

人重组蛋白 C3AR1 在脓毒症中的含量变化

王 舒 冯媛媛

重庆市急救医疗中心 重庆 400000

摘 要: 目的: 分析人重组蛋白 C3AR1 在脓毒症患者中的表达水平。方法: 回顾性分析 2019 年 1 月至 2019 年 3 月重庆市第四人民医院重症科室收治的 17 名脓毒症患者和 20 名脓毒性休克患者的临床资料, 包括年龄、性别、体重等, 根据患者在医院的情况分为脓毒症组和脓毒性休克组, 同时选取同期于本院体检人群中 10 例作为对照组。分别检测正常组、脓毒症组和脓毒性休克组患者血中人重组蛋白 C3AR1 的表达量。对脓毒症组和脓毒性休克组利用序贯器官衰竭评分 (Sequential Organ Failure Assessment, SOFA) 和简化急性生理学评分 (simplified acute physiology score 3, SAPS3) 进行测评。结果: 经过 ELISA 试剂盒检测后, 对正常组、脓毒症组和脓毒性休克组患者的年龄、性别、体重及样本情况进行统计学分析。发现脓毒症组和脓毒性休克组的人重组蛋白 C3AR1 的表达量都高于正常组, 且脓毒性休克组的 C3AR1 的表达量远高于脓毒症组。脓毒性休克组的 SOFA 评分和 SAPS3 评分都高于脓毒症组, 说明脓毒性休克组的预后相比较差。结论: 人重组蛋白 C3AR1 的表达量会随着脓毒症病情的严重程度而呈现出有规律的变化趋势, 可以将人重组蛋白 C3AR1 认定为脓毒症的标志性化合物。

关键词: 脓毒症; C3AR1; SOFA 评分; SAPS3 评分

Changes in the content of human recombinant protein C3AR1 in sepsis

Shu Wang, Yuanyuan Feng

Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400000, China

Abstract: Objective: To analyze the expression level of human recombinant protein C3AR1 in sepsis patients. Methods: The clinical data of 17 patients with sepsis and 20 patients with septic shock admitted to the intensive care unit of Chongqing Fourth People's Hospital from January 2019 to March 2019 were retrospectively analyzed, including age, gender, weight, etc. The patients in the hospital were divided into a sepsis group and a septic shock group. At the same time, 10 healthy people who received physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The expression of human recombinant protein C3AR1 in the blood of normal group, sepsis group and septic shock group was detected respectively. Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) and simplified acute physiology score 3 (SAPS3) were used to evaluate the sepsis group and septic shock group. Results: After testing by ELISA kit, the age, gender, body weight and sample condition of patients in normal group, sepsis group and septic shock group were statistically analyzed. It was found that the expression level of human recombinant protein C3AR1 in the sepsis group and septic shock group was higher than that in the normal group, and the expression level of C3AR1 in the septic shock group was much higher than that in the sepsis group. The SOFA score and SAPS3 score of the septic shock group were higher than those of the sepsis group, indicating that the prognosis of the septic shock group was relatively poor. Conclusion: The expression of human recombinant protein C3AR1 will show a regular trend with the severity of sepsis. Human recombinant protein C3AR1 can be identified as a marker compound of sepsis.

Keywords: sepsis; C3AR1; SOFA score; SAPS3 score

脓毒症是由于机体感染而产生的化脓性细菌, 一种全身性炎症反应, 通过血液传播并传播到其他器官, 是身体对感染的反应^[1]。常见

感染部位多见于血液、肺部、脑膜、胆管与腹膜部等^[2]。为临床严重烧伤、重症糖尿病、大型手术后以及多发伤等危重症患者常见的并发症

之一,然具体发生机制尚不明确^[3]。据统计,国内脓毒症患者的致死率为 66.7%^[4],在脓毒性休克的情况下,院内死亡率可能达到 40%,超出全球平均水平,这对进一步了解脓毒症发生机制的研究分析提出了迫切需求,以期在基因层面分析发病机制,为脓毒症预防、治疗和预后提供实验参考依据。C3AR1 是由 482 个氨基酸组成,具有一个处于第四、第五穿膜区的环状结构,可特异性结合趋化、炎症因子 C3a 的受体蛋白^[5]。其环状结构上有可被硫酸化修饰的酪氨酸,不同点位的酪氨酸被硫酸化之后可能会影响配体与受体结合,影响信号转导。C3AR1 广泛表达在全身的多个组织器官,在免疫应答、脓毒症、哮喘、动脉粥样硬化等病症中发挥着举足轻重的作用^[6-7]。

一、资料与方法

1.1 一般资料

回顾性选择本院 2019 年 1 月至 2019 年 3 月重庆市第四人民医院重症科室收治的 37 例 18 岁以上脓毒症患者为观察组,同时选取同期于本院体检健康人群 10 例作为对照组。根据 2016 年《第三版脓毒症与感染性休克定义国际共识》,将 37 例脓毒症患者分为脓毒症组 (n=17) 和脓毒症休克组 (n=20)。

排除标准:18 岁以下、急性心肌梗塞、心脏病发作、慢性疾病 (肝硬化、慢性肝肾疾病、慢性心力衰竭、呼吸衰竭、肺心病) 和器官衰竭、患有自身免疫性疾病的人疾病、严重炎症和其他传染病,以及患有高血压、心脏病、糖尿病等基础疾病的人,以及近期接受过抗生素、激素、 β 受体阻滞剂治疗的孕妇或哺乳期妇女等。

剔除标准:排除标准:(1) 参与者中途退出或放弃自己的治疗;(2) 入院后 24 小时内死亡;(3) 临床资料不完整的患者。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集与处理

收集入组患者的年龄、性别、体重等合并基础类信息,脓毒症组男性患者 9 例,女性患者 8 例,年龄 40~77 岁。脓毒性休克组男性 9 例,女性 11 例,年龄 40~78 岁。对照组男性 4 例,女性 6 例,年龄 40~78 岁。本研究符合医学伦理标准,经医院伦理委员会批准。所有患者均自愿签署知情同意书。除了脓毒症,所有患者均无可能影响研究分析结果的其他疾病。

了解了患者与健康人的详细情况,并签署了相关协议文件。三个实验组年龄范围、性别、体重和病理情况等资料比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

1.2.2 研究方法

三个组患者在入院初期均享受相同的常规护理,并允许其在短时间内适应病房及周边环境,以减少不受控制的实验变量。2 天后,对正常组、脓毒症组和脓毒症休克组患者进行血液取样检测,取 5mL 外周血至负压静脉,自然抗凝约 30 分钟,然后置于中心 3 000 转/分钟 10 分钟,分离血清。于此同时为患者做好护理工作。

ELISA 检测人重组蛋白 C3AR1 在患者体内表达水平具体处理措施如下:

利用人 C3AR1 ELISA 试剂盒 (货号:ZY-E64227H,上海泽叶生物科技有限公司),采用夹心 ELISA,双重抗体的方法对血浆样本进行检测,严格按照试剂盒说明书进行操作。利用临床常用的 SOFA 评分表和 SAPS3 评分表对正常对照组和脓毒症组、脓毒性休克组的患者进行临床预测评估。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,正态分布对应的标准计量资料以 $\pm$ 的平均偏差表示,组间比较采用 LSD-t 检验进行方差分析;算术数据以标准 (%) 表示,组间差异采用 X^2 检验。 $P<0.05$ 似乎是显著差异,具有统计学意义。

二、结果

2.1 正常组、脓毒症组和脓毒性休克组的一般资料比较

本研究共纳入 37 例患者,其中脓毒症患者 17 例,其中男性 9 例,女性 8 例,年龄 56.5 ± 10.248 ;感染性休克患者 20 例,其中男性 9 例,女性 11 例,年龄 60.8 ± 11.647 。同时研究纳入 10 例健康良好的人,男 4 例,女 6 例,年龄 55.3 ± 13.832 。与正常组比较,脓毒症组年龄差异无统计学意义,但脓毒性休克组年龄差异有统计学意义 ($P<0.05$)。脓毒性休克患者的平均年龄相对正常组和脓毒症组较高,年龄越大脓毒症病情发展恶化的可能性就越高。此外,感染性休克组的 SOFA 评分和 SAPS3 评分高于脓毒症组。差异具有显著性 ($P<0.05$),见表一。

表 1 正常人与脓毒症、脓毒性休克组患者的年龄和评分情况 ($\bar{x}\pm s$)

项目	正常组 (n=10)	脓毒症组 (n=17)	脓毒性休克组 (n=20)
年龄 (岁)	55.3 ± 13.832	56.5 ± 10.248	$60.8\pm 11.647^*$
SOFA 评分	-	8.65 ± 1.618	$10.4\pm 1.046^{**}$
SAPS3 评分	-	49.35 ± 2.668	$57.4\pm 4.285^{**}$

注: 与正常组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 正常组、脓毒症组和脓毒性休克组血清 C3AR1 表达水平分析

ELISA 结果显示, 与正常组重组蛋白 C3AR1 含量相比, 脓毒症组与脓毒性休克组差异都有显著性 ($P < 0.05$), 见表二。

表二正常人与脓毒症、脓毒性休克组患者血清 C3AR1 含量检测 ($\bar{x} \pm s$)

项目	正常组 (n=10)	脓毒症组 (n=17)	脓毒性休克组 (n=20)
C3AR1 ($\mu\text{g/mL}$)	26.134 $\pm$ 1.925	55.446 $\pm$ 10.486**	113.578 $\pm$ 22.351**

注: 与正常组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

三、讨论

引发脓毒症的病原微生物具有多样性, 除细菌、真菌和病毒以外, 寄生虫等皆为可能因素^[8]。当感染细菌感染时, 身体会因内毒素刺激而产生炎症反应的症状, 涉及机体多个组织和器官损伤, 具有高发病率和高死亡率的特点^[9]。目前, 治疗脓毒症的药物是血管活性药物、抗凝治疗、糖皮质激素或抗生素^[10], 并且在机体治疗感染和器官功能技术方面取得了重大进展。然而, 根据流行病学数据, 脓毒症的死亡率近年来一直居高不下, 甚至已经超过心肌梗死, 成为除了心脏病人以外, 造成重症监护病房里病人死亡的主要因素^[11]。因此探寻一种可简便、快速、灵敏、准确检测评估脓毒症的指标, 开发一种高效治疗脓毒症, 还可以防治脓毒症并发症的治疗方法, 是临床上迫切需要解决的问题。

根据国际协议的第三个定义, 脓毒症是指由于宿主对感染的反应不受控制而导致主要器官功能衰竭^[12]。脓毒症的诊断标准和定义从脓毒症 1.0 到脓毒症指南 3.0 不断变化。可预测指标包括白细胞(WBC)、C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)等^[13-15]。HEGAZY 等^[16]实验表明, 血清中 PCT 和 CRP 的表达水平一方面可以反映脓毒症患者的病情发展程度, 另一方面也可以作为独立危险因素来预测脓毒症患者的预后。根据研究报告, 欧洲重症监护药物协会 (ESICM) 建议 SOFA 标志可以更加准确、科学、客观和可信的评估预测危重症患者的预后^[17], 目的是描述 MODS 的发生、发展并评价发病率。其分值越高, 预后就越差^[18]。在本研究中则提示脓毒性休克组的预后要比脓毒症组差, 后期死亡率较高。王立鹏等^[19]对 SOFA 评分系统与危重症患者死亡风险 logistic 回归分析发现, $\text{SOFA} \geq 8.6$ 分患者死亡风险是 $\text{SOFA} < 8.6$ 分的 4.056 倍。杨旭等^[20-21]的研究表明, APACHE II 评分和 SOFA 评分结合起来, 观察其变化趋势可以更好地评估脓毒症的预后, 可以客观地反应器官衰竭从轻度至重度的连续过程。Soares 等^[22]的研究已经证实了这种优越性, 其临床评估系统更为进步。与 SAPS 和 SAPS2 评分相比, SAPS3 评分显然预测能力更好, 弥

补了前面两个评分系统校准能力差的缺点, 更具有外部真实性。SAPS3 评分被提出的几年时间里, 其应用越来越广泛, 尤其是凭借其优秀的预测能力及科学的指标在国外地区, 发表了许多有价值的临床应用成果^[23]。

C3AR1 是一种偶联受体^[24], 这种 C3AR1 受体可以产生趋化效应、氧自由基的产生及端粒酶释放等功能, 它在人体中起着重要作用^[25]。它在粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、巨噬细胞和其他细胞中高度表达^[26-27]。不只在调控脓毒症、免疫应答^[28]方面, 还在狼疮性肾炎^[29]、哮喘^[30]和动脉粥样硬化^[31]方面起着重要的调控作用。颜青等^[32]实验表明 C3AR1 的过表达说明疾病的不良预后^[33]。在本研究中, 脓毒性休克组的 C3AR1 含量平均约为 113.578 $\mu\text{g/mL}$, 要大于脓毒症组的 55.446 $\mu\text{g/mL}$, 更是远远大于正常组的 26.134 $\mu\text{g/mL}$ 这个含量, 因此重组蛋白 C3AR1 的研究结果表明脓毒症休克组的预后较差, 结合 SOFA 评分及 SAPS3 评分趋势来看, 重组蛋白 C3AR1 可以作为评估脓毒症预后的一个重要指标。综上所述, 血清人重组蛋白 C3AR1 能较好的预估脓症患者病情的严重程度以及评估预后, 结合 SOFA 评分、SAPS3 评分使用, 更有利于去分析脓毒症的发生、诊断、检测治疗及判断预后, 为提高危重症患者的防治, 降低脓毒症死亡率奠定了科研基础。

参考文献:

- [1]任清竹, 苏和, 张瑞芬, 等. 脓毒症的病因病机及中药治疗研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2022, 41(04):167-168.
- [2]Xie J, Wang H, Kang Y, et al. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: A national cross-sectional survey[J]. Crit Care Med, 2020, 48(3):209-218.
- [3]田慈, 谢苗荣. 脓毒症心肌损伤机制的研发进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12(2):148-150.
- [4]Weng L, Zeng XY, Yin PC, et al. Sepsis-related mortality in China: a descriptive analysis[J]. Intensive Care Med, 2018, 44(7):1071-1080.
- [5]颜青. C3AR1 基因促进 HL60 细胞迁移侵袭及耐药机制研究[D]. 苏州大学, 2016.
- [6][1] Drouin S M, Kildsgaard J, Haviland J,

et al. Expression of the Complement Anaphylatoxin C3a and C5a Receptors on Bronchial Epithelial and Smooth Muscle Cells in Models of Sepsis and Asthma[J]. *Journal of Immunology*, 2001, 166(3):2025-2032.

[7] Sacks SH. Complement fragments C3a and C5a: the salt and pepper of the immune response[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(3):668-670.

[8] 郭润静, 郝东. 脓毒症相关生物标志物及作用机制研究进展[J]. *国际医药卫生导报*, 2022, 28(10):1468-1471.

[9] Rello J, Valenzuela-Sanche F, Ruiz-Rodriguez M, et al. Sepsis: a review of advances in management[J]. *Adv Ther*, 2017, 34(11):2393.

[10] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock[J]. *Lancet*, 2018, 392(10141):75.

[11] Spoto S, Cella E, Cesaris M D, et al. Procalcitonin and MR-Proadrenomedullin combination with SOFA and qSOFA scores for sepsis diagnosis and prognosis: a diagnostic algorithm[J]. *Shock*, 2018, 50(1):44-52.

[12] 查君敬, 方长太, 白兆青, 等. 白细胞介素 3 5、降钙素原及 SOFA 评分对脓毒症病情严重程度及预后的评判价值[J]. *重庆医学*, 2019, 48(09): 1535-1538.

[13] Schuetz P, Marlowe RJ, Mueller B. The prognostic blood biomarker proadrenomedullin for outcome prediction in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a qualitative clinical review[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2015, 53(4):521-539.

[14] Covington EW, Roberts MZ, Dong J. Procalcitonin monitoring as a guide for antimicrobial therapy: a review of current literature[J]. *Pharmacotherapy*, 2018, 38(5): 569-581.

[15] Semeraro F, Ammollo CT, Caironi P, et al. D-dimer correctde for thrombin and plasmin generation is a strong predictor of mortality in patients with sepsis[J]. *Blood Transfus*, 2020, 18(4): 304-311.

[16] Hegazy MA, Omar AS, Samir N, et al. Amalgamation of procalcitonin, C-reactive protein, and sequential organ failure scoring system in predicting sepsis survival[J]. *Anesth Essays Res*, 2014, 8(3): 296-301.

[17] Jain A, Palta S, Saroa R, et al. Sequential organ failure assessment scoring and prediction of patient's outcome in Intensive Care Unit of a tertiary care hospital[J]. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*, 2016, 32(3): 364-368.

[18] Raith EP, Udy AA, Bailey M, et al. Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SI R S Criteria, and qSOFA Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care

Unit[J]. *JAMA*, 2017, 317(3): 290-300.

[19] 王力鹏, 陈军, 罗穆玲, 等. MEWS 评分、APACHE II 评分及 SOFA 评分对急诊重症患者死亡风险的评价[J]. *广东医学*, 2018, 39(06):893-896.

[20] Kartal ED, Karkac E, Gulbas Z, et al. Several cytokines and protein C levels with the APACHE II scoring system for evaluation of patients with sepsis[J]. *Balkan Med J*, 2012, 29(2): 174-178.

[21] 杨旭, 刘志. 联合应用早期体温峰值及 48h - ΔSOFA 评分对急诊脓毒症患者预后评估的临床价值[J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25(1): 68-72.

[22] Soares M, Salluh JJ. Validation of the SAPS3 admission prognostic model in patients with cancer in need of intensive care[J]. *Intensive Care Med*, 2006, 32: 1839-1844.

[23] 陈珊珊, 曹霖, 汪晓东, 等. 急性简化生理学评分 III 的应用现状[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2009, 8(02):202-206.

[24] Rogli A, Prossnitz ER, Cavanagh SL, et al. cDNA cloning of a novel G protein-coupled receptor with a large extracellular loop structure[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1996, 1305(1-2):39-43.

[25] Halova I, Draberova L, and Draber P. Mast cell chemotaxis - chemoattractants and signaling pathways[J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 119.

[26] Sim, R.B. and A. Laich. Serine proteases of the complement system[J]. *Biochem Soc Trans*, 2000, 28(5): 545-550.

[27] Marc MM, Korosec P, Kosnik M, et al. Complement factors c3a, c4a, and c5a in chronic obstructive pulmonary disease and asthma[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31(2):216-219.

[28] Sacks SH. Complement fragments C3a and C5a: the salt and pepper of the immune C3AR1 response[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(3): p. 668-70.

[29] Mizuno M, Blanchin S, Gasque P, et al. High levels of complement C3a receptor in the glomeruli in lupus nephritis[J]. *American Journal of Kidney Diseases the Official Journal of the National Kidney Foundation*, 2007, 49(5):598-606.

[30] Drouin SM, Kildsgaard J, Haviland J, et al. Expression of the Complement Anaphylatoxin C3a and C5a Receptors on Bronchial Epithelial and Smooth Muscle Cells in Models of Sepsis and Asthma[J]. *Journal of Immunology*, 2001, 166(3):2025-2032.

[31] Oksjoki R, Laine P, Helske S, et al. Receptors for the anaphylatoxins C3a and C5a are

expressed in human atherosclerotic coronary plaques[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 195(1):90-99.

[32] 颜青, 李争, 岑建农, 等. 过表达 C3AR1 基因促进 HL-60 细胞迁移和侵袭[J]. *中国实验血液学杂志*, 2017, 25(01):1-7.

[33] Wu SY, Fan J, Hong D, et al. C3AR1 gene overexpressed at initial stage of acute myeloid leukemia-M2 predicting short-term survival[J]. *Leukemia Lymphoma*, 2015; 56(7): 2200-2202.