

本文引用格式:杨肖翠,刘清华,程效增,等.miR-143-3p和miR-509-5p在儿童肺炎支原体肺炎疾病程度及预后评估中的应用价值[J].安徽医学,2024,45(1):74-78.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2024.01.016

miR-143-3p和miR-509-5p在儿童肺炎支原体肺炎疾病程度及预后评估中的应用价值

杨肖翠 刘清华 程效增 黄薇 李静

[摘要] 目的 分析微小核糖核酸-143-3p(miR-143-3p)与微小核糖核酸-509-5p(miR-509-5p)在肺炎支原体肺炎患儿血清中的表达水平,及其与疾病严重程度和预后的关系。方法 选取2020年5月至2022年4月邯郸市妇幼保健院收治的肺炎支原体肺炎患儿135例(肺炎支原体肺炎组),根据疾病严重程度分为轻症组84例和重症组51例,另选取同期体检健康儿童130例作为对照组,实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测血清miR-143-3p与miR-509-5p水平;对肺炎支原体肺炎患儿进行肺功能检测,测定呼吸频率(RR)、潮气量(VT)、呼气时间(Te)、达峰时间(TPTEF)、达峰容积(VPTEF),计算TPTEF/Te、VPTEF/VT;采用Pearson法分析肺炎支原体肺炎患儿RR、VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT与血清miR-143-3p、miR-509-5p的相关性;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清miR-143-3p和miR-509-5p对重症肺炎支原体肺炎以及预后不良的预测价值。结果 肺炎支原体肺炎组miR-143-3p水平为(0.25±0.04),miR-509-5p为(0.37±0.04),均低于对照组($P<0.05$);与轻症组相比,重症组肺炎支原体肺炎患儿RR升高,VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT、血清miR-143-3p及miR-509-5p水平均降低($P<0.05$);肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p与VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT均呈正相关($P<0.05$);血清miR-143-3p、miR-509-5p预测重症肺炎支原体肺炎的曲线下面积为0.820(灵敏度为82.4%,特异度为83.3%)、0.849(灵敏度为72.5%,特异度为92.9%);血清miR-143-3p、miR-509-5p预测预后不良的曲线下面积为0.735(灵敏度为79.6%,特异度为63.0%)、0.859(灵敏度为81.5%,特异度为87.3%)。结论 肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p水平降低,二者均对疾病严重程度和预后具有判别价值,有望作为临床病情评估以及预后判断的指标。

[关键词]肺炎支原体肺炎;严重程度;微小核糖核酸-143-3p;微小核糖核酸-509-5p

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2024.01.016

肺炎是呼吸科常见疾病,症状主要为发热、咳嗽、胸痛等,病情进展较快^[1]。肺炎病原菌包含病毒、细菌、支原体等类型,其中肺炎支原体肺炎在5~15岁的儿童中多发,属于原发性非典型肺炎,为小儿呼吸道感染的常见病,占30%以上,支原体属于细胞内的微生物,一旦感染后想要清除非常困难,肺炎支原体肺炎除具有本身的肺炎特征外,极易导致并发症,再加上小儿自身免疫能力较差,对儿童的身体健康造成了严重影响^[2-3]。miRNA在肺炎支原体肺炎中发挥的作用也已被证实^[4]。微小核糖核酸-143-3p(microRNA-143-3p, miR-143-3p)在增殖、凋亡等细胞活动中发挥重要作用^[5],研究显示,miR-143-3p对肺炎支原体肺炎小鼠细胞凋亡具有抑制作用,且可降低小鼠肺部炎症因子^[6]。猜测miR-143-3p可能与肺炎支原体肺炎的发生发展有关。微小核糖核酸-509-5p(microRNA-509-5p, miR-509-5p)在绵羊肺炎支原体肺炎的耐药性中发挥关键作用,其可调控炎症反应^[7],其是否在肺炎支原体肺炎患儿中发挥作用仍未见研究。因此,本研究旨在

分析血清miR-143-3p、miR-509-5p与肺炎支原体肺炎患儿疾病严重程度的关系,并分析血清miR-143-3p、miR-509-5p对患儿预后的鉴别能力,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年5月至2022年4月邯郸市妇幼保健院收治的肺炎支原体肺炎患儿135例作为肺炎支原体肺炎组,其中男患儿71例,女患儿64例;年龄2~14岁,平均(7.58±2.25)岁。根据疾病严重程度^[9],分为轻症组84例和重症组51例。另选取同期体检健康儿童130例作为对照组,其中男患儿68例,女患儿62例;年龄2~14岁,平均(7.62±2.24)岁。肺炎支原体肺炎组与对照组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:①符合第7版《实用儿科学》中肺炎支原体肺炎^[8]诊断标准者;②配合肺功能测定者;③家属知情同意。排除标准:①合并先天性疾病者;②合并免疫系统疾病者;③合并恶性肿瘤者;④入组前使用糖皮质激素与免疫调节剂者。排除标

准:既往免疫性疾病儿童及入组前 2 周内具有呼吸道感染、过敏性疾病儿童。本研究经医院伦理委员会批准(审批号:2020416-02)。

1.2 方法

1.2.1 样本收集 肺炎支原体肺炎患儿入院次日、对照组体检时分别抽取 5 mL 空腹肘静脉血,血液经离心后,留取上清,-20℃冰箱保存待测。

1.2.2 实时荧光定量 PCR (Real-time quantitative

PCR, qRT-PCR)法测定血清 miR-143-3p 与 miR-509-5p 水平 RNA 提取试剂盒提取血清 RNA,将一定量 RNA 反转录为 cDNA。采用 CFX384 Touch™定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)对 miR-143-3p 与 miR-509-5p 进行扩增。反应条件:95℃,90 s;95℃,30 s;63℃,30 s;72℃,15 s;40 个循环。miR-143-3p、miR-509-5p 与内参 U6 的引物序列见表 1。采用 2^{-ΔΔCT} 法进行数据分析。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因名称	正向引物 5'-3'	反向引物 5'-3'
miR-143-3p	GGGGTGAGATGAAGCACTG	CAGTGCCTGTCTGGAGT
miR-509-5p	TACTGCAGACAGTGGCAATCA	GTGCAGGGTCCGAGGT
U6	ATTGGAACGATACAGAGAAGATT	GGAACGCTTCACGAATTTG

注:miR-143-3p 为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p 为微小核糖核酸-509-5p。

1.2.3 肺功能测定 检查当天清理鼻腔分泌物,精确测量患儿体质量,选择合适面罩罩于面部,保证无漏气,调节肺功能仪参数,观察患儿呼吸频率(respiratory rate, RR)、潮气量(tidal volume, VT)、呼气时间(expiratory time, Te)、达峰时间(peak time, TPTEF)、达峰容积(peak volume, VPTEF)、计算 TPTEF/Te、VPTEF/VT。

1.2.4 预后情况 根据病情好转情况,将肺炎支原体肺炎患儿分为预后良好组(81 例)与预后不良组(54 例)。其中,症状、体征、实验室指标提示病情加重,即体温未明显下降,咳嗽和肺部症状加重,X 线胸片提示肺部病灶为吸收或加重或需患儿转入上级医院治疗者,为预后不良;患儿体温正常,咳嗽和哮喘症状明显缓解,X 线胸片显示肺部病灶吸收或消失,如满足上述一项或多项指标,则为预后良好。

1.3 观察指标 观察两组对象血清 miR-143-3p、miR-509-5p 水平。观察不同严重程度肺炎支原体肺炎患儿肺功能指标、血清 miR-143-3p、miR-509-5p 水平。分析患儿血清 miR-143-3p 和 miR-509-5p 水平与肺功能指标相关性。观察不同预后情况患儿血清 miR-143-3p、miR-509-5p 水平。分析血清 miR-143-3p 和 miR-509-5p 水平对重症肺炎支原体肺炎以及预后不良的预测价值。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 25.0 进行统计分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验;采用 Pearson 法分析血清 miR-143-3p 和 miR-509-5p 水平与肺功能指标相关性;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析血清 miR-143-3p 和 miR-509-5p 对重症肺炎支原体肺炎以及预后不良的预测价值;以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与肺炎支原体肺炎组血清 miR-143-3p 和 miR-509-5p 水平比较 与对照组相比,肺炎支原体肺炎组 miR-143-3p、miR-509-5p 水平降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 对照组与肺炎支原体肺炎组血清 miR-143-3p、miR-509-5p 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-143-3p	miR-509-5p
对照组	130	1.01±0.21	1.02±0.10
肺炎支原体肺炎组	135	0.25±0.04	0.37±0.04
<i>t</i> 值		41.282	69.940
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:miR-143-3p 为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p 为微小核糖核酸-509-5p。

2.2 不同严重程度肺炎支原体肺炎患儿肺功能比较与轻症组相比,重症组肺炎支原体肺炎患儿 RR 升高,VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT 降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

表 3 不同严重程度肺炎支原体肺炎患儿肺功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	RR(次/分)	VT(mL/kg)	TPTEF/Te(%)	VPTEF/VT(%)
轻症组	84	26.78±2.57	7.72±0.73	26.55±2.58	29.54±2.97
重症组	51	29.84±2.86	7.39±0.74	17.98±1.69	21.06±2.25
<i>t</i> 值		6.425	2.533	21.115	17.551
<i>P</i> 值		<0.001	0.012	<0.001	<0.001

2.3 不同严重程度肺炎支原体肺炎患儿血清 miR-143-3p 和 miR-509-5p 水平比较 与轻症组相比,重症组肺炎支原体肺炎患儿血清 miR-143-3p、miR-509-5p 水平降低(*P* < 0.05)。见表 4。

表4 不同严重程度肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	miR-143-3p	miR-509-5p
轻症组	84	0.30±0.04	0.44±0.06
重症组	51	0.17±0.03	0.26±0.04
<i>t</i> 值		20.029	19.000
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:miR-143-3p为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p为微小核糖核酸-509-5p。

2.4 肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p和miR-509-5p水平与肺功能相关性分析 肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p与RR无相关性($P>0.05$),与VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT均呈正相关($P<0.05$)。见表5。

表5 肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p与肺功能相关性分析

指标	miR-143-3p		miR-509-5p	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
RR	0.059	0.409	0.135	0.351
VT	0.554	<0.001	0.660	<0.001
TPTEF/Te	0.562	<0.001	0.458	<0.001
VPTEF/VT	0.437	<0.001	0.513	<0.001

注:miR-143-3p为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p为微小核糖核酸-509-5p。

2.5 不同预后情况患儿血清miR-143-3p和miR-509-5p水平比较 与预后良好组相比,预后不良组肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表6。

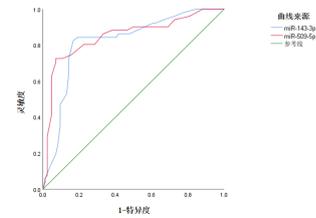
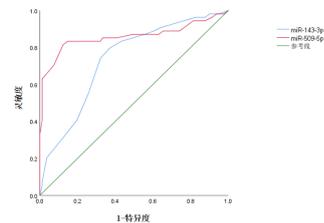
表6 不同预后情况患儿血清miR-143-3p、miR-509-5p水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	miR-143-3p	miR-509-5p
预后良好组	81	0.28±0.04	0.43±0.05
预后不良组	54	0.21±0.02	0.29±0.03
<i>t</i> 值		11.896	18.466
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:miR-143-3p为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p为微小核糖核酸-509-5p。

2.6 血清miR-143-3p和miR-509-5p水平对重症患儿以及预后的预测价值 以患儿严重程度(轻症组=0,重症组=1)为状态变量,血清miR-143-3p和miR-509-5p水平为检验变量,绘制ROC曲线。结果显示,血清miR-143-3p预测重症患儿的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.820,灵敏度为82.4%,特异度为83.3%,截断值为0.235;血清miR-509-5p预测重症患儿的AUC为0.849,灵敏度为72.5%,特异度为92.9%,截断值为0.355。以患儿预后情况(预后良好

=0,预后不良=1)为状态变量,血清miR-143-3p和miR-509-5p水平为检验变量,绘制ROC曲线。结果显示,血清miR-143-3p预测预后不良的AUC为0.735,灵敏度为79.6%,特异度为63.0%,截断值为0.245;血清miR-509-5p预测预后不良的AUC为0.859,灵敏度为81.5%,特异度为87.3%,截断值为0.345。见图1、2和表7、8。

**图1** 血清miR-143-3p和miR-509-5p预测重症肺炎支原体肺炎的ROC曲线**图2** 血清miR-143-3p和miR-509-5p预测预后不良的ROC曲线

3 讨论

支原体诱发的肺炎是儿科常见呼吸道疾病,以发热、咳嗽为主要症状,易被认为是普通感冒,未规范治疗易损伤患者心、肺等脏器,甚至威胁生命。因此及时筛查重症患者及预后不良患者,给予相应防治措施对于挽救患者生命健康至关重要。

免疫紊乱、炎症反应是参与肺炎支原体肺炎进展的关键,二者相互促进,构成反馈调节,加重肺炎支原体肺炎的进展^[10-11]。miRNA在免疫调节与炎症反应中发挥重要作用,其在肺炎支原体肺炎患者体内异常表达^[12-14]。本研究结果显示,肺炎支原体肺炎患儿血清miR-143-3p水平低于体检健康儿童,与刘沛等^[15]研究结果相反,可能原因为miR-143-3p表达存在组织特异度,肺炎支原体肺炎重症组与轻症组间存在差异,提示miR-143-3p可能参与肺炎支原体肺炎的发展。支原体感染可引发气道炎症反应,损伤肺功能,肺部检查是判断疾病严重程度的手段。本研究发现,miR-143-3p与肺功能相关指标VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT均呈正相关,进一步提示miR-143-3p与疾病严重程度相关,经

表 7 miR-143-3p、miR-509-5p 对重症肺炎支原体肺炎的预测价值

指标	截断值	AUC	标准差	灵敏度(%)	特异度(%)	95%CI
miR-143-3p	0.235	0.820	0.039	82.4	83.3	0.744~0.896
miR-509-5p	0.355	0.849	0.037	72.5	92.9	0.776~0.922

注:miR-143-3p 为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p 为微小核糖核酸-509-5p,AUC 为曲线下面积。

表 8 miR-143-3p、miR-509-5p 对肺炎支原体肺炎患儿预后不良的预测价值

指标	截断值	AUC	标准差	灵敏度(%)	特异度(%)	95%CI
miR-143-3p	0.245	0.735	0.044	79.6	63.0	0.649~0.820
miR-509-5p	0.345	0.859	0.039	81.5	87.3	0.782~0.936

注:miR-143-3p 为微小核糖核酸-143-3p,miR-509-5p 为微小核糖核酸-509-5p,AUC 为曲线下面积。

ROC 曲线分析,血清 miR-143-3p 水平低于 0.235 时,重症发生的可能性更高。此外,miR-143-3p 水平对于区分预后情况也有帮助,预后不良组 miR-143-3p 水平低于预后良好组,当血清 miR-143-3p 水平低于 0.245 时,预后不良的可能性高,截断值在数值上与重症患儿接近,但略有升高,意味着重症患儿与预后不良患儿具有较高的交叉性,但仍有少部分轻症患儿预后不良。提示 miR-143-3p 在儿童肺炎支原体肺炎的病情评估以及预后中具有重要价值。

miR-509-5p 在癌症中研究较多^[16-17]。人囊性纤维化与非囊性纤维化气道上皮细胞中 miR-509-3p 水平不同,人囊性纤维化气道上皮中 miR-509-3p 水平升高,miR-509-3p 可调节人囊性纤维化上皮细胞的炎性介质^[18]。另外,miR-509-5p 在绵羊肺炎支原体肺炎的耐药性中发挥关键作用,miR-509-5p 可调控绵羊炎症反应^[7]。本研究中,肺炎支原体肺炎患儿血清 miR-509-5p 水平低于对照组,且重症组血清 miR-509-5p 水平低于轻症组,预后不良组血清 miR-509-5p 水平低于预后良好组,miR-509-5p 与 VT、TPTEF/Te、VPTEF/VT 呈正相关,提示 miR-509-5p 水平与肺炎支原体肺炎严重程度以及预后相关,经 ROC 曲线分析,当肺炎支原体肺炎患儿血清 miR-509-5p 水平低于 0.355 时,发生重症的可能性较高,此时 AUC 为 0.735,当血清 miR-509-5p 水平低于 0.345,预后不良的可能性高,AUC 为 0.859,灵敏度和特异度均较高,提示血清 miR-509-5p 水平对判断肺炎支原体肺炎的严重程度以及预后具有重要价值。已有许多研究报道 CRP 和 D 二聚体水平与肺炎支原体肺炎病情发展有关^[19-20],但本研究未进行二者水平检测,未能研究二者与 miR-143-3p 和 miR-509-5p 之间的关系,此为本研究不足之处,后续本研究将进一步扩大样本量深入研究 miR-143-3p 和 miR-509-5p 与 CRP 和 D 二聚体的关系以及疾病进展关系,为二者作为临床病情评估标志物提供理论依据。

综上所述,肺炎支原体肺炎患儿血清 miR-143-

3p、miR-509-5p 水平降低,二者均对肺炎支原体肺炎的严重程度与预后具有判别价值,有望作为临床病情评估以及预后判断的指标。但本研究对 miR-143-3p、miR-509-5p 影响肺炎支原体肺炎进展的机制仍不明确,尚需进行细胞实验探讨。

参考文献

- [1] 马慧轩,徐保平,申阿东.儿童社区获得性肺炎流行病学和病原学研究进展[J].标记免疫分析与临床,2015,22(9):936-939.
- [2] 窦寅菡,夏敏,周华,等.肺炎支原体肺炎患儿外周血 CD4-CD8-双阴性 T 淋巴细胞变化的意义[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(16):1226-1229.
- [3] 赵德育,邓欢.肺炎支原体肺炎实验室诊断的意义及进展[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(16):1205-1209.
- [4] YANG L,ZHANG X,LIU X.Long noncoding RNA GAS5 protects against mycoplasma pneumoniae pneumonia by regulating the microRNA2223p/TIMP3 axis[J].Mol Med Rep,2021,23(5):380.
- [5] 陈超,张伟丽,冯长松.lncRNA PCAT19 靶向 miR-143-3p 通过信号通路 PI3K/Akt 对甲状腺癌细胞增殖和凋亡的影响及机制[J].中国老年学杂志,2020,40(8):1712-1717.
- [6] WANG Y,LI H,SHI Y,et al.miR-143-3p impacts on pulmonary inflammatory factors and cell apoptosis in mice with mycoplasmal pneumonia by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J].Biosci Rep,2020,40(7):BSR20193419.
- [7] ZHU M,CAO S,ZHENG W,et al.miR-509-5p anti-infection response for mycoplasma pneumonia in sheep by targeting NF- κ B pathway[J].Vet Immunol Immunopathol,2021,238:110275.
- [8] 胡亚美,江载芳.诸福棠实用儿科学(上下)(精)[M].7版.北京:人民卫生出版社,2012.
- [9] 张晗,尚云晓.重症肺炎支原体肺炎早期识别[J].中国实用儿科杂志,2015,30(3):176-179.
- [10] XU X,SHENG Y,YANG L,et al.Immunological features of pediatric interstitial pneumonia due to mycoplasma pneumoniae [J].Front Pediatr,2021,9:651487.

- [11] 张莉.血清补体、免疫球蛋白及炎性细胞因子动态检测在儿童肺炎支原体感染中的应用价值分析[J].中外医疗,2018,37(30):173-175.
- [12] YIN L,MA Y,WANG W,et al.The critical function of miR-1323/Il6 axis in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J].J Pediatr,2021,97(5):552-558.
- [13] 唐珩,刘峰.肺炎支原体肺炎患儿血清中的miRNA-221、miRNA-126的变化[J].临床医药文献电子杂志,2015,2(36):7355-7357.
- [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] 刘沛,王清芝.miR-143-3p通过SIRT2调控LPS诱导牙周膜细胞炎症,凋亡的研究[J].口腔颌面修复学杂志,2022,23(3):176-182.
- [16] GUO J,WU Q,PENG X,et al.miR-509-5p inhibits the proliferation and invasion of osteosarcoma by targeting TRIB2[J].Biomed Res Int,2019:2523032.
- [17] 李发祥,刘炎华,钟春林.miR-509-5p通过靶向HMGA2调控非小细胞肺癌H1299细胞增殖,迁移和侵袭及其机制探讨[J].现代肿瘤医学,2019,27(17):3020-3026.
- [18] RAMACHANDRAN S,KARP P H,OSTERHAUS S R,et al.Post-transcriptional regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression and function by microRNAs[J].Am J Respir Cell Mol Biol,2013,49(4):544-551.
- [19] ZHENG Y,HUA L,ZHAO Q,et al.The level of D-dimer is positively correlated with the severity of mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J].Front Cell Infect Microbiol,2021,11:687391.
- [20] CHEN P,HUANG Z,CHEN L,et al.The relationships between LncRNA NNT-AS1,CRP,PCT and their interactions and the refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J].Sci Rep,2021,11(1):2059.

(2023-04-06收稿)

(本文编校:周雪春,张迪)