

miR-551b 在溃疡性结肠炎组织中的表达及意义

张镭宇 陈君婷 陈桂权 刘宇虎 黄妙兴 陈晓春 李志坚

【摘要】 目的 探讨 miR-551b 在溃疡性结肠炎(UC)组织中的表达及临床意义。方法 选取 2015 年 9 月至 2018 年 9 月在东莞市人民医院接受治疗的 75 例 UC 患者作为研究对象。采用实时荧光定量 PCR(real-time qPCR)法检测 UC 患者 miR-551b 的相对表达量,并分析其与预后的关系。结果 75 例 UC 患者随访期间的预后不良发生率为 42.67%。预后不良组重度活动度、初治时应用激素类药物、肛周病变、基底浆细胞增多、肠切除术史的占比均高于预后良好组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。预后不良组 miR-551b 的相对表达量高于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史及 miR-551b 与 UC 患者的预后密切相关。模型 B(由疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史、miR-551b 组成)评估 UC 患者预后的 ROC 曲线下面积(AUC)大于 miR-551b 及模型 A(由疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史组成)的 AUC,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 miR-551b 与 UC 患者预后关系密切,检测 miR-551b 表达水平有助于评估患者的预后情况。

【关键词】 溃疡性结肠炎;miR-551b;预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2021.03.013

溃疡性结肠炎(UC)是一种病因尚未完全明确的肠道炎性疾病,随着人们生活方式及饮食习惯的改变,其发病率呈逐年升高趋势^[1-2]。UC 临床表现为便血、高热及反复发作的腹痛等,且具有复发率高、并发症多的特点^[3-5]。随着 UC 病情进展及反复发作,部分患者可出现肠道梗阻或穿孔等肠道结构性损伤,严重者甚至发生癌变^[6]。因此,及时评估 UC 患者的预后情况并制定合理的治疗方案,对于改善患者预后至关重要。UC 疾病活动度可在一定程度上反映患者的预后情况,但判断 UC 疾病活动度需采用肠镜检查。肠镜检查是一项侵入性操作,有部分人群因不能耐受或心理上难以接受而放弃检查,且现有的内镜评价方法易受主观因素影响,如简化内镜评分及内镜指数等^[7]。细胞试验表明,自噬相关蛋白 LC3 II 的异常表达可通过损伤肠道屏障功能诱发 UC 的发生、发展^[2]。另有研究指出,miR-551b 可通过激活 NF- κ B 的活化调节 LC3 II 蛋白的表达,而 LC3 II 蛋白参与了 UC 的病理生理过

程^[8]。由此推测,miR-551b 可能与 UC 的发生、发展有关。本文检测了 miR-551b 在溃疡性结肠炎(UC)组织中的表达水平,并探究其与患者预后的关系,以期临床评估 UC 患者的预后情况提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

前瞻性选取 2015 年 9 月至 2018 年 9 月在东莞市人民医院接受治疗的 75 例 UC 患者作为研究对象。参照《中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》^[9] 诊断 UC。纳入标准:(1)符合 UC 诊断标准;(2)入组前未接受非甾体类抗炎药、免疫抑制剂等药物治疗;(3)能够配合完成随访;(4)签署知情同意书。排除标准:(1)合并消化道恶性肿瘤;(2)合并全身感染性疾病;(3)合并严重的心、肝、肾、肺等脏器功能障碍;(4)妊娠期及哺乳期妇女。75 例 UC 患者中男性 45 例,女性 30 例,年龄 19~40 岁,平均年龄为(26.99 \pm 4.03)岁;病变位于直肠 32 例,左半结肠 22 例,广泛结肠 21 例。本研究获得医院医学伦理委员会批准。

1.2 miR-551b 表达水平检测

采用实时荧光定量 PCR(real-time qPCR)法检

测 UC 患者 miR-551b 的相对表达量。无菌条件下剪碎黏膜组织,置于液氮中研磨,离心分离后取上层清液置于 EP 管中。应用 TRIzol 试剂盒提取总 RNA,紫外分光光度计检测 RNA 的纯度及物质的量浓度。将 2 μ g 的总 RNA 添加至 20 μ L 反应液中,应用反转录试剂盒合成 cDNA,然后 PCR 扩增。反应条件为:95 $^{\circ}$ C 10 min 预变性,之后 95 $^{\circ}$ C 42 s、15 s 退火、70 $^{\circ}$ C 42 s,共计 40 个循环。以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示 miR-551b 的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物名称	序列
miR-551b	正向:5'-CTGAGCACCCATACTTGG-3'
	反向:5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'
β -actin	正向:5'-AGTGCACGTGGACATCC-3'
	反向:5'-GTCAGTCGCTGGGCTGT-3'

1.3 UC 疾病严重程度

按照《中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》^[9]标准评估患者疾病严重程度。轻度 排便次数 <4 次/d,红细胞沉降率 <20 mm/h,血红蛋白、体温、脉搏正常;中度 排便次数 4~6 次/d,红细胞沉降率 20~30 mm/h,血红蛋白 41~119 g/L,体温 36.1~37.8 $^{\circ}$ C,脉搏 60~90 次/min;重度 排便次数 >6 次/d,红细胞沉降率 >30 mm/h,血红蛋白 ≤ 40 g/L,脉搏 >90 次/min,体温 >37.8 $^{\circ}$ C。轻度、中度、重度划分标准为同时满足以上条件。

1.4 随访

采用复诊方式对患者进行随访,观察患者出院后 12 个月内的预后情况。本研究将复发、UC 相关黏膜异常增生及癌变定义为预后不良。随访起始时间为 2015 年 9 月 27 日,截止时间为 2019 年 10 月 4 日,每 3 个月随访 1 次。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 24.0 软件进行数据分析。服从正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料以例(%)表示,采用卡方检验。采用多因素 logistic 回归方法分析影响 UC 患者预后的相关因素。采用 ROC 曲线分析 miR-551b、模型 A(由疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、基底浆细胞增多组成)、模型 B(由疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、基底浆细胞增多、miR-551b 组成)评估 UC 患者预后的价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 UC 患者的预后情况

75 例 UC 患者在随访期间的预后不良发生率为 42.67%(32/75),其中复发 23 例(30.67%),UC 相关黏膜异常增生 9 例(12.00%)。

2.2 预后不良组和预后良好组的基本资料比较

预后不良组与预后良好组在年龄、性别、BMI、吸烟、饮酒、家族史、病变范围、1 年内应用免疫抑制剂、合并原发性硬化性胆管炎、IL-6、血红蛋白、红细胞沉降率、血小板计数方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$);预后不良组重度活动度、初治时应用激素类药物、肛周病变、基底浆细胞增多、肠切除术史的占比高于预后良好组,差异均有统计学意义(P 均 ≤ 0.05)。详见表 2。

2.3 两组 miR-551b 相对表达量比较

预后不良组 miR-551b 的相对表达量为 2.53 ± 0.47 ,高于预后良好组(1.93 ± 0.41),差异有统计学意义($t=5.888, P<0.001$)。

2.4 影响 UC 患者预后的因素

将疾病严重程度(轻、中度=0,重度=1)、初治时应用激素类药物(否=0,是=1)、肛周病变(否=0,是=1)、基底浆细胞增多(否=0,是=1)、肠切除术史(无=0,有=1)、miR-551b 作为自变量, $\alpha_{入}=0.05, \alpha_{出}=0.10$,将 UC 患者预后情况(预后良好=0,预后不良=1)作为因变量纳入 logistic 回归模型进行分析,结果显示疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史及 miR-551b 与 UC 患者的预后密切相关。详见表 3。

2.5 miR-551b、模型 A、模型 B 评估 UC 患者预后的效能

采用多因素 logistic 回归模型分析法构建由疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史组成的预测 UC 患者预后的模型,公式: $F=-0.666+1.163\times$ 疾病严重程度 $+0.064\times$ 初治时应用激素类药物 $+1.360\times$ 肛周病变 $+0.095\times$ 肠切除术史,将其命名为模型 A;构建由疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史、miR-551b 组成的预测 UC 患者预后的模型,公式: $F=-7.536+0.085\times$ 疾病严重程度 $+0.038\times$ 初治时应用激素类药物 $+0.662\times$ 肛周病变 $+1.027\times$ 肠切除术史 $+3.088\times$ miR-551b,将其命名为模型 B。miR-551b 预测 UC 患者预后的 ROC 曲

线下面积(AUC)与模型 A 比较,差异无统计学意义 ($Z = 1.039, P = 0.299$);模型 B 预测 UC 患者预后的 ROC AUC 大于模型 A 和 miR-551b 的 AUC,差异均有统计学意义 ($Z = 2.268, P = 0.023; Z = 3.105, P = 0.002$)。详见表 4、图 1。

表 2 两组的基本资料比较

项目	预后不良组($n = 32$)	预后良好组($n = 43$)	统计值	P 值
年龄/岁	26.82 ± 3.92	27.13 ± 4.10	$t = 0.330$	0.742
性别/例(%)			$\chi^2 = 0.327$	0.567
男	18(56.25)	27(62.79)		
女	14(43.75)	16(37.21)		
BMI/kg · m ⁻²	21.63 ± 3.14	22.05 ± 3.37	$t = 0.549$	0.584
吸烟/例(%)			$\chi^2 = 1.586$	0.208
是	15(46.88)	14(32.56)		
否	17(53.12)	29(67.44)		
饮酒/例(%)			$\chi^2 = 0.145$	0.703
是	12(37.50)	18(41.86)		
否	20(62.50)	25(58.14)		
家族史/例(%)			$\chi^2 = 1.159$	0.282
有	7(21.88)	5(11.63)		
无	25(78.12)	38(88.37)		
病变范围/例(%)			$\chi^2 = 0.583$	0.747
直肠	14(43.75)	18(41.86)		
左半结肠	8(25.00)	14(32.56)		
广泛结肠	10(31.25)	11(25.58)		
疾病严重程度/例(%)			$\chi^2 = 18.044$	<0.001
轻度	7(21.88)	17(39.53)		
中度	10(31.25)	14(32.56)		
重度	15(46.88)	12(27.91)		
治疗方案/例(%)				
初治时应用激素类药物	22(68.75)	19(44.19)	$\chi^2 = 4.467$	0.035
1 年内应用免疫抑制剂	9(28.13)	10(23.26)	$\chi^2 = 0.230$	0.632
肛周病变/例(%)	13(40.63)	6(13.95)	$\chi^2 = 6.900$	0.009
基底浆细胞增多/例(%)	11(34.38)	5(11.63)	$\chi^2 = 5.657$	0.017
合并原发性硬化性胆管炎/例(%)	3(9.38)	1(2.33)	$\chi^2 = 1.806$	0.179
肠切除术史/例(%)	8(25.00)	3(6.98)	$\chi^2 = 4.762$	0.029
IL-6/pg · mL ⁻¹	1.88 ± 0.42	1.80 ± 0.37	$t = 0.874$	0.385
血红蛋白/g · L ⁻¹	118.58 ± 14.94	122.40 ± 13.51	$t = 1.157$	0.251
红细胞沉降率/mm · h ⁻¹	15.13 ± 3.34	14.20 ± 3.14	$t = 1.235$	0.221
血小板计数/ $1 \times 10^9 \cdot L^{-1}$	279.94 ± 53.82	301.63 ± 58.75	$t = 1.192$	0.106

表 3 影响 UC 患者预后的多因素 logistic 回归分析

因素	β 值	标准误	Wald 值	P 值	OR 值	95%CI
疾病严重程度	1.208	0.135	1.306	0.021	5.480	1.407~9.062
初治时应用激素类药物	1.502	0.129	1.862	<0.001	7.139	2.051~12.629
肛周病变	1.360	0.141	1.373	0.019	5.961	1.501~9.624
肠切除术史	1.226	0.133	1.283	0.026	5.270	1.326~8.541
基底浆细胞增多	0.885	0.104	1.051	0.095	2.852	0.741~3.757
miR-551b	1.192	0.131	1.040	0.040	4.182	1.191~6.074

表 4 miR-551b、模型 A、模型 B 评估 UC 患者预后的效能

项目	AUC	95%CI	敏感度/%	特异度/%	最佳截断值
miR-551b	0.814	0.707~0.894	75.00	76.74	2.23
模型 A	0.870	0.772~0.936	87.50	86.50	0.34
模型 B	0.958	0.884~0.991	93.75	90.70	0.85

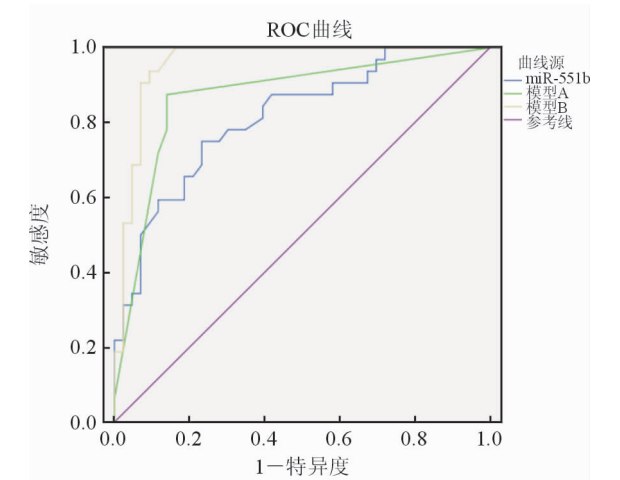


图 1 miR-551b、模型 A、模型 B 评估 UC 患者预后的 ROC 曲线

3 讨论

miRNA 是一种在进化上趋于保守的内源性非编码 RNA，已有研究表明多种 miRNA 可参与 UC 的病理生理过程^[10-12]，如有报道指出，miR-551b 在 UC 患者中异常表达^[13]，然而目前关于 miR-551b 与 UC 患者预后关系的报道较少。

本研究结果显示，预后不良组患者 miR-551b 的相对表达量高于预后良好组，提示 miR-551b 可能与 UC 患者的预后存在联系。本文采用多因素 logistic 回归方法分析影响 UC 患者预后的因素，结果显示疾病严重程度、初治时应用激素类药物、肛周病变、肠切除术史与 UC 患者的预后密切相关，与既往报道相符^[14-15]；同时，本研究结果表明，miR-551b 与 UC 患者的预后密切相关。

研究表明，miR-551 可通过促进 NF-κB 的表达

调节自噬相关蛋白 LC3 II 的表达水平^[8]，而 LC3 II 的异常表达可参与 UC 的发生、发展过程^[2]。LC3 II 蛋白定位于自噬泡内膜，LC3 前体激活后形成 LC3 I，LC3 I 暴露的甘氨酸残基可与自噬泡内膜磷脂酰乙醇胺结合成为 LC3 II^[16]。LC3 II 蛋白是维持细胞稳态的重要物质，其在肠道胞内菌的清除过程中发挥关键作用^[17]。LC3 II 缺陷将导致持续性胞内菌感染，引起 Paneth 细胞形态学异常和分泌功能改变，诱发持续性肠道炎性反应^[18]。此外，有细胞试验表明，TNF-α 与自噬抑制剂可协同作用于肠道上皮细胞，抑制 LC3 II 蛋白表达，使细胞黏附能力下降，损伤肠道上皮屏障功能，导致 UC 发生^[19]。由此推测，miR-551b 可通过调节 LC3 II 的表达参与 UC 的疾病进展。

本研究构建了 miR-551b、模型 A 及模型 B 评估 UC 患者预后的 ROC 曲线，结果显示模型 B 评估 UC 患者预后的效能高于 miR-551b 及模型 A，提示联合 miR-551b 更有利于评估 UC 患者的预后情况。

综上所述，miR-551b 与 UC 患者的预后关系密切，检测 miR-551b 的表达水平有助于评估 UC 患者的预后情况。本课题组下一步将动态监测 miR-551b 的表达水平，并进行基础研究，进一步分析 miR-551b 影响 UC 患者预后的病理生理学机制。

参 考 文 献

1

冯显清, 梁川, 刘然, 等. 双歧杆菌三联活菌胶囊联合美沙拉嗪对溃疡性结肠炎患者免疫功能及肠黏膜屏障功能的影响[J]. 国际消化病杂志, 2018, 38(2): 144-147.

2

Paiva NM, Pascoal LB, Negreiros LMV, et al. Ileal pouch of

- ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis patients exhibit modulation of autophagy markers[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2619.
- 3 Herfarth H, Barnes EL. Comment on: Prospective cohort study of appendectomy for treatment of therapy-refractory ulcerative colitis[J]. *Br J Surg*, 2019, 106(12): 1706-1707.
- 4 Dai C, Jiang M. Comment on: Prospective cohort study of appendectomy for treatment of therapy-refractory ulcerative colitis[J]. *Br J Surg*, 2019, 106(12): 1705-1706.
- 5 Ren MT, Gu ML, Zhou XX, et al. Sirtuin 1 alleviates endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of intestinal epithelial cells in ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(38): 5800-5813.
- 6 Farrukh A, Mayberry JF. Surveillance for colorectal cancer and chemoprevention in ulcerative and Crohn's colitis: The need for clinical strategies to increase effectiveness [J]. *JGH Open*, 2019, 3(5): 370-373.
- 7 杨荣萍, 张金梅, 王磊, 等. 粪便钙卫蛋白与溃疡性结肠炎肠道病变程度及范围的相关性[J]. *广东医学*, 2017, 38(2): 247-250.
- 8 王娅南, 魏亚宁, 徐芳, 等. miR-551b 在人胃癌组织中的表达及对胃癌细胞凋亡的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2017, 46(4): 386-391.
- 9 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见[J]. *中华内科杂志*, 2008, 47(1): 73-79.
- 10 Sherman Horev H, Rabinowitz KM, Elad H, et al. Increase in processing factors is involved in skewed microRNA expression in patients with ulcerative colitis who develop small intestine inflammation after pouch surgery [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2018, 24(5): 1045-1054.
- 11 Pekow J, Meckel K, Dougherty U, et al. Increased mucosal expression of miR-215 precedes the development of neoplasia in patients with long-standing ulcerative colitis[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(29): 20709-20720.
- 12 Omidbakhsh A, Saeedi M, Khoshnia M, et al. Micro-RNAs -106a and -362-3p in peripheral blood of inflammatory bowel disease patients[J]. *Open Biochem J*, 2018, 12: 78-86.
- 13 Jin F, Hu H, Xu M, et al. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2381.
- 14 Song EM, Lee HS, Park SH, et al. Clinical characteristics and long-term prognosis of elderly onset ulcerative colitis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 33(1): 172-179.
- 15 Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, et al. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(1): 13-20.
- 16 Bansal M, Moharir SC, Swarup G. Autophagy receptor optineurin promotes autophagosome formation by potentiating LC3-II production and phagophore maturation [J]. *Commun Integr Biol*, 2018, 11(2): 1-4.
- 17 Zhong Z, Sanchez-Lopez E, Karin M. Autophagy, inflammation, and immunity: a troika governing cancer and its treatment[J]. *Cell*, 2016, 166(2): 288-298.
- 18 Nguyen HT, Dalmasso G, Müller S, et al. Crohn's disease-associated adherent invasive *Escherichia coli* modulate levels of microRNAs in intestinal epithelial cells to reduce autophagy[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(2): 508-519.
- 19 Saito M, Katsuno T, Nakagawa T, et al. Intestinal epithelial cells with impaired autophagy lose their adhesive capacity in the presence of TNF- α [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(8): 2022-2030.

(收稿日期:2019-12-06)

(本文编辑:周骏)