

• 经验交流 •

脓毒症患儿早期心肌损伤中血浆 miRNA-146a
表达水平的临床意义*Clinical significance of plasma miRNA-146a expression in early
myocardial injury in children with sepsis刘君¹ 杨帆¹ 薛亚强¹ 岳远更¹

[关键词] 脓毒症;心肌损伤;miRNA-146a

Key words sepsis;myocardial damage;miRNA-146a

DOI:10.13201/j.issn.1009-5918.2022.02.015

[中图分类号] R725.7 [文献标志码] B

目前脓毒症的诊断和治疗都在不断发展,但其发病率和病死率依然很高,是一种重要的临床综合征^[1]。儿童由于自身机体发育不完善抵抗力低下,脓毒症已经成为儿童感染死亡的一个重要原因。心肌功能障碍是脓毒症和脓毒性休克的公认表现^[2]。有研究表明,存在脓毒症心肌损伤的患者病死率明显高于没有心肌损伤患者^[3-4]。因此,对于脓症患者早期识别诊断心肌损伤并给予积极有效治疗是降低脓症患者病死率的有效对策。有研究表明脓毒症心肌损伤通常伴随着微小核糖核酸(microRNA, miRNA)表达的动态变化,研究表明 miRNA-146a 在类风湿性关节炎和特异性湿疹

等多种自身免疫系统相关疾病中发挥关键作用,也有报道认为 miRNA-146a 作为炎症调控关键因子,在脓毒症心肌损伤中发挥关键作用,但是由于目前研究较少,其具体作用还有待进一步探索^[5-6]。因此,我们拟通过分析脓毒症心肌损伤患儿早期血浆中 miRNA-146a 的表达情况,观察其用于脓毒症心肌损伤早期诊断的价值,为探索合适的脓毒症心肌损伤早期生物学标志物开发做出积极贡献。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2018 年 8 月—2020 年 2 月期间在我院儿科收治并按照《儿童脓毒性休克(感染性休克)诊治专家共识(2015 版)》^[7] 确诊为脓毒症的患儿 146 例,其中男 84 例,女 62 例。对所有入选患儿进行特别护理照顾和治疗。本研究中所有患儿都由父母签署知情同意书,并由我院伦理委员会审核通过

*基金项目:秦皇岛市科技局基金项目(No:201805A064)

¹秦皇岛市妇幼保健院儿科(河北秦皇岛,066000)

通信作者:岳远更,E-mail:actterq@163.com

- [12] 李军,尧国胜,谢素青,等. 早期经皮扩张气管切开对重型颅脑损伤患者预后的影响[J]. 中国急救医学, 2012,32(8): 762-763.
- [13] Nieszkowska A, Combes A, Luyt CE, et al. Impact of tracheotomy on sedative administration, sedation level, and comfort of mechanically ventilated intensive care unit patients[J]. Crit Care Med, 2005, 33(11): 2527-2533.
- [14] Bösel J, Schiller P, Hook Y, et al. Stroke-related Early Tracheostomy versus Prolonged Orotracheal Intubation in Neurocritical Care Trial (SETPOINT): a randomized pilot trial[J]. Stroke, 2013, 44(1): 21-28.
- [15] Bösel J, Schiller P, Hacke W, et al. Benefits of early tracheostomy in ventilated stroke patients? Current evidence and study protocol of the randomized pilot trial SETPOINT (Stroke-related Early Tracheostomy vs. Prolonged Orotracheal Intubation in Neurocritical care Trial)[J]. Int J Stroke, 2012, 7(2): 173-182.
- [16] Hemphill JC, Bonovich DC, Besmertis L, et al. The

ICH score: a simple, reliable grading scale for intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2001, 32(4): 891-897.

- [17] Liliang PC, Liang CL, Lu CH, et al. Hypertensive caudate hemorrhage prognostic predictor, outcome, and role of external ventricular drainage[J]. Stroke, 2001, 32(5): 1195-1200.
- [18] Oliviero A, Corbo G, Tonali PA, et al. Functional involvement of central nervous system in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: A preliminary transcranial magnetic stimulation study [J]. J Neurol, 2002, 249(9): 1232-1236.
- [19] Franke CL, de Jonge J, van Swieten JC, et al. Intracerebral hematomas during anticoagulant treatment[J]. Stroke, 1990, 21(5): 726-730.
- [20] Qureshi AI, Suarez JI, Parekh PD, et al. Prediction and timing of tracheostomy in patients with infratentorial lesions requiring mechanical ventilatory support[J]. Crit Care Med, 2000, 28(5): 1383-1387.

(收稿日期:2021-11-11)

备案。

入组标准:①患儿及家属同意纳入研究;②病例资料完整;③年龄 >28 d且 <16 岁。排除标准:①具有先天性心脏病及遗传性疾病;②进行心脏手术患儿;③具有严重药物过敏史;④长期使用激素和免疫抑制剂患儿;⑤肝肾功能异常及恶性肿瘤患儿;⑥发育不良患儿。

1.2 研究分组及材料收集

纳入研究的患儿根据血清 cTnI 水平是否 ≥ 0.15 ng/mL 和(或)心脏彩色多普勒超声诊断评估左心室射血分数(LVEF) $<50\%$ ^[8]分为心肌损伤组(57例)和非心肌损伤组(89例)。两组患者一般情况差异无统计学意义,见表1。所有患儿在入院48 h内采用我院荷兰 Philips 公司 IU22 型彩超完成超声心动图检查。根据 APACHE II 评分和 SOFA 评分标准对所有患儿进行评估和记录。

1.3 血液生化样本采集和检测

所有患儿在入院后清晨采集空腹静脉血 8 mL 静脉血样,低温离心(3000 r/min)10 min 取上清液^[9],由我院医学检验中心按照不同检测要求完成 PCT、CRP、NT-proBNP、cTnI 和 CK-MB 表达水平的检测。其中 IL-10 和 TNF- α 采用酶联免疫吸附法进行检测,试剂盒购买于上海康朗生物科技有限公司。miRNA-146a 引物由上海康朗生物科技有限公司设计完成。miRNA-146a 上游引物:5'-

UGAGAACUGAAUCCAUUGGGUU-3',下游:5'-UGAGAACUGAAUCCAUAGGCU-3'。根据试剂盒操作说明,采用 miRNeasy 提取试剂盒(Qiagen,美国)从血液样本中提取包括 miRNAs 的总 RNA,然后采用 miScript II RT 试剂盒(Qiagen,美国)将总 RNA 反转录为 cDNA。先 37°C 60 min 然后转到 95°C 5 min 进行孵化。之后采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)方法进行检测,所有反应进行 3 次重复后取平均值,miRNA-146a 的表达结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算,我们选择 U6 作为内参, $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{U6}$ ^[10-11]。所有检验指标由我院医学检验中心副主任职称及以上技师确认。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,两两比较采用 t 检验。计数资料用例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多因素 logistic 回归分析脓毒症患儿继发心肌损伤的危险因素,两个指标间的相关性评估采用 Pearson 相关分析。根据受试者工作特征曲线(ROC),评价各指标对心肌损伤的诊断价值。曲线下面积(area under curve, AUC)的比较采用 Z 检验。所有检验的显著性均为双侧并以 P 值表示,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 两组脓毒症患儿一般临床资料比较

组别	例数	性别/例		年龄/岁	感染部位/例(%)					$\bar{X} \pm S$
		男	女		肺部	颅脑	泌尿	腹腔	其他	
心肌损伤组	57	35	22	4.9 \pm 1.3	16(28.07)	7(12.28)	14(24.56)	12(21.05)	8(14.04)	
非心肌损伤组	89	49	40	4.6 \pm 1.3	26(29.21)	12(13.48)	22(24.72)	19(21.35)	10(11.24)	
t/χ^2		0.573		0.634	0.022	0.044	0.001	0.002	0.252	
P		0.449		0.412	0.882	0.833	0.983	0.966	0.616	

2 结果

2.1 两组脓毒症患儿检验和相关评分结果比较

脓毒症心肌损伤患儿的 miRNA-146a、CK-MB、NT-proBNP、PCT、CRP、IL-10 和 TNF- α 表达水平明显高于非心肌损伤患儿,同时 APACHE II 评分和 SOFA 评分也明显高于非心肌损伤组患儿,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),见表 2 和表 3。

2.2 脓毒症患儿继发心肌损伤的危险因素分析

我们对于脓毒症患儿心肌损伤因素进行了多因素 logistic 回归分析,结果表明 miRNA-146a ($OR = 3.184, 95\%CI: 1.971 \sim 5.314$)、IL-10 ($OR = 1.542, 95\%CI: 1.227 \sim 2.973$)和 TNF- α ($OR = 2.102, 95\%CI: 1.228 \sim 4.095$)是脓毒症患儿发生

心肌损伤的独立危险因素,见表 4。

2.3 miRNA-146a 表达与其他指标相关性分析

对心肌损伤组患儿 miRNA-146a 表达情况与其他指标进行 Pearson 相关性分析,结果表明 miRNA-146a 与 IL-10 ($r = 0.688, P = 0.003$)和 TNF- α ($r = 0.713, P = 0.001$)呈正相关。

脓毒症患儿血浆 miRNA-146a 的临界值为 2.98 时,敏感度、特异度分别为 90.42% 和 92.61%,其诊断心肌损伤的 AUC 为 0.937 (95% $CI: 0.887 \sim 0.987$),而与 IL-10 和 TNF- α 相比,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。三指标联合应用诊断的 AUC 为 0.957 (95% $CI: 0.917 \sim 0.997$)明显优于单个指标,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 5 和图 1。

表 2 两组脓毒症患儿血液指标检测结果比较

组别	例数	miRNA-146a	CK-MB/ (U · L ⁻¹)	NT-proBNP/ (ng · L ⁻¹)	PCT/ (μg · L ⁻¹)	CRP/ (mg · L ⁻¹)
心肌损伤组	57	5.99 ± 0.97	32.21 ± 5.06	2397.29 ± 234.45	17.72 ± 3.98	161.31 ± 41.43
非心肌损伤组	89	1.02 ± 0.29	27.65 ± 6.13	898.29 ± 93.27	13.02 ± 3.75	149.92 ± 34.67
<i>t</i>	—	11.919	4.421	5.424	5.024	4.091
<i>P</i>	—	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 3 两组脓毒症患儿 IL-10 和 TNF-α 及评分结果比较

组别	例数	APACHE II 评分	SOFA 评分	IL-10/(pg · mL ⁻¹)	TNF-α/(pg · mL ⁻¹)
心肌损伤组	57	18.89 ± 5.22	5.72 ± 2.84	15.98 ± 3.31	115.23 ± 13.85
非心肌损伤组	89	13.29 ± 4.17	4.28 ± 2.53	10.01 ± 2.08	158.26 ± 19.71
<i>t</i>	—	5.519	4.224	6.894	9.361
<i>P</i>	—	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 4 多因素 logistic 回归分析脓毒症患儿继发心肌损伤的危险因素

变量	β	SE	Waldχ ²	OR	95%CI	<i>P</i>
miRNA-146a	1.351	0.934	12.147	3.184	1.971~5.314	<0.05
IL-10	0.811	0.298	4.536	1.542	1.227~2.973	<0.05
TNF-α	0.885	0.312	5.316	2.102	1.228~4.095	<0.05

表 5 miRNA-146a 与其他指标对脓毒症心肌损伤的早期诊断价值

组别	AUC	95%CI	临界值	敏感度/%	特异度/%
miRNA-146a	0.937	0.887~0.987	2.98	90.42	92.61
IL-10	0.803	0.720~0.885	13.22 pg/mL	69.61	86.39
TNF-α	0.810	0.719~0.902	132.53 pg/mL	82.16	80.48
联合	0.957	0.917~0.997	—	91.98	94.55

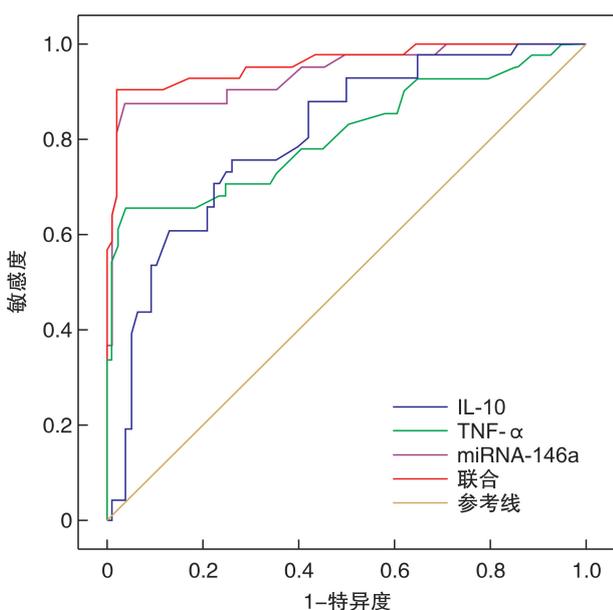


图 1 miRNA-146a 与其他指标对脓毒症心肌损伤的早期诊断 ROC 曲线

3 讨论

脓毒症导致机体重要脏器损伤是其病死率偏高的主要原因,而对于脓毒症的早期预警和治疗成

为降低病死率提供治愈率的有效手段^[1-2]。对于而脓毒症并发心肌损伤目前迫切需要一种特异性高的生物标志物,或者在诊断不明确时,作为一种互补的生物标志物^[12]。外周血单个核细胞、血浆和血清中的许多循环 miRNA 被发现与脓毒症疾病严重程度相关^[6]。有研究表明,miRNA-214 在脓毒症心肌损伤中扮演重要角色,通过调控 miRNA-214 的表达可以成为治疗脓毒症心肌损伤的潜在方案^[5]。蔡华忠等^[13]研究发现非编码 RNA 中 miRNA-155-5p 及 miRNA-133a-3p 在脓毒症心肌损伤患者中高表达,对脓毒症患者心肌损伤患者的诊断价值明显优于 cTnl。这些研究都表明 miRNA 的异常表达可能在脓毒症心肌损伤中发挥关键的作用^[14]。

我们的研究表明,脓毒症心肌损伤患儿的血浆中 miRNA-146a 的表达量明显增加 ($P < 0.05$)。余洁等^[15]研究发现相比于普通感染患者,脓毒症患者的血浆 miRNA-146a 表达明显升高。此外也有研究发现对于 ICU 收治的脓毒症患儿进行血浆 miRNA-146a 表达情况检测后发现,随着患儿病情的加重血浆 miRNA-146a 表达水平也明显升

高^[16]。进一步采用多因素 logistic 回归分析显示 miRNA-146a、IL-10 和 TNF- α 是脓毒症患儿发生心肌损伤的独立危险因素。有研究认为血浆 miRNA-146a 是脓毒症患病的独立预测因素,并与疾病严重程度、炎症因子水平及预后不良有关^[17]。王靖雯等^[18]研究认为 cTnI 和患儿性别是发生脓毒症心肌损伤的危险因素。此外,陈艳青等^[19]研究发现 APACHE II 评分、vWF、sTM、IL-10 是脓毒症/脓毒性休克患者 28 d 死亡的独立危险因素。通过相关性研究发现 miRNA-146a 表达情况与 cTnI、IL-10 和 TNF- α 呈正相关,这与余洁等^[15]研究结果相近。进一步 ROC 曲线结果表明,脓毒症患儿血浆 miRNA-146a 表达情况对脓毒症心肌损伤诊断的 AUC 为 0.937(95%CI:0.887~0.987),将 miRNA-146a 与 IL-10 和 TNF- α 联合应用后对脓毒症心肌损伤的早期诊断 AUC 达到 AUC 为 0.957(95%CI:0.917~0.997),优于单独诊断价值。此外有研究发现 miRNA-146a 对脓毒症患儿早期诊断的 AUC 为 0.803^[16]。因此,血浆 miRNA-146a 可以成为一种潜在诊断脓毒症早期心肌损伤的生物标志物。

综上所述,本研究表明,血浆 miRNA-146a 可以作为诊断脓毒症患儿心肌损伤的潜在生物标志物,其具有较高的诊断敏感性和特异度,与传统临床指标相比具有更高的应用价值。我们的研究也存在一些不足,作为单中心临床研究,且研究样本偏少,还需要大规模、多中心的临床研究给予佐证,同时需要探讨血浆 miRNA-146a 表达情况与其他临床指标联合应用的临床价值,从而为脓毒症合并心肌损伤的早期诊疗提供参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] 黄昆鹏. 脓毒症的定义、诊断与早期干预——不可分割的三要素[J]. 临床急诊杂志, 2021, 22(3): 221-226.
- [2] Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children[J]. Intensive Care Med, 2020, 46(Suppl 1): 10-67.
- [3] 刘慧敏,高志杰. 脓毒症心肌病发病机制及其应用的研究进展[J]. 临床急诊杂志, 2021, 22(6): 437-440.
- [4] de Souza DC, Shieh HH, Barreira ER, et al. Epidemiology of Sepsis in Children Admitted to PICUs in South America [J]. Pediatr Crit Care Med, 2016, 17(8): 727-734.
- [5] 程霞,聂优,陈如钰,等. microRNA-146a 与脓毒症免疫应答的研究进展[J]. 军事医学, 2020, 44(11): 865-868, 880.
- [6] 方静霞,张立. 脓毒症患儿血浆 miR-146a、miR-223 表达及其临床意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(2): 227-230.
- [7] 中华医学会儿科学分会急救学组,中华医学会急诊医学分会儿科学组,中国医师协会儿童重症医师分会. 儿童脓毒性休克(感染性休克)诊治专家共识(2015版)[J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(8): 576-580.
- [8] 杨龙贵,仇君,罗海燕,等. 肌钙蛋白 I 在脓毒症患儿的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(4): 388-391.
- [9] 王子文,王登基,徐晓梅,等. APACHE II 评分联合血清 PCT、D-D、LCR 对脓症患者预后不良的预测研究[J]. 临床急诊杂志, 2021, 22(2): 126-130.
- [10] 王立鹤,田小溪,付国强,校建波,李立宏. 脓症患者血清 miR-205 和 HMGB1 的表达关系及意义[J]. 临床急诊杂志, 2020, 21(4): 287-291.
- [11] 王静波,燕宪亮,王厚清,许铁. 血清 microRNA-25 对脓症患者病情严重程度及预后的评估价值[J]. 临床急诊杂志, 2020, 21(6): 493-498.
- [12] 张萌,段美丽,林瑾,等. 脓毒症心肌损伤患者的预后影响因素分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(8): 846-849.
- [13] 蔡华忠,秦晓梦,周峰,等. 血清 miRNA-155-5p 和 miRNA-133a-3p 表达对脓毒症心肌损伤的诊断价值[J]. 中国急救医学, 2019, 39(8): 736-738.
- [14] Ban E, Jeong S, Park M, et al. Accelerated wound healing in diabetic mice by miRNA-497 and its anti-inflammatory activity [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109613.
- [15] 余洁,乔忠祥,周汉明,等. miRNA-150、miRNA-146a 在脓毒症患儿血清中的表达及其临床意义[J]. 医学临床研究, 2017, 34(3): 444-447.
- [16] Karam RA, Zidan HE, Karam NA, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum miRNA-146-a expression in Egyptian children with sepsis in a pediatric intensive care unit [J]. J Gene Med, 2019, 21(11): e3128.
- [17] 王华,王莉,郭东风. 脓症患者血浆 miRNA-146a 表达与患病风险、炎症因子水平及预后的相关性分析[J]. 第二军医大学学报, 2020, 41(2): 135-140.
- [18] 王靖雯,肖曙芳,王艳俊,等. 脓毒症合并心肌损伤患儿的临床特征及预后分析[J]. 中国医师进修杂志, 2020, 43(7): 595-599.
- [19] 陈艳青,黄潇,孔桂青,等. HMGB1 和 vWF 等细胞因子对脓症患者病情严重程度及预后评估的意义[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(8): 933-937.

(收稿日期:2021-07-08)