·临床研究·

外周血 *AQP9*、*QPCT* 和 *CYP1B1* mRNA 表达与钙化性主动脉瓣疾病的关系

王聪灵，王圣杰，黄晓萍，王熹芝，肖人源，李旎

【摘要】目的　探讨外周血水通道蛋白 9（*AQP9*）、谷氨酰肽环转移酶（*QPCT*）和细胞色素 P450 1B1（*CYP1B1*）mRNA 在不同主动脉瓣状态人群中的表达特征及其与钙化性主动脉瓣疾病（CAVD）的关系。**方法**　本研究为单中心回顾性研究。收集 2025 年 1－12 月期间在宁波市医疗中心李惠利医院经胸超声心动图及（或）心脏 CT 检查后留存的外周静脉血标本 64 份，根据采血当日影像学检查结果分为正常对照组（Normal 组）、非钙化主动脉瓣病变组（non-CAVD 组）和钙化性主动脉瓣疾病组（CAVD 组）。采用实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测外周血中 *AQP9*、*QPCT* 和 *CYP1B1* mRNA 表达水平。比较 3 组间基因表达差异，绘制受试者工作特征（ROC）曲线分析评估上述基因对 CAVD 的鉴别效能。**结果**　3 组间 *AQP9*、*QPCT* 和 *CYP1B1* mRNA 表达水平差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$）。CAVD 组 *AQP9* mRNA 表达水平高于 Normal 组、non-CAVD 组，non-CAVD 组高于 Normal 组（均 $P < 0.05$）；CAVD 组 *QPCT* mRNA 表达水平高于 Normal 组和 non-CAVD 组（均 $P < 0.05$）；non-CAVD 组和 CAVD 组 *CYP1B1* mRNA 表达水平均高于 Normal 组（均 $P < 0.05$）。*AQP9*、*QPCT* 和 *CYP1B1* 均对 CAVD 患者有较好的鉴别能力，曲线下面积（*AUC*）分别为 0.935、0.967 和 0.972。**结论**　*AQP9*、*QPCT* 和 *CYP1B1* mRNA 具有较好的 CAVD 鉴别效能，可作为潜在的外周血分子标志物。

【关键词】 钙化性主动脉瓣疾病；外周血；水通道蛋白 9；谷氨酰肽环转移酶；细胞色素 P450 1B1

DOI:10.3969/j.issn.1671-0800.2026.05.012

【中图分类号】 R543.1　**【文献标志码】** A　**【文章编号】** 1671-0800(2026)05-0511-03

钙化性主动脉瓣疾病（calcific aortic valve disease，CAVD）是老年人群最常见的获得性瓣膜性心脏病之一，也是主动脉瓣狭窄的主要原因。随着人口老龄化加剧，CAVD 患病率持续升高，已成为影响老年患者预后和生活质量的重要疾病[1]。目前尚缺乏能够有效延缓或逆转疾病进展的药物，主动脉瓣置换仍是中晚期患者的主要治疗手段[2-3]。因此，探索反映疾病状态的无创生物标志物，对于实现 CAVD 的早期识别和动态评估具有重要意义。

近年来研究表明，CAVD 并非单纯的退行性病变，而是一种主动调控的病理过程，涉及脂质沉积、慢性炎症、免疫细胞浸润及细胞外基质重塑等多个环节[4-7]。其中，免疫炎症反应被认为在瓣膜钙化发生和进展过程中发挥重要作用，并促进瓣膜间质细胞向成骨样表型转分化[7]。

既往研究提示，水通道蛋白 9（*AQP9*）与免疫细胞炎症激活相关[8-9]，谷氨酰肽环转移酶（*QPCT*）参与单核细胞募集及炎症反应调控[10]，细胞色素 P450 1B1（*CYP1B1*）则与氧化应激及心血管组织重构相关[11-12]。然而，上述基因在 CAVD 患者外周血中的表达特征及其潜在临床价值仍缺乏系统研究。基于此，本研究检测不同主动脉瓣状态人群外周血中 *AQP9*、*QPCT* 和 *CYP1B1* mRNA 表达水平，评估其与 CAVD 的相关性及诊断鉴别价值，为探索 CAVD 无创分子标志物提供依据，现报道如下。

1　材料与方法

1.1　材料来源　本研究为单中心回顾性研究。收集 2025 年 1－12 月期间在宁波市医疗中心李惠利医院经胸超声心动图及（或）心脏 CT 检查后留存的外周静脉血标本共 64 份。由于部分标本来源于同一患者不同就诊阶段的血液标本，且部分标本对应的临床基线资料记录不完整；因此，本研究以“标本”为统计单位。本研究方案获得宁波市医疗中心李惠利医院医学伦理委员会批准（伦理批准号：李惠利医院伦

基金项目： 浙江省自然科学基金（LKLY26H020005）；宁波市青年科技创新领军人才项目（2024QL025）

作者单位： 315040 宁波，宁波市医疗中心李惠利医院

通信作者： 李旎，Email：lhllini@nbu.edu.cn

理审 2026 研第 011 号），免除知情同意。

根据采血当日影像学结果将标本分为 3 组。正常对照组（Normal 组）：主动脉瓣形态及功能基本正常，无明确钙化及血流动力学异常；非钙化主动脉瓣病变组（non-CAVD 组）：以退行性改变或轻中度反流为主，可伴瓣叶增厚或轻度硬化，但无或仅有轻微钙化，未达钙化性主动脉瓣狭窄诊断标准；钙化性主动脉瓣疾病组（CAVD 组）：影像学提示瓣叶中重度钙化，并/或存在中重度主动脉瓣狭窄。

1.2　逆转录及实时定量 PCR（qRT-PCR）　采用商用反转录试剂盒（YEASEN，China）将 1 μg 总 RNA 逆转录为互补 DNA（cDNA）。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶（*GAPDH*）作为内参基因，设计并合成 *AQP9*、*QPCT*、*CYP1B1* 及 *GAPDH* 的特异性引物（引物序列见表 1）。

使用实时荧光定量 PCR 仪（如 ABI 7500 等），采用 SYBR Green 荧光染料（YEASEN，China）法进行 qRT-PCR 检测。反应条件设置为：95 ℃预变性 5 min；随后 95 ℃ 10 s、60 ℃ 30 s，共 40 个循环；扩增结束后绘制熔解曲线，以验证扩增产物的特异性。

每份标本设置 2 ～ 3 个技术复孔，取 Ct 值的平均值用于后续分析。目标基因的相对表达量采用 $2^{-\Delta Ct}$ 法计算，其中 ΔCt = Ct（目标基因）− Ct（*GAPDH*），对于呈现明显偏态分布的数据，在统计分析及图形展示中进行 log10 转换。

1.3　统计方法　采用 R 语言（version 4.5.0）进行统计分析。计量资料中位数（四分位数）表示，组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验，事后两两比较采用 Dunn 法并进行多重比较校正。绘制受试者工作特征（ROC）曲线，计算曲线下面积（*AUC*）及其 95% 置信区间，并评价敏感度与特异度，以评估 3 种基因对 CAVD 的鉴别效能。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1　*AQP9*、*QPCT*、*CYP1B1* 及 *GAPDH* 引物序列

基因	引物	引物序列（5'→3'）	长度（bp）
AQP9	正向	TGTTGCCTTATGCCTTCCAG	20
	反向	AAAGCACCTGGGGAAACTTG	20
QPCT	正向	GCCCTTGGCCTTTATTCTGT	20
	反向	TTTTATGCTTGGGAGTCACCAC	22
CYP1B1	正向	TCAGTCACAGACCTAGATACTTTG	24
	反向	GAAAAGCCATGACATATGGCAG	22
GAPDH	正向	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	20
	反向	TGGTGAAGACGCCAGTGGA	19

注：*AQP9* 为水通道蛋白 9，*QPCT* 为谷氨酰肽环转移酶，*CYP1B1* 为细胞色素 P450 1B1，*GAPDH* 为内参基因，用于目标基因表达量的标准化

2　结果

2.1　3 组外周血 *AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* mRNA 表达水平比较　3 组外周血中 *AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* mRNA 表达水平差异均有统计学意义（H = 16.770、15.882 和 23.266，均 $P < 0.05$）。CAVD 组 *AQP9* mRNA 表达水平均高于 Normal 组、non-CAVD 组，non-CAVD 组高于 Normal 组（均 $P < 0.05$）；CAVD 组 *QPCT* mRNA 表达水平均高于 Normal 组和 non-CAVD 组（均 $P < 0.05$），而 Normal 组与 non-CAVD 组差异无统计学意义（$P > 0.05$）；non-CAVD 组和 CAVD 组 *CYP1B1* mRNA 表达水平均显著高于 Normal 组（均 $P < 0.05$），non-CAVD 组与 CAVD 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），见封三图 3。

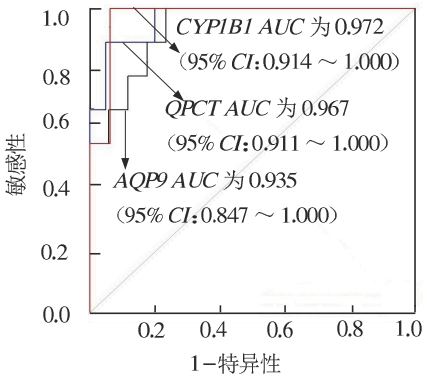
2.2　*AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* 对 CAVD 的鉴别效能　为进一步评估 *AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* 对 CAVD 的鉴别价值，采用 ROC 曲线分析比较 Normal 组与 CAVD 组。结果显示，*AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* 均表现出良好的效能。其中，*AQP9* 的 *AUC* 为 0.935（95% *CI*：0.847 ～ 1.000），*QPCT* 的 *AUC* 为 0.967（95% *CI*：0.911 ～ 1.000），*CYP1B1* 的 *AUC* 为 0.972（95% *CI*：0.914 ～ 1.000），见图 1。

3　讨论

本研究基于外周血样本，系统分析了 *AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* 在不同主动脉瓣状态人群中的表达特征。结果显示，3 种基因均与主动脉瓣病变状态相关，其中 *AQP9* 表现出随疾病进展逐渐升高的趋势，而 *QPCT* 和 *CYP1B1* 在 CAVD 中呈较高表达。上述结果提示，免疫炎症反应及氧化应激相关分子可能参与 CAVD 的发生发展，为后续探讨其潜在机制及临床应用价值提供了依据。

已有研究提示，*AQP9* 与免疫代谢及炎症相关过程密切相关，并被认为具有潜在生物标志物价值[8]。本研究发现，*AQP9* 在 non-CAVD 组和 CAVD 组中呈递增升高趋势，且 3 组间差异均有统计学意义。这提示其外周血表达变化可能与 CAVD 相关炎症反应及病理进展过程有关。

CYP1B1 参与氧化还原稳态调控，在炎症/氧化应激相关病理过程中亦被报道存在异常表达[13]。*QPCT* 及其同源酶 QPCTL 介导蛋白/趋化因子 N 端



注：*AQP9* 为水通道蛋白 9，*QPCT* 为谷氨酰肽环转移酶，*CYP1B1* 为细胞色素 P450 1B1，CAVD 为钙化性主动脉瓣疾病

图 1　*AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* 诊断 CAVD 的 ROC 曲线

焦谷氨酸化修饰，从而影响趋化因子稳定性与受体激活，并与单核细胞浸润及炎症反应密切相关[13-17]。本研究发现，*QPCT* 和 *CYP1B1* 在 CAVD 中表达升高，为进一步探索其在 CAVD 中的作用提供了外周血层面的初步证据。

本研究发现，*AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* 对 CAVD 具有良好的鉴别能力，提示其有望作为影像学检查的补充指标，用于 CAVD 风险评估及疾病监测。

本研究存在一定局限性：（1）本研究为单中心、小样本回顾性研究，部分标本可能来自同一患者的多次采集，存在潜在选择偏倚。（2）未系统收集完整临床资料，也未结合瓣膜组织水平验证外周血表达变化与瓣膜病变之间的对应关系。（3）本研究主要评估表达差异及鉴别效能，尚未在多因素模型中评价其独立价值。未来需开展多中心、前瞻性研究，结合影像学量化指标与临床结局，进一步验证相关分子的临床应用价值。

综上所述，外周血 *AQP9*、*QPCT* 及 *CYP1B1* mRNA 表达水平与 CAVD 相关，并具有较好的鉴别效能，可能成为潜在的外周血分子标志物。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　王聪灵：酝酿和设计实验，分析/解释数据，起草文章，对文章的知识性内容作批评性审阅，统计分析；王圣杰：酝酿和设计实验，采集数据；黄晓萍：采集数据，行政、技术或材料支持；王熹芝：分析/解释数据，起草文章；肖人源：实施研究；李旎：酝酿和设计实验，统计分析，获取研究经费

参　考　文　献

[1] Chen Q F, Shi S Z, Wang Y F, et al. Global, regional, and national burden of valvular heart disease, 1990 to 2021[J]. J Am Heart Assoc, 2024, 13(24): e037991.

[2] Otto C M, Nishimura R A, Bonow R O, et al. 2020 ACC/AHA guideline for the management of patients with valvular heart disease a report of the American college of cardiology/American heart association joint committee on clinical practice guidelines[J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(4): e25-e197.

[3] Praz F, Borger M A, Lanz J, et al. 2025 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease[J]. Eur Heart J, 2025, 46(44): 4635-4736.

[4] Blaser M C, Back M, Lüscher T F, et al. Calcific aortic stenosis: Omics-based target discovery and therapy development[J]. Eur Heart J, 2025, 46(7): 620-634.

[5] Chen Y H, Jia S H, Zhang J W, et al. Calcific aortic valve disease: from mechanism to treatment[J]. Circ J, 2025, 89(9): 1447-1452.

[6] Issa N, Blot G, Candellier A, et al. Macrophages as key modulators of calcific aortic valve disease[J]. Front Cardiovasc Med, 2025, 12: 1664067.

[7] Qin Z H, Back M. Advances in single-cell transcriptomics: Unraveling the pathogenesis of calcific aortic valve disease[J]. Cardiovasc Res, 2026, 121(18): 2838-2859.

[8] da Silva I V, Garra S, Calamita G, et al. The multifaceted role of aquaporin-9 in health and its potential as a clinical biomarker[J]. Biomolecules, 2022, 12(7): 897.

[9] da Silva I V, Soveral G. Aquaporins in immune cells and inflammation: New targets for drug development[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1845.

[10] Liu Y E, Shi Y F, Wang P. Functions of glutaminyl cyclase and its isoform in diseases[J]. Vis Cancer Med, 2023, 4: 1.

[11] ElKhatib M A W, Isse F A, El-Kadi A O S. Effect of inflammation on cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolism and the consequences on cardiac hypertrophy[J]. Drug Metab Rev, 2023, 55(1/2): 50-74.

[12] Perepechaeva M L, Stefanova N A, Grishanova A Y, et al. The expression of genes CYP1A1, CYP1B1, and CYP2J3 in distinct regions of the heart and its possible contribution to the development of hypertension[J]. Biomedicines, 2024, 12(10): 2374.

[13] Falero-Perez J, Song Y S, Sorenson C M, et al. CYP1B1: A key regulator of redox homeostasis[J]. Trends Cell Mol Biol, 2018, 13: 27-45.

[14] Cynis H, Hoffmann T, Friedrich D, et al. The isoenzyme of glutaminyl cyclase is an important regulator of monocyte infiltration under inflammatory conditions[J]. EMBO Mol Med, 2011, 3(9): 545-558.

[15] Logtenberg M E W, Marco Jansen J H M, Raaben M, et al. Glutaminyl cyclase is an enzymatic modifier of the CD47- SIRPα axis and a target for cancer immunotherapy[J]. Nat Med, 2019, 25(4): 612-619.

[16] Bresser K, Logtenberg M E W, Toebes M, et al. QPCTL regulates macrophage and monocyte abundance and inflammatory signatures in the tumor microenvironment[J]. Oncoimmunology, 2022, 11(1): 2049486.

[17] Coimbra J R M, Moreira P I, Santos A E, et al. Therapeutic potential of glutaminyl cyclases: Current status and emerging trends[J]. Drug Discov Today, 2023, 28(10): 103644.

收稿日期：2026-01-09

（本文编辑：孙海儿）