

• 论 著 •

急性胰腺炎患者 miR-365a-3p、miR-10a-5p 的表达变化及与疾病严重程度的关系*

林 梵¹, 谭晓宇², 刘 骏^{3△}

南部战区总医院: 1. 消化内科; 2. 肝胆外科; 3. 中医科, 广东广州 510010

摘要: **目的** 探讨急性胰腺炎(AP)患者血清微小 RNA(miR)-365a-3p、miR-10a-5p 的表达变化及与疾病严重程度的关系。 **方法** 选取 2023 年 1 月至 2024 年 1 月于该院治疗的 AP 患者 102 例为研究组, 根据病情严重程度将患者分成轻症急性胰腺炎(MAP)组、重症急性胰腺炎(SAP)组。另选择同期该院的体检健康者 102 例为对照组。采用实时荧光定量 PCR 检测 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平, 采用酶联免疫吸附试验检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、C-反应蛋白(CRP)水平, 采用 Pearson 相关分析 AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与急性生理学和慢性健康状况评价(APACHE) II 评分、Ranson 评分及生化指标 TNF- α 、IL-6、CRP 的相关性, 采用多因素 Logistic 回归分析 SAP 的影响因素, 绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 对 AP 和 SAP 的诊断价值。 **结果** 研究组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平均低于对照组($P < 0.05$)。MAP 组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平均高于 SAP 组($P < 0.05$)。MAP 组 APACHE II 评分、Ranson 评分及 TNF- α 、IL-6、CRP 水平均低于 SAP 组($P < 0.05$)。Pearson 相关结果显示, AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 APACHE II 评分、Ranson 评分均呈负相关($P < 0.05$), AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 与 TNF- α 、IL-6、CRP 均呈负相关($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 血清 TNF- α 、IL-6、CRP 均为 SAP 的危险因素($P < 0.05$), miR-365a-3p、miR-10a-5p 均为 SAP 的保护因素($P < 0.05$)。ROC 曲线结果显示, 血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断 AP 的曲线下面积(AUC)为 0.832(95%CI 0.777~0.887), 大于 miR-365a-3p 单独诊断的 AUC(0.742, 95%CI 0.674~0.810, $Z=2.539$, $P=0.011$)、miR-10a-5p 单独诊断 AUC(0.676, 95%CI 0.602~0.750, $Z=4.366$, $P < 0.001$); 二者联合诊断 SAP 的 AUC 为 0.859(95%CI 0.776~0.920), 大于 miR-365a-3p 单独诊断的 AUC(0.733, 95%CI 0.637~0.816, $Z=2.078$, $P=0.038$)、miR-10a-5p 单独诊断 AUC(0.718, 95%CI 0.620~0.803, $Z=2.249$, $P=0.024$)。 **结论** 血清中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 表达与 AP 疾病严重程度有关, 二者联合诊断 SAP 的效果优于单一诊断。

关键词: 急性胰腺炎; 微小 RNA-365a-3p; 微小 RNA-10a-5p; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.05.011

中图法分类号: R576

文章编号: 1673-4130(2025)05-0563-06

文献标志码: A

Expression changes of miR-365a-3p and miR-10a-5p in patients with acute pancreatitis and their relationship with disease severity*

LIN Fan¹, TAN Xiaoyu², LIU Jun^{3△}

1. Department of Gastroenterology; 2. Department of Hepatobiliary Surgery;

3. Department of Traditional Chinese Medicine, Southern Theater General

Hospital, Guangzhou, Guangdong 510010, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression changes of serum microRNA(miR)-365a-3p and miR-10a-5p in patients with acute pancreatitis (AP) and their relationship with the severity of the disease. **Methods** A total of 102 AP patients treated in the hospital from January 2023 to January 2024 were selected as the study group. According to the severity of the disease, the patients were divided into mild acute pancreatitis (MAP) group and severe acute pancreatitis (SAP) group. A total of 102 healthy people who underwent physical examination in the same hospital during the same period were selected as the control group. Quantitative real-time PCR was used to detect the levels of miR-365a-3p and miR-10a-5p. The serum levels of tumor

* 基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目(2020A1515010557)。

作者简介: 林梵, 男, 副主任医师, 主要从事消化性溃疡及炎症性肠病相关研究。 △ 通信作者, E-mail: m07sdo@163.com。

necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation of serum miR-365a-3p and miR-10a-5p levels with acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) II score, Ranson score, and biochemical indicators TNF- α , IL-6, and CRP in AP patients. Multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of SAP. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the diagnostic value of serum miR-365a-3p and miR-10a-5p for AP and SAP. **Results** The serum levels of miR-365a-3p and miR-10a-5p in the study group were lower than those in the control group ($P < 0.05$). The serum levels of miR-365a-3p and miR-10a-5p in the MAP group were higher than those in the SAP group ($P < 0.05$). The APACHE II score, Ranson score and the levels of TNF- α , IL-6 and CRP in the MAP group were significantly lower than those in the SAP group ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum levels of miR-365a-3p and miR-10a-5p in AP patients were negatively correlated with APACHE II score and Ranson score ($P < 0.05$). The serum levels of miR-365a-3p and miR-10a-5p in AP patients were negatively correlated with TNF- α , IL-6 and CRP ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that serum TNF- α , IL-6 and CRP were risk factors for SAP ($P < 0.05$), and miR-365a-3p and miR-10a-5p were protective factors for SAP ($P < 0.05$). ROC curve showed that the AUC of miR-365a-3p combined with miR-10a-5p in the diagnosis of AP was 0.832 (95%CI 0.777—0.887), which was greater than the AUC of miR-365a-3p alone (0.742, 95%CI 0.674—0.810, $Z = 2.539$, $P = 0.011$) and miR-10a-5p alone (0.676, 95%CI 0.674—0.810, 95%CI 0.602—0.750, $Z = 4.366$, $P < 0.001$). The AUC of the combined diagnosis of SAP was 0.859 (95%CI 0.776—0.920), which was greater than the AUC of miR-365a-3p alone (0.733, 95%CI 0.637—0.816, $Z = 2.078$, $P = 0.038$), miR-10a-5p alone (0.718, 95%CI 0.620—0.803, $Z = 2.249$, $P = 0.024$). **Conclusion** The expression of serum miR-365a-3p and miR-10a-5p is related to the severity of AP, and the combination of the two is better than single diagnosis of SAP.

Key words: acute pancreatitis; microRNA-365a-3p; microRNA-10a-5p; diagnosis

由于人体内胰酶被不正常的激活,从而引发胰腺组织的自身消化,导致上腹持续性的疼痛并且会出现恶心呕吐的现象叫做急性胰腺炎(AP)^[1]。对于 AP,一般采取的治疗方式有病因治疗、对症治疗、药物治疗及手术治疗,AP 发病较急,且发病原因多且复杂,当发展为重症急性胰腺炎(SAP)时,会出现胰腺脓肿及假性囊肿,更严重者导致患者器官衰竭^[2-3],因此,寻找一种标志物对 AP 病情程度进行评估,并及时进行有针对性的治疗,对于 AP 的改善具有现实意义。微小 RNA(miR)-365a-3p 参与人体内基因的调控,与细胞增殖、分化及凋亡相关^[4]。miR-365a-3p 在缓解雨蛙素诱导的胰腺外分泌细胞 AR42J 凋亡和炎症损伤中发挥着一定的作用^[5]。miR-10a-5p 影响着炎症相关疾病的炎症反应^[6]。有研究显示,Circ-0000284 通过调控 miR-10a-5p/Wnt/ β -Catenin 通路促进急性胰腺炎进展^[7]。目前 AP 患者血清中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 二者的表达情况研究较少。因此,本研究旨在检测 AP 患者血清中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 的表达水平,探究其与疾病程度的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2023 年 1 月至 2024 年 1 月本院收治的 AP 患者 102 例为研究组,其中男 51 例,女 51 例,年龄 (53.50 $\pm$ 3.12) 岁,体重指数 (BMI) 为

(22.72 $\pm$ 4.32) kg/m²。根据 AP 的严重程度将患者分为轻症急性胰腺炎(MAP)52 例(MAP 组)、重症急性胰腺炎(SAP)50 例(SAP 组)。另选择同期本院的体检健康者 102 例作为对照组,其中男 53 例,女 49 例,年龄 (53.00 $\pm$ 3.89) 岁, BMI (22.80 $\pm$ 4.21) kg/m²。纳入标准:(1)符合 AP 的诊断标准^[8];(2)入组前未进行相关治疗;(3)无感染相关性疾病;(4)资料完整。排除标准:(1)心肺功能不全者;(2)急性胆囊炎患者;(3)胃穿孔、十二指肠溃疡患者;(4)慢性胰腺炎患者。本研究经家属或患者签字同意,本院伦理委员会批准本研究。收集所有受试者年龄、性别、BMI、病程、胰腺假性囊肿等一般资料,研究组与对照组年龄、性别、BMI 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 样品采集及保存 采集所有受试者入院时静脉血样,3 000 r/min 离心 10 min 后收集上层血清,分装至不含核酸酶的 EP 管,置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存待测。

1.2.2 AP 患者 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平检测 总 RNA 采用 Trizol 试剂(北京凯诗源公司)提取,评估总 RNA 浓度和纯度(超微量分光光度计,美国 Thermo 公司),采用逆转录试剂盒(日本 Takara

公司)将 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,采用 PCR 定量试剂盒(日本 Takara 公司)通过实时荧光定量 PCR(qPCR)方法检测标本中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平,内参为 U6,引物序列见表 1。qPCR 反应体系共 20 μ L;PCR Master Mix 4 μ L,上

游引物 0.5 μ L,下游引物 0.5 μ L,cDNA 模板 2 μ L,加双蒸水至 20 μ L;扩增条件:98.2 $^{\circ}$ C 8 min;97.5 $^{\circ}$ C 30 s,56.5 $^{\circ}$ C 20 s,72.5 $^{\circ}$ C 15 s,共 40 个循环。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 miR-365a-3p、miR-10a-5p 相对表达水平。

表 1 qPCR 引物序列

基因	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)
miR-365a-3p	CCTCTCTCTTCAGTT	CCAGATTAGGATGCCAC
miR-10a-5p	TTACACACGCTTACCCTGTAG	GTGCTGGGTCCGAGGTATC
U6	TCATGCTCCACTGTCATCG	GGCCTGCTGTTCATTGTC

1.2.3 健康评估 评估 AP 患者急性生理学和慢性健康状况评价(APACHE)Ⅱ评分和 Ranson 评分。Ranson 评分标准如下:包括 11 个项目,其中年龄>55 岁,白细胞计数>16 $\times 10^9$ /L,血糖>11.1 mmol/L,天冬氨酸氨基转移酶>250 μ /L,乳酸脱氢酶>350 IU/L,血细胞比容下降>10%,血尿素氮升高>1.8 mmol/L,血钙<2 mmol/L,动脉血氧分压水平<60 mmHg,碱缺失>4 mmol/L,失液量>6 L 分别记 1 分,总分 11 分。APACHE Ⅱ评分总分 55 分,标准如下:年龄评分(6 分);急性生理学评分(体温、心率、血压、氧分压、动脉血 pH、呼吸频率、血清肌酐、血清钾、血清钠、血细胞比容及白细胞计数等生理指标,共 44 分);慢性健康状况评分,有无慢性严重器官系统功能不全或免疫损害(5 分)。APACHE Ⅱ评分 $\geq$ 8 分,Ranson 评分 $\geq$ 3 分判定为 SAP^[9]。

1.2.4 血清生化指标水平测定 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清肿瘤坏死因子- α [TNF- α ,科鹿(武汉)生物科技有限责任公司,货号:H980361]、白细胞介素-6(IL-6,上海西塘生物科技有限公司,货号:H980283)、C-反应蛋白(CRP,上海优科唯生物科技有限公司,货号:H980290)水平,具体操作流程严格按照相应的试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 对数据进行处理和分析。计量资料均经过 Shapiro-Wilk 正态性检验,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 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;采用 Pearson 相关分析 AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 APACHE Ⅱ评分、Ranson 评分及生化指标 TNF- α 、IL-6、CRP 的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析 SAP 的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 对 AP 和 SAP 的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究组与对照组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p

水平比较 研究组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平均低于对照组($P<0.05$),见表 2。

表 2 研究组与对照组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-365a-3p	miR-10a-5p
对照组	102	1.08 $\pm$ 0.21	1.11 $\pm$ 0.28
研究组	102	0.89 $\pm$ 0.15	0.91 $\pm$ 0.21
<i>t</i>		7.436	5.771
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.2 MAP 组与 SAP 组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平比较 MAP 组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平均高于 SAP 组($P<0.05$),见表 3。

表 3 MAP 组与 SAP 组血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-365a-3p	miR-10a-5p
MAP 组	52	0.98 $\pm$ 0.28	1.02 $\pm$ 0.29
SAP 组	50	0.79 $\pm$ 0.16	0.80 $\pm$ 0.18
<i>t</i>		4.185	4.582
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.3 MAP 组与 SAP 组一般资料比较 MAP 组 APACHE Ⅱ评分、Ranson 评分及 TNF- α 、IL-6、CRP 水平均低于 SAP 组($P<0.05$)。MAP 组与 SAP 组年龄、性别、BMI、病程及是否存在胰腺假性囊肿比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 MAP 组与 SAP 组一般资料比较($\bar{x}\pm s$ 或 n/n)

项目	MAP 组 (<i>n</i> =52)	SAP 组 (<i>n</i> =50)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	53.25 $\pm$ 2.54	53.76 $\pm$ 2.36	1.049	0.296
男/女	25/27	26/24	0.157	0.692
BMI(kg/m ²)	22.55 $\pm$ 4.12	22.89 $\pm$ 4.36	0.405	0.686
病程(d)	7.50 $\pm$ 1.28	7.55 $\pm$ 1.32	0.194	0.846
胰腺假性囊肿(是/否)	20/32	16/34	0.466	0.495

续表 4 MAP 组与 SAP 组一般资料比较($\bar{x}\pm s$ 或 n/n)				
项目	MAP 组 ($n=52$)	SAP 组 ($n=50$)	t/χ^2	P
APACHEⅡ评分(分)	6.48±1.22	9.25±1.12	11.932	<0.001
Ranson 评分(分)	1.34±0.13	4.68±0.86	27.684	<0.001
TNF-α(pg/mL)	11.68±1.98	13.98±2.05	5.764	<0.001
IL-6(pg/mL)	190.45±32.66	503.78±69.83	29.208	<0.001
CRP(pg/mL)	7.66±1.54	12.65±2.93	10.825	<0.001

2.4 AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 TNF-α、IL-6、CRP 及评分的相关性分析 Pearson 相关分析结果显示,AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 APACHE Ⅱ 评分、Ranson 评分及 TNF-α、IL-6、CRP 均呈负相关($P<0.05$),见表 5。

表 5 AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 TNF-α、IL-6、CRP 及评分的相关性				
指标	miR-365a-3p		miR-10a-5p	
	r	P	r	P
APACHE Ⅱ 评分	-0.523	<0.001	-0.498	<0.001
Ranson 评分	-0.435	<0.001	-0.545	<0.001
TNF-α	-0.604	<0.001	-0.486	<0.001
IL-6	-0.553	<0.001	-0.612	<0.001
CRP	-0.634	<0.001	-0.604	<0.001

2.5 多因素 Logistic 回归分析 SAP 的影响因素 根据结果 2.4 可知血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 TNF-α、IL-6、CRP、APACHE Ⅱ 评分、Ranson 评分存在相关性,进一步通过多元线性回归验证后,血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平分别与 APACHE Ⅱ 评分和 Ranson 评分存在共线性($VIF=11.237、13.762、12.555、10.931$),因此仅纳入 TNF-α、IL-6、CRP、miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平作为自变量。以疾病严重程度作为因变量($SAP=1,MAP=0$),以 TNF-α、IL-6、CRP、miR-365a-3p、miR-10a-5p 为自变量(赋值均为连续变量)进行多因素 Logistic 回归分析。结果发现 TNF-α、IL-6、CRP 均为 SAP 的危险因素($P<0.05$),miR-365a-3p、miR-10a-5p 均为 SAP 的保护因素($P<0.05$)。见表 6。

2.6 血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 对 AP 及 SAP 的诊断价值 ROC 曲线表明,血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断 AP 的曲线下面积(AUC)大于 miR-365a-3p 单独诊断的 AUC($Z=2.539, P=0.011$)、miR-10a-5p 单独诊断的 AUC($Z=4.366, P<0.001$),见表 7;血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断 SAP 的 AUC 大于 miR-365a-3p 单独诊断的 AUC($Z=2.078, P=0.038$)、miR-10a-5p 单独诊断的 AUC($Z=2.249, P=0.024$),见表 8。

表 6 多因素 Logistic 回归分析 SAP 的影响因素						
指标	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
TNF-α	0.376	0.123	9.329	0.002	1.456	1.144~1.853
IL-6	0.844	0.201	17.620	<0.001	2.325	1.568~3.448
CRP	1.349	0.316	18.213	<0.001	3.852	2.073~7.156
miR-365a-3p	-0.373	0.124	9.025	0.003	0.689	0.540~0.879
miR-10a-5p	-0.320	0.136	5.543	0.019	0.726	0.556~0.948

表 7 血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 对 AP 的诊断价值					
项目	AUC	最佳 临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	95%CI
miR-365a-3p	0.742	1.01	73.53	65.69	0.674~0.810
miR-10a-5p	0.676	1.04	79.41	52.94	0.602~0.750
二者联合	0.832	—	72.57	80.39	0.777~0.887

注:—为此项无数据。

表 8 血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 对 SAP 的诊断价值					
项目	AUC	最佳 临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	95%CI
miR-365a-3p	0.733	0.88	78.00	61.54	0.637~0.816
miR-10a-5p	0.718	0.95	80.00	63.46	0.620~0.803
二者联合	0.859	—	60.00	96.15	0.776~0.920

注:—为此项无数据。

3 讨 论

AP 作为突发性的胰腺自身消化引起的炎症反应,是一种常见的内科疾病,当发展为 SAP 时,患者可能会伴随多器官功能性衰竭,病死率较高^[10]。因此,寻找 AP 相关的生物标志物,探讨其与疾病严重程度的相关性对避免疾病恶化有临床意义。本研究探究 AP 疾病严重程度的靶向生物标志物,以期能够较早的警示疾病及评估预测价值。

miR-365a-3p 作为一种 miRNA,主要在细胞增殖、凋亡及炎症反应等方面发挥作用^[11-12]。有研究报道,在 AP 大鼠的 AR42J 细胞中 miR-365a-3p 表达下调,过表达 miR-365a-3p 可抑制雨蛙素诱导的 AR42J 细胞的凋亡和炎症反应^[5-6]。有研究表明,miR-365a 可能与影响细胞炎症的因子 IL-6 表达相关,其可以负靶向调节 IL-6 表达^[13]。在脂多糖诱导的小鼠心肌损伤模型中 miR-365a-3p 表达下调,miR-365a-3p 过表达减弱心肌细胞凋亡并抑制炎症细胞因子的表达^[14]。本研究中,AP 患者血清 miR-365a-3p 水平低于体检健康者,且 MAP 组血清 miR-365a-3p 水平高于 SAP 组,说明血清 miR-365a-3p 水平与 AP 的发生有关,且血清 miR-365a-3p 与疾病严重程度有关。因此,在治疗 AP 时,可以通过监控 AP 患者血清中 miR-365a-3p 表达来判断疾病严重程度,更准确地制定下一步治疗

计划。

miR-10a-5p 在正常条件下可以调节细胞增殖、代谢及蛋白质合成等,但其表达异常时,会导致细胞内稳态的失衡及炎症因子的增加^[15-16]。本研究中,AP 患者血清 miR-10a-5p 水平低于体检健康者,且 MAP 组血清 miR-10a-5p 高于 SAP 组,说明血清 miR-10a-5p 的表达与 AP 的发生有关,且血清 miR-10a-5p 的表达与疾病严重程度有关,临床在治疗 AP 时,也可以通过实时监控 AP 患者血清中 miR-10a-5p 表达精准判断 AP 病情的严重程度,更好的对症治疗。

另外,本研究相关分析显示血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 APACHE II 评分、Ranson 评分均呈负相关,进一步证明 AP 患者血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平影响着疾病的严重程度。在一些研究报道中,TNF- α 、IL-6、CRP 影响着 AP 的疾病程度,降低其水平可以改善疾病^[17-18]。本研究中,MAP 组 TNF- α 、IL-6、CRP 水平高于 SAP 组,且血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平与 TNF- α 、IL-6、CRP 均呈负相关,进一步揭示血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 可能与炎症反应有关,适当的升高 AP 患者 miR-365a-3p、miR-10a-5p 表达可能会降低炎症因子水平,有利于病情的改善。

本研究多因素 Logistic 回归分析显示,血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 均是 SAP 的保护因素。同时 ROC 曲线显示,血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断 AP 的效果优于单一诊断的效果,且血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断 SAP 的效果优于单一诊断的效果,表明血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断对 AP 及 SAP 均具有一定的诊断价值。以上的结果进一步说明,血清 miR-365a-3p、miR-10a-5p 表达与 AP 疾病程度密切相关。因此,在临床治疗上,可以通过检测血清中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 表达情况来精准判断 AP 的疾病严重程度,更好更快地治疗 AP,减轻 SAP 对患者的伤害风险。临床上通常将降钙素原作为细菌感染的标志物而广泛应用于指导抗菌药物的使用,且研究发现 PCT 对 AP 患者病情严重程度的预测方面具有较好性能,王宇鹏等^[19]研究发现 PCT 预测 SAP 的发生的 AUC 为 0.799,本研究结果显示血清中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 联合诊断 SAP 发生的 AUC 为 0.859,提示二者联合诊断价值在一定程度上高于临床指标 PCT 的诊断价值,但由于本研究样本量较少,后续本研究也将继续扩大样本量,进一步分析更多临床常见指标,探究本研究指标的优缺点,进而丰富本研究结果。

综上所述,AP 患者血清中 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平均呈下降趋势,与 AP 疾病严重程度有关,SAP 组 miR-365a-3p、miR-10a-5p 水平均低于 MAP 组,

二者联合诊断 SAP 具有较高的价值。但本研究收集的样本量较小,没有进一步的研究 miR-365a-3p、miR-10a-5p 是如何影响 AP 疾病严重程度及内在机制,后续需加大样本量及进行基础实验研究。

参考文献

- [1] 童智慧,李维勤,黎介寿.重症急性胰腺炎胰腺坏死组织感染开放手术要点[J].中国实用外科杂志,2023,43(3):340-343.
- [2] 何健,俞聿,张静.血清 IL-6 和 TNF- α 对重症急性胰腺炎的早期诊断价值分析[J].临床肝胆病杂志,2023,39(7):1657-1664.
- [3] 焦雪菲,丁林.基于 HPLC-Q-TOF-MS 和网络药理学探讨田基黄治疗急性胰腺炎的作用及其机制[J].中国药理学杂志,2023,58(22):2069-2078.
- [4] 李玉磊,刘莉敏,熊静. LINC00707 靶向 miR-374a-3p 对 LPS 诱导的肺上皮细胞炎症因子释放和凋亡的影响[J].中国免疫学杂志,2022,38(24):3002-3007.
- [5] SHAO A J, HU W, LI C, et al. Downregulation of lncRNA NEAT1 relieves caerulein-induced cell apoptosis and inflammatory injury in AR42J cells through sponging miR-365a-3p in acute pancreatitis[J]. Biochem Genet, 2022,60(6):2286-2298.
- [6] 程涛,赵沱,杨洁. LncRNA KCNQ1OT1 调控 miR-10a-5p 加重缺氧复氧 H9c2 细胞损伤的机制[J].河北医药,2023,45(9):1307-1310.
- [7] HUANG H, CHEN W, LU J, et al. Circ-0000284 promoted acute pancreatitis progression through the regulation of miR-10a-5p/Wnt/ β -Catenin pathway[J]. Chem Biodivers, 2022,19(6):e202101006-e202101007.
- [8] 王兴鹏,李兆申,袁耀宗,等.中国急性胰腺炎诊治指南(2013 年,上海)[J].胃肠病学,2013,29(7):656-660.
- [9] 陈辉,兰涛,张培君,等. BISAP、Ranson 和 APACHE II 评分系统对高脂血症性急性胰腺炎患者病情和预后的评估价值[J].现代生物医学进展,2020,20(2):361-365.
- [10] 杨涛,朱光文.急性胰腺炎患者血清 FABP4, miR-369-5p 表达与疾病严重程度的关系[J].标记免疫分析与临床,2021,28(2):256-261.
- [11] 王世芳,旦丽,蒋映雪,等. lncRNA OTUD6B-AS1 靶向 miR-365a-3p 对人绒毛膜滋养层细胞增殖,迁移及侵袭的影响[J].中国优生与遗传杂志,2022,30(6):953-957.
- [12] 张志蕊,陈耀平.大鼠 miR-133a-3p 慢病毒载体的构建及稳转株建立[J].宁夏医科大学学报,2022,44(6):567-572.
- [13] XU Z, XIAO S B, XU P, et al. miR-365, a novel negative regulator of interleukin-6 gene expression, is cooperatively regulated by Sp1 and NF- κ B[J]. J Biol Chem, 2011,286(24):21401-21412.
- [14] LV H, TIAN M, HU P, et al. Overexpression of miR-365a-3p relieves sepsis-induced acute myocardial injury by targeting MyD88/NF- κ B pathway[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2021,99(10):1007-1015.

(下转第 574 页)

• 论 著 •

lncRNA GAS5 靶向 miR-21 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制肺癌细胞的上皮-间质转化和自噬*

张 茜¹, 刘 杰², 马红霞^{1△}

1. 新疆医科大学附属中医医院呼吸与危重症医学科, 新疆乌鲁木齐 830002; 2. 新疆医科大学第六附属医院康复科, 新疆乌鲁木齐 830002

摘 要:**目的** 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)GAS5 靶向微小 RNA-21(miR-21)通过磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路抑制肺癌细胞的上皮-间质转化和自噬。**方法** 实时定量聚合酶链反应(qPCR)检测 lncRNA GAS5 在 5 例非小细胞肺癌(NSCLC)组及癌旁组中的表达。用双荧光素酶报告基因实验检测 lncRNA GAS5 对 miR-21 的靶向作用。另将 A549 细胞分为 5 组,包括 pcDNA-null 组、pcDNA-GAS5 组、pcDNA-GAS5 + mimic-NC 组、pcDNA-GAS5 + mimic 组、pcDNA-GAS5 + mimic + BEZ235 组。用 qPCR 检测 lncRNA GAS5 和 miR-21 表达。用蛋白质印迹法检测 PI3K、磷酸化 Akt(p-Akt)、磷酸化 mTOR (p-mTOR)、贝克兰蛋白 1(Beclin1)、微管相关蛋白 1 轻链 3(LC3)-Ⅱ、LC3-Ⅰ、上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、扭转蛋白 1(Twist1)、核增殖相关抗原(Ki67)和增殖细胞核抗原(PCNA)表达。采用 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物法检测细胞增殖活力。**结果** NSCLC 组 lncRNA GAS5 表达明显高于癌旁组,差异有统计学意义($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验确定 A549 细胞中 lncRNA GAS5 对 miR-21 有直接靶向作用。与 pcDNA-null 组比较,pcDNA-GAS5 组细胞增殖活力减少,lncRNA GAS5、PI3K、p-Akt、p-mTOR、Beclin1、LC3-Ⅱ、N-cadherin、Vimentin、Twist1、Ki67、PCNA 表达下调,miR-21、LC3-Ⅰ、E-cadherin 表达上调,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 pcDNA-GAS5 + mimic-NC 组比较,pcDNA-GAS5 + mimic 组细胞增殖活力上调,PI3K、p-Akt、p-mTOR、Beclin1、LC3-Ⅱ、N-cadherin、Vimentin、Twist1、Ki67、PCNA 表达上调,miR-21、LC3-Ⅰ、E-cadherin 表达下调,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 pcDNA-GAS5 + mimic 组比较,pcDNA-GAS5 + mimic + BEZ235 组细胞增殖活力下调,PI3K、p-Akt、p-mTOR、Beclin1、LC3-Ⅱ、N-cadherin、Vimentin、Twist1、Ki67、PCNA 表达下调,LC3-Ⅰ和 E-cadherin 表达上调,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** lncRNA GAS5 通过 miR-21 抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,从而抑制肺癌细胞的上皮-间质转化和自噬,减少细胞增殖活力。

关键词:长链非编码 RNA GAS5; 微小 RNA-21; 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路; 肺癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.05.012 中图法分类号:R734.2
文章编号:1673-4130(2025)05-0568-07 文献标志码:A

lncRNA GAS5 targets miR-21 to inhibit epithelial-mesenchymal transformation and autophagy in lung cancer cells through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway*

ZHANG Qian¹, LIU Jie², MA Hongxia^{1△}

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830002, China;
2. Department of Rehabilitation, the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830002, China

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect of long non-coding RNA (lncRNA) GAS5 on microRNA-21 (miR-21) in lung cancer cells through phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway on epithelium-mesenchymal transformation and autophagy. **Methods** Real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the expression of lncRNA GAS5 in 5 patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and adjacent groups.

* 基金项目:“天山英才”——青年科技拔尖人才项目(2022TSYCCX0028);新疆维吾尔自治区天山创新团队计划项目(2023D14004)。
作者简介:张茜,女,副主任医师,主要从事呼吸疾病研究方向研究。△ 通信作者,E-mail:jasmine0991@163.com。