

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2020.05.0540

· 论 著 ·

长链非编码 RNA INK4 位点反义非编码 RNA 与微 RNA-125a 在支气管哮喘患儿血浆中的表达及临床意义

董善武^{1*}, 陈咏丽¹, 陈玲¹, 何春枝¹, 王震宇²

1. 武汉市第四医院, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院儿科, 武汉 430034

2. 武汉科技大学医学院基础医学院生物化学与分子生物学系, 武汉 430065

[摘要] **目的** 探讨 lncRNA INK4 位点反义非编码 RNA (ANRIL) 在支气管哮喘患儿血浆中的表达及其与患病风险、疾病严重程度和 miRNA-125a 的关系。**方法** 连续纳入急性发作期支气管哮喘患儿、缓解期支气管哮喘患儿和匹配的健康儿童各 70 例, 收集受试者实验室检查及肺通气功能检测结果。采用 qRT-PCR 检测受试者血浆中 lncRNA ANRIL 和 miRNA-125a 表达水平, 并用 ELISA 法检测受试者血浆中炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-17) 水平。**结果** lncRNA ANRIL 在急性发作期支气管哮喘患儿血浆中的表达水平高于缓解期支气管哮喘患儿和健康儿童 (P 均 <0.001), 在缓解期支气管哮喘患儿血浆中的表达水平高于健康儿童 ($P=0.002$)。ROC 曲线表明 lncRNA ANRIL 能很好地区分 3 组受试者。lncRNA ANRIL 表达水平与急性发作期支气管哮喘患儿疾病严重程度有关 ($P=0.001$), 与 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17 表达水平均呈正相关 (P 均 <0.05), 而与第 1 秒用力呼气容积 (FEV₁) / 用力肺活量 (FVC)、FEV₁ 占预计值的百分比 (FEV₁% Pred) 均呈负相关 (P 均 <0.05)。lncRNA ANRIL 表达水平与缓解期支气管哮喘患儿 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-17 表达水平及健康儿童 IL-6 表达水平均呈正相关 (P 均 <0.05)。同时, lncRNA ANRIL 表达水平还与 3 组受试者 miRNA-125a 表达水平均呈负相关 (P 均 <0.05), 并且 miRNA-125a 表达水平与急性发作期支气管哮喘患儿 FEV₁/FVC、FEV₁% Pred 均呈正相关 (P 均 <0.001)。**结论** lncRNA ANRIL 对儿童支气管哮喘及急性发作有诊断价值, 对哮喘严重程度和患儿炎症水平有潜在的预测价值; lncRNA ANRIL 可能通过靶向调控 miRNA-125a 参与儿童支气管哮喘的发生、发展。

[关键词] 哮喘; 儿童; 长链非编码 RNA ANRIL; 微 RNA-125a; 炎症因子**[中图分类号]** R 725.62 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2020)05-0540-06

Expression and clinical significance of long non-coding RNA antisense non-coding RNA in the INK4 locus and microRNA-125a in plasma of children with bronchial asthma

DONG Shan-wu^{1*}, CHEN Yong-li¹, CHEN Ling¹, HE Chun-zhi¹, WANG Zhen-yu²

1. Department of Paediatrics, Wuhan Fourth Hospital (Puai Hospital), Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430034, Hubei, China

2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Basic Medical College, School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, Hubei, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the correlation of long non-coding RNA (lncRNA) antisense non-coding RNA in the INK4 locus (ANRIL) with disease risk and severity of bronchial asthma as well as plasma microRNA (miRNA)-125a expression in child patients. **Methods** Seventy children with asthma exacerbation, 70 children with asthma remission and 70 matched healthy controls were consecutively enrolled in this study. Laboratory parameters and lung function indexes of the participants were recorded. lncRNA ANRIL and miRNA-125a expression levels in plasma were determined using qRT-PCR. Tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6 and IL-17 levels in plasma were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** lncRNA ANRIL expression was the highest in the asthma exacerbation children, followed by asthma remission children and healthy controls. There were significant differences in the expression of lncRNA ANRIL among the three groups (all $P < 0.01$). Receiver operating characteristic curves revealed that lncRNA ANRIL could well differentiate the participants in the three groups. In the children with asthma exacerbation, lncRNA ANRIL expression was associated with disease severity ($P=0.001$), positively associated with the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-17 (all

[收稿日期] 2019-10-29 [接受日期] 2019-12-23

[基金项目] 湖北省卫生健康委员会基金 (WJ2019M020). Supported by Fund of Health Commission of Hubei Province (WJ2019M020).

[作者简介] 董善武, 副主任医师.

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 027-68831595, E-mail: shangchen333999775@163.com

$P < 0.05$), while negatively associated with forced expiratory volume in one second (FEV_1)/forced vital capacity (FVC) and FEV_1 as percentage of predicted ($FEV_1\%$ Pred) value (both $P < 0.05$). LncRNA ANRIL expression was also positively associated with the levels of TNF- α , IL-1 β and IL-17 in the asthma remission children and IL-6 level in healthy controls (all $P < 0.05$). LncRNA ANRIL expression was negatively associated with miRNA-125a expression in all the participants (all $P < 0.05$). Besides, miRNA-125a expression was positively correlated with FEV_1 /FVC and $FEV_1\%$ Pred value in the children with asthma exacerbation (both $P < 0.001$). **Conclusion** LncRNA ANRIL may serve as a novel biomarker for predicting asthma, asthma acute exacerbation and severity, and inflammation level. It may participate in the development and progression of asthma in children via targeting miRNA-125a.

[Key words] asthma; children; long non-coding RNA ANRIL; microRNA-125a; inflammatory cytokines

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2020, 41(5): 540-545]

支气管哮喘是儿童最常见的慢性呼吸道疾病之一,在我国 14 岁以下儿童中支气管哮喘的累积患病率高达 3.02%^[1]。哮喘患儿主要的临床症状表现为反复发作的喘息、胸闷与咳嗽等,这些症状严重危害着患儿的身心健康^[2-3]。LncRNA 是一类长度超过 200 nt 的非编码 RNA,广泛存在于真核细胞并通过转录调控、转录后调控和表观遗传调控参与多种复杂的生理病理活动^[4-5]。LncRNA INK4 位点反义非编码 RNA (antisense non-coding RNA in the INK4 locus, ANRIL) 最初因与冠状动脉粥样硬化密切相关而被报道,近年来,有研究表明其可通过调控 miRNA 参与包括癌症、心血管疾病与炎症免疫性疾病在内的多种疾病的发生与发展^[6-8]。研究显示, lncRNA ANRIL/miRNA-125a 轴在口腔癌和鼻咽癌细胞的增殖、迁移及侵袭过程中发挥着重要作用^[9-10], miRNA-125a 还可以介导多种免疫细胞的活动与免疫介质的释放,并参与类风湿关节炎、克罗恩病和系统性红斑狼疮等炎症免疫性疾病的发生、发展^[11-14]。支气管哮喘患儿体内广泛存在炎症免疫损伤,我们前期小样本预试验结果显示支气管哮喘患儿血浆中 lncRNA ANRIL 上调、miRNA-125a 下调,并且二者呈负相关,因此推测 lncRNA ANRIL/miRNA-125a 轴在儿童支气管哮喘发病和进展过程中起着重要作用。本研究旨在评估 lncRNA ANRIL 在支气管哮喘患儿血浆中的表达及其与患病风险、疾病严重程度和 miRNA-125a 表达的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象 连续选择 2017 年 1 月至 2018 年 6 月在武汉市第四医院就诊的急性发作期支气管哮喘患儿 70 例、缓解期支气管哮喘患儿 70 例,并选择 70 例同期于武汉市第四医院健康体检中心进行健康体检的健康儿童作为健康对照。本研究通

过武汉市第四医院伦理委员会审批,入组前所有受试者法定监护人均签署了知情同意书。

急性发作期支气管哮喘患儿纳入标准如下:

- (1) 符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》急性发作期支气管哮喘诊断标准^[1];
- (2) 年龄 < 16 岁^[15]。排除标准: (1) 除呼吸道或肺部感染外合并其他器官组织严重感染者; (2) 合并恶性血液病或肿瘤者。

缓解期支气管哮喘患儿纳入标准如下: (1) 符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》缓解期支气管哮喘诊断标准^[1]; (2) 经过治疗或未经治疗症状、体征消失,肺功能恢复至急性发作前水平并维持 3 个月以上; (3) 年龄 < 16 岁^[15]。排除标准与急性发作期支气管哮喘患儿一致。

健康儿童纳入标准如下: (1) 年龄、性别、身高、体质量与入组支气管哮喘患儿相匹配; (2) 无哮喘病史及过敏性疾病史。排除标准: (1) 1 个月内使用过免疫抑制剂或糖皮质激素类药物; (2) 患有感染、炎症性疾病、血液系统疾病或恶性肿瘤。

1.2 资料收集 在取得法定监护人书面知情同意后,收集所有受试者的年龄、性别、身高、体质量、家族哮喘病史等基本信息,并记录实验室检查结果和肺通气功能检测结果,包括嗜酸性粒细胞计数、IgE 水平、第 1 秒用力呼气容积 (forced expiratory volume in one second, FEV_1) / 用力肺活量 (forced vital capacity, FVC)、 FEV_1 占预计值的百分比 ($FEV_1\%$ Pred) 等。同时,对于急性发作期支气管哮喘患儿,入院时哮喘急性发作严重程度依据《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》^[1]进行评估并记录。

1.3 血浆中 lncRNA ANRIL 与 miRNA-125a 表达水平检测 所有受试者入组后均采集血液样本,并在 1 min 内离心分离血浆。使用 TRIzol 试剂盒 (美国

Invitrogen公司)提取血浆总RNA,用反转录试剂盒(德国Qiagen公司)反转录为cDNA。以cDNA为模板,分别使用lncRNA ANRIL和miRNA-125a特异性引物进行qRT-PCR。以GAPDH作为lncRNA ANRIL内参,以U6作为miRNA-125a内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分别计算lncRNA ANRIL和miRNA-125a mRNA相对表达水平。lncRNA ANRIL正义引物:5'-TGC TCT ATC CGC CAA TCA GG-3',反义引物:5'-GGG CCT CAG TGG CAC ATA CC-3'; miRNA-125a正义引物:5'-ACA CTC CAG CTG GGT CCC TGA GAC CCT TTA AC-3',反义引物:5'-TGT CGT GGA GTC GGC AAT TC-3'; GAPDH正义引物:5'-GGA GCG AGA TCC CTC CAA AAT-3',反义引物:5'-GGC TGT TGT CAT ACT TCT CAT GG-3'; U6正义引物:5'-CTC GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTA-3',反义引物:5'-ACG AAT TTG CGT GTC ATC CTT GC-3'。

1.4 血浆中炎症因子检测 采用ELISA试剂盒(英国Abcam公司)检测血浆中炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-17)水平,所有操作均严格按照试剂盒使用说明书进行。

1.5 统计学处理 应用SPSS 22.0软件进行统计学分析,使用GraphPad Prism 6.01软件绘图。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,呈偏态分布或未知分布的计量资料以中位数(下四分位数,上四分位数)表示,计数资料以例数和百分数表示。

3组间比较采用单因素方差分析、Kruskal-Wallis H检验或 χ^2 检验,两组间比较采用Wilcoxon秩和检验。相关性分析采用Spearman秩相关分析,lncRNA ANRIL对支气管哮喘的诊断及其急性发作的判断价值采用ROC曲线评估。双侧检验,检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 受试者资料 急性发作期支气管哮喘患儿的年龄为2~14(6.4 \pm 2.7)岁,男36例、女34例,身高为(116.2 \pm 16.8)cm,体质量为(22.9 \pm 7.8)kg,有家族哮喘病史者20例(28.6%)。缓解期支气管哮喘患儿的年龄为3~14(6.6 \pm 2.4)岁,男38例、女32例,身高为(117.3 \pm 15.7)cm,体质量为(23.2 \pm 7.3)kg,有家族哮喘病史者16例(22.9%)。健康儿童年龄为3~14(7.4 \pm 2.6)岁,

男42例、女28例,身高为(116.7 \pm 16.5)cm,体质量为(23.4 \pm 7.9)kg,有家族哮喘病史者9例(12.9%)。3组受试者年龄、性别、身高、体质量及有家族哮喘病史者比例的差异均无统计学意义(P 均 $>$ 0.05)。

2.2 lncRNA ANRIL在血浆中的表达及其对哮喘和急性发作诊断价值 lncRNA ANRIL在急性发作期支气管哮喘患儿血浆中的表达水平[3.078(2.211, 3.977)]高于缓解期支气管哮喘患儿[1.536(0.891, 2.880)]和健康儿童[1.004(0.464, 1.967)],差异均有统计学意义(P 均 $<$ 0.001);同时,其在缓解期支气管哮喘患儿血浆中的表达水平高于健康儿童($P=0.002$);见图1A。ROC曲线表明lncRNA ANRIL可以鉴别哮喘急性发作期和缓解期(AUC=0.759, 95% CI 0.678~0.840, 图1B),也可诊断急性发作期哮喘(AUC=0.873, 95% CI 0.814~0.933, 图1C)及缓解期哮喘(AUC=0.650, 95% CI 0.560~0.741, 图1D)。以上结果表明lncRNA ANRIL对儿童支气管哮喘及急性发作期、缓解期具有诊断价值。

2.3 急性发作期支气管哮喘患儿血浆lncRNA ANRIL表达与疾病严重程度的关系 lncRNA ANRIL在急性发作期支气管哮喘轻度患儿($n=18$)血浆中的表达水平为2.283(1.484, 3.096),在中重度患儿($n=37$)血浆中的表达水平为3.184(2.502, 3.990),在重度患儿($n=15$)血浆中的表达水平为4.137(2.643, 5.847),Kruskal-Wallis H检验表明急性发作期支气管哮喘患儿血浆中lncRNA ANRIL表达水平与疾病严重程度有关($H=15.120$, $P=0.001$)。表明急性发作期支气管哮喘患儿血浆中lncRNA ANRIL水平越高病情越重。

2.4 血浆lncRNA ANRIL表达与受试者临床特征的相关性分析 在急性发作期支气管哮喘患儿中,血浆lncRNA ANRIL表达水平与FEV₁/FVC($r=-0.344$, $P=0.003$)和FEV₁%Pred($r=-0.273$, $P=0.022$)呈负相关,而与嗜酸性粒细胞计数($r=0.144$, $P=0.236$)和IgE($r=0.111$, $P=0.361$)无关;在缓解期支气管哮喘患儿和健康儿童中,血浆lncRNA ANRIL表达水平与嗜酸性粒细胞计数、IgE、FEV₁/FVC及FEV₁%Pred均无关(P 均 $>$ 0.05)。见表1。

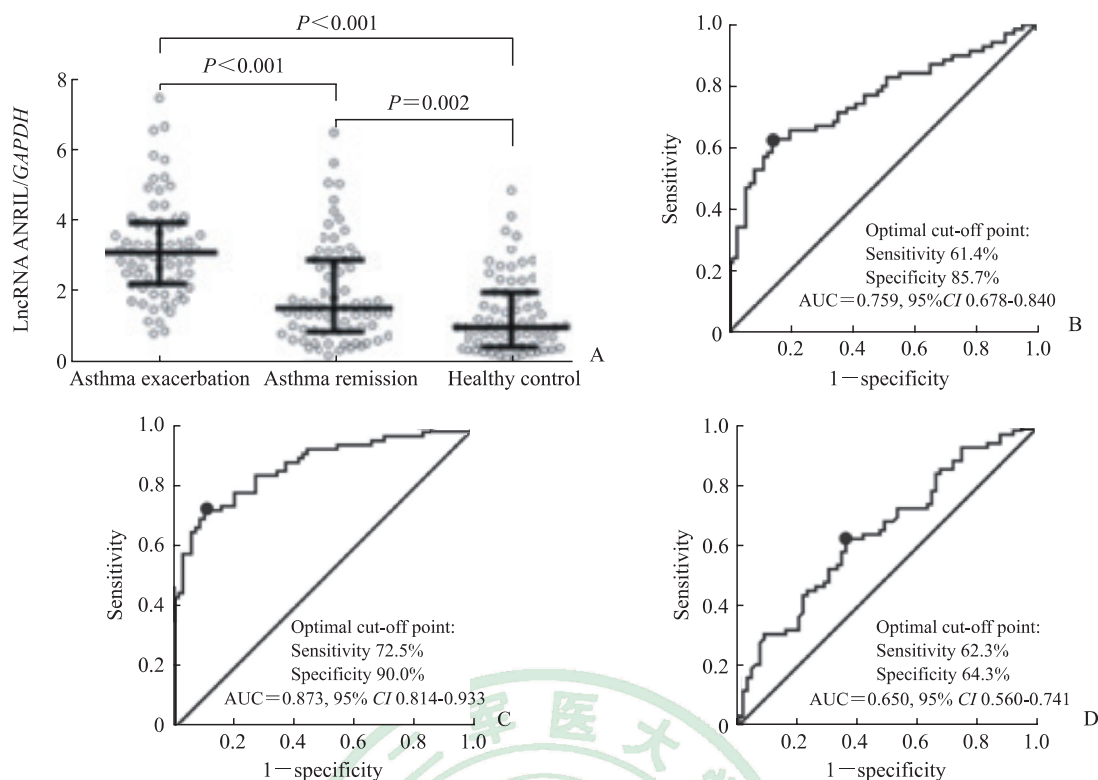


图 1 3 组受试者血浆中 lncRNA ANRIL 的相对表达量及 ROC 曲线

Fig 1 Relative expression of lncRNA ANRIL in plasma of participants in three groups and ROC curves

A: lncRNA ANRIL expression ($n=70$ in each group, median [low quartile, upper quartile]); B: ROC curve of asthma exacerbation children vs asthma remission children; C: ROC curve of asthma exacerbation children vs healthy controls; D: ROC curve of asthma remission children vs healthy controls. lncRNA: Long non-coding RNA; ANRIL: Antisense non-coding RNA in the INK4 locus; ROC: Receiver operating characteristic; AUC: Area under curve; CI: Confidence interval

表 1 3 组受试者血浆中 lncRNA ANRIL 和 miRNA-125a 的相对表达量与临床特征及炎症因子的关系

Tab 1 Correlation of relative expression of lncRNA ANRIL and miRNA-125a in plasma of participants in three groups with the clinical characteristics and inflammatory cytokines

Item	Asthma exacerbation		Asthma remission		Healthy control	
	lncRNA ANRIL	miRNA-125a	lncRNA ANRIL	miRNA-125a	lncRNA ANRIL	miRNA-125a
Eosinophil count	$r=0.144$ $P=0.236$	$r=-0.162$ $P=0.181$	$r=0.077$ $P=0.529$	$r=-0.145$ $P=0.233$	$r=0.089$ $P=0.465$	$r=0.211$ $P=0.079$
IgE	$r=0.111$ $P=0.361$	$r=-0.075$ $P=0.535$	$r=0.097$ $P=0.426$	$r=-0.233$ $P=0.052$	$r=-0.093$ $P=0.443$	$r=0.074$ $P=0.543$
FEV ₁ /FVC	$r=-0.344$ $P=0.003$	$r=0.502$ $P<0.001$	$r=0.228$ $P=0.058$	$r=-0.129$ $P=0.286$	$r=0.036$ $P=0.766$	$r=-0.225$ $P=0.061$
FEV ₁ %Pred	$r=-0.273$ $P=0.022$	$r=0.510$ $P<0.001$	$r=-0.013$ $P=0.913$	$r=-0.047$ $P=0.698$	$r=0.028$ $P=0.815$	$r=-0.019$ $P=0.878$
TNF- α	$r=0.358$ $P=0.002$	$r=-0.331$ $P=0.005$	$r=0.282$ $P=0.018$	$r=-0.256$ $P=0.032$	$r=0.202$ $P=0.093$	$r=-0.210$ $P=0.081$
IL-1 β	$r=0.312$ $P=0.008$	$r=-0.318$ $P=0.007$	$r=0.243$ $P=0.043$	$r=-0.200$ $P=0.098$	$r=0.155$ $P=0.200$	$r=-0.213$ $P=0.077$
IL-6	$r=0.270$ $P=0.024$	$r=-0.205$ $P=0.089$	$r=0.230$ $P=0.056$	$r=-0.225$ $P=0.061$	$r=0.279$ $P=0.019$	$r=-0.269$ $P=0.024$
IL-17	$r=0.422$ $P<0.001$	$r=-0.250$ $P=0.037$	$r=0.338$ $P=0.004$	$r=-0.376$ $P=0.001$	$r=0.199$ $P=0.098$	$r=-0.266$ $P=0.026$

lncRNA: Long non-coding RNA; ANRIL: Antisense non-coding RNA in the INK4 locus; miRNA: microRNA; IgE: Immunoglobulin E; FEV₁: Forced expiratory volume in one second; FVC: Forced vital capacity; FEV₁%Pred: FEV₁ as percentage of predicted; TNF- α : Tumor necrosis factor α ; IL: Interleukin

2.5 血浆 lncRNA ANRIL 表达与炎症因子表达的相关性分析 在急性发作期支气管哮喘患儿中,血浆 lncRNA ANRIL 表达水平与 TNF- α ($r=0.358$, $P=0.002$)、IL-1 β ($r=0.312$, $P=0.008$)、IL-6 ($r=0.270$, $P=0.024$) 和 IL-17 ($r=0.422$, $P<0.001$) 表达水平呈正相关,在缓解期支气管哮喘患儿中其与 TNF- α ($r=0.282$, $P=0.018$)、IL-1 β ($r=0.243$, $P=0.043$) 和 IL-17 ($r=0.338$, $P=0.004$) 表达水平呈正相关,同时在健康儿童中其与 IL-6 表达水平 ($r=0.279$, $P=0.019$) 呈正相关。见表 1。

2.6 血浆 lncRNA ANRIL 表达与 miRNA-125a 表达的相关性分析 在急性发作期支气管哮喘患儿 ($r=-0.430$, $P<0.001$)、缓解期支气管哮喘患儿 ($r=-0.240$, $P=0.045$) 和健康儿童 ($r=-0.308$, $P=0.010$) 中,血浆 lncRNA ANRIL 表达水平与 miRNA-125a 表达均呈负相关。

2.7 血浆 miRNA-125a 表达与受试者临床特征及炎症因子的相关性分析 在急性发作期支气管哮喘患儿中,miRNA-125a 表达水平与 FEV₁/FVC ($r=0.502$, $P<0.001$) 和 FEV₁%Pred ($r=0.510$, $P<0.001$) 呈正相关,而与 TNF- α ($r=-0.331$, $P=0.005$)、IL-1 β ($r=-0.318$, $P=0.007$) 和 IL-17 ($r=-0.250$, $P=0.037$) 表达水平呈负相关。在缓解期支气管哮喘患儿中,miRNA-125a 表达水平与 TNF- α ($r=-0.256$, $P=0.032$)、IL-17 ($r=-0.376$, $P=0.001$) 表达水平呈负相关。在健康儿童中,miRNA-125a 表达水平与 IL-6 ($r=-0.269$, $P=0.024$)、IL-17 ($r=-0.266$, $P=0.026$) 表达水平呈负相关。见表 1。

3 讨论

ANRIL 基因位于染色体 9p21.3,其转录产物 lncRNA ANRIL 与多种炎症性疾病的患病风险和严重程度相关^[7-16]。Abd-Elmawla 等^[16]发现 lncRNA ANRIL 对系统性红斑狼疮具有诊断价值且可作为系统性红斑狼疮患者疾病进展的标志物。此外,还有研究表明冠心病患者中 lncRNA ANRIL 表达显著上调并与三酰甘油和胆固醇水平呈正相关,与患者总生存期呈负相关,表明 lncRNA ANRIL 对冠心病患者疾病严重程度和预后具有预测价值;同时,细胞实验表明 lncRNA ANRIL 可以促进人冠状动脉内皮细胞 IL-6、IL-8 及 TNF- α 等炎症因子的表达,提示其可能通过促炎介质加重冠心病进展^[7]。本研究中,lncRNA ANRIL 表达水平在健康儿童、缓解期

支气管哮喘患儿和急性发作期支气管哮喘患儿中依次升高,且其对儿童支气管哮喘及急性发作有诊断价值。与现有的儿童支气管哮喘诊断方法(体征、症状和肺功能检查结果)相比,lncRNA ANRIL 具有易检测、可操作性强、灵敏度高优势,具有一定的临床应用价值。本研究结果还显示 lncRNA ANRIL 表达水平与急性发作期支气管哮喘患儿疾病严重程度有关,并与炎症因子水平呈正相关,表明它也能够预测哮喘患儿疾病进展与炎症水平。可能的原因为:(1) lncRNA ANRIL 通过“海绵作用”调控 miRNA-125a 促进嗜酸性粒细胞和淋巴细胞等释放炎症介质(如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等),加重炎症反应进而降低患儿呼吸功能,加重哮喘严重程度。(2) Guo 等^[7]发现 lncRNA ANRIL 通过调控 miRNA-181b 促进人冠状动脉内皮细胞炎症介质的表达和释放加重内皮细胞损伤,而 Huo 等^[17]发现下调 miRNA-181b 表达水平可以加重哮喘患者呼吸道中嗜酸性粒细胞介导的炎症反应,因此我们推测 lncRNA ANRIL 也可能通过降低 miRNA-181b 表达促进哮喘患儿体内炎症反应,降低呼吸功能并加重病情。考虑支气管哮喘急性发作可能由感染触发并加重,lncRNA ANRIL 与急性发作期支气管哮喘严重程度有关的原因和具体机制有待进一步分析。

近年来,研究发现 lncRNA ANRIL 通过靶向调控 miRNA-125a 促进口腔癌和鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[9-10]。同时,许多证据表明 miRNA-125a 可以调控多种免疫细胞(如调节性 T 细胞、中性粒细胞和巨噬细胞等)的功能影响炎症性疾病的发生、发展^[11-14]。因此,我们推测 lncRNA ANRIL 可能会靶向调控 miRNA-125a 表达增加儿童支气管哮喘的患病风险、炎症水平和严重程度,然而目前尚无相关报道。本研究中,3 组受试者血浆中 lncRNA ANRIL 表达水平均与 miRNA-125a 表达水平呈负相关;同时,在急性发作期支气管哮喘患儿中 miRNA-125a 表达水平与肺通气功能呈正相关,而与炎症因子水平呈负相关,表明 lncRNA ANRIL 可能通过下调 miRNA-125a 的表达促进并加重儿童支气管哮喘的发生、发展。可能的原因为:(1) lncRNA ANRIL 通过“海绵作用”调控 miRNA-125a 并下调其表达,因此 lncRNA ANRIL 表达水平与 miRNA-125a 呈负相关。(2) miRNA-125a 通过调控多种免疫细胞的活性抑制炎症介质的表达和释放来改善急性发作期支气管哮喘患儿的呼吸功能^[11-12],因此在急性发作期支气管哮喘患儿中 miRNA-125a 表达水平与肺通气功能呈正相关而与炎症因子水平呈负相关。

本研究尚有一些不足。LncRNA ANRIL 可通过靶向调控 miRNA-125a 的表达促进儿童支气管哮喘的发生、发展,然而其具体的分子生物学机制尚未验证。同时,尽管本研究结果为探索 lncRNA ANRIL 和 miRNA-125a 在儿童支气管哮喘中的作用提供了一定的依据,但是,由于受试者特别是健康儿童的支气管黏膜样本不方便获取,本研究测定的 lncRNA ANRIL 和 miRNA-125a 表达水平均为血浆中的浓度而不是支气管黏膜中的浓度,容易引入混杂因素。因此,进一步研究支气管黏膜中 lncRNA ANRIL 和 miRNA-125a 的表达水平并评估它们与患儿支气管哮喘患病风险和严重程度的关系非常重要。此外,本研究样本量较小,有可能降低统计学效能,今后将开展大样本研究。

综上所述, lncRNA ANRIL 对儿童支气管哮喘及急性发作有诊断价值,对哮喘严重程度和患儿炎症水平有潜在的预测价值。LncRNA ANRIL 可能通过靶向调控 miRNA-125a 参与儿童支气管哮喘的发生、发展,其具体机制需要进一步研究。

[参考文献]

- [1] 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,2016,54:47-61.
- [2] VALERO A, OLAGUIBEL J, DELGADO J, PLAZA V, ÁLVAREZ F, MOLINA J, et al. Re-evolution of asthma management: dilemmas and new paradigms[J/OL]. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2019, 29. doi: 10.18176/jiaci.0345.
- [3] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,中华医学会呼吸病学分会哮喘学组,中华医学会《中华全科医师杂志》编辑委员会,呼吸系统疾病基层诊疗指南编写专家组. 支气管哮喘基层诊疗指南(2018年)[J]. 中华全科医师杂志,2018,17:751-762.
- [4] QUINN J J, CHANG H Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function[J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17: 47-62.
- [5] FATICA A, BOZZONI I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development[J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 7-21.
- [6] ZHANG J J, WANG D D, DU C X, WANG Y. Long noncoding RNA ANRIL promotes cervical cancer development by acting as a sponge of miR-186[J]. *Oncol Res*, 2018, 26: 345-352.
- [7] GUO F, TANG C, LI Y, LIU Y, LV P, WANG W, et al. The interplay of lncRNA ANRIL and miR-181b on the inflammation-relevant coronary artery disease through mediating NF-kappaB signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22: 5062-5075.
- [8] HU J, WU H, WANG D, YANG Z, DONG J. LncRNA ANRIL promotes NLRP3 inflammasome activation in uric acid nephropathy through miR-122-5p/BRCC3 axis[J]. *Biochimie*, 2018, 157: 102-110.
- [9] CHAI L, YUAN Y, CHEN C, ZHOU J, WU Y. The role of long non-coding RNA ANRIL in the carcinogenesis of oral cancer by targeting miRNA-125a[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 38-45.
- [10] HU X, JIANG H, JIANG X. Downregulation of lncRNA ANRIL inhibits proliferation, induces apoptosis, and enhances radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma cells through regulating miRNA-125a[J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18: 331-338.
- [11] PAN W, ZHU S, DAI D, LIU Z, LI D, LI B, et al. MiRNA-125a targets effector programs to stabilize Treg-mediated immune homeostasis[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7096. doi: 10.1038/ncomms8096.
- [12] QIN Y, WU L, OUYANG Y, ZHOU P, ZHOU H, WANG Y, et al. MiRNA-125a is a critical modulator for neutrophil development[J/OL]. *PLoS Genet*, 2017, 13: e1007027. doi: 10.1371/journal.pgen.1007027.
- [13] MURATA K, FURU M, YOSHITOMI H, ISHIKAWA M, SHIBUYA H, HASHIMOTO M, et al. Comprehensive microRNA analysis identifies miR-24 and miRNA-125a-5p as plasma biomarkers for rheumatoid arthritis[J/OL]. *PLoS One*, 2013,8: e69118. doi: 10.1371/journal.pone.0069118.
- [14] ZHANG C, WANG X, CHEN Y, WU Z, ZHANG C, SHI W. The down-regulation of hsa_circ_0012919, the sponge for miRNA-125a-3p, contributes to DNA methylation of CD11a and CD70 in CD4⁺ T cells of systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Sci(Lond)*, 2018, 132: 2285-2298.
- [15] 阎敏娜,项保利,张素贞,周素涛,许玉环. 支气管哮喘患儿 IL-17 及 IL-35 水平变化及意义[J]. 临床儿科杂志, 2018,36:268-271.
- [16] ABD-ELMAWLA M A, FAWZY M W, RIZK S M, SHAHEEN A A. Role of long non-coding RNAs expression (ANRIL, NOS3-AS, and APOA1-AS) in development of atherosclerosis in Egyptian systemic lupus erythematosus patients[J]. *Clin Rheumatol*, 2018, 37: 3319-3328.
- [17] HUO X, ZHANG K, YI L, MO Y, LIANG Y, ZHAO J, et al. Decreased epithelial and plasma miR-181b-5p expression associates with airway eosinophilic inflammation in asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46: 1281-1290.