

血浆游离 DNA 对脓毒症预后的预测价值

黄天宝 杨志燕 陈少剑 陈金图

362000 福建泉州,福建医科大学附属泉州第一医院急诊中心

通讯作者:黄天宝, Email: hhttbccn@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.10.003

【摘要】 目的 探讨血浆游离 DNA (cf-DNA) 对脓毒症患者预后的预测价值。方法 选择 2015 年 6 月至 2017 年 6 月福建医科大学附属泉州第一医院急诊中心收治的 105 例脓毒症患者为研究对象,并根据病情程度分为脓毒症组 (50 例) 和严重脓毒症组 (55 例);同时选择本院体检中心 50 例健康体检者作为健康对照组。比较 3 组间 cf-DNA、降钙素原 (PCT)、急性生理学及慢性健康状况评分 II (APACHE II) 的差异;采用 Bivariate 法分析 cf-DNA 与 PCT、APACHE II 的相关性。采用 Logistic 回归分析脓毒症的独立预测因素;绘制受试者工作特征曲线 (ROC),评估 cf-DNA、PCT、APACHE II 单独或联合对脓毒症预后的预测能力。结果 脓毒症组和严重脓毒症组 PCT、APACHE II 及 cf-DNA 均明显高于健康对照组 [PCT ($\mu\text{g/L}$): 5.80 (3.28, 8.85)、17.53 (8.40, 29.61) 比 0.02 (0.01, 0.03), APACHE II (分): 13.04 \pm 3.03、23.29 \pm 8.02 比 2.10 \pm 1.05, cf-DNA ($\mu\text{g/L}$): 1 438.0 (1 154.0, 1 576.0)、2 595.0 (2 162.0, 5 198.0) 比 17.0 (13.0, 20.5), 均 $P < 0.05$], 且严重脓毒症组各指标较脓毒症组进一步升高 (均 $P < 0.05$)。相关性分析显示,cf-DNA 与 PCT [$r = 0.675$, 95% 可信区间 (95% CI) = 0.575 ~ 0.766, $P < 0.001$], APACHE II ($r = 0.911$, 95% CI = 0.874 ~ 0.939, $P < 0.001$) 均呈显著正相关。ROC 曲线分析显示, PCT、APACHE II、cf-DNA、PCT+APACHE II、cf-DNA+PCT、cf-DNA+APACHE II、cf-DNA+PCT+APACHE II 预测脓症患者预后的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.898、0.905、0.961、0.941、0.974、0.976、0.982。脓毒症预后的预测能力显示,PCT、APACHE II、cf-DNA 单独预测时,cf-DNA 的 AUC 最大 (0.961), 敏感度为 100%, 特异度为 81.43%; cf-DNA 与 PCT 或 APACHE II 联合预测可进一步增加 AUC, 且 cf-DNA+PCT+APACHE II 三者联合预测的 AUC 达最大 (0.982), 敏感度为 94.29%, 特异度为 98.57%。结论 cf-DNA、PCT、APACHE II 对脓毒症患者的预后均具有一定的预测价值, 单独预测时 cf-DNA 的价值最高, 但 cf-DNA、PCT、APACHE II 三者联合的预测能力最佳。

【关键词】 脓毒症; 血浆游离 DNA; 急性生理学及慢性健康状况评分 II; 降钙素原; 预后
基金项目:福建省泉州市科技计划项目 (Z[2015]0079)

Predictive value of plasma cell-free DNA for prognosis of sepsis Huang Tianbao, Yang Zhiyan, Chen Shaojian, Chen Jintu

Department of Emergency, the First Hospital of Quanzhou Affiliated to Fujian Medical University, Quanzhou 362000, Fujian, China

Corresponding author: Huang Tianbao, Email: hhttbccn@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the predictive value of plasma cell-free DNA (cf-DNA) for prognosis in patients with sepsis. **Methods** 105 patients with sepsis admitted to department of emergency of the First Hospital of Quanzhou Affiliated to Fujian Medical University from June 2015 to June 2017 were enrolled. Patients were divided into sepsis group ($n = 50$) and severe sepsis group ($n = 55$). At the same time, 50 cases of physical examination center in our hospital were randomly selected as the healthy control group. The differences of cf-DNA, procalcitonin (PCT) and acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score among the three groups were compared. The correlation between cf-DNA and PCT or APACHE II were analyzed by Bivariate method. Logistic regression was used to analyze the independent predictors of sepsis. The receiver operating characteristic curve (ROC) was made to evaluate cf-DNA, PCT, APACHE II alone or combined ability to predict the prognosis of sepsis. **Results** The PCT, APACHE II and cf-DNA in the sepsis group and severe sepsis group were significantly higher than those in the healthy control group [PCT ($\mu\text{g/L}$): 5.80 (3.28, 8.85), 17.53 (8.40, 29.61) vs. 0.02 (0.01, 0.03); APACHE II: 13.04 \pm 3.03, 23.29 \pm 8.02 vs. 2.10 \pm 1.05; cf-DNA ($\mu\text{g/L}$): 1 438.0 (1 154.0, 1 576.0), 2 595.0 (2 162.0, 5 198.0) vs. 17.0 (13.0, 20.5); all $P < 0.05$], and the indicators in the severe sepsis group were further higher than the sepsis group (all $P < 0.05$). Correlation analysis showed that cf-DNA was significantly positive correlated with PCT [$r = 0.675$, 95% confidence interval (95% CI) = 0.575–0.766, $P < 0.001$] and APACHE II ($r = 0.911$, 95% CI = 0.874–0.939, $P < 0.001$). ROC curve analysis showed that the areas under ROC curve (AUC) of PCT, APACHE II, cf-DNA, PCT+APACHE II, cf-DNA+PCT, cf-DNA+APACHE II, cf-DNA+PCT+APACHE II to predict the prognosis of sepsis patients were 0.898, 0.905, 0.961, 0.941, 0.974, 0.976 and 0.982, respectively. It was shown that when predicted alone with PCT, APACHE II and cf-DNA, the AUC of cf-DNA was the largest (0.961), the sensitivity was 100%, and the specificity was 81.43%; the combined prediction of cf-DNA with PCT or APACHE II could further increase AUC, and the combined prediction of cf-DNA, PCT and APACHE II had the highest AUC (0.982), the sensitivity was 94.29%, the specificity was 98.57%. **Conclusions** cf-DNA, PCT

and APACHE II have certain predictive value for the prognosis of sepsis. The value of cf-DNA was the highest when predicted alone, but the predictive ability of cf-DNA combined with PCT and APACHE II was the best.

【Key words】 Sepsis; Plasma cell-free DNA; Acute physiology and chronic health evaluation II; Procalcitonin; Prognosis

Fund program: Quanzhou City Science and Technology Plan Project of Fujian Province (Z [2015] 0079)

脓毒症(sepsis)是机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍^[1],是非心血管危重病患者死亡的主要原因。早期诊断和使用合适的抗菌药物能有效降低脓毒症患者的病死率,减少医疗费用^[2]。许多生物标志物如C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、白细胞介素-6(IL-6)、可溶性髓系细胞表达触发受体-1(sTREM-1)等有助于评估病情及预后,但准确性或特异性不高,识别高死亡风险患者仍面临挑战^[3]。血浆游离DNA(cf-DNA)是存在于人体血液循环中的、游离于细胞外的微量内源性及异源性DNA片段,包括游离基因组DNA和游离线粒体DNA等^[4]。有文献报道,脓毒症时cf-DNA水平明显升高^[5-6]。本研究旨在探讨cf-DNA单独或联合PCT、急性生理学及慢性健康状况评分II(APACHE II)对脓毒症患者预后的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选择2015年6月至2017年6月本院急诊中心收治的105例脓毒症患者为研究对象,并根据病情程度分为脓毒症组和严重脓毒症组;同时收集本院体检中心健康体检者作为健康对照组。

1.1.1 入选标准:符合《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》诊断标准^[7];年龄≥18岁。

1.1.2 排除标准:人类免疫缺陷病毒(HIV)感染;已明确有实体或血液系统恶性肿瘤;使用皮质激素、免疫抑制剂;妊娠。

1.1.3 伦理学:本研究符合医学伦理学要求,并经本院医学伦理委员会批准(审批号:2015-46),所有治疗及检测均获得过患者或其法定授权委托人知情同意。

1.2 观察指标:收集患者入院时的cf-DNA(磁珠法测定)、PCT(双抗体免疫夹心法测定)及入院24h内的APACHE II评分。

1.3 统计学分析:使用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析及SNK检验;非正态分布

的计量资料以中位数(四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示,组间比较采用Mann-Whitney检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。两因素相关性分析采用Bivariate法。在Logistic回归过程中输出模型预测概率与原始数据分类结果的列联表,应用受试者工作特征曲线(ROC)确定合理的预测概率分类点,并绘制ROC曲线,计算ROC曲线下面积(AUC)、敏感度、特异度;另将3个指标分别联合,通过Logistic回归形成联合预测因子,再次构建ROC曲线。

2 结果

2.1 患者基本情况(表1):105例脓毒症患者中男性54例,女性51例;年龄27~86岁,平均(57.6 ± 14.8)岁;呼吸道感染41例,腹腔感染30例,泌尿系感染12例,中枢神经系统感染4例,软组织感染8例,血流感染10例;其中脓毒症组50例,严重脓毒症组55例。50例健康体检者中男性25例,女性25例;年龄28~82岁,平均(56.0 ± 15.3)岁。3组性别构成和年龄比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),说明3组基线资料均衡可比。

表1 不同程度脓毒症患者与健康体检者一般资料比较

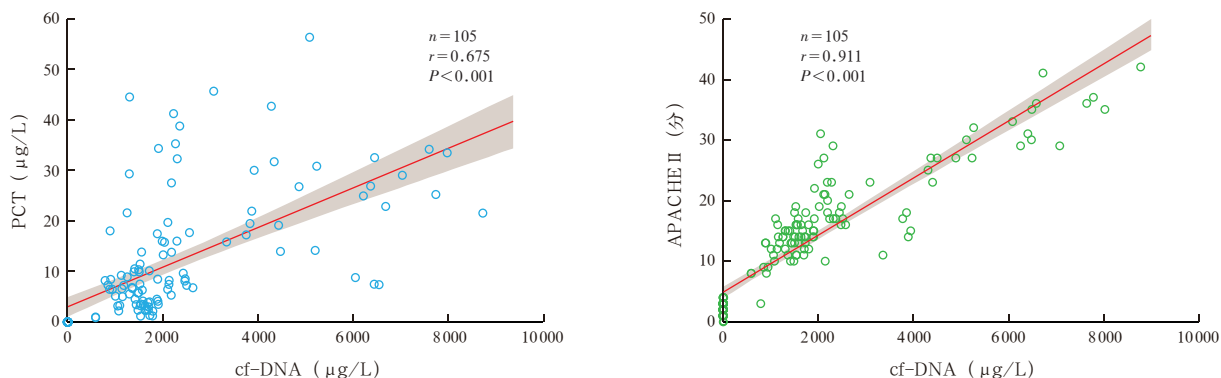
组别	例数 (例)	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)
		男性	女性	
健康对照组	50	25	25	56.0 ± 15.3
脓毒症组	50	26	24	57.0 ± 13.8
严重脓毒症组	55	28	27	58.0 ± 14.4

2.2 各组PCT、APACHE II、cf-DNA比较(表2):脓毒症组和严重脓毒症组患者PCT、APACHE II及cf-DNA均明显高于健康对照组(均 $P < 0.05$);且严重脓毒症组各指标均较脓毒症组进一步升高(均 $P < 0.05$)。

表2 不同程度脓毒症患者与健康体检者PCT、APACHE II及cf-DNA比较

组别	例数 (例)	PCT	APACHE II	cf-DNA
		[$\mu\text{g/L}, M(Q_L, Q_U)$]	(分, $\bar{x} \pm s$)	[$\mu\text{g/L}, M(Q_L, Q_U)$]
健康对照组	50	0.02(0.01, 0.03)	2.10 ± 1.05	17.0(13.0, 20.5)
脓毒症组	50	5.80(3.28, 8.85) ^a	13.04 ± 3.03 ^a	1 438.0(1 154.0, 1 576.0) ^a
严重脓毒症组	55	17.53(8.40, 29.61) ^{ab}	23.29 ± 8.02 ^{ab}	2 595.0(2 162.0, 5 198.0) ^{ab}

注:PCT为降钙素原,APACHE II为急性生理学及慢性健康状况评分II,cf-DNA为血浆游离DNA;与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与脓毒症组比较,^b $P < 0.05$

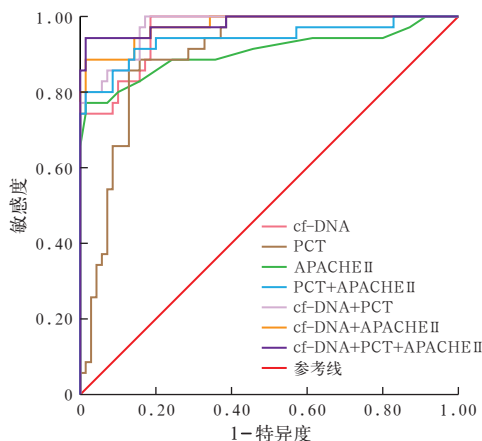


注：cf-DNA 为血浆游离 DNA，PCT 为降钙素原，APACHE II 为急性生理学与慢性健康状况评分 II；灰色带为 95% 可信区间

图 1 脓毒症患者 cf-DNA 与 PCT、APACHE II 的相关性

2.3 cf-DNA 与 PCT、APACHE II 的相关性(图 1)：脓毒症患者 cf-DNA 与 PCT 呈强相关性 [$r=0.675$, 95%CI 可信区间(95%CI)=0.575 ~ 0.766, $P<0.001$], 与 APACHE II 呈极强相关性 ($r=0.911$, 95%CI=0.874 ~ 0.939, $P<0.001$)。

2.4 生物标志物对脓毒症预后的预测价值(表 3；图 2)：单独预测时，cf-DNA 预测脓毒症患者预后的 AUC 最大，达 0.961；cf-DNA 与 PCT 或 APACHE II 联合预测可进一步增加 AUC，且三者联合预测的 AUC 最大，达 0.982。



注：cf-DNA 为血浆游离 DNA，PCT 为降钙素原，APACHE II 为急性生理学与慢性健康状况评分 II，ROC 曲线为受试者工作特征曲线

图 2 cf-DNA、PCT、APACHE II 单独或联合预测脓毒症患者预后的 ROC 曲线

表 3 cf-DNA、PCT、APACHE II 单独及联合预测脓毒症患者预后的价值

指标	AUC	95%CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数
cf-DNA	0.961	0.930 ~ 0.992	100.00	81.43	0.814
PCT	0.898	0.839 ~ 0.957	85.71	87.14	0.729
APACHE II	0.905	0.829 ~ 0.981	77.14	98.57	0.757
PCT+APACHE II	0.941	0.883 ~ 0.998	80.00	98.57	0.786
cf-DNA+PCT	0.974	0.950 ~ 0.998	100.00	82.86	0.829
cf-DNA+APACHE II	0.976	0.950 ~ 1.000	88.57	98.57	0.871
cf-DNA+PCT+APACHE II	0.982	0.958 ~ 1.000	94.29	98.57	0.929

注：cf-DNA 为血浆游离 DNA，PCT 为降钙素原，APACHE II 为急性生理学与慢性健康状况评分 II，AUC 为受试者工作特征曲线下面积，95%CI 为 95% 可信区间

3 讨论

脓毒症的发病率和病死率均较高^[8]，严重威胁了人们的健康，消耗了大量的医疗开支，严重影响了患者的生存质量。在美国，每年约有 75 万人发生脓毒症，病死率达 30% ~ 50%。准确预测脓毒症患者的病情严重程度能够协助医疗、监测治疗反应，然而目前对脓毒症患者的高风险识别仍存在极大挑战^[9]。临床上常用的传统炎症指标，如白细胞、中性粒细胞计数、体温等可用来诊断是否存在全身炎症反应综合征(SIRS)，但有研究表明，传统炎症指标

在生存组与死亡组间差异无统计学意义，说明它们尚不能反映脓毒症的严重程度^[10]。CRP 和 PCT 是目前临床上最常用的生物标志物。PCT 被认为具有比 CRP 更高的判断脓毒症的能力^[11]。荟萃分析证实，PCT 预测脓毒症的准确性较高，AUC 为 0.85 (95%CI=0.81 ~ 0.88)^[9]。2014 年中国严重脓毒症 / 脓毒性休克治疗指南将 PCT 作为预测指标之一。大量文献证实，PCT 与感染等疾病的病情严重程度呈正相关^[12-13]。本研究结果也显示，随着脓毒症病情的加重，PCT 明显升高，且对预后具有良好的预测能力，但特异度不高。一些评分系统如 APACHE II 或序贯器官衰竭评分(SOFA)可用于评估重症患者的病情及预测预后^[5]。APACHE II 是目前国内外应用最为广泛和权威的危重病评价方法。本研究也证实，APACHE II 随着病情加重不断升高，但单独预测脓毒症预后的敏感度不佳。

cf-DNA 释放的具体机制尚不明确^[4]。一般认为 cf-DNA 是细胞坏死、凋亡的产物，是近年来

在危重病研究领域备受关注生物标志物^[6]。Huttunen 等^[14]发现,高浓度 cf-DNA 能预测脓毒症或脓毒性休克的病情发展。有文献报道,cf-DNA 可用于评估癌症、创伤、慢性肾衰竭(CRF)、卒中等各种疾病的预后^[15-16]。已有研究证明,重症加强治疗病房(ICU)非幸存者比幸存者有更高的 cf-DNA 水平^[17]。高浓度的 cf-DNA 已被提示是菌血症患者致命的独立预后标志物^[5]。有研究评估了 cf-DNA 对 ICU 脓毒症患者死亡预测的准确性,并与其他预测预后的评分和标志物(如 APACHE II、SOFA 和 CRP)具有良好的相关性^[6, 17]。一项回顾性研究表明,cf-DNA 对 ICU 严重脓毒症患者的病死率有很高的分辨能力^[17]。本研究结果也显示,cf-DNA 与脓毒症的严重程度相关,病情严重时 cf-DNA 明显升高;cf-DNA 与 APACHE II 呈极强相关,提示高浓度 cf-DNA 时病情严重;cf-DNA 对脓毒症预后具有较好的预测能力,有较好的敏感度和特异度,预测价值高于 PCT、APACHE II 评分。Dwivedi 等^[17]发现,cf-DNA 用于预测严重脓毒症患者的病死率优于 APACHE II 评分,与本研究结果一致。本研究结果还显示,cf-DNA 与 PCT 或 APACHE II 联合预测的能力较单一指标明显提升,且三者联合对脓毒症预后的预测能力最佳。

本研究仍存在一定局限性:本研究为单中心研究,样本量相对较小;cf-DNA 为入院时水平,无后期变化。还需进行更大型的研究来评估验证本研究的结果。

综上,本研究显示,cf-DNA、PCT、APACHE II 对脓毒症预后均具有一定的预测价值,单独预测时以 cf-DNA 的预测能力最高,但三者联合的预测能力最佳。该结果能够给临床医生提供参考,为治疗决策提供依据,值得在临床上推广应用。

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] Hou YQ, Liang DY, Lou XL, et al. Branched DNA-based Alu quantitative assay for cell-free plasma DNA levels in patients with sepsis or systemic inflammatory response syndrome [J]. *J Crit Care*, 2016, 31 (1): 90-95. DOI: 10.1016/j.jccr.2015.10.013.
- [3] Kitanovski L, Jazbec J, Hojker S, et al. Diagnostic accuracy of lipopolysaccharide-binding protein for predicting bacteremia/clinical sepsis in children with febrile neutropenia: comparison with interleukin-6, procalcitonin, and C-reactive protein [J]. *Support Care Cancer*, 2014, 22 (1): 269-277. DOI: 10.1007/s00520-013-1978-1.
- [4] 丁春明, 杨政权, 栾菊, 等. 循环游离 DNA 检测及其临床应用进展 [J]. *临床检验杂志*, 2017, 35 (8): 564-569. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2017.08.02.
- [5] Ding CM, Yang ZQ, Luan J, et al. Circulating free DNA detection and its clinical application progress [J]. *Chin J Clin Lab Sci*, 2017, 35 (8): 564-569. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2017.08.02.
- [6] Forsblom E, Aittoniemi J, Ruotsalainen E, et al. High cell-free DNA predicts fatal outcome among *Staphylococcus aureus* bacteraemia patients with intensive care unit treatment [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (2): e87741. DOI: 10.1371/journal.pone.0087741.
- [7] Avriel A, Paryente Wiessman M, Almog Y, et al. Admission cell free DNA levels predict 28-day mortality in patients with severe sepsis in intensive care [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (6): e100514. DOI: 10.1371/journal.pone.0100514.
- [8] 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]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (6): 401-426. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.001.
- [9] Society of Critical Care Medicine Chinese Medical Association. Chinese guidelines for management of severe sepsis and septic shock (2014) [J]. *Chin Crit Care Med*, 2015, 27 (6): 401-426. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.001.
- [10] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. 全球脓毒症发生率及病死率的估计 [J]. 罗红敏, 译. *中华危重病急救医学*, 2016, 28 (8): 722.
- [11] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations [J]. *Luo HM, trans. Chin Crit Care Med*, 2016, 28 (8): 722.
- [12] Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13 (5): 426-435. DOI: 10.1016/S1473-3099(12)70323-7.
- [13] Venkataraman R, Kellum JA. Sepsis: update in the management [J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2013, 20 (1): 6-13. DOI: 10.1053/j.ackd.2012.10.013.
- [14] Garnacho-Montero J, Huici-Moreno MJ, Gutiérrez-Pizarra A, et al. Prognostic and diagnostic value of eosinopenia, C-reactive protein, procalcitonin, and circulating cell-free DNA in critically ill patients admitted with suspicion of sepsis [J]. *Crit Care*, 2014, 18 (3): R116. DOI: 10.1186/cc13908.
- [15] 崔晓莉, 王忠勇, 赵宏胜, 等. 降钙素原对重症患者细菌感染预后的预测价值 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2013, 22 (6): 630-633. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.06.019.
- [16] Cui XL, Wang ZY, Zhao HS, et al. Value of serum procalcitonin in the predicting prognosis of bacterial infection in critically ill patients [J]. *Chin J Emerg Med*, 2013, 22 (6): 630-633. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.06.019.
- [17] 黄伟平, 黄澄, 温妙云, 等. 脓毒性休克患者降钙素原的变化规律及其与预后的关系 [J]. *中华危重病急救医学*, 2013, 25 (8): 467-470. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.005.
- [18] Huang WP, Huang C, Wen MY, et al. Procalcitonin change pattern in patients with septic shock and its relationship with prognosis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2013, 25 (8): 467-470. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.005.
- [19] Huttunen R, Kuparinen T, Jylhävä J, et al. Fatal outcome in bacteremia is characterized by high plasma cell free DNA concentration and apoptotic DNA fragmentation: a prospective cohort study [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (7): e21700. DOI: 10.1371/journal.pone.0021700.
- [20] Jing R, Cui M, Wang H, et al. Cell-free DNA: characteristics, detection and its applications in myocardial infarction [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19 (28): 5135-5145. DOI: 10.2174/1381612811319280012.
- [21] Cui M, Fan M, Jing R, et al. Cell-Free circulating DNA: a new biomarker for the acute coronary syndrome [J]. *Cardiology*, 2013, 124 (2): 76-84. DOI: 10.1159/000345855.
- [22] Dwivedi DJ, Toltl LJ, Swystun LL, et al. Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis [J]. *Crit Care*, 2012, 16 (4): R151. DOI: 10.1186/cc11466.

(收稿日期: 2018-03-12)