

## 慢性阻塞性肺疾病患者 miR-21 表达与 IL-12 水平关系探讨\*

岳金芳<sup>a</sup>, 帕提古丽·吾甫尔<sup>b</sup>

(新疆喀什地区第一人民医院 a. 重症医学一科; b. 普内科, 新疆喀什 844000)

**摘要:**目的 探讨慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者外周血单个核细胞 miR-21 表达和血清 IL-12 水平的关系。方法 选取 COPD 患者共 80 例, 对照组 50 例为健康人群, 通过实时荧光定量 PCR 检测外周血单个核细胞 miR-21 表达, 酶联免疫吸附法检测血清 IL-12 水平。结果 COPD 稳定期组、急性期组和对照组间血糖、胆固醇和三酰甘油水平差异均无统计学意义( $F=0.341\sim1.542$ , 均  $P>0.05$ ), 而 miR-21 表达和 IL-12 水平比较差异有统计学意义( $F=8.951\sim15.017$ , 均  $P<0.05$ )。COPD 稳定期组和急性期组 miR-21 表达和 IL-12 水平均比对照组高, 差异有统计学意义( $t=10.501\sim25.612$ , 均  $P<0.05$ )。COPD 急性期组比稳定期组 miR-21 表达和 IL-12 水平高, 且差异有统计学意义( $t=13.298\sim36.415$ , 均  $P<0.05$ )。IL-12 和 miR-21 存在显著的正相关( $r=0.381\sim0.496$ , 均  $P<0.05$ )。结论 miR-21 可能参与调控 IL-12 的水平, miR-21 表达与 COPD 的发病机制相关。

**关键词:** miR-21; IL-12; 慢性阻塞性肺疾病

中图分类号: R563; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)03-153-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.043

## Discussion on the Relationship of the miR-21 Expression and IL-12 Level in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

YUE Jin-fang<sup>a</sup>, PATIGULI · Wufuer<sup>b</sup> (a. Intensive Medical Department;

b. Internal Medicine the First People's Hospital of Kashi, Xinjiang Kashi 844000, China)

**Abstract:** **Objective** To discuss the relationship of miR-21 expression and IL-12 level in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Methods** Chosed 80 patients with suspected chronic obstructive pulmonary disease(COPD) and 50 cases as control group. Real-time RT-PCR was performed to determine the expression levels of miR-21 of peripheral blood mononuclear cells of three groups. To detect IL-12 level by ELISA method. **Results** There were no statistical difference among GLU, TC and TG level among stable phage, acute phage of COPD and control group( $F=0.341\sim1.542$ ,  $P>0.05$ ). However miR-21 expression and IL-12 level had statistical difference ( $F=8.951\sim15.017$ ,  $P<0.05$ ). The expression levels of miR-21 of peripheral blood mononuclear cells of acute phage group were apparently higher than stable phage, health group( $P<0.05$ ). The concentration of IL-12 in serum of acute COPD group was higher than other two groups( $P<0.05$ ), compared with stable COPD group and health group. IL-12 level was positiveiy related to miR-21 expression ( $r=0.381\sim0.496$ ). **Conclusion** miR-21 may be involved in the regulation of IL-12 expression. miR-21 expression may be closely related to the pathogenesis of COPD.

**Keywords:** miR-21; IL-12; chronic obstructive pulmonary disease

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是气流受阻, 气道通畅受限的炎症反应性疾病。患者常伴有咳嗽、胸闷憋气等不适症状。目前 COPD 的确切病因还不清楚, 临床上急需寻找与其发生发展密切相关的分子靶标。近年来的研究发现循环 miRNA 可能成为肺癌、胃癌和肺结核等疾病的分子标志物<sup>[1]</sup>, 但 miRNA 与 COPD 发病机制的关系研究甚少。miR-21 作为 miRNA 中重要成员之一, 与心脑血管疾病以及肿瘤的发生关系已得到关注。学者们普遍认为炎性介质(IL-12)是引发 COPD 肺部组织炎性反应重要的细胞因子, 同时 IL-12 作为 miR-21 的靶基因, 是否两者在 COPD 发病中存在一定的联系还有待探究。故本研究选取 COPD 不同级

别患者作为研究对象, 检测其外周血单个核细胞 miR-21 表达和血清中 IL-12 水平, 探讨两指标在 COPD 进程中的内在关系和相互作用, 现报道如下。

### 1 材料和方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 3 月~10 月门诊及住院患者 80 例。其中男性 45 例, 女性 35 例, 年龄 45~71 岁, 平均年龄  $62.2\pm5.5$  岁。入选标准符合中华医学会呼吸学分会 COPD 的诊断标准。稳定期 COPD 组 38 例, 其中男性 23 例, 女性 15 例, 年龄 45~66 岁, 平均年龄  $60.5\pm4.2$  岁, 患者咳嗽呼吸平稳, 无心肝肾功能异常。急性期 COPD 组 42 例, 其中男 22 例, 女 20 例, 年龄 55~71 岁, 平

\* 作者简介: 岳金芳(1981-), 女, 主治医师, 主要从事临床重症疾病的诊疗工作。

均年龄  $63.1 \pm 3.2$  岁,患者短期出现咳嗽气促喘息加重。所有患者均排除高血压、糖尿病和冠心病。同时选取 50 例健康体检者作为正常对照组,其中男性 28 例,女性 22 例,年龄 42~70 岁,平均年龄  $61.8 \pm 5.8$  岁。所有研究对象均自愿签署知情同意书。COPD 稳定期组和急性期组及对照组间年龄和性别差异均无统计学意义( $F=1.07 \sim 1.42$ , 均  $P>0.05$ )。

1.2 主要仪器和试剂 实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad),全自动生化分析仪 7600(日本东芝),酶标仪和全自动洗板机(奥地利 TECAN 公司),低温超速离心机(威海仪器厂),RNA 抽提试剂盒(大连宝生物),IL-12 试剂盒、血糖(GLU)试剂、三酰甘油(TG)试剂和胆固醇(TC)试剂(北京万泰生物公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 外周血单个核细胞分离:采用 Percoll 非连续性密度梯度离心法进行单个核细胞的分离。首先一管加入单个核细胞分离液,另一管加入抗凝静脉血,然后试管倾斜让静脉血缓缓加入分离液上层,离心后抽取中间层单个核细胞,提取单个核细胞后移入另一离心管,加入缓冲液反复吹打离心弃上清,获取白色混悬液。

1.3.2 外周血单个核细胞 RNA 提取和 cDNA 逆转录反应:采用 Trizol 总 RNA 提取试剂盒抽提,逆转录反应具体按照试剂说明书进行。

1.3.3 实时定量 PCR:每个样品设复孔,cDNA 2  $\mu$ l,miR-21 和 U6 的上下游引物各 0.4  $\mu$ l。反应条件:95  $^{\circ}$ C 5 min,95  $^{\circ}$ C 30 s,60  $^{\circ}$ C 60 s,40 个循环

4 $^{\circ}$ C。miRNA 的表达水平用相对 U6 的定量分析法  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

1.3.4 酶联免疫吸附法测定 IL-12:采用双抗体夹心法检测,具体按试剂盒操作说明书进行。每个样品设三个加样孔。最后在 596 nm 读取吸光度 A 值。

1.3.5 血糖和三酰甘油及胆固醇指标检测:空腹采集研究对象静脉血,标本离心(转速为 4 000 r/min,离心半径为 15 cm,离心 10 min)后分离上清采用酶法检测三项基础生化指标。

1.4 统计学分析 数据处理用 SPSS10.0 软件。两样本均数比较采用  $t$  检验,多个样本均数比较采用方差分析。相关性采用 Spearman 等级相关分析。

## 2 结果

2.1 各组基础生化指标、miR-21 表达和 IL-12 水平比较 见表 1。COPD 稳定期组、急性期组和对照组间血糖、胆固醇和三酰甘油差异均无统计学意义( $F=0.341 \sim 1.542$ , 均  $P>0.05$ ),而 miR-21 表达和 IL-12 水平比较差异有统计学意义( $F=8.951 \sim 15.017$ , 均  $P<0.05$ )。COPD 稳定期组和急性期组 miR-21 表达和 IL-12 水平均比对照组高,差异有统计学意义( $t=10.501 \sim 25.612$ , 均  $P<0.05$ )。COPD 急性期组比稳定期组 miR-21 表达和 IL-12 水平高,且差异有统计学意义( $t=13.298 \sim 36.415$ , 均  $P<0.05$ )。COPD 稳定期组和急性期组间 GLU,TC 和 TG 指标差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

表 1 各组基础生化指标、miR-21 表达和 IL-12 水平比较

| 组别       | GLU(mmol/L)     | TC(mmol/L)      | TG(mmol/L)      | miR-21( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) | IL-12(pg/ml)    |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------|
| 对照组      | $4.95 \pm 0.21$ | $4.00 \pm 0.21$ | $0.61 \pm 0.21$ | $0.05 \pm 0.01$                   | $4.19 \pm 0.13$ |
| COPD 稳定期 | $5.03 \pm 0.22$ | $4.05 \pm 0.18$ | $1.00 \pm 0.19$ | $0.16 \pm 0.07$                   | $4.89 \pm 0.25$ |
| COPD 急性期 | $4.95 \pm 0.19$ | $4.06 \pm 0.21$ | $1.02 \pm 0.18$ | $0.25 \pm 0.12$                   | $5.69 \pm 0.37$ |

2.2 COPD 稳定期组和急性期组 IL-12 和 miR-21 指标关联性分析 COPD 稳定期组和急性期组 IL-12 水平和 miR-21 表达均有显著的正相关( $r=0.381 \sim 0.496$ , 均  $P<0.05$ )。

3 讨论 众所周知在 COPD 的慢性炎症过程中淋巴细胞是主要的炎性细胞,IL-12 作为白细胞介素家族重要的成员之一,是重要的淋巴细胞调控因子,其主要生物学功能是促进 T 细胞发育增殖和调节免疫应答<sup>[2]</sup>。本研究发现 COPD 急性期组比稳定期组 IL-12 的水平高,可见 COPD 的肺部病变程度越重促炎性因子的释放越明显。有文献报

道 COPD 局部肺组织病灶的淋巴细胞增殖与肺部炎症反应程度密切相关<sup>[3]</sup>。本研究发现 COPD 患者 IL-12 的水平变化特点也正是反映上述论断。

很多研究已证实在细胞分化、增殖、凋亡和血管再生等生理病理过程中 miRNA 起着非常重要的作用<sup>[4]</sup>。miR 在淋巴细胞的发育和疾病的发病机制中也扮演着重要角色<sup>[3]</sup>。miR-21 作为有调控作用的小 miR 分子,在 IL-12 的 p35 3'区包含一个 miR-21 的结合部位,可见 miR-21 对 IL-12 具有潜在的调控作用<sup>[5]</sup>。本研究的结果发现 COPD 的稳定期组和急性期组患者 miR-21 的表达与 IL-12 水

平具有很好的关联性,即显著的正相关。表明 miR-21 对 IL-12 可能具有调控性,但具体的调控机制有待本研究下一步探究。

总之,本研究数据为进一步探究 COPD 的发病机制提供新思路,为寻求 COPD 分子标志物打下一定基础。

#### 参考文献:

- [1] Sato T, Liu X, Nelson A, et al. Reduced miR-146a increases prostaglandin E2 in chronic obstructive pulmonary disease fibroblasts[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(8): 1020-1029.
  - [2] 郭素娟, 牛莉娜, 牛丽鑫, 等. COPD 急性期患者血清白介素 B 及胱抑素 C 水平与肺功能的关系[J]. 山西医科大学学报, 2014, 45(12): 1177-1179.  
Guo SJ, Niu LN, Niu LX, et al. Relevance of serum interleukin 13 and cystatin C level to lung function in COPD patients at acute stage[J]. J Shanxi Med Univ, 2014, 45(12): 1177-1179.
  - [3] Zhang JG, Wang JJ, Zhao F, et al. Micro RNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer(NSCLC)[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(11/12): 846-852.
  - [4] Tian G, Wang X, Zhang N, et al. Down-regulation of cPLA2 $\gamma$  expression inhibits EGF-induced chemotaxis of human breast cancer cells through Akt pathway[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 409(3): 506-512.
  - [5] Stagakis E, Bertias G, Verginis P, et al. Identification of novel micro RNA signatures linked to human lupus disease activity and pathogenesis: miR-21 regulates aberrant T cell responses through regulation of PD-CD4 expression[J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(8): 1496-1506.
- 收稿日期: 2016-02-23      修回日期: 2016-05-11
- 
- (上接 152 页)
- [1] Foster TJ. The *Staphylococcus aureus* "superbug" [J]. J Clin Invest, 2004, 114(12): 1693-1696.
  - [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[S]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 780.  
Ye YW, Wang YS, Shen ZY. National guide to clinical laboratory procedures [S]. 3th Edition. Nanjing: Southeast University Press, 2006: 780.
  - [3] 吴军华, 季伟, 吕勤. 金黄色葡萄球菌儿童急性呼吸道感染的分布及耐药[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(7): 580-582.  
Wu JH, Ji W, Lu Q. Distribution and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in children with acute respiratory tract infection[J]. China Journal of Contemporary Pediatrics, 2010, 12(7): 580-582.
  - [4] 李明, 吴润转. 我院儿科下呼吸道感染分离的金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 中国医药导报, 2010, 7(26): 63-64.  
Li M, Wu RZ. Analysis of drug resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from children with lower respiratory tract infection in our hospital [J]. China Medical Herald, 2010, 7(26): 63-64.
  - [5] 王恒秋, 张广清. 上呼吸道感染儿童金黄色葡萄球菌和药物敏感试验结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(12): 1386-1387.  
Wang HQ, Zhang GQ. Analysis of *Staphylococcus aureus* and the result of drug sensitivity test in the upper respiratory tract infection in children[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2011, 32(12): 1386-1387.
  - [6] 杨相升, 宁乐平, 彭少华. 下呼吸道感染金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(8): 1008-1010.  
Yang XS, Ning LP, Peng SH. Drug resistance of *Staphylococcus aureus* causing lower respiratory infection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2009, 19(2): 1008-1009.
  - [7] 詹燕华, 周世锋. 儿童下呼吸道感染病原菌分布和药敏分析[J]. 医药前沿, 2012, 2(18): 118-119.  
Zhan YH, Zhou SF. Children with lower respiratory tract infection pathogenic bacteria distribution and drug sensitivity analysis in Maoming area[J]. Journal of Frontiers of Medicine, 2012, 2(18): 118-119.
  - [8] 王群, 高燕, 沈叙庄. 我国儿童耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分离与耐药状况[J]. 华夏医学, 2010, 23(1): 99-101.  
Wang Q, Gao Y, Shen XZ. Isolation and drug resistance status of children in China of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Acta Nosocomi Medicine Sinica, 2010, 23(1): 99-101.
  - [9] 吴建宁, 吴佳音, 黄革玲. 2009~2011 年儿童呼吸道感染金黄色葡萄球菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(15): 3764-3766.  
Wu JN, Wu JY, Hung GL. Drug resistance of *Staphylococcus aureus* causing respiratory tract infections in children from 2009 to 2011[J]. Chin J Nosocomi, 2013, 23(15): 3764-3766.
  - [10] 黄静. 医院呼吸道感染金黄色葡萄球菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(13): 2911-2913.  
Huang J. Drug resistance of *Staphylococcus aureus* causing nosocomial respiratory tract infections[J]. Chinese Journal of Nosocomi, 2012, 22(13): 2911-2913.
  - [11] 王华, 苏宝凤, 苍金荣. 239 株金黄色葡萄球菌的分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(5): 9-10.  
Wang H, Su BF, Cang JR. Analysis of distribution and drug resistance of 239 strains of *Staphylococcus aureus*[J]. J Mod Lab Med, 2012, 27(5): 9-10.
- 收稿日期: 2015-04-05  
修回日期: 2015-08-03