

胍丁胺通过 ISLR 调节 NF- κ B 信号抑制肠道细胞焦亡缓解脓毒症肠损伤

张恩平¹ 田雨¹ 杨博² 陈涛¹

¹遵义医科大学附属医院重症医学科,遵义 563000; ²金沙县人民医院,毕节 551700

张恩平现在遵义医科大学第二附属医院重症医学科,遵义 563000

通信作者:陈涛, Email: 2395086838@qq.com

【摘要】 目的 探讨胍丁胺抑制肠道细胞焦亡缓解脓毒症肠损伤的机制。**方法** ① 生信分析:从基因表达数据库(GEO)选取数据集 GSE13904,采用基因本体(GO)、京都基因与基因组百科全书数据库(KEGG)和蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析脓毒症患者血液中转录组变化。② 动物实验:将 10 只 C57BL/6J 小鼠按随机数字表法分为假手术组(仅开腹不结扎)和脓毒症肠损伤模型组[行盲肠结扎穿孔术(CLP)],每组 5 只。建模成功 48 h 后处死小鼠,开腹取回肠组织。采用定量聚合酶链反应(qPCR)和蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测小鼠肠组织含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白(ISLR)的表达。③ 细胞实验:将 ICE-6 细胞分为对照组(完全培养基培养)、脂多糖(LPS)组(含 10 mg/L LPS 的完全培养基培养)、LPS+ 胍丁胺组(在 LPS 组基础上加入 120 μ mol/L 胍丁胺处理)和 LPS+ 胍丁胺+siRNA-ISLR 组[在 LPS+ 胍丁胺组基础上转染小干扰 RNA(siRNA)-ISLR],此外转染 siRNA 阴性对照(siRNA-NC)验证 siRNA-ISLR 对 ISLR 基因的沉默作用;再将 ICE-6 细胞分为对照组、LPS 组、LPS+ 胍丁胺组和 LPS+ 胍丁胺+Aconine 组[在 LPS+ 胍丁胺组基础上加入核转录因子- κ B(NF- κ B)信号激活剂 Aconine 0.25 mmol/L 处理]。采用 qPCR 和 Western blotting 检测各组细胞 ISLR、NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)的表达;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组细胞上清液 IL-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及水平。**结果** ① 生信分析:GO、KEGG 和 PPI 分析显示,数据集 GSE13904 脓毒症患者的多个分子异常表达,其中 ISLR 的表达显著降低。② 动物实验:脓毒症肠损伤模型组小鼠肠道组织中 ISLR 表达水平明显低于假手术组[ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.52 ± 0.12 比 1.02 ± 0.21 , ISLR/GAPDH: 0.55 ± 0.01 比 1.00 ± 0.01 ,均 $P < 0.05$],与生信分析结果变化趋势一致,故将 ISLR 作为目标分子进行功能和机制探究。③ 细胞实验:与对照组和 siRNA-NC 组比较,siRNA-ISLR 组的 ISLR 表达下调,证实 ISLR 基因成功被特异性敲低。与对照组比较,LPS 组细胞 ISLR 表达明显下调,NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的表达均明显上调,上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显升高(均 $P < 0.05$),提示 LPS 诱导 AGI 模型建立成功。与 LPS 组比较,LPS+ 胍丁胺组细胞 ISLR 表达明显上调[ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.98 ± 0.17 比 0.48 ± 0.11 , ISLR/GAPDH: 0.95 ± 0.08 比 0.71 ± 0.05],NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的表达均明显下调,上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显降低(均 $P < 0.05$)。与 LPS+ 胍丁胺组比较,LPS+ 胍丁胺+siRNA-ISLR 组[ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.62 ± 0.20 比 0.98 ± 0.17 , ISLR/GAPDH: 0.68 ± 0.03 比 0.95 ± 0.08]和 LPS+ 胍丁胺+Aconine 组[ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.28 ± 0.05 比 0.97 ± 0.31 , ISLR/GAPDH: 0.61 ± 0.03 比 0.93 ± 0.03]细胞 ISLR 表达明显下调,NLRP3、IL-1 β 、caspase-1 的表达均明显上调,上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显升高(均 $P < 0.05$),提示胍丁胺的作用被 siRNA-ISLR 或 NF- κ B 信号激活剂处理逆转。**结论** 胍丁胺可能通过 ISLR 调控 NF- κ B 信号抑制肠道细胞焦亡缓解脓毒症肠细胞损伤。

【关键词】 胍丁胺; 脓毒症肠损伤; 含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白; 核转录因子- κ B; 细胞焦亡

基金项目:贵州省科技计划项目(2021-087, 2024-294)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20250730-00411

Agmatine alleviates sepsis-induced intestinal injury by modulating the nuclear factor- κ B signaling pathway through immunoglobulin superfamily containing leucine rich repeat to suppress intestinal pyroptosis

Zhang Enping¹, Tian Yu¹, Yang Bo², Chen Tao¹

¹Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China; ²People's Hospital of Jinsha County, Bijie 551700, China

Zhang Enping works at the Department of Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

Corresponding author: Chen Tao, Email: 2395086838@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism by which agmatine alleviates sepsis-induced intestinal injury through the inhibition of intestinal pyroptosis. **Methods** 1) Bioinformatic analysis: Dataset GSE13904 was selected from the gene expression omnibus (GEO) database, gene ontology (GO), Kyoto encyclopedia of genes and

genomes database (KEGG), and protein-protein interaction (PPI) analyses were performed to analyze transcriptomic changes in the blood of sepsis patients. 2) Animal experiments: Ten C57BL/6J mice were randomly divided into a sham group (laparotomy only without ligation) and a sepsis-induced intestinal injury model group [cecal ligation and puncture (CLP)], with 5 mice in each group. Mice were euthanized 48 hours after successful modeling, and ileal tissues were harvested. The expression of immunoglobulin superfamily containing leucine rich repeat (ISLR) in the intestinal tissues of mice was detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and Western blotting. 3) Cell experiments: ICE-6 cells were divided into the following groups: control group (cultured in complete medium), lipopolysaccharide (LPS) group (cultured in complete medium containing 10 mg/L lipopolysaccharide, LPS), LPS+agmatine group (treated with 120 μ mol/L agmatine on the basis of the LPS group), and an LPS+agmatine+siRNA-ISLR group [transfected with small interfering RNA (siRNA)-ISLR on the basis of the LPS + agmatine group]. Furthermore, cells transfected with siRNA negative control (siRNA-NC) were used to verify the silencing effect of siRNA-ISLR on the ISLR gene. ICE-6 cells were divided into a control group, an LPS group, an LPS+agmatine group, and an LPS+agmatine+Aconine group [treated with 0.25 mmol/L Aconine, a nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling activator, on the basis of the LPS + agmatine group]. The expression levels of ISLR, NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), interleukin-1 β (IL-1 β), and caspase-1 in cells from each group were detected by qPCR and Western blotting. The levels of IL-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the cell supernatants were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** 1) Bioinformatic analysis: GO, KEGG, and PPI analyses of dataset GSE13904 revealed abnormal expression of multiple molecules in sepsis patients, among which ISLR expression was significantly decreased. 2) Animal experiments: The expression levels of ISLR in the intestinal tissue of mice in the sepsis-induced intestinal injury model group were significantly lower than those in the sham group [ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 0.52 ± 0.12 vs. 1.02 ± 0.21 ; ISLR/GAPDH: 0.55 ± 0.01 vs. 1.00 ± 0.01 , both $P < 0.05$], which was consistent with the trend observed in the bioinformatic analysis; therefore, ISLR was selected as the target molecule for functional and mechanistic investigation. 3) Cell experiments: Compared with the control and siRNA-NC groups, ISLR expression was downregulated in the siRNA-ISLR group, confirming successful specific knockdown of the ISLR gene. Compared with the control group, ISLR expression was significantly downregulated in the LPS group, while the expression of NLRP3, IL-1 β , and caspase-1 was significantly upregulated, and the levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α in the supernatant were significantly increased (all $P < 0.05$), indicating successful establishment of the LPS-induced injury model. Compared with the LPS group, ISLR expression was significantly upregulated in the LPS+agmatine group [ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 0.98 ± 0.17 vs. 0.48 ± 0.11 , ISLR/GAPDH: 0.95 ± 0.08 vs. 0.71 ± 0.05], while the expression of NLRP3, IL-1 β , and caspase-1 was significantly downregulated, and the levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α in the supernatant were significantly decreased (all $P < 0.05$). Compared with the LPS+agmatine group, ISLR expression was significantly downregulated in both the LPS+agmatine+siRNA-ISLR group [ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 0.62 ± 0.20 vs. 0.98 ± 0.17 , ISLR/GAPDH: 0.68 ± 0.03 vs. 0.95 ± 0.08] and the LPS+agmatine+Aconine group [ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 0.28 ± 0.05 vs. 0.97 ± 0.31 , ISLR/GAPDH: 0.61 ± 0.03 vs. 0.93 ± 0.03], while the expression of NLRP3, IL-1 β , and caspase-1 was significantly upregulated, and the levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α in the supernatant were significantly increased (all $P < 0.05$), suggesting that the effects of agmatine were reversed by either siRNA-ISLR or the NF- κ B signaling activator. **Conclusion** Agmatine may alleviate sepsis-induced intestinal cell injury by inhibiting intestinal cell pyroptosis, potentially through regulating NF- κ B signaling via ISLR.

[Key words] Agmatine; Sepsis-induced intestinal injury; Immunoglobulin superfamily containing leucine rich repeat; Nuclear factor- κ B; Pyroptosis

Fund program: Guizhou Provincial Science and Technology Program (2021-087, 2024-294)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20250730-00411

脓毒症是机体对感染反应失调导致的危及生命的器官功能障碍,急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)是脓毒症患者常见的并发症之一^[1]。脓毒症期间,肠道会因炎症反应而受损,随之出现各种症状,如腹痛、腹泻、出血等^[2]。有研究显示,含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白(immunoglobulin superfamily containing leucine rich repeat, ISLR)与肠道再生修复之间存在关联,炎症信号能够诱导间充质细胞表达一种分泌型的 ISLR 蛋白,促进上皮细胞的增殖,进而加快肠上皮组织的修复^[3]。ISLR 是否参与脓毒症肠道损伤修复及相关机制有待进一步探究。胍丁胺是一种由 L-精氨酸通过精氨酸脱羧酶(arginine decarboxylase, ADC)

作用生成的生物碱^[4]。研究表明,胍丁胺对中枢神经系统有广泛作用,如其在吗啡镇痛和吗啡依赖中的作用^[5]、抗抑郁和抗焦虑作用^[6]、抗癫痫作用^[7]。此外,胍丁胺具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种生物活性,还可能是肠道菌群代谢的调节剂^[8]。胍丁胺是否参与脓毒症导致的 AGI 及其与 ISLR 基因的关系均尚不明确。基于此,本研究拟在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 AGI 模型中,探究胍丁胺是否通过调节 ISLR 发挥肠道保护作用,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 数据来源及处理:从基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)选取数据集 GSE13904,该

数据集主要研究全身性炎症反应,其中健康对照样本 18 例,脓毒症样本 158 例。首先对转录组数据进行分析,筛选条件为“校正 $P < 0.05$ 且 \log_2 (倍数变化) > 1 或 \log_2 (倍数变化) < -1 ”,筛选差异表达的 mRNA;然后取交集,利用在线数据库分析平台仙桃学术对共有分子基因 ID 进行基因本体(gene ontology, GO)富集分析、京都基因与基因组百科全书数据库(Kyoto encyclopedia of genes and genomes database, KEGG)富集分析和蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)分析。

1.2 动物来源、分组及处理:选取 10 只 6~8 周龄无特定病原体 C57BL/6J 小鼠(同一品系,体质量 20~25 g),均购自南京青龙山动物繁育场[动物许可证号:SCXK(浙)2023-0012]。将 10 只小鼠按随机数字表法分为假手术组和脓毒症肠损伤模型组,每组 5 只。按 50 mg/kg 体质量的剂量经腹腔注射戊巴比妥钠麻醉小鼠。假手术组麻醉成功后仅将盲肠拉出腹腔,然后还纳腹腔;脓毒症肠损伤模型组麻醉成功后开腹行盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP),术毕后关闭腹腔,建立脓毒症肠损伤小鼠模型。造模成功 48 h 后,安乐死小鼠并打开腹腔取回肠组织, -80°C 冻存,用于后续实验。动物实验符合动物福利伦理要求,并通过遵义医科大学实验动物福利伦理委员会审查(审批号:ZMU21-2105-110)。

1.3 细胞来源、分组及处理:肠道上皮细胞 IEC-6 来自中国科学院细胞库,将细胞置于含 1×10^5 U/L 青霉素、100 g/L 链霉素和 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的 DMEM 培养基中,在 37°C 、5% CO_2 条件下的培养箱中培养,每日更换培养基。① ISLR 作用实验部分:待细胞汇合度达到 60%,将细胞分为对照组、LPS 组、LPS+ 胍丁胺组、LPS+ 胍丁胺+siRNA-ISLR 组。对照组体外培养 IEC-6 细胞,取对数生长期细胞用完全培养基正常培养;LPS 组体外培养 IEC-6 细胞,用含 10 mg/L LPS 的完全培养基培养,建立脓毒症细胞模型;LPS+ 胍丁胺组在 LPS 组基础上加入 120 $\mu\text{mol/L}$ 胍丁胺处理;LPS+ 胍丁胺+siRNA-ISLR 组在 LPS+ 胍丁胺组基础上转染特异性靶向 ISLR 的小干扰 RNA(small interfering RNA-ISLR, siRNA-ISLR)。siRNA 转染步骤:在 LPS 与胍丁胺处理前 24 h,将细胞以适当密度接种于培养板中,当细胞融合度达到 60%~70% 时,按照转染试剂说明书转染 siRNA,即用 LipofectamineTM

3000 将 siRNA-ISLR 或其阴性对照(siRNA negative control, siRNA-NC)与转染试剂混合,制备成转染复合物,加入细胞中继续培养,验证 siRNA-ISLR 对 ISLR 基因的沉默作用。② 信号通路验证部分:将细胞分为对照组、LPS 组、LPS+ 胍丁胺组、LPS+ 胍丁胺+Aconine 组。LPS+ 胍丁胺+Aconine 组在 LPS+ 胍丁胺组基础上加入核转录因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB)信号激活剂 Aconine 0.25 mmol/L 处理。

1.4 仪器和试剂:DMEM 培养基、RIPA 裂解缓冲液购自美国 Gibco 公司, Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司,高容量互补 DNA(complementary DNA, cDNA)反转录试剂盒、定量检测试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司, siRNA 购自安徽通用生物股份有限公司, LipofectamineTM 3000 购自美国赛默飞公司,酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自上海酶联生物技术有限公司, BCA 蛋白试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,兔源一抗 ISLR、NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)购自英国 Abcam 公司, 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)购自美国 CST 公司,聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜、增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)发光液购自美国 Millipore 公司,二抗-羊抗兔或鼠多克隆抗体购自江苏康为世纪生物科技有限公司。

1.5 定量聚合酶链反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)检测微小 RNA-4465(microRNA-4465, miR-4465)、ISLR、NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的相对表达量:从样本中使用 Trizol 试剂提取总 RNA, Qubit 荧光定量仪定量总 RNA;将提取的 RNA 逆转录成 cDNA,取 2 g 总 RNA,使用高容量 cDNA 反转录试剂盒进行反转录。反应程序为 25°C 5 min, 50°C 15 min, 85°C 5 s;准备 PCR 反应体系,将反转录后的 cDNA 与引物等放入 PCR 反应管中, ABI-7300 荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应,反应条件为 95°C 变性 10 s、 60°C 退火 20 s、 72°C 延伸 15 s,重复 40 个循环,使用定量检测试剂盒通过 PCR 仪测定 mRNA。以 GAPDH 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 miR-4465、ISLR、NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的相对表达量。

1.6 ELISA 法检测上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平:收集各组细胞上清液,具体操作过程严格遵循 ELISA 试剂盒要求,低温离心后用酶标仪 450 nm 检测细胞上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 及水平。

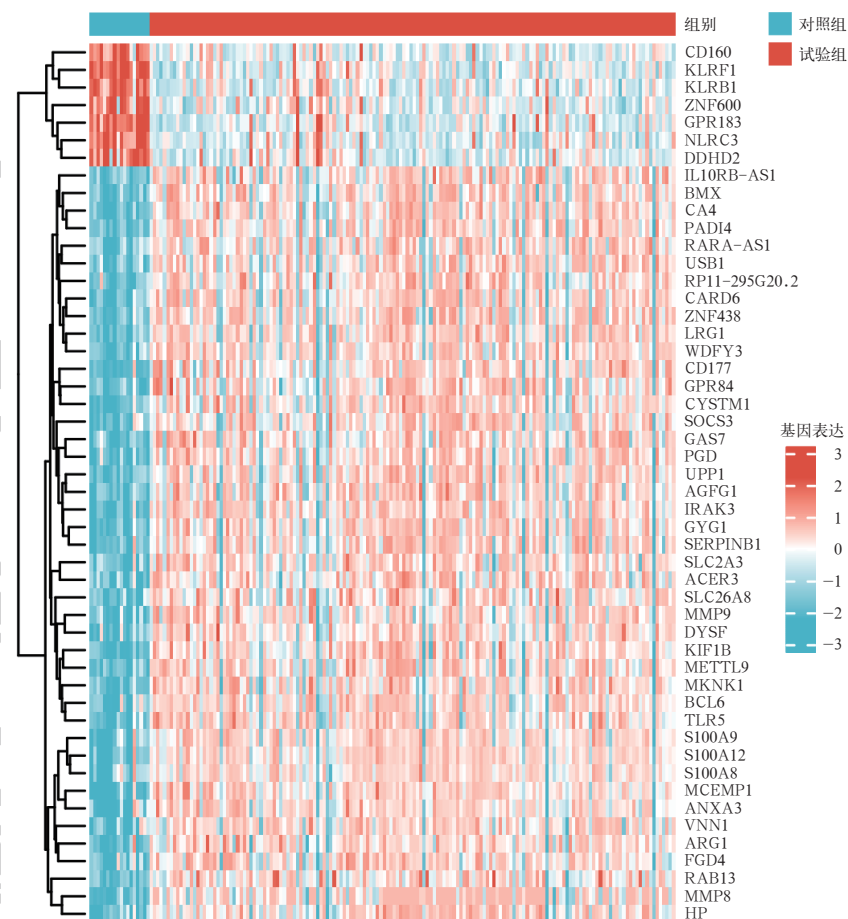
1.7 蛋白免疫印迹试验(Western blotting)检测 ISLR、NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的蛋白表达:首先使用 RIPA 裂解缓冲液提取细胞或组织中蛋白质,获得总蛋白样品。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE),采用 BCA 蛋白试剂盒确定蛋白质浓度,以体积分数为 12% 的 SDS-PAGE 进行电泳,上样质量每孔 40 μ g;经 80 V 电压电泳 120 min 后在 300 mA、90 min 条件下将蛋白转印至 PVDF 膜上,用质量分数为 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h;用含 Tween 20 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline with Tween 20, PBST)洗 4 次 PVDF 膜(每次 5 min),根据 Marker 的位置切割目的蛋白条带,放入赋育盒,分别加入目的蛋白兔源一抗 ISLR (1 : 1 000, ab232986)、NLRP3 (1 : 1 000, ab263899)、IL-1 β (1 : 1 000, ab254360)、caspase-1 (1 : 1 000, ab207802) 和 GAPDH (1 : 1 000, 97166),然后用 PBST 洗 3 次 PVDF 膜(每次 6 min),根据抗体种属来源加入辣根过氧化物酶结合的二抗-羊抗兔或鼠多克隆抗体(1 : 10 000),以 70 ~ 80 r/min 的速度在摇床上室温避光孵育 1 h;用 PBST 洗 3 次 PVDF 膜(每次 6 min),利用 ECL 显色检测二抗与一抗结合的信号,通过化学发光检测系统拍照,Image J 软件检测目标条带与 GAPDH 光密度值比值。

1.8 统计学分析:采用 SPSS 29.0 软件和 Prism 7.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用双侧 t 检验,多组

间比较采用单因素方差分析。检验水准 α 值取双侧 0.05。

2 结果

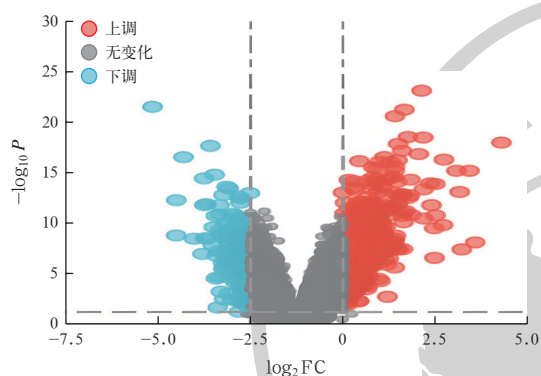
2.1 ISLR 在脓毒症相关肠道组织中低表达:使用 GSE13904 数据集,比较健康对照人群与脓毒症及脓毒性休克患者血液中转录组差异(图 1~2),获得脓毒症和脓毒性休克患者血液中转录组共有差异表达基因(图 3),分别进行 GO 和 KEGG 分析



注: KLR 为杀伤细胞凝集素样受体, ZNF 为锌指蛋白, GPR 为 G 蛋白耦联受体, NLRC3 为 NOD 样受体家族含 CARD 结构域蛋白 3, DDHD2 为含 DDHD 结构域 2, IL10RB-AS1 为 IL10RB 反义 RNA1, BMX 为 X 染色体骨髓酪氨酸激酶, CA4 为碳酸酐酶 IV, PADI4 为肽基精氨酸脱亚胺酶 4, RARA-AS1 为视黄酸受体 α 反义 RNA1, USB1 为 U6snRNA 生物发生磷酸二酯酶 1, RP11-295G20.2 为长链非编码 RNARP11-295G20.2, CARD6 为胱天蛋白酶募集域蛋白 6, LRG1 为富含亮氨酸 α 2-糖蛋白 1, WDFY3 为含 WD 重复域和 FYVE 结构域蛋白 3, CYSTM1 为富含半胱氨酸跨膜模块 1, SOCS3 为细胞因子信号转导抑制因子 3, GAS7 为生长停滞特异性蛋白 7, PGD 为磷酸葡萄糖酸脱氢酶, UPP1 为尿苷磷酸化酶 1, AGFG1 为带有 FG 重复序列的环状 RNAAGFG1, IRAK3 为白细胞介素-1 受体相关激酶 3, GYG1 为糖原蛋白 1, SERPINB1 为丝氨酸蛋白酶抑制剂 B1, SLC2A3 为溶质载体家族 2 成员 3, ACER3 为碱性神经酰胺酶 3, SLC26A8 为溶质载体家族 26 成员 8, MMP 为基质金属蛋白酶, DYSF 为 Dysferlin 基因, KIF1B 为驱动蛋白家族成员 1B, METTL9 为甲基转移酶样蛋白 9, MKNK1 为与有丝分裂原活化蛋白激酶相互作用的丝氨酸/苏氨酸激酶 1, BCL6 为 B 细胞淋巴瘤 6, TLR5 为 Toll 样受体 5, S100 为 S100 钙结合蛋白, MCEMP1 为肥大细胞表达膜蛋白 1, ANXA3 为膜联蛋白 A3, VNN1 为泛酰巯基乙胺酶 1, ARG1 为精氨酸酶 1, FGD4 为含有 FYVE、RhoGEF 和 PH 结构域蛋白 4, RAB13 为 RAS 相关蛋白 RAB13, HP 为触珠蛋白

图 1 全身性炎症反应相关数据集中健康对照人群与脓毒症患者血液转录组差异表达基因的聚类热图

(图 4)、PPI 分析(图 5)。结果显示,在脓毒症患者中多个分子异常表达。结合文献分析,ISLR 的表达显著降低,且在相关研究中报道较少。动物实验中, qPCR 和 Western blotting 检测结果均显示(图 6),脓毒症肠损伤模型组小鼠肠道组织中 ISLR 表达水平明显低于假手术组[ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.52 ± 0.12 比 1.02 ± 0.21 , ISLR/GAPDH: 0.55 ± 0.01 比 1.00 ± 0.01 , 均 $P < 0.05$],与生信分析结果变化趋势一致,故后续将 ISLR 作为目标分子进行功能和机制探究。



注: FC 为差异倍数

图 2 全身性炎症反应相关数据集中健康对照人群与脓毒症患者血液转录组差异表达基因的火山图

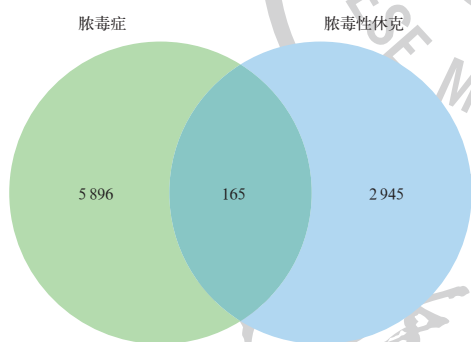
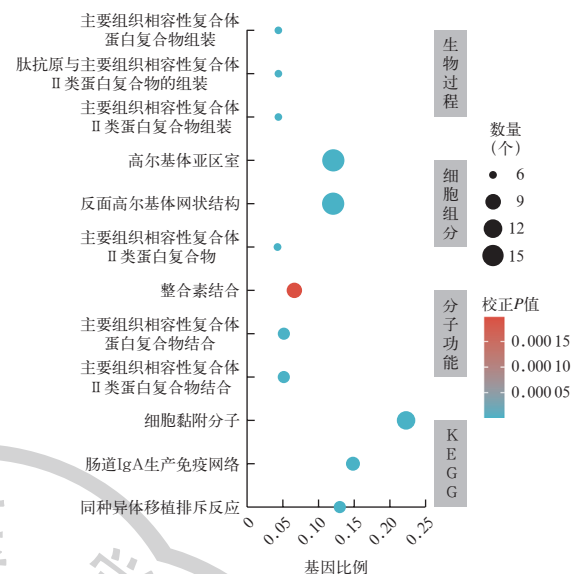


图 3 全身性炎症反应相关数据集中脓毒症与脓毒性休克患者的共有差异表达基因的韦恩图



注: GO 为基因本体, KEGG 为京都基因与基因组百科全书数据库, IgA 为免疫球蛋白 A

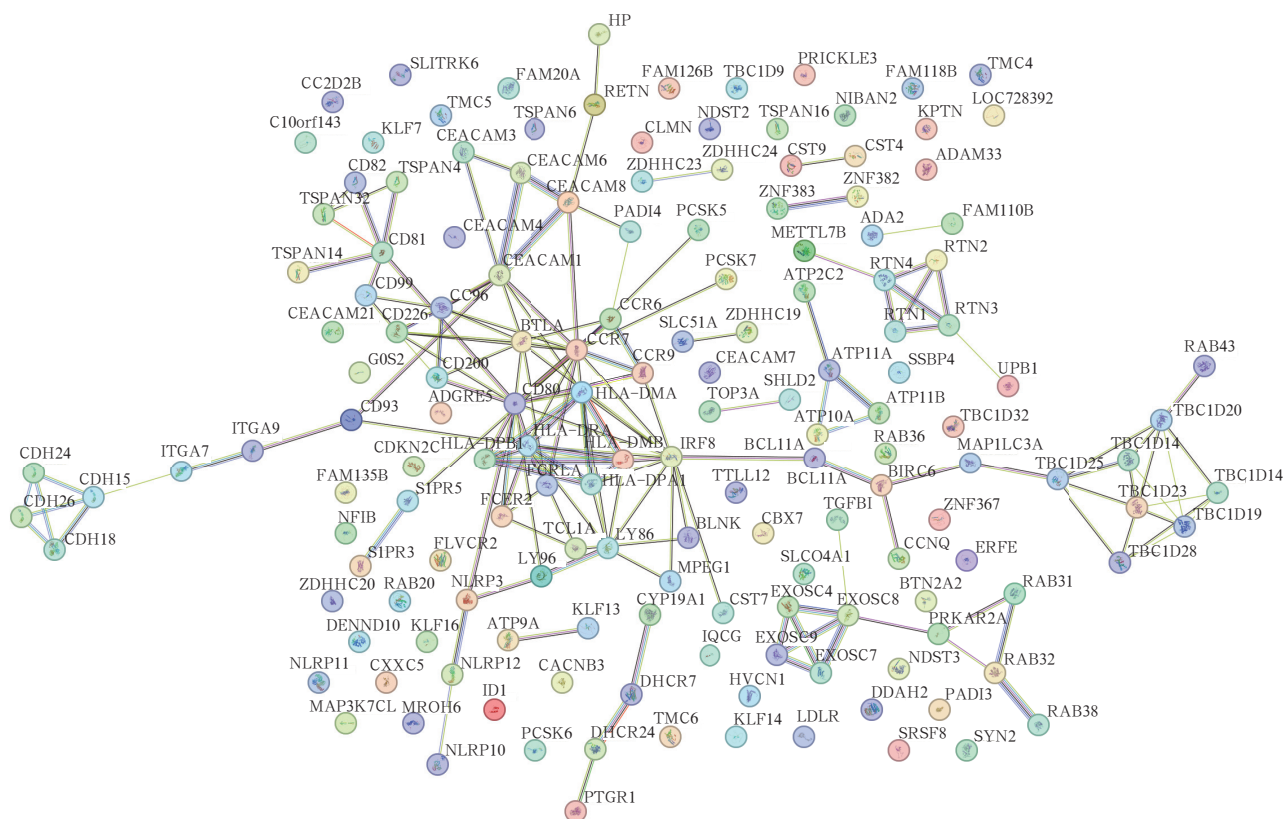
图 4 全身性炎症反应相关数据集中脓毒症与脓毒性休克患者血液中转录组共有差异表达基因 GO 和 KEGG 富集分析

2.2 胍丁胺通过 ISLR 缓解 LPS 诱导的肠上皮细胞焦亡: 与对照组和 siRNA-NC 组比较, siRNA-ISLR 组细胞 ISLR 表达下调,证实 ISLR 基因成功被特异性敲低[ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.30 ± 0.05 比 1.02 ± 0.20 、 0.97 ± 0.17 , ISLR/GAPDH: 0.49 ± 0.03 比 1.00 ± 0.01 、 0.97 ± 0.03 , 均 $P < 0.05$; 图 7]。与对照组比较, LPS 组细胞 ISLR 表达明显下调,焦亡相关蛋白 NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的表达均明显上调,上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显升高(均 $P < 0.05$),提示 LPS 组细胞炎症因子表达和细胞焦亡均增加, LPS 诱导 AGI 模型建立成功(表 1~2; 图 8)。与 LPS 组比较, LPS+ 胍丁胺组细胞 ISLR 表达明显上调, NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的表达均明显下调,上清液 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显降低(均 $P < 0.05$); 而胍丁胺的作用被 siRNA-ISLR 所逆转,与

表 1 各组 ICE-6 细胞 ISLR、NLRP3、IL-1 β 、caspase-1 的表达水平以及细胞上清液 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量($\bar{x} \pm s$)

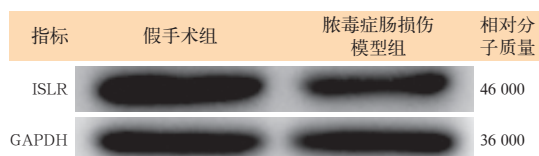
组别	ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	NLRP3 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	IL-1 β mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	caspase-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	IL-6 (ng/L)	IL-1 β (ng/L)	TNF- α (ng/L)
对照组	1.01 ± 0.14 (9)	1.04 ± 0.31 (9)	1.02 ± 0.22 (9)	1.01 ± 0.15 (9)	32.43 ± 4.84 (3)	33.06 ± 10.35 (3)	17.84 ± 6.89 (3)
LPS 组	0.48 ± 0.11 (9) ^a	1.99 ± 0.28 (9) ^a	2.01 ± 0.40 (9) ^a	1.79 ± 0.61 (9) ^a	79.33 ± 8.96 (3) ^a	92.72 ± 1.27 (3) ^a	59.96 ± 0.64 (3) ^a
LPS+ 胍丁胺组	0.98 ± 0.17 (9) ^b	1.07 ± 0.32 (9) ^b	0.98 ± 0.18 (9) ^b	1.09 ± 0.23 (9) ^b	41.35 ± 10.59 (3) ^b	50.47 ± 6.19 (3) ^b	21.81 ± 3.47 (3) ^b
LPS+ 胍丁胺 + siRNA-ISLR 组	0.62 ± 0.20 (9) ^c	1.64 ± 0.35 (9) ^c	1.87 ± 0.32 (9) ^c	1.64 ± 0.58 (9) ^c	68.78 ± 16.63 (3) ^c	82.81 ± 9.17 (3) ^c	52.11 ± 2.36 (3) ^c
F 值	24.790	19.270	31.160	6.990	12.000	40.110	82.340
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.002	<0.001	<0.001

注: 括号内为样本量; ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, IL-1 β 为白细胞介素-1 β , caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, IL 为白细胞介素, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , LPS 为脂多糖, siRNA 为小干扰 RNA; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 LPS+ 胍丁胺组比较, ^c $P < 0.05$



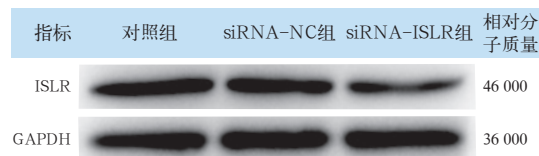
注: PPI 为蛋白质-蛋白质相互作用, CDH 为钙黏蛋白, ITG 为整合素, SLITRK6 为 SLIT 和 NTRK 样蛋白 6, LOC728392 为预测 LOC728392, TSPAN 为四跨膜蛋白, CC2D2B 为含 coiled-coil 和 C2 结构域蛋白 2B, G0S2 为 G0/G1 期开关蛋白 2, ADGRE5 为黏附 G 蛋白耦联受体 E5, CDKN2C 为周期蛋白依赖性激酶抑制因子 2C, S1PR 为 1-磷酸鞘氨醇受体, FAM 为序列相似性家族, FLVCR2 为猫白血病病毒亚组 C 受体相关蛋白 2, FCER2 为免疫球蛋白 E Fc 段受体 II, FCRLA 为 Fc 受体样蛋白 A, HLA-DR 为主要组织相容性复合体 II 类 DR 链, HLA-DP 为主要组织相容性复合体 II 类 DP 链, HLA-DM 为主要组织相容性复合体 II 类 DM 链, BTLA 为 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞衰减因子, CCR 为 CC 趋化因子受体, TCL1A 为 T 细胞白血病 1A, LY 为淋巴细胞抗原, IRF8 为干扰素调节因子 8, BLNK 为 B 细胞连接蛋白, MPEP1 为巨噬细胞表达因子 1, SLC51A 为溶质载体家族 51 成员 A, CEACAM 为癌胚抗原相关细胞黏附分子, NLRP 为 NOD 样受体蛋白, DENND10 为 DENN 结构域包含蛋白 10, KLF 为 Krüppel 样因子, CYP19A1 为细胞色素 P450 家族 19 亚家族 A 成员 1, TOP3A 为 DNA 拓扑异构酶 III α , TITL12 为微管蛋白酪氨酸连接酶样家族成员 12, ZDHHC 为锌指 DHHC 型含蛋白, PCSK 为前蛋白转化酶 枯草溶菌素 /kexin, CBX7 为染色盒同源物 7, IQCG 为 IQ 模体包含 G, SHLD2 为屏蔽复合体亚基 2, PADI4 为肽基精氨酸脱亚胺酶 4, BCL11A 为 B 细胞淋巴瘤 / 白血病 11A, TGFBI 为转化生长因子 β 诱导基因, SLC04A1 为溶质载体有机阴离子转运蛋白家族成员 4A1, BIRC6 为杆状病毒 IAP 重复序列包含蛋白 6, ATP 为 ATP 酶磷脂转运酶, SSBP4 为单链 DNA 结合蛋白 4, ATP2C2 为 ATP 酶分泌途径 Ca^{2+} 转运酶 2, CCNQ 为细胞周期蛋白 Q, LDLR 为低密度脂蛋白受体, MROH6 为主要精子尾部丰富蛋白同源物 6, MAP1LC3 为微管相关蛋白 1 轻链 3 α , RTN 为网状蛋白, UPB1 为 β -脲基丙氨酸 1, METTL7B 为甲基转移酶样蛋白 7B, ADA2 为腺苷脱氨酶 2, ZNF 为锌指蛋白, BTN2A2 为嗜脂蛋白 2A2, EXOSC 为外切体复合体组分, PRKAR2A 为蛋白激酶 cAMP 依赖性 II 型调节亚基 α , TBC1D 为 TBC1 结构域家族成员, NDST 为 N-脱乙酰酶 /N-磺转移酶, RAB 为 RAS 癌基因家族成员 RAB, HVCN1 为氢电压门控通道 1, CXXC5 为 CXXC 锌指蛋白 5, CACNB3 为电压依赖性 L 型钙通道 β 3 亚基, DHCR 为脱氢胆固醇还原酶, CST 为半胱氨酸蛋白酶抑制剂, ADAM33 为解整合素样金属蛋白酶结构域 33, MAP3K7CL 为 MAP3K7 C 端样, NFIB 为核因子 1B, C10orf143 为 10 号染色体开放阅读框 143, DDAH2 为二甲基精氨酸二甲胺水解酶 2, PADI3 为肽基精氨酸脱亚胺酶 3, SRSF8 为丝氨酸 / 精氨酸丰富剪接因子 8, PTGR1 为前列腺素还原酶 1, SYN2 为突触素 II, ERFE 为红铁调素调节蛋白, KPTN 为 kaptin, NIBAN2 为 Niban 凋亡调节因子 2, TMC 为跨膜通道样蛋白, TSPAN 为四跨膜蛋白, CLMN 为钙介蛋白, RETN 为抵抗素, HP 为触珠蛋白, PRICKLE3 为 PRICKLE 平面细胞极性蛋白 3

图5 全身性炎症反应相关数据集中脓毒症与脓毒性休克患者血液中转录组共有差异表达基因的 PPI 分析



注: ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白,
GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶

图6 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测假手术组和脓毒症肠损伤模型组小鼠肠道组织ISLR的蛋白表达



注: ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶, siRNA 为小干扰 RNA, NC 为对照

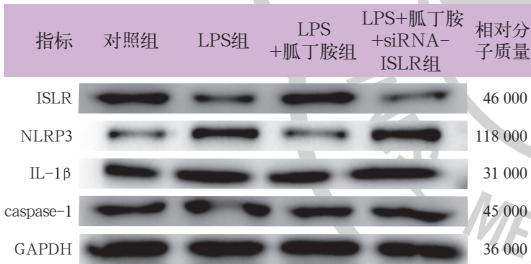
图7 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测
各组 ICE-6 细胞 ISLR 的蛋白表达

LPS+ 胍丁胺组比较, LPS+ 胍丁胺 + siRNA-ISLR 组细胞 ISLR 表达明显下调, NLRP3、IL-1β、caspase-1 的表达均明显上调, 上清液 IL-6、TNF-α 和 IL-1β 水平均明显升高 (均 $P<0.05$), 提示胍丁胺能够通过 ISLR 缓解 LPS 导致的肠道上皮炎症反应和细胞焦亡 (表 1~2; 图 8)。

表 2 各组 ICE-6 细胞 ISLR、NLRP3、IL-1β、caspase-1 的蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数 (孔)	ISLR/ GAPDH	NLRP3/ GAPDH	IL-1β/ GAPDH	caspase-1/ GAPDH
对照组	3	1.00±0.07	1.00±0.05	1.00±0.06	1.00±0.04
LPS 组	3	0.71±0.05 ^a	2.81±0.17 ^a	1.53±0.08 ^a	1.29±0.02 ^a
LPS+胍丁胺组	3	0.95±0.08 ^b	1.02±0.02 ^b	0.97±0.07 ^b	0.95±0.06 ^b
LPS+胍丁胺 + siRNA-ISLR 组	3	0.68±0.03 ^c	2.89±0.16 ^c	1.45±0.18 ^c	1.31±0.03 ^c
F 值		20.870	221.500	20.690	53.650
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, IL-1β 为白细胞介素-1β, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, LPS 为脂多糖, siRNA 为小干扰 RNA, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P<0.05$; 与 LPS+胍丁胺组比较, ^c $P<0.05$



注: ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, IL-1β 为白细胞介素-1β, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶, LPS 为脂多糖, siRNA 为小干扰 RNA

图 8 蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting) 检测各组 ICE-6 细胞 ISLR、NLRP3、IL-1β、caspase-1 的蛋白表达

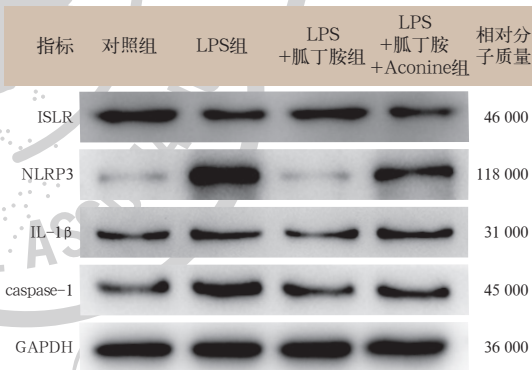
2.3 胍丁胺通过 NF-κB 信号缓解 LPS 诱导的肠上皮细胞损伤 (表 3~4; 图 9): 与 LPS+ 胍丁胺组比较,

LPS+ 胍丁胺 + Aconine 组细胞 ISLR 表达明显下调, NLRP3、IL-1β、caspase-1 的表达均明显上调, 上清液 IL-6、TNF-α 和 IL-1β 水平均明显升高 (均 $P<0.05$), 提示胍丁胺可通过 NF-κB 调节 LPS 诱导的肠道细胞损伤。

表 4 各组 ICE-6 细胞 ISLR、NLRP3、IL-1β、caspase-1 的蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数 (孔)	ISLR/ GAPDH	NLRP3/ GAPDH	IL-1β/ GAPDH	caspase-1/ GAPDH
对照组	3	1.00±0.03	1.00±0.03	1.00±0.02	1.00±0.02
LPS 组	3	0.66±0.04 ^a	3.63±0.15 ^a	1.36±0.07 ^a	1.74±0.05 ^a
LPS+胍丁胺组	3	0.93±0.03 ^b	0.93±0.04 ^b	1.02±0.05 ^b	1.07±0.03 ^b
LPS+胍丁胺 + Aconine 组	3	0.61±0.03 ^c	2.55±0.05 ^c	1.25±0.09 ^c	1.71±0.09 ^c
F 值		119.200	699.200	23.650	161.000
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, IL-1β 为白细胞介素-1β, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, LPS 为脂多糖, Aconine 为核转录因子-κB 信号激活剂, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P<0.05$; 与 LPS+胍丁胺组比较, ^c $P<0.05$



注: ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, IL-1β 为白细胞介素-1β, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶, LPS 为脂多糖, Aconine 为核转录因子-κB 信号激活剂

图 9 蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting) 检测各组 ICE-6 细胞 ISLR、NLRP3、IL-1β、caspase-1 的蛋白表达

表 3 各组 ICE-6 细胞 ISLR、NLRP3、IL-1β、caspase-1 的表达水平以及细胞上清液 IL-6、IL-1β、TNF-α 的含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ISLR mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	NLRP3 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	IL-1β mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	caspase-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	IL-6 (ng/L)	IL-1β (ng/L)	TNF-α (ng/L)
对照组	1.03±0.25 (9)	1.02±0.19 (9)	1.02±0.23 (9)	1.01±0.16 (9)	42.99±5.52 (3)	30.93±5.28 (3)	26.24±3.52 (3)
LPS 组	0.29±0.04 (9) ^a	3.53±0.46 (9) ^a	2.93±0.38 (9) ^a	3.26±0.49 (9) ^a	74.57±10.89 (3) ^a	79.72±14.35 (3) ^a	68.57±12.19 (3) ^a
LPS+胍丁胺组	0.97±0.31 (9) ^b	1.11±0.28 (9) ^b	0.94±0.12 (9) ^b	0.98±0.15 (9) ^b	46.76±4.29 (3) ^b	40.49±8.54 (3)	27.70±1.12 (3) ^b
LPS+胍丁胺 + Aconine 组	0.28±0.05 (9) ^c	3.61±0.58 (9) ^c	3.03±0.62 (9) ^c	2.90±0.67 (9) ^c	87.19±16.91 (3) ^c	66.21±29.14 (3) ^c	64.66±9.66 (3) ^c
F 值	36.500	112.900	80.750	71.900	12.200	5.280	24.760
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.026	<0.001

注: 括号内为样本量; ISLR 为含免疫球蛋白超家族亮氨酸丰富重复蛋白, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, IL-1β 为白细胞介素-1β, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, IL 为白细胞介素, TNF-α 为肿瘤坏死因子-α, LPS 为脂多糖, Aconine 为核转录因子-κB 信号激活剂; 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P<0.05$; 与 LPS+胍丁胺组比较, ^c $P<0.05$

3 讨论

脓毒症是宿主对感染反应失调导致的危及生命的器官功能障碍,常见于严重创伤或感染性疾病患者,发病原因包括细菌、真菌、病毒及寄生虫等引起的感染,导致机体炎症反应及免疫调节失衡^[9]。脓毒症患者的主要症状包括寒战、发热、心慌、气促、精神状态改变等,可进展为严重脓毒症和脓毒性休克,导致器官功能不全及循环障碍,危及生命^[10]。全球每年脓毒症患病人数超过 4 890 万例,其中约 110 万例患者死亡,病死率为 19.7%^[11]。男性、高龄及合并糖尿病是脓症患者发生住院死亡的危险因素^[12],IL-6 水平对脓毒症患者的预后均有一定预测价值,IL-6 水平越高,脓症患者死亡风险越大^[13]。此外,肠屏障功能障碍在脓毒症进展中起重要作用。由于肠道屏障功能减弱,肠道是危重个体全身感染的来源,促进了严重脓毒症的发生^[14]。有研究显示,脓毒症大鼠肠道损伤过程存在铁死亡,通过核因子 E2 相关因子 2/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2/Glutathione peroxidase 4, Nrf2/GPX4) 通路激发或抑制铁死亡可实现对机体炎症状态的有效干预^[15]。目前,对于脓毒症的治疗主要是通过抗菌药物治疗感染源,以及支持性治疗来维持患者的生命体征。然而,由于脓毒症的病因复杂,治疗效果并不总是理想的。因此,研究人员正在努力寻找新的治疗方法,以改善脓毒症患者的预后。

ISLR 是免疫球蛋白超家族的新成员,该家族包含具有保守侧翼序列的 LRR 和 C2 型免疫球蛋白样结构域^[16]。据文献报道,ISLR 可以影响结肠肿瘤的发生^[3, 17]。ISLR 可被肠道炎症反应基质细胞中致癌转录因子 ETS1 诱导分泌表达,这种蛋白通过与肠上皮细胞表面的特定膜蛋白结合抑制上皮细胞内的 Hippo 信号通路,从而激活 YAP,促进上皮细胞的增殖,进而加快肠上皮组织的修复,当在小鼠肠道间质细胞中特异性敲除 ISLR 后,小鼠肠道上皮组织损伤后的再生修复能力显著下降^[3]。因此,ISLR 在肠道损伤的发生发展和治疗过程中扮演着重要的角色。本研究通过生信分析和 Western blotting 明确了 ISLR 在脓毒症肠损伤中的低表达量,这提示 ISLR 在脓毒症肠损伤的发生发展中起着关键作用。

当肠上皮细胞受到损伤或感染时,可能触发细胞焦亡过程。细胞焦亡是一种由炎症小体介导的程序性细胞死亡方式,这种细胞死亡方式不仅导致肠

道屏障的进一步破坏,还可能激活强烈的炎症反应,加剧肠损伤程度。经典的细胞焦亡分子通路为由 caspase-1 介导,通过 Gasdermin D (GSDMD) 切割后导致质膜破裂形成的溶解性细胞死亡方式,伴有细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的释放^[18-19]。本研究采用 LPS 处理肠上皮细胞建立细胞模型,检测 ISLR、NLRP3、IL-1 β 和 caspase-1 的表达及 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量,结果显示,LPS 组中 ISLR 的表达降低,NLRP3、caspase-1、IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的含量均显著升高,这提示 LPS 组中细胞炎症因子增加,并可能通过 ISLR 调节肠上皮细胞的细胞焦亡。

胍丁胺是 L-精氨酸在体内脱羧酶的作用下形成的内源性阳离子聚胺,它作为一种神经递质和神经调质,广泛分布于中枢神经系统,具有多种生物学功能,包括调节血管舒缩和抗炎作用^[20]。有研究表明,胍丁胺能阻止 LPS 诱导的诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA 表达升高,降低 C-反应蛋白水平和总亚硝酸盐/硝酸盐水平,减轻炎症因子损伤,保护组织内皮细胞,防治过度氧化应激,改善脓毒症死亡率^[21]。胍丁胺还可能影响肠道细菌的多胺代谢^[4]。为探究胍丁胺对脓毒症肠损伤的影响,本研究在 LPS 处理细胞的同时用胍丁胺处理,结果显示,胍丁胺可以抑制 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的释放及 NLRP3、IL-1 β 、caspase-1 的表达,同时上调 ISLR 的表达,并且胍丁胺更能够抵消 LPS 的影响。进一步研究表明,胍丁胺的这一作用可以被 siRNA-ISLR 抑制,这提示胍丁胺能够通过 ISLR 缓解 LPS 对肠道细胞的影响。研究显示,胍丁胺可以通过抑制 NF- κ B 介导的炎症反应来保护小鼠的脓毒症急性肺损伤^[22]。为进一步探究胍丁胺缓解 LPS 诱导的肠上皮细胞损伤与 NF- κ B 信号通路的关联,本研究在胍丁胺处理 LPS 建立的肠道上皮细胞模型的基础上加入 NF- κ B 信号通路的激活剂,结果显示,NF- κ B 信号激活剂处理后各因子的表达水平均有所回升,这提示胍丁胺可以通过 NF- κ B 信号通路来调节 LPS 诱导的肠道细胞损伤。

综上所述,ISLR 在脓毒症肠损伤中低表达,胍丁胺可以促进其表达并通过 ISLR 和 NF- κ B 信号抑制细胞焦亡,从而抑制 LPS 诱导的肠道细胞炎性损伤,表明胍丁胺在脓毒症肠损伤中可能是一种潜在的治疗药物,同时为脓毒症肠损伤的治疗提供了潜在的靶点。但是本研究仅在细胞水平证明了胍丁胺在肠炎性损伤中的作用,未来还需要结合动物实验

和临床试验等研究,进一步揭示胍丁胺在脓毒症中的保护作用。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 张恩平:课题实施、论文撰写、数据整理、统计分析;田雨:数据整理、统计分析;杨博:课题实施、数据整理;陈涛:研究指导、论文修改、经费支持

参考文献

- [1] 许华,赵洋,朱辰林,等.脓毒症急性呼吸窘迫综合征患者急性胃肠功能损伤的临床特征及预后分析[J].中华危重病急救医学,2024,36(6):591-596. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20240118-00063.
- [2] Meng M, Klingensmith NJ, Coopersmith CM. New insights into the gut as the driver of critical illness and organ failure [J]. Curr Opin Crit Care, 2017, 23 (2): 143-148. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000386.
- [3] Xu JZ, Tang Y, Sheng XL, et al. Secreted stromal protein ISLR promotes intestinal regeneration by suppressing epithelial Hippo signaling [J]. EMBO J, 2020, 39 (7): e103255. DOI: 10.15252/embj.2019103255.
- [4] Saha P, Panda S, Holkar A, et al. Neuroprotection by agmatine: possible involvement of the gut microbiome? [J]. Ageing Res Rev, 2023, 91: 102056. DOI: 10.1016/j.arr.2023.102056.
- [5] Barua S, Sim AY, Kim JY, et al. Maintenance of the neuroprotective function of the amino group blocked fluorescence-agmatine [J]. Neurochem Res, 2021, 46 (8): 1933-1940. DOI: 10.1007/s11064-021-03319-9.
- [6] Rahangdale S, Fating R, Gajbhiye M, et al. Involvement of agmatine in antidepressant-like effect of HMG-CoA reductase inhibitors in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 892: 173739. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173739.
- [7] Bahremand T, Payandemehr P, Riazi K, et al. Modulation of the anticonvulsant effect of swim stress by agmatine [J]. Epilepsy Behav, 2018, 78: 142-148. DOI: 10.1016/j.yebeh.2017.11.005.
- [8] Shimokawa H, Sakanaka M, Fujisawa Y, et al. N-Carbamoylputrescine amidohydrolase of bacteroides thetaiotaomicron, a dominant species of the human gut microbiota [J]. Biomedicines, 2023, 11 (4): 1123. DOI: 10.3390/biomedicines11041123.
- [9] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [10] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. Lancet, 2020, 395 (10219): 200-211. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
- [11] Napolitano LM. Sepsis 2018: definitions and guideline changes [J]. Surg Infect (Larchmt), 2018, 19 (2): 117-125. DOI: 10.1089/sur.2017.278.
- [12] 付晶,张瑞鹏,许美馨,等.中国西南地区某大型三甲综合医院脓毒症住院患者的流行病学分析[J].中华危重病急救医学,2024,36(6):574-577. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20231027-00915.
- [13] 李平娜,杨宏富,崔秋敏,等.脓症患者细胞因子表达水平及其对预后的影响[J].中华危重病急救医学,2023,35(12):1250-1254. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230818-00660.
- [14] Sun SL, Duan ZH, Wang XY, et al. Neutrophil extracellular traps impair intestinal barrier functions in sepsis by regulating TLR9-mediated endoplasmic reticulum stress pathway [J]. Cell Death Dis, 2021, 12 (6): 606. DOI: 10.1038/s41419-021-03896-1.
- [15] 马涛,黄玮玮,李志华,等.Nrf2/GPX4介导的铁死亡在脓毒症肠道损伤中的作用[J].中华危重病急救医学,2023,35(11):1188-1194. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230616-00451.
- [16] Nagasawa A, Kubota R, Imamura Y, et al. Cloning of the cDNA for a new member of the immunoglobulin superfamily (ISLR) containing leucine-rich repeat (LRR) [J]. Genomics, 1997, 44 (3): 273-279. DOI: 10.1006/geno.1997.4889.
- [17] Chi CH, Liu TM, Yang SN, et al. ISLR affects colon cancer progression by regulating the epithelial-mesenchymal transition signaling pathway [J]. Anticancer Drugs, 2022, 33 (1): e670-e679. DOI: 10.1097/CAD.0000000000001233.
- [18] Viganò E, Mortellaro A. Caspase-11: the driving factor for noncanonical inflammasomes [J]. Eur J Immunol, 2013, 43 (9): 2240-2245. DOI: 10.1002/eji.201343800.
- [19] Wang B, Zhao KL, Hu WJ, et al. Macrophage migration inhibitor promoted the intrahepatic bile duct injury in rats with severe acute pancreatitis [J]. Dig Dis Sci, 2019, 64 (3): 759-772. DOI: 10.1007/s10620-018-5379-7.
- [20] Kotagale NR, Taksande BG, Inamdar NN. Neuroprotective offerings by agmatine [J]. Neurotoxicology, 2019, 73: 228-245. DOI: 10.1016/j.neuro.2019.05.001.
- [21] El-Awady MS, Nader MA, Sharawy MH. The inhibition of inducible nitric oxide synthase and oxidative stress by agmatine attenuates vascular dysfunction in rat acute endotoxemic model [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2017, 55: 74-80. DOI: 10.1016/j.etap.2017.08.009.
- [22] Li XF, Liu Z, Jin H, et al. Agmatine protects against zymosan-induced acute lung injury in mice by inhibiting NF- κ B-mediated inflammatory response [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 583736. DOI: 10.1155/2014/583736.

(收稿日期:2025-07-30)
(本文编辑:张耘菲)

• 科研新闻速递 •

基于人工智能的脓毒性休克病死率预测模型： 一项多中心回顾性研究

脓毒性休克是重症监护病房(ICU)中致命的病症之一,早期风险预测可能有助于降低病死率。尽管已有研究利用电子病历数据和机器学习技术构建了多种脓毒症早期预警模型,但这些模型大多针对脓毒症患者,缺乏对脓毒性休克患者的专门预测,且存在样本量小、单一模型应用及缺乏多中心验证等局限,难以广泛应用于临床。近期我国学者通过融合多种机器学习模型,构建了一种基于TOPSIS方法的多模型融合预测工具,旨在提高模型的泛化能力和预测准确性,为ICU脓毒性休克患者提供可靠的28 d死亡风险早期预警,辅助临床决策,实现早期干预和降低病死率的目标。研究开发了一种基于TOPSIS的分类融合(TCF)模型,利用2003年2月至2023年11月来自三家医院的4 872例ICU患者数据,预测脓毒性休克患者的死亡风险。研究采用多中心回顾性设计,收集了来自普通ICU、儿科ICU和呼吸ICU的患者数据。通过特征选择和优化流程,最终确定了34个预测特征。采用7种机器学习模型进行训练,并使用TOPSIS方法进行模型融合。研究进行了内部验证、跨专科验证和多中心外部验证。结果显示:TCF模型在内部验证中曲线下面积(AUC)为0.733,在儿科ICU和呼吸ICU验证中AUC分别为0.808和0.662。两个外部验证集的AUC分别为0.784和0.786。模型表现出高稳定性和准确性,特别是在识别高风险患者方面。重要预测特征包括复苏次数、机械通气持续时间、ICU住院时间和舒张压等。研究人员据此得出结论:TCF模型为临床医生提供了一个可靠的、可解释性工具,用于早期预测脓毒性休克患者的28 d死亡风险。该模型在跨专科和多中心验证中表现出良好的泛化能力,有助于临床早期干预以降低病死率。未来研究需要更大规模的前瞻性验证。

蒋佳维、李银平,编译自《NPJ Digit Med》,2025,8(1):228