

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.23.047

重症急性胰腺炎患者血清 CXCL10、CXCR4 表达水平与 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路及并发肺损伤的关系研究*

申斌¹ 陈镇^{2 Δ} 谢觉³ 严峻¹ 潘沐勇¹

(1 长沙市中医医院(长沙市第八医院)急诊科 湖南长沙 410100;

2 西安交通大学附属红会医院消化内科 陕西西安 710000;

3 长沙县人民医院(湖南省人民医院星沙院区)重症医学科 湖南长沙 410100)

摘要 目的:探讨重症急性胰腺炎(SAP)患者血清 CXC 趋化因子配体 10(CXCL10)、CXC 趋化因子受体 4(CXCR4)表达水平与 Toll 样受体 4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)信号通路及并发肺损伤的关系。**方法:**选取 157 例 SAP 患者,根据 SAP 患者是否并发肺损伤将其分为损伤组(57 例)和非损伤组(100 例),检测并对比两组血清 CXCL10、CXCR4 水平、外周血单个核细胞 TLR4、NF- κ B、NLRP3 信使核糖核酸(mRNA)表达。Pearson 法分析 SAP 患者血清 CXCL10、CXCR4 水平与外周血单个核细胞 TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA 表达的相关性。多因素 Logistic 回归分析 SAP 患者并发肺损伤的影响因素。**结果:**损伤组血清 CXCL10、CXCR4 水平及外周血单个核细胞 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达均高于非损伤组($P<0.05$)。SAP 患者血清 CXCL10、CXCR4 水平与外周血单个核细胞 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA 表达呈正相关($P<0.05$)。急性胰腺炎床旁严重程度指数(BISAP)评分升高、低蛋白血症、血清 CXCL10、CXCR4 水平升高是 SAP 患者并发肺损伤的危险因素($P<0.05$)。**结论:**SAP 患者血清 CXCL10、CXCR4 水平升高,与 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路激活及并发肺损伤密切相关。

关键词:重症急性胰腺炎;肺损伤;CXCL10;CXCR4;TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路

中图分类号:R657.5+1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)23-4568-03

Study on the Relationship between Serum CXCL10, CXCR4 Expression Levels and TLR4/NF- κ B/NLRP3 Signaling Pathway and Lung Injury in Patients with Severe Acute Pancreatitis*

SHEN Bin¹, CHEN Zhen^{2 Δ} , XIE Jue³, YAN Jun¹, PAN Mu-yong¹

(1 Department of Emergency, Changsha Traditional Chinese Medicine Hospital(Changsha Eighth Hospital), Changsha, Hunan, 410100, China; 2 Department of Gastroenterology, Red Cross Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710000, China;

3 Department of Intensive Care Medicine, Changsha County People's Hospital

(Xingsha Branch of Hunan Provincial People's Hospital), Changsha, Hunan, 410100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between the expression levels of serum CXC chemokine ligand 10 (CXCL10) and CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) and Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor- κ B (NF- κ B)/NOD-like receptor hot protein domain-related protein 3 (NLRP3) signaling pathway and concurrent lung injury in patients with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods:** 157 patients with SAP were divided into damage group (57 cases) and undamaged group (100 cases) according to whether were complicated with lung injury, serum CXCL10, CXCR4 levels, TLR4, NF- κ B, and NLRP3 messenger ribonucleic acid (mRNA) expression in peripheral blood mononuclear cells were detected and compared in two groups. The correlation between serum CXCL10, CXCR4 levels and TLR4, NF- κ B, NLRP3 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of SAP patients were analyzed by Pearson method. The influencing factors of SAP patients complicated with lung injury were analyzed by multivariate Logistic regression analysis. **Results:** The levels of serum CXCL10 and CXCR4 and the expression of TLR4 mRNA, NF- κ B mRNA and NLRP3 mRNA in peripheral blood mononuclear cells in damage group were higher than those in undamaged group ($P<0.05$). The levels of serum CXCL10 and CXCR4 in SAP patients were positively correlated with the expression of TLR4 mRNA, NF- κ B mRNA and NLRP3 mRNA in peripheral blood mononuclear cells ($P<0.05$). Elevated bedside severity index of acute pancreatitis (BISAP) score, hypoproteinemia, and elevated serum CXCL10 and CXCR4 levels were risk factors for lung injury in SAP patients ($P<0.05$). **Conclusion:** The levels of serum CXCL10 and CXCR4 in SAP patients are increased, which are closely related to the activation of TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling

* 基金项目:湖南省卫生健康委科研计划项目(202103042320)

作者简介:申斌(1987-),男,硕士,主治医师,研究方向:多发伤、重症感染、多脏器功能衰竭、重症胰腺炎等,

E-mail: shenbin19871006@163.com

Δ 通讯作者:陈镇(1988-),男,硕士,主治医师,研究方向:胰腺炎,消化道早癌,肝硬化,消化内镜,E-mail: chenchen100876@126.com

(收稿日期:2024-05-16 接受日期:2024-06-12)

pathway and complicated with lung injury.

Key words: Severe acute pancreatitis; Lung injury; CXCL10; CXCR4; TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R657.5+1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)23-4568-03

前言

重症急性胰腺炎(SAP)是一种严重的胰腺炎症性疾病,肺损伤是SAP患者常见的胰腺外功能障碍,显著增加SAP患者的死亡风险^[1]。相关研究显示,Toll样受体4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)/NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)信号通路激活可诱导胰腺和肺部炎症反应,与急性胰腺炎和急性肺损伤有关^[2]。CXC趋化因子配体10(CXCL10)通过其受体CXC趋化因子受体3(CXCR3)结合转运白细胞和免疫细胞,诱导炎症免疫反应。相关研究显示,急性胰腺炎患者血清CXCL10水平增高,并与疾病严重程度有关^[3]。CXC趋化因子受体4(CXCR4)可促使血小板活化,导致微血栓及胰腺炎病情加重^[4]。基于此,本研究拟探讨SAP患者血清CXCL10、CXCR4表达水平,并分析其与TLR4/NF- κ B/NLRP3信号通路及并发肺损伤的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2020年3月至2024年3月我院收治的157例SAP患者。其中男98例,女59例;年龄43-70岁,平均(56.12 \pm 6.19)岁。本研究已获得我院医学伦理委员会审批。纳入标准:(1)符合SAP相关诊断标准^[5];(2)急性胰腺炎床旁严重程度指数(BISAP)评分 \geq 3分;(3)资料完整且已签署同意书。排除标准:(1)合并环状胰腺、胰腺分离、迷走胰腺等胰腺先天性疾病;(2)合并胰腺损伤性疾病、胰腺肿瘤;(3)合并脓毒症休克、吸入性肺炎、慢性阻塞性肺疾病等可能引起肺损伤的疾病;(4)合并恶性肿瘤、免疫系统疾病。

1.2 方法

表1 两组血清CXCL10、CXCR4水平及外周血单个核细胞TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA表达比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum CXCL10 and CXCR4 levels and mRNA expression of TLR4, NF- κ B and NLRP3 in peripheral blood mononuclear cells between two groups($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	CXCL10(pg/mL)	CXCR4(ng/L)	TLR4 mRNA	NF- κ B mRNA	NLRP3 mRNA
Damage group	57	8.26 \pm 1.02	330.28 \pm 23.95	0.52 \pm 0.13	0.69 \pm 0.21	0.61 \pm 0.18
Undamaged group	100	6.61 \pm 1.23	304.17 \pm 25.96	0.25 \pm 0.08	0.41 \pm 0.16	0.35 \pm 0.11
t		8.582	6.230	16.114	9.390	11.238
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 SAP患者血清CXCL10、CXCR4水平与TLR4/NF- κ B/NLRP3信号通路的相关性

SAP患者血清CXCL10、CXCR4水平与外周血单个核细胞TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA表达均呈正相关($r=0.415, 0.385, 0.502/r=0.396, 0.472, 0.438$,均 $P<0.05$)。

2.3 单因素和多因素Logistic回归分析SAP患者并发肺损伤的影响因素

损伤组BISAP评分、APACHE II评分、SOFA评分、低蛋白血症比例高于非损伤组($P<0.05$),两组其它一般资料对比

1.2.1 临床资料收集 收集SAP患者性别、年龄、BISAP评分、急性生理与慢性健康状况评分系统II(APACHE II)评分、序贯器官功能衰竭评估(SOFA)评分、低蛋白血症等临床资料。

1.2.2 血清CXCL10、CXCR4表达水平检测 采集SAP患者入组空腹静脉血3 mL注入干燥试管中,送外院检测,经室温静置后取上层未凝固液离心5 min获得血清样本。应用酶联免疫吸附法检测血清CXCL10、CXCR4水平。

1.2.3 外周血单个核细胞TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA表达检测 SAP患者入组次日,采集空腹静脉血2 mL,使用TRIzol试剂盒提取总RNA。使用SuperScript[®] III RT-PCR试剂盒将总RNA逆转录为cDNA。采用PCR基因扩增仪进行实时荧光定量逆转录聚合酶链反应。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算TLR4、NF- κ B、NLRP3相对表达量。

1.3 肺损伤诊断标准及分组

根据肺损伤诊断标准^[6]评定SAP患者是否并发肺损伤,并将其分为损伤组和非损伤组。

1.4 统计学方法

采用SPSS28.0软件。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行t检验。计数资料以[例(%)]表示,行 χ^2 检验。多因素Logistic回归分析SAP患者并发肺损伤的影响因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组血清CXCL10、CXCR4水平及外周血单个核细胞TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA表达比较

损伤组血清CXCL10、CXCR4水平及外周血单个核细胞TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA表达均高于非损伤组($P<0.05$),见表1。

无差异($P>0.05$),见表2。以SAP患者是否并发肺损伤为因变量(赋值:是=1,否=0),以表1、表2中具有统计学意义的因素为自变量[低蛋白血症(赋值:是=1,否=0);BISAP评分、APACHE II评分、SOFA评分、血清CXCL10、CXCR4、TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA、NLRP3 mRNA均为连续型变量,原值录入],构建Logistic回归分析模型。结果显示,BISAP评分升高(OR=3.865,95%CI=1.724~8.667)、合并低蛋白血症(OR=2.210,95%CI=1.066~4.074)、血清CXCL10(OR=1.827,95%CI=1.060~3.152)、CXCR4(OR=1.734,95%CI=1.028~2.928)

表 2 两组一般资料比较 $[\bar{x}\pm s, n(\%)]$ Table 2 Comparison of baseline data between two groups $[\bar{x}\pm s, n(\%)]$

Item	Damage group(n=57)	Undamaged group(n=100)	t/ χ^2	P
Age (years)	56.29±6.68	56.02±6.17	0.256	0.798
Sex			0.039	0.843
male	35(61.40)	63(63.00)		
female	22(38.60)	37(37.00)		
BISAP Score (points)	4.95±1.88	3.78±0.69	5.607	<0.001
APACHE II Score (points)	18.35±2.26	16.77±1.52	5.224	<0.001
SOFA Score (points)	11.25±1.43	9.21±1.06	10.185	<0.001
Hypoproteinemia			12.737	<0.001
Yes	29(50.88)	23(23.00)		
No	28(49.12)	77(77.00)		

水平升高是 SAP 患者并发肺损伤的危险因素($P<0.05$)。

3 讨论

SAP 是一种严重的腹部急症,具有较高的死亡率,肺损伤是其常见的并发症之一,严重危害患者的生命健康及预后^[7]。相关研究显示,TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路参与肺损伤过程,通过加剧炎症反应,导致急性胰腺炎和肺损伤^[8]。CXCL10 属于趋化因子的 CXC 亚家族,参与感染以及炎症性疾病过程,在急性胰腺炎中高表达,促使胰腺巨噬细胞向 M1 极化,加重胰腺炎病情程度^[9]。本次研究发现,SAP 患者血清 CXCL10 水平显著增高,是 SAP 患者并发肺损伤的危险因素,与外周血单个核细胞 TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA 表达呈正相关。推测可能的机制为 CXCL10 通过 CXCL10/CXCR3 轴趋化巨噬细胞,并促使巨噬细胞 M1 样激活后迁移至肺部,导致肺损伤^[10]。我们推测 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路激活可诱导促炎环境,促使 CXCL10 表达上调,继而加剧肺部炎症,导致 SAP 患者并发肺损伤。

既往报道显示,CXCL12/CXCR4 在胰腺炎中激活,通过增加胰腺炎症浸润和线粒体细胞死亡,加重胰腺炎病情^[11]。本次研究发现,SAP 患者血清 CXCR4 水平升高,是 SAP 患者并发肺损伤的危险因素,与外周血单个核细胞 TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA 表达呈正相关。究其原因,CXCR4 通过促使中性粒细胞和巨噬细胞释放大炎症性细胞因子,启动炎症级联反应,并激活蛋白酪氨酸激酶 2/ 信号转导子与激活子 3 信号通路,促进细胞凋亡,导致肺损伤^[12]。我们推测 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路激活可诱导促炎环境,促使 CXCL10 表达上调,继而加剧肺部炎症,导致 SAP 患者并发肺损伤。本次研究还发现,BISAP 评分升高、合并低蛋白血症是 SAP 患者并发肺损伤的危险因素。分析其原因,BISAP 评分可反映 SAP 患者胰腺受损程度,胰腺受损程度越重,多器官功能衰竭风险越大,患者肺损伤的发生风险越高。而低蛋白血症可加重肺水肿,导致机体气体交换功能受损并诱发低氧血症,增加 SAP 患者肺组织损伤风险。

综上所述,SAP 患者血清 CXCL10、CXCR4 呈异常高表达,与外周血单个核细胞 TLR4、NF- κ B、NLRP3 mRNA 表达呈

正相关,是 SAP 患者并发肺损伤的危险因素。

参考文献(References)

- [1] 简丛丛,林永开,李远章,等.急性胰腺炎相关肺损伤的 CT 表现与肾周间隙受累的相关性[J].分子影像学杂志,2024,47(4): 407-413.
- [2] 柯维强,陈小玲,蔡杨靖.基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨积雪草酸对急性肺损伤大鼠氧化应激和 NLRP3 炎症小体的影响[J].现代中西医结合杂志,2023,32(4): 483-489.
- [3] 朱芳丽,马厉英,马晓莹,等.急性胰腺炎患者血清 CXC 趋化因子配体 10 和 CC 类趋化因子 22 水平与疾病严重程度关系及临床诊断价值研究[J].陕西医学杂志,2024,53(6): 788-792.
- [4] Biasci D, Smoragiewicz M, Connell CM, et al. CXCR4 inhibition in human pancreatic and colorectal cancers induces an integrated immune response[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(46): 28960-28970.
- [5] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组,《中华胰腺病杂志》编辑委员会,《中华消化杂志》编辑委员会.中国急性胰腺炎诊治指南(2019,沈阳)[J].中华胰腺病杂志,2019,19(5): 321-331.
- [6] 中华医学会重症医学分会.急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南(2006)[J].中华急诊医学杂志,2007,16(4): 343-349.
- [7] 李玉蓉,邓炜,王新刚,等.重症急性胰腺炎合并腹腔感染患者病原菌分布、药物敏感性分析及其院内死亡的危险因素探讨[J].现代生物医学进展,2023,23(18): 3504-3509.
- [8] Hu Q, Zhang S, Yang Y, et al. Extracellular Vesicle ITGAM and ITGB2 Mediate Severe Acute Pancreatitis-Related Acute Lung Injury[J]. ACS Nano, 2023, 17(8): 7562-7575.
- [9] Peng C, Tu G, Wang J, et al. MLKL signaling regulates macrophage polarization in acute pancreatitis through CXCL10[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(2): 155.
- [10] 李梦,陈波,吴娟.大黄素调节 NLRP3/IL-1 β /CXCL1 信号通路改善急性呼吸衰竭大鼠炎症反应和肺损伤的实验研究[J].中国中医急症,2024,33(8): 1349-1353, 1386.
- [11] Yan W, Wang Y, Lu Y, et al. Reg4 deficiency aggravates pancreatitis by increasing mitochondrial cell death and fibrosis[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(5): 348.
- [12] Lou Y, Huang Z, Wu H, et al. Tranilast attenuates lipopolysaccharide induced lung injury via the CXCR4/JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2022, 26(1): 220.