血清多 mRNA 用于脓毒症患者不良预后预测模型的构建

钟铨[1] 钟雅[2] 吴清薇[1] 林先萍[1] 陈森[1]
[1]海南医学院第一附属医院急诊科,海南海口 570100;[2] 海南省人民医院心血管内科,海南海口 570311

摘要 目的:探讨血清多 mRNA 表达对脓毒症患者预后不良的预测效能。方法:选择脓毒症患者 126 例,并根据患者入院 28 d 存活情况分为死亡组和存活组,收集患者临床资料[包括人口学资料、临床资料及序贯器官衰竭评分(qSOFA)等],检测患者血清肥大细胞表达的膜蛋白 1(MCEMP1)、脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸磷酸酶相互作用蛋白 2(PSTPIP2)、颗粒钙素(GCA)、CD177 mRNA 水平,分析上述 mRNA 与脓毒症患者预后的相关性,使用决策曲线(DCA)构建多 mRNA 表达水平对脓毒症患者不良预后的预测模型。结果:死亡组患者 SOFA 评分显著高于存活组($P<0.05$);MCEMP1、PSTPIP2、C D177 及 GCA mRNA 相对表达量显著高于存活组(P 均 <0.05)。Cox 回归分析显示:SOFA 评分、MCEMP1、PSTPIP2、CD177 及 GCA 均是影响患者预后的独立危险因素(P 均 <0.05)。各指标间共线性检测显示:MCEMP1、PSTPIP2、CD177 及 GCA 之间不存在共线性关系。列线图模型预测脓毒症患者预后不良的 C-index 为 0.983(95% *CI*:0.972-1.000),区分度良好。DCA 曲线结果显示多 mRNA 预测效能高于 SOFA 评分。结论:基于多 mRNA 构建的列线图模型对于脓毒症患者预后具有较好的预测价值。

关键词 脓毒症;mRNA;决策曲线分析;预后不良
中图分类号 R515.3 **文献标识码** A DOI 10.11768/nkjwzzzz.202407100531

Predictive value of a serum multi-mRNA signature for adverse prognosis in patients with sepsis *ZHONG Quan*[1], *ZHONG Ya*[2], *WU Qing-wei*[1], *LIN Xian-ping*[1], *CHEN Miao*[1]. [1]*Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Hainan Haikou 570100, China*; [2]*Department of Cardiovascular Medicine, Hainan Provincial People's Hospital, Hainan Haikou 570311, China*
Corresponding author: Chen Miao, E-mail: 13627550900@139.com

Abstract Objective: To investigate the predictive efficacy of multiple serum mRNA expression for poor prognosis in patients with sepsis. Methods: A total of 126 sepsis patients were enrolled and divided into a death group and a survival group according to 28-day survival. Clinical data, including demographic characteristics, clinical parameters, and the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score, were collected. Serum levels of mast cell-expressed membrane protein 1 (MCEMP1), proline-serine-threonine phosphatase-interacting protein 2 (PSTPIP2), grancalcin (GCA), and CD177 mRNA were measured. The association between these mRNAs and the prognosis of sepsis patients was analyzed. A nomogram prediction model incorporating multiple mRNA expression levels was constructed, and its performance was evaluated using decision curve analysis (DCA). Results: The SOFA score in the death group was significantly higher than that in the survival group ($P<0.05$). The relative expression levels of MCEMP1, PSTPIP2, CD177, and GCA mRNA were significantly higher in the death group than in the survival group (all $P<0.05$). Cox regression analysis revealed that the SOFA score, MCEMP1, PSTPIP2, CD177, and GCA were independent risk factors for patient prognosis (all $P<0.05$). Collinearity testing demonstrated no collinearity among MCEMP1, PSTPIP2, CD177, and GCA. The nomogram model predicted poor prognosis with a C-index of 0.983 (95% *CI*: 0.972-1.000), indicating good discrimination. The DCA curve showed that the predictive performance of the multiple mRNA model was superior to that of the SOFA score alone. Conclusion: The nomogram model based on multiple mRNAs provides favorable predictive value for the prognosis of patients with sepsis.

Key words Sepsis; mRNA; Decision curve analysis; Poor prognosis

基金项目:海南医学院第一附属医院青年培育基金项目(HYYFYPY202212)
通信作者:陈森,E-mail:13627550900@139.com,海南省海口市秀英区金福路 5 号海岛国际名城

脓毒症死亡率高[1,2]，早期预测并积极干预能改善预后[3,4]。研究发现长链非编码 RNA-minRNA-mRNA 轴在脓毒症病情变化中扮演着重要角色，可用于构建脓毒症患者预后预测模型[5]。

资料与方法

1. 研究对象：选择 2022 年 1 月-2023 年 12 月海南医学院第一附属医院住院治疗的脓毒症患者 130 例。纳入标准：①符合《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南（2014）》中脓毒症诊疗标准[6]；②年龄 18～60 岁；③初步判定存活时间≥48 h。

排除标准：①发病前半年内严重感染患者；②合并影响免疫力疾病或先天性免疫缺陷；③孕妇或哺乳期妇女；④发病后曾在外院接受过其他相关治疗。本研究经医院伦理委员会审核，患者或家属知情并签署同意书。

2. 相关资料收集：①一般资料，包括性别、年龄、体质指数（body mass index，BMI）、感染部位、基础病史；②入科前生命体征，包括体温、心率、平均动脉压（mean arterial pressure，MAP）、血氧饱和度（arterial oxygen saturation，SaO_2）、24 h 尿量等一般指标；③入科前 24 h 内的序贯器官衰竭评分（Sequential Organ Failure Assessment，qSOFA）情况；④随访 28 d，记录住院后 28 d 死亡情况。

3. mRNA 表达量检测：患者入院后 24 h 内留取血液标本进行 mRNA 检测，具体检测肥大细胞表达的膜蛋白 1（mast cell expressed membrane protein 1，MCEMP1）、脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸磷酸酶相互作用蛋白 2（proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 2，PSTPIP2）、颗粒钙素（granulocalcin，GCA）、CD177，方法如下：①采用 TRIzolTM 试剂（购自 Takara 生物有限公司）提取外泌体悬液内总 RNA；②用 PrimeScriptTM RT 试剂盒（购自 Takara 生物有限公司）对各 miRNA 进行反转录，取 cDNA 作为荧光定量模板。反应条件：95℃ 5 min；95℃ 30 s；60℃ 30 s；72℃ 30 s，共 45 个循环。④将 cDNA、qRT-PCR 引物（扫描文前二维码查看各引物序列）及相关酶组成 qRT-PCR 反应体系后加入 real-time PCR 分析仪（购自美国赛默飞世尔公司）中进行反应，反应过程：95℃ 30 s；95℃ 5 s、60℃ 44 s，共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标 mRNA 的相对 GAPDH 表达量（以健康对照人群 mRNA 的中位表达量为 1）。

4. 统计学分析：采用 Epidata 软件录入数据和 R（4.0.5）统计学软件。计量资料先予以正态性检验，正态分布资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用独立样本 t 检验，计数资料用例数和百分数表示，组间比较采用 χ^2 检验。应用 Cox 回归分析影响脓毒症患者预后不良的独立危险因素；鉴于本研究样本量较小，采用全部数据构建 Cox 比例风险回归列线图模型。模型内部验证采用 10 折交叉验证，计算一致性指数（C-index）以评估模型区分度；采用决策曲线分析（decision curve analysis，DCA）评估模型的临床净获益。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 分组情况及临床资料比较：纳入研究的 130 例患者有 4 例中途选择转院，最终 126 例患者纳入本次研究，其中死亡 39 例（死亡组），存活 87 例（存活组），死亡组患者 SOFA 评分显著高于存活组［（10.59 ± 2.13）*vs*（9.31 ± 1.97），$P<0.05$］，其余临床资料比较，差异无统计学意义（$P>0.05$，扫描文前二维码查看详细数据资料）。

2. 多 mRNA 相对表达情况：死亡组患者 MCEMP1、PSTPIP2、CD177 及 GCA mRNA 相对表达量显著高于存活组（P 均 <0.05），见表 1。

表 1 2 组患者多 mRNA 相对表达情况比较（$\bar{x} \pm s$）

mRNA	死亡组（$n=39$）	存活组（$n=87$）	t 值	P 值
MCEMP1	1.79 ± 0.25	1.52 ± 0.37	4.850	<0.001
PSTPIP2	2.43 ± 0.38	2.25 ± 0.34	2.402	0.018
CD177	1.67 ± 0.21	1.49 ± 0.19	4.825	<0.001
GCA	3.12 ± 0.49	2.79 ± 0.36	3.242	0.002

3. 影响脓毒症患者预后相关因素的 Cox 分析及 mRNA 共线性分析：以患者结局为因变量（1 = 死亡，0 = 存活），以存活期限为时间变量，以单因素分析存在差异的结果为自变量进行 Cox 回归分析，结果显示 SOFA 评分、MCEMP1、PSTPIP2、CD177 及 CGA 是影响患者预后的独立危险因素（P 均 <0.05），见表 2。对以上指标进行共线性检测，结果提示 MCEMP1、PSTPIP2、CD177 及 CGA 之间不存在共线性关系（容差 = 0.910，0.921，0.981，VIF = 1.099，1.097，1.020）。

4. 多 mRNA 预测脓毒症患者预后的列线图模型构建：根据多因素 Cox 回归分析结果，以独立影响因素的 mRNA 构建列线图预测模型，预测脓毒症患者预后的 C-index 为 0.983（95% *CI*：0.972-1.000），区分度良好，见图 1。

表 2 影响脓毒症患者预后相关因素的 Cox 分析结果

因素	β 值	S.E 值	$Wald\chi^2$ 值	P 值	HR 值	95% CI
SOFA 评分	0.394	0.150	6.935	0.008	1.483	1.106-1.987
MCEMP1	4.456	1.321	11.378	0.001	86.108	6.466-1146.627
PSTPIP2	0.970	0.931	4.085	0.042	2.638	1.425-16.361
CD177	6.337	1.888	11.265	0.001	564.96	13.963-22859.226
GCA	1.439	0.734	3.940	0.047	4.218	1.013-17.793
常量	-34.476	6.943	24.658	<0.001	<0.001	

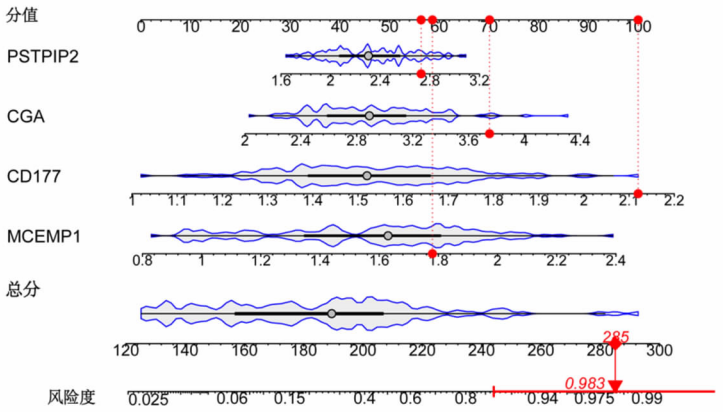


图 1 多 mRNA 预测脓毒症患者预后的列线图模型构建

5. 多 mRNA 及 SOFA 评分与脓毒症患者预后的决策曲线分析：以多 mRNA 及 SOFA 评分的净获益率为纵坐标，高风险阈值为横坐标（范围 0～1），绘制 DCA 曲线，结果显示多 mRNA 较 SOFA 评分预测效能更好，见图 2。

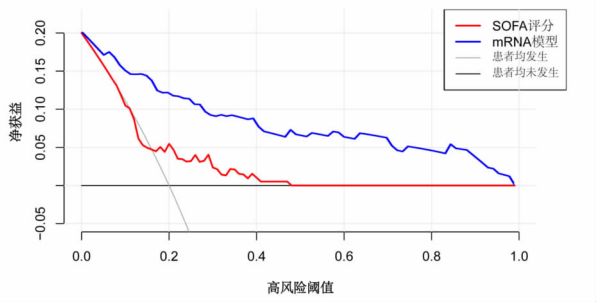


图 2 多 mRNA 及 SOFA 评分与脓毒症患者预后的决策曲线分析

讨 论

脓毒症继发于严重感染，对机体所有组织器官的代谢均会产生显著影响，从而影响人体正常生理活动[7]。基于既往基因库中筛选出脓毒症长链非编码 RNA-minRNA-mRNA 轴的关键靶点开展研究，能协助指导临床治疗[8～10]。

SOFA 评分在脓毒症患者病情、并发症及预后等相关预测中均具有较好的效果[11,12]。本研究中，死亡组患者 SOFA 评分高于存活组，与之前的研究结果类似。MCEMP1 是人体免疫调节中重要的诱导因子，其可以通过编码单通道反式膜蛋白参与调节 THP-1 单核细胞分化活性或免疫应答，而 THP-1 单核细胞通过破坏常驻巨噬细胞的吞噬细胞活性导致脓毒症患者疾病恶化[13,14]。通过 miR-125 介导的 MCEMP1 抑制可降低肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、白介素（IL）-1β 和 IL-6 水平，有效避免全身炎性反应对器官的损伤，减轻病情[15]。本研究中，死亡患者 MCEMP1 表达量显著升高，是导致脓毒症患者预后变差的重要因素，MCEMP1 升高可能与 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 相关，可能对使用抑制上述因子的靶向药物使用具有指导作用。PSTPIP2 属于 F-BAR 蛋白家族，主要在巨噬细胞中表达，并调节巨噬细胞的丝状伪足形成和定向运动，从而促使巨噬细胞活化、聚集并释放炎性因子[16,17]。死亡组患者 PSTPIP2 表达量显著升高，可能引起巨噬细胞活化，释放大量炎性因子，引起全身炎性反应加重，最终导致患者死亡。PSTPIP2 被认为可以作为大肠杆菌所致的脓毒症患者的诊断，对指导抗生素的应用具有一定的参考价值[18]。中性粒细胞是

参与脓毒症患者疾病发展的重要免疫细胞之一，中性粒细胞中的 CD177 基因是编码其膜糖蛋白的重要因素，研究指出，脓毒症患者中性粒细胞迁移及抗菌功能损伤与病情和预后显著相关，而 CD177 引起的中性粒细胞膜形态变化可能是影响其功能的重要原因[19]。本研究中，死亡组 CD177mRNA 显著升高，可能是因为该组患者因中性粒细胞活化增加所致的炎性反应加重，而目前临床上使用的西维来司他纳是中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂，针对 CD177 升高患者，可以考虑使用该药物进行治疗。研究指出，在感染性休克患者早期纯化的中性粒细胞基因转录中，CD177 表达水平显著升高，表明 CD177 在脓毒症早期病情预测具有一定的临床价值[20]。GCA 可以与脂肪细胞上的 Prohibitin-2 受体结合，并通过 PAK1/NF-κB 信号通路激活脂肪细胞免疫反应，引起炎症免疫细胞的浸润，导致炎性反应加重[21]。本研究中，死亡患者 GCA 显著升高，说明此基因在脓毒症患者中可能导致预后变差。针对 GCA 升高的患者，可以考虑使用 PAK1/NF-κB 信号通路抑制剂，但需要进一步开展研究明确具体靶点及抑制剂使用情况。TONG 等[22]研究指出，GCA 运用于判断脓毒症患者病情的 AUC = 0.820，并具有良好的敏感性和特异性，说明此基因与脓毒症患者病情及预后关系密切。Cox 分析结果显示，上述 4 个基因 mRNA 表达量是影响患者预后的独立危险因素，证实它们与脓毒症患者预后相关。

本研究中，多 mRNA 列线图模型对脓毒症患者预后的预测效果相较于 SOFA 评分更优。研究指出，SOFA 评分需要完整的血液测试分析，对于紧急情况可能会项目检查不全，影响患者的治疗[23]。Szakmany 等[24]研究中，SOFA 评分只能识别 10% 高危人群，快速 ELIZA 方案检测血液样本中的 mRNA 方案较为成熟，可开展研究针对上述 4 种 mRNA 建立相应快速检测方案，对患者情况进行快速评估。

本次研究为单中心小样本量研究，尚需要进一步扩大样本量对对模型进行进一步完善及验证。

参 考 文 献

1　王玢然，冉晓，张琴，等. 血浆组织型激肽释放酶可评估脓毒症严重程度及预后[J]. 内科急危重症杂志，2025，31(2)：149-153.

2　Ahlstr mB，Larsson IM，Strandberg G，et al. Association of sepsis with long-term mortality and causes of death in the Swedish intensive care cohort[J]. Intensive Care Med，2024，50(4)：605-607.

3　陆昱汝，祝伟. 组学视角下脓毒症脑病的研究进展[J]. 内科急危重症杂志，2025，31(3)：201-207.

4　中国医疗保健国际交流促进会急诊医学分会，中华医学会急诊医学分会，中国医师协会急诊医师分会，等. 中国脓毒症早期预防与阻断急诊专家共识[J]. 中华急诊医学杂志，2020，29(7)：885-895.

5　Zhang X，Cui Y，Ding X，et al. Analysis of mRNA lncRNA and mRNA lncRNA-pathway co-expression networks based on WGCNA in developing pediatric sepsis[J]. Bioengineered，2021，12(1)：1457-1470.

6　中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J]. 中华内科杂志，2015，54(6)：557-581.

7　Zhang YY，Ning BT. Signaling pathways and intervention therapies in sepsis[J]. Signal Transduct Target Ther，2021，6(1)：407.

8　Shah FA，Meyer NJ，Angus DC，et al. A research agenda for precision medicine in sepsis and acute respiratory distress syndrome：An official american thoracic society research statement[J]. Am J Respir Crit Care Med，2021，204(8)：891-901.

9　Gong T，Liu Y，Tian Z，et al. Identification of immune-related endoplasmic reticulum stress genes in sepsis using bioinformatics and machine learning[J]. Front Immunol，2022，13：995974.

10　Liu B，Ao S，Tan F，et al. Transcriptomic analysis and laboratory experiments reveal potential critical genes and regulatory mechanisms in sepsis-associated acute kidney injury[J]. Ann Transl Med，2022，10(13)：737.

11　Jacobi J. The pathophysiology of sepsis-2021 update：Part 2 organ dysfunction and assessment[J]. Am J Health Syst Pharm，2022，79(6)：424-436.

12　He Y，Xu J，Shang X，et al. Clinical characteristics and risk factors associated with ICU-acquired infections in sepsis：A retrospective cohort study[J]. Front Cell Infect Microbiol，2022，12：962470.

13　Xiao Y，Zhang G. Predictive value of a diagnostic five-gene biomarker for pediatric sepsis[J]. J Inflamm Res，2024，17：2063-2071.

14　Xu Z，Li L. Identification and validation of potential genes for the diagnosis of sepsis by bioinformatics and 2-sample Mendelian randomization study[J]. Medicine (Baltimore)，2024，103(29)：e38917.

15　Chen JX，Xu X，Zhang S. Silence of long noncoding RNA NEAT1 exerts suppressive effects on immunity during sepsis by promoting microRNA-125-dependent MCEMP1 downregulation[J]. IUBMB Life，2019，71(7)：956-968.

16　Xu JJ，Li HD，Du XS，et al. Role of the F-BAR family member PSTPIP2 in autoinflammatory diseases[J]. Front Immunol，2021，12：585412.

17　Pavliuchenko N，Duric I，Kralova J，et al. Molecular interactions of adaptor protein PSTPIP2 control neutrophil-mediated responses leading to autoinflammation[J]. Front Immunol，2022，13：1035226.

18　Chen H，Li Y，Li T，et al. Identification of potential transcriptional biomarkers differently expressed in both S. aureus- and E. coli-induced sepsis via integrated analysis[J]. Biomed Res Int，2019，2019：2487921.

19　Mulet M，Osuna-gómez R，Zamora C，et al. Dysregulated neutrophil extracellular traps formation in sepsis[J]. Immunology，2023，170(3)：374-387.

20　Kong C，Zhu Y，Xie X，et al. Six potential biomarkers in septic shock：a deep bioinformatics and prospective observational study[J]. Front Immunol. 2023，14：1184700.

21　Su T，He Y，Huang Y，et al. Myeloid-derived grancalcin instigates obesity-induced insulin resistance and metabolic inflammation in male mice[J]. Nat Commun，2024，15(1)：97.

22　Tong Y，Ku X，Wu C，et al. Data-independent acquisition-based quantitative proteomic analysis reveals differences in host immune response of peripheral blood mononuclear cells to sepsis[J]. Scand J Immunol，2019，89(4)：e12748.

23　Kopczynska M，Sharif B，Cleaver S，et al. Red-flag sepsis and SOFA identifies different patient population at risk of sepsis-related deaths on the general ward[J]. Medicine (Baltimore)，2018，97(49)：e13238.

24　Szakmany T，Pugh R，Kopczynska M，et al. Defining sepsis on the wards：results of a multi-centre point-prevalence study comparing two sepsis definitions[J]. Anaesthesia，2018，73(2)：195-204.

(2024-07-15 收稿　2026-03-02 修回)

附表 1　qRT-PCR 引物序列（方法 3 相关资料）

名称	方向	序列（5’-3’）
MCEMP1	F	CCATGCAAAGGGTGGTCATTC
	R	GCTTGTACGGAGTTTGAGACATT
PSTPIP2	F	ACAACGTGGCTCAATGTCACA
	R	CCGGCACTTTTGCTCATAATTCT
CD177	F	CTGGTTCACGTCTCCAAACC
	R	TCTCCTGCAGTTGCTCAGAGTA
GCA	F	GCTTTTTCTCCCAGCACTGCGGACG
	R	CTGAAGAGACACTGTGAATTC
GAPDH	F	GACCTGACCTGCCGTCTA
	R	AGGAGTGGGTGTCGCTGT

附表 2　 2 组患者一般临床资料比较（结果 1 相关数据）

项目	死亡组(*n*=39)	存活组(*n*=87)	t/χ^2 值	*P* 值
性别构成（男/女）	24/15	51/36	0.095	0.758
年龄(岁，$\overline{x}\pm s$)	61.47±6.91	59.25±5.99	1.735	0.087
BMI(kg/m^2, $\overline{x}\pm s$)	22.12±1.26	21.91±1.19	0.879	0.382
SOFA 评分(分, $\overline{x}\pm s$)	10.59±2.13	9.31±1.97	2.622	0.010
吸烟史[例（%）]	11（28.21）	21（24.14）	0.235	0.628
饮酒史[例（%）]	9（23.08）	18（20.69）	0.091	0.763
基础生命征（$\overline{x}\pm s$）				
心率(次/min)	93.48±9.29	94.33±9.18	0.476	0.635
MAP(mmHg)	65.12±6.36	66.31±5.88	0.993	0.329
氧合指数(mmHg)	369.27±58.46	371.21±57.95	0.172	0.863
SaO_2(%)	91.14±3.19	91.61±2.94	0.783	0.436
24h 尿量(mL)	645.57±98.65	623.52±139.47	1.013	0.313
感染部位[例（%）]			0.506	0.973
呼吸系统	15（38.46）	38（43.68）		
心血管系统	9（23.08）	21（24.14）		

泌尿系统	7（17.95）	13（14.94）		
消化系统	6（15.38）	11（12.64）		
其他	2（5.13）	4（4.60）		
基础疾病[例（%）]				
高血压病	17（43.59）	31（35.63）	0.732	0.395
糖尿病	11（28.21）	26（29.89）	0.037	0.848
慢性阻塞性肺疾病	13（33.33）	24（27.59）	0.429	0.513
冠心病	6（15.38）	13（14.94）	0.004	0.949
治疗方案[例（%）]				
缩血管药物	21（53.85）	55（63.22）	0.988	0.320
血液制品	14（35.9）	32（36.78）	0.009	0.924
正性肌力药物	10（25.64）	22（25.29）	0.002	0.966
机械通气	19（48.72）	36（41.38）	0.590	0.443
镇静与肌松	18（46.15）	34（39.08）	0.566	0.456
免疫调理药物	7（17.95）	14（16.09）	0.249	0.618