

# 新生儿急性呼吸窘迫综合征患者血清 miR-183-5p 的表达及与 IL-1 $\beta$ , IL-6 和 TNF- $\alpha$ 水平的相关性

宋婷阁, 张鹏举, 耿彪, 姚伟莉 (保定市第二中心医院检验科, 河北涿州 072750)

**摘要:** **目的** 探讨新生儿急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 患者血清 miR-183-5p 的表达及其与白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的相关性。**方法** 选取保定市第二中心医院收治的 87 例 ARDS 新生儿为研究对象。根据 ARDS 患儿出院时生存情况分为生存组 ( $n=68$ ) 和死亡组 ( $n=24$ )。按照新生儿危重评分结果分为非危重组 ( $n=53$ ,  $>90$  分)、危重组 ( $n=24$ ,  $70 \sim 90$  分)、极危重组 ( $n=15$ ,  $<70$  分), 比较各组血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平差异。ARDS 患儿 miR-183-5p 与 IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  的相关性采用 Pearson 相关分析。**结果** 与生存组比较, 死亡组血清 miR-183-5p ( $2.15 \pm 0.94$  vs  $0.96 \pm 0.38$ ), IL-1 $\beta$  ( $168.20 \pm 30.62$  vs  $110.25 \pm 19.30$ , pg/mL), IL-6 ( $217.28 \pm 44.27$  vs  $151.30 \pm 32.46$ , pg/mL) 及 TNF- $\alpha$  ( $81.16 \pm 19.24$  vs  $48.27 \pm 14.30$ , pg/mL) 水平均明显升高 ( $P<0.001$ )。随着病情加重 ARDS 患儿血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平逐渐升高, 极危重组  $>$  危重组  $>$  非危重组 ( $P<0.001$ )。相关分析显示, ARDS 患儿血清 miR-183-5p 表达水平与 IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  均呈正相关 ( $P<0.001$ )。**结论** ARDS 患儿血清 miR-183-5p 高表达与 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  水平及病情严重程度相关, 可能是预测 ARDS 患儿病情严重程度的生物学指标。

**关键词:** 急性呼吸窘迫综合征; 新生儿; miR-183-5p; 白细胞介素-1 $\beta$ ; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- $\alpha$   
**中图分类号:** R722.12; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 05-055-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.012

## Expression of Serum miR-183-5p in Patients with Neonatal Acute Respiratory Distress Syndrome and Its Correlation with IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$

SONG Ting-ge, ZHANG Peng-ju, GENG Biao, YAO Wei-li

(Department of Clinical Laboratory, the Second Central Hospital of Baoding, Hebei Zhuozhou 072750, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of serum miR-183-5p in patients with neonatal acute respiratory distress syndrome (ARDS) and its correlation with interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). **Methods** The 87 newborns with ARDS admitted to the Second Central Hospital of Baoding City were selected as the research objects. According to the survival status of ARDS children, they were divided into survival group ( $n=68$ ) and death group ( $n=24$ ). According to NCIS score, they were divided into non critical group ( $n=53$ ,  $>90$  score), critical group ( $n=24$ ,  $70 \sim 90$  score), and extremely critical group ( $n=15$ ,  $<70$  score). The serum levels of miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  were compared in each group. Pearson correlation analysis were used to analyze the correlation between miR-183-5p and IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in children with ARDS. **Results** Compared with the survival group, the serum levels of miR-183-5p ( $2.15 \pm 0.94$  vs  $0.96 \pm 0.38$ ), IL-1 $\beta$  ( $168.20 \pm 30.62$  pg/ml vs  $110.25 \pm 19.30$  pg/ml), IL-6 ( $217.28 \pm 44.27$  pg/ml vs  $151.30 \pm 32.46$  pg/ml) and TNF- $\alpha$  ( $81.16 \pm 19.24$  pg/ml vs  $48.27 \pm 14.30$  pg/ml) were significantly increased in the death group ( $P<0.001$ ). The levels of serum miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  increased gradually with the aggravation of ARDS, and the most dangerous recombinant  $>$  dangerous recombinant  $>$  non dangerous recombinant ( $P<0.001$ ). Correlation analysis showed that serum miR-183-5p expression level were positively correlated with IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in ARDS children ( $P<0.001$ ). **Conclusion** The high expression of serum miR-183-5p in children with ARDS were related to the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and the severity of the disease, which may be a biological indicator to predict the severity of the disease in children with ARDS.

**Keywords:** acute respiratory distress syndrome; newborn; miR-183-5p; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-6; tumor necrosis factor- $\alpha$

新生儿急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是一种严重威胁新生儿生命的呼吸危重症, 病情进展快、死亡率较高<sup>[1-2]</sup>。近年来的研究发现, 微小核糖核酸-183-5p

(microRNA-183-5p, miR-183-5p) 在 ARDS 的细胞增殖、免疫应答、炎症和凋亡中起重要作用, 可能与 ARDS 的治疗作用有关<sup>[3]</sup>。白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6 (interleukin-6,

IL-8) 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumornecrosisfactors- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 是参与机体炎症反应的重要炎症因子, 在 ARDS 的发生、发展和预后中起到关键作用<sup>[4-6]</sup>。本研究分析 ARDS 患儿血清 miR-183-5p 表达水平与 ARDS 患儿病情严重程度的关系, 并分析其与 IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  的相关性, 以期了解 ARDS 的发病机制提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取保定市第二中心医院 2017 年 1 月~2019 年 12 月收治的 ARDS 患儿 87 例, 其中男性 56 例, 女性 31 例, 胎龄 34~42 (37.75 $\pm$ 1.40) 周。纳入患儿标准符合《新生儿急性呼吸窘迫综合征蒙特勒(2017 年版)》<sup>[7]</sup>; 排除原发性肺泡表面活性物质缺乏、先天性心脏病、先天性代谢紊乱者。

1.2 仪器与试剂 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司); IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  试剂由美国 Genzyme 公司提供。

1.3 方法 根据 ARDS 患儿 28 天的生存情况, 将患儿分为生存组 65 例和死亡组 22 例。应用国内新生儿危重评分对 ARDS 患儿进行评分, 根据评分结果分为非危重组(分值 $>90$ 分)51 例、危重组(70~90 分)22 例和极危重组( $<70$ 分)14 例。采集 ARDS 患儿的空腹静脉血 5ml, 分离血清后于  $-80^{\circ}\text{C}$  低温冰箱保存待测。miR-183-5p 采用实时荧光定量聚合酶链反应检测, 反应体系为 20  $\mu\text{l}$ : 引物及探针 Mix (20 $\times$ ) 1  $\mu\text{l}$ , TaqMan 通用混合物溶液 (2 $\times$ ) 10  $\mu\text{l}$ , 反转录产物 cDNA 1.33  $\mu\text{l}$ , 无核酸酶的水 7.67  $\mu\text{l}$ 。扩增条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 10min, 95 $^{\circ}\text{C}$  变

性 15s, 60 $^{\circ}\text{C}$  复性 60s, 进行 45 个循环。miR-183-5p 表达水平采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算。另采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定 IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平。

1.4 统计学分析 SPSS20.0 统计软件, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 多组间比较采用方差分析, 组间比较采用  $t$  检验。相关性分析采用 Pearson 分析。  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 死亡组和生存组血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较 见表 1。死亡组血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平均明显高于生存组, 差异均有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 1 死亡组和生存组血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

项目	生存组 ( $n=65$ )	死亡组 ( $n=22$ )	$t$	$P$
miR-183-5p	0.96 $\pm$ 0.38	2.15 $\pm$ 0.94	16.915	<0.001
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	110.25 $\pm$ 19.30	168.20 $\pm$ 30.62	12.180	<0.001
IL-6 (pg/ml)	151.30 $\pm$ 32.46	217.28 $\pm$ 44.27	10.375	<0.001
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	48.27 $\pm$ 14.30	81.16 $\pm$ 19.24	9.820	<0.001

2.2 不同严重程度 ARDS 患儿血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较 见表 2。与危重组和非危重组比较, 极危重组血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平均明显升高 (均  $P<0.05$ ), 且危重组血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平均明显高于非危重组, 差异有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 2 不同严重程度 ARDS 患儿血清 miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

项目	非危重组 ( $n=51$ )	危重组 ( $n=22$ )	极危重组 ( $n=14$ )	$F$	$P$
miR-183-5p	0.72 $\pm$ 0.24	1.63 $\pm$ 0.61	2.24 $\pm$ 0.97	13.826	<0.001
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	98.64 $\pm$ 14.37	140.15 $\pm$ 24.83	188.50 $\pm$ 35.25	10.115	<0.001
IL-6 (pg/ml)	132.40 $\pm$ 23.14	184.62 $\pm$ 37.12	232.65 $\pm$ 52.18	8.637	<0.001
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	38.12 $\pm$ 10.73	70.24 $\pm$ 16.92	94.30 $\pm$ 22.48	6.902	<0.001

2.3 血清 miR-183-5p 表达水平与 IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  的相关性分析 见图 1。相关分析显示, ARDS 患儿血清 miR-183-5p 表达水平与 IL-1 $\beta$ ,

IL-6 及 TNF- $\alpha$  均呈正相关 ( $r=0.773, 0.714, 0.628$ , 均  $P<0.001$ )。

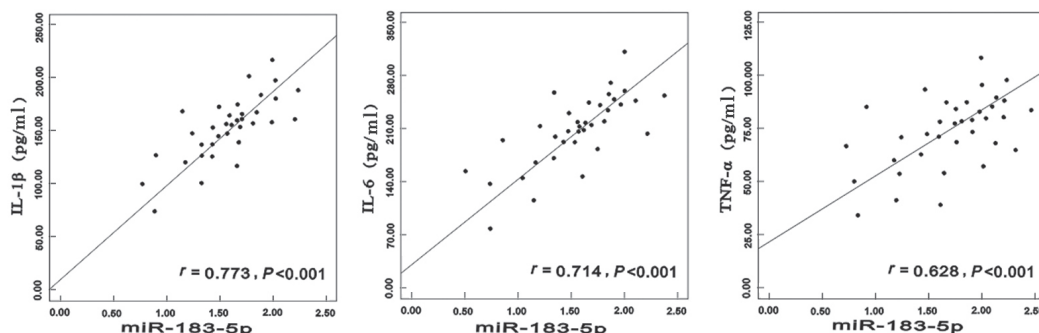


图 1 血清 miR-183-5p 表达水平与 IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  的相关性

### 3 讨论

机体炎症反应在ARDS发生发展中扮演着重要角色,其中IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 是反映机体炎症反应及炎症损伤的细胞因子,可能参与ARDS的发病过程<sup>[8-10]</sup>。研究表明,ARDS发生与IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 异常表达有关,其参与ARDS的炎症损伤过程,并有望作为ARDS诊断的辅助指标<sup>[11-13]</sup>。亦有研究指出,ARDS患者存在miRNA异常,其参与ARDS的炎症反应,可能为ARDS诊断及靶向治疗提供新的思路<sup>[14-16]</sup>。

本研究显示,与生存组比较,死亡组血清miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 水平均明显升高,且随着ARDS患儿的病情加重,血清miR-183-5p, IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 水平均逐渐升高。提示miR-183-5p的高表达与ARDS患儿的病情进展相关。既往研究也发现,血清miRNA水平在ARDS患儿中升高,其高表达与ARDS患儿的病情进展及预后有关<sup>[17]</sup>。王来成<sup>[18]</sup>研究表明,血清IL-1 $\beta$ 及IL-6水平在ARDS患儿中明显升高,且与患儿病情进展相关,两项联合检测有助于评估ARDS患儿的病情严重程度。杜晓华等<sup>[19]</sup>研究认为,IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 参与ARDS患者病情进展及预后,是评估患者的治疗效果和死亡风险的有效指标。本研究ARDS患儿血清miR-183-5p水平与IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 呈正相关,提示miR-183-5p的高表达可能促进炎症因子IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 释放,共同参与新生儿ARDS的发生发展,为ARDS患儿的靶向治疗提供新的方向。LI等<sup>[20]</sup>研究发现,miRNA在ARDS患者中呈高表达,参与了ARDS的发生发展,并且与炎症因子IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 呈正相关,可为临床上ARDS的治疗提供新的靶点。

综上所述,ARDS患儿血清miR-183-5p高表达与IL-1 $\beta$ , IL-6及TNF- $\alpha$ 水平及病情严重程度相关,可能是预测ARDS患儿病情严重程度的生物学指标,同时为新生儿ARDS的临床治疗提供新的思路和依据。

#### 参考文献:

- [1] DE LUCA D, VAN KAAM A H, TINGAY D G, et al. The montreux definition of neonatal ARDS: biological and clinical background behind the description of a new entity[J]. The Lancet Respiratory Medicine, 2017, 5(8): 657-666.
- [2] SWEET D G, CARNIELLI V, GREISEN G, et al. European consensus guidelines on the management of respiratory distress syndrome-2019 update[J]. Neonatology, 2019, 115(4): 432-450.
- [3] PARK J, JEONG S, PARK K, et al. Expression profile of microRNAs following bone marrow-derived mesenchymal stem cell treatment in lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 15(6): 5495-5502.
- [4] BIME C, CASANOVA N, OITA R C, et al. Development of a biomarker mortality risk model in acute respiratory distress syndrome[J]. Critical Care (London, England), 2019, 23(1): 410.
- [5] 梁家宁,周倩倩,张天相,等.TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 在急性呼吸窘迫综合征小鼠肺组织表达的变化及评价[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33 (2): 159-163. LIANG Jianing, ZHOU Qianqian, ZHANG Tianxiang, et al. Changes and role evaluation of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in lung tissues of ARDS mice [J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2017, 33 (2): 159-163.
- [6] VOIRIOT G, RAZAZI K, AMSELLEM V, et al. Interleukin-6 displays lung anti-inflammatory properties and exerts protective hemodynamic effects in a double-hit murine acute lung injury[J]. Respiratory Research, 2017, 18(1): 64.
- [7] 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. The Chinese Neonatologist Association. The Montreux definition of neonatal acute respiratory distress syndrome (2017)[J]. Chin J Appl Clin Pediatr, 2017, 32(19): 1456-1458.
- [8] ZHANG Yadan, SONG Lijuan, PAN Ruiyan, et al. Hydroxysafflor yellow A alleviates Lipopolysaccharide-Induced acute respiratory distress syndrome in mice[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2017, 40(2): 135-144.
- [9] QIN Mengting, QIU Zhongpeng. Changes in TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 and VEGF in rats with ARDS and the effects of dexamethasone[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2019, 17(1): 383-387.
- [10] HUI Liangliang, ZHANG Xiangcheng, AN Xusheng, et al. Higher serum procalcitonin and IL-6 levels predict worse diagnosis for acute respiratory distress syndrome patients with multiple organ dysfunction[J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2017, 10(7): 7401-7407.
- [11] 万娟,曾洪琳,钟晓梅. 新生儿呼吸窘迫综合征血清IL-6, TNF- $\alpha$ 及Th1/Th2水平变化及其临床意义[J]. 实用医院临床杂志, 2019, 16 (2): 147-150. WAN Juan, ZENG Honglin, ZHONG Xiaomei. The changes of serum IL-6, TNF- $\alpha$  and Th1/Th2 in neonates with NRDS and their clinical significance [J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2019, 16 (2): 147-150.
- [12] HUANG Shuran, MA Aiyang, LIU Yuan, et al. Effects of inflammatory factors including plasma tumor necrosis factor- $\alpha$  in the clinical treatment of acute respiratory distress syndrome[J]. Oncology Letters, 2017, 13(6): 5016-5020.
- [13] ARNALDEZ F I, O'DAY S J, DRAKE C G, et al. The society for immunotherapy of cancer perspective on regulation of interleukin-6 signaling in COVID-19-related systemic inflammatory response[J]. Journal for Immunotherapy of Cancer, 2020, 8(1): e000930.