

文章编号 1006-8147(2019)05-0475-06

论 著

血浆组蛋白 H4 与脓毒症患者严重程度及预后关系研究

郭 菲,王力军,么 颖,刘艳存,曹 超,王紫怡,柴艳芬
(天津医科大学总医院急诊医学科,天津 300052)

摘要 目的:了解血浆组蛋白 H4 浓度是否与脓毒症患者严重程度有关,以及是否可作为判断脓毒症预后的指标。方法:采用前瞻性研究,观察 2017 年 5 月-2018 年 4 月天津医科大学总医院急诊医学科 50 例脓毒症患者。收集脓毒症患者临床资料,采集患者入院 24 h 及 72 h 时血浆,通过酶联免疫分析检测血浆组蛋白 H4 和 caspase-3 浓度,并对血浆组蛋白 H4 与 24 h 及 72 h 时患者的疾病严重程度(APACHE II 评分、SOFA 评分)、降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)、乳酸(LAC)等临床指标进行相关性分析。按照患者预后将其分为存活组和死亡组,比较两组血浆组蛋白 H4、caspase-3、评分和常用指标的差异,绘制 ROC 曲线评估血浆组蛋白 H4 等指标预测脓毒症患者预后的价值。结果:脓毒症患者死亡组 24 h 血浆组蛋白 H4 浓度高于存活组[505.80 (462.46,657.85) vs 408.09 (370.68,483.31), $P<0.05$],死亡组与存活组 72 h 血浆组蛋白 H4 浓度差异无统计学意义[429.95 (354.12,557.70) vs 357.70 (331.33,391.16), $P>0.05$]。存活组血浆组蛋白 H4 浓度 72 h 低于 24 h[357.70 (331.33,391.16) vs 408.09 (370.68,483.31), $P<0.05$],死亡组血浆组蛋白 H4 浓度 72 h 和 24 h 差异无统计学意义 [429.95 (354.12,557.70) vs 505.80 (462.46,657.85), $P>0.05$]。脓毒症患者 24 h 时血浆组蛋白 H4 浓度与 APACHE II 评分值($r=0.747$, $P<0.05$)和 SOFA 评分值($r=0.631$, $P<0.05$)呈正相关。对患者预后进行评估并绘制 ROC 曲线,血浆组蛋白 H4 的曲线下面积最高,AUC 0.793,以 452.661 pg/mL 为截断点时敏感性为 88.9%,特异性为 66.7%。24 h 及 72 h 血浆组蛋白 H4 浓度均与 PCT、CRP 和 caspase-3 呈正相关(r 值为 0.429, 0.306, 0.735; 0.359, 0.354, 0.732, $P<0.05$),而与 PLT 计数呈负相关(r 值为 -0.346, -0.436, $P<0.05$),72 h 血浆组蛋白 H4 与 LDH 呈正相关($r=0.47$, $P<0.05$)。结论:入院 24 h 血浆组蛋白 H4 浓度可反应脓毒症患者疾病严重程度,并作为判断预后的预测指标。

关键词 血浆组蛋白 H4;脓毒症;凋亡;严重程度;预后

中图分类号 R631

文献标志码 A

Prognostic value of plasma histone H4 in septic patients

GUO Fei, WANG Li-jun, YAO Ying, LIU Yan-cun, CAO Chao, WANG Zi-yi, CHAI Yan-fen

(Department of Emergency Medicine, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract Objective: To discuss whether plasma H4 is correlated with the severity of septic patients and if levels of plasma H4 can be used as predictive markers for clinical outcome in sepsis. **Methods:** This prospective observational study enrolled 50 septic patients who were admitted to the Emergency department of Tianjin Medical University General Hospital. We collected patients' clinical data and blood samples at 24 h and 72 h. We measured plasma H4 and caspase 3 levels by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and analyzed their correlation with disease severity (APACHE II score, SOFA score) by using clinical parameters including PCT, CRP and LAC levels, et al. The patients were divided into survival group and death group. The differences of plasma H4, caspase-3, score and clinical parameters were compared between survival group and death group. The ROC curve was drawn to evaluate the prognostic value of plasma histone H4 and other parameters of septic patients. **Results:** Median H4 levels in non-survivors was significantly higher than survivors at 24 h [28.25 (25.48, 42.17) vs 23.87 (21.27, 28.30), $P<0.05$]. There was no significant statistical difference in plasma histone H4 concentration between non-survivors and survivors at 72 h [429.95 (354.12, 557.70) vs 357.70 (331.33, 391.16), $P>0.05$]. Plasma histone H4 concentration in survivors at 72 h was significantly lower than that at 24 h [357.70 (331.33, 391.16) vs 408.09 (370.68, 483.31), $P<0.05$]. There was no significant statistical difference in plasma histone H4 concentration in non-survivors between 72 h and 24 h [429.95 (354.12, 557.70) vs 505.80 (462.46, 657.85), $P>0.05$]. 24 h Plasma H4 were positively correlated with apache ii score ($r=0.747$, $P<0.05$) and sofa score ($r=0.631$, $P<0.05$). The area under the ROC curve of plasma histone in predicting prognostic of sepsis was 0.79, higher than other parameters. The sensitivity was 88.9%, and the specificity was 66.7%. Both 24 h and 72 h plasma H4 were positively correlated with PCT, CRP and caspase-3 ($r=0.429$, 0.306, 0.735; 0.359, 0.354, 0.732, $P<0.05$, $P<0.05$), while negatively correlated with PLT counts ($r=-0.346$, -0.436, $P<0.05$). The 72 h plasma H4 were positively correlated with LDH ($r=0.47$, $P<0.05$). **Conclusion:** Plasma histone H4 levels at 24 h are correlated with the severity in septic patients and it may be used as prognostic biomarker.

Key words plasma histone H4; sepsis; apoptosis; severity; prognosis

基金项目 睿 E 急诊医学科专项基金(R2018006);天津市滨海新区卫计委重点项目(2018BWKZ008)

作者简介 郭菲(1993-),女,硕士在读,研究方向:脓毒症;通信作者:柴艳芬, E-mail:chaiyanfen2012@126.com。

脓毒症是危重症病人常见死亡原因,其发病率不断上升,且花费巨大,已成为全球范围的主要公共健康问题^[1-3]。分子标志物是脓毒症研究热点,一些标志物在诊断脓毒症方面取得一定进展,但临床尚缺乏评估患者严重程度和预后的良好指标。

组蛋白是染色体的基本结构蛋白,共有 5 种类型:H1/H5、H2A、H2B、H3、H4,因 H3 和 H4 毒性最强^[4],目前研究也最广泛。2008 年,Xu 等首次报道胞外组蛋白是脓毒症小鼠模型的主要致死因素,其毒性作用导致脓毒症小鼠内皮细胞损伤、器官功能衰竭甚至死亡,H4 抗体能降低小鼠病死率^[5]。Wildhagen 等发现血浆组蛋白 H3 与脓症患者病死率和危重病评分相关,可作为脓毒症预后的预测指标^[6]。关于血浆组蛋白 H4 的临床研究相对较少^[7]。

细胞凋亡或坏死时染色质降解,核内组蛋白被释放至细胞外,称为细胞外组蛋白(Extracellular histone, EH)。EH 进入血液循环称为循环组蛋白或血浆组蛋白^[8]。脓毒症新近研究显示细胞凋亡在脓毒症及脓毒症心肌抑制的发生发展过程中发挥重要作用^[9]。脓毒症死亡患者发生明显细胞凋亡^[10]。Caspase-3 是细胞凋亡过程的主要执行分子,本研究探讨脓症患者血浆组蛋白 H4 浓度变化和凋亡的关系,血浆组蛋白 H4 浓度是否与脓症患者严重程度有关以及是否可作为判断脓毒症预后的指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2017 年 5 月-2018 年 4 月天津医科大学总医院急诊医学科收治的 50 例脓症患者。病例纳入标准:入院 24 h 内符合 sepsis 3.0 标准的患者,即机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍(感染+ Δ SOFA 评分 ≥ 2)。病例分组标准:根据患者 28 日生存情况,将其分为存活组和死亡组。所有患者(家属)均告知此研究的目的、研究程序以及参加此研究不影响患者的治疗方案,均签署知情同意书。本研究经天津医科大学总医院伦理委员会审核通过(IRB2018-152-01)。排除标准:(1)年龄 >80 岁或 <18 岁;(2)肿瘤患者;(3)失代偿性肝硬化;(4)急性坏死性胰腺炎;(5)慢性终末期肾病患者;(6)孕妇;(7)免疫性疾病活动期;(8)不能完成该试验者。

1.2 血浆组蛋白 H4 和 caspase-3 检测方法 脓症患者入院 24 h 和 72 h 时,采集静脉血 5 mL 置柠檬酸钠抗凝采血管中, -4°C 冰箱内保存 10~20 min,随后 3 000 r/min 离心 10 min。收集血浆, -80°C 冰箱保存。采用上海广锐生物科技有限公司提供的 EH4(产品批号 20171226)和 caspase-3(产品批号

20171223)检测试剂,用酶联免疫分析法集中检测血浆组蛋白 H4 和 caspase-3 浓度。

1.3 其他资料收集 收集患者入院 24 h 及 72 h 的白细胞计数(white blood cell, WBC)、中性粒细胞绝对值及其比例 (absolute neutrophil cell, ANC, N%)、血小板计数 (platelet, PLT)、血清降钙素原 (procalcitonin, PCT)、C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、乳酸(lactic acid, LAC)和乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)等生化指标。LAC 用 GEM Premier 3000 血气分析仪床旁及时测定,PCT 用 Pylon 3d 循环增强荧光分析仪床旁即时测定,其他指标由我院检验中心测定。计算患者 24 h 和 72 h 疾病严重程度(APACHE II 评分、SOFA 评分),并记录患者 28 日生存情况。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,符合正态分布的定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用 LSD- t 检验;非正态分布的计量资料以中位数(四分位数)[$M(Q1, Q3)$]表示,两组比较采用 Mann-Whitney U 检验。定性资料(28 d 时存活状态)采用 χ^2 检验,两变量相关性采用 Spearman 相关分析。绘制 ROC 曲线,根据约登指数找出最佳截断点,并计算各指标曲线下面积、敏感性、特异性。以 $P<0.05$ 为有统计学差异。72 h 血浆组蛋白 H4 清除率=(72 h 血浆组蛋白 H4 浓度-24 h 血浆组蛋白 H4 浓度)/24 h 血浆组蛋白 H4 浓度 $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 一般资料比较 50 例脓症患者中存活 40 例,死亡 10 例。存活组男 25 例,女 15 例,年龄(65.6 ± 15.79)岁;死亡组男 9 例,女 1 例,年龄(64.92 ± 16.44)岁。两组患者的一般资料和入院 24 h 临床指标等数据比较,见表 1。两组患者 24 h 和 72 h 血浆组蛋白 H4 浓度比较,见表 2。

表 1 两组患者一般资料和入院 24 h 观察指标比较

| Tab 1 Comparison of clinical data and clinical parameters at 24 h | | | |
|---|----------------------|--------------------|---------|
| 观察指标 | 存活组($n=40$) | 死亡组($n=10$) | P |
| 年龄/岁 | 65.6 \pm 15.79 | 64.92 \pm 16.44 | >0.05 |
| 性别(男/女) | 25/15 | 9/1 | >0.05 |
| Apache II 评分/分 | 17.08 \pm 7.94 | 24.78 \pm 8.24 | <0.05 |
| SOFA 评分/分 | 4(3,6) | 7(4.5,11.5) | <0.05 |
| PCT/(ng/ml) | 6.12(0.17,20.4) | 30.62(1.85,60.66) | >0.05 |
| CRP/(mg/L) | 9.34(3.83,16.73) | 22.8(11.33,27.8) | <0.05 |
| WBC/($\times 10^9/L$) | 16.06 \pm 9.05 | 10.67 \pm 9.62 | >0.05 |
| ANC/($\times 10^9/L$) | 14.14(7.43,17.55) | 7.71(0.48,17.77) | >0.05 |
| PLT/($\times 10^9/L$) | 176.5(120.25,260.0) | 105(39,150) | <0.05 |
| N% | 89.15(79.68,93.35) | 86.9(54.95,91.15) | >0.05 |
| LAC/(mmol/L) | 1.9(1.15,3.48) | 3(1.73,6.23) | >0.05 |
| LDH/(U/L) | 283.5(193.25,510.25) | 301(197,422) | >0.05 |
| Caspase-3(pmol/L) | 23.87(21.27,28.30) | 28.25(25.48,42.17) | <0.05 |

表2 脓毒症患者存活组与死亡组24 h和72 h血浆组蛋白H4浓度比较

Tab 2 The comparison of plasma histone H4 levels at 24 h and 72 h in survivors and non-survivors of septic patients

| | 入院24 h血浆组蛋白H4 | 入院72 h血浆组蛋白H4 | P |
|-----|-----------------------|-----------------------|-------|
| 存活组 | 408.09(370.68,483.31) | 357.70(331.33,391.16) | <0.05 |
| 死亡组 | 505.80(462.46,657.85) | 429.95(354.12,557.70) | >0.05 |
| P | <0.05 | >0.05 | |

2.2 血浆组蛋白H4与观察指标间的相关性分析 以WBC、ANC、PLT、PCT、CRP、LAC、LDH和Caspase-3作为观察指标,上述指标与血浆组蛋白H4相关性分析见表3。结果提示24 h和72 h血浆组蛋白H4与PCT、CRP、caspase-3呈正相关,72 h血浆组蛋白H4与LDH呈正相关,24 h和72 h血浆组蛋白H4与PLT呈负相关,见表3。

表3 血浆组蛋白H4浓度与观察指标的相关性分析

Tab 3 The correlation between plasma histone H4 and observation parameters

| 相关性分析 | 24 h, r/P | 72 h, r/P |
|--------------|--------------|--------------|
| WBC/H4 | 0.102/0.493 | 0.173/0.267 |
| ANC/H4 | 0.16/0.294 | 0.124/0.439 |
| PCT/H4 | 0.429/0.003 | 0.359/0.025 |
| CRP/H4 | 0.306/0.041 | 0.354/0.021 |
| LAC/H4 | 0.165/0.283 | 0.076/0.681 |
| PLT/H4 | -0.346/0.017 | -0.436/0.003 |
| LDH/H4 | 0.257/0.081 | 0.47/0.001 |
| Caspase-3/H4 | 0.735/<0.001 | 0.732/<0.001 |

2.3 血浆组蛋白H4与疾病严重程度的相关性分析 24 h时血浆组蛋白H4浓度与APACHE II评分和SOFA评分均呈显著正相关(r 值分别为0.747,和0.631, P 均<0.05)。72 h时血浆组蛋白H4浓度与APACHE II评分无显著相关性,72 h时血浆组蛋白H4浓度与SOFA评分呈正相关,见表4、图1。

表4 两时间点血浆组蛋白H4浓度与疾病严重程度的相关性分析

Tab 4 The correlation between plasma histone H4 levels and the disease severity at 24 h and 72 h

| | H4/APACHE II评分 | | H4/SOFA评分 | |
|-----|----------------|-------|-----------|-------|
| | 24 h | 72 h | 24 h | 72 h |
| r | 0.747 | 0.204 | 0.631 | 0.453 |
| P | <0.05 | >0.05 | <0.05 | <0.05 |

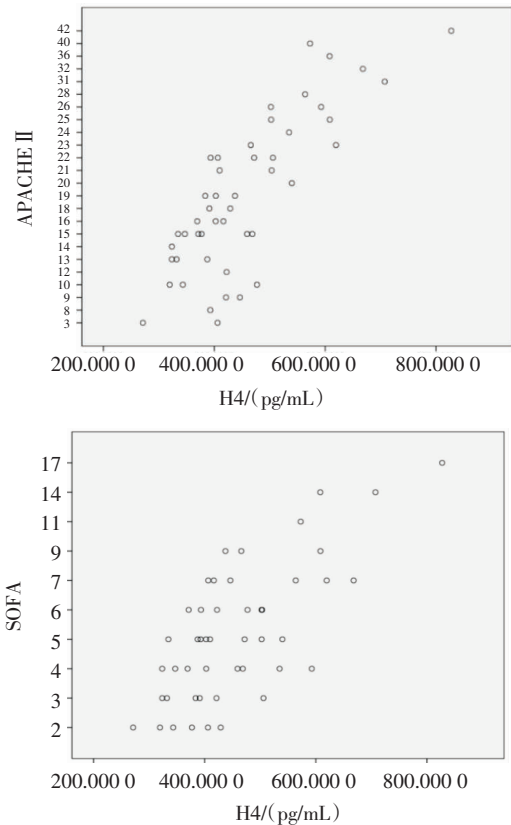


图1 24 h血浆组蛋白H4与APACHE II评分和SOFA评分相关性
Fig 1 The correlation of plasma histone H4 levels with APACHE II score and SOFA score

2.4 血浆组蛋白H4与脓毒症预后的相关性 脓毒症患者死亡组血浆组蛋白H4浓度高于存活组,24 h差异有统计学意义[505.80(462.46,657.85) vs 408.09(370.68,483.31), P <0.05](图2);72 h差异无统计学意义[429.95(354.12,557.70) vs 357.70(331.33,391.16), P >0.05]。存活组72 h血浆组蛋白H4浓度低于24 h血浆组蛋白H4浓度,差异有统计学意义[357.70(331.33,391.16) vs 408.09(370.68,483.31), P <0.05]。死亡组72 h血浆组蛋白H4浓度与24 h血浆组蛋白H4浓度差异无统计学意义[429.95(354.12,557.70) vs 505.80(462.46,657.85), P >0.05]。计算72 h血浆组蛋白H4清除率+100%,存活组与死亡组差异无统计学意义[111.1%(99.53%,131.08%) vs 100%(100%,100%), P >0.05]。

两组间24 h观察指标中,Caspase-3、PCT、CRP、PLT、APACHE II评分和SOFA评分有统计学差异,72 h观察指标均无统计学差异。以24 h血浆组蛋白H4、Caspase-3、PCT、CRP、PLT、APACHE II评分和SOFA评分来判断脓毒症患者预后,绘制ROC曲线(图3),并计算曲线下面积。24 h血浆组蛋白H4的AUC为0.804,高于其他指标,cutoff值452.66,敏感度0.889,特异性0.684(表5)。

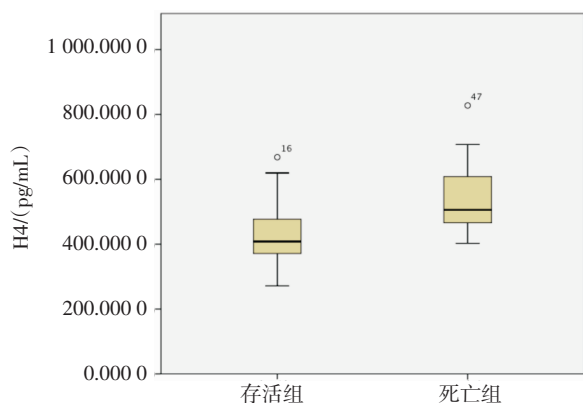


图 2 脓毒症患者存活组和死亡组 24 h 血浆组蛋白 H4 浓度比较

Fig 2 The comparison of plasma histone H4 levels at 24 h between survivors and non-survivors of septic patients

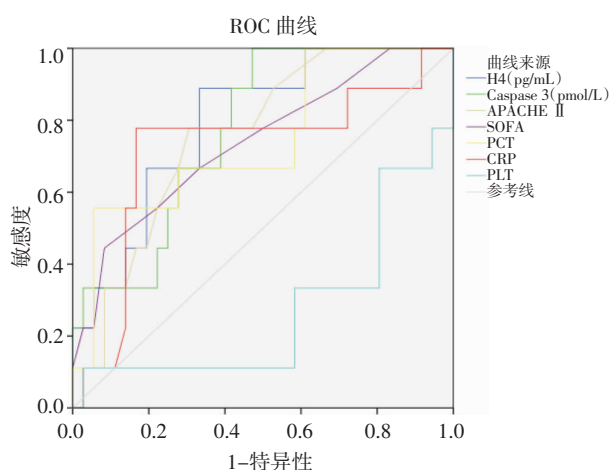


图 3 血浆组蛋白 H4、Caspase-3、APACHE II 评分和 SOFA 评分判断脓毒症患者预后的 ROC 曲线图

Fig 3 The area under the ROC curve of plasma histone H4, Caspase-3, APACHE II score and SOFA score as prognostic markers

表 5 血浆组蛋白 H4、Caspase-3、PCT、CRP、PLT、APACHE II 评分和 SOFA 对脓毒症患者预后的诊断价值

Tab 5 The prognostic value of plasma histone H4, Caspase-3, PCT, CRP, PLT, APACHE II score and SOFA score in septic patients

| | AUC | P | 95%CI | 截断值 | 敏感性 | 特异性 |
|-----------|-------|-------|-------------|---------|-------|-------|
| H4 | 0.793 | 0.007 | 0.644~0.942 | 452.661 | 0.889 | 0.667 |
| Caspase-3 | 0.772 | 0.013 | 0.623~0.92 | 24.107 | 1 | 0.528 |
| Apache II | 0.759 | 0.017 | 0.603~0.915 | 20.5 | 0.778 | 0.694 |
| SOFA | 0.738 | 0.029 | 0.549~0.926 | 8 | 0.444 | 0.917 |
| PCT | 0.744 | 0.025 | 0.557~0.93 | 26.51 | 0.556 | 0.917 |
| CRP | 0.718 | 0.045 | 0.506~0.929 | 17.75 | 0.778 | 0.833 |
| PLT | 0.272 | 0.036 | 0.067~0.746 | 152.5 | 0.111 | 0.417 |

3 讨论

中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)提出血清乳酸水平可作为患者病情严重程度的标志。但是单纯监测血清乳酸水平不能准确反映组织

氧供、氧耗的动态变化。虽然乳酸清除率可纠正单一时间点监测的缺陷,但需时间长且操作繁琐,不利于早期评估患者病情严重程度。脓毒症发病机制复杂,炎症反应失衡、免疫功能紊乱、微循环功能障碍、凝血障碍、线粒体损伤、内质网应激、细胞凋亡与自噬、基因多态性及神经-内分泌-免疫网络等均参与脓毒症的发生和发展^[11-12]。

EH 与脓毒症炎症反应、免疫瘫痪和凝血障碍等机制密切相关^[7],EH 作为细胞毒性损伤相关分子模式蛋白,通过激活 Toll 样受体、促进炎症反应和改变磷脂膜通透性等多种机制,诱导肺、心脏、肝、肾及脾损伤,出现多器官功能障碍综合征^[13-14]。此外,脓毒症时炎症反应、微血管内血栓形成和内皮细胞功能失调等致全身靶器官损伤及大量炎症细胞坏死,核内组蛋白大量溢出至细胞外,再次诱导炎症因子激活或释放,从而形成恶性循环^[15-16]。另有学者发现中性粒细胞胞外诱捕网也是血浆组蛋白的重要来源^[17-18]。

本研究发现,脓毒症患者入院 24 h 血浆组蛋白 H4 浓度与 APACHE II 评分和 SOFA 评分有较好的正相关性(r 值分别为 0.747 和 0.631, $P < 0.05$),24 h 血浆组蛋白 H4 浓度可反应脓毒症患者严重程度。APACHE II 评分和 SOFA 评分是临床常用的病情严重程度评分系统,评分越高患者病情越重。APACHE II 评分^[19]能够较好的预测脓毒症患者预后,因其较高的敏感性和特异性,目前应用最为广泛。但需要指标较多,计算过程繁琐。qSOFA 评分被推荐为急诊床旁筛查脓毒症和评估预后的工具^[2],但 Park 等^[20]研究表明其敏感性较低,有漏诊风险。Raith 等研究表明 qSOFA 评分对危重的感染患者的预后评估价值有限^[21]。脓毒症时,患者血浆组蛋白 H4 升高时间早,与 APACHE II 评分和 SOFA 评分有较好的相关性,敏感性、特异性较高,可早期、准确评估脓毒症患者严重程度。

本研究中,死亡组患者入院 24 h 血浆组蛋白 H4 浓度高于存活组。此与 Ekaney 等研究结果一致^[5,22-23]。动态监测脓毒症患者血浆组蛋白 H4 浓度变化,存活组患者 72 h 血浆组蛋白 H4 浓度较 24 h 明显下降。可能与脓毒症存活组患者细胞损伤较前减轻,组蛋白来源减少而机体清除能力增强有关。说明血浆组蛋白 H4 浓度下降预测患者病情好转。既往关于脓毒症血浆组蛋白 H4 动态变化的研究很少,Ekaney 等^[22]报道 ICU 脓毒症患者入院第 3 天血浆组蛋白 H4 浓度较第 1 天显著下降,患者第 1 天的血浆组蛋白 H4 浓度与病死率有关。本研究结果

与其一致。本研究死亡组患者两时间点血浆组蛋白H4浓度无统计学差异,可能与脓毒症死亡患者清除组蛋白能力严重受损有关,也可能与样本量小有关。死亡组与存活组72 h血浆组蛋白H4清除率没有统计学差异,考虑与死亡组72 h样本量小有关。有待多中心、大样本量的研究证实脓毒症死亡患者的血浆组蛋白H4变化情况。

临床常用指标如PCT、CRP、LAC、WBC、ANC和PLT等均对评估脓毒症严重程度和预后有一定作用^[24-26],但是这些指标的临床价值尚存争议。本研究中,临床常用指标PCT、CRP、PLT、APACHE II评分和SOFA评分在预测脓毒症患者预后方面有诊断价值,此与Sadaka等学者结论一致^[22-24]。用ROC曲线下面积评估各指标对脓毒症患者预后的价值,24 h血浆组蛋白H4的AUC为0.793,高于PCT、CRP、PLT、Caspase-3、APACHE II评分和SOFA评分。此外,血浆组蛋白与PCT、CRP和APACHE II评分和SOFA评分呈正相关,而与PLT计数呈负相关。表明血浆组蛋白H4是较好的脓毒症患者预后的指标。

脓毒症细胞凋亡与胞外组蛋白H4密切相关。细胞凋亡途径主要包括内源性途径和外源性途径^[27],Caspase、Fas/FasL、Bcl-2、Livin等均可作为反映细胞凋亡的标志物,其中Caspase家族在脓毒症细胞凋亡的发生发展过程中发挥关键作用^[28]。细胞凋亡的两种途径都作用于caspase-3。Caspase-3在凋亡早期阶段即可被激活,活化后裂解相应的胞浆胞核底物,引发细胞凋亡,影响组织器官功能,甚至危及生命^[9]。本研究发现,血浆caspase-3在脓毒症患者24 h和72 h时均明显升高,存活组患者72 h血浆caspase-3浓度较24 h明显下降。血浆组蛋白H4在脓毒症患者24 h和72 h时均与caspase-3呈正相关(P 均 <0.05)。该结果与凋亡是组蛋白来源之一相吻合,细胞凋亡增加导致血浆组蛋白H4浓度升高,推测细胞凋亡是血浆组蛋白H4导致脓毒症患者病死的机制之一。细胞凋亡与脓毒症患者不良预后有关。Lorente等报道caspase-3浓度与脓毒症患者早期病死率相关^[29],本研究结果与其一致。Santiago等学者发现血浆组蛋白通过mTOR途径,以剂量依赖性的方式,激活内皮细胞的凋亡和自噬,从而导致脓毒症和脓毒性休克的发生^[30]。

脓毒症患者常并发凝血系统功能紊乱^[31],此过程与血浆组蛋白H4有关。本研究中,血浆组蛋白H4与血小板计数呈显著负相关。EH通过血小板活化和血栓栓塞等多种机制,诱导凝血功能紊乱^[32]。所有组蛋白亚型均可促进血小板的聚集和血栓形成。

然而,H4亚型的上述作用最强^[33]。此作用与TLR2及TLR4有关,也可能有其他机制^[32]。

本研究还纳入LDH做为观察指标,在体外试验中LDH浓度与细胞膜损伤程度相关。胞外组蛋白对内皮细胞有直接毒性,血浆组蛋白H4可通过直接细胞毒性参与脓毒症病情进展^[20]。本研究中,血浆组蛋白H4与LDH呈正相关,此与既往研究结果一致^[20]。

本研究存在一定的局限性。首先,Alhamdi等^[34]发现,胞外组蛋白在脓毒症患者出现时间为发病10 h,达峰时间为16~24 h。本研究未监测脓毒症患者24 h内的血浆组蛋白及caspase-3浓度,另外,本研究选取的时间点为脓毒症患者入院24 h及72 h,但患者入院前可能已符合脓毒症标准,导致数据不能真实反映脓毒症两时间点的状态。其次,在脓毒症发病机制中存在促炎(如IL-1、IL-6和TNF α)与抗炎(如IL-2、IL-10和IFN- γ)的动态变化过程。本研究没有监测以上炎症因子,而选择WBC、PLT、PCT、CRP、LAC和LDH等,不能说明血浆组蛋白H4在脓毒症早期对炎症因子的影响。再次,细胞凋亡的标志物有促进凋亡与抑制凋亡之分,本研究仅选取了促进凋亡的caspase-3,不能充分阐释脓毒症细胞凋亡和组蛋白的关系。脓毒症时导致血浆组蛋白H4升高的凋亡细胞类型尚不明确,有待进一步证实。总之,脓毒症病人入院24 h时血浆组蛋白H4浓度可反应疾病严重程度,并作为判断预后的预测指标。胞外组蛋白不仅是新型生物标记物,也是未来治疗靶点。中和循环中组蛋白、使用EH抗体及阻断组蛋白信号转导等措施,可能为治疗脓毒症提供新方向。

参考文献:

- [1] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock[J]. Lancet, 2018, 392(10141): 75
- [2] Singer M, Deutschman 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
- [3] Tiru B, Dinino E K, Orenstein A, et al. The economic and humanistic burden of severe sepsis[J]. Pharmacoeconomics, 2015, 33(9): 925
- [4] Wildhagen K C, Garcia D P, Reutelingsperger C P, et al. Nonanticoagulant heparin prevents histone-mediated cytotoxicity in vitro and improves survival in sepsis[J]. Blood, 2014, 123(7): 1098
- [5] Xu J, Zhang X M, Pelayo R, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis[J]. Nat Med, 2009, 15(11): U117
- [6] Wildhagen K C, Wiewel M A, Schultz M J, et al. Extracellular histone H3 levels are inversely correlated with antithrombin levels and platelet counts and are associated with mortality in sepsis patients[J]. Thromb Res, 2015, 136(3): 542

- [7] 王力军,寿松涛,柴艳芬,等.胞外组蛋白在脓毒症及其心肌抑制机制研究进展[J].中华急诊医学杂志, 2018, 27(1): 111
- [8] Campos E I, Reinberg D. Histones: annotating chromatin[J]. Annu Rev Genet, 2009,43: 55
- [9] 陈俊杰,李青松,李永宁,等.乌司他丁抑制脓毒症大鼠心肌细胞凋亡及 Caspase-3 信号机制研究[J].中华急诊医学杂志,2018, 27(1):72
- [10] Hotchkiss R S, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach[J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(3): 260
- [11] 姚咏明,张艳敏.脓毒症发病机制最新认识[J].医学研究生学报, 2017, 30(7): 678
- [12] 王力军,余慕明,柴艳芬.高容量血液滤过在脓毒症治疗中的临床应用及进展[J].中华急诊医学杂志, 2017, 26(2): 244
- [13] Silk E,Zhao H,Weng H, et al. The role of extracellular histone in organ injury[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(5): e2812
- [14] Li X, Gou C, Yao L, et al. Patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure have increased concentrations of extracellular histones aggravating cellular damage and systemic inflammation[J]. J Viral Hepat, 2017, 24(1): 59
- [15] Grailer J J, Canning B A, Kalbitz M, et al. Critical role for the NLRP3 inflammasome during acute lung injury[J]. J Immunol,2014, 192(12): 5974
- [16] Kalbitz M,Grailer J J,Fattahi F, et al. Role of extracellular histones in the cardiomyopathy of sepsis[J].FASEB J, 2015, 29(5): 2185
- [17] Czaikoski P G, Mota J M, Nascimento D C, et al. Neutrophil extracellular traps induce organ damage during experimental and clinical sepsis[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0148142
- [18] 王力军,王镜媛,郭菲,等.NETs 与脓毒症及其凝血功能障碍的研究进展[J].医学综述, 2018, 24(21): 4182
- [19] Knaus W A, Draper E A, Wagner D P, et al. APACHE II:a severity of disease classification system[J].Crit Care Med,1985,13(10): 818
- [20] Park H K, Kim W Y, Kim M C, et al. Quick sequential organ failure assessment compared to systemic inflammatory response syndrome for predicting sepsis in emergency department[J]. J Crit Care,2017, 42:12
- [21] Raith E P, Udy A A, Bailey M, et al. Prognostic accuracy of the SOFA score, SIRS 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
- [22] Ekaney M L, Otto G P, Sossdorf M, et al. Impact of plasma histones in human sepsis and their contribution to cellular injury and inflammation[J].Crit Care, 2014, 18(5): 543
- [23] Nakahara M, Ito T, Kawahara K I, et al. Recombinant thrombomodulin protects mice against Histone-Induced lethal thromboembolism [J]. PLoS One, 2013,8(9): e75961
- [24] Sadaka F, Ethmaneabouelmaali C, Cytron M A, et al. Predicting mortality of patients with sepsis: a comparison of APACHE II and APACHE III scoring systems[J]. J Clin Med Res, 2017,9(11): 907
- [25] Thiery-Antier N, Binquet C, Vinault S, et al. Is thrombocytopenia an early prognostic marker in septic shock[J].Crit Care Med, 2016, 44(4):764
- [26] Nichol A, Bailey M, Egi M, et al. Dynamic lactate indices as predictors of outcome in critically ill patients[J]. Critical Care,2011,15(5): R242
- [27] Mohammad R M, Muqbil I, Lowe L, et al. Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer[J].Semin Cancer Biol, 2015,35(Suppl): S78
- [28] Yao Y, Sun F, Lei M. miR-25 inhibits sepsis-induced cardiomyocyte apoptosis by targetting PTEN[J].Biosci Rep, 2018,38(2):pii: BSR20171511. doi: 10.1042/BSR20171511
- [29] Lorente L, Martin M M, Ferreres J, et al. Serum caspase 3 levels are associated with early mortality in severe septic patients[J]. J Crit Care, 2016, 34: 103
- [30] Santiago Ibanez-Cabelllos J, Aguado C, Perez-Cremades D, et al. Extracellular histones activate autophagy and apoptosis via mTOR signaling in human endothelial cells[J]. Biochim Biophys Acta-Mol Basis Dis, 2018,1864(10): 3234
- [31] 王力军,刘艳存,寿松涛,等.脓毒症患者弥散性血管内凝血抗凝治疗新进展[J].中华危重症医学杂志:电子版,2018,11(3):206
- [32] Semeraro F, Ammolio C T, Morrissey J H, et al. Extracellular histones promote thrombin Generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4 [J].Blood, 2011,118(7):1952
- [33] Carestia A, Rivadeneyra L, Albertina Romaniuk M, et al. Functional responses and molecular mechanisms involved in histone-mediated platelet activation[J].Thromb Haemost, 2013,110(5):1035
- [34] Alhamdi Y, Abrams S T, Cheng Z X, et al. Circulating histones are major mediators of cardiac injury in patients with sepsis[J].Crit Care Med, 2015, 43(10): 2094

(2018-12-29 收稿)

(上接第 474 页)

- [22] Wang J, Bourne G W, Wang Z, et al. Comparative mechanisms of antiarrhythmic drug action in experimental atrial fibrillation. Importance of use-dependent effects on refractoriness[J]. Circulation, 1993, 88(3):1030
- [23] Morillo C A, Klein G J, Jones D L, et al. Chronic rapid atrial pacing. Structural, functional, and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation[J]. Circulation,1995,91(5): 1588
- [24] Wijffels M C, Kirchhof C J, Dorland R, et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats[J]. Circulation, 1995, 92(7):1954

(2018-08-10 收稿)