

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.22.015

血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 与支气管哮喘患儿气道炎症、气道高反应的关系研究*

张珍¹ 刘光辉^{1△} 梁慧玲¹ 吴开松² 张肆肆¹ 董翔¹

(1 武汉大学中南医院过敏反应科 湖北 武汉 430071; 2 武汉大学中南医院呼吸与危重症医学科 湖北 武汉 430071)

摘要 目的:探讨血清长链非编码核糖核酸(lncRNA)烟酰胺核苷酸反义转氨酶 RNA1(NNT-AS1)、微小核糖核酸(miR)-582-5p 与支气管哮喘患儿气道炎症、气道高反应的关系。**方法:**选择 120 例支气管哮喘患儿,根据相关指南分为缓解期组(n=52)与发作期组(n=68)。另选择同期 60 例健康儿童作为对照组。对比三组血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 相对表达量及气道炎症细胞因子[白介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]水平、气道反应性指标[基础呼吸阻力(Rrs cont)、最小诱发累积剂量(Dmin)、基础呼吸传导率(Grs cont)]。Pearson 相关性检验分析血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 表达与血清气道炎症细胞因子、气道反应性指标的关系。**结果:**缓解期组、发作期组 lncRNA NNT-AS1 相对表达量、血清 IL-17、TNF- α 水平、Rrs cont 高于对照组,且发作期组高于缓解期组($P<0.05$)。缓解期组、发作期组 miR-582-5p 相对表达量、Grs cont、Dmin 低于对照组,且发作期组低于缓解期组($P<0.05$)。支气管哮喘患儿血清 lncRNA NNT-AS1 表达与 IL-7、TNF- α 、Rrs cont 呈正相关($r>0, P<0.05$),与 Grs cont、Dmin 呈负相关($r<0, P<0.05$);血清 miR-582-5p 表达与 IL-17、TNF- α 、Rrs cont 呈负相关($r<0, P<0.05$),与 Grs cont、Dmin 呈正相关($r>0, P<0.05$)。**结论:**支气管哮喘患儿血清 lncRNA NNT-AS1 呈高表达,miR-582-5p 呈低表达,二者表达与患儿哮喘分期、气道炎症、气道高反应密切相关。

关键词:lncRNA NNT-AS1; miR-582-5p; 支气管哮喘; 儿童; 气道炎症; 气道高反应

中图分类号:R725.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)22-4256-03

Research on the Relationship between Serum lncRNA NNT-AS1 and miR-582-5p and Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness in Children with Bronchial Asthma*

ZHANG Zhen¹, LIU Guang-hui^{1△}, LIANG Hui-ling¹, WU Kai-song², ZHANG Jin-jin¹, DONG Xiang¹

(1 Department of Allergic Reaction, Wuhan University Zhongnan Hospital, Wuhan, Hubei, 430071, China;

2 Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Wuhan University Zhongnan Hospital, Wuhan, Hubei, 430071, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between serum long non-coding RNA (lncRNA) nicotinamide nucleotide antisense transferase RNA1 (NNT-AS1), microRNA (miR)-582-5p and airway inflammation and airway hyperresponsiveness in children with bronchial asthma. **Methods:** 120 children with bronchial asthma were divided into remission group (n=52) and attack group (n=68) according to the relevant guidelines. Another 60 healthy children in the same period were selected as the control group. The relative expression of serum lncRNA NNT-AS1, miR-582-5p and serum airway inflammatory cytokines [interleukin-17 (IL-17), tumor necrosis factor- α (TNF- α)], airway responsiveness indicators [basic respiratory resistance (Rrs cont), minimum induced cumulative dose (Dmin), basic respiratory conductivity (Grs cont)] were compared among three groups. The relationship between serum lncRNA NNT-AS1, miR-582-5p expression and airway inflammatory cytokines, airway responsiveness indicators were analyzed by Pearson correlation test. **Results:** The relative expression of lncRNA NNT-AS1, serum levels of IL-17, TNF- α and Rrs cont in remission group and attack group were higher than those in control group, and those in attack group were higher than those in remission group ($P<0.05$). The relative expression of miR-582-5p, Grs cont and Dmin in remission group and attack group were lower than those in control group, and those in attack group were lower than those in remission group ($P<0.05$). The expression of serum lncRNA NNT-AS1 in bronchial asthma children was positively correlated with IL-7, TNF- α and Rrs cont ($r>0, P<0.05$), and negatively correlated with Grs cont and Dmin ($r<0, P<0.05$). The expression of serum miR-582-5p was negatively correlated with IL-17, TNF- α and Rrs cont ($r<0, P<0.05$), and positively correlated with Grs cont and Dmin ($r>0, P<0.05$). **Conclusion:** Serum lncRNA NNT-AS1 is highly expressed and miR-582-5p is lowly expressed in children with bronchial asthma, the expression of both are closely related to asthma stage, airway inflammation and airway hyperresponsiveness.

* 基金项目:湖北省自然科学基金面上项目(2021CFB308)

作者简介:张珍(1993-),女,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:呼吸过敏反应,E-mail:bnmjkl0919@163.com

△ 通讯作者:刘光辉(1952-),男,本科,主任医师,研究方向:过敏反应,E-mail:ghliu-3488@163.com

(收稿日期:2024-04-12 接受日期:2024-05-06)

Key words: lncRNA NNT-AS1; miR-582-5p; Bronchial asthma; Children; Airway inflammation; Airway hyperresponsiveness

Chinese Library Classification(CLC): R725.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)22-4256-03

前言

支气管哮喘是儿科常见的呼吸道疾病,支气管哮喘反复发作会增加气道炎症反应,从而诱发气道重塑,进一步加剧气道高反应性^[1]。长链非编码核糖核酸(lncRNA)烟酰胺核苷酸反义转氢酶 RNA1(NNT-AS1)可通过抑制核因子 κ B(NF- κ B)信号通路活化,减少细胞分泌炎症因子^[2]。一项研究发现^[3],lncRNA NNT-AS1 通过调节微小 RNA (miR)-582-5p/F-box 蛋白 11 (FBXO11)信号通路,抑制细胞增殖、炎症及气道重塑。同时,有学者指出^[4],miR-582-5p 是 lncRNA NNT-AS1 的靶标,lncRNA NNT-AS1 可通过调节 miR-582-5p 表达而参与神经胶质瘤细胞增殖、迁移等过程中,证实二者存在一定的靶向调控关系。基于此,本研究拟探讨支气管哮喘患儿血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 的表达情况,并分析其与气道炎症、气道高反应的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2021 年 2 月至 2023 年 8 月于我院就诊的 120 例支气管哮喘患儿,根据相关指南将患儿分为缓解期组(n=52)、发作期组(n=68)。发作期组男 37 例,女 31 例;年龄 4-13 岁,平均(6.91±1.33)岁。缓解期组男 29 例,女 23 例;年龄 4-12 岁,平均(6.77±1.21)岁。另选择 60 例健康儿童作为对照组。对照组男 33 例,女 27 例;年龄 4-13 岁,平均(6.59±1.42)岁。三组年龄、性别对比,无统计学差异($P>0.05$)。纳入标准:(1)均符合儿童支气管哮喘相关诊断标准^[5];(2)年龄 3-14 岁;(3)患儿监护人签署知情同意书;(4)无支气管激发试验禁忌证。排除标准:(1)重度支气管哮喘;(2)合并其他呼吸系统疾病;(3)合并急性感染类疾病;(4)合并免疫系统疾病、血液系统疾病。本研究已通过我院医学伦理委员会审批。

1.2 方法

1.2.1 血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 相对表达量检测于对照组体检时、支气管哮喘患儿入院第 2 d 清晨采集 4 mL 空腹肘静脉血,离心分离上层血清。使用 Trizol 试剂盒提取血清总 RNA,采用超微量分光光度计验证总 RNA 浓度、纯度合格后,使用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为互补脱氧核糖核酸(cDNA)。以逆转录的 cDNA 为模板,使用 qRT-PCR 仪检测血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 相对表达量。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 相对表达量。

1.2.2 血清气道炎症细胞因子水平检测 取剩余血清样本,采用酶联免疫吸附法测定血清白介素 -17(IL-17)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。

1.2.3 气道反应性指标水平检测 于对照组体检当日、支气管哮喘患儿入院当日使用肺功能检测仪进行支气管激发试验。测定基础呼吸阻力(Rrs cont)后,吸入乙酰甲胆碱,气道阻力为初始剂量 2 倍时吸入 2 min 沙丁胺醇,待其恢复至一定值时,测定结束。记录最小诱发累积剂量(Dmin)、基础呼吸传导率(Grs cont)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 28.0 处理数据。计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验或 F 检验。计数资料用"n(%)"表示,行 χ^2 检验。Pearson 相关性分析血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 表达与气道炎症反应、气道高反应指标的关系。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 相对表达量对比

缓解期组、发作期组 lncRNA NNT-AS1 相对表达量高于对照组,且发作期组高于缓解期组($P<0.05$);缓解期组、发作期组 miR-582-5p 相对表达量低于对照组,且发作期组低于缓解期组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 相对表达量对比($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of relative expression of serum lncRNA NNT-AS1 and miR-582-5p($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	lncRNA NNT-AS1	miR-582-5p
Control group	60	1.04±0.23	2.03±0.47
Remission group	52	1.52±0.35 ^a	1.41±0.36 ^a
Attack group	68	3.02±0.84 ^{ab}	0.85±0.22 ^{ab}
F		214.136	171.638
P		<0.001	<0.001

Note: Compared with control group, ^a $P<0.05$ comp. Compared with remission group, ^b $P<0.05$.

2.2 血清气道炎症细胞因子及气道反应性指标水平对比

缓解期组、发作期组血清 IL-17、TNF- α 水平、Rrs cont 高于对照组,且发作期组高于缓解期组;Grs cont、Dmin 低于对照组,且发作期组低于缓解期组($P<0.05$)。见表 2。

2.3 血清 lncRNA NNT-AS1、miR-582-5p 表达与气道炎症细胞因子、反应性指标的相关性分析

支气管哮喘患儿血清 lncRNA NNT-AS1 表达与 IL-17、TNF- α 、Rrs cont 呈正相关(r 均 >0 , $P<0.05$),与 Grs cont、Dmin 呈负相关(r 均 <0 , $P<0.05$);支气管哮喘患儿血清 miR-582-5p 表达与 IL-17、TNF- α 、Rrs cont 呈负相关(r 均 <0 , $P<0.05$),与 Grs cont、Dmin 呈正相关(r 均 >0 , $P<0.05$)。

表 2 血清气道炎症细胞因子及气道反应性指标水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of levels of serum airway inflammatory cytokines and airway responsiveness indicators ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	IL-17(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	Rrs cont [cmH ₂ O/(L·s)]	Grs cont [L/(s·cmH ₂ O)]	Dmin
Control group	60	33.05± 6.84	36.69± 6.74	6.88± 1.52	0.26± 0.05	10.65± 2.15
Remission group	52	48.75± 8.42 ^a	98.15± 10.58 ^a	7.67± 1.67 ^a	0.19± 0.04 ^a	3.02± 0.88 ^a
Attack group	68	71.25± 13.98 ^{ab}	128.70± 17.48 ^{ab}	8.43± 1.82 ^{ab}	0.13± 0.03 ^{ab}	1.49± 0.35 ^{ab}
F		214.965	845.418	13.549	164.743	816.683
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: Consistent with Table 1.

3 讨论

支气管哮喘基本特征为气道慢性炎症、气道高反应性,而气道炎症不仅构成了哮喘病理的基础,也是导致气道对外界刺激反应过度的直接原因,其发生过程涉及诸多炎性介质、炎性细胞间的相互作用^[9]。本研究发现,缓解期组、发作期组血清IL-17、TNF- α 水平及Rrs cont高于对照组,且发作期组高于缓解期组;缓解期组、发作期组Grs cont、Dmin低于对照组,且发作期组低于缓解期组,可见支气管哮喘患儿伴有明显的气道慢性炎症与气道高反应性,且在急性发作期更为显著。

近年来,不断有研究证实,lncRNA NNT-AS1参与诸多呼吸系统疾病发病机制中,下调lncRNA NNT-AS1表达可通过抑制NF- κ B信号通路,从而缓解脂多糖诱导的支气管上皮细胞增殖,抑制炎症因子的合成与释放^[7]。本研究发现,缓解期组、发作期组lncRNA NNT-AS1相对表达量高于对照组,且发作期组高于缓解期组,可见支气管哮喘患儿血清lncRNA NNT-AS1水平异常升高。本研究通过Pearson相关性分析发现,支气管哮喘患儿血清lncRNA NNT-AS1表达与血清IL-7、TNF- α 水平及Rrs cont呈正相关,与Grs cont、Dmin呈负相关,由此可推测lncRNA NNT-AS1可通过调控气道炎症反应、气道高反应性从而参与支气管哮喘的发病过程。分析其机制:lncRNA NNT-AS1生长阻滞特异性转录异常,可通过促进嗜酸性粒细胞、淋巴细胞增长,诱导大量炎症介质合成与释放,加剧气道炎症反应,从而促进支气管哮喘发生^[8,9]。miR通过诸多信号通路参与调控炎症反应、气道重塑等过程^[10,11]。相关研究发现,血清miR-582-5p预测活动性结核病发生具有较高的准确性,其可能通过加剧炎症反应诱导细胞迁移^[12]。非小细胞肺癌细胞系及临床标本中miR-582-5p表达下调,其通过靶向MAP3K2表达而抑制炎症反应及细胞迁移、增殖、侵袭^[13]。本研究结果显示,缓解期组、发作期组miR-582-5p相对表达量低于对照组,且发作期组低于缓解期组,支气管哮喘患儿血清miR-582-5p表达与血清IL-17、TNF- α 水平及Rrs cont呈负相关,与Grs cont、Dmin呈正相关,证实支气管哮喘患儿血清miR-582-5p表达降低,且与患儿气道炎症反应、气道高反应密切相关。

综上所述,支气管哮喘患儿血清lncRNA NNT-AS1高表达、miR-582-5p低表达,与患儿哮喘分期、气道炎症、气道高反应有关。

参考文献(References)

- [1] 李静,李翔,徐佳,等.支气管哮喘患儿血清microRNA-532-5p的表达及和IL-6相关性[J].锦州医科大学学报,2023,44(1):34-37,48.
- [2] Chen Y, Mao ZD, Shi YJ, et al. Comprehensive analysis of miRNA-mRNA-lncRNA networks in severe asthma[J]. Epigenomics, 2019, 11(2): 115-131.
- [3] Mei J, Zhang Y, Lu S, et al. Long non-coding RNA NNT-AS1 regulates proliferation, apoptosis, inflammation and airway remodeling of chronic obstructive pulmonary disease via targeting miR-582-5p/FBXO11 axis [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 39(8): 110326.
- [4] Pan T, Xue M. LncRNA-NNT-AS1 contributes to the progression of glioma by miR-582-5p/EZH2 axis [J]. Cytotechnology, 2021, 73(3): 473-482.
- [5] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会.儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J].中华儿科杂志,2016,54(3):167-181.
- [6] 申燕华,杭宇,危蕾,等.血清PGRN、SFRP1、CCL26与支气管哮喘急性发作期患者肺功能和气道炎症的相关性研究[J].现代生物医学进展,2023,23(15):2873-2877.
- [7] 杨丽敏,魏巍,刘璐,等.姜黄素通过长链非编码RNA NNT-AS1降低LPS诱导的支气管上皮细胞炎症因子表达[J].华中科技大学学报:医学版,2022,51(1):25-30.
- [8] Zheng D, Chen D, Lin F, et al. LncRNA NNT-AS1 promote glioma cell proliferation and metastases through miR-494-3p/PRMT1 axis[J]. Cell Cycle, 2020, 19(13): 1621-1631.
- [9] 楚球,李园园,马聪,等. lncRNA NNT-AS1对肺癌细胞行为的分子机制[J].热带医学杂志,2023(6):760-767,887.
- [10] Sharma R, Tiwari A, McGeachie MJ. Recent miRNA Research in Asthma[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2022, 22(12): 231-258.
- [11] 张陆强,王丽雅,樊利春.血清lncRNA ANRIL、miR-423-5p与支气管哮喘患儿气道炎症、重塑的关系及其预测价值分析[J].国际检验医学杂志,2024,45(3):308-313.
- [12] Zhang Y, Zhang X, Zhao Z, et al. Integrated bioinformatics analysis and validation revealed potential immune-regulatory miR-892b, miR-199b-5p and miR-582-5p as diagnostic biomarkers in active tuberculosis[J]. Microb Pathog, 2019, 34(9): 103563.
- [13] Wang LL, Zhang M. miR-582-5p is a potential prognostic marker in human non-small cell lung cancer and functions as a tumor suppressor by targeting MAP3K2[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(22): 7760-7767.