

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.24.026

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200828.1640.013.html\(2020-08-31\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200828.1640.013.html(2020-08-31))

血清 mir-124 预测肺炎继发脓毒症的价值研究*

巨森¹,朱云祥¹,向杰¹,赖勤¹,董桂君²

(四川省广元市中心医院:1.重症医学科;2.消化内科 628000)

[摘要] **目的** 探讨血清 mir-124 水平在肺炎继发脓毒症中的诊断价值。**方法** 选取 2016 年 8 月至 2019 年 6 月该院重症医学科收治的肺炎患者 126 例,其中单纯肺炎 71 例,肺炎继发脓毒症 42 例,肺炎继发脓毒性休克 13 例,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测所有受试者血清 miR-124 水平,通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测所有受试者血清降钙素原(PCT)水平,比较各组受试者血清 miR-124、PCT 水平、急性生理与慢性健康状况(APACHE II)评分、序贯器官衰竭估计评分(SOFA 评分),采用二元 logistic 回归分析影响肺炎继发脓毒症的危险因素,绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析并比较血清 miR-124、PCT 水平对肺炎患者继发脓毒症的危险因素。 **结果** 与单纯肺炎组比较,继发性脓毒症组、脓毒性休克组患者血清 miR-124 水平显著降低($P < 0.05$),血清 PCT 水平及 APACHE II 评分显著升高($P < 0.05$);与继发性脓毒症组比较,脓毒性休克组患者血清 miR-124 水平显著降低($P < 0.05$),血清 PCT 水平及 APACHE II 评分、SOFA 评分显著升高($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析显示,继发脓毒症组及脓毒性休克组中患者血清 miR-124 水平与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈负相关($P < 0.05$);血清 PCT 水平与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈正相关($P < 0.05$)。二元 logistic 回归分析显示,血清 miR-124 水平低,血清 PCT 水平、APACHE II 评分、SOFA 评分高为肺炎患者继发脓毒症的危险因素($P < 0.05$)。血清 miR-124 水平诊断肺炎继发脓毒症的曲线下面积为 0.860(灵敏度为 85.7%,特异度为 83.3%),血清 PCT 水平诊断肺炎继发脓毒症的曲线下面积为 0.935(灵敏度为 93.0%,特异度为 90.8%),二者诊断肺炎继发脓毒症的曲线下面积比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。 **结论** 肺炎继发脓毒症患者血清 miR-124 水平降低,对肺炎患者继发脓毒症具有一定诊断价值。

[关键词] 肺炎继发脓毒症;miR-124;降钙素原;急性生理与慢性健康状况评分;序贯器官衰竭估计评分

[中图分类号] R459.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)24-4153-05

Study on value of serum miR-124 in predicting sepsis secondary to pneumonia*

JU Sen¹, ZHU Yunxiang¹, XIANG Jie¹, LAI Qin¹, DONG Guijun²

(1. Department of Critical Medicine; 2. Department of Gastroenterology, Guangyuan Municipal Central Hospital, Guangyuan, Sichuan 628000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the diagnostic value of serum miR-124 level in pneumonia secondary sepsis. **Methods** A total of 126 cases of pneumonia treated in the critical care medicine department of this hospital from August 2016 to June 2019 were selected, including 71 cases of simple pneumonia, 42 cases of pneumonia secondary sepsis and 13 cases of pneumonia secondary septic shock. The serum miR-124 level in all subjects was detected by using the real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR), the serum procalcitonin level (PCT) was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), the levels of serum miR-124, PCT, acute physiology and chronic health (APACHE II) score, sequential organ failure assessment (SOFA) score were compared among the groups, the binary logistic regression was used to analyze the risk factors affecting pneumonia secondary sepsis, and the diagnostic values of serum miR-124 and PCT levels in the patients with pneumonia secondary sepsis were analyzed and compared by drawing the receiver operating characteristic (ROC). **Results** Compared with the simple pneumonia group, the serum miR-124 level in the secondary sepsis group and septic shock group was significantly decreased ($P < 0.05$), the serum PCT

level and APACHE II score were significantly increased ($P < 0.05$); compared with the secondary sepsis group, the serum miR-124 level in the septic shock group was significantly decreased ($P < 0.05$), the serum PCT level, APACHE II score and SOFA score were significantly increased ($P < 0.05$). The Pearson correlation analysis showed that the serum miR-124 level in the secondary sepsis group and septic shock group was negatively correlated with the APACHE II score and SOFA score ($P < 0.05$); and the serum PCT level was positively correlated with the APACHE II score and SOFA score ($P < 0.05$). The binary logistic regression analysis showed that the low serum miR-124 level, serum PCT, APACHE II score and high SOFA score were the risk factors of secondary sepsis in the patients with pneumonia ($P < 0.05$). The area under the curve of level of serum miR-124 in the diagnosis of pneumonia secondary sepsis was 0.860 (sensitivity was 85.7%, specificity was 83.3%), the area under the ROC curve of PCT level for diagnosing pneumonia secondary sepsis was 0.935 (sensitivity was 93.0%, specificity was 90.8%), and the areas under the curves for diagnosing pneumonia secondary sepsis had no statistically significant difference between them ($P > 0.05$). **Conclusion** The serum miR-124 level in the patients with pneumonia secondary sepsis is decreased, which has a certain diagnostic value for pneumonia secondary sepsis.

[Key words] pneumonia secondary sepsis; miR-124; procalcitonin; acute physiology and chronic health score; sequential organ failure assessment score

脓毒症是指由感染引起的全身炎症反应综合征, 发生率、病死率均较高, 据流行病学调查显示, 脓毒症已成为重症监护病房仅次于心脏病死亡的主要原因^[1-3]。肺炎是引起脓毒症的重要原因之一^[4]。如果能尽早地预测肺炎继发脓毒症, 则能在早期通过抗菌药物的使用及适当的手术进行干预, 改善患者预后情况。血清降钙素原(PCT)是传统生物学标志物, 检测灵敏度、特异度高, 对脓毒症的评价及抗生素的应用指导有重要价值, 但 PCT 检测时间窗较短^[5]。miRNA 在多种生理病理活动中发挥重要作用, 且在血清中表达稳定, 研究显示多种 miRNA 在肺炎继发脓毒症的发生、发展中发挥作用^[6]。miR-124 是一个多功能 miRNA, 研究显示 miR-124 在脓毒症患者血清中表达异常^[7], 但有关 miR-124 在肺炎继发脓毒症中的表达及意义研究较少。因此, 本研究重点观察肺炎继发脓毒症中血清 miR-124 表达, 并探讨血清 miR-124 水平对肺炎继发性脓毒症的诊断作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 8 月至 2019 年 6 月本院重症医学科收治的肺炎患者 126 例, 其中单纯肺炎 71 例为单纯肺炎组, 肺炎继发脓毒症 42 例为肺炎继发脓毒症组, 肺炎继发脓毒性休克 13 例为肺炎继发脓毒性休克组。单纯肺炎组男 27 例, 女 44 例, 年龄 20~80 岁, 平均(51.37±7.07)岁; 肺炎继发脓毒症组男 18 例, 女 24 例, 年龄 20~80 岁, 平均(52.35±7.45)岁; 肺炎继发脓毒性休克组男 6 例, 女 7 例, 年龄 20~80 岁, 平均(53.79±7.58)岁。肺炎诊断均符合文献[8]

标准, 肺炎继发脓毒症符合脓毒症 3.0 标准^[9]: 感染+序贯器官衰竭估计评分(SOFA 评分)大于或等于 2 分, 脓毒性休克诊断符合文献[9]标准; 在脓毒症基础上伴有持续性低血压, 在充分补充血容量基础上仍需升压药物维持平均动脉压大于或等于 65 mm Hg 且血清乳酸水平大于 2 mmol/L。排除标准: 孕产妇; 合并恶性肿瘤者; 既往病史影响 SOFA 评分者; 入院后 48 h 内死亡者; 艾滋病感染者。三组患者性别、年龄等一般资料比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准, 患者均自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本收集

收集所有受试者空腹静脉血 5 mL, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, -20 °C 冰箱保存待测。肺炎继发脓毒症患者记录确诊脓毒症 24 h 内最差急性生理与慢性健康状况(APACHE II)评分、SOFA 评分。以 APACHE II、SOFA 评分代表肺炎继发脓毒症的严重程度。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测血清 miR-124 水平

按照 Trizol 试剂盒操作说明提取血清标本中总 RNA, 并通过反转录酶试剂盒 Superscript III 将 RNA 反转录合成 cDNA。采用 Real Master Mix 试剂盒并利用 SYBR Green I 染料进行实时荧光定量 PCR 检测 miR-124 表达水平, PCR 反应条件: 95 °C 10 min、(95 °C 15 s、60 °C 30 s、72 °C 30 s)×40 个循环。以 U6 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法计算 miR-124 相对

表达量。引物序列见表 1。试验重复 3 次,取平均值。

1.3 统计学处理

采用统计学软件 SPSS 17.0 进行数据分析,计量资料符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较行方差分析,两组间比较采用 SNK-Q 检验,非正态分布的计量资料以中位数(四分位数 $[M(Q_1, Q_3)]$)表示,比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验;采用二元 logistic 回归分析判断肺炎患者继发脓毒血症的危险因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 miR-124、PCT 水平对肺炎继发脓毒症的诊断价值,诊断价值比较采用 Z 检

验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清 miR-124、PCT 及 APACHE II、SOFA 评分比较

与单纯肺炎组比较,继发性脓毒症组、脓毒性休克组患者血清 miR-124 水平显著降低($P < 0.05$),血清 PCT 水平、APACHE II 评分显著升高($P < 0.05$)。与继发性脓毒症组比较,脓毒性休克组患者血清 miR-124 水平显著降低($P < 0.05$),血清 PCT 水平及 APACHE II 评分、SOFA 评分显著升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	正向引物 5'-3'	反向引物 5'-3'
U6	GGG AAU AGU AGC UGU CAA ATT	UUU GAC AGC UAC UAU UCC CTT
miR-124	ACT CTA CCT ACA TCT GGG ACA CT	GTA GGT CCC ATG GTC ATC CAG

表 2 各组血清 miR-124 水平比较

组别	n	miR-124($\bar{x} \pm s$)	PCT $[M(Q_1, Q_3), \mu\text{g/L}]$	APACHE II 评分 $[M(Q_1, Q_3), \text{分}]$	SOFA 评分 $[M(Q_1, Q_3), \text{分}]$
单纯肺炎组	71	1.01 \pm 0.24	0.12(0.05,0.33)	3.0(1.0,5.0)	—
继发脓毒症组	42	0.65 \pm 0.15 ^a	0.80(0.21,1.96) ^a	10.0(4.0,17.0) ^a	5.0(3.0,7.5)
脓毒性休克组	13	0.42 \pm 0.07 ^{ab}	4.25(0.29,47.58) ^{ab}	22.0(12.0,26.0) ^{ab}	8.5(6.5,12.0) ^b
F/Z		71.720	50.836	66.626	4.331
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

—:无数据;^a: $P < 0.05$,与单纯肺炎组比较;^b: $P < 0.05$,与继发脓毒症组比较。

2.2 继发脓毒症组及脓毒性休克组中血清 miR-124、PCT 水平与 APACHE II 评分及 SOFA 评分的相关性分析

Pearson 相关性分析显示,继发脓毒症组及脓毒性休克组中患者血清 miR-124 水平与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈负相关($r = -0.663, -0.657, P < 0.05$);血清 PCT 水平与 APACHE II 评分、SOFA 评分呈正相关($r = 0.716, 0.695, P < 0.05$)。见表 3。

表 3 相关性分析

指标	APACHE II 评分		SOFA 评分	
	r	P	r	P
miR-124	-0.663	<0.001	-0.657	<0.001
PCT	0.716	<0.001	0.695	<0.001

2.3 肺炎继发脓毒症的危险因素分析

以肺炎患者是否继发脓毒症为因变量,以血清 miR-124、PCT、APACHE II 评分、SOFA 评分为自变量,二元 logistic 回归分析显示,血清 miR-124 水平低,血清 PCT、APACHE II 评分、SOFA 评分高为肺

炎患者继发脓毒症的危险因素($OR = 2.035, 1.672, 1.952, 2.058, P < 0.05$)。见表 4。

表 4 二元 logistic 回归分析影响肺炎继发脓毒症的危险因素

影响因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
miR-124	0.710	0.121	35.056	<0.001	2.035	1.608~2.575
PCT	0.514	0.175	8.627	0.003	1.672	1.186~2.356
APACHE II	0.339	0.117	32.681	<0.001	1.952	1.552~2.455
SOFA 评分	0.721	0.122	34.997	<0.001	2.058	1.620~2.613

2.4 血清 miR-124、PCT 水平对肺炎继发脓毒症的诊断作用比较

ROC 曲线显示,血清 miR-124 水平诊断肺炎继发脓毒症的曲线下面积为 0.860,截断值为 0.862,灵敏度为 85.7%,特异度为 83.3%,血清 PCT 水平诊断肺炎继发脓毒症的曲线下面积为 0.935,截断值为 0.623 $\mu\text{g/L}$,灵敏度为 93.0%,特异度为 90.8%,与血清 PCT 诊断效果比较,血清 miR-124 水平诊断肺炎继发脓毒症效果差异无统计学意义($P > 0.05$)。见

图 1、表 5。

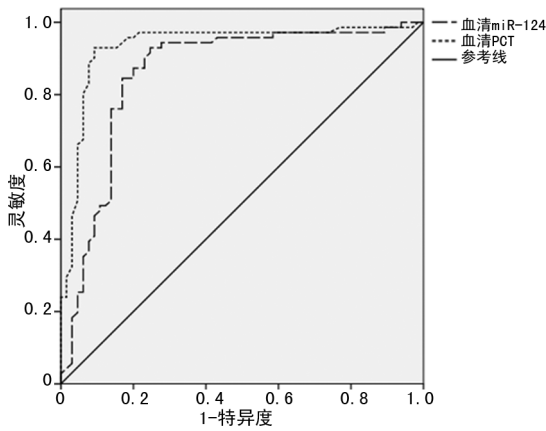


图 1 血清 miR-124、PCT 水平对肺炎继发脓毒症的诊断作用 ROC 图

表 5 血清 miR-124、PCT 水平对肺炎继发脓毒症的诊断价值

指标	曲线下面积	标准误差	灵敏度 (%)	特异度 (%)	截断值 ($\mu\text{g/L}$)
PCT	0.935	0.024	93.0	90.8	0.825
miR-124	0.860	0.035	85.7	83.3	0.862

3 讨论

肺炎继发脓毒症的发病机制涉及全身炎症网络效应、组织损伤、免疫失调等多种方面,尽管近年来医学进展迅速,但对肺炎继发脓毒症的治疗仍无突破性进展,病死率维持在 30%~70%。因此早期准确地诊断肺炎继发脓毒症具有重要临床意义。

miRNAs 在调节生长、参与疾病病理过程等方面具有重要作用,是近年研究热点^[10]。郭蕾等^[11]研究显示血浆 miR-487b 水平可作为早期诊断脓毒症的指标。miR-146a 也可作为脓毒症诊断的特异度标志物^[12]。以上研究提示 miRNA 参与了脓毒症的发生、发展,可能是脓毒症发病网络机制的平衡点,也可能作为肺炎继发脓毒症免疫调理、基因治疗的突破点。miR-124 是一个多功能 miRNA,位于人类 8q12.3,在免疫应答的调控中发挥重要作用^[13]。研究表明,miR-124 能影响 Th1/2 的功能,对活化 T 细胞具有调节作用,miR-124 参与对 Treg 增殖的调节^[14],而免疫失衡在脓毒症发病机制中发挥作用^[15]。LI 等^[16]研究显示 miR-124 过表达可通过负调控单核趋化蛋白-1 表达参与治疗念珠菌病引起的脓毒症。WANG 等^[17]研究显示,脓毒血症患者 miR-124 水平上调可抑制促炎性细胞因子表达。本研究中,肺炎继发脓毒症患者血清 miR-124 水平显著低于单纯肺炎患者,肺炎继发脓毒性休克患者血清 miR-124 水平进一步低于肺炎继发脓毒症者,提示血清 miR-124 与肺炎继发

脓毒症的发生、发展有关。

PCT 是降钙素的前体物质,在健康人外周血中含量极低。大量研究显示,监测血清 PCT 水平可判断脓毒症病情及预后^[18]。本研究中肺炎继发脓毒症患者血清 PCT 水平显著高于单纯性肺炎者而低于肺炎继发脓毒性休克患者,与相关研究相符,提示血清 PCT 水平与肺炎继发脓毒症的发生有关。但 PCT 在细胞因子诱导后 12~48 h 即到达高峰,2~3 d 就恢复正常水平,对于发现较晚的脓症患者而言,可能 PCT 水平已恢复正常。本研究发现,肺炎继发脓毒症患者及肺炎继发脓毒性休克患者血清 miR-124 水平与描述脓症患者严重程度的 APACHE II 评分及 SOFA 评分呈负相关,血清 PCT 水平与 APACHE II 评分及 SOFA 评分呈正相关,进一步提示血清 miR-124、PCT 水平与肺炎继发脓毒症的发生发展有关。经 logistic 多元回归分析后,血清 PCT 水平高、miR-124 水平低是肺炎继发脓毒症的危险因素,提示检测血清 PCT、miR-124 水平可能对判断肺炎患者是否发生继发脓毒症有一定作用。进一步研究显示,血清 miR-124 水平诊断肺炎继发脓毒症曲线下面积为 0.860,与血清 PCT 水平诊断肺炎继发脓毒症曲线下面积比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示血清 miR-124 作为肺炎继发脓毒症的诊断指标有一定可行性,另外约登指数最大对应的截断值为 0.862,提示当肺炎患者血清 miR-124 低于 0.862 时,继发脓毒症的风险较高,需密切关注,尽早进行抗感染治疗。

综上所述,血清 miR-124 水平降低与肺炎患者发生继发脓毒症密切相关,对肺炎患者继发脓毒症具有一定诊断价值。但本研究也存在一定不足,研究样本较少,需进一步扩大样本研究。

参考文献

- [1] 陈小卫,谢晓斌. 脓毒血症患者临床特征及其感染的肺炎克雷伯菌耐药机制分析[J]. 中国病原生物学杂志,2019,32(4):473-476.
- [2] 陈森,林晓军,张红璇,等. 降钙素原和 C 反应蛋白在肺炎合并脓毒症中的意义[J]. 中华急诊医学杂志,2017,26(7):807-810.
- [3] 刘丽红,王永芳. 头孢哌酮舒巴坦治疗脓毒症可有效降低患者的炎症因子、Pro-ADM、MIF 水平[J]. 基因组学与应用生物学,2018,37(9):4082-4087.
- [4] CHEN W, LIAN J, YE J J, et al. Ethyl pyruvate reverses development of *Pseudomonas aeruginosa*

- pneumonia during sepsis-induced immunosuppression[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 52(1):61-69.
- [5] GAO L Q, YANG B, ZHANG H R, et al. DcR3, a new biomarker for sepsis, correlates with infection severity and procalcitonin[J]. *Oncotarget*, 2017, 9(13):10934-10944.
- [6] ZHANG W, JIA J, LIU Z, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for sepsis secondary to pneumonia diagnosed via Sepsis 3.0[J]. *BMC Pulm Med*, 2019, 19(1):1-8.
- [7] 吕鑫, 张育才. 微小 RNA 在脓毒症发病机制的作用研究进展[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29(18):1416-1418.
- [8] ERB C T, PATEL B, ORR J E, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2016, 13(12):2258-2260.
- [9] SHANKAR-HARI M, PHILLIPS G S, LEVY M L, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, 315(8):775-787.
- [10] 李男, 李云霞, 加慧, 等. miR-155 与肺部疾病的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(8):619-624.
- [11] 郭蕾, 薛荣亮. miR-487b/IL-33/ST2 在脓毒症中的表达及意义[J]. *西部医学*, 2019, 31(6):953-957.
- [12] GAO N, DONG L. MicroRNA-146 regulates the inflammatory cytokines expression in vascular endothelial cells during sepsis[J]. *Pharmazie*, 2017, 72(11):700-704.
- [13] ZHAO Y, LING Z, HAO Y, et al. MiR-124 acts as a tumor suppressor by inhibiting the expression of sphingosine kinase 1 and its downstream signaling in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15):25005-25020.
- [14] MA C, LI Y, ZENG J, et al. Mycobacterium bovis BCG Triggered MyD88 induces miR-124 feedback negatively regulates immune response in alveolar epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e92419.
- [15] MONNERET G, DEMARET J, GOSSEZ M, et al. Novel approach in monocyte intracellular TNF measurement: application to sepsis-induced immune alterations[J]. *Shock*, 2017, 47(3):318-322.
- [16] LI X Y, ZHANG Y Q, XU G, et al. miR-124/MCP-1 signaling pathway modulates the protective effect of itraconazole on acute kidney injury in a mouse model of disseminated candidiasis[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(6):3468-3476.
- [17] WANG D, SHI L, XIN W, et al. Activation of PPAR γ inhibits pro-inflammatory cytokines production by upregulation of miR-124 in vitro and in vivo[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 486(3):726-731.
- [18] SHUKERI W M, RALIB A M, ABDULAH N Z, et al. Sepsis mortality score for the prediction of mortality in septic patients[J]. *J Crit Care*, 2017, 43(1):163-168.

(收稿日期:2020-03-20 修回日期:2020-07-21)

(上接第 4152 页)

- delivery of LABA/LAMA fixed-dose combinations in patients with COPD[J]. *Pulm Ther*, 2019, 5(1):23-41.
- [20] WIM M, LUIS G M, MONIKA G, et al. How to match the optimal currently available inhaler device to an individual child with asthma or recurrent wheeze [J]. *NPJ Prim Care Respir Med*, 2015, 25:14088.
- [21] 朱熊兆, 姚树桥, 王湘. 健康心理学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2006:11-319.
- [22] MELANI A S, BONAVIA M, MASTROPASQUA E, et al. Time required to rectify inhaler errors among experienced subjects with faulty technique[J]. *Respir Care*, 2017, 62(4):409-414.
- [23] 张晓宇. 自我效能理论指导下的自我管理对学龄期哮喘患儿的效果评价[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2015.
- [24] TAKAKU Y, KURASHIMA K, OHTA C, et al. How many instructions are required to correct inhalation errors in patients[J]. *Respir Med*, 2017, 123(1):110-115.

(收稿日期:2020-01-18 修回日期:2020-06-02)