

临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002375

循环 miR-126 表达水平与脓毒症患者发生 ARDS 的风险及脓毒症严重程度和预后的关联

林 润,李乐辉,吴国平,罗凌青,饶 平
(海南医学院第一附属医院急诊科,海口 570102)

【摘要】目的:评估血浆微小 RNA(microRNA, miR)-126 表达水平对脓毒症患者急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)发生风险的预测作用,及其与脓毒症疾病严重程度、炎症水平和患者预后的关联。**方法:**连续纳入 172 例脓毒症患者。患者入院 24 h 内采集外周血并分离血浆,采用定量聚合酶链式反应检测血浆 miR-126 表达水平。采用酶联免疫吸附试验检测血浆炎症因子[包括肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6 和 IL-17]表达量。同时记录患者 28 d 死亡率。**结果:**住院期间共 50 例(30.8%)患者发生 ARDS,血浆 miR-126 在 ARDS 患者中的表达水平明显高于非 ARDS 患者($P<0.001$)。受试者工作特征曲线(receiver-operating characteristic, ROC)分析显示,血浆 miR-126 表达水平可以区分 ARDS 患者和非 ARDS 患者,其曲线下面积(area under the ROC, AUC)为 0.741(95%CI=0.666~0.815)。多元逻辑回归分析显示,miR-126 高表达($P<0.001$)是较高 ARDS 发病风险的独立预测因素。在总体脓毒症患者中,血浆 miR-126 表达量与血清肌酐($P=0.004$)、C 反应蛋白($P<0.001$)、降钙素原($P<0.001$)、急性生理功能和慢性健康状况 II 评分($P<0.001$)、序贯器官衰竭(sequential organ failure assessment, SOFA)评分($P<0.001$),以及炎症因子 TNF- α ($P=0.001$)、IL-1 β ($P=0.002$)、IL-6 ($P=0.011$)和 IL-17($P=0.002$)水平均成正相关。此外,血浆 miR-126 在死亡患者中的表达量明显高于生存患者($P<0.001$),ROC 曲线分析显示其可以预测脓毒症患者较高的 28 d 死亡风险,AUC 为 0.686(95%CI=0.601~0.771)。**结论:**本研究表明,较高的循环 miR-126 表达量可以预测脓毒症患者中较高的 ARDS 发病率,并且可以作为辅助脓毒症疾病监测和患者预后的生物标志物。

【关键词】脓毒症;急性呼吸窘迫综合征;miR-126;发病风险;疾病严重程度

【中图分类号】R631

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-04-04

Correlation among expression level of circulating miR-126, risk of acute respiratory distress syndrome, and septic severity and prognosis in patients with sepsis

Lin Run, Li Lehui, Wu Guoping, Luo Lingqing, Rao Ping

(Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University)

【Abstract】Objective: To assess the predictive role of plasma microRNA(miR)-126 on risk of acute respiratory distress syndrome (ARDS) in patients with sepsis, and to investigate the correlation of miR-126 and sepsis severity, inflammation level and prognosis.

Methods: A total of 172 patients with sepsis were continuously enrolled. Peripheral blood samples of patients were collected within 24 hours after admission, and plasma was separated; expression level of miR-126 was detected by quantitative polymerase chain reaction. Expression levels of inflammatory cytokines[including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6 and IL-17] in plasma were detected by enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA). Meanwhile, the 28-day mortality was recorded as well.

Results: Among them, 50 patients (30.8%) had ARDS during hospitalization, and plasma miR-126 expression was significantly elevated in ARDS patients when compared with non-ARDS patients ($P<0.001$). According to the receiver operating characteristic curve (ROC) analysis, expression level of plasma miR-126 was able to differentiate ARDS patients from non-ARDS patients, with area under the ROC (AUC) of 0.741 (95%CI=0.666~0.815). In accordance with the multivariate logistic regression model analysis, high expression of miR-126 ($P<0.001$) was the independent predictive factor for relative-high onset-risk of ARDS. In addition, of all sepsis patients, plasma miR-126 expression was positively correlated with levels of serum creatinine ($P=0.004$), C reactive protein ($P<0.001$), procalcitonin ($P<0.001$), acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score ($P<0.001$), sequential organ failure assessment (SOFA) score ($P<0.001$), and inflammatory factors of TNF- α ($P=0.001$), IL-1 β ($P=0.002$), IL-6 ($P=0.011$) and IL-17 ($P=$

0.002). Moreover, the expression level of plasma miR-126 in the dead was significantly higher than that in the survivors ($P<0.001$). According to the ROC curve analysis, it was able to predict that patients with sepsis had a high 28-day mortality

作者介绍:林 润, Email: panxi38637519@163.com,

研究方向:急危重症。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20191217.1456.002.html>

(2019-12-18)

risk, with AUC of 0.686 (95%CI=0.601–0.771). **Conclusion:** Higher circulating miR-126 expression can predict the higher ARDS incidence in patients with sepsis, and can serve as a biomarker for disease surveillance and patients' prognosis in sepsis.

[Key words] sepsis; acute respiratory distress syndrome; miR-126; risk; severity

脓毒症(sepsis)是导致急诊和重症监护室死亡的首要原因之一,是一种极其凶险的由感染引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)^[1]。肺脏是在脓毒症患者中最常也最先被累及的器官,其中多数患者最终都会发展为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。有研究报道,脓毒症诱导 ARDS 用时一般不超过 7 d^[2]。近期的一项研究报道,约有 75% 的 ARDS 是由脓毒症导致的,且此类 ARDS 患者与其他 ARDS 患者相比预后较差;若 ARDS 发展为重度,其病死率高达 40%^[3–5]。尽管脓毒症诱导的 ARDS 病情凶险,病死率高,到目前为止依然缺少能够辅助预测脓毒症患者中 ARDS 发生风险的临床标志物。微小 RNA(microRNA, miR)-126 近年来被报道参与多种疾病的炎症、免疫及肺脏损伤的调控,且在 这些疾病中有作为诊断和预后标志物的潜能^[6–9]。因此,本研究旨在评估血浆 miR-126 表达水平在脓毒症患者中对 ARDS 发生风险的预测作用,及其与脓毒症疾病严重程度、炎症水平和患者预后的关联。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究连续纳入 2016 年 1 月至 2018 年 6 月海南医学院第一附属医院收治的 172 例脓毒症患者,所有入组患者均符合《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》中脓毒症诊断标准,并且年满 18 周岁。排除血液系统疾病、系统性自身免疫病、恶性肿瘤、艾滋病病毒感染患者及孕妇或哺乳期妇女。入组患者平均年龄(60.0 ± 11.3)岁,男性 128 例(74.4%)、女性 44 (25.6%);平均体质指数(body mass index, BMI)为(23.0 ± 4.7) kg/m²;吸烟者 59 例(34.3%)、合并慢性阻塞性肺病 23 例(13.4%)、心肌症 61 例(35.5%)、慢性肾功能衰竭 15 例(8.7%)、肝硬化 33 例(19.2%);血清肌酐(serum creatinine, Scr)中位值 1.7 mg/dL (四分位值:1.2~2.3 mg/dL)、白蛋白(albumin, ALB)中位值为 27.2 g/L (四分位值:21.6~36.7 g/L)、白细胞计数(white blood cell, WBC)中位值为 16.8 × 10⁹ 个/L (四分位值:(3.1~28.6) × 10⁹ 个/L)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)中位值为 91.1 mg/L (四分位值:49.0~124.6 mg/L)、降钙素原(procalcitonin, PCT)中位值为 13.1 ng/mL (四分位值:7.7~22.7 ng/mL);平均急性生理功能和慢性健康状况 II (acute physiology and chronic health evaluation II,

APACHE II)评分为(14.9 ± 5.5)分,平均序贯器官衰竭(sequential organ failure assessment, SOFA)评分为(7.9 ± 3.6)分;肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)中位值为 179.7 pg/mL (四分位值:108.4~248.1 pg/mL)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)中位值为 12.2 pg/mL (四分位值:5.0~22.1 pg/mL)、白介素-6(interleukin 6, IL-6)中位值为 63.7 pg/mL (四分位值:39.0~126.2 pg/mL)、白介素-17(interleukin-17, IL-17)中位值为 153.8 pg/mL (四分位值:68.5~226.6 pg/mL)。所有患者入院后均接受常规对症治疗,并密切随访 28 d,记录 28 d 死亡率。住院期间共 50 例患者发生 ARDS,称为 ARDS 患者,其他未发生 ARDS 的脓毒症患者称为非 ARDS 患者。本研究经海南医学院第一附属医院医学伦理审查委员会批准,且所有受试者或其法定监护人均已签署知情同意书。

1.2 血液样本采集和处理

所有患者入院 24 h 内使用抗凝管采集血液样本,而后立即进行离心分离以收集血浆样本。分离后的血浆样本分装于冻存管中,置于-80 °C 保存待后续检测。

1.3 miR-126 检测

获得患者血浆样本后,采用 QIAamp RNA Blood Mini Kit (Qiagen, 德国)试剂盒进行总 RNA 抽提,分光光度计检测总 RNA 纯度。随后,采用 RT-PCR Quick Master Mix (Toyobo, 日本)将总 RNA 逆转录为 cDNA。采用 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix (Toyobo, 日本)对 cDNA 进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR),并通过 2^{-ΔΔCt} 公式,采用 U6 作为内参计算 miR-126 的相对表达量。qPCR 中使用的引物序列为:miR-126;正向引物 AACTCCAGCTGGGCATTA-TTACTTTTGGTAC,反向引物 AACTCCAGCTGGGACTGCA-GTGAAGGCACTT;U6;正向引物 CTCGCTTCGGCAGCACA,反向引物 AACGCTTCACGAATTTGCGT。

1.4 炎症因子检测

血浆中炎症因子(包括 TNF-α、IL-1β、IL-6 和 IL-17)的水平使用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(Abcam, 美国),依据试剂盒使用说明书,严格按照操作步骤进行检测。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 24.0 进行统计学分析。数据以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)、中位数(四分位间距)或频次(百分比)的形式描述。差异比较采用 Wilcoxon 秩和检验;关联分析采用 Spearman 秩相关检验;采用受试者工作特征曲线(receiver-operating characteristic, ROC)和曲线下面积(area under the ROC, AUC)评估变量对于不同患者的区分作用以及对于事件的预测作用;采用单元和多元逻辑回归模型(向前选择法)分析 ARDS 的影响因素以及 28 d 死亡率的影响因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

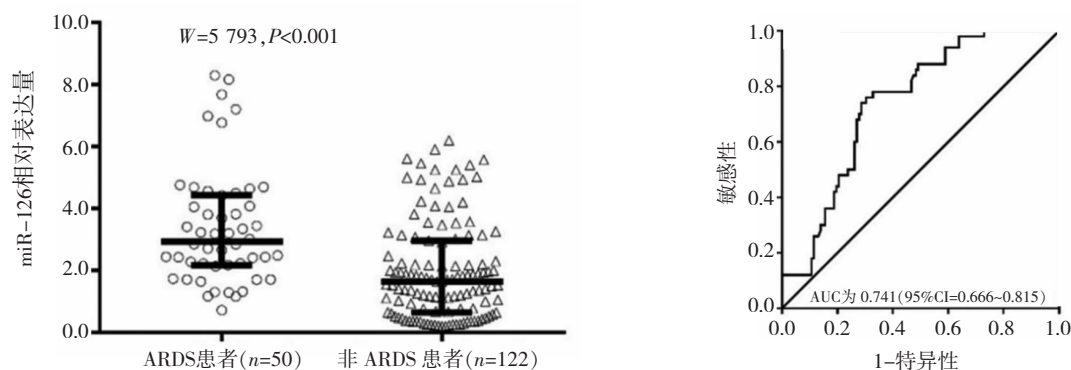
2.1 血浆 miR-126 在脓毒症患者中对 ARDS 的预测作用

血浆 miR-126 在 ARDS 患者中的表达水平 [2.935 (2.170~4.441)] 明显高于非 ARDS 患者 [1.640 (0.654~2.975)] ($W=5\,793, P<0.001$, 图 1A), 并且 ROC 曲线分析显示血浆 miR-126 可以明显区分 ARDS 患者和非 ARDS 患者, 其 AUC 为 0.741 (95%CI=0.666~0.815, 图 1B)。

2.2 脓毒症患者中 ARDS 发病风险的预测因素

单元逻辑回归分析显示, 血浆 MiR-126 (高 vs. 低) ($P<0.001$) 可以预测较高的 ARDS 发病风险, 同时, 年龄 (≥ 60 岁 vs. <60 岁) ($P=0.011$)、吸烟 (是 vs. 否) ($P<0.001$)、慢性阻塞

性肺病 (有 vs. 无) ($P=0.011$)、CRP (≥ 91.1 vs. <91.1 mg/L) ($P=0.008$) 和 APACHE II 评分 (≥ 14.0 vs. <14.0) ($P<0.001$) 也是较高 ARDS 发病风险的预测因素 (表 1)。进一步采用向前选择法 (有条件的) 的多元逻辑回归分析显示, MiR-126 (高 vs. 低) ($P<0.001$) 是较高 ARDS 发病风险的独立预测因素, 其他独立预测因素还有吸烟 (是 vs. 否) ($P<0.001$)、慢性阻塞性肺病 (有 vs. 无) ($P=0.013$) 及 APACHE II 评分 (≥ 14.0 vs. <14.0) ($P=0.008$) (表 2)。此外, 根据多元逻辑回归中的 OR 值, 研究发现 miR-126 (高 vs. 低) ($OR=6.971$) 对于 ARDS 发生风险的预测作用数值上高于吸烟 (有 vs. 无) ($OR=5.125$)、慢性阻塞性肺病 (有 vs. 无) ($OR=3.858$) 和 APACHE II 评分 (≥ 14.0 vs. <14.0) ($OR=3.933$) 的预测作用, 然而统计学上无法进行直接比较。因此 miR-126 高表达可能在预测 ARDS 风险中的作用更加重要。



A. 血浆 miR-126 在 ARDS 患者和非 ARDS 患者中的表达水平

B. 血浆 miR-126 水平预测脓毒症患者 ARDS 的 ROC 曲线分析

图 1 血浆 miR-126 对 ARDS 发病风险的预测作用

表 1 脓毒症患者中 ARDS 发病风险预测因素的单元逻辑回归

项目	B	Wald	P	OR	95%CI	
					低	高
MiR-126 (高 vs. 低)	1.733	19.868	0.000	5.658	2.641	12.122
年龄 (≥ 60 岁 vs. <60 岁)	0.894	6.530	0.011	2.444	1.232	4.852
性别 (男 vs. 女)	-0.176	0.216	0.642	0.839	0.399	1.761
BMI (≥ 24.0 kg/m ² vs. <24.0 kg/m ²)	0.403	1.384	0.239	1.497	0.764	2.930
吸烟 (是 vs. 否)	1.318	13.963	0.000	3.736	1.871	7.459
慢性阻塞性肺病 (有 vs. 无)	1.159	6.409	0.011	3.187	1.299	7.816
心肌症 (有 vs. 无)	0.155	0.198	0.657	1.167	0.590	2.310
慢性肾功能衰竭 (有 vs. 无)	0.219	0.144	0.704	1.244	0.403	3.844
肝硬化 (有 vs. 无)	0.073	0.030	0.862	1.076	0.470	2.464
Scr (≥ 1.7 mg/dL vs. <1.7 mg/dL)	0.603	3.121	0.077	1.827	0.936	3.567
ALB (≥ 27.2 g/L vs. <27.2 g/L)	0.080	0.057	0.812	1.083	0.561	2.093
WBC ($\geq 16.8 \times 10^9$ 个/L vs. $<16.8 \times 10^9$ 个/L)	0.454	1.793	0.181	1.575	0.810	3.061
CRP (≥ 91.1 mg/L vs. <91.1 mg/L)	0.927	7.017	0.008	2.527	1.273	5.018
PCT (≥ 13.1 ng/mL vs. <13.1 ng/mL)	0.654	3.626	0.057	1.923	0.981	3.769
APACHE II 评分 (≥ 14.0 vs. <14.0)	1.494	12.275	0.000	4.455	1.931	10.274
SOFA 评分 (≥ 6.0 vs. <6.0)	0.720	3.598	0.058	2.054	0.976	4.321
TNF- α (≥ 179.7 pg/mL vs. <179.7 pg/mL)	0.570	2.790	0.095	1.768	0.906	3.450
IL-1 β (≥ 12.2 pg/mL vs. <12.2 pg/mL)	0.113	0.113	0.737	1.119	0.579	2.163
IL-6 (≥ 63.7 pg/mL vs. <63.7 pg/mL)	-0.226	0.450	0.502	0.798	0.412	1.543
IL-17 (≥ 153.8 pg/mL vs. <153.8 pg/mL)	0.421	1.543	0.214	1.524	0.784	2.962

注: 连续变量采用中位值划分为二分类变量; $P<0.05$ 表示具有统计学意义

2.3 脓毒症患者中血浆 miR-126 与疾病严重程度和炎症水平的关联

血浆 miR-126 表达量与 Scr($r=0.219, P=0.004$)、CRP($r=0.464, P<0.001$)、PCT($r=0.310, P<0.001$)、APACHE II 评分($r=0.341, P<0.001$)、SOFA 评分($r=0.306, P<0.001$)及血浆炎症因子 TNF- α ($r=0.242, P=0.001$)、IL-1 β ($r=0.231, P=0.002$)、IL-6($r=0.193, P=0.011$)和 IL-17($r=0.283, P=0.002$)表达水平均正相关(表 3)。

2.4 血浆 miR-126 对脓毒症患者 28 d 死亡率的预测作用

脓毒症患者的 28 d 死亡率为 30.8%, 血浆 miR-126 在生存患者[1.711(0.680~2.920)]中的表达量明显低于死亡患者[3.016(1.689~4.667)]($W=9\ 120, P<0.001$, 图 2A)。ROC 曲线分析显示, 血浆 miR-126 可以区分生存患者和死亡患者, 其 AUC 为 0.686(95%CI=0.601~0.771)(图 2B)。采用单元逻辑回归分析影响患者 28 d 死亡率的因素, 结果显示, miR-126(高 vs. 低)($P=0.002$)可以预测较高的 28 d 死亡率。另外, 性别(男 vs. 女)($P=0.039$)、Scr(≥ 1.7 mg/dL vs. <1.7 mg/dL)($P=0.026$)、CRP(≥ 91.1 mg/L vs. <91.1 mg/L)($P<0.001$)、PCT(≥ 13.1 ng/mL vs. <13.1 ng/mL)($P=0.019$)、APACHE II 评分(≥ 14.0 vs. <14.0)($P<0.001$)、SOFA 评分(≥ 6.0 vs. <6.0)($P=0.001$)、TNF- α (≥ 179.7 pg/mL vs. <179.7 pg/mL)($P=0.002$)及 IL-1 β (≥ 12.2 pg/mL vs. <12.2 pg/mL)($P<0.001$)也可以预测患者较高的 28 d 死亡率(表 4)。采用向前选择法(有条件的)进行多元逻辑回归进一步分析 28 d 死亡率的独立预测

因素, 结果显示血浆 miR-126 不是 28 d 死亡率的独立预测因素, 年龄(≥ 60 岁 vs. <60 岁)($P=0.017$)、CRP(≥ 91.1 mg/L vs. <91.1 mg/L)($P<0.001$)及 SOFA 评分(≥ 6.0 vs. <6.0)($P<0.001$)是较高 28 d 死亡率的独立预测因素(表 5)。

3 讨论

脓毒症已经被世界卫生大会和世界卫生组织在 2017 年列为一项全球重点卫生问题。由感染引起的单个或多个器官功能障碍是脓毒症的主要特征。近期的 sepsis-3 对脓毒症的新定义更加强调患者的器官功能障碍^[10]。作为 SIRS 的一种, 肺脏常常是第一个由体内促炎和抗炎失调引起功能障碍的器官, 这也使得 ARDS 成为脓毒症患者中常见的最凶险并发症。为了探索可以辅助诊断和预后脓毒症引起的 ARDS 标记物, 研究中检测了脓毒症患者的血浆 miR-126 表达水平, 发现血浆 miR-126 在脓毒症 ARDS 患者中明显高于非 ARDS 脓毒症患者, 且是较高 ARDS 发病率的独立预测因素; 血浆 miR-126 表达量与脓毒症疾病严重程度和炎症水平均正相关; 血浆 miR-126 在死亡患者中表达量明显高于生存患者, 且可以预测较高的 28 d 死亡率。

表 2 脓毒症患者中 ARDS 发病风险预测因素的多元逻辑回归

项目	B	Wald	P	OR	95%CI	
					低	高
miR-126(高 vs. 低)	1.939	18.030	0.000	6.951	2.840	17.010
吸烟(是 vs. 否)	1.634	14.637	0.000	5.125	2.219	11.839
慢性阻塞性肺病(有 vs. 无)	1.350	6.127	0.013	3.858	1.325	11.240
APACHE II 评分(≥ 14.0 vs. <14.0)	1.369	6.948	0.008	3.933	1.421	10.885

注: 连续变量采用中位值划分为二分类变量; 多元逻辑回归采用向前选择法(有条件的)进行分析; $P<0.05$ 表示具有统计学意义

表 3 血浆 miR-126 相对表达量与脓毒症患者疾病严重程度和血浆炎症因子水平的关联

项目		生化指标					疾病严重程度		炎症因子			
		Scr	ALB	WBC	CRP	PCT	APACHE II 评分	SOFA 评分	TNF- α	IL-1 β	IL-6	IL-17
miR-126 相对表达量	P 值	0.004	0.875	0.395	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.002	0.011	0.002
	r 值	0.219	0.012	0.065	0.464	0.310	0.341	0.306	0.242	0.231	0.193	0.283

注: 相关性分析采用 Spearman 秩相关检验; $P<0.05$ 表示具有统计学意义

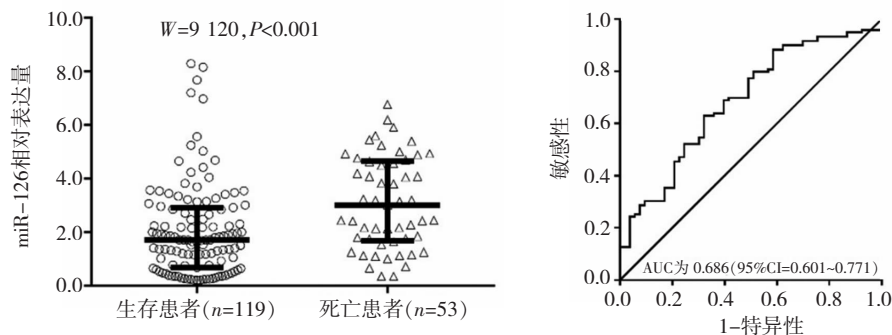


图 2 miR-126 在死亡和存活患者中的相对表达量及 ROC 曲线

表 4 脓毒症患者 28 d 死亡率影响因素的单元逻辑回归分析

项目	<i>B</i>	Wald	<i>P</i>	<i>OR</i>	95%CI	
					低	高
MiR-126(高 vs. 低)	1.072	9.497	0.002	2.922	1.477	5.780
年龄(≥ 60 岁 vs. <60 岁)	0.240	0.523	0.469	1.271	0.664	2.433
性别(男 vs. 女)	0.892	4.253	0.039	2.440	1.045	5.695
BMI(≥ 24.0 kg/m ² vs. <24.0 kg/m ²)	0.491	2.121	0.145	1.634	0.844	3.166
吸烟(是 vs. 否)	-0.396	1.217	0.270	0.673	0.333	1.360
慢性阻塞性肺病(有 vs. 无)	-0.845	2.143	0.143	0.430	0.139	1.331
心肌症(有 vs. 无)	-0.217	0.384	0.536	0.805	0.405	1.599
慢性肾功能衰竭(有 vs. 无)	0.445	0.642	0.423	1.560	0.526	4.631
肝硬化(有 vs. 无)	-0.832	2.938	0.087	0.435	0.168	1.127
Scr(≥ 1.7 mg/dL vs. <1.7 mg/dL)	0.754	4.970	0.026	2.126	1.095	4.126
ALB(≥ 27.2 g/L vs. <1.7 g/L)	-0.197	0.356	0.551	0.821	0.429	1.570
WBC($\geq 16.8 \times 10^9$ 个/L vs. $<16.8 \times 10^9$ 个/L)	0.494	2.193	0.139	1.640	0.852	3.155
CRP(≥ 91.1 mg/L vs. <91.1 mg/L)	1.451	15.922	0.000	4.267	2.092	8.704
PCT(≥ 13.1 ng/mL vs. <13.1 ng/mL)	0.801	5.532	0.019	2.228	1.143	4.345
APACHE II 评分(≥ 14.0 vs. <14.0)	1.435	12.290	0.000	4.201	1.883	9.374
SOFA 评分(≥ 6.0 vs. <6.0)	1.474	11.975	0.001	4.366	1.895	10.059
TNF- α (≥ 179.7 pg/mL vs. <179.7 pg/mL)	1.072	9.497	0.002	2.922	1.477	5.780
IL-1 β (≥ 12.2 pg/mL vs. <12.2 pg/mL)	1.321	13.644	0.000	3.747	1.859	7.553
IL-6(≥ 63.7 pg/mL vs. <63.7 pg/mL)	0.383	1.330	0.249	1.467	0.765	2.815
IL-17(≥ 153.8 pg/mL vs. <153.8 pg/mL)	0.573	2.912	0.088	1.773	0.918	3.424

注:连续变量采用中位值划分为二分类变量; $P < 0.05$ 表示具有统计学意义

表 5 28 d 死亡率的影响因素——多元逻辑回归分析

项目	<i>B</i>	Wald	<i>P</i>	<i>OR</i>	95%CI	
					低	高
年龄(≥ 60 岁 vs. <60 岁)	1.095	5.331	0.021	2.988	1.180	7.567
CRP(≥ 91.1 mg/L vs. <91.1 mg/L)	1.627	17.295	0.000	5.088	2.363	10.952
SOFA 评分(≥ 6.0 vs. <6.0)	1.517	11.284	0.001	4.559	1.881	11.047

注:连续变量采用中位值划分为二分类变量;多元逻辑回归采用向前选择法(有条件的)进行分析; $P < 0.05$ 表示具有统计学意义

miR-126 位于人染色体 9q34.3,由表皮生长因子样结构域 7(epidermal growth factor-like domain 7, EGFL7)基因上的第七内含子编码,在多种细胞中表达,包括心肌细胞、血管内皮细胞和肺细胞等,近年来已被发现在炎症和免疫调控中发挥重要作用^[11-13]。更重要的是,有研究报道 miR-126 可能参与肺脏损伤的调控。一项大鼠实验显示,miR-126 表达量在卵清蛋白诱导的雄性大鼠哮喘模型中明显高于正常雄性大鼠,且常青藤皂苷可以通过降低 miR-126 水平从而调控 IL-13 的表达,减少肺脏炎症反应^[9]。另外一项实验表明,抑制 miR-126 的表达降低了过敏性哮喘大鼠模型中辅助 T 细胞 2(T helper cells 2, Th2)的功能从而延缓了过敏性哮喘的疾病进展^[14]。尽管脓毒症诱导的 ARDS 病情凶险,并且病死率高于非 ARDS 的脓毒症患者,目前对于预测 ARDS 在脓毒症中的发病风险的研究仍然非常有限。基于 miR-126 被发现在肺损伤中的作用,推测循环 miR-126 或许可以作为辅助预测脓毒症患者中 ARDS 发生风险的生物标志物,因此检测了血浆 miR-126 表

达水平与脓毒症患者 ARDS 发病风险的关联。结果显示血浆 miR-126 表达量在发生 ARDS 的脓毒症患者中明显高于未发生 ARDS 的脓毒症患者,且 ROC 曲线分析显示其对 ARDS 的发病风险具有较好的预测作用。可能原因有二:①由于 miR-126 可以通过促进炎症水平从而加重脓毒症的进展,进而促进肺脏的受累和 ARDS 的发生^[15];②miR-126 可以通过调控细胞活动或炎症因子的表达从而直接促进肺脏损伤,加快肺脏受累并最终导致 ARDS^[9,14]。

miR-126 作为一个广泛参与炎症与免疫调控的基因,被许多研究报道参与促进炎症与免疫相关疾病的进展。一项体外实验表明,miR-126 通过调控磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase, PI3K)信号通路抑制鞘氨醇 1-磷酸受体 2(sphingosine-1-phosphate receptor 2, S1PR2)的表达水平,从而加重炎症性肠病的肠黏膜屏障功能紊乱^[16]。另一项研究显示 miR-126-5p 可以在人类免疫缺陷病毒 1 型感染患者获得的单核细胞中,通过抑制圆柱蛋白增强单核细胞中脂多糖引起的炎

性反应^[17]。同时,更早的研究发现 miR-126 可能可以通过降低酪氨酸蛋白表达水平调控核因子 kappa B(nuclear factor kappa B,NF- κ B)信号通路促进溃疡性结肠炎中的炎症反应^[15]。这些研究表明,miR-126 可以通过调控多种信号通路促进炎症或促进炎症和免疫紊乱相关疾病的进展。除此之外,也有研究表明 miR-126 或许可以作为一些炎症性免疫相关疾病的临床标志物。一项队列研究表明,外周血 miR-126 高表达与急性哮喘的免疫失调、更高的疾病严重程度和炎症水平相关^[18]。另外一项队列研究结果显示,组织 miR-126 表达水平与银屑病患者的患病率和疾病严重程度成正相关^[19]。

本研究显示,血浆 miR-126 表达量与脓毒症患者疾病严重程度、炎症水平和 28 d 死亡率成正相关。以往研究发现,可能有以下 2 个原因导致本研究的结果:①miR-126 可以通过调控多种信号通路或蛋白升高炎症水平以及加重免疫失调,例如调控 NF- κ B 信号通路促进溃疡性结肠炎中的炎症反应,从而加重脓毒症患者体内的促炎、抗炎反应和免疫反应失衡,导致更严重的病情^[15-19];②miR-126 可以直接作用于器官,促进脓毒症患者器官功能障碍的发生,如通过调控炎症因子加快肺脏受损等^[9,14]。此外,本研究进一步分析发现 miR-126 并不是 28 d 死亡率的独立预测因素,这可能是由于 miR-126 与 CRP 和 SOFA 评分均明显成正相关,而 CRP 和 SOFA 是 28 d 死亡率的独立预测因素,因此 miR-126 很可能通过与 CRP/SOFA 评分的相互关系,进而影响 28 d 死亡率,从而 miR-126 仅是 28 d 死亡率的预测因素但不是独立预测因素。

本研究也存在一些缺陷:①本研究纳入 172 例脓毒症患者,样本量相对较小,可能降低统计效能;②本研究为一个单中心研究,患者大多数来自中国华南地区,可能导致选择偏倚;③随访期较短,未能评估血浆 miR-126 表达水平对脓毒症患者长期死亡率的预测作用。

综上所述,较高的循环 miR-126 表达量可以预测脓毒症患者中较高的 ARDS 发生风险,并且可以作为辅助脓毒症疾病监测和患者预后的生物标志物,从而帮助改善脓毒症及脓毒症诱导的 ARDS 患者预后。

参 考 文 献

[1] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock[J]. *Lancet*, 2018, 392(10141): 75-87.
[2] Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syn-

drome[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(6): 562-572.
[3] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 788-800.
[4] Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(16): 1685-1693.
[5] Stapleton RD, Wang BM, Hudson LD, et al. Causes and timing of death in patients with ARDS[J]. *Chest*, 2005, 128(2): 525-532.
[6] Yu CD, Miao WH, Zhang YY, et al. Inhibition of miR-126 protects chondrocytes from IL-1 β induced inflammation via upregulation of *Bel-2*[J]. *Bone Joint Res*, 2018, 7(6): 414-421.
[7] Luo Q, Guo D, Liu G, et al. Exosomes from MiR-126-overexpressing adscs are therapeutic in relieving acute myocardial ischaemic injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(6): 2105-2116.
[8] Casciaro M, Di Salvo E, Brizzi T, et al. Involvement of miR-126 in autoimmune disorders[J]. *Clin Mol Allergy*, 2018, 16: 11.
[9] Fallahi M, Keyhanmanesh R, Khamanesh AM, et al. Effect of *Alpha-Hederin*, the active constituent of *Nigella sativa*, on miRNA-126, IL-13 mRNA levels and inflammation of lungs in ovalbumin-sensitized male rats[J]. *Avicenna J Phytomed*, 2016, 6(1): 77-85.
[10] Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, et al. Recognizing sepsis as a global health priority—a WHO resolution[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(5): 414-417.
[11] Zhao S, Wang Y, Liang Y, et al. MicroRNA-126 regulates DNA methylation in CD4⁺ T cells and contributes to systemic lupus erythematosus by targeting DNA methyltransferase 1[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(5): 1376-1386.
[12] Oglesby IK, Bray IM, Chotirmall SH, et al. miR-126 is downregulated in cystic fibrosis airway epithelial cells and regulates TOM1 expression[J]. *J Immunol*, 2010, 184(4): 1702-1709.
[13] van Solingen C, Bijkerk R, de Boer HC, et al. The role of microRNA-126 in vascular homeostasis[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2015, 13(3): 341-351.
[14] Mattes J, Collison A, Plank M, et al. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(44): 18704-18709.
[15] Feng X, Wang H, Ye S, et al. Up-regulation of microRNA-126 may contribute to pathogenesis of ulcerative colitis via regulating NF- κ B inhibitor I κ B α [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52782.
[16] Chen T, Xue H, Lin R, et al. MiR-126 impairs the intestinal barrier function via inhibiting S1PR2 mediated activation of PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494(3-4): 427-432.
[17] Huang J, Zhu L, Qiu C, et al. MicroRNA miR-126-5p enhances the inflammatory responses of monocytes to lipopolysaccharide stimulation by suppressing cylindromatosis in chronic HIV-1 infection[J]. *J Virol*, 2017, 91(10): e02048.
[18] Tian M, Ji Y, Wang T, et al. Changes in circulating microRNA-126 levels are associated with immune imbalance in children with acute asthma[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2018, 32: 2058738418779243.
[19] Feng S, Wang L, Liu W, et al. MiR-126 correlates with increased disease severity and promotes keratinocytes proliferation and inflammation while suppresses cells' apoptosis in psoriasis[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(9): e22588.

(责任编辑:张辉洁)