

## 蜂针直刺治疗急性痛风性关节炎的血清蛋白质组学研究

黄中梁<sup>1</sup> 老锦雄<sup>1</sup> 李子勇<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:血清蛋白质组学方法研究蜂针直刺改善急性痛风性关节炎的作用。方法:抗体阵列检测急性痛风性关节炎患者与健康志愿者血清中 50 种蛋白质的表达差异;GO 富集分析急性痛风性关节炎患者差异表达蛋白质功能;ELISA 检测分析蜂针直刺治疗前后特异性蛋白质表达变化及炎症指标变化;受试者工作特征(ROC)曲线分析四种差异性表达蛋白质诊断急性痛风性关节炎。结果:基于蛋白质组学的研究,已成功鉴别出四种针对急性痛风性关节炎具有特异性的蛋白质,包括 TNF-R II、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 和 GM-CSF。富集分析结果揭示差异表达的蛋白质与炎症过程、代谢活动及细胞因子通路的调控等密切相关。ELISA 检测结果显示蜂针直刺治疗前后急性痛风性关节炎患者血清 TNF-R II、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 和 GM-CSF 水平差异明显,与治疗前比较,治疗后急性痛风性关节炎患者血清 TNF-R II、MIP-1 $\beta$  和 IL-8 水平显著降低( $P<0.01$ ),GM-CSF 水平显著升高( $P<0.01$ )。ROC 曲线分析结果显示 IL-8 诊断急性痛风性关节炎患者的价值最高,MIP-1 $\beta$  次之。结论:蜂针直刺可能是通过调控 GM-CSF、IL-8、MIP-1 $\beta$  和 TNF-R II 等特异性蛋白质的表达,从而改善急性痛风性关节炎患者炎症状态,提高机体抗炎能力。

**[关键词]** 蜂针直刺;急性痛风性关节炎;血清蛋白质组学

**[中图分类号]** R255.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2024)11-0055-08

**DOI:** 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.241111

## Serum Proteomic Study of the Ameliorative Effect of Direct Bee-Acupuncture in Acute Gouty Arthritis

HUANG Zhongliang<sup>1</sup> LAO Jinxiong<sup>1</sup> LI Ziyong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000, Guangdong China.

**Abstract Objective:** Serum proteomic study of the effect of direct bee-acupuncture to improve acute gouty arthritis. **Methods:** Antibody array detected the expression differences of 50 proteins in the serum of patients with acute gouty arthritis and healthy volunteers; GO enrichment analyzed the function of differentially expressed proteins in patients with acute gouty arthritis; ROC curve analyzed four differentially expressed proteins in the diagnosis of acute gouty arthritis; ELISA analyzed the changes in the expression of specific proteins and inflammatory indexes before and after the treatment of direct bee-acupuncture stimulation. **Results:** Four proteins specific to acute gouty arthritis were identified based on proteomics, including TNF-R II, MIP-1 $\beta$ , IL-8, and GM-CSF, and enrichment analysis showed that the differentially expressed proteins were associated with inflammation, metabolism, and cytokine pathways, etc. ROC curve analysis showed that IL-8 had the highest value in diagnosing acute gouty arthritis patients, followed by MIP-1 $\beta$ , and ELISA analysis showed that the expression of the four differentially expressed proteins was associated with inflammation, metabolism, and cytokine pathways. The ELISA results showed that there were significant differences in serum TNF-R II, MIP-1 $\beta$ , IL-8 and GM-CSF levels in patients with acute gouty arthritis before and after direct bee-acupuncture stimulation treatment, and compared with the levels before treatment, the levels of serum TNF-R II, MIP-1 $\beta$  and IL-8 in patients with acute gouty arthritis were significantly lower ( $P<0.01$ ) and the levels of GM-CSF were significantly higher ( $P<0.01$ ) after treatment. **Conclusion:** Direct bee-acupuncture stimulation may improve the inflammatory state of patients with acute gouty arthritis and improve the anti-inflammatory ability of the body by regulating the expression of specific proteins such as GM-CSF, IL-8, MIP-1 $\beta$  and TNF-R II.

**Keywords:** direct bee-acupuncture; acute gouty arthritis; serum proteomics

基金项目:佛山市自筹经费类科技创新项目(2220001004656)

<sup>1</sup> 佛山市中医院(广东 佛山, 528000)

急性痛风性关节炎与糖、嘌呤代谢异常相关,尿酸沉积引发免疫反应和梗死。蜂针直刺可能通过调节代谢、维持血管通畅、降低高胰岛素血症、减少尿酸重吸收并修复关节软骨来治疗<sup>[1-4]</sup>。例如刺血疗法可释放生长因子修复关节<sup>[5-6]</sup>,血清蛋白组学研究可揭示蜂针直刺的治疗机制<sup>[7-9]</sup>,研究证实蜂针直刺可抑制炎症<sup>[10-11]</sup>。作为传统中医疗法,蜂针直刺在缓解痛风性关节炎方面展现潜力,其治疗原理需经血清蛋白组学深入研究,现报告如下。

## 1 研究对象和方法

### 1.1 研究对象

以2022年6月至2023年6月本院收治的98例急性痛风性关节炎患者作为观察组,年龄为18~77岁;通过健康筛查招募75例健康志愿者作为本研究的对照组,年龄为20~75岁,参与本研究的健康志愿者被用作筛选差异蛋白的受试对象。

### 1.2 诊断标准

根据2015年美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟(ACR/EULAR)共同制定的痛风诊断标准<sup>[12]</sup>进行患者的确诊。

### 1.3 纳入标准

1)满足急性痛风性关节炎的诊断标准;2)患者充分了解并同意本治疗方案,愿意配合后续随访治疗,并签署知情同意书以确认其意愿。

### 1.4 蜂针直刺治疗方法

用消毒棉签蘸取医用酒精轻轻擦拭急性痛风性关节炎患者皮肤进行局部消毒,用镊子轻轻夹住活蜂的腰部,然后将其精确地对准身体的特定穴位或疼痛点,此时蜜蜂发源自本能地将尾部的针刺入患者皮肤,随后蜂毒经由蜜蜂的螫针被注入到人体内。如果蜜蜂不愿意主动释放其蜂刺,那么可以采取一些措施来促使其进行针刺,例如手指轻轻按压蜜蜂的胸部,或者折断其身体的一部分。通常蜂刺需要在皮肤上停留10~20 min,然后再将其小心拔出。蜂针直刺具体疗程因人而异,慢性病及病程长的患者每周2次及2次以上。

### 1.5 资料收集

入院后询问获取患者基本资料用于本研究,包括患者年龄、性别、体重指数(BMI)、病程、糖尿病、高血压病、吸烟史及饮酒史等。

入院后采集患者清晨空腹血液样本5 mL,离心15 min(3 000 r/min,离心半径为10 cm)分离血清,检测患者尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)、肌酐(Serum Creatinine, SCr)、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、三酰甘油(Triacylglycerol, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low Density Lipoprotein Cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白

(High Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C)、血红蛋白(Hemoglobin, HB)、白细胞计数(White Blood Cell Count, WBC)、红细胞计数(Red Blood Cell Count, RBC)、血小板计数(Platelet Count, PLT)、白蛋白(Prealbumin, PAB)、总胆红素(Total Bilirubin, TBIL)及乳酸脱氢酶(Lactic Dehydrogenase, LDH)水平。

### 1.6 抗体阵列检测筛选差异表达蛋白质

将观察组和对照组研究对象的血清样本进行抗体阵列检测。美国RayBiotech公司试剂盒(QAH-ICM-1)配备了包含50种细胞因子蛋白质的玻片芯片,在抗体阵列检测过程中首先确保玻片芯片完全干燥,并配置细胞因子标准品(按照梯度稀释7次),按照标准流程进行芯片操作,并实施Cy3-链霉亲和素的孵育步骤。为了获取精确的数据,运用法国Innopsys公司InnoScan 300动态激光共聚焦扫描仪进行检测。随后利用QAH-ICM-1软件对检测数据进行详细分析,以揭示样本中的关键信息。首先,对所有样本的原始数据进行平均化处理,以确保数据的稳定性和可靠性。随后,对这些平均数据进行归一化,以消除不同样本间的测量差异。在此基础上,根据各因子的标准曲线,计算出样本中各因子的浓度值。最后,对这些浓度值进行深入分析,以揭示其中的规律和趋势。为了比较两组之间的差异,采用校正 $t$ 检验。为了确保结果的准确性,进一步利用BH方法进行 $P$ 值校正。根据设定的标准,只有当 $P < 0.01$ 且差异倍数的对数绝对值大于 $\log_2 1.2$ 时,才认为该蛋白质为差异表达蛋白质。为了更直观地展示这些结果,需要对数据进行可视化处理,用R包“ggfortify”、R包“gplots”及R包“ggbiplot”分别对特异性蛋白质进行散点图及火山图处理、分层聚类分析、主成分分析(PCA),在主成分分析中,选择前两个主成分作为代表,通过这些主成分的分布情况,能够直观地对样本进行分类处理,从而更深入地理解各样本间的差异和关系。

### 1.7 生物信息学方法分析蛋白质功能

为了深入理解差异表达蛋白质在生物学功能和信号通路方面的作用,进行基因本体(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)分析。这些分析有助于对差异表达蛋白质进行生物学功能注释,揭示其在细胞过程中的具体作用。同时,通过信号通路富集分析,能够识别出这些蛋白质参与的主要信号通路,进一步揭示其在调控细胞生理和病理过程中的重要作用。

### 1.8 ELISA检测特异性蛋白和炎症因子水平

根据ELISA试剂盒使用指南,对接受蜂针直刺治疗的患者在治疗前后的血清中特异性蛋白水平进行了检测。同时,按照相同的ELISA试剂盒操作规范,也

检测了对照组和观察组血清中炎症因子,包括白细胞介素-1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化生长因子- $\beta$  (Transforming Growth Factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、高敏-C 反应蛋白 (high-sensitivity C-Reactive Protein, hs-CRP)的水平。

1.9 疗效评估标准

临床治愈:患者所有临床症状均达到完全消退的状态,关节功能恢复如初,能够正常进行日常生活和工作。显效:患者主要临床症状得到显著缓解,关节功能和生活、工作能力基本回归正常,仅有轻微影响。有效:患者临床症状有明显减轻,关节功能较前有所改善,生活能够自理,但在工作方面可能受到一定程度的限制。无效:患者临床症状和关节功能均未出现改善,日常生活和工作受到较大影响。

1.10 统计学方法

用 SPSS 21.0 软件中的  $t$  检验分析两组受试者的实验室参数及蛋白质表达量;倾向性评分匹配对照组和观察组基线资料;抗体阵列检测急性痛风性关节炎患者与健康志愿者血清中 50 种蛋白质的表达差异;GO 富集分析急性痛风性关节炎患者差异表达蛋白质功能;ELISA 检测分析蜂针直刺治疗前后特异性蛋白质表达变化及炎症指标变化;ROC 曲线分析四种差异性表达蛋白质诊断急性痛风性关节炎。

2 结果

2.1 两组患者基线资料倾向性匹配

采用倾向性评分匹配法进行 1:1 匹配,共匹配成功 50 对。匹配前,两组患者年龄、WBC、TC 及 LDH 水平差异具有统计学意义( $P<0.05$ );匹配后两组患者基线特征差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。两组患者匹配前差异较大,1:1 倾向性匹配后趋于一致,匹配效果较好,改善了两组受试者均衡性,匹配前后直方图见图 1。

表 1 匹配前后两组受试者基线特征比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别(匹配前)	年龄/岁	男	体重指数/( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )	病程/月	高血压病/例	糖尿病/例	饮酒史/例
对照组	52.71 $\pm$ 10.34	13(17.33%)	22.79 $\pm$ 3.72	82.73 $\pm$ 71.24	26(34.67%)	22(29.33%)	18(24.00%)
观察组	56.11 $\pm$ 11.34	18(18.37%)	23.04 $\pm$ 3.82	79.63 $\pm$ 61.27	32(32.65%)	28(28.57%)	22(22.45%)
$t/\chi^2$	2.030	0.031	0.431	0.307	0.077	0.012	0.057
$P$	0.044	0.860	0.667	0.759	0.781	0.913	0.810
组别(匹配前)	吸烟史/例	RBC/ ( $10^{12}\cdot\text{L}^{-1}$ )	WBC/ ( $10^9\cdot\text{L}^{-1}$ )	PLT/ ( $10^9\cdot\text{L}^{-1}$ )	PAB/ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	HB/ ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TC/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
对照组	24(32.00%)	4.67 $\pm$ 0.64	5.14 $\pm$ 1.02	140.36 $\pm$ 50.14	40.69 $\pm$ 3.64	138.64 $\pm$ 13.98	3.04 $\pm$ 0.28
观察组	33(33.67%)	4.58 $\pm$ 0.61	6.08 $\pm$ 1.01	141.28 $\pm$ 50.07	40.39 $\pm$ 3.14	140.94 $\pm$ 12.88	3.16 $\pm$ 0.24
$t/\chi^2$	0.054	0.941	6.040	0.120	0.581	1.122	3.031
$P$	0.816	0.348	<0.001	0.905	0.562	0.264	0.003
组别(匹配前)	TG/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LDL-C/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	HDL-C/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TBIL/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LDH/ ( $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ )	SCr/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	BUN/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
对照组	1.72 $\pm$ 0.39	3.02 $\pm$ 0.14	1.24 $\pm$ 0.21	8.34 $\pm$ 1.64	158.34 $\pm$ 31.28	94.36 $\pm$ 11.27	3.98 $\pm$ 0.94
观察组	1.75 $\pm$ 0.34	3.03 $\pm$ 0.16	1.25 $\pm$ 0.19	8.32 $\pm$ 1.58	154.31 $\pm$ 30.28	90.96 $\pm$ 10.26	3.97 $\pm$ 1.01
$t/\chi^2$	0.539	0.430	0.328	0.081	2.069	0.243	0.066
$P$	0.590	0.668	0.744	0.935	0.040	0.808	0.947
组别(匹配后)	年龄/岁	男/例	体重指数 /( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )	病程 /月	高血压病 /例	糖尿病 /例	饮酒史 /例
对照组	52.83 $\pm$ 11.28	8(16.00%)	23.11 $\pm$ 3.11	75.38 $\pm$ 61.61	17(24.00%)	13(26.00%)	17(34.00%)
观察组	52.74 $\pm$ 11.31	9(18.00%)	22.96 $\pm$ 3.32	78.29 $\pm$ 68.78	15(30.00%)	14(28.00%)	16(32.00%)
$t/\chi^2$	0.040	0.071	0.233	0.223	0.184	0.051	0.056
$P$	0.968	0.790	0.816	0.824	0.668	0.822	0.812
组别(匹配后)	吸烟史/例	RBC/ ( $10^{12}\cdot\text{L}^{-1}$ )	WBC/ ( $10^9\cdot\text{L}^{-1}$ )	PLT/ ( $10^9\cdot\text{L}^{-1}$ )	PAB/ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	HB/ ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TC/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
对照组	17(34.00%)	4.57 $\pm$ 0.56	5.16 $\pm$ 1.31	143.29 $\pm$ 50.28	40.34 $\pm$ 3.15	139.58 $\pm$ 13.14	3.06 $\pm$ 0.12
观察组	16(32.00%)	4.59 $\pm$ 0.58	5.17 $\pm$ 1.35	141.27 $\pm$ 50.69	40.47 $\pm$ 3.24	141.01 $\pm$ 12.24	3.09 $\pm$ 0.14
$t/\chi^2$	0.045	0.175	0.038	0.200	0.203	0.563	1.150
$P$	0.832	0.861	0.970	0.842	0.839	0.575	0.253
组别(匹配后)	TG/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LDL-C/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	HDL-C/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TBIL/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LDH/ ( $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ )	SCr/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	BUN/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
对照组	1.83 $\pm$ 0.19	3.11 $\pm$ 0.09	1.21 $\pm$ 0.28	8.28 $\pm$ 1.19	155.55 $\pm$ 31.38	90.47 $\pm$ 10.24	3.78 $\pm$ 1.04
观察组	1.85 $\pm$ 0.20	3.08 $\pm$ 0.10	1.23 $\pm$ 0.27	8.29 $\pm$ 1.18	158.34 $\pm$ 30.77	92.35 $\pm$ 10.27	3.73 $\pm$ 1.06
$t/\chi^2$	0.513	1.577	0.364	0.042	0.449	0.917	0.238
$P$	0.609	0.118	0.717	0.966	0.654	0.362	0.812

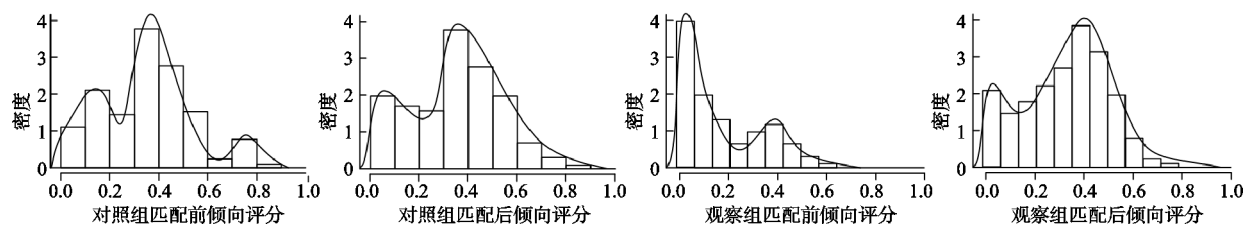


图 1 匹配前后的倾向性评分分布与覆盖核密度直方图

2.2 急性痛风性关节炎患者与健康志愿者血清中 50 种蛋白质的表达差异

从表 2 中可以看出,急性痛风性关节炎患者体内有 50 种蛋白质的表达发生了改变。在这 50 种蛋白质中,有 22 种蛋白质的表达量上升(即上调),而另外 28 种蛋白质的表达量下降(即下调)。其中 8 种蛋白质显著上调( $P<0.05$ ),包括表中编号为 1,2,3,4,6,7,11,12 的蛋白质;4 种蛋白质显著下调( $P<0.01$ ),包括表中 5,8,9,10,见表 2。根据筛选标准,选择 4 种差异表达最显著的蛋白质(编号为 1,2,4,5)进行可视化研究,其中编号

为 1,2,4 的蛋白质表现为上调,编号为 5 的蛋白质表现为下调(图 2ab)。分层聚类结果表明编号为 1 和 5 的蛋白质聚为一类,编号为 2 和 4 的蛋白质各聚为一类(图 2c)。PCA 分析结果显示,在对照组和观察组中存在两个主要的差异表达蛋白质成分。通过对每个样品的前两个主成分(PC1 和 PC2)进行分析,发现其分别贡献了 57.98%和 26.71%的总变异,这意味着这两个主成分在很大程度上代表了样品间的差异。然而值得注意的是,远离大多数样本点的离群点并未显示出对照组与观察组之间的明显相关性(图 2d)。

表 2 急性痛风性关节炎患者与健康志愿者血清中 50 种蛋白质的表达差异

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
蛋白质名称	IL-8	TNFR II	TIMP-2	MIP-1β	GM-CSF	IL-6R	TNFR I	B7-H1	PD-L2	PD-L1
观察组	2.64	12.52	13.26	5.95	0.14	10.70	12.97	1.73	1.32	0.09
健康对照组	0.96	12.02	13.05	4.63	1.32	10.56	12.59	4.49	4.86	1.74
Log <sub>2</sub> 差异倍数	1.68	0.50	0.21	1.31	-1.18	0.14	0.38	-2.76	-3.54	-1.65
P	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01

编号	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
蛋白质名称	PDGF-BB	RANTES	IL-7	ICOS	IL-4	Eotaxin-2	IFNG	IL-1ra	IL-5	MIP-1α
观察组	13.22	11.22	1.50	6.54	2.74	7.15	0.82	6.73	0.93	8.31
健康对照组	13.07	11.10	2.39	8.95	4.49	7.65	1.84	6.14	2.17	7.73
Log <sub>2</sub> 差异倍数	0.15	0.12	-0.89	-2.41	-1.75	-0.50	-1.02	0.59	-1.24	0.58
P	0.02	0.01	0.05	0.09	0.11	0.14	0.17	0.13	0.14	0.15

编号	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
蛋白质名称	TNF-α	IL-12p70	CTLA-4	GCSF	IL-16	MIG	TIMP-1	IL-13	MIP-1δ	TNF-β
观察组	0.67	0.03	4.72	4.35	5.83	6.63	11.76	0.14	10.55	0.58
健康对照组	2.18	0.31	6.26	5.48	5.09	5.60	11.65	0.74	10.74	2.02
Log <sub>2</sub> 差异倍数	-1.51	-0.28	-1.54	-1.13	0.74	1.03	0.11	-0.60	-0.19	-1.44
P	0.12	0.15	0.17	0.18	0.19	0.15	0.18	0.23	0.26	0.23

编号	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
蛋白质名称	I-309	BLC	B7-H2	IL-12p40	MCP-1	IL-2	B7-H3	B7-H3	PD-1	ICAM-1
观察组	2.43	4.67	10.83	6.25	6.39	2.28	8.33	8.05	8.29	13.58
健康对照组	3.33	4.31	10.44	5.85	6.60	3.23	8.65	8.06	8.62	13.52
Log <sub>2</sub> 差异倍数	-0.90	0.36	0.39	0.40	-0.21	-0.95	-0.32	-0.08	-0.06	0.06
P	0.25	0.28	0.33	0.34	0.37	0.42	0.63	0.64	0.70	0.69

编号	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
蛋白质名称	IL-11	Eotaxin	IL-6	IL-15	IL-10	IL-17	B7-2	CD28	IL-1β	M-CSF
观察组	1.05	6.69	2.01	1.76	1.39	1.42	7.83	4.35	2.85	<0.01
健康对照组	1.55	6.82	1.73	2.04	1.24	1.37	7.98	4.18	2.82	<0.01
Log <sub>2</sub> 差异倍数	-0.50	-0.13	0.28	-0.28	0.15	0.05	-0.15	0.17	0.03	0.00
P	0.69	0.77	0.74	0.75	0.78	0.90	0.93	0.91	0.95	<0.01

2.3 急性痛风性关节炎患者差异表达蛋白质功能

利用 GO 富集分析深入探究了相关生物过程与分子功能的变化。在生物过程层面,笔者观察到代谢反应的上调表现尤为显著,而炎症反应调节则呈现出明显的下调趋势(图 3a);在分子功能方面,分析涵盖了 11 个关键功能术语,差异表达蛋白质在细胞因子活

性、细胞因子受体结合以及 TNF 激活受体活性等方面表现出显著的富集趋势(图 3b);细胞成分类别的分析中,发现了一个关键的功能术语,即静脉曲张(图 3c)。经过 KEGG 富集分析,观察到差异表达的蛋白质在多达 13 条代谢或信号转导途径中均表现出显著的富集现象,特别值得一提的是,在细胞因子与细胞因



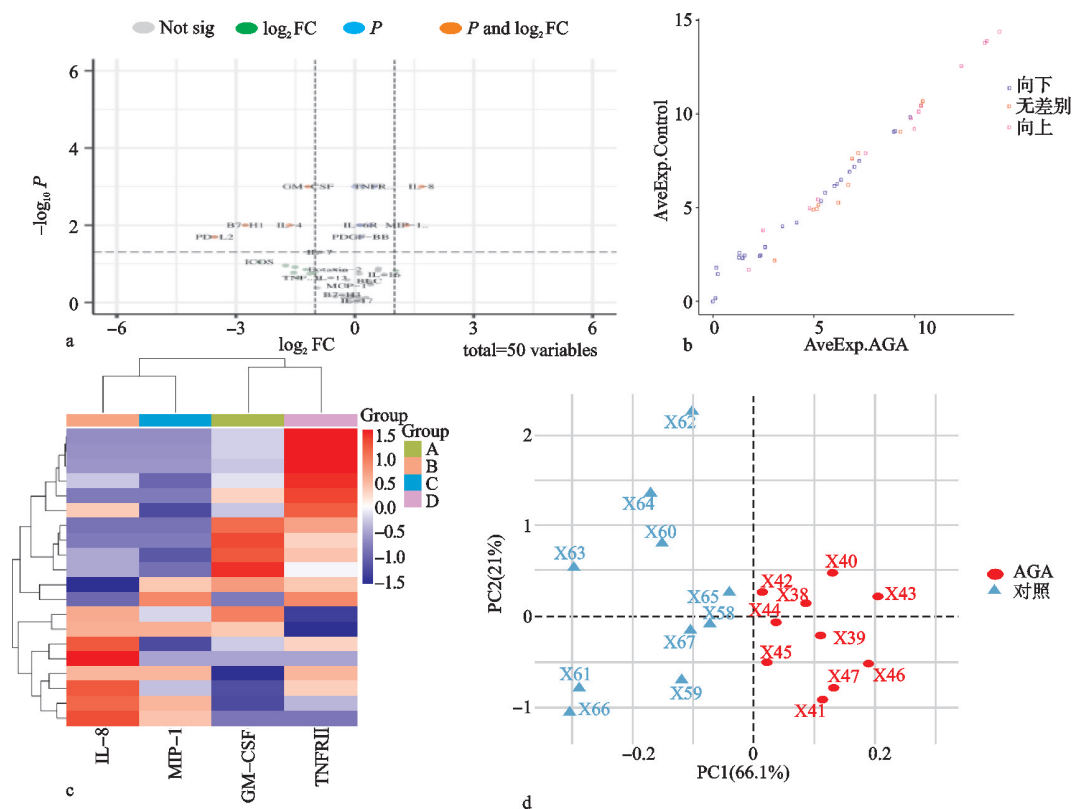


图 2 通过芯片检测急性痛风性关节炎患者组和对照组中的蛋白质表达谱

子受体之间的相互作用以及病毒蛋白与细胞因子及其受体间的交互作用这两条途径中,这些差异表达蛋白

质的富集程度尤为突出(图 3d)。2.4 蜂针直刺治疗前后特异性蛋白质表达变化

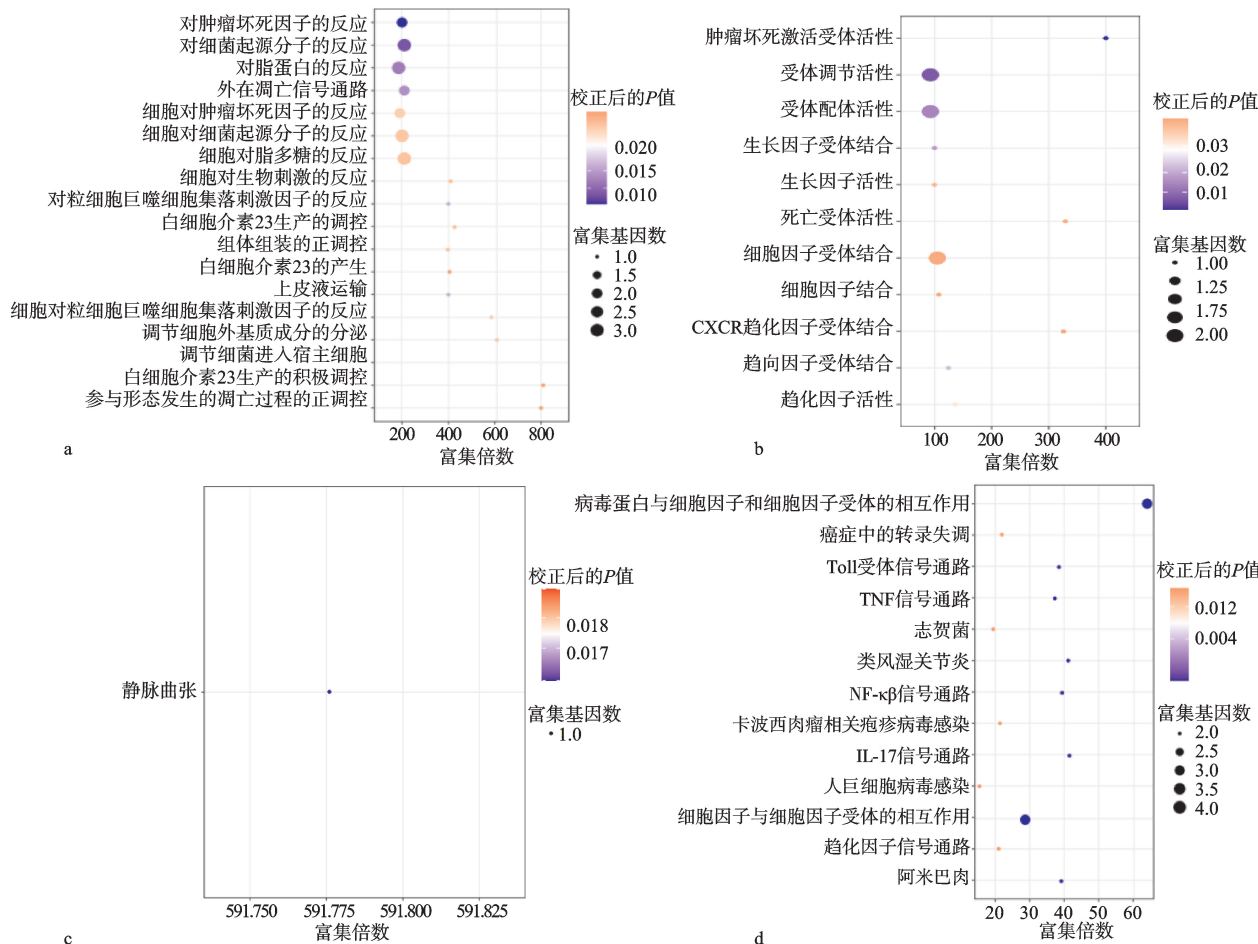


图 3 急性痛风性关节炎患者与健康志愿者差异表达蛋白质基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析结果

ELISA 检测显示,蜂针直刺治疗前后急性痛风性关节炎患者血清 TNF-R II、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF 水平差异明显,与治疗前比较,经蜂针直刺治疗后急性痛

风性关节炎患者血清 TNF-R II、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), GM-CSF 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ),见图 4。

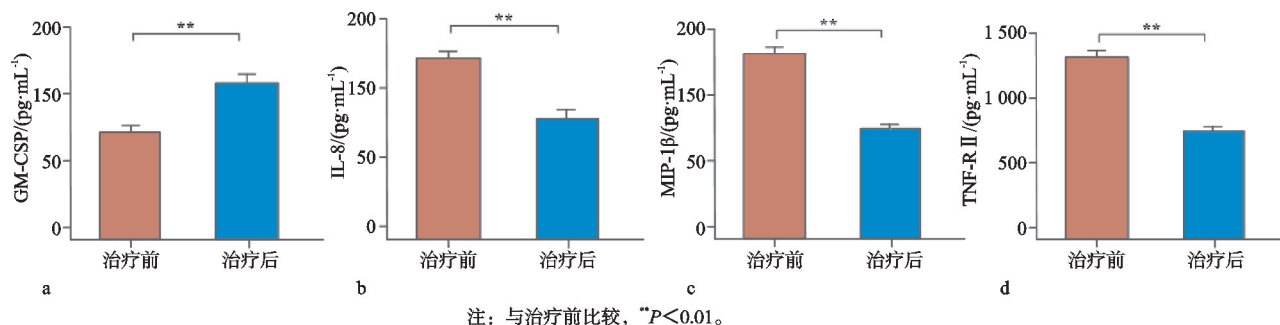


图 4 蜂针直刺治疗前后特异性蛋白质表达变化

## 2.5 蜂针直刺治疗前后炎症指标变化

从图中可以看出,与对照组相比,蜂针直刺治疗前后急性痛风性关节炎患者血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、

TGF- $\beta$ 、hs-CRP 差异显著 ( $P < 0.01$ );蜂针直刺治疗后,炎症指标水平相较于治疗前均呈现显著降低的趋势,见图 5。

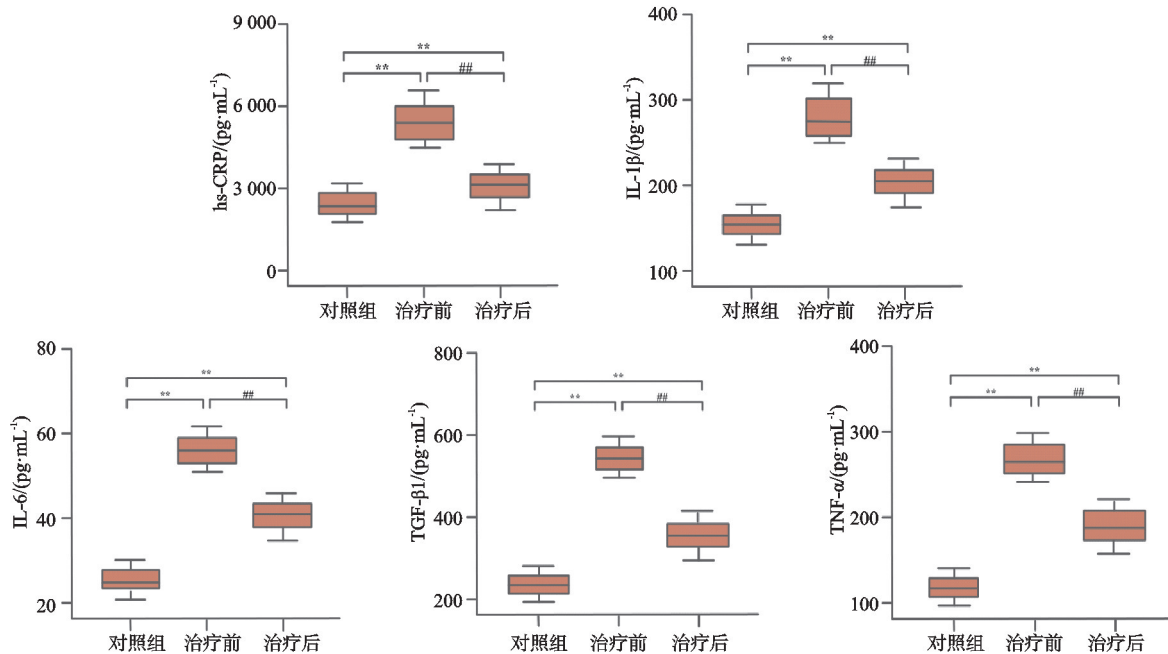


图 5 蜂针直刺治疗前后炎症指标变化

## 2.6 四种差异性表达蛋白质诊断急性痛风性关节炎的 ROC 曲线

ROC 曲线分析结果显示,GM-CSF 预测 ROC 曲线分析结果显示,GM-CSF 预测急性痛风性关节炎患者的 AUC 为 0.596 (95%CI=0.553~0.863),敏感度为 63.46%,特异度为 48.97%;IL-8 预测急性痛风性关节炎患者的 AUC 为 0.997 (95%CI=0.975~1.006),敏感度为 100.00%,特异度为 60.87%;MIP-1 $\beta$  预测急性痛风性关节炎患者的 AUC 为 0.985 (95%CI=0.734~0.976),敏感度为 96.04%,特异度为 97.94%;TNF-R II 预测急性痛风性关节炎患者的 AUC 为 0.972 (95%CI=0.947~1.007),敏感度为 100.00%,特异度为 11.04% (图 6),结果提示 IL-8 诊

断患者的价值最高,MIP-1 $\beta$  次之。

## 2.7 疗效评价

本研究急性痛风性关节炎患者采用蜂针直刺治疗达到临床治愈标准 15 例,显效 63 例,有效 18 例,无效 2 例,总有效率为 97.96%,其中 1 例由于体质弱对蜂针直刺反应十分强烈而中断治疗。

## 3 结论

蜂针直刺改善急性痛风性关节炎作用的血清蛋白组学研究是一个涉及传统中医疗法与现代生物技术的交叉研究领域,具有广阔的探索空间<sup>[13]</sup>。首先,蜂针直刺作为传统中医疗法的一种,其理论基础主要来源于中医的经络学说和针灸疗法。通过直接刺激特定穴位,蜂针直刺能够利用蜂毒的生物活性成分,对人体

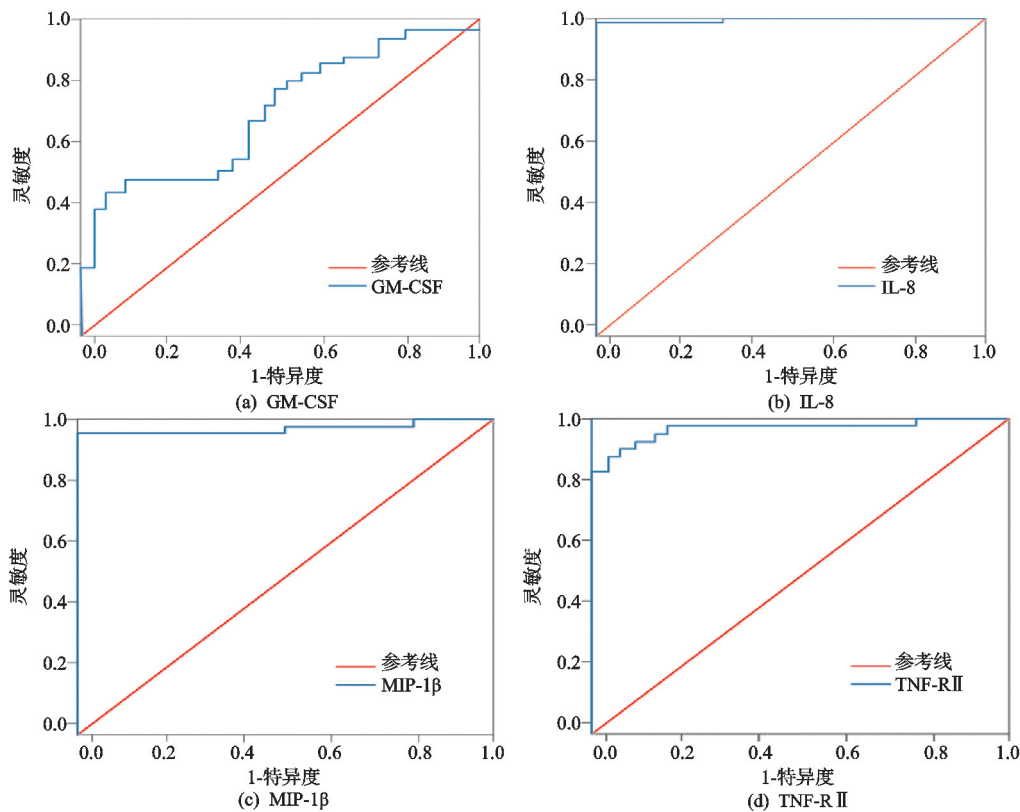


图 6 四种差异蛋白质诊断急性痛风性关节炎的 ROC 曲线

产生一系列复杂的生物学效应。然而传统医学往往更侧重于经验和疗效的观察,对于其具体的作用机制缺乏深入的科学解释。因此,利用现代生物技术(如血清蛋白质组学)来探索蜂针直刺的治疗机制,具有重要的科学价值<sup>[14]</sup>。其次,血清蛋白质组学作为一种系统生物学的研究方法,能够从全局角度全面解析生物体内蛋白质的表达变化,从而揭示其复杂的调控机制和功能。在蜂针直刺改善急性痛风性关节炎的研究中,通过对比急性痛风性关节炎患者治疗前后的血清蛋白表达谱,可以找出与疾病改善相关的关键蛋白,为揭示蜂针直刺的治疗机制提供线索<sup>[15]</sup>。

本研究基于蛋白质组学确定了 4 种急性痛风性关节炎特异性蛋白质,包括 TNF-R II、MIP-1 $\beta$ 、IL-8、GM-CSF。究其原因因为蛋白质组学作为一种高通量的研究方法,能够系统地分析生物体或组织中的蛋白质组成及其动态变化。在急性痛风性关节炎的研究中,通过蛋白质组学技术可以全面筛查和鉴定与疾病相关的蛋白质,从而发现新的疾病标志物或治疗靶点<sup>[16]</sup>。急性痛风性关节炎是一种复杂的疾病,主要表现为关节的炎症性反应,其发病过程中涉及多个信号通路和细胞因子的相互作用。TNF-R II、MIP-1 $\beta$ 、IL-8 和 GM-CSF 等蛋白质作为关键的炎症介质和免疫调节因子,在疾病的发病和进展过程中扮演着至关重要的角色,对病情的发展和演变具有显著影响。

这一研究领域也面临着一些挑战和限制:首先,由

于人体内的蛋白质种类繁多,且存在复杂的相互作用,因此要从海量的蛋白质数据中筛选出与蜂针直刺治疗相关的关键蛋白,需要借助先进的生物信息学技术和数据分析方法<sup>[17]</sup>。本研究利用 GO 富集分析深入探究相关生物过程与分子功能的变化,在生物过程层面,观察到代谢反应的上调表现尤为显著,这提示代谢活动的增强;而炎症反应调节则呈现出明显的下调趋势,这可能反映了炎症反应的减弱或抑制。在分子功能方面,笔者的分析涵盖了 11 个关键功能术语,这些术语揭示了差异表达蛋白质在多种生物功能上的具体作用,差异表达蛋白质在细胞因子活性、细胞因子受体结合以及 TNF 激活受体活性等方面表现出显著的富集趋势;在细胞成分类别的分析中,发现了一个关键的功能术语(即静脉曲张)。经过 KEGG 富集分析,观察到差异表达的蛋白质在多达 13 条代谢或信号转导途径中均表现出显著的富集现象。特别值得一提的是,在细胞因子与细胞因子受体之间的相互作用以及病毒蛋白与细胞因子及其受体间的交互作用这两条途径中,这些差异表达蛋白质的富集程度尤为突出。其次,由于个体差异、治疗剂量和疗程等因素的影响,蜂针直刺的治疗效果可能存在差异,这需要在研究中充分考虑和控制。此外,虽然血清蛋白质组学能够提供丰富的数据和信息,但仅依靠蛋白质的表达变化来揭示治疗机制是不够的,还需要结合其他生物技术(如基因表达分析、代谢组学等),进行多层次的交叉验证和综合分析,

以更全面地了解蜂针直刺治疗急性痛风性关节炎的作用机制<sup>[16]</sup>。最后,虽然蜂针直刺在某些情况下可能有疗效,但由于其涉及到动物毒素的使用,因此在实际应用中需要谨慎对待。在进行相关研究和临床应用时,应严格遵守相关的法规和伦理规范,确保患者的安全和权益。

综上所述,蜂针直刺改善急性痛风性关节炎作用的血清蛋白组学研究是一个具有挑战性和前景的研究领域,通过综合运用现代生物技术和传统医学知识,可以更深入地了解这一疗法的治疗机制,为临床应用提供科学依据。

## 参考文献

- [1] LI L, ACIOGLU C, HEARY R F, et al. Role of astroglial toll-like receptors (TLRs) in central nervous system infections, injury and neurodegenerative diseases [J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 91: 740-755.
- [2] SUN X, LI P, QU X, et al. Isoviteixin alleviates acute gouty arthritis in rats by inhibiting inflammation via the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Pharm Biol*, 2021, 59 (1): 1326-1333.
- [3] LU W, MENG Z, HERNANDEZ R, et al. Fibroblast-specific IKK- $\beta$  deficiency ameliorates angiotensin II-induced adverse cardiac remodeling in mice [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(18): e150161.
- [4] FU W, GE M, LI J. Phospholipase A2 regulates autophagy in gouty arthritis: proteomic and metabolomic studies [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 261.
- [5] 朱丹萌, 黄玉莹, 罗统安, 等. 刺血疗法结合壮医药线点灸对急性痛风性关节炎大鼠 TLRs/MyD88 信号通路的影响 [J]. *中国全科医学*, 2023, 26(20): 2525-2531.
- [6] AMIRI-DASHATAN N, KOUSHKI M, REZAEI-TAVIRANI M. Mass spectrometry-based proteomics research to Fight COVID-19: an expert review on hopes and challenges [J]. *Omics*, 2022, 26(1): 19-34.
- [7] LI H, JIANG W, YE S, et al. P2Y14 receptor has a critical role in acute gouty arthritis by regulating pyroptosis of macrophages [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 394.
- [8] KRAVCHENKO D, KARAKOSTAS P, KUETTING D, et al. The role of dual energy computed tomography in the differentiation of acute gout flares and acute calcium pyrophosphate crystal arthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2022, 41 (1): 223-233.
- [9] DI H, HAN X, YIN Y, et al. Role of chemotaxis of V $\delta$ 2 T cells to the synovium in the pathogenesis of acute gouty arthritis [J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 721-736.
- [10] CAO Y, HU Y, JIN X F, et al. Dimethyl fumarate attenuates MSU-induced gouty arthritis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and oxidative stress [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2023, 27(2): 628-641.
- [11] YE S M, ZHOU M Z, JIANG W J, et al. Silencing of gasdermin D by siRNA-Loaded PEI-Chol lipopolymers potentially relieves acute gouty arthritis through inhibiting pyroptosis [J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(2): 667-678.
- [12] NEOGI T, JANSEN T L, DALBETH N, et al. 2015 gout classification criteria: an american college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(10): 1789-1798.
- [13] CAO Y, ZHONG Q, TANG F, et al. Anethole ameliorates inflammation induced by monosodium urate in an acute gouty arthritis model via inhibiting TLRs/MyD88 pathway [J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2022, 50 (6): 107-114.
- [14] 张金焕, 陈伊镭, 兰凯, 等. 不同针灸疗法治疗急性痛风性关节炎的有效率和对血尿酸及疼痛影响的网状 Meta 分析 [J]. *中国全科医学*, 2021, 24(8): 1001-1010.
- [15] KHUONG H L, CHEN C H, LIN J L, et al. Nanodiamond solid-phase extraction and triton X-114 cloud point separation for robust fractionation and shotgun proteomics analysis of the human serum proteome [J]. *J Proteome Res*, 2022, 21(1): 67-76.
- [16] WU S, XU Y, ZHANG J, et al. Longitudinal serum proteome characterization of covid-19 patients with different severities revealed potential therapeutic strategies [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 893943.
- [17] 卫博文, 高晶月, 刘维, 等. 金藤清痹颗粒治疗急性痛风性关节炎的作用机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(21): 7086-7094.

(收稿日期: 2024-04-11)