

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.19.011

# 血清 miR-21、S1P 与难治性肺炎支原体肺炎患儿并发肝损伤的关系研究\*

高龙飞 张景丽 吴晓杰 吴会芳 段晨初 康军聪 张英谦<sup>△</sup>

(河北省儿童医院呼吸科 河北 石家庄 050000)

**摘要 目的:**探讨血清微小核糖核酸-21(miR-21)、1-磷酸鞘氨醇(S1P)与难治性肺炎支原体肺炎(RMPP)患儿并发肝损伤的关系。**方法:**根据丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平将270例RMPP患儿分为肝损伤组( $\geq 40$  U/L, 39例),无肝损伤组( $< 40$  U/L, 231例),并将肝损伤患儿分为轻度肝损伤组(40 U/L~ $< 200$  U/L, 20例)、中度肝损伤组(200 U/L~ $< 400$  U/L, 13例)和重度肝损伤组( $\geq 400$  U/L, 6例)。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)检测miR-21水平,酶联免疫吸附法检测S1P水平。通过单因素及多因素 Logistic 回归分析RMPP患儿并发肝损伤的影响因素。**结果:**与对照组比较,RMPP组血清miR-21水平升高,S1P水平降低( $P < 0.05$ )。无肝损伤组、轻度肝损伤组、中度肝损伤组、重度肝损伤组血清miR-21水平依次升高,S1P水平依次降低( $P < 0.05$ )。经单因素及多因素 Logistic 回归分析显示热程延长、血清CRP水平升高、血清miR-21水平升高为RMPP患儿并发肝损伤的危险因素,血清S1P水平升高为保护因素( $P < 0.05$ )。**结论:**血清miR-21水平升高、S1P水平降低与RMPP患儿并发肝损伤及其程度有关。

**关键词:**肺炎支原体肺炎;微小核糖核酸-21;1-磷酸鞘氨醇;肝损伤

中图分类号:R563.15 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)19-3651-03

## Study on the Relationship between Serum miR-21, S1P and Liver Injury in Children with Refractory Mycoplasma Pneumoniae Pneumonia\*

GAO Long-fei, ZHANG Jing-li, WU Xiao-jie, WU Hui-fang, DUAN Chen-chu, KANG Jun-cong, ZHANG Ying-qian<sup>△</sup>

(Department of Respiratory, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang, Hebei, 050000, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the relationship between serum microRNA-21 (miR-21), sphingosine-1-phosphate (S1P) and liver injury in children with refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia (RMPP). **Methods:** 270 children with RMPP were divided into liver injury group ( $\geq 40$  U/L, 39 cases) and non liver injury group ( $< 40$  U/L, 231 cases) according to the level of alanine aminotransferase (ALT), and children with liver injury were divided into mild liver injury group (40 U/L~ $< 200$  U/L, 20 cases), moderate liver injury group (200 U/L~ $< 400$  U/L, 13 cases) and severe liver injury group ( $\geq 400$  U/L, 6 cases). The level of miR-21 was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR), and the level of S1P was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The influencing factors of liver injury in children with RMPP were analyzed by univariate and multivariate logistic regression. **Results:** Compared with control group, the serum miR-21 level in RMPP group was increased, and the S1P level was decreased ( $P < 0.05$ ). The levels of serum miR-21 in non liver injury group, mild liver injury group, moderate liver injury group and severe liver injury group increased in turn, and the levels of S1P decreased in turn ( $P < 0.05$ ). Univariate and multivariate logistic regression analysis showed that prolonged fever, elevated serum CRP level and elevated serum miR-21 level were risk factors for liver injury in children with RMPP, and elevated serum S1P level was a protective factor ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The increase of serum miR-21 level and the decrease of S1P level are related to the degree of liver injury in children with RMPP, and serum miR-21 combined with S1P level has a high predictive value for liver injury in children with RMPP.

**Key words:** Mycoplasma pneumoniae pneumonia; MicroRNA-21; Sphingosine-1-phosphate; Liver injury

**Chinese Library Classification(CLC):** R563.15 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)19-3651-03

### 前言

肺炎支原体肺炎(MPP)是我国 $\geq 5$ 岁儿童最常见的社区获得性肺炎类型,部分MPP患儿因大环内酯类抗生素耐药或不敏感发展为难治性肺炎支原体肺炎(RMPP)<sup>[1]</sup>。肝损伤肝损伤是RMPP肺外并发症之一,可进一步降低患儿预后<sup>[2]</sup>。目前

临床常通过检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)等肝脏指标评估RMPP患儿肝损伤,但具有一定的延后性,还需寻找其他可靠的指标。研究表明,炎症反应在RMPP并发肝损伤中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。微小核糖核酸(miR)-21是一种炎症相关miRNA,MPP患儿血清miR-21水平上调<sup>[4]</sup>。1-磷酸鞘氨醇(S1P)是一种信号分子,参与炎症过程;在重症社区获得性肺炎患者血清中S1P

\* 基金项目:河北省卫生健康委科研基金项目(20211381)

作者简介:高龙飞(1988-),男,硕士,主治医师,从事小儿呼吸系统疾病诊治工作,E-mail: g791872898@163.com

<sup>△</sup> 通讯作者:张英谦(1973-),女,博士,主任医师,从事小儿呼吸系统疾病诊治工作,E-mail: zhangyingqian666@163.com

(收稿日期:2024-03-21 接受日期:2024-04-17)

水平降低<sup>[9]</sup>。因此,本研究拟探讨血清 miR-21、S1P 与 RMPP 患儿并发肝损伤的关系,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取我院 2021 年 1 月~2023 年 10 月收治的 RMPP 患儿 270 例,年龄范围 1~14 岁,中位 7.00(4.00,9.00)岁;女 110 例、男 160 例;热程 5~14 d,中位 9.00(7.75,10.00)d。纳入标准:(1) 年龄 1~14 岁;(2) 患儿符合 MPP 相关诊断标准<sup>[6]</sup>;(3) RMPP 符合《中国儿童肺炎支原体感染实验室诊断规范和临床实践专家共识(2019 年)》<sup>[7]</sup>诊断标准。排除标准:(1)先天性免疫缺陷或伴有自身免疫性疾病;(2)既往肝损伤;(3)肺结核、先天性肺发育不良等其他呼吸系统疾病;(4)合并其他细菌、病毒感染。本研究经医院伦理委员会批准,患儿家属已签署同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 血清 miR-21、S1P、ALT 水平检测** 采集 RMPP 患儿入院治疗前和对照组体检时 3 mL 静脉血检测,经离心后,留取上层血清保存于两支试剂管中,一管血清采用 TRIzol 总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,使用 Takara 逆转录试剂盒逆转录为互补 DNA。根据互补 DNA 为模板建立扩增体系(20 μL)。以 U6 为内参,2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算血清 miR-21 水平。另一管血清使用 S1P

酶联免疫吸附法试剂盒检测血清 S1P 水平;使用 ALT 单试剂速率法试剂盒检测血清 ALT 水平。

**1.2.2 资料收集** 收集 RMPP 患儿性别、年龄、热程、临床表现、影像学表现、血红蛋白、血小板计数、降钙素原、C 反应蛋白(CRP)等资料。

### 1.3 肝损伤诊断和分组

RMPP 患儿入院后根据 ALT 是否 >40 U/L 分为肝损伤组 39 例和无肝损伤组 231 例,并根据 ALT 水平将肝损伤患儿分为轻度肝损伤组(40 U/L~<200 U/L,20 例)、中度肝损伤组(200 U/L~<400 U/L,13 例)和重度肝损伤组(≥400 U/L,6 例)<sup>[12]</sup>。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS28.0 软件。计数资料以例(%)表示,行  $\chi^2$  检验;正态计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,行 t 检验或 F 检验;偏态计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,行 U 检验。单因素及多因素 Logistic 回归分析 RMPP 患儿并发肝损伤的影响因素。检验水准设定为  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 不同肝损伤程度 RMPP 患儿血清 miR-21、S1P 水平比较

无肝损伤组、轻度肝损伤组、中度肝损伤组、重度肝损伤组血清 miR-21 水平依次升高,S1P 水平依次降低( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 不同肝损伤 RMPP 患儿血清 miR-21、S1P 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of serum miR-21 and S1P levels in RMPP children with different liver injury( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	miR-21	S1P(pg/mL)
Non liver injury group	231	1.45± 0.25	238.44± 81.53
Mild liver injury group	20	1.55± 0.15 <sup>a</sup>	199.95± 45.21 <sup>a</sup>
Moderate liver injury group	13	1.87± 0.13 <sup>ab</sup>	111.21± 26.85 <sup>ab</sup>
Severe liver injury group	6	2.18± 0.10 <sup>abc</sup>	59.05± 22.89 <sup>abc</sup>
F	-	122.340	69.290
P	-	<0.001	<0.001

Notes: Compared with Non liver injury group, <sup>a</sup> $P<0.05$ . Compared with Mild liver injury group, <sup>b</sup> $P<0.05$ .

Compared with Moderate liver injury group, <sup>c</sup> $P<0.05$ .

### 2.2 RMPP 患儿并发肝损伤的影响因素分析

热程、高热、血红蛋白、降钙素原、CRP、miR-21、S1P 为 RMPP 患儿并发肝损伤的影响因素( $P<0.05$ ),两组患儿其余的临床资料比较无明显差异( $P>0.05$ )。见表 2。以并发肝损伤(是/否=1/0)为因变量,表 2 项目[热程、高热(是/否=1/0)、血红蛋白、降钙素原、CRP、miR-21、S1P]为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示热程延长(OR=1.656,95%CI=1.140~2.406)、CRP 升高(OR=1.050,95%CI=1.010~1.090)、miR-21 升高(OR=1.650,95%CI=1.301~2.094)为 RMPP 患儿并发肝损伤的危险因素,S1P 升高(OR=0.984,95%CI=0.977~0.992)为保护因素( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

肝损伤是 RMPP 患儿的肺外并发症之一,可进一步加重全身炎症反应并引起凝血功能障碍,RMPP 患儿并发肝损伤的发

生率较高,降低患儿预后<sup>[9]</sup>。寻找影响 RMPP 患儿并发肝损伤及其程度的因素,对指导临床早期采取相关措施和改善 RMPP 患儿预后具有一定意义。

炎症反应是 RMPP 发生及并发肝损伤的重要机制<sup>[9]</sup>。miRNA 能与特定信使 RNA 相互作用降解靶 mRNA 或抑制其翻译为功能蛋白,从而调控 RMPP 发生发展<sup>[9]</sup>。既往研究报道<sup>[10]</sup>,血清 miR-21 高水平与慢性乙型肝炎患者肝组织炎症分级增加有关。本研究结果显示,RMPP 患儿血清 miR-21 水平升高,并随着肝损伤加重而升高,是并发肝损伤的危险因素,说明血清 miR-21 水平升高会增加 RMPP 患儿并发肝损伤风险,并加重肝损伤程度。miR-21 能激活/核因子- $\kappa$ B 信号通路,上调多种炎症细胞因子表达,加剧肝细胞炎症反应,导致肝损伤风险增加;此外,miR-21 促进肝星状细胞活化诱导肝纤维化,增加肝损伤风险<sup>[11]</sup>。既往研究指出,S1P 在保护肺部免疫应答和维持内皮屏障完整性中发挥至关重要的作用,血清 S1P 水平随着肝硬

表 2 RMPP 患儿并发肝损伤的影响因素分析  
Table 2 Analysis of the factors of liver injury in children with RMPP

Projects	Liver injury group(n=39)	Non liver injury group(n=231)	$\chi^2/t/Z$	P
Gender[n(%)]				
Male	21(53.85)	139(60.17)	0.553	0.457
Female	18(46.15)	92(39.83)		
Age[years, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	8.00(4.00,9.00)	7.00(4.00,9.00)	-1.085	0.278
Heat range[d, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	10.00(9.00,11.00)	9.00(7.00,10.00)	-4.264	<0.001
Clinical manifestation [n( % )]				
Pectoralgia	4(10.26)	16(6.93)	0.163	0.686
Ardent fever	33(84.62)	151(65.37)	5.695	0.017
Cough	38(97.44)	214(92.64)	0.583	0.445
Full body rash	10(25.64)	33(14.29)	3.213	0.073
Imaging findings[n( % )]				
Cloud catkin shadow	19(48.72)	80(34.63)	2.851	0.091
Pleural effusion	9(23.08)	29(12.55)	2.055	0.080
Hemoglobin(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	119.74 $\pm$ 9.49	123.49 $\pm$ 9.21	-2.340	0.020
Platelet count [ $\times 10^9/L$ , $M(P_{25}, P_{75})$ ]	285.54(255.01,331.71)	282.48(220.06,397.28)	-1.070	0.285
Calcitonin[ $\mu g/L$ , $M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.18(0.16,0.25)	0.16(0.08,0.19)	-3.128	0.002
CRP[mg/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	14.12(6.39,31.36)	7.82(4.64,13.84)	-3.979	<0.001
miR-21( $\bar{x} \pm s$ )	1.75 $\pm$ 0.27	1.45 $\pm$ 0.25	6.907	<0.001
S1P(pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )	152.98 $\pm$ 69.59	237.71 $\pm$ 81.91	-6.097	<0.001

化患者肝功能降低而下降<sup>[12]</sup>。本研究结果显示, RMPP 患儿血清 S1P 水平降低, 并随着肝损伤加重而降低, S1P 升高是并发肝损伤的保护因素, 说明血清 S1P 水平升高能降低 RMPP 患儿并发肝损伤风险, 并减轻肝损伤程度。S1P 能结合 S1P 受体 (S1PR) S1PR1/2/3/4/5 抑制下游多种信号通路, 减少促炎细胞因子和促纤维化因子表达, 抑制肝组织炎症和纤维化进程, 从而降低 RMPP 患儿并发肝损伤风险<sup>[13]</sup>。本文结果还显示, 热程延长、CRP 升高的 RMPP 患儿并发肝损伤的风险更高, 考虑原因: 热程越长和 CRP 越高的 RMPP 患儿全身炎症反应更严重, 因此肝损伤风险更高。

综上所述, RMPP 患儿血清 miR-21 水平升高、S1P 水平降低与 RMPP 患儿并发肝损伤及其程度有关。

参考文献(References)

[1] 常子维, 张娟, 吕香萍, 等. 儿童副流感病毒、肺炎支原体感染情况研究[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(21): 4096-4101.  
 [2] 胡杨, 刘春峰. 儿童肺炎支原体相关肺外并发症临床表现及发病机制[J]. 中国小儿急救医学, 2021, 28(1): 7-11.  
 [3] Lee YC, Chang CH, Lee WJ, et al. Altered chemokine profile in Refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia infected children [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(4): 673-679.  
 [4] 梁淳, 尹蕾, 田伟. 肺炎支原体肺炎患儿血浆 miR-223、miR-21 水平变化及其与 T 淋巴细胞亚群、炎症因子的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(3): 274-277.  
 [5] 吴旭, 宋元林, 胡莉娟. 血清生物标志物对重症社区获得性肺炎患者发生急性呼吸窘迫综合征及 28 d 预后的预测价值[J]. 中国临床

医学, 2023, 30(4): 599-604.  
 [6] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 《中华实用儿科临床杂志》编辑委员会. 儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 年版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(17): 1304-1308.  
 [7] 国家卫生计生委合理用药专家委员会儿童用药专业组. 中国儿童肺炎支原体感染实验室诊断规范和临床实践专家共识 (2019 年)[J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(5): 366-373.  
 [8] 黄乐乐, 李正莉, 曹玲, 等. 儿童肺炎支原体感染合并凝血功能障碍的临床资料分析 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2023, 43(12): 932-938.  
 [9] Gan T, Yu J, He J. miRNA, lncRNA and circRNA: targeted molecules with therapeutic promises in Mycoplasma pneumoniae infection [J]. Arch Microbiol, 2023, 205(8): 293.  
 [10] 罗珂, 丁莉, 刘美. 慢性乙型肝炎患者血清 miR-21 和 miR-148b 水平变化及其预测肝组织炎症分级和纤维化分期价值探讨[J]. 实用肝脏病杂志, 2022, 25(3): 335-338.  
 [11] Xu C, Yan F, Zhao Y, et al. Hepatocyte miR-21-5p-deficiency alleviates APAP-induced liver injury by inducing PPAR $\gamma$  and autophagy [J]. Toxicol Sci, 2024, 198(1): 50-60.  
 [12] Mücke VT, Maria Schwarzkopf K, Thomas D, et al. Serum sphingosine-1-phosphate is decreased in patients with acute-on-chronic liver failure and predicts early mortality[J]. Hepatol Commun, 2020, 4(10): 1477-1486.  
 [13] Bravo GÁ, Cedeño RR, Casadevall MP, et al. Sphingosine-1-Phosphate (S1P) and S1P Signaling Pathway Modulators, from Current Insights to Future Perspectives[J]. Cells, 2022, 11(13): 2058.