

• 论 著 •

血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者预后的相关性研究*

常凤霞¹, 蔡 薇², 巴晓丽³, 董 力¹, 马维兰¹

1. 青海省第四人民医院检验科, 青海西宁 810000; 2. 青海大学附属医院检验科, 青海西宁 810001;
3. 青海大学附属医院急诊内科, 青海西宁 810001

摘 要:目的 探讨血清微小核糖核酸 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)患者预后的关系。方法 纳入青海省第四人民医院 2016 年 7 月至 2019 年 7 月收治的 80 例 HBV-ACLF 患者行前瞻性研究。收集患者临床资料, 根据 1 年后的预后情况, 分成生存组(59 例)、死亡组(21 例)。比较两组血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平及常规肝功能指标[总胆红素(TBil)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、清蛋白(ALB)]水平。采用 Pearson 相关分析 HBV-ACLF 患者血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与肝功能指标的相关性。采用 COX 比例风险回归模型分析 HBV-ACLF 患者预后的影响因素。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 对患者预后的评估价值。结果 患者随访 1 年内的病死率为 26.25%(21/80)。死亡组中性粒细胞绝对值(NE)、TBil、AST、ALT、miR-125b-5p 表达水平明显高于生存组, 而 miR-146a-5p 表达水平低于生存组($P<0.05$)。死亡组消化道出血、肝性脑病占比分别为 42.86%、38.10%, 明显高于生存组的 10.17%、6.78%($P<0.05$)。Pearson 相关分析显示, 血清 miR-125b-5p 表达水平与 TBil、AST、ALT 呈正相关($P<0.05$), 血清 miR-146a-5p 表达水平与 TBil、AST、ALT 呈负相关($P<0.05$)。血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 单独检测预测 HBV-ACLF 患者预后的曲线下面积(AUC)分别为 0.733(95%CI 0.597~0.869)、0.741(95%CI 0.618~0.865), 二者联合检测预测预后的 AUC 为 0.845(95%CI 0.736~0.955)。COX 比例风险回归模型分析显示, 消化道出血、肝性脑病及血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 是 HBV-ACLF 患者预后的影响因素($P<0.05$)。结论 HBV-ACLF 患者血清 miR-125b-5p 上调与 miR-146a-5p 下调可增加死亡风险, 且二者与血清 TBil、AST、ALT 存在相关性, 对 HBV-ACLF 预后有一定评估价值。

关键词:乙型肝炎; 慢加急性肝衰竭; miR-125b-5p; miR-146a-5p

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.15.009 **中图法分类号:**R575.3

文章编号:1673-4130(2021)15-1831-07 **文献标志码:**A

Correlation between serum miR-125b-5p and miR-146a-5p expression levels with prognosis in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure*

CHANG Fengxia¹, CAI Wei², BA Xiaoli³, DONG Li¹, MA Weilan¹

1. Department of Clinical Laboratory, Qinghai Provincial Fourth People's Hospital, Xining, Qinghai 810000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai 810001, China; 3. Department of Emergency Internal Medicine, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai 810001, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum microribonucleic acid miR-125b-5p and miR-146a-5p expression levels with the prognosis in the patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF). **Methods** A total of 80 patients HBV-ACLF admitted to the Qinghai Provincial Fourth People's Hospital from July 2016 to July 2019 were included and conducted the prospective study. The clinical data were collected, and the patients were divided into the survival group (59 cases) and death group (21 cases) according to their one year prognosis. The serum miR-125b-5p and miR-146a-5p levels and routine liver function indicators [total bilirubin (TBil), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase

* 基金项目: 青海省卫生和计划生育委员会指导性科研课题(2015-ky-015)。

作者简介: 常凤霞, 女, 副主任技师, 主要从事临床检验诊断方面的研究。

本文引用格式: 常凤霞, 蔡薇, 巴晓丽, 等. 血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者预后的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(15): 1831-1837.

(ALT), albumin (ALB)] levels were compared between the two groups. The Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between serum miR-125b-5p and miR-146a-5p expression levels with the liver function indicators in the patients with HBV-ACLF. The factors affecting the prognosis of the patients with HBV-ACLF were analyzed by the COX proportional hazard regression model. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the evaluation value of serum miR-125b-5p and miR-146a-5p on the prognosis of the patients. **Results** The mortality rate of the patients within one year follow-up was 26.25% (21/80). The levels of neutrophils absolute value (NE), TBil, AST, ALT and miR-125b-5p in the death group were significantly higher than those in the survival group, while the miR-146a-5p level was lower than that in the survival group ($P < 0.05$). The proportions of gastrointestinal hemorrhage and hepatic encephalopathy in the death group were 42.86% and 38.10% respectively, which were significantly higher than 10.17% and 6.78% in the survival group ($P < 0.05$). The Pearson correlation analysis showed that serum miR-125b-5p expression level was positively correlated with TBil, AST and ALT ($P < 0.05$), and serum miR-146a-5p expression level was negatively correlated with TBil, AST and ALT ($P < 0.05$). The area under curve (AUC) of serum miR-125b-5p and miR-146a-5p in singly predicting the prognosis in the patients with HBV-ACLF were 0.733 (95%CI 0.597–0.869) and 0.741 (95%CI 0.618–0.865) respectively, and AUC of the both combination for predicting the prognosis was 0.845 (95%CI 0.736–0.955). The COX proportional hazard regression model showed that gastrointestinal bleeding, hepatic encephalopathy, serum miR-125b-5p and miR-146a-5p were the influencing factors of the prognosis in the patients with HBV-ACLF ($P < 0.05$). **Conclusion** The up-regulation of serum miR-125b-5p and down-regulation of serum miR-146a-5p in the patients with HBV-ACLF can increase the risk of death. The both have the correlation with serum TBil, AST and ALT, which has a certain evaluation value for the prognosis of HBV-ACLF.

Key words: HBV-related acute-on-chronic liver failure; miR-125b-5p; miR-146a-5p

慢加急性肝衰竭(ACLF)是慢性肝病的一种严重并发症,常见病因为病毒性肝炎,尤其以乙型肝炎居多,临床称之为乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)^[1]。这类患者的临床表现包括腹水、黄疸、凝血障碍等,发病机制与多种因素如代谢、病毒、宿主等有关^[2]。HBV-ACLF具有病情进展快、病情严重等特点,容易诱发出血、感染、电解质紊乱等并发症,病死率较高^[3]。既往大多通过检测肝功能、血常规等血清生物学指标评估肝损伤患者的病情,虽然以上方法具有一定价值,但干扰因素较多,如油腻食品、运动、熬夜等,可导致其缺乏特异性,且无法对预后进行预测。因此,临床还需寻求更理想的指标以进一步了解ACLF的进展机制,为预测预后提供依据。近年的研究发现,微小核糖核酸(miRNA)与肝损伤发生有关,例如 miR-125b-5p 与慢性肝炎发病密切相关,随着病情进展,血清 miR-125b-5p 表达水平呈升高趋势^[4]。另有研究提示,miR-146a-5p 可经负反馈对炎症进行抑制,能调节肝病患者的免疫功能^[5]。由此可见,miR-125b-5p、miR-146a-5p 可能均与肝损伤的进展有关,但其对预后的影响机制尚不明确。基于此,本研究通过分析血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与 HBV-ACLF 患者预后的关系,以期为临床 HBV-ACLF 的诊治提供新思路,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入青海省第四人民医院 2016 年 7 月至 2019 年 7 月收治的 80 例 HBV-ACLF 患者进行前瞻性研究。其中男 43 例,女 37 例;年龄 44~78 岁,平均(60.02±12.53)岁;并发症:消化道出血 15 例,肺部感染 12 例,腹膜炎 13 例,肝性脑病 12 例。HBV-ACLF 的诊断参考《慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)》^[6]与《肝衰竭诊治指南(2012 年版)》^[7]相关标准:既往有慢性乙型肝炎病史,短期内出现亚急性或急性肝功能失代偿症状,包括(1)乏力、消化道表现(如恶心、呕吐、腹痛、饱胀感等);(2)黄疸加深,总胆红素(TBil)每日升高超过 17.1 μmol/L 或升高超过正常范围上限 10 倍;(3)伴出血倾向;(4)有或无肝性脑病;(5)腹水。纳入标准:(1)满足上述关于 HBV-ACLF 的诊断标准;(2)入院后均行常规的肝功能、血常规以及相关实验室检查;(3)病历资料齐全。排除标准:(1)因其他肝病引起的 ACLF 者;(2)恶性肿瘤者;(3)肾、心等脏器严重受损者;(4)妊娠期女性;(5)自身免疫性肝病、酒精性/药物性肝病者;(6)高血压、糖尿病等病情控制欠佳者。本研究通过医院伦理委员会审核,所有患者均自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 检测 采集

2 mL 空腹肘静脉血,存放于-20 ℃冰箱待测。(1)提取 RNA:取 Trizol 1 mL 加入试管使细胞裂解,取氯仿 200 μ L 加入,振荡 15 s,在室温环境下反应 3 min,于 4 ℃下以 3 200 r/min 离心 15 min,吸取上层水相置于提前备好的离心管内。取异丙醇加入试管,混合充分,在室温下反应 10 min,再次在 4 ℃下以 3 200 r/min 离心 10 min,使 RNA 沉淀。弃上清液,75%乙醇对沉淀物洗涤 2 次,在室温下反应 10 min,取无 RNA 酶水加入,促进溶解,对 RNA 水平进行调整。(2)行反转录-荧光定量 PCR 测定,反应条件如下:95 ℃ 60 s;95 ℃ 15 s,60 ℃ 15 s,72 ℃ 45 s,45 个循环;95 ℃ 60 s;60 ℃ 60 s;70.0~98.5 ℃,每隔 10 s 升高 0.5 ℃,58 个循环;26 ℃ 10 s。将 U6 视作内参基因,各基因引物序列分别如下:U6 上游序列为 5'-TG-GAAAGGACGAAACACCGT-3',下游序列为 5'-ATTTGCGTGTCATCCTTGCG-3'^[8];miR-125b-5p 上游序列为 5'-ATTTGAGCTACAGCACGGTCTGA-3',下游序列为 5'-GGCTAGTGAAGTTTAC-CCCCTGC-3'^[9];miR-146a-5p 上游序列为 5'-ACTG-CAAGGAGGGGTCTTTG-3',下游序列为 5'-CAAGCCCACGATGACAGAGA-3'^[10]。用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 表示目标基因的相对表达量。待循环完毕,分析溶解曲线,检测温度控制为 70~95 ℃。

1.2.2 肝功能指标检测 另取空腹静脉血 2 mL,行离心处理,离心时间 15 min,转速 3 000 r/min,离心半径 10 cm,分离血清,存放在-20 ℃冰箱待测。经全自动生化分析仪(北京博科技术股份有限公司,BK-400)测定血清 TBil、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、清蛋白(ALB)水平。

1.2.3 其他指标检测 采用荧光定量 PCR 试剂盒(上海恒科生物科技有限公司)测定 HBV-DNA,采用血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,BC-5000)测定外周血白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、中性粒细胞绝对值(NE)。采用全自动生化分析仪(厂家、型号同上)测定血肌酐(Cr)水平,经电化学发光检测法(试剂由广州博康生物技术有限公司提供)测定凝血酶原时间(PT),从而计算凝血酶

原活动度(PTA)。PTA=[对照 PT-(对照 PT $\times$ 0.6)/患者 PT-(对照 PT $\times$ 0.6)] $\times$ 100%。

1.2.4 随访 对所有患者进行为期 1 年(从入院治疗时起至 1 年后止)的随访,随访方式为门诊复查或电话随访。

1.2.5 生存、死亡亚组的分析比较 根据患者 1 年的预后情况,分成生存组、死亡组。比较两组血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平及其他血液指标水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行分析。计量资料均通过正态性检验,以 $\bar{x}\pm s$ 描述,两组间的比较为成组 t 检验或校正 t 检验(统计量为 t)。计数资料以例数或百分率表示,两组间比较为 χ^2 检验或校正 χ^2 检验(统计量为 χ^2)。此外,采用 Pearson 相关进行相关分析。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析患者随访期间的生存情况。预后影响因素的综合分析为 COX 比例风险回归模型,采用逐步后退法进行变量的选择和剔除。预后评估价值分析为受试者工作特征(ROC)曲线。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 生存资料概况 80 例患者经 1 年跟踪随访,生存 59 例、死亡 21 例。病死率为 26.25%。以各患者的生存时间建立的 Kaplan-Meier 生存曲线,见图 1。

2.2 两组临床资料比较 死亡组 NE、TBil、AST、ALT 水平以及消化道出血、肝性脑病占比高于生存组($P<0.05$),两组性别、年龄、WBC、PLT、HBV-DNA、肺部感染占比、腹膜炎占比、ALB、Cr、PTA 比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

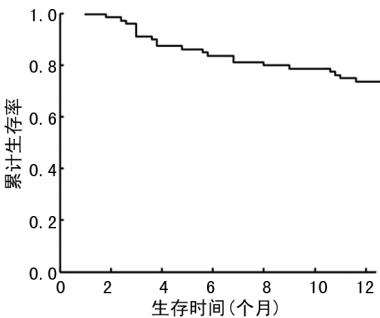


图 1 80 例 HBV-ACLF 患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

表 1 两组临床资料比较

临床资料	生存组($n=59$)	死亡组($n=21$)	t/χ^2	P
性别[$n(\%)$]			0.132	0.717
男	31(52.54)	12(57.14)		
女	28(47.46)	9(42.86)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	60.52 $\pm$ 13.12	58.61 $\pm$ 10.05	0.606	0.546
WBC($\bar{x}\pm s$, $\times 10^9/L$)	7.18 $\pm$ 0.23	7.12 $\pm$ 0.30	0.945	0.347
PLT($\bar{x}\pm s$, $\times 10^{12}/L$)	88.24 $\pm$ 12.41	85.72 $\pm$ 10.89	0.824	0.413
NE($\bar{x}\pm s$, $\times 10^{12}/L$)	3.12 $\pm$ 0.53	3.58 $\pm$ 0.46	3.529	0.001

续表 1 两组临床资料比较

临床资料	生存组(<i>n</i> = 59)	死亡组(<i>n</i> = 21)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
HBV-DNA($\bar{x} \pm s$, lg IU/ mL)	6.43 ± 1.27	6.56 ± 1.51	0.383	0.703
消化道出血[<i>n</i> (%)]			8.823	0.003
有	6(10.17)	9(42.86)		
无	53(89.83)	12(57.14)		
肺部感染[<i>n</i> (%)]			0.062	0.803
有	8(13.56)	4(19.05)		
无	51(86.44)	17(80.95)		
腹膜炎[<i>n</i> (%)]			0.004	0.952
有	10(16.95)	3(14.29)		
无	49(83.05)	18(85.71)		
肝性脑病[<i>n</i> (%)]			9.583	0.002
有	4(6.78)	8(38.10)		
无	55(93.22)	13(61.90)		
TBil($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)	316.83 ± 56.73	351.71 ± 52.82	2.462	0.016
AST($\bar{x} \pm s$, U/L)	286.70 ± 72.35	357.11 ± 76.99	3.767	<0.001
ALT($\bar{x} \pm s$, U/L)	375.56 ± 83.52	433.45 ± 90.41	2.670	0.009
ALB($\bar{x} \pm s$, g/L)	31.67 ± 5.31	32.78 ± 6.02	0.794	0.430
Cr($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	86.35 ± 23.65	90.31 ± 20.79	0.679	0.499
PTA($\bar{x} \pm s$, %)	29.38 ± 6.42	29.16 ± 7.72	0.128	0.899

2.3 两组血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平比较 死亡组血清 miR-125b-5p 表达水平高于生存组,而 miR-146a-5p 表达水平低于生存组($P < 0.05$),见表 2。

2.4 两组血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与肝功能指标的相关性 Pearson 相关分析显示,血清 miR-125b-5p 表达水平与 TBil、AST、ALT 呈正相关($P < 0.05$),血清 miR-146a-5p 表达水平与 TBil、AST、ALT 呈负相关($P < 0.05$),血清 miR-125b-5p、

miR-146a-5p 表达水平与 ALB 无相关性($P > 0.05$),见表 3。部分相关指标散点图见图 2。

表 2 两组血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-125b-5p	miR-146a-5p
生存组	59	8.94 ± 2.15	1.13 ± 0.27
死亡组	21	16.43 ± 3.69	0.39 ± 0.10
<i>t</i>		8.786	17.886
<i>P</i>		<0.001	<0.001

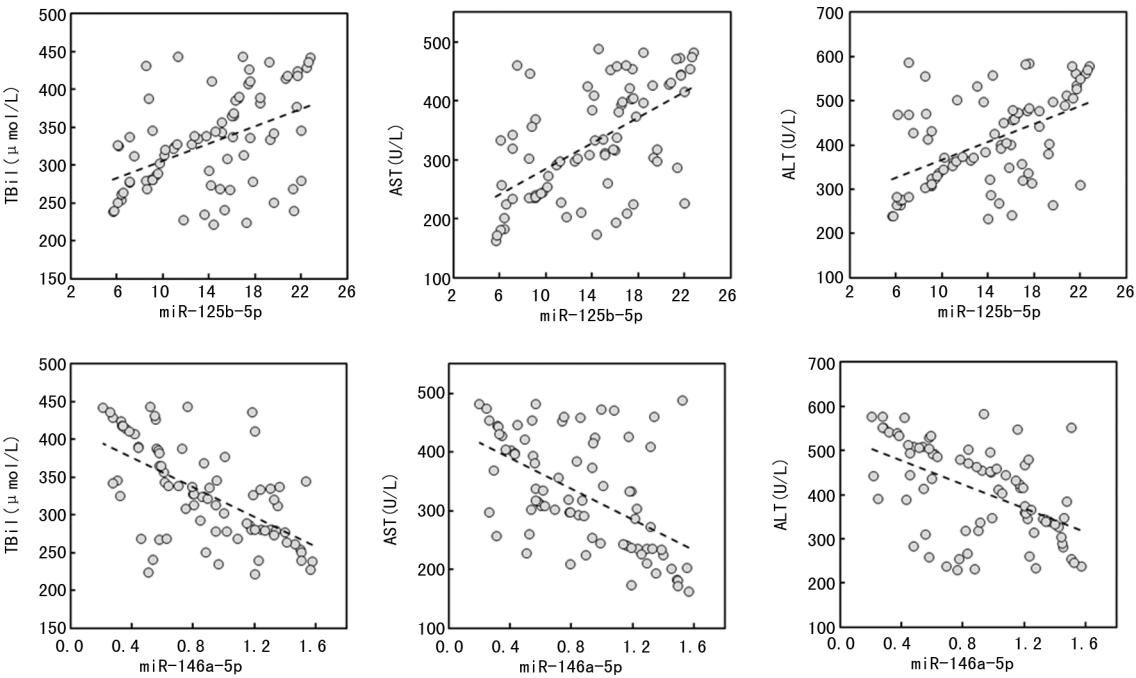


图 2 HBV-ACLF 患者的血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与肝功能指标相关性的散点图($n = 80$)

2.5 影响 HBV-ACLF 患者预后的多因素分析 建立 COX 比例风险回归模型,以预后状况为因变量,赋值 1=死亡,0=生存,t=生存期。以前述单因素分析(表 1 和表 2)中 $P<0.05$ 的指标/因素为自变量。考虑到样本量尤其是阳性样本量较少,经与临床和统计专业的专家会商,将其中影响作用熟知的 ALT、ALB 两指标剔除,不纳入回归。此外,将部分为连续数值的自变量,参考两组中位值进行分段(分层),转化成二分类变量,以提高统计效率并使回归结果清晰。各变量赋值见表 4。回归过程采用逐步后退法,以进行自变量的选择和剔除,设定 $\alpha_{\text{剔除}}=0.10, \alpha_{\text{入选}}=0.05$ 。结果显示,消化道出血、肝性脑病及血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平是 HBV-ACLF 患者预后的影响因素($P<0.05$)。

指标	miR-125b-5p		miR-146a-5p	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
TBil	0.334	0.003	-0.502	<0.001
AST	0.449	<0.001	-0.482	<0.001
ALT	0.379	<0.001	-0.444	<0.001
ALB	0.105	0.103	0.157	0.094

2.6 血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 对 HBV-ACLF 预后的评估价值 进一步探讨血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 对 HBV-ACLF 预后的评估价值,采用两种方法进行分析。(1)两指标的单独应用:以死亡组为阳性样本,以生存组为阴性样本,建立 ROC 曲

线诊断分析模型,并采用组段建模模式。被分析指标按样本总水平数值范围划分为若干个组段,建立 ROC 曲线(折线)。再以软件拟合 ROC 曲线,读取约登指数最大值点,计算最佳临界值和灵敏度、特异度。经 ROC 曲线分析:两指标均具有较高的预后评估价值,曲线下面积(AUC)分别为 0.733(95%CI 0.597~0.869)、0.741(95%CI 0.618~0.865)。(2)两指标的联合应用:采用 SPSS23.0 软件联合 ROC 曲线理论模式(LogP 模式,对各单独应用指标进行综合回归,建立 Logistic 预测/诊断评估模型,再依据所得回归系数,归一化加权,计算并对应处理各样本资料,进行两指标联合应用的 ROC 曲线分析)。结果提示,联合应用对 HBV-ACLF 预后的评估价值较高,AUC 为 0.845(95%CI 0.736~0.955),比单一指标检测明显提高,见表 5、图 3。

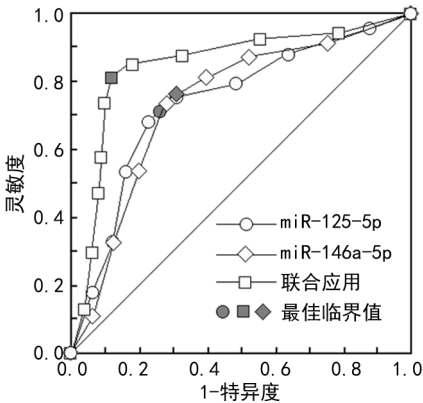


图3 血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 预测 HBV-ACLF 预后的 ROC 曲线

表 4 影响 HBV-ACLF 患者预后的 COX 比例风险回归模型							
因素	赋值说明	回归系数	标准误	Wald χ^2	<i>P</i>	HR	95%CI
消化道出血	无=0,有=1	1.378	0.382	13.031	<0.001	3.965	1.877~8.377
肝性脑病	无=0,有=1	0.833	0.310	7.233	0.007	2.301	1.254~4.224
miR-125b-5p	<14.155=0,≥14.155=1	0.721	0.199	13.171	<0.001	2.056	1.393~3.034
miR-146a-5p	<0.986=0,≥0.986=1	-0.362	0.150	5.872	0.015	0.696	0.519~0.933

注:HR 为风险比。

表 5 血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 对 HBV-ACLF 预后的评估价值						
项目	AUC(0.95%CI)	标准误	<i>P</i>	最佳临界值	灵敏度	特异度
miR-125b-5p	0.733(0.597~0.869)	0.069	0.002	14.155	0.714	0.736
miR-146a-5p	0.741(0.618~0.865)	0.063	0.001	0.986	0.762	0.690
两指标联合应用	0.845(0.736~0.955)	0.056	<0.001	—	0.810	0.881

注:—表示无数据。

3 讨 论

HBV-ACLF 病情进展迅速,死亡风险较高,这类患者具有个体差异大、发病诱因复杂等特点,目前尚

无特效方案治疗,主要通过对症干预、积极预防或治疗并发症等方式缓解症状,延缓病情进展^[11]。尽早了解患者病情,判断死亡风险对改善预后至关重要。既

往常通过评估肝功能、Cr、PTA 等指标,了解 HBV-ACLF 进展情况,但灵敏度与特异性并不理想^[12]。目前,研究发现部分 miRNA 在肝脏疾病中存在特异性表达,例如薛扬等^[13]研究提示,ACLF 患者的血清 miR-130a 表达水平升高,其与患者预后密切相关。高飞等^[14]也发现,miR-130a 在 ACLF 患者血清中呈高水平表达,且与患者预后有关。但总体而言,关于这类患者 miRNA 表达水平的报道较少,且所选择的指标比较局限,临床仍需增设相关指标进行分析。随着医学研究进展,有学者指出,miR-125b-5p、miR-146a-5p 在肝脏疾病中发挥了一定作用,与肝损伤、肝脏代谢、肝脏发育密切相关,可能影响疾病的进展、转归^[15]。故临床可考虑利用二者评估 HBV-ACLF 患者预后,为临床诊疗提供依据。

本研究结果显示,与 HBV-ACLF 生存者相比,死亡患者的血清 miR-125b-5p 表达水平明显升高,而 miR-146a-5p 表达水平下降,表明血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 可能影响预后。miR-125b-5p 是 miRNA 中的重要成员,具备促进细胞吞噬的功能,随着肝损害程度加重,miR-125b-5p 异常表达越明显^[16]。miR-125b-5p 导致肝损伤加重的机制可能在于,其过表达可对血管内皮生长因子及金属蛋白酶进行靶向介导,加重肝损害,此外,其异常表达还可下调还原酶 P450 活性,使还原化途径阻断,引起肝细胞功能紊乱,导致肝损伤加重^[17]。由此可见,血清 miR-125b-5p 可能是 HBV-ACLF 患者死亡风险增加的潜在预后生物标志物。miR-146a-5p 在多种恶性肿瘤中均存在异常表达,如在胃癌、前列腺癌中表现为低表达,而在甲状腺癌、黑色素瘤中呈高表达,具体机制尚不明确^[18]。这提示 miR-146a-5p 在不同疾病中的表达存在特异性,临床需予以重视。本研究提示,miR-146a-5p 低表达可增加 HBV-ACLF 患者的死亡风险,间接表明其对肝功能可能有保护作用。有研究指出,miR-146a-5p 能降低白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 水平,从而达到抑制炎症的目的^[19]。miR-146a-5p 表达水平较高的 HBV-ACLF 患者可能因炎症较轻,能减轻肝损害,而表达较低的患者炎症较重,加重了肝损害,继而增加死亡风险。本研究还观察了二者与肝功能的相关性,结果提示血清 miR-125b-5p 表达水平与 TBil、AST、ALT 呈正相关,而血清 miR-146a-5p 表达水平与三者呈负相关($P < 0.05$)。这进一步证实血清 miR-125b-5p 表达水平越高,患者的肝损害越重,而 miR-146a-5p 表达水平越低,患者肝损害越重,其表达水平越高,则有利于保护肝功能。

本研究结果显示,血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 对 HBV-ACLF 患者的预后具有一定的评估价值。

肝衰竭的主要特点在于肝细胞坏死,这也是增加死亡风险的重要原因,对预后影响极大^[20]。有研究发现,miR-125b-5p 过表达能促进肝细胞凋亡及坏死,机制可能在于其有利于乙型肝炎表面抗原编码区序列的靶向聚合,参与宿主被病毒侵袭的过程^[21]。miR-125b-5p 可能通过过表达的这一机制,影响 HBV-ACLF 患者预后。miR-146a-5p 则可通过对多种炎症因子进行调控,发挥其抑制炎症的作用,缓解肝损伤,而一旦 miR-146a-5p 表达水平降低,则可能促进炎症因子释放,导致肝损伤患者的炎症加重,进一步损害肝功能,从而影响预后^[22]。在未来的 HBV-ACLF 治疗中,临床可将 miR-125b-5p、miR-146a-5p 作为靶向基因,据此研究新的治疗思路。此外,本研究经 COX 比例风险回归模型分析证实,消化道出血、肝性脑病及血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 是患者预后的影响因素。消化道出血、肝性脑病均为肝衰竭患者的严重并发症,已有研究证实二者为肝病患者预后的影响因素^[23-24]。miR-125b-5p 过表达可能通过影响还原酶 P450 活性,参与宿主被病毒侵袭等过程,促进肝损害。而 miR-146a-5p 低表达可能通过促进炎症介质释放,加重机体炎症,促进肝损害。二者均与肝功能受损密切相关,能加重 HBV-ACLF 患者病情严重程度,导致死亡风险加大。

综上所述,与 HBV-ACLF 生存者相比,死亡者的血清 miR-125b-5p 表达水平明显上调,而 miR-146a-5p 表达水平下调,二者与血清 TBil、AST、ALT 均有相关性,可作为预后评估的重要指标。此外,本研究也有不足之处,如仅选择 80 例样本且仅观察了 1 年的预后,未来还需延长随访时间,对此进行多中心、大样本的研究。

参考文献

- [1] MASCHMEIER M, HUSING-KABAR A, SCHMIDT H. Acute-on-chronic liver failure [J]. Curr Opin Crit Care, 2019, 25(2): 165-170.
- [2] ARROYO V, MOREAU R, JALAN R. Acute-on-chronic liver failure [J]. New Engl J Med, 2020, 382(22): 2137-2145.
- [3] LIN W, JIN C, LIU X, et al. A dynamic model for predicting outcome in patients with HBV related acute-on-chronic liver failure [J]. Ann Hepatol, 2018, 17(3): 392-402.
- [4] TAO Y C, WANG M L, WANG M, et al. Quantification of circulating miR-125b-5p predicts survival in chronic hepatitis B patients with acute-on-chronic liver failure [J]. Digest Liver Dis, 2018, 51(3): 412-418.
- [5] BANDIERA S, PERNOT S, SAGHIRE H, et al. HCV-induced up-regulation of miR-146a-5p in hepatocytes pro-

- motes viral infection and deregulates metabolic pathways associated with liver disease pathogenesis[J]. J Virol, 2016,90(14):6387-6400.
- [6] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. 中华传染病杂志, 2015,33(11):641-662.
- [7] 中华医学会感染病学会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012 年版)[J]. 中华肝脏病杂志,2013,21(3):177-183.
- [8] 阿帕萨尼,阿帕萨尼,陈月琴,等. MicroRNA:从基础科学到疾病生物学[M]. 北京:科学出版社,2010:122.
- [9] GIRAY B G, EMEK DAS G, TEZCAN S, et al. Profiles of serum microRNAs: miR-125b-5p and miR223-3p serve as novel biomarkers for HBV-positive hepatocellular carcinoma[J]. Mol Biol Rep, 2014,41(7):4513-4519.
- [10] LI H, XIE S, LIU M, et al. The clinical significance of downregulation of mir-124-3p, mir-146a-5p, mir-155-5p and mir-335-5p in gastric cancer tumorigenesis[J]. Int J Oncol, 2014,45(1):197-208.
- [11] 刘鸿凌,陈若雷,游绍莉,等. 前列腺素 E1 治疗慢性乙型肝炎慢加急性肝衰竭早期患者的临床研究[J]. 现代生物医学进展,2015,15(1):63-65.
- [12] RUI H, ZHAO Y, SHI H, et al. Acute-on-chronic liver failure in chronic hepatitis B: an update[J]. Expert Rev Gastroent, 2018,12(4):341-350.
- [13] 薛扬,郭宏强. 血清 miRNA-130a 与 HBV 相关慢加急性(亚急性)肝衰竭患者预后的相关性分析[J]. 肝脏,2019,24(2):158-160.
- [14] 高飞,尹纪来,李浩,等. HBV 相关慢加急性肝衰竭患者血清 miRNA-130a 表达变化及其与病情严重程度和预后的相关性[J]. 山东医药,2018,58(47):65-67.
- [15] 吴松,艾红梅. miRNAs 在肝脏疾病中的新进展[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(3):359-363.
- [16] DEN W, ZHANG X, MA Z, et al. MicroRNA-125b-5p mediates post-transcriptional regulation of hepatitis B virus replication via the LIN28B/let-7 axis[J]. RNA Biol, 2017,14(10):1389-1398.
- [17] HARMS D, CHOI M, ALLERS K, et al. Specific circulating microRNAs during hepatitis E infection can serve as indicator for chronic hepatitis E[J]. Sci Rep, 2020,10(1):5337.
- [18] 梁雪,钱立庭. miR-146a-5p 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 新乡医学院学报,2019,36(12):1187-1190.
- [19] WEI W C, SHUAI C, HAI X L, et al. MicroRNA-146a-5p enhances ginsenoside Rh2 induced antiproliferation and the apoptosis of the human liver cancer cell line HepG2 [J]. Oncol Lett, 2018,16(4):5367-5374.
- [20] LIU F, DUAN X, WAN Z, et al. Lower number and decreased function of natural killer cells in hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2016,40(5):605-613.
- [21] NINOMIYA M, KONDO Y, KIMURA O, et al. The expression of miR-125b-5p is increased in the serum of patients with chronic hepatitis B infection and inhibits the detection of hepatitis B virus surface antigen[J]. J Viral Hepatitis, 2016,23(5):330-339.
- [22] 吴涛,陈恩洪,金成,等. 微小 RNA-146a-5p 对肝癌细胞侵袭迁移和 ZBTB2 表达的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2019,24(11):984-988.
- [23] 刘添皇,邓丽红,何宗运,等. 乙型肝炎肝衰竭患者预后影响因素的 Logistic 回归分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2016,36(A01):552-553.
- [24] 龙富立,刘美莲,梁潇月,等. 110 例慢性肝衰竭患者的病因构成及预后影响因素分析[J]. 广西医学,2016,38(1):17-19.

(收稿日期:2020-10-02 修回日期:2021-04-28)

(上接第 1830 页)

- [18] DRZEWIECKA-J3DRZEJCZYK M, WLAZEL M, TERLECKA M, et al. Serum metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in lung carcinoma patients[J]. J Thorac Dis, 2017,9(12):5306-5313.
- [19] ALVARENGA D M, MATTOS M S, LOPES M E, et al. Paradoxical role of matrix metalloproteinases in liver injury and regeneration after sterile acute hepatic failure [J]. Cells, 2018,7(12):247.
- [20] PROKOPCHUK O, GRÜNWALD B, NITSCHKE U, et al. Elevated systemic levels of the matrix metalloproteinase inhibitor TIMP-1 correlate with clinical markers of cachexia in patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer[J]. BMC Cancer, 2018,18(1):128.
- [21] TAKAWALE A, ZHANG P, PATEL V B, et al. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 promotes myocardial fibrosis by mediating CD63-integrin β 1 interaction [J]. Hypertension, 2017,69(6):1092-1103.

(收稿日期:2020-10-21 修回日期:2021-04-28)