

· 论 著 ·

支原体肺炎患儿血清 miR-222、miR-155 与病情严重程度及潮气呼吸肺功能的相关研究

杨利俊, 张 谦[△]

内蒙古医科大学附属医院儿科, 内蒙古呼和浩特 010050

摘要:目的 探讨支原体肺炎患儿血清 miR-222、miR-155 水平与病情严重程度及潮气呼吸肺功能的关系。方法 选择 2019 年 1 月至 2020 年 12 月该院收治的 188 例支原体肺炎患儿为研究对象, 根据病情严重程度分为轻症组($n=96$)和重症组($n=92$), 另选择同期该院体检健康儿童作为健康对照组($n=84$)。采用反转录-聚合酶链反应技术检测血清 miR-222、miR-155 水平, 并检测潮气呼吸肺功能。比较 3 组儿童血清 miR-222、miR-155 水平和潮气呼吸肺功能, 分析血清 miR-222、miR-155 与病情严重程度、潮气呼吸肺功能的相关性, 采用多元 Logistic 回归分析影响病情严重程度和潮气呼吸肺功能的独立危险因素。结果 与健康对照组比较, 轻症组、重症组儿童血清 miR-222、miR-155 水平明显升高, 且重症组高于轻症组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 与健康对照组比较, 轻症组、重症组潮气量(VT)、达峰时间/呼气时间(TPTEF/Te)和达峰容积/潮气量(VPTEF/VT)明显降低, 呼吸频率(RR)明显升高, 且重症组变化更明显, 差异有统计学意义($P<0.05$); 血清 miR-222、miR-155 水平分别与 VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT 呈负相关, 与病情严重程度、RR 呈正相关($P<0.05$); 多元 Logistic 回归分析结果显示, miR-222、miR-155 水平升高为影响支原体肺炎病情严重程度和潮气呼吸肺功能的独立危险因素。结论 支原体肺炎患儿血清 miR-222 和 miR-155 表达上调, 且是影响病情严重程度和潮气呼吸肺功能的重要因素, 可作为病情评估和预后判断的指标。

关键词:支原体肺炎; miR-222; miR-155; 病情程度; 潮气呼吸肺功能; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.24.023

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2021)24-3046-04

文献标志码:A

Relationships between serum miR-222, miR-155 levels and disease severity, tidal breathing pulmonary function in children with Mycoplasma pneumonia

YANG Lijun, ZHANG Qian[△]

Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

Abstract: Objective To investigate the relationships between serum miR-222, miR-155 levels and disease severity, tidal breathing pulmonary function of children with Mycoplasma pneumonia. **Methods** A total of 188 children with Mycoplasma pneumonia in Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University from January 2019 to December 2020 were enrolled, and divided into mild group ($n=96$), severe group ($n=92$) according to different severity degrees, meanwhile, other 84 healthy children were set as healthy control group. Serum miR-222 and miR-155 levels were detected by Reverse transcription-polymerase chain reaction, and tidal breathing pulmonary function was determined, then these parameters were compared between groups. The correlations between serum miR-222, miR-155 and the severity of the disease, tidal breathing pulmonary function were analyzed, and the independent risk factors affecting the severity of the disease and tidal breathing pulmonary function were analyzed by multiple Logistic regression. **Results** Compared with those in healthy control group, the levels of serum miR-222 and miR-155 in mild group and severe group significantly increased, and those in severe group were higher than those in mild group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with those in healthy control group, tidal volume (VT), peak time to expiratory time (TPTEF/Te) and peak volume to tidal volume (VPTEF/VT) significantly decreased in mild group and severe group, while respiratory rate (RR) significantly increased, and the changes were more obviously in severe group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Serum miR-222 and miR-155 negatively

作者简介:杨利俊,男,主治医师,主要从事儿童呼吸系统疾病研究。 [△] 通信作者, E-mail:980848134@qq.com。

本文引用格式:杨利俊,张谦.支原体肺炎患儿血清 miR-222、miR-155 与病情严重程度及潮气呼吸肺功能的相关研究[J].国际检验医学杂志, 2021, 42(24): 3046-3049.

correlated with VT, TPTEF/Te and VPTEF/VT respectively, and positively correlated with disease severity and RR ($P < 0.05$). Multiple Logistic regression analysis showed that increased miR-222 and miR-155 levels were independent risk factors affecting the severity of Mycoplasma pneumonia and tidal breathing pulmonary function. **Conclusion** Serum miR-222 and miR-155 levels significantly elevate in children with Mycoplasma pneumonia, and the two indicators have impacts on disease severity and tidal breathing pulmonary function, which could be used as indicators in the evaluation of patients conditions and prognosis.

Key words: Mycoplasma pneumonia; miR-222; miR-155; disease severity; tidal breathing pulmonary function; children

支原体肺炎为儿童常见社区获得性肺炎,占全部儿童肺炎的 20%左右^[1]。支原体肺炎具有发病隐匿、易复发、病情迁延不愈等特点。轻症患者多仅有发热和咳嗽症状,无呼吸困难表现,而重症患儿可合并胸腔积液,甚至包括呼吸系统在内的多系统功能障碍等,严重影响患儿生活质量,甚至危及生命^[2]。有研究表明,异常免疫反应及其介导的炎性反应可能是支原体肺炎的重要发病机制^[3]。微小核糖核酸(miRNA)为一类长度约为 22 nt 的非编码单链 RNA 分子。近年研究发现,miRNA 具有调节免疫反应和炎性反应的作用^[4]。CHU 等^[5]研究发现,支原体肺炎患儿外周血 miR-222-3p 水平明显升高,尤其在合并胸腔积液患儿中高表达。有研究指出,miR-155 参与调控免疫应答、炎性反应等多种细胞功能,且可通过靶向调控多种细胞因子表达,参与肺炎等肺部疾病发生和发展^[6]。故 miR-222 和 miR-155 在支原体肺炎中的表达及其与疾病发生、发展的关系值得进一步探讨。因此,本研究通过检测支原体肺炎患儿血清 miR-222 和 miR-155 水平,探讨二者与病情严重程度、潮气呼吸肺功能的关系,旨在为支原体肺炎的临床诊断及治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 1 月至 2020 年 12 月本院收治的 188 例支原体肺炎患儿为研究对象。纳入标准:(1)3~16 岁;(2)符合支原体肺炎诊断标准^[7];(3)可配合进行潮气呼吸肺功能检测;(4)患儿及其法定监护人对本研究知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)合并细菌、病毒、肺炎衣原体等感染;(2)既往有呼吸系统疾病史;(3)合并慢性基础疾病,严重肝、肾等脏器功能不全,自身免疫性疾病,哮喘;(4)近 1 个月内接受过抗感染治疗。根据病情严重程度将 188 例患儿分为轻症组和重症组^[7],轻症组 96 例,男 44 例,女 52 例;年龄 3~15 岁,平均(6.34±2.12)岁;重症组 92 例,男 41 例,女 51 例;年龄 4~14 岁,平均(6.28±2.23)岁。选择同期本院体检健康儿童作为健康对照组,无呼吸系统感染、自身免疫性疾病及相关病史,且近 1 个月内未接受过抗感染治疗。健康对照组共 84 例儿童,男 37 例,女 47 例;年龄 3~15 岁,平均(6.37±2.25)岁。3 组儿童性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究获得

本院医学伦理委员会批准后进行。

1.2 血清 miR-222 和 miR-155 水平检测 (1)采集所有研究对象空腹外周静脉血 2 mL,分离血清,加入 TRIzol 试剂(北京百奥莱博科技有限公司,货号 GL1311)提取总 RNA,测定 RNA 纯度和水平。(2)反转录合成 cDNA,试剂盒购自德国 Qiagen 公司(货号 205111)。(3)由上海生工生物工程股份有限公司设计引物序列。miR-222 上游引物:5'-GCGAGCTACATATGTGGA-3',下游引物:5'-CATGGCGTGTAGTGGAGT-3'。miR-155 上游引物:5'-GGGACGTGGTTTAAGTGC-3',下游引物:5'-CCGTTTGCAACTGTGTAT-3'。U6 为内参,上游引物:5'-ATTGGACAGTATGACAAA-3'。(4)引物合成后,PCR 仪(美国赛默飞世尔公司,型号 ProFlex)进行反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)。反应体系:SYBRTMGreen PCR Master Mix(美国赛默飞世尔公司,货号 4309155)10.0 μ L,cDNA 1.0 μ L,上游和下游引物各 0.5 μ L,ddH₂O 8.0 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,1 次,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,62 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 45 个循环,72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min,1 次。(5)绘制标准曲线,计算循环阈值(Ct), $Ct = -1/\lg(1 + Ex) \times \lg X_0 + \lg N/\lg(1 + Ex)$,其中 Ex 为扩增效率,X₀ 为初始模板量,N 为荧光扩增信号到达阈值强度时扩增产物量,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行定量分析。

1.3 潮气呼吸肺功能检测 检查当日清理鼻腔分泌物,保持上呼吸道通畅;操作尽量避免进餐期间,可于进食后 30 min 至 2 h 进行;测量儿童体质量,精确至 0.5 kg;检查前,幼儿及配合度较差儿童根据体质量给予 10%水合氯醛,剂量为 0.5 mL/kg,口服或保留灌肠,配合度较好儿童嘱静坐;选择适宜大小面罩,紧扣口鼻,保证无漏气;调节肺功能仪(德国耶格医疗器械有限公司,型号 MasterScreen PFT System)参数,待呼吸平稳后,连续记录 5 次,每次记录 100 个潮气呼吸流量-容积环,取平均值作为最终结果。

1.4 观察指标 分析各组血清 miR-222、miR-155 水平及潮气呼吸肺功能指标,其中潮气呼吸肺功能指标包括呼吸频率(RR)、潮气量(VT)、呼气时间(Te)、达峰时间(TPTEF)、达峰容积(VPTEF),达峰时间/呼气时间(TPTEF/Te,%) = TPTEF/Te \times 100%,达峰容积/潮气量(VPTEF/VT,%) = VPTEF/VT \times

100%。

1.5 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以例数表示,组间比较采用 χ^2 检验;血清 miR-222、miR-155 水平与病情严重程度、潮气呼吸肺功能的相关性分别采用 Spearman 及 Pearson 相关分析;采用多元 Logistic 回归分析影响患儿病情严重程度和潮气呼吸肺功能的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组儿童血清 miR-222 和 miR-155 水平比较 与健康对照组比较,轻症组、重症组儿童血清 miR-222 和 miR-155 水平明显升高,且重症组高于轻症组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 3 组儿童潮气呼吸肺功能比较 与健康对照组比较,轻症组、重症组儿童 VT、TPTEF/Te 和 VPTEF/VT 明显降低,RR 明显升高,且重症组较轻症组变化更明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 血清 miR-222、miR-155 水平与病情严重程度、潮气呼吸肺功能的相关分析 血清 miR-222、miR-

155 水平分别与 VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT 呈负相关,与病情严重程度、RR 呈正相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 3 组儿童血清 miR-222 和 miR-155 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-222	miR-155
健康对照组	84	0.87 ± 0.12	1.01 ± 0.33
轻症组	96	1.63 ± 0.15*	1.36 ± 0.31*
重症组	92	1.96 ± 0.14*#	1.58 ± 0.35*#
<i>F</i>		1 432.005	66.213
<i>P</i>		<0.01	<0.01

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$;与轻症组比较,# $P < 0.05$ 。

2.4 支原体肺炎患儿病情严重程度的多元 Logistic 回归分析 以 miR-222 和 miR-155 为自变量,病情严重程度为因变量,进行多元 Logistic 回归分析结果显示,miR-222、miR-155 水平升高为影响支原体肺炎病情严重程度的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 支原体肺炎患儿潮气呼吸肺功能的回归分析 以 miR-222 和 miR-155 为自变量,潮气呼吸肺功能为因变量,进行多元 Logistic 回归分析结果显示,miR-222、miR-155 水平升高为影响支原体肺炎潮气呼吸肺功能独立危险因素($P < 0.05$)。见表 5。

表 2 3 组儿童潮气呼吸肺功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	RR(次/分)	VT(mL/kg)	TPTEF/Te(%)	VPTEF/VT(%)
健康对照组	84	22.56 ± 2.78	8.24 ± 1.23	33.42 ± 5.51	34.16 ± 4.68
轻症组	96	26.78 ± 2.81*	7.76 ± 1.18*	26.83 ± 5.47*	29.73 ± 4.72*
重症组	92	29.43 ± 2.85*#	7.31 ± 1.14*#	18.36 ± 5.34*#	21.48 ± 4.96*#
<i>F</i>		132.367	13.582	17.056	160.360
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$;与轻症组比较,# $P < 0.05$ 。

表 3 血清 miR-222、miR-155 与病情严重程度、潮气呼吸肺功能的相关分析

指标	统计值	病情严重程度	RR	VT	TPTEF/Te	VPTEF/VT
miR-222	<i>r</i>	0.715	0.733	-0.659	-0.702	-0.671
	<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
miR-155	<i>r</i>	0.720	0.755	-0.664	-0.694	-0.658
	<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 支原体肺炎患儿病情严重程度的多元 Logistic 回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
miR-222	0.842	0.288	8.554	0.003	2.320	1.457~4.501
miR-155	1.046	0.295	12.532	<0.001	2.845	1.592~5.067

表 5 支原体肺炎患儿潮气呼吸肺功能的多元 Logistic 回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
miR-222	1.041	0.317	10.817	0.001	2.833	1.621~5.608
miR-155	1.112	0.329	11.400	0.001	3.040	2.011~7.312

3 讨 论

近年来,我国儿童支原体肺炎发病率日趋升高,且有小范围流行趋势^[8]。肺部感染支原体后,不仅会引起呼吸道病变,还可累及其他器官或系统^[9]。大量研究表明,免疫^[10]及炎症反应^[11]与儿童支原体肺炎密切相关。miRNA 在支原体肺炎发病机制中发挥重要作用^[12]。miR-155 为调控炎症因子表达的重要 miRNA。徐长娣等^[13]通过 miRNA 芯片技术筛选支原体肺炎患儿与健康儿童血液淋巴细胞差异表达的 miRNA 发现,支原体肺炎患儿血液淋巴细胞中共筛选出 238 个具有明显差异的 miRNA,与健康儿童比较,支原体肺炎患儿血液淋巴细胞中 miR-155 水平明显上调。丁莹等^[14]利用 miRNA 芯片技术筛选支原体肺炎患儿与健康儿童血浆差异表达的 miRNA 发现,支原体肺炎患儿血浆标本中共筛选出 26 个具有明显差异的 miRNA,与健康儿童比较,支原体肺炎患儿血浆标本中 miR-222-3p 表达明显上调。故笔者猜想与 miR-222-3p 具有同源性的 miR-222 也可能在支原体肺炎中异常表达。

本研究采用 RT-PCR 法检测血清 miR-222 和 miR-155 水平发现,与健康对照组比较,轻症组与重症组血清 miR-222 和 miR-155 水平明显升高,符合以往研究结果^[5,15],提示 miR-222 和 miR-155 可能参与支原体肺炎发病机制,且重症组高于轻症组,提示 miR-222 和 miR-155 也参与了支原体肺炎进展,有可能成为判断病情严重程度的指标。支原体感染可引起气道炎症反应及气道高反应性,导致肺功能损伤^[16]。因此,肺功能检查成为判断病情严重程度及预测预后的重要手段,但儿童尤其是幼儿配合度相对较差,故相比于常规肺功能检查,潮气呼吸肺功能检测可能更具有实用性,无需患儿特殊配合,且具有重复性好、操作简便、参数稳定等优势。本研究结果显示,与健康对照组比较,轻症组与重症组 VT、TPTEF/Te 和 VPTEF/VT 明显降低,RR 明显升高,重症组变化更明显,提示支原体肺炎患儿存在小气道功能和阻塞性通气功能障碍,且重症患儿可出现限制性通气功能障碍。相关分析得出,血清 miR-222、miR-155 分别与 VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT 呈负相关,与病情严重程度、RR 呈正相关,表明 miR-222、miR-155 与支原体肺炎病情严重程度、潮气呼吸肺功能具有一定关联。通过多元 Logistic 回归分析发现,miR-222 和 miR-155 水平升高为影响支原体肺炎病情严重程度和潮气呼吸肺功能的独立危险因素,进一步证实 miR-222 和 miR-155 在支原体肺炎病情评估和预后判断中的重要价值。

综上所述,支原体肺炎患儿血清 miR-222 和 miR-155 表达上调,且是影响病情严重程度和潮气呼

吸肺功能的重要因素,可作为病情评估和预后判断的指标。

参考文献

- [1] KUTTY P K, SEEMA J, TAYLOR T H, et al. Mycoplasma pneumoniae among children hospitalized with community-acquired pneumonia[J]. Clin Infect Dis, 2019, 68(1): 5-12.
- [2] YAN C, XUE G, ZHAO H, et al. Molecular and clinical characteristics of severe Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. Pediatr Pulmonol, 2019, 54(7): 1012-1021.
- [3] 刘海鹏, 刘小微, 朱峰. 儿童难治性肺炎支原体肺炎的临床特点[J]. 广西医学, 2019, 41(24): 3127-3131.
- [4] 乔芳, 郭璞, 刘相莲, 等. microRNA 与炎症因子之间调控的研究进展[J]. 生理科学进展, 2018, 49(2): 120-124.
- [5] CHU C, LEI X, LI Y, et al. High expression of miR-222-3p in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Ital J Pediatr, 2019, 45(1): 163-171.
- [6] 李男, 李云霞, 加慧, 等. miR-155 与肺部疾病的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(8): 619-624.
- [7] 中华中医药学会儿童肺炎联盟. 儿童肺炎支原体肺炎中西医结合诊治专家共识(2017 年制定)[J]. 中国实用儿科杂志, 2017, 32(12): 881-885.
- [8] 李丹丹, 郎艳美, 石艳玺, 等. 儿童肺炎支原体肺炎继发细菌感染病原分析[J]. 临床儿科杂志, 2018, 36(4): 317-318.
- [9] 黎念. 儿童重症肺炎支原体肺炎的临床特点及预后[J]. 中国全科医学, 2019, 22(2): 67-70.
- [10] 张海军, 董晓蕾, 蔺萃, 等. 不同体质类型支原体肺炎患儿临床表现及 Th1/Th2 免疫应答特点[J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 30(1): 27-30.
- [11] HE J E, QU H, GAO C Y. Association between inflammation factors and Mycoplasma pneumoniae in children[J]. Other, 2019, 98(15): e15118.
- [12] 邓建周, 周卫芳, 孙旦, 等. miR-492、IL-6 在肺炎支原体免疫发病机制的作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2018, 40(5): 31-34.
- [13] 许长娣, 周瑶, 赵德育, 等. 肺炎支原体肺炎患儿外周血及小鼠模型 miRNAs 差异表达[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(4): 567-570.
- [14] 丁莹, 雷小丽, 孙旦, 等. 肺炎支原体肺炎外周血 miRNAs 差异表达谱的筛选与验证[J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(2): 90-93.
- [15] 张薇, 孙浩森, 王洁. 肺炎患儿外周血 miR-146a, miR-155 表达水平及其与 T 淋巴细胞亚群和炎症因子的关系[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(11): 84-87.
- [16] 陈彤, 尚云晓, 李书娟. 不同严重程度肺炎支原体肺炎的肺功能特点及临床意义[J]. 国际儿科学杂志, 2017, 44(12): 896-900.