



- ◎ 《中国学术期刊网络出版总库》(CNKI) 收录
- ◎ 《国家科研论文集中发布平台》收录
- ◎ 《万方数据知识服务平台》收录
- ◎ 《中文科技期刊数据库》收录
- ◎ 《超星“域出版”平台》收录
- ◎ 《中国核心期刊(遴选)数据库》收录
- ◎ 《中国学术期刊影响因子年报》统计源期刊

ISSN 2095-4646
CN 42-1839/R

湖北科技学院学报

JOURNAL OF HUBEI UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

医学版 MEDICAL SCIENCES

第39卷 第3期
总第(195)期
Vol.39 No.3
2025

3

中国·咸宁
XIANNING CHINA

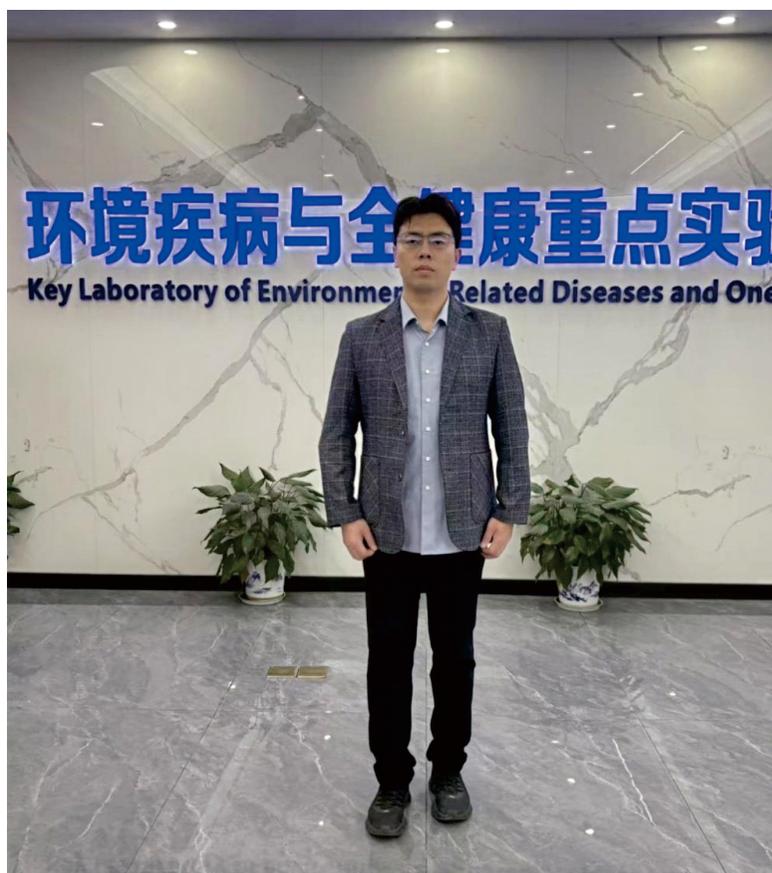


湖 科 学 人

晏彪，男，1988年7月出生，湖北汉川人，中共党员，中国科学院大学博士，湖北科技学院基础医学院副教授，硕士生导师。

现为基础医学院党委委员、第三届学术委员会委员、形态学教学实验室主任，第一届湖北省细胞外囊泡学会转化医学研究与应用专业委员会委员。主要研究方向为环境医学，曾参与国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项、国家自然科学基金面上项目，近年来先后主持湖北省教育厅、湖北省自然科学基金、

国家自然科学基金青年科学基金项目。在《Sci Total Environ》《Environ Pollut》《中国药理学通报》等国内外学术期刊上发表第一作者或通信作者论文30余篇，其中中科院一区SCI论文2篇、中科院二区SCI论文8篇。2项学术成果分别获得湖北省科学技术进步二等奖和湖北省第九届高等教育教学成果二等奖。主要担任省级一流课程《医学细胞生物学》《医学遗传学》等课程主讲教师，参编教材2部。兼职担任《J Hazard Mater》《Environ Int》等国际知名TOP期刊及国内《环境与职业医学》审稿人。2023年入选湖北科技学院“百名优秀人才”，2023年度获得咸宁市“香城人才卡”。曾荣获硕士研究生国家奖学金、校级“先进工作者”、基础医学院青年教师比赛一等奖等荣誉，指导国家级大学生创新创业项目1项、省级各类竞赛奖3项。



目 次

特 稿

基于 ProTox 3.0 探究草甘膦干扰胆汁酸通路加重小鼠肝损伤 晏 彪,赵 雪,周显鹏,等(185)

药 学 研 究

白桦脂酸抑制呕吐毒素诱导的 HepG2 细胞铁死亡 宋晨晨,朱克松,刘爱梅,等(191)

山姜素减轻葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎机制研究 李云志,翟祥洁,朱 蕤,等(198)

芦竹碱抑制结直肠癌的机制研究 朱子焕,刘毅飞,周燕红,等(203)

正交试验结合数学模型优选四逆散加减方提取工艺研究 樊明剑,许宗仁,王海峰,等(209)

基础医学研究

Nrf2/ARE 信号通路在芒果苷治疗小鼠药物性肝损伤中的作用 昌德炜,徐 森,吕建国,等(214)

构建表达人源 IL-12 的新型溶瘤病毒及其抗肿瘤活性研究 周晶晶,杨斌丰,高 卉,等(218)

临床医学研究

白芍药苷联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎作用及机制研究 李 瑾(224)

血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 水平在急性脑梗死患者预后早期评估的意义

..... 胡 钦,徐 斌(230)

硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中的疗效及安全性研究 ... 徐朋进,孙丽娜,张万里,等(235)

隐形义齿压低伸长后牙在种植义齿修复中的应用 郑永红(239)

茯苓治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期肺脾气虚证的临床观察与机制探讨	胡天亮,杨进,王胜强,等(242)
输血血型鉴定检验的质量控制与输血安全研究	徐帆(247)
超声分型对子宫瘢痕妊娠不同临床治疗方案的评价分析	舒爽,冯海凤,柯岩,等(251)

护理学研究

病毒性上呼吸道感染患儿雾化治疗依从性影响因素及干预对策探讨	钱梦婷,周雨薇,邵俊(254)
过敏性鼻炎患者综合护理干预的实施与疗效探讨	丁敏,曾静(258)

综 述

白及活性成分的作用及其应用的研究进展	陈祺,闵清,白育庭(262)
糖尿病相关听力下降的预防与干预研究进展	徐坤,许雯雯,饶丽华,等(266)
尿外泌体在糖尿病肾病诊断和治疗中的研究进展	黄绿,叶燕丽,吴甘霖,等(272)

封二:湖科学人/晏彪

封三:庆祝湖北科技学院咸宁医学院办学 60 周年公告(第 1 号)

责任编辑 丁磊 陈拥彬
 英文审校 汪雯 蔡飞
 欧阳昌汉 莫启贵
 统计学审稿 陈子敏

CONTENTS OF MAIN ARTICLES

Glyphosate-Induced Liver Injury via Disruption of Bile Acid Pathway Using ProTox 3.0
..... *YAN Biao, ZHAO Xue, ZHOU Xian-peng, et al*(185)

Betulinic Acid Attenuates Ferroptosis Induced by Deoxynivalenol in HepG2 cells
..... *SONG Chen-chen, ZHU Ke-song, LIU Ai-mei, et al*(191)

The Mechanistic Study of Alpinetin in Alleviating Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis
..... *LI Yun-zhi, ZHAI Xiang-jie, ZHU Ni, et al*(198)

Study on the Mechanism of Gramine to Inhibit Colorectal Cancer
..... *ZHU Zi-huan, LIU Yi-fei, ZHOU Yan-hong, et al*(203)

**Orthogonal Experiment Combined with Mathematical Model for the Optimization of Modified Si Ni
San Water Extraction Process** *FAN Ming-jian, XU Zong-ren, WANG Hai-feng, et al*(209)

**Involvement of Nrf2/ARE Signaling Pathway in the Therapeutic Effect of Mangiferin on Drug-Induced
Liver Injury in Mice** *CHANG De-wei, XU Miao, LÜ Jian-guo, et al*(214)

Construction of a Novel Oncolytic Virus Expressing Human IL-12 and its Antitumor Activity
..... *ZHOU Jing-jing, YANG Bin-feng, GAO Hui, et al*(218)

**Study on the Effect and Mechanism of Total Glucosides of Paeonia Combined with Methotrexate in
Treating Rheumatoid Arthritis** *LI Jin*(224)

Significance of Serum Gal-9, Cx43, YKL-40 and 25-(OH)D₃ Levels in Early Prognostic Assessment of

Patients with Acute Cerebral Infarction	<i>HU Qin,XU Bin</i> (230)
Study on the Efficacy and Safety of Epidural Anesthesia Combined with General Anesthesia in Radical Gastrectomy for Gastric Cancer	<i>XU Peng-jin,SUN Li-na,ZHANG Wan-li,et al</i> (235)
Application of Invisible Dentures in Lowering and Lengthening Posterior Teeth in Implant Denture Res- toration	<i>ZHENG Yong-hong</i> (239)
Clinical Observation and Mechanistic Study of Poria Cocos in Treating Stable Chronic Obstructive Pul- monary Disease with Lung-Spleen Qi Deficiency Syndrome	<i>HU Tian-liang,YANG Jin,WANG Sheng-qiang,et al</i> (242)
Study on Quality Control of Blood Type Identification and Transfusion Transfusion Safety	<i>XU Fan</i> (247)
Prognostic Analysis of Different Clinical Treatment Options for Cesarean Scar Pregnancy by Ultra- sound Classification	<i>SHU Shuang,FENG Hai-feng,KE Yan,et al</i> (251)
Influencing Factors and Intervention Strategies for Compliance with Nebulization Therapy in Children with Viral Upper Respiratory Tract Infections	<i>QIAN Meng-ting,ZHOU Yu-wei,TAI Jun</i> (254)
Implementation and Efficacy of Comprehensive Nursing Interventions in Patients with Allergic Rhinitis	<i>DING Min,ZENG Jing</i> (258)
Research Progress on the Pharmacological Effects and Clinical Application of Active Ingredients of <i>Bletilla Striata</i>	<i>CHEN Qi,MIN Qing,BAI Yu-ting</i> (262)
Research Progress on Prevention and Intervention of Diabetes-related Hearing Loss	<i>XU Kun,XU Wen-wen,RAO Li-hua,et al</i> (266)
Research Progress of Urinary Exosomes in the Diagnosis and Treatment of Diabetic Nephropathy ...	<i>HUANG Lü,YE Yan-li,WU Gan-lin,et al</i> (272)

引文格式:晏彪,赵雪,徐旭龙,等.基于ProTox 3.0探究草甘膦干扰胆汁酸通路加重小鼠肝损伤[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):185-190.

基于 ProTox 3.0 探究草甘膦干扰胆汁酸通路加重小鼠肝损伤*

晏彪¹,赵雪¹,徐旭龙¹,王贝贝¹,张晓琳¹,周显鹏^{2**}

(1.湖北科技学院医学部基础医学院,湖北咸宁437100;2.湖北科技学院资源环境科学与工程学院)

摘要:目的 基于 ProTox 3.0 预测草甘膦的肝毒性靶点,并结合动物实验探究草甘膦诱导小鼠肝损伤及干扰胆汁酸代谢的作用机制。方法 通过 ProTox 3.0 预测草甘膦的作用器官及毒性靶点。雄性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、草甘膦暴露组,每组 14 只,42d 后收集血清、肝脏,检测血清脂质谱[总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]、血清酶活性(丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(AKP)];苏木精-伊红染色(H&E)观察肝组织病理形态,油红 O 染色检测脂质沉积;超声影像分析肝实质回声特征;ELISA 法检测羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)活性及炎症因子[环氧合酶-2(COX-2)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)];RT-qPCR 法检测胆汁酸代谢通路关键基因[法尼醇 X 受体(*fxr*)、小异源二聚体伴侣(*shp*)、成纤维细胞生长因子 15(*fgf15*)和胆固醇 7 α -羟化酶(*cyp7a1*)]mRNA 表达。结果 ProTox 3.0 预测草甘膦肝毒性风险为 0.93,且与细胞色素 P450 代谢紊乱高度相关。动物实验表明,草甘膦显著升高 TC、TG 及 LDL-C,降低 HDL-C,并诱导酶(ALT、AST、AKP)活性升高。肝组织病理学显示肝细胞气球样变及脂滴沉积,超声影像提示肝实质回声增强。代谢酶检测显示草甘膦上调 HMGR 活性,促进胆固醇合成,同时激活炎症因子 COX-2 和 MCP-1。关键基因分析表明,草甘膦显著抑制 *fxr* 及 *cyp7a1* 表达,同时上调 *shp* 与 *fgf15* 水平,破坏胆汁酸负反馈调节。结论 草甘膦可能通过 *fxr/cyp7a1* 通路干扰胆汁酸代谢,进而引发脂代谢紊乱及炎症诱导肝损伤,为环境污染物质肝毒性研究提供新视角。

关键词:草甘膦;肝损伤;胆汁酸代谢;*fxr/cyp7a1* 通路;ProTox 3.0

中图分类号:R-332

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0185-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2025031303



Glyphosate-Induced Liver Injury via Disruption of Bile Acid Pathway Using ProTox 3.0

YAN Biao, ZHAO Xue, ZHOU Xian-peng, et al

(School of Basic Medical Sciences, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To predict the hepatotoxic targets of glyphosate using ProTox 3.0 and investigate its mechanisms in inducing liver injury and disrupting bile acid metabolism in mice through the animal experiment. **Methods** The target organs and toxicity endpoints of glyphosate were predicted via ProTox 3.0. Male C57BL/6 mice were randomly divided into a control group and a glyphosate exposure group (n = 14). After 42 days of glyphosate exposure, serum and liver tissues were collected for analyses. Serum lipid profiles, mainly contained total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and enzyme activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AKP), were measured. Hepatic histopathology was assessed by hematoxylin-eosin (H&E) staining, and lipid deposition was evaluated via Oil Red O staining. Liver parenchymal echogenicity was analyzed by ultrasound imaging. Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (HMGR) activity and inflammatory factors, cyclooxygenase-2 (COX-2), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), were detected via ELISA. The mRNA expression of bile acid metabolism-related genes, farnesoid X receptor (*fxr*), small heterodimer partner (*shp*), fibroblast growth factor 15 (*fgf15*), cholesterol 7 α -hydroxylase

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(42307547);湖北省自然科学基金青年科学基金项目(2023AFB478)

** 通信作者, E-mail:zhouxphust@sina.com

(*cyp7a1*) were evaluated by RT-qPCR. **Results** ProTox 3.0 predicted a 0.93 probability of glyphosate-induced hepatotoxicity, with strong associations with cytochrome P450 metabolic disruptions. Animal experiments revealed that glyphosate significantly elevated the levels of TC, TG, and LDL-C, while reduced the level of HDL-C, accompanied by the increased hepatic enzyme activities of ALT, AST and AKP. Histopathology demonstrated the hepatocyte ballooning and lipid droplet deposition, mean while ultrasound imaging showed the enhanced parenchymal echogenicity. Metabolic enzyme assays showed that glyphosate could upregulate the expression of HMGCR, promote cholesterol synthesis, and activate the inflammatory markers of COX-2 and MCP-1. Gene analysis indicate that glyphosate significantly suppressed the expression of *fxr* and *cyp7a1*, alongside upregulated the expression of *shp* and *fgf15*, finally disrupted bile acid negative feedback regulation. **Conclusion** Glyphosate may disturb the bile acid metabolism via the *fxr/cyp7a1* pathway, following trigger lipid metabolism disorders and inflammation, and finally induce liver injury. This study provides a novel insight into the hepatotoxic mechanisms of environmental pollutants.

KEY WORDS: Glyphosate; Liver injury; Bile acid metabolism; *fxr/cyp7a1* pathway; ProTox 3.0

草甘膦(glyphosate, GLY)作为广谱除草剂的核心成分,其全球年使用量超过100万吨^[1]。近年研究表明,草甘膦不仅通过抑制5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合酶(EPSPS)干扰植物代谢,还可能通过摄入残留影响哺乳动物的肝胆系统^[2-3]。已有动物实验证实,草甘膦可诱导肝脏脂质代谢紊乱及氧化应激^[4-5],但其对胆汁酸代谢通路的调控影响仍不清楚。

胆汁酸作为胆固醇代谢终产物,其合成与肠肝循环受法尼醇X受体(*fxr*)、小异源二聚体伴侣(*shp*)及胆固醇7 α -羟化酶(*cyp7a1*)等关键基因的精密调控^[6]。最新研究表明,环境污染物如细颗粒物可通过结合并激活*fxr*破坏肝细胞中的胆汁酸稳态^[7],而草甘膦是否通过类似机制影响肝胆汁酸代谢尚缺乏证据。本研究基于网络毒理学平台ProTox 3.0,整合肝生化指标、病理学、小动物超声成像及分子生物学技术,探究草甘膦暴露对小鼠胆汁酸代谢通路的影响,以期阐明其对*fxr/cyp7a1*通路的干扰机制,为评估草甘膦肝毒性提供新依据。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

草甘膦(CAS:1071-83-6)购自美国Sigma-Aldrich公司;肝功能检测试剂盒总胆固醇(TC,货号:A111-1-1)、甘油三酯(TG,货号:A110-1-1)、低密度脂蛋白(LDL-C,货号:A113-1-1)、高密度脂蛋白(HDL-C,货号:A112-1-1)、谷草转氨酶(AST,货号:C010-2-1)、谷丙转氨酶(ALT,货号:C009-2-1)、碱性磷酸酶(AKP,货号:A059-2-2)均购自南京建成生物工程研究所;酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒总胆汁酸(TBA,货号:ml092739)、羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGCR,货号:ml037537)环氧合酶-2(COX-2,货号:ml058577)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1,货号:ml063179)购自上海酶联生

物公司;其他试剂为国产分析纯。

1.2 主要仪器

多功能酶标仪(ELX800,美国Bio-Tek公司);高速冷冻离心机(5424R,德国Eppendorf公司);高速组织研磨仪(KZ-II,武汉赛维尔生物公司);荧光定量PCR仪(ABI QuantStudio,美国Thermo);梯度PCR扩增仪(SCI1000-G,美国SCIO-GEX);超微量分光光度计(NanoVue Plus,英国Cytiva公司);小动物超声影像系统(Vevo 2100,加拿大VisualSonics公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物及分组

6周龄SPF雄性C57BL/6小鼠(体质量18~20g,质量合格证号No.41000000000007272)。饲养于恒温(22 \pm 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(50 \pm 10)%的清洁环境,自由摄食饮水,适应性饲养5d后随机分为2组($n=14$),对照组(CON):0.9%生理盐水溶液灌胃;草甘膦暴露组(GLY):1mg/kg草甘膦溶液灌胃;暴露剂量依据欧洲食品安全局(EFSA)规定的可接受暴露水平(AOEL)0.1mg/(kg \cdot d),按10倍环境相关剂量设计^[8]。每日固定时间灌胃给药,给药体积10mL/kg,连续暴露42d。实验方案经湖北科技学院实验动物伦理委员会审批(批准号IACUC-2023-03-032)。

1.3.2 毒性预测

ProTox 3.0(<https://tox.charite.de/prottox3/>)通过整合分子相似性、片段活性倾向和高频结构特征,结合基于片段相似性聚类的CLUSTER交叉验证机器学习方法,构建了61种预测模型,可评估草甘膦的急性毒性、器官毒性、Tox21有害结局通路及毒性靶点等在内的多元化毒性效应^[9]。

1.3.3 肝功能指标检测

第48天末次给药禁食12h后,腹腔注射3%戊巴比妥钠(40mg/kg)麻醉,经心脏穿刺抗凝采

集全血,3000r/min 离心 15min 分离血清,用试剂盒检测血清肝功能指标(TC、TG、LDL-C 和 HDL-C)及肝酶活性指标(AST、ALT 和 AKP)。

1.3.4 肝组织病理学观察

新鲜取材的肝组织用4%多聚甲醛固定,常规脱水,分别用苏木素-伊红(H&E)和油红O染色石蜡包埋后对小鼠肝脏进行病理学观察。垂直切片厚度5μm,所有切片均通过NDP view 2软件(日本Hamamatsu)扫描观察。H&E染色观察肝脏组织病理形态学改变,油红O染色分析肝组织脂质沉积情况。

1.3.5 炎症因子检测

取出约4g经液氮速冻-80℃保存的肝脏组织,加入4mL预冷的匀浆液(0.25mol/L蔗糖、0.003mol/L氯化钙),用匀浆器充分研磨肝组织,离心后收集匀浆液。按照ELISA试剂盒说明书,分别检测脂质代谢相关的限速酶(HMGR)及肝损伤相关因子(COX-2、MCP-1)的活性。

1.3.6 实时荧光定量(RT-qPCR)检测

应用TRIzol法提取肝组织总RNA,经验证合格后应用逆转录试剂盒对2μg RNA进行反转录,获得cDNA,使用荧光定量试剂盒测定目标基因mRNA表达。引物序列见表1。PCR反应体系为:PerfectStart® Green qPCR SuperMix 10μL,上游引物(10μmol/L)2μL,下游引物(10μmol/L)2μL,Template DNA/cDNA 2μL,双蒸水6μL。反应程序为:94℃预变性2min,45个94℃变性5s,60℃退火30s的循环。结果以GAPDH为内参,通过计算2^{-ΔΔCt}值表示各基因mRNA相对表达量。

表1 肝组织胆汁酸通路相关基因的引物序列

基因	Primer 序列(5' to 3')
fxr	F-GCCAGAATCTGGATTGCAATCC
	R-GCCACAGGTGGAATAGTAAGACC
shp	F-CAGGTCCGCCACTATTCTGT
	R-AGGCTACTGTCTTGGCTAGGA
fgf15	F-ATGCCGAGAAAGTGAACCG
	R-CTGACACAGACTGGGATTGCT
cyp7a1	F-GGGATTGCTGTGCTAGTGACC
	R-GGTATGGAATCAACCCCTTGT
gapdh	F-CCTCGTCCCCTAGACAAAATG
	R-TGAGGTCAATGAAGGGTCTGT

1.3.7 肝组织超声

将小鼠置于恒温动物操作台诱导箱内,通过1.5%~2%异氟烷混合氧气诱导麻醉后,转移至

加热台维持麻醉;随后将小鼠仰卧位固定,剔除腹部区域毛发,以酒精棉球清洁皮肤后均匀涂覆超声导电胶。超声图像采集:用小动物超声影像系统配备的高频线性探头(MS-400,频率40-50MHz),沿小鼠腹部正中纵线纵向扫描,获取肝左叶、右叶及肝门静脉横断面图像^[10]。

1.4 统计学方法

应用GraphPad Prism 8.02软件进行数据处理与分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布和方差均匀性分别通过Shapiro-Wilk's和Levene's检验来确定。两组间比较采用t检验,P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 草甘膦毒性模型预测结果

图1显示ProTox 3.0预测的草甘膦毒性等级为4,预测准确性为100%。图2显示,草甘膦可能具有肝毒性(可能性0.93)、细胞色素P450超家族(Cytochrome CYP)代谢紊乱(可能性≥0.86)。

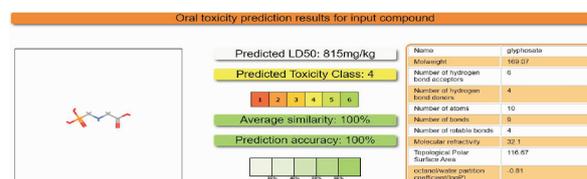


图1 草甘膦毒性等级

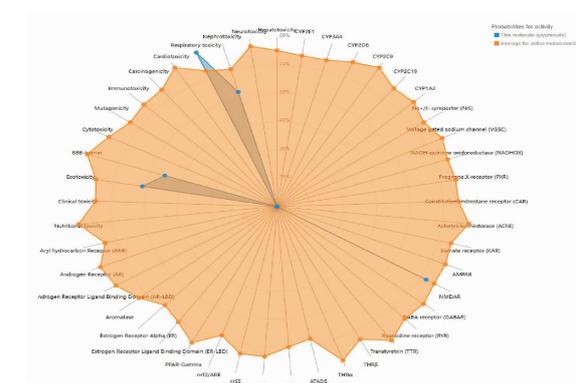
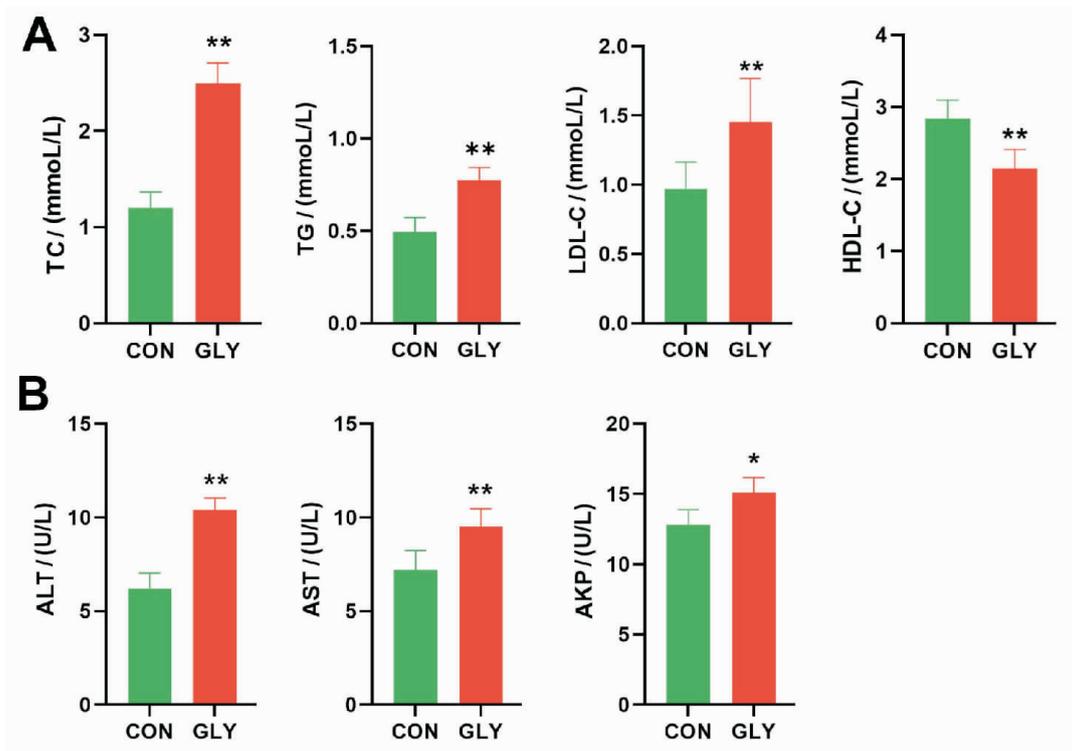


图2 草甘膦毒性雷达图

2.2 草甘膦对小鼠肝功能的影响

草甘膦暴露对小鼠肝功能生化指标有显著影响(图3)。与对照组比较,草甘膦暴露组小鼠血清TC、TG及LDL-C水平显著升高(P均<0.01),而HDL-C水平显著下降(P<0.05);草甘膦暴露组肝组织酶ALT、AST和AKP活性显著升高(P<0.05)。以上结果提示,草甘膦暴露可导致小鼠肝功能障碍。

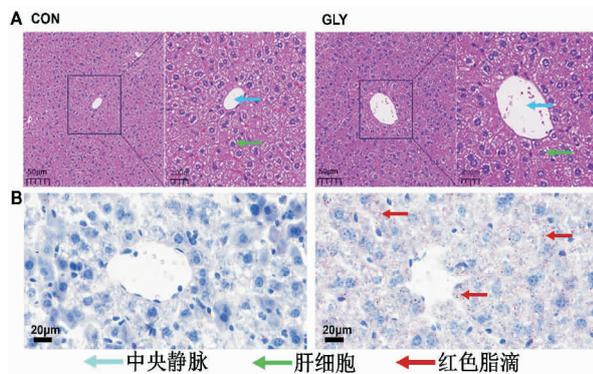


A. 血清 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C; B. ALT、AST 及 AKP; 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n = 6$ 。

图3 各组小鼠肝功能指标变化

2.3 草甘膦对小鼠肝脏的病理学影响

肝脏病理学观察显示,草甘膦组肝小叶结构紊乱,中央静脉周围可见炎性细胞浸润,肝细胞气球样变及点状坏死(图4A);油红O染色结果显示,草甘膦组小鼠肝组织细胞内被染为红色大脂滴,且分布范围广,肝细胞脂肪变性明显(图4B);定量分析表明肝组织脂滴沉积面积较对照组增加3.2倍($P < 0.001$),脂质空泡占比达(23.6 ± 4.2)%。



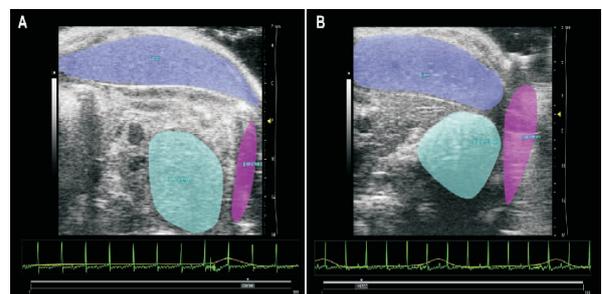
A. H&E 染色; B. 油红O染色。

图4 各组小鼠肝组织病理学变化

2.4 草甘膦对小鼠肝脏超声影像的影响

对照组肝实质呈均匀低回声,肝包膜光滑,提

示肝细胞正常排列,无明显脂肪或纤维化沉积(图5A);草甘膦暴露组肝实质回声显著增强、伴有局灶性高回声结节,可能与脂滴沉积导致超声波散射增加、炎性细胞聚集形成局部高回声区等病变相关(图5B)。



A. 对照组肝脏均匀低回声; B. 草甘膦组肝脏回声增强伴高回声结节。

图5 各组小鼠肝脏超声影像变化

2.5 草甘膦对小鼠肝脏代谢酶及炎症因子的影响

与对照组比较,草甘膦组肝脏脏器系数显著上升($P < 0.05$);关键代谢酶 HMGR 活性上升(图6A),提示草甘膦可能增强肝脏胆固醇合成;图6B显示,炎症相关生物标志物 COX-2 和 MCP-1 的表达水平显著上调($P < 0.05$),提示草甘膦暴露可能加剧了肝脏炎症反应。

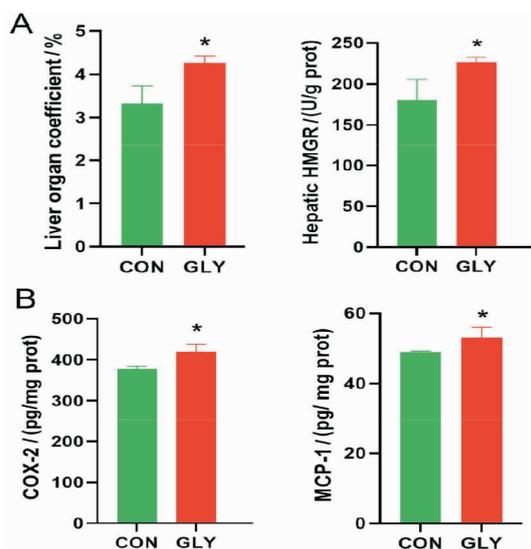
A. 肝脏脏器系数、肝 HMGR 活性; B. COX-2, MCP-1 水平; 与 CON 组比较, * $P < 0.05$; $n = 6$ 。

图 6 各组小鼠肝脏超声影像变化

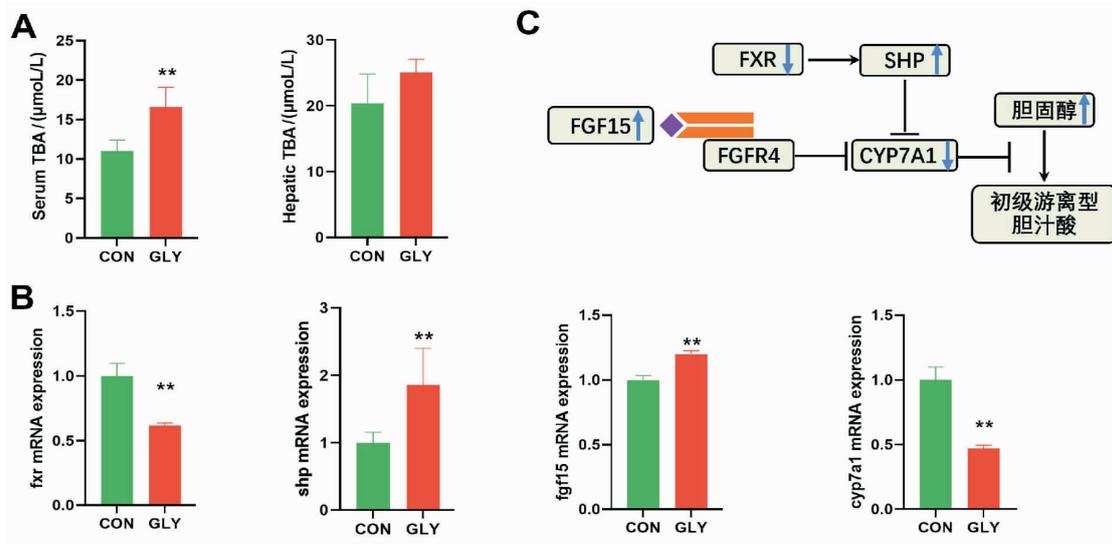
A. 血清 TBA、肝 TBA 含量 ($n = 6$); B. *fxr*, *shp*, *fgf15* 及 *cyp7a1* mRNA 表达水平 ($n = 3$); 与 CON 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; C. 胆汁酸通路相关基因表达变化。

图 7 各组小鼠胆汁酸及其相关基因 mRNA 表达变化

3 讨论

本研究首次揭示草甘膦可能通过破坏肝脏胆汁酸代谢稳态,导致肝损伤。分子机制上,草甘膦显著抑制肝组织 *fxr* 表达,削弱其对 *shp* 的转录激活,导致 *cyp7a1* 胆汁合成水平下降;另一方面,其异常上调 *fgf15* 表达,加剧对 *cyp7a1* 的抑制,形成“负反馈”效应。该 *fxr-cyp7a1* 调控通路的异常,可能通过减少胆固醇向胆汁酸的转化,造成胆汁酸代谢动态平衡失调,从而为肝损伤的发生发展提供病理基础。

先前的研究中,草甘膦暴露 45d 后可诱导鲤

2.6 草甘膦对小鼠胆汁酸及其相关基因表达的影响

草甘膦暴露组相较于对照组呈现明显的胆汁酸代谢异常表征。具体表现为:草甘膦组小鼠血清 TBA 浓度较对照组显著升高 ($P < 0.05$),肝组织 TBA 含量增加 23.2% (图 7A);图 7B 结果显示, *shp*、*fgf15* mRNA 表达量分别增加 85.9% 和 19.7%,而 *fxr*、*cyp7a1* mRNA 表达量分别下降 38.3% 和 52.9% (P 均 < 0.05)。这些分子变化提示:草甘膦可能通过双重调控机制破坏胆汁酸负反馈系统,一方面通过抑制 *fxr* 的表达,降低对 *shp* 的激活作用,另一方面又异常增强 *fgf15* 的表达,二者的协同作用导致 *cyp7a1* 这个胆汁酸合成限速酶的表达受抑,从而减少胆固醇向胆汁酸的转化(图 7C)。

鱼肝脏的氧化应激与炎症反应(如 $\text{TNF-}\alpha/\text{IL-6}$ 上调),肝组织丙二醛(MDA)水平升高及抗氧化系统激活(SOD/GSH 代偿性改变),伴有肝脏游离脂肪酸过量产生、脂肪生成相关基因表达水平增强,由此导致肝脏的脂质积累^[11]。在本研究小鼠模型中,草甘膦暴露后的肝脏表现为 HMGR 活性上升及胆固醇合成增强。HMGR 作为胆固醇合成的限速酶,其异常激活可能加剧脂质过氧化过程^[12],这与研究中观察到的肝细胞空泡化具有病理机制上的延续性。上述结果提示,草甘膦可能通过破坏胆固醇/胆汁酸代谢平衡,引发肝脏脂质蓄积的级联反应,进而驱动脂肪变性。值得注意

的是,草甘膦组小鼠肝脏中 COX-2 与 MCP-1 的表达显著上调,这一现象与经典炎症级联反应的激活特征高度吻合——COX-2 通过促炎介质的生成加剧局部炎症,而 MCP-1 通过招募单核细胞浸润进一步扩大炎症信号。上述病理变化在小鼠超声影像学中表现为明确的肝脏结构紊乱,包括回声增强、血管边界模糊等典型异常表征,进一步提示炎症反应通过肝功能障碍引起形态学改变。

本研究 ProTox 3.0 毒性模型预测结果揭示了草甘膦的潜在肝毒性机制,或与其可干扰细胞色素 P450 超家族有关;而细胞色素 P450 超家族作为生物体内重要的代谢酶系,在胆汁酸合成和代谢稳态中发挥核心作用^[13]。基于 ProTox 3.0 预测提示,草甘膦可干扰关键 CYP 亚型(如 CYP1A2、CYP2C19、CYP2C9、CYP3A4、CYP2E1)的代谢活性,CYP 介导的代谢失调可能是脂肪变性的始动因素。例如,*cyp7a1* 作为胆汁酸合成的限速酶,其活性抑制直接导致胆固醇向胆汁酸的转化受阻,加速肝内游离胆固醇蓄积。CYP3A4 抑制提示肝脏对草甘膦及其代谢产物的解毒效率下降,导致毒物蓄积。在本研究小鼠模型中,观察到草甘膦导致胆汁酸代谢异常(血清 TBA 升高、*fxr/cyp7a1* mRNA 下调),这与其他研究发现另一种农药毒死蜱通过下调核因子相关因子 2(Nrf2)和 *fxr* 表达加重大鼠肾脏损伤相一致^[14]。*fxr* 作为胆汁酸及脂代谢调控核心受体,其活性受抑可能通过 *fgf15/shp* 通路降低 *cyp7a1* 介导的胆固醇转化,此过程同时影响机体“肠-肝”轴对胆汁酸的重吸收^[15-16]。以上结果提示,草甘膦可能通过干扰 *fxr-cyp7a1* 通路,造成胆汁酸合成-重吸收循环的失衡。

综上,草甘膦的肝毒性可能涉及胆汁酸代谢网络的系统性失衡。小鼠数据揭示的胆汁酸代谢关键基因表达紊乱,提示胆汁酸代谢紊乱在草甘膦致肝脏毒性中的作用。未来研究可结合代谢组学手段,进一步拓展 *fxr-cyp7a1*-胆汁酸在“肝-肠”轴中的响应机制。

参考文献:

- [1] MAJER-BARANYI K, SZENDREI F, ADÁNYI N, et al. Application of highly sensitive immunosensor based on optical waveguide light-mode spectroscopy (owls) technique for the detection of the herbicide active ingredient glyphosate[J]. *Biosensors*, 2023, 13(8):771
- [2] LEINO L, TALL T, HELANDER M, et al. Classification of the glyphosate target enzyme (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) for assessing sensitivity of organisms to the herbicide[J]. *J Hazard Mater*, 2021, 408:124556
- [3] MILLS P J, CAUSSY C, LOOMBA R. Glyphosate excretion is associated with steatohepatitis and advanced liver fibrosis in patients with fatty liver disease[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3):741
- [4] ROMUALDO G R, VALENTE L C, DOS SANTOS A C S, et al. Effects of glyphosate exposure on western diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2023, 104:104286
- [5] GOMES E C Z, TELEKEN J L, VARGAS R, et al. Exposure to glyphosate-based herbicide during early stages of development increases insulin sensitivity and causes liver inflammation in adult mice offspring[J]. *Einstein*, 2022, 20:eAO6778
- [6] SCHMITT J, KONG B, STIEGER B, et al. Protective effects of farnesoid X receptor (FXR) on hepatic lipid accumulation are mediated by hepatic FXR and independent of intestinal FGF15 signal[J]. *Liver Int*, 2015, 35(4):1133
- [7] ZHANG D, LIU X, SUN L, et al. Fine particulate matter disrupts bile acid homeostasis in hepatocytes via binding to and activating farnesoid X receptor[J]. *Toxicology*, 2024, 506:153850
- [8] LESSEUR C, PIRROTTE P, PATHAK K V, et al. Maternal urinary levels of glyphosate during pregnancy and anogenital distance in newborns in a US multicenter pregnancy cohort[J]. *Environ Pollut*, 2021, 280:117002
- [9] BANERJEE P, ECKERT A O, SCHREY A K, et al. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(W1):W257
- [10] GU P, HUI X, ZHENG Q, et al. Mitochondrial uncoupling protein 1 antagonizes atherosclerosis by blocking NLRP3 inflammasome-dependent interleukin-1 β production[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(50):eabl4024
- [11] LIU J, DONG C, ZHAI Z, et al. Glyphosate-induced lipid metabolism disorder contributes to hepatotoxicity in juvenile common carp[J]. *Environ Pollut*, 2021, 269:116186
- [12] WANG R, FAN X, LU Y, et al. Dietary acetic acid suppress high-fat diet-induced obesity in mice by altering taurine conjugated bile acids metabolism[J]. *Curr Res Food Sci*, 2022, 5:1976
- [13] HU H, SHAO W, LIU Q, et al. Gut microbiota promotes cholesterol gallstone formation by modulating bile acid composition and biliary cholesterol secretion[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):252
- [14] ALRUHAIMI R S, AHMED A F, HUSSEIN O E, et al. Galangin attenuates chlorpyrifos-induced kidney injury by mitigating oxidative stress and inflammation and upregulating Nrf2 and farnesoid-X-receptor in rats[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2024, 110:104542
- [15] CHIANG J Y L, FERRELL J M. Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2022, 548:111618
- [16] KATAFUCHI T, MAKISHIMA M. Molecular Basis of bile acid-FXR-FGF15/19 signaling axis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11):6046

(收稿日期:2025-03-13)

引文格式:宋晨晨,朱克松,王鹏举,等.白桦脂酸抑制呕吐毒素诱导的 HepG2 细胞铁死亡[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):191-197.

白桦脂酸抑制呕吐毒素诱导的 HepG2 细胞铁死亡*

宋晨晨^{1,2},朱克松^{1,2},王鹏举²,付晨禄¹,王威²,刘爱梅^{2,3**}

(1. 湖北科技学院医学部药学院,湖北 咸宁 437100;2. 湖北科技学院医学部基础医学院;
3. 湖北科技学院糖尿病心脑血管病变湖北省重点实验室)

摘要:目的 探讨白桦脂酸(BA)对呕吐毒素(DON)诱导的 HepG2 细胞毒性的缓解作用及机制。方法 用 BA 或/和 DON 处理 HepG2 细胞 12h, CCK-8 检测 DON 和 BA 对细胞活力的影响, Western blot 检测铁死亡相关基因的蛋白表达变化, BODIPY 探针检测脂质 ROS 水平, GSH 和 MDA 试剂盒检测 GSH 和 MDA 水平, DCFH-DA 探针检测总 ROS 含量, FerroOrange 探针检测游离 Fe²⁺ 水平, 人 4-HNE 酶联免疫吸附测定试剂盒检测分泌和细胞内 4-羟基壬烯醛(4-HNE)水平, EdU 检测细胞增殖。结果 DON 降低 GPX4、SLC7A11、GCLC、NQO1 和 Nrf2 的表达水平, 促进 TFR-1 和 4-HEN 的表达以及 MDA 和总 ROS 和脂质 ROS 的积累, 同时促进 GSH 的消耗以及 Fe²⁺ 过载, 导致铁死亡。然而, BA 预处理逆转这些变化, 减轻 DON 诱导的铁死亡, 提高细胞活力和细胞增殖。重要的是, BA 还能阻止 Erastin 和 RSL3 诱导的铁死亡, 表明 BA 通过增加 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平拮抗铁死亡。结论 BA 通过激活 GPX4 和 SLC7A11 信号通路, 减轻 DON 诱导的 HepG2 细胞铁死亡, 为 BA 减轻 DON 引起的肝毒性提供强有力的证据。

关键词: 呕吐毒素; 白桦脂酸; 铁死亡; 肝毒性; SLC7A11; GPX4

中图分类号: R994.4

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2025)03-0191-007

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024102303



Betulinic Acid Attenuates Ferroptosis Induced by Deoxynivalenol in HepG2 cells

SONG Chen-chen, ZHU Ke-song, LIU Ai-mei, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the alleviating effect and mechanism of betulinic acid (BA) on DON-induced toxicity in HepG2 cells. **Methods** The HepG2 cells were treated with BA or/and DON for 12 h. The effects of DON and BA on cell viability were detected by CCK-8. The protein expression levels of ferroptosis-related genes were detected by Western blot. The lipid ROS levels were detected by BODIPY probe. GSH and MDA kits were used to detect the GSH and MDA levels. The total ROS content was detected by DCFH-DA probe, the free Fe²⁺ level was detected by FerroOrange probe, the secretory and intracellular 4-hydroxynonenal (4-HNE) levels were detected by human 4-HNE enzyme-linked immunosorbent assay kit, and the cell proliferation was detected by EdU. **Results** DON reduced the expression levels of GPX4, SLC7A11, GCLC, NQO1, and Nrf2, promoted the expression of TFR-1 and 4-HEN and the accumulation of MDA and total ROS and lipid ROS, while promoting the depletion of GSH and Fe²⁺ overload, leading to ferroptosis. However, BA preconditioning reversed these changes, alleviated DON-induced ferroptosis, and improved cell viability and cell proliferation. Importantly, BA also prevented Erastin and RSL3-induced ferroptosis, suggesting

* 基金项目:湖北科技学院博士启动基金项目(BK202315);湖北科技学院横向项目(2024HX046,2024HX263)

** 通信作者, E-mail: liuaimai@hbust.edu.cn

that BA exerts an antagonistic effect on ferroptosis by increasing the expression levels of GPX4 and SLC7A11. **Conclusion** BA alleviates DON-induced ferroptosis of HepG2 cells by activating the GPX4 and SLC7A11 signaling pathways, providing strong evidence for BA alleviating DON-induced hepatotoxicity.

KEY WORDS: Deoxynivalenol; Betulinic acid; Ferroptosis; Hepatocyte toxicity; SLC7A11; GPX4

呕吐毒素(deoxynivalenol, DON)广泛分布于发霉的小麦、大麦、玉米等谷物和加工食品中,是食品中污染较严重的霉菌毒素之一^[1]。低浓度DON可导致儿童出现食欲下降和生长发育迟缓^[2-3]。肝脏是DON毒性的主要靶器官之一,当DON的剂量超过肝脏代谢能力时,可引起急性或慢性肝损伤^[4]。铁死亡是一种新的程序性细胞死亡形式,其特征是脂质过氧化的铁依赖性积累达到致死水平,与细胞凋亡、坏死和自噬不同^[5]。铁死亡的主要特征包括细胞内游离铁(Fe^{2+})和脂质活性氧(reactive oxygen species, ROS)以及谷胱甘肽(glutathione, GSH)的积累^[6]。已有研究表明DON可以通过诱导铁死亡引起肝损伤^[7]。白桦脂酸(betulinic acid, BA)普遍存在于桦树、牡丹和薯蓣等植物中,具有多种药理活性^[8]。BA通过减少炎症、氧化应激和细胞凋亡来减轻T-2毒素诱导的胃肠道毒性^[8]、免疫毒性^[9]、肾毒性^[10]、神经毒性^[11]和生殖毒性^[12]。然而,BA是否能减轻DON引起的肝毒性尚不清楚。值得注意的是,BA可以降低细胞脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平,同时增加GSH含量^[10,13],降低铁死亡。因此,本文通过实验观察BA是否可以通过调控铁死亡来减轻DON引起的肝细胞毒性。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

本研究使用的HepG2细胞系来自中国科学院,保存在湖北科技学院糖尿病心脑血管病变湖北省重点实验室液氮中。

1.2 实验试剂

DON(HY-N6684)购自MedChemExpress公司;BA(B20041)购自上海源叶生物科技有限公司;DMEM培养基(SH30022.FS)购自HyClone公司;CCK-8(RM02823)、 β -Tubulin、谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)、溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)、NAD(P)H醌脱氢酶1(NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1)、谷氨酸-半胱氨

酸连接酶催化亚基(glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene, GCLC)、NFE2样bZIP转录因子2(nuclearfactor erythroidderived 2-like 2, Nrf2)、酰基-辅酶a合成酶长链家族成员4(long-chain acyl-CoA synthetase, ACSL4)、谷胱甘肽合成酶(glutathion synthetase, GSS)、HRP山羊抗兔IgG(H+L)(AS014)、HRP山羊抗小鼠IgG(H+L)(AS003)和C11BODIPY探针(RM02821)购自武汉Abclonal科技公司;Cell-Light EdU Apollo488体外试剂盒(C10310-3)购自RIBOBIO公司;FerroOrange探针(F374)购自同仁化学;GSH测定试剂盒(A-006-2-1)、MDA测定试剂盒(A003-4-1)、ROS测定试剂盒(E004-1-1)购自南京建成生物研究所;人4-HNE酶联免疫吸附测定试剂盒购自上海酶联生物技术有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

将HepG2细胞系从液氮中拿出,37℃水浴快速解冻,1000rpm/min离心4min,弃上清,加入1mL含10%胎牛血清和1%抗生素的DMEM完全培养基,反复吹打成单个细胞,加入培养瓶中,在37℃、5%CO₂培养箱中培养。

1.3.2 细胞活力检测

HepG2细胞接种于96孔板,培养至密度为70%。饥饿细胞12h后,加入不同浓度的BA(0~20 $\mu\text{mol/L}$)或DON(0~2 $\mu\text{mol/L}$)处理12h,或者BA预处理细胞2h后,DON继续处理细胞12h。每孔中加入CCK-8溶液(10 μL),孵育1h。在450nm用酶标仪测量吸光度值,用公式计算细胞活力。选择最优浓度进行后续实验,最终选择BA 8 $\mu\text{mol/L}$,DON 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.3.3 Western blot法

细胞接种于6孔板中,饥饿细胞12h,加入BA或DON处理12h,或BA预处理细胞2h后,DON继续处理细胞12h。每孔加入200 μL 含有磷酸化蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液,用BCA试剂盒测定蛋白浓度,制备蛋白样品。随后,进行SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、封闭、抗体孵育、洗膜。使用ECL化学发光显影剂在BiO-RAD化学XRS成

像系统上显影。

1.3.4 脂质 ROS 测定

将细胞接种于黑色 96 孔板,培养密度至 50%,饥饿细胞 12h,加入 BA 或 DON 处理 12h,或 BA 预处理 2h 后,DON 继续处理 12h,或 Erastin (5 $\mu\text{mol/L}$)或 RSL3 (1 $\mu\text{mol/L}$)继续处理 24h。用 PBS 洗涤细胞,C11BODIPY 探针 (10 $\mu\text{mol/L}$)配制 DMEM 培养基,孵育细胞 1h。PBS 洗涤细胞,在荧光显微镜(OLYMPUS IX73)记录绿色荧光信号的图像,并进行分析。

1.3.5 细胞内 GSH 和 MDA 含量测定

将细胞接种于 6 孔板,培养密度至 70%,饥饿细胞 12h,加入 BA 或 DON 处理 12h,或 BA 预处理细胞 2h 后,DON 继续处理细胞 12h。将收集的细胞悬浮于 PBS(100 μL)中,使用 Bioruptor@ Plus (Diagenode)破碎细胞。使用试剂盒按照制造商的说明进行 GSH 和 MDA 水平测定。

1.3.6 细胞内相对 ROS 水平测定

细胞接种于黑色 96 孔板,培养密度为 70%,饥饿细胞 12h,加入 BA 或 DON 处理 12h,或 BA 预处理 2h 后,DON 继续处理细胞 12h。每孔加 100 μL DCFH-DA 探针工作液 (10 $\mu\text{mol/L}$),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20min。用 PBS 洗涤细胞,加入 100 μL 培养基。荧光酶标仪测定,并保存数据。丢弃上清,每孔加入 CCK-8 工作溶液(100 μL)孵育 1h,在 450nm 处测量吸光度值。通过分析相应孔的荧光值/CCK-8 吸光度值来确定相对 ROS 水平。

1.3.7 细胞内 Fe^{2+} 水平的测定

将接种于透明 96 孔板上的细胞,培养密度至 50%,饥饿细胞 12h。加入 BA 或 DON 处理 12h,或 BA 预处理 2h 后,DON 继续处理 12h,或 Erastin (5 $\mu\text{mol/L}$)或 RSL3 (1 $\mu\text{mol/L}$)继续处理 24h。DMEM 培养基洗涤细胞,加入 FerroOrange 探针工作液(1 $\mu\text{mol/L}$)。随后,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下孵育 30min,用荧光显微镜(OLYMPUS IX73)拍照分析。

1.3.8 4-羟基壬烯醛(4-Hydroxynonenal,4-HNE)测定

将细胞接种于 12 孔板,培养密度至 70%,饥饿细胞 12h,加入 BA (8 $\mu\text{mol/L}$)或 DON (0.4 $\mu\text{mol/L}$)处理 12h,或 BA (8 $\mu\text{mol/L}$)预处理细胞 2h 后,DON(0.4 $\mu\text{mol/L}$)继续处理细胞 12h。收集细胞上清,分析分泌的 4-HNE 含量。收集细胞,加入 100 μL PBS 重悬,超声仪破碎细胞。随后 3000rpm/min 离心 10min,取上清液,采用人 4-

HNE 酶联免疫吸附测定试剂盒检测 4-HNE 水平,利用酶标仪在 450nm 处测量吸光度。绘制标准曲线,计算样品 4-HNE 的浓度。

1.3.9 EdU 检测细胞增殖

将接种的细胞培养密度至 60%,饥饿细胞 12h,加入 BA (8 $\mu\text{mol/L}$)或 DON (0.4 $\mu\text{mol/L}$)处理 12h,或 BA (8 $\mu\text{mol/L}$)预处理细胞 2h 后,DON (0.4 $\mu\text{mol/L}$)继续处理细胞 12h。处理后的细胞进行 EdU 标记及检测,DNA 再染色。将细胞爬片放在载玻片上,并覆盖抗荧光衰减介质,在荧光显微镜(OLYMPUS IX73)下观察记录的图像。

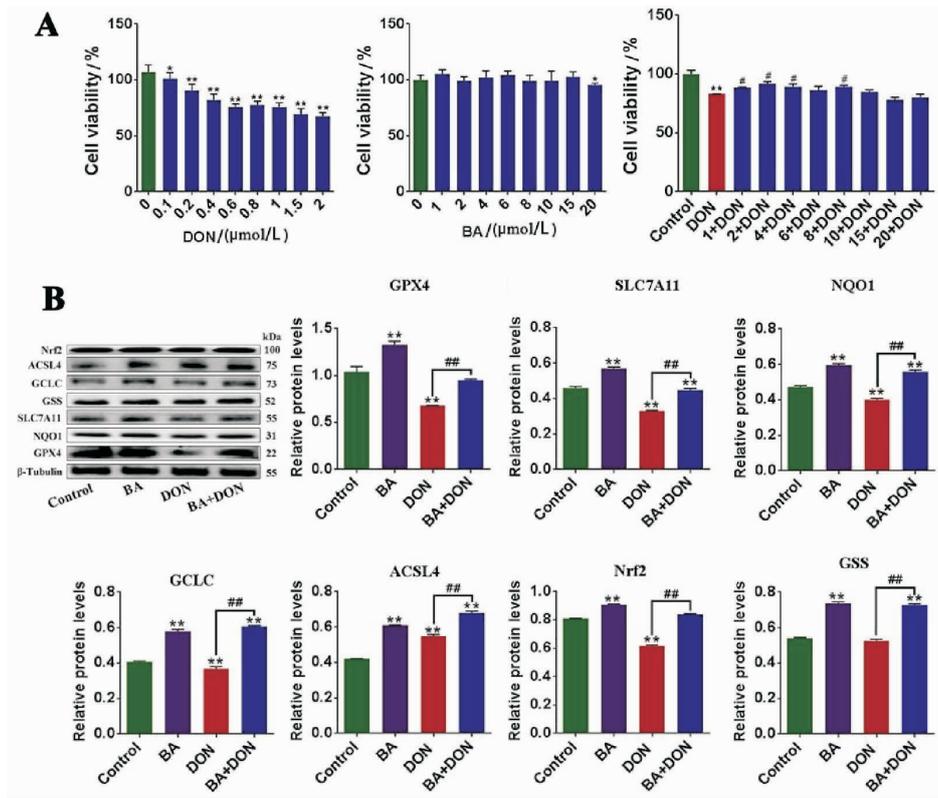
1.4 统计学方法

采用 Graphpad Prism 7.0 进行绘图,SPSS 18.0 进行统计分析。单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验多组间差异的显著性,通过 t 检验分析两组间的显著性差异。每次实验设置 3~6 个重复孔。以 $P < 0.05$ 表示差异具有显著性意义。所有结果均代表三次独立重复实验产生的数据。

2 结果

2.1 BA 对 DON 处理 HepG2 细胞中铁死亡相关基因表达水平的影响

CCK-8 实验结果(图 1A)表明,浓度 0~15 $\mu\text{mol/L}$ 的 BA 对细胞活力无显著影响,当 BA 浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞活力明显降低。当 DON (0~2 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞时,细胞活力随浓度依赖性下降。根据细胞生长状态和存活率 > 60%,选择浓度为 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 进行后续研究。此外,与单独使用 DON (0.4 $\mu\text{mol/L}$)组比较,不同浓度的 BA (1、2、4 和 8 $\mu\text{mol/L}$)预处理可显著提高细胞活力。基于 BA 对 DON 细胞毒性的影响,选择 8 $\mu\text{mol/L}$ 的 BA 进行后续实验。Western blot 分析结果(图 1B)显示,DON 处理显著下调 GPX4、SLC7A11、NQO1、GCLC 和 Nrf2 的蛋白表达水平,上调 ACSL4、转铁蛋白受体(transferrin receptor 1, TFR-1)和 GSS 的蛋白表达水平。与 DON 组相比,BA 预处理显著上调铁死亡相关基因的蛋白表达水平,包括 GPX4、SLC7A11、NQO1、GCLC、Nrf2、ACSL4 和 GSS。这些结果表明,DON 通过调控铁死亡相关基因,特别是下调 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平,诱导细胞铁死亡。相反,BA 通过提高这些基因的表达水平来减轻 DON 诱导的铁死亡。



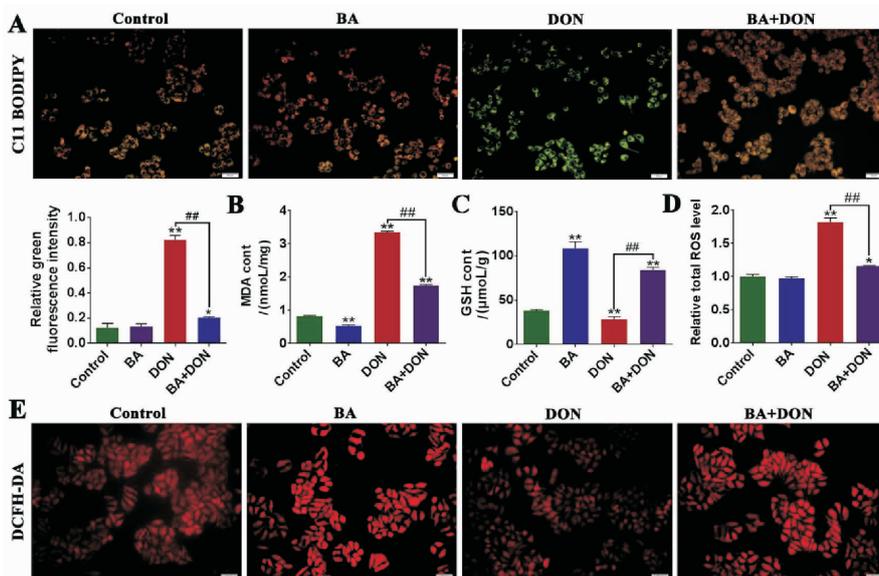
A. CCK-8 测定细胞活力(n=6);B. Western blot 法检测铁死亡相关基因蛋白表达水平的变化(n=3);与对照组比较,*P<0.05,**P<0.01;与DON组比较,#P<0.05,##P<0.01。

图1 BA对DON处理HepG2细胞中铁死亡相关基因表达水平的影响

2.2 BA对DON处理HepG2细胞总ROS、脂质ROS、MDA和GSH水平的影响

测定脂质ROS、MDA、GSH及细胞内总ROS水平,探讨BA对DON诱导的HepG2细胞铁死亡的拮抗作用。如图2所示,与对照组相比,DON组

的脂质ROS、MDA和总ROS水平显著升高,GSH水平显著降低,表明DON诱导铁死亡。相比之下,BA预处理部分逆转这些变化。这表明BA可以降低LPO程度,抑制ROS积累和阻止GSH消耗,从而改善DON暴露下的铁死亡。

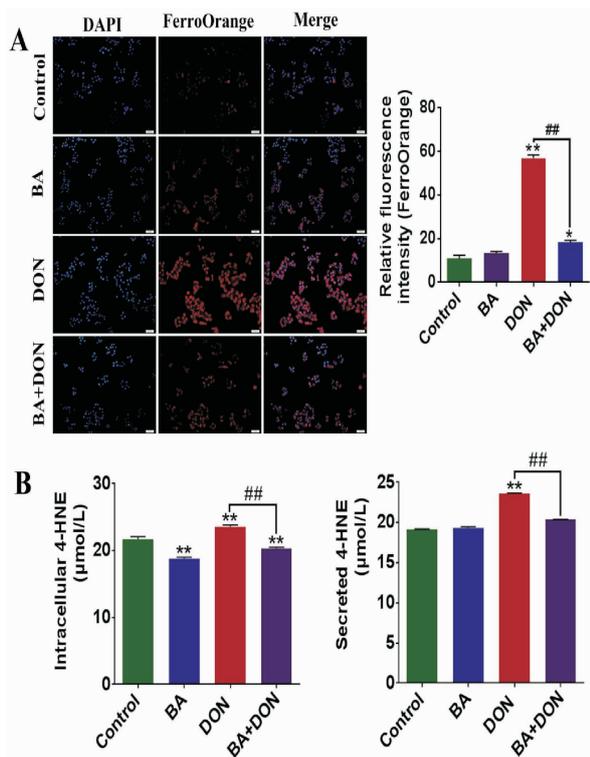


A. C11 BODIPY 探针检测脂质ROS水平(标尺为50μm,n=3);B-C. MDA和GSH含量的测定(n=3);D-E. DCFH-DA 探针检测细胞总ROS水平(标尺为50μm,n=3);与对照组相比,*P<0.05,**P<0.01;与DON组相比,##P<0.001。

图2 BA对DON处理的HepG2细胞脂质ROS、MDA、GSH和细胞内总ROS水平的影响

2.3 BA 抑制 DON 诱导的 HepG2 细胞 Fe²⁺ 过载和 4-HNE 过量生成

测定 Fe²⁺ 和 4-HNE 水平,探讨 BA 对 DON 诱导的 HepG2 细胞铁死亡的拮抗作用。如图 3 所示,与对照组相比,DON 处理组 Fe²⁺ 水平、细胞内 4-HNE 含量显著升高,表明 DON 促进 Fe²⁺ 过载和 4-HNE 的生成,诱导细胞铁死亡的发生。相比之下,BA 预处理阻止 DON 暴露下 Fe²⁺ 和 4-HNE 水平的增加,降低细胞铁死亡的程度。结果表明,BA 可以降低 Fe²⁺ 和 4-HNE 水平,减轻 DON 暴露引起的铁死亡。

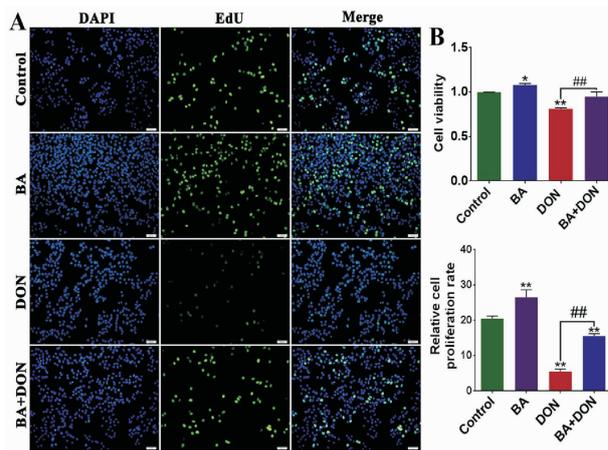


A. FerroOrange 探针检测 Fe²⁺ 水平(标尺为 50μm, n=3); B. ELISA 法检测细胞内和分泌 4-HNE 水平(n=3);与对照组比较, *P<0.05, **P<0.01;与 DON 组比较, ##P<0.01。

图 3 BA 降低 DON 诱导的 HepG2 细胞中 Fe²⁺ 和 4-HEN 水平

2.4 BA 改善 DON 诱导的细胞活力降低和细胞生长迟缓

评估细胞增殖和细胞活力的变化,以研究 DON 诱导的铁死亡对细胞生长的影响。如图 4 所示,与对照组相比,暴露于 DON 的细胞活力和增殖明显下降。而 BA 预处理能有效阻止 DON 诱导的细胞活力和细胞增殖降低。这些结果表明,BA 对 DON 诱导的细胞生长迟缓具有缓解作用,可能是通过拮抗铁死亡促进细胞生长。

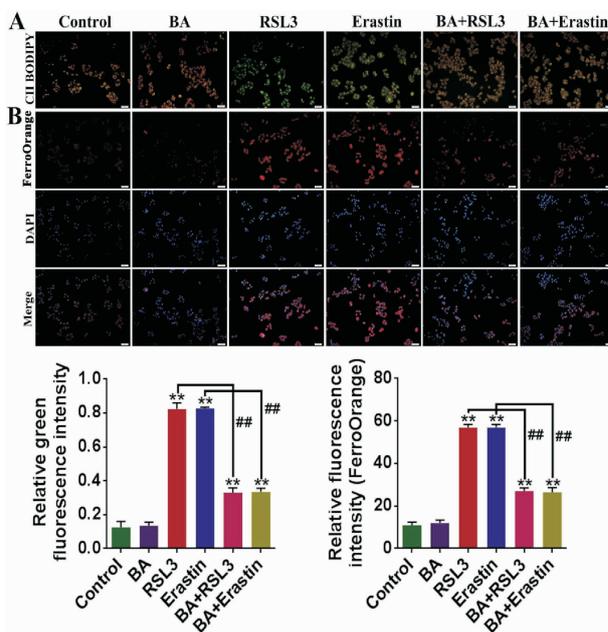


A. EdU 染色检测细胞的增殖水平(标尺为 50μm, n=3); B. CCK-8 检测细胞活力(n=6);与对照组比较, *P<0.05, **P<0.01;与 DON 组比较, ##P<0.01。

图 4 BA 改善 DON 诱导的细胞活力和细胞生长的降低

2.5 BA 降低 Erastin 和 RSL3 诱导的 HepG2 细胞铁死亡

用 GPX4 抑制剂(RSL3)或 SLC7A11 抑制剂(Erastin)处理 HepG2 细胞,进一步证明 BA 通过促进 GPX4 或 SLC7A11 的表达来抑制铁死亡。如图 5 所示,Erastin 和 RSL3 均显著提高脂质 ROS 和 Fe²⁺ 水平,从而导致铁死亡。然而,与 Erastin 和 RSL3 组相比,BA 预处理可显著降低脂质 ROS 和 Fe²⁺ 水平,从而减轻铁死亡的程度。这些结果表明,在 DON 暴露条件下,BA 通过提高 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平来抑制铁死亡。



A. C11 BODIPY 探针检测脂质 ROS 水平(标尺为 50μm, n=3); B. FerroOrange 探针检测 Fe²⁺ 水平(标尺为 50μm, n=3);与对照组比较, *P<0.01;与 DON 处理组比较, ##P<0.01。

图 5 BA 降低 Erastin 和 RSL3 引起的 HepG2 细胞铁死亡水平

3 讨论

铁死亡被认为是 DON 诱导的肝细胞毒性的关键机制之一。先前的研究表明, DON 通过氧化应激、炎症、细胞凋亡和自噬等多种途径诱导肝细胞损伤^[14]。铁死亡是一种不同于细胞凋亡、坏死、焦亡和自噬的细胞死亡形式^[15]。本研究发现, DON 下调 HepG2 细胞中 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平, 增加脂质过氧化物(MDA、4-HNE 和脂质 ROS)和 Fe^{2+} 水平, 诱导 HepG2 细胞铁死亡, 并抑制细胞增殖。这些发现表明, 铁死亡在 DON 诱导的肝毒性中起着重要作用。

BA 可减轻 DON 诱导的 HepG2 细胞铁死亡。先前的研究已经证明 BA 保护大鼠肝脏免受 CCl_4 和对乙酰氨基酚诱导的损伤^[16]。因此, BA 有望成为预防和治疗急性肝损伤的有效药物。此外, BA 已被证明可以靶向铁死亡相关的 ncRNA 特征来对抗肿瘤^[17]。然而, BA 是否能减轻 DON 诱导的肝毒性及其潜在的保护机制尚不清楚。我们发现, BA 能减轻 DON 对 HepG2 细胞诱导的生长迟缓, 增加细胞活力和细胞增殖。此外, BA 通过调节铁死亡相关基因的表达, 抑制 LPO 和 Fe^{2+} 水平, 降低 DON 暴露的 HepG2 细胞铁死亡。据了解, 这是首次从铁死亡角度探讨 BA 保护肝脏的内在机制研究。这些发现为 BA 联合铁死亡抑制剂治疗肝损伤提供理论依据。

调节铁死亡的经典途径涉及系统性胱氨酸/谷氨酸转运体(Xc-系统)-GSH-GPX4 轴。Xc-系统由 SLC7A11 和溶质载体家族 3 成员 A2 组成, SLC7A11 负责胱氨酸的细胞外摄取和谷氨酸的释放, 以支持 GSH 的合成。这一过程有助于维持 GPX4 活性, 最终防止由 LPO 引起的铁死亡^[18]。既往研究表明, BA 可能通过抑制 LPO 过程, 增强 GPX4 活性和 GSH 水平等途径改善肝功能^[11]。然而, BA 在 DON 作用下介导肝细胞铁死亡的机制尚不清楚。本研究结果表明, BA 促进 SLC7A11 和 GPX4 以及抗氧化蛋白 GCLC、NQO1 和 Nrf2 的表达, 降低 MDA、4-HNE 含量以及总 ROS 水平, 并增加 GSH。BA 还能降低脂质 ROS, 抑制 Fe^{2+} 过载, 从而拮抗 DON 诱导的铁死亡。此外, BA 可抵抗 Erastin 和 RSL3 诱导的铁死亡, 表明其可能通过激活 SLC7A11 和 GPX4 信号通路来预防 DON 诱导的铁死亡。

ACSL4 是调控铁死亡的关键蛋白。一方面, ACSL4 参与 PE-AA-OOH 和 PE-AdA-OOH 的生

成, 导致细胞脂质过氧化而发生铁死亡^[19]。另一方面, ACSL4 通过抑制 AA/AdA-CoA 和 PE-AA/AdA 的合成, 改善线粒体外膜的破裂^[20]。线粒体外膜的破裂也是铁死亡的特征之一。在本研究中, DON 上调 ACSL4 表达, 这可能是导致细胞铁死亡的一个因素; 而 BA 增加 ACSL4 表达, 这可能是通过改善线粒体外膜的破裂抑制细胞铁死亡^[21]。因此, BA 联合 DON 可能增加 ACSL4 的表达。此外, GSS 催化 GSH 的合成, 从而减少脂质过氧化物来抑制铁死亡^[22]。在本研究中, BA 上调 GSS 的表达水平, 促进 GSH 合成, 发挥抗铁死亡效应; 由于细胞中存在负反馈调控, DON 可能增加 GSS 的表达^[23]。

综上所述, DON 通过抑制 SLC7A11 和 GPX4 的表达水平, 促进 MDA、4-HNE 和脂质 ROS 的产生以及 Fe^{2+} 过载, 导致细胞 LPO 而铁死亡。相反, BA 减轻 DON 诱导的 HepG2 细胞铁死亡, 并改善生长迟缓的现象。因此, BA 有望成为保护肝细胞免受 DON 不良影响的潜在保护剂。此外, 越来越多的人认为, 具有抑制铁死亡的中草药可能是治疗霉菌毒素中毒的有效策略。

参考文献:

- [1] OKORSKI A, MILEWSKA A, PSZCZOLKOWSKA A, et al. Prevalence of fusarium fungi and deoxynivalenol levels in winter wheat grain in different climatic regions of poland[J]. *Toxins (Basel)*, 2022, 14(2):102
- [2] FLANNERY B M, CLARK E S, PESTKA J J. Anorexia induction by the trichothecene deoxynivalenol (vomitoxin) is mediated by the release of the gut satiety hormone peptide YY[J]. *Toxicol Sci*, 2012, 130(2):289
- [3] PARK J, CHANG H, KIM D, et al. Long-term occurrence of deoxynivalenol in feed and feed raw materials with a special focus on South Korea[J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(3):127
- [4] MENG Z, LIAO Y, PENG Z, et al. Bone marrow mesenchymal stem-cell-derived exosomes ameliorate deoxynivalenol-induced mice liver damage[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(3):588
- [5] WU Z, FANG Z X, HOU Y Y, et al. Review of ferroptosis in colorectal cancer: friends or foes? [J]. *World J Gastroenterol*, 2023, 29(3):469
- [6] XIU Z, LI Y, FANG J, et al. Inhibitory effects of esculetin on liver cancer through triggering NCOA4 pathway-mediation Ferritinophagy in vivo and in vitro[J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2023, 10:611
- [7] FAN S, LIN L, LI P, et al. Selenomethionine protects the

- liver from dietary deoxynivalenol exposure via Nrf2/PPARGgamma-GPX4-ferroptosis pathway in mice[J]. *Toxicology*,2024,501:153689
- [8] LUO C, HUANG C, ZHU L, et al. Betulinic acid ameliorates the T-2 toxin-triggered intestinal impairment in mice by inhibiting inflammation and mucosal barrier dysfunction through the NF-kappaB signaling pathway[J]. *Toxins (Basel)*,2020,12(12):794
- [9] KONG L, ZHU L, YI X, et al. Betulinic acid alleviates spleen oxidative damage induced by acute intraperitoneal exposure to T-2 toxin by activating Nrf2 and inhibiting MAPK signaling pathways [J]. *Antioxidants (Basel)*,2021,10(2):158
- [10] LI X, WANG X, LIU S, et al. Betulinic acid attenuates T-2 toxin-induced cytotoxicity in porcine kidney cells by blocking oxidative stress and endoplasmic reticulum stress [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*,2021,249:109124
- [11] HUANG Y, ZHU Z, LUO C, et al. Betulinic acid attenuates cognitive dysfunction, oxidative stress, and inflammation in a model of T-2 toxin-induced brain damage[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*,2022,29(34):52098
- [12] WU J, YANG C, LIU J, et al. Betulinic acid attenuates T-2-toxin-induced testis oxidative damage through regulation of the JAK2/STAT3 signaling pathway in mice[J]. *Biomolecules*,2019,9(12):787
- [13] KAR A, MAHAR D, BISWAS S, et al. Phytochemical profiling of polyphenols and thyroid stimulatory activity of ficus religiosa leaf extract in 6-propyl-thiouracil-induced hypothyroid rats [J]. *J Ethnopharmacol*,2023,313:116479
- [14] CHEN H, CHEN X, MA J. The mitigation mechanism of hesperidin on deoxynivalenol toxicity in grass carp hepatocytes via decreasing ROS accumulation and inhibiting JNK phosphorylation[J]. *Fish Shellfish Immunol*,2023,134:108646
- [15] LI J, BAI Y, MA K, et al. Dihydroartemisinin alleviates deoxynivalenol induced liver apoptosis and inflammation in piglets[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*,2022,241:113811
- [16] DOKUMACIOGLU E, ISKENDER H, TERIM KAPAKIN K A, et al. Effect of betulinic acid administration on TLR-9/NF-kappaB /IL-18 levels in experimental liver injury [J]. *Turk J Med Sci*,2021,51(3):1544
- [17] CHEN X, ZHU Z, LI X, et al. The ferroptosis-related noncoding RNA signature as a novel prognostic biomarker in the tumor microenvironment, immunotherapy, and drug screening of gastric adenocarcinoma [J]. *Front Oncol*,2021,11:778557
- [18] LI F J, LONG H Z, ZHOU Z W, et al. System X(c)(-)/GSH/GPX4 axis: an important antioxidant system for the ferroptosis in drug-resistant solid tumor therapy [J]. *Front Pharmacol*,2022,13:910292
- [19] DING K, LIU C, LI L, et al. Acyl-CoA synthase ACSL4: an essential target in ferroptosis and fatty acid metabolism [J]. *Chin Med J(Engl)*,2023,136(21):2521
- [20] LI J, CAO F, YIN H L, et al. Ferroptosis: past, present and future[J]. *Cell Death Dis*,2020,11(2):88
- [21] KAGAN VE, MAO G, QU F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis [J]. *Nat Chem Biol*,2017,13(1):81
- [22] ZHU H, CHENG Y, WANG X, et al. Gss deficiency causes age-related fertility impairment via ROS-triggered ferroptosis in the testes of mice[J]. *Cell Death Dis*,2023,14(12):845
- [23] ZHANG G, MI W, WANG C, et al. Targeting AKT induced ferroptosis through FTO/YTHDF2-dependent GPX4 m6A methylation up-regulating and degrading in colorectal cancer[J]. *Cell Death Discov*,2023,9(1):457

(收稿日期:2024-10-23)

引文格式:李云志,翟祥洁,陈晓玉,等.山姜素减轻葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎机制研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):198-202.

山姜素减轻葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎机制研究*

李云志¹,翟祥洁¹,陈晓玉²,阮英³,朱巍^{4**}

(1.湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁437100;2.咸宁市中医医院肿瘤科;3.湖北科技学院医学部全科医学国家级实验示范中心;4.湖北科技学院医学部基础医学院)

摘要:目的 评估山姜素对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)小鼠的保护作用及机制。方法 构建DSS诱导的UC模型,并以山姜素(100mg/kg)进行干预,评估山姜素对小鼠体重、结肠长度和疾病活动指数(DAI)的影响。通过HE染色观察结肠组织病理学变化,通过ELISA检测炎症水平,并通过生化检测和Western blot技术分析铁死亡相关生物标志物和信号通路。**结果** 山姜素可改善DSS诱导的UC小鼠体重减轻和结肠缩短,显著降低了DAI评分、炎症因子水平和结肠炎症组织损伤(P 均 <0.05)。山姜素还可明显抑制丙二醛(MDA)和 Fe^{2+} ,上调谷胱甘肽(GSH)水平,调控SLC7A11/GPX4蛋白表达。**结论** 山姜素可通过调控SLC7A11/GPX4铁死亡通路,减轻DSS诱导的UC,为开发新的抗UC药物奠定理论基础。

关键词:山姜素;溃疡性结肠炎;铁死亡;抗炎作用

中图分类号:R-332

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0198-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024100701



The Mechanistic Study of Alpinetin in Alleviating Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis

LI Yun-zhi, ZHAI Xiang-jie, ZHU Ni, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the protective effect and mechanism of alpinetin dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) in mice. **Methods** A DSS-induced UC model was established, and Alpinetin (100mg/kg) was used for intervention to assess the impact of alpinetin on the body weight, colon length, and disease activity index (DAI). The pathological changes of colon tissue were observed by HE staining, the inflammatory level was detected by ELISA, and the ferroptosis-related molecular markers and signaling pathways were analyzed by biochemical detection and western blot technology. **Results** Alpinetin improved weight loss and colon shortening in DSS-induced UC mice, and significantly reduced DAI score, inflammatory factor levels, and colon inflammatory tissue damage (all $P < 0.05$). Alpinetin also markedly inhibited the levels of MDA and Fe^{2+} , up-regulated GSH levels, and regulated SLC7A11/GPX4 protein expression. **Conclusion** Alpinetin alleviates DSS-induced UC by regulating the SLC7A11/GPX4 ferroptosis pathway, laying a theoretical foundation for the development of new anti-UC drugs.

KEY WORDS: Alpinetin; Ulcerative colitis; Ferroptosis; Anti-inflammatory

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种常见的慢性炎症性肠病,其特征是结肠黏膜的持续性炎症和溃疡形成。UC的病因尚未完全明确,通常被认为与遗传易感性、环境因素、免疫反应及

肠道微生物群失调密切相关^[1]。常规治疗药物如5-氨基水杨酸、类固醇、免疫抑制剂以及生物制剂,虽然能有效抑制炎症反应,但长期使用可能引发副作用,包括感染、代谢紊乱及器官损伤^[2]。此

* 基金项目:湖北省科技厅自然科学基金计划项目(2023AFB1120);湖北省教育厅科学研究计划(B2023165)

** 通信作者, E-mail: zhuni@whu.edu.cn

外,部分患者对这些药物产生耐药性或治疗反应不足,限制了现有治疗方案的广泛应用。山姜素(alpinetin)是一种从山姜属植物中提取的异黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种生物活性^[3]。山姜素的抗炎和抗氧化特性使其成为探索 UC 新型治疗药物的潜在候选物。铁死亡(ferroptosis)是一种新型的程序性细胞死亡形式,显著依赖于细胞内铁离子的积累和脂质过氧化物的过量生成^[4]。铁死亡在多种疾病的发生发展中发挥了重要作用,特别是在神经退行性疾病、肿瘤及炎症性疾病中^[5-6]。近年来的研究表明,铁死亡在 UC 的病理机制中也起着关键作用^[7]。在葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的 UC 模型中发现,铁死亡的激活与结肠组织损伤、氧化应激加剧以及炎症反应密切相关,抑制铁死亡可能有助于减轻炎症反应、改善肠道组织的修复能力,从而缓解 UC 的症状^[8]。本文通过对山姜素调控铁死亡机制抗 UC 作用的研究,为 UC 的治疗提供新的药物靶点及科学依据,并为进一步开发安全有效的抗炎药物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂耗材

山姜素(B21121)、5-氨基水杨酸(5-ASA, S30083)购自上海源叶生物科技有限公司;DSS(MB5535)购自大连美仑生物技术有限公司;Elisa 小鼠 TNF- α (Mic50536-1)、IL-1 β (Mic50300-1)、IL-6(IC50325-1)试剂盒购于上海酶联生物技术有限公司;丙二醛(MDA)检测试剂盒(S0131S)、ROS 检测试剂盒(S0033S)均购自碧云天生物技术有限公司;谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒(A006-2-1)购自南京建成生物工程研究所;Fe²⁺组织检测试剂盒(E-BC-K773-M)购自伊莱瑞特生物技术有限公司;GPX4 抗体(A1933)、SLC7A11 抗体(A13685)、GAPDH 抗体(A19056)、HRP-conjugated Goat anti-Rabbit IgG(H+L)抗体(AS014)均购自 Abclonal 公司。

1.1.2 主要仪器

凝胶成像系统、石蜡切片机(美国赛默飞世尔科技公司),倒置荧光显微镜(日本奥林巴斯),酶标仪(美国伯腾仪器有限公司),电脑生物组织脱水机、石蜡包埋机、石蜡冷冻台、生物组织摊烤片机(孝感市亚光医用电子技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物及分组

24 只 BALB/c 雄性小鼠,体质量(18 \pm 2)g,6~8 周龄,购自辽宁长生生物技术股份有限公司。将小鼠安置在 12h 光照/黑暗循环、(60 \pm 5)% 相对湿度和(25 \pm 2) $^{\circ}$ C 恒温的动物房中适应性喂养 7d。所有动物实验均遵守中国动物保护委员会的所有相关规定,并获得湖北科技学院实验动物伦理委员会的批准(2023-06-614)。实验分为 Control 组(空白组)、DSS 组、5-ASA 组(阳性药物组)和山姜素组,每组 6 只。空白组给予纯水自由饮用,其余 3 组给予 3.5% 的 DSS 饮用,5-ASA(100mg/kg)组、山姜素(100mg/kg)组给予灌胃,1 次/d,连续 7d。待实验结束后留取小鼠全血和结肠组织,保存备用。

1.2.2 小鼠体重、疾病活动指数(DAI)评分

连续观察并记录给予 DSS 后 7d 内小鼠体重变化、大便形态和大便隐血情况并进行 DAI 评分^[9]。

1.2.3 苏木精-伊红(HE)染色及组织病理学评分

小鼠结肠组织在多聚甲醛中固定 24h 后常规脱水、石蜡固定、切片,HE 染色后于显微镜下观察,评定病理学变化^[9]。

1.2.4 细胞因子分泌检测

使用 ELISA 试剂盒检测细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 变化。取眼球血后静置 1h,在 4 $^{\circ}$ C 下以 2500r/min 离心 15min,收集上清液并分装备用。按照试剂盒提供的说明进行试剂的添加及实验操作,最终于酶标仪以 450nm 波长测定各孔的 OD 值。

1.2.5 MDA 水平检测

按 MDA 试剂盒说明书称取一定重量的结肠样本,PBS 清洗组织,加入裂解液 4 $^{\circ}$ C 组织匀浆,组织 12 000g 离心 10min 取上清备用。同时使用 BCA 检测试剂盒测定细胞及蛋白的浓度,最终在酶标仪 532nm 处测定吸光度。

1.2.6 GSH 水平检测

对于组织样本,按重量:体积 = 1:9 加入生理盐水制成组织匀浆,2500r/min,离心 10min,取上清作 GSH 显色反应,于酶标仪 405nm 处测定各孔吸光度值。

1.2.7 Fe²⁺水平检测

组织亚铁离子检测时,按组织:试剂 = 1:9 加入试剂匀浆,12 000g 离心 10min 取上清,按试剂盒产品说明书设置反应体系于酶标仪 593nm 处测定各孔 OD 值。

1.2.8 蛋白免疫印迹

裂解液裂解(G2002-30ML, Servicebio)组织,收取上清,BCA试剂盒(BL521A, Biosharp)测定蛋白浓度,添加 Loading Buffer(BL529B, Biosharp)及裂解液配平样本,加热煮沸,分装保存。采用 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(G2003-50T, Servicebio),依次电泳、转膜后封闭 2h,一抗 4℃ 孵育过夜,包括 GPX4、SLC7A11、GAPDH。二抗孵育 1h。TBST 清洗后,使用一体化成像系统 iBrightCL1500(A44114, Invitrogen)显影。显影后的图像使用 ImageJ(1.52i)进行定量分析。

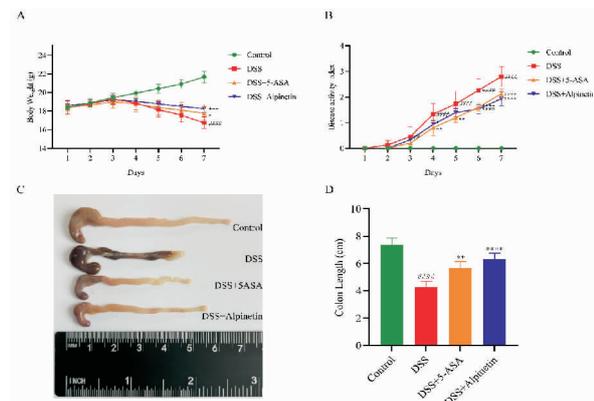
1.3 统计学方法

数据的处理均使用 GraphPad Prism8 进行分析,结果以(均数 ± 标准差)表示。统计分析采用单因素或双因素方差分析进行两组及以上的比较,以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

2 结果

2.1 山姜素减轻 DSS 诱导的小鼠 UC 症状

经 7d 的造模喂养,在体重变化上,DSS 组小鼠体重急剧下降($P < 0.0001$),而 5-ASA 组的体重下降趋势有所缓解($P < 0.001$),同时,山姜素也有效抑制了 DSS 诱导的体重下降($P < 0.05$),见图 1A。DAI 评分结果显示,DSS 组显著升高($P < 0.01$),5-ASA 组和山姜素组的评分上升则被显著抑制($P < 0.01$),见图 1B。在结肠长度方面,与 Control 组相比,DSS 组长度显著缩短($P < 0.01$),表明造模成功。在给予阳性药物 5-ASA 后,结肠长度的缩短受到抑制($P < 0.01$)。而与 DSS 组相比,山姜素在抑制结肠缩短方面展现出更显著的效果($P < 0.01$),见图 1C、D。

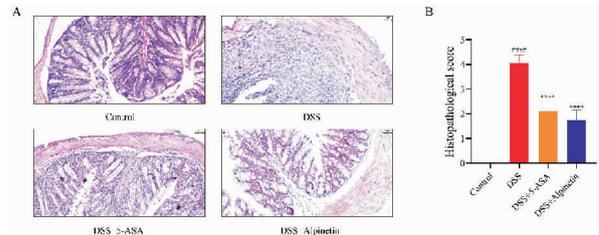


与 Control 组相比,## $P < 0.01$,### $P < 0.0001$;与 DSS 组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,**** $P < 0.0001$, $n = 6$ 。

图 1 山姜素减轻 DSS 诱导的小鼠 UC 症状

2.2 山姜素减轻 DSS 诱导的 UC 小鼠肠道组织损伤

通过 HE 染色观察结肠组织形态,发现 DSS 组小鼠结肠损伤严重,表现为隐窝消失、大量炎性细胞浸润及上皮结构破坏。相比之下,5-ASA 组和山姜素组的组织损伤显著减轻,见图 2A。组织病理学评分也反映出 5-ASA 组和山姜素组的组织损伤程度显著低于 DSS 组($P < 0.01$),见图 2B。综上所述表明,山姜素能够有效缓解 DSS 诱导的 UC。

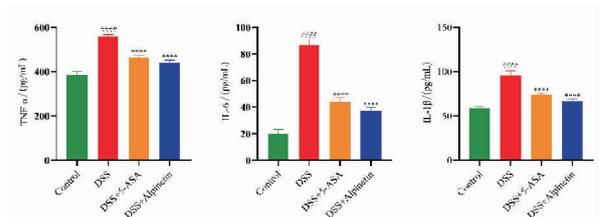


与 Control 组相比,#### $P < 0.0001$;与 DSS 组相比,*** $P < 0.0001$, $n = 6$ 。

图 2 山姜素减轻 DSS 诱导的 UC 小鼠肠道组织损伤(标尺 = 50 μ m)

2.3 山姜素降低 DSS 诱导的 UC 小鼠炎症因子水平

检测 DSS 诱导的 UC 小鼠血清炎症因子表达水平,结果发现,与 Control 组相比,DSS 组的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平显著增加($P < 0.01$),与 DSS 组相比,5-ASA 及山姜素组炎症因子水平则显著下降($P < 0.01$),见图 3。以上结果表明山姜素可抑制 UC 小鼠炎症水平的升高。

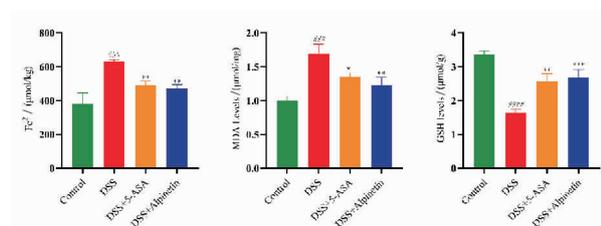


与 Control 组相比,#### $P < 0.0001$;与 DSS 组相比,*** $P < 0.0001$, $n = 6$ 。

图 3 山姜素降低 DSS 诱导的 UC 小鼠炎症水平

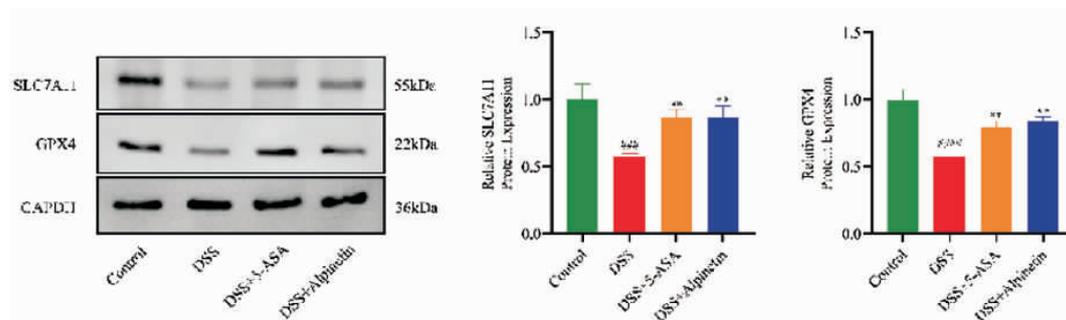
2.4 山姜素抑制 DSS 诱导的 UC 小鼠细胞铁死亡

检测 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织中 MDA、GSH、Fe²⁺ 的变化,结果发现 DSS 诱导的小鼠结肠组织中 MDA、Fe²⁺ 水平增加($P < 0.01$),GSH 水平降低($P < 0.01$),表明 DSS 诱导的小鼠中的确发生了细胞铁死亡。在给予 5-ASA 及山姜素后,MDA、Fe²⁺ 水平降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),GSH 水平升高($P < 0.01$, $P < 0.001$),这表明山姜素可能通过抑制铁死亡发挥抗 UC 作用,见图 4。



与 Control 组相比,### $P < 0.01$,#### $P < 0.0001$;与 DSS 组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$, $n = 6$ 。

图4 山姜素调控 DSS 诱导的 UC 小鼠细胞铁死亡



与 Control 组相比,### $P < 0.01$,#### $P < 0.0001$;与 DSS 组相比,** $P < 0.01$, $n = 6$ 。

图5 山姜素通过调节 SLC7A11/GPX4 通路抗小鼠 UC

3 讨论

近年来,UC 的发病率逐年上升^[10]。仍有许多患者面临复发、反复、对治疗的应答反应减弱等问题^[11]。因此,药物开发仍为重点。

山姜素是一种天然黄酮类化合物,具有显著的生物活性^[12]。近年发现山姜素具有多种抗炎作用,例如,通过 Drp1/HK1/NLRP3 通路抑制线粒体相关炎症^[13],并通过干扰 TLR-4/NF- κ B 信号通路减轻脂多糖诱导的小鼠乳腺炎中的炎症反应^[14]。研究发现山姜素通过调控多种炎症介质发挥抗炎作用,如通过激活 AhR、调节 miR-302/DNMT1/CREB 信号促进 Treg 分化来对抗结肠炎^[15],还可通过抑制 DSS 诱导的结肠炎中 TLR4 和 NLRP3 信号通路减轻炎症反应^[16]。本文研究发现,山姜素能有效降低 UC 小鼠中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平,减轻结肠组织损伤,具体表现为黏膜损伤减轻、炎性细胞浸润减少、隐窝结构变形减少,组织病理学评分降低。另外,DSS 诱导的 UC 症状也被山姜素缓解。这些结果再次证明山姜素的抗炎效果较好。

本研究发现山姜素可抑制 UC 细胞铁死亡。细胞铁死亡显著特征是细胞膜的脂质过氧化损伤与抗氧化防御之间的失衡^[17]。胱氨酸/谷氨酸交换转运蛋白(系统 Xc-)和 GPX4 蛋白是铁死亡过

2.5 山姜素调节 SLC7A11/GPX4 通路抑制 DSS 诱导的 UC 小鼠细胞铁死亡

与 Control 组相比,DSS 组 SLC7A11/GPX4 蛋白表达水平降低($P < 0.01$),5-ASA 及山姜素组蛋白表达增加($P < 0.01$),见图 5。这些结果表明山姜素通过调控 SLC7A11/GPX4 通路抑制铁死亡发挥抗 UC 作用。

程中的关键抗氧化靶点。系统 Xc-中的溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)负责将半胱氨酸输入细胞,半胱氨酸是合成 GSH 的关键原料。GSH 在被 GPX4 催化氧化时,能够还原脂质过氧化物和羟基过氧化物,从而失去其氧化活性,这一过程能够阻止铁死亡的进展^[18]。GPX4 活性或表达的下降是细胞内氧化产物和脂肪酸自由基积累的关键因素,最终引发铁死亡。铁死亡发生后铁逐渐过量、活性氧(ROS)、脂质过氧化物增加、GSH 的脂质过氧化物系统受损^[19]。本研究观察到结肠组织中铁离子的积累及氧化损伤,证实了 DSS 在该 UC 模型诱导铁死亡的发生,与前人的结果一致^[8]。另外本实验采用阳性组(5-ASA)对照,相比之下,山姜素组在降低炎症因子水平、减轻结肠组织损伤以及抑制细胞铁死亡方面表现出更显著效果。例如,在炎症因子水平上,山姜素组 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等炎症因子水平下降幅度更大;在组织病理学评分上,山姜素组得分更低,表明结肠组织损伤更轻;在铁死亡相关指标上,山姜素组 MDA 和 Fe²⁺ 水平降低更明显,GSH 水平上调更显著,且 GPX4 和 SLC7A11 等蛋白表达上调程度更高。这一发现为山姜素的抗炎机制提供了新的科学依据,同时为 UC 治疗药物的开发开辟了新思路。

本文仍存在一些局限性。首先,铁死亡的具体调控机制尚不完全清楚,需深入探讨山姜素对

铁死亡相关分子途径的调节作用。其次,本研究实验仅限于小鼠模型,未来的研究还需要运用临床试验评估山姜素的疗效和安全性。此外,山姜素与现有治疗药物的联合使用效果及其潜在相互作用也有待进一步研究。

参考文献:

- [1] LEDFORD H. The mysteries of inflammatory bowel disease are being cracked-offering hope for new therapies [J]. *Nature*,2024,632(8027):963
- [2] YAMAMOTO-FURUSHO J K, PARRA-HOLGUÍN N N. Emerging therapeutic options in inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*,2021,27(48):8242
- [3] HUANG Y, ZHOU L S, YAN L, et al. Alpinetin inhibits lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice [J]. *Int Immunopharmacol*,2015,28(2):1003
- [4] CHEN H, QIAN Y, JIANG C, et al. Butyrate ameliorated ferroptosis in ulcerative colitis through modulating Nrf2/GPX4 signal pathway and improving intestinal barrier [J]. *BiochimBiophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(2):166984
- [5] YANG B, ZHONG W, GU Y, et al. Emerging mechanisms and targeted therapy of pyroptosis in central nervous system trauma[J]. *Front Cell Dev Biol*,2022,10:832114
- [6] WANG X, QUAN J, XIU C, et al. Gegen qinlian decoction (GQD) inhibits ulcerative colitis by modulating ferroptosis-dependent pathway in mice and organoids [J]. *Chin Med*,2023,18(1):110
- [7] ZHANG X, MA Y, LV G, et al. Ferroptosis as a therapeutic target for inflammation-related intestinal diseases[J]. *Front Pharmacol*,2023,14:1095366
- [8] WU Y, RAN L, YANG Y, et al. Deferasirox alleviates DSS-induced ulcerative colitis in mice by inhibiting ferroptosis and improving intestinal microbiota[J]. *Life Sci*, 2023,314:121312
- [9] KIHARA N, DE LA FUENTE S G, FUJINO K, et al. Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats [J]. *Gut*,2003,52(5):713
- [10] SHAH S C, ITZKOWITZ S H. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: mechanisms and management [J]. *Gastroenterology*,2022,162(3):715
- [11] EL HADAD J, SCHREINER P, VAVRICKA S R, et al. The genetics of inflammatory bowel disease [J]. *Mol Diagn Ther*,2024,28(1):27
- [12] XIAO S, ZHANG Y, LIU Z, et al. Alpinetin inhibits neuroinflammation and neuronal apoptosis via targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway in spinal cord injury [J]. *CNS Neurosci Ther*,2023,29(4):1094
- [13] CHEN Y, YANG C, ZOU M, et al. Inhibiting mitochondrial inflammation through Drp1/HK1/NLRP3 pathway: A mechanism of alpinetin attenuated aging-associated cognitive impairment [J]. *Phytother Res*,2023,37(6):2454
- [14] CHEN H, MO X, YU J, et al. Alpinetin attenuates inflammatory responses by interfering toll-like receptor 4/nuclear factor kappa B signaling pathway in lipopolysaccharide-induced mastitis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*,2013,17(1):26
- [15] LV Q, SHI C, QIAO S, et al. Alpinetin exerts anti-colitis efficacy by activating AhR, regulating miR-302/DNMT-1/CREB signals, and therefore promoting Treg differentiation [J]. *Cell Death Dis*,2018,9(9):890
- [16] HEX, WEI Z, WANG J, et al. Alpinetin attenuates inflammatory responses by suppressing TLR4 and NLRP3 signaling pathways in DSS-induced acute colitis [J]. *Sci Rep*,2016,6:28370
- [17] CHEN X, KANG R, KROEMER G, et al. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*,2021,18(5):280
- [18] LEI G, ZHANG Y, HONG T, et al. Ferroptosis as a mechanism to mediate p53 function in tumor radiosensitivity [J]. *Oncogene*,2021,40(20):3533
- [19] HU S, LUO Y, YANG X, et al. Shaoyao Gancao Decoction protects against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis by down-regulating ferroptosis [J]. *J Pharm Pharmacol*,2023,75(8):1111

(收稿日期:2024-10-07)

引文格式:朱子焕,杨冰茹,郭欣宇,等.芦竹碱抑制结直肠癌的机制研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):203-208.

芦竹碱抑制结直肠癌的机制研究*

朱子焕¹,杨冰茹²,郭欣宇²,陈颖²,夏燕²,刘毅飞^{2**},周燕红^{1**}

(1.湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁437100;2.湖北科技学院生物医学工程与医学影像学院)

摘要:目的 基于网络药理学和分子对接技术解析芦竹碱治疗结直肠癌的分子机制,体外实验探讨芦竹碱调控端粒酶逆转录酶(TERT)抑制结直肠癌的可能机制。方法 通过TCMSP数据库筛选芦竹碱的作用靶点,通过Genecard、OMIM数据库筛选结直肠癌的靶点,将药物靶点与疾病靶点交集,采用STRING数据库、CYTOSCAPE3.10.3软件及相关插件构建蛋白相互作用网络图,利用DAVID对核心靶点进行GO、KEGG通路富集分析,AUTODOCK VINA进行分子对接,CCK-8法检测LoVo细胞活性,流式细胞仪检测LoVo细胞活性氧(ROS)水平,Western blot实验检测TERT蛋白的表达。结果 网络药理学和分子对接技术证明了TERT可能是芦竹碱治疗结直肠癌的潜在靶点,CCK8细胞实验表明芦竹碱呈剂量依赖性抑制LoVo细胞的活力和增殖能力($P < 0.01$),并引发细胞内ROS水平增加($P < 0.01$),下调TERT蛋白表达($P < 0.01$)。结论 网络药理学和分子对接证明了芦竹碱治疗结直肠癌可能是通过TERT来调控,体外实验验证了这一结论,它抑制了LoVo细胞活力及增殖能力,并增加了细胞中ROS的产生,下调TERT蛋白表达水平。

关键词:芦竹碱;结直肠癌;端粒酶逆转录酶;网络药理学;活性氧

中图分类号:R965

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0203-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2025011002



Study on the Mechanism of Gramine to Inhibit Colorectal Cancer

ZHU Zi-huan, LIU Yi-fei, ZHOU Yan-hong, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective Based on network pharmacology and molecular docking technology, the molecular mechanism of gramine to treat the colorectal cancer was analyzed, and the possible mechanism of gramine to inhibit colorectal cancer by regulating TERT was discussed *in vitro*. **Methods** The TCMSP database was used to screen the targets of gramine. The Genecard and OMIM databases were used to screen the targets of colorectal cancer. The drug targets and disease targets were intersected. The STRING database, CYTOSCAPE3.10.3 software and related plug-ins were used to construct the protein interaction network diagram. DAVID was used to perform GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis on the core targets. AUTODOCK VINA was used for molecular docking, and CCK8 method was used to detect the activity of LoVo cells. The level of reactive oxygen species (ROS) in LoVo cells was detected by flow cytometry, and the expression of TERT protein was detected by Western blotting. **Results** Network pharmacology and molecular docking techniques proved that TERT may be a potential target of gramine to treat the colorectal cancer. In the CCK-8 cell experiment, the activity and proliferation of LoVo cells were inhibited by gramine in a dose-dependent manner ($P < 0.01$), and the intracellular ROS level was increased ($P < 0.01$), and the protein level of TERT was down-regulated ($P < 0.01$). **Conclusion** The network pharmacology and molecular docking proved that the treatment of colorectal cancer by gramine might be regulated by TERT, which was verified by *in vitro* experiments. It inhibited the viability and proliferation of LoVo cells, increased the production of ROS in cells, and down-regulated the expression level of TERT protein. It is indicated that the therapeutic effect of gramine on colorectal cancer may be achieved by affecting cell proliferation through the key target TERT.

KEY WORDS: Gramine; Colorectal cancer; TERT; Network pharmacology; ROS

* 基金项目:国家级大学生创新训练项目(202310927011);湖北省卫生健康委员会2023-2024年度卫生健康立项项目(WJ2023M118)

** 通信作者, E-mail: liuyifei@hbust.edu.cn; yanhongzhou326@163.com

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)目前是全球第三大最常见的癌症^[1],它是全球癌症相关死亡的一个普遍且重要的原因,尽管治疗方法取得了很大进步,但对于处于疾病晚期的患者来说,死亡率仍然很高,并面临耐药性和转移的挑战。在过去的几十年里,CRC对人们的健康和生命构成了严重威胁。因此,寻找药物替代疗法,进一步揭示CRC的潜在机制具有重要意义。

端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)是端粒酶的主要功能亚基之一,是调节端粒酶活性、端粒长度和基因组稳定性的重要因素。TERT影响着癌细胞的基本生物学功能,如增殖、凋亡、细胞周期调节、启动细胞形成、和细胞侵袭等^[2]。有研究发现 TERT 启动子突变可以引起垂体腺瘤^[3]、胶质母细胞瘤^[4]、膀胱癌^[5]等癌症的发生和发展。在之前的文献^[6]报道中,确定了 TERT 在 CRC 发生中的作用,TERT 过表达可能促进 CRC 的浸润和转移。

芦竹碱(gramine, GRA)也称为 3-(N,N-二甲基氨基甲基)吡啶,是一种吡啶生物碱,为禾本科植物芦竹的主要活性成分。GRA 分子量大小为 174.24Da,属于天然小分子化合物,主要提取自芦竹等天然植物^[7]。GRA 是一种已知的天然产物并被广泛应用于医药,具有抗病毒、抗菌、抗真菌、抗炎和抗肿瘤多种生物活性,而引起了学术界和工业界的广泛关注^[8],但是其抗肿瘤机制尚不清楚。因此,本文研究 GRA 抗 CRC 的潜在靶点,为 CRC 的治疗提供思路及科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

LoVo 细胞、LoVo 细胞专用培养基购于武汉普诺赛生命科技有限公司,芦竹碱(S31412)购于上海源叶科技生物有限公司,98%的纯度。DMSO(D8371)购于北京索莱宝科技有限公司。ROS 试剂盒(S0033S)购于碧云天生物技术有限公司,CCK-8(MA0218)购于大连美仑生物有限公司,TERT 抗体(A4774)、GAPDH 抗体(A19056)、兔二抗(AS014)购于 ABclonal。流式细胞仪(BD AccuriTMC6 Plus)购于 Biobase。超净工作台(BBS-V1300)购于 Biobase。CO₂ 恒温培养箱(CCL-170T-8)购于 ESBO。酶标仪(ELX800)购于 Bio-Tek。

1.2 方法

1.2.1 GRA 靶点的筛选

以“Gramine”为关键词,利用 BATMAN(ht-

tp://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm)搜索获得 GRA 药物结构,并通过 PubChem、SwissTargetPrediction、Targetnet、PharmMapper 数据库预测 GRA 的作用靶点,把所有靶点合并后删除重复靶点,然后使用 UniProt 予以校正,校正后的名称为 GRA 的潜在靶点。

1.2.2 CRC 疾病靶点的筛选

以“colorectal cancer”为关键词,在 GeneCards(<https://www.genecards.org>)、OMIM(<http://www.omim.org>)数据库中查找 CRC 相关的靶点,将 CRC 靶点和 GRA 靶点绘制韦恩图,得到药物-疾病交集靶点。

1.2.3 构建 GRA 靶点网络及构建蛋白相互作用网络和拓扑学分析

利用 STRING 数据库,构建 PPI 网络互作关系图,借助 Cytoscape 软件得出 GRA 抗 CRC 作用的核心靶点网络图,接着进行拓扑分析,把计算出的度值(degree)、接近中心性(closeness centrality, CC)以及中介中心性(betweenness centrality, BC)当作筛选条件,获取关键靶点。

1.2.4 GO 注释分析与 KEGG 富集分析

把交集靶点输入到 DAVID(<http://david.ncicrf.gov>)数据库中,然后将数据导入到微生信在线网站(<https://www.bioinformatics.com.cn>)进行可视化分析,得到 GO 与 KEGG 通路富集分析。GO 注释分析包含生物过程、分子功能和细胞成分。

1.2.5 GRA 与关键作用靶点分子对接

蛋白质数据库 PDB(<https://www.rcsb.org>)可得到关键的作用靶点蛋白,AutoDock vina 1.1.2 软件能被用于 GRA 和关键作用靶点 TERT 之间的分子对接,采用 Pymol 软件来绘制最佳结果图。

1.2.6 细胞培养

培养人结直肠癌 LoVo 细胞(CL-0144),使用 LoVo 专用培养基(CM-0144),于 37℃,5% CO₂ 的细胞培养箱进行培养,当细胞生长至 70%~80%,即可进行传代。

1.2.7 CCK-8 法检测细胞活力

LoVo 细胞以 1×10^4 /孔的密度接种到 96 孔板里,过夜贴壁后,使用不同浓度(0、75、120、140、180、250 μmol/L)的 GRA 对其进行处理,每个浓度设 6 个复孔。经 48h 后,在待检测细胞中添加 CCK-8,最终由酶标仪测定 450nm 处各孔的吸光度值。根据公式计算细胞存活率 = $[(\text{试验孔} - \text{空白孔}) / (\text{对照孔} - \text{空白孔})] \times 100\%$ 。

1.2.8 流式细胞术检测细胞 ROS 水平

用不同浓度(0、75、120、140、180、250 $\mu\text{mol/L}$)的 GRA 处理细胞 48h 后,将细胞收集到 1.5mL EP 管中,将 DCFH-DA 探针加入无血清培养基中进行 1:1000 稀释,放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育 30min,然后用无血清培养基洗涤 3 次后,使用流式仪器(BD AccuriTMC6 Plus)上机测样,使用 488nm 激光波长、525nm 发射波长,ROS 流式使用 FlowJo 10.8.1 版本进行分析。

1.2.9 Western blot 检测

各组细胞收集起来,加入 RIPA 裂解液,随后总蛋白被提取,采用 BCA 试剂盒测试蛋白浓度。在完成总蛋白提取并测定各孔蛋白浓度之后,以等体积进行上样,利用 10% 的 SDS-PAGE 对蛋白加以分离,之后进行转膜,使用脱脂牛奶于室温下封闭 2h,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下与 1:1000 的一抗过夜共同孵育,随后加入 1:10 000 相对应的二抗并在室温下孵育,再用化学发光成像仪曝光并拍照。

1.3 统计学方法

统计分析工作借助 GraphPad 8.0 来完成,组

间数据比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

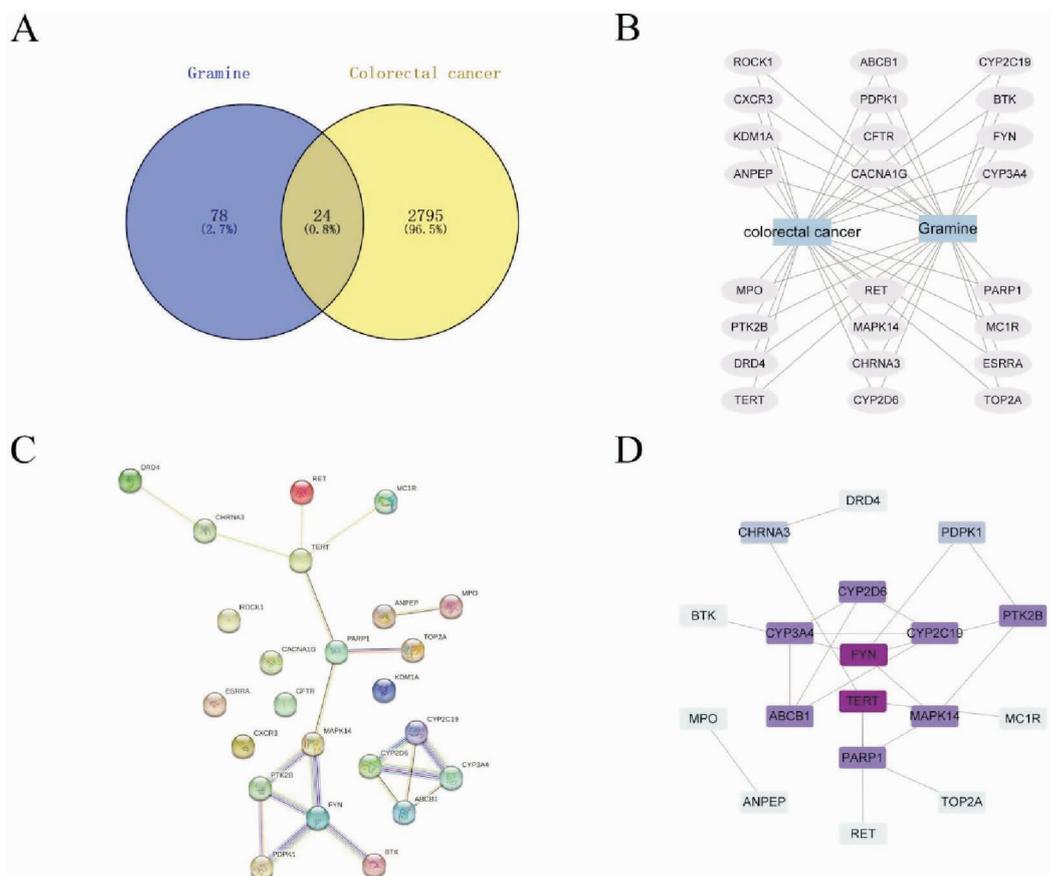
2 结果

2.1 GRA 抗 CRC 作用靶点

将筛选收集的 102 个 GRA 作用靶点和 2819 个 CRC 靶点通过韦恩图取交集,获得共同交集靶点 24 个(图 1A、1B)。

2.2 共同靶点蛋白质互作网络

将 GRA 与 CRC 的 24 个交集靶点导入到 STRING 数据库,构建出 GRA 与 CRC 相关靶点的 PPI 网络图(图 1C),此网络包含 18 个节点、20 条边。利用 Cytoscape 软件,得到 GRA 与 CRC 交集靶点蛋白质相互作用关系,见图 1B、1D。基于特定条件(度值 > 2 、CC > 0.005 和 BC > 0.003)提取核心靶点构建网络,上述数值越高说明靶标越重要,经过拓扑分析后获取排名第一的基因为 TERT。



A. GRA 与 CRC 靶点交集韦恩图;B. GRA 抗 CRC 的靶点网络图;C. 潜在作用靶点互作关系;D. GRA 抗 CRC 作用核心靶点网络。

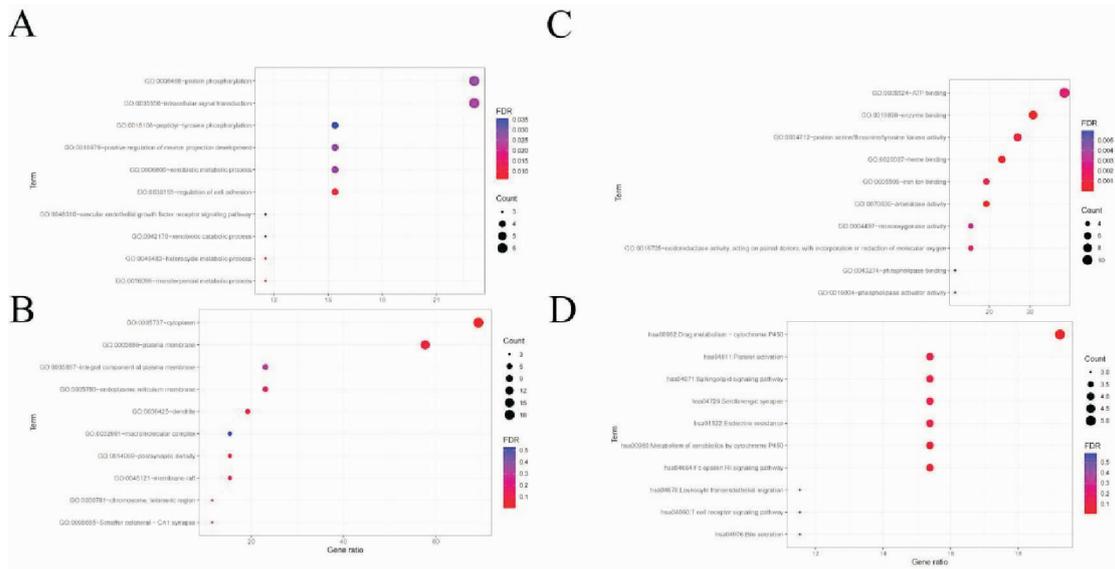
图 1 GRA 与 CRC 网络药理学 Venn、PPI、核心靶点图

2.3 GO、KEGG 功能富集分析

将 24 个共同靶点导入 DAVID 数据库,进行 GO 功能富集分析,按照设定好的 $P < 0.05$ 这一阈值进行筛选,对 P 值前 10 的通路进行绘图。最终显示,有多项生物调控过程被涉及,见图 2A,蛋白质的磷酸化、细胞内信号转导等生物过程都包含在内。图 2B 显示细胞构成主要与细胞质、质体

膜、浆膜等的组成相关。图 2C 展示了分子功能,主要为 ATP 结合、酶的结合以及血红素结合。

借助 David 数据库开展 KEGG 通路富集分析,挑选出与 CRC 关联度最高的前 10 条通路。主要富集在药物代谢相关的细胞色素 P450 方面以及鞘磷脂信号传导相关途径等通路上。见图 2D。



A. BP 生物过程;B. CC 细胞组分;C. MF 分子功能;D. GRA 抗 CRC 的 GO 功能富集分析。

图 2 GRA 与 CRC 网络药理学 GO、KEGG 功能富集

2.4 GRA 与核心靶点 TERT 的分子对接分析

分子对接显示,GRA 与核心靶点 TERT 的结合能数据为-5.4kcal/mol。一般认为,结合能

$< -5.0\text{kcal/mol}$,表明这种成分与核心靶点蛋白结合性较好,最后使用 Pymol 软件可视化对接结果。见图 3。

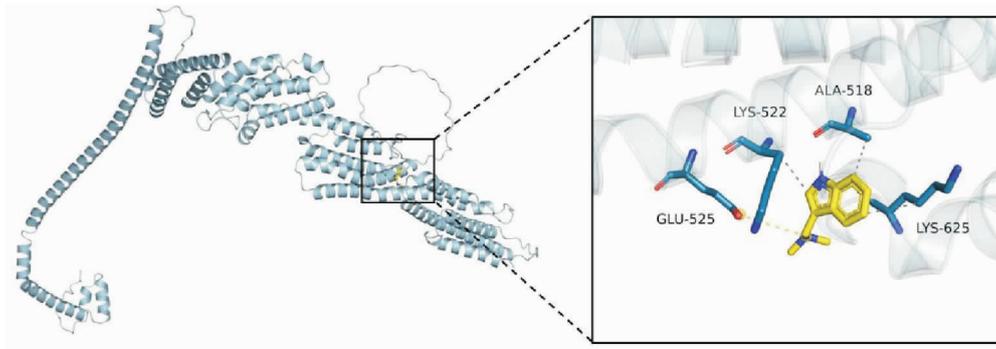


图 3 GRA 与核心靶点 TERT 的分子对接

2.5 GRA 抑制 LoVo 细胞活力与增殖

GRA $0\mu\text{mol/L}$ 时,LoVo 细胞呈均匀贴壁生长,细胞的增殖活力不受影响。75、120 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 GRA 处理后,肉眼可见 LoVo 细胞出现了不

均匀生长,细胞密度降低,140、180、250 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 GRA 处理 LoVo 后,逐渐出现了相互聚集的细胞,随着给药剂量的不断增加,团块逐渐变大,细胞活力也逐渐降低。结果表明,GRA 呈剂量依

赖性抑制 LoVo 细胞的活性(图 4A、4B), $IC_{50} = 143.2\mu\text{mol/L}$ (图 4C)。

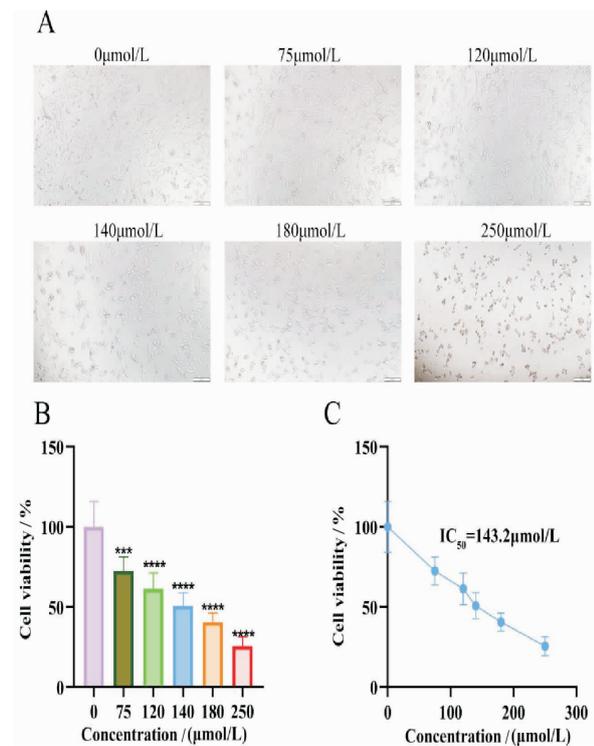


图 4 GRA 处理的 LoVo 细胞白光图(标尺:100μm);B. CCK8 统计图(*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, $n = 6$);C. IC_{50} 统计图。

图 4 GRA 抑制 LoVo 细胞活力

2.6 GRA 诱导 LoVo 细胞产生活性氧

ROS 流式细胞仪检测结果表明,与空白对照组相比,随着 GRA 给药剂量的增加,各处理组细胞 ROS 水平均上调($P < 0.01$,图 5),说明 GRA 呈剂量依赖性诱导 LoVo 细胞产生活性氧。

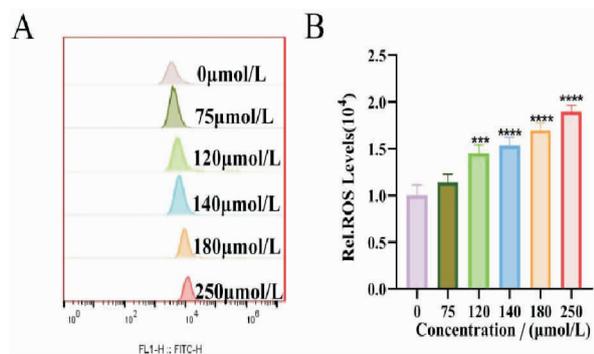


图 5 ROS 流式分析图;B. ROS 流式统计图(*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, $n = 3$)。

图 5 GRA 诱导 LoVo 细胞产生活性氧

2.7 GRA 对 TERT 蛋白的影响

Western blotting 结果显示,与空白对照组相比,随着给药剂量增加,TERT 蛋白的表达明显下

调($P < 0.01$,图 6)。表明 GRA 可能通过调控 TERT 诱导 LoVo 细胞死亡。

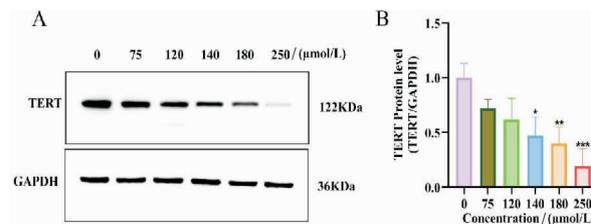


图 6 不同剂量 GRA 处理 LoVo 细胞后 TERT 蛋白水平表达情况

3 讨论

CRC 是一种多步骤恶性肿瘤,在当今社会中发病率不断上升,已经成为全球重要的健康问题。多数 CRC 在发现时已出现局部进展或转移,丧失手术机会。临床上化学治疗对其改善生存质量、延长生存期尤为重要,但也存在着复杂的副作用。因此,急需寻找新的临床药物及机制研究来提高治疗效果。近年来,虽然许多天然小分子化合物抗 CRC 的预防和治疗有了新的应用前景,但天然小分子化合物抗结直肠癌的抗肿瘤作用及其机制尚未完全揭示。GRA 的多种药理活性引起了广泛关注,并且 GRA 在治疗 CRC 方面尚未见报道,我们通过网络药理学发现了 TERT 这一靶点,并通过细胞实验验证了 GRA 通过调控 TERT 来抑制 CRC。因此,本研究首次揭示了 GRA 在 CRC 细胞中抗癌机制。

近年来,研究认为 TERT 可能是肿瘤治疗中的一个理想靶点^[9]。TERT 在 CRC 生长中也发挥着重要作用,赋予细胞生存和持续增生。有文献^[10]证明了 TERT 中常见的遗传变异与端粒更长和 CRC 风险增加有关,潜在机制是降低细胞衰老或死亡水平。大多数正常人类细胞缺乏端粒活性,而诱导 TERT 表达和端粒激活通常是人类细胞恶性转化的先决步骤。之前的研究表明^[11],通过诱导 TERT 表达和端粒延伸来促进 CRC 细胞的繁殖,TERT 通过增强端粒活性和稳定端粒来促进 CRC 细胞生长。早期研究^[12]发现在卵巢早衰中 ROS 上调可抑制 TERT 表达,抑制 TERT 活性并促进卵巢早衰。有文献^[13]还报道了减少的 mTOR 信号传导通过线粒体内端粒酶蛋白 TERT 的积累,减少大脑中线粒体 ROS。TERT 表达在小鼠脑部衰老过程中下降,而线粒体电子传输链中的

ROS 释放增加。因此,我们得出结论,TERT 可能通过调控 ROS 来控制疾病的发生和发展。

ROS 是公认的癌症标志,也是癌症治疗研究的一个重要方面。ROS 水平异常升高通常归因于细胞代谢活动的改变和氧化应激的增加,它会影 响癌症的发展和维持^[14]。有文献^[15]证明增强 ROS 生成能够促进 CRC 细胞凋亡、铁死亡、侵袭和集落形成。此外,有文献^[16]报道了平衡调节 ROS 产生和炎性体激活可以预防 CRC 的早期发展。在一项研究^[17]中发现,ROS 水平升高诱导人结直肠癌 HCT-15 和 LoVo 细胞凋亡,减少了 ROS 的产生则抑制了结直肠癌细胞抗增殖作用。

在本研究中,首先通过网络药理学筛选出 GRA 抗 CRC 的核心靶点 TERT,又通过体外实验,验证了 GRA 对人结直肠癌 LoVo 细胞增殖的抑制作用是通过 ROS 的产生和 TERT 基因的下调来发挥作用的。目前,GRA 对于 CRC 的作用机制仅仅处于探索阶段。由于本研究首次揭示了 GRA 在 CRC 细胞中抗癌机制,尚未有文献证明 GRA 和 TERT 的具体结合方式,因此,GRA 的抗 CRC 机制研究还需要进一步深入探究,就临床应用的前景而言,本次研究为 GRA 成为潜在的抗 CRC 药物奠定了一定的科学基础。

参考文献:

- [1] WANG Y, CAO X, YANG C, et al. Ferroptosis and immunosenescence in colorectal cancer [J]. *Semin Cancer Biol*, 2024, 106-107: 156
- [2] LIU M, ZHANG Y, JIAN Y, et al. The regulations of telomerase reverse transcriptase (TERT) in cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1): 90
- [3] MIYAKE Y, ADACHI JI, SUZUKIT, et al. TERT promoter methylation is significantly associated with TERT upregulation and disease progression in pituitary adenomas [J]. *J Neurooncol*, 2019, 141(1): 131
- [4] IVANIDZEJ, LUM M, PISAPIA D, et al. MRI features associated with TERT promoter mutation status in glioblastoma [J]. *J Neuroimaging*, 2019, 29(3): 357
- [5] WEYERERV, ECKSTEIN M, STRISSEL PL, et al. TERT promoter mutation analysis of whole-organ mapping bladder cancers [J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(2): 230
- [6] 谢学成, 覃宇周, 曾晓春, 等. 端粒酶或人端粒酶逆转录酶活性与结直肠癌临床病理特征关系的 Meta 分析 [J]. *广西医学*, 2018, 40(8): 948
- [7] XU L, SU Y, YANG X, et al. Gramine protects against pressure overload-induced pathological cardiac hypertrophy through Runx1-TGFBR1 signaling [J]. *Phytomedicine*, 2023; 114: 154779
- [8] ZHANG J, JIA Q, LI N, et al. Recent developments of gramine: chemistry and biological activity [J]. *Molecules*, 2023, 28(15): 5695
- [9] YANG X, LI J, LI X, et al. TERT promoter mutation predicts radioiodine-refractory character in distant metastatic differentiated thyroid cancer [J]. *J Nucl Med*, 2017, 58(2): 258
- [10] JONES A M, BEGGS A D, CARVAJAL-CARMONA L, et al. TERC polymorphisms are associated both with susceptibility to colorectal cancer and with longer telomeres [J]. *Gut*, 2012, 61(2): 248
- [11] WANG G, WANG Q, HUANG Q, et al. Upregulation of mtSSB by interleukin-6 promotes cell growth through mitochondrial biogenesis-mediated telomerase activation in colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(10): 2516
- [12] JIANG HL, CAO LQ, CHEN HY. Protective effects ROS up-regulation on premature ovarian failure by suppressing ROS-TERT signal pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(19): 6198
- [13] MIWA S, CZAPIEWSKI R, WAN T, et al. Decreased mTOR signalling reduces mitochondrial ROS in brain via accumulation of the telomerase protein TERT within mitochondria [J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(10): 2551
- [14] ZHAO Y, YE X, XIONG Z, et al. Cancer metabolism: the role of ROS in DNA damage and induction of apoptosis in cancer cells [J]. *Metabolites*, 2023, 13(7): 796
- [15] WANG C X, CHEN L H, ZHUANG H B, et al. Auricularin enhances ROS generation to regulate colorectal cancer cell apoptosis, ferroptosis, oxeiptosis, invasion and colony formation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 587: 99
- [16] LI L, XU T, QI X. Balanced regulation of ROS production and inflammasome activation in preventing early development of colorectal cancer [J]. *Immunol Rev*, 2025, 329(1): e13417
- [17] LIM H M, LEE J, NAM M J, et al. Acetylshikonin induces apoptosis in human colorectal cancer HCT-15 and LoVo cells via nuclear translocation of FOXO3 and ROS level elevation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6647107

(收稿日期:2025-01-10)

引文格式:樊明剑,许宗仁,孙婷婷,等.正交试验结合数学模型优选四逆散加减方提取工艺研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):209-213.

正交试验结合数学模型优选四逆散 加减方提取工艺研究

樊明剑^{1,2},许宗仁¹,孙婷婷¹,程云龙¹,王莹³,王海峰^{4*}

(1.陕西省中医药研究院,陕西西安710003;2.榆林市榆阳区中医医院;
3.西安培华学院;4.武警陕西省总队医院)

摘要:目的 优选四逆散加减方口服液的水提工艺。方法 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验提取,以干膏率和芍药苷含量为考察指标进行分析。根据均值分析试验因素影响趋势建立统计数学模型,预测27组正交试验结果,将9组试验结果和预测结果进行配对 t 检验,采用多指标加权评分法优选最佳工艺。结果 优选四逆散加减方口服液最佳工艺为加水量10倍,煎煮时间1h,煎煮次数3次。干膏得率为 $(17.83 \pm 0.17)\%$,与预测值18.49%相差3.7%,芍药苷含量平均值为 $(322.0 \pm 6.5)\text{mg}$,与预测值331mg相差2.7%。干膏率、芍药苷和综合值与其相应的预测值配对 t 检验 P 值分别为0.45、0.91和0.34,均无显著性差异($P > 0.05$)。三批验证试验的RSD分别为0.9%和1.9%,表明试验结果稳定、重复性好。结论 该优选的工艺可靠、稳定,可用于四逆散加减方口服液的提取工艺。

关键词:四逆散加减方;提取工艺;正交设计;数学模型;芍药苷

中图分类号:R96

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0209-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024111811



Orthogonal Experiment Combined with Mathematical Model for the Optimization of Modified Si Ni San Water Extraction Process

FAN Ming-jian, XU Zong-ren, WANG Hai-feng, et al

(Shaanxi Institute of Traditional Chinese Medicine, Xi'an Shaanxi 710003, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the water extraction process of modified Si Ni San. **Methods** The modified Si Ni San water extraction was conducted by $L_9(3^4)$ orthogonal experiment utilizing the dry extract yield and paeoniflorin content as evaluation indicators. A statistical mathematical model of the influencing trends of experimental factors was established based on the mean analysis. The results of 27 groups of the orthogonal experiments were predicted, and the predicted values and the experimental results was analyzed by the paired t -test. The multi-criteria weighted scoring method was used to optimize the best extraction process. **Results** The optimal process for modified Si Ni San oral liquid was 10 times the amount of water, 1h of decoction time, and 3 decoction times. The average dry extract yield was $(17.83 \pm 0.17)\%$, deviating from the predicted value by 3.7%. The average paeoniflorin content was $(322.0 \pm 6.5)\text{mg}$, deviating from the predicted value by 2.7%. The p -values for the tests of dry extract ratio, paeoniflorin content and comprehensive value compared to prediction values are 0.45, 0.91, and 0.34, respectively, indicating no significant differences ($P > 0.05$). The RSDs of three-batch validation tests were 0.9% and 1.9%, respectively, indicating that the test results were stable and reproducible. **Conclusion** The optimized process is reliable and stable, making it suitable for the extraction of modified Si Ni San oral liquid.

KEY WORDS: Modified Si Ni San; Extraction Process; Orthogonal Design; Mathematical Model; Paeoniflorin

* 通信作者, E-mail: 36092785@qq.com

四逆散出自汉代张仲景《伤寒论》,由柴胡、白芍、枳实和甘草组成,可用于治疗少阴四逆证、四肢厥冷之“肢厥”、伤寒诸证等^[1]。现代药理学研究发现,四逆散具有抗抑郁、镇静催眠、保护肝脏、抗肿瘤及抗炎等多种药理活性^[2]。我院钞丁祥副主任医师遵循行气疏肝、养血敛阴柔肝原则,拟定了经验方四逆散加减方,用于疏肝行气,治疗肝郁气滞取得了良好的临床效果。四逆散加减方将枳实改为白芥子、椿皮而得,旨在增强疏肝行气和养血敛阴。传统散剂存在口感差、难以吞咽、容易结块等缺点,本方将散剂改为汤剂的原因是汤剂服药量少、口感更佳、应用方便、易于标准化^[3]。

正交试验设计按全面试验要求,三因素三水平的试验须进行27种组合试验。按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,只需作9次。正交试验设计是中药煎煮中优选次数、时间和加水量常用的研究方法^[4]。但是对试验数据的处理却比较主观,往往是依据试验结果和经验来优选。本研究提出,以四逆散加减口服液为例,依据正交试验数据分析并建立数学模型,用模型对27组试验进行预测,然后优选最佳工艺。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪1260型(安捷伦科技中国有限公司)、KR100-5-C18 高效液相色谱柱(瑞典 Akzo Nobel 公司)、XM-P22H 型无极调功超声波清洗机(小美超声仪器昆山有限公司)、SQP 型分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)、FW100 型粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)、SYG-A2-4 四孔水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)、98-I-BN 型电热套(天津市泰斯特仪器有限公司)、101-2AB 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试剂

芍药苷(批号110736-202447,纯度 $\geq 98.1\%$)购自中国食品药品检定研究院;醋北柴胡(批号20240102)、炒白芍(批号20240202)、炒芥子(批号20240101)、椿皮(批号20240101)、甘草(批号20240502)均来自于陕西兴盛德药业有限责任公司。乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇、磷酸等均为分析纯,水为纯净水。

1.3 方法

1.3.1 因素水平的确定及正交表的选择

将醋北柴胡12g、炒白芍15g、炒芥子12g、椿皮

12g和甘草片6g五味药进行水煎煮,通过正交试验,以干膏率和芍药苷含量为考察指标综合分析,得出最优煎煮次数、加水量和煎煮时间工艺条件。

为了确定最优的提取条件,拟采用正交试验对水提取工艺进行优选,通常情况下:煎煮时间、加水量和煎煮次数对提取结果影响较大,因此,以加水量(A)、煎煮时间(B)和煎煮次数(C)作为影响因素。选择加水量、煎煮时间和煎煮次数依据经验和参考文献^[5],各选择3个水平,因素水平表见表1。按处方称取药材共9份,按 $L_9(3^4)$ 正交表(见表2)进行试验。

表1 因素水平表

水平	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮次数/次	空白
1	6	1	1	1
2	8	1.5	2	2
3	10	2	3	3

1.3.2 干浸膏制备

取上述9个试验号水煎液浓缩,至恒重后的蒸发皿中,水浴蒸干,烘箱105℃干燥3h后取出,置干燥器中冷却称定,再干燥1h后取出精密称定,计算干膏得率,干膏得率($\%$) = $\frac{\text{干膏质量}}{\text{药材质量}} \times 100\%$ 。

1.3.3 芍药苷含量测定

色谱条件与系统适用性试验^[6]:以十八烷硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.1%磷酸溶液(14:86)为流动相;检测波长为230nm。理论板数按芍药苷峰计算应不低于2000。

对照品溶液的制备:取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1mL含73 μg 的溶液。

供试品溶液的制备:取上述9个编号供试品,放冷,摇匀,针孔式滤膜滤过,取续滤液。

测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL ,注入液相色谱仪测定。芍药苷含量 = $\frac{\text{对照品浓度} \times \text{供试试品峰面} \times \text{供试试品体}}{\text{对照品峰面积} \times 1000}$ 。

1.3.4 指标的具体评价方法、数据模型建立和27次试验计算方法

指标评价方法:正交结果采用多指标加权评分法处理^[7],权重系数按干膏率:芍药苷=0.5:0.5来计算各组综合评分值,计算公式综合值 $Z = 0.5 \times Y_i / Y_{\max} + 0.5 \times U_i / U_{\max}$ (Y_i 表示第*i*次试验干

膏率, Y_{\max} 表示干膏率最大值, U_i 表示第 i 次试验芍药苷含量, U_{\max} 表示芍药苷含量最大值)。

干膏率模型方法: 根据均值规律建立数学模型, 干膏率有煎煮次数、加水量和煎煮时间三个影响因素, 且成正相关, 加水量和煎煮时间设计为线性模型, 煎煮次数为增长衰减模型用 Log 函数^[8]。用 SPSS Statistics 26 设计方程为 $Y = K_1 X_1 + K_2 X_2 + K_3 \text{Log}(X_3 + K_4) + K_5$; Y 为干膏率, K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 、 K_5 为系数, X_1 为加水量, X_2 为煎煮时间, X_3 为煎煮次数。

芍药苷模型方法: 芍药苷含量受煎煮次数、加水量和煎煮时间三个影响因素, 加水量呈正相关用一次函数, 煎煮时间设计为二次函数, 分析认为煎煮次数影响为增长衰减模型 Log 函数^[8]。用 SPSS Statistics 26 设计方程为 $U = M_1 X_1 + M_2 X_2^2 + M_3 X_3 + M_4 \text{Log}(X_3 + M_5) + M_6$, U 为芍药苷含量, M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 、 M_5 、 M_6 为系数, X_1 为加水量, X_2 为煎煮时间, X_3 为煎煮次数。

预测实验方法: 以干膏率和芍药苷含量计算, 将 X_1 、 X_2 、 X_3 代入方程, 计算相应的结果, 并用权重法计算综合值。

1.4 统计学方法

1.4.1 方程设计

分别对干膏率和芍药苷含量依据方程得出系数, 用 SPSS Statistics 26 软件非线性回归中输入方程和参数, 约束条件选择未约束, 得出各系数并代入方程。

1.4.2 配对 t 检验

对正交试验的 9 组结果和数学模型预测的干膏率、芍药苷、综合值与其相应的模型预测结果, 在 Graphpad prism 9.5 中 t 检验进行分析。 $P > 0.05$ 则证明两组数据无显著性差异。

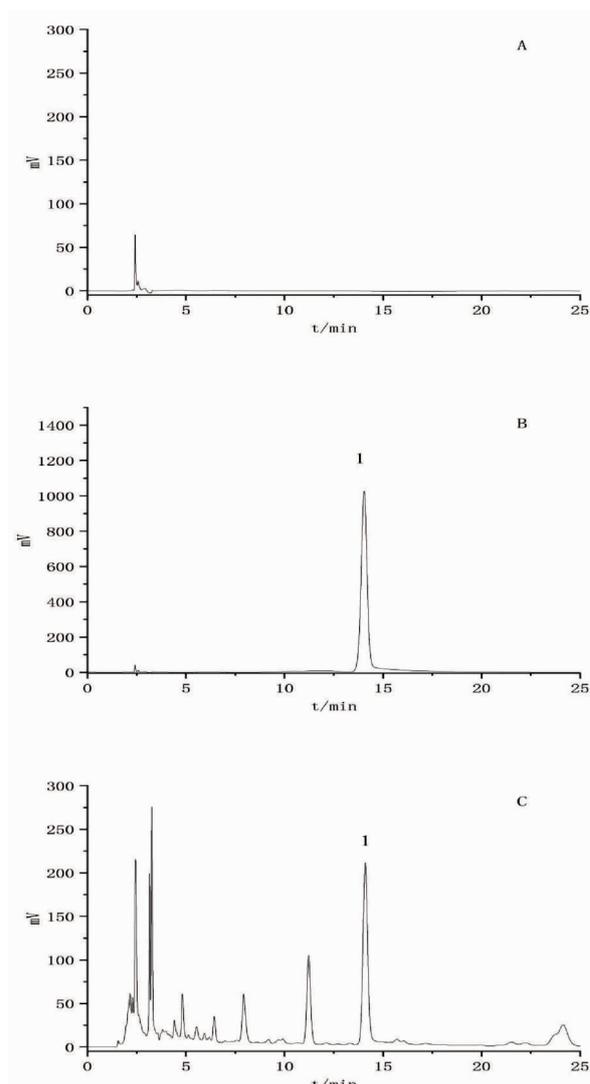
1.5 验证试验

正交试验得出最佳提取工艺, 通过验证试验来确定其是否真实可行。按处方比例称取药材, 共 3 份, 按最佳工艺进行提取, 过滤, 分别按“干膏率的测定”和“芍药苷含量测定”方法, 权重法计算综合评分和 RSD。

2 结果

2.1 芍药苷含量测定

液相色谱图见图 1, 通过公式计算芍药苷含量, 结果见表 2。



A. 空白(溶剂); B. 芍药苷对照品(1 芍药苷); C. 供试品(1 芍药苷)。

图 1 液相色谱图

表 2 水提 $L_9(3^4)$ 正交试验表

试验号	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮次数/次	空白	干膏率/%	芍药苷含量/mg
1	1	1	1	1	10.91	257.2
2	1	2	3	2	17.73	270.5
3	1	3	2	3	16.20	280.3
4	2	1	3	3	17.41	311.3
5	2	2	2	1	16.18	294.7
6	2	3	1	2	12.39	245.0
7	3	1	2	2	16.54	321.6
8	3	2	1	3	13.01	242.0
9	3	3	3	1	19.79	311.5

2.2 极差分析

煎煮次数、加水量和煎煮时间三因素与干膏率均呈正相关, 其中煎煮次数呈增长衰减趋势。见表 3。可得出影响因素大小为 C(煎煮次数) >

A(加水量) > B(煎煮时间)。由表4中直观可得出因素A呈正相关,因素B水平1(煎煮1h)为最大值,因素C水平2(煎煮2次)最大,且与水平3(煎煮3次)接近。可得出各因素作用主次为C > B > A。

表3 干膏率极差分析(%)

项目	A 加水量	B 煎煮时间	C 煎煮次数
平均值1	14.94	14.95	12.10
平均值2	15.33	15.64	16.30
平均值3	16.44	16.13	18.31
极差	1.50	1.17	6.21

表4 芍药苷含量极差分析(mg)

项目	A 加水量	B 煎煮时间	C 煎煮次数
平均值1	269.32	296.70	248.08
平均值2	283.69	269.07	298.85
平均值3	291.69	278.92	297.77
极差	22.37	27.64	50.76

2.3 数学模型结果

2.3.1 干膏率模型

依据方法1.3.4建立模型,方程为 $Y = 0.75X_1 + 0.59X_2 + 9.21\text{Log}(X_3 - 0.46) + 11.92$ 。得出系数结果 $R^2 > 0.9$,表示模型与数据之间的拟合程度高。系数见表5。

表5 参数估算值

参数	估算	标准误差	95%置信区间	
			下限	上限
K1	0.75	0.11	0.44	1.06
K2	0.59	0.11	0.27	0.90
K3	9.21	2.10	3.39	15.02
K4	-0.46	0.23	-1.10	0.18
K5	11.92	1.16	8.69	15.14
源		平方和	自由度	均方
回归		2248.40	5.00	449.68
残差		0.31	4.00	0.08
修正前总计		2248.71	9.00	
修正后总计		65.95	8.00	
$R^2 = 0.995$				

2.3.2 芍药苷模型

依据方法1.3.4建立模型,方程为 $U = 11.15X_1 + 18.66X_2^2 - 83.45X_2 + 66.49\text{Log}(X_3 - 0.67) + 338.73$ 。得出系数结果 $R^2 > 0.9$,表示模型与数据之间的拟合程度高。系数见表6。

表6 参数估算值

参数	估算	标准误差	95%置信区间	
			下限	上限
M1	11.15	6.02	-8.01	30.32
M2	18.66	10.43	-14.54	51.85
M3	-83.45	42.15	-217.60	50.70
M4	66.49	82.33	-195.53	328.51
M5	-0.67	0.88	-3.47	2.13
M6	338.73	53.04	169.95	507.51
源		平方和	自由度	均方
回归		720041.07	6.00	120006.85
残差		652.70	3.00	217.57
修正前总计		720693.77	9.00	
修正后总计		7175.68	8.00	
$R^2 = 0.909$				

2.3.3 数学模型预测结果

依据方法1.3.4对27种试验组合进行预测,结果见表7。计算结果可见 $A_3B_1C_3$ (10倍水,煎煮1h,煎煮3次)和 $A_3B_3C_3$ (10倍水,煎煮2h,煎煮3次)均为0.97, $A_3B_1C_3$ 煎煮时间更短,为最优工艺。

表7 数学模型预测结果

编号	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮次数/次	干膏率/%	芍药苷含量/mg	综合值
1	1	1	1	10.80	253.1	0.66
2	1	1	2	14.99	293.3	0.82
3	1	1	3	16.99	309.5	0.90
4	1	2	1	11.39	225.6	0.63
5	1	2	2	15.58	265.9	0.80
6	1	2	3	17.58	282.0	0.87
7	1	3	1	11.98	235.5	0.66
8	1	3	2	16.17	275.7	0.83
9	1	3	3	18.17	291.9	0.90
10	2	1	1	11.55	264.2	0.69
11	2	1	2	15.74	304.5	0.86
12	2	1	3	17.74	320.7	0.93
13	2	2	1	12.14	236.8	0.67
14	2	2	2	16.33	277.0	0.83
15	2	2	3	18.33	293.2	0.91
16	2	3	1	12.73	246.6	0.70
17	2	3	2	16.92	286.9	0.86
18	2	3	3	18.92	303.0	0.94
19	3	1	1	12.30	275.4	0.73
20	3	1	2	16.49	315.6	0.89
21	3	1	3	18.49	331.8	0.97
22	3	2	1	12.89	247.9	0.70
23	3	2	2	17.08	288.2	0.87
24	3	2	3	19.08	304.3	0.94
25	3	3	1	13.48	257.8	0.73
26	3	3	2	17.67	298.0	0.90
27	3	3	3	19.67	314.2	0.97

2.3.4 配对 t 检验结果

依据方法 1.4 得干膏率、芍药苷、综合值与其相应的模型预测结果配对 t 检验 P 值分别为 0.45、

0.91 和 0.34, 均无显著性差异(P 均 >0.05), 数学模型可用于正交试验预测。结果见图 2。

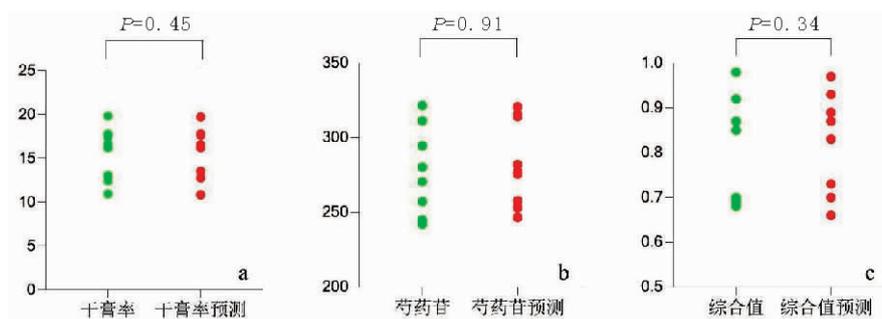


图 2 配对 t 检验结果

2.4 验证试验

按优选工艺即加 10 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 1h。依据方法 1.5 进行验证, 结果见表 8。从验证结果来看, 芍药苷含量为 (322.0 ± 6.5) mg, 与预测值 331 误差为 2.7%。干膏得率为 $(17.83 \pm 0.17)\%$, 与预测值 18.49 误差为 3.7%。两个指标的 RSD 分别为 0.9% 和 1.9%, 表明试验结果比较稳定。优选的提取条件和数学模型预测可行。

表 8 验证试验结果

样品	药材量/g	干膏得率/%	芍药苷总量/mg
1	57	17.8	321.0
2	57	17.7	316.5
3	57	18.0	328.5
平均值	57	17.83	322.0
RSD/%	0	0.9	1.9

3 讨论

采用正交试验法, 以干膏率和芍药苷含量为指标, 对四逆散加减的提取工艺进行优选。优选试验结果为加水量为 10 倍, 煎煮时间为 1h, 煎煮次数为 3 次, 综合值最高, 为最佳提取工艺。

文献记载^[4,9-10]处理正交结果数据时, 中试试验选择因素笼统概括, 选择理由模糊, 也没有数据支撑。本研究提出数学模型预测为正交试验数据处理开拓思路, 数学模型预测 27 组数据后, 中试试验可根据费效比选择可行性工艺。该模型的缺

点是没有考虑各因素之交互影响, 有待于后续研究。

参考文献:

- [1] 梁绿圆, 唐箫, 曹佳蕾. 经典名方四逆散关键信息考证与古今应用分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 10(12):1
- [2] 王志一, 黄梓洋, 李自波, 等. 四逆散临床应用及药理学机制研究进展[J/OL]. 中华中医药学刊, 2024, 12(23):1
- [3] 林渊, 周良良, 吴水生. 对中药汤剂剂型改革研究的思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):264
- [4] 杨艳玲, 李花花, 彭紫薇. 基于网络药理学结合层次分析法 熵权法和正交实验研究正骨洗药提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(17):1813
- [5] 潘海华, 李智勇, 邓桂珠, 等. 黄榆痔疾洗剂制备工艺研究[J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(20):61
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:108
- [7] 孙婷婷, 张红, 李晔等. 西洋参药材中总多糖及总皂苷提取工艺研究[J]. 中国药师, 2018, 21(10):1734
- [8] 黎红. 指向数学建模素养的对数函数教学设计研究[D]. 重庆: 重庆师范大学, 2023
- [9] 胡晓红, 杨雪颖, 叶津宏等. 基于网络药理学结合多指标正交实验优选颈眩宁方的提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(5):469
- [10] 王熙林, 吴逸凡, 黄胜堂, 等. 生脉散药效成分 5-羟甲基糠醛提取工艺的研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2019, 33(2):93

(收稿日期:2024-11-18)

引文格式: 昌德炜, 徐森, 施汶宁, 等. Nrf2/ARE 信号通路在芒果苷治疗小鼠药物性肝损伤中的作用[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2025, 39(3): 214-217.

Nrf2/ARE 信号通路在芒果苷治疗小鼠 药物性肝损伤中的作用*

昌德炜¹, 徐森¹, 施汶宁¹, 孙燕玲², 吕建国^{3**}

(1. 湖北科技学院医学部药学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院医学部基础医学院;
3. 湖北科技学院医学部临床医学院)

摘要:目的 探讨芒果苷(MGF)对小鼠药物性肝损伤的治疗作用及分子机制。方法 将30只Balb/c小鼠随机分为对照组(Control)、模型组(VPA)和治疗组(MGF),每组10只。模型组和治疗组采用丙戊酸钠(VPA)灌胃制备肝损伤模型,持续14d,造模期间,治疗组同时用MGF灌胃。酶联免疫吸附实验(Elisa)检测各组小鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(AKP)水平,苏木素-伊红(H&E)染色观察各组小鼠肝组织病理变化,免疫组织化学(IHC)和蛋白免疫印迹(Western blot)检测小鼠肝组织中核因子E2相关因子2(Nrf2)、血红素氧合酶1(HO-1)和Kelch样ECH关联蛋白1(KEAP1)的表达。结果 与对照组相比,模型组血清中ALT、AST、AKP水平升高;肝小叶不完整,肝血窦狭窄、不规则,肝细胞肿胀,细胞核增大;肝组织Nrf2和HO-1表达降低,KEAP1表达升高。与模型组相比,治疗组血清中ALT、AST、AKP水平下降,肝小叶相对完整,肝血窦间隙较大,肝细胞体积略大,细胞核较小;肝组织Nrf2和HO-1表达升高,KEAP1表达下降。结论 MGF可治疗Balb/c小鼠药物性肝损伤,其作用机制可能与激活Nrf2/ARE信号通路有关。

关键词: 芒果苷; 药物性肝损伤; 核因子E2相关因子2; 抗氧化反应元件

中图分类号: R-332

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2025)03-0214-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024111104



Involvement of Nrf2/ARE Signaling Pathway in the Therapeutic Effect of Mangiferin on Drug-Induced Liver Injury in Mice

CHANG De-wei, XU Miao, LÜ Jian-guo, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the therapeutic effect of mangiferin (MGF) on drug-induced liver injury in mice and elucidate its molecular mechanism. **Methods** Thirty Balb/c mice were randomly divided into control group, VPA group, and MGF group, with 10 mice in each group. Mice in the VPA and MGF groups were given VPA gavage to induce liver injury for 14 days, while the mice in the MGF group concurrently received gavage administration of MGF. The serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (AKP) were quantified using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Additionally, hepatic histopathological changes were assessed through hematoxylin-eosin (H&E) staining. The expressions of nuclear factor E2-associated factor 2 (Nrf2), Heme oxygenase 1 (HO-1), and Kelch-like ECH associated protein 1 (KEAP1) were evaluated using immunohistochemistry (IHC) and Western blot. **Results** Compared to the control group, the VPA group exhibited elevated levels of ALT, AST, and AKP in serum. Furthermore, hepatic lobules displayed incomplete with narrow hepatic sinus congestion, hepatocyte swelling, and enlarged cell nuclei. The expressions of Nrf2 and HO-1 decreased while KEAP1 expression increased. Compared to the VPA group, the MGF group showed reduced levels of ALT, AST, and AKP in serum. Hepatic lobules appeared relatively intact with larger hepatic sinus spaces, hepatocytes had slightly larger volumes but smaller nuclei compared to those from the VPA group. Moreover, the expressions of Nrf2 and HO-1 increased while KEAP1 expression decreased. **Conclusion** MGF can effectively treat drug-induced liver injury in Balb/c mice by activating the Nrf2/ARE signaling pathway.

KEY WORDS: Mangiferin; Drug-induced liver injury; Nrf2; ARE

* 基金项目: 湖北科技学院医学部口腔与眼视光医学院专项科研基金项目(2021WG10)

** 通信作者, E-mail: asljpt@163.com

肝脏是最大的内脏器官,也是重要的代谢器官,药物或其他外源性物质都可诱导肝脏的异常状态,引发损伤^[1]。肝损伤的种类很多,包括免疫性、酒精性和病毒性等^[2]。芒果苷(mangiferin, MGF)主要存在于芒果的果实、树叶、树皮,以及射干等植物的花和叶中,具有降血脂、降血糖、护肝、抗凋亡和抗炎等药理作用,因其安全性高被广泛应用于临床^[3]。研究^[4]表明,MGF可降低急性酒精性肝损伤所引起的血清转氨酶升高,对抗氧化应激,减轻酒精及其产物对肝细胞的损害作用,阻止肝内脂质过氧化物产生,提高抗氧化酶活性,从而对肝脏起保护作用。但MGF对药物性肝损伤的作用及分子机制还未见报道,本研究通过建立小鼠药物性肝损伤模型并给予MGF干预,观察MGF对小鼠肝损伤的治疗作用,探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

MGF购自上海源叶生物科技有限公司,丙戊酸钠(VPA)购自湖南省湘中制药有限公司;谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(AKP)测试盒购自南京建成生物工程研究所,苏木素-伊红(H&E)染色试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;免疫组织化学(IHC)染色试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na)购自上海晶纯生化科技股份有限公司;核因子E2相关因子2(Nrf2)、血红素氧合酶1(HO-1)和Kelch样ECH关联蛋白1(KEAP1)抗体购自美国Affinity Biosciences公司。

RM2245石蜡切片机(德国Leica公司);PowerPac Basic Western blot电泳仪(美国Bio-Rad仪器有限公司);CM1900冰冻切片机(德国Leica公司);CH2生物显微镜(日本Olympus公司);5415R低温冷冻离心机(德国Eppendorf公司);FLx800荧光酶标仪(美国Bio-Tek仪器有限公司);BAS124S电子天平(德国Sartorius公司);MDF-U53V-80℃超低温冰箱(日本Sanyo公司)。

1.2 实验动物与分组

雄性Balb/c小鼠30只,SPF级,6~8周龄,体重20~25g,由湖北省实验动物研究中心提供,动物合格证号:42000600059017,已经通过湖北科技学院实验动物伦理委员会审批。动物房温度24℃~26℃,湿度45%~50%,昼夜节律为12h,动物自由

饮食进水。30只小鼠随机分为3组,对照组(Control)、模型组(VPA)和治疗组(MGF),每组10只。

1.3 实验方法

1.3.1 药液制备

VPA储备液(150 mg/mL)的配制:称取7.5g VPA,用生理盐水定容至50mL, -20℃保存;小鼠灌胃用VPA工作液(100mg/mL)配制:量取2.4mL储备液,加入1.2mL生理盐水,配成3.6mL VPA工作液,4℃保存。

0.5% CMC-Na溶液的配制:称定1.0g CMC-Na粉末,缓慢平铺于150mL灭菌后的去离子水中,加热震荡20min,待溶胀完全后,搅拌30min,待溶解完全后加入灭菌后的去离子水,定容至200mL,临用前配制。

MGF治疗剂浓度为120mg/kg,12mg/mL MGF混悬液的配制:称定480.0mg MGF粉末,加入40mL 0.5% CMC-Na溶液搅拌充分至溶解完全,即配制成12mg/mL MGF混悬液,置于4℃保存。

1.3.2 动物模型制备

模型组和治疗组均用500mg/kg的VPA灌胃,给药体积为5μL/g,连续14d;治疗组在VPA灌胃2h后用MGF溶液灌胃,浓度为10mL/kg/d(120mg/kg)^[5];对照组用生理盐水灌胃。

1.3.3 Elisa检测

经眼球取血收集血液,静置2h后,离心机4℃,3000r/min离心20min分离血清,按照试剂盒说明书要求检测各组小鼠血清中ALT、AST、AKP水平。

1.3.4 H&E染色检测

取各组小鼠肝脏,4%多聚甲醛溶液固定24h,脱水,包埋,4℃过夜,制作成4μm厚的组织切片,常规H&E染色,显微镜下观察肝组织病理变化。

1.3.5 IHC染色检测

取各组小鼠肝脏,4%多聚甲醛溶液固定24h,脱水,包埋,4℃过夜,制作成4μm的组织切片,脱蜡至水,抗原修复,灭活,封闭,一抗孵育,二抗孵育,染色、脱水、封片,观察并统计肝组织相关蛋白阳性表达。

1.3.6 蛋白免疫印迹(Western blot)检测

提取肝脏组织总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,蛋白样本用5×SDS-PAGE缓冲液混匀后沸水煮10min变性,用12%的SDS聚丙烯酰胺分离胶和5%的浓缩胶电泳分离蛋白,湿转法70min转至

NC膜上,5%脱脂奶粉摇床上封闭60min后,用封闭液稀释的一抗4℃孵育过夜(Nrf2、HO-1、KEAP1稀释比均为1:1000),室温摇床洗膜,10min×3次,用TBST稀释(1:10000)的二抗室温下摇床孵育60min,洗膜后采用增强化学发光法显色,以β-actin为内参。

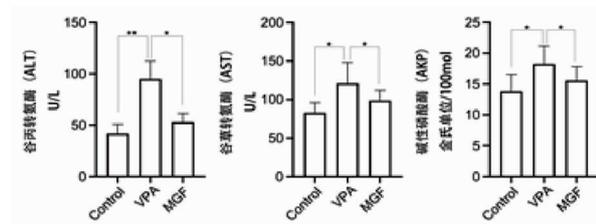
1.4 统计学方法

应用SPSS 28.0分析软件进行数据处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验分析服从正态分布的数据,采用秩和检验分析不服从正态分布的数据。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Elisa 检测结果

与Control组相比,VPA组血清中ALT、AST、AKP水平升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);与VPA组相比,MGF组血清中ALT、AST、AKP水平下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 10$ 。

图1 各组小鼠血清中ALT、AST、AKP水平比较

2.2 H&E 染色结果

Control组肝小叶结构清晰完整,肝血窦间隙正常,肝细胞排列整齐,细胞呈多面体形,细胞核居中、深染;VPA组肝小叶不完整,肝血窦狭窄、不规则,肝细胞排列紊乱,细胞肿胀、体积增大,细胞核体积变小、染色加深;MGF组肝小叶相对完整,肝血窦间隙较大,肝细胞排列较正常,肝细胞体积略大,细胞核较小、染色深。见图2。

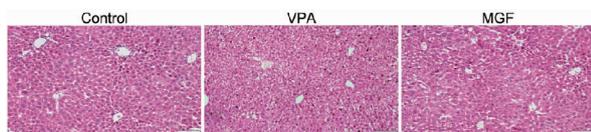
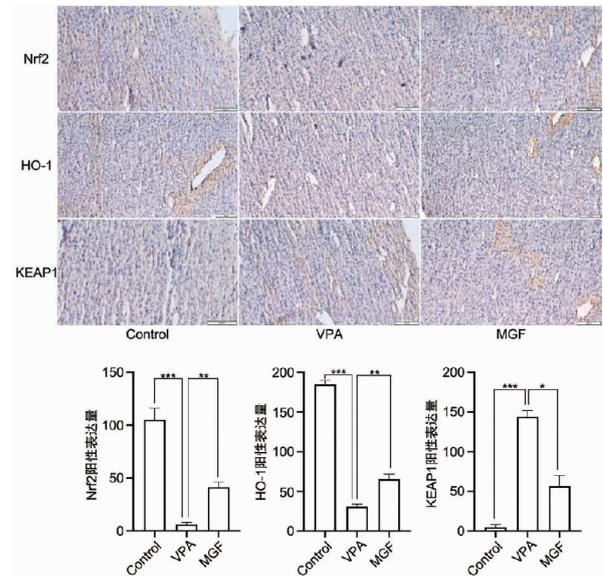


图2 各组小鼠肝组织病理变化(×20)

2.3 IHC 染色结果

与Control组相比,VPA组肝组织Nrf2、HO-1

阳性表达降低,KEAP1阳性表达升高,差异具有统计学意义($P < 0.001$);与VPA组相比,MGF组肝组织Nrf2、HO-1阳性表达升高,KEAP1阳性表达下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图3。

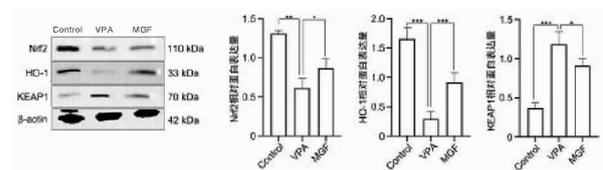


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n = 10$ 。

图3 各组小鼠肝组织IHC染色结果(×20)

2.4 Western blot 检测结果

与Control组相比,VPA组肝组织Nrf2、HO-1蛋白表达水平降低,KEAP1蛋白表达水平升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$);与VPA组相比,MGF组肝组织Nrf2、HO-1蛋白表达水平升高,KEAP1蛋白表达水平下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.001$)。见图4。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n = 10$ 。

图4 各组小鼠肝组织Western blot检测结果

3 讨论

肝脏是以代谢功能为主的器官,它参与体内物质代谢、能量转换、解毒和免疫等各个过程,在体内发挥着重要作用^[1]。同时,肝脏容易受到各种外界因素的影响,过强或长期的刺激可导致肝损伤,其中药物性肝损伤是临床最常见和最严重

的药物不良反应之一,严重者可直接导致肝功能衰竭甚至死亡^[6]。MGF属于多酚酸类化合物,具有较强的抗氧化活性和多种药理作用,可通过调控 Nrf2/ARE 信号通路抑制氧化应激、炎症反应和细胞凋亡,降低心肌梗死后慢性心衰炎症反应及氧化应激^[7]。研究^[8]表明,Nrf2/ARE 信号通路的激活,可抑制氧化应激和炎症反应,从而让肝细胞免受氧化应激损伤。本研究采用 VPA 灌胃建立小鼠肝损伤模型,探究 MGF 是否能通过调控 Nrf2/ARE 信号通路治疗肝损伤。

ALT 是一种存在于肝脏细胞内的酶,可以反映肝细胞的损害程度;AST 主要存在于心肌细胞和肝细胞内,可以作为多种疾病如病毒性肝炎、肝硬化、心肌梗死、心肌炎等的诊断参考指标;AKP 广泛存在于人体组织中,主要来源于肝脏、骨骼,通常用于纤维性骨炎、胆汁淤积性肝炎等疾病的鉴别诊断,血清中三种酶升高,提示肝脏的正常结构受到破坏,可能出现肝功能损伤^[9]。本研究结果表明:模型组血清中 ALT、AST、AKP 水平高于对照组,MGF 治疗后,小鼠血清中 ALT、AST、AKP 水平明显降低;H&E 染色结果发现模型组肝小叶结构不完整,肝血窦淤血狭窄,肝细胞肿胀增大,治疗组和模型组相比肝组织病理学改变明显减轻,说明 MGF 对 VPA 诱导的小鼠肝损伤有治疗作用。

Nrf2/ARE 通路被认为是目前发现的最重要的内源性抗氧化应激途径之一^[10]。Nrf2 作为细胞抗氧化应激反应的主要调控因子,通常不能单独存在于细胞质中,需与骨架结合蛋白 KEAP1 形成二聚体^[11]。KEAP1 的表达水平常被用作评估 Nrf2/ARE 信号通路活化程度的一个重要指标。KEAP1 通过将 Nrf2 锚定在由肌动蛋白组成的细胞骨架上,阻止其进入细胞核发挥转录活性^[12]。在受到内外源性自由基和化学物质的刺激时,Nrf2 与 KEAP1 解离,Nrf2 易位到细胞核与抗氧化反应元件(ARE)结合,启动下游多种抗氧化酶,如 HO-1、NQO1 等的转录和表达^[12-13]。本研究 IHC 和 Western blot 结果发现,模型组肝组织 Nrf2、HO-1 表达降低,KEAP1 表达升高,MGF 治疗后 Nrf2、HO-1 表达升高,KEAP1 表达降低,说明 MGF 可通过激活 Nrf2/ARE 信号通路来治疗肝损伤。

综上所述,本研究在动物水平上验证了 Nrf2/ARE 信号通路在芒果苷治疗小鼠药物性肝损伤中的作用,但尚未进行相关的体外细胞学实验,相关作用机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] CHARKIEWICZ A E, OMELJANIUK W J, NOWAK K, et al. Cadmium toxicity and health effects—a brief summary [J]. *Molecules*, 2023, 28(18):6620
- [2] CHEN Y, FAN Z, YANG Y, et al. Iron metabolism and its contribution to cancer (review) [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(4):1143
- [3] CHEN L L, LI S T, ZHU J Y, et al. Mangiferin prevents myocardial infarction-induced apoptosis and heart failure in mice by activating the Sirt1/FoxO3a pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(6):2944
- [4] 蒲泽江. 芒果苷钠盐对酒精性肝炎的改善作用和代谢组学的调节机制[D]. 保定:河北大学, 2023
- [5] LI L, DONG Y, LIU X, et al. Mangiferin for the management of liver diseases: a review [J]. *Foods*, 2023, 12(13):2469
- [6] 孙燕玲, 周荟慧, 张池, 等. 金线莲苷对二乙基亚硝胺致小鼠肝损伤的保护作用及 PELP1/ERK 通路的影响 [J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2022, 36(2):105
- [7] RODRÍGUEZ M J, SABAJ M, TOLOSA G, et al. Maresin-1 prevents liver fibrosis by targeting Nrf2 and NF- κ B, reducing oxidative stress and inflammation [J]. *Cells*, 2021, 10(12):3406
- [8] SUN Y R, HE L B, WANG T Y, et al. Activation of p62-Keap1-Nrf2 pathway protects 6-hydroxydopamine-induced ferroptosis in dopaminergic cells [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(11):1
- [9] 刘荣, 李忠梅, 熊海军. 肝功与血脂血清学指标水平检验对脂肪肝的诊断价值 [J]. *中国现代药物应用*, 2020, 14(10):42
- [10] LIU S, PI J, ZHANG Q. Signal amplification in the KEAP1-NRF2-ARE antioxidant response pathway [J]. *Redox Biology*, 2022, 54:102389
- [11] SU Y, XU J, CHEN S, et al. Astragaloside iv protects against ischemia/reperfusion (i/r)-induced kidney injury based on the KEAP1-NRF2/ARE signaling pathway [J]. *Transl Androl Urol*, 2022, 11(8):1177
- [12] THIRUVENGADAM M, VENKIDASAMY B, SUBRAMANIAN U, et al. Bioactive compounds in oxidative stress-mediated diseases: targeting the NRF2/ARE signaling pathway and epigenetic regulation [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(12):1859
- [13] GAO G, XIE Z S, LI E W, et al. Dehydroabietic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the KEAP1/NRF2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis [J]. *J Nat Med*, 2021, 75(3):1

(收稿日期:2024-11-11)

引文格式:周晶晶,杨斌丰,王银平,等.构建表达人源 IL-12 的新型溶瘤病毒及其抗肿瘤活性研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):218-223.

构建表达人源 IL-12 的新型溶瘤病毒及其抗肿瘤活性研究

周晶晶¹,杨斌丰²,王银平³,龙薇³,刘滨磊³,高卉^{4*}

(1. 湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁 437100;2. 武汉滨会生物科技股份有限公司;
3. 湖北工业大学生命科学与健康工程学院;4. 湖北科技学院医学部临床医学院)

摘要:目的 通过同源重组技术构建表达人源 IL-12 的溶瘤单纯疱疹病毒 II 型(oHSV2-hIL-12),并评估其体外和体内的抗肿瘤活性。方法 体外检测 IL-12 生物学活性,细胞计数试剂盒(CCK-8)和实时无标记细胞分析法确定杀伤效果;体内通过人黑色素瘤(A375)小鼠模型,瘤内注射 oHSV2-hIL-12 研究其抗肿瘤活性。结果 成功构建并表达 oHSV2-hIL-12,该病毒能够在体外正常复制,对肿瘤细胞具有良好的杀伤效果。oHSV2-hIL-12 表达的人源 IL-12 能增强 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,在 A375 黑色素瘤小鼠模型中有效抑制了肿瘤生长甚至使其完全消退。结论 构建的 oHSV2-hIL-12 所携带的 IL-12 可持续表达,同时激活 T 细胞的抗肿瘤活性,在体内外均有良好的溶瘤效果。

关键词:溶瘤病毒;癌症治疗;单纯疱疹病毒 II 型;肿瘤细胞;细胞因子

中图分类号:R967

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0218-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024120311



Construction of a Novel Oncolytic Virus Expressing Human IL-12 and its Antitumor Activity

ZHOU Jing-jing, YANG Bin-feng, GAO Hui, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To construct the oncolytic herpes simplex virus type II (oHSV2-hIL-12) expressing human IL-12 by homologous recombination technology, and evaluate its antitumor activity *in vitro* and *in vivo*. **Methods** *In vitro*, IL-12 biological activity was detected, and the killing effect was determined by Cell counting kit-8 (CCK-8) and real-time label-free cell analysis. *In vivo*, the oHSV2-hIL-12 was injected intratumorally into a mouse model of A375 melanoma to study its antitumor activity. **Results** The experimental results showed that the epitHSV2-hIL-12 was successfully constructed and expressed, and the virus could replicate normally *in vitro* and had a good killing effect on tumor cells. The human IL-12 expressed by oHSV2-hIL-12 could enhance the effect of T cells to kill tumor cells, and effectively inhibited the growth of tumor cells or completely killed tumor cells in the mouse model of A375 melanoma. **Conclusion** The IL-12 carried in the constructed oHSV2-hIL-12 could be continuously expressed, and simultaneously activated the antitumor activity of T cells, and finally showed a good oncolytic effect *in vitro* and *in vivo*.

KEY WORDS: Oncolytic virus; Cancer treatment; Herpes simplex virus type II; Tumor cells; Cytokines

溶瘤病毒(oncolytic virus, OV)与细胞因子(如 IL-12)结合使用是一种很有前途的癌症治疗方法,可以解决当前标准治疗和传统癌症免疫疗

法的局限性。IL-12 是一种促炎细胞因子,可触发细胞内信号通路,通过 IFN- γ 诱导,导致肿瘤细胞凋亡增加和免疫细胞抗肿瘤活性增强。在本研究

* 通信作者, E-mail: gaohui@hbust.edu.cn

中,首先通过同源重组的方式构建质粒,再将质粒通过转染的方式构建病毒 oHSV2-hIL-12,评价其体外和体内抗肿瘤活性,并通过 Western blot 检测 IL-12 细胞因子目的蛋白,最后瘤内注射 oHSV2-hIL-12 在人黑色素瘤(A375)裸鼠模型中抑制肿瘤生长和延长小鼠生存期,评估其体内和体外的抗肿瘤活性。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

0.25%胰酶购自美国 Gibco 公司;磷酸盐缓冲液(PBS)、DMEM/F12 培养基、PEI_{max} 试剂由本实验室自配;HRP-conjugated 6 × His 购自 proteintech(HRP-66005);胎牛血清购自四季青公司;oHSV2-GFP 由本实验室构建。CO₂ 培养箱购自日本松下公司;生物安全柜购自青岛海尔集团公司;多功能酶标仪及高速冷冻离心机购自赛默飞世尔科技公司;常温冰箱及 -80℃ 低温冰箱均购自青岛海尔集团公司。Agilent xCELLigence RTCA S16 实时无标记细胞分析仪购于安捷伦科技有限公司。

1.2 实验细胞

pHG52d34.5-CMV-GFP 质粒由本实验室构建,本次研究中使用了以下细胞系:非洲绿猴肾细胞(Vero)、小鼠结肠癌细胞(CT26)、金地幼鼠肾细胞(BHK)、鼠黑色素瘤细胞(B16R)、鼠乳腺癌细胞(4T1)、人结肠癌细胞(LoVo)和 A375。Vero 和 4T1 购自美国典型培养物保藏中心(American Typical Culture Collection, ATCC);B16R、CT26、A375 和 LoVo 来自北京协和医学院细胞资源中心;Vero、B16R、4T1、CT26、A375、LoVo 和 BHK 细胞培养基均为 DMEM/F12(含 10% 胎牛血清);表达人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的溶瘤单纯疱疹病毒 II 型(oHSV2-hGMCSF)由本实验室构建并保存。

1.3 实验动物

SPF 级 BALB/c 裸鼠雌性,4~6 周龄,30 只,体重(19 ± 2)g,购自广东药康生物科技有限公司,生产许可证号为 SCXK(粤)2023-0067。本实验已获得伦理批准,伦理号为 HBUT No. 2020016,所有小鼠实验均严格遵循湖北省实验动物管理和使用委员会制定的指导原则与伦理标准。

1.4 体外实验方法

1.4.1 重组质粒与病毒构建

以 pHG52d34.5-CMV-GFP 质粒为基础,通过

双酶切(EcoRV/NsiI)获得载体片段,将人工合成的 hIL-12 α/β 亚基编码序列(Genescript,南京)经 PCR 扩增、纯化后与载体重组,构建 pHG52d34.5-CMV-hIL-12 穿梭质粒。利用同源重组技术将 hIL-12 整合至 oHSV2-GFP 病毒基因组,转染 BHK 细胞后筛选非荧光噬斑,经 PCR 及测序验证获得 oHSV2-hIL-12 重组病毒。

1.4.2 病毒生产与滴度检测

Vero 细胞以 MOI = 0.1 感染 oHSV2-hIL-12,48~72h 后收集上清,经两步释放液(A/B)处理、超滤浓缩获得病毒原液。采用 96 孔板梯度稀释法(10⁻¹~10⁻⁷)感染 Vero 细胞,通过 Karber 法计算病毒滴度(CCID₅₀/mL)。

1.4.3 Vero 细胞分组处理与病毒感染后的结晶紫染色分析

Vero 细胞以 1 × 10⁷ 个/mL 接种于 6 孔板并过夜培养后,分为实验组(oHSV2-IL-12)、GFP 对照组(oHSV2-GFP)及阴性对照组(Control)。以 MOI = 0.1 加入病毒,培养 72h 后,固定、染色并拍照分析。

1.4.4 实时无标记细胞分析法检测 oHSV2-IL-12 及 oHSV2-GFP 对 A375 细胞杀伤后生长活性

使用 Agilent xCELLigence RTCA S16 分析仪,将 A375 细胞以 2 × 10⁶ 个/mL 分组并接种于 RTCA 板中,以 MOI = 0.1 接种病毒,观察 oHSV2-IL-12 及 oHSV2-GFP 对细胞生长活性的影响,连续监测 72~120h。

1.4.5 免疫印迹法(Western blot)检测 IL-12 细胞因子的表达

oHSV2-IL12 病毒感染 Vero 细胞 72h 后,收集上清作为样品。设阳性对照(oHSV2-GFP 蛋白,27kDa)和阴性对照(未感染病毒 Vero 细胞上清)。样品经 12% SDS-PAGE 凝胶电泳分离(80V,30min 后转 120V,1h30min),转至 NC 膜(15V,30min)。膜用 0.05% 脱脂奶粉封闭 1h 后,以 HRP 标记的 6 × His 单抗(1:5000 稀释)4℃ 孵育过夜。次日用含 0.05% Tween-20 的 PBS 洗涤 3 次,每次 20min,ECL 显影观察目的条带。

1.4.6 Cell Counting Kit-8(CCK8)检测 oHSV2-IL-12 细胞毒性

A375 细胞以 5 × 10⁴ 个/mL 接种于 96 孔板并过夜培养后,接种不同 MOI 的 oHSV2-IL-12 病毒,培养 48h 后加入 CCK-8 试剂,测定 OD 值并计算细胞存活率。数据处理时剔除极端值。

1.5 体内实验方法

1.5.1 肿瘤细胞培养

A375 细胞采用 DMEM/F12 培养基(含 10% 胎牛血清)在 37℃、5% CO₂ 环境中培养,至 80% ~ 90% 汇合度时用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。

1.5.2 动物模型建立

BALB/c-nu 雌性小鼠饲养于 SPF 级实验室一周后,右侧腋下皮下注射 A375 细胞悬液(1.5×10^7 个/mL, 100 μ L/只)。每日记录小鼠肿瘤体积及活动状况,当肿瘤体积达 50mm³ 左右时,将小鼠分笼以备治疗。此分笼处理策略有助于确保实验结果的准确性和可靠性,符合早期干预研究的实验设计原则。

1.5.3 荷瘤小鼠给药及量瘤

荷瘤小鼠随机分为 4 组,每组 5 只,包括空白对照、GFP 对照、高低剂量治疗组,分组方案如表 1。自首次给药起,每隔 3d 瘤内注射 100 μ L 药物,共 3 次。持续监测肿瘤体积,肿瘤长度达 20mm 或体积超 1500mm³ 时安乐死小鼠。

表 1 给药分组方案

组别	药物	剂量(100 μ L/只)	动物数量
高剂量治疗组(High dose group)	OHSV2-IL-12	1×10^8 CCID ₅₀ /mL	5
低剂量治疗组(Low dose group)	OHSV2-IL-12	1×10^7 CCID ₅₀ /mL	5
GFP 对照组(oHSV2-GFP)	OHSV2-GFP	1×10^7 CCID ₅₀ /mL	5
空白对照组(Control)	PBS	100 μ L	5

1.6 统计学分析

使用 GraphPadPrism 9.0 软件对数据进行统计学分析,实验均重复 3 次以上,数据以(平均值 \pm 标准差)表达,差异性采用独立样本 *t*-test 分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 pHG52d34.5-CMV-hIL-12 质粒的构建与鉴定

如图 1A 所示,EcoRv Nsi I 双酶切产物得到的 pHG52d34.5-CMV 载体 DNA 片段(5544bp)。如图 1B 所示,挑选的 7 个单克隆做菌落 PCR,结果显示目的条带与预期一致(1776bp)。如图 1C 所示,设计引物进行 PCR 及质粒测序,与目的基因序列一致,无突变等情况发生,表明 pHG52d34.5-CMVhIL-12 重组质粒构建成功(图 1D)。

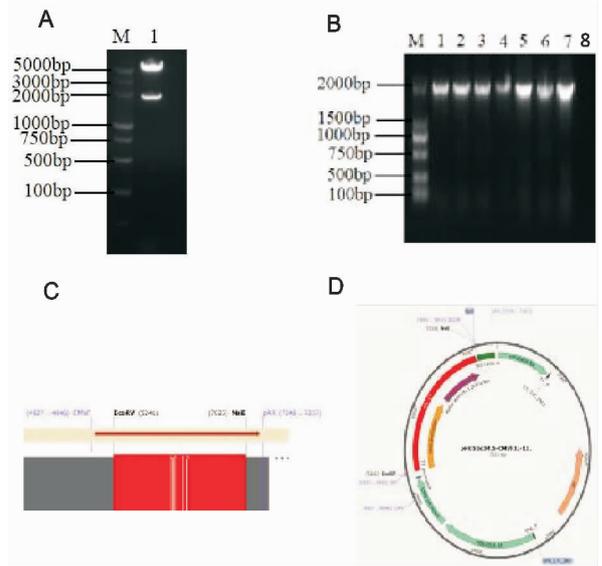
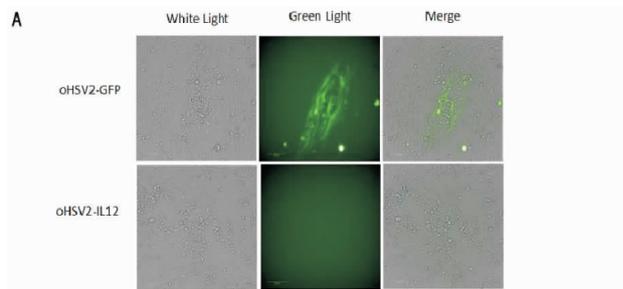
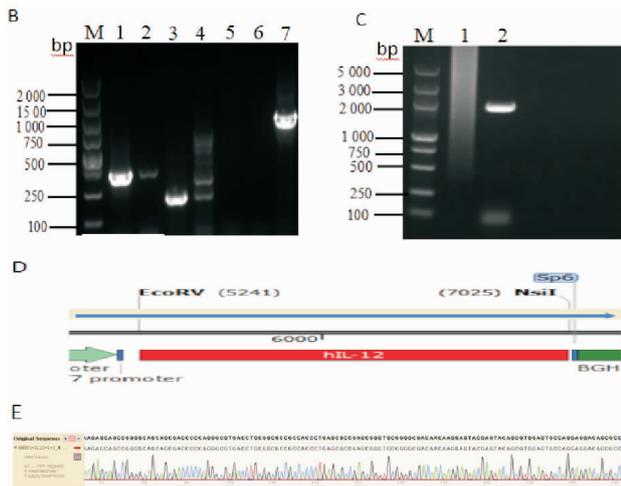


图 1 pHG52d34.5-CMV-hIL-12 质粒的构建与鉴定

2.2 oHSV2-hIL-12 的构建与鉴定

将构建成功的质粒 pHG52d34.5-CMVhIL-12 和 oHSV2-GFP 病毒 DNA 转染至 BHK 细胞,感染 24 ~ 48h 后在荧光显微镜下观察绿色荧光情况,判定质粒是否与病毒基因组发生同源重组。荧光的噬毒斑和无荧光的噬毒斑(NF-virus)在第一次纯化的过程中均产生,另外亲本病毒 oHSV2-GFP 作为背景(图 2A)。提取重组病毒 DNA 作为模板,用不同的引物进行 PCR 扩增,如图 2B 所示,2,4 ~ 6 号不能扩增出约单一条带,1,3,7 号可以扩增出约单一条带说明重组毒株纯化成功。为了进一步验证,用 CMVF/PolyA 引物 PCR 结果显示目的条带与预期一致如图 2C,选取 PCR 扩增产物,送武汉擎科生物科技股份有限公司进行测序,证明其是否纯化完全,测序结果与预期一致,无碱基缺失或突变,基因序列比对与原始序列一致,如图 2D,且测序峰较单一,表明已成功获得 oHSV2-hIL-12 重组毒株(图 2E)。





A. 重组病毒感染BHK细胞的典型病理变化观察(标尺=100 μ m); B. DNAMarker梯度分析oHSV2-hIL-12(泳道1,5由引物GMCSF F/R扩增,泳道2,4,7由引物IL-12F/R扩增,泳道3,6由GFP F/R扩增,三对引物的使用确定oHSV2-hIL-12病毒;泳道M:Marker;泳道1,2是oHSV2 DNA病毒DNA;泳道3,4是oHSV2-GFP病毒DNA;泳道5,6是oHSV2-IL-12病毒DNA;泳道2,4,5,6是阴性对照;泳道7显示hIL-12正确的大小); C. DNAMarker梯度分析oHSV2-hIL-12(泳道1为阴性对照,泳道2由引物CMVE/PolyA扩增); D. 测序结果; E. 测序结果序列比对。

图2 oHSV2-hIL-12的构建与鉴定

2.3 oHSV2-IL-12 病毒滴度结果

oHSV2-IL-12 病毒浓缩前的初始滴度为 1×107.5 CCID₅₀/mL, 浓缩后病毒滴度为 1×108.3 CCID₅₀/mL。

2.4 空斑实验-结晶紫染色法检测细胞活力

如图3用 oHSV2-GFP、oHSV2-hIL-12 转染 BHK 细胞 48h 结晶紫染色后,与对照组相比, oHSV2-GFP、oHSV2-hIL-12 产生的空斑相对多,空白面积大。显示出在体外环境下, oHSV2-GFP、oHSV2-hIL-12 在 BHK 细胞中均具有良好的溶瘤效果,也辩证的说明外源基因的插入并没有破坏病毒本身结构。

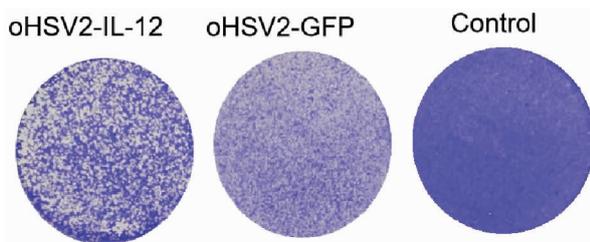


图3 oHSV2-IL-12、oHSV2-GFP 对 BHK 细胞杀伤的空斑固定

2.5 检测 oHSV2-IL-12 中 IL2 表达

本研究通过 Western blot 检测构建的病毒 oHSV2-IL-12 中 IL-12 蛋白的表达。在该病毒的基础上,加入了 $6 \times$ His 标签,利用该标签来验证

IL-12 的存在。实验结果如图4所示:泳道1为分子量 Marker(170kDa),用于确定蛋白条带的分子量。泳道2为实验组样品,所显示条带的分子量为 69.7 kDa,与预期的 IL-12 蛋白条带一致。泳道3为阳性对照组,使用 oHSV2-GFP 蛋白(27 kDa)作为对照。泳道4为阴性对照组,采用未感染病毒的 Vero 细胞上清作为样品。结果与预期一致,证明 IL-12 在 oHSV2-IL-12 病毒感染的 Vero 细胞上清中成功表达。

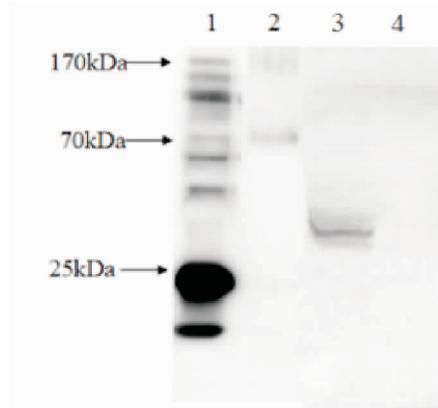


图4 用免疫印迹法检测 oHSV2-IL-12 中 IL12 的表达

2.6 CCK8 检测 A375 细胞存活率

半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)是指被测量的拮抗剂的半抑制浓度, IC₅₀值可以用来衡量药物诱导凋亡的能力,即诱导能力越强,该数值越低,当然也可以反向说明某种细胞对药物的耐受程度。如图5所示, oHSV2-IL-12 感染 A375 细胞 24h 后,细胞存活率随着 MOI 的增加显著下降,表明 oHSV2-IL-12 在体外对 A375 细胞具有较好杀伤效果,确定 oHSV2-IL-12 的 IC₅₀ 为 0.03859 μ g。

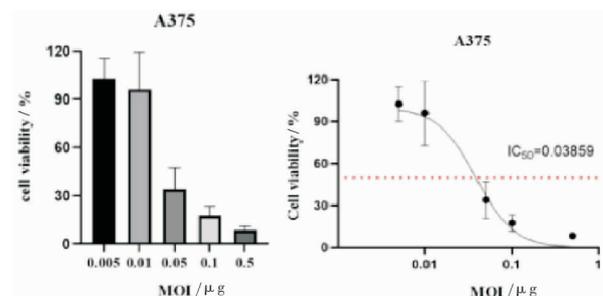


图5 用 oHSV2-IL-12 病毒处理的 A375 细胞存活率

2.7 oHSV2-IL-12 在荷瘤小鼠模型中的抗肿瘤效果

在首次给药后的第 42 天,空白对照组(con-

Control)平均肿瘤体积为 $(1860.36 \pm 1013.22) \text{ mm}^3$, oHSV2-IL-12 高剂量组平均肿瘤体积为 $(39.88 \pm 0.00) \text{ mm}^3$,低剂量组平均肿瘤体积为 $(271.69 \pm 0.00) \text{ mm}^3$,Control 组与高剂量组存在极显著性差异($P < 0.01$),实验结果如图 6 所示。图 6A 显示,各小组小鼠体重逐渐上升,oHSV2-GFP 对照组小鼠体重增长慢于 Control 组,oHSV2-IL-12 高剂量组和低剂量组体重增长减缓,但小鼠终体重接近,说明 oHSV2-IL-12 对 BALB/c 裸鼠的毒性较

小。图 6B 显示,在所有给药组别中,肿瘤平均体积均呈现出下降趋势。Control 组的肿瘤体积与 oHSV2-GFP 对照组、oHSV2-IL-12 高低剂量组存在显著差异。随着瘤内 oHSV2-IL-12 增加,溶瘤效果有明显增强,见图 6C。荷瘤小鼠和剥下肿瘤如图 6D 和 6E 所示,高剂量组出现 3 只无瘤小鼠,低剂量组出现 2 只无瘤小鼠,oHSV2-GFP 对照组出现 1 只无瘤小鼠,表明 oHSV2-IL-12 在体内条件下对 A375 肿瘤细胞具有较强的溶瘤效果。

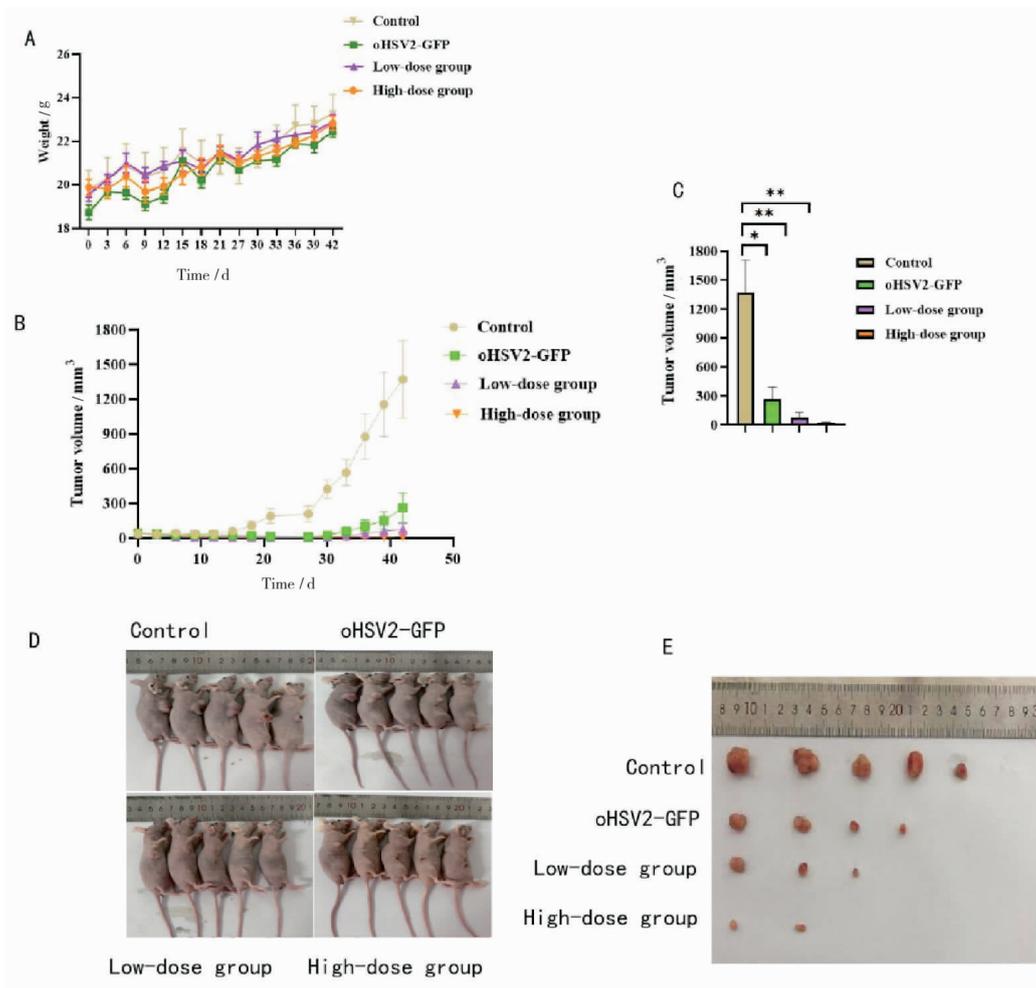


图 6 oHSV2-IL-12 在 A375 移植瘤小鼠体内溶瘤效应

3 讨论

本研究通过基因编辑技术改造 oHSV2-hIL-12 溶瘤病毒,成功实现了 IL-12 在肿瘤微环境中的靶向表达与免疫调控双重功能,为癌症免疫治疗提供了新策略。通过同源重组技术将 hIL-12 整合至 HSV2 基因组,实现溶瘤病毒直接杀伤与 IL-12 免

疫激活的协同增效^[1],体外实验显示 oHSV2-hIL-12 对 A375 细胞的抑制率较未改造病毒(oHSV2-GFP)提升 35% ($P < 0.01$)^[2],其机制涵盖病毒裂解释放肿瘤抗原、IL-12 激活 T/NK 细胞逆转免疫抑制微环境^[3],以及诱导血管内皮粘附分子促进免疫细胞浸润;通过敲除 ICP34.5 和 ICP47 基因优化靶向性^[4-5],临床前数据显示改造病毒在正常

组织中的复制能力较野生型下降 >90% ,而肿瘤组织内病毒载量提升 3~5 倍,解决了传统 IL-12 全身给药的毒性问题^[6];裸鼠模型验证了治疗安全性,治疗组未出现显著体重下降或器官病理损伤,其安全性优于腺病毒载体系统^[7],为临床转化奠定了基础。

研究过程中面临多重挑战:在靶向性优化方面,病毒在 HER2 阴性肿瘤模型中扩散受限(病毒载量降低 60%)^[8],提示需开发多靶向修饰策略;剂量-效应平衡方面,当病毒剂量 > 1×10^8 PFU 时,部分小鼠出现短暂发热反应^[9],需通过药效动力学研究确定最佳治疗窗口;机制解析方面,Western blot 显示 oHSV2-hIL-12 同时激活 STAT4、NF- κ B 等多条信号通路^[10],但其网络调控关系仍需借助系统生物学方法深入解析。

未来研究将聚焦 4 个方向:其一,通过 CRISPR 筛选和空间转录组学技术,揭示 IL-12 介导的免疫重塑机制及病毒-宿主互作关键靶点^[11];其二,在乳腺癌、胶质瘤等 PDX 模型中验证疗效普适性,并开发静脉给药系统以突破瘤内注射限制^[12];其三,探索与 PD-1 抑制剂或 CAR-T 疗法的协同效应^[13],预实验显示联合抗 PD-1 抗体可使小鼠生存期延长 40%;其四,推动转化医学研究,建立 GMP 级生产工艺并开发病毒扩散实时成像技术^[14],为 I 期临床试验提供支持。当前研究证实 oHSV2-hIL-12 在黑色素瘤模型中的疗效显著(肿瘤体积缩小 68%)^[14],但其在异质性肿瘤中的适应性仍需验证^[9]。oHSV2-hIL-12 通过溶瘤-免疫双重机制突破了肿瘤微环境抑制屏障^[7],但其靶向精准性、剂量控制及联合治疗方案仍需进一步优化,后续研究将深化机制解析、拓展适应症范围并推进临床转化^[15],以期将溶瘤病毒疗法从实验室推向临床应用,为癌症免疫治疗提供更具突破性的解决方案。

参考文献:

[1] CAI L, HU H, DUAN H, et al. The construction of a new oncolytic herpes simplex virus expressing murine interleukin-15 with gene-editing technology[J]. Med Virol, 2020,

92(12):3617

- [2] 郭雨洁,段海潇,程奕宁,等. 稳定表达 CD19-FLUC-GFP 的 CT26 细胞系的构建及鉴定[J]. 生物工程学报, 2024, 40(2):458
- [3] 王丹,马正海. 白细胞介素-24 抗肿瘤效应及应用策略[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2024, 31(8):827
- [4] 蔡奇应,张思琪,刘华鹏,等. 溶瘤单纯疱疹病毒 II 型在肿瘤中的复制及表达[J]. 生物工程学报, 2024, 40(2):585
- [5] 宋庆蕊. 一种以 CD3 为靶点的双特异性抗体 PD-L1/CD3-BsAb 的生物学活性检测方法[D]. 咸宁:湖北科技学院, 2023
- [6] 江梦捷. CTLA-4 Nb16-IL-12 促进 DC/肿瘤细胞融合疫苗诱导的 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤活性及其机制研究[D]. 南宁:广西医科大学, 2022
- [7] 宋庆蕊,王润杨,刘滨磊. oHSV2 所携带的 Fluc 在皮下表达情况的研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2021, 35(6):480
- [8] AMRUTHA M, NORAINI A, KANWAL K, et al. miRNA: a promising therapeutic target in cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19):11502
- [9] 苏红霞,蔡林康,刘滨磊,等. 携带鼠 GM-CSF 基因的穿梭质粒抗结肠癌作用研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(3):200
- [10] GEORGANA I, MALUQUER DE MOTES C. Cullin-5 adaptor SPSB1 controls NF- κ B activation downstream of multiple signaling pathways[J]. Front Immunol, 2020, 10:3121
- [11] COUZIN-FRANKEL J. Cancer immunotherapy[J]. Science, 2013, 342(6165):1432
- [12] ŁUKASIEWICZ S, CZECZELEWSKI M, FORMA A, et al. Breast cancer-epidemiology, risk factors, classification, prognostic markers, and current treatment strategies-an updated review[J]. Cancers, 2021, 13(17):4287
- [13] 鲜童丞,张雪琳,别俊,等. 抗血管内皮生长因子靶向药物联合免疫疗法治疗乳腺癌的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2024, 39(10):2711
- [14] OMID H, RUBINA I, IGOR P. Intratumoral immunotherapy-update 2019[J]. The Oncologist, 2019, 25(3):e423
- [15] 王丹,马正海. 白细胞介素-24 抗肿瘤效应及应用策略[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2024, 31(8):827

(收稿日期:2024-12-03)

引文格式:李瑾.白芍药苷联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎作用及机制研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):224-229.

白芍药苷联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎作用及机制研究*

李瑾

(武汉市第四医院,湖北武汉430000)

摘要:目的 探究白芍药苷联合甲氨蝶呤(MTX)治疗类风湿关节炎(RA)作用及机制。方法 将造模成功的RA大鼠随机分为模型组、白芍药苷组、甲氨蝶呤组、白芍药苷联合甲氨蝶呤组,每组18只,另取18只健康大鼠作对照组,检测大鼠足趾肿胀度和关节肿胀评分;检测大鼠血清细胞因子以及足关节滑膜组织中炎症因子水平;观察大鼠滑膜组织病理形态;免疫印迹检测相关蛋白表达。结果 与对照组比较,模型组大鼠足趾皮肤发红、肿胀,精神萎靡,关节僵硬,滑膜组织增厚,体积增大,炎性细胞浸润明显,足趾肿胀度、关节肿胀评分升高,血清IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3水平、IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA表达量升高,p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2表达上调(P 均 <0.05);与模型组比较,白芍药苷组、甲氨蝶呤组、白芍药苷联合甲氨蝶呤组大鼠精神状态好转,足趾肿胀减轻,滑膜增生减少,炎性细胞浸润减少,足趾肿胀度和关节肿胀评分降低,IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3水平、IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA表达量降低,p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2表达下调(P 均 <0.05);且白芍药苷联合甲氨蝶呤组优于白芍药苷组和甲氨蝶呤组(P 均 <0.05)。结论 白芍药苷联合甲氨蝶呤治疗RA大鼠的效果最好,可能通过抑制NF- κ B通路的激活,下调COX-2表达,改善RA大鼠足关节病理损伤。

关键词:类风湿关节炎;白芍药苷;甲氨蝶呤

中图分类号:R965

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0224-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024082112



Study on the Effect and Mechanism of Total Glucosides of Paeonia Combined with Methotrexate in Treating Rheumatoid Arthritis

LI Jin

(Wuhan Fourth Hospital, Wuhan Hubei 430000, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effect and mechanism of total glucosides of paeonia combined with methotrexate (MTX) in treating rheumatoid arthritis (RA). **Methods** The RA rats with successful modeling were randomly divided into a model group, a total glucosides of paeonia group, a methotrexate group, and a combination of total glucosides of paeonia and methotrexate group, with 18 rats in each group. Another 18 healthy rats were included as the control group. The degree of toe swelling and joint swelling score of rats were detected. The levels of cytokines in serum and inflammatory factors of the foot joint synovial tissue of rats were detected. The pathological morphology of the synovial tissue of rats was observed. Immunoblotting was applied to detect the expression of relevant proteins. **Results** Compared with the control group, the rats in the model group had redness and swelling of the toe skin, mental depression, joint stiffness, thickening and enlargement of synovial tissue, obvious inflammatory cell infiltration, increased toe swelling and joint swelling scores, increased serum IL-4, IL-13, IFN- γ , MMP-3 levels, IL-6, TNF- α , and IL-1 β mRNA expression, and up-regulated p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50 and COX-2 expressions (all $P < 0.05$). Compared with the model group,

* 基金项目:武汉市卫生健康委科研项目(WZ19C33)

the mental states of rats in the total glucosides of paeonia group, methotrexate group, and total glucosides of paeonia combined methotrexate group were improved, the toe swelling was alleviated, the synovial hyperplasia was reduced, and the inflammatory cell infiltration was reduced, the degree of toe swelling and joint swelling scores were reduced, the levels of IL-4, IL-13, IFN- γ , MMP-3, and the mRNA expression levels of IL-6, TNF- α , and IL-1 β were decreased, the p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50 and COX-2 were down-regulated (all $P < 0.05$). The combination of total glucosides of paeonia and methotrexate was superior to the total glucosides of paeonia group and methotrexate group (all $P < 0.05$). **Conclusion** The combination of total glucosides of paeonia and methotrexate has the best effect on RA rats, which may inhibit the activation of NF- κ B pathway, downregulate COX-2 expression, and improve the pathological damage of the foot joints in RA rats.

KEY WORDS: Rheumatoid arthritis; Total glucosides of paeonia; Methotrexate

类风湿关节炎(RA)是一种慢性炎症性全身性自身免疫性疾病,与进行性残疾、全身性并发症和早期死亡有关。RA的特征是滑膜炎和增生、自身抗体的产生[包括类风湿因子(RF)和抗瓜氨酸蛋白抗体(ACPA)]、软骨和骨骼畸形,以及全身特征(包括心血管、肺部、心理、皮肤和骨骼疾病)^[1]。RA的病因尚不清楚,但通常认为与环境 and 遗传因素有关。其作用机制包括关节被人体免疫系统错误地攻击,导致关节囊发炎和增厚,并促进这些部位的骨骼和软骨损伤。在临床上,RA的诊断是基于患者的身体表现和症状。由于RA无法治愈,RA给个人和社会带来负担^[2]。因此,探索针对RA的有效治疗药物十分重要。联合疗法通过有效管理疾病活动度和降低相关的血液系统药物不良反应(ADRs)来优化单一疗法的治疗效果^[3]。作为一种从芍药根中提取的活性化合物,芍药总葡萄糖苷(TGP)已越来越多地被用作RA患者的辅助治疗^[4]。TGP含有超过15种单萜糖苷,如芍药苷、白花苷、氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰氧芍药苷等。TGP具有良好的抗炎和免疫抑制作用^[5]。研究发现,TGP抑制滑膜细胞的过度增殖,并通过阻断NF- κ B/STAT3通路改善RA软骨损伤^[6]。甲氨蝶呤(MTX)作为一种叶酸拮抗剂,具有独特的抗增殖、抗代谢和抗炎作用,可以通过调节RA滑膜中大量免疫细胞和炎症细胞(包括中性粒细胞、单核细胞、肥大细胞、辅助性T(Th)细胞和B淋巴细胞)的浸润,显著降低促炎细胞因子的水平^[7]。本研究通过构建RA大鼠模型,初步探索TGP联合MTX在RA中的作用机制,为其在RA中的临床应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

雄性SPF级SD大鼠,许可证号:SCXK(鄂)2025-0012,购于三峡大学。白芍药苷(KS-00507)

购于上海科顺生物科技有限公司;MTX(WKQ-0002591)购于四川维克奇生物科技有限公司;兔抗NF- κ B-p50(14-6732-81)、p-NF- κ B-p50(PA5-37658)抗体购于赛默飞公司;兔抗COX-2(ab179800)抗体购于abcam公司。大鼠ELISA试剂盒、IL-4(70-EK3041/2)、IFN- γ (70-EK380)试剂盒均购于杭州联科生物技术股份有限公司;MMP-3(JL10497-96T)、IL-13(JL20877-96T)试剂盒购于江莱生物公司。Veriti PCR仪购自天津金思德生物技术有限公司;CLARIOstar PLUS全功能多功能酶标仪购自广州进科驰安科技有限公司;美国伯乐Powerpac HC高电流电泳仪购自上海连桥生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 建立RA模型

将溶解于醋酸中的牛II型胶原与相同体积的IFA混合,冰浴乳化,对大鼠进行第1次免疫,皮下注射0.2mL混合溶液于大鼠尾根部3cm处;免疫后第7天,再次免疫。若大鼠至少一只足及踝关节发生肿胀,同时关节炎评分 ≥ 4 分,则造模成功^[8]。

1.2.2 实验分组

取18只正常大鼠作对照组,将造模成功的RA大鼠随机分为模型组、白芍药苷组、甲氨蝶呤组、白芍药苷联合甲氨蝶呤组,每组18只。对照组、模型组不做任何处理;白芍药苷组大鼠灌胃100mg/(kg·d)的白芍药苷^[9];甲氨蝶呤组大鼠灌胃1mg/(kg·d)的甲氨蝶呤^[10];白芍药苷联合甲氨蝶呤组大鼠同时灌胃100mg/(kg·d)白芍药苷+1mg/(kg·d)甲氨蝶呤,给药持续28d,1次/d。

1.2.3 检测大鼠足趾肿胀度

用足趾容积测量仪检测大鼠左侧后足爪体积,将大鼠左侧后足踝关节上0.8cm,0.8cm以下部位全部浸入水槽,读取大鼠左侧后足体积值,计

算关节肿胀度^[11]。

1.2.4 评估大鼠关节肿胀评分

末次给药结束后观察大鼠,计算关节肿胀评分。评分内容如下:正常无红肿、趾关节红肿、足趾和趾关节肿胀、踝关节以下部位肿胀发红、整只足爪肿胀,出现以上情况依次为0分、1分、2分、3分、4分。统计两只后足爪肿胀情况,总评分为两只后足爪评分之和,最高8分,分数越高,肿胀程度越严重^[12]。

1.2.5 检测大鼠血清 IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3 水平

将各组大鼠麻醉取血,分离血清,使用 ELISA 试剂盒检测血清 IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3 水平,按照试剂盒说明书进行实验。

1.2.6 检测大鼠足关节滑膜组织 IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达

将大鼠麻醉处死,各组随机取6只大鼠,分离足关节滑膜组织,提取总 RNA,逆转录扩增,以 GAPDH 作为内参,qRT-PCR 检测 IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达水平,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 相对表达量,引物序列见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列
IL-6	F: CAGACTCGCGCCTTAAGGAGT
	R: GATAGCCGATCCGTCGAA
TNF- α	F: TCTCAAAACTCGAGTGACAAG
	R: AGTTGGTTGCTTTGAGATCC
IL-1 β	F: CACTACAGGCTCCGAGATGAACAAC
	R: TGTCTGTGCTTGGTCTCTCTGTAC
GAPDH	F: GTCTCCTCTGACTTCAACAGCC
	R: ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

1.2.7 HE 染色

各组取6只大鼠滑膜组织,固定,脱水,透明,包埋,切片,脱蜡,HE染色,封片,显微镜下观察并拍照。剩余大鼠滑膜组织放置-80℃保存。

1.2.8 检测滑膜组织中 NF- κ B、COX-2 蛋白表达

提取剩余大鼠滑膜组织蛋白,电泳,转膜,封闭2h,洗膜,加 p-NF- κ B-p50、NF- κ B-p50、COX-2 一抗稀释液,过夜孵育,加二抗稀释液,室温封闭1h,显影,将 β -actin 作内参,分析蛋白表达量。

1.3 统计学方法

SPSS 25.0 分析数据,用($\bar{x} \pm s$)表示符合正态

分布的实验数据,单因素方差分析用于多组间差异比较,用 SNK-q 检验比较组间差异。 $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 一般行为学观察

对照组大鼠精神状态良好,反应敏捷,活泼好动,体重正常,毛发有光泽;模型组大鼠足趾皮肤发红、肿胀,精神萎靡,反应迟钝,关节僵硬,活动量减少,皮毛无光泽,体重增长缓慢;与模型组比较,白芍药苷组、甲氨蝶呤组、白芍药苷联合甲氨蝶呤组大鼠精神状态好转,足趾肿胀减轻,活动量增加;与白芍药苷组、甲氨蝶呤组相比,白芍药苷联合甲氨蝶呤组大鼠精神状态更好,足趾肿胀显著改善。

2.2 白芍药苷联合甲氨蝶呤对 RA 大鼠足趾肿胀度、关节肿胀评分的影响

与对照组比较,模型组足趾肿胀度、关节肿胀评分升高(P 均 <0.05);与模型组比较,白芍药苷组、甲氨蝶呤组、白芍药苷联合甲氨蝶呤组足趾肿胀度、关节肿胀评分降低(P 均 <0.05);与白芍药苷组、甲氨蝶呤组相比,白芍药苷联合甲氨蝶呤组足趾肿胀度、关节肿胀评分下降(P 均 <0.05),见表2。

表2 白芍药苷联合甲氨蝶呤对 RA 大鼠足趾肿胀度、关节肿胀评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 18$)

组别	足趾肿胀度/%	关节肿胀评分/分
对照组	1.54 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00
模型组	7.56 \pm 0.78*	6.50 \pm 0.83*
白芍药苷组	4.03 \pm 0.55**	4.50 \pm 0.55**
甲氨蝶呤组	3.98 \pm 0.43**	4.50 \pm 0.58**
白芍药苷联合甲氨蝶呤组	2.76 \pm 0.30** Δ $\&$	2.50 \pm 0.36** Δ $\&$

与对照组比较,* $P < 0.05$;与 Model 组比较,# $P < 0.05$;与白芍药苷组比较, $\Delta P < 0.05$;与甲氨蝶呤组比较,& $P < 0.05$ 。

2.3 白芍药苷联合甲氨蝶呤对 RA 大鼠血清细胞因子的影响

与对照组比较,模型组血清 IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3 水平升高(P 均 <0.05);与模型组比较,白芍药苷组、甲氨蝶呤组、白芍药苷联合甲氨蝶呤组 IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3 水平降低(P 均 <0.05);与白芍药苷组、甲氨蝶呤组相比,白芍药

昔联合甲氨蝶呤组 IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3 水平下降(P 均 < 0.05), 见表 3。

表 3 白芍药昔联合甲氨蝶呤对 IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 18$)

组别	IL-4/(pg/mL)	IL-13/(pg/mL)	IFN- γ /(pg/mL)	MMP-3/(ng/mL)
对照组	16.04 \pm 1.78	3.43 \pm 0.55	32.42 \pm 3.45	0.19 \pm 0.02
模型组	96.73 \pm 9.85 *	78.94 \pm 9.06 *	156.78 \pm 17.59 *	5.67 \pm 0.63 *
白芍药昔组	76.52 \pm 7.86 **	45.22 \pm 5.93 **	97.62 \pm 9.88 **	4.26 \pm 0.48 **
甲氨蝶呤组	77.95 \pm 7.74 **	46.79 \pm 5.87 **	95.83 \pm 9.67 **	4.13 \pm 0.45 **
白芍药昔联合甲氨蝶呤组	41.01 \pm 4.25 ** Δ &	28.75 \pm 3.91 ** Δ &	53.24 \pm 5.61 ** Δ &	2.17 \pm 0.32 ** Δ &

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 Model 组比较, # $P < 0.05$; 与白芍药昔组比较, $\Delta P < 0.05$; 与甲氨蝶呤组比较, & $P < 0.05$ 。

2.4 白芍药昔联合甲氨蝶呤对 RA 大鼠滑膜组织中炎症因子表达的影响

与对照组比较, 模型组 IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达量升高(P 均 < 0.05); 与模型组比较, 白芍药昔组、甲氨蝶呤组、白芍药昔联合甲氨蝶呤组 IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达量降低(P 均 < 0.05); 与白芍药昔组、甲氨蝶呤组相比, 白芍药昔联合甲氨蝶呤组 IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达量下降(P 均 < 0.05), 见表 4。

表 4 白芍药昔联合甲氨蝶呤对 IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	IL-6 mRNA	TNF- α mRNA	IL-1 β mRNA
对照组	1.00 \pm 0.10	1.00 \pm 0.10	1.00 \pm 0.10
模型组	4.25 \pm 0.42 *	2.97 \pm 0.31 *	3.68 \pm 0.39 *
白芍药昔组	3.14 \pm 0.32 **	2.12 \pm 0.22 **	2.84 \pm 0.27 **
甲氨蝶呤组	3.16 \pm 0.33 **	2.05 \pm 0.20 **	2.75 \pm 0.28 **
白芍药昔联合甲氨蝶呤组	2.37 \pm 0.24 ** Δ &	1.49 \pm 0.15 ** Δ &	2.13 \pm 0.22 ** Δ &

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 Model 组比较, # $P < 0.05$; 与白芍药昔组比较, $\Delta P < 0.05$; 与甲氨蝶呤组比较, & $P < 0.05$ 。

2.5 RA 大鼠足关节滑膜组织病理形态观察

对照组滑膜组织结构完整, 表面光滑, 无炎性细胞浸润, 染色均匀; 模型组滑膜组织增厚, 体积增大, 滑膜组织排列紊乱, 炎性细胞浸润明显; 与模型组比较, 白芍药昔组、甲氨蝶呤组、白芍药昔联合甲氨蝶呤组滑膜增生减少, 炎性细胞浸润减少; 与白芍药昔组、甲氨蝶呤组相比, 白芍药昔联

合甲氨蝶呤组滑膜组织结构排列较为整齐, 炎性细胞浸润较少, 见图 1。

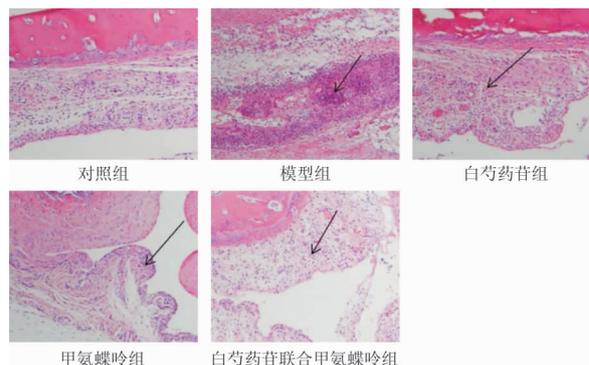
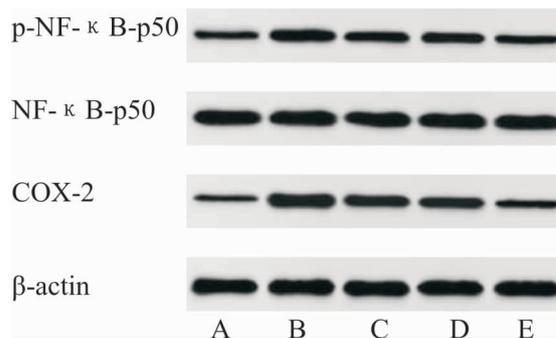


图 1 足关节滑膜组织病理形态(HE 染色, $\times 100$)

2.6 白芍药昔联合甲氨蝶呤对 NF- κ B、COX-2 表达的影响

与对照组比较, 模型组 p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2 表达上调($P < 0.05$); 与模型组比较, 白芍药昔组、甲氨蝶呤组、白芍药昔联合甲氨蝶呤组 p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2 表达下调($P < 0.05$); 与白芍药昔组、甲氨蝶呤组相比, 白芍药昔联合甲氨蝶呤组 p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2 表达下调($P < 0.05$), 见图 2、表 5。



A. 对照组; B. 模型组; C. 白芍药昔组; D. 甲氨蝶呤组; E. 白芍药昔联合甲氨蝶呤组。

图 2 大鼠足关节滑膜组织中 p-NF- κ B-p50、NF- κ B-p50、COX-2 蛋白表达

表 5 白芍药昔联合甲氨蝶呤对 NF- κ B、COX-2 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50	COX-2
对照组	0.32 \pm 0.03	0.24 \pm 0.02
模型组	0.91 \pm 0.09 *	1.08 \pm 0.10 *
白芍药昔组	0.75 \pm 0.07 **	0.65 \pm 0.06 **
甲氨蝶呤组	0.76 \pm 0.07 **	0.64 \pm 0.06 **
白芍药昔联合甲氨蝶呤组	0.49 \pm 0.04 ** Δ &	0.37 \pm 0.03 ** Δ &

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 Model 组比较, # $P < 0.05$; 与白芍药昔组比较, $\Delta P < 0.05$; 与甲氨蝶呤组比较, & $P < 0.05$ 。

3 讨论

RA起病隐匿,伴有关节肿胀^[13]。RA慢性炎症会导致软骨和骨骼损伤,软骨侵蚀、骨退化、关节畸形、运动丧失^[14]。RA还会影响心理健康,给患者带来反复疼痛和无休止的药物治疗。本研究中大鼠足趾皮肤发红、肿胀,关节僵硬,滑膜组织出现炎性细胞浸润,足趾肿胀度以及关节肿胀评分升高,说明RA大鼠模型建立成功。

中药可有效延缓RA进展^[15]。TGP取自芍药干燥根,是芍药的有效成分。TGP可缓解RA症状,且无不良反应^[16]。TGP可通过调节细胞内信号转导,对免疫细胞有调节作用^[17-18]。TGP可提高AS疾病活动度评分,降低红细胞沉降率、C反应蛋白(CRP)、TNF- α 和IL-6,可改善关节炎患者症状^[19]。本研究中,RA大鼠通过白芍药苷处理后,其精神状态改善,足趾肿胀减轻,滑膜增生缓解,炎性细胞浸润程度减轻,足趾肿胀度、关节肿胀评分下降,血清中IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3水平以及组织中IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA表达量下降,说明TGP能够缓解RA大鼠的炎症反应以及病理损伤,可能是治疗RA的潜在药物。

由于MTX耐受性好、安全且成本低受到广泛使用。若患者对MTX反应不佳或出现不良反应,建议患者继续将其与生物制剂服用,MTX可能对生物药物有累加效应。低剂量MTX表现出抗炎特性,但高剂量或长时间使用,它可能引起病理性多器官毒性^[20]。由于RA发病机制复杂,单一药物往往无法达到治疗目的。联合治疗可提高疗效,降低不良反应,是RA治疗的主要趋势^[21]。据报道,王碧颗粒在RA临床治疗中与MTX有协同作用,有助于缓解RA症状^[22]。祛风散寒利湿方联合MTX治疗RA能降低疾病活动度,改善患者生活质量^[23]。本研究中,RA大鼠通过TGP联合MTX处理后,其精神状态得到显著改善,并且大鼠足趾肿胀缓解,滑膜组织炎性细胞浸润减少,足趾肿胀度、关节肿胀评分降低,同时IL-4、IL-13、IFN- γ 、MMP-3水平和滑膜组织中IL-6、TNF- α 、IL-1 β mRNA表达降低,且TGP联合MTX的治疗效果优于单独使用,说明联合治疗RA效果较好。

NF- κ B激活是RA重要机制。当NF- κ B通路激活,p65从细胞质转移到细胞核,与相应炎症相关基因结合,开始炎症细胞因子转录,诱导炎症^[24]。COX-2在关节软骨疾病中起重要作用,COX-2表达促进炎性细胞因子诱导的软骨蛋白聚

糖代谢失衡,促进关节炎^[25]。本研究中,p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2表达上调,TGP联合MTX处理后,p-NF- κ B-p50/NF- κ B-p50、COX-2表达下调,提示TGP联合甲氨蝶呤可能通过抑制NF- κ B通路的激活,下调COX-2表达,从而对RA发挥治疗作用。

综上,TGP与MTX可缓解RA大鼠的病理损伤和炎症反应,且联合治疗效果较好。

参考文献:

- [1] JANG S, KWON E J, LEE J J. Rheumatoid arthritis: pathogenic roles of diverse immune cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 905
- [2] DING Q, HU W, WANG R, et al. Signaling pathways in rheumatoid arthritis: implications for targeted therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 68
- [3] ZHANG Y, WANG X, DING Z, et al. Enhanced efficacy with reduced toxicity of tripterygium glycoside tablet by compatibility with total glucosides of paeony for rheumatoid arthritis therapy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 166: 115417
- [4] YANG K, ZENG L, LONG Z, et al. Efficacy and safety of total glucosides of paeony in the treatment of 5 types of inflammatory arthritis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 195: 106842
- [5] LIU B, MENG X, MA Y, et al. Clinical safety of total glucosides of paeony adjuvant therapy for rheumatoid arthritis treatment: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 102
- [6] FU M, SANG X, CHENG H. Total glucosides of peony induce fibroblast-like synovial apoptosis, and ameliorate cartilage injury via blocking the NF- κ B/STAT3 pathway [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(2): 51
- [7] ZHAO Z, HUA Z, LUO X, et al. Application and pharmacological mechanism of methotrexate in rheumatoid arthritis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150: 113074
- [8] 尹谢添, 赵诗超, 向楠, 等. 桂枝附子汤调控 AGEs/RAGE/NF- κ B 信号通路对类风湿关节炎大鼠的影响 [J]. *中成药*, 2023, 45(6): 1809
- [9] 徐婉, 高雪琴, 杨绍锡, 等. 白芍总苷调控 AMPK/RANKL/OPG 轴治疗 CIA 模型大鼠骨破坏的作用研究 [J]. *中药材*, 2023, 46(11): 2810
- [10] 吴丹, 李洁芳, 刘君. 乌头汤联合甲氨蝶呤治疗大鼠类风湿关节炎的疗效及其与 p38MAPK 通路的相关性 [J]. *中医药导报*, 2024, 30(2): 26

- [11] 黄浦洋, 江强, 黄巧霞, 等. 基于 TLR4/MAPK 信号通路探讨柚皮素对类风湿关节炎大鼠的治疗作用[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(15): 3769
- [12] 段晓梅, 余万鑫, 刘衡, 等. 胡蜂毒提取物对胶原诱导性类风湿性关节炎大鼠的作用研究[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(1): 26
- [13] ZHU M, DING Q, LIN Z, et al. New targets and strategies for rheumatoid arthritis: from signal transduction to epigenetic aspect[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(5): 766
- [14] KOU H, HUANG L, JIN M, et al. Effect of curcumin on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1121655
- [15] ZHANG R, TANG X P, WANG J, et al. The impact of traditional chinese medicine qingrehuoxue treatment and the combination of methotrexate and hydroxychloroquine on the radiological progression of active rheumatoid arthritis: a 52-week follow-up of a randomized controlled clinical study[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022(1): 5808400
- [16] ZHANG L, WEI W. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of paeoniflorin and total glucosides of paeony[J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 207: 107452
- [17] HAO J, QI F, WANG H, et al. Network pharmacology-based prediction of inhibiting leukocyte recruitment and angiogenesis of total glucosides of peony against rheumatoid arthritis[J]. *Ann Palliat Med*, 2022, 11(10): 3085
- [18] ZHAO M, PENG N, ZHOU Y, et al. The immunoregulatory effects of total glucosides of paeony in autoimmune diseases[J]. *J Leukoc Biol*, 2025, 117(2): qiae095
- [19] YANG K, ZENG L, LONG Z, et al. Efficacy and safety of total glucosides of paeony in the treatment of 5 types of inflammatory arthritis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 195: 106842
- [20] YAN H, SU R, XUE H, et al. Pharmacomicrobiology of methotrexate in rheumatoid arthritis: gut microbiome as predictor of therapeutic response[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 789334
- [21] ZENG L, YU G, YANG K, et al. The effect and safety of iguratimod combined with methotrexate on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis based on a randomized controlled trial[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 780154
- [22] WANG J, WANG Z, LAN T, et al. Wangbi granule as a combination therapy to achieve clinical deep remission in rheumatoid arthritis: protocol for a multicenter, triple-blind, randomised, placebo-controlled trial[J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 22
- [23] 李方方, 赵清, 刘佩佩, 等. 祛风散寒利湿方联合甲氨蝶呤治疗急性期类风湿性关节炎寒湿痹阻证的临床观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(9): 1701
- [24] SHU C, CHEN J, LV M, et al. Plumbagin relieves rheumatoid arthritis through nuclear factor kappa-B (NF- κ B) pathway[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 13632
- [25] ALAAELDIN E, ABOU-TALEB H A, MOHAMAD S A, et al. Topical nano-vesicular spanlastics of celecoxib: enhanced anti-inflammatory effect and down-regulation of TNF- α , NF- κ B and COX-2 in complete freund's adjuvant-induced arthritis model in rats[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 133

(收稿日期: 2024-08-21)

引文格式:胡钦,徐斌.血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 水平在急性脑梗死患者预后早期评估的意义[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):230-234.

血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 水平在急性脑梗死患者预后早期评估的意义

胡 钦¹,徐 斌²

(1.咸宁市咸安区疾病预防控制中心,湖北 咸宁 437000;2.咸宁市第一人民医院)

摘要:目的 探讨血清半乳糖凝集素-9(Gal-9)、间隙连接蛋白 43(Cx43)、人类软骨糖蛋白 39(YKL-40)及 25 羟维生素 D₃[25-(OH)D₃]在急性脑梗死患者预后评估中的价值。方法 选取某院就诊的急性脑梗死患者 137 例,根据梗死体积设为大面积梗死、中面积梗死、小面积梗死、腔隙性梗死 4 组;采用改良 Rankin 量表(mRS)进行评价,分为预后不良组和预后良好组。比较不同梗死面积、不同预后患者血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 水平差异;通过 Logistic 回归模型分析多因素对急性脑梗死溶栓后不良预后的相关性。结果 大面积梗死组血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 明显高于其它组,而 25-(OH)D₃ 明显低于其它组(P 均 <0.05);Logistic 回归分析结果表明:患者的年龄、梗死范围、血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 水平与急性脑梗死的不良预后呈正相关,25-(OH)D₃ 水平与急性脑梗死的不良预后呈负相关(P 均 <0.05);血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 联合 25-(OH)D₃ 预测急性脑梗死患者预后不良的 ROC 曲线下面积为 0.863,其预测灵敏性和特异性分别为 82.5%和 90.00%。**结论** 血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 水平与急性脑梗死患者梗死面积和预后有关,在预测预后不良方面有一定应用价值。

关键词:半乳糖凝集素-9;间隙连接蛋白 43;人类软骨糖蛋白 39;25 羟维生素 D₃;急性脑梗死;预后

中图分类号:R743.3

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0230-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024121815



Significance of Serum Gal-9, Cx43, YKL-40 and 25-(OH)D₃ Levels in Early Prognostic Assessment of Patients with Acute Cerebral Infarction

HU Qin, XU Bin

(Xianning Xian'an District Center for Disease Control and Prevention, Xianning Hubei 437000, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the value of serum galactoglucon lectin-9 (Gal-9), gap junction protein 43 (Cx43), human chondrocyte glycoprotein 39 (YKL-40) and 25 hydroxyvitamin D₃[25-(OH)D₃] in the prognostic assessment of patients with acute cerebral infarction. **Methods** 137 patients with acute cerebral infarction attending a hospital were selected and divided into four groups according to the infarct volume: large infarct, medium infarct, small infarct, and lacunar infarct. Besides, the patients were evaluated by modified Rankin Scale (mRS) and divided into poor prognosis and good prognosis groups to compare the differences in serum Gal-9, Cx43, YKL-40 and 25-(OH)D₃ levels in patients with different infarct sizes and prognoses, and to analyze the correlation of multifactorial factors on the poor prognosis after thrombolysis in acute cerebral infarction by logistic regression model. **Results** Serum Gal-9, Cx43, and YKL-40 of patients in large infarcts group were significantly higher than those in other groups ($P < 0.05$), and serum 25-(OH)D₃ of patients in large infarcts group was significantly lower than those in other groups ($P < 0.05$). Logistic regression analysis results show that patients' age, infarct scope, serum Gal-9, Cx43 and YKL-40 levels were positive correlated with the poor prognosis of acute cerebral infarction, and 25-(OH)D₃ level was negative correlated with the poor prognosis of acute cerebral infarction. The area under ROC curve of serum Gal-9, Cx43, YKL-40 combined with 25-(OH)D₃ for predicting poor prognosis in patients with acute cerebral infarction was 0.863, and the sensitivity and specificity of the prediction were 82.5% and 90.00%, respectively. **Conclusion** Serum Gal-9, Cx43, YKL-40 and 25-(OH)D₃ levels are associated with infarct size and prognosis in patients with acute cerebral infarction, and have certain application value in predicting poor prognosis.

KEY WORDS: Galectin-9; Gap connexin 43; Human cartilage glycoprotein 39; 25 hydroxyvitamin D₃; Acute cerebral infarction; Prognosis

急性脑梗死(ACI)是一种严重威胁人类健康的脑血管疾病,由脑部血液循环突然中断或严重不足引发,致使脑组织缺血缺氧性坏死^[1]。患者常伴有恶心、频繁呕吐、活动受限等症状,病情严重时甚至会陷入昏迷^[2]。目前,ACI的治疗原则是尽早恢复脑部血流,对于发病4.5h时间窗内且符合溶栓条件的患者,紧急静脉溶栓是重要的治疗手段。然而,即便采取了积极治疗,仍有部分患者可能出现神经功能恢复不佳、再发梗死、脑出血等并发症,增加致残风险,导致预后不良^[3]。因此,寻找准确有效的生物监测指标并及时干预,对急性脑梗死患者的治疗和预后有很大的临床意义。间隙连接蛋白43(Cx43)作为构成细胞间的通道,可促进小分子组分在细胞间扩散^[4-5]。人类软骨糖蛋白39(YKL-40)作为一种新近识别的炎症因子,不仅参与自身免疫和炎症过程,还可能引发脂质沉积及促进动脉内皮细胞增生,从而在动脉粥样硬化及脑梗死的发展中发挥作用,因此,检测YKL-40水平可能有助于评估心脑血管疾病发生的风险^[6]。25羟维生素D₃[25-(OH)D₃]是维生素D在体内的主要代谢产物,也是衡量体内维生素D水平的主要指标。近期研究揭示,维生素D缺乏或不足与心脑血管疾病的发病机制及预后有关^[7-8]。本文通过检测血清半乳糖凝集素-9(Gal-9)、Cx43、YKL-40及25-(OH)D₃水平,旨在探讨这些指标与ACI患者预后的关系,为临床医生制定更科学精准的治疗方案、改善患者预后提供有力的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析2019年1月至2021年3月在某三甲医院就诊的急性脑梗死患者137例,其中男76例,女61例;年龄55~70岁,平均(61.10±6.82)岁;体质指数18.5~30kg/m²,平均(22.42±4.19)kg/m²。本研究已通过咸宁市第一人民医院伦理委员会审批(XY-KYKT-2024-0025)。

纳入标准:①诊断符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南》^[9]中的标准;②首次发病,发病后24h内入院;③患者及家属知情同意。排除标准:①合并重要器官疾病;②合并恶性肿瘤、血液疾

病、自身免疫疾病;③近半年内有颅外伤、手术史;④有颅内出血者。

1.2 治疗方法

使用尿激酶溶栓疗法,或使用阿替普酶溶栓治疗。所使用的药物剂量应依据患者病情的严重性进行个性化调整,其中尿激酶通常在100~150万U,并需以适量生理盐水完全溶解,确保在半小时内完成静脉滴注。阿替普酶按0.9mg/kg,但总量<90mg,其中10%的药量在60s内匀速静脉推注给药,其他90%的药量1h内匀速静脉滴注。在治疗后24h内给予口服阿司匹林肠溶片治疗。整个治疗持续时间为3个月,在治疗结束后的第4个月、第8个月及第12个月,对患者的预后情况进行系统随访。

1.3 检查方法

(1)脑梗死病灶直径测量方法及分组:使用16排CT进行脑部检查,以听眶线为基准行全脑扫描。在溶栓治疗前的头颅CT检查中,若观察到前循环区域存在CT血管密度异常,则需对血栓近端、中段及远端进行CT密度值测量并予以记录病灶直径。按病灶直径设为大面积梗死、中面积梗死、小面积梗死、腔隙性梗死4组。

(2)血清Gal-9、Cx43、YKL-40及25-(OH)D₃指标的测定:所有急性脑梗死患者均于入院后的次日清晨进行空腹静脉血采集,采集量为3mL,随后以3000转/min的速度离心5min,分离出上层血清并置于EP管中,封存于约-80℃的低温冰箱中,最终采用酶联免疫吸附试验方法对Gal-9、Cx43、25-(OH)D₃和YKL-40水平进行检测(试剂盒购自上海酶联生物有限公司),所有操作均需严格根据试剂盒与设备进行。

(3)预后良好和预后不良的判断:采用改良Rankin量表(mRS)^[11]进行评价,该量表分为7个等级(0~6分),通过患者的行走能力、日常生活能力、沟通能力、认知能力、情绪状态等进行打分评估。其中,mRS评分≤2分为预后良好,mRS评分>2分为预后不良。

1.4 统计学方法

用SPSS 22.0软件,针对正态分布的计量数据以($\bar{x} \pm s$)形式呈现,并运用 t 检验或 F 检验对各组间差异进行统计学分析;计数数据以频数或

百分比形式展示,并通过 χ^2 检验评估组间差异;预测效能通过ROC曲线进行评估。统计结果的显著性标准设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 分组情况

采用改良 Rankin 量表(mRS)进行评价,根据患者预后情况分为预后不良组(50例)和预后良好组(87例)。根据梗死体积分为4组,大面积梗死(病灶最大直径 ≥ 5 cm)患者28例,其中男16例,女12例;平均年龄(63.68 ± 6.48)岁;平均体质指数(21.73 ± 4.18) kg/m^2 。中面积梗死($3\text{cm} \leq$ 病灶最大直径 $< 5\text{cm}$)患者34例,其中男20例,女14例;平均年龄(60.53 ± 7.24)岁;平均体质指数(22.72 ± 3.48) kg/m^2 。小面积梗死($1.5\text{cm} \leq$ 病灶最大直径 $< 3\text{cm}$)40例,其中男22例,女18例;平均年龄(60.25 ± 6.24)岁;平均体质指数(22.55 ± 4.42) kg/m^2 。腔隙性梗死(病灶最大直径 $< 1.5\text{cm}$)35例,其中男18例,女17例;平均年龄(60.57 ± 6.69)岁;平均体质指数(22.52 ± 4.40) kg/m^2 。

2.2 不同梗死面积患者血清 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 比较

大面积梗死患者 Gal-9、Cx43、YKL-40 水平明显高于其它组($P < 0.05$),而 25-(OH)D₃ 明显低于其它组($P < 0.05$);中面积梗死患者 Gal-9、Cx43、YKL-40 水平明显高于小面积和腔隙性梗死患者($P < 0.05$),而 25-(OH)D₃ 明显低于小面积和腔隙性梗死患者($P < 0.05$);小面积和腔隙性梗死患者 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 不同梗死面积患者血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 及 25-(OH)D₃ 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Gal-9/(ng/mL)	Cx43/(ng/mL)	YKL-40/(ng/mL)	25-(OH)D ₃ /(ng/mL)
大面积梗死	28	15.65 \pm 3.26	125.56 \pm 15.25	178.82 \pm 43.39	12.32 \pm 3.03
中面积梗死	34	10.23 \pm 2.82*	102.02 \pm 10.03*	132.21 \pm 31.01*	15.59 \pm 4.14*
小面积梗死	40	7.46 \pm 1.23**	86.65 \pm 8.32**	93.43 \pm 25.54**	18.03 \pm 3.82**
腔隙性梗死	35	7.32 \pm 1.05**	85.68 \pm 8.05**	92.62 \pm 21.15**	18.98 \pm 4.22**

与大面积梗死组比较,* $P < 0.05$;与中面积梗死组比较,# $P < 0.05$ 。

2.3 预后良好和预后不良患者单因素比较

预后不良患者年龄、糖尿病、梗死面积、血清 Gal-9、Cx43 和 YKL-40 水平较预后良好患者高,

25-(OH)D₃ 水平较预后良好患者低,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表2。

表2 不同预后患者单因素比较

资料	预后良好(n=87)	预后不良(n=50)	t/χ	P	
性别[n(%)]	男	47(54.02)	29(58.00)	0.203	0.652
	女	40(45.98)	21(42.00)		
年龄[n(%)]	<60岁	54(62.07)	15(30.00)	13.062	0.000
	≥ 60 岁	33(37.93)	35(70.00)		
体重指数[n(%)]	<24 kg/m^2	48(55.17)	26(52.00)	0.129	0.720
	$\geq 24\text{kg}/\text{m}^2$	39(44.83)	24(48.00)		
糖尿病[n(%)]	11(12.64)	25(50.00)	22.873	0.000	
高血压[n(%)]	34(39.08)	22(44.00)	0.318	0.573	
梗死面积	大面积梗死[n(%)]	23(26.44)	39(78.00)	34.075	0.000
	小面积及腔隙性梗死[n(%)]	64(73.56)	11(22.00)		
Gal-9($\bar{x} \pm s$,ng/mL)	8.02 \pm 1.06	13.32 \pm 2.98	15.048	0.000	
Cx43($\bar{x} \pm s$,ng/mL)	88.26 \pm 6.32	113.32 \pm 10.84	17.112	0.000	
YKL-40($\bar{x} \pm s$,ng/mL)	103.34 \pm 35.54	149.81 \pm 32.23	7.617	0.000	
25-(OH)D ₃ ($\bar{x} \pm s$,ng/mL)	18.81 \pm 4.33	16.50 \pm 3.64	3.180	0.002	

2.4 急性脑梗死患者预后不良的多因素分析

将上述有统计学意义的指标作为自变量,以不良预后作为研究因变量,通过 Logistic 回归模型进行分析,结果表明:患者的年龄、梗死范围、血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 水平与急性脑梗死的不良预后呈正相关,25-(OH)D₃ 水平与急性脑梗死的不良预后呈负相关(P 均 < 0.05)。见表3。

表3 急性脑梗死患者预后不良多因素分析

因素	β	SE	Walds	P	OR(95%CI)
年龄	0.343	0.119	8.308	0.000	1.409(1.116~1.779)
梗死面积	0.783	0.211	13.771	0.000	2.188(1.447~3.309)
Gal-9	0.569	0.105	29.366	0.000	1.766(1.623~1.922)
Cx43	0.699	0.156	20.077	0.000	2.012(1.895~2.152)
YKL-40	0.402	0.132	9.275	0.000	1.495(1.154~1.936)
25-(OH)D ₃	-0.384	0.119	10.413	0.000	0.681(0.539~0.860)

2.5 血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 联合 25-(OH)D₃ 预测急性脑梗死患者预后的价值

血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 联合 25-(OH)D₃ 预测急性脑梗死患者预后不良的 ROC 曲线下面积为 0.863,明显高于各指标单独预测($P < 0.05$),其预测灵敏性和特异性分别为 82.5% 和

90.00%,见图1。

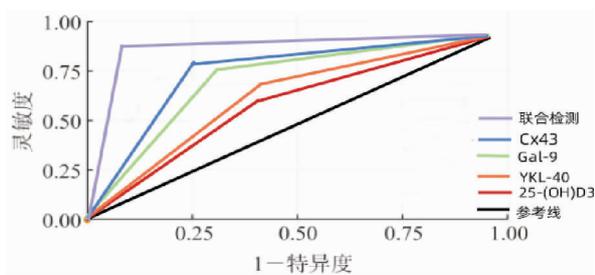


图1 血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 联合 25-(OH)D₃ 预测急性脑梗死患者预后不良的 ROC 曲线图

3 讨论

本次研究探讨血清 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 水平对急性脑梗死患者预后早期评估的意义。

研究第一部分,旨在辨析不同脑梗死病情下,患者 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 水平之间是否存在差异。结果显示,梗死灶面积越大,血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 水平越高,25-(OH)D₃ 水平越低,提示在临床问题中,越高的 Gal-9、Cx43、YKL-40 水平和越低的 25-(OH)D₃ 水平,预示着患者脑梗死病情越严重。结合上述研究发现,血清 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 指标可在一定程度上作为辅助诊断工具,用于识别脑梗死人群,并初步鉴定哪些脑梗死患者病情更加危重,利用好该工具,可以为临床医疗资源分配提供一定参考。

研究第二部分,重点论证了血清 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 水平与急性脑梗死患者预后的相关性。通过单因素与多因素分析,证实 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 水平与急性脑梗死患者预后之间有相关性,其中 Gal-9、Cx43、YKL-40 为正相关,25-(OH)D₃ 为负相关,这与研究第一部分,四指标在急性脑梗死不同病情中的特征相吻合,也从侧面提示在临床中,随着病灶面积扩大,患者预后越差。最后,通过 ROC 进行早期预后诊断效能比较发现,虽然 Gal-9、Cx43、YKL-40、25-(OH)D₃ 单项在急性脑梗死早期预后评估中,有一定的预测效能,但 Gal-9、Cx43、YKL-40 联合 25-(OH)D₃ 预测疾病早期预后风险性的准确度更高,因此,建议临床将 4 个指标联合起来,一同分析急性脑梗死早期预后水平,可以提高准确率,更好地为临床后续制定相关医疗决策提供参考。

下面从分子机制层面分析,为何越高的 Gal-

9、Cx43、YKL-40 水平,越低的 25-(OH)D₃ 水平,提示临床检测对象患急性脑梗死的几率更大、病情越严重、疾病早期预后越不好。

(1)Gal-9 作为一项免疫调节因子,可对病原微生物产生影响,在机体脑部病变时上调 Gal-9 水平,并能够抑制 T 细胞活化与免疫功能,从而激发炎症反应,进一步加重机体脑部损伤,不利于预后^[12-13]。

(2)Cx43 是构成细胞缝隙连接通道的基本结构与功能的一项膜蛋白,在维持胃黏膜细胞稳态上效果良好,缝隙连接能够实现细胞之间的能量代谢与分子扩散,在维持大脑稳态平衡上具有重要意义;当机体患急性脑梗死后,其脑组织的钙通道会异常开放,进而造成钠离子、钙离子等代谢物进入脑细胞中,造成脑平衡异常,在能量被消耗完后会诱导细胞死亡,增加患者脑损伤的范围,不利于预后^[14-15]。

(3)YKL-40 作为一类新兴的炎症相关分子,在动脉粥样硬化斑块的生成及脑卒中后神经功能障碍的发生过程中扮演着关键角色^[16-18]。研究表明,YKL-40 的表达量与脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块的新生血管活性呈显著正相关^[19]。本次研究中观察组血清 YKL-40 水平显著升高($P < 0.05$),该机制可能涉及 YKL-40 炎症介质的参与,通过增强 T 淋巴细胞的迁移活性及促进肿瘤坏死因子的释放,进而导致血管内皮细胞发生炎症性损伤。YKL-40 亦能加强细胞间的联结,诱发动脉粥样硬化斑块的血性破裂,导致脑部组织的次生损害^[20]。相关研究证实,YKL-40 在机体的炎症与免疫应答中发挥重要作用,且其作用可导致血管内膜下脂质与泡沫细胞的累积,以及血管内皮细胞的增殖,从而加剧动脉粥样硬化斑块的生成与恶化过程^[21-22]。通过对急性脑梗死患者预后不良的相关因素进行 Logistic 回归分析,进一步揭示了 YKL-40 指标在病灶体积、疾病严重程度及脑梗死病因方面的相关性,暗示其可能对治疗策略及患者的临床预后评估起到一定的指导意义。

(4)本研究结果表明,血清 25-(OH)D₃ 水平较低的个体其死亡率显著高于水平较高的患者。血清 25-(OH)D₃ 水平下降,病人病情相应加重。该作用机制可能涉及:①血清中 25-(OH)D₃ 通过调节炎症因子的表达发挥抗炎效应,而维生素 D 的缺乏或不足则会抑制这一抗炎机制^[23-24],进而对患者的神经功能恢复产生负面影响;②血清 25-(OH)D₃ 可诱导脑梗死患者脑内细胞中 HO-1 的

高表达,优化脑神经细胞的功能^[25];③25-(OH)D₃血清水平通过调节促凝血组织因子等相关分子的表达,以及提升血栓调节素的表达,优化高凝状态并阻止血栓形成过程^[26]。通过对 Logistic 回归模型的应用与分析,本研究揭示血清 25-(OH)D₃浓度下降与患者神经功能恢复的短期进展显著相关,此结论进一步强化了血清 25-(OH)D₃在评估缺血性脑卒中患者短期神经功能恢复过程中的重要性。

综上所述,血清 Gal-9、Cx43、YKL-40 以及 25-(OH)D₃水平与急性脑梗死患者的梗死灶大小及临床转归存在显著关联,对病情评估和预后预测具有一定的临床参考价值。然而,鉴于本研究的样本量有限,相关结论的可靠性有待在更大规模和多中心研究中得到验证。

参考文献:

- [1] 申小亮,赵本好,陈三丽. 急性脑梗死临床诊断中 MRI、多层螺旋 CT 与数字减影血管造影的比较[J]. 分子影像学杂志,2021,44(4):691
- [2] BAXTER B, CAMPBELL B C V, CARPENTER J S, et al. Multisociety consensus quality improvement revised consensus statement for endovascular therapy of acute ischemic stroke[J]. *Int J Stroke*,2018,13(6):612
- [3] 刘小军,李朝,王春花,等. 老年急性脑梗死患者 Apo-A、TRF、Mb、SHH 水平与病情严重程度及其与预后的相关性[J]. 国际检验医学杂志,2023,44(17):2166
- [4] 曾友根,夏胜岚,张燕红,等. 上调 Cx43 蛋白表达增强自杀基因治疗鼻咽癌的旁观者效应[J]. 吉林医学,2024,45(11):2609
- [5] 李霞,谢晶,肖向丽. SAA/CRP、LDH、Gal-9 水平在难治性肺炎支原体肺炎患儿病情及预后转归评估中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2024,45(22):2758
- [6] NADA D, JULIEN C, ROMPRE P H, et al. Association of circulating YKL-40 levels and CHI3L1 variants with the risk of spinal deformity progression in adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Sci Rep*,2019,9(1):5712
- [7] MANSON J E, BASSUK S S, COOK N R, et al. Vitamin D, marine n-3 fatty acids, and primary prevention of cardiovascular disease current evidence[J]. *Circ Res*,2020,126(1):112
- [8] GRANT W B. Review of recent advances in understanding the role of vitamin D in reducing cancer risk: breast, colorectal, prostate, and overall cancer[J]. *Anticancer Res*,2020,40(1):491
- [9] 钟迪,张舒婷,吴波.《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》解读[J]. 中国现代神经疾病杂志,2019,19(11):897
- [10] 郝泽林,吴建跃,滕振飞,等. 急性脑梗死患者血清学指标与神经功能缺损和脑梗死体积及颈动脉斑块性质的相关性研究[J]. 中华全科医学,2020,18(11):1803
- [11] GOTO Y, HINO A, HASHIMOTO N. A comparative analysis of the modified rankin scale, karnofsky performance status and kurtzke expanded disability status scale in the perioperative management of patients with brainstem cavernous malformations[J]. *Clin Neurol Neurosurg*,2021,207:106785
- [12] 任杰. 急性中重症脑梗死患者静脉溶栓联合血管内介入治疗预后的影响因素探讨[J]. 医学理论与实践,2021,34(2):219
- [13] 蒋召芹,穆永芳,刘宇鹏,等. 血清 Cx43、Gal-9 水平对老年急性脑梗死患者超早期静脉溶栓治疗预后的评估价值[J]. 国际检验医学杂志,2024,45(14):1715
- [14] 韦章林. GCS 评分与 NIHSS 评分在脑梗死急诊溶栓后出血的预测价值[J]. 现代医学与健康研究电子杂志,2018,2(13):36
- [15] RINKEL L A, NGUYEN T T M, GUGLIELMI V, et al. High admission glucose is associated with poor outcome after endovascular treatment for ischemic stroke[J]. *Stroke*,2020,51(11):3215
- [16] HAO H, CHEN H, XIE L, et al. YKL-40 promotes invasion and metastasis of bladder cancer by regulating epithelial mesenchymal transition[J]. *Ann Med*,2021,53(1):1169
- [17] 郭连峰,牟娜,刘兆玮,等. 老年急性脑梗死患者血清 CRP、VEGF 及 YKL-40 水平动态变化及相关性[J]. 中国老年学杂志,2020,40(1):14
- [18] 王晋雁,焦丽萍,郝丽莎,等. 血清 Cav-1、YKL-40 在急性脑梗死中的表达及其联合检测对预后的评估价值[J]. 中国医师杂志,2021,23(2):231
- [19] 杨文海,宁显忠,赵德福,等. 脑梗死患者血清五聚素 3、甲壳质酶蛋白 40 和白细胞分化抗原 36 表达及检测临床意义[J]. 陕西医学杂志,2019,48(3):301
- [20] KARALILOVA R, KAZAKOVA M, BATALOV A, et al. Correlation between protein YKL-40 and ultrasonographic findings in active knee osteoarthritis[J]. *Med Ultrason*,2018,1(1):57
- [21] DICHEV V, KAZAKOVA M, SARAFIAN V. YKL-40 and neuron-specific enolase in neurodegeneration and neuroinflammation[J]. *Rev Neurosci*,2020,31(5):539
- [22] 崔伟,李爱华,孟宪举,等. 中老年多发性脑梗死合并肺炎患者血小板参数及炎症指标分析[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(14):2121
- [23] MANSOURIAN M, RAFIE N, KHORVASH F, et al. Are serum vitamin D, calcium and phosphorous associated with restless leg syndrome? A systematic review and meta-analysis[J]. *Sleep Med*,2020,75:326
- [24] ZHAO B, ZENG L, ZHAO J, et al. Association of magnesium intake with type 2 diabetes and total stroke: an updated systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ Open*,2020,10(3):e032240
- [25] YANG C, JING W, GE S, et al. Vitamin D status and vitamin D deficiency risk factors among pregnancy of Shanghai in China[J]. *BMC Pregnancy Childbirth*,2021,21(1):431
- [26] CHEN W, LI Y, GAO B, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in relation to lipids and clinical outcomes in pregnant women with gestational diabetes mellitus: an observational cohort study[J]. *BMJ Open*,2020,10(11):e039905

(收稿日期:2024-12-18)

引文格式:徐朋进,孙丽娜,吴文书,等.硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中的疗效及安全性研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):235-238.

硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中的疗效及安全性研究

徐朋进¹,孙丽娜²,吴文书¹,吴泽亨¹,郭早琼¹,张万里^{3*}

(1.通山县人民医院麻醉科,湖北通山 437600;2.通山县人民医院供应室;
3.华中科技大学同济医学院附属协和医院消化肿瘤外科)

摘要:目的 探讨硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中的疗效及安全性。方法 选择90例胃癌患者为研究对象,采用随机数字表法分为硬膜外麻醉复合全身麻醉组(E+G组)与全身麻醉组(对照组)。比较E+G组和对照组患者疗效、不良反应、肝肾功能、肿瘤标志物(CEA、CA199)、炎症因子、T淋巴细胞及miR-135的差异;比较两组不同时段MAP、HR及SpO₂的差异。结果 E+G组手术时间、苏醒时间、术中出血量、首次进食时间、下床活动时间均低于对照组(P 均 <0.05)。E+G组胃癌患者低血压、术后呼吸抑制、消化道症状、苏醒期躁动、术后谵妄等并发症总发生率显著低于对照组(P 均 <0.05)。两组T1、T2、T3、T4时MAP、HR及SpO₂差异存在统计学意义(P 均 <0.05)。E+G组手术后7d的hs-CRP、TNF- α 、IL-6均低于对照组(P 均 <0.05),CD3⁺、CD4⁺及CD8⁺显著高于对照组(P 均 <0.05)。两组术后7d CEA、CA199及miR-135较术前显著降低(P 均 <0.05),但组间比较无统计学差异(P 均 >0.05)。结论 硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中具有较好的镇静效果及安全性,对患者炎症反应及免疫功能影响较少,其疗效高于传统的全身麻醉。

关键词:胃癌根治术;硬膜外麻醉;全身麻醉;疗效;安全性

中图分类号:R735.2

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0235-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024070311



Study on the Efficacy and Safety of Epidural Anesthesia Combined with General Anesthesia in Radical Gastrectomy for Gastric Cancer

XU Peng-jin, SUN Li-na, ZHANG Wan-li, et al

(Department of Anesthesiology, Tongshan County People's Hospital, Tongshan Hubei 437600, China)

ABSTRACT: Objective To study the efficacy and safety of epidural anesthesia combined with general anesthesia in radical resection of gastric cancer. **Methods** A total of 90 patients with gastric cancer were selected as the research subjects and randomly divided into the epidural anesthesia combined with general anesthesia group (E + G group) and the general anesthesia group (control group). The efficacy, adverse reactions, liver and kidney function, tumor markers (CEA, CA199), inflammatory factors, T lymphocytes and miR-135 were compared between the E + G group and the control group. The differences in MAP, HR and SpO₂ at different time periods were compared between the two groups. **Results** The operation time, awakening time, intraoperative blood loss, first meal time, and time to get out of bed in the E + G group were significantly lower than those in the control group (all $P < 0.05$). The total incidence rate of complications such as hypotension, postoperative respiratory depression, gastrointestinal symptoms, awakening period agitation, and postoperative delirium in gastric cancer patients in the E + G group was significantly lower than that in the control group (all $P < 0.05$). There were statistically significant differences in MAP, HR and SpO₂ at T1, T2, T3 and T4 between the two groups (all $P < 0.05$). The hs-CRP, TNF- α and IL-6 of gastric cancer patients in the E + G group were lower than those in the control group 7 days after surgery (all $P < 0.05$), and CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ were significantly higher than those in the control group (all $P < 0.05$). CEA, CA199 and miR-135 in both groups were significantly lower than those before surgery (all $P < 0.05$), but there was no statistical difference between the two groups (all $P > 0.05$). **Conclusion** Epidural anesthesia combined with general anesthesia has better sedative effect and safety in radical resection of gastric cancer, has less impact on the inflamma-

* 通信作者, E-mail: drzhangwanli@hust.edu.cn

tory response and immune function of patients, and its efficacy is higher than traditional general anesthesia.

KEY WORDS: Radical gastrectomy; Epidural anesthesia; General anesthesia; Efficacy; Safety

良好的术中镇静镇痛为胃癌根治术成功的前提条件,常用的全身麻醉存在苏醒期躁动及术后认知障碍等缺点,因此,探索高效安全的麻醉方法对提高胃癌根治术的围术期安全性具有决定意义^[1]。硬膜外麻醉可阻断交感神经低级中枢的传导,减少麻醉导致的全身应激反应,对全身器官功能影响较小,同时硬膜外麻醉在术后可为患者提供自控镇痛^[2]。本研究旨在探讨硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中的疗效及安全性,为提高胃癌根治术麻醉效果提供客观证据。

1 资料与方法

1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①经病理组织学检查确诊为胃癌,无手术禁忌证,首次诊治,既往未行相关治疗;②ASA分级为I-II级,无麻醉相关禁忌证(包括麻醉药物过敏等);③术前患者无严重意识障碍及认知障碍,可配合本研究;④患者及家属知情并同意本研究,签署知情同意书。排除标准:①长期服用镇痛、镇静及精神药物等,合并抑郁症等神经精神疾病、严重代谢及内分泌疾病、妊娠期及哺乳期女性;②困难气道等气管内插管禁忌。

1.2 一般资料

选择2020年1月至2024年1月通山县某医院诊治的90例胃癌根治术患者为研究对象,采用随机数字表法分为硬膜外麻醉复合全身麻醉组(E+G组)与全身麻醉组(对照组)。两组一般临床资料见表1,在性别、年龄、体质量指数、ASA分级、糖尿病史及高血压病史方面具有可比性,差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。本研究经通山县人民医院医学伦理委员会审核批准(编号YXLL-027)。

表1 两组基线资料比较

组别	例数	年龄/岁	体质量指数/(kg/m ²)	ASA分级(I/II)	糖尿病史(有/无)	高血压病史(有/无)
E+G组	45	64.2±7.8	22.7±4.2	30/15	9/36	12/33
对照组	45	64.5±7.6	22.5±4.4	32/13	7/38	11/34

1.3 麻醉方法

两组患者进入麻醉手术室后常规开放血管通路、心电监护、静脉补液及脑电双频指数(BIS)监测,行气管插管麻醉。对照组行全身静脉麻醉,静脉给予纳布啡(宜昌人福药业公司,20mg/支,国

药准字H20130127)0.2mg/kg,舒芬太尼(宜昌人福药业公司,2mL/支,国药准字H20054171)0.5μg/kg、丙泊酚(西安力邦制药公司,0.2g/支,国药准字H19990282)2.0mg/kg及罗库溴铵(华北制药股份有限公司,50mg/支,国药准字H20103235)0.6mg/kg进行全麻诱导气管插管,此后丙泊酚及瑞芬太尼维持麻醉深度,间断推罗库溴铵0.15mg/kg保证肌松,持续泵入瑞芬太尼0.2μg/(kg·min),丙泊酚8mg/(kg·h),手术结束前10min静脉推注曲马多(上海禾丰制药有限公司,100mg/支,国药准字H20033336)100mg。E+G组采用全身麻醉复合硬膜外麻醉方式,以T9~10椎间隙部位作为穿刺点,向头侧置管,0.75%罗哌卡因(齐鲁制药有限公司,10mL/支,国药准字H20052716)5mL缓慢注入,10min后测麻醉平面后再麻醉诱导,药物使用与对照组一致,术中维持麻醉用药在对照组基础上加用0.75%罗哌卡因行硬膜外阻滞维持麻醉,硬膜外补药时间为55min/次,6mL/次。手术中根据心电监护及麻醉深度给予药物调整。

1.4 方法及观测指标

两组患者分别于入室后(T0)、麻醉诱导完成后(T1)、麻醉维持起始点(T2)、手术开始操作时(T3)、手术结束后(T4)监测平均动脉压(MAP)、心率(HR)及血氧饱和度(SpO₂)。

观测指标:①疗效包括手术时间、术中出血量、苏醒时间、首次进食时间、下床活动时间等,不良反应包括低血压、术后呼吸抑制、消化道症状(恶心呕吐、胃潴留等)、苏醒期躁动和术后谵妄等;②肝功能包括谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)及总胆红素(TBIL),肾功能包括肌酐(Ccr)及尿素氮(BUN),肿瘤标志物包括CEA、CA199,均采用全自动生化检测仪检测;③炎症因子、T淋巴细胞及miR-135检测:空腹8h后于次晨取肘静脉血20mL,其中10mL用于检测T淋巴细胞(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞),采用流式细胞仪检测。10mL全血3000r/min离心10min后取血清检测炎症因子IL-6、TNF-α及高敏C反应蛋白(hs-CRP)、miR-135,炎症因子检测方法为酶联免疫吸附法,miR-135检测方法为实时荧光定量PCR,引物序列为上游引物5'-TTGGTCTGTTC-CCGGTCC-3',下游引物5'-TCACAGCTCCACAG-

GCTAAC-3'。

1.5 统计学方法

采用 Sigmaplot 12.0 软件进行统计学分析。两组均数比较采用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MAP、HR 及 SpO₂ 比较

两组 T0 时 MAP、HR 及 SpO₂ 差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。E + G 组 T1、T1、T2、T3、T4 时 MAP、HR 及 SpO₂ 差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。对照组与 E + G 组 T1、T2、T3、T4 时 MAP、HR 及 SpO₂ 差异存在统计学意义(P 均 < 0.05),见表 2。

表 2 两组不同时期 MAP、HR 及 SpO₂ 比较($\bar{x} \pm s, n = 45$)

检测指标	组别	T0	T1	T2	T3	T4
MAP/mmHg	E+G 组	82.7±5.1	83.1±3.5*	82.9±2.2*	82.8±2.4*	82.6±2.6*
	对照组	82.5±5.3	77.4±3.6	84.3±2.8	80.1±2.6	84.8±2.5
HR/bpm	E+G 组	75.4±2.9	75.1±2.1*	75.8±2.3*	76.4±2.2*	75.9±2.1*
	对照组	75.2±2.7	80.3±2.1	76.9±2.5	81.3±2.1	77.6±2.4
SpO ₂ /%	E+G 组	98.1±1.4	98.2±1.2*	98.3±1.1*	98.3±1.3*	98.2±1.2*
	对照组	98.2±1.3	97.3±1.1	97.2±1.2	97.4±1.1	97.2±0.8

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.2 疗效及不良反应对比

E + G 组手术时间、苏醒时间、术中出血量、首次进食时间、下床活动时间均显著低于对照组患者(P 均 < 0.05),见表 3。E + G 组并发症总发生率显著低于对照组(P 均 < 0.05),见表 4。

表 3 两组疗效指标比较($\bar{x} \pm s, n = 45$)

组别	手术时间/h	苏醒时间/min	术中出血量/mL	首次进食时间/d	下床活动时间/d
E+G 组	3.3±0.5*	28.6±6.2*	138.7±13.5*	4.4±0.6*	3.2±0.5*
对照组	3.7±0.6	34.4±7.5	206.1±20.7	5.1±0.9	4.7±0.8

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

表 4 两组并发症比较 [$n(\%)$, $n = 45$]

组别	低血压	术后呼吸抑制	消化道症状	苏醒期躁动	术后谵妄	并发症发生率
E+G 组	4(8.9)	1(2.2)	5(11.1)	2(4.4)	4(8.9)	16(35.6)*
对照组	6(13.3)	3(6.7)	7(15.6)	4(8.9)	6(13.3)	26(57.8)

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.3 肝肾功能、炎症因子及 T 淋巴细胞比较

两组术前 ALT、AST、TBIL、Ccr、BUN、hs-CRP、TNF-a、IL-6、CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺ 差异无统计学

意义(P 均 > 0.05)。手术后 7d 两组 ALT、AST、TBIL、Ccr、BUN 差异无统计学意义(P 均 > 0.05),E + G 组 hs-CRP、TNF-a、IL-6 均显著低于对照组(P 均 < 0.05),CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺ 显著高于对照组(P 均 < 0.05),见表 5。

表 5 两组肝肾功能、炎症因子及 T 淋巴细胞比较($\bar{x} \pm s, n = 45$)

检测指标	组别	手术前	手术后 7d
ALT/(U/L)	E+G 组	27.8±4.5	28.3±4.9
	对照组	27.6±4.8	28.1±4.7
AST/(U/L)	E+G 组	17.6±3.5	17.9±3.8
	对照组	17.7±3.7	17.8±3.7
TBIL/(μ mol/L)	E+G 组	11.5±2.4	12.2±2.5
	对照组	11.4±2.6	12.1±2.6
Ccr/(μ mol/L)	E+G 组	61.7±7.4	62.8±7.7
	对照组	61.5±7.5	62.6±7.5
BUN/(mmol/L)	E+G 组	5.1±0.7	5.5±0.8
	对照组	5.2±0.9	5.4±0.9
hs-CRP/(mg/L)	E+G 组	0.7±0.4	3.8±0.6*
	对照组	0.8±0.5	4.6±0.7
TNF-a/(pg/L)	E+G 组	5.3±0.9	11.5±2.5*
	对照组	5.2±0.8	15.9±3.2
IL-6/(pg/L)	E+G 组	3.7±1.2	8.9±1.3*
	对照组	3.6±1.3	11.9±1.4
CD3 ⁺ /%	E+G 组	54.2±2.6	59.1±2.6*
	对照组	54.1±2.4	57.3±2.5
CD4 ⁺ /%	E+G 组	23.5±1.3	26.4±1.4*
	对照组	23.4±1.6	25.1±1.5
CD8 ⁺ /%	E+G 组	13.2±1.5	16.9±1.7*
	对照组	13.1±1.4	15.5±1.6

手术后 7d 与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.4 CEA、CA199 及 miR-135 比较

手术后 7d 两组 CEA、CA199 及 miR-135 较术前显著降低(P 均 < 0.05),两组手术前及手术后 7d 各项指标差异无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 6。

表 6 两组手术前后 CEA、CA199 及 miR-135 比较($\bar{x} \pm s, n = 45$)

检测指标	组别	手术前	手术后 7d
CEA/(μ g/L)	E+G 组	27.2±2.8	11.3±1.5*
	对照组	27.1±2.9	11.4±1.7*
CA199/(U/L)	E+G 组	68.5±8.4	39.2±5.7*
	对照组	68.3±8.7	38.9±5.5*
miR-135	E+G 组	1.4±0.4	0.7±0.3*
	对照组	1.3±0.4	0.6±0.2*

与同组手术前比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨论

高效安全的麻醉以减少术中体动反应发生率

及维持生命征稳定性对胃癌根治术安全性具有决定意义^[3]。目前胃癌根治术常用的全身麻醉可抑制呼吸反射,对 MAP、HR、SpO₂ 等生命体征指标影响较大,存在苏醒期躁动等并发症发生率高、缺点而限制其临床应用^[4]。硬膜外麻醉中麻醉药物全身浓度较低,对其他器官功能的影响较少,尤其是对 MAP、HR、SpO₂ 等生命体征指标影响较小,联合全身麻醉可有效阻断麻醉药物、手术应激及炎症反应对中枢系统的影响,显著减少全身麻醉药物的用量,促进患者自主呼吸尽快恢复并缩短术后苏醒及拔管时间,降低苏醒期躁动发生率^[5]。本研究中,E + G 组手术时间、苏醒时间、术中出血量、首次进食时间、下床活动时间均显著低于对照组,并发症总发生率显著降低,术中的血流动力学稳定性高,表明硬膜外麻醉复合全身麻醉具有更高的疗效及安全性。

胃癌根治术可导致氧化应激反应加重,激活内皮细胞合成分泌内皮素、前列环素及炎症因子,诱导白细胞及单核细胞迁移浸润,正反馈产生炎症因子、活性氧及血小板激活因子,刺激机体炎症级联反应而导致患者术后恢复困难^[6]。研究发现麻醉方式对手术患者免疫功能具有一定的影响,同时与术后患者恢复及疗效密切相关^[7]。本研究中,E + G 组手术后 7d 时 hs-CRP、TNF- α 、IL-6 均显著低于对照组,CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺ 显著高于对照组,表明硬膜外麻醉复合全身麻醉对胃癌根治术患者炎症反应及免疫功能的影响较少,从免疫功能方面佐证硬膜外麻醉复合全身麻醉的疗效及安全性。

微小 RNA(miRNA)在胃癌发病机制、病情及预后评估中扮演关键角色,成为胃癌研究的热点及新靶点^[8]。研究发现 miRNA 参与恶性肿瘤发生、发展及转归,可在基因水平提供敏感度及特异性极高的分子证据^[9]。李永红等研究发现 miR-135 靶向 CMTM3 抑制胃癌细胞增殖、侵袭及迁移,诱导细胞凋亡^[10]。此外,研究发现 miR-135 在胃癌患者中表达显著升高,对胃癌的早期诊断和预后评估具有较高价值^[11]。本研究中,手术后 7d 两组 CEA、CA199 及 miR-135 均较手术前显著降低(P 均 < 0.05),但两组手术前及手术后 7d 各项指标差异无统计学意义(P 均 > 0.05),表明麻

醉、硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中对肿瘤标志物无影响。

综上所述,硬膜外麻醉复合全身麻醉在胃癌根治术中具有较高的镇静效果及安全性,对患者炎症反应及免疫功能刺激少,具有高效安全等优点,其疗效高于传统的全身麻醉。

参考文献:

- [1] MA X F, LV S J, WEI S Q, et al. Influences of dexmedetomidine on stress responses and postoperative cognitive and coagulation functions in patients undergoing radical gastrectomy under general anesthesia[J]. World J Gastrointest Surg, 2023, 15(6): 1169
- [2] 杨育鑫, 李欣. 硬膜外麻醉联合全身麻醉在胃癌根治术中的应用效果[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(2): 120
- [3] 胡玉莹, 刘越, 时明丽, 等. 右美托咪定辅助全身麻醉对胃癌根治术患者围术期血流动力学及肺功能的影响探讨[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(15): 101
- [4] 姚博炜, 高斌, 穆婧. 右美托咪定在胃癌根治术全凭静脉麻醉用药中的应用效果及安全性分析[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(5): 664
- [5] 黄瑜, 张明明, 王鹏, 等. 全麻复合硬膜外麻醉对老年胃癌根治术患者术后苏醒、认知功能及应激反应的影响[J]. 贵州医药, 2022, 46(7): 1060
- [6] 贺爱军, 曹波, 李小宝, 等. 腹腔镜辅助胃癌根治术的临床疗效及对血清炎症因子水平和氧化应激指标的影响[J]. 中国医刊, 2023, 58(4): 405
- [7] 李洲, 马勇, 方仕旭, 等. 益生菌联合早期肠内营养对胃癌根治术患者炎症因子、细胞免疫及营养指标的影响[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2023, 10(2): 225
- [8] YANG Y, HUANG Y, LIN W, et al. Host miRNAs-microbiota interactions in gastric cancer[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 52
- [9] HU M L, XIONG S W, ZHU S X, et al. MicroRNAs in gastric cancer: from bench to bedside[J]. Neoplasma, 2019, 66(2): 176
- [10] 李永红, 刘文明, 李伟, 等. miR-135b-5p 靶向 CMTM3 调节胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(19): 3305
- [11] 梁春芳, 朱康宁, 张琦. 血清 miR-21、miR-135a 对胃癌患者化疗后复发和转移的预测价值[J]. 检验医学, 2022, 37(5): 417

(收稿日期:2024-07-03)

引文格式:郑永红. 隐形义齿压低伸长后牙在种植义齿修复中的应用[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2025, 39(3): 239-241.

隐形义齿压低伸长后牙在种植义齿修复中的应用

郑永红

(湖北科技学院医学部口腔与眼视光医学院, 湖北 咸宁 437100)

摘要:目的 探讨隐形义齿在压低伸长后牙中的应用效果。方法 选取我院因种植义齿修复需要压低伸长后牙的患者 80 例, 随机分成对照组和观察组, 每组各 40 例。对照组采用微螺钉种植体支抗压低伸长的后牙, 观察组采用隐形义齿压低伸长的后牙。比较两种方法对后牙同等压低量的疗程、患者心理负担的发生率、矫治过程中不良事件发生率、矫治费用、患者舒适度的影响。结果 在同等压低量的情况下, 观察组的疗程、矫治过程中心理负担的发生率、不良事件的发生率、矫治费用均明显低于对照组 (P 均 < 0.05), 观察组的患者舒适度明显好于对照组 ($P < 0.05$)。结论 后牙区因种植义齿修复的需要, 应用隐形义齿压低伸长的后牙缩短了疗程, 减轻了患者的心理负担, 降低了矫治过程不良事件的发生率, 减少了患者费用, 增加了患者舒适度, 临床效果理想。

关键词: 隐形义齿; 后牙伸长; 种植义齿; 微种植体支抗

中图分类号: R783

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2025)03-0239-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024112210



Application of Invisible Dentures in Lowering and Lengthening Posterior Teeth in Implant Denture Restoration

ZHENG Yong-hong

(School of Stomatology and Ophthalmology, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To explore the application effect of invisible denture in low elongated posterior teeth. **Methods** A total of 80 patients who needed to lower and elongate posterior teeth due to implant denture restoration in our hospital were selected and randomly divided into a control group and an observation group, with 40 cases in each group. The control group applied micro-screw implants anchoring to intrude and elongate the posterior teeth, while the observation group used invisible dentures to intrude and elongate the posterior teeth. The two methods were compared in terms of the course of treatment for the same amount of intrude of the posterior teeth, the incidence of psychological burden of patients, the incidence of adverse events during treatment, the cost of treatment, and the comfort of patients. **Results** Under the condition of the same amount of compression, the course of treatment, the incidence of psychological burden during correction, the incidence of adverse events, and the correction cost of the observation group were significantly lower than those of the control group (all $P < 0.05$), and the patients' comfort level in the observation group was significantly better than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Due to the need for implant denture restoration in the posterior tooth area, the use of invisible dentures to lower the elongated posterior teeth shortens the treatment period, reduces the psychological burden of patients, reduces the incidence of adverse events during the correction process, reduces patient costs, increases patient comfort, and has ideal clinical results.

KEY WORDS: Invisible denture; Posterior tooth elongation; Dental implant; Micro-implant anchorage

牙列缺损是口腔临床常见病、多发病。牙列缺损除造成咀嚼、语言、吞咽等功能障碍外,还可引起一系列并发症,如牙松动、牙移位等。因此,牙列缺损后应积极地进行早期修复,终止疾病发展,恢复丧失的功能,保持口颌系统和整个身心健康^[1]。牙列缺损有 3 种修复方式:可摘局部义齿、固定义齿和种植义齿。种植义齿较好的恢复了咀嚼、美观及发音功能,有效保存了天然牙而成为众

多牙列缺损患者的首选修复方式^[1]。后牙区的牙列缺损主要采取固定式种植义齿修复。研究^[2]表明种植固定义齿需要至少 7mm 的垂直空间。临床上经常会遇到后牙缺失的患者,由于其对殆牙的伸长降低了缺牙区的垂直高度,空间不足无法进行种植义齿修复,或无法获取理想的殆曲线,导致咬合干扰、颞下颌关节紊乱^[3]。为了开展种植义齿修复并使咬合关系重建,纠正伸长的后牙就

非常关键。有报道通过微螺钉种植体支抗压低上颌磨牙获得足够修复空间,以改善咬合曲线,现成为临床上颌伸长磨牙纠正的常用手段^[4],而采用种植体支抗系统可以有效的压低伸长的磨牙^[5]。基于此,目前临床上主要采用种植体支抗压低伸长的后牙。但这种方法存在感染、种植体脱落及损伤牙根和牙周膜的风险^[6]。此外,植入微螺钉支抗需要一定的技术和设备,费用相对较高。微螺钉植入是一个侵入性操作,会让患者产生紧张、害怕等心理负担。为了探索一种简单有效、费用低、不良事件发生率少的方法来压低伸长的后牙,现就隐形义齿的临床应用效果报道如下。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

纳入标准:①年龄超过18周岁,后牙缺失,无系统性疾病;②缺牙区的对颌后牙伸长导致缺牙区的垂直高度不足7mm;③牙齿缺失、邻牙健康,局部软硬组织健康,开口度正常,颞下颌功能无异常;④患者主动要求。排除标准^[7]:①近期发作过心肌梗死的患者;②近期施行人工心脏瓣膜手术的患者;③严重的肾功能不全;④失控的内分泌系统疾病;⑤近期行放疗和化疗的患者;⑥吸毒、酗酒。

1.2 一般资料

选取我院2021—2023年收治,因种植义齿修复需要压低伸长后牙的患者80例,按照随机数字表法分成观察组和对照组,各40例。观察组男18例,女22例;年龄40~58岁,平均(48.28±4.31)岁;伸长的后牙需要压低1~7mm。对照组男24例,女22例;年龄38~56岁,平均(46.36±3.12)岁;伸长的后牙需要压低1~7mm。两组患者一般资料差异没有统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经我院医学伦理委员会批准。

1.3 方法

对照组采用微螺钉支抗压低伸长的后牙。先进行详细的口腔检查包括X线检查,然后口腔消毒,局麻,在需要压低的后牙颊舌侧牙槽骨上准确植入微螺钉,1~2周后在需要压低的后牙颊舌面上粘正畸托槽及附件,然后在微螺钉与正畸托槽及附件之间挂上链状橡皮圈来给伸长的后牙施加压低的力,保证施力在150g左右,2~3周复诊更换链状橡皮圈。这样逐渐把伸长的后牙压低,直至获得种植义齿修复所需要的足够垂直空间。

观察组采用隐形义齿压低的后牙。医生按可摘局部义齿制作的要求,用超硬石膏灌模获得模型。隐形义齿做好后给患者试戴,以保证义齿能够摘戴方便、无压痛感,隐形义齿的人工塑料牙与口腔伸长的对颌后牙保持均匀的早接触,并且保证其余后牙的咬合被打开1~3mm。嘱患者待打开的后牙重新有了咬合接触时复诊,医生用自凝造牙粉加高隐形义齿上的人工牙颌面,根据需要重新打开后牙咬合1~3mm,这样逐次加高隐形义齿人工牙颌面压入伸长的后牙,直至获得缺牙区种植义齿修复所需要的垂直空间。

1.4 观察指标

①两组后牙同等压低量的疗程。分别比较压低1mm、3mm的疗程。②两组患者心理负担发生率。采用汉密尔顿焦虑自评量表(hamilton anxiety scale, HAMA)^[5]评判两组患者的心理负担情况。HAMA包括焦虑、害怕、紧张、失眠等14个项目,采用0~4等级计分,总分56分;>29分,严重;21≤得分≤29分,明显;14≤得分≤20分,肯定有;7≤得分≤13分,可能有;得分<7分,无。分别统计严重、明显、肯定有、可能有的人数,把这些人数列为有心理负担的人,其总和除以总人数分别得出两组心理负担的发生率。③两组不良事件发生率。统计两组疼痛、口腔炎症、矫治器脱落的人数,计算每组不良事件的发生率。④两组矫治费用。⑤两组患者舒适度。采用Korcaba简化舒适状况量表^[9]评估两组患者的舒适度,得分越高表示患者越舒适。

1.5 统计学方法

数据采用SPSS 26.0软件进行统计学分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示, t 检验或方差分析,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,秩和检验或 χ^2 检验。 $P<0.05$ 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组后牙同等压低量的疗程比较

同等压低量观察组的疗程明显短于对照组,有统计学差异($P<0.05$)。见表1。

表1 两组后牙同等压低量疗程的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	压低1mm的疗程/d	压低3mm的疗程/d
观察组($n=40$)	28.36±3.46*	86.49±5.29*
对照组($n=40$)	58.62±4.52	180.26±3.44

与对照组比较,* $P<0.05$ 。

2.2 两组心理负担发生率的比较

观察组的心理负担发生率明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

表2 两组心理负担发生率的比较[n(%)]

组别	严重	明显	肯定有	可能有	无	总发生率
观察组(n=40)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	4(10.0)	36(90.0)	4(10.0)*
对照组(n=40)	0(0.0)	10(25.0)	16(40.0)	12(30.0)	2(5.0)	38(95.0)

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.3 两组不良事件发生率比较

观察组不良事件的发生率明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表3。

表3 两组不良事件发生率的比较[n(%)]

组别	疼痛	口腔炎症	矫治器件脱落	总发生率
观察组(n=40)	6(15.0)	5(12.5)	0(0.0)	11(27.5)*
对照组(n=40)	10(25.0)	8(20.0)	16(40.0)	34(85.0)

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.4 两组费用、舒适度的比较

观察组费用(包括取印模的材料费、隐形义齿的制作费)低于对照组(包括X线检查费、微螺钉费、正畸托槽等费用)。观察组的舒适度高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),见表4。

表4 两组患者费用、舒适度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	矫治费用/千	Kolcaba量表/分
观察组(n=40)	0.40±0.86*	86.24±6.22*
对照组(n=40)	2.61±0.28	58.68±6.82

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨论

种植义齿是将替代天然牙根的种植体植入颌骨获取类似于牙固位支持的修复体^[1]。固定式种植义齿因其固位和稳定能力好、咀嚼效率更高而成为后牙缺失后的优选修复方案。如果后牙缺失,对颌牙伸长,降低了缺牙区的垂直高度甚至不足7mm时,就要通过辅助性正畸治疗的方法来压低伸长的后牙,为种植义齿修复创造条件,并保证修复效果。

微小种植体支抗能为口腔正畸临床治疗提供足够的支抗力^[10],应用种植体支抗可发挥牙齿压低移动的作用^[11],深受广大正畸医生的青睐,在磨牙压低^[12]等正畸疑难矫治中获得应用。但微小种植体支抗具有一定的松动失败率,有报道约10.7%^[13],这在一定程度上限制了其广泛应用。

植入微螺钉支抗需要X线检查设备,技术要求也高,在操作时要准确掌握植入的方向,以免损伤牙根和牙周膜。损伤牙根和牙周膜的风险及植入术带来的疼痛会增加患者担心、害怕等心理负担。上颌第一恒磨牙三根之间分叉较大^[14],下颌第一恒磨牙的牙根呈一定分叉度的近远中排列,它们的近远中可提供的植入空间较小,在此区域植入微螺钉支抗时难以保证给予被压低的磨牙施加朝向根方的压力。粘在磨牙上的正畸托槽等附件也易脱落,加上整个矫治费用高。这些问题对微螺钉支抗在压低后牙中的应用产生了负面影响。

隐形义齿又称弹性义齿,是可摘局部义齿的一种,它采用高弹性、抗折力强的材料取代普通可摘局部义齿的金属卡环和树脂基托部分,基托色泽接近天然牙龈组织,修复效果逼真,能更好地达到美观性能要求^[15]。有良好的仿生效果和隐蔽性^[1]。隐形义齿修复凭借良好的美容性和舒适性得到越来越多患者的认可和应用^[16]。隐形义齿的固位稳定效果好,且它的边缘密闭性较好,咀嚼时食物残渣不会嵌塞在义齿组织面里,有利于患者的口腔清洁^[17],不会增加患牙周炎的风险。

本研究采用隐形义齿来压低伸长的后牙,把隐形义齿上的人工牙做高,保证隐形义齿上的人工牙与伸长的对颌牙发生早接触,给伸长的后牙施加朝向牙根方向的压力,在这种力的作用下,伸长的后牙得以很好的压低。

对照组压低磨牙3mm的疗程是6个月左右,与Abellan等^[18]报道采用微螺钉6个月压低磨牙(2.95±1.16)mm相当。而观察组采用隐形义齿压低伸长的后牙3mm的疗程是3个月左右,疗程明显短于对照组。观察组的操作相当于牙列缺损的隐形义齿修复,没有潜在的风险,不良事件的发生率极低,能有效避免患者产生担心、害怕等不良心理负担。并且观察组的操作方法更加简单方便,能有效降低费用的支出,减轻患者的经济负担。戴上隐形义齿虽然后牙咬合被打开,但患者进食时可以取下义齿,不影响正常进食。这些特点极大提升了患者的舒适度,将会帮助更多的患者实现种植义齿修复的愿望。

综上所述,后部缺牙区的对颌牙伸长给种植义齿修复带来困难时,应用隐形义齿压低伸长的后牙是一种简单、有效的辅助性正畸治疗的方法,节约了时间和经济成本,患者担心、害怕等心理负担发生率低,不良事件少,舒适度高,丰富了压低伸长后牙的临床方法,值得临床推广。(下转第246页)

引文格式:胡天亮,郑永良,李世升,等.茯苓治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期肺脾气虚证的临床观察与机制探讨[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):242-246.

茯苓治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期肺脾气虚证的临床观察与机制探讨*

胡天亮¹,郑永良²,李世升²,吴卫林¹,杨进^{3**},王胜强^{1,4**}

(1. 仙桃市陈场镇卫生院,湖北 仙桃 433016;2. 黄冈师范学院生物与农业资源学院;
3. 大冶市中医医院;4. 华中师范大学医院中西医结合科)

摘要:目的 评估茯苓在慢性阻塞性肺疾病(COPD)稳定期肺脾气虚证患者中的临床疗效及作用机制,为茯苓在COPD治疗中的应用提供理论依据。**方法** 收集自仙桃市陈场镇TPQ村和QF村,共100例确诊为肺脾气虚证的COPD患者,随机分为观察组和对照组。观察组在对照组常规治疗的基础上,给予茯苓治疗;对照组则给予噻托溴铵吸入粉雾剂。各治疗2个月,通过中医证候评分、COPD患者自我评估测试评分(CAT)、肺功能检测、6min步行试验(6MWT)等指标评估患者的治疗效果。**结果** 观察组在中医证候积分、CAT评分、肺功能和6MWT距离等方面均显著优于对照组($P < 0.05$);观察组IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 水平均显著下降($P < 0.05$),表明茯苓具有显著的抗炎作用。**结论** 茯苓通过降低促炎因子的血清水平,显著改善COPD稳定期肺脾气虚证患者的肺功能和临床症状,可能成为COPD治疗的有效中药单方。未来的研究应进一步探讨其分子机制,并开展更大规模的临床试验以验证其长效疗效。

关键词:茯苓;慢性阻塞性肺疾病;肺脾气虚证;临床观察;机制探讨

中图分类号:R256

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0242-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024121801



Clinical Observation and Mechanistic Study of Poria Cocos in Treating Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease with Lung-Spleen Qi Deficiency Syndrome

HU Tian-liang, YANG Jin, WANG Sheng-qiang, et al

(Chenchang Town Health Center, Xiantao Hubei 433016, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the clinical efficacy and mechanisms of Poriacocos in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and Lung-Spleen Qi Deficiency Syndrome, and to provide a theoretical basis for its application in the treatment of COPD. **Methods** Clinical data were collected from 100 confirmed COPD patients with Lung-Spleen Qi Deficiency Syndrome in TPQ and QF villages of Chenchang Town, Xiantao City. The patients were randomly divided into an observation group and a control group. The observation group received Poriacocos treatment on the basis of conventional treatment of the control group, which received tiotropium bromide inhalation powder. Each treatment lasted for 2 months, and the therapeutic effects were evaluated using Traditional Chinese Medicine (TCM) syndrome scores, COPD Assessment Test (CAT) scores, pulmonary function tests, and the 6-minute walking test (6MWT). **Results** The observation group demonstrated significantly better improvements in TCM syndrome scores, CAT scores, pulmonary function, and 6MWT distances compared to the control group ($P < 0.05$). After treatment with Poriacocos, the levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF- α in the observation group were significantly reduced, indicating its

* 基金项目:黄冈师范学院经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室、大别山特色资源开发湖北省协同创新中心联合开放课题基金(201931903)

** 通信作者, E-mail: 905696597@qq.com; shqwang@ccnu.edu.cn

prominent anti-inflammatory effects. **Conclusion** By reducing the serum levels of proinflammatory factors, Poriacocos significantly improves pulmonary function and clinical symptoms in patients with stable COPD and Lung-Spleen Qi Deficiency Syndrome, and it may serve as an effective single-herb treatment for COPD. Future studies should further explore its molecular mechanism and conduct larger-scale clinical trials to verify its long-term efficacy.

KEY WORDS: Poriacocos; Chronic obstructive pulmonary disease; Lung-Spleen Qi Deficiency Syndrome; Clinical observation; Mechanism exploration

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种慢性呼吸道疾病,以进行性、不可逆性气流受限为特点,主要症状包括咳嗽、气短和痰液增多,严重影响患者生活质量^[1]。全球约有2.35亿患者,每年死亡人数超300万,尤其在老年人和吸烟人群中发病率较高^[2]。炎症因子(如TNF- α 、IL-6、IL-8)水平升高可导致气道狭窄,长期吸烟和自由基过量会引发氧化应激,损害肺组织结构^[3]。目前的治疗以支气管扩张剂、抗炎药物和氧疗为主,但难以逆转病变,因此,寻找更有效的治疗方法仍是研究重点。

祖国医学认为COPD属“咳嗽”“喘证”“痰饮”等范畴,其发病多因痰湿内盛、脾肺虚弱。茯苓具有健脾祛湿、清痰理气等功效,富含多糖、三萜类化合物和茯苓酸,表现出免疫调节、抗炎和抗氧化作用^[4]。本研究通过临床实验,探讨茯苓治疗肺脾气虚型COPD的疗效及机制,为中药单方在COPD治疗中的应用提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 诊断及纳入排除标准

西医诊断标准参考《慢性阻塞性肺疾病诊疗指南(2021年修订版)》中关于COPD稳定期的诊断标准^[5]。中医诊断标准根据《慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011年版)》中有关肺脾气虚证的诊断要求^[6]。

纳入标准:患者需符合COPD稳定期的诊断标准,并满足中医肺脾气虚证的辨证分型要求;年龄40~80岁;自愿参与本研究,签署知情同意书,并能配合治疗过程及各项临床指标的监测与评估。

排除标准:已知对研究药物成分过敏;病情为极重度或处于急性加重期;合并支气管扩张、哮喘、肺结核、肺栓塞、气胸、胸腔积液、恶性肿瘤等其他呼吸系统疾病;在过去一个月内接受过糖皮质激素、抗生素或免疫抑制剂治疗;孕期或哺乳期女性;有精神或神经系统疾病史;并发严重肝脏、肾脏、心脑血管疾病;长期卧床或因其他原因无法

参加治疗;依从性差或未按时复诊。

1.2 一般资料

临床病例为仙桃市陈场镇TPQ村和QF村患者,临床研究时间为2024年7~11月。入选病例均在三甲医院确诊,诊断为COPD稳定期,中医分型为肺脾气虚,共100例。在临床研究过程中,遵循双盲和随机分组的原则,对所有患者进行编号,按照编号次序,1~50号纳入对照组,51~100号纳入观察组。对照组男27例,女23例;年龄45~78岁,平均(65.26 \pm 7.24)岁。观察组男30例,女20例;年龄46~79岁,平均(66.38 \pm 6.41)岁。两组的性别和年龄等基本资料具有可比性($P>0.05$)。

本研究严格遵循医学伦理学规范,并已通过湖北省大冶市大冶中医医院医学伦理委员会的审批(2022DY-Z1117)。所有入选患者均已充分了解研究流程,并签署知情同意书。此外,为确保数据的可靠性,研究过程中通过电话回访和定期门诊检查等方式监测患者的依从性。

1.3 方法

所有研究参与者在治疗期间需要保持稳定的生活方式,尽量避免任何可能影响治疗结果的外部干扰或诱因,确保治疗条件的一致性与可靠性。对照组给予噻托溴铵吸入粉雾剂(浙江仙琚制药股份有限公司,国药准字H20090279,18 μ g \times 30粒),1次/d,18 μ g/次。

观察组在接受对照组治疗的同时,额外添加了茯苓治疗。每袋15g(产地:黄冈英山;生产批号:230501;生产日期:2023-05-05;保质期:36个月;质量标准:《中国药典》2020年版;湖北天济药业有限公司)。2次/d,1袋/次,嘱患者每次将整袋茯苓倒入杯中,加入100 $^{\circ}$ C沸水焖泡5min后饮用。有条件者,茯苓加水煮沸更佳。每次口服茯苓水150~200mL,早、晚各1次。每2周回访患者服药情况。

经过2个月的治疗后,对两组疗效进行评估。本研究过程中未使用任何其他相关的治疗药物或方法。

1.4 判定标准

①中医证候评分采用《慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011年版)》^[6]中推荐的量表评分,评估疗效。②COPD患者自评评分(COPD assessment test, CAT)^[7]用于评估患者的病情程度、生活质量及病症的严重性。该评分涵盖了多项症状,诸如呼吸困难、胸部不适和睡眠质量障碍等,能够综合反映患者的临床状态。③肺功能检测使用JAEGER公司生产的肺功能测试系统(Master-Screen PFT)进行,主要测量参数包括第1秒用力呼气容积(FEV1)、用力肺活量(FVC)以及一秒率(FEV1/FVC)。④6min步行试验(6MWT)。试验前,确保试验环境安全、宽敞、无障碍,让所有测试者穿着舒适的衣物和鞋子。避免试验2h以前内进食,试验前不进行热身活动,最少休息15min。使用日常行走工具,测试时,让测试者从起点开始,尽可能快地行走,记录6min内所走的距离。测试过程中,测试者可以休息,但休息时间不计入6min内。测试过程中要注意测试者的安全,避免发生意外伤害。对于不能完成6min的测试者,可以适当缩短时间。⑤临床疗效评定采用《实用中西医结合诊断治疗学》^[8]中的疗效评价标准计算有效率。⑥实验室检测指标。所有入选患者的血样标本将被采集,并分离出血清,采用双抗夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测以下细胞因子的浓度:白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。所有实验检测均由武汉康圣达医学检验有限公司完成。⑦不良反应监测:在治疗前后,对所有患者进行血常规、尿常规及肝肾功能检测,若发现不良反应,应及时进行记录。本研究严格遵循自愿原则,若患者希望停止治疗,可随时选择退出研究。

1.5 统计学方法

本研究数据的统计分析使用SPSS 26.0软件进行。计数数据以百分比形式呈现,并采用卡方检验(χ^2)进行组间比较;计量数据以($\bar{x} \pm s$)呈现,并采用 t 检验进行组间比较。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后中医证候积分变化

治疗前两组的中医证候积分无显著差异($P > 0.05$),表明两组起始情况相近。治疗后,两组中医证候积分均显著降低($P < 0.05$),观察组

的下降幅度明显大于对照组,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组治疗前后中医证候积分变化($\bar{x} \pm s$,分)

组别	例数	治疗前	治疗后
对照组	50	26.90 \pm 2.69	20.46 \pm 2.61 *
观察组	50	27.20 \pm 2.61	15.36 \pm 3.18 **

与同组治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组比较,# $P < 0.05$ 。

2.2 两组治疗前后CAT评分变化

治疗前,两组CAT评分差异未达到统计学意义($P > 0.05$),表明两组在入组时的病情严重程度相当。治疗后,两组CAT评分均显著低于治疗前($P < 0.05$),表明两组治疗后症状缓解,且观察组的改善幅度明显优于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后CAT评分变化($\bar{x} \pm s$,分)

组别	例数	治疗前	治疗后
对照组	50	20.16 \pm 1.34	14.38 \pm 1.26 *
观察组	50	20.53 \pm 1.42	11.31 \pm 1.21 **

与同组治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组比较,# $P < 0.05$ 。

2.3 两组治疗前后肺功能指标变化

治疗前,两组肺功能指标FEV1、FVC、FEV1/FVC无显著差异($P > 0.05$),表明两组起始条件相似。治疗后,对照组FEV1、FEV1/FVC以及观察组的FEV1、FVC、FEV1/FVC均显著改善($P < 0.05$),观察组改善幅度明显优于对照组,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。表明茯苓在改善气流受限、提高肺功能方面具有积极作用。见表3。

表3 两组治疗前后肺功能指标比较($n = 50, \bar{x} \pm s$)

组别	FEV1/L		FVC/L		FEV1/FVC/%	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	1.42 \pm 0.23	1.82 \pm 0.25 *	2.14 \pm 0.34	2.56 \pm 0.17 *	69.2 \pm 5.2	74.4 \pm 2.3 *
观察组	1.46 \pm 0.51	2.23 \pm 0.16 **	2.19 \pm 0.12	3.14 \pm 0.53 **	68.6 \pm 1.5	77.1 \pm 3.8 **

与同组治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组比较,# $P < 0.05$ 。

2.4 两组治疗前后6MWT结果变化

治疗前,两组6MWT距离无显著差异($P > 0.05$),具有可比性。治疗后,两组6MWT距离均较治疗前有所改善($P < 0.05$),观察组的改善幅度明显高于对照组,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组治疗前后6MWT距离比较($\bar{x} \pm s, m$)

组别	例数	治疗前	治疗后
对照组	50	312.28 ± 58.79	362.37 ± 61.37 *
观察组	50	308.53 ± 72.19	396.47 ± 85.26 #

与同组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与对照组比较, # $P < 0.05$ 。

2.5 两组临床疗效比较

治疗两个月后, 观察组总有效率为 86.00%, 对照组为 66.00%, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 5。

表5 两组临床疗效比较[n%]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效
对照组	50	5(10.00)	28(56.00)	17(34.00)	33(66.00)
观察组	50	7(14.00)	36(72.00)	7(14.00)	43(86.00)

2.6 两组治疗前后细胞因子水平比较

两组治疗后 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 水平均有所下降 (P 均 < 0.05); 观察组比对照组更明显 ($P < 0.05$), 说明观察组的治疗效果较为显著。见表 6。

表6 两组治疗前后细胞因子水平比较($n = 50, \bar{x} \pm s, pg/mL$)

组别	IL-1 β		IL-6		IL-8		TNF- α	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	17.6 ± 4.2	15.2 ± 3.1 *	15.5 ± 3.2	13.1 ± 5.3 *	37.2 ± 8.6	33.4 ± 2.5 *	7.13 ± 1.17	4.53 ± 0.82 *
观察组	17.8 ± 2.5	11.3 ± 1.7 *#	16.1 ± 2.8	10.7 ± 4.6 *#	37.8 ± 5.3	28.3 ± 1.7 *#	7.22 ± 0.13	2.64 ± 1.25 *#

与同组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与对照组比较, # $P < 0.05$ 。

2.7 两组治疗期间的安全性评估

在治疗期间, 所有患者的血液和尿液常规、肝肾功能以及心电图检查均未显示出异常变化。

3 讨论

3.1 茯苓对 COPD 的抗炎和免疫调节作用

慢性炎症是 COPD 的核心病理特征, 尤其以促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-8 等表达升高为特征^[9], 这些因子直接参与了患者气道重塑、气道壁增厚和气道狭窄等病理过程^[10]。本研究观察到, 茯苓干预后, 患者血清中的 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 水平均显著降低。这一结果表明, 茯苓能缓解 COPD 患者炎症反应, 调节机体免疫反应, 重建炎症与免疫平衡状态。已有研究提示, 茯苓富含的三萜类化合物可能通过抑制 NF- κ B 信号通路活性, 从而降低 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的产生^[11]。本研究的发现与这些文献报道相一致, 进一步验证了茯苓在 COPD 治疗中具有多途径的抗炎与免疫调节作用。

3.2 茯苓对肺功能的影响及临床症状的改善

肺功能指标(如 FEV1、FVC 和 FEV1/FVC)是 COPD 患者疗效评价的重要客观指标。本研究发现, 茯苓治疗 2 个月后, 观察组 FEV1、FVC 和 FEV1/FVC 指标均较治疗前显著提高, 其中 FEV1 改善尤为明显。这些变化提示茯苓能够有效缓解患者的气流受限, 改善通气功能。此外, 茯苓治疗

后, 观察组患者的 CAT 评分和 6MWT 成绩明显改善, 提示茯苓不仅能够提升患者肺功能, 还能有效缓解临床表现如呼吸困难、咳嗽和疲乏等症状。

这种综合疗效可能与茯苓对气道炎症反应、氧化应激及免疫反应的多靶点调节作用有关。具体而言, 茯苓可能通过降低促炎细胞因子表达、减轻炎症反应和氧化应激状态, 进而减缓气道壁结构重塑, 最终改善通气功能和临床症状^[12]。此外, 肺功能改善后患者的生活质量也得以明显提升, 患者活动耐力提高, 病情稳定性增强, 从而体现出茯苓在 COPD 长期治疗中的临床价值。

3.3 中药单方应用的优势与潜在应用

相较于中药复方治疗, 单味中药的疗效研究能更加清晰地揭示特定药材的药理机制和临床疗效。茯苓作为经典药食同源中药, 长期使用的安全性得到广泛认可, 这在慢性病长期管理中具有明显优势^[13]。本研究通过临床和机制研究, 明确了茯苓在抗炎、抗氧化和免疫调节方面的作用, 初步验证了其在改善肺功能和降低 COPD 急性加重风险方面的疗效, 为茯苓作为单方治疗 COPD 提供了有力的临床依据。

然而, 本研究仍存在一些局限性, 例如样本量较小、随访周期相对较短, 仅初步探索了相关的作用机制。未来应进一步开展大样本、多中心、长期随访的随机对照试验, 更全面地评价茯苓的临床疗效及安全性。此外, 茯苓与其他药物联合使用是否能进一步增强治疗效果, 以及不同证型患者

间疗效差异,也值得深入研究。同时,进一步通过细胞实验和动物模型研究,明确茯苓三萜类、多糖类化合物等主要有效成分的具体作用机制,有助于为茯苓的临床应用和药物开发提供更坚实的理论依据。

参考文献:

- [1] 陈亚红. 2021年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗及预防全球策略解读[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(1): 16
- [2] World Health Organization. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [EB/OL]. (2024-11-06) [2024-12-18]. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd))
- [3] AL WACHAMI N, GUENNOUNI M, IDERDAR Y, et al. Estimating the global prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Public Health, 2024, 24(1): 297
- [4] 周富荣. 《中华人民共和国药典》2000年版一部评价[J]. 中国中药杂志, 2000(7): 441
- [5] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组, 中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(3): 170

- [6] 中华中医药学会内科分会肺系病专业委员会. 慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准(2011版)[J]. 中医杂志, 2012, 53(2): 177
 - [7] 杜晓秋, 周军, 张秋娣. 不同评价指标在慢性阻塞性肺疾病患者综合评估中的应用[J]. 中国全科医学, 2016, 19(5): 511
 - [8] 陈贵廷, 杨思澍. 实用中西医结合诊断治疗学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1991: 136
 - [9] NG C Y J, LAI N P Y, NG W M, et al. Chemical structures, extraction and analysis technologies, and bioactivities of edible fungal polysaccharides from poriacocos: an updated review[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 261(P1): 129555
 - [10] 崔丽平, 辛大永, 李霞. 慢性阻塞性肺疾病患者血清 MCP-4、TRPC6 水平与肺功能及病情严重程度的关系[J]. 临床肺科杂志, 2024, 29(9): 1340
 - [11] BOERS E, BARRETT M, SU J G, et al. Global burden of chronic obstructive pulmonary disease through 2050[J]. JAMA Netw Open, 2023, 6(12): 2346598
 - [12] SHI H, LUO W, WANG S, et al. Therapeutic efficacy of tylvalosin combined with Poria cocos polysaccharides against porcine reproductive and respiratory syndrome[J]. Front Vet Sci, 2023, 10: 1242146
 - [13] 高满军, 黄兴琼, 莫启贵, 等. 茯苓三萜对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用及酶动力学研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(6): 465
- (收稿日期: 2024-12-18)

(上接第 241 页)

参考文献:

- [1] 赵钦民. 口腔修复学[M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 241
- [2] CARPENTIERI J, GREENSTEIN G, CAVALLARO J. Hierarchy of restorative space required for different types of dental implant prostheses[J]. J Am Dent Assoc, 2019, 150(8): 695
- [3] 徐卫华, 戴悦, 王洪伟. 微种植体支抗与口外弓支抗在口腔正畸治疗中的疗效对比研究[J]. 中国美容医学, 2022, 31(5): 126
- [4] 李旭东, 张佳男. 微螺钉种植支抗压低伸长上颌第二磨牙在义齿种植修复中的应用[J]. 浙江实用医学, 2021, 26(4): 341
- [5] 赵志河. 口腔正畸学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 242
- [6] KRAVITZ N D, KUSNOTO B. Risks and complications of orthodontic miniscrews[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2007, 131(4Suppl): S43
- [7] 官萃. 口腔种植学[M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 21
- [8] 汤毓华, 张明园. 汉密尔顿焦虑量表(HAMA)[J]. 上海精神医学, 1984, 4(2): 64
- [9] KOLCABA F C. The effects of guided imagery on comfort of women with early stage breast cancer undergoing radiation

- therapy[J]. Oncol Nurs Forum, 1999, 26: 67
 - [10] BAE S M, PARK H S, KYUNG H M, et al. Clinical application of micro-implant anchorage[J]. J Clin Orthod, 2002, 36: 298
 - [11] 王全智, 张云霞, 符建青. 微种植支抗钉结合镍钛拉簧压低伸长磨牙的临床效果[J]. 中国实用医刊, 2020(8): 38
 - [12] CHOI K J, CHOI J H, LEE S Y, et al. Facial improvements after molar intrusion with miniscrew anchorage[J]. J Clin Orthod, 2007, 41(5): 273
 - [13] 刘毅, 王广磊. 微种植体支抗在正畸治疗中效果及并发症发生率评估[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(1): 50
 - [14] 何三纲. 口腔解剖生理学[M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 28
 - [15] 王丽. 口腔医学美学基础[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 78
 - [16] 李铁英. 牙列缺损应用金属烤瓷冠固定修复的临床分析[J]. 中国医疗前沿, 2012, 7(24): 49
 - [17] 刘泉. 隐形义齿结合铸造部件的临床应用[J]. 现代口腔医学杂志, 2006, 20(5): 552
 - [18] ABELLAN R, GOMEZ C, PALMA J C. Effects of photobiomodulation on the upper first molar intrusion movement using mini-screws anchorage: a randomized controlled trial[J]. Photobiomodul Photomed Laser Surg, 2021, 39(8): 518
- (收稿日期: 2024-11-22)

引文格式:徐帆. 输血血型鉴定检验的质量控制与输血安全研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2025, 39(3): 247-250.

输血血型鉴定检验的质量控制与输血安全研究

徐帆

(咸宁市第一人民医院医学检验科, 湖北 咸宁 437000)

摘要:目的 探究输血血型鉴定检验的质量控制与输血安全。方法 抽取我院 50 例输血治疗患者, 电脑随机分组处理(每组纳入 25 例); 对照组予以常规干预, 观察组实施质量控制与输血安全措施。评价两组输血质量控制效果和输血安全事故发生率。结果 观察组输血质量控制效果更高、安全事故发生率明显低于对照组 ($P < 0.05$); 观察组总满意度明显高于对照组 ($P < 0.05$)。结论 完善的输血检验质量控制措施是减少输血安全事故发生率的根本和关键, 故而还需医院引起重视, 在输血血型鉴定检验工作中实施相关的质量控制措施。

关键词: 输血; 血型鉴定检验; 质量控制; 输血安全性

中图分类号: R472

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2025)03-0247-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024070510



Study on Quality Control of Blood Type Identification and Transfusion Safety

XU Fan

(Medical Laboratory Department of Xianning First People's Hospital, Xianning Hubei 437000, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the quality control measures for blood type identification and testing, and ensure the safety of blood transfusion. **Methods** Fifty patients receiving blood transfusion in our hospital were randomly divided into two groups (25 cases in each group). The control group was given routine intervention, while the observation group was given quality control and blood transfusion safety measures. The effects of blood transfusion quality control and the incidence of blood transfusion safety accidents were evaluated between the two groups. **Results** The observation group showed a higher effect on blood transfusion quality control ($P < 0.05$), and the incidence of blood transfusion safety accidents in the observation group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The overall satisfaction in the observation group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Perfect blood transfusion testing quality control measures are the fundamental and key to reducing the incidence of blood transfusion safety accidents. Therefore, it is necessary for hospitals to pay attention and implement relevant quality control measures in the identification and testing of blood transfusion types.

KEY WORDS: Blood transfusion; Blood type identification test; Quality control; Blood transfusion safety

输血血型鉴定检验是确保输血安全的基础环节, 对预防输血反应、降低输血相关并发症有至关重要的作用。血型鉴定结果的准确性直接关系到患者的生命安全^[1]。血型系统众多, 主要有 ABO 血型系统和 Rh 血型系统等, 不同血型之间存在着抗原和抗体的差异。若血型鉴定错误, 可能导致受血者发生严重的输血反应, 甚至危及生命。因此, 输血血型鉴定检验的重要性不言而喻。在输血血型鉴定过程中, 质量控制措施的实施是确保检验结果准确性的关键^[2]。从样本采集、运输、处理, 到

实验室检测和结果报告, 每一个环节都需严格遵守质量控制标准。此外, 实验室设备、试剂、操作人员等因素也可能影响血型鉴定结果的准确性。因此, 建立完善的质量控制体系, 规范操作流程, 提高检验人员业务水平, 对于降低血型鉴定错误率、保障输血安全具有极大的必要性^[3]。输血安全研究旨在探索血型鉴定、血液成分制备、输血治疗等环节中可能存在的风险因素, 为临床提供安全、有效的输血治疗方案。输血安全研究不仅有助于发现新的血型系统, 提高血型鉴定的准确性, 还

可以为输血相关疾病的预防和治疗提供科学依据。此外,输血安全研究对于推动我国输血医学事业的发展,降低输血相关并发症,提高患者生存质量具有重要意义。因此,深入开展输血安全研究,对于保障人民群众的健康福祉具有深远的影响。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

纳入标准:①临床资料完整;②完善各项检查,符合输血治疗指征;③耐受性、依从性良好;④具备正常理解和表达能力者。

排除标准:①合并恶性肿瘤;②合并严重器质性疾病;③精神异常。

1.2 临床资料

选择2023年1月至2024年1月我院50例接受输血治疗的患者并电脑随机分组。其中对照组25例:男/女=15/10,年龄25~58岁,均值(41.53±5.45)岁。观察组:男/女=12/13,年龄24~58岁,均值(41.33±5.36)岁。组间信息对比均衡性较高($P>0.05$)。

1.3 方法

对照组予以常规干预:在输血前,必须核对患者的身份信息,包括姓名、出生日期,以及血液的型号、RH因子和有效期,确保血液与患者相匹配,避免发生输血错误。在输血过程中,定期监测患者的生命体征,包括血压、脉搏、呼吸和体温,以便及时发现并处理可能出现的输血反应。注意观察输血部位的皮肤情况,检查有无红肿、疼痛或渗血等异常现象,确保输液针头的位置正确,防止发生静脉炎。根据患者的年龄、体重和病情,调整输血速度,避免过快或过慢,以防止循环负荷过重或输血延迟。严格执行无菌操作原则,使用一次性输血设备,确保输血过程中的卫生安全。对焦虑或恐惧的患者,医护人员应提供必要的心理支持和安慰,帮助患者放松,减轻心理压力。详细记录输血过程中的各项数据和患者反应,如有任何异常情况,应立即报告给主治医生。输血结束后,继续观察患者的生命体征和一般状况,对可能出现的迟发性输血反应保持警惕。

观察组实施质量控制与输血安全干预,具体方法如下。

(1)质量控制措施。①样本采集与处理的质量控制:为确保输血血型鉴定检验的准确性,采样操作的标准化至关重要。首先,应对采样人员进

行严格的专业培训,确保其熟悉采样操作流程及注意事项。其次,制定统一的采样操作规程,包括采样部位的选择、消毒、采血量控制等方面,以减少操作过程中的误差。此外,还需定期对采样操作进行质量评估,确保采样操作的稳定性。样本在保存与运输过程中,易受外界环境因素的影响,导致检测结果出现偏差。因此,应严格控制样本保存与运输条件。一方面,要根据样本类型选择适当的保存液,并在规定时间内完成检测;另一方面,要确保运输过程中的温度、湿度等条件符合要求,避免样本受损。②试剂与仪器的质量控制:输血血型鉴定检验的准确性很大程度上取决于试剂的质量。首先,应选择具有良好信誉、质量稳定的生产商提供的试剂。其次,要定期对试剂进行质量检测,包括试剂的活性、稳定性、批次间差异等,确保试剂符合要求。此外,还需对试剂的储存条件进行严格控制,避免因储存不当导致试剂质量下降。输血血型鉴定检验过程中,仪器设备的准确性和稳定性至关重要。因此,定期对仪器进行校准,确保其性能指标符合要求。同时,要加强仪器的日常维护,包括清洁、保养、故障排查等,保证仪器在良好状态下运行。③实验室环境与设备管理:实验室应保持清洁、通风、恒温、恒湿,避免强光直射。同时,要制定严格的实验室管理制度,确保环境条件符合要求。除定期进行设备校准外,还应建立设备维护保养制度,确保设备在良好状态下运行。④操作人员培训与管理:操作人员是输血血型鉴定检验质量的关键因素。应对操作人员进行系统的培训,包括专业知识、操作技能、质量控制意识等方面。培训要求严格,确保操作人员具备较高的专业素养。制定明确的操作规范,要求操作人员严格遵守。同时,加强实验室内部监督,对操作过程进行实时监控,发现不规范操作及时纠正,确保检验质量。

(2)输血安全干预措施。①输血前预防性干预:输血前,需全面收集病人的基本资料,以便对患者的输血需求进行准确评估。为确保输血安全,必须对血液进行严格的筛查与质量控制。包括严格筛选献血者、排除患有传染性疾病等不适宜献血的人群。医护人员是输血治疗过程中的关键环节,提高他们对输血安全的认识至关重要。通过对医护人员进行培训,使其了解输血相关法律法规、输血安全知识、输血反应的识别与处理等,以提高其在输血过程中的责任心和警惕性。为消除患者对输血的误解和恐惧,需加强输血安

全知识的普及。通过开展多种形式的宣传教育活动,如发放宣传资料、举办讲座、网络宣传等,使患者了解输血的重要性、安全性及输血后可能出现的并发症,提高患者对输血安全的认知度和信任度。②输血中的安全干预:在输血过程中,密切观察患者对输血的生理反应至关重要。医护人员需熟练掌握输血反应的临床表现,以便及时发现并处理。医护人员详细询问患者输血后的不适感,观察患者的生命体征,以便早期发现异常。为预防感染,应严格遵循无菌操作原则,对输血器械进行彻底消毒。同时,加强对血液制品的储存、运输和使用过程中的冷链管理,确保血液制品质量。③输血后的干预:输血后,需对患者进行严密的观察与评估,以确保输血效果和患者安全。首先,观察病人的生命体征,如心率、血压、呼吸以及意识状态、皮肤色泽和温度等,及时发现并处理可能的输血反应。其次,评估患者的生理和生化指标,如血红蛋白、红细胞压积、电解质等,以判断输血疗效。输血后并发症的预防和处理是保障输血安全的重要环节。医护人员需严格执行手卫生、无菌操作等感染控制措施,降低患者感染风险。对过敏体质的患者,可给予抗组胺药物进行预防。

1.4 观察指标

(1)输血质量控制的效果。自制评价量表(信效度0.882),围绕“血液筛查准确性、血液储存条件、输血反应监测、输血指征和适宜性”等方面进行评价;单项分值0~25分,分值越高,输血质量控制效果越好^[4]。

(2)输血安全事故发生率。主要对比配血问题、输血传染病、输血前后消毒问题。

(3)患者满意度。针对输血患者展开调查,调查结果分为非常满意、满意、不满意三个等级,总满意度=非常满意度+满意度。

1.5 统计学方法

各数值录入 SPSS 20.0 软件, $(\bar{x} \pm s)$ 表述输血质量控制效果,以 t 检验;输血安全事故发生率用 $[n(\%)]$ 表述, χ^2 或 Fisher's 检验。 $P < 0.05$ 表明有统计学意义。

2 结果

2.1 输血质量控制效果

观察组输血质量控制效果更高,有显著差异 ($P < 0.05$)。见表1。

表1 输血质量控制效果 $(\bar{x} \pm s, \text{分})$

组别	血液筛查准确性	血液储存条件	输血反应监测	输血指征和适宜性
观察组($n=25$)	22.36±1.15*	22.31±1.45*	22.22±0.40*	22.45±1.16*
对照组($n=25$)	20.11±0.44	19.25±1.12	20.54±0.41	20.34±0.32

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.2 输血安全事故发生率

观察组输血安全事故发生率明显低于对照组 ($P < 0.05$)。见表2。

表2 输血安全事故发生率 $[n(\%)]$

组别	配血问题	输血传染病问题	输血前后消毒问题	总发生率
观察组($n=25$)	1(4.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(4.00)*
对照组($n=25$)	3(12.00)	2(8.00)	1(4.00)	6(24.00)

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 输血患者满意度

观察组总满意度明显高于对照组 ($P < 0.05$)。见表3。

表3 输血患者满意度 $[n(\%)]$

组别	非常满意	满意	不满意	总满意度
观察组($n=25$)	14(56.00)	10(40.00)	1(4.00)	24(96.00)*
对照组($n=25$)	6(24.00)	12(48.00)	7(28.00)	18(72.00)

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

输血治疗是现代医学中不可或缺的组成部分,对于挽救大出血、手术及严重贫血等患者的生命具有至关重要的作用。随着医疗技术的不断发展,输血治疗的应用范围也在不断扩大,涉及到各个临床科室^[5]。血液成分的复杂性及血型系统的多样性导致常常发生输血反应^[6]。输血安全对患者的积极影响主要体现在以下几方面:首先,准确的血型鉴定结果能够避免因血型不符导致的输血反应,保障患者生命安全。其次,输血安全有助于提高患者的治疗效果,降低感染风险。此外,输血安全还能提高患者对医疗服务的信任度,减轻患者心理负担。

血型鉴定是输血流程中的一项基本且必要的常规检测步骤,它不仅是执行交叉配血实验的前置条件与基石,还确保了输血操作的安全性。一旦血型鉴定出现错误,可能导致患者发生严重的输血反应,甚至危及生命^[7]。在临床输血治疗中,

准确的血型鉴定是保障患者生命安全的前提^[8]。执行血型鉴定时,必须采用具备合法生产批号和有效期内的标准血清,操作过程必须严格遵守既定规程,尤其要精准控制血清与血细胞的比例。血型鉴定要求通过正向与反向定型双重确认,以相互验证结果,一旦发现不符,需立即复检。鉴于Rh血型的多态性特征,它可能引发多种溶血性输血反应及并发症,尤其对于拥有孕育史或输血史的患者,体内可能已产生针对Rh抗原的免疫性抗体。因此,对Rh血型的规范化检测尤为重要,旨在保障血型鉴定的准确性和输血的安全性。

质量控制是保障输血安全的重要手段,通过对血型鉴定检验全过程的严格监控,提高血型鉴定准确性,降低输血风险。质量控制输血安全中的作用主要体现在以下几个方面:①规范操作流程,确保血型鉴定标准化;②加强人员培训,提高检验人员业务水平;③完善设备设施,提高检验准确性和效率;④建立健全输血安全管理体系,确保输血安全^[9]。在我国,输血血型鉴定检验工作虽然已取得显著成果,但仍然存在一些问题。首先,部分医疗机构对血型鉴定工作的重视程度不够,导致检验人员素质参差不齐,影响鉴定结果的准确性。其次,血型鉴定设备和技术更新滞后,使得鉴定结果受到一定程度的影响。此外,血型鉴定过程中的样本采集、运输和储存等环节,可能导致鉴定结果出现误差^[10]。因此,开展质量控制对血型鉴定检验中具有重要意义。首先,质量控制能够确保血型鉴定结果的准确性,降低输血安全事故的发生^[11]。其次,质量控制有助于提高医疗机构对血型鉴定工作的重视程度,促进检验人员素质的提升。此外,质量控制还能够推动血型鉴定设备和技术的发展,提高我国输血治疗的整体水平。通过优化实验流程、更新设备、加强人员培训等措施,可以有效提高血型鉴定检验的准确性和可靠性^[12]。

本研究数据显示,观察组输血质量控制效果更高显示,且输血安全事故发生率明显低于对照组($P < 0.05$)。可见,及时开展质量控制,可有效降低输血安全事故发生率。本研究开展质量控制,加强了检验人员培训,提高了业务水平,确保鉴定结果的准确性。同时制定和完善血型鉴定操

作规程,规范样本采集、运输和储存等环节。在此基础上建立输血安全监管体系,加强了对医疗机构输血工作的监督和检查^[13]。

综上所述,加强输血血型鉴定和输血反应的监测和报告,不仅降低了输血安全事故发生率,还可有效确保患者输血治疗的安全性。

参考文献:

- [1] 范雪明,林建,李丽红. 微柱凝胶免疫检测技术在临床血型鉴定与输血中的应用分析[J]. 中国卫生标准管理,2023,14(11):161
- [2] 徐应芳,黄洁,肖成,等. 全程输血质量管理在血液标本2次血型鉴定结果不一致中的应用研究[J]. 昆明医科大学学报,2021,42(11):148
- [3] 殷蓉,李雁飞,王荣,等. 信息化管理模式在输血护理质量靶向监控中的应用[J]. 江苏卫生事业管理,2021,32(7):918
- [4] 黄金凤,欧尽南,李乐之,等. 基于1M3S的PDCA循环管理模式在血液科输血护理质量改进中的应用[J]. 中国护理管理,2019,19(6):929
- [5] 屈伟侠,刘磊. 根因分析联合全程跟踪考核在血液科输血质量管理中的应用效果[J]. 临床医学研究与实践,2021,6(2):187
- [6] 龚春红. 107例临床输血不良反应情况调查与分析[J]. 湖北科技学院(医学版),2015,29(6):512
- [7] 霍彩虹,李彩梅,席真艳. 输血质量控制与输血安全性分析及对凝血因子的影响研究[J]. 陕西医学杂志,2019,48(12):1722
- [8] 王蒙蒙,李聪,贾灵芝. 基于i-PARIHS框架的证据整合措施在改善输血时效中的应用[J]. 医学理论与实践,2023,36(1):139
- [9] 尼鲁帕尔·艾尔肯,热比亚·玉素甫. 血型实验室的输血检验的质量控制与输血安全探究[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(1):94
- [10] 林月红,董彩燕,林春红,等. 血型实验室的输血检验质量控制及输血安全研究[J]. 岭南急诊医学杂志,2022,27(2):180
- [11] 宋小彦,马品,王一童. 血型实验室中输血检验质量控制方法及输血安全策略分析[J]. 河南医学研究,2022,31(2):338
- [12] 欧阳足兰,俞勇,倪建萍. 输注不同储存时间红细胞对极低出生体质量儿输血疗效和安全性的影响[J]. 现代实用医学,2023,35(4):517
- [13] 游碧君,王金辉,庄鸿源. 儿童输血反应发生率及输血反应原因分析和改进措施探讨[J]. 诊断学理论与实践,2021,20(4):396

(收稿日期:2024-07-15)

引文格式:舒爽,冯海凤,柯岩,等.超声分型对子宫瘢痕妊娠不同临床治疗方案的评价分析[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):251-253.

超声分型对子宫瘢痕妊娠不同临床治疗方案的评价分析*

舒爽¹,冯海凤^{1**},柯岩²,吴萌¹

(1.咸宁市中心医院妇产门诊B超室,湖北咸宁437100;2.咸宁市中心医院放射科)

摘要:目的 探讨超声诊断分型对子宫瘢痕妊娠的临床应用价值。方法 对251例子宫瘢痕妊娠患者,按照子宫前壁下段肌层厚度分为I型(厚度>3mm)、II型(厚度≤3mm),其中II型根据妊娠囊平均直径大小细分为IIa型(平均直径≤30mm)、IIb型(平均直径>30mm)。所有患者经手术治疗,手术方式分为宫腔镜联合超声引导下清宫术、双侧子宫动脉栓塞术后清宫两种,分析比较预后情况的差异。结果 I型、IIa型、IIb型子宫瘢痕妊娠患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术时出血及术后残留情况具有统计学差异($P<0.05$)。IIb型子宫瘢痕妊娠患者较I型子宫瘢痕妊娠患者出现出血多及术后残留的可能性更大。I型、IIa型、IIb型子宫瘢痕妊娠患者采用子宫动脉栓塞术后清宫时出血及术后残留情况无显著差异($P>0.05$)。结论 超声诊断分型有助于评估子宫瘢痕妊娠患者采用不同手术方案治疗的预后情况。

关键词:超声;瘢痕妊娠;宫腔镜;子宫动脉栓塞术

中图分类号:R713.4

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0251-003

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024091403



Prognostic Analysis of Different Clinical Treatment Options for Cesarean Scar Pregnancy by Ultrasound Classification

SHU Shuang, FENG Hai-feng, KE Yan, et al

(Ultrasound Room, Department of Obstetrics and Gynecology, Xianning Central Hospital, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Objective To explore the clinical application value of ultrasound diagnostic classification for cesarean scar pregnancy. **Methods** According to the thickness of the myometrial layer of the anterior wall of the uterus, 251 patients with cesarean scar pregnancy were classified as type I (the thickness >3mm) and type II (the thickness ≤3mm). Among them, type II was subdivided into type IIa (mean diameter ≤30mm) and type IIb (mean diameter >30mm) according to the mean diameter of the gestational sac. All of the patients accepted surgical treatments. The surgical methods were divided into hysteroscopy combined with ultrasound guided uterine curettage and uterine curettage after bilateral uterine artery embolization. To analyze and compare the prognosis of patients in different groups. **Results** When treated with hysteroscopy combined with ultrasound guided uterine curettage, there were significantly differences in bleeding and postoperative residual conditions in cesarean scar pregnancy patients with type I, type IIa and type IIb ($P<0.05$). Cesarean scar pregnancy patients with type IIb are more likely to have bleeding and postoperative residual conditions than type I patients. When treated with uterine curettage after bilateral uterine artery embolization, there were no significant difference in bleeding and residual postoperative conditions in cesarean scar pregnancy patients with type I, type IIa and type IIb ($P>0.05$). **Conclusion** Diagnosis of ultrasound classification is helpful to estimate the prognosis of patients with uterine scar pregnancy treated with different surgical options.

KEY WORDS: Ultrasound; Cesarean scar pregnancy; Hysteroscope; Uterine artery embolization

剖宫产术后子宫瘢痕妊娠(cesarean scar pregnancy, CSP)是指受精卵着床于既往任意一次剖宫产后子宫瘢痕部位的一种特殊的异位妊娠。若未能获得及时诊断或诊断后治疗不当均可影响

患者的后续生育能力或生命安全。2016年中华医学会妇产科学分会计划生育学组发布了《剖宫产术后子宫瘢痕妊娠诊治专家共识》^[1],2022年美国母胎医学会更新了《剖宫产瘢痕妊娠指

* 基金项目:咸宁市中心医院同济咸宁医院科研项目(2023XYB031)

** 通信作者, E-mail:279341604@qq.com

南》^[2]和2023年山东省医学会计划生育分会发布了《剖宫产子宫瘢痕妊娠实用临床分型诊治专家共识》^[3]等,较为统一的是按照超声测量的子宫前壁下段肌层厚度将CSP分为I型、II型、III型(包含一种特殊类型-包块型),但是,目前国内外研究对于CSP的治疗方式尚没有制定完全统一的标准。随着大众早孕期产检意识的增强以及超声在早孕期检查中的广泛应用,子宫瘢痕妊娠的患者也能更早的接受诊治。近年来,临床工作中发现的CSP中,I型、II型占绝大多数,因此,本研究主要分析I、II型CSP患者经宫腔镜联合超声引导下清宫与子宫动脉栓塞术后清宫出血及术后残留的预后情况。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集2020年1月至2024年4月在我院住院治疗且经手术病理证实为CSP,根据瘢痕妊娠超声诊断分型选取I、II型患者251例。患者年龄22~47岁,平均(34.51±4.72)岁。纳入标准:①患者均有停经史且血HCG升高;②超声检查符合CSP I型、II型诊断标准;③患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术或子宫动脉栓塞术后清宫。排除标准:①患者入院前曾接受治疗;②患者存在可能影响出血情况的内外科合并症。

1.2 研究方法

使用Philips EPIQ7或GE Voluson 730彩色多普勒超声诊断仪,经阴道探头频率为5~9MHz,经腹部探头频率为2~6MHz。常规选择经阴道超声检查,重点观察妊娠囊的大小、着床部位,生长方向与剖宫产瘢痕的位置关系,测量子宫前壁下段肌层最薄处的厚度,使用彩色多普勒探测妊娠囊周边血供,尤其是剖宫产瘢痕部位血供情况。多次剖宫产患者经阴道超声检查显示不佳时,联合经腹部超声检查。瘢痕妊娠超声诊断分型按照子宫前壁下段肌层厚度分为I型(厚度>3mm)116例,II型(厚度≤3mm)135例,其中II型根据妊娠囊平均直径大小细分为IIa型(平均直径≤30mm)80例、IIb型(平均直径>30mm)55例。

宫腔镜联合超声引导下清宫患者采用全麻下宫腔镜检查联合清宫术,清宫过程中利用宫腔镜及超声随时观察宫腔情况。子宫动脉栓塞术后清宫患者先通过介入进行子宫动脉栓塞术,再进行清宫术。

记录患者术中、术后出血及后期复查是否存在残留的情况,将患者出血量多定义为超过400mL,或需要输血,或需要进行子宫动脉栓塞术治疗;术后超声复查提示宫腔下段有血供的异常回声团且需要再次清宫处理的情况定为术后存在残留。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件进行数据分析。对于符合正态分布的计量资料,采用($\bar{x} \pm s$)表示;对于分类资料采用频数、率进行描述,组间比较采用Fisher确切概率法。以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 不同超声分型瘢痕妊娠患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术的预后情况分析

90例I型CSP患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术治疗,所有患者术中及术后均未出现出血多的情况,仅1例术后复查时发现残留。

采用宫腔镜联合超声引导下清宫术治疗的II型CSP患者共86例,包括IIa型51例、IIb型35例。出血及术后残留情况见表1。经统计分析发现,I型、IIa型、IIb型CSP患者行宫腔镜联合超声引导下清宫术治疗,术中或术后出血情况具有统计学差异($P < 0.05$);进一步两两比较发现,I型与IIa型、IIa型与IIb型之间不存在统计学差异,I型与IIb型之间存在统计学差异。I型、IIa型、IIb型CSP患者术后残留情况具有统计学差异($P < 0.05$);进一步两两比较发现,I型与IIa型、IIa型与IIb型之间不存在统计学差异,I型与IIb型之间存在统计学差异。

表1 不同分型CSP患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术的出血及术后残留情况(n)

超声分型	术中、术后出血		术后残留	
	少	多	无	有
I型	90	0	89	1
IIa型	48	3	47	4
IIb型	31	4	31	4
χ^2	9.513		7.019	
P	0.003		0.018	

2.2 不同超声分型瘢痕妊娠患者采用子宫动脉栓塞术后清宫的预后情况分析

26例I型CSP患者采用子宫动脉栓塞术后清宫。所有患者术中或术后均未出现出血多的情况,且复查均未见残留。

49例II型CSP患者采用子宫动脉栓塞术后清宫,其中IIa型29例、IIb型20例。出血及术后残留情况见表2。经统计分析发现,I型、IIa型、IIb型CSP患者行子宫动脉栓塞术后清宫时,术后残留情况不存在统计学差异。

表2 不同分型CSP患者采用子宫动脉栓塞术后清宫的出血及术后残留情况(n)

超声分型	术中术后出血		术后残留	
	少	多	无	有
I型	26	0	26	0
IIa型	29	0	29	0
IIb型	20	0	19	1

3 讨论

目前临床上对于CSP患者的超声诊断分型主要是根据子宫前壁下段肌层厚度分为I、II、III型,但针对每一种类型的具体治疗方案却尚无规范统一的指南。早期,为了避免CSP患者在清宫手术中或术后出现大出血的情况,保留患者生育功能,临床上多在清宫术前预防性进行子宫动脉栓塞^[4]。但是随后有研究者^[5-6]发现,进行子宫动脉栓塞的患者在清宫手术中仍有可能大出血,甚至术后可能导致肺栓塞、继发性月经稀少等并发症,且由于其价格昂贵、有辐射等原因不被所有患者接受。于是就有研究者发现宫腔镜下清宫术在治疗CSP患者中具有创伤小、出血少、恢复快等优势^[7],同时联合超声引导能有效预防子宫穿孔情况的发生。

本研究中176例CSP患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术治疗,其中I型90例,IIa型51例,IIb型35例。所有I型CSP患者术中或术后均未出现出血过多的情况,仅有1例患者术后复查发现存在残留,该患者术前超声检查时发现子宫前壁下段肌层血流较丰富。IIa型有3例出现术后出血多,4例复查发现残留;IIb型有4例出现术后出血多,4例复查发现残留。总体来说,I型CSP患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术的预后较好。同时,分析时发现出现出血多或术后存在残留的患者大多于术前行超声检查时发现子宫前壁下段肌层血流信号较丰富。因此,对于CSP患者,除了准确测量子宫前壁下段肌层厚度外,该处的血流情况也需要重点观察,以往也有研究表明对于富血流型瘢痕部位妊娠,子宫动脉栓塞术的治疗疗效更好^[8]。

采用子宫动脉栓塞术后清宫的75例患者中,所有的I型及IIa型CSP患者均未出现出血多及术后

残留的情况,IIb型CSP患者均未出现出血多的情况,仅1例患者术后复查发现存在残留。因此,不论是I型、IIa型还是IIb型CSP患者,采用子宫动脉栓塞术后清宫均能获得较好的治疗效果。

I型CSP患者子宫前壁下段肌层相对较厚,宫腔镜联合超声引导下清宫术,甚至仅仅是超声引导下清宫就能达到较好的治疗效果。IIb型患者子宫前壁下段肌层相对较薄,孕囊较大,绒毛种植入肌层的可能性及范围增加,采用宫腔镜联合超声引导下清宫术可能会出现出血多或术后残留的情况,而采用子宫动脉栓塞术后清宫能减少出血和术后残留情况的发生。研究中发现IIa型CSP患者采用宫腔镜联合超声引导下清宫术时,与I型、IIb型患者在出血及术后残留的预后情况方面不具有统计学差异,这可能与部分组别样本量较少、研究时间跨度较大、不同时期临床医生的手术操作水平不同有关,因此,有待进一步的研究。同时,对于术前超声检查提示子宫前壁下段肌层血流丰富的患者要注意预防出血和术后残留情况的发生,选择合适的治疗方式。

综上所述,超声诊断分型有助于评估CSP患者采用不同手术方案治疗的预后情况,同时观察子宫前壁下段肌层的血流情况或许对手术方案选择有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 中华医学会妇产科学分会计划生育学组. 剖宫产术后子宫瘢痕妊娠诊治专家共识(2016)[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(8): 568
- [2] SOCIETY FOR MATERNAL-FETAL MEDICINE, MILLER R, GYAMFI-BANNERMAN C, et al. Society for maternal-fetal medicine consult series #63: cesarean scar ectopic pregnancy [J]. Am J Obstet Gynecol, 2022, 227(3): B9
- [3] 班艳丽, 赵颖, 李桦, 等. 剖宫产子宫瘢痕妊娠实用临床分型诊治专家共识[J]. 山东大学学报(医学版), 2023, 61(11): 1
- [4] 许学明, 阮志斌, 舒建军, 等. 子宫动脉栓塞术在瘢痕妊娠治疗中的价值[J]. 宁夏医学杂志, 2023, 45(11): 1044
- [5] 朱春霞, 王秀虹, 郑波. 剖宫产瘢痕妊娠21例治疗体会[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2016, 30(1): 41
- [6] 王海波, 李刚, 陈清亮, 等. 早期剖宫产瘢痕妊娠子宫动脉栓塞后清宫术中大出血发生及其影响因素[J]. 介入放射学杂志, 2023, 32(5): 436
- [7] 雷维利, 李爱玲. 宫腔镜下清宫术对剖宫产术后子宫瘢痕妊娠患者手术相关指标及并发症的影响[J]. 黑龙江医学, 2023, 47(13): 1577
- [8] 蒋瑜, 杨太珠, 罗红, 等. 剖宫产瘢痕部位妊娠的超声分型与治疗方案的比较[J]. 中国超声医学杂志, 2016, 32(7): 635

(收稿日期: 2024-09-14)

引文格式:钱梦婷,周雨薇,邵俊.病毒性上呼吸道感染患儿雾化治疗依从性影响因素及干预对策探讨[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):254-257.

病毒性上呼吸道感染患儿雾化治疗依从性影响因素及干预对策探讨

钱梦婷,周雨薇,邵俊

(铜陵市立医院感染科,安徽铜陵244000)

摘要:目的 分析病毒性上呼吸道感染(VRI)患儿雾化治疗依从性影响因素,并探究干预对策。方法 以便利抽样法选取本院收治的120例VRI患儿,采用Morisky用药依从性量表(MMAS)-8评估患儿雾化治疗依从性,应用调查问卷采集患者一般资料,包括患儿性别、年龄、病情严重程度,患儿主要照护者、主要照护者性别、年龄、家庭经济水平、对疾病知识的了解程度、对雾化治疗的了解程度、对医护的信任程度、药物因素[雾化吸入装置使用困难、治疗方案复杂(每天用药次数 ≥ 3 次或(和)药物种类 ≥ 2 种)、药物不良反应、就医或取药困难],应用Logistic回归分析对患儿治疗依从性的影响因素。结果 120例患儿MMAS-8评分,平均 (5.86 ± 0.78) 分,其中51例依从性良好,占42.50%,69例依从性差,占比57.50%,单因素分析显示患儿年龄、病情严重程度、对疾病知识了解程度、对雾化治疗了解程度、医护信任程度、治疗方案复杂是雾化治疗依从性差的影响因素($P < 0.05$),Logistic回归分析显示,患儿年龄、病情严重程度、对疾病知识的了解程度、医护信任程度、治疗方案复杂均是患儿雾化治疗依从性差的独立危险因素。结论 VRI患儿雾化治疗依从性除受到年龄、病情严重程度影响外,其主要照护者对疾病知识的了解程度、医护信任程度也是影响治疗依从性的重要因素,且治疗方案复杂也与VRI患儿雾化治疗依从性有关,值得临床重视。

关键词:病毒性上呼吸道感染;雾化治疗;患儿;依从性;影响因素

中图分类号:R725

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0254-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024112106



Influencing Factors and Intervention Strategies for Compliance with Nebulization Therapy in Children with Viral Upper Respiratory Tract Infections

QIAN Meng-ting, ZHOU Yu-wei, TAI Jun

(Department of Infection, Tongling Municipal Hospital, Tongling Anhui 244000, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the factors affecting compliance of nebulization therapy in children with viral upper respiratory tract infections (VRI) and explore intervention strategies. **Methods** A total of 120 children with VRI admitted to the hospital from June 2023 to June 2024 were selected by convenience sampling method. The Morisky Medication Adherence Scale-8 (MMAS-8) was used to evaluate the compliance of the children with nebulization therapy. A questionnaire was used to collect the general information of the patients, including the gender, age, severity of the disease, the main caregiver of the children, the gender, age, family economic level, the degree of knowledge about the disease, the degree of understanding of nebulizer therapy, the degree of trust in medical care, and drug factors [difficulty in using the nebulizer inhalation device, complex treatment plan (daily medication frequency ≥ 3 times or (and) ≥ 2 types of drugs), adverse drug reactions, and difficulty in seeking medical treatment or obtaining drugs]. Logistic regression was used to analyze the factors affecting the children's treatment compliance. **Results** The MMAS-8 scores of 120 children were (5.86 ± 0.78) points on average, of which 51 had good compliance, accounting for 42.50%, and 69 had poor compliance, accounting for 57.50%. Univariate analysis showed that the age of the children, the severity of the disease, the degree of knowledge about the disease, the degree of understanding of nebulization treatment, the degree of trust in medical staff, and the complexity of the treatment plan were the influencing factors of poor compliance with nebulization treatment ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that the age of the children, the severity of the disease, the degree of knowledge about the disease, the degree of trust in medical staff, and the complexity of the treatment plan were independent risk factors for poor compliance with nebulization treatment. **Conclusion** In addition to being affected by age and disease severity, the compliance of VRI children with nebulizer treatment is also affected by their primary caregivers' knowledge of the disease and their trust in medi-

cal staff. The complexity of the treatment plan is also related to the compliance of VRI children with nebulizer treatment, which deserves clinical attention.

KEY WORDS: Viral upper respiratory tract infection; Nebulization therapy; Child; Compliance; Influencing factor

病毒性上呼吸道感染(VRI)是由流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒等引起,具有高度的传染性和季节性,主要临床表现为发热、咳嗽、喉咙痛等,严重时可能并发中耳炎、肺炎,严重影响患儿的生活质量和健康^[1-2]。雾化治疗作为一种直接将药物转化为微小颗粒并送达呼吸道的治疗方法,能提高局部药物浓度,减少全身不良反应,被广泛应用于VRI患儿的临床治疗中^[3]。然而,雾化治疗的效果受多种因素影响,其中患儿的依从性是关键因素之一。依从性是指患者执行医疗服务的程度,是疾病治疗过程中不可或缺的一环,患儿处于身心快速发展的阶段,自控能力相对较差,难以长时间保持对治疗的关注和配合,加之患儿可能对雾化治疗装置产生恐惧或抵触情绪,导致治疗依从性较低,直接影响临床疗效和疾病转归^[4-5]。早期识别VRI患儿治疗依从性的高危因素,采取相应干预对策,对改善患儿预后尤为重要。本研究将分析VRI患儿雾化治疗依从性影响因素,并提出相应的护理对策,旨在为提高VRI患儿雾化治疗效果提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①经临床诊断为VRI^[6],接受雾化治疗;②年龄3~12岁,性别不限;③临床资料完整。排除标准:①其他类型呼吸道感染患儿;②合并其他严重呼吸系统疾病患儿;③存在精神和认知障碍患儿;④合并先天性呼吸道畸形患儿;⑤严重营养不良患儿。

1.2 一般资料

以便利抽样法选取本院2023年6月至2024年6月收治的120例病毒性上呼吸道感染患儿,记录每个患儿的病历号、姓名、性别、年龄、诊断日期、治疗情况等基本信息。120例患儿中男72例,女48例;年龄3~12岁,平均 (6.72 ± 2.37) 岁。研究经本院同意免于伦理审查。

1.3 方法

临床资料收集:查阅电子病历,应用调查问卷采集患者一般资料,包括患儿性别、年龄、病情严重程度,患儿主要照护者、主要照护者性别、年龄、文

化程度、家庭月收入、对疾病知识的了解程度、对雾化治疗的了解程度、对医护的信任程度、药物因素[雾化吸入装置使用困难、治疗方案复杂(每天用药次数 ≥ 3 次或/和药物种类 ≥ 2 种)、药物不良反应、就医或取药困难],其中照护者对疾病知识的了解程度采用李华文等^[7]设计的上呼吸道感染患者疾病认知水平量表,包括发病原因、症状与特征、药物和病情评估以及病症管理共4个方面,各15分,总分60分, >48 分为对疾病知识的了解程度良好。照护者了解程度采用杜静等^[8]编制的患儿家属对雾化治疗相关知识的了解程度问卷,包括雾化治疗的好处以及有效的雾化治疗方式2个方面,总分100分,得分 >80 分为对雾化治疗的了解良好。对医护的信任程度分为患儿照护者与医生出现情绪、情感的对抗,不遵从医嘱、不配合甚至对抗诊治,对医生心存猜疑、戒备共3个方面,各方面按照1~5分进行评分,得分 ≤ 9 分为对医护信任度较差, >9 分为对医护信任度良好。

治疗依从性:采用Morisky用药依从性量表(MMAS)-8^[9]评估,包括“当你自觉症状改善时,你是否曾停止用药;当你服药后自觉症状更糟时,你是否曾停止用药;你是否觉得坚持用药方案有困难”等8分条目,按照从不、偶尔、有时、经常、总是对应1、0.75、0.5、0.25、0分进行评分,总分8分, <6 分为依从性差, ≥ 6 分为依从性良好。

1.4 资料收集与质量控制

由研究者向照护者介绍本研究目的、意义及过程,并告知其有自愿参与本研究的权利,且有权随时终止调查过程。量表当场填写,20min内收回。为避免研究结果出现选择性偏倚,严格按照纳入与排除标准选取研究对象;为避免出现衡量性偏倚,采用统一的语言指导患者自行填写问卷。采用双人核查的形式将数据录入,录入完成后随机抽取5%的数据检查质量,确保数据的准确和完整。

1.5 统计学方法

本研究数据录入SPSS 28.0软件处理。计数资料以例(%)表示,行 χ^2 或秩和 t 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,单因素方差分析,多因素应用Logistic回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VRI 患儿雾化治疗依从性现状

本次 MMAS-8 量表共发放 120 份,回收 120 份,有效回收率为 100%。120 例 VRI 患者 MMAS-8 评分为 4.1~7.6 分,平均(5.86±0.78)分,其中 51 例患者依从性良好,占 42.50%,69 例患者依从性差,占比 57.50%。

2.2 VRI 患儿雾化治疗依从性影响因素单因素分析

两组 VRI 患儿性别及主要照护者、照护者性别、年龄、家庭月收入、雾化吸入装置使用困难、药物不良反应、就医或取药困难比较无显著性差异($P>0.05$),在 VRI 患儿年龄、病情严重程度、对疾病知识了解程度、对雾化治疗了解程度、医护信任程度、治疗方案复杂方面比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 VRI 患儿雾化治疗依从性影响因素单因素分析(n,%)

指标	依从性良好 (n=51)	依从性差 (n=69)	OR	95%CI	χ^2/Z	P	
性别	男	33(64.71)	39(56.52)	1.528	0.893-2.614	0.818	0.366
	女	18(35.29)	30(43.48)				
年龄	<7岁	22(43.14)	51(73.91)	1.763	1.114-2.7789	11.657	0.001
	≥7岁	29(56.86)	18(26.09)				
病情严重程度	轻度	29(56.86)	21(30.43)	1.678	1.050-2.954	9.364	0.009
	中度	20(39.22)	39(56.52)				
	重度	2(3.92)	9(13.04)				
患儿主要照护者	父母	35(68.63)	43(62.32)	1.113	0.274-4.683	0.513	0.474
	其他	16(31.37)	26(37.68)				
	其他	14(27.45)	23(33.33)	1.107	0.801-1.530	0.476	0.490
患儿主要照护者性别	男	14(27.45)	23(33.33)	1.107	0.801-1.530	0.476	0.490
	女	37(72.55)	46(66.67)				
患儿主要照护者年龄/岁	≤35	23(45.10)	31(44.93)	1.141	0.680-1.914	0.127	0.939
	35~45	21(41.18)	27(39.13)				
	≥45	7(13.73)	11(15.94)				
家庭月收入(元/人)	<3000	7(13.73)	13(18.84)	1.124	0.295-4.279	1.550	0.461
	3000~5000	29(56.86)	42(60.87)				
	>5000	15(29.41)	14(20.29)				
对疾病知识的了解程度	良好	28(54.90)	21(30.43)	1.236	0.737-2.074	7.266	0.007
	较差	23(45.10)	48(69.57)				
对雾化治疗的了解程度	良好	29(56.86)	25(36.23)	1.766	1.053-2.964	5.043	0.025
	较差	22(43.14)	44(63.77)				
对医护人员的信任程度	良好	36(70.59)	30(43.48)	1.678	1.050-2.954	8.708	0.003
	较差	15(29.41)	39(56.52)				
雾化吸入装置使用困难	是	25(49.02)	34(49.28)	1.267	0.861-1.876	0.001	0.978
	否	26(50.98)	35(50.72)				
治疗方案复杂	每天用药次数≥3次或(和)药物种类≥2种	33(64.71)	24(34.78)	1.849	1.051-3.258	10.529	0.001
	每天用药次数<3次或(和)药物种类<2种	18(35.29)	45(65.22)				
药物不良反应	有	17(33.33)	20(28.99)	1.568	0.887-2.782	0.260	0.610
	无	34(66.67)	49(71.01)				
就医或取药困难	是	15(29.41)	18(26.09)	1.031	0.893-2.614	0.163	0.687
	否	36(70.59)	51(73.91)				

2.3 VRI 患儿雾化治疗依从性影响因素的 Logistic 回归分析

以 VRI 患儿雾化治疗依从性作为因变量(依从性差=1,依从性良好=0),将单因素分析中具有统计学意义的资料作为自变量,并进行赋值,年龄(<7岁=1,≥7岁=0)、病情严重程度(轻度=1,中度=2,重度=3)、对疾病知识了解程度(良好=1,较差=0)、对雾化治疗了解程度(良好=1,较差=0)、医护信任程度(良好=1,较差=0)、治疗方案复杂[每天用药次数≥3次或(和)药物种类≥2种=1,每天用药次数<3次或(和)药物种类<2种=0],进行 Logistic 回归分析结果显示,年龄、病情严重程度、对疾病知识的了解程度、医护信任程度、治疗方案复杂均是 VRI 患儿雾化治疗依从性差的独立危险因素,见表 2。

表 2 VRI 患儿雾化治疗依从性影响因素的 Logistic 回归分析

变量	β	SE	wald	OR	95%CI	P
常量	0.157	0.839	0.035	1.170	—	0.852
年龄	1.396	0.496	7.917	4.038	1.527~10.677	0.005
病情严重程度	0.937	0.411	5.194	2.553	1.140~5.717	0.023
对疾病知识了解程度	-1.183	0.474	0.625	0.306	0.121~0.776	0.013
对雾化治疗了解程度	-0.484	0.483	1.004	0.616	0.239~1.589	0.316
医护信任程度	-1.158	0.478	5.869	0.314	0.123~0.802	0.015
治疗方案复杂	-1.506	0.494	9.275	0.222	0.081~0.585	0.002

3 讨论

VRI 作为一种由多种病毒引起的呼吸道疾病,由于儿童呼吸道的解剖和免疫特点,该病在学龄前儿童中的发病率极高,雾化治疗作为呼吸系统疾病的一种重要治疗手段,在 VRI 患儿治疗中发挥着重要作用^[10-11]。导致对于需长期规律治疗的患儿,治疗依从性是保证治疗效果的关键因素,良好的依从性能够确保药物的有效利用,加速患儿康复;而依从性差则可能导致治疗中断,影响疗效,甚至增加并发症的风险^[12-13]。本研究结果显示,120 例 VRI 患者 MMAS-8 评分为 4.1~7.6 分,平均(5.86±0.78)分,其中 51 例患者依从性良好,占 42.50%,69 例患者依从性差,占比 57.50%,与王央燕等^[14]研究中患儿雾化治疗依从性 44.52% 较为接近,均说明患儿雾化治疗依从性不佳,需引起临床重视。

本研究单因素分析及 Logistic 回归分析可知,VRI 患儿年龄、病情严重程度、对疾病知识的了解

程度、医护信任程度、治疗方案复杂均是 VRI 患儿雾化治疗依从性差的独立危险因素。年龄较小的患儿对机械类操作有本能的反抗心理,对雾化器产生的烟雾存在恐惧,同时缺乏一定的持续性和忍耐力,难以在雾化吸入过程中始终保持正确的吸入方式,因此,治疗依从性较差。但也有研究指出^[15],由于随着年龄的增长,患儿承担用药的主要责任,照护者的监督减少,可能导致患儿在用药过程中出现疏忽或忘记服药的情况,进而影响治疗依从性。病情严重的患儿可能需要更频繁的治疗,但更易增加他们的不适感,从而降低依从性^[16]。照护者是患儿与医护人员之间信息传递的桥梁,当照护者对疾病和治疗了解不足,他们可能无法准确地向患儿传达治疗的重要性,甚至可能传递错误的信息,导致患儿抗拒治疗,而对 VRI 了解程度较高的患儿照护者会自行查阅疾病相关知识,主动与医护人员沟通,积极配合治疗,进而使治疗的依从性更佳^[17]。照护者在患儿治疗过程中起重要的决策作用,其对医护人员的信任程度将直接影响患儿对治疗方案的接受度和执行度。复杂的治疗方案,包含多种药物、不同的给药时间和剂量以及特定的治疗步骤,增加了患儿及其照护者理解和记忆的难度,使执行复杂性加大,可能导致治疗失误或遗漏,进而影响治疗的依从性。

针对上述影响 VRI 患儿雾化治疗依从性的影响因素,结合袁馥梅等^[18]研究,发现趣味性健康教育能提高患儿认知水平,增加患儿的治疗依从性。既往研究表明^[19],照护者的监督对患儿治疗的依从性具有重要影响。因此,我们提出以下加强监督的措施:告知照护者应持续性监督患儿雾化治疗,确保患儿按时治疗并正确吸入药物;医护人员应定期与照护者沟通,了解患儿的治疗进展和照护者的监督情况,提供必要的指导和支持。在确保治疗有效和安全的前提下,简化治疗方案、降低操作难度是提高患儿依从性的重要途径^[20]。针对雾化治疗方案,我们提出以下优化方案:根据患儿的年龄、病情、药物敏感性等因素,制定个性化的雾化治疗方案,确保治疗的有效性和安全性;通过改进雾化器的设计或提供详细的操作指南,简化操作步骤,降低照护者的操作难度。

综上所述,VRI 患儿雾化治疗依从性不理想,受到患儿年龄、病情严重程度、主要照护者对疾病知识的了解程度、医护信任程度以及治疗方案复杂的影响,临床应重视 VRI 患儿的早期评估,针对存在治疗依从性差危险因素的患儿,及时采取针

对性的干预措施。但本研究也存在一些不足,纳入样本量时采用便利抽样,可能导致选择偏倚,使研究结果的普遍性和代表性受到影响;本研究仅纳入 14 个自变量,而 VRI 患儿雾化治疗依从性的影响因素较多,因此,仍需在日后扩大样本量、纳入更多的影响因素进一步探究。

参考文献:

- [1] 侯军,王思平,朱伯会,等. 热毒宁注射液联合磷酸奥司他韦颗粒对小儿急性病毒性上呼吸道感染患者的临床疗效[J]. 中成药,2023,45(10):3261
- [2] SANDYBAYEV N,BELOUSSOV V,STROCHKOV V,et, al. Characterization of viral pathogens associated with symptomatic upper respiratory tract infection in adults during a low COVID-19 transmission period[J]. Peer J, 2023,11:e15008
- [3] 宋明,张青,吕天乐. 氯雷他定联合布地奈德混悬液雾化吸入治疗上呼吸道感染后慢性咳嗽疗效及对患者血清炎症因子的影响研究[J]. 陕西医学杂志,2020,49(4):494
- [4] SHAH B,MCLAREN S W,FENG C,et, al. Effectiveness of synchronous teledentistry consultations in facilitating treatment compliance of rural pediatric patients[J]. J Am Dent Assoc,2024,155(12):1053
- [5] 陈悦,邓常开,刘静,等. 远程管理下儿童膀胱功能障碍基础行为治疗依从性现状调查及其影响因素分析[J]. 现代预防医学,2022,49(23):4311
- [6] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 急性上呼吸道感染基层诊疗指南(2018年)[J]. 中华全科医师杂志,2019,18(5):422
- [7] 李华文,袁启艳. 趣味性健康教育对上呼吸道感染患儿治疗依从性和疾病认知水平的影响[J]. 中国健康教育,2023,39(10):933
- [8] 杜静,梁娟. 哮喘急性期患儿雾化治疗依从性及影响因素分析[J]. 中国医药导报,2021,18(12):131
- [9] AL-QAZAZ H K H,HASSALI M A,SHAFIE A A,et, al. The eight-item morisky medication adherence scale MMAS:translation and validation of the malaysian version [J]. Diabetes Res Clin Pract,2010,90(2):216
- [10] OGIMI C,XIE H,WAGHMARE A,et, al. Correlation of initial upper respiratory tract viral burden with progression to lower tract disease in adult allogeneic hematopoietic cell transplant recipients [J]. J Clin Virol, 2022, 150-151:105152
- [11] 宾松涛,王霖,聂文莎,等. 基于免疫失衡机制评估小儿豨薟清热颗粒治疗病毒性上呼吸道感染发热患儿的疗效[J]. 中药材,2023,46(7):1798

引文格式:丁敏,曾静.过敏性鼻炎患者综合护理干预的实施与疗效探讨[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):258-261.

过敏性鼻炎患者综合护理干预的实施与疗效探讨

丁敏,曾静

(咸宁市第一人民医院,湖北咸宁437000)

摘要:目的 探讨综合护理干预在过敏性鼻炎患者中的应用效果。方法 选取100例过敏性鼻炎患者,随机分为常规护理组和干预组,每组各50例。常规组接受常规护理,干预组接受综合护理干预。3个月后比较两组患者的疗效、自我护理能力及心理状况。结果 干预前,两组的基线数据无显著差异;干预后,干预组的疗效、自我护理能力及心理状况均显著优于常规组($P < 0.05$)。结论 综合护理干预能够显著提升过敏性鼻炎患者的疗效、自我护理能力及心理状况。

关键词:综合护理;过敏性鼻炎;心理;自我护理

中图分类号:R473

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0258-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024112806



Implementation and Efficacy of Comprehensive Nursing Interventions in Patients with Allergic Rhinitis

DING Min, ZENG Jing

(The First People's Hospital of Xianning, Xianning Hubei 437000, China)

ABSTRACT: Objective To explore the application effects of comprehensive nursing intervention on patients with allergic rhinitis. **Methods** A total of 100 patients with allergic rhinitis were randomly divided into a routine care group and an intervention group. The routine care group received routine nursing care, while the intervention group received comprehensive nursing intervention. After three months, the therapeutic efficacy, self-care ability, and psychological status of the two groups were compared. **Results** Before the intervention, there was no significant difference in baseline data between the two groups. After the intervention, the therapeutic efficacy, self-care ability, and psychological status of the intervention group were significantly better than those of the routine care group ($P < 0.05$). **Conclusion** Comprehensive nursing intervention can significantly improve the therapeutic efficacy, self-care ability, and psychological status of patients with allergic rhinitis.

KEY WORDS: Comprehensive nursing; Allergic rhinitis; Psychology; Self-care

过敏性鼻炎是一种由过敏原暴露引起的鼻部症状性疾病,典型的症状包括鼻部瘙痒、打喷嚏、流鼻涕和鼻塞,还有可能伴随鼻子和上颚的瘙痒以及眼部症状^[1-3]。尽管过敏性鼻炎通常不会引发严重的疾病或导致死亡,但由于它是一种慢性呼吸道疾病,且通常伴随患者终生,治疗和管理费用可能十分高昂。因此,实施有效的护理和管理措施对于过敏性鼻炎患者尤为重要。

近年来,综合护理干预已在疾病管理中得到有效应用^[4-6]。综合护理干预是一种多层次的健康管理模式,是指在护理过程中,结合患者的生理、心理、社会及文化等多方面需求,通过多种护理措施和方法,对患者提供全面、系统和个性化的护理服务^[7],旨在提高患者的生活质量,增强疾病

控制能力。该护理策略不仅包含基础的健康教育,还结合了心理支持、环境优化和生活习惯的调整等多项内容。通过为患者制定个性化的护理方案,全面帮助他们识别和避免过敏原,并通过行为调整和心理干预来缓解症状,减少心理压力和紧张情绪,从而全面提升患者的健康状况。本文旨在探讨综合护理干预在过敏性鼻炎患者中的应用效果,为临床实践提供参考。

1 资料与方法

1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①确诊患有过敏性鼻炎,过敏性鼻炎的临床诊断依据包括:患者出现阵发性喷嚏、清

水样鼻涕、鼻痒和鼻塞等症状,其中至少有2个或以上,每天症状持续或累计1h以上,并且可能伴有流泪、眼痒、眼红等眼部症状;体征方面常见鼻黏膜苍白、水肿,鼻腔有水样分泌物;在过敏原检测中,至少有1种过敏原皮肤点刺试验(SPT)或血清特异性IgE阳性,或鼻激发试验阳性;②年龄介于18~60岁;③自愿参与研究,并签署知情同意书。

排除标准:①患有需要紧急治疗或危及生命的急性疾病(如急性心肌梗死、急性呼吸窘迫综合征)以及控制不良的严重慢性疾病(如晚期恶性肿瘤、严重心力衰竭、肝硬化等)的患者;②存在精神障碍或认知功能障碍,无法配合研究的患者。

1.2 一般资料

在2023年3月至2024年3月期间,选取我院收治符合纳入标准的100名过敏性鼻炎患者,采用随机数字表法将他们随机分成常规组和干预组,每组50例。两组基线资料比较,无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。见表1。

表1 两组基线资料比较

组别	性别 (男/女)	年龄/岁	病程/年	过敏史 (有/无)	体重指数/ (kg/m^2)
常规组	24/26	38.7 \pm 7.9	5.3 \pm 2.1	32/18	25.1 \pm 3.5
干预组	22/28	39.2 \pm 8.3	5.1 \pm 2.2	30/20	24.9 \pm 3.4

1.3 研究方法

常规组接受传统护理方式,主要包括药物指导、基础健康教育以及定期随访,旨在帮助患者管理症状并减少对过敏原的接触。

干预组在常规护理的基础上,结合个性化和系统化的护理策略,实施全面的个性化护理干预,共3个月。这种护理模式不仅关注症状的缓解,更注重患者整体健康状态的优化,涵盖生理和心理的全面护理。护理团队由护士、医生和心理咨询师组成。

(1)个性化健康教育:综合干预团队以个性化健康指导为核心,依据每位患者的具体情况制定专属的护理方案。团队成员对患者进行全面评估,考虑病史、过敏原反应水平、居住环境及生活习惯等因素。根据患者的实际情况,团队成员会提供健康教育,教导他们如何识别并避免各类过敏原。例如,对于对花粉敏感的患者,护士会建议减少外出,佩戴防护口罩,并在室内使用空气净化器以降低花粉含量。此外,团队还会利用多种教

学工具,如信息图、视频教程和在线资源,帮助患者加深对过敏性鼻炎病因和管理的理解,从而提高患者参与治疗的积极性。

(2)心理干预:作为一种长期病症,过敏性鼻炎给患者带来持续困扰,常引发焦虑、抑郁等心理问题。团队成员会定期对患者的心理健康进行评估,以便准确掌握情绪变化和压力来源,并提供针对性的心理支持。团队成员还会教授患者各种放松技巧,帮助他们减轻紧张和焦虑情绪。同时,团队成员将指导患者积极应对疾病带来的心理负担,帮助他们培养积极乐观的心态和应对策略。必要时,团队成员会建议患者寻求专业心理咨询,以获得更全面的心理支持。

(3)行为干预与自我管理:团队成员通过行为指导来增强患者的自我护理能力。小组成员与患者共同制定详细且切实可行的行动计划,涵盖日常生活的各个方面。例如,指导患者保持均衡饮食,避免摄入可能引发过敏的食物,提倡食用低致敏性食品。对于行动不便的患者,小组成员会量身定制合适的锻炼计划,如每日适量散步或轻松的家庭活动,以增强免疫系统。另外,小组成员帮助患者建立规律的生活作息,确保充足的睡眠时间,促进身体康复,提升整体健康水平。

(4)环境管理与过敏原控制:团队成员会与患者共同仔细检查居住环境,识别潜在的过敏原,并采取相应的防护措施。例如,建议患者定期更换床上用品,选择抗螨材料制作的床垫和枕头,并保持室内湿度适宜,防止霉菌滋生。对宠物皮屑过敏的患者,小组成员为其提供专门的清洁建议,如定期为宠物清洁,禁止宠物进入卧室等。提醒患者在花粉浓度高时尽量减少外出,并及时更换衣物、清洗面部和鼻腔,以降低过敏风险。

(5)长期监测与动态评估:综合护理的优势在于持续的监控和及时反馈。团队成员每月定期与患者沟通,密切关注病情变化及干预措施的效果,随访半年。在每次随访时,不仅详细评估病情进展,还会全面审查患者的生活质量、自理能力和心理状态等多个方面。这样的连续评估体系确保护理方案能够根据患者的具体情况进行及时调整和优化。例如,若患者报告病情恶化或护理方案难以执行,小组成员会迅速分析原因,适时调整方案,例如增加心理辅导次数或简化护理步骤。此外,长期跟踪还包括对治疗效果的持续观察,通过长期的综合护理干预,帮助患者逐步掌握自我管理技能,减少疾病对日常生活的影响。

(6)家庭支持与多学科合作:团队成员非常重视家庭成员的参与和支持。他们会积极与患者家属沟通,解释护理需求与疾病管理之间的关系。家属在确保患者遵循治疗方案、提供精神支持及处理日常环境中的过敏原方面发挥着重要作用。在家属的帮助下,患者能够获得更加全面的护理,从而提升护理效果。此外,综合护理强调多学科合作,护士与医生、心理咨询师等专家协作,共同为患者提供全方位的护理服务,此合作模式有助于确保患者在各个层面获得最佳护理。

1.4 评价指标

(1)根据《中国变应性鼻炎诊断和治疗指南》^[8],过敏性鼻炎的疗效判定标准如下:痊愈指临床症状(如鼻痒、喷嚏、流涕、鼻塞等)完全消失,无需药物治疗且随访期内无复发;显效为症状显著改善(症状积分减少 $\geq 70\%$),生活质量明显提高,药物使用明显减少;有效指症状有所改善(症状积分减少 $30\% \sim 69\%$),生活质量有所提高,但仍需维持药物治疗;无效则指症状无明显改善(症状积分减少 $< 30\%$)或症状加重,治疗无显著效果。

(2)自我护理能力:根据自我护理能力量表(ESCA)^[9]进行评价,根据量表的总分,将自我护理能力分为3个层次:低等水平为 $0 \sim 57$ 分,中等水平为 $58 \sim 115$ 分,高等水平为 $116 \sim 172$ 分。

(3)心理状况:采用焦虑自评量表(SAS)和抑郁自评量表(SDS)进行评估^[10]。若SAS得分低于50分表示无焦虑, $50 \sim 59$ 分表明轻度焦虑, $60 \sim 69$ 分表示中度焦虑, 70 分及以上则为重度焦虑。SDS得分方面,低于53分表示无抑郁, $53 \sim 62$ 分为轻度抑郁, $63 \sim 72$ 分为中度抑郁, 73 分及以上为重度抑郁。

1.5 统计学方法

本研究使用SPSS 26.0进行统计分析。对符合正态分布的计量资料,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,并使用 t 检验;对等级资料或偏态分布的数据,采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 两组疗效比较

常规组患者痊愈9例、显效16例、有效19例、无效6例;干预组患者痊愈21例、显效27例、有效2例、无效0例。两组患者疗效比较有统计学差异($Z = -4.601, P < 0.001$)。详见表2。

表2 两组疗效比较(n)

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效
常规组	50	9	16	19	6
干预组	50	21	27	2	0

2.2 两组自我护理能力比较

常规组患者自我护理低水平1例、中等水平35例、高水平14例;干预组患者自我护理低水平0例、中等水平6例、高水平44例。两组患者自我护理能力比较具有明显的统计学差异($Z = -6.051, P < 0.01$)。详见表3。

表3 两组自我护理能力比较(n)

组别	例数	低水平	中等水平	高水平
常规组	50	1	35	14
干预组	50	0	6	44

2.3 两组心理状况比较

干预后,干预组焦虑状况、抑郁状况有明显改善,比常规组有明显的降低(P 均 < 0.05),见表4。

表4 两组干预前后心理状态比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	例数	焦虑得分		抑郁得分	
		干预前	干预后	干预前	干预后
常规组	50	54.68 \pm 6.82	53.70 \pm 7.75	53.72 \pm 4.13	52.36 \pm 4.93
干预组	50	53.55 \pm 6.45	46.28 \pm 4.62 ^{**}	54.26 \pm 4.37	45.50 \pm 3.89 ^{**}

与同组干预前比较,* $P < 0.05$;与常规组比较,# $P < 0.05$ 。

3 讨论

本研究结果显示,综合护理干预在提高疗效方面展现了独特的优势。研究数据显示,干预组患者的痊愈率和显效率均高于常规组($P < 0.05$),这表明综合护理干预不仅能有效控制症状,还能改善患者的总体健康状态。过敏性鼻炎作为一种慢性疾病,传统的药物治疗虽然能够缓解短期症状,但无法从根本上改变免疫系统的异常反应。综合护理干预通过个性化健康教育、环境管理和生活方式调整等措施,有效减少了过敏原的暴露机会,从而降低了症状发作的频率,显著提升了患者的治疗效果。

自我护理能力的提升也是综合护理干预成功的重要因素之一。干预组患者的自我护理能力优于常规组($P < 0.05$),这与个性化的行为干预密切相关。通过为患者制定详细的健康教育计划,

并提供具体的自我护理指导,患者在日常生活中学会了如何应对疾病。比如,干预组患者学会了合理安排饮食、保持规律作息、优化居住环境等有效的护理措施,这不仅增强了他们的自我管理意识,还提高了他们在日常生活中控制病情的能力。此外,持续的监测和反馈机制确保了患者在护理过程中能够得到及时的指导和支持,逐渐掌握有效的自我护理技巧。

心理干预在改善患者心理健康方面发挥了关键作用。长期患病会导致患者产生焦虑和抑郁等心理问题,干预组患者通过心理辅导和放松技巧训练改善了这些状况,焦虑得分和抑郁得分均显著低于常规组($P < 0.05$)。综合护理干预通过定期的心理健康评估和个性化的心理支持,帮助患者缓解心理压力,改善情绪状况。此外,医护人员与患者建立了信任关系,增强了患者的积极性和应对疾病的信心,这也是干预组患者心理健康改善的关键因素之一。

多学科合作和家庭支持是本研究中综合护理干预成功的保障。护理团队由护士、医生和心理咨询师组成,提供了全方位的护理服务。家属在患者的护理过程中发挥了积极作用,通过与患者家属的沟通和协作,有助于提高治疗的依从性和效果。患者在家属的支持下,更容易遵循护理计划,进一步促进了病情的改善。

总之,本研究结果表明,综合护理干预在提升过敏性鼻炎患者的疗效、自我管理能力和心理健

康方面具有显著的优势。其个性化、系统性和多层次的护理模式,为临床实践提供了重要的借鉴,有助于进一步推广应用。

参考文献:

- [1] 江文莉,陈丽鸿,邹天添,等. 变应性鼻炎与呼出气一氧化氮水平相关性研究[J]. 临床医学进展,2024,14(2):2466
- [2] 王倩,朱瑞芳,董妞妞,等. 饮食对变应性鼻炎影响的研究进展[J]. 护理研究,2024,38(10):1753
- [3] LEI R L, LIN W C, LIN C C, et al. Effects of acupressure on symptoms relief and improving sleep quality in pediatric patients with allergic rhinitis [J]. *Holistic Nursing Practice*, 2022, 36(3):166
- [4] 杜伟,姜亭. 综合护理干预在过敏性皮炎患者中的效果观察[J]. 中华养生保健,2023,41(15):103
- [5] 李楠. 综合护理干预在早期急性乳腺炎护理中的应用分析[J]. 国际护理与健康,2024,5(2):155
- [6] 王琼. 综合护理干预在股骨颈骨折患者围手术期中的效果观察[J]. 中国伤残医学,2024,32(11):149
- [7] 田文君,张倩倩. 综合化优质护理干预法在临床肺结核患者护理中的效果分析[J]. 中国防痨杂志,2024,46(S1):308
- [8] 顾瑜蓉,李华斌. 《中国变应性鼻炎诊断和治疗指南(2022年,修订版)》解读[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志,2022,22(2):209
- [9] 许远茹. Orem 自护理论在高血压脑出血术后的应用效果观察[J]. 心血管病防治知识,2020,10(5):60
- [10] 梁丽娟,苏朝霞. 情绪与癌症的心理免疫学研究进展[J]. 全科护理,2019,17(26):3240

(收稿日期:2024-11-28)

(上接第257页)

- [12] 沈利丽,卢绚丽,闵烨华,等. 舒适干预在布地奈德雾化吸入治疗哮喘患儿中的应用效果和对患儿治疗依从性的影响[J]. 中国妇幼保健,2021,36(16):3742
- [13] COHEN N A, MICIC D M, SAKURABA A. Factors associated with poor compliance amongst hospitalized, predominantly adolescent pediatric Crohn's disease patients [J]. *Ann Med*, 2022, 54(1):886
- [14] 王央燕,周丽珍,张凌姿. 儿童支气管哮喘治疗依从性的影响因素分析[J]. 中国妇幼保健,2021,36(4):878
- [15] SINHA R, LAHIRY S, GHOSH S. Suboptimal compliance to aerosol therapy in pediatric asthma: a prospective cohort study from Eastern India [J]. *Lung India*, 2019, 36(6):512
- [16] 都勇,刘姜红,王爱平. 慢性气道疾病患者吸入治疗依从性的现状及影响因素研究[J]. 中国实用护理杂志,

2021,37(5):326

- [17] 王李晶子,刘玉琳,王倩,等. 基于遗忘曲线的随访教育对学龄前期哮喘儿童吸入技术及疾病认知的影响[J]. 重庆医学,2021,50(24):4307
- [18] 袁馥梅,韩玉霞,高娜,等. 趣味性健康教育对学龄期哮喘患儿认知水平及治疗依从性的影响[J]. 中国健康教育,2020,36(12):1149
- [19] 李娜,张婷. 家庭教育-环境改良的延续性护理对小儿哮喘依从性、生活质量、复发率的影响[J]. 国际护理学杂志,2021,40(24):4593
- [20] 梁英,钟奕,李云艳,等. 标准化螨变应原特异性免疫治疗维持期换瓶不减量方案在儿童气道过敏性疾病人群中的疗效和安全性研究[J]. 中华预防医学杂志,2024,58(6):768

(收稿日期:2024-11-21)

引文格式:陈祺,闵清,白育庭.白及活性成分的作用及其应用的研究进展[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):262-265.

白及活性成分的作用及其应用的研究进展

陈祺¹,闵清^{1*},白育庭^{2*}

(1.湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁437100;2.湖北科技学院医学部临床医学院)

摘要:白及作为传统药用和观赏价值兼具的一种植物,化学成分众多,包括多糖、三萜类、联苕类菲类衍生物等化合物,具备收敛固涩、制酸止血、散结消肿等诸多功效,且在抗病毒、抗炎、抗肿瘤等方面具有突出的临床治疗效果。本文综述了近几年研究中新发现的白及活性成分相关药理作用及其临床应用的研究进展,为白及的开发和临床使用提供参考。

关键词:白及;活性成分;药理作用;临床应用

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0262-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2025010903



Research Progress on the Pharmacological Effects and Clinical Application of Active Ingredients of *Bletilla Striata*

CHEN Qi, MIN Qing, BAI Yu-ting

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: Rhizoma Bletillae, as a plant with both traditional medicinal and ornamental values, contains a variety of chemical components, including polysaccharides, triterpenoids, bibenzyl derivatives of phenanthrene, etc. It has many functions such as astringency, hemostasis, acid suppression, and swelling and mass dissipation. Moreover, it has outstanding clinical therapeutic effects in antiviral, anti-inflammatory, and anti-tumor aspects. This article reviews the research progress of the newly discovered active components of *Bletilla Striata* in recent years and their related pharmacological effects and clinical applications, providing a reference for the development and clinical use of *Bletilla Striata*.

KEY WORDS: *Bletilla Striata*; Chemical composition; Pharmacological action; Clinical application

白及,又名“白芨”,属兰科植物,是一味名贵中草药,药用部位主要为其成熟采挖后经晾晒干燥后的茎块,主要生长于山野川谷较潮湿处,产地遍及全球^[1]。白及的用药历史源远流长,从2000多年前的《神农本草经》开始就被记载于许多中药名著中^[2]。考白及一药,味苦、甘、涩,微寒,在临床上多用作止血药物,实则本品苦可燥湿,甘则健脾,涩能固摄,寒以清热,治疗乳糜尿,无论虚实,皆可随症伍用,惜多不为医家所识^[3]。随着科技的进步,对白及的研究也不断深入,从中提取出多糖、联苕类、菲类等化合物。对其有效化学成分进行研究,发现白及在抗炎、抗菌、抗肿瘤等方面也具有理想的治疗效果^[4]。本文对近几年白及的有效成分、药理作用以及临床用药发展现状进行归

纳总结,为白及的进一步开发利用和临床用药提供参考依据。

1 有效活性成分

白及的化学成分复杂,且不同的活性成分具备的药理作用也有所差异^[5]。

1.1 白及多糖

白及多糖(bletilla striata polysaccharide, BSP)是白及主要有效化学成分之一,因其粘稠的突出特性又被人们称为“白及胶”。通常采用水提醇沉法进行提取,提取率受到提取时间、温度、料液比等因素的影响^[6]。在BSP的制

* 通信作者, E-mail: baimin0628@163.com; xyby0628@163.com

备工艺中,不同的提取方式、提取条件都会导致白及多糖的相对分子量及其组成方式相差较大,结构也具备多样性^[7],有抗炎、促进创面愈合、抗肿瘤等多重功效^[8]。

1.2 联苯类

联苯类是主要存在于白及块茎部位的有效活性成分,Zhou等^[9]从白及的根茎中分离提取到了6个新的联苯,为3对对映体,是首次发现的白及属天然联苯对映体,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有抑制作用。

1.3 菲类衍生物

Zhou等^[10]从白及的块茎中实验分离得到17个非类化合物,并对肺癌A549细胞进行相关作用实验,发现这些非类化合物大部分对该肺癌细胞的增殖、迁移均具有抑制作用,促进细胞的凋亡,产生A549肺癌细胞的细胞毒性,发挥白及的抗肿瘤药理作用。

1.4 联苯类化合物

Ma等^[11]采用硅胶、ODS、Sephadex LH-20、反相高效液相色谱等方法,从白及属块茎的乙酸乙酯白及可溶性部位分离得到18个化合物,其中发现了一个新的联苯类化合物,且有一个联苯类化合物是首次从该属植物中分离得到。Nishidono等^[12]通过对白及热处理实验,发现联苯可以抑制NO活性的化合物且相对含量没有发生变化,表明白及的抗炎、止血等生物活性不受热处理的影响。

1.5 其他化合物

白及中还许多有效的化学成分,例如蒽醌类、三萜及其皂苷、甾体及其皂苷等等,目前已发现的有效化学成分就有将近100种之多,与此同时,也有新的化学成分不断被挖掘。

2 药理作用

2.1 抗炎

Zhao等^[13]发现白及多糖对于NLRP3炎症小体的激活有十分理想的抑制作用,提高创面组织对胰岛素的敏感性,从而对糖尿病患者创伤部位的治愈起到促进作用。Zhu等^[14]也验证得知白及寡糖(bletilla oligosaccharides, BO)能够通过抑制炎症因子的释放,调节肠道内的微生物组成,从而对溃疡性结肠炎疾病模型的大鼠有明显的治疗作用。Gong等^[15]从药理学和分子技术方向着手,发现白及中富含的纹状麦芽杆菌可以降低炎症细胞因子的分泌,从而减轻溃疡性结肠炎的临床症状,给临床治疗提供创新思路。

2.2 抗菌

Hu等^[16]以白及多糖(BSP)、硼砂和单宁酸/铁(TA/Fe³⁺)配合物为原料,制备了B/TF水凝胶,并在糖尿病创面愈合实验中表现出显著的光热抗菌活性和抗氧化能力。Zhou等^[17]也从白及假鳞茎中分离出有效化学成分糖基氧基苯基-2-异丁基苹果酸盐,发现其不仅具有保护神经的效

果,抑菌活性的作用也比较突出。Niu等^[18]发现白及多糖通过激活巨噬细胞并诱导巨噬细胞分泌细胞因子,能够对受到免疫抑制小鼠模型的体外免疫机制起到积极作用。可以看出白及不仅含有抑制细菌活性的化学成分,还能够提高机体免疫力,从而全方位增强抗菌效果。

2.3 抗肿瘤

Sui等^[19]从白及中分离得到的非类化合物对人体的癌细胞HL-60和A549存在细胞毒性,从而起到良好的抗肿瘤作用。Wang等^[20]也通过研究发现,将叶酸对白及多糖进行结构修饰得到的两亲性白及多糖(FA-BSP-SA)共聚物,与牛血清白蛋白有十分理想的亲和力,能够起到良好的抗肿瘤效果。有人设计一种pH-氧化还原-双响型白及多糖(BSP)共聚物作为载体将抗肿瘤药物输送到特殊的肿瘤组织,以增强抗肿瘤药物在肿瘤部位的释放,提高治疗效果^[21]。可以看出白及在抗肿瘤上具有较为理想的临床效果,也为临床攻克癌症这一世纪难关开辟了许多新的思路和途径。

2.4 抗氧化

Chen等^[22]通过研究发现白及多糖对于一些自由基的清除和还原能力都较为良好,从而实现抗氧化功能。Wang等^[23]通过斑马鱼模型实验得知白及中富含抑制黑色素生成的多靶点化合物,能够有效抑制黑色素的形成,达到抗氧化的效果。Luo等^[24]也在斑马鱼模型中采用分子对接的实验方法,发现白及中相关化学成分能够有效抑制斑马鱼胚胎的黑色素形成,且抑制效果与所用剂量呈现正相关的关系,具有潜在的抗氧化作用。白及中的部分化学成分具有抗氧化作用,抑制黑色素的形成,实现美白效果,为日常美妆用品的研发提供新的研究方向。

2.5 止血促凝

Zhai等^[25]在研究中发现白及多糖能够通过缩短凝血活酶时间、凝血酶原时间、凝血酶时间和提高纤维蛋白原含量来提高其促凝能力,以达到理想的止血效果,具有成为理想促凝剂的潜力。Yan等^[26]以氧化白及多糖Schiff Base(ORBPS)和聚乙烯醇(PVA)为基础研发的气凝胶敷料具有良好的抗菌和止血性能,可通过减少炎症、促进血管生成和加速上皮形成来促进伤口愈合。Xiang等^[27]设计出了一种BSP-g-PAA/PVA DN水凝胶,且通过体外血液相容性实验表明其具有较低的溶血率和良好的凝血效果;同时,采用大鼠肝出血和小鼠断尾模型,进一步说明水凝胶具有良好的止血效果,在止血材料创新中提供了一个全新的研究思路。

白及还具有提高免疫细胞功能、抗纤维化等药理作用,在临床应用中前景广阔。

3 临床应用

3.1 创面修复

白及自古就是止血良药,赵艳等^[28]对术后、口腔溃

疡、消化道溃疡、压疮、宫颈等创面用白及入药,发现其作用机制是先通过抗炎抑菌作用创造一个助于创面愈合的微生物环境,并通过白及多糖对血管内皮细胞生长的促进作用,实现理想的创面修复效果。现目前有许多带有白及的新型创面材料用于临床试验并取得了较为理想的成果,新型白及创面材料的研究也成为近年临床研究的一大热门。Zhang 等^[29]制备的以白及多糖为主要成分的双动态键交联水凝胶具有良好的生物相容性、抗菌性和抗氧化性能,止血效果显著,有望成为未来急性伤口出血的新型解决方案。Chen 等^[30]也研究发现将白及多糖集成到水性聚氨酯中所制成的水凝胶可制成新型的创面敷料,加速创面愈合的同时,还具备成本低、制备简便的优点。以白及为主要药用成分的新型创面敷料符合标准的敷料理化指标并通过了稳定性试验,且在动物实验中取得了比较理想的数据支撑。但大部分新型敷料只能做到实验室制备,对于实现商业化量产还有一定差距。

3.2 肺部损伤治疗

Chen 等^[31]发现白及经正丁醇提取所得的化学成分针对 SiO₂ 纳米颗粒具有化学防御的功能,从而发挥肺部损伤的保护作用。通过脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤模型和 RAW 模型可以看出白及提取物可能通过抑制 p47phox/NOX2 通路降低 ROS 的产生,上调 Nrf2/HO-1 通路增强 ROS 清除活性,从而对氧化应激产生调节作用,实现对肺部损伤的保护作用^[32]。Zhang 等^[33]也验证了白及通过发挥其抗炎药理作用而实现对急性肺损伤的疾病治疗。由此可见,白及在肺结核、肺出血等肺部疾病的临床用药中具有明显功效。

3.3 胃溃疡治疗

Wang 等^[34]在实验中发现从白及假鳞茎中分离得到的白及多糖能够有效抑制胃溃疡发生频率,从而起到胃保护的潜在效果。此外,白及多糖(BSP)和奥美拉唑(OME)制备而成的纳米颗粒在大鼠乙醇致胃溃疡模型中,证实其在酸性条件下的稳定性,不仅能减少胃溃疡面积,抑制胃酸分泌,还能逆转胃组织损伤和细胞凋亡,实现对胃溃疡的靶向^[35]。由此可见,白及在胃部保护的临床研究中具有可观的前景。现目前白及用于胃溃疡的治疗主要是粉末冲服,但是这对于日常用药和保存都不太方便,所以现目前应用于临床的一大难点是如何保留其胃溃疡治疗药效的同时改善用药条件,更加方便和实现靶点治疗。

3.4 肿瘤抑制

Liu 等^[36]发现白及醇溶性多糖能够抑制 H22 细胞的生长和肿瘤细胞的凋亡,从而抑制 H22 实体瘤的生长,体外抗肿瘤作用显著,为临床研究提供新思路。Liu 等^[37]发现在特定温度下从白及中提取了一种新型低分子量白及多糖,在 H22 荷瘤小鼠中发挥了抑制肿瘤生长和抗肿瘤作用。白及的抗肿瘤作用现目前在动物实验中取得了实质性进展,为早日突破抗癌这一难关提供了珍贵的实验数据。

3.5 美白类化妆品

Zhu 等^[38]证实白及内的两种菌株 WT 和 HL20 具有十分理想的美白抗菌活性,可以将其用于美白类化妆产品的添加剂中,增强美白效果。在相关的大数据统计中也证实了目前市面上的中药美妆产品中,白及的美白功效显著,且作用安全、毒副作用小,是必选的美白产品原药之一^[39],在当今人人追求美白的社会风气中大受欢迎。临床已经有白及为主要成分的美白产品,且疗效显著,但大多为面膜、美白敷料,产品品类较为单一,可进行多方面研究探索。

4 小结

白及是我国珍贵的中药材资源,随着科学技术的进步,人们对白及的化学成分和药理作用认识更加充分,为白及进一步的开发利用提供了理论基础。虽然近些年对于白及的药理作用相关研究不断加深,但大部分仍处于动物模型研究阶段,临床应用成果相对较少,距离将其药用功效转化为临床治疗功效仍需要科研人员的不断努力,让白及在食品、日用品和医药等领域得到更广泛的应用。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.《中华人民共和国药典》[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:106
- [2] 赵明宏,俞春英,江建铭.药用白及生态高效种植技术[J].浙江农业科学,2022,63(8):1699
- [3] 于红卫.河南道地药材白芨[J].河南农业,2023(31):2
- [4] 熊灿霞,丁铃,钟媛媛,等.珍稀药用植物白及研究综述[J].黑龙江科学,2021,12(24):49
- [5] 罗玲丽,匡勇斌,喻浙,等.白及多糖提取工艺及抑菌活性检测[J].吉首大学学报(自然科学版),2022,43(5):37
- [6] XU D, PAN Y, CHEN J. Chemical constituents, pharmacologic properties, and clinical applications of *Bletilla striata* [J]. Front Pharmacol, 2019, 10:1168
- [7] 祝贝贝.白芨多糖分离纯化、化学性质及生物活性研究进展[J].食品与发酵工业,2023,49(10):343
- [8] 孔伟华,徐建波,崔琦,等.白及化学成分、药理作用和白及多糖提取工艺的研究进展[J].中医药信息,2021,38(9):69
- [9] ZHOU M, JIANG S, CHEN C, et al. Bioactive bibenzyl enantiomers from the tubers of *Bletilla striata* [J]. Front Chem, 2022, 10:911201
- [10] ZHOU F, FENG R, DAI O, et al. Antiproliferative and proapoptotic effects of phenanthrene derivatives isolated from *Bletilla striata* on A549 lung cancer cells [J]. Molecules, 2022, 27(11):3519
- [11] MA X J, CUI B S, HAN S W, et al. Chemical constituents from tuber of *Bletilla striata* [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2017, 42(8):1578
- [12] NISHIDONO Y, ISHII T, OKADA R, et al. Effect of heat processing on the chemical constituents and NO-suppress-

- ing activity of *Bletilla Tuber* [J]. *J Nat Med*, 2020, 74(1):219
- [13] ZHAO Y, WANG Q, YAN S, et al. *Bletilla striata* Polysaccharide promotes diabetic wound healing through inhibition of the NLRP3 inflammasome [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:659215
- [14] ZHU T, HU B, YE C, et al. *Bletilla striata* oligosaccharides improve ulcerative colitis by regulating gut microbiota and intestinal metabolites in dextran sulfate sodium-induced mice [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:867525
- [15] GONG S, LV R, FAN Y, et al. The potential mechanism of *Bletilla striata* in the treatment of ulcerative colitis determined through network pharmacology, molecular docking, and in vivo experimental verification [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2023, 396(5):983
- [16] HU Z, ZHAO K, RAO X, et al. Microenvironment-responsive *Bletilla* polysaccharide hydrogel with photothermal antibacterial and macrophage polarization-regulating properties for diabetic wound healing [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 283(Pt 4):137819
- [17] ZHOU M, YUAN F, RUAN H, et al. HPLC-PDA-Guided isolation of glucosyloxybenzyl 2-isobutylmalates from the pseudobulbs of *Bletilla striata* with neuroprotective and antimicrobial activities [J]. *Phytochemistry*, 2022, 201:113287
- [18] NIU X, YU J, HUANG Q, et al. Immunoenhancement activity of *Bletilla striata* polysaccharide through MAPK and NF- κ B signalling pathways in vivo and in vitro [J]. *Autoimmunity*, 2022, 55(8):650
- [19] SUI J, TANG C, KE CQ, et al. Dimeric 9, 10-dihydrophenanthrene derivatives from *Bletilla striata* and their atropisomeric nature [J]. *Fitoterapia*, 2021, 152:104919
- [20] WANG X, ZHANG G, YU D, et al. The interaction of folate-modified *Bletilla striata* polysaccharide-based micelle with bovine serum albumin [J]. *Glycoconj J*, 2021, 38(5):585
- [21] LIU Y, SUN C, ZHANG G, et al. Bio-responsive *Bletilla striata* polysaccharide-based micelles for enhancing intracellular docetaxel delivery [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 251:127370
- [22] CHEN H, ZENG J, WANG B, et al. Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 266:118149
- [23] WANG R, QIN Y, ZHOU J, et al. Comprehensive evaluation of *Bletilla striata* and its substitutes by combining phenotypic characteristic, chemical composition, and anti-melanogenic activity [J]. *Phytochemistry*, 2022, 195:113059
- [24] LUO Y, WANG J, LI S, et al. Discovery and identification of potential anti-melanogenic active constituents of *Bletilla striata* by zebrafish model and molecular docking [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1):9
- [25] ZHAI W, WEI E, LI R, et al. Characterization and evaluation of the pro-coagulant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Bletilla striata* [J]. *ACS Omega*, 2020, 6(1):656
- [26] YAN Q, LONG X, ZHANG P, et al. Oxidized *Bletilla* rhizome polysaccharide-based aerogel with synergistic antibiosis and hemostasis for wound healing [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 293:119696
- [27] XIANG J, WANG Y, YANG L, et al. A novel hydrogel based on *Bletilla striata* polysaccharide for rapid hemostasis: synthesis, characterization and evaluation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 196:1
- [28] 赵艳, 王启斌, 郝新才, 等. 白及促创面愈合作用研究进展 [J]. *中药材*, 2020, 43(4):1027
- [29] ZHANG X, MU Y, ZHAO L, et al. Self-healing, antioxidant, and antibacterial *Bletilla striata* polysaccharide-tannic acid dual dynamic crosslinked hydrogels for tissue adhesion and rapid hemostasis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 270(Pt 2):132182
- [30] CHEN T, GUO X, HUANG Y, et al. *Bletilla striata* polysaccharide-waterborne polyurethane hydrogel as a wound dressing [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2023, 34(9):1157
- [31] CHEN G, CHANG W, LI X, et al. n-BuOH extract of *Bletilla striata* exerts chemopreventive effects on lung against SiO₂ nanoparticles through activation of Nrf2 pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 82:153445
- [32] JIANG F, HUA C, PAN J, et al. Effect fraction of *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. alleviates LPS-induced acute lung injury by inhibiting p47phox/NOX2 and promoting the Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 126:155186
- [33] ZHANG C, NING D, PAN J, et al. Anti-inflammatory effect fraction of *Bletilla striata* and its protective effect on LPS-induced acute lung injury [J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021:6684120
- [34] WANG B, ZHANG H, CHEN L, et al. Extraction, purification, and determination of the gastroprotective activity of glucomannan from *Bletilla striata* [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 246:116620
- [35] LI L, JING J, YANG S, et al. *Bletilla striata* polysaccharide nanoparticles improved the therapeutic efficacy of omeprazole on the rat gastric ulcer induced by ethanol [J]. *Mol Pharm*, 2023, 20(4):1996
- [36] LIU C, LIU A J. Structural characterization of an alcohol-soluble polysaccharide from *Bletilla striata* and antitumor activities in vivo and in vitro [J]. *Chem Biodivers*, 2022, 19(12):e202200635
- [37] LIU C, DAI K Y, JI H Y, et al. Structural characterization of a low molecular weight *Bletilla striata* polysaccharide and antitumor activity on H22 tumor-bearing mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 205:553
- [38] ZHU X, WANG J, FU Y, et al. Evaluation of whitening and antimicrobial activity of two strains of *Bletilla striata* WT and HL20 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 306:116151
- [39] 李萌, 刘方舟, 杜昱, 等. 运用数据挖掘技术分析中医美容外用方剂配伍规律 [J]. *新中医*, 2022, 54(12):16

引文格式:徐坤,许雯雯,田令,等.糖尿病相关听力下降的预防与干预研究进展[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):266-271.

糖尿病相关听力下降的预防与干预研究进展*

徐坤,许雯雯,田令,鄢金蓉,饶丽华**

(三峡大学附属第二人民医院/宜昌市第二人民医院,湖北宜昌443000)

摘要:糖尿病早期会导致双侧、渐进性的高频听力损失,其机制可能涉及线粒体基因突变、周围神经病变和微循环障碍。文章回顾了针对糖尿病患者听力损害的三级预防措施:一级预防强调健康教育与血糖控制,二级预防通过早期筛查与评估发现听力变化,三级预防包括助听器、人工耳蜗以及基因治疗等手段。分析表明,早期干预有助于延缓听力损失,改善生活质量。未来研究应聚焦于精准治疗方法和创新干预策略,如干细胞移植等,以提高糖尿病相关听力损害的治疗效果。

关键词:糖尿病;听力下降;高频损失;三级预防;基因治疗;干细胞移植

中图分类号:R764.43

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0266-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024122504



Research Progress on Prevention and Intervention of Diabetes-related Hearing Loss

XU Kun, XU Wen-wen, RAO Li-hua, et al

(Yichang Second People's Hospital, Second Affiliated Hospital of Three Gorges University, Yichang Hubei 443000, China)

ABSTRACT: Diabetes can cause bilateral, progressive high-frequency hearing loss in the early stages, and its mechanism may involve mitochondrial gene mutations, peripheral neuropathy, and microcirculatory dysfunction. The article reviews three levels of prevention for hearing impairment in diabetic patients: primary prevention emphasizes health education and glycemic control, secondary prevention detects hearing changes through early screening and assessment, and tertiary prevention includes interventions such as hearing aids, cochlear implants, and gene therapy. The analysis shows that early intervention helps delay hearing loss and improve quality of life. Future research should focus on precision therapies and innovative interventions, such as stem cell transplantation, to enhance treatment outcomes for diabetes-related hearing damage.

KEY WORDS: Diabetes mellitus; Hearing loss; High-frequency impairment; Three-level prevention; Gene therapy; Stem cell transplantation

糖尿病是因胰岛素绝对或相对分泌不足和胰岛素利用障碍引起的血糖水平慢性增高为特征的代谢疾病,糖尿病的并发症涉及全身各个系统,其中听力下降为糖尿病的并发症之一。糖尿病常导致双侧、渐进性、高频听力损失,其机制包括线粒体突变、神经病变和微循环障碍等。尽管已有治疗手段,但糖尿病相关听力损失仍影响生活质量^[1]。由于早期听力下降多发生在高频范围,而日常交流

主要依赖语频,糖尿病患者的早期听力损害常被忽视,且随着病情发展,低频听力也会受影响,进一步降低生活质量。因此,早期发现和干预显得尤为重要。为应对这一问题,提出了三级预防策略:一级预防通过血糖控制与健康教育,二级预防通过早期筛查,三级预防通过助听器和人工耳蜗等干预。本文综述了糖尿病引起听力损失的早期预防进展,并展望未来研究方向。

* 基金项目:宜昌市科技计划项目(A22-2-049)

** 通信作者, E-mail: yc2yrh@163.com

1 导致糖尿病患者早期听力下降的影响因素

糖尿病引起的听力损害涉及多个生理机制,如母系线粒体基因突变、周围神经病变、血液动力学异常、激素水平紊乱及微循环病变等。①母系线粒体 A3243G、A1555G 和 A8296G 等基因突变会引起感音神经性聋^[2]。Kanemoto 等^[3]发现线粒体 DNA 突变可引起母系遗传性糖尿病伴听力下降,表现为糖尿病伴感音性听力下降。②周围神经病变:糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病最常见慢性并发症。长期高血糖使长半衰期蛋白质糖基化,破坏了神经髓鞘的完整性,多见于第Ⅷ对脑神经髓鞘蛋白脱髓鞘^[4]。Deng 等^[5]在病理切片中发现在耳蜗底转和中间转螺旋神经节脱髓鞘严重,神经细胞缺失,也印证了高频听力下降与糖尿病的关系。③血液动力学异常:血液缓慢、淤积形成的高黏、高凝状态,易形成血栓,堵塞内耳的终末动脉,导致耳蜗内血液流变学异常,影响听力。④激素水平的影响:早期糖尿病患者的前庭功能也会受到影响,影响患者的平衡功能,El Khiati 等^[6]认为内分泌激素水平如性激素、胰岛素的代谢紊乱会影响前庭器官的功能。⑤微循环病变:Horton 等^[7]认为糖代谢紊乱与微循环基底膜修饰有关。Nguyen 等^[8]的研究表明微血管增厚导致血管纹缺血萎缩,引起糖尿病的感觉性听力下降。

2 关于糖尿病早期导致听力下降的三级预防

2.1 一级预防

一级预防又称病因预防,即在疾病发病前期,针对危险因素采取的根本性预防措施,以防止听力下降的发生。如对尚未出现听力下降的糖尿病患者进行知识宣教,避免使用耳毒性药物,避免接触噪音等。

糖尿病引起听力下降的一级预防不仅应关注血糖控制和避免耳毒性药物,更需结合糖尿病相关的特定机制展开干预。长期高血糖可导致耳蜗微循环病变、氧化应激、听觉神经脱髓鞘及内分泌紊乱,这些均是听力损害的重要因素。通过严格控制血糖(如动态血糖监测和使用二甲双胍或新型降糖药 SGLT-2 抑制剂),可改善微循环和减少氧化应激对毛细胞的损害;补充抗氧化剂(如辅酶 Q10)可进一步保护内耳功能;此外,服用神经保护药物(如吡格列酮)和调节内分泌平衡(补充锌、镁等微量元素)也有助于预防听力下降。综合应用这些措施,可以在疾病早期有效延缓听力损害的进程。

2 型糖尿病病因治疗主要以控制患者的血糖为主,有口服降糖药和胰岛素。目前传统的降糖药物包括双胍类、磺脲类等。新型降糖药包括钠-葡萄糖协同转运蛋白-2 抑制剂(sodium-dependent glucose transporter 2, SGLT-2i)、二肽基肽酶-4 抑制剂(dipeptidyl peptidase IV, DPP-4i)等,胰岛素也作为有效控制血糖重要方法之一。

1 型糖尿病患者除了上述治疗,由于其具有明显的遗

传因素,需对于有糖尿病家族史的人群进行健康宣教,普及糖尿病相关知识,特别是可能引起的听力损害,可考虑对高风险人群(如阳性自身抗体人群)进行免疫干预,如使用特定疫苗减少病毒感染。1 型糖尿病患者往往较年轻,因此,需特别注意避免接触噪声污染和耳毒性药物(如氨基糖苷类抗生素),普及听力保护知识。

有学者研究^[9-12]发现二甲双胍不仅能够有效控制血糖,还可抗炎和抗衰老,保护内耳毛细胞,有效治疗听力下降的患者。其作用机制是二甲双胍可通过减少细胞内氧自由基,减轻 DNA 损伤和突变,保护神经并诱导其再生,除此之外,二甲双胍还能激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK),AMPK 通过一氧化氮合酶来减少血管炎症并保护内皮细胞,保持内耳微循环血流灌注。Kennedy 等^[13]等将噪声聋小鼠分为雌性、雌性去子宫、雄性 3 组,予二甲双胍后,仅有雄性组在中高频段的听力有所提升,表明二甲双胍治疗听力下降存在性别差异,其疗效可能与荷尔蒙信号存在关系,这表明女性患者可能对二甲双胍治疗听力下降的敏感性偏低。

2.2 二级预防

二级预防主要是早期发现、早期检查和早期治疗糖尿病导致的听力下降,目标是控制或延缓听力下降的发展,防止其转为慢性状态。1 型和 2 型糖尿病由于引起听力下降的机制相同,但 1 型糖尿病起病早,病例少,往往血糖更难控制,需要紧密监控其他并发症,如更频繁的听力筛查(如每 6 个月一次),特别是青春期阶段易发病人群。重点监测耳蜗功能(如耳声发射检测)和前庭功能的变化。

利用量表筛查进行早期听力评估。筛查量表种类较多,较为常用的是 Newman 等^[14]建立的成人听力障碍筛查量表(hearing handicap inventory for the adult, HHIA)和言语空间音质听力量表(speech, spatial, and other qualities of hearing scale, SSQ)^[15]。目前 HHIA 量表临床应用最广泛,优势是在复杂环境中评估多个方面的听力,缺点是由于表格问题较多,耗时长,仅有是、否、有时三个答案选项,得到的结果敏感度较低。而 SSQ12 量表优势是有效可靠、易于管理、依从性好,可作为评估和改进听力评估和康复计划的工具,纳入听力康复过程,既增强了结果的灵敏度,又避免了患者随意回答对结果的影响,缺点是受试人群接受教育和文化程度有关。

经量表筛查,对有听力下降风险的人群,建议进行进一步的听力检查。临床上常用的听力检查包括纯音听阈、言语测听、畸变产物耳声发射、听性脑干诱发电位、前庭功能等,纯音听阈为最直观、简便测试患者听力的方法,为了更直观地反应患者日常实际应用听力的能力,还应该进行言语测听,通过言语识别率、言语觉察阈和言语识别阈等指标,对患者听觉功能和言语听懂程度进行评价^[16]。听力损害的早期筛查除了纯音听阈测听,还应做畸变产物耳声发射,当毛细胞由于微循环障碍缺血或者周围神经病变功能减退时,纯音听阈可能正常,但耳声发射检测能够检查出毛细胞早期病变,对听力损害检查更敏感^[17-18]。听性

脑干反应(auditory brainstem response, ABR)适用于检查听神经系统及相关听觉通路的病变^[19]。El Khiati等^[6]认为血糖代谢紊乱会影响前庭系统功能,可通过气导眼肌前庭诱发肌源性电位(ocular vestibular-evoked myogenic potential, oVEMP)和颈肌前庭诱发肌源性电位(cervical vestibular evoked myogenic potential, cVEMP)的各波波长、振幅以及双耳不对称比等指标对前庭功能进行评价,因此,对糖尿病患者进行前庭功能的检查也有筛查价值。

2.3 三级预防

三级预防是对于听力下降时间较长的糖尿病患者,通过佩戴助听器、人工耳蜗(cochlear implant, CI)植入以及基因治疗等方式,尽量保证患者生活质量。其中1型糖尿病与自身免疫密切关,可能更适合探索基因治疗和干细胞移植,针对线粒体基因突变引发的感音神经性听力损失进行修复。

助听器是一种简单有效的,作为轻至中重度听力下降患者的首选治疗方式,但是由于对助听器认识不够和体验不佳,仅有少数患者佩戴。要加强患者对助听器的了解,并注重提供优质的验配服务,个性化定制助听器。专注于以人为本听力的康复服务(person-centred hearing care, PCC)可促进听力师与患者之间建立良好的信任关系,使康复效果最优化^[20]。现代康复理念支持采用生物-心理-社会模式,更强调对患者本人意愿的关注,将综合改善患者的日常活动和社会参与度为目标,使老年人更乐于接受,助听器适配度更高,助听效果更好。

近年来的临床数据表明,CI可以使多数重度或极重度感音神经性聋患者言语识别率及纯音听阈获得显著改善,长期效果较好^[21]。CI通过系统的术后言语康复训练,可以获得更好的听力提升,对老年人认知功能有较为明显改善,提高自身生活质量。Völter等^[22]对75名老年CI植入患者进行长达5年的认知水平评估,结果表明CI对患者的即时和延迟回忆能力有积极影响,初期较为显著,后期趋于平坦,认为CI植入对老年患者认知功能有明显改善,可延缓痴呆发生。Goh等^[23]通过对11名60岁以上的CI植入患者进行回顾性研究,纯音听阈提高了70dB,噪声中的听力言语测试平均改善68%,经患者自身感受,与家人沟通改善、婚姻关系改善和生活质量提高。研究表明^[24],CI植入后,通过世界卫生组织老年人生活质量评估和Nijmegen人工耳蜗量表等系统评价,表明患者的健康相关生活质量(health-related quality of life, HRQoL)有显著改善。CI术后听力恢复效果与术后康复治疗有关,Domhoff等^[25]对CI植入患者进行一年的言语康复训练,包括面对面训练(face-to-face training)、被动家庭基础训练(passive home-based training)、计算机基础听觉训练(computer-based auditory training, CBAT),对比CI植入前后的辅音-核心-辅音音素(consonant-nucleus-consonant phoneme, CNCp)、辅音-核心-辅音词(consonant-nucleus-consonant word, CNCw)、安静环境下的阿兹比奥句子理解测试(AzBio sentence test in quiet)、人工耳蜗植入生活质量-35

项概况量表(cochlear implant quality of life - 35, CIQOL-35),发现3种训练方式对患者听力均有不同程度的改善,其中CBAT的使用与12个月时的CIQOL得分显著改善相关。Young等^[26]根据CI植入前患者自我管理的老年认知检查(elf-administered gerocognitive examination, SAGE)分为认知正常和认知受损两组,结果显示,术前认知正常的患者在术后一年的语音识别测试中比术前认知受损的患者有更大的提升,认为术前认知功能是预测术后语音识别得分的重要因素,这一影响与患者年龄无关。而Raymond等^[27]通过CNCw、AzBio Quiet和CIQOL-35指标,发现有认知障碍的和无认知障碍植入CI一年患者的言语能力无明显差别。Gökay等^[28]将植入CI的青少年分为早龄组和晚龄组进行言语记忆和音素分析测试,结果早龄组分数更高;Kral等^[29]通过电刺激早期植入CI的猫大脑,发现其听觉皮层响应区缓慢扩大,而晚期CI植入的猫皮层变化并不明显,认为随年龄增长,中枢突触的可塑性降低。而糖尿病导致的极重度聋往往是老年患者,在助听器效果不满意的情况下,CI植入对蜗前聋有一定作用,但老年人突触可塑性低,往往不能达到预期效果,需要适当降低患者期望。但CI植入仅对于耳蜗功能受损患者效果较好,对于周围神经病变可能效果不佳,若患者既有耳蜗病变,又有听神经受损,则可以先行螺旋神经节干细胞再行CI植入,联合后患者治疗将会提供更好的言语识别^[30]。

转录因子Atoh1是内耳毛细胞发育和再生的关键调节因子^[31],上调Atoh1基因可以在耳蜗的表达中产生新的毛细胞,研究证实Atoh1基因能够将耳蜗非感觉细胞直接编程为新生毛细胞^[32]。一旦Atoh1缺失或表达顺序和位置异常则会导致毛细胞发育异常而死亡^[33],因此,Atoh1是毛细胞正常发育的必要条件。Atkinson等^[34]将含有Atoh1的腺病毒载体单独或与神经营养因子-3和脑源性神经营养因子结合,注射到豚鼠耳蜗的下基底螺旋间隙中,治疗3周后发现毛细胞样细胞数量显著增加,然而并没有毛细胞突触丝的增加,听力也没有改善,表明Atoh1单独使用可以促使非感觉细胞向未成熟感觉毛细胞表型转变,但未能恢复毛细胞的全部突触丝,因此,也不能恢复听力。McGovern等^[35]将单独经Atoh1重编程的支持细胞,与Atoh1、Gfi1和Pou4f1联合重编程后的支持细胞对比,通过单向方差分析和Tukey事后检验,发现小鼠在5周和8周龄时,与单独表达Atoh1相比,Atoh1、Gfi1和Pou4f1联合表达的异位毛细胞明显更多。Atoh1是耳蜗发育过程中毛细胞形成所必需的转录因子,但单独的Atoh1不足以将成熟耳蜗中的大多数非感觉细胞重编程为毛细胞样细胞,而在耳蜗非感觉细胞中Atoh1 + Gfi1 + Pou4f1可产生大量表达多种毛细胞基因的细胞。Verdoodt等^[36]发现可以利用病毒载体或者人造纳米材料作为载体,通过小鼠圆窗膜,将某些抗炎、抗氧化的目的基因导入耳蜗毛细胞,调节毛细胞内代谢,以减少耳蜗细胞死亡。Gao等^[37]也用阳离子脂质为载体的Cas9-sgRNA复合物,改善了小鼠感音神经性听力下降。其他基因产物如HSP72、

HSP70、HSP90 等热休克蛋白也有降低耳蜗细胞氧化应激和炎症反应的作用^[38]。对于耳蜗毛细胞损伤的基因治疗及再生在动物实验上已经取得一定的成果,基因技术靶向调控 *Atoh1* 基因的表达,技术成熟后或可以对各种原因引起的毛细胞损伤进行修复。

干细胞在治疗听力损伤有多重潜力。胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs):可以分化为包含毛细胞的耳蜗感觉上皮细胞。诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs):通过重编程成熟体细胞获得,已成功分化为具有内耳毛细胞形态和电生理特性的毛细胞样细胞。成人或躯体干细胞(adult or somatic stem cells, ASCs):虽然分化能力有限,但具有抗炎性质,能促进组织再生。Takeda 等^[39]将人类干细胞植入经选择性耳蜗毛细胞损伤的小鼠 Corti 器中,并成功分化为毛细胞和支持细胞,然而移植并没有改善听力阈值。有学者认为听力没有明显改善是因为经耳蜗入路会对耳蜗造成损伤,引起不可逆的听力下降^[40]。Chen 等^[41]用乌本苷制造听觉神经病变雄性小鼠,表明 HL-MSCs 的移植对听力改善具有积极作用。Sekiya 等^[40]认为将干细胞经耳蜗或直接注入听神经容易损伤膜迷路和听神经,将供体干细胞放置在经软骨素酶 ABC 处理的听神经的胶质瘢痕表面,供体干细胞进入听神经后,与周围突出形成连接,修复受损的听神经,这种表面移植的存活成功率比神经内细胞移植更高,造成的二次损伤也更小。干细胞移植入路的选择、合适的供体细胞对于治疗的成功至关重要,并且需要考虑免疫相容性、细胞的多能性、预处理的复杂性以及成本效益等因素。目前,这种干细胞听神经表面移植仅限于动物试验,临床上的存活率和术后听觉功能改善仍是下一步的研究方向。

在以上治疗方案中,血糖管理是实现最佳疗效的关键。首先,高血糖状态下,患者内耳微循环和神经功能持续受损,这可能影响人工耳蜗植入后的术后恢复效果;持续性高血糖可能延缓手术创口愈合或增加术后感染的风险。因此,术前优化血糖管理(如维持糖化血红蛋白在理想范围内)是听力康复的前提。其次,人工耳蜗植入后,患者需要进行系统的言语康复训练,这一过程中血糖波动可能对听神经的重塑产生负面影响。稳定的血糖水平有助于神经元的可塑性恢复,提升语音识别能力和听觉康复效果^[42-43]。在糖尿病相关听力损害的三级预防中,联合多学科管理是提高康复效果的重要策略。通过建立由耳鼻喉科、内分泌科和听力康复科组成的多学科协作团队,为患者制定个性化康复计划。对于接受人工耳蜗的患者,术后需要定期监测血糖和听力功能,并结合饮食、运动等生活方式干预,以增强血糖管理效果,促进神经功能恢复和听力改善。对于助听器佩戴者,加强患者教育,帮助他们理解血糖管理对助听器使用效果的潜在影响,提升设备使用的依从性和满意度。因此,三级预防不仅限于听力损害的直接干预,还应将血糖管理融入康复全过程,实现听力功能和全身代谢健康的同步改善,最终为患者提供更优质的生活质量。

通过不同层级的预防和治疗措施,糖尿病引起的听力损害可以得到有效控制和改善。一级预防通过血糖控制与健康教育,二级预防通过早期筛查和干预,三级预防则采用助听器、人工耳蜗植入、基因治疗和干细胞移植等手段,改善患者的听力和生活质量。随着医学研究的进展,针对糖尿病引起的听力下降的治疗方法不断创新,未来有望为糖尿病患者提供更加精准和有效的治疗方案,进一步提高患者的生活质量。

3 小结

临床上糖尿病患者发生听力损害概率较高,建议对糖尿病患者定期进行听力量表筛查和听力评估,早期发现存在的听力损害,进行适当干预,延缓听力下降进展。

总的来说,通过三级预防,进行及时适当的干预,对患者的有益影响最大化。其中二甲双胍作为一种传统降糖药,近年不断有学者发现其能够通过各种通路预防或治疗听力下降,但需要更多临床数据验证其可行性,为糖尿病患者听力预防带来更多实验室依据。临床上糖尿病引起的听力下降症状与老年性聋相似,机制上也有交叉,两者鉴别较为困难,未来或有更加精确的定位检查应用于临床,以区分二者,以求对因治疗。

尽管现有的预防和治疗方法取得了一定的进展,但随着糖尿病患者数量的增加,糖尿病引起的听力下降问题仍然是一个亟待解决的挑战。未来的研究应集中于以下几个方向:首先,进一步优化现有的糖尿病治疗方案,特别是通过靶向治疗和基因治疗等新兴技术改善糖尿病引起的听力损害;其次,加强干细胞治疗与听力恢复技术的研究,探索如何通过干细胞修复内耳毛细胞或神经组织;最后,应持续关注糖尿病与听力损害的早期筛查技术,推动精准医学的发展,为患者提供个性化的治疗方案。

总之,随着医学技术的不断发展,糖尿病引起的听力损害的治疗前景将更加广阔,但仍需要更多的基础和临床研究为最终的解决方案提供理论支持和实践依据。

参考文献:

- [1] SAHNI D, BHAGAT S, BHATIA L, et al. Association between metabolic syndrome and hearing impairment: a study on 200 subjects [J]. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2024, 76(1):262
- [2] SAHARA T, KASHIO A, KAMOGASHIRA T, et al. Cochlear implantation for progressive hearing loss caused by an A8296G mutation in mitochondrial DNA [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2024, 51(1):82
- [3] KANEMOTO K, KASHIO A, OGATA E, et al. Cochlear implantation in patients with mitochondrial gene mutation: decline in speech perception in retrospective long-term follow-up study [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(4):482
- [4] GIRAUDET F, MULLIEZ A, DE RESENDE L M, et al. Impaired auditory neural performance, another dimension

- of hearing loss in type-2 diabetes mellitus [J]. *Diabetes Metab*, 2022, 48(6):101360
- [5] DENG Y, CHEN S, HU J. Diabetes mellitus and hearing loss [J]. *Mol Med*, 2023, 29(1):141
- [6] EL KHIATI R, TIGHLET B, BESNARD S, et al. Vestibular disorders and hormonal dysregulations: state of the art and clinical perspectives [J]. *Cells*, 2023, 12(4):656
- [7] HORTON W B, BARRETT E J. Microvascular dysfunction in diabetes mellitus and cardiometabolic disease [J]. *Endocr Rev*, 2021, 42(1):29
- [8] NGUYEN P T T, SONG H, KIM B, et al. Age-related hearing loss was accelerated by apoptosis of spiral ganglion and stria vascularis cells in ApoE KO mice with hyperglycemia and hyperlipidemia [J]. *Front Neurol*, 2022, 13:1016654
- [9] MEN J, ZHANG L, PENG R, et al. Metformin ameliorates 2.856 GHz microwave-radiation-induced reproductive impairments in male rats via inhibition of oxidative stress and apoptosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15):12250
- [10] MU-U-MIN R B A, DIANE A, ALLOUCH A, et al. Ca²⁺-mediated signaling pathways: a promising target for the successful generation of mature and functional stem cell-derived pancreatic beta cells in vitro [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(6):1577
- [11] VOROTNIKOV A V, KHAPCHAEV A Y, NICKASHIN A V, et al. In vitro modeling of diabetes impact on vascular endothelium: are essentials engaged to tune metabolism? [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(12):3181
- [12] BU Y, PENG M, TANG X, et al. Protective effects of metformin in various cardiovascular diseases: clinical evidence and AMPK-dependent mechanisms [J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(19):4886
- [13] KENNEDY C L, SHUSTER B, AMANIPOUR R, et al. Metformin protects against noise-induced hearing loss in male mice [J]. *Otol Neurotol*, 2023, 44(9):956
- [14] NEWMAN C W, WEINSTEIN B E, JACOBSON G P, et al. The hearing handicap inventory for adults: psychometric adequacy and audiometric correlates [J]. *Ear and Hearing*, 1990, 11(6):430
- [15] 孟令辉, 欧华, 李昌亚, 等. 简版言语空间音质听力量表(SSQ12)汉化版本的信效度及敏感性分析 [J]. *中华耳科学杂志*, 2021, 19(4):597
- [16] 迟放鲁. 汉语普通话言语测听的发展 [J]. *中国眼耳鼻喉科杂志*, 2024, 24(1):12
- [17] GEDAWY A, AL-SALAMI H, DASS C R. Biochemical changes to the inner ear contributing to diabetes-induced hearing loss: possible pharmacological targets for therapy [J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2024, 76(4):295
- [18] SAMANTH R, SHENOY V, SREEDHARAN S, et al. Effect of preeclampsia and gestational diabetes mellitus on neonatal distortion product otoacoustic emissions: a tertiary care center study [J]. *Ann Oto Rhinol Laryn*, 2023, 132(9):985
- [19] 兰兰, 王秋菊. 听性脑干反应临床实践--技术应用到疾病诊断 [J]. *中国听力语言康复科学杂志*, 2022, 20(3):161
- [20] 冯定香. 以人为本医疗服务中的听力康复 [J]. *中国听力语言康复科学杂志*, 2022, 20(6):401
- [21] MURR A T, CANFAROTTA M W, O'CONNELL B P, et al. Speech recognition as a function of age and listening experience in adult cochlear implant users [J]. *Laryngoscope*, 2021, 131(9):2106
- [22] VÖLTER C, GÖTZE L, DAZERT S, et al. Longitudinal trajectories of memory among middle-aged and older people with hearing loss: the influence of cochlear implant use on cognitive functioning [J]. *Front Aging Neurosci*, 2023, 15:1220184
- [23] GOH B S, TAN I, ABDULLAH A, et al. Cochlear implantation in older adults: 15 years' experience of a tertiary centre in a developing country [J]. *Acta Oto-Laryngologica*, 2024, 114(3):175
- [24] ANDRIES E, GILLES A, TOPSAKAL V, et al. Systematic review of quality of life assessments after cochlear implantation in older adults [J]. *Audiol Neurotol*, 2021, 26(2):61
- [25] DORNHOFFER J R, SHANNON C, SCHVARTZ-LEYZAC K C, et al. Computer-based auditory training by new adult cochlear implant recipients is associated with durable improvements in cochlear implant quality of life [J]. *Ear and Hearing*, 2024, 45(4):905
- [26] YOUNG A, FECHTNER L, KIM C, et al. Long-term cognition and speech recognition outcomes after cochlear implantation in the elderly [J]. *American Journal of Otolaryngology*, 2024, 45(1):104071
- [27] RAYMOND M J, MA C, SCHVARTZ-LEYZAC K C, et al. Association of cognitive impairment screening scores with improvements in speech recognition and quality of life after cochlear implantation [J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2023, 149(4):344
- [28] GÖKAY N Y, ATALIK G, TRANK Ş B, et al. Evaluation of verbal working memory and phonemic analysis skills in adolescents with cochlear implant [J]. *International Archives of Otorhinolaryngology*, 2023, 27(4):e662
- [29] KRAL A, DORMAN M F, WILSON B S. Neuronal development of hearing and language: cochlear implants and critical periods [J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2019, 42(1):47
- [30] CRONER A M, HESHMAT A, SCHROTT-FISCHER A,

- et al. Effects of degrees of degeneration on the electrical excitation of human spiral ganglion neurons based on a high-resolution computer model [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2022, 16:914876
- [31] SHIBATA S B, WEST M B, DU X, et al. Gene therapy for hair cell regeneration: review and new data [J]. *Hearing Research*, 2020, 394:107981
- [32] ABDUL-AZIZ D, HATHIRAMANI N, PHUNG L, et al. HIC1 represses Atoh1 transcription and hair cell differentiation in the cochlea [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(4):797
- [33] KALRA G, LENZ D, ABDUL-AZIZ D, et al. Cochlear organoids reveal transcriptional programs of postnatal hair cell differentiation from supporting cells [J]. *Cell Reports*, 2023, 42(11):113362
- [34] ATKINSON P J, WISE A K, FLYNN B O, et al. Hair cell regeneration after Atoh1 gene therapy in the cochlea of profoundly deaf adult guinea pigs [J]. *PloS One*, 2014, 9(7):e102077
- [35] MCGOVERN M M, HOSAMANI I V, NIU Y, et al. Expression of Atoh1, Gfi1, and Pou4f3 in the mature cochlea reprograms nonsensory cells into hair cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2024, 121(5):e2304680121
- [36] VERDOODT D, PEELEMAN N, VAN CAMP G, et al. Transduction efficiency and immunogenicity of viral vectors for cochlear gene therapy: a systematic review of pre-clinical animal studies [J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2021, 15:728610
- [37] GAO X, TAO Y, LAMAS V, et al. Treatment of autosomal dominant hearing loss by in vivo delivery of genome editing agents [J]. *Nature*, 2018, 553(7687):217
- [38] STAIKOU A, SAGONAS K, SPANOUDI O, et al. Activities of antioxidant enzymes and Hsp levels in response to elevated temperature in land snail species with varied latitudinal distribution [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2024, 269:110908
- [39] TAKEDA H, DONDZILLO A, RANDALL J A, et al. Selective ablation of cochlear hair cells promotes engraftment of human embryonic stem cell-derived progenitors in the mouse organ of Corti [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):352
- [40] SEKIYA T, HOLLEY M C. Cell transplantation to restore lost auditory nerve function is a realistic clinical opportunity [J]. *Cell Transplant*, 2021, 30:9636897211035076
- [41] CHEN H C, LIANG C M, WANG C H, et al. Transplantation of human limbus-derived mesenchymal stromal cells via occipital approach improves hearing in animal auditory neuropathy [J]. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 2019, 117:67
- [42] MCKAY C M. Brain plasticity and rehabilitation with a cochlear implant [J]. *Advances in Hearing Rehabilitation*, 2018, 81:57
- [43] HAN J H, LEE H J, KANG H, et al. Brain plasticity can predict the cochlear implant outcome in adult-onset deafness [J]. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2019, 13:38

(收稿日期:2024-12-25)

引文格式:黄绿,叶燕丽,吴甘霖,等.尿外泌体在糖尿病肾病诊断和治疗中的研究进展[J].湖北科技学院学报(医学版),2025,39(3):272-276.

尿外泌体在糖尿病肾病诊断和治疗中的研究进展*

黄绿¹,叶燕丽²,吴甘霖^{3**},徐魁³,高亚娜³

(1.湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁437100;2.湖北科技学院附属第二医院;
3.湖北科技学院医学部临床医学院)

摘要:本文综合了近年来尿外泌体在糖尿病肾病(DN)诊断和治疗中的研究进展。主要从外泌体的生物学特性、尿外泌体的分离和种类、尿外泌体在DN早期诊断中的潜力和尿源性干细胞外泌体(USCs-Exo)在DN治疗中的前景等方面逐层展开阐述。分析表明未来仍需开展大规模的临床前试验和临床试验,结合多组学技术,以寻找更敏感的早期诊断标志物,并发现更有效和安全的靶向治疗策略。

关键词:尿外泌体;糖尿病肾病;尿源性干细胞外泌体

中图分类号:R587.1

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2025)03-0272-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024120504

Research Progress of Urinary Exosomes in the Diagnosis and Treatment of Diabetic Nephropathy

HUANG Lü, YE Yan-li, WU Gan-lin, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

ABSTRACT: This paper comprehensively reviews recent research progress on urinary exosomes in the diagnosis and treatment of diabetic nephropathy (DN). It mainly elaborates on the biological characteristics of exosomes, the isolation and types of urinary exosomes, the potential of urinary exosomes in early diagnosis of DN, and the prospects of urinary stem cell-derived exosomes (USCs-Exo) in the treatment of DN. The analysis shows that large-scale preclinical and clinical trials are still needed in the future, combined with multi-omics technologies, to find more sensitive early diagnostic markers and to discover more effective and safe targeted therapeutic strategies.

KEY WORDS: Urinary exosomes; Diabetic nephropathy; Urinary stem cell-derived exosomes

随着社会经济迅速发展,糖尿病患病率急剧上升^[1]。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)也成为影响人类健康的一个社会问题。糖尿病导致的肾脏损害是全方位的,几乎累及肾小球、肾小管、肾间质和肾脏血管的所有结构。糖尿病微血管病变是糖尿病患者死亡的主要原因,根据中国大城市的2型糖尿病流行病学调查,糖尿病肾病占糖尿病微血管病变的39.7%^[2]。DN的发病机制复杂,如血流动力学异常、晚期糖基化产物、自噬失常、肾小管上皮细胞转分化、炎症和氧化应激等,传统的诊断方法主要依赖于尿蛋白的检测,存在许多局限。目前DN的治疗策略侧重于症状缓解,缺乏彻底阻止或逆转DN进展的有效方法。

因此,寻找新的生物标志物和治疗手段成为DN研究的重要方向。

尿液可以无创大量收集,也可以重复采样,未来可能替代血液或组织样本成为诊断疾病的生物标志物。尿外泌体是由肾脏上皮细胞(包括足细胞、肾小管细胞和由泌尿系统衬覆的移行上皮细胞)释放的小囊泡^[3],检验外泌体标志物的尿量可以至少至0.5mL。在正常受试者样本中,约3%的尿蛋白来源于外泌体。因此,从尿液中分离外泌体可以获得30倍以上的外泌体蛋白富集,从而通过免疫化学方法或质谱(MS)方法即能检测到占全尿微量成分的蛋白质^[4]。并且,尿外泌体未受尿沉渣的污染,与全尿相

* 基金项目:湖北省大学生创新创业训练计划项目(202310927009)

** 通信作者, E-mail: ganlinwu@163.com

比也提高了诊断的潜力。尿液中外泌体的变化能够反映肾脏细胞的功能状态和病理变化,在DN的早期诊断中展现出巨大的潜力。尿源性干细胞(urine-derived stem cells, USCs)是一种从人体尿液中分离出来的成体干细胞的特殊类型,USCs衍生的尿外泌体(USCs-Exo)具有一系列独特的特性,尤其是具有更高的泌尿系亲和性^[5],在泌尿系统和DN治疗中有很好的前景。本文总结了相关文献,从外泌体的生物学特性、尿外泌体的分离和种类、尿外泌体在DN早期诊断中的潜力和USCs-Exo在DN治疗中的前景等4个方面阐述了它们在DN中的潜在用途,以期为DN的防治提供新的思路和方法。

1 外泌体的生物学特性

外泌体是分泌到细胞外基质或体液中的纳米级囊泡(40~100nm),源自内吞作用,由多泡体与膜融合形成,富含双层质膜和细胞质蛋白,携带了丰富的生物信息,如蛋白质、核酸、酶、脂质、RNA(包括mRNA、miRNA、lncRNA等)、DNA片段等。细胞间通讯在调节生理和病理生理过程中起着关键作用。近年来,外泌体作为一种新型的细胞间通讯介质^[5],可以将许多信号分子传递到邻近或遥远的细胞^[6-8],逐渐成为生物医学研究的热点。来自不同细胞来源的外泌体具有共同的特征性生物分子,包括四跨膜蛋白超家族(CD63、CD9、CD81、CD82等),参与外泌体膜组成的脂质神经酰胺,参与外泌体形成和分泌的ALIX(PD-C61P)以及其它骨架蛋白或信号蛋白,反映了外泌体的许多共同生物学功能,如介导细胞间通讯或膜物质转移^[9-10]以及遗传信息转移等。外泌体的生物学作用与其分子含量有关,由分泌细胞决定并受细胞生理调节。在病理条件下,如葡萄糖浓度的改变、氧张力的变化或者肾素-血管紧张素-醛固酮系统^[11]的激活,其分子含量可以被改变。大多数细胞类型在体外可以将外泌体释放到细胞培养基中,使其易于进行蛋白质组学和转录组学分析。这支持了有关外泌体的分析为疾病诊断和治疗提供有价值信息的假设^[12-13]。

2 尿外泌体的分离和种类

外泌体很容易从尿液中分离出来。随着分离、纯化和表征分子组成的新技术发展,人们对尿液外泌体作为非侵入性生物标志物的研究兴趣显著增加。高通量测序技术和质谱分析技术的发展,使得尿外泌体中的生物分子检测更加便捷和准确。Pisitkun等^[14]首次报道了尿液中存在外泌体,通过超速离心法将其分离出来,并通过电子显微镜对其进行了表征。目前,用于分离尿液中外泌体的方法已经相当成熟。尿外泌体的分离方法包括但不限于超速离心法、蔗糖密度梯度法、超滤法、沉淀法、免疫亲和层析法和尺寸排阻法等。

另外,对于血液外泌体是否可以穿过肾小球滤过屏障到达尿液是有争议的。Ranghino等^[15]认为血外泌体不能通过肾小球滤过孔到达尿液,但是,Erdbrügger等^[16]的研

究发现尿液外泌体是可以穿过肾小球滤过屏障的囊泡,这也导致了尿外泌体的来源存在一定争议。总之,尿外泌体种类多样,成分和功能也各不相同,主要来源于泌尿系细胞。尿外泌体的种类取决于它们的起源细胞类型,包括但不限于肾小管细胞、膀胱上皮细胞、尿道上皮细胞等。

3 尿外泌体在DN诊断中的潜力

DN的患病率在全球范围内增加,表现为白蛋白排泄率(AER)增加以及组织学上细胞外基质增多、肾小球基底膜增厚、肾小管肥大和间质纤维化。虽然尿液AER可用于评估DN风险,但是也存在严重的局限性,如滞后性、预后不可预测、灵敏度有限等,部分患者即使没有蛋白尿也存在肾脏损害,称为非白蛋白尿性DN。因此,迫切需要寻找其它生物标志物如微小RNA(miRNA)或蛋白类等提高DN的早期诊断率。

3.1 尿外泌体来源RNA在DN诊断中的探索

Hideharu等^[17]对20名DN患者的重度蛋白尿以及健康对照者的尿外泌体WT1(Wilms'tumor suppressor 1)mRNA进行了比较,WT1基因转录产物为mRNA,对于维持成熟足细胞的稳态具有关键作用,能够调节许多基因,如PODXL、nephrin、BMP7等。在该项研究中,WT1 mRNA被鉴定为1型DN(T1DN)的诊断生物标志物,曲线下面积(AUC)为0.705。

而miRNAs在DN的诊断中似乎扮演着更重要的角色。miRNA是一类短的非编码RNA,是基因表达的重要转录后调控因子,控制生物过程的转录后调节。miRNAs以一种非常稳定的形式存在于尿液中,主要包装在外泌体这类细胞外囊泡内。尿外泌体miRNA向其他细胞传递信息,调节DN的病理生理过程。以下从动物研究、临床研究和生物信息研究方面重点阐述。

(1)动物研究。Mohan等^[18]的研究发现,DM大鼠的尿外泌体中miR-451-5p显著上升,特别是在3~6周期间其增长倍数超过1000,并且与肾小球内miR-145的过表达相平行。6周时miR-451-5p水平能够预测9周时尿蛋白水平。对于miR-16也观察到了延迟但显著上升趋势。该研究得出结论,升高的尿外泌体miR-451-5p和miR-16可能对糖尿病引起的肾脏纤维化具有保护作用,并且miR-451-5p作为早期、敏感非侵入性指标,可能具有判断DN预后的价值。

(2)临床研究。在Delic等^[19]的临床研究中,使用miRNA微阵列技术对尿液外泌体进行miRNA谱分析,发现了多种miRNA的变化。DN患者、糖尿病患者与健康对照者相比,有16种miRNA种类的表达发生了2倍以上的变化,其中14种miRNA如miR-320c、miR-6068、miR-1234-5p、miR-6133、miR-4270等的表达上调,而2种miRNA如miR-30d-5p和miR-30e-5p的表达下调。其中差异性最明显的miRNAs为miR-320c和miR-6068,它们有望成为DN的早期生物标志物。还发现失调的miR-320c可能通过靶

向血小板反应蛋白 1(TSP-1)影响 TGF- β 信号通路,这需要在未来的研究中进一步评估。

Barutta 等^[20]评估了 1 型糖尿病患者尿液外泌体中 miRNA 的表达,并观察到了 miRNA 不一致的变化。在微量白蛋白尿患者的尿液外泌体中,miR-130a 和 miR-145 富集,miR-155 和 miR-424 减少,而 miR-145 可能作为诊断早期 DN 的候选生物标志物。

在另一项临床研究中,Han 等^[21]不仅评估了尿外泌体 miR 与白蛋白尿的关系,还分析了多种危险因素的相关性。DN 组尿外泌体中 miR-145-5p 和 miR-27a-3p 的表达比 DM 组更高,其水平与白蛋白尿和血清肌酐呈正相关,与估算的肾小球滤过率呈负相关。miR-27a-3p 还与血糖、糖化血红蛋白 A1c 和低密度脂蛋白胆固醇密切相关。ROC 分析显示,miR-145-5p 在 DN 诊断中的曲线下面积为 0.88,优于 miR-27a-3p 的 0.71。尿外泌体中的 miR-145-5p 和 miR-27a-3p 可能作为 DN 新的无创诊断生物标志物。

(3)生物信息分析。Han 等^[21]进一步利用生物信息学对 miR-145-5p 的目标基因进行了分析,发现其位于肌动蛋白丝、细胞骨架和胞外分泌体中,参与 DN 的病理过程,包括细胞凋亡、炎症和纤维化。

Eissa 等^[22]采用基于计算机检索设计和分析一组与 DN 相关的新型 miRNAs 生物标志物,并评估其在 DN 诊断中的实用性。PCR 阵列分析结果显示,miR-15b、miR-34a 和 miR-636 在 2 型 DN 患者的尿外泌体中呈上调状态,并发现这些 miRs 与血清肌酐、尿蛋白/肌酐比之间存在正相关关系。

在 Eissa 等^[23]的另一项研究分析了公共 miRNA 数据库,应用了组合目标预测算法。通过定量 RT-PCR 检测 210 名参与者尿外泌体的差异表达,检测出 3 个 miRNAs 为 DN 生物标志物:miR-133b、miR-342 和 miR-30a,并且发现这些标志物在白蛋白尿之前已经发生了分子变化。

Assmann 等^[24]进行了更为系统的文献回顾及生物信息学分析。该研究首先在 PubMed 和 EMBASE 数据库中搜索了所有 DN 患者、单纯糖尿病患者或健康受试者之间的研究。这些研究分析了肾脏活检、尿液/尿外泌体或全血/血浆/血清中的 miRNA 表达。然后对 DN 患者中变化一致的 miRNAs 进行生物信息学分析,以检索它们的潜在靶基因并识别可能调控的信号通路。系统一共回顾了 27 项研究,在 151 个失调 miRNAs 中,筛选出 6 个尿外泌体 miRNAs,在 DN 与对照组相比时表现出一致的失调:miR-21-5p、miR-29a-3p、miR-126-3p、miR-192-5p、miR-214-3p 和 miR-342-3p。生物信息学分析表明,这 6 个 miRNAs 参与了与 DN 发病机制相关的通路,如细胞凋亡、纤维化和细胞外基质积累,在 DN 的不同阶段出现变化,构成该疾病的潜在生物标志物。

3.2 尿外泌体来源蛋白在 DN 诊断中的探索

目前外泌体的蛋白质组学分析得到了广泛应用。通过 LC-MS/MS 技术,在正常人尿液外泌体内鉴定出 1000 多

种蛋白质^[25-27]。在其他研究中,存在于外泌体中的多种蛋白质也被鉴定为肾脏和泌尿生殖系统疾病的生物标志物^[28]。尿外泌体来源蛋白在 DN 诊断中的作用主要集中在临床研究和动物实验,也有少量体外研究探索了相关机制。

(1)临床研究。Gudehithlu 等^[29]发现 DN 患者尿外泌体中两种关键蛋白(明胶酶和铜蓝蛋白)的变化与这些酶在肾脏组织中的变化一致。相反,在 DN 患者全尿液样本中,这两种酶的活性与肾脏组织中的水平不一致。该研究反映了尿外泌体比全尿样本更具备 DN 的诊断潜力。

威尔姆斯瘤 1 蛋白(WT1)是一种锌指转录因子,被认为与足细胞损伤有关。有研究表明^[30],DN 患者尿外泌体中 WT1 蛋白的水平与尿白蛋白肌酐比(ACR)、血清肌酐成正相关,与估算肾小球滤过率(eGFR)呈负相关。C-megalin 是一种大型的跨膜蛋白,在肾脏中具有重要的生理功能,如介导肾小管的重吸收作用及参与调节钙磷代谢等。De 等^[31]的研究显示,尿 C-megalin 蛋白排泄与 T2DM 中 DN 的进展相关,尤其是与近端小管中 megalin 蛋白介导的溶酶体功能障碍有关。因此,它可能是一个与 DN 发病机制相关的候选生物标志物。

CD63 属于四次跨膜蛋白家族成员,在细胞信号传导、细胞黏附、迁移等多种生物过程中发挥作用。在一项临床研究中^[32],将 21 名患者随机分为正常白蛋白尿组和微量白蛋白尿组,结果发现,正常白蛋白尿组尿外泌体 CD63 表达比微量白蛋白尿组更高,认为尿液中 CD63 阳性的外泌体可能是 DN 诊断的潜在敏感指标。

Zubiri 等^[33]使用光谱计数 LC-MS/MS 分析和选择性反应监测确认,应用最佳方法研究 DN 和对照组中人尿外泌体的蛋白质组,鉴定出 352 种与人类尿液外泌体相关的蛋白质,其中有 3 种在 DN 中发生变化(AMBIP、MLL3 和 VDACC1)。

(2)临床和动物研究。Elf3(E74-like factor 3)是 ETS 转录因子家族的一员,通过与 DNA 上的特定序列结合来调控基因表达,影响细胞分化、增殖以及应激反应等。一项临床和动物研究提示^[34],从 DN 患者获得的尿外泌体 Elf3 可以作为足细胞损伤的分子标志物,并且可以预测未来几年 eGFR 的下降(高度相关, $R^2=0.7259$)。

Regucalcin 属于钙结合蛋白,研究^[35]发现,DN 肾脏组织 Regucalcin 表达减少,这一显著变化也反映在 DN 患者的尿外泌体中。因此,钙结合调节蛋白代表了一种新工具,应当探索尿外泌体 Regucalcin 对于 DN 的早期诊断和进展监测的可能性。

(3)体外研究。Zhang 等^[36]探索了肾细胞之间存在外泌体转移的相关机制。高糖诱导的肾小球系膜细胞分泌的外泌体(GME)导致足细胞损伤,黄连素治疗降低了 GME 中的 TGF- β 水平,从而保护足细胞免于凋亡。而缺氧诱导因子-1(HIF-1)增加了肾近端小管细胞的外泌体产生,阻碍了肾小管上皮细胞的凋亡,表明 HIF-1 介导的外泌体具有肾脏保护作用。

4 USCs-Exo 在 DN 治疗中的前景

干细胞是一大类具有自我更新能力和分化成多种细胞类型潜能的细胞。健存肾单位的进行性损毁是各种慢性肾脏病包括 DN 进展至慢性肾衰竭的根本原因,如果能够成功重建肾单位祖细胞,或者利用干细胞的某些功能修复受损的肾脏,将是 DN 及慢性肾脏病领域的突破性进展,有可能给 DN 的治疗带来新的策略。USCs-Exo 具备非侵入性获取、易于制备和纯化、多向分化潜能、调节免疫反应、抗纤维化作用、促进血管生成和组织修复等特性。

Jiang 等^[37]建立链脉佐菌素诱导的 DN 大鼠模型后,连续 12 周尾静脉注射 USCs-Exo,然后观察对肾脏损伤和血管生成的影响。同时将高糖培养的足细胞用 USCs-Exo 处理,以测试其对足细胞凋亡的保护作用。结果发现,USCs-Exo 的静脉注射可减少尿微量白蛋白排泄,防止足细胞和肾小管上皮细胞凋亡,抑制 caspase-3 过表达,并增加肾小球内皮细胞增殖。

环状 RNA(circRNA)是一类具有闭合环状结构的非编码 RNA 分子,它们可能通过减轻炎症反应、氧化应激和纤维化延缓 DN 的进程。基于此,Sun 等^[38]探讨了 USCs-Exo-circRNA ATG7 介导 DN 进展的潜在机制。通过体内内外实验证实,上调 circRNA ATG7 表达可以减轻 DN 的肾脏损害,其机制是通过 miR-4500 调节 SOCS1/STAT3 信号通路,促进巨噬细胞从 M1 到 M2 表型的转换,从而抑制 DN 的进展。亦有研究^[39]表明,人 USCs-Exo 中过表达的 miR-16-5p 能够保护由高糖诱导的人足细胞,抑制血管内皮生长因子 A 表达及足细胞凋亡,为 DN 的治疗方法提供新的见解。

血管病理和损伤是糖尿病靶器官损害的重要因素。有研究^[40]探索了 USCs-Exo 对于高糖状态下的血管修复生成的影响及机制。通过对 USCs 进行缺氧预处理来增强外泌体的血管生成潜力。缺氧诱导的外泌体负载水凝胶促进了内皮细胞的增殖、迁移和血管形成。增强血管生成的潜在机制可能与经典 HIF-1 α 信号通路的激活有关。

5 小结与展望

尽管尿外泌体和 USCs-Exos 在 DN 的早期筛查、监测疾病进展、预后和治疗方面展现出巨大潜力,但仍存在一些亟待解决的问题。例如,建立统一的尿外泌体提取标准,确保实验结果的可重复性和可靠性;开展大规模的临床前试验和临床试验,评估 USCs-Exos 治疗的安全性和有效性。未来的研究可以结合多组学技术,以寻找更敏感的早期诊断标志物,并发现更有效和安全的靶向治疗策略。

参考文献:

- [1] 姚月,郭霜,郭西英,等.姜黄素缓解糖尿病小鼠脑组织氧化损伤的机制研究[J].湖北科技学院学报(医学版),2024,38(3):185
- [2] YANG J, LIU Z. Mechanistic pathogenesis of endothelial

- dysfunction in diabetic nephropathy and retinopathy[J]. Front Endocrinol (Lausanne),2022,13:816400
- [3] KHAN N U, LIN J, LIUX, et al. Insights into predicting diabetic nephropathy using urinary biomarkers[J]. Biochim-Biophys Acta Proteins Proteom,2020,1868(10):140475
- [4] ZHOU H, YUEN P S, PISITKUN T, et al. Collection, storage, preservation, and normalization of human urinary exosomes for biomarker discovery[J]. Kidney Int,2006,69:1471
- [5] BURDEYRON P, GIRAUD T, HAUET T, et al. Urine-derived stem/progenitor cells: a focus on their characterization and potential[J]. World J Stem Cells, 2020, 12(10):1080
- [6] ALENQUER M, AMORIM M J. Exosome biogenesis, regulation, and function in viral infection[J]. Viruses,2015,7(9):5066
- [7] BORGES F T, MELO S A, ÖZDEMIR B C, et al. TGF- β 1-containing exosomes from injured epithelial cells activate fibroblasts to initiate tissue regenerative responses and fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol,2013,24:385
- [8] LAWSON C, VICENCIO J M, YELLON D M. Microvesicles and exosomes: new players in metabolic and cardiovascular disease[J]. J Endocrinol,2016,228:R57
- [9] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. Science,2020,367(6478):eaau6977
- [10] CAMUSSI G, DEREGIBUS M, BRUNO S, et al. Exosome/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication[J]. Kidney Int,2010,78:838
- [11] QI Y, WANG X, ROSE K L, et al. Activation of the endogenous renin-angiotensin-aldosterone system or aldosterone administration increases urinary exosomal sodium channel excretion[J]. J Am Soc Nephrol,2016,27:646
- [12] ZHOU H, PISITKUN T, APONTE A, et al. Exosomal fetuin-a identified by proteomics: a novel urinary biomarker for detecting acute kidney injury[J]. Kidney Int,2006,70:1847
- [13] TAYLOR D D, GERCEL-TAYLOR C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol,2008,110:13
- [14] PISITKUN T, SHEN R F, KNEPPER M A. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004,101:13368
- [15] ANDREA R, VERONICA D, ELLI P, et al. Extracellular vesicles in the urine: markers and mediators of tissue damage and regeneration[J]. Clin Kidney J,2015,8(1):23
- [16] ERDBRÜGGER U, BLIJNDORP C J, BIJNSDORP I V, et al. Urinary extracellular vesicles: a position paper by the urine task force of the international society for extracellular vesicles[J]. J Extracell Vesicles, 2021, 10(7):

- e12093
- [17] HIDEHARU A, AKIKO S, HIROYUKI O, et al. Urinary exosomal mRNA of WT1 as diagnostic and prognostic biomarker for diabetic nephropathy[J]. *J Med Invest*, 2018, 65(3.4):208
- [18] MOHAN A, SINGH R S, KUMARI M, et al. Urinary exosomal microRNA-451-5p is a potential early biomarker of diabetic nephropathy in rats [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0154055
- [19] DELIC D, EISELE C, SCHMID R, et al. Urinary exosomal miRNA signature in type II diabetic nephropathy patients[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0150154
- [20] FEDERICA B, MARINELLA T, ALESSANDRO C, et al. Urinary exosomal microRNAs in incipient diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e73798
- [21] HAN L L, WANG S H, YAO M Y, et al. Urinary exosomal microRNA-145-5p and microRNA-27a-3p act as noninvasive diagnostic biomarkers for diabetic kidney disease [J]. *World J Diabetes*, 2024, 15(1):92
- [22] EISSA S, MATBOLI M, ABOUSHAHBA R, et al. Urinary exosomal microRNA panel unravels novel biomarkers for diagnosis of type 2 diabetic kidney disease[J]. *Diabetes Complications*, 2016, 30(8):1585
- [23] EISSA S, MATBOLI M, BEKHET M M. Clinical verification of a novel urinary microRNA panel:133b, -342 and -30 as biomarkers for diabetic nephropathy identified by bioinformatics analysis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83:92
- [24] ASSMANN T S, MARIANA R M, DE S B M, et al. MicroRNAs and diabetic kidney disease: systematic review and bioinformatic analysis [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 477:90
- [25] MOON P G, LEE J E, YOU S, et al. Proteomic analysis of urinary exosomes from patients of early IgA nephropathy and thin basement membrane nephropathy [J]. *Proteomics*, 2011, 11:2459
- [26] HOGAN M C, MANGANELLI L, WOOLLARD J R, et al. Characterization of PKD protein-positive exosome-like vesicles[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20:278
- [27] GONZALES P A, PISITKUN T, HOFFERT J D, et al. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20:363
- [28] NILSSON J, SKOG J, NORDSTRAND A, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100:1603
- [29] GUDEHITHLU K P, GARCIA-GOMEZ I, VERNIK J, et al. In diabetic kidney disease urinary exosomes better represent kidney specific protein alterations than whole urine[J]. *Am J Nephrol*, 2015, 42:418
- [30] KALANI A, MOHAN A, GUPTA A, et al. Wilm's tumor-1 protein levels in urinary exosomes from diabetic patients with or without proteinuria [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e60177
- [31] DE S, KUWAHARA S, HOSOJIMA M, et al. Exocytosis-mediated urinary full-length megalin excretion is linked with the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2017, 66(10):2821
- [32] SUN H, WEIFENG, TANG Y, et al. Urinary exosomes as a novel biomarker for evaluation of α -lipoic acid's protective effect in early diabetic nephropathy [J]. *J Clin Lab Anal*, 2017, 31(6):e22129
- [33] ZUBIRI I, POSADA-AYALA M, SANZ-MAROTO A, et al. Diabetic nephropathy induces changes in the proteome of human urinary exosomes as revealed by label-free comparative analysis [J]. *Proteomics*, 2014, 96(1):92
- [34] SAKURAI A, ONO H, OCHI A, et al. Involvement of E1f3 on Smad3 activation-dependent injuries in podocytes and excretion of urinary exosome in diabetic nephropathy [J]. *PLoS One*, 2019, 14(5):e0216788
- [35] ZUBIRI I, POSADA-AYALA M, BENITO-MARTIN A, et al. Kidney tissue proteomics reveals regucalcin downregulation in response to diabetic nephropathy with reflection in urinary exosomes [J]. *Transl Res*, 2015, 166(5):474
- [36] ZHANG W, ZHOU X, YAO Q, et al. HIF-1-mediated production of exosomes during hypoxia is protective in renal tubular cells [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(5):F906
- [37] JIANG Z Z, LIU Y M, NIU X, et al. Exosomes secreted by human urine-derived stem cells could prevent kidney complications from type I diabetes in rats [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1):24
- [38] SUN Y, ZHAO Y, LU Y, et al. Urinary stem cell-derived exocrine circRNA ATG7 regulates the SOCS1/STAT3 signaling pathway through miR-4500, inhibits M1 macrophage polarization, and alleviates the progression of diabetes nephropathy [J]. *Int Urol Nephrol*, 2024, 56(4):1449
- [39] DUAN Y R, CHEN B P, CHEN F, et al. Exosomal microRNA-16-5p from human urine-derived stem cells ameliorates diabetic nephropathy through protection of podocyte [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 25(23):10798
- [40] FAN M H, ZHANG X Z, JIANG Y L, et al. Exosomes from hypoxic urine-derived stem cells facilitate healing of diabetic wound by targeting SERPINE1 through miR-486-5p [J]. *Biomaterials*, 2024, 314:122893

(收稿日期:2024-12-05)

弘德 博学 敏行 敢先



庆祝湖北科技学院咸宁医学院 办学60周年公告 (第1号)

潜山叠翠，见证六秩医路求索；淦水汤汤，激荡万千杏林芳华。2025年11月8日，湖北科技学院咸宁医学院（溯自1965年创办的湖北医学院咸宁分院）将迎来60周年华诞。在此，我们谨以赤子之心向全球校友、全体师生员工，向关心支持学校医学教育发展的各级领导、兄弟院校、医疗同仁及社会各界友人，致以诚挚的感谢和崇高的敬意！

六秩回眸 医脉相承

1965年，一簇医学星火点亮鄂南。从“湖北医学院咸宁分院”的创业维艰，到跻身湖北省医学教育高地；从临床医学本科教育的破茧蝶变，到国家一流专业、省级重点实验室的集群崛起；从“防病治病”的初心坚守，到“健康中国”战略的躬身践行——六十年薪火相传，以“弘德博学敏行敢先”为精神坐标，累计培养3万余名卓越医疗卫生人才，涌现出一大批行业翘楚，为基层医疗织就守护之网，为社会公共卫生书写成医担当，谱写了服务地方健康事业的壮丽篇章。

弦歌不辍 硕果盈枝

六十年来，一代代咸医人接续奋斗，始终以学科建设为龙头，以人才培养为核心，构建了完善的医学教育体系。硕士授权取得历史突破，临床医学跻身ESI全球前1%、药学及生物医学工程获批国家一流专业，医学影像学、口腔医学、护理学、眼视光医学引领区域医疗发展；建有以“全科医学国家级实验教学示范中心”为代表的省级及以上教学科研平台9个，携手12所附属医院，持续深化医教协同，打造“早临床、多临床、反复临床”育人新模式，为医学实践与区域医疗水平提升作出突出贡献。

共襄盛举 赓续华章

六十年，是历史的回响，更是未来的序章。无论您鬓角已染霜雪，还是正青春挥斥方遒；无论您身在手术台前或实验室中，还是扎根基层或驻足海外，咸宁医学院永远是您医学梦想的起点，是您此生难忘的精神家园。医学教育办学六十周年是学校发展史上的重要里程碑，更是迈向新征程的起点。我们诚邀海内外校友重聚校园，追忆芳华岁月；热盼各界贤达共话医学教育，擘画发展蓝图！

院庆专线：0715-8260507

电子邮箱：xnmed@hbust.edu.cn

官方网站：<https://yxb.hbust.edu.cn/>

联系地址：湖北省咸宁市咸宁大道88号湖北科技学院咸宁医学院（医学部）

特此公告，敬祈周知！

湖北科技学院咸宁医学院

2025年4月16日



《湖北科技学院学报(医学版)》编委会

主任: 吴基良

副主任: 白育庭

委员: (按姓氏笔画为序)

马萍 王诗 王俊芳 宁志丰 朱海丽 刘超
李玲 李青春 闵清 沈定文 张侠 陈子敏
陈黄琴 陈清杰 武阳 欧阳昌汉 周燕红 查文良
高卉 黄翠萍 梅武轩 鲍翠玉 蔡飞 蔡慧兰

特邀委员: (按姓氏笔画为序)

邓启红 郑州大学教授、博士生导师
李华 华中科技大学教授、博士生导师
李秋柏 华中科技大学教授、主任医师、博士生导师
杨旭 华中师范大学教授、博士生导师
杨智宽 爱尔眼科医院集团有限公司教授、博士生导师



微信公众号



超星数字期刊

湖北科技学院学报(医学版)

Journal of Hubei University of Science
and Technology (Medical Sciences)

(1987年创刊 双月刊)

第39卷 第3期 (总第195期)

2025年6月出版

主管单位: 湖北省教育厅

主办单位: 湖北科技学院

编辑出版: 湖北科技学院学报编辑部

主编: 吴基良

副主编: 白育庭 陈拥彬

封面设计: 张利平

网址: <http://xbbjb.hbust.edu.cn>

邮箱: XNXYYXB@163.com

邮编: 437100

电话: (0715)8266018

地址: 湖北省咸宁市咸宁大道88号

印刷: 咸宁市万达文化传媒有限公司

Administrated: Hubei Provincial Department of Education

Sponsored: Hubei University of Science and Technology

Edited, Published: The Editorial Department of Journal of Hubei
University of Science and Technology

Chief Editor: WU Jiliang

Deputy Editor: BAI Yuting, CHEN Yongbin

Cover Designer: ZHANG Liping

Website: <http://xbbjb.hbust.edu.cn>

E-mail: XNXYYXB@163.com

Postcode: 437100

Telephone: (0715)8266018

Address: 88 Xianning Ave., Xianning City, Hubei

Printed: Xianning Wanda Culture and Media Co.td

ISSN 2095-4646

CN 42-1839/R

ISSN 2095-4646



定价 15.00 元/期