

【 专 论 】

与肺动脉高压诊断和精准治疗相关的新型生物标志物

张茜¹, 玄超²

1. 天津市胸科医院 检验科, 天津 300222

2. 青岛大学附属医院 检验科, 山东 青岛 266000

摘要: 肺动脉高压是一类以肺血管阻力进行性升高为主要特征的疾病, 致残率和病死率都很高。由于多种疾病均可导致肺动脉高压的发生, 因此其机制研究发展迅速, 也出现了针对肺高压多种发病机制及其不同环节而研发的新型靶向药。综述目前与肺动脉高压发病机制相关的新型生物标志物, 并将其按照功能进行分类, 包括内皮细胞功能失调、炎症、表观遗传学、心脏功能、氧化应激、细胞外基质等内容, 为该病的临床早期诊断、疾病分型、严重程度判断等提供有效依据, 进而为精准治疗以及新药研发提供依据。

关键词: 肺动脉高压; 生物标志物; 诊断; 新药研发; 精准治疗

中图分类号: R967 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 02-0141-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.02.001

Novel biomarkers for diagnosis and precision treatment of pulmonary arterial hypertension

ZHANG Xi¹, XUAN Chao²

1. Clinical Laboratory of Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300222, China

2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliate Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, China

Abstract: Pulmonary arterial hypertension is characterized by elevated pulmonary arterial pressure with high disabled rate and lethality. Since many causes could lead to pulmonary arterial hypertension, the mechanism studies were developed rapidly, and some new therapeutic targets have been explored according to the multiple pathogenic mechanisms and pathways. We summarized the potential and novel biomarkers of the mechanisms associated with pulmonary arterial hypertension, and categorized based on their relationship to endothelial cell dysfunction, inflammation, epigenetics, cardiac function, oxidative stress, extracellular matrix, etc. The biomarkers can help for diagnosis, sorting, disease severity assessment of PAH, in order to provide the basis for precision treatment and new therapeutic target development.

Key word: pulmonary arterial hypertension; biomarkers; diagnosis; new drugs development; precision treatment

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是少见且致死性疾病, 可以作为一种独立的疾病导致右心衰竭, 也可能由其他疾病 (如先天性心脏病) 引起, 对患者手术效果和预后有直接影响。较成熟的新型 PAH 生物标志物如内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 在 PAH 患者的血浆和肺组织中明显上调^[1-2], 是一种强效的内源性血管收缩剂, 并有增生、致纤维化和致炎作用。研究发现 ET-1 在肺循环中的阻断作用可使肺血管抗性降低以及

减弱慢性高血压对血管的重塑作用^[3]。近年来, 已开发出针对 ET-1 靶点治疗 PAH 的药物, 如 ET-1 受体拮抗剂波生坦, 目前已作为治疗重度 PAH 的一线口服药物^[4-8]。

有关疾病生物标志物的研究对新药靶点的开发具有重要的指导意义。而目前与 PAH 不同发病机制研究相关的新型生物标志物集中在很多方面: 包括内皮细胞功能、炎症、表观遗传学、心脏功能、氧化应激以及细胞外基质等^[9]。本文将针对目前 PAH

收稿日期: 2016-11-06

基金项目: 国家自然科学基金 (81672073, 81301485); 天津市卫计委科技基金 (2015KY34)

作者简介: 张茜, 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为心血管疾病生物标志物。Tel: 18502220723 E-mail: rebeccazhx0723@163.com

的诊断及有可能作为新药靶点的 PAH 新型潜在生物标志物进行综述,为临床早期诊断、疾病分型、严重程度判断等提供有效依据,进而为该病的精准治疗以及新药研发提供思路。

1 内皮细胞功能相关的生物标志物

与内皮细胞功能相关的生物标志物包括不对称二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA)、循环血管生成调节因子和肺毛细血管内皮血管紧张素转换酶 (pulmonary capillary endothelium-bound angiotensin converting enzyme, PCEB-ACE)。

1.1 ADMA

ADMA 是一种内源性一氧化氮合成酶抑制物,能够通过影响一氧化氮 (NO) 的生成和生理效应而引起内皮功能不全,从而影响心血管疾病的发生与发展^[10]。ADMA 是由精氨酸残基甲基化而生成,经甲基化转移酶和随后的蛋白水解作用产生的。体内约 90% 的 ADMA 可通过二甲基精氨酸二甲胺水解酶的水解作用被清除^[11]。有研究表明内皮损伤可以造成血浆 ADMA 浓度升高。ADMA 浓度与 NO 的生成减少有关,影响 NO/cGMP 通路,从而使血管紧张性增加^[12]。研究者认为其抗氧化功能减弱,ADMA 的浓度可以作为 PAH 疾病进程的生物标志物^[13]。

Giannakoulas 等^[14]在早期的研究中表明 ADMA 可以通过改变联接蛋白 (connexin) 43 的表达和活性导致肺内皮细胞的损伤。联接蛋白是跨膜蛋白并在细胞膜上形成缝隙连接半通道,参与胞质和细胞外基质之间以及相互联系的细胞之间的小信号分子的传导。抑制联接蛋白 43 的表达及功能可以加速皮肤伤口愈合及肉芽组织生成,但其机制尚未阐述。ADMA 如何对联接蛋白产生影响也仍需进一步研究。

1.2 循环血管生成调节因子

循环血管生成调节因子调节血管的生成,并作为 PAH 患者的生物标志物已被研究多年。Malhotra 等^[15]检测了 97 例 PAH 患者外周血中可溶性细胞膜糖蛋白 (endoglin)、可溶性血管内皮生长因子受体 1 (soluble vascular endothelial growth factor receptor-1, sVEGFR1)、氨基末端 B 型钠尿肽 (N-terminal brain natriuretic peptide, NTproBNP)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 及其他生物标志物的浓度。他们发现可溶性细胞膜糖蛋白和

sVEGFR1 指标浓度升高,同时获取 PAH 患者肺组织的微血管内皮细胞进行细胞膜糖蛋白的研究,并发现其表达显著升高。

Tiede 等^[16]在 76 例 PAH 患者的诊断中对上述报道的结果进行了证实,但并未发现 sVEGFR1 或胎盘生长因子与血液动力学参数、6 min 步行距离 (6-minute walking distance, 6MWD) 以及生存率之间的相关性。Damico 等^[17]发现内皮抑素与 PAH 疾病严重程度和致死率有相关性。血清内皮抑素与功能状态差、运动耐量下降、有创血液动力学变量有关。同时血清内皮抑素是致死率的有效预测因子。

1.3 肺毛细血管内皮血管紧张素转换酶

在原发性 PAH、与结缔组织病相关的 PAH、无症状 PAH 的系统性硬皮病等严重疾病中,PCEB-ACE 的活性作为研究热点被认为是肺内皮功能的标志物^[18-19]。同时,Langleben 等^[20]近期证实对依前列醇无疗效的原发性 PAH 患者的 PCEB-ACE 活性降低,而对依前列醇疗效显著的患者 PCEB-ACE 活性没有变化。

2 炎症因子

炎症因子包括生长分化因子-15 (growth differentiation factor-15, GDF-15)、半乳糖凝集素-3 (galectin-3, Gal-3)、骨桥蛋白 (osteopontin, OPN)、巨噬细胞游走抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 以及中性粒细胞与淋巴细胞比值 (neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR) 等。

2.1 GDF-15

GDF-15 是转化生长因子- β 超家族成员,作为应激反应细胞因子,在疾病发生及组织损伤过程中调节炎症因子相关通路,并能够影响血管内皮细胞的增殖与凋亡。Nickel 等^[21]研究表明,在组织低氧、急性冠脉综合征、肺栓塞以及原发性 PAH 患者的血浆中 GDF-15 浓度偏高。GDF-15 的升高可能是由于心脏损伤所引起的多种与应激相关的通路激活所造成的,有可能成为疾病预后的提示指标。Nickel 等还指出 GDF-15 水平不仅与 6MWD、世界卫生组织 (WHO) 心功能分级相关,而且与平均右房压及心脏指数相关。而特发性肺动脉高压 (idiopathic pulmonary arterial hypertension, IPAH) 患者的 GDF-15 水平与右房压、肺动脉楔压、尿酸及 NT-proBNP 水平相关。

2.2 Gal-3

Gal-3 是经机械和神经激素刺激后由巨噬细胞

所分泌的蛋白,它通过内分泌和旁分泌作用激活其他巨噬细胞、纤维细胞以及炎症细胞。已有证据表明 Gal-3 在心衰患者评估中具有重要意义^[22]。在左心衰患者中 Gal-3 浓度升高,因其在心脏重塑及纤维化过程中具有重要作用。Fenster 等^[23]在右室功能障碍合并肺高压的患者中研究 Gal-3 的表达,15 例 PAH 患者在超声心动图检查的当日检测 Gal-3 血浆浓度,发现右心室的结构改变与 Gal-3 的浓度具有显著的相关性;并且 Gal-3 在其所观察的所有 PAH 患者中被发现有升高。但是 Gal-3 在被单独用作评估 PAH 疾病的指标时具有局限性,因其在其他疾病包括肾衰、肺纤维化以及肝脏纤维化等疾病中也被发现有所升高^[24]。不过, Gal-3 若与其他指标结合对 PAH 进行评估将更有意义。

2.3 OPN

OPN 是一种细胞因子,当其升高时是由于炎症及肿瘤形成过程信号传导通路被激活。OPN 还能激活各种炎症细胞,如巨噬细胞、巨红细胞以及淋巴细胞。Anwar 等^[25]的研究发现血浆中循环 OPN 的浓度,在由野百合碱(monocrotaline, MCT)诱导的 PAH 大鼠模型中经过治疗后有所升高。上述发现在 Lorenzen 等^[26]的研究中也得到验证,他们发现原发性肺高压患者中血浆 OPN 浓度升高。可见循环 OPN 浓度在作为监测临床干预后 PAH 患者的评价指标时具有重要指导意义。

2.4 MIF

MIF 是固有免疫系统的重要调节因子,是机体抵抗外来微生物的重要屏障,是宿主抗应激反应过程中的重要成员^[27]。并有越来越多的文献提出 MIF 与糖皮质激素共同调节固有免疫和适应性免疫应答^[28]。MIF 与多种疾病相关,如败血症、炎症^[29]、冠心病以及自身免疫性疾病。

Le Hiress 等^[30]在其研究中发现循环 MIF 浓度在 PAH 患者血清中有所升高,并指出 T 淋巴细胞是造成 MIF 过多的主要原因。同时发现对 PAH 进行有效治疗中 MIF 拮抗剂 ISO-1 或抗 CD74 中和抗体能部分逆转大鼠模型的肺动脉高压的发展并能有效减少炎症细胞的浸润。

2.5 其他炎性指标

Ozpelit 等^[31]发表的临床研究中发现 NLR 与一些公认的 PAH 预后指标如 NYHA 功能分级、血 BNP 浓度、三尖瓣环收缩期位移等指标具有相关性。Akin 等^[32]对 PAH 患儿的血清 sBcl-2 浓度进行了检

测,发现作为炎性指标的 sBcl-2 有所升高,并且 sBcl-2 浓度与 PAH 患儿的预后指标有关。

趋化因子 CXC 配体-13 (CXCL13) 与 IPAH 患者血管周围炎症及肺血管重塑有关。Olsson 等^[33]研究发现 CXCL13 在慢性阻塞性肺高压疾病(chronic thrombo-embolic pulmonary hypertension, CTEPH)以及 IPAH 患者的肺血管中过度表达,并且患者血清 CXCL13 浓度升高,提示其在这两种疾病发生过程可能扮演很重要的角色;同时指出血清 CXCL13 浓度与疾病严重程度及预后的相关性较弱,因此其并不适于作为该病有开发前景的生物标志物。

3 MicroRNAs

MicroRNAs (miRNAs) 是小而非编码蛋白的 RNA,其主要功能是 RNA 沉默作用及转录后调控基因表达。由于 miRNAs 在外周血中循环存在,因此其浓度会随着血管病变的发生而有所改变。Sarrion 等^[34]认为 miR23a、miR-130、miR-191、miR-204、miR-145、miR-27a、miR-328、miR-1-2、miR-199 及 miR-744 可以作为 IPAH 潜在生物标志物。其中,由于 miR23a 与肺部功能相关,已被证明参与 PAH 发展过程的基因调控。

4 与心脏功能相关的生物标志物

与心脏功能相关的生物标志物包括 B 型钠尿肽(BNP)与氨基末端 B 型钠尿肽(NT-proBNP)、同型半胱氨酸(Hcy)、胱抑素 C 和红细胞分布宽度(RDW)等。

4.1 BNP 与 NT-proBNP

长期以来,BNP/NT-proBNP 作为 PAH 疾病中的血浆蛋白生物标志物的研究较多,并作为欧洲心脏病学会(European Society of Cardiology, ESC)2015 年针对肺高压的最新指南所推荐的 PAH 风险评估的唯一生物标志物^[8]。但仅正常范围的 BNP 浓度被建议作为临床肺动脉高压的治疗目标。在儿童及成人病例中,NT-proBNP 具有较好的预后价值^[35],BNP/NT-proBNP 作为与 PAH 发病进展有关的指标距今已有 20 年的历史^[36]。

由 Takatsuki 等^[37]进行的回顾性研究指出 88 例 PAH 患儿中的 BNP 及 NT-proBNP 对疾病进展和致死率具有十分有效的预测作用。同时,由于 BNP 的半衰期较短,因此它与血流动力学改变的相关性较强,而 NT-proBNP 是 PAH 致死率的有效预测指标。尽管 NT-proBNP 浓度并不能作为 PAH 患者生

存率有效预测指标,但是在疗效评价中有较好的预测作用。另外,Andreassen等^[38]又证实,在IPAH、CTEPH及其他PAH患者血浆中的NT-proBNP水平均较高,且与血液动力学检查结果一致。

4.2 Hcy

Sanli等^[39]发现先心病相关的PAH患者血浆中Hcy和ADMA浓度升高,但这些指标与超声心动图及血流动力学参数无相关性。并且该研究组还发现Hcy的升高仅在紫绀型先心病患者中更有意义。Ozerol研究组^[1]同样在先天性心脏病合并肺高压(CHD-PAH)人群中做了相关研究,他们发现与左向右分流术后以及无PAH患者相比,CHD-PAH组的Hcy浓度有所升高。但Hcy是否可以作为PAH诊断及预后指标仍需要更大范围的临床研究进行验证。

4.3 胱抑素C

胱抑素C(cystatin C)是肾小球滤过率及肾功能不全的指标,同时也被研究用作PAH诊断指标的可能性。Fenster等^[40]研究血清胱抑素C浓度与右室功能的结构性及生理性指标有关。尽管上述研究样本量较少,仅10例患者及对照,但胱抑素C在PAH患者中显著性升高。考虑其与BNP/NT-proBNP指标联用,并且与年龄、性别以及肌肉质量无关,有可能成为潜在的PAH的生物标志物。

4.4 RDW

RDW是心血管疾病患者的预后指标^[41]。在Rhodes等^[42]的研究中,发现139例IPAH患者的RDW、GDF-15、IL-6、肌酸酐及NT-proBNP与PAH严重程度相关,并发现RDW与NT-proBNP联用对疾病严重程度以及预后具有良好的指示作用。

4.5 其他心血管疾病标志物

近年来,新型心血管生物标志物如肾上腺髓质前体中段肽(mid-regional proadrenomedullin, MR-proADM)、心房利钠肽前体中段肽段(mid-regional proatrial natriuretic peptide, MR-proANP)、肽素(copeptin)、羧基末端内皮缩血管肽(carboxyterminal pro-endothelin-1, CT-proET1)以及氨甲酰磷酸合成酶I(carbamoyl phosphate synthetase I, CPSI)可以作为预测多种心肺疾病预后指标,并且为临床治疗决策提供依据^[43-44]。Kolditz等^[45]认为不同生物标志物可以反映肺动脉高压疾病过程的不同方面,NT-proBNP可以很好地预测血流动力学方面的异常,而MR-proADM则与

运动耐量具有明显相关性。

5 与细胞外基质相关的生物标志物

Schumann等^[46]在2010年的报道中指出血浆基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2),金属蛋白酶组织抑制因子4(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP-4),细胞黏合素C(tenascin C, TNC)是评估PAH严重性的重要指标。因此,他们检测了36例PAH患者及44例对照的MMP-2、TIMP-4、TNC以及NT-proBNP。发现上述指标均有明显升高,其中TIMP-4在NYHA评分较高患者以及严重右心肥厚患者中表达显著增加。

Hessel等^[47]在2009年的报道中提出MCT引起的PAH合并右心衰与心肌细胞黏合素C基因表达上调相关,导致血浆细胞黏合素C蛋白升高。由于右心室射血分数与血浆细胞黏合素C浓度密切相关,他们提出血浆细胞黏合素C可以作为由肺高压引发右心衰的生物标志物。

6 结语

近年来研究人员所开发的新药主要围绕肺高压的3种不同发病机制为靶点:前列环素通路、内皮素通路以及NO通路,其中依前列醇、波生坦、西地那非等新型治疗PAH药物已应用于临床,并且前景良好。

虽然已有大量关于PAH生物标志物的研究,但是仍然缺乏PAH和肺血管重塑相关的特异性生物标志物。这些生物标志物大部分与PAH病生理过程相关,如血管内皮损伤、炎症、心肌功能等。而目前只有与心脏功能相关的BNP以及NT-proBNP在临床广泛应用并被列入PAH诊疗指南中,BNP/NT-proBNP与心脏功能失调密切相关并为PAH的预后评估提供了重要参考依据。但上述指标并不特异,它们几乎在多种心脏病中都被发现有所升高。目前笔者所在的研究组在PAH生物标志物研究中也发现了与NO通路相关的靶点——CPSI^[48],其是否可以作为治疗PAH的新靶点仍需进一步的研究。

同时,ADMA与Hcy作为临床前的PAH生物标志物对疾病的诊断具有较好的前景,因其参与内皮细胞功能损伤过程并且与PAH患者的临床参数有较好的相关性,与对照组相比,PAH患者的血浆ADMA与Hcy都有明显升高,具有理想生物标志物的特点。虽然本文所总结的生物标志物都与PAH

有很好的相关性,但由于肺高压种类较多、发病机制不同,以往的研究所涉及样本量较少,用于临床早期诊断、判断疾病严重程度及开发精准治疗靶点的理想 PAH 生物标志物或标志物组合仍需进一步探索。

PAH 可以作为一种独立的疾病导致右心衰竭,也是很多疾病常见且危害严重的并发症之一,且肺高压的形成过程是一个多因素的病理生理过程,采用不同作用机制的药物联合应用进行干预治疗,可以作为行而有效的新型治疗手段。如何精准评估并处理肺高压疾病以及对治疗新靶点的探索,是目前临床新药研发的热点之一。

本文综述了 PAH 疾病的新型生物标志物在早期诊断、疾病严重程度及作为精准治疗靶点的适用性及临床应用。有关 PAH 疾病新型生物标志物的研究可以为临床诊断及新药研发提供最理想且有效的依据。为了更加深入全面地了解 PAH 疾病的发生发展过程以及开展治疗的新策略,这一领域将需要多学科联合攻关、更多研究者通力合作。

参考文献

- [1] Ozerol I H, Pac F A, Ozerol E, et al. Plasma endothelin-1, homocysteine and serum nitric oxide values in patients with left-to-right shunt [J]. Indian Heart J, 2004, 56(6): 653-657.
- [2] Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension [J]. N Engl J Med, 1993, 328(24): 1732-1739.
- [3] Chester A H, Yacoub M H. The role of endothelin-1 in pulmonary arterial hypertension [J]. Glob Cardiol Sci Pract, 2014, 2014(2): 62-78.
- [4] Channick R N, Simonneau G, Sitbon O, et al. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study [J]. Lancet, 2001, 358(9288): 1119-1123.
- [5] Pereira B N, Salvi S. Bosentan for pulmonary hypertension [J]. N Engl J Med, 2002, 347(4): 292-294.
- [6] Galiè N, Lj R, Hoeper M, et al. Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (EARLY study): a double-blind, randomised controlled trial [J]. Lancet, 2008, 371(9630): 2093-2100.
- [7] Galiè N, Beghetti M, Gatzoulis M A, et al. Bosentan therapy in patients with Eisenmenger syndrome: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study [J]. Circulation, 2006, 114(1): 48-54.
- [8] Galiè N, Humbert M, Vachiery J L, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the joint task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) [J]. Eur Heart J, 2016, 37(1): 67-119.
- [9] Anwar A, Ruffenach G, Mahajan A, et al. Novel biomarkers for pulmonary arterial hypertension [J]. Respir Res, 2016, 17(1): 88.
- [10] Antoniadou C, Shirodaria C, Leeson P, et al. Association of plasma asymmetrical dimethylarginine (ADMA) with elevated vascular superoxide production and endothelial nitric oxide synthase uncoupling: implications for endothelial function in human atherosclerosis [J]. Eur Heart J, 2009, 30(9): 1142-1150.
- [11] Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure [J]. Lancet, 1992, 339(8793): 572-575.
- [12] Konishi H, Sydow K, Cooke J P. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase promotes endothelial repair after vascular injury [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49(10): 1099-1105.
- [13] Zhang S, Yang T, Xu X, et al. Oxidative stress and nitric oxide signaling related biomarkers in patients with pulmonary hypertension: a case control study [J]. BMC Pulm Med, 2015, 15: 50. DOI: 10.1186/s12890-015-0045-8.
- [14] Giannakoulas G, Mouratoglou S A, Gatzoulis M A, et al. Blood biomarkers and their potential role in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease: a systematic review [J]. Int J Cardiol, 2014, 174(3): 618-623.
- [15] Malhotra R, Paskin-Flerlage S, Zamanian R T, et al. Circulating angiogenic modulatory factors predict survival and functional class in pulmonary arterial hypertension [J]. Pulm Circ, 2013, 3(2): 369-380.
- [16] Tiede S L, Gall H, Dörr O, et al. New potential diagnostic biomarkers for pulmonary hypertension [J]. Eur Respir J, 2015, 46(5): 1390-1396.
- [17] Damico R, Kolb T M, Valera L, et al. Serum endostatin is a genetically determined predictor of survival in pulmonary arterial hypertension [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191(2): 208-218.
- [18] Langleben D, Orfanos S E, Giovannazzo M, et al.

- Pulmonary capillary endothelial metabolic dysfunction: severity in pulmonary arterial hypertension related to connective tissue disease versus idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4): 1156-1164.
- [19] Orfanos S E, Psevdi E, Stratigis N, et al. Pulmonary capillary endothelial dysfunction in early systemic sclerosis [J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(4): 902-911.
- [20] Langleben D, Orfanos S E, Giovinazzo M, et al. Acute vasodilator responsiveness and microvascular recruitment in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Ann Intern Med*, 2015, 162(2): 154-156.
- [21] Nickel N, Kempf T, Tapken H, et al. Growth differentiation factor-15 in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(5): 534-541.
- [22] Ho J E, Liu C, Lyass A, et al. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60(14): 1249-1256.
- [23] Fenster B E, Lasalvia L, Schroeder J D, et al. Galectin-3 levels are associated with right ventricular functional and morphologic changes in pulmonary arterial hypertension [J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(6): 939-946.
- [24] Li L C, Li J, Gao J. Functions of galectin-3 and its role in fibrotic diseases [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 351(2): 336-343.
- [25] Anwar A, Li M, Frid M G, et al. Osteopontin is an endogenous modulator of the constitutively activated phenotype of pulmonary adventitial fibroblasts in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(1): L1-L11.
- [26] Lorenzen J M, Nickel N, Krämer R, et al. Osteopontin in patients with idiopathic pulmonary hypertension [J]. *Chest*, 2011, 139(5): 1010-1017.
- [27] Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(10): 791-800.
- [28] Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, et al. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: regulation of inflammation and immunity [J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(6): 1267-1280.
- [29] Larson D F, Horak K. Macrophage migration inhibitory factor: controller of systemic inflammation [J]. *Crit Care*, 2006, 10(2): 138. DOI: 10.1186/cc4899.
- [30] Le Hir M, Tu L, Ricard N, et al. Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension. role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 192(8): 983-997.
- [31] Özpeliç E, Akdeniz B, Özpeliç M E, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in pulmonary arterial hypertension [J]. *J Int Med Res*, 2015, 43(5): 661-671.
- [32] Akin A, Alehan D, Aykan H H, et al. Serum Bcl-2 values in children with pulmonary hypertension [J]. *Pediatr Cardiol*, 2015, 36(3): 579-583.
- [33] Olsson K M, Olle S, Fuge J, et al. CXCL13 in idiopathic pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. *Respir Res*, 2016, 17: 21.
- [34] Sarrion I, Milian L, Juan G, et al. Role of circulating miRNAs as biomarkers in idiopathic pulmonary arterial hypertension: possible relevance of miR-23a [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 792846.
- [35] Harbaum L, Hennigs J K, Baumann H J, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a useful prognostic marker in patients with pre-capillary pulmonary hypertension and renal insufficiency [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94263.
- [36] Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2000, 102(8): 865-870.
- [37] Takatsuki S, Wagner B D, Ivy D D. B-type natriuretic peptide and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide in pediatric patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Congenit Heart Dis*, 2012, 7(3): 259-267.
- [38] Andreassen A K, Wergeland R, Simonsen S, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as an indicator of disease severity in a heterogeneous group of patients with chronic precapillary pulmonary hypertension [J]. *Am J Cardiol*, 2006, 98(4): 525-529.
- [39] Sanli C, Oguz D, Olgunturk R, et al. Elevated homocysteine and asymmetric dimethyl arginine levels in pulmonary hypertension associated with congenital heart disease [J]. *Pediatr Cardiol*, 2012, 33(8): 1323-1331.
- [40] Fenster B E, Lasalvia L, Schroeder J D, et al. Cystatin C: a potential biomarker for pulmonary arterial hypertension [J]. *Respirology*, 2014, 19(4): 583-589.
- [41] Tonelli M, Sacks F, Arnold M, et al. Relation between red blood cell distribution width and cardiovascular event rate in people with coronary disease [J]. *Circulation*, 2008, 117(2): 163-168.
- [42] Rhodes C J, Wharton J, Howard L S, et al. Red cell distribution width outperforms other potential circulating biomarkers in predicting survival in

- idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Heart*, 2011, 97(13): 1054-1060.
- [43] Silva M J, Martins S R, Calisto C, et al. An exploratory panel of biomarkers for risk prediction in pulmonary hypertension: emerging role of CT-proET-1 [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2013, 32(12): 1214-1221.
- [44] Maisel A, Mueller C, Nowak R, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(19): 2062-2076.
- [45] Kolditz M, Seyfarth H J, Wilkens H, et al. MR-proADM predicts exercise capacity and survival superior to other biomarkers in PH [J]. *Lung*, 2015, 193(6): 901-910.
- [46] Schumann C, Lepper P M, Frank H, et al. Circulating biomarkers of tissue remodelling in pulmonary hypertension [J]. *Biomarkers*, 2010, 15(6): 523-532.
- [47] Hessel M, Steendijk P, den Adel B, et al. Pressure overload-induced right ventricular failure is associated with re-expression of myocardial tenascin-C and elevated plasma tenascin-C levels [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2009, 24(3/4): 201-210.
- [48] Zhang X, Hou H T, Wang J, et al. Plasma proteomic study in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart diseases [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36541.