

• 论 著 •

血清 TRX-1、NLRP3 表达水平与儿童功能性消化不良的相关性研究*

李 洁¹, 侯志芳², 肖二明³, 张 旭⁴

1. 石家庄市妇幼保健院儿二科, 河北石家庄 050000; 2. 任丘市人民医院儿科, 河北沧州 062550; 3. 廊坊市妇幼保健院新生儿科, 河北廊坊 065000; 4. 石家庄市妇幼保健院中医科, 河北石家庄 050000

摘要:目的 探讨血清硫氧还蛋白 1 (TRX-1)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 表达水平与儿童功能性消化不良 (FD) 的相关性。方法 选取 2022 年 5 月至 2023 年 6 月就诊于石家庄市妇幼保健院的 FD 患儿 45 例为 FD 组; 另选取健康儿童 40 例为对照组。采用实时荧光定量 PCR 测定血清 TRX-1、NLRP3 mRNA 表达水平, Spearman 相关分析血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平与 FD 相关评分的相关性, 多因素 Logistic 回归分析 FD 发生的影响因素。结果 FD 组血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平平均高于对照组 ($P < 0.05$)。轻度组、中度组 FD 患儿血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平均低于重度组, 轻度组 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 水平均低于中度组 ($P < 0.05$)。血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平与上腹痛、腹胀或上腹不适、恶心呕吐均呈正相关 ($P < 0.05$), 与早饱、食欲不振或食量减少、嗝气均无相关性 ($P > 0.05$)。血清 NLRP3 mRNA 表达水平与总分呈正相关 ($P < 0.05$), 血清 TRX-1 mRNA 表达水平与总分无相关性 ($P > 0.05$)。血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 水平升高是 FD 发生的独立危险因素 ($P < 0.05$)。结论 血清 TRX-1、NLRP3 表达水平可能在 FD 的发病过程中发挥着重要作用。

关键词: 儿童功能性消化不良; 血清硫氧还蛋白 1; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.11.008

中图法分类号: R725.7

文章编号: 1673-4130(2024)11-1318-04

文献标志码: A

Correlation of serum TRX-1 and NLRP3 expression levels with functional dyspepsia in children*

LI Jie¹, HOU Zhifang², XIAO Erming³, ZHANG Xu⁴

1. Second Department of Pediatrics, Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 2. Department of Pediatrics, Renqiu People's Hospital, Cangzhou, Hebei 062550, China; 3. Department of Neonatology, Langfang Maternal and Child Health Hospital, Langfang, Hebei 065000, China; 4. Department of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China

Abstract: **Objective** To study the correlation between serum thioredoxin 1 (TRX-1) and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) expression levels and functional dyspepsia (FD) in children. **Methods** A total of 45 children with FD who were admitted to Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital from May 2022 to June 2023 were enrolled as the FD group. Another 40 healthy children were selected as the control group. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to measure the expression levels of serum TRX-1 and NLRP3 mRNA. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between the expression levels of serum TRX-1 mRNA, NLRP3 mRNA and FD related scores. Multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of FD. **Results** The expression levels of TRX-1 mRNA and NLRP3 mRNA in FD group were higher than those in control group ($P < 0.05$). The mild and moderate FD groups had significantly lower serum TRX-1 mRNA and NLRP3 mRNA expression levels than the severe FD group, and the mild FD group had significantly lower serum TRX-1 mRNA and NLRP3 mRNA expression levels than the moderate FD group ($P < 0.05$). The expression levels of TRX-1 mRNA and NLRP3 mRNA in serum were positively correlated with epigastric pain, abdominal distension or epigastric discomfort, nausea and vomiting ($P < 0.05$), but were not correlated with early satiety, loss of appetite or food intake, and belching ($P > 0.05$). The expression level of serum NLRP3 mRNA was positively correlated with the total

* 基金项目: 河北省中医药管理局项目 (2023164)。

作者简介: 李洁, 女, 主治医师, 主要从事儿科学相关研究。

score ($P<0.05$), while the expression level of serum TRX-1 mRNA was not correlated with the total score ($P>0.05$). The increased levels of serum TRX-1 mRNA and NLRP3 mRNA were independent risk factors for FD ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of TRX-1 and NLRP3 may play an important role in the pathogenesis of FD.

Key words: functional dyspepsia in children; serum thioredoxin 1; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3

儿童功能性消化不良(FD)是指以反复发作的腹部疼痛、腹胀、餐后早饱、反酸或食欲缺乏等一系列消化功能障碍为特征的一种临床综合征,具有病程较长,病情易反复的特点^[1]。到目前为止,FD尚无较好的诊断及治疗方式^[2],因此亟须在临床中寻找PD的相关生物学指标,深入揭示PD的发病机制,对准确诊断PD患儿并有效探索治疗方案有重要的临床意义。硫氧还蛋白 1(TRX-1)是从大肠埃希菌 B 中纯化出的一种蛋白质,其可通过活性中心二硫醇逆氧化成二硫化物,参与氧化还原反应中的氢供体,涉及许多细胞生理过程,包括脱氧核糖核苷酸合成,氧化损伤蛋白的修复,蛋白质折叠,硫代谢和氧化还原稳态^[3-4]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)是现阶段研究较多的炎症小体,其能够对数量繁多并且在来源、化学组成、结构性质上都毫无关联的激动剂做出反应,其中包括来自入侵病原体的病原相关分子,受损机体自身产生的损伤相关分子,多种跟疾病密切关联的分子及动脉粥样硬化中的胆固醇结晶等^[5-6]。因此,探讨血清 TRX-1、NLRP3 表达水平与 FD 的相关性,或许可以由此揭示 FD 的病理机制,进而为 FD 的治疗提供更优的治疗方案。本研究拟对 FD 患者血清 TRX-1、NLRP3 表达水平进行检测,进而分析血清 TRX-1、NLRP3 表达水平与 FD 的相关性,以期揭示 FD 发病机制及探索有效治疗方案奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2022 年 5 月至 2023 年 6 月就

诊于石家庄市妇幼保健院的 FD 患儿 45 例为 FD 组,另选取健康儿童 40 例作为对照组。FD 组男童 25 例、女童 20 例,年龄 2~12 岁,平均(8.18±2.73)岁;对照组男童 21 例、女童 19 例,年龄 2~11 岁,平均(8.28±1.78)岁。两组儿童的性别及年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经石家庄市妇幼保健院医学伦理委员会批准。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:FD 组儿童符合 FD 诊断标准^[7],即诊断前至少 2 个月内出现以下 1 种或多种症状,且每个月至少 4 d 有症状,包括餐后饱胀、早饱、与排便无关的上腹疼痛或烧灼感;上述症状不能用其他疾病完全解释且临床资料完整;对照组儿童无消化系统症状。排除标准:合并胃肠道器质性疾病;患有其他类型的功能性胃肠道疾病;胃肠道畸形及发育异常;精神异常;患有代谢性疾病。

1.3 实时荧光定量 PCR(qPCR)法测定血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平 采集两组儿童的血清标本,加入 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)提取血清中总 RNA,测定 RNA 质量。用逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司)将 RNA 逆转录为 cDNA,以 GAPDH 为内参,cDNA 为模板,采用 qPCR 法测定血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平。血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 相对表达水平通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算。引物序列由广州锐博生物公司合成,见表 1。

表 1 引物序列

名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
TRX-1	TTCCTTGAAGTAGACGTGGATGAC	AGAGAACTCCCCAACCTTTTGAC
NLRP3	CCCCGTGAGTCCCATTA	GACGCCAGTCCAACAT
GAPDH	CTGCCUAGCTCACAUCCGCG	CUCGTCTCGAGTAGUCTGC

1.4 症状分级标准 对患儿上腹痛、早饱、腹胀或上腹不适、食欲不振或食量减少、嗝气、恶心呕吐这 6 个症状进行评分,每个症状又从严重程度及频率 2 个方面进行评估。严重程度分为 5 个等级:无症状为 0 分;症状轻微可以被忽略为 1 分;症状不能被忽略,但可以忍受为 2 分;症状严重,影响生活及学习为 3 分;症状极其严重,严重影响日常活动或需要休息为 4 分。频率分为 5 个等级:0 分,无;1 分,<3 次/周;2 分,≥3 次/周,非每日出现;3 分,每日间断出现;4 分,每日几乎持续出现。总分为 6 个症状评分相加。

根据症状严重程度分为 3 级^[7]:轻度组(18 例,总分在 1~5 分),中度组(17 例,总分在>5~10 分),重度组(10 例,总分>10 分)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用 t 检验,多组比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 q 检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平与 FD 评分的相关性采用 Spearman 相关进行分析;采用多因素 Logistic

回归分析 FD 发生的影响因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对照组与 FD 组血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平比较 FD 组血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平均高于对照组 ($P<0.05$), 见表 2。

表 2 对照组与 FD 组血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	TRX-1 mRNA	NLRP3 mRNA
FD 组	45	1.28±0.19	1.32±0.17
对照组	40	1.02±0.23	0.98±0.18
<i>t</i>		5.640	8.922
<i>P</i>		<0.01	<0.01

2.2 不同严重程度 FD 患儿血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平比较 重度组 FD 患儿血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平均高于轻度组、中度组, 中度组 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 水平均高于轻度组 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 不同严重程度 FD 患儿血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	TRX-1 mRNA	NLRP3 mRNA
轻度组	18	1.17±0.18	1.18±0.16
中度组	17	1.28±0.14 ^a	1.35±0.13 ^a
重度组	10	1.46±0.15 ^{ab}	1.52±0.17 ^{ab}
<i>F</i>		10.650	16.703
<i>P</i>		<0.01	<0.01

注:与轻度组比较,^a $P<0.05$;与中度组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 FD 组血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平与症状评分的相关性分析 血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平与上腹痛、腹胀或上腹不适、恶心呕吐均呈正相关(均 $P<0.05$), 与早饱、食欲不振或食量减少、嗝气均无相关性(均 $P>0.05$)。血清 NLRP3 mRNA 表达水平与总分呈正相关($P<0.05$), 血清 TRX-1 mRNA 表达水平与总分无相关性($P>0.05$)。见表 4。

表 4 FD 组血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 表达水平与症状评分的相关性分析				
症状	TRX-1 mRNA		NLRP3 mRNA	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
上腹痛	0.315	0.035	0.398	0.007
腹胀或上腹不适	0.296	0.048	0.369	0.013
早饱	0.154	0.314	0.205	0.117
食欲不振或食量减少	-0.115	0.451	0.157	0.303
嗝气	-0.172	0.258	-0.134	0.382
恶心呕吐	0.420	0.007	0.256	0.040
总分	0.078	0.608	0.262	0.042

2.4 影响 FD 发生的多因素 Logistic 回归分析 以 FD 是否发生为因变量(是=1、否=0), 以血清 TRX-1 mRNA(实测值)、NLRP3 mRNA(实测值)为自变量, 进行多因素 Logistic 回归分析。结果发现, 血清 TRX-1 mRNA、NLRP3 mRNA 水平升高是 FD 发生的独立危险因素(均 $P<0.05$), 见表 5。

表 5 影响 FD 发生的多因素 Logistic 回归分析						
指标	β	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
TRX-1	0.345	0.113	9.322	0.002	1.412	1.131~1.762
NLRP3	0.118	0.056	4.424	0.035	1.125	1.008~1.256

3 讨 论

FD 主要是由于胃和十二指肠功能紊乱引起的症状^[8-9]。FD 是临床上最常见的一种功能性胃肠病, 发病机制目前仍然不清楚, 可能和胃肠动力障碍、内脏神经感觉过敏、胃底对食物的容受性舒张功能下降及精神和社会心理因素密切相关^[10]。儿童出现的 FD 也可能和胃肠动力障碍有关, 还可能和挑食偏食密切相关^[11]。这对 FD 的治疗造成了障碍^[12]。因此, 研究血清 TRX-1、NLRP3 表达水平与 FD 的相关性对阐释 FD 的发病机制具有重要意义, 且可为 FD 的治疗提供科学的参考资料。

TRX-1 是一个存在于细胞外的硫氧还蛋白, 由淋巴细胞、肝细胞、成纤维细胞等多种细胞分泌产生^[13]。TRX-1 主要存在于细胞质中, 少量存在于细胞核及与细胞外表面相关处。通常在各种应激条件下, 如缺氧、过氧化氢水平升高、光化学氧化应激、病毒和细菌感染, TRX-1 的表达水平升高。解美玲等^[14]在研究慢性胃炎患者 TRX-1 表达水平变化与幽门螺杆菌感染的关系时发现, 幽门螺杆菌感染阳性组血清 TRX-1 表达水平高于阴性组, 且血清 TRX-1 表达水平是幽门螺杆菌感染的影响因素, 进一步采用受试者工作特征曲线分析, 结果显示血清 TRX-1 表达水平对幽门螺杆菌感染具有一定的诊断评估价值。潘聪桃等^[15]在研究堆心菊灵对人前列腺癌细胞中的抗癌作用及其潜在的作用机制时发现, 与正常组织相比, TRX-1 在前列腺癌组织中呈高表达, 敲除 TRX-1 提高了前列腺癌细胞中活性氧水平, 过表达 TRX-1 抑制了前列腺癌细胞中活性氧水平。马琳等^[16]在研究颅脑外伤患者围术期 TRX-1 动态变化对预后的预测效能时发现, 颅脑外伤患者术后 TRX-1 表达水平降低与预后不良有关。本研究发现, FD 患儿血清 TRX-1 mRNA 表达水平均高于健康儿童, 且与腹痛、腹胀或上腹不适、恶心呕吐均呈正相关, 但与早饱、食欲不振或食量减少、嗝气及总分均无相关性, 进一步研究发现, TRX-1 mRNA 水平升高是 FD 发生的独立危险因素, 和上述学者的研究结果具有相似性。其中, FD 组血清 TRX-1 mRNA 表达水平与总分无相关性, 可能是受到样本量的影响, 后期应加大样本量对本研究结果进行充分论证。由此推断, 血清 TRX-1 表达水平可

能在 FD 的发病过程中发挥着重要作用。

NLRP3 是一种炎症小体传感器蛋白,在许多疾病中已有研究^[17]。张哲源等^[18]在研究具核梭杆菌诱导炎症小体 NLRP3 表达与食管鳞状细胞癌患者临床病理特征及 5 年生存期的关系时发现,与具核梭杆菌未感染组比较,具核梭杆菌感染组 NLRP3 蛋白及 mRNA 相对表达水平升高;与癌旁正常组织比较,癌组织 NLRP3 相对表达水平升高。王亚东等^[19]在研究白头翁汤正丁醇提取物对白念珠菌异常定植下的葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用时发现,与对照组和葡聚糖硫酸钠组比较,研究组结肠组织 NLRP3 表达水平升高。高岩等^[20]在研究牙周炎加重肥胖大鼠胰岛素抵抗的相关机制及可能的信号通路时发现,胰腺 NLRP3 水平由高到低依次为模型组、肥胖组、对照组,治疗组 NLRP3 水平低于模型组,模型组肝脏 NLRP3 高于对照组和肥胖组,且治疗组 NLRP3 水平低于模型组。另外,有研究显示,电针“足三里”“太冲”穴能够通过下调 FD 大鼠胃组织 NLRP3 的表达缓解大鼠炎症反应^[21]。本研究发现,FD 患儿血清 NLRP3 mRNA 表达水平平均高于健康儿童,且与腹痛、腹胀或上腹不适、恶心呕吐及总分均呈正相关,但与早饱、食欲不振或食量减少及嗝气均无相关性,这一研究结果与上述研究结果具有相似性,进一步研究发现,NLRP3 mRNA 水平升高是 FD 发生的独立危险因素,由此推断,血清 NLRP3 表达水平可能在 FD 的发病过程中发挥着重要作用。

综上所述,血清 TRX-1、NLRP3 表达水平可能在 FD 的发病过程中发挥着重要作用。但本研究样本量较小,且 TRX-1、NLRP3 在 FD 发病过程中的调控机制尚不明确,因此本研究后续将继续加大样本量作进一步验证,并纳入动物实验探究二者在 PD 发病过程中的具体作用机制。

参考文献

- [1] MILLER J, KHLEVNER J, RODRIGUEZ L. Upper gastrointestinal functional and motility disorders in children [J]. *Pediatr Clin North Am*, 2021, 68(6): 1237-1253.
- [2] SHAVA U, SRIVASTAVA A, MATHIAS A, et al. Functional dyspepsia in children: a study of pathophysiological factors [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 36(3): 680-686.
- [3] BAI L, YAN F, DENG R, et al. Thioredoxin-1 rescues MPP⁺/MPTP-induced ferroptosis by increasing glutathione peroxidase 4 [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(7): 3187-3197.
- [4] OBERACKER T, KRAFT L, SCHANZ M, et al. The importance of thioredoxin-1 in health and disease [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(5): 1078-1086.
- [5] 徐为, 罗浩, 唐辉. 外周血单核细胞 NLRP3 在冠状动脉支架术后狭窄患者中的表达水平及临床意义 [J]. *国际检*

- 验医学杂志*, 2022, 43(24): 2954-2962.
- [6] HUANG Y, XU W, ZHOU R. NLRP3 inflammasome activation and cell death [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(9): 2114-2127.
- [7] 赵思, 宁梁, 列新. 罗马Ⅲ与罗马Ⅳ标准诊断功能性消化不良的差异 [J]. *右江民族医学院学报*, 2018, 40(2): 123-127.
- [8] 王向辉, 李小芹. 功能性消化不良患儿血清 MTL、NPY、GLP-1、LEP 的水平变化及其临床意义 [J]. *华南国防医学杂志*, 2018, 32(3): 173-175.
- [9] THAPAR N, BENNINGA M A, CROWELL M D, et al. Paediatric functional abdominal pain disorders [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 89-93.
- [10] TORO-MONJARAZ E M, IGNOROSA-ARELLANO K, RA-YAAGUIRRE K, et al. Dyspepsia in children: organic or functional? Experience in a tertiary care hospital [J]. *Gac Med Mex*, 2021, 157(5): 473-477.
- [11] SHAH A, FAIRLIE T, BROWN G, et al. Duodenal eosinophils and mast cells in functional dyspepsia: a systematic review and meta-analysis of case-control studies [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2022, 20(10): 2229-2242.
- [12] MANI J, MADANI S, THOMAS R. Economic impact and prognostic factors of functional dyspepsia in children [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2020, 70(4): 65-70.
- [13] ZENG X S, GENG W S, WANG Z Q, et al. Morphine addiction and oxidative stress: the potential effects of thioredoxin-1 [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11(1): 82-86.
- [14] 解美玲, 蔡小玲, 麻国芳, 等. 慢性胃炎患者 TRX-1 与 Ca-gA 化及其胃黏膜组织病理特征与 Hp 感染的关联性 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(16): 2457-2461.
- [15] 潘聪桃, 张晓燕, 廖爱玲, 等. 基于硫氧还蛋白还原酶 1 探究堆心菊灵对人前列腺癌细胞中活性氧产生的影响 [J]. *中草药*, 2022, 53(7): 2078-2084.
- [16] 马琳, 王樑, 赵彬芳, 等. 颅脑外伤患者围手术期 Trx1、NGF、hs-CRP 动态变化对预后的预测效能探讨 [J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2023, 18(1): 55-58.
- [17] 张侯, 王丽萍, 温春生, 等. 基于 NLRP3 信号通路探讨辛伐他汀抑制 COPD 大鼠肺组织细胞焦亡的作用研究 [J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(11): 1305-1316.
- [18] 张哲源, 刘怡文, 付臻, 等. 具核梭杆菌对炎症小体 NLRP3 的诱导作用对食管鳞状细胞癌患者生存期的影响 [J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2022, 57(2): 170-175.
- [19] 王亚东, 徐志庆, 夏丹, 等. 基于 NLRP3 炎症小体研究白头翁汤正丁醇提取物对白念珠菌定植下小鼠溃疡性结肠炎的作用机制 [J]. *中草药*, 2022, 53(13): 3997-4006.
- [20] 高岩, 成思源, 黄晶, 等. 基于 NLRP3 信号通路研究牙周炎加重肥胖大鼠胰岛素抵抗的作用机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(15): 3760-3763.
- [21] 王晓彤, 董佳梓, 王建波, 等. 电针调节 TLR4、NLRP3 改善功能性消化不良大鼠胃黏膜炎症反应机制研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(2): 109-113.

(收稿日期: 2023-08-10 修回日期: 2024-01-11)