

论著·临床研究

急性呼吸窘迫综合征患者香叶基香叶基焦磷酸合成酶的表达及其临床意义

王晓霞¹, 许天祥², 吕铿烽³, 胥武剑³, 刘建波¹, 宋 勇³

1. 内蒙古自治区人民医院重症医学科, 呼和浩特 010017; 2. 内蒙古自治区人民医院腹部肿瘤外科, 呼和浩特 010017; 3. 东部战区总医院呼吸与危重症医学科, 南京 210002

[摘要] **目的**·通过检测急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 患者外周血单个核细胞中香叶基香叶基焦磷酸合成酶 (geranylgeranyl diphosphate synthase, GGPPS) 的表达情况, 研究 GGPPS 在 ARDS 诊治中的临床意义。 **方法**·通过定量反转录聚合酶链反应检测 ARDS 患者 (ARDS 组) 和正常人群 (对照组) 外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 水平, 采用蛋白质印迹法 (Western blotting) 检测 ARDS 组和对照组外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达水平。同时比较 ARDS 存活组和死亡组 GGPPS 的表达差异, 并采用 Spearman 相关分析明确 GGPPS 表达与 ARDS 患者临床指标的相关性。 **结果**·ARDS 组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 水平明显高于对照组 ($P=0.000$), 并且随 ARDS 病情加重逐渐升高 ($P<0.05$)。ARDS 组外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达明显高于对照组 ($P<0.05$), 并且随病情加重逐渐升高 ($P<0.05$)。ARDS 死亡组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 水平及蛋白表达水平高于 ARDS 存活组 ($P<0.05$)。ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 高表达与高的急性生理与慢性健康评分 II (APACHE II) ($r=0.862$, $P=0.000$)、高序贯器官功能衰竭估计 (SOFA) 评分 ($r=0.719$, $P=0.023$)、低氧合指数 ($r=-0.821$, $P=0.000$)、高 C 反应蛋白 ($r=0.758$, $P=0.024$) 及高白细胞计数 ($r=0.761$, $P=0.015$) 相关。 **结论**·ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS 表达水平升高, 且其表达水平与 ARDS 病情严重程度及预后相关, GGPPS 有望成为 ARDS 病情严重程度评估的生物标志物。

[关键词] 急性呼吸窘迫综合征; 香叶基香叶基焦磷酸合成酶; 预后; 生物标志物**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.05.012 **[中图分类号]** R563.9 **[文献标志码]** A

Clinical significance of geranylgeranyl diphosphate synthase expression levels in patients with acute respiratory distress syndrome

WANG Xiao-xia¹, XU Tian-xiang², LÜ Tang-feng³, XU Wu-jian³, LIU Jian-bo¹, SONG Yong³

1. Department of Critical Care Medicine, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot 010017, China; 2. Department of Abdominal Neoplasms Surgical, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot 010017, China; 3. Department of Respiratory and Critical Medicine, Jinling Hospital, Nanjing 210002, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the clinical significance of geranylgeranyl diphosphate synthase (GGPPS) by detecting its expression levels in the peripheral blood mononuclear cells of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods**·The GGPPS mRNA expression levels in peripheral blood mononuclear cells of patients with ARDS were compared with those of healthy controls, by using quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction. The GGPPS protein expression levels in the peripheral blood mononuclear cells were detected by Western blotting. The differential expression of GGPPS in survivors and non-survivors of ARDS was also examined. The correlations between GGPPS and clinical indicators of ARDS were tested by using Spearman's coefficients. **Results**·The mRNA and protein expression levels of GGPPS in the peripheral blood mononuclear cells of patients with ARDS were significantly higher than those of healthy controls ($P<0.05$), and these levels increased with the aggravation of ARDS ($P<0.05$). Moreover, the expression levels of GGPPS mRNA and protein were significantly higher in the patients who succumbed to ARDS than those in the survivors ($P<0.05$). The elevated level of GGPPS mRNA was correlated with the elevated acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score ($r=0.862$, $P=0.000$), elevated sequential organ failure assessment (SOFA) score ($r=0.719$, $P=0.023$), lower oxygenation index ($r=-0.821$, $P=0.000$), elevated C-reactive protein ($r=0.758$, $P=0.024$), and elevated white blood cells ($r=0.761$, $P=0.015$). **Conclusion**·The elevated expression level of GGPPS in the peripheral blood mononuclear cells is associated with greater disease severity and poorer prognosis in patients with ARDS. Based on these observations, GGPPS is expected to serve as an appropriate biomarker to assess the severity of ARDS.

[Key words] acute respiratory distress syndrome (ARDS); geranylgeranyl diphosphate synthase (GGPPS); prognosis; biomarker**[基金项目]** 内蒙古自治区人民医院院内基金 (2016082); 内蒙古自治区自然科学基金 (2018LH08002, 2019MS08085); 内蒙古自治区卫生计生科研计划项目 (201703011)。**[作者简介]** 王晓霞 (1983—), 女, 副主任医师, 博士; 电子信箱: xiaoxiawang_2012@163.com。**[通信作者]** 宋 勇, 电子信箱: yong_song6310@yahoo.com。**[Funding Information]** Inner Mongolia People's Hospital Research Fund (2016082); Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2018LH08002, 2019MS08085); Inner Mongolia Autonomous Region Health and Family Planning Research Project (201703011)。**[Corresponding Author]** SONG Yong, E-mail: yong_song6310@yahoo.com。

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是感染、创伤、失血、休克、误吸等多种病因引起的炎症反应失控而导致以肺毛细血管内皮细胞和肺泡上皮细胞弥漫性损伤为主要病理改变的临床综合征, 其病死率高达 30% ~ 50%^[1-2], 严重威胁人类的健康。目前, 临床上对 ARDS 患者的诊断主要依靠临床标准, 缺乏高特异度和敏感度可以反映 ARDS 病情严重程度和预后情况的生物标志物, 给 ARDS 临床诊治带来巨大的困难。因此, 寻找新的指标判断 ARDS 患者预后至关重要^[3]。研究^[4-7]表明, 某些生物标志物在评估 ARDS 高风险人群、临床疗效、疾病预后、临床试验项目优化方面起到一定作用, 甚至有利于促进临床上开展有针对性治疗方法的研究。香叶基香叶基焦磷酸合成酶 (geranylgeranyl diphosphate synthase, GGPPS) 是甲羟戊酸代谢途径中重要的分支酶, 催化法尼基焦磷酸 (farnesyl pyrophosphate, FPP) 合成香叶基香叶基焦磷酸 (geranylgeranyl pyrophosphate, GGPP), FPP 与 GGPP 参与蛋白的异戊二烯化修饰^[8]。这些蛋白只有发生异戊二烯化修饰后才能定位到细胞膜上, 促发下游信号通路的激活, 广泛参与细胞的生理、病理生理过程。GGPPS 表达异常会引起 FPP 与 GGPP 表达失衡, 导致许多疾病的发生^[9], 包括炎症性疾病, 如吸烟诱导的肺部炎症性疾病^[10]、睾丸支持细胞的炎症反应^[11]等。笔者前期研究^[12]用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠肺损伤模型, 小鼠肺泡上皮细胞及肺泡巨噬细胞中的 GGPPS 表达升高, 并参与肺部炎症反应, 推测 GGPPS 有望作为 ARDS 治疗的作用靶点。但目前尚缺乏关于 GGPPS 在 ARDS 诊治中临床意义的相关研究。因此, 本研究通过检测 ARDS 患者及正常体检人群外周血单个核细胞中 GGPPS 的表达情况, 对 GGPPS 在 ARDS 诊治中的临床意义进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

根据柏林诊断标准^[13], 将 ARDS 患者分为轻度、中度、重度。轻度: 呼吸末正压 (positive end expiratory pressure, PEEP) 或持续气道正压 (continuous positive airway pressure, CPAP) ≥ 5 cmH₂O (1 cmH₂O=0.098 kPa) 时, 200 mmHg< 氧合指数 ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) ≤ 300 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa)。中度: PEEP ≥ 5 cmH₂O 时, 100 mmHg< $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$ mmHg。重度: PEEP ≥ 5 cmH₂O 时, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100$ mmHg。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准: 年龄 ≥ 18 岁; 符合柏林诊断标准; 住院后测得 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 当日入组。排除标准: ①发病时间超过 24 h, 临床诊断不明确者。②免疫缺陷疾病、自身免疫性疾病、肺间质性疾病及近期使用免疫抑制剂治疗者。③孕妇及合并恶性肿瘤患者。④拒绝提供外周血及拒绝机械通气的患者。

1.3 研究对象及分组

收集 2015 年 3 月—2018 年 3 月于内蒙古自治区人民医院重症医学科 (intensive care unit, ICU) 住院的 60 例符合上述诊断标准的 ARDS 患者; 男性 35 例, 女性 25 例, 年龄 (60.03 ± 13.09) 岁。同时收集 60 例门诊正常体检人群 (对照组); 男性 33 例, 女性 27 例, 年龄 (58.45 ± 7.15) 岁。2 组间年龄、性别构成的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。所有患者均于确诊 24 h 内采集动、静脉血进行血气分析、血常规及实验室检查。对照组采集清晨空腹静脉血, 用于实验室检查。ARDS 患者中, 轻度 ARDS 32 例、中度 ARDS 17 例、重度 ARDS 11 例。存活组 40 例, 死亡组 20 例; 死亡组中, 轻度 ARDS 1 例、中度 ARDS 8 例、重度 ARDS 11 例。本研究通过内蒙古自治区人民医院医学伦理委员会批准, 研究对象或其家属签署知情同意书。

1.4 疾病严重程度评估

应用急性生理与慢性健康评分 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)、序贯器官功能衰竭估计 (sequential organ failure assessment, SOFA) 评分、 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 及柏林诊断标准^[13] 进行疾病严重程度评估, 在诊断后 24 h 内完成。

1.5 主要试剂及仪器

人外周血单个核细胞分离液 (天津市灏洋生物制品科技有限责任公司), TRIzol 试剂 (15596-018, Invitrogen), 反转录试剂盒 (RR036A, TaKaRa), real-time PCR 试剂盒 (RR420A, TaKaRa), real-time PCR 引物 (南京 Realgene 生物技术有限公司合成), BCA 蛋白定量试剂盒 (KGP904, 江苏凯基生物技术股份有限公司), SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (江苏凯基生物技术股份有限公司), 兔抗 β -微管蛋白 (β -tubulin) 单克隆抗体 (2128, CST, 1:1 000 稀释), 鼠抗 GGPPS 单克隆抗体 (sc-271680, Santa Cruz Biotechnology, 1:500 稀释), 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗兔 IgG (ab6721, Abcam, 1:10 000 稀释), HRP 标记山羊抗鼠 IgG (ab6789, Abcam, 1:10 000 稀释)。蛋白电

泳转移仪 (Bio-Rad), real-time 定量 PCR 仪 (Eppendorf)。

1.6 检测指标及方法

1.6.1 人外周血单个核细胞分离 采集 ARDS 患者和对照组人群的外周静脉血 4 ~ 5 mL 于 EDTA 抗凝管, 与全血稀释液 1:1 混匀后缓慢加于 1 份人外周血单个核细胞分离液的液面之上, 以 1 500 r/min (半径为 10 cm 水平转子) 离心 15 min; 此时, 离心管中由上至下细胞分 4 层, 第 1 层为血浆层, 第 2 层为环状乳白色的单个核细胞层, 第 3 层为分离液层, 第 4 层为红细胞层; 用吸管小心吸取第 2 层环状乳白色单个核细胞层到另一支 15 mL 离心管中, 按照说明书清洗离心, 即得所需的单个核细胞, 用于提取 RNA 及蛋白。

1.6.2 定量反转录聚合酶链反应 (quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 表达 ①提取外周血分离的单个核细胞的总 RNA。②将总 RNA 反转录合成 cDNA。③以 cDNA 为模板, 以人甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 基因为内参基因, 利用 GGPPS 和 GAPDH 特异性引物 (表 1), 采用 SYBR Green qRT-PCR 检测 GGPPS 和 GAPDH 的表达水平。反应结束后, 根据定量 PCR 所得出的 GGPPS 和 GAPDH 的 C_t 值, 应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 GGPPS mRNA 相对表达量。

表 1 GGPPS 和 GAPDH 的 PCR 引物
Tab 1 PCR primers of GGPPS and GAPDH

Primer name	Primer sequence
Human GGPPS	Forward 5'-TGGAGAAGACTCAAGAAACAG-3'
	Reverse 5'-TCAGCCAATGATTAAATGCC-3'
Human GAPDH	Forward 5'-GCAAAATCCATGGCACCGT-3'
	Reverse 5'-GCCCACTTGATTGTGAGG-3'

1.6.3 蛋白质印迹法 (Western blotting) 检测单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达 ①提取外周血分离的单个核细胞的总蛋白。②BCA 法蛋白定量。③在加样孔中加入 2 ~ 5 μ L 标准蛋白及蛋白样品 (30 ~ 50 μ g), 根据测得的蛋白浓度计算蛋白样品加样体积。④先以电压 80 V 恒压处理 30 ~ 45 min, 使蛋白样品经浓缩胶压缩, 待样品彻底进入分离胶后切换电压, 使其升至 110 ~ 120 V 继续电泳将蛋白分离。⑤恒流, 200 mA 转移至 PVDF 膜。⑥封闭过夜。⑦分别加入一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h, TBST 充分洗膜后再分别与二抗室温孵育 1 h。⑧ TBST 充分洗膜, 进行 ECL 化学发光显色。曝光后扫描, 分别以 GGPPS/ β -tubulin 显影条带灰度值的比值表示 GGPPS 蛋白的相对表达水平。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析, 采用 GraphPad Prism 5 软件作图。定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组间均数的比较采用独立样本 t 检验, 多组均数比较采用单因素方差分析, 组间比较前行方差齐性检验。定性资料以频数和百分比表示, 比较采用 χ^2 检验。GGPPS 表达与 ARDS 患者临床指标的相关性采用 Spearman 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 存活组与死亡组患者临床资料比较

存活组及死亡组患者临床资料对比分析见表 2。2 组患者的年龄、性别、白细胞 (white blood cell, WBC) 计数、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、ICU 住院时间及 ARDS 的病因构成比的差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。死亡组患者肌酐 (creatinine, Cr)、谷丙转氨酶 (glutamate-pyruvate transaminase, GPT)、谷草转氨酶 (glutamic-oxaloacetic transaminase, GOT)、APACHE II 评分、SOFA 评分、机械通气 (mechanical ventilation, MV) 时间高于存活组, 死亡组 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 低于存活组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

表 2 存活组与死亡组 ARDS 患者临床资料比较

Tab 2 Comparison of clinical data between survivors and non-survivors in ARDS patients

Item	Survivor ($n=40$)	Non-survivor ($n=20$)	P value
Age/year	58.13 \pm 13.84	63.85 \pm 10.76	0.111
Gender/ (male/female) / n	24/16	11/9	0.711
WBC/ ($\times 10^9 \text{ L}^{-1}$)	14.82 \pm 3.68	16.76 \pm 3.47	0.055
CRP/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	76.57 \pm 12.43	81.12 \pm 11.85	0.180
BUN/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	10.54 \pm 1.78	11.46 \pm 2.08	0.078
Cr/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	143.37 \pm 34.34	164.08 \pm 19.18	0.015
GPT/ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	68.97 \pm 22.97	101.41 \pm 27.55	0.001
GOT/ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	74.56 \pm 29.04	163.52 \pm 40.48	0.000
$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	225.13 \pm 46.57	118.50 \pm 29.29	0.000
APACHE II /score	18.40 \pm 3.28	34.90 \pm 5.47	0.000
SOFA/score	11.03 \pm 2.22	18.10 \pm 2.13	0.000
ICU stay/d	9.72 \pm 1.66	10.89 \pm 2.87	0.104
MV/d	6.45 \pm 1.14	9.89 \pm 3.26	0.000
Cause of ARDS/ n (%)			
Direct lung injury			
Pneumonia	21 (52.5)	13 (65.0)	0.357

Continued Tab

Item	Survivor (n=40)	Non-survivor (n=20)	P value
Aspiration	4 (10.0)	1 (5.0)	0.869
Indirect lung injury			
Trauma	8 (20.0)	3 (15.0)	0.906
Pancreatitis	5 (12.5)	2 (10.0)	1.000
Others	2 (5.0)	1 (5.0)	1.000

2.2 ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 表达水平

ARDS 组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 相对表达量 (3.994 ± 1.325) 明显高于对照组 ($P=0.000$) (图 1)。ARDS 重度组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 相对表达量 (5.774 ± 0.573) 明显高于轻度组 (3.215 ± 0.958) 和中度组 (4.365 ± 0.837), 中度组明显高于轻度组, 差异均有统计学意义 (均 $P=0.000$) (图 2)。

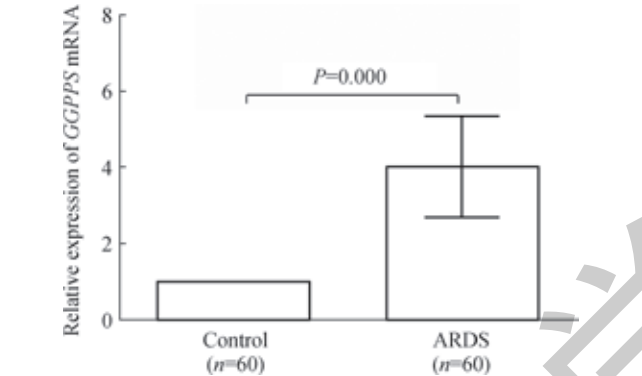


图 1 ARDS 组与对照组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 表达水平比较 (n=60)
Fig 1 Expression levels of GGPPS mRNA in peripheral blood mononuclear cells of patients with ARDS and healthy controls (n=60)

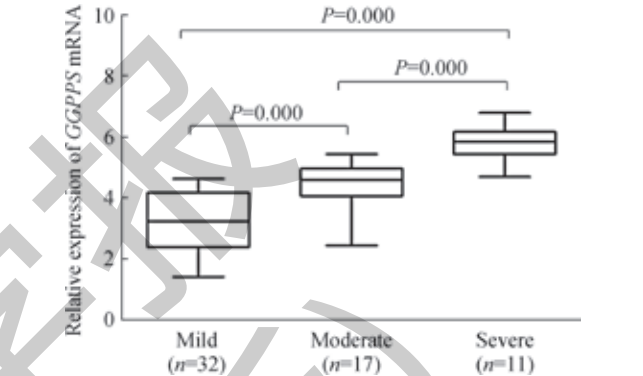
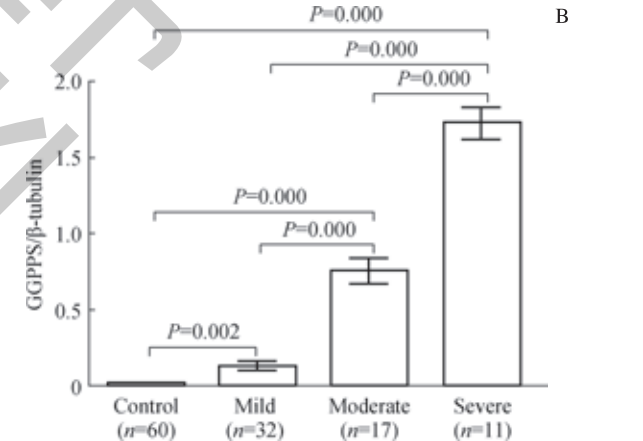
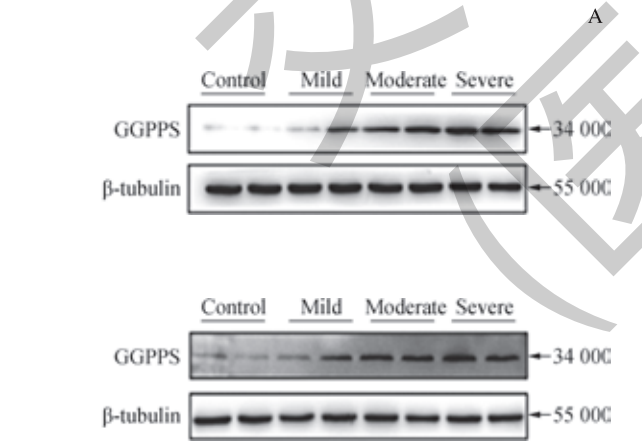


图 2 不同程度 ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 表达水平比较
Fig 2 Expression levels of GGPPS mRNA in peripheral blood mononuclear cells of patients with different degrees of ARDS

2.3 ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达水平
ARDS 组外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达水平明

显高于对照组, 重度组明显高于轻度及中度组, 中度组明显高于轻度组, 差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$) (图 3)。



Note: A. Western blotting analysis of GGPPS protein expression levels in the peripheral blood mononuclear cells of patients with different degrees of ARDS and healthy controls. B. Quantitative analysis of relative expression of GGPPS.

图 3 不同程度 ARDS 组和对照组患者外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达水平
Fig 3 Protein expression levels of GGPPS in peripheral blood mononuclear cells of patients with different degrees of ARDS and healthy controls

2.4 ARDS 死亡组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 及蛋白表达

ARDS 死亡组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 相对表达量 (5.178 ± 0.675) 明显高于存活组 (3.401 ± 1.163),

差异有统计学意义 ($P=0.000$) (图 4); ARDS 死亡组外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达水平明显高于存活组 ($P<0.05$) (图 5)。

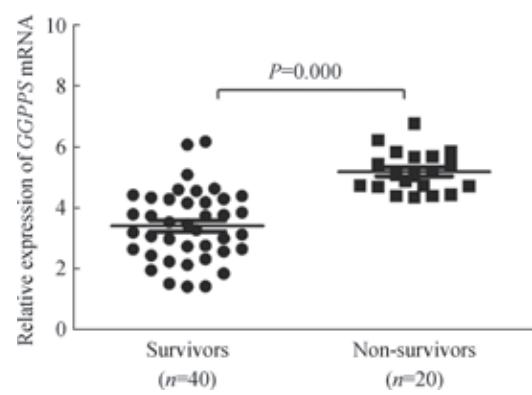


图 4 ARDS 存活组与死亡组外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 表达的比较
Fig 4 Expression levels of GGPPS mRNA in peripheral blood mononuclear cells of survivors and non-survivors

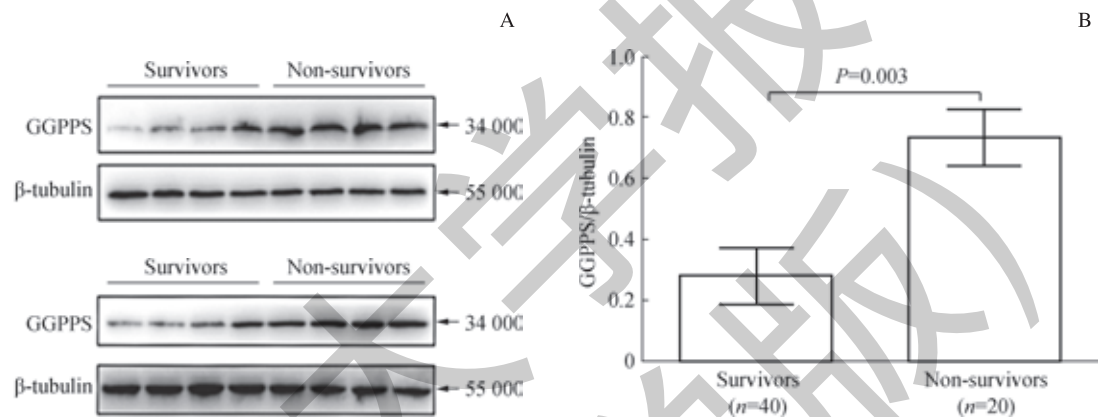


图 5 ARDS 存活组和死亡组外周血单个核细胞中 GGPPS 蛋白表达
Fig 5 Protein expression levels of GGPPS in peripheral blood mononuclear cells of survivors and non-survivors

2.5 ARDS 患者中 GGPPS 升高与临床指标的关系 SOFA 评分 ($r=0.719$, $P=0.023$)、低氧合指数 ($r=-0.821$, $P=0.000$)、高 C 反应蛋白 ($r=0.758$, $P=0.024$) 及高白细胞计数 ($r=0.761$, $P=0.015$) 相关 (表 3)。

ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 的高表达与高的 APACHE II 评分 ($r=0.862$, $P=0.000$)、高

表 3 ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS mRNA 表达与临床指标的相关性分析 ($n=60$)
Tab 3 Correlation analysis of GGPPS mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells and clinical indicators of ARDS patients ($n=60$)

Item	<i>r</i> value	<i>P</i> value
PaO ₂ /FiO ₂	-0.821	0.000
APACHE II	0.862	0.000
SOFA	0.719	0.023
GPT	0.390	0.064
GOT	0.320	0.075
BUN	0.280	0.068
Cr	0.860	0.088
CRP	0.758	0.024
WBC	0.761	0.015
ICU stay	0.329	0.155
MV	0.413	0.181

3 讨论

ARDS 是 ICU 常见危重病, 尽管目前在临床治疗上取得了许多进展, 但病死率仍居高不下^[2]。早期预测 ARDS 患者病情严重程度及预后, 探索可行的药物治疗靶点, 对改善患者的预后及降低病死率具有重要的意义。

他汀类药物是 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶特异性抑制剂, 作用于甲羟戊酸代谢途径的上游, 广泛用于治疗高脂血症。有研究^[14-16]显示, 他汀类药物通过抑制甲羟戊酸代谢途径抑制 LPS 诱导的肺损伤炎症反应。但是, 2 项大型的 III 期随机对照临床研究显示, 辛伐他汀和洛伐他汀不能降低 ARDS 患者的病死率和缩短机械通气时间^[17-18]。这 2 项研究的结果, 不仅与 ARDS 患者的异质性过大有关, 也可能因为即使给予高剂量药物也难以达到有效的血药浓度及组织浓度^[19-20], 还有可能与他汀类药物的作用靶点处于上游, 其阻断后不良反应过大而限制了药物的治疗作用有关^[16]。因此, 在甲羟戊酸代谢途径下游找到更具特异性的炎症相关分子, 可能可以更有针对性地对 ARDS 患者进行治疗。GGPPS 作为甲羟戊酸代谢途径下游关键的代谢产物, 通过调控 FPP/GGPP 的平衡在许多疾病中发挥重要作用。研究^[10]显示, 在慢性香烟烟雾暴露诱导的肺部炎症中 GGPPS 表达升高, 下调肺组织 GGPPS 表达后, 促分裂原活化的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) / 胞外信号调节激酶 (extracellular regulated kinases, ERK) 活化水平降低, 肺组织白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 表达降低, 提示 GGPPS 表达下调抑制了炎症的发展, 推测 GGPPS 在肺部炎症中可能发挥作用。本研究组前期研究^[12]发现, 在 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤模型的肺组织中 GGPPS 表达升高, 特异性敲除小鼠肺泡上皮细胞中的 *Ggpps* 可抑制 LPS 诱导的急性肺损伤的肺泡蛋白表达、细胞渗出及减轻肺组织损伤程度; 并且发现在该模型的肺泡巨噬细胞中, GGPPS 表达也升高。肺泡巨噬细胞在炎症早期阶段即发生激活, 并能释放多种炎症因子, 在炎症的进程中发挥重要的作用^[21]。如果在早期阶段阻止肺泡巨噬细胞对过度炎症的启动, 将在 ARDS 的临床治疗中获益。本研究通过检测 ARDS 患者及正常体检人群外周血单个核细胞中 GGPPS 的表达情况, 分析其与 APACHE II 评分、SOFA 评分的相关性等, 明确 GGPPS 在 ARDS 中的临床意义, 进一步验证动物实

验的结果, 为 ARDS 的病情判断、预后评估及进一步研究提供依据。

本研究发现 ARDS 患者外周血单个核细胞中 *GGPPS* mRNA 及蛋白表达水平均明显高于正常对照人群。这一结果与在慢性香烟烟雾暴露诱导的肺部炎症研究^[10]中肺组织的 GGPPS 表达变化趋势一致, 与本研究组前期研究^[12]中急性肺损伤小鼠肺泡上皮细胞及肺泡巨噬细胞中 GGPPS 变化趋势一致。前期研究^[12]发现, GGPPS 通过调节小 G 蛋白 Rab10 在细胞膜的分布而影响 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) -LPS 信号通路的活性, 并最终调控核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide binding oligomerization domain like receptor protein 3, NLRP3) 炎症体的活性。本研究结果显示, ARDS 患者中, 外周血单个核细胞 *GGPPS* mRNA 的高表达与高 C 反应蛋白及高白细胞计数相关, 进一步验证了前期研究结果, 提示 GGPPS 与 ARDS 炎症程度相关, GGPPS 可能参与 ARDS 的炎症过程。前期研究^[12]发现, 肺泡上皮细胞 GGPPS 表达呈 LPS 作用时间及浓度依赖性增加, 肺部炎症越重, GGPPS 表达越高; 而本研究发现 ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS 表达水平随 ARDS 病情加重逐渐升高, 其表达趋势与前期研究中 GGPPS 的变化趋势较一致, 提示 GGPPS 与 ARDS 病情严重程度相关。APACHE II 评分是目前公认的危重疾病综合评估模型, 包含多项重要的临床体征及实验室指标, 其分值越高表明患者的状态越差, 死亡的可能性越大, 能够较为全面地反映患者机体状况和评估危重患者的预后; SOFA 评分也是常用的急重症评分系统, 分值越高, 患者病死率越高^[22]。柏林诊断标准^[13]提出氧合指数与 ARDS 患者病情严重程度及预后密切相关。本研究结果显示 ARDS 患者外周血单个核细胞中 *GGPPS* mRNA 高表达与高 APACHE II 评分、高 SOFA 评分、低氧合指数相关。ARDS 患者死亡组外周血单个核细胞中 *GGPPS* mRNA 及蛋白表达水平均明显高于存活组。以上结果提示 GGPPS 与 ARDS 疾病严重程度及预后有关, GGPPS 表达越高, 患者病情越重, 预后越差。

综上所述, 本研究结果提示 ARDS 患者外周血单个核细胞中 GGPPS 表达水平升高预示病情危重及预后不良。关于 GGPPS 是否有望成为治疗 ARDS 的作用靶点, 需要进一步通过细胞、动物及临床试验进行深入研究。此外, 本研究存在不足之处, 例如缺少对患者治疗期间 GGPPS 水平的动态评估, 有待于今后进一步探索。

参·考·文·献

- [1] Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment[J]. JAMA, 2018, 319(7): 698-710.
- [2] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. JAMA, 2016, 315(8): 788-800.
- [3] Garcia-Laorden MI, Lorente JA, Flores C, et al. Biomarkers for the acute respiratory distress syndrome: how to make the diagnosis more precise[J]. Ann Transl Med, 2017, 5(14): 283.
- [4] Ware LB, Koyama T, Zhao Z, et al. Biomarkers of lung epithelial injury and inflammation distinguish severe sepsis patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Crit Care, 2013, 17 (5): R253.
- [5] Jabaudon M, Blondonnet R, Roszyk L, et al. Soluble receptor for advanced glycation end-products predicts impaired alveolar fluid clearance in acute respiratory distress syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 192(2): 191-199.
- [6] Geboers DG, de Beer FM, Tuip-de Boer AM, et al. Plasma suPAR as a prognostic biological marker for ICU mortality in ARDS patients[J]. Intensive Care Med, 2015, 41(7): 1281-1290.
- [7] Calfee CS. ARDS in 2015: new clinical directions, new biological insights[J]. Lancet Respir Med, 2015, 3(12): 912-913.
- [8] Reid TS, Terry KL, Casey PJ, et al. Crystallographic analysis of CaaX prenyltransferases complexed with substrates defines rules of protein substrate selectivity[J]. J Mol Biol, 2004, 343(2): 417-433.
- [9] Xu N, Shen N, Wang X, et al. Protein prenylation and human diseases: a balance of protein farnesylation and geranylgeranylation[J]. Sci China Life Sci, 2015, 58 (4): 328-335.
- [10] Shen N, Gong T, Wang JD, et al. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammatory responses are mediated by EGR-1/GGPPS/MAPK signaling[J]. Am J Pathol, 2011, 178(1): 110-118.
- [11] Wang XX, Ying P, Diao F, et al. Altered protein prenylation in sertoli cells is associated with adult infertility resulting from childhood mumps infection[J]. J Exp Med, 2013, 210(8): 1559-1574.
- [12] Xu WJ, Wang XX, Lv TF, et al. Inhibition of GGPPS1 attenuated LPS-induced acute lung injury by suppressing the NLRP3 inflammasome[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019, 316(3): L567-L577.
- [13] Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533.
- [14] Jacobson JR, Barnard JW, Grigoryev DN, et al. Simvastatin attenuates vascular leak and inflammation in murine inflammatory lung injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288(6): L1026-1032.
- [15] Bajwa EK, Malhotra CK, Thompson BT, et al. Statin therapy as prevention against development of acute respiratory distress syndrome: an observational study[J]. Crit Care Med, 2012, 40(5): 1470-1477.
- [16] Yeganeh B, Wiehche E, Ande SR, et al. Targeting the mevalonate cascade as a new therapeutic approach in heart disease, cancer and pulmonary disease[J]. Pharmacol Ther, 2014, 143(1): 87-110.
- [17] McAuley DF, Laffey JG, O'Kane CM, et al. Simvastatin in the acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2014, 371(18): 1695-1703.
- [18] National Heart, Lung, Blood Institute ARDS Clinical Trial Network, Truitt JD, Bernard GR, et al. Rosuvastatin for sepsis-associated acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2014, 370(23): 2191-2200.
- [19] Ahmed TA, Hayslip J, Leggas M. Pharmacokinetics of high-dose simvastatin in refractory and relapsed chronic lymphocytic leukemia patients[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2013, 72(6): 1369-1374.
- [20] Kim WS, Kim MM, Choi HJ, et al. Phase II study of high-dose lovastatin in patients with advanced gastric adenocarcinoma[J]. Invest New Drug, 2001, 19(1): 81-83.
- [21] Novak ML, Koh TJ. Macrophage phenotypes during tissue repair[J]. J Leukoc Biol, 2013, 93(6): 875-881.
- [22] Falcão ALE, Barros AGA, Bezerra AAM, et al. The prognostic accuracy evaluation of SAPS 3, SOFA and APACHE II scores for mortality prediction in the surgical ICU: an external validation study and decision-making analysis[J]. Ann Intensive Care, 2019, 9 (1): 9-18.

[收稿日期] 2019-07-31

[本文编辑] 吴 洋

