DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.12.03

· “迈瑞杯”临检发展专栏 ·

HBV 相关肝脏纤维化患者血清 miRNA 差异表达谱的建立及分析*

王卫敏^a, 李长安^a, 郑辉^b, 狄贯腾^c (新乡医学院第三附属医院, a. 感染科, b. 检验科, c. 公共卫生科, 河南新乡 453000)

摘要: 目的 筛选 HBV 相关肝脏纤维化患者血清中差异表达的 miRNA, 并分析该类差异表达的 miRNA 在 HBV 相关肝纤维化进展过程中的作用。方法 选择 2019 年 3 月至 2020 年 3 月于新乡医学院第三附属医院确诊为肝纤维化患者 70 例 (包括乙肝患者 35 例, 非乙肝患者 35 例), 另收集 35 例体检健康者作为健康人对照组。收集各研究对象年龄、性别、血清学指标等临床资料。深度测序分析血清 miRNA 的表达水平; qRT-PCR 验证候选表达差异显著的 miRNA 在各组中的表达水平。通过 miRror 2.0 数据库预测 miRNA 的靶基因, 采用 DAVID v6.7 软件进行 GO 分析。结果 与健康人对照组和非乙肝组相比, 乙肝组中 miR-505-3p ($P = 2.75 \times 10^{-2}$)、miR-197-3p ($P = 4.57 \times 10^{-2}$) 和 miR-500a-3p ($P = 1.28 \times 10^{-3}$) 的表达水平显著下调, 而 miR-33a-5p 的表达水平显著上调 ($P = 5.92 \times 10^{-3}$)。GO 分析结果表明, 上述差异表达的 miRNA 所对应的靶基因主要涉及的生物学过程包括细胞的生长、维持和信号转导。结论 HBV 相关肝纤维化患者血清中 miRNA 的表达具有特异性, 且与 HBV 相关肝纤维化过程关系密切。

关键词: 肝纤维化微小 RNA; 差异表达; 生物学标志物

中图分类号: R575.1

文献标志码: A

Establishment and analysis of serum miRNA differential expression profile in patients with HBV-associated liver fibrosis

WANG Weimin^a, LI Changan^a, ZHENG Hui^b, DI Guanteng^a (a. Department of Infectious Diseases, b. Department of Clinical Laboratory, c. Department of Public Health, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan, China)

Abstract: Objective To analyze and screen differentially expressed miRNAs in serum of patients with HBV-associated liver fibrosis.

Methods A total of 70 patients with liver fibrosis diagnosed in our hospital from March 2019 to March 2020 were selected, including 35 patients with hepatitis B and 35 patients without hepatitis B. 35 healthy subjects were selected as controls. The clinical data including age, gender and serological indexes of the subjects were collected. The expression of miRNA in serum was analyzed by Illumina miRNA deep sequencing. R platform was used for hierarchical cluster analysis. The expression of candidate miRNAs with significantly different expressions in each group was verified by qRT-PCR. The target genes of miRNA were predicted through the Mirror 2.0 database, and GO analysis was performed using David v6.7 software. **Results** Compared with the healthy group and the non-hepatitis B group, miR-505-3p ($P = 2.75 \times 10^{-2}$), miR-197-3p ($P = 4.57 \times 10^{-2}$) and miR-500a-3p ($P = 1.28 \times 10^{-3}$) in the hepatitis B group were significantly down-regulated, miR-33a-5p ($P = 5.92 \times 10^{-3}$) was significantly up-regulated. **Conclusion** The expression of miRNA in serum of patients with HBV-associated liver fibrosis is specific, and these differentially expressed miRNAs may play an important role in the progression of HBV-associated liver fibrosis.

Key words: liver fibrosis; microRNAs; differential expression; biomarkers

慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是严重影响人类生命健康的疾病, 而肝纤维化是乙肝最为显著的特征之一^[1]。肝纤维化的早期诊断和持续随访对于预防肝硬化和终末期肝病至关重要。非创性血清学指标对于预测疾病进展具有重要的意义。研究表明, 在 HBV 相关的肝纤维化过程中, 多伴随着微小 RNA (microRNA, miRNA) 表达量的改变^[2]。

miRNA 有望成为 HBV 相关肝纤维化的生物学标志物^[3]。本研究旨在检测 HBV 相关肝纤维化患者血清中差异表达的 miRNA, 初步探讨该类差异表达的 miRNA 在 HBV 相关肝纤维化进展过程中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选择 2019 年 3 月至 2020 年 3 月

* 基金项目: 国家十三五科技重大专项课题 (2017ZX10203202-001); 国家科技重大专项课题 (2013ZX10002005)。

作者简介: 王卫敏, 1977 年生, 女, 主治医师, 大学本科, 研究方向: 慢性乙型肝炎临床与基础研究。

通信作者: 李长安, 副主任医师, 硕士, E-mail: nishizaishuawoma@126.com。

于新乡医学院第三附属医院感染科神经组织活检诊断为肝纤维化(S2~S3期)的患者70例作为研究对象,其中包括乙肝患者35例[男15例,女20例,年龄(46.27±18.62)岁],非乙肝患者(除乙肝外的慢性肝病所致的肝纤维化患者)35例[男18例,女17例,年龄(40.59±14.77)岁],纳入标准:6个月内未经核苷(酸)类抗病毒治疗且至少间隔3个月的2次丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测超过参考值上限的2倍;组织活检诊断为纤维化S2~S3期。乙肝纳入:符合《慢性乙型肝炎防治指南2010年更新版》中的诊断标准^[4]。排除标准:(1)感染人类免疫缺陷病毒的患者;(2)由其他病因(包括丙型肝炎病毒感染、丙型肝炎病毒感染、药物摄入、酒精摄入、自身免疫性肝炎等)造成肝损伤的患者;(3)有严重系统性疾病者;(4)怀孕和哺乳者。收集同期体检健康者35例作为健康人对照组,男21例,女14例,年龄(47.45±12.51)岁。本研究通过新乡医学院第三附属医院医学伦理委员会审核批准(批准文号:20190601),各研究对象均签署知情同意书。

1.2 标本采集 取上述肝纤维化患者治疗前(健康者于体检时采集)的空腹外周血标本10 mL,经2 500 r/min离心10 min,分离血清,10 000 r/min离心10 min,完全清除细胞碎片。将血清收集于含EDTA-K₂的抗凝管中,置于-80℃保存。

1.3 主要仪器及试剂 TruSeq小RNA样品制备试剂盒(TruSeq Small RNA Sample Prep Kit,美国Illumina公司),TRIzol LS试剂(美国Invitrogen公司),RevertAid逆转录试剂盒(美国Thermo公司),miRNA qPCR master mix试剂盒(上海生工公司),胶回收试剂盒(北京天根公司)。NanoDrop ND-2000分光光度计(美国Thermo Scientific公司),Agilent生物分析仪(美国Agilent公司),Illumina GA IIx测序仪(美国Illumina公司),Qubit 2.0荧光定量仪、E-Gel Imager凝胶成像系统(美国Invitrogen公司)。

1.4 血清中总RNA提取 取上述各研究对象的血清标本6 mL,采用TRIzol LS试剂提取血清总RNA。采用NanoDrop ND-2000分光光度计检测并分析RNA的纯度及浓度,取吸光度 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}} > 2.0$ 、 $A_{230\text{ nm}}/A_{260\text{ nm}} > 1.8$ 的样本,置于-80℃保存。

1.5 文库构建、测序及分析 按照TruSeq小RNA样品制备试剂盒说明书进行文库构建。通过两步法将RNA 3'接头和5'接头连接至miRNA。通过RevertAid逆转录试剂盒合成单链cDNA,对样本进行PCR扩增,通过胶回收试剂盒回收目的片段,即

得到miRNA文库。取1 μL产物上样至Agilent生物分析仪,采用Qubit 2.0荧光定量仪分析样本的大小、纯度和浓度。文库质量控制的标准:将质量值低的序列去掉;去除未知碱基含量超过10%的序列;去除无接头的序列;去除<18 bp或>30 bp的序列。以差异倍数(fold change, FC)表示两样本间表达量的比值。在差异表达miRNA检测过程中,使用 $|\log_2(\text{FC})| \geq 1$ 且 $\text{FDR} \leq 0.1$ 作为筛选标准。

1.6 qRT-PCR检测血清中miRNA的表达 参考RevertAid逆转录试剂盒说明书将总RNA逆转录为cDNA,cDNA产物置于-80℃保存。按照miRNA qPCR说明书对miRNA进行相对定量,根据GenBank中U6(NR_004394.1)、miR-197-3p(NR_029583.1)、miR-500a-3p(NR_030224.1)、miR-33a-5p(NR_029507.1)基因的序列号,用Primer Premier 5.0软件设计引物,并送上海生工公司合成。U6上游引物序列:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物序列:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3',目的产物长度77 bp;miR-505-3p上游引物序列:5'-GCGA GCACCGTCAACACT-3',下游引物序列:5'-TGGTGT CGTGGAGTCGGC-3',目的产物长度67 bp;miR-197-3p上游引物序列:5'-GGGTGGCAGTGTCTTAGC-3',下游引物序列:5'-GTGCAGGTCCGAGGT-3',目的产物长度73 bp;miR-500a-3p上游引物序列:5'-GGGGG CAGATAGACGCT-3',下游引物序列:5'-TGCACGA ACTCTATCTC-3',目的产物长度64 bp;miR-33a-5p上游引物序列:5'-GGGATTCTCCCCCTGCC-3',下游引物序列:5'-AAGAGAGTACCGGC-3',目的产物长度73 bp。PCR总反应体系为50 μL,包括10 μmol/L上、下游引物各0.5 μL,2×miRNA qPCR master mix 10 μL,1 μL cDNA,1 μL ROX Reference Dye (H),无菌ddH₂O补足体积至50 μL。PCR反应参数:95℃预变性20 s;95℃变性5 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,共35个循环;72℃5 min。取扩增产物2 μL,经20 g/L琼脂糖凝胶电泳,并用E-Gel Imager凝胶成像系统扫描并拍照。结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示。

1.7 miRNA靶基因生物信息学分析 通过数据库TargetScan和miRanda相结合预测miRNAs的靶基因。然后,基于数据库将所有的靶基因进行GO(Gene ontology)注释,筛选出靶基因富集的显著性GO。最后基于KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库对靶基因进行注释。

1.8 统计学分析 用SPSS 17.0软件进行数据分

析。正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 ANOVA 检验分析多组间差异表达的 miRNA, 计算 FDR 并采用多重比较, 对 P 值进行校正, 选择 $FDR < 0.1$ 的 miRNA 用于后续分析。方差不齐时应用 Kruskal-Wallis H 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 乙肝组、健康人对照组和非乙肝组的临床病理参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

参数	健康人对照组 (n=35)	非乙肝组 (n=35)	乙肝组 (n=35)	F	P 值
性别(男/女)	21/14	18/17	15/20	1.16	0.609
年龄(岁)	47.45±12.51	40.59±14.77	46.27±18.62	3.27	0.943
ALT(U/L)	12.55±3.28	45.33±31.67	51.24±36.78	0.68	0.033
AST(U/L)	16.00±3.19	51.28±18.71	62.95±22.73	2.11	0.016
TBil(μmol/L)	12.78±7.43	13.95±6.4	14.75±8.20	2.04	0.604
DBil(μmol/L)	5.65±2.87	5.92±4.32	6.12±3.29	0.73	0.294
ALP(g/L)	—	76.12±11.29	81.29±19.53	1.29	0.002
GGT(U/L)	—	32.95±10.02	33.47±11.89	2.34	0.382
HBV DNA log ₁₀ IU/mL	—	—	5.65±1.57	—	—

2.2 差异表达 miRNA 的聚类分析 根据 miRNA 表达 FC 和 P 值分析结果表明, 与健康人对照组相比, 在乙肝组中有 53 个表达差异的 miRNA, 其中表达上调的 miRNA 有 30 个 ($FC > 2, P < 0.05$), 表达下调的 miRNA 有 23 个 ($FC > 2, P < 0.05$)。与非乙肝组相比, 在乙肝组中有 23 个显著性表达 miRNA, 其中表达上调的 miRNA 有 14 个 ($FC > 2, P < 0.05$), 表达下调的 miRNA 有 9 个 ($FC > 2, P < 0.05$)。与健康人对照组和非乙肝组相比, miR-505-3p、miR-197-3p、miR-500a-3p、miR-33a-5p 在乙肝组中的表达差异最为显著(表 2)。

表 2 乙肝组中表达显著性差异的 miRNA

miRNA	FC ^a	FC ^b	F	P 值
表达下调				
miR-505-3p	3.293 454 5	3.720 607 1	1.107	2.66×10 ⁻⁵
miR-197-3p	23.496 203 2	2.000 412 5	0.945	2.25×10 ⁻⁶
miR-500a-3p	4.004 922 2	2.578 852 1	2.044	2.07×10 ⁻⁵
表达上调				
miR-33a-5p	15.039 568 1	3.050 811 2	0.849	8.28×10 ⁻⁷

注: a, 与健康人对照组比较; b, 与非乙肝组比较。

2 结果

2.1 各组研究对象的临床病理参数 乙肝组与健康人对照组、乙肝组与非乙肝组临床病理参数(包括性别、年龄、血液生化指标等)的比较结果见表 1。

2.3 差异表达 miRNA 的鉴定结果 qRT-PCR 结果表明, miR-505-3p、miR-197-3p 和 miR-500a-3p 的表达水平在乙肝组中显著上调 ($P < 0.01$), miR-33a-5p 的表达水平在乙肝组中显著下调 ($P < 0.01$)。与健康人对照组和非乙肝组相比, 乙肝组中 miR-505-3p、miR-197-3p 和 miR-500a-3p 显著下调, miR-33a-5p 显著上调(表 3)。

表 3 差异表达 miRNA 在健康人对照组、非乙肝组和乙肝组中的表达 ($\bar{x} \pm s$)

miRNA	健康人对照组	非乙肝组	乙肝组	F	P 值
miR-505-3p	0.82±0.05	0.62±0.03	0.15±0.01	2.554	2.75×10 ⁻²
miR-197-3p	0.55±0.02	0.46±0.01	0.09±0.01	1.092	4.57×10 ⁻²
miR-500a-3p	0.78±0.04	0.69±0.02	0.18±0.01	3.533	1.28×10 ⁻³
miR-33a-5p	0.13±0.02	0.25±0.01	0.94±0.03	0.487	5.92×10 ⁻³

2.4 miRNA 靶基因和 GO 注释 肝纤维化组差异表达 miRNA (miR-505-3p、miR-197-3p、miR-500a-3p、miR-139-5p、miR-1273g-5p、miR-33a-5p 和 miR-3960) 的潜在靶基因共 59 个(表 4)。上述差异表达的 miRNA 所对应的靶基因主要涉及的生物学过程包括细胞的生长、维持和信号转导等(表 5)。

表 4 肝纤维化组差异表达 miRNA 的潜在靶基因

基因号	描述	miRIS [*]	P 值
NM_000522	同源盒 A13(HOXA13), mRNA。	0.201 681	1.75×10 ⁻²
NM_001012320	锌指蛋白 302(ZNF302), 转录变体	0.201 681	1.34×10 ⁻²
NM_001014809	塌陷反应中介蛋白 1(CRMP1)	0.201 681	2.31×10 ⁻²
NM_001020825	核受体亚家族 3, C 组, 成员 1	0.201 681	2.36×10 ⁻²
NM_001029997	锌指蛋白 181(ZNF181), 转录变体	0.302 521	6.54×10 ⁻³
NM_001126103	Rac GTPase 激活蛋白 1(RACGAP1), 转录本	0.201 681	3.22×10 ⁻²
NM_001135146	溶质载体家族 39(锌转运体), 成员 8	0.273 109	2.09×10 ⁻²
NM_001135863	染色体 12 开放阅读框 72(C12orf72)	0.201 681	1.62×10 ⁻²
NM_001136501	锌指蛋白 844(ZNF844) mRNA	0.201 681	2.43×10 ⁻³
NM_001145007	粘液蛋白 7, 分泌(MUC7), 转录变体 2, mRNA	0.201 681	1.33×10 ⁻²
NM_001145665	锌指蛋白 181(ZNF181), 转录变体	0.302 521	6.54×10 ⁻³
NM_001161656	V-myb 成髓细胞病毒致癌基因同源物(禽类)	0.201 681	2.34×10 ⁻²
NM_001975	烯醇化酶 2(γ, 神经元)(ENO2), mRNA	0.201 681	1.21×10 ⁻²
NM_002095	一般转录因子 IIE, 多肽 2	0.201 681	4.68×10 ⁻³
NM_002699	POU 第 3 类同源盒 1(POU3F1), mRNA	0.273 109	2.39×10 ⁻²
NM_003677	密度调节蛋白(DENR), mRNA	0.201 681	2.58×10 ⁻³
NM_003862	成纤维细胞生长因子 18(FGF18) mRNA	0.273 109	4.52×10 ⁻⁴
NM_004492	一般转录因子 IIA, 2, 12kda(GTF2A2)	0.201 681	1.15×10 ⁻²
NM_004539	天冬酰胺- trna 合成酶(NARS), mRNA	0.201 681	9.66×10 ⁻³
NM_004642	周期蛋白依赖性激酶 2 相关蛋白 1	0.201 681	5.38×10 ⁻³
NM_004752	胶质细胞缺失同源物 2(果蝇)(GCM2)	0.201 681	4.57×10 ⁻³
NM_007282	环指蛋白 13(RNF13), 转录变体 1	0.201 681	1.32×10 ⁻²
NM_012319	溶质载体家族 39(锌转运体), 成员 6	0.201 681	1.64×10 ⁻²
NM_013251	速激蛋白 3(TAC3), mRNA	0.201 681	1.18×10 ⁻³
NM_013277	Rac GTPase 激活蛋白 1(RACGAP1), 转录本	0.201 681	3.22×10 ⁻²
NM_014409	taf5 样 RNA 聚合酶 II, p300/ cbp 相关	0.273 109	1.72×10 ⁻²
NM_015153	PHD 指蛋白 3(PHF3), mRNA	0.201 681	1.10×10 ⁻²
NM_016250	NDRG 家族成员 2(NDRG2), 转录变体 2	0.201 681	9.66×10 ⁻³
NM_016284	CCR4-NOT 转录复合物, 亚基 1(CNOT1)	0.201 681	3.17×10 ⁻³
NM_018064	akirin 2(AKIRIN2), mRNA	0.201 681	3.55×10 ⁻³
NM_018248	nei 核酸内切酶 8 样 3(大肠杆菌)(NEIL3), mRNA	0.201 681	1.18×10 ⁻³
NM_018407	溶酶体蛋白跨膜 4 β(LAPTM4B)	0.201 681	2.09×10 ⁻²
NM_018443	锌指蛋白 302(ZNF302), 转录变体	0.201 681	1.33×10 ⁻²
NM_019556	含有 1(MOSPD1) mRNA 的运动精子结构域	0.201 681	1.00×10 ⁻²
NM_022149	黑色素瘤抗原家族 F, 1(MAGEF1), mRNA	0.201 681	8.40×10 ⁻³
NM_022154	溶质载体家族 39(锌转运体), 成员 8	0.273 109	2.09×10 ⁻²
NM_024093	染色体 2 开放阅读框 49(C2orf49), mRNA	0.201 681	4.47×10 ⁻⁴
NM_024587	跨膜蛋白 53(TMEM53), mRNA	0.201 681	1.30×10 ⁻²
NM_031473	鞭毛内运输 81 同系物(衣藻)	0.201 681	3.51×10 ⁻³
NM_032139	VPS9 域(ANKRD27)	0.201 681	2.04×10 ⁻²
NM_032491	调节因子 X, 4(HLA II 类)	0.201 681	2.31×10 ⁻²
NM_080677	动力蛋白, 轻链, LC8-type 2(DYNLL2), mRNA	0.201 681	1.51×10 ⁻²
NM_152291	黏液蛋白 7, 分泌(MUC7), 转录变体 3, mRNA	0.201 681	1.33×10 ⁻²
NM_152446	染色体 14 开放阅读框 145(C14orf145)	0.201 681	1.64×10 ⁻²
NM_152453	跨膜和线圈结构域 5A(TMCO5A)	0.201 681	1.02×10 ⁻³
NM_152540	sec1 家族结构域 2(SCFD2), mRNA	0.201 681	7.65×10 ⁻³
NM_173802	染色体 12 开放阅读框 72(C12orf72)	0.201 681	1.62×10 ⁻²
NM_173806	染色体 16 开放阅读框 65(C16orf65), mRNA	0.201 681	2.27×10 ⁻³
NM_175839	精胺氧化酶(SMOX), 转录变体 1, mRNA	0.201 681	2.77×10 ⁻³
NM_183381	环指蛋白 13(RNF13), 转录变体 4	0.201 681	1.32×10 ⁻²
NM_201535	NDRG 家族成员 2(NDRG2), 转录变体 1	0.201 681	9.66×10 ⁻³
NM_207435	染色体 12 开放阅读框 76(C12orf76), mRNA	0.201 681	2.79×10 ⁻²

表 5 差异表达的 miRNA 靶基因的功能

靶基因功能	n	%	P 值
RNA 代谢过程的正调控	11	23.9	6.4×10^{-3}
细胞大分子生物合成过程	9	19.6	1.3×10^{-2}
转录, DNA 模板	19	41.3	1.9×10^{-2}
核酸模板转录的调控	15	32.6	2.3×10^{-2}
转录的正调控, DNA 模板	15	32.6	2.4×10^{-2}
核酸转录的正调控	15	32.6	2.6×10^{-2}
含碱基化合物代谢过程	8	17.4	3.1×10^{-2}
RNA 代谢过程的调控	8	17.4	3.1×10^{-2}
RNA 生物合成过程的正调控	9	19.6	3.1×10^{-2}
RNA 代谢过程	8	17.4	3.3×10^{-2}
正调控氮化合物代谢过程	15	32.6	3.4×10^{-2}
核糖核酸生物合成的过程	17	37.0	4.2×10^{-2}
细胞锌离子稳态	9	19.6	4.3×10^{-2}
锌离子跨膜转运	15	32.6	4.4×10^{-2}
RNA 聚合酶 II 启动子的转录调控	2	4.3	5.1×10^{-2}
锌离子体内平衡	9	19.6	5.2×10^{-2}
锌离子转运	15	32.6	5.2×10^{-2}
RNA 聚合酶 II 启动子的转录起始	2	4.3	5.3×10^{-2}
细胞器的组装	2	4.3	5.8×10^{-2}
含碱基化合物代谢过程的调控	3	6.5	6.0×10^{-2}
细胞生物合成过程的正调控	8	17.4	6.9×10^{-2}
基因表达调控	8	17.4	8.5×10^{-2}
含碱基化合物的生物合成过程	8	17.4	9.3×10^{-2}

3 讨论

肝纤维化的早期诊断和持续随访对于预防肝硬化和终末期肝病至关重要。临床上常用的诊断方法——肝活检是一种有创性的手术,具有很大的局限性,因此,迫切需要一种新的诊断方法。既往研究证实了循环 miRNAs 可作为肝纤维化疾病进展的生物学标志物^[5]。另有学者在 HBV 感染患者 S1~S4 期组中检测到 140 个 miRNA,其中有 12 个 miRNA 在各个阶段均有差异表达^[6]。

在本研究中纳入了 75 例肝纤维化患者,其中包括了 35 例非乙肝患者和 35 例乙肝患者,同时以 35 例健康者作为对照。采用高通量测序对 HBV 相关纤维化差异表达的 miRNA 进行了筛选。发现与健康人对照组相比,在乙肝组中有 53 个表达具有显著性差异的 miRNA,其中表达上调的 miRNA 有 30 个,表达下调的有 23 个。与非乙肝组相比,在乙肝组中有 23 个显著性表达的 miRNA,其中表达上调的 miRNA 有 14 个,表达下调的 miRNA 有 9 个。笔者选取乙肝组中表达差异最为显著的 miR-505-3p、miR-197-3p、miR-500a-3p、miR-33a-5p 进行进一步分析。通过 GO 分析发现,差异基因主要涉及生物学过程、细胞组分以及分子功能。但本

研究报道的差异表达的 miRNA 通过转导通路参与肝纤维化的发生、发展,但具体机制仍需进一步验证。部分 miRNA 已有相关研究报道。例如,miR-505-3p 可以通过上调趋化因子受体,在高胆固醇血症中发挥了重要作用^[7]。miR-197-3p 在肺癌患者血浆中表达异常,有望成为肺癌的标志物^[8]。然而,这些 miRNA 是否与 HBV 相关肝纤维化有关,仍需要进一步的实验验证。

综上所述,本研究结果表明,表达差异显著的 miRNA 可能作为 HBV 相关肝纤维化的临床标志物。然而,本研究分析的样本量有限,结果还不足以确定 miRNA 的表达与 HBV 相关肝纤维化之间的关系存在一定的规律,但对于研究 HBV 相关肝纤维化的发生以及临床上早期诊断和预防研究具有重要的参考价值,血清中 miRNA 的含量或可作为肝纤维化的诊断和预后生物学标志物。

4 参考文献

- [1] Xu XY, Wang WS, Zhang QM, *et al.* Performance of common imaging techniques vs serum biomarkers in assessing fibrosis in patients with chronic hepatitis B: a systematic review and meta-analysis[J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7(15): 2022-2037.
- [2] Makhmudi A, Kalim AS, Gunadi. microRNA-21 expressions impact on liver fibrosis in biliary atresia patients[J]. *BMC Res Notes*, 2019, 12(1): 189.
- [3] 袁俊菲, 林杰, 李晓军. miRNA: 2 型糖尿病潜在的新型生物标志物[J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(6): 434-436.
- [4] 中华医学会肝病分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 2010 年更新版[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2011, 5(1): 79-100.
- [5] Lee CH, Kim JH, Lee SW. The role of MicroRNA in pathogenesis and as markers of HCV chronic infection[J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(7): 756-765.
- [6] Jin BX, Zhang YH, Jin WJ, *et al.* MicroRNA panels as disease biomarkers distinguishing hepatitis B virus infection caused hepatitis and liver cirrhosis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15026.
- [7] Escate R, Mata P, Cepeda JM, *et al.* miR-505-3p controls chemokine receptor up-regulation in macrophages: role in familial hypercholesterolemia[J]. *FASEB J*, 2018, 32(2): 601-612.
- [8] 朱立欢, 李坚, 朱宇敏, 等. 肺癌患者血浆 miR-197-3p 和 miR-361-3p 表达的诊断评价[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2015, 25(2): 149-154.

(收稿日期: 2021-05-13)

(本文编辑: 许晓蒙)