

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.07.009

文章编号: 1005-8982(2020)07-0042-06

FGF-21、MIP-2 在特发性肺纤维化中的 变化及临床意义*

丁秀秀, 谢甜, 黄奕江

(海南省人民医院 呼吸与危重症医学科, 海南 海口 570311)

摘要: **目的** 研究成纤维细胞生长因子 21 (FGF-21)、巨噬细胞炎性蛋白 2 (MIP-2) 在特发性肺纤维化中的变化及其临床意义。**方法** 选取 2013 年 12 月—2018 年 12 月海南省人民医院确诊的特发性肺纤维化患者 80 例, 取患者肺纤维化组织为研究对象, 取肺旁正常组织作为对照, Western blotting 检测 FGF-21 和 MIP-2 蛋白的相对表达量, 逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 FGF-21 mRNA 和 MIP-2 mRNA 的表达水平。比较两组 FGF-21 和 MIP-2 蛋白和 mRNA 的表达水平及其与临床病理特征的关系。利用条件 Logistic 回归分析特发性肺纤维化的相关因素, 利用 Cox 回归分析特发性肺纤维化患者临床预后的相关因素。**结果** 特发性肺纤维化组织 FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 及其蛋白的表达均较正常组织升高 ($P < 0.05$); FGF-21 mRNA 和 MIP-2 mRNA 的表达与患者年龄、性别、吸烟、BMI 和病程无关 ($P > 0.05$)。条件 Logistic 回归分析模型结果表明, 特发性肺纤维化的发生与 FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 呈正相关 ($P < 0.05$); Cox 回归分析结果显示, FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 的高表达是影响特发性肺纤维化患者临床预后的独立危险因素。**结论** FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 的高表达是特发性肺纤维化发生的相关因素, 并与临床预后相关。

关键词: 特发性肺纤维化; 成纤维细胞生长因子 21; 巨噬细胞炎性蛋白 2

中图分类号: R563

文献标识码: A

Study of changes and clinical significance of FGF-21 and MIP-2 in idiopathic pulmonary fibrosis*

Xiu-xiu Ding, Tian Xie, Yi-jiang Huang

(Department of Respiratory and Critical Medical, Hainan General Hospital,
Haikou, Hainan 570311, China)

Abstract: Objective To investigate the changes and clinical significance of FGF-21 and MIP-2 in idiopathic pulmonary fibrosis. **Methods** Eighty patients with idiopathic pulmonary fibrosis in our hospital from December 2013 to December 2018 were selected as the research objects. The pulmonary fibrosis tissue of the patients was taken as the research object, and the adjacent normal tissue was taken as the control. The levels of FGF-21 and MIP-2 were determined by Western blotting, while the levels of FGF-21 and MIP-2 mRNA were determined by RT-PCR. The relationship between pathologic feature and FGF-21 mRNA, MIP-2 mRNA between the two groups was compared. The related factors of idiopathic pulmonary fibrosis were analyzed by Logistic Regression analysis. The related factors of clinical prognosis of patients with idiopathic pulmonary fibrosis were analyzed by COX regression analysis. **Results** The levels of FGF-21 mRNA, MIP-2 mRNA of pulmonary fibrosis tissue were higher than those of normal tissue ($P < 0.05$). There was no relationship between FGF-21 mRNA, MIP-2 mRNA and age, gender, smoking, BMI as well as disease courses ($P > 0.05$). There was positive relationship between idiopathic pulmonary fibrosis and FGF-21

收稿日期: 2019-10-11

* 基金项目: 2019 年海南省自然科学基金青年基金项目 (No: 819QN354)

mRNA, MIP-2 mRNA ($P < 0.05$) analyzed by Logistic Regression analysis. The high expression levels of FGF-21 mRNA and MIP-2 mRNA were independent factors affecting the clinical prognosis of patients with idiopathic pulmonary fibrosis analyzed by COX regression analysis. **Conclusions** The high expression levels of FGF-21 mRNA and MIP-2 mRNA are related factors in the occurrence of idiopathic pulmonary fibrosis, and are associated with clinical prognosis.

Keywords: idiopathic pulmonary fibrosis; fibroblast growth factor 21; macrophage inflammatory protein 2

特发性肺纤维化是一种慢性间质性肺病, 其发病率、致死率均较高, 严重威胁患者生命安全^[1-2]。该病影像学下可见肺基底部斑片状、网格状玻璃影, 支气管牵拉或扩张, 严重者可发生蜂窝状改变^[3]; 临床主要表现为咳嗽、呼吸困难, 严重者可发生呼吸衰竭, 甚至死亡^[4-5]。目前, 关于特发性肺纤维化的发病机制尚未明确, 因此, 寻找其发病原因有利于早期预防、早期干预, 对特发性肺纤维化具有重要临床意义。

氧化应激反应时, 活性氧簇大量产生, 而纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor-21, FGF-21) 可抑制活性氧簇从而抑制一系列应激反应^[6]。相关研究发现, FGF-21 与肾纤维化具有相关性^[7]。但目前关于 FGF-21 在特发性肺纤维化中的变化及其临床意义研究甚少。巨噬细胞炎性蛋白 2 (macrophage inflammatory protein-2, MIP-2) 是肺泡巨噬细胞以及呼吸道上皮细胞分泌的蛋白质产物, 部分研究发现, MIP-2 在博来霉素致肺纤维化中起重要作用^[8], 但目前关于 MIP-2 在特发性肺纤维化中变化的研究较少。因此, 本研究通过检测特发性肺纤维化患者中肺组织 FGF-21、MIP-2 的表达的变化, 研究两者在特发性肺纤维化中的作用及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

根据《特发性肺纤维化诊断和治疗中国专家共识》特发性肺纤维化的诊断标准^[2], 选取 2013 年 12 月—2018 年 12 月海南省人民医院确诊的特发性肺纤维化患者 80 例。其中, 男性 43 例, 女性 37 例; 年龄 50 ~ 80 岁, 平均 (69.73 ± 5.67) 岁。

排除标准: ①其他呼吸系统疾病, 如慢性阻塞性肺疾病、肺气肿、哮喘、肺炎、肺栓塞、肺结核、肺梗死等; ②恶性肿瘤患者; ③合并其他急重症, 如急性脑卒中、心脏病、休克、脑梗死、肝肾疾病、急性冠状动脉综合征者; ④近期接受免疫抑制剂治疗的患者。

1.2 主要仪器与试剂

FGF-21 及 MIP-2 酶联免疫吸附检测 (ELISA) 试剂盒 (上海恒远生物科技有限公司), PFT System 肺功能仪、飞利浦彩色多普勒超声诊断仪 (苏州 Philips 有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 组织标本采集 取距病灶边缘 <1 cm 肺组织且经病理学检查证实为特发性肺纤维化为研究对象; 取超过肺纤维化边缘 >2 cm 的肺旁组织为对照。于离体 10 min 内迅速投入液氮中保存。

1.3.2 检测方法 Western blotting 检测 FGF-21、MIP-2 蛋白水平, 取 0.1 g 特发性肺纤维化组织及肺旁正常组织, 匀浆后抽提总蛋白。用 BCA 蛋白浓度试剂盒检测蛋白含量。取 20 μg 蛋白行 10% SDS-PAGE 后转聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 分别加入抗相应抗体后于 4℃ 孵育过夜。使用 TBST 洗膜 3 次, 加入 II 抗余室温孵育 1 h, 使用 TBST 再次洗膜 3 次, ECL 发光自显影。分别以 FGF-21、MIP-2 蛋白条带密度与 GAPDH 条带吸光度比值表示 FGF-21、MIP-2 蛋白的相对表达量。

逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 FGF-21 mRNA 和 MIP-2 mRNA 的表达水平, 采用 Trizol 法抽提特发性肺纤维化组织及肺旁正常组织中的总 RNA: 取各标本组织 50 mg, 在组织标本中加入 1 ml Trizol 研磨至均质, 吸取匀浆液 1.5 ml 至 EP 管中, 加入氯仿离心后取上清液, 加入等量异丙醇, 离心后取沉淀物, 75% 乙醇洗涤后加入 RNase-Free H₂O₂ 溶解 RNA, 适当稀释后用紫外分光光度计在 260 和 280 nm 波长处测定 RNA 纯度, 控制 RNA A260/A280 纯度一致。使用 PrimeScript[®] RT Master 试剂盒, 按照说明书进行操作, 加样后行 RT-PCR, 使 RNA 逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板, GAPDH 为内参, 采用实时荧光定量聚合酶链反应, 严格按照试剂盒说明书进行 PCR 反应。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用配对 *t* 检验或方差分析; 利用条件 Logistic 回归分析特发性肺纤维化的相关因素, 利用 Cox 回归分析特发性肺纤维化患者临床预后的相关因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 特发性肺纤维化组织及肺旁正常组织 FGF-21 和 MIP-2 mRNA 及蛋白的表达

特发性肺纤维化组织中 FGF-21 和 MIP-2 mRNA 及蛋白的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 特发性

肺纤维化组织较肺旁正常组织升高。见表 1 和图 1、2。

2.2 特发性肺纤维化组织 FGF-21 mRNA 和 MIP-2 mRNA 的表达与临床病理特征的关系

FGF-21 mRNA 和 MIP-2 mRNA 的表达水平与患者性别、年龄、吸烟、BMI 和病程无关 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 特发性肺纤维化相关因素的条件 Logistic 回归分析

将特发性肺纤维化作为因变量 (肺纤维化组织赋值 =1; 肺旁正常组织赋值 =0), 将 FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 作为自变量, 构建 Logistic 回归分析模型, 结果表明, 特发性肺纤维化的发生与 FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 正常组织及特发性肺纤维化组织 FGF-21、MIP-2 mRNA 和蛋白的表达 ($n=80, \bar{x} \pm s$)

组别	FGF-21 mRNA	MIP-2 mRNA	FGF-21 蛋白	MIP-2 蛋白
特发性肺纤维化组织	3.06 ± 0.46	23.48 ± 1.44	2.78 ± 0.53	18.36 ± 1.21
肺旁正常组织	2.10 ± 0.35	16.20 ± 1.27	2.42 ± 0.49	13.85 ± 1.33
<i>t</i> 值	14.855	33.913	4.461	22.435
<i>P</i> 值	0.001	0.001	0.001	0.001

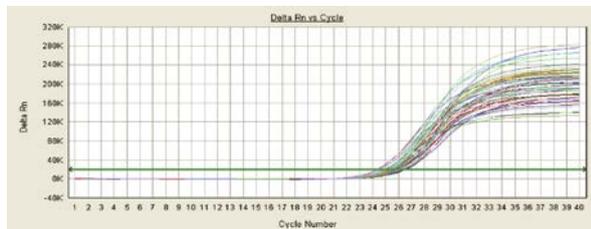


图 1 PCR 原始数据图

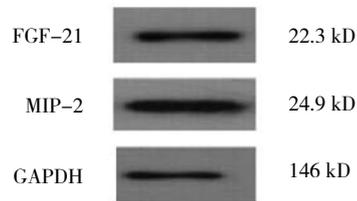


图 2 FGF-21、MIP-2、GAPDH 蛋白表达

表 2 FGF-21 mRNA 和 MIP-2 mRNA 表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	<i>n</i>	FGF-21 mRNA 表达水平	<i>t</i> / <i>F</i> 值	<i>P</i> 值	MIP-2 mRNA 表达水平	<i>t</i> / <i>F</i> 值	<i>P</i> 值
性别							
男性	56	3.16 ± 0.44	1.460	0.158	23.76 ± 1.52	1.147	0.263
女性	24	3.00 ± 0.47			23.34 ± 1.45		
年龄							
≤ 60 岁	43	3.09 ± 0.41	0.813	0.421	24.10 ± 1.56	0.357	0.723
>60 岁	37	3.01 ± 0.47			23.98 ± 1.42		
吸烟							
是	25	3.14 ± 0.41	1.117	0.268	23.96 ± 1.55	1.532	0.131
否	55	3.02 ± 0.46			23.42 ± 1.42		

续表 2

临床病理特征	<i>n</i>	FGF-21 mRNA 表达水平	<i>t</i> / <i>F</i> 值	<i>P</i> 值	MIP-2 mRNA 表达水平	<i>t</i> / <i>F</i> 值	<i>P</i> 值
BMI							
<18.5 kg/m ²	20	3.09 ± 0.43			23.92 ± 1.43		
18.5 ~ <25 kg/m ²	23	2.99 ± 0.45	0.285	0.753	23.68 ± 1.46	0.357	0.701
≥ 25 kg/m ²	37	3.05 ± 0.44			23.75 ± 1.51		
病程							
1 年	32	3.01 ± 0.41			23.88 ± 1.42		
2 年	26	3.06 ± 0.49	0.418	0.660	23.67 ± 1.46	0.929	0.399
3 年以上	22	3.12 ± 0.40			23.34 ± 1.41		

2.4 特发性肺纤维化预后的 Cox 回归分析

将患者的结局变量作为分类变量(生存赋值=1, 死亡赋值=0), 将患者的生存时间作为连续变量, 将性别、年龄、BMI、吸烟史、病程、FGF-21 mRNA、

MIP-2 mRNA 作为自变量, 构建 Cox 回归分析模型, 结果显示, FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 的高表达水平是影响特发性肺纤维化患者临床预后的独立危险因素, 见表 4。

表 3 特发性肺纤维化相关因素的 Logistic 回归分析参数

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	\hat{OR}	95% CI	
						下限	上限
FGF-21 mRNA	0.352	0.124	2.352	0.031	1.321	-0.120	1.932
MIP-2 mRNA	0.256	0.052	2.036	0.042	1.296	-0.415	2.825

表 4 特发性肺纤维化患者临床预后的 Cox 回归分析参数

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	\hat{OR}	95% CI	
						下限	上限
性别	0.453	0.127	1.102	0.374	0.763	-0.012	1.032
年龄	0.264	0.438	1.326	0.246	0.426	0.003	1.095
BMI	0.227	0.128	1.428	0.524	0.384	0.002	1.621
吸烟史	0.357	0.142	1.418	0.257	0.357	-0.011	1.425
病程	0.425	0.532	1.328	0.270	0.195	-0.003	0.362
FGF-21 mRNA	0.863	0.164	2.374	0.024	1.838	-0.014	2.989
MIP-2 mRNA	0.653	0.145	2.168	0.028	1.365	0.006	2.836

3 讨论

特发性肺纤维化是一种慢性纤维化肺疾病, 并呈进行性进展。该病常见于中老年人, 临床主要表现为咳嗽、呼吸困难、呼吸衰竭、低氧血症等, 严重影响患者的生命质量和安全^[9]。但目前关于特发性肺纤维化的病因尚未明确, 给治疗带来极大限制, 因而寻找

特发性肺纤维化的病因从而对其进行早期预防、干预具有重要意义。

FGF-21 是成纤维细胞生长因子超家族中的一种, 其通过辅因子 β -Klotho 蛋白的作用与细胞表面的成纤维细胞生长因子受体结合, 形成 FGF-21- β -Klotho-FGFR 复合体而发挥生物学作用。FGF-21 功

能较多,可参与机体多种物质代谢,如葡萄糖、脂肪等,其可降低血糖、血脂,改善胰岛素抵抗及胰岛细胞功能等^[10]。相关研究表明,FGF-21参与多种疾病的发生、发展。例如,糖尿病性大血管病变、糖尿病合并颈动脉斑块的患者血清 FGF-21 水平升高^[11],发生 FGF-21 抵抗。另外,研究发现^[12-13],FGF-21 还可通过激活 Nrf2 而抑制 NF- κ B 信号通路,从而抑制巨噬细胞介导的体内炎症反应,其在关节炎的发生、发展中发挥重要作用。此外,FGF-21 还可通过抑制 APAP 而抑制氧化应激反应、抑制 IL-6、TNF- α 、C 反应蛋白的表达,以及抑制血小板的聚集和活化等。但目前关于 FGF-21 在特发性肺纤维化中是否起重要作用的研究甚少。本研究结果显示,特发性肺纤维化组织 FGF-21 mRNA 及蛋白的表达水平较肺旁正常组织升高;FGF-21 mRNA 的表达水平与患者性别、年龄、吸烟、BMI 和病程无关;条件 Logistic 回归分析模型结果表明,特发性肺纤维化的发生与 FGF-21 mRNA 呈正相关;结果表明,FGF-21 参与特发性肺纤维化的发生及发展。本研究中 Cox 回归分析结果显示,FGF-21 mRNA 的高表达水平是影响特发性肺纤维化患者临床预后的独立因素,结果表明,FGF-21 与特发性肺纤维化的预后具有重要关系。相关研究发现,发生氧化损伤时可降低机体 FGF-21 蛋白的表达量,FGF-21 蛋白与氧化应激具有相关性,使用 FGF-21 蛋白可逆转小鼠的肺纤维化症状^[15]。因此,对特发性肺纤维化患者可抑制机体 FGF-21 mRNA 的表达水平从而进行早期治疗,从而有助于改善预后。

MIP-2 蛋白是肺泡巨噬细胞分泌的蛋白产物,其具有特异性,专作用于中性粒细胞,可发挥趋化和激活作用^[15]。在炎症早期,NF- κ B 被激活并调节 MIP-2 基因的转录,机体分泌 MIP-2 增加,特异性趋化中性粒细胞及巨噬细胞的重要因子。MIP-2 参与多种疾病,如脓毒症、盆腔炎、呼吸道疾病等。相关研究表明,当呼吸道受到刺激或损害时,如吸烟、污染、细菌或病毒等,巨噬细胞、中性粒细胞可快速合成并分泌大量 MIP-2^[16]。有研究表明^[17],MIP-2 蛋白可增加相关炎症因子的合成与分泌,诱导炎症因子发生浸润,从而增加血管通透性。据报道^[18],在博来霉素致肺纤维化的大鼠中,MIP-2 升高,而地塞米松可抑制 MIP-2 的表达并降低炎症反应。但目前关于 MIP-2 与人类特发性肺纤维化的发生及发展的研究甚少。本研究结果显示,特发性肺纤维化组织 MIP-2 mRNA 的表达水平较肺旁正

常组织升高;MIP-2 mRNA 的表达水平与患者性别、年龄、吸烟、BMI 和病程无关;Logistic 回归分析模型结果表明,特发性肺纤维化的发生与 MIP-2 mRNA 呈正相关;结果表明,MIP-2 参与特发性肺纤维化的发生及发展。本研究中 Cox 回归分析结果显示,MIP-2 mRNA 的高表达水平是影响特发性肺纤维化患者临床预后的独立因素,结果表明,MIP-2 与特发性肺纤维化的预后具有重要关系。因此,对疑似特发性肺纤维化患者,可检测 MIP-2 mRNA 的表达水平从而进行诊断并早期干预。

综上所述,FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 的高表达水平是特发性肺纤维化发生的相关因素,并与临床预后相关。临床对于特发性肺纤维化患者可降低机体 FGF-21 mRNA、MIP-2 mRNA 的表达水平,从而延长患者生存时间。

参 考 文 献:

- [1] 孟泳,崔应麟,王艳梅,等. 益气养阴法对气阴两虚型特发性肺纤维化缓解期的辅助治疗效果 [J]. 山东医药, 2016, 56(29): 86-88.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会间质性肺疾病学组. 特发性肺纤维化诊断和治疗中国专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(6): 427-432.
- [3] 蔡后荣. 2011 年特发性肺纤维化诊断和治疗循证新指南解读 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2011, 10(4): 313-316.
- [4] 辛大永,冯京帅. 益气软坚消痰法提高气虚血瘀型特发性肺纤维化患者生活质量的临床研究 [J]. 世界中医药, 2016, 11(12): 2714-2716.
- [5] 任玉娇,朱雪,张伟. 益气温阳活血化痰法论治特发性肺纤维化合并肺动脉高压 [J]. 中医杂志, 2017, 58(14): 1186-1188.
- [6] PLANAVILA A, REDONDO-ANGULO I, RIBAS F, et al. Fibroblast growth factor 21 protects the heart from oxidative stress [J]. Cardiovasc Res, 2015, 106(1): 19-31.
- [7] KIM H W, LEE J E, CHA J J, et al. Fibroblast growth factor 21 improves insulin resistance and ameliorates renal injury in db/db mice [J]. Endocrinology, 2013, 154(9): 3366-3376.
- [8] 蔡珊. 巨噬细胞炎症蛋白与呼吸系统疾病 [J]. 国外医学·呼吸系统分册, 2002, 22(4): 175-177.
- [9] 江洪艳,赵勇. 特发性肺间质纤维化治疗研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(5): 910-912.
- [10] OWEN B M, DING X, MORGAN D A, et al. FGF-21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss [J]. Cell Metabolism, 2014, 20(4): 670-677.
- [11] AN S Y, SUK M, YI S A, et al. Serum fibroblast growth factor 21 was elevated in subjects with type 2 diabetes mellitus and was associated with the presence of carotid artery plaques [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 96(2): 196-203.
- [12] YU Y, LI S, LIU Y, et al. Fibroblast growth factor 21 (FGF-

- 21) ameliorates collagen-induced arthritis through modulating oxidativestress and suppressing nuclear factor-kappa B pathway[J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 25(1): 74-82.
- [13] 任桂萍, 衣春霖, 杨永碧, 等. FGF-21 对 D-gal 诱导的小鼠肝脏氧化应激及凋亡保护机制研究 [J]. *东北农业大学学报*, 2015, 46(8): 61-69.
- [14] 周森, 李风雷, 孙俊波. FGF-21 和 Nrf2 对博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(12): 2228-2232.
- [15] 刘克政, 周琼. 青少年儿童眼轴长度的影响因素的研究进展 [J]. *江西医药*, 2017, 52(6): 586-589.
- [16] 肖鸣盛, 谌小英, 况业妹. 血塞通对盆腔炎患者血清 CRP、IL-2、TNF- α 以及 MIP-2 表达水平的影响 [J]. *江西医药*, 2018, 53(10): 1122-1123.
- [17] 李静, 梅冬. 血清巨噬细胞炎性蛋白 -2 在心力衰竭合并肺部感染诊断中临床价值研究 [J]. *湖南师范大学学报 (医学版)*, 2016, 13(5): 33-36.
- [18] 孙云晖, 刘振欣, 鲍文华, 等. IL-38 及 MIP-2 在大鼠肺纤维化中的作用 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(2): 151-154.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 丁秀秀, 谢甜, 黄奕江. FGF-21、MIP-2 在特发性肺纤维化中的变化及临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(7): 42-47.