

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.13.004
文章编号: 1005-8982 (2023) 13-0020-07

结直肠疾病专题·论著

维生素D水平与溃疡性结肠炎患者TLR4/NF-κB信号通路及疾病活动度的相关性分析*

张小占, 张雯, 杨旋

(胜利油田中心医院 消化内科, 山东 东营 257034)

摘要: **目的** 研究维生素D水平与溃疡性结肠炎(UC)患者Toll样受体4(TLR4)/核因子κB(NF-κB)信号通路及疾病活动度的相关性。**方法** 选取2020年1月—2021年12月胜利油田中心医院消化内科门诊收治的100例UC患者为观察组,另选取同期该院健康体检中心50例体检正常者为对照组。比较两组的血清红细胞沉降率(ESR)、C反应蛋白(CRP)、粪便钙卫蛋白(FC)、TLR4、NF-κB、25-羟维生素D₃[25(OH)D₃];绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB、25(OH)D₃对UC的诊断价值。根据25(OH)D₃水平将观察组患者分为维生素D充足组[25(OH)D₃≥20 ng/mL]20例、维生素D不足组[10 ng/mL≤25(OH)D₃<20 ng/mL]25例及维生素D缺乏组[25(OH)D₃<10 ng/mL]55例;比较3组的ESR、CRP、FC及TLR4、NF-κB mRNA相对表达量;采用Person相关系数分析ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB与25(OH)D₃的相关性。通过改良Mayo评分评估疾病活动度,分为临床缓解组(改良Mayo评分≤2分)20例、轻度组(改良Mayo评分3~5分)32例、中度组(改良Mayo评分6~10分)33例及重度组(改良Mayo评分≥11分)15例;比较4组的ESR、CRP、FC、25(OH)D₃及TLR4、NF-κB mRNA相对表达量;采用Spearman相关系数分析ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB、25(OH)D₃与疾病活动度的相关性。**结果** 观察组ESR、CRP、FC及TLR4、NF-κB mRNA相对表达量高于对照组($P < 0.05$),25(OH)D₃水平低于对照组($P < 0.05$);ROC曲线分析结果显示,ESR≥19.814 mm/h、CRP≥10.758 mg/L、FC≥103.354 μg/g、25(OH)D₃≤18.035 ng/mL、TLR4≥1.515、NF-κB≥1.426时,其诊断UC的曲线下面积(AUC)分别为0.840(95% CI:0.769,0.910)、0.790(95% CI:0.712,0.869)、0.807(95% CI:0.729,0.885)、0.862(95% CI:0.800,0.935)、0.843(95% CI:0.776,0.910)、0.858(95% CI:0.790,0.926),敏感性分别为81.0%(95% CI:0.715,0.925)、78.0%(95% CI:0.725,0.830)、81.0%(95% CI:0.774,0.823)、85.0%(95% CI:0.704,0.937)、82.0%(95% CI:0.750,0.912)、88.0%(95% CI:0.764,0.965),特异性分别为84.0%(95% CI:0.628,0.972)、84.0%(95% CI:0.705,0.971)、82.0%(95% CI:0.659,0.864)、86.0%(95% CI:0.769,0.936)、84.0%(95% CI:0.726,0.936)、84.0%(95% CI:0.751,0.981)。维生素D充足组、维生素D不足组的ESR、CRP、FC及TLR4、NF-κB mRNA相对表达量低于维生素D缺乏组($P < 0.05$);临床缓解组、轻度组、中度组ESR、CRP、FC及TLR4、NF-κB mRNA相对表达量低于重度组($P < 0.05$),25(OH)D₃高于重度组($P < 0.05$);ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB与疾病活动度呈正相关($P < 0.05$);25(OH)D₃与疾病活动度呈负相关($P < 0.05$)。**结论** UC患者的ESR、CRP、FC、25(OH)D₃及TLR4、NF-κB表达与健康人群有显著差异,不同25(OH)D₃水平UC患者的ESR、CRP、FC及TLR4、NF-κB表达均有差异,不同疾病活动度UC患者的ESR、CRP、FC、25(OH)D₃及TLR4、NF-κB表达也存在差异。25(OH)D₃检测可用于UC患者的临床营养治疗及长期随访管理中,通过补充维生素D提升UC治疗效果。

关键词: 溃疡性结肠炎; 25-羟维生素D₃; Toll样受体4/核因子κB信号通路; 疾病活动度

中图分类号: R574.62

文献标识码: A

Correlation analysis of vitamin D level with TLR4/NF-κB signaling pathway and disease activity in patients with ulcerative colitis*

收稿日期: 2022-10-20

* 基金项目: 山东省自然科学基金(No:ZR2019MH126)

[通信作者] 杨旋, E-mail: haikui@163.com; Tel: 13589968723

Zhang Xiao-zhan, Zhang Wen, Yang Xuan

(Department of Gastroenterology, Shengli Oilfield Central Hospital, Dongying, Shandong 257034, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between vitamin D levels and toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway and disease activity in patients with ulcerative colitis (UC). **Methods** From January 2020 to December 2021, 100 patients with UC admitted to the Department of Gastroenterology Shengli Oilfield Central Hospital were selected as the observation group, and 50 patients with normal physical examination in the health examination center of the hospital during the same period were selected as the control group. The serum erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), fecal calprotectin (FC), TLR4, NF- κ B, 25-hydroxyvitamin D₃[25(OH)D₃] of the two groups were compared. Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the diagnostic value of ESR, CRP, FC, TLR4, NF- κ B, and 25(OH)D₃ for UC. According to 25(OH)D₃ levels, observation group was divided into vitamin D sufficient group [25(OH)D₃ \geq 20 ng/mL, $n = 20$], vitamin D deficiency group [10 ng/mL \leq 25(OH)D₃ < 20 ng/mL, $n = 25$] and vitamin D deficiency group [25(OH)D₃ < 10 ng/mL, $n = 55$]; the mRNA expression levels of ESR, CRP, FC, TLR4, and NF- κ B in the three groups were compared. Person correlation coefficient was used to analyze the correlation between ESR, CRP, FC, TLR4, NF- κ B, and 25(OH)D₃. Disease activity was evaluated by modified Mayo score, which was divided into clinical remission group (modified Mayo score \leq 2, $n = 20$), mild group (modified Mayo score 3 to 5, $n = 32$), moderate group (modified Mayo score 6 to 10, $n = 33$) and severe group (modified Mayo score \geq 11, $n = 15$). The mRNA expression levels of ESR, CRP, FC, 25(OH)D₃, TLR4 and NF- κ B in 4 groups were compared. Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation between ESR, CRP, FC, TLR4, NF- κ B, 25(OH)D₃ and disease activity. **Results** Observation group ESR, CRP, FC, TLR4, NF- κ B mRNA the relative expression level was higher than that of the control group ($P < 0.05$), and the level of 25(OH)D₃ was lower than that of the control group ($P < 0.05$); ROC curve analysis results showed that ESR \geq 19.814 mm/h, CRP \geq 10.758 mg/L, FC \geq 103.354 μ g/g, 25(OH)D₃ \leq 18.035 ng/mL, TLR4 \geq 1.515, NF- κ B \geq 1.426; the area under the curve (AUC) for the diagnosis of UC were 0.840 (95% CI: 0.769, 0.910), 0.790 (95% CI: 0.712, 0.869), 0.807 (95% CI: 0.729, 0.885), 0.862 (95% CI: 0.800, 0.935), 0.843 (95% CI: 0.776, 0.910), and 0.858 (95% CI: 0.790, 0.926); the sensitivity were 81.0% (95% CI: 0.715, 0.925) and 78.0% (95% CI: 0.725, 0.830), 81.0% (95% CI: 0.774, 0.823), 85.0% (95% CI: 0.704, 0.937), 82.0% (95% CI: 0.750, 0.912), 88.0% (95% CI: 0.764, 0.965); the specificity was 84.0% (95% CI: 0.628, 0.972), 84.0% (95% CI: 0.705, 0.971), 82.0% (95% CI: 0.659, 0.864), 86.0% (95% CI: 0.769, 0.936), 84.0% (95% CI: 0.726, 0.936), and 84.0% (95% CI: 0.751, 0.981). The relative expression levels of ESR, CRP, FC, TLR4, and NF- κ B mRNA in vitamin D sufficient group and vitamin D deficiency group were lower than those in vitamin D deficiency group ($P < 0.05$). The relative expression levels of ESR, CRP, FC, TLR4, and NF- κ B mRNA in clinical remission, mild and moderate groups were lower than those in severe group ($P < 0.05$), and 25(OH)D₃ was higher than those in severe group ($P < 0.05$). ESR, CRP, FC, TLR4, and NF- κ B were positively correlated with disease activity ($P < 0.05$). 25(OH)D₃ was negatively correlated with disease activity ($P < 0.05$). **Conclusion** The expressions of ESR, CRP, FC, 25(OH)D₃, TLR4, and NF- κ B in UC patients were significantly different from those of healthy people, and the expressions of ESR, CRP, FC, TLR4, and NF- κ B in UC patients with different 25(OH)D₃ levels were different. The expressions of ESR, CRP, FC, 25(OH)D₃, TLR4, and NF- κ B were also different in UC patients with different disease activity. Therefore, 25(OH)D₃ detection can be used in clinical nutritional therapy and long-term follow-up management of UC patients, and vitamin D supplementation can improve the therapeutic effect of UC.

Keywords: colitis, ulcerative; 25-hydroxyvitamin D₃; toll-like receptor 4/ nuclear factor κ B signaling pathway; disease activity

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 属于炎症性肠病, 病变范围主要位于大肠黏膜及黏膜下层, 病情迁延不愈且易反复^[1-2]。UC 发病为个体遗传易感性、环境、感染及免疫反应等多种因素作用的

结果, 其中免疫反应为 UC 病情加重的关键^[3-6]。核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 可影响白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 等炎症因子, 与炎症反应密切相关^[7]; Toll 样受体 (Toll-like receptor,

TLR)家族则在多个免疫细胞表面均有分布, Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)可通过信号传导分泌多种炎症因子^[8]。既往研究显示TLR4/NF- κ B信号通路参与UC的发病及病情进展, 且维生素D对感染和免疫反应均有重要作用^[9-10]。尽管内镜检查与活检可评估UC的疾病活动度^[11], 但因其侵入性特点导致患者接受度较差。另有研究显示维生素D作为无创检查指标, 对UC鉴别诊断及疾病活动度评估可能存在一定价值^[12]。基于此, 本研究观察UC患者的25-羟维生素D₃[25-hydroxy Vitamin D₃, 25(OH)D₃]水平与TLR4/NF- κ B信号通路及疾病活动度的关系, 以期UC的精准治疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月—2021年12月胜利油田中心医院消化内科门诊收治的100例UC患者为观察组, 另选取同期50例本院健康体检中心体检正常者为对照组。观察组男性57例, 女性43例; 年龄35~61岁, 平均(39.51±3.19)岁; 体质量指数20~29 kg/m², 平均(24.51±2.19) kg/m²。对照组男性29例, 女性21例; 年龄35~61岁, 平均(40.33±3.74)岁; 体质量指数20~29 kg/m², 平均(24.97±2.32) kg/m²。两组的性别构成、年龄、体质量指数比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准: ①观察组符合《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)》^[13]的UC诊疗标准, 对照组于本院行健康体检且与观察组无血缘关系; ②观察组未接受生物制剂治疗。排除标准: ①凝血功能异常; ②免疫系统疾病; ③合并恶性肿瘤; ④肝肾功能严重异常; ⑤妊娠或哺乳期; ⑥入院前3个月内服用过维生素制剂或接受过激素治疗; ⑦甲状旁腺功能亢进; ⑧合并克罗恩病或消化道溃疡及肠道感染; ⑨有胃肠道手术史。本研究经医院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 亚组分组 ①根据25(OH)D₃水平分组: 观察组治疗前采用酶标仪(型号: Model 680型, 美国Bio Rad公司)及英国IDS公司酶联免疫试剂盒检测患者25(OH)D₃水平。参照美国医学会标准^[14], 将患者分为维生素D充足组[25(OH)D₃≥20 ng/mL] 20例、

维生素D不足组[10 ng/mL≤25(OH)D₃<20 ng/mL] 25例及维生素D缺乏组[25(OH)D₃<10 ng/mL] 55例。

②根据疾病活动度分组: 观察组患者入院后通过改良Mayo评分^[15]评估疾病活动度, 分为临床缓解组(改良Mayo评分≤2分)20例、轻度组(改良Mayo评分3~5分)32例、中度组(改良Mayo评分6~10分)33例及重度组(改良Mayo评分≥11分)15例。

1.2.2 血清学指标及粪便钙卫蛋白(faecal calprotectin, FC)检测 观察组治疗前及对照组均取清晨静脉血8 mL, 采用美国德灵公司BN100全自动免疫分析仪检测C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP); 采用意大利Vital公司Monitor-20红细胞沉降率测定仪检测红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR), 25(OH)D₃检测方法同上。观察组及对照组入院后留取粪便样本, 采用酶联免疫吸附试验测定FC含量, 试剂盒由广州健仑生物科技有限公司提供。

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)测定TLR4、NF- κ B mRNA表达 血清样本溶解后, 3 000 r/min离心10 min, 离心法分离单个核胞, 采用TRIzol法提取血清总RNA, 通过RNA逆转录试剂盒(购自美国赛默飞世尔科技有限公司)合成cDNA, 逆转录成cDNA的反应体系为20 μ L, 反应条件: 42 $^{\circ}$ C、60 min, 70 $^{\circ}$ C、10 min, 反应结束后将样本取出, -20 $^{\circ}$ C环境下保存; 加入80 μ L ddH₂O稀释cDNA样本, 取2 μ L作模板, 设计TLR4、NF- κ B引物进行PCR扩增, 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C预变性5 min、95 $^{\circ}$ C变性30 s、55 $^{\circ}$ C或58 $^{\circ}$ C退火40 s、72 $^{\circ}$ C延伸40 s, 共35个循环, 72 $^{\circ}$ C延伸10 min, 4 $^{\circ}$ C保存。TLR4引物序列, 正向: 5'-CAACCAGAGGCACACTTGACG-3', 反向: 5'-CTGAGACTTCGTCGAAGATTA-3', 引物长度163 bp; NF- κ B引物序列, 正向: 5'-GTCTCGCTATAAGGGAAACT-3', 反向: 5'-GTCATAGATGGCTGGGTGG-3', 引物长度215 bp; 内参 β -actin引物序列, 正向: 5'-CAGCCGAACCGCTCATTGCCAATGG-3', 反向: 5'-TCACCCACACTCCCCATCTACCA-3', 引物长度265 bp。严格按照试剂盒说明书操作, 采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算TLR4、NF- κ B mRNA相对表达量, 重复计算3次, 取平均值。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 22.0统计软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 比较用方差分析, 进

一步两两比较采用 LSD-*t* 检验; 计数资料以构成比或率(%)表示, 比较用 χ^2 检验; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线; 采用 Person、Spearman 法做相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃ 比较

观察组与对照组的 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃ 比较, 经 *t* 检验, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组 ESR、CRP、FC 高于对照组, 25(OH)D₃ 低于对照组。见表 1。

表 1 两组 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃ 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ESR/ (mm/h)	CRP/ (mg/L)	FC/ (μg/g)	25(OH)D ₃ / (ng/mL)
观察组	100	28.18 ± 3.25	20.69 ± 3.11	466.65 ± 81.33	14.81 ± 6.31
对照组	50	10.11 ± 1.32	0.51 ± 0.13	36.85 ± 9.12	42.35 ± 8.44
<i>t</i> 值		37.738	45.785	39.907	22.437
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 两组 TLR4、NF-κB mRNA 相对表达量比较

观察组与对照组的 TLR4、NF-κB mRNA 相对表达量比较, 经 *t* 检验, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组高于对照组。见表 2。

2.3 血清 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃、TLR4、NF-κB 对 UC 的诊断效能

ROC 曲线分析结果显示, ESR ≥ 19.814 mm/h、CRP ≥ 10.758 mg/L、FC ≥ 103.354 μg/g、25(OH)D₃ ≤ 18.035 ng/mL、TLR4 ≥ 1.515、NF-κB ≥ 1.426 时, 其

表 3 血清 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃、TLR4、NF-κB 对 UC 的诊断效能分析

指标	最佳截断值	<i>P</i> 值	AUC	95% CI		敏感性/ %	95% CI		特异性/ %	95% CI	
				下限	上限		下限	上限		下限	上限
ESR	19.814 mm/h	0.000	0.840	0.769	0.910	81.0	0.715	0.925	84.0	0.628	0.972
CRP	10.758 mg/L	0.000	0.790	0.712	0.869	78.0	0.725	0.830	84.0	0.705	0.971
FC	103.354 μg/g	0.000	0.807	0.729	0.885	81.0	0.774	0.823	82.0	0.659	0.864
25(OH)D ₃	18.035 ng/mL	0.000	0.862	0.800	0.935	85.0	0.704	0.937	86.0	0.769	0.936
TLR4	1.515	0.000	0.843	0.776	0.910	82.0	0.750	0.912	84.0	0.726	0.936
NF-κB	1.426	0.000	0.858	0.790	0.926	88.0	0.764	0.965	84.0	0.751	0.981

2.5 不同 25(OH)D₃ 水平患者的 TLR4、NF-κB mRNA 相对表达量比较

维生素 D 充足组、维生素 D 不足组、维生素 D 缺

表 2 两组 TLR4、NF-κB mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TLR4 mRNA	NF-κB mRNA
观察组	100	1.89 ± 0.25	1.85 ± 0.21
对照组	50	1.03 ± 0.11	0.97 ± 0.03
<i>t</i> 值		23.197	29.433
<i>P</i> 值		0.000	0.000

诊断 UC 的曲线下面积(AUC)分别为 0.840、0.790、0.807、0.862、0.843 和 0.858, 敏感性分别为 81.0%、78.0%、81.0%、85.0%、82.0% 和 88.0%, 特异性分别为 84.0%、84.0%、82.0%、86.0%、84.0% 和 84.0%。见图 1 和表 3。

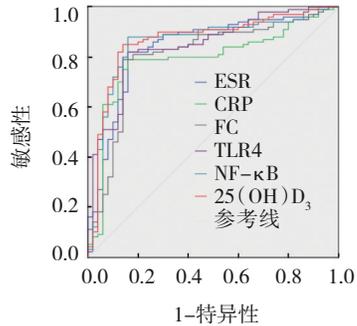


图 1 血清 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃、TLR4、NF-κB 诊断 UC 的 ROC 曲线

2.4 不同 25(OH)D₃ 水平患者的 ESR、CRP、FC 比较

维生素 D 充足组、维生素 D 不足组、维生素 D 缺乏组的 ESR、CRP、FC 比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较, 维生素 D 充足组、维生素 D 不足组的 ESR、CRP、FC 低于维生素 D 缺乏组 ($P < 0.05$)。见表 4。

乏组的 TLR4、NF-κB mRNA 相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较, 维生素 D 充足组、维生素 D 不足组的 TLR4、

表 4 不同 25(OH)D₃水平患者的 ESR、CRP、FC 比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ESR/(mm/h)	CRP/(mg/L)	FC/(μ g/g)
维生素 D 充足组	20	21.31 \pm 3.12	9.13 \pm 1.18	221.36 \pm 30.59
维生素 D 不足组	25	30.85 \pm 3.45 ^①	13.95 \pm 2.77 ^①	519.78 \pm 60.74 ^①
维生素 D 缺乏组	55	37.11 \pm 3.95 ^{①②}	29.13 \pm 4.45 ^{①②}	758.95 \pm 100.63 ^{①②}
F 值		138.131	291.188	327.530
P 值		0.000	0.000	0.000

注：①与维生素 D 充足组比较， $P < 0.05$ ；②与维生素 D 不足组比较， $P < 0.05$ 。

NF- κ B mRNA 相对表达量低于维生素 D 缺乏组 ($P < 0.05$)。见表 5。

2.6 ESR、CRP、FC、TLR4、NF- κ B 与血清 25(OH)D₃的相关性

Person 相关性分析结果显示，ESR、CRP、FC、TLR4、NF- κ B 与 25(OH)D₃ 均呈负相关 ($r = -0.582$ 、 -0.645 、 -0.517 、 -0.628 和 -0.632 ， $P = 0.014$ 、 0.000 、

表 5 不同 25(OH)D₃水平患者的 TLR4、NF- κ B mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TLR4 mRNA	NF- κ B mRNA
维生素 D 充足组	20	1.39 \pm 0.25	1.41 \pm 0.25
维生素 D 不足组	25	1.89 \pm 0.33 ^①	1.81 \pm 0.36 ^①
维生素 D 缺乏组	55	2.29 \pm 0.45 ^{①②}	2.35 \pm 0.58 ^{①②}
F 值		40.680	31.369
P 值		0.000	0.000

注：①与维生素 D 充足组比较， $P < 0.05$ ；②与维生素 D 不足组比较， $P < 0.05$ 。

0.021、0.001 和 0.000)。

2.7 不同疾病活动度患者 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃比较

临床缓解组、轻度组、中度组、重度组的 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃ 比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)；进一步两两比较，临床缓解组、轻度组、中度组 ESR、CRP、FC 低于重度组 ($P < 0.05$)，25(OH)D₃ 高于重度组 ($P < 0.05$)。见表 6。

表 6 不同疾病活动度患者 ESR、CRP、FC、TLR4、NF- κ B、25(OH)D₃比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ESR/(mm/h)	CRP/(mg/L)	FC/(μ g/g)	25(OH)D ₃ /(ng/mL)
临床缓解组	20	14.45 \pm 2.12	6.03 \pm 1.08	95.36 \pm 10.59	29.31 \pm 3.48
轻度组	32	23.85 \pm 3.11 ^①	13.88 \pm 1.77 ^①	189.42 \pm 25.14 ^①	20.25 \pm 2.61 ^①
中度组	33	39.11 \pm 3.87 ^{①②}	25.13 \pm 3.19 ^{①②}	541.38 \pm 71.89 ^{①②}	15.33 \pm 2.58 ^{①②}
重度组	15	47.58 \pm 6.69 ^{①②③}	44.15 \pm 6.13 ^{①②③}	879.48 \pm 150.33 ^{①②③}	9.16 \pm 2.08 ^{①②③}
F 值		287.342	484.019	468.648	179.571
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注：①与临床缓解组比较， $P < 0.05$ ；②与轻度组比较， $P < 0.05$ ；③与中度组比较， $P < 0.05$ 。

2.8 不同疾病活动度患者的 TLR4、NF- κ B mRNA 相对表达量比较

临床缓解组、轻度组、中度组、重度组的 TLR4、NF- κ B mRNA 相对表达量比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)；临床缓解组、轻度组、中度组 TLR4、NF- κ B mRNA 相对表达量低于重度组 ($P < 0.05$)。见表 7。

2.9 ESR、CRP、FC、TLR4、NF- κ B、25(OH)D₃与疾病活动度的相关性

Spearman 相关性分析结果显示，ESR、CRP、FC、TLR4、NF- κ B 与疾病活动度均呈正相关 ($r_s = 0.594$ 、 0.622 、 0.576 、 0.544 和 0.574 ， $P = 0.005$ 、 0.000 、

表 7 不同疾病活动度患者 TLR4、NF- κ B mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TLR4 mRNA	NF- κ B mRNA
临床缓解组	20	1.25 \pm 0.14	1.14 \pm 0.18
轻度组	32	1.53 \pm 0.27 ^①	1.52 \pm 0.29 ^①
中度组	33	1.82 \pm 0.39 ^{①②}	1.81 \pm 0.45 ^{①②}
重度组	15	2.13 \pm 0.85 ^{①②③}	2.11 \pm 0.76 ^{①②③}
F 值		14.644	17.474
P 值		0.000	0.000

注：①与临床缓解组比较， $P < 0.05$ ；②与轻度组比较， $P < 0.05$ ；③与中度组比较， $P < 0.05$ 。

0.003、0.010 和 0.009), 25(OH)D₃与疾病活动度呈负相关($r_s = -0.596, P = 0.018$)。

3 讨论

免疫异常是 UC 发病的重要因素, 不仅导致机体肠黏膜功能的紊乱, 还引发如肝功能损伤等肠外并发症^[16]。MENG 等^[17]通过动物模型研究表明 TLR4/NF-κB 信号通路可参与急性肺损伤的炎症反应中; CAO 等^[18]也发现抑制 TLR4/NF-κB 信号通路表达可减轻炎症反应; 均证实了 TLR4/NF-κB 信号通路在炎症反应中的价值。因此本研究对维生素 D 水平与 UC 患者 TLR4/NF-κB 信号通路及疾病活动度的关系加以分析。

本研究结果显示, 观察组 ESR、CRP、FC 及 TLR4、NF-κB 表达高于对照组, 25(OH)D₃水平低于对照组, 提示 UC 患者的 ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB、25(OH)D₃与健康人群有显著差异, 其原因可能为: ①ESR 为常见评估肠道炎症的指标, 其表达升高与肠黏膜损伤、肠道功能紊乱有关; CRP 为急性蛋白, 在出现炎症损伤后迅速升高; FC 耐热性强, 稳定性高, 为保护性蛋白, 在出现炎症损伤后中心粒细胞炎症浸润程度加深、面积扩大, FC 随之升高。既往的研究中李琛妮等^[19]、张予青等^[20]、BIEMANS 等^[21]均证实上述指标与 UC 的发生有关, 与本研究结果相互佐证。②TLR 家族为跨膜受体及模式识别受体, NF-κB 可改变促炎细胞因子的表达^[22], 加速炎症反应的发生与发展, 加快上皮细胞凋亡速度, TLR4 可迅速识别大肠埃希菌、肠球菌等致病菌, 激活 NF-κB 后加速炎症反应的发生。③维生素 D 作为脂溶性类固醇衍生物, 不仅可以调节钙磷代谢, 与免疫调节与抗感染有关^[23], 还影响肠黏膜的通透性及完整性, 对维持肠道菌群的稳定性有重要作用。同时薛林岩等^[24]研究发现, 感染与免疫均为 UC 发病关键, 维生素 D 则是 UC 重要环境因子, 可通过调节 T 细胞参与 UC 发病。25(OH)D₃水平较低提示患者存在维生素 D 缺乏, 炎症 T 细胞表达增多, 炎症损伤剧烈, 肠黏膜损伤随之加深, 从而导致 UC 发病。另外, 本研究 ROC 曲线分析结果证实 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃、TLR4、NF-κB 对 UC 有诊断价值。

本研究结果显示不同血清 25(OH)D₃水平 UC

患者的 ESR、CRP、FC 及 TLR4、NF-κB 表达比较, 维生素 D 充足组 < 维生素 D 不足组 < 维生素 D 缺乏组, 提示维生素 D 缺乏患者的炎症损伤剧烈, 相关性分析也证实 ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB 与 25(OH)D₃均呈负相关。杨林雪等^[25]也发现维生素 D 缺乏患者的促炎因子表达较高, 氧化应激反应剧烈, 肠道菌群更为紊乱。本研究结果显示不同疾病活动度 UC 患者的 ESR、CRP、FC 及 TLR4、NF-κB 表达比较, 临床缓解组 < 轻度组 < 中度组 < 重度组; 25(OH)D₃水平比较, 临床缓解组 > 轻度组 > 中度组 > 重度组, 提示疾病活动度与 ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB、25(OH)D₃有关。肠黏膜屏障为肠道功能正常运行的保障, 脂多糖为革兰阴性菌细胞壁中的特有成分^[26], 通过 TLR4 刺激免疫细胞。随着 UC 病情加重, 肠黏膜屏障损伤愈发严重, 肠黏膜通透性变化较大, 细菌移位程度加深, 炎症反应剧烈, 肠黏膜对脂多糖的耐受性降低, 导致 TLR4、NF-κB 大量增加。这与孙攀兴等^[27]的研究结果相互印证。本研究相关性分析结果显示, ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB 与疾病活动度呈正相关, 25(OH)D₃与疾病活动度呈负相关。王金乐等^[28]研究报道疾病活动度与 ESR、CRP、FC 有相关性, 李琰等^[29]研究也证实疾病活动度与 25(OH)D₃成反比, 均与本研究结果相符。

综上所述, UC 患者的 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃及 TLR4、NF-κB 表达与健康人群有显著差异; 同时, 不同 25(OH)D₃水平 UC 患者的 ESR、CRP、FC 及 TLR4、NF-κB 表达均有差异, 不同疾病活动度 UC 患者的 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃及 TLR4、NF-κB 表达也存在差异。25(OH)D₃检测可应用于 UC 患者的临床营养治疗及长期随访管理, 通过补充维生素 D 提升 UC 的治疗效果。本研究仍存在一定不足, 本研究仅纳入 100 例 UC 患者, 病例数较少, 且并未分析 ESR、CRP、FC、25(OH)D₃、TLR4、NF-κB 联合检测对 UC 的诊断效能, 也未探讨补充维生素 D 对 UC 患者 ESR、CRP、FC、TLR4、NF-κB 的影响, 仍需进行后续研究。

参 考 文 献 :

- [1] 郑晓金, 兰辉宇, 郭瑞芳. 174 例溃疡性结肠炎患者临床特征分析[J]. 中国实验诊断学, 2022, 26(1): 38-40.

- [2] 张阳, 王允亮, 王志斌, 等. 溃疡性结肠炎发病特点探讨[J]. 中医杂志, 2022, 63(5): 488-490.
- [3] 李晓彤, 霍丽娟. 系统免疫炎症指数与溃疡性结肠炎疾病活动度的相关性分析[J]. 国际消化病杂志, 2022, 42(5): 289-293.
- [4] NASCIMENTO R D P D, MACHADO A P D F, GALVEZ J, et al. Ulcerative colitis: gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models[J]. Life Sci, 2020, 258: 118129.
- [5] BURKE K E, KHALILI H, GARBER J J, et al. Genetic markers predict primary nonresponse and durable response to anti-tumor necrosis factor therapy in ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2018, 24(8): 1840-1848.
- [6] 陈刚, 韩宇鹏, 鲍秀琦, 等. 溃疡性结肠炎患者 FUT3 基因多态性与免疫应答、炎症反应的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(22): 1963-1966.
- [7] 刘雪枫, 乔婧, 高建德, 等. 党参多糖对溃疡性结肠炎大鼠结肠上皮 NF- κ B 信号通路的影响[J]. 中成药, 2021, 43(6): 1445-1450.
- [8] YIN H F, HUANG L H, OUYANG T, et al. Baicalein improves liver inflammation in diabetic *db/db* mice by regulating HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 55: 55-62.
- [9] 李萍, 李晶, 吴农欣, 等. 艰难梭菌感染对溃疡性结肠炎 TLR4/NF- κ B 信号通路及 IL-27 表达水平的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(16): 2431-2435.
- [10] 周岐鸣, 张一凡, 郑培永, 等. 清肠栓脐贴调控 TLR4/MYD88/NF- κ B 信号通路减轻小鼠溃疡性结肠炎[J]. 上海中医药大学学报, 2019, 33(3): 68-74.
- [11] 陈钟, 董俊, 李丹, 等. 放大内镜联合光学染色在评估溃疡性结肠炎的运用[J]. 东南国防医药, 2021, 23(1): 72-74.
- [12] OPSTELTEN J L, CHAN S S M, HART A R, et al. Prediagnostic serum vitamin D levels and the risk of Crohn's disease and ulcerative colitis in European populations: a nested case-control study[J]. Inflamm Bowel Dis, 2018, 24(3): 633-640.
- [13] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(9): 796-813.
- [14] ANDIRAN N, ÇELİK N, AKÇA H, et al. Vitamin D deficiency in children and adolescents[J]. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2012, 4(1): 25-29.
- [15] BEWTRA M, BRENSINGER C M, TOMOV V T, et al. An optimized patient-reported ulcerative colitis disease activity measure derived from the mayo score and the simple clinical colitis activity index[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2014, 20(6): 1070-1078.
- [16] 王莹, 李红玲, 李静如, 等. 内镜下多点活检鉴别诊断克罗恩病和溃疡性结肠炎的临床价值[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(19): 32-37.
- [17] MENG L, LI L Y, LU S, et al. The protective effect of dexmedetomidine on LPS-induced acute lung injury through the HMGB1-mediated TLR4/NF- κ B and PI3K/Akt/mTOR pathways[J]. Mol Immunol, 2018, 94: 7-17.
- [18] CAO C, YIN C F, SHOU S T, et al. Ulinastatin protects against LPS-induced acute lung injury by attenuating TLR4/NF- κ B pathway activation and reducing inflammatory mediators[J]. Shock, 2018, 50(5): 595-605.
- [19] 李琛妮, 蓝华, 施佳伶, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值等4项指标对溃疡性结肠炎内镜活动度的判断价值[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(1): 55-59.
- [20] 张子青, 宋蕾, 徐慧玲. 葛根芩连汤加味对溃疡性结肠炎患者营养状况、T淋巴细胞亚群、CRP及ESR的影响[J]. 中医药信息, 2022, 39(3): 64-68.
- [21] BIEMANS V B, SLEUTJES J A M, de VRIES A C, et al. DOP58 tofacitinib for ulcerative colitis: results of the ICC Registry, a nationwide prospective observational cohort study[J]. J Crohns Colitis, 2020, 14(Supplement_1): S097-S098.
- [22] 张建伟, 陈桥英, 陈仪. 基于 TLR4/NF- κ B 信号通路研究甘草泻心汤治疗溃疡性结肠炎大鼠的机制[J]. 福建中医药, 2021, 52(5): 22-24.
- [23] 赖兰敏, 彭梭平, 陈曲波. 1,25-二羟维生素D₃的免疫调节及其在自身免疫性疾病中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(17): 2169-2173.
- [24] 薛林岩, 李艳梅, 宋建忠. 溃疡性结肠炎患者血清维生素D浓度检测及相关性分析[J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(5): 590-594.
- [25] 杨林雪, 王晶, 李蕊, 等. 溃疡性结肠炎患者血清维生素D、C水平与肠道菌群和炎症因子的研究[J]. 营养学报, 2021, 43(1): 54-57.
- [26] 王铮, 张少坤, 温洪华, 等. 轻度增高的游离脂肪酸与脂多糖协同抑制中性神经酰胺酶诱导 INS-1 细胞凋亡及胰岛素分泌异常的机制[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(6): 803-809.
- [27] 孙攀兴, 邱春光. 大黄素通过调控 TLR4/NF- κ B 通路对脂多糖诱导血管内皮细胞氧化损伤的保护作用研究[J]. 药物评价研究, 2020, 43(6): 1040-1045.
- [28] 王金乐, 陈娟, 张蓉, 等. FCP、MPO、ESR、CRP 评价溃疡性结肠炎活动度的应用价值分析[J]. 结直肠肛门外科, 2019, 25(3): 311-314.
- [29] 李琰, 慕珂珂, 董炎红, 等. 血清 C 反应蛋白、Beclin1 及 25 羟维生素 D 水平联合检测对溃疡性结肠炎病情活动性判断价值的研究[J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(5): 67-70.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 张小占, 张雯, 杨旋. 维生素 D 水平与溃疡性结肠炎患者 TLR4/NF- κ B 信号通路及疾病活动度的相关性分析[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(13): 20-26.

Cite this article as: ZHANG X Z, ZHANG W, YANG X. Correlation analysis of vitamin D level with TLR4/NF- κ B signaling pathway and disease activity in patients with ulcerative colitis[J]. China Journal of Modern Medicine, 2023, 33(13): 20-26.