



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2024.04.011

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.04.011

· 论著 ·

循环血微小 RNA-132 和微小 RNA-195 在慢性阻塞性肺疾病相关肺动脉高压患者中的表达及意义

朱殷慧 蔡茜 杨密

[摘要] **目的** 探讨循环血微小 RNA (miRNA, miR)-132 和 miR-195 在慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 相关肺动脉高压 (PH) 患者中的表达及意义。**方法** 纳入 COPD 相关 PH 患者 108 例作为观察组,同期于我院就诊的 COPD 但无 COPD 相关 PH 患者 97 例作为对照组。比较两组患者循环血 miRNA-132 和 miR-195 相对表达水平、第 1 秒用力呼气容积 (FEV_1) 占预计值的百分比 ($FEV_1\%$)、 FEV_1 /用力呼气容积 (FVC) 及肺动脉收缩压 (sPAP)。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析循环血 miRNA-132 和 miRNA-195 对 COPD 相关 PH 的预测价值;采用 Pearson 相关分析评估循环血 miR-132 和 miR-195 与 $FEV_1\%$ 、 FEV_1 /FVC 及 sPAP 的相关性;采用多元 logistic 回归分析评估 COPD 相关 PH 发生的影响因素。**结果** 观察组患者循环血 miR-132 相对表达水平及 sPAP 均高于对照组,循环血 miRNA-195 相对表达水平及 $FEV_1\%$ 、 FEV_1 /FVC 均低于对照组 ($P < 0.001$)。ROC 曲线分析结果显示,循环血 miRNA-132、miRNA-195 预测 COPD 相关 PH 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.894 (95% CI 0.863 ~ 0.947)、0.912 (95% CI 0.882 ~ 0.955)。Pearson 相关分析结果显示,COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 与 $FEV_1\%$ 、 FEV_1 /FVC 均呈负相关,与 sPAP 呈正相关;COPD 相关 PH 患者循环血 miR-195 与 $FEV_1\%$ 、 FEV_1 /FVC 均呈正相关,与 sPAP 呈负相关 ($P < 0.001$)。多元 logistic 回归分析结果显示,循环血 miR-132 和 miR-195 均为 COPD 相关 PH 发生的独立危险因素 ($P < 0.05$)。**结论** COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 呈高表达,而 miR-195 呈低表达,且二者对 COPD 相关 PH 的预测价值良好,为其独立危险因素。

[关键词] 微小 RNA-132; 微小 RNA-195; 慢性阻塞性肺疾病; 肺动脉高压

[中图分类号] R562

[文献标识码] A

慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 是因肺泡和 (或) 气道异常而发生的以气流受限和持续呼吸道症状为特征的一种疾病,常因长期暴露于有害气体或颗粒中所致^[1]。COPD 发病率呈逐年增长,而肺动脉高压 (PH) 是其常见并发症^[2],其中 50% ~ 60% COPD 会继发 PH^[3]。右心导管检查是诊断 PH 的金标准,但该方法操作复杂,并存在潜在并发症。因此,寻找 COPD 相关 PH 诊断的新指标日益受到重视。微小 RNA (miRNA, miR) 是近年来的研究热点,参与肿瘤、免疫及炎症等多种疾病的发病过程^[4-6]。研究发现,多种 miRNA 在 COPD 中异常表达^[7]。miR-132 和 miR-195 是重要的 miRNA,研究发现其参与呼吸系统疾病的诸多过程^[8]。

基于此,本研究主要探讨循环血 miR-132 和 miR-195 在 COPD 相关 PH 患者中的表达及意义。

对象与方法

1. 对象:纳入 2020 年 9 月 ~ 2022 年 2 月于我院就诊的 COPD 相关 PH 患者 108 例作为观察组,其中男 63 例,女 45 例,年龄 45 ~ 74 岁,平均年龄 (64.87 ± 6.92) 岁,平均 BMI (22.31 ± 2.87) kg/m^2 ;吸烟史 46 例;高血压 24 例,糖尿病 20 例。另纳入同期于我院就诊的 COPD 但无 COPD 相关 PH 患者 97 例作为对照组,其中男 58 例,女 39 例,年龄 42 ~ 75 岁,平均年龄 (65.07 ± 5.62) 岁,平均 BMI (22.16 ± 3.25) kg/m^2 ;吸烟史 42 例;高血压 20 例,糖尿病 15 例。两组一般资料比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。COPD 的诊断参照《慢性阻塞性肺疾病诊治指南 (2021 年修订版)》^[9];PH 的诊断参照欧洲呼吸学会和欧洲心脏病

基金项目:湖南省卫生健康委员会科研计划资助项目 (A20182005)

作者单位:410035 湖南省长沙市第三医院呼吸与危重症医学科

通讯作者:杨密, E-mail: nancyhui0106@163.com

学会联合制定的关于 PH 的诊断标准^[10]。排除标准：(1)伴间质性肺疾病、支气管扩张及支气管哮喘；(2)伴肺炎或其他部位急性感染；(3)伴心脏瓣膜病、先天性心脏病、肺栓塞及特发性 PH 引起的 PH；(4)严重精神疾病；(5)近 3 个月有手术史；(6)肝肾功能不全。本研究经我院伦理委员会审核批准，所有患者均签署知情同意书。

2. 方法

(1)循环血 miR-132 和 miR-195 相对表达水平检测：抽取患者外周静脉血 6 ml，置于肝素钠抗凝管中，混匀备用，外周血单个核细胞(PBMC)以 Ficoll 淋巴细胞分离液提取。PBMC 总 RNA 按照 Trizol 试剂(昆山远慕生物科技有限公司)说明书提取，再以焦碳酸二乙酯处理过的蒸馏水溶解。采用分光光度仪测定总 RNA 浓度和质量。采用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 反转录成互补 DNA，逆转录产物置于 -70 ℃ 冰箱待用。采用 SYBR 法进行实时荧光定量定量 PCR (qRT-PCR)检测。引物由上海生工生物工程有限公司合成，见表 1。总反应体系 20 μl：包括 10 μl RNase-free H₂O、2.0 μl cDNA、0.4 μl PCR reverse primer、0.4 μl DYE I、0.4 μl PCR forward primer、6.8 μl SYBER GREEN，将上述物质混匀后行 qRT-PCR 扩增。反应条件：95 ℃ 预变性 10 min、95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min，共 40 个循环，每个样品设置 3 个复孔，以 U6 作为内参。采用 2^{-ΔΔCT}法计算 miR-132 和 miR-195 相对表达水平，ΔCT = CT_{目的基因} - CT_{U6}；ΔΔCT = ΔCT_{观察组} - ΔCT_{对照组}。

表 1 引物序列

名称	方向	引物序列
miR-132	F	5'-CCAGCATAACAGTCTACAGCCA-3'
	R	5'-TATGGTTGTTACGACTCCTTCAC-3'
miR-195	F	5'-TCTCACCATGCAATGCGCGTCATTTAGGA-3'
	R	5'-GGTACTGTCTAGGTAGTG-3'
U6	F	5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'
	R	5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCTAT-3'

(2)肺功能测定：采用德国耶格肺功能仪测定第 1 秒用力呼气容积 (FEV₁)/用力呼气容积 (FVC)、FEV₁占预计值的百分比 (FEV₁%)。

(3)肺动脉压测定：采用三尖瓣最大反流流速估测右心室收缩压 (RVSP)，在无右心室流出道梗阻且无心内分流时，RVSP 近似于肺动脉收缩压 (sPAP)。sPAP = RVSP = 4VTR (三尖瓣反流最大速度) + 右心房压力 (RAP)。

3. 统计学处理：应用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用 *t* 检验；计

数资料以例和率表示，两组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析循环血 miR-132 和 miR-195 对 COPD 相关 PH 的预测价值；采用 *Pearson* 相关分析评估循环血 miR-132 和 miR-195 与 FEV₁%、FEV₁/FVC 及 sPAP 的相关性；采用多元 *logistic* 回归分析评估 COPD 相关 PH 的影响因素。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者临床资料比较：观察组患者循环血 miR-132 相对表达水平及 sPAP 均高于对照组，循环血 miR-195 相对表达水平及 FEV₁%、FEV₁/FVC 均低于对照组 (*P* < 0.001)。见表 2。

表 2 两组患者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-132	miR-195	FEV ₁ % (%)	FEV ₁ /FVC (%)	sPAP (mmHg)
观察组	108	2.43 ± 0.51	0.43 ± 0.12	38.62 ± 4.98	50.29 ± 6.57	39.81 ± 3.71
对照组	97	1.56 ± 0.32	0.81 ± 0.16	53.25 ± 7.17	64.32 ± 5.54	21.35 ± 4.17
<i>t</i> 值		14.439	19.356	17.105	16.429	33.542
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2. 循环血 miR-132 和 miR-195 对 COPD 相关 PH 的预测价值：ROC 曲线分析结果显示，循环血 miR-132 预测 COPD 相关 PH 的 ROC 曲线下面积 (*AUC*) 为 0.894 (95% *CI* 0.863 ~ 0.947)，最佳截断值为 1.98，对应的敏感度和特异度分别为 77.81%、82.63%；循环血 miR-195 预测 COPD 相关 PH 的 *AUC* 为 0.912 (95% *CI* 0.882 ~ 0.955)，最佳截断值为 0.65，对应的敏感度和特异度分别为 83.31%、78.72%。

3. COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 和 miR-195 与 FEV₁%、FEV₁/FVC 及 sPAP 的相关性：*Pearson* 相关分析结果显示，COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 与 FEV₁%、FEV₁/FVC 均呈负相关 (*r* = -0.517, *P* < 0.001; *r* = -0.628, *P* < 0.001)，与 sPAP 呈正相关 (*r* = 0.564, *P* < 0.001)；COPD 相关 PH 患者循环血 miR-195 与 FEV₁%、FEV₁/FVC 均呈正相关 (*r* = 0.586, *r* = 0.521, *P* 均 < 0.001)，与 sPAP 呈负相关 (*r* = -0.507, *P* < 0.001)。

4. COPD 相关 PH 的影响因素分析：多元 *logistic* 回归分析结果显示，循环血 miR-132 和 miR-195 均为 COPD 相关 PH 的独立危险因素 (*P* < 0.05)。见表 3。

讨 论

COPD 是一种慢性气道疾病，其患病率逐渐上升，且存在较高的致死率^[11]。而 PH 是 COPD 的重要并发症之一，研究发现 PH 是促使 COPD 进展至肺心病的重

表 3 COPD 相关 PH 影响因素的多元 logistic 回归分析

因素	β 值	S. E.	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% CI
性别	0.657	0.434	2.292	0.130	1.929	0.824 ~ 4.516
年龄	0.924	0.512	3.257	0.071	2.519	0.924 ~ 6.872
BMI	0.536	0.478	1.257	0.262	1.709	0.670 ~ 4.362
高血压	1.082	0.574	3.553	0.059	2.951	0.958 ~ 9.089
糖尿病	0.976	0.596	2.682	0.102	2.654	0.825 ~ 8.535
miR-132	1.476	0.559	6.972	0.008	4.375	1.463 ~ 13.087
miR-195	1.527	0.679	5.058	0.025	4.604	1.217 ~ 17.424

要环节^[12]。当 COPD 造成气道阻塞,则会使肺血管和肺实质受到损害,致使肺小动脉管壁增厚、纤维化或管腔狭窄,从而导致肺血管阻力增加,以此造成 PH 发生及肺循环血管重塑^[13]。由于 COPD 相关 PH 是不可逆的病理变化,长期低氧造成低氧性肺血管收缩,血管舒张因子分泌紊乱,肺血管平滑肌细胞和内皮细胞增殖,以此形成不可逆的肺血管重构,恶性循环进而引起 PH^[14-15]。COPD 相关 PH 发病机制尚未完全明确,包括环境因素、表观遗传因素等,各种类型 PH 存在一些共同的病理改变,如肺动脉平滑肌细胞增殖与迁移,肺动脉内皮细胞损伤等^[16-17]。及时有效地准确评估 COPD 相关 PH 尤为关键。

miRNA 在多种组织和器官中广泛表达,参与肿瘤迁移和侵袭等病理生理过程,并且在多种疾病发生、发展中具有重要意义。近年来研究发现,miRNA 异常表达与 PH 发病关系紧密,并在 PH 血管重构中发挥重要作用^[18]。多种 miRNA 在炎症性肺疾病中异常表达,并发现其作用的靶点,参与了炎症、免疫的调节。持续性慢性炎症可造成某些 miRNA 表达失调、组织重建和修复,进而导致 PH 形成。miR-132 主要通过抑制沉默信息调节因子 1 发挥促炎作用。miR-195 不仅参与细胞缺氧的调控,并且参与机体固有免疫的调节。本研究结果显示,观察组患者循环血 miR-132 相对表达水平高于对照组,miR-195 相对表达水平低于对照组;循环血 miR-132 预测 COPD 相关 PH 的敏感度和特异度分别为 77.81%、82.63%,循环血 miR-195 预测 COPD 相关 PH 的敏感度和特异度分别为 83.31%、78.72%;COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 与 FEV₁%、FEV₁/FVC 均呈负相关,与 sPAP 呈正相关,COPD 相关 PH 患者循环血 miR-195 与 FEV₁%、FEV₁/FVC 均呈正相关,与 sPAP 呈负相关;循环血 miR-132 和 miR-195 为 COPD 相关 PH 的独立危险因素,表明 COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 呈高表达而 miR-195 呈低表达,循环血 miR-132 和 miR-195 对 COPD 相关 PH 的预测价值良好,COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 与肺功能呈负相关而与 sPAP 呈正相关,而 COPD 相关 PH 循

环血 miR-195 与肺功能呈正相关而与 sPAP 呈负相关,由此可见循环血 miR-132 和 miR-195 与 COPD 相关 PH 密切相关,且与肺功能密切相关,但其具体作用机制尚未完全明确,还需后续研究增加样本量和观察时间并进行多中心研究进一步证实,以期为临床提供可靠参考依据。

综上所述,COPD 相关 PH 患者循环血 miR-132 呈高表达,而循环血 miR-195 呈低表达,且循环血 miR-132 和 miR-195 对 COPD 相关 PH 的预测价值良好,为 COPD 相关 PH 的独立危险因素。

参 考 文 献

[1] 黄晓晨,张永,钱朝霞.郑氏卧位康复操联合呼吸排痰阀对重度慢性阻塞性肺疾病患者的疗效观察[J].中华全科医学,2023,21(2):259-262.

[2] 陈思睿,蔡茜,朱应群,等.外周血微小 RNA-210 水平对慢性阻塞性肺疾病患者继发肺动脉高压的预测价值[J].中国医药,2023,18(12):1793-1797.

[3] 王慧娟,张丽.动脉氧分压联合血清超敏 C 反应蛋白、降钙素原检测对急性加重期慢性阻塞性肺疾病伴肺动脉高压诊断效能的影响[J].中国药物与临床,2020,20(6):979-981.

[4] Zhou YP,Wei YP,Yang YJ,et al. Percutaneous Pulmonary Angioplasty for Patients With Takayasu Arteritis and Pulmonary Hypertension[J]. J Am Coll Cardiol,2022,79(15):1477-1488.

[5] 周慈航,胡珍丽,胡晶晶.微小 RNA 在社区获得性肺炎中应用进展[J].临床军医杂志,2022,50(7):766-768,770.

[6] 余凤,李良,李鸿雁,等.非小细胞肺癌组织中 miR-605-5p、TNF- α 、FAIP3 表达水平及临床意义[J].疑难病杂志,2023,22(7):673-678,685.

[7] 李翠娟,唐颖,彭翠兰,等.稳定期慢性阻塞性肺疾病患者微小 RNA-181a 表达水平及其与预后的关系[J].广西医学,2021,43(19):2314-2317,2335.

[8] 王欣,高瑜,张权武.微小 RNA-132 在肺结核患者外周血中的表达及其临床意义[J].医学临床研究,2021,38(2):246-248.

[9] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组,中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021 年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2021,44(3):170-205.

[10] Galie N,Hoeper MM,Humbert M,et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension;the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT)[J]. Eur Heart J,2009,30(20):2493-2537.

[11] 熊伟,彭俊男,王勤,等.慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者住院时间延长的危险因素分析[J].临床内科杂志,2023,40(9):603-607.

[12] Truong L,Zheng YM,Wang YX. The Potential Important Role of Mitochondrial Rieske Iron-Sulfur Protein as a Novel Therapeutic Target for Pulmonary Hypertension in Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. Biomedicines,2022,10(5):957.

[13] 袁雪婷,许小毛.慢性阻塞性肺疾病相关的肺动脉高压遗传学研究进展[J].国际呼吸杂志,2020,40(14):1106-1110.

[14] 傅仙平,王婷,侯佳惠.慢性阻塞性肺病伴肺动脉高压患者血浆白蛋白和炎症因子的水平[J].中华高血压杂志,2020,28(11):1073-1076.

[15] 符沙沙,陈宗存,王志峰,等.老年慢性阻塞性肺疾病相关肺动脉高压、高凝状态与血清脂联素、8-异前列腺素 F₂ α 的关系[J].实用老年医学,2022,36(2):180-183.

[16] 陈妍,梁世廉,黄献欢,等. COPD 合并肺动脉高压患者 NLR、MSTN、TXB₂、NT-proBNP 的变化及其意义[J].解放军预防医学杂志,2019,37(4):55-56.

[17] 刘鹏军,雷荣,刘宏伟.伴肺动脉高压的慢性阻塞性肺疾病患者的血清炎症因子水平变化及意义[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2020,15(3):315-318.

[18] 朱梦婵,邵先桃,王坚,等.外泌体及外泌体微小 RNA 在肺动脉高压中的作用与机制[J].中华肺部疾病杂志(电子版),2019,12(6):776-779.