

- 124-3p and its target ANXA7 and their effects on cell migration and invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(3):357-370.
- [17] LIANG YP, LIU Q, XU GH, et al. The lncRNA ROR/miR-124-3p/TRAF6 axis regulated the ischaemia reperfusion injury-induced inflammatory response in human cardiac myocytes [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2019, 51(6):381-392.
- [18] LUO Y, YU MH, YAN YR, et al. Rab27A promotes cellular apoptosis and ROS production by regulating the miRNA-124-3p/STAT3/RelA signalling pathway in ulcerative colitis [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(19):11330-11342.
- [19] XIE TB, ZHANG TH, DING C, et al. Ulcerative colitis endoscopic index of severity (UCEIS) versus Mayo endoscopic score (MES) in guiding the need for colectomy in patients with acute severe colitis [J]. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2018, 6(1):38-44.
- [20] PABLA BS, SCHWARTZ DA. Assessing severity of disease in patients with ulcerative colitis [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2020, 49(4):671-688.
- (收稿日期:2022-05-13,修回日期:2022-06-16)

引用本文:卢忠友,顿晓琴,胡莉,等.肝硬化96例血清中微RNA-454和Wnt10a的表达及其临床意义[J].安徽医药, 2024, 28(1):172-176.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.01.036.

◇临床医学◇



## 肝硬化96例血清中微RNA-454和Wnt10a的表达及其临床意义

卢忠友,顿晓琴,胡莉,张光燕,吴小微

作者单位:武汉科技大学附属汉阳医院消化内科,湖北 武汉 430000

通信作者:吴小微,女,主任医师,研究方向为消化道肿瘤,Email:wuxiaowei89190@163.com

**摘要 目的** 探究肝硬化病人血清中微RNA (microRNA, miR)-454和无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a (Wnt10a)的表达及其临床意义。**方法** 以2018年2月至2020年12月入住武汉科技大学附属汉阳医院的96例肝硬化病人为肝硬化组,并根据Child-Pugh分级分为A级36例、B级31例、C级29例。另选60例健康体检者为对照组。抽取空腹外周血检测天冬氨酸转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、丙氨酸转氨酶(ALT)等肝功能指标,qRT-PCR法检测血清中miR-454和Wnt10a表达水平,并分析miR-454、Wnt10a与Child-Pugh分级评分及AST、ALT、ALB等肝功能指标的关系;受试者操作特征(ROC)曲线分析miR-454、Wnt10a对严重肝硬化的诊断效能。**结果** 肝硬化组miR-454表达水平 $0.85\pm 0.20$ 显著低于对照组 $1.46\pm 0.29$ ,Wnt10a表达水平 $1.67\pm 0.31$ 显著高于对照组 $0.94\pm 0.23$ ( $P<0.05$ );肝硬化组GGT、CLO、AST、ALP、ALT、TBil水平明显高于对照组,而ALB水平低于对照组( $P<0.05$ );Child-Pugh A级、B级、C级中miR-454表达水平依次降低( $P<0.05$ );Wnt10a在Child-Pugh A级、B级、C级中表达水平逐渐增加( $P<0.05$ );血清miR-454与Wnt10a表达水平呈负相关( $r=-0.53, P<0.001$ );血清miR-454表达水平与ALB呈正相关( $r>0, P<0.05$ ),与GLO、TBil、AST、GGT、Child-Pugh分级、ALT、ALP呈负相关( $r<0, P<0.05$ );血清Wnt10a表达水平与ALB呈负相关( $r<0, P<0.05$ ),与GLO、TBil、AST、GGT、Child-Pugh分级、ALT、ALP呈正相关( $r>0, P<0.05$ );miR-454、Wnt10a诊断严重性肝硬化的曲线下面积分别为 $0.80[95\%CI:(0.71, 0.88)]$ 、 $0.73[95\%CI:(0.621, 0.837)]$ ;miR-454与Wnt10a联合诊断的曲线下面积为 $0.84[95\%CI:(0.75, 0.93)]$ 。**结论** 肝硬化病人血清中miR-454下调表达,Wnt10a上调表达,miR-454和Wnt10a呈负相关性,二者均与肝功能损伤有关,有作为诊断肝硬化严重程度的潜能。

**关键词** 肝硬化; 微RNA-454; 无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a; 谷草转氨酶; 白蛋白类; 谷丙转氨酶

### Expression of miR-454 and Wnt10a in the serum of 96 patients with cirrhosis and their clinical significance

LU Zhongyou, DUN Xiaoqin, HU Li, ZHANG Guangyan, WU Xiaowei

Author Affiliation: Department of Gastroenterology, Hanyang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430000, China

**Abstract Objective** To investigate the expression and clinical significance of microRNA (miR)-454 and wingless-type mouse mammary tumor virus integration site family, member 10A (Wnt10a) in the serum of patients with liver cirrhosis and its clinical significance.

**Methods** A total of 96 patients with cirrhosis admitted to Hanyang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technolo-

gy from February 2018 to December 2020 were selected as the cirrhosis group, and they were assigned into 36 cases in grade A, 31 cases in grade B, and 29 cases in grade C according to the Child-Pugh grading. Another 60 healthy subjects were selected as the control group. The fasting peripheral blood was taken to detect liver function indicators such as aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB), alanine aminotransferase (ALT), etc. The expression levels of miR-454 and Wnt10a in serum were detected with qRT-PCR method. The relationship between miR-454, Wnt10a and Child-Pugh grading score and liver function indicators, such as AST, ALT, ALB, was analyzed; the diagnostic efficacy of miR-454 and Wnt10a for severe liver cirrhosis was analyzed with ROC curve. **Results** The expression level of miR-454 in the cirrhosis group  $0.85 \pm 0.20$  was significantly lower than that in the control group  $1.46 \pm 0.29$ , and the expression level of Wnt10a  $1.67 \pm 0.31$  was significantly higher than that in the control group  $0.94 \pm 0.23$  ( $P < 0.05$ ); the levels of glutamyltransferase (GGT), globulin (GLO), AST, ALP, ALT, and total bilirubin (TBil) in the liver cirrhosis group were significantly higher than those in the control group, while the level of ALB was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ); the expression level of miR-454 in Child-Pugh grade A, B, and C decreased sequentially ( $P < 0.05$ ); the expression level of Wnt10a in Child-Pugh grade A, B, and C increased gradually ( $P < 0.05$ ); serum miR-454 was negatively correlated with the expression level of Wnt10a ( $r = -0.53$ ,  $P < 0.001$ ); the expression level of serum miR-454 was positively correlated with ALB ( $r > 0$ ,  $P < 0.05$ ), and negatively correlated with GLO, TBil, AST, GGT, Child-Pugh grading, ALT, ALP ( $r < 0$ ,  $P < 0.05$ ); the expression level of serum Wnt10a was negatively correlated with ALB ( $r < 0$ ,  $P < 0.05$ ), and positively correlated with GLO, TBil, AST, GGT, Child-Pugh grading, ALT, ALP ( $r > 0$ ,  $P < 0.05$ ); the area under the curve of miR-454 and Wnt10a in the diagnosis of severe liver cirrhosis was  $0.80$  [95%CI:(0.71,0.88)] and  $0.73$  [(95%CI: 0.62,0.84)], respectively; the area under the curve of the combined diagnosis of miR-454 and Wnt10a was  $0.84$  [95%CI:(0.75,0.93)]. **Conclusions** The expression of miR-454 is down-regulated and Wnt10a is up-regulated in patients with liver cirrhosis. There is a negative correlation between miR-454 and Wnt10a. Both of these factors are related to liver damage and have the potential to diagnose the severity of liver cirrhosis.

**Keywords** Liver cirrhosis; microRNA-454; Wingless-type mouse mammary tumor virus integration site family, member 10a; Glutamic-oxaloacetic transaminase; Albumins; Glutamic-pyruvic transaminase

肝硬化是指由于肝脏长期损伤使肝脏组织无法正常运作而导致的肝组织瘢痕形成,也被称为肝病的终末期,最终发展为肝癌等。既往研究显示,肝硬化的诱因可能包括环境、遗传因素及两者相互作用导致的病变<sup>[1]</sup>。目前,无有效改善肝硬化的治疗方法,除了减缓肝硬化进展,只有控制症状和并发症,严重影响病人生活质量<sup>[2]</sup>。肝纤维化是形成肝硬化的必要阶段,同时在这个过程中肝星状细胞起着关键作用<sup>[3]</sup>。人微RNA(microRNA, miRNA)具有调节肝星状细胞中纤维化信号通路的能力<sup>[4]</sup>。既往研究显示,miR-144、miR-16、miR-30、miR-483等多种miRNA通过调节肝星状细胞,最终抑制肝纤维化进程<sup>[5]</sup>。无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a(Wnt10a)是Wnt家族的重要一员。Wnt信号通路是细胞生长和增殖的重要调节因子,能够启动对肝脏器官的正常发育所必需的信号级联反应,其活性的改变与肝癌等其他疾病的发展有关<sup>[6]</sup>。研究显示,Wnt信号通路受阻时,肝星状细胞的激活也受到抑制,继而阻止肝纤维化<sup>[7]</sup>。Wang等<sup>[8]</sup>发现,miR-454、Wnt10a在肝硬化小鼠及转化生长因子(TGF)- $\beta$ 1处理的HSC-T6细胞中异常表达,miR-454通过抑制Wnt10a来负调节肝星状细胞,从而抑制肝硬化进展。基于此,本研究旨在进一步明确肝硬化病人血清中miR-454和Wnt10a的表达变化,并分析其临床意义,以期临床早期诊断提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 将武汉科技大学附属汉阳医院2018年2月至2020年12月收治的96例肝硬化病人纳入肝硬化组,其中男、女分别为55、41例,年龄( $45.26 \pm 10.74$ )岁,符合肝硬化诊断标准<sup>[9]</sup>,并结合MRI、CT影像学检查、临床表现确诊。将肝硬化组96例病人进行Child-Pugh分级<sup>[10]</sup>:A级36例( $\leq 6$ 分)、B级31例(7~9分)、C级( $\geq 10$ 分)29例;根据肝硬化病因分为:64例为病毒性肝炎病人,16例为酒精性肝炎,10例为胆汁性肝硬化,6例为其他病因。另选同期60例在本院健康体检者,男、女分别34、26例,年龄( $46.65 \pm 11.28$ )岁,其与肝硬化组一般资料差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有病人无肝脏手术病史,均自愿参与本研究,并签署知情同意书。排除标准:(1)合并其他肝脏疾病;(2)存在免疫系统疾病;(3)神经疾病病人;(4)合并其他器官衰竭。本研究经武汉科技大学附属汉阳医院伦理委员会批准(批号201712-05)。

## 1.2 指标检测方法

**1.2.1 荧光定量PCR检测血清miR-454和Wnt10a表达水平** 所有病人均抽取空腹外周血,分别使用RNA提取试剂盒(百奥莱博,货号WE0197)提取血清中RNA,在微量蛋白核酸分析仪上检测RNA质量,取1  $\mu$ g RNA使用反转录试剂盒(上海东洋纺,货号FSQ-301)进行反转录,然后使用SYBR qPCR Mix(上海东洋纺,货号QPX-201T)配制反应体系,并在

Q2000A 荧光定量 PCR 系统 (杭州, 朗基) 上进行反应。miR-454 和 Wnt10a 分别以 U6、GAPDH 为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算 miR-454 和 Wnt10a 表达水平。引物均送至上海英潍捷基生物公司合成。引物序列: miR-454 正向 CCTATCAATATTGTCTCTG, 反向 GAACATGTCTGCGTATCTC; U6 正向 GCTTCG-GCAGCACATATACTAA, 反向 AACGCTTCAC-GAATTTGCGT; Wnt10a 正向 TGCACCGCTTCAACTGGAT, 反向 TTCTCGCGTGGATGTCTCTG; GAPDH 正向 GGGAGCCAAAAGGGTCATCA, 反向 TGATGGCATGGACTGTGGTC。

**1.2.2 生化指标的检测** 肝硬化组及对照组病人均采集空腹外周血于真空肝素抗凝管中, 使用 BK-1200 全自动生化分析仪 (博科, 山东) 检测总胆红素 (TBil)、白蛋白 (ALB)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、球蛋白 (GLO)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶 (GGT)、碱性磷酸酶 (ALP)、丙氨酸转氨酶 (ALT) 肝功能指标, 所用试剂盒均购自上海科华生物工程股份有限公司。

**1.3 统计学方法** 数据分析使用 SPSS 25.0 软件。计数资料以例表示, 采用  $\chi^2$  检验; 计量资料符合正态分布的用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较行独立样本  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用 LSD 法。Pearson 法分析 miR-454、Wnt10a 与肝功能指标 (GGT、CLO、AST、ALP、ALT、TBil) 的相关性; Spearman 法分析 miR-454、Wnt10a 与 Child-Pugh 分级相关性。血清 miR-454 和 Wnt10a 对肝硬化严重程度的诊断效能采用受试者操作特征 (ROC) 曲线分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组血清 miR-454 和 Wnt10a 表达水平比较** 肝硬化组血清 miR-454 表达水平低于对照组, Wnt10a 表达水平明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 两组肝功能指标比较** 肝硬化组 ALB 水平显著低于对照组, GGT、CLO、AST、ALP、ALT、TBil 水平明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**2.3 不同 Child-Pugh 分级的病人血清 miR-454 和 Wnt10a 表达水平比较** 肝硬化 C 级的病人血清

表 1 肝硬化组与对照组 miR-454、Wnt10a 表达比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	miR-454	Wnt10a
对照组	60	1.46 $\pm$ 0.29	0.94 $\pm$ 0.23
肝硬化组	96	0.85 $\pm$ 0.20	1.67 $\pm$ 0.31
$t$ 值		15.54	-15.73
$P$ 值		<0.001	<0.001

注: miR-454 为微 RNA-454, Wnt10a 为无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员 10a。

miR-454 表达水平低于 B 级和 A 级, B 级 miR-454 表达水平又低于 A 级 ( $P < 0.05$ ); 血清 Wnt10a 在肝硬化 A 级、B 级及 C 级中的表达水平逐渐增加 ( $P < 0.05$ )。表 3。

**2.4 不同病因病人血清 miR-454 和 Wnt10a 表达水平比较** 肝硬化组不同病因病人血清 miR-454 和 Wnt10a 表达水平比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

**2.5 血清 miR-454 与 Wnt10a 的相关性分析** 肝硬化组病人血清 miR-454 与 Wnt10a 表达水平呈负相关 ( $r = -0.53, P < 0.001$ )。

**2.6 血清 miR-454、Wnt10a 表达水平与 Child-Pugh 分级评分、肝功能指标的相关性** 血清 miR-454 表达水平与 ALB 呈正相关, 与 TBil、GLO、GGT、Child-Pugh 分级、ALT、AST、ALP 呈负相关; 血清 Wnt10a 表达水平与 ALB 呈负相关, 与 TBil、GLO、GGT、Child-Pugh 分级、ALT、AST、ALP 呈正相关。见表 5。

**2.7 血清 miR-454、Wnt10a 诊断严重肝硬化的 ROC 曲线** miR-454 诊断严重性肝硬化的曲线下面积为 0.80 [95% CI: (0.71, 0.88)], 截断值、灵敏度、特异度分别为 0.79、75.90%、74.60%; Wnt10a 诊断严重性肝硬化的曲线下面积为 0.73 [95% CI: (0.62, 0.84)], 截断值为 1.71, 灵敏度为 75.90%, 特异度为 67.20%; miR-454、Wnt10a 联合诊断的曲线下面积为 0.84 [95% CI: (0.75, 0.93)], 灵敏度为 79.30%, 特异度为 82.10%。

## 3 讨论

肝硬化是一种慢性进行性肝病, 常见症状为乏力、腹水、肝区疼痛及肝掌等<sup>[1]</sup>。然而肝硬化的早期发病较为隐匿, 晚期会导致肝癌、急性肾损伤等,

表 2 肝硬化组与对照组肝功能指标比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	TBil/(mg/dL)	ALB/(g/L)	GLO/(g/L)	GGT/(U/L)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	ALP/(U/L)
对照组	96	8.20 $\pm$ 2.43	40.65 $\pm$ 5.89	26.73 $\pm$ 4.57	19.36 $\pm$ 4.35	18.72 $\pm$ 3.62	15.84 $\pm$ 4.24	73.65 $\pm$ 19.46
肝硬化组	96	14.67 $\pm$ 3.18	26.54 $\pm$ 4.13	38.41 $\pm$ 6.72	145.79 $\pm$ 44.06	43.65 $\pm$ 12.54	76.42 $\pm$ 20.39	158.74 $\pm$ 41.27
$t$ 值		-13.48	17.57	-11.85	-22.13	-15.00	-22.68	-14.95
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: miR-454 为微 RNA-454, Wnt10a 为无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员 10a, TBil 为总胆红素, ALB 为白蛋白, GLO 为球蛋白, GGT 为  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶, ALT 为丙氨酸转氨酶, AST 为天冬氨酸转氨酶, ALP 为碱性磷酸酶。

**表3** 不同Child-Pugh分级的肝硬化96例血清miR-454和Wnt10a表达水平比较 $\bar{x}\pm s$ 

分级	例数	miR-454	Wnt10a
A级	36	0.98±0.23	1.50±0.29
B级	31	0.83±0.2 <sup>①</sup>	1.66±0.32 <sup>①</sup>
C级	29	0.71±0.16 <sup>①②</sup>	1.89±0.32 <sup>①②</sup>
F值		14.67	12.81
P值		<0.001	<0.001

注: miR-454为微RNA-454, Wnt10a为无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a。

①与A级相比,  $P<0.05$ 。②与B级相比,  $P<0.05$ 。

**表4** 不同病因肝硬化96例血清miR-454和Wnt10a表达水平比较 $\bar{x}\pm s$ 

病因	例数	miR-454	Wnt10a
病毒性肝炎	64	0.85±0.19	1.69±0.32
酒精性肝炎	16	0.83±0.23	1.64±0.30
胆汁性肝硬化	10	0.86±0.21	1.61±0.27
其他病因	6	0.89±0.21	1.64±0.30
F值		0.14	0.28
P值		0.935	0.840

注: miR-454为微RNA-454, Wnt10a为无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a。

**表5** 肝硬化96例血清miR-454、Wnt10a表达水平与Child-Pugh分级评分、肝功能指标的相关性

指标	miR-454		Wnt10a	
	r值	P值	r值	P值
Child-Pugh 分级	-0.43	<0.001	0.40	0.001
TBil	-0.36	0.002	0.37	<0.001
ALB	0.49	<0.001	-0.42	0.016
GLO	-0.31	0.025	0.30	0.035
GGT	-0.28	0.004	0.21	0.007
ALT	-0.31	0.028	0.35	0.012
AST	-0.35	0.017	0.32	0.009
ALP	-0.28	0.002	0.30	0.024

注: miR-454为微RNA-454, Wnt10a为无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a, miR-454为微RNA-454, Wnt10a为无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员10a, TBil为总胆红素, ALB为白蛋白, GLO为球蛋白, GGT为 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶, ALT为丙氨酸转氨酶, AST为天冬氨酸转氨酶, ALP为碱性磷酸酶。

一旦发病可累及人体多个脏器,临床上无法根治,严重威胁人类健康<sup>[12]</sup>。目前,病理活检、影像学检查及血清学检查被用于临床检查肝病,其中病理分析被视为最可靠的标准,但该方法存在着如肝病变不均匀、盲穿刺错误等不足;影像学检查费用较高、早期筛查的不确定性,尤其是在医疗条件有限的农村地区难以实现;近年来瞬态弹性成像表现出较好的应用前景,但还要进一步验证<sup>[13]</sup>。血清学是一种无创诊断方法,样本采集方便并且可以动态观察,因此筛选特异性较高的检测指标尤为重要。肝

硬化形成的必要病理阶段是肝纤维化,而肝星状细胞是肝纤维化的主要标志物之一<sup>[14]</sup>。既往研究显示miRNA及Wnt信号通路通过调节肝星状细胞,参与肝纤维化进程<sup>[8]</sup>。因此,本研究通过检测肝硬化病人血清中miR-454及Wnt10a的表达水平,分析其临床意义,以期为肝硬化的血清学诊断提供依据。

先前有关肝脏中miRNA的研究明确了许多miRNA在人类肝脏疾病(包含肝硬化)中显著上调或下调表达,说明miRNA是肝病中肝功能的关键调节因子<sup>[5,8,15-17]</sup>。已鉴定出miR-146、miR-181、miR-195、miR-542等多种miRNA能够通过调节纤维相关信号通路Wnt等激活肝星状细胞促进纤维化,同时也有一部分抗纤维化的miRNA,例如miR-144、miR-16、miR-30、miR-483、miR-454等,它们通过负向调节肝星状细胞活动,最终抑制肝纤维化进程<sup>[5]</sup>。近期有学者发现,miR-146a基因rs2910164位点多态性与HBV感染者肝硬化的发生有关,并且对肝硬化程度有一定诊断价值<sup>[15]</sup>。Vuppalanchi等<sup>[16]</sup>的研究结果显示,包括miR-454在内的六种miRNA(miR-155、miR-582-5p、miR-181d、miR-500及let-7f-1)在肝硬化的肝脏中异常表达,并且与肝硬化程度密切相关。早在2014年,Zhu等<sup>[17]</sup>通过qRT-PCR检测结果发现miR-454在纤维化细胞中下调表达,其通过靶向Smad4抑制肝星状细胞的活化,提示miR-454为治疗肝纤维化提供新的方法。Wang等<sup>[8]</sup>以肝硬化大鼠及转化生长因子(TGF)- $\beta$ 1处理的HSC-T6细胞为研究对象,结果显示miR-454下调表达,Wnt10a上调表达,miR-454通过负调控Wnt10a来抑制肝星状细胞的活化和增殖。结合本研究肝硬化组miR-454的低表达,并且在Child-Pugh A级、B级及C级中miR-454表达水平逐步降低,说明miR-454可能参与肝硬化病理过程。此外,血清miR-454表达水平与ALB呈正相关,与TBil、GLO、GGT、Child-Pugh分级、ALT、AST、ALP呈负相关,提示miR-454表达水平与肝功能指标相关性较好。以上研究提示miR-454参与肝硬化形成过程,并与肝硬化进程呈负相关,有望成为诊断肝硬化的血清学指标。

Wnt信号通路与肝脏细胞的发育、增殖及癌变密切相关,并且该通路的激活有助于肝星状细胞的激活并与肝星状细胞的增殖、分解及纤维化过程呈正相关<sup>[18]</sup>。研究显示,Wnt信号通路有两种途径参与调节肝纤维化,一种是非经典Wnt信号通路(比如Wnt5a、Wnt7a),其可以诱导静息状态下的肝星状细胞激活,并转化为集成纤维细胞后进一步促进纤维化;另一种是经典Wnt信号通路(比如Wnt1、Wnt8),其通过激活肝星状细胞来诱导和促进发生纤维

化<sup>[7]</sup>。Li等<sup>[19]</sup>发现,Notum通过下调Wnt5a介导的非经典Wnt信号通路,抑制乙型肝炎病毒诱导的肝纤维化。Wnt10a是Wnt家族中的一员。研究发现,Wnt10a通过TGF- $\beta$ 信号传导促进肺纤维化<sup>[20]</sup>。结合本研究Wnt10a在肝硬化组中表达水平显著高于对照组,说明Wnt10a可能与肝硬化有关。进一步分析发现,Wnt10a在Child-Pugh C级表达水平明显高于B级,B级中Wnt10a表达水平又高于A级,提示Wnt10a参与肝硬化病理过程,并可能与严重程度有关。进一步分析Wnt10a与肝功能指标的相关性,结果显示血清Wnt10a表达水平与ALB呈负相关,与TBil、GLO、Child-Pugh分级、GGT、ALT、AST、ALP呈正相关,说明血清Wnt10a表达水平能够部分反映肝功能损伤程度,能够为诊断肝硬化的发生提供依据。

为了明确miR-454和Wnt10a表达水平是否与肝硬化致病原因有关,本研究进一步分析了肝硬化组不同病因病人血清miR-454和Wnt10a表达水平变化,结果显示miR-454和Wnt10a表达水平与病因无关。另外,本研究肝硬化组病人血清miR-454与Wnt10a表达水平呈负相关( $r=-0.53, P<0.001$ ),这与Wang等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。ROC曲线结果显示,miR-454、Wnt10a联合对预测严重肝硬化进展有重要意义。

综上所述,肝硬化病人血清miR-454表达水平降低、Wnt10a表达水平增加,miR-454与Wnt10a呈负相关,均与肝硬化程度存在相关性,并且miR-454与Wnt10a联合诊断严重肝硬化有较高价值。

### 参考文献

- [1] ZHANG YA, WANG SL, WANG C, et al. High expression of FAM13A was associated with increasing the liver cirrhosis risk [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7 (3) : e543. DOI: 10.1002/mgg3.543.
- [2] LEE NY, SUK KT. The role of the gut microbiome in liver cirrhosis treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1):199-214.
- [3] LV J, BAI R, WANG L, et al. Artesunate may inhibit liver fibrosis via the FAK/Akt/beta-catenin pathway in LX-2 cells [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2018, 19(1):1-7.
- [4] 马楚晗,于亚男,刘啟文,等.miRNA对肝纤维化TGF- $\beta$ /smad信号通路的影响 [J]. *中国临床解剖学杂志*, 2021, 39(3) : 369-372.
- [5] EZHILARASAN D. MicroRNA interplay between hepatic stellate cell quiescence and activation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 885 (5):173507.DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173507.
- [6] ZHANG R, KIKUCHI AT, NAKAO T, et al. Elimination of wnt secretion from stellate cells is dispensable for zonation and development of liver fibrosis following hepatobiliary injury [J]. *Gene Expr*, 2019, 19(2):121-136.
- [7] 张诗琬,喻雪琴,陈芳,等.Wnt信号通路在肝星状细胞激活中作用的研究进展 [J]. *山东医药*, 2019, 59(19):98-101.
- [8] WANG YZ, ZHANG W, WANG YH, et al. Repression of liver cirrhosis achieved by inhibitory effect of miR-454 on hepatic stellate cells activation and proliferation via Wnt10a [J]. *JBiochem*, 2019, 165(4):361-367.
- [9] 王贵强,王福生,成军,等.慢性乙型肝炎防治指南(2015年版) [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2015, 9(5):570-589.DOI:10.3969/j.issn.1000-2669.2016.01.001.
- [10] 郭飞波.肝硬化伴肝癌患者血氨、甲胎蛋白、胆碱酯酶、肝纤维化指标与Child-Pugh分级的相关性 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(8):1209-1212,1217.
- [11] 殷洪敏,黄敏.血清VEGF、PDGF-BB、CTGF水平与肝硬化患者肝功能分级的关系 [J]. *热带医学杂志*, 2020, 20(7):954-958,976.
- [12] 翁丽燕.肝硬化患者血清PA、GGT、CHE表达水平与肝功能的相关性 [J]. *现代诊断与治疗*, 2021, 32(2):262-263.
- [13] MA HY, DONG L, QUAN SZ, et al. Comparison of four markers of hepatic fibrosis and hepatic function indices in patients with liver cirrhosis and hepatoma [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(4) : 4108-4121.
- [14] HE W, NI W, ZHAO L, et al. MicroRNA-125a/VDR axis impaired autophagic flux and contributed to fibrosis in a CCL4-induced mouse model and patients with liver cirrhosis [J]. *Life Sciences*, 2020, 264:118666. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118666.
- [15] 孙振江,石伟珍,徐晶,等.外周血miR-146基因多态性与乙型肝炎病毒感染患者肝硬化的易感性 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(17):2575-2578.
- [16] VUPPALANCHI R, LIANG T, GOSWAMI CP, et al. Relationship between differential hepatic microRNA expression and decreased hepatic cytochrome P450 3A activity in cirrhosis [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8 (9) : e74471. DOI: 10.1371/journal.pone.0074471.
- [17] ZHU D, HE X, DUAN Y, et al. Expression of microRNA-454 in TGF- $\beta$ 1-stimulated hepatic stellate cells and in mouse livers infected with *Schistosoma japonicum* [J]. *Parasit Vectors*, 2014, 7 (1):1-7.
- [18] DU JH, REN WG, ZHANG QS, et al. Heme Oxygenase-1 suppresses Wnt signaling pathway in nonalcoholic steatohepatitis-related liver fibrosis [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:4910601. DOI: 10.1155/2020/4910601.
- [19] LI W, YU X, ZHU C, et al. Notum attenuates HBV-related liver fibrosis through inhibiting Wnt 5a mediated non-canonical pathways [J]. *Biol Res*, 2019, 52(1):1-11.
- [20] ODA K, YATERA K, IZUMI H, et al. Profibrotic role of WNT10A via TGF- $\beta$  signaling in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Respir Res*, 2016, 17:39.

(收稿日期:2022-04-19,修回日期:2022-05-20)