

维持性血液透析患者血清 Beclin1 和 LC3-II 表达水平与血管钙化的相关性分析

王淑明^a, 徐建男^a, 张建新^b, 王月华^a, 康京月^a, 刘畅^a

(三河燕郊福合第一医院/原三河市燕郊人民医院 a. 肾脏病内科; b. 急诊科, 河北三河 065201)

摘要: 目的 探究维持性血液透析 (maintenance hemodialysis, MHD) 患者血清 Beclin1 和微管相关蛋白 1 轻链 3-II (microtubule associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II) 表达水平与血管钙化 (vascular calcification, VC) 的相关性。方法 选取 2017 年 4 月~2020 年 9 月三河市燕郊人民医院收治的 MHD 患者 145 例作为研究对象, 根据是否发生 VC, 将患者分为 MHD 未并发 VC 组 ($n=75$) 和 MHD 并发 VC 组 ($n=70$)。根据 VC 评估结果将 MHD 并发 VC 患者分为轻度 VC 组 ($n=36$)、中度 VC 组 ($n=24$)、重度 VC 组 ($n=10$); 另选取同期在该院进行体检的健康人 80 例作为对照组。收集受试者一般资料, 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测受试者血清 Beclin1 和 LC3-II 的水平, Pearson 法分析 MHD 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平与 VC 相关指标的相关性, 二元 logistic 回归分析 MHD 患者发生 VC 的影响因素。结果 与对照组相比, MHD 未并发 VC 组和 MHD 并发 VC 组血清肌酐 (serum creatinine, SCr) ($72.48 \pm 18.26 \mu\text{mol/L}$ vs $685.30 \pm 192.42 \mu\text{mol/L}$, $733.98 \pm 206.35 \mu\text{mol/L}$)、血磷 ($1.28 \pm 0.42 \text{mmol/L}$ vs $2.08 \pm 0.71 \text{mmol/L}$, $2.86 \pm 0.87 \text{mmol/L}$)、血钙 ($1.54 \pm 0.45 \text{mmol/L}$ vs $2.46 \pm 0.62 \text{mmol/L}$, $2.98 \pm 0.77 \text{mmol/L}$)、全段甲状旁腺激素 (intact parathyroid hormone, iPTH) ($58.10 \pm 17.36 \text{pg/ml}$ vs $634.58 \pm 172.44 \text{pg/ml}$, $769.48 \pm 195.02 \text{pg/ml}$) 水平升高, 差异有统计学意义 ($F=100.197 \sim 500.960$, 均 $P < 0.05$); 血清血红蛋白 (hemoglobin, Hb) ($134.82 \pm 35.16 \text{g/L}$ vs $112.78 \pm 32.85 \text{g/L}$, $103.66 \pm 27.91 \text{g/L}$), Beclin1 ($8.09 \pm 2.16 \mu\text{g/L}$ vs $5.65 \pm 1.43 \mu\text{g/L}$, $2.56 \pm 0.73 \mu\text{g/L}$) 和 LC3-II ($45.16 \pm 5.15 \mu\text{g/L}$ vs $36.31 \pm 3.42 \mu\text{g/L}$, $27.47 \pm 2.76 \mu\text{g/L}$) 水平降低, 差异有统计学意义 ($F=18.748 \sim 372.522$, 均 $P < 0.05$); 与 MHD 未并发 VC 组相比, MHD 并发 VC 组血磷、血钙及 iPTH 水平升高 ($t=7.136 \sim 9.723$, 均 $P < 0.05$), 血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低 ($t=16.605, 18.982$, 均 $P < 0.05$)。轻度 VC 组、中度 VC 组和重度 VC 组血清 Beclin1 ($4.35 \pm 0.71 \mu\text{g/L}$, $3.49 \pm 0.57 \mu\text{g/L}$ 和 $1.91 \pm 0.26 \mu\text{g/L}$) 和 LC3-II ($31.12 \pm 3.32 \mu\text{g/L}$, $25.65 \pm 2.62 \mu\text{g/L}$ vs $20.47 \pm 1.76 \mu\text{g/L}$) 水平依次降低, 差异均有统计学意义 ($F=366.298, 296.025$, 均 $P < 0.05$)。MHD 患者血清 Beclin1 水平与血磷、血钙及 iPTH 均呈负相关 ($r=-0.674, -0.682, -0.597$, 均 $P < 0.05$); 血清 LC3-II 水平与血磷、血钙及 iPTH 也呈负相关 ($r=-0.648, -0.703, -0.674$, 均 $P < 0.05$)。二元 logistic 回归分析发现, Beclin1 和 LC3-II 水平偏低是 MHD 患者发生 VC 的危险因素 ($P < 0.05$)。结论 MHD 并发 VC 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低, 与 VC 严重程度有关, 是 MHD 患者发生 VC 的危险因素, 可作为预测 MHD 患者发生 VC 的潜在生物学标志物。

关键词: 维持性血液透析; Beclin1; 微管相关蛋白 1 轻链 3-II; 血管钙化

中图分类号: R459.5; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 02-132-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.027

Correlation between Serum Beclin1 and LC3-II Expression Levels and Vascular Calcification in Maintenance Hemodialysis Patients

WANG Shu-ming^a, XU Jian-nan^a, ZHANG Jian-xin^b, WANG Yue-hua^a, KANG Jing-yue^a, LIU Chang^a

(a.Department of Nephrology; b.Department of Emergency, the Yanjiao Fuhe First Hospital of Sanhe City/
Yanjiao People's Hospital of Sanhe City, Hebei Sanhe 065201, China)

Abstract: Objective To explore the correlation between the expression levels of serum Beclin1 and microtubule associated protein 1 light chain 3-II (LC3-II) and vascular calcification (VC) in maintenance hemodialysis (MHD) patients. **Methods** A total of 145 MHD patients admitted to Yanjiao People's Hospital of Sanhe City from April 2017 to September 2020 were selected as the research objects. According to the occurrence of VC, the patients were divided into MHD without VC group ($n=75$) and MHD with VC group ($n=70$). According to the results of VC evaluation, MHD patients with VC were divided into mild VC group ($n=36$), moderate VC group ($n=24$) and severe VC group ($n=10$). Another 80 healthy people were selected as the control group.

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目 (编号 20200115); 廊坊市科学技术研究与发展计划项目 (编号 2018013135)。

作者简介: 王淑明 (1979-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 维持性血液透析患者并发症的治疗, E-mail: shumingwang795@163.com。

The general data of the subjects were collected, and the levels of serum Beclin1 and LC3-II were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The correlation between serum Beclin1 and LC3-II levels and VC related indicators in MHD patients was analyzed by Pearson method. The influencing factors of VC in MHD patients were analyzed by binary logistic regression. **Results** Compared with those in the control group, the levels of serum creatinine (SCr) ($72.48 \pm 18.26 \mu\text{mol/L}$ vs $685.30 \pm 192.42 \mu\text{mol/L}$, $733.98 \pm 206.35 \mu\text{mol/L}$), serum phosphorus ($1.28 \pm 0.42 \text{mmol/L}$ vs $2.08 \pm 0.71 \text{mmol/L}$, $2.86 \pm 0.87 \text{mmol/L}$), calcium ($1.54 \pm 0.45 \text{mmol/L}$ vs $2.46 \pm 0.62 \text{mmol/L}$, $2.98 \pm 0.77 \text{mmol/L}$), intact parathyroid hormone (iPTH) ($58.10 \pm 17.36 \text{pg/ml}$ vs $634.58 \pm 172.44 \text{pg/ml}$, $769.48 \pm 195.02 \text{pg/ml}$) in MHD without VC group and MHD with VC group increased, the differences were statistically significant ($F=100.197 \sim 500.960$, all $P < 0.05$), and the levels of hemoglobin (Hb) ($134.82 \pm 35.16 \text{g/L}$ vs $112.78 \pm 32.85 \text{g/L}$, $103.66 \pm 27.91 \text{g/L}$), Beclin1 ($8.09 \pm 2.16 \mu\text{g/L}$ vs $5.65 \pm 1.43 \mu\text{g/L}$, $2.56 \pm 0.73 \mu\text{g/L}$) and LC3-II ($45.16 \pm 5.15 \mu\text{g/L}$ vs $36.31 \pm 3.42 \mu\text{g/L}$, $27.47 \pm 2.76 \mu\text{g/L}$) in serum were decreased, the differences were statistically significant ($F=18.748 \sim 372.522$, all $P < 0.05$). Compared with those in MHD without VC group, the levels of serum phosphorus, calcium and iPTH in MHD with VC group were higher ($t=7.136 \sim 9.723$, all $P < 0.05$), and the levels of serum Beclin1 and LC3-II were lower ($t=16.605, 18.982$, all $P < 0.05$). The levels of Beclin1 ($4.35 \pm 0.71 \mu\text{g/L}$ vs $3.49 \pm 0.57 \mu\text{g/L}$, $1.91 \pm 0.26 \mu\text{g/L}$) and LC3-II ($31.12 \pm 3.32 \mu\text{g/L}$ vs $25.65 \pm 2.62 \mu\text{g/L}$, $20.47 \pm 1.76 \mu\text{g/L}$) in mild VC group, moderate VC group and severe VC group decreased in turn, the differences were statistically significant ($F=366.298, 296.025$, all $P < 0.05$). The serum Beclin1 level was negatively correlated with serum phosphorus, calcium and iPTH in MHD patients ($r=-0.674, -0.682, -0.597$, all $P < 0.05$). The level of serum LC3-II was negatively correlated with serum phosphorus, calcium and iPTH ($r=-0.648, -0.703, -0.674$, all $P < 0.05$). Binary logistic regression analysis showed that low levels of Beclin1 and LC3-II were risk factors for VC in MHD patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of Beclin1 and LC3-II in MHD patients with VC were decreased, they were related to the severity of VC, which are risk factors for the occurrence of VC in MHD patients, and may be potential biomarker for predicting VC in MHD patients.

Keywords: maintenance hemodialysis; Beclin1; microtubule associated protein 1 light chain 3-II; vascular calcification

慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 是一种慢性肾功能障碍或肾脏结构异常疾病, 如不能及时治疗, 可能会发展为不可逆转的终末期肾脏病 (end stage renal disease, ESRD) [1]。目前 ESRD 主要以维持性血液透析 (maintenance hemodialysis, MHD) 进行治疗, 但 MHD 会导致血管钙化 (vascular calcification, VC) 等多种并发症的出现。因此, 探究 MHD 患者 VC 发病影响因素可能对防止 MHD 患者出现 VC 具有重要意义。自噬是真核细胞中一种普遍而又重要的生命现象, 在维持细胞稳态和细胞生命活动等方面具有重要作用 [2]。Beclin1 是形成自噬的必需分子, 可介导自噬相关蛋白定位于吞噬泡, 并与多种蛋白反应调控自噬体形成与成熟 [3]。彭娜等 [4] 研究发现, Beclin1 水平降低参与糖尿病肾脏疾病的发生、发展过程。另一个广泛应用的自噬标志物是微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule associated protein 1 light chain 3, LC3), 其以细胞溶质 LC3-I 的形式存在并转化为 LC3-II, 主要插入分离膜和自噬体, LC3-II 的数量与自噬体的数量密切相关 [5]。但 Beclin1 和 LC3-II 与 VC 的关系尚不清楚。因此, 本研究通过检测 MHD 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 表达水平, 探究其与 VC 的相关性, 期望为临床防治 MHD 患者发生 VC 提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2017 年 4 月~2020 年 9 月三河

市燕郊人民医院收治的 MHD 患者 145 例作为研究对象, MHD 超过 6 个月。MHD 患者透析液钙离子浓度均为 1.25mmol/L 。根据是否发生 VC, 将患者分为 MHD 未并发 VC 组 ($n=75$) 和 MHD 并发 VC 组 ($n=70$)。MHD 未并发 VC 组男性 45 例, 女性 30 例; 年龄 35~76 岁, 平均年龄 56.78 ± 10.62 岁; 体质指数 (body mass index, BMI) $19 \sim 25 \text{kg/m}^2$, 平均 BMI $22.48 \pm 2.36 \text{kg/m}^2$; MHD 时长为 35.12 ± 10.35 个月; 吸烟史 15 例, 糖尿病史 19 例, 高血压史 43 例; 原发病: 慢性肾小球肾炎 27 例, 糖尿病肾病 23 例, 高血压肾病 10 例, 多囊肾 6 例, 其他 9 例; 碳酸钙使用史 26 例。MHD 并发 VC 组男性 36 例, 女性 34 例; 年龄 34~72 岁, 平均年龄 53.67 ± 10.15 岁; BMI 为 $19 \sim 25 \text{kg/m}^2$, 平均 BMI $22.18 \pm 2.42 \text{kg/m}^2$; MHD 时长为 35.81 ± 11.37 个月; 吸烟史 17 例, 糖尿病史 22 例, 高血压史 48 例; 原发病: 慢性肾小球肾炎 20 例, 糖尿病肾病 26 例, 高血压肾病 11 例, 多囊肾 3 例, 其他 10 例; 碳酸钙使用史 32 例。另选取同期在本院进行体检的健康人 80 例作为对照组。其中男性 43 例, 女性 37 例; 年龄 32~75 岁, 平均年龄 56.18 ± 10.22 岁; BMI 为 $19 \sim 25 \text{kg/m}^2$, 平均 BMI $22.48 \pm 2.13 \text{kg/m}^2$; 吸烟史 11 例。MHD 未并发 VC 组和 MHD 并发 VC 组 MHD 时长、糖尿病史、高血压史、原发病、碳酸钙使用史比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 三

组受试者性别、年龄、BMI、吸烟史比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁,意识清楚,能配合完成试验;②规律性血液透析时间 > 6 个月,病情稳定;③无急性心脑血管疾病、肝脏疾病史;④患者病历资料完整,有完整随访记录。排除标准:①伴有急性肾功能衰竭;②每周行血液透析少于2次;③严重的精神障碍和恶性肿瘤患者;④并发自身免疫性疾病的患者,如系统性红斑狼疮等。本研究受试者及其家属签署知情同意书,且经医院伦理委员会批准通过。

1.2 仪器与试剂 Beclin1 和 LC3-II 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(广州市超博科技有限公司,货号 MM-13158H1, MM-12660H1);医用离心机(北京时代北利离心机械有限公司,型号 DT5-6);全自动生化分析仪(购自上海朗信投资股份有限公司,型号 Cobasc 701)。

1.3 方法

1.3.1 实验室指标:收集受试者血小板计数(platelet count, PLT)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、清蛋白(calbumin, ALB)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglycerides, TG)、血清尿素氮(urea nitrogen, BUN)、血清肌酐(serum creatinine, SCr)、尿酸(uric acid, UA)、血磷、血钙、全段甲状旁腺激素(intact parathyroid hormone, iPTH)等实验室指标。

1.3.2 样品采集及保存:对照组于体检时,MHD患者于血液透析前,经肘静脉穿刺抽取清晨空腹外周血3 ml,静置30 min,室温3 000 r/min离心15 min,吸取上清液即血清,装入EP管中,置于 -80°C 冰箱保存备用。

1.3.3 VC的评估:首先对患者行骨盆平片、双手正位及腰椎侧位X线检测,骨盆平片以双侧股骨头水

平线和脊柱中线分为4个部分,双手正位片以掌骨上方做水平分隔分为4个部分,腰椎侧位片以腰2、腰3椎间隙分界将腹主动脉分为上下部分,共计10个部分。请两位放射科高年资医师盲法、单独进行评估,有分歧时请第3位医师重新评估,每个部分根据有无VC分别记0或1分,最终取平均值。依据总分对VC进行分级:轻度VC(1~3分),中度VC(4~6分),重度VC(7~10分)^[6]。根据VC评估结果将MHD并发VC患者分为轻度VC组($n=36$)、中度VC组($n=24$)、重度VC组($n=10$)。

1.3.4 ELISA法检测受试者血清Beclin1和LC3-II水平:应用ELISA法检测受试者血清Beclin1和LC3-II水平,操作方法严格按照产品说明书进行,批内及批间分析变异系数分别 $< 10\%$,所有样本设3个复孔。

1.4 统计学分析 利用SPSS 25.0进行统计学分析,计量资料均符合正态分布,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较行SNK- q 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。Pearson法分析MHD患者血清Beclin1和LC3-II水平与VC相关指标的相关性。二元logistic回归分析MHD患者发生VC的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者实验室指标的比较 见表1。三组间PLT, ALB, FIB, TC, TG, BUN, UA水平差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);与对照组相比,MHD未并发VC组和MHD并发VC组Hb水平降低($t=6.008, 8.342$,均 $P < 0.05$),SCr($t=33.638, 35.659$,均 $P < 0.05$),血磷($t=10.311, 19.999$,均 $P < 0.05$),血钙($t=13.055, 20.067$,均 $P < 0.05$)及iPTH水平($t=34.423, 41.595$,均 $P < 0.05$)升高;与MHD未并发VC组相比,MHD并发VC组血磷、血钙及iPTH水平升高($t=9.723, 7.136, 7.768$,均 $P < 0.05$),差异均有统计学意义。

表1 受试者实验室指标的比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组($n=80$)	MHD未并发VC组($n=75$)	MHD并发VC组($n=70$)	F值	P值
PLT($\times 10^9/L$)	172.49 \pm 62.43	165.88 \pm 56.41	163.82 \pm 59.89	0.440	0.645
Hb(g/L)	134.82 \pm 35.16	112.78 \pm 32.85	103.66 \pm 27.91	18.748	0.000
清蛋白(g/L)	41.02 \pm 6.03	39.45 \pm 6.22	38.72 \pm 6.14	2.794	0.063
纤维蛋白原(g/L)	4.21 \pm 1.86	4.53 \pm 1.78	4.61 \pm 1.89	1.010	0.366
TC(mmol/L)	4.58 \pm 0.89	4.75 \pm 0.96	4.82 \pm 0.97	1.315	0.271
TG(mmol/L)	1.79 \pm 0.41	1.86 \pm 0.42	1.89 \pm 0.45	1.103	0.334
BUN(mmol/L)	4.84 \pm 0.92	4.91 \pm 0.91	4.96 \pm 0.95	0.319	0.727
SCr($\mu\text{mol/L}$)	72.48 \pm 18.26	685.30 \pm 192.42	733.98 \pm 206.35	407.880	0.000
UA($\mu\text{mol/L}$)	366.48 \pm 92.41	372.54 \pm 91.52	376.59 \pm 93.47	0.229	0.796
血磷(mmol/L)	1.28 \pm 0.42	2.08 \pm 0.71	2.86 \pm 0.87	100.197	0.000
血钙(mmol/L)	1.54 \pm 0.45	2.46 \pm 0.62	2.98 \pm 0.77	104.675	0.000
iPTH(pg/ml)	58.10 \pm 17.36	634.58 \pm 172.44	769.48 \pm 195.02	500.960	0.000

2.2 受试者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平的比较见表2。与对照组比较, MHD 未并发 VC 组, MHD 并发 VC 组血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低 ($t=13.5558, 19.649, 30.176, 38.572$, 均 $P < 0.05$)。

表2 受试者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组 ($n=80$)	MHD 未并发 VC 组 ($n=75$)	MHD 并发 VC 组 ($n=70$)	F 值	P 值
Beclin1 ($\mu\text{g/L}$)	8.09 ± 2.16	5.65 ± 1.43	2.56 ± 0.73	227.848	0.000
LC3-II ($\mu\text{g/L}$)	45.16 ± 5.15	36.31 ± 3.42	27.47 ± 2.76	372.522	0.000

2.3 不同程度 VC 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平比较 见表3。与轻度 VC 组比较, 中、重度 VC 组血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低 ($t=7.448, 10.106, 15.579, 14.426$, 均 $P < 0.05$) ; 与中度 VC

表3 不同程度 VC 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	轻度 VC 组 ($n=36$)	中度 VC 组 ($n=24$)	重度 VC 组 ($n=10$)	F 值	P 值
Beclin1 ($\mu\text{g/L}$)	4.35 ± 0.71	3.49 ± 0.57	1.91 ± 0.26	366.298	0.000
LC3-II ($\mu\text{g/L}$)	31.12 ± 3.32	25.65 ± 2.62	20.47 ± 1.76	296.025	0.000

2.4 MHD 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平与 VC 相关指标的相关性 MHD 患者血清 Beclin1 水平与血磷、血钙及 iPTH 均呈负相关 ($r=-0.674, -0.682, -0.597$, 均 $P=0.000$) ; 血清 LC3-II 水平与血磷、血钙及 iPTH 也呈负相关 ($r=-0.648, -0.703, -0.674$, 均 $P=0.000$)。

2.5 二元 Logistic 回归分析 MHD 患者发生 VC 的

表4 二元 Logistic 回归分析 MHD 患者发生 VC 的影响因素

类别	β	SE	wald	P	OR	95%CI
血磷	0.226	0.213	1.121	0.289	1.253	0.825 ~ 1.902
血钙	0.305	0.218	1.961	0.161	1.357	0.885 ~ 2.080
iPTH	0.235	0.226	1.082	0.298	1.265	0.812 ~ 1.700
Beclin1	0.862	0.113	58.140	0.000	2.367	1.897 ~ 2.954
LC3-II	0.931	0.137	46.218	0.000	2.538	1.940 ~ 3.320

3 讨论

心血管疾病是 ESRD 患者死亡的主要原因^[7], VC 是公认的心血管风险增加的标志物, 尤其是在 CKD 患者中^[8]。VC 是指血管系统中以磷酸钙复合物形式存在的矿物质沉积^[9], 虽然其被认为是正常衰老过程的一部分, 但某些病理过程, 如糖尿病、高血压及 CKD 等疾病, 也可能导致这种情况。在过去的几十年里, 人们对 VC 进行了广泛的研究, 发现 VC 的发病机制不仅是高磷高钙环境的结果, 而且是通过精细而有序的生物过程发生的, 包括骨软骨生成信号和抗钙化事件之间的不平衡^[10]。钙稳态失调是发生 VC 的先决条件, 本研究结果显示, MHD 未并发 VC 组和 MHD 并发 VC 组 SCr, 血磷、血钙及 iPTH 水平均高于对照组, 且 MHD 并发 VC 组血磷、血钙及 iPTH 水平进一步升高。

与 MHD 未并发 VC 组比较, MHD 并发 VC 组血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低 ($t=16.605, 18.982$, 均 $P < 0.05$) , 差异均有统计学意义。

组比较, 重度 VC 组血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低 ($t=9.581, 6.625$, 均 $P < 0.05$) , 差异均有统计学意义。

影响因素 见表4。以 MHD 患者是否出现 VC 为因变量, 以 MHD 患者血磷、血钙, iPTH, Beclin1 和 LC3-II 水平为自变量, 进行二元 logistic 回归分析发现, 血磷、血钙及 iPTH 既不是保护因素也不是危险因素 ($P > 0.05$) , Beclin1 和 LC3-II 水平偏低是 MHD 患者发生 VC 的危险因素 ($P < 0.05$)。

提示血钙失衡与 VC 密切相关。此外, 微细胞器功能障碍导致的防御机制丧失, 包括线粒体氧化应激、自噬或有丝分裂缺陷以及内质网应激等, 都可能与 VC 有关^[11]。近年来, 越来越多的研究认为, 自噬增加可能有助于保护 MHD 患者免于 VC 导致的心血管疾病。因此, 本研究旨在探究自噬相关蛋白水平的变化与 MHD 患者 VC 之间的关系, 探究其相关性, 为临床防治 VC 提供思路。

自噬是一种高度保守的细胞过程, 主要作用是清除和降解自身受损的细胞器以及多余的生物大分子, 利用降解产物提供能量和重建细胞结构, 对于维持机体细胞正常功能具有重要作用^[12-13]。自噬的过程受到几个高度保守的 ATG 基因的严格调控, HE 等^[14]报道, 补骨脂二氢黄酮可增加人主动脉平滑肌细胞 (human aortic smooth muscle cells,

HASMCs) 中 LC3-II 和 Beclin1 表达, 提高自噬水平进而抑制 HASMCs 钙化。邱小波等^[15]发现虫草菌液能够减轻血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的钙化, 使高磷环境中的 VSMC 自噬体, LC3-II 和 Beclin1 蛋白表达增加, 其机制可能是通过增强自噬实现的。Beclin1 是酵母自噬基因 6 (autophagy-related gene 6, ATG6) 的同源基因, 蛋白分子量为 60 KDa, 含有 450 个氨基酸序列, 是自噬活性的控制因子^[16-17]。彭娜等^[4]研究报道, 血清 Beclin1 水平由高至低依次为健康对照组、尿清蛋白正常组、微量清蛋白尿组、大量清蛋白尿组, 提示在糖尿病肾脏疾病发展过程中存在细胞自噬反应。本研究结果显示, 对照组血清 Beclin1 水平最高, 其次为 MHD 未并发 VC 组, MHD 并发 VC 患者血清 Beclin1 水平最低, 且轻度、中度、重度 VC 组血清 Beclin1 水平依次降低, 与彭娜等^[4]研究结果相似, 提示 MHD 患者 VC 的发生、发展可能与细胞自噬有关。

LC3-II 是 LC3 的膜结合形式, 可结合在自噬体膜上, 是自噬的标记蛋白, 其表达水平可反映自噬水平的高低^[18]。研究发现, 血管平滑肌细胞在环孢素的作用下会发生钙化, 细胞内 LC3-II 水平下降, 经褪黑素治疗后 LC3-II 水平升高, 其作用机制可能与 LC3-II 介导的自噬有关^[19]。刘成等^[20]研究发现, 脓毒症外周血淋巴细胞 LC3 mRNA 的相对表达量较健康者低, 其可作为判断普通感染与脓毒症的生物学指标。本研究结果发现, MHD 未并发 VC 组和 MHD 并发 VC 组血清 LC3-II 水平均低于对照组, 其中 MHD 并发 VC 患者血清 LC3-II 水平降低更明显, 与刘成等^[20]研究类似, 提示血清 LC3-II 水平降低可能与 MHD 并发 VC 有关。本研究还发现, 血清 LC3-II 水平与 VC 严重程度有关, 轻度、中度、重度 VC 组血清 LC3-II 水平依次降低, 检测其水平可能有利于评估 MHD 患者 VC 的严重程度。经 Pearson 法分析发现, 血清 Beclin1 和 LC3-II 水平与血磷、血钙及 iPTH 均呈负相关。研究显示, 自噬是 VSMC 防止 MHD 钙化的内源性反应, 雷帕霉素被发现可保护细胞和 MHD 介导的钙化小鼠, 可能与激活 LC3-II 介导的自噬有关^[21]。本研究经二元 logistic 回归分析发现, Beclin1 和 LC3-II 水平偏低是 MHD 患者发生 VC 的危险因素。提示 MHD 并发 VC 患者机体自噬水平降低, VC 严重程度升高, 二者与 VC 的发生、发展密切相关。

综上所述, MHD 并发 VC 患者血清 Beclin1 和 LC3-II 水平降低, 与 VC 严重程度有关, 是 MHD 患者发生 VC 的危险因素, 检测血清 Beclin1 和 LC3-II 水平可能有利于预测 MHD 患者 VC 发生风

险, 同时对评估 VC 的严重程度有帮助。但 MHD 患者发生 VC 与多种因素有关, 自噬也受到炎症水平的影响, 本研究存在未结合炎症相关因子进行检测的不足, 血清 Beclin1 和 LC3-II 的水平与 MHD 患者发生 VC 的关系有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 冯琴, 尚小玲, 李智, 等. 慢性肾脏疾病晚期患者的尿代谢组学特征分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1):93-96.
FENG Qin, SHANG Xiaoling, LI Zhi, et al. Feature analysis of urinary metabolism in advanced chronic kidney disease [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(1):93-96.
- [2] 杨艳艳, 韩锦, 桂保松, 等. CaSR/自噬信号轴介导枸橼酸二乙酯抑制慢性肾脏病血管钙化 [J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2020, 41(5):701-705.
YANG Yanyan, HAN Jin, GUI Baosong, et al. Diethyl citrate inhibits vascular calcification in chronic kidney disease by CaSR/autophagy signaling axis [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University(Medical Sciences), 2020, 41(5):701-705.
- [3] QIN Xiang, LU Aimei, KE Meilin, et al. DJ-1 inhibits autophagy activity of prostate cancer cells by repressing JNK-Bcl2-Beclin1 signaling[J]. Cell Biology International, 2020, 44(4): 937-946.
- [4] 彭娜, 胡泽昆, 胡大军. 自噬相关分子 Beclin1 和 LC3 在糖尿病肾脏疾病患者血清中的表达及意义 [J]. 临床肾脏病杂志, 2018, 18(7):417-420.
PENG Na, HU Zekun, HU Dajun. Expression of Beclin1 and LC3 in diabetic kidney disease and significance [J]. Journal of Clinical Nephrology, 2018, 18(7):417-420.
- [5] 张欣, 王瑞元. 大负荷运动诱导大鼠骨骼肌损伤对其自噬超微结构及 Beclin1 和 LC3- II / I 的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2020, 36(4):296-300, 后插 1.
ZHANG Xin, WANG Ruiyuan. Effects of high-load exercise induced skeletal muscle injury on autophagy ultrastructure and Beclin1 and LC3- II / I in rats [J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2020, 36(4):296-300, after insert 3.
- [6] 石现军, 武黎平, 王兆成, 等. 维持性血液透析患者血清 miR-26 a, IGF-1 表达与血管钙化的关系 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2019, 20(10):888-890.
SHI Xianjun, WU Liping, WANG Zhaocheng, et al. Relationship between serum miR-26 a, IGF-1 expression and vascular calcification in maintenance hemodialysis patients[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2019, 20(10):888-890.
- [7] XIONG Jiachuan, HE Ting, WANG Min, et al. Serum magnesium, mortality, and cardiovascular disease in chronic kidney disease and end-stage renal disease patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Nephrology, 2019, 32(5): 791-802.
- [8] CHOI S R, LEE Y K, CHO A J, et al. Malnutrition, inflammation, progression of vascular calcification and survival: Inter-relationships in hemodialysis patients[J]. PLoS One, 2019, 14(5): e0216415. (下转第 152 页)