

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.01.027

## lncRNA THRIL 在 ICU 脓毒症患者血清中的表达水平及临床价值

杨志勇,刘维娜<sup>△</sup>

西安国际医学中心医院重症医学科,陕西西安 710100

**摘要:**目的 探讨血清长链非编码 RNA-肿瘤坏死因子相关异种核糖核蛋白(lncRNA THRIL)水平与重症监护室(ICU)脓毒症患者病情严重程度的关系。方法 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测该院 ICU 脓毒症患者与健康志愿者血清 lncRNA THRIL 的表达差异;并比较不同临床病理参数脓毒症患者血清 lncRNA THRIL 的表达差异,分析 lncRNA THRIL 表达水平与脓毒症严重程度关系;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估 lncRNA THRIL 对脓毒症患者预后的预测价值。结果 脓毒症患者血清 lncRNA THRIL 的相对表达量明显高于健康志愿者( $t = -13.627, P < 0.05$ )。lncRNA THRIL 在不同脓毒症严重程度患者及不同急性生理学与慢性健康状况评分 II 判断的不同严重程度患者中表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。lncRNA THRIL 预测脓毒症预后的曲线下面积为 0.839,灵敏度、特异度分别为 87.8%、81.4%。结论 lncRNA THRIL 在脓毒症患者血清高表达,并与脓毒症的严重程度有一定关系,可作为脓毒症预后的预测因子。

**关键词:**脓毒症;长链非编码 RNA 肿瘤坏死因子相关异种核糖核蛋白;受试者工作特征曲线

**中图分类号:**R631

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2023)01-0109-03

脓毒症是机体对感染的反应失调导致危及生命的器官功能障碍性疾病,通常伴随严重创伤、烧伤、休克和大手术,临床表现为炎症介质大量释放到外周血中,该病是重症监护室(ICU)的常见病<sup>[1]</sup>。严重脓毒症或脓毒性休克导致的病死率预计为 28%~50%<sup>[2]</sup>,其原因之一是脓毒症的临床症状不典型,若根据微生物培养及药敏结果指导临床使用抗菌药物,会延误患者病情,进而增加死亡风险。因此,寻找脓毒症进展的生物标志物对于脓毒症的诊断、治疗及预后至关重要。有多个研究证实长链非编码 RNA(lncRNA)与脓毒症的进程密切相关,其调控机制也有了一些报道<sup>[3-6]</sup>。长链非编码 RNA-肿瘤坏死因子相关异种核糖核蛋白(lncRNA THRIL)可通过调控肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )的表达及活性而参与炎症反应<sup>[7-8]</sup>,但其在脓毒症中的作用如何报道较少,故本研究探讨脓毒症患者血清 lncRNA THRIL 的表达情况及其与脓毒症严重程度的相关性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2018 年 9 月至 2021 年 9 月在本院 ICU 治疗的脓毒症患者作为试验组。纳入标准:(1)符合 2016 年美国重症医学会与欧洲重症医学会联合发布的《脓毒症的定义与诊断标准》<sup>[9]</sup>;(2)年龄 $\geq 18$ 岁, $< 75$ 岁。排除标准:(1)年龄 $< 18$ 岁者;(2)自身免疫缺陷综合征患者或近半年使用免疫抑制剂者;(3)合并恶性肿瘤者;(4)妊娠期或哺乳期女性;(5)严重肝肾功能障碍者;(6)恶性血液病或血液传染病者。试验组共入组 117 例,其中男 60 例,女 57 例;年龄 29~71 岁,平均(59.29 $\pm$ 12.28)岁;一般脓毒症 33 例,严重脓毒症 46 例,脓毒性休克 38 例;按照急性

生理学与慢性健康状况评分 II(APACHE II 评分),该评分系统包括年龄、格拉斯哥昏迷评分(GCS)、生理指标及有无严重器官系统功能不全及免疫损害等,将患者分为轻度 30 例,中 51 例,重度 36 例。收集同期在本院体检的健康志愿者共 78 例作为对照组。对照组中男 38 例,女 40 例;年龄 28~72 岁,平均(60.31 $\pm$ 10.37)岁。两组受试者年龄( $t = 1.291, P = 0.087$ )、性别构成( $\chi^2 = 0.123, P = 0.726$ )比较,差异无统计学意义,具有可比性。两组受试者均签署知情同意书,且本研究经本院伦理委员批准。

**1.2 方法** 采集受试者清晨空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 15 min,立即采用 Trizol 试剂(Takara,日本)提取血清总 RNA,通过分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的水平 and 纯度,当纯度处于 1.8~2.1 时可进行反转录试验。取 1  $\mu$ g 总 RNA 以 Random Primer & Oligo DT 为引物反转录为 cDNA(ribo SCRIPTTM Reverse Transcription kit,广州瑞博生物技术有限公司);采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 lncRNA THRIL 表达,严格按照 SYBR Green PCR 试剂盒(ribo SCRIPTTM lncRNA qRT-PCR Starter Kit,广州瑞博生物技术有限公司)说明书操作。引物序:lncRNA THRIL 上游引物 5'-AACTTCACAGGAACACTACACAAGA-3',下游引物 5'-TAGGCAACA GAGAGCAAGACTTCATC-3';内参为 GAPDH,上游引物 5'-GGCTAGTCGTAGCATCG-3',下游引物 5'-TG-GCATGCCCGATCGATC-3'。扩增程序:95  $^{\circ}$ C 预变性 10 min,95  $^{\circ}$ C 变性 5 s,60  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s,进行 40 个循环,每次试验设置 5 个复孔,反应结

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:654146242@qq.com.

束后采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 lncRNA THRIL 的相对表达水平。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据处理和分析。计量资料均进行正态性检验,符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;多组样本均数间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK- $q$  检验或 LSD- $t$  检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估 lncRNA THRIL 对脓毒症患者预后的预测价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 试验组和对照组 lncRNA THRIL 表达差异** 对 lncRNA THRIL 进行正态性检验,两组数据均符合正态性分布( $P = 0.200, 0.051$ )。试验组患者 lncRNA THRIL 的相对表达量为  $2.61 \pm 0.82$ ,对照组的相对表达量为  $1.33 \pm 0.47$ ,试验组患者 lncRNA THRIL 相对表达量明显高于对照组,差异有统计学意义( $t = -13.627, P < 0.05$ )。

**2.2 lncRNA THRIL 表达水平与脓症患者临床病理参数的关系** lncRNA THRIL 表达水平与患者年龄、性别无关( $P > 0.05$ ),lncRNA THRIL 在不同脓毒症严重程度患者及由 APACHE II 评分判断不同严重程度患者中表达水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),脓毒性休克及 APACHE II 评分判断为重度的患者 lncRNA THRIL 表达水平显著升高( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 不同临床病理参数脓症患者血清 lncRNA THRIL 表达水平( $\bar{x} \pm s$ )

项目	n	lncRNA THRIL 表达水平	F/t	P
年龄(岁)			1.312	0.167
≤55	58	2.56±0.55		
>55	59	2.67±0.31		
性别			1.032	0.213
男	60	2.55±0.61		
女	57	2.63±0.36		
脓毒症严重程度			15.372	<0.001
一般脓毒症	33	1.94±0.36		
严重脓毒症	46	2.30±0.43 <sup>a</sup>		
脓毒性休克	38	3.56±0.67 <sup>ab</sup>		
APACHE II 评分判断严重程度			14.289	<0.001
轻度	30	1.87±0.29		
中度	51	2.43±0.55 <sup>*</sup>		
重度	36	3.39±0.48 <sup>* #</sup>		

注:与一般脓毒症相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与严重脓毒症相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 APACHE II 评分判断轻度相比;<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,与 APACHE II 评分判断中度相比,<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

**2.3 ROC 曲线评估 lncRNA THRIL 对脓症患者预后的预测价值** 试验组脓症患者中共 43 例死亡,74 例生存,采用 ROC 曲线评估 lncRNA THRIL 对脓症患者预后的预测价值,结果表明 lncRNA THRIL 可以作为脓症患者预后的潜在分子标志物( $P < 0.001$ )。其预测脓症患者预后的曲线下面积(AUC)为 0.839,95%CI 为 0.764~0.915,约登指数为 0.692,灵敏度、特异度分别为 87.8%、81.4%。见图 1。

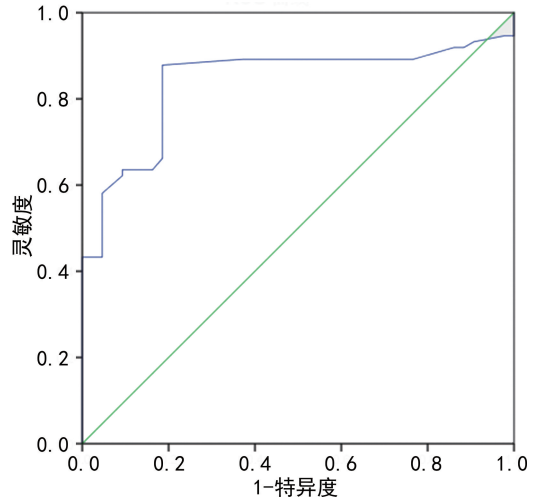


图 1 lncRNA THRIL 预测脓症患者预后的 ROC 曲线

## 3 讨论

lncRNA 参与机体免疫反应已被越来越多地揭示,其免疫调节作用也已在各种免疫细胞,如单核细胞和树突状细胞中得到证实<sup>[10]</sup>。此外,在调节型 T 细胞(Th)1、Th2 和 Th17 的分化过程中,不同的 lncRNA 也表现出不同的作用,这进一步说明了 lncRNA 与炎症反应和炎症因子表达密切相关<sup>[11-12]</sup>。lncRNA 在脓毒症中的作用也逐渐被报道,ZHAN 等<sup>[13]</sup>通过盲肠结扎和穿刺建立脓毒性脑病大鼠模型,注射 shRNA-LncRNA-5657 治疗大鼠,结果发现治疗后抑制了大鼠海马神经元变性和降低坏死水平,降低了水通道蛋白 4(AQP4)、肝素酶(HPSE)和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)的免疫反应性,并降低了 TNF- $\alpha$  的水平。这些发现表明,lncRNA-5657 的表达可以显著减轻脓毒性脑病期间的炎症反应,并诱导对该疾病的保护作用。袁超等<sup>[14]</sup>探讨了 lncRNA MEG3 在脓症患者中的表达情况及意义,结果发现 lncRNA MEG3 在脓症患者血浆中高表达,并且其表达水平与脓毒症的严重程度有一定相关性,可以作为脓毒症预后的预测因子。lncRNA 与脓毒症进展的机制包括:作用 miRNA 的“分子海绵”,与 miRNA 形成分子海绵,进一步影响炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素等的表达<sup>[6,14]</sup>;或通过细胞信号通路而影响炎症因子水平<sup>[15-16]</sup>。

lncRNA THRIL 通过调控 TNF- $\alpha$  水平参与体内

的炎症反应和免疫应答, XU 等<sup>[17]</sup>通过临床试验发现 THRIL 高表达与骨肉瘤组织和血清样本中 TNF- $\alpha$  水平升高有关。另外 lncRNA THRIL 过表达与心肌细胞损伤和心功能不全有关<sup>[18]</sup>。还有研究表明在脓毒症小鼠模型中,抑制 lncRNA THRIL 可减少炎症细胞数量和促炎细胞因子的产生<sup>[19]</sup>。本研究探讨 lncRNA THRIL 在脓毒症患者血清中的表达情况,并进一步探讨其与脓毒症严重程度的关系及对脓毒症预后的预测价值。结果显示,与对照者相比, lncRNA THRIL 在脓毒症患者血清高表达,并且其表达水平与脓毒症的严重程度有一定关系。lncRNA THRIL 预测脓毒症患者预后的 AUC 为 0.839,灵敏度、特异度分别为 87.8%、81.4%。以上结果表明 lncRNA THRIL 与脓毒症的严重程度有关,并对脓毒症预后有一定预测价值。该结果与 LIU 等<sup>[20]</sup>的结果有一定的一致性,该研究者发现 lncRNA THRIL 在脓毒症患者中表达上调, lncRNA THRIL 的过表达导致 TNF- $\alpha$  的水平增加是脂多糖(LPS)诱导的炎症反应的增强剂。

综上所述, lncRNA THRIL 表达水平与脓毒症的严重程度有一定关系,并且对于 ICU 脓毒症患者的预后有一定预测价值,可进一步在临床中扩大样本量进行研究,为脓毒症的诊断、治疗和预后提供更多的参考。

### 参考文献

[1] 徐巍, 陈志冬, 唐坎凯, 等. lncRNA-HOTAIR 对脓毒症疾病的临床诊断价值[J]. 现代实用医学, 2020, 32(3): 371-372.

[2] WANG Y, XU Z, YUE D, et al. Linkage of lncRNA CRNDE sponging miR-181a-5p with aggravated inflammation underlying sepsis [J]. *Innate Immun*, 2019, 26(2):152-161.

[3] 戴巍, 胡世林, 钱克俭. 长链非编码 RNA 在脓毒症肺损伤中作用的研究进展[J]. 江西医药, 2019, 54(4): 430-432.

[4] HUANG Q, HUANG C, LUO Y, et al. Circulating lncRNA NEAT1 correlates with increased risk, elevated severity and unfavorable prognosis in sepsis patients [J]. *Am J Emerg Med*, 2018, 36(9): 1659-1663.

[5] WANG X, LI X L, QIN L J. The lncRNA XIST/miR-150-5p/c-Fos axis regulates sepsis-induced myocardial injury via TXNIP-modulated pyroptosis [J]. *Lab Invest*, 2021, 101:1118-1129.

[6] JIANG Z J, ZHANG M Y, FAN Z W, et al. Influence of lncRNA HOTAIR on acute kidney injury in sepsis rats through regulating miR-34a/Bcl-2 pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(8): 3512-3519.

[7] SAYAD A, HAJIFATHALI A, OMRANI M D, et al. Expression of TNF-and HNRNPL-related immunoregulatory long non-coding RNA (THRIL) in acute myeloid leukemia; is there any correlation [J]. *Iran J Allergy Asthm*,

2018, 17(3): 274-280.

[8] NAF A, OGS B, EAM C, et al. Diagnostic potential of metastasis-associated-lung-adenocarcinoma-transcript-1 (MALAT-1) and TNF $\alpha$  and hnRNPL related immunoregulatory long non-coding RNA (THRIL) in systemic lupus erythematosus patients: relation to disease activity [J]. *Egypt Rheumatol*, 2019, 41(3): 197-201.

[9] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810.

[10] ZHAN Y A, QIU X L, WANG X Z, et al. Reducing LncRNA-5657 expression inhibits the brain inflammatory reaction in septic rats [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(7): 1288-1293.

[11] KÖLLING M, GENSCHEL C, KAUCSAR T, et al. Hypoxia-induced long non-coding RNA Malat1 is dispensable for renal ischemia/reperfusion-injury [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3438.

[12] LIAO K, XU J, YANG W, et al. The research progress of LncRNA involved in the regulation of inflammatory diseases [J]. *Mol Immunol*, 2018, 101: 182-188.

[13] ZHAN Y A, QIU X L, WANG X Z, et al. Reducing LncRNA-5657 expression inhibits the brain inflammatory reaction in septic rats [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(7): 1288-1293.

[14] 袁超, 金娜. lncRNA MEG3 在脓毒症患者血浆中的表达及其临床意义 [J]. 临床检验杂志, 2020, 38(9): 680-683.

[15] WANG M, WEI J, SHANG F, et al. Down-regulation of lncRNA SNHG5 relieves sepsis-induced acute kidney injury by regulating the miR-374a-3p/TLR4/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *J Biochem*, 2021, 169(5): 575-583.

[16] LIU F, HU S, ZHAO N, et al. LncRNA-5657 silencing alleviates sepsis-induced lung injury by suppressing the expression of spinster homology protein 2 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106875.

[17] XU B, JIN X, YANG T, et al. Upregulated lncRNA THRIL/TNF- $\alpha$  signals promote cell growth and predict poor clinical outcomes of osteosarcoma [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(1): 119-129.

[18] SHENG C, HU F, WU L. Geniposide alleviates hypoxia-induced injury by down-regulation of lncRNA THRIL in rat cardiomyocytes derived H9c2 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 854: 28-38.

[19] CHEN H, HU X, LI R, et al. LncRNA THRIL aggravates sepsis-induced acute lung injury by regulating miR-424/ROCK2 axis [J]. *Mol Immunol*, 2020, 126: 111-119.

[20] LIU T, LIU J, TIAN C, et al. LncRNA THRIL is upregulated in sepsis and sponges miR-19a to upregulate TNF- $\alpha$  in human bronchial epithelial cells [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2020, 17(1): 31-37.