

• 论 著 •

外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 与重症肺炎支原体肺炎患儿 NLRP3 炎症小体及预后的关系*

苏晓娟¹, 李 杨², 张海洋³, 李奉国⁴, 李 莉¹

1. 广元市妇幼保健院儿科, 四川广元 628000; 2. 成都市妇女儿童医院小儿消化科, 四川成都 610073;
3. 四川大学华西第二医院/四川大学华西妇产儿童医院 PICU, 四川成都 610041;
4. 广元市中医院儿科, 四川广元 628000

摘 要:目的 探讨外周血受体相互作用蛋白激酶 1(RIPK1)、骨形态发生蛋白-7(BMP-7)、葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)与重症肺炎支原体肺炎(SMPP)患儿 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体及预后的关系。**方法** 选取 2020 年 6 月至 2024 年 6 月广元市妇幼保健院收治的 SMPP 患儿 228 例作为 SMPP 组,根据预后情况,将患儿分为预后不良组(48 例)和预后良好组(180 例),另选取同期体检健康的 228 例儿童作为对照组。检测并比较两组外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 及 NLRP3 炎症小体相关因子[NLRP3、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、含 Caspase 募集结构域的凋亡相关斑点蛋白(ASC)]mRNA 水平。采用 Pearson 法分析 SMPP 患儿外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 与 NLRP3 炎症小体相关因子表达的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析 SMPP 患儿预后不良的影响因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 对 SMPP 患儿预后不良的预测价值。**结果** SMPP 组外周血 RIPK1、GRP78、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA 水平高于对照组($P<0.05$),BMP-7 水平低于对照组($P<0.05$)。SMPP 患儿外周血 RIPK1、GRP78 与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA 表达均呈正相关($P<0.05$),BMP-7 与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA 表达均呈负相关($P<0.05$)。预后不良组入院时体温、C 反应蛋白、降钙素原、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、外周血 RIPK1、GRP78 水平均高于预后良好组($P<0.05$),BMP-7 水平低于预后良好组($P<0.05$)。外周血高水平 RIPK1、GRP78 和低水平 BMP-7 是 SMPP 患儿预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 单独预测 SMPP 患儿预后不良的曲线下面积(AUC)分别为 0.786、0.781、0.767,联合预测的 AUC 为 0.904。**结论** SMPP 患儿外周血高水平 RIPK1、GRP78 和低水平 BMP-7 与 NLRP3 炎症小体激活及预后不良密切相关,联合检测外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 对 SMPP 患儿预后具有较高的预测价值。

关键词:重症肺炎支原体肺炎; 受体相互作用蛋白激酶 1; 骨形态发生蛋白-7; 葡萄糖调节蛋白 78; NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎症小体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.18.002 中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2025)18-2183-07 文献标志码:A

Relationship between peripheral blood RIPK1, BMP-7, GRP78 and NLRP3 inflammasome and prognosis in children with severe *Mycoplasma pneumoniae pneumonia**

SU Xiaojuan¹, LI Yang², ZHANG Haiyang³, LI Fengguo⁴, LI Li¹

1. Department of Pediatrics, Guangyuan Maternal and Child Health Hospital, Guangyuan, Sichuan 628000, China; 2. Department of Pediatric Gastroenterology, Chengdu Women and Children's Hospital, Chengdu, Sichuan 610073, China; 3. Department of PICU, West China Second Hospital of Sichuan University/West China Maternity and Child Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 4. Department of Pediatrics, Guangyuan Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangyuan, Sichuan 628000, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between peripheral blood receptor-interacting protein kinase 1 (RIPK1), bone morphogenetic protein-7 (BMP-7), glucose-regulated protein 78 (GRP78), NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) inflammasome and prognosis in children with severe

* 基金项目:四川省卫生健康委员会科技项目(24WSTX046)。
作者简介:苏晓娟,女,主治医师,主要从事小儿呼吸系统疾病诊治方向的研究。

Mycoplasma pneumoniae pneumonia (SMPP). **Methods** A total of 228 children with SMPP admitted to Guangyuan Maternal and Child Health Hospital from June 2020 to June 2024 were selected as SMPP group. Based on prognosis, they were divided into a poor prognosis group (48 cases) and a good prognosis group (180 cases). Additionally, 228 healthy children who underwent physical examinations during the same period were selected as control group. Peripheral blood levels of RIPK1, BMP-7, GRP78, and NLRP3 inflammasome-related factors [NLRP3, cysteinyl aspartate specific proteinase 1 (Caspase-1), and apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC)] mRNA were detected and compared between two groups. Pearson method was used to analyze the correlation between peripheral blood RIPK1, BMP-7, GRP78, and the expression of NLRP3 inflammasome-related factors in children with SMPP. Multivariate Logistic regression analysis was performed to determine the influencing factors of poor prognosis in children with SMPP. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to evaluate the predictive value of peripheral blood RIPK1, BMP-7, and GRP78 for poor prognosis in children with SMPP. **Results** The levels of RIPK1, GRP78, NLRP3 mRNA, Caspase-1 mRNA, and ASC mRNA in the SMPP group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), while the level of BMP-7 was lower than that in the control group ($P < 0.05$). In children with SMPP, peripheral blood RIPK1 and GRP78 were positively correlated with NLRP3 mRNA, caspase-1 mRNA, and ASC mRNA ($P < 0.05$), whereas BMP-7 was negatively correlated with NLRP3 mRNA, caspase-1 mRNA, and ASC mRNA ($P < 0.05$). The body temperature upon admission, C-reactive protein, procalcitonin, NLRP3 mRNA, Caspase-1 mRNA, ASC mRNA, peripheral blood RIPK1, and GRP78 levels in the poor prognosis group were all higher than those in the good prognosis group ($P < 0.05$), while BMP-7 level was lower than that in the good prognosis group ($P < 0.05$). High peripheral blood levels of RIPK1 and GRP78, along with low BMP-7 level, were identified as independent risk factors for poor prognosis in children with SMPP ($P < 0.05$). The area under the curve (AUC) of the single detection of RIPK1, BMP-7, and GRP78 for predicting the poor prognosis was 0.786, 0.781, and 0.767, respectively, while the combined detection yielded an AUC of 0.904. **Conclusion** High peripheral blood levels of RIPK1 and GRP78 and low level of BMP-7 are closely associated with NLRP3 inflammasome activation and poor prognosis in children with SMPP. The combined detection of RIPK1, BMP-7, and GRP78 in peripheral blood has high predictive value for the prognosis in children with SMPP.

Key words: severe *Mycoplasma pneumoniae pneumonia*; receptor-interacting protein kinase 1; bone morphogenetic protein-7; glucose-regulated protein 78; NOD-like receptor hot protein domain-related protein 3 inflammasome

肺炎支原体肺炎(MPP)是由肺炎支原体引起的肺部急性炎症,好发于儿童^[1]。大多数 MPP 患儿病情较轻,经过规范治疗后能迅速康复,但部分病例可进展为重症肺炎支原体肺炎(SMPP),伴随较高的并发症风险和病死率^[2]。目前临床尚缺乏针对 SMPP 可靠的预后预测指标,亟需进一步研究。有研究表明,炎症反应与 SMPP 的发生和发展密切相关,NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体在这一过程中发挥重要作用^[3]。受体相互作用蛋白激酶 1(RIPK1)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,能够激活 NLRP3 炎症小体,促进炎症反应^[4],且有研究发现血浆 RIPK1 水平升高与新型冠状病毒感染患者病情加重相关^[5]。骨形态发生蛋白-7(BMP-7)作为生长因子,能抑制 NLRP3 炎症小体的激活,减少促炎因子的表达^[6],且肺组织 BMP-7 低表达与特发性非特异性间质性肺炎患者的不良预后相关^[7]。葡萄糖调节

蛋白 78(GRP78)是一种内质网应激因子,能够通过内质网应激激活 NLRP3 炎症小体,促进炎症反应^[8],且有研究证实血清 GRP78 水平升高与新型冠状病毒感染患者病情加重有关^[9]。鉴于 RIPK1、BMP-7 和 GRP78 在炎症反应中的重要作用,本研究拟探讨外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 与 SMPP 患儿 NLRP3 炎症小体及预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 6 月至 2024 年 6 月广元市妇幼保健院收治的 SMPP 患儿 228 例作为 SMPP 组,女 88 例,男 140 例;年龄 1~14 岁,平均(6.85±2.99)岁;入院时影像学表现:肺实变 179 例,胸腔积液 119 例。另选取同期体检健康的 228 例儿童作为对照组,女 90 例,男 138 例;年龄 1~14 岁,平均(6.77±2.63)岁。SMPP 组与对照组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。患儿

家属已签署知情同意书。本研究已通过广元市妇幼保健院医学伦理委员会审批(编号:医伦审第 2020-079 号)。纳入标准:(1) SMPP 符合相关诊断标准^[10];(2)年龄 ≤ 14 岁;(3)病变部位均为双侧;(4)临床资料完整。排除标准:(1)合并人类免疫缺陷病毒、肝炎病毒等其他病毒感染;(2)合并自身免疫性疾病;(3)放弃治疗;(4)近 3 个月内接受糖皮质激素或免疫抑制剂等药物治疗;(5)合并支气管肺发育不良、支气管炎、哮喘等其他肺疾病;(6)合并严重心、肝、肾等重要脏器功能损害;(7)既往存在肺部外伤或手术史;(8)合并先天性心脏病、先天性肺发育不良、代谢疾病及血液系统疾病。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 收集所有 SMPP 患儿的临床资料,包括发病至入院时间、入院时影像学表现、性别、入院时体温、C 反应蛋白、降钙素原、血小板计数、血红蛋白、天门冬氨酸氨基转移酶、白细胞计数、丙氨酸氨基转移酶、年龄、使用抗菌药物时间等。

1.2.2 外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 水平检测 采集 SMPP 患儿入院次日、健康儿童体检时外周静脉血 3 mL,经离心后收集上层血清,保存至 -80°C 冰箱中待检。取 1.5 mL 血清样本采用酶联免疫吸附试验检测外周血 RIPK1(上海钦诚生物科技有限公司)、BMP-7(上海中乔新舟生物科技有限公司)、GRP78(武汉天德生物科技有限公司)水平。

1.2.3 外周血 NLRP3 炎症小体相关因子检测 取剩余 1.5 mL 血清样本加入总 RNA 提取试剂(浙江联硕生物科技有限公司)提取总 RNA,应用逆转录试剂(北京兰博利德商贸有限公司)逆转录为互补脱氧核糖核酸(cDNA)。采用北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司提供的实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)试剂进行扩增反应,反应体系:qPCR SYBR Green Master Mix 10 μL 、正反向引物各 0.4 μL 、cDNA 0.5 μL 、超纯水 13.7 μL 。反应程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 1 次,95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min 1 次,95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 40 s 循环 40 次。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算外周血 NLRP3 炎症小体相关因子[NLRP3、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、含 Caspase 募集结构域的凋亡相关斑点蛋白(ASC)] mRNA 水平。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,引物序列(由南京金斯瑞生物科技有限公司设计合成)如下,NLRP3 正向引物 5'-TGCTAGAGCATCTCCAGGT-3',反向引物 5'-GCATCACCACACTTCACAGG-3';Caspase-1 正向引物 5'-GTCTACTACTGGAGACACTGGG-3',反向引物 5'-GCAGGGTCCGAGGTATTC-3';ASC 正向引物 5'-CATCATCAGCAGGGTGGC-3',反向引

物 5'-CCAATGCGGTAGGACACC-3';GAPDH 正向引物 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',反向引物 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。

1.3 预后评定标准及分组 SMPP 患儿入院后参照《儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)》^[11] 进行对症治疗 28 d。预后评定标准^[12]:预后良好定义为患儿肺炎症状完全消失且无并发症,预后不良定义为患儿死亡或出现闭塞性细支气管炎、支气管扩张、肺坏死、肺不张等并发症。患儿入院治疗 28 d 后,根据患儿预后情况,将其分为预后不良组(48 例)和预后良好组(180 例)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS28.0 统计软件进行数据分析。符合偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 法分析 SMPP 患儿外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 与 NLRP3 炎症小体相关因子表达的相关性;采用 LASSO 回归进行自变量指标的降维筛选,采用多因素 Logistic 回归分析 SMPP 患儿预后不良的影响因素,并构建多因子联合应用模型;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 对 SMPP 患儿预后的预测价值。采用 Delong 检验进行曲线下面积(AUC)的比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SMPP 组和对照组外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 及 NLRP3 炎症小体相关因子表达比较 SMPP 组外周血 RIPK1、GRP78、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA 水平高于对照组($P < 0.05$),BMP-7 水平低于对照组($P < 0.05$),见表 1。

2.2 SMPP 患儿外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 与 NLRP3 炎症小体相关因子表达的相关性 Pearson 法分析结果显示,SMPP 患儿外周血 RIPK1、GRP78 与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA 表达均呈正相关($P < 0.05$),BMP-7 与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA 表达均呈负相关($P < 0.05$),见表 2。

2.3 预后不良组与预后良好组临床资料和相关指标比较 228 例 SMPP 患儿住院治疗 28 d 后,预后不良发生率为 21.05%(48/228)。预后不良组入院时体温、C 反应蛋白、降钙素原、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、外周血 RIPK1、GRP78 水平均高于预后良好组($P < 0.05$),BMP-7 水平低于预后良好组($P < 0.05$);其余临床资料比较差异无统计学意

义($P>0.05$),见表 3。

2.4 SMPP 患儿预后不良的影响因素分析 多因素 Logistic 回归分析中,自变量为表 3 中所列指标,其中仅 $P<0.10$ 的指标已超过 10 个,样本量相对不足,故在回归分析前利用 LASSO 回归进行自变量筛减降维。LASSO 回归分析中,可能关联影响 SMPP 患儿预后状况的指标/变量共 20 个,以线性回归法分别计算各变量对因变量的回归相关系数,建立损失函数及正则化项,通过正则化项值变化使回归相关系数受惩罚趋零收缩,最终经交叉验证从其回归系数收缩曲线簇上,以 $\text{Log}(\lambda)=-4$ 截定所选 4 个指标(降钙素原、RIPK1、BMP-7、GRP78),见图 1。多因素 Logistic 回归分析以 SMPP 患儿预后情况(预后不良=1,预后良好=0)为因变量,以 RIPK1、BMP-7、GRP78、降钙素原为自变量(均为连续型变量,原值录入),进行多因素 Logistic 回归(逐步后退法, $\alpha_{\text{进}}=0.05, \alpha_{\text{剔}}=0.10$)。

结果显示,外周血 RIPK1、GRP78 水平升高为 SMPP 患儿预后不良的独立危险因素($P<0.05$),BMP-7 水平升高为 SMPP 患儿预后不良的独立保护因素($P<0.05$),见表 4。

2.5 外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 对 SMPP 患儿预后不良的预测效能 以预后不良组($n=48$)为阳性样本,预后良好组($n=180$)为阴性样本,绘制 ROC 曲线。其中联合检测采用 Log P 模型,即 $\text{Ln}(P/1-P)=0.093\times\text{RIPK1}-0.191\times\text{BMP-7}+0.021\times\text{GRP78}$ 。结果显示,外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 单独预测 SMPP 患儿预后不良的 AUC 分别为 0.786(95%CI:0.635~0.919)、0.781(95%CI:0.573~0.972)、0.767(95%CI:0.613~0.921),联合检测的 AUC 为 0.904(95%CI:0.857~0.926)。相较于 3 项指标单独预测,联合检测的预测效能最高($Z=3.024, 3.265, 3.266; P<0.05$)。见表 5、图 2。

表 1 SMPP 组和对照组外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 及 NLRP3 炎症小体相关因子表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	RIPK1 (ng/mL)	BMP-7 (pg/mL)	GRP78 (pg/mL)	NLRP3 mRNA	Caspase-1 mRNA	ASC mRNA
SMPP 组	228	48.62±11.58	24.44±3.42	1 235.33±319.57	1.13±0.13	1.61±0.23	2.05±0.28
对照组	228	8.80±1.97	41.91±6.08	281.80±53.07	0.78±0.11	1.02±0.10	1.37±0.18
<i>t</i>		51.188	−37.815	44.446	31.034	35.522	30.847
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 SMPP 患儿外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 与 NLRP3 炎症小体相关因子表达的相关性

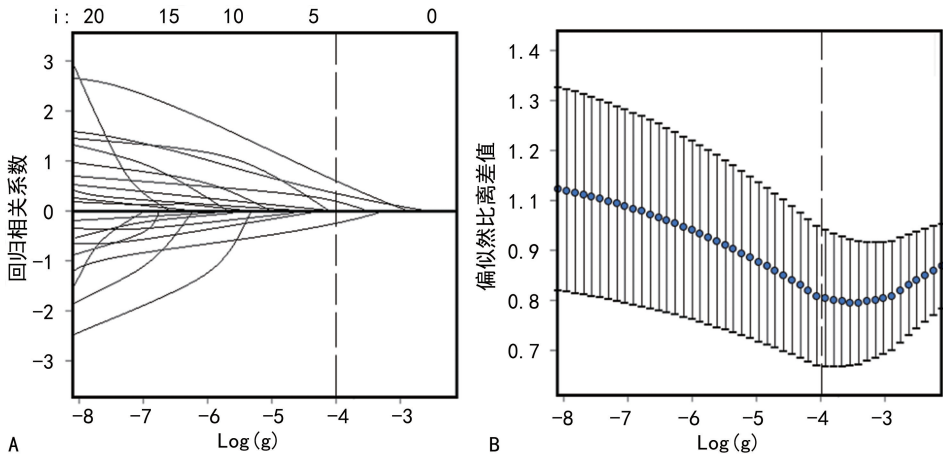
NLRP3 炎症小体相关因子	RIPK1		BMP-7		GRP78	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
NLRP3 mRNA	0.661	<0.001	−0.626	<0.001	0.623	<0.001
Caspase-1 mRNA	0.690	<0.001	−0.445	<0.001	0.708	<0.001
ASC mRNA	0.579	<0.001	−0.600	<0.001	0.652	<0.001

表 3 预后不良组与预后良好组临床资料和相关指标比较[$n(\%)$ 或 $\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$]

项目	预后不良组($n=48$)	预后良好组($n=180$)	$\chi^2/t/Z$	<i>P</i>
性别			0.031	0.861
男	30(62.50)	110(61.11)		
女	18(37.50)	70(38.89)		
年龄(岁)	7.00±2.36	6.81±2.05	0.552	0.581
发病至入院时间(d)	2.06±0.49	2.13±0.54	−0.813	0.417
入院时影像学表现				
肺实变	42(87.50)	137(76.11)	2.913	0.088
胸腔积液	28(58.33)	91(50.56)	0.919	0.338
入院时体温(℃)	40.23±0.59	39.77±0.62	4.613	<0.001
C 反应蛋白(mg/L)	51.65(28.81,95.94)	26.82(12.78,54.51)	−2.798	0.005
降钙素原(μg/L)	0.26(0.19,0.35)	0.14(0.08,0.19)	−4.655	<0.001

表 3 预后不良组与预后良好组临床资料和相关指标比较[$n(\%)$ 或 $\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

项目	预后不良组($n=48$)	预后良好组($n=180$)	$\chi^2/t/Z$	P
血小板计数($\times 10^9/L$)	302.36 $\pm$ 45.99	316.54 $\pm$ 58.11	-1.564	0.119
血红蛋白(g/L)	118.70 $\pm$ 19.42	122.41 $\pm$ 21.74	-1.073	0.284
天门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	47.26 $\pm$ 6.34	45.69 $\pm$ 9.12	1.122	0.263
白细胞计数($\times 10^9/L$)	11.00 $\pm$ 2.35	10.81 $\pm$ 3.35	0.369	0.712
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	29.75 $\pm$ 6.11	29.98 $\pm$ 6.21	-0.229	0.819
使用抗菌药物时间(d)	9.25 $\pm$ 1.42	8.90 $\pm$ 1.27	1.654	0.100
NLRP3 mRNA	1.24 $\pm$ 0.11	1.10 $\pm$ 0.12	7.304	<0.001
Caspase-1 mRNA	1.78 $\pm$ 0.17	1.57 $\pm$ 0.22	6.139	<0.001
ASC mRNA	2.25 $\pm$ 0.24	2.00 $\pm$ 0.27	5.829	<0.001
RIPK1(ng/mL)	59.09 $\pm$ 11.85	45.83 $\pm$ 9.81	7.950	<0.001
BMP-7(pg/mL)	21.69 $\pm$ 3.15	25.17 $\pm$ 3.12	-6.852	<0.001
GRP78(pg/mL)	1 516.35 $\pm$ 337.10	1 160.39 $\pm$ 270.30	7.676	<0.001



注:A、B 横坐标均为正则化系数 λ 的对数,A 中框上数字为可考虑纳入的变量数 i。
图 1 LASSO 回归系数路径图(左图)和交叉验证曲线(右图)

表 4 多因素 Logistic 回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
常量	0.186	0.088	4.483	0.034	—	—
降钙素原	1.801	1.100	2.684	0.101	6.058	0.702~52.284
RIPK1	0.093	0.041	5.163	0.023	1.097	1.013~1.189
BMP-7	-0.191	0.049	14.952	<0.001	0.826	0.750~0.909
GRP78	0.021	0.005	14.654	<0.001	1.021	1.011~1.031

注:—表示无数据。

表 5 外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 对 SMPP 患儿预后不良的预测效能

项目	AUC(95%CI)	最佳截断值	灵敏度	特异度	约登指数	准确度
RIPK1	0.786(0.635~0.919)	50 ng/mL	0.750	0.783	0.533	0.776
BMP-7	0.781(0.573~0.972)	23 pg/mL	0.771	0.767	0.538	0.768
GRP78	0.767(0.613~0.921)	1 300 pg/mL	0.771	0.756	0.527	0.759
3 项联合	0.904(0.857~0.926)	—	0.875	0.878	0.753	0.877

注:—表示无数据。

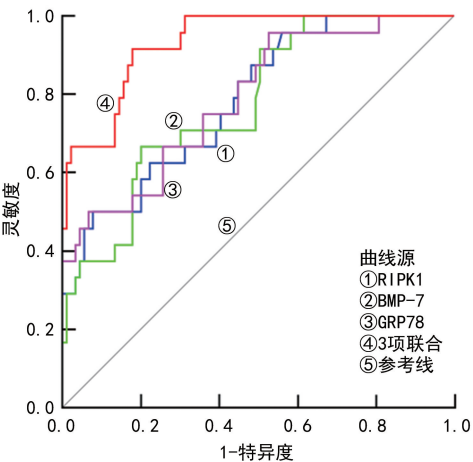


图2 外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 预测 SMPP 患儿预后不良的 ROC 曲线

3 讨 论

MPP 是由肺炎支原体引起的呼吸道感染,近年来由于大环内酯类药物耐药性增加,越来越多的 MPP 患儿发展为 SMPP,可能导致严重并发症,如支气管扩张、肺不张、急性呼吸衰竭等,严重威胁患儿生命安全^[13]。本研究结果显示,SMPP 患儿入院治疗 28 d 后预后不良发生率为 21.05%,与既往研究结果相符,提示 SMPP 患儿预后不佳^[14]。因此,寻找相关生物标志物预测 SMPP 患儿的预后,对于及时调整治疗方案、减少并发症和提高生存率具有重要意义。

MPP 的发展机制涉及肺炎支原体对宿主的直接损伤和引发的过度炎症反应^[13]。当宿主细胞识别肺炎支原体感染后能激活 NLRP3, NLRP3 激活后能招募并结合 ASC,随后 ASC 通过含 Caspase 募集结构域招募并激活 Caspase-1,从而形成 NLRP3 炎症小体,进一步引发局部或全身性的炎症反应,推动 SMPP 的进展^[3]。RIPK1 作为一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,通过激活混合谱系激酶结构域样蛋白 (MLKL) 促进细胞坏死性凋亡,并释放损伤相关分子模式,进一步激活 NLRP3 炎症小体,加剧炎症反应^[4]。既往基础研究显示,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌肺炎小鼠中,下调 RIPK1 表达能显著减少肺部炎症并改善小鼠预后^[14]。有研究指出,血清 RIPK1 水平为急性缺血性脑卒中患者不良预后的独立预测因子^[15]。本研究结果显示,SMPP 患儿外周血 RIPK1 水平升高,与 NLRP3 炎症小体相关因子表达呈正相关,是 SMPP 患儿预后不良的独立危险因素。分析其原因可能是 RIPK1 作为关键的促炎分子,能结合 RIPK3 激活 MLKL,诱导肺细胞坏死性凋亡;同时该过程中释放的损伤相关分子能刺激 NLRP3 炎症小体活化,引发白细胞介素-1 β 、白细胞介素-18 释放而加剧肺部和全身炎症反应,导致更严重的肺损伤和全身器官功能障碍,从而增加 SMPP 患儿不良预后风险^[16-17]。

BMP-7 作为一种生长因子,具有抗炎特性,能够

通过减少促炎因子的表达来抑制 NLRP3 炎症小体的激活^[6]。有基础实验证实, BMP-7 能抑制 NLRP3 炎症小体活化,从而改善髓核细胞炎症和细胞焦亡^[18]。顾盼等^[7]研究指出,肺组织 BMP-7 低表达与特发性非特异性间质性肺炎患者纤维化加重和死亡率增加有关。本研究结果显示, SMPP 患儿外周血 BMP-7 水平降低,与 NLRP3 炎症小体相关因子表达呈负相关,与 SMPP 患儿预后不良有关。在 SMPP 患儿中, BMP-7 水平的降低可能减弱其抗炎作用,导致 NLRP3 炎症小体的激活增加,进而加剧炎症反应,导致 SMPP 患儿预后不良^[19-20]。同时 BMP-7 还参与组织修复和纤维化过程, BMP-7 的低表达可能与肺组织的异常修复和纤维化有关,这可能导致患儿肺部结构和功能的进一步损害,影响 SMPP 患儿的预后^[21]。

GRP78 是热休克蛋白家族的重要成员,当细胞受到应激时被诱导表达,能作为损伤相关分子模式被免疫细胞识别,从而诱导炎症反应^[8]。在急性肺损伤小鼠模型中,抑制 GRP78 相关信号通路能改善肺部炎症和细胞凋亡^[22]。有研究表明,在干燥综合征细胞模型中,下调 GRP78 表达能抑制核因子- κ B 信号通路来阻断 NLRP3 炎症小体活化,从而减少细胞炎症^[23]。同时周英等^[24]指出,血清 GRP78 水平升高与新生儿呼吸窘迫综合征患儿病情加重有关,并且是患儿死亡的独立预测因子。本研究结果显示, SMPP 患儿外周血 GRP78 水平升高,与 NLRP3 炎症小体相关因子表达呈正相关,是 SMPP 患儿预后不良的危险因素。分析其影响机制可能是在 SMPP 患儿中,当细胞内质网受到应激时, GRP78 的表达会增加。GRP78 表达增加可能促进 NLRP3 炎症小体的激活,加剧炎症反应,导致 SMPP 患儿不良预后风险增加^[25]。GRP78 水平的升高可能还参与内质网应激诱导的细胞凋亡,从而导致肺组织的损伤和功能障碍,进一步影响患儿的恢复和预后^[26]。

ROC 曲线分析结果显示,外周血 RIPK1、BMP-7、GRP78 单独预测 SMPP 患儿不良预后的 AUC 分别为 0.786、0.781、0.767,而三者联合检测的 AUC 为 0.904,表明联合检测 RIPK1、BMP-7、GRP78 能更有效地预测 SMPP 患儿的预后。提示 RIPK1、BMP-7、GRP78 三者联合检测有望成为 SMPP 患儿预后不良的新型生物学标志物。

综上所述, SMPP 患儿外周血中 RIPK1 和 GRP78 水平升高,而 BMP-7 水平降低,三者与 NLRP3 炎症小体的激活及患儿预后不良密切相关, RIPK1、BMP-7、GRP78 联合检测在预测 SMPP 患儿预后不良方面具有较高价值。然而,本研究存在一定的局限性:单一中心数据、样本量限制、缺乏长期随访和机制探索不足等。未来的研究应扩大样本量、进行多中心研究、开展长期随访、深入探讨生物标志物的具体作用机制,并结合其他潜在临床因素进行多因素

分析,以提高预后评估的准确性和结果的普适性。

参考文献

[1] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,中华儿科杂志编辑委员会,中国医药教育协会儿科专业委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南(2024 修订)[J]. 中华儿科杂志,2024,62(10):920-930.

[2] 黎耀文,林洁琼,熊海芮,等. 2020—2021 年深圳市儿童医院儿童重症肺炎流行病学与临床特征分析[J/CD]. 新发传染病电子杂志,2023,8(3):53-58.

[3] 于欣田,孙冬冬,胡红蕾,等. 阿奇霉素序贯治疗联合麻杏石甘汤加味对痰热闭肺型肺炎支原体肺炎患儿 Th17/Treg 细胞因子和 NLRP3 炎症小体通路的影响[J]. 现代生物医学进展,2022,22(12):2328-2332.

[4] 张勇,李伟宏,程志鹏,等. 受体相互作用蛋白激酶 1 调节癌症进展和免疫反应的研究现状[J]. 上海交通大学学报(医学版),2024,44(6):788-794.

[5] RUSKOWSKI K, NEB H, TALBOT S R, et al. Persistently elevated plasma concentrations of RIPK3, MLKL, HMGB1, and RIPK1 in patients with COVID-19 in the intensive care unit[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2022, 67(3):405-408.

[6] ALUGANTI N C, SINGLA D K. The role of bone morphogenetic protein 7 (BMP-7) in inflammation in heart diseases[J]. Cells, 2020, 9(2):280.

[7] 顾盼,罗本芳,易祥华,等. 特发性肺纤维化和特发性非特异性间质性肺炎中细胞因子的表达及分析[J]. 中华结核和呼吸杂志,2014,37(9):664-670.

[8] CHONG W C, SHASTRI M D, PETERSON G M, et al. The complex interplay between endoplasmic reticulum stress and the NLRP3 inflammasome: a potential therapeutic target for inflammatory disorders[J]. Clin Transl Immunology, 2021, 10(2):e1247.

[9] SABIRLI R, KOSELER A, GOREN T, et al. High GRP78 levels in COVID-19 infection: a case-control study[J]. Life Sci, 2021, 49(3):118781.

[10] 国家卫生计生委合理用药专家委员会儿童用药专业组. 中国儿童肺炎支原体感染实验室诊断规范和临床实践专家共识(2019 年)[J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(5):366-373.

[11] 中华人民共和国国家健康委员会,国家中医药局. 儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)[J]. 中华临床感染病杂志,2019,12(1):6-13.

[12] 袁静,陈庆仪,杨好贤,等. 含凝血功能五项 Nomogram 预测模型预测重症肺炎支原体肺炎患儿预后的效果研究[J]. 临床误诊误治,2023,36(3):90-94.

[13] 王亨,刘金荣,赵顺英. 儿童重症肺炎支原体肺炎的诊治进展[J]. 中华实用儿科临床杂志,2023,38(11):842-845.

[14] BAI S, WEN X, LI B, et al. Extracellular vesicles from alveolar macrophages harboring phagocytosed methicillin-resistant Staphylococcus aureus induce necroptosis[J]. Cell Rep, 2024, 43(7):114453.

[15] DONG J, XIONG X. Serum level of RIPK1/3 correlated with the prognosis in ICU patients with acute ischemic stroke[J]. Immun Inflamm Dis, 2024, 12(12):e70085.

[16] SPEIR M, LAWLOR K E. RIP-roaring inflammation: RIPK1 and RIPK3 driven NLRP3 inflammasome activation and autoinflammatory disease[J]. Semin Cell Dev Biol, 2021, 26(1):114-124.

[17] HUANG H R, CHO S J, HARRIS R M, et al. RIPK3 activates MLKL-mediated necroptosis and inflammasome signaling during streptococcus infection[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2021, 64(5):579-591.

[18] YU X J, WANG Y G, LU R, et al. BMP7 ameliorates intervertebral disc degeneration in type 1 diabetic rats by inhibiting pyroptosis of nucleus pulposus cells and NLRP3 inflammasome activity[J]. Mol Med, 2023, 29(1):30.

[19] URAL O, KIRATLI H E, SÜMER H, et al. Evaluation of annexin-1 (ANXA-1), annexin-2 (ANXA-2) and bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) serum levels in patients followed up with a diagnosis of COVID-19[J]. Mikrobiyol Bul, 2022, 56(1):25-35.

[20] ELMADBOUH I, SINGLA D K. BMP-7 attenuates inflammation-induced pyroptosis and improves cardiac repair in diabetic cardiomyopathy[J]. Cells, 2021, 10(10):2640.

[21] FUKIHARA J, MAIOLO S, KOVAC J, et al. Overexpression of bone morphogenetic protein receptor type 2 suppresses transforming growth factor β -induced profibrotic responses in lung fibroblasts[J]. Exp Lung Res, 2022, 48(1):35-51.

[22] ZHANG Z K, ZHOU Y, CAO J, et al. Rosmarinic acid ameliorates septic-associated mortality and lung injury in mice via GRP78/IRE1 α /JNK pathway[J]. J Pharm Pharmacol, 2021, 73(7):916-921.

[23] HE J, XU M, CHEN Y, et al. Grp78 regulates NLRP3 inflammasome and participates in Sjogren's syndrome[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 24(10):112815.

[24] 周英,刘玲,张雪霜. 新生儿呼吸窘迫综合征患儿血清 IL-6、HMGB1、BMP-7 水平与病情严重程度及预后的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(18):2228-2231.

[25] JIANG J, ZHANG N, SONG H, et al. Oridonin alleviates the inhibitory effect of lipopolysaccharide on the proliferation and osteogenic potential of periodontal ligament stem cells by inhibiting endoplasmic reticulum stress and NF- κ B/NLRP3 inflammasome signaling[J]. BMC Oral Health, 2023, 23(1):137.

[26] LAM T Y W, NGUYEN N, PEH H Y, et al. ISM1 protects lung homeostasis via cell-surface GRP78-mediated alveolar macrophage apoptosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(4):e2019161119.