

脓毒症并发急性肾损伤患儿血清 miR-452-3p 的水平表达及其临床意义

洪莉, 郑青, 陈永香, 吴春, 陈绵平 (海口市妇幼保健院检验科, 海口 570100)

摘要:目的 探讨 miR-452-3p 在脓毒症并发急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 患儿中的表达及其临床意义。方法 选取 2018 年 1 月~2020 年 12 月海口市妇幼保健院收治的脓毒症并发 AKI 患儿 106 例, 根据生存情况分为生存组 ($n=71$) 和死亡组 ($n=35$), 检测两组血清 miR-452-3p, 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (NGAL) 及肾损伤分子-1 (KIM-1) 水平。应用多因素 Logistic 回归分析 AKI 患儿发生死亡的危险因素。绘制 ROC 曲线分析 miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 预测 AKI 患儿死亡的价值。结果 死亡组血清 miR-452-3p (3.92 ± 1.61 vs 2.17 ± 0.95), NGAL (562.38 ± 53.62 mg/L vs 287.46 ± 31.70 mg/L) 及 KIM-1 (29.15 ± 6.28 μ g/L vs 15.96 ± 3.20 μ g/L) 水平明显高于生存组, 差异均有统计学意义 ($t=18.245, 15.117, 11.613$, 均 $P < 0.001$)。多因素 Logistic 回归分析显示, miR-452-3p (OR=2.583, 95%CI: 1.690~5.374), NGAL (OR=2.792, 95%CI: 1.835~6.153) 及 KIM-1 (OR=1.950, 95%CI: 1.274~3.902) 水平升高是 AKI 患儿发生死亡的独立危险因素 ($P < 0.001$)。ROC 曲线分析显示, miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 三项联合预测 AKI 患儿死亡的曲线下面积 (0.947, 95%CI: 0.886~0.991) 最大, 其敏感度和特异度分别为 96.2% 和 89.5%。结论 miR-452-3p 在脓毒症并发 AKI 患儿中明显升高, 联合 NGAL 及 KIM-1 预测 AKI 患儿死亡具有更高的价值。

关键词: 脓毒症; 急性肾损伤; 儿童; miR-452-3p

中图分类号: R631; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 06-176-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.038

Expression and Clinical Significance of Serum miR-452-3p in Children with Sepsis Complicated with Acute Kidney Injury

HONG Li, ZHENG Qing, CHEN Yong-xiang, WU Chun, CHEN Mian-ping

(Department of Clinical Laboratory, Haikou Maternal and Child Health Hospital, Haikou 570100, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of miR-452-3p in children with sepsis complicated with acute kidney injury (AKI). **Methods** The 106 children with sepsis complicated with AKI admitted to Haikou Hospital of the Maternal and Child Health from January 2018 to December 2020 were selected and divided into survival group ($n=71$) and death group ($n=35$) according to the survival situation. The levels of serum miR-452-3p, neutrophil gelatinase-related lipid carrier protein (NGAL) and kidney injury molecule-1 (KIM-1) were detected in the two groups. Multivariate logistic regression was used to analyse the risk factors of death in children with AKI. The ROC curve was drawn to analyze the value of miR-452-3p, NGAL and KIM-1 in predicting the death of AKI children. **Results** The levels of serum miR-452-3p (3.92 ± 1.61 vs 2.17 ± 0.95), NGAL (562.38 ± 53.62 mg/L vs 287.46 ± 31.70 mg/L) and KIM-1 (29.15 ± 6.28 μ g/L vs 15.96 ± 3.20 μ g/L) in the death group were significantly higher than those in the survival group, the differences were statistically significant ($t=18.245, 15.117, 11.613$, all $P < 0.001$). Multivariate logistic regression analysis showed that increased levels of miR-452-3p (OR=2.583, 95% CI: 1.690~5.374), NGAL (OR=2.792, 95% CI: 1.835~6.153) and KIM-1 (OR=1.950, 95% CI: 1.274~3.902) were independent risk factors for death in AKI children ($P < 0.001$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (0.947, 95% CI: 0.886~0.991) of miR-452-3p, NGAL and KIM-1 combined prediction of death in children with AKI was the largest, with a sensitivity of 96.2% and a specificity of 89.5%. **Conclusion** The level of serum miR-452-3p in children with sepsis complicated with AKI was significantly increased, and the combination of NGAL and KIM-1 has higher value in predicting the death of children with AKI.

Keywords: sepsis; acute kidney injury; children; miR-452-3p

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是在儿童脓毒症中常见且严重的并发症, 可延长患儿的住院时间及增加死亡率。中性粒细胞明胶酶相关脂质

运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 及肾损伤分子-1 (kidney injury molecule-1, KIM-1) 是反映肾功能损伤的常用指标, 与 AKI 发

生有关,在AKI的早期诊断中具有一定的价值^[1]。微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长约22 nt的小RNA分子,其通过调节炎症反应、缺血再灌注损伤等过程,参与AKI的发生发展^[2-3]。近期的研究发现,miR-452-3p在脓毒症并发AKI患者中明显高于无AKI患者,可能是脓症患者早期发现AKI的有效生物标志物^[4]。本研究对脓毒症并发AKI患儿血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平进行检测,探讨三项联合预测AKI患儿预后的价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取海口市妇幼保健院2018年1月~2020年12月收治的脓毒症并发AKI患儿106例,其中男性65例,女性41例,年龄12个月~14岁(6.73 ± 1.65)岁。根据106例患儿住院后28天的预后情况,分为生存组71例和死亡组35例。纳入标准:①脓毒症诊断参考《儿童脓毒性休克诊治专家共识(2015版)》^[5];②AKI诊断参考2012《KDIGO急性肾损伤临床实践指南》^[6]。排除标准:①已存在慢性肾脏病史、免疫系统疾病及恶性肿瘤;②不能配合签署知情同意书。死亡组和生存组年龄、性别等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器和试剂 ABI 7500型荧光定量PCR仪,PCR试剂盒,RNeasy试剂盒,miRNA Easy试剂盒和TRIzol试剂盒均购自美国Qiagen公司;离心机为北京医用离心机厂产品。NGAL及KIM-1试剂购自美国R&D公司。

1.3 方法 采集静脉血5 ml,离心分离血清,在PCR仪上检测miR-452-3p水平。反应体系为20 μ l: TaqMan MicroRNA Assay 1.00 μ l, cDNA 1.33 μ l, TaqMan 2 \times Universal PCR Master Mix 10.00 μ l, ddH₂O 7.67 μ l;扩增条件为:95 $^{\circ}$ C预变性10 min, 95 $^{\circ}$ C变性15 s, 60 $^{\circ}$ C复性60 s进行45个循环。另采用酶联免疫法检测NGAL及KIM-1水平。

1.4 统计学分析 采用SPSS 22.0统计软件分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。计数资料的比较采用 χ^2 检验。应用多因素Logistic回归分析脓毒症并发AKI患儿发生死亡的危险因素。绘制受试者工作特征(ROC)曲

线分析miR-452-3p, NGAL及KIM-1对AKI患儿预后预测的价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平比较 见表1。死亡组血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平明显高于生存组,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。

表1 两组血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	生存组($n=71$)	死亡组($n=35$)	t 值	P 值
miR-452-3p	2.17 ± 0.95	3.92 ± 1.61	18.245	< 0.001
NGAL (mg/L)	287.46 ± 31.70	562.38 ± 53.62	15.117	< 0.001
KIM-1 (μ g/L)	15.96 ± 3.20	29.15 ± 6.28	11.613	< 0.001

2.2 多因素Logistic回归分析AKI患儿发生死亡的危险因素 见表2。对miR-452-3p, NGAL及KIM-1进行多因素Logistic回归分析,显示血清miR-452-3p (OR=2.583, 95%CI: 1.690~5.374), NGAL (OR=2.792, 95%CI: 1.835~6.153)及KIM-1 (OR=1.950, 95%CI: 1.274~3.902)水平升高是AKI患儿发生死亡的独立危险因素($P<0.001$)。

表2 多因素Logistic回归分析AKI患儿发生死亡的危险因素

项目	β	SE	Wald值	OR (95%CI)	P 值
miR-452-3p	1.156	0.628	13.405	2.583 (1.690~5.374)	< 0.001
NGAL	1.328	0.847	10.152	2.792 (1.835~6.153)	< 0.001
KIM-1	0.963	0.336	7.165	1.950 (1.274~3.902)	< 0.001

2.3 血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平预测AKI患儿死亡的价值 见表3和图1。血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平预测AKI患儿死亡的最佳截值分别为3.12, 450.16 mg/L和24.20 μ g/L, 三项联合预测AKI患儿死亡的曲线下面积(0.947, 95%CI: 0.886~0.991)明显高于单项miR-452-3p (0.851, 95%CI: 0.796~0.910), NGAL (0.834, 95%CI: 0.776~0.895)及KIM-1 (0.802, 95%CI: 0.745~0.861),其敏感度和特异度分别为96.2%, 89.5%。

表3 血清miR-452-3p, NGAL及KIM-1水平预测AKI患儿死亡的价值

项目	最佳截值	AUC (95%CI)	P 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
miR-452-3p	3.12	0.851 (0.796~0.910)	< 0.001	80.4	85.6	83.0	84.2
NGAL (mg/L)	450.16	0.834 (0.776~0.895)	< 0.001	83.6	79.5	82.6	80.7
KIM-1 (μ g/L)	24.20	0.802 (0.745~0.861)	< 0.001	81.2	75.0	78.3	79.2
三项联合	-	0.947 (0.886 ~ 0.991)	< 0.001	96.2	89.5	92.4	94.0

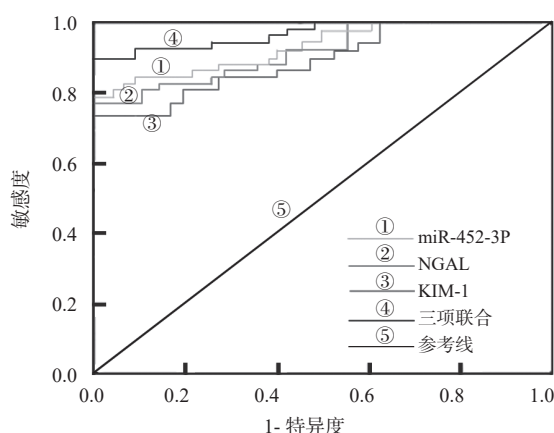


图1 血清 miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 水平预测 AKI 患儿死亡的 ROC 曲线

3 讨论

儿童脓毒症中 AKI 的发病率及死亡率较高, 如何早期评估 AKI 的预后情况对其救治帮助重大。NGAL 是在激活中性粒细胞中被发现的一种小分子量分泌性蛋白, 早期肾损伤中 NGAL 升高显著, 与 AKI 的发生密切相关^[7]。KIM-1 作为跨膜蛋白, 极低表达于正常肾脏中, 在肾损伤中表达增高, 是判断早期肾损伤的有用指标^[8]。有研究表明, miRNA 的异常表达与 AKI 发生有关, 其可能是 AKI 诊断和预后判断的潜在指标, 应用前景较好^[9]。

本研究显示, 死亡组血清 miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 水平明显高于生存组, 提示 miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 升高与 AKI 患儿的死亡有关, 可能参与 AKI 的病情进展。徐佳音等^[10]研究发现, NGAL 及 KIM-1 在儿童脓毒症 AKI 中显著升高, 两项联合检测对 AKI 诊断具有较高的灵敏度。另有研究指出, 血清 miRNA 高表达的 AKI 患者病情严重, 死亡风险较大, 在预测 AKI 的病情进展程度及预后中的灵敏度和特异度均较高^[11]。本研究多因素 Logistic 回归分析显示, miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 水平升高是 AKI 患儿发生死亡的独立危险因素。LIN 等^[12]研究也认为, 脓毒症患者存在 miRNA 高表达, 其发生 AKI 的风险大大增加, miRNA 可能是 AKI 早期诊断及预后预测的无创性生物学指标。另有研究表明, NGAL 是一种很有前途的脓毒性 AKI 生物标志物, 对判断 AKI 的严重程度和预后情况具有较高的价值^[13]。本研究 ROC 曲线分析发现, miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 三项联合对 AKI 患儿死亡预测的价值最大, 其效能较高。YANG 等^[14]研究指出, miRNA 与 AKI 的严重程度有关, 其水平越高患者死亡率越高, 未来可能是 AKI 诊断及预后评估的可靠指标。另有研究证实, NGAL 及 KIM-1 在评估脓毒症并发 AKI 患者死亡中的价值均较好, 联合检测有利于评估 AKI 患者的

预后情况, 对指导临床治疗 AKI 具有较好的帮助^[15]。

综上所述, 脓毒症并发 AKI 患儿 miR-452-3p, NGAL 及 KIM-1 水平均明显升高, 是 AKI 患儿发生死亡的危险因素, 三项联合检测能更好地预测 AKI 患儿的死亡情况。

参考文献:

- [1] 刘立志, 曾梦君, 蒋继贫. NGAL, KIM-1 和 PCT 在脓毒症 AKI 中的标志物作用 [J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39 (3): 1408-1413.
LIU Lizhi, ZENG Mengjun, JIANG Jipin. Role of NGAL, KIM-1 and PCT markers in acute renal injury of sepsis[J]. Genomics and Applied Biology, 2020, 39 (3): 1408-1413.
- [2] MA J, WANG Y, XU HT, et al. MicroRNA: a novel biomarker and therapeutic target to combat autophagy in diabetic nephropathy[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019, 23(14): 6257-6263.
- [3] LIU Xiaoqin, LI Yue, ZHU Xiuli, et al. MicroRNA as an early diagnostic biomarker for contrast-induced acute kidney injury[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2020: 1-6. DOI: 10.1080/01480545.2020.1846550
- [4] LIU Zhiwen, YANG Danyi, GAO Jingli, et al. Discovery and validation of miR-452 as an effective biomarker for acute kidney injury in sepsis[J]. Theranostics, 2020, 10(26): 11963-11975.
- [5] 中华医学会儿科学分会急救学组. 中华医学会儿科学分会急救学组, 中国医师协会儿童重症医师分会. 儿童脓毒性休克(感染性休克)诊治专家共识(2015 版)[J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(8): 576-580.
The Subspecialty Group of Emergency Medicine, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association, the Subspecialty Group of Pediatrics, the Society of Emergency Medicine, Chinese Medical Association, the Society of Pediatric Critical Care, Chinese Medical Doctor Association. The diagnosis and treatment of septic shock in children (2015)[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2015, 53(8): 576-580.
- [6] KHWAJA A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury[J]. Nephron Clinical Practice, 2012, 120(4): C179-C184.
- [7] UDGIKAR S, RATHI P, SONTALIA N, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin determines short-term mortality and type of acute kidney injury in cirrhosis[J]. JGH Open, 2020, 4(5): 970-977.
- [8] GHARDAN E, EBRAHIMPOUR S, SADIGHI S, et al. Evaluation of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and urinary kidney injury molecule-1 as biomarkers of renal function in cancer patients treated with cisplatin[J]. Journal of Oncology Pharmacy Practice, 2020, 26(7): 1643-1649.
- [9] 李湘玉, 李瑛. 微小 RNA 早期诊断急性肾损伤的研究进展 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2020, 29 (2): 160-164.

(下转第 182 页)