

血清miR-223预测多发性骨折患者术后感染的临床价值分析

王刚刚¹, 张加良², 臧正³, 张海宁^{1*}

¹青岛大学附属医院关节外科, 山东 青岛

²诸城市桃园卫生院, 山东 潍坊

³诸城市人民医院, 山东 潍坊

Email: *zhhaining@hotmail.com

收稿日期: 2020年11月21日; 录用日期: 2020年12月10日; 发布日期: 2020年12月17日

摘要

目的: 本研究旨在探讨多发性骨折术后感染患者中血清miR-223的表达水平, 并对其诊断价值进行评估。方法: 选取于我院收治的120例多发性骨折患者, 根据术后感染情况, 分为感染组(n = 65)和非感染组(n = 55)。通过qRT-PCR对患者术前血清miR-223及C-反应蛋白(CRP)的表达水平进行检测。通过绘制受试者工作特征曲线对其诊断价值进行评估。结果: 多发性骨折术后感染组患者血清miR-223表达水平显著低于非感染组。血清miR-223预测多发性骨折术后感染的受试者工作特征曲线下面积(AUC)为0.822, 灵敏度和特异度分别为84.6%和74.5%。血清CRP预测多发性骨折患者术后感染的AUC为0.812, 灵敏度和特异度分别为76.9%和72.7%。血清miR-223和CRP联合诊断的AUC为0.928, 敏感度(96.4%)和特异度(76.9%)均高于单一指标的诊断结果。结论: 血清miR-223在多发性骨折术后感染的患者中低表达, 可能是预测多发性骨折术后感染的一个潜在的生物标志物。血清miR-223和CRP联合诊断能够提高诊断的准确性。

关键词

多发性骨折, 术后感染, miR-223, C-反应蛋白, 联合诊断

Clinical Value Analysis of Serum miR-223 in Predicting Postoperative Infection of Multiple Fractures Patients

Ganggang Wang¹, Jialiang Zhang², Zheng Zang³, Haining Zhang^{1*}

¹Department of Joint Surgery, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

*通讯作者。

文章引用: 王刚刚, 张加良, 臧正, 张海宁. 血清miR-223预测多发性骨折患者术后感染的临床价值分析[J]. 临床医学进展, 2020, 10(12): 2953-2959. DOI: 10.12677/acm.2020.1012445

²Zhucheng Taoyuan Hospital, Weifang Shandong

³Zhucheng People's Hospital, Weifang Shandong

Email: *zhhaining@hotmail.com

Received: Nov. 21st, 2020; accepted: Dec. 10th, 2020; published: Dec. 17th, 2020

Abstract

Aim: This study aimed to investigate the expression levels of miR-223 in the serum of multiple fractures patients with postoperative infection, and assess its diagnostic value. **Methods:** 120 multiple fractures patients were selected, and divided into infection group (n = 65) and non-infection group (n = 55). Serum levels of miR-223 and C-reactive protein (CRP) were detected by using qRT-PCR. The receiver operating characteristics (ROC) curves were plotted to evaluate the diagnostic value. **Results:** Multiple fractures patients in postoperative infection group had high levels of miR-223 than those in non-infection group. The areas under receiver operating characteristics curves (AUC) of serum miR-223 in predicting infection after reoperation was 0.822, with the sensitivity of 84.6% and specificity of 74.5%. The AUC of serum CRP in predicting infection after reoperation was 0.812, with the sensitivity of 76.9% and specificity of 72.7%. The AUC of serum miR-223 combined with CRP reached up to 0.928, with the sensitivity of 96.4% and the specificity of 76.9%, which were higher than that of the diagnostic value of a single index. **Conclusion:** miR-223 was low-expressed in the serum of multiple fracture patients with postoperative infections, and might be a promising biomarker for predicting postoperative infection after multiple fractures. The combined detection of serum miR-223 and CRP might improve the diagnostic efficacy.

Keywords

Multiple Fractures, Postoperative Infections, miR-223, C-Reactive Protein, Combined Detection

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

多发性骨折是指由同一个致病因素引起的两处及以上的骨折的发生。多发性骨折的患者伤情复杂,抵抗力较为低下,容易引发术后感染,因此具有病情变化快、死亡率高的特点[1]。对患者可能的术后感染情况进行及时准确的评估及干预治疗,是降低患者死亡率的有效途径。目前,主要通过临床症状表现对患者的术后感染情况进行鉴别诊断,而患者伤口的正常愈合往往能够掩盖其感染的临床症状,对临床感染的诊断起到一定的迷惑性,从而影响诊断的准确性。近年来,血清标记物在多种疾病中被大量挖掘,引起了国内外学者的广泛关注[2]。多个术后感染的血清标志物也被报道,如血清原降钙素(procalcitonin, PCT)、c反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等[3] [4]。但是其在术后感染中的诊断特异性和敏感性存在争议[5]。因此,更高敏感度和特异度的诊断标志物的筛选仍是当下研究的重点。

近年来,一种新型生物标志物,循环 microRNAs (miRNAs),在各种疾病中被广泛报道。miRNAs 是一类小型的非编码 RNA,在细胞的多个过程中发挥着重要的作用。miRNAs 在血清或血浆中稳定表达,

低浓度的 RNA 就足以用于血清 miRNAs 差异表达谱的筛选构建[6]。miRNAs 在不同疾病中的表达模式和功能,有助于血清 miRNAs 临床价值的评估和应用[7]。microRNA-223 (miR-223)是一种造血特异性 microRNA,在髓系发育中具有重要功能[8]。据报道,miR-223 在多种疾病中异常表达,通过靶向不同的靶基因来调节机体炎症反应,进而参与疾病的进展,如败血症、类风湿性关节炎、病毒感染(如人类免疫缺陷病毒 1 (HIV-1))等[9]。miR-223 在脓毒症患者中异常表达,被认为是一种新的脓毒症的血清生物标志物[10]。在一项非小细胞肺癌的研究中,miR-223 被检测到在术后患者的血清中显著降低,推测其可能参与了术后的疾病恢复进程[11]。因此,miR-223 在多发性骨折患者术后感染中的临床价值引起了我们的兴趣。

因此,本研究共纳入 120 例多发性骨折患者,并通过 qRT-PCR 检测 miR-223 在患者血清中的表达水平。旨在探讨多发性骨折术后感染患者中血清 miR-223 的表达水平变化,并对其诊断价值进行评估,拟为多发性骨折二次术后感染的诊断以及治疗提供一定的理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 研究对象

选取于我院收治的 120 例多发性骨折患者,根据术后感染情况,分为感染组和非感染组。患者的术后感染状况通过临床查体、影像学检查、实验室检查及病原菌培养进行确诊,均符合《医院感染诊断标准(试行)》要求[12]。患者排除标准:1) 年龄小于 18 周岁;2) 病理性骨折及非外伤引起的骨折;3) 严重肝、肾疾病;4) 恶性肿瘤;5) 自身免疫疾病、血液疾病、肺结核、有机磷中毒及肝脏暴力损伤的患者。感染组中共有男性 50 例,女性 15 例,平均年龄 47.62 ± 10.20 ;在致伤原因方面,39 例为交通事故,14 例为高空坠落,12 例为重物压伤。非感染组中共有男性 41 例,女性 14 例,平均年龄 46.75 ± 9.36 ;在致伤原因方面,29 例为交通事故,16 例为高空坠落,10 例为重物压伤。

本研究所有患者均签署了知情同意书,并经过青岛大学医学部临床医学院医学伦理委员会的审查批准。

2.2. 样本采集

所有患者入院时对患者的临床信息进行收集,并记录病史。患者于术前一天清晨,收集静脉血 3 ml,血液样本在无菌乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)试管中分离,随后离心 15 分钟,收集血型,于 -80°C 冰箱保存备用。

2.3. RNA 提取及实时荧光定量 PCR

根据说明书的要求,使用 TRIzol (Invitrogen, USA)进行总 RNA 提取。使用逆转录试剂盒进行反转录,得到 cDNA。扩增反应在 ABI 7300 qRT-PCR 仪上进行,使用 SYBR green I Master Mix 试剂盒(Invitrogen, USA)进行反应。反应条件为: 95°C 15 min; 94°C 15 s; 55°C 30 s; 70°C 34 s,共 40 个循环。以 U6 作为 miRNA 表达量的内参,且其相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 的方法进行计算。引物序列如下: miR-223 forward: 5'-GCAGCCTGTCAGTTTGTC-3', reverse: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'; U6 forward: 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', reverse: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'。

2.4. 统计学分析

本实验所有数据和分析均采用 SPSS 21.0 软件进行。组间计量资料通过独立样本 t 测验进行组间比较,计数资料进行卡方检验。通过绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC),对其诊断

价值进行评估, 选取约登指数最大时为最佳筛选界值。所有数据当 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 人口及临床资料

表 1 结果显示, 感染组和非感染组患者在年龄、性别、损伤严重程度、致伤原因、合并糖尿病等临床资料方面, 差异不显著。

Table 1. Demographic and clinical characteristics between groups

表 1. 组间的人口统计学和临床特征

变量	非感染组 (n = 55)	感染组 (n = 65)	P 值
年龄			0.287
≥60	7	13	
<60	48	52	
性别			0.762
男性	41	50	
女性	14	15	
损伤严重程度评分			0.863
16~32	33	40	
>32	22	25	
致伤原因			0.619
交通	29	39	
高空坠物	16	14	
重物压伤	10	12	
合并糖尿病			0.871
有	3	4	
无	52	61	

3.2. 患者血清 CRP 及 miR-223 水平

通过独立样本 t 测验, 对两组患者的血清 CRP 和 miR-223 水平进行了比较分析, 结果显示, 术前感染组的患者血清 CRP 水平显著高于非感染组, 而血清 miR-223 水平则显著低于非感染组(表 2)。

Table 2. Comparison of serum CRP and miR-223 levels of patients before the reoperation

表 2. 术前患者血清 CRP 及 miR-223 水平比较

指标	非感染组 (n = 55)	感染组 (n = 65)	P 值
CRP (mg/L)	23.416 ± 6.738	31.497 ± 6.112	<0.001
miR-223	0.786 ± 0.246	0.494 ± 0.200	<0.001

3.3. 血清 CRP 及 miR-223 的临床预测价值分析

根据患者血清 CRP 和 miR-223 的表达水平, 分别绘制 ROC 曲线, 对其诊断价值进行评估。结果显示, 血清 CRP 预测多发性骨折患者术后感染的曲线下面积(AUC)为 0.812, 灵敏度和特异度分别为 76.9% 和 72.7%。血清 miR-223 的 AUC 为 0.822, 灵敏度和特异度分别为 84.6%和 74.5%。

此外,我们进一步使用分析了血清 CRP 和 miR-223 的联合诊断能力,结果显示,血清 CRP 和 miR-150 联合诊断患者术后感染的 AUC 为 0.928, 敏感度和特异度分别为 96.4%和 76.9%, 均高于单个指标的预测结果(表 3)。

Table 3. Combined diagnostic value of serum CRP and miR-223 levels in prediction of the infections in the multiple fracture

表 3. 血清 CRP 及 miR-223 水平联合诊断预测多发性骨折二次手术术后感染

指标	AUC	P 值	95% CI	Cutoff 值	灵敏度	特异度
CRP	0.812	<0.001	0.735-0.889	27.614	76.9%	72.7%
miR-223	0.822	<0.001	0.745-0.899	0.665	84.6%	74.5%
CRP + miR-223	0.928	<0.001	0.884-0.971	-	96.4%	76.9%

4. 讨论

随着生活节奏的加快及交通工具的普及,创伤成为威胁人类安全的原因之一,由创伤带来的多发性骨折患者也逐渐增加[13]。多发性骨折患者术后常并发全身炎症反应综合征,是死亡率高的的重要因素。临床上,对患者的术后感染情况进行准确评估,把握好手术时机,是改善多发性骨折患者预后的重中之重。近年来,血清标志物的筛选在多种疾病中被广泛关注和应用。与术后感染相关的血清标志物也引起了学者的兴趣,其中 CRP 和 PCT 是报道较多的两个血清标志物[14]。CRP 是一种急性反应蛋白,是感染和炎症疾病的敏感标志物。感染和炎症发生后几小时 CRP 浓度会迅速上升,感染控制或炎症消除后,很快恢复正常。在临床上常通过检血清 CRP 浓度,判断患者的炎症程度,并对病毒或细菌感染进行初步判断。尽管 CRP 广泛应用于临床上的炎症反应评估,但是其诊断特异性不高。本研究对血清 CRP 在多发性骨折患者术后感染的预测价值进行了评估,结果发现,术后感染组的患者术前血清 CRP 显著高于非感染组,且 ROC 曲线结果证明,血清 CRP 对多发性骨折患者二次术后感染具有一定的诊断价值,这与前人的研究结果一致[15]。

miRNAs 是一种或多或少由 22 个核苷酸组成的小的非编码 RNA 序列,通过与其 3' 未翻译区域互补配对,抑制特定 mRNA 靶点的翻译,从而在转录后水平上调基因表达。MiR-223 是高度保守的 miRNA,之前的研究已经报道了大量 miR-223 的靶点,包括胰岛素样生长因子-1 受体(IGF-1R)、单核细胞增强因子 2C、stathmin 1、青蒿素和 FOXO1A 等[16]。近年来,miR-223 在免疫和抗炎反应中的潜在作用被多番报道,被评定为有效的负性炎症调节因子。据报道,miR-223 下调能够促进多种促炎因子的释放,如 IL-6、IL-1 β 等[17]。miR-223 在人类先天免疫中的作用也引起学者越来越多的关注[18]。研究表明,miR-223 的异常表达与多种人类疾病的生理病理相关[19]。在脓毒症患者中,miR-223 被报道在脓毒症患者的血清中低表达,与患者的感染状况密切相关[20]。本研究通过 qRT-PCR 对多发性骨折患者术前的血清 miR-223 水平进行了检测,结果发现,miR-223 在术后感染组患者的血清中的表达水平显著低于非感染组,与以往的研究结果一致[10] [11]。此外,我们进一步绘制 ROC 曲线,对其诊断水平进行评估。结果表明,血清 miR-223 对多发性骨折患者术后是否发生感染有一定的预测价值,且其敏感度和特异度均高于血清 CRP。

临床上,有时候单单用某一指标进行诊断,常存在灵敏度或特异度不足的问题,这时候,我们可以考虑联合试验[21]。所谓联合试验,即将两个及两个以上指标联合用于疾病诊断。本研究进一步评估了血清 miR-223 和 CRP 的联合诊断水平。结果表明,血清 miR-223 和 CRP 联合诊断的敏感度和特异度均高于单一指标的诊断结果。但是,本研究的样本量较小,对于 miR-223 在多发性骨折术后感染中的作用,

需要在更大的样本中进行进一步的验证。

总之,本研究结合临床资料证实血清 miR-223 在多发骨折术后感染的患者中低表达,可能是预测多发骨折术后感染的一个潜在的生物标志物。血清 miR-223 和 CRP 联合诊断能够提高诊断的准确性。

参考文献

- [1] Maher, H. and Cai, X. (2020) Invited Commentary on: Clinical Efficacy of Surgical versus Conservative Treatment for Multiple Rib Fractures. *International Journal of Surgery*, **84**, 24. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2020.10.005>
- [2] Hayney, M.S., Henriquez, K.M., Barnett, J.H., et al. (2017) Serum IFN-Gamma-Induced Protein 10 (IP-10) as a Biomarker for Severity of Acute Respiratory Infection in Healthy Adults. *Journal of Clinical Virology*, **90**, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.03.003>
- [3] Choi, J.J. and McCarthy, M.W. (2018) Novel Applications for Serum Procalcitonin Testing in Clinical Practice. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, **18**, 27-34. <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1407244>
- [4] Vasileva, D. and Badawi, A. (2019) C-Reactive Protein as a Biomarker of Severe H1N1 Influenza. *Inflammation Research*, **68**, 39-46. <https://doi.org/10.1007/s00011-018-1188-x>
- [5] Wang, S., Xie, Z. and Shen, Z. (2019) Serum Procalcitonin and C-Reactive Protein in the Evaluation of Bacterial Infection in Generalized Pustular Psoriasis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, **94**, 542-548. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2019.09.022>
- [6] Pai, P., Rachagani, S., Are, C., et al. (2013) Prospects of miRNA-Based Therapy for Pancreatic Cancer. *Current Drug Targets*, **14**, 1101-1109. <https://doi.org/10.2174/13894501113149990181>
- [7] Wu, C., Wang, C., Guan, X., et al. (2014) Diagnostic and Prognostic Implications of a Serum miRNA Panel in Oesophageal Squamous Cell Carcinoma. *PLoS ONE*, **9**, e92292. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092292>
- [8] Dong, J., Liu, Y., Liao, W., et al. (2016) miRNA-223 Is a Potential Diagnostic and Prognostic Marker for Osteosarcoma. *Journal of Bone Oncology*, **5**, 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2016.05.001>
- [9] Aziz, F. (2016) The Emerging Role of miR-223 as Novel Potential Diagnostic and Therapeutic Target for Inflammatory Disorders. *Cellular Immunology*, **303**, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2016.04.003>
- [10] Cui, Y.L., Wang, B., Gao, H.M., et al. (2016) Interleukin-18 and miR-130a in Severe Sepsis Patients with Thrombocytopenia. *Patient Preference and Adherence*, **10**, 313-319. <https://doi.org/10.2147/PPA.S95588>
- [11] Zhang, H., Mao, F., Shen, T., et al. (2017) Plasma miR-145, miR-20a, miR-21 and miR-223 as Novel Biomarkers for Screening Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncology Letters*, **13**, 669-676. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5462>
- [12] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准: 现代实用医学[EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/3660a9b180ce4c49910f516b30d3768f.shtml>, 2001-11-07.
- [13] Wang, H., Yu, H., Zhou, Y., et al. (2017) Traumatic Fractures as a Result of Falls in Children and Adolescents: A Retrospective Observational Study. *Medicine (Baltimore)*, **96**, e7879. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000007879>
- [14] Ticinesi, A., Lauretani, F., Nouvenne, A., et al. (2017) C-Reactive Protein (CRP) Measurement in Geriatric Patients Hospitalized for Acute Infection. *European Journal of Internal Medicine*, **37**, 7-12. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.08.026>
- [15] Govaert, G.A.M., Glaudemans, A., Ploegmakers, J.J.W., et al. (2018) Diagnostic Strategies for Posttraumatic Osteomyelitis: A Survey amongst Dutch Medical Specialists Demonstrates the Need for a Consensus Protocol. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, **44**, 417-426. <https://doi.org/10.1007/s00068-017-0783-9>
- [16] Chai, Y., Xue, H., Wu, Y., et al. (2018) MicroRNA-216b-3p Inhibits Lung Adenocarcinoma Cell Growth via Regulating PDZ Binding Kinase/T-LAK-Cell-Originated Protein Kinase. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **15**, 4822-4828. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6020>
- [17] Bozec, A., Zangari, J., Butori-Pepino, M., et al. (2017) MiR-223-3p Inhibits Angiogenesis and Promotes Resistance to Cetuximab in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Oncotarget*, **8**, 57174-57186. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19170>
- [18] Zhao, X., Sun, L., Mu, T., et al. (2020) An HBV-Encoded miRNA Activates Innate Immunity to Restrict HBV Replication. *Journal of Molecular Cell Biology*, **12**, 263-276. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz104>
- [19] Fourdinier, O., Schepers, E., Metzinger-Le Meuth, V., et al. (2019) Serum Levels of miR-126 and miR-223 and Outcomes in Chronic Kidney Disease Patients. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 4477. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41101-8>
- [20] Wang, J.F., Yu, M.L., Yu, G., et al. (2010) Serum miR-146a and miR-223 as Potential New Biomarkers for Sepsis.

Biochemical and Biophysical Research Communications, **394**, 184-188. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.145>

- [21] Simon, L., Gauvin, F., Amre, D.K., *et al.* (2004) Serum Procalcitonin and C-Reactive Protein Levels as Markers of Bacterial Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Infectious Diseases*, **39**, 206-217. <https://doi.org/10.1086/421997>