



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2020.05.014

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.05.014

• 论著 •

血清可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白在结缔组织病相关肺动脉高压中的应用价值

王媛媛 孙晓莹 黄颖恒 王婧

【摘要】 目的 探讨血清可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白(sST2)在结缔组织病相关肺动脉高压(CTD-PAH)中的应用价值。**方法** 纳入经二维超声心动图诊断为 CTD-PAH 的患者 24 例作为 CTD-PAH 组,同期进行体检的健康志愿者 20 例作为对照组,同期就诊的 CTD 不伴有 PAH 患者 13 例作为 CTD 组,比较 3 组受试者的血清 sST2 水平。对 CTD-PAH 患者进行危险分层,比较中低危和高危及不同 WHO 心功能分级 CTD-PAH 患者的血清 sST2 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析鉴别低中危和高危 CTD-PAH 患者的 sST2 最佳阈值。**结果** 对照组、CTD 组及 CTD-PAH 组受试者血清 sST2 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 CTD 组和 CTD-PAH 组均高于对照组,CTD-PAH 组高于 CTD 组($P < 0.05$)。高危 CTD-PAH 患者血清 sST2 水平高于中低危患者 [$(0.94 \pm 0.34) \text{ ng/ml}$ 比 $(0.58 \pm 0.32) \text{ ng/ml}$, $t = 2.450$, $P = 0.023$]。WHO 心功能 III ~ IV 级 CTD-PAH 患者血清 sST2 水平高于 I ~ II 级患者 [$(0.96 \pm 0.34) \text{ ng/ml}$ 比 $(0.51 \pm 0.27) \text{ ng/ml}$, $t = 3.706$, $P = 0.005$]。ROC 曲线分析结果显示,血清 sST2 鉴别低中危和高危 CTD-PAH 患者的 ROC 曲线下面积为 0.797,阈值为 1 ng/ml,敏感度为 50.0%,特异度为 87.5%。**结论** 血清 sST2 是评估 CTD-PAH 患者疾病严重程度的潜在指标之一。

【关键词】 可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白; 结缔组织病相关肺动脉高压; 简易危险分层

结缔组织病(CTD)相关肺动脉高压(PAH)是 CTD 患者死亡的重要原因之一,其临床表现隐匿,评估困难,漏诊率较高。早期诊断和治疗、及时筛查 PAH 潜在的预后不良危险因素并及时干预有助于改善患者的临床结局。PAH 的常规评估方法包括临床症状和 WHO 心功能分级、右心导管术检查、超声心动图检查、运动耐力评估及生物标志物检测。血清 N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)是目前常用的血清生物学标志物,但 NT-proBNP 易受年龄、感染及肾功能不全等因素影响^[1],因此,寻找新的生物标志物具有重要意义。生长刺激因子表达基因 2 蛋白(ST2)是 Toll 样/白细胞介素(IL)-1 受体(IL-1R)超家族成员之一,其特异性配体为 IL-33,主要包括两种亚型:跨膜型 ST2(ST2L)和可溶性 ST2(sST2)。IL-33/ST2L 在保护心脏和抗心肌纤维化过程中起重要作用,而 sST2 与 ST2L 竞争结合 IL-33,是反映心肌纤维化和心肌重塑的新型生物标志物^[2]。既往研究结果显示,IL-33/ST2 可刺激内源性一氧化氮(NO)、促进血管活性物质产

生^[3],引起肺血管重塑,导致 PAH。目前 sST2 在 PAH 评估中的临床意义尚不明确。本研究旨在探讨 sST2 在 CTD-PAH 疾病严重程度中的应用价值。

对象与方法

1. 对象:2017 年 7 月 ~ 2018 年 5 月南京医科大学第一附属医院风湿科免疫科收治的经二维超声心动图诊断为 CTD-PAH 的患者 24 例(CTD-PAH 组),均为女性,年龄 24 ~ 52 岁,平均年龄 (33.79 ± 8.64) 岁。PAH 诊断标准:根据二维超声心动图检查结果计算的肺动脉收缩压 $> 36 \text{ mmHg}$ ^[4]。纳入标准:(1)明确诊断为 CTD;(2)二维超声心动图估测的肺动脉收缩压 $> 36 \text{ mmHg}$;(3)年龄 ≥ 18 岁。排除标准:(1)严重的肺间质病变或慢性阻塞性肺疾病;(2)合并导致 PAH 的左心疾病;(3)慢性血栓栓塞性 PAH(CTEPH);(4)合并肝硬化门静脉高压;(5)长期使用可以引起 PAH 的药物;(6)合并 HIV 感染。选取同期于南京医科大学第一附属医院体检的健康志愿者 20 例作为对照组,均为女性,年龄 23 ~ 63 岁,平均年龄 (37.45 ± 12.08) 岁;同期于南京医科大学第一附属医院就诊的 CTD 不伴有 PAH 患者 13 例作为 CTD 组,均为女性,年龄 21 ~ 54 岁,

平均年龄(38.84 ± 7.33)岁;3 组受试者间及 CTD-PAH 组和 CTD 组患者间年龄比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经南京医科大学第一附属医院医学伦理委员会审批(伦理审批编号:2018-SR-333),所有受试者均签署知情同意书。

2. 方法

(1)临床资料收集:采用病例报告(CRF)表收集所有受试者的性别、年龄及原发疾病等资料。根据欧洲心脏病学会(ESC)联合欧洲呼吸学会(ERS)2015 年发布的《肺动脉高压诊断和治疗指南》对 CTD-PAH 患者进行简易危险分层,评估指标包括 WHO 心功能分级、6 分钟步行距离、NT-proBNP、心包积液、右心房压力、心脏指数(CI)及混合静脉血氧饱和度(SvO_2),分层标准见表 1。肺动脉收缩(mmHg) = $4 \times [\text{收缩期三尖瓣最大反流速度(m/s)}]^2 + \text{右心房压力(mmHg)}$ 。

表 1 2015 年 ESC/ERS PAH 指南简易危险分层

	低危组	中危组	高危组
WHO 心功能分级	I~II级	III级	IV级
6 分钟步行距离	>440 米	165 ~ 440 米	<165 米
NT-proBNP	<300 ng/L	300 ~ 1 400 ng/L	>1 400 ng/L
经胸超声心动图	无心包积液	少量心包积液	中大量心包积液
右心导管检查			
右心房压力	<8 mmHg	8 ~ 14 mmHg	>14 mmHg
CI	$\geq 2.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$	$2.0 \sim 2.4 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$	$< 2.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$
SvO_2	>65%	60% ~ 65%	<60%

(2)血清 sST2 和 IL-33 水平检测:CTD-PAH 组和 CTD 组患者于入院当日或次日清晨、对照组受试者于体检当天空腹抽取静脉血 5 ml,静置 1 h,置于离心机中以 3 000 r/min 离心 5 min,取上清液分装至冻存管中,置于 -80 °C 冰箱保存备测 sST2 和 IL-33 水平。采用于武汉华美生物工程有限公司购入的酶联免疫吸附试验试剂盒检测 sST2 和 IL-33 水平。将试验所需试剂和标本移至室温 20 °C 环境,平衡温度 30 min,按照试剂盒说明书方法配制好标准品、洗涤液、生物素标志抗体溶液、辣根过氧化氢酶标志亲和素工作液、终止溶液等,依据试剂盒说明书依次完成加样、温育、一抗温育、洗涤、二抗温育、洗涤、底物避光显色、终止显色等标准操作步骤。在反应终止后立即采用酶标仪在 450 nm 波长处测量各孔的吸光度值。采用 Graphpad Prism 软件建立标准曲线,得出相应的标准曲线回归方程,计算样本 sST2 和 IL-33 水平。

3. 统计学处理:应用 Graphpad Prism7 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检

验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析鉴别低中危和高危 CTD-PAH 患者的 sST2 最佳阈值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CTD 组和 CTD-PAH 组患者 NT-proBNP 及 WHO 心功能分级比较:CTD-PAH 组 NT-proBNP 水平和 WHO 心功能 III ~ IV 级患者比例明显高于 CTD 组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 CTD 组和 CTD-PAH 组患者 NT-proBNP 及 WHO 心功能分级比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NT-proBNP (ng/L)	WHO 心功能分级[例, (%)]	
			I ~ II 级	III ~ IV 级
CTD 组	13	441.2 ± 438.5	13(100.0)	0(0)
CTD-PAH 组	24	3 293.9 ± 3 886.5	7(29.17)	17(70.83)
χ^2/t 值		3.790		13.665
P 值		0.004		<0.001

2. 3 组受试者血清 sST2 和 IL-33 水平比较:3 组受试者血清 sST2 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 CTD 组和 CTD-PAH 组均高于对照组,CTD-PAH 组高于 CTD 组($P < 0.05$),而 3 组受试者血清 IL-33 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 3 组受试者血清 sST2 和 IL-33 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sST2 (ng/ml)	IL-33 (pg/ml)
对照组	20	0.54 ± 0.22	139.34 ± 10.43
CTD 组	13	0.57 ± 0.22 ^a	145.40 ± 12.00
CTD-PAH 组	24	0.82 ± 0.37 ^{ab}	138.78 ± 9.46
F 值		14.500	1.698
P 值		<0.001	0.193

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 CTD 组比较,^b $P < 0.05$

3. 低中危组和高危组 CTD-PAH 患者血清 sST2 水平比较及血清 sST2 鉴别低中危和高危 CTD-PAH 患者的 ROC 曲线分析:低中危 CTD-PAH 患者 8 例,其血清 sST2 水平为(0.58 ± 0.32)ng/ml,高危 CTD-PAH 患者 16 例,其血清 sST2 水平为(0.94 ± 0.34)ng/ml,高危患者血清 sST2 水平高于低中危患者($t = 2.450$, $P = 0.023$)。ROC 曲线分析结果显示,血清 sST2 鉴别低中危和高危 CTD-PAH 患者的 ROC 曲线下面积为 0.797,阈值为 1 ng/ml,敏感性为 50.0%,特异性为 87.5%,见图 1。

4. 不同 WHO 心功能分级 CTD-PAH 患者血清 sST2 水平比较:24 例 CTD-PAH 患者中,WHO 心功能 I ~ II 级患者 7 例,其血清 sST2 水平为(0.51 ± 0.27)ng/ml,III ~ IV 级患者 17 例,其血清 sST2 水平为(0.96 ± 0.34)ng/ml,WHO 心功能 III ~ IV 级患者血清 sST2 水平高于 I ~ II 级患者($t = 3.706$, $P = 0.005$)。

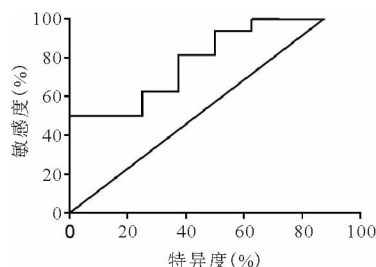


图1 血清 sST2 鉴别低中危和高危 CTD-PAH 患者的 ROC 曲线

讨 论

近年来, sST2 已成为心血管疾病的新型生物学标志物^[5], 并用于慢性心力衰竭的风险分类^[6]。本研究中, 我们发现: (1) CTD-PAH 患者血清 sST2 水平明显升高; (2) 高危组 CTD-PAH 患者血清 sST2 水平明显高于低中危组。ROC 曲线分析结果提示 sST2 ≥ 1 ng/ml 具有预测 CTD-PAH 患者危险分层的作用。

炎症和血管重构是 PAH 重要的病理生理机制, 参与 PAH 的发生发展。炎症因子肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-1 等刺激外周血单个核细胞后, 能进一步促进心肌和肺泡上皮细胞分泌 sST2^[7]。特发性 PAH (iPAH) 患者血管内皮细胞中 IL-33 呈低表达, 通过上调 IL-6 和 sST2 水平参与 PAH 的发病^[8]。血管内皮细胞是 sST2 的主要来源细胞, sST2 水平升高与 PAH 血管重构密切相关。IL-33/sST2 通路不仅能上调缺氧诱导因子(HIF)-1 α 和血管生长因子的表达参与血管重构^[9], 还能抑制核因子(NF)- κ B 活化, 阻断 IL-33 抗心肌肥大和纤维化作用, 参与右心室重构。本研究结果显示, CTD-PAH 组患者血清 sST2 水平高于 CTD 组和对照组, 表明 sST2 可能参与了 CTD-PAH 的发生、发展。

既往研究结果显示, iPAH 和硬皮病相关 PAH 患者血清 sST2 水平升高, 且与疾病严重程度及预后相关^[10]。在我国, 系统性红斑狼疮(SLE)-PAH 约占所有 CTD-PAH 的 50%^[11]。在对右心导管诊断的 PAH 患者的研究中发现, 血清 sST2 水平与 CI 及肺血管阻力相关^[12]。在老年患者中, 较高的血清 sST2 水平与较差的临床预后相关, 血清 sST2 是急性心力衰竭的独立预测因子^[13]。李生浩等^[14]的研究结果显示, 肺源性心脏病患者血清 sST2 水平高于正常人, 血清 sST2 与右心室内径、右心室流出道内径、肺动脉压力均呈正相关, 血清 sST2 可反映心室压力负荷和容量负荷, 并与心肌重构相关。苏嵘等^[15]的研究发现, 血清 sST2 可反映心室重构的严重程度, 也可用于评估心力衰竭患者 1 年内的预后。本研究结果显示, 高危组 CTD-PAH 患者血清 sST2 水平高于中低危组, 进一步证实了血清 sST2 在评估 CTD-PAH 患者病情及其预后中的重要作用。

sST2 可能成为评估 CTD-PAH 患者预后的一项新型无创性指标, 但其临床价值仍需进一步证实。本研究也存在一些缺陷: (1) 样本量较小, 需扩大样本量进一步研究; (2) 本研究是单中心横断面临床研究, 缺乏随访信息, 后期可增加患者随访或与其他中心样本进行对照; (3) 本研究所纳入的 CTD-PAH 患者主要通过二维超声心动图诊断, 仅小部分患者接受了右心导管检查, 可能低估了患者病情的严重程度。

综上所述, 血清 sST2 在 CTD-PAH 发病机制相关的炎症和血管重塑过程中均发挥重要作用。血清高水平 sST2 与 CTD-PAH 患者疾病危险分层密切相关, 可作为 CTD-PAH 患者判断病情严重程度及预后的新型生物学标志物。

参 考 文 献

- [1] 李园园, 张波, 雷宇, 等. 联合检测血清 NT-proBNP、D-二聚体及超声心动图对肺动脉高压诊断的意义[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(9): 1622-1625.
- [2] Sun RR, Lu L, Liu M, et al. Biomarkers and heart disease[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18(19): 2927-2935.
- [3] 曹梦远, 徐永妮, 叶伟, 等. IL-33/sST2 信号通路在疾病中作用的研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2013, 23(6): 71-75.
- [4] Galie N, Hoeper MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT)[J]. Eur Heart J, 2009, 30(2): 2493-2537.
- [5] 徐亚妹, 葛均波. 新型心衰标志物 sST2 的生物学特征和临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(7): 498-501.
- [6] Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines[J]. Circulation, 2013, 128(16): 1810-1852.
- [7] 马瑞松, 李元红, 江洪. IL-33 及其受体在心血管疾病中的研究进展[J]. 现代医学, 2015, 43(7): 942-946.
- [8] Zheng YG, Yang T, He JG, et al. Plasma Soluble ST2 Levels Correlate With Disease Severity and Predict Clinical Worsening in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension[J]. Clin Cardiol, 2014, 37(6): 365-370.
- [9] 吴青峰, 徐胜华, 李森华. 可溶性 ST-2 与 N-末端脑钠肽前体在慢性肺源性心脏病急性加重期患者中的变化[J]. 心脑血管病防治, 2015, 15(6): 476-478.
- [10] Yanaba K, Yoshizaki A, Asano Y, et al. Serum IL-33 levels are raised in patients with systemic sclerosis: association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis[J]. Clin Rheumatol, 2011, 30(6): 825-830.
- [11] 国家风湿病数据中心, 中国系统性红斑狼疮研究协作组. 中国系统性红斑狼疮相关肺动脉高压诊治共识[J]. 中国实用内科杂志, 2015, 35(2): 129-138.
- [12] 孙爱梅, 陈还珍. IL-33/sST2 信号通路在心血管疾病中的研究进展[J]. 中华临床医师杂志, 2016, 10(10): 1484-1487.
- [13] 胡振, 张新超, 李冠臻, 等. 动态监测血清可溶性人基质裂解素-2 对老年急性心力衰竭患者预后的评价[J]. 中华老年医学杂志, 2017, 36(5): 506-509.
- [14] 李生浩, 徐肇元, 周宇航, 等. 肺源性心脏病患者血清 sST2、NT-proBNP、超声心动图参数的变化特征及相互关系[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(1): 77-81.
- [15] 苏嵘, 赵娜, 齐新, 等. 血清可溶性基质裂解素 2 水平与心力衰竭严重程度及预后的关系[J]. 天津医药, 2018, 46(1): 46-50.

(收稿日期: 2019-12-20)

(本文编辑: 周三凤)