

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.011

论著·临床

血清外泌体和肺泡灌洗液 miR-155 及 BMAL1 基因在男性 COPD 合并失眠症患者中的表达及与失眠的相关性

穆清爽, 刘顺, 热依拉·牙合甫, 杨新玲



基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2021D01C371)

作者单位: 830063 乌鲁木齐, 新疆医科大学第二附属医院干部一科/新疆神经系统疾病研究重点实验室(穆清爽、刘顺、热依拉·牙合甫), 神经内科/新疆神经系统疾病研究重点实验室(杨新玲)

通信作者: 杨新玲, E-mail: poplar862@Sohu.com

【摘要】 目的 探究 miR-155 及脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1 基因(BMAL1m RNA)在男性慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并失眠症患者中表达水平及与失眠的相关性。方法 选取 2021 年 6 月—2023 年 4 月新疆医科大学第二附属医院神经内科诊治急性发作伴失眠的男性 COPD 患者 60 例作为观察组,另外选取同期急性发作非失眠的男性 COPD 患者 60 例作为对照组。收集 2 组患者血清外泌体及肺泡灌洗液上清标本,检测并比较标本中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 转录水平差异。通过 Spearman 相关性分析、二元 Logistic 回归分析筛选 COPD 患者发生失眠的危险因素。通过受试者工作特征曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)评价各危险因素对发生失眠的预测价值。结果 观察组患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平均显著高于对照组($t/P = 3.457 / <0.001, 4.147 / <0.001, 4.471 / <0.001, 4.336 / <0.001$)。相关性分析及二元 Logistic 回归分析表明血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平升高均是 COPD 患者发生失眠的危险因素[$OR(95\% CI) = 1.578(1.061 \sim 2.123), 1.955(1.208 \sim 3.164), 2.476(1.430 \sim 4.287), 2.574(1.357 \sim 4.885)$],其中血清外泌体和肺泡灌洗液上清 miR-155、BMAL1 mRNA 及四者联合预测 COPD 患者失眠症发生的 AUC 分别为 0.679、0.706、0.719、0.733 和 0.839,其中四项联合的预测价值最高($Z = 2.932, 2.771, 2.693, 2.553, P$ 均 <0.001)。结论 COPD 患者血清外泌体及肺泡灌洗液中 miR-155 及 BMAL1 水平升高与失眠症的发生显著相关,提示 miR-155 及 BMAL1 基因可能参与 COPD 相关性失眠的发生、发展过程。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;失眠症;miR-155;脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1;男性**【中图分类号】** R563;R256.23 **【文献标识码】** A

The expression levels of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid in male COPD patients with insomnia and their correlation with insomnia

Mu Qingshuang*, Liu Shun, Ruila Yahefu, Yang Xinling. * Department of the First Cadre, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Key Laboratory of Nervous System Disease, Xinjiang Province, Urumqi 830063, China

Corresponding author: Yang Xinling, E-mail: poplar862@Sohu.com

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2021D01C371)

【Abstract】 Objective To explore the expression levels of miR-155 and similar protein 1 (BMAL1) of aromatic hydrocarbon receptor nuclear transporters in brain and muscle tissue in male patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) complicated with insomnia and its correlation with insomnia. **Methods** Sixty male COPD patients diagnosed and treated in the Neurology Department of the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from June 2021 to April 2023 were selected as the observation group. In addition, 60 male COPD patients with acute episodes of non-insomnia during the same period were selected as the control group. Collect serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant samples from two groups of patients, and detect and compare the differences in miR-155 and BMAL1 mRNA transcription levels in the samples. Screening the risk factors for insomnia in COPD patients through Spearman correlation analysis and binary logistic regression analysis. Evaluate the predictive value of various risk factors on the occurrence of insomnia through the receiver operating curve (ROC) and area under the curve (AUC). **Results** The expression levels of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant of the observation group were sig-

nificantly higher than those in the control group ($t/P=3.457/ <0.001, 4.147/ <0.001, 4.471/ <0.001, 4.336/ <0.001$). Correlation analysis and binary logistic regression analysis showed that elevated levels of miR-155 and BMAL1 mRNA expression in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant were risk factors for insomnia in COPD patients [$OR(95\% CI)=1.578 (1.061 - 2.123), 1.955 (1.208 - 3.164), 2.476 (1.430 - 4.287), 2.574 (1.357 - 4.885)$]. The AUC of miR-155 and BMAL1 mRNA in serum extracellular vesicles and alveolar lavage fluid supernatant for predicting the occurrence of insomnia in COPD patients was 0.679, 0.706, 0.719, 0.733 and 0.839, the combination of the four factors has the highest value ($Z=2.932, 2.771, 2.693, 2.553, P < 0.01$). **Conclusion** The elevated levels of miR-155 and BMAL1 in the serum exosomes and alveolar lavage fluid of COPD patients are significantly correlated with the occurrence of insomnia, suggesting that miR-155 and BMAL1 may be involved in the occurrence and development of COPD related insomnia, providing potential targets for further exploration of the neuropathological mechanisms of insomnia in COPD patients in the future.

【Key words】 Chronic obstructive pulmonary disease; Insomnia; Micro RNA-155; Similar protein 1; Male

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种进行性呼吸道疾病,被认为是全世界最严重的呼吸系统疾病之一^[1]。COPD的具体发病机制尚不清楚,主要治疗方法是改善 COPD 患者的症状,但不能延缓病情进展或降低病死率^[2]。因此,需要对 COPD 的发病机制不断进行新的探索以更好地提高 COPD 预后。目前研究发现多种微小核糖体核苷酸(micro RNA, miR)参与并影响了呼吸系统疾病的发生发展过程,其中 miR-155 在肺癌、急性肺损伤、肺炎等疾病中均扮演重要角色^[3]。除了呼吸系统症状及肺功能水平降低外,COPD 患者大多伴有不同程度睡眠障碍。以往流行病学调查发现 COPD 患者出现失眠症的概率为 35% ~ 77%^[4]。合并失眠症的 COPD 患者更易产生焦虑、抑郁等负性情绪,日常生活及治疗效果也会受到严重影响。关于 COPD 患者失眠症的发生发展机制尚不明晰,其中“生物钟”学说得到国内外广泛认可。生物钟是机体一种内源性的调控系统,与人类睡眠质量、睡眠时间及时节律密切相关^[5]。以往研究发现生物钟相关调节基因众多,其中脑和肌肉组织芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1(brain and muscle arnt-like protein1, BMAL1)基因与失眠的出现具有紧密联系^[6]。但 miR-155 及 BMAL1 mRNA 在 COPD 伴失眠的患者中表达特征尚不明晰。基于此,现分析 miR-155 及 BMAL1 mRNA 在 COPD 合并失眠症患者中的表达水平及与失眠的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 6 月—2023 年 4 月新疆医科大学第二附属医院神经内科诊治急性发作伴失眠的 COPD 患者 60 例作为观察组,另外选取同期急性发作非失眠的 COPD 患者 60 例作为对照组。观察组:年龄(53.97 ± 3.42)岁;体质量指数(BMI)(23.27 ± 2.77) kg/m^2 ;COPD 病程(14.56 ± 4.22)年;每日吸烟(13.62 ± 2.05)支,吸烟史(10.17 ± 1.96)年;合并高

血压 28 例、合并糖尿病 31 例;COPD 分级:I 级 10 例,II 级 20 例,III 级 21 例,IV 级 9 例。对照组:年龄(53.98 ± 3.96)岁;BMI(23.80 ± 2.59) kg/m^2 ;COPD 病程(14.56 ± 4.22)年;每日吸烟(13.07 ± 2.20)支,吸烟史(10.68 ± 1.76)年;合并高血压 28 例、合并糖尿病 31 例;COPD 分级:I 级 11 例,II 级 21 例,III 级 20 例,IV 级 8 例。2 组患者临床资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(K20210526-08),患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符合 2021 年 GOLD 指南中气流严重程度分级为 2 级(中度)的 COPD 急性发作诊断标准^[7];②符合《失眠症中医临床实践指南(WHO/WPO)》中失眠的诊断标准且为首次诊断失眠症^[8];③年龄 ≥ 45 岁的男性;④有明确、长期吸烟史。(2)排除标准:①COPD 发病前出现失眠症状与表现者;②合并严重心、肝、肾功能障碍及心血管病、糖尿病等;③合并哮喘、肺气肿及其他呼吸系统疾病;④药物滥用者(尼古丁滥用除外);⑤合并睡眠呼吸暂停与其他睡眠障碍。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 样品采集及保存:患者入院时采集空腹外周血 10 ml,于室温下离心留取上层血清,通过外泌体提取试剂盒(北京爱必信生物科技有限公司生产,货号 abs50035)提取血清中外泌体并经 BM-21AWY 透射电子显微镜(寰熙医疗科技有限公司,型号 BBF-4)确认,形态呈杯口状,直径 40 ~ 150 nm。将提取好的外泌体及血清冻存于 -80°C 冰箱中待后续检测。于患者入院第 3 天行支气管镜(徐州益柯达电子科技有限公司)肺泡灌洗术。将气管镜嵌入右肺或左肺上叶舌段的一个亚段,注入 37°C 的生理盐水 120 ml,采集研究对象的第 2 瓶肺灌洗回收液约 50 ml;经四层纱布过滤去除黏液和不溶性粉尘颗粒, 4°C 保存,分装后高速离心,留

取上清 -80℃ 冻存待测。

1.3.2 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平的检测: 上述血清外泌体和肺泡灌洗液上清采用 qRT-PCR 法检测 miR-155 和 BMAL1 mRNA 表达水平。使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司生产, 货号 15596026) 提取血清外泌体及肺泡上清液样本中总 RNA, 使用反转录试剂盒(北京索莱宝科技有限公司生产, 货号 RP1105) 将提取的总 RNA 反转录为 cDNA 文库, 所有步骤均严格按照试剂盒说明书进行操作。应用朗基 Q2000B-实时荧光定量 PCR 仪(苏州阿尔法生物实验器材有限公司生产) 及天根生化科技(北京) 有限公司生产的多重 PCR 扩增试剂盒(货号 KT109) 对 miR-155、BMAL1 及 GAPDH 内参进行扩增, 引物序列由生工生物工程(上海) 股份有限公司合成, 见表 1。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR) 采用德国 QIAGEN 公司生产的 miScript SYBR Green PCR Kit 试剂盒, qRT-PCR 每孔反应体系为 20 μl, 包括样本 cDNA 2 μl, miScript SYBR Green Mix 10 μl、正向、反向引物(10 μmol/L) 各 0.8 μl、ddH₂O 为 6.4 μl。qRT-PCR 反应体系设置为 95℃ 5 min、95℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s, 采集信号, 共设置 45 个循环。每份样品均设置 3 个重复孔, 通过 2^{-ΔΔCT} 法计算患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 的相对表达水平。

表 1 目标基因及内参基因引物序列

Tab. 1 Primer sequences of target genes and internal reference genes

引物	引物方向	序列
miR-155	正向	5'-TGGAACAAATTGCTGCCGTG-3'
	反向	5'-AGGTTGAACATCCCAGTGACC-3'
BMAL1	正向	5'-TGCCACCAATCCATACACAG-3'
	反向	5'-TCGGTCACATCCTACGACAA-3'
GAPDH	正向	5'-ATTTGGCTACAGCAACAGGGTG-3'
	反向	5'-TGCTTGAGCACAGGGTACTTTA-3'

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 Student-t 检验; 计数资料以频数或率(%) 表示, 组间比较行 χ^2 检验; 血清外泌体及肺泡上清液中 miR-155、BMAL1 mRNA 水平与失眠症的相关性采用 Spearman 相关性检验及二元 Logistic 回归检验进行分析, 并通过受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC) 及曲线下面积(area under the curve, AUC) 判断各指标对 COPD 患者失眠症发生的预测价值。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清外泌体、肺泡灌洗液 miR-155 与 BMAL1 mRNA 水平比较 观察组患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 表达水平均高于对照组(P < 0.01), 见表 2。

表 2 2 组 COPD 患者血清外泌体及肺泡灌洗液上清中 miR-155、BMAL1 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of miR-155 and BMAL1 mRNA levels in serum exosomes and alveolar lavage fluid supernatant of two groups of COPD patients

组别	例数	血清外泌体		肺泡灌洗液上清	
		miR-155	BMAL1 mRNA	miR-155	BMAL1 mRNA
对照组	60	3.45 ± 1.07	2.84 ± 0.85	2.31 ± 0.75	2.00 ± 0.58
观察组	60	4.19 ± 1.27	3.56 ± 1.04	3.00 ± 0.93	2.57 ± 0.83
t 值		3.457	4.147	4.471	4.336
P 值		0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 miR-155、BMAL1 mRNA 水平与失眠症的相关性分析 将发生失眠症赋值 = 1, 未发生失眠症赋值 = 0, 通过 Spearman 相关性分析发现 COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 水平与失眠症的发生均存在显著正相关性(P < 0.01), 见表 3。

表 3 COPD 患者 miR-155、BMAL1 mRNA 水平与失眠症的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis between miR-155, BMAL1 mRNA levels and insomnia in COPD patients

观察指标	血清外泌体		肺泡灌洗液上清	
	miR-155	BMAL1 mRNA	miR-155	BMAL1 mRNA
r 值	0.310	0.357	0.379	0.404
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 COPD 患者失眠症的危险多因素二元 Logistic 回归分析 以 COPD 患者是否发生失眠症为因变量, 以 COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 水平为自变量, 进行二元 Logistic 回归分析, 结果表明: COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 水平增高均是发生失眠症的独立危险因素(P < 0.05), 见表 4。

2.4 miR-155 及 BMAL1 mRNA 预测 COPD 患者失眠症发生的价值分析 绘制 miR-155 及 BMAL1 mRNA 预测 COPD 患者失眠症发生的价值 ROC 曲线, 并计算 AUC, 结果显示: COPD 患者血清外泌体、肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 独立及四项联合预测失

表 4 Logistic 回归分析影响 COPD 患者预后的危险因素

Tab. 4 Logistic regression analysis of risk factors affecting the prognosis of COPD patients

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
血清外泌体					
miR-155 高	0.357	0.202	3.108	0.048	1.578(1.061 ~ 2.123)
BMAL1 mRNA 高	0.67	0.246	7.441	0.006	1.955(1.208 ~ 3.164)
肺泡灌洗液上清					
miR-155 高	0.907	0.280	10.476	0.001	2.476(1.430 ~ 4.287)
BMAL1 mRNA 高	0.946	0.327	8.370	0.004	2.574(1.357 ~ 4.885)

眠症发生的 AUC 分别为 0.679、0.706、0.719、0.733、0.839, 四项联合优于各自单独预测效能 ($Z = 2.932$ 、 2.771 、 2.693 、 2.553 , P 均 < 0.001), 见表 5、图 1。

表 5 miR-155 及 BMAL1 mRNA 预测 COPD 患者失眠症发生的价值比较

Tab. 5 Comparison of the value of miR-155 and BMAL1 mRNA in predicting the occurrence of insomnia in COPD patients

变量	Cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
血清外泌体						
miR-155	4.570	0.679	0.583 ~ 0.775	0.933	0.433	0.367
BMAL1 mRNA	3.095	0.706	0.614 ~ 0.799	0.617	0.733	0.350
肺泡灌洗液上清						
miR-155	3.285	0.719	0.627 ~ 0.810	0.950	0.450	0.400
BMAL1 mRNA	2.465	0.733	0.640 ~ 0.826	0.867	0.617	0.483
四项联合	0.536	0.839	0.765 ~ 0.914	0.867	0.733	0.600

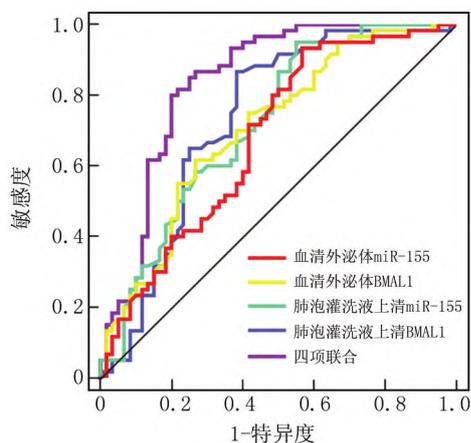


图 1 miR-155 及 BMAL1 mRNA 对 COPD 患者失眠症发生的预测价值 ROC 曲线

Fig. 1 ROC of the predictive value of miR-155 and BMAL1 mRNA in the occurrence of insomnia in COPD patients

3 讨论

COPD 是一种以持续气流受限为特征的进行性呼吸系统疾病。空气污染加重、吸烟时间增加、吸烟量增

多等因素均会导致 COPD 发病率及严重程度增高,严重影响患者生命健康及日常生活,也为家庭和社会带来沉重的医疗和经济负担^[9]。除了严重的呼吸系统症状和肺功能进行性降低外,COPD 患者普遍存在不同严重程度的睡眠障碍。关于 COPD 患者失眠症发生的具体机制尚不明晰,可能与患者夜间症状加重、持续负性情绪、反复憋喘等相关^[10]。尽管临床不断提高对于 COPD 患者睡眠质量关注及干预,但效果仍不理想。因此,及早预测 COPD 患者是否会发生失眠并在疾病早期进行对症治疗及药物干预可能更有利于阻止 COPD 病情加重及合并症的出现。而寻找特异度高、预测效能大的指标也逐渐成为该领域的研究热点^[11-13]。

miRNA 在 COPD 等呼吸系统疾病的发生发展过程中扮演重要角色。其中,miR-155 作为一种多功能 miRNA,在免疫激活、炎症反应、心血管疾病及呼吸系统疾病中均发挥一定作用^[14]。以往研究发现,miR-155 可通过调节多种 miRNAs 及促炎性细胞因子的表达间接参与并调节哮喘、肺炎、肺结核、肺癌等多种肺部疾病^[15]。此外,有研究发现老年 COPD 患者血清 miR-155 表达水平显著增高,且急性加重期的患者增高幅度更明显,提示血清 miR-155 水平与 COPD 的严重程度存在相关性^[16]。由于 miR-155 大多参与并调节不同疾病的炎症反应过程,因此其在 COPD 中的作用可能也与调控炎症因子水平相关。睡眠节律相关基因是调控人体睡眠—觉醒活动的主要基因,也被称为生物钟相关性基因。人类的生物钟系统结构较为复杂,主要由视上核交叉(suprachiasmatic nucleus, SCN)和附属的外周生物钟系统组成^[17]。目前国内外研究确认的生物钟基因成分包括 Clock、BMAL1、Cry1、Cry2、Per1、Per2 及 Per3 等^[18-19]。以往研究发现,在睡眠剥夺的小鼠模型中,SCN 组织内 BMAL1 基因、蛋白水平均显著升高,提示了 BMAL1 与失眠发生的相关性^[20]。本研究发现,合并失眠症的 COPD 患者无论血清外泌体还是肺泡灌洗液上清中 miR-155 及 BMAL1 mRNA 的表达水平均显著较高,且经过统计学分析及建模发现 miR-155 及 BMAL1 对于预测 COPD 患者失眠发生均具有较好的效能。分析原因,miR-155 参与 COPD 患者失眠发生的过程可能与促进肺脏及气道持续性炎症反应水平增高有关。miR-155 在血清及肺泡灌洗液中表达水平增高导致局部促炎性细胞因子分泌增加、抑炎性细胞因子减少,加重了 COPD 患者气道反应性及炎症反应微环境,进而导致患者症状加重并影响睡眠^[21]。BMAL1 基因作为 SCN 中 2 类兴奋性调节基因,不论其转录水平还是蛋白表达增高均可能引起

神经兴奋性增强,从而导致患者入睡困难、睡眠质量降低及睡眠时间减少,而持续性的神经兴奋增强必然导致失眠症的发生。同时,COPD 患者由于症状加重或夜间急性发作导致正常睡眠终止,这种由于疾病本身引起的昼夜节律紊乱也可能反向导致 BMAL1 基因表达的失衡。此外,BMAL1 基因作为重要的生物钟基因,可调控生命周期和器官衰老的多种途径,当 BMAL1 表达紊乱时,可能导致 COPD 患者肺部炎症反应水平增高、中性粒细胞浸润加重及气道上皮细胞、肺内皮细胞等多种细胞代谢及再生紊乱^[22]。

本研究也存在一定局限性。由于受到实际医疗条件及伦理学要求限制,无法直接检测入组患者脑部或 SCN 组织中 miR-155 及 BMAL1 的转录水平特征。其次,在多种生物钟相关基因中,仅选择了最具有代表性、与失眠发生相关性较显著的 BMAL1 基因作为主要观察指标,Cry、Per 等基因在合并失眠症 COPD 患者体内表达水平变化仍未可知。基于以上不足,后续将收集相关标本并筛选其他可能与 COPD 患者失眠发生相关的潜在靶点基因。尽管如此,本研究发现 COPD 患者血清外泌体及肺泡灌洗液中 miR-155 及 BMAL1 水平升高与失眠症的发生显著相关,提示 miR-155 及 BMAL1 可能参与 COPD 相关性失眠的发生、发展过程,为未来进一步探究 COPD 患者失眠的神经病理机制提供潜在靶点。

利益冲突:所有作者均声明无利益冲突

作者贡献声明

穆清爽:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;刘顺:实施研究过程,分析试验数据;热依拉·牙合甫:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改,进行统计学分析;杨新玲:课题设计,论文撰写

参考文献

[1] 李蕊楠,康黎,周玉玲,等.老年 COPD 患者肺康复研究进展[J].中国老年保健医学,2021,19(4):111-113,116. DOI:10.3969/j.issn.1672-2671.2021.04.033.
Li RN,Kang L,Zhou YL,et al. Advances in pulmonary rehabilitation in elderly patients with COPD [J]. Chinese Geriatrics Medicine, 2021,19 (4) : 111-113, 116. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-2671. 2021. 04. 033.

[2] 马则胜.慢性阻塞性肺疾病药物治疗研究[J].医学信息,2020,33(2):47-49. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.02.013.
Ma ZS. Study on drug treatment of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Medical Information, 2020,33(2):47-49. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.02.013.

[3] 武国英,高笑宇,杨琼,等.miRNA 在 COPD 发病机制中的研究进展[J].内蒙古医学杂志,2022,54(9):1077-1081. DOI:10.16096/J.cnki.nmgxyz.2022.54.09.014.
Wu GY,Gao XY,Yang Q,et al. Research progress of miRNA in the

pathogenesis of COPD [J]. Inner Mongolia Medical Journal,2022,54(9):1077-1081. DOI:10.16096/J.cnki.nmgxyz.2022.54.09.014.

[4] 刘娟,龚桂姿,袁子璇,等.COPD 病人睡眠障碍评估工具及影响因素的研究进展[J].全科护理,2023,21(12):1628-1631. DOI:10.12104/j.issn.1674-4748.2023.12.010.
Liu J,Gong GZ,Yuan ZX,et al. Research progress on assessment tools and influencing factors of sleep disorders in patients with COPD[J]. General Practice Nursing, 2023, 21 (12) : 1628-1631. DOI: 10. 12104/j. issn. 1674-4748. 2023. 12. 010.

[5] 裴豫琦,曹国定,崔涛,等.失眠症的神经生物学机制研究进展[J].中国医药导刊,2020,22(11):794-799.
Pei YQ,Cao GD,Cui T,et al. Research progress on neurobiological mechanism of insomnia [J]. China Medical Guide,2020,22(11):794-799.

[6] 王钧左,陈励,张斌,等.时钟基因 Bmal1 在昼夜节律行为调节中的研究进展[J].军事医学,2019,43(4):301-304. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2019.04.012.
Wang JZ,Chen L,Zhang B,et al. Research progress of clock gene Bmal1 in the regulation of circadian rhythm behavior [J]. Military Medicine,2019,43(4):301-304. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2019.04.012.

[7] 李正欢,张晓云,陈杨,等.基于 2021 年 GOLD《COPD 诊断、治疗与预防全球策略》解析慢性阻塞性肺疾病稳定期非药物管理策略[J].中国全科医学,2022,25(2):131-138. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.310.
Li ZH,Zhang XY,Chen Y,et al. Analysis of non-drug management strategies for stable chronic obstructive pulmonary disease based on GOLD's Global Strategy for COPD diagnosis, treatment and Prevention in 2021 [J]. Chinese General Medicine,2022,25(2):131-138. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.310.

[8] 中国中医科学院失眠症中医临床实践指南课题组.失眠症中医临床实践指南(WHO/WPO)[J].世界睡眠医学杂志,2016,3(1):8-25.
Research Group of Clinical practice Guide for Insomnia of traditional Chinese Medicine Academy of traditional Chinese Medicine. Clinical practice Guide of Insomnia in traditional Chinese Medicine (WHO/WPO) [J]. World Journal of Sleep Medicine, 2016, 3 (1) :8-25.

[9] Erhabor GE,Adeniyi B,Arawomo AO,et al. Acute exacerbation of COPD: Clinical perspectives and literature review [J]. West Afr J Med,2021,38(11):1129-1142.

[10] Budhiraja R,Parthasarathy S,Budhiraja P,et al. Insomnia in patients with COPD [J]. Sleep, 2012, 35 (3) : 369-375. DOI: 10. 5665/sleep. 1698.

[11] 刁鑫,贾艳云,潘双,等.吸烟慢性阻塞性肺疾病患者 EOS、CRP、MUC5AC 水平变化与肺功能的关系[J].疑难病杂志,2022,21(4):377-382. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.009.
Diao X,Jiao YY,Pan S,et al. The relationship between changes of EOS, CRP, MUC5AC levels and pulmonary function in smoking COPD patients[J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022,21(4):377-382. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.009.

(下转 1077 页)

- DOI:10.3760/cma.j.cn131073.20201113.00319.
- [10] 李晓亮,谢江帆,叶向阳,等.脑缺血缺氧性损伤标志物在烧伤脓毒症患者脓毒症相关性脑病早期诊断中的价值[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(1):21-28. DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20211006-00346.
- Li XL,Xie JF,Ye XY,et al.The value of markers of hypoxic ischemic injury in the early diagnosis of sepsis related encephalopathy in burn sepsis patients [J]. Chinese Journal of Burns and Wound Repair,2022,38(1):21-28. DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20211006-00346.
- [11] He F,Zhang C,Huang Q. Long noncoding RNA nuclear enriched abundant transcript 1/miRNA-124 axis correlates with increased disease risk, elevated inflammation, deteriorative disease condition, and predicts decreased survival of sepsis [J]. Medicine (Baltimore), 2019,98(32):16470-16481. DOI:10.1097/MD.00000000000016470.
- [12] Wei XB,Jiang WQ,Zeng JH,et al. Exosome-derived lncRNA NEAT1 exacerbates sepsis-associated encephalopathy by promoting ferroptosis through regulating miR-9-5p/TFRC and GOT1 axis[J]. Mol Neurobiol,2022,59(3):1954-1969. DOI:10.1007/s12035-022-02738-1.
- [13] Yang Y,Xue J,Qin L,et al. LncRNA NEAT1 promotes inflammatory response in sepsis via the miR-31-5p/POU2F1 axis [J]. Inflammation,2021,44(4):1518-1528. DOI:10.1007/s10753-021-01436-9.
- [14] Wang SM,Liu GQ,Xian HB,et al. LncRNA NEAT1 alleviates sepsis-induced myocardial injury by regulating the TLR2/NF-κB signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(11):4898-4907. DOI:10.26355/eurrev_201906_18078.
- [15] Li Z,Jiang P,Li J,et al. Tumor-derived exosomal lnc-Sox2ot promotes EMT and stemness by acting as a ceRNA in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Oncogene,2018,37(28):3822-3838. DOI:10.1038/s41388-018-0237-9.
- [16] Knauss JL,Miao N, Kim SN,et al. Long noncoding RNA Sox2ot and transcription factor YY1 co-regulate the differentiation of cortical neural progenitors by repressing Sox2 [J]. Cell Death Dis,2018,9(8):799-804. DOI:10.1038/s41419-018-0840-2.
- [17] Zhu W,Peng F,Cui X,et al. LncRNA SOX2OT facilitates LPS-induced inflammatory injury by regulating intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) via sponging miR-215-5p [J]. Clin Immunol,2022,238(9):1090-1096. DOI:10.1016/j.clim.2022.109006.
- [18] Wu Z,Yu Y,Fu L,et al. LncRNA SOX2OT rs9839776 polymorphism reduces sepsis susceptibility in southern Chinese children [J]. J Inflamm Res,2020,13(7):1095-1101. DOI:10.2147/JIR.S281760.
- [19] Xiao Z,Zhang X,Li G,et al. Tibial fracture surgery in elderly mice caused postoperative neurocognitive disorder via SOX2OT lncRNA in the hippocampus [J]. Mol Brain,2023,16(1):36-44. DOI:10.1186/s13041-023-01024-y.
- [20] Yin J,Shen Y,Si Y,et al. Knockdown of long non-coding RNA SOX2OT downregulates SOX2 to improve hippocampal neurogenesis and cognitive function in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy [J]. J Neuroinflammation,2020,17(1):320-328. DOI:10.1186/s12974-020-01970-7.

(收稿日期:2023-06-07)

(上接 1071 页)

- [12] 苏睿,张丽艳,高志利,等.急性加重期慢性阻塞性肺疾病患者血清 CXCL10 和 CXCL11 水平变化及临床意义[J].疑难病杂志,2022,21(4):383-388. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.010.
- Su R,Zhang LY,Gao ZL,et al. Changes and clinical significance of serum CXCL10 and CXCL11 levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease during acute exacerbation [J]. Chin J Diffic and Compl Cas, 2022, 21 (4): 383-388. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 04. 010.
- [13] 荆晶,李凤森,徐丹,等.益气固表丸对烟熏联合脂多糖诱导的慢性阻塞性肺疾病模型大鼠树突状细胞免疫功能的调节作用[J].中国医药,2022,17(11):1712-1717. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2022.11.025.
- Jing J,Li FS,Xu D,et al. Regulatory effect of Yiqi Gubiao pill on immune function of dendritic cell in model rats with chronic obstructive pulmonary disease induced by smoke combined with lipopolysaccharide [J]. China Medicine, 2022, 17 (11): 1712-1717. DOI: 10. 3760/j. issn. 1673-4777. 2022. 11. 025.
- [14] Zhu M,Ye M,Wang J,et al. Construction of potential miRNA-mRNA regulatory network in COPD plasma by bioinformatics analysis [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2020, 15: 2135-2145. DOI: 10. 2147/COPD.S255262.
- [15] Jiang K,Yang J,Guo S,et al. Peripheral circulating Exosome-Mediated delivery of miR-155 as a novel mechanism for acute lung inflammation [J]. Mol Ther,2019,27(10):1758-1771. DOI:10.1016/j.ymthe.2019.07.003.
- [16] De Smet EG, Van Eeckhoutte HP, Avila Cobos F, et al. The role of miR-155 in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and COPD [J]. Mucosal Immunol, 2020, 13 (3): 423-436. DOI: 10. 1038/s41385-019-0241-6.
- [17] Zisapel N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation [J]. Br J Pharmacol, 2018, 175(16):3190-3199. DOI:10.1111/bph.14116.
- [18] 李果,陈小兵,李刚,等.中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白与基质金属蛋白酶9在不同时期COPD患者外周血中的表达变化及意义[J].中国临床新医学,2021,14(7):685-690. DOI:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.07.10.
- Li G,Chen XB,Li G,et al. Expression changes of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and matrix metalloproteinase-9 in peripheral blood of patients with COPD at different stages and their significances [J]. Chinese Journal of New Clinical Medicine, 2022, 17 (11): 1712-1717. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2022.11.025.
- [19] Zielinski MR, Gibbons AJ. Neuroinflammation, Sleep, and Circadian Rhythms [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 853096. DOI: 10.3389/fcimb.2022.853096.
- [20] Patke A, Murphy PJ, Onat OE, et al. Mutation of the human circadian clock Gene CRY1 in familial delayed sleep phase disorder [J]. Cell, 2017, 169(2):203-215. e13. DOI:10.1016/j.cell.2017.03.027.
- [21] Climent M, Viggiani G, Chen YW, et al. MicroRNA and ROS crosstalk in cardiac and pulmonary diseases [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12):4370. DOI:10.3390/ijms21124370.
- [22] Hu Y, He T, Zhu J, et al. The link between circadian clock genes and autophagy in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021:2689600. DOI:10.1155/2021/2689600.

(收稿日期:2023-06-16)