

富含嘌呤盒1和干扰素调节因子4在脓毒血症患儿外周血中的表达及其与预后的关系

郑燕冰, 梁木华, 郭锦均* (东莞市滨海湾中心医院儿科, 广东东莞 523900)

摘要: 目的 观察富含嘌呤盒1(PU1)、干扰素调节因子4(IRF4)在脓毒症患儿外周血中的表达及其与预后的关系。方法 80例脓毒血症患儿根据病情严重程度分为危重组(38例)、非危重组(42例),另选同期健康体检儿童40例为对照组。比较各组外周血PU1、IRF4因子相对表达量,比较不同预后脓毒血症患儿序贯脏器衰竭(SOFA)评分、急性生理与慢性健康-II(APACHE-II)评分,分析PU1、IRF4因子相对表达量与SOFA评分、APACHE-II评分的相关性。结果 与对照组比较,脓毒血症危重组、非危重组的PU1相对表达量明显增高($P<0.01$),IRF4相对表达量明显降低($P<0.01$),以危重组更为显著($P<0.01$);生存组SOFA及APACHE-II评分均低于死亡组($P<0.01$);PU1表达量与SOFA评分、APACHE-II评分呈正相关,IRF4表达量与SOFA评分、APACHE-II评分呈负相关(均 $P<0.01$)。结论 PU1在脓毒症患儿外周血中呈高表达,IRF4为低表达,PU1高表达及IRF4低表达均与不良预后相关。

关键词: 脓毒血症; 富含嘌呤盒1; 干扰素调节因子4; 预后

中图分类号: R593

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)04-0447-03

Expressions of peripheral blood PU1 and IRF4 in the serum of children with sepsis and their relationship with prognosis

ZHENG Yan-bing, LIANG Mu-hua, GUO Jin-jun* (Department of Pediatrics, Binhaiwan Central Hospital, Dongguan 523900, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of peripheral blood PU1 and IRF4 in the serum of children with sepsis and their relationship with prognosis. Methods A total of 80 patients with sepsis were divided into the Critical Group (38 cases) and Non-Critical Group (42 cases) according to the severity of the disease. About 40 cases of healthy children who underwent physical examination during the same period were selected as the Control Group. The relative PU1 and IRF4 expression levels were compared between the two groups, and the SOFA score and APACHE-II score of sepsis children with different prognosis were compared. The relevance of the relative PU1 and IRF4 expression levels to the SOFA and APACHE-II score were analyzed. Results Compared with the Control Group, the Critical Group and Non-Critical Group had the relative PU1 expression significantly increased ($P<0.01$), but had the relative IRF4 expression significantly decreased ($P<0.01$), and the Critical Group showed a more significant change ($P<0.01$). The SOFA score and APACHE-II score of the Survival Group were lower than those of the Death Group ($P<0.01$). The PU1 expression was positively correlated with the SOFA score and APACHE-II score while the IRF4 expression was negatively correlated with SOFA score and APACHE-II score ($P<0.01$ for all). Conclusion Peripheral blood PU1 shows high expression while the IRF4 shows low expression in the serum of children with sepsis. Both high PU1 expression and low IRF4 expression are related to poor prognosis.

Key words: sepsis; PU1; IRF4; prognosis

脓毒血症指的是由严重创伤、全身炎性感染反应、烧伤等导致的全身炎症反应综合征,病情严重者

可有多器官功能衰竭而导致患儿死亡。早期预测脓毒血症患儿的病情严重程度,对改善患儿预后意义重大。富含嘌呤盒1(PU1)、干扰素调节因子4(IRF4)为免疫细胞转录因子,可通过参与辅助性T细胞分化发育、增殖、调节细胞因子分泌等生物过程,纠正机体免疫紊乱,抑制炎症反应^[1]。本研究以我院收治的80例脓毒血症患儿为研究对象,探讨外周血PU1、IRF4的表达情况及临床意义。

基金项目: 东莞市社会科技发展(一般)项目
(No.202050715025032)

收稿日期: 2021-01-06; 修订日期: 2021-03-23

作者简介: 郑燕冰(1977-),女,本科,主治医师

通信作者: 郭锦均(1975-),本科,副主任医师

1 资料和方法

1.1 病例与分组

选取我院2019年1月-2020年10月收治的80例脓毒血症患儿为研究对象,纳入标准:(1)符合脓毒血症临床诊断标准^[2],且为初次确诊;(2)可按要求定期随访,临床资料完整;(3)患儿及其家属均签署知情同意书。排除标准:(1)近期接受过手术治疗者或有重大外伤史者;(2)近期存在感染性疾病者。根据急性生理与慢性健康-II(APACHE-II)评分将80例患儿分为危重组(APACHE-II评分 ≥ 15 分,38例)、非危重组(APACHE-II评分 < 15 分,42例)。选择同期入院行健康体检者40例作为对照组。危重组男20例,女18例;年龄5~13岁,平均(9.15 \pm 1.02)岁。非危重组中男22例,女20例;年龄5~14岁,平均(9.28 \pm 1.05)岁。对照组中男21例,女19例;年龄5~14岁,平均(9.19 \pm 1.06)岁。3组一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 外周血单个核细胞制备 患儿入院时,单次取患儿外周血10 mL,分离血细胞及血浆,血浆低温保存备用。EDTA抗凝下,以密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(PBMC)。

1.2.2 PCR步骤 (1)逆转录。采用Titan One Tube RT-PCR Kit试剂盒,按比例配置反转录反应液,将RNA及反应液于37℃反应15 min,98℃酶失活5 min,结束反应,产物4℃保存备用。(2)荧光定量PCR。采用PowerUp™ SYBR™ Green试剂盒,引物序列见表1。以荧光定量PCR仪进行扩增,扩增程序如下:95℃ 10 s \times 1次;(95℃ 5 s,60℃ 20 s) \times 40次。以 β -actin Ct值标准化目的基因Ct值,2 Δ t法计算样品扩增倍数。

表1 PCR引物序列

Primer	Sequence
PU.1(Forward)	5'-ATGACGTGTGTTGAACAAGACA-3'
PU.1(Reverse)	5'-CGATGGTTGATTAAAGCCAGGT-3'
IRF4(Forward)	5'-GCTGATCGACCAGATCGACAG-3'
IRF4(Reverse)	5'-CGGTTGTAGTCCTGCTTGC-3'
β -actin(Forward)	5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3'
β -actin(Reverse)	5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCC-3'

1.3 观察指标

(1)不同病情严重程度脓毒血症患儿PU1、IRF4相对表达量。以 β -actin作为内参,采用荧光定量PCR检测不同病情严重程度的脓毒血症患儿PU1、IRF4的相对表达量。(2)不同预后脓毒血症患儿序贯脏器衰竭(SOFA)评分、APACHE-II评分比较。根据患儿随

访1~6个月期间是否死亡,分为生存组(50例)与死亡组(30例),采用国际通用SOFA评分系统^[3]进行单个器官功能评价,分数越高,预后越差。采用APACHE-II评分^[4]评价病情,总分71分,得分越高,病情越重,预后越差。(3)脓毒血症患儿PU1、IRF4相对表达量与SOFA评分相关性分析。

1.4 统计学处理

统计软件为SPSS 26.0,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验,两组间比较采用*t*检验;采用Pearson分析相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病情严重程度脓毒血症患儿PU1、IRF4相对表达量

与对照组比较,脓毒血症的危重组、非危重组的PU1相对表达量明显增高,IRF4相对表达量明显降低($P<0.01$),以危重组更为显著($P<0.01$),见表2。

表2 PU1、IRF4相对表达量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PU1	IRF4
危重组	38	4.52 \pm 0.68 ^{ab}	4.16 \pm 0.47 ^{ab}
非危重组	42	3.48 \pm 0.42 ^a	6.87 \pm 0.75 ^a
对照组	40	1.24 \pm 0.21	7.85 \pm 0.83

与对照组比较:^a $P<0.01$;与非危重组比较:^b $P<0.01$

2.2 不同预后脓毒血症患儿SOFA评分、APACHE-II评分

生存组SOFA评分、APACHE-II均低于死亡组($P<0.01$),见表3。

表3 不同预后患儿SOFA评分、APACHE-II评分($\bar{x}\pm s$,分)

组别	<i>n</i>	SOFA评分	APACHE-II评分
生存组	50	0.85 \pm 0.12 ^a	5.42 \pm 0.65 ^a
死亡组	30	5.63 \pm 0.59	7.68 \pm 0.78

与死亡组比较:^a $P<0.01$

2.3 PU1、IRF4表达量与SOFA评分、APACHE-II评分相关性分析

PU1表达量与SOFA评分、APACHE-II评分呈正相关($r=0.525,0.518,P<0.01$)。IRF4表达量与SOFA评分、APACHE-II评分呈负相关($r=-0.624,-0.605,P<0.01$)。

3 讨论

脓毒血症为导致危重患儿死亡的主要原因之一。在脓毒血症早期,机体固有免疫亢进引起炎症因

子呈瀑布式反应,机体产生大量血管加压素、皮质醇等物质^[5]。最大程度降低炎症因子瀑布产生为脓毒血症治疗的重要手段,但目前对炎症因子的抗炎治疗效果仍不甚理想。加强对脓毒血症患儿的监视,尽早干预、尽早给予针对性治疗,利于改善患儿预后。故寻找评估脓毒血症病情严重程度及预后的适宜指标,成为临床研究的热点问题之一。既往临床常用的评估脓毒血症病情严重程度及预后的指标包括APACHE-II评分、CRP、IL-6等^[6],但这些指标评估脓毒血症病情严重程度特异性不高,且无法对预后进行评估。随着分子生物学技术的飞速发展,PU1、IRF4等转录因子与脓毒血症患儿的病情进展的关系逐步被揭示。

PU1为E-twenty six家族(ETS家族)的转录因子,在B淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、肥大细胞、原始红细胞等造血细胞中表达。为Th1-derived巨噬细胞的主要受体的转录调控因子,可增强巨噬细胞的吞噬、杀伤功能,还可刺激TNF- α 、IL-1 β 的产生,发挥促进前体T细胞分化发育,维持成熟T细胞功能^[7],参与固有免疫及适应性免疫调节等多种作用。IRF4为IRF家族成员之一,既往也被称为PU1结合蛋白,在T细胞、B细胞、巨噬细胞等免疫细胞中表达^[8]。在T细胞介导的免疫反应中,IRF4作为非特异性转录因子,参与Th2、Th9、Th17、Treg细胞分化发育调节^[9]。

本研究结果表明,与对照组比较,脓毒血症的危重组、非危重组的PU1相对表达量明显增高,以危重组更为显著($P<0.01$),说明PU1在脓毒血症患儿中呈高表达,且随着病情的加重,表达量升高。与对照组比较,脓毒血症的危重组、非危重组的IRF4相对表达量明显降低($P<0.01$),以危重组更为显著($P<0.01$),说明IRF4在脓毒血症患儿中呈低表达,且随着病情的加重,IRF4表达量进一步下降。这与Gerlach等^[10]的研究中,PU1既往被认为通过促进Th9细胞分化发育,促进IL-9释放参与炎症反应的报道结论一致。SOFA评分、APACHE-II评分均为评价疾病预后的常用量表^[11-12]。本研究中分别以这两个量表评估生存组与死亡组的预后,结果表明,生存组SOFA评分、APACHE-II低于死亡组。PU1表达量与SOFA评分、APACHE-II评分呈正相关,而IRF4表达量与SOFA评分、APACHE-II评分呈负相关,进一步说明了PU1mRNA表达水平上调、IRF4表达水平下调与疾病预后密切相关。

参考文献:

- [1] ACHUTHAN A, COOK A D, LEE M C, et al. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor induces CCL17 production via IRF4 to mediate inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(9):3453-3466.
- [2] JAIN S. Sepsis: An update on current practices in diagnosis and management[J]. *Am J Med Sci*, 2018, 356(3):277-286.
- [3] LAMBDEN S, LATERRE P F, LEVY M M, et al. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials[J]. *Crit Care*, 2019, 23(1):374.
- [4] KUO W K, HUA C C, YU C C, et al. The cancer control status and APACHE II score are prognostic factors for critically ill patients with cancer and sepsis[J]. *J Formos Med Assoc*, 2020, 119(1 Pt 2):276-281.
- [5] ARADHYA A S, SUNDARAM V, SACHDEVA N, et al. Low vasopressin and progression of neonatal sepsis to septic shock: A prospective cohort study[J]. *Eur J Pediatr*, 2020, 179(7):1147-1155.
- [6] LIU G B, CUI X Q, WANG Z B, et al. Detection of serum procalcitonin and hypersensitive C-reactive protein in patients with pneumonia and sepsis[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(5):1165-1169.
- [7] Kastner P, Chan S. PU.1: a crucial and versatile player in hematopoiesis and leukemia[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(1):22-27.
- [8] Agnarelli A, Chevassut T, Mancini E J. IRF4 in multiple myeloma-biology, disease and therapeutic target[J]. *Leuk Res*, 2018, 72:52-58.
- [9] ALVISI G, BRUMMELMAN J, PUCCIO S, et al. IRF4 instructs effector Treg differentiation and immune suppression in human cancer[J]. *J Clin Invest*, 2020 130(6):3137-3150.
- [10] GERLACH K, HWANG Y, NIKOLAEV A, et al. TH9 cells that express the transcription factor PU.1 drive T cell-mediated colitis via IL-9 receptor signaling in intestinal epithelial cells[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(7):676-686.
- [11] LIU Z, MENG Z, LI Y, et al. Prognostic accuracy of the serum lactate level, the SOFA score and the qSOFA score for mortality among adults with sepsis[J]. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2019, 27(1):51.
- [12] BASILE-FILHO A, LAGO A F, MENEGUETI M G, et al. The use of APACHE II, SOFA, SAPS 3, C-reactive protein/albumin ratio, and lactate to predict mortality of surgical critically ill patients: A retrospective cohort study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(26):e16204.