

引用本文:李艺明,邓倩曦.酒精性肝炎病人血清微小核糖核酸-182和微小核糖核酸-30e检测及临床意义[J].安徽医药,2022,26(2):282-285.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.02.018.

◇临床医学◇



## 酒精性肝炎病人血清微小核糖核酸-182和微小核糖核酸-30e检测及临床意义

李艺明,邓倩曦

作者单位:绵阳市第三人民医院、四川省精神卫生中心消化内科,四川 绵阳 621000

**摘要:** 目的 检测酒精性肝炎病人中血清微小核糖核酸(miR)-182和miR-30e的水平,探讨其临床意义。方法 选取2018年1月至2019年10月绵阳市第三人民医院收治的酒精性肝炎病人98例为观察组,选取同时间段绵阳市第三人民医院体检中心体检的健康志愿者89例为健康对照组。两组均采用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测外周血血清miR-182和miR-30e水平。比较两组及观察组中未并发酒精性肝硬化、并发酒精性肝硬化、酒精性肝硬化代偿期、酒精性肝硬化失代偿期病人血清miR-182和miR-30e水平。结果 观察组血清miR-182[(0.21±0.04)比(0.65±0.12)]和miR-30e水平[(0.41±0.08)比(1.58±0.25)]均低于健康对照组( $P<0.05$ );观察组中并发酒精性肝硬化病人血清miR-182[(0.13±0.03)比(0.24±0.05)]和miR-30e水平[(0.29±0.04)比(0.45±0.10)]均低于未并发酒精性肝硬化病人( $P<0.05$ );并发酒精性肝硬化失代偿期病人血清miR-182[(0.06±0.02)比(0.15±0.04)]和miR-30e水平[(0.13±0.03)比(0.35±0.05)]均低于代偿期病人( $P<0.05$ )。结论 在酒精性肝炎病人中血清miR-182和miR-30e水平偏低,尤其是在并发酒精性肝硬化病人中其水平更低,在肝硬化失代偿期其水平明显低于代偿期病人。

**关键词:** 肝炎,酒精性; 肝硬化,酒精性; 微小核糖核酸; 微小核糖核酸-182; 微小核糖核酸-30e; 临床意义

### Detection and clinical significance of serum mir-182 and mir-30e in patients with alcoholic hepatitis

LI Yiming, DENG Qianxi

Author Affiliation: Department of Gastroenterology, The Third Hospital of Mianyang, The Mental Health Center of Sichuan, Mianyang, Sichuan 621000, China

**Abstract:** **Objective** To detect the levels of serum microRNA (miR-182) and miR-30e in patients with alcoholic hepatitis and to explore their clinical significance. **Methods** Ninety-eight patients with alcoholic hepatitis who admitted to Mianyang Third People's Hospital from January 2018 to October 2019 were selected as the observation group, and 89 healthy volunteers who received physical examination at the Medical Examination Center of Mianyang Third People's Hospital during the same time period were selected as healthy control group. The serum levels of miR-182 and miR-30e between the two groups were detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR). The serum levels of miR-182 and miR-30e in patients with non-complicated alcoholic cirrhosis, complicated alcoholic cirrhosis, alcoholic cirrhosis, and decompensated alcoholic cirrhosis were compared between the two groups and the observation group. **Results** The average levels of miR-182 [(0.21±0.04) vs. (0.65±0.12)] and miR-30e [(0.41±0.08) vs. (1.58±0.25)] in the disease group were lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The serum levels of miR-182 [(0.13±0.03) vs. (0.24±0.05)] and miR-30e [(0.29±0.04) vs. (0.45±0.10)] in patients with alcoholic cirrhosis were lower than those in patients without alcoholic cirrhosis ( $P < 0.05$ ). The serum levels of miR-182 [(0.06±0.02) vs. (0.15±0.04)] and miR-30e [(0.13±0.03) vs. (0.35±0.05)] in patients with decompensated alcoholic cirrhosis were lower than those in patients with decompensated alcoholic cirrhosis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The serum levels of miR-182 and miR-30e are lower in patients with alcoholic hepatitis, especially in patients with alcoholic cirrhosis, and their levels of patients with decompensated liver cirrhosis are lower those in patients with compensated patients.

**Key words:** Hepatitis, alcoholic; Liver cirrhosis, alcoholic; MicroRNA; MiR-182; MiR-30e; Clinical significance

酒精性肝炎是指长期过量饮酒所致的肝脏炎症反应性疾病,可随着疾病的发展出现肝硬化、肝衰竭等,危害甚重。据统计<sup>[1]</sup>,我国酒精性肝病的患病率约为4.34%,其中酒精性肝炎、酒精性肝硬化分

别为1.51%、0.68%,且酒精性肝炎伴肝硬化病人预后差,5年生存率仅为40%左右,因此需对酒精性肝炎病人明确诊断、及早治疗。当前临床上常用的酒精性肝炎指标主要包括肝功能、肝纤维化指标等,

但均缺乏特异性,且临床意义有限。微小核糖核酸(miR)-182定位于人类7号染色体(7q32.2),可与miR-96、miR-183形成基因簇,可以调节生物体的生长、发育及分化,并且与视力、听力和中枢神经系统障碍等疾病发生关系密切<sup>[2-3]</sup>。研究指出<sup>[4]</sup>,miR-182与酒精依赖有相关性,且与肝细胞癌、肝硬化等也有紧密关联。miR-30e可靶向调控自噬相关基因,与生物体的代谢、肿瘤的生长等均有密切关联。有研究指出<sup>[5]</sup>,非酒精性脂肪肝病人中外周血miR-30e水平偏低,且对肝癌也有诊断价值。但目前关于酒精性肝炎病人血清miR-182和miR-30e水平检测及意义尚鲜有报道。为探讨上述问题,本研究分别对98例酒精性肝炎病人和89例健康志愿者的资料展开回顾性分析,报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2018年1月至2019年10月绵阳市第三人民医院收治的酒精性肝炎病人98例为观察组,选取同时间段绵阳市第三人民医院体检中心体检的健康志愿者89例为健康对照组。观察组男81例、女17例,年龄(45.26±8.46)岁,范围为33~68岁,体质量指数(22.14±2.16)kg/m<sup>2</sup>,范围为17.65~27.85 kg/m<sup>2</sup>,其中有27例并发酒精性肝硬化,肝硬化代偿期20例、失代偿期7例,其中初诊21例,所有病人均接受常规保肝、护肝治疗;健康对照组男76例、女13例,年龄(46.75±9.05)岁,范围为30~70岁,体质量指数(22.16±2.14)kg/m<sup>2</sup>,范围为17.61~27.89 kg/m<sup>2</sup>。两组性别、年龄及体质量指数比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

**1.2 纳入与排除标准** 纳入标准:①观察组均符合《酒精性肝病诊断标准》中酒精性肝炎的诊断标准<sup>[6]</sup>,健康对照组均为健康志愿者;②均检测外周血血清miR-182和miR-30e水平;③均对本研究知情同意,签署知情同意书。排除标准:①原发性或转移性肝癌、肝血管瘤等其它类型肝病者;②合并乳腺癌、肺癌等恶性肿瘤者;③存在其它类型可能与miR-182和miR-30e异常表达有关的疾病者,如视力、听力和中枢神经系统障碍等;④存在认知、精神、沟通等方面障碍者。

**1.3 血清miR-182和miR-30e水平检测** (1)试剂和仪器:美国Beckman Coulter公司Avanti型台式离心机、日本三洋公司MDF-U54V型医用超低温冰箱,美国Invitrogen公司miR easy Mini kit试剂盒,美国GeneCopoeia公司miR逆转录试剂盒,美国Bio-Rad公司SC46-T100型PCR仪;(2)检测方法:取外周血各5 mL,3 000 r/min离心10 min,取上清液保存于-

80℃的医用超低温冰箱中。利用miR easy Mini kit试剂盒抽提血清RNA,并采用miR逆转录试剂盒将其逆转录为cDNA,合成相应的Taqman荧光探针。以PCI仪进行扩增反应,其中miR-182引物序列正向引物:GCGCTGCTAGACTCTCTGAAT,反向引物:GCTCGATAGCTATTAGCTATAGCTA;miR-30e引物序列正向引物:CGATATAGACTAGCTAGAGAGC-TAG,反向引物:CGTGATAGAGAGCTAGAGCGCGC-GATAGC,内参为U6,引物均根据GenBank人类信息利用Primer5.0软件设计,委托宝生物(大连)科技有限公司合成。反应条件:95℃10 min(预变性)、95℃20 s(变性)、58℃60 s(退火)、72℃40 s(延伸),40个循环。绘制PCR曲线,得到Ct值,即荧光强度达到的阈值所需的循环数,待测基因的相对表达量计算方法: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

**1.4 观察指标** 比较观察组与健康对照组及观察组中未并发酒精性肝硬化、并发酒精性肝硬化、酒精性肝硬化代偿期、酒精性肝硬化失代偿期病人血清miR-182和miR-30e水平。

**1.5 统计学方法** 数据处理以SPSS 25.0软件,采用 $\bar{x} \pm s$ 描述计量资料,两独立样本间均数的比较采用成组 $t$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 观察组和健康对照组血清miR-182和miR-30e水平对比** 观察组血清miR-182和miR-30e水平均低于健康对照组( $P<0.05$ ),见表1。

表1 观察组和健康对照组血清miR-182和miR-30e水平对比/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	miR-182	miR-30e
健康对照组	89	0.65±0.12	1.58±0.25
观察组	98	0.21±0.04	0.41±0.08
$t$ 值		34.27	43.93
$P$ 值		<0.001	<0.001

**2.2 观察组中是否并发酒精性肝硬化病人血清miR-182和miR-30e水平对比** 观察组中并发酒精性肝硬化病人血清miR-182和miR-30e水平均低于未并发酒精性肝硬化病人( $P<0.05$ ),见表2。

**2.3 并发酒精性肝硬化代偿期、失代偿期病人血清miR-182和miR-30e水平对比** 并发酒精性肝硬化失代偿期病人血清miR-182和miR-30e水平均低于代偿期病人( $P<0.05$ ),见表3。

## 3 讨论

酒精性肝炎主要由于长期过量饮酒所致,且与个体对乙醇的敏感性有关。研究指出<sup>[7-9]</sup>,长期饮酒不仅可引起肝脏内良性脂肪堆积,还可增加肝组织

**表2** 观察组中是否并发酒精性肝硬化病人血清 miR-182 和 miR-30e 水平对比/ $\bar{x} \pm s$ 

并发肝硬化	例数	miR-182	miR-30e
是	27	0.13±0.03	0.29±0.04
否	72	0.24±0.05	0.45±0.10
<i>t</i> 值		10.71	8.06
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

**表3** 并发酒精性肝硬化代偿期、失代偿期病人血清 miR-182 和 miR-30e 水平对比/ $\bar{x} \pm s$ 

并发酒精性肝硬化	例数	miR-182	miR-30e
失代偿期	7	0.06±0.02	0.13±0.03
代偿期	20	0.15±0.04	0.35±0.05
<i>t</i> 值		5.66	10.89
<i>P</i> 值		0.000	0.000

铁负荷量,引起机体防御机制失调,诱导氧化应激和脂质过氧化损伤,诱发炎症和纤维环,在“初次打击”和“二次打击”的作用下可导致肝脏炎症反应损害,损伤肝脏细胞的结构和功能。酒精性肝炎病人若得不到及时诊治,可发展为酒精性肝硬化,增加死亡几率,尤其是在酒精依赖、成瘾病人中酒精性肝硬化和死亡的发生风险均更高<sup>[10]</sup>。但目前人们对酒精性肝炎及酒精性肝硬化的发生和发展认识尚浅,而 miR 在此类疾病中的异常表达及作用机制虽有少量报道,也仍需要继续深入探讨。

miR-182 已被证实在原发性肝癌病人中表达水平偏低,且与病情程度、肝功能均有密切关系<sup>[11]</sup>。miR-182 可以与靶基因的启动子、5' UTR 结合发挥作用,其作用复杂,且基因簇也很多,在细胞增殖、发育、分化、代谢和凋亡过程中均积极参与且发挥重要的作用。有研究显示<sup>[12]</sup>,慢性低浓度酒精摄取可以下调小鼠小脑 miR-182 的表达水平,且可引发酒精依赖,并诱导中枢神经系统炎症反应损害,甚至可导致认知功能障碍,推测该基因表达有助于位置神经元的正常结构和功能,而长期过量饮酒可通过下调该基因的表达从而诱导炎症性损伤。因此 miR-182 在酒精性肝炎病人中的表达水平也可能显著下调,且参与肝脏结构与功能的损害,影响肝功能,但是其作用机制均尚未清楚,仍需深入探讨和挖掘。本研究中观察组血清 miR-182 的水平明显低于健康对照组,提示酒精性肝炎病人中血清 miR-182 水平较低。此外,本研究中还显示并发酒精性肝硬化病人的血清 miR-182 水平低于未并发病人,且失代偿期病人血清 miR-182 水平低于代偿期病人,可知酒精性肝炎病人血清 miR-182 水平很可能与疾病发展有关,推测很可能是长期过度饮酒导致 miR-182 表达水平下调,进而诱导肝细胞损伤,且其

水平表达水平越低,肝细胞炎症反应性损伤越严重,肝功能损害也越严重,故而并发酒精性肝硬化的风险越高,病情进展也越快。

miR-30e 是 miR-30 的一个重要成员,可通过碱基互补配对方式与靶基因相结合,抑制靶基因的表达,进而调控细胞的生长、增殖、分化与凋亡,最终可实现调控机体生长发育和代谢的作用<sup>[13]</sup>。miR-30e 在心血管系统、代谢性疾病以及肿瘤的发生和发展过程中均扮演着重要的角色,其主要作用机制有诱导细胞自噬、诱导氧化应激反应、调控脂肪细胞形成等,在炎症反应病理改变中也发挥着重要的作用<sup>[14]</sup>。有研究显示<sup>[15]</sup>,miR-30e 可协同其家族成员共同参与肝脏炎症损伤的发生和进展,在肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌病人中均发现其表达水平显著下调。另有研究<sup>[16]</sup>显示血清 miR-30e 低表达可参与慢性肝病的发生和发展,且其水平越低意味着肝脏损伤越严重,病人的预后则越差。据此可以推测 miR-30e 很可能能够通过多种途径参与肝损伤病理改变,在酒精性肝炎发生及发展过程中也可能通过影响肝脏内脂肪细胞的形成与积聚、肝细胞的炎症性损伤和肝脏的代谢功能等发挥重要作用。本次研究中观察组血清 miR-30e 水平远低于健康对照组,提示酒精性肝炎病人血清 miR-30e 水平普遍偏低。此外,本研究中观察组并发酒精性肝硬化病人血清 miR-30e 水平低于未并发病人,且酒精性肝硬化失代偿期病人血清 miR-30e 水平低于代偿期病人,可知该指标不仅可评价酒精性肝炎的发生情况,对是否并发酒精性肝硬化、酒精性肝硬化的临床分期判断也有一定的指导作用,但其中具体的作用机制仍有待深入探讨。

综上,在酒精性肝炎病人中血清 miR-182、miR-30e 水平较健康人群偏低,且并发酒精性肝硬化病人中其水平更低,酒精性肝硬化失代偿期其水平也明显低于酒精性肝硬化代偿期病人,二者水平与该病的发生和发展有密切关系。但目前人们关于 miR-182、miR-30e 异常表达参与该病发生和发展的具体机制认识尚浅,仍需深入探讨研究,以期为该病的防治提供新的方向。

### 参考文献

- [1] 高慧,匡哲,钟春秀,等.接受抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者非酒精性脂肪性肝病的患病率及其危险因素分析[J].中华肝脏病杂志,2019,27(5):347-351.
- [2] LIVINGSTONE MC, JOHNSON NM, ROEBUCK BD, et al. Serum miR-182 is a predictive biomarker for dichotomization of risk of hepatocellular carcinoma in rats [J]. Mol Carcinog, 2019, 58(11):2017-2025.
- [3] 马宁,朱琳,杨沁涵,等.miR-182通过靶向调节细胞周期蛋

- 白依赖性激酶1促进由氧化应激诱导的HLE-B3细胞凋亡[J]. 国际遗传学杂志, 2018, 41(6):459-464.
- [4] QIN X, LI C, GUO T, et al. Upregulation of DARS2 by HBV promotes hepatocarcinogenesis through the miR-30e-5p/MAPK/NFAT5 pathway [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1):148.
- [5] JIN X, YU MS, HUANG Y, et al. MiR-30e-UCP2 pathway regulates alcoholic hepatitis progress by influencing ATP and hydrogen peroxide expression [J]. Oncotarget, 2017, 8(38):64294-64302.
- [6] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 酒精性肝病防治指南(2018年更新版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(2):170-176.
- [7] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 酒精性肝病防治指南(2018更新版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2018, 26(3):188-194.
- [8] LIU HN, WU H, CHEN YJ, et al. Serum microRNA signatures and metabolomics have high diagnostic value in hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8(65):108810-108824.
- [9] ASHMAWY AM, ELGESHY KM, ABDEL SALAM ET, et al. Crosstalk between liver-related microRNAs and Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in hepatocellular carcinoma patients[J]. Arab J Gastroenterol, 2017, 18(3):144-150.
- [10] ZHI F, SHAO N, XUE L, et al. Characteristic microRNA expression induced by  $\delta$ -opioid receptor activation in the rat liver under prolonged hypoxia[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(6):2296-2309.
- [11] 夏海娜, 张森, 叶晶晶, 等. miR-182在体内外肝癌细胞中的表达及对肝癌的诊断价值[J]. 浙江实用医学, 2015, 20(03):191-192, 198.
- [12] 辛凤, 胡建. 大鼠前额叶皮质miR-182与酒精依赖的关系[J]. 神经疾病与精神卫生, 2017, 17(7):461-464.
- [13] JIANG Y, CHEN J, YUE C, et al. The Role of miR-182-5p in Hepatocarcinogenesis of Trichloroethylene in Mice [J]. Toxicol Sci, 2017, 156(1):208-216.
- [14] FENG GX, LI J, YANG Z, et al. Hepatitis B virus X protein promotes the development of liver fibrosis and hepatoma through downregulation of miR-30e targeting P4HA2 mRNA [J]. Oncogene, 2017, 36(50):6895-6905.
- [15] MAO J, HU X, PANG P, et al. miR-30e acts as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma partly via JAK1/STAT3 pathway [J]. Oncol Rep, 2017, 38(1):393-401.
- [16] 孙宽学, 夏红卫. miR-30e和miR-223在肝癌患者中的检测及临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(9):1496-1500.

(收稿日期:2019-12-08,修回日期:2020-02-02)

引用本文:郑小冬,祝毓斌,林鲁飞,等.泛素羧基末端水解酶L1、胶质纤维酸性蛋白水平对新生儿窒息脑损伤的诊断价值[J].安徽医药,2022,26(2):285-289.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.02.019.

◇临床医学◇



## 泛素羧基末端水解酶L1、胶质纤维酸性蛋白水平对新生儿窒息脑损伤的诊断价值

郑小冬<sup>1</sup>, 祝毓斌<sup>2</sup>, 林鲁飞<sup>1</sup>, 蔡文燕<sup>1</sup>, 吴岳彪<sup>1</sup>

作者单位:<sup>1</sup>海口市第四人民医院儿科, 海南 海口 571199;

<sup>2</sup>海口市妇幼保健院新生儿科, 海南 海口 570203

**摘要:** 目的 探究血清泛素羧基末端水解酶L1(UCH-L1)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)水平对新生儿窒息后脑损伤的诊断价值。方法 选取2016年1月至2019年5月海口市第四人民医院收治的窒息新生儿126例,根据1 min Apgar评分分为重度窒息组57例和轻度窒息组69例。另根据患儿出生后5~14 d颅脑B超、CT或磁共振扫描结果,将入组患儿分为脑损伤组(77例)和无脑损伤组(49例)。另选取同期在海口市第四人民医院出生的健康新生儿123例为对照组。采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定所有受试新生儿血清UCH-L1、GFAP水平, Pearson法进行相关性分析, ROC曲线进行血清UCH-L1、GFAP诊断价值分析。结果 重度窒息组新生儿神经行为评估(NBNA)评分明显低于轻度窒息组[(32.05±1.79)分比(36.12±2.54)分,  $P<0.05$ ]。对照组、轻度窒息组、重度窒息组血清UCH-L1[(0.78±0.25)ng/mL、(1.36±0.42)ng/mL、(2.19±0.71)ng/mL]、GFAP[(0.48±0.16)ng/mL、(1.14±0.28)ng/mL、(1.65±0.49)ng/mL]水平依次显著升高( $P<0.05$ ), 1 min Apgar评分依次显著降低[(9.14±1.09)、(5.46±1.28)、(2.25±0.73),  $P<0.05$ ]。脑损伤组患儿血清UCH-L1、GFAP水平明显高于无脑损伤组患儿( $P<0.05$ ), NBNA评分明显低于无脑损伤组患儿( $P<0.05$ )。窒息后脑损伤患儿血清UCH-L1、GFAP水平均与NBNA评分呈负相关( $P<0.05$ )。低1 min Apgar评分、低NBNA评分、高UCH-L1水平、高GFAP水平是影响新生儿窒息后脑损伤发生的独立危险因素( $P<0.05$ )。血清UCH-L1、GFAP联合预测新生儿窒息后脑损伤的曲线下面积为0.876, 灵敏度为89.60%, 特异度为88.00%。结论 新生儿窒息后脑损伤患儿血清UCH-L1、GFAP水平显著升高, 可能作为生物标志物, 对新生儿窒息后脑损伤有一定诊断价值。

**关键词:** 新生儿窒息; 泛素羧基末端水解酶L1; 胶质纤维酸性蛋白; 脑损伤