

- 骨髓瘤合并肾功能不全与肾功能不全患者中的鉴别诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(9): 900-902.
- [2] MALAER J D, MATHEW P A. CS1 (SLAMF7, CD319) is an effective immunotherapeutic target for multiple myeloma[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(8): 1637-1641.
- [3] 杨龙江. 血小板因子 4 及其 17-70 肽段在多发性骨髓瘤中的作用及机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [4] JIANG Y, LUAN Y, CHANG H, et al. The diagnostic and prognostic value of plasma microRNA-125b-5p in patients with multiple myeloma[J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 4001-4007.
- [5] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2017 年修订)[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(11): 866-870.
- [6] SCHRIBER J R, HARI P N, AHN K W, et al. Hispanics have the lowest stem cell transplant utilization rate for • 短篇论著 •

autologous hematopoietic cell transplantation for multiple myeloma in the United States: a CIBMTR report [J]. Cancer, 2017, 123(16): 3141-3149.

- [7] JIAN J, PANG Y, YAN H H, et al. Platelet factor 4 is produced by subsets of myeloid cells in premetastatic lung and inhibits tumor metastasis[J]. Oncotarget, 2017, 8(17): 27725-27739.
- [8] LIANG P, CHENG S H, CHENG C K, et al. Platelet factor 4 induces cell apoptosis by inhibition of STAT3 via up-regulation of SOCS3 expression in multiple myeloma [J]. Haematologica, 2013, 98(2): 288-295.
- [9] KOLLINEROVA S, VASSANELLI S, MODRIANSKY M. The role of miR-29 family members in malignant hematopoiesis[J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olo-mouc Czech Repub, 2014, 158(4): 489-501.

(收稿日期: 2022-09-02 修回日期: 2022-12-20)

## miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎治疗中的变化与应用<sup>\*</sup>

蒋斐斐, 孙丽范, 李亚楠

安徽省亳州市人民医院儿科, 安徽亳州 236800

**摘要:** 目的 探讨微小 RNA-223(miR-223)、Toll 样受体 2(TLR2)在新生儿感染性肺炎治疗前后的表达情况及在诊断中价值。方法 将 2018 年 5 月至 2021 年 3 月于该院治疗的新生儿感染性肺炎患儿 67 例作为观察组; 另外, 选取同期于该院进行体检的健康新生儿 51 例作为对照组。观察组均给予常规对症支持治疗, 治疗 7 d 后评估其效果。采用实时荧光定量 PCR 法测定 miR-223 表达水平; 采用流式细胞仪测定 TLR2 水平; 采用酶联免疫吸附法测定白细胞介素-6(IL-6)水平; 采用全自动荧光免疫分析仪测定降钙素原(PCT)水平; 利用 Pearson 进行相关性分析; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎中诊断价值。结果 观察组 miR-223、TLR2、IL-6 及 PCT 水平均高于对照组( $P < 0.05$ ); 观察组治疗 7 d 后 miR-223、TLR2、IL-6 及 PCT 水平均低于治疗前( $P < 0.05$ ), 但与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); Pearson 相关性分析显示: miR-223 与 TLR2、IL-6、PCT 水平呈正相关( $r = 0.492, 0.489, 0.503, P < 0.05$ ), TLR2 与 IL-6、PCT 水平也呈正相关( $r = 0.465, 0.542, P < 0.05$ )。miR-223、TLR2 联合检测用于新生儿感染性肺炎诊断的灵敏度与特异度高于 miR-223、TLR2 单项检测( $P < 0.05$ )。结论 miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎中呈高表达, 治疗后水平下降, 并与 IL-6、PCT 水平呈正相关, 且二者联合测定具有较高的灵敏度与特异度, 能为临床治疗和诊断提供参考依据。

**关键词:** 微小 RNA-223; Toll 样受体 2; 新生儿; 感染性肺炎

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.026

**文章编号:** 1673-4130(2023)04-0506-04

**中图法分类号:** R446.11

**文献标志码:** A

新生儿感染性肺炎是指新生儿在宫内、分娩过程中或出生后吸入胎粪、羊水、胃内容物等, 或是娩出后感染细菌、病毒等病原体, 导致的肺部炎症病理改变<sup>[1]</sup>。临幊上, 根据新生儿感染性肺炎病因可分为吸人性肺炎与感染性肺炎两种<sup>[1]</sup>, 且不同类型肺炎发病机制、临幊表现差异不明显, 导致临幊诊疗难度较大。临幊上以新生儿感染性肺炎更为常见<sup>[2-3]</sup>, 故本研究选择新生儿感染性肺炎进行研究。病原学检查是新

生儿感染性肺炎常用的诊断“金标准”, 能指导临幊治疗, 但是该诊断方法所需时间长<sup>[4-5]</sup>。微小 RNA (miRNA)是一类高度保守的非编码核苷酸, 与机体免疫功能存在明显的差异性。外周血 miR-223 在肺炎患儿中呈高表达, 能作为肺炎早期诊断指标之一, 用于评估患儿病情严重程度<sup>[6]</sup>。Toll 样受体 2(TLR2)是 Toll 家族成员之一, 在人体中具有广泛的作用, 可识别不同类型病原微生物抗原成分, 但是该指标在新

\* 基金项目: 安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021a027)。

新生儿感染性肺炎中的应用研究较少<sup>[7]</sup>。因此,本研究将新生儿感染性肺炎患儿纳入研究,旨在探讨miR-223、TLR2在新生儿感染性肺炎中的表达情况及对临床诊断的价值,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 将2018年5月至2021年3月本院收治的67例新生儿感染性肺炎患儿作为观察组,男34例、女33例,日龄0~32 d,平均(13.58±4.51)d,孕周38~42周,平均(40.13±1.75)周,母亲分娩次数1~3次,平均(1.65±0.51)次,分娩方式:顺产39例、剖宫产28例。另外,将本院同期健康新生儿51例作为对照组,男32例、女19例,日龄4~33 d,平均(13.62±4.56)d,孕周37~42周,平均(40.06±1.71)周,分娩方式:顺产40例、剖宫产11例。本研究获得本院伦理委员会批准。受试者家属均签署知情同意书。两组一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。纳入标准:(1)观察组患儿符合新生儿感染性肺炎诊断标准<sup>[8]</sup>,经血常规、临床表现、影像学检查确诊;(2)均能配合完成miR-223、TLR2检查;(3)单胎。排除标准:(1)有先天畸形、一般情况较差或器质性疾病;(2)伴有其他感染性疾病及严重肝、肾功能异常;(3)研究期间死亡或转上一级医院;(4)有药物过敏史、禁忌证。

**1.2 仪器与试剂** FSCS Vantage流式细胞仪购自美国BD公司;PCR扩增仪购自Biometra公司;MX3000PTM荧光定量PCR仪购自Stratagene公司;白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒购自南京博湃生物技术有限公司;反转录试剂盒购自美国Sigma公司。酶免检测仪购自美国Beckman公司;VIDAs全自动荧光免疫分析仪购自法国梅里埃公司;RNA提取Trizol试剂购自美国Sigma公司;TLR2相关抗体购自美国Abcam公司;降钙素原(PCT)检测试剂盒均购自法国梅里埃公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本采集及保存** 根据患儿病原学检查结果和病情,对其进行相应的治疗,分别于治疗前、后抽取静脉血3 mL。对照组采集脐带血3 mL,以2 000 r/min离心10 min,分离得到血清,于-80℃冰箱内保存,待测。

**1.3.2 miR-223检测** 采用实时荧光定量PCR法测定miR-223水平,利用Trizol法提取血液标本的总RNA,利用酶标仪测定其浓度。将总RNA按反转录试剂盒说明书逆转为cDNA。反转录条件:30℃20 min,35℃30 min,75℃10 min。实时荧光定量PCR反应体系:cDNA模板8 μL、SYBR Green 10 μL、PCR Primer mix 2 μL;反应条件:95℃预变性10 min,95℃变性15 s、60℃退火30 s、72℃延伸30 s,连续完成40个循环。以β-actin作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算血液标本中miR-223的相对表达水平。

引物设计见表1。

表1 引物设计

检测指标	引物序列	扩增长度 (bp)
miR-223	F:5'-CAGGATGCAGCAGGTGGAAGC-3' R:5'-TGCTCCAGGCTGTAGTCTGTGG-3'	132
β-actin	F:5'-AGGTTCCCTCCTAGCAGATCATTCTC-3' R:5'-GAGCGGCAACTTCTGAGGTCTTAC-3'	99

**1.3.3 治疗方案** 观察组均给予常规对症支持治疗,具体方法如下:给予抗感染、平喘及退热等治疗,7 d治疗后评估效果<sup>[9-10]</sup>。观察组治疗后记录为观察组-T。

**1.3.4 指标的测定** 采用流式细胞仪测定TLR2的表达水平(检测抗体购自美国Abcam公司),取血液标本100 μL于流式细胞管,加入FITC-抗TLR2抗体10 μL,快速震荡混匀,室温下避光孵育15 min。将流式细胞管以2 000 r/min离心5 min后弃上清,用流式细胞仪进行检测。采用ELISA测定IL-6水平;采用全自动荧光免疫分析仪测定降钙素原(PCT)水平<sup>[11]</sup>。

**1.4 统计学处理** 采用SPSS24.0软件进行数据处理。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本t检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。采用Pearson相关分析不同检测指标间的相关性。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清miR-223、TLR2单项及其联合检测对感染性肺炎的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 血清miR-223、TLR2、IL-6及PCT水平比较** 治疗前观察组的miR-223、TLR2、IL-6及PCT水平均高于对照组( $P<0.05$ );观察组治疗7 d后miR-223、TLR2、IL-6及PCT水平均低于治疗前( $P<0.05$ ),与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

表2 血清miR-223、TLR2、IL-6、PCT水平的比较( $\bar{x}\pm s$ )

分组	n	miR-223	TLR2 (RFU)	IL-6 (pg/mL)	PCT (ng/mL)
对照组	51	5.13±0.35	1.61±0.21	10.59±2.52	5.32±0.84
观察组	67	16.73±2.6 <sup>a</sup>	2.53±0.43 <sup>a</sup>	72.32±12.14 <sup>a</sup>	10.56±1.21 <sup>a</sup>
观察组-T	67	6.41±0.43 <sup>b</sup>	1.75±0.27 <sup>b</sup>	14.33±2.57 <sup>b</sup>	6.51±0.68 <sup>b</sup>
F		999.141	145.630	1321.868	521.761
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与观察组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

**2.2 检测指标的相关性分析** Pearson相关分析显示:血清miR-223与TLR2、IL-6、PCT水平均呈正相关( $r=0.492$ 、 $0.489$ 、 $0.503$ , $P<0.05$ ),TLR2与

IL-6、PCT 水平亦呈正相关( $r = 0.465, 0.542, P < 0.05$ )。

**2.3 miR-223、TLR2 对新生儿感染性肺炎的诊断价值** ROC 曲线分析显示:用于新生儿感染性肺炎的诊断,miR-223 的最佳截断值为 9.12,曲线下面积

(AUC)为 0.715,TLR2 的最佳截断值为 2.11,AUC 为 0.753。miR-223、TLR2 联合诊断新生儿感染性肺炎的 AUC 为 0.894,明显高于 miR-223、TLR2 单项诊断的 AUC( $P < 0.05$ )。见表 3、图 1。

表 3 miR-223、TLR2 单项及联合检测对新生儿感染性肺炎的诊断价值分析

检测项目	AUC	标准误差	P	95% 可信区间		灵敏度(%)	特异度(%)
				下限	上限		
miR-223	0.715	0.058	<0.001	0.713	0.858	77.35	80.13
TLR2	0.753	0.061	<0.001	0.732	0.849	78.16	79.86
联合检查	0.894	0.080	<0.001	0.845	0.932	90.45	88.69

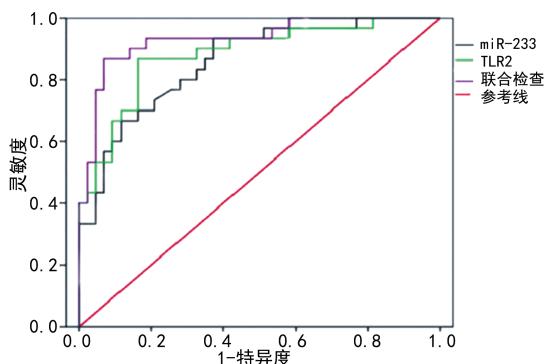


图 1 miR-223、TLR2 单项及联合检测用于新生儿感染性肺炎的诊断的 ROC 曲线

### 3 讨 论

新生儿感染性肺炎是儿科常见病、多发病,由于多数患儿发病早期临床症状缺乏典型性,导致患儿诊疗难度较大<sup>[12]</sup>。同时,新生儿特殊的生理与免疫状态,导致新生儿感染性肺炎发生率较高,随着病程延长,将会增加窒息、呼吸衰竭的发生率。目前新生儿感染性肺炎诊疗难度大,本研究旨在探讨新生儿感染性肺炎新的诊断标志物。

miR-223 属于 miRNA 的一种<sup>[13]</sup>。miR-223 在人体中具有广泛的生物学作用,如参与免疫细胞谱系的发生、分化调控,维持免疫稳态等<sup>[14]</sup>。miR-223 在脓毒症患儿和小儿肺炎支原体感染患者中均呈高表达<sup>[15-16]</sup>,而且与 T 淋巴细胞亚群、炎症因子密切相关<sup>[17]</sup>。由此可见,miR-223 异常表达可能与新生儿感染性肺炎存在紧密联系<sup>[18]</sup>。本研究显示:观察组 miR-223、IL-6 及 PCT 水平均高于对照组( $P < 0.05$ ),miR-223 在新生儿感染性肺炎患者中高表达。

TLR2 是新发现的先天性免疫的病原模式识别受体,可介导跨膜信号,激活机体免疫反应。Toll 受体与相应的配体结合后,能激活机体炎性反应,并产生瀑布联级反应,可清除机体内的病原体<sup>[19]</sup>。重症肺炎患者外周血 TLR2、TLR4 表达水平升高,与炎症反应紧密相关<sup>[20]</sup>。本研究结果显示:观察组 TLR2、IL-6 及 PCT 水平高于对照组( $P < 0.05$ ),说明 TLR2 在新

生儿感染性肺炎患者中高表达。

目前临幊上对于新生儿感染性肺炎以对症支持治疗为主。本研究对新生儿感染性肺炎患儿均给予对症支持治疗。观察组治疗 7 d 后 miR-223、TLR2、IL-6 及 PCT 水平均低于治疗前( $P < 0.05$ ),观察组治疗后 miR-223、TLR2 及 IL-6、PCT 述评均明显降低( $P < 0.05$ ),而且观察组治疗后 miR-223、TLR2、IL-6 及 PCT 水平与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎治疗后水平降低,能较好反映患儿肺炎治疗的效果。本研究进一步分析了 miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎诊断中的价值。miR-223、TLR2 联合检测用于诊断的灵敏度与特异度均高于 miR-223、TLR2 单项检测。血清 miR-223 与 TLR2、IL-6 及 PCT 水平呈正相关,并且 TLR2 与 IL-6 及 PCT 水平也呈正相关。提示血清 miR-223 和 TLR2 与 IL-6 及 PCT 一样具有早期诊断新生儿感染性肺炎的能力。因此,临幊上对于疑似新生儿感染性肺炎者,应加强 miR-223、TLR2 水平测定,从而辅助诊断。

综上所述,miR-223、TLR2 在新生儿感染性肺炎中呈高表达,而且二者联合测定具有较高的灵敏度与特异度,能为新生儿感染性肺炎的诊疗提供参考依据。但是,本研究中亦存在诸多局限性与不足,研究中纳入病例数较少,需进一步加大样本量进行研究。

### 参考文献

- [1] 冯琼,林虹,蔡兴俊. 血清 miR-223 及 miR-155 对新生儿肺炎的诊断价值研究[J]. 重庆医学, 2021, 50(3): 383-387.
- [2] 谢俊,梁先春,唐永梁. 血清肿瘤特异性生长因子、miRNA-214 在肝癌中的表达及对肝动脉化疗栓塞术疗效的预测价值[J]. 癌症进展, 2020, 18(14): 1434-1437.
- [3] 朱文龙,杨海松,张世泳,等. miRNA-27a 在乳腺癌中的表达及其对新辅助化疗疗效的预测价值[J]. 中华保健医学杂志, 2021, 23(1): 61-64.
- [4] MANABU K, SEIGO I, TAKUYA I, et al. The efficacy of

- posttreatment with synthetic C-reactive protein in murine bacterial peritonitis via activation of Fc $\gamma$ RI-expressing kupffer cells[J]. J Innate Immun, 2021, 13(5): 306-318.
- [5] 王倩, 魏小萌, 万晶文, 等. LncRNANEAT1、miR-146a 及 TLR2 通路相关因子在特应性皮炎小鼠模型中的表达[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2021, 35(8): 869-875.
- [6] 杨芳芳, 尚娟娟. 盐酸氨溴索联合常规治疗对新生儿肺炎的支气管黏膜纤毛结构及炎性因子的影响[J]. 河北医科大学学报, 2019, 40(2): 229-232.
- [7] 庄箭波, 顾岚, 马岩, 等. 经鼻高流量湿化氧疗对新生儿肺炎血清 CRP、PCT、IL-6 水平的影响[J]. 河北医药, 2020, 42(23): 3552-3555.
- [8] 刘倩, 闫俊梅. 人免疫球蛋白联合经鼻高流量湿化氧疗辅助治疗重症新生儿肺炎的临床效果[J]. 国际免疫学杂志, 2021, 44(3): 274-279.
- [9] ZHANG D, LEE H, WANG X, et al. A potential role of microvesicle-containing miR-223/142 in lung inflammation[J]. Thorax, 2019, 74(9): 865-874.
- [10] 田静, 惠晓君, 张靖, 等. PPAR $\gamma$  基因多态性与新生儿肺炎易感性及血清炎症细胞因子的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(3): 31-35.
- [11] 范旭升, 陈杰华. 氨溴索联合布地奈德混悬液雾化吸入治疗新生儿肺炎疗效观察[J]. 海南医学, 2020, 31(11): 1415-1418.
- [12] WANG L, WANG Y, QUAN J. Exosomal miR-223 derived from natural killer cells inhibits hepatic stellate cell activation by suppressing autophagy[J]. Mol Med, 2020, 26(1): 81.
- [13] 王星果, 曲亮, 窦套存, 等. miR-223 的表达调控及生物功能研究进展[J]. 生命科学, 2019, 31(9): 945-951.
- [14] YUAN S, WU Q, WANG Z, et al. MiR-223: an immune regulator in infectious disorders [J]. Front Immunol, 2021, 12: 781815.
- [15] 谢文静, 江裕, 陈溶微, 等. 血清 miR-223、miR-155 检验对小儿肺炎支原体感染的诊断价值分析[J]. 右江医学, 2022, 50(4): 275-279.
- [16] 王琳, 高洁, 耿芳. 脓毒症患儿外周血 miR-146a、miR-223 的表达及与预后的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(10): 1172-1176.
- [17] 梁淳, 尹蕾, 田伟. 肺炎支原体肺炎患儿血浆 miR-223、miR-21 水平变化及其与 T 淋巴细胞亚群、炎症因子的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(3): 274-277.
- [18] 方旭仙, 施忆攻, 谢海清. 肺炎新生儿和健康新生儿血清内皮素与表皮生长因子水平差异及相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(9): 2083-2085.
- [19] D'ANTONA P, CATTONI M, DOMINIONI L, et al. Serum miR-223: a validated biomarker for detection of early-stage non-small cell lung cancer[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2019, 28(11): 1926-1933.
- [20] 石安惠, 牟杰. 重症肺炎患者外周血 TLR2、TLR4 表达情况及与炎性因子的关系[J]. 热带医学杂志, 2020, 20(7): 933-936.

(收稿日期: 2022-05-10 修回日期: 2022-09-18)

## • 短篇论著 •

## 基于免疫显色法分析 137 例儿童耐碳青霉烯革兰阴性菌的碳青霉烯酶表型

李 婵, 陈 楠

天津市儿童医院检验科, 天津 300134

**摘要:** 目的 对免疫显色法与 PCR 检测耐碳青霉烯酶表型的结果进行对比分析; 分析 2019—2020 年住院患儿耐碳青霉烯类革兰阴性菌的耐药性, 为临床合理使用抗菌药物及控制院内感染提供参考。方法 选用 VITEK MS 和 VITEK 2 Compact 全自动微生物质谱检测系统和全自动微生物鉴定仪对肠杆菌科细菌及非发酵菌开展鉴定和药敏试验; 收集 2019—2020 年分离的耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)75 株, 非发酵菌 62 株; 选用 PCR 和免疫显色法分别检测这 137 株细菌的耐碳青霉烯酶表型。结果 肠杆菌科细菌以 blaKPC 和 blaNDM 表型为主; 非发酵菌中, 鲍曼不动杆菌以 blaNDM 表型为主, 铜绿假单胞菌以 blaKPC 为主。免疫显色法与 PCR 法检测结果比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 本院住院患儿分离的肠杆菌科细菌和非发酵菌的耐碳青霉烯酶表型有多种, 免疫显色法检测结果与 PCR 检测结果一致。

**关键词:** 免疫显色法; 碳青霉烯酶; 肠杆菌; 非发酵菌; 耐药基因; 儿童

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.027

**文章编号:** 1673-4130(2023)04-0509-04

**中图法分类号:** R446.5

**文献标志码:** A

革兰阴性菌是医院感染的关键病原菌, 大部分具备多重耐药性, 在全部  $\beta$ -内酰胺抗菌药物中, 碳青霉烯类抗菌药物的抑菌活力最强。近年来, 伴随着碳青霉烯类抗菌药物的广泛及不合理应用, 革兰阴性菌对这种抗菌药物形成了越来越多的耐药性, 不断有在儿

童或新生儿群体中暴发感染的报道<sup>[1-2]</sup>。根据全国细菌耐药监测网(CRASS)数据显示, 2019 年儿童医院的耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌检出率为 14%, 高于三级医院的 11.6% 和二级医院的 5.5%, 同时比 2018 年儿童医院的耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌检出率