

• 综 述 •

miRNA 在脓毒症病原微生物诊断中的研究进展^{*}

孙文杰¹, 张国安¹, 杨晓晖¹综述, 刘英富^{1,2△} 审核

1. 沧州医学高等专科学校, 河北沧州 061000; 2. 沧州市纳米抗体技术创新中心, 河北沧州 061000

摘 要:脓毒症是由感染引起宿主反应失调危及生命的疾病, 具有发病率高、病死率高、发病机制复杂的特点, 其早期诊断一直是医学研究的热点问题。目前, 常用的脓毒症实验室指标无法提供病原微生物信息。小分子 RNA(miRNA)是生物体生理和病理条件下存在的微小 RNA, 在不同的致病微生物感染患者中呈差异表达, 为脓毒症的早期诊断提供了新方向。该文就 miRNA 在脓毒症病原微生物诊断中的应用综述如下。

关键词:小分子 RNA; 脓毒症; 诊断; 生物标志物; 微生物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.20.023

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2022)20-2550-04

文献标志码:A

Research progress of miRNA in pathogenic microbial diagnosis of sepsis^{*}

SUN Wenjie¹, ZHANG Guoan¹, YANG Xiaohui¹, LIU Yingfu^{1,2△}

1. Cangzhou Medical College, Cangzhou, Hebei 061000, China; 2. Cangzhou Nanobody Technology Innovation Center, Cangzhou, Hebei 061000, China

Abstract:Sepsis is a life-threatening disease caused by the dysregulated host response to infection, with high incidence rate, high mortality and complex pathogenesis. Its early diagnosis has always been a hot topic in medical research. Currently, common laboratory markers for the diagnosis of sepsis cannot provide the information of pathogenic microorganisms. MicroRNA (miRNA) is a kind of microRNA existing under physiological and pathological conditions of organism. It is differentially expressed in patients with different pathogenic microorganism infection, which provides a new direction for early diagnosis of sepsis. In this paper, the application of miRNA in pathogenic microbial diagnosis of sepsis was reviewed.

Key words:microRNA; sepsis; diagnosis; biomarker; microorganism

最新国际共识对脓毒症的定义为机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍性疾病^[1]。脓毒症是一个全球性公共卫生问题, 是感染导致死亡的主要原因。脓毒症每年新增病例高达 1 900 万, 病死率大于 25%^[2], 据统计约一半的病死率是由继发性感染引起的^[3]。脓毒症确诊后应尽快启动抗菌药物治疗, 每延迟 1 h, 病死率就会明显升高^[4]。近年来, 抗菌药物的滥用导致细菌耐药性问题愈演愈烈, 抗菌药物的合理使用急需临床早期快速的脓毒症诊断和病原学检测。脓毒症的病原微生物 90% 以上为细菌^[5], 除此之外还有真菌、病毒及其他微生物。长期以来, 通过血培养技术检测到病原微生物被视为诊断脓毒症的金标准^[6], 但其临床应用仍存在培养周期长、工作量大、灵敏度低、有假阴性风险等缺点。目前常用的脓毒症生物学诊断指标有降钙素原、可溶性 CD14 亚型、C 反应蛋白、白细胞介素-6、脂多糖结合蛋白等, 均存在特异性有限, 且无法提供致病微生物信

息的缺点。正常情况下, 小分子 RNA(miRNA)在人体液中保持稳定, 而疾病状态下 miRNA 呈现出差异性表达的特点, 这对脓毒症的诊断具有重要意义。近年来, miR-25、miR-122、miR-133a、miR-150、miR-233 等^[7]在脓毒症的生物标志物研究领域均取得了一定进展。通过 miRNA 检测感染微生物的类型, 提高脓毒症诊断的特异性, 从而改善脓毒症的诊疗策略, 具有重要研究意义和临床价值。

1 miRNA 的特征

miRNA 是一类由 21~25 个核苷酸组成的小分子非编码 RNA, 主要通过靶向 mRNA 抑制其转录后翻译或降解 mRNA, 使基因沉默发挥调控作用^[8]。也有少部分 miRNA 能够诱导转录或上调蛋白的表达^[9]。miRNA 在生物体中广泛存在, 至今已发现有高达数万种, 仅人类基因组中就已发现 2 000~3 000 种 miRNA。miRNA 在细胞质中合成, 然后通过核糖体蛋白复合物、脂脂质囊泡、外泌体等形式释

^{*} 基金项目:河北省重点研发计划项目(19272404D)。

[△] 通信作者, E-mail:liu_yingfu@126.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220916.1419.004.html>(2022-09-17)

放到细胞外,不被 RNA 酶消化,在血浆、血清、尿液、唾液、精液等体液中可稳定存在^[10]。循环 miRNA 具有稳定性高、特异性强、化学结构简单、无转录后修饰、易获得、可反复冻融和长期保存、便于快速检测等优点^[10],在疾病诊断方面具有成为理想生物标志物的潜力。miRNA 以囊泡转运或蛋白载体机制被细胞输出或输入,介导不同组织间的通讯,从而调节远端细胞功能,参与调节多种生理和病理过程的发生和发展。

2 miRNA 与脓毒症相关的生物学功能

脓毒症的发病机制复杂且尚不明确,除了病原微生物及其毒素的直接损伤作用外,感染还能够导致机体处于炎症激活和免疫功能紊乱状态,进而发展为器官功能障碍,以致危及生命。微生物感染主要通过宿主 Toll 样受体(TLR)识别革兰阴性菌(GNB)的脂多糖(LPS)或革兰阳性菌(GPB)的脂磷壁酸(LTA)两种信号转导途径触发病原体与宿主之间复杂的相互作用。病原体刺激机体后,miRNA 异常表达,通过介导细胞间信息传递调控基因表达,从而调控多种细胞的增殖、分化和凋亡,对炎症反应、免疫反应及器官组织损伤等发挥调控作用。生物体内存在多种 miRNA,能够广泛参与各种细胞的活动,涉及多条信号通路。有研究报道显示,在脓毒症中 miR-181a 对 TLR 信号传导通路起负反馈调节作用,并且能够调节炎症细胞因子产生^[11]。miR-125b 可调节脓毒症中内皮细胞的功能和血管屏障作用,从而减轻组织器官损伤^[12]。miR-146 和 miR-125 通过参与脓毒症先天免疫应答信号的调节,调控炎症反应及机体的抗感染功能^[13]。在脓毒症中 miR-31 表达下调,可促进 CD4⁺T 淋巴细胞向 Th2 表型转化,从而促进其从高炎症状态到免疫抑制状态的转变^[14]。所以,脓毒症发生和发展的各个阶段几乎都涉及 miRNA 的调控作用。

3 miRNA 可作为脓毒症诊断的生物标志物

脓毒症的非特异性临床表现导致诊断延迟一直是医学研究的热点问题。正常生理条件下,miRNA 在人外周循环中保持稳定,而在脓毒症患者体液中呈现差异性表达,因此,检测患者体液中 miRNA 水平可起到预测或诊断脓毒症的作用。近年来有研究证实,miRNA 可作为脓毒症的潜在生物标志物^[7],还可特异性检测脓毒症导致的脏器损伤^[15],区分脓毒症的严重程度^[7],以及鉴别感染的病原微生物类型^[16-18]。通过 miRNA 检测病原菌类型,联合其他生物学指标,可提高脓毒症诊断的特异性,为脓毒症早期抗感染策略提供依据。

3.1 miRNA 与 GNB 性脓毒症的诊断 导致脓毒症的常见 GNB 包括大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌等。近年来,已发现多种 miRNA 在 GNB 感染致脓毒症中的差异性表达。在不同 GNB(大肠埃希菌、肺炎杆菌、绿脓杆菌、沙门菌、沙雷菌)来源的 LPS

诱导小鼠感染模型中均检出了 let-7d、miR-15b、miR-16、miR-25、miR-92a、miR-103、miR-107 和 miR-451 这 8 种 miRNA 特异性差异表达,可能是 LPS 感染的潜在标志物。在细菌感染与盲肠结扎穿刺(CLP)致脓毒症模型的对比研究中,大肠埃希菌组中有 let-7i/7d、miR-16、miR-20a、miR-26a/26b、miR-106a/106b、miR-451 等在 24 h 内表达上调 2 倍以上,且 CLP 致脓毒症以 GNB 感染为主^[16]。在 GNB 感染泌尿系统的脓毒症患者中,miRNA-150 和 let-7a 表达水平明显降低,可能是 GNB 感染泌尿系统致脓毒症的潜在生物标志物^[17]。在大肠埃希菌、类鼻疽菌、土拉杆菌感染的人外周血单核细胞模型中,miR-30-5p 均出现显著性差异表达^[18],也可能是 GNB 感染的潜在标志物。此外,还有些 miRNA 在特定 GNB 感染中呈差异性表达,可能与其特异性感染相关。在大肠埃希菌感染牛乳腺上皮细胞中的 miRNA 分析表明,miR-18、miR-24-3p、miR-148、miR-486、let-7a-5p 具有大肠埃希菌特异性^[19]。绿脓杆菌感染会引起 miR-302b、miR-301b、miRNA-155、let-7、miRNA-233 等表达变化,其中 miR-301b 可作为靶点调控感染引起的炎症反应和先天免疫应答^[20]。布鲁菌感染会引起 let-7b、miR-92a、miR-93、miR-181b、miR-1981 水平明显变化^[21]。在沙门菌感染情况下,miRNA-146 的表达水平发生明显变化,而且在先天免疫调节中发挥作用^[22]。不同 GNB 感染致脓毒症可能存在共同的生物标志物,如 let-7a/7d、miR-16、miR-150、miR-30-5p 等,而不同的 GNB 感染还可能具有其特异性的生物标志物,尚需研究加以验证。

3.2 miRNA 与 GPB 性脓毒症的诊断 GPB 致脓毒症以金黄色葡萄球菌(SA)、肠球菌、表皮葡萄球菌等为主,而 miRNA 作为其生物标志物的研究也取得了一定进展。在枯草杆菌、粪链球菌和 SA 来源的 LTA 分别诱导小鼠感染模型的对比研究发现,miR-451、miR-668、miR-1902 和 miR-1904 表达均明显上调,并且呈剂量和时间依赖性,可能成为 LTA 感染的潜在生物标志物^[23]。WU 等^[16]研究发现,在 SA 感染致脓毒症模型中,miR-133a/133b、miR-122、miR-205、miR-1899、miR-714、miR-291b 的血清水平与 SA 特异性相关。RAU 等^[24]在大肠埃希菌和 SA 感染模型的对比研究中发现,miR-193b-3p、miR-133a-1-3p 和 miR-133a-2-3p 是 SA 感染最常见的 miRNA 靶标,也有可能成为 GPB 感染的特异性标志物。还有些 miRNA 在特定 GPB 感染中呈差异性表达,可能与其感染特异性相关。在 SA 感染牛乳腺上皮细胞模型中检测出 miR-2339、miR-499、miR-23a、miR-99b 这 4 种 miRNA 与 SA 感染特异性相关^[19]。李斯特菌感染后,miRNA-146、miRNA-155、miR-125a-3p/5p、miR-149 呈显著差异表达,并且可能参与固有免疫应答调节^[25]。不同 GPB 感染致脓毒症也可能存在共同的生

物标志物,如 miR-133a、miR-668、miR-1902、miR-1904 等,而不同 GPB 感染还具有其特异性生物标志物,有待进一步研究。

3.3 miRNA 与病毒感染的诊断 病毒致脓毒症的高发人群主要是免疫力低下人群。有研究报道显示,42.7%的脓毒症患者存在两种及两种以上的病毒感染^[26],包括流感病毒、腺病毒、肠道病毒、水痘-带状疱疹病毒(VZV)等^[27]。TUDOR 等^[28]通过对比脓毒症患者和健康者的白细胞 miRNA 表达谱发现,miR-K-10b 和 miR-K12-12 的表达水平特异性显著上调,能够通过靶向 TLR8 促进白细胞介素(IL)-6 和 IL-10 分泌,参与脓毒症的发展。在手足口病患者血清中发现 6 种 miRNA,包括 miR-148a、miR-143、miR-324-3p、miR-628-3p、miR-140-5p、miR-362-3p,具有肠道病毒特异性,有助于区分肠道病毒与其他微生物^[29]。LI 等^[30]在 VZV 感染患者的循环 miRNA 分析中发现了 6 种 miRNA,包括 miR-190b、miR-571、miR-1276、miR-1303、miR-943、miR-661,其表达水平明显上调,可能成为 VZV 感染的生物标志物。还有研究显示,miR-34/449 家族包括 miR-34a、miR-34b、miR-34c、miR-449a、miR-449b 和 miR-449c,能够参与免疫反应和病毒感染的调节^[31],有可能成为病毒感染诊断和治疗的新靶点。

3.4 miRNA 与真菌感染的诊断 脓毒症的真菌病原体以念珠菌为主,而念珠菌感染通常与长期服用抗菌药物、植入异物、免疫力低下和慢性病等有关。MUHAMMAD 等^[32]在念珠菌感染的呼吸道上皮细胞 miRNA 表达谱分析中发现,miR-16-1 明显上调,而 miR-17-3p 明显下调。WU 等^[33]在白色念珠菌感染的巨噬细胞模型中发现,miR-140-5p 表达上调,而 miR-223-3p 表达下调,且参与免疫反应、炎症反应和细胞凋亡的过程。MARIOTO 等^[34]研究发现,miR-let-7f-5p、miR-let-7a-5p、miR-5p-26b、miR-let-7e-5p、miR-369-3p、miR-466k 在小鼠肺部感染巴西芽生菌后表达水平明显增加,可能参与了巴西芽生菌感染期间的免疫反应。还有研究显示,通过 miRNA 检测可有效区分口腔上皮细胞感染的高致病性或低致病性念珠菌类型^[35],提示 miRNA 对不同类型的真菌感染检测也具有重要意义。

此外,有研究证实,在多种寄生虫感染性疾病中也已发现 miRNA 的差异性表达^[34-35]。miRNA 作为生物标志物有望用于区分不同的病原微生物感染,优化抗感染策略及监测患者对抗感染药物治疗的反应。

4 小 结

综上所述,大量研究已证实,多种 miRNA 的差异性表达与感染的病原微生物特异性相关,可能作为脓毒症致病微生物诊断的潜在生物标志物^[34-35],对 GNB、GPB、病毒、真菌等的特异性检测具有重要意义。目前研究结果之间存在重大差异,可能是因为研

究多在重症监护病房或动物实验中进行,研究设计和实验标本等存在差异,患病时长的差异也会在数据中产生干扰。miRNA 检测方法与研究方法的标准化及 miRNA 水平的纵向研究将提供脓毒症进程中 miRNA 的表达信息,可能会解决一些矛盾。尽管目前 miRNA 与脓毒症的发病机制、诊断与治疗中的作用尚不明确,仍处于研究的初期阶段,但是已经越来越受到科研人员和临床人员的关注,越来越多的特异性 miRNA 被发现在脓毒症诊断中具有重要作用。随着大量研究和调控机制的明确,miRNA 可能会成为新型的脓毒症诊断标志物及快速、准确检测致病微生物,快速启动定向治疗,检测抗感染疗效,改善患者预后,降低病死率,优化脓毒症的诊疗策略。

参考文献

- [1] SINGER M, DEUTSEHMAN 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.
- [2] 于学忠,姚咏明,周荣斌. 中国脓毒症/脓毒症休克急诊治疗指南(2018)[J]. 临床急诊杂志, 2018, 19(9): 567-588.
- [3] RUDD K E, JOHNSON S C, AGESA K M, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the global burden of disease study [J]. Lancet, 2020, 395(10219): 200-211.
- [4] RHODES A, EVANS L E, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [J]. Intensive Care Med, 2017, 43(3): 304-377.
- [5] MAYR F B, YENDE S, ANGUS D C. Epidemiology of severe sepsis [J]. Virulence, 2014, 5(1): 4-11.
- [6] SINHA M, JUPE J, MACK H, et al. Emerging technologies for molecular diagnosis of sepsis [J]. Clin Microbiol Rev, 2018, 31(2): e00089-17.
- [7] BENZ F, ROY S, TRAUTWEIN C, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for sepsis [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(1): 78.
- [8] SALIMINEJAD K, KHORSHID H R K, FARD S S, et al. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 5451-5465.
- [9] ZHANG X, ZUO X, YANG B, et al. MicroRNA directly enhances mitochondrial translation during muscle differentiation [J]. Cell, 2014, 158(3): 607-619.
- [10] MORI M A, LUDWIG R G, GARCIA-MARTIN R, et al. Extracellular miRNAs: from biomarkers to mediators of physiology and disease [J]. Cell Metabolism, 2019, 30(4): 656-673.
- [11] JIANG K F, GUO S, ZHANG T, et al. Downregulation of TLR4 by miR-181a provides negative feedback regulation to lipopolysaccharide-induced inflammation [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 142.

- [12] WEI M, GAN L, LIU Z, et al. MiR125b-5p protects endothelial cells from apoptosis under oxidative stress[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95: 453-460.
- [13] LEE H M, KIM T S, JO E K. MiR-146 and miR-125 in the regulation of innate immunity and inflammation[J]. BMB Rep, 2016, 49(6): 311-318.
- [14] HEIDE V, MOHNLE P, RINK J, et al. Down-regulation of microRNA-31 in CD4⁺ T cells contributes to immunosuppression in human sepsis by promoting TH2 skewing[J]. Anesthesiology, 2016, 124(4): 908-922.
- [15] 候果, 余迫. miRNA 作为脓毒症及其并发症生物标志物的研究进展[J]. 微循环学杂志, 2018, 28(4): 81-85.
- [16] WU S C, YANG J C S, RAU C S, et al. Profiling circulating microRNA expression in experimental sepsis using cecal ligation and puncture[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77936.
- [17] HOW C K, HOU S K, SHIH H C, et al. Expression profile of microRNAs in gram-negative bacterial sepsis[J]. Shock, 2015, 43(2): 121-127.
- [18] CER R Z, HERRERA-GALEANO J E, FREY K G, et al. Differential microRNA analyses of burkholderia pseudomallei-and francisella tularensis-exposed hPBMCs reveal potential biomarkers[J]. Int J Genomics, 2017, 2017: 6489383.
- [19] JIN W, IBEAGHA-AWEMU E M, LIANG G, et al. Transcriptome microRNA profiling of bovine mammary epithelial cells challenged with Escherichia coli or Staphylococcus aureus bacteria reveals pathogen directed microRNA expression profiles[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 181-186.
- [20] LI X, HE S, LI R, et al. Pseudomonas aeruginosa infection augments inflammation through miR-301b repression of c-Myb-mediated immune activation and infiltration[J]. Nature Microbiol, 2016, 1(10): 16132.
- [21] ZHENG K, CHEN D S, WU Y Q, et al. MicroRNA expression profile in RAW264. 7 cells in response to Brucella melitensis infection[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(7): 1013-1022.
- [22] ORDAS A, KANWAL Z, LINDENBERG V, et al. MicroRNA-146 function in the innate immune transcriptome response of zebrafish embryos to Salmonella typhimurium infection[J]. BMC Genomics, 2013, 14(1): 696-699.
- [23] HSIEH C H, YANG J C, JENG J C, et al. Circulating microRNA signatures in mice exposed to lipoteichoic acid [J]. J Biomed Sci, 2013, 20(1): 2-9.
- [24] RAU C S, WU S C, YANG J C S, et al. Profiling the circulating miRNAs in mice exposed to gram-positive and gram-negative bacteria by Illumina small RNA deep sequencing[J]. J Biomed Sci, 2015, 22(1): 1-6.
- [25] COSSART P, LEBRETON A. A trip in the "new microbiology" with the bacterial pathogen Listeria monocytogenes[J]. FEBS Lett, 2014, 588(15): 2437-2445.
- [26] WALTON A H, MUENZER J T, RASCHE D, et al. Re-activation of multiple viruses in patients with sepsis[J]. PLoS One, 2014, 9: e98819.
- [27] LIN G L, MCGINLEY J P, DRYSDALE S B, et al. Epidemiology and immune pathogenesis of viral sepsis [J]. Front Immunol, 2018, 9: 2147.
- [28] TUDOR S, GIZA D E, LIN H Y, et al. Cellular and Kaposi's sarcoma-associated herpes virus microRNAs in sepsis and surgical trauma[J]. Cell Death Dis, 2014, 5(12): e1559.
- [29] CUI L, QI Y, LI H, et al. Serum microRNA expression profile distinguishes enterovirus 71 and coxsackievirus 16 infections in patients with hand-foot-and-mouth disease [J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27071.
- [30] LI X, HUANG Y, ZHANG Y, et al. Evaluation of microRNA expression in patients with herpes zoster[J]. Viruses, 2016, 8(12): 326-329.
- [31] LV J, ZHANG Z, PAN L, et al. MicroRNA-34/449 family and viral infections[J]. Virus Res, 2019, 260: 1-6.
- [32] MUHAMMAD S A, FATIMA N, SYED N I H, et al. MicroRNA expression profiling of human respiratory epithelium affected by invasive candida infection[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0136454.
- [33] WU C X, CHENG J, WANG Y Y, et al. MicroRNA expression profiling of macrophage line Raw264. 7 infected by candida albicans[J]. Shock, 2017, 47(4): 520-530.
- [34] MARIOTO D T G, DOS SANTOS FERRARO A C N, DE ANDRADE F G, et al. Study of differential expression of miRNAs in lung tissue of mice submitted to experimental infection by Paracoccidioides brasiliensis[J]. Med Mycol, 2017, 55(7): 774-784.
- [35] HORVATH M, NAGY G, ZSINDELY N, et al. Oral epithelial cells distinguish between candida species with high or low pathogenic potential through microRNA regulation [J]. mSystems, 2021, 6(3): e00163-21.

(收稿日期: 2021-11-14 修回日期: 2022-05-28)