

## ·论著·

# 血清中总 RNA 浓度在脓毒症诊断与预后评估中的应用

王慧娟 解立新

**【摘要】目的** 探讨血清中总 RNA 浓度在脓毒症患者诊断及预后评估方面的应用。**方法** 选择 2009 年 10 月至 2010 年 11 月入住解放军总医院重症监护病房(ICU)脓毒症患者 76 例,取血提取总 RNA 后测定其浓度,用散射比浊法测定 C-反应蛋白(CRP),用酶联荧光分析试验(ELFA)测定降钙素原(PCT);并记录患者的急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分和序贯器官衰竭评分(SOFA)。另选取 24 例年龄、性别匹配的健康人作为对照组。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线),判断血清总 RNA 浓度诊断脓毒症的最佳水平;采用二分类变量 logistic 回归分析脓毒症患者死亡危险因子。**结果** 脓毒症组血清中总 RNA 浓度( $\text{ng}/\mu\text{l}$ )较健康对照组明显升高[4.233(0.204, 37.733) 比 1.593(0.319, 5.913),  $P<0.01$ ],其诊断脓毒症的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.820;当总 RNA 浓度为 2.027  $\text{ng}/\mu\text{l}$  时,诊断脓毒症的敏感性为 95.9%,特异性为 65.2%。总 RNA 浓度在健康对照组、脓毒症生存组(42 例)和死亡组(34 例)呈逐级增高的趋势[3 组分别为 1.593 (0.319, 5.913)、4.178(0.204, 10.776)、5.006(0.997, 37.733),  $F=8.061, P=0.001$ ]。二分类变量多因素 logistic 回归分析显示,APACHE II 评分、SOFA 评分是脓毒症患者死亡的独立危险因子[APACHE II 评分:优势比(OR)=1.265, 95% 可信区间(95%CI)为 (1.031, 1.553),  $P=0.025$ ;SOFA 评分:OR=1.151, 95% CI (1.031, 2.284),  $P=0.012$ ],而 PCT 则无关[ $OR=1.075, 95\% CI (0.974, 1.187), P=0.151$ ]。总 RNA 浓度在二分类变量单因素 logistic 回归分析中显示的 OR 为 1.149,但由于样本量太少,  $P=0.061$ 。**结论** 脓毒症患者血清总 RNA 浓度明显升高,且与病情严重程度相关,可以用于脓毒症时的检测。

**【关键词】** 脓毒症; 总 RNA 浓度; 急性生理学与慢性健康状况评分系统 II 评分; 序贯器官衰竭评分; 预后

The diagnostic and prognostic values of serum total RNA concentration in patients with sepsis WANG Hui-juan, XIE Li-xin. Department of Respiration Disease, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China  
Corresponding author: XIE Li-xin, Email: xiex@263.net

**[Abstract]** **Objective** To explore the diagnostic and prognostic roles of serum total RNA in patients with sepsis. **Methods** Seventy-six patients with sepsis admitted to intensive care unit (ICU) of Chinese PLA General Hospital from October 2009 to November 2010 were enrolled. Blood samples were drawn from these patients and total RNAs of these blood samples were isolated. The concentration of total RNA in the samples was detected. C-reactive protein (CRP) was determined by scattering turbidimetry, and procalcitonin (PCT) was determined using enzyme-linked fluorescence analysis (ELFA). Acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score and sequential organ failure assessment (SOFA) score were recorded. Twenty-four healthy individuals with matched age and sex were enrolled as normal controls. Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to determine the optimal concentration of serum total RNA for the diagnosis of sepsis. Binary logistic regression analysis was used to analyze the risk factors of sepsis patients. **Results** The concentration of serum total RNA ( $\text{ng}/\mu\text{l}$ ) in sepsis group was significantly higher than healthy controls [4.233 (0.204, 37.733) vs. 1.593 (0.319, 5.913),  $P<0.01$ ]. The area under curve (AUC) of the diagnosis of sepsis was 0.820. When the cut-off point was set at 2.027  $\text{ng}/\mu\text{l}$ , the concentration of serum total RNA yielded a sensitivity of 95.9% and a specificity of 65.2%. Total RNA concentration in the healthy controls, the survival group ( $n=42$ ) and non-survival group ( $n=34$ ) were stepwisely increased [1.593 (0.319, 5.913), 4.178 (0.204, 10.776), 5.006 (0.997, 37.733), respectively,  $F=8.061, P=0.001$ ]. Binary multivariate logistic regression analysis showed that APACHE II score and SOFA score were independent risk factors of septic patients [APACHE II score: odds ratio (OR)=1.265, 95% confidence interval (95%CI) 1.031 to 1.553,  $P=0.025$ ; SOFA score: OR=1.151, 95% CI 1.031 to 2.284,  $P=0.012$ ]. But PCT was not independent risk factor of sepsis patients ( $OR=1.075, 95\% CI 0.974 \text{ to } 1.187, P=0.151$ ). In the binary univariate logistic regression analysis model, the OR of total RNAs was 1.149, but  $P$  value was 0.061, because of the small sample size. **Conclusions** The concentration of total RNA in sepsis patients' serum was significantly increased and correlated to the severity of sepsis, which can be used as biomarkers for sepsis patients.

**【Key words】** Sepsis; Concentration of total RNA; Acute physiology and chronic health evaluation II score; Sequential organ failure assessment score; Prognosis

脓毒症(sepsis)是危重患者最主要的死因之一。虽然近年来对脓毒症及其并发症的认识有了很大的进展,但是由于其发病机制的复杂性,距离彻底搞清脓毒症的发病机制还有很长的路要走<sup>[1]</sup>。近年来有研究显示,细胞与细胞之间基因信息交换是通过循环于血液中的微泡(microvesicles)进行的<sup>[2]</sup>;且与血管内环境平衡及脓毒症过程中凝血功能紊乱密切相关<sup>[3-4]</sup>。本研究中通过检测脓毒症患者血清中 RNA 含量,研究血清中微泡在脓毒症诊断与评价预后方面的价值。

## 1 资料与方法

**1.1 研究设计:**采用前瞻性研究方法,经解放军总医院伦理委员会审批(批号 20100722-003)及中国临床试验注册(注册号 ChiCTR-OCC10001051);患者或患者家属获得充分告知并签署知情同意书。

**1.2 临床资料:**76 例研究对象为 2009 年 10 月至 2010 年 11 月在解放军总医院呼吸重症监护病房(RICU)、外科重症监护病房(SICU)和急诊重症监护病房(EICU)住院治疗的脓毒症患者,诊断按 1991 年美国胸科医师协会/危重病医学会(ACCP/SCCM)制定的标准<sup>[5]</sup>以及 2010 德国脓毒症指南<sup>[6]</sup>。明确脓毒症诊断 24 h 内采血。按 28 d 病死率分为生存组(42 例)与死亡组(34 例),其临床资料见表 1。

排除标准:①年龄<18 岁;②入组 24 h 内死亡;③粒细胞缺乏(<0.5×10<sup>9</sup>/L);④合并人类免疫缺陷病毒(HIV)感染;⑤不同意参加本研究者。

同期 24 例健康人为对照组,其中男性 14 例,女性 10 例;年龄 26~87 岁,平均(60.3±18.1)岁。

**1.3 血清样本准备与 RNA 提取:**采用含促凝剂和分离胶的生化管采集受试者血样 5 ml,采血 24 h 内离心 15 min,上清转移至洁净的小离心管(EP 管)中,再次离心 30 min 去除细胞碎片,吸取上层血清于洁净的 EP 管中,-80 °C 冻存备用。按照 mirVana PARIS 试剂盒使用说明书,从 300 μl 血清中提取总 RNA。用贝克曼 DU800 型紫外分光光度计测定波长 260 nm 处吸光度( $A_{260}$ )值。总 RNA 浓度(ng/μl)=

$A_{260}$  值 × 稀释倍数 × 40,且  $A_{260}/A_{280}$  为 1.8~2.1。

**1.4 C-反应蛋白(CRP)与降钙素原(PCT)检测方法:**采用散射比浊法检测 CRP;采用酶联荧光分析试验(ELFA)检测 PCT;操作均按照试剂盒生产商使用说明书进行,且检测均重复 2 次。

**1.5 病情严重程度对预后的影响:**记录患者入院 24 h 内各项临床指标的最差值,进行急性生理学与慢性健康状况评分系统Ⅱ(APACHE Ⅱ)评分,并且记录相关指标进行序贯器官衰竭评分(SOFA)。

**1.6 统计学分析:**采用 SPSS 16.0 统计软件处理和分析数据。符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析;偏态分布的计量资料以中位数(四分位数)[ $M(Q_L, Q_U)$ ]表示,两组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。评价指标的诊断价值采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线),遵循约登指数最大值作为截断值(cut-off)原则,计算此时诊断脓毒症的敏感性与特异性。采用二分类变量的 logistic 回归分析脓毒症患者死亡的危险因素。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 总 RNA 浓度诊断脓毒症的价值:**脓毒症组患者的总 RNA 浓度明显高于健康对照组,差异有统计学意义( $P<0.01$ ;图 1)。为了分析总 RNA 浓度诊断脓毒症的价值,绘制了 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC)为 0.820,95% 可信区间(95% CI)为(0.716,0.923),差异有统计学意义( $P<0.01$ ;图 2)。当总 RNA 浓度为 2.027 ng/μl 时,诊断脓毒症的敏感性为 95.9%,特异性为 65.2%。

**2.2 总 RNA 浓度及其他相关指标评价脓毒症预后的价值(图 3;表 2):**健康对照组、脓毒症生存组与死亡组的总 RNA 浓度逐级增高。单因素方差分析显示,3 组间总 RNA 浓度差异有统计学意义( $F=8.061, P=0.001$ )。脓毒症死亡组 APACHE Ⅱ 评分、总 RNA 浓度、SOFA 评分、CRP 和 PCT 均显著高于生存组,差异有统计学意义( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。

表 1 脓毒症生存组与死亡组患者的一般资料比较

组别	例数	性别		年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	入院诊断[例(%)]					脓毒症 [例(%)]	严重脓毒症 [例(%)]	脓毒性休克 [例(%)]
		男	女		肺感染	术后	SAP	多发伤	其他			
生存组	42	29	13	64.2±16.7	16(38.1)	12(28.6)	3(7.1)	2( 4.8)	9(21.4)	16(38.1)	24(57.1)	2( 4.8)
死亡组	34	21	13	56.4±20.3	19(55.9)	4(11.8)	2(5.9)	6(17.6)	3( 8.8)	0( 0 )	19(55.9)	15(44.1)

注:SAP:重症急性胰腺炎



### 3 讨 论

脓毒症的发病机制复杂,各器官系统均参与发病,其中内皮细胞是炎症反应中的主要靶器官,实时监测其标记基因 Tie2 mRNA 含量可反映血管内皮细胞损伤程度,有助于判断脓毒症患者的病情变化<sup>[7]</sup>;而其他单一指标如 CRP、PCT 等并不能很好地评估脓毒症患者的病情严重程度<sup>[8]</sup>;APACHE II 评分、SOFA 评分系统现已广泛用于脓毒症患者的病情评估<sup>[9]</sup>。本研究也证实,APACHE II 评分、SOFA 评分是脓毒症患者死亡的独立危险因子,但二者仅是对患者病情的评估,并不能为脓毒症的发病机制研究提供新的视野。

微泡是大部分细胞膜表面脱落或释放的微粒体<sup>[10]</sup>。很多证据显示,微泡在细胞与细胞之间的信息沟通上起着举足轻重的作用<sup>[11]</sup>。不同来源的微泡有不同的命名,来源于激活的血小板的微泡叫作微粒;肿瘤细胞分泌的微泡叫作微粒体;中性粒细胞来源的微泡叫核外颗粒体<sup>[10]</sup>。微泡内含有膜受体、蛋白质、基因、小分子 RNA 等各种生物活性分子和细胞器。在外周血中,2/3 的微泡来源于血小板,这些微泡可以调控造血细胞、内皮细胞和单核细胞内的基因表达,从而诱导免疫反应<sup>[12-13]</sup>。更值得注意的是,血小板来源的微泡在脓毒症患者的血清中是增加的<sup>[4,14]</sup>。早在 2000 年 Nieuwland 等<sup>[15]</sup>便用流式细胞术证实了脓毒症过程中微泡的来源,且这些微泡同脓毒症过程中的凝血功能紊乱是相关的。

近年来大量研究证明,血清中的微粒体可以用于疾病诊断而应用于临床<sup>[16]</sup>。Rainer 等<sup>[17]</sup>发表于 *Clinical Chemistry* 的研究证实了循环 DNA 浓度预测急性卒中患者 6 个月病死率的 AUC 为 0.89,OR 为 1.6,并且是急性卒中患者死亡的独立危险因子。本研究结果显示,脓毒症患者血清中总 RNA 浓度增高,证实了微泡在脓毒症患者血液中分泌增加;总 RNA 浓度诊断脓毒症的 AUC 为 0.820,并且当浓度为 2.027 ng/μl 时,总 RNA 浓度诊断脓毒症的敏感性为 95.9%,而诊断的敏感性在危重病的治疗中是极其重要的。所以,检测脓毒症血清中总 RNA 浓度在脓毒症早期诊断中是有临床价值的。

本研究中,脓毒症患者血清总 RNA 浓度明显高于健康对照组,脓毒症死亡组患者血清中总 RNA 浓度较生存组明显增高。说明病情越重,细胞释放至血清中的微泡数量越多,则总 RNA 含量也增加。前期研究也证实,在脓毒症患者血清中,内皮细胞微粒的数量随病情的加重逐渐增加<sup>[18]</sup>;而血必净注

射液治疗后,脓毒症患者血清中的组织细胞微粒是减少的<sup>[19]</sup>。在本研究中,总 RNA 的来源并不是单一的,所以更能准确反映脓毒症血清中微粒数量的总体情况。二分类变量单因素 logistic 回归分析显示总 RNA 浓度的 OR 为 1.149,可以作为脓毒症死亡的危险因子,但是由于样本量少,P 值为 0.061,后期的研究将扩大样本量进一步验证该结果。

### 4 结 论

通过本研究可以认为,血清中总 RNA 浓度可以用来早期诊断脓毒症,并且具有较高的敏感性;同时总 RNA 浓度也可以用来评价预后,但尚需扩大样本量继续证实。

**志谢:**感谢解放军总医院呼吸重症监护病房、急诊重症监护病房及外科重症监护病房各位医师和护士给予本试验的支持和帮助。

### 参考文献

- [1] 章志丹,马晓春. 脓毒症血管内皮细胞损伤与微循环功能障碍. 中国危重病急救医学, 2011, 23:125-128.
- [2] Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. Nat Cell Biol, 2007, 9:654-659.
- [3] 殷冬梅,孙茜,李银平. 前凝血微粒与血管内环境的平衡. 中国危重病急救医学, 2009, 21:504-506.
- [4] 殷冬梅,李银平. 微粒与脓毒症凝血功能紊乱. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16:190-192.
- [5] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Intensive Care Med, 2003, 29:530-538.
- [6] 李志军,王东强,田永超,等. 2010 德国脓毒症指南解读——关于脓毒症的预防、诊断、治疗及后续护理. 中国危重病急救医学, 2011, 23:257-262.
- [7] 杨京,黄健,杨文琼,等. 血循环中 Tie2 mRNA 含量对脓毒症患者全身病情变化评价作用的研究. 中国危重病急救医学, 2010, 22:361-363.
- [8] 张柳,安友仲. 脓毒症的阶段性生物标志物. 中国危重病急救医学, 2011, 23:509-512.
- [9] 谢锋文,潘景业. 急性生理学与慢性健康状况评分系统:1978—2010. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17:378-381.
- [10] Camussi G, Deregibus MC, Bruno S, et al. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. Kidney Int, 2010, 78:838-848.
- [11] Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, et al. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. Leukemia, 2006, 20:1487-1495.
- [12] Setzer F, Oberle V, Bläss M, et al. Platelet-derived microvesicles induce differential gene expression in monocytic cells: a DNA microarray study. Platelets, 2006, 17:571-576.
- [13] 蔡国龙. 微小 RNA 在脓毒症中的免疫调控. 中国危重病急救医学, 2010, 22:563-565.

- [14] Janiszewski M, Do Carmo AO, Pedro MA, et al. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD (P)H oxidase activity: a novel vascular redox pathway. *Crit Care Med*, 2004, 32:818-825.
- [15] Nieuwland R, Berckmans RJ, McGregor S, et al. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. *Blood*, 2000, 95:930-935.
- [16] Simpson RJ, Lim JW, Moritz RL, et al. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteomics*, 2009, 6: 267-283.
- [17] Rainer TH, Wong LK, Lam W, et al. Prognostic use of circulating plasma nucleic acid concentrations in patients with acute stroke. *Clin Chem*, 2003, 49:562-569.
- [18] 古秀雯, 刘伟, 毛恩强, 等. 脓毒症患者血管内皮功能的细胞标记物检测. 中国危重病急救医学, 2009, 21:32-35.
- [19] 殷冬梅, 孙茜, 李银平, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠外周血组织因子微粒表达的影响. 中国危重病急救医学, 2009, 21: 564-565.

(收稿日期: 2011-03-28)

(本文编辑:李银平)

## ·学术活动预告·

### 《中国危重病急救医学》杂志天津生化杯有奖征文通知

《中国危重病急救医学》杂志编辑委员会与天津生物化学制药有限公司拟于 2012 年共同举办《中国危重病急救医学》杂志天津生化杯有奖征文活动, 现将有关事项通知如下。

- 1 征文内容: 有关注射用氢化可的松琥珀酸钠在急诊、危重症领域的临床应用经验总结和基础研究。可为论著或病例报告形式, 具体书写要求和格式请参考本刊稿约(刊登于每年第 1 期第 63~64 页和第 7 期第 447~448 页), 以及在本刊刊出的论著和病例报告类论文。
- 2 首次征文时间: 2012 年 4 月开始, 2012 年 8 月 30 日截至。
- 3 征集方式: 稿件请以“第一作者姓名 + 论文题目”命名, 发送至 [cccm@em120.com](mailto:cccm@em120.com) 或 [tjbp-xueshu@163.com](mailto:tjbp-xueshu@163.com), 邮件主题请注明“琥珀氢可征文”。本活动只接受电子邮件投稿。
- 4 注意事项: ①尚未公开发表的论文; ②内容须具有科学性、先进性和实用性, 数据须准确无误; ③为方便联系, 稿件上请注明: 单位、地址、邮编、电话、邮箱以及所有作者姓名。
- 5 评审办法: 征文结束后由本活动专家委员会对征文进行评审, 论文第一作者视为获奖者, 获奖名单刊登于《中国危重病急救医学》杂志上。
- 6 奖项设置: 一等奖 2 名, 赞助参加国际重要学术会议 1 次; 二等奖 3 名, 赞助参加国内重要学术会议 1 次; 三等奖 5 名, 赞助参加省内学术会议 1 次; 凡参与者均可获得精美纪念礼品 1 份。
- 7 联系人: 徐津鹏; 电话: 022-24891391, 13820882016。

### 中华医学会急诊医学分会第 15 次全国急诊医学学术年会参会通知

为了帮助全国各医院(含港、澳、台)从事急诊医学、院前急救、危重症监护的专业人员; 各社区、卫生站、急救点从事相关专业的医务人员; 各医学院校从事急诊急救基础研究、临床教学的有关人员进一步了解、探讨有关急诊医学的新成果和新进展, 提高我国急诊治疗的整体水平, 由中华医学会、中华医学会急诊医学分会主办的第 15 次全国急诊医学学术年会将于 2012 年 6 月 14 日至 17 日在湖南省长沙市圣爵菲斯酒店举行。

大会的专题讨论将涉及急诊医学中的创伤救治、心肺复苏的基础和临床研究、院前急救、重症监护、急诊护理、急诊急救的质量控制、社区医疗与急诊急救、中西医结合在急救中的应用以及流行病学调查等广泛的内容。会议学术交流具有质量高、范围广的突出特点。我们热忱地期盼您参加本次会议。

- 1 会议日期: 2012 年 6 月 14 日至 17 日。
- 2 会议地点: 长沙圣爵菲斯大酒店(原湖南国际影视会展中心); 地址: 长沙市开福区浏阳河大桥东金鹰影视文化城; 电话: 0731-84252333。
- 3 会议注册方式: 登录会议网站 [www.csem.org.cn](http://www.csem.org.cn), 点击“个人网上会议注册”, 使用个人电子邮件注册参会。已在大会网站提交过论文的代表, 请直接使用已有的网站账号和密码登陆, 否则请先进行新用户注册。技术问题敬请咨询: 15201156887。
- 4 报到时间: 2012 年 6 月 14 日 09:00~20:00; 地点: 长沙圣爵菲斯大酒店欢城一楼大堂。
- 5 注册费: 900 元 / 人。
- 6 授予学分: 国家 I 类医学继续教育学分。
- 7 联系方式: ①大会会务组, 学术、展览秘书处: 中华医学会学术会务部 北京东四西大街 42 号, 邮编: 100710; 电话: 010-85158149、85158055、85158147(学术、展览); 传真: 010-65123754; Email: [catherineli@cma.org.cn](mailto:catherineli@cma.org.cn)。②会议注册秘书处: 北京美迪康信息咨询有限公司; 联系人: 王世慧; 电话: 010-58302488-807, 15201156887; 传真: 010-65123754; Email: [wsh19861222@126.com](mailto:wsh19861222@126.com)。