

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.21.002  
文章编号: 1005-8982 (2024) 21-0007-08

小儿呼吸系统疾病·论著

## 血清 microRNA-155、microRNA-23b-3p、 microRNA-16-5p 与难治性肺炎支原体肺炎 患儿病情严重程度及预后的关系\*

吴康平, 魏金凤, 王丽娜, 叶蓓

(杭州市儿童医院 呼吸内科, 浙江 杭州 310002)

**摘要:** **目的** 探讨血清 microRNA-155(miR-155)、microRNA-23b-3p(miR-23b-3p)、microRNA-16-5p(miR-16-5p)水平与难治性肺炎支原体肺炎(RMPP)患儿病情严重程度及预后的关系。**方法** 前瞻性选取2023年6月—2023年12月杭州市儿童医院收治的101例RMPP患儿为研究对象,收集治疗前血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p水平。根据病情严重程度将患儿分为重症组39例与轻症组62例。所有患儿自治疗起随访1个月,根据治疗效果将患儿分为预后不良组22例与预后良好组79例。分析不同病情严重程度及不同预后RMPP患儿血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p水平;采用多因素逐步 Logistic 回归模型分析影响RMPP患儿预后的因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p预测RMPP患儿预后的价值。**结果** 重症组患儿血清miR-155基因相对表达量高于轻症组( $P < 0.05$ ),miR-23b-3p、miR-16-5p基因相对表达量均低于轻症组( $P < 0.05$ )。预后不良组患儿血清miR-155基因相对表达量高于预后良好组( $P < 0.05$ ),miR-23b-3p、miR-16-5p基因相对表达量均低于预后良好组( $P < 0.05$ )。多因素逐步 Logistic 回归分析结果显示,儿童器官功能障碍评分2(PELOD-2)[ $\hat{OR} = 5.129$ (95% CI: 2.111, 12.466)]、miR-155 [ $\hat{OR} = 3.924$ (95% CI: 1.614, 9.535)]、miR-23b-3p [ $\hat{OR} = 3.850$ (95% CI: 1.584, 9.356)]、miR-16-5p [ $\hat{OR} = 3.777$ (95% CI: 1.554, 9.179)]是影响RMPP患儿预后的危险因素( $P < 0.05$ )。ROC曲线分析结果显示,血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p及三者联合预测RMPP患儿预后的敏感性分别为63.64%(95% CI: 0.408, 0.820)、72.73%(95% CI: 0.496, 0.884)、68.18%(95% CI: 0.451, 0.853)、86.36%(95% CI: 0.640, 0.964),特异性分别为70.89%(95% CI: 0.594, 0.803)、78.48%(95% CI: 0.675, 0.866)、72.15%(95% CI: 0.608, 0.814)、91.14%(95% CI: 0.820, 0.961),曲线下面积分别为0.725(95% CI: 0.622, 0.827)、0.718(95% CI: 0.604, 0.831)、0.710(95% CI: 0.591, 0.829)、0.923(95% CI: 0.866, 0.980)。**结论** 血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p水平与RMPP患儿病情严重程度及预后有关,三者联合预测RMPP患儿的效能良好。

**关键词:** 肺炎支原体肺炎; microRNA-155; microRNA-23b-3p; microRNA-16-5p; 难治性; 病情; 预后

中图分类号: R725.6

文献标识码: A

## Relationship between serum levels of microRNA-155, microRNA-23b-3p, microRNA-16-5p and severity and prognosis of refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia in children\*

Wu Kang-ping, Wei Jin-feng, Wang Li-na, Ye Bei

(Department of Respiratory, Hangzhou Children's Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310002, China)

收稿日期: 2024-02-06

\* 基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(No:2021KY932)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between the levels of serum microRNA-155 (miR-155), microRNA-23b-3p (miR-23b-3p), microRNA-16-5p (miR-16-5p) and the severity and prognosis of refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia (RMPP) in children. **Methods** A total of 101 children with RMPP admitted to the hospital from June 2023 to December 2023 were selected as the study objects. Serum miR-155, miR-23b-3p, miR-16-5p and other data of the children were collected, and the children were divided into severe group and mild group according to the Diagnosis and Treatment Guide for Mycoplasma pneumoniae Pneumonia in Children (2023 edition). The children were followed up for 1 month from the start of treatment and were divided into good prognosis group and poor prognosis group according to the treatment effect. The levels of serum miR-155, miR-23b-3p and miR-16-5p in children with RMPP of different severity were analyzed, and the levels of serum miR-155, miR-23b-3p and miR-16-5p in the group with good prognosis and the group with poor prognosis were analyzed as well as the factors affecting the prognosis of children with RMPP. The prognostic value of serum miR-155, miR-23b-3p and miR-16-5p in children with RMPP was analyzed. **Results** The relative expression level of miR-155 in severe group was higher than that in mild group ( $P < 0.05$ ), and the relative expression level of miR-23b-3p and miR-16-5p in severe group was lower than that in mild group ( $P < 0.05$ ). The relative expression level of miR-155 in the poor prognosis group was higher than that in the good prognosis group ( $P < 0.05$ ), and the relative expression level of miR-23b-3p and miR-16-5p was lower than that in the good prognosis group ( $P < 0.05$ ). Logistic regression analysis showed that organ dysfunction score 2 [ $\hat{OR} = 5.129(95\% \text{ CI: } 2.111, 12.466)$ ] and the relative expression level of miR-155 [ $\hat{OR} = 3.924(95\% \text{ CI: } 1.614, 9.535)$ ], the relative expression level of miR-23b-3p [ $\hat{OR} = 3.850(95\% \text{ CI: } 1.584, 9.356)$ ], and the relative expression level of miR-16-5p [ $\hat{OR} = 3.777(95\% \text{ CI: } 1.554, 9.179)$ ] were the risk factors affecting prognosis of children with RMPP ( $P < 0.05$ ). ROC curve analysis results showed that the sensitivity of serum miR-155, miR-23b-3p, miR-16-5p, and their combination to predict the prognosis of children with RMPP were 63.64% (95% CI: 0.408, 0.820), 72.73% (95% CI: 0.496, 0.884), 68.18% (95% CI: 0.451, 0.853), and 86.36% (95% CI: 0.640, 0.964). The specificity was 70.89% (95% CI: 0.594, 0.803), 78.48% (95% CI: 0.675, 0.866), 72.15% (95% CI: 0.608, 0.814), and 91.14% (95% CI: 0.820, 0.961). And AUC were 0.725 (95% CI: 0.622, 0.827), 0.718 (95% CI: 0.604, 0.831), 0.710 (95% CI: 0.591, 0.829), and 0.923 (95% CI: 0.866, 0.980). **Conclusion** Serum levels of miR-155, miR-23b-3p, and miR-16-5p are related to the severity and prognosis of RMPP children, and the combination of the three is effective in predicting the prognosis of RMPP children.

**Keywords:** mycoplasma pneumonia; micorRNA-155; microRNA-23b-3p; microRNA-16-5p; refractory; severity of the disease; prognosis

肺炎支原体肺炎 (mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP) 多见于幼儿及学龄前儿童, 是我国社区获得性肺炎中最常见类型之一, 近年来由于对抗生素的过度使用, 抗生素耐药菌株不断增加, MPP 发展为难治性肺炎支原体肺炎 (refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia, RMPP) 的现象增多<sup>[1-3]</sup>。虽然目前一系列治疗方案已被广泛用于 RMPP 患儿, 但预后仍不甚理想, 可出现闭塞性支气管炎等后遗症, 影响患儿生活质量和功能, 甚至威胁患儿生命安全。早期准确地评估 RMPP 患儿病情严重程度及预后情况, 便于临床早期制订医疗方案或调整医疗措施, 避免延误病情, 以便改善预后。目前虽已有关于 RMPP 患儿预后的报道, 但其准确性有限<sup>[4]</sup>, 临床需探索出更多安全、高效的指标以便指导 RMPP 患儿的治疗。

MicroRNA (miRNA) 是一类在多种组织中表达的内源性非编码小分子 RNA, 由 19 ~ 29 个核苷酸组成, 通过碱基配对与靶基因结合调节基因表达, 进而调节细胞的增殖、分化、凋亡、免疫反应逃避等生理过程, 与肺部疾病的发病机制密切相关<sup>[5-6]</sup>。microRNA-155 (miR-155) 介导基因调控促进人肺泡巨噬细胞表型的复极化, 影响促炎细胞因子向抗炎细胞因子的早期转化。近期研究显示, RMPP 患儿血清 miR-155 异常高表达, 且与 T 淋巴细胞平衡密切相关<sup>[7]</sup>。microRNA-23b-3p (miR-23b-3p) 可通过调节抗炎因子的产生、促进细胞凋亡、调节免疫功能等途径, 参与肺炎的发生、发展过程<sup>[8]</sup>。microRNA-16-5p (miR-16-5p) 通过调节多个靶基因的表达, 参与炎症反应、免疫调节、细胞凋亡等多个生物学过程, 从而影响 RMPP 患儿病情及预后<sup>[9]</sup>。

基于既往研究,笔者认为血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 检测在 RMPP 病情和预后评估中具有一定价值,但目前尚缺乏验证其关系的报道。基于此,本研究探讨血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 水平与 RMPP 患儿病情严重程度及预后的关系,以期为开发新的治疗策略提供理论依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

前瞻性选取 2023 年 6 月—2023 年 12 月杭州市儿童医院收治的 101 例 RMPP 患儿为研究对象。其中,男性 59 例,女性 42 例;年龄 1~9 岁,平均( $5.09 \pm 0.93$ )岁。纳入标准:①符合《儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南(2023 年版)》<sup>[10]</sup>中 RMPP 的诊断标准(经大环内酯类抗生素治疗>7 d 仍发热;临床症状缓解不明显);②年龄 $\leq 12$ 岁;③入院前未接受相关治疗。排除标准:①伴支气管哮喘、肺不张、卫星病灶或淋巴结肿大;②伴先天性心脏病、先天性肺部疾病、肺纤维化、先天性发育异常;③伴支气管肺发育不良、肺结核、免疫缺陷、血液系统疾病、传染性疾病;④伴全身感染、恶性肿瘤、呼吸衰竭、心力衰竭;⑤过敏体质、进食困难;⑥除肺炎支原体感染外存在其他细菌感染;⑦依从性差、无法配合完成本研究。本研究经医院医学伦理委员会批准,患儿监护人均签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 收集患儿基本资料** 包括性别、年龄、身高、体重、喂养方式、居住地、体温、治疗前儿童器官功能障碍评分 2 (pediatric logistic organ dysfunction-2, PELOD-2)<sup>[11]</sup>、病程、胸腔积液、胸膜增厚、喘息、肺部湿啰音、心率、呼吸频率、平均动脉压、氧合指数、血小板计数、血红蛋白、纤维蛋白原、白细胞计数、C 反应蛋白、血乳酸水平。

**1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量** 治疗前抽取患儿空腹静脉血 3 mL,冷藏储存待测,离心处理,收集血清,用 TRIzol 法提取血清总 RNA(试剂盒购自美国 Alpeco 公司),逆转录成 cDNA(逆转录试剂盒购自上海康朗生物科技有限公司),

以逆转录获得的 cDNA 为模板,行 qRT-PCR 检测(MC-1000 型 PCR 仪购自杭州迪安生物技术有限公司)。总反应体系为 20  $\mu$ L(cDNA 1.0  $\mu$ L、引物各 0.5  $\mu$ L、PCR 缓冲液 10.0  $\mu$ L、蒸馏水 7.0  $\mu$ L)。反应条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95  $^{\circ}$ C 变性 30 s,58  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 10 s,共 45 个循环。以 GAPDH 为内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量。qRT-PCR 引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

| 基因         | 引物序列                               | 长度/<br>bp |
|------------|------------------------------------|-----------|
| GAPDH      | 正向: 5'-GCGGGTGAGTCTTGCCCTCTGGCG-3' | 23        |
|            | 反向: 5'-GCGTCTCGTATGTACGCTGGGGC-3'  |           |
| miR-155    | 正向: 5'-GTGCCATCTGGGTCGCGTGG-3'     | 20        |
|            | 反向: 5'-GCGGTGCTGTGCCGACGCTC-3'     |           |
| miR-23b-3p | 正向: 5'-GTGCGTACAGGCGTGGCGTGGGC-3'  | 25        |
|            | 反向: 5'-GCCGAGCTGCGTCCGACCGTGGC-3'  |           |
| miR-16-5p  | 正向: 5'-GCCGTTGAGGTGTCTGAGGGCG-3'   | 22        |
|            | 反向: 5'-GCGGCCGCTGAGTCCATGCTCG-3'   |           |

**1.2.3 RMPP 患儿病情严重程度评定方法** 依据《儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南(2023 年版)》<sup>[10]</sup>的诊断标准评估患儿病情严重程度。重症患儿:呈实变体征,胸片显示大叶性肺炎改变,并涉及 $\geq 2$ 个肺叶病变,合并低氧血症或肺外并发症或胸腔积液、肺不张、肺脓肿等并发症;轻症患儿:胸片显示支气管肺炎、间质性肺炎、小叶性肺炎实变。

**1.2.4 近期预后** 自治疗起随访 1 个月,记录患儿治疗效果。临床体征、肺部影像学改善或完全恢复正常为预后良好;临床体征、肺部影像学表现未见改善甚至恶化为预后不良。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较用  $t$  检验;计数资料以构成比或率(%)表示,比较用  $\chi^2$  检验;影响因素的分析采用多因素逐步 Logistic 回归分析模型;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同病情严重程度 RMPP 患儿血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量比较

101 例 RMPP 患儿中,重症患儿 39 例(38.61%),轻症患儿 62 例(61.39%)。重症组与轻症组患儿血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量比较,经  $t$  检验,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );重症组患儿血清 miR-155 基因相对表达量高于轻症组,miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量均低于轻症组。见表 2。

### 2.2 预后良好组与预后不良组基本资料比较

101 例 RMPP 患儿中,22 例(21.78%)预后不良,

表 2 不同病情严重程度 RMPP 患儿血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | $n$ | miR-155 基因      | miR-23b-3p 基因   | miR-16-5p 基因    |
|-------|-----|-----------------|-----------------|-----------------|
| 重症组   | 39  | $1.74 \pm 0.23$ | $0.81 \pm 0.14$ | $0.86 \pm 0.17$ |
| 轻症组   | 62  | $1.32 \pm 0.21$ | $1.05 \pm 0.19$ | $1.14 \pm 0.21$ |
| $t$ 值 |     | 9.431           | 6.806           | 7.004           |
| $P$ 值 |     | 0.000           | 0.000           | 0.000           |

79 例(78.22%)预后良好。预后不良组与预后良好组患儿的性别、年龄、身高、体重、喂养方式、居住地、体温、胸腔积液、胸膜增厚、喘息、肺部湿啰音、心率、呼吸频率、平均动脉压、血小板计数、血红蛋白、纤维蛋白原、白细胞计数、血乳酸水平对比,经  $\chi^2$  或  $t$  检验,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );预后不良组与预后良好组患儿的 PELOD-2 评分、病程、氧合指数、C 反应蛋白比较,经  $t$  检验,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );预后不良组患儿的 PELOD-2 评分、病程、C 反应蛋白水平均高于预后良好组,氧合指数低于预后良好组。见表 3。

### 2.3 预后良好组与预后不良组血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量比较

预后不良组与预后良好组患儿血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量比较,经  $t$  检验,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );预后不良组患儿血清 miR-155 基因相对表达量高于预后良好组,miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量低于预后良好组。见表 4。

### 2.4 RMPP 患儿预后影响因素的多因素逐步 Logistic 回归分析

以 RMPP 患儿预后(预后良好 =0,预后不良 =1)

表 3 预后不良组与预后良好组基本资料比较

| 组别                          | <i>n</i> | 男/女/<br>例 | 年龄/<br>(岁, $\bar{x} \pm s$ ) | 身高/<br>(cm, $\bar{x} \pm s$ ) | 体重/<br>(kg, $\bar{x} \pm s$ ) | 喂养方式 例(%) |           |           |
|-----------------------------|----------|-----------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|
|                             |          |           |                              |                               |                               | 母乳        | 奶源        | 混合        |
| 预后不良组                       | 22       | 12/10     | 5.03 ± 0.81                  | 115.94 ± 2.05                 | 21.04 ± 1.52                  | 6(27.27)  | 6(27.27)  | 10(45.45) |
| 预后良好组                       | 79       | 47/32     | 5.12 ± 0.79                  | 116.56 ± 1.82                 | 21.16 ± 1.48                  | 19(24.05) | 21(26.58) | 39(49.37) |
| χ <sup>2</sup> / <i>t</i> 值 |          | 0.173     | 0.470                        | 1.375                         | 0.334                         |           | 0.130     |           |
| <i>P</i> 值                  |          | 0.677     | 0.639                        | 0.172                         | 0.739                         |           | 0.937     |           |

| 组别                          | 居住地 例(%)  |           | 体温/<br>(℃, $\bar{x} \pm s$ ) | PELOD-2 评分<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | 病程/<br>(d, $\bar{x} \pm s$ ) | 胸腔积液<br>例(%) | 胸膜增厚<br>例(%) |
|-----------------------------|-----------|-----------|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|--------------|--------------|
|                             | 城市        | 乡镇        |                              |                                   |                              |              |              |
| 预后不良组                       | 17(77.27) | 5(22.73)  | 38.79 ± 0.36                 | 4.05 ± 0.53                       | 10.43 ± 1.31                 | 14(63.64)    | 9(40.91)     |
| 预后良好组                       | 69(87.34) | 10(12.66) | 38.64 ± 0.32                 | 3.51 ± 0.47                       | 9.52 ± 1.24                  | 35(44.30)    | 25(31.65)    |
| χ <sup>2</sup> / <i>t</i> 值 | 1.380     |           | 1.892                        | 4.634                             | 3.007                        | 2.575        | 0.661        |
| <i>P</i> 值                  | 0.240     |           | 0.061                        | 0.000                             | 0.003                        | 0.109        | 0.416        |

| 组别                          | 喘息<br>例(%) | 肺部湿啰音<br>例(%) | 心率/<br>(次/min, $\bar{x} \pm s$ ) | 呼吸频率/<br>(次/min, $\bar{x} \pm s$ ) | 平均动脉压/<br>(mmHg, $\bar{x} \pm s$ ) | 氧合指数/<br>(mm Hg, $\bar{x} \pm s$ ) |
|-----------------------------|------------|---------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 预后不良组                       | 18(81.82)  | 20(90.91)     | 121.63 ± 3.59                    | 33.05 ± 2.61                       | 63.13 ± 4.81                       | 271.56 ± 16.49                     |
| 预后良好组                       | 51(64.56)  | 57(72.15)     | 120.14 ± 3.17                    | 32.64 ± 2.45                       | 64.52 ± 4.59                       | 289.95 ± 18.43                     |
| χ <sup>2</sup> / <i>t</i> 值 | 2.369      | 3.342         | 1.894                            | 0.684                              | 1.243                              | 4.230                              |
| <i>P</i> 值                  | 0.124      | 0.068         | 0.061                            | 0.495                              | 0.217                              | 0.000                              |

续表 3

| 组别           | 血小板计数/<br>( $\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$ ) | 血红蛋白/<br>( $g/L, \bar{x} \pm s$ ) | 纤维蛋白原/<br>( $g/L, \bar{x} \pm s$ ) | 白细胞计数/<br>( $\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$ ) | C反应蛋白/<br>( $mg/L, \bar{x} \pm s$ ) | 血乳酸/<br>( $mmol/L, \bar{x} \pm s$ ) |
|--------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 预后不良组        | 192.35 $\pm$ 15.47                           | 124.09 $\pm$ 11.63                | 3.07 $\pm$ 0.41                    | 19.67 $\pm$ 2.85                             | 48.63 $\pm$ 5.23                    | 2.91 $\pm$ 0.38                     |
| 预后良好组        | 194.14 $\pm$ 16.25                           | 126.75 $\pm$ 12.42                | 3.12 $\pm$ 0.43                    | 18.87 $\pm$ 2.63                             | 29.86 $\pm$ 4.02                    | 2.82 $\pm$ 0.35                     |
| $\chi^2/t$ 值 | 0.462                                        | 0.900                             | 0.487                              | 1.239                                        | 18.086                              | 1.047                               |
| $P$ 值        | 0.645                                        | 0.370                             | 0.627                              | 0.218                                        | 0.000                               | 0.298                               |

表 4 预后不良组与预后良好组血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 基因相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | $n$ | miR-155 基因      | miR-23b-3p 基因   | miR-16-5p 基因    |
|-------|-----|-----------------|-----------------|-----------------|
| 预后不良组 | 22  | 1.81 $\pm$ 0.31 | 0.72 $\pm$ 0.12 | 0.74 $\pm$ 0.11 |
| 预后良好组 | 79  | 1.39 $\pm$ 0.22 | 1.02 $\pm$ 0.18 | 1.11 $\pm$ 0.19 |
| $t$ 值 |     | 7.202           | 7.361           | 8.716           |
| $P$ 值 |     | 0.000           | 0.000           | 0.000           |

原、CCL17、HMGB1、氧合指数为因变量(赋值均为原始数值),进行多因素逐步 Logistic 回归分析( $\alpha_{入}=0.05, \alpha_{出}=0.10$ ),结果显示:PELOD-2 评分 [ $\hat{OR}=5.129(95\% \text{ CI}: 2.111, 12.466)$ ]、miR-155 [ $\hat{OR}=3.924(95\% \text{ CI}: 1.614, 9.535)$ ]、miR-23b-3p [ $\hat{OR}=3.850(95\% \text{ CI}: 1.584, 9.356)$ ]、miR-16-5p [ $\hat{OR}=3.777(95\% \text{ CI}: 1.554, 9.179)$ ]均为影响 RMPP 患儿预后的危险因素( $P<0.05$ )。见表 5。

为因变量,以 PELOD-2 评分、C 反应蛋白、降钙素

表 5 RMPP 患儿预后影响因素的多因素逐步 Logistic 回归分析参数

| 自变量        | $b$   | $S_b$ | Wald $\chi^2$ | $P$ 值 | $\hat{OR}$ | 95% CI |        |
|------------|-------|-------|---------------|-------|------------|--------|--------|
|            |       |       |               |       |            | 下限     | 上限     |
| PELOD-2 评分 | 1.635 | 0.531 | 9.481         | 0.000 | 5.129      | 2.111  | 12.466 |
| miR-155    | 1.367 | 0.384 | 12.673        | 0.000 | 3.924      | 1.614  | 9.535  |
| miR-23b-3p | 1.348 | 0.329 | 16.788        | 0.000 | 3.850      | 1.584  | 9.356  |
| miR-16-5p  | 1.329 | 0.254 | 27.377        | 0.000 | 3.777      | 1.554  | 9.179  |

2.5 血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 预测 RMPP 患儿预后的价值

ROC 曲线结果显示,血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 及三者联合预测 RMPP 患儿预后的敏感性分别为 63.64% (95% CI: 0.408, 0.820)、72.73% (95% CI: 0.496, 0.884)、68.18% (95% CI: 0.451, 0.853)、86.36% (95% CI: 0.640, 0.964),特异性分别

为 70.89% (95% CI: 0.594, 0.803)、78.48% (95% CI: 0.675, 0.866)、72.15% (95% CI: 0.608, 0.814)、91.14% (95% CI: 0.820, 0.961),曲线下面积分别为 0.725 (95% CI: 0.622, 0.827)、0.718 (95% CI: 0.604, 0.831)、0.710 (95% CI: 0.591, 0.829)、0.923 (95% CI: 0.866, 0.980)。见表 6 和图 1。

表 6 血清 miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p 预测 RMPP 患儿预后的效能分析

| 指标         | 最佳截断值 | 敏感性/<br>% | 95% CI |       | 特异性/<br>% | 95% CI |       | 曲线下<br>面积 | 95% CI |       |
|------------|-------|-----------|--------|-------|-----------|--------|-------|-----------|--------|-------|
|            |       |           | 下限     | 上限    |           | 下限     | 上限    |           | 下限     | 上限    |
| miR-155    | 1.61  | 63.64     | 0.408  | 0.820 | 70.89     | 0.594  | 0.803 | 0.725     | 0.622  | 0.827 |
| miR-23b-3p | 0.89  | 72.73     | 0.496  | 0.884 | 78.48     | 0.675  | 0.866 | 0.718     | 0.604  | 0.831 |
| miR-16-5p  | 0.91  | 68.18     | 0.451  | 0.853 | 72.15     | 0.608  | 0.814 | 0.710     | 0.591  | 0.829 |
| 联合         | -     | 86.36     | 0.640  | 0.964 | 91.14     | 0.820  | 0.961 | 0.923     | 0.866  | 0.980 |

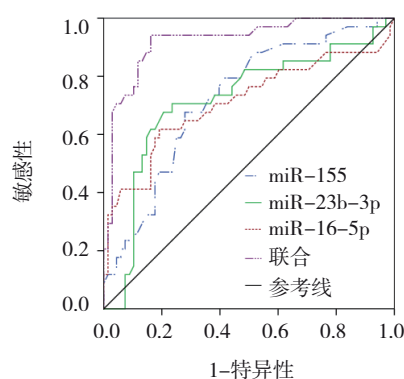


图1 血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p预测RMPP患儿预后的ROC曲线

### 3 讨论

肺炎支原体是一种完全没有细胞壁的寄生性病原体,是引起儿童社区获得性肺炎的主要病原菌之一,可引起严重的上呼吸道和下呼吸道症状,肺炎支原体侵入肺部后,会破坏黏膜上皮细胞,影响支气管上皮纤毛运动,进而产生炎症反应,导致气管充血水肿,气道分泌物增多,影响肺部通气功能,并且引起心肌炎等肺外表现<sup>[11-15]</sup>。MPP可通过适当的抗生素治疗得到控制甚至痊愈,然而,部分患者对抗生素治疗不敏感,肺炎症状持续或加重,导致RMPP。早期准确地预测RMPP患儿预后,有助于临床及时更换药物,避免延误治疗时机。但是,目前临床尚缺乏早期预测RMPP患儿预后的高效指标。

miRNA参与人体细胞增殖、分化、凋亡等基因调控过程,可调节多个靶基因翻译,影响细胞代谢、增殖、细胞凋亡等过程,在感染有关免疫反应中具有重要作用,可通过调控多条分子通路影响RMPP患儿病情<sup>[16-19]</sup>。本研究结果显示,重症组的miR-155基因相对表达量高于轻症组,而miR-23b-3p、miR-16-5p基因相对表达量低于轻症组,说明血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p水平与RMPP患儿病情有关。多因素逐步Logistic回归分析结果显示,PELOD-2评分、miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p是影响RMPP患儿预后的危险因素,提示并印证了血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p水平与RMPP患儿预后有关。炎症反应是RMPP的重要病理过程,炎症反应会导致肺泡壁的通透性增加,血管内液体渗出,还可导致氧化应激反应增加,氧化应激会导致细胞内氧自由基的产生

增加,进一步损伤肺组织,此外氧自由基还会激活炎症反应,并形成恶性循环;炎性介质的释放会抑制免疫细胞的功能,降低机体对感染的抵抗力,并且免疫功能紊乱可导致自身免疫反应的异常,引起肺组织进一步损伤<sup>[20-21]</sup>。miRNA可通过阻断细胞受体信号级联中转录因子或中间分子等关键蛋白的翻译来影响免疫细胞的发育和功能,miRNA已被确定通过控制中性粒细胞激活和募集及启动炎症过程的趋化信号来调节严重细菌感染的免疫反应。miR-155是促炎因子诱导的炎症反应的关键调节剂,参与先天性和适应性免疫反应的调节,miR-155表达下调可抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )表达,从而阻断TNF- $\alpha$ -NF- $\kappa$ B轴引发的炎症反应,而miR-155高表达则促进TNF- $\alpha$ 表达,降低机体免疫功能,促进炎症反应,进而影响RMPP患儿病情及预后。JIN等<sup>[22]</sup>研究报道,MPP患儿血清miR-155异常表达,同时存在炎症和免疫紊乱情况。XU等<sup>[23]</sup>研究显示,抑制miR-155-5p可减少体内肺巨噬细胞的M1极化,从而减轻iHvKp-exo或iHvKp诱导的肺损伤和炎症。

miRNA广泛存在于多种组织和生物体液中,并且具有进化上保守的序列,在胚胎发育、细胞死亡与增殖、造血、神经发育及代谢调节等过程中发挥作用。miRNA最重要的功能之一是在调节免疫过程中的作用,包括先天性和适应性免疫反应、免疫细胞的发育与分化及预防自身免疫性疾病。miRNA可以分泌到称为外泌体的小细胞外囊泡中的细胞外环境中,通过与外泌体或转运蛋白结合,在血流中移动并可渗入其他细胞中,从而调节基因表达。miR-23b-3p可通过靶向调控抗炎基因的表达,抑制了抗炎因子的产生;此外miR-23b-3p可通过调节免疫细胞的功能来影响RMPP患儿免疫系统的正常调节,miR-23b-3p也可通过调节细胞凋亡与增殖等信号通路来影响RMPP患儿细胞凋亡,进而影响其病情及预后。金晓立等<sup>[24]</sup>的研究结果显示,调控LEF1-AS1/miR-23b-3p分子轴可缓解肺泡上皮细胞炎症反应及凋亡,进而减轻肺泡细胞损伤。miR-16-5p与感染后肺部损伤的保护机制有关,脂多糖诱导损伤的细胞模型中,miR-16-5p的高表达可抑制TNF- $\alpha$ 、

白细胞介素-6抑制全身炎症反应,从而减少急性肺损伤。miR-16-5p高表达可抑制RMPP患儿体内炎症反应,直接对PI3K激酶发挥抑制作用,PI3K激酶是NF- $\kappa$ B激活级联的关键组成部分,通过抑制PI3K激酶可抑制TNF- $\alpha$ 等炎症因子产生,进而减轻RMPP患儿体内炎症级联反应,进而缓解RMPP患儿病情,改善预后。GALVÁN-ROMÁN等<sup>[25]</sup>研究指出,miR-16-5p检测可用于预测社区获得性肺炎患者入院后的短期病死率,入院时miR-16-5p水平高的社区获得性肺炎患者30 d病死率明显下降。ROC曲线分析结果显示,血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p联合预测RMPP患儿预后的敏感性、特异性、曲线下面积均最高,提示三者联合预测RMPP患儿预后效能良好,具有一定临床价值。

综上所述,血清miR-155、miR-23b-3p、miR-16-5p水平与RMPP患儿病情严重程度及预后有关,三者联合预测RMPP患儿预后效能良好。本研究不足之处为选取样本量有限,患儿资料的收集具有一定局限性,研究结果可能存在一定偏倚,后期仍需更多大样本量的基础与临床研究完善本研究结论,并探索出更多经济、便捷的因子辅助诊断RMPP病情及评估预后。

#### 参 考 文 献:

- [1] MIYASHITA N. Atypical pneumonia: pathophysiology, diagnosis, and treatment[J]. *Respir Investig*, 2022, 60(1): 56-67.
- [2] LI M, WEI X, ZHANG S S, et al. Recognition of refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia among *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in hospitalized children: development and validation of a predictive nomogram model[J]. *BMC Pulm Med*, 2023, 23(1): 383.
- [3] HE Y S, YANG M, LIU G, et al. Safety study of moxifloxacin in children with severe refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2023, 58(7): 2017-2024.
- [4] 佟立新, 孙同英, 徐莎, 等. 血清SAA、HC-gp39及SF检测在小儿难治性肺炎支原体肺炎预后评估中的应用价值研究[J]. *解放军医药杂志*, 2021, 33(9): 69-73.
- [5] ZHANG D Q, PAN F, ZHU M J, et al. Exosomes derived miR-362 exacerbates pneumonia by increasing Interleukin-6 via targeting VENTX[J]. *Environ Toxicol*, 2023, 38(10): 2298-2309.
- [6] LIAN J, ZHU X X, DU J, et al. Extracellular vesicle-transmitted miR-671-5p alleviates lung inflammation and injury by regulating the AAK1/NF- $\kappa$ B axis[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(5): 1365-1382.
- [7] 李敏, 孙晓敏, 赵二要, 等. 血清微小RNA-155水平评估肺炎支原体肺炎预后的价值[J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(10): 909-915.
- [8] PALLESCHI A, GAUDIOSO G, EDEFONTI V, et al. Bronchoalveolar lavage-microRNAs are potential novel biomarkers of outcome after lung transplantation[J]. *Transplant Direct*, 2020, 6(5): e547.
- [9] EYILETEN C, WICIK Z, SIMÕES S N, et al. Thrombosis-related circulating miR-16-5p is associated with disease severity in patients hospitalised for COVID-19[J]. *RNA Biol*, 2022, 19(1): 963-979.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南(2023年版)[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2023, 50(2): 79-85.
- [11] GUO H X, LIANG J Y, LIN H W, et al. Differentiate clinical characteristics between viral pneumonia and *Mycoplasma pneumoniae* and nomograms for predicting *Mycoplasma pneumoniae*: a retrospective study in primary hospitals[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2023, 42(12): 1035-1040.
- [12] QU J M, ZHANG J, CHEN Y, et al. Aetiology of severe community acquired pneumonia in adults identified by combined detection methods: a multi-centre prospective study in China[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2022, 11(1): 556-566.
- [13] LI J Q, LUU L D W, WANG X X, et al. Metabolomic analysis reveals potential biomarkers and the underlying pathogenesis involved in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2022, 11(1): 593-605.
- [14] 张松林, 熊蕾蕾, 余燕娟, 等. 血清IL-6、RANTES与儿童难治性肺炎支原体肺炎的关系[J]. *中华全科医学*, 2023, 21(4): 619-621.
- [15] 张贵英, 胡阳, 黄波, 等. 儿童重症肺炎血清炎性因子及RNA异常表达与肺损伤和治疗结局的相关性[J]. *中华全科医学*, 2023, 21(5): 740-743.
- [16] YIN L L, MA Y J, WANG W L, et al. The critical function of miR-1323/Il6 axis in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2021, 97(5): 552-558.
- [17] WANG Z, CHU C, DING Y, et al. Clinical significance of serum microRNA-146a and inflammatory factors in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia after azithromycin treatment[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2024, 100(1): 108-115.
- [18] 葛雯雯, 徐婷, 宋磊. 肺炎支原体肺炎患儿血清miR-126联合miR-138水平对预后的预测价值[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(24): 101-104.
- [19] 夏慧娟, 付小梅, 陈秋月. 肺炎支原体感染诱发哮喘患儿血清中miR-424-5p和CX3CL1表达水平及与预后预测价值研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2023, 38(4): 100-104.
- [20] WANG J C, GUO C Y, YANG L X, et al. Peripheral blood microR-146a and microR-29c expression in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia and its clinical value[J]. *Ital J Pediatr*, 2023, 49(1): 119.
- [21] GAO P J, WANG J, JIANG M, et al. LncRNA SNHG16 is downregulated in pneumonia and downregulates miR-210 to

- promote LPS-induced lung cell apoptosis[J]. *Mol Biotechnol*, 2023, 65(3): 446-452.
- [22] JIN Y, XUE J, RUAN M R, et al. Expression of serum miR-155 in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia and its role in immunity to *Mycoplasma pneumoniae*[J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 1273-1281.
- [23] XU Y H, ZHANG C Y, CAI D N, et al. Exosomal miR-155-5p drives widespread macrophage M1 polarization in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*-induced acute lung injury via the MSK1/p38-MAPK axis[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 92.
- [24] 金晓立, 许建平, 黄曦, 等. 白果内酯调控 LEF1-AS1/miR-23b-3p 分子轴缓解肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞损伤[J]. *免疫学杂志*, 2022, 38(1): 15-21.
- [25] GALVÁN-ROMÁN J M, LANCHO-SÁNCHEZ Á, LUQUERO-

BUENO S, et al. Usefulness of circulating microRNAs miR-146a and miR-16-5p as prognostic biomarkers in community-acquired pneumonia[J]. *PLoS One*, 2020, 15(10): e0240926.

(张西倩 编辑)

**本文引用格式:** 吴康平, 魏金凤, 王丽娜, 等. 血清 microRNA-155、microRNA-23b-3p、microRNA-16-5p 与难治性肺炎支原体肺炎患儿病情严重程度及预后的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(21): 7-14.

**Cite this article as:** WU K P, WEI J F, WANG L N, et al. Relationship between serum levels of microRNA-155, microRNA-23b-3p, microRNA-16-5p and severity and prognosis of refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(21): 7-14.