

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.03.009

论著·临床

老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清 miR-27a、FOXO3 与疾病严重程度及预后的关系

金娴,邵振华,何梅,姜俊,王志安,任蕾



基金项目: 国家重点研发计划“重点慢性非传染性疾病防控研究”项目(2018YFC1311902);上海市静安区卫生科研课题计划(2022MS01)

作者单位: 200040 上海市静安区中心医院重症医学科(金娴、邵振华、姜俊、王志安); 200065 上海市同济医院呼吸与危重症科(何梅); 200040 上海市第四康复医院呼吸康复科(任蕾)

通信作者: 任蕾, E-mail: JALNRL928@163.com

【摘要】目的 分析老年重症肺炎并发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者血清微小核糖核酸(miRNA)-27a、叉头框蛋白 O3(FOXO3)与疾病严重程度及预后的关系。方法 选取 2022 年 10 月—2023 年 9 月上海市静安区中心医院重症医学科收治老年重症肺炎并发 ARDS 患者 108 例(ARDS 组)和老年重症肺炎未并发 ARDS 患者 72 例(非 ARDS 组),ARDS 组患者再根据氧合指数分为轻度亚组 26 例、中度亚组 34 例、重度亚组 48 例,并根据 28 d 预后情况分为死亡亚组 33 例、存活亚组 75 例;另选取同期体检健康志愿者 60 例为健康对照组。采用实时荧光定量聚合酶链式反应检测血清 miR-27a、FOXO3 水平,TargetScan 数据库预测 miR-27a 与 FOXO3 的结合位点。通过 Pearson/Spearman 相关性分析血清 miR-27a 与 FOXO3 mRNA 水平的相关性,多因素 Logistic 回归分析老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的影响因素,受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平对老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的预测价值。结果 健康对照组、非 ARDS 组、ARDS 组血清 miR-27a 水平依次降低,FOXO3 mRNA 水平依次升高($F/P = 77.352 / <0.001, 62.956 / <0.001$);轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-27a 水平依次降低,FOXO3 mRNA 水平依次升高($F/P = 83.597 / <0.001, 111.833 / <0.001$);miR-27a 与 FOXO3 的 3'-非翻译区 3257~3264 处存在结合位点。老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清 miR-27a 与 FOXO3 mRNA 水平呈负相关($r/P = -0.736 / <0.001$),氧合指数与血清 miR-27a 水平呈正相关,与 FOXO3 mRNA 水平呈负相关($r/P = 0.751 / <0.001, -0.785 / <0.001$)。老年重症肺炎并发 ARDS 患者 28 d 死亡率为 30.56%(33/108)。年龄增加、机械通气时间延长、FOXO3 mRNA 升高为影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的独立危险因素[OR(95%CI) = 1.199(1.033~1.393)、1.547(1.009~2.373)、1.108(1.040~1.180)],氧合指数升高、miR-27a 升高为独立保护因素[OR(95%CI) = 0.973(0.958~0.989)、0.903(0.844~0.965)];血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平及二者联合预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的曲线下面积分别为 0.784、0.786、0.879,二者联合的 AUC 大于血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平单独预测($Z/P = 2.550 / 0.011, 2.963 / 0.003$)。结论 老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清 miR-27a 水平降低,FOXO3 mRNA 水平升高,与疾病加重和预后不良密切相关,二者联合预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的价值较高。

【关键词】 重症肺炎;急性呼吸窘迫综合征;微小核糖核酸-27a;叉头框蛋白 O3;疾病严重程度;预后;老年人**【中图分类号】** R563.1 **【文献标识码】** A

Relationship between serum miR-27a and FOXO3 and disease severity and prognosis in elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS Jin Xian*, Shao Zhenhua, He Mei, Jiang Jun, Wang Zhian, Ren Lei.* Department of Critical Care Medicine, Jing'an District Central Hospital, Shanghai 200040, China

Funding program: National Key Research and Development Program "Research on Prevention and Control of Key Chronic Non-communicable Diseases" (2018YFC1311902); Shanghai Jing'an District Health Research Project Program(2022MS01)

Corresponding author: Ren Lei, E-mail: JALNRL928@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between serum micro ribonucleic acid (miRNA)-27a, forkhead framing protein O3 (FOXO3), and the severity of the disease and the prognosis of elderly patients with severe pneumonia complicated by acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** One hundred and eight elderly patients with severe

pneumonia complicating ARDS (ARDS group) and 72 elderly patients with severe pneumonia not complicating ARDS (non-ARDS group) admitted to the Department of Intensive Care Medicine, Jing'an District Central Hospital, Shanghai, China, from October 2022 to September 2023 were selected, and the patients in the ARDS group were divided into a mild subgroup of 26 cases and a moderate subgroup of 34 cases according to the oxygenation index. The patients in the ARDS group were further divided into 26 cases in the mild subgroup, 34 cases in the moderate subgroup, and 48 cases in the severe subgroup according to the oxygenation index, and were divided into 33 cases in the death subgroup and 75 cases in the survival subgroup according to the prognosis at 28 d. In addition, 60 healthy volunteers who had medical checkups during the same period were selected as the healthy control group. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect serum miR-27a and FOXO3 levels, and TargetScan database predicted the binding sites of miR-27a and FOXO3. The correlation between serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels was analyzed by Pearson/Spearman correlation, multifactorial logistic regression was used to analyze the prognostic factors of elderly patients with severe pneumonia complicated by ARDS, and the subject work characteristics (ROC) curves were used to analyze the effects of serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels on the prognosis of elderly patients with severe pneumonia complicated by The predictive value of death in patients with ARDS. **Results** Serum miR-27a level decreased and FOXO3 mRNA level increased in healthy control group, non-ARDS group and ARDS group ($F/P = 77.352 / < 0.001, 62.956 / < 0.001$); serum miR-27a level decreased and FOXO3 mRNA level increased in mild, moderate and severe subgroups, and serum miR-27a level decreased and FOXO3 mRNA level increased in mild, moderate and severe subgroups. subgroups serum miR-27a level decreased and FOXO3 mRNA level increased sequentially ($F/P = 83.597 / < 0.001, 111.833 / < 0.001$); there was a binding site between miR-27a and the 3'-untranslated region of FOXO3 from 3257 ~ 3264 Sites. Serum miR-27a was negatively correlated with FOXO3 mRNA levels in elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS ($r/P = -0.736 / < 0.001$), and oxygenation index was positively correlated with serum miR-27a levels and negatively correlated with FOXO3 mRNA levels ($r/P = 0.751 / < 0.001, -0.785 / < 0.001$). The 28-d mortality rate of elderly patients with severe pneumonia complicated by ARDS was 30.56% (33/108). Increasing age, prolonged duration of mechanical ventilation, and elevated FOXO3 mRNA were independent risk factors affecting the prognosis of elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS, and elevated oxygenation index and elevated miR-27a were independent protective factors [$OR (95\% CI) = 1.199 (1.033 - 1.393), 1.547 (1.009 - 2.373), 1.108 (1.040 - 1.180), 0.973 (0.958 - 0.989),$ and $0.903 (0.844 - 0.965)$]; the areas under the curves of serum miR-27a, FOXO3 mRNA levels and the combination of the two in predicting death in elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS were respectively was 0.784, 0.786, 0.879, and the AUC of the combination of the two was greater than that predicted by serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels alone ($Z/P = 2.550 / 0.011, 2.963 / 0.003$). **Conclusions** The decrease of serum miR-27a level and the increase of FOXO3 mRNA level in elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS are closely related to the disease exacerbation and poor prognosis, and the combination of the two is of high value in predicting the death of elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS.

【Key words】 Severe pneumonia; Acute respiratory distress syndrome; microRNA-27a; Forkhead box protein O3; Disease severity; Prognosis; Elderly

老年人因宿主免疫受损、吞咽功能障碍和伴有多种基础疾病成为肺炎高发人群,且常因肺部炎性反应得不到有效控制进展为重症肺炎^[1]。急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是老年重症肺炎最严重的并发症之一,也是导致老年重症肺炎患者死亡的重要因素^[2]。因此及时评估老年重症肺炎并发 ARDS 患者病情严重程度及预后至关重要。炎性反应参与 ARDS 发生发展^[3],研究表明,微小核糖核酸(microRNA, miRNA)通过调控炎性反应在 ARDS 过程中发挥重要作用^[4]。miR-27a 是一种炎性反应相关 miRNA^[5],有学者通过 miRNA 筛选发现^[6],

miR-27a 为重症社区获得性肺炎并发 ARDS 患者血清差异表达 miRNA 之一。叉头框蛋白 O3(forkhead box O3, FOXO3)是一种转录因子,参与细胞自噬、细胞凋亡、炎性反应、氧化应激等多种病理生理过程^[7]。实验报道^[8], FOXO3 在急性肺损伤/ARDS 小鼠肺组织中高表达。本研究拟探讨老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清 miR-27a、FOXO3 与疾病严重程度及预后的关系,以期改善老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后提供更多参考依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2022 年 10 月—2023 年 9 月上

海市静安区中心医院重症医学科收治老年重症肺炎并发 ARDS 患者 108 例为 ARDS 组,男 67 例,女 41 例,年龄 60 ~ 89(73.12 ± 6.75) 岁;老年重症肺炎未并发 ARDS 患者 72 例为非 ARDS 组,男 44 例,女 28 例,年龄 60 ~ 88(74.17 ± 6.90) 岁;另选取医院同期老年体检健康志愿者 60 例为健康对照组,男 36 例,女 24 例;年龄 60 ~ 89(73.03 ± 7.14) 岁。3 组性别和年龄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 [(2022) 伦审第 39 号],受试者或家属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 年龄 ≥ 60 岁; ② 初次确诊为重症肺炎或重症肺炎并发 ARDS; ③ 重症肺炎符合《中国急诊重症肺炎临床实践专家共识》^[9] 诊断标准; ④ ARDS 符合《急性呼吸窘迫综合征: 柏林新定义》^[10] 诊断标准; ⑤ 临床病历资料完整。(2) 排除标准: ① 合并肺结核、慢性阻塞性肺疾病(慢阻肺)、先天性肺发育不良等其他肺疾病; ② 脑卒中、终末期肾病等重大疾病或疾病终末期; ③ 恶性肿瘤患者; ④ 自身免疫性疾病; ⑤ 哺乳期、妊娠期妇女。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 资料收集: 性别、年龄、肺炎类型(社区/医院获得性肺炎)、吸烟史、饮酒史、基础疾病、机械通气时间、白细胞计数、血肌酐、血尿素氮、C 反应蛋白、降钙素原等资料。

1.3.2 血清 miR-27a、FOXO3 水平检测: 患者于入院时和健康对照组体检时采集空腹肘静脉血 4 ml,置于 EDTA 抗凝管中 30 min,离心留取上层血清,保存于 -80℃ 冰箱中待测。按照南京诺唯赞生物科技股份有限公司提供的 RNA 提取试剂盒(编号 RC112-01)说明书提取总 RNA,按照南京赛泓瑞生物科技有限公司提供的逆转录试剂盒(编号 DV807A)说明书逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板,miR-27a 以 U6 为内参,FOXO3 以 GAPDH 为内参,根据翌圣生物科技(上海)股份有限公司提供的实时荧光定量聚合酶链式反应试剂盒(编号 11203ES03)说明书进行扩增。反应体系: 2 × Master Mix 10 μl、上游引物 0.5 μl、下游引物 0.5 μl、cDNA 2.0 μl、加 DEPC 水至 20 μl; 反应条件: 预变性 95℃ 30 s 1 次,变性 95℃ 5 s 40 次,退火延伸 60℃ 40 s 40 次。65 ~ 95℃ 绘制溶解曲线,用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法表示血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平。引物由武汉金开瑞生物工程有限公司合成,miR-27a 上游引物 5'-AAG-GAGCCCCACGAGAAAAA-3',下游引物 5'-ACCGAACT-TGCATTGATTCC-3'; U6 上游引物 5'-CTCGCTTCG-

GCAGCACA-3',下游引物 5'-AACGCTTCACGAATTT-GCGT-3'; FOXO3 上游引物 5'-ACACTCCAGCT-GGGTCCCTGA-3',下游引物 5'-TGTCTGGAGTCGGCAAT-TC-3'; GAPDH 上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATA-3',下游引物 5'-ACGAATTTGCGTGTATCCT-3'。

1.3.3 miR-27a 与 FOXO3 的结合位点预测: 通过 TargetScan 数据库 https://www.targetscan.org/vert_72/ 预测 miR-27a 与 FOXO3 的结合位点。

1.3.4 老年重症肺炎并发 ARDS 患者病情和预后分组: 老年重症肺炎并发 ARDS 患者入院后,根据氧合指数(动脉血氧分压/吸入氧浓度)分为轻度亚组(200 mmHg < 氧合指数 ≤ 300 mmHg, 26 例)、中度亚组(100 mmHg < 氧合指数 ≤ 200 mmHg, 34 例)、重度亚组(氧合指数 ≤ 100 mmHg, 48 例)。并根据老年重症肺炎并发 ARDS 患者 28 d 预后情况分为死亡亚组 33 例和存活亚组 75 例。

1.4 统计学方法 选用 SPSS 28.0 统计学软件进行数据处理。计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ^2 检验; 正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验,若为偏态分布则以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,采用 U 检验; 相关性采用 Pearson/Spearman 相关性分析; 多因素 Logistic 回归分析预后影响因素; 绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平比较 健康对照组、非 ARDS 组、ARDS 组血清 miR-27a 水平依次降低,FOXO3 mRNA 水平依次升高(P 均 < 0.01),见表 1。

表 1 3 组血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels in the 3 groups

组别	例数	miR-27a	FOXO3 mRNA
健康对照组	60	1.34 ± 0.18	0.77 ± 0.11
非 ARDS 组	72	1.12 ± 0.25	0.97 ± 0.15
ARDS 组	108	0.87 ± 0.15	1.17 ± 0.19
F 值		77.352	62.956
P 值		<0.001	<0.001

2.2 血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平在不同病情程度老年重症肺炎并发 ARDS 患者中比较 轻度亚组、中度亚组、重度亚组血清 miR-27a 水平依次降低,FOXO3 mRNA 水平依次升高(P 均 < 0.01),见表 2。

表 2 血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平在不同病情程度老年重症肺炎并发 ARDS 患者中比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels in elderly patients with severe pneumonia complicated by ARDS of different disease degrees

组别	例数	miR-27a	FOXO3 mRNA
轻度亚组	26	1.01 ± 0.09	0.94 ± 0.08
中度亚组	34	0.95 ± 0.10	1.14 ± 0.11
重度亚组	48	0.74 ± 0.10	1.32 ± 0.12
F 值		83.597	111.833
P 值		<0.001	<0.001

2.3 血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平与氧合指数的相关性 经 TargetScan 数据库预测, miR-27a 与 FOXO3 的 3'-非翻译区 3257 ~ 3264 处存在结合位点 (图 1)。Pearson 相关性分析显示, 血清 miR-27a 与 FOXO3 mRNA 水平呈负相关 ($r = -0.736, P < 0.001$); Spearman 相关性分析显示, 血清 miR-27a 水平与氧合指数呈正相关, FOXO3 mRNA 水平与氧合指数呈负相关 ($r_s = 0.751, -0.785, P$ 均 < 0.001)。

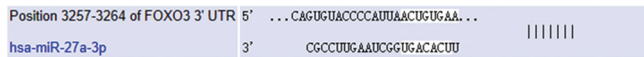


图 1 miR-27a 与 FOXO3 的结合位点图

Fig. 1 miR-27a binding site map with FOXO3

2.4 不同预后老年重症肺炎并发 ARDS 患者临床资料比较 老年重症肺炎并发 ARDS 患者 108 例, 28 d

死亡 33 例 (30.56%)。死亡亚组患者年龄大于存活亚组, 机械通气时间长于存活亚组, 氧合指数、miR-27a 低于存活亚组, C 反应蛋白、FOXO3 mRNA 高于存活亚组 ($P < 0.05$), 2 亚组其他资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

2.5 多因素 Logistic 回归分析影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的因素 以老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后 (死亡/存活 = 1/0) 为因变量, 以表 3 中 $P < 0.05$ 项目 (年龄、机械通气时间、氧合指数、C 反应蛋白、miR-27a、FOXO3 mRNA) 为自变量, 建立影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的多因素 Logistic 回归模型。结果显示, 年龄增加、机械通气时间延长、FOXO3 mRNA 升高为影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的独立危险因素, 氧合指数升高、miR-27a 升高为独立保护因素 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4 Multifactorial Logistic Regression Analysis Affecting the Prognosis of Elderly Patients with Severe Pneumonia Complicating ARDS

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄增加	0.182	0.076	5.695	0.017	1.199	1.033 ~ 1.393
机械通气时间延长	0.436	0.218	3.997	0.046	1.547	1.009 ~ 2.373
氧合指数升高	-0.027	0.008	11.578	0.001	0.973	0.958 ~ 0.989
C 反应蛋白升高	0.012	0.008	1.941	0.164	1.012	0.995 ~ 1.029
miR-27a 升高	-0.102	0.034	8.966	0.003	0.903	0.844 ~ 0.965
FOXO3 mRNA 升高	0.102	0.032	10.093	0.001	1.108	1.040 ~ 1.180

表 3 不同预后老年重症肺炎并发 ARDS 患者临床资料比较

Tab. 3 Comparison of clinical data of elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS with different prognoses

项目		存活亚组 ($n = 75$)	死亡亚组 ($n = 33$)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别 [例 (%)]	男	46 (61.33)	21 (63.64)	0.052	0.820
	女	29 (38.67)	12 (36.36)		
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)		71.96 ± 6.62	76.55 ± 6.31	3.365	0.001
肺炎类型 [例 (%)]	社区获得性肺炎	57 (76.00)	21 (63.64)	1.746	0.186
	医院获得性肺炎	18 (24.00)	12 (36.36)		
吸烟史 [例 (%)]		28 (37.33)	14 (42.42)	0.250	0.617
饮酒史 [例 (%)]		13 (17.33)	8 (24.24)	0.698	0.403
基础疾病 [例 (%)]	高血压	25 (33.33)	13 (39.39)	0.369	0.543
	糖尿病	13 (17.33)	7 (21.21)	0.228	0.633
	冠心病	19 (25.33)	10 (30.30)	0.288	0.591
机械通气时间 ($\bar{x} \pm s$, d)		3.31 ± 0.87	5.29 ± 1.20	9.658	<0.001
氧合指数 (mmHg) *		165.65 (88.15, 251.54)	70.83 (53.74, 98.81)	5.359	<0.001
白细胞计数 ($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)		12.60 ± 2.53	13.51 ± 2.57	1.726	0.087
血肌酐 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)		84.96 ± 26.30	95.42 ± 25.14	1.930	0.056
血尿素氮 ($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)		10.91 ± 3.45	12.13 ± 3.86	1.631	0.106
C 反应蛋白 ($\bar{x} \pm s, \text{mg/L}$)		121.54 ± 58.59	148.99 ± 49.43	2.348	0.021
降钙素原 ($\mu\text{g/L}$) *		4.62 (3.17, 6.94)	6.46 (3.76, 8.62)	1.831	0.067
miR-27a ($\bar{x} \pm s$)		0.92 ± 0.14	0.77 ± 0.13	5.494	<0.001
FOXO3 mRNA ($\bar{x} \pm s$)		1.12 ± 0.17	1.30 ± 0.15	5.413	<0.001

注: * 为 $M(Q_1, Q_3)$ 。

2.6 血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平对老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的预测价值 绘制血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平单独与联合预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的 ROC 曲线,结果显示:血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平及二者联合预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的曲线下面积(AUC)分别为 0.784、0.786、0.879,二者联合的 AUC 大于血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平单独预测($Z = 2.550$ 、 2.963 , $P = 0.011$ 、 0.003),见表 5、图 2。

表 5 血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的价值

Tab.5 Value of serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels for predicting death in elderly patients with severe pneumonia complicated by ARDS

指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
miR-27a	<0.93	0.784	0.695 ~ 0.858	0.939	0.507	0.446
FOXO3 mRNA	>1.22	0.786	0.697 ~ 0.859	0.727	0.734	0.461
二者联合		0.879	0.802 ~ 0.934	0.849	0.800	0.649

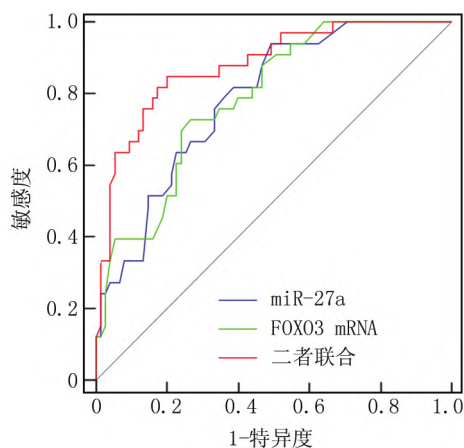


图 2 血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的 ROC 曲线

Fig.2 ROC curves for the prediction of death in elderly patients with severe pneumonia complicating ARDS by serum miR-27a and FOXO3 mRNA levels

3 讨论

ARDS 是一种由各种诱导因素引起的难以控制且危及生命的进行性呼吸窘迫和急性呼吸衰竭,其特点是严重肺部炎症反应、肺上皮和内皮细胞损伤、肺泡一毛细血管膜通透性增加、低氧血症和非心源性肺水肿等^[11]。老年重症肺炎患者由于肺实质(细支气管、肺间质、肺泡等)炎症反应加重,诱发失控性炎症反应,加剧肺部损伤导致 ARDS^[12]。老年重症肺炎并发 ARDS 具

有全身器官功能减退、基础疾病多、防御功能和呼吸免疫系统低下、顽固性低氧等特点,截止目前尚无特效治疗方法,治疗难度大,常因并发多器官衰竭而死亡^[13]。

炎症反应被认为是 ARDS 发生发展的核心机制,炎症反应通过破坏肺上皮和内皮细胞,增加肺泡一毛细血管膜通透性,引起大量液体渗漏而促进 ARDS 发生发展^[3]。miRNA 是一种短链非编码 RNA,能与靶基因特异性位点结合在转录后水平调控基因表达,从而参与 ARDS 进程^[14]。miR-27a 定位于人染色体 19p13.12,既往研究多关注其在恶性肿瘤中的作用,近年研究发现 miR-27a 还参与肺炎性反应过程。王艳琼等^[15]实验报道,miR-27a 在肺炎链球菌诱导的人肺泡上皮细胞损伤模型中低表达,上调 miR-27a 能靶向抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕靶蛋白信号通路,下调白介素(interleukin, IL)-6 等促炎细胞因子表达,以缓解肺炎链球菌所致的细胞损伤,提示 miR-27a 参与肺炎过程。实验报道,miR-27a 过表达能靶向抑制 Toll 样受体 4/核因子 κ B(Toll-like receptor 4/nuclear factor κ B, TLR4/NF- κ B) 信号通路,改善肺结核大鼠肺部炎症反应损伤^[16]。脂多糖建立的脓毒症小鼠模型中,抑制 miR-27a 能上调磷酸酯酶与张力蛋白同源物表达,抑制肺部促炎细胞因子表达,进而加重脓毒症诱导的肺损伤^[17]。提示 miR-27a 还对多种原因所致肺损伤具有重要的保护作用。本研究结果显示,健康对照组、非 ARDS 组、ARDS 组血清 miR-27a 水平依次降低,提示低血清 miR-27a 水平与老年重症肺炎并发 ARDS 有关。结果还显示,老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清 miR-27a 水平随着病情加重而降低,miR-27a 升高为影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的独立保护因素,这提示低血清 miR-27a 水平与老年重症肺炎并发 ARDS 患者疾病加重和预后不良有关。其机制可能是,miR-27a 能靶向抑制 TLR4/髓样分化因子 88/NF- κ B 信号通路,减少促炎细胞因子和促血管通透性因子释放,抑制肺部炎症反应发展和肺微血管通透性增强,减少肺上皮、肺内皮细胞凋亡,从而改善老年重症肺炎并发 ARDS 患者病情和预后^[18]。

FOXO3/FOXO3a 是一种高度保守的转录因子,具有调节脂代谢、炎症反应、免疫反应、血管生成、DNA 修复、细胞自噬、细胞凋亡、应激抵抗等多种作用^[19]。Chen 等^[20]实验报道,FOXO3 在肠缺血再灌注小鼠模型中表达上调,体外敲低 FOXO3 能抑制炎症因子表达,进而减轻肠缺血再灌注所致的肺损伤。Zhou 等^[21]实验报道,下调 FOXO3 能通过抑制 NOD 样受体热蛋白结构域蛋白 3 炎性小体活化,减轻炭黑纳米颗

粒诱导的大鼠肺部炎性反应。抑制 FOXO3 表达能改善慢阻肺大鼠肺组织 IL-1 β 、IL-2 等炎性因子表达^[22]。这些研究提示 FOXO3 在肺部炎性反应损伤中发挥重要作用。同时研究报道,下调 FOXO3 能减轻脓毒症诱导的急性肺损伤^[23]。本研究结果显示,健康对照组、非 ARDS 组、ARDS 组血清 FOXO3 mRNA 水平依次升高,提示高血清 FOXO3 mRNA 水平与老年重症肺炎并发 ARDS 有关。结果还显示,老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清 FOXO3 mRNA 水平随着病情加重而升高,为影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的独立危险因素,这提示高血清 FOXO3 mRNA 水平与老年重症肺炎并发 ARDS 患者疾病加重和预后不良有关。其机制可能是,FOXO3 能通过结合 NF- κ B RelA(p65) 激活 NF- κ B 信号通路,通过增加炎性细胞因子释放,加剧肺血管、肺上皮、肺内皮等组织损伤,导致老年重症肺炎并发 ARDS 患者病情加重和死亡风险增加^[24]。同时 FOXO3 作为介导线粒体自噬调控的关键途径^[25]。FOXO3 升高还会增强 II 型肺泡细胞自噬活性,导致肺泡细胞过度自噬,诱导肺泡细胞凋亡,进而加重老年重症肺炎并发 ARDS 患者病情和降低预后^[26]。

本研究通过在线预测发现 miR-27a 与 FOXO3 存在结合位点,相关性分析证实老年重症肺炎并发 ARDS 患者血清中二者水平呈负相关,这提示 miR-27a 与 FOXO3 可能共同参与老年重症肺炎并发 ARDS 发生发展。Shang 等^[27]通过双荧光素酶报告实验证实,miR-27a 能靶向下调 FOXO3,以减轻脂多糖诱导的肺泡上皮细胞炎性反应和凋亡。本研究结果还显示,年龄、机械通气时间和氧合指数为影响老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后的独立因素,考虑原因如下:年龄越大的患者全身器官功能减退越严重,免疫力、防御力、抗应激能力更差,因此死亡风险更高;机械通气时间延长说明患者低氧血症更严重,因此死亡风险更高;氧合指数作为评估 ARDS 患者病情严重程度的指标,其指数越高提示患者病情越轻,因此死亡风险更低。最后本研究 ROC 曲线结果显示,血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平预测老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡的 AUC 为 0.784、0.786,二者联合预测的 AUC 为 0.879,较单独预测显著增加。这提示血清 miR-27a、FOXO3 mRNA 水平可能成为老年重症肺炎并发 ARDS 患者预后辅助预测指标,而同时检测能更好地判断患者预后。但还需实验验证 miR-27a 与 FOXO3 参与老年重症肺炎并发 ARDS 的机制,同时本结论也有待多中心研究进一步验证。

综上,血清 miR-27a 水平降低和 FOXO3 mRNA 水

平升高与老年重症肺炎并发 ARDS 患者疾病加重和预后不良有关,miR-27a 与 FOXO3 可能共同参与老年重症肺炎并发 ARDS 发生发展,二者联合对老年重症肺炎并发 ARDS 患者死亡具有较高的预测价值。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

金娴:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;邵振华、姜俊、王志安:实施研究过程,资料整理收集;何梅:提出研究思路,分析试验数据,进行统计学分析;任蕾:课题设计,论文修改,论文审核

参考文献

- [1] 中华医学会急诊医学分会,中国老年社区获得性肺炎急诊诊疗专家共识组.中国老年社区获得性肺炎急诊诊疗专家共识[J].中华急诊医学杂志,2023,32(10):1319-1327. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2023.10.005.
- [2] 杜侠,王伟,张延玲,等.老年重症肺炎诊疗进展[J].中国医刊,2021,56(9):942-946. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1070.2021.09.005.
- [3] 吴素丽,何炜.急性呼吸窘迫综合征的炎症反应机制及机械通气治疗进展[J].武警医学,2023,34(2):177-180. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3594.2023.02.022.
- [4] Lu Q, Yu S, Meng X, et al. MicroRNAs: important regulatory molecules in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(10): 5545. DOI: 10.3390/ijms23105545.
- [5] 张翠翠,孙文萍,谢玲.miR-27a 靶向调节 TLR4 减轻糖尿病妊娠大鼠氧化应激和炎症损伤[J].实用医学杂志,2023,39(12):1487-1493. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.12.005.
- [6] Wu X, Wu C, Gu W, et al. Serum exosomal microRNAs predict acute respiratory distress syndrome events in patients with severe community-acquired pneumonia [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 3612020. DOI: 10.1155/2019/3612020.
- [7] 蒋薇,姚松,黄兰. FoxO3 调控线粒体功能的研究进展 [J]. 中国现代医生, 2023, 61(21): 100-103. DOI: 10.3969/j.issn.1673-9701.2023.21.023.
- [8] Artham S, Gao F, Verma A, et al. Endothelial stromelysin1 regulation by the forkhead box-O transcription factors is crucial in the exudative phase of acute lung injury [J]. Pharmacol Res, 2019, 141: 249-263. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.01.006.
- [9] 中国医师协会急诊医师分会.中国急诊重症肺炎临床实践专家共识[J].中国急救医学,2016,36(2):97-107. DOI: 10.3969/j.issn.1002-4949.2016.02.001.
- [10] Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: The berlin definition [J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.
- [11] 中国物联网智能辅助 ARDS 诊治专家组.物联网辅助成人急性呼吸窘迫综合征诊治中国专家共识 [J]. 中国临床医学, 2022, 29(5): 719-730. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20221364.
- [12] 张鸥,周峰,周祥林,等.血清 sICAM-1 水平联合国家早期预警评分对重症肺炎所致 ARDS 患者预后的评估价值 [J]. 山东医药, 2023, 63(22): 13-16. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2023.22.004.

(下转 322 页)

- [8] 中华医学会消化病学分会. 中国肝硬化临床诊治共识意见 [J]. 中华消化杂志, 2023, 43 (4): 227-247. DOI: 10. 3760/cma. j. cn311367-20230228-00093.
- [9] 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作委员会, 中华医学会肝病学会分会肝癌学组. 肝癌射频消融治疗规范的专家共识 [J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27 (3): 236-238, 244. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-5256. 2011. 03. 003.
- [10] Morse B, Jeong D, Ihnat G, et al. Pearls and pitfalls of response evaluation criteria in solid tumors (RECIST) v1. 1 non-target lesion assessment [J]. *AbdomRadiol (NY)*, 2019, 44 (2): 766-774. DOI: 10. 1007/s00261-018-1752-4.
- [11] Spiliotis AE, Gabelein G, Hollander S, et al. Microwave ablation compared with radiofrequency ablation for the treatment of liver cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Radiol Oncol*, 2021, 55 (3): 247-258. DOI: 10. 2478/raon-2021-0030.
- [12] Zhao J, Du G, Sun X. Tumor antigen-based nanovaccines for cancer immunotherapy: A review [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2021, 17 (11): 2099-2113. DOI: 10. 1166/jbn. 2021. 3178.
- [13] Cao Z, Cheng Y, Wang J, et al. HBPI-mediated transcriptional repression of AFP inhibits hepatoma progression [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40 (1): 118. DOI: 10. 1186/s13046-021-01881-2.
- [14] Kong Y, Jing Y, Sun H, et al. The diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound and enhanced CT combined with tumor markers AFP and CA199 in liver cancer [J]. *J Healthc Eng*, 2022, 2022: 5074571. DOI: 10. 1155/2022/5074571.
- [15] Liu Z, Tian Z, Cao K, et al. TSG101 promotes the proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells by regulating the PEG10 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (1): 70-82. DOI: 10. 1111/jcmm. 13878.
- [16] 朱金霞, 刘光伟, 杨培伟. 调控 PD-1/PD-L1 表达影响肝癌进展的分子机制研究进展 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32 (11): 1049-1053. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-0264. 2022. 011. 025.
- [17] 张蓝方, 张明娟, 许进秀, 等. PD-1/PD-L1 通路、Th17 和 Tregs 细胞在肿瘤免疫中的作用 [J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31 (18): 3519-3523. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-4992. 2023. 18. 035.
- [18] Wu Q, Pan C, Zhou Y, et al. Targeting neuropilin-1 abolishes anti-PD-1-upregulated regulatory T cells and synergizes with 4-1BB agonist for liver cancer treatment [J]. *Hepatology*, 2023, 78 (5): 1402-1417. DOI: 10. 1097/HEP. 0000000000000320.
- [19] Zheng B, Wang D, Qiu X, et al. Trajectory and functional analysis of PD-1-high CD4⁺ CD8⁺ T cells in hepatocellular carcinoma by single-cell cytometry and transcriptome sequencing [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7 (13): 2000224. DOI: 10. 1002/advs. 202000224.

(收稿日期: 2023-10-26)

(上接 307 页)

- [13] 李雪, 吴嘉荔, 马汉宁, 等. 不同评分对重症肺炎合并急性呼吸窘迫综合征预后模型的建立与评价 [J]. 中华急诊医学杂志, 2023, 32 (8): 1039-1045. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2023. 08. 006.
- [14] Zheng F, Pan Y, Yang Y, et al. Novel biomarkers for acute respiratory distress syndrome: genetics, epigenetics and transcriptomics [J]. *Biomark Med*, 2022, 16 (3): 217-231. DOI: 10. 2217/bmm-2021-0749.
- [15] 王艳琼, 董利利, 李敏, 等. miR-27a 调控 PI3K/AKT/mTOR 通路介导的自噬对肺炎链球菌诱导人肺泡上皮细胞损伤的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31 (11): 27-34. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2021. 11. 005.
- [16] 韩娜, 刘凡平, 田彦卿, 等. miRNA-27a 对实验性肺结核大鼠免疫功能调控作用及其机制 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2022, 48 (1): 104-110. DOI: 10. 13481/j. 1671-587X. 20220113.
- [17] Lv X, Zhang XY, Zhang Q, et al. lncRNA NEAT1 aggravates sepsis-induced lung injury by regulating the miR-27a/PTEN axis [J]. *Lab Invest*, 2021, 101 (10): 1371-1381. DOI: 10. 1038/s41374-021-00620-7.
- [18] Ju M, Liu B, He H, et al. MicroRNA-27a alleviates LPS-induced acute lung injury in mice via inhibiting inflammation and apoptosis through modulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway [J]. *Cell Cycle*, 2018, 17 (16): 2001-2018. DOI: 10. 1080/15384101. 2018. 1509635.
- [19] Orea-Soufi A, Paik J, Braganca J, et al. FOXO transcription factors as therapeutic targets in human diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43 (12): 1070-1084. DOI: 10. 1016/j. tips. 2022. 09. 010.
- [20] Chen D, Chen C, Xiao X, et al. TNF- α induces neutrophil apoptosis delay and promotes intestinal ischemia-reperfusion-induced lung injury through activating JNK/FoxO3a pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8302831. DOI: 10. 1155/2021/8302831.
- [21] Zhou L, Li P, Zhang M, et al. Carbon black nanoparticles induce pulmonary fibrosis through NLRP3 inflammasome pathway modulated by miR-96 targeted FOXO3a [J]. *Chemosphere*, 2020, 241: 125075. DOI: 10. 1016/j. chemosphere. 2019. 125075.
- [22] 吴凡, 李泽庚, 董昌武, 等. 芪白平肺胶囊通过调节 SIRT1/FoxO3a 通路改善 COPD 气虚痰瘀证大鼠炎症及氧化应激状态 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35 (2): 115-120. DOI: 10. 13423/j. cnki. cjmi. 008771.
- [23] He Q, Yin J, Zou B, et al. WIN55212-2 alleviates acute lung injury by inhibiting macrophage glycolysis through the miR-29b-3p/FOXO3/PFKFB3 axis [J]. *Mol Immunol*, 2022, 149: 119-128. DOI: 10. 1016/j. molimm. 2022. 06. 005.
- [24] Liu JH, Cao L, Zhang CH, et al. Dihydroquercetin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through modulating FOXO3-mediated NF- κ B signaling via miR-132-3p [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2020, 10 (64): 101934. DOI: 10. 1016/j. pupt. 2020. 101934.
- [25] 蒋薇, 姚松, 黄兰. FoxO3 调控线粒体功能的研究进展 [J]. 中国现代医生, 2023, 61 (21): 100-103. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-9701. 2023. 21. 023.
- [26] Song L, Zhou F, Cheng L, et al. MicroRNA-34a suppresses autophagy in alveolar type II epithelial cells in acute lung injury by inhibiting FoxO3 expression [J]. *Inflammation*, 2017, 40 (3): 927-936. DOI: 10. 1007/s10753-017-0537-1.
- [27] Shang J, Wang L, Tan L, et al. MiR-27a-3p overexpression mitigates inflammation and apoptosis of lipopolysaccharides-induced alveolar epithelial cells by targeting FOXO3 and suppressing the activation of NAPDH/ROS [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533 (4): 723-731. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2020. 07. 126.

(收稿日期: 2023-11-17)