

• 短篇论著 •

miRNA-574-5p 和 HMGB1 在急性呼吸窘迫综合征中的临床意义*

段松堂¹, 卢 威¹, 喻 巍¹, 左姗姗^{2△}

1. 长江航运总医院重症监护室, 湖北武汉 430040; 2. 河北医科大学

第一医院重症二科, 河北石家庄 050000

摘要:目的 探讨急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者血清中微小 RNA-574-5p(miR-574-5p)和高迁移率蛋白 1(HMGB1)水平在 ARDS 中的临床意义。方法 选取 2017 年 6 月至 2018 年 6 月长江航运总医院收治的 94 例 ARDS 患者作为观察组, 同期体检的 65 例体检健康者作为对照组。根据相关标准将 ARDS 患者分为轻症组 38 例, 中症组 29 例, 重症组 27 例。检测各组 miRNA-574-5p、HMGB1 水平; 分析血清 miR-574-5p、HMGB1 水平与急性生理学与慢性健康状况评分 II (APACHE II) 评分的相关性; 采用多因素 Cox 回归分析影响 ARDS 患者生存的因素。结果 与对照组比较, 观察组血清 miRNA-574-5p、HMGB1 水平升高($P < 0.05$); 重症组 miRNA-574-5p、HMGB1 水平高于轻、中症组($P < 0.05$); 血清 miRNA-574-5p、HMGB1 水平与 APACHE II 评分呈正相关($P < 0.05$); APACHE II 评分及 miR-574-5p、HMGB1 水平可作为影响 ARDS 患者生存的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 miR-574-5p、HMGB1 与 ARDS 的病情严重程度和预后密切相关, 具有作为新的治疗靶点的潜力。

关键词:急性呼吸窘迫综合征; 微小 RNA-574-5p; 高迁移率蛋白 1; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.24.023

中图法分类号:R563.8

文章编号:1673-4130(2023)24-3059-04

文献标志码:A

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)以急性炎症肺损伤和低氧性呼吸衰竭为特征, 随着肺部对局部炎症或全身炎症刺激产生的过度免疫反应而发展, 影响全球大约 10% 的重症监护室成人患者, 其住院病死率达到 40%^[1-2]。当前需要寻找新的生物标志物为预防和治疗 ARDS 提供潜在的治疗靶点。微小 RNA(miRNA)是长度为 18~24 个核苷酸的小型非编码 RNA, 通过抑制目标 mRNA 翻译或通过靶向互补 mRNA 进行早期降解来调节基因表达^[3]。miRNA 被证明参与各种炎症疾病状态, 可能在 ARDS 的病理生理过程中发挥作用, 可能是有吸引力的靶向治疗候选物^[4]。miR-574-5p 据报道在多种疾病中发挥作用, 如冠心病、肝细胞癌等^[5-6]。高迁移率蛋白 1(HMGB1)是典型的 DNA 结合核蛋白, 介导感染和组织损伤中的炎症, 在 ARDS 中大量释放^[7]。据研究报道, HMGB1 水平与重症肺炎并发 ARDS、脓毒症合并 ARDS 等炎症疾病密切相关^[8-9]。上述研究提示 miR-574-5p、HMGB1 可能在 ARDS 的病理过程中具有重要的作用。本研究检测了 ARDS 患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平, 旨在探讨其在 ARDS 中的意义, 为制订新的 ARDS 治疗策略提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 6 月至 2018 年 6 月长

江航运总医院收治的 94 例 ARDS 患者作为观察组, 其中男 53 例、女 41 例, 平均年龄(44.65 ± 11.76)岁, 平均体重指数(22.87 ± 2.19)kg/m², 吸烟 32 例, 急性生理学与慢性健康状况评分 II (APACHE II) 评分(21.62 ± 7.15)分, 依据相关标准将 ARDS 患者分为: 轻症组 38 例, 血氧分压(PaO₂)/吸入气中的氧浓度分数(FiO₂) 在 201~300 mmHg; 中症组 29 例, PaO₂/FiO₂ 在 101~<201 mmHg; 重症组 27 例, PaO₂/FPiO₂ < 101 mmHg^[10]。纳入标准: 所有患者符合 ARDS 诊断标准^[10]且均为第一次确诊, 住院时间 ≥ 1 周, 年龄在 18 周岁以上, 心肺功能正常, 临床资料齐全, 签署知情同意书。排除标准: 合并严重感染性疾病、肿瘤或其他疾病的患者。另纳入同期于长江航运总医院体检的 65 例体检健康者作为对照组, 其中男 38 例、女 27 例, 平均年龄(43.24 ± 12.60)岁, 平均体重指数(23.06 ± 2.05)kg/m², 吸烟 14 例。两组性别、年龄等比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。所有受试者均签署了知情同意书。本研究获得医院伦理委员机构的批准(批准号: 20170425)。

1.2 方法 收集观察组入院 24 h 内及对照组体检当天的空腹肘静脉血 5 mL, 在 4℃ 条件下进行离心 10 min, 转速为 3 000 r/min。收集上层血清, 分装到离心管并转移至 -80℃ 冰箱保存待测。

* 基金项目: 武汉市卫生健康委员会科研项目(WX18A13)。

△ 通信作者, E-mail: 704589547@qq.com。

1.3 观察指标 采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)检测血清 miR-574-5p。根据试剂盒的说明书,使用 Trizol 试剂(货号:10296028,购于赛默飞世尔科技有限公司)提取血清总 RNA。使用 NanoDrop ND-1000 分光光度计(购于北京凯乐博科技发展有限公司)检测总 RNA 浓度和纯度。检测合格的 RNA 样品,使用 promega 逆转录试剂盒(货号:A3500,购于上海联硕生物科技有限公司)将其逆转录为 cDNA。将获得的 cDNA 按照 TB Green® Premix Ex Taq II

Kit(货号:RR820A,购于日本 TaKaRa 公司)试剂盒说明书,在 ABI7500 荧光定量系统上通过 qRT-PCR 进行表达分析,反应条件为 95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 5 s 40 个循环,60 ℃退火 34 s。引物序列见表 1,干粉由上海生工公司合成。以 U6 为内参基因,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 miR-574-5p 的相对表达水平。采用 HMGB1 酶联免疫吸附试验试剂盒(货号:YM-QP11257,购于上海远慕生物科技有限公司)检测血清 HMGB1 水平,具体操作参照试剂盒说明书。

表 1 引物序列

引物名称	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
miR-574-5p	GGGGTGAGTGTGTGTG	TGCGTGTGCTGGAGTC
U6	AGAGCCTGTGGTGTCCG	CATCTTCAAAGCACTTCCCT

1.4 随访 从患者入院第二天开始进行追踪随访,记入院 28 d 的生存状况。

1.5 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理和分析。呈正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用独立样本 *t* 检验,多组比较采用单因素方差分析,并用 SNK-*q* 检验进行组间两两比较;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 相关分析观察组血清 miR-574-5p、HMGB1 水平与 APACHE II 评分的相关性;采用 Pearson 相关分析观察组血清 miR-574-5p 与 HMGB1 水平的相关性;采用 Cox 回归分析影响 ARDS 患者生存的因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 观察组和对照组血清 miR-574-5p、HMGB1 水平比较 与对照组比较,观察组血清 miR-574-5p 和 HMGB1 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

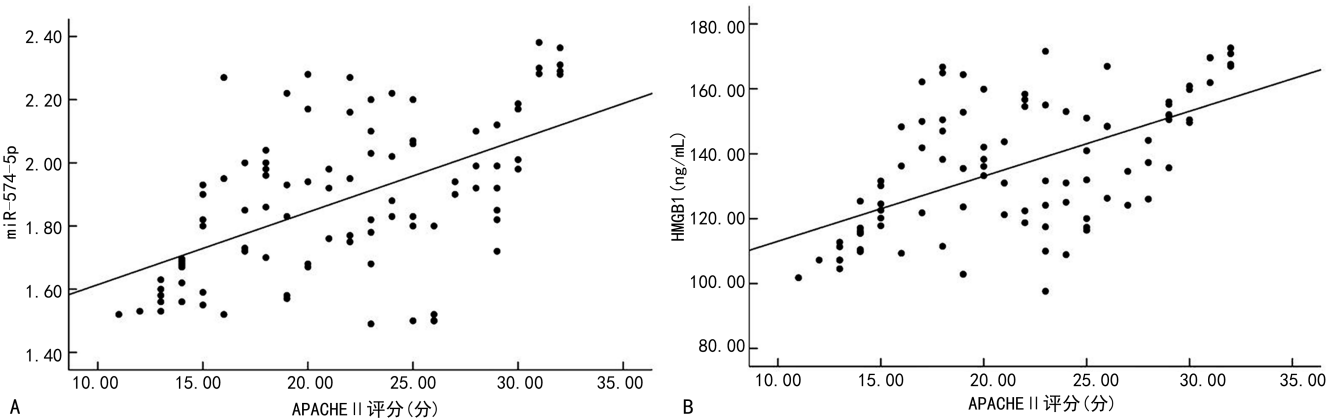
2.2 不同病情严重程度患者血清 miR-574-5p、

HMGB1 水平比较 不同病情严重程度患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);中症组患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平高于轻症组,且重症组高于中症组($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 观察组和对照组血清 miR-574-5p、HMGB1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-574-5p	HMGB1(ng/mL)
观察组	94	1.83±0.31	135.96±27.89
对照组	65	1.02±0.11	18.25±3.43
<i>t</i>		20.189	33.818
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.3 观察组血清 miR-574-5p、HMGB1 水平与 A-PACHE II 评分的相关性分析 观察组血清 miR-574-5p、HMGB1 水平与 APACHE II 评分呈正相关($r = 0.529, P < 0.001; r = 0.583, < 0.001$),见图 1。



注:A 为 miR-574-5p 与 APACHE II 评分的相关性;B 为 HMGB1 水平与 APACHE II 评分的相关性。

图 1 血清 miR-574-5p、HMGB1 水平与 APACHE II 评分相关性的散点图

2.4 观察组血清 miR-574-5p 水平与 HMGB1 的相关性分析 观察组血清 miR-574-5p 水平与 HMGB1 呈正相关($r=0.422, P<0.001$),见图 2。

表 3 不同病情严重程度患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	miR-574-5p	HMGB1(ng/mL)
轻症组	38	1.70±0.22	123.95±25.04
中症组	29	1.84±0.28 ^a	137.38±25.89 ^a
重症组	27	2.00±0.36 ^{ab}	151.33±26.63 ^{ab}
<i>F</i>		8.817	8.977
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与轻症组比较,^a $P<0.05$;与中症组比较,^b $P<0.05$ 。

2.5 不同预后患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平及 APACHE II 评分比较 根据 28 d 随访结果,可将 ARDS 患者划分为生存组(59 例)和死亡组(35 例),生存组患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平及 A-PACHE II 评分均低于死亡组($P<0.05$),见表 4。

2.6 多因素 Cox 回归分析 ARDS 患者生存的影响因素 多因素 Cox 回归分析结果显示,APACHE II 评分及血清 miR-574-5p、HMGB1 水平均为影响 ARDS

患者生存的独立危险因素($P<0.05$),见表 5。

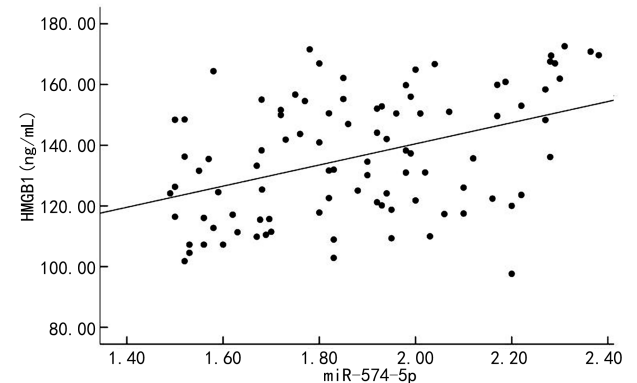


图 2 血清 miR-574-5p 水平与 HMGB1 相关性的散点图

表 4 不同预后患者血清 miR-574-5p、HMGB1 水平及 APACHE II 评分比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	miR-574-5p	HMGB1(ng/mL)	APACHE II 评分(分)
生存组	59	1.66±0.53	131.80±20.08	17.33±5.96
死亡组	35	2.11±0.67	142.97±20.63	28.85±3.10
<i>t</i>		3.601	2.581	10.600
<i>P</i>		0.001	0.011	<0.001

表 5 多因素 Cox 回归分析 ARDS 患者生存的影响因素						
项目	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>P</i>	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>
APACHE II 评分	0.352	0.108	10.627	0.001	1.422	1.148~1.762
miR-574-5p	0.779	0.354	4.842	0.032	2.178	1.038~4.572
HMGB1	0.399	0.127	9.893	0.002	1.491	1.206~1.843

3 讨 论

在过去的 50 年里,临床工作者对 ARDS 的流行病学、病理生理学和发病机制有了更多的了解,从而制订了新的治疗策略,明显提高了 ARDS 患者的生存率。然而,重症 ARDS 的病死率仍居高不下,因此早期评估 ARDS 的危险分层和优化管理对于改善预后至关重要。

据报道,miRNA 的表达失调严重影响了 ARDS 患者的病情发展和预后^[11]。miR-574-5p 位于人类 4 号染色体上,在多种疾病中发生变化。研究发现,miR-574-5p 在宫颈癌患者的血清中高表达,作为促癌基因参与了肿瘤的发生发展^[12]。杨晓伟等^[5]报道,miR-574-5p 在冠心病患者的血清和平滑肌细胞中表达上调,可能是潜在的诊断生物标志物。本研究结果显示,ARDS 患者血清中 miR-574-5p 水平升高,与杨晓伟等^[5]研究报道的结果类似,提示 miR-574-5p 的表达可能与 ARDS 的发生相关。进一步研究发现,miR-574-5p 水平随着病情严重程度加重逐渐升高,并且与 APACHE II 评分呈正相关,APACHE II 评分越

高,则患者病情越重,是评估 ARDS 危重症患者预后的重要参照依据,说明 miR-574-5p 的表达可能与 ARDS 的严重程度有关。死亡组 miR-574-5p 水平明显高于生存组,结果表明,miR-574-5p 可能与 ARDS 患者的预后有关。以上结果表明 miR-574-5p 有作为 ARDS 患者病情评估和预后预测的潜力。

血清 HMGB1 作为一种炎症介质,可加重炎症损伤从而诱发 ARDS 或致死性炎症反应^[13]。既往报道表明,HMGB1 水平升高与多种疾病相关,能反映炎症和组织损伤的严重程度,可作为生物标志物来预测疾病进展。郭小芙等^[14]发现,脓毒症合并 ARDS 患者血清中 HMGB1 水平升高,是脓毒症患者并发 ARDS 的危险因素之一,能作为早期预测 ARDS 的参考指标。另一项研究也报道了血浆 HMGB1 水平升高与 ARDS 患者的病情严重程度和预后有关^[15]。本研究与上述研究结果类似,HMGB1 水平在 ARDS 患者血清中升高,且随着水平的升高,病情严重程度逐渐加重,死亡组患者 HMGB1 水平高于生存组,相关性分析结果表明,HMGB1 水平与 APACHE II 评分

呈正相关,提示血清 HMGB1 水平有助于评估 ARDS 的病情发展和预后。

动物模型研究证实,miR-574-5p 可以通过靶向 HMGB1 缓解 ARDS,然而 HMGB1 的过表达能够逆转 miR-574-5p 的抗炎作用^[16]。ARDS 患者血清 miR-574-5p 水平与 HMGB1 呈正相关,分析其原因,miR-574-5p 水平升高可能为机体的代偿性适应,但 miR-574-5p 对 HMGB1 的靶向抑制作用不及疾病诱发 HMGB1 表达的作用,进而导致二者水平均升高,但二者也可能存在靶向关系。miR-574-5p 和 HMGB1 被认为是评估脓毒症患者预后的独立因素^[17-18]。多因素 Cox 回归分析表明,APACHE II 评分及 miR-574-5p、HMGB1 水平均为影响 ARDS 患者生存的独立危险因素,提示血清 miR-574-5p 和 HMGB1 可能作为评估 ARDS 患者预后的分子标志物,且二者呈正相关,该结果可能为 ARDS 的治疗提供新的见解。

综上所述,ARDS 患者血清 miR-574-5p、HMGB1 与 ARDS 的病情严重程度和预后密切相关,具有作为新的治疗靶点的潜力,对于临床优化治疗和改善预后具有重要的意义。但本研究仍有缺陷,如 miR-574-5p 是否可通过靶向 HMGB1 影响 ARDS 的病情进展仍不明确,需要在未来的研究中补充基础实验进行说明。

参考文献

[1] KASOTAKIS G, STANFIELD B, HAINES K, et al. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) after trauma: improving incidence, but increasing mortality[J]. J Crit Care, 2021, 64: 213-218.

[2] SCHWEDE M, LEE R Y, ZHUO H, et al. Clinician recognition of the acute respiratory distress syndrome: risk factors for under-recognition and trends over time[J]. Crit Care Med, 2020, 48(6): 830-837.

[3] O'BRIEN J, HAYDER H, ZAYED Y, et al. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 402-414.

[4] LEE L K, MEDZIKOVIC L, EGHBALI M, et al. The role of microRNAs in acute respiratory distress syndrome and sepsis, from targets to therapies: a narrative review[J]. Anesth Analg, 2020, 131(5): 1471-1484.

[5] 杨晓伟, 张拓伟, 闫泱锦. MicroRNA-574-5p 对冠状动脉

平滑肌细胞生长的影响及其调控机制[J]. 川北医学院学报, 2019, 34(2): 174-177.

[6] 李乾, 郭清皓. 肝细胞癌中 miR-574-5p 的表达与作用及其与预后的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(8): 926-933.

[7] 舒小懿, 范绍辉, 徐宇, 等. 高迁移率族蛋白 B1 在 ARDS 中的释放机制研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(7): 889-893.

[8] 李成, 何浩, 夏凤强, 等. 外周血炎症因子水平与重症肺炎并发急性呼吸窘迫综合征相关性分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2021, 24(1): 67-71.

[9] 梁希泉, 陈尚华, 刘琴. 血清高迁移率族蛋白 B1 检测在脓毒症合并 ARDS 患者中的临床监测效果研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(6): 659-662.

[10] RANIERI V M, RUBENFELDG D, THOMPSON B T, et al. Acute respiratory distress syndrome: the berlin definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533.

[11] 郝金香, 许俊旭, 梁勇, 等. miR-122 联合 APACHE II 评分对 ARDS 患者预后的评估价值[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(6): 694-698.

[12] 黄美园, 杨珍玉, 邓爽, 等. 宫颈癌患者血清 miR-574-5p 和 miR-497-5p 表达的临床意义[J]. 现代医学, 2021, 49(4): 377-384.

[13] QU L, CHEN C, CHEN Y, et al. High-mobility group box 1 (HMGB1) and autophagy in acute lung injury (ALI): a review[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 1828-1837.

[14] 郭小英, 席与斌, 陈刚. 血清 HMGB1、ESM-1 水平对脓毒症并发 ARDS 的预测价值[J]. 山东医药, 2020, 60(31): 28-31.

[15] 郝金香, 许俊旭, 梁勇, 等. 血浆炎症因子水平与急性呼吸窘迫综合征患者病情及预后的关系[J]. 心肺血管病杂志, 2020, 39(7): 799-803.

[16] HE B, ZHOU W, RUI Y, et al. MicroRNA-574-5p attenuates acute respiratory distress syndrome by targeting HMGB1[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2021, 64(2): 196-207.

[17] XU C, CHONG L, YU G, et al. MiR-574-5p alleviates sepsis-induced acute lung injury by regulating TRAF6/NF-κB pathway[J]. Trop J Pharm Res, 2020, 19(4): 676-682.

[18] 陈艳青, 黄潇, 孔桂青, 等. HMGB1 和 vWF 等细胞因子对脓毒症患者病情严重程度及预后评估的意义[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(8): 933-937.