

血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 和 CRP 水平 联合检测对脓毒症实验诊断及预后的价值研究

王海¹, 肖华², 陈兴壮¹

(1. 三亚市中医院检验科, 海南三亚 572019; 2. 三亚中心医院检验科, 海南三亚 572000)

摘要: **目的** 探讨微小核糖核酸-223-3p (miR-223-3p) 联合降钙素原 (PCT)、白细胞介素-6 (IL-6) 及 C 反应蛋白 (CRP) 对脓毒症诊断及预后预测的意义。**方法** 选取 2018 年 1 月~2020 年 10 月三亚市中医院和三亚中心医院收治的脓毒症患者 146 例, 根据患者 28 天的生存情况, 将其分为存活组 ($n=101$) 和死亡组 ($n=45$)。选取同期 60 例体检健康者作为对照组。检测各组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 对脓毒症诊断及预后预测的价值。**结果** 脓毒症组血浆 miR-223-3p (2.15 ± 0.92 vs 0.37 ± 0.08), PCT (13.50 ± 6.48 ng/ml vs 0.02 ± 0.01 ng/ml), IL-6 (74.12 ± 15.70 pg/ml vs 5.37 ± 1.45 pg/ml) 及 CRP (37.26 ± 10.15 mg/L vs 3.82 ± 1.46 mg/L) 水平均明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ($t=8.783 \sim 14.620$, $P<0.001$)。死亡组血浆 miR-223-3p (3.04 ± 1.16 vs 1.31 ± 0.50), PCT (21.28 ± 10.28 ng/ml vs 6.72 ± 3.15 ng/ml), IL-6 (102.83 ± 21.75 pg/ml vs 56.17 ± 10.20 pg/ml) 及 CRP (56.40 ± 15.30 mg/L vs 25.75 ± 8.24 mg/L) 水平均明显高于存活组, 差异均有统计学意义 ($t=7.415 \sim 16.317$, 均 $P<0.001$)。ROC 曲线分析显示, miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 诊断脓毒症的曲线下面积最大 (0.905, 95%CI: 0.847~0.968), 其敏感度和特异度分别为 92.0% 和 83.4%; miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 预测脓毒症患者死亡的曲线下面积最大 (0.933, 95%CI: 0.875 ~ 0.990), 其敏感度和特异度分别为 95.3% 和 87.5%。相关性分析显示, 脓毒症患者血浆 miR-223-3p 表达水平与 PCT, IL-6 及 CRP 均呈正相关性 ($r=0.825, 0.792, 0.753$, 均 $P<0.001$)。**结论** 脓毒症患者血浆 miR-223-3p 表达水平明显升高, 联合 PCT, IL-6 及 CRP 检测对脓毒症的诊断及预后预测具有良好的价值。

关键词: 脓毒症; 微小核糖核酸-223-3p; 降钙素原; 白细胞介素-6; C 反应蛋白; 预后

中图分类号: R631; R446.112 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 05-051-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.011

Value of Combined Detection of Plasma miR-223-3p, PCT, IL-6 and CRP Levels in Experimental Diagnosis and Prognosis of Sepsis

WANG Hai¹, XIAO Hua², CHEN Xing-zhuang¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Sanya Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hainan Sanya 572000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Sanya Central Hospital, Hainan Sanya 572000, China)

Abstract: Objective To investigate the significance of miR-223-3p combined with procalcitonin (PCT), interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) in the diagnosis and prognosis of sepsis. **Methods** 146 patients with sepsis in Sanya Hospital of Traditional Chinese Medicine and Sanya Central Hospital from January 2018 to October 2020 were selected and divided into survival group ($n=101$) and death group ($n=45$) according to their 28 days survival. At the same time, 60 healthy people were selected as the control group. Plasma miR-223-3p, PCT, IL-6 and CRP levels were detected in each group. The value of miR-223-3p combined with PCT, IL-6 and CRP in the diagnosis and prognosis of sepsis were analyzed by ROC curve. Pearson correlation were used to analyze the correlation between the expression of miR-223-3p and PCT, IL-6 and CRP. **Results** The levels of miR-223-3p (2.15 ± 0.92 vs 0.37 ± 0.08), PCT (13.50 ± 6.48 ng/ml vs 0.02 ± 0.01 ng/ml), IL-6 (74.12 ± 15.70 pg/ml vs 5.37 ± 1.45 pg/ml) and CRP (37.26 ± 10.15 mg/L vs 3.82 ± 1.46 mg/L) in sepsis group were significantly higher than those in control group, the differences were statistically significant ($t=8.783 \sim 14.620$, all $P<0.001$). The levels of miR-223-3p (3.04 ± 1.16 vs 1.31 ± 0.50), PCT (21.28 ± 10.28 ng/ml vs 6.72 ± 3.15 ng/ml), IL-6 (102.83 ± 21.75 pg/ml vs 56.17 ± 10.20 pg/ml) and CRP (56.40 ± 15.30 mg/L vs 25.75 ± 8.24 mg/L) in the dead group were significantly higher than those in the living group, the differences were statistically significant ($t=7.415 \sim 16.317$, all $P<0.001$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of diagnosis of sepsis with miR-223-3p combined with PCT, IL-6 and CRP was the largest (0.905, 95%CI: 0.847~0.968), with sensitivity of 92.0% and specificity of 83.4%. miR-223-3p combined with PCT, IL-6 and CRP had the largest area under the curve (0.933, 95% CI:

作者简介: 王海 (1983-), 男, 本科, 主管检验师, 主要从事感染性疾病检验诊断研究, E-mail: 93971952@qq.com。

0.875~0.990) in predicting the death of patients with sepsis, with sensitivity of 95.3% and specificity of 87.5%. The correlation analysis showed that the expression of miR-223-3p were positively correlated with PCT, IL-6 and CRP ($r=0.825, 0.792, 0.753$, all $P<0.001$) in patients with sepsis. **Conclusion** The expression level of plasma miR-223-3p in sepsis patients was significantly increased, and the combination of PCT, IL-6 and CRP has a good value in the diagnosis and prognosis prediction of sepsis.

Keywords: sepsis; miR-223-3p; procalcitonin; interleukin-6; C-reactive protein; prognosis

脓毒症是一种严重威胁人类生命的急危重症^[1]。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 作为一类新型的基因调控分子, 参与脓毒症的发生发展及预后^[2]。近期的研究发现, miR-223-3p 参与炎症基因调控和宿主-病原相互作用, 是脓毒症发病的关键, 与脓毒症器官损伤的发展有关, 可能为了解脓毒症的发病机制提供新的方向^[3]。降钙素原 (procalcitonin, PCT) 是一种有效反映炎症反应程度的实验室指标, 常用于评价脓毒症患者的严重程度、预后及治疗效果, 在指导临床医生使用抗生素中具有较好的应用价值^[4]。白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 及 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 作为评估炎症反应程度的常用指标, 在细菌感染、组织损伤或炎症反应时其水平显著升高, 与脓毒症患者感染严重程度和器官功能障碍密切相关^[5]。本研究通过检测脓毒症患者血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平, 分析四项联合检测对脓毒症诊断及预后预测的价值, 以期对脓毒症的诊疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 1 月~2020 年 10 月在三亚市中医院和三亚中心医院收治的 146 例脓毒症患者, 其中男性 87 例, 女性 59 例, 年龄 36 ~ 85 (60.83 ± 10.37) 岁。根据 146 例脓毒症患者 28 天的生存情况, 将其分为 101 例存活组和 45 例死亡组。纳入标准: ①参考 2012 国际严重脓毒症及脓毒性休克诊疗指南^[6]; ②临床随访资料完整。排除标准: ①并发血液系统疾病、免疫系统疾病及恶性肿瘤者; ②放弃治疗, 不能配合研究者。同期选取 60 例体检正常者作为对照组, 其中男性 37 例, 女性 23 例, 年龄 40 ~ 82 (62.50 ± 9.40) 岁。各组年龄、性别

表 1 脓毒症组和对照组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (n=60)	脓毒症组 (n=146)	t	P
miR-223-3p	0.37 ± 0.08	2.15 ± 0.92	13.805	<0.001
PCT (ng/ml)	0.02 ± 0.01	13.50 ± 6.48	14.620	<0.001
IL-6 (pg/ml)	5.37 ± 1.45	74.12 ± 15.70	10.512	<0.001
CRP (mg/L)	3.82 ± 1.46	37.26 ± 10.15	8.783	<0.001

2.2 死亡组和存活组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平比较 见表 2。死亡组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平均明显高于存活组, 差异有统计学意义 (均 $P<0.001$)。

比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究开展之前与患者或家属签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 TL988-II 实时荧光定量 PCR 检测仪、PCR 试剂盒、RNeasy 试剂盒、miRNA Easy 试剂盒和 Trizol 试剂盒均购自广州锐博生物有限公司, CL-2200i 迈瑞全自动化学发光免疫分析仪, 7600 型日立全自动生化分析仪。

1.3 方法

1.3.1 miR-223-3p 检测: 采集静脉血 3 ml 于 EDTA 抗凝管中, 离心分离血浆, 在 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪上检测 miR-223-3p 水平。反应体系为 20 μl: 1 μl 引物及探针 Mix (20 ×), 10 μl TaqMan 通用混合物溶液 (2 ×), 1.33 μl 反向转录脱氧核糖核酸, 7.67 μl 双蒸馏水。以 U6 作为 miR-223-3p 内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-223-3p 表达水平。

1.3.2 PCT, IL-6, CRP 检测: 使用贝克曼 DXI800 全自动化学发光免疫分析仪, 化学发光免疫分析法检测 PCT 及 IL-6; 使用日立 7600 系列全自动生化分析仪, 采用免疫透射比浊法检测 CRP。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 t 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。应用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 对脓毒症诊断及预后预测的价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症组和对照组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平比较 见表 1。脓毒症组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平均明显高于对照组, 差异有统计学意义 (均 $P<0.001$)。

2.3 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 诊断脓毒症的价值 见表 3 和图 1。miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 诊断脓毒症的曲线下面积 (0.905, 95%CI: 0.847~0.968) 明显高于单项 miR-223-3p

(0.815, 95%CI: 0.753~0.877), PCT (0.827, 95%CI: 0.766~0.885), IL-6 (0.785, 95%CI: 0.724~0.845)及CRP(0.760, 95%CI: 0.708~0.817), 差异有统计学意义(均 $P<0.05$), 其敏感度为92.0%, 特异度为83.4%。

表2 死亡组和存活组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	存活组 (n=101)	死亡组 (n=45)	t	P
miR-223-3p	1.31 ± 0.50	3.04 ± 1.16	13.390	<0.001
PCT (ng/ml)	6.72 ± 3.15	21.28 ± 10.28	16.317	<0.001
IL-6 (pg/ml)	56.17 ± 10.20	102.83 ± 21.75	8.936	<0.001
CRP (mg/L)	25.75 ± 8.24	56.40 ± 15.30	7.415	<0.001

表3 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 诊断脓毒症的价值

项目	最佳截断值	AUC (95%CI)	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
miR-223-3p	1.08	0.815 (0.753~0.877)	82.0	73.0	75.8	79.6
PCT (ng/ml)	5.93	0.827 (0.766~0.885)	83.6	76.5	80.2	80.7
IL-6 (pg/ml)	32.60	0.785 (0.724~0.845)	78.0	71.3	70.2	80.3
CRP (mg/L)	17.53	0.760 (0.708~0.817)	74.8	66.8	64.6	77.2
四项联合	-	0.905 (0.847~0.968)	92.0	83.4	85.6	90.7

2.4 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 预测脓毒症患者死亡的价值 见表4和图2。miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 预测脓毒症患者死亡的曲线下面积 (0.933, 95%CI: 0.875~0.990) 明显高于单项 miR-223-3p (0.850, 95%CI: 0.788~0.911), PCT (0.836,

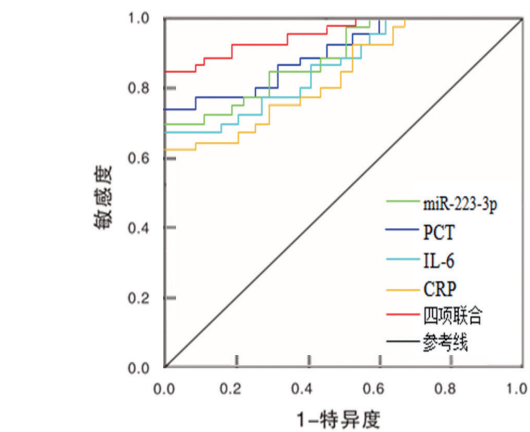


图1 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 诊断脓毒症的 ROC 曲线

95%CI: 0.778~0.895), IL-6 (0.794, 95%CI: 0.734~0.856) 及 CRP (0.782, 95%CI: 0.720~0.843), 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$), 其敏感度为95.3%, 特异度为87.5%。

表4 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 预测脓毒症患者死亡的价值

项目	最佳截断值	AUC (95%CI)	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
miR-223-3p	2.26	0.850 (0.788 ~ 0.911)	86.3	79.7	82.5	84.0
PCT(ng/ml)	15.20	0.836 (0.778 ~ 0.895)	85.0	77.0	80.6	81.7
IL-6 (pg/ml)	81.45	0.794 (0.734 ~ 0.856)	78.5	73.2	70.8	81.3
CRP(mg/L)	42.60	0.782 (0.720 ~ 0.843)	77.6	71.0	69.4	79.0
四项联合	-	0.933 (0.875 ~ 0.990)	95.3	87.5	92.0	90.8

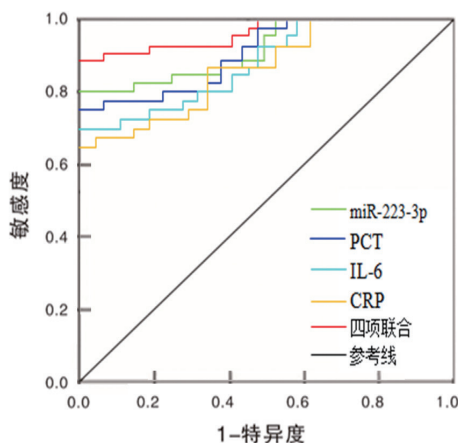


图2 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 预测脓毒症患者死亡的 ROC 曲线

3 讨论

miRNA 作为一类非编码 RNA 分子, 参与了脓毒症后期的细胞凋亡、免疫抑制和器官功能障碍, 可能在脓毒症诊断和预后方面起重要的作用^[7]。有研究表明, miRNA 在脓毒症相关性炎症反应以及器官损伤过程中发挥重要的调控作用, 其表达水平变化与脓毒症病程发展有关, 监测分析 miRNA 水平可以辅助诊断脓毒症和判断疾病预后^[8]。BENZ 等^[9] 研究发现, miR-223-3p 作为 miRNA 的一类新型基因调控分子, 不仅参与多种疾病的发生发展, 而且与脓毒症的炎症反应密切相关。PCT 是降钙素的前肽物质, 是预测脓毒症患者死亡率和感染性休克的良好指标^[10]。IL-6 作为一种促炎性反应因子,

可通过介导多种免疫细胞参与脓毒症早期的炎症反应过程,有助于脓毒症的早期诊断^[11]。CRP是一种急性时相反应蛋白,是反映细菌感染较为敏感的指标,对评估脓毒症患者的病情发展有一定的意义^[12]。

本研究结果显示,脓毒症组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平均明显高于对照组,死亡组血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平均明显高于存活组,说明 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平在脓毒症患者中明显升高,死亡患者引起的炎症反应无法得到有效地控制,血浆 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平显著升高;而存活患者的感染得到有效地控制,循环、呼吸等脏器功能逐渐稳定,其水平下降。分析其原因可能是死亡患者炎症反应较严重,引起大量炎症因子释放,造成免疫功能严重紊乱,使得 miR-223-3p, PCT, IL-6 及 CRP 水平于治疗后仍继续升高。提示血浆 miR-223-3p 表达水平呈明显升高的脓毒症患者,病情较为严重,临床上需及时采取有效的治疗措施,以降低患者死亡率。ZHAO 等^[13]研究发现,脓毒症患者 miRNA 表达水平明显升高,而且与疾病严重程度、器官功能损害及病死率明显相关,可以作为评估脓毒症患者病情严重程度和预后的一个有用的生物学指标。另有研究表明,作为脓毒症诊断的常用指标,与 IL-6 及 CRP 联合检测能够显著提高脓毒症的诊断和预后评估水平,对脓毒症病情严重程度及预后判断具有重要价值^[5]。

本研究应用 ROC 曲线分析显示,miR-223-3p 对脓毒症诊断及预后预测的曲线下面积与 PCT 相当,其敏感度和特异度均高于 IL-6 或 CRP,miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 对脓毒症诊断及预测死亡的 AUC 最大,其敏感度和特异度较高;而单独检测 IL-6 或 CRP 对脓毒症诊断及预后预测的特异度较低,其应用价值有限。提示 miR-223-3p 对脓毒症诊断及预后预测具有较好的价值,联合 PCT, IL-6 及 CRP 检测可弥补单项检测的不足,能有助于提高脓毒症诊断和预后预测的敏感度和特异度。ZHANG 等^[14]研究发现,与对照组比较,脓毒症患者 miR-223-3p 表达水平明显升高,其对脓毒症诊断的敏感度和特异度分别为 82.9% 和 100%,有望作为脓毒症诊断的分子标志物,也为脓毒症基因水平治疗提供新的思路。本研究中脓毒症患者血浆 miR-223-3p 表达水平与 PCT, IL-6 及 CRP 均呈正相关,进一步提示了 miR-223-3p 联合 PCT, IL-6 及 CRP 可更好地预测脓毒症患者的预后及诊断。桑珍珍等^[15]研究表明,miRNA 表达水平在脓毒症患者中明显升高,对脓毒症患者的预后评估具有一

定的临床价值,联合 PCT 检测对评估脓毒症预后具有较高的敏感度和特异度。

综上所述,脓毒症患者血浆 miR-223-3p 表达水平明显升高,联合 PCT, IL-6 及 CRP 检测对脓毒症的诊断及预后预测具有良好的价值,可能为脓毒症的基因靶向治疗提供了新的研究方向。

参考文献:

- [1] CHEN A X, SIMPSON S Q, PALLIN D J. Sepsis guidelines[J]. The New England Journal of Medicine, 2019, 380(14): 1369-1371.
- [2] QIN Yanjun, GUO Xuan, YU Yueqing, et al. Screening key genes and microRNAs in sepsis by RNA-sequencing[J]. Journal of the Chinese Medical Association, 2020, 83(1): 41-47.
- [3] COLBERT J F, JOSHAY A F, HAEGER S M, et al. A model-specific role of microRNA-223 as a mediator of kidney injury during experimental sepsis[J]. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 2017, 313(2): F553-F559.
- [4] YUNUS I, FASIH A, WANG Yanzhi. The use of procalcitonin in the determination of severity of sepsis, patient outcomes and infection characteristics[J]. PLoS One, 2018, 13(11): e0206527.
- [5] SHARMA S, DUGGAL N. Role of procalcitonin, IL-6 and C- reactive protein in suspected cases of sepsis[J]. Indian Journal of Pathology and Microbiology, 2019, 62(4): 578-581.
- [6] 高戈,冯拮,常志刚,等.2012 国际严重脓毒症及脓毒性休克诊疗指南[J].中华危重病急救医学,2013,25(8):501-505.
GAO Ge, FENG Jie, CHANG Zhigang, et al. 2012 international guidelines for diagnosis and treatment of severe sepsis and septic shock [J]. Chinese Critical Care Medicine, 2013, 25 (8): 501-505.
- [7] KINGSLEY S K, BHAT B V. Role of microRNAs in sepsis[J]. Inflammation Research, 2017, 66(7): 553-569.
- [8] 穆红,杨磊.脓毒症相关微小 RNA 标志物功能机制研究进展与诊疗价值[J].中华检验医学杂志,2019,42(12):1007-1013.
MU Hong, YANG Lei. Progress of the functions and active mechanisms of sepsis associated microRNAs and their diagnostic value [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2019, 42 (12): 1007-1013.
- [9] BENZ F, ROY S, TRAUTWEIN C, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for sepsis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(1): E78.
- [10] GUPTA S, JASWANI P, SHARMA R K, et al. Procalcitonin as a diagnostic biomarker of sepsis: A tertiary care centre experience[J]. Journal of Infection and Public Health, 2019, 12(3): 323-329.
- [11] SUN Bo, LIANG Lianfang, LI Jie, et al. A meta-analysis of interleukin-6 as a valid and accurate index in diagnosing early neonatal sepsis[J]. International Wound Journal, 2019, 16(2): 527-533.

(下转第 61 页)