doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2412039

论著·临床研究

支气管肺发育不良早产儿血清miR-15b和血管内皮生长因子动态变化及其在神经系统发育评估中的价值

陈前　张沛佩　芦庆花　万振霞　黄磊

（青岛大学附属山东省妇幼保健院新生儿科，山东济南　250014）

［摘要］**目的**　探讨轻度和中重度支气管肺发育不良（bronchopulmonary dysplasia, BPD）早产儿血清微小核糖核酸（microRNAs, miR）-15b、血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）动态变化及其在近期神经系统发育评估中的价值。**方法**　回顾性分析2020年1月—2023年2月入住新生儿重症监护室的156例BPD早产儿的临床资料。依据BPD分度分为轻度组（88例）与中重度组（68例）。于出生后第1、7、14、28天检测血清中miR-15b和VEGF水平。使用重复测量方差分析评估血清miR-15b、VEGF水平的动态变化。使用逐步回归法和Bootstrap法检验分析VEGF在miR-15b和近期神经系统发育之间的中介效应。使用logistic回归分析影响神经发育不良的因素。**结果**　轻度组血清miR-15b水平随时间呈明显降低趋势，VEGF呈明显上升趋势（P<0.05）；中重度组血清miR-15b水平随时间呈上升趋势，VEGF水平呈下降趋势（P<0.05）。血清miR-15b、VEGF水平是神经发育评估结果的重要影响因素，存在独立相关性（P<0.001）。中介效应分析显示，miR-15b通过抑制VEGF表达间接影响近期神经系统发育［间接效应值=-0.705（95%CI：-1.178~-0.372）］，该间接效应占总效应的54.36%。**结论**　轻度与中重度BPD早产儿血清miR-15b、VEGF变化趋势不同；miR-15b主要通过VEGF影响神经系统发育。　［中国当代儿科杂志，2025，27（9）：1062-1070］

［关键词］支气管肺发育不良；神经发育；miR-15b；血管内皮生长因子；早产儿

Dynamic changes in serum microRNA-15b and vascular endothelial growth factor in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia and their value in assessing neurodevelopment

CHEN Qian, ZHANG Pei-Pei, LU Qing-Hua, WAN Zhen-Xia, HUANG Lei. Department of Neonatology, Shandong Provincial Maternal and Child Health Care Hospital Affiliated to Qingdao University, Jinan 250014, China (Huang L, Email: 1099116076@qq.com)

Abstract: Objective　To investigate the dynamic changes in serum microRNA-15b (miR-15b) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in preterm infants with mild or moderate-to-severe bronchopulmonary dysplasia (BPD), as well as their value in assessing short-term neurodevelopment. **Methods**　A retrospective analysis was conducted on the medical data of 156 preterm infants with BPD who were admitted to the neonatal intensive care unit from January 2020 to February 2023. According to the severity of BPD, they were divided into a mild group (n=88) and a moderate-to-severe group (n=68). Serum levels of miR-15b and VEGF were measured on postnatal days 1, 7, 14, and 28. Repeated measures analysis of variance was used to assess the dynamic changes in serum levels of miR-15b and VEGF. The mediating effect of VEGF between miR-15b and short-term neurological development was tested and analyzed using the stepwise regression method and the Bootstrap method. Logistic regression analysis was used to identify factors influencing adverse neurodevelopmental outcomes. **Results**　In the mild group, there was a significant reduction in the serum level of miR-15b and a significant increase in VEGF over time (P<0.05), while in the moderate-to-severe group, there was a significant increase in miR-15b and a significant reduction in VEGF over time (P<0.05). Serum miR-15b and VEGF levels were important factors influencing

［收稿日期］2024-12-05；［接受日期］2025-06-12
［基金项目］山东省医药卫生科技发展计划项目（202406011275）。
［作者简介］陈前，女，硕士，副主任医师。
［通信作者］黄磊，女，主任医师。Email：1099116076@qq.com。

neurodevelopmental outcomes, showing independent correlations (P<0.001). The mediating effect analysis indicated that miR-15b indirectly affected short-term neurodevelopment by inhibiting VEGF expression [indirect effect: -0.705 (95%*CI*: -1.178 to -0.372)], with the indirect effect accounting for 54.36% of the total effect. **Conclusions** There are different changing trends in serum levels of miR-15b and VEGF in preterm infants with mild and moderate-to-severe BPD. miR-15b primarily influences neurodevelopment through VEGF. **[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2025, 27(9): 1062-1070]**

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Neurodevelopment; microRNA-15b; Vascular endothelial growth factor; Preterm infant

支气管肺发育不良（bronchopulmonary dysplasia, BPD）是一种常见于早产儿的慢性肺部疾病。BPD的主要病理特征包括肺泡发育不全、肺微血管发育障碍，以及肺泡数量和肺毛细血管床的减少，易导致不可逆的气道上皮损伤，即使经过充分治疗，仍可能对患儿的长期生长和发育产生不利影响[1]。鉴于BPD的复杂病理过程及其深远影响，探索其潜在机制及治疗靶点尤为重要。微小核糖核酸（microRNA, miRNA）通过促进mRNA降解或抑制其翻译来调控基因表达，参与细胞增殖、分化和血管生成等多种生物学过程，并与肺部疾病的发生和进展密切相关。已有研究表明，miRNAs-15b（miR-15b）能够调节血管细胞的增殖、分化及凋亡，其过表达显著抑制新生血管和侧支动脉的形成[2]。血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）作为一种重要的促血管生成因子，在肺部发育和修复过程中发挥着关键作用。研究发现，VEGF水平可作为新生儿肺损伤的生物标志物[3]。尽管VEGF在BPD发病机制中的作用已有一定的研究基础[4]，但其与miR-15b的相互作用及其在BPD早产儿神经系统发育中的具体机制仍需进一步探讨。本研究旨在探索血清miR-15b和VEGF在BPD早产儿中的动态变化及其与近期神经系统发育的关系，这对于理解BPD的病理机制及寻找新的治疗策略具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性收集2020年1月—2023年2月我院新生儿重症监护病房（neonatal intensive care unit, NICU）收治的BPD早产儿170例为研究对象。纳入标准：（1）本院出生且出生后即转入NICU；（2）28周≤胎龄≤32周；（3）住院时间>28 d；（4）出生体重<1 500 g；（5）在研究数据收集及分析时，已确诊符合NICHD于2001年制定的BPD诊断及分度标准[5]。排除标准：（1）新生儿重度窒息；（2）合并中枢神经系统感染；（3）颅内出血程度>Ⅲ度；（4）合并先天发育畸形。研究期间自动放弃3例，死亡1例，数据不完整者10例，最终纳入156例。本研究通过我院伦理委员会批准（批准号：2024-034），且获得患儿监护人的知情同意。

1.2 BPD诊断标准及分组

依据NICHD于2001年制定的BPD诊断标准[6]进行诊断及分组。任何氧依赖（氧浓度>21%）≥28 d的新生儿被诊断为BPD。

对于出生胎龄<32周的BPD患儿，在校正胎龄达到36周或出院时，依据需氧浓度进行BPD分度：重度（氧浓度≥30%或机械通气）、中度（氧浓度<30%）和轻度（未用氧）。依据BPD分度，轻度88例，中度55例，重度13例，即轻度组88例与中重度组68例。

1.3 观察指标

通过查阅病历获取患儿出生后第1、7、14、28天静脉血检测结果，选择这些时间点检测血清miR-5b和VEGF的原因如下。生后早期是BPD关键期，第1天检测可获得基础血清标志物水平，为后续动态监测提供起始参考，后续时间点能捕捉到BPD发展过程中肺泡和肺血管系统损伤修复、炎症反应等变化对血清标志物水平的影响，有助于了解疾病进展。对于神经系统发育监测，早产儿前28 d神经发育关键事件频发，这些时间点的检测可观察标志物与神经发育的关联。虽然BPD诊断以持续通气28 d为标准，但血清最后采集时间（第28天）可从血清学角度反映此时机体状态，与BPD诊断时间互补，共同为评估患儿病情及神经系统发育提供依据。

神经发育评估（developmental screening test, DST）[7]：所有受试早产儿在矫正月龄达到6月龄时，于我院儿童保健门诊由接受过专业培训的医生进行DST。DST主要用于0~72月龄儿童的评估。DST测试结果以智力指数（mental index, MI）和发育商（development quotient, DQ）表示。MI反映智力能区的发育水平，而DQ反映3个能区（社会适应能力、运动能力和智力能力）的总体发育水平。对于3岁以下儿童，根据DQ将其分为3个等级：

DQ<70 分为异常，70 分≤DQ<85 分为可疑，DQ≥85 分为正常。本研究将 DQ<70 分的患儿纳入 DST 异常组，而未将 DQ 介于 70 分到 85 分之间的患儿（即 DST 可疑患者）纳入本研究，且将 DQ≥85 分的患儿纳入 DST 正常组。

1.4 统计学分析

通过 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析，连续变量的正态性检验采用 Shapiro-Wilk 法，方差齐性检验采用 Levene 检验。正态分布的计量资料用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，两组间比较采用两样本 t 检验（方差齐时）或校正 t 检验（方差不齐时）；非正态分布计量资料以中位数（四分位数间距）［M（P_{25}，P_{75}）］表示，组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以例数和百分率（%）表示，组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。使用重复测量方差分析探讨血清 miR-15b、VEGF 水平随时间变化的趋势及组间差异。为保证方差分析的有效性并控制 Ⅰ 类错误率，进行 Mauchly's 球形假设（Sphericity）检验；当时间 × 组间交互效应显著时，在各时间点上进行事后两两比较。使用 logistic 回归逐步校正多个潜在的混杂因素，分析影响神经系统发育不良的临床因素。使用 TargetScanHuman 7.1 预测 miR-15b 和 VEGF 的结合位点。使用逐步回归法和 Bootstrap 法检验分析 VEGF 在 miR-15b 和近期神经系统发育之间的中介效应。P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 BPD 早产儿出生情况及母亲孕期情况比较

与轻度组比较，中重度组早产儿小于胎龄儿比例、1 min Apgar 评分≤7 分比例、出生 2 周仍需机械通气比例、机械通气时间、总氧疗时间、抗生素使用时间、使用枸橼酸咖啡因比例、吸氧浓度、动脉血二氧化碳分压明显较高，母亲的先兆早产比例、重度子痫前期比例明显较高，早产儿胎龄、出生体重、身长、头围、动脉血 pH、动脉血氧分压明显较低，差异均有统计学意义（均 P<0.05）。见表 1。

表 1 不同严重程度 BPD 早产儿出生情况及母亲孕期情况比较

围生期高危因素	轻度组 (n=88)	中重度组 (n=68)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别 [n(%)]				
男性	56(64)	47(69)	0.514	0.474
女性	32(36)	21(31)		
胎龄 ($\bar{x} \pm s$, 周)	29.5 ± 1.4	28.9 ± 1.1	2.907	0.004
小于胎龄儿 [n(%)]	12(14)	18(26)	4.068	0.044
出生体重 ($\bar{x} \pm s$, g)	1 218 ± 163	1 162 ± 149	−2.214	0.028
身长 ($\bar{x} \pm s$, cm)	35 ± 4	34 ± 3	−2.648	0.009
头围 ($\bar{x} \pm s$, cm)	24.8 ± 1.3	24.3 ± 1.5	−2.457	0.015
1 min Apgar 评分≤7 分 [n(%)]	22(25)	34(50)	10.419	0.001
pH ($\bar{x} \pm s$)	7.41 ± 0.12	7.36 ± 0.10	2.771	0.006
PaO_2 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)	57 ± 9	45 ± 6	9.149	<0.001
$PaCO_2$ ($\bar{x} \pm s$, mmHg)	48 ± 7	55 ± 6	6.513	<0.001
治疗情况				
出生 2 周仍需机械通气 [n(%)]	7(8)	22(32)	15.088	<0.001
机械通气时间 [M(P_{25}, P_{75}), d]	1.36(0, 5.15)	5.38(0, 9.62)	3.029	<0.001
CPAP 时间 [M(P_{25}, P_{75}), d]	8.40(4.39, 14.53)	8.61(4.80, 14.72)	0.281	0.510
总氧疗时间 [M(P_{25}, P_{75}), d]	38.95(34.12, 50.15)	53.91(44.50, 63.58)	2.194	0.037
住院时间 [M(P_{25}, P_{75}), d]	48(42, 57)	62(51, 73)	0.411	0.492
使用糖皮质激素 [n(%)]	66(75)	57(84)	1.791	0.181
使用促红细胞生成素 [n(%)]	55(62)	37(54)	1.037	0.308
吸氧浓度 ($\bar{x} \pm s$, %)	30.2 ± 3.9	34.3 ± 2.4	7.562	<0.001
抗生素使用时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	10.4 ± 2.2	15.1 ± 2.5	12.679	<0.001
使用枸橼酸咖啡因 [n(%)]	62(70)	58(85)	4.759	0.029
母亲情况				
年龄>35 岁 [n(%)]	30(34)	28(41)	0.825	0.364

表 1（续）

围生期高危因素	轻度组 (n=88)	中重度组 (n=68)	$\chi^2/t/Z$值	P值
孕前体重指数≥25 kg/m^2 [n(%)]	15(17)	19(28)	2.672	0.102
剖宫产 [n(%)]	40(45)	21(31)	3.421	0.064
宫内窘迫 [n(%)]	13(15)	18(26)	3.297	0.069
产前应用激素 [n(%)]	70(80)	56(82)	0.195	0.659
胎膜早破 [n(%)]	35(40)	25(37)	0.147	0.702
胎盘异常 [n(%)]	10(11)	6(9)	0.269	0.604
妊娠糖尿病 [n(%)]	13(15)	14(21)	0.906	0.341
妊娠高血压 [n(%)]	19(22)	17(25)	0.251	0.616
先兆早产 [n(%)]	23(26)	28(41)	3.943	0.047
重度子痫前期 [n(%)]	22(25)	28(41)	4.609	0.032

注：［PaO_2］动脉血氧分压；［$PaCO_2$］动脉血二氧化碳分压；［CPAP］持续气道正压通气。

2.2 BPD 早产儿血清 miR-15b、VEGF 动态变化

miR-15b 和 VEGF 数据均符合球形假设（miR-15b：χ^2=6.342，df=5，P=0.273；VEGF：χ^2=8.216，df=5，P=0.145）。

重复测量方差分析显示，两组 miR-15b 和 VEGF 均存在组间差异、时间差异（P<0.05），且时间与组间均有交叉效应（P<0.05）。进一步行两因素的简单效应分析显示，出生第 1 天时，两组间血清 miR-15b 和 VEGF 水平差异无统计学意义（P>0.05）。第 7~28 天，与轻度组相比，中重度组的 miR-15b 水平明显升高，而 VEGF 水平明显降低（P<0.05）。轻度组的 miR-15b 水平随时间逐渐下降，VEGF 水平上升；相反，中重度组的 miR-15b 水平随时间逐渐上升，VEGF 水平下降；事后两两比较显示，差异具有统计学意义（P<0.05）。见表 2、图 1。

表 2　不同严重程度 BPD 早产儿血清 miR-15b、VEGF 动态变化

项目	轻度组 (n=88)	中重度组 (n=68)	F值	P值
miR-15b ($\bar{x} \pm s$, $2^{-\Delta\Delta Ct}$)				
第 1 天	2.0 ± 0.5	1.9 ± 0.2	1.620	0.114
第 7 天	1.6 ± 0.5^{a}	2.1 ± 0.5^{a,}	7.933	<0.001
第 14 天	1.0 ± 0.4^{a,b}	2.8 ± 0.6^{a,b}	13.297	<0.001
第 28 天	0.8 ± 0.2^{a,b,c}	3.6 ± 0.7^{a,b,c}	25.915	<0.001
F值	220.316	52.972		
P值	<0.001	<0.001		
VEGF ($\bar{x} \pm s$, ng/L)				
第 1 天	255 ± 28	249 ± 30	1.294	0.157
第 7 天	317 ± 26^{a}	204 ± 20^{a}	−28.341	<0.001
第 14 天	329 ± 27^{a,b}	187 ± 19^{a,b}	−41.209	<0.001
第 28 天	334 ± 33^{a,b,c}	160 ± 17^{a,b,c}	−46.337	<0.001
F值	162.305	88.016		
P值	<0.001	<0.001		

注：重复测量方差分析显示，miR-15b 的时间效应（F=20.171，P<0.001）、组间效应（F=8.415，P=0.007）及时间 × 组别交互效应（F=5.108，P=0.020）均具有统计学意义；VEGF 的时间效应（F=15.426，P<0.001）、组间效应（F=15.027，P<0.001）及时间 × 组别交互效应（F=10.673，P=0.004）具有统计学意义。a 示与同组出生后第 1 天比较，P<0.05；b 示与同组出生后第 7 天比较，P<0.05；c 示与同组出生后第 14 天比较，P<0.05。表中数据为完整队列（n=156）的检测结果，所有患儿均完成第 1、7、14、28 天的样本采集与检测。［miR-15b］微小核糖核酸；［VEGF］血管内皮生长因子。

2.3 BPD 早产儿近期神经系统发育不良的临床因素分析

在不同严重程度 BPD 早产儿中，DST 异常组的 1 min Apgar 评分≤7 分比例、动脉血二氧化碳分压水平、机械通气时间、总氧疗时间、吸氧浓度、抗生素使用时间、使用枸橼酸咖啡因比例均明显高于 DST 正常组。此外，中重度组中，DST 异常组的 PaO_2 水平明显低于 DST 正常组，出生 2 周仍需机械通气比例、先兆早产比例明显高于 DST 正常组（P<0.05）；轻度组中，DST 异常组的重度子痫前期比例明显高于 DST 正常组（P<0.05）。见表 3。

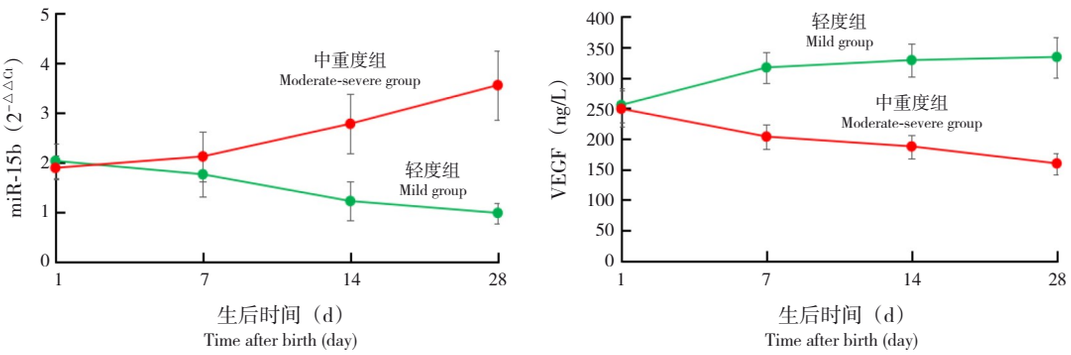


图 1　不同严重程度 BPD 早产儿血清 miR-15b（左图）、VEGF（右图）变化折线图　［miR-15b］微小核糖核酸-15b；［VEGF］血管内皮生长因子。

表 3　BPD 早产儿近期神经系统发育不良的临床因素分析

围生期因素	轻度组 (n=88)				中重度组 (n=68)			
	DST 正常组 (n=52)	DST 异常组 (n=36)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值	DST 正常组 (n=26)	DST 异常组 (n=42)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别 [n(%)]								
男性	33(63)	23(64)	0.002	0.967	17(65)	30(71)	0.275	0.600
女性	19(37)	13(36)			9(35)	12(29)		
胎龄 ($\bar{x} \pm s$, 周)	29.6 ± 3.0	28.9 ± 2.9	−1.091	0.278	29.1 ± 3.0	27.9 ± 2.8	−1.671	0.099
小于胎龄儿 [n(%)]	7(13)	5(14)	0.003	0.954	10(38)	8(19)	3.110	0.078
出生体重 ($\bar{x} \pm s$, g)	1 366 ± 305	1 281 ± 184	−1.489	0.140	1 273 ± 152	1 237 ± 138	−1.116	0.268
身长 ($\bar{x} \pm s$, cm)	36.8 ± 3.8	35.3 ± 3.6	−1.925	0.058	34.6 ± 2.6	33.6 ± 2.2	−1.735	0.087
头围 ($\bar{x} \pm s$, cm)	24.9 ± 1.5	24.6 ± 1.1	−1.053	0.295	24.3 ± 1.6	24.1 ± 1.4	−0.618	0.538
1 min Apgar 评分≤7 分 [n(%)]	9(17)	13(36)	4.011	0.045	6(23)	28(67)	12.205	0.001
pH ($\bar{x} \pm s$)	7.43 ± 0.14	7.38 ± 0.11	−1.793	0.076	7.39 ± 0.11	7.35 ± 0.09	−21.635	0.107
PaO_2 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)	59 ± 9	55 ± 9	−1.655	0.101	47 ± 7	43 ± 6	−2.292	0.025
$PaCO_2$ ($\bar{x} \pm s$, mmHg)	47 ± 7	51 ± 8	2.344	0.021	53 ± 6	58 ± 6	2.922	0.005
治疗情况								
出生 2 周仍需机械通气 [n(%)]	2(4)	5(14)	2.930	0.087	3(12)	19(45)	8.333	0.004
机械通气时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	1.3(0, 4.6)	2.1(1.0, 5.1)	2.167	0.002	5.2(0, 8.8)	6.2(2.5, 9.6)	3.175	<0.001
CPAP 时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	8.2(4.2, 13.2)	8.5(4.6, 14.6)	0.348	0.371	8.5(4.6, 14.2)	8.79(4.9, 14.9)	0.422	0.216
总氧疗时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	38(34, 48)	39(36, 52)	3.162	0.109	52(41, 60)	55(47, 67)	3.016	0.025
住院时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	45(40, 55)	49(43, 61)	0.349	0.501	60(49, 71)	63(55, 74)	0.520	0.219
使用糖皮质激素 [n(%)]	37(71)	29(81)	1.003	0.317	20(77)	37(88)	1.478	0.224
使用促红细胞生成素 [n(%)]	34(65)	21(58)	0.451	0.502	14(54)	23(55)	0.005	0.941
吸氧浓度 ($\bar{x} \pm s$, %)	30.1 ± 3.8	32.1 ± 3.9	2.321	0.023	33.9 ± 2.2	35.2 ± 2.6	2.466	0.016
抗生素使用时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	10.4 ± 2.0	12.2 ± 2.5	3.800	<0.001	14.8 ± 2.4	17.7 ± 2.6	4.664	<0.001
使用枸橼酸咖啡因 [n(%)]	27(52)	35(97)	20.970	<0.001	18(69)	40(95)	8.660	0.003
母亲情况								
年龄>35 岁 [n(%)]	15(29)	15(42)	1.556	0.212	11(42)	17(40)	0.022	0.881
孕前体重指数≥25 kg/m^2 [n(%)]	6(12)	9(25)	2.726	0.099	6(23)	13(31)	0.495	0.482
剖宫产 [n(%)]	24(46)	16(44)	1.013	0.314	10(38)	11(26)	1.133	0.287
宫内窘迫 [n(%)]	5(10)	8(22)	2.685	0.101	5(19)	13(31)	1.134	0.287
产前应用激素 [n(%)]	40(77)	30(83)	0.537	0.464	20(77)	36(86)	0.854	0.355

表3（续）

围生期因素	轻度组 (*n*=88)				中重度组 (*n*=68)			
	DST正常组 (*n*=52)	DST异常组 (*n*=36)	$\chi^2/t/Z$值	*P*值	DST正常组 (*n*=26)	DST异常组 (*n*=42)	$\chi^2/t/Z$值	*P*值
胎膜早破 [*n*(%)]	20(38)	15(42)	0.091	0.763	9(35)	14(33)	0.012	0.914
胎盘异常 [*n*(%)]	7(13)	3(8)	0.555	0.456	4(15)	2(5)	2.252	0.133
妊娠糖尿病 [*n*(%)]	8(15)	5(14)	0.038	0.846	4(15)	10(24)	0.697	0.404
妊娠高血压 [*n*(%)]	11(21)	8(22)	0.014	0.905	6(23)	11(26)	0.083	0.773
先兆早产 [*n*(%)]	10(19)	13(36)	3.140	0.076	5(19)	23(55)	8.370	0.004
重度子痫前期 [*n*(%)]	8(15)	14(39)	6.268	0.012	11(42)	17(40)	0.022	0.881

注：［DST］神经发育评估；［PaO_2］动脉血氧分压；［$PaCO_2$］动脉血二氧化碳分压；［CPAP］持续气道正压通气。

2.4 不同严重程度BPD早产儿血清miR-15b、VEGF与近期神经系统发育不良的关系分析

分别以不同严重程度BPD早产儿出生后第1~28天的miR-15b、VEGF水平为自变量，以近期神经系统发育情况（DST正常=0，DST异常=1）为因变量，并选择轻度组为参考组，进行logistic回归分析，模型1为调整1 min Apgar评分≤7分比例、$PaCO_2$水平、机械通气时间、总氧疗时间、吸氧浓度、抗生素使用时间；模型2在模型1的基础上调整使用枸橼酸咖啡因比例、动脉血氧分压水平及出生2周仍需机械通气、先兆早产、重度子痫前期比例等指标。结果显示，在未校正模型及逐步校正混杂因素后的模型1和模型2中，从第7天开始，与轻度组相比，其*OR*值逐渐降低，提示VEGF水平越低，DST异常的风险越高（*P*<0.001）。相反，miR-15b水平在第7天后，中重度组的*OR*值逐渐增加，提示miR-15b水平越高，DST异常的风险越高（*P*<0.001）。见表4。

表4 中重度BPD早产儿血清miR-15b、VEGF与近期神经系统发育不良的关系

时间点	未校正模型		未校正模型		未校正模型	
	OR(95%*CI*)	*P*值	模型1	*P*值	模型2	*P*值
VEGF						
第1天	0.91(0.55~1.49)	0.715	0.88(0.53~1.45)	0.632	0.87(0.52~1.44)	0.598
第7天	0.40(0.25~0.64)	<0.001	0.38(0.23~0.62)	<0.001	0.37(0.22~0.61)	<0.001
第14天	0.27(0.12~0.34)	<0.001	0.19(0.11~0.33)	<0.001	0.18(0.10~0.32)	<0.001
第28天	0.10(0.06~0.17)	<0.001	0.09(0.05~0.16)	<0.001	0.08(0.05~0.15)	<0.001
miR-15b						
第1天	1.20(0.82~1.54)	0.342	1.18(0.88~1.57)	0.276	1.17(0.87~1.54)	0.247
第7天	2.35(1.52~2.68)	<0.001	1.95(1.45~2.60)	<0.001	1.93(1.43~2.58)	<0.001
第14天	2.61(2.30~3.90)	<0.001	2.90(2.27~3.84)	<0.001	2.85(2.15~3.64)	<0.001
第28天	4.04(3.10~5.10)	<0.001	3.88(3.02~5.61)	<0.001	3.71(2.95~4.95)	<0.001

注：模型1示调整1 min Apgar评分≤7分比例、$PaCO_2$水平、机械通气时间、总氧疗时间、吸氧浓度、抗生素使用时间；模型2示在模型1的基础上调整使用枸橼酸咖啡因比例、PaO_2水平及出生2周仍需机械通气、先兆早产、重度子痫前期的比例等指标。［miR-15b］微小核糖核酸-15b；［VEGF］血管内皮生长因子。

2.5 生物信息学预测

预测软件Target Scan Human 7.1预测miR-15b的靶基因，结果显示，miR-15b在VEGF 3'UTR 276-283bp间有1个保守结合位点，见图3。提示miR-15b通过直接结合VEGF的3'UTR调控其表达。

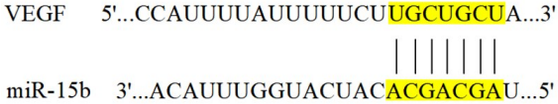


图3 Target Scan Human 7.1预测靶点结果

［miR-15b］微小核糖核酸-15b；［VEGF］血管内皮生长因子。

2.6 VEGF 对 miR-15b 和近期神经系统发育之间关系的中介作用模型的回归分析

分别统计早产儿出生后第 1~28 天的 VEGF、miR-15b 整体平均水平，并使用逐步回归法和 Bootstrap 法检验分析 VEGF 在 miR-15b 和近期神经系统发育之间的中介效应。模型 1 分析 miR-15b 与近期神经系统发育的关系，结果显示，调整混杂因素前后，miR-15b 对近期神经系统发育均有明显负向影响（未调整：β=−1.253，t=−4.391，P<0.001；调整后：β=−1.230，t=−4.231，P<0.001），表明 miR-15b 直接抑制近期神经系统发育。模型 2 分析 miR-15b 与 VEGF 之间的关系，结果显示，调整混杂因素前后，miR-15b 对 VEGF 有显著的负向影响（未调整：β=−5.556，t=−4.763，P<0.001；调整后：β=−5.452，t=−4.633，P<0.001），即 miR-15b 抑制 VEGF 表达；模型 3 同时考虑 miR-15b 和 VEGF 时发现，VEGF 对近期神经系统发育有显著正向影响（未调整：β=0.131，t=6.269，P<0.001；调整后：β=0.131，t=5.810，P<0.001），而 miR-15b 的直接影响减弱（未调整：β=−0.497，t=−1.945，P>0.05；调整后：β=−0.592，t=−1.984，P>0.05）。见表 5。

进一步使用 Bootstrap 法（重复抽样 5 000 次）分析 VEGF 的中介效应，结果显示 miR-15b 通过抑制 VEGF 表达间接影响近期神经系统发育，间接效应值为−0.705（95%*CI*：−1.178~−0.372），表明这种间接路径具有统计学意义（P<0.05）。miR-15b 对近期神经系统发育的总效应为−1.297（P<0.001），其中间接效应比例约为 54.36%，说明 miR-15b 主要通过调节 VEGF 水平来影响早产儿的近期神经系统发育。

表 5 VEGF 对 miR-15b 和近期神经系统发育之间关系的中介效应分析

预测变量	模型 1 [β(t)]	模型 2 [β(t)]	模型 3 [β(t)]	间接效应及 95%*CI* [β(95%*CI*)]	总效应及 95%*CI* [β(95%*CI*)]	间接效应占总效应比例 (%)
未调整						
miR-15b	−1.253(−4.391)***	−5.556(−4.763)***	−0.497(−1.945)	−0.712 (−1.185~−0.369)	−1.209 (−1.654~−0.764)	58.89
VEGF			0.131(6.269)***			
R^2	0.267	0.185	0.403			
F	17.207***	21.640***	30.242***			
调整后#						
miR-15b	−1.230(−4.231)***	−5.452(−4.633)***	−0.592(−1.984)	−0.705 (−1.178~−0.372)	−1.297 (−1.750~−0.844)	54.36
VEGF			0.131(5.810)***			
R^2	0.279	0.317	0.403			
F	4.945**	6.333**	11.152***			

注：模型 1 示 miR-15b 预测近期神经系统发育；模型 2 示 miR-15b 预测 VEGF；模型 3 示 miR-15b 和 VEGF 共同预测近期神经系统发育；间接效应值及其置信区间（95%*CI*）提供了 miR-15b 通过 VEGF 对近期神经系统发育的影响大小和统计可靠性；总效应值及其置信区间（95%*CI*）综合了直接效应和间接效应的影响；间接效应占总效应比例反映 miR-15b 通过 VEGF 路径对近期神经系统发育影响的重要性；#示调整 1 min Apgar 评分≤7 分比例、$PaCO_2$ 水平、机械通气时间、总氧疗时间、吸氧浓度、抗生素使用时间、使用枸橼酸咖啡因比例、PaO_2 水平及出生 2 周仍需机械通气、先兆早产、重度子痫前期的比例等指标；**P<0.05，***P<0.001；β 示非标准化效应值。［miR-15b］微小核糖核酸-15b；［VEGF］血管内皮生长因子。

3 讨论

随着 NICU 中保护性肺通气策略的广泛应用及新型治疗手段的实施，新型 BPD 发病率呈上升趋势，其病理特征是肺泡及肺血管系统的发育受阻。本研究选择胎龄 28~32 周早产儿，原因是该胎龄段早产儿处于肺发育和神经系统发育的关键时期，且对生理病理因素敏感，BPD 发生风险较高，有助于深入研究血清 miR-15b、VEGF 在 BPD 进程及其与近期神经系统发育的关系。VEGF 为重要的促血管生成因子，在肺内主要由肺泡Ⅱ型上皮细胞于肺发育的肺泡期分泌，该时期分泌量相对少，影响肺泡发育。研究表明，孕妇出现绒毛膜羊膜炎、子痫前期等产前应激状况时，羊水及血液中 VEGF 拮抗剂水平上升，早产儿 BPD 风险增加，提示 VEGF 参与 BPD 的发生[8]。越来越多的研究发现新型 BPD 发病机制中 miRNA 网络的复杂性，其中 miR-15b 在新型 BPD 的病理生理过程中起到一定作

用。Xing等[9]选取出生后12 h内的Wistar幼鼠，分为BPD组（暴露于高浓度氧60%~80%）和对照组（正常空气中）；与对照组相比，BPD组中有19种miRNA，其中miR-15b明显上调。Sahni等[10]采用高通量测序技术检测高氧诱导BPD小鼠模型中的非编码RNA，发现miR-15b表达上调。本研究发现，从BPD患儿出生第1天至第28天，轻度BPD早产儿血清VEGF水平呈明显上升趋势，而miR-15b则逐渐下降；而中重度BPD早产儿则相反。以上结果提示，不同严重程度BPD患儿血清VEGF及miR-15b的动态变化不同。在轻度BPD中，较低的miR-15b水平减弱了对VEGF表达的抑制作用，促进VEGF介导的修复过程，这可能是机体应对轻微损伤的自我保护机制。中重度BPD因肺部损伤重、炎症强，导致释放大量细胞因子，干扰VEGF的合成并加速其降解，且激活一些信号通路上调miR-15b，形成恶性循环，加重肺损伤。本研究通过预测软件Target Scan Human 7.1预测miR-15b的靶基因发现，miR-15b在VEGF 3'UTR 276-283bp间有1个保守结合位点，提示miR-15b可通过直接结合VEGF的3`UTR调控其表达，但缺乏具体的功能实验验证。已有研究表明，miR-15b可直接结合VEGF mRNA的3`UTR区域，抑制其翻译或促进mRNA降解，从而降低VEGF蛋白水平[11]。

在BPD早产儿中，神经胶质细胞的分化及髓鞘化过程对外部因素高度敏感，长期氧疗可能导致神经行为发育迟缓乃至脑瘫等严重后遗症。VEGF作为神经发育的关键因子，可促进血管生成、神经细胞增殖、迁移及突触形成。有研究报道，miR-15b在阿尔茨海默病、帕金森病等神经系统疾病中表现出显著的调控作用[12]。也有研究报道，miR-15b能负向调控VEGF的表达，影响神经胶质细胞的增殖、分化和髓鞘化[13]。在BPD早产儿中，长期氧疗引发的氧化应激和炎症反应会打破miR-15b与VEGF的平衡，影响神经系统正常发育。有研究发现，BPD早产儿血清中miR-15b和VEGF水平异常变化与神经行为发育迟缓、认知功能障碍及脑性瘫痪等神经后遗症显著相关[14]。本研究发现，两者是近期神经系统发育的独立预测因子。有研究采用体外实验模型（人胚肺成纤维细胞）[15]及动物模型（BPD大鼠）[16]发现，高氧条件下miR-15b水平上升，抑制VEGF生成。本研究进一步揭示了miR-15b通过VEGF间接影响早产儿近期神经系统发育的机制。结果显示，miR-15b不仅直接抑制近期神经系统发育（调整后：β=−0.592，t=−1.984，P>0.05），尽管其直接影响有所减弱且不再具有统计显著性；还通过抑制VEGF的表达间接影响该过程［间接效应值为−0.705（95%*CI*：−1.178~−0.372）］。miR-15b对近期神经系统发育的总效应为−1.297（95%*CI*：−1.750~−0.844，P<0.001），其中间接效应比例约为54.36%，这表明miR-15b主要通过调节VEGF水平来影响早产儿的近期神经系统发育。这与Yang等[17]的研究结果一致。这提示VEGF在神经发育过程中扮演着关键角色，参与神经元迁移、分化和血管生成等过程。miR-15b通过抑制VEGF的表达，干扰这些过程，从而影响早期神经系统的正常发育。此外，该结果也为临床探索miR-15b和VEGF作为早产儿神经保护治疗的潜在靶点提供了理论依据。

在临床应用价值方面，本研究中血清miR-15b、VEGF水平均是DST的重要影响因素，存在独立相关性，趋势性检验存在统计学意义（P<0.001），提示二者在评估BPD早产儿近期神经系统发育方面具有潜在价值。在临床可操作性上，血清miR-15b和VEGF检测可在早产儿出生后的特定时间点（如第1、7、14、28天）进行常规采血检测，检测方法相对成熟，具有一定的可操作性。其可能的临床应用场景包括：在轻度BPD早产儿中，若发现miR-15b表达下降而VEGF表达上升，可早期提示患儿神经系统发育可能处于较好状态，但仍需密切监测，以便及时发现潜在问题并进行干预；而对于中重度BPD早产儿，若miR-15b持续升高、VEGF持续降低，可能预示更高的神经系统发育不良风险，此时可考虑采取更积极的干预措施，如神经保护治疗或加强神经系统发育监测等，从而为改善BPD早产儿的神经系统预后提供依据。

综上所述，BPD早产儿中，轻度与中重度患儿血清miR-15b、VEGF的变化趋势不同；miR-15b通过抑制VEGF表达间接影响近期神经系统的发育；miR-15b和VEGF在不同严重程度的BPD早产儿中具有不同的临床价值，特别是在轻度BPD中，miR-15b表达下降而VEGF表达上升，对DST的早期诊断和干预具有重要意义。本研究存在一定不足：（1）本研究为单中心研究，数据来源集中于一个特定的医疗单位，可能存在地域或机构特有的临床实践模式偏差；（2）本研究样本量有限，特别是中重度BPD患儿数量较少，可能限制了统计效力，导致某些潜在关联未能充分显现；

（3）仅关注了短期内的神经系统发育评估，对于长期神经发育的影响尚不清楚；（4）未纳入非BPD早产儿作为对照组，无法明确这些生物标志物是否特异性地反映BPD病理过程；（5）未使用萤光素酶报告基因实验验证miR-15b与VEGF 3`UTR的结合能力，以及通过敲低或过表达miR-15b来观察VEGF表达的变化。未来本课题组将扩大样本量，涵盖更多中重度BPD患儿；通过多中心合作收集更广泛的数据，减少偏倚；进行长期跟踪随访；并纳入非BPD早产儿作为对照组，确保研究结论的可靠性和推广性；进行萤光素酶报告实验对VEGF和miR-15b进行验证。

作者贡献声明：陈前、张沛佩负责数据分析、论文撰写；芦庆花、万振霞负责数据收集、整理和分析；陈前、黄磊负责文章的构思、设计与修改。

利益冲突声明：所有作者均声明无利益冲突。

［参　考　文　献］

[1] Gibbs K, Jensen EA, Alexiou S, et al. Ventilation strategies in severe bronchopulmonary dysplasia[J]. Neoreviews, 2020, 21 (4): e226-e237. PMID: 32238485. DOI: 10.1542/neo.21-4-e226.

[2] Gan S, Mao J, Pan Y, et al. hsa-miR-15b-5p regulates the proliferation and apoptosis of human vascular smooth muscle cells by targeting the ACSS2/PTGS2 axis[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(5): 1208. PMID: 34584553. PMCID: PMC8422401. DOI: 10.3892/etm.2021.10642.

[3] Zhu Y, Hou H, Li Y, et al. Hyperoxia exposure induces ferroptosis and apoptosis by downregulating PLAGL2 and repressing HIF-1α/VEGF signaling pathway in newborn alveolar typeII epithelial cell[J]. Redox Rep, 2024, 29(1): 2387465. PMID: 39102510. PMCID: PMC11302460. DOI: 10.1080/13510002.2024.2387465.

[4] Mariduena J, Ramagopal M, Hiatt M, et al. Vascular endothelial growth factor levels and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2022, 35(8): 1517-1522. PMID: 32366142. DOI: 10.1080/14767058.2020.1760826.

[5] Zhang L, Wang P, Shen Y, et al. Mechanism of lncRNA H19 in regulating pulmonary injury in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia newborn mice[J]. Am J Perinatol, 2022, 39(10): 1089-1096. PMID: 33285606. DOI: 10.1055/s-0040-1721498.

[6] Miller AN, Shepherd EG, El-Ferzli G, et al. Multidisciplinary bronchopulmonary dysplasia care[J]. Expert Rev Respir Med, 2023, 17(11): 989-1002. PMID: 37982177. DOI: 10.1080/17476348.2023.2283120.

[7] Stieren ES, Sankaran D, Lakshminrusimha S, et al. Comorbidities and late outcomes in neonatal pulmonary hypertension[J]. Clin Perinatol, 2024, 51(1): 271-289. PMID: 38325946. PMCID: PMC10850767. DOI: 10.1016/j.clp.2023.10.002.

[8] Jensen EA, Watterberg KL. Postnatal corticosteroids to prevent bronchopulmonary dysplasia[J]. Neoreviews, 2023, 24(11): e691-e703. PMID: 37907402. DOI: 10.1542/neo.24-11-e691.

[9] Xing Y, Fu J, Yang H, et al. MicroRNA expression profiles and target prediction in neonatal Wistar rat lungs during the development of bronchopulmonary dysplasia[J]. Int J Mol Med, 2015, 36(5): 1253-1263. PMID: 26398774. PMCID: PMC4601749. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2347.

[10] Sahni M, Bhandari V. Patho-mechanisms of the origins of bronchopulmonary dysplasia[J]. Mol Cell Pediatr, 2021, 8(1): 21. PMID: 34894313. PMCID: PMC8665964. DOI: 10.1186/s40348-021-00129-5.

[11] Gentle SJ, Travers CP, Clark M, et al. Patent ductus arteriosus and development of bronchopulmonary dysplasia-associated pulmonary hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2023, 207(7): 921-928. PMID: 36378949. PMCID: PMC10111998. DOI: 10.1164/rccm.202203-0570OC.

[12] Bai Y, Gong X, Dong R, et al. Long non-coding RNA HCAR promotes endochondral bone repair by upregulating VEGF and MMP13 in hypertrophic chondrocyte through sponging miR-15b-5p[J]. Genes Dis, 2022, 9(2): 456-465. PMID: 35224160. PMCID: PMC8843884. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.07.013.

[13] Wang F, Zhang M. Circ_001209 aggravates diabetic retinal vascular dysfunction through regulating miR-15b-5p/COL12A1 [J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 294. PMID: 34233716. PMCID: PMC8265106. DOI: 10.1186/s12967-021-02949-5.

[14] Zhao T, Jin Q, Kong L, et al. microRNA-15b-5p shuttled by mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles protects podocytes from diabetic nephropathy via downregulation of VEGF/PDK4 axis[J]. J Bioenerg Biomembr, 2022, 54(1): 17-30. PMID: 34806156. DOI: 10.1007/s10863-021-09919-y.

[15] Perrone S, Manti S, Buttarelli L, et al. Vascular endothelial growth factor as molecular target for bronchopulmonary dysplasia prevention in very low birth weight infants[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 2729. PMID: 36769049. PMCID: PMC9916882. DOI: 10.3390/ijms24032729.

[16] Bhagavatheeswaran S, Ramachandran V, Shanmugam S, et al. Isopimpinellin extends antiangiogenic effect through overexpression of miR-15b-5p and downregulating angiogenic stimulators[J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(1): 279-291. PMID: 34709570. DOI: 10.1007/s11033-021-06870-4.

[17] Yang Y, Liu Y, Li Y, et al. MicroRNA-15b targets VEGF and inhibits angiogenesis in proliferative diabetic retinopathy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(11): 3404-3415. PMID: 32797181. PMCID: PMC7947967. DOI: 10.1210/clinem/dgaa538.

（本文编辑：张辉）

（版权所有©2025 中国当代儿科杂志）