doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.24.015

外周血单核细胞 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与脓毒症患者炎症反应和预后的关系分析 *

李 楠[1] 穆叶赛·尼加提[1] 刘米莉[1] 范 蕾[1] 陆金帅[2△]

（1 新疆维吾尔自治区人民医院新疆急救中心 新疆 乌鲁木齐 830001；
2 新疆维吾尔自治区人民医院急诊科 新疆 乌鲁木齐 830001）

摘要 目的：探讨外周血单核细胞（PBMC）中 CCAAT/ 增强子结合蛋白同源蛋白（CHOP）、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3（NLRP3）、S100A8/A9 信使核糖核酸（mRNA）表达水平与脓毒症患者炎症反应和预后的关系。**方法：**选取 2020 年 1 月～2022 年 1 月新疆维吾尔自治区人民医院收治的 170 例脓毒症患者为脓毒症组，另选取同期 68 名健康体检者为对照组。采用酶联免疫吸附法检测血清白介素（IL）-6、IL-10、IL-17、IL-23、转化生长因子 -β（TGF-β）水平，实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）法检测 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平，比较脓毒症组与对照组上述指标差异。采用 Pearson/Spearman 相关系数分析脓毒症患者 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与炎症因子水平的相关性。脓毒症患者根据 28d 预后差异分为死亡组和存活组，收集临床资料，采用多因素 Logistic 回归分析脓毒症患者预后的影响因素。**结果：**脓毒症组 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 相对表达量和血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平均明显高于对照组（$P<0.05$）。Pearson/Spearman 相关性分析显示，脓毒症患者 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平均呈正相关（$P<0.05$）。不同预后脓毒症患者比较，死亡组年龄大于存活组，脓毒性休克、多器官功能障碍综合征（MODS）、ICU 住院时间≥10 d、机械通气时间≥3 d 患者比例、脓毒症相关器官衰竭评估（SOFA）评分、血乳酸、血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平以及 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 相对表达量均高于存活组，而氧合指数低于存活组（$P<0.05$）。多因素 Logistic 回归分析显示，校正其他因素后，PBMC 中 CHOP mRNA、NLRP3 mRNA、S100A8/A9 mRNA 表达水平升高是脓毒症患者预后不良的危险因素（$P<0.05$）。**结论：**脓毒症患者 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 呈高表达，且表达水平与炎症反应及患者预后密切相关。

关键词：脓毒症；炎症反应；CHOP；NLRP3；S100A8/A9；预后

中图分类号：R631.2 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2022)24-4679-07

Analysis of Relationship between CHOP, NLRP3 and S100A8/A9 mRNA Expression Levels in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Inflammatory Response and Prognosis in Patients with Sepsis*

LI Nan[1], Muyesai·Nijiati[1], LIU Mi-li[1], FAN Lei[1], LU Jin-shuai[2△]

*(1 Xinjiang Emergency Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang, 830001, China;
2 Department of Emergency, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang, 830001, China)*

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between the CCAAT/enhancer binding protein-homolog protein (CHOP), nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) and S100A8/A9 messenger ribonucleic acid (mRNA) expression levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and the inflammatory response and prognosis in patients with sepsis. **Methods:** A total of 170 patients with sepsis who were admitted to the People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region from January 2020 to January 2022 were selected as the sepsis group, and 68 healthy subjects during the same period were selected as the control group. The levels of serum interleukin (IL)-6, IL-10, IL-17, IL-23 and transforming growth factor-β (TGF-β) were detected by enzyme linked immunosorbent assay. The mRNA expression levels of CHOP, NLRP3 and S100A8/A9 in PBMC were detected by real-time quantitative PCR (qRT-PCR). The differences of the above indexes between sepsis group and control group were compared. Pearson/Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation between the CHOP, NLRP3, S100A8/A9 mRNA expression levels and inflammatory factors levels in PBMC of patients with sepsis. Patients with sepsis were divided into the death group and the survival group according to the difference in prognosis at 28d. Clinical data were collected, and the influencing factors of the prognosis of patients with sepsis were analyzed by multivariate Logistic regression. **Results:** The relative expression of CHOP, NLRP3, S100A8/A9

* 基金项目：新疆维吾尔自治区自然科学基金项目（2022D01C117）

作者简介：李楠（1981-），女，硕士，副主任医师，从事急诊重症方向的研究，E-mail: LLnn_19811121@163.com

△ 通讯作者：陆金帅（1980-），男，硕士，副主任医师，从事急诊重症方向的研究，E-mail: lujs0420@163.com

（收稿日期：2022-06-06 接受日期：2022-06-28）

mRNA in PBMC and serum IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 and TGF-β levels in sepsis group were significantly higher than those in the control group (P<0.05). Pearson/Spearman correlation analysis showed that the expression levels of CHOP, NLRP3 and S100A8/A9 mRNA in PBMC of patients with sepsis were positively correlated with serum IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 and TGF-β levels (P<0.05). Compared with sepsis patients with different prognosis, the age of death group was older than that of survival group, the patients with septic shock, multiple organ dysfunction syndrome (MODS), ICU hospitalization time ≥10 d, mechanical ventilation time ≥3 d proportion, sepsis related organ failure assessment (SOFA) score, blood lactic acid, serum IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 and TGF-β levels and CHOP, NLRP3 and S100A8/A9 mRNA in PBMC were higher than those in the survival group, while the oxygenation index was lower than that in the survival group (P<0.05). Multivariate Logistic regression analysis showed that after adjusting for other factors, the increased of CHOP mRNA, NLRP3 mRNA and S100A8/A9 mRNA expression levels in PBMC were risk factors for poor prognosis in patients with sepsis (P<0.05). **Conclusion:** CHOP, NLRP3 and S100A8/A9 mRNA are highly expressed in PBMC of patients with sepsis, and their expression levels are closely related to inflammatory response and prognosis.

Key words: Sepsis; Inflammatory response; CHOP; NLRP3; S100A8/A9; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R631.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2022)24-4679-07

前言

脓毒症是一种高病死率的全身炎症反应综合征，2020 年我国重症监护病房（intensive care unit，ICU）脓毒症发生率约 20.6%，死亡率约为 35.5%，严重威胁人类健康[1]。脓毒症发生发展过程中始终伴有炎症反应亢进和免疫抑制双重因素，机体免疫功能紊乱所致炎症失控和免疫细胞凋亡参与脓毒症病理过程[2]。内质网应激（endoplasmic reticulum stress，ERS）是炎症的标志，能加剧组织病理损害[3]。CCAAT/ 增强子结合蛋白同源蛋白（CCAAT/enhancer binding protein-homologous protein，CHOP）是 ERS 特异转录因子，参与 ERS 途中细胞炎症和凋亡调控[4]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3（nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3，NLRP3）是一种胞内的模式识别受体，激活后能募集炎性因子和诱导细胞凋亡[5]。S100A8/A9 是一种损伤相关分子模式蛋白，能促进白细胞在炎症区域聚集并诱导细胞凋亡[6]。目前关于 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 与脓毒症患者预后的关系较少研究报道，本研究选取 2020 年 1 月～2022 年 1 月新疆维吾尔自治区人民医院收治的 170 例脓毒症患者，通过检测外周血单核细胞（peripheral blood mononuclear cells，PBMC）中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 信使核糖核酸（messenger ribonucleic acid，mRNA）表达水平，分析三者与脓毒症患者炎症反应和预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月～2022 年 1 月新疆维吾尔自治区人民医院收治的 170 例脓毒症患者，其中男 104 例，女 66 例；年龄 35～82（64.97±7.86）岁；体质量指数（body mass index，BMI）17～34（23.37±3.42）kg/m²；感染部位：44 例腹腔感染、49 例导管相关血流感染、60 例泌尿系统感染、17 例其他感染；脓毒症分级[7]：21 例脓毒症、34 例严重脓毒症、115 例脓毒性休克。纳入标准：① 符合《中国脓毒症 / 脓毒性休克急诊治疗指南（2018）》[7]诊断标准；② 患者家属均知情研究。排除标准：① 近 3 个月内免疫抑制剂使用史；② 慢性器官衰竭；③ 恶性肿瘤；④ 临床资料不全；⑤ 造血、免疫系统损害；⑥ 年龄＜18 岁；⑦ 合并严重心肝肾功能损害；⑧ 急性冠脉综合征、脑卒中。另选取同期 68 名健康体检者为对照组，其中男 42 例，女 26 例；年龄 27～81（65.07±8.11）岁；BMI 18～28（23.17±2.74）kg/m²；两组性别、年龄、BMI 比较差异无统计学意义（P＞0.05），组间具有可比性。本研究经新疆维吾尔自治区人民医院医学伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 炎症指标检测 采集脓毒症组入 ICU 后 24 h 内、对照组体检时外周血 6 mL，分置两管，其中一管经 1000×g 离心 10 min 取上层血清保存待测。采用酶联免疫吸附法检测血清白介素（interleukin）-6、IL-10、IL-17、IL-23、转化生长因子 -β（transforming growth factor，TGF-β）水平，试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司，货号：SEKH-0013、SEKH-0018、SEKH-0027、SEKH-0034、SEKH-0317，所有操作严格按照试剂盒进行。

1.2.2 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平检测 取另一管外周血标本，使用淋巴细胞分离液（上海爱必信生物科技有限公司，货号：abs930）分离淋巴细胞，20% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液调整细胞密度至 1×10^6/mL，加入植物血凝素（上海懋康生物科技有限公司，货号：MP6301）使终浓度为 10 μg/mL，置于 5% CO_2、37℃培养箱中培养 48 h。取对数生长期细胞，调整细胞密度为 5×10^5/mL，收集各组细胞，TRIzol 总 RNA 抽提试剂盒（上海爱必信生物科技有限公司，货号：abs9331）提取细胞总 RNA，超微量分光光度计鉴定 RNA 纯度为 OD_{260}/OD_{280} 为 1.8～2.0，Takara 逆转录试剂盒（北京宝日医生物技术有限公司，货号：6024）转录合成 cDNA，进行 PCR 扩增。引物由上海代轩生物科技有限公司设计和合成：CHOP 上游引物：5'-ATTGACCGAATGGTGAATC-3'，下游引物：5'-TCTGGGAAAGGTGGGTAGTGT-3'；NLRP3 上游引物：5'-GCACAGTTGGCAACCTTTATG-3'，下游引物：5'-TGATTGTCCTGGTTTGTGTCC-3'；S100A8/A9 上游引物：5'-AAATCACCATGCCCTCTACAAG-3'，下游引物：5'-CCCACTTTTATCACCATCGCAA-3'；内参 β-actin 上游引物：5'-ACACTGTGCCCATCTACGAG-3'，下游引物：5'-TCAACGTCACACTTCATGATG-3'。反应体系（共 10.0 μL）：5.0 μL SYBR Premix Ex Taq；0.2 μL 上游引物；0.2 μL 下游引物；0.2 μL ROX 参比染料；1.0 μL cDNA 模板；3.4 μL RNase-free ddH_2O。反应条件：95℃预变性 90 s 1 次，

95℃变性 30 s、63℃退火 30 s、72℃延伸 15 s，循环 40 次，反应结束后绘制熔解曲线，收集各反应管 Ct 数，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 相对表达量。

1.2.3 **随访及分组** 脓毒症患者入院后根据相关指南[7]接受规范治疗，根据 28 d 内是否死亡分为死亡组和存活组。

1.2.4 **临床资料收集** 从电子信息病历系统中收集脓毒症患者的性别、年龄、BMI、既往史、感染部位、脓毒症分级、脓毒症相关器官衰竭评估（sepsis-associated organ failure assessment，SOFA）评分（入 ICU 后 24 h 内计算）、是否合并多器官功能障碍综合征（multiple organ dysfunction syndrome，MODS）（定义为合并 2 种及以上的系统或器官损害）、ICU 住院时间、机械通气时间、氧合指数（入 ICU 后 24 h 采用丹麦雷杜米特 ABL90 FLEX 动脉血气分析仪记录患者动脉血氧分压和吸入氧浓度，氧合指数为两者比值）以及入院 24 h 血肌酐、血尿素氮、血乳酸水平（均采用贝克曼库尔特 AU480 全自动生化分析仪测定）等资料。

1.3 统计学分析

选用 SPSS28.0 软件分析数据。计数资料以 n(%)表示，采用 χ^2 检验比较；计量资料先经 S-W 检验，正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示，采用独立样本 t 检验比较，偏态分布以 $M(P_{25}, P_{75})$表示，采用 U 检验比较；采用 Pearson/Spearman 相关系数分析脓毒症患者 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与炎症因子水平的相关性；采用多因素 Logistic 回归分析脓毒症患者预后的影响因素。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症组与对照组 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 及炎症因子水平比较

脓毒症组 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 相对表达量及血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平均明显高于对照组($P<0.05$)。见表 1。

2.2 脓毒症患者 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与炎症因子水平的相关性

Pearson/Spearman 相关性分析显示，脓毒症患者 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平均呈正相关($P<0.05$)。见表 2。

表 1 脓毒症组与对照组 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 及炎症因子水平比较

Table 1 Comparison of CHOP, NLRP3, S100A8/A9 mRNA and inflammatory factors between sepsis group and control group

Indexes	Sepsis group(n=70)	Control group(n=68)	*t/Z*	*P*
CHOP mRNA($\bar{x}\pm s$)	1.89±0.27	1.00±0.07	40.192	<0.001
NLRP3 mRNA[$M(P_{25}, P_{75})$]	1.81(1.63, 2.09)	1.02(0.93, 1.18)	11.886	<0.001
S100A8/A9 mRNA($\bar{x}\pm s$)	1.43±0.30	0.95±0.11	18.008	<0.001
IL-6(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	112.57±20.13	18.55±8.38	37.217	<0.001
IL-10(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	101.39±14.84	46.07±13.63	26.573	<0.001
IL-17(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	40.80±8.21	19.10±6.76	19.332	<0.001
IL-23(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	250.93±58.44	122.59±47.54	16.097	<0.001
TGF-β(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	917.93±166.71	547.37±125.43	18.648	<0.001

表 2 脓毒症组 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平与炎症因子水平的相关性

Table 2 Correlation between CHOP, NLRP3, S100A8/A9 mRNA expression levels and inflammatory factor levels in sepsis group

Indexes	CHOP mRNA		NLRP3 mRNA*		S100A8/A9 mRNA	
	r	*P*	r	*P*	r	*P*
IL-6	0.593	<0.001	0.607	<0.001	0.484*	<0.001
IL-10	0.772	<0.001	0.612	<0.001	0.562	<0.001
IL-17	0.556	<0.001	0.561	<0.001	0.571*	<0.001
IL-23	0.595	<0.001	0.543	<0.001	0.530	<0.001
TGF-β	0.642	<0.001	0.590	<0.001	0.449	<0.001

Note: * was Spearman correlation analysis.

2.3 影响脓毒症患者预后的单因素分析

根据 28 d 预后差异统计，170 例脓毒症患者死亡 56 例(32.94%)，存活 114 例。对比相关因素发现，死亡组年龄大于存活组，脓毒性休克、MODS、ICU 住院时间≥10 d、机械通气时间≥3 d 患者比例、SOFA 评分、血乳酸、血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平以及 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 相对表达量均高于存活组，氧合指数低于存活组，差异均有统计学意义($P<0.05$)。而两组间性别、BMI、既往史、感染部位、血肌酐、血尿素氮水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 影响脓毒症患者预后的单因素分析

Table 3 Univariate analysis of prognosis in patients with sepsis

Factor	Death group(n=56)	Survival group(n=114)	$\chi^2/t/Z$	P
Gender(male/female)	36/20	68/46	0.340	0.560
Age(years, $\bar{x}\pm s$)	67.73±5.72	63.61±8.42	3.758	<0.001
BMI(kg/m^2, $\bar{x}\pm s$)	22.75±2.91	23.68±3.62	-1.665	0.098
Past history[n(%)]				
Diabetes	9(16.07)	15(13.16)	0.263	0.608
Hypertension	18(32.14)	28(24.56)	1.094	0.296
Hyperlipidemia	9(16.07)	13(11.40)	0.726	0.394
Infection site[n(%)]				
Abdominal infection	14(25.00)	30(26.32)	0.074	0.995
Catheter associated bloodstream infection	16(28.57)	33(28.95)		
Urinary tract infection	20(35.71)	40(35.09)		
Other infections	6(10.71)	11(9.65)		
Septic shock[n(%)]	48(85.71)	67(58.77)	12.455	<0.001
SOFA score[scores, $M(P_{25}, P_{75})$]	12.00(9.00,16.00)	9.00(6.00,11.25)	-4.798	<0.001
MODS[n(%)]	18(32.14)	14(12.28)	9.695	0.002
ICU hospitalization time≥10 d[n(%)]	38(67.86)	59(51.75)	3.974	0.046
Mechanical ventilation time≥3 d[n(%)]	34(60.71)	50(43.86)	4.268	0.039
Oxygenation index[mmHg, $M(P_{25}, P_{75})$]	112.78(92.35, 141.90)	150.25(118.31, 181.11)	-5.358	<0.001
Serum creatinine[μmol/L, $M(P_{25}, P_{75})$]	230.57(209.40, 251.72)	225.29(190.47, 251.14)	-1.499	0.134
Blood urea nitrogen(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	11.93±3.57	10.82±3.46	1.945	0.053
Blood lactic acid[mmol/L, $M(P_{25}, P_{75})$]	5.28(4.51, 5.85)	4.38(3.50,5.37)	-4.295	<0.001
IL-6[pg/mL, $M(P_{25}, P_{75})$]	121.66±18.01	108.10±19.67	4.339	<0.001
IL-10(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	107.05±14.92	98.61±14.05	3.606	<0.001
IL-17(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	45.33±6.73	38.58±7.97	5.453	<0.001
IL-23(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)	274.79±59.95	239.21±54.21	3.882	<0.001
TGF-β[pg/mL, $M(P_{25}, P_{75})$]	985.27(828.02,1138.96)	888.55(773.00, 993.73)	-3.432	0.001
CHOP mRNA($\bar{x}\pm s$)	2.04±0.28	1.82±0.23	5.241	<0.001
NLRP3 mRNA[$M(P_{25}, P_{75})$]	2.01(1.79, 2.25)	1.73(1.54,1.94)	-5.082	<0.001
S100A8/A9 mRNA($\bar{x}\pm s$)	1.58±0.29	1.36±0.28	4.598	0.001

2.4 影响脓毒症患者预后的多因素 Logistic 回归分析

以脓毒症患者预后为因变量，以 CHOP mRNA、NLRP3 mRNA、S100A8/A9 mRNA 为自变量，年龄、脓毒性分级、SOFA 评分、MODS、ICU 住院时间、机械通气时间、氧合指数、血乳酸、血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 为协变量，建立多因素 Logistic 回归模型，赋值见表 4。分析结果显示，校正其他因素后，PBMC 中 CHOP mRNA、NLRP3 mRNA、S100A8/A9 mRNA 表达水平升高是脓毒症患者预后不良的危险因素（P<0.05），见表 5。

3 讨论

脓毒症是感染引起宿主免疫反应失调导致的一种器官功能障碍综合征，该病起始于感染，经过一系列病理过程后最终导致危及生命的器官代谢紊乱和功能障碍[8]。尽管多年来国际上对脓毒症的研究有较多权威报道，但脓毒症的病理生理机制涉及多个方面，目前尚无有效治疗方法，死亡率一直居高不下[9]。本研究中，170 例脓毒症患者 28 d 内死亡率为 32.94%，也说明脓毒症患者死亡率较高。目前临床主要通过氧合指数和 SOFA 评分评估脓毒症病情和预后，但氧合指数的准确性易受大气压影响，SOFA 评分计算繁复并易受主观因素影响，因此还需进一步探索有效的生物学指标，以指导脓毒症患者治疗和病情、预后评估。

机体免疫功能紊乱参与了脓毒症的发生与发展过程，作为获得性免疫的重要指标，T 细胞在脓毒症状态下表现为功能性分化倾向于辅助性 T 细胞（T helper cells，Th）2 型免疫反应，导致 T 细胞因子分泌异常，免疫功能紊乱[10]。Th17 和调节性 T 细

表 4 变量赋值

Table 4 Variable assignment

Independent variable	Assignment	Covariant	Assignment	Dependent variable	Assignment
CHOP mRNA	Original value entry	Age	Original value entry	Prognosis	Death=1;survival=0
NLRP3 mRNA	Original value entry	Septic shock	Yes=1;no=0		
S100A8/A9 mRNA	Original value entry	SOFA score	Original value entry		
		MODS	Yes=1;no=0		
		ICU hospitalization time	≥10 d=1;<10 d=0		
		Mechanical ventilation time	≥3 d=1;<3 d=0		
		Oxygenation index	Original value entry		
		Blood lactic acid	Original value entry		
		IL-6	Original value entry		
		IL-10	Original value entry		
		IL-17	Original value entry		
		IL-23	Original value entry		
		TGF-β	Original value entry		

表 5 影响脓毒症患者预后的多因素 Logistic 回归分析

Table 5 Multivariate Logistic regression analysis affecting the prognosis of patients with sepsis

Factors	β	*SE*	$Wald\chi^2$	*P*	*OR*(95%*CI*)
Age	0.053	0.058	0.816	0.366	1.054(0.940~1.181)
Septic shock	0.109	0.045	5.752	0.016	1.115(1.020~1.219)
SOFA score	0.178	0.079	5.092	0.024	1.194(1.024~1.394)
MODS	1.027	0.515	3.973	0.046	2.793(1.017~7.667)
ICU hospitalization time≥10 d	0.617	0.752	0.673	0.412	1.854(0.424~8.098)
Mechanical ventilation time≥3 d	1.608	0.823	3.819	0.051	4.992(0.995~25.042)
Oxygenation index	-0.042	0.013	10.024	0.002	0.959(0.935~0.984)
Blood lactic acid	0.822	0.398	4.273	0.039	2.275(1.043~4.958)
IL-6	0.066	0.024	7.262	0.007	1.068(1.018~1.120)
IL-10	0.046	0.026	3.233	0.072	1.047(0.996~1.101)
IL-17	0.106	0.046	5.228	0.022	1.112(1.015~1.218)
IL-23	0.012	0.006	3.522	0.061	1.012(0.999~1.025)
TGF-β	0.006	0.002	7.579	0.006	1.006(1.002~1.010)
CHOP mRNA	0.203	0.074	7.535	0.006	1.225(1.060~1.417)
NLRP3 mRNA	0.073	0.036	8.171	0.004	1.075(1.001~1.155)
S100A8/A9 mRNA	0.102	0.038	9.537	0.002	1.107(1.027~1.193)

胞(T regulatory cells,Treg)在免疫反应中发挥重要作用,Th17 能分泌 IL-6、IL-17、IL-23 等促炎细胞因子,引起机体炎性损伤,Treg 能分泌 IL-10、TGF-β 等抗炎细胞因子,抑制机体炎症损伤[11]。但脓毒症患者免疫功能紊乱可导致炎症反应亢进和免疫功能抑制双重状态,其免疫抑制与免疫细胞凋亡密切相关,病理研究表明脓毒症中多条细胞凋亡途径被激活,导致天然免疫反应中的树突细胞、体液免疫中的 B 细胞和细胞免疫的 $CD4^+$T 细胞、$CD8^+$T 细胞凋亡[12]。本研究结果也显示,脓毒症组血清促炎细胞因子 IL-6、IL-17、IL-23 和抗炎细胞因子 IL-10、TGF-β 水平均显著升高,符合脓毒症患者过度炎症反应和免疫抑制的特性。

ERS 是细胞应对钙离子平衡紊乱和内质网腔内未折叠蛋白聚集、错误折叠等状态而激活的一种反应过程,以维持内质网内环境稳定和保护细胞,强烈的内质网应激可激活炎症级联

反应，并通过含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶（cysteine-containing aspartate proteolytic enzyme，Caspase）等凋亡通路引发细胞凋亡[13]。CHOP 是一种具有亮氨酸拉链结构的转录因子，广泛表达于机体多个细胞，其编码的蛋白与多种细胞的增长、分化和凋亡有关，同时 CHOP 还是 ERS 重要的靶向转录调节因子，能诱导炎性细胞和凋亡因子表达，参与 ERS 介导的炎症和细胞凋亡[14]。Zahid 等[15]使用短干扰 RNA 敲低动脉粥样硬化小鼠 CHOP 基因发现，CHOP 失活能通过减少 ERS、炎症和细胞凋亡改善动脉粥样硬化。Sato 等[16]敲除 CHOP 基因发现，CHOP 缺失能减少 N- 甲基 -D- 天冬氨酸受体注射导致的炎症和细胞凋亡。上述研究提示 CHOP 在炎症反应中发挥促进作用。本研究结果显示，脓毒症患者 PBMC 中 CHOP mRNA 表达水平升高，提示 CHOP 可能参与脓毒症发生，可能与脓毒症发生后细胞损伤导致 ERS 有关。本研究结果显示，脓毒症患者 PBMC 中 CHOP mRNA 表达水平与血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平呈正相关，说明 CHOP 与脓毒症炎症反应有关，其机制可能与 CHOP 参与炎症和诱导细胞凋亡有关。近期研究也表明，内质网途径 CHOP 通路与脓毒症小鼠炎症反应增强有关，并通过 Caspase-3 诱导免疫相关细胞凋亡[17]。

NLRP3 是先天免疫受体的一个多元家族成员，主要表达于单核细胞、巨噬细胞和树突细胞，在先天免疫应答中发挥各种作用，NLRP3 激活后其 N- 末端的效应结构域能募集 Caspase-1 和凋亡相关微粒蛋白的前体，形成 NLRP3 炎症小体，通过内源性或外源性损伤相关分子模式完成自身组装活化，诱导炎症和细胞凋亡[18]。Franke 等[19]使用 NLRP3 抑制剂抑制 NLRP3 表达发现，脑缺血小鼠缺血区域炎症和免疫细胞浸润显著减少。Jia 等[20]研究表明，抑制 NLRP3 表达能抑制肺部炎症细胞浸润和凋亡。本研究结果显示，脓毒症患者 PBMC 中 NLRP3 mRNA 表达水平升高，提示 NLRP3 可能参与脓毒症发生，分析与脓毒症发生后免疫细胞激活引起 NLRP3 大量释放有关。结果还显示，脓毒症患者 PBMC 中 NLRP3 mRNA 表达水平与血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平呈正相关，说明 NLRP3 与脓毒症炎症反应有关，分析也与 NLRP3 能诱导炎症和免疫细胞凋亡有关。NLRP3 作为先天应答中的一个重要蛋白质，脓毒症发生后 NLRP3 被激活，导致 NLRP3 炎症小体活化，通过促进炎症因子释放加剧器官炎症反应[21]。同时作为下游 Caspase 家族成员的激活平台，NLRP3 还能通过促进炎性因子的转录生成和激活炎性复合物介导的细胞凋亡[22]。研究表明，NLRP3 炎症小体能通过扩大炎症和引发免疫细胞凋亡加剧脓毒症进展，敲除 NLRP3 基因能增强脓毒症小鼠免疫浸润和炎症反应，改善免疫功能紊乱，增加小鼠存活率[23,24]。

S100A8/A9 是 S100A8、S100A9 在 Ca^{2+}依赖方式下形成的异源二聚体，又称钙卫蛋白，由炎症状态下激活的中性粒细胞、巨噬细胞等分泌，胞外 S100A8/A9 能与细胞膜上的受体结合进一步激活单核巨噬细胞和核因子 -κB（nuclear factor-κB，NF-κB），引起大量炎症因子和粘附因子表达，参与炎症反应和诱导细胞凋亡[25]。Shankar 等[26]通过腹腔念珠菌诱导小鼠炎症性侧支组织损伤模型显示，S100A8/A9 缺陷小鼠炎症性侧支组织损伤明显减少。Sreejit 等[27]研究发现，心肌梗死后中性粒细胞能快速释放 S100A8、S100A9 并形成 S100A8/A9，诱导 NLRP3 炎症小体活化，加重梗死区域炎症损伤和细胞凋亡。本研究结果显示，脓毒症患者 PBMC 中 S100A8/A9 mRNA 表达水平升高，提示 S100A8/A9 可能参与脓毒症发生，考虑与脓毒症发生后中性粒细胞细胞激活有关。结果还显示，脓毒症患者 PBMC 中 S100A8/A9 mRNA 表达水平与血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23、TGF-β 水平呈正相关，说明 S100A8/A9 与脓毒症炎症反应有关。S100A8/A9 作为一种重要的炎症介质，释放到胞外后通过结合晚期糖基化终末产物受体、Toll 样受体 4 等受体和激活 NF-κB 等通路诱导促炎介质表达，放大炎症反应[28]。NF-κB 信号通路是介导炎症和细胞凋亡的重要通路，研究表明，抑制 S100A8/A9 表达能通过抑制脓毒症大鼠 NF-κB p65 磷酸化抑制促炎细胞因子表达和免疫细胞凋亡，改善脓毒症相关器官损伤[29,30]。

本研究结果显示，死亡组 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平显著升高，提示 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 与脓毒症患者预后不良有关。进一步分析发现，即使排除年龄、脓毒性分级、SOFA 评分、MODS、ICU 住院时间、机械通气时间、氧合指数、血乳酸和炎症因子的影响，外周血单核细胞 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 表达水平仍能影响脓毒症患者预后，分析是机体免疫功能紊乱参与了脓毒症全过程，并与脓毒症患者病情、预后和治疗效果等密切相关 [2]，而 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 能很好地反映脓毒症患者过度炎症反应和免疫抑制状态，因此与患者预后密切相关。

综上所述，脓毒症患者 PBMC 中 CHOP、NLRP3、S100A8/A9 mRNA 呈高表达，且表达水平与炎症反应和预后密切相关。但本研究为单中心小样本量研究，可能存在选择偏倚，其结果还需多中心前瞻性研究证实。

参 考 文 献（References）

[1] 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): e209-e218

[2] 中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会，中国人民解放军重症医学专业委员会，重症免疫研究协作组，等. 脓毒症免疫抑制诊治专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(11): 1281-1289

[3] Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment [J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(2): 71-88

[4] Zhao Q, Zhang H, Wu J, et al. Melatonin inhibits the endoplasmic reticulum stress induced, C/EBP homologous protein mediated pathway in acute pancreatitis[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(2): 1647-1655

[5] Wang Y, Liu X, Shi H, et al. NLRP3 inflammasome, an immune-inflammatory target in pathogenesis and treatment of cardiovascular diseases[J]. Clin Transl Med, 2020, 10(1): 91-106

[6] Scott NR, Swanson RV, Al-Hammadi N, et al. S100A8/A9 regulates CD11b expression and neutrophil recruitment during chronic tuberculosis[J]. J Clin Invest, 2020, 130(6): 3098-3112

[7] 中国医师协会急诊医师分会，中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会. 中国脓毒症 / 脓毒性休克急诊治疗指南 (2018)[J]. 感染、炎症、修复, 2019, 20(1): 3-22

[8] 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

[9] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Executive Summary: Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for the Management of Sepsis and Septic Shock 2021[J]. Crit Care Med, 2021, 49(11): 1974-1982

[10] 陈俊杰, 仝瀚文, 陆俊杰, 等. 脓毒症患者血清 TNF-α 与 T 淋巴细胞亚群、凝血功能及预后的关系研究[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(21): 4126-4129

[11] 张改君, 龙细雨, 靳露露, 等. Treg/Th7 平衡与脓毒症的关系研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(19): 2411-2415

[12] Có rneo EDS, Michels M, Dal-Pizzol F. Sepsis, immunosuppression and the role of epigenetic mechanisms [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2021, 17(2): 169-176

[13] Fu X, Cui J, Meng X, et al. Endoplasmic reticulum stress, cell death and tumor: Association between endoplasmic reticulum stress and the apoptosis pathway in tumors (Review) [J]. Oncol Rep, 2021, 45(3): 801-808

[14] Doerflinger M, Reljic B, Menassa J, et al. Circulating BiP/Grp78 is a novel prognostic marker for sepsis-mediated immune cell death [J]. FEBS J, 2021, 288(6): 1809-1821

[15] Zahid MDK, Rogowski M, Ponce C, et al. CCAAT/enhancer-binding protein beta (C/EBPβ) knockdown reduces inflammation, ER stress, and apoptosis, and promotes autophagy in oxLDL-treated RAW264.7 macrophage cells[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 463(1-2): 211-223

[16] Sato K, Sato T, Ohno-Oishi M, et al. CHOP deletion and anti-neuroinflammation treatment with hesperidin synergistically attenuate NMDA retinal injury in mice[J]. Exp Eye Res, 2021, 213(12): 108826

[17] 李青青, 陆刚, 丁怿虹, 等. 脓毒症诱导小鼠淋巴器官 JNK 和 CHOP 凋亡途径及刺激炎性细胞因子的变化 [J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(10): 1194-1198

[18] Huang Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(9): 2114-2127

[19] Franke M, Bieber M, Kraft P, et al. The NLRP3 inflammasome drives inflammation in ischemia/reperfusion injury after transient middle cerebral artery occlusion in mice [J]. Brain Behav Immun, 2021, 92 (9): 223-233

[20] Jia H, Liu Y, Guo D, et al. PM2.5-induced pulmonary inflammation via activating of the NLRP3/caspase-1 signaling pathway[J]. Environ Toxicol, 2021, 36(3): 298-307

[21] Shi X, Tan S, Tan S. NLRP3 inflammasome in sepsis (Review) [J]. Mol Med Rep, 2021, 24(1): 514

[22] Zheng M, Karki R, Vogel P, et al. Caspase-6 Is a Key Regulator of Innate Immunity, Inflammasome Activation, and Host Defense [J]. Cell, 2020, 181(3): 674-687.e13

[23] Zhao S, Chen F, Yin Q, et al. Reactive Oxygen Species Interact With NLRP3 Inflammasomes and Are Involved in the Inflammation of Sepsis: From Mechanism to Treatment of Progression [J]. Front Physiol, 2020, 11(25): 571810

[24] Stanojcic M, Vinaik R, Abdullahi A, et al. NLRP3 knockout enhances immune infiltration and inflammatory responses and improves survival in a burn sepsis model [J]. Immunology, 2022, 165 (2): 195-205

[25] Johnstone KF, Wei Y, Bittner-Eddy PD, et al. Calprotectin (S100A8/A9) Is an Innate Immune Effector in Experimental Periodontitis[J]. Infect Immun, 2021, 89(10): e0012221

[26] Shankar M, Uwamahoro N, Backman E, et al. Immune Resolution Dilemma: Host Antimicrobial Factor S100A8/A9 Modulates Inflammatory Collateral Tissue Damage During Disseminated Fungal Peritonitis[J]. Front Immunol, 2021, 12(26): 553911

[27] Sreejit G, Abdel-Latif A, Athmanathan B, et al. Neutrophil-Derived S100A8/A9 Amplify Granulopoiesis After Myocardial Infarction [J]. Circulation, 2020, 141(13): 1080-1094

[28] 张月丹, 朱力. 单核 / 巨噬细胞上调表达 S100A8/A9 在脓毒症中的作用研究[J]. 贵州医药, 2019, 43(5): 695-697

[29] Kingsley MK, Bhat BV, Badhe BA, et al. Narciclasine improves outcome in sepsis among neonatal rats via inhibition of calprotectin and alleviating inflammatory responses[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 2947

[30] Denstaedt SJ, Bustamante AC, Newstead MW, et al. Long-term survivors of murine sepsis are predisposed to enhanced LPS-induced lung injury and proinflammatory immune reprogramming [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2021, 321(2): L451-L465

（上接第 4694 页）

[23] Chen J, Li R, Chen J, et al. Acute cerebral infarction with acu te myocardial infarction due to patent foramen ovale: A case report [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(19): e20054

[24] 胡继川, 柯贤军. 脑梗死患者脑脊液中 TNF-α 与 IL-6 的检测意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2012, 22(3): 69-71

[25] 肖东芳, 王瑶, 邸丽丽,等. 血清 Hcy Hs-CRP TNF-α IL-6 水平与急性缺血性脑梗死严重程度的关系研究[J]. 河北医学, 2021, 27(3): 5

[26] 赵卫丽, 白树风, 杜敢琴, 等. 血浆中 CD62p 和 hs-CRP 与进展性缺血性脑卒中的关系 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2011, 14(17): 11-13

[27] Higashi Y. Edaravone for the treatment of acute cerebral infarction: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress [J]. Expert Opin Pharmacother, 2009, 10(2): 323-331

[28] Li F, Zhao L, Shi Y, et al. Edaravone-Loaded Macrophage-Derived Exosomes Enhance Neuroprotection in the Rat Permanent Middle Cerebral Artery Occlusion Model of Stroke [J]. Mol Pharm, 2020, 17 (9): 3192-3201

[29] 袁培铎. 奥扎格雷钠联合灯盏花素注射液对急性脑梗死患者血浆溶血磷脂酸水平影响 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17(1): 55-57

[30] 安学雷, 邵宇飞, 张庆博, 等. 灯盏花素注射液结合阿托伐他汀对急性脑梗死 5-HT、DA 水平的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39 (9): 233-236