

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.12.002

❖ 基础研究 ❖

TLRs 及其下游炎症因子在溃疡性结肠炎早期诊断及预后评估中的价值分析

刁凌云¹, 皇金萍¹, 陈洋¹, 孙唱¹, 王胜英¹, 罗玉国¹, 葛飞²

(1. 南京中医药大学徐州附属医院消化内科, 江苏 徐州 221000; 2. 扬州大学医学院附属海安市中医院消化科, 江苏 海安 226600)

【摘要】目的: 探讨 Toll 样受体家族 (TLRs) 及其下游炎症因子 [核转录因子 κ B (NF- κ B)、肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-10 (IL-10)、髓过氧化物酶 (MPO)] 在溃疡性结肠炎 (UC) 早期诊断及预后评估中的价值。**方法:** 选取 108 例 UC 患者为研究对象 (研究组), 依据 UC 所处时期分为活动期组 ($n=70$) 和缓解期组 ($n=38$); 活动期组再依据病情分为轻度组 ($n=21$)、中度组 ($n=27$) 及重度组 ($n=22$), 依据预后分为预后良好组 ($n=44$) 及预后不良组 ($n=26$); 另选同期 102 例结肠镜检查未见异常者为对照组。比较各组患者 TLR2、TLR4、NF- κ B 蛋白表达水平及 IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 水平、MPO 活性、严重程度指数 (UCEIS) 评分及疾病活动指数 (DAI) 分级, 分析各指标在溃疡性结肠炎早期诊断及预后评估中的价值。**结果:** 活动期组、缓解组及对照组 TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 水平及 MPO 活性比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且活动期组 > 缓解期组 > 对照组; IL-10 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且活动期组 < 缓解期组 < 对照组。轻度组、中度组及重度组 TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 水平及 MPO 活性比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且重度组 > 中度组 > 轻度组; IL-10 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且重度组 < 中度组 < 轻度组低。预后不良组病理组织分级、UCEIS 评分、DAI 评分分级、TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10、MPO 活性与预后良好组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。UCEIS 评分 > 6 分、TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、MPO 活性升高及 IL-10 水平降低是影响 UC 患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$)。ROC 分析显示, TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10、MPO 活性、UCEIS 评分及 DAI 评分分级联合预测的 AUC 高于单一检测指标。**结论:** TLRs、炎症因子、MPO 活性与患者 UC 的严重程度相关, 联合检测 TLRs 及炎症因子可作为早期诊断 UC 及预测预后的有效指标之一。

【关键词】 溃疡性结肠炎; Toll 样受体; NF- κ B; 炎症因子; MPO; 早期诊断; 预后

【中图分类号】 R574.62 **【文献标志码】** A

Analysis of the value of TLRs and its downstream inflammatory factors in the early diagnosis and prognostic evaluation of ulcerative colitis

DIAO Ling-yun¹, HUANG Jin-ping¹, CHEN Yang¹, SUN Chang¹, WANG Sheng-ying¹, LUO Yu-guo¹, GE Fei²

(Department of Gastroenterology Medicine, 1. Xuzhou Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Xuzhou 221000; 2. Hai'an Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Medical College of Yangzhou University, Hai'an 226600, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective: To analyze Toll-like receptor family (TLRs), nuclear transcription factor kappa B (NF- κ B), tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-10 (IL-10), and myeloperoxidase (MPO) activity in the early diagnosis and prognostic evaluation of ulcerative colitis (UC). **Methods:** 108 UC patients were selected as the research object (research group). According to the period of UC, they were divided into active phase group ($n=70$) and remission phase group ($n=38$), the active group was divided into mild group ($n=21$), moderate group ($n=27$) and severe group ($n=22$) according to the condition, and divided into good prognosis group ($n=44$) and poor prognosis group ($n=26$) according to the prognosis. At the same time, another 102 patients with no obvious abnormality in colonoscopy were selected as the control group. The protein expression level of TLR2, TLR4, and NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , IL-10, MPO activity, severity index (UCEIS) score and disease activity index (DAI) score were compared between the groups. The value of each index in the early diagnosis and prognosis of ulcerative colitis was analyzed. **Results:** There was significant difference in TLR2, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α and MPO activity among active group, remission group and control group

基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20181235)

作者简介: 刁凌云 (1980 -), 男, 博士, 副主任医师。E-mail: docdly@163.com

通讯作者: 葛飞, 博士。E-mail: ha9099@163.com

($P < 0.05$), and active group > remission group > control group. There was significant difference in the levels of IL-10 ($P < 0.05$), and active group < remission group < control group. There was significant difference in TLR2, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α and MPO activity among mild group, moderate group and severe group ($P < 0.05$), and severe group > moderate group > mild group. There was significant difference in the levels of IL-10 ($P < 0.05$), and severe group < moderate group < mild group. The pathological tissue classification, UCEIS score, DAI score classification, TLR2, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , IL-10 and MPO activity in the poor prognosis group were statistically significant compared with those in the good prognosis group ($P < 0.05$). UCEIS score > 6 points, TLR2, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , MPO activity increased and IL-10 levels decreased were independent risk factors affecting the poor prognosis of UC patients ($P < 0.05$). In the ROC curve graph, the AUC predicted by the combination of TLR2, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , IL-10, MPO activity, UCEIS score and DAI score grading was higher than the AUC of a single detection of any indicator. **Conclusion:** TOLL-like receptors, inflammatory cytokines, NF- κ B, and MPO activity are closely related to the severity of the patient's condition. Combined detection of each index can be used as an early diagnosis and prediction of UC. An effective indicator of patient prognosis.

【Key words】 Ulcerative colitis (UC); Toll-like receptor; NF- κ B; Inflammatory factor; MPO; Early diagnosis; Prognosis

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种侵袭肠道黏膜的慢性炎症和溃疡性病损, 临床表现包括血性腹泻、腹痛、里急后重、呕吐等, 偶尔表现为关节炎、虹膜睫状体炎和肝功能障碍等^[1]。UC 以病情迁延不愈、缓解和复发交替为特征, 使临床诊断面临巨大挑战。寻求准确且高效的监测手段对早期发现 UC, 并采取有效措施治疗降低临床复发率、改善疾病预后十分重要^[2]。

免疫反应是造成炎症加重及组织损伤的关键, 由于核转录因子 κ B (NF- κ B) 核内与 kB 序列结合可影响多种炎症因子如肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和 IL-10 表达, 故 NF- κ B 与炎症反应、细胞增殖等关系密切^[3]。炎症反应在 UC 的发生发展中占据主要地位, Toll 样受体家族 (TLRs) 分布于不同的免疫细胞表面。研究^[4]发现, TLR2、TLR4 在 UC 中表达升高, 而 TLR1 水平则未见明显波动。由于 TLR4 可通过 LPS 下游 MyD88 依赖性 & 非依赖性信号转导通路来多种炎症因子分泌, 故 TLR4 介导的信号通路被认为是 UC 发病的重要因素^[5]。髓过氧化物酶 (MPO) 是存在于中性粒细胞的一种过氧化物酶, 具有使过氧化氢还原的能力, 可定量反应组织炎症损伤的程度^[6]。本研究通过检测 UC 患者 TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 及 MPO 活性, 分析各指标在 UC 早期诊断及预后评估中的价值, 为临床治疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 7 月至 2021 年 6 月南京中医药大学徐州附属医院收治的 108 例 UC 患者为研究对象, 并设为研究组; 另选 102 例同期于本院进行肠镜检查未见异常患者为对照组。研究组中, 男性 58

例, 女性 50 例; 年龄 25 ~ 65 岁, 平均 (41.33 \pm 8.98) 岁; 病程 5 ~ 31 个月, 平均 (23.41 \pm 4.25) 个月; 主要病变位置: 乙状结肠 36 例, 直肠 34 例, 左半结肠 22 例, 全结肠 16 例。对照组中, 男性 54 例, 女性 48 例; 年龄 24 ~ 62 岁, 平均 (41.65 \pm 8.37) 岁。本研究已获得院伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书。两组患者性别、年龄等比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。UC 患者参考 Mayo 评分^[7]评估疾病临床活动度, 并分为活动期组 (总分 3 ~ 12 分, $n = 70$) 及缓解期 (评分 < 2 分, $n = 38$); 参考 Sutherland 疾病活动指数 (disease activity index, DAI)^[8]对活动期患者进行分级, 并分为轻度组 ($n = 21$)、中度组 ($n = 27$) 及重度组 ($n = 22$), 依据预后分为预后良好组 ($n = 44$) 及预后不良组 ($n = 26$)。纳入标准: (1) UC 纳入标准参照《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年, 北京)》^[9]; (2) 入组前 2 月内均未接受相关系统性治疗者; (3) 临床资料完整。排除标准: (1) 合并其它感染性结肠炎、肠阿米巴病等; (2) 合并恶性肿瘤; (3) 合并重要器官功能障碍; (4) 合并其它免疫系统疾病。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集所有研究对象年龄、性别、疾病活动情况、临床表现、DAI 评分、内镜表现等。并根据蒙特利尔分型区^[10]分各 UC 患者病变位置, 其中 E1 代表病变仅存在于直肠; E2 代表病变累及左半结肠; E3 为广泛病变累及脾曲乃至全结肠。另根据受累肠段最严重处的血管纹理、出血情况、糜烂和溃疡计算溃疡性结肠炎内镜下严重程度指数 (ulcerative colitis endoscopic index of severity, UCEIS)^[11]评分, 其中 2 ~ 6 分为内镜下轻、中度活动度, 7 分或 8 分为内镜下重度活动度。见表 1。

表 1 UCEIS 评分细则

评分(分)	血管	出血	糜烂及溃疡
0	正常	无	无
1	血管纹理部分消失	粘膜表面点状或线状血块	糜烂(粘膜表面边缘≤5 mm 小缺损)
2	血管纹理完全消失	轻度腔内出血	浅溃疡(>5 mm 粘膜破损,或散在表浅溃疡)
3		重度腔内出血(腔内大量出血,冲洗后渗血,粘膜新鲜出血)	深溃疡(深苔样粘膜缺损,周边轻度隆起)

1.2.2 TLR2、TLR4、NF-κB 蛋白表达水平检测 所有患者进行结肠镜检查,并在结肠炎症最明显处取活粘粘膜及适量组织,进行固定。采用免疫组织化学法检测各组结肠组织中 TLR2(美国 Santa Cruzsc 公司,货号:P4052Rb-h)、TLR4(美国 Santa Cruzsc 公司,货号:P4051Rb-h)、NF-κB(上海贝博生物,货号:YT746)蛋白表达强度,连续切片 5 张(4~5 μm),对石蜡切片常规脱蜡,水化,封闭,脱水,热修复抗原,PBS 液洗涤两次(5 min/次)。滴加 5% 正常山羊血清,滴加均为 1:2 000 稀释的 TLR2、TLR4 多克隆抗体 50 μL 于不同切片上,PBS 冲洗 3 次,5 min/次。将载玻片从冰箱中取出,孵育(37 °C,30 min),PBS 冲洗 3 次;甩干后滴加试剂 1(生物素标记山羊抗兔 IgG),再次孵育、冲洗,滴加试剂 2(辣根酶标记的链霉卵白素工作),PBS 冲洗 3 次,5 min/次;最后 DAB 进行显色。日本 OLMPUS 公司显微摄像系统进行观察,在所有切片上下左右及中央部位随机选取 5 个视野图片,以染色呈棕褐色或者棕黄色沉淀为阳性细胞标志,Image Pr0 Plus 6.0 图像分析系统(美国 MediaCybematics 公司)进行半定量分析,测定组织 TLR2、TLR4 阳性细胞的 IOD 值。

1.2.3 炎性因子 IL-1β、TNF-α、IL-10 水平检测 采用放射免疫分析法检测各组血清 IL-1β、TNF-α、IL-10 水平。设备为 FI-2003/2008ps 全自动 γ 放射免疫计数器,IL-1β、TNF-α、IL-10 放射免疫分析试剂盒购自北京福瑞生物工程公司,货号分别为 ML-Elisa-0378、ML-Elisa-1420、BJ-R64865。严格按照试剂操作说明书完成试验。

1.2.4 MPO 活性检测 参照邱重阳^[12]研究方法,并进行改进。取出的结肠组织以 10% 甲醛固定,石

蜡包埋后切为 4 μL 薄片,HE 染色,通过过供氢体邻连茴香胺供氢后生成黄色化合物,在 460 nm 处通过比色测定 A 产物的生成量,从而推算出 MPO 的活力。计算公式:MPO(u/g) = 测定管 OD 值-对照管 OD 值/0.113。

1.2.5 预后随访 根据《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012 年广州)》^[13]对 UC 患者进行标准化治疗,治疗两个月后由同一名医师复查肠镜,钳取原病变位置组织,采用 Mayo 内镜评分^[9]对粘膜愈合情况进行评估,并将 Mayo 内镜评分为 0 分者纳入预后良好组,Mayo 内镜评分≥1 分者纳入预后不良组。

1.3 统计学分析

采用 SPSS20.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用 *F* 检验,等级资料采用秩和检验;计数资料以[n(%)]表示,采用 χ^2 检验;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析;相关性分析采用 Logistics 回归模型分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组活动期和缓解期患者与对照组 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10 及 MPO 活性比较

研究组活动期组、缓解期患者及对照组 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α 水平及 MPO 活性比较,差异均有统计学意义(*P* < 0.05),且活动期组 > 缓解期组 > 对照组;IL-10 水平和活动期组 < 缓解期组 < 对照组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 2、图 1、图 2 及图 3。

表 2 研究组活动期和缓解期患者与对照组 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10 及 MPO 活性及比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TLR2	TLR4	NF-κB	IL-1β (ng/mL)	TNF-α (ng/mL)	IL-10 (ng/mL)	MPO (U/g)
活动期组 (n = 70)	8.26 ± 1.16 [*]	23.54 ± 2.35 [*]	122.56 ± 23.17 [*]	1.51 ± 0.51 [*]	4.96 ± 1.34 [*]	13.41 ± 2.35 [*]	0.56 ± 0.17 [*]
缓解期组 (n = 38)	4.95 ± 0.87 [#]	14.52 ± 1.75 [#]	90.67 ± 13.58 [#]	0.96 ± 0.32 [#]	2.21 ± 1.16 [#]	15.67 ± 1.64 [#]	0.37 ± 0.14 [#]
对照组 (n = 102)	4.32 ± 0.61	11.33 ± 1.04	82.41 ± 11.52	0.45 ± 0.21	1.74 ± 0.59	16.89 ± 1.75	0.21 ± 0.12
<i>F</i> 值	440.24	1078.07	124.61	185.09	224.20	66.03	126.34
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* *P* < 0.05,分别与缓解期组和对照组相比;#*P* < 0.05,与对照组相比。

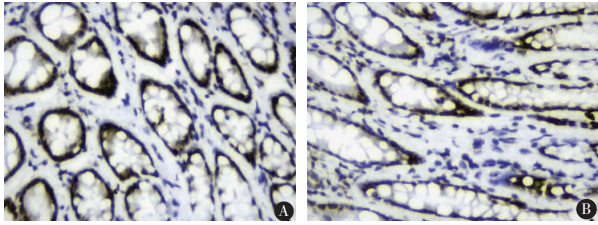


图1 TLR2 免疫组化图

A. 在研究组中的阳性表达;B.在对照组中的阴性表达。

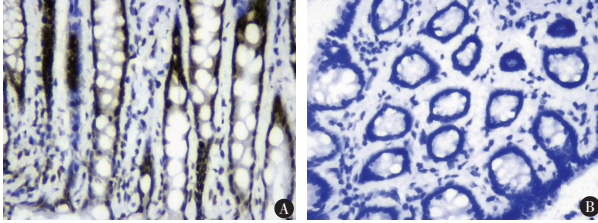


图2 TLR4 免疫组化图

A. 在研究组中的阳性表达;B.在对照组中的阴性表达。

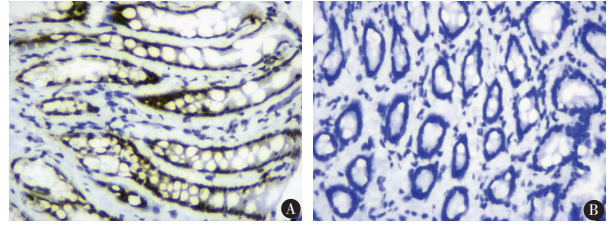


图3 NF-κB 免疫组化图

A. 在研究组中的阳性表达;B.在对照组中的阴性表达。

2.2 活动期组中不同病情程度患者 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10 及 MPO 活性比较

轻度组、中度组及重度组 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α 水平及 MPO 活性比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且重度组 > 中度组 > 轻度组;IL-10 水平与重度组 < 中度组 < 轻度组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表3 不同病情程度组患者 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10 及 MPO 活性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TLR2	TLR4	NF-κB	IL-1β (ng/mL)	TNF-α (ng/mL)	IL-10 (ng/mL)	MPO (U/g)
轻度组 (n=21)	6.52 ± 0.64 *	22.69 ± 1.94 *	98.64 ± 16.54 *	0.98 ± 0.37 *	3.47 ± 1.03 *	12.95 ± 1.31 *	0.44 ± 0.12 *
中度组 (n=27)	7.41 ± 1.21 #	23.69 ± 1.34 #	117.65 ± 13.98 #	1.29 ± 0.45 #	4.25 ± 1.21 #	12.17 ± 1.24 #	0.58 ± 0.16 #
重度组 (n=22)	8.13 ± 1.15	24.54 ± 1.27	127.69 ± 17.64	1.79 ± 0.32	4.99 ± 1.33	11.29 ± 0.87	0.69 ± 0.19
t 值	12.64	7.92	18.34	23.85	8.62	11.03	13.19
P 值	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.001	<0.001

* $P < 0.05$, 分别与缓解期组和对照组相比;# $P < 0.05$, 与对照组相比。

2.3 影响 UC 患者预后的单因素分析

单因素分析结果显示,预后不良组病理组织分级、UCEIS 评分、DAI 评分分级、TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10 及 MPO 活性与预后良好组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);而两组间性别、年龄、病程、病变位置比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表4 影响 UC 患者预后的单因素分析[$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

项目	预后良好组 (n=44)	预后不良组 (n=26)	χ^2/t 值	P 值
性别			1.252	0.263
男	29 (65.91)	25 (96.15)		
女	15 (34.09)	21 (80.77)		
年龄(岁)	40.96 ± 8.47	41.24 ± 8.51	0.133	0.894
病程(月)	24.69 ± 5.13	23.08 ± 5.22	1.261	0.212
病变位置			0.458	0.795
E1	13 (29.55)	10 (38.46)		
E2	14 (31.82)	14 (53.85)		
E3	17 (36.84)	12 (46.15)		
病理组织分级			19.601	<0.001
I + II	34 (77.27)	6 (23.08)		
III + IV	10 (22.73)	20 (76.92)		
UCEIS 评分(分)			16.234	<0.001
≤6	32 (72.73)	6 (23.08)		
>6	12 (27.27)	20 (76.92)		
DAI 评分分级			20.555	<0.001
轻	19 (43.18)	3 (11.54)		
中	18 (40.91)	5 (19.23)		
重	7 (15.91)	18 (69.23)		
TLR2 (kD)	5.91 ± 1.13	7.34 ± 0.85	5.581	<0.001
TLR4 (kD)	20.85 ± 1.62	23.52 ± 1.74	6.482	<0.001
NF-κB	90.33 ± 12.57	119.59 ± 13.45	9.169	<0.001
IL-1β (ng/mL)	0.85 ± 0.41	1.98 ± 0.13	12.139	<0.001
TNF-α (ng/mL)	3.17 ± 1.11	4.58 ± 1.45	4.575	<0.001
IL-10 (ng/mL)	11.20 ± 1.59	9.81 ± 1.24	3.820	<0.001
MPO (u/g)	0.37 ± 0.12	0.54 ± 0.13	5.553	<0.001

2.4 影响 UC 患者预后的多因素分析

Logistics 回归分析结果显示,UCEIS 评分 > 6 分、TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、MPO 活性升高及 IL-10 水平降低是影响 UC 患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 5。

表5 影响 UC 患者预后不良的 Logistic 回归分析

因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% CI	
						下限	上限
病理组织分级	-0.934	0.502	3.469	0.063	0.393	0.147	1.050
UCEIS 评分	2.234	0.573	15.170	<0.001	9.333	3.033	28.719
DAI 评分分级	2.530	0.590	18.419	<0.001	12.554	3.953	39.862
TLR2	0.327	0.080	16.751	<0.001	1.386	1.186	1.621
TLR4	0.138	0.032	18.176	<0.001	1.148	1.078	1.224
NF-κB	0.048	0.011	18.782	<0.001	1.049	1.027	1.072
IL-1β	0.272	0.062	19.210	<0.001	1.313	1.162	1.482
TNF-α	0.227	0.059	14.711	<0.001	1.255	1.117	1.409
IL-10	-0.163	0.039	17.704	<0.001	0.850	0.788	0.917
MPO	0.295	0.071	17.279	<0.001	1.343	1.169	1.543
常量	-0.488	0.244	3.990	0.046	0.614		

2.5 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10、MPO 活性及 UCEIS 评分、DAI 评分分级预测 UC 预后不良的价值

ROC 曲线分析显示,TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10、MPO 活性、UCEIS 评分及 DAI 评分联合预测 UC 患者预后的曲线下面积(AUC)大于单项,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 6。

表 6 TLR2、TLR4、NF-κB、IL-1β、TNF-α、IL-10、MPO 活性、FD4 水平及 UCEIS 评分、DAI 评分分级预测 UC 预后不良的价值

预测因子	最佳临界值	敏感度	特异度	P 值	AUC	95% CI	
						下限	上限
TLR2	0.810	0.813	0.614	<0.001	0.838	0.742	0.935
TLR4	0.512	0.741	0.864	<0.001	0.800	0.685	0.915
NF-κB	0.287	0.852	0.841	<0.001	0.846	0.751	0.941
IL-1β	0.264	0.889	0.795	<0.001	0.847	0.752	0.943
TNF-α	0.267	0.852	0.727	<0.001	0.804	0.701	0.907
IL-10	0.576	0.778	0.864	<0.001	0.811	0.700	0.923
MPO	0.205	0.895	0.636	<0.001	0.840	0.750	0.929
UCEIS 评分	0.454	0.704	0.841	<0.001	0.772	0.653	0.892
DAI 评分分级	0.397	0.778	0.727	<0.001	0.753	0.633	0.872
联合检测	1.000	1.000	0.877	<0.001	0.999	0.001	0.996

3 讨论

UC 是多种因素引起的肠道免疫系统对内部菌群免疫耐受的失衡,主要累及结肠粘膜及粘膜下层^[14]。目前 UC 的临床诊断主要依靠临床症状、辅助检查(纤维结肠镜检、气钡灌肠双重对比造影)及相关量表评分等^[15]。UCEIS 评分是评估 UC 内镜下严重程度的一种量表型工具,可评估患者血管模式、出血和糜烂、溃疡状况^[16]。一项最新研究^[17]显示,应用 UCEIS 可准确评估 UC 的总体内镜下严重程度。由于 UC 具有反复发作的特点,单纯应用内镜检查对鉴别 UC 存在一定局限性,故寻求更多的指标评估临床治疗效果及预后对减轻患者负担有重要意义。尽管 UC 的确切发病机制仍存在争议,但细胞因子在其中发挥的作用已得到公认,这也为临床诊断和治疗提供了新的思路。

免疫异常为 UC 的主要因素之一,不仅可破坏患者原有的肠粘膜功能,还会引起其它肠外并发症,严重影响预后。TLRs 是一种跨膜受体和信号转导受体,该受体可以通过识别保守的微生物蛋白质/DNA 基序或病原体相关分子模式,可识别不同的病原微生物。肠粘膜持续的损伤可使 TLR4-CD14 阳性的巨噬细胞聚集,增加 UC 对 LPS 等配体的敏感性,从而触发 TLR4/NF-κB 信号通路,造成大量 NF-κB 的出现^[18]。近年有研究^[19]发现,NF-κB 是肠道慢性炎症发生和加重的因素之一,原因在于 NF-κB 可改变肠粘膜中致炎细胞因子和抑炎细胞因子的表达,导致炎症反应持续发生,进而造成上皮细胞的凋亡。张颖慧等^[20]探讨了 Toll 样受体在 UC 组织中的表达变化及与组织中炎性细胞因子表达的关系,发现 UC 患者结肠粘膜 TLR2、TLR4 蛋白表达阳性率远高于正常者,认为 Toll 样受体的异常表达与 UC 的发生及炎症反应程度加重关系密切。本研究与上述结果相似,且多因素 Logistics 回归分析结果显示,

TLR2、TLR4、NF-κB 表达升高是影响 UC 患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$),进一步提示各种病原微生物触发 TLRs 信号通路过度活化可能是 UC 发病和的始动因素之一,可通过检测 UC 患者 TLR2、TLR4、NF-κB 表达变化对病情进展及预测预后转归做出预测。

UC 患者由于肠道菌群失调,宿主肠黏膜对革兰阴性菌的脂多糖的耐受性被打破,由于 TLR4 与革兰阴性菌的脂多糖关系密切,导致结肠粘膜上皮细胞及固有层细胞大量表达 TLR4,进而激活下游的细胞因子(NF-κB 等)大量释放自由基,加重黏膜损伤。同时,肠腔内的抗原物质亦可经上皮细胞,参与免疫反应,加剧炎症程度,形成恶性循环,因此 TLR4 的表达水平与 UC 患者炎症反应相关。另外,激活的 NF-κB 亦可激活 TLR2 转录表达,形成 TLR2-NF-κB-TLR2 循环。此外,细胞因子在 UC 患者的变化亦值得关注。本研究结果显示,UC 患者中活动期组 IL-1β、TNF-α 水平较对照组高($P < 0.05$),IL-10 水平较缓对照组低($P < 0.05$),且三者水平变化与病情严重程度呈相关性($P < 0.05$)。在炎症反应中,IL-1β、TNF-α 是促炎细胞因子,IL-10 则是常见的抑炎细胞因子,三者通过控制炎症反应进展,参与 UC 的发生、发展。

MPO 是中性粒细胞中含量较高的一种酶,肠粘膜 MPO 活性是监测 UC 活动性的常用指标之一^[21]。本研究结果显示,UC 组织中 MPO 表达高于正常组($P < 0.05$),且在重度组患者中更为显著($P < 0.05$),提示 MPO 活性可反映结肠组织的病理损害程度,对于 UC 的早期诊断及预后评估有指导意义。此外,肠粘膜屏障是保证肠道功能正常运行的重要组成部分,在感染、创伤等应激反应发生时,肠粘膜屏障将受到不同程度损伤,造成通透性的改变,引起细菌移位及炎症反应^[22]。因此,明确肠粘膜屏障功能的改变,对明确 UC 的发生及判断炎症进展有一

定价值。本研究推测 TLR2、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 及 MPO 活性及具有预测 UC 预后不良的价值,经绘制 ROC 曲线论证,结果显示,各指标 AUC 以联合检测最大,提示临床在传统手段基础上,增加多项细胞因子的检测可提高预测 UC 患者预后的灵敏度。

综上所述,Toll-TLR_s、炎症因子、NF- κ B 及 MPO 活性在 UC 患者中呈显著异常表达,各指标与患者病情严重程度关系密切,联合检测各指标可作为早期诊断 UC 及预测患者预后的有效指标。

参考文献

- [1] Ito A, Shun M, Teppei O, *et al.* P412 Maintenance therapy of vedolizumab (VDZ) after induction of remission by tacrolimus (TAC) in patients with refractory ulcerative colitis (UC) [J]. *Journal of Crohns & Colitis*, 2020, 32(62): 8165 - 8169.
- [2] Schineis C, Lehmann KS, Lauscher JC, *et al.* Colectomy with ileostomy for severe ulcerative colitis-postoperative complications and risk factors [J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 2020, 35(2): 4941 - 4945.
- [3] Cqa B, Jwa B, Qsa B, *et al.* Diurnal rhythm expression of transcription factor NF- κ B subunit p65 in *Pelteobagrus vachellii* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 99(59): 572 - 577.
- [4] Vijay K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 59(36): 391 - 412.
- [5] Shetab BM, Lamprecht A. TLR4-Based Immunotherapeutics in Cancer: A Review of the Achievements and Shortcomings [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(11): 4777 - 4800.
- [6] Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 640(74): 47 - 52.
- [7] Ding Z, Obando C, Izanec J, *et al.* Relationship Between Partial Mayo Score and Patient-Reported Outcomes for Ulcerative Colitis Patients in the United States: 710 [J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2019, 114(59): 417 - 418.
- [8] He R, Li Y, Han C, *et al.* L-Fucose ameliorates DSS-induced acute colitis via inhibiting macrophage M1 polarization and inhibiting NLRP3 inflammasome and NF- κ B activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73(32): 379 - 388.
- [9] 吴开春, 梁洁, 冉志华, 等. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018年, 北京) [J]. *中华消化杂志*, 2018, 38(5): 292 - 311.
- [10] Chennou F, Bonneau FA, Jantchou P. A203 pediatric validation of the nurse-assessed patient comfort score (napcoms) in children undergoing colonoscopy [J]. *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology*, 2018, 41(62): 5462 - 5468.
- [11] Pop CS, Filip PV, Diaconu SL, *et al.* Correlation of Biomarkers with Endoscopic Score: Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS) in Patients with Ulcerative Colitis in Remission [J]. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 2020, 57(1): 31.
- [12] 邱重阳. RVD2 对不同中医证型脓毒症急性肺损伤的保护作用及其受体检测的临床价值研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2019.
- [13] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2012年·广州) [J]. *中华内科杂志*, 2012, 51(10): 818 - 831.
- [14] Abreu MT, Cataldi F, Horn KV, *et al.* S0780 Patient-Reported Disease Activity in a Large Sample of Ulcerative Colitis (UC) Patients Using Social Media-Delivered Questionnaires [J]. *Official journal of the American College of Gastroenterology ACG*, 2020, 115(56): 1681 - 1685.
- [15] Stidham RW, Liu W, Bishu S, *et al.* 336-Using Deep Learning for Automated Grading of Endoscopic Disease Severity in Ulcerative Colitis [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(6): 65 - 68.
- [16] Jain S, Kedia S, Bopanna S, *et al.* Faecal Calprotectin and UCEIS Predict Short-term Outcomes in Acute Severe Colitis: Prospective Cohort Study [J]. *J Crohns Colitis*, 2017, 11(11): 1309 - 1316.
- [17] Di Ruscio M, Variola A, Vernia F, *et al.* Role of Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS) versus Mayo Endoscopic Subscore (MES) in Predicting Patients' Response to Biological Therapy and the Need for Colectomy [J]. *Digestion*, 2021, 102(4): 534 - 545.
- [18] Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 Years of NF- κ B: A Blossoming of Relevance to Human Pathobiology [J]. *Cell*, 2017, 168(1-2): 37 - 57.
- [19] Ma SX, Bai ZF, Wang W, *et al.* Effects of microrna-93 on mouse cardiac microvascular endothelial cells injury and inflammatory response by mediating SPPI through the NF- κ B pathway [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(3): 2847 - 2858.
- [20] 张颖慧, 董向前, 白丽萍, 等. Toll 样受体、前列腺素受体 EP2 在溃疡性结肠炎组织的表达与炎症细胞因子的关系 [J]. *四川医学*, 2019, 40(4): 390 - 394.
- [21] Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 64(26): 47 - 52.
- [22] drepepa G. Myeloperoxidase-A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 49(35): 36 - 51.

(收稿日期: 2021-08-15

修回日期: 2021-09-02)