

转铁蛋白受体 CD71 可作为脓毒症潜在的诊断及预后生物标志物

李林芳¹ 张源源² 胡迎春³ 陈睦虎³

¹ 西南医科大学附属医院普通外科(乳腺), 四川泸州 646000; ² 西南医科大学附属医院手术室, 四川泸州 646000; ³ 西南医科大学附属医院急诊医学部, 四川泸州 646000

通信作者: 陈睦虎, Email: cmh6186@126.com

【摘要】 目的 通过蛋白质组学、生物信息学、酶联免疫吸附试验(ELISA)筛选脓毒症的差异表达蛋白, 以期对脓毒症的诊断和预后判断寻找新的生物标志物。**方法** 采用成组设计的实验方法, 收集 2019 年 1 月至 12 月入住西南医科大学附属医院急诊科的脓毒症患者(脓毒症组)和同期在本院体检健康志愿者(健康对照组)的外周血标本; 随机选取两组标本进行数据非依赖性采集模式(DIA)定量检测蛋白, 利用生物信息分析方法对差异蛋白在转录水平进行基因本体(GO)功能富集、组间荟萃分析(Meta 分析), 并构建生存曲线; 利用 ELISA 验证筛选出的指标, 将数据与临床血清降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)、血乳酸(Lac)数据共同构建受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 筛选出对脓毒症具有诊断及预后预测价值的生物标志物。**结果** DIA 显示, 脓毒症组有 71 个差异蛋白, 6 个下调、65 个上调; 这些差异蛋白的 GO 功能富集于细胞因子介导的信号通路应激反应、炎症反应、白细胞迁移等。组间 Meta 分析发现, 转铁蛋白受体 CD71 表达在脓毒症组较健康对照组高[标准化均数差(SMD)=-0.47, 95% 可信区间(95%CI)为 -0.93 ~ 0.00, $P < 0.01$], 在死亡组表达较生存组高(SMD=-0.44, 95%CI 为 -0.70 ~ -0.18, $P = 0.63$)。生存曲线分析显示, CD71 的表达与生存预后呈负相关, 低表达者生存率越高($P = 0.00034$)。ELISA 显示, 脓毒症组 CD71 表达较健康对照组明显升高(nmol/L: 156.83 ± 84.71 比 87.99 ± 47.89 , $P < 0.05$), 死亡组 CD71 表达较生存组明显升高(nmol/L: 219.63 ± 125.59 比 130.97 ± 40.45 , $P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示: CD71 预测脓毒症的 ROC 曲线下面积(AUC)=0.790(敏感度为 65.1%, 特异度为 90.0%); CD71 预测脓毒症患者预后的 AUC=0.744(敏感度为 57.1%, 特异度为 94.1%); 提示 CD71 对脓毒症的诊断和预后判断能力均强, 且预后判断能力优于 PCT(AUC=0.547, 敏感度为 64.3%, 特异度为 55.9%)、CRP(AUC=0.594, 敏感度为 64.3%, 特异度为 61.8%)和 Lac(AUC=0.540, 敏感度为 42.9%, 特异度为 82.4%)。**结论** CD71 对脓毒症有较好的诊断和预后判断价值, 具有作为脓毒症生物标志物的潜力。

【关键词】 转铁蛋白受体 CD71; 脓毒症; 生物信息学; 蛋白质组学

基金项目: 四川省科技计划项目(2019JDPT0003, 2020YFS057); 西南医科大学科研项目(2021ZKQN082)

临床试验注册: 中国临床试验注册中心, ChiCTR1900021261

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210617-00907

The role of transferrin receptor CD71 as a diagnostic and prognostic biomarker in sepsis

Li Linfang¹, Zhang Yuanyuan², Hu Yingchun³, Chen Muhu³

¹Department of General Surgery (Breast Surgery), the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China; ²Department of Operating Room, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China; ³Department of Emergency Medicine, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China

Corresponding author: Chen Muhu, Email: cmh6186@126.com

【Abstract】 Objective To find new biomarkers for the diagnosis and prognosis of sepsis through analyzing the differential expression protein in sepsis by proteomics and bioinformatics analysis and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Methods** Patients with sepsis admitted to the emergency department of the Affiliated Hospital of Southwest Medical University from January to December 2019 were enrolled. And meanwhile, healthy volunteers who had normal physical examinations were included as the control group. Blood samples from two groups were collected. The samples were randomly selected for the protein concentration by data independent acquisition (DIA). Bioinformatics method was used in differentially expressed proteins by gene ontology (GO) pathway, enrichment analyses, groups meta-analysis and survival curves construction. ELISA method was used to verified marker screened. Then the data of transferrin receptor CD71 and the clinical data of procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and blood lactic acid (Lac) were collected to construct receiver operator characteristic curve (ROC curve), and biomarker was screened for diagnostic and prognostic of sepsis. **Results** The result of DIA showed that 71 differentially expressed proteins were screened out from sepsis group, 6 proteins were down-regulated and 65 proteins were up-regulated. Those differentially expressed proteins were enriched in the inflammatory response, response to stress, leukocyte migration in the GO pathway and enrichment analyses. The meta-analysis showed that the expression level of CD71 was higher in sepsis group than normal control

group [standardized mean difference (*SMD*) = -0.47, 95% confidence interval (95%*CI*) was -0.93 to 0.00, $P < 0.01$], the expression level of CD71 was higher in non-survivor group than survivor group (*SMD* = -0.44, 95%*CI* was -0.70 to -0.18, $P = 0.63$). Survival curve showed that the expression of CD71 was inversely correlated to survival rates, the patients with a lower expression had higher survival rates ($P = 0.000\ 34$); the ELISA showed that the level of CD71 was higher in sepsis group than normal control group (nmol/L: 156.83 ± 84.71 vs. 87.99 ± 47.89 , $P < 0.05$), the level of CD71 was higher in non-survivor group than survivor group (nmol/L: 219.63 ± 125.59 vs. 130.97 ± 40.45 , $P < 0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of CD71 in diagnostic performance of sepsis was 0.790 (sensitivity was 65.1%, specificity was 90.0%), the AUC of CD71 in prognostic performance of sepsis was 0.744 (sensitivity was 57.1%, specificity was 94.1%); CD71 had a better prognostic performance than PCT (AUC = 0.547, sensitivity was 64.3%, specificity was 55.9%), CRP (AUC = 0.594, sensitivity was 64.3%, specificity was 61.8%), Lac (AUC = 0.540, sensitivity was 42.9%, specificity was 82.4%). **Conclusion** CD71 had a great value of diagnostic and prognostic performance in sepsis, and it was expected to be a potential biomarker for sepsis.

【Key words】 Transferrin receptor CD71; Sepsis; Bioinformatics; Proteomics

Fund program: Science and Technology of Sichuan Province Project of China (2019JDPT0003, 2020YFS057); Science and Technology of Southwest Medical University Project (2021ZKQN082)

Trial Registration: Chinese Clinical Trial Registry, ChiCTR 1900021261

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210617-00907

脓毒症是目前医学界面临的重大难题与挑战,国际上对脓毒症采取了一系列积极“拯救”的措施^[1-2],但其发病率和病死率仍居高不下。脓毒症是感染引起宿主反应失调,导致危及生命的器官功能损害的综合征^[3]。从感染到脓毒症是一个复杂的病理生理过程,包括病原体入侵、细胞因子释放、微循环功能障碍、人体免疫系统失衡等。目前,国际上对脓毒症的诊断采用脓毒症 3.0 指南推荐的感染 + 序贯器官衰竭评分 (sequential organ failure assessment, SOFA) ≥ 2 分的诊断标准,在治疗方面则侧重于器官功能的拯救与恢复。

生物标志物是能反映机体生理、病理、药理过程中有生物学意义的分子水平物质,包括 DNA、RNA、蛋白质、代谢小分子等,主要用于疾病诊断、分期或疗效在目标人群中的有效性等^[4]。临床上具有相同症状或体征但生物标志物不同的患者往往有着不同的疾病预后或治疗效果。因此,生物标志物对疾病诊断和预后,尤其是精准医疗、个体化治疗中的作用明显。目前在脓毒症中常用于判断感染存在和病原体类型的生物标志物有 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、降钙素原 (procalcitonin, PCT)、血乳酸 (lactic acid, Lac),但诊断和预后判断的效能较低。因此,寻找新的能够预测脓毒症发展和转归的生物标志物是其诊治的一个新思路。

数据非依赖性采集模式 (data independent acquisition, DIA) 是一种基于数据的非标记定量技术,具有重复性好、检测敏感度高、定量精准、数据可信息化等优势^[5],被认为是近年来最值得关注的技术。DIA 可以同时多个和不同批次的样本进行蛋白质鉴定和定量分析,适合于临床大规模血中

蛋白生物标志物研究。2015 年,国际蛋白质组学研究者 Liu 等^[6]利用 DIA 揭示了遗传和环境因素对个体的影响,结果表明, DIA 有助于发现和评估临床生物标志物。本研究通过 DIA 筛选出脓毒症患者和健康者血清样本的差异蛋白质,采用生物信息学技术分析公共数据库数据中差异蛋白在转录水平上的差异,采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 验证筛选出的差异蛋白在健康志愿者和脓毒症患者中的表达情况,为脓毒症患者寻找新的诊断和预后指标提供实验依据。

1 方法和数据来源

1.1 数据来源: 采用成组设计的研究方法,收集 2019 年 1 月至 12 月 50 例在本院急诊重症监护病房 (emergency intensive care unit, EICU) 住院脓毒症患者和随机选取 10 例健康志愿者外周血样本。

1.1.1 纳入标准: ① 诊断标准根据脓毒症 3.0 指南; ② 年龄 14 ~ 70 岁; ③ 患者或其法定代理人愿意参与研究并签署知情同意书。

1.1.2 排除标准: ① 既往有器官功能衰竭、免疫系统疾病、血液系统疾病; ② 不愿意参与本研究者。

1.1.3 伦理学: 本研究符合医学伦理学标准,通过本院临床试验伦理委员会批准 (审批号: ky2018029), 患者或其法定代理人知情同意; 并在中国临床试验注册中心注册 (注册号: ChiCTR 1900021261)。

1.2 DIA 质谱分析: 从收集的样本中随机选取脓毒症组 10 个、健康对照组 5 个进行 DIA 蛋白组学技术分析。采用液质联用质谱仪分析样本中蛋白质酶解肽段。在传统数据依赖性采集模式 (data dependent acquisition, DDA) 构建的谱图库基础上,使用时间序列算法同时对 15 个样本中蛋白表达丰度变化比值

和相应的 P 值进行鉴定及定量分析。

1.3 功能富集与筛选目标蛋白: 对所有数据进行对数化处理后,通过箱图来判断样本是否存在均一性,两组数据采用主成分分析(principal component analysis, PCA)方法排除离群样本。通过在线软件差异表达和通路整合分析工具 iDEP91 筛选健康对照组和脓毒症组之间的差异蛋白,筛选标准为差异倍数(fold change, FC) ≥ 2.0 , 错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.01 , 并富集出差异蛋白的主要生物学功能通路^[7-8]。

1.4 目标蛋白转录水平表达情况: 为进一步探讨目标蛋白在不同组别转录水平上的变化情况,本研究从公共基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)中下载均为人外周血样本且样本量 ≥ 20 例的 7 个脓毒症数据集,包括 GSE 28750^[9]、GSE 54514^[10]、GSE 63042^[11]、GSE 67652^[12]、GSE 69528^[13]、GSE 65682^[14]、GSE 95233^[15]。GSE 65682 中包含有 479 例脓毒症患者的 28 d 预后数据,用于描述特定差异表达基因的生存曲线。对上述数据集经均一化处理(log2 对数化)后分为脓毒症组与健康对照组、脓毒症生存组与死亡组,基于 R 语言包对不同数据集中相同分组的单基因进行综合 Meta 分析,通过荟萃整合分析再次验证差异蛋白在转录水平上是否与蛋白水平的趋势一致。

1.5 ELISA 验证: 选择脓毒症组(50 个)、健康对照组(10 个)样本进行 ELISA 验证。采用双抗体夹心法测定样本中的蛋白含量。用纯化的特定抗体包被微孔板制成固相抗体,往包被的微孔中依次加入样本,再与辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的检测抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,洗涤后加入底物四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)显色,颜色的深浅与样品中的蛋白量呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(absorbance, A)值,再通过标准曲线计算样本中蛋白的含量。获得的数据利用 Graph Pad Prism 8.0 进行分析。

1.6 受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC 曲线)分析: 采用 Omic Sharetools 15 软件绘制 ROC 曲线,并计算 ROC 曲线下面积(area under the curve, AUC),以评价生物标志物的诊断性能及预后判断能力。当健康对照组与脓毒症组比较 AUC > 0.7 时,该指标被认为具有较好的诊断性能;当生存组与死亡组比较 AUC > 0.7 时,该指标被认为

为具有较好的预后判断能力。且组间分别与临床 CRP、PCT 及 Lac 数据比较分析。

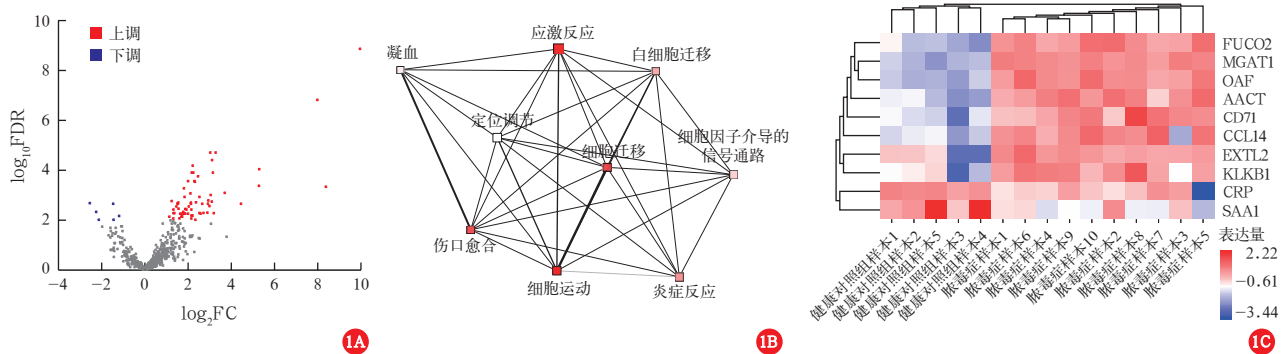
1.7 统计学方法: 使用 Graph Pad Prism 8.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析;计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DIA 数据: 将 DIA 数据通过 iDEP91 在线分析软件进行箱图和 PCA,结果显示,健康对照组和脓毒症组样本的均一性和组间区分度均较好,未见离群样本。与健康对照组比较,从脓毒症组患者血清样本中共筛选出了 71 个差异蛋白,其中下调蛋白 6 个、上调蛋白 65 个。

2.2 差异蛋白的筛选(图 1): 制作脓毒症组与健康对照组差异蛋白表达的火山图(图 1A)和差异蛋白富集的信号通路网络图(图 1B)以及差异蛋白热图(图 1C)。结果显示,71 个差异蛋白基因本体(gene ontology, GO)功能富集于细胞因子介导的应激反应、炎症反应、白细胞迁移等信号通路。依据 DIA 数据的 P 值筛选出差异蛋白,前 10 个蛋白为转铁蛋白受体 CD71、CRP、破骨细胞活化因子(osteoclast activating factor, OAF)、 $\alpha 1$ 抗胰糜蛋白酶($\alpha 1$ -antichymotrypsin, AACT)、N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 1(N-acetylglucosaminyltransferase 1, MGAT1)、血清淀粉样蛋白 A1 (serum amyloid A1, SAA1)、岩藻糖苷酶 α L2 (alpha-L-fucosidase, FUCO2)、人趋化因子 C-C-基元配体 14 (chemokine C-C-Motif ligand 14, CCL14),在脓毒症组表达均较健康对照组升高,血浆激肽释放酶 1 (kallikrein 1, KLKB1)、外生骨疣样蛋白 2 (exostoses like protein 2, EXTL2)在脓毒症组表达较健康对照组降低。

2.3 差异蛋白转录水平的表达情况(图 2~4): 利用 GSE 65682 数据集绘制上述差异蛋白在转录水平上的生存曲线,结果显示,CD71 低表达患者的生存率较 CD71 高表达者生存率高,差异有统计学意义(84.15% 比 71.72%, $\chi^2 = 12.47$, $P = 0.00034$)。利用 GEO 公共数据库对上述差异蛋白在转录水平上基于 R 语言的分组进行 Meta 整合分析,结果显示,与脓毒症组比较,健康对照组 CD71 表达明显降低[标准化均数差(standardized mean difference, SMD) = -0.47, 95% 可信区间(confidence interval, 95%CI)为 -0.93 ~ 0.00]。与脓毒症死亡组比较,脓毒症生存组 CD71 表达明显降低(SMD = -0.44, 95%CI 为 -0.70 ~ -0.18)。



注：健康对照组与脓毒症组差异蛋白表达的火山图(A)，所有蛋白经 t 检验筛选出上调(红色)和下调(蓝色)的基因，横坐标为差异倍数(FC)，纵坐标为 P 值的负对数($\log_{10}$)；差异蛋白富集的信号通路网络图(B)，红色表示上调通路，颜色越深，表示上调越明显，白色表示无差异性，连线代表通路之间存在关联，连线越粗表示通路之间关联越密切；差异蛋白热图(C)，差异蛋白的红色代表相对高表达，蓝色代表相对低表达；FDR 为错误发现率，FC 为差异倍数，FUCO2 为岩藻糖苷酶 α L2，MGAT1 为 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 1，OAF 为破骨细胞活化因子，AACT 为 α 1 抗糜蛋白酶，CD71 为转铁蛋白受体，CCL14 为人趋化因子 C-C- 基元配体 14，EXT12 为外生骨疣样蛋白 2，KLKB1 为血浆激肽释放酶 1，CRP 为 C-反应蛋白，SAA1 为血清淀粉样蛋白 A1

图 1 健康对照组与脓毒症组患者外周血样本中差异蛋白的筛选及生物信息学分析图

数据集	健康对照组			脓毒症组			权重 (%)		<i>SMD</i> 95% <i>CI</i>	<i>SMD</i>
	均数	标准差	总数	均数	标准差	总数	固定	随机		
GSE 28750	5.48	0.20	20	5.88	0.46	10	7.3	15.1	-1.27 [-2.10, -0.43]	
GSE 54514	8.59	0.48	36	8.97	0.95	127	36.2	24.4	-0.43 [-0.80, -0.05]	
GSE 67652	-1.25	0.22	12	-1.39	0.09	12	7.2	15.0	0.82 [-0.02, 1.65]	
GSE 69528	8.35	0.28	28	8.75	1.04	83	26.8	23.2	-0.44 [-0.87, -0.01]	
GSE 95233	5.83	0.33	22	6.29	0.58	102	22.5	22.3	-0.86 [-1.33, -0.38]	
固定效应模型	118			334			100.0		-0.50 [-0.72, 0.27]	
随机效应模型							100.0		-0.47 [-0.93, 0.00]	
异质性检验: $I^2=73\%$, $\tau^2=0.197\ 3$, $P<0.01$										

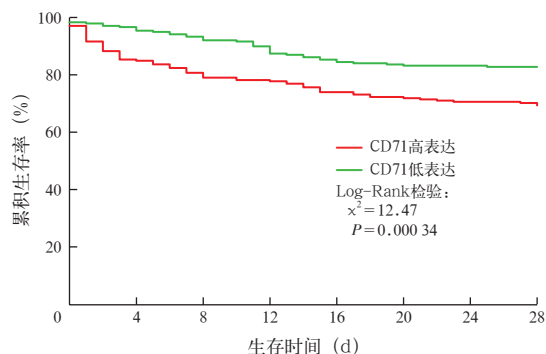
注：CD71 为转铁蛋白受体，SMD 为标准化均数差，95%CI 为 95% 可信区间

图 2 基于 GSE 28750、GSE 54514、GSE 67652、GSE 69528 和 GSE 95233 的相关数据集对健康对照组和脓毒症组 CD71 进行 Meta 分析

数据集	脓毒症生存组			脓毒症死亡组			权重 (%)		SMD 95%CI	SMD
	均数	标准差	总数	均数	标准差	总数	固定	随机		
GSE 54514	8.86	0.82	96	9.31	1.24	31	39.9	39.9	-0.48 [-0.89, -0.07]	
GSE 63042	2.40	0.96	23	2.58	0.81	28	21.9	21.9	-0.20 [-0.76, 0.35]	
GSE 95233	6.19	0.54	68	6.49	0.62	34	38.2	38.2	-0.53 [-0.93, -0.11]	
固定效应模型	187			93			100.0		-0.44 [-0.70, -0.18]	
随机效应模型							100.0		-0.44 [-0.70, -0.18]	
异质性检验: $I^2=0\%$, $\tau^2=0$, $P=0.63$										

注：CD71 为转铁蛋白受体，SMD 为标准化均数差，95%CI 为 95% 可信区间

图 3 基于 GSE 28750、GSE 54514、GSE 67652、GSE 69528 和 GSE 95233 的相关数据集对脓毒症生存组和死亡组 CD71 进行 Meta 分析

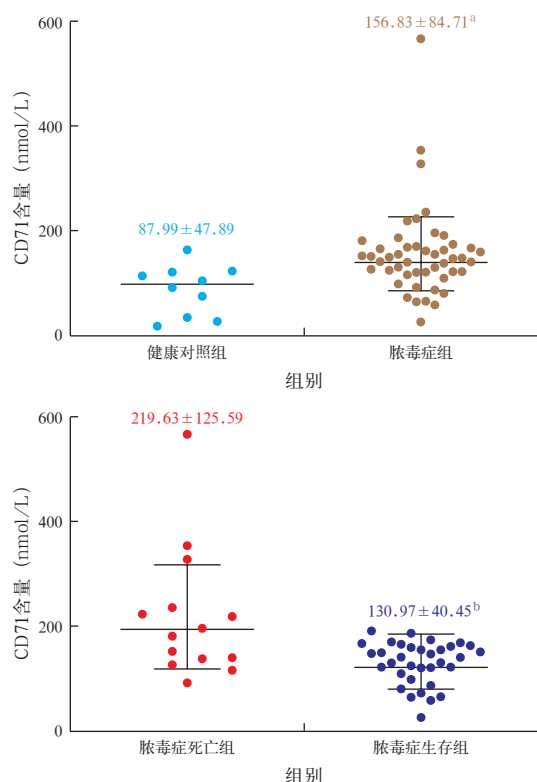


注：CD71 为转铁蛋白受体

图 4 基于 GSE 65682 数据绘制差异蛋白 CD71 在脓毒症患者中的 28 d 生存曲线图

2.4 脓毒症组与健康对照组、脓毒症生存组和死亡组 CD71 含量测定(图 5):排除 2 个溶血样本,健康对照组 10 个样本、脓毒症组 48 个样本,脓毒症死亡组 14 个样本,脓毒症生存组 34 个样本。ELISA 检测结果显示,脓毒症组 CD71 含量较健康对照组明显升高($P < 0.05$);脓毒症死亡组 CD71 含量较脓毒症生存组明显升高($P < 0.05$)。

2.5 诊断和预后的预测价值(表 1~2;图 6~7):利用 ELISA 检测的 CD71 结果和患者临床检测的 PCT、CRP、Lac 数据构建 ROC 曲线。结果显示,在预测脓毒症方面,CD71 的 $AUC = 0.790$,特异度为 90.0%,敏感



注: ELISA 为酶联免疫吸附试验, CD71 为转铁蛋白受体; 与健康对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与脓毒症死亡组比较, ^b $P < 0.05$

图 5 采用 ELISA 检测健康对照组与脓毒症组及脓毒症生存组与脓毒症死亡组 CD71 的含量

度为 65.1%; PCT 的 AUC=0.905, 特异度为 100.0%, 敏感度为 81.4%; Lac 的 AUC=0.494, 特异度为 70.0%, 敏感度为 58.1%; CRP 的 AUC=0.791, 特异度为 100.0%, 敏感度为 79.1%。在预测脓毒症患者预后方面, CD71 的 AUC=0.744, 特异度为 94.1%, 敏感度为 57.1%; PCT 的 AUC=0.547, 特异度为 55.9%, 敏感度为 64.3%; Lac 的 AUC=0.540, 特异度为 82.4%, 敏感度为 42.9%; CRP 的 AUC=0.594, 特异度为 61.8%, 敏感度为 64.3%。这显示 CD71 对脓毒症患者具有较好的诊断性能和预后判断能力, 诊断性能不如 PCT, 但预后判断能力优于 PCT、CRP、Lac。

表 1 CD71、PCT、CRP、Lac 对脓毒症的诊断价值

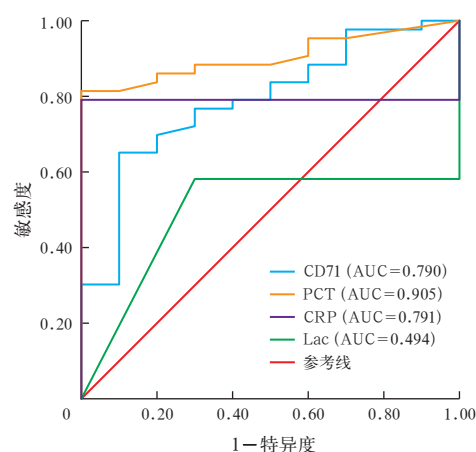
指标	AUC	特异度 (%)	敏感度 (%)	OR 值	95%CI	P 值
CD71	0.790	90.0	65.1	2.15	0.644 ~ 0.935	0.005
PCT	0.905	100.0	81.4	4.38	0.825 ~ 0.984	<0.000
CRP	0.791	100.0	79.1	3.78	0.670 ~ 0.912	0.005
Lac	0.494	70.0	58.1	2.11	0.343 ~ 0.667	0.955

注: CD71 为转铁蛋白受体, PCT 为降钙素原, CRP 为 C-反应蛋白, Lac 为乳酸, AUC 为受试者工作特征曲线下面积, OR 为优势比, 95%CI 为 95% 的可信区间

表 2 CD71、PCT、CRP、Lac 对脓毒症患者预后的预测价值

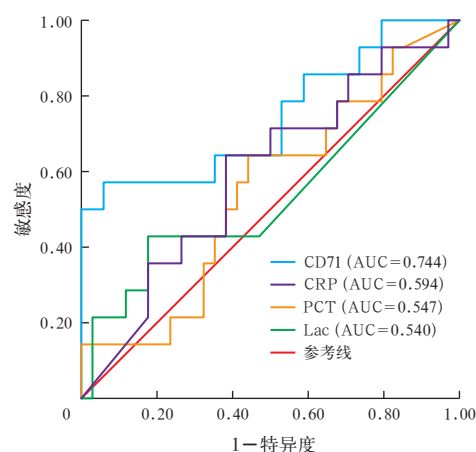
指标	AUC	特异度 (%)	敏感度 (%)	OR 值	95%CI	P 值
CD71	0.744	94.1	57.1	1.47	0.573 ~ 0.914	0.008
PCT	0.547	55.9	64.3	3.04	0.368 ~ 0.726	0.609
CRP	0.594	61.8	64.3	2.87	0.417 ~ 0.772	0.307
Lac	0.540	82.4	42.9	1.06	0.343 ~ 0.737	0.666

注: CD71 为转铁蛋白受体, PCT 为降钙素原, CRP 为 C-反应蛋白, Lac 为乳酸, AUC 为受试者工作特征曲线下面积, OR 为优势比, 95%CI 为 95% 的可信区间



注: CD71 为转铁蛋白受体, PCT 为降钙素原, CRP 为 C-反应蛋白, Lac 为乳酸, ROC 曲线为受试者工作特征曲线, AUC 为 ROC 曲线下面积

图 6 CD71、PCT、CRP、Lac 对脓毒症预测价值的 ROC 曲线



注: CD71 为转铁蛋白受体, PCT 为降钙素原, CRP 为 C-反应蛋白, Lac 为乳酸, ROC 曲线为受试者工作特征曲线, AUC 为 ROC 曲线下面积

图 7 CD71、PCT、CRP、Lac 预测脓毒症患者预后的 ROC 曲线

3 讨论

CD71 与转铁蛋白结合通过细胞内吞作用介导铁的运输, 维持细胞铁代谢平衡, 同时参与自由基的产生、血红蛋白的合成、氧的运输、DNA 合成、神经递质的产生和释放、类固醇激素的调节等^[16]。通

过京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 网站显示, CD71 参与 T 细胞和自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 的分化成熟。CD71 的表达受缺氧诱导因子和铁调节蛋白-铁反应元件的系统调节, 同时发生缺氧和缺铁会增强 CD71 的表达。近年来研究表明, CD71 有调节免疫功能的作用, 但具体作用机制尚未明确。CD71 错义突变家族患者的外周血淋巴细胞数量正常, 但外周血 T 细胞的功能严重受损, 记忆 B 细胞数量减少, 其产生抗体的能力下降, 免疫球蛋白类别转换功能也出现障碍, 表现出严重的免疫缺陷^[17]。对韩国早产儿和足月儿进行 mRNA 测序发现, CD71 是 T 细胞活化途径的核心因子^[18]。同时, CD71 基因缺乏容易患综合免疫缺陷症, 表现为反复的严重肺部感染, 在这些患者中均发现 CD71 突变, T 细胞和 B 淋巴细胞增殖、功能和转化均受到影响^[19], 8 个 CD71 突变的患者 T 细胞功能均受损^[20]。

由于脓毒症复杂的病理生理过程, 对其预防和认识有一定的局限性, 若能通过细胞因子、生物标志物等及时检测^[21-22], 早期判断脓毒症, 并能认识疾病严重程度和可能的预后情况, 对患者采取更为积极有效的治疗手段, 如个体化免疫治疗^[23]等, 将可能降低脓毒症的发病率和病死率。本研究通过生物信息学结合 DIA 大数据联合分析, 筛选出 CD71 具有脓毒症血清生物标志物的潜力; 结合上述文献学习, 已发现 CD71 具有调节免疫功能的作用, 其具体调控机制还需继续深入研究, 且鲜见在脓毒症中的研究。后期通过 ELISA 验证显示, 脓毒症组 CD71 表达明显高于健康对照组, 脓毒症死亡组 CD71 表达明显高于生存组; ROC 曲线分析也显示, CD71 对脓毒症有一定的诊断性能和预后判断能力。

综上所述, 本研究表明, CD71 具有作为脓毒症诊断标志物、预后指标的潜在应用价值, 后续仍需要进一步探讨 CD71 在脓毒症中的作用机制, 并增加样本量在细胞水平和动物实验中加以验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Xie JF, Wang HL, Kang Y, et al. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey [J]. Crit Care Med, 2020, 48 (3): e209-e218. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004155.
- [2] 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]. 中华危重病急救医学, 2020, 32 (5): 518-530. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200514-00414.
- [3] 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.
- [4] Rifai N, Gillette MA, Carr SA. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility [J]. Nat Biotechnol, 2006, 24 (8): 971-983. DOI: 10.1038/nbt1235.
- [5] Meyer JG, Schilling B. Clinical applications of quantitative proteomics using targeted and untargeted data-independent acquisition techniques [J]. Expert Rev Proteomics, 2017, 14 (5): 419-429. DOI: 10.1080/14789450.2017.1322904.
- [6] Liu YS, Buil A, Collins BC, et al. Quantitative variability of 342 plasma proteins in a human twin population [J]. Mol Syst Biol, 2015, 11 (1): 786. DOI: 10.15252/msb.20145728.
- [7] Ge SX, Son EW, Yao RN. iDEP: an integrated web application for differential expression and pathway analysis of RNA-Seq data [J]. BMC Bioinformatics, 2018, 19 (1): 534. DOI: 10.1186/s12859-018-2486-6.
- [8] Ge XJ. iDEP web application for RNA-Seq data analysis [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2284: 417-443. DOI: 10.1007/978-1-0716-1307-8_22.
- [9] Sutherland A, Thomas M, Brandon RA, et al. Development and validation of a novel molecular biomarker diagnostic test for the early detection of sepsis [J]. Crit Care, 2011, 15 (3): R149. DOI: 10.1186/cc10274.
- [10] Parnell GP, Tang BM, Nalos M, et al. Identifying key regulatory genes in the whole blood of septic patients to monitor underlying immune dysfunctions [J]. Shock, 2013, 40 (3): 166-174. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31829ee604.
- [11] Tsalik EL, Langley RJ, Dinwiddie DL, et al. An integrated transcriptome and expressed variant analysis of sepsis survival and death [J]. Genome Med, 2014, 6 (11): 111. DOI: 10.1186/s13073-014-0111-5.
- [12] Vieira da Silva Pellegrina D, Severino P, Vieira Barbeiro H, et al. Septic shock in advanced age: transcriptome analysis reveals altered molecular signatures in neutrophil granulocytes [J]. PLoS One, 2015, 10 (6): e0128341. DOI: 10.1371/journal.pone.0128341.
- [13] Pankla R, Buddhisa S, Berry M, et al. Genomic transcriptional profiling identifies a candidate blood biomarker signature for the diagnosis of septicemic melioidosis [J]. Genome Biol, 2009, 10 (11): R127. DOI: 10.1186/gb-2009-10-11-r127.
- [14] Scicluna BP, Klein Klouwenberg PM, van Vught LA, et al. A molecular biomarker to diagnose community-acquired pneumonia on intensive care unit admission [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 192 (7): 826-835. DOI: 10.1164/rccm.201502-0355OC.
- [15] Venet F, Schilling J, Cazalis MA, et al. Modulation of LILRB2 protein and mRNA expressions in septic shock patients and after *ex vivo* lipopolysaccharide stimulation [J]. Hum Immunol, 2017, 78 (5-6): 441-450. DOI: 10.1016/j.humimm.2017.03.010.
- [16] Candelaria PV, Leoh LS, Penichet ML, et al. Antibodies targeting the transferrin receptor 1 (TfR1) as direct anti-cancer agents [J]. Front Immunol, 2021, 12: 607692. DOI: 10.3389/fimmu.2021.607692.
- [17] Jabara HH, Boyden SE, Chou J, et al. A missense mutation in TFRC, encoding transferrin receptor 1, causes combined immunodeficiency [J]. Nat Genet, 2016, 48 (1): 74-78. DOI: 10.1038/ng.3465.
- [18] Yoo JY, Hyeon DY, Shin Y, et al. Integrative analysis of transcriptomic data for identification of T-cell activation-related mRNA signatures indicative of preterm birth [J]. Sci Rep, 2021, 11 (1): 2392. DOI: 10.1038/s41598-021-81834-z.
- [19] Whangbo JS, Chou J, Al-Dhekri H, et al. Hematopoietic stem cell transplantation is a curative therapy for transferrin receptor 1 (TFRC) deficiency [J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2021, 9 (2): 753-759. e2. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.10.018.
- [20] Aljohani AH, Al-Mousa H, Arnaout R, et al. Clinical and immunological characterization of combined immunodeficiency due to TFRC mutation in eight patients [J]. J Clin Immunol, 2020, 40 (8): 1103-1110. DOI: 10.1007/s10875-020-00851-1.
- [21] 袁周, 郑瑞强, 陈齐红, 等. 早期诊断脓毒症的生物标志物 [J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31 (3): 381-384. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.03.026.
- [22] 赵永祯, 李春盛. 生物标志物组合对急诊脓毒症和重度脓毒症患者的诊断价值 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (3): 153-158. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.006.
- [23] 何雪梅, 薄禄龙, 姜春玲. 脓毒症免疫抑制与免疫刺激治疗的研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30 (12): 1202-1205. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.12.020.

(收稿日期: 2021-06-17)