

· 论 著 ·

血清 CTSB、NOX4 水平对脓毒症相关急性肾损伤患者预后的预测价值*

冀乃喜, 崔云云[△], 刘文浩, 李尚真, 王先奎, 姚长青

西宁市第二人民医院重症医学科, 青海西宁 810003

摘要:目的 探讨血清组织蛋白酶 B(CTSB)、NADPH 氧化酶 4(NOX4)水平对脓毒症相关急性肾损伤(S-AKI)患者预后的预测价值。方法 选取 2023 年 6 月至 2024 年 6 月于该院就诊的脓毒症患者 306 例,其中发生 S-AKI 者(S-AKI 组)192 例,未发生 S-AKI 者(非 S-AKI 组)114 例。根据 S-AKI 患者的预后情况,将其分为预后不良组($n=127$)和非预后不良组($n=65$)。比较不同组别中 CTSB、NOX4 水平的差异。采用 Pearson 法分析评估 CTSB、NOX4 与临床指标的相关性。通过多因素 Logistic 回归分析 S-AKI 患者预后不良的影响因素。通过受试者工作特征(ROC)曲线评估 CTSB、NOX4 水平对 S-AKI 患者预后不良的预测价值。结果 S-AKI 组血清中 CTSB、NOX4 及血肌酐(SCr)水平较非 S-AKI 组明显升高($P<0.05$),而平均动脉压、氧合指数较非 S-AKI 组降低($P<0.05$)。脓毒症患者血清中 CTSB、NOX4 水平与 SCr 呈正相关($P<0.05$)。预后不良组年龄、SCr、CTSB 及 NOX4 较非预后不良组升高($P<0.05$),而平均动脉压、氧合指数较非预后不良组降低($P<0.05$)。平均动脉压、氧合指数升高是 S-AKI 患者发生预后不良的保护因素($P<0.05$),而年龄增长,SCr、CTSB 及 NOX4 水平升高是 S-AKI 患者发生预后不良的危险因素。ROC 曲线结果显示,CTSB、NOX4 联合预测的曲线下面积(AUC)明显高于单一 CTSB、NOX4 的 AUC($Z=4.066, P<0.001; Z=3.801, P<0.001$)。结论 S-AKI 患者血清 CTSB、NOX4 水平升高,且能够侧面反映肾功能情况。CTSB、NOX4 联合预测能够显著提高 S-AKI 患者发生预后不良的预测效能,这对临床治疗及预后护理具有潜在的应用价值。

关键词:脓毒症相关急性肾损伤; 组织蛋白酶 B; NADPH 氧化酶 4; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.18.006

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2025)18-2207-06

文献标志码:A

Predictive value of serum CTSB and NOX4 levels for the prognosis of sepsis related acute kidney injury patients*

Ji Naixi, Cui Yunyun[△], Liu Wenhao, Li Shangzhen, Wang Xiankui, Yao Changqing

Intensive Care Medicine, Xining Second People's Hospital, Xining, Qinghai 810003, China

Abstract: **Objective** To investigate prognostic value of serum levels of cathepsin B (CTSB) and NADPH oxidase 4 (NOX4) in patients with sepsis associated acute kidney injury (S-AKI). **Methods** A total of 306 patients with sepsis treated to the hospital from June 2023 to June 2024 were selected, including 192 patients with S-AKI (S-AKI group) and 114 patients without S-AKI (non-S-AKI group). According to the prognosis of S-AKI patients, they were divided into poor prognosis group ($n=127$) and non-poor prognosis group ($n=65$). The differences of CTSB and NOX4 in different groups were compared. Pearson analysis was conducted to analyze the correlation between CTSB, NOX4 and clinical indicators. The influencing factors of poor prognosis in S-AKI patients was analyzed according to multivariate Logistic regression. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of CTSB and NOX4 on the poor prognosis of S-AKI patients. **Results** The serum levels of CTSB, NOX4 and serum creatinine (SCr) in S-AKI group were significantly higher than those in non-S-AKI group ($P<0.05$), while the mean arterial pressure and oxygenation index were lower than those in non-S-AKI group ($P<0.05$). Serum levels of CTSB and NOX4 in patients with sepsis were positively correlated with SCr ($P<0.05$). Compared to non-poor prognosis group, the age, SCr, CTSB and NOX4 of patients in the poor prognosis group were higher, while the mean arterial pressure and oxygenation index were lower ($P<0.05$). The increased mean arterial pressure and oxygenation index were protective factors for poor prognosis in S-AKI patients ($P<0.05$), and the increased age, SCr, CTSB and NOX4

* 基金项目:青海省卫生健康科研课题(2022-wjzxd-100)。

作者简介:冀乃喜,女,主治医师,主要从事重症医学方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail:81123586@qq.com。

levels were risk factors for poor prognosis in S-AKI patients ($P<0.05$). ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of CTSB combined with NOX4 was significantly higher than AUC of single detection of CTSB and NOX4 ($Z=4.066, P<0.001, Z=3.801, P<0.001$). **Conclusion** The serum levels of CTSB and NOX4 in S-AKI patients are elevated, and can indirectly reflect kidney function. CTSB combined with NOX4 can significantly improve the prediction efficiency of poor prognosis in S-AKI patients, which has potential application value for clinical treatment and nursing.

Key words: sepsis associated acute kidney injury; cathepsin B; NADPH oxidase 4; prognosis

脓毒症是病原菌导致机体免疫系统失调而引起的系统性炎症反应综合征,是重症监护病房患者死亡的重要原因。急性肾损伤(AKI)在危重症人群中的发病率为 50%~60%,是导致机械通气时间增加、住院时间延长及病死率升高的主要因素^[1]。脓毒症相关 AKI(S-AKI)在 AKI 患者中的比例接近 50%^[2]。然而,由于脓毒症患者自身症状较重,S-AKI 起始阶段易被忽视,可能导致患者发生肾衰竭等不可逆并发症。因此,寻找合适的血清标志物用于早期评估 S-AKI 对改善患者预后具有重要价值。组织蛋白酶 B (CTSB)是一种半胱氨酸蛋白水解酶,主要存在于溶酶体中,能够与多种组织细胞结合,在胰腺炎、神经退行性疾病及类风湿关节炎等多种疾病中发挥重要的调控作用^[3]。据报道显示,CTSB 能够促进 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体活化,促进半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶分泌,从而损伤内皮细胞,这可能对肾小球滤过率造成不利影响^[4]。NADPH 氧化酶 4(NOX4)是一种膜结合蛋白,主要在肾脏中表达,主要通过生物膜传递电子方式将氧转化为超氧化物,从而产生活性氧,参与细胞代谢、凋亡及增殖等生理过程^[5]。NOX4 能够激活氧化应激反应,产生大量氧自由基,促进巨噬细胞发生趋化作用,介导炎症反应,这一机制在肾脏纤维化过程中发挥重要作用^[6]。有研究表明,CTSB、NOX4 均能够通过调控 NLRP3 炎症小体在慢性炎症疾病中发挥作用^[4,7]。目前鲜见 CTSB、NOX4 在 S-AKI 中的报道,且二者对 S-AKI 患者预后的预测价值尚不清楚。因此,本研究旨在探索血清 CTSB、NOX4 水平在 S-AKI 患者中的情况,以及对其预后的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2023 年 6 月至 2024 年 6 月于本院就诊的脓毒症患者 306 例,其中发生 S-AKI 者(S-AKI 组)192 例,未发生 S-AKI 者(非 S-AKI 组)114 例。S-AKI 组中,男 107 例,女 85 例;年龄 58~76 岁,平均(67.12±8.77)岁。非 S-AKI 组中,男 63 例,女 51 例;年龄 59~75 岁,平均(67.86±8.26)岁。纳入标准:(1)符合文献[8-9]相关标准;(2)年龄>18 岁。排除标准:(1)需维持性肾脏替代治疗;(2)妊娠及哺乳期女性;(3)终末期慢性肾脏病;(4)半年内接

受过肾脏移植治疗;(5)入院后 48 h 内死亡或放弃进一步治疗;(6)长期服用免疫抑制剂;(7)合并自身免疫性疾病;(8)合并恶性肿瘤。本研究已通过本院医学伦理委员会审批(伦理批号:D2023JK0022),且研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 收集所有受试者的临床资料,即性别、年龄、体重指数(BMI)、慢性阻塞性肺疾病(COPD)史、冠心病史、糖尿病史、高血压史、白细胞计数、血小板计数、平均动脉压、氧合指数、二氧化碳分压、SCr、C-反应蛋白(CRP)及乳酸。选取入院前 3 个月血肌酐(SCr)的最低值作为基础 SCr 值,若该数据缺失,则选择入院后第 1 次检测的 SCr 值为基础。

1.2.2 血清 CTSB、NOX4 水平检测 研究对象均于入院当天,在空腹状态下采集静脉血 10 mL 置于试管中,通过离心机离心 5 min,离心条件为 4℃,离心半径 10 cm,转速 6 000 r/min,收集上清液,置于-80℃冰箱中保存。采用酶联免疫吸附试验检测血清中 CTSB、NOX4 水平。CTSB 试剂盒购自深圳瑞清生物信息科技有限公司(货号:RQ-P-M0309);NOX4 试剂盒购自武汉艾美捷科技有限公司(货号:EKE61227)。操作流程严格依据说明书进行。

1.3 S-AKI 患者预后评估 所有 S-AKI 患者根据住院治疗 28 d 后的情况评估预后。出现以下任一情况则定义为预后不良:(1)28 d 内全因死亡;(2)依赖肾脏替代治疗^[10]。S-AKI 患者中发生预后不良 127 例,非预后不良 65 例。

1.4 统计学处理 采用 SPSS27.0 统计软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 分析评估 CTSB、NOX4 与临床指标的相关性。采用多因素 Logistic 回归分析 S-AKI 患者预后不良的影响因素。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估 CTSB、NOX4 对 S-AKI 患者发生预后不良的预测价值,通过 Delong 检验比较不同曲线下面积(AUC)之间的差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组脓毒症患者的临床资料及血清指标比较

S-AKI 组血清 CTSB、NOX4 及 SCr 水平较非 S-AKI 组均明显升高($P<0.05$),而平均动脉压、氧合指数较非 S-AKI 组均降低($P<0.05$),见表 1。

2.2 脓毒症患者血清 CTSB、NOX4 水平与临床参数的相关性 脓毒症患者血清中 CTSB、NOX4 与 SCr 呈正相关($r=0.528,0.511,P<0.05$),而与平均动脉压、氧合指数呈负相关($r=-0.362,-0.338,-0.345,-0.403,P<0.05$)。

2.3 不同预后情况 S-AKI 患者的临床资料及血清指标比较 预后不良组年龄、SCr、CTSB 及 NOX4 水平较非预后不良组均升高($P<0.05$),而平均动脉压、氧合指数较非预后不良组均降低($P<0.05$),见表 2。

2.4 多因素 Logistic 回归分析 S-AKI 患者预后不良

的影响因素 以 S-AKI 患者是否发生预后不良为因变量(否=0,是=1),将表 2 中 $P<0.05$ 的因素作为自变量,即年龄、平均动脉压、氧合指数、SCr、CTSB 及 NOX4。结果显示,平均动脉压、氧合指数升高是 S-AKI 患者发生预后不良的保护因素($P<0.05$),而年龄增长,SCr、CTSB 及 NOX4 水平升高是其危险因素($P<0.05$),见表 3。

2.5 血清 CTSB、NOX4 水平对 S-AKI 患者预后不良的预测价值 ROC 曲线结果显示,CTSB、NOX4 联合预测的 AUC 明显大于单一 CTSB、NOX4 的 AUC($Z=4.066,P<0.001;Z=3.801,P<0.001$),见表 4。

表 1 两组脓毒症患者的临床资料及血清指标比较[n/n 或 $\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	S-AKI 组($n=192$)	非 S-AKI 组($n=114$)	χ^2/t	P
性别(男/女)	107/85	63/51	0.006	0.937
年龄(岁)	67.12±8.77	67.86±8.26	0.729	0.467
BMI(kg/m ²)	23.05±1.86	22.91±1.97	0.623	0.534
高血压史	85(44.27)	53(46.49)	0.142	0.706
糖尿病史	42(21.86)	27(23.68)	0.134	0.714
COPD 史	11(5.73)	5(4.39)	0.261	0.610
冠心病史	67(34.90)	41(35.96)	0.037	0.850
白细胞计数($\times 10^9/L$)	13.73±2.59	13.16±2.87	1.787	0.075
血小板计数($\times 10^9/L$)	98.73±15.81	101.21±17.55	1.273	0.204
平均动脉压(mmHg)	60.65±7.69	67.34±8.02	7.241	<0.001
氧合指数(mmHg)	163.21±14.53	208.21±20.17	20.827	<0.001
二氧化碳分压(mmHg)	33.58±11.05	34.91±10.23	1.046	0.296
SCr($\mu\text{mol/L}$)	71.97±12.38	34.03±7.59	33.230	<0.001
CRP(mg/L)	75.09±10.66	73.81±11.23	0.995	0.320
乳酸(mmol/L)	3.47±0.92	3.35±0.81	1.152	0.250
CTSB(mg/mL)	14.15±3.07	3.98±1.02	42.151	<0.001
NOX4(mg/mL)	12.07±2.45	2.34±0.65	52.032	<0.001

表 2 不同预后情况 S-AKI 患者的临床资料及血清指标比较[n/n 或 $\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	预后不良组($n=127$)	非预后不良组($n=65$)	χ^2/t	P
性别(男/女)	68/59	39/26	0.727	0.394
年龄(岁)	69.27±9.06	63.98±8.77	3.870	<0.001
BMI(kg/m ²)	23.19±1.24	22.88±1.32	1.604	0.110
高血压史	58(45.67)	27(41.54)	0.298	0.586
糖尿病史	29(22.83)	13(20.00)	0.201	0.653
COPD 史	7(5.51)	4(6.15)	0.032	0.856
冠心病史	45(35.43)	22(33.85)	0.059	0.827
白细胞计数($\times 10^9/L$)	14.03±2.92	13.25±3.01	1.733	0.085
血小板计数($\times 10^9/L$)	98.17±14.34	99.68±14.28	0.691	0.490

续表 2 不同预后情况 S-AKI 患者的临床资料及血清指标比较[*n*/*n* 或 $\bar{x} \pm s$ 或 *n*(%)]

项目	预后不良组(<i>n</i> =127)	非预后不良组(<i>n</i> =65)	χ^2/t	<i>P</i>
平均动脉压(mmHg)	58.57±7.06	65.73±7.21	6.602	<0.001
氧合指数(mmHg)	158.69±13.67	172.93±14.02	6.772	<0.001
二氧化碳分压(mmHg)	33.14±10.12	34.26±10.07	0.727	0.468
SCr(μmol/L)	76.08±12.91	62.73±13.06	6.754	<0.001
CRP(mg/L)	75.53±10.24	74.82±10.59	0.449	0.654
乳酸(mmol/L)	3.59±0.87	3.41±0.82	1.383	0.168
CTSB(mg/mL)	16.15±2.95	10.24±2.47	13.852	<0.001
NOX4(mg/mL)	13.76±2.12	8.76±1.99	15.784	<0.001

表 3 S-AKI 患者预后不良的多因素 Logistic 回归分析

因素	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
年龄(岁)	1.252	0.474	6.977	0.008	3.497	1.381~8.856
平均动脉压(mmHg)	-1.697	0.523	10.528	0.001	0.183	0.066~0.511
氧合指数(mmHg)	-1.527	0.608	6.308	0.012	0.217	0.062~0.715
SCr(μmol/L)	2.021	0.685	8.705	0.003	7.546	1.971~28.893
CTSB(mg/mL)	1.968	0.502	15.369	<0.001	7.156	2.675~19.143
NOX4(mg/mL)	1.872	0.514	13.264	<0.001	6.501	2.374~17.804

表 4 血清 CTSB、NOX4 水平对 S-AKI 发生预后不良的预测价值

项目	AUC(95% <i>CI</i>)	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数
CTSB	0.707(0.632~0.782)	13.11 mg/mL	77.17	66.15	0.433
NOX4	0.731(0.661~0.801)	10.51 mg/mL	74.80	69.23	0.440
CTSB + NOX4	0.843(0.786~0.899)	—	81.10	76.92	0.611

注：—表示无数据。

3 讨 论

据流行病学报道,脓毒症患者发生 AKI 的概率为 60%~80%,病死率高达 65%~75%^[2]。近年来, S-AKI 的发病率呈上升趋势,这可能与耐药菌感染率增加、人口老龄化、慢性疾病增加及有创手术操作增多等因素有关^[1]。目前,肌酐、尿素氮及尿量是诊断 AKI 的主要依据,但是这些方法具有滞后性,对辅助评估病情严重程度仍存在局限性,这将影响 S-AKI 患者的治疗进程^[1]。因此,早期评估 S-AKI 患者的预后及影响预后的因素对临床干预意义重大。

CTSB 由 339 个氨基酸组成,主要在粗面内质网合成,生理状态下,仅有 10%留存于细胞质中,通过降解各种细胞器或不同途径进入细胞内的蛋白质,参与自噬、抗原呈递、细胞凋亡及氧化应激反应等生理过程^[3]。除了溶酶体内,CTSB 还主要表达于肾小管内皮细胞中,有报道指出,CTSB 水平与肾功能和衰老相关的肾脏亚临床改变密切相关^[11]。一项基础实验表明,使用脂多糖(LPS)能够使细胞溶酶体膜通透性增加,CTSB 转移至细胞质内,从而激活白细胞介素

(IL)-1 β ,促进肾小管内皮细胞凋亡^[12]。SONG 等^[13]发现,通过铅诱导的大鼠肾损伤模型中,抑制 CTSB 活性能够减缓肾小管上皮细胞凋亡速度,从而显著降低 AKI 的严重程度。本研究结果显示, S-AKI 组 CTSB 水平较非 S-AKI 组升高,且预后不良组 CTSB 水平较非预后不良组升高,说明 CTSB 可能在 S-AKI 中发挥促进作用。有研究显示,CTSB 能够使巨噬细胞内的线粒体受损,导致线粒体膜功能障碍,介导巨噬细胞坏死,从而释放大量溶酶体,破坏肾脏内皮细胞及基底膜细胞,诱导 AKI 发生^[14]。此外,脓毒症患者体内的大量内毒素能够促进溶酶体裂解,从而造成大量 CTSB 释放,激活氧化还原反应,使活性氧水平增加,抑制钠钾泵活性,导致肾小管细胞内钠过载,发生水肿变性,最终导致细胞凋亡^[3,15]。这些发现可能解释了 CTSB 导致 S-AKI,并造成患者预后不良的内在机制。

NOX4 是一种由 5 个亚单位酶组成的酶复合物,通过生物膜向氧传递电子形成过氧化氢,其在机体的异常表达是 AKI、糖尿病肾病及肾癌等多种肾脏疾病

发病的重要环节^[5]。有研究表明,NOX4 的羧基端能够激活核因子 κ B(NF- κ B),促进 IL-1 β 和肿瘤坏死因子 α 分泌,诱导转化生长因子- β 1(TGF- β 1)活化,从而导致细胞外基质蛋白失活,促进肾脏纤维化,影响肾脏正常功能^[16]。在通过 LPS 诱导构建的 S-AKI 大鼠模型中,右美托咪啶通过抑制 Toll 样受体 4(TLR4)/NOX4/NF- κ B 通路,减轻大鼠体内的炎症水平,从而缓解 S-AKI,这侧面反映了 NOX4 在 S-AKI 进展中的重要作用^[17]。本研究结果显示,S-AKI 组 NOX4 水平较非 S-AKI 组升高,且预后不良组 NOX4 水平较非预后不良组升高,说明 NOX4 可能具有促进 S-AKI 发生的作用。由于脓毒症患者机体内大量病原菌及其分泌的毒素能够刺激 NOX4,使 NOX4 处于异常活化状态,这将刺激 TLR4,从而激活脾相关酪氨酸激酶(Syk),使其磷酸化,形成 TLR4-NOX4 复合物,激活炎症级联反应,导致肾脏血管内皮细胞受损,肾脏供血血管受损,导致肾脏因缺血缺氧损伤^[18]。又有报道指出,NOX4 能够激活 NLRP3 炎症小体,激活炎症信号通路,促进氧化应激反应,诱导中性粒细胞和巨噬细胞发生趋化作用,大量聚集于肾小管上皮及血管内皮周围,导致肾脏实质损伤,对 S-AKI 患者预后造成不良影响^[7,17]。

Pearson 分析结果显示,脓毒症患者血清中 CTSB、NOX4 与 SCr 呈正相关,而与平均动脉压、氧合指数呈负相关,说明血清 CTSB、NOX4 水平能够侧面反映肾脏功能情况,同时又与重要生命体征指标存在一定联系,在脓毒症患者的临床实践中具有潜在价值。多因素 Logistic 回归分析显示,年龄增长、SCr 水平升高是 S-AKI 患者预后不良的危险因素,平均动脉压、氧合指数升高是其保护因素,说明在 S-AKI 患者住院时应密切关注其平均动脉压和氧合指数,一旦相关指标明显降低,应密切观察生命体征状况,保证患者生命安全,对于年龄较大的患者在日常护理中应格外关注,尽量避免不良事件发生,同时,应注意监测 SCr 水平,当其升高时,说明患者肾功能较差,易出现预后不良的情况。笔者还发现,血清 CTSB、NOX4 水平升高是 S-AKI 患者发生预后不良的危险因素,说明当 CTSB、NOX4 水平升高时,S-AKI 患者发生预后不良的风险明显增加。其原因可能是 CTSB 能够激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路,促进 IL-1 β 合成,诱导 gasdermin 蛋白活化,从而导致肾脏足细胞发生细胞焦亡,肾小球基底膜屏障受损,使肾脏发生不可逆损伤,增加患者预后不良风险^[15]。同时,NOX4 能够诱导受体相互作用蛋白激酶 3(RIPK3)活化,使线粒体膜电位异常,导致线粒体无法正常合成 ATP,肾小管细胞缺氧坏死,诱导 S-AKI 患者发生预后不良^[19]。ROC 曲线结果显示,CTSB、NOX4 的最佳截断值分

别为 13.11 mg/mL、10.51 mg/mL,提示当血清 CTSB $\geq$ 13.11 mg/mL 或 NOX4 $\geq$ 10.51 mg/mL 时,S-AKI 患者发生预后不良的风险明显增加。进一步分析发现,CTSB、NOX4 联合预测的 AUC 明显大于单一 CTSB、NOX4 的 AUC,且灵敏度和特异度均较高,说明二者联合检测的预测效能较高,适用于早期筛查,且准确度较高。本研究也存在一些局限性:(1) 本研究样本量有限,仍需大样本、多中心研究进一步验证;(2) 由于实验条件的限制,本研究并未涉及 CTSB、NOX4 影响 S-AKI 患者预后的具体机制,这将在接下来的研究中进一步探索。

综上所述,S-AKI 患者血清 CTSB、NOX4 水平升高,且能够侧面反映肾功能情况。血清 CTSB、NOX4 水平升高是 S-AKI 患者发生预后不良的危险因素。CTSB、NOX4 联合检测对 S-AKI 患者发生预后不良的预测效能较高,二者对 S-AKI 患者临床治疗及预后护理具有潜在的应用价值。

参考文献

- [1] LEE G B,LEE J W,YOON S H,et al. Plasma presepsin for mortality prediction in patients with sepsis-associated acute kidney injury requiring continuous kidney replacement therapy[J]. *Kidney Res Clin Pract*, 2024, 43 (4): 457-468.
- [2] UCHINO S,KELLUM J A,BELLOMO R,et al. Acute renal failure in critically ill patients;a multinational, multicenter study[J]. *JAMA*, 2005, 294 (7): 813-818.
- [3] GEBRIL S M,ITO Y,SHIBATA M A,et al. Indomethacin can induce cell death in rat gastric parietal cells through alteration of some apoptosis- and autophagy-associated molecules [J]. *Int J Exp Pathol*, 2020, 101 (6): 230-247.
- [4] CHEN N,OU Z B,ZHANG W F,et al. Cathepsin B regulates non-canonical NLRP3 inflammasome pathway by modulating activation of caspase-11 in Kupffer cells[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51 (6): e12487.
- [5] LI J M,WANG L Y,WANG B,et al. NOX4 is a potential therapeutic target in septic acute kidney injury by inhibiting mitochondrial dysfunction and inflammation [J]. *Theranostics*, 2023, 13 (9): 2863-2878.
- [6] XIA Z,WEI Z N,LI X,et al. C/EBP α aggravates renal fibrosis in CKD through the NOX4-ROS-apoptosis pathway in tubular epithelial cells[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870 (3): 167039-167047.
- [7] WU T N,MA W X,LU W L,et al. Vaccarin alleviates cisplatin-induced acute kidney injury via decreasing NOX4-derived ROS[J]. *Heliyon*, 2023, 9 (11): e21231.
- [8] SINGER M,DEUTSCHMAN C S,SEYMOUR C W,et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801-810.

• 论 著 •

miR-486-5P 对缺氧/复氧诱导 H9c2 心肌细胞铁死亡的影响及其机制^{*}

李广妹,徐文婷,赵佳叶,周泽宇,王思铭,孙启玉[△]

承德医学院附属医院检验科(河北省泛血管重点实验室),河北承德 067000

摘 要:**目的** 探讨 miR-486-5P 对缺氧/复氧(H/R)后 H9c2 心肌细胞铁死亡的影响,并分析其作用机制。**方法** 以 H9c2 心肌细胞为研究对象,用氯化钴(CoCl_2)及新鲜培养基建立 H/R 损伤模型。将细胞分为对照组、H/R 组、H/R+miR-486-5P mimic NC 组、H/R+miR-486-5P mimic 组、H/R+miR-486-5P inhibitor NC 组和 H/R+miR-486-5P inhibitor 组。采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测细胞 miR-486-5P 相对表达水平,CCK-8 法检测细胞活力,比色法检测细胞乳酸脱氢酶(LDH)活性、谷胱甘肽(GSH)、 Fe^{2+} 和丙二醛(MDA)水平,2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)荧光探针法测定细胞活性氧(ROS)水平,JC-1 法检测细胞线粒体膜电位(MMP),Western blot 检测 Akt/mTOR 信号通路蛋白和铁死亡相关蛋白溶质载体家 7 成员 11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)和酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(ACSL4)水平。**结果** 与对照组相比,H/R 组 miR-486-5P 水平明显下降($P<0.05$),细胞活力显著下降($P<0.05$),LDH 活性、MDA、 Fe^{2+} 水平和 ROS 水平及 ACSL4 蛋白水平明显升高($P<0.05$),GSH 水平、MMP、SLC7A11 和 GPX4 水平及 P-Akt/Akt 和 P-mTOR/mTOR 明显下降($P<0.05$)。经过 H/R 处理后,与 H/R+miR-486-5P mimic NC 组相比,H/R+miR-486-5P mimic 组细胞活力显著上升($P<0.05$),LDH 活性、MDA、 Fe^{2+} 水平、ROS 水平及 ACSL4 蛋白水平明显降低($P<0.05$),GSH 水平、MMP、SLC7A11 和 GPX4 水平及 P-Akt/Akt 和 P-mTOR/mTOR 明显升高($P<0.05$);与 H/R+miR-486-5P inhibitor NC 组相比,H/R+miR-486-5P inhibitor 组上述指标趋势则与之相反。**结论** miR-486-5P 通过调控 Akt/mTOR 信号通路缓解 H/R 诱导的 H9c2 细胞铁死亡,从而减轻 H/R 导致的心肌细胞损伤。

关键词:微小 RNA; 缺氧/复氧; 铁死亡; Akt/mTOR 信号通路

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.18.007

中图法分类号:R542.2

文章编号:1673-4130(2025)18-2212-07

文献标志码:A

Effect and mechanism of miR-486-5P on hypoxia/reoxygenation induced ferroptosis in H9c2 cardiomyocytes^{*}

LI Guangmei, XU Wenting, ZHAO Jiaye, ZHOU Zeyu, WANG Siming, SUN Qiyu[△]

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengde Medical University
(Hebei Key Laboratory of Panvascular Diseases), Chengde, Hebei 067000, China

Abstract:**Objective** To investigate the effect of miR-486-5P on ferroptosis in H9c2 cardiomyocytes after hypoxia/reoxygenation (H/R), and to analyze its mechanism. **Methods** Using H9c2 cardiomyocytes as the research object, a H/R injury model was established using cobalt chloride (CoCl_2) and fresh culture medium. The cells were divided into control group, H/R group, H/R+miR-486-5P mimic NC group, H/R+miR-486-5P mimic group, H/R+miR-486-5P inhibitor NC group and H/R+miR-486-5P inhibitor group. The relative expression level of miR-486-5P was detected by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). The cell viability was detected by CCK-8 method. The activities or levels of lactate dehydrogenase (LDH), glutathione (GSH), Fe^{2+} and malondialdehyde (MDA) were detected by colorimetric method. The levels of reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential (MMP) were detected by DCFH-DA fluorescent probe and JC-1 assay, respectively. Western blot was used to detect the levels of Akt/mTOR signaling pathway proteins and ferroptosis related protein solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), glutathione peroxidase 4 (GPX4) and acyl-coa synthetase long chain family member 4 (ACSL4). **Results** Compared with the control group, the level of miR-486-5P and cell viability in the H/R group de-

^{*} 基金项目:河北省自然科学基金项目(H2022406047)。

作者简介:李广妹,女,技师,主要从事心血管疾病预防机制方向的研究。[△] 通信作者,E-mail:sunmeng57@sina.com。