

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.23.018

血清 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体在射血分数保留型心衰患者中的表达及其与肠道菌群的相关性分析*

杜小琴¹ 王燕侠¹ 李霞¹ 马巨星¹ 曹婷²

(新疆医科大学第五附属医院 1 全科医学科;2 急诊科 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的:血清 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体在射血分数保留型心衰患者中的表达及其与肠道菌群的相关性分析。**方法:**选择 2020 年 5 月到 2022 年 1 月于我院住院治疗的 50 例射血分数保留型心衰患者作为实验组,选取同期健康体检者 50 例作为对照组,收集两组人口学资料、一般查体资料及心脏彩超等结果。检测血清 IL-18、IL-1 β 、NLRP3、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白酶 1 (Caspase-1) 表达水平。采用每克粪便湿质量中菌落形成单位对数值(1gCFU/g),给予活菌计数,肠道定植抗力指标则用双歧杆菌与肠杆菌数量的比值(B/E 值)表示。**结果:**(1)实验组 IL-18、IL-1 β 表达水平较对照组明显升高($P<0.05$);(2)实验组 NLRP3、Caspase-1 表达水平较对照组明显升高($P<0.05$);(3)实验组的双歧杆菌、乳杆菌数目和 B/E 值较对照组低,肠球菌、肠杆菌数目较对照组高($P<0.05$);(4)两组的 Chao1 指数无差异;病例组 Shannon 指数较对照组低,Simpson 指数较对照组高($P<0.05$);(5) Pearson 分析显示,射血分数保留型心衰患者 B/E 值与 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体表达正相关。**结论:**射血分数保留型心衰患者存在血清 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体表达明显升高及肠道菌群失调,且 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体与肠道菌群有显著相关性。

关键词:IL-18;IL-1 β ;NLRP3 炎症小体;射血分数保留型心衰;肠道菌群

中图分类号:R541.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)23-4492-04

Expression of Serum IL-18, IL-1 β and NLRP3 Inflammasome Bodies in Patients with Ejection Fraction Retention Heart Failure and Their Correlation with Intestinal Flora*

DU Xiao-qin¹, WANG Yan-xia¹, LI Xia¹, MA Ju-xing¹, CAO Ting²

(1 Department of General Medicine; 2 Department of Emergency, The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of serum IL-18, IL-1 β and NLRP3 inflammasome in patients with ejection fraction retention heart failure and their correlation with intestinal flora. **Methods:** 50 patients with preserved ejection fraction heart failure hospitalized in our hospital from May 2020 to January 2022 were selected as the experimental group, and 50 healthy examination patients in the same period were selected as the control group to collect the two groups of demographic data, general physical examination data and cardiac color ultrasound results. Serum expression levels of IL-18, IL-1 β , NLRP 3, and aspartate-containing protease 1 (Caspase-1) were measured. The log (1 g CFU / g), and the intestinal colonization resistance index was expressed as the ratio of bifidobacterium and Enterobacterium (B / E value). **Results:** (1) The expression levels of IL-18 and IL-1 β in the experimental group were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). (2) The expression levels of NLRP3 and Caspase-1 in the experimental group were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). (3) The number of bifidobacterium and Lactobacillus and B/E value in the experimental group were significantly lower than that in the control group, while the number of enterococcus and Enterobacter were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). (4) There is no significant difference in Chao1 index between the two groups; The Shannon index of the case group was significantly lower than that of the control group, and the Simpson index was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). (5) Pearson analysis showed that B/E values in patients with ejection fraction preserved heart failure were positively correlated with IL-18, IL-1 β and NLRP3 inflammasome expression. **Conclusion:** The expression of serum IL-18, IL-1 β and NLRP3 inflammasome were significantly increased in patients with ejection fraction preserved heart failure, and the intestinal flora is dysregulated, and IL-18, IL-1 β and NLRP3 inflammasome were significantly correlated with intestinal flora.

Key words: IL-18; IL-1 β ; NLRP3 inflammasome; Ejection fraction retention heart failure; Intestinal flora

Chinese Library Classification(CLC): R541.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)23-4492-04

* 基金项目:新疆维吾尔自治区健康青年医学科技人才专项科研项目(WJWY-202145)

作者简介:杜小琴(1981-),女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:全科医学科,E-mail:xj_dujqin@163.com

(收稿日期:2023-04-07 接受日期:2023-05-10)

前言

心力衰竭(Heart failure, HF)是由于心脏结构或者功能异常导致的心脏射血或者充盈异常的临床综合征^[1]。HF 主要包括射血分数降低型心衰(HFrEF)、射血分数中间值的心衰和射血分数保留型心衰(HFpEF)。HFpEF 占 HF 一半以上^[2],好发于老年人,常伴有高血压、糖尿病、肥胖症、贫血、心房颤动、肾功能不全、慢性阻塞性肺病等,发病率和死亡率逐年增加^[3]。与 HFrEF 不同的是, HFpEF 的心肌收缩力接近正常,左心室舒张受损及僵硬度增加导致肺充血,从而引起呼吸困难、肺动脉高压和运动不耐受^[4]。NLRP3 炎症小体是一种多蛋白复合物,由 NLRP3 招募接头蛋白 ASC 和效应蛋白 pro-caspase-1,调控 caspase-1 活化,促进炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌,进而调节炎症反应的发生^[5]。NLRP3 炎症小体可被多种致病菌活化,与炎症、肿瘤、神经退行性疾病、代谢综合征、动脉粥样硬化性疾病等密切相关^[6]。肠道菌群是由多种肠道微生物组成的一个动态生态系统。肠道菌群与人体共存,人体为肠道菌群提供生存环境,而肠道菌群通过调节机体能量代谢、分泌细胞因子维持内环境稳态。肠道菌群对维持人类健康至关重要,饮食异常、环境因素、滥用抗生素等可引起肠道菌群组成及功能发生改变,即肠道菌群失衡^[7,8]。心衰患者胃肠道组织因血供不足可引起肠黏膜缺血水肿通透性增加,肠道菌群失调,肠道内多种细菌及毒素进入血液循环^[9],进而抑制心肌收缩、促进心肌纤维化、凋亡和坏死,诱导心衰及其慢性炎症反应。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2020 年 5 月到 2022 年 1 月于我院住院治疗的 50 例

射血分数保留型心衰患者作为实验组,选取同期健康体检者 50 例作为对照组。

纳入标准^[10]:(1)左室射血分数 $\geq 50\%$,不伴有左心室增大;(2)心衰症状(劳力性呼吸困难)或是体征(双下肢水肿、颈静脉怒张及肺部湿啰音等)。

排除标准:(1)严重肝脏或肾脏功能异常;(2)伴有血容量不足、心源性休克或活动性感染。

1.2 观察指标

1.2.1 血清炎症因子检测 抽取空腹健侧上肢肘前静脉血 5 mL 作为标本,应用 ELISA 检测受试者血清中 IL-1 β 和 IL-18,用 Western Blot 法检测外周血单个核细胞 NLRP3、Caspase-1 的蛋白表达水平。

1.2.2 肠道菌群检测 收集两组患者 1.5 g 新鲜粪便,置入小瓶中,加 4.5 mL 稀释液稀释,混合器震荡 1 min。10 倍稀释后的标本平均置于不同小瓶中,取 10 μ L 接种于培养基上,37 $^{\circ}$ C 保存。采用每克粪便湿质量中菌落形成单位对数值(1gCFU/g)对致病菌给予活菌计数,采用双歧杆菌与肠杆菌数量的比值(B/E 值)评估肠道定植抗力。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;采用 Pearson 分析射血分数保留型心衰患者 B/E 值与 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体的关系,当 $P<0.05$ 时,认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 IL-18、IL-1 β 表达水平分析

实验组 IL-18、IL-1 β 表达水平较对照组明显升高 ($P<0.05$),详见表 1。

表 1 两组 IL-18、IL-1 β 表达水平分析($\bar{x}\pm s$, n=50)

Table 1 The expression of IL-18 and IL-1 β between the two groups ($\bar{x}\pm s$, n=50)

	Experimental group	Control group	<i>t</i>	<i>P</i>
IL-18(ng/mL)	30.231 $\pm$ 19.627	13.465 $\pm$ 12.790	-3.541	<0.001
IL-1 β (pg/mL)	2.533 $\pm$ 1.246	1.477 $\pm$ 0.978	-3.754	<0.001

2.2 两组 NLRP3、Caspase-1 表达水平分析

($P<0.05$),详见表 2。

实验组 NLRP3、Caspase-1 表达水平较对照组明显升高

表 2 两组 NLRP3、Caspase-1 表达水平分析($\bar{x}\pm s$, n=50)

Table 2 The expression of NLRP3 and Caspase-1 between the two groups ($\bar{x}\pm s$, n=50)

	Experimental group	Control group	<i>t</i>	<i>P</i>
NLRP3	0.661 $\pm$ 0.084	0.431 $\pm$ 0.074	-4.119	0.006
Caspase-1	0.465 $\pm$ 0.067	0.262 $\pm$ 0.044	-5.075	0.002

2.3 两组肠道菌群水平比较

实验组双歧杆菌、乳杆菌、数量较对照组明显降低,肠球菌、肠杆菌数量较对照组明显升高($P<0.05$),差异有统计学意义,详见表 3。

2.4 两组肠道菌群多样性比较

肠道菌群的丰富度和多样性可通过 α 多样性分析来反映,

其中 Chao1 指数是用于估计菌群丰富度,Shannon 指数、Simpson 指数用来评估菌群多样性。实验组 Chao1 指数较对照组无明显变化,即肠道菌群丰富度无明显差异;实验组 Shannon 指数较对照组明显降低,Simpson 指数较对照组明显升高 ($P<0.05$),提示肠道菌群多样性明显降低,详见表 4。

表 3 两组肠道菌群水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=50$)

Table 3 The comparison of the intestinal microbiota levels between the two groups ($\bar{x} \pm s, n=50$)

	Experimental group	Control group	<i>t</i>	<i>P</i>
Bifidobacterium (Log CFU/g)	6.63±1.05	7.45±1.36	2.837	0.006
Lactobacillus (Log CFU/g)	7.11±0.27	7.86±0.33	9.176	<0.001
Enterococcus (Log CFU/g)	7.45±0.98	7.02±0.83	2.038	0.025
Enterobacter (Log CFU/g)	7.29±0.89	6.73±0.95	2.876	0.005
B/E	0.90±0.12	1.10±0.07	7.534	0.000

表 4 两组肠道菌群多样性比较 ($\bar{x} \pm s, n=50$)

Table 4 The comparison of the intestinal microbiota diversity between the two groups ($\bar{x} \pm s, n=50$)

	Experimental group	Control group	<i>t</i>	<i>P</i>
Chao1 index	468.07±59.48	477.25±54.22	0.176	0.862
Shannon index	5.75±0.62	6.09±0.75	2.245	0.017
Simpson index	0.85±0.12	0.79±0.10	2.578	0.012

2.5 射血分数保留型心衰患者 B/E 值与 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体的相关性分析 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体表达水平呈正相关($P<0.05$), 详见表 5。

Pearson 分析显示, 射血分数保留型心衰患者 B/E 值与

表 5 射血分数保留型心衰患者 B/E 值与 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体的相关性分析

Table 5 The relevance between B/E value and IL-18, IL-1, and NLRP3 inflammasome in patients with heart failure with preserved ejection

Indexs	B/E	
	<i>r</i>	<i>P</i>
IL-18	0.735	<0.001
IL-1 β	0.512	<0.001
NLRP3	0.473	<0.001
Caspase-1	0.526	<0.001.

3 讨论

心力衰竭是全球医疗保健的主要问题之一,影响着全球 6400 多万患者。心力衰竭是住院治疗的最常见原因之一,尽管药理学已经取得了重大进展,但死亡率仍然很高。根据欧洲心脏病学会和美国心脏协会,射血分数 $\leq 40\%$ 的患者为 HFpEF,而射血分数 $\geq 50\%$ 的患者为 HFpEF^[11,12]。HFpEF 是现代医学面临的重大挑战之一,其预后无明显改善。由于 HFpEF 患者多数有高血压,大多数患者接受血管紧张素转换酶抑制剂(ACE-I)、血管紧张素受体阻滞剂、 β 受体阻滞剂或皮质激素受体拮抗剂等降压药物治疗^[13]。目前普遍认为免疫反应、纤维化和微血管功能障碍可能在疾病的发展中起核心作用。HFpEF 常见的组织病理学表现为间质纤维化、肥厚、密度降低、炎症浸润、微循环自调节功能受损^[14]。此外,心肌细胞肥大、能量异常、氧化应激增加和内皮功能障碍也曾被观察到^[15]。

自 2002 年首次报道以来,炎症小体已成为先天免疫的主要研究对象。NLRP3 作为最常见的炎症小体之一,不仅在白细胞中表达,而且在心血管细胞中也有表达^[16]。NLRP3 炎症小体由三个部分组成:NLRP3 和 pro-caspase-1。Pro-caspase-1 是炎症小体的效应蛋白,自催化成熟后,裂解为 caspase-1。Cas-

pase-1 形成一个活跃的异四聚体,将 IL-1 β 前体和 IL-18 前体裂解为成熟的细胞因子并诱导其释放^[17]。本研究发现射血分数保留型心衰患者 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体表达水平明显升高,与既往研究一致,NLRP3 炎症小体可调节促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的释放发挥炎症作用,加重心肌细胞功能障碍,引起心室重构和心衰^[18]。芪苈强心胶囊可抑制 HF 患者 NLRP3 炎症小体关键蛋白 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 的表达^[19],进而缓解心衰症状,进一步证实了本研究结果。

肠道菌群是一个复杂的微生物群落集合,通过直接或间接的途径与人体紧密相连。在某种程度上,肠道菌群可以被肠道细胞识别而起直接作用。肠道菌群还可能作为内分泌器官,代谢和分泌活性物质,通过各种途径间接影响宿主的其他生理功能^[20]。关于 HF 患者肠道菌群改变的描述最早发表在 2015 年,该研究发现 HF 患者肠道存在有害细菌聚集^[21]。本研究发现 HFpEF 患者双歧杆菌、乳杆菌数量明显降低,肠球菌、肠杆菌数量明显升高,存在肠道菌群失调。肠道菌群失调是 HF 发病的关键因素,这一假设揭示了肠粘膜水肿和缺血后心排量减少和体循环凝血百分比增加有助于细菌转运,增加血液中的内毒素水平,从而导致心力衰竭^[21]。Pasini 等人发现与健康对照组相比,射血分数降低的稳定慢性心衰患者肠道致病菌增加^[22]。与

Pasini 等人发现相似,本研究发现 HFpEF 患者肠道菌群丰富度无明显差异,肠道菌群多样性明显降低,为 HFpEF 的肠道假说提供了研究依据。Luedde 等人采用高通量测序检测研究对象的肠道菌群,发现 HFrEF 患者肠道内三类菌科、四类菌属的丰度明显降低^[23]。挪威的研究团队发现心衰患者肠道菌群的构成发生改变,毛螺菌科丰度降低最明显^[24]。有研究发现肠道菌群代谢产物与心衰的存在和严重程度相关。一般来说,肠道代谢物的产生可能是调节 HF 的潜在靶点^[25]。近来,中药在调节 HF 患者肠道菌群失调方法发挥重要作用,例如,补阳还五汤可能通过增强肠道屏障结构、调节肠道菌群延缓 HF 的进展^[26]。

本研究中,射血分数保留型心衰患者 B/E 值与 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体表达水平呈正相关,提示射血分数保留型心衰患者肠道菌群失调可能与炎症反应有关。结合肠道菌群构成分析及既往的相关研究,推测 HFpEF 患者肠道菌群物种多样性的降低可能与 HFpEF 患者肠道内一些与抗炎相关的菌群数量减少所导致^[27]。经本研究分析可知 HFpEF 患者存在着某些特征性菌群的改变,主要表现为与炎症反应相关的菌群增加和抗炎相关的菌群的菌群降低,这种炎症反应可能会进一步影响 HFpEF 的病情进展。因此,通过调整饮食结构、抗生素、粪菌移植等方法维持 HFpEF 患者肠道菌群的稳态有望成为 HFpEF 治疗的有效靶点。

综上所述,射血分数保留型心衰患者存在血清 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体表达明显升高及肠道菌群失调,且 IL-18、IL-1 β 及 NLRP3 炎症小体与肠道菌群有显著相关性。

参考文献(References)

- [1] 陈忠锐. NT-proBNP、HGF 和 GDF-15 在射血分数保留型心衰患者中的表达及预后价值 [J]. 中国医学创新, 2021, 18(30): 15-20
- [2] Deng Y, Xie M, Li Q, et al. Targeting Mitochondria-Inflammation Circuit by beta-Hydroxybutyrate Mitigates HFpEF[J]. Circ Res, 2021, 128(2): 232-245
- [3] 江雪, 张树龙. 射血分数保留型心衰: 机制与治疗的新视点 [J]. 实用心电学杂志, 2019, 28(02): 131-135+140
- [4] Dhore-Patil A, Thannoun T, Samson R, et al. Diabetes Mellitus and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Role of Obesity [J]. Front Physiol, 2021, 12(3): 785879
- [5] Guo L, Qin G, Cao Y, et al. Regulation of the Immune Microenvironment by an NLRP3 Inhibitor Contributes to Attenuation of Acute Right Ventricular Failure in Rats with Pulmonary Arterial Hypertension [J]. J Inflamm Res, 2021, 14(5): 5699-5711
- [6] Mezzaroma E, Abbate A, Toldo S. The inflammasome in heart failure [J]. Curr Opin Physiol, 2021, 19(4): 105-112
- [7] 马艳庆, 兰咏梅, 张子龙. 肠道微生态与心脑血管疾病关系的研究进展 [J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2021, 42(4): 21-27
- [8] 陈宁宁, 郝宁, 丁晓彤等. 肠道菌群及其代谢产物靶向治疗心力衰竭的研究进展 [J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(7): 1679-1684
- [9] 何卫斌, 段新杰, 王耀辉. 肠道菌群代谢产物氧化三甲胺联合左室射血分数在慢性心力衰竭患者预后中的价值 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2021, 13(4): 443-446
- [10] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(10): 760-789
- [11] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure [J]. Eur Heart J, 2021, 42(36): 3599-3726
- [12] Heidenreich PA, Bozkurt B, Aguilar D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines[J]. Circulation, 2022, 145(18): e895-e1032
- [13] Solomon SD, McMurray JJV, Anand IS, et al. Angiotensin-Neprilysin Inhibition in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction[J]. N Engl J Med, 2019, 381(17): 1609-1620
- [14] Hahn VS, Yanek LR, Vaishnav J, et al. Endomyocardial Biopsy Characterization of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Prevalence of Cardiac Amyloidosis [J]. JACC Heart Fail, 2020, 8(9): 712-724
- [15] Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. Eur Heart J, 2019, 40(40): 3297-3317
- [16] Zheng Y, Xu L, Dong N, et al. NLRP3 inflammasome: The rising star in cardiovascular diseases [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9(2): 927061
- [17] Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics[J]. Nat Med, 2015, 21(7): 677-687
- [18] Dang S, Zhang ZY, Li KL, et al. Blockade of beta-adrenergic signaling suppresses inflammasome and alleviates cardiac fibrosis[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(4): 127
- [19] Lu Y, Xiang M, Xin L, et al. Qiliqiangxin Modulates the Gut Microbiota and NLRP3 Inflammasome to Protect Against Ventricular Remodeling in Heart Failure[J]. Front Pharmacol, 2022, 13(1): 905424
- [20] Guan X, Sun Z. The Role of Intestinal Flora and Its Metabolites in Heart Failure [J]. Infect Drug Resist, 2023, 16: 51-64
- [21] Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(16): 1561-1569
- [22] Pasini E, Aquilani R, Testa C, et al. Pathogenic Gut Flora in Patients With Chronic Heart Failure[J]. JACC Heart Fail, 2016, 4(3): 220-227
- [23] Luedde M, Winkler T, Heinsen FA, et al. Heart failure is associated with depletion of core intestinal microbiota [J]. ESC Heart Fail, 2017, 4(3): 282-290
- [24] Sanna S, van Zuydam NR, Mahajan A, et al. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases[J]. Nat Genet, 2019, 51(4): 600-605
- [25] Romano KA, Nemet I, Prasad Saha P, et al. Gut Microbiota-Generated Phenylacetylglutamine and Heart Failure [J]. Circ Heart Fail, 2023, 16(1): e009972
- [26] Weng JQ, Li JB, Yuan MF, et al. Effects of Buyang Huanwu Decoction on Intestinal Barrier, Intestinal Flora, and Trimethylamine Oxide in Rats with Heart Failure [J]. Chin J Integr Med, 2023, 29(2): 155-161
- [27] Kain V, Van Der Pol W, Mariappan N, et al. Obesogenic diet in aging mice disrupts gut microbe composition and alters neutrophil: lymphocyte ratio, leading to inflamed milieu in acute heart failure[J]. FASEB J, 2019, 33(5): 6456-6469