

血清载脂蛋白 M 与 1-磷酸鞘氨醇 在细菌性血流感染中的表达及相关性研究*

张灵玲^{1,2}, 熊大迁², 葛一漫², 任 然²

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

摘要:目的 通过测定血清载脂蛋白 M(ApoM)和 1-磷酸鞘氨醇(S1P)在细菌性血流感染及不同感染程度中的表达,发现血清 ApoM 在细菌感染诊断、治疗及预后中的作用;为 ApoM 通过载脂蛋白 M-1-磷酸鞘氨醇轴(ApoM-S1P)参与细菌感染的炎症反应提供实验室依据。方法 收集成都中医药大学附属医院 2018 年 9 月~2019 年 2 月细菌感染标本 90 例,测定血清 ApoM 和 S1P 在细菌感染中的表达,探讨血清 ApoM 与细菌感染的相关性及诊断效能,同时分析血清 ApoM 和 S1P 的相关性;根据细菌感染程度进一步分组,分别测定血清 ApoM 和 S1P 的表达水平,探讨血清 ApoM 与感染程度的相关性,并分析血清 ApoM 和 S1P 的相关性。结果 细菌性血流感染组 ApoM 和 S1P 的检测结果分别为 $11.06 \pm 8.02 \mu\text{g/L}$ 和 $119.31 \pm 43.7 \text{ ng/ml}$,明显低于对照组($25.43 \pm 7.05 \mu\text{g/L}$ 和 $192.97 \pm 41.74 \text{ ng/ml}$),两组间差异有统计学意义($t = -4.716, 5.045$, 均 $P < 0.05$),细菌性血流感染组的 ApoM 和 S1P 呈线性相关($r = 0.774, P = 0.00$);随着感染程度的加重, ApoM 和 S1P 的表达逐渐下调,在败血症、脓毒血症、严重脓毒血症和脓毒血症休克组中分别为 $18.08 \pm 1.58, 11.63 \pm 4.85, 9.32 \pm 6.58$ 和 $7.95 \pm 2.7 \mu\text{g/L}, 149.39 \pm 10.44, 120.67 \pm 26.71, 111.76 \pm 54.94$ 和 $101.90 \pm 32.82 \text{ ng/ml}$,各组间差异均具有统计学意义($F = 14.005, 6.115$, 均 $P < 0.05$),S1P 的表达与 ApoM 呈线形相关(各组 pearson 相关系数 $r = 0.569, 0.725, 0.856$ 和 0.873 , 均 $P < 0.05$)。结论 ApoM 在血液细菌感染早期辅助诊断具有较高的诊断价值;ApoM 可能通过 ApoM-S1P 轴并激活下游受体参与细菌感染的炎症反应,起着潜在的抗炎作用。

关键词:载脂蛋白 M;1-磷酸鞘氨醇;细菌性血流感染

中图分类号:R515.3;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2019)05-056-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.014

Expression and Correlation of Serum Apolipoprotein M and Sphingosine 1-Phosphate in Bacterial Bloodstream Infection

ZHANG Ling-ling^{1,2}, XIONG Da-qian², GE Yi-man², REN Ran²

(1. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2. Affiliated Hospital
of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

Abstract: Objective To find the role of serum ApoM in diagnosis, treatment and prognosis of bacterial infection and provide a laboratory basis for ApoM to participate in the inflammatory reaction of bacterial infection through apolipoprotein M-1-sphingosine axis (ApoM-S1P), by measuring the ApoM and S1P in bacterial infection and different infection degree. **Methods**

Collected 90 specimens of bacterial infection in Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine from 2018.9~2019.2, determined the expression of ApoM and S1P in serum ApoM-S1P in bacterial infection, then investigated the correlation and diagnostic efficacy of serum ApoM and bacterial infection, and analyzed the correlation between serum ApoM and S1P. Measured the expression of ApoM and S1P in serum ApoM-S1P according to the degree of bacterial infection, investigate the correlation between serum ApoM and the degree of infection and analyzed the correlation between serum ApoM and S1P. **Results** The expression of ApoM and S1P in the bacterial infection group ($11.06 \pm 8.02 \mu\text{g/L}, 119.31 \pm 43.7 \text{ ng/ml}$) were significantly lower than that in the control group ($25.43 \pm 7.05 \mu\text{g/L}, 192.97 \pm 41.74 \text{ ng/ml}$), the difference were statistically significant ($t = -4.716, 5.045, P < 0.05$). The ApoM were linearly related with S1P in the bacterial bloodstream infection group ($r = 0.774, P = 0.00$). With the aggravation of infection, the expression of ApoM and S1P were down regulated, the expression in septicemia, sepsis, severe sepsis and sepsis shock were ($18.08 \pm 1.58, 11.63 \pm 4.85, 9.32 \pm 6.58$ and $7.95 \pm 2.7 \text{ ng/ml}, 149.39 \pm 10.44, 120.67 \pm 26.71, 111.76 \pm 54.94$ and $101.90 \pm 32.82 \text{ ng/ml}$), respectively, and the difference were statistically significant among all groups ($F = 14.005, 6.115, P < 0.05$). The S1P was linearly related with ApoM in each group, and the correlation coefficient were $0.569, 0.725, 0.856$ and 0.873 respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** ApoM has high diagnostic value in the early diagnosis of blood bacterial infection. ApoM may play a potential anti-inflammatory role through the apolipoprotein M-1-sphingosine axis (ApoM-S1P) and activate the downstream re-

* 基金项目:成都中医药大学科技发展基金(ZRQN1754),成都中医药大学资助。

作者简介:张灵玲(1983-),女,硕士研究生,主管技师,主要研究领域:临床化学和血液学,E-mail:lindaling610@163.com。

通讯作者:熊大迁,主任技师,主要研究领域:临床化学和实验室管理,E-mail:705006714@qq.com。

ceptor to participate in the inflammatory reaction of bacterial infection.

Keywords: apolipoprotein M(ApoM); 1-sphingosine(S1P); bacterial bloodstream infection

细菌性血流感染是指由细菌侵入血流所引起的感染,当伴有全身性炎症反应综合征(SIRS)时即为脓毒血症,因其发病机制尚未阐明,治疗上没有根本性的突破而导致较高的死亡率。血流感染的金标准是血培养,但国内医院的血培养阳性率约为17.8%~18.4%,4~7天的培养周期常滞后于病情的变化,导致临床经验性用药,加剧了细菌耐药性的产生^[1,19]。因此血流感染的早期诊断和治疗一直是临床和实验室关注的焦点,本次研究旨在通过观察血清载脂蛋白M(ApoM)和1-磷酸鞘氨醇(S1P)在细菌性血流感染及不同感染程度中的表达,分析两者的相关性,助力发现细菌性血流感染新的诊断指标和治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 研究对象 随机选取2018年9月~2019年2月于成都中医药大学附属医院初次就诊的细菌性血流感染患者90例(男性48例,女性42例),平均年龄 65.32 ± 6.80 岁,临床表现为发热、体温 $\geq 38^\circ\text{C}$ 、有感染症状或无以上症状但血培养阳性,排除使用抗生素或免疫抑制剂、恶性肿瘤和病毒感染患者;同时选取同期体检中心无感染、无发热的30例健康个体为对照组(男性15例,女性15例),平均年龄 63.47 ± 8.32 岁,排除年龄小于18岁、使用抗生素超过24h、病毒感染阳性和白血病患者;选取我院有病毒、真菌、支原体或衣原体感染患者为非细菌感染组。

1.2 仪器与试剂 使用LiCA 500电化学发光免疫分析仪,检测试剂盒为上海科美生物科技有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 实验分组及诊断标准:根据细菌感染的严重程度和病程进展,参照2001年美国临床药学会(American college of pharmacy, ACCP)关于严重系统性感染诊断标准^[4]和2008年新修订的由欧美多国基于对脓毒血症研究的循证医学证据而制定的脓毒血症指南(SSC指南)^[5]可以将其分为:败

血症31例(男性17例,女性14例,年龄 62.23 ± 7.58 岁)、脓毒血症26例(男性14例,女性12例,年龄 63.01 ± 7.04 岁)、严重脓毒血症21例(男性11例,女性10例,年龄 66.01 ± 8.24 岁)和脓毒血症休克12例(男性6例,女性6例,年龄 67.57 ± 9.22 岁)。

1.3.2 实验检测:抽取实验组和对照组的肝素抗凝静脉血用于检测降钙素原(PCT),同时分离出血浆于EP管中,置于 -80°C 冰箱保存(依试剂厂家说明书要求)待测ApoM和S1P。

1.4 统计学分析 采用SPSS 19.0统计软件进行统计分析和正态学检验。符合正态分布的计量资料用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,单因素方差分析针对多组之间进行比较;对于非正态分布资料用 $M(P25, P75)$ 表示,组间比较采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用线性相关研究分析ApoM和S1P的相关系数。

2 结果

2.1 血清ApoM和S1P在细菌性血流感染组和对照组中的表达和分析 血清ApoM和S1P在细菌性血流感染组($11.06 \pm 8.02 \mu\text{g/L}$, $119.31 \pm 43.7 \text{ ng/ml}$)中的表达水平明显低于对照组($25.43 \pm 7.05 \mu\text{g/L}$, $192.97 \pm 41.74 \text{ ng/ml}$),差异有统计学意义($t = -4.716, 5.045$, 均 $P < 0.05$)。

2.2 血清ApoM和S1P在细菌性血流感染中的相关性分析 对细菌性血流感染组的ApoM和S1P进行相关分析,Pearson相关系数 $r = 0.774$, $P = 0.00$,可认为在血流细菌感染中ApoM和S1P呈直线相关。

2.3 血清ApoM和S1P在细菌性血流感染各亚组中的表达和分析 见表1。细菌性血流感染各亚组间比较,随着感染程度的加深,血清ApoM和S1P的表达逐渐下调,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

表1

ApoM, S1P在不同程度感染组中的表达($\bar{x} \pm s$)

项 目	败血症组	脓毒血症组	严重脓毒血症组	脓毒血症休克组	F	P
ApoM($\mu\text{g/L}$)	18.08 ± 1.58	11.63 ± 4.85	9.32 ± 6.58	7.95 ± 2.7	14.005	0.000
S1P(ng/ml)	149.39 ± 10.44	120.67 ± 26.71	111.76 ± 54.94	101.90 ± 32.82	6.155	0.000

2.4 血清ApoM和S1P在细菌性血流感染各亚组中的相关性分析 分别对细菌性血流感染各亚组的ApoM和S1P进行相关分析:败血症组 $r =$

0.469 , $P = 0.007$;脓毒症组 $r = 0.725$, $P = 0.001$;严重脓毒症组 $r = 0.856$, $P = 0.000$;脓毒症休克组 $r = 0.873$, $P = 0.049$,各组中的相关具有显著性,

可以认为 ApoM 和 S1P 具有直线相关关系。

3 讨论 血流感染是由各种病原微生物和毒素侵入血流所引起的血液感染,是一种严重的全身感染性疾病,感染 24 h 内,若不能及时诊断并配合合理的抗感染治疗,将会大大降低患者存活率;当细菌性血流感染伴有全身性炎症反应综合征(SIRS)时即为脓毒血症,多引起急性肺损伤、急性肾损伤、休克、多脏器损伤综合症而导致 30%~70% 的高死亡率。但对于脓毒血症的治疗,现今仍没有突破性的进展,其发病机制仍未能阐明,因此细菌感染疾病的早期诊断和治疗一直是临床和实验室关注的焦点。血培养是诊断细菌感染性疾病的金标准,但目前国内医院的血培养阳性率约为 17.8%~18.4%,且因为操作和采样的原因常出现假阳性,4~7 天的培养周期常滞后于病情的变化,导致临床经验性的大量抗生素治疗,从而加剧细菌耐药性^[1]。

炎症标志物是近年研究的一个方向,对细菌性血流感染的早诊断和早治疗有着重要意义。2013 年, KURANO 等^[2-3] 提出了一条新的信号轴 ApoM-S1P,该信号轴由 ApoM, S1P 和 S1PR 信号通路三部分构成,参与并调控 1-磷酸鞘氨醇受体(S1PR)信号通路以及下游的一系列生物学功能,在冠心病、糖尿病、肝硬化、乙型肝炎、重症下肢缺血等炎症相关性疾病中,其血清表达水平均有所改变^[4-5]。究其原因, ApoM 可能作为 S1P 的生理性载体,载运 S1P 和相应受体结合,进而调控 S1P 相关的信号通路,从而在这些相关炎症疾病中发挥作用^[6-8]。但是,关于 ApoM 是否通过运载 S1P 与其相应的受体结合,进而在细菌性血流感染中发挥作用的相关性研究较少。

本次研究旨在通过观察血清 ApoM 和 S1P 在细菌性血流感染及不同感染程度中的表达,分析两者的相关性,助力发现细菌性血流感染新的诊断指标和治疗靶点,与 PCT 协同,更好地为临床早期诊断及治疗提供依据,避免细菌耐药的大量出现,减轻病患的精神和物质负担,提高整体医疗水平。在本研究中,与对照组相比,细菌性血流感染组 ApoM 的含量明显降低,原因可能为细菌感染时,炎症反应器官受到细菌内毒素如脂多糖(LPS)的刺激后,诱发单核-巨噬细胞、内皮细胞和淋巴样细胞产生大量炎症因子(TNF- α , IL-6 和 IL-1 等),抑制肝、肾等组织的 ApoM mRNA 和蛋白质的表达,导致 ApoM 含量的下降^[9-10]。通过对实验亚组的分析发现:ApoM 的表达与感染的严重程度呈负相关^[11],即随着感染病程的加重, ApoM 的表达水平随之降低,可能因为在不同程度的炎症反应中,

TNF- α 和 IL-1 等细胞因子会不同程度地抑制肝、肾组织 ApoM mRNA 和蛋白质的表达,致其血浆含量不同程度下降;也有研究认为,在急性期反应中, AP-1 家族中的抗炎转录因子 c-Jun 和 JunB 与 HNF-1 α 可以竞争结合 ApoM 的启动子调节区,从而抑制其基因转录并扰乱蛋白质的合成^[12]。另也有研究发现, LPS 可以下调肝细胞核因子 1 α (hepatocyte nuclear factor, HNF-1 α)的基因转录与表达,造成 HNF-1 α 含量的降低,作为 ApoM 合成的重要调节因子,直接影响 ApoM 的合成与表达^[13]。结果提示:ApoM 对于细菌性血流感染的早期辅助诊断具有一定的价值,可以作为脓毒血症潜在的生物标志物,影响疾病的发展过程^[14-15]。细菌性血流感染患者 S1P 血清水平下降,并与感染程度密切相关,与 ApoM 呈线性相关关系,原因可能为 ApoM 与 S1P 相伴结合,形成 ApoM-S1P 信号轴, S1P 被转运至上皮细胞受体从而发挥内皮保护作用,维持血管完整性^[16];另有研究显示^[14],血清 S1P 缺乏,可表现为血小板活化因子(PAF)诱导下的内皮细胞间隙增加,从而增加血管渗透性。综合分析可得:细菌性血流感染患者血清 S1P 水平的下降是由于 ApoM 含量降低而致,血清 S1P 含量降低,使内皮保护功能减弱,进而血管完整性遭到破坏,血管渗漏加剧,最终导致脓毒血症的发生,病情加剧直至引起休克甚至死亡^[17-18]。

综上所述:血清 ApoM 水平的检测,对于细菌性血流感染的早期辅助诊断具有较高的诊断价值; ApoM 可能起着潜在的抗炎作用,可鉴别败血症和脓毒血症。ApoM 作为 S1P 的分子伴侣,极大可能是通过与 S1P 的相互作用来调控细菌性血流感染的发生发展与转归,因此, ApoM-S1P 信号轴可能成为细菌性血流感染诊断、治疗和预后的潜在靶点,但其详细参与机制还有待进一步发现。

参考文献:

- [1] THUY A V, REIMANN C M, HEMDAN N Y. Sphingosine 1-phosphate in blood: function, metabolism, and fate[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34(1): 158-171.
- [2] KURANO M, TSUKAMOTO K, OHKAWA R, et al. Liver involvement in sphingosine 1-phosphate dynamism revealed by adenoviral hepatic overexpression of apolipoprotein M[J]. Atherosclerosis, 2013, 229(1): 102-109.
- [3] SCHERER M, SCHMITZ G, LIEBISCH G. High-throughput analysis of sphingosine 1-phosphate, sphinganine 1-phosphate, and lysophosphatidic acid in plasma samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Clin Chem, 2009, 55(6): 1218-1222.

(下转 63 页)