

• 论 著 •

miRNA 区分活动性结核和潜伏性结核的 Meta 分析

李晓颖¹, 肖江明², 廖 璞^{1,2△}

1. 西南医科大学附属医院检验科, 四川泸州 646000; 2. 重庆市人民医院检验科, 重庆 400010

摘要:**目的** 探讨微小 RNA(miRNA)区分活动性结核和潜伏性结核的 Meta 分析。**方法** 检索中国知网、万方数据、维普、PubMed、Cochrane Library、Web of Science 和 Embase 数据库,选取从建库至 2023 年 4 月有关 miRNA 区分活动性结核和潜伏性结核的文献,并严格按照纳入和排除标准进行筛选。采用诊断准确性研究质量评估量表评估纳入研究的质量,以及 Stata16.0 软件进行数据提取和汇总分析。通过计算 I^2 对研究间的异质性进行评估,并通过 Meta 回归和亚组分析进一步分析异质性来源。采用 Deeks 漏斗图评估发表偏倚。**结果** 共纳入涉及 13 项研究的 9 篇文献。Meta 分析结果显示,miRNA 在区分活动性结核和潜伏性结核病的合并灵敏度为 0.79(95%CI:0.69~0.86, $I^2=86.24\%$),特异度为 0.73(95%CI:0.64~0.81, $I^2=81.80\%$),阳性似然比为 2.96(95%CI:2.22~3.95, $I^2=63.84\%$),阴性似然比为 0.29(95%CI:0.20~0.41, $I^2=84.04\%$),诊断比值比为 10.33(95%CI:6.43~16.61, $I^2=99.90\%$),受试者工作特征曲线的曲线下面积为 0.83(95%CI:0.79~0.86)。Meta 回归和亚组分析结果显示,样本量可能是导致灵敏度异质性的来源,miRNA 的失调状态可能是导致特异度异质性的来源。Deeks 漏斗图显示研究间不存在发表偏倚。**结论** miRNA 在区分活动性结核和潜伏性结核病方面表现出良好的诊断能力,为改进结核病管理诊断策略的发展具有重要的意义。

关键词:活动性结核; 潜伏性结核; 微小 RNA; Meta 分析
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.023 **中图法分类号:**R446.1
文章编号:1673-4130(2024)04-0500-05 **文献标志码:**A

Meta-analysis of miRNA in discriminating active tuberculosis and latent tuberculosis

LI Xiaoying¹, XIAO Jiangming², LIAO Pu^{1,2△}

1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Chongqing People's Hospital, Chongqing 400010, China

Abstract:**Objective** To investigate the Meta-analysis of microRNA (miRNA) in distinguishing active tuberculosis and latent tuberculosis. **Methods** CNKI, Wanfang Data, VIP, PubMed, Cochrane Library, Web of Science and Embase databases were searched to select the literature on miRNA in discriminating active tuberculosis and latent tuberculosis from the establishment of the database to April 2023, and screened strictly according to the inclusion and exclusion criteria. The quality of included studies was assessed using the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2, and data extraction and summary analysis were carried out with Stata16.0 software. Heterogeneity among studies was evaluated by calculating I^2 , and the sources of heterogeneity were further explored by Meta-regression and subgroup analysis. Publication bias was assessed using Deeks funnel plot. **Results** The Meta-analysis encompassed 9 articles, comprising 13 studies. The combined sensitivity of miRNA in differentiating active tuberculosis and latent tuberculosis was found to be 0.79 (95%CI:0.69–0.86, $I^2=86.24\%$), with a specificity of 0.73 (95%CI:0.64–0.81, $I^2=81.80\%$). The positive likelihood ratio was 2.96 (95%CI:2.22–3.95, $I^2=63.84\%$), while the negative likelihood ratio was 0.29 (95%CI:0.20–0.41, $I^2=84.04\%$). Furthermore, the diagnostic odds ratio was 10.33 (95%CI:6.43–16.61, $I^2=99.90\%$), and the area under the receiver operating characteristic curve was 0.83(95%CI:0.79–0.86). The results of Meta-regression and subgroup analysis showed that sample size may be the source of sensitivity heterogeneity, and dysregulation of miRNA may be the source of specificity heterogeneity. Deeks funnel plot showed no publication bias among included studies. **Conclusion** miRNA shows good diagnostic ability in distinguishing active tuberculosis and latent tuberculosis, which has important significance for improving the development of diagnostic strategies for tuberculosis management.

Key words: active tuberculosis ; latent tuberculosis; microRNA; Meta-analysis

作者简介:李晓颖,女,在读硕士,主要从事结核病生物标志物研究。△ 通信作者,E-mail:liaoipu@ucas.ac.cn。
网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231220.0953.002.html\(2023-12-20\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231220.0953.002.html(2023-12-20))

结核病是由结核分枝杆菌引起的传染性疾病。根据世界卫生组织的报道,2021 年全球报告的新发结核病例数约为 640 万,死亡人数超过 160 万^[1]。目前,全球约有 25% 的人感染了结核分枝杆菌,其中大多数人处于结核病潜伏感染状态^[1-2]。虽然潜伏感染者没有临床症状,但其中 5%~10% 的患者可能发展为活动性结核并成为新的传染源,其具体症状和体征取决于所受累的器官^[3-4]。结核菌素试验和干扰素- γ 释放试验是潜伏性结核的推荐诊断方法,但这两种方法均不能有效区分活动期和潜伏期患者,且结果容易受到患者免疫状态的影响^[5]。因此,寻找能够有效区分活动性结核和潜伏性结核的生物标志物是关键。微小 RNA(miRNA)是长度约为 22 个核苷酸的调控性非编码 RNA,其可以通过多种方式调控基因的表达^[6-7]。先前的研究表明,结核分枝杆菌可通过诱导或抑制体内 miRNA 的表达来逃避免疫反应^[8]。此外,结核分枝杆菌还可以通过 miRNA 调节宿主的细胞周期控制、细胞凋亡、发育和生理过程进而影响疾病进程^[9]。目前,越来越多的研究将 miRNA 作为区分活动性结核和潜伏性结核的潜在标志物。本研究采用 Meta 分析的方法,旨在系统地评估 miRNA 对活动性结核和潜伏性结核的鉴别效果。

1 材料与方法

1.1 检索策略 根据 2020 年系统综述和荟萃分析首选报告项目指南^[10]进行本 Meta 分析。检索了中国知网、万方数据、维普、PubMed、Cochrane Library、Web of Science 和 Embase 共 7 个数据库,选取从建库至 2023 年 4 月有关 miRNA 区分活动性结核和潜伏性结核的文献。英文检索词为“mycobacterium tuberculosis”或“tuberculosis”或“TB”或“ATB”或“LTBI”和“microRNA”或“miRNA”。中文检索词为“结核分枝杆菌”或“结核”或“活动性结核”或“潜伏性结核”和“microRNA”或“miRNA”。

1.2 纳入和排除标准 纳入标准:(1)原始研究评估了 miRNA 在鉴别活动性结核和潜伏性结核中的准确性;(2)研究报告了真阳性(TP)、假阳性(FP)、真阴性(TN)和假阴性(FN)或研究中提供了足够的数据来计算 TP、FP、TN 和 FN。排除标准如下:(1)不是针对活动性结核和潜伏性结核的研究;(2)非诊断性研究;(3)综述和会议摘要;(4)无足够数据的研究。

1.3 数据提取 仔细阅读了纳入文献^[11-19]的全部内容,并由一名研究人员提取了以下数据:第一作者、发表年份、发表国家、参与者年龄、miRNA 及其失调情况、TP、TN、FP 和 FN。所有数据以表格形式呈现。另一名研究人员检查数据的准确性和完整性。有疑义的地方通过讨论解决。

1.4 质量评估 使用诊断准确性研究质量评估(QUADAS-2)量表来评估每项研究的质量和偏倚风险。该量表包括病例选择、待评价诊断试验、参考标

准、病例流程和进展情况。病例选择、待评价诊断试验和参考标准还对临床适用性进行了评估。评估结果被定义为“是”“否”或“不清楚”,相应的风险偏倚为“低”“高”或“不清楚”。

1.5 统计学处理 计算灵敏度对数与(1-特异度)对数之间的 Spearman 相关系数,以确定是否存在阈值效应。 $P>0.05$ 表示不存在阈值效应。如果不存在阈值效应,则可通过合并诊断数据分析诊断价值;如果存在阈值效应,则仅通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线并计算曲线下面积(AUC)来确定诊断价值。使用 Stata16.0 软件进行统计分析,采用双变量混合效应模型分析合并灵敏度、特异度、阳性似然比(PLR)、阴性似然比(NLR)和诊断比值比(DOR)。所有结果均以综合值和 95% 置信区间(CI)表示。研究间的异质性通过计算 I^2 进行评估。 $I^2>50\%$ 被认为存在显著异质性,需要进一步探讨异质性的来源。最后,采用 Deeks 漏斗图评估发表偏倚, $P>0.05$ 表明研究间不存在发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索 在数据库中共搜索得到 3 362 篇文献。首先排除了 1 404 篇重复文献,并通过阅读标题和摘要排除了 1 902 篇文献。然后仔细阅读了剩余 56 篇文献的全文,进一步排除了 47 篇文章。最后纳入 9 篇文献进行分析。研究检索和筛选流程图见图 1。

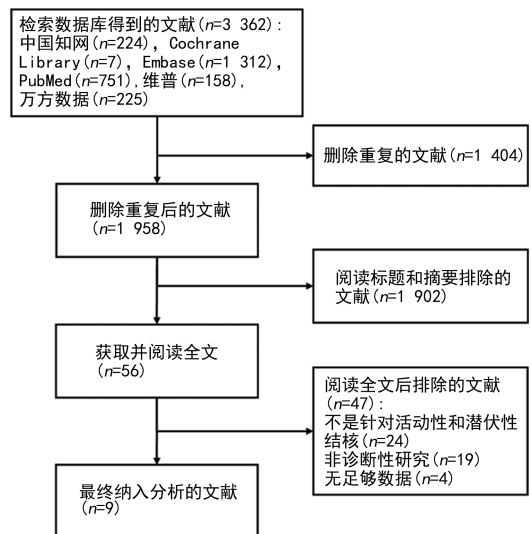


图 1 文献筛选流程图

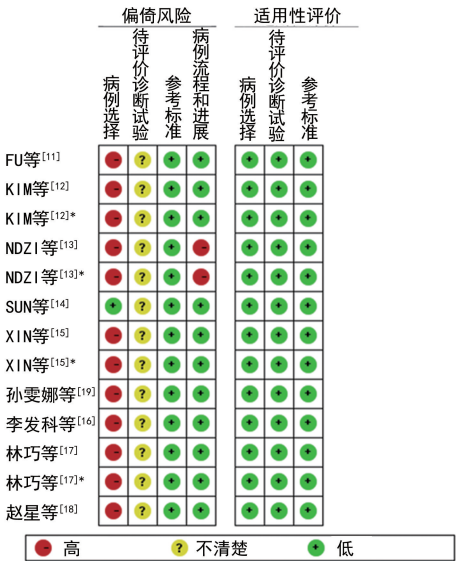
2.2 纳入研究特征和质量评估 将同一文献中针对不同 miRNA 的分析视为不同的研究,因此,纳入的 9 篇文献共包括 13 项研究。所有研究发表于 2015—2022 年,共涉及 1 160 例受试者,其中包括 603 例活动性结核患者和 557 例潜伏性结核患者。有 4 项研究来自结核病低负担的国家,其余研究来自结核病高负担的国家。纳入研究的基本信息见表 1。使用 QUADAS-2 量表来评估纳入研究的偏倚风险。由于大多数研究为病例对照研究,因此病例大多被评为“高风险”,但仍属于研究范畴。由于没有预定的国

值,所有研究在待评价诊断试验部分均被评为“不清楚”。见图 2。

表 1 纳入研究的基本信息

文献	年份 (年)	国家	年龄	活动性结核/ 潜伏性结核(n/n)	结核病 负担	miRNA	失调情况	TP(n)	FP(n)	FN(n)	TN(n)
FU 等 ^[11]	2020	中国	成人	60/40	高	miR-145	下调	53	10	7	30
KIM 等 ^[12]	2022	韩国	成人	12/15	低	miR-199a-3p	上调	10	7	2	8
KIM 等 ^{[12]*}	2022	韩国	成人	12/15	低	miR-6886-3p	上调	11	10	1	5
李发科等 ^[16]	2020	中国	成人	20/20	高	miR-155	下调	18	3	2	17
林巧等 ^[17]	2015	中国	成人	25/25	高	miR-378	上调	19	7	6	18
林巧等 ^{[17]*}	2015	中国	成人	25/25	高	miR-483-5p	下调	21	6	4	19
NDZI 等 ^[13]	2019	喀麦隆	成人+儿童	62/35	低	miR-29a-3p	上调	50	7	12	28
NDZI 等 ^[13]	2019	喀麦隆	成人+儿童	62/35	低	miR-361-5p	上调	35	6	27	29
SUN 等 ^[14]	2022	中国	成人	63/63	高	miR-378	上调	58	30	5	33
孙雯娜等 ^[19]	2022	中国	成人	55/45	高	miR-432	上调	39	13	16	32
XIN 等 ^[15]	2022	中国	成人	73/77	高	miR-16-5p	下调	50	32	23	45
XIN 等 ^{[15]*}	2022	中国	成人	73/77	高	miR-451a	下调	28	7	45	70
赵星等 ^[18]	2021	中国	成人	61/85	高	miR-1285-3p	下调	50	10	11	75

注：* 表示同一文献中的不同研究项目。



注：* 表示同一文献中的不同研究项目。

图 2 纳入文献质量评估图

2.3 数据分析 Spearman 相关系数($r=0.434, P=0.138>0.05$)表明本研究不存在阈值效应。采用双变量混合效应模型分析 miRNA 区分活动性结核和潜伏性结核的合并诊断指标。合并的灵敏度和特异度分别为 0.79(95%CI:0.69~0.86, $I^2=86.24\%$)和 0.73(95%CI:0.64~0.81, $I^2=81.80\%$),均显示出显著的异质性。合并 PLR、NLR 和 DOR 分别为 2.96(95%CI:2.22~3.95, $I^2=63.84\%$)、0.29(95%CI:0.20~0.41, $I^2=84.04\%$)和 10.33(95%CI:6.43~16.61, $I^2=99.90\%$)。ROC 曲线分析显示,AUC 为 0.83(95%CI:0.79~0.86)。所有结果表明 miRNA 对活动性结核和潜伏性结核具有较好的鉴别能力。见图 3。

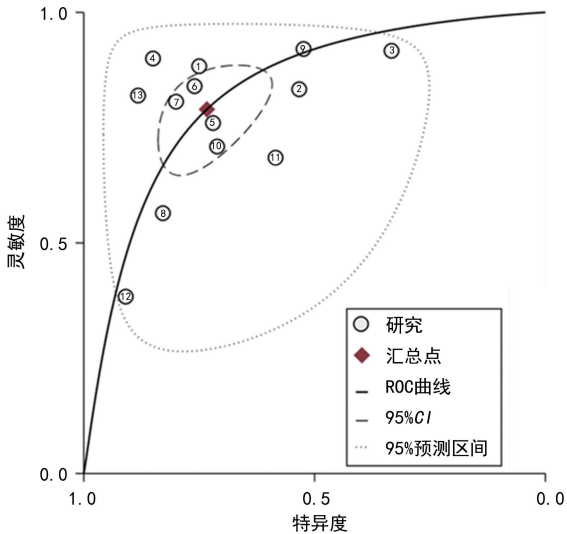


图 3 miRNA 鉴别活动性结核和潜伏性结核的 ROC 曲线

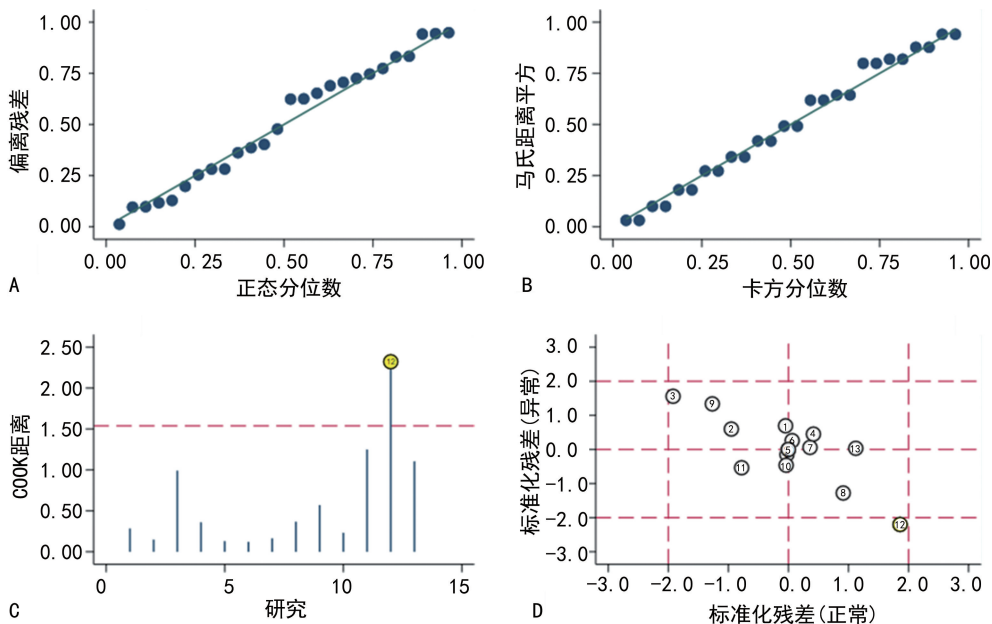
2.4 灵敏度分析 排除 XIN 等^[15]关于 miR-451a 的可能导致异质性的研究后,合并灵敏度为 0.81(95%CI:0.74~0.87, $I^2=71.88\%$),合并特异度为 0.71(95%CI:0.62~0.79, $I^2=76.92\%$),合并 PLR 为 2.81(95%CI:2.10~3.75, $I^2=61.34\%$),合并 NLR 为 0.27(95%CI:0.19~0.37, $I^2=67.07\%$),合并 DOR 为 10.48(95%CI:6.28~17.48, $I^2=99.96\%$)。结果显示,各项指标均无明显变化,说明本研究结果相对稳定,结果可靠。见图 4。

2.5 Meta 回归和亚组分析 为了进一步探索异质性的来源,对参与者的年龄、样本量、结核病负担情况和 miRNA 的失调状态进行了 Meta 回归分析和亚组分析,结果显示,样本量($P=0.02$)显著影响灵敏度,它可能是导致灵敏度异质性的来源;miRNA 的失调状态($P=0.01$)显著影响特异度,它可能是导致特异

度异质性的来源。见表 2。

2.6 发表偏倚 采用 Deeks 漏斗图评估发表偏倚，

$P=0.71$ 表明本研究纳入的研究未发现明显的发表偏倚。见图 5。



注：A 表示拟合优度；B 表示二元正态性检验；C 表示影响性分析；D 表示离群值分析。

图 4 灵敏度分析结果

表 2 Meta 回归和亚组分析结果

亚组	研究量(<i>n</i>)	AUC(95%CI)	灵敏度(95%CI)	P_1	特异度(95%CI)	P_2
年龄						
成人	11	0.83(0.79~0.86)	0.81(0.70~0.88)	0.92	0.72(0.60~0.81)	0.12
成人+儿童	2	—	—		—	
样本量						
>50	8	0.83(0.79~0.86)	0.75(0.61~0.85)	0.02	0.77(0.66~0.85)	0.79
≤50	5	0.85(0.82~0.88)	0.84(0.82~0.88)		0.66(0.49~0.80)	
结核病负担						
高	9	0.84(0.80~0.87)	0.79(0.67~0.87)	0.24	0.76(0.66~0.84)	0.82
低	4	0.81(0.60~0.93)	0.81(0.60~0.93)		0.66(0.44~0.83)	
失调情况						
上调	7	0.80(0.76~0.83)	0.81(0.69~0.89)	0.36	0.66(0.54~0.77)	0.01
下调	6	0.86(0.83~0.89)	0.77(0.61~0.88)		0.81(0.69~0.88)	

注： P_1 、 P_2 依次表示各亚组对灵敏度和特异度的影响；—表示无数据。

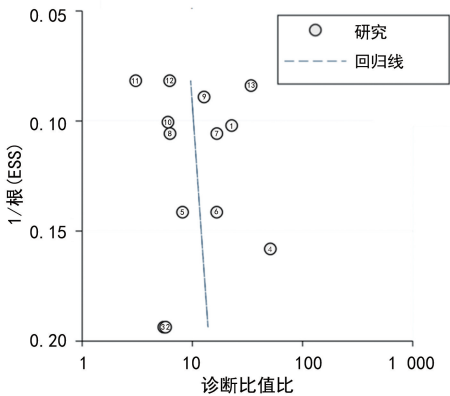


图 5 Deeks 漏斗图评估发表偏倚

3 讨 论

大多数活动性结核是由于潜伏性结核再激活所

致。提高潜伏性结核的检出率并对此类患者进行早期干预可有效降低结核病的发病率和病死率。目前，潜伏性结核尚无诊断“金标准”，且缺乏对潜伏性和活动性结核的鉴别诊断，不利于结核病的管理和控制。近年来，研究发现 miRNA 在调控结核分枝杆菌免疫中发挥着重要作用^[20]。越来越多的研究者将 miRNA 图谱分析作为结核病诊断和预后及区分活动性结核和潜伏性结核的标志物^[21]。

有研究表明，miRNA 在结核病的诊断中发挥了重要作用，并且其可以有效的区分活动性结核和潜伏性结核，miRNA 对于诊断活动性结核具有良好的价值^[13,22]。本研究通过搜索相关文献，分析了 miRNA 区分活动性结核和潜伏性结核的能力。结果显示，miRNA 在鉴别活动性结核和潜伏性结核时的灵敏度

为 0.79, 特异度为 0.73, 表明 miRNA 具有较好的区分两者的灵敏度和特异度; 其 PLR、NLR 和 DOR 分别为 2.96、0.29 和 10.33, 表明 miRNA 有着较好地正确区分两者的能力。ROC 曲线的 AUC 为 0.83, 同样表明 miRNA 具有良好的鉴别能力。然而, 灵敏度和特异度的 I^2 均大于 50%, 表明该研究存在显著的异质性。探索异质性的来源是 Meta 分析的关键。阈值效应是导致 Meta 分析异质性的主要原因之一, Spearman 相关系数表明本研究不存在阈值效应。本研究结果显示, 样本量可能是灵敏度异质性的来源, 而 miRNA 的失调状态可能是特异度异质性的来源。Deeks 漏斗图显示纳入的研究间不存在发表偏倚。

综上所述, miRNA 具有较好区分活动性结核和潜伏性结核的能力。然而, 本研究存在以下局限性: (1) 汇总结果存在较大的异质性, 需要进一步探索异质性的来源; (2) 纳入的研究及总样本量较少, 仅包括了 1 160 个样本; (3) 由于纳入的大多数研究在中国进行, 本研究结果可能不代表更广泛的人群。因此, 未来需要更大规模和统一标准的研究来验证此结果。

参考文献

[1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2022 [R/OL]. (2022-10-27) [2023-08-03]. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.

[2] COHEN A, MATHIASSEN V D, SCHÖN T, et al. The global prevalence of latent tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2019, 54(3): 1900655.

[3] ACHARYA B, ACHARYA A, GAUTAM S, et al. Advances in diagnosis of Tuberculosis: an update into molecular diagnosis of Mycobacterium tuberculosis[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(5): 4065-4075.

[4] 祖筱雯, 法立峰, 徐彩虹, 等. 结核分枝杆菌潜伏感染影响因素研究进展[J]. 江苏预防医学, 2021, 32(5): 561-563.

[5] HAAS M K, BELKNAP R W. Diagnostic tests for latent Tuberculosis infection[J]. Clin Chest Med, 2019, 40(4): 829-837.

[6] MATSUYAMA H, SUZUKI H I. Systems and synthetic microRNA biology: from biogenesis to disease pathogenesis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1): 132.

[7] SALIMINEJAD K, KHORRAM KHORSHID H R, SOLEYMANI FARD S, et al. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 5451-5465.

[8] SINIGAGLIA A, PETA E, RICCETTI S, et al. Tuberculosis-associated microRNAs: from pathogenesis to disease biomarkers[J]. Cells, 2020, 9(10): 2160.

[9] RUIZ-TAGLE C, NAVES R, BALCELLS M E. Unraveling the role of MicroRNAs in Mycobacterium tuberculosis Infection and disease: advances and pitfalls[J]. Infect

Immun, 2020, 88(3): e00649.

[10] PAGE M J, MCKENZIE J E, BOSSUYT P M, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews[J]. Syst Rev, 2021, 10(1): 89.

[11] FU Y, YANG X, CHEN H, et al. Diagnostic value of miR-145 and its regulatory role in macrophage immune response in tuberculosis[J]. Genet Mol Biol, 2020, 43(2): e20190238.

[12] KIM J, PARK H, PARK S B, et al. Identification of MicroRNAs as potential blood-based biomarkers for diagnosis and therapeutic monitoring of active Tuberculosis[J]. Diagnostics (Basel), 2022, 12(2): 369.

[13] NDZI E N, NKENFOU C N, MEKUE L M, et al. MicroRNA hsa-miR-29a-3p is a plasma biomarker for the differential diagnosis and monitoring of tuberculosis[J]. Tuberculosis, 2019, 114(1): 69-76.

[14] SUN X, LIU K, ZHAO Y, et al. High miRNA-378 expression has high diagnostic values for pulmonary tuberculosis and predicts adverse outcomes[J]. BMC Mol Cell Biol, 2022, 23(1): 14.

[15] XIN H, CAO X, DU Y, et al. The association between circulating microRNAs and the risk of active disease development from latent Tuberculosis infection: a nested case-control study [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(3): e0262521.

[16] 李发科, 罗杰, 甘德露, 等. miR-155 和 SOCS6 在结核感染鉴别诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(7): 751-757.

[17] 林巧, 钟红剑, 邹容容, 等. 外周血 CD14⁺ 单核细胞微 RNA 在结核分枝杆菌潜伏感染和肺结核中的差异表达[J]. 中华临床感染病杂志, 2015, 8(1): 20-25.

[18] 赵星, 刘燕, 刘邦祺. 外周血单核细胞 miR-1285-3p 在肺结核患者中的表达及临床意义研究[J]. 传染病信息, 2021, 34(6): 530-534.

[19] 孙雯娜, 龚文平, 张秀爽, 等. 微小 RNA-432 在肺结核患者血清中的表达水平及对该病的诊断价值评估[J]. 中国医药, 2022, 17(7): 1007-1010.

[20] KUNDU M, BASU J. The Role of microRNAs and long non-coding RNAs in the regulation of the immune response to Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Front Immunol, 2021, 12(1): 687962.

[21] KANABALAN R D, LEE L J, LEE T Y, et al. Human tuberculosis and Mycobacterium tuberculosis complex: a review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery[J]. Microbiol Res, 2021, 246(1): 126674.

[22] DANIEL E A, SATHIYAMANI B, THIRUVENGADAM K, et al. MicroRNAs as diagnostic biomarkers for Tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Front Immunol, 2022, 13(1): 954396.