

老年脓毒症患者血清 miR-206 及 miR-451 水平与疾病严重程度和预后的相关性研究

于莉, 张敏, 张小华, 李丽华 (儋州市人民医院检验科, 海南儋州 571799)

摘要: 目的 探讨血清微小核糖核酸 (micro RNA, miR) -206 及 miR-451 水平在老年脓毒症中的表达及其与严重程度和预后的关系。方法 选取 2018 年 1 月 ~ 2020 年 12 月儋州市人民医院收治的老年脓毒症患者 158 例, 其中脓毒症非休克组 94 例和脓毒症休克组 64 例, 另根据患者 28 天的生存情况, 将其分为存活组 ($n=115$) 和死亡组 ($n=43$)。比较各组第 1, 3 和 7 天血清 miR-206 及 miR-451 表达水平变化。应用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 miR-206 及 miR-451 表达水平预测老年脓毒症患者死亡的价值。结果 脓毒症休克组第 1, 3 和 7 天血清 miR-206 (4.28 ± 1.60 , 5.63 ± 2.19 , 6.05 ± 2.58) 及 miR-451 (3.08 ± 1.42 , 4.27 ± 1.53 , 4.93 ± 1.80) 表达水平明显高于脓毒症非休克组 (2.62 ± 1.05 , 3.15 ± 1.40 , 2.96 ± 1.27 ; 1.93 ± 0.86 , 2.46 ± 1.02 , 2.30 ± 0.95), 差异有统计学意义 ($t=10.417 \sim 19.630$, 均 $P < 0.01$)。死亡组第 1, 3 和 7 天血清 miR-206 (4.45 ± 1.66 , 6.12 ± 2.64 , 6.37 ± 2.71) 及 miR-451 (3.35 ± 1.48 , 4.70 ± 1.72 , 5.37 ± 1.80) 表达水平明显高于存活组 (2.50 ± 0.97 , 2.90 ± 1.35 , 2.83 ± 1.31 ; 1.80 ± 0.81 , 2.17 ± 0.92 , 2.05 ± 0.86), 差异有统计学意义 ($t=12.506 \sim 22.814$, 均 $P < 0.01$)。ROC 曲线显示, 第 3 天 miR-206 及 miR-451 两项联合预测老年脓毒症患者死亡的曲线下面积 (0.936, 95%CI: 0.877 ~ 0.994) 最大, 其敏感度和特异度分别为 97.2% 和 86.0%。结论 血清 miR-206 及 miR-451 表达水平升高与老年脓毒症患者的严重程度及预后有关, 第 3 天两项联合预测老年脓毒症患者死亡具有较好的价值。

关键词: 脓毒症; 老年人; 微小核糖核酸 -206; 微小核糖核酸 -451

中图分类号: R631; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 03-096-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.03.020

Correlation of Serum miR-206 and miR-451 Levels with Disease Severity and Prognosis in Elderly Patients with Sepsis

YU Li, ZHANG Min, ZHANG Xiao-hua, LI Li-hua

(Department of Clinical Laboratory, Danzhou People's Hospital, Hainan Danzhou 571799, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of serum miR-206 and miR-451 in elderly sepsis and their relationship with severity and prognosis. **Methods** 158 patients with elderly sepsis admitted to Danzhou People's Hospital from January 2018 to December 2020 were selected, including 94 patients in the sepsis non-shock group and 64 patients in the sepsis shock group. According to the 28 days survival condition, the patients were divided into survival group ($n=115$) and death group ($n=43$). The expression levels of serum miR-206 and miR-451 in each group were compared on the first, third and seventh day. The ROC curve were used to analyze the expression level of serum miR-206 and miR-451 to predict the death of patients with elderly sepsis. **Results** The expression level of serum miR-206 (4.28 ± 1.60 , 5.63 ± 2.19 , 6.05 ± 2.58) and miR-451 (3.08 ± 1.42 , 4.27 ± 1.53 , 4.93 ± 1.80) in septic shock group were significantly higher than that in sepsis non-shock group (2.62 ± 1.05 , 3.15 ± 1.40 , 2.96 ± 1.27 ; 1.93 ± 0.86 , 2.46 ± 1.02 , 2.30 ± 0.95), the differences were statistically significant ($t=10.417 \sim 19.630$, all $P < 0.01$). The expression levels of serum miR-206 (4.45 ± 1.66 , 6.12 ± 2.64 , 6.37 ± 2.71) and miR-451 (3.35 ± 1.48 , 4.70 ± 1.72 , 5.37 ± 1.80) in the first day, the third day and the seventh day of the death group were significantly higher than those in the survival group (2.50 ± 0.97 , 2.90 ± 1.35 , 2.83 ± 1.31 ; 1.80 ± 0.81 , 2.17 ± 0.92 , 2.05 ± 0.86), the differences were statistically significant ($t=12.506 \sim 22.814$, all $P < 0.01$). ROC curve showed that the area under the curve (0.936, 95% CI: 0.877 ~ 0.994) of the combined of miR-206 and miR-451 predicting the death of elderly sepsis patients was the largest, and its sensitivity and specificity were 97.2% and 86.0%. **Conclusion** The increased expression levels of serum miR-206 and miR-451 were associated with the severity and prognosis of elderly sepsis patients, and the combination of the two items on the third day can predict the death of elderly sepsis patients.

Keywords: sepsis; elderly; miR-206; miR-451

脓毒症是由感染、创伤、手术等引起的全身炎症反应综合征,在老年人中有着极高的发病率和死亡率,是目前世界范围内威胁人类健康的主要疾病之一^[1]。微小核糖核酸(microRNA, miRNA)作为一类长度为18~24bp的非编码RNA分子,参与组织炎症损伤等病理过程,在脓毒症的发生发展及预后判断中发挥着重要的作用^[2-3]。近年来有研究指出,miR-206及miR-451通过多种方式调节免疫应答,对脓毒症的发生发展有重要影响,有望为脓毒症的治疗提供新方向^[4-5]。然而,目前还没有老年脓毒症决定性的诊断或预后生物标志物。为此,本研究通过检测老年脓毒症患者第1、3和7天血清miR-206及miR-451表达水平变化,分析其对老年脓毒症患者严重程度及预后判断的价值,为了解miR-206及miR-451是否可能是老年脓毒症的有用生物标志物。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2018年1月~2020年12月儋州市人民医院收治的158例老年脓毒症患者,其中男性93例,女性65例,年龄60~82(70.83±9.52)岁。根据国际严重脓毒症及脓毒性休克诊疗指南^[6],将158例脓毒症患者分为脓毒症非休克组($n=94$)和脓毒症休克组($n=64$)。以158例脓毒症患者住院当天为研究起始点,根据患者28天的生存情况,将其分为存活组($n=115$)和死亡组($n=43$)。死亡时间为15.30±10.20天,死亡原因为休克、多器官功能衰竭、肾衰竭、心力衰竭及呼吸衰竭。纳入标准:①符合国际严重脓毒症及脓毒性休克诊疗指南;②住院时间≥7天。排除标准:①并发血液系统疾病、

自身免疫性疾病及恶性肿瘤者;②不能配合研究者。脓毒症非休克组和脓毒症休克组的性别、年龄及基础疾病等一般资料比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 7300型荧光定量PCR仪(美国ABI公司),PCR试剂盒、RNeasy试剂盒、miRNA Easy试剂盒和Trizol试剂盒均购自北京奥科生物有限公司。

1.3 方法 所有患者于住院第1、3和7天采集静脉血3ml离心分离血清,使用ABI 7300型荧光定量PCR仪进行实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)。以U6为实验内参,PCR总反应体系为20μl:1μl引物及探针Mix(20×),10μl TaqMan通用混合物溶液(2×),1.33μl反转录产物cDNA,7.67μl双蒸水;反应条件:95℃变性15s,60℃退火60s,72℃延伸60s,进行45个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算结果。

1.4 统计学分析 采用SPSS22.0统计软件分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。应用受试者工作特征(ROC)曲线分析miR-206及miR-451预测老年脓毒症患者死亡的价值。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 脓毒症休克组和脓毒症非休克组血清miR-206及miR-451表达水平比较 见表1。脓毒症休克组第1、3、7天血清miR-206及miR-451表达水平均明显高于脓毒症非休克组,差异有统计学意义(均 $P<0.01$)。

表1 脓毒症休克组和非休克组血清miR-206及miR-451表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

项目	脓毒症非休克组($n=94$)	脓毒症休克组($n=64$)	t	P
miR-206 第1天	2.62±1.05	4.28±1.60	13.512	<0.01
第3天	3.15±1.40	5.63±2.19	16.715	<0.01
第7天	2.96±1.27	6.05±2.58	19.630	<0.01
miR-451 第1天	1.93±0.86	3.08±1.42	10.417	<0.01
第3天	2.46±1.02	4.27±1.53	14.615	<0.01
第7天	2.30±0.95	4.93±1.80	16.804	<0.01

2.2 脓毒症死亡组和脓毒症存活组血清miR-206及miR-451表达水平比较 见表2。死亡组第1、3、7

天血清miR-206及miR-451表达水平均明显高于存活组,差异有统计学意义(均 $P<0.01$)。

表2 脓毒症死亡组和存活组血清miR-206及miR-451表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

项目	存活组($n=115$)	死亡组($n=43$)	t	P
miR-206 第1天	2.50±0.97	4.45±1.66	14.730	<0.01
第3天	2.90±1.35	6.12±2.64	20.153	<0.01
第7天	2.83±1.31	6.37±2.71	22.814	<0.01
miR-451 第1天	1.80±0.81	3.35±1.48	12.506	<0.01
第3天	2.17±0.92	4.70±1.72	16.375	<0.01
第7天	2.05±0.86	5.37±1.80	20.748	<0.01

2.3 miR-206及miR-451预测老年脓毒症患者死亡的价值 见表3和图1,图2,图3。在单项指标中,第3天miR-206最佳截值取4.52时,其预测老年脓毒症患者死亡的敏感度和特异度较好,分别为82.7%和88.0%。第3天miR-206及miR-451两项

表3 miR-206及miR-451预测老年脓毒症患者死亡的价值(%)

项目	最佳截值	AUC (95%CI)	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
miR-206 第1天	3.37	0.752 (0.696 ~ 0.814)	71.6	74.2	77.3	69.0
第3天	4.52	0.853 (0.794 ~ 0.915)	82.7	88.0	91.2	80.3
第7天	5.10	0.804 (0.747 ~ 0.862)	81.5	76.0	79.3	78.6
miR-451 第1天	2.46	0.714 (0.660 ~ 0.778)	69.0	70.3	68.2	71.5
第3天	3.50	0.828 (0.770 ~ 0.884)	78.4	83.6	85.7	76.4
第7天	4.08	0.786 (0.730 ~ 0.834)	72.7	79.5	82.4	70.2
两项联合 第1天	-	0.807 (0.750 ~ 0.865)	82.0	76.2	78.0	80.6
第3天	-	0.936 (0.877 ~ 0.994)	97.2	86.0	89.5	94.0
第7天	-	0.846 (0.788 ~ 0.907)	86.0	80.5	84.2	83.4

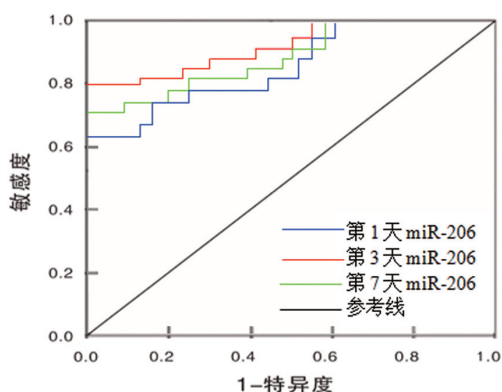


图1 血清miR-206表达水平预测老年脓毒症患者死亡的ROC曲线

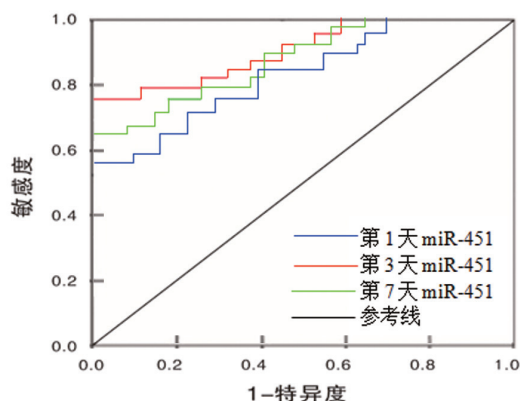


图2 血清miR-451表达水平预测老年脓毒症患者死亡的ROC曲线

3 讨论

脓毒症是一种免疫反应失调的危重症,影响全球人类生命健康。miRNA是一类基因表达的重要

联合预测老年脓毒症患者死亡的曲线下面积(0.936, 95%CI: 0.877 ~ 0.994)明显高于单项miR-206 (0.853, 95%CI: 0.794 ~ 0.915)及miR-451 (0.828, 95%CI: 0.770 ~ 0.884),差异均有统计学意义($P < 0.05$),其敏感度和特异度为97.2%和86.0%。

调控因子,参与调控细胞增生、凋亡、免疫炎症反应等多种机体生物学过程,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^[7-8]。LI等^[9]研究证实,miRNA表达水平的变化与脓毒症病程发展密切相关,监测分析miRNA水平有助于辅助诊断脓毒症,判断疾病预后,有望作为脓毒症治疗的潜在靶点。ROGOBETE等^[10]研究认为,miRNA是一类内源性非编码RNA,通过调控炎症信号通路中关键分子的表达,参与调控脓毒症的炎症反应及免疫抑制,在脓毒症诊断和预后评估中具有较大的潜力。

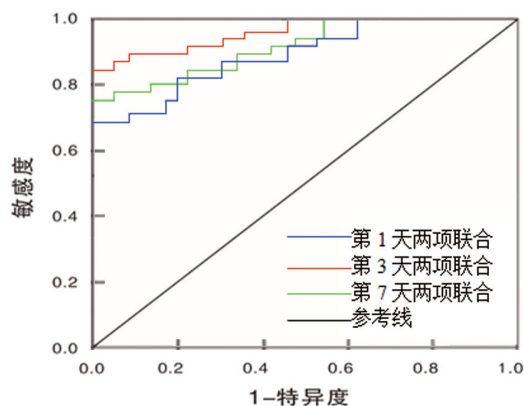


图3 miR-206及miR-451两项联合预测老年脓毒症患者死亡的ROC曲线

本研究脓毒症休克组第1,3,7天血清miR-206及miR-451表达水平均明显高于脓毒症非休克组;死亡组第1,3,7天血清miR-206及miR-451表达水平均明显高于存活组。说明血清miR-206及miR-451表达水平在脓毒症休克患者早期即可明显

升高,其水平变化可在一定程度上反映脓毒症患者的病情严重程度,死亡患者引起的炎症反应无法得到有效地控制,血清 miR-206 及 miR-451 表达水平显著升高。提示 miR-206 及 miR-451 高表达的患者,病情较为严重,临床上应及时采取有效的治疗措施。GUI 等^[11] 研究显示,随着脓症患者病情加重,miRNA 表达水平逐渐升高,提示 miRNA 表达与脓症患者病情严重程度相关,是反映脓症患者病情严重程度的新型指标。SZILÁGYI 等^[12] 研究表明,miRNA 的异常表达与脓症的临床特征和预后相关,可以作为脓症潜在的诊断和预后的生物标志物,为脓症基因水平治疗提供新的思路。

本研究 ROC 曲线显示,不同时间点血清 miR-206 及 miR-451 表达水平预测老年脓症患者死亡的曲线下面积不同,第 3 天 miR-206 及 miR-451 两项联合预测老年脓症患者死亡的曲线下面积最大,对预测老年脓症患者死亡的价值较高。LIANG 等^[13] 研究指出,与健康人相比,脓症患者 miR-206 显著上调,血清 miR-206 的表达与脓症的严重程度及预后呈正相关,可能是评估脓症严重程度和预后的潜在生物标志物。WANG 等^[14] 研究发现,血清 miR-451a 升高与脓症严重程度和炎症反应相关,可作为脓症的诊断生物标志物和判断疾病严重程度的潜在指标。另有研究认为,miRNA 表达水平升高与脓症患者病情严重和预后不良相关,可以作为评估脓症患者病情严重程度和预后的一个有用的生物学指标^[15]。

综上所述,血清 miR-206 及 miR-451 表达水平在老年脓症患者中明显升高,其高表达与老年脓症的病情严重程度及预后相关,动态监测第 3 天血清 miR-206 及 miR-451 表达水平对预测老年脓症患者死亡具有较好的价值。

参考文献:

- [1] BRACHT H, HAFNER S, WEIß M. Sepsis update: definition and epidemiology[J]. *Anesthesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie*, 2019, 54(1): 10-20.
- [2] WANG Qianqian, FENG Qiang, ZHANG Yanmin, et al. Decreased microRNA 103 and microRNA 107 predict increased risks of acute respiratory distress syndrome and 28-day mortality in sepsis patients[J]. *Medicine*, 2020, 99(25): e20729.
- [3] CONDRAT C E, THOMPSON D C, BARBU M G, et al. MiRNAs as biomarkers in disease: latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis[J]. *Cells (Basel, Switzerland)*, 2020, 9(2): 276.
- [4] ZHOU Jiawei, FU Yumei, LIU Kai, et al. MiR-206 regulates alveolar type II epithelial cell Cx43 expression in sepsis-induced acute lung injury[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2019, 18(1): 296-304.
- [5] AHMAD S, AHMED M M, HASAN P, et al. Identification and validation of potential miRNAs, as biomarkers for sepsis and associated lung injury: a Network-Based approach[J]. *Genes(Basel)*, 2020, 11(11): 1327.
- [6] 高戈,冯喆,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 Zhe, 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] KIM M H, CHOI J H. An update on sepsis biomarkers[J]. *Infection & chemotherapy*, 2020, 52(1): 1-18.
- [8] 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.
- [9] LI Yin, ZHANG Fengxia, CONG Yan, et al. Identification of potential genes and miRNAs associated with sepsis based on microarray analysis[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(5): 6227-6234.
- [10] ROGOBETE A F, SANDESC D, BEDREAG O H, et al. MicroRNA expression is associated with sepsis disorders in critically ill polytrauma patients[J]. *Cells (Basel, Switzerland)*, 2018, 7(12): 271.
- [11] GUI Feng, PENG Huan, LIU Yijue. Elevated circulating lnc-ANRIL/miR-125a axis level predicts higher risk, more severe disease condition, and worse prognosis of sepsis[J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2019, 33(6): e22917.
- [12] SZILÁGYI B, FEJES Z, PÓCSI M, et al. Role of sepsis modulated circulating microRNAs[J]. *EJIFCC*, 2019, 30(2): 128-145.
- [13] LIANG Guiwen, WU Yao, GUAN Yuwen, et al. The correlations between the serum expression of miR-206 and the severity and prognosis of sepsis[J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2020, 9(5): 3222-3234.
- [14] WANG Heng, CUI Wenjuan, QIAO Lujun, et al. Overexpression of miR-451a in sepsis and septic shock patients is involved in the regulation of sepsis-associated cardiac dysfunction and inflammation[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2020, 43(4): e20200009.
- [15] 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.

收稿时间: 2021-03-22

修回时间: 2021-09-25