

脓毒症患儿血浆 miR-455-5p 和 miR-483-5p 检测的临床应用

邓颖云, 邱成英, 吴日暖, 匡晓玲, 卢 磊 (三亚市人民医院儿科, 海南三亚 572000)

摘要: 目的 分析脓毒症(Sepsis)患儿血浆微小核糖核酸(micro RNA, miR)-455-5p 和 miR-483-5p 检测及其临床价值。方法 选择2019年1月~2020年12月三亚市人民医院收治的108例脓毒症患儿, 根据其病情严重程度分为脓毒症非休克组($n=65$)和脓毒症休克组($n=43$); 根据脓毒症患儿28天的生存情况, 将其分为存活组($n=74$)和死亡组($n=34$), 另选取50例健康儿童作为对照组, 检测各组血浆 miR-455-5p 和 miR-483-5p 表达水平。应用受试者工作特征曲线(ROC)分析血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及降钙素原(procalcitonin, PCT)水平对脓毒症诊断及预后评估的价值。结果 脓毒症休克组血浆 miR-455-5p (4.06 ± 1.35), miR-483-5p (3.40 ± 1.13) 及 PCT ($19.97 \pm 9.12 \mu\text{g/L}$) 水平均明显高于脓毒症非休克组 (1.95 ± 0.81 , 1.38 ± 0.57 , $5.73 \pm 2.36 \mu\text{g/L}$) 和对照组 (0.78 ± 0.24 , 0.35 ± 0.10 , $0.02 \pm 0.01 \mu\text{g/L}$), 差异均有统计学意义 ($t=12.985 \sim 24.638$, 均 $P < 0.01$)。死亡组血浆 miR-455-5p (4.30 ± 1.52), miR-483-5p (3.61 ± 1.24) 及 PCT (21.35 ± 9.58) 水平均明显高于存活组 (1.74 ± 0.68 , 1.20 ± 0.45 , $4.36 \pm 1.94 \mu\text{g/L}$) 和对照组, 差异均有统计学意义 ($t=10.513 \sim 21.719$, 均 $P < 0.01$)。ROC 曲线分析显示, miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 联合诊断脓毒症的曲线下面积(AUC)最大(0.904, 95%CI: 0.846 ~ 0.967), 其敏感度和特异度分别为 92.4% 和 83.7%。miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 联合预测脓毒症患儿死亡的 AUC 最大(0.928, 95%CI: 0.870 ~ 0.984), 其敏感度和特异度分别为 94.7% 和 86.5%。结论 脓毒症患儿血浆 miR-455-5p 和 miR-483-5p 表达水平明显升高, 联合 PCT 检测有助于提高儿童脓毒症的诊断及预后评估价值。

关键词: 脓毒症; 儿童; 微小核糖核酸-455-5p; 微小核糖核酸-483-5p

中图分类号: R631; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 03-079-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.03.016

Clinical Application of Plasma miR-455-5p and miR-483-5p in Children with Sepsis

DENG Ying-yun, QIU Cheng-ying, WU Ri-nuan, KUANG Xiao-ling, LU Lei

(Department of Pediatrics, Sanya People's Hospital, Hainan Sanya 572000, China)

Abstract: Objective To analyze the detection and clinical value of plasma miR-455-5p and miR-483-5p in children with Sepsis. **Methods** 108 cases children with sepsis admitted to Sanya People's Hospital from January 2019 to December 2020 were divided into sepsis non shock group ($n=65$) and sepsis shock group ($n=43$). According to the 28 day survival of children with sepsis, they were divided into two groups: survival group ($n=74$) and death group ($n=34$). Another 50 healthy children were selected as the control group. The expression levels of plasma miR-455-5p and miR-483-5p were detected in each group. Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the value of plasma levels of miR-455-5p, miR-483-5p and procalcitonin (PCT) for the diagnosis and prognosis of sepsis. **Results** The levels of plasma miR-455-5p (4.06 ± 1.35), miR-483-5p (3.40 ± 1.13) and PCT ($19.97 \pm 9.12 \mu\text{g/L}$) in septic shock group were significantly higher than those in septic non shock group (1.95 ± 0.81 , 1.38 ± 0.57 , $5.73 \pm 2.36 \mu\text{g/L}$) and control group (0.78 ± 0.24 , 0.35 ± 0.10 , $0.02 \pm 0.01 \mu\text{g/L}$), the differences were statistically significant ($t=12.985 \sim 24.638$, all $P < 0.01$). The levels of plasma miR-455-5p (4.30 ± 1.52), miR-483-5p (3.61 ± 1.24) and PCT ($21.35 \pm 9.58 \mu\text{g/L}$) in the death group were significantly higher than those in the survival group (1.74 ± 0.68 , 1.20 ± 0.45 , $4.36 \pm 1.94 \mu\text{g/L}$) and control group, the differences were statistically significant ($t=10.513 \sim 21.719$, all $P < 0.01$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of miR-455-5p, miR-483-5p and PCT in the diagnosis of sepsis was the largest (0.904, 95% CI: 0.846 ~ 0.967), with a sensitivity of 92.4% and a specificity of 83.7%. The AUC of miR-455-5p, miR-483-5p and PCT in predicting the death of children with sepsis was the largest (0.928, 95% CI: 0.870 ~ 0.984), with a sensitivity of 94.7% and a specificity of 86.5%. **Conclusion** The expression levels of plasma miR-455-5p and miR-483-5p in children with sepsis were significantly increased. Combined with PCT detection, it is helpful to improve the value of diagnosis and prognosis evaluation of children with sepsis.

Keywords: sepsis; children; miR-455-5p; miR-483-5p

儿童脓毒症 (sepsis) 是一种重度感染性疾病, 可导致身体各个器官功能衰竭, 其病情凶险, 病死率较高, 是导致儿童死亡的主要原因之一^[1]。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 作为一类新型的基因调控分子, 参与全身炎症反应过程, 对脓毒症诊断及预后判断具有较大的意义^[2-3]。有报道指出, miR-455-5p 及 miR-483-5p 在脓毒症中异常表达, 参与脓毒症的发生发展, 并可能是脓毒症的潜在分子标志物^[4-5]。降钙素原 (procalcitonin, PCT) 是一种反映炎症反应程度的有效指标, 可用于评价脓毒症患者的严重程度、病情转归及疗效监测^[6]。目前, 关于 miR-455-5p 及 miR-483-5p 在脓毒症中的临床应用价值尚未有报道, 其能否作为脓毒症诊断及预后评估的标志物尚未清楚。为此, 本研究检测脓症患者血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平, 分析其对儿童脓毒症诊断及预后评估的价值, 为儿童脓毒症的诊疗提供指导。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2019 年 1 月 ~ 2020 年 12 月三亚市人民医院收治的 108 例脓毒症患者, 其中男性 66 例, 女性 42 例, 年龄 10 个月 ~ 14 (5.10 ± 1.73) 岁。纳入标准: ①年龄 ≤ 14 岁, 住院时间 > 48 h; ②符合儿童脓毒性休克 (感染性休克) 诊治专家共识 (2015 版) 中的诊断标准^[7]。排除标准: ①存在自身免疫疾病、血液病及恶性肿瘤者; ②临床资料不完整者及放弃治疗者。根据脓毒症患者病情进展情况, 分为脓毒症非休克组 (65 例) 和脓毒症休克组 (43 例); 根据脓毒症患者 28 天的生存情况, 分为存活组 (74 例) 和死亡组 (34 例)。同期收集 50 例健康儿童作为对照组, 其中男性 28 例, 女性 22 例; 年龄 1 ~ 14 岁 (5.24 ± 1.65) 岁。各组一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究经伦理委

员会批准, 患者知情同意。

1.2 仪器与试剂 7500 型荧光定量 PCR 仪, PCR 相关试剂盒和 Trizol 试剂盒由上海生工生物工程公司提供。CL-2200i 迈瑞全自动化学发光免疫分析仪及配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 miR-455-5p 及 miR-483-5p 检测: 采集 3 ml 肘静脉血于 EDTA 抗凝管中, 离心分离血浆。以 U6 为内参, 使用荧光定量 PCR 仪检测 miR-455-5p 及 miR-483-5p 水平。反应体系为 20 μl: 10 μl TaqMan 通用混合物溶液 (2 ×), 1 μl 引物及探针 Mix (20 ×), 1.33 μl 反向转录脱氧核糖核酸, 7.67 μl 双蒸馏水。扩增条件为: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 15 s, 55℃ ~ 60℃ 退火及延伸 30 s, 共 40 个循环。

1.3.2 PCT 检测: 另采集研究对象静脉血 2 ml, 使用化学发光免疫分析仪及配套试剂检测 PCT 水平, 参考范围: 0 ~ 0.05 μg/L。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 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, 组内比较采用 SNK- q 检验。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平对脓毒症诊断及预后评估的价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症休克组和非休克组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平比较 见表 1。与对照组比较, 脓毒症休克组和非休克组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平明显升高 ($t=16.517, 15.280, 14.506, 13.387, 24.638, 20.517$, 均 $P < 0.01$), 且脓毒症休克组明显高于非休克组 ($t=13.602, 12.985, 15.173$, 均 $P < 0.01$)。

表 1 脓毒症休克组和非休克组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (n=50)	脓毒症非休克组 (n=65)	脓毒症休克组 (n=43)	F 值	P 值
miR-455-5p ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	0.78 ± 0.24	1.95 ± 0.81	4.06 ± 1.35	13.958	<0.01
miR-483-5p ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	0.35 ± 0.10	1.38 ± 0.57	3.40 ± 1.13	12.773	<0.01
PCT (μg/L)	0.02 ± 0.01	5.73 ± 2.36	19.97 ± 9.12	16.170	<0.01

2.2 死亡组和存活组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平比较 见表 2。与对照组比较, 死亡组和存活组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平明显升高 ($t=13.924, 12.467, 12.173, 11.506,$

21.719, 18.825, 均 $P < 0.01$), 且死亡组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平明显高于存活组 ($t=12.162, 10.513, 13.874$, 均 $P < 0.01$)。

表 2 死亡组和存活组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (n=50)	存活组 (n=74)	死亡组 (n=34)	F 值	P 值
miR-455-5p ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	0.78 ± 0.24	1.74 ± 0.68	4.30 ± 1.52	15.718	<0.01
miR-483-5p ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	0.35 ± 0.10	1.20 ± 0.45	3.61 ± 1.24	13.904	<0.01
PCT (μg/L)	0.02 ± 0.01	4.36 ± 1.94	21.35 ± 9.58	18.226	<0.01

2.3 血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平诊断脓毒症的价值 见表3。血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平诊断脓毒症的最佳截断值分别为 2.14, 1.65, 2.87 $\mu\text{g/L}$, 三项联合诊断脓毒症的最佳截断值

表3 血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平诊断脓毒症的价值

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-455-5p	2.14	0.807 (0.745 ~ 0.870)	81.3	72.4	75.2	78.6
miR-483-5p	1.65	0.780 (0.720 ~ 0.840)	77.8	70.7	73.5	75.2
PCT	2.87 $\mu\text{g/L}$	0.822 (0.761 ~ 0.880)	83.4	76.0	79.2	80.5
三项联合	-	0.904 (0.846 ~ 0.967)	92.4	83.7	86.2	90.3

2.4 血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平预测脓毒症患儿死亡的价值 见表4。血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平预测脓毒症患儿死亡的最佳截断值分别为 2.92, 2.35, 14.16 $\mu\text{g/L}$, 三项联合预测脓毒症患儿死亡的 AUC (0.928,

表4 血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平预测脓毒症患儿死亡的价值

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-455-5p	2.92	0.846 (0.784 ~ 0.905)	85.8	78.5	81.3	83.0
miR-483-5p	2.35	0.790 (0.728 ~ 0.851)	78.5	72.4	75.2	75.9
PCT	14.16 $\mu\text{g/L}$	0.817 (0.760 ~ 0.875)	76.8	81.2	84.5	83.7
三项联合	-	0.928 (0.870 ~ 0.984)	94.7	86.5	89.6	91.8

3 讨论

儿童脓毒症是由于宿主对感染的过度炎症反应而引起的一种严重综合征, 尽管最近的治疗取得了进展, 但死亡率仍然很高。脓毒症的非特异性临床特征和延迟诊断一直是人们关注的问题, 目前尚无决定性的诊断或预后生物标志物。由于 miRNA 具有高度的敏感度和准确度, 因此它被广泛应用于治疗学等个性化医学领域。越来越多的研究表明, 脓毒症患者外周血中 miRNA 表达水平可在一定程度上反映机体炎症情况, 同时还可判定疾病严重程度, 有望成为脓毒症早期诊断及预后评估的生物学指标^[8]。近年来研究发现, miR-455-5p 和 miR-483-5p 作为小分子 RNA 家族中的成员, 可以参与调节炎症反应的通路, 影响炎症因子的产生, 在调控严重炎症反应中发挥了重要的作用^[9-10]。PCT 是降钙素的前肽物质, 是鉴别细菌感染和病毒感染的良好指标, 在严重细菌感染和脓毒症中显著升高, 对脓毒症的早期诊断和指导临床抗生素使用具有较大帮助^[11-12]。

本研究显示, 脓毒症休克组血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平明显高于脓毒症非休克组, 而且死亡组明显高于存活组, 说明血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平升高与脓毒症患儿的病情严重程度密切相关。分析其原因可能是死亡患儿的全身炎症反应比较严重, 引起大量炎症因子

曲线下面积 (AUC) 为 0.904 (95%CI: 0.846 ~ 0.967), 明显高于单项 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 其敏感度和特异度分别为 92.4% 和 83.7%。

95%CI: 0.870 ~ 0.984) 明显高于单项 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 其敏感度和特异度分别为 94.7% 和 86.5%。

释放, 病情无法得到有效控制, miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平显著升高; 而存活患儿病情比较稳定, 炎症反应程度降低, miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平呈下降趋势。因此, 血浆 miR-455-5p, miR-483-5p 及 PCT 水平呈明显升高的脓毒症患者, 病情较为严重, 临床上应及时采取有效的治疗措施, 以最大限度地减少脓毒症患儿的死亡情况。叶荣宗等^[13]研究认为, miRNA 异常表达与脓毒症患者病情严重程度及预后有关, 在脓毒症发病机制、诊断和靶向治疗中发挥较大的作用。ZHAO 等^[14]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, 血浆 PCT 水平在不同严重程度脓毒症患儿中存在明显差异, 儿童脓毒症的显著发病率和死亡率有关, PCT 水平检测可用于儿童脓毒症的早期识别, 风险分层、预测和 / 或抗生素决策指导^[11]。

本研究 ROC 曲线显示, miR-455-5p 和 miR-483-5p 联合 PCT 对脓毒症诊断及预测死亡的曲线下面积最大, 其敏感度和特异度较好。提示 miR-455-5p 和 miR-483-5p 对儿童脓毒症诊断及预后评估具有一定的价值, 联合 PCT 检测可弥补单项检测的不足, 并有助于提高脓毒症诊断及预后评估的价值。KARAM 等^[15]研究认为, miRNA 表达水平

与脓毒症患儿的病情严重程度及预后相关,对预测脓毒症患儿的预后具有较好的临床价值。RAHMEL等^[16]研究表明,miRNA表达水平升高与脓毒症患者病情严重和预后不良相关,是判断脓毒症严重程度及预后的生物学指标,可能为脓毒症基因水平治疗提供新的思路。既往的研究也证实,PCT作为一种新的炎症指标,对脓毒症的诊断和指导治疗方案等方面具有很高的应用价值,是目前诊断脓毒症最有效、最可靠的常用标志物^[17]。

综上所述,血浆miR-455-5p和miR-483-5p表达水平在脓毒症患儿中明显升高,其高表达与脓毒症患儿的病情严重程度及死亡相关,联合PCT检测有助于提高儿童脓毒症的诊断及预后评估价值,同时也为脓毒症患儿的靶向治疗提供新的思路。PCT作为脓毒症诊断的特异性指标已得到临床广泛推广,但miR-455-5p和miR-483-5p在脓毒症中的应用处于初步探索阶段,仍需要更多的临床前瞻性研究进一步验证,为脓毒症的诊断带来更多的可靠标志物。

参考文献:

- [1] SEHGAL M, LADD H J, TOTAPALLY B. Trends in epidemiology and microbiology of severe sepsis and septic shock in children[J]. Hospital pediatrics, 2020, 10(12): 1021-1030.
- [2] LINK F, KROHN K, BURGDORFF A M, et al. Sepsis diagnostics: intensive care scoring systems superior to microRNA biomarker testing[J]. Diagnostics (Basel, Switzerland), 2020, 10(9): 701.
- [3] MANETTI A C, MAIESE A, PAOLO M D, et al. MicroRNAs and sepsis-induced cardiac dysfunction: a systematic review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 22(1): 321.
- [4] MAO Yueyan, SU Chang, FANG Chengchao, et al. Clinical significance of the serum miR-455-5p expression in patients with neonatal sepsis[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 4174-4182.
- [5] LENG Chenghui, SUN Junli, XIN Keke, et al. High expression of miR-483-5p aggravates sepsis-induced acute lung injury[J]. The Journal of Toxicological Sciences, 2020, 45(2): 77-86.
- [6] 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.
- [7] 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. Expert consensus on the diagnosis and treatment of children's septic shock (septic shock) (2015 Edition) [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2015, 53 (8): 576-580.
- [8] SZILÁGYI B, FEJES Z, PÓCSI M, et al. Role of sepsis modulated circulating microRNAs[J]. EJIFCC, 2019, 30(2): 128-145.
- [9] CHEN Pan, MIAO Ying, YAN Pujun, et al. MiR-455-5p ameliorates HG-induced apoptosis, oxidative stress and inflammatory via targeting SOCS3 in retinal pigment epithelial cells[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(12): 21915-21924.
- [10] WANG Xuegang, ZHU Yongwu, WANG Tao, et al. MiR-483-5p downregulation contributed to cell proliferation, metastasis, and inflammation of clear cell renal cell carcinoma[J]. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2021, 37(3): 192-199.
- [11] SHARMA S, UPPAL B, MANCHANDA V, et al. Diagnostic utility of procalcitonin as biomarker of sepsis in children[J]. Infect Dis (Lond), 2018, 50(7):567-568.
- [12] 王军宇,王宏伟,刘温馨,等.降钙素原和血乳酸及病情严重程度评分对脓毒症患者预后的评估价值[J]. 中华危重病急救医学,2019,31(8):938-941. WANG Junyu, WANG Hongwei, LIU Wenxin, et al. Assessment values of procalcitonin, lactic acid, and disease severity scores in patients with sepsis [J]. Chinese Critical Care Medicine, 2019, 31 (8): 938-941.
- [13] 叶荣宗. 外泌体 miRNA 在脓毒症中的研究进展 [J]. 海南医学, 2021, 32(12):1596-1599. YE Rongzong. Exosome-derived miRNAs in sepsis [J]. Hainan Medical Journal, 2021, 32 (12): 1596-1599.
- [14] ZHAO Danna, LI Shilei, CUI Jie, et al. Plasma miR - 125a and miR - 125b in sepsis: Correlation with disease risk, inflammation, severity, and prognosis[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2020, 34(2): e23036.
- [15] KARAM R A, HE Zidan, KARAM N, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum miRNA-146-a expression in Egyptian children with sepsis in a pediatric intensive care unit[J]. Journal of Gene Medicine, 2019, 21(11): e3128.
- [16] RAHMEL T, SCHÄFER S T, FREY U H, et al. Increased circulating microRNA-122 is a biomarker for discrimination and risk stratification in patients defined by sepsis-3 criteria[J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0197637.
- [17] 中华医学会儿科学分会医院感染管理与控制专业委员会. 血清降钙素原检测在儿童感染性疾病中的临床应用专家共识 [J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(1): 9-15. The Special Committee of Hospital Infection Management and Control/the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association. Expert consensus on clinical application of serum procalcitonin in pediatric infectious disease [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2019, 57 (1): 9-15.

收稿日期: 2021-01-24

修回日期: 2021-11-18