

# 过敏性鼻炎患者 miR-34a 的表达及其与炎症因子的相关性分析

高炜旻 陈寻 黄世斌 李海同 骆云珍 陈晓红

过敏性鼻炎属于鼻黏膜的变应性和炎症性疾病,临床表现为鼻痒、鼻塞、打喷嚏和流清涕等<sup>[1]</sup>。药物治疗仅能缓解患者80%左右的症状,加之极易复发,临床治疗相对棘手<sup>[2,3]</sup>。因此,寻找可靠有效的诊断标志物显得极为重要。

有研究显示微小RNA(microRNA, miR)参与了过敏性鼻炎发生发展过程<sup>[4,5]</sup>,其中 miR-34a 在气道变应性疾病中发挥重要作用<sup>[6]</sup>,但 miR-34a 在过敏性鼻炎患者中表达及与患者炎症因子的相关性鲜有报道。本研究探究过敏性鼻炎患者组织和外周血 miR-34a 的表达水平,分析其与炎症因子的相关性。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年3月至2020年3月在嘉兴市第二医院耳鼻咽喉科接受治疗的过敏性鼻炎患者200例作为观察组,其中男性109例、女性91例,年龄(27.56±5.24)岁,病程(8.61±2.72)个月,鼻炎症状总评分(total nasal symptom score, TNSS)<sup>[7]</sup>为(8.13±1.05)分。纳入标准为:①临床症状、皮肤点刺试验及鼻腔检查结果符合过敏性鼻炎诊断标准;②临床资料完整;③近1个月内未接受免疫和抗过敏治疗;④患者知情同意并签署知情同意书。排除标准为:①合并哮喘或上呼吸道感染等呼吸系统疾病;②合并鼻中隔偏曲、鼻息肉和鼻窦炎造成的鼻腔堵塞;③合并鼻腔癌等恶性肿瘤。同时选取200名例同期行鼻中隔偏曲矫正手术的患者作为对照组,排除合并过敏性鼻炎、鼻窦炎及鼻腔

肿瘤疾病患者。其中男性108例、女性92例,平均年龄(28.53±4.93)岁。两组人群基线资料比较,差异均无统计学意义( $P$ 均>0.05)。本研究经医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法 所有研究对象抽取肘静脉血5 ml,取血30 min内以1 500 r/min离心10 min,获得血浆,分成两部分,一部分用于血浆总RNA提取,另一部分用于免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)测定。另对研究对象行局部鼻腔麻醉,取鼻甲前端黏膜组织,用无菌0.9%氯化钠注射液清洗,放入液氮速冻,随后保存于-80℃,用于黏膜组织总RNA提取。采用miRNeasy Serum/Plasma Kit(50)试剂盒(由美国Qiagen公司生产)提取研究对象的黏膜组织和血浆的总RNA。采用NanoDrop微量分光光度计(由美国Thermo Fisher Scientific公司生产)测定总RNA浓度,同时计算A260/A280 nm比值,计算纯度;通过RNA琼脂糖凝胶电泳检测样品RNA完整性。检测浓度与纯度后,按照反转录试剂盒Taq-Man miRNA Reverse Transcription Kit(由美国Qiagen公司生产)的说明合成第一链cDNA,采用miScript SYBR Green PCR Kit试剂盒(由美国Qiagen公司生产)进行实时荧光定量PCR检测,miR-34a和炎症因子的引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。以U6为内参检测miR-34a相对表达量,采用GAPDH作为炎症因子的内参,最后通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算miR-34a和炎症因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、IL-10、IL-13、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)及血管细胞黏附分

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.002.019

基金项目:嘉兴市民生科技创新计划项目(2021AD30105)

作者单位:314000 浙江嘉兴,嘉兴市第二医院耳鼻咽喉科

子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)] mRNA 表达水平。并且以血清 miR-34a 表达中位数为分界值,将过敏性鼻炎患者分为高表达组和低表达组。采用放射免疫吸附剂试验试剂盒(由美国默克生物科技有限公司生产)检测 IgE 水平。

1.3 TNSS 评分标准 包含喷嚏、流涕、鼻塞和鼻痒 4 项,每项 0~3 分。未出现任何相关症状为 0 分;连续喷嚏 3~5 个/次,擤鼻少于 4 次/日,偶有鼻塞及间断性鼻痒记为 1 分;连续喷嚏 6~10 个/次,擤鼻 5~9 次/日,间歇性或交互性鼻塞,间断性鼻痒并伴有可以忍受的蚁行感记为 2 分;连续喷嚏 11 个/次以上,擤鼻 10 次/日以上,严重鼻塞,鼻痒并伴有难以忍受的蚁行感记为 3 分。得分越高,表示症状越严重。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 22.0 统计软件分析所有数据。计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用 *t* 检验。相关性分析采用 Pearson 相关性检验。设  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者黏膜组织与血清 miR-34a mRNA 表

达水平比较见表 1

表1 两组患者黏膜组织与血清 miR-34a mRNA 表达水平比较

组别	<i>n</i>	黏膜组织	血清
观察组	200	1.85 ± 0.38*	1.78 ± 0.35*
对照组	200	1.03 ± 0.18	1.01 ± 0.16

注:\*:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表 1 可见,观察组患者黏膜组织和血清 miR-34a mRNA 的相对表达量均明显高于对照组,差异均有统计意义(*t* 分别=27.52、26.41,  $P$  均  $< 0.05$ )。Pearson 相关性分析显示观察组患者血浆与黏膜组织 miR-34a 表达水平呈明显正相关( $r=0.68$ ,  $P < 0.05$ )。

2.2 miR-34a 高、低表达患者鼻炎症状评分及血清 IgE 表达水平比较 以过敏性鼻炎患者血清 miR-34a 表达量位数 1.76 为分界值,将过敏性鼻炎患者中 miR-34a 表达量  $\geq 1.76$  的患者纳入高表达组 128 例,其余纳入低表达组 72 例。两亚组 TNSS 评分及血清 IgE 表达水平比较见表 2。

表2 miR-34a 高、低表达患者 TNSS 评分及血清 IgE 表达水平比较

组别	喷嚏/分	鼻涕/分	鼻痒/分	鼻塞/分	TNSS 评分/分	血清 IgE/IU/ml
高表达组	2.34 ± 0.21*	1.96 ± 0.17*	1.76 ± 0.13*	1.98 ± 0.17*	8.57 ± 0.47*	305.32 ± 27.65*
低表达组	1.77 ± 0.17	1.64 ± 0.14	1.42 ± 0.23	1.67 ± 0.15	6.54 ± 0.36	241.63 ± 21.65

注:\*:与低表达组比较, $P < 0.05$ 。

由表 2 可见,miR-34a 高表达患者的 TNSS 各项评分、总分及血清 IgE 水平均明显高于 miR-34a 低表达患者,差异均有统计学意义(*t* 分别=5.63、5.24、5.82、5.24、6.05、7.21,  $P$  均  $< 0.05$ )。

2.3 血清 miR-34a 不同表达水平患者炎症因子水平及相关性见表 3

表3 miR-34a 高、低表达水平患者炎症因子水平比较

炎症因子	高表达组	低表达组
IL-1 $\beta$ /ng/ml	2.26 ± 0.24*	1.68 ± 0.18
IL-6/pg/ml	2.04 ± 0.18	2.11 ± 0.17
IL-8/pg/ml	1.91 ± 0.20	1.94 ± 0.17
IL-10/pg/ml	1.81 ± 0.12*	1.56 ± 0.12
IL-13/pg/ml	1.95 ± 0.19*	1.50 ± 0.15
TNF- $\alpha$ / $\mu$ g/ml	1.76 ± 0.20*	1.51 ± 0.14
MMP-2/ng/ml	2.11 ± 0.19*	1.74 ± 0.16
MMP-9/ng/ml	2.53 ± 0.29*	2.07 ± 0.19
VCAM-1/ng/ml	2.19 ± 0.20*	1.76 ± 0.17

注:\*:与低表达组比较, $P < 0.05$ 。

由表 3 所见,miR-34a 高表达患者与低表达患者 IL-6 和 IL-8 水平比较,差异无统计学意义(*t* 分别=0.62、0.60,  $P$  均  $> 0.05$ ),而 miR-34a 高表达患者 IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、MMP-2、MMP-9 及 VCAM-1 表达水平明显高于 miR-34a 低表达患者,差异均有统计学意义(*t* 分别=6.01、5.98、6.05、5.26、5.86、6.01、5.84,  $P$  均  $< 0.05$ )。Pearson 相关性分析显示,miR-34a 与 IL-6 和 IL-8 水平不存在明显相关(*r* 分别=0.17、0.15,  $P$  均  $> 0.05$ ),与炎症因子(IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、MMP-2、MMP-9、VCAM-1)水平呈明显正相关(*r* 分别=0.58、0.52、0.51、0.60、0.53、0.48、0.51,  $P$  均  $< 0.05$ )。

## 3 讨论

过敏性鼻炎是患者暴露于致敏源后导致的鼻黏膜慢性炎性疾病,主要由 IgE 介导释放组胺及免疫和细胞因子引起。过敏性鼻炎发病受到基因和环境等多重因素的影响,基因表达异常是主要病理机制<sup>[8]</sup>,目前,不断有研究发现 microRNAs 在过敏性

鼻炎患者的鼻黏膜中呈现差异表达。miR-34属于一类在哺乳动物中广泛分布的高度保守 miRNA 家族。miR-34a 定于 lp36. 22, 目前发现 miR-34a 在气道变应性疾病中发挥重要作用, Solberg 等<sup>[9]</sup>发现 miR-34 s(miR-34c-5p、miR-34b-5p)在哮喘患者的支气管上皮细胞中的表达显著下调。但其在过敏性鼻炎中的表达及作用并不清楚, 目前尚未见报道。

本次研究结果发现, 过敏性鼻炎患者组织和血清 miR-34a mRNA 水平明显高于非过敏性鼻炎患者( $P < 0.05$ )。提示 miR-34a 可能在过敏性鼻炎疾病中发挥重要作用。相关性分析发现过敏性鼻炎患者血浆和组织中 miR-34a 表达存在呈明显正相关, 提示血浆 miR-34a 的表达变化可为过敏性鼻炎的诊治及机制研究等提供更多的临床依据。炎症反应是过敏性鼻炎发病的主要特征, 有报道指出 miR-34a 可促进炎症相关的疾病进展<sup>[11]</sup>。本研究发现 miR-34a 高表达的过敏性鼻炎患者 TNSS 各项评分及血清 IgE 水平明显高于 miR-34a 低表达患者, miR-34a 高表达患者 IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、MMP-2、MMP-9 及 VCAM-1 表达水平明显高于 miR-34a 低表达患者, 说明 miR-34a 高表达患者鼻炎严重程度及炎症因子水平也相对更高, 提示 miR-34a 可作为过敏性鼻炎疾病严重程度的标志物。通过相关性分析发现, miR-34a 与炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、MMP-2、MMP-9 及 VCAM-1 水平呈明显正相关, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10 和 IL-13 均为常见的炎症因子, 在过敏性鼻炎患者表达上调, 参与疾病进展, MMP-2 和 MMP-9 属于 MMP 家族, 可促进炎症细胞向气道黏膜固有层浸润, 激活的炎症细胞通过表达释放 MMP-2 和 MMP-9 形成正反馈, 促进炎症反应<sup>[12]</sup>。而 VCAM-1 与嗜酸性粒细胞表面受体结合从而黏附于血管壁, 促进嗜酸性粒细胞的迁移, 参与变态反应<sup>[13]</sup>, miR-34a 在过敏性鼻炎中发挥促进炎症的作用, 其机制可能与 miR-34a 通过调控 MAPK 信号通路、内质网应激反应级自噬等过程促进细胞中的炎性反应增加炎症因子水平有关<sup>[14]</sup>。

综上所述, miR-34a 在过敏性鼻炎患者组织和血液中高表达, 且与过敏性鼻炎患者严重程度及炎症因子密切相关。但在过敏性鼻炎中的具体分子作用机制尚未探讨, 有待在今后工作中具体深入研究。

#### 参考文献

- 1 杨一兵, 李欣, 王秦, 等. 大气 PM2.5 暴露对太原市过敏性鼻炎患者氧化应激水平的影响[J]. 中华预防医学杂志, 2019, 53(1): 64.
- 2 Wise SK, Lin SY, Toskala E. International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis—executive summary[J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2018, 8(2): 85–107.
- 3 唐桥斐, 张爽, 王颀, 等. MiR-155-5p 介导 Treg/Th17 免疫失衡致变应性鼻炎机制研究[J]. 现代免疫学, 2019, 39(2): 126–132.
- 4 Cui X, Guo Y, Wang Q, et al. MiR-199-3p-Dnmt3a-STAT3 signalling pathway in ovalbumin-induced allergic rhinitis[J]. Exp Physiol, 2019, 104(8): 1286–1295.
- 5 Wang L, Yang X, Li W, et al. MiR-202-5p/MATN2 are associated with regulatory T-cells differentiation and function in allergic rhinitis[J]. J Invest Dermatol, 2020, 140(2): 465–476.
- 6 Zhang L, Liao Y, Tang L. MicroRNA-34 family: A potential tumor suppressor and therapeutic candidate in cancer[J]. J Exp Clin Canc Res, 2019, 38(1): 53–60.
- 7 阮蓓蕾, 李易蓉, 扈小健. 鼻炎贴膏穴位贴敷联合氯雷他定治疗过敏性鼻炎的疗效及对免疫球蛋白 E 和炎症因子的影响[J]. 全科医学临床与教育, 2021, 19(2): 125–128, 133.
- 8 续珊, 陈始明, 焦沃尔, 等. 变应性鼻炎发病机制研究的新进展[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(6): 1180–1183.
- 9 Solberg OD, Osuin EJ, Love MI, et al. Airway epithelial miRNA expression is altered in asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 186(10): 965–974.
- 10 Backes C, Meese E, Keller A. Specific miRNA disease biomarkers in blood, serum and plasma: Challenges and prospects[J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20(6): 509–518.
- 11 何桂媛, 李文新, 王莉, 等. miR-146 在支气管哮喘发生发展中的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(10): 165–167.
- 12 王海波, 俞为荣. MMP-2/MMP-9 在炎症中的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(17): 3120–3122.
- 13 朱宏伟, 孙娟, 徐成伟, 等. 芩蒿滴鼻液对变应性鼻炎患者鼻分泌物中 SP, TNF- $\alpha$ , Annexin1 及 VCAM-1 含量的影响[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(1): 73–76.
- 14 周珍慧. miR-34/449 调控哮喘气道炎症及与自噬相关性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2017.

(收稿日期 2021-12-13)

(本文编辑 葛芳君)