

• 短篇论著 •

过敏性鼻炎患者 IgE、miR-487b 和 EOS 水平分析 及其与 VAS 评分的相关性*

马荧雪, 缪陶林, 庄强尔[△]

无锡市儿童医院耳鼻喉科, 江苏无锡 214000

摘要:目的 分析过敏性鼻炎(AR)患者特异性免疫球蛋白 E(IgE)、微小 RNA-487b(miR-487b)和外周血中嗜酸性粒细胞(EOS)水平及其与视觉模拟量表(VAS)评分的相关性。方法 将 2020 年 1 月至 2022 年 6 月在该院门诊确诊为 AR 的 98 例患儿纳入 AR 患儿组。另外,选取同期在该院接受体检的 66 例接受体检的健康儿童作为对照组。测定所有纳入研究者 IgE、miR-487b 和 EOS 水平。纳入研究的 AR 患儿均接受 VAS 评分,并以患儿疼痛情况建立亚组,比较各组 IgE、miR-487b 和 EOS 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 IgE、miR-487b、EOS 单项及联合检测对 AR 的诊断效能,采用 Pearson 相关系数分析 IgE、miR-487b 和 EOS 与 AR 患儿 VAS 评分的相关性。结果 AR 患儿组 IgE、EOS 水平较对照组明显升高($P < 0.05$),AR 患儿组 miR-487b 水平较健康对照组明显降低($P < 0.05$)。随着 AR 患儿病情程度的加重,其 IgE、EOS 水平呈升高趋势,而 miR-487b 水平呈下降态势(均 $P < 0.05$)。三项联合检测的曲线下面积明显大于单一指标检测($AUC = 0.908, P < 0.05$)。Pearson 相关分析显示,IgE、EOS 水平与 VAS 评分呈正相关($r = 0.581, 0.594, P < 0.05$),miR-487b 水平与 VAS 评分呈明显负相关($r = -0.587, P < 0.05$)。结论 IgE、miR-487b 和 EOS 对 AR 患儿的诊断效能较高且三项指标联合检测的效能更高。IgE、miR-487b 和 EOS 水平变化与 AR 患儿疼痛程度密切相关,可以为临床诊疗方案的制订提供参考。

关键词:特异性免疫球蛋白 E; 微小 RNA-487b; 嗜酸性粒细胞; 过敏性鼻炎; 症状视觉模拟评分

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.14.023

中图分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2023)14-1778-04

文献标志码:A

过敏性鼻炎(AR)是易感机体接触过敏原后受到免疫球蛋白 IgE 介导并造成 I 型变态反应的表现之一,该过程由多种免疫细胞和细胞因子参与^[1-2]。AR 患儿主要的临床表现包括鼻通气性差、有明显痒感、出现大量清水样涕及阵发性喷嚏,多数患儿病程较长且呈季节性发病,一定程度上会影响患儿的生活质量^[3-4]。有学者围绕 AR 的发病机制进行分析发现嗜酸性粒细胞(EOS)的水平异常增加是其主要病理表现^[5]。微小 RNA-487b(miR-487b)被认定可以实现对蛋白质的转录调控进而影响机体的炎症反应,并对巨噬细胞产生负调控作用,提示 miR-487b 可能参与 AR 的发生过程^[6]。另外,研究发现患儿出现明显过敏反应的主要机制为 IgE 介导的 I 型变态反应,针对该指标的临床检测也成为目前常用的诊断方式,检测血清特异性 IgE 水平并观察患儿阳性反应变化情况,可明确患儿过敏源并开展针对性地治疗,对改善患儿临床症状、提高生活质量具有积极作用^[7]。因此本研究对 AR 患儿 IgE、miR-487b 和 EOS 水平进行分析,探讨其与患儿疼痛程度的相关性,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2020 年 1 月至 2022 年 6 月在本院门诊确诊为 AR 的共 98 例患儿纳入研究作为 AR 患儿组。另外,选取同期在本院接受体检的健康儿童 66 例作为对照组。AR 患儿组中,男 56 例,女 42 例;年龄 4~12 岁,平均(8.16±2.14)岁;病程 3 个月至 3 年,平均(6.25±1.01)个月。健康对照组中,男 39 例,女 27 例;年龄 3~12 岁,平均(7.81±2.22)岁。两组基线资料包括性别、年龄等数据比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。AR 患儿组纳入标准:(1)患儿临床症状表现及诊断结果均符合 AR 诊断标准^[8];(2)临床资料完整;(3)患儿及家属临床依从性好,可配合完成本研究相关调查工作直至研究结束。排除标准:(1)合并鼻息肉/鼻腔内肿瘤患儿;(2)患儿在本院就诊前 6 个月内接受过免疫治疗、抗过敏药物治疗、激素治疗等;(3)合并其他过敏症状;(4)具有鼻腔相关手术史;(5)合并肝、肾等严重器质性功能障碍病变。

1.2 方法

1.2.1 IgE 检测 取所有研究对象空腹状态下肘静

* 基金项目:无锡市医学科技发展项目(KYY202007)。

[△] 通信作者, E-mail:1599522022@139.com。

脉血 5 mL 并收集于促凝管中, 30 min 后行离心机离心操作, 参数设定为 3 500 r/min, 离心半径 10 cm, 持续离心 15 min 后取上清液(血浆)作为待测标本。应用 UniCAP 100E 全自动体外免疫诊断仪(瑞典 Phadia AB 公司)及配套试剂盒检测特异性 IgE 水平。

1.2.2 以 PCR 法检测血浆 miR-487b 的表达 取 1.2.1 中分离的血浆标本置于 -20 °C 低温冰箱保存待测。应用实时荧光定量 PCR(qPCR)测定研究对象血浆中 miR-487b 的表达水平。按照试剂盒说明书严格完成操作, 首先提取研究对象血样中血浆总 RNA, 经异丙醇沉淀浓缩后应用 75% 乙醇完成洗涤并干燥, 之

后加入 100 μL DEPC 水, 对所得 RNA 纯度及完整度进行检测并明确; 按照逆转录试剂盒说明书完成 cDNA 逆转录, 之后置于 -20 °C 保存备用。qPCR 反应(反应体系 20 μL): 上下游引物各 1 μL, 双蒸水 6 μL, 每一样本设定 3 个平行检测孔。上下游引物、内参基因引物由上海恒斐生物科技有限公司设计并合成, miR-487b 的检测以 U6 为内参。引物序见表 1。反应条件: 预变性 95 °C 8 min; 在 90 °C 环境下持续变性 20 s, 之后 60 °C 环境下完成退火并持续 40 s, 在 72 °C 环境下延伸 25 s, 共持续 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血浆中 miR-487b 相对表达水平。

表 1 qPCR 引物序列

| 基因 | 正向引物(5'-3') | 反向引物(5'-3') |
|----------|--------------------------|---------------------|
| U6 | TGCGGGTGCTCGCTTCGGCAGC | CCAGTGCAGGGTCCGAGGT |
| miR-487b | TGCGGAATCGTACAGGGTCATCCA | CCAGTGCAGGGTCCGAGGT |

1.2.3 以全自动血液细胞分析仪检测 EOS 水平 采用空腹状态下取得的抗凝静脉血标本进行 EOS 检测, 使用的检测仪器为迈瑞 BC5150 全自动血液细胞分析仪。

1.2.4 以视觉模拟量表(VAS)评分评估患儿疼痛程度 AR 患儿均根据自身临床症状填写 VAS 评分(其得分可采用 cm 作为计量单位, 使用 0~10 cm 来表示); 以 VAS 评分 < 5.3 cm 为轻度, ≥ 5.3 cm 为中重度^[9]。

1.3 观察指标 (1)对比两组各指标水平; (2)对比不同严重程度 AR 患儿各指标水平; (3)分析各指标单一检测及三项联合检测模式对 AR 的诊断效能; (4)分析各指标与 AR 患儿 VAS 评分的相关性。

1.4 统计学处理 本研究中所收集到的研究数据均经 SPSS26.0 软件完成统计分析。符合正态分的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。各指标对 AR 的诊断效能通过绘制 ROC 曲线进行分析。采用 Pearson 相关分析 IgE、miR-487b、EOS 与 AR 患儿 VAS 评分的相关性。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 比较两组 IgE、miR-487b 和 EOS 水平 AR 患儿组 IgE、EOS 水平均明显高于对照组 (P < 0.05); AR 患儿组 miR-487b 表达水平明显低于对照组 (P < 0.05), 见表 2。

2.2 比较不同严重程度 AR 患儿 IgE、miR-487b 和 EOS 水平 根据 AR 患儿病情严重程度进行评估并建立亚组, 分别为轻度 AR 组(51 例)和中重度 AR 组(47 例), 对比两组各指标水平, 结果显示, 随着 AR 患儿病情严重程度的增加, 其 IgE、EOS 水平呈升高的趋势, 其 miR-487b 表达呈下降趋势(均 P < 0.05), 见

表 3。

表 2 两组 IgE、miR-487b 和 EOS 表达情况对比($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | IgE(kU/L) | miR-487b | EOS($\times 10^9$ /mL) |
|----------|----|-------------|-------------|-------------------------|
| AR 患儿组 | 98 | 7.45 ± 2.15 | 0.72 ± 0.21 | 0.64 ± 0.21 |
| 对照组 | 66 | 0.22 ± 0.08 | 1.14 ± 0.33 | 0.17 ± 0.04 |
| <i>t</i> | | 18.051 | 9.161 | 17.947 |
| <i>P</i> | | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 |

表 3 不同严重程度 AR 患儿 IgE、miR-487b 和 EOS 表达情况对比($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | IgE(kU/L) | miR-487b | EOS($\times 10^9$ /mL) |
|----------|----|-------------|-------------|-------------------------|
| 轻度 AR 组 | 51 | 6.62 ± 2.51 | 0.91 ± 0.29 | 0.51 ± 0.11 |
| 中重度 AR 组 | 47 | 8.43 ± 2.87 | 0.52 ± 0.17 | 0.79 ± 0.23 |
| <i>t</i> | | 3.330 | 8.033 | 10.564 |
| <i>P</i> | | 0.001 | < 0.001 | < 0.001 |

2.3 分析 IgE、miR-487b 和 EOS 单一检测及三项联合检测模式对 AR 的诊断效能 ROC 曲线分析显示, IgE、miR-487b 和 EOS 单一检测的曲线下面积均较低, 三项联合检测的曲线下面积明显高于单一指标检测(AUC = 0.908, P < 0.05), 见表 4、图 1。

表 4 IgE、miR-487b、EOS 单项及联合检测对 AR 的诊断价值分析

| 指标 | AUC(95%CI) | 灵敏度 (%) | 特异度 (%) | 约登指数 (%) | 截断值 |
|----------|--------------------|---------|---------|----------|----------------------------|
| IgE | 0.757(0.664~0.850) | 63.00 | 66.00 | 29.00 | 4.56 kU/L |
| miR-487b | 0.736(0.637~0.835) | 62.00 | 61.00 | 23.00 | 0.89 |
| EOS | 0.719(0.620~0.819) | 59.00 | 60.00 | 19.00 | 0.47 × 10 ⁹ /mL |
| 联合检测 | 0.908(0.853~0.963) | 83.00 | 80.00 | 63.00 | — |

注: — 表示该项无数据。

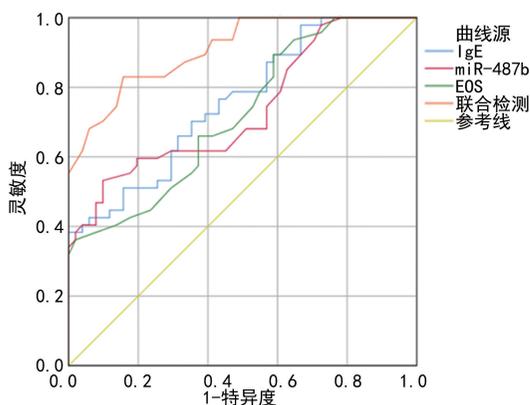


图 1 IgE、miR-487b、EOS 单项及联合检测对 AR 的诊断价值分析

2.4 IgE、miR-487b 和 EOS 与 AR 患儿 VAS 评分的相关性 Pearson 相关分析显示, IgE、EOS 与 VAS 评分呈正相关 ($r = 0.581, 0.594, P < 0.05$), miR-487b 水平与 VAS 评分呈负相关 ($r = -0.587, P < 0.05$), 见图 2~4。

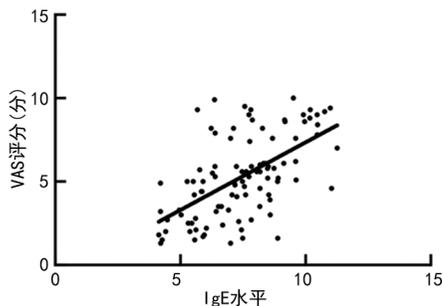


图 2 IgE 与 VAS 评分的相关性

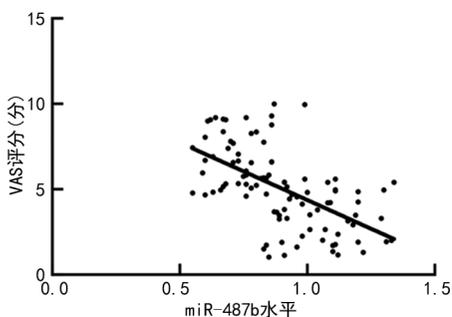


图 3 miR-487b 与 VAS 评分的相关性

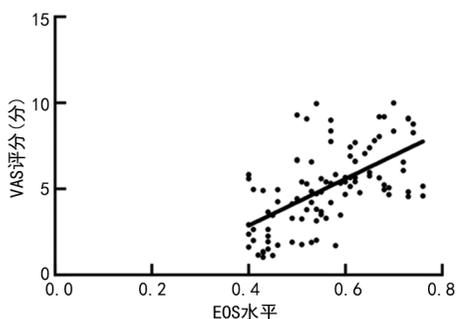


图 4 EOS 表达与 VAS 评分的相关性

3 讨论

AR 是临床耳鼻喉科常见的一类病症, 随着人们

居住环境污染程度的加剧, AR 发病率也呈现逐年递增态势^[10]。AR 患儿发病若不给予科学合理的干预治疗方案, 随着病情进展很可能会引发哮喘、分泌性中耳炎等病症。现阶段临床针对 AR 发病因素进行了探讨, 多数学者认为是抗原进入易过敏个体内引起相关炎症介质的释放加剧了炎症反应^[11]。

本研究针对 AR 患儿及健康受试者进行对比研究, 发现 AR 患儿 IgE 水平较健康儿童明显增高, 而且随着病情程度的增加, 该指标水平呈升高趋势, 原因可能是与 AR 发病机制有关。既往研究已证实 AR 发病主要是机体内 IgE 介导的、以 EOS 浸润为主的慢性炎症。受 AR 患儿自身过敏体质影响, 当机体吸入变应原后所产生的特异性 IgE 与自身鼻黏膜肥大细胞和嗜碱性粒细胞处聚集的 IgE 受体进行结合, 当患儿再次吸入变应原时, 与靶细胞表面的 IgE 结合后释放大量炎症介质进而引发 AR^[12]。

本研究结果显示, AR 患儿 EOS 水平较健康儿童明显升高, 而且随着病情程度的加剧, 患儿 EOS 水平更高, 分析原因可能是 EOS 在机体内的作用机制有关。EOS 属于一类具有免疫监视的效应细胞, EOS 的活化会导致炎症介质释放并加剧各类炎症反应。EOS 可导致鼻黏膜受损, 增加鼻黏膜的敏感性。相关研究显示^[13], EOS 活化不仅会造成机体发生过敏性疾病的风险增加, 一定程度上也会影响患者的病情发展程度。本研究结果与既往研究结果基本一致, 分析原因可能是 AR 发作过程中上皮细胞、成纤维细胞等所释放的炎症因子促使 EOS 分化并趋化迁移至鼻黏膜。同时嗜酸性粒细胞、上皮细胞和肥大细胞可以分泌多种炎症因子, 使鼻黏膜组织中 EOS 呈现高表达。EOS 活化后的产物可合成大量毒性物质, 进而引发呼吸道黏膜上皮损伤, 加重局部的炎症反应^[14]。既往关于一项 AR 发病机制的研究指出, EOS 的异常表达可导致小血管壁损伤并加剧局部通透性, 进而造成组织水肿及血浆外渗, 加重鼻部症状, 与本研究结果基本一致^[15]。

既往有学者研究发现 miR-487b 可抑制炎症介质进而减轻心力衰竭患儿机体炎症反应程度^[16]。而一项动物实验结果发现, AR 模型小鼠 miR 上调可以抑制炎症介质表达, 进而起到抑制 AR 的效用, 提示 miR-487b 是治疗 AR 的潜在治疗靶点^[17]。本研究结果显示, miR-487b 在 AR 患儿人群呈现低表达, 而且随着患儿病情程度的加剧呈现下降趋势, 提示 miR-487b 对 AR 病情的发生发展具有一定参与作用, 而出现这一差异的原因可能是 miR-487b 在患儿机体中起到抑制炎症反应的效用。miR-487b 是 14q32miRNA 簇成员之一, 临床研究显示该 miRNA 在机体炎症状态下可实现对基因转录的有效抑制, 进而对炎症相关

因子起到抑制作用;miR-487b 在人体内可靶向控制 IL-33,miR-487b 表达上调可实现对炎症因子的抑制效用,并提示 miR-487b 可能是 AR 的相关有效检测指标。

另外,本研究建立 ROC 曲线进行分析发现,IgE、miR-487b、EOS 三项指标对诊断 AR 病情程度均有一定效用,但三者联合检测诊断效能更高,提示后续临床可通过上述三项指标明确患儿病情发展程度并针对性给予有效治疗。AR 的过敏原主要以吸入性过敏原(以户尘螨和粉尘螨为主)为主。VAS 评分能较好地反映 AR 患儿的疾病严重程度。采用 Pearson 相关系数分析发现,IgE、EOS 水平与 VAS 评分呈正相关,miR-487b 表达与 VAS 评分呈负相关,也进一步提示上述三项指标可有效反映出患儿临床症状严重程度。

综上所述,IgE、miR-487b 和 EOS 对 AR 患儿的诊断效能较高,而且三项指标联合检测的效能更高。IgE、miR-487b 和 EOS 水平与 AR 患儿疼痛程度密切相关,提示临床可密切观察 AR 患儿 IgE、miR-487b 和 EOS 水平并完善相应诊疗方案,减轻患儿临床不良症状,促进患儿快速康复。但本研究也存在一定不足,如样品量较少且整个研究时间较短,可能会使研究结果出现偏倚性,后续研究中会继续扩大样本量及样本范围,深入分析相关机制来提高研究的科学性和结论的准确性。

参考文献

- [1] BADORREK P, MULLER M, KOCH W, et al. Specificity and reproducibility of nasal biomarkers in patients with allergic rhinitis after allergen challenge chamber exposure [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2017, 118(3): 290-297.
- [2] CARUSO M, CIBELLA F, EMMA R, et al. Basophil biomarkers as useful predictors for sublingual immunotherapy in allergic rhinitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 60: 50-58.
- [3] KIM H C, KIM D K, JI S K, et al. Hypochlorous acid versus saline nasal irrigation in allergic rhinitis: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2022, 36(1): 129-134.
- [4] NORDHOLM A, KURTZHALS J, KARAMI A M, et al. Nasal localization of a *Pseudoterranova decipiens* larva in a Danish patient with suspected allergic rhinitis [J]. *J Helminthol*, 2020, 94: e187.
- [5] BOUSQUET J, ARNAVIELHE S, BEDBROOK A, et al. The ARIA score of allergic rhinitis using mobile technology correlates with quality-of-life: the MASK study [J]. *Allergy*, 2017, 73(2): 505-510.
- [6] 李满群, 许清河. 过敏性鼻炎患儿血浆 miR-487b、IL-33 的表达及临床意义 [J]. *广东医学*, 2020, 41(22): 2326-2329.
- [7] 张莹, 张景波, 赵静维, 等. 健脾清肺方合并神阙灸对儿童过敏性鼻炎 IgE、EOS 的影响及临床疗效研究 [J]. *河北中医药学报*, 2019, 34(2): 30-32.
- [8] 孟娟, 徐睿, 叶菁, 等. 变应性鼻炎的分类和诊断专家共识 (2022, 成都) [J]. *中国耳鼻咽喉科杂志*, 2022, 22(3): 215-224.
- [9] 王任霞, 宁云红. 中药调理体质治疗中重度持续性变应性鼻炎的临床观察 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(9): 1058-1061.
- [10] 李科琼, 李静, 张玲玲, 等. 过敏性鼻炎患儿生存质量调查及其影响因素分析 [J]. *中国全科医学*, 2018, 21(18): 2216-2222.
- [11] 龙松良, 赵斯君, 黄敏, 等. 鼻内窥镜下低温等离子射频消融术治疗小儿鼾症伴过敏性鼻炎的效果 [J]. *中国医药导报*, 2019, 16(12): 93-96.
- [12] 武明云, 虞坚尔, 薛征, 等. 通窍平喘方治疗儿童过敏性鼻炎-哮喘综合征临床疗效及对血清 IgE、EOS 的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2020, 34(4): 21-26.
- [13] 谢英丽, 王小路, 曾英. 益气温阳汤联合布地奈德鼻喷剂治疗重度持续性变应性鼻炎对 Th17/Treg 免疫平衡与 IgE、EOS 表达水平的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(30): 3386-3389.
- [14] 朱正阳, 戚凯明, 宣丽华. 冬病夏治不同穴位贴敷对过敏性鼻炎患者血清 IgE 的影响 [J]. *中医杂志*, 2018, 59(3): 220-223.
- [15] 王宇娟. 过敏性鼻炎患者鼻分泌物嗜酸性粒细胞与疾病严重程度相关性分析 [J]. *临床军医杂志*, 2017, 45(11): 1166-1167.
- [16] 刘一, 齐文娟. miR-487b 在改善慢性心力衰竭中的作用机制 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(6): 2798-2805.
- [17] 谢伟伟, 林秀联, 龙绮, 等. miR-34a 在过敏性鼻炎小鼠中表达及治疗的作用研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(6): 920-925.

(收稿日期:2022-12-26 修回日期:2023-04-11)