

# 外周血 miR-10a 和 miR-29a 水平对早期脓毒症急诊患者预后预测作用\*

胡氏亮<sup>1</sup> 贺婉晶<sup>2</sup> 江锐<sup>2</sup> 王艳云<sup>2</sup> 王晓雪<sup>2</sup> 蒋鹏<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>西安大兴医院普外科,陕西西安 710016

<sup>2</sup>空军军医大学第一附属医院西京医院麻醉 ICU,陕西西安 710032

**摘要** 目的:探讨外周血 miR-10a、miR-29a 水平对早期脓毒症急诊患者预后的预测作用。方法:收集早期脓毒症急诊患者 94 例为观察组,选取同期 82 例健康体检者为对照组。其中观察组根据病情严重程度分为轻、中、重度 3 组。比较 2 组外周血 miR-10a 和 miR-29a 的表达水平,以及观察组不同预后患者治疗前 miR-10a 和 miR-29a 的表达水平。分析外周血 miR-10a、miR-29a 表达水平及 miR-10a 联合 miR-29a 检测对早期脓毒症急诊患者预后的预测价值。结果:观察组外周血 miR-10a 和 miR-29a 表达水平高于对照组( $P$  均  $< 0.05$ );观察组病情严重程度不同患者外周血 miR-10a 和 miR-29a 表达水平中,与轻度组比较,中度组和重度组患者表达水平升高,而重度组患者又显著高于中度组( $P$  均  $< 0.05$ );治疗 1 个月后,预后不良者 18 例,预后良好者治疗前外周血 miR-10a 和 miR-29a 的表达水平低于预后不良者( $P$  均  $< 0.05$ );miR-10a、miR-29a 表达水平的最佳截断点分别为 2.74 和 1.39,miR-10a、miR-29a 两者联合检测的灵敏度、特异度和曲线下面积(AUC)均高于单独检测,分别为 83.33%、85.53% 和 0.895。结论:早期脓毒症急诊患者外周血 miR-10a、miR-29a 表达水平均升高,可反应患者病情严重程度,两者联合检测预测早期脓毒症急诊患者的预后效能较高。

**关键词** miR-10a; miR-29a; 脓毒症; 预后

中图分类号 R631

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzz20220309

## Predictive role of peripheral miR-10a and miR-29a levels in the prognosis of emergency patients with early sepsis

HU Shi-liang<sup>1</sup>, HE Wan-jing<sup>2</sup>, JIANG Rui<sup>2</sup>, WANG Yan-yun<sup>2</sup>, WANG Xiao-xue<sup>2</sup>, JIANG Peng<sup>2\*</sup>. <sup>1</sup>Department of General Surgery, Xi'an Daxing Hospital, Shanxi Xi'an 710016; <sup>2</sup>Anesthesia ICU of Xijing Hospital, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Shanxi Xi'an 710032, China

Corresponding author: JIANG Peng, E-mail: rbbhr741@163.com

**Abstract** Objective: To investigate the predictive effect of peripheral blood miR-10a and miR-29a levels on the prognosis of early sepsis emergency patients. Methods: A total of 94 emergency patients with early sepsis were collected as the observation group, and 82 healthy people in the same period served as the control group. The observation group was divided into mild, moderate and severe subgroups according to the severity of the disease. The expression levels of miR-10a and miR-29a in the peripheral blood of the two groups, as well as the expression levels of miR-10a and miR-29a before treatment in patients with different prognosis in the observation subgroups were compared. The expression levels of miR-10a and miR-29a in peripheral blood and the prognostic value of miR-10a combined with miR-29a in early sepsis emergency patients were compared. Results: The expression levels of miR-10a and miR-29a in the peripheral blood of the observation group were higher than those in the control group (all  $P < 0.05$ ). The expression levels of miR-10a and miR-29a in peripheral blood of patients with different severity in the observation group were higher in moderate subgroup and severe subgroup than those in mild subgroup, and those in severe subgroup were significantly higher than those in moderate subgroup (all  $P < 0.05$ ). After 1 month of treatment, a total of 18 patients had a poor prognosis, and the expression levels of miR-10a and miR-29a in peripheral blood of patients with good prognosis were lower than those of patients with poor prognosis before treatment (all  $P < 0.05$ ). The optimal cutoff points of miR-10a and miR-29a expression levels were 2.74 and 1.39, respectively. The sensitivity, specificity and the area under the curve (AUC) of the combined detection of miR-10a and miR-29a were higher than those of the single detection, which were 83.33%, 85.53% and 0.895, respectively. Conclusion: The expression levels of miR-10a and miR-29a in peripheral blood of emergency patients with early sepsis are increased and can reflect the severity and prognosis of patients. The combined detection of miR-10a and miR-29a can predict the prognosis of emergency patients with early sepsis.

**Key words** miR-10a; miR-29a; Sepsis; Prognosis

\*基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(No:S2020-JC-QN-1129)

\*通信作者:蒋鹏, E-mail: rbbhr741@163.com, 陕西省西安市长乐西路 127 号

早期脓毒症是急诊室常见的疾病,由于全身炎症反应综合征可能会诱发多器官功能障碍<sup>[1,2]</sup>。有研究报道,外周血 miR-10a 和 miR-29a 表达水平可反映机体炎症反应情况<sup>[3]</sup>,在脓毒症感染的早期阶段,病原体入侵机体细胞后,miR-29a 能够对  $\gamma$ -干扰素的表达产生靶向调控作用,影响机体免疫应答反应<sup>[4]</sup>。研究表明,脓毒症感染患者外周血 miR-10a 表达能够调节辅助性 T 细胞比例,提高炎症因子水平,影响机体免疫网络<sup>[5]</sup>。本研究重点探讨外周血 miR-10a 和 miR-29a 表达水平在早期脓毒症中的变化及其对预后的预测价值。

## 资料与方法

**一般资料** 回顾性分析 2018 年 2 月-2019 年 2 月西安大兴医院收治 94 例早期脓毒症急诊患者的临床资料,作为观察组;同期 82 例健康体检者的资料,作为对照组。其中观察组男 49 例,女 45 例,年龄 18~72 岁,平均(51.2±4.3)岁;原发感染部位:呼吸系统 50 例、泌尿系统 18 例、消化系统 12 例、血液系统 7 例、腹腔 4 例、其它 3 例;体温:35.3~39.6℃,平均(37.5±3.1)℃;心率 72~108 次/min,平均(96.5±7.9)次/min;呼吸频率 16~28 次/min,平均(22.0±2.3)次/min;白细胞计数  $2.3 \times 10^9/L \sim 15.4 \times 10^9/L$ ,平均(9.86±1.28)  $\times 10^9/L$ 。对照组中男 43 例,女 39 例,年龄 18~72 岁,平均(51.2±4.3)岁。2 组研究对象一般资料比较,差异无统计学意义( $P$ 均>0.05)。

**纳入与排除标准** 纳入标准:①符合早期脓毒症诊断标准<sup>[6]</sup>,器官功能障碍指感染引起的序贯器官衰竭检测(sequential organ failure assessment, SOFA)评分在基线水平上升高 $\geq 2$ 分。无基础器官功能障碍的患者其基线为 0 分,其中 SOFA 评分标准:氧合指数( $PaO_2/FiO_2$ ) (mmHg) > 400、 $\leq 400$ 、 $\leq 300$ 、 $\leq 200$  且需要呼吸支持、 $\leq 100$  且需要呼吸支持者分别记为 0、1、2、3、4 分,凝血:血小板( $\times 10^3/\mu L$ ) > 150、 $\leq 150$ 、 $\leq 100$ 、 $\leq 50$ 、 $\leq 20$  分别记为 0、1、2、3、4 分,肝脏:胆红素(mg/dL) < 1.2、 $\geq 1.2$  且 < 2.0、 $\geq 2.0$  且 < 6.0、 $\geq 6.0$  且  $\leq 12.0$ 、> 12.0 分别记为 0、1、2、3、4 分,平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)  $\geq 70$  mmHg、MAP < 70 mmHg、多巴胺 < 5 或任何剂量的多巴酚丁胺、多巴胺  $\geq 5$  且  $\leq 15$  或肾上腺素  $\leq 0.1$  或去甲肾上腺素  $\leq 0.1$ 、多巴胺 > 15 或肾上腺素 > 0.1 或去甲肾上腺素 > 0.1 分别记为 0、1、2、3、4 分,中枢神经系统:格拉斯哥昏迷评分(分) 15、13~14、10~12、6~9、< 6 分别记

为 0、1、2、3、4 分,肾脏:血肌酐(mg/dL) < 1.2、1.2~1.9、2.0~3.4、3.5~4.9、> 5.0 分别记为 0、1、2、3、4 分,尿量(mL/d) < 500、< 200 分别记为 3、4 分;②发病均在 24 h 以内;③近 1 个月内均未使用激素等抗炎药物。

**排除标准:**①合并血液系统疾病患者;②肝肾功能严重障碍患者;③恶性肿瘤患者;④免疫系统疾病患者。本研究经医院伦理委员会批准,患者或家属均知情并签署同意书。

**方法** 所有研究对象均采取空腹外周静脉血 6 mL(观察组患者于入院当天采血,对照组于体检当天采血),离心(3 500 转/min,离心 10 min),提取血清,置于 -70℃ 冰箱保存备测。采用实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术检测 2 组研究对象外周血 miR-10a、miR-29a 表达水平。用移液枪取血清加入细胞裂解液,用总 RNA 提取试剂盒(Invitrogen, 美国)提取 RNA,利用紫外分光光度计检测总 RNA 纯度,采用逆转录试剂盒(Fermentas, 美国)将总 RNA 转录为模板链 cDNA,其中 U6 为内参,上游引物为 5'-CTCCGTTCGCGAG-CACACGA-3',下游引物为:5'-GTGCCTAGATATT-GAGACTG-3'; miR-10a 上游引物为 5'-GGAGCTAC-CATTCCGGTCCA-3',下游引物为:5'-CCTACCGCT-CACGCATAACT-3'; miR-29a 上游引物为 5'-CCAG-GCTTCAGTATGTGCCA-3',下游引物为:5'-AGGCTG-CACCAGTTGCCGA-3'。U6、miR-10a、miR-29a 上游和下游引物长度均为 20 碱基。PCR 反应条件:95℃ 10 min, 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 74℃ 30 s, 连续进行 40 次循环,每个样品均设 3 个平行反应孔。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法获得 miR-10a 和 miR-29a 的相对表达量。

**观察组病情严重程度判断:**分别从易感性、感染状况宿主反应以及器官功能障碍 4 个方面对脓症患者进行综合评价并分级,轻度脓毒症是指感染后引起高热、寒颤,身体乏力等症状;中度脓毒症是指在脓毒症基础上出现灌注不足的表现,如神志变化、低氧血症、少尿、高乳酸血症等;重度脓毒症是指经成分液体复苏仍有低血压或需要血管活性药物,根据易感因素,打击/感染、宿主反应、器官功能障碍(Predisposition, Insult/Infection, Response, Organ dysfunction, PIRO)分级系统<sup>[7]</sup>,将观察组患者分为轻度组、中度组和重度组。

轻度组给予抗感染、液体复苏、酸碱水电解质平衡维持、呼吸系统改善及营养支持治疗;中度组给予抗炎、营养支持、维持血流动力学稳定、呼吸机辅助

呼吸、重症监护治疗;重度组入ICU病房监护,行胃肠减压、呼吸功能支持、抗感染、代谢支持、腹腔穿刺引流以及连续性血液净化治疗。

统计观察组患者治疗后1个月预后不良情况发生率,以急危重症病理生理学著作<sup>[8]</sup>为标准,将凝血功能障碍、感染性休克、多器官衰竭或死亡记为预后不良。

观察指标 ①比较2组外周血miR-10a和miR-29a的表达水平;②比较观察组不同病情严重程度患者miR-10a和miR-29a的表达水平;③比较观察组不同预后患者治疗前外周血miR-10a和miR-29a的表达水平;④外周血miR-10a、miR-29a表达水平及miR-10a联合miR-29a检测对早期脓毒症患者预后预测的价值。

统计学分析 采用SPSS 26.0统计学软件,计数资料以百分数(%)表示,采用 $\chi^2$ 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用t检验;以受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线预测外周血miR-10a和miR-29a的表达水平对早期脓毒症急诊患者预后的预测效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结果

2组外周血miR-10a和miR-29a的表达水平 观察组外周血miR-10a和miR-29a表达水平高于对照组( $P$ 均 $< 0.05$ ),见表1。

表1 2组外周血miR-10a和miR-29a的表达水平 $(\bar{x} \pm s)$

组别	例	miR-10a	miR-29a
观察组	94	1.71 ± 0.26	0.76 ± 0.12
对照组	82	1.08 ± 0.15	0.23 ± 0.03
t值	-	19.312	38.934
P值	-	0.000	0.000

观察组不同病情严重程度患者外周血miR-10a和miR-29a的表达水平 与轻度组比较,中度组和重度组患者miR-10a和miR-29a的表达水平升高,且重度组患者显著高于中度组( $P$ 均 $< 0.05$ ),见表2。

表2 观察组不同病情严重程度患者miR-10a和miR-29a的表达水平 $(\bar{x} \pm s)$

组别	例	miR-10a	miR-29a
轻度组	34	1.46 ± 0.23	0.62 ± 0.10
中度组	42	1.72 ± 0.26*	0.75 ± 0.11*
重度组	18	2.16 ± 0.35**	0.84 ± 0.13**
F值	-	39.808	26.031
P值	-	0.000	0.000

注:与轻度组比较,\* $P < 0.05$ ;与中度组比较,\*\* $P < 0.05$

观察组不同预后患者治疗前miR-10a和miR-29a的表达水平 治疗1个月后,凝血功能障碍7例,感染性休克5例,多器官衰竭4例,患者死亡2例,共预后不良18例,不良率为19.15%(18/94)。预后良好者治疗前miR-10a和miR-29a的表达水平低于预后不良者( $P$ 均 $< 0.05$ ),见表3。

表3 观察组不同预后患者治疗前miR-10a和miR-29a的表达水平 $(\bar{x} \pm s)$

预后	例	miR-10a	miR-29a
预后良好	76	1.69 ± 0.27	0.63 ± 0.11
预后不良	18	2.92 ± 0.46	1.52 ± 0.24
t值	-	14.949	23.709
P值	-	0.000	0.000

外周血miR-10a、miR-29a表达水平及miR-10a联合miR-29a对早期脓毒症患者预后的预测价值 ROC曲线预测外周血miR-10a、miR-29a表达水平对早期脓毒症患者预后不良预测的价值,结果显示,外周血miR-10a、miR-29a表达水平值的最佳截断点分别为2.74和1.39,灵敏度分别为66.67%和72.22%,特异度分别为82.89%和80.26%,miR-10a、miR-29a两者联合的灵敏度、特异度、AUC均高于单独检测,分别为83.33%、85.53%和0.895,见表4、图1。

## 讨论

脓毒症是宿主对感染的特异性反应导致的全身炎症反应综合征,其病理机制包括机体炎性反应失调、免疫功能障碍以及细胞内多条信号传导通路的

表4 不同方法对早期脓毒症患者预后的预测价值

指标	最佳截断点	灵敏度	特异度	AUC	P值	95% CI
miR-10a	2.74	66.67% (12/18)	82.89% (63/76)	0.832	0.008	0.671 ~ 0.732
miR-29a	1.39	72.22% (13/18)	80.26% (61/76)	0.846	0.010	0.701 ~ 0.853
联合检测	-	83.33% (15/18)	85.53% (65/76)	0.895	0.013	0.749 ~ 0.918

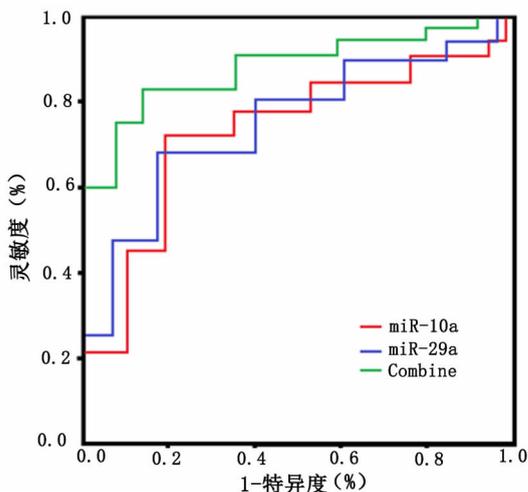


图1 不同方法对早期脓毒症患者预后预测的ROC曲线

活化和分子机制<sup>[9]</sup>。患者机体炎性因子表达失常,进而导致机体多个脏器损伤,使病情迅速恶化,直接威胁患者生命安全<sup>[10]</sup>。有研究证实,miRNA 是一类非编码小 RNA 分子,细胞生长、增殖、分化、凋亡以及机体免疫活动密切相关,且多种 miRNA(包括 miR-21、miR-146 等)均与脓毒症的发生发展密切相关<sup>[11]</sup>。

本研究表明,脓症患者外周血 miR-10a 和 miR-29a 表达水平均高于健康对照组。miR-10a 和 miR-29a 作为转录后调节因子,在细胞受到内源或外源刺激后,早期即参与髓样分化因子 88 通路和丝裂原活化蛋白激酶通路等脓毒症相关信号途径和免疫功能调控<sup>[12]</sup>。当患者机体受到炎症刺激时,宿主细胞中的 miR-10a 和 miR-29a 被激活,进而促进炎症因子的产生和释放,引起免疫应激发生<sup>[13]</sup>。本研究显示,与轻度组比较,中度组和重度组患者外周血 miR-10a 和 miR-29a 的表达水平升高,且重度组显著高于中度组,说明脓症患者外周血 miR-10a 和 miR-29a 表达水平与病情严重程度有关。有研究报道,伴随着脓毒症的发生和发展,机体中的单核细胞、中性粒细胞以及多种免疫细胞收到感染刺激,产生并分泌大量炎性介质,进一步加重患者病情甚至脓毒性休克<sup>[14]</sup>。而 miR-29a 对单核细胞凋亡具有促进作用,随着脓毒症病情的发展,免疫反应逐渐由促炎反应向抗炎反应发展,从而引起代偿性抗炎反应综合征,进而抑制免疫功能<sup>[15]</sup>。陈隆望等<sup>[16]</sup>研究发现,脓毒症小鼠 miR-10a 表达水平与免疫因子水平呈负相关,抑制 miR-10a 的表达,机体 T 细胞免疫功能增强。本研究结果表明,预后良好者治疗前外周血 miR-10a 和 miR-29a 的表达水平低于预后不良者,提示脓症患者外周血 miR-10a 和 miR-29a

表达水平与患者预后相关。研究证实<sup>[17]</sup>,早期脓毒症发生过程中,淋巴细胞减少会直接影响脓毒症患者的预后,而 miR-10a 和 miR-29a 均在淋巴细胞生长中起重要作用,影响患者免疫应答反应。因此,miR-10a 和 miR-29a 可能参加了早期脓毒症的发病过程,且与患者病情严重程度以及预后相关。

此外,本研究 ROC 曲线分析发现,外周血 miR-10a、miR-29a 表达水平分别以 2.74 和 1.39 作为阈值时,对早期脓毒症急诊患者预后预测效果较好,且两者联合检测的灵敏度和特异度明显提高,诊断价值更高。与 Kuttab 等<sup>[18]</sup>研究结果一致。

#### 参考文献

- Shi B, Shi F, Xu K, et al. The prognostic performance of Sepsis-3 and SIRS criteria for patients with urolithiasis-associated sepsis transferred to ICU following surgical interventions [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18 (5): 4165-4172.
- Grozdanovski K, Milenkovic Z, Demiri I, et al. Association of systemic inflammatory response syndrome with bacteremia in patients with sepsis [J]. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)*, 2019, 40 (2): 51-56.
- Fowler AA 3rd, Truitt JD, Hite RD, et al. Effect of vitamin C infusion on organ failure and biomarkers of inflammation and vascular injury in patients with sepsis and severe acute respiratory failure: The CITRIS-ALI randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2019, 322(13): 1261-1270.
- Sorsa A. Epidemiology of neonatal sepsis and associated factors implicated: Observational study at neonatal intensive care unit of arsi university teaching and referral hospital, South East Ethiopia [J]. *Ethiop J Health Sci*, 2019, 29(3): 333-342.
- Vasilescu C, Dragomir M, Tanase M, et al. Circulating miRNAs in sepsis-A network under attack: An in-silico prediction of the potential existence of miRNA sponges in sepsis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): 183-187.
- 张铁凝, 刘春峰. 2016 国际脓毒症和脓毒性休克管理指南解读 [J]. *中国小儿急救医学*, 2017, 24(3): 186-194.
- 曾其毅. 脓毒症的 PIRO 分级系统 [C]. 全国儿科学新进展, 急重症诊治新技术学术会议, 2006.
- 姚咏明. 急危重症病理生理学 [M]. 北京: 科学出版社, 2013: 142-145.
- Reithmair M, Buschmann D, Märte M, et al. Cellular and extracellular miRNAs are blood-compartment-specific diagnostic targets in sepsis [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(10): 2403-2411.
- 李晨辉, 王念慈, 刘颖, 等. 脓毒症急性肾损伤诊疗进展 [J]. *内科急危重症杂志*, 2021, 27(5): 422-427.
- 卜克, 王璐, 刘林刚. 微小 RNA-10a 在脓症患者早期诊断及预后预测中的意义 [J]. *临床内科杂志*, 2018, 35(4): 261-263.
- Kingsley SMK, Bhat BV. Role of microRNAs in sepsis [J]. *Inflamm Res*, 2017, 66(7): 553-569.
- Wu J, Wang Y, Li L. Functional significance of exosomes applied in sepsis: A novel approach to therapy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(1): 292-297.
- 刘向歌, 符秋红, 陈洋. C 反应蛋白, 白蛋白比值与多评分系统对脓毒症严重程度和预后的评估价值比较 [J]. *内科急危重症杂志*, 2020, 26(4): 39-41.
- 廖秋霞, 席修明. 脓毒症患者发生血小板减少的危险因素及其对临床结局的影响 [J]. *内科急危重症杂志*, 2020, 26(04): 310-314.
- 陈隆望, 邱俏襟, 连洁, 等. microRNA-10a 对脓毒症小鼠脾脏 CD4 + CD25 + Treg 免疫功能的影响 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27(2): 152-158.
- Ge QM, Huang CM, Zhu XY, et al. Differentially expressed miRNAs in sepsis-induced acute kidney injury target oxidative stress and mitochondrial dysfunction pathways [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): 173-178.
- Kuttab HI, Lykins JD, Hughes MD, et al. Evaluation and predictors of fluid resuscitation in patients with severe sepsis and septic shock [J]. *Crit Care Med*, 2019, 47(11): 1582-1590.

(2020-07-23 收稿 2022-03-10 修回)