

• 论 著 •

血清 miR-216a 水平与急性胰腺炎严重程度的相关性研究

王剑彬¹, 吴彩月², 王丽斯³, 吴恺明^{4△}

(1. 广州医科大学附属乐从医院消化科, 广东佛山 528315; 2. 佛山市顺德区乐从社区卫生服务中心, 广东佛山 528315; 3. 广州医科大学附属乐从医院检验科, 广东佛山 528315; 4. 中山大学附属第一医院胃肠外科中心, 广东广州 510080)

摘要:目的 探讨血清 miR-216a 水平与急性胰腺炎(AP)严重程度的相关性。方法 选择广州医科大学附属乐从医院 2015 年 6 月至 2016 年 6 月收治的轻型急性胰腺炎(MAP 组)17 例, 重型急性胰腺炎(SAP 组)23 例和经检查无异常的健康成人(对照组)30 例, 采集血液标本检测淀粉酶活性(AMYA)和血清 miR-216a 的表达水平, 采用 Ranson 评分、急性生理学及慢性健康状况评分系统(APACHE II)和改良的 CT 严重(MCTSI)指数来评价 AP 的严重程度, 分析上述指标与血清 miR-216a 表达水平的相关性。结果 急性期 MAP 组与 SAP 组患者血液淀粉酶活性均高于本组恢复期及对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且急性期 SAP 组高于 MAP 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 急性期 MAP 组和 SAP 组血清 miR-216a 均显著高于该组恢复期及对照组, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$), 且 SAP 组高于 MAP 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); miRNA-216a 表达水平与 Ranson 评分、APACHE II 评分和 MCTSI 指数呈正相关($r = 0.667, P < 0.05; r = 0.396, P < 0.05; r = 0.648, P < 0.05$)。结论 急性胰腺炎患者血清 miR-216a 表达水平显著高于健康者, 表达水平与急性胰腺炎的严重程度呈正相关, 对于 SAP 的诊断具有重要意义。

关键词:血清; 急性胰腺炎; miR-216a; 相关性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)23-3228-03

Study of correlation between serum miR-216a level and severity of acute pancreatitis

WANG Jianbin¹, WU Caiyue², WANG Lisi³, WU Kaiming^{4△}

(1. Gastroenterology Department, Lecong Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Foshan, Guangdong 528315, China; 2. Lecong Community Health Service Center of Shunde District, Foshan, Guangdong 528315, China; 3. Clinical Laboratory, Lecong Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Foshan Guangdong 528315, China; 4. Gastrointestinal Surgery Center, The First Affiliated Hospital of Zhongshan University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

Abstract: **Objective** To explore the correlation between serum miRNA-216a level and severity of acute pancreatitis (AP). **Methods** 17 cases of mild acute pancreatitis (MAP group), 23 cases of severe acute pancreatitis (SAP group) and 30 cases of healthy subjective (control group) were selected in our hospital from June 2015 to June 2016. Blood amylase activity and serum miRNA-216a were detected, Ranson value, APACHE II value and modified CT severity index (MCTSI) were used to evaluate the severity of AP, analyze the correlation between miR-216a level and other indexes. **Results** The serum amylase activity of MAP group and SAP group in acute stage were higher than those in convalescence in these groups and the control group ($P < 0.05$), and the serum amylase activity in the acute phase SAP group was higher than that in the MAP group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The relative expressions of serum miR-216a in MAP group and SAP group in acute stage were significantly higher than those in convalescence in these groups and the control group ($P < 0.05$), and the relative expressions of serum miR-216a in SAP group was higher than that in the MAP group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The miR-216a expression was positively correlated with Ranson score, APACHE score and MCTSI score ($r = 0.667, P < 0.05; r = 0.396, P < 0.05$, and $r = 0.648, P < 0.05$). **Conclusion** The expression level of serum miR-216a of patients with AP was significantly higher than that of healthy people, and the expression level of serum miR-216a was positively correlated with the severity of AP, which was useful for the diagnosis and prognosis of SAP.

Key words: serum; acute pancreatitis; miR-216a; correlation

急性胰腺炎(AP)是内科常见的急腹症,是由多种病因引起的以胰酶异常分泌、胰腺局部炎性反应为特征的疾病^[1],过多的胰酶和炎症介质激发全身炎性反应,并可能导致全身器官功能改变。流行病学调查显示美国每年约有 30 万 AP 患者,每年因此产生的医疗费用高达 22 亿美元,平均每例患者的费用接近 1 万美元^[2],我国尚无大规模流行病学数据,但近几年的报道显示胰腺炎的发病率呈上升趋势^[3]。大多数 AP 患者

为自限性的轻型急性胰腺炎(MAP),经过治疗后预后良好,但约 20% 病例为重型急性胰腺炎(SAP),进展迅速、病情凶险,尽管医疗水平不断提高, SAP 的病死率仍高达 30%~50%^[4],且尚无特异性的治疗手段。miRNA 是非编码 RNA,过去被认为是没有功能的。miR-216a 是胰腺特异性的 miRNA,在动物模型中已经被证实与胰腺损伤密切相关^[5]。本研究检测 miR-216a 在 AP 患者血清中的表达水平,分析其与胰腺炎严重程度

的关系,以期为 AP 的早期诊断提供依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取广州医科大学附属从化医院 2015 年 6 月至 2016 年 6 月收治的 40 例 AP 患者作为观察组,其中男性 24 例,女性 16 例,年龄 20~67 岁,平均(47.5±11.2)岁。纳入标准:(1)诊断符合《中国急性胰腺炎诊治指南(2013,上海)》^[6];(2)在本院治疗,且病情好转出院;(3)本人或家属了解本研究,且自愿加入。排除标准:(1)放弃治疗、转院、死亡病例;(2)严重肝肾疾病,胰腺癌;(3)合并严重全身多器官衰竭。依据严重程度将上述患者分为 MAP 组 17 例和 SAP 组 23 例。另选本院体检中心经检查无异常的健康成人 30 例作为对照组,除常规体检项目外,还需检查血尿淀粉酶,男女各 15 例,年龄 25~65 岁,平均(46.2±10.6)岁。三组研究对象一般资料比较差异无统计学意义,具有可比性。本研究经过医院伦理委员会审查通过,所有研究对象均为自愿参加,且签署知情同意书。

1.2 诊断标准 满足以下条件 2 项或以上者即可诊断为 AP (1)与 AP 相符的腹痛(急性、突发、剧烈的上腹部疼痛);(2)血清淀粉酶和(或)脂肪酶活性增加 3 倍以上;(3)与 AP 相符的影像学改变(胰腺渗出或坏死)。满足 AP 诊断标准,无器官衰竭、局部或全身并发症,且满足下列情况之一即可诊断为 MAP:Ranson 评分<3 分,急性生理学及慢性健康状况评分系统(APACHE II)评分<8 分,改良的 CT 严重指数(MCTSI)<4 分;满足 AP 诊断标准,且满足下列情况之一即可诊断 SAP:局部并发症或脏器衰竭,Ranson 评分≥3 分,APACHE II 评分≥8 分,MCTSI≥4。

1.3 观察指标

1.3.1 血液标本检测 MAP 组和 SAP 组采集急性期(入院后 24 h 内)和恢复期(出院前 24 h 内)肘静脉血,对照组采集一次肘静脉血,获得的血液标本分成两份,一份送医院检验科测定血淀粉酶,采用日立 PUZS-300 全自动血液生化分析仪进行检测;另一份静置 2 h 后 3 000 r/min 离心 5 min 采集血清,标记后统一送广州金域检验实验室检测 miR-216a,采用 Trizol 法提取血清中的总 RNA,得到的总 RNA 经提纯并检测浓度后保存备用,RNA 采用 Bio-Rad 公司的逆转录试剂盒转录为 cDNA,反应条件为:37 ℃ 60 min,85 ℃ 5 min,4 ℃ 保存。得到的产物采用实时荧光定量 PCR(real-time PCR)检测表达水平,反应条件为:95 ℃ 预变性 10 min,95 ℃ 10 s,58 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 20 s,40 个循环,采用 2^{-△△Ct}法计算表达水平。

1.3.2 评分标准^[6] Ranson 评分表综合评估患者年龄、白细胞计数、血糖、血清乳酸脱氢酶、血尿素氮等 11 个指标,一项异常计 1 分;Ranson 评分为各项得分之和;APACHE II 评分分为四个部分,包括年龄、慢性健康评价、格拉斯哥昏迷评分和生理指标评价,年龄依据大小得分为 0~5 分,慢性健康评价依据有无器官系统功能不全和是否行急诊手术得分为 0~5 分,格拉斯哥评分依据睁眼反应、言语反应和运动反应程度评分为 3~15 分,生理指标评价依据体温、血压、心率、呼吸频率等 11 个指标综合评价,每个指标得分 0~4 分;MCTSI 评分依据胰腺病变程度,正常计 0 分,胰腺和(或)周边组织炎性病变计 2 分,积液区或脂肪坏死计 4 分,胰腺坏死面积低于 30%计 2 分,超过 30%计 4 分,胰腺外并发症(腹水、胸腔积液等)计 2 分,MCTSI 得分为上述 CT 表现得分总和。

1.4 统计学处理 所有数据均采用 SPSS17.0 进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和 *t* 检验,指标间相关性用 Pearson 相关性分析,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清淀粉酶结果 急性期 MAP 组与 SAP 组患者血液淀粉酶活性均高于本组恢复期(*t* 分别为 4.875,5.882,*P* 分别为 0.008,0.003)及对照组(*t* 分别为 3.472,3.762,*P* 分别为 0.023,0.019),比较差异有统计学意义;急性期 SAP 组高于 MAP 组,差异有统计学意义(*t*=3.331,*P*=0.028);MAP 组、SAP 组恢复期与对照组血液淀粉酶活性差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1。

2.2 血清 miR-216a 结果 急性期 MAP 组和 SAP 组血清 miR-216a 均显著高于本组恢复期(*t* 分别为 4.213,8.365,*P* 分别为 0.000,0.000)及对照组(*t* 分别为 5.135,9.447,*P* 分别为 0.000,0.000),差异均有统计学意义(*P*<0.05);SAP 组高于 MAP 组(*t*=3.582,*P*=0.011),差异有统计学意义(*P*<0.05);MAP 组与对照组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1。

表 1 三组研究对象血清淀粉酶和 miRNA-216a 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	淀粉酶活性(IU/L)	miR-216a 相对表达量
MAP 组		
急性期	210.3±130.5 ^{ab}	2.21±0.58 ^{ab}
恢复期	47.2±35.4	1.15±0.61
SAP 组		
急性期	312.7±125.8 ^{ab}	3.18±0.67 ^{abc}
恢复期	45.3±25.7	1.69±0.53 ^{abc}
对照组	43.1±21.8	1.02±0.18

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与本组恢复期比较,^b*P*<0.05;与 MAP 组比较,^c*P*<0.05。

2.3 评价指标比较 SAP 组患者 Ranson 评分、APACHE II 评分和 MCTSI 指数均明显高于 MAP 组患者,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 两组患者评分比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	Ranson(分)	APACHE II(分)	MCTSI
MAP	17	2.5±1.7	3.4±2.5	2.2±1.2
SAP	23	6.3±1.9	6.7±3.1	6.4±1.9
<i>t</i>		6.533	3.604	7.997
<i>P</i>		0.000	0.001	0.000

2.4 相关性分析 miR-216a 与 Ranson 评分、APACHE II 评分和 MCTSI 指数呈正相关(*r*=0.667,*P*<0.05;*r*=0.396,*P*<0.05;*r*=0.648,*P*<0.05),与淀粉酶无相关性(*P*>0.05)。

3 讨论

淀粉酶是胰腺产生和分泌的一种消化酶^[7],研究表明血液中淀粉酶水平与 AP 的发病时间有关,淀粉酶起病 1~2 h 后可以在血液中检测到,逐渐增加至 24 h 左右在血液中的最高浓度,约 500~3 000 U/L,维持该水平 1~3 d,其后逐渐降低,

3 d 左右恢复至正常水平。血液淀粉酶检测简单、快速、经济,过去一直是临床上诊断 AP 的常用实验室检查指标之一。然而,随着医疗水平发展,逐渐发现血液淀粉酶在慢性疾病患者血液中可异常增加,干扰了其诊断 AP 的特异性^[8],特别是酒精中毒导致的 AP,有研究显示此类患者血液中淀粉酶活性可能正常。本研究仅对急性期和恢复期患者血液中淀粉酶活性进行检测,结果显示急性期患者淀粉酶活性明显高于对照组和恢复期血液中淀粉酶活性,但是在急性期 MAP 患者和 SAP 患者淀粉酶活性并无差异,表明血液淀粉酶诊断 SAP 的价值并不高,这点与以往研究一致^[9]。

miRNA 是内源性非编码 RNA,长度为 18~25 个核苷酸,最早由 DIXIT 等^[10]在线虫身上发现,认为其可能干扰了信使 RNA 的作用,随着分子生物学技术日益发展,目前科学家已经发现 miRNA 参与了体内众多生理活动,并且在疾病的发生、发展中也发挥了重要作用。miRNA 广泛存在于组织和血液中,研究表明其循环系统中的 miRNA 包被于脂质或脂蛋白中^[11],免受 RNA 酶的分解,因而可以作为某些疾病的生物标志物,SHU 等^[12]报道了 miRNA-21 在弥漫性 B 细胞淋巴瘤患者血液中稳定表达,miR-216a 具有胰腺特异性,动物实验表明其在胰腺中的表达是其余组织中最高表达水平的数百倍,在 AP 动物模型上 12 h 内即可检测到其表达量增加^[13]。

本研究结果显示,急性期 MAP 和 SAP 患者血清中 miR-216a 较健康者均有较高表达,并且 SAP 患者 miR-216a 表达水平高于 MAP,提示其在急性期就可以诊断出 SAP 患者,具有较好的特异性。而在恢复期两组患者血清 miR-216a 表达水平均明显低于治疗前,其中 MAP 组已达到正常表达水平,而 SAP 组仍然高于 MAP 组和对照组,提示其对于预后也具有预测意义。相关性分析显示 AP 患者 miR-216a 水平与 Ranson 评分、APACHE II 评分和 MCTSI 指数均呈正相关。Ranson 评价方法是最早用于评估 AP 严重程度的评价体系^[14],与胰腺炎的病死率具有良好的相关性,具有重要的指导意义。APACHE II 评价体系由华盛顿大学医学院最早提出,1992 年在亚特兰大会议中确定其对 SAP 的诊断意义^[15],该评价不仅适用于诊断 SAP,对于判断 SAP 的后期进展,特别是感染的发生也具有十分重的意义。MCTSI 指数是随着 CT 发展和对胰腺炎的认识而发展的评价方法,因为 CT 能够直接观察到胰腺组织的病变程度,因此具有较高的诊断价值。患者血清 miR-216a 表达水平与上述指标正相关,提示其对于诊断 SAP 和评价预后具有非常重要的临床价值。

综上所述,AP 患者血清 miR-216a 表达水平显著高于健康者,其表达水平与 AP 的严重程度呈正相关,对于 SAP 的诊断具有重要意义,然而目前尚不具备在基层医院开展的条件,也不宜作为急诊常规诊疗方法。

参考文献

[1] 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 急性胰腺炎诊治指南(2014)[J/CD]. 中华普通外科学文献(电子版), 2015,53(2):86-89.

- [2] 余贤恩. 急性胰腺炎流行病学及严重性预测评估研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015,24(2):234-237.
- [3] 程吉云,黄赞松,黄培宁,等. 桂西地区 652 例急性胰腺炎病因与预后分析[J]. 西南国防医药, 2015,25(11):1167-1170.
- [4] 姚建辉,范震. 急性胰腺炎反应期 C 反应蛋白测定对病情严重程度的评估[J]. 昆明医科大学学报, 2015,36(10):107-110.
- [5] 张宏伟,罗乾坤,秦涛,等. 微小 RNA 在大鼠慢性胰腺炎与正常胰腺组织中的表达差异[J]. 中华实验外科杂志, 2014,31(10):2182-2184.
- [6] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组,中华胰腺病杂志编辑委员会. 中华消化杂志编辑委员会等. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013 年,上海)[J]. 中华消化杂志, 2013,33(4):217-222.
- [7] 孙亮,曾玉剑,罗华友,等. 急性胰腺炎胰腺白细胞、血清白细胞介素-6、腹水胰淀粉酶变化的意义[J]. 中华实验外科杂志, 2016,33(1):43-45.
- [8] 程云慧. 5 种实验室诊断指标测定在急性胰腺炎诊断中的应用及比较[J]. 黑龙江医学, 2003,27(5):338-340.
- [9] 郭梅梅,李静,贺克俭,等. 改善酒精性胰腺腺泡细胞分泌功能不足的分子靶点探讨[J]. 临床消化病杂志, 2014,26(6):349-355.
- [10] Dixit AK, Sarver AE, Yuan Z, et al. Comprehensive analysis of microRNA signature of mouse pancreatic acini: overexpression of miR-21-3p in acute pancreatitis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2016,311(5):G974-980.
- [11] 杜红梅,张玉超,李静,等. 循环 miRNA 用于乳腺癌早期诊断的 meta 分析[J]. 郑州大学学报(医学版), 2016,51(6):752-757.
- [12] Shu X, Fan C, Long B, et al. The anti-cancer effects of cisplatin on hepatic cancer are associated with modulation of miRNA-21 and miRNA-122 expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016,20(21):4459-4465.
- [13] Rouse R, Rosenzweig B, Shea K, et al. MicroRNA biomarkers of pancreatic injury in a canine model[J]. Exp Toxicol Pathol, 2017,69(1):33-43.
- [14] 刘旭,郭晓钟,李宏宇,等. 不同评分标准对急性胰腺炎严重程度评估价值的比较[J]. 现代生物医学进展, 2014,14(16):3081-3083.
- [15] 周天韵,潘婷婷,刘嘉琳,等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值在亚特兰大新分类标准下预测急性胰腺炎严重程度的价值[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2016,36(7):1023-1028.

(收稿日期:2017-07-11 修回日期:2017-09-25)