

引用本文:吕晓娟,陈书平.新生儿败血症血清高迁移率族蛋白B1、线粒体偶联因子-6表达及其与炎症反应及心肌损害的关系[J].安徽医药,2021,25(8):1647-1650.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.040.



◇临床医学◇

新生儿败血症血清高迁移率族蛋白B1、线粒体偶联因子-6表达及其与炎症反应及心肌损害的关系

吕晓娟¹,陈书平²

作者单位:¹洛阳市第一人民医院儿科,河南 洛阳471000;

²济源市妇幼保健院新生儿科,河南 济源459000

摘要: 目的 探讨新生儿败血症血清高迁移率族蛋白B1(HMGB1)、线粒体偶联因子-6(CF-6)表达及其与炎症反应的关系和对心肌损害的预测价值。方法 选取2016年3月至2019年3月洛阳市第一人民医院收治的新生儿败血症患儿94例,根据新生儿危重症评分结果分非危重组(39例)、危重组(26例)、极危重组(29例)。对比三组血清HMGB1、CF-6、炎症因子[C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]、心肌损害标志物[心肌肌钙蛋白I(cTnI)、心型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)]水平, Pearson相关系数分析血清HMGB1、CF-6与炎症因子、心肌损害标志物相关性, ROC曲线分析血清HMGB1、CF-6对心肌损害预测价值。结果 随病情加重,血清HMGB1、CF-6、CRP、TNF- α 、cTnI、H-FABP水平呈升高趋势。Pearson相关系数分析显示,新生儿败血症患儿血清HMGB1、CF-6表达与CRP、TNF- α 、cTnI、H-FABP呈正相关($P < 0.05$)。血清HMGB1、CF-6对心肌损害的预测价值较高,其中CF-6指标敏感度最高(0.922),HMGB1的特异度最高(0.869)。血清HMGB1、CF-6联合检测对心肌损害的预测价值更高:灵敏度和特异度分别为0.944和0.925。结论 新生儿败血症患儿存在血清HMGB1、CF-6表达异常升高情况,且与患儿炎症反应、心肌损害严重程度关系密切,可作为心肌损害的预测因子,对指导临床合理制定治疗方案具有重要意义。

关键词: 脓毒症; 新生儿败血症; 高迁移率族蛋白B1; 线粒体偶联因子-6; C反应蛋白; 肿瘤坏死因子- α ; 心肌肌钙蛋白I; 婴儿, 新生

Expressions of serum HMGB1 and CF-6 in the newborn with neonatal sepsis and its correlation with inflammatory response and myocardial damage

LYU Xiaojuan¹, CHEN Shuping²

Author Affiliations:¹Department of Pediatrics, The First People's Hospital of Luoyang, Luoyang, Henan 471000, China;

²Department of Neonatology, Jiyuan Maternal and Child Health Hospital, Jiyuan, Henan 459000, China

Abstract: Objective To measure the expressions of serum high mobility group protein B1 (HMGB1) and mitochondrial coupling factor-6 (CF-6) in neonatal sepsis and to explore its correction with inflammatory reaction and predictive value for myocardial damage.

Methods Ninety-four newborn babies with neonatal sepsis hospitalized in The First People's Hospital of Luoyang from March 2016 to March 2019 were selected as subjects and assigned into non-critical group ($n=39$), critical group ($n=26$), and extremely critical group ($n=29$) according to neonatal critical illness score. Levels of serum HMGB1, CF-6, inflammatory factors [C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α)], myocardial damage markers [cardiac troponin I (cTnI), cardiac fatty acid binding protein (H-FABP)] were compared among three groups. Pearson correlation was adopted to analyze the correlation of serum HMGB1 and CF-6 with inflammatory factors and myocardial damage markers, and ROC curve was used to analyze the value of serum HMGB1 and CF-6 in predicting myocardial damage. **Results** Levels of serum HMGB1, CF-6, CRP, TNF- α , cTnI and H-FABP increased along with the aggravation of disease. Pearson correlation coefficient analysis showed that the expressions of serum HMGB1 and CF-6 were positively correlated with CRP, TNF- α , cTnI, H-FABP in children with neonatal sepsis ($P < 0.05$). Predictive value of HMGB1 and CF-6 in serum for myocardial damage was high, with the highest sensitivity of CF-6 (0.922), and the highest specificity of HMGB1 (0.869). A combined application of serum HMGB1 and CF-6 had higher predictive value: sensitivity and specificity were 0.944 and 0.925, respectively. **Conclusions** Expressions of serum HMGB1 and CF-6 are abnormally elevated in children with neonatal sepsis, and they are closely related to inflammatory reaction and severity of myocardial damage in children with neonatal sepsis. Therefore, they can be used as predictors for myocardial damage, which has great significance in making rational treatment protocols.

Key words: Sepsis; Neonatal sepsis; High mobility group protein B1; Mitochondrial coupling factor-6; C-reactive protein; Tumor necrosis factor- α ; Cardiac troponin I; Infant, newborn

新生儿败血症是新生儿期致病微生物导致的全身感染性疾病,由于新生儿免疫系统功能不完全,防御能力差,新生儿败血症常并发全身炎症反应综合征(SIRS)、多器官功能障碍(MODS)等严重并发症,病死率约2%~15%,预后较差^[1]。新生儿败血症的发生过程中,炎症细胞因子大量释放是导致患儿出现多器官功能损害的主要原因^[2-3],尤其发生心肌损害时,往往引起患儿循环功能迅速衰竭,甚至导致患儿的临床死亡。新生儿败血症的临床表现多不典型,而且依靠病原学诊断具有滞后性,因此采用早期的血清学标志物对新生儿败血症的筛选及病情评估具有重要的临床意义。线粒体偶联因子-6(CF-6)是线粒体ATP合酶主要组成部分,而线粒体是SIRS主要靶器官,线粒体损伤可直接导致外周血CF-6水平异常^[4];高迁移率族蛋白B1(HMGB1)主要参与DNA修复、细胞分化、稳定核小体等生理过程^[5],但是近年发现其也是非特异性、高敏感性炎性标志物^[4]。为进一步探讨其对新生儿败血症诊断及病情评估的价值,现就新生儿败血症患儿血清HMGB1、CF-6表达及与炎症反应及心肌损害的相关性进行研究,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年3月至2019年3月洛阳市第一人民医院收治的新生儿败血症患儿94例,纳入标准:①符合新生儿败血症诊断标准^[7];血培养阳性,有细菌、病毒感染临床表现,出现发热或低体温、少动、少哭、面色欠佳、四肢凉、黄疸等症状;②足月新生儿;出生时间<28 d;③监护人对研究内容知情同意。排除标准:①出生时伴遗传代谢性疾病、窒息、免疫系统疾病、血液系统疾病、先天畸形等;②入组前已接受抗感染治疗;③有前驱病毒感染史,不能除外病毒性心肌炎可能。患儿入组后根据新生儿危重症评分^[6]结果分非危重组(39例,>90分)、危重组(26例,70~90分)、极危重组(29例,<70分),三组性别、胎龄、日龄、体重等基线资料差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经洛阳市第一人民医院医学伦理委员会审批通过(伦理编号:2016-009),符合医学伦理学要求。

1.2 方法 患儿入组后以非抗凝真空管取静脉血3 mL,促凝,离心分离10 min(半径8 cm,转速3 500 r/min),取血清,酶联免疫法测HMGB1、肿瘤坏死因子- α (TNF- α);免疫透射比浊法测C反应蛋白(CRP)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)、心型脂肪酸结合蛋白(H-FABP);放射免疫法测CF-6水平。试剂、试剂盒为上海西塘生物科技有限公司提供,检测过程严格按照试剂及仪器使用说明书进行。

1.3 心肌损害的判断标准 心肌血清标志物出现高水平或阳性:cTnI>0.1 (ng/mL),H-FABP>10 (ng/mL)。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0统计分析软件进行本研究资料分析。计数资料(性别)以例数表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态且方差齐的资料多组间比较采用单因素方差分析+两两比较LSD- t 检验。方差不齐同的资料比较则采用Kruskal-Wallis秩检验。此外,以Pearson相关分析相关性。ROC曲线分析血清HMGB1、CF-6等指标对心肌损害的预测诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组一般资料比较 三组一般资料相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 新生儿败血症患儿94例一般资料比较

组别	例数	性别(男/女)/例	胎龄/(周, $\bar{x} \pm s$)	日龄/(d, $\bar{x} \pm s$)	体质量/(g, $\bar{x} \pm s$)
非危重组	39	20/19	37.52 \pm 1.25	15.45 \pm 6.21	2 810.17 \pm 355.31
危重组	26	13/13	37.58 \pm 1.02	15.59 \pm 6.74	2 830.69 \pm 410.02
极危重组	29	16/13	38.02 \pm 1.25	16.02 \pm 6.57	2 840.25 \pm 345.60
$F(\chi^2)$ 值		(0.166)	1.625	0.048	0.012
P 值		0.920	0.203	0.953	0.988

2.2 三组血清HMGB1、CF-6、炎性因子、心肌损害标志物水平 三组血清HMGB1、CF-6、CRP、TNF- α 、cTnI、H-FABP水平相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。极危重组、危重组血清HMGB1、CF-6、CRP、TNF- α 、cTnI、H-FABP水平高于非危重组($P<0.05$),极危重组血清HMGB1、CF-6、CRP、TNF- α 、cTnI、H-FABP水平高于危重组($P<0.05$)。见表2。

2.3 血清HMGB1、CF-6与各指标的相关分析结果 经Pearson相关分析,新生儿败血症患儿血清HMGB1、CF-6表达与CRP、TNF- α 、cTnI、H-FABP水平呈正相关关系($P<0.05$)。见表3。

2.4 ROC曲线分析血清HMGB1、CF-6及各项指标对心肌损害预测价值 进一步探讨分析血清HMGB1、CF-6对心肌损害的预测/诊断价值,同时也将2个炎性因子和2个心肌损害标志物纳入。使用样本为:符合心肌损害标准cTnI>0.1 ng/mL, H-FABP>10 ng/mL的样本为阳性样本,共54例(主要来自危重组和极危重组),剩余40例为阴性样本。

2.4.1 HMGB1、CF-6及各项指标的单独应用 将各指标水平划分成7~10个组段,建立受试者工作特征曲线(receiver operation characteristic, ROC)诊断

表2 新生儿败血症患儿94例血清HMGB1、CF-6、炎症因子、心肌损害标志物水平对比/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	HMGB1/(ng/mL)	CF-6/(pg/mL)	CRP/(mg/L)	TNF- α /(pg/mL)	cTnI/(ng/mL)	H-FABP/(ng/mL)
非危重组	39	11.39 \pm 4.55	35.13 \pm 25.57	6.02 \pm 2.14	4.40 \pm 0.81	0.10 \pm 0.04	7.16 \pm 1.02
危重组	26	20.50 \pm 6.81 ^①	90.83 \pm 31.86 ^①	47.01 \pm 8.50 ^①	9.23 \pm 0.93 ^①	0.29 \pm 0.03 ^①	13.43 \pm 1.57 ^①
极危重组	29	25.24 \pm 5.33 ^{①②}	113.13 \pm 30.06 ^{①②}	52.71 \pm 9.78 ^{①②}	12.31 \pm 1.01 ^{①②}	0.35 \pm 0.05 ^{①②}	16.77 \pm 2.82 ^{①②}
F(Hc)值		56.141	58.125	(21.640)	447.445	348.352	228.223
P值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:①、②分别为和非危重组、危重组相比, $P < 0.05$ 。HMGB1为高迁移率族蛋白B1, CF-6为线粒体偶联因子-6, CRP为C反应蛋白, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , cTnI为心肌肌钙蛋白I, H-FABP为心型脂肪酸结合蛋白。

表3 血清HMGB1、CF-6与各指标的相关分析结果

因素	CRP		TNF- α		cTnI		H-FABP	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
HMGB1	0.385	0.002	0.413	0.000	0.296	0.007	0.331	0.000
CF-6	0.431	0.000	0.357	0.000	0.404	0.000	0.432	0.0001

注:HMGB1为高迁移率族蛋白B1, CF-6为线粒体偶联因子-6, CRP为C反应蛋白, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , cTnI为心肌肌钙蛋白I, H-FABP为心型脂肪酸结合蛋白。

分析模型。经ROC分析知:各指标均具有一定的对心肌损害的预测/诊断价值, ROC-AUC均在0.72以上。在其理论阈值点处, 敏感度和特异度均高于0.7。其中CF-6指标敏感度最高(0.922), HMGB1的特异度最高(0.869)。

2.4.2 各指标的联合应用 采用SPSS软件的联合应用ROC分析之LogP模式:纳入各单独应用指标进行logistic综合回归,再依据所得参数B,归一化加权计算并对应处理各样本资料,并据其进行联合应用的ROC分析。结果:各指标联合应用对心肌损害的预测/诊断价值:AUC为0.929,灵敏度和特异度分别为0.944和0.925。显然该联合模式,其诊断效能均比单一指标均有明显提高。见表4。

表4 ROC分析结果

因素	AUC	理论阈值	敏感度	特异度	约登指数
HMGB1	0.848	18 ng/mL	0.758	0.869	0.627
CF-6	0.864	70 pg/mL	0.922	0.716	0.638
CRP	0.727	20 mg/L	0.735	0.704	0.439
TNF- α	0.754	6.5 pg/mL	0.763	0.738	0.501
cTnI	0.780	0.12 ng/mL	0.748	0.806	0.554
H-FABP	0.765	10 ng/mL	0.772	0.754	0.526
联合应用	0.929	-	0.944	0.925	0.869

注:各指标阈值经适当取整。HMGB1为高迁移率族蛋白B1, CF-6为线粒体偶联因子-6, CRP为C反应蛋白, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , cTnI为心肌肌钙蛋白I, H-FABP为心型脂肪酸结合蛋白。

3 讨论

新生儿败血症是新生儿群体常见严重感染性疾病,其以诱导大量生成炎症因子,并继发心肌等器官组织损害为主要特征^[8-9]。目前新生儿败血症诊断多依赖临床症状、病史中高危险因素及外周血象

改变,确诊则依靠病原菌检出,但疾病发展早期缺乏特异性症状,严重感染时血常规中白细胞计数往往与感染的严重程并不一致度,病原菌培养耗时久,不利于疾病的早期诊断及病情的评估。血清CRP、TNF- α 等炎症细胞因子与机体的炎症反应状态密切相关,但缺乏特异性,在本组资料中,CRP、TNF- α 表达随病情加重呈升高趋势,提示炎症反应参与新生儿败血症病情进展过程。

HMGB1是一种新发现炎性标志物,主要由可活化的单核巨噬细胞分泌或坏死细胞被动释放,大量研究显示,释放至外周血系统的HMGB1具有显著促炎活性^[10-13]。叶樱泽等^[14]研究显示, HMGB1能通过结合高级糖基化终末产物受体发挥促炎反应,而HMGB1敲除细胞促发炎症反应能力显著降低。为探究新生儿败血症高炎症反应病理机制,本研究检测新生儿败血症患儿外周血HMGB1表达发现,患儿血清HMGB1高表达(基础值 \leq 2.28 ng/mL)。王静等^[15]发现, HMGB1在重症急性胰腺炎大鼠模型外周血内高表达,胰腺组织内靶向注射重组HMGB1蛋白能活化TLR4/NF-KB信号通路,诱导胰腺病理损伤,但TLR4敲除小鼠则能降低HMGB1生物学效应。本研究结果显示,血清HMGB1表达随病情加重呈升高趋势($P < 0.05$)。为进一步验证HMGB1介导TLR4/NF-KB信号通路在炎症因子释放中的生物学效应,本研究通过检测血清CRP、TNF- α 炎症因子发现,新生儿败血症患儿血清HMGB1表达与血清CRP、TNF- α 水平呈正相关($P < 0.05$)。推测,新生儿败血症发病后炎性损害细胞被动释放HMGB1至外周血系统,并通过TLR4/NF-KB信号通路介导大量生成炎症因子,形成恶性循环,而炎症因子及诱发新生儿败血症的病原体对心肌组织细胞具有特殊亲和力,随HMGB1释放增多会不断加重心肌损害。

CF-6是Osana等人在1998年首次经高血压大鼠组织提取纯化的一种线粒体ATP合酶单位,主要参与能量转运过程。本研究结果显示,随新生儿败血症病情加重,血清CF-6水平呈升高趋势($P < 0.05$),与学者刘雨等^[16]研究结果一致。另外,报道中也表

明,冠心病、心力衰竭患者血清 CF-6 高表达,与其发病发展关系密切^[17-18]。线粒体广泛分布于体内各组织细胞中,且以心肌组织含量最为丰富,新生儿败血症时存在的心肌缺血损害会致细胞内 CF-6 释放入血,其机制是随病情进展 HMGB1、CRP、TNF- α 等炎性因子持续介导心肌等组织细胞损伤、凋亡,并通过炎症应答、氧化应激等病理生理过程增加线粒体膜通透性,释放 CF-6 入血^[19]。本研究结果还显示,新生儿败血症患儿血清 CF-6 表达与炎性因子、心肌损害指标表达呈正相关($P < 0.05$),说明 CF-6 表达与炎症反应及心肌损害关系密切。但有研究指出,败血症继发多器官功能障碍综合征(MODS)时血清 CF-6 表达并未继续升高^[20]。这可能是败血症早期,线粒体损害致 CF-6 释放入血,晚期线粒体功能已严重损伤,其结构、相关酶完全释放入血,因此继发 MODS 时血清 CF-6 表达不再升高,基于此,本研究推测血清 CF-6 可反映早期新生儿败血症病情程度。

本研究进一步进行 ROC 曲线分析知,血清 CF-6 预测心肌损害的敏感度 CF-6 指标敏感度很高(0.922),HMGB1 的特异度最高(0.869),若与炎性因子和心肌损害标志物进行联合应用,其诊断效能将有进一步提高,灵敏度和特异度分别可达 0.944(51/54)和 0.925(37/40)。

综上所述,新生儿败血症患儿存在血清 HMGB1、CF-6 表达异常升高情况,且与患儿炎症反应、心肌损害严重程度关系密切,可能参与新生儿败血症的发生发展过程,可作为心肌损害预测因子为临床合理制定治疗方案、评估预后提供参考数据。

参考文献

[1] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕.实用新生儿学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2019.

[2] 李少芳,黎华连.新生儿败血症血清中降钙素原含量对炎症反应程度、脏器功能损伤的评估价值[J].海南医学院学报,2017,23(7):976-979.

[3] BHARGAVA M, SALUJA S, SINDHURI U, et al. Elevated mean neutrophil volume+CRP is a highly sensitive and specific predictor of neonatal sepsis[J/OL]. Int J Lab Hematol, 2014, 36(1): e11-e14. DOI: 10.1111/ijlh.12120.

[4] 马欢,张冬会,王杏,等.过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α 在高脂饮食导致的大鼠骨骼肌线粒体功能紊乱中

的作用机制[J].中华老年医学杂志,2019,38(4):439-443.

- [5] VALDÉS-FERRER SI, PAPOIN J, DANCHO ME, et al. HMGB1 mediates anemia of inflammation in murine sepsis survivors[J]. Mol Med, 2016, 21(1): 951-958.
- [6] 袁小凤,陈蓉.新生儿危重病例评分的研究进展[J].贵州医药, 2019, 43(1): 45-48.
- [7] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,中国医师协会新生儿科医师分会感染专业委员会.新生儿败血症诊断及治疗专家共识(2019年版)[J].中华儿科杂志,2019,57(4):252-257.
- [8] 初云霞.降钙素原联合 C-反应蛋白在诊断和治疗早期新生儿败血症中的应用[J].分子诊断与治疗杂志,2013,5(1):26-29.
- [9] 李松,罗玲.新生儿败血症外周血中 PCT、SAA、CD64 含量与炎症反应程度及脏器功能的相关性[J].海南医学院学报,2017,23(4):542-545.
- [10] GENTILE LF, MOLDAWER LL. HMGB1 as a therapeutic target for sepsis: it's all in the timing[J]. Expert Opin Ther Targets, 2014, 18(3): 243-245.
- [11] 邓春青,张缙云,张静娇,等.高迁移率族蛋白基因第 4 内含子区功能以及 1176G/C 多态性对其功能的影响[J].中华生物工程医学杂志,2017,23(6):459-463.
- [12] LI Z, MA Q, YAN Y, et al. Edaravone attenuates hippocampal damage in an infant mouse model of pneumococcal meningitis by reducing HMGB1 and iNOS expression via the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(10): 1298-1306.
- [13] HOU C, KONG J, LIANG Y, et al. HMGB1 contributes to allergen-induced airway remodeling in a murine model of chronic asthma by modulating airway inflammation and activating lung fibroblasts[J]. Cell Mol Immunol, 2015, 12(4): 409-423.
- [14] 叶樱泽,熊晓星,古丽娟.IL-4 基因敲除小鼠脑外伤后脑水肿程度及血清 HMGB1 和 S100B 水平变化[J].中华行为医学与脑科学杂志,2018,27(5):385-389.
- [15] 王静,黄忠,魏尉,等.HMGB1 在重症急性胰腺炎大鼠肺损伤中的表达及乌司他丁的干预效应[J].西部医学,2018,30(2):174-177,181.
- [16] 刘雨,吴运芹,庄严,等.线粒体偶联因子 6、细胞色素 C 在新生儿败血症中的变化及临床意义[J].中国小儿急救医学,2017,24(7):536-540.
- [17] 杨朝娣,王素青,习广燕.3 种指标在冠心病合并心力衰竭诊治中的应用及相关性研究[J].国际检验医学杂志,2017,38(18):2526-2528.
- [18] 张晓元,杨光,罗文婷,等.线粒体偶联因子-6(CF6)与冠心病患者支架植入后内膜增生程度的关系[J].现代生物医学进展,2016,16(23):4450-4453.
- [19] 朱子建,张嘉煜,孙夏承,等.线粒体内质网结构偶联介导的线粒体 Ca²⁺摄取及其与肿瘤发生关系研究进展[J].中国细胞生物学学报,2018,40(12):2072-2076.
- [20] 刘雨.线粒体偶联因子 6 和细胞色素 C 在新生儿败血症中的变化及临床意义[D].衡阳:南华大学,2016.

(收稿日期:2019-11-28,修回日期:2019-12-25)