



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.05.011

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.05.011>

· 论著 ·

# 脓毒症患者血清微小 RNA-375 和微小 RNA-181b 的变化及其与预后的关系

杨志勇 刘维娜

**【摘要】 目的** 探讨脓毒症患者血清微小 RNA(miR)-375 和 miR-181b 的变化及其与预后的关系。**方法** 纳入 2020 年 1 月~2021 年 6 月在我科治疗的脓毒症患者 118 例作为试验组,另选择同期在我院体检的健康志愿者 87 例作为对照组。根据脓毒症诊断标准将试验组患者分为一般脓毒症组(32 例)、严重脓毒症组(47 例)和脓毒症休克组(29 例)。根据血清 miR-375 和 miR-181b 的中位数(0.67,0.69)将试验组患者再分别分为 miR-375 高表达组(67 例)和 miR-375 低表达组(51 例)、miR-181b 高表达组(69 例)和 miR-181b 低表达组(49 例)。收集所有受试者的一般资料、血清 miR-375 和 miR-181b 的表达水平并分组进行比较。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估 miR-181b 和 miR-375 对脓毒症患者预后的预测价值。采用 Kaplan-meier 生存曲线分析 miR-181b 和 miR-375 对脓毒症患者生存率的影响。**结果** 试验组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平均低于对照组( $P < 0.001$ )。严重脓毒症组患者血清 miR-181b 表达水平低于一般脓毒症组,脓毒症休克组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平均低于一般脓毒症组和严重脓毒症组( $P < 0.05$ )。血清 miR-375、miR-181b 及二者联合预测脓毒症患者预后的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.819、0.849、0.867。miR-375、miR-181b 高表达组的累积生存率均显著高于对应的低表达组( $P < 0.001$ )。**结论** 血清 miR-375、miR-181b 在脓毒症患者血清中低表达,且可以作为脓毒症患者预后的预测指标。

**【关键词】** 脓毒症; 微小 RNA-375; 微小 RNA-181b; 预后

**【中图分类号】** R459.7 **【文献标识码】** A

脓毒症是由于宿主对感染的反应失调而引发的全身炎症反应综合征(SIRS),进一步会导致肾脓肿、肝脓肿或多器官功能衰竭,严重者会造成脓毒症休克甚至死亡<sup>[1-2]</sup>。目前临床多采用降钙素原(PCT)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)或 WBC 计数等指标来评估脓毒症进展和预后,但这些指标不能兼顾脓毒症预后评估的敏感度及特异度,且对真菌、病毒等微生物引发脓毒症的诊断准确率较低<sup>[3-5]</sup>。因此,积极寻找脓毒症预后相关的分子标志物有利于临床医生制订合适的治疗方案和评价体系,可有效防止脓毒症患者的病情恶化。微小 RNA(miRNA, miR)是一类内源性的保守非编码 RNA,在转录后其水平通过与靶基因 3' 非翻译区(3' UTR)结合抑制其表达,调控细胞增殖、细胞凋亡、炎症反应等各项生命活动<sup>[6-8]</sup>。miRNA 在脓毒症患者中的表达情况及其在脓毒症发生中的作用也有报道<sup>[9-10]</sup>。既往研究发现 miR-181b 和 miR-375 可参与炎症反应

和炎症因子表达的调控<sup>[11-12]</sup>,但其在脓毒症患者中的表达情况及对脓毒症的诊断和预后预测价值目前报道较少。本研究主要探讨脓毒症患者血清 miR-375 和 miR-181b 的变化及其与患者预后的关系。

## 对象与方法

1. 对象:2020 年 1 月~2021 年 6 月在我科治疗的脓毒症患者 118 例作为试验组,其中肺部感染 51 例,腹腔感染 37 例,颅内感染 23 例,泌尿系统感染 7 例。另选择同期在我院体检的健康志愿者 87 例作为对照组。试验组纳入标准:(1)符合《中国脓毒症/脓毒症休克急诊治疗指南(2018)》<sup>[13]</sup>中脓毒症诊断标准;(2)年龄 $\geq 18$ 岁。排除标准:(1)严重脓毒症伴器官功能不全;(2)年龄 $< 18$ 岁;(3)恶性肿瘤、急性冠状动脉综合征或脑梗死;(4)免疫功能缺陷或半年内使用免疫抑制剂;(5)妊娠或哺乳期;(6)合并其他恶性血液病或血液传染病。其中试验组男 65 例、女 53 例,年龄 19~76 岁,平均年龄( $58.38 \pm 13.29$ )岁;对照组

男 45 例、女 42 例,年龄 18 ~ 74 岁,平均年龄(56.92 ± 10.78)岁。两组受试者性别、年龄比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。根据脓毒症诊断标准将试验组患者分为一般脓毒症组(32 例)、严重脓毒症组(47 例)和脓毒症休克组(29 例)。一般脓毒症:患者出现因感染导致的全身炎症反应综合征,伴高热、寒战、咳痰等症状,进而引起水电解质紊乱、酸碱度失衡等;严重脓毒症:脓毒症伴器官功能障碍,出现脓毒症导致的低血压、乳酸水平升高、凝血障碍等症状;脓毒症休克:伴有因脓毒症导致的低血压,且经液体治疗后无法逆转。本研究通过我院伦理委员会审核批准,所有受试者或家属均签署知情同意书。

2. 方法:收集所有受试者年龄、性别等一般资料。采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 miR-375 和 miR-181b 的表达水平:采集受试者清晨空腹静脉血 5 ml,以 3 000 r/min 离心 10 min,提取血清,于 -80 ℃ 冰箱保存或立即采用 TRIzol 试剂提取总 RNA,当 RNA 纯度处于 1.8 ~ 2.1 时反转录为 cDNA;取 1 μg 总 RNA 反转录为 cDNA。采用 RT-PCR 检测 miR-375 和 miR-181b 表达,严格按照 SYBR Green PCR 试剂盒说明操作。以 U6 为标准采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 miR-375 和 miR-181b 的表达水平。

3. 统计学处理:采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 SNK- $q$  检验或 LSD- $t$  检验;计数资料以例数和率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估 miR-181b 和 miR-375 对脓毒症患者预后的预测价值。采用 Kaplan-meier 生存曲线分析 miR-181b 和 miR-375 对脓毒症患者生存率的影响。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 试验组和对照组受试者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平比较:试验组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平均低于对照组( $0.71 \pm 0.18$  比  $1.25 \pm 0.29$ ,  $0.63 \pm 0.16$  比  $1.13 \pm 0.21$ ,  $t = 10.062$ 、 $9.129$ ,  $P$  均  $< 0.001$ )。

2. 不同严重程度脓毒症组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平比较:3 组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平比较差异均有统计学意义( $P < 0.001$ )。严重脓毒症组患者血清 miR-181b 表达水平低于一般脓毒症组,脓毒症休克组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平均低于一般脓毒症组和严重脓毒症组( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 不同严重程度脓毒症组患者血清 miR-375 和 miR-181b 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	miR-375	miR-181b
一般脓毒症组	32	$0.82 \pm 0.11$	$0.81 \pm 0.12$
严重脓毒症组	47	$0.73 \pm 0.08$	$0.65 \pm 0.10^a$
脓毒症休克组	29	$0.55 \pm 0.09^{ab}$	$0.49 \pm 0.08^{ab}$
$F$ 值		34.293	22.376
$P$ 值		$< 0.001$	$< 0.001$

注:与一般脓毒症组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,与严重脓毒症组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

3. 血清 miR-375 和 miR-181b 对脓毒症患者预后的预测价值:ROC 曲线分析结果显示,miR-375 预测脓毒症预后 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.819,最佳截断值为 0.653,对应敏感度、特异度分别为 75.0%、81.6%;miR-181b 预测脓毒症预后 AUC 为 0.849,最佳截断值为 0.681,对应敏感度、特异度分别为 91.3%、76.3%;二者联合预测脓毒症预后 AUC 为 0.867,对应敏感度、特异度分别为 82.5%、84.2%( $P < 0.001$ )。见图 1。

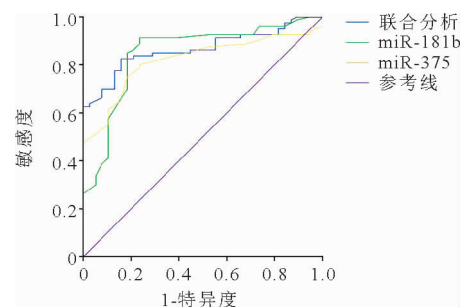


图 1 血清 miR-375 和 miR-181b 评估脓毒症患者预后的 ROC 曲线

4. 血清 miR-375 和 miR-181b 与脓毒症患者 28 d 生存率的关系:根据血清 miR-375 和 miR-181b 的中位数(0.67、0.69)将试验组患者分别分为 miR-375 高表达组(67 例)和 miR-375 低表达组(51 例)、miR-181b 高表达组(69 例)和 miR-181b 低表达组(49 例)。miR-375 高表达组累积生存率显著高于 miR-375 低表达组(83.59% 比 47.06%;  $\chi^2 = 17.693$ ,  $P < 0.001$ );miR-181b 高表达组累积生存率显著高于 miR-181b 低表达组(82.61% 比 46.94%;  $\chi^2 = 16.698$ ,  $P < 0.001$ )。

## 讨 论

miRNA 与靶基因 mRNA 的 3' UTR 不完全结合,在转录后水平抑制靶基因表达,参与调控细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡和炎症反应等,与肿瘤、心力衰竭、心肌肥大、糖尿病及各种炎症反应性疾病密切相关<sup>[14-16]</sup>。Li 等<sup>[16]</sup>研究发现脓毒症患者的 miR-218 表达水平明显低于健康对照组,并随着症状的恶化而逐渐降低;因脓毒症死亡患者的 miR-218 表达水平最低;从晚期脓毒症患者的 Treg 细胞中发现 miR-218 表达水平显著

下降。Li 等<sup>[17]</sup>研究发现 miR-186 可通过 PTEN/PI3K/AKT/P53 信号通路改善脓毒症引起的肾损伤。周巧等<sup>[18]</sup>研究结果发现 miR-21 在脓毒症患者血清中表达水平显著上调,且与急性生理学和慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分呈显著正相关,该结果表明 miR-21 与脓毒症严重程度有一定相关性。miRNA 对于脓毒症的调控作用可通过直接靶向细胞炎性因子如 IL-6、肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$ 、IL-12 等,或通过介导信号通路调控炎症反应而影响脓毒症进展等。

MiR-181b 作为 miR-181 家族成员,参与机体各项生命活动,如其可通过靶向  $\alpha_1$ -岩藻糖转移酶 (FUT1) 基因影响结直肠癌的增殖、迁移、侵袭和血管生成<sup>[19]</sup>;其既可作为各种肿瘤的早期诊断指标<sup>[20]</sup>,也可作为不同疾病预后的分子标志物<sup>[21]</sup>。目前有多项研究证实 miR-181b 参与炎症反应进程:Lu 等<sup>[22]</sup>发现 miR-181b-5p mimic 可抑制脂多糖 (LPS) 刺激的 BV2 小胶质细胞中促炎介质的 mRNA 和蛋白表达,包括 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和单核细胞趋化蛋白 (MCP)-1。miR-181b-5p 通过抑制小鼠海马神经炎症来减弱早期术后认知功能障碍 (POCD)。徐媛等<sup>[23]</sup>发现 miR-181b 在脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织中的表达水平下调,且与炎性因子表达呈负相关。综上,miR-181b 在炎症组织中低表达,其表达下降可促进炎症反应。本研究结果发现与对照组相比,试验组患者血清 miR-181b 表达水平下降,且其表达水平与脓毒症的严重程度有一定的相关性。

同样,miR-375 也参与调节机体包括炎症反应的各项生命活动。Sheng 等<sup>[24]</sup>发现脓毒症患者 miR-375 表达水平下降,但 miR-21 表达水平升高,且二者呈负相关。miR-375 异位表达可减少小鼠中败血症粒细胞标记的 CD11b<sup>+</sup> 髓源性抑制细胞 (Gr1<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> MDSC) 数量;分子生物学研究显示,miR-375 可阻断 JAK2-STAT3 通路,从而调节参与调控晚期脓毒症的 miR-21 水平。本研究发现脓毒症患者血清 miR-375 表达水平下降,且与脓毒症的严重程度有关,与 Sheng 等<sup>[24]</sup>的研究结果相符。我们进一步探究血清 miR-181b 和 miR-375 对脓毒症患者预后的预测价值,结果发现血清 miR-375、miR-181b 及二者联合预测脓毒症预后的 AUC 分别为 0.819、0.849、0.867。生存曲线分析结果显示 miR-375、miR-181b 高表达组的累积生存率显著高于对应的低表达组。综上,miR-375、miR-181b 在脓毒症患者血清中低表达,且可作为脓毒症患者预后的预测指标。

and challenges[J]. Braz J Med Biol Res, 2019, 52(4): e8595.

- [2] 朱鹏,余跃天,潘纯. 脓毒症相关的免疫抑制:生物标志物的监测与挑战[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(9): 591-593.
- [3] 左姝,于凯江,王洪亮,等. 动态监测血清 CRP 和 PCT 水平对脓毒症患者预后判断的临床价值[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(24): 4664-4667.
- [4] 胡元慧,李欢,汤冬玲,等. 成纤维细胞生长因子 21 和降钙素原及高密度脂蛋白胆固醇联合检测对脓毒症的诊断价值[J]. 中国医药, 2022, 17(2): 258-261.
- [5] Fan Z. Efficacy of cefotaxime combined with gamma globulins on C-reactive protein and procalcitonin in neonatal sepsis[J]. Cell mol biol, 2020, 66(2): 172-176.
- [6] Qu Q, Wang L, Bing W, et al. miRNA-126-3p carried by human umbilical cord mesenchymal stem cell enhances endothelial function through exosome-mediated mechanisms in vitro and attenuates vein graft neointimal formation in vivo[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 11(1): 4640.
- [7] Zhao Y, Liu X, Zhong L, et al. The combined use of miRNAs and mRNAs as biomarkers for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. Int J Mol Med, 2015, 36(4): 1097.
- [8] Lenart M, Dziao E, Kluczevska A, et al. miRNA Regulation of NK Cells Antiviral Response in Children With Severe and/or Recurrent Herpes Simplex Virus Infections[J]. Front Immunol, 2021, 11: 589866.
- [9] Na L, Ding H, Xing E, et al. The predictive value of microRNA for sepsis risk and its correlation with disease severity, systemic inflammation, and 28-day mortality in sepsis patients[J]. J Clin Lab Anal, 2019, 34(3): e23103.
- [10] Zhu Y, Sun A, Meng T, et al. Protective role of long noncoding RNA CRNDE in myocardial tissues from injury caused by sepsis through the microRNA-29a/SIRT1 axis[J]. Life Sci, 2020, 255: 117849.
- [11] 胡际东,温丽,郭珍,等. 血清 miR-181b 及 miR-210 在妊娠期高血压疾病中表达及与炎性细胞因子的相关性[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(3): 241-244.
- [12] 杨洋,李天发,孟庆雯,等. ST 段抬高型心肌梗死患者血清 miR-375 与炎症反应及心肌损伤程度和短期预后的相关性分析[J]. 心肺血管病杂志, 2021, 40(7): 669-674.
- [13] 中国医师协会急诊医师分会,中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J]. 中国急救医学, 2018, 38(9): 741-756.
- [14] Zare M, Bastami M, Solali S, et al. Aberrant miRNA promoter methylation and EMT-involving miRNAs in breast cancer metastasis: Diagnosis and therapeutic implications[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(5): 3729-3744.
- [15] Misiewicz-Krzeminska I, Krzeminski P, Corchete LA, et al. Factors Regulating microRNA Expression and Function in Multiple Myeloma[J]. Noncoding RNA, 2019, 5(1): 9.
- [16] Li JM, Zhang H, Zuo YJ. MicroRNA-218 alleviates sepsis inflammation by negatively regulating VOPPI via JAK/STAT pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(17): 5620-5626.
- [17] Li M, Li W, Ren FQ, et al. miRNA-186 improves sepsis induced renal injury via PTEN/PI3K/AKT/P53 pathway[J]. Open Med, 2020, 15(1): 254-260.
- [18] 周巧,马渝,肖玲,等. 脓毒症患者血清 miRNA-21 和 PCT 动态表达及其临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2018, 43(7): 907-912.
- [19] 周杰,郑远明,沈宗坤,等. MiR-181a 和 miR-181b 靶向调控 FUT1 对结直肠癌进展的影响[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(11): 841-846.
- [20] 段莎,刘倩. miR-181b 在胃癌患者血清中的水平变化及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(19): 2834-2837, 2840.
- [21] 沈伟兴,汤佳瑾,傅鹏. 原发性 IgA 肾病患者血清 miR-181b 水平表达与病情严重程度及预后的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(6): 51-54, 63.
- [22] Lu Y, Xu X, Dong R, et al. MicroRNA-181b-5p attenuates early postoperative cognitive dysfunction by suppressing hippocampal neuroinflammation in mice[J]. Cytokine, 2019, 120: 41-53.
- [23] 徐媛,许涛. 微小 RNA-181b 在脓毒症急性肺损伤大鼠的表达及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(10): 1811-1813.
- [24] Sheng B, Zhao L, Zang X, et al. miR-375 ameliorates sepsis by down-regulating miR-21 level via inhibiting JAK2-STAT3 signaling[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 86: 254-261.

## 参 考 文 献

[1] Salomão R, Ferreira BL, Salomão MC, et al. Sepsis: evolving concepts

(收稿日期:2022-03-15)

(本文编辑:余晓曼)