

• 临床探讨 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 05. 028

DACT1、 β -catenin 在儿童支气管哮喘中的作用及意义

彭 晶

(河南省漯河市郾城区人民医院检验科 462300)

摘 要:目的 探讨 DACT1、 β -catenin 在儿童支气管哮喘中的作用及意义。方法 收集 38 例支气管哮喘患儿以及 35 例健康体检的儿童临床资料,采用 M276407 肺功能仪检测 FEV1、FEV1/FVC、FEF25%~75%、FEF50%、FEF75%,同时检测 FeNO,记录 IL-6 和 Eos 水平。qRT-PCR 检测 DACT1、 β -catenin mRNA 的表达,采用 Pearson 进行相关性分析。结果 观察组患儿的 FEV1、FEV1/FVC、FEF25%~75%、FEF50%、FEF75%等均明显低于对照组,而 FeNO、Eos、IL-6 等明显高于对照组($P<0.05$),DACT1 mRNA 水平明显高于对照组, β -catenin mRNA 水平明显低于对照组($P<0.05$)。DACT1 mRNA 的表达与 FEV1、FEV1/FVC、FEF25%~75%、FEF50%、FEF75%等指标呈现负相关($P<0.05$),与 FeNO、IL-6 和 Eos 呈正相关($P<0.05$)。 β -catenin mRNA 的表达与 FEV1、FEV1/FVC、FEF25%~75%、FEF50%、FEF75%等指标呈现正相关($P<0.05$),与 FeNO、IL-6 和 Eos 呈负相关。结论 哮喘患儿 DACT1 表达上调,抑制 β -catenin 的表达和核转位,并促进 IL-6 等炎性因子的表达,促进哮喘的发生和进展。

关键词:DACT1; β -catenin; 儿童; 支气管哮喘

中图法分类号:R725.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)05-0675-03

哮喘是一种异质性疾病,其特征为支气管阻塞,气道高反应性和气道不可逆性重塑,具有不同的严重程度和控制水平,其中气道重塑与哮喘患者的预后直接相关^[1]。目前已经进行了许多改善哮喘的生物标志物研究,特别是那些患有严重和(或)不受控制的哮喘的人。DACT1 是 Dapper 家族的成员,主要通过 Wnt 和 c-Jun N 末端激酶信号传导途径在肿瘤的发展中起作用^[2],而 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路参与多种生理和病理过程的调节,并与多种疾病密切相关^[3]。已有文献显示,Wnt/ β -catenin 通路与肺发育、肺纤维化、气道重塑和炎症有关^[5]。此外,Wnt 信号通路可能抑制哮喘效应细胞中的 IL-6 表达,从而减少局部炎症反应,这也说明 DACT1 可能通过调节 Wnt 信号通路参与哮喘气道炎症^[5]。在本研究中,重点分析支气管哮喘患儿的 DACT1、 β -catenin 信号通路与哮喘的关系,探讨哮喘的发病机制,为临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 6 月至 2018 年 6 月 38 例支气管哮喘患儿,均符合儿童支气管哮喘诊断和分级标准^[2],排除合并鼻炎、急性呼吸道感染、肺部疾病、支气管异物等患儿,其中男 22 例、女 16 例,年龄 4~12 岁、平均(5.47±1.25)岁,伴有哮喘家族史的患儿 13 例。选择同期 35 例健康体检的儿童为对照组,男 19 例、女 16 例,年龄 4~13 岁、平均(5.47±1.28)岁,伴有哮喘家族史的儿童 3 例。两组儿童在性别、年龄、家族史等方面差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及指标检测 所有研究对象均采集空腹静脉血 6 mL。其中 2 mL 采用 Ficoll 密度梯度

离心法分离外周血单核细胞,-20℃冰箱冻存备用。2 mL 血标本以 3 000 r/min 离心 5 min,分离血清,-20℃冰箱冻存备用。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 IL-6 水平,试剂盒由碧云天生物技术有限公司提供(批号 20160926)。2 mL 血清置乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)采血管内,95%乙醇固定,瑞氏染色,显微镜直接计数。

1.2.2 肺功能指标检测 采用 M276407 肺功能仪(北京海富达科技有限公司)检测第 1 秒用力呼气量(FEV1)、第 1 秒用力呼气量占用力肺活量比值(FEV1/FVC)、用力呼气流量(FEF)25%~75%、FEF50%、FEF75%;同时检测呼出气一氧化氮(FeNO),呼出流速控制在 50 mL/s。

1.2.3 qRT-PCR 检测 DACT1、 β -catenin mRNA 的表达 Trizol 法常规提取外周血单核细胞总 RNA,测定纯度,并反转录生成 cDNA。采用 LightCycler[®]96 实时荧光定量 PCR 仪(Roche Diagnostics 公司,德国),引物序列由上海英骏生物技术有限公司提供。DACT1(NM_016651.5)上游序列:5'-ACTC-GAGGGCTTCTAGCCAC-3',下游序列:5'-AAC-CAGCATCTCTTCGCCTC-3',产物 521 bp; β -catenin(AK296790.1)上游序列:5'-ATGGCCATGGAAC-CAGACAG-3',下游序列:5'-GTGGGATGAGT-GAAGGACTGA-3',产物 200 bp; β -actin(X00351.1)上游序列:5'-GCAGGAGTATGACGAGTCCG-3',下游序列:5'-TGTGTGGACTTGGGAGAGGA-3',产物 404 bp。数据采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 计算。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 进行相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺功能指标比较 表 1 显示,观察组患儿的 FEV₁、FEV₁/FVC、FEF_{25%}~75%、FEF_{50%}、FEF_{75%}等均明显低于对照组,而 FeNO 明显高于对照组,差异均有

统计学意义($P<0.05$)。

2.2 IL-6 和 Eos 水平比较 表 2 显示,观察组患儿的 Eos、IL-6 等均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 两组肺功能指标比较($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	FEV ₁ (L)	FEV ₁ /FVC	FEF _{25%~75%} (L)	FEF _{50%} (L)	FEF _{75%} (L)	FeNO(ppb)
对照组	35	90.33±7.46	79.25±14.59	75.49±14.19	71.38±14.58	74.27±14.22	10.68±3.12
观察组	38	86.29±6.12	61.22±10.59	53.28±15.19	42.58±13.78	37.48±11.89	17.88±5.28
<i>t</i>		2.538	6.077	6.44	8.078	11.595	3.562
<i>P</i>		0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 两组 IL-6 和 Eos 水平比较($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	Eos($\times 10^9$ /L)	IL-6(ng/mL)
对照组	35	0.17±0.05	0.39±0.11
观察组	38	0.35±0.11	0.72±0.19
<i>t</i>		7.201	8.979
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.3 外周血单核细胞中 DACT1、 β -catenin mRNA 的表达 表 3 显示,观察组患儿的 DACT1 mRNA 水平明显高于对照组, β -catenin mRNA 水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 3 两组外周血单核细胞中 DACT1、 β -catenin mRNA 的表达($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	DACT1	β -catenin
对照组	35	0.25±0.08	2.11±0.69
观察组	31	0.37±0.09	1.12±0.36
<i>t</i>		6.001	7.588
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.4 相关性分析 表 4 显示,DACT1 mRNA 的表达与 FEV₁、FEV₁/FVC、FEF_{25%}~75%、FEF_{50%}、FEF_{75%}等指标呈现负相关($P<0.05$),与 FeNO、IL-6 和 Eos 呈正相关($P<0.05$)。 β -catenin mRNA 的表达与 FEV₁、FEV₁/FVC、FEF_{25%}~75%、FEF_{50%}、FEF_{75%}等指标呈现正相关($P<0.05$),与 FeNO、IL-6 和 Eos 呈负相关($P<0.05$)。

表 4 相关性分析

指标	DACT1		β -catenin	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
FEV ₁	-0.348	<0.05	0.363	<0.05
FEV ₁ /FVC	-0.364	<0.05	0.358	<0.05
FEF _{25%~75%}	-0.347	<0.05	0.343	<0.05
FEF _{50%}	-0.326	<0.05	0.349	<0.05
FEF _{75%}	-0.363	<0.05	0.336	<0.05
FeNO	0.412	<0.05	-0.358	<0.05
Eos	0.473	<0.05	-0.412	<0.05
IL-6	0.579	<0.05	-0.427	<0.05

3 讨 论

在本研究中,观察组 DACT1 基因表达较对照组明显增加,而 β -catenin 基因表达明显降低,提示 DACT1 能抑制 β -catenin 的表达及其向细胞核的易

位。已有的研究显示,DACT1 能使 Wnt 信号传导失活,可能通过抑制 β -catenin 核转位,导致炎症反应的上调,这也可能与儿童哮喘发展有关。

已有研究显示炎症在哮喘的发展中起重要作用,炎症细胞分泌的各种细胞因子调节气道过敏反应和重塑。文献显示,哮喘儿童血清中 IL-17 和 IL-35 水平明显高于健康体检儿童,并与支气管哮喘分级有关^[6]。而 IL-35 可通过阻碍 IL-4 的表达,抑制 STAT1 信号通路,并进一步抑制阻碍哮喘病的发生和进展^[7]。而 Eotaxin、IL-13 在支气管哮喘发病过程中彼此相互影响,共同参与哮喘患儿病理生理变化过程^[8]。本研究中,观察组哮喘患儿的 DACT1 水平明显高于对照组健康儿童的水平,而且通过相关性分析也发现,DACT1 水平与 FEV₁、FEV₁/FVC、FEF_{25%}~75%、FEF_{50%}、FEF_{75%}等指标呈现负相关($P<0.05$),与 FeNO、IL-6 和 Eos 呈正相关($P<0.05$)。这些都提示 DACT1 与哮喘儿童的气道炎症及反应性存在一定的联系,可能参与了哮喘的发生和进展。DACT1 是 Wnt 信号传导途径的负调节物,通过负调节 Wnt 信号通路调控肿瘤细胞的增殖、凋亡、分化和迁移。ZHANG 等^[5]通过细胞研究发现,DACT1 在哮喘患儿的肺组织细胞中是上调的,并诱导更高的炎症因子表达。Wnt 信号传导途径也与气道炎症相关。BARTEL 等^[9]研究发现,慢性过敏原诱导的气道炎症的小鼠模型中,Wnt 信号通路在肺中被 miR-142-3p 所调节。值得注意的是,Wnt 途径抑制剂 Wnt 抑制因子 1 在过敏原攻击动物的肺中减少。 β -catenin 被鉴定为 Wnt 信号通路中的关键效应物,其生物学功能可通过控制其表达水平或核转位来调节。Dact 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的负性调节基因家族,然而,DACT1 和 β -catenin 在哮喘中的相关性尚不清楚。本研究中,观察组患儿的 β -catenin 水平明显低于对照组,并与 FEV₁、FEV₁/FVC、FEF_{25%}~75%、FEF_{50%}、FEF_{75%}等指标呈现正相关($P<0.05$),与 FeNO、IL-6 和 Eos 呈负相关($P<0.05$)。说明 DACT1 表达上调可抑制 β -catenin 的表达和核转位,并上调 IL-6 的表达,提示 DACT1 可能通过调节 β -catenin 的表达和核转位来促进哮喘患者的气道炎症,从而促进哮喘的发生和进展。

总之,哮喘患儿 DACT1 表达上调,抑制 β -catenin 的表达和核转位,并促进 IL-6 等炎性因子的表达,促进哮喘的发生和进展,这些也表明 DACT1 可能是减轻气道炎症的潜在治疗靶点。

参考文献

[1] KARRASCH S, LINDE K, RÜCKER G, et al. Accuracy of FENO for diagnosing asthma: a systematic review[J]. Thorax, 2017, 72(2): 109-116.

[2] TUO H, WANG Y F, WANG L, et al. MiR-324-3p promotes tumor growth through targeting DACT1 and activation of Wnt/ β -catenin pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(39): 65687-65698.

[3] NUSSE R, CLEVERS H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities[J]. Cell, 2017, 169(6): 985-999.

[4] YANG X, LV J N, LI H, et al. Curcumin reduces lung inflammation via Wnt/ β -catenin signaling in mouse model of asthma[J]. J Asthma, 2017, 54(4): 335-340.

[5] ZHANG C X, YANG P L, CHEN Y, et al. Expression of DACT1 in children with asthma and its regulation mechanism[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(3): 2674-2680.

[6] 阎敏娜, 项保利, 张素贞, 等. 支气管哮喘患儿 IL-17 及 IL-35 水平变化及意义[J]. 临床儿科杂志, 2018, 36(4): 268-271.

[7] 梁然, 刘玉凤, 周春晶. IL-35 通过调控 STAT1 信号通路在儿童哮喘中的作用研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(3): 261-265.

[8] 魏淑丽, 黄雪玲. 支气管哮喘患儿血清中 Eotaxin, IL-13 的表达水平及临床意义[J]. 川北医学院学报, 2018, 33(2): 206-209.

[9] BARTEL S, CARRARO G, ALESSANDRINI F, et al. miR-142-3p is associated with aberrant WNT signaling during airway remodeling in asthma[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 315(2): L328-L333.

(收稿日期: 2018-07-22 修回日期: 2018-10-12)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 05. 029

血小板/淋巴细胞比值对 ST 段抬高型心肌梗死的预测价值

冯彩玲¹, 李利军²

(1. 陕西省神木市医院心血管内科 719300; 2. 陕西省神木市职教中心医学系 719300)

摘要:目的 探讨血小板/淋巴细胞比值(PLR)与 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者住院期间不良心血管事件是否存在相关性及其是否有预测价值。方法 选择 2015 年 1 月 1 日至 2017 年 12 月 30 日于神木市医院心血管内科住院的 STEMI 患者 232 例,依据受试者工作特征曲线(ROC)得 PLR 最佳截点,将受试者分为低 PLR 组和高 PLR 组。对低 PLR 组和高 PLR 组患者的基线资料、实验室资料、冠状动脉造影资料、住院期间不良心血管事件进行统计学分析。结果 ROC 分析显示,PLR 的最佳截点为 169.7,所对应的灵敏度和特异度分别为 52.1% 和 89.9%。高 PLR 组(73.6%)住院期间不良心血管事件的发生率明显高于低 PLR 组(0.22%),差异有统计学意义($P < 0.01$)。单因素 Logistic 回归分析发现性别、年龄、高血压病史、心率、空腹血糖、淋巴细胞计数、血小板计数、NLR、PLR 脑利钠肽与 STEMI 患者住院期间不良心血管事件的发生相关($P < 0.05$)。多因素 Logistic 分析发现高 PLR(PLR > 169.7)是 STEMI 患者住院期间不良心血管事件的独立预测因子($OR: 9.211, 95\%CI: 3.316 \sim 25.590, P < 0.01$)。结论 PLR 与 STEMI 患者住院期间不良心血管事件相关,PLR 值越高,心血管不良事件发生率越高,PLR 是 STEMI 患者住院期间不良心血管事件的独立预测因子。

关键词:血小板/淋巴细胞比值; ST 段抬高型心肌梗死; 心血管事件

中图分类号:R542.2+2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)05-0677-05

ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)具有发病率、病死率高的特点。据《中国心血管病报告 2015》概要统计,2014 年中国急性心肌梗死(AMI)病死率城市是 55.32/10 万,农村是 68.6/10 万^[1]。因此,寻找一种能够迅速、准确判断疾病的严重程度和尽早进行危险分层的方法,对改善患者的预后,提高生存率尤为关键。而血常规作为一种经济、简便、易于在基层医疗机构操作的常规临床检测方法,通过监测外周血血小板、淋巴细胞计数,计算可得血小板/淋巴细胞比值(PLR)。目前研究发现,PLR 是一种结合血小板和淋巴细胞的新型炎性标志物。近年来有研究发现 PLR 成为评估各种心血管疾病包括 STEMI 炎症状态的一

个简单可行的指标。据推测,PLR 升高可能使炎性细胞因子增多,血小板单核细胞相互作用最终导致动脉粥样硬化及其炎症状态。AZAB 等^[2]研究表明高 PLR 增加非 ST 段抬高心肌梗死(NSTEMI)患者的病死率,高 PLR 是 NSTEMI 患者长期生存的一个重要的独立预测指标。但 PLR 对 STEMI 患者住院期间不良心血管事件有无预测价值报道甚少。本研究通过单因素、多因素统计学分析来验证 PLR 对 STEMI 患者住院期间不良心血管事件的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月 1 日至 2017 年 12 月 30 日于神木市医院住院并行冠状动脉造影检查的