

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.18.008
文章编号: 1005-8982(2020)18-0036-05

慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清 miRNA-146a 水平及其临床意义

王美华¹, 陈丽琴²

(杭州市西溪医院 1. 呼吸内科, 2. 肺功能室, 浙江 杭州 310023)

摘要: 目的 探讨慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者血清 miRNA-146a 水平及临床意义。
方法 选取2019年1月—2019年12月在杭州市西溪医院就诊的150例AECOPD患者作为AECOPD组, 同期该院健康体检者150例作为对照组。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定血清 miRNA-146a 水平。测定血清C反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、白细胞介素-6(IL-6)和第一秒用力呼气容积(FEV₁)、用力肺活量(FVC)。
结果 AECOPD组血清 miRNA-146a、CRP、PCT及IL-6水平高于对照组($P < 0.05$)。AECOPD组FEV₁、FVC及FEV₁/FVC值低于对照组($P < 0.05$)。不同肺功能分级患者血清 miRNA-146a 水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 随着肺功能分级升高, 血清 miRNA-146a 水平升高($P < 0.05$)。死亡患者血清 miRNA-146a 水平高于存活患者($P < 0.05$)。AECOPD组血清 miRNA-146a 水平与血清CRP、PCT、IL-6水平呈正相关($r = 0.526, 0.571$ 和 $0.543, P < 0.05$); 而与FEV₁、FVC及FEV₁/FVC呈负相关($r = -0.532, -0.584$ 和 $-0.561, P < 0.05$)。
结论 AECOPD患者血清 miRNA-146a 水平升高, 血清 miRNA-146a 水平与患者炎症反应程度、肺功能、病情和预后的关系密切。

关键词: 肺疾病, 慢性阻塞性; 炎症; 呼吸功能试验; 预后

中图分类号: R563

文献标识码: A

Serum level of miRNA-146a in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease and its clinical significance

Mei-hua Wang¹, Li-qin Chen²

(1. Department of Respiratory Medicine, Xixi Hospital of Hangzhou, Hangzhou, Zhejiang 310023, China;
2. Lung Function Laboratory, Xixi Hospital of Hangzhou, Hangzhou, Zhejiang 310023, China)

Abstract: Objective To investigate the level and clinical significance of serum miRNA-146a in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** 150 patients with AECOPD from January 2019 to December 2019 in Xixi Hospital of Hangzhou were selected as the AECOPD group, and 150 healthy physical examinees during the same period were selected as the control group. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to determine the level of serum miRNA-146a. The serum C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) and interleukin-6 (IL-6) levels, as well as forced expiratory volume in one second (FEV₁) and forced vital capacity (FVC) were measured. **Results** The levels of serum miRNA-146a, CRP, PCT and IL-6 in the AECOPD group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The FEV₁, FVC, and FEV₁/FVC values of the AECOPD group were lower than those of the control group ($P < 0.05$). There were statistically significant differences in serum miRNA-146a levels between each two groups with different lung function grades ($P < 0.05$), and the serum level of miRNA-146a elevated with the increase of lung function grade. The serum miRNA-146a levels in

death cases were higher than those in surviving patients ($P < 0.05$). The serum miRNA-146a levels in the AECOPD group were positively correlated with serum CRP ($r = 0.526$), PCT ($r = 0.571$), IL-6 ($r = 0.543$) levels ($P < 0.05$), and negatively correlated with FEV1 ($r = -0.532$), FVC ($r = -0.584$), and FEV1/FVC ($r = -0.561$) ($P < 0.05$). **Conclusions** Serum miRNA-146a level in AECOPD patient is elevated, and the serum miRNA-146a level is closely related to the degree of inflammatory response, lung function, as well as condition and prognosis of the disease.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; miRNA-146a; inflammation; lung function; prognosis

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 为常见的呼吸道疾病, 对人们的健康造成严重危害。慢性阻塞性肺疾病急性加重期 (acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD) 是 COPD 死亡的主要原因。AECOPD 由多种原因引起, 呼吸道感染是导致 AECOPD 发生的主要原因, 呼吸道感染主要以细菌感染为主^[1]。呼吸道感染可引起机体免疫炎症反应, 导致血清免疫炎症细胞因子水平发生变化^[2]。MicroRNA (miRNA) 为一类非编码单链 RNA, 长度为 20 ~ 23 个核苷酸, 具有多种生理病理功能^[3]。miRNA-146a 是一个可以调节免疫系统的 miRNA, 在免疫炎症反应中也发挥重要作用^[4]。AECOPD 主要由呼吸道感染引起, 但 miRNA-146a 是否参与 AECOPD 的发病过程尚不清楚。本文对 AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平进行研究, 探讨其在 AECOPD 中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2019 年 1 月—2019 年 12 月在杭州市西溪

医院就诊的 150 例 AECOPD 患者作为 AECOPD 组, 同期本院健康体检者 150 例作为对照组。诊断标准: AECOPD 诊断参照《慢性阻塞性肺疾病全球倡议 2019》^[5]。纳入标准: ① AECOPD 患者符合 AECOPD 的诊断标准, 入院前 30 d 内未服用抗菌药物或糖皮质激素治疗, 入院前 7 d 未服用支气管扩张及影响研究结果药物; ② 对照组经胸片或胸部 CT 检查无肺气肿、慢性支气管炎等肺部疾病表现; ③ 均签署知情同意书。排除标准: ① 活动性肺结核、支气管扩张、肺间质性病变、支气管哮喘、气胸、胸膜粘连及胸腔积液等其他肺部疾病; ② 胸部 CT 或胸片显示肺炎; ③ 心肌梗死、心肌疾病、心力衰竭及风湿性心脏病等心脏疾病; ④ 免疫性疾病; ⑤ 糖尿病等内分泌疾病; ⑥ 恶性肿瘤; ⑦ 急慢性感染性疾病; ⑧ 肺叶切除术病史; ⑨ 严重心、肝、肾功能异常。本研究通过医院伦理委员会批准。两组性别、年龄、身高、体重指数 (BMI) 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而吸烟指数比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), AECOPD 组高于对照组。AECOPD 患者 28 d 内死亡 28 例, 存活 122 例。

表 1 两组一般资料比较 ($n = 150$)

组别	男/女/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	吸烟指数/(支/年, $\bar{x} \pm s$)	身高/(cm, $\bar{x} \pm s$)	BMI (kg/m^2 , $\bar{x} \pm s$)
对照组	131/19	67.24 \pm 7.81	87.68 \pm 14.35	161.84 \pm 4.32	22.51 \pm 1.65
AECOPD 组	134/16	68.37 \pm 8.46	576.14 \pm 16.73	162.03 \pm 4.61	22.14 \pm 1.67
χ^2/t 值	0.291	1.202	271.418	0.368	1.930
P 值	0.590	0.230	0.000	0.713	0.055

1.2 方法

1.2.1 标本采集 抽取 AECOPD 患者和对照组体检者清晨空腹外周静脉血 5 ml, 5 200 r/min 离心 10 min, 取上层血清备用。

1.2.2 逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 测定血清 miRNA-

146a 水平 应用 Trizol 法提取血清总 RNA。将总 RNA 逆转录为 cDNA, 以 U6 为内参, PCR 仪测定血清 miRNA-146a 水平, PCR 反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 45 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共计 42 个循环。血清 miRNA-146a 水平以 $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ 法表示。PCR 仪购自德国 Analytikjena 公司, 试

剂购自丹麦 EXIQON 公司。miRNA-146a 正向引物：5'-GCTGAGAACTGAATTCATGGGT-3'；反向引物为试剂盒通用引物，引物长度为 25 bp。

1.2.3 血清 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、降钙素原 (Procalcitonin, PCT) 及白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 水平测定 采用免疫速率散射比浊法测定 CRP 水平；采用免疫层析法测定 PCT 水平；采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验测定 IL-6 水平。

1.2.4 肺功能测定 采用德国耶格公司 Master Screen 肺功能仪测定患者肺功能，包括第一秒用力呼气容积 (forced expiratory volume in one second, FEV₁) 和用力肺活量 (forced vital capacity, FVC)。计算 FEV₁/FVC 值。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，比较用 *t* 检验或方差分析，进一步两两比较用 LSD-*t* 检验；计数资料以构成比或率 (%) 表示，比较用 χ^2 检验；相关性分析用 Pearson 法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 miRNA-146a、CRP、PCT 及 IL-6 水平比较

两组血清 miRNA-146a、CRP、PCT 及 IL-6 水平比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 (*P* < 0.05)，AECOPD 组高于对照组。见表 2。

表 2 两组血清 miRNA-146a、CRP、PCT 及 IL-6 水平比较 (*n* = 150, $\bar{x} \pm s$)

组别	miRNA-146a	CRP/ (mg/L)	PCT/ (ng/ml)	IL-6/ (pg/ml)
对照组	1.00 ± 0.08	4.57 ± 1.14	0.03 ± 0.01	5.18 ± 1.24
AECOPD 组	2.31 ± 0.24	21.53 ± 2.04	0.32 ± 0.05	61.34 ± 4.35
<i>t</i> 值	63.420	88.885	69.656	152.061
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 两组肺功能指标比较

两组 FEV₁、FVC 及 FEV₁/FVC 比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 (*P* < 0.05)，AECOPD 组低于对照组。见表 3。

表 3 两组肺功能指标比较 (*n* = 150, $\bar{x} \pm s$)

组别	FEV ₁ /L	FVC/L	FEV ₁ /FVC/%
对照组	1.77 ± 0.22	3.48 ± 0.37	74.98 ± 9.02
AECOPD 组	1.18 ± 0.17	2.41 ± 0.46	52.35 ± 8.67
<i>t</i> 值	25.990	22.199	22.153
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

2.3 不同临床特征患者血清 miRNA-146a 水平比较

不同性别、年龄及是否戒烟患者血清 miRNA-146a 水平比较，经 *t* 检验，差异无统计学意义 (*P* > 0.05)；而不同肺功能分级患者血清 miRNA-146a 水平比较，经方差分析，差异有统计学意义 (*P* < 0.05)；随着肺功能分级升高，血清 miRNA-146a 水平升高 (*P* < 0.05)。死亡和存活患者血清 miRNA-146a 水平比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 (*P* < 0.05)，死亡患者高于存活患者。见表 4。

表 4 不同临床特征患者血清 miRNA-146a 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

因素	<i>n</i>	miRNA-146a	<i>t/F</i> 值	<i>P</i> 值
性别				
男	134	2.30 ± 0.27	0.570	0.570
女	16	2.34 ± 0.22		
年龄				
≥ 65 岁	82	2.30 ± 0.28	0.664	0.508
< 65 岁	68	2.33 ± 0.27		
是否戒烟				
是	92	2.29 ± 0.32	0.579	0.563
否	58	2.32 ± 0.29		
肺功能分级				
I 级	29	1.78 ± 0.21	68.375	0.000
II 级	45	2.14 ± 0.25		
III 级	41	2.37 ± 0.23		
IV 级	35	2.58 ± 0.24		
预后				
死亡	28	2.54 ± 0.25	11.391	0.000
存活	122	2.02 ± 0.21		

2.4 AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平与其他指标的相关性

AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平与血清 CRP、PCT 及 IL-6 水平呈正相关 ($P < 0.05$); 而与 FEV₁、FVC 及 FEV₁/FVC 呈负相关 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平与其他指标的相关性

指标	r 值	P 值
CRP	0.526	0.000
PCT	0.571	0.000
IL-6	0.543	0.000
FEV ₁	-0.532	0.000
FVC	-0.584	0.000
FEV ₁ /FVC	-0.561	0.000

3 讨论

COPD 的发生主要是由香烟烟雾或其他生物燃料产生的烟雾持续暴露所导致的肺部慢性炎症。慢性炎症产生肺气肿, 阻止免疫机制和正常的修复过程, 导致小气道纤维化。上述病理变化导致气流进行性受阻, 出现呼吸困难等 COPD 相关的临床症状。AECOPD 是 COPD 患者在受到感染或其他因素影响所导致的喘息、咳嗽及咳痰症状突然加重, 肺功能急剧下降^[6]。AECOPD 患者呼吸道感染可引起机体免疫炎症系统异常, 免疫炎症反应在 AECOPD 发病过程中发挥重要作用^[7]。

miRNA-146a 在单核细胞、巨噬细胞及 T 淋巴细胞等多种炎症和免疫细胞中高表达, 是一种与炎症反应关系密切的 miRNA^[8-9]。研究发现, miRNA-146a 启动序列中含有核转录因子- κ B (NF- κ B) 结合位点^[10]。IL-6 等多种免疫炎症相关细胞因子通过 NF- κ B 依赖方式促进 miRNA-146a 的表达。NF- κ B 为参与炎症反应的主要信号通路, 可反过来调节炎症和免疫反应^[11-12], 如 miRNA-146a 参与幼鼠细菌性脑膜炎的炎症反应过程^[13], miRNA-146a 参与癫痫大鼠炎症反应过程^[14]。miRNA-146a 也通过免疫炎症反应参与肺损伤过程, 改善 miRNA-146a 的活性可以改善脂多糖诱导的肺部炎症反应, 降低 miRNA-146a 表达可保护 COPD 诱导的肺损伤^[15]。miRNA-146a 在 COPD 中的作用也受到大家关注, ZHOU 等^[16] 研究发现, miRNA-146a 单核苷酸多态性影响 COPD 患者的肺功能。

CHEN 等^[17] 研究发现, 循环中 miRNA-146a 与 COPD 的炎症细胞因子有关, 可预测 COPD 急性加重的风险。

本研究发现, AECOPD 患者血清 miRNA-146a、CRP、PCT 及 IL-6 水平升高, AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平与血清 CRP、PCT 及 IL-6 水平呈正相关, 表明 miRNA-146a 通过炎症反应参与 AECOPD 的发病过程。结合既往研究结果, 分析 AECOPD 患者 CRP、PCT 及 IL-6 等炎症细胞因子水平升高, 炎症细胞因子激活 NF- κ B 等炎症相关信号通路, 激活的 NF- κ B 与 miRNA-146a 启动序列中含有 NF- κ B 结合位点, 通过 NF- κ B 依赖方式促进 miRNA-146a 的表达, 导致 miRNA-146a 水平升高, 参与机体炎症反应过程, 导致肺损伤。检测血清 miRNA-146a 水平可在一定程度上反映 AECOPD 患者的机体炎症反应程度。

本研究显示, AECOPD 患者 FEV₁、FVC 及 FEV₁/FVC 值降低, AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平与 FEV₁、FVC 及 FEV₁/FVC 呈负相关, 表明 AECOPD 患者肺功能下降, miRNA-146a 水平在一定程度上可反映患者肺功能情况。本研究对不同临床特征 AECOPD 患者 miRNA-146a 水平的研究结果显示, 随着肺功能分级升高, 血清 miRNA-146a 水平升高, 死亡患者血清 miRNA-146a 水平高于存活患者, 表明检测血清 miRNA-146a 水平在一定程度上可反映 AECOPD 患者的病情和预后。

综上所述, AECOPD 患者血清 miRNA-146a 水平升高, 检测血清 miRNA-146a 水平对评估患者机体炎症反应程度、肺功能、病情严重程度和预后具有一定的指导价值。

参 考 文 献:

- [1] WAGECK B, COX N S, HOLLAND A E. Recovery following acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease - a review[J]. COPD, 2019, 16(1): 93-103.
- [2] DASTAN F, SALAMZADEH J, POURRASHID M H, et al. Effects of high-dose vitamin d replacement on the serum levels of systemic inflammatory biomarkers in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. COPD, 2019, 16(3/4): 278-283.
- [3] NAIDOO P, NAIDOO R N, RAMKARAN P, et al. Maternal miRNA-146a G/C rs2910164 variation, HIV/AIDS and nitrogen oxide pollution exposure collectively affects foetal growth[J]. Hum Exp Toxicol, 2019, 38(1): 82-94.
- [4] ALEXANDROV P, ZHAI Y, LI W, et al. Lipopolysaccharide-stimulated, NF- κ B, miRNA-146a- and miRNA-155-mediated molecular-genetic communication between the human

- gastrointestinal tract microbiome and the brain[J]. *Folia Neuropathol*, 2019, 57(3):211-219.
- [5] 王晓娟, 方向阳. 慢性阻塞性肺疾病全球倡议 2019: 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗与预防全球策略解读 [J]. *中国全科医学*, 2019, 22(18): 2141-2149.
- [6] ATTO B, EAPEN M S, SHARMA P, et al. New therapeutic targets for the prevention of infectious acute exacerbations of COPD: role of epithelial adhesion molecules and inflammatory pathways[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(14): 1663-1703.
- [7] LOZO-VUKOVAC E, MIŠE K, GUDELJ I, et al. Bronchoalveolar pH and inflammatory biomarkers in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(2): 791-802.
- [8] LABIB D A, SHAKER O G, EL REFAI R M, et al. Association between miRNA-146a and polymorphisms of its target gene, IRAK1, regarding susceptibility to and clinical features of systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis[J]. *Lab Med*, 2019, 50(1): 34-41.
- [9] ZHAO S, CHENG Y W, KIM J G. MicroRNA-146a downregulates IL-17 and IL-35 and inhibits proliferation of human periodontal ligament stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 13861-13866.
- [10] TAN Y, YU L T, ZHANG C M, et al. miRNA-146a attenuates inflammation in an in vitro spinal cord injury model via inhibition of TLR4 signaling[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(4): 3703-3709.
- [11] ZHANG H L, QU Y, WANG A H. Antagonist targeting microRNA-146a protects against lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats by nuclear factor- κ B pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5356-5361.
- [12] LI T, LI M X, XU C F, et al. miR-146a regulates the function of Th17 cell differentiation to modulate cervical cancer cell growth and apoptosis through NF- κ B signaling by targeting TRAF6[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(5): 2897-2908.
- [13] 王艳萍, 华颖, 徐晓华, 等. miRNA-146a 和 Toll 样受体 2 对幼鼠细菌性脑膜炎的影响 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(10): 1398-1400.
- [14] LUO Q, REN Z, ZHU L L, et al. Involvement of microRNA-146a in the Inflammatory response of status epilepticus rats[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2017, 16(6): 686-693.
- [15] KHEIRY M, DIANAT M, BADAVI M, et al. Does p-coumaric acid improve cardiac injury following LPS-induced lung inflammation through miRNA-146a activity[J]. *Avicenna J Phytomed*, 2020, 10(1): 50-57.
- [16] ZHOU S J, LIU Y, LI M, et al. Combined effects of PVT1 and mir-146a single nucleotide polymorphism on the lung function of smokers with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(10): 1153-1162.
- [17] CHEN B B, LI Z H, GAO S. Circulating miR-146a/b correlates with inflammatory cytokines in COPD and could predict the risk of acute exacerbation COPD[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(7): e9820.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 王美华, 陈丽琴. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清 microRNA-146a 水平及其临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(18): 36-40.