]。PEEK 是一种芳香族半聚合物,其依靠 3D 打印技术的发展和完善,在临床应用中不断扩展和延伸。通过采集缺损部位的数据,通过 3D 打印重构缺损颅骨,实现个体化修补,完美契合缺损部位。PEEK 材料具有无磁性,避免

在之后的临床影像学检查中产生伪影,减少患者日常生活及出行中通过安全检查时,因体内存在异物而产生警报,对患者生活质量造成影响。其次,具有高度生物相容性,与人体骨密度更接近,减少免疫排斥反应;另外,其与钛网相比较,PEEK 材料具有低导热性,避免室外高温下,热量通过修补材料的传导,损伤脑组织的可能性^[15]。此外,3D 打印定制的个性化修补材料,实现与周围缺损颅骨的厚度一致性,完全嵌入缺损部位,通过钛连接片与周围颅骨固定,实现外观的美容效果。钛网需覆盖于缺损部位周围颅骨之上,下方即脑膜及脑组织,而 PEEK 材料被嵌入缺损的颅骨中时,其出色的生物相容性能够降低对脑组织的负面影响,促进脑组织的修复,同时显著减少了切口愈合不良和植入物外露等不良事件的发生。

在本研究中,对比分析两组患者的术后并发症发生率,A 组(钛网)的并发症发为 26.37%,其中 1 例为术后术区硬膜外血肿,但患者神志清楚,未达到手术指征,予以保守治疗后,血肿吸收,顺利出院。10 例患者术前无癫痫发作史,术后出现癫痫发作,予以临时肌注苯巴比妥钠及长期口服丙戊酸钠片控制,至随访时间内,未再次出现癫痫发作。皮下积液和切口愈合不良仍然是术后常见的并发症,占术后所有并发症的 29.16%,经过皮下积液穿刺抽吸及清洁换药,伤口逐渐愈合,未出现钛网外露,需要再次手术的患者。二次手术的切口是导致愈合问题的主要因素之一。B 组(PEEK)并发症发生率为 8.82%,与 A 组(钛网)并发症发生率相比较,具有显著的统计学意义。术后未出现严重并发症。分析原因在于:①具有高度生物相容性,减少修补材料对脑组织的影响;②3D 打印定制的个性化修补材料,与周围缺损颅骨的厚度一致性,完全嵌入缺损部位;③手术切口及暴露范围较小,无需扩大覆盖颅骨缺损部位;④解剖层次的缝合,游离出颞肌,覆盖于修补材料之上,实现解剖层次的复位。

本研究认为,通过颅骨缺损修补术实现颅骨的完整美观轮廓,避免再次损伤脑组织,改善脑脊液循环,恢复颅内压的适应性,满足患者的心理需求和改善患者的认知功能。但不同修补材料,其临床效果、术后并发症发生率、术后情绪和认知功能改善方面存在差异。PEEK 材料具有高度生物相容性,完全嵌入缺损部位,手术切口及暴露范围相对较小,无需扩大覆盖颅骨缺损部位;游离出颞肌,覆盖于修补材料之上,实现解剖层次的复位等优点。与 PEEK 材料嵌入缺损颅骨相比,钛网需覆盖于缺损部位周围颅骨之上,需要扩大游离缺损边缘。此外,PEEK 材料的应用有助于改善伤口愈合质量,并显著降低与植入物相关的并发症风险,如植入物暴露和切口感染,其良好的生物相容性更有

助于患者术后恢复。

综上所述,聚醚醚酮作为新型高分子材料,通过 3D 打印定制的个性化修补材料,实现与周围缺损颅骨的厚度一致性,完全嵌入缺损部位。实现了颅骨完整和外观美观的目的。高度的组织相容性,减少对脑组织的影响,改善了患者的情绪及认知功能,降低并发症发生率,提高了患者的满意度,改善生活质量。聚醚醚酮作为颅骨修补材料,将会得到更加广泛的认可和临床应用。

参考文献:

- [1] ACCIARRI N, PALANDRI G, CUOCI A, et al. Cranioplasty in neurosurgery: is there a way to reduce complications? [J]. *J Neurosurg Sci*, 2020, 64(1): 1-15.
- [2] KIM J H, CHOOY H, JEONG H, et al. Recent updates on controversies in decompressive craniectomy and cranioplasty: physiological effect, indication, complication, and management [J]. *Korean J Neurotrauma*, 2023, 19(2): 128-148.
- [3] XIAO Z Y. One case report of delayed severe intracerebral and intraventricular hemorrhage after cranioplasty [J]. *Br J Neurosurg*, 2024, 38(2): 536-539.
- [4] MAO H J, WANG L F, LIN C. Psychological intervention based on social cognitive theory: treating pain, anxiety, and depression in perioperative patients [J]. *World J Psychiatry*, 2024, 14(8): 1199-1207.
- [5] SPIHMAMN I, SCHENNACH R, SEEMÜLLER F, et al. Validity of remission and recovery criteria for schizophrenia and major depression: comparison of the results of two one-year follow-up naturalistic studies [J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2017, 267(4): 303-313.
- [6] NASREDDINE Z S, PHILLIPS N A, BÉDIRIAN V, et al. The montreal cognitive assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2005, 53(4): 695-699.
- [7] 吴新潮, 柴清喜, 李建军, 等. 重型颅脑损伤去骨瓣减压术后不同时点颅骨缺损修补近期效果和安全性对比研究 [J]. *河南外科学杂志*, 2024, 30(2): 29-31.
- [8] SPAKE C S L, BEQIRI D, RAO V, et al. Post-traumatic hydrocephalus may be associated with autologous cranioplasty failure, independent of ventriculoperitoneal shunt placement: a retrospective analysis [J]. *Br J Neurosurg*, 2022, 36(6): 699-704.
- [9] DELUCA R, POLLICINO P, RIFICI C, et al. Improving motor and cognitive recovery following severe traumatic brain injury using advanced emotional audio-video stimulation: Lessons from a case report [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(31): e26685.

(下转第 86 页)

本文引文格式: 雒虹邴, 梁晓莹, 童嫫, 等. 老年住院患者衰弱与甲状腺激素的关系研究[J].
右江民族医学院学报, 2025, 47(1): 82-86.

【论著与临床报道】

老年住院患者衰弱与甲状腺激素的关系研究

雒虹邴¹, 梁晓莹¹, 童嫫¹, 张杨毅¹, 曹晓倩², 王乃梅²

(1. 承德医学院, 河北 承德 067000;

2. 河北省承德市中心医院, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 探讨老年住院患者衰弱与甲状腺激素水平变化的关系。 **方法** 选取2023年11月至2024年7月于承德市中心医院内科老年住院患者166例, 同时收集患者的社会人口学一般资料及相关临床资料, 采用Fried衰弱表型对其衰弱程度进行评估。检测患者甲状腺激素水平, 分析其与老年住院患者衰弱程度的相关性。 **结果** 入组的166例老年住院患者中, 91例(54.82%)为非衰弱组患者, 75例(45.18%)为衰弱组患者。老年衰弱组患者年龄、独居、用药数目、FT₃、FT₄及白蛋白水平与非衰弱组患者相比差异均有统计学意义($P < 0.05$)。FT₃、FT₄、白蛋白水平降低以及用药数目增加是衰弱发生的独立危险因素, TSH水平变化与衰弱无关。 **结论** 老年住院患者FT₃、FT₄、白蛋白及用药数目可能与衰弱发生有关, 而TSH与衰弱无关。

关键词: 老年; 住院; 衰弱; 甲状腺激素

中图分类号: R592

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2025)01-0082-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.014

Study on the relationship between frailty and thyroid hormones in elderly hospitalized patients

LUO Hongli¹, LIANG Xiaoying¹, TONG Lei¹, ZHANG Yangyi¹,
CAO Xiaoqian², WANG Naimei²

(1. Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei, China;

2. Chengde Central Hospital, Chengde 067000, Hebei, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between frailty and changes in thyroid hormone levels in elderly hospitalized patients. **Methods** A total of 166 elderly inpatients from the internal medicine department of Chengde Central Hospital between November 2023 and July 2024 were selected. The general sociodemographic and relevant clinical data of the patients were collected at the same time, and the degree of frailty was assessed by using the Fried Frailty Phenotype. Thyroid hormone levels were measured, and their correlation with the degree of frailty in elderly hospitalized patients was analyzed. **Results** Of the 166 elderly inpatients enrolled, 91(54.82%) were classified as non-frail and 75(45.18%) as frail. Significant differences were observed between the frail and non-frail groups in terms of age, living alone, number of medications taken, FT₃, FT₄, and albumin levels ($P < 0.05$). Decreased FT₃, FT₄, and albumin levels, as well as an increased number of medications, were identified as independent risk factors for frailty. Changes in TSH levels were not associated with frailty. **Conclusion** FT₃, FT₄, albumin levels, and the number of medications may be related to the occurrence of frailty in elderly hospitalized patients, while TSH is not associated with frailty.

Key words: elderly; hospitalization; frailty; thyroid hormones

基金项目: 承德市科技支撑计划项目(202002A009)

第一作者: 雒虹邴, 在读硕士研究生, 研究方向: 老年病学, E-mail: lhlydsyjs@163.com

通讯作者: 王乃梅, 硕士, 主任医师, 研究方向: 老年医学, E-mail: naimei188@126.com

老龄人口比重显著增加已经成为全球各国的常见问题,我国自 21 世纪步入老龄化国家,60 岁以上人数超过 2.5 亿,老年人口所占比例逐步增长^[1]。衰弱是一种与衰老相关的渐进性衰退,个体处于各种应激源刺激下发展为住院、残疾甚至导致死亡等不良后果易感性增加的临床状态^[2]。衰弱的发生与多种因素相关,与内分泌系统相关的激素分泌和作用随衰老改变、激素替代不当和不良治疗反应,都是促进老年人群衰弱发生、发展的重要因素^[3]。老年甲状腺功能异常也与衰弱密切相关,可能会引起个体体能降低、注意力减退、心血管事件发生风险增加。多项研究显示甲状腺激素水平的变化可能是衰弱发生的影响因素^[4-7],但目前我国关于衰弱与甲状腺激素水平相关研究相对缺乏,因此本课题组旨在研究老年住院患者衰弱与甲状腺激素变化的相关性,为老年人群衰弱的早期提示及干预提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取自 2023 年 11 月至 2024 年 7 月于承德市中心医院住院的老年患者 166 例。纳入标准:①年龄超过 60 岁的患者;②自愿配合行 Fried 衰弱表型评估且知情同意后自愿将本次采集信息纳入本研究。排除标准:①意识不清、认知或智力缺陷、不能准确理解及配合完成量表内容者;②在研究期间接受甲状腺激素治疗患者;③已知既往甲状腺疾病治疗史或具有其他可以影响甲状腺功能的药物史和手术史患者;④拒绝参与本次研究者及量表信息或临床资料不全者。

1.2 研究工具

1.2.1 一般资料 研究者查阅国内外相关资料及文献的基础设计完成,包括一般社会人口学资料和临床资料两部分。一般社会人口学资料包括病人的姓名、年龄、性别、身高、体重、体质指数(BMI)、是否独居、吸烟及饮酒史等;临床资料包括甲状腺相关激素(TSH、FT₃、FT₄)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-

C)、尿酸、白蛋白、用药数目。

1.2.2 衰弱评估工具 采用 2017 年《老年患者衰弱评估与干预中国专家共识》推荐的 Fried 衰弱表型对病人进行衰弱评估^[8]。该评估方法共包含 5 个检测项目,分别是 1 年内出现原因不明的体重下降、行走时间延长、感觉疲乏、握力及体力活动降低,每满足 1 条检测项目异常得 1 分,共计 5 分,0 分为健康期,1~2 分为衰弱前期,超过 3 分为衰弱期。依据研究内容,上述条件满足 0 分者纳入非衰弱健康组,满足 1 分及以上纳入衰弱非健康组。

1.2.3 实验室检查 当天晨起安静状态下采集入组老年患者静脉血 5 mL 放置促凝管中离心,分离上层血清进行实验室检测。①甲状腺相关激素检测:使用全自动化学发光免疫分析仪检测血清中甲状腺相关激素。②生化检测:使用全自动生化分析仪对 TG、TC、LDL-C、HDL-C、尿酸、白蛋白进行生化检测(酶法)。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 27.0 软件进行数据分析。满足正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,两组间比较用 t 检验。不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位间距)即 [$M(P_{25} \sim P_{75})$] 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料用例(%)表示,两组间比较采用 χ^2 检验。采用单因素 Logistic 回归分析寻找与衰弱有关的因素。采用多因素 Logistic 回归方程分析甲状腺相关激素(FT₃、FT₄、TSH)与衰弱的关系。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般社会学基线资料比较 本研究共纳入 166 例病人,其中男性患者 74 例(44.58%),女性患者 92 例(55.42%);年龄 60~97 岁。根据病人 Fried 衰弱表型将其分为衰弱组和非衰弱组,其中衰弱组 75 例(45.18%),非衰弱组 91 例(54.82%)。2 组病人除在年龄、是否独居及用药数目方面差异有统计学意义($P < 0.05$),其他一般资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组数据一般资料比较

基本资料	非衰弱组($n=91$)	衰弱组($n=75$)	$\chi^2/t/Z$	P
年龄/岁	66.00(62.00~71.00)	73.00(65.00~80.00)	-4.192	<0.001
性别			0.202	0.653
男	42(46.15)	32(42.67)		
女	49(53.85)	43(57.33)		
身高/cm	164.00(159.00~170.00)	163.00(158.00~170.00)	-0.547	0.585
体重/kg	67.00±9.91	63.92±10.49	1.941	0.054
BMI/(kg·m ⁻²)	24.20(22.60~26.90)	24.00(21.80~26.60)	-1.188	0.235

表 1(续) 两组数据一般资料比较

基本资料	非衰弱组 ($n=91$)	衰弱组 ($n=75$)	$\chi^2/t/Z$	P
吸烟史			3.341	0.068
是	21(23.08)	27(36.00)		
否	70(76.92)	48(64.00)		
饮酒史			3.341	0.068
是	21(23.08)	27(36.00)		
否	70(76.92)	48(64.00)		
是否独居			7.550	0.006
独居	12(13.19)	23(30.67)		
非独居	79(86.81)	52(69.33)		
用药数目	6.00(5.00~7.00)	8.00(7.00~10.00)	-7.489	<0.001

注:表中体重为正态分布计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,年龄、身高、BMI、用药数目为非正态分布计量资料以 $M(P_{25}\sim P_{75})$ 表示,性别、吸烟、饮酒、是否独居为计数资料用 $[n(\%)]$ 表示。

2.2 老年住院患者生化资料比较 衰弱组患者 FT₃、FT₄ 和白蛋白水平低于非衰弱组,差异具有统计学意义($P<0.05$),而 TSH、TG、TC、LDL-C、HDL-C、尿酸在两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 两组临床资料比较

临床资料	非衰弱组	衰弱组	Z	P
TSH/ $(\mu\text{IU}\cdot\text{mL}^{-1})$	2.42(1.48~3.72)	2.25(1.11~4.43)	-0.016	0.987
FT ₃ / $(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	2.89(2.68~3.12)	2.12(1.86~2.35)	-10.199	<0.001
FT ₄ / $(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	12.50(11.90~13.30)	10.00(9.25~10.80)	-8.76	<0.001
TG/ $(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	1.64(1.12~2.44)	1.42(1.11~2.06)	-1.27	0.204
TC/ $(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	4.50(3.60~5.70)	4.40(3.40~5.10)	-0.859	0.391
LDL-C/ $(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	2.31(1.66~3.13)	2.23(1.62~2.96)	-0.675	0.500
HDL-C/ $(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	1.17(0.98~1.33)	1.11(0.93~1.36)	-0.639	0.523
尿酸/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	297.00(236.00~334.00)	283.00(234.00~370.00)	-0.151	0.880
白蛋白/ $(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	42.00(40.00~45.00)	37.00(34.00~41.00)	-7.169	<0.001

注:表内计量资料数据以 $M(P_{25}\sim P_{75})$ 表示。

2.3 多因素回归方程分析甲状腺相关激素与衰弱的相关性分析 经单因素筛选,研究中共纳入 FT₃、FT₄、年龄、用药数目、白蛋白、独居 6 个影响因素,一般认为每个自变量需要 15~20 例以上的观察个体^[9],经估算需样本量 120 例,考虑样本脱落情况,多收集 20% 的患者,共纳入 166 例,将单因素分析中差异有统计学意义的变量($P<0.05$)作为自变量,老年住院病人是否发生衰弱作为因变量,纳入多因素 Logistic 回归方程(自变量赋值情况如下:非独居=0,独居=1;因

变量赋值情况如下:非衰弱=0,衰弱=1),结果显示,校正年龄、是否独居后,FT₃、FT₄、用药数目及白蛋白后仍与衰弱相关($P<0.05$),用药数目是衰弱发生的危险因素,用药数目每增加一个单位,老年人群发生衰弱的可能性增加 3.260 倍(OR 值为 3.260,95% CI : 1.424~7.466),白蛋白浓度增高则是老年人群衰弱发生的保护因素,白蛋白浓度每增加一个单位,老年人衰弱发生的可能性降低 0.761 倍(OR 值为 0.761,95% CI : 0.586~0.988),见表 3。

表 3 住院患者衰弱与多因素 Logistic 回归分析

影响因素	b	SE	Wald χ^2	OR (95% CI)	P
FT ₃	-12.530	3.681	11.586	0.000(0.000~0.005)	<0.001
FT ₄	-1.580	0.476	11.014	0.206(0.081~0.524)	<0.001
年龄	0.016	0.073	0.046	1.016(0.880~1.173)	0.830
用药数目	1.182	0.423	7.816	3.260(1.424~7.466)	0.005
白蛋白	-0.273	0.133	4.193	0.761(0.586~0.988)	0.041
独居	0.175	1.169	0.022	1.192(0.121~11.777)	0.881

3 讨论

第七次全国人口普查结果提示我国已经从轻度过渡为中度老龄化国家,且低龄老年人口占总体老年人口比重超过 50%,全国老年人口抚养比与 2010 年相较,提高了 7.8%^[10],给我国经济造成不小的负担。衰弱是与老龄化相关的脆弱性增加的一种综合征,个体的功能会随着老龄化而逐渐衰退,因此,衰弱与衰老过程、各种慢性并发症及多种危险因素有关^[11]。国内一项研究显示衰弱与老龄化、睡眠状况、饮食、运动、口腔卫生以及居住环境等生活方式也具有相关性^[12],另一项关于衰弱的研究进展^[13]显示衰弱可能与慢性炎症、激素、物质代谢、营养相关指标、血栓形成过程等相关。甲状腺是人体中最大的内分泌器官,甲状腺激素在血液循环系统、维持骨骼肌正常功能、保障机体正常代谢等方面均有重要作用。甲状腺疾病是临床上内分泌相关疾病中最常见的类型,腺体随着衰老逐渐萎缩及纤维化,甲状腺释放的相关激素也随之发生改变, T_3 水平与年龄增长呈负相关,血清中 FT_3 降低刺激垂体作用于下丘脑-垂体-甲状腺轴(HPT 轴)导致 TSH 水平偏高^[3],老年人正是甲状腺疾病的高发人群,我国半数以上的老年人都存在甲状腺疾病,其中最常见的甲状腺疾病是亚临床甲状腺功能减退^[14]。法国内分泌学会于 2020 年发布了有关老年人甲状腺功能异常的管理共识,指出由于甲状腺的形态可随年龄增加而改变,这使得甲状腺激素的合成及释放受到影响,从而导致 HPT 轴释放更多的 TSH 代偿^[15],血清 FT_3 随年龄增加逐渐降低, FT_4 则无明显变化^[16]。甲状腺激素对人体无论是在生理机能方面还是认知方面都十分重要,有助于预防衰弱的发生^[17]。BERTOLI A 等^[5]的一项观察性研究显示低水平 FT_3 在量化衰弱状况起重要作用,而 FT_4 和 TSH 对衰弱无相关。一项来自韩国的代表性数据显示过高或过低的 FT_4 及较高的 TSH 均与衰弱风险相关^[18]。本研究结果显示过低水平的 FT_3 和 FT_4 均会影响衰弱状况,而 TSH 水平则与衰弱无相关性。考虑其原因可能是由于老年人群衰弱易合并肌少症、骨密度降低和残疾等并发症,使得体内炎症因子如 IL-6 浓度增高,最终引起游离甲状腺激素的血清浓度降低^[5],也可能是由于游离甲状腺激素降低时机体基础代谢率也随之降低,刺激蛋白质分解、抑制其合成,导致老年人脆弱性增加。TSH 水平变化与衰弱无关的原因可能是随着年龄的增长,细胞介质和炎症因子作用于 HPT 轴,迫使负反馈轴调节机制发生改变^[19],本研究结果与国外研究不一致的原因还可能与研究人种差异、纳入排除标准不同及患病种类或状态相关。但国外有一项研究结果^[20]显示 TSH 水平与老年人出现衰弱的负面表现相关,包括容易感觉疲

乏、肌肉无力、步态速度慢的出现概率明显升高,血清 TSH 水平较高的男性和血清 TSH 水平较低的女性较 TSH 正常的人群衰弱风险增加。除此之外,国内一项研究显示^[21]年龄、白蛋白均是老年血液透析患者衰弱的影响因素,本研究结果也提示血清白蛋白水平(ALB)过低与衰弱密切相关。本研究结果还显示衰弱与用药数目相关,这与国内的另外一项研究结果相同^[22]。查阅国内外文献目前对脂代谢与衰弱发生的关系尚不明确,一项来自国外的横断面研究显示^[23]低水平的 HDL-C 和增加的腰围会显著增加衰弱的概率,但本研究结果显示衰弱与脂质代谢并无统计学差异,这与张佳佳等^[24]得到的研究结果一致,因此脂质代谢可能尚不能作为预测衰弱的重要影响因素。

综上所述,甲状腺激素水平的变化可能与老年人群衰弱的发生有密切关系,就本研究结果而言,低水平的 FT_3 和 FT_4 激素可能对老年衰弱具有提示作用,而 TSH 与老年人群衰弱的发生无相关性。除此之外,低水平白蛋白和药物数量增加也与衰弱有相关性。但本研究尚有不足之处,入组患者主要来自承德市某三甲医院内科住院人群,来源较为单一,且样本量偏少,未评估经济条件、心理状况、自理能力等外界因素,因此不能排除混杂因素干扰最终结果,还需进一步扩大入组来源及数量。本研究结果为关注老年衰弱的影响因素和早期预防提供一定的参考。

参考文献:

- [1] 赵秋红. 中国人口老龄化问题及应对策略[J]. 经济师, 2024(4):38-40.
- [2] CESARI M, CALVANI R, MARZETTI E. Frailty in older persons[J]. Clin Geriatr Med, 2017, 33(3):293-303.
- [3] 中华医学会老年医学分会.《中华老年医学杂志》编辑委员会. 中国老年衰弱相关内分泌激素管理临床实践指南(2023)[J]. 中华老年医学杂志, 2023, 42(2):121-143.
- [4] GUAN B, LUO J K, HUANG X, et al. Association between thyroid hormone levels and frailty in the community-dwelling oldest-old: a cross-sectional study[J]. Chin Med J, 2022, 135(16):1962-1968.
- [5] BERTOLI A, VALENTINI A, CIANFARANI M A, et al. Low FT_3 : a possible marker of frailty in the elderly[J]. Clin Interv Aging, 2017, 12:335-341.
- [6] BHALLA N S, VINALES K L, LI M, et al. Low TSH is associated with frailty in an older veteran population independent of other thyroid function tests[J]. Gerontol Geriatr Med, 2021, 7:2333721420986028.
- [7] EL GAYAR N H, MEHANA M A, ZAKI R M, et al. Study on the relationship between thyroid function and frailty in elderly[J]. Egypt J Hosp Med, 2022, 88(1): 2856-2860.

- [8] 郝秋奎,李峻,董碧蓉,等.老年患者衰弱评估与干预中国专家共识[J].中华老年医学杂志,2017,36(3):251-256.
- [9] 宇传华.SPSS 与统计分析[M].北京:电子工业出版社,2007:366.
- [10] 许春.我国人口老龄化现状[J].中国农村卫生事业管理,2021,41(11):823.
- [11] SLAETS J P J. Vulnerability in the elderly: frailty[J]. *Med Clin North Am*,2006,90(4):593-601.
- [12] 袁素亚,张海娇,赵丽华,等.老年住院患者衰弱与生活方式的相关性研究[J].河北医药,2024,46(13):2043-2047.
- [13] 吴粉毅,李维辛,陈菲,等.老年衰弱的生物标记物研究进展[J].实用老年医学,2020,34(8):844-847.
- [14] ZHAI X D,ZHANG L,CHEN L L,et al. An age-specific serum thyrotropin reference range for the diagnosis of thyroid diseases in older adults:a cross-sectional survey in China [J]. *Thyroid*,2018,28 (12):1571-1579.
- [15] 张荧钗,张华,徐书杭,等.法国内分泌学会关于老年人甲状腺功能异常管理共识的解读和思考[J].中华内分泌代谢杂志,2021,37(8):764-767.
- [16] 中华医学会老年医学分会,《中华老年医学杂志》编辑委员会.中国老年衰弱相关内分泌激素管理临床实践指南(2023)[J].中华老年医学杂志,2023,42(2):121-143.
- [17] 任卓,姚晓东.内分泌激素与老年衰弱相关性的研究进展[J].国际老年医学杂志,2023,44(6):743-746.
- [18] LEE Y J,KIM M H,LIM D J,et al. Exploring the association between thyroid function and frailty: insights from representative Korean data[J]. *Endocrinol Metab*,2023,38(6):729-738.
- [19] BANO A,CHAKER L,SCHOUFOR J,et al. High circulating free thyroxine levels may increase the risk of frailty:the rotterdam study[J]. *J Clin Endocrinol Metab*,2018,103(1):328-335.
- [20] VERONESE N,FERNANDO-WATUTANTRIGE S,MAGGI S,et al. Serum thyroid-stimulating hormone levels and frailty in the elderly: the Progetto Veneto Anziani Study[J]. *Rejuvenation Res*,2017,20(3):165-172.
- [21] 朱蓓,杭乐佳,高飞,等.老年血液透析病人衰弱与血清瘦素及 25-羟维生素 D 的相关性研究[J].实用老年医学,2024,38(6):603-606.
- [22] 于志超,陈楠,徐红.新疆老年住院病人 25 羟维生素 D 及同型半胱氨酸与衰弱的相关性研究[J].实用老年医学,2023,37(7):667-670.
- [23] BUCHMANN N,SPIRA D,KÖNIG M,et al. Frailty and the metabolic syndrome-results of the berlin aging study II (BASE-II)[J]. *J Frailty Aging*,2019,8:169-175.
- [24] 张佳佳,王丽.老年 2 型糖尿病病人糖脂代谢指标与衰弱程度的相关性研究[J].实用老年医学,2020,34(4):344-347.

收稿日期:2024-10-14;修回日期:2024-11-17

(本文编辑 覃黎黎)

(上接第 81 页)

- [10] 谢勇,高亚飞.早期颅骨修补术应用于脑外伤患者的疗效及其对神经功能、应激反应、认知功能的影响[J].检验医学与临床,2023,20(17):2529-2532.
- [11] 刘雷震,张圣旭,王贵聪.去骨瓣减压术后不同时间颅骨修补术对颅脑创伤患者运动功能、神经功能及自主生活能力的影响[J].临床医学工程,2023,30(12):1689-1690.
- [12] CHEN K,LIANG W J,ZHU Q Y,et al. Clinical outcomes after cranioplasty with titanium mesh, polyetheretherketone, or composite bone cement: a retrospective study[J]. *J Craniofac Surg*,2023,34(8):2246-2251.
- [13] YANG J G,SUN T,YUAN Y K,et al. Evaluation of titanium mesh cranioplasty and polyetheretherketone cranioplasty: protocol for a multicentre, assessor-blinded, randomised controlled trial[J]. *BMJ open*,2019,9(12):e033997.
- [14] JOHNSON W C,RAVINDRA V M,FIELDER J,et al. Surface area of decompressive craniectomy predicts bone flap failure after autologous cranioplasty:a radiographic cohort study[J]. *Neurotrauma Rep*,2021,2(1):391-398.
- [15] KIRMANIDOU Y,CHATZINIKOLAIDOU M,MICHALAKIS K,et al. Clinical translation of polycaprolactone-based tissue engineering scaffolds, fabricated via additive manufacturing:a review of their craniofacial applications[J]. *Biomater Adv*,2024,162:213902.

收稿日期:2024-08-17;修回日期:2024-10-28

(本文编辑 钟琳)

本文引文格式:罗兰波,黄丽花,周游,等.靶向高通量测序技术在结核分枝杆菌及其耐药性快速检测中的应用[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):87-91,110.

【论著与临床报道】

靶向高通量测序技术在结核分枝杆菌及其耐药性快速检测中的应用

罗兰波¹,黄丽花¹,周游¹,胡敏¹,眭文娴¹,陈桂彬¹,石柳春²,杨小兵³

(1. 广西壮族自治区胸科医院医学检验科,广西 柳州 545005;

2. 广西壮族自治区胸科医院公卫中心,广西 柳州 545005;

3. 广西壮族自治区胸科医院科教科,广西 柳州 545005)

摘要:目的 评价运用靶向高通量测序(tNGS)检测临床标本结核分枝杆菌(MTB)及其耐药性的价值。方法 回顾性分析2022年1月1日至2023年12月31日在广西胸科医院收治的疑似耐药肺结核患者的痰样本或气管肺泡灌洗液(BALF)样本213例进行tNGS,并将结果与传统培养及表型药物敏感性试验(DST)、快速分子技术进行比较,以表型DST为标准,进一步分析tNGS对抗结核药物耐药性的敏感度、特异度、准确度、Kappa值。结果 213例临床标本(痰液、BALF)传统培养结核分枝杆菌检出率为64.32%(137/213),tNGS法结核分枝杆菌检出率为96.24%(205/213),快速分子方法结核分枝杆菌检出率为74.18%(158/213),tNGS法检测MTB的阳性检出率最高,明显高于快速分子方法($\chi^2=41.149, P<0.001$)和传统培养($\chi^2=68.568, P<0.001$)。与137例有表型药敏结果比较,表型药敏试验与tNGS对利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、对氨基水杨酸、卡那霉素、卷曲霉素的耐药检出率,差异均无统计学意义($P>0.05$);以表型药敏结果为金标准,tNGS法检测利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、对氨基水杨酸、氟喹诺酮类、卡那霉素、卷曲霉素的敏感度分别为95.97%、87.37%、71.70%、74.47%、0、82.76%、50.00%及100%;特异度分别为92.31%、97.62%、97.62%、91.11%、100%、97.22%、100%和99.26%;准确度分别为95.62%、90.51%、87.59%、85.40%、99.27%、94.16%、97.81%及99.27%;Kappa值分别为0.776、0.792、0.726、0.669、—、0.821、0.657和0.796。**结论** tNGS法可以直接从临床标本中快速准确地检测结核分枝杆菌,预测利福平、异烟肼、氟喹诺酮类、卷曲霉素、链霉素、乙胺丁醇、卡那霉素和对氨基水杨酸等抗结核药物耐药性的准确度达到85%以上,对利福平、异烟肼、氟喹诺酮类药物、卷曲霉素的耐药性诊断有较好的应用价值。

关键词:靶向高通量测序;结核分枝杆菌;耐药

中图分类号:R378.911

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0087-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.015

Application of targeted next-generation sequencing technology in the rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and its drug resistance

LUO Lanbo¹, HUANG Lihua¹, ZHOU You¹, HU Min¹, SUI Wenxian¹,
CHEN Guibin¹, SHI Liuchun², YANG Xiaobing³

(1. Department of Medical Laboratory, Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 2. Public Health Center, Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 3. Department of Science and Education, Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the value of targeted next-generation sequencing (tNGS) in detecting *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and its drug resistance in clinical specimens. **Methods** A retrospective a-

基金项目:广西科技重大专项(AA22096027);广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2021031)

第一作者:罗兰波,主管技师,研究方向:结核分子检测,E-mail:31658561@qq.com

通讯作者:杨小兵,主任技师,研究方向:结核分子检测,E-mail:42225686@qq.com

analysis was conducted of 213 sputum samples or bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples from patients with suspected drug-resistant pulmonary tuberculosis admitted to Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital from January 1, 2022, to December 31, 2023. These samples underwent tNGS and the results were compared with those of traditional culture and phenotypic drug susceptibility testing (DST), as well as rapid molecular techniques. Using phenotypic DST as the gold standard, the sensitivity, specificity, accuracy, and Kappa values of tNGS for detecting resistance to anti-tuberculosis drugs were further analyzed. **Results** Among the 213 clinical specimens (sputum and BALF), the detection rate of MTB by traditional culture was 64.32% (137/213), while the detection rate by tNGS was 96.24% (205/213) and by rapid molecular methods was 74.18% (158/213). The positive detection rate of MTB by tNGS was the highest, significantly higher than that by rapid molecular methods ($\chi^2 = 41.149, P < 0.001$) and traditional culture ($\chi^2 = 68.568, P < 0.001$). When compared with the phenotypic DST results of 137 specimens, there were no statistically significant differences in the detection rates of resistance to rifampin, isoniazid, streptomycin, ethambutol, fluoroquinolones, para-aminosalicylic acid, kanamycin, and capreomycin between phenotypic DST and tNGS ($P > 0.05$). Taking phenotypic DST as the gold standard, the sensitivity of tNGS for detecting resistance to rifampin, isoniazid, streptomycin, ethambutol, para-aminosalicylic acid, fluoroquinolones, kanamycin, and capreomycin was 95.97%, 87.37%, 71.70%, 74.47%, 0%, 82.76%, 50.00%, and 100%, respectively; the specificity was 92.31%, 97.62%, 97.62%, 91.11%, 100%, 97.22%, 100%, and 99.26%, respectively; the accuracy was 95.62%, 90.51%, 87.59%, 85.40%, 99.27%, 94.16%, 97.81%, and 99.27%, respectively; and the Kappa values were 0.776, 0.792, 0.726, 0.669, —, 0.821, 0.657, and 0.796, respectively. **Conclusion** tNGS can rapidly and accurately detect MTB directly from clinical specimens and predict resistance to anti-tuberculosis drugs such as rifampin, isoniazid, fluoroquinolones, capreomycin, streptomycin, ethambutol, kanamycin, and para-aminosalicylic acid with an accuracy of over 85%. It has good application value in diagnosing drug resistance to rifampin, isoniazid, fluoroquinolones, and capreomycin.

Key words: targeted next-generation sequencing; *Mycobacterium tuberculosis*; drug resistance

在全球范围内,结核病仍然是一个巨大的公共卫生问题。2021 年全球估计新增 1 060 万人(95% CI: 990 万~1100 万)患上结核病,耐药结核病的出现和传播是 2035 年结束全球结核病流行这一目标的主要威胁^[1]。耐药结核病(DR-TB)主要指耐利福平结核病(RR-TB)以及耐多药结核病(MDR-TB)(即对利福平和异烟肼都产生耐药的结核病)。2022 年报告显示,我国共有 12 846 例 MDR/RR-TB 患者开始接受治疗,但是 2019 年开始治疗的 MDR/RR-TB 患者的治疗成功率仅为 53%^[1],稍低于全球耐药结核病治疗成功率(60%)。因此,快速准确鉴定 DR-TB 患者对指导早期临床用药,提高治愈率具有重要意义。DR-TB 的药敏试验目前有快速分子检测、表型药敏检测及测序技术^[2]。当前,结核病的实验室诊断技术不断进步,从传统抗酸染色、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)培养、体外药敏等经典细菌学检查发展成包括结核免疫学、分子生物学检测及结核病辅助检测等多方面的结核病临床检验体系。现有的商业化耐药结核检测方法包括 XpertMTB/RIF assay、线性探针技术、基因芯片技术、探针-熔解曲线技术等,已经能一定程度上提高耐药结核的诊断及时率和准确

率,但是对于组合抗结核药物的使用情况以及后继耐药出现的监测上目前分子检测技术还存在仅检测部分药物的耐药突变基因,无法确定异质性耐药比例,有些突变(同义突变、沉默突变等)不会影响耐药以及未覆盖所有的耐药突变位点等缺点。靶向高通量测序属于高通量测序技术的一种,高通量测序泛指二代测序技术和三代测序,也被统称为新一代测序技术(next generation sequencing, NGS)。依据检测策略的不同,高通量测序方法主要分为靶向测序(targeted tNGS)、宏基因组(metagenomics NGS),以及全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)。tNGS 先通过靶向捕获特定基因后再进行高通量测序,具有能同时平行检测多个靶基因的特点,近期在 MTB 耐药基因检测领域开始被应用^[3]。现有证据支持对确诊的结核病患者采用 tNGS 技术进行快速诊断耐药,以为结核病治疗方案的制定提供更全面的耐药谱,提高化疗方案制定的精准性^[4]。随着测序技术的成熟及成本的降低,基因组测序已在 MTB 的研究中发挥了巨大的作用^[5-6]。综合以上考虑,选取了靶向高通量测序作为本次研究的主要检测手段。本研究对广西壮族自治区胸科医院 2022 年 1 月至 2023 年 12 月运用 tNGS 技术

直接检测疑似耐药结核患者的痰、支气管肺泡灌洗液(BALF)等标本,并将结果与传统培养、快速分子技术检测结果进行比较分析,评价运用 tNGS 检测临床标本结核分枝杆菌及其耐药性的价值。

1 材料和方法

1.1 研究材料 2022 年 1 月至 2023 年 12 月在广西壮族自治区胸科医院结核利福平快筛检测阳性的 213 例疑似耐药结核患者的临床标本,其中 124 例痰液标本、89 例 BALF 标本。每例样本留取 3 份,1 份进行传统的分枝杆菌培养、菌种鉴定和表型药敏试验,1 份进行 tNGS 检测 MTB 及其耐药性检测,另 1 份进行快速分子方法(Xpert MTB/RIF 或荧光 PCR 熔解曲线法)检测。

1.2 仪器与试剂 改良罗氏培养基、噻吩-2 羧酸肼(TCH)、对硝基苯甲酸(PNB),以及利福平(RFP)、异烟肼(INH)等抗结核药物含药培养基购自珠海贝索生物技术有限公司;至善 Lab-Aid824s 核酸提取仪、MTB 的 REP 和 INH 药物荧光定量 PCR 探针熔解曲线法耐药性检测试剂盒、实时荧光定量 PCR 仪(SLAN-96S 型)及熔解曲线分析软件为厦门致善生物科技股份有限公司产品。美国 Cepheid 公司的 Xpert MTB/RIF 实时荧光 PCR 仪及配套检测试剂盒。高通量测序仪 MGISEQ200、纳米孔测序仪 ONT MinION 及思可愈 TBseq 检测试剂盒。

1.3 试验方法

1.3.1 分枝杆菌培养、菌种鉴定和表型药敏试验 对临床标本进行处理后,接种于珠海贝索生物技术有限公司生产的改良罗氏培养基(批号 202307261650081030001),置 37 °C 进行分枝杆菌培养。分枝杆菌培养阳性的分离株采用 PNB(珠海贝索生物技术有限公司生产,批号 202312211046336900004)和 TCH(批号 202308171638306700004)含药培养基进行鉴别培养,待鉴定为 MTB 后,进行表型药敏试验比例法。表型药敏试验采用珠海贝索生物技术有限公司生产的药敏培养基(批号 202308171638306700004),该试验涉及的药物种类包括利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、对氨基水杨酸、氧氟沙星、卡那霉素和卷曲霉素等 8 种。

1.3.2 DNA 制备及加样 临床标本经液化和洗涤处理后,采用至善 Lab-Aid824s 核酸提取仪和核酸提取试剂,按照说明书进行 DNA 提取,然后置于 -20 °C 储存备用。

1.3.3 PCR 熔解曲线法 RFP/INH 耐药性检测 厦门致善生物科技股份有限公司研发的利福平(批号 22120501)、异烟肼(批号 22120601)耐药检测试剂盒,将提取好的核酸按照说明书进行 MTB 对 RFP 和 INH 耐药性检测。

1.3.4 Xpert MTB/RIF 检测 取 1 mL 痰液或其它样本加入 2 mL 标本处理液,按照操作规程将处理好的样本加入检测盒(瑞典赛沛公司生产的结核分枝杆菌 *rpoB* 基因和突变检测试剂盒,批号 1000654374),置于 GeneXpert 检测模块自动检测,针对结核分枝杆菌利福平耐药 *rpoB* 基因检测其突变情况。

1.3.5 tNGS 检测 多重 PCR、文库制备和测序: NanoTNGS 检测的文库制备涉及两步聚合酶链式反应(PCR)过程。第一步 PCR 中,30 μ L 的 PCR 混合液包括 50 ng 的 DNA 提取物、3 μ L 浓度为 0.2 pmol/ μ L 的引物和 15 μ L 的多重 PCR 母液(货号 BR0200801, Biotechrabbit GmbH, 柏林, 德国)。引物设计用于靶向 16S rDNA 和 *hsp65* 以鉴定分枝杆菌种类,并靶向 *rpoB*、*katG*、*thyA*、*ahpC*、*alr*、*eis*、*embA*、*embB*、*ethA*、*folC*、*gibB*、*gyrA*、*gyrB*、*inhA*、*pncA*、*rplC*、*rpsL*、*rrs*、*rv0678*、*atpE* 和 *tlyA* 以预测耐药基因。扩增反应如下:在 95 °C 下预变性 3 min,随后进行 35 个循环的变性(95 °C、15 s),退火(60 °C、45 s),延伸(72 °C、15 s),最后在 72 °C 下延伸 3 min。从第一次扩增步骤中获得的产物然后使用相同的多重 PCR 母液进行纳米孔 PCR 条形码扩展。这一步的反应条件为:在 95 °C 下预变性 3 min,随后进行 35 个循环的变性(95 °C、30 s),退火(64 °C、30 s),延伸(72 °C、1 min),最后在 72 °C 下延伸 3 min。在这个过程中,为了评估纯化文库的浓度,本课题组使用了 Equalbit 1 \times dsDNA HS 检测试剂盒(货号 EQ121-01, 南京微测生物科技有限公司)。端修复使用了 VAHTS 通用端修复模块(货号 N203, 南京微测生物科技有限公司)中的端修复混合物 4。接头连接使用了 VAHTS 通用 DNA 文库制备试剂盒(Illumina V3, 货号 ND607, 南京微测生物科技有限公司)中的快速 DNA 连接酶和快速连接缓冲液。文库构建使用了连接测序试剂盒 V14(SQK-LSK114, Oxford Nanopore Technologies, 英国牛津)。每次扩增步骤后都使用 VAHTS DNA 纯化珠(货号 N411-01, 南京微测生物科技有限公司)进行纯化。最后,将 12 μ L 的混合文库加载到纳米孔流动单元(R9.4.1)中,在 GridION 测序平台上进行测序。基础调用数据使用 MinKNOW 2.0 版本生成,小尺寸和/或低质量的读数使用 NanoFilt 移除。当至少一个读数映射到物种或属水平时,认为结核分枝杆菌呈阳性^[7]。通过靶向纳米孔测序检测到的抗生素耐药基因使用综合抗生素耐药数据库(CARD)、ResFinder 或 TBProfiler 数据库进行预测,默认对齐设置为($\geq 80\%$ 的身份率覆盖 $\geq 60\%$ 的目标基因长度^[8])。变异调用的阈值设定为等位基因频率 $> 10\%$,深度 > 10 ,等位基因深度 > 5 ^[9]。

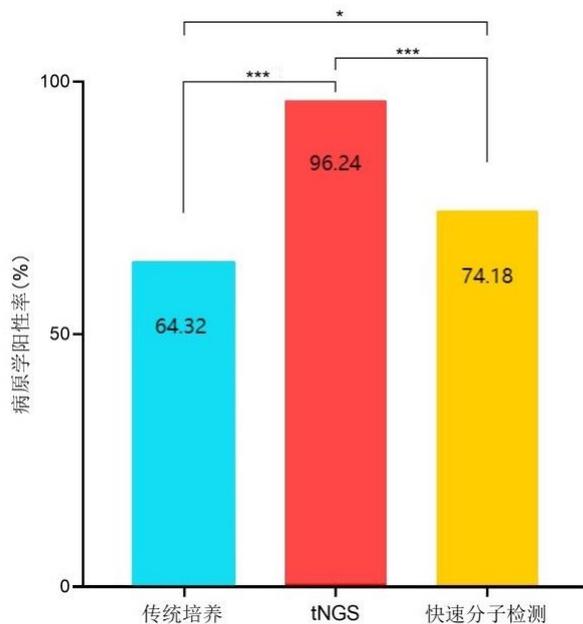
1.4 统计学方法 用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料采用频数(n)和百分数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以表型药敏试验结果为金标准,计算 tNGS 和荧光 PCR 溶解曲线法的敏感度、特异度、符合率和 Kappa 值。Kappa 值 ≥ 0.75 说明一致性好;Kappa 值 < 0.4 说明一致性差; $0.75 > \text{Kappa 值} \geq 0.4$,说明一致性一般^[10]。

2 结果

2.1 不同检测方法对结核分枝杆菌(MTB)检出率的比较 213 例临床标本(痰液、BAL),传统培养结果为 74 例培养阴性,139 例培养阳性。对阳性菌株进行 PNB 和 TCH 菌种鉴定结果是非结核分枝杆菌 2 株、结核分枝杆菌 137 株,结核分枝杆菌检出率为 64.32% (137/213);tNGS 法检测结果为非结核分枝杆菌 1 例、阴性 7 例、结核分枝杆菌 205 例,结核分枝杆菌检出率为 96.24% (205/213)。快速分子方法检测结果为结核分枝杆菌 158 例,阴性 55 例,结核分枝杆菌检出率为 74.18% (158/213)。tNGS 法检测 MTB 的阳性检出率最高,明显高于快速分子方法($\chi^2 = 41.149$, $P < 0.001$)和传统培养($\chi^2 = 68.568$, $P < 0.001$)。见图 1。

2.2 137 例 tNGS 与表型药敏方法对 MTB 的检出阳性率及抗结核耐药性检出结果比较 213 例临床标本中,有 137 例同时有 tNGS 与表型药敏法的 MTB 检

出率及抗结核耐药性药敏结果。以这 137 例标本做为研究对象,表型药敏试验与 tNGS 对利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、对氨基水杨酸、卡那霉素、卷曲霉素的耐药检出率,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。以表型药敏试验结果为标准,tNGS 法检测利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、对氨基水杨酸、氟喹诺酮类、卡那霉素、卷曲霉素的敏感度,见表 2。



注: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 213 例临床标本传统培养、tNGS 及快速分子检测 MTB 结果比较

表 1 tNGS 与表型药敏法的耐药性检出结果比较

检测方法	n	利福平	异烟肼	链霉素	乙胺丁醇	氟喹诺酮类	对氨基水杨酸	卡那霉素	卷曲霉素
表型药敏试验	137	124(90.51)	95(69.34)	53(38.69)	47(34.31)	29(21.17)	1(0.73)	6(4.38)	2(1.46)
tNGS	137	120(87.59)	84(61.31)	40(29.20)	43(31.39)	27(19.71)	0(0.00)	3(2.19)	3(2.19)
χ^2		0.599	1.950	2.751	0.265	0.090	—	0.460	0.000
P		0.439	0.163	0.097	0.607	0.764	1.000	0.498	1.000

注:表内计数资料数据用[n (%)]表示。

表 2 tNGS 法检测结核分枝杆菌耐药性的效能

检测药物	药敏试验		敏感度 (%,95% CI)	特异度 (%,95% CI)	准确度 (%,95% CI)	Kappa 值	P																												
	耐药	敏感																																	
利福平	耐药	119	95.97(92.51~99.43)	92.31(77.82~100.00)	95.62(92.19~99.05)	0.776	< 0.001																												
	敏感	5						12	异烟肼	耐药	83	87.37(80.69~94.05)	97.62(93.01~100.00)	90.51(85.60~95.42)	0.792	< 0.001	敏感	12	41	链霉素	耐药	38	71.70(59.57~83.83)	97.62(94.36~100.00)	87.59(82.07~93.11)	0.726	< 0.001	敏感	15	82	乙胺丁醇	耐药	35	74.47(62.00~86.93)	91.11(85.23~96.99)
异烟肼	耐药	83	87.37(80.69~94.05)	97.62(93.01~100.00)	90.51(85.60~95.42)	0.792	< 0.001																												
	敏感	12						41	链霉素	耐药	38	71.70(59.57~83.83)	97.62(94.36~100.00)	87.59(82.07~93.11)	0.726	< 0.001	敏感	15	82	乙胺丁醇	耐药	35	74.47(62.00~86.93)	91.11(85.23~96.99)	85.40(79.49~91.31)	0.669	< 0.001	敏感	12	82					
链霉素	耐药	38	71.70(59.57~83.83)	97.62(94.36~100.00)	87.59(82.07~93.11)	0.726	< 0.001																												
	敏感	15						82	乙胺丁醇	耐药	35	74.47(62.00~86.93)	91.11(85.23~96.99)	85.40(79.49~91.31)	0.669	< 0.001	敏感	12	82																
乙胺丁醇	耐药	35	74.47(62.00~86.93)	91.11(85.23~96.99)	85.40(79.49~91.31)	0.669	< 0.001																												
	敏感	12						82																											

表 2(续) tNGS 法检测结核分枝杆菌耐药性的效能

检测药物	药敏试验		敏感度 (%,95% CI)	特异度 (%,95% CI)	准确度 (%,95% CI)	Kappa 值	P
	耐药	敏感					
对氨基水杨酸	耐药	0	0	100(100.00~100.00)	99.27(97.84~100.00)	—	
	敏感	1	136				
氟喹诺酮类	耐药	24	3	82.76(69.01~96.51)	97.22(94.12~100.00)	94.16(90.23~98.09)	0.821 <0.001
	敏感	5	105				
卡那霉素	耐药	3	0	50.00(9.99~90.01)	100.00(100.00~100.00)	97.81(95.36~100.00)	0.657 <0.001
	敏感	3	131				
卷曲霉素	耐药	2	1	100.00(100.00~100.00)	99.26(97.81~100.00)	99.27(97.84~100.00)	0.796 <0.001
	敏感	0	134				

注:对于对氨基水杨酸,由于没有耐药病例,敏感度无法计算,故标为“—”。

3 讨论

中国仍然是全球耐药结核病高负担国家之一。耐药结核病由于早期诊断和治疗存在困难,目前已成为结核病控制的热点和难点之一,明显降低了结核病的治愈率。传统的 MTB 检测技术主要以痰涂片和培养为主,固体培养及药敏试验耗时长,通常需要 2~3 个月,无法达到对结核病患者的及时发现和合理治疗的目的。快速分子诊断技术,如 Xpert MTB/RIF、线性探针技术和焦磷酸测序等,这些方法都是快速检测与耐药性相关的基因突变且只评估有限的基因靶标^[11]。自世界卫生组织指南发布以来,全基因组测序(WGS)和靶向下一代测序(tNGS)方法已被用于预测结核病的耐药性^[12]。本研究数据显示,tNGS 直接检测 213 例疑似耐药结核病患者的临床标本的 MTB 检出阳性率 96.24% 高于 HE Y 等^[13]研究的检出 MTB 阳性率 83.3%,接近 KAMBLIP 等^[14]报道的 MTB 检出阳性率 97.5%。tNGS、传统培养和快速分子技术检测临床标本 MTB 的阳性检出率差异有统计学意义,tNGS 阳性检出率明显高于快速分子技术和传统培养。

本研究通过 Kappa 一致性分析以及计算敏感度、特异度、准确度等,对本研究中同时具有表型药敏结果和 tNGS 检测结果的 137 例临床标本进行分析。本研究结果发现,只有利福平和卷曲霉素敏感度在 95% 以上,其余药物均低于 90%,而特异度均在 90% 以上且高于敏感度。敏感度低于特异度的原因与可能结核分枝杆菌复合群的异质性耐药有关^[15]。COLL F 等^[16]研究中利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、卡那霉素及卷曲霉素的敏感度分别为 96.2%、92.8%、87.1%、88.7%、85.5%、87.3% 及 60.7%;特异度分别为 98.1%、100%、89.7%、81.7%、94.9%、93.4% 及 90.7%;准确度分别为 97.4%、96.8%、88.5%、83.9%、91.4%、91.1% 及 83.2%。本研究结果与 COLL F 等^[16]结果对比,发现本研究中卷曲霉素敏感度高于 COLL F 等^[16]研究,利福平和氟喹诺酮类敏感度与之接近,其余药物则略低;特异度则是利福平

接近,其余药物则高于 COLL F 等^[16]研究;准确度相比则是均较为接近。而本研究中有表型结果是耐药而 tNGS 结果则为敏感,分析其原因如下:一是样本来源单中心,可能不具有全区代表性,与既往研究结果可能存在差异;二是全部检验试验并非同一时间段、使用同一批试剂进行检测,可能存在人为误差;三是检测样本来源虽源于同一患者,但并非同时采集,检测结果也可能存在一定误差。

因此疑似耐药结核患者可根据表型 DST 与 tNGS 联合检测优势互补,通过 tNGS 对 DR-TB 尤其 MDR-TB 做出早期诊断并先进行及时合理的治疗;待表型 DST 结果出来后,经临床综合判断是否需要进一步调整治疗方案。tNGS 可快速准确地识别抗结核药物的耐药性或敏感性,优于传统方法。该技术的临床应用可以及时识别耐药结核病,并为选择合适的抗结核药物提供指导,靶向测序在临床实践中作为一种经济有效且更快速的诊断工具来治疗结核病。分子诊断技术将极大地补充传统方法,为临床提供高效准确的结果。此外,本研究为单中心研究,可能由于样本的地域问题会限制研究结果的可靠性及广泛适用性。接下来,本课题组将开展更大规模的多中心、标准化研究进一步评估其诊断价值。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2022[R/OL]. (2022-10-27)[2025-02-28]. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022.pdf>.
- [2] WHO. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2018 [EB/OL]. [2025-02-28]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275469.pdf>.
- [3] 高通量测序共识专家组. 高通量测序技术在分枝杆菌病诊断中的应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2023, 41(3):175-182.

(下转第 110 页)

本文引文格式:杨丹,迟晨汝,陈梦奇,等.4种衰弱筛查工具在维持性血液透析患者中的应用效果比较[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):92-97.

【论著与临床报道】

4种衰弱筛查工具在维持性血液透析患者中的应用效果比较

杨丹¹,迟晨汝¹,陈梦奇¹,邵明¹,黄孝华¹,周志庆¹,刘欢²,王翠珍³

(1. 皖南医学院研究生学院,安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医学院弋矶山医院血液净化中心,安徽 芜湖 241002;

3. 皖南医学院弋矶山医院肾内科,安徽 芜湖 241002)

摘要:目的 将4种衰弱筛查工具在维持性血液透析患者中进行比较,以评价它们的应用效果。方法 于2024年2月至2024年5月,采取方便抽样法在皖南医学院弋矶山医院选取了209例患者进行调查。使用Frail量表、Edmonton衰弱量表、Groningen衰弱量表、Tiburg衰弱量表、衰弱指数对其进行衰弱状况的筛查评价,以衰弱指数作为本研究的参考标准。使用SPSS 23.0及MedCalc19.7软件绘制受试者工作特征曲线(ROC),同时计算其ROC曲线下面积,通过kappa一致性检验来对5种筛查工具间的一致性进行评估。通过约登指数确定各个衰弱筛查工具的最佳临界值,并计算其在最佳临界值的性能指标。结果 维持性血液透析患者衰弱发生率为38.76%,Frail量表、Edmonton衰弱量表、Groningen衰弱量表、Tiburg衰弱量表在血透患者中筛查出的AUC值分别为0.896、0.773、0.768、0.568,Frail量表的AUC值分别高于Edmonton衰弱量表($Z=3.274, P<0.05$)、Groningen衰弱量表($Z=3.387, P<0.001$)及Tiburg衰弱量表($Z=7.001, P<0.001$),并且它的灵敏度(0.877)和特异度(0.914)、阳性预测值(0.866)、阴性预测值(0.921)在4种筛查工具中均处于较高水平。结论 在维持性血液透析患者里,Frail量表相对于其他3种衰弱筛查工具具有更好的应用效果,更适合维持性血液透析患者衰弱的筛查。

关键词:衰弱;筛查工具;肾透析;灵敏度;特异度

中图分类号:R692.5

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0092-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.016

Comparison of the application effects of four frailty screening tools in patients undergoing maintenance hemodialysis

YANG Dan¹, CHI Chenru¹, CHEN Mengqi¹, SHAO Ming¹, HUANG Xiaohua¹,
ZHOU Zhiqing¹, LIU Huan², WANG Cuizhen³

(1. Graduate School, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

2. Blood Purification Center, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

3. Department of Nephrology, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To compare four frailty screening tools in patients undergoing maintenance hemodialysis (MHD) and evaluate their application effects. **Methods** From February 2024 to May 2024, a convenience sampling method was used to select 209 patients from Yijishan Hospital of Wannan Medical College for investigation. The Frail scale, Edmonton Frailty Scale, Groningen Frailty Scale, Tiburg Frailty Scale, and

第一作者:杨丹,硕士,研究方向:血液净化护理,E-mail:2809670105@qq.com

通讯作者:周志庆,主任护师,研究方向:血液净化护理,E-mail:1274467404@qq.com

Frailty Index were used to screen and assess frailty status, with the Frailty Index serving as the reference standard for this study. SPSS 23.0 and MedCalc 19.7 software were used to plot the Receiver Operating Characteristic (ROC) curves, and the area under the ROC curve (AUC) was calculated. The consistency among the five screening tools was assessed using the kappa consistency test. The optimal cut-off values for each frailty screening tool were determined using the Youden index, and their performance indicators at the optimal cut-off values were calculated. **Results** The incidence of frailty among MHD patients was 38.76%. The AUC values for the Frail scale, Edmonton Frailty Scale, Groningen Frailty Scale, Tiburg Frailty Scale in screening MHD patients were 0.896, 0.773, 0.768, and 0.568, respectively. The AUC value of the Frail scale was higher than that of the Edmonton Frailty Scale ($Z=3.274, P<0.05$), Groningen Frailty Scale ($Z=3.387, P<0.001$), and Tiburg Frailty Scale ($Z=7.001, P<0.001$). Additionally, its sensitivity (0.877), specificity (0.914), positive predictive value (0.866), and negative predictive value (0.921) were at high levels among the four screening tools. **Conclusion** The Frail scale demonstrates better application effects compared to the other three frailty screening tools in MHD patients and is more suitable for screening frailty in this patient population.

Key words: frailty; screening tools; renal dialysis; sensitivity; specificity

维持性血液透析指的是肾脏病终末期的患者定期规律到血液透析中心进行血透治疗的过程。血透患者通常会出现饮食受限、肾功能下降等情况,同时长期透析会引起患者体内营养素的缺乏,这些因素都会导致血透患者衰弱的发生。衰弱指的是和年龄相关联的机体生理功能状态下下降的老年综合征,有相关研究表明血透患者衰弱的平均发生率已高达 50%^[1],衰弱在临床中会带来很多的不良结局,例如失能、跌倒、多病共存,严重降低患者的生存质量^[2],且发生衰弱的血透患者相较于没有发生衰弱的患者死亡率更高,发生衰弱的患者死亡率是没有衰弱患者的 2.6 倍,其住院风险是非衰弱者的 1.4 倍^[3],提示医护人员应当重视血透患者的衰弱状况,早期识别并对衰弱患者采取干预措施是十分有必要的,然而衰弱在早期难以觉察,因此发现及预防血透患者衰弱的关键就是衰弱筛查,有效地选择筛查工具非常重要。《老年患者衰弱评估与干预中国专家共识》提出 Edmonton 衰弱量表、Groningen 衰弱量表、Frail 量表是老年患者衰弱的常用量表^[4],Tiburg 衰弱量表敏感性、特异度高,主要用于养老机构老年人衰弱状况自评^[5],目前尚缺乏对于不同年龄段血透病人衰弱筛查工具的研究。现有多项研究把衰弱指数当作衰弱的判断标准^[6-7],且已证实其灵敏度良好,能够体现衰弱本质,所以本研究以衰弱指数作为标准来比较 4 种量表对维持性血液透析患者衰弱的筛查能力,为找到适合血透患者的衰弱筛查工具提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 于 2024 年 2 月至 2024 年 5 月期间,运用方便抽样法在芜湖市弋矶山医院血液净化中心选取 209 例维持性血液透析患者作为调查对象。纳入标

准:①规律接受血液透析治疗时间 ≥ 3 个月;②年龄为 18 周岁及以上的患者;③病情稳定,具有正常的理解交流沟通能力。排除标准:①位于急性的疾病发作期;②发生严重的感染或者是其他恶性疾病的患者。本研究获得医院伦理委员会批准[(2023)伦理第(210)号]。

1.2 研究工具

1.2.1 一般资料调查表 自行编制问卷,包含调查对象年龄、文化程度、性别、婚姻状况、居住地、原发病、透析年限等。

1.2.2 衰弱指数 衰弱指数是由 MITNITSKI A B 等^[8]于 2001 年开发的量表,包括情绪、认知状态、自理能力、社交功能及营养状况等共 70 项指标,每项选项若为阳性则记 1 分,阴性则为 0 分。阳性分值除以总分则为衰弱指数,其灵敏度好且能体现衰弱本质,所以本研究以 FI 衰弱指数作为各筛查工具的判断标准,此量表在临床应用中选择 30~70 个选项对病人进行评估^[9],条目较多花费时间较长。吴珍珍等^[7]学者参考了 SEARLE S D 等^[10]关于衰弱指数量表的变量选择,同时阅读了大量相关文献,在咨询血液透析专家、肾内科专家以及统计学相关专家后对各个条目进行讨论,最后组建了 35 个条目,将阳性变量的总分除以 35,分值范围是 0~1 分,分值越高则表示患者的衰弱状况越严重。根据国内外研究推荐^[11-12],其研究将 0.25 分作为是否衰弱的分界线; ≥ 0.25 分则为衰弱; < 0.25 分则不衰弱。本研究沿用其研究中的 FI 衰弱指数量表作为本研究的参考指标。

1.2.3 Frail 量表 Frail 量表是由国际老年工作协会于 2008 年^[13]提出来的用来评估机体衰弱状态的量表,该量表共包括 5 个项目:在大部分时间里觉得疲

劳、爬一层楼梯觉得困难、在 1 年内体重下降超过 5%、独自行走 100 米有困难、患有 5 种及以上的疾病。满足 1 个选项计 1 分,分值范围为 0~5 分,得分 ≤ 2 分则为无衰弱或衰弱前期(非衰弱状态),得分 ≥ 3 分就判定存在衰弱(衰弱状态),该量表的 Cronbach's α 系数为 0.706^[14]。

1.2.4 Edmonton 衰弱量表 Edmonton 衰弱量表是由 Rolfson 等^[15]研制的量表,共有 9 个维度,分别是一般健康状况、认知能力、社会支持、功能独立性、营养、药物使用、情绪、功能表现和控制力,加在一起共 11 个条目,分值范围为 0~17 分,5 分及以上判定为衰弱,分值越高,越衰弱。杨柳等^[16]对其进行汉化翻译得出其 Cronbach's α 系数为 0.78。

1.2.5 Groningen 衰弱量表 Groningen 衰弱量表是由 SCHUURMANS H 等^[17]提出,共有 4 个维度(躯体、认知、社会和心理)15 个条目。躯体衰弱包括如厕、购物、散步、穿衣、体重下降、自评健康、听力、视力及多种用药,躯体衰弱包括抑郁及平静,社会衰弱包括关心、帮助、社会参与。总分为 0~15 分, ≥ 4 分则判定为衰弱,中文版的 Cronbach's α 系数为 0.712^[18]。

1.2.6 Tiburg 衰弱量表 Tiburg 衰弱量表是 2010 年由 GOBBENS R J 等^[19]所研发,内容总共包含 3 个维度及 15 个条目,分别为心理衰弱(焦虑、抑郁、应对能力、自制力),社会衰弱(社会关系、社会支持、独居),躯体衰弱(体重下降、身体健康、平衡、行走困难、听力问题、视力问题、疲劳、握力),分值范围 0~15 分,5 分及以上则判定为存在衰弱。其 Cronbach's α 系数为 0.75^[20]。

1.3 调查方法 对 3 名护理专业研究生进行统一培训,明确调查对象的纳入及排除标准,获得血液透析患者的知情同意后进行调查,调查问卷由调查员采取“一对一”现场询问的方式进行填写,对于研究对象所提出的问题当场进行解释回答。问卷完成后及时回收确保问卷完整性。对于握力、步速等客观指标采取统一方式进行测量,本调查共发问卷 220 份,有效问卷 209 份,有效回收率为 95%。

1.4 统计学方法 本研究运用 SPSS 23.0 及 MedCalc19.7 软件对数据进行统计分析,运用频数及百分比来描述计数资料,运用 $[M(P_{25} \sim P_{75})]$ 描述非正态分布的计量资料,将 FI 衰弱指数作为本研究各个量表的参照标准,运用 Kappa 一致性检验来比较各衰弱量表与 FI 衰弱指数间的一致性,运用受试者工作特征曲线(ROC)并计算其曲线下的面积(AUC)来探讨 Frail 量表、Edmonton 衰弱量表、Groningen 衰弱量

表、Tiburg 衰弱量表对维持性血液透析患者衰弱状态评估的准确性。0.5 $<$ AUC $<$ 0.7 表示低准确度,0.7 \leq AUC \leq 0.9 表示中等准确度,AUC $>$ 0.9 表示高准确度,通过约登指数来确定其最佳临界值、特异度、灵敏度、阴性预测值、阳性预测值。 $P < 0.05$ 时代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 本调查共有 209 例维持性血液透析患者,年龄 20~91 岁,平均年龄为(58.46 \pm 14.00)岁;男 119 例(56.94%),女 90 例(43.06%);文化程度:小学及以下 62 例,初中 92 例,高中及中专 34 例,大专 8 例,本科 13 例;婚姻状况:未婚 23 例,已婚 156 例,离异 16 例,丧偶 14 例;透析原发病:原发性肾小球肾炎 81 例,糖尿病肾病 30 例,高血压肾病 63 例,多囊肾 6 例,其他 29 例。有 81 例患者经衰弱指数诊断为衰弱,患病率为 38.76%,其余 4 种衰弱筛查量表对衰弱的评价情况,见表 1。

表 1 4 种衰弱筛查量表评价维持性血液透析患者衰弱的结果

衰弱筛查工具	n	是否衰弱	
		非衰弱 (n=128)	衰弱 (n=81)
Frail 量表			
非衰弱	127	117(91.41)	10(12.35)
衰弱	82	11(8.59)	71(87.65)
Groningen 衰弱量表			
非衰弱	86	81(63.28)	5(6.17)
衰弱	123	47(36.72)	76(93.83)
Edmonton 衰弱量表			
非衰弱	109	91(71.09)	18(22.22)
衰弱	100	37(28.91)	63(77.78)
Tiburg 衰弱量表			
非衰弱	106	74(57.81)	32(39.51)
衰弱	103	54(42.19)	49(60.49)

注:表内计数资料数据用 $[n(\%)]$ 表示。

2.2 4 种衰弱筛查工具的筛查效果比较 将衰弱的诊断结果作为分类变量,4 种衰弱筛查工具的得分作为检验变量制作 ROC 曲线图,如图 1 所示,结果表明 Frail 量表的 AUC 最大。4 种量表的筛查性能指标如表 2 所示。将 4 种衰弱筛查工具的 AUC 进行两两比较,显示 Frail 量表的 AUC 分别大于 Edmonton 衰弱量表、Groningen 衰弱量表以及 Tiburg 衰弱量表,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 4 种衰弱筛查量表的筛查性能指标

类别	AUC(95% CI)	最佳 临界值	敏感度/%	特异度/%	约登 指数	阳性 预测值	阴性 预测值	Kappa 值
Frail 量表	0.896(0.846~0.934)	2.5	87.7	91.4	0.791	0.866	0.921	0.789
Groningen 衰弱量表	0.768(0.705~0.824)	3.5	93.8	57.8	0.516	0.618	0.942	0.521
Edmonton 衰弱量表	0.773(0.710~0.828)	4.5	76.5	70.3	0.468	0.630	0.835	0.469
Tiburg 衰弱量表	0.568(0.498~0.637)	4.5	60.5	57.8	0.183	0.476	0.698	0.174

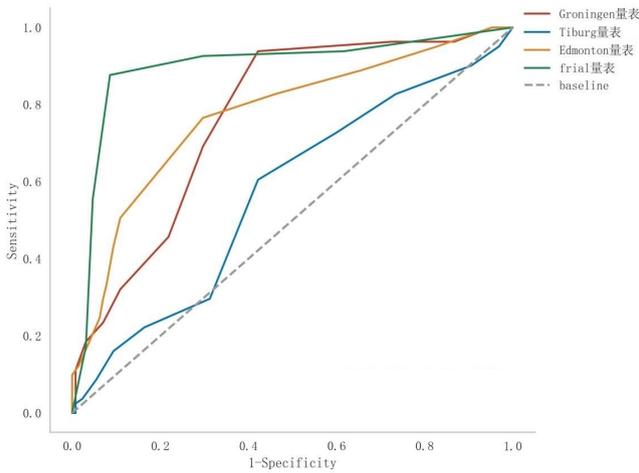


图 1 4 种衰弱筛查量表的 ROC 曲线图

表 3 4 种衰弱筛查量表的 AUC 差异比较 (n = 209)

类别	Frail 量表	Groningen 衰弱量表	Edmonton 衰弱量表	Tiburg 衰弱量表
Frail 量表	1	—	—	—
Groningen 衰弱量表	3.387 ^b	1	—	—
Edmonton 衰弱量表	3.274 ^a	0.162	1	—
Tiburg 衰弱量表	7.001 ^b	4.153 ^b	4.462 ^b	1

注:a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.001$ 。

3 讨论

3.1 维持性血液透析患者衰弱的发生现状 在本研究中,经 FI 衰弱指数筛查得出维持性血液透析患者衰弱的患病率为 38.76%,高于 BARBOSA E M S 等^[21]用 Frail 量表以及 CFS 量表在血液透析病人中所测量出的 13.8%及 36.5%的衰弱患病率。同时与 WANG J 等^[22]得出的维持性血液透析患者 38.92%的衰弱发生率相近,可能是由于地区差异以及筛查工具的差异所造成的,虽然不同调查的维持性血液透析患者衰弱的患病率有所差异,但是也说明血透患者的衰弱情况不容乐观,血透的病人在长期透析的过程中机体会丢失大量氨基酸及蛋白质使得机体肌肉量减少,肌力降低,更加容易出现衰弱^[23]。临床医护人员对此缺乏重视且没有确定的血透患者衰弱筛查的工具,这些均是血透患者衰弱情况不容乐观的因素,提示血透医护人员应当增强对衰弱的认识并且及早对血透患者开展衰弱的筛查和预防性的干预措施,以减少衰弱的发生及发展。

3.2 4 种量表筛查维持性血液透析病人衰弱状况的 ROC 曲线分析 根据研究标准可知^[24],当 ROC 曲线下面积为 0.5~0.7、0.7~0.9 及 >0.9 的时候代表量表筛查的准确性分别位于低、中、高的筛查能力。在本研究里,Frail 量表筛查准确性最优,而 Tiburg 衰弱量表的筛查准确性则处于低水平。进一步将 4 种量表的 AUC 进行两两比较发现除了 Edmonton 衰弱量表和 Groningen 衰弱量表两量表的 AUC 差异没有统计学意义,其余均具有统计学差异,提示 Edmonton 衰弱量表和 Groningen 衰弱量表对维持性血液透析病人衰弱状况的筛查准确性相似,可能是由于这两个量表包括相似研究内容,例如健康状况、认知、日常生活能力、服药数量、心理、社会、体重改变等评价指标,其中 Frail 量表筛查能力最优,与 BARBOSA E M S 等^[21]的研究结果相一致,Tiburg 衰弱量表的筛查能力最低。Frail 量表是一种以访谈为基础的评估方式,其条目简洁,方便使用者解释、评分和管理,实用性较强,用时较短,适用于需要长年透析的位于压力环境下的血透患者。相比较 Frail 量表,其余三种量表从整体来评估,涵盖了社会、心理、身体等多维度,其中社会心理维度占比较大。血透病人在透析治疗下寿命得到延长,但是疾病及透析治疗所带来的负面影响会对其身心健康带来严重的危害,比如社交困难、焦虑、抑郁等^[25],这些都会导致社会、心理衰弱的产生。此外,Groningen 衰弱量表、Tiburg 衰弱量表以及 Edmonton 衰弱量表为自评量表,透析患者长期待在医院存在谨慎小心的心理,有些关于心理、身体的指标评估的时候倾向选择正常或者相反的答案,会引起透析患者衰弱状况评估结果的不一致,最终导致其筛查结果的差别。

3.3 4 种量表评估维持性血液透析患者衰弱状况的筛查性能分析 最佳临界值有助于识别衰弱的高风险患者,在本研究的 ROC 曲线中,Tiburg 衰弱量表、Groningen 衰弱量表、Frail 量表以及 Edmonton 衰弱量表的最佳临界值分别为 4.5、3.5、2.5、4.5,其中 Tiburg 衰弱量表的最佳临界值和伊朗学者 MAZOOCHI F 等^[26]所得出的 4.5 相一致,略低于原始临界值 5,Groningen 衰弱量表的最佳临界值要高于 TIAN X 等^[27]于社区老年人里所得出的临界值 3,但低于 XIANG W 等^[28]在中国社区老年人里得出的 4 分,Frail 量表的最佳临界值 2.5 分与杨逸辉等^[29]在社区

糖尿病患者中得出的结论相一致,但低于原始临界值 3 分,Edmonton 衰弱量表筛查衰弱的最佳临界值是 4.5,和朱莲莲等^[4]的研究相一致,但高于韩君等^[30] 3.5 的最佳临界值。不同量表的最佳临界值受到人群差异以及地区差异的影响,因此今后在使用量表的时候,要根据区域、生活环境、人群特点来选择最适合的临界值以提高筛查工具的检验性能。灵敏度指的是通过衰弱量表诊断出确实为衰弱的血液透析人群,是对血透患者衰弱的判断能力,特异度指的是通过衰弱量表判断为非衰弱的血液透析人群,是对不衰弱的血透患者判断能力。灵敏度和特异度的范围为 0~1,越接近 1 则说明该量表拥有越高的诊断价值。约登指数指的是该量表预测血透患者衰弱和非衰弱的总能力,是对灵敏度及特异度的综合反应,它的值越高则说明评估衰弱的效果越强。阳性预测值及阴性预测值往往受到患病率的影响,但有研究表明,阳性预测值及阴性预测值的价值越高则量表价值越高^[6],本研究中,Tiburg 衰弱量表、Groningen 衰弱量表、Frail 量表以及 Edmonton 衰弱量表的灵敏度及特异度分别为 0.605、0.938、0.877、0.765 和 0.578、0.578、0.914、0.703,其中 Groningen 衰弱量表、Frail 量表的灵敏度较高,Frail 量表的特异度最高,Tiburg 衰弱量表的特异度和灵敏度均最低,Groningen 衰弱量表的特异度也最低。原则上应选择灵敏度高的量表作为作为筛查工具,因此 Frail 量表和 Groningen 衰弱量表更加适合于血透患者衰弱状况的筛查。同时好的筛查工具还需要较高的约登指数及阳性预测值和阴性预测值。本研究里 Frail 量表的约登指数高于其余 4 种量表的约登指数,且阳性预测值和阴性预测值在 4 种量表中均处于较高的水平,说明 Frail 量表在 4 种量表中对维持性血液透析患者衰弱的筛查能力位于较高水平。鉴于临床工作繁忙,护士承担的工作压力大,应遵循根据实际环境来选择筛查工具的原则^[17],Frail 量表操作简单且不需要借助任何外来测量工具,有助于合理的分配本就稀缺的护理资源,减少病人回答问题的不耐烦情绪,更适用于临床去使用。因此,Frail 量表具有更高的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、约登指数,更加适用于维持性血液透析患者的衰弱筛查。

3.4 4 种量表与 FI 衰弱指数诊断维持性血液透析患者衰弱的一致性分析 Kappa 值位于 0.00~0.40、0.40~0.75、0.75~1.00 时一致性分别为较弱、中等、较强,在本研究中,Frail 量表、Groningen 衰弱量表、Edmonton 衰弱量表、Tiburg 衰弱量表与衰弱指数评估所得结果的 Kappa 值分别是 0.789、0.469、0.521、0.174,表明 Frail 量表与 FI 衰弱指数所评估结果的一致性位于较强水平,Edmonton 衰弱量表、Groningen 衰弱量表与衰弱指数所评估的一致性位于中等水平,

Tiburg 衰弱量表与衰弱指数评估所得结果的一致性位于较弱水平,这可能与不同衰弱评估工具的筛查标准尚未统一有关,与参照标准的高一致性也提示 Frail 量表为更适用于血透患者衰弱的使用工具。

4 结论

在本研究的 4 种衰弱筛查工具中,Frail 量表对于维持性血液透析患者的衰弱筛查准确性处于最优水平,同时具有较高的约登指数、灵敏度及特异度,更适用于维持性血液透析患者的衰弱筛查,同时本研究也具有相应的局限性,只在芜湖市一所城市选择了一家血液净化中心进行资料收集,受到了地域及样本量的限制,代表性及推广性较弱。此外,本研究为横断面调查,无法评估不同的衰弱筛查工具对于维持性血液透析患者不良结局的预测性能,提示在此后的研究中可以进一步开展纵向研究来比较不同衰弱筛查工具预测维持性血液透析患者衰弱不良结局的能力。

参考文献:

- [1] 赵金影,解文君,刘亚婷,等.老年血液系统肿瘤病人衰弱评估工具的比较研究[J].护理研究,2024,38(8):1440-1444.
- [2] 吴淑琳,宋洁,肖萍,等.维持性血液透析患者衰弱发生率及影响因素的系统评价[J].中华护理教育,2021,18(4):352-357.
- [3] MCADAMS-DEMARCO M A, LAW A, SALTER M L, et al. Frailty as a novel predictor of mortality and hospitalization in individuals of all ages undergoing hemodialysis [J]. J Am Geriatr Soc, 2013, 61(6): 896-901.
- [4] 朱莲莲,许虹波,董爱淑,等. Edmonton 衰弱量表和 Groningen 衰弱指标在养老机构老年人衰弱评估中应用的比较[J].中国护理管理,2022,22(1):83-87.
- [5] 葛凤,刘民辉,鲁永锦,等. FRAIL-NH 量表和 Tilburg 衰弱量表对养老机构老年人衰弱评估比较[J].中国护理管理,2019,19(4):513-517.
- [6] 吴珍珍.衰弱筛查工具对老年住院患者的衰弱测量性能及结局预测效度比较[D].银川:宁夏医科大学,2021.
- [7] 吴珍珍,张瑞,常艳,等.衰弱表型和衰弱筛查量表在老年住院患者中的应用比较[J].中华护理杂志,2021,56(5):673-679.
- [8] MITNITSKI A B, MOGILNER A J, ROCKWOOD K. Accumulation of deficits as a proxy measure of aging[J]. Sci World J, 2001, 8(1): 323-336.
- [9] YANAGAWA B, GRAHAM M M, AFILALO J, et al. Frailty as a risk predictor in cardiac surgery: beyond the eyeball test[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2019, 157(5): 1905-1909.
- [10] SEARLE S D, MITNITSKI A, GAHBAUER E A, et al. A standard procedure for creating a frailty index [J]. BMC Geriatr, 2008, 8: 24.
- [11] DE BREIJ S, VAN HOUT HPJ, DE BRUIN S R, et al. Predictors of frailty and vitality in older adults aged 75

- years and over: results from the longitudinal aging study amsterdam[J]. *Gerontology*, 2021, 67(1): 69-77.
- [12] 中华医学会老年医学分会. 老年患者衰弱评估与干预中国专家共识[J]. *中华老年医学杂志*, 2017, 36(3): 251-256.
- [13] ABELLAN VAN KAN G, ROLLAND Y, BERGMAN H, et al. The I. A. N. A task force on frailty assessment of older people in clinical practice[J]. *J Nutr Health Aging*, 2008, 12(1): 29-37.
- [14] 李易, 张紫嫣, 邹炎铃, 等. 住院癌症患者口腔衰弱现状及影响因素分析[J]. *护理学杂志*, 2024, 39(3): 49-52.
- [15] ROLFSON D B, MAJUMDAR S R, TSUYUKI R T, et al. Validity and reliability of the Edmonton Frail Scale [J]. *Age Ageing*, 2006, 35(5): 526-529.
- [16] 杨柳, 鲍立华, 周全, 等. 中文版 Edmonton 虚弱评估量表的信效度研究[J]. *国际老年医学杂志*, 2016, 37(3): 135-137.
- [17] SCHUURMANS H, STEVERINK N, LINDENBERG S, et al. Old or frail: what tells us more? [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(9): M962-965.
- [18] 相玮. 格列宁根衰弱指标量表的信效度分析及应用[D]. 长春: 吉林大学, 2019.
- [19] GOBBENS R J, VAN ASSEN M A, LUIJKX K G, et al. The tilburg frailty indicator: psychometric properties[J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2010, 11(5): 344-355.
- [20] 司华新, 金雅茹, 乔晓霞, 等. 中文版 Tilburg 衰弱量表在养老机构老年人中的信效度检验[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(16): 4046-4049.
- [21] BARBOSA E M S, PEREIRA A G, MORI V, et al. Comparison between FRAIL scale and clinical frailty scale in predicting hospitalization in hemodialysis patients[J]. *J Nephrol*, 2023, 36(3): 687-693.
- [22] WANG J, HUANG L J, XU M C, et al. Study on the clinical implications of NLR and PLR for diagnosing frailty in maintenance hemodialysis patients and their correlations with patient prognosis[J]. *J Healthc Eng*, 2022, 2022: 1267200.
- [23] VAN ATTEVELD V A, VAN ANCUM J M, REIJNIERSE E M, et al. Erythrocyte sedimentation rate and albumin as markers of inflammation are associated with measures of sarcopenia: a cross-sectional study[J]. *BMC Geriatr*, 2019, 19(1): 233.
- [24] TOMATA Y, HOZAWA A, OHMORI-MATSUDA K, et al. Validation of the kihon checklist for predicting the risk of 1-year incident long-term care insurance certification: the ohsaki cohort 2006 study[J]. *Nihon Koshu Eisei Zasshi*, 2011, 58(1): 3-13.
- [25] TOMMEL J, EVERS AWM, VAN HAMERSVELT H W, et al. Predicting health-related quality of life in dialysis patients: factors related to negative outcome expectancies and social support[J]. *Patient Educ Couns*, 2021, 104(6): 1474-1480.
- [26] MAZOOCHI F, GOBBENS R J J, LOTFI M S, et al. Diagnostic accuracy of the Tilburg Frailty Indicator (TFI) for early frailty detection in elderly people in Iran[J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2020, 91: 104187.
- [27] TIAN X, QIAO X, DONG L, et al. Cross-cultural adaptation and psychometric properties of the groningen frailty indicator (GFI) among Chinese community-dwelling older adults[J]. *Geriatr Nurs*, 2020, 41(3): 236-241.
- [28] XIANG W, CHENG Y, LI Z, et al. Cross-cultural adaptation and validation of the groningen frailty indicator in chinese nursing home residents[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2020, 32(6): 1035-1042.
- [29] 杨逸辉, 廖力, 邓祺丹. FRAIL 量表和 Tilburg 衰弱量表在社区老年糖尿病患者衰弱评估中的应用比较[J]. *中西医结合护理: 中英文*, 2020, 6(1): 1-4.
- [30] 韩君, 王君俏, 谢博钦, 等. Fried 衰弱表型和 FRAIL 量表及埃德蒙顿衰弱评估量表在社区高龄老年人衰弱筛查中一致性和适用性的比较研究[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(21): 2669-2675.

收稿日期: 2024-08-30; 修回日期: 2024-10-12

(本文编辑 钟琳)

(上接第 70 页)

- [22] SU W W, WU L L, LIANG Q C, et al. Extraction optimization, structural characterization, and anti-hepatoma activity of acidic polysaccharides from *Scutellaria barbata* D. Don[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 827782.
- [23] SONG L J, LIU S Q, ZHANG L, et al. Polysaccharides from *Nitraria retusa* fruit: extraction, purification, structural characterization, and antioxidant activities[J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1266.
- [24] CHEN S Q, ZHANG H X, YANG L, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction conditions for bioactive components and antioxidant activity of *Poria cocos* (schw.) wolf by an RSM-ANN-GA hybrid approach [J]. *Foods*, 2023, 12(3): 619-633.
- [25] 刘东彦, 张莉霞, 石晓峰, 等. 雪松松针中莽草酸和多糖的提取工艺研究[J]. *中药材*, 2017, 40(8): 1914-1916.
- [26] 张璐琪, 刘苏伟, 王飞, 等. 地黄多糖超声提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. *中成药*, 2018, 40(12): 2662-2667.
- [27] 谢苗. 灵芝多糖的提取分离、结构表征及抗氧化活性研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2021.
- [28] 刘苗, 于筛成, 张虹, 等. 中药醇沉工艺及设备浅析[J]. *中成药*, 2007, 29(8): 1202-1204.

收稿日期: 2024-10-22; 修回日期: 2024-12-16

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:周佳佳,王军永,刘霞.我国慢性病临床路径实施效果的横断历史研究[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):98-102.

【论著与临床报道】

我国慢性病临床路径实施效果的横断历史研究

周佳佳¹,王军永²,刘霞³

1. 江西中医药大学经济与管理学院,江西 南昌 330004;
2. 江西中医药大学中医药与大健康发展研究院,江西 南昌 330004;
3. 江西中医药大学中医学院,江西 南昌 330004)

摘要:目的 调查我国慢性病临床路径实施效果的纵向变化趋势,分析其影响因素,为优化临床路径、提高临床路径应用价值提供参考。方法 搜集并筛选我国2002年至2023年有关慢性病临床路径实施效果的期刊文献,运用横断历史元分析的方法进行研究。结果 2002~2023年关于慢性病临床路径实施效果的文献数量呈现先增加后减少的趋势;慢性病实施临床路径后降低的住院费用、减少的住院天数和入径率均值随年份变迁无明显变化趋势,临床路径实施效果的变动量介于小效果量和中等效果量之间;不同病种的慢性期中,时间对乳腺癌临床路径实施效果有一定的预测作用。结论 受临床路径实施效果测量指标的统一性和规范性、病种类别、样本量等因素的影响,慢性病临床路径实施效果变迁无明显变化趋势。建议通过统一测量工具、落实责任主体、加强差异化管理等措施,不断改善临床路径管理工作。

关键词:临床路径;横断历史元分析;慢性病;效果评价

中图分类号:R472 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0098-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.017

A cross-sectional historical study of the implementation effect of clinical pathways for chronic diseases in China

ZHOU Jiajia¹, WANG Junyong², LIU Xia¹

1. School of Economics and Management, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, Jiangxi, China;
2. Institute of Chinese Medicine and Massive Health Development, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330004, China;
3. School of Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the longitudinal change trend of the implementation effect of clinical pathways for chronic diseases in China, analyze its influencing factors, and provide references for optimizing clinical pathways and enhancing their application value. **Methods** Journal articles related to the implementation effects of clinical pathways for chronic diseases in China from 2002 to 2023 were collected and screened, and a cross-sectional historical Meta-analysis approach was employed for the study. **Results** From 2002 to 2023, the number of articles on the implementation effects of clinical pathways for chronic diseases showed an initial increase followed by a decrease. There was no significant trend in the reduction of hospitalization costs, shortened length of stay, and average adherence rate after the implementation of clinical pathways for chronic diseases over the years. The variation in the implementation effects of clinical pathways ranged between small and medium effect sizes. Among chronic diseases of different types, time had a certain predictive effect on the

基金项目:国家自然科学基金项目(72064023)

第一作者:周佳佳,在读硕士研究生,研究方向:卫生政策评估,E-mail:2060543008@qq.com

通讯作者:王军永,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:卫生政策评估,E-mail:290493239@qq.com

implementation effects of clinical pathways for breast cancer. **Conclusion** Affected by factors such as the unity and standardization of measurement indicators for the implementation effect of clinical pathways, disease categories, and sample size, there is no obvious change trend in the implementation effect of clinical pathways for chronic diseases. It is recommended to continuously improve the management of clinical pathways through measures such as unifying measurement tools, implementing responsible entities, and strengthening differentiated management.

Key words: clinical pathway; cross-sectional historical Meta-analysis; chronic disease; effect evaluation

临床路径是保证并持续提高医疗质量和工作效率、控制医疗成本的医疗标准化模式^[1]。目前,临床路径管理在许多国家的医院管理中得到了广泛应用,临床路径的研究和实施也日趋成熟,涵盖了从外科到内科、从急性病到慢性病、从医院到社区卫生服务,并从单纯的病种管理延伸到医院管理,已经成为医院质量管理的重要组成部分^[2]。慢性病具有起病隐匿、潜伏期长、病程长且进展缓慢等特点,我国最常见的慢性病包括心脑血管疾病、糖尿病、恶性肿瘤、慢性阻塞性肺疾病等^[3]。目前我国已经成为世界上老年人口数量最多的国家,随着人口老龄化的加剧,慢性病发病人数快速上升,慢性非传染性疾病已成为人群最主要的死亡原因,加强对慢性病的临床路径管理变得至关重要^[4]。调查显示,对临床路径实施效果进行综合评价的研究相对较少,多数聚焦于对临床路径实施效果某一方面的研究,如患者满意度、医疗费用、医疗质量等^[5]。横断历史元分析是把多项相互独立、但具有共同目标的研究按照时间顺序加以连贯,进而考察研究变量随年代变化的趋势的一种定量文献研究方法^[6]。它把每个孤立的研究都看作是对某一个历史时期的一次独立的横断面上的取样,然后把不同时期的结果串联起来考察随着“年代变化”的情况。该方法引入国内后,在青少年心理健康水平、老年人社会支持、人群生育意愿等方面进行了一系列研究。本研究将采用横断历史的元分析方法探究 2002~2023 年我国慢性病临床路径实施效果的变化趋势,分析其影响因素,为慢性病临床路径管理的优化提供参考。

1 资料与方法

1.1 文献收集

1.1.1 文献搜集的标准 文献纳入标准:①研究报告内容必须包含“入径数”“住院天数”和“住院费用”的具体量化数据;②检索范围为中国知网、万方数据库、维普数据库的全部中文期刊文献,文献发表于 2023 年 5 月 1 日之前;③研究病种为慢性病;④研究纳入的病例划分为临床路径组和非临床路径组;⑤同一作者选用样本数据最完整的报告;⑥排除基本数据不清晰或存在明显错误且无法修正的研究。

1.1.2 文献检索 检索 2002 年至 2023 年 5 月 1 日

发表在中国知网、万方数据库、维普数据库中关于慢性病临床路径实施效果的相关调查研究,分别以“篇名”为“临床路径”,“主题”为“现状”“成效”“效果”“状况”“评价”“评估”“调查”“实证”,以及“主题”为“慢性”“糖尿病”“高血压”“冠心病”“癌”进行检索。将检索出的文献查重和整理后进一步筛选,数据库根据“临床路径”“慢性病”“效果”等检索词共检索出 2 466 篇文献,结合以上纳入标准筛选出 193 篇文献、278 项调查研究进行横断历史元分析。部分文献对照组和实验组的调查时间不一致,将其拆分为两项调查研究数据,其中包括 24 篇文献;而存在研究多个病种的文献,则根据病种数量拆为多组调查研究数据,其中包括 11 篇文献。文献筛选流程如图 1 所示。

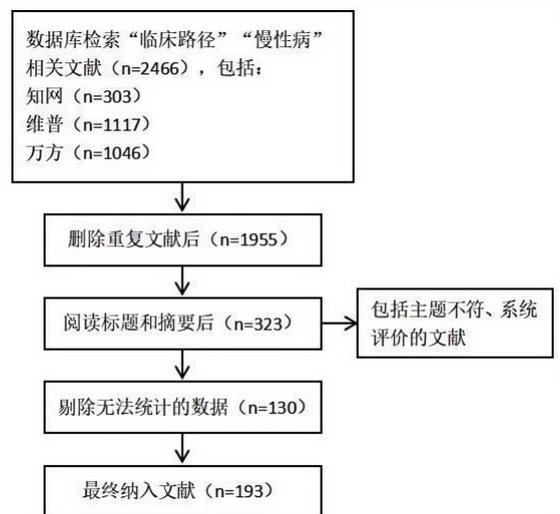


图 1 文献筛选流程

1.2 指标的选取 基于相关文献^[6],结合数据的相关性、可得性和可操作性原则,本研究选取住院费用、住院天数和入径率 3 个维度作为临床路径实施效果的评价指标。

1.3 建立数据库 临床路径实施效果相关研究的共同特点:选择一定数量的住院患者,分为临床路径组和非临床路径组进行观察研究。基于此,为了更好地揭示临床路径实施效果的变化趋势,对所有符合标准的文献进行样本量统计,包括以下步骤:①调查年份的选

取。调查年份选取研究时间段的中间值,调查年份为偶数时,适用就近原则,如 2002~2003 年的研究,则选取 2003 年作为调查年份;②病例数统计。样本量为每年各项研究病例数之和。本研究以调查年份为自变量,以降低的住院费用、减少的住院天数和入径率为因变量,并利用横断历史元分析方法对变化量进行计算。降低的住院费用采用加权法计算,计算每年各项调查的病例数与其减少的住院费用的乘积之和,再除以该年的总病例数,得出每年降低的住院费用均值,减少的住院天数和入径率均值的计算方法同理。

1.4 统计学方法 所有数据采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计分析,数据处理方法主要包括描述性统计分析、简单回归分析等, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 文献基本情况 我国自 2002~2023 年关于慢性病临床路径实施效果的文献量整体上呈现先增后减的趋势。其中除 2002 年没有符合标准的文献,其他年份都至少有 1 篇文献,调查数据较为完整。由此可知,近年来学术界对慢性病临床路径实施效果的研究意愿降低,相关文献数量减少,近几年的相关研究文献同样存在由于缺少具体的量化数据而未被纳入的情况。具体见图 2。结果显示,我国 2002~2023 年的病例数整体上呈现先增后减的趋势。其中 2013 年和 2003 年的病例数达到最高值和最低值,分别为 11 396 人、72 人。此外,2009~2016 年期间,每年的病例数均超过 4 000 人,与其他年份相比差异显著。由于缺少调查年份为 2023 年的数据,本研究仅分析研究时间为 2002~2023 年研究案例的临床路径实施效果。见表 1。

2.2 临床路径实施效果随年份的变化趋势 为了直观描述 2002 年以来慢性病临床路径实施效果随年份变化的趋势,本研究以年份为横坐标,分别以降低的住院费用、降低的住院天数、入径率的均值为纵坐标绘制散点图,用来描述我国临床路径实施效果的变化趋势,见图 3。2002~2022 年间我国临床路径实施效果总体

上呈现出上升的趋势,这表明临床路径的实施在提高医疗效率和降低医疗成本方面取得了显著效果。然后,将把年份作为自变量、3 个维度的均值作为因变量进行回归分析。结果发现,年份对临床路径实施效果的预测作用较弱。其中,临床路径实施后所降低的住院费用随年代变迁没有明显的变化趋势 ($R^2 = 0.032, P = 0.436$);临床路径实施后所减少的住院天数随年代变迁没有明显的变化趋势 ($R^2 = 0.088, P = 0.193$);入径率随年代变迁没有明显的变化趋势 ($R^2 = 0.024, P = 0.500$)。因此,年份变迁并不能很好地解释我国临床路径实施效果的变化。见表 2。



图 2 2002~2023 年符合标准的文献数

表 1 2002~2023 调查年份慢性病临床路径实施效果的病例数

调查年份	病例数/人	调查年份	病例数/人
2002	120	2013	11396
2003	72	2014	10763
2004	331	2015	6969
2005	635	2016	5262
2006	1952	2017	1615
2007	1178	2018	671
2008	496	2019	1030
2009	4809	2020	208
2010	8822	2021	548
2011	8612	2022	142
2012	4145	2023	—

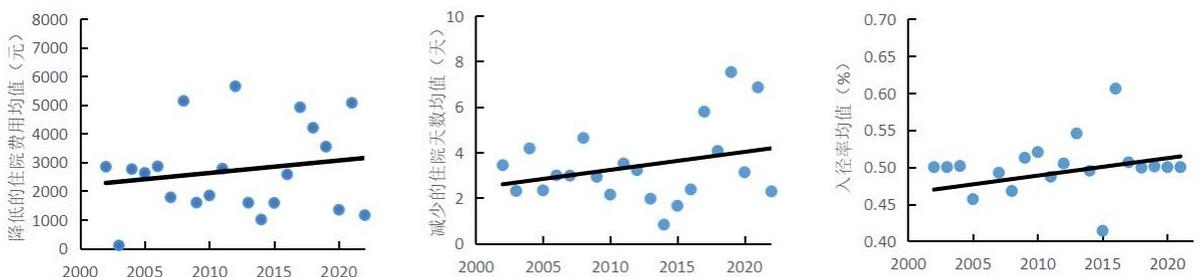


图 3 2002~2022 年慢性病临床路径实施效果的变迁

表 2 年份与慢性病临床路径实施效果及其维度的回归分析

因变量	β	P	R^2
总值			
降低的住院费用均值	0.179	0.436	0.032
降低的住院天数均值	0.296	0.193	0.088
入径率均值	0.156	0.500	0.024
单病种			
乳腺癌降低的住院日均费用	-0.343	0.047	0.117
糖尿病降低的住院日均费用	-0.437	0.054	0.191

2.3 临床路径实施效果随年份的变化量 为进一步明确临床路径实施效果随年份的变化量,本研究利用回归方程和平均标准差计算效果量 d ,其中住院费用、住院天数、入径率分别为 d_1 、 d_2 、 d_3 。首先,对样本量进行加权后,建立回归方程($y=Bx+C$),根据回归方程计算 2002 年和 2022 年临床路径实施效果的均值。其次,将两个均值的差再除以 20 年间的平均标准差 M_{SD} ,得到 d 值 [$d=(M_{2022}-M_{2002})/M_{SD}$]。计算可得,20 年间我国临床路径实施后降低的住院费用均值减少了 66.663 元,减少的住院天数均值增加了 1.260 天,入径率均值提高了 0.013;得出 d 值($d_1=-0.038$ 、 $d_2=0.752$ 、 $d_3=0.535$)。根据 Cohen 的建议可知^[7],本研究中临床路径实施效果均值的变动量为小效果量和中等效果量之间。

2.4 病种类别影响临床路径实施效果的变迁 本研究对收集的 278 项临床路径实施效果调查数据进行病种归类分析,其中频次 <10 的病种归为其他慢性病。结果发现,各类病种中乳腺癌研究频次最高,为 34 次,占全部病种的 12.23%;其次是糖尿病为 21 次,占比 7.55%,见图 4。本研究对乳腺癌和糖尿病两个病种进行深入研究,探讨具体某病种临床路径实施效果的变化趋势。

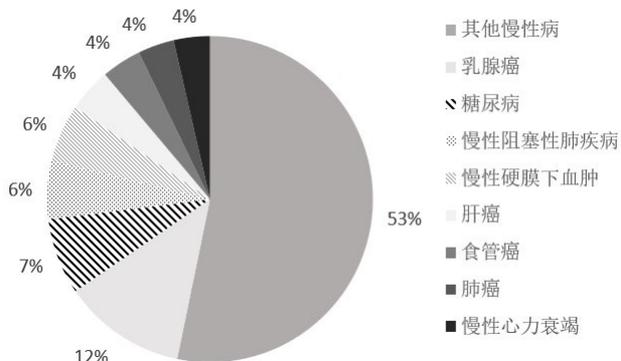


图 4 2002~2022 年慢性病主要病种分布情况

考虑不同病种住院时间存在差异,对样本量进行加权后,分别将乳腺癌和糖尿病实施临床路径后降低的住院日均费用与年份进行回归分析。结果发现,乳腺癌的模型公式为 $Y=-20.194X+40539.862$ ($P<0.05$),时间对实施临床路径后降低的住院日均费用的解释力为 11.7%,可以说时间对乳腺癌降低的住院

日均费用有一定的预测作用,但模型解释力不高。糖尿病分析结果显示,时间对糖尿病实施临床路径后降低的住院日均费用没有预测作用,差异无统计学意义 ($R^2=0.191$, $P=0.054$)。

3 讨论

3.1 临床路径实施效果随年份整体变迁无明显变化趋势 本研究发现,2002~2022 年间我国慢性病临床路径实施效果没有明显变迁,实施临床路径后降低的住院费用均值、减少的住院天数均值和入径率均值 3 个变量的差异均无统计学意义。其中住院费用和住院天数两个变量随时间变化的波动较大,最低值和最高值差距明显,而入径率随时间变化的波动较小,数值在 0.5 上下浮动。住院费用和住院天数没有明显变化趋势的原因可能包括:①临床路径管理是基于医院已有的基础,从现阶段的规模、设备设施条件、医务人员数量结构,当地的医疗制度、政策等方面出发,采取有效的临床路径实施策略,不同研究实施临床路径的基础条件存在差异是影响结果的原因之一;②本研究时间跨度为 20 年,研究对象为慢性病临床路径实施效果,并界定了降低的住院费用均值、减少的住院天数均值和入径率均值 3 个变量,但没有考虑到不同年份的研究存在不同的病种,不同病种纳入临床路径管理的时间不同,导致住院费用和住院时间本身存在差异,比如慢性扁桃体炎和癌症晚期的住院费用和时间可能存在较大差异。假设实施临床路径后住院费用减少了 1 000 元,对住院时间较长的、病情较严重的患者来说相对作用较小,对住院时间较短、病情较轻的患者则能较大减轻负担。因此,病种应作为一个重要的考虑因素。

入径率没有明显变化趋势的原因可能是一方面医院落实了 2009 年发布的《临床路径管理指导原则(试行)》等相关政策文件,医院和医师在实践过程中更严格遵循临床路径的操作流程,使临床路径的入径率保持较高的水平。政策文件实行后仅有 2011 年和 2015 年这两年入径率低于 50%;另一方面入径率是实施临床路径的标准之一,更多地受临床医师对临床路径相关文件制度流程的培训效果影响,而临床医师作为临床路径执行主体之一,对临床路径的评价在其具体实践中起决定性作用,我国临床医师对实施临床路径可提高医疗服务过程质量的认同度相对较高,使入径率水平整体趋于相对稳定^[8]。

3.2 临床路径实施效果影响因素分析 乳腺癌实施临床路径后降低的住院日均费用随时间变迁呈现缓慢波动下降趋势,但时间对其解释力不高。究其原因,可能是界定临床路径实施效果时,除了住院费用、住院时间和入径率,还存在其他影响临床路径实施效果的因素。一是受临床路径实施效果测量指标的统一性和规

范性影响。受数据限制,绝大部分临床路径相关研究可直接统计的影响因素局限于住院费用、住院时间、病例数和入径率等可量化数据,缺少对一些宏观的、定性的影响因素的考虑,而这些因素往往难以统计和验证。二是受病种类别影响。超过三分之二的乳腺癌研究表明实施临床路径后住院日均费用不减反增,而住院总费用则反之。不同病种的住院时长、成本核算方法存在差异,治疗手段有区别,需要进一步的病种归类分析^[9]。三是受样本量影响。乳腺癌和糖尿病的样本量存在一定差距,并且都存在某些年份缺少数据的情况,如果进行精确化的病种归类,即使在计算均值的情况下,样本量对结果也有一定影响。四是受临床路径的落实情况影响。从临床路径的费用结构角度分析,耗材类费用作为占比较高的一类费用,可能存在临床路径中规定使用的材料方案有限,导致更优的材料方案未能纳入其中,在治疗过程中使用更多的高值耗材,为相应的病种患者提供更低的耗材类费用也是实施高质量临床路径的要求之一^[10]。因此,本课题组认为仍需分析和深入研究更多影响慢性病临床路径实施效果的隐藏因素,尤其是指不可量化或不易量化的影响因素。

4 建议

4.1 统一测量工具 横断历史元分析对数据的要求较高,纳入文献需采用统一的测量指标,更追求标准化尺度^[11]。基于较为不理想研究结果的启发,本研究文献收集的是以住院费用、住院天数和入径率作为临床路径效果的评价指标,3 个指标主要是在文献分析的基础上依据数据的可获得性和可操作性选取的结果,目前学术界对临床路径实施效果的测量尚没有统一的测量工具。因此应要发挥卫生健康智库和临床医学领域专家的作用,开发测量临床路径实施效果的权威性量表。同时,由于本研究执行较为严格的文献筛选标准,使最后纳入研究的文献量相对较少,文献数据的不全面性可能会对研究结果产生一定影响。

4.2 落实责任主体 首先,卫生健康行政部门作为临床路径的主导部门,要加大临床路径管理力度,考虑不同级别医院临床实践的适用性,不断细化临床路径标准^[12]。其次,各级医院要充分发挥临床路径领导小组的作用,协同各职能部门制定可推广、可操作性强的临床路径标准,进一步规范医疗行为、提高病案质量。同时提升临床医师对临床路径的认可度,一是加大医生对临床路径使用和操作流程的培训力度;二是通过精简临床路径程序,有效减轻临床医师的工作负荷;另一方面将临床路径管理纳入医生的绩效考核中,激发临床医师对于临床路径工作的主动性、积极性^[13]。最后,要重视临床路径患者的满意度调查,探究患者需求和期望,及时发现和解决问题,提升医疗服务质量。

4.3 注重差异化管理 医院在实施临床路径受不同病种、不同科室等因素的影响。一方面要选择符合实

际的考核目标。如内科科室由于疾病变化情况大,变异程度较外科科室可能更大,其入径率可适当降低,同样要考虑不同医疗组收治病种的差异,制定差异化目标。另一方面在病种选择上,基本上都是常见病、多发病,在路径制定上缺乏针对性分析,可能导致临床路径实施效果不明显^[14]。因此临床路径的制定和培训应结合临床实际,将病种相似、临床消耗资源相近的患者归类,实现对病种的初步细化,对不同病情、不同治疗方案的病种设置多种路径,从而促进临床路径实施的安全、经济、有效^[15]。

参考文献:

- [1] 刘雨璇,顾囡囡,周佳佳,等. 基于 Cite Space 的临床路径效果研究可视化分析[J]. 中国农村卫生事业管理, 2023, 43(8):597-603, 608.
- [2] 熊志宏,李俊峰. 公立医院临床路径应用现状及效果评价——以云南省某公立医院腰椎间孔镜手术为例[J]. 卫生软科学, 2020, 34(8):73-76.
- [3] 洪月玲,常战军. 基于健康管理的慢性病社会问题及文化意义分析[J]. 河南预防医学杂志, 2019, 30(3):247-250.
- [4] 廖显明,王晓婕. 我国老年人慢性病共病的现状和应对策略[J]. 应用预防医学, 2022, 28(2):191-194, 197.
- [5] 周英达,卓书雄,杨郁,等. 社区全科未分化疾病临床路径的实施现状及构建策略研究[J]. 中国全科医学, 2023, 26(31):3939-3944.
- [6] 梁红霞,王哲. 2011—2020 年医学生职业认同变迁的横断历史研究[J]. 卫生职业教育, 2023, 41(24):148-152.
- [7] COHEN J. Statistical power analysis[J]. Curr Dir Psychol Sci, 1992, 1(3):98-101.
- [8] 白飞,李敏奇,陈英耀,等. 公立医院临床医师对临床路径实施工作及效果的评价[J]. 中国医院管理, 2017, 37(7):1-4.
- [9] 高雨,陈登菊,杨巧,等. DRG 支付制度下我国临床护理路径的研究现状及趋势[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(12):1815-1818.
- [10] 陈玉玺,张瑞霖,龙思哲. 公立医院基于 DRGs 的精细化费用管理探索——结合临床路径的费用结构分析[J]. 卫生软科学, 2023, 37(10):6-12.
- [11] 朱秀媛,顾囡囡,王军永. 基于横断历史元分析的我国老年人机构养老意愿变迁研究[J]. 中国社会医学杂志, 2023, 40(4):403-407.
- [12] 王建伟. 基于熵权 TOPSIS 法的医疗机构临床路径管理标准化评价研究[J]. 中国医药科学, 2024, 14(2):173-176.
- [13] 贺哲,翁雨雄,夏家红,等. 基于扎根理论的临床路径实施要素和策略分析[J]. 中国医院管理, 2022, 42(6):56-60.
- [14] 朱媛,胡莹莹,许超. 中医临床路径控费效果与影响因素研究[J]. 中医药管理杂志, 2021, 29(17):28-31.
- [15] 王莹莹,郭孟玲,林家荣,等. 基于 DRGs 对急性胆囊炎临床路径的探讨[J]. 江苏卫生事业管理, 2023, 34(2):224-227.

收稿日期:2024-06-06;修回日期:2024-08-05

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:孔帅,黄龙坚.基于PMC指数模型的广西养老政策量化评价研究[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):103-110.

【论著与临床报道】

基于PMC指数模型的广西养老政策量化评价研究

孔帅,黄龙坚

(右江民族医学院,广西 百色 533000)

摘要:目的 对广西健康养老的相关政策文本进行分析,发现政策优点与不足,为进一步优化养老服务政策体系提供建议。方法 通过自治区政府网站、自治区健康委员会官网搜索获取广西健康养老相关政策文本,使用NVivo分析软件,从政策工具、政策目标两个维度对经筛选后得到的19份养老政策文本进行编码,构建PMC指数评价模型,计算PMC指数得分,对政策进行等级评价。结果 政策工具结构使用不平衡,需求型政策工具缺失(17.68%),政策目标存在明显偏好,老年健康支撑体系占比高达31.11%,对养老保障关注较少,仅占11.11%。PMC指数模型结果显示,19份政策均在良好和优秀范围内,PMC得分均值为6.25。结论 广西养老政策总体质量较好,在政策评价、政策措施和功能方面得分较高,但还存在政策工具不均衡、政策目标不够全面,政策参与主体有限等问题。应从增加需求型工具使用、拓展政策目标、动员多主体参与等方面入手提升政策质量。

关键词:养老服务;政策文本分析;政策工具;PMC指数模型

中图分类号:R19 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0103-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.018

Research on quantitative evaluation of elderly care policies in Guangxi based on the PMC index model

KONG Shuai, HUANG Longjian

(Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To analyze the relevant policy texts on healthy elderly care in Guangxi, identify the advantages and disadvantages of the policies, and provide suggestions for further optimizing the elderly care service policy system. **Methods** Relevant policy texts on healthy elderly care in Guangxi were obtained through searching on the websites of the autonomous region government and the autonomous region health commission. Using NVivo analysis software, 19 selected elderly care policy texts were coded from two dimensions: policy instruments and policy objectives. A PMC index evaluation model was constructed, PMC index scores were calculated, and the policies were graded. **Results** The use of policy instrument structures was unbalanced, with a lack of demand-type policy instruments (17.68%). There were clear preferences in policy objectives, with the elderly health support system accounting for 31.11% and less attention paid to old-age security, which only accounted for 11.11%. The results of the PMC index model showed that all 19 policies fell within the good to excellent range, with an average PMC score of 6.25. **Conclusion** Guangxi's elderly care policies are generally of good quality, with high scores in policy evaluation, measures, and functions. However, there are still issues such as an unbalanced use of policy instruments, incomplete policy objectives, and limited policy participation entities. Efforts should be made to improve policy quality by increasing the use of demand-type instruments, expanding policy objectives, and mobilizing multi-subject participation.

Key words: elderly care services; policy text analysis; policy instruments; PMC index model

第一作者:孔帅,在读硕士研究生,研究方向:卫生管理与政策研究,E-mail:546767919@qq.com

通讯作者:黄龙坚,教授,硕士研究生导师,研究方向:医学教育管理,E-mail:huanglongjian@ymun.edu.cn

1997 年广西开始进入老龄化社会,人口老龄化速度逐步加快,并呈现老年人口基数大、增长快,高龄化、空巢化趋势明显,需要照料的失能、半失能老人比例高的态势。截至 2023 年底,广西 60 岁及以上人口达 937 万,占常住人口的 18.64%;65 岁及以上人口 694 万,占常住人口的 13.81%,预计到 2030 年,全区 60 周岁及以上老年人口将超过 1 000 万人,占比超过 20%,进入中度老龄化社会。在老龄化加剧的背景下,广西还存在着养老服务供需结构不均衡,农村养老服务环节薄弱,社会保障体系不完善;医养结合有待深入推进;智慧养老产业规模小,市场竞争力尚未形成;高龄和失能的老人数量增加,照料陪护需求难以满足;养老服务市场化进程缓慢,社会力量未完全参与到养老事业等问题^[1],面对人口老龄化加快,慢性病患率上升,家庭分化以及无子化趋势,居家养老难度上升,建立完善的社会养老服务体系,构建系统性、协调性、针

对性、可操作性的养老政策有着重大意义。本文基于政策工具视角,对广西健康养老服务政策进行分析,了解广西养老服务政策发展现状并发现不足,为政策优化提出建议。

1 资料来源和研究方法

通过广西壮族自治区人民政府门户网站,广西壮族自治区卫生健康委员会官网,以“养老服务”“医养结合”为主题词搜索相关政策文件,检索时间为 2010—2023 年。经筛选最终选取了 19 份相关政策文件,见表 1。本研究根据内容分析的方法^[2],借助 NVivo 软件对 19 份广西健康养老相关政策文本资料进行深度挖掘和归纳。在通读 19 份政策文本后,发现大部分为三级标题式,本文试图按照政策序号—一级标题—二级标题—三级标题(1-1-1-1)的编码方式对每一份政策具体条款编码。

表 1 养老政策汇总表

编号	文件名	发文单位	发文日期
P1	广西壮族自治区人民政府办公厅关于印发广西壮族自治区创新农村养老服务体系建设工作方案的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2012 年 7 月 5 日
P2	广西壮族自治区人民政府关于印发广西壮族自治区老龄事业发展“十二五”规划的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2013 年 3 月 11 日
P3	广西壮族自治区人民政府办公厅关于印发广西社会养老服务体系发展规划(2011—2015 年)的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2013 年 12 月 12 日
P4	广西壮族自治区人民政府关于促进养老服务业加快发展的实施意见	广西壮族自治区人民政府办公厅	2014 年 10 月 9 日
P5	广西壮族自治区人民政府关于建设养老服务业综合改革试验区的意见	广西壮族自治区人民政府办公厅	2015 年 7 月 20 日
P6	广西壮族自治区人民政府办公厅关于推进医疗卫生与养老服务相结合的实施意见	广西壮族自治区人民政府办公厅	2016 年 8 月 9 日
P7	广西壮族自治区人民政府办公厅关于全面放开养老服务市场提升养老服务质量的实施意见	广西壮族自治区人民政府办公厅	2017 年 9 月 27 日
P8	广西壮族自治区人民政府关于印发广西老龄事业发展“十三五”规划的通知	广西壮族自治区人民政府	2017 年 12 月 26 日
P9	广西壮族自治区人民政府办公厅关于制定和实施老年人照顾服务项目的实施意见	广西壮族自治区人民政府办公厅	2018 年 7 月 24 日
P10	广西壮族自治区人民政府关于加快大健康产业发展的若干意见	广西壮族自治区人民政府	2019 年 6 月 21 日
P11	广西壮族自治区民政厅关于印发广西健康养老产业发展专项行动计划(2019—2021 年)的通知	广西壮族自治区民政厅	2019 年 7 月 5 日
P12	广西壮族自治区民政厅广西壮族自治区住房和城乡建设厅关于开展广西老年人宜居社区创建工作的通知	广西壮族自治区民政厅	2019 年 10 月 16 日
P13	广西壮族自治区卫生健康委员会等 8 部门关于印发广西建立完善老年健康服务体系实施方案的通知	广西壮族自治区卫生健康委员会	2020 年 3 月 24 日
P14	广西壮族自治区人民政府办公厅关于印发关于建立健全养老服务综合监管制度促进养老服务高质量发展若干措施的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2021 年 6 月 7 日
P15	广西壮族自治区人民政府办公厅关于印发广西促进养老托育服务健康发展三年行动方案(2021—2023 年)的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2021 年 7 月 22 日
P16	自治区党委办公厅 自治区人民政府办公厅关于印发《广西加强新时代老龄工作实施方案》的通知	中共广西壮族自治区委员会办公厅,广西壮族自治区人民政府办公厅	2022 年 8 月 26 日
P17	广西壮族自治区卫生健康委员会等十六部门关于印发广西“十四五”健康老龄化实施意见的通知	广西壮族自治区卫生健康委员会	2022 年 10 月 14 日
P18	广西壮族自治区人民政府办公厅关于印发广西老龄事业发展“十四五”规划的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2022 年 11 月 7 日
P19	广西壮族自治区人民政府办公厅关于印发《深入推进“壮美广西·长寿福地”康养产业发展三年行动方案(2023—2025 年)》的通知	广西壮族自治区人民政府办公厅	2023 年 11 月 3 日

2 分析框架

政策工具设计是基于目标进行工具选择,涉及目标具体化以及工具和目标的适配性问题,这两者构成了政策文本的主要内容,也形成了公共政策的基本轮廓。政策目标的具体化与对政策问题的解读视角密切相关,不同的政策目标会导向截然不同的政策工具选择^[3]。本文从政策工具、政策目标两个层面构建广西

养老政策的二维分析框架进行分析,见图 1。

2.1 政策工具维度 政策工具维度借鉴 ROTHWELL 和 ZEGVELD 的分类思想^[4],把养老服务政策工具分为供给型、需求型和环境型。供给型工具是指政府通过投入资金、人才、技术和服务等生产要素直接推动养老事业发展。需求型工具表现为通过内需拉动养老服务发展,如政府购买,建立试点示范和培育消费

市场等。环境型工具表现为通过政策制度,监督规划 2。和宣传教育为推动养老服务发展营造良好环境,见表

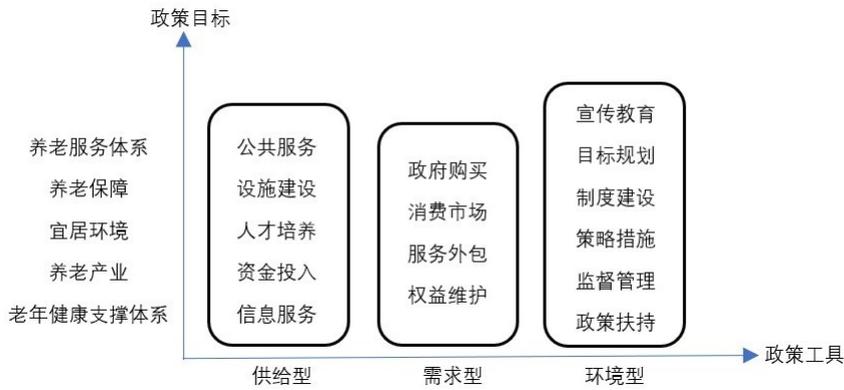


图 1 养老政策二维分析框架

表 2 政策工具维度

政策工具	工具内容	具体内涵
供给型	公共服务设施建设 人才培养 资金投入 信息服务	公共部门为老年人提供的各类服务项目,如健康档案、健康宣传和慢性病管理等 建设养老服务需要的基础设施,如养老服务机构、床位和休闲娱乐场地等 为养老服务培养提供专业的人才 政府对养老服务建设投入的资金支持 建设养老相关信息网络,搭建信息共享平台,建立数据库等
需求型	政府购买 消费市场 服务外包 权益维护	政府直接购买并消费来促进养老服务业的发展 打造培育养老市场,对老年人进行消费补贴 政府通过承包运营、PPP 模式等鼓励社会力量参与养老服务项目建设 完善相关法律条文,维护老年人在使用养老产品和服务时的合法权益
环境型	宣传教育 目标规划 制度建设 策略措施 监督管理 政策扶持	开展老年健康教育,宣扬爱老、敬老的社会氛围 设定一定时期内的发展目标,做出整体规划和指引 政府制定和完善养老服务方面相关制度 通过推进各项养老服务举措优化老年环境,提高老年待遇 对养老服务和产品的质量、运营、安全等方面进行监管 出台相关政策推动养老服务的发展,如土地使用政策、财政补贴政策

2.2 政策目标维度 养老政策最终目的是满足老年人的各种需求,提供各种养老服务内容,帮助老年人实现健康老龄化。经过对 19 份政策通读并结合广西老龄事业发展“十四五”规划,本研究将养老政策的目标

细分为健全养老服务体系、完善养老保障、建设宜居环境、发展养老产业,完善老年健康支撑体系,具体含义见表 3。

表 3 政策目标维度

政策目标	具体含义
健全养老服务体系	涉及社区、居家、机构养老服务工作以及农村养老服务建设
完善养老保障	包括养老保险、医疗保险以及长期护理保险等,旨在发挥养老兜底作用
建设宜居环境	推进无障碍设施建设和适老化改造,宣传爱老社会氛围
发展养老产业	优化老年产品市场,发展智慧养老,推动养老服务与文旅产业相结合
完善老年健康支撑体系	老年健康教育和预防保健,发展老年医疗、康复护理和安宁疗护服务,推进医养结合

3 政策文本内容分析

3.1 政策工具维度分析 政策工具维度,通过统计得到 181 个具体政策工具,结果表见 4。

3.2 政策目标维度分析 通过对广西养老服务政策的目标内容进行统计编码,最终得到 135 条,见表 5。

表 4 政策工具分布情况

政策工具	工具内容	数量	占比/%	总计	占比/%
供给型	公共服务	25	28.74	87	48.07
	设施建设	29	33.33		
	人才培养	14	16.09		
	资金投入	11	12.64		
	信息服务	8	9.20		
需求型	政府购买	6	18.75	32	17.68
	消费市场	12	37.50		
	服务外包	4	12.50		
	权益维护	10	31.25		
环境型	宣传教育	6	9.68	62	34.25
	目标规划	7	11.29		
	制度建设	12	19.35		
	策略措施	11	17.74		
	监督管理	11	17.74		
	政策扶持	15	24.19		

表 5 政策目标分布情况

政策目标	数量	占比/%
健全养老服务体系	28	20.74
完善养老保障	15	11.11
建设宜居环境	24	17.78
发展养老产业	26	19.26
完善老年健康支撑体系	42	31.11

3.3 政策工具和政策目标交叉分析 在政策工具的基础上,引入政策目标维度,得到政策工具和政策目标的二维分布结果。总体来看完善老年健康支撑体系方面使用供给型和环境型工具较多,健全养老体系和建设宜居环境供给型工具使用较多,完善养老保障环境型工具使用较多,发展养老产业需求型工具使用较多。从政策工具的使用类别来看,健全养老服务体系,建设宜居环境和完善老年健康支撑体系涉及的政策工具类别较为丰富,完善养老保障与发展养老产业涉及的政策工具比较单一,见表 6。从政策工具内部使用情况来看,完善老年健康支撑体系方面,公共服务、设施建设和策略措施使用频率高,说明政府主要通过开展老年健康教育、健康档案管理等形式,为老年人提供预防保健、康复护理等服务;并深入推进医养结合,健全医疗卫生机构和养老服务机构合作机制;政府通过策略性措施完善基本养老服务,针对不同老年群体,分层落实政府保障责任,发挥兜底保障功能。健全养老服务体系方面涉及工具类别较多,政府通过设立目标规划,出台政策扶持,在财政投入、土地供应等方面逐步加大对养老体系建设的支持力度,进一步规范发展机构养老,通过直接建设、委托运营、购买服务、鼓励社会投资等多种方式发展机构养老。完善养老保障方面主要使用的是制度建设,通过完善基本养老保险和基本医疗保险制度,建立长期护理保险制度,巩固社会救助和福

利制度,加快健全覆盖全民、统筹城乡、公平统一、可持续发展的多层次社会保障体系。发展养老产业方面,使用最多的是消费市场与政策扶持,通过推进专利培育和品牌建设,扩大老年产品市场供给,打造广西特色品牌,推动老年市场提质扩容;完善落实土地供应政策,税收优惠政策和金融投资政策,引动社会资本参与发展老龄产业,优化营商环境。在建设老年宜居环境方面,设施建设使用较多,大力推进无障碍设施建设和适老化改造,进行城镇老旧小区改造、农村危房改造、农村人居环境整治等措施;并且通过开展“敬老月”等活动宣传弘扬敬老爱老社会风尚。加强老年人权益保障,加强涉老法律援助,积极开展普法宣传,反诈宣传等活动。

表 6 政策工具与政策目标二维交互表

工具类型	健康支持体系	养老保障	养老产业	养老体系	宜居环境
供给型					
公共服务	10	1	0	0	3
人才培养	3	0	0	3	0
设施建设	8	0	0	9	8
信息服务	0	0	2	1	1
资金投入	0	0	0	1	0
小计	21	1	2	14	12
环境型					
策略措施	10	0	0	0	0
法规制度	0	9	0	1	0
监督管理	1	0	1	0	0
目标规划	2	0	0	3	0
宣传教育	0	0	0	0	3
政策扶持	1	0	5	2	1
小计	14	9	6	6	4
需求型					
权益维护	0	0	0	0	5
服务外包	1	0	1	0	1
消费市场	0	0	12	0	0
政府购买	0	0	1	3	0
小计	1	0	13	3	6

4 PMC 指数模型评价

4.1 PMC 指数模型构建 PMC 指数模型全称是 Policy Modeling Consistency,中文名为政策一致性指数模型,可以用来评价多种政策指标。本研究参考 RUIZEM 等^[5]设计的政策评价经典变量并结合本文研究的政策问题,设定 9 个一级变量,每个一级变量下设定若干二级变量,构建二级 PMC 指数评价指标,其中长期政策为 5 年以上,中期政策为 3~5 年,1~3 年为短期,不到一年为过渡政策,详细指标见表 7。

表 7 养老政策 PMC 模型变量设置

一级变量	二级变量
X1 政策性质	X1:1 建议, X1:2 通知, X1:3 计划, X1:4 描述
X2 政策效力	X2:1 长期, X2:2 中期, X2:3 短期
X3 政策措施	X3:1 政府投入, X3:2 法规制度, X3:3 政策扶持
X4 政策功能	X4:1 目标规划, X4:2 激励引导, X4:3 监督管理
X5 政策工具	X5:1 供给型, X5:2 需求型, X5:3 环境型
X6 政策受体	X6:1 老年人, X6:2 医疗机构, X6:3 养老机构, X6:4 社区, X6:5 养老产业
X7 政策领域	X7:1 经济, X7:2 医疗, X7:3 教育, X7:4 科技, X7:5 人才
X8 政策评价	X8:1 依据充分, X8:2 目标明确, X8:3 方案科学
X9 政策目标	X9:1 健全养老服务体系, X9:2 完善养老保障, X9:3 建设宜居环境, X9:4 发展养老产业, X9:5 完善老年健康支撑体系

4.2 PMC 指数模型研究结果

4.2.1 计算与得分 PMC 指数模型计算得分主要分为 3 个步骤:①计算二级变量的值。如果政策涉及到二级变量就取 1, 否则取 0;②计算一级变量的值。一级变量的值是所有二级变量得分与其个数的比值, 即二级变量的算数平均值;③计算 PMC 指数模型的得分。所有一级变量得分的总和即为 PMC 指数得分。具体计算公式如下:

$$\text{PMC} = \begin{bmatrix} X_1 \left(\sum_{i=1}^4 \frac{X_{1i}}{4} \right)^+ & X_2 \left(\sum_{j=1}^4 \frac{X_{2j}}{4} \right)^+ & X_3 \left(\sum_{k=1}^4 \frac{X_{3k}}{4} \right)^+ \\ X_4 \left(\sum_{l=1}^5 \frac{X_{4l}}{5} \right)^+ & X_5 \left(\sum_{m=1}^8 \frac{X_{5m}}{8} \right)^+ & X_6 \left(\sum_{n=1}^3 \frac{X_{6n}}{3} \right)^+ \\ X_7 \left(\sum_{o=1}^5 \frac{X_{7o}}{5} \right)^+ & X_8 \left(\sum_{p=1}^3 \frac{X_{8p}}{3} \right)^+ & X_9 \left(\sum_{q=1}^5 \frac{X_{9q}}{5} \right)^+ \end{bmatrix}$$

$$P = \begin{bmatrix} X_1 & X_2 & X_3 \\ X_4 & X_5 & X_6 \\ X_7 & X_8 & X_9 \end{bmatrix}$$

$$X = N[0,1] \\
 X = \{XR:[0\sim 1]\} \\
 X_t \left(\sum_{j=1}^n \frac{X_{tj}}{T(X_{tj})} \right)_{t=1, 2, 3, 4, 5, 6, \dots}$$

t=主要变量; j=次要变量;

PMC 指数得分可分为 4 个等级, 得分在 0~4.99 区间内为不良政策, 5~6.99 区间内为良好政策, 7~8.99 区间内为优秀政策, 9~10 区间内为完美政策, 得分结果和等级, 见表 8。

表 8 广西养老政策的 PMC 指数表

编号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	总分	等级
P1	0.50	0.67	0.67	1	0.67	0.60	0.80	1	0.60	6.51	良好
P2	1	0.67	0.66	1	0.33	1	0.60	0.67	1	6.93	良好
P3	0.75	0.33	1	0.67	0.67	0.60	0.60	0.67	0.40	5.69	良好
P4	0.75	0.67	0.67	1	1	0.60	0.80	1	0.60	7.09	优秀
P5	0.75	0.33	0.67	0.67	1	0.60	0.60	1	0.60	6.22	良好
P6	0.75	0.33	1	1	0.67	0.80	0.80	1	0.40	6.75	良好
P7	0.50	0.33	0.67	0.33	0.67	0.80	0.80	0.67	0.60	5.37	良好
P8	0.75	0.67	1	1	0.33	1	0.60	0.67	1	7.01	优秀
P9	0.75	0.67	0.33	1	1	0.60	0.80	1	0.80	6.95	良好
P10	0.75	0.67	0.33	0.67	0.33	0.60	0.80	0.67	0.80	5.62	良好
P11	0.50	0.33	0.67	0.67	1	0.60	0.60	0.67	0.80	5.84	良好
P12	0.50	0.33	0.67	0.67	0.33	0.60	0.60	1	0.80	5.50	良好
P13	0.75	0.67	1	0.33	0.33	0.40	0.80	1	0.20	5.48	良好
P14	1	0.67	0.67	0.67	0.67	0.40	0.60	0.67	0.20	5.55	良好
P15	0.50	0.33	0.67	0.67	0.67	0.60	0.80	1	0.40	5.64	良好
P16	0.50	0.67	0.67	1	1	1	0.80	1	0.80	7.44	优秀
P17	0.75	0.67	1	1	0.67	0.60	0.80	0.67	0.80	6.96	良好
P18	0.75	0.67	0.67	1	1	0.40	0.40	1	0.80	6.68	良好
P19	0.75	0.67	0.67	0.67	0.67	0.40	0.60	1	0.20	5.63	良好
均值	0.69	0.54	0.72	0.79	0.68	0.64	0.69	0.86	0.62	6.25	等级评价

4.2.2 结果分析 从政策得分和等级来看, 19 份养老政策均在良好和优秀范围内, PMC 得分均值为 6.25, 说明政策一致性比较高, 各项政策 PMC 指数得分从高到低排序为 P16>P4>P8>P17>P9>P2>P6>P18>P1>P5>P11>P3>P15>P19>P10>P14>P12>

P13>P7, 其中 P16、P4 和 P8 三份政策得分较高, 等级为优秀。从变量得分来看, 9 个变量中 X8 政策评价、X4 政策功能和 X3 政策措施得分均值较高, 分别为 0.86、0.79 和 0.72, 说明所选取的 19 份政策依据充分, 方案科学同时目标明确, 通过政府投入、政策扶持、

设立法规制度等多种措施合力推动广西老龄事业发展,政策功能全面,能够起到规划、引导和监督的作用。X2 政策效力、X9 政策目标和 X6 政策受体得分较低,说明养老政策没有做到长期与短期相顾。政策内容不够全面,一份政策只关注个别重点内容,并且一份政策涉及到的政策受体有限,不能综合考虑老年人,养老机构 and 医疗机构等多个利益相关者,可能增加政策推行阻力。

本研究选取的政策数量较多,因此具体分析排名第一的 P16(自治区党委办公厅自治区人民政府办公厅关于印发《广西加强新时代老龄工作实施方案》的通知)和排名末位的 P7(广西壮族自治区人民政府办公厅关于全面放开养老服务市场提升养老服务质量的实施意见)两份政策。P16 的 PMC 指数模型得分为 7.44,等级为优秀,PMC 曲面图见图 2。P16 的政策性质涉及计划和通知;政策效力为长期和中期;政策措施包含政府投入和政策扶持;政策功能有目标规划,激励引导和监督管理;供给型、需求型和环境型政策工具都有运用;政策受体有老年人、医疗机构、养老机构、社区和养老产业;政策领域涉及经济、医疗、科技和人才;政策评价依据充分,目标明确,方案科学,政策目标;政策目标包括健全养老服务体系,建设宜居环境,发展养老产业和完善老年健康支撑体系。9 个变量中只有 X1 政策性质和 X3 政策措施得分低于均值,X4、X5、X6 和 X8 的得分为 1,表示 P16 的政策功能全面,政策工具和政策受体多元化。P7 的 PMC 指数模型得分为 5.37,等级为良好,曲面图见图 3。P7 的政策性质为建议和计划;政策时效为长期,政策措施包含政府投入和政策扶持;政策功能有目标规划;运用了供给型和环境型政策工具;政策受体有老年人、养老机构、医疗机构和养老产业;政策领域涉及经济和人才;政策评价依据充分,方案科学,政策目标包括健全养老服务体系,发展养老产业和完善老年健康支撑体系。9 个变量中只有 X6 政策效力和 X7 政策领域高于均值,X2 和 X4 得分最低,可见该政策得分低的主要原因为政策时效差,政策功能单一。

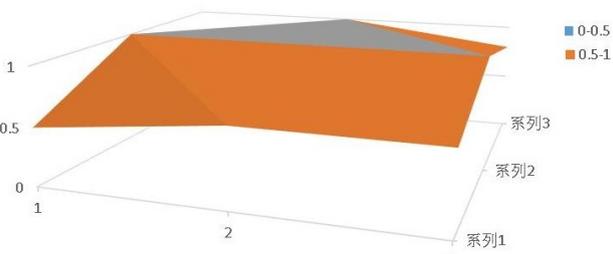


图 2 政策 P16 的 PMC 曲面图

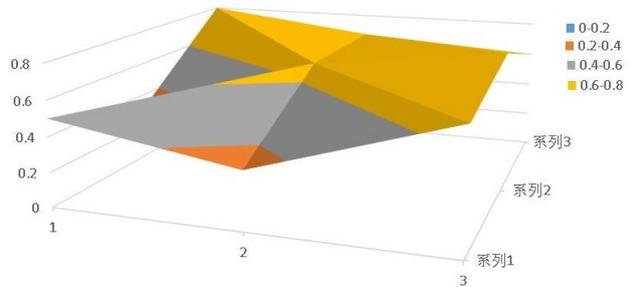


图 3 政策 P7 的 PMC 曲面图

5 讨论

5.1 养老服务政策工具结构失衡 从政策工具维度来看,三类政策工具在数量和结构上存在着不平衡、不协调的问题。在供给型政策工具中,公共服务和设施建设使用次数较多,这表明广西养老政策偏重于硬件基础设施建设,涉及人才培养和信息建设方面的工具较少,对服务内涵式发展推动作用有待加强。需求型政策工具占比仅为 17.68%,特别是作为政策引导作用较强的政府采购比例较低,弱化了社会资本参与的积极性,从而进一步导致服务外包以及财政补贴也处于较低水准^[6]。环境型政策工具使用结构不合理,政策支持 and 制度建设使用过多,不利于激发市场活力,并且涉及具体的策略措施和管理细则较为模糊,目标规划和宣传教育频率较低,这可能导致政策仅仅停留在宣传阶段而未落到实处。

5.2 不同领域的政策关注程度有差距 广西养老服务的政策目标存在明显偏好,涉及老年健康支撑体系和养老服务体系的目标编码占比超过 50%,对于养老产业,养老保障和老年宜居环境关注较少。政策工具的使用也存在偏差,在养老服务保障问题上,政策设计多倾向于制度建设,缺少供给政策工具的使用,广西养老服务体系建设的主要来源是财政资金,社会捐助以及市场运作的资金几乎处于空白状态^[7]。老年群体对养老需求的多元化同样单靠政府供给难以满足,市场化养老是必然选择。这就需要厘清养老保障体系中各参与主体的角色定位,加强引导力度,强化政府对养老服务的兜底保障责任^[8]。养老产业中供给型和环境型政策工具使用较少,缺少相关的制度规范和标准体系,忽略了信息服务和人才建设,不利于养老产业的创新和智慧养老的发展。宜居环境建设方面重点关注设施改造,对精神文化和社会氛围宣传不到位,老年教育、老年人力资源开发、老年人权益保障等方面工作有待加强,随着数字经济的发展,要推进互联网、手机应用程序等智能化服务的适老化及无障碍改造,深入开展智慧助老行动,智能技术适老标准规范也应得到高度关注。

5.3 政策质量良好,但仍有改进空间 总体来看,19

份广西养老政策均在良好和优秀范围内,PMC 得分均值为 6.25,存在着长期政策匮乏,政策目标单一,政策受体有限的问题。与其他地区养老政策质量评价结果对比发现,天津、上海、江苏等地的养老政策 PMC 指数得分较高,政策组合目标设置较为全面,包括了健全市场规范和行业标准、补齐农村养老服务短板、养老服务市场全面放开、构建养老服务保障体系以及健全养老服务综合监管等目标,在政策时效方面得分比较接近,目标规划都集中在 1~3 年内,缺乏长期部署^[9]。与国家层面的养老政策相比^[10],政策领域和政策受体方面尚有差距,广西养老政策在文化和环境领域鲜有涉及,养老服务政策的受益面狭隘,政策举措未能涉及多方主体。

6 结论与建议

6.1 优化政策工具的使用结构 政策工具就是将政策预期转化为实际行动而达成政策目标所采取的手段和方式,政策制定要注重不同类型政策工具的高效运用、衔接匹配和分布均匀。广西养老政策工具的使用呈现出重供给和环境,轻需求的特征,不利于养老服务的健康发展。首先要合理调整供给型政策,在保障设施建设的基础上,政府应加强与之配套的资金投入、人才支持和科技信息支持的投入比例。在人才支持上,在加强养老服务人员的职业吸引力同时还要增强从业人员的专业性,可以构建分级培训模式,出台养老服务人员薪资待遇、考核评价和晋升进修等细点化培训方案。在资金投入上,一方面要增加在人才待遇和医疗保障上的财政投入,另一方面可以加大对信息技术和老年产品研发的支持力度,发展智慧养老。在信息支持上要搭建大数据养老信息服务平台,建立养老服务业数据共享融合机制,应用人工智能、大数据等信息技术,对养老服务业进行科技赋能。其次要提升需求型政策工具的使用比例,拉动养老服务发展。政府作为养老事业的领导者,应该加大对养老服务的购买力度,引导社会资本进入养老市场,但仅依靠政府一个主体很难满足与日俱增和多元化的养老服务需求,也需借助社会力量进行不断补充,可以通过服务外包、财政补贴,推动社会组织深度参与养老服务,进而缓解政府财政压力,加速养老服务的市场化进程^[11]。同时在智慧养老、医养结合等新兴领域加强国际交流合作,学习经验,建立试点示范项目。对于环境型政策工具,适当增加策略措施和宣传教育的使用频率,明确具体实施细则,做好制度衔接。减少政策导向工具的使用,避免养老服务过于依赖政府营造的优质社会环境而弱化了市场本身的作用。

6.2 拓展养老政策的关注领域 养老服务政策在制定和实施的过程中应根据养老服务业发展的实际需

要,结合人口老龄化程度不断加深的现实背景,不断拓展养老服务政策的关注重点和关注领域,以充分满足老年群体日益增长养老服务需求^[12]。广西养老服务政策对老年健康支撑体系关注较多,对养老保障,宜居环境和养老产业关注较少,不利于老龄事业发展。首先要完善养老服务保障体系,持续推进养老保险和医疗保险精准覆盖,特别是农村和贫困地区,做到应保尽保,深入推进长期护理保险制度,巩固社会救助和社会福利制度,织牢社会保障和兜底性养老服务网。其次要重视老年宜居环境建设,营造老年友好型社会环境,在大力推进无障碍设施建设和适老化改造的同时,还要关注老年人精神生活,推进老龄法制建设,加强涉老法律援助,维护老年人合法权益,重视老年群体价值,营造积极社会氛围,大力发展老年教育事业,开发老年人力资源,满足其尊重和自我实现的需求^[13]。最后要促进养老产业发展,优化营商环境,进一步完善土地、投融资等支持政策,引导社会资本参与发展老龄产业。促进老年用品科技化、智能化升级,发展智慧养老。

6.3 加强政策宣传,引导多方参与 政策主体参与度既是政策工具执行效果的重要衡量指标,又是政策工具组合效能发挥的直接体现,养老服务政策在推进过程中必然面临多方需求和利益考量。首先要坚持政府的主导地位,通过其职能构建良好的施政环境,包括政策引导以及法律法规监管考核等。还要重视多元主体参与,兼顾相关主体利益。医疗机构和养老机构是养老服务的重要提供者,协调好双方利益,加强交流合作才能推动医养有机衔接。老年人作为养老服务的最终需求者,理应是政策关注的重点对象,然而目前大多数老人承担服务费用的能力有限,而现阶段政策对老年人主体的支持力度不够,相应的服务保障支持也比较缺乏。同时要充分考虑老年人的养老意愿,加强政策宣传,提升政策的供需匹配度,借助供需双方的长效沟通机制发现需求,如信访机构、当地民政部门或是养老协会,为群众提供反馈需求的渠道^[14]。社会组织和健康产业是市场的重要组成部分,可以通过财政补贴、服务外包、探索 PPP 融资模式以及建设试点示范项目等措施积极引导社会力量参与到养老事业中来。养老政策应有利于激发各参与主体的活力,形成多元主体责任共担、老龄化风险梯次应对、老龄事业人人参与的格局^[15]。

总体来看,广西养老政策文本一致性较高,均在良好和优秀范围,但还存在政策工具结构失衡、政策涉及目标有限、政策参与主体单一等问题,与天津、上海、江苏等地的养老政策相比还有提升空间。应从增加需求型工具使用、拓展养老政策的关注领域、动员多主体参与等方面入手提升政策质量。

- 参考文献:
- [1] 马剑平. 广西养老服务高质量发展的实践困境与对策研究[J]. 中国市场, 2023, (24): 87-90.
- [2] 邱均平, 邹菲. 关于内容分析法的研究[J]. 中国图书馆学报, 2004, 30(2): 14-19.
- [3] 李瑞昌, 林华旌. 高质量公共政策设计逻辑[J]. 公共行政评论, 2024, 17(1): 105-120.
- [4] ROTHWELL R, ZEGVELD W. An assessment of government innovation policies[J]. Review of Policy Research, 1984, 3(3-4): 436-444.
- [5] RUIZ E M A, YAP S F, NAGARAJ S. Beyond the ceteris paribus assumption: modeling demand and supply assuming omnia mobilis[J]. Social Science Electronic Publishing, 2010, DOI: <http://dx.doi.org/>.
- [6] 郭跃伟, 毛君, 王明永, 等. 基于政策工具的河南省医养结合政策文本分析[J]. 中国卫生事业管理, 2024, 41(2): 225-230.
- [7] 黄伊. 加快推进广西养老服务体系建设的思考[J]. 经济研究参考, 2015(35): 19-22.
- [8] 王艳翠, 田侃. 养老保障体系与养老产业协同发展的策略性应对[J]. 社会福利, 2024(1): 25-32.
- [9] 谷明静, 赖佳燕. 基于 PMC 指数模型的我国省级养老服务政策设计的评价[J]. 闽江学院学报, 2023, 44(3): 68-79.
- [10] 邹钰莹, 娄峥嵘. 中央层面养老服务政策内容量化评价——基于 PMC 指数模型的分析[J]. 电子科技大学学报(社科版), 2020, 22(3): 68-76.
- [11] 周圣焱, 李莉, 井力加, 等. 我国社区居家养老政策文本量化研究[J]. 现代预防医学, 2022, 49(2): 268-272.
- [12] 聂爱霞, 陈寿. 我国养老服务政策思考与研究——基于“十三五”时期国家政策文本量化分析[J]. 秘书, 2022, (3): 14-27.
- [13] 朱笑笑, 糜泽花, 钱爱兵. 政策文献计量视角下江苏省养老服务特征及优化策略[J]. 中国卫生事业管理, 2020, 37(3): 227-231.
- [14] 翟运开, 田远航, 赵栋祥. 政策供需匹配视角下养老产业数字化政策效果评估及提升路径[J]. 中国卫生事业管理, 2023, 40(7): 481-485, 490.
- [15] 黄石松, 孙书彦. 政策工具视角下我国养老服务体系研究[J]. 中国卫生政策研究, 2022, 15(9): 19-26.

收稿日期: 2024-08-30; 修回日期: 2024-10-13

(本文编辑 钟琳)

(上接第 91 页)

- [4] 黄海荣. 世界卫生组织《应用新一代靶向测序技术检测耐药结核菌: 快速通告, 2023》解读[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(10): 921-924.
- [5] SHEA J, HALSE T A, LAPIERRE P, et al. Comprehensive whole-genome sequencing and reporting of drug resistance profiles on clinical cases of *Mycobacterium tuberculosis* in New York State[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(6): 1871-1882.
- [6] KO D H, LEE E J, LEE S K, et al. Application of next-generation sequencing to detect variants of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: genotype-phenotype correlation[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2019, 18(1): 2.
- [7] MIAO Q, MA Y Y, Wang Q Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(suppl_2): S231-S240.
- [8] YONKUS J A, WHITTLE E, ALVA-RUIZ R, et al. “Answers in hours”: a prospective clinical study using nanopore sequencing for bile duct cultures[J]. Surgery, 2022, 171(3): 693-702.
- [9] CRyPTIC Consortium and the 100,000 Genomes Project, Allix-Béguec C, Arandjelovic I, et al. Prediction of susceptibility to first-line tuberculosis drugs by DNA sequencing[J]. N Engl J Med, 2018, 379(15): 1403-1415.
- [10] ROBLEDO C A, YEUNG E H, MENDOLA P, et al. Examining the prevalence rates of preexisting maternal medical conditions and pregnancy complications by source: evidence to inform maternal and child research[J]. Matern Child Health J, 2017, 21(4): 852-862.
- [11] World Health Organization. Global tuberculosis report 2015. twentieth ed [R]. Geneva: World Health Organization, 2015. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/191102>.
- [12] WHO. 2018. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- [13] HE Y, GONG Z Y, ZHAO X K, et al. Comprehensive Determination of *Mycobacterium tuberculosis* and *Non-tuberculous mycobacteria* from targeted capture sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 449.
- [14] KAMBLI P, AJBANI K, KAZI M B, et al. Targeted next generation sequencing directly from sputum for comprehensive genetic information on drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Tuberculosis, 2021, 127: 102051.
- [15] 柳清云, 孙刚, 高谦. 结核分枝杆菌(MTB)异质性耐药研究进展[J]. 复旦学报(医学版), 2013, 40(1): 1-4.
- [16] COLL F, MCNERNEY R, PRESTON M D, et al. Rapid determination of anti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences[J]. Genome Med, 2015, 7(1): 51.

收稿日期: 2024-07-28; 修回日期: 2024-11-15

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式: 欧阳苏杭, 梁华清, 黄丽清, 等. 综合生物信息学分析肺腺癌中 HSPB1 表达及调控网络[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1): 111-117, 137.

【论著与临床报道】

综合生物信息学分析肺腺癌中 HSPB1 表达及调控网络

欧阳苏杭^{1,2}, 梁华清^{1,2}, 黄丽清^{1,2}, 黄月华^{1,2}, 谭有将^{1,2}, 屈迟文³, 王荣^{1,2}

1. 右江民族医学院附属医院输血科, 广西 百色 533000;
2. 广西高校桂西高发病临床分子诊断研究重点实验室, 广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院人文与管理学院, 广西 百色 533000)

摘要:目的 用生物信息学技术分析 HSPB1 在肺腺癌中的异常表达及复杂的调控网络。方法 采用 Oncomine、DN-MIVD、UALCAN 和 Kaplan Meier-plotter 分析表达和生存情况。利用 STRING 和 LinkOmics 作基因富集分析 (GSEA)。通过 GSEA 富集激酶、miRNA 和转录因子的靶网络。结果 在 LUAD 中发现 HSPB1 过表达。HSPB1 的表达与 LUAD 的预后、分期和淋巴结转移状况有关, 且与通过调控 MAPK 信号通路和 VEGF 信号通路与功能网络相关。HSPB1 涉及一些肿瘤相关的激酶、miRNA 和转录因子。结论 HSPB1 可能作为 LUAD 的预后和治疗生物标志物。

关键词: 肺腺癌; HSP27 热休克蛋白质类; 生物信息学分析

中图分类号: R730.261.1; R734.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2025)01-0111-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.019

Comprehensive bioinformatics analysis of HSPB1 expression and regulatory networks in lung adenocarcinoma

OUYANG Suhang^{1,2}, LIANG Huaqing^{1,2}, HUANG Liqing^{1,2}, HUANG Yuehua^{1,2}, TAN Youjiang^{1,2}, QU Chiwen³, WANG Rong^{1,2}

1. Department of Blood Transfusion, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Key Laboratory of Research on Clinical Molecular Diagnosis for High Incidence Diseases in Western Guangxi of Guangxi Higher Education Institutions, Baise 533000, Guangxi, China;
3. School of Humanities and Management, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To analyze the aberrant expression and complex regulatory networks of HSPB1 in LUAD by bioinformatics techniques. **Methods** Oncomine, DN-MIVD, UALCAN, and Kaplan Meier-plotter were employed to analyze expression and survival data. STRING and LinkOmics were used for gene set enrichment analysis (GSEA). GSEA was performed to enrich kinase, miRNA, and transcription factor target networks. **Results** Overexpression of HSPB1 was identified in LUAD. The expression of HSPB1 correlated with prognosis, stage, and lymph node metastasis status in LUAD, and it was associated with functional networks via regulation of the MAPK signaling pathway and VEGF signaling pathway. HSPB1 was implicated in several tumor-related kinases, miRNA, and transcription factors. **Conclusion** HSPB1 may serve as a prognostic and therapeutic biomarker for LUAD.

Key words: lung adenocarcinoma; HSP27 heat shock proteins; bioinformatics analysis

基金项目: 国家自然科学基金项目(62341210)

第一作者: 欧阳苏杭, 主治医师, 研究方向: 肿瘤大数据分析, E-mail: 282479723@qq.com

通讯作者: 王荣, 博士, 主管技师, 研究方向: 肿瘤耐药及放疗抵抗, E-mail: rongwang50@163.com

肺癌已被认为是世界上癌症相关死亡的主要原因。根据组织学特点,将其分为非小细胞肺癌和小细胞癌两种类型。非小细胞肺癌由大细胞癌、肺鳞状细胞癌和肺腺癌(Lung adenocarcinoma, LUAD)组成。其中,LUAD 在所有肺癌中所占比例为 60%^[1]。近年来,尽管 LUAD 患者的生存率不断提高,治疗方法不断创新,但 LUAD 患者的预后仍然较差^[2]。因此,发现更多的 LUAD 分子标志物对改善患者预后和个体化治疗具有重要意义。

热休克蛋白(Heat shock proteins, HSPs)是一类具有一定分子功能的蛋白,是在热休克或其他应激条件下,在蛋白质折叠和成熟过程中产生的一类蛋白。HSP27、HSP40、HSP60、HSP70、HSP90 和大 HSP110、GRP170 在逆转或抑制应激或相对高温环境下细胞蛋白的变性或展开中起着至关重要的作用。HSPB1 被命名为 HSP27,是小 HSPs 家族的成员。越来越多的证据表明^[3],HSPB1 在癌症的进展、耐药和转移中起重要作用。有报道表明^[4],HSPB1 的功能通过调节 EMT 和干性与涎腺样囊性癌的进展相关,提示 EMT 与涎腺样囊性癌的放射耐药之间可能存在关联。此外,PtdIns(4,5) p2 关联可促进 p53 与 HSPB1 的相互作用,从而稳定核 p53^[5]。关于 HSPB1 与耐药的关系,HSPB1 通过激活磷酸化 AKT 通路,抑制 p21 从细胞核向血浆的移动起作用。最近的研究已经获得了 HSPB1 表达与多种人类肿瘤预后相关的成果,包括食管腺癌和胰腺导管腺癌^[6-7]。

鉴于 HSPB1 是癌症的重要基因。随着生物技术的快速发展,人们获得了大量数据,生物信息学分析被广泛应用于了解癌症。在本设计中,通过使用综合生物信息学方法来分析 LUAD 与 HSPB1 的转录谱、生存数据、功能等方面的关联,利用 Oncomine、UALCAN、GEPIA 等数据库分析其表达与临床特征及生存状况的关系。

1 材料与方法

1.1 在线数据库分析 利用 Oncomine 数据库(<https://www.oncomine.org>)^[8]分析 HSPB1 基因 mRNA 表达情况。在空缺中填上基因名称,并在 Oncomine 数据库中选择差异基因分析模块(Cancer vs. Normal analysis)。在癌症类型中选择 LUAD。一系列的研究结果在 Oncomine 中进行 Meta 分析。TIMER 2.0 数据库主要包含免疫(immune)、探索(exploration)、评估(estimation)3 个部分。Diff Exp 模块输入基因名“HSPB1”,点击提交,即可得到该基因在多种癌症中的表达情况的箱线图。

1.2 在 Human Protein Atlas 数据库中的分析 人类蛋白质图谱(<https://www.proteinatlas.org>)^[9]是一个开放且可用的数据库,存储了大量关于蛋白质的

数据。组织图谱包括基于主要不同正常组织的 RNA 深度测序(RNA-seq)和组织微阵列免疫组化的组织和器官蛋白质的表达。通过在该数据库中选择肺腺癌正常组织和肿瘤组织分析 HSPB1 蛋白的表达。

1.3 UALCAN 和 Kaplan-Meier 绘图仪数据库分析

UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu>)^[10]是一个分析 31 种癌症类型数据的通用交互式网站,因此,本课题组分析 HSPB1 在正常组织和癌组织中的表达对患者肿瘤分期和转移情况的影响。Kaplan-Meier plotter(<https://kmplot.com/analysis/>)^[11]是一个从基因表达方面分析和绘制生存信息的专业网站,本课题组利用它来估计 HSPB1 的潜在预后意义。

1.4 cBioPortal 数据库与 DAVIA 数据库分析

cbioportal(<http://cbioportal.org>)^[12]是一个包含 225 项癌症研究的综合性公共癌症基因组学数据集。在 cBioPortal 中,分析了 OncoPrint、Cancer Type Summary、Mutations、Co-expression 等部分 HSPB1 的数据。网络可以更好地解释 HSPB1 与邻近基因的相互作用。因此,本课题组通过 DAVIA 分析选择了 LUAD 中基因本体分析(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析的基因和过程。

1.5 LinkedOmics 数据库分析

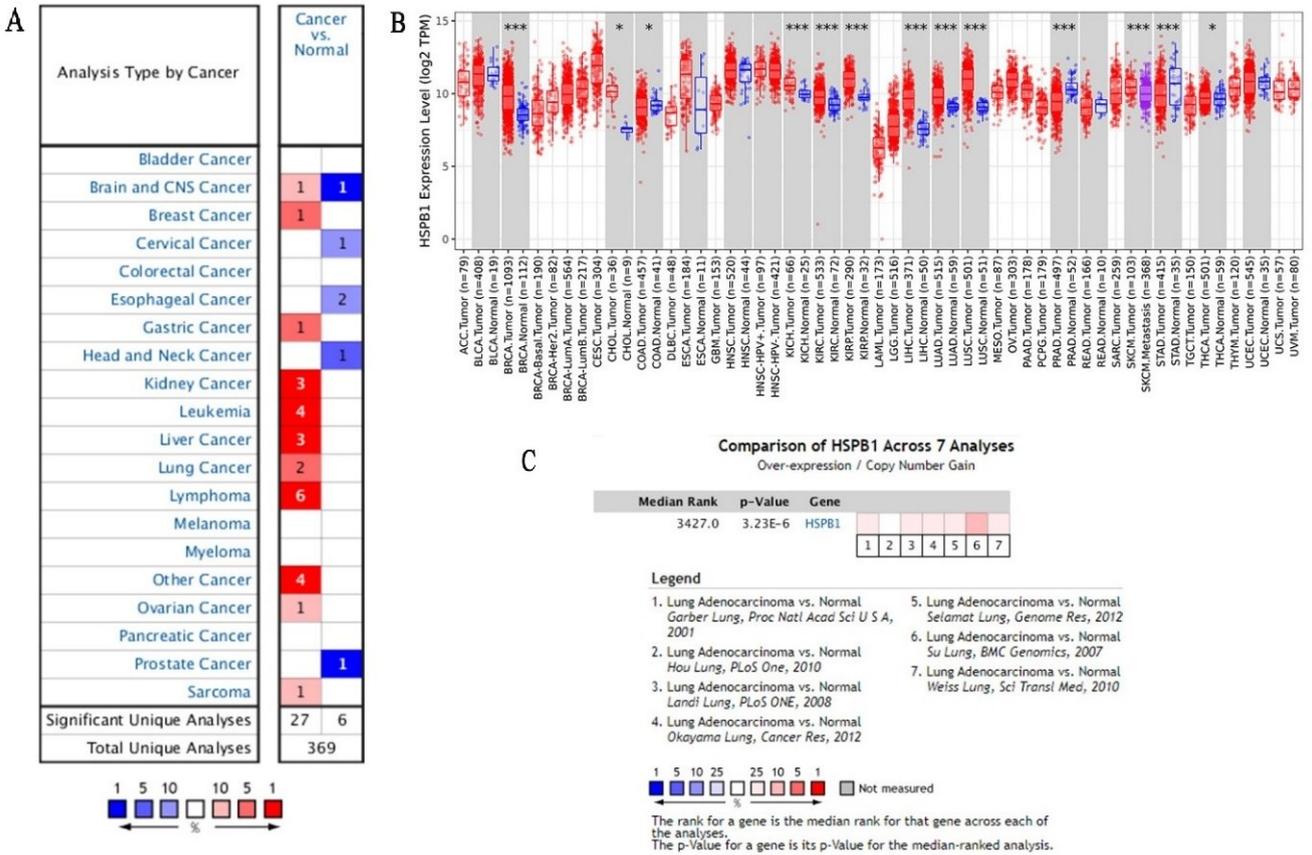
Linked Omics(<http://www.linkedomics.org/>)^[13]是一个公开的门户网站,包含了所有 32 种癌症的多组学数据。该应用程序允许搜索与查询相关的属性,例如转录因子、miRNA 或蛋白激酶的候选目标基因,分析结果可以用普通图形表示。不仅如此,它还基于基因本体、生物途径、网络模块等功能类别进行富集分析,以获得生物学见解。在 Link Finder 上,它还提供了火山图和热图,用于图形化呈现 LUAD 中与 HSPB1 相关的不同表达基因。本课题组找到了 LUAD 中 HSPB1 的 GO 分析和 KEGG 通路,并预测激酶、miRNA 和转录因子的靶标网络。

1.6 GeneMANIA 数据库分析

GeneMANIA(<http://www.genemania.org>)^[14]可以预测候选基因和基因集的功能,能够使用非常大的功能关联数据集筛选与一组输入基因相关的其他基因。因此,本课题组利用该工具构建了最重要的激酶 ATM 和转录因子 FOXO4 的蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络。

2 结果

2.1 HSPB1 在 LUAD 中的转录表达 HSPB1 在包括 LUAD 在内的癌症中表达显著上调(见图 1A、图 1B),结果表明,HSPB1 可能是这些癌症中的促癌基因。为了进一步探讨 HSPB1 的转录表达,采用 Meta 分析和多项研究中单项分析的方法分析正常组织和肿瘤组织之间的表达情况,荟萃分析显示,HSPB1 的表达明显升高($P < 0.01$),见图 1C。

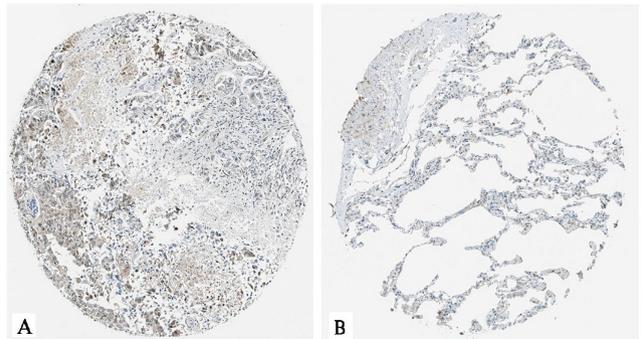


注:A和B(来自 TIMER2 数据库),HSPB1 在各种癌症组织中的转录表达较高;C:对 Oncomine 数据库中 7 项研究的 Meta 分析。

图 1 HSPB1 在 LUAD 中的转录表达(基于 2022 年 1 月数据)

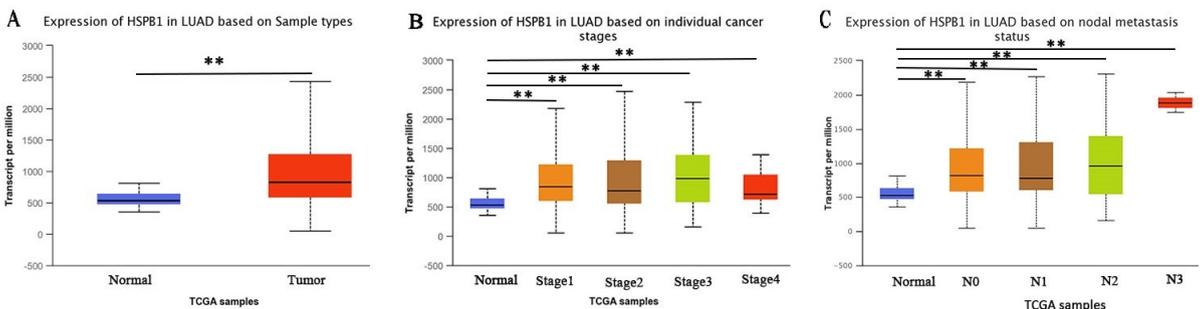
2.2 HSPB1 蛋白的表达 基于 Human protein Atlas 数据库在细胞和组织上分析 HSPB1 在蛋白水平上的表达和定位,如图 2A 和图 2B 所示,HSPB1 蛋白在癌组织中的表达也高于正常组织。

2.3 HSPB1 表达及与临床特征的关系 正常组织与肿瘤组织差异有统计学意义($P < 0.01$),见图 3A。在 HSPB1 表达与临床特征关系分析中,1、2、3、4 分期与对照组相比表达有差异,在 N0、N1、N2、N3 期和对照组相比表达有差异($P < 0.01$),见图 3B、图 3C。



注:A和B分别代表肺腺癌肿瘤组织和正常组织。样品编号:1394;抗体编号:CAB004439。

图 2 HSPB1 蛋白在 Human protein Atlas 数据库中的表达

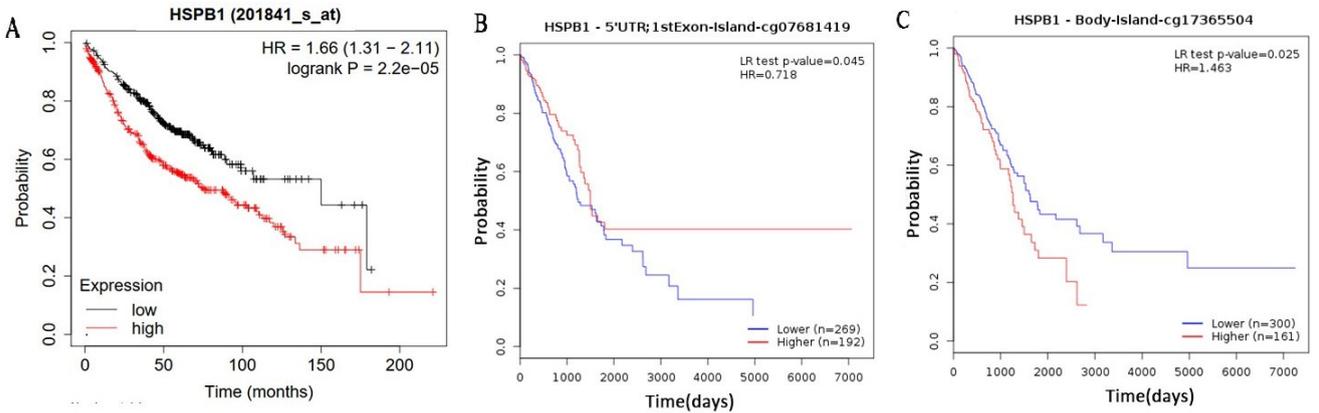


注:A为正常组织和癌组织中 HSPB1 mRNA 水平的比较; B、C为 HSPB1 mRNA 在肿瘤分期和转移状态中的表达。* $P < 0.01$ 。

图 3 HSPB1 表达及与临床特征的关系

2.4 HSPB1 表达与 LUAD 存活的关系 使用中位数作为截断值对高和低表达式进行分组,如图 4A 所示,*HSPB1* 基因高表达与低表达在总生存期上有显著差异($P < 0.001$),*HSPB1* 基因表达越高的患者总

生存期越短。*HSPB1*-5' UTR 的 cg07681419 位点甲基化和 *HSPB1*-Body 的 cg17365504 位点甲基化升高的患者生存期延长($P = 0.045$; $P = 0.025$),见图 4B、图 4C。

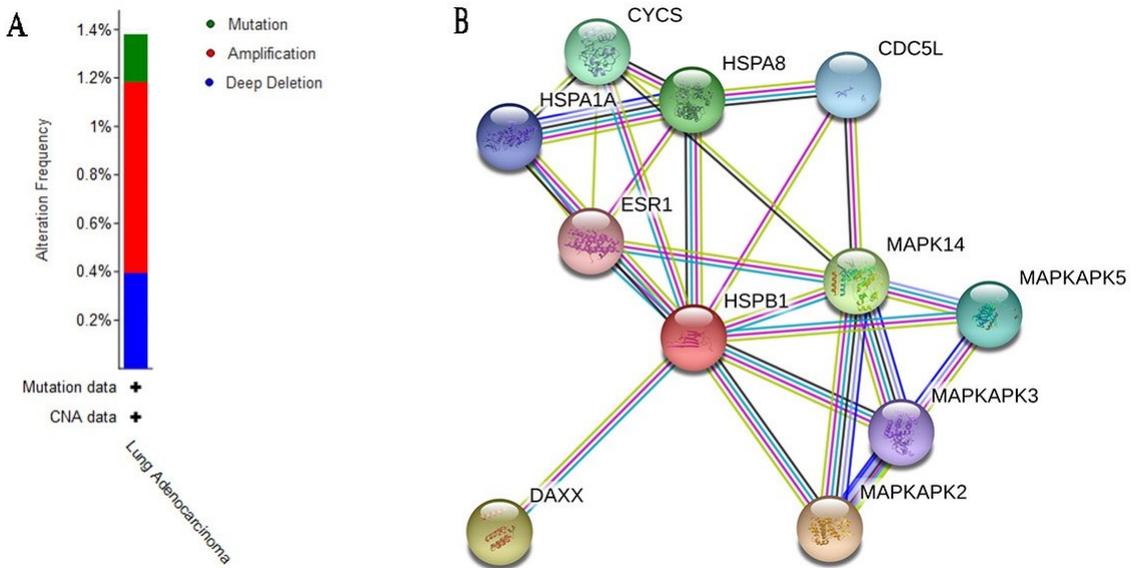


注:A为LUAD患者HSPB1表达与总生存率的关系;B为HSPB1-5'UTR甲基化表达与LUAD患者生存的相关性;C为HSPB1的超甲基化与LUAD生存的关系。

图4 HSPB1表达与LUAD生存的关系

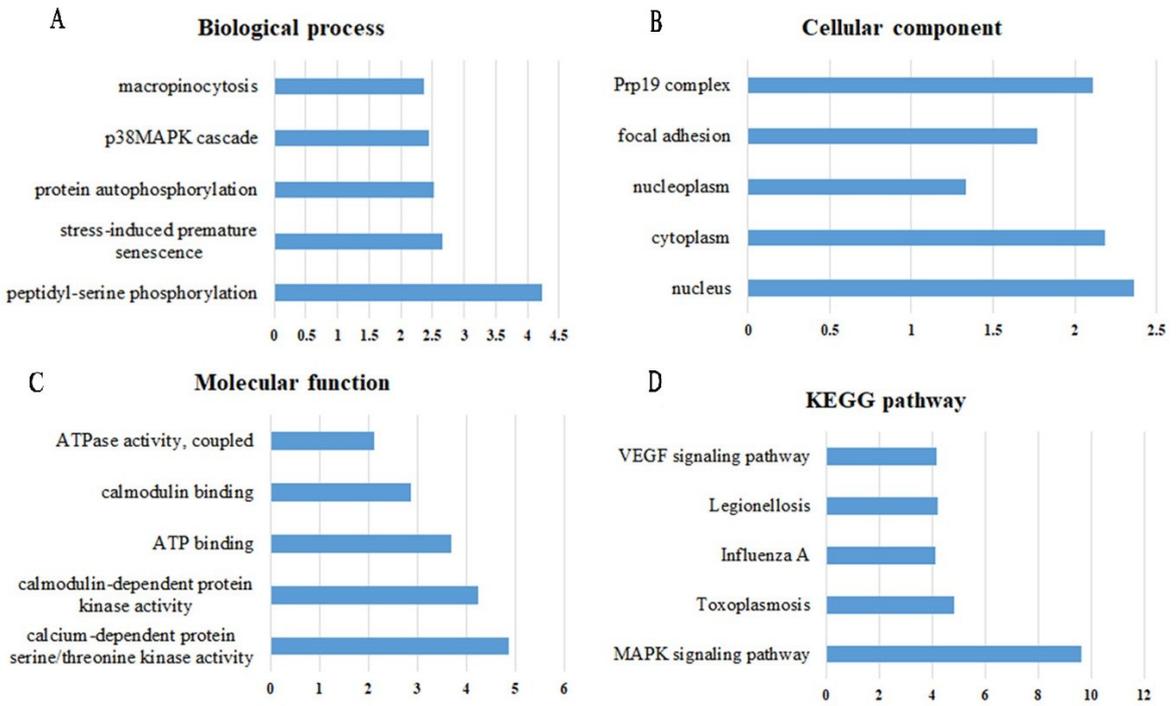
2.5 HSPB1 的基因组改变及相互作用网络 LUAD 的 *HSPB1* 基因存在一些突变形式,见图 5A。利用 STRING 数据库检测蛋白-蛋白相互作用网络,发现有一些蛋白与 *HSPB1* 相互作用,如 *CYCS*、*CDC5L*、*MAPK14* 等,见图 5B。为了了解这些蛋白的功能,使用 DAVID 软件进行 GO 分析和 KEGG 通路分析,这些蛋白互作基因 GO 富集的生物学过程包括:肽基丝氨酸磷酸化、应激诱导的过早衰老、蛋白质自磷酸化、MAPK 级联等,见图 6A。GO 富集的细胞组分包括:

细胞核、细胞质、核质、黏附灶和 PRP19 复合体上,见图 6B。GO 富集的分子功能包括:参与钙依赖性蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、钙调素依赖性蛋白激酶活性、ATP 结合、商品结合和 ATP 酶活性,见图 6C。在 KEGG 通路分析中,发现在 MAPK 信号通路、弓形虫病、甲型流感、军团病和 VEGF 信号通路上富集,见图 6D。特别是两条通路(MAPK 信号通路和 VEGF 信号通路)对 LUAD 至关重要。



注:A为HSPB1患者的突变类型的分布;B为HSPB1邻居的交互网络。

图5 HSPB1的改变和相互作用网络



注:A为GO分析的生物过程分析;B为GO分析的细胞成分分析;

C为GO分析的分子功能分析;D为KEGG通路分析。

图6 交互基因的富集分析

2.6 功能网络富集分析 利用 Linked Omics 对功能网络进行富集分析。GSEA 中的 CC 模块表明,不同基因位于线粒体内膜、线粒体蛋白复合物、呼吸链、NADH 脱氢酶复合物和核糖体上。BP 分析提示它们参与线粒体基因表达、线粒体呼吸链复合体组装、

NADH 脱氢酶复合体组装、翻译延伸和三磷酸核苷代谢过程。此外,它们还参与核糖体的结构成分、氧化还原酶活性、作用于 NAD(P)H、电子转移活性、组蛋白结合、解旋酶活性,如表 1 所示。

表 1 HSPB1 基因编码蛋白的相互作用蛋白 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

Gene set	Description	Ontology	Count	FDR
GO:0140053	mitochondrial gene expression	BP	55	0
GO:0033108	mitochondrial respiratory chain complex assembly	BP	38	0
GO:0010257	NADH dehydrogenase complex assembly	BP	31	0
GO:0006414	translational elongation	BP	62	0
GO:0009141	nucleoside triphosphate metabolic process	BP	67	0.000265
GO:0005743	mitochondrial inner membrane	CC	162	0
GO:0098798	mitochondrial protein complex	CC	102	0
GO:0070469	respiratory chain	CC	44	0
GO:0030964	NADH dehydrogenase complex	CC	27	0
GO:0005840	ribosome	CC	84	0
GO:0003735	structural constituent of ribosome	MF	70	0
GO:0016651	oxidoreductase activity,acting on NAD(P)H	MF	37	0
GO:0009055	electron transfer activity	MF	45	0
GO:0042393	histone binding	MF	68	0.002571
GO:0004386	helicase activity	MF	56	0.002571
hsa00190	Oxidative phosphorylation	KP	48	0
hsa03010	Ribosome	KP	58	0
hsa05012	Parkinson disease	KP	44	0.001708
hsa03050	Proteasome	KP	23	0.002049
hsa05016	Huntington disease	KP	58	0.00244

Note:BP,biological process; CC,cellular component; GO,gene ontology; GSEA,gene set enrichment analysis; KP,KEGG pathway; MF,molecular function

2.7 LUAD 中激酶、miRNA 和转录因子靶点网络的构建 为了研究 HSPB1 是否具有转录因子、激酶和 miRNA 靶点网络,使用 GSEA 进行分析,见表 2。选择最重要的 Kinase_ATM 和转录因子 FOXO4,使用

GeneMANIA 构建 PPI 网络。Kinase_ATM 和转录因子 FOXO4 的富集分析有助于 DNA 完整性检查点、DNA 损伤检查点和细胞周期检查点,见图 7。

表 2 Linked Omics 分析、HSPB1 靶向的激酶、miRNA 和转录因子

Enriched category	Gene set	Leading EdgeNum	P-value
Kinase target	Kinase_ATM	46	0
	Kinase_CDK1	76	0
	Kinase_MAPK13	10	0
	Kinase_RPS6KB1	8	0.004386
	Kinase_CHEK1	40	0.005128
miRNA target	TTTGCAC, MIR-19A, MIR-19B	219	0
	TGTTTAC, MIR-30A-5P, MIR-30C, MIR-30D, MIR-30B, MIR-30E-5P	185	0
	TGAATGT, MIR-181A, MIR-181B, MIR-181C, MIR-181D	168	0
	TGCACTT, MIR-519C, MIR-519B, MIR-519A	161	0
	AATGTGA, MIR-23A, MIR-23B	161	0
Transcription Factor target	TTGTTT_V \$ FOXO4_01	625	0
	KCCGNSWTTT_UNKNOWN	37	0.001081
	V \$ SOX5_01	80	0.001261
	V \$ FOX_Q2	57	0.001513
	GCGSCMNTTT_UNKNOWN	21	0.001892

Note:Leading EdgeNum, the number of leading edge genes; FDR, false discovery rate of Benjamini and Hochberg from gene set enrichment analysis (GSEA). V \$, the annotation found in Molecular Signatures Database (MSigDB) for transcription factors (TF)

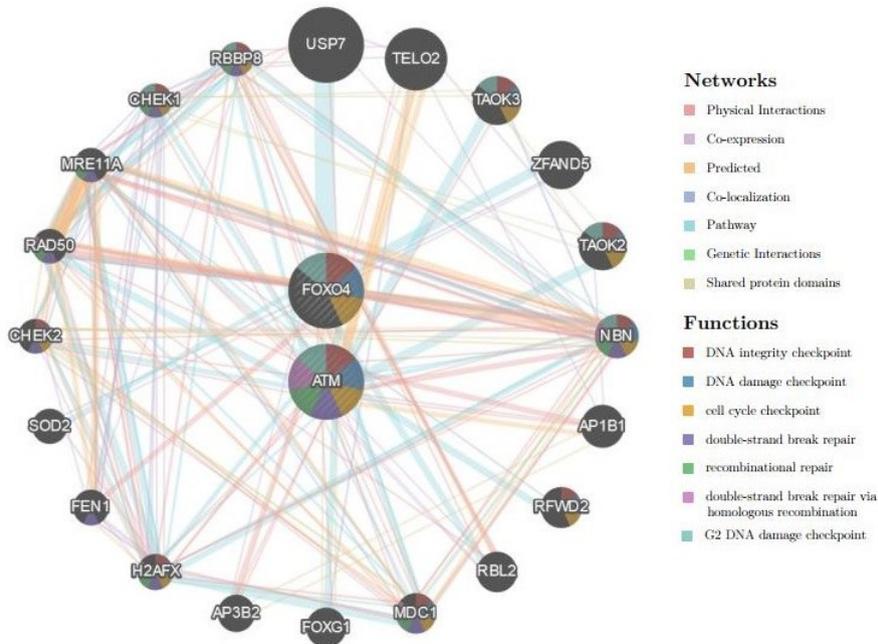


图 7 激酶 ATM 与转录因子 FOXO4 蛋白-蛋白相互作用

3 讨论

人类 HSPB1 的结构已被先前的研究阐明,但在癌症中尚未得到充分的研究。HSPB1 蛋白组学分析的研究认为它在 LUAD 的发展中起重要作用^[15]。在本研究中,利用大量的生物信息学数据来研究 HSPB1 在 LUAD 中的过表达功能,在几个数据库中发现了 LUAD 中 HSPB1 的过表达,通过疾病亚组的互作,发现

HSPB1 表达与临床病理特征的关系存在差异,其表达与临床分期和淋巴结转移有关。在生存研究中,高表达与生存状况不佳有关。所有这些发现都提高了 HSPB1 作为 LUAD 诊断、治疗和预后生物标志物的重要性和准确性。

本课题组推测 HSPB1 可能通过与其他蛋白质相互作用的网络起作用。在接下来对邻域基因与

HSPB1 相互作用的分析中,发现其对与癌症相关的基因有着密切的影响。根据 GO 和 KEGG 分析,它们涉及肽基丝氨酸磷酸化、应激诱导的过早衰老、蛋白质自磷酸化、MAPK 级联等。蛋白质包括钙依赖性蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、钙调素依赖性蛋白激酶活性、ATP 结合、钙调素结合和 ATP 酶活性。MAPK 信号通路和 VEGF 信号通路是它们的信号途径。此外, XU Z H 等^[16]发现 MAPK 信号通路在 LUAD 的核心基因中富集。CHEN T M 等^[17]也通过 GEO 数据库的分析揭示了 MAPK 信号通路是 LUAD 的重要通路之一。基因可以通过 MAPK 信号通路影响癌症的表现,例如增殖和侵袭。

GSEA 富集了 miRNA 靶基因、转录因子靶基因和激酶靶基因。SHI D B 等^[18]报道了 miR-31C 与 HSPB1 的作用,然而其他 miRNA 与 HSPB1 的作用值得注意。叉头盒 O (FOXO)家族已被强调为影响许多癌症发展的重要转录调控因子,FOXO4 调节细胞周期,抵抗氧化应激和对缺氧的反应^[19]。ATM、CDK1、MAPK13、RPS6KB1 和 CHEK1 是前 5 位激酶。ZHAO M N 等^[20]发现 CDK1 是关键基因,CDK1 低表达的 LUAD 患者的总生存期明显更好。ATM 与 DNA 完整性、DNA 损伤和细胞周期检查点广泛相关^[21-23]。与这些结果一致,本课题组预测 HSPB1 可以通过 DNA 相关检查点调控激酶 ATM 和 FOXO4。综合生物信息学分析的优势在于,它提供了一种新的视角,可以将多种生物标志物分析合并在一起,而不是单一角度进行精确优化。肿瘤中免疫细胞浸润的类型和比例与临床结果密切相关,不仅对患者的生存有预测价值,而且影响肿瘤对治疗的反应。因此,它们作为药物靶点和临床生物学靶点具有广阔的前景。

总之,本研究为 HSPB1 在 LUAD 中的价值提供了广泛的证据,这种过表达在 LUAD 的发病机制中具有重要意义。此外,一些 miRNA、癌症相关激酶和转录因子可能是其靶点,HSPB1 在 LUAD 的预后标志物中起关键作用。

参考文献:

- [1] 何宗林,龙皆存,王家盛,等. 肺癌筛查的现状与发展[J]. 医学信息,2024,37(13):169-173.
- [2] TSUBOI M, KONDO K, MASUDA K, et al. Prognostic significance of GAD1 overexpression in patients with resected lung adenocarcinoma[J]. Cancer Med, 2019, 8(9): 4189-4199.
- [3] BABI A, MENLIBAYEVA K, BEX T, et al. Targeting heat shock proteins in malignant brain tumors: from basic research to clinical trials[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(21):5435.
- [4] CHEN K, QUAN J, YANG J, et al. The potential markers of endocrine resistance among HR +/HER2 + breast cancer patients[J]. Clin Transl Oncol, 2020, 22:576-584.
- [5] CHOI S, CHEN M, CRYNS V L, et al. A nuclear phosphoinositide kinase complex regulates p53[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21:462-475.
- [6] SÖDERSTRÖM HK, KAUPPI JT, OKSALA N, et al. Overexpression of HSP27 and HSP70 is associated with decreased survival among patients with esophageal adenocarcinoma[J]. World J Clin Cases, 2019, 7(3):260-269.
- [7] DREXLER RA-O, WAGNER KC, KÜCHLER M, et al. Significance of unphosphorylated and phosphorylated heat shock protein 27 as a prognostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 146(6):1125-1137.
- [8] RHODES D R, YU J J, SHANKER K, et al. Oncomine: a cancer microarray database and integrated data-mining platform[J]. Neoplasia, 2004, 6(1):1-6.
- [9] THUL P J, LINDSKOG C. The human protein atlas: a spatial map of the human proteome[J]. Protein Sci, 2018, 27(1):233-244.
- [10] CHANDRASHEKAR D S, BASHEL B, BALASUBRAMANYA S A H, et al. Ualcan: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. Neoplasia, 2017, 19(8):649-658.
- [11] SONG S K, JUNG W Y, PARK S K, et al. Significantly different expression levels of microRNAs associated with vascular invasion in hepatocellular carcinoma and their prognostic significance after surgical resection[J]. PLoS One, 2019, 14(9):e0216847.
- [12] GAO J J, AKSOY B A, DOGRUSOZ U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal [J]. Sci Signal, 2013, 6(269):p11.
- [13] VASAIKAR SV, STRAUB P, WANG J, et al. Linked omics: analyzing multi-omics data within and across 32 cancer types[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1):D956-D963.
- [14] WARDE-FARLEY D, DONALDSON SL, COMES O, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(Web Server issue):W214-220.
- [15] 李丽萍,陈智鹏,贾海涛,等. 人肺腺癌细胞系与支气管上皮细胞系差异蛋白质组学研究[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(5):917-921.
- [16] XU Z H, WU Z L, XU J T, et al. Identification of hub driving genes and regulators of lung adenocarcinoma based on the gene co-expression network[J]. Biosci Rep, 2020, 40(4):BSR20200295.

本文引文格式:钱格格,杨亚雯,李嘉慧,等.生物信息学分析 KRT6B 在泛癌组织中的表达及其意义[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):118-123.

【论著与临床报道】

生物信息学分析 KRT6B 在泛癌组织中的表达及其意义

钱格格¹,杨亚雯²,李嘉慧¹,况云舒¹,章雯¹,芮雨童¹,陈麒麟³,赵森³,孙恩涛²,陈冰¹

(1. 皖南医学院病理教研室,安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医学院检验学院,安徽 芜湖 241002;

3. 安徽医学高等专科学校基础医学院,安徽 合肥 230601)

摘要:目的 通过生物信息学分析 KRT6B 在泛癌组织中的表达水平、预后和免疫相关特性,阐明其作为肿瘤诊断、预后及治疗方面新的生物标志物的潜力。**方法** 运用 TCGA 数据库和 HPA 数据库分析 KRT6B 的 mRNA 和蛋白在不同肿瘤组织与正常组织中的差异表达;R 语言分析其在泛癌中与预后及免疫相关特性的相关性;采用 CancerSEA 数据库分析 KRT6B 肿瘤细胞表型的相关性;运用 GSEA 富集通路分析 KRT6B 所作用的信号通路;使用 Cellminer 数据库分析 KRT6B 与药物敏感性的相关性。**结果** KRT6B mRNA 和蛋白在多种肿瘤组织与正常组织间存在差异表达 ($P < 0.05$);泛癌中 KRT6B 的高表达与更差的总生存期(OS)、无病间隔期(DFI)、疾病特异性生存期(DSS)、无进展间隔期(PFI)密切相关 ($P < 0.05$);KRT6B 表达水平与多种临床病理特征及肿瘤细胞表型相关 ($P < 0.05$);泛癌中 KRT6B 表达与 TMB、MSI、免疫细胞的浸润水平及免疫检查点相关基因表达存在相关性 ($P < 0.05$);KRT6B 在泛癌中富集在多条与肿瘤相关的信号通路上;KRT6B 高表达与 Barasertib、Dexrazoxane、Acetalax 敏感性水平呈正相关 ($P < 0.05$)。**结论** KRT6B 在多种肿瘤组织中高表达,表现出与多种肿瘤预后、免疫因素及肿瘤相关通路和表型相关,拥有成为新的肿瘤生物标志物的潜力。

关键词:KRT6B;泛癌;免疫细胞浸润;预后;药物敏感性

中图分类号:R739.9

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0118-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.020

Bioinformatics analysis of the expression and significance of KRT6B in pan-cancer tissues

QIAN Gege¹, YANG Yawen², LI Jiahui¹, KUANG Yunshu¹, ZHANG Wen¹,
RUI Yutong¹, CHEN Qilin³, ZHAO Sen³, SUN Entao², CHEN Bing¹

(1. Pathological Teaching and Research Office, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

2. School of Laboratory Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

3. School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical College, Hefei 230601, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To explore the expression levels, prognosis, and immune-related characteristics of KRT6B in pan-cancer tissues through bioinformatics analysis, and to elucidate its potential as a novel biomarker for tumor diagnosis, prognosis, and treatment. **Methods** The TCGA database and HPA database were used to analyze the differential expression of KRT6B mRNA and protein in different tumor tissues versus normal tissues, the R language was used to analyze its correlation with prognostic and immune-related properties in pan-cancer, and the CancerSEA database was used to analyze the correlation between the tumor cell phenotypes of KRT6B, the signaling pathways associated with KRT6B were analyzed using the GSEA enrichment pathway, and the correlation between KRT6B and drug sensitivity was analyzed using the Cellminer database.

Results KRT6B mRNA and protein were differentially expressed in multiple tumor tissues compared to normal tissues ($P < 0.05$). High expression of KRT6B in pan-cancer was significantly associated with worse o-

基金项目:安徽省高校科研计划自然科学重点项目(2022AH051235);国家级大学生创新创业训练计划项目(202310368004)

第一作者:钱格格,硕士,研究方向:肿瘤病理学,E-mail:20239028@wnmc.edu.cn

通讯作者:陈冰,教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤病理学,E-mail:chenbing@wnmc.edu.cn

verall survival (OS), disease-free interval (DFI), disease-specific survival (DSS), and progression-free interval (PFI) ($P < 0.05$). KRT6B expression levels were correlated with various clinicopathological features and tumor cell phenotypes ($P < 0.05$). In pan-cancer, KRT6B expression was associated with TMB, MSI, immune cell infiltration levels, and immune checkpoint-related gene expression ($P < 0.05$). KRT6B was enriched in pan-cancer on multiple tumor-related signaling pathways. High KRT6B expression was positively correlated with sensitivity to Barasertib, Dexrazoxane, and Acetalax ($P < 0.05$). **Conclusion** KRT6B is highly expressed in multiple tumor tissues and is associated with tumor prognosis, immune factors, tumor-related pathways, and phenotypes, demonstrating its potential as a novel tumor biomarker.

Key words: KRT6B; pan-cancer; immune cell infiltration; prognosis; drug sensitivity

肿瘤作为发病率高且致死率高的疾病,严重威胁着人类的生命健康,2019 年的全球死亡数据显示,在 57 个国家(包括中国)中,癌症是 70 岁之前的第一大死亡原因^[1]。免疫治疗作为一种有效的肿瘤治疗手段,但只有部分患者能从中受益^[2]。近年来,通过泛癌分析手段寻找新的肿瘤生物标志物,探究靶基因的作用机制,为肿瘤的诊断和治疗提供了新的视角^[3]。KRT6B^[4]编码的蛋白质属于 II 型细胞角蛋白基因家族,SONG Q 等^[5]研究发现 KRT6B 增加了膀胱癌细胞的侵袭性。目前少有文献报道 KRT6B 与泛癌及肿瘤免疫的关系,本研究运用生物信息学方法分析多个在线数据库的数据,探究泛癌组织中 KRT6B 的表达水平,评估其表达与肿瘤预后及肿瘤免疫微环境的相关性,为未来肿瘤的诊疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 KRT6B mRNA 在泛癌的表达和临床资料整理

从 TCGA 数据库下载 33 种肿瘤的转录组数据和临床资料,使用 Strawberry Perl 软件整理数据并提取 KRT6B mRNA 在泛癌中的表达量。

1.2 分析 KRT6B mRNA 的表达水平、预后及免疫特性相关性 使用 R 语言分析 33 种肿瘤数据,分析评估 KRT6B 的表达与预后、病理特征、肿瘤突变负荷、微卫星不稳定性、免疫细胞浸润及免疫检查点相关基因的相关性,并使用 ggplot2 包可视化数据。

1.3 人类蛋白质图谱数据库分析 KRT6B 蛋白表达情况 进入 HPA 数据库,使用“PATHOLOGY”模块和“TISSUE”,查看 KRT6B 在不同癌旁组织及肿瘤组织中免疫组织化学染色情况。

1.4 CancerSEA 数据库分析 KRT6B 表达与肿瘤细胞表型相关性 进入 CancerSEA 数据库,点击 Search 进入检索页面,检索框输入“KRT6B”,点击 Search 即可得到结果。

1.5 GSEA 数据库分析 KRT6B 富集的通路 从 GSEA 数据库下载通路数据,使用 R 语言分析 KRT6B 在泛癌中所作用的主要通路,使用 ggplot2 包可视化结果。

1.6 Cellminer 数据库分析 KRT6B 表达与药物敏感

性的相关性 通过 Cellminer 数据库下载 RNA 表达数据和药物数据,使用 impute 包和 limma 包分析数据,筛选出相关药物,并用 ggplot2 包可视化数据。

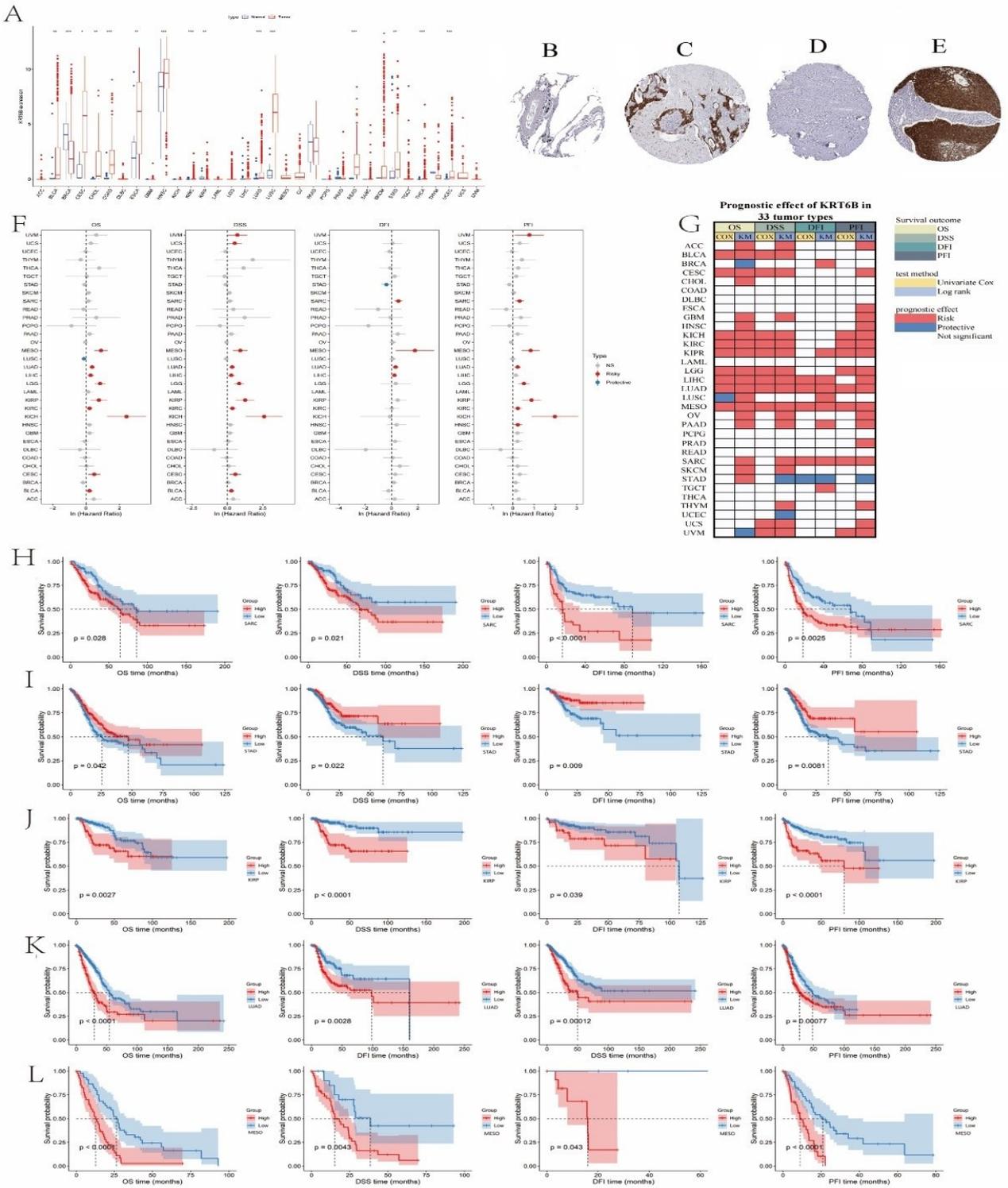
1.7 统计学方法 使用 R 软件进行统计分析。使用 Wilcoxon 检验分析 KRT6B mRNA 在肿瘤组织和正常组织中的表达水平;通过 Kaplan-Meier 分析和单因素 COX 分析评估 KRT6B 表达与患者生存率的相关性,使用 Log-rank 检验比较 KRT6B 高、低表达组;通过 MCP-counter 算法分析 KRT6B 的免疫相关性;采用 Spearman 相关性检验分析 KRT6B 表达和免疫细胞浸润水平、免疫检查点相关基因、TMB 及 MSI 的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KRT6B mRNA 在泛癌中肿瘤组织与正常组织表达的差异 相较于正常组织,KRT6B 在膀胱癌、宫颈癌、胆管癌、结肠癌、食管癌、头颈部鳞癌、肾透明细胞癌、肾乳头状细胞癌、肺腺癌、肺鳞状细胞癌、直肠腺癌、胃腺癌、甲状腺癌、子宫内膜癌中的表达水平明显升高($P < 0.05$),在乳腺癌中表达水平下调($P < 0.05$)。见图 1A。

2.2 KRT6B 蛋白在泛癌组织中的表达情况 通过 HPA 数据库分析 KRT6B 蛋白在正常组织和肿瘤组织中的表达水平。免疫组织化学染色结果显示(抗体编号:HPA045697),在正常肺(Patient ID:2208)组织中未见 KRT6B 表达,而在肺癌组织(Patient ID:3016)中染色强度为强阳性,阳性细胞频率 $>75\%$;于正常宫颈组织(Patient ID:531)中染色强度中等,阳性细胞频率 $<25\%$,而在宫颈癌组织中染色强度为强阳性,阳性细胞频率 $>75\%$ 。见图 1B~图 1E。

2.3 KRT6B 在不同肿瘤中表达与预后的相关性 单因素分析和 Kaplan-Meier 生存分析总生存期(OS)、疾病特异性生存期(DSS)、无病间隔期(DFI)和无进展间隔期(PFI)。KRT6B 高表达在肾嫌色细胞癌、肾透明细胞癌、肾乳头状细胞癌、低级别胶质瘤、肝细胞肝癌、肺腺癌、间皮瘤及肉瘤中与预后不良相关($P < 0.05$);在胃癌中 KRT6B 低表达则提示预后不良($P < 0.05$)。见图 1F~图 1L。



注:A. KRT6B mRNA 在泛癌与正常组织中的差异表达;B. 正常肺组织;C. 肺癌组织;D. 正常宫颈组织;E. 宫颈癌组织;
 F. KRT6B 表达与生存单因素 COX 分析;G. KRT6B 与预后相关性;H. 非小细胞肺癌(SARC);I. 胃腺癌(STAD);
 J. 肾乳头状细胞癌(KIRP);K. 肺腺癌(LUAD);L. 恶性间皮瘤(MESO)。

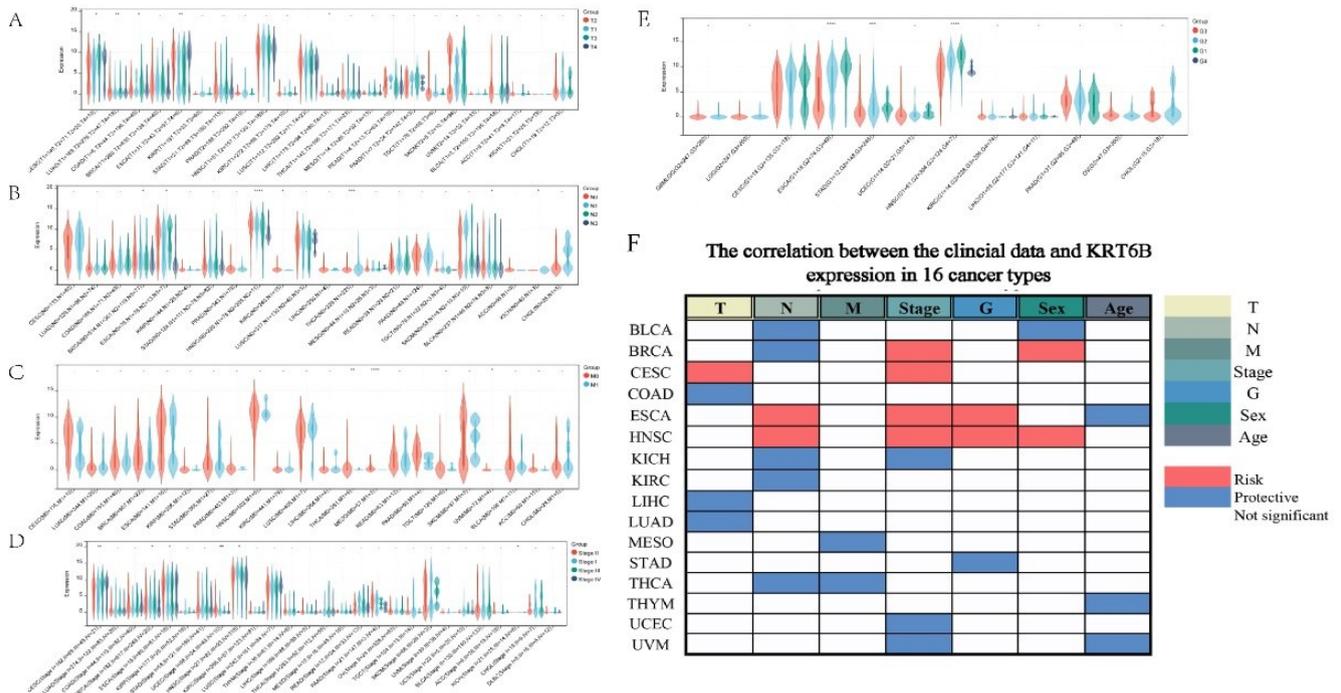
图 1 KRT6B 在不同组织中的表达情况、互作蛋白信息及 COX 生存分析

2.4 KRT6B 的表达与多种肿瘤患者临床病理参数之间的关系 KRT6B 的表达与结肠癌、肾嫌色细胞癌、宫颈癌及肺腺癌 T 分期有关 ($P < 0.05$);食管癌、头颈部鳞癌中 KRT6B 表达与 N 分期呈正相关,在肾透明细胞癌、甲状腺癌、乳腺癌、膀胱癌、肾嫌色细胞癌中

的 KRT6B 表达则与 N 分期水平呈负相关 ($P < 0.05$);在甲状腺癌和间皮瘤中 KRT6B 高表达与 M 分期呈负相关 ($P < 0.05$);在宫颈癌、乳腺癌、食管癌、头颈部鳞癌、肾嫌色细胞癌、子宫内膜癌、与葡萄膜黑色素瘤中 KRT6B 表达与肿瘤分级相关 ($P < 0.05$);

食管癌和头颈部鳞癌中的 KRT6B 表达水平与 G 分级呈正相关,在胃癌中呈负相关($P < 0.05$)。见图 2A~

图 2F。



注:A. T 分期;B. N 分期;C. M 分期;D. 病理分级;E. G 分期;F. KRT6B 与临床病理分期相关性。

图 2 KRT6B 表达临床病理分期相关性

2.5 KRT6B 在泛癌中与肿瘤免疫浸润之间的相关性 胸腺瘤中初始 B 细胞、浆细胞、记忆 T 细胞激活、滤泡性辅助 T 细胞、树突状细胞与 KRT6B 表达相关($P < 0.05$);子宫内膜癌中初始 B 细胞、树突状细胞激活、肥大细胞激活、M1 型巨噬细胞和 M2 巨噬细胞水平与 KRT6B 表达相关($P < 0.05$);在膀胱癌中,KRT6B 表达水平与调节性 T 细胞、初始 B 细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞激活和滤泡性辅助 T 细胞水平具有相关性($P < 0.05$);在头颈部鳞癌中,KRT6B 的表达与 NK 细胞激活、树突状细胞静息、M1 型巨噬细胞水平、中性粒细胞、调节性 T 细胞具有相关性($P < 0.05$)。见图 3A~图 3F。

2.6 KRT6B 在泛癌中的表达水平与 TMB 和 MSI 的关系 在宫颈癌和低级别胶质瘤中 KRT6B 表达与 TMB 水平表现为正相关,在甲状腺癌、前列腺癌、肺鳞状细胞癌、肾乳头状细胞癌、头颈部鳞癌、食管癌中呈负相关($P < 0.05$);在胆管癌、黑色素瘤、前列腺癌、肾乳头状细胞癌、食管癌中,KRT6B 的表达均与 MSI 呈负相关,在睾丸生殖细胞肿瘤中呈正相关($P < 0.05$)。见图 3H、图 3I。

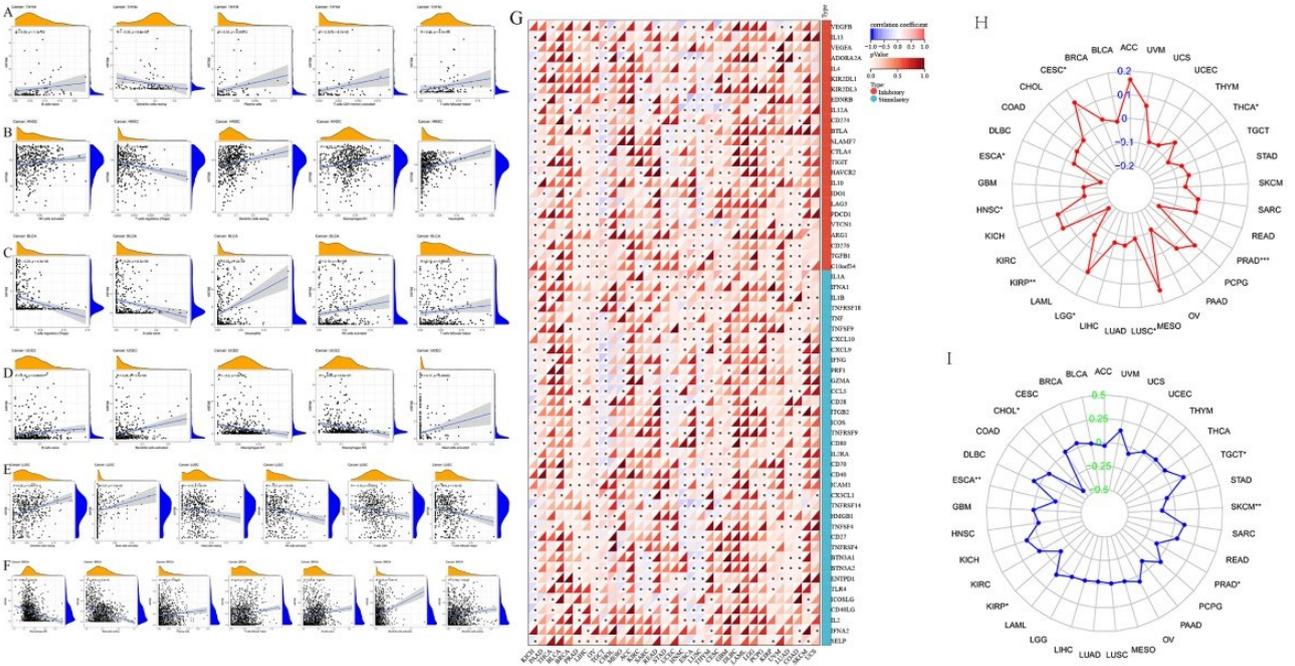
2.7 KRT6B 在泛癌中与免疫检查点的相关性 在泛癌中,KRT6B 表达与 CD27、CD28、CD70、CD40、

CD80、PDCD1、TGFB1、KIR2DL1、KIR2DL3 等免疫检查点呈负相关($P < 0.05$)。见图 3G。

2.8 KRT6B 表达与肿瘤细胞表型的相关性分析 在 CancerSEA 数据库涵盖的胶质细胞瘤、乳腺癌、头颈部鳞癌、结直肠癌 4 种肿瘤单细胞数据中,KRT6B 的表达与多形性胶质瘤的转移与 DNA 修复水平表现出负相关,在头颈部鳞癌和结肠癌中与 DNA 修复呈负相关($P < 0.05$),而在乳腺癌中则与多数表型呈正性相关($P < 0.05$),如 DNA 修复,血管生成、自噬、分化、上皮细胞-间质转化,炎症、转移、沉默、肿瘤干性。见图 4A。

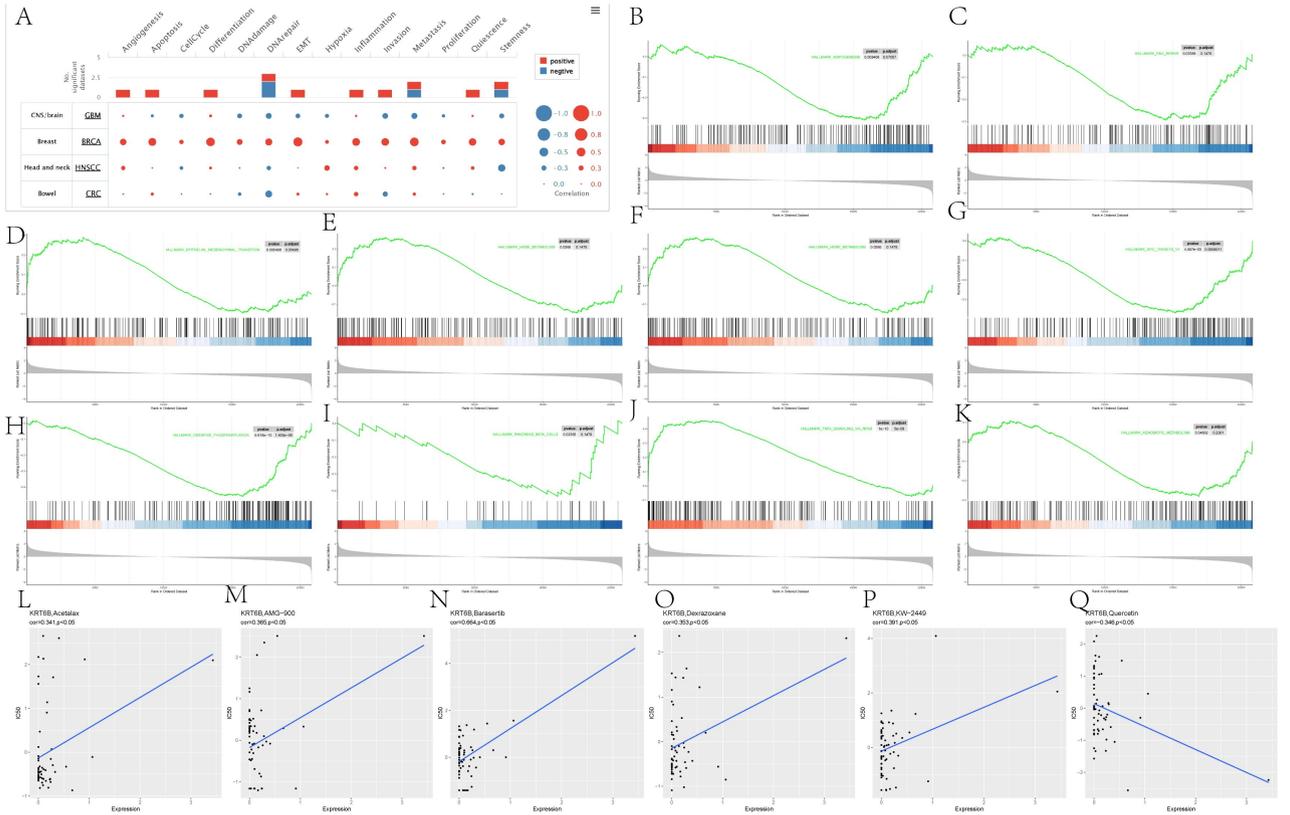
2.9 KRT6B 富集通路分析 GSEA 富集通路分析表明,于泛癌中 KRT6B 在氧化磷酸化通路、MYC 通路、胰岛 β 细胞通路、脂肪代谢通路、DNA 修复通路、外源代谢通路中下调,在血红蛋白代谢通路、上皮细胞间质转化通路、炎症反应通路、NF- κ B 信号通路中上调。见图 4B~图 4K。

2.10 KRT6B 表达与相关药物的敏感性分析 通过分析 Cellminer 数据库中经过临床实验和 FDA 批准的 药物结果数据,KRT6B 表达与 Barasertib、SNS-314、KW-2449、AMG-900、Acetalax、Dexrazoxane 与 Quercetin 呈现出相关性。见图 4L~图 4Q。



注:A. 甲状腺癌(THYM);B. 头颈鳞状细胞癌(HNSC);C. 膀胱尿路上皮癌(BLCA);D. 子宫内膜癌(UCEC);
E. 肺腺癌(LUSC);F. 乳腺癌(BRCA);G. KRT6B 表达与免疫检查点相关基因相关性;H. TMB;I. MSI。

图 3 KRT6B 表达与肿瘤免疫相关性



注:A. KRT6B 与肿瘤细胞表型分析;B~K. 富集通路分析;L~Q. 药物敏感性分析。

图 4 KRT6B 与肿瘤细胞表型、富集通路、药物敏感性相关性

3 讨论

肿瘤严重威胁人类健康和生存,泛癌分析是从基因的角度出发探究肿瘤的发生发展中的基因组变化。

为了帮助更多患者更好地接受免疫治疗^[6],寻找更加敏感的全新生物标志物至关重要。

本研究结果表明,KRT6B 在食管癌等 14 种肿瘤

组织表达高于正常组织,并且其高表达在多数肿瘤中与预后不良相关,结合临床病理信息可观察到 KRT6B 的表达与多种类型肿瘤的 TNM 分期、病理分期、病理分级具有相关性,KRT6B 蛋白在部分正常组织中无表达,在皮肤癌、肺癌和结肠癌组织中均有表达。鉴于此,提示 KRT6B 的表达与多种肿瘤的进展存在相关,有望成为肿瘤诊断的新靶向性生物标志物,并可用于临床肿瘤患者的分级分期,提高诊疗的精准性。mRNA 作为连接 DNA 和蛋白质遗传信息的桥梁,在将基因型转化为表型方面具有重要作用^[7]。脂质代谢对肿瘤生长和生存至关重要,肿瘤倾向于进行代谢重编程以适应肿瘤微环境的变化^[8],改变脂质代谢有望成为抑制 EMT 和转移的治疗靶点^[9]。本研究结果显示,KRT6B 于脂肪代谢通路中下调,在 EMT 通路上调,并且在 4 种肿瘤中表现出与肿瘤细胞表型相关,提示其有成为控制肿瘤转移的治疗靶点的可能性。肿瘤微环境对于癌症的生物学功能起到至关重要的作用,并可影响到肿瘤的进展,血管生成,耐药性和治疗^[10]。本研究结果显示 KRT6B 表达在子宫内膜癌中与 M1 和 M2 型巨噬细胞水平相关,提示其可能通过肿瘤相关巨噬细胞影响子宫内膜癌的进展。MSI 与 TMB 可用于识别可能受益于免疫检查点抑制剂的患者的基因组生物标志物^[11]。本研究结果显示,泛癌中 KRT6B 表达与 TMB、MSI 及免疫检查点相关基因存在相关性,提示 KRT6B 可能具有作为免疫治疗靶点和预测治疗效果的功能。KRT6B 与相关药物的敏感性结果显示,其表达与丝氨酸/苏氨酸激酶类药物 Acetalax 敏感性呈现出正相关,有研究证明 Acetalax^[12]在乳腺癌细胞系中从多方面诱导细胞饥饿反应,最终导致程序性的细胞死亡;与抗肿瘤辅助药物 Dexrazoxane 敏感性呈正相关,Dexrazoxane^[13]可以减少接受多柔比星治疗的急性淋巴细胞白血儿童患者的心脏毒性症状。这些结果表明 KRT6B 拥有作为挑选免疫治疗药物的标志物的潜力。

本研究运用生物信息学手段分析线数据库的数据,探索 KRT6B 在肿瘤发生发展中的机制,从而解释了 KRT6B 作为肿瘤预后和免疫治疗反应预测生物标志物的潜力,并为日后其在肿瘤免疫治疗的研究提供新思路。

参考文献:

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, WEIDERPASS E, et al. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide[J]. *Cancer*, 2021,

127(16):3029-3030.

- [2] BORGEAUD M, SANDOVAL J, OBEID M, et al. Novel targets for immune-checkpoint inhibition in cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2023, 120:102614.
- [3] ICGC/TCGA PAN-CANCER ANALYSIS OF WHOLE GENOMES CONSORTIUM. Pan-cancer analysis of whole genomes[J]. *Nature*, 2020, 578(7793):82-93.
- [4] POPESCU N C, BOWDEN P E, DIPAOLO J A. Two type II keratin genes are localized on human chromosome 12[J]. *Hum Genet*, 1989, 82(2):109-112.
- [5] SONG Q, YU H, CHENG Y D, et al. Bladder cancer-derived exosomal KRT6B promotes invasion and metastasis by inducing EMT and regulating the immune microenvironment[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1):308.
- [6] JAVED S A, NAJMI A, AHSAN W, et al. Targeting PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibition for cancer immunotherapy: success and challenges [J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1383456.
- [7] ZHANG C Z, LIANG S Y, ZHANG H N, et al. Epigenetic regulation of mRNA mediates the phenotypic plasticity of cancer cells during metastasis and therapeutic resistance (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2024, 51(2):28.
- [8] BIAN X L, LIU R, MENG Y, et al. Lipid metabolism and cancer[J]. *J Exp Med*, 2021, 218(1):e20201606.
- [9] DIN Z U, CUI B, WANG C X, et al. Crosstalk between lipid metabolism and EMT: emerging mechanisms and cancer therapy[J]. *Mol Cell Biochem*, 2025, 480(1):103-118.
- [10] BILOTTA M T, ANTIGNANI A, FITZGERALD D J. Managing the TME to improve the efficacy of cancer therapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:954992.
- [11] PALMERI M, MEHNERT J, SILK A W, et al. Real-world application of tumor mutational burden-high (TMB-high) and microsatellite instability (MSI) confirms their utility as immunotherapy biomarkers[J]. *ESMO Open*, 2022, 7(1):100336.
- [12] MORRISON B L, MULLENDORE M E, STOCKWIN L H, et al. Oxyphenisatin acetate (NSC 59687) triggers a cell starvation response leading to autophagy, mitochondrial dysfunction, and autocrine TNF α -mediated apoptosis[J]. *Cancer Med*, 2013, 2(5):687-700.
- [13] CHOW E J, AGGARWAL S, DOODY D R, et al. Dexrazoxane and long-term heart function in survivors of childhood cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(12):2248-2257.

收稿日期:2024-05-25;修回日期:2024-07-15

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:张玲,翁雨洁,王峙,等.环境重金属联合暴露风险分层以及青少年肾脏健康的关联研究[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):124-131.

【论著与临床报道】

环境重金属联合暴露风险分层以及 青少年肾脏健康的关联研究

张玲¹,翁雨洁¹,王峙²,袁敏^{1,3}

- 安徽医科大学卫生管理学院卫生健康数据科学系,安徽 合肥 230032;
- 苏州大学第二附属医院肾脏内科,江苏 苏州 215004;
- 人口健康与优生安徽省重点实验室,安徽 合肥 230032

摘要:目的 探讨青少年人群中多种重金属(砷、铅、镉、汞)联合暴露组及其与肾脏参数之间的关联。方法 本研究数据来自美国国家健康和营养调查(NHANES)2009—2014 的调查队列,涵盖 2 709 名 12~19 岁青少年。通过无监督机器学习中的 k-medoids 聚类算法,根据尿液砷、铅、镉、汞和血液铅、镉、汞的浓度,将样本分为不同的暴露风险组。在控制人口学变量及其他关键协变量后,采用多重线性回归模型分析不同风险组的暴露与肾小球滤过率(eGFR)、血清尿酸(SUA)、尿白蛋白(UA)、血尿素氮(BUN)及收缩压(SBP)之间的关联。结果 识别了血液和尿液中 3 种主要金属暴露组,发现金属联合暴露组与部分肾脏参数存在显著的关联性。对于血液中的金属,第一组人群的镉、汞和铅水平最低;第二组中汞浓度最高,其次是铅,而镉浓度最低;在第三组中,铅和镉的浓度高于汞,汞浓度处于最低水平。在第二组中,人群的血清尿酸(SUA)显著高于第一组,效应值为 0.163(95% CI :0.066~0.261, $P=0.001$)。尿液金属的联合暴露组同样表现出显著差异。第一和第三组中 4 种尿液金属(砷、镉、汞、铅)分布相对均衡,但第三组的整体水平高于第一组。第二组中的金属浓度分布差异显著,砷、镉、汞的浓度依次递增,而铅的含量显著低于其他两种。根据尿液金属第二组人群的 eGFR 显著低于第一组,效应值为 -12.893(95% CI : -18.905~-6.880, $P<0.001$);而第三组人群的 eGFR 显著高于第一组,效应值为 7.195(95% CI :2.274~12.117, $P=0.004$)。此外,第三组人群的收缩压显著低于第一组,效应值为 -1.411(95% CI : -2.807~-0.014, $P=0.048$)。结论 血液和尿液中金属联合暴露组与部分肾脏参数之间有显著的关联性。高水平金属联合暴露组的人群有相对较低的 eGFR 和较高的血清尿酸值。

关键词:青少年;重金属联合暴露;k-medoids 聚类;风险分层;肾脏参数

中图分类号:R994.6 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0124-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.021

Study on risk stratification of combined exposure to environmental heavy metals and the association with renal health in adolescents

ZHANG Ling¹, WENG Yujie¹, WANG Zhi², YUAN Min^{1,3}

- Department of Health Data Science, School of Health Management, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, China;
- Department of Nephrology, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu, China;
- Anhui Provincial Key Laboratory of Population Health and Eugenics, Hefei 230032, Anhui, China)

基金项目:国家自然科学基金项目(82073578);人口健康与优生安徽省重点实验室课题(JKYS20233);安徽省教育厅高校自然科学研究重点项目(2024AH050693)

第一作者:张玲,在读硕士研究生,研究方向:社会医学与卫生事业管理,E-mail:lingzh_ahmu@163.com

通讯作者:袁敏,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:生物统计学,E-mail:myuan@ustc.edu.cn

Abstract: **Objective** To explore the association between combined exposure groups of multiple heavy metals (arsenic, lead, cadmium, and mercury) and renal parameters in adolescents. **Methods** Data for this study were derived from the 2009—2014 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) cohort, encompassing 2 709 adolescents aged 12~19 years. Using the k-medoids clustering algorithm from unsupervised machine learning, samples were categorized into different exposure risk groups based on urine concentrations of arsenic, lead, cadmium, and mercury, as well as blood concentrations of lead, cadmium, and mercury. Multiple linear regression models were employed to analyze the associations between exposures in different risk groups and estimated glomerular filtration rate (eGFR), serum uric acid (SUA), urine albumin (UA), blood urea nitrogen (BUN), and systolic blood pressure (SBP) after controlling for demographic variables and other key covariates. **Results** Three primary metal exposure groups in blood and urine were identified, and significant associations were found between combined metal exposure groups and some renal parameters. For metals in blood, Group 1 had the lowest levels of cadmium, mercury, and lead; Group 2 had the highest mercury concentrations, followed by lead, with the lowest cadmium concentrations; and in Group 3, lead and cadmium concentrations were higher than mercury, with mercury at the lowest level. In Group 2, the SUA was significantly higher than that in Group 1, with an effect size of 0.163(95% CI :0.066~0.261, $P = 0.001$). Combined exposure groups for urine metals also showed significant differences. Groups 1 and 3 had relatively balanced distributions of the four urine metals (arsenic, cadmium, mercury, and lead), but the overall levels in Group 3 were higher than in Group 1. In Group 2, there were significant differences in metal concentration distribution, with concentrations of arsenic, cadmium, and mercury increasing sequentially, while lead content was significantly lower than the other two metals. The eGFR of the urine metal Group 2 was significantly lower than that of Group 1, with an effect size of $-12.893(95\% CI : -18.905 \sim -6.880, P < 0.001)$; however, the eGFR of Group 3 was significantly higher than that of Group 1, with an effect size of $7.195(95\% CI : 2.274 \sim 12.117, P = 0.004)$. Additionally, SBP in Group 3 was significantly lower than in Group 1, with an effect size of $-1.411(95\% CI : -2.807 \sim -0.014, P = 0.048)$. **Conclusion** There are significant associations between combined metal exposure groups in blood and urine and some renal parameters. Populations with high-level combined metal exposure groups have relatively lower eGFR and higher SUA values.

Key words: adolescents; combined exposure to heavy metal; k-medoids clustering; risk stratification; renal parameters

肾脏疾病在儿童和青少年群体中呈现逐年增长的趋势,已成为全球公共健康的一大挑战^[1-5]。研究表明,儿童和青少年处于生长发育关键期,对环境中的重金属尤为敏感,低水平环境重金属暴露是青少年肾脏健康的风险因素之一^[6-8]。越来越多的证据支持儿童和青少年时期的肾脏健康可预测成年后的多种健康终点,比如 7 岁时出现的高血压将持续影响成年期的心脏代谢^[9-11]。据世界卫生组织(WHO)的数据,高血压作为全球最常见的慢性病之一,其直接和间接成本估计每年高达数千亿美元^[11-12]。因此,识别青少年肾脏功能相关的环境风险因素,对于预防成年期慢性疾病,降低医疗成本以及提升全生命周期的个体健康水平,具有重要的公共卫生价值。

重金属之间的协同作用可能会放大对肾脏的负面影响,因此多种重金属的联合暴露对健康的潜在危害通常大于单一金属暴露^[13]。在环境健康研究领域,评

估多种重金属联合暴露效应通常采用两类方法:基于回归模型和基于无监督机器学习的方法。基于回归模型的方法包括加权分位数回归(Weighted Quantile Regression, WQR)^[15-16]、贝叶斯核回归模型(Bayesian Kernel Machine Regression, BKMR)^[15-17]和环境风险评估(Environmental Risk Score, ERS)等^[18]。另一种方法是由 YAO X 等^[19]提出的无监督机器学习方法,该方法首先利用聚类算法对人群基于重金属联合暴露进行风险分层,然后分析这些风险亚组与健康结局之间的关系。与回归模型相比,无监督机器学习方法的优势在于其能从样本信息中充分挖掘信息,提取关键特征对人群进行异质性分层,且不依赖于特定的健康结局^[19-20]。

本研究使用 2009—2014 年间参与美国国家健康和营养调查(National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES)的 12~19 岁美国青少年的尿

液和血液样本,分析了 4 种已在动物模型中证实具有发育性肾毒性的重金属(砷 As、镉 Cd、铅 Pb 和汞 Hg)^[21-23]。采用无监督聚类方法,根据联合重金属暴露风险将青少年人群进行分层,并探讨不同风险分组与多种肾脏参数之间的关联性。

1 材料与方法

1.1 研究人群 本研究数据来源于 NHANES 2009—2010 年、2011—2012 年、2013—2014 年 3 个连续周期。NHANES 是一项评估美国成人和儿童的健康和营养状况的研究,从该调查中所得的数据可应用于流行病学研究和健康科学研究^[24]。本研究纳入具有完整协变量,完整血液金属铅、镉、汞测量数据或者完整尿液金属铅、镉、汞、砷数据,以及至少一个肾脏结果的青少年人群。NHANES 是一个公开的数据库,所有参与者都签署了知情同意书,符合伦理学标准。

1.2 研究变量 ①血液和尿液中金属:专业人员通过电感耦合等离子体动态反应质谱(ICP-DRMS)对各种金属进行分析;②肾脏参数:包括肾小球滤过率(eGFR)、血清尿酸(SUA)、尿白蛋白(UA)、血尿素氮(BUN)和收缩压(SBP),5 个肾脏相关参数均为连续变量。其中,使用 Schwartz 公式计算 $eGFR = [k \times \text{身高}(\text{cm}) / \text{血清肌酐}(\text{mg/dL})]$,对于 13 岁及以上的青春期男孩, $k=0.7$,对于青春期女孩和 13 岁以下的男孩, $k=0.55$ 。对于 SBP,本研究使用前 3 个测量值的平均值;③协变量:包括性别、年龄、种族/民族、户主学历程度、身高、BMI、血清可替宁、尿肌酐和过去 30 d 内食用鱼情况。

1.3 统计学方法 由于本队列中临床肾脏功能障碍的患病率较低,且本研究主要关注青少年的亚临床人群水平变化,因此选择将肾脏参数作为连续变量进行

分析,而非基于临床阈值进行分类。首先,对数据进行标准化处理,通过对重金属浓度取对数以确保其近似正态分布。连续变量计算其均值和标准差,分类变量则统计其计数和百分比。在调整协变量后,计算血液和尿液中重金属浓度的两两偏相关性,并用相关系数热图展示这些偏相关性。采用 k-medoids 聚类算法,基于血液和尿液中的重金属浓度对青少年人群进行风险分层。本研究使用平均轮廓系数(average silhouette width)和肘部法则(elbow method)来确定 k-medoids 聚类算法的最佳簇数。在控制混杂因素后,对与暴露风险亚组相关的 5 个肾脏参数构建线性回归模型进行关联分析。本研究使用 R 软件(版本 4.2.3)进行数据分析和结果可视化。所有检验均为双边检验,检验水平为 0.05。

2 结果

2.1 研究人群的基本情况 本研究共纳入了 2 709 名 12~19 岁的参与者,其中血液金属数据完整的人数为 2 382 名,尿液金属数据完整的人数为 958 名。其中 957 名同时具有完整的血液和尿液金属数据。总人群和两个亚群的基本特征数据,见表 1。研究人群的中位年龄为 15.00 岁,其中女性占 48.14%。48.03% 的参与者报告户主的学历程度至少为大学学历。此外,有 44.04% 的参与者表示在过去 30 d 内有食用鱼的记录。删除缺失数据后血液或者尿液金属检测数据完整的人群与总人群具有相似的协变量分布和肾脏参数分布。图 1 为对数转化后的血液和尿液中金属浓度与肾脏参数的相关关系图。由图 1 可知,血液和尿液中金属之间具有中等程度的相关性,每个肾脏参数与单个金属的边际相关性较弱。

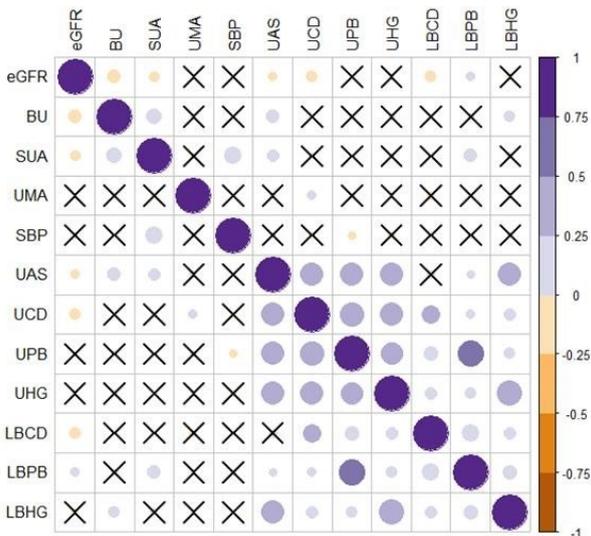
表 1 研究人群的基本特征

变量	总人群 ($n=2\ 709$)	血液金属数据完整人数 ($n=2\ 382$)	尿液金属数据完整 人数($n=958$)
年龄/岁	15.00(13.00,17.00)	15.00(13.00,17.00)	15.00(14.00,17.00)
性别			
男性	1405(51.86)	1243(52.18)	493(51.46)
女性	1304(48.14)	1139(47.82)	465(48.54)
种族			
西班牙裔	945(34.88)	820(34.42)	316(32.99)
非西班牙裔白人	741(27.35)	657(27.58)	268(27.97)
非西班牙裔黑人	668(24.66)	601(25.23)	241(25.16)
其他	355(13.10)	304(12.76)	133(13.88)
学历程度			
高中毕业及以下	1408(51.97)	1227(51.51)	491(51.25)
大学毕业	774(28.57)	678(28.46)	278(29.02)
大学毕业以上	527(19.45)	477(20.03)	189(19.73)

表 1(续) 研究人群的基本特征

变量	总人群 (n = 2 709)	血液金属数据完整人数 (n = 2 382)	尿液金属数据完整 人数(n = 958)
身高/cm	165(158,172)	165(158,172)	165(158,172)
BMI/(kg · m ⁻²)	22.7(19.9,27.0)	22.6(19.9,26.9)	23(20,27)
血清可替宁/(ng · mL ⁻¹)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)
尿肌酐/(mg · dL ⁻¹)	134(79,198)	135(80,199)	128(76,193)
过去 30d 吃过鱼	1193(44.04)	1071(44.96)	417(43.53)
eGFR/[mL/(min · 1.73 m ²)]	142(125,162)	142(125,162)	142(125,163)
BUN/(mg · dL ⁻¹)	10.0(8.0,12.0)	10.0(8.0,12.0)	10.0(8.0,12.0)
SUA/(mg · dL ⁻¹)	4.90(4.10,5.80)	4.90(4.10,5.80)	4.90(4.20,5.80)
UA/(μg · mL ⁻¹)	10(5,21)	10(5,21)	9(5,19)
SBP/kPa	14.50(13.57,15.30)	14.50(13.57,15.30)	14.36(13.57~15.30)
铅		0.59(0.43,0.84)	0.29(0.17,0.48)
镉		0.14(0.11,0.24)	0.08(0.40,0.14)
汞		0.44(0.23,0.81)	0.24(0.11,0.53)
砷			5.90(3.34,10.78)

注:计量资料以 M(Q1,Q3)表示;计数资料以 n(%)表示;eGFR:估算肾小球滤过率,BUN:血尿素氮,SUA:血清尿酸,UA:尿白蛋白,SBP:收缩压;铅、镉、汞在血液和尿液中均有测量,砷只在尿液中测量。



注:金属的浓度均经过了取对数转换。符号×表示相关系数在 0.05 水平上不相关。LBGD:血液镉;LBHG:血液汞;LBPB:血液铅;UAS:尿砷;UCD:尿镉;UHG:尿汞;UPB:尿铅。eGFR:估算肾小球滤过率;BUN:血尿素氮;SUA:血清尿酸;UA:尿白蛋白;SBP:收缩压。

图 1 血液镉、铅、汞和尿液镉、铅、汞、总砷的皮尔逊相关性热图

2.2 基于 k-medoids 聚类算法的人群风险分层 基于血液中的 3 种金属和尿液中的 4 种金属分别对青少年人群进行无监督 K-medoids 聚类,Silhouette 轮廓系数显示根据血液和尿液金属的最佳类别数为 3。根据

血液中铅、镉、汞的浓度人群分为 3 个亚组(975/698/709 名受试者),根据尿液中铅、镉、汞、砷的浓度分为 3 个亚组(441/221/296 名受试者)。图 2 中基于 t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding(t-SNE)降维聚类可视化结果显示基于血液和尿液金属水平的暴露分组并不完全一致。在图 3 中,用桑基图展示了具有完整血液金属和尿液金属数据的 957 名参与者两种分组结果。从图中可以看出,血液分组与尿液分组之间不完全一致。具体来说,血液金属亚组 1 的 434 名参与者中,208 名被分配到尿液亚组 1,153 名进入尿液亚组 2,73 名进入尿液亚组 3。血液金属亚组 2 的 261 名参与者中,97 名进入尿液亚组 1,28 名进入尿液亚组 2,136 名进入尿液亚组 3。血液金属亚组 3 的 262 名参与者中,135 名进入尿液亚组 1,40 名进入尿液亚组 2,87 名进入尿液亚组 3。图 4 展示了血液和尿液中金属亚组的单个金属浓度分布组。在血液金属亚组中,各组展现出不同的分布组:第一组中镉、汞和铅的水平最低;第二组和第三组的这三种金属的平均浓度均高于第一组,但各有其特点。具体来说,第二组中汞浓度最高,其次是铅,镉浓度最低;而在第三组中,汞浓度最低,铅和镉的浓度则高于汞。尿液金属亚组的分布组也呈现出差异,第一组和第三组的 4 种金属(砷、镉、汞、铅)分布较为均衡,其中第三组的整体水平高于第一组。第二组中的金属分布差异较大,砷、镉、汞的浓度依次递增,而铅的含量显著低于其他两组。

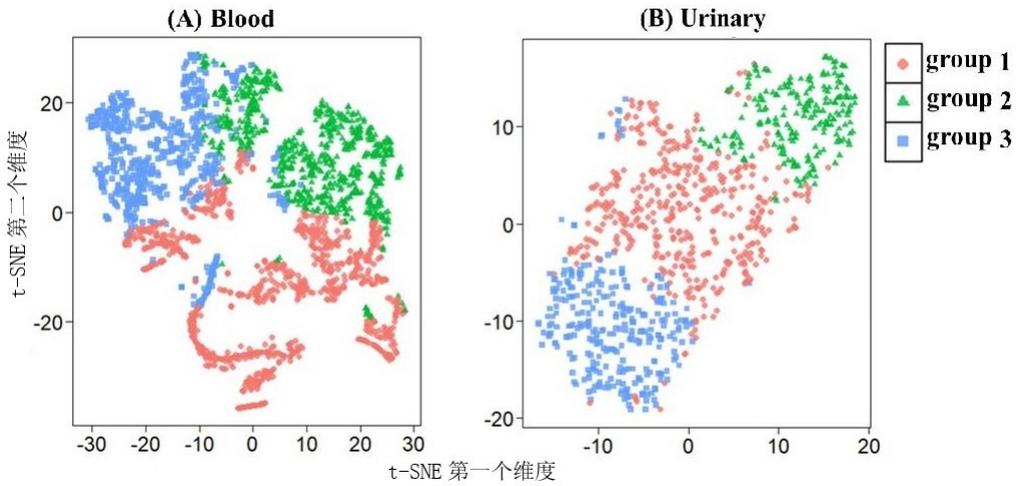
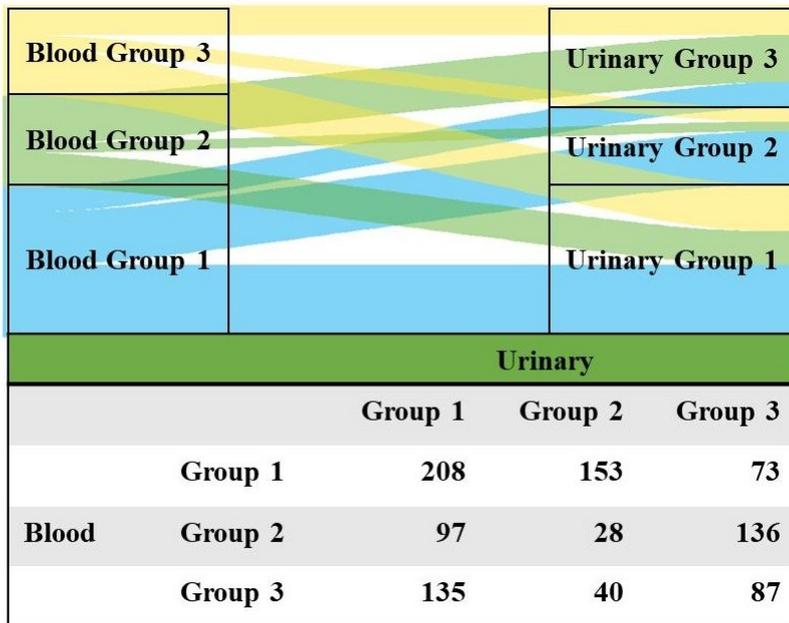
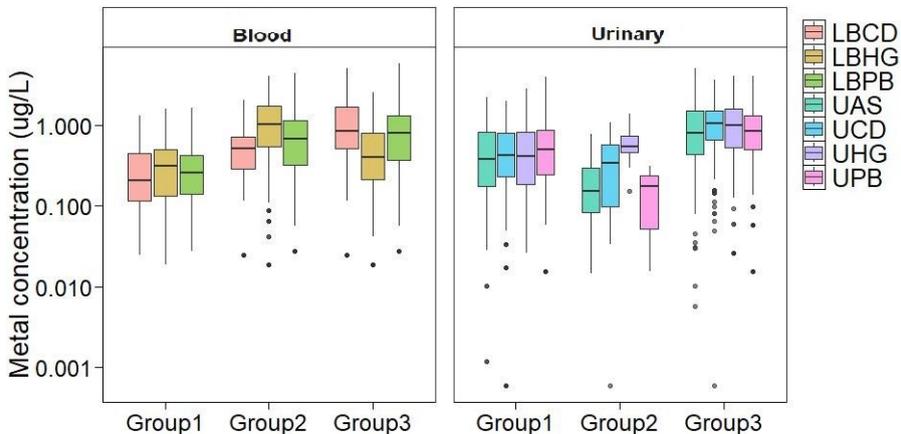


图 2 根据血液镉、铅、汞(A)和尿液镉、铅、汞、砷浓度(B)分别对人群进行无监督聚类及基于 t-SNE 降维可视化。不同颜色和图形表示不同的分组



注：图中展示的血液和尿液中均有完整金属的样本 (n = 957)。

图 3 基于血液金属和尿液金属聚类的亚组个体对应关系的桑基图



注：LBCD 为血液镉；LBHG 为血液汞；LBPB 为血液铅；
UAS 为尿砷；UCD 为尿镉；UHG 为尿汞；UPB 为尿铅。

图 4 血液和尿液金属亚组中各个金属浓度的箱线图

2.3 金属联合暴露风险分组与肾脏参数之间的关联研究 在控制包括性别、种族/民族、年龄、户主的学历程度、身高、BMI、血清可替宁、尿肌酐和过去 30 d 内食用鱼情况这些重要协变量后,回归分析结果如表 2 所示。对于血液金属联合暴露,第二组的 SUA 显著地高于第一组,效应值为 0.163(95% CI :0.066~0.261, $P=0.001$)。对于尿液金属联合暴露,第二组 eGFR

显著地低于第一组,效应值为 -12.893 (95% CI : $-18.905\sim-6.880$, $P<0.001$);第三组的 eGFR 显著地高于第一组,效应值为 7.195 (95% CI : $2.274\sim12.117$, $P=0.004$);第三组的 SBP 显著低于第一组,效应值为 -1.411 (95% CI : $-2.807\sim-0.014$, $P=0.048$)。

表 2 控制其他重要协变量后不同肾脏参数与金属联合暴露之间的关联分析结果

肾脏参数	组类别	血液金属					尿液金属				
		coef	sd	95% CI	t	P	coef	sd	95% CI	t	P
BUN	2	0.123	0.165	$-0.200\sim0.446$	0.747	0.455	0.277	0.298	$-0.309\sim0.862$	0.927	0.354
BUN	3	0.043	0.167	$-0.285\sim0.371$	0.258	0.797	-0.123	0.244	$-0.603\sim0.356$	-0.506	0.613
eGFR	2	-1.988	1.471	$-4.873\sim0.896$	-1.352	0.177	-12.893	3.064	$-18.905\sim-6.880$	-4.208	<0.001
eGFR	3	-1.360	1.494	$-4.289\sim1.569$	-0.910	0.363	7.195	2.508	$2.274\sim12.117$	2.869	0.004
SBP	2	0.137	0.463	$-0.772\sim1.045$	0.295	0.768	0.993	0.869	$-0.714\sim2.699$	1.142	0.254
SBP	3	-0.498	0.470	$-1.420\sim0.425$	-1.058	0.290	-1.411	0.712	$-2.807\sim-0.014$	-1.982	0.048
SUA	2	0.163	0.050	$0.066\sim0.261$	3.279	0.001	0.075	0.098	$-0.116\sim0.267$	0.772	0.440
SUA	3	0.085	0.051	$-0.014\sim0.184$	1.682	0.093	-0.021	0.080	$-0.178\sim0.136$	-0.265	0.791
UA	2	14.931	9.431	$-3.562\sim33.425$	1.583	0.114	7.447	8.200	$-8.645\sim23.539$	0.908	0.364
UA	3	-8.984	9.576	$-27.762\sim9.794$	-0.938	0.348	0.536	6.711	$-12.635\sim13.707$	0.080	0.936

3 讨论

多项研究已显示,单一重金属暴露与青少年的肾脏功能下降、肾脏损伤的生物标志物或血压变化相关联^[25-26]。本研究是运用机器学习方法来探讨在血液或尿液中测得的金属联合暴露与青少年肾脏参数间的关系。本研究采取了分阶段的双步骤分析策略:首先分析青少年人群的血液和尿液中多种金属暴露数据,以识别人群的异质性和特征,然后探讨其与关键肾脏功能参数的关联。本研究识别了血液和尿液中 3 种主要的金属暴露组,并发现这些有毒金属的联合暴露组与肾脏参数具有不同的关联性。例如,血中的镉、汞、铅浓度与 SUA 的升高相关,镉、汞和铅的毒性可以通过损害肾脏的排泄功能、增加氧化应激和促进炎症反应,导致体内尿酸积累,从而引起 SUA 水平升高。这些重金属的共同作用干扰了正常的尿酸代谢过程^[13]。尿中的砷、镉、汞、铅与 eGFR 的升高相关。原因包括金属联合暴露可能导致肾小球过滤功能增强,这与先前关于微量金属暴露(如砷、镉和铅)与超滤的相关性的研究结果相符。临床上,超滤常常先于蛋白尿出现,通常被视为慢性肾病的前兆。因此,生命早期的超滤可能是终身肾脏健康的重要指标^[27-30]。

研究结果显示,尿液中铅、砷、汞和镉水平的增加与 SBP 呈负相关, P 值接近显著性水平,这一发现与文献中类似人群的研究基本一致。例如, SANDERS A P 等^[8]的研究虽然未在儿童和青少年中发现这 4 种金属与收缩压的关联达到统计学显著水平,但也呈现出

相似的负相关趋势。这种负相关关系可能是多种生物学机制共同作用的结果。首先,机体在低剂量重金属暴露下可能启动适应性调节机制,例如通过抗氧化应激引发血管扩张,从而降低血压。其次,儿童和青少年处于发育阶段,其对重金属的敏感性不同于成年人,可能在一定暴露水平下出现血压降低的现象。此外,尿液中的重金属水平反映近期暴露,短期内机体的排泄调节可能带来暂时的血压降低效应。联合金属暴露还可能引起重金属间的拮抗作用,影响血压调节。个体在代谢和排泄重金属能力上的差异也可能导致这种负相关趋势^[31]。总之,这种负相关关系体现了机体应对重金属暴露的复杂调节过程,未来研究需要进一步探讨这些潜在机制。

目前,大多数相关研究仍主要采用监督方法(如回归模型),并且在青少年人群中针对金属联合暴露与肾脏健康之间的关联的研究相对较少,主要依赖于单因素或多元回归模型来探讨临床疾病终点与单一或多种重金属之间的关系^[31-35]。尽管多重金属联合暴露的效应可以通过 ERS(暴露响应分数)总结,但 ERS 的构建仍需依赖于确定替代终点的选择,而这些替代终点是否能有效预测临床终点,取决于它们是否是连接重金属和临床终点的重要生物标志物^[18]。本研究采用无监督机器学习方法,能够基于多种重金属的同时暴露情况对人群进行分类,这种分类反映了多种重金属联合暴露的结果。无监督机器学习方法不依赖于终点数据的类型,适用于解决实际问题中任何类型的终点指标

与环境暴露之间的关联分析,包括连续性数据、离散数据及生存数据,能够为未来的受试者或患者分配暴露组,其分析结果具有普遍性和稳健性^[19-20]。

本研究基于尿液中 4 种金属和血液中 3 种金属的人群分层结果并不完全一致。一方面由于具有完整血液和尿液金属数据的样本数量不同,完整尿液数据的样本为 958 例,而完整血液金属数据的样本为 2 382 例。另一方面,尿液金属分析包含了铅、砷、汞和镉 4 种金属,而血液金属分析仅涵盖其中的 3 种,这也可能导致分析结果的差异。聚类结果的展示与随机种子的设定密切相关,不同的随机种子可能会导致组别标签发生变化,但这并不影响整体人群分组及后续的关联分析结果。然而,在解释关联分析结果时,仍需结合各亚组的具体特征进行解读。

总体而言,本研究提供了一种新的方法,通过基于金属联合暴露的潜在信息对 NHANES 青少年人群中的有毒金属暴露组进行分层。然而,本研究基于横断面数据,无法得出金属暴露与肾脏结局之间关系的因果推断,且反向因果关系的问题仍然存在。本研究结果支持先前关于尿液金属评估在肾脏功能研究中具有挑战性解释的观察结果。早期生活中接触多种金属对肾脏功能的影响可能会在以后的生活中对高血压、肾脏疾病和肾功能不全的发展产生深远的影响^[8]。纵向研究应进一步评估金属和其他肾毒性物质的联合效应是否是早期亚临床功能障碍的风险因素。

参考文献:

[1] 石鑫淼,刘贝妮,钟旭辉,等. 儿童慢性肾脏病流行病学研究进展[J]. 中华儿科杂志,2019,57(9):721-724.

[2] GUO C, CHANG LY, WEI X L, et al. Multi-pollutant air pollution and renal health in Asian children and adolescents: an 18-year longitudinal study [J]. *Environ Res*, 2022, 214:114144.

[3] YUAN T H, KE D Y, WANG J E, et al. Associations between renal functions and exposure of arsenic and polycyclic aromatic hydrocarbon in adults living near a petrochemical complex[J]. *Environ Pollut*, 2020, 256:113457.

[4] MOODY E C, COCA S G, SANDERS A P. Toxic metals and chronic kidney disease: a systematic review of recent literature[J]. *Curr Environ Health Rep*, 2018, 5(4):453-463.

[5] ZHAO W M, LI X L, SHI R, et al. Global, regional and national burden of CKD in children and adolescents from 1990 to 2019[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2024, 39(8):1268-1278.

[6] DE BURBURE C, BUCHET JP, LEROYER A, et al. Renal and neurologic effects of cadmium, lead, mercury, and arsenic in children: evidence of early effects and multiple

interactions at environmental exposure levels[J]. *Environ Health Perspect*, 2006, 114(4):584-590.

[7] ILMIAWATI C, YOSHIDA T, ITOH T, et al. Biomonitoring of mercury, cadmium, and lead exposure in Japanese children: a cross-sectional study[J]. *Environ Health Prev Med*, 2015, 20(1):18-27.

[8] SANDERS A P, MAZZELLA M J, MALIN A J, et al. Combined exposure to lead, cadmium, mercury, and arsenic and kidney health in adolescents age 12-19 in NHANES 2009-2014[J]. *Environ Int*, 2019, 131:104993.

[9] THEODORE R F, BROADBENT J, NAGIN D, et al. Childhood to early-midlife systolic blood pressure trajectories: early-life predictors, effect modifiers, and adult cardiovascular outcomes [J]. *Hypertension*, 2015, 66(6):1108-1115.

[10] Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents; National Heart L. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents; summary report[J]. *Pediatrics*, 2011, 128(Suppl 5):S213-S256.

[11] LEIBA, FISHMAN B, TWIG G, et al. Association of adolescent hypertension with future end-stage renal disease [J]. *JAMA Intern Med*, 2019, 179(4):517-523.

[12] BENJAMIN E J, VIRANI S S, CALLAWAY C W, et al. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the american heart association [J]. *Circulation*, 2018, 137(12):e67-e492.

[13] MISHRA M, NICHOLS L, DAVE A A, et al. Molecular mechanisms of cellular injury and role of toxic heavy metals in chronic kidney disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19):11105.

[14] 易细平, 沈敏学, 杨飞. 金属暴露对肾脏影响的流行病学研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2023, 48(4):601-607.

[15] TIAN X Y, SHAN X B, MA L, et al. Mixed heavy metals exposure affects the renal function mediated by 8-OHG: a cross-sectional study in rural residents of China[J]. *Environ Pollut*, 2023, 317:120727.

[16] LUO X X, HUANG D P, XIAO S Y, et al. Associations between co-exposure to multiple metals and renal function: a cross-sectional study in Guangxi, China[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2023, 30(2):2637-2648.

[17] LUO J H, HENDRYX M. Metal mixtures and kidney function: an application of machine learning to NHANES data[J]. *Environ Res*, 2020, 191:110126.

[18] PARK S K, ZHAO Z C, MUKHERJEE B. Construction of environmental risk score beyond standard linear models using machine learning methods: application to metal mixtures, oxidative stress and cardiovascular disease in NHANES[J]. *Environ Health*, 2017, 16(1):102.

- [19] YAO X, STEVEN XU X, YANG Y, et al. Stratification of population in NHANES 2009-2014 based on exposure pattern of lead, cadmium, mercury, and arsenic and their association with cardiovascular, renal and respiratory outcomes[J]. *Environ Int*, 2021, 149:106410.
- [20] WANG X, KARVONEN-GUTIERREZ C A, HERMAN W H, et al. Urinary metals and incident diabetes in midlife women: Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) [J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8(1):e001233.
- [21] JACOBO-ESTRADA T, CARDENAS-GONZALEZ M, SANTOYO-SÁNCHEZ M, et al. Evaluation of kidney injury biomarkers in rat amniotic fluid after gestational exposure to cadmium[J]. *J Appl Toxicol*, 2016, 36(9): 1183-1193.
- [22] FOWLER B A, KIMMEL C A, WOODS J S, et al. Chronic low-level lead toxicity in the rat. III. An integrated assessment of long-term toxicity with special reference to the kidney[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1980, 56(1): 59-77.
- [23] DASTON G P, REHNBERG B F, HALL L L, et al. Toxicity of mercuric chloride to the developing rat kidney. III. Distribution and elimination of mercury during post-natal maturation[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1986, 85(1): 39-48.
- [24] 郭晓娟, 田国祥, 潘振宇, 等. NHANES 项目介绍及数据提取流程[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(6): 654-657.
- [25] ZHENG L Y, SANDERS A P, SALAND J M, et al. Environmental exposures and pediatric kidney function and disease: a systematic review[J]. *Environ Res*, 2017, 158: 625-648.
- [26] SANDERS A P, SALAND J M, WRIGHT R O, et al. Perinatal and childhood exposure to environmental chemicals and blood pressure in children: a review of literature 2007-2017[J]. *Pediatr Res*, 2018, 84(2): 165-180.
- [27] WEAVER V M, VARGAS G G, SILBERGELD E K, et al. Impact of urine concentration adjustment method on associations between urine metals and estimated glomerular filtration rates (eGFR) in adolescents [J]. *Environ Res*, 2014, 132: 226-232.
- [28] JIN R F, ZHU X Z, SHRUBSOLE M J, et al. Associations of renal function with urinary excretion of metals: evidence from NHANES 2003-2012 [J]. *Environ Int*, 2018, 121: 1355-1362.
- [29] HELAL I, FICK-BROSNAHAN G M, REED-GITOMER B, et al. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8(5): 293-300.
- [30] BUSER MC, INGBER SZ, RAINES N, et al. Urinary and blood cadmium and lead and kidney function: NHANES 2007-2012[J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2016, 219(3): 261-267.
- [31] LIANG Y Z, ZHANG M J, JIN W H, et al. Association of heavy metals exposure with lower blood pressure in the population aged 8 ~ 17 years: a cross-sectional study based on NHANES[J]. *Front Public Health*, 2024, 12: 1411123.
- [32] 潘尚霞. 南方某工业区环境重金属暴露对儿童神经和肾脏早期影响[D]. 广州: 中国科学院大学(中国科学院广州地球化学研究所), 2017.
- [33] 吕跃斌, 赵峰, 裘一丹, 等. 中国成年人镉内暴露水平与慢性肾脏病的关联关系[J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(24): 1921-1928.
- [34] 魏源. 中国 9 个长寿地区 65 岁及以上人群镉、汞暴露水平与慢性肾脏病的关联研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.
- [35] WEIDEMANN D, KUO CC, NAVAS-ACIEN A, et al. Association of arsenic with kidney function in adolescents and young adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2012 [J]. *Environ Res*, 2015, 140: 317-324.

收稿日期: 2024-09-06; 修回日期: 2024-10-30

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:张培金,蔡东珍,秦丹,等. 2018—2023年某教学医院医务人员血源性职业暴露特征分析[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1):132-137.

【论著与临床报道】

2018—2023年某教学医院医务人员血源性职业暴露特征分析

张培金, 蔡东珍, 秦丹, 李燕, 吴群, 张晓娟, 尹慧, 钟芳, 雷健, 谢贝贝

(皖南医学院第一附属医院感染管理科, 安徽 芜湖 241001)

摘要:目的 分析医务人员血源性职业暴露的特征,为完善职业防护措施提供科学依据。方法 采用回顾性调查方法,对某三甲综合性教学医院2018年1月至2023年12月上报的血源性职业暴露数据进行分析。结果 2018—2023年该院医务人员共报告血源性职业暴露330例,发生率在1.63%~2.06%之间,年均发生率为1.91%,职业暴露全年发生高峰集中在7~9月。发生血源性职业暴露的医务人员以女性为主(66.97%),年龄主要分布在≤25岁(59.70%),工作年限≤1年(74.24%),职业类别以实习进修和规培人员为主(60.91%);发生科室以内科(37.88%)和外科(35.76%)为主,暴露方式以锐器伤为主(90.30%),暴露部位以手部为主(90.00%),暴露源以乙型肝炎病毒(56.36%)为主,其次为梅毒螺旋体(16.36%);暴露环节居前三位的依次为拔针(23.94%)、处理锐器(18.18%)、手术(10.91%),暴露发生场所主要在病房内(55.76%)和手术室(26.97%);暴露原因居前三位的依次是个人操作不慎(64.55%)、违规操作导致(13.64%)、意外或紧急情况(12.12%)。不同职业类别医务人员暴露方式、暴露环节、暴露场所和暴露源间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 医院应结合实际情况,加强对职业暴露重点科室、重点环节和重点人群的防控,开展针对性职业防护培训,规范操作流程,完善职业安全防控体系,降低血源性职业暴露的发生。

关键词:医务人员;职业暴露;血源性病原体;锐器伤

中图分类号:R192 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0132-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.022

An analysis of the characteristics of bloodborne occupational exposure among healthcare workers in a teaching hospital from 2018 to 2023

ZHANG Peijin, CAI Dongzhen, QIN Dan, LI Yan, WU Qun, ZHANG Xiaojuan,
YIN Hui, ZHONG Fang, LEI Jian, XIE Beibei

(Department of Infection Management, The First Affiliated Hospital of
Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To analyze the characteristics of bloodborne occupational exposure (BOE) among healthcare workers and provide a scientific basis for improving occupational protection measures. **Methods** A retrospective study was conducted to analyze the data of bloodborne occupational exposure reported in a tertiary grade-A comprehensive teaching hospital from January 2018 to December 2023. **Results** A total of 330 cases of BOE were reported among the healthcare workers from 2018 to 2023, with an incidence rate ranging from 1.63% to 2.06% and an annual average incidence rate of 1.91%. The peak period of occupational exposure occurred from July to September. The majority of exposed healthcare workers were female (66.97%), aged ≤25 years (59.70%), and had ≤1 year of work experience (74.24%). The main occupational categories were interns, trainees, and residents (60.91%). The departments with the highest exposure rates were internal medicine (37.88%) and surgery (35.76%). The major type of exposure was sharp injuries (90.30%), and hands

基金项目:芜湖市创新环境建设(软科学)项目(2023rkx23);皖南医学院中青年科研基金项目(WK2023ZQNS23)

第一作者:张培金,主管医师,研究方向:医院感染防控,E-mail:20181088@wnmc.edu.cn

通讯作者:秦丹,副主任护师,研究方向:医院感染防控,E-mail:2743965622@qq.com

were the most exposed sites (90.00%), and the main exposure source was the hepatitis B virus (56.36%), followed by *Treponema pallidum* (16.36%). The top three exposure links were needle removal (23.94%), sharp instrument handling (18.18%), and surgery (10.91%). The primary locations of exposure were wards (55.76%) and operating rooms (26.97%). The top three reasons for exposure were personal operational negligence (64.55%), violation of operating procedures (13.64%), and accidental or emergency situations (12.12%). Significant differences were observed in exposure modes, links, locations, and sources among healthcare workers of different occupational categories ($P < 0.05$). **Conclusion** It is necessary for the hospital to strengthen the prevention and control of occupational exposure of key departments, links and populations based on the actual situation, carry out targeted occupational protection training, standardize operating procedures, and improve the occupational safety prevention and control system to reduce the occurrence of BOE.

Key words: healthcare workers; occupational exposure; bloodborne pathogen; sharp injuries

血源性职业暴露是指医院工作人员在从事诊疗、护理工作过程中,意外被血源性传染病患者的血液、体液污染皮肤或黏膜,或被含有患者血液、体液污染的针头以及其他锐器刺破皮肤,可能被感染的情况^[1]。医院是血源性传播疾病患者高度集中的场所,医务人员在从事诊疗操作过程中,不可避免需要接触患者的血液、体液、分泌物等,已成为血源性职业暴露的高危人群。目前临床上经血传播病原体主要有乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)和梅毒螺旋体等,严重威胁着医务人员的身心健康^[2],同时造成经济损失,增加防控费用^[3]。本研究通过对 2018—2023 年某三甲综合性教学医院医务人员血源性职业暴露情况进行回顾性调查研究,分析其职业暴露发生特点及相关影响因素,为作好职业暴露管理,优化预防措施提供实践指导。

1 对象与方法

1.1 研究对象 某三甲综合性教学医院 2018 年 1 月至 2023 年 12 月发生血源性职业暴露事件并报告的医务人员,包括医生、护士、医技人员、实习进修和规培人员以及工勤人员。

1.2 研究方法 采用回顾性调查方法对医院职业暴露上报系统中血源性职业暴露相关资料进行汇总和分析,包括暴露者和暴露源基本信息、暴露方式、发生时间和地点、暴露部位、暴露原因及操作环节、暴露后应急处理情况等。血源性职业暴露后完整应急处理措施包括:皮肤黏膜类,肥皂液和流动水清洗污染皮肤,生理盐水彻底冲洗黏膜;锐器造成伤口类,从近心端向远心端轻轻挤压,使用肥皂液和流动水清洗,再采用 75%乙醇或 0.5%碘伏消毒,视伤口情况包扎伤口。

1.3 统计学方法 采用 Excel 2021 软件整理数据,采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。计数资料以例数(n)和构成比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血源性职业暴露时间趋势 2018—2023 年某三甲综合性教学医院医务人员共报告血源性职业暴露 330 例,血源性职业暴露发生率在 1.63%~2.06%之间,年均发生率为 1.91%。不同年份职业暴露发生率进行比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 1.631$, $P = 0.897$),见图 1。按月份统计分析,结果显示 7~9 月为高发月份,其中 9 月发生例数最多,为 40 例,见图 2。

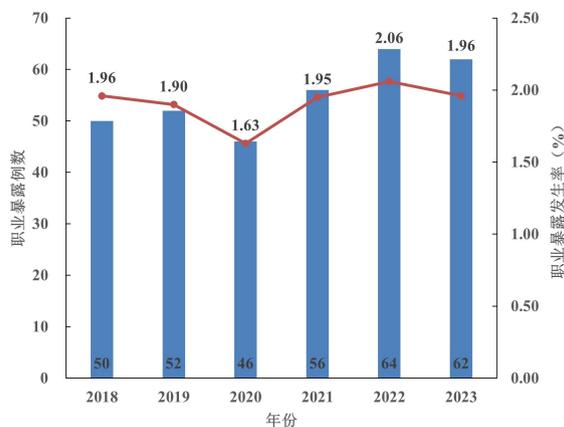


图 1 医务人员血源性职业暴露发生率变化趋势

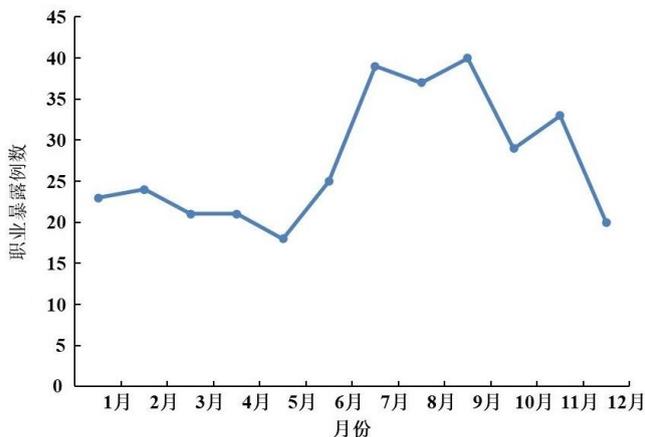


图 2 医务人员血源性职业暴露月份分布

2.2 血源性职业暴露人群分布 330 例血源性职业暴露人群分布,见表 1。

表 1 医务人员血源性职业暴露人群分布

项目	例数	构成比
性别		
女	221	66.97
男	109	33.03
职业类别		
实习进修和规培人员	201	60.91
医生	55	16.66
护士	45	13.64
工勤人员	24	7.27
医技人员	5	1.52
年龄/岁		
≤25	197	59.70
>25~30	64	19.39
>30~40	29	8.79
>40	40	12.12
工作年限/年		
≤1	245	74.24
>1~5	40	12.12
>5~10	16	4.85
>10	29	8.79
所属科室		
内科	125	37.88
外科	118	35.76
门急诊	7	2.12
手术室	44	13.33
物业后勤	24	7.27
其他	12	3.64

2.3 血源性职业暴露特征 医务人员发生血源性职业暴露特征,见表 2。

2.4 不同职业类别医务人员血源性职业暴露情况 相比其他人员,医技人员发生皮肤黏膜暴露的占比更高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同职业类别暴露环节和场所间,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。在不同职业类别暴露源中,除工勤人员以不明病原体为主外,其余各类别医务人员均以 HBV 为主,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 血源性职业暴露后应急处理及追踪监测 330 例血源性职业暴露后应急处理,见表 4。对 330 例医务人员追踪随访,均未发生血源性感染疾病。

表 2 医务人员血源性职业暴露特征

项目	例数	构成比
暴露方式		
锐器伤	298	90.30
头皮针	117	35.45
注射器针头	82	24.85
缝合针	35	10.61
外科器械	26	7.88
套管针	14	4.24
采血针	8	2.42
其他锐器	16	4.85
皮肤黏膜暴露	32	9.70
暴露部位		
手部	297	90.00
眼	17	5.15
手臂	6	1.82
其他部位	10	3.03
暴露环节		
拔针	79	23.94
处理锐器	60	18.18
手术	36	10.91
穿刺注射	26	7.88
采血	23	6.97
回套针帽	23	6.97
被不当放置锐器刺伤	22	6.67
传递锐器	18	5.45
其他环节	43	13.03
暴露场所		
病房内	184	55.76
手术室	89	26.97
监护室	17	5.15
病房外(治疗室/处置室等)	14	4.24
门急诊诊室	11	3.33
其他地点	15	4.55
暴露原因		
个人操作不慎	213	64.55
违规操作导致	45	13.64
意外或紧急情况	40	12.12
他人操作不当导致	28	8.48
未采取正确个人防护	4	1.21
暴露源		
有血源性传播病原体	288	87.27
HBV	186	56.36
梅毒螺旋体	54	16.36
HCV	22	6.67
HIV	10	3.03
HBV+梅毒螺旋体	10	3.03
HBV+HCV	1	0.30
HBV+HIV	1	0.30
HCV+梅毒螺旋体	1	0.30
HIV+梅毒螺旋体	1	0.30
HBV+HIV+梅毒螺旋体	2	0.61
无病原体	14	4.24
不明病原体	28	8.49

表 3 不同职业类别医务人员血源性职业暴露分析

项目	医生	护士	实习进修 和规培人员	医技人员	工勤人员	χ^2	<i>P</i>
暴露方式						14.703	0.003
锐器伤	47(85.45)	39(86.67)	186(92.54)	2(40.00)	24(100.00)		
皮肤黏膜暴露	8(14.55)	6(13.33)	15(7.46)	3(60.00)	0(0.00)		
暴露环节						165.773 ^a	<0.001
拔针	3(5.45)	9(20.00)	66(32.84)	1(20.00)	0(0.00)		
处理锐器	2(3.64)	13(28.89)	36(17.91)	1(20.00)	8(33.33)		
手术	19(34.55)	1(2.22)	16(7.96)	0(0.00)	0(0.00)		
穿刺注射	3(5.45)	5(11.11)	18(8.96)	0(0.00)	0(0.00)		
采血	6(10.91)	1(2.22)	16(7.96)	0(0.00)	0(0.00)		
回套针帽	3(5.45)	2(4.44)	18(8.96)	0(0.00)	0(0.00)		
被不当放置锐器刺伤	0(0.00)	1(2.22)	5(2.49)	0(0.00)	16(66.67)		
传递锐器	10(18.18)	0(0.00)	8(3.98)	0(0.00)	0(0.00)		
其他环节	9(16.36)	13(28.89)	18(8.96)	3(60.00)	0(0.00)		
暴露场所						126.826 ^a	<0.001
病房内	10(18.18)	30(66.67)	135(67.16)	0(0.00)	9(37.50)		
手术室	30(54.55)	3(6.67)	52(25.87)	1(20.00)	3(12.50)		
监护室	4(7.27)	5(11.11)	8(3.98)	0(0.00)	0(0.00)		
病房外(治疗室/处置室等)	1(1.82)	4(8.89)	3(1.49)	0(0.00)	6(25.00)		
门急诊诊室	5(9.09)	2(4.44)	3(1.49)	0(0.00)	1(4.17)		
其他地点	5(9.09)	1(2.22)	0(0.00)	4(80.00)	5(20.83)		
暴露源						90.471 ^a	<0.001
HBV	28(50.91)	22(48.89)	127(63.18)	4(80.00)	5(20.83)		
HCV	4(7.27)	7(15.56)	10(4.98)	0(0.00)	1(4.17)		
梅毒螺旋体	10(18.18)	8(17.78)	36(17.91)	0(0.00)	0(0.00)		
HIV	4(7.27)	1(2.22)	4(1.99)	1(20.00)	0(0.00)		
无病原体	3(5.45)	2(4.44)	9(4.48)	0(0.00)	0(0.00)		
不明病原体	2(3.64)	1(2.22)	7(3.48)	0(0.00)	18(75.00)		
混合感染	4(7.27)	4(8.89)	8(3.98)	0(0.00)	0(0.00)		

注:表内计数资料数据用[*n*(%)]表示;a表示使用 Fisher 确切概率法。

表 4 血源性病原体职业暴露后预防用药情况

血源性传播病原体	发生 例数	预防用 药例数	用药 率/%
HBV	186	177	95.16
梅毒螺旋体	54	54	100.00
HCV	22	0	0.00
HIV	10	4	40.00
HBV+梅毒螺旋体	10	10	100.00
HBV+HCV	1	1	100.00
HBV+HIV	1	1	100.00
HCV+梅毒螺旋体	1	1	100.00
HIV+梅毒螺旋体	1	1	100.00
HBV+HIV+梅毒螺旋体	2	2	100.00
合计	288	251	87.15

3 讨论

本研究结果显示,2018—2023 年某三甲综合性教学医院医务人员血源性职业暴露发生率在 1.63%~2.06%之间,年均发生率为 1.91%,低于既往国内三级甲等综合医院的医务人员(3.37%~4.67%)^[4]。可能与医院重视医务人员职业暴露预防与监测工作有关,医院安排院感专职人员负责职业防护工作,职业暴露上报流程日趋完善,定期开展各级各类人员职业防

护宣教培训,每季度对职业暴露数据分析反馈。血源性职业暴露主要发生于 7~9 月份,与国内相关研究^[3,5]结果类似,其原因可能与新入职职工及实习进修和规培人员在此段进入医院工作岗位有关。研究显示^[6],刚进入医院时带教老师较注重临床操作技能教学,对职业暴露和职业防护知识讲解偏少,使实习早期成为实习生发生血源性职业暴露的高发时期。

内科与外科医务人员发生血源性职业暴露较多,不同职业类别的血源性职业暴露各有特点,发生血源性职业暴露的主要人群为实习进修和规培人员,国内外其他研究^[7-9]也表明实习进修和规培人员是医务人员中发生血源性职业暴露最高的群体。工作年限≤1 年者占 74.24%,提示低年资医务人员及实习进修和规培人员是发生职业暴露的高危人群。主要原因可能是这些医务人员刚参加工作不久,对工作环境和设备不熟悉,自我防护意识不足,各种诊疗操作欠规范且熟练程度较低,在日常工作中标准预防落实到位等原因导致发生血源性职业暴露的风险较高^[10-11],也可能与教学医院接收较多实习进修和规培人员有关^[12]。因此,今后应重点加强对实习进修和规培人员及低年

资医务人员的岗前和在职职业防护培训。

本研究结果显示,职业暴露方式中以锐器伤为主,手部为主要暴露部位,与国内外相关研究^[13-16]结果一致。与其他人员比较,医技人员发生皮肤黏膜暴露的占比更高,可能是医技人员在从事易发生血液体液飞溅操作时风险预判不足,尤其是近距离为患者操作时,未佩戴面部防护用品,从而增加了皮肤黏膜暴露的风险。导致锐器伤的医疗器具以头皮针、注射器针头、采血针和缝合针为主,引起锐器伤的操作主要为拔针、处理锐器和手术。不同职业类别暴露环节和场所间有显著性差异,医生发生血源性职业暴露的最主要环节是手术,手术室则是医生主要的暴露场所;护士最主要的暴露环节则为处理锐器时,病房内则是护士常见的暴露场所,与国内外研究^[17-18]结果一致。其原因为医生在手术过程中若存在相互配合欠协调、未建立固定的中立区和徒手传递器械等情况,极易造成锐器伤;而护士在处理锐器、拔针等操作时,若违反标准操作规程或自身防护不到位,则极易损伤手部。有研究^[14]发现,工作负担重导致的疲惫、快速完成任务的需要、不适当处理锐器,以及执行外科手术时长时间站立造成的情绪紧张等是手术过程中锐器伤的促发因素。被不当放置锐器刺伤是工勤人员发生血源性职业暴露的最主要环节,在这一过程中锐器伤发生的风险取决于所使用锐器的数量,以及锐器最初使用者的错误处置行为^[19]。由于该教学医院的工勤人员均来自第三方公司,人员更换频繁在所难免,因此需实施严格的控制措施,妥善处理锐器。

本次监测的 330 例血源性职业暴露,已知血源性传播病原体主要以 HBV 为主,其次为梅毒螺旋体,与国内其他研究^[20-22]结果一致。这与我国人群 HBV 感染率处于较高水平有关。本研究还发现工勤人员发生的职业暴露以不明病原体为主,常因整理感染性废物时被混在里面的锐器刺伤,暴露源情况难以追踪,暴露风险易被低估,今后职业暴露管理工作中应给予重点关注。职业暴露发生原因中,暴露者个人操作不慎占 64.55%,与梁静等^[5]研究结果一致。同时值得注意的是因违规操作造成暴露的占 13.64%,提示严格执行规范操作流程的重要性,加强职业防护知识及技能培训是减少血源性职业暴露的有效途径^[23]。职业暴露发生后,规范局部应急处理、及时上报、预防性用药和定期追踪复查对于预防感染血源性疾病至关重要,每个环节的疏忽或落实不规范都可能增加感染的风险。330 例血源性职业暴露完整应急处理率为 95.16%,略高于梁静等^[5]报道(89.27%),这可能与三级综合性教学医院的综合培训有关。暴露后预防用药率为 87.15%,高于张燕华等^[24]研究结果(70.67%),

主要因为医院为了保障医务人员身心安全,鼓励发生职业暴露后医务人员积极进行预防用药,检测费用、药品费用和治疗费用均免费。

综上所述,该教学医院上报的血源性职业暴露以实习进修和规培人员为主,HBV 是最常见的血源性病原体,不同职业类别医务人员暴露方式、暴露环节、暴露场所和暴露源有显著性差异,所有暴露者均未发生血源性感染疾病。此外,本研究还存在一些不足之处,例如单中心回顾性研究,基于医务人员的主动上报,推广性有限。因此在今后的相关研究中,需开展多中心区域性研究监测职业暴露的重点人群、重点环节等薄弱环节,探索影响医务人员上报依从性的相关因素,进一步完善医务人员职业暴露监测预警防护体系建设,减少血源性职业暴露的发生。

参考文献:

- [1] 梁子东,郑光军,郭小铭,等.某三甲妇幼保健院血源性病原体职业暴露特点与随访研究[J].中国感染控制杂志,2022,21(12):1236-1242.
- [2] 程涛,韩天勇,刘伯夫,等.医务工作者职业暴露后心理应激状况的调查分析及预防措施[J].西部医学,2023,35(1):107-110,120.
- [3] 吕建峰,贾丽燕,王清秀,等.2014—2020年某三甲医院医务人员血源性职业暴露特点及防控费用[J].中华医院感染学杂志,2022,32(8):1243-1247.
- [4] 聂世姣,缪群,王淑颖,等.2010—2022年某三甲综合医院医务人员血源性职业暴露监测结果[J].预防医学,2023,35(11):997-1000.
- [5] 梁静,尹运冬,孙一楠,等.某三级儿童医院10年医务人员血源性职业暴露资料分析[J].中国感染控制杂志,2023,22(11):1291-1297.
- [6] 刘安云,沈茹,戴望,等.某三甲教学医院实习护士血源性职业暴露与安全防护策略探讨[J].安徽预防医学杂志,2022,28(3):257-260.
- [7] JI Y Y, HUANG J B, JIANG G G, et al. Investigation of the occupational exposure to blood-borne pathogens of staff at a third-class specialist hospital in 2015-2018: a retrospective study[J]. Sci Rep, 2022, 12(1):1498.
- [8] SAKR C J, ALAMEDDINE R, HOTEIT R, et al. Occupational exposure to blood-borne pathogens among health-care workers in a tertiary care center in lebanon[J]. Ann Work Expo Health, 2021, 65(4):475-484.
- [9] 吉园依,肖大雷,江国幅,等.2015—2018年成都市某三级甲等专科医院工作人员锐器伤发生状况调查[J].职业与健康,2020,36(15):2136-2139.
- [10] 苏丽嫒,杨坚.医护实习生职业暴露及防护的认知情况调查与分析[J].华南预防医学,2022,48(12):1544-1547.
- [11] FADIL R A, ABDELMUTALAB N A, ABDELHAFEEZ

- S A, et al. Pattern and risk factors of sharp object injuries among health care workers in two tertiary hospitals, Al Taif-Kingdom of Saudi Arabia 2016-2018[J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(11): 6582-6585.
- [12] 王妍潼, 乔甫, 黄文治, 等. 2011 年—2014 年某大型综合性教学医院工作人员锐器伤情况分析[J]. 华西医学, 2017, 32(3): 348-351.
- [13] 栗昊, 张锦, 郭继强, 等. 某医院医务人员血源性职业暴露影响因素分析[J]. 护理研究, 2022, 36(3): 495-500.
- [14] MOHAMUD RYH, MOHAMED N A, DOĞAN A, et al. Needlestick and sharps injuries among healthcare workers at a tertiary care hospital: a retrospective single-center study[J]. Risk Manag Healthc Policy, 2023, 16: 2281-2289.
- [15] 李好, 吴超贤, 杨平平. 医务人员血源性职业暴露的风险因素分析与干预[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2022, 40(1): 53-56.
- [16] FENG H L, MAO X, LI M Q, et al. Analysis of characteristic and postexposure practices of occupational blood and body fluid exposures among health care workers in Chinese tertiary hospitals: a retrospective ten-year study [J]. BMC Infect Dis, 2024, 24(1): 256.
- [17] 朱田田, 张晓霞, 李娟, 等. 医务人员血源性职业暴露及防控情况调查[J]. 中国消毒学杂志, 2023, 40(12): 949-951.
- [18] DULON M, LISIAK B, WENDELER D, et al. Causes of needlestick injuries in three healthcare settings: analysis of accident notifications registered six months after the implementation of EU Directive 2010/32/EU in Germany[J]. J Hosp Infect, 2017, 95(3): 306-311.
- [19] BIANCO V, SPERA A M, MARAOLO A E, et al. Risk of professional accidental exposure to biological agents in health care workers: a retrospective analysis carried out in a southern Italian tertiary hospital [J]. Infez Med, 2019, 27(1): 40-45.
- [20] 张海燕, 王洁, 尚静, 等. 医护人员血源性传播疾病职业暴露现状分析[J]. 第二军医大学学报, 2021, 42(11): 1330-1333.
- [21] 王恬, 林宇坤, 岑艺穗, 等. 2013—2022 年广州市某综合医院 653 例医务人员锐器伤发生趋势及特征分析[J]. 伤害医学(电子版), 2023, 12(04): 24-29.
- [22] 陈建伟, 潘磊, 姜雪锦, 等. 2018—2021 年山东省某综合医院血源性职业暴露状况[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(14): 2190-2194.
- [23] 周娇, 崔雅清, 刘清元, 等. 西安地区三级医疗机构医护人员血源性职业暴露特征分析[J]. 华南预防医学, 2024, 50(1): 53-56.
- [24] 张燕华, 白嘉伟, 周英顺. 西南地区某医院 2015—2019 年血源性病原体职业暴露特点[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(12): 1054-1058.

收稿日期: 2024-09-05; 修回日期: 2024-10-28

(本文编辑 钟琳)

(上接第 117 页)

- [17] CHEN T M, XIAO Q, WANG X J, et al. miR-16 regulates proliferation and invasion of lung cancer cells via the ERK/MAPK signaling pathway by targeted inhibition of MAPK kinase 1 (MEK1) [J]. J Int Med Res, 2019, 47(10): 5194-5204.
- [18] SHI D B, MA R R, ZHANG H, et al. GAGE7B promotes tumor metastasis and growth via activating the p38 δ /pMAPKAPK2/pHSP27 pathway in gastric cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 124.
- [19] KIM C G, LEE H, GUPTA N, et al. Role of Forkhead Box Class O proteins in cancer progression and metastasis[J]. Semin Cancer Biol, 2018, 50: 142-151.
- [20] ZHAO M N, CHEN Z C, ZHENG Y S, et al. Identification of cancer stem cell-related biomarkers in lung adenocarcinoma by stemness index and weighted correlation network analysis[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 146(6): 1463-1472.
- [21] CHOI J E, CHUNG W H. Functional interplay between the oxidative stress response and DNA damage checkpoint signaling for genome maintenance in aerobic organisms[J]. J Microbiol, 2020, 58(2): 81-91.
- [22] ANAND S K, SHARMA A, SINGH N, et al. Entrenching role of cell cycle checkpoints and autophagy for maintenance of genomic integrity[J]. DNA Repair (Amst), 2020, 86: 102748.
- [23] RONCO C, MARTIN A R, DEMANGE L. ATM, ATR, CHK1, CHK2 and WEE1 inhibitors in cancer and cancer stem cells[J]. Medchemcomm, 2016, 8(2): 295-319.

收稿日期: 2024-08-22; 修回日期: 2024-09-30

(本文编辑 钟琳)

本文引文格式:莫锦,宋长春,李席.国内近 20 年 ICU 气管插管研究热点与趋势分析——基于 CiteSpace 的可视化分析[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):138-143.

【论著与临床报道】

国内近 20 年 ICU 气管插管研究热点与趋势分析 ——基于 CiteSpace 的可视化分析

莫锦¹,宋长春¹,李席²

1. 安徽省蚌埠市第三人民医院重症医学科,安徽 蚌埠 233000;
2. 蚌埠学院材料与化学工程学院,安徽 蚌埠 233000)

摘要:目的 为分析国内 ICU 气管插管领域的研究现状和发展趋势。方法 采用 CiteSpace 6.3 R1 对来自中国知网、万方和维普数据库的自 2003—2023 年的 6 418 篇中文文献进行可视化分析,从发文量、机构和作者合作情况、关键词共现与聚类等方面进行研究。结果 ICU 气管插管领域关键词产生了 16 个聚类,聚类规模最大的是“人工气道”;“影响因素”和“镇痛”是 2017—2023 年研究的热点和重点。结论 现有 ICU 气管插管研究领域高产作者和研究机构均较少,地域发展不平衡,研究团队间、区域间机构合作程度不够紧密,未来应加强合作,形成示范性、多中心、跨学科的研究团队,促进 ICU 气管插管研究的进一步发展。

关键词:ICU;气管插管;CiteSpace;研究热点

中图分类号:R493 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0138-06
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.023

Analysis of research hotspots and trends in ICU endotracheal intubation in China over the past 20 years: a visualized analysis based on CiteSpace

MO Jin¹, SONG Changchun¹, LI Xi²

1. Department of Critical Care Medicine, The Third People's Hospital of Bengbu, Bengbu 233000, Anhui, China;
2. School of Materials and Chemical Engineering, Bengbu University, Bengbu 233000, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To analyze the research status and development trends in the field of ICU endotracheal intubation in China. **Methods** CiteSpace 6.3 R1 was used to conduct a visualized analysis of 6,418 Chinese articles from the CNKI, Wanfang, and VIP databases from 2003 to 2023. The analysis focused on publication volume, institutional and author collaborations, keyword co-occurrence, clustering analysis, and other aspects. **Results** Sixteen clusters were identified among the keywords in the field of ICU endotracheal intubation, with “artificial airway” as the largest cluster. “Influencing factors” and “analgesia” were the hotspots and priorities of research from 2017 to 2023. **Conclusion** Currently, there are few highly productive authors and research institutions in the field of ICU endotracheal intubation, and the regional development is uneven with insufficient collaboration among research teams and regional institutions. In the future, cooperation should be strengthened to form model, multicenter, and interdisciplinary research teams to promote further development in this field.

Key words: ICU; endotracheal intubation; CiteSpace; research hotspots

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目(2023AH052944);蚌埠医科大学科技计划项目人文社科重点项目(2023byzd161sk);蚌埠医学院自然科学重点项目(2021byzd221)

第一作者:莫锦,主管护师,研究方向:护理教学及研究,E-mail:mjvip88@163.com

通讯作者:宋长春,副主任护师,研究方向:护理教学及研究,E-mail:1921466150@qq.com

气管插管是重症监护室(ICU)的一种常见急救措施,其借助机械通气的方式完成正常的气体交换,可快速改善病人氧合,帮助病人恢复呼吸,改善患者临床症状^[1-2]。2014—2018年,美国每年约有200万重症成年人接受气管插管^[3]。尽管在设备、技术和临床指南等方面不断发展进步,气管插管仍然是一项高风险手术,近一半接受紧急气管插管的患者会出现危及生命的低氧血症或低血压,大约1/3的患者会出现中度并发症,近1/4的人会出现严重并发症^[4-5]。近年来,关于ICU气管插管的研究越来越多,但鲜有对ICU气管插管领域系统总结和分析。文献计量学是一种通过使用数学和统计工具对出版物进行定量分析的技术^[6]。CiteSpace是基于Java的文献计量和可视化分析工具,常用于研究人员评估学科热点和趋势、预测学科发展方向,也可为学科建设和人才培养提供参考^[7]。因此,本研究采用文献计量学方法,运用CiteSpace软件,检索近20年来中国知网数据库收录的ICU气管插管的相关文献,进行可视化知识图谱分析,探讨其研究现状、研究热点及发展趋势,以期为我国ICU气管插管相关研究提供参考。

1 数据来源与研究方法

1.1 数据来源

数据来自中国知网、万方和维普三大中文数据库。中国知网和万方数据库中,设置高级检索,以主题“ICU AND 气管插管”“重症监护室 AND 气管插管”“重症监护病房 AND 气管插管”为主题词精确检索,来源分别选择“学术期刊”(中国知网数据库)、“期刊论文”(万方数据库)。维普数据库中,以检索式“(M=ICU AND 气管插管)OR(M=重症监护室 AND 气管插管)OR(M=重症监护病房 AND 气管插管)”进行题名或关键词精确检索,期刊范围选择“全部期刊”。检索时间段为2003年1月1日至2023年12月31日,语言限定为中文,排除新闻报道、护理规范、重复文献等,最终纳入6418篇文献。

1.2 研究方法

使用CiteSpace 6.3 R1软件对国内ICU气管插管文献数据进行可视化分析^[8]。设置时间跨度为2003—2023年,时间段为1年;阈值设置TOP=50;提取合作作者、机构、关键词等节点信息进行可视化,将6418条文献记录导入CiteSpace 6.3 R1中进行分析。

2 结果与分析

2.1 文献发文量分布

按照年发文量将ICU气管插管相关研究进行可视化,结果见图1。由图1可知:中文文献数量呈现先上升后下降趋势,变化趋势呈波动型。2003—2016年为快速增长期,此阶段发文量整体为增长趋势,2016年达顶峰(492篇)。2020—2023年发文量有所下降,研究热度有所降低,但仍明显高于整

体水平,表明该领域更多研究方向需要挖掘,正逐步进入新的发展阶段。

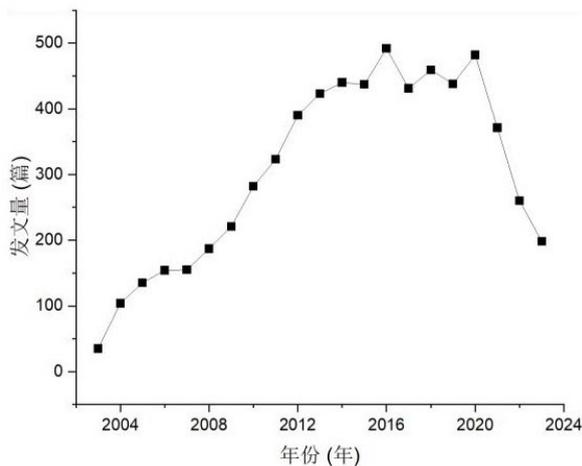


图1 2003—2023年ICU气管插管文献年发文量

2.2 作者合作分布

ICU气管插管研究学者合作知识图谱,见图2。图中共295个节点、182条连线,密度为0.0055,发文量最多的作者是姚惠萍(18篇),其他发文量超过5篇的作者有:张艳(8篇)、李敏(8篇)、陈娟红(7篇)、刘莹(7篇)、池锐彬(6篇)、刘勇(6篇)、王金柱(5篇)、张鲁涛(5篇)、李飞(5篇)、张颖(5篇)、刘力新(5篇)。

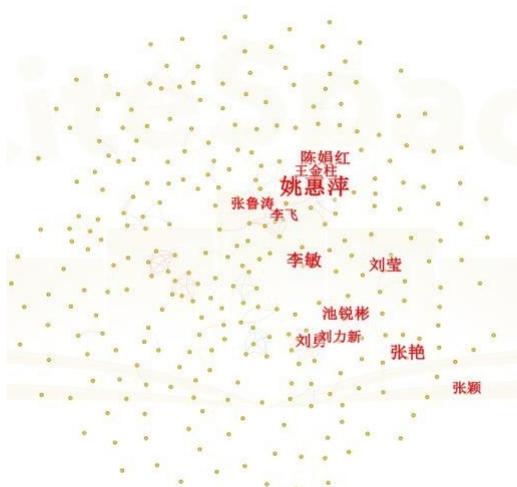


图2 我国ICU气管插管领域作者合作图谱

2.3 研究机构分析

ICU气管插管领域研究机构可视化图谱,见图3。图谱中共有296个节点,19条连线,合作密度为0.0004。频数超过10的研究机构共有8家。频数最高(33)的研究机构为首都医科大学附属北京安贞医院,代表其发文量较多、影响力较大;其他频数超过10的研究机构为:华中科技大学同济医学院附属同济医院(19)、四川大学华西医院(14)、浙江省人民医院(12)、广东省人民医院(12)、浙江大学医学院

附属第一医院(11)、浙江大学医学院附属第二医院(11)、广西医科大学第一附属医院(11)。

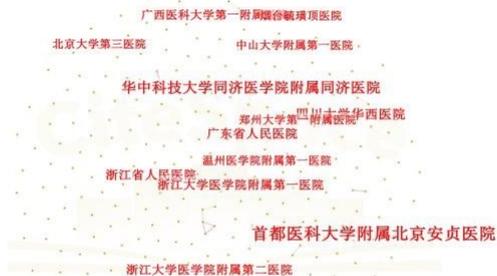


图 3 ICU 气管插管研究机构合作共现图

2.4 关键词分析

2.4.1 关键词共现分析 关键词可体现文章核心内容,出现的频次越高,说明研究热度越高^[9]。通过 CiteSpace 软件对关键词可视化分析得关键词共现知识图谱,见图 4。从知识图谱中得到 267 个节点,317 条连线,网络密度为 0.0089,网络密度较小,表示关键词间的联系不密集。关键词中心度反映其在整个关键词共现网络中的重复性,分析得出排在前十位的高频关键词,见表 1。出现频次超过 200 次的关键词依次为气管插管(1215 次)、机械通气(710 次)、护理(599 次)、危险因素(351 次)、口腔护理(265 次)、呼吸衰竭(206 次),说明这些关键词为国内 ICU 气管插管领域的研究热点。中心性较高的关键词有人工气道(0.67)、危重病人(0.63)、气管插管(0.39)、呼吸衰竭(0.36)、气管切开(0.35)、呼吸机(0.32),即其相关研究可形成较好的关键词共现网络。



图 4 ICU 气管插管关键词共现知识图谱

表 1 ICU 气管插管研究领域频数前 10 位的高频关键词

排序	词频	中心度	关键词
1	1215	0.39	气管插管
2	710	0.10	机械通气
3	599	0.14	护理
4	351	0.09	危险因素
5	265	0.11	口腔护理
6	206	0.36	呼吸衰竭
7	148	0.21	医院感染
8	138	0.03	肺部感染
9	132	0.67	人工气道
10	118	0.07	并发症

2.4.2 关键词聚类分析 利用 CiteSpace 软件 LLR 算法对 ICU 气管插管研究领域关键词进行可视化聚类分析,生成聚类网络图,见图 5,进一步探索研究热点及具体内涵。图 5 中聚类标签数值越小,聚类规模越大,得到了关键词包含最多的前 16 个聚类标签:人工气道、气管插管、呼吸衰竭、镇静、肺炎、危险因素、对策、护理、机械通气、护理干预、影响因素、护理质量、插管法、口腔护理、护理质量,每个聚类标签包括的主要关键词见表 2。由图 5 和表 2 知,不同关键词聚类间、包含的主要关键词相互交错,说明各聚类联系密切。模块值(Q)和平均轮廓值(S)可用于判断聚类是否合理,若 Q 值 > 0.3,则聚类结构合理;若 S 值 > 0.5,则聚类结构显著,若 S 值 > 0.7,则其高效令人信服^[10-11]。本研究中 Q 为 0.8198,S 为 0.9456,结构合理,结果可信。



图 5 ICU 气管插管关键词聚类知识图谱

2.4.3 关键词突现图谱分析 图 6 为我国 ICU 气管插管关键词进行突现探测分析结果,得到前 20 个突现关键词,图中红色部分表示关键词突现持续时间。发现我国 ICU 气管插管研究热点随着时代的变化而不断发展。2003—2017 年研究的热点主要集中在“危重病人”“麻醉”“插管患者”“插管法”“对策”等。2017—

2023 年的研究热点主要集中在“影响因素”“护理效果”“镇痛”“谵妄”“低氧血症”等,其中“影响因素”和

“镇痛”持续时间最长,为 2017—2023 年,说明其为研究者近年来较为关注的研究前沿和热点问题。

表 2 ICU 气管插管关键词聚类

聚类号	聚类标签	主要关键词
0	人工气道	人工气道、气管切开、临床应用、感染、气道湿化
1	气管插管	气管插管、护理对策、心理护理、非计划性拔管、ICU
2	呼吸衰竭	呼吸衰竭、无创通气、重症肺炎、慢性阻塞性肺病、气管插管
3	镇静	镇静、咪达唑仑、镇痛、右美托咪定、麻醉
4	肺炎	肺炎、预后、颅脑损伤、呼吸性相关性、临床特征
5	危险因素	危险因素、耐药性、病原菌、气管插管、老年患者
6	对策	对策、原因分析、意外拔管、原因、预防
7	护理	护理、肺部感染、医院感染、口腔护理、早产儿
8	机械通气	机械通气、心脏手术、呼吸机相关性肺炎、舒适护理、医院感染
9	护理干预	护理干预、危重患者、气道管理、循证护理、满意度
10	影响因素	影响因素、重症监护、心肺复苏、危重病人、早期活动
11	呼吸	呼吸、人工、新生儿、呼吸功能不全、气管插管
12	并发症	并发症、睡眠呼吸暂停、阻塞性、心脏外科、手术
13	口腔护理	口腔护理、经口气管插管、效果、生理盐水、护理
14	插管法	插管法、气管内、人类、气管内护理、再插管率
15	护理质量	护理质量、人文护理、焦虑、护理效果、抑郁

Top 20 Keywords with the Strongest Citation Bursts



图 6 2003—2023 年 ICU 气管插管研究领域前 20 个突现词图谱

3 讨论

3.1 发文量分析 图 1 显示 2003—2023 年我国 ICU 气管插管研究领域研究的发文量均呈波动发展。2003—2017 年发文量快速增加,2016 年发文量最多,达 492 篇。在 2020 年后年发文量有所降低,可能存在以下几方面原因^[12]:①2020—2023 年新型冠状病毒感染疫情的影响,一些研究无法及时开展;②ICU 气管插管主要适用于危急重症,临床样本偏少;③研究方向和研究内涵转移。在近 20 年的发展中,我国 ICU 气管

插管领域得到了快速发展,但检索发现北大核心期刊以上级别的文献占比较少,ICU 气管插管研究内容深度和广度还需进一步提升。

3.2 发文作者和机构分析 由图 2 可知,ICU 气管插管研究的作者较多,但大部分作者以独立研究为主,相互联系较少,分散分布,合作关系不紧密,大范围的群体间合作尚未形成,且该领域高产作者数量较少。随着气管插管研究的不断发展,应加强跨团队、跨机构、跨地区、跨学科合作。图 3 表明首都医科大学附属北京安贞医院节点较大,说明其对 ICU 气管插管领域的发展起到了一定引领和带动作用,是该领域的核心科研机构。发文量超过 10 篇的机构有 10 家,其中东部、中部和西部地区机构分别有 7 家、1 家和 2 家,说明 ICU 气管插管研究存在明显的地域差异。从机构合作情况来看,网状合作网络较少、整体分散,独立研究机构较多,机构间的合作强度不够,机构间合作有待加强。

3.3 研究热点 由关键词网络共现可视化图谱可知,关键词频率排名靠前的为气管插管、机械通气、护理、危险因素等方面,为 ICU 气管插管研究的主要热点。由关键词聚类网络图知,各个聚类间总体上交叉现象显著,从侧面反映各聚类间联系紧密,研究内容关联性较强,研究主题相互渗透现象较为显著,ICU 气管插管研究侧重于临床应用及危险因素、护理措施及效果两大方面。

3.3.1 临床应用及危险因素 分析图 4 和表 1 可知,ICU 气管插管可应用于重症肺炎、慢性阻塞性肺病、新生儿、早产儿、呼吸功能不全等患者治疗,并应注重采

取镇静镇痛措施。研究表明,右美托咪定联合布托啡诺能改善慢性阻塞性肺病患者无创呼吸机辅助呼吸过程中同步性及依从性,提高无创通气效率^[13]。老年低肺功能肺癌术后呼吸机辅助通气患者给予计划镇静,可以改善患者的临床转归,减少气管插管的非计划性拔除率,利于患者康复^[14]。ICU 气管插管临床应用过程中还应关注相关危险因素。气管插管是 ICU 心血管病患者 ICU 综合征发生的危险因素之一^[15]。ICU 经鼻气管插管患者会进一步导致炎症因子水平异常,抗菌药物使用时间、导管留置时间是 ICU 经鼻气管插管患者医院感染危险因素^[16]。梁军利等^[17]从气管插管非计划性拔管的危险因素、气管插管及气道管理、镇静评估与管理、镇痛评估与管理、谵妄监测与预防、组织管理等方面总结了儿科重症监护病房机械通气患儿气管插管非计划性拔管预防策略的最佳证据。因此,对于 ICU 患者气管插管干预后,应加强对相关危险因素的识别、防控。

3.3.2 护理措施及效果 由表 2 知,ICU 气管插管患者科学护理干预措施包括口腔护理、人文护理、气管内护理、舒适护理等方面,且应关注护理质量和护理效果。ICU 经口气管插管患者口腔黏膜压力性损伤发生的风险较高,气管插管患者插管后 4 h 内首次进行口腔护理、中药含漱与刷牙冲洗、负压式冲洗联合复方氯己定含漱液口腔护理等措施,能提升口腔清洁效果,降低口腔并发症发生率,缩短患者机械通气时间和 ICU 住院时间^[18-20]。对 ICU 气管插管患者实施针对性护理效果确切,可减少肺部感染风险,提高患者的满意度^[21]。黄昌洋等^[22]对 ICU 气管插管机械通气和镇痛治疗患者采用失效模式与效应分析护理模式,可促进患者康复,缩短机械通气时间。进一步研究发现^[23],采用失效模式与效应分析联合戴明环在 ICU 气管插管机械通气患者中的护理,可有效促进患者康复,降低不良事件发生率,提高患者家属满意度。可见,研究者不断探索最佳 ICU 气管插管护理方案,以规范护理行为,这对改善患者预后、提高患者满意度有积极作用。

3.4 研究趋势 由突显词的变化趋势可知,2017 年以来,我国 ICU 气管插管研究领域前沿主要集中在“影响因素”和“镇痛”,且持续时间最长,表明其对 ICU 气管插管的患者康复影响很大。在新时代“健康中国”发展战略背景下,我国 ICU 气管插管影响因素相关研究与实践取得了较为丰富的研究成果。研究表明^[24-25],气管插管不仅容易引起多种并发症,是 ICU 机械通气患者最常见的并发症之一,更是呼吸机相关性肺炎发病的重要因素,且采用机械通气治疗的时间越长,发生呼吸机相关性肺炎的风险越高。刘卫平

等^[26]研究发现,引发呼吸科重症监护病房患者呼吸机相关性肺炎的病原菌以革兰阴性菌居多。气管插管患者发生呼吸机相关性肺炎的影响因素与患者群体年龄存在差异性。胎龄、机械通气时间、吸痰次数、气管插管次数、住院时间为新生儿呼吸机相关性肺炎独立危险因素^[27]。张嫚等^[28]临床研究表明,骨科全身麻醉手术后转 ICU 的老年患者呼吸机相关性肺炎的发生率较高,且与患者年龄、机械通气时间、留置胃管、气管插管前口腔清洁、口咽部护理等密切相关。近年来,国内研究者针对 ICU 气管插管的影响因素还开展了预测模型研究。孙敏捷等^[29]分析筛选 ICU 住院病人死亡危险因素,成功建立预测 ICU 住院病人死亡的预测模型。周祥龙等^[30]通过多因素 Logistic 回归分析 ICU 患者人工气道相关压力性损伤发生的独立危险因素,构建的列线图能预测 ICU 患者人工气道相关压力性损伤的发生。但这些预测模型对医护人员、患者心理等相关影响因素缺乏足够关注,且在临床上推广应用的有效性仍待进一步验证。行气管插管往往给 ICU 患者带来压力和焦虑,接受科学的镇静镇痛治疗可减少患者 ICU 入住时间,提高治疗满意度^[31-32]。临床实践表明^[33],早期气管插管联合镇痛镇静能减轻病情严重程度,能减少全身并发症发生率,促进病情恢复。气管插管机械通气病人实施基于以病人和家属为中心的舒适化浅镇静理念的镇静镇痛护理,有利于降低不良事件发生率,缩短 ICU 入住时间,改善病人预后^[34-35]。

4 小结

本研究利用 CiteSpace 可视化软件,对 2003—2023 年我国 ICU 气管插管领域的相关中文文献内容进行汇总分析,从发文量、论文作者、机构、关键词、研究热点和趋势等方面,探究该领域研究现状、研究热点及发展趋势。文献计量学分析显示,ICU 气管插管领域发文量呈波动发展,发文作者和发文机构方面都呈现出协作较少、整体分散特点,高产作者和研究机构均较少,地域发展不平衡,研究聚集性较弱。围绕 ICU 气管插管领域,形成了以气管插管、机械通气、护理等为研究热点的共线网络图谱,2017—2023 年的研究前沿集中在影响因素和镇痛,可作为今后 ICU 气管插管研究领域的发展方向。因此,建议未来需进一步加强人才的培养力度,加强不同作者间、区域间机构、科研团队间及学科间的交流合作,形成多中心、跨学科、专业性强的具有示范引领作用的核心科研团队、机构研究网络,促进 ICU 气管插管领域的进一步发展。本研究仅选取了国内数据库文献进行研究分析,未来可结合国外数据库相关文献,并于国内研究进行对比分析,深入探讨 ICU 气管插管领域的热点、发展动态,共同推动提高 ICU 气管插管领域研究水平。

参考文献:

- [1] 修美凤. 重症监护室内气管插管患者接受针对性呼吸道护理干预的临床效果分析[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2024, 41(4): 409-410.
- [2] 吴雪婷, 陈蕾, 王国州, 等. ICU 病人气管插管拔管后吞咽障碍康复护理干预方案的构建[J]. 护理研究, 2024, 38(13): 2383-2389.
- [3] RUSSELL D W, CASEY J D, GIBBS K W, et al. Effect of fluid bolus administration on cardiovascular collapse among critically ill patients undergoing tracheal intubation: a randomized clinical trial[J]. JAMA, 2022, 328(3): 270-279.
- [4] SEITZ K P, SPICER A B, CASEY J D, et al. Individualized treatment effects of bougie versus stylet for tracheal intubation in critical illness[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2023, 207(12): 1602-1611.
- [5] MOSIER J M. Physiologically difficult airway in critically ill patients: winning the race between haemoglobin desaturation and tracheal intubation[J]. Br J Anaesth, 2020, 125(1): e1-e4.
- [6] ROLDAN-VALADEZ E, SALAZAR-RUIZ S Y, IBARRA-CONTRERAS R, et al. Current concepts on bibliometrics; a brief review about impact factor, eigenfactor score, citesscore, scimago journal rank, source-normalised impact per paper, h-index, and alternative metrics[J]. Ir J Med Sci, 2019, 188(3): 939-951.
- [7] HUA N, TAN X M, HE Y Q, et al. Medical decision making for adolescents with depression: a bibliometric study and visualization analysis via CiteSpace[J]. Int J Ment Health Nurs, 2023, 32(2): 365-377.
- [8] Chen C M. CiteSpace II: detecting and visualizing emerging trends and transient patterns in scientific literature[J]. J Am Soc Inf Sci Technol, 2006, 57(3): 359-377.
- [9] 罗兰, 龚放华, 谷家仪, 等. 基于 CiteSpace 的国内神经源性膀胱康复护理研究可视化分析[J]. 全科护理, 2022, 20(21): 2887-2891.
- [10] 陈悦, 陈超美, 刘则渊, 等. CiteSpace 知识图谱的方法论功能[J]. 科学学研究, 2015, 33(2): 242-253.
- [11] 黄翠梅, 覃翠华, 莫永华, 等. 2011—2022 年我国 TPACK 研究可视化分析[J]. 台州学院学报, 2022, 44(6): 85-92.
- [12] 廉坤, 李鑫, 胡思远, 等. 参附注射液近 40 年研究热点可视化分析[J]. 药物评价研究, 2023, 46(10): 2251-2261.
- [13] 尹睿, 田东惠, 吴萌萌, 等. 右美托咪啶联合布托啡诺在慢性阻塞性肺疾病无创通气中的应用研究[J]. 滨州医学院学报, 2018, 41(3): 177-179.
- [14] 侯晓营, 王君慧, 邓妍, 等. 计划镇静在低肺功能肺癌术后气管插管老年患者中的应用[J]. 上海护理, 2019, 19(6): 44-46.
- [15] 陈佳星. 重症监护病房心血管病患者 ICU 综合征的危险因素分析[J]. 护理实践与研究, 2021, 18(11): 1630-1633.
- [16] 黄栋梁, 刘丽贞, 杨文山, 等. ICU 经鼻气管插管患者医院感染危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(5): 796-800.
- [17] 梁军利, 薛珊, 刘磊, 等. 机械通气患儿气管插管非计划性拔管预防策略的最佳证据总结[J]. 中华护理杂志, 2022, 57(24): 3046-3054.
- [18] 杨茂凡, 周会兰, 陈柯宇, 等. ICU 经口气管插管患者口腔黏膜压力性损伤研究进展[J]. 护理学杂志, 2023, 38(2): 21-24.
- [19] 储娅, 张艳. 中药含漱与刷牙冲洗法在 ICU 气管插管患者口腔护理中的应用[J]. 护理学杂志, 2022, 37(22): 61-63.
- [20] 杨婷, 姚燕, 李新焕. 气管插管患者不同首次口腔护理时间对早发性 VAP 发生率及口腔护理效果的影响[J]. 国际护理学杂志, 2022, 41(19): 3628-3631.
- [21] 宋月. ICU 气管插管患者并发肺部感染的原因分析及护理对策[J]. 中国医药指南, 2023, 21(2): 49-52.
- [22] 黄昌洋, 李绮霞, 池千勉. 失效模式与效应分析护理模式在 ICU 气管插管机械通气和镇痛治疗患者中的应用[J]. 齐鲁护理杂志, 2021, 27(23): 8-10.
- [23] 吴玲玲, 郑俊丽, 叶利军. 失效模式与效应分析联合 PD-CA 循环在 ICU 气管插管机械通气患者中的应用[J]. 齐鲁护理杂志, 2023, 29(16): 12-15.
- [24] 祁鹏飞, 邝静. 集束化护理模式对老年重症哮喘气管插管患者康复进程及并发症发生风险的影响[J]. 承德医学院学报, 2022, 39(6): 499-502.
- [25] 刘玥, 张静萍. 新生儿重症监护室呼吸机相关性肺炎研究进展[J]. 中华医院感染学杂志, 2024, 34(4): 628-634.
- [26] 刘卫平, 董博伟, 张凯, 等. 某医院呼吸科重症监护病房呼吸机相关性肺炎病原菌分布和影响因素分析[J]. 中国消毒学杂志, 2022, 39(6): 438-441.
- [27] 张冰. 65 例新生儿呼吸机相关性肺炎临床分析[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2017, 29(1): 48-50.
- [28] 张曼, 王洁, 陈茹, 等. 骨科全身麻醉手术后转 ICU 的老年患者发生呼吸机相关肺炎的影响因素[J]. 局解手术学杂志, 2021, 30(10): 890-893.
- [29] 孙敏捷, 罗兵, 李振兴, 等. 预测 ICU 住院病人死亡的 Nomogram 模型[J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(12): 1733-1736.
- [30] 周祥龙, 张国琴, 张帅, 等. ICU 患者人工气道相关压力性损伤风险列线图预测模型的构建[J]. 护士进修杂志, 2023, 38(14): 1254-1260.
- [31] 程人佳, 张庆红, 王飒, 等. 播放家属鼓励视频对 ICU 气管插管病人焦虑状态及生命体征的影响[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(5): 683-686, 690.
- [32] 陈莹, 吕梅叶, 徐金华. 程序化镇静护理在 ICU 机械通气患者中的临床应用效果[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2021, 30(9): 118-119, 122.
- [33] 刘芳, 夏明万, 李坚, 等. 早期气管插管联合镇痛镇静治疗脑梗死合并严重延髓麻痹的临床分析[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(4): 13-18.
- [34] 李莉. 基于 eCASH 理念的镇静、镇痛护理在 ICU 机械通气病人中的应用[J]. 护理研究, 2021, 35(16): 2895-2899.
- [35] 王敏, 张艳, 钱小丽, 等. 基于 eCASH 理念的镇静镇痛干预在 ICU 气管插管机械通气病人中的应用[J]. 全科护理, 2022, 20(26): 3667-3670.

收稿日期: 2024-10-09; 修回日期: 2024-10-17

(本文编辑 钟琳)

本文引文格式:孙玲玲,凌烈锋,徐蕾.肿瘤坏死因子- α 基因 rs1800630 多态性与 Graves 病易感性的 Meta 分析[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):144-148,155.

【论著与临床报道】

肿瘤坏死因子- α 基因 rs1800630 多态性 与 Graves 病易感性的 Meta 分析

孙玲玲^{1,2}, 凌烈锋^{1,2}, 徐蕾^{1,2}

(1. 皖南医学院基础医学院,安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医学院活性生物大分子安徽省重点实验室,安徽 芜湖 241002)

摘要:目的 探索肿瘤坏死因子- α 基因 rs1800630 多态性与 Graves 病遗传易感性之间的关系。方法 检索从建库至 2023 年 12 月 PubMed、Web of Science、Embase、The Cochrane Library、中国生物医学文献数据库(CBM)、中国知网收集肿瘤坏死因子- α 启动子 rs1800630 多态性与 Graves 病易感性的相关文献。采用 Stata 15.0、RevMan 5.2 软件进行 Meta 分析。结果 8 篇文献纳入 Meta 分析,包括 2 024 例 Graves 病患者和 2 347 例对照。Meta 分析结果显示在显性模型 [AA+CA/CC, OR = 1.35, 95% CI (1.07~1.70), $P = 0.01$] 及杂合子模型 [CA/CC, OR = 1.35, 95% CI (1.08~1.70), $P = 0.01$] 及等位基因模型 [A/C, OR = 1.28, 95% CI (1.04~1.58), $P = 0.02$] 下 rs1800630 多态与 Graves 病相关。亚组分析结果显示,仅在亚洲人群中该多态与 Graves 病发病具有统计学意义,显性模型 OR = 1.56, 95% CI (1.28~1.91), $P < 0.001$; 杂合子模型 OR = 1.56, 95% CI (1.26~1.93), $P < 0.001$; 等位基因模型 OR = 1.45, 95% CI (1.22~1.71), $P < 0.001$ 。结论 TNF- α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病的易感性存在一定的关联,尤其在亚洲人群中 A 等位基因具有增加罹患 Graves 病的风险。

关键词:肿瘤坏死因子- α ; 多态; Graves 病; Meta 分析

中图分类号:R581.3

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)00-0144-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.00.024

A Meta-analysis of the association between tumor necrosis factor- α gene rs1800630 polymorphism and susceptibility to Graves' disease

SUN Lingling, LING Liefeng, XU Lei

(1. School of Basic Medical Sciences, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;

2. Anhui Key Laboratory of Active Biological Macromolecules, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To explore the association between the tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene rs1800630 polymorphism and genetic susceptibility to Graves' disease. **Methods** Relevant literature on the association between TNF- α promoter rs1800630 polymorphism and Graves' disease susceptibility was retrieved from PubMed, Web of Science, Embase, The Cochrane Library, China Biology Medicine (CBM), and China National Knowledge Infrastructure (CNKI) from the establishment of the databases to December 2023. Meta-analysis was conducted using Stata 15.0 and RevMan 5.2 software. **Results** Eight studies involving 2 024 Graves' disease patients and 2 347 controls were included in the meta-analysis. The results showed that the rs1800630 polymorphism was associated with Graves' disease under the dominant model [AA+CA/CC, OR = 1.35, 95% CI (1.07~1.70), $P = 0.01$], heterozygous model [CA/CC, OR = 1.35, 95% CI (1.08~1.70), $P = 0.01$], and allele model [A/C, OR = 1.28, 95% CI (1.04~1.58), $P = 0.02$]. Subgroup analysis showed that the polymorphism was associated with Graves' disease in Asian populations, with the dominant model OR = 1.56, 95% CI (1.28~1.91), $P < 0.001$; heterozygous model OR = 1.56, 95% CI (1.26~1.93), $P < 0.001$; and allele model OR = 1.45, 95% CI (1.22~1.71), $P < 0.001$. Conclusion TNF- α gene rs1800630 polymorphism is associated with Graves' disease susceptibility, especially in Asian populations, where the A allele has an increased risk of Graves' disease.

基金项目:国家自然科学基金项目(32271287)

第一作者:孙玲玲,硕士,副教授,研究方向:基因多态性与疾病,E-mail:19970008@wnmc.edu.cn

$=0.01]$, and allele model $[A/C, OR = 1.28, 95\% CI (1.04 \sim 1.58), P = 0.02]$. Subgroup analysis revealed that this polymorphism was significantly associated with Graves' disease only in the Asian population, with $OR = 1.56, 95\% CI (1.28 \sim 1.91), P < 0.001$ for the dominant model; $OR = 1.56, 95\% CI (1.26 \sim 1.93), P < 0.001$ for the heterozygous model; and $OR = 1.45, 95\% CI (1.22 \sim 1.71), P < 0.001$ for the allele model.

Conclusion There is a certain association between the TNF- α gene rs1800630 polymorphic locus and susceptibility to Graves' disease. In particular, the A allele increases the risk of suffering from Graves' disease in the Asian population.

Key words: tumor necrosis factor- α ; polymorphism; Graves' disease; Meta-analysis

Graves 病(Graves' disease, GD)又称毒性弥漫性甲状腺肿,是一种器官特异性自身免疫性疾病。作为一种多基因疾病, GD 的发病机制复杂,遗传因素在 GD 的发病中有重要作用。多个研究显示免疫调节基因如细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)^[1]、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)^[2]、白细胞介素(interleukin, IL)^[3]等单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)参与 GD 的发生。TNF- α 是一种重要的免疫介质和细胞因子,在 GD 发病中有重要作用^[4]。在 TNF- α 启动子区域有多个单核苷酸多态性影响 TNF- α 的表达水平,包括-238 G/A, -308 G/A, -857 C/T, -863 C/A, -1031 T/C 等^[5]。其中-863C/A(即 rs1800630)与 GD 的关联存在争议,本研究对现有的研究进行系统回顾和 Meta 分析,评估 TNF- α 基因 rs1800630 多态性与 GD 的关联。

1 资料与方法

1.1 文献检索 由两名研究者进行中英文文献检索,检索时间从建库至 2023 年 12 月。检索英文数据库: PubMed、Web of Science、Embase、The Cochrane Library, 检索词: (Graves disease) and (TNF- α OR Tumour necrosis factor alpha OR TNF alpha) and (polymorphism OR single nucleotide polymorphism OR SNP OR mutation)。中文数据库:中国生物医学文献数据库(CBM)、中国知网,检索词: Graves 病、肿瘤坏死因子- α 、基因多态性。检索没有语言限制,对检索到的参考文献进行手工检索,尽量不遗漏相关研究。如果同一作者使用相同的病例系列发表不止一篇文章,选择人数最多的研究。

1.2 纳入与排除标准 文献纳入标准:① TNF- α 基因 rs1800630 多态性与 Graves 病相关性的病例对照研究;② 研究有完整的基因型和等位基因数据,或通过计算能得到完整的数据。文献排除标准:① 研究未设立对照组;② 不能提供或通过计算无法得到完整数据的研究;③ 会议、综述、病例报告等研究;④ 同一作者重复发表的相关文献,纳入数据最多最新的文献。

1.3 数据提取与文献质量评价 根据纳入和排除标

准由两名研究人员独立提取数据并进行交叉核对。若存在分歧,所有研究者讨论解决。提取的资料包括:第一作者、发表年份、国家或地区、样本数量、基因分型方法、病例和对照基因型数据。采用 9 分制的纽卡斯尔-渥太华量表(Newcastle-Ottawa scale, NOS)评估研究质量,6 分及以上被认为是高质量的研究。

1.4 统计学方法 采用 RevMan 5.2 和 STATA 15.0 软件进行统计学分析。异质性检验采用 Q 检验和 I^2 分析,如 $P \geq 0.10$ 或 $I^2 < 50\%$ 表示各研究异质性不明显,采用固定效应模型;否则采用随机效应模型。在隐性模型、显性模型、纯合子模型、杂合子模型和等位基因模型下探讨 rs1800630 多态性与 Graves 病易感性的关系并以种族为基础进行亚组分析。rs1800630 多态性与 Graves 病的相关性用合并的 OR 值及 95% CI 衡量, Z 检验确定合并 OR 值的显著性, $P < 0.05$ 表示 rs1800630 多态与 Graves 病易感性显著相关。采用倒置漏斗图和 Egger's 回归检验评估发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索结果纳入文献特征 根据检索条件,初步检索文献共 184 篇,仔细阅读文献后,剔除重复文献、综述及不相关文献。根据纳入和排除标准,8 项研究共 2 024 例病例和 2 347 例对照纳入本次研究,其中 5 项研究来自亚洲人群,3 项来自欧洲白种人群。各研究均根据 NOS 进行评分,如表 1 所示。这 8 项病例对照研究得分为 6~8 分,表明有足够的质量可以纳入荟萃分析。

2.2 Meta 分析结果

2.2.1 TNF- α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病相关性 Meta 分析结果显示:隐性模型和纯合子模型下纳入研究异质性无统计学差异,采用固定效应模型;其余 3 种模型下异质性显著,采用随机效应模型。5 种遗传模型中显性模型、杂合子模型和等位基因模型下 TNF- α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病易感性相关,其余 2 种模型均提示与 Graves 病的易感性无关,见图 1~图 5。8 个研究中有 1 项对照不符合哈代平衡,剔除此项研究,结果无显著变化。

表 1 纳入研究基本特征及质量评价

第一作者	发表年份	国家	病例数/ 对照数	病例组			对照组			HWE	NOS
				CC	CA	CA	CC	CA	CA		
BEDNARCZUK T 等 ^[6]	2004	波兰	228/248	163	63	2	190	53	5	0.849	6
HOUCKEN J 等 ^[7]	2018	德国	100/100	74	23	3	77	20	3	0.511	7
KAMIZONO S 等 ^[8]	2000	日本	173/575	119	53	1	424	141	10	0.908	7
马文豪等 ^[9]	2013	中国	186/160	93	55	38	98	34	28	<0.01	7
NAKKUNTOD J 等 ^[10]	2006	泰国	137/137	80	48	9	101	31	5	0.787	8
SIMMONDS M J 等 ^[5]	2004	英国	832/839	620	196	16	603	217	19	0.995	8
潘天荣等 ^[11]	2012	中国	254/212	171	81	2	162	50	0	0.150	8
阎胜利等 ^[12]	2005	中国	114/76	71	38	5	57	19	0	0.460	7

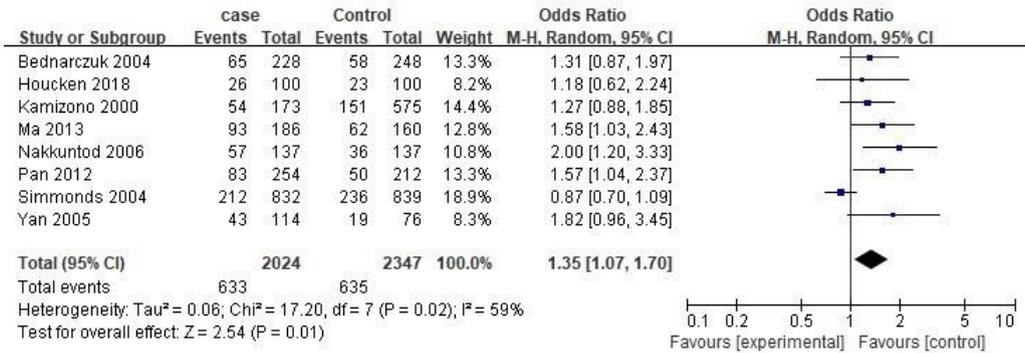


图 1 TNF-α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病的 Meta 分析(CA+AA/CC)

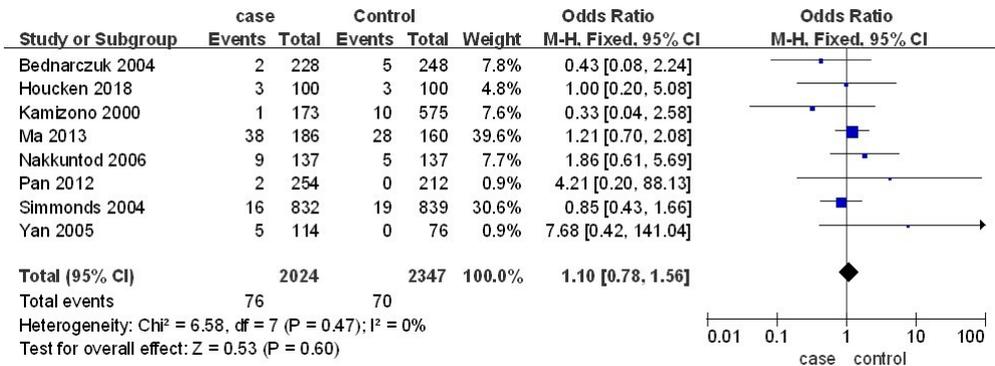


图 2 TNF-α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病的 Meta 分析(AA/CA+CC)

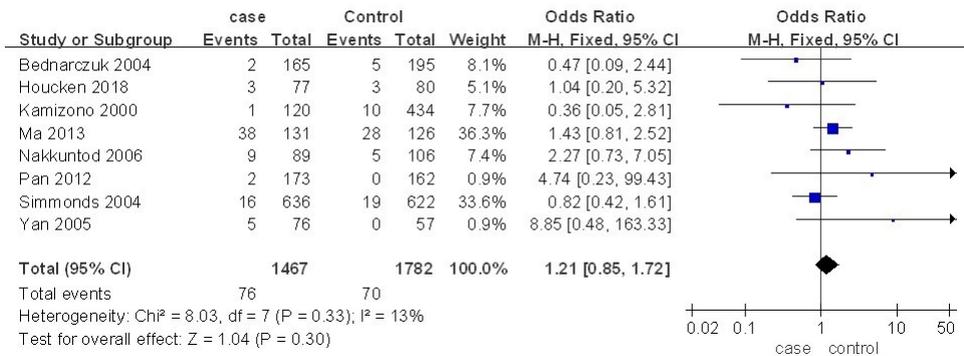


图 3 TNF-α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病的 Meta 分析(AA/CC)

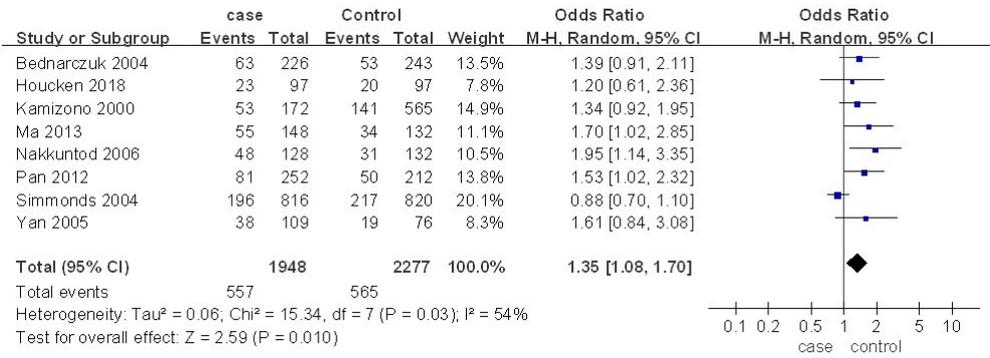


图 4 TNF-α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病的 Meta 分析(CA/CC)

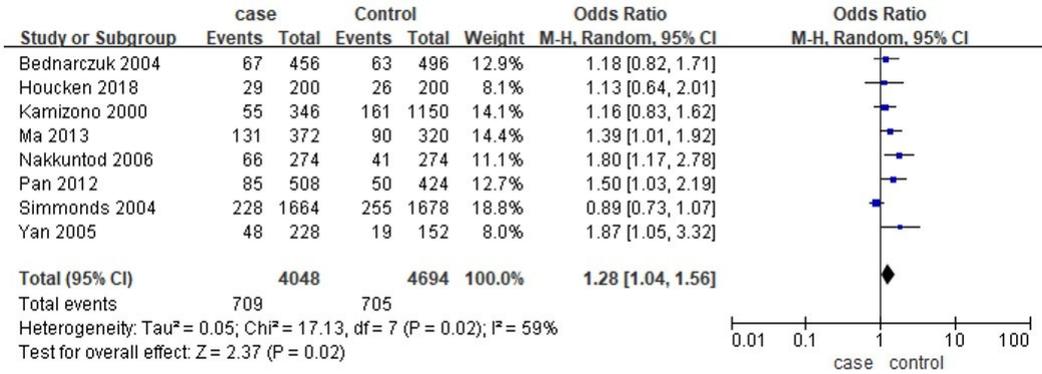


图 5 TNF-α 基因 rs1800630 多态位点与 Graves 病的 Meta 分析(A/C)

2.2.2 不同种族的亚组分析 8 项研究中,有 3 项研究人群为欧洲白种人群,5 项为亚洲人群,根据人群不同进行亚组分析。结果显示,在亚洲人群中 TNF-α 基因 rs1800630 多态位点可能增加患 Graves 病的风险,而在欧洲白种人群与 Graves 病的发病无关联 (P > 0.05),见表 2。

表 2 TNF-α rs1800630 基因多态性与 Graves 病相关性的亚组分析结果

亚组分析	OR (95% CI)	P	异质性检验	
			I ² /%	P
亚洲人群				
CA+AA/CC	1.56(1.28~1.91)	<0.001	0	0.69
AA/CA+CC	1.33(0.86~2.08)	0.20	4	0.38
AA/CC	1.58(1.00~2.49)	0.05	8	0.36
CA/CC	1.56(1.26~1.93)	<0.001	0	0.84
A/C	1.45(1.22~1.71)	<0.001	0	0.47
欧洲白种人群				
CA+AA/CC	0.97(0.81~1.17)	0.74	38	0.20
AA/CA+CC	0.79(0.44~1.40)	0.42	0	0.72
AA/CC	0.78(0.44~1.40)	0.40	0	0.77
CA/CC	0.99(0.82~1.19)	0.89	48	0.15
A/C	0.96(1.81~1.13)	0.60	10	0.33

固定效应模型。亚组分析结果显示 5 种遗传模型模型下均无显著异质性(见表 2),提示种群来源可能是异质性的主要原因。

2.4 敏感性分析 用 Stata 15.0 软件 Metaninf 进行敏感性分析,在 5 种模型下通过逐一剔除各项研究,合并的 OR 值和 95% CI 没有显著的变化(见图 6),提示研究结果稳定可靠。

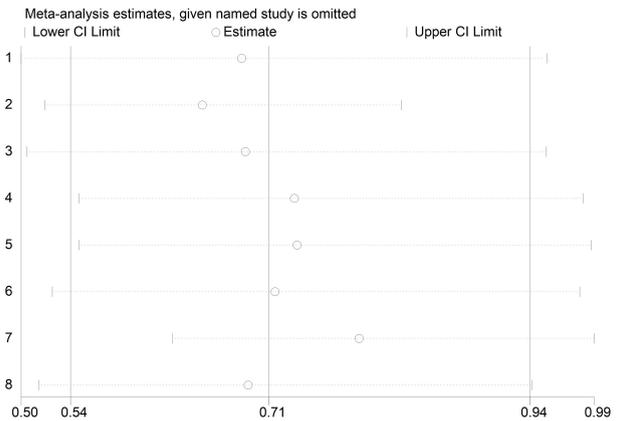


图 6 TNF-α rs1800630 多态性等位基因(A/C)比较的敏感性分析

2.3 异质性检验 异质性检验结果显示显性模型、杂合子模型和等位基因模型存在显著异质性,采用随机效应模型;隐性模型和纯合子模型无显著异质性,采用

2.5 发表偏倚 通过 Begg 漏斗图和 Egger 检验评估发表偏倚。漏斗图的形状基本是对称的(见图 7),Egger's 检验显示没有发表偏倚(数据未显示)。

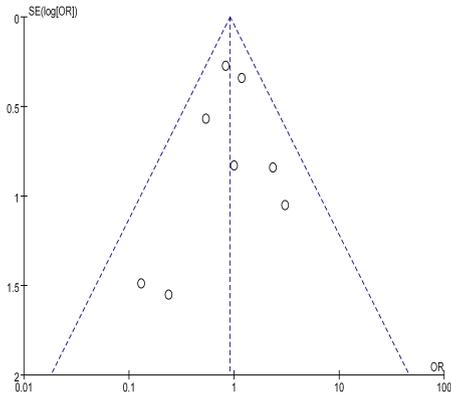


图 7 TNF- α rs1800630 多态性等位基因模型(A/C)漏斗图

3 讨论

肿瘤坏死因子- α 是由单核巨噬细胞产生的炎性细胞因子,在调节免疫反应和自身免疫性疾病的发展中起着重要作用^[13]。研究发现,Graves 病患者的甲状腺组织可检测到 TNF- α 蛋白和 mRNA 表达水平增高,高表达的 TNF- α 可增强甲状腺细胞 HLA-I 类抗原及细胞黏附因子的表达,促进 Graves 病的自身免疫性反应,与 GD 的发生发展密切相关^[1,14]。人类 TNF- α 基因启动子区有多个多态性位点,研究表明 TNF- α 基因多态性可影响核因子 κ B 同二聚体与 DNA 的结合,从而影响基因的转录和表达水平,影响对自身免疫性疾病的易感性^[15]。TNF- α 启动子区多态性研究较多的是-308G/A (rs1800629)和-238G/A (rs361525),而-863C/A (rs1800630)位点多态性的改变也参与了转录和转录后水平的调控^[16],影响 TNF- α 的表达水平,从而影响其对 Graves 病的易感性。

尽管许多研究分析了 TNF- α rs1800630 多态与 Graves 病易感性的关系,但由于研究方法各异,样本量大小不同,患者种族差异等因素,使得研究结果各不相同。NAKKUNTOD J 等^[10]、潘天荣等^[11] 研究发现 rs1800630 多态与 Graves 病发病具有相关性,而在 SIMMONDS M J 等^[5]、BEDNARCZUK T 等^[6]、HOUCKEN J 等^[7] 的研究中未发现 rs1800630 与 Graves 病易感性相关,KAMIZONO S 等^[8]、马文豪等^[9]、阎胜利等^[12] 的研究发现 rs1800630 与 Graves 病发病无关,但与 Graves 病突眼相关。

为了评估 TNF- α rs1800630 多态与 Graves 发病风险的关系,本研究进行了 Meta 分析并按种族进行了亚组分析。结果显示,在显性模型、杂合子模型和等位基因模型下,rs1800630 多态与 GD 易感性显著相关,与 C 等位基因相比,A 等位基因患病风险增加 1.28 倍,模型的风险度为 AA>CA>CC。亚组分析结果发现在亚洲人群中与 Graves 病具有显著相关性,而与欧洲白种人群 Graves 病无关。这与 LI N 等^[17] 2008 年

的一项 Meta 分析结果相似,但 LI N 等^[17] 的研究值收集了 2007 年 6 月以前的研究,研究样本较少。本次研究的 Meta 分析纳入了最新的文献,并采用了明确的研究纳入标准和严格的数据提取程序。

总之,本次研究的 Meta 分析结果发现,TNF- α 基因启动子 SNP rs1800630 与 GD 发病风险相关,特别是在亚洲人群中,提示可将 TNF- α rs1800630 C/A 多态作为 Graves 病易感基因位点。然而,本次的研究样本尤其是亚组分析数量较小,还需要大样本研究以充分确定其对 GD 易感性的影响。

参考文献:

- [1] GRIXTI L,LANE L C,PEARCE S H. The genetics of Graves' disease[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2024, 25 (1):203-214.
- [2] KHALIL MMIM, MONIR MANSOUR M, BAKREY HAMED ATA M, et al. Toll-like receptor 7 and tumor necrosis factor alpha polymorphisms in Egyptian patients with autoimmune thyroid diseases[J]. J Immunoassay Immunochem, 2024, 45(2):93-111.
- [3] YAO Q M, SONG Z Y, WANG B, et al. Increased interleukin-9 and Th9 cells in patients with refractory Graves' disease and interleukin-9 polymorphisms are associated with autoimmune thyroid diseases[J]. Front Immunol, 2024, 15:1341749.
- [4] MORITA E, WATANABE M, INOUE N, et al. Methylation levels of the TNFA gene are different between Graves' and Hashimoto's diseases and influenced by the TNFA polymorphism[J]. Autoimmunity, 2018, 51 (3): 118-125.
- [5] SIMMONDS M J, HEWARD J M, HOWSON J M, et al. A systematic approach to the assessment of known TNF-alpha polymorphisms in Graves' disease[J]. Genes Immun, 2004, 5(4):267-273.
- [6] BEDNARCZUK T, HIROMATSU Y, SEKI N, et al. Association of tumor necrosis factor and human leukocyte antigen DRB1 alleles with Graves' ophthalmopathy[J]. Hum Immunol, 2004, 65(6):632-639.
- [7] HOUCKEN J, DEGENHART C, BENDER K, et al. PT-PN22 and CTLA-4 polymorphisms are associated with polyglandular autoimmunity[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(5):1977-1984.
- [8] KAMIZONO S, HIROMATSU Y, SEKI N, et al. A polymorphism of the 5' flanking region of tumour necrosis factor α gene is associated with thyroid-associated ophthalmopathy in Japanese[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2000, 52(6):759-764.

(下转第 155 页)

本文引文格式:李庚,刘双丽,范硕辰,等.基于数据挖掘技术分析针灸治疗脑损伤后意识障碍的选穴规律[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):149-155.

【中医药现代研究】

基于数据挖掘技术分析针灸治疗脑损伤后意识障碍的选穴规律

李庚¹,刘双丽¹,范硕辰¹,邵露¹,蒋贤根¹,曹洋²,潘雷^{1,3}

(1. 云南中医药大学第二临床医学院,云南 昆明 650500;

2. 安徽中医药大学研究生院,安徽 合肥 230012;

3. 云南中医药大学第二附属医院,云南 昆明 650041)

摘要:目的 运用数据挖掘技术分析针灸治疗脑损伤后意识障碍的选穴规律。方法 检索中国期刊全文数据库(CNKI)、万方数据知识服务平台(Wangfang)、维普资讯中文期刊服务平台(VIP)、PubMed等数据库自建库至2024年5月31日收录的针灸治疗脑损伤后意识障碍的文献,采用Microsoft Excel软件建立选穴数据库对腧穴进行描述性分析,采用SPSS Modeler 18.0 Apriori算法进行数据关联分析;采用Cytoscape 3.10.0软件绘制高频腧穴关联网络图;运用R语言cluster软件包对高频用穴进行聚类分析并绘制谱系图。结果 共纳入92篇文献,获得处方85个,涉及腧穴54个,应用总频次653次;总体用穴频次最高的三穴分别为水沟、内关、三阴交,常选取的经络为督脉、手厥阴心包经,涉及的腧穴多位头颈部及下腹部,以交会穴居多;腧穴配伍方面,内关—水沟—三阴交的支持度最高;前18位高频腧穴聚类分析可分为3个聚类群。结论 针灸治疗脑损伤后意识障碍遵循醒脑开窍、调气活血的治疗原则,核心处方为水沟—内关—三阴交—百会—涌泉,可为临床提供参考依据。

关键词: 颅脑损伤;意识障碍;针灸;选穴规律;数据挖掘

中图分类号:R651;R749.93

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0149-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.025

Analysis of acupoint selection rules in acupuncture treatment for disturbance of consciousness after brain injury based on data mining technology

LI Geng¹, LIU Shuangli¹, FAN Shuochen¹, SHAO Lu¹, JIANG Xiangen¹, CAO Yang², PAN Lei^{1,3}

(1. The Second Clinical Medical College of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, Yunnan, China; 2. Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, Anhui, China; 3. Second Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650041, Yunnan, China)

Abstract: **Objective** To analyze the acupoint selection rules in acupuncture treatment for the disturbance of consciousness after brain injury by data mining technology. **Methods** The databases including China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wanfang Data Knowledge Service Platform (Wangfang), VIP Chinese Journal Service Platform (VIP), PubMed were searched for the articles on the treatment of disorders of consciousness after brain injury by acupuncture from the establishment of the databases to May 31, 2024. Microsoft Excel software was used to establish an acupoint selection database for descriptive analysis of acupoints. The Apriori algorithm in SPSS Modeler 18.0 was used for data association analysis. Cytoscape 3.10.0 software was used to draw the correlation network diagram of high-frequency acupoints. The cluster package in R lan-

基金项目: 云南省科技厅—昆明医科大学联合专项(202101AY070001-277); 云南省一流学科建设项目-BK-高等教育“121”工程专项—云南省一流学科—中医学(30371103900)

第一作者: 李庚, 在读硕士研究生, 研究方向: 针灸防治脑病的临床与基础研究, E-mail: ligeng990504@163.com

通讯作者: 潘雷, 博士, 副教授, 研究方向: 针灸防治脑病的临床与基础研究, E-mail: 119587014@qq.com

guage was used to conduct cluster analysis on the high-frequency acupoints and draw a dendrogram. **Results** A total of 92 articles were included, 85 prescriptions were obtained, involving 54 acupoints, with a total application frequency of 653 times. The three acupoints with the highest overall application frequency were Shuigou, Neiguan, and Sanyinjiao. The commonly selected meridians were the Governor Vessel Meridian and the Pericardium Meridian of Hand-Jueyin. The involved acupoints were mostly located in the head, neck, and lower extremities, and there were more crossing acupoints. In terms of acupoint combination, the combination of Neiguan-Shuigou-Sanyinjiao had the highest support. The cluster analysis of the top 18 high-frequency acupoints could be divided into 3 clusters. **Conclusion** The acupuncture treatment for the disturbance of consciousness after brain injury follows the treatment principles of awakening the brain and opening orifices, regulating qi and promoting blood circulation. The core prescription is Shuigou-Neiguan-Sanyinjiao-Baihui-Yongquan, which can provide a reference basis for clinical practice.

Key words: traumatic brain injury; disturbance of consciousness; acupuncture; acupoint selection rules; data mining

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是主要由暴力损伤头部,损坏脑实质,可引起意识、认知行为、心理和生理功能障碍等一系列症状的神经系统疾病^[1]。柳叶刀神经病学委员会的文件显示:全球范围内每年有 5 000~6 000 万人罹患该病,其中约 548 万人患有重度 TBI^[2]。重度 TBI 大多数幸存者患有意识障碍(disturbance of consciousness, DOC),1 周内持续性 DOC 极易导致并发症的出现,是患者死亡的主要原因^[3-4],因此,早期恢复意识是减少 TBI 并发症和死亡率的关键。几十年来,尽管许多临床前研究已经开发出有前途的神经保护疗法,但其中没有一项转化为临床运用,目前尚无经证实的针对脑损伤后意识障碍的治愈性药物治疗^[5],治疗上主要以外科手术为主,多数患者经治疗后无生命危险,但是由于神经功能受损而遗留的一系列后遗症却难以纠正^[6]。针灸疗法操作简便,大量临床研究证实其治疗脑损伤后意识障碍具有良好疗效和独特优势,其可通过降低血清脑损伤标志物水平^[7]、增强脑血流灌注^[8]等明显改善患者格拉斯哥昏迷(GCS)评分,提高苏醒率。Meta 分析结果显示^[9-10]:针灸治疗脑损伤后意识障碍具有良好疗效。但目前临床上使用针灸治疗脑损伤后意识障碍的选穴、疗法各异,尚无对核心腧穴的归纳以及对经络、部位等多方位分析,难以为临床提供确切的选穴依据和理论支持。因此,本研究通过整理各大数据库中针灸治疗脑损伤后意识障碍的相关文献,挖掘其背后的选穴规律,以期为临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 文献检索 通过计算机检索中国期刊全文数据库(CNKI)、万方数据知识服务平台(Wangfang)、维普资讯中文期刊服务平台(VIP)和 PubMed 自建库至 2024 年 5 月 31 日针灸治疗脑损伤后意识障碍的文献。中英文数据库均采用主题词检索,中文检索词为

“(颅脑损伤 OR 创伤性颅脑损伤 OR 脑外伤 OR 颅脑外伤)AND(针刺 OR 针灸 OR 电针 OR 艾灸 OR 温针灸 OR 穴位)AND(意识障碍 OR 昏迷 OR 植物状态 OR 意识状态)”,英文检索词为“(traumatic brain injury)AND(acupuncture OR electroacupuncture OR acupoint)AND(disturbance of consciousness OR coma OR vegetative state)”。

1.2 纳入标准 ①文献类型:临床随机对照试验;②试验组干预措施采用针灸为主要治疗手段,单一或综合其他疗法;③研究对象为脑损伤后意识障碍的患者,有明确的诊断标准;④文献采用公认的疗效评价方法或结局指标,且结果显示针灸疗法具有显著疗效;⑤具有完整准确的针灸处方。

1.3 排除标准 ①综述、研究进展类;②动物实验研究、机制类研究;③医案、探讨类研究、个案报道;④会议论文、学位论文类文献;⑥无法获取全文的文献。

1.4 数据的提取及标准化 全文阅读符合纳排标准的文献,利用 Microsoft Excel 2021 软件建立脑损伤后意识障碍选穴数据库,记录纳入文献的标题、作者、年份、病例数量、诊断标准、选穴处方、疗效评价等。参考《经络腧穴学》^[11]对方中的腧穴名称和归经进行规范化处理,对于透刺疗法,如风府透哑门,则该选穴标记为风府。此外,对于文献中明确标有主穴和配穴时,只纳入主穴。以上操作均由两名课题小组成员独立完成,如出现争议,则由第三人核验,确保纳入数据的准确性。

1.5 统计学方法 采用 Microsoft Excel 2021 软件对腧穴进行描述性分析;采用 SPSS modeler 18.0 Apriori 算法对腧穴进行关联规则分析;采用 Cytoscape 3.10.0 软件绘制高频腧穴关联网络图;运用 R 语言 cluster 软件包对高频用穴进行聚类分析并绘制谱系图。

2 结果

2.1 检索结果 共纳入文献 92 篇,提取针灸处方 85 条,涉及 54 穴,总应用频次 653 次。文献筛选流程如图 1。

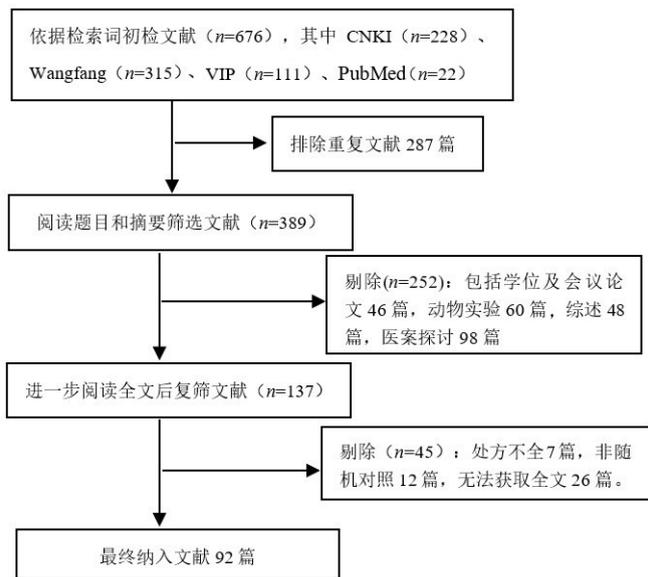


图 1 文献筛选流程图

2.2 描述性分析

2.2.1 腧穴使用频次分析 使用频次排名前 3 位的腧穴分别为水沟(69 次)、内关(68 次)、三阴交(59 次)。排名前 18 位的腧穴使用频次均 ≥ 10 次,累积频次 524 次,占总频次的 80.25%,见图 2。

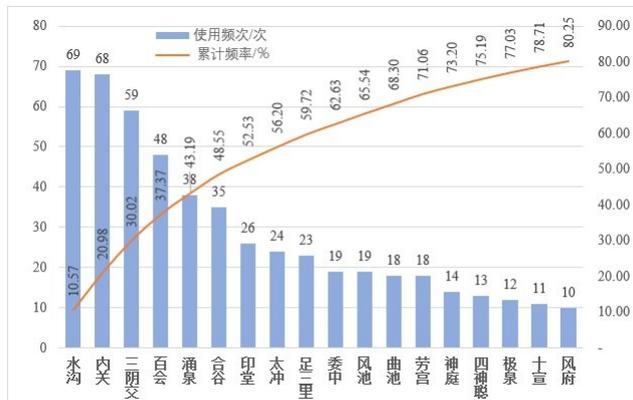


图 2 高频腧穴及累积频率图(前 18 位)

2.2.2 腧穴归经分析 纳入的腧穴涉及十四正经、经外奇穴。其中,督脉为应用频次(196 次,30.02%)及用穴个数(9 个,16.67%)最多的经脉,见表 1。

表 1 腧穴归经情况

经脉	频次		腧穴		腧穴(频次/次)
	频次	占比/%	个数	占比/%	
督脉	196	30.02	9	16.67	水沟(69)、百会(48)、印堂(26)、神庭(14)、四神聪(13)、风府(10)、素髎(6)、哑门(5)、脑户(5)
心包经	91	13.94	4	7.41	内关(68)、劳宫(18)、曲泽(3)、大陵(2)
脾经	63	9.65	2	3.70	三阴交(59)、血海(4)
大肠经	63	9.65	4	7.41	合谷(35)、曲池(18)、手三里(7)、肩髃(3)
胆经	42	6.43	8	14.81	风池(19)、阳陵泉(5)、本神(4)、脑空(4)、完骨(3)、率谷(3)、悬钟(2)、环跳(2)
肾经	40	6.13	2	3.70	涌泉(38)、太溪(2)
胃经	35	5.36	6	11.11	足三里(23)、头维(4)、丰隆(2)、梁丘(2)、解溪(2)、厉兑(2)
膀胱经	26	3.98	4	7.41	委中(19)、天柱(3)、昆仑(2)、玉枕(2)
肝经	24	3.68	1	1.85	太冲(24)
心经	20	3.06	2	3.70	极泉(12)、神门(8)
奇穴	15	2.30	3	5.56	十宣(11)、太阳(2)、十二井(2)
任脉	14	2.14	3	5.56	关元(7)、气海(4)、廉泉(3)
三焦经	10	1.53	3	5.56	外关(5)、翳风(3)、肩髃(2)
肺经	9	1.38	1	1.85	尺泽(9)
小肠经	5	0.77	2	3.70	后溪(3)、听宫(2)

2.2.3 腧穴分布 按解剖位置将人体分为头颈部、上肢部、胸腹部、腰背部、下肢部对腧穴进行分布统计。结果显示,针刺治疗脑损伤后意识障碍选穴时多选用头面(248 次)及下肢部腧穴(223 次),见表 2。

2.2.4 特定穴分析 在使用的 54 个腧穴中,共 39 个特定穴,总频次共计 635 次,应用频次最高的特定穴为交会穴(257 次)、五输穴(178 次),腧穴数目方面,以交会穴最多,包含 17 个腧穴,其次为五输穴,见表 3。

2.3 关联规则分析 运用 SPSS Modeler 18.0 Apriori 算法对 54 个腧穴进行关联规则分析,设置支持度 $\geq 15\%$,置信度 $\geq 90\%$,最大前项数设置为 2,获得强关联规则 28 条。支持度 $\geq 15\%$ 的穴组主要围绕水沟、内关、三阴交、百会、涌泉 5 穴(见表 4),为针灸治疗脑损伤后意识障碍的核心处方。使用 Cytoscape 3.10.0 对关联规则进行可视化处理,见图 3。

表 2 腧穴分布部位

部位	频次		腧穴		腧穴(频次前 5/次)
	频次	占比/%	个数	占比/%	
头项部	248	37.98	21	38.89	水沟(69)、百会(48)、印堂(26)、风池(19)、神庭(14)、四神聪(13)、风府(10)、素髻(6)、哑门(5)、脑户(5)、头维(4)、本神(4)、脑空(4)、天柱(3)、完骨(3)、廉泉(3)、翳风(3)、率谷(3)、太阳(2)、玉枕(2)、听宫(2)
下肢部	223	34.15	16	29.63	三阴交(59)、涌泉(38)、合谷(35)、太冲(24)、足三里(23)、委中(19)、阳陵泉(5)、血海(4)、悬钟(2)、丰隆(2)、太溪(2)、昆仑(2)、环跳(2)、梁丘(2)、解溪(2)、厉兑(2)
上肢部	159	24.35	14	25.93	内关(68)、曲池(18)、劳宫(18)、十宣(11)、尺泽(9)、神门(8)、手三里(7)、外关(5)、曲泽(3)、肩髃(3)、后溪(3)、大陵(2)、肩髃(2)、十二井穴(2)
胸腹部	23	3.52	3	5.56	极泉(12)、关元(7)、气海(4)

表 3 特定穴使用情况

特定穴	频次/次	腧穴数/个	腧穴(频次/次)
交会穴	257	17	水沟(69)、三阴交(59)、百会(48)、风池(19)、神庭(14)、风府(10)、哑门(5)、脑户(5)、头维(4)、本神(4)、脑空(4)、肩髃(3)、翳风(3)、率谷(3)、完骨(3)、悬钟(2)、听宫(2)
五输穴			
井穴	40	2	涌泉(38)、厉兑(2)
荣穴	18	1	劳宫(18)
输穴	39	5	太冲(24)、神门(8)、大陵(2)、后溪(3)、太溪(2)
经穴	4	2	昆仑(2)、解溪(2)
合穴	77	6	足三里(23)、委中(19)、曲池(18)、尺泽(9)、阳陵泉(5)、曲泽(3)
八脉交会穴	76	3	内关(68)、外关(5)、后溪(3)
原穴	61	3	合谷(35)、太冲(24)、太溪(2)
下合穴	47	3	足三里(23)、委中(19)、阳陵泉(5)
八会穴	7	2	阳陵泉(5)、悬钟(2)
络穴	7	2	外关(5)、丰隆(2)
郄穴	2	1	梁丘(2)

2.4 聚类分析 运用 R 语言 cluster 软件包对穴位频次排名前 18 位的高频腧穴进行聚类分析及谱系图可视化,距离算法与聚类方法设置为“binary”和“ward.D”,可将腧穴分为 3 个聚类群,其分散性好,与

临床实际相符。C1:水沟、内关、三阴交、极泉、委中; C2:足三里、曲池、合谷、太冲; C3:印堂、百会、涌泉、十宣、风池、劳宫、风府、神庭、四神聪,见图 4。

表 4 腧穴关联规则分析(支持度 ≥ 15 ,置信度 ≥ 90 ,前项数 ≤ 2)

序号	后项	前项	支持度	置信度	序号	后项	前项	支持度	置信度
1	水沟	三阴交-内关	57.61	90.57	15	内关	太冲-三阴交	20.65	94.74
2	内关	水沟-三阴交	55.43	94.12	16	三阴交	太冲-内关	20.65	94.74
3	三阴交	涌泉-内关	30.43	96.43	17	内关	足三里-三阴交	20.65	100
4	水沟	合谷-三阴交	26.09	91.67	18	内关	委中-水沟	19.57	94.44
5	内关	合谷-三阴交	26.09	91.67	19	水沟	委中-三阴交	19.57	94.44
6	内关	足三里	25.00	91.30	20	内关	委中-水沟	19.57	94.44
7	水沟	合谷-内关	25.00	91.30	21	水沟	委中-内关	19.57	94.44
8	三阴交	合谷-内关	25.00	95.65	22	内关	委中-三阴交	19.57	100
9	水沟	足三里-内关	22.83	90.48	23	三阴交	委中-内关	19.57	100
10	三阴交	足三里-内关	22.83	90.48	24	三阴交	足三里-合谷	19.57	94.44
11	内关	足三里-水沟	21.74	95.00	25	内关	足三里-合谷	19.57	94.44
12	水沟	委中	20.65	94.74	26	内关	足三里-百会	17.39	93.75
13	三阴交	委中	20.65	94.74	27	水沟	印堂-内关	16.30	100
14	内关	委中	20.65	94.74	28	合谷	曲池-足三里	15.22	92.86

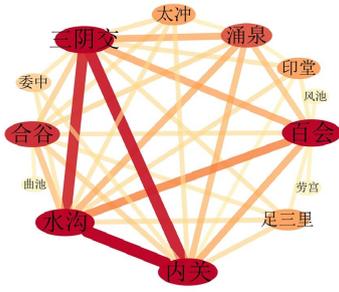


图 3 高频腧穴关联网络图

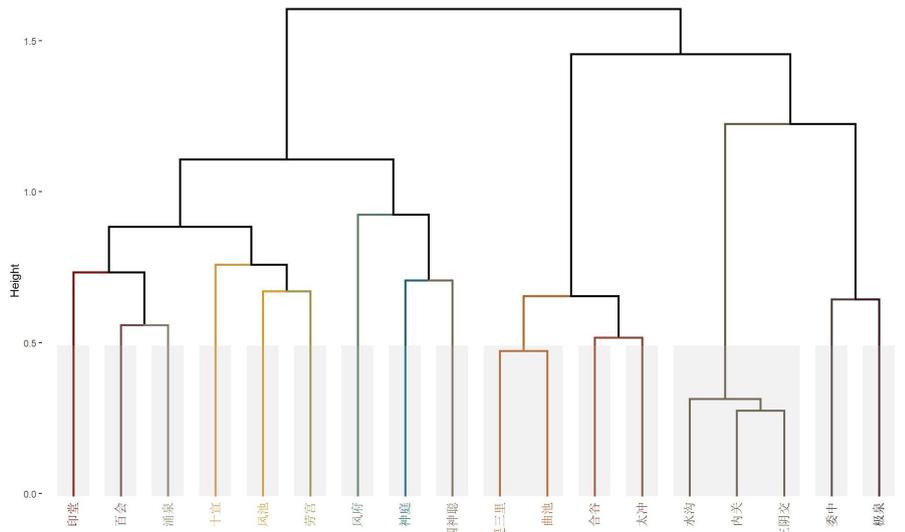


图 4 高频腧穴聚类分析谱系图

3 讨论

脑损伤后意识障碍可归属于中医学“神昏”“昏聩”“厥”“逆”范畴。历代医家对于颅脑损伤病机的认识大致相同,均认为瘀血是其基本病机。脑外伤后气血失常,升降逆乱,气血津液不能循经而行,挟血上冲于脑或血郁于脑,闭阻于脑窍,神明失司,终致意识障碍,治疗原则以醒脑开窍、调气活血为主^[12]。

3.1 从高频腧穴、特定穴、归经及分布等探析选穴规律 本研究结果显示,水沟、内关和三阴交为针灸治疗脑外伤后意识障碍的前 3 位高频腧穴,此三穴为石学敏院士创立的“醒脑开窍”针刺法的主穴,临床上广泛用于瘀血、肝风、痰浊等病理因素蒙蔽脑窍之证^[13],三穴配伍,可醒神、调神、安神,符合本病醒脑开窍、调气活血的治疗原则。腧穴归经显示,排名前两位的经脉为督脉、手厥阴心包经。督脉为阳脉之海,总督一身阳气,《医学衷中参西录》载“脑为髓海……缘督脉上升灌注于脑”,选用督脉穴位有助于提升全身阳气、充养脑髓,体现了针灸治病求本的思想。现代医学认为督脉的循行与脊髓的解剖部位一致,而脊髓传导四肢躯干深浅感觉及信息至网状结构,同时督脉部分穴位紧邻脑干^[14],因此,针刺督脉穴位对维持大脑觉醒功能具有重要作用。中医学认为“心藏神”,心包经与人的精神意识和思维活动密切相关,即与脑功能存在密切关系,手厥阴经主治症候就明确包括神志疾病。现代解剖学提示手厥阴心包经部分巡行深部有正中神经^[15],针刺手厥阴心包经穴位可间接刺激正中神经,兴奋脑干网状结构和下丘脑下部,从而改善患者意识状态^[16]。

从腧穴分布来看,针灸治疗脑损伤后意识障碍时多采用远近配穴原则,以头面及下肢部为主。本病病位在头,治疗时首选头面部腧穴,疏通局部瘀血,通利

脑窍,同时配合下肢部腧穴,使经气首尾相应,经气畅通,则瘀血以行。因此,腧穴分布也体现出针灸治疗脑损伤后意识障碍的穴位是针对其病因病机选择的。

从特定穴的选择来看,最常选用的特定穴为交会穴。交会穴是两条及以上经脉交会的穴位,始见于《针灸甲乙经》,如“神庭,在发际直鼻,督脉、足太阳、阳明之会”,明确指出神庭为督脉、足太阳膀胱经、足阳明胃经的交会穴。因其“一穴会数经”的特性,针刺交会穴可同时疏通多条经络气血,达醒脑开窍之功^[17]。除此之外,头面部经脉错综复杂,交会穴多,因此,针灸在治疗脑损伤后意识障碍时多选用交会穴。

3.2 从关联规则及聚类分析归纳核心处方 关联规则结果显示,“水沟—内关—三阴交”的支持度最高,其次为“三阴交—涌泉—内关”“水沟—合谷—三阴交”“内关—合谷—三阴交”等组合,这些穴位组合均是临床上治疗脑损伤后意识障碍的常用组合,且能显著提高脑损伤患者 GCS 评分,缩短苏醒时间,减轻患者继发性脑损伤^[18-19]。近年来有大量基础研究显示,针灸上述腧穴治疗脑损伤后意识障碍的可能机制在于调节抑制脑组织炎症反应,减少脑细胞凋亡^[20-22],改善脑电信号异常^[23],抑制小胶质细胞的募集活化和促进髓鞘再生^[24],改善海马区脑组织结构及突触结构和功能^[25],促进大脑皮层能量底物转运蛋白表达,改善神经元能量代谢等^[26]。关联网络图更清晰直观地显示出:“水沟—内关—三阴交—百会—涌泉”可作为针灸治疗脑损伤后意识障碍的核心处方。

聚类分析将频次≥10 次的前 18 位高频腧穴分为 3 个有效聚类群,聚类 1 为水沟、内关、三阴交、极泉、委中,此穴组支持度最高,5 穴均为石学敏院士脑开窍穴,此穴组重在开窍醒神、复苏脑窍。聚类 2 中足三里、曲池、合谷均为阳明经腧穴,阳明经从经脉循行、功

能关系、病机联系上都与脑联系密切。从经脉循行来看,《灵枢》曰:“胃气上注于肺,……循眼系,入络脑;胃足阳明之脉,……循发际,至额颅”,所在即所治;从功能关系来看,《灵枢·平人绝谷》:“神者,水谷之精气也”;杨上善注说“胃流津液渗入骨空……头中最多,故为海也”;养气即养神,脾胃为气血生化之源,为气机升降的枢纽,只有调节阳明之气,使气机顺利得降,气血才得以上输脑窍;从病机联系来看,《素问·厥论》曰:“阳明之厥,则癫疾欲走呼,……妄见而妄言”,足见胃肠功能失司对精神情志的影响。此外,合谷与太冲相配,标幽赋“寒热痹痛,开四关而已之”,共疏通脑部经络,养血柔筋,改善脑缺血^[27];此穴组偏于调气活血,改善神经功能。聚类 3 中神庭、印堂、劳宫功在醒神,安神,百会、四神聪可填精、补脑、养神,此五穴养神与醒神并济,可开窍启闭、填精补脑、运转神机^[28];涌泉、十宣相配通经醒脑,临床上常用于急救、昏迷等^[29];风池、风府为祛风要穴,二穴合用可调和局部气血,起到改善瘀滞的作用^[30];此穴组多局部选穴,偏于醒神、安神。

综上所述,本研究通过数据挖掘技术分析了指灸治疗脑损伤后意识障碍的选穴规律,结果显示:指灸治疗脑损伤后意识障碍时,以醒脑开窍、调气活血为治疗原则,重用督脉、手厥阴经腧穴,遵循远近配穴原则,灵活运用交会穴,核心处方为水沟—内关—三阴交—百会—涌泉,可为临床选穴提供依据。

参考文献:

[1] ASSIS-NASCIMENTO P, TSENKINA Y, LIEBL D J. EphB3 signaling induces cortical endothelial cell death and disrupts the blood-brain barrier after traumatic brain injury[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(1):7.

[2] MAAS AIR, MENON D K, MANLEY G T, et al. Traumatic brain injury: progress and challenges in prevention, clinical care, and research[J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(11):1004-1060.

[3] LI Y B, LUO X G, WAN M, et al. The effectiveness of non-invasive brain stimulation on arousal and alertness in patients in coma or persistent vegetative state after traumatic brain injury: Protocol of systematic review and network meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(37):e12321.

[4] CAI W M, LI Y L, GUO K, et al. Association of glycemic variability with death and severe consciousness disturbance among critically ill patients with cerebrovascular disease: analysis of the MIMIC-IV database[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2023, 22(1):315.

[5] KHELLAF A, KHAN D Z, HELMY A. Recent advances in traumatic brain injury[J]. *J Neurol*, 2019, 266(11):

2878-2889.

[6] WESTON N M, SUN D. The potential of stem cells in treatment of traumatic brain injury[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2018, 18(1):1.

[7] 韩近超, 孟晨, 解强. 针灸电刺激联合血管内亚低温治疗对重症颅脑外伤患者血清脑组织损害标志物水平的影响[J]. *川北医学院学报*, 2022, 37(6):708-711, 737.

[8] 杨启军, 白如玉, 王江飞, 等. 针刺联合金刚烷胺治疗重度颅脑损伤昏迷患者的促醒效果及对血清 SOD、NO 的影响[J]. *上海针灸杂志*, 2020, 39(8):988-992.

[9] 张锦玉, 吴家民, 莫霭儿, 等. 针刺改善颅脑损伤后意识障碍的 Meta 分析[J]. *广州中医药大学学报*, 2019, 36(6):847-852.

[10] 张勇, 吴晓, 顾应江, 等. 针刺对重型颅脑损伤昏迷促醒作用的系统评价[J]. *中华针灸电子杂志*, 2019, 8(4):160-164.

[11] 沈雪勇, 刘存志. 经络腧穴学[M]. 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021:72-251.

[12] 崔国胜, 郝有志, 马占峰, 等. 手厥阴经电刺激联合高压氧对脑外伤后昏迷患者的促醒作用[J]. *世界中医药*, 2020, 15(19):2968-2972.

[13] 余亮, 樊小农. 对“醒脑开窍”针刺体系中神—脑—窍的认识[J]. *中国针灸*, 2019, 39(8):883-886.

[14] 刘继生, 张泓, 许明, 等. 基于“督脉乃脑之经络”理论探讨脊髓损伤对大脑的影响及其治疗方法的思考[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(8):2968-2971.

[15] 朱丽, 徐照. 内关透刺外关的解剖学基础[J]. *上海针灸杂志*, 2010, 29(8):538-541.

[16] 刘四新, 崔国胜, 刘刚. 手厥阴经电刺激联合醒脑静注射液对脑性昏迷患者疗效及对神经功能的影响[J]. *世界中医药*, 2017, 12(5):1029-1031, 1036.

[17] 金鑫, 吴帮启, 郭扬, 等. 基于古籍文献的针灸治疗意识障碍选穴规律数据挖掘[J]. *中医杂志*, 2023, 64(13):1384-1390.

[18] 陈光辉. 开窍醒神针刺法联合电刺激在早期重型颅脑损伤昏迷中的促醒效果[J]. *实用中医内科杂志*, 2022, 36(3):79-81.

[19] 鲍英存, 张芳, 李群, 等. “醒脑开窍”针法对脑外伤植物状态患者的促醒效应[J]. *中国针灸*, 2021, 41(11):1225-1228.

[20] 刘若尘, 吴涛, 王瑞辉, 等. 电针对创伤性颅脑损伤大鼠神经功能及损伤区脑组织 p-JNK 和 Beclin-1 表达的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(5):475-480.

[21] 张容超, 王瑞辉, 杜旭, 等. 电针对颅脑损伤大鼠脑组织中促凋亡蛋白 Bad、Bak、Bax 的影响[J]. *时珍国医国药*, 2021, 32(7):1776-1779.

[22] 谷婷, 王瑞辉, 吴涛, 等. 基于 PI3K/Akt 通路探讨电针对创伤性颅脑损伤大鼠脑神经细胞凋亡的影响[J]. *中国针灸*, 2020, 40(8):851-856.

[23] 高思森, 韩雪, 吴晓光, 等. 电针联合低频经颅超声刺激对创伤性脑损伤大鼠脑电信号的影响[J]. *中国组织工程*

研究,2025,29(2):402-408.

- [24] 李怡萱,李波,唐旭东,等.电针联合二甲双胍对创伤性脑损伤的治疗作用[J].解剖科学进展,2023,29(4):348-350,358.
- [25] 王亚芳,李志芳,王涛.电项针对颅脑损伤后神经功能障碍大鼠神经可塑性的促进作用及机制研究[J].上海针灸杂志,2023,42(6):644-652.
- [26] 邢文文,种文强,张慧叶,等.针刺对颅脑损伤大鼠大脑皮层能量底物转运蛋白表达的影响[J].时珍国医国药,2020,31(6):1520-1524.
- [27] 孙滢,李艳梅,宋沂晓,等.合谷穴、太冲穴主治病证及配伍规律的数据挖掘分析[J].中国中医急症,2022,31(4):

616-620.

- [28] 胡照,祝震天,冯炯.基于数据挖掘技术探讨针灸干预术后认知功能障碍取穴规律[J].新中医,2024,56(4):106-111.
- [29] 龙海红,唐军,闫俊峰.刺血醒脑法对急性脑梗死患者脑血流动力学及血清 VEGF、bFGF 的影响[J].中国中医急症,2024,33(5):831-834.
- [30] 田柳青,康广华,刘福彪,等.太阳穴静脉抽血联合微火针针刺风池、风府穴治疗瘀阻脑络型血管神经性头痛的效果[J].中国医药导报,2022,19(23):128-131,141.

收稿日期:2024-08-28;修回日期:2024-10-10

(本文编辑 覃洪含)

(上接第 148 页)

- [9] 马文豪,覃瑞.肿瘤坏死因子- α 及其基因 863C/A 多态性与壮族甲状腺相关眼病的相关性研究[J].中国基层医药,2013,20(1):18-20.
- [10] NAKKUNTOD J, WONGSURAWAT T, CHAROENWONGSE P, et al. Association of TNF-alpha, TNF-beta, IFN-gamma and IL-1Ra gene polymorphisms with Graves' disease in the Thai population[J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2006, 24(4):207-211.
- [11] 潘天荣,邢时妹.肿瘤坏死因子- α 基因多态性与安徽地区汉族人群 Graves 病易感性及患病早期 TRAb 水平的关联[J].中华医学遗传学杂志,2012,29(3):347-351.
- [12] 阎胜利,王迎雪.甲状腺相关眼病与肿瘤坏死因子 α 基因启动子区-863C/A 多态性相关性的初步研究[J].中华眼科杂志,2005,41(9):786-790.
- [13] GONZALEZ CALDITO N. Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1213448.

- [14] YAO Z W, GUO F L, TAN Y L, et al. Causal relationship between inflammatory cytokines and autoimmune thyroid disease: a bidirectional two-sample Mendelian randomization analysis [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1334772.
- [15] UDALOVA IA, RICHARDSON A, DENYS A, et al. Functional consequences of a polymorphism affecting NF-kappaB p50-p50 binding to the TNF promoter region[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(24):9113-9119.
- [16] HIGUCHI T, SEKI N, KAMIZONO S, et al. Polymorphism of the 5'-flanking region of the human tumor necrosis factor TNF- α gene in Japanese[J]. Tissue Antigens, 1998, 51(6):605-612.
- [17] LI N, ZHOU Z G, LIU X Y, et al. Association of tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) polymorphisms with Graves' disease: a meta-analysis [J]. Clin Biochem, 2008, 41(10/11):881-886.

收稿日期:2024-05-20;修回日期:2024-06-30

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:李欣阳,王洪武.探析桂枝加龙骨牡蛎汤治疗心阳虚遗精的中医辨证施治[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):156-159.

【中医药现代研究】

探析桂枝加龙骨牡蛎汤治疗心阳虚遗精的中医辨证施治

李欣阳,王洪武

(天津中医药大学中医学院,天津 301617)

摘要:目的 探讨桂枝加龙骨牡蛎汤在治疗心阳虚型遗精的临床应用及理论依据,以开辟中医治疗遗精的新思路。方法 通过文献回顾和理论分析详细阐述了心阳虚遗精的病因病机以及对桂枝加龙骨牡蛎汤的方证探秘及药理研究,并通过具体案例分析其临床应用。结果 心阳虚可致心神妄动、心肾不交,导致遗精发生。桂枝加龙骨牡蛎汤中桂枝汤温补心阳、固摄肾精,龙骨牡蛎安神定志、交通心肾,全方调和营卫阴阳,案例分析提示该方治疗心阳虚临床疗效显著。结论 桂枝加龙骨牡蛎汤可用于治疗心阳虚导致的心神不安和心肾不交型遗精,也可改善遗精伴失眠、心悸等症状,为中医治疗遗精提供了有力参考。

关键词:桂枝加龙骨牡蛎汤;心阳虚;心肾不交;遗精

中图分类号:R277.5

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0156-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.026

Exploration of the syndrome differentiation and treatment in traditional Chinese medicine of Guizhi Jia Longgu Muli Decoction for spermatorrhea due to Heart-Yang deficiency

LI Xinyang, WANG Hongwu

(School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical application and theoretical basis of Guizhi Jia Longgu Muli Decoction in the treatment of spermatorrhea due to Heart-Yang deficiency, so as to open up new ideas for the treatment of spermatorrhea in Traditional Chinese Medicine (TCM). **Methods** Through literature review and theoretical analysis, the etiology and pathogenesis of spermatorrhea due to Heart-Yang deficiency were elaborated in detail. The exploration of the formula-syndrome relationship and pharmacological research of Guizhi Jia Longgu Muli Decoction were also carried out. And its clinical application was analyzed through specific cases. **Results** Heart-Yang deficiency can lead to restless heart spirit and disharmony between the heart and kidney, resulting in spermatorrhea. Guizhi Jia Longgu Muli Decoction warms and tonifies Heart-Yang, consolidates kidney essence, and calms the spirit with Longgu Jia Muli to harmonize the heart and kidney. The entire prescription balances the Yin and Yang of the nutrient and defensive Qi. Case analysis suggests that this decoction has significant clinical efficacy in treating Heart-Yang deficiency. **Conclusion** Guizhi Jia Longgu Muli Decoction can be used to treat spermatorrhea caused by restless mind and disharmony between the heart and the kidney due to Heart-Yang deficiency. It can also improve symptoms such as insomnia and palpitation accompanied by spermatorrhea, providing a strong reference for the treatment of spermatorrhea in TCM.

Key words: Guizhi Jia Longgu Muli Decoction; Heart-Yang deficiency; disharmony between the heart and kidney; spermatorrhea

第一作者:李欣阳,大学生,E-mail:yanglisp@163.com

通讯作者:王洪武,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:《黄帝内经》理论研究,E-mail:whw897@163.com

遗精是临床常见的一种男性青春期以后在非性活动或者无性刺激时而频繁出现精液遗泄的病症^[1],是男性生殖系统常见的疾病之一。当前西医采用的5-羟色胺再摄取抑制剂为治疗遗精的主要手段,虽具有一定疗效,但存在副反应多、起效慢等缺陷^[2-3]。根据遗精的临床症状,中医将其归至“梦遗”“滑精”等病症范畴^[4-5]。其病因复杂,涉及心、肝、肾等多个脏腑的功能失调。既往医家治疗遗精多从肝肾出发,然而鲜有从心阳虚这一病机论治的研究。桂枝加龙骨牡蛎汤源自张仲景所撰之《金匮要略》^[6],由桂枝、白芍、甘草、生姜、大枣、龙骨、牡蛎组成。因该方功擅调和阴阳、镇潜固精,故临床被广泛用于遗精之心阳虚证。本研究通过探讨遗精的古今中医认识,心阳虚之遗精形成的理论、治法依据,分析相关病案,以期为遗精的中医治疗提供新的思路与借鉴。

1 中医对于遗精的认识

1.1 古代医家论述 历代医家对遗精的不同见解多以心、肝、脾三脏影响肾的封藏功能为立论基础,且大多认为遗精主要由心肾不交引起。如元代朱丹溪认为:“主闭藏者肾也,司疏泄者肝也。二脏皆有相火,而其系上属于心。心,君火也,为物所感则易动,心动则相火亦动,动则精自走。”肝的疏泄功能,肾的藏精功能同寄相火,心主神志,心神不安,君火失治,易君火引动相火,相火妄动,导致遗精的发生。

明代张介宾有言“盖遗精之始,无不病由乎心,正以心为君火,肾为相火,心有所动,肾必应之。……盖精之藏制虽在肾,而精之主宰则在心。……故精之蓄泄,无非听命于心……及其既病而求治,则尤当以持心为先^[7]。”在治疗遗精时,医家除了清泻相火,还选用了清心火的治疗方法,先是采用二阴煎之类清泄心火,进而使用苓术菟丝丸,以述君相两调之效。

《傅青主男科》中提到:“盖遗精本是肾水之虚,而实本于心头之痛。今补其心君,则玉关不必闭而自闭矣。”治疗遗精时,可选用“补其心君”的方法。这主要是由于当心神不安、心阴耗竭,心火不能下温于肾,肾水不能上济于心,肾的闭藏功能受到影响导致精液遗泄。此时,心肾同治,不仅能够治疗遗精,还可以治疗心神受损导致的失眠、健忘等症。可见,肝失疏泄也可导致肾的闭藏功能受到影响,当然心在其中的作用也不可忽视。

1.2 当代医家观点 《中医内科学》认为遗精是由劳心太过、欲念不遂、饮食不节、恣情纵欲等因素,引起肾气不固、或热扰精室,而致肾失封藏,精关不固。病位在肾,与心、肝、脾三脏密切相关。基本病机为肾气不固,或热扰精室,精关不固。当心火不能下温于肾,肾关不固,心肾不交,就会导致遗精;而肝失疏泄,也会影

响肾的藏精功能;脾主运化,脾气散精,当过食肥甘厚味时湿热内生,下扰精室,也会迫精外泄;或思虑伤脾,脾气虚弱,气不摄精,也会导致遗精。

胡希恕注解桂枝加龙骨牡蛎汤治疗失精时认为:“失精家,指频繁失精之人,里虚寒,腹肌失和则腹壁拘急特甚,前阴寒冷,虚阳上亢则目眩,热亢于上则发落。脉极虚无力、浮大中空,缓迟,皆是虚劳之脉,中虚已极,当为下利清谷,除失精外,亡血亦可见此脉。若常常情欲妄动,心神不宁,心气浮动而脉亦动。”从胡希恕的注解中可以看出,其强调了失精之人身体呈现出的诸多虚象以及气血失和与脉象表现之间的关联,由此可见,失精的病因是气血失和导致的上实下虚。

王世民在治疗男性失精时认为其基本病机是命门火衰,将其分为心肾不交与肝肾两虚来辨证治疗。他引用《灵枢·本神》言:“所以任物者谓之心。”认为精泄是由于君相不能相交,肾失疏泄导致。所以对于遗精的论治,虽然与其他脏腑密切相关,但心肾两脏尤为关键。当心阳虚导致神志不安,并且不能下温于肾导致心肾间关系失衡,就会发生遗精。所以对于遗精的治疗,可考虑从心阳虚辨证论治。

2 心阳虚导致遗精的理论依据

2.1 心神妄动,统驭失司导致遗精 《灵枢·邪客》中有言“心为五脏六腑之大主,精神之所舍也。”心之阳气能够温养心神,保持人正常的精神思维活动。《素问·生气通天论》又言:“阳气者,精则养神。”阳气直接影响了人的精神和意识活动。所以当心阳气虚衰时,影响心神,在外就表现为心神不安,具体就表现为焦虑或恐惧等。精能化气生神,神能统精驭气。心神妄动,神志不安,不能统驭精气,引发精关不固,就会导致遗精。《灵枢·本神》中提到:“是故怵惕思虑者则伤神,神伤则恐惧,流淫而不止。”指出过度忧虑损伤心神,遗精就会随之而发生。清·尤怡《金匱翼》云:“动于心者,神摇于上,则精遗于下也。”可见,神志不安,心神统驭失司,肾精就会不自主溢泄。只有心神宁静,肾气自安,心肾间关系平衡,才不会导致遗精的发生。

2.2 心肾不交,肾失固摄导致遗精 周之干在《慎斋遗书·阴阳脏腑》中提到:“心肾相交,全凭升降。而心气之降,由于肾气之升;肾气之升,又因心气之降。”心肾两脏水火既济,肾的固摄功能无不听命于心。心阳对于肾的固摄,由此而来。孙思邈在《备急千金要方·心脏脉论第一》中说:“夫心者,火也;肾者,水也;水火相济。”戴元礼在《证治备要·遗精》中说:“遗精不离肾病,但亦当责之于心君。”肾虽然有固摄精液的作用,但遗精的源头通常是由心之主导。即心阳虚导致心火不足,肾的固摄功能就会减退而导致遗精。由此可见,心阳与肾阳互为因果,二者可以互相影响。

3 桂枝加龙骨牡蛎汤对心阳虚所致遗精的治疗

3.1 桂枝汤温补心阳,固摄肾精 桂枝加龙骨牡蛎汤来源于《金匮要略·血痹虚劳病脉证并治第六》:“夫失精家,少腹弦急,阴头寒,目眩发落,脉极虚芤迟,为清谷亡血,失精。脉得诸芤动微紧,男子失精,女子梦交,桂枝加龙骨牡蛎汤主之。”处方应用桂枝汤加龙骨牡蛎,其中桂枝汤由桂枝、芍药、甘草、生姜、大枣五味药组成。其君药桂枝辛温,能温通心阳^[8]。张仲景在《伤寒论》中多选用含有桂枝的方剂温补心阳,例如桂枝甘草汤其对应的条文为“发汗过多,其人叉手自冒心,心下悸,欲得按者,桂枝甘草汤主之”,之所以选用此方剂,是因为发汗过多,汗为心液,流失过多心阳受损而致心悸,此时选用了桂枝与甘草配伍,也表明了二者温补心阳的重要作用^[9]。《灵枢·本神》云:“心藏血,血舍神”,心有主血脉的功能,而其所藏之神又赖以血之滋养。桂枝汤能调和营卫,若营卫和调,气血化源充足,则心神得养,固能自安,那么针对心神不能统驭精气而导致的遗精,桂枝汤自然能进行治疗。

3.2 龙骨牡蛎安神定志,交通心肾 心阳虚导致遗精时,心火不能下温于肾,肾水不能上济于心,故交通心肾是治疗遗精的重要方法之一。龙骨镇惊安神、平肝潜阳、收敛固涩,常用于心神不安、正虚滑脱诸症的治疗。牡蛎潜阳补阴,重镇安神,软坚散结,收敛固涩,制酸止痛。常用于心神不宁、自汗盗汗、遗精滑精等症。清代医家刘若金在《本草述》中提到:“龙骨可以疗阴阳乖离之病。如阴之不能守其阳,或为惊悸,为狂痫,为谵妄,为自汗盗汗。”这里的“阴不能守其阳”就有阳气浮越之意,利用龙骨的特性,就可以收敛浮阳。《本草疏证》中记载:“牡蛎之用,在阳不归阴而化气也……牡蛎之召阳归阴,可藉以平阳秘阴矣”。外越的阳气不能正常下行归阴,此时就要利用牡蛎的引阳下行之用。故二者配伍,不但可以安定神志,又能够收敛浮越之阳,使其下行归于肾,又能潜阳补阴,使肾水上行归于心火,肾阴得敛可固,心阳得潜不浮越,则可交通心肾以治疗遗精。

3.3 现代药理 鉴于遗精的发病机制与神经及心理因素、生殖器炎症等密切相关,桂枝加龙骨牡蛎汤凭借其镇静、抗炎、镇痛等多重药理作用,调节植物神经功能,改善局部微循环,进而达到镇静安神、固精止遗的治疗效果。现代药理研究表明^[10-11],该方剂主要通过调节神经递质水平、抗炎及改善生殖器局部血液循环等途径发挥作用。

方中桂枝的主要成分为挥发油类,其中桂皮醇占比较大^[12]。实验研究发现,桂皮醛可以减少小鼠自主活动,起到镇静、镇痛的作用^[13]。白芍的主要活性成分白芍总苷具有显著的抗炎作用,其芍药苷与芍药内

酯苷在小鼠疼痛模型中表现出明显的镇痛活性。这种镇痛机制可能与调节血清和大脑皮层中的前列腺素 E2 水平以及促进 β -内啡肽的生成或释放有关^[14]。此外,桂枝汤中的生姜、大枣、炙甘草也被认为具有一定的抗炎作用^[15]。龙骨—牡蛎药对能对中枢神经系统产生间接调控作用,龙骨具有镇静安神的功效,能够优化睡眠质量,延长睡眠持续时间,并通过调节睡眠阶段的糖代谢来促进机体功能的恢复。牡蛎中的活性成分可通过调节细胞免疫功能和变态反应,提升机体的整体免疫力。此外,研究表明两者均含丰富的钙及多种微量元素(如 Cu、Fe、Zn、Mn 等),联合应用后,龙骨中的 Zn、Cu、Mn、Fe 等微量元素含量显著增加,从而进一步增强药理作用^[16]。同时,二者还可以调节血管内葡萄糖浓度和维护血管内皮细胞功能,改善局部血液循环,从而增强全方镇惊安神效果^[17]。

4 验案举隅

4.1 病案一 患者,男性,19 岁。患者主诉:遗精持续数月。病史:患者遗精已持续数月,发作频率较高,多为 2~3 日 1 次,严重时几乎每日发生。同时伴有夜间睡眠不安、情绪焦虑、精神紧张、神疲乏力以及记忆力显著下降等症状。患者曾于当地医院反复检查,但未发现明确异常。患者就诊时表现为神疲乏力,面色苍白,畏寒怕冷,记忆力减退,颧部泛红,唇色暗淡,时有口干感,并诉腰部酸软无力,夜间睡眠质量差,小便短少而色赤。舌质偏红,苔薄白,脉象弦细。中医诊断:遗精(心阳虚损,精关失固)。治疗原则:补阳益气,固涩止遗。方用桂枝加龙骨牡蛎汤加减:桂枝 9 g,白芍 9 g,甘草 6 g,龙骨 18 g(先煎),牡蛎 24 g(先煎),五味子 9 g,干姜 3 片,大枣 3 枚。患者服用上方 5 剂后症状完全消失^[15]。按语:患者就诊时遗精数月,病程日久,表现为神疲乏力,面色苍白,畏寒怕冷等阳气虚损症状,且伴有夜间睡眠不安、情绪焦虑、精神紧张、神疲乏力以及记忆力显著下降等症状,可知患者心神受扰,精神不安。故可以推断出患者是由于心阳虚衰,温煦不足。阳气的正常推动作用有助于神志的稳定,且心主神明,可知心阳虚时,会影响到神志的正常功能。方用桂枝加龙骨牡蛎汤加减,意在温补心阳,恢复其正常的神志功能,同时方中龙骨、牡蛎又有固摄肾精之功,故连服 5 剂后,遗精自止,心神不安的症状亦消失。

4.2 病案二 杨某,男,29 岁。患者诉遗精频繁,每周多达 5 次,伴有心烦意乱、焦虑不安、失眠健忘等症状。患者遗精病史已持续一年,曾服用多种镇静安神类中成药及西药治疗,但效果不佳。诊断为心阳虚遗精,伴有焦虑症状。处方给予桂枝加龙骨牡蛎汤合酸枣仁汤加减治疗,具体药物组成为桂枝 12 g、白芍 12 g、炙甘草 6 g、生姜 3 片、大枣 6 枚、龙骨 18 g、牡蛎 16

g、酸枣仁 30 g(先煎)、川芎 10 g、知母 10 g、茯苓 10 g。水煎服,日 1 剂,分两次早晚服用。服用 1 周后,患者遗精次数明显减少,心烦意乱、焦虑不安等症状有所改善。继续服用 2 周后,遗精症状完全消失,睡眠质量提高,焦虑症状明显减轻。按语:本例患者遗精频繁,伴有心烦意乱、焦虑不安等症状,属于心阳虚遗精,且伴有明显的焦虑症状。桂枝加龙骨牡蛎汤合酸枣仁汤加减能够调和阴阳、镇潜固精、安神定志,从而有效治疗遗精症状及焦虑症状。本案例进一步拓展了桂枝加龙骨牡蛎汤在治疗心阳虚遗精方面的应用范围。

4.3 病案三 陈某,男,30 岁。患者诉遗精病史 1 年,每周遗精 2~3 次,伴有腰膝酸软、头晕耳鸣、记忆力减退等症状。患者曾服用多种补肾中成药及西药治疗,但效果不佳。诊断为心肾不交遗精,以心阳虚为主。给予桂枝加龙骨牡蛎汤合五子衍宗丸加减治疗,具体药物组成为桂枝 10 g、白芍 10 g、炙甘草 6 g、生姜 3 片、大枣 6 枚、龙骨 20 g(先煎)、牡蛎 20 g(先煎)、枸杞子 15 g、菟丝子 15 g、覆盆子 10 g、五味子 6 g、车前子 10 g。水煎服,日 1 剂,分两次早晚服用。服用 1 周后,患者遗精次数明显减少,腰膝酸软、头晕耳鸣等症状有所改善。继续服用 1 个月,遗精症状完全消失,记忆力恢复,精神状态良好。按语:本例患者遗精病史较长,伴有腰膝酸软、头晕耳鸣等症状,属于心肾不交遗精,以心阳虚为主。桂枝加龙骨牡蛎汤合五子衍宗丸加减能够调和心肾、镇潜固精、补肾益精,从而有效治疗遗精症状。本案例进一步验证了桂枝加龙骨牡蛎汤在治疗心阳虚遗精方面的广泛适用性。

5 小结

本文重新思考桂枝加龙骨牡蛎汤治疗遗精的含义。笔者认为,除了虚劳会导致遗精外,心阳虚同样可致患者心神不安以及心肾不交,进而引发遗精。桂枝加龙骨牡蛎汤全方具有调和营卫、调整阴阳之功。而其中的桂枝汤可以温补阳气,龙骨牡蛎交通心肾、安神定志。因此,桂枝加龙骨牡蛎汤可用于治疗遗精伴失眠、心悸、气短、乏力等症,进一步拓展了桂枝加龙骨牡蛎汤的应用领域,为临床治疗遗精提供了坚实的理论依据。

参考文献:

- [1] 李利超,李兰兰,徐磊,等.《石室秘录》治疗遗精学术思想探讨[J]. 环球中医药,2022,15(8):1381-1384.
- [2] 黄晓科,卢一平,罗顺文,等.选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂治疗早泄的有效性和安全性系统评价[J]. 中华男科学杂志,2009,15(3):248-255.
- [3] 李曰庆,李海松.新编实用中医男科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2018:412.
- [4] 应志康,徐新宇,管鹏飞,等.中医药治疗遗精研究概述[J]. 山东中医药大学学报,2023,47(3):380-384.
- [5] 王金伟,王岚,王长江,等.王柏枝辨治遗精经验采撷[J]. 中国男科学杂志,2024,38(2):138-140.
- [6] (汉)张仲景撰,何任,何若莘整理.金匱要略[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:22.
- [7] 明·张介宾.景岳全书[M]. 上海:上海科学技术出版社,1959:501-502.
- [8] 闫德祺,张星平,梁政亭,等.桂枝加龙骨牡蛎汤对魄不安于肺不寐大鼠焦虑样行为的镇静机制[J]. 中华中医药杂志,2024,39(3):1468-1475.
- [9] 王腾飞,赵琼,杨艳艳,等.从“五味合化”思想谈“辛甘化阳、酸甘化阴”[J]. 中医杂志,2013,54(19):1705-1707.
- [10] 张金锋,李利霞,巩颖,等.桂枝加龙骨牡蛎汤治疗遗精临床观察[J]. 光明中医,2021,36(15):2539-2542.
- [11] 李振东,孙卓,余仁欢.探析桂枝加龙骨牡蛎汤治疗遗精[J]. 环球中医药,2020,13(5):893-895.
- [12] 李雪,赵婧含,吴文轩,等.桂枝的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报,2023,51(5):111-114.
- [13] 赵建一.桂枝的药理研究及临床新用[J]. 光明中医,2010,25(8):1546.
- [14] 陈琪,何祥玉,周曼佳,等.白芍的化学成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 临床医学研究与实践,2021,6(11):187-189.
- [15] 李新建,叶菁.桂枝加葛根汤对颈椎病治疗的研究进展[J]. 江西中医药大学学报,2022,34(6):116-119.
- [16] 黄诗茵.《伤寒杂病论》中龙骨、牡蛎的应用及配伍规律探索[D]. 广州:广州中医药大学,2012.
- [17] 程雪瑞.柴胡加龙骨牡蛎汤治疗慢性前列腺炎(肝郁湿热型)的临床观察[D]. 兰州:甘肃中医药大学,2023.

收稿日期:2024-11-02;修回日期:2024-12-23

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:甘慧芳,覃月秋. HMGB1、氧化应激对细胞自噬和凋亡作用的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1):160-164.

【医学综述】

HMGB1、氧化应激对细胞自噬和凋亡作用的研究进展

甘慧芳^{1,2}, 覃月秋²

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院附属医院消化内科, 广西 百色 533000)

摘要: 高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 与氧化应激可介导细胞自噬和凋亡, 参与糖尿病、炎症性肠病等多种疾病的发生发展。因此研究其相关分子机制具有重要意义。研究发现 HMGB1 与晚期糖基化终产物受体 (receptor for advanced glycosylation end products, RAGE)、toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 等多种受体相结合, 介导炎症、免疫及细胞增殖、迁移、自噬、凋亡等多种生物学过程。氧化应激在机体内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成和抗氧化物质失衡状态下, 直接或间接地通过信号转导通路诱导线粒体通透性改变, 诱导细胞自噬、凋亡和坏死。本文分别就 HMGB1、氧化应激对细胞自噬和凋亡作用进行综述, 为靶向抑制 HMGB1 及使用抗氧化剂防治疾病提供参考和新的思路。

关键词: 高迁移率族蛋白 B1; 氧化应激; 细胞自噬; 细胞凋亡

中图分类号: R329.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2025)01-0160-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.027

多项研究揭示高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1)、氧化应激介导细胞自噬、凋亡与神经系统疾病、心血管病等慢性病及癌症发生、发展有关^[1-2], 但具体作用及分子机制尚不清楚, 因此探究其作用及机制有助于相关疾病防治。HMGB1 是一种染色质结合的核蛋白和损伤相关的模式分子, 是调节细胞死亡与存活信号通路中不可或缺的一部分^[3]。氧化应激是一种以 ROS 和抗氧化剂之间失衡为特征的现象^[4]。ROS 是一种体积小、寿命短、活性高的分子, 是线粒体电子传递链中氧代谢的副产物。ROS 的积累会导致细胞成分氧化损伤, 从而诱发自噬^[5]。自噬在氧化应激条件下被激活, 影响凋亡水平。同时 HMGB1、氧化应激可相互作用。本文分别就 HMGB1、氧化应激对细胞自噬和凋亡作用进行综述, 为靶向抑制 HMGB1 及使用抗氧化剂防治疾病提供理论依据。

1 HMGB1 与细胞自噬、凋亡

1.1 HMGB1 概述 高迁移率族 (high mobility group, HMG) 蛋白是一类非组蛋白核蛋白, 在转录、复制、重组、修复和其他 DNA 相关生物活动中发挥作

用^[6]。HMGB1 属于 HMG-1/-2 亚家族, 是一个高度保守的单肽链, 由 215 个氨基酸残基组成, 分子量约为 24894Da, 包含以下 3 个结构域: a 盒、b 盒和酸性 c 末端尾部^[7] (如图 1 所示)。功能分析表明, HMGB1 的 a 盒和 b 盒都能与 DNA 结合, 并在折叠和扭曲双链 DNA 中发挥作用。b 盒通过诱导巨噬细胞分泌促炎细胞因子而含有细胞因子活性, 在炎症中起作用, a 盒是 b 盒的拮抗部位^[8], 而 c 末端尾部可与 a 盒和 b 盒之间的特定残基相互作用。a 盒抑制炎症作用可能与抑制 HMGB1 的细胞外释放有关。HMGB1 可主动或被动释放到细胞外, 炎症刺激介导从细胞核到细胞质再到细胞外介质的转运, 而坏死和凋亡是 HMGB1 细胞释放的被动方式^[9]。HMGB1 的功能因其在细胞内定位不同而异: 在细胞核中, HMGB1 促进核小体稳定性, 支持转录因子与其 DNA 靶标之间的结合^[10]。在细胞质中, HMGB1 与 Beclin1 结合, 诱导自噬和抑制凋亡^[11]。在细胞外中, HMGB1 与晚期糖基化终产物受体 (receptor for advanced glycosylation end products, RAGE) 和 toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 结合调控细胞自噬及凋亡^[12]。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82260134); 广西自然科学基金项目 (2023GXNSFAA026118); 右江民族医学院校级硕士研究生创新项目 (YZCXJH2023017)

第一作者: 甘慧芳, 在读硕士研究生, 研究方向: 胰腺疾病发病机制及诊治, E-mail: ghf215585@163.com

通讯作者: 覃月秋, 博士, 教授, 研究方向: 胰腺疾病发病机制及诊治, E-mail: gxbsqyq@126.com

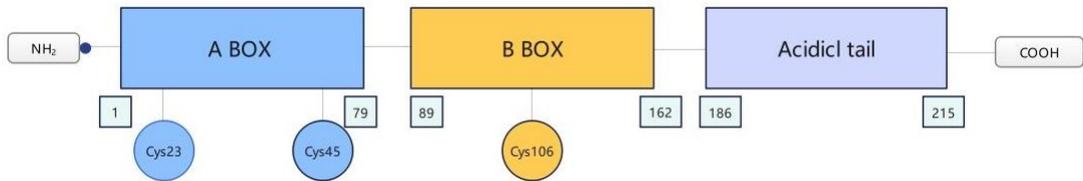


图 1 HMGB1 结构示意图

1.2 细胞自噬与凋亡 自噬被认为是细胞的程序性存活过程,是细胞维持能量内稳态和应对细胞毒性物质作用的一个非常重要的生物过程^[13]。具体功能是在营养剥夺时为维持新陈代谢循环利用细胞成分,并防止应激时受损、有毒蛋白质和细胞器的积累。自噬可促进细胞存活,但异常自噬将导致细胞损伤^[14-15]。自噬有 3 种不同的形式:微自噬、伴侣介导的自噬和巨自噬。通常所说的自噬是指巨自噬。而自噬调节机制相当复杂,目前比较明确的是 III 型 PI3K/Akt (PKB) 途径、BCL-2/Beclin-1 途径、p53 途径、雷帕霉素调控的雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/ MAPK 途径^[16]。凋亡又称 I 型程序性细胞死亡,凋亡细胞的形态学特征包括细胞收缩、膜泡、染色质凝聚、DNA 断裂和凋亡小体的形成^[10]。目前关于凋亡机制的研究已比较明确,很多基因参与了细胞凋亡,包括 BCL-2 家族和半胱天冬酶(Caspase)家族^[17]。BCL-2 家族包括抗凋亡蛋白(如 BCL-2、BCL-XL、BCL-W 和 MCL-1)和促凋亡蛋白(如 BAX、BAK、BOB、BAD、BIM、BID、PUMA 和 NOXA),其主要是通过控制线粒体外膜通透性(mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP)来调节内在通路,当 MOMP 发生改变时,几种线粒体蛋白(如细胞色素 c 和二线粒体来源的半胱氨酸酶激活剂)被释放到细胞质中,诱导凋亡体的形成^[18-19]。Caspase 也被称为白介素-1 转换酶样蛋白酶,是一类半胱氨酸蛋白酶,是凋亡细胞的标志之一。研究证明 Caspase-3 是哺乳动物细胞凋亡的关键酶^[20]。该酶介导 Caspase 激活的脱氧核糖核酸酶(caspase-activated deoxyribonuclease, CAD)的激活和外质小叶中磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)的外化。Caspase 级联可由颗粒酶 B 直接激活,颗粒酶 B 通过穿孔素通道渗透到细胞质中,或在 Fas(CD95)或肿瘤坏死因子受体 1 (TNFR1)连接后激活,包括 PS 在内的许多决定因子在凋亡细胞及其衍生片段中表达^[21]。细胞凋亡通常会限制炎症级联反应,因此细胞凋亡水平在一定程度上与疾病严重程度呈负相关^[22]。过度细胞凋亡将促进疾病发生发展^[23]。细胞自噬和细胞凋亡在细胞内相互作用,一起参与调控细胞的命运。异常自噬可引发细胞凋亡,凋亡信号通路也可以通过多种机制调控自噬。

1.3 HMGB1 与细胞自噬、凋亡 HMGB1 对细胞自噬、凋亡的作用主要通过以下 4 种机制来体现:第一,与 Beclin1 结合可促进细胞自噬,减少细胞凋亡;第二,增加热休克蛋白 B1(HSPB1)的表达抑制细胞自噬及凋亡;第三,与受体 TLR 结合促进细胞自噬及凋亡;第四,与受体 RAGE 结合促进细胞自噬,诱导或抑制细胞凋亡。

1.3.1 HMGB1 通过与 Beclin1 结合调节细胞自噬、凋亡 在细胞质内的还原型 HMGB1 与 Beclin1 结合可促进细胞自噬,减少细胞凋亡。百草枯通过 HMGB1 介导的 α -突触核蛋白积累可以竞争性地干扰 HMGB1 和 Beclin1 的复合物形成,从而抑制细胞中的自噬功能^[24]。在人神经母细胞瘤细胞中,锰(Mn)可以增加 HMGB1 mRNA 水平及其胞质易位和失调自噬,并且 Mn 诱导的 α -突触核蛋白过表达干扰 HMGB1 和 Beclin1 的相互作用,随后促进 Beclin1 与抗凋亡蛋白 BCL-2 结合,且另一个重要发现是柯诺辛 B 通过将 HMGB1 与 α -突触核蛋白分离并抑制 mTOR 信号传导,部分改善了 Mn 诱导的自噬失调和神经毒性^[25]。

1.3.2 HMGB1 通过参与调节 HSPB1 的表达调节细胞自噬、凋亡 HMGB1 通过增加 HSPB1 的表达抑制细胞自噬及凋亡。有实验表明 miR-410 可能通过直接靶向 HMGB1 调节 HSPB1 活性来抑制心脏心肌缺血/再灌注损伤后的线粒体自噬^[26]。NARUMI T 等^[27]研究阐明了 HMGB1 在阿霉素诱导的心肌病期间 HSPB1 表达中的作用。他们报告了第一个体内和体外证据,表明心脏 HMGB1 以热休克因子 2 依赖性方式增加 HSPB1 表达并减弱与阿霉素诱导的心肌病相关的心肌细胞凋亡。

1.3.3 HMGB1 通过与 TLR 受体结合调节细胞自噬、凋亡 HMGB1 通过与 TLR 受体结合促进细胞自噬及凋亡。通过向大鼠注射自体血液来诱导脑出血(ICH)后 6 h 向脑室内注射针对 HMGB1 或 TLR4 的短干扰 RNA 后,研究发现 ICH 导致 HMGB1 从细胞核转位到细胞质,并上调 TLR4 和骨髓分化因子 88(MyD88)的表达,诱导神经功能缺损。在 ICH 急性期, HMGB1/TLR4/MyD88 轴通过诱导自噬促进炎症^[28]。在相关研究中,环丙内酰胺通过抑制 HMGB1/

TLR4/NF- κ B 信号通路抑制大鼠软骨细胞凋亡和炎症^[29]。

1.3.4 HMGB1 与 RAGE 受体结合调节细胞自噬、凋亡 HMGB1 可通过与 RAGE 受体结合促进细胞自噬,诱导或抑制细胞凋亡。研究表明,抑制 HMGB1-RAGE 轴可抑制促炎因子的产生,进而抑制耳蜗毛细胞的凋亡,并在体内提供功能性的听力保护作用^[30]。在急性白血病耐药研究机制中发现,细胞外 HMGB1 通过与 RAGE 受体的相互作用,不仅上调了细胞自噬,同时下调了细胞凋亡;HMGB1/RAGE 诱导的自噬与 ERK1/2 的激活和 mTOR 的磷酸化降低有关,而 HMGB1/RAGE 以 P53 介导的 BCL-2 调节的方式限制细胞凋亡^[31]。条件性敲除 HMGB1 可减少视网膜脱离后的自噬激活,从而促进光感受器存活并减少程序性细胞凋亡^[32]。HMGB1-RAGE 轴通过细胞凋亡和 Pink1/Parkin 介导的自噬途径加重了糖尿病心肌缺血/再灌注(I/R)损伤(MI/RI),而抑制 HMGB1 或 RAGE 有助于缓解这些不利情况^[33]。上述研究表明,靶向调控 HMGB1 介导的细胞自噬和凋亡可能是治疗疾病的一种新途径。然而, HMGB1 介导的自噬和凋亡之间相互作用的确切机制仍未明确,需要进一步研究。

2 氧化应激与细胞自噬、凋亡

2.1 氧化应激概述 一定生理水平的 ROS 具有重要的调节作用,但各种因素引起 ROS 水平超过抗氧化保护所规定的极限时,生物系统会进入氧化应激状态,这种氧化应激状态促进疾病发生发展。ROS 包括过氧化氢(H₂O₂)、羟基自由基(OH⁻)、单线态氧(O₂)和超氧化物(O₂⁻)。多余的 ROS 可以被非酶清除剂(如某些维生素)中和,或通过抗氧化解毒酶(如超氧化物歧化酶/过氧化氢酶、过氧化物酶和谷胱甘肽/硫氧还蛋白还原酶)的作用转化为无害物质^[5,34]。研究表明,丙二醛(Malondialdehyde, MDA)是 ROS 的代谢产物之一,它反映机体内脂质过氧化,通过检测 MDA 可以确定氧化应激水平,而超氧化物歧化酶(SOD)是机体内重要的内源性抗氧化酶,可以减少氧化应激的损伤^[35]。

2.2 氧化应激与细胞自噬、凋亡 多项研究揭示氧化应激与神经退行性疾病、心血管病等慢性病及癌症有关。枸杞多糖通过调节氧化应激-内质网应激-自噬-凋亡信号轴保护皮肤细胞免受 PM2.5 诱导的细胞毒性^[36]。有研究表明,长波紫外线能诱导成纤维细胞氧化应激并通过诱导氧化应激激活人皮肤成纤维细胞自噬,而细胞自噬可抑制长波紫外线诱导的成纤维细胞凋亡^[37]。氧化锌纳米颗粒可通过氧化应激诱导细胞凋亡和自噬,自噬可能对氧化锌纳米颗粒诱导的小

鼠间质细胞凋亡具有保护作用^[38]。但另一研究表明,氯化镉通过激活氧化应激引起小鼠睾丸间质细胞自噬异常和细胞凋亡,而自噬在氯化镉诱导的 TM3 细胞凋亡中起细胞毒性作用^[39]。上述研究表明,氧化应激条件下自噬被激活,这可能保护细胞避免凋亡,也可能对细胞起毒性作用。使用抗氧化药物时自噬和凋亡通路可同时被激活以减轻氧化应激水平,这为氧化应激相关疾病中抗氧化剂的使用提供了依据。

3 HMGB1 与氧化应激

目前相关研究表明, HMGB1 表达水平影响氧化应激。有研究发现, HMGB1 的表达被抑制后,会使 NRF2/HO-1/GPX4 轴激活,进而影响炎症性肠病小鼠体内过度的氧化应激反应,减轻结肠病理损伤^[40]。同样的,抑制小鼠耳蜗毛细胞中 HMGB1/RAGE 轴可以逆转顺铂损伤后 ROS 积累的增加和炎症反应的产生^[30]。值得注意的是,芝麻素可抑制血清 HMGB1 释放,阻断 TLR4-NF- κ B 信号通路来抑制氧化应激和炎症反应,从而保护对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤^[41]。道地粉通过调控 Nrf2/HO-1/HMGB1 信号通路,部分抑制炎症反应和氧化应激,从而减轻 SAP 诱导的肠道和心脏损伤^[42]。木犀草素通过抑制小鸡回肠中的 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号轴减弱禽类致病性大肠杆菌诱导的氧化应激和炎症^[43]。此外, HMGB1 和 HMGB1 相关氧化应激水平显著升高被认为是神经病理的基础,专门开发靶向 HMGB1 或其受体的治疗药物可能有助于减少相关的炎症反应和氧化应激^[44-45]。上述研究表明 HMGB1 表达水平可影响氧化应激。而以下研究发现,氧化应激也可影响 HMGB1 的释放及其对细胞的作用: STAVELY R 等^[46]研究发现,氧化应激可诱导 HMGB1 的细胞质易位,促进核内 HMGB1 表达和释放。在轻度氧化应激中,糖尿病大鼠肝脏中 HMGB1 具有细胞保护作用,而在强烈氧化应激中, HMGB1 的作用可促进细胞死亡和肝损伤^[11]。HMGB1 与氧化应激相互影响,但其相互作用的分子机制尚未明确,仍需进一步深入研究。

4 结论与展望

总之, HMGB1 和氧化应激反应在细胞自噬和细胞凋亡中起重要作用。HMGB1 既是一种核因子,也是一种分泌蛋白。在细胞核中,它扮演 DNA 伴侣的角色。而在细胞外,它是一个损伤相关的模式分子。HMGB1 可通过与 RAGE、TLR、Beclin1 结合及调节 HSPB1 表达等调控细胞自噬、凋亡。而氧化应激状态也可影响细胞自噬、凋亡,但具体机制目前仍不明确。靶向调控 HMGB1 和氧化应激介导的自噬和凋亡可能是治疗疾病的一种有希望的新途径。同时, HMGB1 与氧化应激可相互作用,了解 HMGB1 及其在氧化应

激环境中的复杂作用,可能为减轻氧化应激损伤提供新思路。

参考文献:

- [1] NGADIMON I W,SETH E A,SHAIKH M F. Exploring the neuroinflammatory pathway in epilepsy and cognitive impairment: role of HMGB1 and translational challenges [J]. *Front Biosci*,2024,29(6):229.
- [2] LAN T J,HE S H,LUO X F, et al. Disruption of NADPH homeostasis by total flavonoids from *Adinandra nitida* Merr. ex Li leaves triggers ROS-dependent p53 activation leading to apoptosis in non-small cell lung cancer cells [J]. *J Ethnopharmacol*,2024,332:118340.
- [3] TANG D L,LOZE M T,ZEH H J, et al. The redox protein HMGB1 regulates cell death and survival in cancer treatment[J]. *Autophagy*,2010,6(8):1181-1183.
- [4] QIAN H,SHAN Y H,GONG R C, et al. Mechanism of action and therapeutic effects of oxidative stress and stem cell-based materials in skin aging: Current evidence and future perspectives[J]. *Front Bioeng Biotechnol*,2023,10:1082403.
- [5] 汝少国,朱增光,崔鹏飞. 细胞自噬与应激反应[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*,2022,52(7):1-13.
- [6] YUAN J Y,GUO L,MA J T, et al. HMGB1 as an extracellular pro-inflammatory cytokine: Implications for drug-induced organic damage [J]. *Cell Biol Toxicol*,2024,40(1):55.
- [7] TIAN Z J,ZHU L,XIE Y T, et al. The mechanism of high mobility group box-1 protein and its bidirectional regulation in tumors [J]. *Biomol Biomed*,2024,24(3):477-485.
- [8] KHUMSRI W,PAYUHAKRIT W,KONGKAEW A, et al. Box A of HMGB1 maintains the DNA gap and prevents DDR-induced kidney injury in D-galactose induction rats[J]. *In Vivo*,2024,38(3):1170-1181.
- [9] PALUMBO A,ATZENI F,MURDACA G, et al. The role of alarmins in osteoarthritis pathogenesis: HMGB1, S100B and IL-33[J]. *Int J Mol Sci*,2023,24(15):12143.
- [10] LIAO M M,CAO J R,CHEN W, et al. HMGB1 prefers to interact with structural RNAs and regulates rRNA methylation modification and translation in HeLa cells [J]. *BMC Genomics*,2024,25(1):345.
- [11] PETROVIĆA,BOGOJEVIĆ D,KORAĆ A, et al. Oxidative stress-dependent contribution of HMGB1 to the interplay between apoptosis and autophagy in diabetic rat liver[J]. *J Physiol Biochem*,2017,73(4):511-521.
- [12] ZHAO Y,LI R T. HMGB1 is a promising therapeutic target for asthma[J]. *Cytokine*,2023,165:156171.
- [13] 章晶晶,黄鹤. 自噬在冠状动脉粥样硬化性心脏病中的研究进展[J]. *心血管病学进展*,2024,45(4):312-316.
- [14] LI Z K,DU Y T. CST3 alleviates bilirubin-induced neurocytes' damage by promoting autophagy [J]. *Transl Neurosci*,2023,14(1):20220314.
- [15] WANG T,YAN L Q,WANG G, et al. VPS41-mediated incomplete autophagy aggravates cadmium-induced apoptosis in mouse hepatocytes[J]. *J Hazard Mater*,2023,459:132243.
- [16] ZHANG T,GAN Y,ZHU S. Association between autophagy and acute pancreatitis[J]. *Front Genet*,2023,14:998035.
- [17] ZHANG Y,ZHENG Y,ZHANG J K, et al. Apoptotic signaling pathways in bone metastatic lung cancer: a comprehensive analysis[J]. *Discov Oncol*,2024,15(1):310.
- [18] COSENTINO K,HERTLEIN V,JENNER A, et al. The interplay between BAX and BAK tunes apoptotic pore growth to control mitochondrial-DNA-mediated inflammation[J]. *Mol Cell*,2022,82(5):933-949. e9.
- [19] CZABOTAR P E,LESSENE G,STRASSER A, et al. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2014,15(1):49-63.
- [20] AN Q,ZHOU Z P,XU C, et al. Exosomes derived from mir-337-3p over-expressing tendon stem cells protect against apoptosis of tenocytes via targeting caspase3[J]. *BMC Musculoskelet Disord*,2024,25(1):561.
- [21] TOTI F,HUGEL B,GIDON-JEANGIRARD C, et al. Apoptosis in vascular disease [J]. *Thromb Haemost*,1999,82(2):727-735.
- [22] 谢荣俊,张树友,李峰等. 急性胰腺炎时腺泡细胞凋亡与 Bax 表达[J]. *中国医学创新*,2012,9(10):4-6.
- [23] ZHOU L,TAN J H,ZHOU W Y, et al. P53 activated by ER stress aggravates caerulein-induced acute pancreatitis progression by inducing acinar cell apoptosis[J]. *Dig Dis Sci*,2020,65(11):1-12.
- [24] WANG K D,ZHANG B F,ZHANG B Y, et al. Paraquat inhibits autophagy *Via* intensifying the interaction between HMGB1 and α -synuclein[J]. *Neurotox Res*,2022,40(2):520-529.
- [25] YAN D Y,MA Z,LIU C, et al. Corynoxine B ameliorates HMGB1-dependent autophagy dysfunction during manganese exposure in SH-SY5Y human neuroblastoma cells [J]. *Food Chem Toxicol*,2019,124:336-348.
- [26] YANG F,LI T,DONG Z H, et al. MicroRNA-410 is involved in mitophagy after cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting high-mobility group box 1 protein [J]. *J Cell Biochem*,2018,119(2):2427-2439.
- [27] NARUMI T,SHISHIDO T,OTAKI Y, et al. High-mobility group box 1-mediated heat shock protein beta 1 expression attenuates mitochondrial dysfunction and apoptosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*,2015,82:1-12.

- [28] LEI C Y, LI Y Y, ZHU X Y, et al. HMGB1/TLR4 induces autophagy and promotes neuroinflammation after intracerebral hemorrhage [J]. *Brain Res*, 2022, 1792: 148003.
- [29] 齐鑫, 陈欣, 宏文博, 等. 基于 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路研究蒿本内酯衍生物抑制 TL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞凋亡和炎症反应的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(4): 1007-1016.
- [30] QIAO X Y, LI W, ZHENG Z W, et al. Inhibition of the HMGB1/RAGE axis protects against cisplatin-induced ototoxicity via suppression of inflammation and oxidative stress [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(2): 784-800.
- [31] LAI W X, LI X Y, KONG Q, et al. Extracellular HMGB1 interacts with RAGE and promotes chemoresistance in acute leukemia cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 700.
- [32] ROSS B X, JIA L, KONG D J, et al. Conditional knock out of high-mobility group box 1 (HMGB1) in rods reduces autophagy activation after retinal detachment [J]. *Cells*, 2021, 10(8): 2010.
- [33] HE D W, LIU D Z, LUO X Z, et al. HMGB1-RAGE axis contributes to myocardial ischemia/reperfusion injury via regulation of cardiomyocyte autophagy and apoptosis in diabetic mice [J]. *Biol Chem*, 2024, 405(3): 167-176.
- [34] VERMOT A, PETIT-HÄRTLEIN T, SMITH SME, et al. NADPH oxidases (NOX): an overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(6): 890.
- [35] 孔安安, 陈欢, 李红娟, 等. 针刀联合推拿干预肌性斜颈兔颈肌中 CK 活性与兔血清 SOD、MDA 的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(7): 1667-1669.
- [36] ZHU S, LI X, DANG B R, et al. Lycium Barbarum polysaccharide protects HaCaT cells from PM_{2.5}-induced apoptosis via inhibiting oxidative stress, ER stress and autophagy [J]. *Redox Rep*, 2022, 27(1): 32-44.
- [37] 谭自敏. 氧化应激诱导细胞自噬在 UVA 致人皮肤成纤维细胞凋亡中的作用及机制研究 [D]. 泸州: 西南医科大学, 2021.
- [38] SHEN J C, YANG D, ZHOU X F, et al. Role of autophagy in zinc oxide nanoparticles-induced apoptosis of mouse LEYDIG cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 4042.
- [39] 任小桐. 氧化应激在镉诱导睾丸间质细胞自噬和凋亡中的作用研究 [D]. 武汉: 武汉科技大学, 2022.
- [40] 陈小红, 田霞. HMGB1 对炎症性肠病中氧化应激损伤的调控作用及其机制 [J]. *山西医科大学学报*, 2024, 55(3): 326-331.
- [41] DU H, TONG S W, KUANG G, et al. Sesamin protects against APAP-induced acute liver injury by inhibiting oxidative stress and inflammatory response via deactivation of HMGB1/TLR4/NF κ B signal in mice [J]. *J Immunol Res*, 2023, 2023: 1116841.
- [42] YAO J, MIAO Y, ZHANG Y, et al. Dao-Chi powder ameliorates pancreatitis-induced intestinal and cardiac injuries via regulating the Nrf2-HO-1-HMGB1 signaling pathway in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 922130.
- [43] CAO Z Y, XING C H, CHENG X Y, et al. Luteolin attenuates APEC-induced oxidative stress and inflammation via inhibiting the HMGB1/TLR4/NF- κ B signal axis in the ileum of chicks [J]. *Animals*, 2022, 13(1): 83.
- [44] DINCEL G C, YAUUZ O, YILDIRIM S, et al. ADAMTS-13 and HMGB1-induced oxidative stress in *Taenia multiceps*-infected animals [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 17929.
- [45] MIAO L, HUANG F, SUN Y Y, et al. Curcumin plays a local anti-inflammatory and antioxidant role via the HMGB1/TLR4/NF-KB pathway in rat masseter muscle under psychological stress [J]. *J Oral Rehabil*, 2021, 49(2): 249-257.
- [46] STAVELY R, SAHAKIAN L, FILIPPONE R T, et al. Oxidative stress-induced HMGB1 translocation in myenteric neurons contributes to neuropathy in colitis [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(12): 1831.

收稿日期: 2024-07-17; 修回日期: 2024-08-21

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:荆钰鑫, 董卓敏, 林国武, 等. 地中海贫血患者免疫功能受损机制的研究进展[J].
右江民族医学院学报, 2025, 47(1): 165-168.

【医学综述】

地中海贫血患者免疫功能受损机制的研究进展

荆钰鑫¹, 董卓敏¹, 林国武¹, 农顺强^{2,3}, 梁丽梅⁴, 周伟杰^{2,3,4}

1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;
2. 广西百色市人民医院, 右江民族医学院附属西南医院检验科, 广西 百色 533000;
3. 广西百色市精准分子检验医学重点实验室, 广西 百色 533000;
4. 右江民族医学院医学检验学院, 广西 百色 533000

摘要: 地中海贫血作为临床上常见的单基因常染色体隐性遗传病, 患者往往呈现出不同程度的贫血与溶血症状。随着病情的发展, 患者不仅面临着血液系统的异常, 还由于遗传性因素以及频繁输血等后天治疗带来的影响, 免疫功能逐渐受损, 患者更易并发严重感染, 使其死亡率大幅上升, 给临床的诊疗工作带来了极大挑战, 并且严重影响了患者的生活质量。然而, 当前针对地中海贫血患者免疫功能受损的相关研究相对匮乏, 具体机制尚未完全清晰。本文针对地中海贫血患者免疫功能受损机制的研究进展作一综述, 旨在推动基础研究、指导临床治疗、促进个性化医疗和加强预防措施, 最终提升患者的生活质量。

关键词: 地中海贫血; 免疫功能; 基因突变; 输血治疗

中图分类号: R556.61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2025)01-0165-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.028

地中海贫血(简称地贫), 是全球患病人数众多的单基因常染色体隐性遗传病之一, 其致病机制是珠蛋白基因发生突变。这种突变在人类进化历程中曾是自然选择的结果, 是机体为抵抗疟原虫感染、降低疟疾严重程度而形成的适应性变化, 但会导致血红蛋白结构异常、红细胞形态改变及寿命缩短, 引发贫血和慢性溶血等症状。地贫患者主要分布于气候湿热、疟疾高发区域。如今, 虽然疟疾在我国已被消除, 但我国南方部分地区曾因湿热多雨且蚊虫较多的气候环境利于疟疾传播, 在这样的历史环境下, 地贫的发病情况较为突出。我国现有超3 000万地贫基因携带者, 其中以广西、广东人群携带率最高^[1]。近二三十年, 各地借助筛查手段识别出地贫基因携带者以及重型地贫胎儿, 并相应地采取干预措施来防控地贫, 比如对确诊患有重型地贫胎儿的孕妇实施终止妊娠等医学干预, 在减少地贫患者数量上取得了一定成果。然而, 对于已出生患者的治疗依旧面临诸多难题。其中, 以患者免疫功能受损这一问题尤为突出, 免疫功能受损引发的严重感染并发症是地贫患者死亡的主要原因之一, 死亡率

高达12%^[2]。因此, 本文将针对地贫患者易发生免疫功能受损这一现象, 从遗传基因突变以及后天治疗两个方面的相关研究进展进行综述。

1 基因突变导致原发免疫功能受损

与健康人相比, 地贫患者会出现中性粒细胞趋化性显著降低、吞噬能力明显减弱的现象, 且与治疗无明显相关性, 提示遗传性的珠蛋白基因缺陷可导致患者免疫功能受损^[3]。

1.1 珠蛋白基因突变影响邻近免疫调节基因表达与功能 基因突变是导致地贫患者并发原发性免疫缺陷病的重要原因, 这种现象的发生可能与其突变基因的位置存在关联。例如, *STIM1*、*CD151*、*TC21/RRAS2*、*SIGIRR/TOLL/IL1R8*、*pp52/LSP1*、*TRIM21*、*TOLLIP* 和 *SLEN3* 等8个免疫调节基因在β-珠蛋白基因(11号染色体p端15.5位置)附近, 如果β-珠蛋白基因发生突变, 可影响这些邻近基因的表达, 导致地贫患者免疫功能低下易并发其他免疫性疾病^[4]。研究表明, 珠蛋白突变基因可能是通过改变染色质结构、干扰调控元件或引发表观遗传修饰异常等方式, 影响邻近

基金项目: 广西自然科学基金项目(2023JJA141369); 百色市科学研究与技术开发计划项目(百科20211818); 右江民族医学院校级硕士研究生创新项目(YZCXJH2023003)

第一作者: 荆钰鑫, 在读硕士研究生, 研究方向: 遗传性血液病, E-mail: 921060660@qq.com

通讯作者: 周伟杰, 博士, 主任技师, 研究方向: 遗传性血液病, E-mail: zhouweijie1998@ymcn.edu.cn

免疫调节基因的表达和功能,进而导致先天性免疫异常^[5]。其主要的两个机制是:①珠蛋白突变基因导致染色体局部结构改变,使邻近的免疫调节基因表达受抑制,或影响邻近免疫调节基因共用的增强子,使其对免疫调节基因的增强作用减弱或消失,相关免疫调节基因表达量降低,增加患者并发原发性免疫缺陷的风险^[5]。②珠蛋白突变基因导致相关表观遗传修饰因子失调,如局部 DNA 发生甲基化模式改变,使邻近的免疫调节基因发生异常甲基化而被沉默,无法正常转录和翻译,引起原发性免疫缺陷^[6]。

1.2 珠蛋白基因突变导致珠蛋白肽链合成失衡 地贫患者的珠蛋白基因突变后,首先引发 α -珠蛋白链和 β -珠蛋白链合成失衡。一旦任一种珠蛋白链过量生成,便会在红细胞内部形成沉淀,进而对红细胞的正常结构造成破坏。红细胞结构受损后,其正常生理功能无法维持,导致红细胞寿命缩短,并且造血过程也变得无效^[7]。与此同时,异常的红细胞会激活单核细胞,使得免疫系统持续处于被刺激的状态。免疫系统长时间受刺激,导致机体免疫细胞功能紊乱,例如吞噬作用被抑制,T 淋巴细胞亚群的分布和功能改变,免疫球蛋白分泌减少以及补体系统功能受损等^[8]。这些免疫细胞功能的异常最终致使患者免疫系统进一步受损,整体免疫功能下降。另外,血红蛋白 β 链能够衍生出一类称之为“血衍吗啡肽”的内源性生物活性肽,其名称来源于“血红蛋白”和“吗啡”,具有类似阿片类物质(如吗啡)的某些生物活性,能调节体内免疫细胞的功能和活性,活化阿片类受体,参与机体抗炎过程^[9]。由于珠蛋白突变基因改变了血红蛋白的结构和功能,血衍吗啡肽的表达受到干扰,其合成量减少,活性也受到抑制,直接导致患者对炎症的抑制能力降低,炎症反应更容易发生且难以控制,进一步加重了患者的病情并影响其健康状况^[10]。

2 输血治疗导致继发免疫功能受损

输血依赖性地贫患者免疫功能受损,治疗过程中易并发严重的感染,增加了患者治疗的复杂性,是此类患者主要的死亡原因^[11]。

2.1 患者易感性增高 输血存在乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和人类免疫缺陷病毒等病毒传播的风险^[12]。地贫患者发生感染与献血者中带菌者的流行程度、输血单位数和输血持续时间有关。因此,随着输血量 and 时间的推移,地贫患者免疫功能损害程度升高,更容易感染寄生虫、细菌、真菌等。例如,免疫功能损害程度升高可导致患者更易发生弓形虫的机会性感染,累及中枢神经系统发生脑炎直至患者死亡^[13-14];再者,免疫功能损害程度升高还可造成输血依赖性地贫患者增加金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等条件致病菌感染风险,且临床表

现复杂,感染部位多发、病情轻重不一^[15];另外,此类患者感染毛霉菌、白色念珠菌等真菌后,比健康人群更难治愈,常需要输注药效更强的抗真菌药物两性霉素症状才可好转,死亡率高达 70%^[16-18]。

2.2 免疫细胞异常及比例失衡 频繁输血后慢性抗原刺激会导致免疫细胞异常,尤其是 T 细胞的异常,是地贫患者感染性疾病高发的主要原因之一^[19]。免疫相关细胞的功能异常及数量失衡,可导致地贫患者细胞免疫功能下降,使患者更容易感染病原体,影响清除病毒感染和肿瘤细胞的能力,产生自身抗体并攻击正常的红细胞,进而使红细胞破坏增多,贫血症状加重。首先,地贫患者长期输血会出现铁过载和慢性炎症氧化应激,引起机体免疫细胞的表型和功能异常^[20]。因为:①高水平的血清铁蛋白不仅可通过 NOX4-ROS-P38 MAPK 信号通路增加细胞内活性氧水平,还会沉积在骨髓,损伤其造血功能和微环境,进而发生中性粒细胞迁移减少或受损的现象,可能导致患者对各种病原体的易感性增加^[21];②长期输血还可发生外源蛋白对机体免疫系统的慢性刺激,促进自身免疫性溶血、T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞改变以及诱导单核-巨噬细胞系统趋化和吞噬功能损坏,进而改变 Fas 配体分子的浓度及其体外免疫调节作用,同时诱导变异白细胞凋亡,降低患者的免疫力^[8]。其次,输血依赖性地贫患者还会发生免疫细胞数量失衡。例如:①机体发生淋巴细胞分化抑制、细胞毒性 T 细胞数量增加、 $CD8^+$ / $CD4^+$ 淋巴细胞比值改变等现象;②机体 B 细胞数量增加,导致 IgG、IgM 和 IgA 水平均高于正常水平^[19,22-23];③机体淋巴细胞过早衰老,导致功能发生改变、丧失增殖能力的 T 细胞数量增加^[24];④机体调节性 T 细胞和骨髓源性抑制细胞水平升高会进一步抑制患者的主动免疫^[25]。这些免疫细胞数量的失衡,给输血依赖性地贫患者的免疫系统带来了严重的不良影响,进一步削弱了患者的免疫功能,增加了患者感染各种病原体的风险,对患者的健康和生命安全构成了重大威胁。

2.3 细胞因子表达水平异常 细胞因子是免疫细胞间的重要信号分子,以传递信号、调节细胞活动、影响细胞的生长和分化等多种方式参与调节免疫反应。细胞因子的异常表达会导致机体免疫系统紊乱,影响患者的免疫防御功能。细胞因子过度表达可引起免疫细胞过度激活,攻击体内正常细胞,导致相关组织损伤和功能障碍。细胞因子表达量降低可削弱机体对外界病原体的防御能力,即增加了患者感染的风险,也可能导致患者对某些药物的敏感性降低,影响药物疗效,增加并发症风险^[26]。多项研究显示,地贫患者的活化淋巴细胞产生的白介素-2、干扰素 γ 和白介素-4 含量明显

降低,导致机体免疫系统紊乱^[27]。同时,地贫患者的白介素-8、白介素-13、白介素-17 和转化生长因子 β 的浓度较高,其中 IL-17 和 TGF- β 的升高可以协同作用影响 T 细胞的分化方向,使其分化为具有免疫抑制功能的 T 细胞亚群,进而抑制其他免疫细胞的活性^[28]。另外,地贫患者因慢性溶血和反复输血导致血红素代偿性增多,抑制白介素-21 的产生,从而阻止浆细胞产生抗体^[29]。

3 脾切除导致免疫功能受损

脾脏作为人体最重要的免疫器官,可以通过吞噬作用完成机体的非特异性免疫功能,以及通过细胞免疫和体液免疫发挥特异性免疫功能,脾脏中的多种免疫细胞和免疫因子相互作用、制约,从而协调机体免疫系统的功能。随病情进展地贫患者可能会选择行脾切除手术,虽然可以在一定程度上减小对输血的需求,但也会导致地贫患者的免疫功能进一步下降^[20]。脾切除术是影响地贫患者单核细胞吞噬功能和增加氧化破裂的一个关键因素,容易引发炎症反应,炎症状态下,血管内皮细胞会表达更多的黏附分子,促进白细胞和血小板黏附,增加患者发生血栓栓塞的风险^[30-31]。

4 总结与展望

总而言之,地贫患者由于基因突变、长期输血治疗以及脾切除等多种因素,使机体发生免疫缺陷,容易并发严重感染,是患者治疗难度增加、死亡率升高的主要原因。值得注意的是,新型治疗方式如基因替代疗法和基因编辑疗法给患者带来了新的希望,但也同样存在引发患者发生免疫功能受损的风险^[32]。因此,深入了解地贫患者发生免疫缺陷的机制,对于未来实现精准治疗具有重大意义。针对地贫患者免疫功能损伤,可从一般支持治疗、基因突变、输血治疗和脾切除相关方面采取预防措施。一般支持治疗包括营养支持和预防感染;针对基因突变要密切监测免疫指标并探索基因调控干预;输血治疗方面需优化方案、管理铁过载并进行免疫调节;脾切除则要严格掌握适应证,术后做好免疫监测与支持,通过这些措施有助于降低患者免疫功能损伤风险,提升其健康水平和生活质量。

参考文献:

[1] 北京天使妈妈慈善基金会,北京师范大学中国公益研究院. 中国地中海贫血蓝皮书中国地中海贫血防治状况调查报告(2020)[M]. 北京: 中国社会出版社, 2021.

[2] FARMAKIS D, GIAKOUMIS A, POLYMERPOULOS E, et al. Pathogenetic aspects of immune deficiency associated with beta-thalassemia[J]. *Med Sci Monit*, 2003, 9(1): RA19-RA22.

[3] THIENGTAHOR C, SIRIWORADETKUN S, PAIBOON SUKWONG K, et al. Increased ferritin levels in non-trans-

fusion-dependent β^0 -thalassaemia/HbE are associated with reduced CXCR2 expression and neutrophil migration[J]. *Br J Haematol*, 2020, 189(1): 187-198.

- [4] ALTINOZ M A, GEDIKOGLU G, DENIZ G. β -Thalassemia trait association with autoimmune diseases: β -globin locus proximity to the immunity genes or role of hemophins? [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2012, 34(2): 181-190.
- [5] MIANO-BURKHARDT A, ALVAREZ JEREZ P, DAIDA K, et al. The role of structural variants in the genetic architecture of Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(9): 4801.
- [6] DAHIYA R, NAQVI A A T, MOHAMMAD T, et al. Investigating the structural features of chromodomain proteins in the human genome and predictive impacts of their mutations in cancers[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 131: 1101-1116.
- [7] 左伋, 张学. 医学遗传学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2024.
- [8] GLUBA-BRZÓZKA A, FRANCZYK B, RYSZ-GÓRZYŃSKA M, et al. Pathomechanisms of immunological Disturbances in β -thalassemia[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 9677.
- [9] 张志勉, 蒲华清, 王秉翔. 红细胞分泌与镇痛作用的研究进展[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2014, 52(5): 1-4, 9.
- [10] LEECHAROENKIAT K, LITHANATUDOM P, SORN JAI W, et al. Iron dysregulation in beta-thalassemia[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(11): 1035-1043.
- [11] 杨高群, 赖永榕. 地中海贫血铁代谢特点及器官铁沉积的检测[J]. *中国实用儿科杂志*, 2018, 33(12): 974-977.
- [12] AL-OUQAILI MTS, MAJEED Y H, AL-ANI S K. SEN virus genotype H distribution in β -thalassemic patients and in healthy donors in Iraq: Molecular and physiological study [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2020, 14(6): e0007880.
- [13] MANDAL T K, SARKAR S, HALDAR P, et al. Prevalence of HIV, hepatitis B and hepatitis C infections among patients with thalassemia attending a tertiary care (rural) hospital[J]. *J Family Med Prim Care*, 2024, 13(5): 1780-1786.
- [14] ABD EI-LATIF N F, SALEM A I, SADEK N A, et al. Serological and molecular detection of *Toxoplasma gondii* in β -thalassemia patients[J]. *J Parasit Dis*, 2023, 47(4): 778-786.
- [15] TSAI T A, TSAI C K, YANG Y H, et al. Higher hospitalization rate for lower airway infection in transfusion-naïve thalassemia children[J]. *Front Pediatr*, 2020, 8: 574014.
- [16] CRISCUOLO M, MARCHESI F, CANDONI A, et al. Fungaemia in haematological malignancies: SEIFEM-

- 2015 survey[J]. *Eur J Clin Inves*, 2019, 49(5): e13083.
- [17] SEPASKHAH M, MOEZZI I, DAVARPANAH M A, et al. Primary cutaneous mucormycosis in a β -thalassemia patient[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2018, 34(4): 776-777.
- [18] NURAINI P, WAHLUYO S, PRADOPO S, et al. Effects of iron accumulation on dental caries, gingivitis, and *Candida albicans* infection in children with beta thalassemia major: a narrative review [J]. *Acta Med Philipp*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.47895/amp.vio.3994>.
- [19] NAMAZI BAYEGI S, ALI HAMIDIEH A, BEHFAR M, et al. Unbalanced T-cell subsets in pediatric patients with beta-thalassemia[J]. *Hum Immunol*, 2023, 84(3): 224-234.
- [20] EL HASBANI G, MUSALLAM K M, UTHMAN I, et al. Thalassemia and autoimmune diseases: absence of evidence or evidence of absence? [J]. *Blood Rev*, 2022, 52: 100874.
- [21] 谢燕妮, 刘容容, 赖永榕. 铁过载在 β -地中海贫血无效造血中的机制研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2023, 52(6): 186-189, 53.
- [22] SHOKRGOZAR N, KARIMI M, GOLMOGHADDAM H, et al. Expression of the immune checkpoint receptors CTLA-4, LAG-3, and TIM-3 in β -thalassemia major patients: correlation with alloantibody production and regulatory T cells (Tregs) phenotype [J]. *Ann Hematol*, 2021, 100(10): 2463-2469.
- [23] 孔义华, 王显河, 师海瑞, 等. 学龄前珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者外周血淋巴细胞亚群比例分析[J]. *检验医学与临床*, 2023, 20(17): 2493-2495.
- [24] GHATREH-SAMANI M, ESMAEILI N, SOLEIMANI M, et al. Oxidative stress and age-related changes in T cells: is thalassemia a model of accelerated immune system aging? [J]. *Cent Eur J Immunol*, 2016, 41(1): 116-124.
- [25] ZAHARAN A M, EL-BADAWY O, BADAWY E R, et al. Could the crosstalk between myeloid-derived-suppressor cells and regulatory t cells have a role in β -thalassemia? [J]. *J Hematol*, 2023, 12(4): 161-169.
- [26] YAN Y, GUO T, ZHU C. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on serum proinflammatory cytokines in the treatment of ankylosing spondylitis [J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96(4): 450-456.
- [27] 金晓红, 陈蕊, 王淑霞, 等. 云南地区反复输血的地中海贫血儿童细胞免疫和体液免疫状态的研究[J]. *中国输血杂志*, 2023, 36(9): 782-786.
- [28] ZHANG L, BAO L J, HONG Z D, et al. Dysregulated serum cytokine production in pediatric patients with β -thalassemia major [J]. *Hemoglobin*, 2022, 46(4): 191-196.
- [29] TAMBUNAN B A, UGRASENA IDG, ARYATI A. Impact of hemin on interleukin-21 levels and plasma cells in transfusion-dependent thalassemia with positive and negative allo-autoantibody [J]. *Int J Gen Med*, 2023, 16: 47-56.
- [30] KALAMARA T V, DODOS K, VLACHAKI E. Splenectomy is significantly associated with thrombosis but not with pulmonary hypertension in patients with transfusion-dependent thalassemia: a meta-analysis of observational studies [J]. *Front Med*, 2023, 10: 1259785.
- [31] AKCA T, OZDEMIR G N, AYCICEK A, et al. Long-term results of splenectomy in transfusion-dependent thalassemia [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2023, 45(3): 143-148.
- [32] CARREÑO A, GUERRERO-YAGÜE R, CASAL E, et al. Tuning plasmid DNA amounts for cost-effective transfections of mammalian cells: when less is more [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2024, 108(1): 98.

收稿日期: 2024-09-29; 修回日期: 2024-11-15

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:赵朝阳,郝少峰,李会琳.近视与儿童青少年眼部生物学参数的相关性研究现状[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):169-173.

【医学综述】

近视与儿童青少年眼部生物学参数的相关性研究现状

赵朝阳¹,郝少峰²,李会琳²

1. 长治医学院第二临床学院,山西 长治 046000;
2. 长治医学院附属和济医院眼科,山西 长治 046000

摘要: 目前我国近视的发病率呈现出明显的低龄化趋势,近视不仅会降低儿童青少年的生活质量,影响其升学和就业,损害他们的身心健康,还会因视力矫正而产生巨大的家庭和社会经济负担。近年来国家对于儿童青少年近视愈发重视,出台了一系列相关的政策。眼部生物学参数的测量在近视的临床研究和流行病学调查中具有重要意义,对儿童青少年近视防控疗效的评价,是不可或缺的观察指标。本文对儿童青少年近视流行病学调查和眼部生物参数测量的研究现状进行综述,探讨近视与儿童青少年眼部生物学参数的相关性。

关键词: 近视;儿童青少年;眼部生物学参数

中图分类号: R778.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2025)01-0169-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.029

近视是一种常见的屈光不正,当进入眼球的平行光线经屈光系统后在视网膜前方聚焦,就会导致远处的视力模糊^[1]。近视已成为公共卫生问题,据文献报道^[2],在全球 6~19 岁的儿童青少年中,亚洲的近视患病率为 60%,明显高于欧洲的 40%。预计到 2050 年,全球将有 47.58 亿的近视患者和 9.38 亿的高度近视患者^[3]。中国儿童青少年的近视增长率相比其他国家更为显著,到 2050 年 3~19 岁儿童青少年的近视患病率估计为 84%^[4]。学龄前儿童的视觉发育对视力健康至关重要,在这个阶段,儿童的远视度数通常会逐渐降低,屈光度数也会减小,逐渐发展为正视。儿童长时间近距离视觉活动过早消耗了他们的生理性远视,加速了“正视化”过程,使远视储备不足,从而导致近视的早期发病^[5-6],呈现出低龄化发展趋势。而低龄化是近视快速进展的独立风险因素,将导致高度近视人群大幅增长。高度近视会导致一系列眼部并发症,如视网膜脱落、脉络膜新生血管形成、黄斑病变、青光眼、白内障等^[7-9]。

近视的预防和治疗至关重要,2018 年 8 月 31 日,国家教育部、国家卫生健康委员会等 8 个部委联合印发《综合防控儿童青少年近视实施方案》,把近视防控提升到国家战略层面。2023 年 8 月 30 日,国家疾病预防控制局印发《儿童青少年近视防控公共卫生综合干预技术指南》,为儿童青少年近视防控工作提供了科学

指导。2024 年 5 月 31 日为进一步提高近视防控和诊疗的规范化水平,推动和加强我国近视防治工作,国家卫生健康委发布《近视防治指南(2024 年版)》,这些政策体现了国家对近视防控的重视。了解近视的产生机制和近视眼的结构变化对于制定有效的近视控制策略至关重要。

1 眼部生物学参数的概述

近视不仅是一种常见的视觉障碍,也是一个复杂的生物学现象,儿童青少年的眼部屈光状态受屈光发育过程中的眼轴长度、角膜曲率、前房深度、晶状体屈光度数和晶状体厚度等因素的互相影响^[10]。眼部生物学参数的测量在近视的临床研究和流行病学调查中具有重要意义,对儿童青少年近视防控疗效的评价,动态数据观察是不可或缺的客观指标。为了全面理解近视的本质,本课题组探讨与近视发展紧密相关的眼部生物学参数,揭示它们如何影响近视的进展,并探索如何利用这些知识来指导近视的管理和治疗策略。

2 近视与眼部生物学参数

2.1 近视与眼轴长度 眼轴长度是指眼球前后径的长度,它能够使光线精确地聚焦在视网膜上。儿童青少年处于身体快速增长的阶段,眼轴长度在眼球发育过程中也处于相应增长的时期^[11],且眼轴长度的增长范围随年龄变化呈现出较为稳定的规律性。在人眼的正常发育过程当中,出生时眼轴长度在 16 mm 左右,6

基金项目: 山西省卫生健康委员会四个一批重大科技攻关专项(2022XM18)

第一作者: 赵朝阳,在读硕士研究生,研究方向:近视防控,E-mail:13131421300@163.com

通讯作者: 郝少峰,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:糖尿病视网膜病变分子机制研究,E-mail:120600540@qq.com

岁时平均约为 22.5 mm,此后以每年约 0.1~0.2 mm 的速度生长,15 岁可达到 23.4 mm,接近成人水平。发育期儿童的眼轴长度增长过快是近视发展的趋向因素,但应考虑到伴随正常生长发育的眼轴增长,即生理性眼轴增长,其增长速度平均每年不超过 0.2 mm,如超过 0.2 mm 需高度重视^[12]。CHEN S D 等^[13]一项为期两年的队列研究,选取 6 353 例 3~15 岁儿童,收集了包括眼轴长度、等效球镜和身高在内的测量值,发现身高增长和眼轴长度增长都显著且一致,并且伴随发生,但在孩子达到 10~12 岁时开始减缓。这说明,在 12 岁之前,眼轴长度的增长是由身体发育驱动的,而其过度增长则主要受近视发展的影响。JIANG F 等^[14]开展了一项针对 7~17 岁高度近视儿童青少年的纵向观察性研究,在 293 名参与者中,发现眼轴长度的增长与近视进展之间存在显著关联,并且与病理性近视的存在有关。BIKBOV M M 等^[15]开展了一项关于 4 933 名俄罗斯学龄儿童的屈光研究,发现较长的眼轴长度是屈光不正较高的决定因素。HASHEMI H 等^[16]进行了一项横断面研究,分析了伊朗东部沙赫鲁德 5 357 名年龄在 6~12 岁之间学生的验光数据,发现眼轴长度是与屈光参差相关的最重要的生物特征成分。这些研究结果表明,随着眼轴长度的不断增长,近视也在加深,其原因可能是当近视眼的轴向眼轴长度的增长速度比赤道部快时,将会导致周边眼轴长度比中央更短,使光线的焦点落在周边视网膜之后。眼轴长度在近视的发生与进展中起主导作用,眼轴长度评估作为儿童青少年近视筛查和临床管理的稳定指标已成为趋势^[17]。

2.2 近视与角膜曲率 角膜是眼睛最强的折光介质,角膜曲率的微小变化都会显著影响眼睛的屈光状态。随年龄的增加,为了补偿眼轴长度的增加,角膜曲率会逐步减小,当这一补偿机制失衡时,便可能引发近视。但目前研究对角膜曲率和屈光度之间的联系有着不同的发现和结论。ZHANG Z R 等^[10]进行了一项荟萃分析,在角膜曲率比较中,共纳入了 9 篇文章。这些文章包括 1 364 只正视眼和 1 678 只近视眼,通过与对照组相比,近视组的角膜曲率显著升高。近视会引起豹纹状眼底的变化,GONG W 等^[18]对 1 127 名 9~12 岁低度近视儿童横断面研究发现,角膜曲率越大,豹纹状眼底程度越高。袁静等^[19]对北京市顺义区 11 所幼儿园的 1 107 名 3~6 岁儿童采用光学生物测量仪测量眼部生物学参数,分析后得出其中 3~6 岁儿童角膜曲率为 (7.73 ± 0.25) mm,不同年龄段的角膜曲率差异无统计学意义,随着近视度数加深,角膜曲率有变陡的趋势,但差异依然无统计学意义,该研究由此可见角膜曲率与屈光度未见相关性。MA Y Y 等^[20]对上海嘉定

区 458 名 3~5 岁的儿童进行了为期 1 年的随访,记录学龄前儿童屈光和屈光成分的 1 年变化,角膜曲率的变化为 (0.00 ± 0.04) ,研究提示在 3~5 岁这个时期内儿童的角膜曲率变化很小。李晓等^[21]进行了一项纳入 2 611 名中小学生的研究,发现不同年龄角膜曲率差异无统计学意义。这些研究结果有所差异,说明角膜曲率对于儿童青少年近视增长不是决定性因素。出现这种现象的原因也可能与研究对象的年龄、屈光状态和眼部生物识别方法有关,因此角膜曲率与屈光度数的关系还需进一步研究。

2.3 近视与眼轴/角膜曲率半径 眼轴/角膜曲率半径相比于其他眼部生物学参数,与近视有较高的相关性,被认为是睫状肌麻痹情况下屈光不正的替代指标,可用于评估近视的风险和进展。眼轴/角膜曲率半径比值 >3 的临界值已被确定为从正常视力发展为近视的高风险指标,并且眼轴/角膜曲率半径比值越高被认为与近视发生的可能性越大有关^[10]。TANG T 等^[22]进行了一项回顾性横断面研究,评估了 1 024 名 4~6 岁的受试者。通过绘制受试者工作特征曲线,使用睫状肌麻痹屈光分析眼轴/角膜曲率半径用于远视储备和近视评估的准确性。最后得出结论,在 4~6 岁儿童中,等效球面与眼轴/角膜曲率半径的相关性优于单独使用眼轴或角膜曲率半径,尤其是在近视患者中。LIU S 等^[23]使用相似的研究方法,得出了同样的结论,在 21 所幼儿园和学校中,对 7 803 名 3~18 岁受试者进行了屈光检测,发现眼轴/角膜曲率半径对儿童近视检测显示出很高的准确性。ZHU B D 等^[24]一项关于北京市通州区幼儿园儿童的研究,眼轴/角膜曲率半径为 (2.86 ± 0.07) 。从 3~6 岁,眼轴/角膜曲率半径比值从 (2.82 ± 0.06) 增加到 (2.89 ± 0.07) ,研究说明随着年龄的增长,眼轴/角膜曲率半径也变得更大,线性回归表明,眼轴/角膜曲率半径在评估等效球镜方面的效果在显著优于眼轴长度。YIN Y 等^[25]分析了学龄前儿童近视和近视前筛查的各种方法,结合眼轴/角膜曲率半径和非睫状肌麻痹屈光在学龄前儿童近视筛查中产生了准确的结果,敏感性和特异性分别为 81% 和 94%,眼轴/角膜曲率半径比单独使用眼轴长度在确定学龄儿童和学龄前儿童的屈光度方面更准确,支持在筛查策略中使用眼轴/角膜曲率半径。GOPALAKRISHNAN A 等^[26]进行了一项研究,为 6~12 岁南印度儿童提供了眼轴/角膜曲率半径的百分位值,9 岁时处于第 75 百分位的眼轴/角膜曲率半径比率在预测 11 岁时近视发展方面的敏感性为 72.70%,特异性为 85.29%。同样,11 岁时处于第 50 百分位的眼轴/角膜曲率半径比率在预测 13 岁时近视发展的敏感性为 75.00%,特异性为 69.92%。以上研

究表明,眼轴/角膜曲率半径 比值越高被认为与近视发生的可能性越大有关,当睫状肌麻痹屈光不可用时,眼轴/角膜曲率半径有助于预测儿童和青少年近视的进展,可作为识别学龄前儿童低远视储备和近视的替代指标,帮助临床医生和家长及时筛查低远视储备儿童,为近视的早期干预和管理提供强有力的依据。

2.4 近视与前房深度 前房深度是指角膜内皮到晶状体前囊的距离,前房深度对于保持眼内压、眼内容物的正常运作以及角膜的形态都有重要意义。在一定时期内,随着年龄的增加前房深度会不断增长,直到青少年眼球发育完成时达到最大值,过深的前房会导致眼内压升高,从而对眼球壁产生压力,这可能是导致或加剧近视的重要因素。前房深度随着年轻人的屈光度变化而变化,随着个体从远视发展为高度近视,前房深度逐渐增加^[27],较深的前房深度可能与眼轴长度的生长有关^[28]。袁静等^[19]研究发现各年龄段儿童的前房深度差异并无统计学意义,不同等效球镜的眼睛其前房深度差异有统计学意义,随着等效球镜减小,前房逐渐加深,前房深度与等效球镜呈负相关。MU J Y 等^[29]一项研究中,前房深度随着年龄的增长而加深,数据还表明,眼轴长度较长(表示近视严重程度较高)的眼睛往往具有更深的前房深度。QU G Z 等^[30]研究睫状肌麻痹药物对近视和远视患儿眼部参数的影响,在睫状肌麻痹前后分别测量眼部参数,发现无论在睫状肌麻痹前还是麻痹后,近视眼的平均前房深度都显著大于远视眼。温州视光中心^[31]的一项关于 6~14 岁轻度远视至轻度近视儿童的眼部生物测量参数的研究,对 902 名受试者进行了全面的眼科检查,观察到前房深度呈上升趋势,男孩和女孩的前房深度存在显著差异,男孩的平均前房深度比女孩深 0.11 mm,同时还发现随着近视发展儿童的前房深度更深。ZHOU P 等^[32]一项关于 122 名中国儿童和 31 名白人儿童的研究,进行了至少为 12 个月的随访。测量和收集 306 只眼的生物学参数数据,中国儿童的近视进展速度比白人组更快,无论是等效球镜进展速度还是眼轴长度延长速度。前房深度与近视发病及进展速度之间未发现显著相关性。这些研究表明,整体前房深度与近视有相关性,但是种族、地区、年龄范围、屈光状态和眼部生物特征对研究结果有一定的影响。

2.5 近视与晶状体屈光度数 大多数儿童出生时都是远视。随着眼睛的生长,角膜和晶状体的屈光力减弱,补偿了眼轴的延长,使得屈光状态保持在一个集中的分布范围内,并逐渐向正视发展。不同的是,晶状体屈光力的下降会持续一生,其速度在不同阶段有所变化,这是对抗由眼轴快速延长驱动近视进展的一个关键因素^[30]。晶状体屈光力约占人眼总屈光力的 30%,

在屈光不正的构成中占有重要地位。向棹宇等^[33]一项关于上海市静安区 3~12 岁儿童的研究,发现近视儿童的晶状体屈光度数较低,远视儿童的晶状体屈光度数则高于正视儿童,当对研究中的屈光状态进一步分组后发现,低度近视与中度近视组的晶状体屈光度数均值更为接近,而高度近视组与前两者差距较大。而在一项针对非高度近视和高度近视的研究中^[34],高度近视的儿童和青少年 9 岁以后晶状体屈光度数随年龄的变化差异显著下降。在一项关于晶状体屈光度数的纵向变化研究中^[35],观察到晶状体屈光度数有持续的下降趋势,并且在大约 10~11 岁时出现较慢的下降速度。LU T L 等^[36]也得出了相似的结论,晶状体屈光度数在 10 岁之前急剧下降,而在 10 岁之后,随着年龄的增长,晶状体屈光度数下降的速度减缓。除此之外研究还发现在大约 14 岁之前,眼轴长度在年轻时增加得更明显,之后减慢,这可能意味着眼轴长度和晶状体屈光度数的变化是伴随的,轴长在幼年时发展迅速,12 岁以后发育速度减慢。以上研究说明,晶状体屈光度数和近视成正相关,眼轴长度和晶状体屈光力共同决定屈光状态,如果青少年的眼轴延长速度超过晶状体屈光力的减弱速度,近视就会发展。

2.6 近视与晶状体厚度 晶状体在人的一生中一直处于不断的生长之中,并在不同发育阶段表现出不同特点。李仕明等^[37]一项研究中,对 2 893 名小学生进行眼科检查和眼生物参数测量并完成了随访,发现 2 628 名小学生未患近视眼,其等效球镜为 $(+1.09 \pm 0.78)D$,眼轴长度为 $(22.66 \pm 0.72)mm$;265 名已患近视眼的小学生,眼轴更长、前房更深、角膜曲率半径更小、晶状体更薄。这些差异与其近视屈光状态有关。在儿童由不近视发展为近视的过程中,眼轴长度与晶状体及角膜屈光力动态匹配和代偿,然而晶状体和角膜的代偿程度有限,当代偿能力达到极限后,眼轴继续变长就会导致近视眼的发生和发展。ZHANG Y 等^[38]在一项针对 508 名 3~6 岁的儿童的研究中发现,3~6 岁年龄较大儿童的等效球镜、晶状体厚度和晶状体屈光度数值较小,但眼轴/角膜曲率半径、眼轴长度和前房深度值较大,相关性分析表明,等效球镜与眼轴/角膜曲率半径、眼轴长度、前房深度、年龄等变量呈负相关,与晶状体厚度和晶状体屈光度数呈正相关, HAN X T 等^[35]在中国广州开展了一项随访时间为 2 年的研究,招募了 4 个儿童队列,包括幼儿园一年级、小学一年级、小学四年级和初中一年级的儿童,分析数据后,晶状体厚度在 7 岁后下降更为显著,随后在 12 岁左右呈上升趋势。上述研究结果表明,晶状体的生长模式与年龄相关,这其中可能的原因是晶状体变薄本质上是代偿性的,因为正常眼睛生长的轴向长度在增加,近

视眼的生长会促使晶状体通过变薄来进行代偿。即随着年龄的增长,新晶状体纤维不断包裹在原晶状体纤维的外面,就会导致晶状体厚度的增加。

3 总结与展望

近视的发病机制虽然尚不完全清楚,但均表现为眼球发育过程中逐渐出现的眼生物参数失衡。在轴性近视中,眼轴长度增长对近视的影响最大,而屈光性近视主要与角膜和晶状体的改变有关,因此近视与眼部生物学参数之间存在一定的相关性。为了确保学龄前儿童的视力健康,建议定期进行视力和屈光状态的检查,为学龄儿童建立屈光档案,这样可以及早发现并纠正任何视觉问题,以促进儿童的正常视觉发育。改善环境特征和生活方式是预防或延缓近视发作的最佳方法,家长和教育工作者应关注儿童青少年的用眼习惯,确保他们有足够的户外活动时间,避免长时间近距离用眼。除此之外,低浓度阿托品滴眼液、角膜接触镜、框架眼镜和手术矫正也可用于减缓近视的进展。

参考文献:

- [1] YANG J, OUYANG X L, FU H, et al. Advances in biomedical study of the myopia-related signaling pathways and mechanisms [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 145: 112472.
- [2] GRZYBOWSKI A, KANCLERZ P, TSUBOTA K, et al. A review on the epidemiology of myopia in school children worldwide[J]. *BMC Ophthalmol*, 2020, 20(1):27.
- [3] HOLDEN B A, FRICKE T R, WILSON D A, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050[J]. *Ophthalmology*, 2016, 123(5):1036-1042.
- [4] DONG L, KANG YK, LI Y, et al. Prevalence and time trends of myopia in children and adolescents in China: a systemic review and meta-analysis[J]. *Retina*, 2020, 40(3):399-411.
- [5] HUANG L H, SCHMID K L, YIN X N, et al. Combination effect of outdoor activity and screen exposure on risk of preschool myopia: findings from longhua child cohort study[J]. *Front Public Health*, 2021, 9:607911.
- [6] 中华预防医学会公共卫生眼科分会. 中国学龄儿童眼球远视储备、眼轴长度、角膜曲率参考区间及相关遗传因素专家共识(2022年)[J]. *中华眼科杂志*, 2022, 58(2):96-102.
- [7] PARK K H. Glaucoma and myopia[J]. *Indian J Ophthalmol*, 2024, 72(3):309-310.
- [8] SHI H K, GUO N J, ZHAO Z M, et al. Global prevalence of myopic macular degeneration in general population and patients with high myopia: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2024, 34(3):631-640.
- [9] 戚紫怡, 陈军, 何鲜桂. 我国儿童青少年高度近视眼流行病学现状[J]. *中华眼科杂志*, 2023, 59(2):138-145.

- [10] ZHANG Z R, MU J Y, WEI J, et al. Correlation between refractive errors and ocular biometric parameters in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Ophthalmol*, 2023, 23(1):472.
- [11] TAO L X, WANG C X, PENG Y Y, et al. Correlation between increase of axial length and height growth in chinese school-age children[J]. *Front Public Health*, 2022, 9:817882.
- [12] 国家卫生健康委办公厅. 国家卫生健康委办公厅关于印发近视防治指南(2024年版)的通知[EB/OL]. (2024-05-17). [2024-05-31]. http://www.nhc.gov.cn/zycgj/s7653/202405/b6edbd0bf3a64ecc8cef30d72f80ed9e_shtml.
- [13] CHEN S D, GUO Y F, HAN X T, et al. Axial growth driven by physical development and myopia among children: a two year cohort study[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(13):3642.
- [14] JIANG F, WANG D C, YIN Q X, et al. Longitudinal changes in axial length and spherical equivalent in children and adolescents with high myopia[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023, 64(12):6.
- [15] BIKBOV M M, KAZAKBAEVA G M, FAKHRETDINOVA A A, et al. Associations between axial length, corneal refractive power and lens thickness in children and adolescents: the ural children eye study [J]. *Acta Ophthalmol*, 2024, 102(1):e94-e104.
- [16] HASHEMI H, KHABAZKHOOB M, LANÇA C, et al. Prevalence of anisometropia and its associated factors in school-age children[J]. *Strabismus*, 2024, 32(1):1-10.
- [17] 《眼轴长度在近视防控管理中的应用专家共识(2023)》专家组. 眼轴长度在近视防控管理中的应用专家共识(2023)[J]. *中华实验眼科杂志*, 2024, 42(1):1-11.
- [18] GONG W, CHENG T Y, WANG J J, et al. Role of corneal radius of curvature in early identification of fundus tessellation in children with low myopia[J]. *Br J Ophthalmol*, 2023, 107(10):1532-1537.
- [19] 袁静, 徐庆, 诸立婷, 等. 北京市顺义区 3~6 岁儿童屈光状态与眼球生物性参数相关关系的调查研究[J]. *中华眼科杂志*, 2023, 59(8):636-642.
- [20] MA Y Y, LIN S L, MORGAN I G, et al. Eyes grow towards mild hyperopia rather than emmetropia in Chinese preschool children [J]. *Acta Ophthalmol*, 2021, 99(8):e1274-e1280.
- [21] 李晓, 辉林菊, 李国庆, 等. 新疆额敏县中小學生近视状况及其影响因素调查研究[J]. *国际医药卫生导报*, 2022, 28(14):2006-2010.
- [22] TANG T, ZHAO H, LIU D K, et al. Axial length to corneal radius of curvature ratio and refractive error in Chinese preschoolers aged 4-6 years: a retrospective cross-sectional study[J]. *BMJ Open*, 2023, 13(12):e075115.

- [23] LIU S, CHEN J, WANG J J, et al. Cutoff values of axial length/corneal radius ratio for determining myopia vary with age among 3-18 years old children and adolescents [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2024, 262(2): 651-661.
- [24] ZHU B D, SUN Y Y, WANG S N, et al. Refraction and ocular biometric parameters of preschool children in the Beijing whole childhood eye study: the first-year report [J]. *BMC Ophthalmol*, 2023, 23(1): 366.
- [25] YIN Y, LI L, WANG T, et al. Establishment of noncycloplegic methods for screening myopia and pre-myopia in preschool children [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2023, 10: 1291387.
- [26] GOPALAKRISHNAN A, SIVARAMAN V, HUSSAIN-DEEN JR, et al. Ocular biometry percentile curves and their relation to myopia development in Indian children [J]. *J Clin Med*, 2024, 13(10): 2867.
- [27] XU G H, WU G R, DU Z J, et al. Distribution of white-to-white corneal diameter and anterior chamber depth in Chinese myopic patients [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 732719.
- [28] HU T, WU R, WANG W S, et al. Analysis of factors related to the development of ocular biometric parameters in Chinese children aged 6-10 years: a cross-sectional study [J]. *BMJ Open*, 2024, 14(2): e080066.
- [29] MU J Y, ZHANG Z R, WU X X, et al. Refraction and ocular biometric parameters in 3-to 6-year-old preschool children: a large-scale population-based study in Chengdu, China [J]. *BMC Ophthalmol*, 2024, 24(1): 207.
- [30] QU G Z, WANG B F, DING S S, et al. Effects of cycloplegic agents on ocular parameters in children with myopia and hyperopia [J]. *J Ophthalmol*, 2023, 2023: 9003942.
- [31] LIU W Q, LIU W S, WANG C X. Ocular biometric parameters of mild hyperopia to mild myopia children aged 6-14 years from Wenzhou optometry center: a cross-sectional study [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 992587.
- [32] ZHOU P, WANG D D, FAN L, et al. Thin central corneal thickness may be a risk factor for myopia progression in children [J]. *J Ophthalmol*, 2023, 2023: 3815863.
- [33] 向棹宇, 林秋蓉, 许琰, 等. 3~12 岁儿童晶状体屈光力变化趋势及其影响因素分析 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2021, 39(6): 550-556.
- [34] CHENG T Y, DENG J J, XIONG S Y, et al. Crystalline lens power and associated factors in highly myopic children and adolescents aged 4 to 19 years [J]. *Am J Ophthalmol*, 2021, 223: 169-177.
- [35] HAN X T, XIONG R L, JIN L, et al. Longitudinal changes in lens thickness and lens power among persistent non-myopic and myopic children [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2022, 63(10): 10.
- [36] LU T L, SONG J K, WU Q X, et al. Refractive lens power and lens thickness in children (6~16 years old) [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 19284.
- [37] 李仕明, 康梦田, 李蕾, 等. 小学生远视储备与近视眼发病率关系的队列研究: 安阳儿童眼病研究 [J]. *中华眼科杂志*, 2022, 58(10): 754-759.
- [38] ZHANG Y, SU M, LIANG L L, et al. The guiding significance of ocular biometry in evaluating the refractive status of preschool children [J]. *Ophthalmic Res*, 2023, 66(1): 1213-1221.

收稿日期: 2024-05-14; 修回日期: 2024-06-04

(本文编辑 钟琳)

本文引文格式:黄永毅,周文婷,曾红,等.民族医科院校研究生的多学科融合团队教学模式面临的挑战与对策[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):174-176.

【医学教育研究】

民族医科院校研究生的多学科融合团队教学模式面临的挑战与对策

黄永毅,周文婷,曾红,莫小强,莫颂轶,覃洪含,黄衍强

(右江民族医学院基础医学院,广西 百色 533000)

摘要: 民族医科院校多学科融合的团队教学模式在研究生教育中具有重要的应用价值和发展前景。然而,也面临着一些挑战,如学科融合难度大,师资队伍建设困难,教学管理和评价体系不完善等。针对这些挑战,本研究提出了加强学科规划和课程设计,制定合理的教学大纲和教学计划;加大师资队伍建设力度,引进和培养具有跨学科背景的专家和专家;建立健全教学管理和评价体系,制定科学的评价指标和方法等对策建议。此外,本文还分享了右江民族医学院病原微生物学科团队的经验,为民族医科院校医学教育事业更好的发展提供参考。

关键词: 民族医科院校;多学科融合;团队教学模式

中图分类号: G642 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2025)01-0174-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.030

随着医学教育的不断发展,多学科融合的团队教学模式逐渐成为基础医学研究生教育的重要探索方向^[1]。在民族医科院校中,这一模式具有更为特殊的意义。民族医科院校拥有独特的民族医药特色,如何将多学科融合的团队教学模式应用于研究生教育,拓宽研究生的知识面,培养跨学科思维方式,提高研究生的实践能力和创新能力,增强研究生的团队协作能力和沟通能力,成为当前亟待解决的问题^[2]。

1 面临的挑战

1.1 学科融合难度大,需要协调不同学科的教学内容和教学方法 民族医科院校的多学科融合团队教学模式要求将民族医学、现代医学、生物学、计算机科学等不同学科进行有机融合。然而,不同学科的教学内容和教学方法存在较大差异,如何协调这些差异,实现教学内容的有机整合和教学方法的相互借鉴,是一个巨大的挑战。例如,民族医学注重传统的诊疗方法和经验传承^[3],这种医学体系强调的是通过长期的实践积累和口耳相传,将祖先们的医学智慧代代相传。治疗方法往往以自然药物和物理疗法为主,强调与自然的和谐共生。而现代医学则强调科学实验和临床证据^[4],以严格的科学研究为基础,通过实验室的实验验证和临床观察,不断探索疾病的发生机制和治疗方法。在教学过程中,教师需要找到两者的结合点,既要让学生了解民族医学的独特价值,又要掌握现代医学的先进技术。此外,不同学科的知识体系和理论框架也各不相同,如何将这些知识体系进行整合,构建一个统一

的教学体系,也是一个难题。例如,生物学的知识对于理解医学问题至关重要,但生物学的理论和教学方法与医学又有很大的区别。生物学关注的是生命现象的内在机制,如细胞的结构与功能、遗传与进化等。这些理论知识为医学研究提供了重要的支持,使得我们能够更加深入地理解疾病的发生、发展以及治疗方法。然而,医学作为一门应用性更强的学科,更加注重实际问题的解决。在医学教育中,强调的是临床实践、病例分析以及治疗技能的培养。因此,在多学科融合的教学中,需要找到一种方式,将生物学的知识融入到医学教学中,使学生能够从不同的角度理解医学问题。

1.2 师资队伍建设困难,缺乏具有跨学科背景的专家和专家 多学科融合团队教学模式需要教师具备跨学科的知识 and 能力^[5]。然而,目前民族医科院校的教师大多来自单一学科背景,缺乏跨学科的教学经验和能力。例如,民族医学专业的教师通常拥有丰富的医学知识和临床经验,他们对传统医学理论和实践有着深刻的理解。然而,当涉及到计算机科学等现代技术时,他们可能就会感到有些力不从心,对这些技术的了解相对较少。另一方面,计算机科学专业的教师们对编程、算法和网络技术等现代科技有着深厚的功底,但在面对民族医学的知识体系时,他们可能又缺乏足够的了解和认识。这种现象在一定程度上反映出学科之间的隔阂,导致在教学过程中,教师难以有效地进行跨学科教学,无法满足学生对多学科知识的需求。这也提示我们在教育改革中需要加强跨学科交流和合作,以

基金项目: 广西研究生教育改革课题(JGY2023294)

第一作者: 黄永毅,高级实验师,研究方向:微生物学和机能实验教学研究,E-mail:975503590@qq.com

通讯作者: 黄衍强,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:医学微生物学与免疫学,E-mail:hyq77615@163.com

促进知识的融合和创新。此外,吸引和培养具有跨学科背景的教师也是一个挑战。由于跨学科人才的稀缺性,民族医科院校在招聘和引进教师时面临较大的困难。同时,培养现有的教师成为跨学科教师也需要投入大量的时间和资源。例如,组织教师参加跨学科培训,通过邀请各学科领域的专家进行讲解和交流,让教师们对其他学科的知识体系和教学方法有更深入的了解。此外,还可以开展跨学科研究项目,鼓励教师们打破学科界限,共同探讨和解决实际问题。在这个过程中,教师们可以相互学习、借鉴和融合不同学科的教学理念,从而在课堂上更加灵活地运用跨学科知识。通过这些方式,不仅能够提高教师的跨学科教学能力,还能激发他们的教学热情和创新意识,为学生提供更加丰富多样的学习体验。但这些方式需要学校提供相应的支持和资源,而民族医科院校往往由于资源有限,难以满足这些需求。

1.3 教学管理和评价体系不完善,难以对多学科融合的教学效果进行科学评估 多学科融合团队教学模式的实施需要相应的教学管理和评价体系来保障教学质量^[6]。然而,目前民族医科院校的教学管理和评价体系大多是基于传统的单一学科教学模式建立的,难以适应多学科融合的教学需求。例如,在教学管理方面,传统的教学管理体系可能无法有效地协调不同学科的教师和教学资源,在课程设置、教学进度和教学方法上难以达成一致,使得学生在学习过程中感到迷茫和困惑,导致教学过程中出现混乱和不协调的情况^[7]。这种情况不仅影响了教学质量的提升,还可能对学生的学业发展和教师的教学热情造成负面影响。因此,寻求一种更加高效、协调的教学管理体系显得尤为重要。在教学评价方面,传统的评价体系往往侧重于学生对单一学科知识的掌握程度,难以全面评估学生在多学科融合教学中的学习效果^[8]。例如,对于学生的跨学科思维能力、团队协作能力等方面的评价,传统的评价体系可能缺乏有效的指标和方法来全面、准确地衡量学生的实际表现。我们很难找到能够精准捕捉学生跨学科思维火花和团队协作精神的量化标准,这就使得评价结果难以真实反映学生的综合能力和潜力。因此,寻求一种更为科学、全面的评价体系,已经成为教育评价改革的重要课题。建立一套完善的教学管理和评价体系是民族医科院校多学科融合团队教学模式面临的一个重要挑战。

2 对策建议

2.1 加强学科规划和课程设计,制定合理的教学大纲和教学计划 民族医科院校应充分认识到多学科融合的重要性,对学科进行全面规划。在课程设计方面,打破传统学科界限,整合民族医学、药学、分子生物学、细胞生物学、计算机科学等不同学科的知识内容^[9]。制

定教学大纲时,明确各学科在教学中的比重和融合方式,确保教学内容的系统性和连贯性。教学计划应具有灵活性,能够根据学科发展和学生需求进行调整。例如,可以借鉴右江民族医学院举办的“AI和知识图谱赋能高校教学创新与改革”研修班的经验,将人工智能等前沿技术融入教学计划,使教师们能够更有效地分析学生的学习需求,设计出更具针对性的教学方案。同时,知识图谱的应用则帮助学生构建起系统的知识体系,提升学生的数字素养和跨学科思维能力,为培养具有创新精神和实践能力的高素质人才奠定了坚实基础。这一创新举措,值得大家深入研究和借鉴。

2.2 加大师资队伍建设的力度,引进和培养具有跨学科背景的教师和专家 一方面,民族医科院校应积极引进具有跨学科背景的教师和专家^[10]。制定优惠政策,吸引在民族医学、现代医学、生物学、计算机科学等领域有丰富经验和专业知识的人才加入教师队伍。例如,可以与综合性大学、科研机构合作,引进相关领域的优秀人才。这样不仅可以引入前沿的学术思想和专业技能,还能加强产学研合作,促进技术创新。另一方面,应加强对现有教师的培养。通过组织教师参加跨学科培训、开展跨学科研究项目等方式,提高教师的跨学科教学能力和研究水平。参考中国医学科学院北京协和医学院与北航、北理工等高校签订深入合作协议、创办“协和医班”的做法,民族医科院校也可以与其他高校和科研机构合作,为教师提供学习和交流的平台,培养兼具多学科背景的教师队伍。

2.3 建立健全教学管理和评价体系,制定科学的评价指标和方法 在教学管理方面,建立专门的多学科融合教学管理机构,负责协调不同学科的教师和教学资源,确保教学过程的顺利进行。制定教学管理制度,规范教学行为,提高教学质量。在教学评价方面,制定科学的评价指标和方法,全面评估学生在多学科融合教学中的学习效果。评价指标应包括学生的跨学科思维能力、团队协作能力、实践能力等方面^[11]。例如,可以采用多元化的评价方式,如考试、作业、项目报告、小组展示等,综合评价学生的学习成果。同时,加强对教师教学效果的评价,激励教师不断提高教学水平。参考基础医学院自治区级实验教学示范中心机能实验室开展集体备课活动的经验,建立完善的教学管理和评价体系,促进学科交叉融合,提高教学质量。

3 实践案例

随着医学教育的不断发展,加强学科交叉研究、完善师资队伍建设和优化教学管理和评价体系三方面建设,推进多学科融合的团队教学模式,在研究生教育尤为重要。现以右江民族医学院基础医学院病原微生物学科团队建设为例,分享该团队建设的经验。

3.1 组建多学科交叉融合的教研团队 一方面,利用

好校内资源,病原微生物学科团队主动与临床医学、口腔医学、药学、计算机科学等学科的团队对接,探索共同合作的切入点,商讨合作方式方法,签订合作框架协议,结成多学科合作团队,共同带领研究生,利用广西“桂十味”道地药材肉桂、山豆根、牛大力等挖掘抗幽门螺杆菌感染的天然产物,探索火麻仁对巴马长寿人群胃肠道的影 响;共同开展幽门螺杆菌流行病学研究等。另一方面,对照微生物耐药防控的焦点和研究方向,内培外引药学、生物学、遗传学、分子生物学、化学等学科相关的博士、教授,一起带领研究生,开展以民族医药为特色的多学科交叉研究项目,发挥地方特色民族医药资源优势、长寿人群优势,在疾病预防、诊断和治疗方面探索新方法、新技术及新应用。

3.2 优化教学管理和评价体系 教学管理和评价体系是保障教学质量的重要手段。团队在学校、学院的文件、政策允许的前提下,细化教学管理细则,提高评价标准。比如在研究生管理学习时间方面,我们有着明确的要求。学生需要根据导师的指导,每周制订详细的学习计划,确保时间的高效利用。这不仅包括日常的学习任务,还包括对每周和每学期的学习内容进 行系统的规划和安排。此外,研究生还必须定期撰写学习总结,对所学知识进行回顾和巩固,同时参与课题组的组会,与其他成员分享学习心得和经验;以学生综合素质养成作为评价主要依据,突显科技创新能力和解决问题能力;导师作为第一责任人,尊重导师的指导意 见,导师务必遵循高标准、高要求,做到实事求是,有实际效果。

3.3 多学科融合的团队教学成果 在多学科融合的团队教学模式培养下,研究生学习氛围浓厚、学习主动性强、学习信心足,积极开展理论学习和实验研究及社会实践,收获丰富。学生学会如何学习、如何开展科学研究、如何独立处理问题。每位学生都能发表 1~2 篇高质量的论文,参加“互联网+”等比赛也获得比较好的成绩。在参加科学普及的社会实践中不但懂得运用掌握知识服务社会,而且提升了爱国、爱民的情怀。科普实践活动荣获“广西科技资源科普化优秀案例”奖。每年均有学生获得国家奖学金或校长奖学金等,成为广西优秀毕业生或中国大学生自强之星等,收获了较好的教学成果。

4 小结与展望

民族医科院校多学科融合的团队教学模式,通过整合不同学科的知识 和资源,拓宽了研究生的知识面,培养了跨学科思维方式,提高了实践能力和创新能力,增强了团队协作能力和沟通能力。另外,该模式打破了学科壁垒,促进了不同学科之间的交流与融合,推动了学科交叉研究,产生了新的学科生长点,提升了教学质量和科研水平。然而,民族医科院校多学科融合的

团队教学模式也面临着一些挑战。学科融合难度大,需要协调不同学科的教学内容和教学方法;师资队伍建设困难,缺乏具有跨学科背景的 教师和专家;教学管理和评价体系不完善,难以对多学科融合的教学效果进行科学评估。针对这些挑战,提出了相应的对策建议。加强学科规划和课程设计,制定合理的教学大纲和教学计划;加大师资队伍 建设力度,引进和培养具有跨学科背景的 教师和专家;建立健全教学管理和评价体系,制定科学的评价指标和方法。以右江民族医学院病原微生物学科团队为案例,分享了一个二级学科团队较好的经验。总之,民族医科院校多学科融合的团队教学模式在研究生教育中具有重要的应用价值和发 展前景。通过不断探索和实践,解决面临的问题,该教学模式将为培养高素质的医学人才,推动民族医药的传承与创新,促进我国医学教育事业的发 展做出更大的贡献。

参考文献:

- [1] 孙艳芹,汤瑞祥,甘思远,等. 跨学科深度融合模式培养病理学专业学位研究生的探讨[J]. 基础医学教育,2024,26(4):290-292.
- [2] 李目,吴亮红,周少武,等. 新工科背景下电气控制类研究生实践创新能力培养体系探索与实践[J]. 创新创业理论与实践,2023,6(23):97-101,112.
- [3] 周刊,付宇蕾,李汶玲,等. 基于自上而下构建方法的壮医医生报告结局概念框架[J]. 中医药导报,2024,30(5):79-82.
- [4] 陈妙红,梁巧媛,赵莉. 现代医学与中医药在外科管理领域中的融合发展[J]. 中医药管理杂志,2023,31(22):92-94.
- [5] 许轶,黄东锋. 新医科背景下学科交叉融合模式在康复医学教育中的应用[J]. 医学教育研究与实践,2025,33(1):1-7.
- [6] 解志杰,贾娜,刘诚. 智能制造背景下跨专业教赛融合教学模式的构建与实施[J]. 黑龙江教育:理论与实践,2024,(2):44-47.
- [7] 付晓. 新时期我国高校教学管理优化与创新路径[J]. 湖北开放职业学院学报,2024,37(19):13-15.
- [8] 严倩. OBE 理念下安全技术与管理专业课程教学改革及其实施策略探讨——以事故应急救援课程为例[J]. 现代职业教育,2024(28):157-160.
- [9] 黄增琼. 基于创新能力培养的药物设计学教学[J]. 药学教育,2019,35(1):47-49,54.
- [10] 李晖,李向南,周薇,等. “两弹一星”精神驱动的国防科技特色学科建设若干思考[J]. 高教学刊,2024,10(34):20-23.
- [11] 刘霖樟,王安轶. 研究型高校拔尖创新人才的创业教育研究——以中国科学技术大学为例[J]. 科技创业月刊,2024,37(10):192-199.

收稿日期:2024-10-12;修回日期:2024-12-12

(本文编辑 覃黎黎)

本文引文格式:朱敏,韩雅婷,范慧敏,等.带 T 管的胆管结石患者出院准备度现状及与应对效能相关性分析[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):177-181.

【临床护理】

带 T 管的胆管结石患者出院准备度现状及与应对效能相关性分析

朱敏¹,韩雅婷¹,范慧敏¹,柏心如¹,陶秀彬²,王晓晔²

(1. 皖南医学院研究生学院,安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医学院弋矶山医院护理部,安徽 芜湖 241000)

摘要:目的 探讨带 T 管的胆管结石患者出院准备度现状、影响因素及与应对效能的相关性。方法 采取便利抽样法,选取本市某三甲医院肝胆外科 258 例带 T 管的胆管结石患者作为研究对象,使用一般资料调查表、出院准备度量表、应对效能量表进行调查。结果 带 T 管的胆管结石患者出院准备度得分为 81.00(71.00~90.00)分,应对效能得分为 52.00(46.00~56.00)分。有序多分类 Logistic 回归分析显示,年龄、文化程度、陪护、生活自理能力(Barthel 评分)、应对效能是带 T 管的胆管结石患者出院准备度的主要影响因素($P < 0.05$)。应对效能与出院准备度呈正相关($r = 0.617$, $P < 0.01$)。结论 带 T 管的胆管结石患者出院准备度处于尚可水平,应对效能处于中等水平,应对效能与出院准备度相关,护理人员应采取针对性干预措施,改善患者的应对效能,提高出院准备度。

关键词:T 管;胆管结石;出院准备度;应对效能

中图分类号:R473.6

文献标识码:C

文章编号:1001-5817(2025)01-0177-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.031

胆石症是消化系统及肝胆外科常见疾病,肝内外胆管结石占各类胆石症比率高达 38%^[1],严重者危及生命,需及时手术治疗,T 管引流成为治疗胆管结石的主要治疗手段^[2]。T 管通常保留 4~8 周时间,患者出院后需自行维护 T 管,护理不当易引起管道滑脱、感染、出血、胆漏等并发症^[3]。高效的出院准备过程可以促进患者从医院到家庭的过渡,并减少并发症的发生^[4],因此提高患者的出院准备度对预后康复至关重要,出院准备是出院计划的一部分,是一个多方面、多阶段的概念,它提供了对患者及其家属离开急性护理机构的能力的估计^[5]。研究显示^[6],应对效能与出院准备度呈正相关。应对效能是遭遇创伤性事件时或在应急状态下的自我效能,是个体对自己能否成功应对所具有的信心^[7]。应对效能高的患者对疾病采取积极的应对策略,主动获取疾病管理知识^[8],从而提高出院准备,改善生活质量。本研究分析带 T 管出院患者出院准备度现状及其影响因素,并探讨应对效能与出院准备度之间的相关性,为医护人员开展针对性的护理措施,提高出院准备度,改善患者生活质量提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 采取便利抽样法,选取 2023 年 4 月至 2024 年 3 月芜湖市某三甲医院肝胆外科住院带 T 管的胆管结石患者作为研究对象。根据肖顺贞等^[9]样

本估算方法,样本量为最大条目数的 5~10 倍,本研究所需样本量为 102~204 例,最终纳入 258 例带 T 管出院患者。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②胆管结石术后带 T 管出院患者;③能进行基本交流;④知情同意,自愿参与研究。排除标准:①恶性肿瘤;②存在精神或意识障碍。本研究伦理批准文号:2023 伦审研第 153 号。

1.2 研究工具

1.2.1 一般资料调查表 研究者通过综合分析现有文献和结合临床经验自行设计一般资料调查表,包括性别、年龄、居住地、文化程度、月收入、陪护、手术史、是否饮酒、是否吸烟、医保类型、生活自理能力(使用 Barthel 指数量表^[10],总分 0~100 分, ≤ 40 分为重度依赖,41~60 分为中度依赖,61~99 分为轻度依赖,100 分为无需依赖)。

1.2.2 出院准备度量表 该量表是由 WEISS M E 等^[11]学者编制而成,本研究采用我国内地学者王冰花^[12]经过本土化调试后的中文版本。包括个人状态、适应能力、预期性支持 3 个维度,共 12 个条目,采用 0~10 分评分,总分为 0~120 分,根据总分将出院准备度划分为 3 个等级,准备度低(< 72 分)、准备度尚可(72~96 分)、准备度较高(≥ 97 分)。本研究该量表的 Cronbach's α 系数为 0.869。

基金项目:安徽省护理学会科研课题(AHHLA202110)

第一作者:朱敏,在读硕士研究生,研究方向:围手术期护理、老年护理,E-mail:78694198@qq.com

通讯作者:陶秀彬,教授,主任护师,研究方向:围手术期护理、老年护理,E-mail:1325609568@qq.com

1.2.3 应对效能量表 由童辉杰^[7]编制而成,共 17 个条目,采用 Likert 4 级评分,完全不符合~完全符合分别为 1~4 分,总分为 17~68 分,得分越高代表应对效能越高。本研究该量表的 Cronbach's α 系数为 0.891。

1.3 资料收集方法 问卷调查在患者出院当天填写,研究者向患者及家属说明填写问卷的目的及方法,经患者同意后发放问卷,对于行动不便或不识字的患者,由研究者逐条解释后,根据患者的回答帮助填写,问卷填完当场收回,患者数据由 2 名研究人员录入并核查。本次调查共发放 265 份问卷,有效回收 258 份,回收率为 97.36%。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计学描述,非正态分布的计量资料用 $[M(P_{25} \sim P_{75})]$ 表示, Kruskal-Wallis 检验;计数资料用频数

(n)、百分比(%)表示,采用 χ^2 检验、Fisher 精确检验。应对效能与出院准备度之间的相关性分析采用 Spearman 相关分析;以单因素检验中有统计学意义的变量作为自变量,采用有序多分类 Logistic 回归进行多因素分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 带 T 管出院患者出院准备度现状 258 例带 T 管的胆管结石患者中,出院准备度低 67 例(25.97%),出院准备度尚可 163 例(63.18%),出院准备度较高 28 例(10.85%)。出院准备度总分为 81.00(71.00~90.00)分,处于尚可水平,根据条目均分各维度得分从高到低依次为预期性支持 8.50(7.75~9.00)分、个人状态 6.50(5.33~7.67)分、适应能力 5.40(4.80~6.80)分,见表 1。

表 1 带 T 管的胆管结石患者出院准备度得分

维度	得分范围	条目得分	条目均分	排序
个人状态	10~28	19.50(16.00~23.00)	6.50(5.33~7.67)	2
适应能力	11~44	27.00(24.00~34.00)	5.40(4.80~6.80)	3
预期性支持	19~40	34.00(31.00~36.00)	8.50(7.75~9.00)	1
出院准备度总分	52~110	81.00(71.00~90.00)	6.75(5.92~7.50)	

注:表内非正态分布的计量资料数据以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示。

2.2 带 T 管的胆管结石患者出院准备度单因素分析 结果显示,年龄、文化程度、陪护、生活自理能力

(Barthel 评分)、应对效能等差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 带 T 管的胆管结石患者出院准备度单因素分析结果

项目	准备度低 ($n=67$)	准备度尚可 ($n=163$)	准备度较高 ($n=28$)	χ^2/Z	P
性别				0.507 ^a	0.776
男	36(53.73)	81(49.69)	13(46.43)		
女	31(46.27)	82(50.31)	15(53.57)		
年龄/岁				33.946 ^a	<0.001
≤ 40	4(5.97)	14(8.59)	10(35.71)		
41~59	13(19.40)	61(37.42)	12(42.86)		
≥ 60	50(74.63)	88(53.99)	6(21.43)		
居住地				9.102 ^a	0.059
农村	33(49.25)	77(47.24)	6(21.43)		
城镇	15(22.39)	26(15.95)	8(28.57)		
城市	19(28.36)	60(36.81)	14(50.00)		
文化程度				25.765 ^b	<0.001
小学及以下	50(74.63)	103(63.19)	10(35.71)		
初中及中专	14(20.89)	37(22.70)	5(17.86)		
高中	2(2.99)	9(5.52)	3(10.72)		
大科及以上	1(1.49)	14(8.59)	10(35.71)		
收入/元				6.245 ^a	0.396
<1 000	35(52.24)	62(38.04)	14(50.00)		
1 000~3 000	19(28.36)	55(33.74)	6(21.42)		
3 000~5 000	9(13.43)	29(17.79)	4(14.29)		
>5 000	4(5.97)	17(10.43)	4(14.29)		

表 2(续) 带 T 管的胆管结石患者出院准备度单因素分析结果

项目	准备度低 (n=67)	准备度尚可 (n=163)	准备度较高 (n=28)	χ^2/Z	P
陪护				13.719 ^a	0.008
配偶	25(37.31)	82(50.31)	21(75.00)		
子女	32(47.76)	70(42.94)	6(21.43)		
其他	10(14.93)	11(6.75)	1(3.57)		
手术史				3.359 ^a	0.186
无	40(59.70)	85(52.15)	11(39.29)		
有	27(40.30)	78(47.85)	17(60.71)		
饮酒				4.144 ^a	0.126
不饮酒	55(82.09)	149(91.41)	25(89.29)		
饮酒	12(17.91)	14(8.59)	3(10.71)		
吸烟				1.433 ^a	0.488
不吸烟	51(76.12)	133(81.60)	24(85.71)		
吸烟	16(23.88)	30(18.40)	4(14.29)		
医保				1.259 ^a	0.533
居民医保	52(77.61)	126(77.30)	19(67.86)		
职工医保	15(22.39)	37(22.70)	9(32.14)		
Barthel 评分				82.520 ^a	<0.001
中度依赖	55(82.09)	40(24.54)	1(3.57)		
轻度依赖	12(17.91)	123(75.46)	27(96.43)		
应对效能/分	42.00(36.00~48.00)	53.00(49.00~56.00)	58.00(56.25~59.00)	99.203 ^c	<0.001

注:①表内计数资料数据用[n(%)]表示,非正态分布的计量资料数据以M(P₂₅~P₇₅)表示;②a为 χ^2 值,b为Fisher精确检验,c为Z值。

2.3 带 T 管的胆管结石患者出院准备度有序 Logistic 回归分析 将出院准备度等级视为因变量,将单因素分析结果有统计学意义的年龄、文化程度、陪护、生活自理能力(Barthel 评分)、应对效能总分作为自变量,进行有序 Logistic 回归分析,具体赋值见表 3。对模型进行平行线检验 $P > 0.05$ ($P = 0.847$),表明可以使用有序 Logistic 回归分析。结果显示,年龄、文化

程度、陪护、生活自理能力(Barthel 评分)、应对效能是带 T 管的胆管结石患者出院准备度的影响因素($P < 0.05$),年龄与出院准备度呈负相关,与其他人员陪护的患者相比,配偶及子女陪护的患者出院准备度更高($P < 0.05$),文化程度、生活自理能力(Barthel 评分)、应对效能与出院准备度正相关,见表 4。

表 3 自变量赋值

自变量	赋值
年龄	1= ≤ 40 ,2=41~59岁,3= ≥ 60 岁
文化程度	1=小学及文盲,2=初中及中专,3=高中,4=大专及以上
陪护	1=配偶,2=子女,3=其他
自理能力(Barthel 评分)	1=中度依赖,2=轻度依赖
应对效能总分	原值代入

表 4 带 T 管的胆管结石患者出院准备度有序 Logistic 回归分析结果

变量	b	SE	Wald χ^2	P	OR (95% CI)
年龄/岁					
≤ 40	1.166	0.626	3.472	0.062	3.208(0.941~10.933)
41~59	0.787	0.400	3.877	0.049	2.196(1.004~4.804)
文化程度					
小学及文盲	-1.244	0.612	4.129	0.042	0.288(0.087~0.957)
初中及中专	-1.300	0.631	4.241	0.039	0.273(0.079~0.939)
高中	-0.344	0.830	0.171	0.679	0.709(0.139~3.609)

表 4(续) 带 T 管的胆管结石患者出院准备度有序 Logistic 回归分析结果

变量	<i>b</i>	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR (95% CI)
陪护					
配偶	2.186	0.692	9.987	0.002	8.904(2.294~34.551)
子女	1.611	0.704	5.236	0.022	5.007(1.260~19.894)
生活自理能力(Barthel 评分)					
中度依赖	-2.568	0.447	33.072	<0.001	0.077(0.032~0.184)
应对效能	0.258	0.037	49.667	<0.001	1.295(1.205~1.391)

2.4 带 T 管的胆管结石患者应对效能与出院准备度的相关性分析 Spearman 相关分析显示,应对效能总分与出院准备度总分呈正相关($r = 0.617, P < 0.01$)。应对效能总分与个人状态、适应能力、预期性支持 3 个维度均呈正相关(r 分别为 0.584、0.507、0.362, $P < 0.01$),见表 5。

表 5 带 T 管的胆管结石患者应对效能与出院准备度的相关性分析结果

项目	应对效能总分	个人状态	适应能力	预期性支持	出院准备度总分
应对效能总分	1				
个人状态	0.584 ^a	1			
适应能力	0.507 ^a	0.851 ^a	1		
预期性支持	0.362 ^a	0.312 ^a	0.175 ^a	1	
出院准备度总分	0.617 ^a	0.930 ^a	0.900 ^a	0.503 ^a	1

注:a 为 $P < 0.01$ 。

3 讨论

3.1 带 T 管的胆管结石患者个人状态、适应能力亟待改善 本研究显示,带 T 管的胆管结石患者出院准备度得分为 81.00(71.00~90.00)分,处于尚可水平。其各维度按条目均得分情况为预期性支持>个人状态>适应能力,与薛宝梅^[13]研究结果一致。预期性支持较好,表明患者在出院时,能得到一定程度的家庭、社会的照顾与支持。个人状态维度分数相对较低,提示出院时,患者经自我功能评估后,认为自己并未达到个人预期的出院状态;适应能力维度分数最低,提示患者在心理、情感层面对疾病和带 T 管生活的适应性较差,完成自我照顾、医疗处置的能力较弱。因此,医护人员应在患者出院前评估其出院准备情况,针对患者的认知和心理状况采取个性化干预措施,从而提高出院准备度。

3.2 带 T 管的胆管结石患者出院准备度影响因素分析

3.2.1 年龄和文化 本研究显示,年龄与出院准备度呈负相关,文化与出院准备度呈正相关,这与陈晨等^[14]研究结果一致。这可能与患者的健康素养有关,健康素养是个体获取、理解和利用健康信息,以促进和维持健康的重要能力^[15],年龄大、文化程度低的患者

健康素养低^[16]。健康素养低的患者获取疾病知识途径少,对康复训练和 T 管维护知识的理解接受能力弱,出院后难以准确识别、及时处理健康问题,从而影响其疾病预后和再入院率^[17]。而较高健康素养使患者术后能够主动与医护人员沟通反馈,参与医疗决策,积极应对出院后生活及医疗问题^[18]。因此,对于带 T 管的胆管结石患者,尤其是文化水平较低的老年病人,医护人员应进行全面健康教育,并采用床旁演示、视频教学等方式,帮助患者及家属掌握健康教育内容。

3.2.2 陪护 本研究显示,配偶或子女陪护的患者出院准备度往往更高。这与 HYDZIK P 等^[19]研究结果一致。这种差异可能与配偶、子女能够为患者提供综合性支持有关,研究表明,将家属纳入患者疾病管理过程能显著提升患者的出院准备水平^[20],与其它陪护者相比,配偶、子女能提供更全面的经济、照顾和情感支持,提供个性化照顾和支持,促进其积极参与治疗和康复,从而提高出院准备度。因此,医护人员应鼓励家属参与康复和照顾技能学习,加强对非直系亲属陪护患者的关注,评估其需求,制定个性化照护计划。

3.2.3 生活自理能力 本研究显示,生活自理能力是出院准备度的影响因素,生活自理能力越高,出院准备度越好,这与童宇平等^[21]的研究结果一致。本研究中,患者出院时多数为轻度依赖,无重度或无需依赖的情况。生活自理能力是患者自行完成生活活动、处理生活需求的保障,自理能力的降低表明患者需要更多的社会支持或家庭护理服务,出院后无法完成更换引流袋、换药、定期随访等事项,必然会影响出院准备,影响预后康复。因此,出院前,医护人员应提供必要的技能训练和社会资源引导,保障患者顺利过渡到家庭环境并实现最佳康复效果。

3.3 应对效能与出院准备度相关性 本研究显示,应对效能是出院准备度的影响因素,应对效能与出院准备度总分、各个维度均呈正相关。带 T 管的胆管结石患者的应对效能得分为 52(46~56)分,低于国内常模^[7],处于较低水平。出院后,从医护人员协助转变为自主居家护理,患者面临显著的自理能力挑战。研究表明,应对效能是影响患者治疗信念及行为的一个重要因素^[22],应对效能得分低的患者在面对疾病管理的

困难时,易采取被动应对方式,影响对可获得医疗资源的有效利用^[23],从而影响了预期性支持维度。相反,应对效能高的患者敢于正视疾病和治疗的挑战,展现出良好的疾病适应能力^[24],会主动寻求帮助与支持,加速身体机能的恢复和提高治疗成效,从而提高出院准备度。因此,医护人员应及时评估患者的应对效能,关注患者围手术期不同的心理变化,给予家属、同伴支持,加强韧性调控^[25],为出院做好准备。

综上所述,本研究显示,带 T 管的胆管结石患者出院准备度处于尚可水平,并受年龄、文化程度、陪护、生活自理能力、应对效能的影响。临床护理人员可据此信息制定针对性干预策略,提高带 T 管出院患者的出院准备度和护理质量。由于本研究纳入对象仅为 1 家医院的带 T 管的胆管结石患者,样本量不足,未来需要在不同等级医院进行调查研究,以完善研究结果。

参考文献:

[1] 中国研究型医院学会肝胆胰外科专业委员会,国家卫生健康委员会公益性行业科研专项专家委员会. 肝胆管结石病微创手术治疗指南(2019 版)[J]. 中华消化外科杂志,2019,18(5):407-413.

[2] PADMORE G, SUTHERLAND FR, BALL CG. The art and craft of biliary T-tube use[J]. J Trauma Acute Care Surg,2021,91(2):e46-e49.

[3] 陈尔英,张冬群,罗永香,等. 经 T 管瘻道行肝内外胆管取出残留结石并发症相关因素风险预警模型构建与验证[J]. 实用医学杂志,2023,39(15):1961-1965.

[4] NOSBUSCH J M, WEISS M E, BOBAY K L. An integrated review of the literature on challenges confronting the acute care staff nurse in discharge planning[J]. J Clin Nurs,2011,20(5-6):754-774.

[5] TITLER M G, PETTIT D M. Discharge readiness assessment [J]. J Cardiovasc Nurs,1995,9(4):64-74.

[6] 蔡利. 初置管腹膜透析患者出院准备度干预方案的构建及评价[D]. 郑州:郑州大学,2020.

[7] 童辉杰. 应对效能:问卷的编制及理论模型的建构[J]. 心理学报,2005,37(3):413-419.

[8] 马冬花,程康文,丁萍,等. 头颈部肿瘤放疗患者应对方式与自我效能感和健康信念的关系[J]. 中国心理卫生杂志,2019,33(5):363-365.

[9] 肖顺贞. 临床科研设计[M]. 北京:北京大学医学出版社,2003:160.

[10] 侯东哲,张颖,巫嘉陵,等. 中文版 Barthel 指数的信度与效度研究[J]. 临床荟萃,2012,27(3):219-221.

[11] WEISS M E, PIACENTINE L B. Psychometric properties of the readiness for hospital discharge scale[J]. J Nurs Meas,2006,14(3):163-180.

[12] 王冰花. 冠心病患者出院准备度及其影响因素调查研究[D]. 武汉:华中科技大学,2017.

[13] 薛宝梅. 携 T 管胆石症患者出院准备度现状及延续护理方案的构建研究[D]. 青岛:青岛大学,2022.

[14] 陈晨,孙怡雯,张梦月,等. 护患双方对白内障日间手术病人出院准备度评估的差异及影响因素[J]. 护理研究,2023,37(24):4357-4368.

[15] DON N. The evolving concept of health literacy [J]. Soc Sci Med,2008,67(12):2072-2078.

[16] CHO Y I, LEE S D, AROZULLAH A M, et al. Effects of health literacy on health status and health service utilization amongst the elderly[J]. Soc Sci Med,2008,66(8):1809-1816.

[17] INNIS J, BARNESLEY J, BERTA W, et al. Development of indicators to measure health literate discharge practices[J]. J Nurs Care Qual,2017,32(2):157-163.

[18] 栗林,武文贤,王学艳,等. 自我管理和护理依赖在 A 型主动脉夹层术后患者健康素养与出院准备度间的链式中介作用[J]. 护理学杂志,2024,39(2):42-46.

[19] HYDZIK P, KOLARCZYK E, KUSTRZYCKI W, et al. Readiness for discharge from hospital after myocardial infarction: a cross-sectional study[J]. Int J Environ Res Public Health,2021,18(13):6937.

[20] 敖梅,阮舒华,陈日喜. 冠心病患者基于出院评估单的医院-社区-家庭联动延续护理[J]. 护理学杂志,2020,35(18):99-102.

[21] 童宇平,胡婧,王子秀,等. 创伤性颅脑损伤病人出院准备度现状及影响因素[J]. 护理研究,2024,38(8):1467-1472.

[22] WU F L, HOWELL D, FANG Q, et al. Trajectory patterns and factors influencing self-management behaviors in chinese patients with breast cancer[J]. Cancer Nurs,2020,43(2):E105-E112.

[23] 李明士,葛兆霞,许玲. 482 例高血压患者出院准备度及影响因素分析[J]. 护理学报,2018,25(16):34-38.

[24] 王红,王佳佳,单岩,等. 郑州市中青年血液透析患者应对效能感知控制与自我管理间的中介效应分析[J]. 医学与社会,2022,35(6):121-126.

[25] 田佳欢,凡丹,侯婷婷,等. 乳腺癌化疗患者心理韧性发展过程的质性研究[J]. 右江民族医学院学报,2024,46(3):443-445,450.

收稿日期:2024-09-19;修回日期:2024-10-23

(本文编辑 覃洪含)

本文引文格式:梁巨光,韦春莹,黄稳,等.手术室护士围术期非计划性低体温防护知信行现状及影响因素分析[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):182-185,192.

【临床护理】

手术室护士围术期非计划性低体温防护 知信行现状及影响因素分析

梁巨光,韦春莹,黄稳,李巧莉,何万军,蒋国永
(右江民族医学院附属医院,广西 百色 533000)

摘要:目的 通过对百色市多家医院手术室护士进行围术期非计划性低体温(inadvertent perioperative hypothermia, IPH)防护知信行现状进行问卷调查,了解手术室护士对 IPH 防护知信行的现状,以制定今后手术室 IPH 防护措施。方法 采用自行设计的手术室护士 IPH 防护知信行问卷对百色市 163 名手术室护士进行问卷调查,了解其现状及影响因素。结果 百色市手术室护士对 IPH 防护知信行得分为(136.17±13.01)分,处于中等水平。多因素分析结果显示,所在医院级别、职称、参加 IPH 防护培训次数是手术室护士 IPH 防护知信行得分的影响因素,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 百色市手术室护士对 IPH 防护处于中等水平,但仍需加强护士对 IPH 防护的培训,以减少 IPH 的发生,提高护理质量。

关键词:围术期非计划性低体温;低体温防护;手术护士;知-信-行

中图分类号:R473.6 **文献标识码:**C **文章编号:**1001-5817(2025)01-0182-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.032

围术期非计划性低体温(inadvertent perioperative hypothermia, IPH)是指患者在手术的准备、执行及恢复等各阶段中体内核心温度意外下降至 36℃ 以下的状态,这一状况并非基于治疗目的或事先规划,而是作为一种并发症出现^[1]。文献表明^[2],所有麻醉患者都存在 IPH 的风险,IPH 是手术过程中常见但可预防的并发症,发生率为 34.78%~75.3%^[3-5]。患者发生 IPH 后出现手术部位感染、死亡率增加、住院时间更长、30 d 再入院率更高以及其他并发症的风险更大,对患者生命安全造成威胁^[6-9]。正确识别导致 IPH 的术前风险因素和手术室实践、监测温度以及在围术期使用加温装置有助于预防 IPH。手术护士作为手术团队中的重要成员,对于 IPH 的预防具有关键作用,其对 IPH 防护的认识、态度以及所采取的行为将影响手术患者 IPH 及其相关并发症发生的风险。因此,本研究旨在调查百色市手术室护士对患者 IPH 防护的知信行现状及其影响因素,为管理者开展相关干预措施提供参考依据,以期提高护理质量安全。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取百色市 2 家三级甲等综合性医院和 5 家二级甲等综合性医院的手术室护士为研究对象进行问卷调查。纳入标准:①手术室在职护士;②在手术室工作时间>1 年。排除标准:①还在规培轮转期间的护士;②进修生及实习生;③休假期间的护士。本研究已通过医院伦理审批委员会审批(伦理号:YY-FY-LL-2024-271)。

1.2 研究方法

1.2.1 调查工具 ①一般资料调查表:护士性别、年龄、职称、学历、是否为专科护士、职务、手术室工龄、所在医院等级、参加 IPH 防护培训次数等;②自制手术室护士 IPH 防护知信行调查问卷:由研究者根据有关围术期低体温防护指南设计并结合手术室专家的意见和建议,以知信行理论^[10]为框架进行修改编制的手术室护士 IPH 防护知信行调查问卷。问卷共包含知识、信念及行为 3 个维度,共 43 个条目,均采用 Likert 4 级计分法,从非常符合~非常不符合分别赋 1~4 分,得分范围为 43~172 分。其中,知识维度 18 个条目,

基金项目:百色市科学研究与技术开发计划项目(百科 20241523)

第一作者:梁巨光,主管护师,研究方向:外科护理,E-mail:14287322@qq.com

通讯作者:韦春莹,副主任护师,研究方向:急危重症护理,E-mail:514201712@qq.com

得分范围 18~72 分,得分越高,表示手术室护士对 IPH 防护知识的掌握度越高;信念维度 10 个条目,得分范围为 10~40 分,得分越高表示护士对 IPH 防护的信念越高;行为维度 15 个条目,得分范围 15~60 分,分值越高表示护士对 IPH 防护的采取的行为越好。总分 <103 分为护士 IPH 防护知信行水平较差,104~137 分为一般,≥138 分为良好。本研究中该问卷的 Cronbach's α 系数为 0.889,信度较好。

1.2.2 调查方法 采用目的抽样方法,利用问卷星网络平台制作并发放电子问卷。由研究者取得百色市各医院手术室护士长的同意及配合,组织护士们在规定时间内进行问卷填写。本研究共回收问卷 168 份,去除填写时间过短及填写选项完全一致的无效问卷后,最终有效问卷为 163 份,有效回收率为 97.02%。

1.3 统计学方法 本研究采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素分析;计数资料以频数或百分比进行统计描述;多因素分析采用多元线性回归分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 手术室护士 IPH 防护知信行得分情况 163 名手术室护士 IPH 防护知信行问卷得分为(136.17 ± 13.01)分,处于较好水平,见表 1。

表 1 手术室护士 IPH 防护知信行得分情况

($n = 163$)

项目	条目数	条目总分	得分
知识维度	18	18~72	57.59 ± 7.70
信念维度	10	10~40	31.83 ± 4.08
行为维度	15	15~60	46.75 ± 5.99
量表总分	48	43~172	136.17 ± 13.01

注:表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2.2 手术室护士 IPH 防护知信行得分的单因素分析 单因素分析结果显示,在不同年龄、职称、是否为专科护士、职务、手术室工龄、所在医院等级及参加 IPH 防护培训次数上手术室护士 IPH 防护知信行的得分比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.3 手术室护士 IPH 防护知信行得分的多因素分析 以手术室护士 IPH 防护知信行总分作为因变量,将单因素分析中差异有统计学意义的变量作为自变量进行多元线性回归分析,自变量赋值,见表 3。结果显

示,所在医院等级、职称、参加 IPH 防护培训次数是手术室护士 IPH 防护知信行得分的影响因素($P < 0.05$),见表 4。

表 2 手术室护士 IPH 防护知信行得分的单因素分析

($n = 163$)

项目	n	得分	t/F	P
性别			-0.750 ^a	0.457
男	124	134.64 ± 15.29		
女	39	136.65 ± 12.23		
年龄/岁			6.482 ^b	0.002
20~30	63	131.70 ± 13.96		
31~40	81	139.01 ± 11.61		
>40	19	138.89 ± 13.01		
职称			19.342 ^b	<0.001
初级	81	130.42 ± 14.84		
中级	74	141.73 ± 7.44		
高级	8	143.00 ± 7.75		
学历			1.416 ^b	0.246
研究生	2	144.50 ± 6.36		
本科	84	137.45 ± 9.35		
专科	77	134.56 ± 13.01		
是否为专科护士			3.041 ^a	0.003
是	15	145.67 ± 7.56		
否	148	135.21 ± 13.08		
职务			3.231 ^a	0.001
护士长/护理组长	24	143.88 ± 7.94		
无	139	134.84 ± 13.27		
手术室工龄/年			9.079 ^b	<0.001
≤5	55	130.71 ± 13.59		
6~10	47	137.00 ± 13.92		
>10	61	140.46 ± 9.78		
所在医院等级			2.705 ^a	0.008
三级医院	68	139.37 ± 10.06		
二级医院	95	133.88 ± 14.39		
参加 IPH 防护培训次数/次			46.433 ^b	<0.001
0	12	113.83 ± 15.38		
1~2	76	133.09 ± 12.37		
≥3	75	142.87 ± 6.65		

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②a 表示采用 t 检验;b 表示采用 F 检验。

表 3 自变量赋值表

自变量	赋值方式
年龄	20~30 岁=1;31~40 岁=2;>40 岁=3
所在医院等级	三级医院=1;二级医院=2
职称	初级职称=1;中级职称=2;高级职称=3
职务	护士长/护理组长=1;无职务=2
是否是专科护士	是=1;否=2
手术室工龄	≤5 年=1;6~10 年=2;>10 年=3
参加 IPH 防护培训次数	0 次=1;1~2 次=2;≥3 次=3

表 4 手术室护士 IPH 防护知信行得分的多因素分析 ($n=163$)

自变量	B	SE	β	t	P	95% CI
常量	116.63	8.708	—	13.393	<0.001	99.427~133.833
年龄	-2.200	2.048	-0.111	-1.074	0.284	-6.246~1.846
所在医院等级	-5.539	1.546	-0.211	-3.583	<0.001	-8.593~-2.485
职称	4.399	1.720	0.199	2.557	0.012	1.001~7.796
职务	-3.418	2.661	-0.093	-1.285	0.201	-8.674~1.838
是否是专科护士	0.229	3.059	0.007	0.098	0.922	-5.744~6.341
手术室工龄	2.837	1.608	0.184	1.764	0.080	-0.340~6.014
参加 IPH 防护培训次数	10.590	1.282	0.506	8.258	<0.001	8.057~13.123

注: $R^2=0.478$, 调整后 $R^2=0.454$; $F=20.252$, $P<0.001$ 。

3 讨论

3.1 百色市手术室护士对 IPH 防护知信行的现状

本研究发现手术室护士对 IPH 防护的知识水平整体较高,但在信念和行为方面存在不足。这一结果提示,尽管护士具备相关防护知识,但并未完全转化为积极的防护信念和规范的行为实践。这可能受到多种因素的影响,如工作繁忙、资源不足、培训不到位等。其次,手术室护士在 IPH 防护中存在一些认知误区和行为偏差。例如,部分护士对低体温的危害认识不足,或认为现有的防护措施已经足够,导致在实际工作中未能严格执行防护措施。这些认知误区和行为偏差需要通过针对性地教育和培训来纠正。此外,本研究还发现,手术室护士在 IPH 防护中存在一定的认知-行为差距。护士可能对低体温防护的知识掌握较好,但在实际工作中未能完全遵循防护指南,这可能与工作环境、资源限制和护理习惯有关。有研究发现,护士在患者围手术期低体温的管理过程中发挥着重要作用,及时采取有效措施预防患者低体温的发生,可以避免手术相关并发症的发生,保障患者的安全^[11]。HONKAVUO L 等^[12]对 4 家挪威医院的 16 名护士进行访谈,结果显示,IPH 的预防措施未能够系统的在患者身上实施,而护理措施的实施取决于护士的知识和经验,以及他们对患者身体状况和所使用的手术技术的临床和主观评估。因此,百色市手术室护士 IPH 防护的知信行现状还有待改善,医疗机构应加强对护士的培训和教育工作,提高其防护意识和行为,同时优化医院资源配置,为护士提供必要的支持和工具。此外,应关注护士的认知误区和行为偏差,通过持续的质量改进措施,提高围术期非计划性低体温的防护效果。

3.2 不同特征手术室护士 IPH 防护知信行情况

3.2.1 三级医院的护士 IPH 防护水平高于二级医院

医院级别是影响手术室护士对 IPH 防护知信行水平的重要因素,其中三级医院的水平高于二级医院,与邢雪燕等^[13]、董妞等^[14]研究学者的研究结果相似。分析原因可能与以下因素有关:①在资源配置与设施条件上,三级医院通常拥有更多的财政支持和资源投入,

能够购买和配备更先进的医疗设备和仪器,包括用于体温监测和防护的专用设备。在人力资源方面,三级医院也更容易吸引和留住高素质的医护人员,包括具有丰富经验和专业知识的手术室护士。在设施条件上,与二级医院相比,三级医院的手术室设施更为完善,包括温度控制、空气净化、湿度调节等方面,能够更好地为患者提供一个稳定、舒适的手术环境,降低 IPH 的发生风险^[15]。②在培训与教育体系上,在三级医院通常拥有更多的培训机会和资源^[16],能够定期组织手术室护士参加国内外先进的 IPH 防护培训和学术交流活动。这些培训活动不仅涵盖了最新的理论知识和研究成果,还包括了实践操作和案例分析,有助于提升手术室护士的 IPH 防护知信行水平。其次,医院等级对护士防护知信行的影响可能与其对护士的专业培训和职业发展的重视程度有关。三级医院可能更注重护士的继续教育 and 专业发展,提供更多的培训机会和资源,从而提高护士的防护意识和行为。此外,三级医院可能拥有更严格的质量控制和患者安全标准,这要求护士必须具备更高的专业水平。然而,本研究也揭示了医院等级差异背后的深层次问题。在二级医院和一级医院,护士在防护知信行方面的不足可能反映了资源配置的不平等和护理质量的差异。这些医院可能需要加强资源投入,提升护理管理水平,以提高护士的防护能力和患者的安全。医院等级之所以影响护士的防护行为,可能是因为医院等级较高的医院通常有更严格的质量控制和患者安全标准,这要求护士必须具备更高的专业水平和更严格的自我要求。因此,医疗机构应重视资源配置和护理管理,提升二级医院和一级医院的护理质量和安全标准,从而提高护士的防护能力和患者的安全。

3.2.2 护士的职称越高,IPH 防护知信行水平越高

职称作为衡量医护人员专业能力和经验积累的一个重要指标,是护理能力的重要影响因素,影响着优质护理的质量^[17]。本研究结果显示,职称是影响百色市手术室护士对 IPH 防护的知信行水平的影响因素。职称在 IPH 防护方面的知信行水平产生积极影响,护士的

职称越高,IPH 防护的知行水平就越高,与柳王美等^[18]的研究结果相似。表明职称较高的护士通常具有更丰富的专业知识和临床经验,能够更好地理解和执行低体温防护措施。其次,高职护士在防护行为上的优势可能与其在手术室中的角色和责任有关。高职护士往往承担更多的教学和指导职责,这要求她们必须具备更高的专业水平和更严格的自我要求。此外,高职护士可能更频繁地参与专业培训和学术交流,从而不断更新和提升自己的专业知识。然而,本研究也揭示了职称差异背后的深层次问题。低职称护士在防护知行上的不足,可能反映了手术室护理人员在继续教育和专业发展方面的不平等。这种不平等可能导致低职称护士在临床实践中面临更大的挑战,从而影响患者的安全和护理质量。总之,职称是影响手术室护士 IPH 防护知行的重要因素。医疗机构应重视低职称护士的专业发展和继续教育,通过制定针对性的培训计划和晋升机制,提升全体护士的防护意识和行为,从而保障患者安全。

3.2.3 护士参加 IPH 防护培训次数越多,IPH 防护知行水平越高 本研究结果显示,IPH 的培训次数是影响百色市手术室护士对 IPH 防护知行水平的重要因素,护士参加培训次数越多,护士的 IPH 防护知行水平就越高。这一结果表明专业培训在提升护士防护知识和技能方面发挥着关键作用。参加培训次数较多的护士在防护知识、信念和行为上表现更佳,这可能是因为培训有助于护士更好地理解和掌握低体温防护的相关知识和技能。培训作为一种持续专业发展的手段,对于提高手术室护士的防护能力至关重要。通过培训,护士可以了解最新的低体温防护指南和实践,从而提高其防护行为的有效性。此外,培训还有助于增强护士的自信心,使其在围术期护理中更加积极主动地采取防护措施。本研究还发现,参加培训次数与护士的防护行为之间存在正相关关系。这可能是因为培训不仅提供了知识,还提供了实践机会和反馈,这对于将知识转化为实际行为至关重要。然而,本研究也揭示了现实中存在的培训不足问题,特别是在一些基层医院,护士可能缺乏足够的培训机会。但值得注意的是,尽管参加培训次数对防护知行有积极影响,但培训的质量和含量也同样重要。单一的培训形式或内容可能不足以覆盖所有必要的防护知识和技能,因此,多样化的培训方式和内容设计是提高培训效果的关键。因此,医疗机构应重视护士的持续专业发展,提供充足的培训机会,并关注培训的质量和含量,以提升护士的防护能力和患者的安全。

综上所述,百色市手术室护士对 IPH 防护处于中等水平,医院等级、职称、参加 IPH 培训次数是手术室护士 IPH 防护知行得分的重要影响因素。因此,相

关单位管理人员应该完善院内 IPH 相关防护体系,并制定出完整的评估、护理、干预方案,加强护士的系统化培训和考核,提高护理质量。但本研究存在一定的局限性。首先,样本量有限,可能无法全面反映不同地区和医院手术室护士的实际情况。其次,本研究为横断面研究,无法观察护士知信行的动态变化。未来研究可以采用纵向设计,扩大样本量,以更准确地评估护士的知行现状及其变化趋势。

参考文献:

- [1] SANTOS R M D S F, BOIN I F S F, CARUY C A A, et al. Randomized clinical study comparing active heating methods for prevention of intraoperative hypothermia in gastroenterology[J]. Rev Lat Am Enfermagem, 2019, 27: e3103.
- [2] MENZEL M, GROTE R, LEUCHTMANN D, et al. Implementation of a thermal management concept to prevent perioperative hypothermia: Results of a 6-month period in clinical practice[J]. Anaesthesist, 2016, 65(6): 423-429.
- [3] YANG H Q, GU S, FAN J, et al. Factors influencing the occurrence of intraoperative hypothermia in patients undergoing general anesthesia intervention: a study in a tertiary care hospital[J]. Med Sci Monit, 2024, 30: e943463.
- [4] MENDONCA F T, FERREIRA J D S, GUILARDI V H F, et al. Prevalence of inadvertent perioperative hypothermia and associated factors: a cross-sectional study[J]. Ther Hypothermia Temp Manag, 2021, 11(4): 208-215.
- [5] WONGYINGSINN M, POOKPRAYOON V. Incidence and associated factors of perioperative hypothermia in adult patients at a university-based, tertiary care hospital in Thailand[J]. BMC Anesthesiol, 2023, 23(1): 137.
- [6] 刘燕梅,李莲英,李雪清. 术中低体温的危险因素和防护措施研究进展[J]. 护士进修杂志, 2020, 35(5): 440-443.
- [7] 莫恒清,莫海燕,叶达明. 腹腔镜下妇科肿瘤切除术中低体温发生风险预测模型的构建[J]. 循证护理, 2024, 10(12): 2190-2194.
- [8] NIAZ R, SAEED M, KHAN H, et al. Efficacy and safety of oral gnRH antagonists in patients with uterine fibroids: a systematic review[J]. J Obstet Gynaecol Can, 2022, 44(12): 1279-1288.
- [9] GARCEAU C, COSGROVE M S, GONZALEZ K. Inadvertent perioperative hypothermia[J]. AANA J, 2023, 91(4): 303-309.
- [10] 汝骅. 学校健康教育“知行模式”理论与实践[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2011.
- [11] 李娜,张宇婷. 知行模式对手术室护士围术期非计划性低体温防护认知和行为的影响[J]. 中国医药指南, 2022, 20(13): 9-12.
- [12] HONKAVUO L, LOE SAK. Nurse anesthetists' and operating theater nurses' experiences with inadvertent hypothermia in clinical perioperative nursing care[J]. J Perianesth Nurs, 2020, 35(6): 676-681.

(下转第 192 页)

本文引文格式:罗桂荣,罗前颖,李丽娟,等.心脏外科手术患者运动恐惧现状及影响因素分析[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):186-192.

【临床护理】

心脏外科手术患者运动恐惧现状及影响因素分析

罗桂荣¹,罗前颖²,李丽娟³,林珊珊¹,刘效刚²,何银连¹,李燕飞¹,陈宏明¹,罗世官¹,罗春苗⁴

1. 右江民族医学院附属医院心胸血管外科,广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院护理学院,广西 百色 533000;
3. 桂林医学院护理学院,广西 桂林 541104;
4. 右江民族医学院附属医院重症医学科,广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨心脏外科手术患者运动恐惧现状,并分析其影响因素,为促进患者术后康复锻炼提供借鉴。方法 采用便利抽样法,选取 2021 年 8 月至 2022 年 12 月广西百色市 2 所三级甲等医院就诊的 200 例心脏外科手术患者作为研究对象。在患者手术后第 7 天采用一般资料问卷、心脏病患者运动恐惧量表、疼痛数字评分表、医院焦虑抑郁量表、疾病感知问卷简版、医学应对方式问卷进行调查。结果 共纳入心脏外科手术患者 200 例,运动恐惧发生率为 72.00%。多因素回归分析结果显示,疼痛、焦虑、应对方式中的面对维度和屈服维度是心脏外科手术患者运动恐惧的影响因素($P < 0.05$)。结论 疼痛、焦虑、采用屈服应对方式的患者出现运动恐惧的概率较大,医护人员要早期识别运动恐惧的影响因素,采取有针对性的干预策略,以降低患者的运动恐惧。

关键词:心脏手术;运动恐惧;影响因素

中图分类号:R473.6

文献标识码:C

文章编号:1001-5817(2025)01-0186-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.033

心脏病是常见的循环系统疾病,2022 年我国心脏病人数 3 466 万,发病率仍持续上升,已成为研究的热点^[1]。外科手术是其主要的治疗手段,我国 2022 年心脏大血管外科手术超过 26 万例^[2]。早期运动是心脏术后康复的重要内容,指南^[3]建议,心脏手术后患者应及早进行运动锻炼,但目前早期活动的具体时间仍存在争议,主要依据患者术后恢复情况。研究表明^[4-5],心脏术后患者早期运动的现状不尽如人意,参与运动锻炼的依从性很不乐观,与运动恐惧密切相关。运动恐惧是指患者由于对身体活动产生不适的错误认知而对运动锻炼产生恐惧心理^[6]。运动恐惧不仅降低心脏术后患者参与运动锻炼的积极性^[7],而且还会影响术后康复,增加不良心血管事件的发生和术后死亡率^[4],不良心血管事件的发生则又会导致患者对运动锻炼产生恐惧心理。目前国内外就心脏外科手术患者运动恐惧的研究较少,与之相关的影响因素。根据“恐惧—回避”模型^[8]可知,疼痛是慢性疼痛患者运动恐惧的主要影响因素。此外,现有的研究发现,焦虑和抑郁^[9]、疾病感知^[10]、应对方式^[11]分别被认为是慢性腰痛、下肢关节置换及冠心病患者运动恐惧的影响因素,但在心脏外科手术患者中尚未见报道,因此将上述影响因素

纳入本研究。通过调查心脏外科手术患者运动恐惧现状,并探讨相关的影响因素,以为临床一线开展该类患者运动恐惧的干预研究提供参考。

1 对象与方法

1.1 调查对象 采用便利抽样的方法,选取 2021 年 8 月至 2022 年 12 月在百色市 2 所三级甲等医院初次行心脏外科手术的 200 例患者作为调查对象。纳入标准:①初次行心脏手术后第 7 天的患者(采用医院的电子病历信息系统查阅以往行心脏手术患者术后下床活动的最迟天数);②年龄 ≥ 18 岁;③意识清楚,沟通、语言表达清楚,能配合完成问卷者;④知情同意,自愿参加本研究。排除标准:①患有痴呆或其他精神病史者;②伴有严重躯体活动障碍或存在其他疾病无法正常活动者(如静脉血栓、骨折、关节炎等)。本研究通过右江民族医学院伦理委员会审批(2021062604)。样本量根据公式:本研究按双侧检验水准取 0.05,检验效能取 0.80,容许误差控制在 1.5,经查阅文献,患者运动恐惧得分标准差为 9.62^[12],计算样本量为 158 例,考虑 20% 的问卷无效应答,样本量为 198 例,本研究最终纳入 200 例。

1.2 调查方法

第一作者:罗桂荣,硕士,主管护师,研究方向:心脏外科护理,E-mail:501297231@qq.com

通讯作者:罗前颖,主任护师,研究方向:外科护理、护理教育,E-mail:664392749@qq.com

1.2.1 调查工具

1.2.1.1 一般资料调查表 研究小组成员结合研究目的设计,一般资料调查表内容包括研究对象的性别、年龄、文化程度、职业状态、居住地、家庭平均月收入、付费方式、婚姻状态、心功能分级、体质指数、手术类型、手术方式、手术后并发症。

1.2.1.2 心脏病患者运动恐惧量表 心脏病患者运动恐惧量表(Tampa scale for kinesiophobia heart, TSK-SV Heart)是由 BÄCK M 等^[13]于 2012 年在坦帕运动恐惧量表的基础上改编而成,2019 年我国雷梦杰等^[14]汉化,用于测评心脏病患者惧怕运动的程度,此量表由 4 个维度,包括危险感知、运动恐惧、运动回避和功能紊乱,共计 17 个条目组成,每个条目从 1 分(完全不同意)~4 分(完全同意)计分,总分 17~68 分,以 37 分为临界值,总分>37 分则说明患者存在运动恐惧。该量表总的 Cronbach's α 为 0.859,各维度的 Cronbach's α 为 0.743~0.824,具有较好的信效度。

1.2.1.3 疼痛数字评分表 疼痛数字评分表(numerical rating scale, NRS)是临床上广泛应用于评估患者疼痛水平的单维度评估工具,实施简单且易于理解,适用于年老和不同文化程度的患者,具有良好的敏感性^[15]。NRS 由 11 个从 0~10 的数字组成,从低到高的数字表示无痛到最痛,0 代表不痛,10 代表最痛,其中,1~3 分(轻度疼痛),4~6 分(中度疼痛),7~10 分(重度疼痛)。患者可以根据自己在运动锻炼过程中产生的疼痛程度从 11 个数字中勾选出一个最能代表自己疼痛程度最强的数值。

1.2.1.4 医院焦虑抑郁量表 医院焦虑抑郁量表(hospital anxiety and depression scale, HADS)由 ZIGMOND A S 等^[16]于 1983 年编制,1993 年叶维菲等^[17]汉化并引入国内,HADS 作为普适量表,被广泛应用于临床评估住院患者的焦虑和抑郁水平。HADS 由焦虑和抑郁 2 个分量表、共 14 个条目组成。每个条目均采用 Likert 4 级评分法,0~3 分,将每个分量表所有条目叠加即得出分量表的总分,每个分量表的总分为 0~21 分,总分 ≥ 8 分表示患者出现焦虑或抑郁。该量表的总体及分量表的 Cronbach's α 系数分别为 0.879、0.806、0.806,具有良好的信效度。

1.2.1.5 疾病感知问卷简版 疾病感知问卷简版^[18](brief illness perception questionnaire, BIPQ)由 Broadbent 等 2006 年在前人基础上编制,用于评估患者对疾病的感受和认知程度。BIPQ 包括 3 个维度(认知维度、情绪维度、理解维度),共 9 个条目,第 1~8 条目每个条目均采用 0~10 分计分,其中第 3、4、7 条目

进行反向计分,条目 9 是开放式问题,调查对象可以依据自身的理解填写出导致该疾病发生的主要 3 个影响因素。该量表总分最低是 0 分,最高分为 80 分,总分越高则表明患者负性感知越多,感受疾病症状也就越严重。该量表的 Cronbach's α 为 0.81,具有良好的信效度。

1.2.1.6 医学应对方式问卷 医学应对方式问卷(medical coping modes questionnaire, MCMQ)于 1987 年,FEIFEL H 等^[19]编制,沈晓红等^[20]于 2000 年中文版条目的修订并引入国内,用来评估患者对于疾病的应对方式特点。MCMQ 包括 3 个维度(面对维度、回避维度和屈服维度),共 20 个条目。每个条目均以 1~4 分计分,将该维度所有相应条目得分相加即可得到该维度的总分,维度的总分越高,则代表患者越趋于采取该应对方式。该量表各维度的重测信度 Cronbach's α 系数分别为 0.64、0.85、0.67。

1.2.2 资料收集方法 研究者首先学习并掌握量表的内容及调查方法,在患者手术后第 7 天,病情平稳的前提下开展调查研究。向患者及家属阐明本次调查的目的、注意事项,并在征得患者知情同意后现场发放问卷。采用一对一、不记名的方式由患者独立填写,研究者不能使用任何暗示性语言。对于不能独立完成的患者,研究者逐条询问并记录。问卷当场发放、当场收回,如有错漏项当场补全后收回。本研究共发放 200 份调查问卷,回收 200 份有效问卷,问卷的有效回收率达 100%。

1.3 统计学方法 本次调查获取的数据使用 SPSS 25.0 进行统计学处理。患者的一般资料数据采用描述性统计分析,计数资料以例数(n)、率(%)来描述;定量资料符合正态分布采用 t 检验,用($\bar{x} \pm s$)来描述;不符合正态分布,则采用中位数、四分位数描述。运动恐惧的单因素分析采用 χ^2 检验。运动恐惧与各量表的相关性采用 Spearman 相关分析法。采用二元 Logistic 回归分析心脏外科手术患者运动恐惧的影响因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心脏外科手术患者运动恐惧的发生现况 200 例心脏外科手术患者中,运动恐惧总分 26~58 分,平均得分为(42.27 ± 6.08)分,发生率为 72.00%(144 例)。

2.2 心脏外科手术患者运动恐惧的单因素分析 患者有无运动恐惧在年龄、居住地、文化程度、家庭平均月收入、NYHA 心功能分级、手术后并发症方面差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 心脏外科手术患者运动恐惧的单因素分析

项目	例数 (<i>n</i> = 200)	有运动恐惧 (<i>n</i> = 144)	无运动恐惧 (<i>n</i> = 56)	χ^2	<i>P</i>
性别				2.592	0.107
男	89(44.50)	59(40.97)	30(53.57)		
女	111(55.50)	85(59.03)	26(46.43)		
年龄/岁				6.727	0.035
<45	59(29.50)	36(25.00)	23(41.07)		
45~	102(51.00)	75(52.08)	27(48.21)		
≥60	39(19.50)	33(22.92)	6(10.71)		
婚姻				2.564	0.109
未婚、离异、丧偶	31(15.50)	26(18.06)	5(8.93)		
已婚	169(84.50)	118(81.94)	51(91.07)		
文化程度				10.354	0.016
小学及以下	124(62.00)	99(68.75)	25(44.64)		
初中	41(20.50)	24(16.67)	17(30.36)		
高中及中专	22(11.00)	14(9.72)	8(14.29)		
大专及以上	13(6.50)	7(4.86)	6(10.71)		
居住地				5.826	0.016
农村	155(77.50)	118(81.94)	37(66.07)		
城镇	45(22.50)	26(18.66)	19(33.93)		
家庭平均月收入/元				17.053	<0.001
≤1 000	78(39.00)	67(46.53)	11(19.64)		
1 001~	89(44.50)	61(42.36)	28(50.00)		
≥3 001	33(16.50)	16(11.11)	17(30.36)		
付费方式				0.540	0.462
城镇医疗保险	180(90.00)	131(90.97)	49(87.50)		
职工医保	20(10.00)	13(9.03)	7(12.50)		
职业状态				3.988	0.263
务农	130(65.00)	98(68.06)	32(57.14)		
退休	11(5.50)	7(4.86)	4(7.14)		
在岗	20(10.00)	11(7.64)	9(16.07)		
其他	39(19.50)	28(19.44)	11(19.64)		
NYHA 心功能分级				4.074	0.044
Ⅱ级及以下	95(47.50)	62(43.06)	33(58.93)		
Ⅲ级及以上	105(52.50)	82(56.94)	23(41.07)		
手术后并发症				3.985	0.046
无	148(74.00)	101(70.14)	47(83.93)		
有	52(26.00)	43(29.96)	9(16.07)		
BMI/(kg·m ⁻²)				0.428	0.807
<18.5	33(16.50)	24(16.67)	9(16.07)		
18.5~	122(61.00)	86(59.72)	36(64.29)		
≥24	45(22.50)	34(23.61)	11(19.64)		
手术类型				4.794	0.309
冠脉搭桥	34(17.00)	28(19.44)	6(10.71)		
双瓣置换	46(23.00)	33(22.92)	13(23.21)		
单瓣置换	69(34.50)	51(35.42)	18(32.14)		
大血管手术	11(5.50)	8(5.56)	3(5.36)		
其他(先天性心脏病、黏液瘤)	40(20.00)	24(16.66)	16(28.57)		
手术方式				3.565	0.059
正中开胸	172(86.00)	128(88.89)	44(78.57)		
微创手术	28(14.00)	16(11.11)	12(21.43)		

注:表内计数资料数据用[*n*(%)]表示。

2.3 心脏外科手术患者运动恐惧与疼痛、焦虑和抑郁的关系 χ^2 检验结果显示,无运动恐惧与有运动恐惧的心脏手术患者在不同疼痛、焦虑、抑郁水平间存在显著差异($P < 0.001$),见表 2。

表 2 心脏外科手术患者运动恐惧在疼痛、焦虑和抑郁量间的差异

项目	例数 ($n=200$)	有运动恐惧 ($n=144$)	无运动恐惧 ($n=56$)	χ^2	P
疼痛				50.780	<0.001
轻度	42(21.00)	12(8.33)	30(53.57)		
中度	105(52.50)	85(59.03)	20(35.71)		
重度	53(26.50)	47(32.64)	6(10.71)		
焦虑				28.724	<0.001
无	141(70.50)	86(59.72)	55(98.21)		
有	59(29.50)	58(40.28)	1(1.79)		
抑郁				23.195	<0.001
无	139(69.50)	86(59.72)	53(94.64)		
有	61(30.50)	58(40.28)	3(5.36)		

注:表内计数资料数据用[$n(\%)$]表示。

2.4 心脏外科手术患者运动恐惧与各量表的相关性分析 Spearman 相关分析结果显示,心脏外科手术患者运动恐惧与疼痛、焦虑、抑郁、疾病感知中的认知维度、应对方式中的回避维度和屈服维度呈正相关($P < 0.001$);与应对方式中的面对维度呈负相关($P < 0.001$),见表 3。

2.5 心脏外科手术患者运动恐惧多因素的二元 Logistic 回归分析 运用二元 Logistic 回归对心脏外科手术患者运动恐惧的影响因素进行分析。霍斯默-莱梅肖检验 $P = 0.706 > 0.05$,回归分析的模型预测值与实测值拟合度为 86.0%,说明模型拟合结果可以解释

心脏外科手术患者运动恐惧影响因素的作用效果,见表 4。将有无运动恐惧作为因变量,将一般资料单因素分析中 $P \leq 0.05$ 的变量和疼痛分值、焦虑分值、抑郁分值、疾病感知中的认知维度分值及医学应对方式问卷各维度分值作为二元 Logistic 回归分析中的自变量,其中连续型自变量以实测值代入,分类变量的具体赋值,见表 5。二元 Logistic 回归分析结果表明,心脏外科手术患者运动恐惧的独立影响因素包括疼痛、焦虑、应对方式中的面对维度和屈服维度($P < 0.05$),见表 6。

表 3 心脏外科手术患者运动恐惧与各量表的相关性分析

项目	得分	r_s	P
疼痛	6(4,7)	0.577	<0.001
焦虑	6(4,8)	0.507	<0.001
抑郁	5(3,9)	0.537	<0.001
疾病感知问卷			
认知维度	33(29,37)	0.235	<0.001
情绪维度	4(2,7)	-0.034	0.631
理解维度	14(11,16)	0.041	0.563
应对方式问卷			
面对维度	15(13,18)	-0.303	<0.001
回避维度	16(15,18)	0.240	<0.001
屈服维度	9(8,11)	0.283	<0.001

表 4 回归方分析模型预测值与实际值拟合程度

实测	有无运动恐惧		正确百分比
	无	有	
有无运动恐惧			
无	41	15	73.21
有	13	131	0.97
总体百分比			86.00

表 5 自变量赋值表

变量名称	赋值方式
年龄	<45=0;45~=1;≥60=2
文化程度	小学及以下=0;初中=1;高中及中专=2;大专及以上=3
家庭月收入/元	<1000=0;1001~=1;≥3001=3
居住地	农村=0;城镇=1
NYHA 心功能分级	Ⅱ级及以下=0;Ⅲ级及以上=1
手术后并发症	无=0;有=1

表 6 心脏外科手术患者运动恐惧影响因素的二元 Logistic 回归分析 ($n=200$)

自变量	b	SE	χ^2	P	OR	95% CI
常量	-4.944	2.731	3.277	0.070	—	—
年龄/岁			2.584	0.275		
45~	-1.047	0.867	1.457	0.227	0.351	0.064~1.921
≥60	-1.352	0.842	2.580	0.108	0.259	0.050~1.347

表 6(续) 心脏外科手术患者运动恐惧影响因素的二元 Logistic 回归分析 ($n=200$)

自变量	<i>b</i>	<i>SE</i>	χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
文化程度			2.389	0.496		
初中	0.356	0.983	0.131	0.717	1.428	0.208~9.797
高中	-0.612	0.966	0.402	0.526	0.542	0.082~3.599
大专及以上	-0.320	1.033	0.096	0.757	0.726	0.096~5.479
居住地(城镇)	0.582	0.639	0.829	0.363	1.789	0.511~6.259
家庭月收入/元			0.572	0.751		
1001~	0.698	0.923	0.572	0.449	2.009	0.329~12.259
≥ 3001	0.460	0.787	0.342	0.559	1.584	0.339~7.411
心功能Ⅲ级及以上	-0.291	0.513	0.323	0.570	0.747	0.274~2.041
并发症(有)	-0.910	0.701	1.682	0.195	0.403	0.102~1.592
疼痛	0.400	0.161	6.156	0.013	1.492	1.088~2.047
焦虑	0.244	0.121	4.063	0.044	1.276	1.007~1.618
抑郁	0.160	0.117	1.890	0.169	1.174	0.934~1.476
疾病感知(认知维度)	-0.029	0.046	0.407	0.523	0.971	0.888~1.062
疾病感知(情绪维度)	0.101	0.117	0.748	0.387	1.107	0.934~1.476
疾病感知(理解维度)	-0.088	0.089	0.968	0.325	0.916	0.769~1.091
应对方式(面对维度)	-0.239	0.086	7.712	0.005	0.788	0.668~0.666
应对方式(屈服维度)	0.554	0.132	17.720	<0.001	1.740	1.345~2.252
应对方式(回避维度)	-0.014	0.128	0.013	0.911	0.986	0.767~1.091

3 讨论

3.1 心脏外科手术患者运动恐惧发生率高 本研究中心脏外科手术患者运动恐惧得分为(42.27±6.08)分,运动恐惧发生率为72.0%,高于马富珍等^[21]对心脏瓣膜置换手术患者的调查报告(59.2%),可能与研究对象的来源和受教育程度有关。本研究76.0%的患者来自农村,因担心治疗费用给整个家庭带来沉重的经济负担^[22],从而强化对自身身心健康状况的担忧与恐惧。59.0%的患者文化程度为小学及以下,因文化水平不高、健康素养低、缺乏疾病相关知识,患者反复经历疾病急性发作所产生的严重而不愉快症状体验,如呼吸困难、剧烈疼痛,甚至休克、呼吸心跳骤停等,因此对运动锻炼产生的胸部不适更为警觉和抵触,增加恐惧心理,从而不敢甚至拒绝运动锻炼。此外,虽然心脏康复(Cardiac rehabilitation, CR)给心脏外科手术患者带来的益处毋庸置疑,但由于我国经济发展不平衡、城乡发展差距较大,公众对CR普遍存在低知晓率^[23]、低参与率^[7]。患者对CR并不了解,没有通过运动康复切实体会到运动锻炼带来的益处,因此对手术后运动锻炼的安全性存在质疑、矛盾和恐惧心理,从而拒绝或回避运动锻炼,导致较高的运动恐惧发生率。这提示医护人员在工作中要及早识别患者运动恐惧心理,重视运动恐惧心理带来的负面影响。积极开展健康教育,使患者认识到术后运动锻炼的重要性,并根据患者的实际情况,制定个性化的运动锻炼干预方案,降低患者运动恐惧,提高运动锻炼的积极性。

3.2 心脏外科手术患者运动恐惧的影响因素

3.2.1 疼痛 本次调查发现,疼痛是心脏外科手术患者运动恐惧重要的影响因素,患者在活动过程中经历

的疼痛分值越高,越容易产生运动恐惧,这与宋晓梅等^[24]、FAGEVIK OLSÉN M 等^[25]的研究结果相一致。疼痛是一种个体与实际或潜在组织损伤相关的不愉快感觉和情感体验,或与此类似的经历^[26]。高达79.0%的心脏外科手术患者在活动过程中经历了中度及以上疼痛,整体的疼痛负担较为严重。疼痛不仅降低了患者术后的活动能力,而且还可导致急性期并发症的发生以及生活质量的下降。研究表明^[27],患者自身疼痛程度可以直接影响其对运动的恐惧。目前,大部分的心脏外科手术患者仍主要采用正中胸骨切口的经典术式。劈开胸骨致肋间神经损伤是导致患者手术后持续性疼痛最主要的原因,由于心脏手术解剖结构复杂、创伤大,术后创伤疼痛对患者日常活动能力造成严重困扰^[28],患者常会夸大其对实际疼痛的负面认知,导致回避活动或恐惧运动。提示构建多学科疼痛管理包括外科医师、麻醉医师、护理人员等多学科合作对心脏术后患者的疼痛管理干预十分必要,此外还可通过采取有针对性的预防镇痛措施以减轻患者的术后疼痛。未来还应结合专业指导的心脏康复师、心理治疗师等多学科团队,应用认知行为干预疗法、合理运动干预、社会支持干预等措施,从而促进患者的功能活动,促进心脏康复。

3.2.2 焦虑、抑郁 焦虑、抑郁是心脏手术患者常见的负性情绪,本次调查发现,29.0%的患者存在抑郁情绪,29.5%的患者出现焦虑情绪。曹红等^[29]对心脏手术后患者合并抑郁和焦虑状况的调查显示,大约1/3的患者术后同时出现抑郁和焦虑情绪。TROCOLI T O 等^[30]研究发现,运动恐惧与焦虑、抑郁互为影响因素,焦虑、抑郁可以增加患者对疼痛的敏感性,间

接通过疼痛灾难化促使运动恐惧的产生。由于调查的人群、时间、地点,以及运用的研究工具不同,上述研究结果与本次调查结果略有不同。本研究显示,焦虑是心脏外科手术患者运动恐惧的重要影响因素,与国内外研究的结果一致^[24-25]。分析其原因,心脏外科手术患者手术复杂、住院费用高且手术出院后仍需长期规律服药和定期复检,给患者的生活、工作带来诸多不便,患者担忧自己给整个家庭带来沉重的经济和情感上的压力,是他人负担的心理感受,从而产生焦虑、自责等负性情绪^[22]。此外,研究还表明心因性焦虑在疼痛与运动恐惧之间发挥链式中介效应^[31],疼痛刺激本身会带给患者心理不适感,若把疼痛误解为灾难,则会增强心理不适感,加重患者焦虑,导致患者运动恐惧水平高,如此反复陷入恶性循环。本研究中单因素分析发现,抑郁与运动恐惧密切相关,但在二元 Logistic 回归分析结果中却未能得到证实。未来应进一步探索心脏手术患者抑郁与运动恐惧相关性的研究。

3.2.3 应对方式 本研究发现,面对维度和屈服维度是心脏外科手术患者运动恐惧的主要影响因素。患者采用面对的应对方式,运动恐惧水平就越低,而采取屈服的应对方式,运动恐惧水平越高,与赵政^[32]对腰椎退行性病变患者研究的结果一致,但与秦静雯等^[33]、崔贵璞等^[11]对心脏病患者应对方式的研究结果存在差异。可能的原因为,屈服是消极的应对方式,可以直接削弱患者主动寻求与疾病相关信息的能力。患者对手术治疗及手术后的康复缺乏足够的认知,故多采取听天由命、委曲求全及屈服的应对方式^[34],增加了运动恐惧心理。此外,本研究对象大部分来自农村,家庭经济收入低,面对巨额医疗费用及较长的住院时间^[34],患者往往觉得自己是家人的负担,更容易产生自责和愧疚心理,从而采取屈服的应对方式。而这种消极的应对方式会降低患者的治疗热情,还会增加患者的心理负担,阻碍疾病的康复^[35]。面对是积极的应对方式,可以增加患者对手术后运动康复锻炼的信心,并主动寻求支持,从而减轻运动恐惧心理。目前,应对方式与运动恐惧的相关性研究较为缺乏,研究结果存在差异,两者的相关性有待进一步确认,以便为减少患者运动恐惧提供对策。

4 小结

心脏外科手术患者运动恐惧发生率高。疼痛、焦虑、应对方式(面对维度、屈服维度)是患者运动恐惧的独立影响因素;疼痛分值越高、焦虑情绪和采用屈服应对方式的患者越容易对运动锻炼产生恐惧;而采取面对的应对方式的运动恐惧发生率越低。临床一线的工作人员可以依据上述影响因素制定有针对性的干预策略,以降低心脏手术后患者的运动恐惧,促进其运动锻炼的参与,将手术后的运动锻炼转化为长期性的

体力活动,从而有利于术后的康复。本研究二元 Logistic 回归分析结果中未能观察到患者一般资料与运动恐惧的关系,存在一定的局限,且仅对 2 家三级甲等医院进行调查,未来可开展大样本多中心的调查研究并结合质性访谈等,从多方面探索心脏手术后患者运动恐惧的形成原因,丰富研究结果;开展纵向调查研究,明确运动恐惧随时间变化的轨迹,为临床寻找最佳的干预时间点提供依据。

参考文献:

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要[J]. 心脑血管病防治, 2022, 22(4): 20-36, 40.
- [2] 中国生物医学工程学会体外循环分会, 侯晓彤. 2022 年中国心血管外科手术和体外循环数据白皮书[J]. 中国体外循环杂志, 2023, 21(4): 197-200.
- [3] MERTES P M, KINDO M, AMOUR J, et al. Guidelines on enhanced recovery after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass or off-pump[J]. Anaesth Crit Care Pain Med, 2022, 41(3): 101059.
- [4] TSUCHIKAWA Y, TOKUDA Y, ITO H, et al. Impact of early ambulation on the prognosis of coronary artery bypass grafting patients[J]. Circ J, 2023, 87(2): 306-311.
- [5] VAN LAAR C, TIMMAN S T, NOYEZ L. Decreased physical activity is a predictor for a complicated recovery post cardiac surgery[J]. Health Qual Life Outcomes, 2017; 15(1): 5.
- [6] LUQUE-SUAREZ A, MARTINEZ-CALDERON J, FAL-LA D. Role of kinesiophobia on pain, disability and quality of life in people suffering from chronic musculoskeletal pain: a systematic review[J]. Br J Sports Med, 2019, 53(9): 554-559.
- [7] 李玲, 宗玉珍, 刘遵季. 心脏术后患者运动恐惧与康复运动依从性现状及其相关性[J]. 现代临床护理, 2022, 21(6): 15-19.
- [8] VLAEYEN J W S, CROMBEZ G, LINTON S J. The fear-avoidance model of pain[J]. Pain, 2016, 157(8): 1588-1589.
- [9] 潘丽, 史宝欣. 慢性腰痛患者恐动症现状及其影响因素研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(8): 978-982.
- [10] 唐佳惠. 下肢关节置换患者恐动症现状及影响因素分析[D]. 大连: 大连医科大学护理, 2021.
- [11] 崔贵璞, 雷梦杰. 冠心病患者运动恐惧相关影响因素的研究[J]. 天津护理, 2019, 27(3): 293-298.
- [12] 马鲁位, 李方, 崔朝妹. 心脏外科术后 ICU 患者恐动症现状及对术后康复的影响[J]. 齐鲁护理杂志, 2023, 29(2): 37-40.
- [13] BÄCK M, JANSSON B, CIDER A, et al. Validation of a questionnaire to detect kinesiophobia (fear of movement) in patients with coronary artery disease[J]. J Rehabil Med, 2012, 44(4): 363-369.

- [14] 雷梦杰,刘婷婷,熊司琦,等.心脏病患者运动恐惧量表的汉化及信度效度检验[J].中国护理管理,2019,19(11):1637-1642.
- [15] LAI V K W,HO K M,WONG W T,et al.Effect of pre-operative education and ICU tour on patient and family satisfaction and anxiety in the intensive care unit after elective cardiac surgery: a randomised controlled trial[J].BMJ Qual Saf,2021,30(3):228-235.
- [16] ZIGMOND A S,SNAITH R P.The hospital anxiety and depression scale[J].Acta Psychiatr Scand,1983,67(6):361-370.
- [17] 叶维菲,徐俊冕.100例住院心脏病病人的焦虑抑郁调查[J].上海精神医学,1993,5(4):253-255,248.
- [18] 崔艳萍.消化系统癌症患者癌症复发恐惧程度的病例对照研究[D].唐山:华北理工大学,2022.
- [19] FEIFEL H,STRACK S,NAGY V T.Coping strategies and associated features of medically ill patients[J].Psychosom Med,1987,49(6):616-625.
- [20] 沈晓红,姜乾金.医学应对方式问卷中文版701例测试报告[J].中国行为医学科学,2000(1):18-20.
- [21] 马富珍,刘长芬,郑栋莲,等.心脏瓣膜置换术后患者 I 期康复运动恐惧现状及影响因素分析[J].当代护士:中旬刊,2022,29(10):130-133.
- [22] 陈胜男,张迎红,黎茂琴,等.老年患者冠脉搭桥术后自我感受负担及影响因素研究[J].现代预防医学,2020,47(3):466-470.
- [23] 中华医学会心血管病学分会,中国康复医学会心血管病专业委员会,中国老年学学会心脑血管病专业委员会.冠心病康复与二级预防中国专家共识[J].中华心血管病杂志,2013,41(4):267-275.
- [24] 宋晓梅,马素慧,彭艳婷,等.基于结构方程模型的冠心病患者运动恐惧影响因素分析[J].护理学杂志,2022,37(12):64-67,78.
- [25] FAGEVIK OLSÉN M,SLOBO M,KLARIN L,et al.Physical function and pain after surgical or conservative management of multiple rib fractures - a follow-up study [J].Scand J Trauma Resusc Emerg Med,2016,24(1):128.
- [26] RAJA S N,CARR D B,COHEN M,et al.The revised International Association for the Study of Pain definition of pain;concepts,challenges,and compromises[J].Pain,2020,161(9):1976-1982.
- [27] 陈玉倩.长沙市全髋关节置换术患者恐动症现状及影响因素分析[D].长沙:湖南师范大学护理学,2020.
- [28] CHOINIÈRE M,WATT-WATSON J,CHARLES VICTOR J,et al.Prevalence of and risk factors for persistent postoperative nonanginal pain after cardiac surgery: a 2-year prospective multicentre study[J].CMAJ,2014,186(7):E213-E223.
- [29] 曹红,王楚耘,袁润,等.心脏手术后患者合并抑郁和焦虑状况分析[J].中国分子心脏病学杂志,2022,22(6):5023-5026.
- [30] TROCOLI T O,BOTELHO R V.Prevalence of anxiety, depression and kinesiophobia in patients with low back pain and their association with the symptoms of low back spinal pain[J].Rev Bras Reumatol Engl Ed,2016,56(4):330-336.
- [31] 王颖颖,张静,孙玉静,等.疼痛灾难化、心因性焦虑在急性冠状动脉综合征患者疼痛与运动恐惧间的链式中介效应[J].护理管理杂志,2024,24(2):103-107.
- [32] 赵政,杨琴,杨慧敏,等.腰椎退行性病变疼痛患者恐动症现状及影响因素调查分析[J].中国卫生统计,2019,36(5):718-721.
- [33] 秦静雯,熊娟娟,潘鑫,等.老年慢性心力衰竭患者运动恐惧现状及影响因素分析[J].中华护理杂志,2022,57(4):408-414.
- [34] 潘永毅,谢文鸿,李梅,等.体外循环心脏瓣膜术后患者应对方式与疾病不确定感的相关性分析[J].护理管理杂志,2017,17(2):98-100.
- [35] 吴小钦,欧玉兰.冠心病病人风险感知与医学应对方式的相关性[J].护理研究,2017,31(33):4305-4307.

收稿日期:2024-08-29;修回日期:2024-11-18

(本文编辑 覃黎黎)

(上接第 185 页)

- [13] 邢雪燕,高志峰,涂淑敏,等.手术室护士与麻醉护士围术期低体温防护知信行的调查研究[J].重庆医学,2023,52(8):1225-1229.
- [14] 董妞,商临萍,付秀荣,等.手术室护士围术期非计划性低体温防护知信行调查及分析[J].中国护理管理,2017,17(10):1414-1418.
- [15] 赵洪莉,迟俊涛.二级医院手术室护士围术期低体温防治现状的质性研究[J].菏泽医学专科学校学报,2021,33(4):43-45.
- [16] 钟博华,杨丽,王书林,等.广西壮族自治区临床护士预防导尿管相关尿路感染的知信行调查及影响因素分析[J].全科护理,2023,21(22):3050-3055.
- [17] 白建荣.护士护理能力现状及其与特质应对方式、工作压力相关性研究[D].济南:山东大学,2016.
- [18] 柳王美,陈伟丽,程锐.围术期手术室护士对非计划性低体温防护知信行的调查研究[J].广东医学,2019,40(18):2678-2681,2685.

收稿日期:2024-10-10;修回日期:2024-11-20

(本文编辑 覃黎黎)