

乙型肝炎肝硬化患者血清 miR-25-3p 和 IBSP 表达及临床意义

赵佳慧¹, 余 雯² (1. 南通市第六人民医院检验科, 江苏南通 226001;
2. 南通市崇川区疾病预防控制中心检验科, 江苏南通 226001)

摘要: **目的** 研究乙型肝炎肝硬化患者血清微小核糖核酸 (miRNA, miR) -25-3p 和整合素结合唾液蛋白 (integrin binding sialoprotein, IBSP) 表达及临床意义。**方法** 选取 2018 年 5 月~2019 年 5 月南通市第六人民医院诊治的乙型肝炎肝硬化患者 120 例为肝硬化组, 并将其分为肝硬化失代偿并发腹腔积液组 (47 例) 和非肝硬化失代偿并发腹腔积液组 (73 例), 以同期诊治的慢性乙型肝炎患者 80 例为肝炎组, 健康体检者 60 例为对照组。应用酶联免疫吸附法检测各组血清 IBSP 表达, 荧光定量 PCR 检测各组血清 miR-25-3p 的表达。比较肝硬化组不同临床特征患者血清 miR-25-3p 和 IBSP 水平差异。Pearson 线性相关分析血清 miR-25-3p 和 IBSP 与肝功能评分的相关性。多因素 Logistic 回归分析影响肝硬化失代偿并发腹腔积液的危险因素。受试者工作曲线 (ROC) 分析 miR-25-3p 和 IBSP 及联合检测对肝硬化失代偿并发腹腔积液的诊断价值。**结果** 肝硬化组、肝炎组及对照组血清 miR-25-3p 水平分别为 5.22 ± 0.41 , 1.16 ± 0.34 和 0.92 ± 0.32 , IBSP 蛋白水平分别为 $9.34 \pm 1.28 \text{ ng/ml}$, $3.15 \pm 0.37 \text{ ng/ml}$ 和 $1.02 \pm 0.30 \text{ ng/ml}$ 。肝硬化组血清 miR-25-3p 和 IBSP 蛋白明显高于肝炎组 ($t=73.327, 42.067$) 及对照组 ($t=4.238, 34.486$), 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。肝硬化组患者血清 miR-25-3p 和 IBSP 蛋白表达水平与肝纤维化、消化道出血及腹腔积液有关 ($t=10.194 \sim 34.744$, 均 $P < 0.05$)。肝硬化组患者血清 miR-25-3p 和 IBSP 蛋白表达与清蛋白-胆红素评分 (albumin-bilirubin, ALBI)、终末期肝病模型评分 (model for end-stage liver disease, MELD)、肝硬化 Child-Pugh 评分均呈明显正相关 ($r=0.457 \sim 0.584$, 均 $P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果血清 miR-25-3p 升高 (OR:1.202, 95%CI: 1.059 ~ 1.642), IBSP 升高 (OR:1.229, 95%CI: 1.081 ~ 1.719) 是肝硬化失代偿并发腹腔积液的独立危险因素。ROC 曲线显示, miR-25-3p 和 IBSP 联合诊断肝硬化失代偿及并发腹腔积液的曲线下面积 (AUC) 大于 miR-25-3p 和 IBSP 单独诊断 ($Z=3.727, 4.163$, 均 $P=0.000$)。**结论** 乙型肝炎肝硬化患者血清中 miR-25-3p 和 IBSP 蛋白水平升高, 二者联合检测对乙型肝炎肝硬化失代偿并发腹腔积液具有较高诊断价值。

关键词: 乙型肝炎; 肝硬化; 微小核糖核酸 -25-3p; 整合素结合唾液蛋白 (IBSP)

中图分类号: R512.62; R575.2; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 04-096-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.04.019

Expression and Clinical Significance of Serum miR-25-3p and IBSP in Patients with Hepatitis B Cirrhosis

ZHAO Jia-hui¹, YU Wen² (1. Department of Clinical Laboratory, the Sixth People's Hospital of Nantong, Jiangsu Nantong 226001, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Chongchuan Center for Disease Control and Prevention of Nantong, Jiangsu Nantong 226001, China)

Abstract: Objective To study the expression and clinical significance of serum microRNA (miR) - 25-3p and integrin binding salivary protein (IBSP) in patients with hepatitis B cirrhosis. **Methods** 120 patients with hepatitis B cirrhosis treated in the Sixth People's Hospital of Nantong from May 2018 to May 2019 were selected as the cirrhosis group, and they were divided into decompensated cirrhosis complicated with peritoneal effusion group (47 cases) and non decompensated cirrhosis complicated with peritoneal effusion group (73 cases), 80 patients with chronic hepatitis B diagnosed and treated at the same time were taken as the hepatitis group and 60 healthy persons as the control group. The expression of serum IBSP was detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the expression of serum miR-25-3p was detected by fluorescence quantitative PCR. The levels of serum miR-25-3p and IBSP in patients with different clinical characteristics in cirrhosis group were compared. Pearson linear correlation analysis was used to analyze the correlation between serum miR-25-3p, IBSP and liver function score. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the risk factors of decompensated liver cirrhosis complicated with peritoneal effusion. Receiver operating curve (ROC) was used to analyze the diagnostic value of miR-25-3p, IBSP and combined detection in decompensated liver cirrhosis complicated with peritoneal effusion. **Results** The levels of serum miR-25-3p in liver cirrhosis group, hepatitis group and control group were 5.22 ± 0.41 , 1.16 ± 0.34 , 0.92 ± 0.32 , and the levels of IBSP protein were 9.34

$\pm 1.28\text{ng/ml}$, $3.15 \pm 0.37\text{ng/ml}$ and $1.02 \pm 0.30\text{ng/ml}$, respectively. Serum miR-25-3p and IBSP protein in liver cirrhosis group were significantly higher than those in hepatitis group ($t=73.327$, 42.067) and control group ($t=4.238$, 34.486), the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). The expression levels of serum miR-25-3p and IBSP protein in patients with liver cirrhosis were related to liver fibrosis, gastrointestinal bleeding and peritoneal effusion ($t=10.194 \sim 34.744$, all $P < 0.05$). The expression of serum miR-25-3p and IBSP protein in patients with liver cirrhosis was positively correlated with albumin bilirubin (ALBI) score, model for end-stage liver disease (MELD) score and child Pugh score of liver cirrhosis ($r=0.457 \sim 0.584$, all $P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the increase of serum miR-25-3p (OR: 1.202, 95% CI: 1.059 ~ 1.642) and IBSP (OR: 1.229, 95% CI: 1.081 ~ 1.719) were independent risk factors of decompensated liver cirrhosis complicated with peritoneal effusion. ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of miR-25-3p and IBSP in the combined diagnosis of decompensated liver cirrhosis and concurrent peritoneal effusion was greater than that of miR-25-3p and IBSP alone ($Z=3.727$, 4.163 , all $P=0.000$).

Conclusion The serum levels of miR-25-3p and IBSP protein in patients with hepatitis B cirrhosis increased. The combined detection of miR-25-3p and IBSP protein has high diagnostic value for decompensated hepatitis B cirrhosis complicated with peritoneal effusion.

Keywords: hepatitis B; cirrhosis; miR-25-3p; integrin binding sialoprotein (IBSP)

肝硬化是慢性肝病的终末期表现,其中乙型肝炎是肝硬化最常见的病因^[1]。腹腔积液是肝硬化最常见的并发症,是肝硬化失代偿期的重要标志,与感染、肾功能衰竭及病死率增加关系密切。对于难治性腹腔积液,患者病死率大于50%^[2]。对于肝硬化患者,在进行病因治疗同时,防治腹腔积液并发症也是临床治疗的重点。因此,寻找能够早期诊断肝硬化失代偿并发腹腔积液的血清标志物,对患者的临床诊治意义重大^[3]。微小核糖核酸(microRNA, miR)是长度约25个核苷酸的单链RNA分子,通过靶向抑制靶基因信使RNA的表达,广泛参与个体生长、发育及衰老等过程。miR-25-3p位于人类7号染色体,研究发现^[4],肝硬化失代偿患者血清miR-25-3p异常表达促进急性肝功能衰竭的发生,是患者生存预后的独立危险因素。肝硬化失代偿时肝功能合成清蛋白的能力明显降低,血浆胶体渗透压下降,促使腹腔积液的形成。因此,miR-25-3p可能与肝硬化失代偿并发腹腔积液的发生发展有关。整合素结合唾液蛋白(integrin binding sialoprotein, IBSP)编码基因位于4号染色体,属于整合素结合配体N端糖基化蛋白家族成员,在激活自然杀伤细胞、中性粒细胞和巨噬细胞中起关键作用^[5-6]。研究发现^[7],IBSP在肝硬化患者血清表达升高,可能是一种新的反映肝脏纤维化及门静脉高压程度的血清标志物。本研究通过检测血清miR-25-3p、IBSP蛋白表达水平,探讨两者在不同临床特征患者中的水平差异和对肝硬化失代偿并发腹腔积液的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2018年5月~2019年5月南通市第六人民医院诊治的乙型肝炎肝硬化患者120例为肝硬化组,纳入标准:①诊断标准参考《慢性

乙型肝炎防治指南》^[8];②近三月无保护肝功能及肝脏疾病治疗史。③患者无心肺等脏器功能衰竭。排除标准:①伴肝细胞肝癌。②并发其它类型病毒性肝炎、免疫性肝病及酒精性肝病。③并发其他器官系统的恶性肿瘤。其中男性66例,女性54例;年龄33~70(45.2 ± 7.2)岁;代偿期68例,失代偿期52例;肝纤维化程度:轻度39例,中度46例,重度35例;无腹腔积液65例,有腹腔积液55例;肝硬化伴消化道出血26例。参考《肝硬化腹腔积液及相关并发症诊疗指南》^[9],进一步将肝硬化组分为失代偿并发腹腔积液组(47例)和非失代偿并发腹腔积液组(73例)。以同期诊治的慢性乙型肝炎患者80例为肝炎组,男性45例,女性35例,年龄34~69(44.2 ± 7.6)岁。以同期门诊健康体检者60例为对照组。男性33例,女性27例,年龄33~67(45.1 ± 7.7)岁。三组在性别、年龄间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。本研究经我院伦理委员会审核批准通过。

1.2 仪器与试剂 人整合素结合唾液蛋白酶联免疫吸附实验试剂盒(赛诺利康生物技术公司,货号SNL5719),血清总RNA提取试剂盒(北京索莱宝公司,货号R1200),微量分光光度计Narodrop 2000(美国赛默飞公司),荧光定量PCR试剂盒(日本TAKARA公司,货号RR091A),全自动生化分析仪(美国Beckman公司,型号AU5800),DNM-9602G酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 血清IBSP水平: 分别用生化促凝管(含凝血酶等促凝剂)和抗凝管(枸橼酸钠1:9)留取各组研究对象空腹静脉血5ml和2ml,生化促凝管用于分离血清,抗凝管用于凝血指标检测。采用酶联免疫吸附实验检测血清IBSP水平。实验步骤严

格按照试剂盒说明书进行。待终止反应后, 450nm 波长依序测量各孔的吸光度值, 对应标准曲线, 计算出样品 IBSP 浓度。

1.3.2 血清 miR-25-3p 水平: 按 RNA 提取试剂盒说明书提取各组患者血清总 RNA, 检测 RNA 浓度和纯度, 合格后取 500 μ g 总 RNA 进行逆转录, 合成 cDNA。然后进行荧光定量 PCR 反应。miR-25-3p 和 U6 引物序列: miR-25-3p 正向: 5'CGTGCATAGACACAGGGAGTT 3', 反向: 5'GGAGGTTACATTCAGCGAT 3'; U6 正向: 5'CTGGCATCCGCTGGAGA 3', 反向: 5'TTCGGTTGTCGATATTCGGT 3'。反应总体系 10 μ l, cDNA 模板 1 μ l, 正反向引物各 1 μ l, Master Mix 5 μ l, 双蒸水 2 μ l。反应程序: 95℃ 预变性 2min, 95℃ 变性 20s, 60℃ 退火 30s, 70℃ 延伸 30s, 共 40 个循环。miR-25-3p 的表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示结果。每个样品重复三次, 结果取平均值。

1.3.3 肝功能评分: 应用全自动生化分析仪检测各组人群血清肌酐 (creatinine, Cr)、总胆红素 (total bilirubin, TBil)、清蛋白 (albumin, Alb) 水平。采用凝固法检测凝血酶原时间 (prothrombin time, PT), 计算国际标准化比值 (international normalized ratio, INR)。

选取肝硬化 Child-Pugh 评分、终末期肝病模型评分 (model for end stage liver disease, MELD) 及清蛋白胆红素评分 (albumin bilirubin score, ALBI) 评价肝硬化组患者肝功能状况。根据 TBil, Alb, PT, 腹腔积液和肝性脑病的严重程度进行 Child-Pugh 评分。MELD = $3.78 \times \ln[\text{TBil (mg/dl)}] + 11.2 \times \ln(\text{INR}) + 9.57 \times \ln[\text{血肌酐 (mg/dl)}] + 6.43$, ALBI = $-0.085 \times \text{Alb (g/L)} + 0.66 \times \lg[\text{TBil (}\mu\text{mol/L)}]$ 。

表 1 肝硬化组血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白表达水平与临床参数的关系 ($\bar{x} \pm s$)

类别	n	miR-25-3p	t 值	P 值	IBSP(ng/ml)	t 值	P 值
年龄 (岁)							
<60	53	5.30 \pm 0.39	1.819	0.071	9.31 \pm 1.36	0.218	0.828
≥ 60	67	5.16 \pm 0.44			9.36 \pm 1.15		
性别							
男性	66	5.27 \pm 0.38	1.369	0.174	9.45 \pm 1.21	1.073	0.286
女性	54	5.16 \pm 0.50			9.20 \pm 1.34		
肝纤维化程度							
轻度	39	3.21 \pm 0.61	34.744	0.000	5.68 \pm 1.57	22.504	0.000
中重度	81	6.19 \pm 0.33			11.10 \pm 1.04		
消化道出血							
有	26	5.97 \pm 0.65	10.194	0.000	12.17 \pm 1.98	11.621	0.000
无	94	5.01 \pm 0.34			8.56 \pm 1.20		
腹腔积液							
无	65	3.93 \pm 0.40	33.808	0.000	7.38 \pm 1.25	18.349	0.000
有	55	6.74 \pm 0.51			11.66 \pm 1.30		

2.3 肝硬化组患者血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白表达水平与肝功能评分的相关性 Pearson 线性相关分

析结果表明, 肝硬化组患者血清 miR-25-3p, IBSP 水平表达与 ALBI 评分、MELD 评分和 Child-Pugh

2 结果

2.1 各组血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白表达水平比较 肝硬化组、肝炎组及对照组血清 miR-25-3p 水平分别为 5.22 ± 0.41 , 1.16 ± 0.34 和 0.92 ± 0.32 , IBSP 蛋白水平分别为 $9.34 \pm 1.28\text{ng/ml}$, $3.15 \pm 0.37\text{ng/ml}$ 和 $1.02 \pm 0.30\text{ng/ml}$ 。肝硬化组血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白水平明显高于肝炎组 ($t=73.327$, 42.067 , 均 $P < 0.005$), 肝炎组血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白水平明显高于对照组 ($t=4.238$, 36.486 , 均 $P < 0.005$), 差异均有统计学意义。

2.2 肝硬化组血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白表达水平与临床参数的关系 见表 1。中重度肝纤维化、消化道出血及腹腔积液的肝硬化患者血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白水平明显高于轻度肝纤维化、无消化道出血及无腹腔积液的肝硬化患者, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。不同性别、年龄之间肝硬化患者血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白表达水平差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

评分呈明显正相关 ($r=0.584, 0.546, 0.457; 0.563, 0.520, 0.469$, 均 $P < 0.001$)。

2.4 肝硬化失代偿并发腹腔积液的多因素 Logistic 回归分析 见表2。分别以 miR-25-3p, IBSP 为自变量, 以是否发生肝硬化失代偿并发腹腔积液 (是

=1, 否=0) 为因变量, 多因素 Logistic 回归分析结果, miR-25-3p 升高 (OR: 1.202, 95%CI: 1.059~1.642), IBSP 升高 (OR: 1.229, 95%CI: 1.081~1.719) 是乙型肝炎肝硬化失代偿并发腹腔积液的独立危险因素。

表2 影响乙型肝炎肝硬化失代偿并发腹腔积液的多因素 Logistic 回归分析

项目	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
miR-25-3p	0.072	0.021	22.449	< 0.001	1.202	1.059 ~ 1.642
IBSP	0.097	0.034	16.696	0.002	1.229	1.081 ~ 1.719

2.5 miR-25-3p, IBSP 诊断肝硬化失代偿并发腹腔积液的价值 见表3, 图1。ROC 曲线显示, miR-

25-3p, IBSP 联合检测的 AUC 大于 miR-25-3p, IBSP 单一指标检测 ($Z=3.727, 4.163$, 均 $P=0.000$)。

表3 血清 miR-25-3p, IBSP 及联合诊断乙型肝炎肝硬化失代偿并发腹腔积液的价值

项目	AUC (95%CI)	约登指数	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)
miR-25-3p	0.705(0.618 ~ 0.811)	1.410	6.69	62.59	73.91
IBSP	0.750(0.664 ~ 0.836)	1.364	12.14ng/ml	59.42	81.60
联合检测	0.931(0.839 ~ 0.963)	1.735	-	93.81	79.70

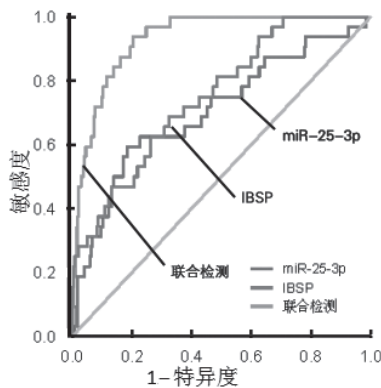


图1 血清 miR-25-3p, IBSP 及联合检测诊断乙型肝炎肝硬化失代偿并发腹腔积液的 ROC 曲线

3 讨论

肝硬化是多种慢性肝脏疾病进展的终末阶段, 以肝脏弥漫性纤维化、假小叶形成为病理特征。肝硬化代偿期无明显临床症状, 发病隐匿, 当疾病进展到失代偿期时, 肝功能严重损伤, 伴有门静脉高压, 临床上出现腹腔积液、消化道出血及肝性脑病等并发症, 最终导致患者多器官功能衰竭而死亡。临床上针对门静脉高压导致并发症, 主要通过超声测量门静脉宽度, 间接了解门静脉压力情况, 但其敏感度不佳^[10]。深入研究乙型肝炎肝硬化发生发展的机制, 寻找影响肝硬化疾病进展和有效预测肝功能失代偿并发腹腔积液的血清标志物, 对于乙型肝炎肝硬化的疾病诊治具有重要的临床意义^[11]。

研究表明, miRNA 与炎症、病毒感染及恶性肿瘤等多种人类疾病关系密切, 是新的疾病诊断及预后判断的肿瘤标志物^[12-13]。miR-25-3p 是近年来发现的一种新的 miRNA, 可以被细胞分泌到血

清中, 促进血管新生^[14]。研究表明, miR-25-3p 在肝硬化失代偿、急慢性肝脏衰竭等疾病中表达升高, 是患者不良预后的血清分子标志物^[4]。研究发现, miR-25-3p 可以通过抑制磷酸酶及张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) 的表达, 促进组织局部炎症反应, 加重细胞损伤^[15]。然而, PTEN 表达能够通过调控肝星形细胞的活性, 抑制肝硬化的发生发展^[16]。因此, 我们推测, miR-25-3p 可能通过影响 PTEN 的表达, 参与肝硬化的疾病进展。本研究中, 与肝炎组及对照组相比, 肝硬化组患者血清 miR-25-3p 表达水平明显较高, 提示 miR-25-3p 参与肝硬化疾病的发生发展。分析其原因, 推测与肝硬化组织炎症微环境中的炎症因子促进 miR-25-3p 的表达有关。研究表明, 肝硬化患者肝细胞分泌产生白介素 (interleukin, IL) -6^[17], IL-6 是促进肝纤维化的细胞因子, 可刺激单核巨噬细胞分泌 miR-25-3p, 导致血清中 miR-25-3p 表达升高^[18]。本研究中, 在中重度纤维化、伴消化道出血及伴腹腔积液患者血清 miR-25-3p 水平升高更为明显, 提示 miR-25-3p 参与促进肝硬化疾病进展。推测其原因, 可能是 miR-25-3p 可促进肝脏免疫相关功能障碍。CISILOTTO 等^[14]学者报道, 肝硬化中 miR-25-3p 的表达促进 IL-8, IL-6 等炎症细胞因子过表达, 激活血管内皮生长因子信号通路、肿瘤坏死因子通路, 促进肝硬化的进展。此外, 血清 miR-25-3p 水平与肝硬化患者肝功能 ALBI, MELD 及 Child-Pugh 评分呈正相关, 提示血清 miR-25-3p 水平越高肝硬化失代偿程度越高。有学者发现^[4], miR-25-3p 的表达上调能够抑制抗炎性细胞因子,

如IL-4等的分泌,使肝脏炎症平衡系统失调,加重肝衰竭患者的肝功能损伤,导致患者的不良生存预后。

整合素结合唾液蛋白 (IBSP) 基因位于 4q21.1 区域,是整合素结合配体 N 联糖蛋白家族成员。IBSP 编码蛋白是由 317 个氨基酸组成的分泌型糖蛋白,在败血症、感染性休克及系统性红斑狼疮等疾病中表达明显升高。研究发现,肝硬化患者血清 IBSP 蛋白表达显著升高,其升高程度能够反映肝损伤程度、肝脏合成能力降低,此外,血清 IBSP 蛋白水平的升高还能够反映肝硬化门静脉高压程度,是一种新的肝硬化门静脉高压血清标志物^[6-7]。本研究中,与肝炎组及对照组相比,肝硬化组患者血清 IBSP 蛋白表达水平明显较高。分析其原因,考虑与肝脏微环境中某些细胞因子如 IL-11 等对 IBSP 的表达调控有关。IL-11 作为 IL-6 家族成员,在肝脏炎症纤维化过程中表达上调,IL-11 能够直接促进 IBSP 基因的转录,导致血清 IBSP 蛋白表达水平升高^[19-20]。本研究中,IBSP 蛋白在中重度纤维化、伴消化道出血及伴腹腔积液患者血清中升高更为明显,提示 IBSP 蛋白表达促进肝硬化疾病进展。研究表明,IBSP 能够激活自然杀伤细胞、中性粒细胞和巨噬细胞等免疫细胞,诱导肝细胞死亡和细胞外基质重塑,促进肝脏纤维化过程,损伤肝功能^[21]。本研究中,肝硬化患者血清 IBSP 蛋白表达与肝功能 ALBI, MELD 及 Child-Pugh 评分呈正相关,表明肝硬化失代偿程度越高,血清 IBSP 蛋白表达水平越高,提示血清 IBSP 蛋白水平有助于判断肝硬化疾病的严重程度。BENZ 等^[7]学者报道,IBSP 蛋白能通过加重肝脏炎症反应,抑制肝脏的生物合成能力,加重肝损伤程度。因此,血清 miR-25-3p 和 IBSP 蛋白是新的反映肝硬化疾病严重程度的血清标志物。

腹腔积液是失代偿期肝硬化常见并发症,肝硬化失代偿并发腹腔积液的防治是临床研究的热点及难点。本研究中,miR-25-3p,IBSP 蛋白是肝硬化失代偿并发腹腔积液的独立危险因素。提示检测血清 miR-25-3p,IBSP 蛋白水平可能有助于判断肝硬化并发腹腔积液的发生。ROC 曲线进一步证实,血清 miR-25-3p,IBSP 蛋白联合检测在诊断肝硬化失代偿并发腹腔积液中具有较高的诊断效能,两者联合检测有助于早期诊断肝硬化失代偿并发腹腔积液。分析其原因,miR-25-3p,IBSP 蛋白水平升高加重肝脏病理损伤,促进肝硬化的发生发展,引起肝硬化失代偿和腹腔积液的发生^[22]。BENZ 等^[7]学者在应用经静脉肝内门-体静脉支架分流术治疗门脉高压的肝硬化患者中发现,门静脉高压程度与血清 miR-

25-3p, IBSP 水平具有良好的相关性,血清 miR-25-3p, IBSP 水平较高的患者门脉压力较高,门静脉血液回流受阻,腹膜腹腔积液渗出增多。此外,miR-25-3p, IBSP 能够促进巨噬细胞分泌大量促炎细胞因子,如肿瘤坏死因子- α , IL-1 β 等,刺激腹膜,导致腹膜通透性增加,腹腔积液产生增多^[23-24]。因此,血清 miR-25-3p, IBSP 有助于对肝硬化失代偿并发腹腔积液的预测,有利于临床医师对肝硬化患者疾病观察。

综上所述,乙型肝炎肝硬化患者血清中 miR-25-3p, IBSP 蛋白水平升高,二者联合检测对乙型肝炎肝硬化失代偿并发腹腔积液具有较高诊断价值。本研究尚存在不足之处,本研究患者未对门静脉高压程度进行检测,难以区分门脉高压和非门脉高压性腹腔积液。因此,有待今后深入研究血清 miR-25-3p, IBSP 蛋白水平与门静脉压力的关系,并探索两者是否能反映门静脉压力程度,用于门脉高压静脉曲张出血风险的预测,指导临床早期诊治。

参考文献:

- [1] ROEHLEN N, CROUCHET E, BAUMERT T F. Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives[J]. Cells (Basel, Switzerland), 2020, 9(4): 875.
- [2] 黄鸿娜, 张文富, 苏晓文, 等. 肝硬化顽固性腹水的中医治疗进展 [J]. 广西中医药大学学报, 2020, 23(2):55-58.
HUANG Hongna, ZHANG Wenfu, SU Xiaowen, et al. Progress in TCM treatment of refractory ascites due to liver cirrhosis[J]. Journal of Guangxi University of Chinese Medicine, 2020, 23(2):55-58.
- [3] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021, 18(3): 151-166.
- [4] CISILOTTO J, DO AMARAL A E, ROSOLEN D, et al. MicroRNA profiles in serum samples from Acute-on-chronic liver failure patients and miR-25-3p as a potential biomarker for survival prediction[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 100.
- [5] SHINTANI S, KAMAKURA N, KOBATA M, et al. Identification and characterization of integrin-binding sialoprotein (IBSP) genes in reptile and amphibian[J]. Gene, 2008, 424(1-2): 11-17.
- [6] BRUHA R, JACHYMOVA M, PETRTYL J, et al. Osteopontin: A non-invasive parameter of portal hypertension and prognostic marker of cirrhosis[J]. World Journal of Gastroenterology, 2016, 22(12): 3441-3450.
- [7] BENZ F, BOGEN A, PRAKTIKNJO M, et al. Serum

- levels of bone sialoprotein correlate with portal pressure in patients with liver cirrhosis[J]. *PLoS One*, 2020, 15(4): e0231701.
- [8] 王贵强, 王福生, 成军, 等. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(5): 570-589.
- WANG Guiqiang, WANG Fusheng, CHENG Jun, et al. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B(2015 version) [J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Infectious Diseases(Electronic Edition)*, 2015,9(5):570-589.
- [9] 徐小元, 丁惠国, 李文刚, 等. 肝硬化腹水及相关并发症的诊疗指南(2017, 北京)[J]. 中华胃肠内镜电子杂志, 2018, 5(1):1-17.
- XU Xiaoyuan, DING Huiguo, LI Wengang, et al. Guidelines on the management of ascites and complications in cirrhosis (2017, Beijing) [J]. *Chinese Journal of Gastrointestinal Endoscopy(Electronic Edition)*, 2018,5(1):1-17.
- [10] 张佳佳, 杨瑞涛, 雒尧. 彩色多普勒超声在老年肝硬化门静脉高压症诊断中的价值[J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(10): 828-829.
- ZHANG Jiajia, YANG Ruitao, LUO Yao. Value of portal hemodynamics detected by ultrasound in the diagnosis of portal hypertension in elderly patients with cirrhosis [J]. *Chinese Journal of Current Advances in General Surgery*, 2020,23(10):828-829.
- [11] 贺燕燕, 刘一品. 瞬时弹性成像联合 NLR、PLR 对乙型肝炎肝硬化并发症的预测价值及与病情严重程度关系[J]. 滨州医学院学报, 2021,44(3):167-172.
- HE Yanyan, LIU Yipin. Predictive value of transient elastography combined with NLR and PLR for the complications of hepatitis B liver cirrhosis and its relationship with the severity of the disease [J]. *Journal of Binzhou Medical University*, 2021,44(3):167-172.
- [12] FELGENDREFF P, RASCHZOK N, KUNZE K, et al. Tissue-based miRNA mapping in alcoholic liver cirrhosis: different profiles in cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma[J]. *Biomarkers*, 2020, 25(1): 62-68.
- [13] LOUREIRO D, TOUT I, NARGUET S, et al. MiRNAs as potential biomarkers for viral hepatitis B and C[J]. *Viruses*, 2020, 12(12): 1440.
- [14] ZENG Zhicheng, LI Yuling, PAN Yangjian, et al. Cancer-derived exosomal miR-25-3p promotes pre-metastatic niche formation by inducing vascular permeability and angiogenesis[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 5395.
- [15] YAO Yulong, SUN Fangyuan, LEI Ming. MiR-25 inhibits sepsis-induced cardiomyocyte apoptosis by targeting PTEN[J]. *Bioscience Reports*, 2018, 38(2): 1511-1523.
- [16] JIN Hui, LI Chunxue, DONG Peihong, et al. Circular RNA cMTO1 promotes PTEN expression through sponging miR-181b-5p in liver fibrosis[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, 8: 714.
- [17] LABENZ C, TOENGES G, HUBER Y, et al. Raised serum interleukin-6 identifies patients with liver cirrhosis at high risk for overt hepatic encephalopathy[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2019, 50(10): 1112-1119.
- [18] OUYANG Yi, TANG Yujing, FU Lei, et al. Exosomes secreted by chronic hepatitis B patients with PNALT and liver inflammation grade \geq A2 promoted the progression of liver cancer by transferring miR-25-3p to inhibit the co-expression of TCF21 and HHIP[J]. *Cell Proliferation*, 2020, 53(7): 12833.
- [19] WIDJAJA A A, SINGH B K, ADAMI E, et al. Inhibiting interleukin 11 signaling reduces hepatocyte death and liver fibrosis, inflammation, and steatosis in mouse models of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(3): 777-792, e14.
- [20] WANG Shuang, SASAKI Y, ZHOU Liming, et al. Transcriptional regulation of bone sialoprotein gene by interleukin-11[J]. *Gene*, 2011, 476(1/2): 46-55.
- [21] WANG Dong, WANG Xiaohui, SI Mahan, et al. Exosome-encapsulated miRNAs contribute to CXCL12/CXCR4-induced liver metastasis of colorectal cancer by enhancing M2 polarization of macrophages[J]. *Cancer Letters*, 2020, 474(5): 36-52.
- [22] 沈海涛, 焦荣红, 陆志成, 等. 原发性肝癌患者外周血 CD39⁺, CD73⁺ 调节性 T 细胞和自然杀伤(NK) 细胞的表达及其与肝损伤的相关性[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1):10-13.
- SHEN Haitao, JIAO Ronghong, LU Zhicheng, et al. Correlation between the expression of peripheral blood CD39⁺ and CD73⁺ in regulatory T cells and nature kill cell in patients with hepatocellular carcinoma and liver injury [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(1):10-13.
- [23] NAYAK S, DEY T, NASKAR D, et al. The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin[J]. *Biomaterials*, 2013,34(12):2855-2864.
- [24] ZARE-CHAHOKI A, AHMADI-ZEIDABADI M, AZADARMAKI S, et al. Inflammation in an animal model of multiple sclerosis leads to MicroRNA-25-3p dysregulation associated with inhibition of Pten and Klf4[J]. *Iran J Allergy Asthma Immuno*, 2021, 20(3):314-325.

收稿日期: 2021-08-26

修回日期: 2021-11-18