

DOI:10.13350/j.cjpb.231012

• 论著 •

脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 表达及与肠道菌群失调的相关性*

梁亚鹏^{1**}, 张浩¹, 蔡华忠¹, 贾珏¹, 徐美玲²

(1. 江苏大学附属医院急诊科, 江苏镇江 212001; 2. 镇江市京口区健康路社区卫生服务中心全科)

【摘要】 目的 探讨脂肪酸结合蛋白 4(FABP4)、葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)在脓毒症患者血清中的表达以及与肠道菌群失调的相关性。方法 选取 2020-2022 年在本院接受治疗的 76 例脓毒症患者,根据病情严重程度分为轻度组($n=23$)、中度组($n=32$)和重度组($n=21$)。同期另选取 76 例一般资料与脓毒症患者相匹配的门诊健康体检者作为对照组。比较各组肠道菌群多样性、肠道菌群含量以及血清 FABP4、GRP78 水平; Spearman 法分析脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平分别与 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数的相关性。结果 重度组、中度组、轻度组、对照组 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数、类杆菌和双歧杆菌含量逐渐升高($P<0.05$), 肠球菌、大肠埃希菌、葡萄球菌含量以及血清 FABP4、GRP78 水平逐渐降低($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平分别与 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数呈负相关($P<0.05$)。结论 脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平显著升高,肠道菌群严重失调,血清 FABP4、GRP78 水平与肠道菌群失调显著相关,影响脓毒症的发生和病情进展。

【关键词】 脂肪酸结合蛋白 4;葡萄糖调节蛋白 78;脓毒症;肠道菌群失调

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)10-1175-04

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Oct;18(10):1175-1178.]

Expression of FABP4 and GRP78 in serum of patients with sepsis and their correlation with intestinal flora imbalance

LIANG Yapeng¹, ZHANG Hao¹, CAI Huazhong¹, JIA Jue¹, XU Meiling² (1. Department of Emergency, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China; 2. General Department, Jianhealth Road Community Health Service Center, Jingkou District)

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression of fatty acid-binding protein 4 (FABP4) and glucose regulatory protein 78 (GRP78) in the serum of patients with sepsis and their correlation with intestinal flora imbalance. **Methods** From January 2020 to December 2022, 76 patients with sepsis who were treated in our hospital were grouped into mild group ($n=23$), moderate group ($n=32$) and severe group ($n=21$) according to the severity of the disease. At the same time, another 76 outpatients with general data matching with sepsis patients were selected as the control group. The diversity of intestinal flora, the contents of intestinal flora and the levels of FABP4 and GRP78 in serum were compared; Spearman method was applied to analyze the correlation between serum FABP4, GRP78 levels and ACE index, Chao index and Shannon index in patients with sepsis. **Results** The ACE index, Chao index, Shannon index, contents of bacteroid and bifidobacterium in severe group, moderate group, mild group and control group increased gradually ($F=37.962, 40.615, 68.678, 63.094, 84.450$; all $P<0.05$), the contents of *Enterococcus*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* and the levels of FABP4 and GRP78 in serum decreased gradually ($F=44.184, 80.371, 116.208, 215.582, 234.724$; all $P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the levels of FABP4 ($r=-0.657, -0.549, -0.794$; all $P<0.05$) and GRP78 ($r=-0.549, -0.472, -0.675$; all $P<0.05$) in serum of patients with sepsis were negatively correlated with ACE index, Chao index and Shannon index respectively. **Conclusion** The levels of FABP4 and GRP78 in serum of patients with sepsis are obviously increased, the intestinal flora is seriously out of balance, the levels of FABP4 and GRP78 in serum are obviously correlated with intestinal flora imbalance, which affect the occurrence and progression of sepsis.

【Key words】 fatty acid-binding protein 4; glucose regulatory protein 78; sepsis; intestinal flora disorder^{**}

* **【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目(No. 81500351);镇江市科技计划项目(No. SH2020067)。

** **【通讯作者(简介)】** 梁亚鹏(1982-),男,河南平顶山人,硕士,副主任医师,主要从事急危重症救治方面工作研究。
E-mail:lypeng63@163.com

脓毒症是一种复杂的临床综合征,其发病机制复杂,与器官功能障碍和感染相关,大多患者需要入住重症监护病房(ICU),死亡率高,是最严重的疾病之一^[1]。肠道是人体重要的一个消化器官,肠道里定居着上万亿个细菌,正常情况下这些菌群不致病,构成菌群、宿主和环境三者之间动态平衡,而当平衡被破坏时,这些菌群可能作为潜在致病菌,与炎症引起的疾病密切相关^[2-3]。脓毒症患者存在严重的应激反应,肠道细菌移位,从而引发过度炎症反应,导致多器官功能障碍和系统损伤^[4]。脂肪酸结合蛋白4(Fatty acid binding protein 4, FABP4)是一种 15 kDa 的脂质载体,主要在脂肪细胞和巨噬细胞中表达,具有促进脂质的储存、分配、运输、分解和代谢的功能,与胰岛素抵抗、动脉粥样硬化、糖尿病等多种疾病的发生、发展有关^[5]。葡萄糖调节蛋白 78(Glucose-regulating protein 78, GRP78)称为免疫球蛋白重链结合蛋白,可作为内质网上的分子伴侣,参与蛋白质的正确折叠和组装、错误折叠蛋白质的蛋白酶体降解、内质网和 Ca^{2+} 结合等生理学进程,在应激条件下,GRP78 在细胞膜上过表达介导了大量无序蛋白质,使其成为病原体(细菌、真菌和病毒)进入细胞并启动发病机制^[6]。然而,目前 FABP4、GRP78 在脓毒症患者血清中的表达以及与肠道菌群失调的相关性,尚未报道。

本研究通过检测脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 表达水平以及患者肠道菌群的多样性和含量,分析血清 FABP4、GRP78 表达与肠道菌群失调的相关性,为脓毒症患者的治疗提供参考依据。

对象与方法

1 研究对象

选取 2020 年 1 月~2022 年 12 月在本院接受治疗的 76 例脓毒症患者,根据病情严重程度^[7]分为轻度组($n=23$)、中度组($n=32$)和重度组($n=21$)。纳入标准:(1)符合脓毒症相关诊断标准^[7];(2)患者年龄 20~80 岁;(3)研究对象本人详知此项研究内容,并自愿签署同意书。排除标准:(1)自身免疫类疾病患者;(2)妊娠期或哺乳期女性;(3)过敏性疾病患者;(4)病例资料不完整患者。本研究遵循《世界医学协会赫尔辛基宣言》,并经本院医学伦理委员会审核批准。另选取 76 例一般资料与脓毒症患者相匹配的同期门诊健康体检者作为对照组。

本研究获本院伦理委员会审核批准。

2 方法

2.1 样本收集 脓毒症患者入院次日、对照组体检当日清晨,静脉采血约 3~5 mL 于干燥试管,离心半径为 12 cm,时间为 10 min,分离血清后,放入-20 °C 冰箱

中保存,待检。

收集脓毒症患者入院次日、对照组体检当日清晨粪便样本,分为两份,一份送至杭州美联医学控股有限公司,用于检测肠道菌群多样性;一份置于液氮罐速冻后,放入-80 °C 冰箱中保存,用于肠道菌群含量测定。

2.2 肠道菌群多样性 采用高通量 16S rRNA 基因测序技术分析 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数,指数越大代表样本中微生物含量越丰富。

2.3 肠道菌群含量测定 取粪便样本 1.0 g,用无菌生理盐水稀释至 10^{-8} ,制成悬液,分别配制肠球菌、葡萄球菌、类杆菌、双歧杆菌选择性培养基以及大肠埃希菌琼脂培养基,于 37 °C 培养箱培养 48 h。采用 ATB 半自动微生物鉴定系统(法国生物梅里埃公司)进行细菌鉴定。每克粪便样本菌落形成单位的对数值即为肠道菌群含量。

2.4 血清 FABP4、GRP78 水平测定 采用 Varioskan LUX 多功能酶标仪(美国赛默飞公司),于 450 nm 处,分别用 FABP4 酶联免疫试剂盒(货号:ml064257,上海酶联生物科技有限公司)、GRP78 酶联免疫试剂盒(货号:ml037942,上海酶联生物科技有限公司)检测血清 FABP4、GRP78 水平。

3 统计学方法

数据以 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,经正态性检验,计量数据均符合正态分布,以($\bar{x} \pm s$)描述,采用独立样本 t 检验进行两组间计量资料比较,多组间计量资料的比较采用单因素方差分析,进一步两两比较行 $Snk-q$ 检验; $Spearman$ 法分析脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平分别与肠道菌群失调的相关性。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结果

1 肠道菌群多样性的比较

重度组脓毒症患者 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数显著低于中度组、对照组和轻度组($P < 0.05$),中度组 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数显著低于轻度组和对照组($P < 0.05$);轻度组 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数显著低于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

2 肠道菌群含量的比较

重度组、中度组、轻度组、对照组肠球菌($F = 44.184, P = 0.000$)、大肠埃希菌($F = 80.371, P = 0.000$)、葡萄球菌($F = 116.208, P = 0.000$)的含量逐渐降低($P < 0.05$);类杆菌($F = 63.094, P = 0.000$)、双歧杆菌($F = 84.450, P = 0.000$)的含量逐渐升高。见表 2。

表1 肠道菌群多样性的比较
Table 1 Comparison of intestinal flora diversity

指标 Index	数量 No.	ACE 指数 ACE index	Chao 指数 Chao index	Shannon 指数 Shannon index
对照组	76	237.59±51.98	229.64±50.82	3.98±1.12
轻度组	23	201.64±49.63 ^a	193.83±48.44 ^a	2.65±0.97 ^a
中度组	32	162.12±47.25 ^{ab}	151.77±46.51 ^{ab}	1.91±0.64 ^{ab}
重度组	21	121.92±44.51 ^{abc}	113.92±42.96 ^{abc}	1.22±0.31 ^{abc}
F	-	37.962	40.615	68.678
P	-	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与轻度组比较,^b $P < 0.05$;与中度组比较,^c $P < 0.05$ 。

表2 肠道菌群含量的比较
Table 2 Comparison of intestinal flora content

指标 Index	数量 No.	肠球菌 Enterococcus	大肠埃希菌 E. coli	类杆菌 Bacteroid	双歧杆菌 Bifidobacterium	葡萄球菌 Escherichia coli
对照组	76	8.02±2.25	6.62±1.97	10.13±2.97	12.59±3.12	2.65±1.31
轻度组	23	12.17±4.51 ^a	9.95±2.46 ^a	7.84±1.82 ^a	9.06±1.75 ^a	4.83±1.63 ^a
中度组	32	16.46±6.91 ^{ab}	14.29±4.43 ^{ab}	5.25±1.63 ^{ab}	6.77±1.49 ^{ab}	6.96±1.87 ^{ab}
重度组	21	21.43±9.54 ^{abc}	19.06±6.71 ^{abc}	3.14±1.12 ^{abc}	4.25±1.32 ^{abc}	9.14±2.06 ^{abc}
F	-	44.184	80.371	63.094	84.450	116.208
P	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与轻度组比较,^b $P < 0.05$;与中度组比较,^c $P < 0.05$ 。

3 血清 FABP4、GRP78 水平的比较

对照组、轻度组、中度组、重度组患者血清中 FABP4 ($F = 215.582, P = 0.000$)、GRP78 ($F = 234.724, P = 0.000$)的含量依次呈增加的趋势。见表3。

表3 血清 FABP4、GRP78 水平的比较
Table 3 Comparison of serum FABP4 and GRP78 levels

指标 Index	数量 No.	FABP4($\mu\text{g/L}$)	GRP78(ng/mL)
对照组	76	12.34±4.21	64.69±15.64
轻度组	23	27.67±8.86 ^a	139.87±26.48 ^a
中度组	32	48.93±11.69 ^{ab}	168.83±32.57 ^{ab}
重度组	21	60.87±16.33 ^{abc}	217.43±45.31 ^{abc}
F	-	215.582	234.724
P	-	0.000	0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与轻度组比较,^b $P < 0.05$;与中度组比较,^c $P < 0.05$ 。

4 脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平与肠道菌群失调的相关性分析

Spearman 法显示,脓毒症患者血清 FABP4 分别与 ACE 指数($r = -0.657, P = 0.000$)、Chao 指数($r = -0.549, P = 0.000$)、Shannon 指数($r = -0.794, P = 0.000$)呈负相关;血清 GRP78 水平分别与 ACE 指数($r = -0.549, P = 0.000$)、Chao 指数($r = -0.472, P = 0.000$)、Shannon 指数($r = -0.675, P = 0.000$)呈负相关。见表4。

表4 脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平与肠道菌群失调的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between serum FABP4 and GRP78 levels and intestinal flora disturbance in sepsis patients

指标 Index	ACE 指数 ACE index		Chao 指数 Chao index		Shannon 指数 Shannon index	
	r	P	r	P	r	P
FABP4	-0.657	0.000	-0.549	0.000	-0.794	0.000
GRP78	-0.549	0.000	-0.472	0.000	-0.675	0.000

讨论

脓毒症是由严重感染引起的急性循环衰竭,是 ICU 的主要死亡原因之一,该病发病率高,且患者状态危,进展较快,病死率高,严重威胁患者的健康,对全世界的医疗保健系统都造成严重经济负担^[8-9]。健康人体内肠道菌群保持着稳定的动态平衡,当脓毒症发生时,这种平衡被打破,致病菌大量繁殖,诱导产生大量炎症介质导致肠道黏膜屏障被破坏,从而进入血液中,并通过血液循环引发多器官损伤和炎症反应进一步加剧^[10-11]。

肠道微生物群包含多种与宿主相互作用的有益和有害细菌,肠道菌群失调与便秘的发生、结肠炎、败血症、感染性休克等多种疾病有关^[12]。Cuna 等^[13]发现早产儿肠道菌群失调与坏死性小肠结肠炎和迟发性败血症等危及生命的疾病有关;并可能增加患儿将来患哮喘、过敏症、肥胖症和社会心理疾病的风险。相关研究表明,在脓毒症发作之前,肠道微生物通过致病性肠道细菌的增殖、启动免疫系统以产生强烈的促炎反应、减少有益微生物等多种机制增加了脓毒症的易感性^[14-15]。本研究发现,对照组、轻度组、中度组、重度组 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数、类杆菌、双歧杆菌的含量依次降低;肠球菌、大肠埃希菌、葡萄球菌的含量依次升高。提示脓毒症患者体内肠道菌群发生严重失调,肠道菌群的丰度和多样性显著下降,这是导致脓毒症发生和进一步发展的重要原因。

FABP4 是脂肪酸结合蛋白家族的一个亚型,分布于脂肪组织、皮肤、睫状神经节、阑尾、胎儿甲状腺和胎盘等器官和组织中,是脂质代谢和炎症反应的关键递质^[16]。Luis 等^[17]发现 FABP4 在复发性人类乳腺癌中上调,主要在肿瘤微环境中的内皮细胞和脂肪细胞中表达,在缺氧条件下导致癌细胞脂滴的形成,促进癌细胞转移。Prentice 等^[18]发现 FABP4 在维持葡萄糖稳态方面发挥作用,在病原侵扰、肥胖、肿瘤、感染、创伤等免疫应激条件下,FABP4 过表达会加剧许多免疫代谢疾病,包括糖尿病、哮喘、癌症和动脉粥样硬化。本研究发现对照组、轻度组、中度组、重度组脓毒症血清 FABP4 表达水平依次升高,提示血清 FABP4 通过影响体内代谢,对于初步判断脓毒症患者的病情发生

和严重程度具有一定的意义。GRP78 位于人类 9 号染色体上,长度为 4532 个核苷酸,在大脑、肺和心脏等主要器官中表达水平较低,在缺氧、饥饿、Ca²⁺紊乱、活性氧积累、促炎信号等应激条件下,表达量显著升高,与癌症、病毒、真菌感染等多种疾病有关^[19]。Farshbaf 等^[20]发现 GRP78 在多种癌细胞和血管生成内皮细胞中显著上调表达,尤其在高度恶性和浸润性的胶质母细胞瘤中表达最高,是一种具有高度敏感性和特异性的生物标志物以及癌症成像和治疗的靶点。Pan 等^[21]发现 GRP78 在患有肥胖症、脂肪肝、高脂血症和糖尿病的患者血清中过度表达,不仅可以作为预测肥胖和代谢性疾病进展和预后的生物标志物,而且是抗肥胖治疗的潜在治疗靶点。本研究发现对照组、轻度组、中度组、重度组血清 GRP78 表达水平依次升高,提示血清 GRP78 可能调节患者体内炎症水平,是判断脓毒症患者病情发生和严重程度的可靠生物标志物。Yao 等^[22]发现患有代谢综合征的大鼠 FABP4、GRP78 表达水平显著增加,并通过内质网应激参与调节胰岛炎症和细胞凋亡。本研究进一步发现,脓毒症患者血清 FABP4、GRP78 水平分别与 ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数呈负相关,提示血清 FABP4、GRP78 水平与肠道菌群共同作用,影响脓毒症的发生、发展。

综上所述,脓症患者血清 FABP4、GRP78 水平显著升高,肠道菌群严重失调,且血清 FABP4、GRP78 水平与肠道菌群失调密切相关。然而 FABP4、GRP78 参与脓毒症发生发展的具体机制仍需进一步探究。

【参考文献】

- [1] Sevransky JE, Rothman RE, Hager DN, et al. Effect of vitamin C, thiamine, and hydrocortisone on ventilator- and vasopressor-free days in patients with sepsis: The VICTAS randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2021, 325(8): 742-750.
- [2] 陈舒泽, 陈焯. 肠道细菌来源细胞外囊泡在炎症性肠病中的作用[J]. *中华内科杂志*, 2021, 60(10): 932-936.
- [3] 姚彩青, 鄂晶晶, 王俊国. 培养组学在人体肠道微生物研究中的应用[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(7): 371-377.
- [4] 汪晨扬, 伍静. Omega-3 多不饱和脂肪酸对脓毒症相关肠道菌群失调的治疗潜力[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(4): 71-75.
- [5] Furuhashi M, Sakuma I, Morimoto T, et al. Independent and distinct associations of FABP4 and FABP5 with metabolic parameters in type 2 diabetes mellitus[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11(1): 1-8.
- [6] Xia S, Duan W, Liu W, et al. GRP78 in lung cancer[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 1-14.
- [7] Rhee C, Chiotos K, Cosgrove S E, et al. Infectious diseases society of america position paper: Recommended revisions to the national severe sepsis and septic shock early management bundle (SEP-1) sepsis quality measure[J]. *Clin Infect Dis*, 2021, 72(4): 541-552.
- [8] Wang D, Li J, Sun Y, et al. A machine learning model for accurate prediction of sepsis in ICU patients[J]. *Front Public Health*, 2021, 9(1): 1-8.
- [9] Bhavani SV, Semler M, Qian ET, et al. Development and validation of novel sepsis subphenotypes using trajectories of vital signs[J]. *Intensive Care Med*, 2022, 48(11): 1582-1592.
- [10] 颜骏, 蔡燕, 张清艳, 等. 脓毒症早期肠道菌群失调相关危险因素及其对预后的影响[J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2020, 13(5): 328-333.
- [11] Chu JR, Kang SY, Kim SE, et al. Prebiotic UG1601 mitigates constipation-related events in association with gut microbiota: A randomized placebo-controlled intervention study et al[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(40): 6129-6144.
- [12] Marti M, Spreckels JE, Ranasinghe PD, et al. Effects of *Lactobacillus reuteri* supplementation on the gut microbiota in extremely preterm infants in a randomized placebo-controlled trial[J]. *Cell Rep Med*, 2021, 2(3): 1-16.
- [13] Cuna A, Morowitz MJ, Ahmed I, et al. Dynamics of the preterm gut microbiome in health and disease[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2021, 320(4): 411-419.
- [14] Adelman MW, Woodworth MH, Langelier C, et al. The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis[J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 1-10.
- [15] Haak BW, Prescott HC, Wiersinga WJ. Therapeutic potential of the gut microbiota in the prevention and treatment of sepsis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9(1): 1-8.
- [16] Jahansouz C, Xu H, Kizy S, et al. Serum FABP4 concentrations decrease after Roux-en-Y gastric bypass but not after intensive medical management[J]. *Surgery*, 2019, 165(3): 571-578.
- [17] Luis G, Godfroid A, Nishiumi S, et al. Tumor resistance to ferroptosis driven by Stearoyl-CoA Desaturase-1 (SCD1) in cancer cells and Fatty Acid Binding Protein-4 (FABP4) in tumor microenvironment promote tumor recurrence[J]. *Redox Biol*, 2021, 43(1): 1-17.
- [18] Prentice KJ, Saksi J, Hotamisligil GS. Adipokine FABP4 integrates energy stores and counterregulatory metabolic responses[J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(4): 734-740.
- [19] Elfiky AA, Baghdady AM, Ali SA, et al. GRP78 targeting: Hitting two birds with a stone[J]. *Life Sci*, 2020, 260(1): 1-8.
- [20] Farshbaf M, Khosroushahi AY, Mojarad-Jabali S, et al. Cell surface GRP78: An emerging imaging marker and therapeutic target for cancer[J]. *J Control Release*, 2020, 328(1): 932-941.
- [21] Pan D, Yang Y, Nong A, et al. GRP78 activity moderation as a therapeutic treatment against obesity[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(23): 1-17.
- [22] Yao F, Jiang DD, Guo WH, et al. FABP4 inhibitor attenuates inflammation and endoplasmic reticulum stress of islet in leptin receptor knockout rats[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(24): 12808-12820.

【收稿日期】 2023-05-16 【修回日期】 2023-08-02