

• 论 著 •

急性痛风患者 NALP3 炎症小体表达及相关指标的价值研究

钟 山,王正义,郭林旺,林 玉

中南大学湘雅医学院附属海口医院滨江分院全科,海南海口 571100

摘 要:**目的** 探讨急性痛风患者 NALP3 炎症小体表达及相关指标的价值。**方法** 选取 2018 年 3 月至 2020 年 3 月该院收治的 152 例急性痛风患者作为试验组,并选取同期体检健康者 151 例作为对照组。比较两组患者尿酸(UA)、空腹血糖(FPG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP),以及血清 NALP3 mRNA 和蛋白质的表达情况;采用多因素 Logistic 回归分析急性痛风的独立危险因素,采用 Spearman 相关分析 NALP3 炎症小体与 UA、ESR、CRP 的相关性。**结果** 试验组 UA、ESR、CRP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);试验组 NALP3 蛋白、mRNA 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);多因素 Logistic 回归分析显示,NALP3 炎症小体、UA、ESR 和 CRP 是导致急性痛风的独立危险因素;Spearman 相关分析显示,NALP3 mRNA 的表达与患者 UA、CRP、ESR 呈正相关($r=0.559,0.548,0.727,P<0.001$)。**结论** NALP3 炎症小体在急性痛风患者中的表达水平明显升高,NALP3 炎症小体及血清 UA、ESR、CRP 是急性痛风的独立危险因素,且 NALP3 炎症小体的表达水平与血清 UA、ESR、CRP 呈正相关。

关键词:NALP3 炎症小体; 急性痛风; 尿酸; 相关性分析
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.13.019 **中图法分类号:**R589.7
文章编号:1673-4130(2021)13-1614-04 **文献标志码:**A

The value of NALP3 inflammasome expression and related indexes in patients with acute gout

ZHONG Shan,WANG Zhengyi,GUO Linwang,LIN Yu

General Department of Binjiang Branch of Haikou Hospital Affiliated to Xiangya Medical College of Central South University,Haikou,Hainan 571100,China

Abstract: Objective To investigate the expression of neutrophil NALP3 inflammasome in serum of patients with acute gout and the value of related indexes. **Methods** A total of 152 patients with acute gout admitted to the hospital from March 2018 to March 2020 were selected as the experimental group, and 151 healthy subjects during the same period were selected as the control group. The levels of uric acid (UA),fasting blood glucose (FPG),low density lipoprotein cholesterol (LDL-C),high density lipoprotein cholesterol (HDL-C),erythrocyte sedimentation rate (ESR),C-reactive protein (CRP),and serum NALP3 mRNA and protein were compared between the two groups. Multivariate Logistic regression was used to analyze the independent risk factors of acute gout,and Spearman correlation was used to analyze the correlation between NALP3 inflammasome and UA,ESR and CRP. **Results** UA,ESR and CRP levels in experimental group were higher than those in control group,and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The protein and mRNA expression levels of NALP3 in experimental group were higher than those in control group,and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that NALP3 inflammasome,UA,ESR and CRP were independent risk factors for acute gout. Spearman correlation analysis showed that NALP3 mRNA expression was positively correlated with UA,CRP and ESR ($r=0.559,0.548,0.727,P<0.001$). **Conclusion** The expression level of NALP3 inflammasome was significantly increased in patients with acute gout. NALP3 inflammasome and serum UA,ESR and CRP were independent risk factors for acute gout,and the expression level of NALP3 inflammasome was positively correlated with serum UA,ESR and CRP.

作者简介:钟山,男,主治医师,主要从事全科医学临床研究。
本文引用格式:钟山,王正义,郭林旺,等.急性痛风患者 NALP3 炎症小体表达及相关指标的价值研究[J].国际检验医学杂志,2021,42(13): 1614-1617.

Key words: NALP3 inflammasome; acute gout; uric acid; correlation analysis

痛风是因为单钠尿酸盐晶体异常引起的炎症性疾病,主要表现为嘌呤代谢和尿酸排泄异常以及障碍^[1]。长期的高尿酸血症会导致关节和周围软组织尿酸盐晶体沉淀,进而反复出现急性关节炎,软组织、关节损害,以及痛风石性关节炎^[2]。而急性痛风则是病情发展快、疼痛剧烈,且伴随 C 反应蛋白(CRP)和红细胞沉降率(ESR)的升高,但是大部分患者可在一定时间内自行缓解,临床上仅部分患者可由高尿酸血症发展为急性痛风,所以寻找更加有效预测痛风的指标显得较为重要^[3]。CRP 是一种急性时相反应蛋白,是机体出现炎症反应时最敏感的指标之一;ESR 是指红细胞在一定条件内的沉降速度,在急性痛风发作期可明显升高^[4]。血清核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3(NALP3)属于大分子复合物,能够充当半胱天冬酶-1 活化的平台,同时能够起到促进白细胞介素(IL)- β 、IL-18 等炎性因子生成以及成熟的作用。既往有文献显示,NALP3 在痛风、肾脏疾病当中起到重要的作用^[5-6]。因此,本研究选取本院收治的 152 例急性痛风患者的临床资料进行分析,探讨急性痛风患者 NALP3 炎症小体表达及相关指标的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 3 月至 2020 年 3 月本院收治的 152 例急性痛风患者作为试验组。纳入标准:(1)符合《痛风的防治》^[7]中痛风诊断标准;(2)年龄 >18 岁;(3)精神意识正常;(4)双源 CT 检查尿酸盐结晶沉积情况,均发现尿酸盐沉积,结晶沉积数量在 120 个以下;(5)临床资料完整。排除标准:(1)存在恶性肿瘤、心肌梗死等重大疾病;(2)存在肺、脑、肾等重要器官障碍;(3)中途退出或死亡。另选取同期体检健康者 151 例作为对照组。试验组男 75 例,女 77 例;年龄 31~68 岁,平均 (50.14 ± 5.48) 岁;病程 10~19 h,平均 (15.25 ± 3.19) h。对照组男 74 例,女 77 例;年龄 30~69 岁,平均 (50.21 ± 5.51) 岁。两组患者性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。所有患者及其家属知情且签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 NALP3 mRNA 检测 分别抽取两组患者空腹静脉血 2.5 mL,高速离心分离血清,参考 TIANamp Blood DNA Kit 说明书提取 DNA, -70°C 保存。采用荧光定量 PCR 检测 NALP3 mRNA 相对表达水平。参考 GenBank 中 NALP3 mRNA 的序列,采用 Primer Express 2.0 软件设计引物,NALP3 上游引物为 5'-CCCCGTGAGTCCCATTA-3',NALP3 下游引

物为 5'-GAC-GCCCAGTCCAACAT-3'。内参基因 GAPDH 上游引物为 5'-ACCCAGAAGACTGTG-GATGG-3',下游引物为 5'-TTCAGCTCAGGGAT-GACCTT-3'。逆转录反应条件: 45°C ,持续 45 min。采用荧光定量 PCR 测定 NALP3 mRNA 相对表达水平。 95°C ,预变性 2 min, 95°C 15 s, 60°C 退火, 72°C 延伸 45 s,连续 40 个循环。PCR 完成后,分析扩增曲线对应循环阈值(Ct 值)。

1.2.2 NALP3 蛋白检测 分别抽取两组患者外周血 2.5 mL,提取外周血单个核细胞进行蛋白定量检测,严格按照蛋白抽提试剂盒说明书提取细胞总蛋白,使用 BCA 法进行蛋白定量。取 50 μg 细胞总蛋白进行电泳,转移至 PVDF 膜,5%脱脂奶粉孵育 1.5 h;采用 NALP3 抗体(武汉博士德生物工程公司)及 GAPDH 抗体(美国 Abcam 公司) 4°C 孵育过夜。第 2 天加入被辣根过氧化物酶所标记的二抗,孵育 1 h,随后进行 ECL 化学发光显色,应用 Image J 软件进行图像分析。

1.2.3 实验室检查 观察两组受试者尿酸(UA)、空腹血糖(FPG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、ESR、CRP 水平。抽取两组受试者空腹静脉血 3.5 mL,高速离心分层,分离血清,送至检验科,应用美国贝克曼有限公司的 AU5800 检测 UA、ESR、LDL-C、HDL-C 水平;应用泰康医学系统股份有限公司的血糖检测仪检测 FPG 水平;应用固相夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 CRP 水平,人 CRP ELISA 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。参考《常见疾病的实验室检查》^[8]中实验室指标正常范围。UA 正常范围: $<420 \mu\text{mol/L}$;FPG 正常范围:3.9~6.1 mmol/L;LDL-C 正常范围: $<3.41 \text{ mmol/L}$;HDL-C 正常范围:1.16~1.42 mmol/L;ESR 正常范围: $<20 \text{ mm/h}$;CRP 正常范围: $<2.87 \text{ ng/L}$ 。

1.3 统计学处理 应用 SPSS20.0 进行数据统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,组内比较采用配对样本 t 检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 检验,多因素分析采用 Logistic 回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者实验室检查指标的比较 两组患者 FPG、LDL-C、HDL-C 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);试验组 UA、ESR、CRP 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

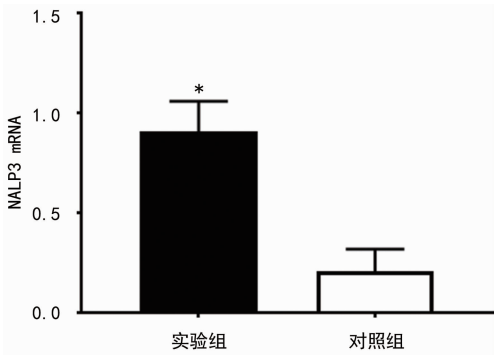
2.2 两组患者血清 NALP3 mRNA 和蛋白质表达情况比较

试验组 NALP3 mRNA 表达水平及 NALP3

蛋白表达水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1、图 2。

表 1 两组患者实验室检查指标的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	UA($\mu\text{mol/L}$)	FPG(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	ESR(mm/h)	CRP(ng/L)
试验组	152	521.25 $\pm$ 123.25	7.11 $\pm$ 1.54	3.15 $\pm$ 1.23	1.24 $\pm$ 0.31	53.25 $\pm$ 10.24	4.25 $\pm$ 1.44
对照组	151	298.24 $\pm$ 119.25	6.91 $\pm$ 1.49	2.94 $\pm$ 1.15	1.19 $\pm$ 0.29	13.58 $\pm$ 5.15	2.12 $\pm$ 1.35
<i>t</i>		16.004	1.148	1.534	1.449	42.557	13.28
<i>P</i>		<0.001	0.251	0.125	0.148	<0.001	<0.001



注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

图 1 两组患者血清 NALP3 mRNA 表达水平比较

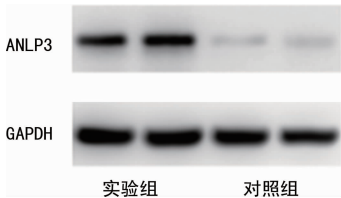


图 2 两组 NALP3 蛋白表达水平比较

2.3 急性痛风独立危险因素分析

经多因素 Logistic 回归分析,NALP3 炎症小体、UA、ESR 和 CRP 是导致急性痛风的独立危险因素。见表 3。

表 3 急性痛风的独立危险因素分析

因素	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
常量	-2.283	0.446	26.202	<0.001	0.102	—
UA	0.589	0.167	12.439	<0.001	1.803	1.294~2.518
ESR	0.844	0.198	18.169	<0.001	2.326	1.612~3.505
CRP	0.586	0.137	18.296	<0.001	1.796	1.337~2.288
NALP3 炎症小体	0.776	0.270	8.260	0.004	2.174	1.510~4.351

注:—表示此项无数据。

2.4 NALP3 炎症小体表达水平与血清指标相关性分析

Spearman 相关性分析显示,健康者和急性痛风患者 NALP3 mRNA 的表达水平与 UA、CRP、ESR 均呈正相关($r=0.559、0.548、0.727,P<0.001$)。

3 讨论

痛风是目前风湿免疫科较为常见关节炎性疾病之一,临床表现为关节周围红肿、剧烈疼痛等,往往在

1 周左右可自行缓解,但是随着时间的变化,痛风的次数会逐渐增加,出现痛风石,最终引起关节畸形^[9]。痛风急性发作期存在较为明显的特异性,急性发作期患者患病侧关节可出现红肿、灼烧以及疼痛感导致行动受到限制,如果影响到大关节甚至会引起渗液,患者多伴随发热的症状,往往会出现寒战、倦怠、头痛等情况,由于痛风急性发作期出现的皮肤暗红也会随之消失,大部分患者会出现脱屑、瘙痒等情况^[10-12]。通常采用激素类药物进行治疗痛风急性发作期患者,虽可缓解病情,但其治疗效果受到治疗是否及时的影响,因此对于痛风急性发作的预测和诊断显得极其重要^[13-15]。

NALP3 炎症小体属于炎性复合体的一类。痛风性关节炎生成的尿酸炎结晶体是一种活化剂,能够活化炎性体,促进活性氧簇的分泌,激活 NALP3 的炎性信号通道,进而促进 TNF- α 、TL-1 β 等一系列炎性因子的分泌,使机体的炎性反应得到进一步扩大^[16]。NALP3 炎症小体的主要由 NALP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、半胱氨酸蛋白酶(caspase)组成,这 3 种因子均能抑制 IL-1 β 的成熟,表明 NALP3 炎性体与痛风炎性反应紧密相关,而有研究证实 IL-1 β 能够促进炎症因子的分泌,引起炎症应答,与痛风急性发作密切相关^[17]。本研究结果显示,试验组 NALP3 mRNA 及蛋白表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),且 NALP3 炎症小体是痛风急性发作的独立危险因素,与据李芳等^[18]研究一致。提示痛风的急性发作期同样与 NALP3 炎症小体的表达升高有关。UA 水平的升高是痛风的主要特征之一,本研究结果显示,相比于对照组,试验组 UA 水平显著升高,且 UA 是痛风急性发作的独立危险因素,分析原因,UA 的代谢异常会导致尿酸盐结晶堆积于关节腔内部,促进炎性因子,进而引发痛风急性发作^[19]。CRP 是一种在 IL-1、IL-6 等炎性因子刺激下由肝细胞所合成的蛋白,健康人体内表达水平较低,但是在患者体内出现炎性因子的情况下,其水平会急剧升高。ESR 升高多见于各种炎症。本研究中,试验组 CRP、ESR 水平较对照组显著升高,提示其能够作为痛风急性发

作的检测指标。本研究结果还显示,痛风急性发作期体内 NALP3 mRNA 的表达与患者 UA、CRP、ESR 呈正相关。分析原因:患者在痛风急性发作期体内,因为炎性反应导致 NALP3 mRNA 的表达急剧升高,而在炎性反应的促进下,CRP 水平急剧升高,ESR 也随之升高^[20]。

综上所述,NALP3 炎症小体在急性痛风患者中的表达水平明显升高,NALP3 炎症小体、血清 UA、ESR、CRP 是急性痛风的独立危险因素,同时 NALP3 炎症小体与 UA、ESR、CRP 的表达水平呈正相关。

参考文献

- [1] 刘湘玲,韩德军,曹克光,等. 痛风病常见证候的发展变化规律[J]. 中国中医基础医学杂志,2018,24(3):305-307.
- [2] 张劼,谢国然,梁杏欢,等. 痛风及高尿酸血症患者 1 h 血糖增高时胰岛 β 细胞功能状态[J]. 中华内分泌代谢杂志,2018,34(4):300-303.
- [3] 俞阳,周奇,杨楠,等. 痛风急性发作治疗的系统评价再评价[J]. 中国循证医学杂志,2018,18(10):1080-1085.
- [4] 伍慧慧,吕雄,郭丽珍,等. 中西医结合治疗痛风急性发作[J]. 长春中医药大学学报,2019,35(1):73-75.
- [5] 李芳,姚建华,段哲萍,等. 非布司他对慢性痛风性关节炎患者 NALP3 炎性体信号通路的影响[J]. 基因组学与应用生物学,2019,38(10):320-324.
- [6] 吴伊莹,王莘智,柳玉佳,等. 四妙痛风颗粒治疗慢性痛风急性发作的临床疗效及对 IL-1 β 、NALP3 的影响[J]. 中国中医急症,2020,56(11):12-13.
- [7] 孟昭亨. 痛风的防治[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1991:2-3.
- [8] 李芳娟. 常见疾病的实验室检查[M]. 兰州:兰州大学出版社,2009:21-23.
- [9] 徐敏敏,刘绍凡,王定菊. 肿意膏穴位贴敷治疗急性痛风性关节炎(湿热痹阻证)的临床观察[J]. 中国中医急症,2018,27(1):112-114.

- [10] 严瑶琦,孙静,张莉,等. 基于数据挖掘和网络药理学的痛风湿热蕴结证用药规律和作用机制分析[J]. 中国中药杂志,2018,43(13):2824-2830.
- [11] 张艳,董晓征,袁慧书. 急性痛风性关节炎首次发作患者双能 CT 尿酸盐沉积研究[J]. 中华医学杂志,2020,100(31):2441-2445.
- [12] 潘姝,原永芳,金剑. 系统评价口服糖皮质激素在人群中治疗痛风急性发作的疗效与安全性[J]. 世界临床药物,2018,039(011):749-755.
- [13] 高薇娜,谢沂宏. 磷酸钠盐口服溶液诱导痛风急性发作 3 例[J]. 药物不良反应杂志,2020,22(4):264-265.
- [14] 马秀琴,牟善茂,焦静,等. 通调营卫法治疗痛风性关节炎急性发作期的临床研究[J]. 中国中医急症,2019,28(9):1536-1539.
- [15] 王晓芳,张金枝,王婷,等. 痛风急性期降尿酸治疗对机体炎症反应和痛风发作及血尿酸达标率的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志,2019,35(6):486-490.
- [16] 谢春梅,朱立军,柳芳莉,等. 不同病程痛风超声影像学特点及 NALP3、COX-2 和 IL-1 β 的水平研究[J]. 临床和实验医学杂志,2018,17(12):1278-1281.
- [17] 谢敏,范晓利,赵一璟,等. TRAF-6、IRAK-1 和 NALP3 炎症因子失调在痛风性关节炎患者体内的作用研究[J]. 海南医学院学报,2020,259(12):51-57.
- [18] 李芳,姚建华,刘颐轩,等. 痛风患者外周血 NALP3 炎性体与炎性因子、糖脂代谢的相关性[J]. 华中科技大学学报(医学版),2019,48(1):79-84.
- [19] JUNG J Y,CHOI Y,SUH C H,et al. Effect of fenofibrate on uric acid level in patients with gout[J]. Sci Rep, 2018,8(1):315-320.
- [20] LEE H E,YANG G,PARK Y B,et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents acute gout by suppressing NLRP3 inflammasome activation and mitochondrial DNA synthesis[J]. Molecules,2019,50(7):97-99.

(收稿日期:2020-11-13 修回日期:2021-05-10)

(上接第 1613 页)

- [19] YU H X,ZHAO M M,PU Z H,et al. A study of community-acquired Mycoplasma pneumoniae in Yantai, China[J]. Colomb Med (Cali),2018,49(2):160-163.
- [20] ZHOU Z,LI X,CHEN X,et al. Macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae in adults in Zhejiang, China[J]. Antimicrob Agents Chemother,2015,59(2):1048-1051.
- [21] NING G,WANG X,WU D,et al. The etiology of community-acquired pneumonia among children under 5 years of age in mainland China, 2001 — 2015: a systematic review[J]. Hum Vaccin Immunother,2017,13(11):2742-2750.
- [22] XUE G,LI M,WANG N,et al. Comparison of the molecular characteristics of Mycoplasma pneumoniae from children across different regions of China[J]. PLoS One, 2018,13(8):e0198557.
- [23] BAJANTRI B,VENKATRAM S,DIAZ-FUENTES G.

- Mycoplasma pneumoniae: a potentially severe infection[J]. J Clin Med Res,2018,10(7):535-544.
- [24] CAO B,QU J X,YIN Y D,et al. Overview of antimicrobial options for Mycoplasma pneumoniae pneumonia: focus on macrolide resistance[J]. Clin Respir J, 2017, 11(4):419-429.
- [25] PEREYRE S,GORET J,BEBEAR C. Mycoplasma pneumoniae: current knowledge on macrolide resistance and treatment[J]. Front Microbiol,2016,7:974.
- [26] HA S G,OH K J,KO K P,et al. Therapeutic efficacy and safety of prolonged macrolide, corticosteroid, doxycycline, and levofloxacin against macrolide-unresponsive Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. J Korean Med Sci,2018,33(43):e268.

(收稿日期:2020-09-30 修回日期:2021-05-17)