

• 论 著 •

急性呼吸窘迫综合征患儿血清 Melatonin、MIP-1 α 与 NLRP3 炎症小体和预后的关系分析*

余娟¹, 王俭^{1 Δ} , 杜华伟¹, 杨学琴¹, 杨婕²

眉山市人民医院: 1. 儿科; 2. 新生儿科, 四川眉山 620010

摘要:目的 探讨急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患儿血清褪黑素(Melatonin)、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)与核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体和预后的关系。方法 选取 2021 年 1 月至 2023 年 1 月该院收治的 ARDS 患儿 140 例纳入 ARDS 组,另选取同期 100 例体检健康儿童纳入对照组。根据入院 28 d 临床结局将 ARDS 患儿分为死亡组 29 例和存活组 111 例。采用酶联免疫吸附试验检测血清 Melatonin、MIP-1 α 、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 水平,实时荧光定量 PCR 检测 NLRP3 mRNA、半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)mRNA 水平。采用 Pearson 相关分析 ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1 α 水平与 NLRP3 炎症小体相关指标(NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18)的相关性。采用多因素 Cox 回归分析影响 ARDS 患儿预后的因素。根据 ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1 α 水平均值分为高/低血清 Melatonin、MIP-1 α 组,Kaplan-Meier 法绘制高/低血清 Melatonin、MIP-1 α 水平 ARDS 患儿生存曲线。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 Melatonin、MIP-1 α 对 ARDS 患儿死亡的预测价值。结果 与对照组比较,ARDS 组血清 Melatonin 水平降低,血清 MIP-1 α 、IL-1 β 、IL-18 和外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 水平升高($P < 0.05$)。Pearson 相关分析显示,ARDS 患儿血清 Melatonin 水平与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18 均呈负相关($P < 0.05$),MIP-1 α 水平与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18 均呈正相关($P < 0.05$)。多因素 Cox 回归分析显示,急性生理学和慢性健康状况评价 II 评分、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18、MIP-1 α 为影响 ARDS 患儿预后的独立危险因素,Melatonin 为独立保护因素($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,高血清 Melatonin 组 28 d 生存率高于低血清 Melatonin 组($P < 0.05$),高血清 MIP-1 α 组 28 d 生存率低于低血清 MIP-1 α 组($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 Melatonin、MIP-1 α 联合预测 ARDS 患儿死亡的曲线下面积为 0.881(95%CI 0.816~0.930),大于血清 Melatonin、MIP-1 α 单独预测的 0.785(95%CI 0.708~0.850)、0.778(95%CI 0.700~0.844)。结论 ARDS 患儿血清 Melatonin 水平降低、MIP-1 α 水平升高,与 NLRP3 炎症小体和预后密切相关,联合检测血清 Melatonin、MIP-1 α 水平对 ARDS 患儿预后具有较高的预测价值。

关键词:急性呼吸窘迫综合征; 褪黑素; 巨噬细胞炎性蛋白-1 α ; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.11.011

中图法分类号:R563.8

文章编号:1673-4130(2024)11-1331-07

文献标志码:A

Analysis of the relationship between serum Melatonin, MIP-1 α , NLRP3 inflammasome and prognosis in children with acute respiratory distress syndrome*

YU Juan¹, WANG Jian^{1 Δ} , DU Huawei¹, YANG Xueqin¹, YANG Jie²

1. Department of Pediatrics; 2. Department of Neonatology, Meishan People's Hospital, Meishan, Sichuan 620010, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between serum Melatonin, macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome and prognosis in children with acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** A total of 140 children with ARDS who were admitted to the hospital from January 2021 to January 2023 were enrolled as the ARDS group, and 100 healthy children who underwent physical examination during the same period were enrolled as the control group. According to the clinical outcome on 28 d after admission, the children with ARDS were divided into a death group (29 cases) and a survival group (111 cases). Enzyme-linked immu-

* 基金项目:2019 年第二批四川省卫生健康科研课题普及项目(19PJ1205)。

作者简介:余娟,女,主治医师,主要从事儿童呼吸与重症相关研究。 Δ 通信作者, E-mail:18728335158@163.com。

nosorbent assay was used to detect the serum levels of Melatonin, MIP-1 α , interleukin (IL)-1 β , and IL-18. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the mRNA levels of NLRP3 and Caspase-1. Pearson correlation was used to analyze the correlation between serum levels of Melatonin and MIP-1 α and NLRP3 inflammasome related indicators (NLRP3 mRNA, Caspase-1 mRNA, IL-1 β , IL-18) in children with ARDS. Multivariate Cox regression analysis was used to analyze the factors affecting the prognosis of children with ARDS. According to the mean levels of serum Melatonin and MIP-1 α , the children with ARDS were divided into a high/low Melatonin group and MIP-1 α group. The Kaplan-Meier method was used to draw the survival curves of ARDS children with high/low levels of serum Melatonin and MIP-1 α . The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of serum Melatonin and MIP-1 α for death in children with ARDS. **Results** Compared with the control group, the ARDS group had a significantly decreased serum Melatonin level and significantly increased serum MIP-1 α , IL-1 β , IL-18 and NLRP3 mRNA and Caspase-1 mRNA levels in peripheral blood mononuclear cells ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the serum Melatonin level of ARDS children was negatively correlated with NLRP3 mRNA, Caspase-1 mRNA, IL-1 β and IL-18 ($P < 0.05$), the level of MIP-1 α was positively correlated with NLRP3 mRNA, Caspase-1 mRNA, IL-1 β and IL-18 ($P < 0.05$). Multivariate Cox regression analysis showed that acute physiology and chronic health evaluation II score, NLRP3 mRNA, Caspase-1 mRNA, IL-1 β , IL-18 and MIP-1 α were independent risk factors affecting the prognosis of children with ARDS. Melatonin was an independent protective factor ($P < 0.05$). Kaplan-Meier survival curve analysis showed that the 28 d survival rate in high Melatonin group was higher than that in low Melatonin group ($P < 0.05$), and the 28 d survival rate in high MIP-1 α group was lower than that in low MIP-1 α group ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of Melatonin and MIP-1 α combined to predict the death of ARDS children was 0.881 (95%CI 0.816—0.930). It was higher than 0.785 (95%CI 0.708—0.850) and 0.778 (95%CI 0.700—0.844) predicted by Melatonin or MIP-1 α alone. **Conclusion** The serum Melatonin level is decreased and MIP-1 α level is increased in children with ARDS, which is closely related to NLRP3 inflammasome and prognosis. Combined detection of serum Melatonin and MIP-1 α levels has a high predictive value for the prognosis of children with ARDS.

Key words: acute respiratory distress syndrome; Melatonin; macrophage inflammatory protein-1 α ; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是一种由肺泡表面活性物质原发或继发性减少引起的呼吸系统疾病,其病情进展迅速且病死率高,可严重威胁患儿生命安全^[1-2]。及时预测 ARDS 患儿预后对降低其病死率至关重要。研究表明,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体介导的炎症反应与 ARDS 之间存在密切关系^[3]。褪黑素(Melatonin)是一种神经内分泌激素,能通过调节抗炎细胞因子生成和抑制相关信号通路发挥抗炎作用^[4]。实验显示, Melatonin 能减轻严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 诱导的 ARDS 程度^[5]。巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)是与免疫监视和耐受相关的关键趋化因子,能促进免疫细胞聚集至炎症部位,在炎症中起着至关重要的作用^[6]。临床研究指出, MIP-1 α 水平与 ARDS 患者病情严重程度和合并肺部感染有关^[7]。本研究就探讨 ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1 α 与 NLRP3 炎症小体和预后的关系, 以期改善 ARDS 患儿预后提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1 月至 2023 年 1 月本

院收治的 ARDS 患儿 140 例纳入 ARDS 组,其中女 56 例,男 84 例;年龄 1~12 岁,平均(6.69 $\pm$ 2.13)岁;病情程度^[8]:轻度(200 mmHg<氧合指数 $\leq$ 300 mmHg)36 例,中度(100 mmHg<氧合指数 $\leq$ 200 mmHg)57 例,重度(氧合指数 $\leq$ 100 mmHg)47 例; ARDS 病因:肺部感染 76 例,创伤 28 例,误吸 31 例,其他 5 例。ARDS 组纳入标准:(1)年龄在 1~12 岁;(2)符合 ARDS 诊断标准^[8];(3)机械通气时间 $\geq$ 72 h;(4)临床资料完整。排除标准:(1)先天性心脏病等其他先天性畸形和肺腺瘤样畸形、膈疝等遗传性缺陷;(2)肺结核、心源性肺水肿等其他肺疾病;(3)自身免疫性疾病;(4)近期接受过免疫抑制剂、糖皮质激素治疗;(5)脑性过度换气。另选取同期 100 例体检健康儿童纳入对照组,其中女 40 例,男 60 例;年龄 1~12 岁,平均(6.71 $\pm$ 2.09)岁。对照组纳入标准:(1)各种先天性疾病;(2)近 3 个月内有肺疾病史或使用过免疫抑制剂、糖皮质激素治疗;(3)自身免疫性疾病。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经本院医学伦理委员会批准[批准

文号:伦审(2020)第 0357 号]。

1.2 方法

1.2.1 血液标本收集 采集 ARDS 患儿入院时和对照组体检时 6 mL 外周静脉血,分置两管,一管在真空采血促凝管中以 8 cm 半径、3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,−80 ℃ 冰箱保存用于 Melatonin、MIP-1α 和白细胞介素(IL)-1β、IL-18 水平检测;另一管肝素钠抗凝后,密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,−80 ℃ 冰箱保存用于 NLRP3、半胱氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1)检测。

1.2.2 血清 Melatonin、MIP-1α、IL-1β、IL-18 水平检测 使用酶联免疫吸附试验试剂盒检测血清 Melatonin、MIP-1α(上海烜雅生物科技有限公司)、IL-1β(北京同立海源生物科技有限公司)、IL-18(深圳海思安生物技术有限公司)水平,操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 表达检测 使用生工生物工程(上海)股份有限公司提供的 Trizol 试剂盒提取外周血单个核细胞总核糖核酸,宝日医生物技术(北京)有限公司提供的 TaKaRa 试剂盒逆转录为互补 DNA,反应条件:37 ℃ 15 min、85 ℃ 5 s。接下来根据北京百迈客生物科技有限公司提供的实时荧光定量 PCR (qPCR) 试剂盒(Biomarker 2 × SYBR Green Fast qPCR Mix)进行扩增。引物由北京擎科生物科技股份有限公司设计和合成,NLRP3 mRNA 上游引物 5'-GGATCCTAGACCAGCATGCC-3',下游引物 5'-AAAGGTTACCATAAGTAAGT-3'; Caspase-1 mRNA 上游引物 5'-AGTGCTGTGAAGCCAGAC-3',下游引物 5'-GGAGTGGGATGGGTGATG-3'; GAPDH 上游引物 5'-GTCTCCTCTGACTTCAA-CAGCG-3',下游引物 5'-ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA-3'。反应体系:互补 RNA 1 μL、2 ×

qPCR 反应液 10 μL、上/下游引物各 0.5 μL、无酶去离子水加至总体积为 20 μL;反应条件:95 ℃ 5 min 1 次,95 ℃ 30 s、60 ℃ 30 s、72 ℃ 60 s 40 次。以 GAPDH 为内参,2^{−ΔΔCt} 法计算 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 相对表达水平。

1.3 资料收集 收集 ARDS 患儿性别、年龄、ARDS 病因、氧合指数、使用血管活性药物、使用神经肌肉阻滞剂、吸入一氧化氮、潮气量、急性生理学和慢性健康状况评价Ⅱ(APACHEⅡ)评分(总分 0~71 分,得分越高则病情越严重)等资料。

1.4 预后分组 根据 ARDS 患儿入院 28 d 临床结局将其分为死亡组 29 例和存活组 111 例。

1.5 统计学处理 选用 SPSS28.0 统计学软件处理本研究中相关数据。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料经正态性检验,正态分布且方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 或表示,组间比较采用 *t* 检验,不呈正态分布的计量资料以 *M*(*P*₂₅, *P*₇₅)表示,组间比较采用 *U* 检验;ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1α 与 NLRP3 炎症小体相关指标的相关性采用 Pearson 相关进行分析;影响 ARDS 患儿预后的因素采用多因素 Cox 回归分析;采用 Kaplan-Meier 法绘制高/低血清 Melatonin、MIP-1α 水平 ARDS 患儿生存曲线,Log-rank 检验比较生存率;血清 Melatonin、MIP-1α 对 ARDS 患儿死亡的预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线进行分析。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ARDS 组与对照组血清 Melatonin、MIP-1α 和 NLRP3 炎症小体相关指标比较 ARDS 组血清 Melatonin 水平低于对照组,血清 MIP-1α、IL-1β、IL-18 和外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 水平高于对照组(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 ARDS 组与对照组血清 Melatonin、MIP-1α 和 NLRP3 炎症小体相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Melatonin (pg/mL)	MIP-1α (pg/mL)	NLRP3 mRNA	Caspase-1 mRNA	IL-1β (pg/mL)	IL-18 (pg/mL)
ARDS 组	140	111.15 ± 35.70	280.42 ± 45.86	1.25 ± 0.33	1.77 ± 0.54	30.99 ± 5.39	114.96 ± 28.50
对照组	100	174.21 ± 40.36	216.60 ± 36.12	0.87 ± 0.24	1.03 ± 0.25	19.37 ± 5.19	51.28 ± 11.20
<i>t</i>		−12.772	11.582	9.808	12.756	16.721	21.195
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1α 水平与 NLRP3 炎症小体相关指标的相关性分析 Pearson 相关分析显示,ARDS 患儿血清 Melatonin 水平与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1β、IL-18 均呈负相关,MIP-1α 水平与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1β、IL-18 均呈正相关(*P* < 0.05)。见表 2。

2.3 ARDS 患儿预后的单因素分析 单因素分析显示,死亡组潮气量、APACHEⅡ评分、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1β、IL-18、MIP-1α 水平高于存活组,氧合指数、Melatonin 水平低于存活组(*P* < 0.05),两组患儿性别、年龄、ARDS 病因、使用血管活性药物、使用神经肌肉阻滞剂、吸入一氧化氮等资料比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 3。

2.4 多因素 Cox 回归分析影响 ARDS 患儿预后的因素 以 ARDS 患儿预后(赋值:死亡=0,存活=1)为因变量,以随访时间为时间变量,氧合指数、潮气量、APACHE II 评分、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18、Melatonin、MIP-1 α 为自变量(均原值录入),建立影响 ARDS 患儿预后的多因素 Cox 回归模型。结果显示,APACHE II 评分、NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18、MIP-1 α 为影响 ARDS 患儿预后的独立危险因素($P<0.05$),Melatonin 为独立保护因素($P<0.05$)。见表 4。

表 3 ARDS 患儿预后的单因素分析[$n(\%)$ 或 $\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

指标	死亡组($n=29$)	存活组($n=111$)	$\chi^2/t/U$	P
性别				
男	17(58.62)	67(60.36)	0.029	0.865
女	12(41.38)	44(39.64)		
年龄(岁)	6.86 $\pm$ 1.60	6.65 $\pm$ 2.25	0.472	0.638
ARDS 病因				
肺部感染	17(58.62)	59(53.15)	0.534	0.911
创伤	6(20.69)	22(19.82)		
误吸	5(17.24)	26(23.42)		
其他	1(3.45)	4(3.60)		
氧合指数(mmHg)	118.15 $\pm$ 15.58	166.47 $\pm$ 16.55	14.164	<0.001
使用血管活性药物	19(65.52)	60(54.05)	1.229	0.268
使用神经肌肉阻滞剂	6(20.69)	9(8.11)	2.603	0.107
吸入一氧化氮	5(17.24)	6(5.41)	2.964	0.085
潮气量(mL/kg)	10.35 $\pm$ 2.26	9.10 $\pm$ 1.71	2.790	0.008
APACHE II 评分(分)	19.00(14.50,21.00)	14.00(12.00,17.00)	-4.071	<0.001
NLRP3 mRNA	1.50 $\pm$ 0.21	1.19 $\pm$ 0.32	4.939	<0.001
Caspase-1 mRNA	2.23 $\pm$ 0.51	1.65 $\pm$ 0.48	5.720	<0.001
IL-1 β (pg/mL)	35.16 $\pm$ 4.67	29.89 $\pm$ 5.03	5.096	<0.001
IL-18(pg/mL)	138.97 $\pm$ 25.05	108.69 $\pm$ 25.97	5.630	<0.001
Melatonin(pg/mL)	80.94 $\pm$ 34.53	119.04 $\pm$ 31.87	-5.633	<0.001
MIP-1 α (pg/mL)	316.33 $\pm$ 42.80	271.03 $\pm$ 41.98	5.172	<0.001

表 4 多因素 Cox 回归分析影响 ARDS 患儿预后的因素

因素	β	SE	$Wald \chi^2$	P	OR	95%CI
APACHE II 评分	0.482	0.195	6.116	0.013	1.620	1.105~2.375
NLRP3 mRNA	0.054	0.026	4.429	0.035	1.056	1.004~1.110
Caspase-1 mRNA	0.207	0.076	7.330	0.007	1.229	1.059~1.428
IL-1 β	0.191	0.092	4.308	0.038	1.210	1.011~1.449
IL-18	0.061	0.021	8.472	0.004	1.063	1.020~1.107
Melatonin	-0.046	0.021	4.730	0.030	0.955	0.915~0.995
MIP-1 α	0.038	0.013	8.798	0.003	1.038	1.013~1.065

2.5 血清 Melatonin、MIP-1 α 与 ARDS 患儿生存率 的关系 根据 ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1 α 水

表 2 ARDS 患儿血清 Melatonin、MIP-1 α 水平与 NLRP3 炎症小体相关指标的相关性分析

指标	Melatonin		MIP-1 α	
	r	P	r	P
NLRP3 mRNA	-0.704	<0.001	0.678	<0.001
Caspase-1 mRNA	-0.609	<0.001	0.643	<0.001
IL-1 β	-0.635	<0.001	0.631	<0.001
IL-18	-0.637	<0.001	0.608	<0.001

平均值分为高/低血清 Melatonin、MIP-1 α 组。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示, 高血清 Melatonin 组 (≥ 111.15 pg/mL, 68 例) 28 d 生存率为 91.18% (62/68), 高于低血清 Melatonin 组 (< 111.15 pg/mL, 72 例) 的 68.06% (49/72); 高血清 MIP-1 α 组 (≥ 280.42 pg/mL, 73 例) 28 d 生存率为 67.12% (49/73), 低于低血清 MIP-1 α 组 (< 280.42 pg/mL, 67 例) 的 92.54% (62/67), 差异有统计学意义 (Log-rank $\chi^2 =$

11.554、13.737, 均 $P < 0.001$)。见图 1。
2.6 血清 Melatonin、MIP-1 α 对 ARDS 患儿死亡的预测价值 结果显示, 血清 Melatonin、MIP-1 α 联合预测 ARDS 患儿死亡的曲线下面积 (AUC) 为 0.881 (95%CI 0.816~0.930), 大于血清 Melatonin、MIP-1 α 单独预测的 0.785 (95%CI 0.708~0.850)、0.778 (95%CI 0.700~0.844)。见表 5、图 2。

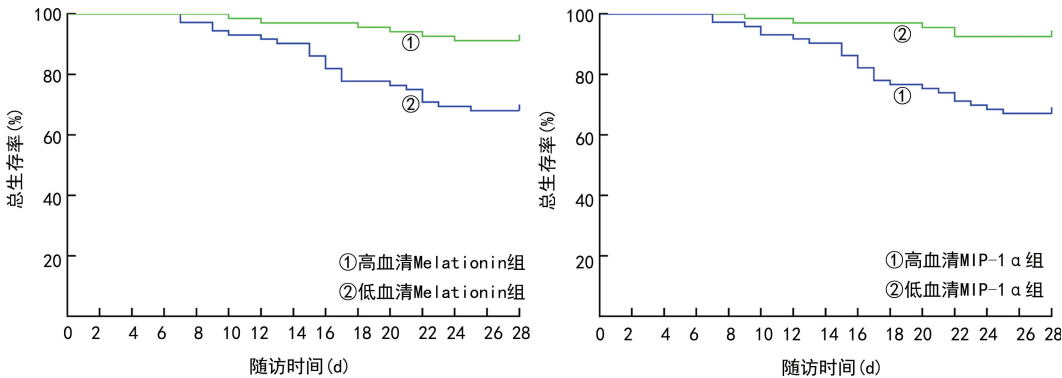


图 1 高/低血清 Melatonin、MIP-1 α 水平 ARDS 患儿的 Kaplan-Meier 生存曲线

表 5 血清 Melatonin、MIP-1 α 对 ARDS 患儿死亡的预测价值

指标	AUC	95%CI	最佳临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数
Melatonin	0.785	0.708~0.850	82.98 pg/mL	58.62	88.29	0.469
MIP-1 α	0.778	0.700~0.844	284.63 pg/mL	79.31	63.96	0.433
联合	0.881	0.816~0.930	—	96.55	68.47	0.650

注: — 为此项无数据。

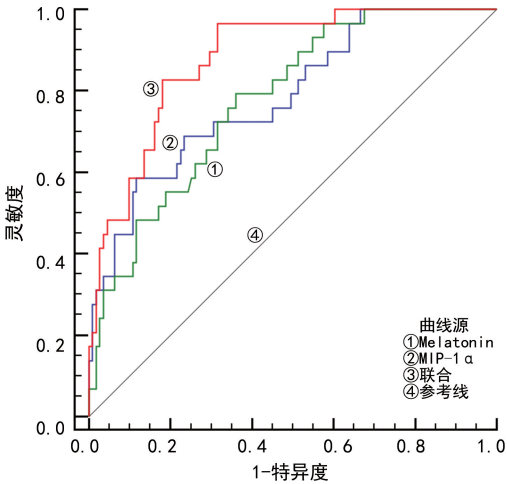


图 2 血清 Melatonin、MIP-1 α 预测 ARDS 患儿死亡的 ROC 曲线

3 讨 论

ARDS 是肺内或肺外多种原因引起的一种主要表现为顽固性低氧血症和呼吸困难的急性弥漫性炎症性肺损伤疾病, 以肺容积减少、严重通气/血流比例失调、肺顺应性降低等病理生理改变为主要特征^[9]。由于缺乏特效治疗方式/药物, 导致 ARDS 患儿病死率较高^[10]。本研究 ARDS 患儿入院 28 d 死亡率为

20.71%, 与徐春艳等^[11]报道相近。因此, 寻找儿童 ARDS 相关生物标志物, 对预测 ARDS 预后具有重要意义。
失控性炎症反应为 ARDS 核心病理机制, 其通过损伤肺毛细血管内皮和肺泡上皮细胞促进 ARDS 发生发展^[12]。NLRP3 是核苷酸结合寡聚化结构域样受体家族重要成员, 当感受到外源病原体侵入或理化性损伤等危险信号后, 其胞内模式识别受体能募集 Caspase-1 前体形成炎症小体复合体, Caspase-1 活化裂解后通过促进 IL-1 β 、IL-18 成熟和释放, 从而促进炎症发生发展^[13]。NLRP3 炎症小体已被证实是 ARDS 过程中的关键炎症信号通路, 抑制该信号通路能显著抑制 ARDS 进程^[14]。本研究结果显示, ARDS 患儿外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 和血清 IL-1 β 、IL-18 水平均高于对照组, 是影响 ARDS 患儿预后的独立危险因素。提示 NLRP3 炎症小体信号通路在 ARDS 患儿中明显被激活, 且与 ARDS 患儿预后密切相关, 符合上述研究报道。研究 NLRP3 炎症小体影响 ARDS 的相关分子机制, 可能为促进 ARDS 患儿诊治和预后评估提供新的方向。
Melatonin 主要是由脑顶部松果体以昼夜节律形式分泌的一种内源性吲哚胺, 在急性呼吸综合征冠状

病毒 2 诱导的 ARDS 中, Melatonin 能通过调节细胞因子风暴改善肺部损伤^[15]。近年研究发现, Melatonin 还参与免疫调节^[4]。KANG 等^[16]研究显示, Melatonin 在脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠模型肺组织中低表达, 上调 Melatonin 能减少 IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α 等炎症因子表达和释放, 逆转肺组织损伤。XU 等^[17]研究显示, 腹腔内注射 Melatonin 能抑制肺 M1 型巨噬细胞极化和活性氧介导的肺组织炎症及氧化应激损伤。上述研究提示, Melatonin 具有重要的肺保护作用。本研究结果显示, ARDS 患儿血清 Melatonin 水平降低, 高 Melatonin 患儿生存率明显增加, 而 Melatonin 水平升高为影响 ARDS 患儿预后的独立保护因素, 提示血清 Melatonin 水平升高有助于降低 ARDS 患儿死亡风险。其原因可能是 Melatonin 能通过激活核因子 E2 相关因子 2/ 血红素加氧酶 1 信号轴, 减少氧化应激对 NLRP3 炎症小体相关蛋白的刺激, 抑制失控性炎症反应对肺组织的损伤, 从而改善患儿预后^[16]。同时, 核因子- κ B (NF- κ B) 作为 NLRP3 炎症小体激活的关键信号, Melatonin 还能通过与视黄醇孤儿受体 α 相互作用抑制 NF- κ B 活化, 从而阻断 NLRP3 炎症小体的激活, 促进患儿预后改善^[18-19]。本研究结果也显示, ARDS 患儿血清 Melatonin 水平与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18 均呈负相关, 进一步佐证了该观点。此外, Melatonin 作为重要的抗氧化剂, 能通过直接清除氧自由基或增强氧化酶活性发挥抗氧化作用, 从而减轻肺功能损伤, 改善患儿预后^[20-21]。

MIP-1 α 是趋化因子 C-C 家族一员, 可与 C-C 基序趋化因子受体 (CCR) 1/3/5 结合, 促进单核细胞、嗜中性粒细胞特别是巨噬细胞到炎症部位产生募集效应^[6]。YU 等^[22]研究显示, 下调 MIP-1 α 能减轻香烟烟雾诱导的慢性阻塞性肺疾病小鼠肺部炎症反应。YOU 等^[23]研究显示, 下调肺纤维化小鼠 MIP-1 α 表达能抑制其肺部炎症, 减轻肺组织损伤。在脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤模型中, 敲除 MIP-1 α 基因能显著改善小鼠急性肺部炎症和损伤^[24]。这些研究提示, MIP-1 α 可能在 ARDS 中发挥作用。同时有研究指出, 血清 MIP-1 α 可作为 ARDS 合并肺部感染的诊断指标^[7]。本研究结果显示, ARDS 患儿血清 MIP-1 α 水平升高, 高水平 MIP-1 α 患儿生存率降低, 而 Melatonin 水平升高为影响 ARDS 患儿预后的独立危险因素, 提示血清 MIP-1 α 水平升高会增加 ARDS 患儿死亡风险。其原因可能是 MIP-1 α 水平升高能结合 CCR1/3/5 诱导炎症细胞至肺部聚集, 释放炎症介质, 放大炎症反应, 加剧肺组织损伤, 从而增加 ARDS 患儿死亡风险^[25]。结果还显示, ARDS 患儿血清 MIP-1 α 水平与 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA、IL-1 β 、IL-18 均呈正相关, 这提示 MIP-1 α 水平升高还可能通过 NLRP3 炎症小体信号通路参与 ARDS 过程。近

年研究指出 NLRP3 炎症小体能介导巨噬细胞向 M1 型“促炎型”极化, 抑制 NLRP3 炎症小体也会抑制 M1 型巨噬细胞极化^[26]。而 MIP-1 α 能趋化巨噬细胞至炎症部位, 极化为 M1 型巨噬细胞参与炎症过程^[6]。因此推测可能是 MIP-1 α 与 NLRP3 炎症小体共同参与 M1 型巨噬细胞极化, 但这还需进一步研究证实。本研究结果还发现, APACHE II 评分升高会增加 ARDS 患儿死亡风险, 考虑是 APACHE II 评分作为 ARDS 患儿的病情分度可靠指标, 其评分越高表示病情越危重, 因此死亡风险更高^[8]。

最后, 本研究通过绘制 ROC 曲线发现, 血清 Melatonin、MIP-1 α 联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 为 0.881, 优于血清 Melatonin、MIP-1 α 单独预测, 这说明检测血清 Melatonin、MIP-1 α 水平有助于 ARDS 患儿预后预测, 且联合检测血清 Melatonin、MIP-1 α 水平能提升预测价值。

综上所述, ARDS 患儿血清 Melatonin 水平降低与 NLRP3 炎症小体呈负相关, MIP-1 α 水平升高且与 NLRP3 炎症小体呈正相关, 是 ARDS 患儿预后的独立影响因素, 血清 Melatonin、MIP-1 α 联合检测对 ARDS 患儿死亡的预测价值较高。但本研究尚存在以下不足: 首先, 影响 ARDS 患儿预后的因素复杂, 本研究选择的因素可能存在一定局限性, 期待未来纳入更多因素加以分析; 其次, 本研究属于单中心研究, 样本来源单一, 且样本量不大, 可能存在选择偏倚, 期待未来加大样本量开展多中心研究以进一步验证; 最后, 本研究仅从血清方面探究了 Melatonin、MIP-1 α 与 ARDS 患儿 NLRP3 炎症小体和预后的关系, 其具体作用机制还需基础实验加以研究与分析。

参考文献

[1] 殷江文, 缪红军. 急性呼吸窘迫综合征的药物治疗进展[J]. 中国小儿急救医学, 2022, 29(10): 764-767.

[2] YEHYA N, SMITH L, THOMAS N J, et al. Definition, incidence, and epidemiology of pediatric acute respiratory distress syndrome: from the second pediatric acute lung injury consensus conference[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2023, 24(12 Suppl 2): S87-S98.

[3] 李丹丹, 任卫英, 朱蕾. NOD 样受体蛋白 3 炎症小体在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中的作用机制研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2017, 40(3): 303-308.

[4] BANTOUNOU M, PLASCEVIC J, GALLEY H F. Melatonin and related compounds: antioxidant and anti-inflammatory actions[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(3): 532.

[5] MEHRZADI S, KARIMI M Y, FATEMI A, et al. SARS-CoV-2 and other coronaviruses negatively influence mitochondrial quality control: beneficial effects of melatonin[J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 224: 107825.

[6] NTANASIS-STATHOPOULOS I, FOTIOU D, TER-

- POS E. CCL3 signaling in the tumor microenvironment [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1231: 13-21.
 - [7] 逯玲. 急性呼吸窘迫综合征病人血清可溶性髓样细胞触发受体 1、巨噬细胞炎症蛋白-1 α 的表达[J]. *安徽医药*, 2021, 25(7): 1442-1446.
 - [8] Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference Group. Pediatric acute respiratory distress syndrome: consensus recommendations from the pediatric acute lung injury consensus conference[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2015, 16(5): 428-439.
 - [9] 时学秀, 孙同文. 急性呼吸窘迫综合征的诊治进展[J]. *中国研究型医院*, 2022, 9(1): 18-21.
 - [10] 陈韵蓉, 李静, 胡兰. 儿童急性呼吸窘迫综合征液体管理策略的研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2023, 50(7): 439-442.
 - [11] 徐春艳, 谢菲, 赵洁, 等. 急性呼吸窘迫综合征患儿血清 miR-34b-5p 水平变化及其与炎症因子和预后的关系[J]. *山东医药*, 2022, 62(13): 34-39.
 - [12] 李智, 王晴, 吴苏明, 等. 血清炎症因子联合 T 淋巴细胞亚群在急性呼吸窘迫综合征中的应用价值分析[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(15): 2985-2989.
 - [13] 万虎, 刘莹, 黄拓, 等. NLRP3 炎性小体及其在心血管疾病中的作用研究的进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2023, 32(2): 204-207.
 - [14] CUI Y, WENG W, DING Q, et al. The protective effect of artesunate on LPS-induced acute respiratory distress syndrome through inhibiting NLRP3 inflammasome signaling[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 8: 7655033.
 - [15] ARTIGAS L, COMA M, MATOS-FILIPE P, et al. In-silico drug repurposing study predicts the combination of pirlfenidone and melatonin as a promising candidate therapy to reduce SARS-CoV-2 infection progression and respiratory distress caused by cytokine storm [J]. *PLoS One*, 2020, 15(10): e0240149.
 - [16] KANG J Y, XU M M, SUN Y, et al. Melatonin attenuates LPS-induced pyroptosis in acute lung injury by inhibiting NLRP3-GSDMD pathway via activating Nrf2/HO-1 signaling axis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 109: 108782.
 - [17] XU M M, KANG J Y, JI S, et al. Melatonin suppresses macrophage M1 polarization and ROS-mediated pyroptosis via activating ApoE/LDLR pathway in influenza a-induced acute lung injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 11: 2520348.
 - [18] 萧文泽, 张佳敏. 褪黑素抑制炎症小体 NLRP3 的研究进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15(1): 33-35.
 - [19] NING L, RUI X, GUORUI L, et al. A novel mechanism for the protection against acute lung injury by melatonin: mitochondrial quality control of lung epithelial cells is preserved through SIRT3-dependent deacetylation of SOD2[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(12): 610.
 - [20] 唐敏, 李娜. 急性呼吸窘迫综合征发病机制及相关生物标志物的研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(5): 1-6.
 - [21] 陈玲玲, 张勇. 褪黑素减轻新生儿肺损伤的抗氧化机制研究进展[J]. *中华危重病急救医学*, 2022, 34(2): 207-210.
 - [22] YU W, YE T, DING J, et al. miR-4456/CCL3/CCR5 pathway in the pathogenesis of tight junction impairment in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 551839.
 - [23] YOU X, JIANG X, ZHANG C, et al. Dihydroartemisinin attenuates pulmonary inflammation and fibrosis in rats by suppressing JAK2/STAT3 signaling[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(3): 1110-1127.
 - [24] QUINTERO P A, KNOLLE M D, CALA L F, et al. Matrix metalloproteinase-8 inactivates macrophage inflammatory protein-1 alpha to reduce acute lung inflammation and injury in mice[J]. *J Immunol*, 2010, 184(3): 1575-1588.
 - [25] YANG D, TONG L, WANG D, et al. Roles of CC chemokine receptors (CCRs) on lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2010, 170(3): 253-259.
 - [26] 宋传龙, 海力其古丽·努日丁, 焦红杰, 等. NLRP3 炎症小体介导的巨噬细胞极化在 ITP 中的作用[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(1): 132-139.
- (收稿日期: 2023-10-15 修回日期: 2024-03-10)
-
- (上接第 1330 页)
- [16] XIE W, XU X, ZHANG X, et al. The clinical characteristics of low C4 alone in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Rheumatol*, 2021, 10(40): 793-796.
 - [17] AYANO M, HORIUCHI T. Complement as a biomarker for systemic lupus erythematosus [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(2): 367.
 - [18] HUBBARD E L, PISETSKY D S, LIPSKY P E. Anti-RNP antibodies are associated with the interferon gene signature but not decreased complement levels in SLE [J]. *Ann Rheum Dis*, 2022, 8(1): 632-643.
 - [19] ARINGER M. Inflammatory markers in systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmunity Volume*, 2020, 10(23): 8409-8411.
 - [20] 胡静, 黄卓春, 王丽, 等. ANCA 及其特异性抗体在 SLE 患者中的应用价值初探[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(11): 1281-1285.
- (收稿日期: 2023-09-10 修回日期: 2024-03-05)