

• 临床研究 •

MicroRNA-21/PARP-1 作为生物标志物在 AR 和 CARAS 中的诊断价值分析

肖心儒, 丁紫琪, 刘志光, 毛正道, 张倩*

南京医科大学附属常州市第二人民医院呼吸与危重症医学科, 南京医科大学常州医学中心, 江苏 常州 213003

[摘要] 目的: 评估外周血 microRNA(miR)-21、血浆聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1[poly(ADP-ribose) polymerase-1, PARP-1] 在过敏性鼻炎(allergic rhinitis, AR)和过敏性鼻炎-哮喘综合征(combined allergic rhinitis and asthma syndrome, CARAS)中的诊断价值。方法: 收集 44 例 CARAS 患者、31 例 AR 患者和 42 例健康对照的外周血, 采用 RT-qPCR 法检测外周血中 miR-21 的表达水平, 采用 ELISA 法检测血浆中 PARP-1 蛋白水平。应用 Pearson 进行相关性分析。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线判断 miR-21 和 PARP-1 的诊断灵敏度与特异度。结果: CARAS 组患者外周血 miR-21 的表达较健康对照组升高。AR 组患者血浆 PARP-1 的水平较 CARAS 组和健康对照组升高。Pearson 相关性分析结果显示, 外周血 miR-21 的表达水平在 AR 患者中与嗜酸性粒细胞计数相关, 在 CARAS 患者中与鼻呼出气一氧化氮(fractional nasal nitric oxide, FnNO)水平相关; 血浆 PARP-1 在 AR 患者中与 1 秒钟用力呼气量占预计值百分比(forced expiratory volume in one second percent predicted, FEV₁%_{pred})相关, 在 CARAS 患者中与 FEV₁%_{pred} 及 1 秒钟用力呼气量(forced expiratory volume in one second, FEV₁)/用力肺活量(forced vital capacity, FVC)(FEV₁/FVC)相关。ROC 曲线分析显示, 外周血 miR-21 作为 CARAS 的诊断标志物时, 灵敏度为 51.35%, 特异度为 80.95%。血浆 PARP-1 作为 AR 的诊断标志物时, 灵敏度为 90.32%, 特异度为 54.76%。血浆 PARP-1 作为 AR 进展为 CARAS 的诊断标志物时, 灵敏度为 45.45%, 特异度为 90.32%。结论: AR 和 CARAS 患者外周血 miR-21、PARP-1 存在差异表达, 外周血 miR-21 可作为 CARAS 的诊断标志物, PARP-1 可作为 AR 的诊断标志物及 AR 进展为 CARAS 的生物标志物。这对寻求 AR 和 CARAS 的诊治靶点有十分重要的价值。

[关键词] 过敏性鼻炎-哮喘综合征; microRNA-21; PARP-1; 生物标志物**[中图分类号]** R562.25**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2024)06-860-08**doi:** 10.7655/NYDXBNSN230778

Analysis of the diagnostic value of microRNA-21/PARP-1 as biomarkers in AR and CARAS

XIAO Xinru, DING Ziqi, LIU Zhiguang, MAO Zhengdao, ZHANG Qian*

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Affiliated Changzhou NO.2 People's Hospital of Nanjing Medical University, Changzhou Medical Center of Nanjing Medical University, Changzhou 213003, China

[Abstract] **Objective:** To evaluate the diagnostic value of peripheral blood microRNA (miR)-21 and plasma poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in allergic rhinitis (AR) and combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS). **Methods:** Peripheral blood samples were collected from 44 CARAS patients, 31 AR patients, and 42 healthy controls. The expression levels of miR-21 in peripheral blood were detected by RT-qPCR, and the plasma levels of PARP-1 protein were measured by ELISA. Correlation analysis was performed by Pearson correlation analysis. The diagnostic sensitivity and specificity of miR-21 and PARP-1 were determined by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results:** The expression of peripheral blood miR-21 was high in CARAS patients compared with healthy controls. The level of PARP-1 was higher in AR patients than that in CARAS patients and healthy controls. Pearson correlation analysis showed that the expression of miR-21 was correlated with eosinophils count in AR patients and with fractional nasal nitric oxide (FnNO) in CARAS patients. The plasma level of PARP-1 was correlated with forced expiratory volume in one second percent predicted (FEV₁%_{pred}) in CARAS patients and with FEV₁%_{pred} and forced expiratory volume in one second (FEV₁)/

[基金项目] 江苏省社会发展项目(BE2020651); 江苏省“333”高层次人才项目(BRA2020015); 常州市高层次医学人才项目(2022CZLJ013); 南京医科大学常州医学中心科研项目(CMCB202214)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: qianzhang@njmu.edu.cn

forced vital capacity(FVC)(FEV₁/FVC) in CARAS patients. ROC curve analysis showed that when peripheral blood miR-21 was used as a diagnostic marker for CARAS, the sensitivity was 51.35% and the specificity was 80.95%. When the plasma PARP-1 was used as a diagnostic marker for AR, the sensitivity was 90.32% and the specificity was 54.76%. When the plasma PARP-1 was used as a diagnostic marker for the progression from AR to CARAS, the sensitivity was 45.45% and the specificity was 90.32%. **Conclusion:** There are differential expressions of miR-21 and PARP-1 in peripheral blood of patients with AR and CARAS. the peripheral blood miR-21 can serve as a diagnostic biomarker for CARAS, while the plasma PARP-1 can serve as a diagnostic biomarker for AR and as a biomarker for the progression from AR to CARAS. This has significant value in identifying diagnostic and therapeutic targets for AR and CARAS.

[Key words] combined allergic rhinitis and asthma syndrome; microRNA-21; PARP-1; biomarker

[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(06): 860-867]

哮喘是一种慢性炎症性气道疾病,以气道高反应性和可逆性气流受限为特征。哮喘的发病机制尚未完全阐明,但由呼吸道免疫失衡引起的气道炎症已被广泛认可。临床表现为反复出现咳嗽、喘息、胸闷气促等呼吸道症状^[1]。哮喘的病理生理机制很复杂。支气管收缩增加了哮喘患者呼吸时的呼气流速限制^[2]。此外,哮喘患者过多的黏液阻塞呼吸道也会引发致命性哮喘^[3-4]。过敏性鼻炎(allergic rhinitis, AR)以上呼吸道炎症为特征,它与支气管哮喘具有相似的病因和发生机制,并且两者的免疫反应是交叉的。哮喘和鼻炎在不同程度上共存,鼻炎和哮喘之间的关系已有流行病学研究证实,哮喘通常伴随着鼻炎的进程而发生^[5-6]。AR是哮喘的一个预测因素^[7-8]。此外,那些患有AR的非哮喘患者比那些没有AR的患者更容易患上哮喘^[9-10]。因此,有必要寻找AR和过敏性鼻炎-哮喘综合征(combined allergic rhinitis and asthma syndrome, CARAS)的早期诊断标志物。

目前单独对上、下气道疾病的研究较多,但很少有对上下气道共同发病的探索。笔者课题组先前的研究通过高通量测序和生物信息学分析发现聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1[poly(ADP-ribose) polymerase-1, PARP-1]作为microRNA(miR)-21的下游靶基因可能参与了CARAS的发生和发展^[11]。microRNA是一类由约22个核苷酸组成的内源性非编码RNA,在炎症免疫、血管生成及组织生长分化等方面具有调控作用^[12]。已有大量研究表明miR-21是一种原癌基因,主要与癌症的发生发展密切相关。但最近研究发现,miR-21与哮喘有着密切的关系,miR-21可以通过激活PI3K/AKT信号通路,降低10号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物的表达水平,从而促进人气道平滑肌细胞的增殖和迁移^[13]。PARP-1属于PARP家族,在细胞存活和DNA损伤修复中起重

要作用。它在免疫细胞募集、哮喘相关细胞因子的调节以及哮喘发展过程中的呼吸道重塑中发挥重要作用^[14-15]。PARP-1作为miR-21的下游靶基因,可能参与了CARAS的发生和发展。

本研究通过检测CARAS患者、AR患者和健康对照者外周血中miR-21和血浆PARP-1的差异表达,探讨它们作为AR和CARAS早期诊断生物标志物的意义,评估它们与AR患者和CARAS患者临床指标间的关联。

1 对象和方法

1.1 对象

本研究纳入常州市第二人民医院呼吸与危重症医学科2020年12月—2021年12月共计117例志愿者,年龄为18~70岁,其中CARAS患者44例,AR患者31例以及健康对照42例。AR诊断标准及严重程度分类参照中国AR诊治指南^[16],根据患者过敏病史、临床表现以及与其一致的过敏原检测结果而作出诊断。根据指南,AR症状轻微、对生活质量(睡眠、日常生活、工作和学习)无明显影响为轻度;症状较重或严重,对生活质量产生明显影响为中-重度。本研究排除中-重度AR患者,纳入轻度AR患者,同时这些AR患者的病程均在10年以上。哮喘诊断根据我国2020版支气管哮喘防治指南^[17],同时符合AR和哮喘的诊断标准即可诊断CARAS。正常对照组无AR和哮喘病史,无其他过敏性疾病、肺部疾病及免疫系统疾病。CARAS患者为未使用药物治疗的初诊患者。如果参与者患有支气管扩张、肺结核、慢性阻塞性肺疾病、血液系统疾病、恶性肿瘤或其他混杂因素,则排除在外。在临床就诊时,测量参与者的身高、体重、肺功能、血常规,记录血常规中的嗜酸性粒细胞(eosinophils, EOS)计数进行后续分析,并采集外周血。本研究获得常州市第二人民医院伦理委员会的批准

([2020] KY213-01),所有参与者均签署知情同意。

1.2 方法

1.2.1 采集血液样本

患者和健康者的静脉外周血使用EDTA抗凝管收集,共采集10 mL外周血,其中5 mL离心机3 000 r/min离心10 min,分离血浆,使用ELISA试剂盒检测PARP-1蛋白水平;另留存5 mL全血用于RT-qPCR测定miR-21的mRNA表达水平。所有血液样本均储存于-80 ℃。

1.2.2 ELISA测定

根据制造商的说明,使用ELISA试剂盒(上海科兴公司)测量血浆样品中PARP-1的总浓度。在450 nm处获得标准品和样品的吸光度值,并比较为每种测定构建的标准曲线。

1.2.3 RT-qPCR检测

总RNA的提取使用全血总RNA提取试剂盒(北京汇天东方公司),根据说明书的步骤进行实验。提取总RNA后进行浓度及纯度的检测。本研究使用第一链cDNA合成试剂盒(南京诺唯赞公司)合成第一链互补DNA。使用AceQ qPCR SYBR Green Master Mix(南京诺唯赞公司)进行RT-qPCR,以评估RNA表达的程度。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法对结果进行相对定量分析。引物由苏州吉玛公司提供。引物序列如下:miR-21(sense, 5'-TCGCCCGTAGCTTAT-CAGACT-3'; antisense, 5'-TCGCCCGTAGCTTAT-CAGACTA-3'); PARP-1(sense, 5'-CCCCACGAC-TTTGGGATGAA-3'; antisense, 5'-AGACTGTAGGC-CACCTCGAT-3'); β -actin(sense, 5'-CGTGGACAT-CCGCAAAGA-3'; antisense, 5'-GAAGG-TGGACAGC-GAGGC-3')。

1.2.4 肺功能的测定

根据2019年肺活量测定标准^[18]进行肺功能检查。肺活量仪器(Jaeger公司,德国)用于记录患者坐位的肺功能测试结果。在整个测试过程中持续观察体积和流量曲线。测量用力肺活量(forced vital capacity, FVC)、1秒钟用力呼气量(forced expiratory volume in one second, FEV₁)和FEV₁/FVC以及其他肺功能测试参数并计算预期值。记录3次适当的测量,最高值被认为是基值,FVC和FEV₁的最佳值和次佳值之间的差异<0.10 L。

1.2.5 呼出气一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)和鼻呼气一氧化氮(fractional nasal nitric oxide, FnNO)测定

所有受试者均在专人指导下使用一氧化氮(ni-

tric oxide, NO)分析仪(无锡尚沃公司)进行FeNO和FnNO测定。FeNO测定:利用过滤器吸气2~3 s达肺总量,然后以50 mL/s的呼气流速缓慢呼气,使呼出气到达一个稳定的平台期。FnNO测定:将1个带有中央管腔的鼻呼头堵住一侧鼻孔,并连接导管抽吸鼻腔内气体,流速维持在5 mL/s,测试过程中受试者持续吹口哨保证腭咽闭合。采样完成后仪器自动显示测量数值。

1.3 统计学方法

统计软件SPSS21.0用于统计分析,图像由GraphPad Prism7绘制。采用Kolmogorov-Smirnov检验测量数据的正态性。符合正态分布的测量数据表示为均数±标准差($\bar{x} \pm s$),多组间比较采用单因素方差分析,并进行LSD多重t检验;不符合正态分布的测量数据用中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,多组间比较采用K-W检验, Bonferroni法进行事后多重比较。分类变量数据表示为比值,使用 χ^2 检验对二分类变量进行分析。采用Pearson相关分析(正态分布数据)进行相关性分析。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线确定诊断的灵敏度和特异度,曲线下面积(area under curve, AUC)评价miR-21和PARP-1诊断AR或CARAS的准确度。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的临床特征

44例CARAS患者、31例AR患者和42例健康志愿者性别、年龄、吸烟史、FnNO水平差异无统计学意义。与健康对照组相比,AR和CARAS患者过敏史差异有统计学意义,且AR组和CARAS组EOS计数较高。CARAS组1秒钟用力呼气量占预计值百分比(forced expiratory volume in one sec percent predicted, FEV₁%_{pred})和FEV₁/FVC与健康对照组和AR组相比均较高,FeNO水平与健康对照组和AR组相比均较高。研究对象的临床特征见表1。

2.2 CARAS患者、AR患者与健康对照组的外周血miR-21和血浆PARP-1的表达水平

RT-qPCR结果显示,与健康对照组相比,外周血miR-21表达在CARAS组患者中明显升高,差异有统计学意义,此外,AR组和健康对照组、AR组和CARAS组的miR-21表达水平差异无统计学意义(图1A)。ELISA结果显示,AR组患者中PARP-1的水平较CARAS组和健康对照组升高,差异有统计学意义(图1B),健康对照组和CARAS组的差异无

统计学意义。

2.3 外周血 miR-21 作为 AR 和 CARAS 生物标志物的诊断价值

本研究对健康对照组和 CARAS 组做 ROC 曲线分析评估外周血 miR-21 作为 CARAS 诊断标志物的价值, 当界值为 1.192 时, 灵敏度为 51.35%, 特异度为 80.95%, AUC 为 0.692 (95% CI: 0.576~0.809, $P=0.003$), 此指标作为 CARAS 生物标志物的诊断价值最佳(图 2)。

2.4 血浆 PARP-1 作为 AR 和 CARAS 生物标志物的诊断价值

对健康对照组和 AR 组做 ROC 曲线分析, 评估血浆 PARP-1 作为 AR 生物标志物的诊断价值, 当界值为 0.344 时, 灵敏度为 90.32%, 特异度为 54.76%, AUC 为 0.674 (95% CI: 0.548~0.799, $P=0.012$), 此指标作为 AR 生物标志物的诊断价值最佳(图 3A)。对 AR 组和 CARAS 组进行 ROC 曲线分析, 评估血浆

PARP-1 作为预测 AR 进展为 CARAS 的诊断价值, 当界值为 0.346 时, PARP-1 作为生物标志物的灵敏度为 45.45%, 特异度为 90.32%, AUC 为 0.706 (95% CI: 0.590~0.822, $P=0.003$), 此指标作为 AR 进展为 CARAS 的生物标志物时价值最佳(图 3B)。

2.5 外周血 miR-21、血浆 PARP-1 的表达与 AR 和 CARAS 患者临床指标的相关性

外周血 miR-21、血浆 PARP-1 的表达与 AR 和 CARAS 患者临床指标的相关性见表 2。外周血 miR-21 的表达水平在 AR 中与 EOS 计数呈正相关, 而与 FeNO 水平、FnNO 水平、FEV₁%_{pred} 和 FEV₁/FVC 无明显相关。血浆 PARP-1 的表达水平在 AR 中与 FEV₁%_{pred} 呈正相关, 而与 EOS 计数、FeNO 水平、FnNO 水平和 FEV₁/FVC 无明显相关性。外周血 miR-21 表达水平在 CARAS 中与 FnNO 水平呈正相关, 而与 EOS 计数、FeNO 水平、FEV₁%_{pred} 和 FEV₁/FVC 无明显相关。血浆 PARP-1 表达水平在 CARAS 中与 FEV₁%_{pred}

表 1 研究对象临床特征

Table 1 Clinical characteristics of subjects

Variable	Healthy control (n=42)	AR (n=31)	CARAS (n=44)	P
Sex (Male/Female)	19/23	17/14	21/23	0.732
Age (years, $\bar{x} \pm s$)	37.38 \pm 10.14	41.26 \pm 11.29	43.64 \pm 13.94	0.056
Allergic history (Yes/No)	0/42	8/23	15/29	< 0.001
Smoking history (Yes/No)	6/36	5/26	9/35	0.747
FEV ₁ % _{pred} ($\bar{x} \pm s$)	104.08 \pm 11.98	97.10 \pm 18.27*	81.10 \pm 18.72*	< 0.001
FEV ₁ /FVC [% , M (P ₂₅ , P ₇₅)]	79.55 (78.39, 86.97)	79.21 (77.28, 83.27)*	70.34 (63.66, 80.08)*	0.004
EOS [$\times 10^9/L$, M (P ₂₅ , P ₇₅)]	0.13 (0.08, 0.18)	0.16 (0.10, 0.27)*	0.13 (0.08, 0.18)*	< 0.001
FeNO [ppb, M (P ₂₅ , P ₇₅)]	21.50 (15.50, 32.00)	21.00 (15.00, 40.00)*	48.00 (29.50, 87.00)*	< 0.001
FnNO [ppb, M (P ₂₅ , P ₇₅)]	424.00 (300.75, 509.00)	474.00 (372.00, 622.00)	469.00 (349.50, 699.00)	0.193

Compared with the healthy control group, * $P < 0.05$. FEV₁%_{pred}: forced expiratory volume in one second percent predicted; FEV₁: forced expiratory volume in one second; FVC: forced vital capacity; EOS: eosinophils; FeNO: fractional exhaled nitric oxide; FnNO: fractional nasal nitric oxide.

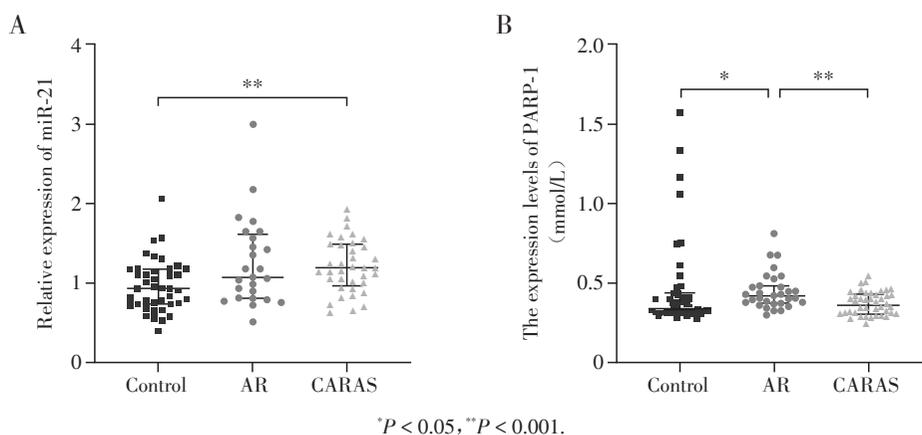


图 1 各组外周血 miR-21(A)和血浆中 PARP-1(B)的表达水平

Figure 1 Expression levels of miR-21 in peripheral blood(A) and PARP-1 in plasma(B) of each group

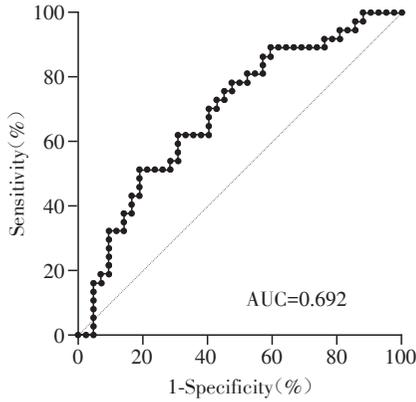


图2 外周血 miR-21 作为 CARAS 生物标志物的 ROC 曲线分析

Figure 2 ROC curve analysis of peripheral blood miR-21 as a biomarker of CARAS

及 FEV₁/FVC 呈正相关性,而与 EOS 计数、FeNO 水平、FnNO 水平无明显相关。

3 讨论

AR 与哮喘在发病机理、共存概念和相似性等方面表现出密切的联系。80% 的哮喘患者有 AR 史,而 60% 的 AR 最终会进展成为哮喘^[19-20]。目前 CARAS 的诊断主要参照 AR 和哮喘的诊断标准,尚无 CARAS 相关诊断生物标志物的报道。本研究检测了 AR 和 CARAS 患者外周血中 miR-21、PARP-1 的表达水平,发现 CARAS 患者中 miR-21 的表达较健康对照组升高,而 AR 患者中 PARP-1 的水平较 CARAS 组和健康对照组升高。

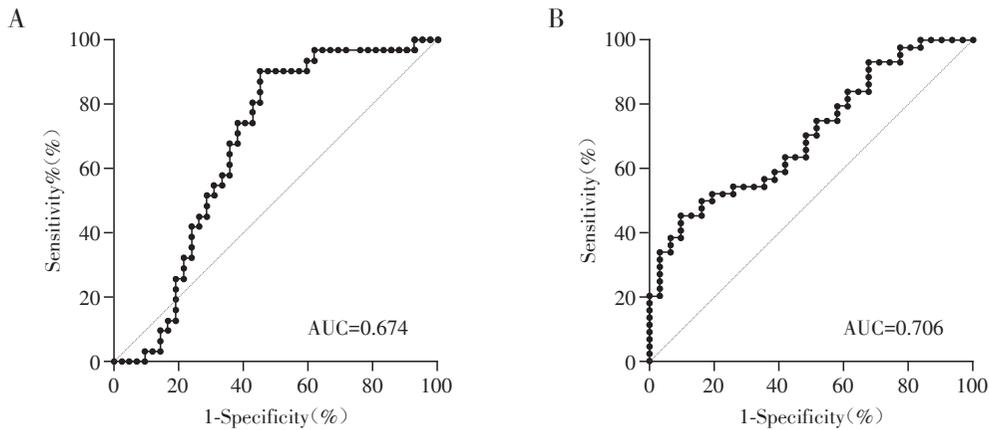


图3 血浆 PARP-1 作为 AR(A)和 CARAS(B)生物标志物的 ROC 曲线分析

Figure 3 ROC curve analysis of plasma PARP-1 as a biomarker for AR(A) and CARAS(B)

表2 外周血 miR-21 和血浆 PARP-1 的表达与患者临床指标的相关性

Table 2 Correlation between the expression levels of peripheral miR-21 and plasma PARP-1 with clinical indicators in patients

Group	Gene	Statistic	EOS	FeNO	FnNO	FEV ₁ % _{pred}	FEV ₁ /FVC
AR	miR-21	<i>r</i>	0.762	0.365	0.097	-0.327	-0.417
		<i>P</i>	< 0.001	0.104	0.720	0.327	0.202
	PARP-1	<i>r</i>	-0.022	-0.087	0.114	0.668	0.326
		<i>P</i>	0.905	0.666	0.573	0.009	0.256
CARAS	miR-21	<i>r</i>	0.235	0.219	0.474	-0.099	-0.082
		<i>P</i>	0.169	0.214	0.011	0.554	0.626
	PARP-1	<i>r</i>	-0.163	0.034	0.075	0.377	0.355
		<i>P</i>	0.297	0.841	0.700	0.012	0.018

目前对上、下气道疾病中 miRNA 的研究越来越多,但联合上、下气道的 miRNA 的研究却很少。Panganiban 等^[21]发现 30 个 miRNA 在健康、AR 和哮喘受试者中存在差异表达,其中 miR-26b、miR-29、

miR-133a、miR-133b、miR-330-5p、miR-144、miR-145、miR-422、miR-1248 和 miR-1291 在 AR 和哮喘患者中出现一致程度的表达失调。此外,程慧雯等^[22]表明 miRNA-133b 可能通过抑制 TLR2-NLRP3 信号通

路改善CARAS小鼠的气道炎症。也有研究报道了miR-21和PARP-1在哮喘发生中的作用^[13, 23-25]。本课题组前期研究发现miR-21通过PARP-1/AMPK/mTOR信号通路调节人气道平滑肌细胞的自噬,从而调控细胞增殖和凋亡^[26]。此外,miR-21通过靶向PARP-1,激活PI3K/AKT信号通路,进而促进人支气管上皮细胞的细胞迁移和上皮间质转化^[27]。但是,miR-21、PARP-1是否参与CARAS的疾病过程仍不清楚,笔者课题组前期的研究通过RNA测序分析了CARAS中基因表达特征的转录调控,其中,miR-21对PARP-1转录修饰调控与CARAS的发生有关,PARP-1作为miR-21的下游靶基因,可能参与了CARAS的发生和发展^[11]。本研究进一步验证了AR和CARAS患者外周血中miR-21、PARP-1的表达水平,探索了它们的诊断价值及其与临床特征的相关性。探索miR-21、PARP-1在CARAS中的作用和机制将成为下一步研究的目标,这对于发现CARAS新的治疗靶点有着重要意义。

有研究报道哮喘患儿血浆miR-21水平上调,miR-21是比其他miRNA更灵敏的哮喘生物标志物^[28],这与本研究结果一致。既往研究证实,转化生长因子- β 1通过smad2/3信号通路介导miR-21上调和PI3K/AKT信号通路磷酸化,刺激大鼠气道平滑肌细胞增殖^[29]。此外,体内研究发现,感染诱导的miR-21表达可促进PI3K/AKT磷酸化,从而抑制组蛋白去乙酰化酶2,导致类固醇不敏感^[30]。本研究发现外周血miR-21在CARAS患者中表达升高,外周血miR-21可作为诊断CARAS的生物标志物。

PARP-1是一种DNA修复酶,在细胞凋亡和修复中起重要作用^[31]。据报道,在所有蛋白家族成员中,PARP-1在过敏原诱导的炎症和气道高反应性中起重要作用^[32]。此外,PARP-1可通过诱导一氧化氮和转化生长因子- β 的合成促进气道重塑^[15]。研究表明,使用选择性PARP-1抑制剂可减少过敏原诱导的哮喘样反应、支气管高反应性和气道重塑^[33]。PARP-1的激活可以通过翻译后修饰转录因子,从而影响炎症基因的转录。抑制PARP-1通过调节Th2细胞因子阻止嗜酸性粒细胞募集,从而减轻小鼠模型中的过敏性气道炎症^[34]。另一项研究表明,哮喘患者外周血和肺组织中的PARP被激活,通过基因敲除或奥拉帕尼抑制PARP可以阻断既定的哮喘特征,包括Th2细胞因子和黏液的产生,以及气道的高反应性^[35]。以上研究均提示PARP-1抑制对哮喘有保护作用。本研究发现PARP-1在AR患者血浆中

表达较对照组和CARAS组明显升高,ROC曲线提示PARP-1有预测AR进展为CARAS的价值,当界值为0.346时,灵敏度为45.45%,特异度为90.32%,此指标作为AR进展为CARAS的诊断价值最佳,因此,监测AR患者的血浆PARP-1水平有助于判断其是否发展为CARAS。

EOS是AR的典型效应细胞^[36],AR的发病机制是过敏原引起的气道炎症伴EOS浸润^[37]。因此,上皮细胞释放一氧化氮合酶会在上呼吸道和下呼吸道产生更高水平的一氧化氮。EOS和FeNO是2型炎症的生物标志物,EOS计数和FeNO水平的升高可以反映气道的炎症。本研究表明,CARAS组较健康对照组和AR组具有较高的EOS计数和FeNO水平,这与Kuo等^[38]的研究一致,他们发现在过敏性哮喘患者中,伴随AR的存在与肺功能恶化和2型生物标志物升高相关。鼻窦是上呼吸道NO生成的主要来源。NO在鼻腔生理中也起着多种作用。例如,NO可以帮助宿主抵抗细菌、病毒和真菌感染,并维持鼻窦的抑菌状态^[39]。然而,本研究发现FnNO水平在健康对照组、AR组和CARAS组中差异无统计学意义。这与Li等^[40]的研究存在差异,他们的研究表明AR患者的FnNO水平高于正常人。

本研究还对AR和CARAS患者外周血miR-21、血浆PARP-1的表达与EOS计数、NO水平和肺功能指标的相关性进行研究。结果表明,外周血miR-21在AR患者中与EOS计数显著相关,在CARAS患者中与FnNO水平呈正相关,提示外周血miR-21表达可能与2型炎症相关,有必要进一步探究外周血miR-21在CARAS中与2型炎症发生的机制。此外,血浆PARP-1水平在AR患者中与FEV₁%_{pred}相关,在CARAS患者中与FEV₁%_{pred}及FEV₁/FVC相关,肺功能可一定程度上客观地反映哮喘控制情况,这表明通过连续监测血浆PARP-1水平,可明确鼻炎和哮喘患者肺功能变化的趋势,反映患者短期预后及病情严重程度。

既往研究表明,miR-21的表达水平与AR的严重程度相关^[41],由于本研究的样本量较少,且轻度AR患者比例较大,因此本研究纳入的AR患者均为轻度,以排除因分层分析带来的混杂因素的干扰。但同时也导致本研究无法探讨中重度AR患者外周血miR-21水平与临床指标的关系,仍需在未来研究中扩大样本量,进一步分层分析。

综上所述,本研究发现AR和CARAS患者外周血miR-21和血浆PARP-1的表达具有差异,miR-21

可作为CARAS的诊断标志物,PARP-1可作为AR的诊断标志物及预测AR进展为CARAS的生物标志物。AR和CARAS的发生发展机制仍未被完全阐明,值得进一步探究。本研究仅挑选miR-21、PARP-1这两个指标,探索它们在AR和CARAS患者外周血中的表达水平及其与临床指标的关联,但其在AR和CARAS发生发展中的具体机制仍需深入探究,这将为寻找AR和CARAS的早期诊断和治疗靶点提供更多思路和理论支持。

[参考文献]

- [1] SOCKRIDER M, FUSSNER L. What is asthma? [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 202(9): 25-26
- [2] MAHADEV S, FARAH C S, KING G G, et al. Obesity, expiratory flow limitation and asthma symptoms [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2013, 26(4): 438-443
- [3] KUYPER L M, PARÉ P D, HOGG J C, et al. Characterization of airway plugging in fatal asthma [J]. *Am J Med*, 2003, 115(1): 6-11
- [4] ORDOÑEZ C L, KHASHAYAR R, WONG H H, et al. Mild and moderate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(2): 517-523
- [5] ROBERTS G, XATZIPSALTI M, BORREGO L M, et al. Paediatric rhinitis: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology [J]. *Allergy*, 2013, 68(9): 1102-1116
- [6] GUERRA S, SHERRILL D L, MARTINEZ F D, et al. Rhinitis as an independent risk factor for adult-onset asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 109(3): 419-425
- [7] KO F W S, IP M S M, CHU C M, et al. Prevalence of allergic rhinitis and its associated morbidity in adults with asthma: a multicentre study [J]. *Hong Kong Med J*, 2010, 16(5): 354-361
- [8] SHAABAN R, ZUREIK M, SOUSSAN D, et al. Rhinitis and onset of asthma: a longitudinal population-based study [J]. *Lancet*, 2008, 372(9643): 1049-1057
- [9] KOH Y Y, LEE M H, KIM C K, et al. A familial predisposition in bronchial hyperresponsiveness among patients with allergic rhinitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, 102(6 Pt 1): 921-926
- [10] WRIGHT A L, HOLBERG C J, MARTINEZ F D, et al. Epidemiology of physician-diagnosed allergic rhinitis in childhood [J]. *Pediatrics*, 1994, 94(6 Pt 1): 895-901
- [11] MAO Z D, SHI Y J, CAO Q, et al. Transcriptional regulation on the gene expression signature in combined allergic rhinitis and asthma syndrome [J]. *Epigenomics*, 2018, 10(2): 119-131
- [12] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297
- [13] LIU Y, YANG K Z, SHI H Y, et al. MiR-21 modulates human airway smooth muscle cell proliferation and migration in asthma through regulation of PTEN expression [J]. *Exp Lung Res*, 2015, 41(10): 535-545
- [14] ECHEVERRI TIRADO L C, GHONIM M A, WANG J, et al. PARP-1 is critical for recruitment of dendritic cells to the lung in a mouse model of asthma but dispensable for their differentiation and function [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 1656484
- [15] NAURA A S, ZERFAOUI M, KIM H, et al. Requirement for inducible nitric oxide synthase in chronic allergen exposure-induced pulmonary fibrosis but not inflammation [J]. *Immunol*, 2010, 185(5): 3076-3085
- [16] CHENG L, CHEN J J, FU Q L, et al. Chinese society of allergy guidelines for diagnosis and treatment of allergic rhinitis [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2018, 10(4): 300-353
- [17] 中华医学会呼吸病学分会哮喘组. 支气管哮喘防治指南(2020年版) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2020, 43(12): 1023-1048
- [18] GRAHAM B L, STEENBRUGGEN I, MILLER M R, et al. Standardization of spirometry 2019 update. An official American thoracic society and European respiratory society technical statement [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(8): e70-e88
- [19] FERREIRA L K P, FERREIRA L A P, MONTEIRO T M, et al. Combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS) [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105718
- [20] XIA S, ZHU Z, GUAN W J, et al. Correlation between upper and lower airway inflammations in patients with combined allergic rhinitis and asthma syndrome: A comparison of patients initially presenting with allergic rhinitis and those initially presenting with asthma [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1761-1767
- [21] PANGANIBAN R P, WANG Y L, HOWRYLAK J, et al. Circulating microRNAs as biomarkers in patients with allergic rhinitis and asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 137(5): 1423-1432
- [22] 程慧雯, 袁文清, 魏水清, 等. miRNA-133b激活剂对过敏性鼻炎-哮喘综合征小鼠气道炎症的影响 [J]. *青岛大学学报(医学版)*, 2022, 58(5): 733-738
- [23] REBANE A, AKDIS C A. MicroRNAs in allergy and asthma [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2014, 14(4): 424
- [24] KIM K K, KUGLER M C, WOLTERS P J, et al. Alveolar epithelial cell mesenchymal transition develops in vivo

- during pulmonary fibrosis and is regulated by the extracellular matrix[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(35): 13180-13185
- [25] LIU Y, MIAO Y, GAO X, et al. MicroRNA-200a affects the proliferation of airway smooth muscle cells and airway remodeling by targeting FOXC1 via the PI3K/AKT signaling pathway in ovalbumin-induced asthmatic mice [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(6): 2365-2389
- [26] SUN P, ZHANG S Q, WU D, et al. MiR-21 modulates proliferation and apoptosis of human airway smooth muscle cells by regulating autophagy via PARP-1/AMPK/mTOR signalling pathway [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2022, 301: 103891
- [27] ZHANG S Q, SUN P, XIAO X R, et al. MicroRNA-21 promotes epithelial-mesenchymal transition and migration of human bronchial epithelial cells by targeting poly (ADP-ribose) polymerase-1 and activating PI3K/AKT signaling [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2022, 26(4): 239-253
- [28] HAMMAD MAHMOUD HAMMAD R, HAMED D H E D, ELDOSOKY M A E R, et al. Plasma microRNA-21, microRNA-146a and IL-13 expression in asthmatic children [J]. *Innate Immun*, 2018, 24(3): 171-179
- [29] LIU L, PAN Y L, ZHAI C, et al. Activation of peroxisome proliferation-activated receptor- γ inhibits transforming growth factor- β 1-induced airway smooth muscle cell proliferation by suppressing Smad-miR-21 signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(1): 669-681
- [30] KIM R Y, HORVAT J C, PINKERTON J W, et al. MicroRNA-21 drives severe, steroid-insensitive experimental asthma by amplifying phosphoinositide 3-kinase-mediated suppression of histone deacetylase 2 [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(2): 519-532
- [31] KRISHNAKUMAR R, KRAUS W L. The PARP side of the nucleus: molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets [J]. *Mol Cell*, 2010, 39(1): 8-24.
- [32] NAURA A S, HANS C P, ZERFAOUI M, et al. Post-allergen challenge inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase harbors therapeutic potential for treatment of allergic airway inflammation [J]. *Clin Exp Allergy*, 2008, 38(5): 839-846
- [33] LUCARINI L, PINI A, GERACE E, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition with HYDAMTIQ reduces allergen-induced asthma-like reaction, bronchial hyper-reactivity and airway remodelling [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(3): 468-479
- [34] MUSTAPHA O, DATTA R, OUMOUNA-BENACHOUR K, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibition prevents eosinophil recruitment by modulating Th2 cytokines in a murine model of allergic airway inflammation: a potential specific effect on IL-5 [J]. *J Immunol*, 2006, 177(9): 6489-6496
- [35] GHONIM M A, PYAKUREL K, IBBA S V, et al. PARP is activated in human asthma and its inhibition by olaparib blocks house dust mite-induced disease in mice [J]. *Clin Sci*, 2015, 129(11): 951-962
- [36] YILMAZ I, TERL M. Asthma management: a new phenotype-based approach using presence of eosinophilia and allergy [J]. *Allergy*, 2017, 72(9): 1279-1287
- [37] KAKLI H A, RILEY T D. Allergic rhinitis [J]. *Prim Care*, 2016, 43(3): 465-475
- [38] KUO C R, CHAN R, LIPWORTH B. Does unified allergic airway disease impact on lung function and type 2 biomarkers? [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2019, 15: 75
- [39] MANISCALCO M, BIANCO A, MAZZARELLA G, et al. Recent advances on nitric oxide in the upper airways [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(24): 2736-2745
- [40] LI Y H, YU C J, QIAN X Y, et al. The correlation between FeNO and nNO in allergic rhinitis and bronchial asthma [J]. *Medicine*, 2021, 100(39): e27314
- [41] WANG R, XUE S, LIU Y Q, et al. The correlation of long non-coding RNA NEAT1 and its targets microRNA (miR)-21, miR-124, and miR-125a with disease risk, severity, and inflammation of allergic rhinitis [J]. *Medicine*, 2021, 100(4): e22946

[收稿日期] 2023-11-10

(本文编辑:戴王娟)