

# 早产儿坏死性小肠结肠炎患者血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平表达与病情严重程度的分析研究

祁秋霞, 吴良宇, 张文雅 (海南省人民医院新生儿科, 海口 570100)

**摘要:** **目的** 探究坏死性小肠结肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 早产儿血清微小核糖核酸 (micro RNA, miR) -21-3p 和微小核糖核酸 (micro RNA, miR) -22-3p 水平与病情严重程度的分析。**方法** 选取海南省人民医院 2020 年 3 月~2022 年 12 月收治的 112 例 NEC 早产儿为 NEC 组, 根据患儿病情严重程度将其分为轻度组 ( $n=35$ )、中度组 ( $n=47$ ) 和重度组 ( $n=30$ ); 同时根据患儿肠道菌群紊乱程度将其分为 I 级紊乱组 ( $n=34$ )、II 级紊乱组 ( $n=52$ ) 和 III 级紊乱组 ( $n=26$ )。另选取在该院同期体检健康的早产儿 100 例作为对照组。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 测定研究对象血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平; 采用 spearman 分析血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平与 NEC 患儿病情程度和肠道紊乱程度相关性; 采用受试者工作特征 (ROC) 曲线评价血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平在预测 NEC 中重度患儿中的价值。**结果** NEC 组肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ( $36.27 \pm 8.56$  pg/ml)、白细胞介素-6 (IL-6) ( $429.52 \pm 68.36$  pg/ml)、白细胞介素-10 (IL-10) ( $25.83 \pm 6.46$  pg/ml) 和 miR-21-3p ( $2.16 \pm 0.73$ ) 水平均较对照组 ( $12.26 \pm 2.73$  pg/ml,  $14.34 \pm 3.36$  pg/ml,  $3.62 \pm 1.05$  pg/ml,  $0.92 \pm 0.28$ ) 上调, 血清 miR-22-3p ( $0.74 \pm 0.26$ ) 水平较对照组 ( $1.36 \pm 0.42$ ) 下调, 差异具有统计学意义 ( $t=26.850, 60.654, 33.974, 15.967, 13.069$ , 均  $P<0.05$ ); NEC 患儿血清 miR-21-3p 水平随患儿肠道菌群紊乱程度和病情严重程度加重而逐渐升高 ( $F=53.934, 55.720$ , 均  $P<0.05$ ); 血清 miR-22-3p 水平随患儿肠道菌群紊乱程度和病情严重程度加重而逐渐降低, 差异具有统计学意义 ( $F=18.037, 24.017$ , 均  $P<0.05$ ); miR-21-3p 与 NEC 患儿病情严重程度以及肠道菌群紊乱程度呈正相关 ( $r=0.516, 0.531$ , 均  $P<0.05$ ), miR-22-3p 与 NEC 患儿病情严重程度以及肠道菌群紊乱程度呈负相关 ( $r=-0.504, -0.529$ , 均  $P<0.05$ ); ROC 结果显示, 血清 miR-21-3p, miR-22-3p 预测 NEC 患儿是否为中重度患儿的 AUC 分别为 0.837, 0.852, 两者联合预测的 AUC 为 0.912, 均高于两者单独预测, 且特异度为 97.14%。**结论** NEC 早产儿血清 miR-21-3p 水平上调, miR-22-3p 水平下调, 且两者与肠道菌群紊乱程度和病情严重程度相关。

**关键词:** 坏死性小肠结肠炎; 微小核糖核酸 -21-3p; 微小核糖核酸 -22-3p

中图分类号: R574.5; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 06-059-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.06.011

## Study on the Relationship between Serum miR-21-3p and miR-22-3p Expression Levels and Severity of Necrotizing Enterocolitis in Premature Infants

QI Qiuxia, WU Liangyu, ZHANG Wenya

(Department of Neonatology, Hainan General Hospital, Haikou 570100, China)

**Abstract: Objective** To explore the relationship between serum levels of microRNA (miR) -21-3p and microRNA (miR) -22-3p in premature infants with necrotizing enterocolitis (NEC) and the severity of the condition. **Methods** A total of 112 premature infants with NEC admitted to Hainan General Hospital from March 2020 to December 2022 were regarded as NEC group. According to the severity of the disease, the children were grouped into mild group ( $n=35$ ), moderate group ( $n=47$ ) and severe group ( $n=30$ ). Meantime, according to the degree of intestinal flora disorder, the children were grouped into grade I disorder group ( $n=34$ ), grade II disorder group ( $n=52$ ) and grade III disorder group ( $n=26$ ). In addition, 100 premature infants with healthy physical examination meantime in the hospital were included as the control group. The serum levels of miR-21-3p and miR-22-3p were measured by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). Spearman was applied to analyze the correlation between the levels of serum miR-21-3p and miR-22-3p and the degree of disease and intestinal disorders in children with NEC. The value of serum miR-21-3p and miR-22-3p levels in predicting moderate and severe NE children was evaluated by subject working characteristic (ROC) curve. **Results** Compared with the control group, the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$

**基金项目:** 2020 年海南省卫生健康行业科研项目 (20A200029): kasai 术对胆道闭锁患儿免疫功能及肠道菌群的影响。

**作者简介:** 祁秋霞 (1988-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 新生儿, E-mail: k6s5225e@163.com。

(TNF- $\alpha$ ) ( $36.27 \pm 8.56$  pg/ml), interleukin-6 (IL-6) ( $429.52 \pm 68.36$  pg/ml), interleukin-10 (IL-10) ( $25.83 \pm 6.46$  pg/ml) and miR-21-3p ( $2.16 \pm 0.73$ ) in NEC group were increased ( $12.26 \pm 2.73$  pg/ml,  $14.34 \pm 3.36$  pg/ml,  $3.62 \pm 1.05$  pg/ml,  $0.92 \pm 0.28$ ), while the level of serum miR-22-3p ( $0.74 \pm 0.26$  vs  $1.36 \pm 0.42$ ) was decreased, and the differences were statistically significant ( $t=26.850, 60.654, 33.974, 15.967, 13.069$ , all  $P<0.05$ ). The level of serum miR-21-3p in children with NEC gradually increased with the degree of intestinal flora disorder and the severity of the disease ( $F=53.934, 55.720$ , all  $P<0.05$ ), while the level of serum miR-22-3p gradually decreased with the degree of intestinal flora disorder and the severity of the disease ( $F=18.037, 24.017$ , all  $P<0.05$ ). MiR-21-3p was positively correlated with the severity of NEC and the degree of intestinal flora disorders ( $r=0.516, 0.531, P<0.05$ ), while miR-22-3p was negatively correlated with the severity of NEC and the degree of intestinal flora disorders ( $r=-0.504, -0.529, P<0.05$ ). ROC results showed that the AUC predicted by serum miR-21-3p and miR-22-3p was 0.837 and 0.852, respectively, and the AUC predicted by the combination of the two was 0.912, which was higher than that predicted by the two alone, and the specificity was 97.14%. **Conclusion** The serum miR-21-3p level of NEC premature infants was up-regulated, and the miR-22-3p level was down-regulated, and both were related to the degree of intestinal flora disorder and the severity of the disease.

**Keywords:** necrotizing enterocolitis; micro RNA-21-3p; micro RNA-22-3p

坏死性小肠结肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 是早产儿中常见的胃肠道疾病, 影响 5% ~ 12% 出生体重极低的新生儿的生命健康<sup>[1]</sup>。且 NEC 存活患者的长期并发症有较高的发生风险<sup>[2-3]</sup>。尽管目前 NEC 治疗和预防方面不断取得突破, 但仍无针对该疾病的特效治疗方法, 其相关疾病的发病率和死亡率仍然很高, 早期预防和诊断难度也较大, 因此需要开发非侵入性方法来预测 NEC 的发生。据报道, 肠道微生物生态失调与 NEC 的发生有关<sup>[2,4]</sup>。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA, miR) 是内源性小非编码核糖核酸分子, 主要通过其 3'-UTR 区域的互补靶向参与 RNA 沉默和基因表达调节<sup>[5]</sup>。近期许多研究表明, miRNA 参与肠道疾病的各种生物学功能, 如细胞凋亡、细胞增殖、肠上皮屏障功能、炎症浸润和致癌作用<sup>[6]</sup>。研究显示, 微小 RNA (miRNA, miR) -21-3p 可作为肠道屏障功能障碍和相关肠道疾病的潜在生物标志物以及治疗靶点<sup>[7]</sup>。miR-22-3p 在 NEC 患儿中水平下调, 核梭杆菌通过 LncRNA ENO5-IT1/miR-22-3p 途径诱导干扰素调节因子 5 (interferon regulatory factor-5, IRF5) 表达加重新生儿 NEC<sup>[8]</sup>。本研究通过分析 NEC 早产儿血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 表达与肠道菌群紊乱及病情程度的相关性, 为 NEC 的临床诊疗提供一定依据。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取海南省人民医院 2020 年 3 月 ~ 2022 年 12 月收治的 112 例 NEC 早产儿为研究对象 (NEC 组), 其中男性 58 例, 女性 54 例, 平均日龄  $9.82 \pm 2.64$  天; 另选取在本院同期体检健康的早产儿 100 例作为研究对象 (对照组), 其中男性 52 例, 女性 48 例, 平均日龄  $10.24 \pm 2.85$  天。二组性别、日龄比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2/t=0.001, 1.114$ , 均  $P>0.05$ )。NEC 患儿分组: 根据

NEC 诊断指南<sup>[9]</sup>, 将 NEC 组患儿进行分组, I 期 NEC 患儿为轻度组 35 例, II 期 NEC 患儿为中度组 47 例, III 期 NEC 患儿为重度组 30 例。本研究经医院伦理委员会批准。

纳入标准: ①均为出生胎龄 28 ~ 37 周的早产儿; ②临床确诊为 NEC 患儿<sup>[9]</sup>; ③患儿家属知情且签署同意书; ④临床资料完整。排除标准: ①先天性代谢疾病患者; ②先天性消化道畸形患者; ③腹部创伤或其它原因休克者; ④染色体异常者。

1.2 仪器与试剂 台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪公司, 型号: H2100R); 核酸蛋白分析仪 (美国赛默飞公司, 型号: NanoDrop 2000C); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国应用生物系统公司, 型号: StepOne™), 实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, qRT-PCR) 试剂盒 (广东正一实验装备有限公司, 货号: MA6000), HiScript II One Step qRT-PCR Probe Kit 试剂盒 (南京诺唯赞公司, 货号: Q222-01); 血清/血浆 RNA 提取试剂盒 (上海信裕生物, 货号: XYB0901)。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), 白介素-10 (interleukin-10, IL-10), 白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的酶联免疫吸附剂测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (武汉默沙克生物科技有限公司), 酶标仪 (Epoch™ Microplate Spectrophotometer, USA)。

## 1.3 方法

1.3.1 样本收集: 收集 NEC 患儿就诊当日和对照组早产儿体检当日静脉血 3 ml, 4℃冰箱保存, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, -70℃冰箱保存备用。

1.3.2 ELISA 法检测 TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-6 水平: 使用特定的 ELISA 试剂盒检测血清中 TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-6 的水平。使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。

1.3.3 qRT-PCR 测定血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p

水平: 采用血清/血浆 RNA 提取试剂盒提取样品总 RNA, 通过凝胶电泳检验提取 RNA 质量, 结果显示 28S 和 18S 两条 RNA 带, 表明样品无 DNA 污染和 RNA 降解, 可进行下一步实验。测定 RNA 产物浓度和吸光度值,  $A_{260nm}/A_{280nm}$  比值在 1.9 ~ 2.1 表示 RNA 纯度较高、质量较好, 可进行下一步实验。采用探针法 qRT-PCR 试剂盒进行 qRT-PCR 检测 miR-21-3p 和 miR-22-3p, 以 U6 为内参基因, 每个样品设置 3 个技术重复。qRT-PCR 反应体系 20  $\mu$ l: 包含上下游引物各 0.5  $\mu$ l, TaqMan Probe 0.2  $\mu$ l, 模板 RNA 10 ng, One-Step Q Probe Enzyme Mix 1  $\mu$ l。反应条件: 先 50 $^{\circ}$ C 30 min, 95 $^{\circ}$ C 5 min, 再 95 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 45 cycles, 确认 Real Time PCR 的扩增曲线, 制作标准曲线。使用 primer5.0 软件设计 miR-21-3p, miR-22-3p 和 U6 的 qRT-PCR 反应引物由华大基因生物公司合成。引物序列见表 1。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 miR-21-3p, miR-22-3p 的水平。

表 1 引物列表

引物名称		碱基序列
miR-21-3p	上游	5'-ACTCCTACGACTTAGACATG-3'
	下游	5'-GACTGTATGCTGTCGTAG-3'
miR-22-3p	上游	5'-GCTGAGCCGACAGTAGTTCTT-3'
	下游	5'-GGCAGAGGGCAACAGTTCTT-3'
U6	上游	5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'
	下游	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

1.3.4 肠道菌群紊乱程度评估: 采集 NEC 患儿确诊当日粪便样本进行检测, 根据肠道菌群紊乱程度

表 2 NEC 患者血清 miR-21-3p, miR-22-3p 及炎症因子水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组 ( $n=100$ )	NEC 组 ( $n=112$ )	$t$ 值	$P$ 值
miR-21-3p	0.92 $\pm$ 0.28	2.16 $\pm$ 0.73	15.967	0.000
miR-22-3p	1.36 $\pm$ 0.42	0.74 $\pm$ 0.26	13.069	0.000
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	12.26 $\pm$ 2.73	36.27 $\pm$ 8.56	26.850	0.000
IL-6 (pg/ml)	14.34 $\pm$ 3.36	429.52 $\pm$ 68.36	60.654	0.000
IL-10 (pg/ml)	3.62 $\pm$ 1.05	25.83 $\pm$ 6.46	33.974	0.000

2.2 不同病情下 NEC 患儿血清 miR-21-3p, miR-22-3p 及炎症因子的水平比较 见表 3。多因素方差分析显示, NEC 患儿血清 miR-21-3p, TNF- $\alpha$ ,

表 3 不同病情严重程度 NEC 患儿血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 及炎症因子的水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	轻度组 ( $n=35$ )	中度组 ( $n=47$ )	重度组 ( $n=30$ )	$F$ 值	$P$ 值
miR-21-3p/U6	1.65 $\pm$ 0.33	2.17 $\pm$ 0.42 <sup>*</sup>	2.74 $\pm$ 0.49 <sup>* #</sup>	55.720	0.000
miR-22-3p/U6	0.90 $\pm$ 0.23	0.75 $\pm$ 0.21 <sup>*</sup>	0.54 $\pm$ 0.18 <sup>* #</sup>	24.017	0.000
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	24.46 $\pm$ 5.76	36.68 $\pm$ 8.91 <sup>*</sup>	49.41 $\pm$ 10.55 <sup>* #</sup>	68.532	0.000
IL-6 (pg/ml)	185.30 $\pm$ 42.78	441.02 $\pm$ 89.33 <sup>*</sup>	696.42 $\pm$ 100.82 <sup>* #</sup>	318.447	0.000
IL-10 (pg/ml)	12.64 $\pm$ 3.66	27.58 $\pm$ 7.73 <sup>*</sup>	38.49 $\pm$ 9.32 <sup>* #</sup>	105.145	0.000

注: \* 与轻度组比较,  $t=7.935, 14.926, 4.513, 9.785, 9.031; 16.546, 19.874, 35.645, 13.060, 20.277$ , 均  $P < 0.05$ ; # 与中度组比较,  $t=8.310, 6.077, 8.988, 18.964, 9.112$ , 均  $P < 0.05$ 。

2.3 血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平与 NEC 患

儿病情程度和肠道紊乱程度相关性分析 spearman

评估标准对其进行分组<sup>[10]</sup>: I 级紊乱组 34 例, 样本细菌总数较正常值略低, 革兰阳性菌数量小于革兰阴性菌数量, 革兰阴性杆菌和革兰阳性球菌均增加; II 级紊乱组 52 例, 样本细菌总数明显低于正常值, 革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌数目均较多, 少量酵母样菌出现; ③ III 级紊乱组 26 例, 样本细菌总量极少, 无或极少革兰阳性和阴性杆菌, 酵母样菌明显增加。分级越高表示肠道菌群紊乱程度越严重。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 25.0 对所得数据进行统计学分析, 计量资料均符合正态分布, 以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用独立样本  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD- $t$  检验; 计数资料以例 ( $n$ ) 和百分数 (%) 表示, 采用  $\chi^2$  检验; 采用 spearman 分析血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平与 NEC 患儿病情程度和肠道紊乱程度相关性; 采用受试者工作特征 (receiver operator characteristic curves, ROC) 曲线评价血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平在预测 NEC 中重度患儿中的价值。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 NEC 患儿血清 miR213p, miR223p 及炎症因子的水平比较 见表 2。独立样本  $t$  检验显示, 与对照组相比较, NEC 组血清 miR-21-3p, TNF- $\alpha$ , IL-6 和 IL-10 均上调, 血清 miR-22-3p 水平较对照组下调, 差异有统计学意义 (均  $P < 0.01$ )。

IL-6 和 IL-10 水平随病情加重呈增高趋势, 但血清 miR-22-3p 却呈降低趋势, 差异有统计学意义 (均  $P < 0.01$ )。



相关分析结果显示, miR-21-3p 与 NEC 患儿病情严重程度以及肠道紊乱程度呈正相关 ( $r=0.516$ ,  $0.531$ , 均  $P<0.05$ ); miR-22-3p 与 NEC 患儿病情严重程度以及肠道紊乱程度呈负相关 ( $r=-0.504$ ,  $-0.529$ , 均  $P<0.05$ )。

2.4 血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平在预测中重度 NEC 中的应用 见图 1。以血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平为检验变量, 以 NEC 患儿为中重度状态 (是=1, 否=0) 绘制 ROC 曲线。结果显示, 血清 miR-21-3p 水平预测 NEC 患儿是否为中重度患者的曲线下面积 (AUC) 为 0.837 (95% CI:0.760-0.913), 截断值为 2.16, 特异度和灵敏度分别为 88.57%, 68.83%; 血清 miR-22-3p 水平预测 NEC 患儿是否为中重度患者的 AUC 为 0.852 (95% CI:0.780-0.923), 截断值为 0.86, 特异度和灵敏度分别为 71.43%, 85.71%。

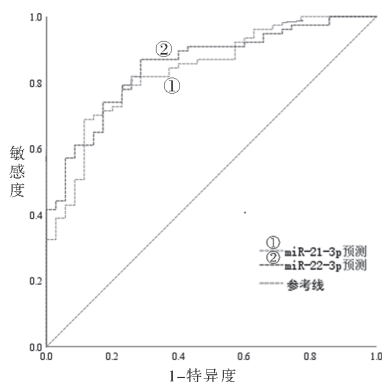


图 1 血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 水平预测中重度 NEC 的 ROC 曲线

表 5 不同肠道菌群紊乱 NEC 患儿中血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 及炎症因子水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	I 级紊乱 (n=34)	II 级紊乱 (n=52)	III 级紊乱 (n=26)	F 值	P 值
miR-21-3p	1.67 ± 0.35	2.14 ± 0.44 <sup>*</sup>	2.84 ± 0.51 <sup>*#</sup>	53.934	0.000
miR-22-3p	0.89 ± 0.24	0.73 ± 0.21 <sup>*</sup>	0.56 ± 0.17 <sup>*#</sup>	18.037	0.000
TNF- $\alpha$	25.43 ± 4.06	36.81 ± 6.98 <sup>*</sup>	49.37 ± 9.45 <sup>*#</sup>	87.761	0.000
IL-6	192.17 ± 35.77	449.65 ± 84.26 <sup>*</sup>	699.64 ± 115.63 <sup>*#</sup>	282.883	0.000
IL-10	13.38 ± 2.95	27.46 ± 6.62 <sup>*</sup>	38.85 ± 9.48 <sup>*#</sup>	112.175	0.000

注: \* 与 I 级紊乱组比较,  $t=6.963, 14.674, 4.853, 8.473, 10.503; 18.705, 20.057, 33.465, 13.649, 20.902$ , 均  $P<0.05$ ; # 与 II 级紊乱组比较,  $t=9.523, 4.734, 10.644, 17.881, 10.139$ , 均  $P<0.05$ 。

微小核糖核酸 (miRNA) 是炎症反应和免疫调节的关键调节因子。许多研究表明, miRNA 参与疾病的发生和发展, 具有一定病理特异性, miRNA 是极易从不同组织和血液中分离出来的稳定小分子, 因此可以将其视为理想的生物标志物<sup>[14]</sup>。miR-21 包括 miR-21-5p 和 miR-21-3p 两种成熟形式<sup>[15]</sup>。研究显示, miR-21 在溃疡性结肠炎患者的血液、粪便和结肠组织中上调, 并在结肠直肠癌中进一步升高, miR-21 不仅可以用作检测结肠直肠癌的潜在非侵入性生物标志物, 还可以用于区分功能性和

2.5 不同 NEC 病情患儿中肠道菌群紊乱情况 见表 4。卡方分析显示, NEC 患儿不同病情程度中, 肠道菌群 I 级紊乱、II 级紊乱、III 级紊乱之间差异具有统计学意义 ( $\chi^2=14.389$ ,  $P=0.006$ )。

表 4 不同 NEC 病情患儿中肠道菌群紊乱情况

分组	轻度组 (n=35)	中度组 (n=47)	重度组 (n=30)	$\chi^2$ 值	P 值
I 级紊乱	18	22	5	14.389	0.006
II 级紊乱	12	15	10		
III 级紊乱	5	10	15		

2.6 不同肠道菌群紊乱 NEC 患儿中血清 miR-21-3p 和 miR-22-3p 及炎症因子水平 见表 5。多因素分析显示, NEC 患儿血清 miR-21-3p 及炎症因子水平随患儿肠道菌群紊乱程度加重而逐渐升高 (均  $P<0.01$ ); 血清 miR-22-3p 水平随患儿肠道菌群紊乱程度加重而逐渐降低 ( $P<0.01$ )。

### 3 讨论

坏死性小肠结肠炎 (NEC) 是导致早产儿死亡的主要原因, 给患儿和家庭带来极大的痛苦和经济负担<sup>[11]</sup>。临床上, NEC 可从相对轻度喂养不耐受和腹胀迅速进展为肠缺血和坏死、暴发性脓毒性休克、严重酸中毒、多器官功能障碍和死亡<sup>[12]</sup>。尽管在过去几十年中新生儿临床护理取得了重大进展, 但全球 NEC 的患病率并未显著下降<sup>[13]</sup>。因此寻求新的生物标志物对其病情进行预估, 使其可尽早防治, 提高患儿生命安全十分重要。

器质性结直肠疾病<sup>[16]</sup>。在结肠炎患者中的研究显示, 结肠炎组织中 miR-21-3p 表达水平高于健康组织, 其在炎症性肠病发展中发挥潜在作用<sup>[17]</sup>。本研究发现, NEC 患儿血清 miR-21-3p 水平上调, 与 MARTÍNEZ-GUTIERREZ 等<sup>[17]</sup> 研究结果相似。血清 miR-21-3p 水平随 NEC 患儿病情严重程度加重而逐渐升高, 且 miR-21-3p 水平与 NEC 患儿病情严重程度呈正相关, 与 JIANG 等<sup>[7]</sup> 在直肠癌组织中的水平趋势一致, 提示高水平 miR-21-3p 可推进 NEC 患儿的疾病进程。谢春燕等<sup>[18]</sup> 人发现, miR-

22可参与调节肠道屏障完整性和肠道通透性,通过介导炎症反应参与溃疡性结肠炎的发生发展,通过上调miR-22水平,可对溃疡性结肠炎大鼠起到保护作用。研究显示,肺腺癌患者组织中miR-22-3p水平较对照组降低,低表达与临床病理特征和预后密切相关,可作为肺腺癌诊断和预后的生物标志物<sup>[19]</sup>。本研究发现,NEC患儿血清miR-22-3p水平下调,与MA等<sup>[19]</sup>在肺腺癌中的研究结果相似。血清miR-22-3p随NEC患儿病情严重程度加重而逐渐降低,且miR-22-3p水平与NEC患儿病情严重程度呈负相关,与WANG等<sup>[20]</sup>在直肠癌患者中的研究结果趋势相似,提示NEC患儿血清miR-22-3p水平降低诱导患儿病情发生发展。进一步研究发现,血清miR-21-3p,miR-22-3p水平预测NEC患儿是否为中重度患儿的AUC分别为0.837,0.852,且miR-21-3p预测中特异度较高,miR-22-3p预测中灵敏度较高。提示miR-21-3p对NEC患儿是否为中重度患儿有一定的预测价值。有望成为NEC患儿是否为中重度患儿的预测因子。

早产儿较足月儿更容易患NEC的主要原因之一是早产儿肠道的屏障功能发育不够完善,其原因可能是由于早产儿肠道上皮细胞紧密连接蛋白的表达不足,增加了其细胞膜通透性,导致NEC更易发生<sup>[21]</sup>。近期研究也表明,肠道菌群失调可以激活不受控的促炎反应从而导致NEC的发生发展<sup>[22]</sup>。炎症反应与炎症因子的异常表达密切相关,据报道,新生儿坏死性小肠结肠炎肠组织中TNF- $\alpha$ ,IL-6,IL-10等水平较对照组升高<sup>[4,23]</sup>。且新生儿NEC患儿血清IL-12,IL-17水平升高,且与患儿病情严重程度相关<sup>[24]</sup>。本研究发现,血清TNF- $\alpha$ ,IL-6和IL-10水平随NEC患儿病情严重程度加重而逐渐升高,与上述研究结果一致,提示患儿机体处于高炎状态。进一步研究发现,NEC患儿血清miR-21-3p水平随患儿肠道菌群紊乱程度加重而上升,miR-22-3p水平随患儿肠道菌群紊乱程度加重而下降。提示肠道菌群紊乱与NEC病情密切相关。因此猜测本研究结果可能是随着miR-21-3p水平上调,血清miR-22-3p水平下调,且肠道菌群紊乱激活患儿机体炎症反应,进而促进NEC发生发展,具体机制还需进一步研究。

综上所述,NEC患儿血清miR-21-3p水平上调,血清miR-22-3p水平下调,且与肠道菌群紊乱程度和病情严重程度相关,两者在预测NEC患儿病情严重程度中具有一定价值。本研究未对miR-21-3p和miR-22-3p参与NEC的调控途径进行深入分析,下一步可通过构建动物模型实验对此进行探究。

## 参考文献:

- [1] MEISTER A L, DOHENY K K, TRAVAGLI R A. Necrotizing enterocolitis: it's not all in the gut[J]. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.), 2020, 245(2): 85-95.
- [2] BREHIN C, DUBOIS D, DICKY O, et al. Evolution of gut microbiome and metabolome in suspected necrotizing enterocolitis: a case-control study[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(7): 2278-2290.
- [3] 付彬彬,王文芳,叶婷婷,等.血清HMGB1及PCT水平检测对新生儿坏死性小肠结肠炎诊断和病情评估的价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2021, 36(6): 87-89, 171. FU Binbin, WANG Wenfang, YE Tingting, et al. Value of serum HMGB1 and PCT levels in diagnosis and evaluation of neonatal necrotizing enterocolitis[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(6): 87-89, 171.
- [4] KLERK D H, VAN AVEZAATH L K, LOEFFEN E A H, et al. Fetal-neonatal exposure to antibiotics and NEC development: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Pediatr*, 2022, 10: 1102884.
- [5] HONG Yinghui, YE Mingliang, WANG Fan, et al. MiR-21-3p promotes hepatocellular carcinoma progression via SMAD7/YAP1 regulation[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 642030.
- [6] JAMES J P, RIIS L B, MALHAM M, et al. MicroRNA biomarkers in IBD-Differential diagnosis and prediction of Colitis-Associated cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(21): 7893.
- [7] JIANG Zhifeng, YANG Feiyu, QIE Jingbo, et al. TNF- $\alpha$ -induced miR-21-3p promotes intestinal barrier dysfunction by inhibiting MTDH expression[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 722283.
- [8] LIN J C, MA X Y, LIU J Y, et al. One gut microbiota, *Fusobacterium nucleatum* aggravates Neonatal necrotizing enterocolitis by induction of IRF5 expression through lncRNA ENO1-IT1/miR-22-3p axis[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2021, 25(14): 4714-4728.
- [9] 中国医师协会新生儿科医师分会循证专业委员会. 新生儿坏死性小肠结肠炎临床诊疗指南(2020)[J]. *中国当代儿科杂志*, 2021, 23(1): 1-11. Evidence-Based Medicine Group, Neonatologist Society, Chinese Medical Doctor Association. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of neonatal necrotizing enterocolitis (2020) [J]. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*, 2021, 23(1): 1-11.
- [10] 张秀荣. 肠道菌群粪便涂片检查图谱[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 63-65. ZHANG Xiurong. Atlas of fecal smear of intestinal flora[M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2000:63-65.
- [11] XIONG Tao, MAHESHWARI A, NEU J, et al. An overview of systematic reviews of Randomized-Controlled trials for preventing necrotizing enterocolitis in preterm infants[J]. *Neonatology*, 2020, 117(1): 46-56.

(下转第70页)

- cell lung cancer by targeting Thy-1 and predicts poor prognosis of patients[J]. *Oncology Letters*, 2021, 21(4): 327.
- [16] ZHANG Xinxue, REN Zhangyong, XU Junming, et al. MiR-1301-3p inhibits epithelial-mesenchymal transition via targeting RhoA in pancreatic cancer[J]. *Journal of Oncology*, 2022, 2022: 5514715.
- [17] NAGANO H, OGATA S, ITO S, et al. Knockdown of podocalyxin post-transcriptionally induces the expression and activity of ABCB1/MDR1 in human brain microvascular endothelial cells[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022, 111(6): 1812-1819.
- [18] HE Siying, DU Wenjie, LI Menglan, et al. PODXL might be a new prognostic biomarker in various cancers: a meta-analysis and sequential verification with TCGA datasets[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 620.
- [19] YAO Huiping, CHEN Rui, YANG Yongxiu, et al. LncRNA BBOX1-AS1 aggravates the development of ovarian cancer by sequestering miR-361-3p to augment PODXL expression[J]. *Reproductive Sciences*, 2021, 28(3): 736-744.
- [20] TANIUCHI K, UENO M, YOKOSE T, et al. Upregulation of PODXL and ITGB1 in pancreatic cancer tissues preoperatively obtained by EUS-FNAB correlates with unfavorable prognosis of postoperative pancreatic cancer patients[J]. *PLoS One*, 2022, 17(3): e0265172.
- [21] YU Lan, GAO Yanwei, JI Beibei, et al. CTCF-induced upregulation of LINC01207 promotes gastric cancer progression via miR-1301-3p/PODXL axis[J]. *Digestive and Liver Disease*, 2021, 53(4): 486-495.
- 收稿日期: 2022-12-28  
修回日期: 2023-07-10
- 
- (上接第63页)
- [12] BAUTISTA G M, CERA A J, CHAABAN H, et al. State-of-the-art review and update of in vivo models of necrotizing enterocolitis[J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2023, 11: 1161342.
- [13] FLAIVE C, SCHLEGEL A, MEZOFF E A. Necrotizing enterocolitis: updates on morbidity and mortality outcomes[J]. *Jornal Pediatria*, 2020, 220: 7-9.
- [14] GUZ M, DWORZAŃSKI T, JELENIEWICZ W, et al. Elevated miRNA inversely correlates with E-cadherin gene expression in tissue biopsies from crohn disease patients in contrast to ulcerative colitis patients [J]. *Biomed Res Int*. 2020, 2020:4250329.
- [15] GUO Weinan, WU Zhenjie, CHEN Jianru, et al. Nanoparticle delivery of miR-21-3p sensitizes melanoma to anti-PD-1 immunotherapy by promoting ferroptosis[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2022, 10(6): e004381.
- [16] AHMED HASSAN E, EL-DIN ABD EL-REHIM A S, MOHAMMED KOLEF E F, et al. Potential role of plasma miR-21 and miR-92a in distinguishing between irritable bowel syndrome, ulcerative colitis, and colorectal cancer[J]. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 2020, 13(2): 147-154.
- [17] MARTÍNEZ-GUTIERREZ A, CARBAJAL-LOPEZ B, BUI T M, et al. A microRNA panel that regulates proinflammatory cytokines as diagnostic and prognosis biomarkers in colon cancer[J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2022, 30: 101252.
- [18] 谢春燕, 谢刚, 季语竹. 柚皮素通过 miR-22 抑制 NLRP3 炎症小体并减轻溃疡性结肠炎大鼠模型肠屏障损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(9): 1573-1581.
- XIE Chunyan, XIE Gang, JI Yuzhu. Naringenin inhibits NLRP3 inflammasome through miR-22 and reduces intestinal barrier damage in a rat model of ulcerative colitis[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2021, 37(9): 1573-1581.
- [19] MA Dongjie, ZHOU Xiaoyun, QIN Yingzhi, et al. MiR-22-3p expression is down-regulated in lung adenocarcinoma[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2021, 68(4): 667-672.
- [20] WANG Yan, LIN Changkun. Exosomes miR-22-3p derived from mesenchymal stem cells suppress colorectal cancer cell proliferation and invasion by regulating RAP2B and PI3K/AKT pathway[J]. *Journal of Oncology*, 2021, 2021: 3874478.
- [21] MARKEL T A, MARTIN C A, CHAABAN Ha-la, et al. New directions in necrotizing enterocolitis with early-stage investigators[J]. *Pediatric Research*, 2020, 88(Suppl 1): 35-40.
- [22] 葛贵杰, 吕志宝. 肠道菌群失调在新生儿坏死性小肠结肠炎中的研究进展 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2020, 41(3): 285-288, F3.
- GE Guijie, LÜ Zhibao. Research advances in gut bacteria dysbiosis and neonatal necrotizing enterocolitis[J]. *Chinese Journal of Pediatric Surgery*, 2020, 41(3): 285-288, F3.
- [23] 陈锐, 赵云, 赵晓霞, 等. 沉默信息调节因子 1 在新生儿坏死性小肠结肠炎肠组织中的表达特点 [J]. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2021, 41(9): 1154-1161.
- CHEN Rui, ZHAO Yun, ZHAO Xiaoxia, et al. Expression characteristics of silent information regulator transcript 1 in intestinal tissues of neonatal necrotizing enterocolitis[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science)*, 2021, 41(9): 1154-1161.
- [24] 陈小冰, 张雪梅, 陈求凝, 等. 新生儿坏死性小肠结肠炎患者血清 IL-12 及 IL-17 水平检测及临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(6): 179-182.
- CHEN Xiaobing, ZHANG Xuemei, CHEN Qiuning, et al. Detection and clinical significance of serum IL-12 and IL-17 levels in neonatal necrotizing enterocolitis[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(6): 179-182.
- 收稿日期: 2023-04-10  
修回日期: 2023-06-30