

Healthcare Workers[J]. Clin Infect Dis, 2016, 62 (S3): S262-267.

[2] Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, et al. Effect of BCG vaccination against Mycobacterium tuberculosis infection in children: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2014, 349: g4643.

[3] Chen ZR, Wei XH, Zhu ZY. BCG in China[J]. Chin Med J (Engl), 1982, 95 (6): 437-442.

[4] Bernatowska EA, Wolska-Kusnierz B, Pac M, et al. Disseminated bacillus Calmette-Guerin infection and immunodeficiency[J]. Emerg Infect Dis, 2007, 13 (5): 799-801.

[5] Rezai MS, Khotaei G, Mamishi S, et al. Disseminated Bacillus Calmette-Guerin infection after BCG vaccination [J]. J Trop Pediatr, 2008, 54 (6): 413-416.

[6] Fletcher HA, Snowden MA, Landry B, et al. T-cell activation is an immune correlate of risk in BCG vaccinated infants[J]. Nat Commun, 2016, 7: 11290.

[7] O'Shea KM, Hwang SA, Actor JK. Immune Activity of BCG Infected Mouse Macrophages Treated with a Novel Recombinant Mouse Lactoferrin[J]. Ann Clin Lab Sci, 2015, 45 (5): 487-494.

[8] 梁焯. 白介素-12 受体 $\beta 1$ 缺陷病研究现状[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32 (2): 117-120.

[9] 刘雪芹, 孙君轶. 严重联合免疫缺陷并发全身播散性卡介苗病一例[J]. 中华儿科杂志, 2007, 45 (4): 314.

(收稿日期: 2016-08-01 修回日期: 2016-10-16)

• 个案与短篇 •

血清 miR-141 在 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎病情预测中的应用*

冯 娟, 姚春红, 叶 坤, 邓建平[△]
(湖北省黄石市爱康医院检验科 435000)

关键词: 乙型肝炎; HBeAg; 血清 miR-141; HBV-DNA
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.01.063 文献标识码: C 文章编号: 1673-4130(2017)01-0143-02

我国约有 1.2 亿乙型肝炎病毒(HBV)携带者,近年来,由于抗病毒药物的广泛应用,HBeAg 阴性乙型肝炎(CHB)患者的比例有所上升。HBeAg 阴性 CHB 患者尚无有效的治疗前预测病毒学应答的因素,动态监测 HBV-DNA 水平能反映 HBV 的复制活性,但耗时较长、对病情的监测不够灵敏。探寻更灵敏的检测指标具有重要的临床意义。miRNA 的表达具有时空特异性及组织特异性且能稳定存在于血清中,其检测方法简便、结果准确可靠。据研究报道,miRNA 在 CHB 宿主与病毒相互作用中起重要作用,miRNA 在肿瘤及病毒感染性疾病中成为疗效评估潜在分子标记物^[1-2]。本研究以 miR-141 为切入点,探索 HBeAg 阴性 CHB 患者病情预测的新指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从 2013—2015 年在本院经组织活检确诊的 CHB 患者中筛选 HBeAg 阴性 35 例[男:女=20:15,平均年龄(42.6±5.3)岁],均符合 2010 年 CHB 防治指南的诊断标准。并排除其他病毒性肝炎、酒精及药物等因素引起的肝炎、自身免疫性肝病、合并其他基础性疾病等患者。健康体检者 35 例[男:女=22:13,平均年龄(36.2±3.8)岁]作为对照组。本研究经患者知情同意及医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 Thermo 公司 MK3 酶标仪,广州达瑞 DR6609/F 及配套的 HBsAg 定量试剂。达安 DA7600 核酸扩增仪及配套乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒。厦门英科新创乙肝两对半检测试剂盒。Qiagen 公司 miRNeasy Mini Kit。康为 UltraSYBR 二步法荧光定量 PCR 试剂盒。广州锐博合成的 Bulge-Loop™ hsa-miR-141-5p 及 U6 引物。

1.3 方法 定期收集 HBeAg 阴性 CHB 患者抗病毒治疗过

程中的空腹血清样本。提取血清样本中的 miRNA、并检测,2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法进行相对定量分析。时间分辨法进行 HBsAg 定量分析。实时荧光定量法检测血清中 HBV-DNA。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行统计学分析。数据符合正态分布,组间比较进行 *t* 检验;血清 miR-141 相对表达量与 HBsAg、HBV-DNA 载量之间的相关性采用 Pearson 相关分析。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 HBeAg 阴性 CHB 患者与健康对照组血清中 miR-141 相对表达量比较 采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法对 miR-141 进行相对定量分析,结果显示 HBeAg 阴性 CHB 组 miR-141 相对表达量为(1.07±0.16),健康对照组为(0.21±0.06),HBeAg 阴性 CHB 组血清中 miR-141 表达水平显著高于健康对照组且差异具有统计学意义(*P*<0.05),见图 1。

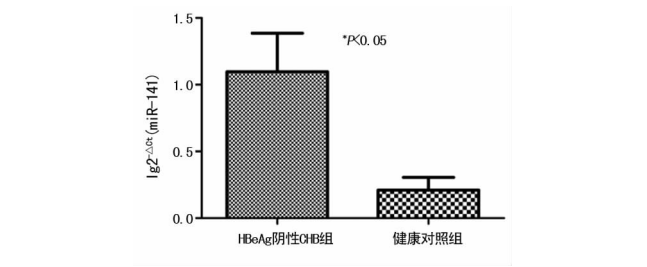


图 1 HBeAg 阴性 CHB 患者与健康对照组血清中 miR-141 相对表达量比较

* 基金项目:湖北省黄石市卫生和计划生育委员会科技计划项目(2014A069-20)。

[△] 通信作者, E-mail: DJP6226255@163.com。

2.2 血清 miR-141 相对表达量、HBsAg 与 HBV-DNA 载量之间的相关性分析 HBeAg 阴性 CHB 患者抗病毒治疗过程中每 3 个月来院空腹静脉采血检测 HBV-DNA。但实际上患者的依从性并不理想,6 个月及 9 个月时取时间间隔的中位数。Pearson 相关分析(图 2)显示,miR-141 与 HBV-DNA 载量、HBsAg 水平负相关,相关系数分别为 0.697、0.649。HBsAg

与 HBV-DNA 载量呈正相关,相关系数为 0.895。HBsAg 定量对 CHB 病情的监测更有意义,但研究发现有 8 位患者在抗病毒治疗 3 个月至 6 个月时 miR-141 表达量降低,而 6 个月至 9 个月其 HBV 均复制活跃。提示 miR-141 对病情预测更灵敏,有可能成为 HBeAg 阴性 CHB 患者病情预测的新指标。

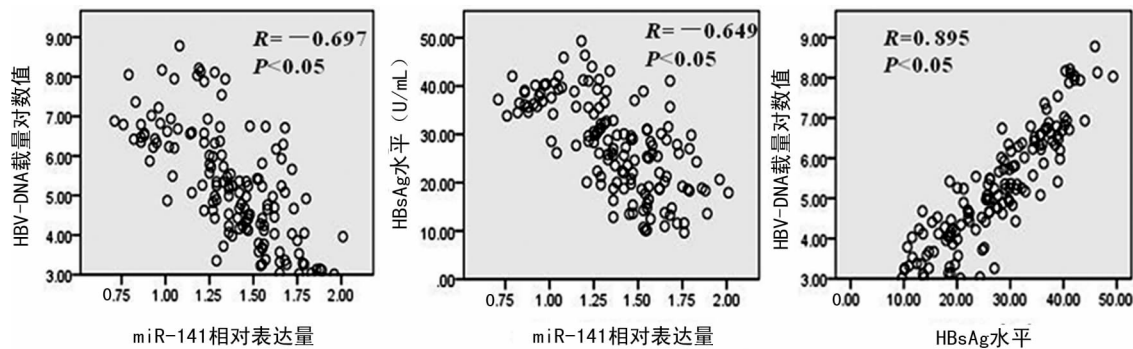


图 2 miR-141 相对表达量、HBV-DNA 载量及 HBsAg 水平之间的相关性

3 讨 论

慢性 HBV 感染是一个动态的过程,病毒与宿主之间复杂的相互作用引起的免疫应答是肝细胞损伤的主要机制^[3]。HBeAg 阴性患者抗病毒治疗具体疗程不明确,且停药后肝炎复发率高。miRNA 是一类长约 20~25 nt 的非编码 RNA,在基因转录后调控中发挥重要作用。李强等^[4]人研究证实慢性 HBV 感染过程中肝组织 miRNA 存在差异表达。Wei 等^[5]人的研究发现 HBV 相关疾病的不同阶段 miRNA 表达谱不同,为将 miRNA 作为分子标志物或治疗手段应用于 HBV 相关疾病提供了理论依据。Hu 等^[2]通过 HepG2 细胞进行体外研究,发现外源性 miR-141 表达能显著地抑制 HBV 的表达与复制,荧光素酶报告基因实验及 PPARA 敲除试验证实了 miR-141 通过作用于细胞核因子 PPARA 下调 HBV 的表达与复制,并推论过表达 miR-141 可能成为降低 HBV 复制的有效策略。肖作汉等^[6]人研究发现 HBsAg 与 HBV-DNA 有良好的相关性,对于应用 PEG-IFN α -2a 治疗的 HBeAg 阴性 CHB 患者在 24 周 HBsAg 的下降幅度是推断治疗应答状况的有效指标,对疗效评价及预后有重要意义。本研究通过比较 HBeAg 阴性 CHB 患者组与健康体检组,证实 miRNA141 在两组间表达有显著性差异。通过定期收集 HBeAg 阴性 CHB 患者抗病毒治疗过程中的空腹血清样本,动态监测 miR-141、HBV-DNA、HBsAg 的水平并分析三者之间的相关性。研究发现 miR-141 表达增加导致 HBV-DNA 及 HBsAg 水平下降,HBsAg 与 HBV-DNA 载量正相关,6 个月时 HBsAg 下降幅度较大,且 miR-141 可能在病情预测上比 HBV-DNA 更灵敏。本研究与 Wei 等^[5]、肖作汉^[6]等人研究结果一致。但是,本研究有 8 例可能出现 HBeAg 阴性变异株,导致耐药。陆伟等^[7]研究发现在 HBeAg 阴性阶段,血清 HBV-DNA 载量和肝组织 HBcAg 水平的升高与肝组织炎症活动度和纤维化程度的加重有关。对于 HBeAg 阴性 CHB 患者,如果在抗病毒治疗过程中监测 miR-141 的水平,可能更早地预测抗病毒疗效及病情进

展。仍需进一步扩大样本量并对病毒进行耐药基因检测,同时结合临床用药来证实该结论,为 HBeAg 阴性 CHB 患者的个性化治疗提供正确的指导。

参考文献

[1] Brunetto MR, Cavallone D, Oliveri F, et al. A serum microRNA signature is associated with the immune control of chronic hepatitis B virus infection[J]. PLoS One, 2014, 9(10):e110782.

[2] Hu W, Wang X, Ding X, et al. MicroRNA-141 represses HBV replication by targeting PPARA [J]. PLoS One, 2012, 7(3):e34165.

[3] Winther TN, Heiberg IL, Bang-Berthelsen CH, et al. Hepatitis B surface antigen quantity positively correlates with plasma levels of microRNAs differentially expressed in immunological phases of chronic hepatitis B in children [J]. PLoS One, 2013, 8(11):e80384.

[4] 李强, 张小楠, 卓其斌, 等. 慢性 HBV 感染免疫耐受期与免疫清除期肝组织微小 RNA 表达谱差异分析[J]. 肝脏, 2015, 20(6):443-446.

[5] Wei YF, Cui GY, Ye P, et al. MicroRNAs May solve the mystery of chronic hepatitis B virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(30):4867-4876.

[6] 肖作汉, 孟冈, 王立志. HBsAg 定量对 HBeAg 阴性患者 PEG-IFN 治疗应答的预测[J]. 肝脏, 2014, 19(12):949-951.

[7] 陆伟, 张占卿, 张小楠, 等. 肝组织 HBsAg、HBcAg 和血清 HBsAg 水平、HBV DNA 载量与肝组织病理学相关性[J]. 肝脏, 2014, 19(7):491-497.