【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 10. 013

论著 · 临床

急性呼吸窘迫综合征患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平变化及临床意义

宋宇雷，曹建设，王承娟，贺杰，肖政辉，张新萍

基金项目：湖南省科技创新重点工程（2020SK1014-3）
作者单位：410000　长沙，湖南省儿童医院重症医学科
通信作者：张新萍，E-mail：1057609573@ qq. com

【摘　要】 **目的**　探讨急性呼吸窘迫综合征（ARDS）患儿血清微小 RNA-499a-5p（miR-499a-5p）、基质金属蛋白酶 16（MMP-16）mRNA 水平与病情严重程度和预后的关系。**方法**　选取 2019 年 1 月—2022 年 1 月湖南省儿童医院重症医学科收治的 ARDS 患儿 105 例作为 ARDS 组，根据氧指数（OI）分为轻度亚组 39 例、中度亚组 42 例、重度亚组 24 例，根据住院 28 d 临床结局分为存活亚组 88 例和死亡亚组 17 例，选取同期医院体检健康儿童 47 例作为健康对照组。采用 qPCR 法检测血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平，Pearson/Spearman 相关性分析 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性，受试者工作特征曲线（ROC）分析血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平对 ARDS 患儿死亡的预测价值。**结果**　ARDS 组血清 miR-499a-5p 水平低于健康对照组，MMP-16 mRNA 水平高于健康对照组（t = 21. 349、24. 932，P 均 < 0. 001）。轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-499a-5p 水平依次降低，MMP-16 mRNA 水平依次升高（F = 215. 087、99. 676，P 均 < 0. 001）。死亡亚组血清 miR-499a-5p 水平低于存活亚组，MMP-16 mRNA 水平高于存活亚组（t = 4. 074、3. 907，P 均 < 0. 001）。Pearson/Spearman 相关性分析显示，ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 与 MMP-16 mRNA 水平呈负相关（r = −0. 603，P < 0. 001）；ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平与动脉血二氧化碳分压、OI 均呈负相关，与动脉血氧分压、血氧饱和度均呈正相关（r = −0. 662、−0. 782、0. 509、0. 535，P 均 < 0. 001），MMP-16 mRNA 水平与动脉血二氧化碳分压、OI 呈正相关，与动脉血氧分压、血氧饱和度呈负相关（r = 0. 642、0. 752、−0. 519、−0. 587，P 均 < 0. 001）。ROC 曲线分析显示，血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平单独与联合预测 ARDS 患儿死亡的曲线下面积分别为 0. 793、0. 781、0. 888，二者联合预测的曲线下面积大于单独预测（Z = 1. 995、2. 162，P = 0. 046、0. 031）。**结论**　ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平降低，MMP-16 mRNA 水平升高，与病情加重和预后不良有关，可作为 ARDS 患儿预后预测指标。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征；微小 RNA-499a-5p；基质金属蛋白酶 16；炎性反应；儿童
【中图分类号】 R725. 6　　【文献标识码】 A

Changes and clinical significance of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels in children with acute respiratory distress syndrome

Song Yulei, *Cao Jianshe*, *Wang Chengjuan*, *He Jie*, *Xiao Zhenghui*, *Zhang Xinping*. *Department of Critical Medicine*, *Hunan Children's Hospital*, *Hunan Province*, *Changsha* 410000, *China*
Corresponding author: *Zhang Xinping*, *E-mail*: 1057609573@ *qq. com*
Funding program: *Hunan Science and Technology Innovation Key Project* (2020*SK*1014-3)

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the relationship between the levels of serum microRNA-499a-5p (miR-499a-5p) and matrix metalloproteinase 16 (MMP-16) mRNA in children with acute respiratory distress syndrome (ARDS) and the severity and prognosis of the disease. **Methods**　One hundred and five children with ARDS admitted to the Department of Critical Medicine of Hunan Children's Hospital from January 2019 to January 2022 were selected as the ARDS group. According to the oxygen index (OI), they were divided into 39 mild subgroups, 42 moderate subgroups, and 24 severe subgroups. According to the clinical outcome of 28 days in hospital, they were divided into 88 survival subgroups and 17 death subgroups. 47 healthy children were selected as the health control group. The serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels were detected by qPCR. Pearson/Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels and blood gas analysis indicators in children with ARDS. The predictive value of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels on the death of children with ARDS was analyzed by the receiver operating charac-

teristic curve (ROC). **Results** The level of serum miR-499a-5p in ARDS group was lower than that in healthy control group, and the level of MMP-16 mRNA was higher than that in healthy control group (t = 21.349, 24.932, P < 0.001). The level of serum miR-499a-5p in mild subgroup, moderate subgroup and severe subgroup decreased in turn, and the level of MMP-16 mRNA increased in turn (F = 215.087, 99.676, P < 0.001). Serum miR-499a-5p level in death subgroup was lower than that in survival subgroup, and MMP-16 mRNA level was higher than that in survival subgroup (t = 4.074, 3.907, P < 0.001). Pearson/Spearman correlation analysis showed that there was a negative correlation between serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA level in children with ARDS (r = −0.603, P < 0.001). Serum miR-499a-5p level in children with ARDS was negatively correlated with arterial partial pressure of carbon dioxide and OI, positively correlated with arterial partial pressure of oxygen and saturation of blood oxygen (r = −0.662, −0.782, 0.509, 0.535, P < 0.001), and MMP-16 mRNA level was positively correlated with arterial partial pressure of carbon dioxide and OI, negatively correlated with arterial partial pressure of oxygen and saturation of blood oxygen (r = 0.642, 0.752, −0.519, −0.587, P < 0.001). ROC curve analysis showed that the area under the curve predicted by serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels alone and jointly was 0.793, 0.781, 0.888, respectively, and the area under the curve predicted by the combination of the two was greater than that predicted alone (Z = 1.995, 2.162, P = 0.046, 0.031). **Conclusion** The lower serum miR-499a-5p level and the higher MMP-16 mRNA level in children with ARDS are related to the aggravation of the disease and poor prognosis, which can be used as prognostic indicators for children with ARDS.

【**Key words**】 Acute respiratory distress syndrome; MicroRNA-499a-5p; Matrix metallopeptidase 16; Inflammation; Children

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是由肺泡表面活性剂的原发性或继发性减少引起的一种以气体交换异常和急性低氧性呼吸衰竭为特征的呼吸系统疾病,进展快、预后差,是导致儿科重症监护室患儿死亡的重要原因[1-2]。及时评估 ARDS 患儿病情严重程度和预后对患儿预后改善有重要意义。研究表明,失控性炎性反应和肺泡上皮细胞、毛细血管内皮细胞损伤参与 ARDS 发生发展[3-4]。微小 RNA(microRNA, miRNA)参与多种细胞因子转录调控,在 ARDS 炎性反应中扮演重要角色[5]。研究报道,上调 miR-499-5p 表达能抑制脓毒症诱导的肺组织炎性反应[6]。基质金属蛋白酶 16(matrix metallopeptidase 16, MMP-16)是一种膜结合型酶,能通过激活 MMP2、MMP9 参与上皮细胞和毛细血管内皮细胞损伤[7-8]。目前,关于血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与 ARDS 患儿病情严重程度和预后的关系尚无研究报道,因此现对其进行研究以期为改善 ARDS 患儿预后提供参考依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 1 月—2022 年 1 月湖南省儿童医院重症医学科收治的 ARDS 患儿 105 例作为 ARDS 组,其中男 71 例,女 34 例;年龄 1 ~ 12(5.68 ± 1.56)岁;体质量 12 ~ 51(25.47 ± 6.22)kg;ARDS 病因:感染 54 例,创伤 22 例,肺栓塞 24 例,其他 5 例;参考“小儿急性呼吸窘迫综合征:小儿急性肺损伤会议共识推荐”[9]根据氧指数(OI)分为轻度亚组 39 例(OI 4 ~ <8)、中度亚组 42 例(OI 8 ~ <16)、重度亚组 24 例(OI≥16)。并根据 ARDS 患儿 28 d 临床结局分为存活亚组 88 例和死亡亚组 17 例。另选取同期医院体检健康儿童 47 例为健康对照组,其中男 29 例,女 18 例;年龄 1 ~ 12(5.74 ± 1.60)岁;体质量 12 ~ 54(25.42 ± 5.62)kg;2 组儿童一般资料比较差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(2019 伦字 023),受试儿家属或监护人知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①符合“小儿急性呼吸窘迫综合征:小儿急性肺损伤会议共识推荐”[9]中小儿 ARDS 诊断标准;②年龄 1 ~ 12 岁。(2)排除标准:①先天性疾病;②膈疝、表面活性物质、肺腺瘤样畸形等遗传性缺陷;③脑性过度换气;④恶性肿瘤;⑤严重肝肾功能障碍;⑥资料不全。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 检测:收集 ARDS 组入院时、健康对照组入组时受试儿肘静脉血 3 ml,离心取上层血清保存于 −80℃ 冰箱中待测。Trizol 试剂盒(上海冠泰生物科技有限公司)提取血清总 RNA,纯度、浓度合格后使用反转录试剂盒(日本 TaKaRa Bio 公司)逆转录合成 cDNA,反转录体积 10 μl:5 × PrimeScript RT Master Mix 2.0 μl、RNA 2.0 μl、RNase Free H_2O 6.0 μl;反应条件:37℃ 逆转录反应 15 min、85℃ 逆转录酶失活反应 5 s、4℃ 反应至结束后保存于 −20℃ 冰箱中。按照 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒(日本 TaKaRa Bio 公司)进行 PCR 扩增:miR-499a-5p 正向引物 5′-ACTGCTTAAGACTTGGAGT-

GA-3′, 反向引物 5′-TACATTGGTGTCGTGGAGTCG-GCAA-3′;内参 U6 正向引物 5′-CTCGCTTCGGCAGCA-CA-3′, 反向引物 5′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3′; MMP-16 mRNA 正向引物 5′-AGCACTGGAAGACGGTT-GG-3′, 反向引物 5′-CTCCGTTCCGCAGACTGTA-3′; 内参 GAPDH 正向引物 5′-GCAAATTCCATGGCACCGT-3′, 反向引物 5′-TCGCCCCACTTGATTTTGG-3′。PCR 反应体积 20 μl: SYBR® Premix Ex Taq 10 μl、正反向引物各 0.8 μl、cDNA模板 2.0 μl、ROX Reference Dye 0.4 μl、RNase Free H_2O 6.0 μl;反应条件:95℃预变性 90 s、95℃变性 30 s、63℃退火 30 s、72℃延伸 15 s, 循环 40 次后收集熔解曲线, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 相对表达量。

1.3.2　动脉血气分析: ARDS 患儿入儿科重症监护室后首次机械通气时与健康对照组体检时采用丹麦雷度米特 ABL9 血气分析仪进行动脉血气分析, 包括动脉血二氧化碳分压($PaCO_2$)、动脉血氧分压(PaO_2)、血氧饱和度(SaO_2)、吸入氧浓度、平均气道压, 并计算氧指数(oxygen index, OI) = 吸入氧浓度 × 平均气道压 × 100/PaO_2。

1.4　统计学方法　选用 SPSS 28.0 统计学软件处理数据。计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较行 t 检验, 多组间比较采用单因素趋势方差检验;偏态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示, 组间比较行 U 检验; Pearson/Spearman 相关性分析 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平对 ARDS 患儿死亡的预测价值, 曲线下面积(AUC)比较采用 Hanley & McNeil 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平比较　ARDS 组血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平分别为(1.27 ± 0.31)、(3.08 ± 0.62), 健康对照组分别为(2.85 ± 0.46)、(1.07 ± 0.37), ARDS 组血清 miR-499a-5p 水平低于健康对照组, MMP-16 mRNA 水平高于健康对照组(t = 21.349、24.932, P 均 < 0.001)。

2.2　不同亚组间 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平比较　轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-499a-5p 水平依次降低, MMP-16 mRNA 水平依次升高(P 均 < 0.01)。死亡亚组血清 miR-499a-5p 水平低于存活亚组, MMP-16 mRNA 水平高于存活亚组(P 均 < 0.01), 见表 1。

表 1　不同亚组 ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Comparison of serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels in different subgroups of children with ARDS

组　别	例数	miR-499a-5p	MMP-16 mRNA
轻度亚组	39	1.54 ± 0.22	2.51 ± 0.36
中度亚组	42	1.25 ± 0.15[a]	3.32 ± 0.47[a]
重度亚组	24	0.86 ± 0.13[ab]	3.60 ± 0.43[ab]
F 值		215.087	99.676
P 值		< 0.001	< 0.001
死亡亚组	17	1.00 ± 0.25	3.58 ± 0.51
存活亚组	88	2.98 ± 0.59	1.32 ± 0.30
t 值		4.074	3.907
P 值		< 0.001	< 0.001

注:与轻度亚组比较, [a]P < 0.05;与中度亚组比较, [b]P < 0.05

2.3　2 组动脉血气分析比较　ARDS 组 $PaCO_2$、OI 高于健康对照组, PaO_2、SaO_2 低于健康对照组(P 均 < 0.01), 见表 2。

2.4　ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性　经 https://www.targetscan.org/vert_72/网站预测, miR-499a-5p 与 MMP-16 的 3′-非翻译区存在结合位点(图 1)。Pearson/Spearman 相关性分析显示, ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 与 MMP-16 mRNA 水平呈负相关(r = −0.603, P < 0.001);ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平与 $PaCO_2$、OI 呈负相关, 与 PaO_2、SaO_2 呈正相关(P 均 < 0.01), MMP-16 mRNA 水平与 $PaCO_2$、OI 呈正相关, 与 PaO_2、SaO_2 呈负相关(P 均 < 0.01), 见表 3。

表 2　ARDS 组与健康对照组动脉血气分析指标比较　($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2　Comparison of arterial blood gas analysis indexes between ARDS group and healthy control group

组　别	例数	$PaCO_2$(mmHg)	PaO_2(mmHg)	SaO_2(%)	OI*
健康对照组	47	40.27 ± 5.53	105.06 ± 13.49	98.61 ± 1.87	1.83(1.65, 2.09)
ARDS 组	105	58.42 ± 9.14	75.70 ± 21.89	77.79 ± 8.41	9.31(5.39, 15.56)
t/U 值		12.614	8.491	16.749	9.833
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: * 为 $M(Q_1, Q_3)$

```
rno-miR-499a-5p        3′   UUUGUAGUGACGUUCAGAAUU
                                |||||||
MMP-16 3′ UTR WT       5′ ...UUGUCUGCUGUAAGUGUCUUAAC...
MMP-16 3′ UTR MUT      5′ ...UUGUCUGCUGUAAGUCAGAAUUC...
```

图 1　miR-499a-5p 与 MMP-16 结合位点示意图

Fig. 1　miR-499a-5p and MMP-16 binding sites

表 3　ARDS 患儿血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平与血气分析指标的相关性

Tab. 3　Correlation between serum miR-499a-5p, MMP-16 mRNA levels and blood gas analysis indicators in children with ARDS

变　量	miR-499a-5p		MMP-16 mRNA	
	r 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值
$PaCO_2$	−0.662	<0.001	0.642	<0.001
PaO_2	0.509	<0.001	−0.519	<0.001
SaO_2	0.535	<0.001	−0.587	<0.001
OI	−0.782 *	<0.001	0.752 *	<0.001

注：* 为 Spearman 相关性分析

2.5　血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平对 ARDS 患儿死亡的预测价值　ROC 曲线分析显示，血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平及二者联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 分别为 0.793、0.781、0.888，二者联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 大于单独预测（Z = 1.995、2.162，P = 0.046、0.031），见表 4、图 2。

表 4　血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平及二者联合对 ARDS 患儿死亡的预测价值

Tab. 4　serum miR-499a-5p, MMP-16 mRNA levels and their combined predictive value for the death of children with ARDS

指　标	最佳截断值	*AUC*	95% *CI*	敏感度	特异度	Youden 指数
miR-499a-5p	1.28	0.793	0.703 ~ 0.866	0.941	0.534	0.475
MMP-16 mRNA	3.23	0.781	0.690 ~ 0.856	0.765	0.704	0.469
二者联合	—	0.888	0.812 ~ 0.941	0.824	0.886	0.710

3　讨　论

小儿 ARDS 是临床常见的危重症，与成人 ARDS 具备肺容积减少、肺顺应性降低和通气/血流比值失常等相似的病理特征，但在病因、危险因素、合并症和治疗预后方面仍存在较大差异[10]。2015 年国际上首次制定了小儿 ARDS 共识，新共识根据 OI 或脉氧饱和度指数定义小儿 ARDS 和病情分级，而非成人 ARDS 的氧合指数[9-11]。尽管近年来高级呼吸护理、外源性表面活性剂、营养和液体管理、皮质类固醇等方式和药物极大地改善了 ARDS 患儿预后，但病死率仍高达 17.3% ~ 21.2%[2,12]。因此，早期评估其病情严重程度和预后意义重大。

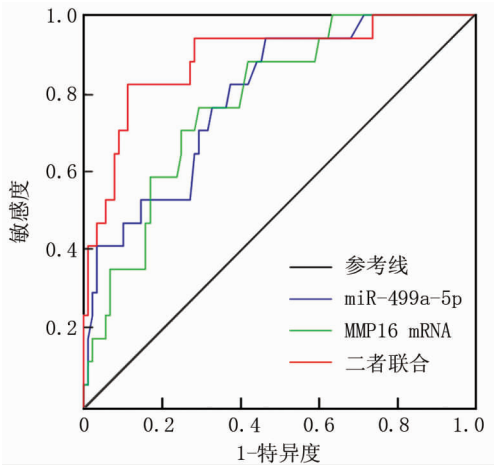

图 2　血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平单独与联合预测 ARDS 患儿死亡的 ROC 曲线

Fig. 2　ROC curve for predicting death of children with ARDS by serum miR-499a-5p and MMP-16 mRNA levels alone and jointly

研究表明，失控性炎性反应参与 ARDS 发生发展，各种病因能直接或间接通过炎性反应破坏肺泡—毛细血管屏障中的肺泡上皮和肺毛细血管内皮，导致肺水肿和血管通透性增加，使肺功能持续恶化[3]。miRNA 是一类小非编码 RNA 分子，通过与 mRNA 的 3′-非翻译区互补配对调控基因表达，进而参与 ARDS 发生发展[13-14]。如 miR-223 能靶向 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 抑制肺微血管内皮细胞炎性反应、氧化应激和凋亡[15]。miR-224 能靶向抑制 p21 增加肺微血管内皮细胞损伤[16]。miR-499a-5p 是一种高度保守的 miRNA，定位于人 20 号染色体 q11.22，既往研究多报道其与恶性肿瘤的关系，近年研究发现，miR-499a-5p 还是一个与炎性反应密切相关的 miRNA。在脂多糖建立脓毒症心肌功能障碍模型中，上调 miR-499a-5p 能抑制脓毒症心肌功能障碍发生[17]。Guan 等[18] 通过氧—糖剥夺建立星形胶质细胞炎性反应发现，上调 miR-499a 能靶向第 10 号染色体缺失的磷酸酶抑制星形胶质细胞炎性反应。上述研究提示，miR-499a-5p 具有抗炎作用。且近期研究指出，miR-499-5p 能靶向 SRY-Box 转录因子 6 抑制脓毒症诱导的肺损伤[6]。本研究结果显示，ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平明显降低，且随着病情加重而降低，说明血清 miR-499a-5p 水平降低参与小儿 ARDS 发生发展，分析可能与 miR-499a-5p 具有抗炎作用有关。段凌霄等[19] 研究也报

道,在盲肠穿刺构建的 ARDS 大鼠模型中,上调 miR-499a-5p 表达能抑制肺泡上皮细胞中白介素-1β、白介素-6、肿瘤坏死因子-α 等促炎因子表达,减轻 ARDS 大鼠肺组织损伤。

肺泡上皮、肺毛细血管内皮和基底膜等构成的肺泡—毛细血管屏障破坏是 ARDS 发生的核心环节,基底膜降解是肺泡—毛细血管屏障破坏的重要原因之一[20-21]。MMPs 是多种组织和细胞产生的一种胶原蛋白水解酶,因其能降解细胞外基质的各种蛋白组分而受到广泛关注,同时 MMPs 还能导致细胞—基质和细胞—细胞间作用变化,激活多种细胞因子和表面受体,参与炎性反应发生发展[22]。MMP2 和 MMP9 是 MMP 家族常见成员,近年研究表明,MMP2、MMP9 能通过炎性反应和降解细胞外基质破坏肺泡—毛细血管屏障,参与 ARDS 发生发展[23-25]。MMP-16 是 MMPs 家族中的一种膜结合型酶,也被称为膜型 MMP2 和膜型 MMP3,能通过切割 MMP2、MMP9 的前结构域促进 MMP2、MMP9 激活[8]。本研究结果显示,ARDS 患儿血清 MMP-16 mRNA 水平明显升高,且随着病情加重而升高,说明血清 MMP-16 mRNA 水平升高参与小儿 ARDS 发生发展,分析可能与 MMP-16 mRNA 表达上调能促进 MMP2、MMP9 表达,二者通过炎性反应和降解细胞外基质破坏肺泡—毛细血管屏障参与 ARDS 发生发展有关。本研究通过 TargetScan 7.2 数据库预测发现,miR-499a-5p 与 MMP-16 的 3′-非翻译区存在结合位点,Pearson 相关性分析也显示,二者在 ARDS 患儿血清中表达呈负相关,提示 miR-499a-5p 与 MMP-16 可能共同参与小儿 ARDS 发生发展。有研究通过荧光素酶报告基因实验证实,上调 miR-499a-5p 能靶向下调 MMP-16 表达,降低肺泡中促炎细胞因子表达,减轻 ARDS 大鼠的肺损伤[19]。进一步证实 miR-499a-5p、MMP-16 共同参与 ARDS 发生发展。本研究通过分析血清 miR-499a-5p、MMP-16 水平与 ARDS 患儿预后的关系发现,与存活亚组比较,死亡亚组血清 miR-499a-5p 水平明显降低而 MMP-16 mRNA 水平明显升高,提示血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平还与 ARDS 患儿预后有关。ROC 曲线分析也显示,血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 分别为 0.793、0.781,说明二者可作为 ARDS 患儿预后的辅助预测指标。分析原因可能是血清 miR-499a-5p 越低和 MMP-16 mRNA 水平越高反映 ARDS 患儿肺泡—毛细血管屏障破坏越严重,导致肺功能和结构进一步恶化,因此死亡风险更高。同时本研究 ROC 曲线分析还显示,血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平联合预测 ARDS 患儿死亡的 AUC 为 0.888,较二者单独预测的 AUC 显著增加,说明联合检测血清 miR-499a-5p、MMP-16 mRNA 水平能提升 ARDS 患儿预后预测价值,有利于指导临床制定治疗对策以改善 ARDS 患儿预后。

综上所述,ARDS 患儿血清 miR-499a-5p 水平低表达,MMP-16 mRNA 水平高表达,二者可能共同参与小儿 ARDS 发生发展,与 ARDS 患儿病情严重程度和预后密切相关,可作为 ARDS 患儿预后预测指标。但本研究样本量较少,还需多中心大样本研究进一步证实;同时关于 miR-499a-5p、MMP-16 参与 ARDS 的机制有待进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

宋宇雷:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;曹建设:课题设计,论文撰写;王承娟:进行统计学分析;贺杰:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;肖政辉、张新萍:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

[1] 中华医学会灾难医学分会,中国医师协会急救复苏与灾难医学分会,中国医学救援协会救援防护分会. ARDS 患者肺康复训练专家共识[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志,2022,17(4):421-426. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2022.04.001.
Disaster Medicine Branch of Chinese Medical Association, Emergency Resuscitation and Disaster Medicine Branch of Chinese Medical Doctor Association, Rescue Protection Branch of China Medical Rescue Association. Expert consensus on pulmonary rehabilitation training for ARDS patients[J]. Chin J Emerg Resusc Disaster Med, 2022, 17(4):421-426. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2022.04.001.

[2] Shein SL, Maddux AB, Klein MJ, et al. Epidemiology and outcomes of critically ill children at risk for pediatric acute respiratory distress syndrome: A pediatric acute respiratory distress syndrome incidence and epidemiology study[J]. Crit Care Med, 2022, 50(3):363-374. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005287.

[3] Kaku S, Nguyen CD, Htet NN, et al. Acute respiratory distress syndrome: Etiology, Pathogenesis, and Summary on Management[J]. J Intensive Care Med, 2020, 35(8): 723-737. DOI: 10.1177/0885066619855021.

[4] 陈飞杨,张谦,李健权. 肺泡Ⅱ型上皮细胞周期调控在 ARDS 发病中的研究进展[J]. 贵州医药,2021,45(7):1037-1038. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2021.07.007.
Chen FY, Zhang Q, Li JQ. Research progress of alveolar type Ⅱ epithelial cell cycle regulation in the pathogenesis of ARDS[J]. Guizhou Medicine Journal, 2021, 45(7): 1037-1038. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2021.07.007.

[5] 豆业芸,陈建荣,朱保锋,等. 炎症相关 microRNA 在急性呼吸窘迫综合征中的研究进展[J]. 临床急诊杂志,2020,21(2):172-176. DOI:10.13201/j.issn.1009-5918.2020.02.016.
Dou YY, Chen JR, Zhu BF, et al. Research progress of inflammation-

related microRNAs in acute respiratory distress syndrome[J]. Journal of Clinical Emergency, 2020, 21(2): 172-176. DOI: 10.13201/j.issn.1009-5918.2020.02.016.

[6] Zhang W, Li J, Yao H, et al. Restoring microRNA-499-5p protects sepsis-induced lung injury mice via targeting Sox6[J]. Nanoscale Res Lett, 2021, 16(1): 89. DOI: 10.1186/s11671-021-03534-x.

[7] 许崇玉,王萍,陈杨. 基质金属蛋白酶在 ARDS 发病机制中的作用[J]. 国际呼吸杂志, 2015, 35(24): 1906-1909. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2015.24.017.
Xu CY, Wang P, Chen Y. Effect of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome[J]. Int J Respir Med, 2015, 35(24): 1906-1909. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2015.24.017.

[8] Roth L, Kalev-Altman R, Monsonego-Ornan E, et al. A new role of the membrane-type matrix metalloproteinase 16 (MMP-16/MT3-MMP) in neural crest cell migration[J]. Int J Dev Biol, 2017, 61(3-5): 245-256. DOI: 10.1387/ijdb.160286ds.

[9] Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference Group. Pediatric acute respiratory distress syndrome: consensus recommendations from the Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference[J]. Pediatr Crit Care Med, 2015, 16(5): 428-439. DOI: 10.1097/PCC.0000000000000350.

[10] 时学秀,孙同文. 急性呼吸窘迫综合征的诊治进展[J]. 中国研究型医院, 2022, 9(1): 18-21. DOI: 10.19450/j.cnki.jcrh.2022.01.005.
Shi XX, Sun TW. Progress in the diagnosis and treatment of acute respiratory distress syndrome[J]. Chinese Research Hospitals, 2022, 9(1): 18-21. DOI: 10.19450/j.cnki.jcrh.2022.01.005.

[11] 许峰,王荃,钱素云. 2015 年版“儿童急性呼吸窘迫综合征:儿童急性肺损伤会议共识推荐”指南解读[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(5): 323-326. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2016.05.003.
Xu F, Wang Q, Qian SY. Interpretation of the guideline of the 2015 edition of “Acute Respiratory Distress Syndrome in Children: Consensus Recommendations of the Children's Acute Lung Injury Conference”[J]. Chin J Pediatr, 2016, 54(5): 323-326. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2016.05.003.

[12] Yehya N, Harhay MO, Klein MJ, et al. Predicting mortality in children with pediatric acute respiratory distress syndrome: A pediatric acute respiratory distress syndrome incidence and epidemiology study[J]. Crit Care Med, 2020, 48(6): e514-e522. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004345.

[13] 龙光文,张谦,杨秀林,等. miR-146b 对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中 ICAM-1 表达的调控作用[J]. 吉林大学学报:医学版, 2021, 47(3): 587-594. DOI: 10.13481/j.1671-587X.20210307.
Long GW, Zhang Q, Yang XL, et al. Regulation effect of miR-146b on expression of intercellular adhesion molecule-1 in lung tissue of rats with acute respiratory distress syndrome[J]. Journal of Jilin University: Medical Edition, 2021, 47(3): 587-594. DOI: 10.13481/j.1671-587X.20210307.

[14] 邵峰,金丽,徐建如,等. 微小核糖核酸-216a 调控 JAK2/STAT3 信号通路对急性呼吸窘迫综合征影响机制[J]. 心肺血管病杂志, 2021, 40(7): 744-748. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5062.2021.07.022.
Shao F, Jin L, Xu JR, et al. Mechanism of miR-216a regulating JAK2/STAT3 signaling pathway on acute respiratory distress syndrome[J]. Journal of Cardiovascular & Pulmonary Diseases, 2021, 40(7): 744-748. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5062.2021.07.022.

[15] Ji J, Ye W, Sun G. lncRNA OIP5-AS1 knockdown or miR-223 overexpression can alleviate LPS-induced ALI/ARDS by interfering with miR-223/NLRP3-mediated pyroptosis[J]. J Gene Med, 2022, 24(4): e3385. DOI: 10.1002/jgm.3385.

[16] 洪军,刘景全,公方晓,等. 微小 RNA-224 通过靶向抑制 p21 参与调控脂多糖诱导的肺微血管内皮细胞损伤研究[J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(1): 81-83. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2020.01.023.
Hong J, Liu JQ, Gong FX, et al. MicroRNA-224 mediates lipopolysaccharide - induced injury of pulmonary microvascular endothelium cells via regulating p21[J]. Chin J Exp Surg, 2020, 37(1): 81-83. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2020.01.023.

[17] Yang C, Wen K. Predictive value and regulatory mechanism of serum miR-499a-5p on myocardial dysfunction in sepsis[J]. J Cardiothorac Surg, 2021, 16(1): 301. DOI: 10.1186/s13019-021-01679-5.

[18] Guan X, Zhang Y, Gareev I, et al. MiR-499a prevents astrocytes mediated inflammation in ischemic stroke by targeting PTEN[J]. Noncoding RNA Res, 2021, 6(3): 146-152. DOI: 10.1016/j.ncrna.2021.09.002.

[19] 段凌霄,李芹,伍长学. miR-499a-5p 靶向 MMP-16 通过 Nrf2 信号通路减轻急性呼吸窘迫综合征大鼠的肺损伤[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2021, 20(7): 487-494. DOI: 10.7507/1671-6205.201907059.
Duan LX, Li Q, Wu CX. miR-499a-5p attenuates lung injury in rats with acute respiratory distress syndrome by targeting MMP-16 via Nrf2 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2021, 20(7): 487-494. DOI: 10.7507/1671-6205.201907059.

[20] Jain P, Nishiguchi A, Linz G, et al. Reconstruction of ultra-thin alveolar-capillary basement membrane mimics[J]. Adv Biol (Weinh), 2021, 5(8): e2000427. DOI: 10.1002/adbi.202000427.

[21] 彭晓婷,李秋平. 血管内皮生长因子在急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征中的研究进展[J]. 中国小儿急救医学, 2021, 28(5): 424-428. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2021.05.018.
Peng XT, Li QP. Vascular endothelial growth factor in acute lung iujury and acute respiratory distress syndrome[J]. Chin Pediatr Emerg Med, 2021, 28(5): 424-428. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2021.05.018.

[22] 刘明明,李爱玲,修瑞娟. 基质金属蛋白酶的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(10): 1914-1920. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2018.10.029.
Liu MM, Li AL, Xiu RJ. Research progress on matrix metalloproteinases[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2018, 34(10): 1914-1920. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2018.10.029.

(下转 1080 页)

ation [J]. Blood, 2021, 138 (4): 331-343. DOI: 10.1182/blood.2020010438.

[13] 蔡娇阳,王宁玲,蒋慧,等. 儿童急性淋巴细胞白血病 2005 方案多中心远期临床报告[J]. 中华儿科杂志,2018,56(7):511-517. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2018.07.008.
Cai JY, Wang NL, Jiang H, et al. Long-term results of multicenter study based on childhood acute lymphoblastic leukemia 2005 protocol[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2018, 56(7): 511-517. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2018.07.008.

[14] 林艳艳,许岩,李慧. 儿童急性淋巴细胞白血病化学治疗常规药物耐药机制的研究进展[J]. 上海交通大学学报:医学版,2022,42(2):211-217. DOI:10.3969/j.issn.1674-8115.2022.02.012.
Lin YY, Xu Y, Li H. Progress in research on the mechanism of drug resistance to conventional chemotherapeutic drugs in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Medical Science, 2022, 42(2): 211-217. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2022.02.012.

[15] 耿楼,顾文莉. 蛋白质的翻译后修饰与肿瘤代谢[J]. 生命的化学,2020,40(4):600-606. DOI: 10.13488/j.smhx.20190387.
Geng L, Gu WL. Protein post-translational modifications and tumor metabolism[J]. Chemistry of Life, 2020, 40(4): 600-606. DOI: 10.13488/j.smhx.20190387.

[16] 陈茜茜,王立萍,余雯静,等. 糖基转移酶超家族在肿瘤转移中的作用[J]. 生物化学与生物物理进展,2017,44(10):877-887. DOI:10.16476/j.pibb.2017.0314.
Chen XX, Wang LP, Yu WJ, et al. The role of glycosyltransferase superfamily in tumor metastasis[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2017, 44(10): 877-887. DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0314.

[17] Yip C, Foidart P, Noel A, et al. MT4-MMP: The GPI-anchored membrane-type matrix metalloprotease with multiple functions in diseases [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2): 354. DOI: 10.3390/ijms20020354.

[18] Zhang XX, Ni B, Li Q, et al. GPAA1 promotes gastric cancer progression via upregulation of GPI-anchored protein and enhancement of ERBB signalling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 214. DOI: 10.1186/s13046-019-1218-8.

[19] 刘雅惠,高露,王亚菁,等. c-Myc 调控肿瘤代谢作用机制的研究进展[J]. 中国药科大学学报,2021,52(3):379-386. DOI:10.11665/j.issn.1000-5048.20210316.
Liu YH, Gao L, Wang YJ, et al. Advances in the research on mechanism of tumor metabolism regulated by c-Myc[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2021, 52(3): 379-386. DOI: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210316.

[20] Zhang JX, Wang JH, Sun XG, et al. GPAA1 promotes progression of childhood acute lymphoblastic leukemia through regulating c-myc[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(9): 4931-4939. DOI: 10.26355/eurrev_202005_21182.

[21] Simioni C, Conti I, Varano G, et al. The complexity of the tumor microenvironment and its role in acute lymphoblastic leukemia: Implications for therapies[J]. Front Oncol, 2021, 5(11): 673506. DOI: 10.3389/fonc.2021.673506.

[22] 周福亮,贾大林. 内皮细胞特异分子-1 在心血管疾病中的研究进展[J]. 解剖科学进展,2018,24(5):554-557. DOI:10.16695/j.cnki.1006-2947.2018.05.028.
Zhou FL, Jia DL. Advance of serum endothelial cell-specific molecule 1 in the cardiovascular diseases[J]. Progress of Anatomical Sciences, 2018, 24(5): 554-557. DOI: 10.16695/j.cnki.1006-2947.2018.05.028.

[23] Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, De Hertogh G, et al. The angiogenic biomarker endocan is upregulated in proliferative diabetic retinopathy and correlates with vascular endothelial growth factor[J]. Curr Eye Res, 2015, 40(3): 321-331. DOI: 10.3109/02713683.2014.921312.

[24] Roudnicky F, Poyet C, Wild P, et al. Endocan is upregulated on tumor vessels in invasive bladder cancer where it mediates VEGF-A-induced angiogenesis[J]. Cancer Res, 2013, 73(3): 1097-1106. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1855.

[25] Jin H, Rugira T, Ko YS, et al. ESM-1 overexpression is involved in increased tumorigenesis of radiotherapy-resistant breast cancer cells[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(6): 1363. DOI: 10.3390/cancers12061363.

[26] Song M, Wang H, Ye Q. Increased circulating vascular endothelial growth factor in acute myeloid leukemia patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Syst Rev, 2020, 9(1): 103. DOI: 10.1186/s13643-020-01368-9.

[27] 刘青,张娜,邵静波,等. MLL 基因重排阳性的儿童急性白血病患者的临床特点及预后分析[J]. 上海交通大学学报:医学版,2021,41(7):903-909. DOI:10.3969/j.issn.1674-8115.2021.07.009.
Liu Q, Zhang N, Shao JB, et al. Clinical characteristics and prognosis of pediatric acute leukemia patients with MLL gene rearrangements[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Medical Science, 2021, 41(7): 903-909. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.07.009.

(收稿日期:2022-07-17)

(上接 1074 页)

[23] Lanchou J, Corbel M, Tanguy M, et al. Imbalance between matrix metalloproteinases (MMP-9 and MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) in acute respiratory distress syndrome patients[J]. Crit Care Med, 2003, 31(2): 536-542. DOI: 10.1097/01.CCM.0000048626.02184.F8.

[24] Liang Y, Yang N, Pan G, et al. Elevated IL-33 promotes expression of MMP2 and MMP9 via activating STAT3 in alveolar macrophages during LPS-induced acute lung injury[J]. Cell Mol Biol Lett, 2018, 23: 52. DOI: 10.1186/s11658-018-0117-x.

[25] Liang Q, Lin Q, Li Y, et al. Effect of SIS3 on extracellular matrix remodeling and repair in a lipopolysaccharide-induced ARDS rat model[J]. J Immunol Res, 2020, 2020: 6644687. DOI: 10.1155/2020/6644687.

(收稿日期:2022-07-25)