

神经调节蛋白 1 表达水平与急性失代偿性心力衰竭患者短期预后的相关性

包艳春, 关秀军, 王小娟, 邱虹

摘要:目的 探讨神经调节蛋白 1(NRG-1)表达水平与急性失代偿性心力衰竭(ADHF)患者短期预后的相关性。方法 选取我院收治的 240 例 ADHF 患者为研究组(分为不良事件组 100 例和无不良事件组 140 例),并以同期 168 例健康体检者(健康对照组)和 100 例 NYHA I~II 级慢性心力衰竭患者(NYHA I~II 级组)作为对照。应用 Pearson 相关性分析 NRG-1 表达水平与心力衰竭的相关性。采用多因素 logistic 回归分析及 ROC 曲线分析影响患者预后因素。结果 研究组 NRG-1 蛋白平均每分钟计数(CPM)表达水平低于 NYHA I~II 级组和健康对照组($P < 0.05$),不良事件组 NRG-1 蛋白 CPM 表达水平明显低于无不良事件组($P < 0.01$)。NRG-1 蛋白水平与 N 末端 B 型钠尿肽前体(NT-proBNP)呈负相关($r = -0.562, P < 0.01$),与 LVEF 呈正相关($r = 0.483, P < 0.01$)。logistic 回归分析显示,LVEF、NT-proBNP、钠离子、尿酸、NRG-1 蛋白是 ADHF 患者短期预后影响因素。ROC 曲线分析显示,NGR-1 对短期预后不良的曲线下面积为 0.869。结论 ADHF 患者血清 NRG-1 表达水平明显降低,其表达水平与心力衰竭程度呈负相关,NRG-1 低表达是短期预后不良的危险因素,具有潜在预后标志物价值。**关键词:**神经调节蛋白 1;心力衰竭;内皮细胞;ROC 曲线;预后

Association between neuregulin 1 expression level and short-term outcome in acute decompensated heart failure patients

Bao Yanchun, Guan Xiujun, Wang Xiaojuan, Qiu Hong

(Department of Cardiology, Wuhan No.8 Hospital, Wuhan 430010, Hubei Province, China)

Abstract: Objective To study the association between neuregulin 1 (NRG-1) expression level and short-term outcome in ADHF patients. **Methods** Two hundred and forty ADHF patients admitted to our hospital served as a study group and 168 healthy subjects who underwent physical examination in our hospital during the same period served as a healthy control group with 100 NYHA I - II CHF patients served as a control group. The association between NRG-1 expression level and HF was analyzed by Pearson correlation analysis. The influencing factors of short-term outcome in ADHF patients were analyzed by multivariate logistic regression analysis. The value of NRG-1 expression level for predicting the short-term outcome in ADHF patients was analyzed by ROC curve analysis. **Results** The NRG-1 expression level was significantly lower in study group than in healthy control group and control group ($P < 0.05$) and in patients with adverse events than in those without adverse events ($P < 0.01$). The expression level of NRG-1 was negatively associated with that of NT-proBNP and positively associated with LVEF ($r = -0.562, P < 0.01; r = 0.483, P < 0.01$). Logistic regression analysis showed that LVEF and expression levels of NT-proBNP, sodium ion, UA, NRG-1 were the independent influencing factors of short-term outcome in ADHF patients. ROC curve analysis revealed that the AUC for NRG-1 in predicting the poor outcome in ADHF patients was 0.869. **Conclusion** The NRG-1 expression level is significantly lower in ADHF patients and negatively associated with the severity of HF. Low NRG-1 expression level is a risk factor for the poor short-term outcome in ADHF patients.

Key words: neuregulin-1; heart failure; endothelial cells; ROC curve; prognosis

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

急性失代偿性心力衰竭(ADHF)发病机制复杂,其发作时会严重损害心肌功能,且使机体产生一系列不良反应^[1]。神经调节蛋白(NRG)属于表皮生长因子家族重要成员,共包含 4 种结构相关的基因编码 NRG 即 NRG-1、NRG-2、NRG-3 和 NRG-4。其中 NRG-1 基因及蛋白产物在成年人心肌内皮细胞高度表达,对心脏结构和功能调节方面发挥重要作用^[2]。同时心力衰竭(心衰)患者的 NRG-1 表达水平会异常降低,但目前关于 ADHF 患者入院时血清 NRG-1 表达水平及出院后短期预后关联鲜见报道^[3]。本研究通过观察 ADHF 患者入院时的血清 NRG-1 表达水平,探讨其对患者出院后 1 个月短期预后预测价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2017 年 1 月~2020 年 1 月我院收治的 240 例 ADHF 患者为研究组,心功能(NYHA)Ⅲ级 145 例,Ⅳ级 95 例,并以同期 168 例健康体检者(健康对照组)和 100 例 NYHA I~II 级慢性心衰患者(NYHA I~II 级组)作为对照。所有研究组患者均参照指南接受利尿剂、 β 受体阻滞剂、血管紧张素系统抑制剂等常规抗心衰药物进行治疗^[4]。研究组年龄 60~76(68.02 \pm 3.14)岁,其中男 128 例,女 112 例;健康对照组年龄 61~79(67.52 \pm 3.25)岁,男 76 例,女 92 例;NYHA I~II 级组年龄 60~77 岁(66.88 \pm 2.92)岁,男 61 例,女 39 例。并根据研究组患者出院后 1 个月内是否发生心衰再次入院或发生全因死亡分为不良事件组 100 例和无不良事件组 140 例,其中不良事件组包括 92 例因心衰再次入院治疗者和 8 例出院后全因死亡者。所有患者均签署知情同意书,本研究获得我院伦理委员会批准。纳入标准:(1)患者满足《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018》晚期慢性心衰诊断标准^[4];肺部存在啰音;一年内因 ADHF 入院治疗次数达 3 次甚至 3 次以上;有周围性水肿或腹水;患者半个月前需使用血管舒张药或正性肌力药;LVEF \leq 35%。(2)缺血性心衰和原发性心衰患者均纳入在内。(3)能配合随访者。排除标准:(1)首次诊断为心衰患者。(2)存在肺动脉高压或诊断为右心衰竭患者。(3)入院治疗期间发生不良心血管事件甚至死亡者。

1.2 NRG-1 表达水平检测 研究组患者入组后第二天及各对照组采用放射免疫法测量其 NRG-1 表达水平。首先将 NRG-1 单克隆抗体(购于上海酶联生物科技有限公司)溶解于 pH 7.4,且浓度为 200

mmol/L 的 0.5 ml 磷酸盐缓冲液中,再取出 50 μ g 并加入 1.5 mCi^{125I} 标记为标志物母液,再取 50 μ l 母液并加入 20 ml 稀释液进行稀释以配制成强度为 34 万/200 μ l 的所需工作液;加样:分别各取 2 份 200 μ l 患者血清于试管中,记为 A、B 管,并于 B 管中加入蒸馏水 200 μ l;然后将固相载体(包被珠)加入加样试管中,每管中加入 1 粒(每珠包被抗体量为 3 μ g/ml,200 μ l)并放置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中保温 1 h;将包被珠洗涤充分后吸干水分,加入标志物工作液 200 μ l,再于 37 $^{\circ}$ C 水浴中保温 1 h;用 γ 放射免疫计数器/放射免疫分析仪对放射性计数进行测定(购自北京海富达科技有限公司)并记录结果。

1.3 实验室检查 研究组入院即刻抽取肘静脉血 10 ml 进行常规检测,包括血常规、血清肌酐、静脉血气、甲状腺功能、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、N 末端 B 型钠尿肽前体(NT-proBNP)等检查。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 *t* 检验,采用方差分析,计数资料用百分率表示,采用 χ^2 检验;用 Pearson 相关性分析,用 Hanley-McNeil 法比较 ROC 曲线下面积, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 NRG-1 蛋白平均每分钟计数(CPM)比较 研究组 NRG-1 蛋白 CPM 表达水平低于 NYHA I~II 级组和健康对照组,NYHA I~II 级组 NRG-1 蛋白 CPM 表达水平低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

表 1 3 组 NRG-1 蛋白 CPM 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NRG-1 蛋白 CPM
研究组	240	9874.7 \pm 854.4 ^{ab}
NYHA I~II 级组	100	11065.3 \pm 986.6 ^a
健康对照组	168	13854.1 \pm 1120.8
<i>F</i> 值		830.628
<i>P</i> 值		0.000

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与 NYHA I~II 级组比较,^b $P < 0.05$

2.2 2 组血清 NRG-1 蛋白 CPM 比较 不良事件组 NRG-1 蛋白 CPM 表达水平显著低于无不良事件组($P < 0.01$,表 2)。

表 2 2 组血清 NRG-1 蛋白 CPM 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NRG-1 蛋白 CPM
不良事件组	100	8859.4 \pm 1058.7
无不良事件组	140	10742.8 \pm 1174.6
<i>t</i> 值		14.268
<i>P</i> 值		0.000

2.3 影响 ADHF 患者短期预后的单因素分析 结果显示,年龄、LVEF、NYHA、心房颤动、心率、钠离子、尿酸、NT-proBNP 均与 ADHF 患者出院 1 个月内不同预后间存在差异($P < 0.05$, $P < 0.01$, 表 3)。

表 3 影响 ADHF 患者短期预后的单因素分析

项目	不良事件组 (100 例)	无不良事件组 (140 例)	P 值
性别[例数(%)]			0.540
男	51(51.0)	77(55.0)	
女	49(49.0)	63(45.0)	
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	70.5 \pm 3.3	65.9 \pm 2.6	0.000
LVEF(% , $\bar{x} \pm s$)	12.4 \pm 3.3	20.5 \pm 5.3	0.000
NYHA[例数(%)]			0.024
III 级	52(52.0)	93(66.4)	
IV 级	48(48.0)	47(33.6)	
心衰病因[例数(%)]			0.137
缺血性心衰	41(41.0)	71(50.7)	
原发性心衰	59(59.0)	69(49.3)	
并发症[例数(%)]			
糖尿病	35(35.0)	61(43.6)	0.184
高血压	61(61.0)	77(55.0)	0.354
高脂血症	44(44.0)	55(39.3)	0.465
心房颤动	75(75.0)	80(57.1)	0.004
心率(次/min, $\bar{x} \pm s$)	94.2 \pm 8.7	90.2 \pm 8.8	0.001
用药情况[例数(%)]			
抗血小板药物	74(74.0)	99(70.7)	0.576
ACEI 或 ARB	58(58.0)	91(65.0)	0.270
他汀类药物	44(44.0)	68(48.6)	0.484
β 受体阻滞剂	63(63.0)	100(71.4)	0.168
利尿剂	47(47.0)	71(50.7)	0.570
钙离子通道阻滞剂	22(22.0)	22(15.7)	0.215
住院时间(d, $\bar{x} \pm s$)	12.4 \pm 2.3	12.2 \pm 2.2	0.708
实验室检查($\bar{x} \pm s$)			
白细胞计数($\times 10^9/L$)	8.1 \pm 1.2	8.2 \pm 1.1	0.789
血红蛋白(g/L)	130.5 \pm 6.2	130.6 \pm 6.4	0.528
hs-CRP(mg/L)	60.5 \pm 5.0	60.5 \pm 5.1	0.660
钠离子(mmol/L)	133.0 \pm 6.6	139.6 \pm 6.9	0.001
尿酸($\mu\text{mol/L}$)	280.4 \pm 57.5	251.8 \pm 61.3	0.000
肌酐($\mu\text{mol/L}$)	76.4 \pm 16.3	73.2 \pm 17.3	0.154
促甲状腺素(mU/L)	2.9 \pm 0.5	3.0 \pm 0.5	0.301
NT-proBNP($\mu\text{g/L}$)	80.2 \pm 8.8	70.5 \pm 8.5	0.006

注:ACEI=血管紧张素转换酶抑制剂;ARB=血管紧张素受体阻滞剂

2.4 多因素 logistic 回归分析 将单因素分析中有统计学差异的因素作为自变量,以患者短期预后是否良好作为因变量(不良事件发生=1,无不良事件=0)行 logistic 回归分析显示,LVEF、NT-proBNP、钠离子、尿酸、NRG-1 蛋白是影响 ADHF 患者短期预后的影响因素(表 4)。

2.5 血清 NRG-1 蛋白水平与心衰指标 Pearson 相关性分析 NRG-1 蛋白水平与 NT-proBNP 呈负相关($r = -0.562$, $P < 0.01$),与 LVEF 呈正相关($r = 0.483$, $P < 0.01$)。

表 4 影响 ADHF 患者短期预后的多因素 logistic 回归分析

因素	偏回归系数	标准误	OR 值	95%CI	P 值
LVEF	-2.036	0.354	0.131	0.065~0.261	0.000
NT-proBNP	1.023	0.214	2.782	1.829~4.231	0.000
钠离子	-3.524	0.745	0.029	0.007~0.127	0.000
尿酸	2.021	0.365	7.546	3.690~15.431	0.000
NRG-1 蛋白	-1.526	0.418	0.217	0.096~0.493	0.000

2.6 应用 NRG-1 蛋白水平判断 ADHF 患者短期预后 ROC 曲线分析 以患者 1 个月内发生心衰再次入院或发生全因死亡为阳性结局,对 NRG-1 蛋白水平表达进行 ROC 曲线分析,结果显示,截断值为 9152.14 时,曲线下面积为 0.869,敏感性 78.0%,特异性 80.0%,约登指数 0.580(图 1)。

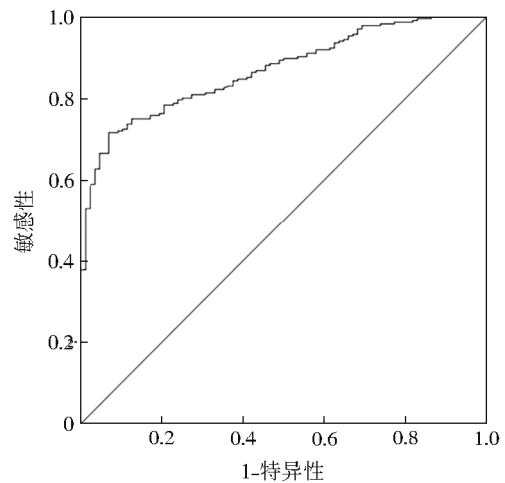


图 1 NRG-1 蛋白水平判断 ADHF 患者短期预后 ROC 曲线分析

3 讨论

NRG-1 可以通过与多种酪氨酸激酶受体相互作用,从而在多种生物学效应中发挥介导作用,主要包括在心肌细胞生长、分化、增殖过程发挥正向作用,抑制细胞走向凋亡,从而有效维持心肌肌原纤维结构并促进心脏血管再生,目前已有很多研究探索其在不同原因所致心衰中的价值^[5-6]。当发生心衰时常表现为 NRG-1 酪氨酸激酶受体 2 信号通路受到干扰,NRG-1 蛋白表达量的异常下降,提示 NRG-1 蛋白与心衰的发生发展存在紧密联系^[7]。

本研究结果显示,研究组患者血清 NRG-1 蛋白 CPM 表达水平显著低于健康对照组;不良事件组 NRG-1 蛋白 CPM 表达水平显著低于无不良事件组,这可能与 NRG-1 具有抑制心肌纤维化从而有效提高患者心功能和改善短期预后有关^[8]。有研究显示约 20% ADHF 患者在心衰入院治疗时并发低钠

血症,同时 15%~25% ADHF 患者在入院治疗阶段发生获得性低钠血症,因而钠离子水平改变与 ADHF 患者病情严重程度及预后之间具有一定相关性^[9-10]。NT-proBNP 以其外周血中稳定特点及检测特性,已成为心衰诊断和严重程度评估的重要血清标志物,多项研究证实其表达随着 NYHA 分级升高而显著增加^[11]。本研究相关性分析显示, NRG-1 蛋白水平与 NT-proBNP 呈负相关,且在 ADHF 患者表达中明显低于健康对照组和 NYHA I~II 级组,提示 NRG-1 蛋白表达与 ADHF 疾病发展潜在关联。

ADHF 患者常发生血清尿酸水平升高,且伴有高尿酸血症 ADHF 患者在出院后半年内因心衰再次入院率和病死率高于正常尿酸水平的 ADHF 患者,心衰患者血尿酸水平升高,主要与因心衰导致的心脏射血功能下降有关^[12]。研究证实伴随 LVEF 降低的心衰患者预后更差、再次入院率更高,提示 ADHF 患者左心室射血功能下降将严重影响 ADHF 患者预后^[13]。本研究显示, NRG-1 蛋白水平与 LVEF 呈正相关,同时多因素 logistic 回归分析中 NRG-1 对不良预后的 OR 值为 0.217,以上结果表明 NRG-1 低表达患者预后不良。进一步 ROC 曲线分析结果显示, NRG-1 蛋白截断值为 9152.14 时,曲线下面积为 0.869。说明以 NRG-1 蛋白水平诊断 ADHF 患者短期预后具有一定预测价值,临床评估中可以参考 NRG-1 表达综合评估患者预后情况以便采取干预措施或相应随访指导。

本研究的不足是病例数有限,且病例样本来自于单中心。研究结论应在后续的多中心大样本中进一步证实。同时我们未深入研究 ADHF 患者治疗药物疗效对 CPM 水平变化的影响,这将是本研究后续努力方向。

综上所述,ADHF 患者血清 NRG-1 表达水平相比健康对照组明显降低,其表达水平与患者心衰程度存在负相关,是影响患者短期预后的独立危险因素,且对短期预后存在重要预测价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Zhou S, Zhang L, Li J. Effect of levosimendan in patients with acute decompensated heart failure: a meta-analysis[J]. *Herz*, 2019, 44(7): 630-636. DOI: 10.1007/s00059-018-4693-3.

[2] Jagannath V, Gerstenberg M, Correll CU, et al. A systematic meta-analysis of the association of neuregulin 1 (NRG1), D-amino acid oxidase (DAO), and DAO activator (DAOA)/G72 polymorphisms with schizophrenia[J]. *J Neural Transm*

(Vienna), 2018, 125(1): 89-102. DOI: 10.1007/s00702-017-1782-z.

- [3] Ogier C, Colombo PE, Bousquet C, et al. Targeting the NRG1/HER3 pathway in tumor cells and cancer-associated fibroblasts with an anti-neuregulin 1 antibody inhibits tumor growth in pre-clinical models of pancreatic cancer[J]. *Cancer Lett*, 2018, 432: 227-236. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.06.023.
- [4] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(10): 760-789. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.10.004.
- [5] Kjeldsen SE, von Lueder TG, Smiseth OA, et al. Medical therapies for heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Hypertension*, 2020, 75(1): 23-32. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14057.
- [6] Allender E, Deol H, Schram S, et al. Neuregulin1 modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)[J]. *J Neuroimmunol*, 2018, 318: 56-64. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2018.02.008.
- [7] Shin DH, Jo JY, Han JY. Dual targeting of ERBB2/ERBB3 for the treatment of SLC3A2-NRG1-mediated lung cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(9): 2024-2033. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1178.
- [8] Pascual-Gil S, Abizanda G, Iglesias E, et al. NRG1 PLGA MP locally induce macrophage polarisation toward a regenerative phenotype in the heart after acute myocardial infarction[J]. *J Drug Target*, 2019, 27(5-6): 573-581. DOI: 10.1080/1061186X.2018.1531417.
- [9] Arévalo-Lorido JC, Carretero-Gómez J, Robles NR, et al. Prognostic role of hyponatremia in heart failure patients depending on renal disease: clinical evidence[J]. *Cardiology*, 2019, 144(1-2): 1-8. DOI: 10.1159/000502566.
- [10] Honda S, Nagai T, Nishimura K, et al. Long-term prognostic significance of urinary sodium concentration in patients with acute heart failure[J]. *Int J Cardiol*, 2018, 254: 189-194. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.08.053.
- [11] 傅永平, 周玥, 和肽素和 NT-proBNP 联合检测在慢性心力衰竭患者病情分级中的应用[J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25(4): 509-511. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.04.024.
- [12] Sabaka P, Dukat A, Gajdosik J, et al. Uric acid level is positively associated with NT-proBNP concentration in Slovak heart failure patients[J]. *Physiol Res*, 2019, 68(5): 767-774. DOI: 10.33549/physiolres.934186.
- [13] Palazzuoli A, Ruocco G, Evangelista I, et al. Prognostic significance of an early echocardiographic evaluation of right ventricular dimension and function in acute heart failure[J]. *J Card Fail*, 2020, 26(10): 813-820. DOI: 10.1016/j.cardfail.2020.09.002.

(收稿日期: 2020-12-18)

(本文编辑: 顾菊芳)