

· 短篇论著 ·

# 血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 检测在新生儿急性呼吸窘迫综合征病情评估和预后预测中的临床价值\*

袁小又, 张妍, 冷惠

崇州市人民医院儿科, 四川成都 611230

**摘要:**目的 探讨血清微小 RNA(miR)-146b-3p、miR-133a-3p 检测在新生儿急性呼吸窘迫综合征(ARDS)病情评估和预后预测中的临床价值。方法 回顾性选取 2020 年 4 月至 2021 年 8 月该院新生儿科收治的 108 例新生儿 ARDS 患者,依据病情严重程度及入住 24 h 首次胸片结果分为轻度组 70 例、重度组 38 例;根据生存情况分为生存组 73 例与死亡组 35 例,收集患儿性别、胎龄、出生体质量、宫内窘迫、胎粪吸入综合征、新生儿窒息、母亲年龄及糖尿病等资料,实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测各组血清中 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平对新生儿 ARDS 患者预后诊断价值;Pearson 法分析新生儿 ARDS 患者血清 miR-146b-3p 与 miR-133a-3p 水平的相关性。结果 与生存组相比,死亡组血清 miR-146b-3p 显著降低,miR-133a-3p 水平、SNAPPE-II 评分显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与轻度组相比,重度组血清 miR-146b-3p 显著降低,miR-133a-3p 水平显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson 法分析显示新生儿 ARDS 患者血清 miR-146b-3p 与 miR-133a-3p 水平呈负相关。ROC 曲线显示血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平诊断新生儿 ARDS 患者死亡的曲线下面积(AUC)分别为 0.883、0.829,灵敏度分别为 82.86%、68.57%,特异度分别为 83.56%、87.67%;二者联合诊断新生儿 ARDS 患者死亡的 AUC、灵敏度、特异度分别为 0.923、91.43%、78.08%。结论 新生儿 ARDS 患者血清 miR-146b-3p 降低,miR-133a-3p 水平在增加,二者呈负相关,对 ARDS 患者预后有一定的预测价值。

**关键词:**微小 RNA-146b-3p; 微小 RNA-133a-3p; 新生儿急性呼吸窘迫综合征; 预后

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.21.022

**中图法分类号:**R722.1

**文章编号:**1673-4130(2023)21-2670-04

**文献标志码:**A

新生儿急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是由于肺泡毛细血管通透性过度导致的低氧血症和双侧肺水肿的急性发作,在新生儿中极为常见,以呻吟发绀、吸气三凹征、呼吸衰竭、呼吸困难为主要表现特征<sup>[1]</sup>。但新生儿 ARDS 呈现出发展快速、病情严重、死亡率较高等特点,对新生儿生命造成了严重威胁,即使生存的新生儿患者,其神经系统及肺功能也受到一定损伤,影响其生长发育<sup>[2]</sup>。新生儿 ARDS 病因较多,目前尚无完全定论,目前也缺乏针对新生儿 ARDS 的特异性治疗方法,因此寻找新生儿 ARDS 发病和预后的生物学标志物意义重大。微小 RNA(miRNA)是一类调节基因表达的非编码 RNA,通过与互补的靶 mRNA 结合,导致 mRNA 降解或翻译,在维持免疫稳态中发挥重要作用,失调的 miRNA 表达可能参与许多疾病的发病机制,包括新生儿 ARDS 疾病<sup>[3]</sup>。miR-146b-3p 作为 miRNA 家族成员,在脓毒症诱导的 ARDS 小鼠模型中,miR-146b-3p 水平下降,上调 miR-146b-3p 水平可改善脓毒症小鼠 ARDS 症状,为 ARDS 的临床治疗奠定了理论基础<sup>[4]</sup>。然而 HUI 等<sup>[5]</sup>研究发现 miR-133a-3p 在脓毒症诱导的 ARDS

小鼠显著增加,下调 miR-133a-3p 水平可能通过抑制炎症反应和肺组织细胞凋亡对脓毒症介导的 ARDS 发挥保护作用,但两者在新生儿 ARDS 中少有报道,因此本研究旨在探讨血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 检测在新生儿 ARDS 病情评估和预后预测中的临床价值,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性选取于本院 2020 年 4 月至 2021 年 8 月新生儿科的收治的 108 例新生儿 ARDS 患儿。纳入标准:(1)诊断标准符合《新生儿急性呼吸窘迫综合征蒙特勒(2017 年版)》<sup>[6]</sup>;(2)急性起病(发病时间小于 3 d),胎龄超过 34 周,入住重症监护室时间超过 72 h;(3)结合患者临床症状、体征以及影像学检查确诊,其中超声心动图结果显示无左心房高压,X 线胸片显示双肺弥漫性阴影,透明度降低,毛玻璃颗粒状;(4)临床资料完整。排除标准:(1)先天性代谢紊乱、先天性心脏病、原发性肺泡表面活性物质缺乏;(2)肺外严重感染;(3)肺和胸壁畸形或先天畸形。本研究已获得本院医学伦理委员会批准。

以确认为 ARDS 为研究起点,以死亡或痊愈出院

为终点,将 108 例新生儿 ARDS 患者分为生存组、死亡组,其中生存组 73 例患儿治愈和病情好转出院,死亡组 35 例病情危重放弃治疗和死亡。另外,108 例新生儿 ARDS 患者依据病情严重程度及入住 24 h 首次胸片结果分为轻度组及重度组。其中轻度组包括 X 射线结果 I 级(双肺透亮度降低,伴有细小颗粒与网状阴影)和 II 级(支气管充气征,病变至肺野中外带),共 70 例;重度组包括 X 射线结果 III 级(心缘模糊,透亮度降低,病变加深)和 IV 级(支气管充气征加重,肺野呈白肺),共 38 例。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 一般资料收集** 收集 108 例新生儿 ARDS 患者的临床资料,包括年龄、性别、分娩方式、出生体质量以及母亲基本资料等,并对所有患儿确诊后 12 h 内应用新生儿急性生理学评分围生期补充 II (SNAPPE-II) 进行评分,评分范围 0~162 分,分值越高,病情越严重。

**1.2.2 样本采集** 患儿均于确诊次日空腹采集 5 mL 静脉血,于 4 °C 下,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清于 -80 °C 低温保存样本。

**1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测血清中 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平** 取出血清样本,采用 RNA 提取试剂盒(货号:74014,广州创仑生物制品有限公司)提取总 RNA,以紫外分光光度计(型号:UV-2204,上海析谱仪器有限公司)检测 RNA 纯度和浓度。根据反转录试剂盒说明(型号:K1622,北京智杰方远科技有限公司)合成 cDNA,然后在 PCR 扩增仪(型号:Veriti96,美国 ABI 公司)上进行扩增,反应体系为 1 μL 上下游引物,12.5 μL SYBR Premix Ex TaqTM,总体积为 25 μL(包含反应水),设置扩增条件:95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 15 s,60 °C 延伸 60 s,45 个循环。并使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平。miR-146b-3p 上游引物:5'-TGA GAA CTG AAT TCC ATA GGC T-3',下游引物:5'-GCA CTG TCA GAC CGA GAC AAG-3';miR-133a-3p 上游引物:5'-GCC TTT GGT CCC CTT CAA C-3',下游引物:5'-TAT GCT TGT TCT CGT CTC TGT GTC-3';内参 U6 上游引物:5'-ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT-3',下游引物:5'-GGA ACG CTT CAC GAA TTT G-3'。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS24.0 统计学软件进行数据处理。以  $\bar{x} \pm s$  描述计量资料,组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;Pearson 法分析新生儿 ARDS 患者血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平的相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平对新生儿 ARDS 患者死亡的诊断价值。

以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 比较两组患者一般资料** 与生存组相比,死亡组在患儿性别、胎龄、出生体质量、宫内窘迫、胎粪吸入综合征、新生儿窒息、母亲年龄及糖尿病方面差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),SNAPPE-II 评分显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 两组一般资料比较( $\bar{x} \pm s$  或  $n/n$ )

项目	死亡组 ( $n=35$ )	生存组 ( $n=73$ )	$\chi^2/t$	<i>P</i>
母亲年龄(岁)	29.54±2.37	29.58±2.09	0.089	0.929
母亲糖尿病(有/无)	14/21	25/48	0.339	0.560
分娩方式(顺产/剖腹产)	20/15	30/43	2.450	0.118
患儿性别(男/女)	18/17	38/35	0.004	0.951
患儿胎龄(周)	32.38±3.24	33.09±3.19	1.077	0.284
出生体质量(kg)	1.85±0.35	1.91±0.37	0.802	0.424
宫内窘迫(有/无)	7/28	20/53	0.690	0.406
新生儿窒息(有/无)	8/27	18/55	0.042	0.838
胎粪吸入综合征(有/无)	9/26	22/51	0.226	0.634
SNAPPE-II 评分(分)	35.28±7.85	16.35±3.64	17.167	<0.001

**2.2 两组血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平比较** 与生存组相比,死亡组血清 miR-146b-3p 水平均显著降低,miR-133a-3p 水平显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 较两组血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	miR-146b-3p	miR-133a-3p
生存组	73	1.01±0.12	0.99±0.10
死亡组	35	0.81±0.09	1.20±0.13
<i>t</i>		8.743	9.242
<i>P</i>		<0.001	<0.001

**2.3 不同严重程度新生儿 ARDS 患者血清中 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平比较** 与轻度组相比,重度组血清 miR-146b-3p 水平均显著降低,miR-133a-3p 水平显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

**2.4 新生儿 ARDS 患者血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平的相关性** Pearson 法分析显示,新生儿 ARDS 患者死亡组血清 miR-146b-3p 与 miR-133a-3p 水平呈负相关( $r = -0.441, P < 0.05$ ),见图 1。

**2.5 血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平对新生儿 ARDS 患者死亡诊断价值分析** 血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平诊断新生儿 ARDS 患者死亡的曲线下面积(AUC)分别为 0.883、0.829,灵敏度分别为 82.86%、68.57%,特异度分别为 83.56%、87.67%;

二者联合诊断新生儿 ARDS 患者死亡的 AUC、灵敏度、特异度分别为 0.923、91.43%、78.08%。见图 2。

表 3 比较不同严重程度新生儿 ARDS 患者血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	miR-146b-3p	miR-133a-3p
轻度组	70	1.12 ± 0.12	1.02 ± 0.11
重度组	38	0.69 ± 0.07	1.44 ± 0.15
t		20.270	16.619
P		<0.001	<0.001

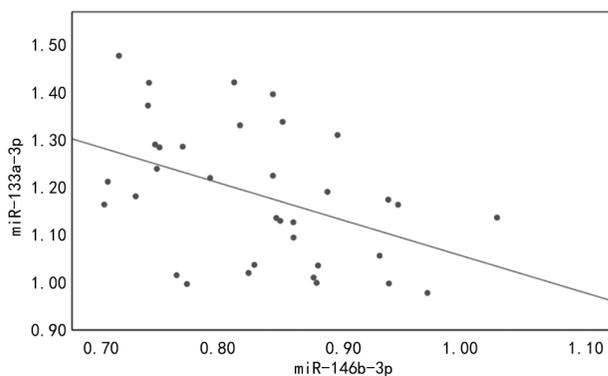


图 1 分析血清中 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平的相关性

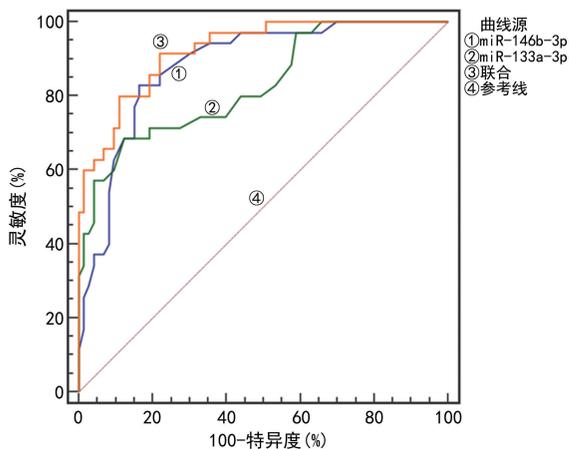


图 2 血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平诊断新生儿 ARDS 患者预后的 ROC 曲线图

### 3 讨论

新生儿 ARDS 是一种严重威胁新生儿生命的呼吸危重症,主要表现为不同程度的低氧血症、肺顺应性下降、弥漫性透光率下降、炎性渗出,是新生儿呼吸衰竭和死亡的重要原因<sup>[7]</sup>。目前 ARDS 患儿的治疗主要以对症综合治疗为主,如肺表面活性物质替代、呼吸及营养支持、体外膜肺氧合等,但新生儿 ARDS 治疗难度大,死亡率仍然较高<sup>[8]</sup>,因此寻找新的生物标志物以帮助预测新生儿 ARDS 的死亡风险,从而做出积极干预措施对改善其预后至关重要。

miRNA 是由 20~23 个核苷酸双键组成的非编码 RNA,可以与 mRNA 上的特定靶标相互作用以调

节基因表达,从而起到抑制或降解靶标的作用,参与各种细胞过程,包括细胞活力、分化、凋亡、免疫反应和不同的病理过程,特别是 miRNA 在血液样本中水平相对稳定,可作为诊断或预后的生物标志物<sup>[9]</sup>。miRNA 参与 ARDS 的发生发展,调节炎症反应和细胞凋亡,是 ARDS 潜在的新型生物标志物和治疗靶点<sup>[10]</sup>。如新生儿 ARDS 血清 miR-200c-3p 水平显著增加,与病情的严重程度有关,对于新生儿 ARDS 预后具有一定的诊断价值<sup>[11]</sup>。蒋萍萍等<sup>[12]</sup>研究证明,miR-150 在 ARDS 患者血清中呈低表达,其有望成为 ARDS 发病和预后预测的生物学标志物。既往有研究表明,miR-146b-3p 主要作为炎症和癌症的调节因子发挥作用,但在许多肺部疾病也发挥关键作用<sup>[13]</sup>。先前研究报告显示,沙杰等<sup>[14]</sup>发现与良性肺结节患者和健康者相比,miR-146b-3p 在非小细胞肺癌患者外周血中显著过表达。miR-146b-3p 被证明可能是肺腺癌的血液潜在生物标志物<sup>[15]</sup>。除此之外,LIU 等<sup>[4]</sup>研究证明上调 miR-146b-3p 表达可改善脓毒症小鼠 ARDS 症状。基于以上文献调研,推测 miR-146b-3p 可能也与新生儿 ARDS 疾病有关。本研究结果显示与生存组相比,死亡组血清 miR-146b-3p 水平显著降低。提示 miR-146b-3p 可能参与新生儿 ARDS 的病情进展。本研究还发现随着病情的加重,血清 miR-146b-3p 水平显著降低,表明 miR-146b-3p 水平与新生儿 ARDS 病情危重程度有关。

miR-133a-3p 也是 miRNA 家族成员。SHAN 等<sup>[16]</sup>研究发现肺腺癌患者中 miR-133a-3p 的表达较与健康对照者相比显著升高,联合其他 miRNA 可以提高肺腺癌的诊断能力,有望作为诊断肺腺癌的潜在生物标志物。LI 等<sup>[17]</sup>研究发现,肺癌组织中 miR-133a-3p 的低表达与肺癌患者的不良预后相关,miR-133a-3p 的过表达增加了非小细胞肺癌细胞对吉非替尼的敏感性,可为人类非小细胞肺癌治疗提供潜在治疗策略。推测 miR-133a-3p 可能也与肺部疾病有关。另外,兰超<sup>[18]</sup>等研究发现 miR-133a-3p 的 mRNA 表达量在脓毒症患者中表达升高,且随着病情加重呈现逐渐升高趋势,可作为脓毒症诊断的特异性标志。HUI 等<sup>[5]</sup>研究发现在脓毒症介导的 ARDS 小鼠 miR-133a-3p 显著增加,下调 miR-133a-3p 表达可减轻 ARDS 小鼠症状,但是对于新生儿 ARDS 鲜有报道。本研究发现与生存组相比,死亡组血清 miR-133a-3p 水平显著增加,且随着病情的加重,血清 miR-133a-3p 水平逐渐增加,表明 miR-133a-3p 水平与新生儿 ARDS 预后及危重程度有关。ZHANG 等<sup>[19]</sup>研究发现 ARDS 患者血清中 miRNA 异常表达,可能与患者病情严重程度和预后密切相关。本研究相关性显示死亡组血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p

水平呈负相关,进一步说明了 miR-146b-3p 水平越低,miR-133a-3p 水平越高,新生儿 ARDS 发生死亡的风险越大。ROC 曲线显示,血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平诊断新生儿 ARDS 患者死亡的 AUC 分别为 0.883、0.829,灵敏度分别为 82.86%、68.57%,特异度分别为 83.56%、87.67%;二者联合诊断新生儿 ARDS 患者死亡的 AUC、灵敏度、特异度分别为 0.923、91.43%、78.08%,表明二者联合对新生儿 ARDS 预后具有较好的预测价值。

综上所述,血清 miR-146b-3p、miR-133a-3p 水平与新生儿 ARDS 患者严重程度及预后密切相关,且二者联合对新生儿 ARDS 患者与预后预测具有一定的价值,有望作为新生儿 ARDS 患者预后预测的潜在标志物。但文章样本量较少且缺乏相关机制的研究,未来将针对其不足进行改善进而进一步验证本结论。

## 参考文献

[1] 冯爱民,谢秀春,王苗,等.肺表面活性物质联合无创高频振荡通气治疗新生儿呼吸窘迫综合征的效果观察[J].河北医学,2019,25(3):551-555.

[2] 霍惠仪,卢泳雪.血清 HMGB1 miR-200c-3p 及 cTn I 水平对新生儿呼吸窘迫综合征预后的预测价值[J].河北医学,2021,27(7):1210-1215.

[3] YOU Q, WANG J, JIA D, et al. MiR-802 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting Peli2[J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(1):75-85.

[4] LIU Y, ZHU JQ, JIN X H, et al. Up-regulation of miR-146b-3p protects septic mice with acute respiratory distress syndrome by inhibiting PI3K/AKT signaling pathway[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2020, 52(4):229-236.

[5] HUI Q, ZHANG Q, LI X, et al. Down-regulation of miR-133a-3p protects lung tissue against sepsis-induced acute respiratory distress syndrome by up-regulating SIRT1 [J]. *Arch Med Sci*, 2020, 1(1):1-13

[6] 中国医师协会新生儿科医师分会.新生儿急性呼吸窘迫综合征蒙特勒标准(2017年版)[J].中华实用儿科临床杂志,2017,32(19):1456-1458.

[7] 杨辉,林秋玉,陈永照,等.血清 miR-155-5p 表达水平预测新生儿呼吸窘迫综合征预后价值研究[J].创伤与急危重病医学,2020,8(3):171-174.

[8] HONG H, FU B, WANG R. Clinical value of serum miR-92 and miR-122 expression level combined with pulmonary ultrasound score in the prognosis of neonatal acute re-

spiratory distress syndrome[J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(7):e24485.

- [9] HUANG Z, HUANG H, SHEN M, et al. MicroRNA-155-5p modulates the progression of acute respiratory distress syndrome by targeting interleukin receptors[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5):11732-11741.
- [10] ZHENG Y, LIU S Q, SUN Q, et al. Plasma microRNAs levels are different between pulmonary and extrapulmonary ARDS patients: a clinical observational study[J]. *Ann Intensive Care*, 2018, 8(1):23.
- [11] 古裕鸟,霍开明,庄秀娟,等.血清 miR-200c-3p 表达水平对判断新生儿呼吸窘迫综合征严重程度和预后的价值[J].临床儿科杂志,2020,38(4):205-254.
- [12] 蒋萍萍,叶宁,徐宝灵. miR-150 在急性呼吸窘迫综合征患者血清中的表达及临床意义[J].临床检验杂志,2021,39(3):202-205.
- [13] HUANG W, GUO L, ZHAO M, et al. The inhibition on MDF1C and PI3K/AKT pathway caused by miR-146b-3p triggers suppression of myoblast proliferation and differentiation and promotion of apoptosis[J]. *Cells*, 2019, 8(7):656.
- [14] 沙杰,范理宏. miRNA-146b-3p 在早期非小细胞肺癌中的诊断价值[J].同济大学学报(医学版),2018,39(2):73-78.
- [15] RANI S, GATELY K, CROWN J, et al. Global analysis of serum microRNAs as potential biomarkers for lung adenocarcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(12):1104-1112.
- [16] SHAN X, ZHANG L, ZHU D X, et al. Serum microRNA expression profiling revealing potential diagnostic biomarkers for lung adenocarcinoma[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(21):2532-2542.
- [17] LI Q, WANG Y, HE J. MiR-133a-3p attenuates resistance of non-small cell lung cancer cells to gefitinib by targeting SPAG5[J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(7):e23853.
- [18] 兰超,史晓朋,郭楠楠,等.血清 miR-155-5p 和 miR-133a-3p 对脓毒症诊断及预后的评估价值[J].中华危重病急救医学,2016,28(8):694-698.
- [19] ZHANG F Y, YANG N, RAO Y F, et al. Profiling of miRNAs in neonatal cloned bovines with collapsed lungs and respiratory distress[J]. *Reprod Domest Anim*, 2018, 53(2):550-555.

(收稿日期:2023-01-19 修回日期:2023-05-17)