

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.23.007

血清 miR-212-5p、miR-221-3p 与 AECOPD 患者
TLR4/NF- κ B 炎症信号通路和预后的关系研究*刘继征¹, 曹佳璐¹, 赵 敏¹, 董亮亮²

山东省聊城市第二人民医院:1. 检验科;2. 呼吸内科, 山东聊城 252600

摘要:目的 探讨血清微小核糖核酸(miRNA)-212-5p(miR-212-5p)、miRNA-221-3p(miR-221-3p)与慢性阻塞性肺疾病(COPD)急性加重期(AECOPD)患者 Toll 样受体 4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)炎症信号通路和预后的关系。方法 选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月聊城市第二人民医院收治的 298 例 COPD 患者为研究对象,其中 AECOPD 患者 175 例(AECOPD 组),COPD 稳定期患者 123 例(COPD 稳定期组),另纳入同期在该院体检健康者 100 例作为健康对照组。根据 28 d 预后情况,将 AECOPD 患者分为预后良好组和预后不良组。采用荧光定量聚合酶链反应检测血清 miR-212-5p、miR-221-3p 及 TLR4/NF- κ B 信号通路相关指标的水平。采用 Pearson 相关分析 AECOPD 患者血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4/NF- κ B 信号通路相关指标水平的相关性。采用多因素 Logistic 回归分析 AECOPD 患者预后不良的影响因素。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-212-5p、miR-221-3p 水平对 AECOPD 患者预后不良的预测价值。结果 COPD 稳定期组、AECOPD 组血清 TLR4 mRNA、NF- κ B 信使 RNA(mRNA)水平高于健康对照组,血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);AECOPD 组血清 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平高于 COPD 稳定期组,血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于 COPD 稳定期组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。随访 28 d,AECOPD 患者中预后不良 62 例(预后不良组),预后良好 113 例(预后良好组)。预后良好组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平高于预后不良组,而血清 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平低于预后不良组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析结果显示,AECOPD 患者血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平均呈负相关($P < 0.05$)。预后良好组血清白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平低于预后不良组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,IL-6、TNF- α 、TLR4 mRNA 和 NF- κ B mRNA 水平升高是 AECOPD 患者预后不良的危险因素($P < 0.05$),miR-212-5p、miR-221-3p 水平升高是 AECOPD 患者预后不良的保护因素($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,血清 miR-212-5p、miR-221-3p 联合预测 AECOPD 预后不良的曲线下面积(AUC)为 0.862,明显高于 miR-212-5p、miR-221-3p 单独预测的 0.722、0.755($P < 0.05$)。结论 AECOPD 预后不良患者血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平下调可能与调节 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路有关,且 miR-212-5p、miR-221-3p 联合检测对 AECOPD 患者的预后不良具有较高的预测价值。

关键词:微小核糖核酸-212-5p; 微小核糖核酸-221-3p; 慢性阻塞性肺疾病急性加重期; Toll 样受体 4/核因子 κ B 炎症信号通路; 预后

中图分类号:R563.9;R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)23-3459-07

Study on the relationship of serum miR-212-5p,miR-221-3p with TLR4/NF- κ B
inflammatory signaling pathway and prognosis of patients with AECOPD*LIU Jizheng¹, CAO Jialu¹, ZHAO Min¹, DONG Liangliang²1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Respiratory Medicine, Liaocheng
Second People's Hospital, Liaocheng, Shandong 252600, China

Abstract: Objective To explore the relationship of serum microribonucleic acid (miRNA)-212-5p (miR-212-5p), miRNA-221-3p (miR-221-3p) with Toll like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor κ B (NF- κ B) inflammatory signaling pathway and prognosis of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** A total of 298 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), who were admitted to Liaocheng Second People's Hospital from January 2020 to December 2022, were selected, including 175 patients with AECOPD (AECOPD group) and 123 patients with stable COPD (stable COPD

* 基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(20204100729)。

作者简介:刘继征,男,主管技师,主要从事检验医学方向的研究。

group), while 100 healthy individuals underwent physical examination in the hospital during the same period were included as healthy control group. AECOPD patients was divided into good prognosis group and poor prognosis group based on the prognosis within 28 d. The expression levels of serum miR-212-5p, miR-221-3p and TLR4/NF- κ B signaling pathway related indicators were detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction. The correlation between the expression levels of serum miR-212-5p, miR-221-3p with TLR4/NF- κ B signaling pathway related indicators of patients with AECOPD was analyzed by the Pearson's correlation analysis. The influencing factors affected the poor prognosis of patients with AECOPD were analyzed by the multivariate Logistic regression. The predictive value of expression levels of miR-212-5p and miR-221-3p for the prognosis of patients with AECOPD was analyzed by the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The levels of serum TLR4 mRNA and NF- κ B mRNA in the stable COPD group and the AECOPD group were higher than those in the healthy control group, and the levels of serum miR-212-5p and miR-221-3p were lower than those in the healthy control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The levels of serum TLR4 mRNA and NF- κ B mRNA in the AECOPD group were higher than those in the stable COPD group, and the levels of serum miR-212-5p and miR-221-3p were lower than those in the stable COPD group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). After 28 d of follow-up, 62 cases of AECOPD patients had a poor prognosis (poor prognosis group) and 113 cases had a good prognosis (good prognosis group). The levels of serum miR-212-5p and miR-221-3p in the good prognosis group were higher than those in poor prognosis group, and the levels of serum TLR4 mRNA and NF- κ B mRNA were lower than those in the poor prognosis group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Pearson's correlation analysis showed that the levels of serum miR-212-5p and miR-221-3p of patients with AECOPD were negatively correlated with the levels of TLR4 mRNA and NF- κ B mRNA ($P < 0.05$). The levels of serum interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the good prognosis group were lower than those in the poor prognosis group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis results showed that the elevated levels of IL-6, TNF- α , TLR4 mRNA and NF- κ B mRNA were the risk factors for the poor prognosis of patients with AECOPD ($P < 0.05$), and elevated levels of miR-212-5p and miR-221-3p were the protective factors for the poor prognosis of patients with AECOPD ($P < 0.05$). The results of ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of serum miR-212-5p and miR-221-3p in combination for predicting poor prognosis of AECOPD was 0.862, which was significantly higher than miR-212-5p (0.722) and miR-221-3p (0.755) alone ($P < 0.05$). **Conclusion** Down-regulation of serum miR-212-5p and miR-221-3p levels can lead to poor prognosis of patients with AECOPD, which may be related to regulate the TLR4/NF- κ B inflammatory signaling pathway, and the combined detection of the above two indicators has high predictive value for the prognosis of patients with AECOPD.

Key words: miR-212-5p; miR-221-3p; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; TLR4/NF- κ B inflammatory signaling pathway; prognosis

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种慢性呼吸道疾病,主要表现为持续气流受限和呼吸系统症状^[1]。由于病毒或细菌感染引发的炎症导致呼吸道症状急性恶化的 COPD 急性加重期(AECOPD)可对肺功能产生积累效应,影响患者生活质量并增加死亡风险^[2]。因此探讨 AECOPD 发生、发展机制,并寻找潜在的生物标志物预测 AECOPD 预后,对降低 AECOPD 病死率具有重要意义。COPD 发生、进展与炎症调节异常、免疫失衡和氧化应激密切相关^[3]。微小 RNA(miRNA)在细胞分化、增殖、代谢、衰老、凋亡等生物学过程中发挥重要作用,通过调节炎症相关信号通路参与多种疾病的发生和发展^[4]。Toll 样受体 4(TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)可通过传递 COPD 损伤信号并激活下游的相关因子触发气道炎症、重塑,加

重气道纤维化程度^[5]。近年来,血清 miRNA 作为多种疾病诊断和预后的生物标志物被广泛研究。有研究显示,miRNA-212-5p(miR-212-5p)仍是目前较为陌生的 miRNA 之一,上调基因间非编码 RNA(LINC00599)水平可通过靶向 miR-212-5p/BASP1 轴促进 COPD 的进展并诱导细胞凋亡和炎症反应^[6]。哮喘患者上皮细胞和痰液中 miR-221-3p 水平降低,是哮喘气道嗜酸性粒细胞炎症反应的新型生物标志物^[7]。相关报道显示,miR-212-5p、miR-221-3p 通过调控 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路抑制炎症反应和氧化应激^[8-9]。故本研究拟探讨血清 miR-212-5p、miR-221-3p 与 AECOPD 患者 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路和预后的关系,旨在为临床治疗 AECOPD 提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月聊城市第二人民医院收治的 298 例 COPD 患者为研究对象,其中 AECOPD 患者 175 例(AECOPD 组),COPD 稳定期患者 123 例(COPD 稳定期组)。AE-COPD 组男 114 例,女 61 例;年龄 50~77 岁,平均(63.69±6.14)岁。COPD 稳定期组男 78 例,女 45 例;年龄 48~79 岁,平均(62.31±5.96)岁。纳入标准:(1)COPD、AECOPD 均符合《慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018 年)》^[10]中的相关诊断标准,经病史、胸部 X 线片及肺功能检查等确诊;(2)年龄≥18 岁;(3)临床资料完整。排除标准:(1)合并哮喘、肺结核、肺栓塞或其他相关呼吸道疾病;(2)伴有气胸、肋骨骨折;(3)合并恶性肿瘤或自身免疫性疾病;(4)合并心、肝、肾功能障碍;(5)孕妇或哺乳期女性。另纳入同期在该院体检健康者 100 例作为健康对照组,所有研究对象的生化指标无明显异常,无呼吸系统疾病(如 COPD、哮喘、肺结核、支气管扩张等)、恶性血液病、实体瘤、自身免疫性疾病、严重感染史等,其中男 60 例、女 40 例,年龄 48~79 岁、平均(62.39±6.55)岁。3 组研究对象的年龄、性别比较,差异均无统计学意义($P<0.05$),均衡可比。本研究获得聊城市第二人民医院医学伦理委员会批准(批准号:LC20191126-03),所有研究对象或其家属均知情同意本研究,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 基线资料收集 收集 COPD 患者的基线资料,包括 COPD 病程、体质量指数、吸烟史、饮酒史、高血压病史、糖尿病病史、冠心病病史、心率、白细胞计数、第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV₁%)等。

1.2.2 标本收集 COPD 患者治疗前 1 d、健康体检者于体检当天抽取空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,离心直径为 6 cm,提取上清液置于 2 个干净试管中,置于-20 ℃冷冻保存备用。

1.2.3 白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平检测 采用酶联免疫吸附试验检测 IL-6 和 TNF-α 水平,试剂盒均购于上海酶联生物科技有限公司,所有步骤均严格按照试剂盒说明进行操作。

1.2.4 血清 miR-212-5p、miR-221-3p、TLR4 mRNA、NF-κB mRNA 水平检测 采用荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测血清 miR-212-5p、miR-221-3p、TLR4 mRNA、NF-κB mRNA 水平。采用血清 RNA 提取纯化试剂盒(美国 Omega 生物技术公司)提取总 RNA,检测其纯度、完整度。使用 PrimeScript 反转录试剂盒(日本 Takara 公司)进行反转录,合成互补脱氧核糖核酸(cDNA)。通过 PCR 进行扩增,反应条件:95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 5 s,60 ℃退火 50 s,70 ℃延伸 10 s,重复 40 个循环。以 U6 为内参,通过 2^{-ΔΔC_t} 计算 miR-212-5p、miR-221-3p、TLR4 mRNA、

NF-κB mRNA 水平。miR-212-5p、miR-221-3p、TLR4、NF-κB 及内参 U6 引物序列见表 1。

表 1 引物序列	
基因	引物序列(5'-3')
miR-212-5p	正向:CCTCGACTGGGGGTGTAAACAT
	反向:GTGGAGTCGATTGCGTGTC
miR-221-3p	正向:CTGAGATGCAGGGTCCGAGGTAGGTCTA
	反向:TTGCCGACATTGCTTGCTA
TLR4	正向:ATGGCATGGCTTACACCAC
	反向:GAGGCCAATTTGTCTCCACA
NF-κB	正向:GGGATGGCTTCTATGAGGC
	反向:CTGACTGATAGCCTGCTCCA
内参 U6	正向:GAGCCACAGCGTAACG
	反向:CTAGCACATAGTACAGG

1.2.5 治疗方法 所有 COPD 患者入院后行心电监护,给予支气管舒张剂、糖皮质激素、抗菌药物、氧疗及维持水电解质等对症治疗,若发生呼吸衰竭给予无创机械通气治疗。

1.2.6 随访及预后评估标准 所有 AECOPD 患者治疗后均随访 28 d,随访截止时间为 2023 年 1 月。根据随访结果,将其分为预后良好组和预后不良组。预后良好组:AECOPD 患者的临床症状基本消失,呼吸道感染得到控制,肺功能指标正常,可以出院;预后不良:患者的症状和病情无明显改善或加重、住院期间死亡等^[11]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 25.0 统计软件分析数据。计量资料经 Kolmogorov-Smirnov 检验符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 相关分析血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4/NF-κB 信号通路相关指标水平的相关性。采用多因素 Logistic 回归分析 AECOPD 预后不良的影响因素,并构建风险预测模型。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-212-5p、miR-221-3p 对 AECOPD 患者预后不良的预测价值,曲线下面积(AUC)比较采用 De-long 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 及 TLR4/NF-κB 信号通路相关指标水平比较 COPD 稳定期组、AECOPD 组血清 TLR4 mRNA、NF-κB mRNA 水平高于健康对照组,且 AECOPD 组血清 TLR4 mRNA、NF-κB mRNA 水平高于 COPD 稳定期组,差异均有统计学意义($P<0.05$);COPD 稳定期组、AE-COPD 组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于健康对照组,且 AECOPD 组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于 COPD 稳定期组,差异均有统计学意义

($P<0.05$)。见表 2。

2.2 预后良好组和预后不良组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 及 TLR4 /NF-κB 信号通路相关指标水平的比较 随访 28 d, AECOPD 患者中预后不良 62 例(预后不良组), 预后良好 113 例(预后良好组), 预后不良发生率为 35.43%(62/175)。预后良好组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平高于预后不良组, 而血

清 TLR4 mRNA、NF-κB mRNA 水平低于预后不良组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.3 血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4/ NF-κB 信号通路相关指标水平的相关性分析 Pearson 相关性分析结果显示, AECOPD 患者血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4 mRNA、NF-κB mRNA 水平均呈负相关($P<0.05$)。见表 4。

表 2 3 组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 及 TLR4/NF-κB 信号通路相关指标水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-212-5p	miR-221-3p	TLR4 mRNA	NF-κB mRNA
健康对照组	100	0.87±0.13	0.82±0.13	0.21±0.05	0.29±0.07
COPD 稳定期组	123	0.53±0.10 ^a	0.57±0.11 ^a	0.56±0.12 ^a	0.52±0.11 ^a
AECOPD 组	175	0.25±0.12 ^{ab}	0.24±0.10 ^{ab}	0.87±0.24 ^{ab}	0.88±0.31 ^{ab}
<i>F</i>		909.417	875.561	462.051	253.181
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与 COPD 稳定期组比较,^b $P<0.05$ 。

表 3 预后良好组和预后不良组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 及 TLR4 /NF-κB 信号通路相关指标水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-212-5p	miR-221-3p	TLR4 mRNA	NF-κB mRNA
预后良好组	113	0.32±0.05	0.25±0.08	0.78±0.15	0.84±0.18
预后不良组	62	0.21±0.07	0.18±0.06	0.91±0.23	0.96±0.16
<i>t</i>		12.025	6.023	−4.510	−4.538
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 预后良好组和预后不良组基线资料比较 预后良好组 TNF-α、IL-6 水平低于预后不良组比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 但两组性别、年龄、COPD 病程、体质量指数、FEV₁%、心率、白细胞计数以及有吸烟史、有饮酒史、合并糖尿病、合并高血压、合并冠心病比例比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 5。

表 4 血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4 /NF-κB 信号通路相关指标水平的相关性分析

指标	TLR4 mRNA		NF-κB mRNA	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
miR-212-5p	−0.561	<0.001	−0.641	<0.001
miR-221-3p	−0.627	0.002	−0.692	<0.001

表 5 预后良好组和预后不良组基线资料比较[*n*(%)或 $\bar{x}\pm s$]

组别	<i>n</i>	性别		年龄(岁)	COPD 病程(年)	体质量指数(kg/m ²)	吸烟史	饮酒史	合并糖尿病
		男性	女性						
预后良好组	113	73(64.60)	40(35.40)	62.79±9.90	9.82±1.56	23.29±3.53	61(53.98)	43(38.05)	28(24.78)
预后不良组	62	41(66.13)	21(33.87)	65.01±10.33	10.35±2.19	22.96±4.26	38(61.29)	25(40.32)	19(30.65)
χ^2/t		0.041		−1.380	−1.855	0.520	0.870	0.087	0.701
<i>P</i>		0.839		0.169	0.065	0.604	0.351	0.768	0.402

组别	<i>n</i>	合并高血压	合并冠心病	心率(次/分)	白细胞计数(×10 ⁹ /L)	FEV ₁ %(%)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
预后良好组	113	38(33.63)	26(23.01)	91.54±19.31	8.91±1.54	50.54±6.13	33.39±5.57	25.38±5.25
预后不良组	62	27(43.55)	18(29.03)	87.89±17.46	9.27±1.29	48.74±6.35	65.65±9.89	51.12±7.66
χ^2/t		1.687	0.772	1.274	−1.647	1.834	−27.602	−26.219
<i>P</i>		0.194	0.380	0.205	0.101	0.068	<0.001	<0.001

2.5 AECOPD 患者预后不良影响因素的多因素 Logistic 回归分析 采用非条件 Logistic 回归模型(逐

步后退法, $\alpha_{\text{进}}=0.05, \alpha_{\text{出}}=0.10$), 以 AECOPD 患者预后为因变量(预后良好=0, 预后不良=1), 将表 3 及表 5 中差异有统计学意义的因素作为自变量进行多因素 Logistic 回归, 其中 IL-6、TNF- α 、TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA、miR-212-5p、miR-221-3p 均以原值输入。结果显示, IL-6、TNF- α 、TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平升高危险因素($P<0.05$), miR-212-5p、miR-221-3p 水平升高是 AECOPD 患者预后不良的保护因素($P<0.05$)。见表 6。

2.6 血清 miR-212-5p、miR-221-3p 对 AECOPD 患者预后不良的预测价值分析 以预后不良组为阳性

样本, 以预后良好组为阴性样本, 绘制 ROC 曲线。联合应用时以多因素 Logistic 回归结果, 建立风险评估/预测模型, 以 $\text{Log}(P/1-P)=-0.305-0.662\times X_{\text{miR-212-5p}}-0.914\times X_{\text{miR-221-3p}}$ 为联合应用的虚拟概率量指标。ROC 曲线分析结果显示, miR-221-3p 和 miR-212-5p 单独及联合预测 AECOPD 患者预后不良的 AUC 分别为 0.752、0.723、0.862, 且联合检测的 AUC 明显高于 miR-221-3p 和 miR-212-5p 单独检测的 AUC ($Z=2.117, P=0.037; Z=2.177, P=0.032$), 灵敏度、特异度和准确度也均较各指标单独应用明显提升。见表 7 和图 1。

表 6 AECOPD 患者预后不良影响因素的多因素 Logistic 分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	OR 的 95%CI
常数	-0.305	0.143	4.538	0.033	—	—
miR-212-5p	-0.662	0.262	6.394	0.011	0.516	0.309~0.862
miR-221-3p	-0.914	0.326	7.875	0.005	0.401	0.212~0.760
IL-6	0.539	0.222	5.899	0.015	1.715	1.109~2.649
TNF- α	0.493	0.189	6.777	0.009	1.638	1.130~2.371
TLR4 mRNA	0.649	0.211	9.491	0.002	1.914	1.265~2.894
NF- κ B mRNA	0.473	0.177	7.151	0.007	1.605	1.134~2.270

注: —表示无数据。

表 7 血清 miR-212-5p、miR-221-3p 对 AECOPD 患者预后不良的预测价值

指标	AUC(95%CI)	最佳截断值	灵敏度	特异度	约登指数
miR-221-3p	0.752(0.562~0.945)	0.25	0.752	0.510	0.510
miR-212-5p	0.723(0.500~0.944)	0.20	0.717	0.443	0.443
2 项联合	0.862(0.759~0.944)	-0.41	0.841	0.680	0.840

注: miR-221-3p、miR-212-5p 的 ROC 曲线实为两区段折线图, 仅计算 AUC, 不估算 95%CI。

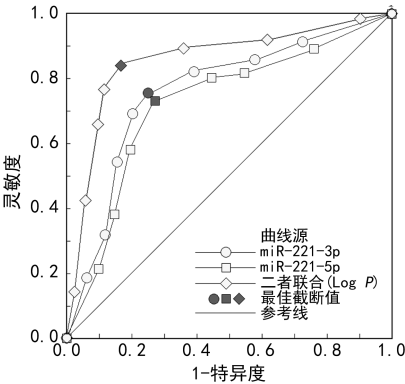


图 1 血清 miR-212-5p、miR-221-3p 单独及联合预测 AECOPD 患者预后的 ROC 曲线

3 讨 论

近年来, 关于 AECOPD 的诊断和治疗研究越来越多, 但 AECOPD 患者的预后仍然较差。目前, 关于 AECOPD 患者的预后评估尚缺乏可靠的生物学指标, 寻找有效的分子标志物对 AECOPD 患者进行早期预后评估, 有助于制订临床治疗方案的指导并提高患者存活率。AECOPD 的病理生理机制复杂, 涉及炎症反应、氧化应激、细胞凋亡及自噬等多种病理、生

理过程^[12]。miRNA 是一类内源性、非编码 RNA 分子, 由 18~25 个核苷酸组成, 可以通过直接降解靶信使 RNA 或阻断蛋白质翻译来调控基因表达, 从而参与细胞增殖、分化、凋亡及疾病的发生、发展等多种生物学过程, 其水平异常变化与包括 COPD 在内的多种疾病的发生和发展有关, 可能成为未来 COPD、肺癌、哮喘等肺部疾病的治疗靶点^[13], 但仍然需要进一步的研究来揭示其在 AECOPD 发病机制中的确切作用。

本研究结果显示, COPD 稳定期组、AECOPD 组血清 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平高于健康对照组, 且 AECOPD 组血清 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平高于 COPD 稳定期组, 差异均有统计学意义($P<0.05$); COPD 稳定期组、AECOPD 组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于健康对照组, 且 AECOPD 组血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于 COPD 稳定期组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。分析原因可能为下调 miR-212-5p、miR-221-3p 水平, 通过介导炎症因子(如 TNF- α 和 IL-6)的释放, 加重炎症程度, 从而导致 AECOPD 风险升高; 还可能通过调控 NF- κ B 信号通路引起组织损伤和肺损伤, 从而加剧

COPD 病情^[14-15]。

相关研究显示,miR-212-5p 在 COPD 吸烟者中的水平显著降低,促进了炎症反应和 COPD 相关基因的过表达^[16]。有研究指出,miR-221-3p 水平在 COPD 患者肺组织和香烟烟雾刺激的 16HBE 细胞中呈低表达^[17]。炎症反应是 COPD 中常见的病理反应之一,而肺组织的炎症浸润可导致肺组织结构和功能的改变^[18]。此外,长期的炎症浸润可对气道组织造成结构性损伤,释放大量黏液,导致气道组织纤维化^[19]。CHEN 等^[20]研究证实,miR-212-5p 在肺血管重塑中具有保护作用。miR-221 通过转化生长因子- β_1 /果蝇抗生物皮肤生长因子蛋白 3 信号通路靶向高迁移率蛋白 A2 抑制肺纤维化^[21]。miR-221-3p 水平升高可抑制成纤维细胞生长因子 2 表达和细胞外调节蛋白激酶 1/2 炎症信号传导,从而减弱气道平滑肌细胞的增殖、迁移和细胞外基质沉积,并缓解卵清蛋白诱导的哮喘小鼠的病情进展^[22]。本研究发现,AECOPD 预后不良患者血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平低于预后良好患者,且二者水平升高是 AECOPD 预后不良的保护因素。分析原因可能为 miR-212-5p、miR-221-3p 通过相同的机制,如抑制促炎基因表达和蛋白释放、肺组织纤维化以及肺血管重塑,减轻 COPD 稳定期及 AECOPD 患者的肺损伤并缓解疾病进展^[14-15]。

进一步分析血清 miR-212-5p、miR-221-3p 与 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路的相关性发现,血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平与 TLR4 mRNA、NF- κ B mRNA 水平均呈负相关。TLR4/NF- κ B 信号通路是机体调节炎症和细胞凋亡的重要信号通路之一,参与细胞分化、增殖、凋亡和促炎反应,该通路可被大量细胞因子和炎症因子激活,具有转录活性的游离 NF- κ B mRNA 可进入细胞核与其转录因子结合,从而激活下游与凋亡和炎症相关的物质,促进 COPD 的过度炎症反应^[23]。ZHU 等^[24]研究显示,TLR4 mRNA 是 miR-221-3p 的靶点,且 miR-221-3p 的过表达可以抑制 TLR4/NF- κ B 通路的激活,从而降低脐静脉内皮细胞凋亡、炎症和氧化应激。陆辉志等^[25]研究显示,miR-212-5p 调控 NF- κ B mRNA 信号以抑制炎症因子释放和凋亡,上调 miR-212-5p 可改善 COPD 的肺损伤。表明血清 miR-212-5p、miR-221-3p 与 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路相互作用,二者表达上调可减轻炎症反应并缓解 COPD 的病情严重程度和发展速度。

ROC 曲线分析结果显示,miR-212-5p、miR-221-3p 对 AECOPD 预后不良均具有一定的预测价值,且二者联合检测的 AUC 明显高于各指标单项检测,其灵敏度和特异度为 0.839 和 0.841,提示检测 miR-212-5p、miR-221-3p 水平有助于临床辅助预测 AE-

COPD 患者的预后。

综上所述,AECOPD 患者的血清 miR-212-5p、miR-221-3p 水平下降,可能与激活 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路有关,二者对 AECOPD 患者预后有一定预测价值,且联合检测能够提高预测效能。

参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组,中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021 年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2021,44(3):170-205.
- [2] ERHABOR G E, ADENIYI B, ARAWOMO A O, et al. Acute exacerbation of COPD: clinical perspectives and literature review[J]. West Afr J Med, 2021, 38(11): 1129-1142.
- [3] CHRISTENSON S A, SMITH B M, BAFADHEL M, et al. Chronic obstructive pulmonary disease [J]. Lancet, 2022, 399(10342): 2227-2242.
- [4] CLIMENT M, VIGGIANI G, CHEN Y W, et al. MicroRNA and ROS crosstalk in cardiac and pulmonary diseases [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4370.
- [5] 陈训春, 李名兰, 潘碧云, 等. TLR4/NF- κ B 信号通路激活 LncRNA RP11-20G6 调控慢性阻塞性肺疾病气道炎症和重塑[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(4): 586-593.
- [6] XU L Y, DONG Z Y. LINC00599 influences smoke-related chronic obstructive pulmonary disease and regulates CSE-induced epithelial cell apoptosis and inflammation by targeting miR-212-5p/BASP1 axis [J]. Hum Exp Toxicol, 2022, 41: 9603271221146790.
- [7] ZHANG K, LIANG Y, FENG Y, et al. Decreased epithelial and sputum miR-221-3p associates with airway eosinophilic inflammation and CXCL17 expression in asthma [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 315(2): L253-L264.
- [8] HUANG L J, XIONG S X, LIU H S, et al. Silencing LncRNA SNHG16 suppresses the diabetic inflammatory response by targeting the miR-212-3p/NF- κ B signaling pathway [J]. Diabetol Metab Syndr, 2023, 15(1): 119.
- [9] ZHU L B, GONG X Y, GONG J P, et al. Notoginsenoside R1 upregulates miR-221-3p expression to alleviate ox-LDL-induced apoptosis, inflammation, and oxidative stress by inhibiting the TLR4/NF- κ B pathway in HU-VECs [J]. Braz J Med Biol Res, 2020, 53(6): e9346.
- [10] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018 年) [J]. 中华全科医师杂志, 2018, 17(11): 856-870.
- [11] 施继红, 蒲爱华. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者近期预后的影响因素分析 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 25(11): 853-855.
- [12] KO F W, CHAN K P, HUI D S, et al. Acute exacerbation of COPD [J]. Respirology, 2016, 21(7): 1152-1165.
- [13] LI Y, YIN Z R, FAN J S, et al. The roles of exosomal

miRNAs and lncRNAs in lung diseases[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 4: 47.

[14] 毕润磊, 李雪琴, 吕坤. miR-212-5p 相关 ceRNA 调控网络在巨噬细胞极化中的作用[J]. *皖南医学院学报*, 2021, 40(6): 527-531.

[15] SHEN Y H, LU H Y, SONG G X. MiR-221-3p and miR-92a-3p enhances smoking-induced inflammation in COPD [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(7): e23857.

[16] JIA Q, CHANG J, HONG Q, et al. MiR-212-5p exerts a protective effect in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Discov Med*, 2018, 26(144): 173-183.

[17] YANG H, ZHANG L J, WANG Q D. MicroRNA-221-3p alleviates cell apoptosis and inflammatory response by targeting cyclin dependent kinase inhibitor 1B in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 5705-5715.

[18] 王景胜, 张立, 刘正君, 等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清 SAA 水平与肺功能、炎性因子的相关性及其诊断价值分析[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(22): 4330-4334.

[19] RAO W, WANG S, DULEBA M, et al. Regenerative metaplastic clones in COPD lung drive inflammation and fibrosis[J]. *Cell*, 2020, 181(4): 848-864. e18.

[20] CHEN T J, SUN M R, ZHOU Q Y, et al. MicroRNA-212-5p, an anti-proliferative miRNA, attenuates hypoxia and sugen/hypoxia-induced pulmonary hypertension in rodents[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 29: 204-216.

[21] WANG Y C, LIU J S, TANG H K, et al. miR-221 targets HMGA2 to inhibit bleomycin-induced pulmonary fibrosis by regulating TGF- β 1/Smad3-induced EMT[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(4): 1208-1216.

[22] LIU W K, LIN H, NIE W H, et al. Exosomal miR-221-3p derived from bone marrow mesenchymal stem cells alleviates asthma progression by targeting FGF2 and inhibiting the ERK1/2 signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 5910874.

[23] ZUO Z T, MA Y, SUN Y, et al. Role of TLR4/NF- κ B signalling pathway in pulmonary arterial hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2020, 30(6): 568-573.

[24] ZHU L, GONG X, GONG J, et al. Notoginsenoside R1 upregulates miR-221-3p expression to alleviate ox-LDL-induced apoptosis, inflammation, and oxidative stress by inhibiting the TLR4/NF- κ B pathway in HUVECs [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2020, 53(6): e9346.

[25] 陆辉志, 付守芝, 谭赞, 等. miR-212-5p 调控 NF- κ B 影响 CSE 诱导的 MRC-5 细胞炎症因子释放和凋亡[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(4): 959-964.

(收稿日期: 2024-01-22 修回日期: 2024-06-27)

(上接第 3458 页)

[8] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51(9): 666-682.

[9] WANG A X, CAO S, TIAN X, et al. Lower serum potassium levels at admission are associated with the risk of recurrent stroke in patients with acute ischemic stroke or transient ischemic attack [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2022, 51(3): 304-312.

[10] 张园园, 任思懿, 李盼盼, 等. 探讨 CT 灌注成像(CTP)联合 CT 血管造影(CTA)对短暂性脑缺血发作(TIA)患者进展为急性脑梗死(ACI)的预测价值[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2023, 21(7): 27-29.

[11] 吕风华, 白银, 刘鑫, 等. Hcy, Lp-PLA2 水平与短暂性脑缺血发作治愈后早期复发的关系[J]. *解放军医药杂志*, 2022, 34(5): 108-111.

[12] YANG M, WANG A X, LI J J, et al. Lp-PLA2 and dual antiplatelet agents in intracranial arterial stenosis [J]. *Neurology*, 2020, 94(2): e181-e189.

[13] GUIEU R, RUF J, MOTTOLA G. Hyperhomocysteinemia and cardiovascular diseases[J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2022, 80(1): 7-14.

[14] ZHOU H Y, CHEN T T, LI Y J, et al. Glycation of Tie-2 inhibits angiopoietin-1 signaling activation and angiopoietin-1-Induced angiogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7137.

[15] 沈童童, 周利民, 董双双, 等. 血管生成素 1 在高同型半胱氨酸血症大鼠血浆中高表达及对内皮细胞的保护作用[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(5): 679-683.

[16] 顾洁, 周思齐, 丁鼎, 等. MHR、HbA1c 和 HCY 联合预测急性脑梗死的价值[J]. *医学研究杂志*, 2022, 51(11): 128-132.

[17] 张颖, 王佳荣, 张二娜, 等. AIM2、Lp-PLA2、UCH-L1 在急性脑梗死中的表达及预测价值研究[J]. *河北医科大学学报*, 2023, 44(4): 386-391.

[18] 牛祥, 王本孝, 卜红伟. 氯吡格雷联合丁苯酞对急性脑梗死患者血清 VEGF bFGF Ang-1 水平及认知功能的影响[J]. *河北医学*, 2022, 28(2): 318-322.

[19] YAN P, CAO J, ZHOU Y J, et al. Serum levels of sLOX-1 and Lp-PLA2 can predict the prognosis of acute cerebral infarction with a high specificity [J]. *Physiol Rep*, 2022, 10(1): e15160.

[20] HERRMANN W, HERRMANN M. The controversial role of HCY and vitamin B deficiency in cardiovascular diseases[J]. *Nutrients*, 2022, 14(7): 1412.

[21] 刘明涛, 庞艳蓉, 赵亮, 等. 冠心病患者外周血微小 RNA-210 和脂蛋白相关磷脂酶 A2 表达及意义[J]. *实用临床医药杂志*, 2021, 25(21): 39-42.

(收稿日期: 2024-02-20 修回日期: 2024-06-25)