

乙型肝炎相关慢加急性肝功能衰竭患者血清中miR-122的表达及其临床意义

刘士军 郝彦琴 陈杰 赵龙凤

【摘要】目的 分析乙型肝炎(HBV)病毒感染相关慢加急性肝功能衰竭(HBV-ACLF)患者血清中miR-122表达水平与各临床指标是否有相关性,从而探讨血清中miR-122在评价HBV-ACLF疾病严重程度、诊断中的价值。**方法** 收集山西医科大学第一医院就诊的HBV-ACLF患者血清样本49例、慢性乙型肝炎(CHB)患者血清样本30例及健康体检者的血清样本30例,通过实时荧光定量PCR检测各个样本miR-122的相对表达水平。以u6为内参,miR-122相对表达量用 $2^{-\Delta CT}$ 表示。根据临床表现的严重程度将HBV-ACLF患者分为早期、中期和晚期组,比较不同组间miR-122表达水平的差异及其与生化指标的相关性。进一步通过非条件Logistic回归分析miR-122在HBV-ACLF病程进展中的作用,从而反映miR-122与疾病严重程度的关系。采用受试者工作特征曲线(ROC)评价血清中miR-122在HBV-ACLF诊断评估方面的价值。**结果** 与健康体检者及CHB患者血清中miR-122的表达水平相比,HBV-ACLF患者血清中miR-122的表达水平上调($P < 0.001$),且在晚期HBV-ACLF患者血清中miR-122的表达水平较早期及中期显著上调($P < 0.001$ 、 $P = 0.048$)。HBV-ACLF患者血清miR-122表达水平的升高,与血清中总胆红素(TBil)的表达水平呈正相关($r = 0.508$ 、 $P < 0.001$);与PTA呈负相关($r = -0.797$ 、 $P < 0.001$)。非条件Logistic回归分析结果显示对于HBV-ACLF早期而言,miR-122相对表达值 $2^{-\Delta CT}$ 每增加一个单位,引起HBV-ACLF进展为中期的风险增加5.8%(95%CI: 1.013~1.104),进展为晚期的风险增加13.0%(95%CI: 1.034~1.235)。ROC分析结果显示,miR-122评价疾病的曲线下面积(AUC)为0.942(95%CI: 0.903~0.982),灵敏度为83.7%,特异度为86.7%。**结论** 血清中miR-122的表达水平可成为评价HBV-ACLF的严重程度及作为HBV-ACLF诊断的潜在生物标志。

【关键词】 miR-122; 肝炎病毒、乙型; 肝功能衰竭、慢加急性; 肝炎、乙型、慢性

Expression of miR-122 in serum of patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure and the clinical significance Liu Shijun, Hao Yanqin, Chen Jie, Zhao Longfeng. Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China
Corresponding author: Zhao Longfeng, Email: zhaolf006@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the expression of miR-122 in HBV-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF) and clinical indicators, and to analyze the role of miR-122 in evaluating the severity and diagnosis of HBV-ACLF. **Methods** Serum samples from 49 patients with HBV-ACLF, 30 patients with chronic hepatitis B (CHB) and 30 healthy volunteers were collected from the First Affiliated Hospital of Shanxi Medical University. The relative expression of miR-122 in each sample was detected by fluorescence real-time quantitative PCR. With the u6 as endogenous control, the relative expression of miR-122 was expressed as $2^{-\Delta CT}$. Patients with HBV-ACLF were divided into early stage, middle stage and late stage groups according to the severity of clinical manifestations. The levels of miR-122 expression between different groups were compared, and the correlation between the expression of miR-122 and biochemical markers were analyzed, respectively. Furthermore, the role of miR-122 in the progression of HBV-ACLF was analyzed by Unconditional Logistic regression model, thus reflecting the association between miR-122 and disease severity. Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to evaluate the value of serum miR-122 in the diagnosis

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2017.06.004

基金项目: 山西省国际科技合作计划项目 (No. 2014081053-2)

作者单位: 030001 太原市, 山西医科大学第一医院感染病科

通信作者: 赵龙凤, Email: zhaolf006@163.com

of HBV-ACLF. **Results** The expression level of miR-122 in serum of patients with HBV-ACLF was significantly higher than those of healthy subjects and patients with CHB ($P < 0.001$), and the level of miR-122 expression in advanced HBV-ACLF was significantly higher than those of the early and middle stages ($P < 0.001$, $P = 0.048$). The serum level of miR-122 in patients with HBV-ACLF was positively correlated with the level of serum total bilirubin (TBil) ($r = 0.508$, $P < 0.001$) and negatively correlated with PTA ($r = -0.797$, $P < 0.001$). Unconditional Logistic regression model showed that an increase of one unit of relative expression of miR-122 ($2^{-\Delta CT}$) was associated with 5.8% (95%CI: 1.013-1.104) increase in the risk of progression from HBV-ACLF early stage to middle stage and 13.0% (95%CI: 1.034-1.235) increase in the risk from early stage to late stage. The ROC analysis showed that the area under the curve (AUC) of disease diagnosis was 0.942 (95%CI: 0.903-0.982), the sensitivity and the specificity were 83.7% and 86.7%. **Conclusions** The expression level of miR-122 in serum could be used as a biomarker for the diagnosis and the severity of HBV-ACLF.

【Key words】 miRNA -122 (miR-122); Hepatitis B virus (HBV); Acute-on-chronic liver failure; Chronic hepatitis B

慢加急性肝功能衰竭 (acute-on-chronic liver failure, ACLF) 是指在慢性肝病基础上出现的急性肝功能失代偿^[1-2], 可导致机体出现黄疸、凝血功能障碍、腹水以及肝性脑病等表现的一种临床综合征, 对人类的生命健康有着极大威胁。而我国是乙型肝炎高流行区, 在慢性乙型肝炎基础上出现的ACLF病情凶险, 发展迅速、并发症多, 且病死率高^[3]。目前HBV相关慢加急性肝功能衰竭 (HBV-related acute-on-chronic liver failure, HBV-ACLF) 的治疗缺乏特殊有效的药物和手段, 主要通过早期诊断、早期治疗, 积极防治各种并发症。因此, 准确对HBV-ACLF进行早期诊断及评判其严重程度对实施有效治疗及疾病转归至关重要。

微小核糖核酸 (microRNAs) 是一类18~24个核苷酸长度的非编码RNA, 主要通过作用于mRNA来干扰翻译进程^[4]。已有研究表明, microRNAs能够通过作用于mRNA 3'-端非编码区 (untranslated regions, UTR), 从而在RNA水平来调节基因的表达^[4-5]。此外, microRNAs还能通过与mRNA的5'-UTR区及一些编码基因的外显子区域相结合从而发挥相应的生物学功能^[6]。微小核糖核酸-122 (miR-122) 是microRNAs中的一种, 是肝脏特异性表达并且高度集中于肝脏的microRNA, 占到肝脏所有miRNAs总数的70%^[7], 与肝脏的生长发育, 代谢及肝脏疾病等均具有密切联系。目前已有大量研究表明, miR-122在病毒性肝炎、原发性肝癌、脂肪肝、药物性肝功能损害等肝脏疾病中可参与疾病的发生、发展及转归^[8]。

miR-122在肝脏疾病中以蛋白结合及囊泡包裹的形式从肝细胞释放到血液中, 并在血清中高度稳

定, 具有RNA酶 (RNase) 抗性^[9-10]。在小鼠急性肝功能损伤实验中发现循环血中miR-122的水平在肝脏转氨酶升高之前增加^[11-12], 同样在人急性肝炎患者血清中发现miR-122高表达^[13-14]。因此, 血清中miR-122的表达被视为诊断肝功能损伤程度的一种新的生物学标志物, 并可能成为反映肝功能衰竭的指标。本研究通过对HBV-ACLF患者外周血血清中miR-122的表达水平进行检测, 结合临床指标进行分析, 从而进一步探讨血清中miR-122在评价HBV-ACLF疾病严重程度、诊断中的价值, 现报道如下。

资料与方法

一、材料与方法

1. 标本来源: 以2016年3月至2016年11月于山西医科大学第一医院感染病科就诊的HBV-ACLF患者49例, 慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者30例及健康体检者 (healthy control, HC) 30例为研究对象, 分别设为HBV-ACLF组、CHB组、HC组 (正常对照组)。其中ACLF患者符合《肝衰竭诊治指南 (2012年版)》, 主要临床表现为在慢性肝病基础上短期内出现以下症状: ①乏力, 消化道症状明显; ②排除其他凝血异常原因后凝血酶原活动度 (prothrombin activity, PTA) $\leq 40\%$ 或者国际标准化比值 (international normalized ratio, INR) ≥ 1.5 ; ③黄疸明显, 总胆红素 (total bilirubin, TBil) 每日上升 $\geq 17.1 \mu\text{mol/L}$ 或者大于正常值上限10倍; ④失代偿腹水; ⑤伴或不伴有肝性脑病^[3]。

CHB患者符合《慢性乙型肝炎防治指南 (2015年版)》^[15]。健康体检者均为体检中心体检健康的

人群。所有研究对象均排除药物性、酒精性引起的肝功能损伤,自身免疫性肝炎、丙型病毒性肝炎、脂肪肝、肝癌等肝脏相关疾病及其他系统疾病。抽取各研究对象静脉血3 ml,并即刻于4 000 r/min、离心5 min(离心半径 $r = 15\text{ cm}$),收集上层血清于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

本研究已经取得本院伦理委员会批准,符合赫尔辛基宣言,并已取得研究对象知情同意,签署知情同意书。

2. 设备与试剂:实时荧光定量PCR仪(BIO-RAD CFX Connect),实验所需耗材均进行去RNA酶处理。RNAiso Plus Total RNA提取试剂、RNase-free去离子水(Takara公司)、75%乙醇(RNase-free水配制)、氯仿、异丙醇、MiRNA RT-PCR试剂盒(广州锐博Bulge-LoopTM miRNA qRT-PCR)。实验所需引物均由广州锐博生物科技有限公司提供。

3. 总RNA提取:取400 μl 血清于1.5 ml EP管中,加入1 ml RNAiso Plus反复吹打,常温放置25 min后,4 $^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r/min、离心10 min。取上清置于另一EP管。每一EP管加入200 μl 氯仿/1 ml RNAiso Plus试剂,振荡15 s至乳胶状,室温放置15 min后于4 $^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r/min、离心10 min。取另一EP管,加入500 μl 异丙醇,将上层水相加入并混合均匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 下静置10 min后,于12 000 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心20 min。

移去上清液,加入用1 ml预冷的75%乙醇(RNase-free水配制),混匀。4 $^{\circ}\text{C}$ 下7 500 r/min、离心20 min。去除上清液,室温下RNA沉淀干燥15 min,加入25 μl RNase-free去离子水溶解RNA后迅速进行下一步操作。取2 μl 总RNA,加样于酶标仪对总RNA进行浓度与纯度的测定,若 A_{260}/A_{280} 为1.8~2.0,根据所测得总RNA浓度取RNA 1 μg 进行实验。

4. 反转录及实时荧光定量PCR:使用锐博miRNA RT-PCR试剂盒进行逆转录,每个样品均作两个逆转录,分别配套使用miR-122逆转录引物和内参u6^[16]逆转录引物。逆转录反应程序设定为:42 $^{\circ}\text{C}$ 、60 min,70 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min。待逆转录反应结束后立即将cDNA产物取出,置于冰上冷却,后续操作步骤均于冰上进行。取逆转录产物2 μl ,使用锐博生物miRNA RT-PCR试剂盒进行实时荧光定量PCR扩增,每个样品均作miR-122和u6两种扩

增,扩增引物配套使用miR-122扩增上下游引物、u6扩增上下游引物。每个检测(miR-122及u6)均设置3个复孔。反应体系为:2 \times SYBR Green Mix 10 μl , RT Product 2 μl , Bulge-LoopTM miRNA Forward Primer (5 $\mu\text{mol/L}$) 0.8 μl , Bulge-LoopTM Reverse Primer (5 $\mu\text{mol/L}$) 0.8 μl , ddH₂O(至反应体系20 μl),使用三步法进行检测,反应程序设定为:95 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min预变性;95 $^{\circ}\text{C}$ 、2 s变性,60 $^{\circ}\text{C}$ 、20 s退火,70 $^{\circ}\text{C}$ 、10 s延伸,共50个循环。反应结果以 $2^{-\Delta\text{CT}}$ 表示^[16]。循环结束后立即进行溶解曲线分析,检测温度为70 $^{\circ}\text{C}$ ~95 $^{\circ}\text{C}$,升温速度为0.5 $^{\circ}\text{C}/\text{次}$,恒温时间为5 s/次。

二、统计学处理

采用SPSS 22.0进行统计分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 或M(QR)表示。两组定量资料间比较,如果服从正态分布,则采用两样本均数 t 检验,多组间比较采用方差分析,后续检验采用LSD、SNK检验;若不服从正态分布则采用非参数检验进行分析。将差异具有统计学意义的变量纳入到非条件Logistic回归模型进行分析。血清miR-122与其他血清指标的相关采用Pearson相关或Spearman秩相关进行分析,同时做ROC曲线对HBV-ACLF的诊断价值进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、各组患者血清中miR-122的相对表达水平
非参数检验结果表明HBV-ACLF组患者[51.27 (29.35~82.73)]、CHB组患者[15.35 (11.49~22.43)]和HC组患者[8.03 (5.87~8.88)]血清中miR-122表达水平均具有统计学差异(P 均 < 0.001),且HBV-ACLF组、CHB组中miR-122表达水平较HC组有不同程度的上调,HBV-ACLF组较CHB组上调更为显著,见图1。

二、HBV-ACLF患者血清中miR-122与其他各指标的关系

通过Spearman秩相关分析,HBV-ACLF患者血清中miR-122表达水平与丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)($r = 0.173$ 、 $P = 0.345$)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)($r = 0.357$ 、 $P = 0.054$)、白蛋白(albumin, ALB)($r = 0.019$ 、 $P = 0.921$)、凝血酶原时间(prothrombin time,

PT) ($r = 0.019$ 、 $P = 0.629$)、HBV DNA ($r = 0.053$ 、 $P = 0.871$) 无相关性 (P 均 > 0.05)，与 TBil 呈正相关 ($r = 0.508$ ， $P < 0.001$)，与 PTA 呈负相关 ($r = -0.797$ 、 $P < 0.001$) (见图2)。根据临床表现的严重程度，慢加急性肝功能衰竭可分为早期A组 ($30\% < \text{PTA} \leq 40\%$ 、黄疸进行性加深)、中期B组 ($20\% < \text{PTA} \leq 30\%$ 、黄疸、腹水、II度以下肝性脑病)、晚期C组 ($\text{PTA} \leq 20\%$ 、黄疸、腹水、III度以上肝性脑病、严重并发症) 共3组^[17]。经非参数检验，结果表明A组[32.45 (17.54~45.73)]、B组[66.17 (47.24~99.46)]和C组[85.63 (81.01~146.02)]，且在晚期HBV-ACLF患者血清中miR-122的表达水平较早期及中期上调显著 ($P < 0.001$ 、 $P = 0.048$) (图1)。进一步调整一般人口学特征及常见的临床指标后，进

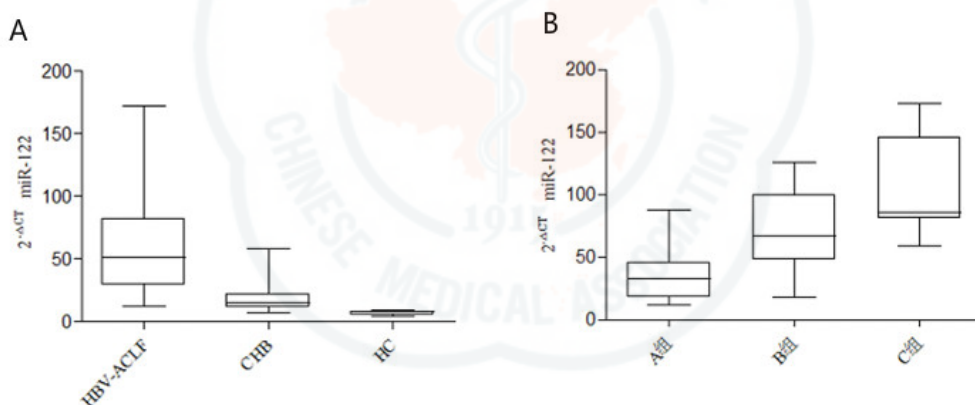
行非条件Logistic回归分析，详见表1。

三、血清miR-122浓度的ROC曲线分析

为研究miR-122作为HBV-ACLF潜在生物标志物的特征，对来自所有109个样本的数据进行ROC曲线分析。结果显示，miR-122评价疾病诊断的曲线下面积 (AUC) 为0.942 (95%CI: 0.903~0.982)，灵敏度为83.7%和特异度为86.7% (见图3)。

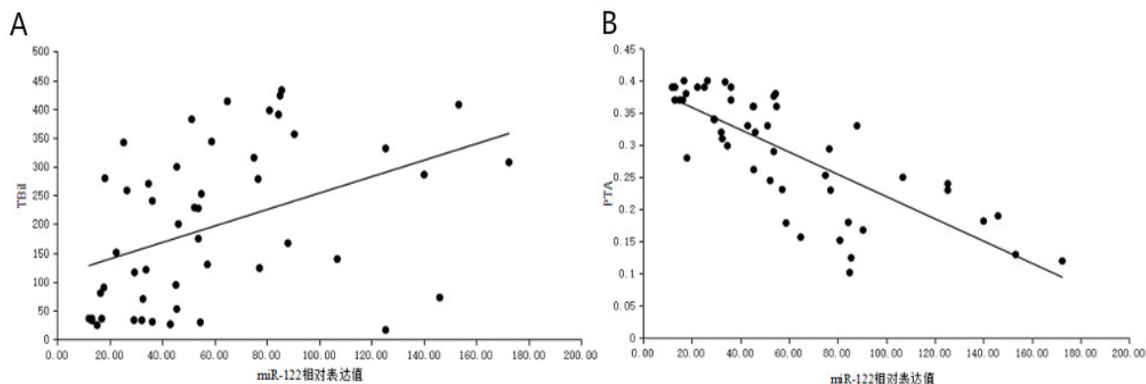
讨 论

HBV-ACLF患者病情严重，疾病进展迅速，易引起诸多并发症，由于其发病诱因、病程、个体化差异较大，且目前缺乏有效的治疗手段，主要通过早期诊断、治疗，积极防治各种并发症，肝移植等



注：根据Kruskal-Wallis检验计算 P 值。在箱线图中，垂直线表示范围，框的水平边界表示第一和第三四分位数。框内的中位线表示中位数。A图：HBV-ACLF、CHB、HC患者血清miR-122的相对表达水平，其各组间比较 P 均 < 0.001 。B图：HBV-ACLF患者早期 (A组)、中期 (B组)、晚期 (C组) 血清miR-122的相对表达水平，其中早期与中期比较： $P = 0.011$ ；早期与晚期比较： $P < 0.001$ ；中期与晚期比较： $P = 0.048$

图1 各组患者血清miR-122的相对表达水平



注：A：miR-122 与 TBil 呈正相关 ($r = 0.508$ ， $P < 0.001$)，B：miR-122 与 PTA 呈负相关 ($r = -0.797$ 、 $P < 0.001$)

图2 HBV-ACLF患者血清中miR-122的表达与血清TBil、PTA的相关性

表1 影响早期 HBV-ACLF 病情进展的非条件 Logistic 回归分析

变量 ^a	b值	Wald χ^2 值	P值	OR值	95%CI
中期					
年龄	0.081	1.325	0.250	1.085	0.944~1.246
BMI	0.048	0.035	0.851	1.049	0.639~1.720
2 ⁻ ΔCT	0.056	6.472	0.011	1.058	1.013~1.104
胆红素	0.011	3.692	0.055	1.011	1.000~1.023
性别	-0.335	0.065	0.798	0.715	0.055~9.343
晚期					
年龄	0.079	0.289	0.591	1.082	0.811~1.443
BMI	0.470	1.533	0.216	1.600	0.760~3.367
2 ⁻ ΔCT	0.122	7.236	0.007	1.130	1.034~1.235
胆红素	0.034	8.365	0.004	1.034	1.011~1.058
性别	0.289	0.017	0.896	1.335	0.017~101.880

注：^a：参照组为早期

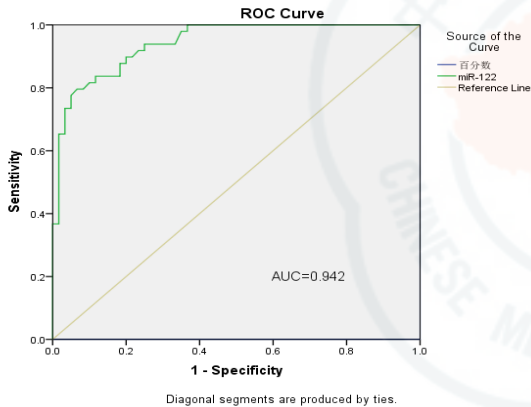


图3 血清中miR-122的表达水平用于诊断HBV-ACLF的ROC曲线分析

措施，医疗费用昂贵，总体预后较差^[3]，因此，准确判断HBV-ACLF的严重程度及早期诊断对疾病的治疗及预后至关重要。目前对于肝功能衰竭尚缺乏敏感、可靠的临床评估指标或体系，主要通过凝血酶原活动度、凝血酶原时间国际化比率和血肌酐等指标^[18]。而miR-122是肝脏特异性表达并且高度集中于肝脏的microRNA，miR-122在肝脏疾病中以蛋白结合及囊泡包裹的形式从肝细胞释放到血液中，并在血清中高度稳定，具有RNase抗性^[9-10]，在小鼠药物引起的肝功能损伤及各种肝病患者血清中已发现miR-122不同水平的升高^[19]，并且在慢性乙型肝炎患者中miR-122的表达水平与血清中HBV DNA和ALT等指标存在相关性^[20]，因此，血清中miR-122的表达被视为诊断肝功能损伤程度的一种新的生物学标志

物，并可能成为反映肝功能衰竭的指标。

本研究结果表明，血清miR-122的表达水平在HBV相关慢加急性肝功能衰竭、慢性乙型肝炎及正常对照组差异具有统计学意义，HBV-ACLF患者血清中miR-122的表达水平显著高于慢性乙型肝炎患者及健康人。与Wang等^[21]在慢性乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者中的研究结果相同，这可能与肝功能衰竭患者肝细胞大量变性坏死及再生有关系。Lee等^[22]通过对32例健康受试者给予阿莫西林/克拉维酸盐14 d临床试验后观察到血清中miR-122水平在ALT水平增加之前增加并与其有良好相关性，而与药物性引起的肝功能损伤不同，HBV-ACLF患者因肝细胞损伤严重，易出现胆酶分离现象，血清ALT随着病情加重，表达水平可能出现消耗性降低，故本研究未发现HBV-ACLF患者中血清中miR-122的表达水平与ALT、AST的相关性，同时与ALB、PT、HBV DNA也未发现相关性。但本研究发现HBV-ACLF患者中血清中miR-122的表达水平与血清TBil呈正相关，与PTA呈负相关，随着疾病的加重，血清总胆红素水平升高、PTA降低，而miR-122表达水平升高。为进一步表明miR-122与疾病的关系将HBV-ACLF患者根据临床分期分为早期、中期和晚期^[17]，比较不同分期患者血清中miR-122表达水平差异后，发现各个分期之间血清中miR-122表达水平差异具有统计学意义，且miR-122相对表达值HBV-ACLF晚期高于早期、中期，中期高于早期，与Wang等在HBV相关性肝功能衰竭的研究结果存在一定差异。Wang等^[21]研究发现miR-122的血清水平肝功能衰竭早期显著上调，有一定相关性，中、晚期不明显，这可能与肝功能衰竭临床类型不同及样本量差异有一定关系。本研究将实验结果进行非条件Logistic回归分析后发现，血清中miR-122相对表达值2⁻ΔCT每增加一个单位，引起早期HBV-ACLF进展为中期的风险增加5.8%（95%CI：1.013~1.104），进展为晚期的风险增加13.0%（95%CI：1.034~1.235），进一步表明出血清miR-122在评价HBV-ACLF疾病严重程度中的重要作用。通过健康体检者、慢性乙型肝炎患者为对照，行ROC曲线分析，发现血清miR-122对HBV-ACLF疾病的诊断有一定的价值。以上结果及相关讨论表明肝特异性循环血血清中miR-122可作为评价肝功能衰竭严重性及作为HBV-ACLF诊断和甚至评判预后的潜在生物标志物。

自Lagos-Quintana从肝脏细胞中克隆出miR-122以来^[23],大量的研究集中在miR-122在肝组织及肝细胞中的作用及相关机制的分析上,已有研究表明miR-122参与细胞周期进展,参与炎症反应,调节蛋白质生物合成及胆固醇和碳水化合物代谢^[24],且与HBV、HCV的复制及翻译^[25-26]、肝细胞肝癌的发生、发展^[27]、脂肪肝的形成^[24]及肝组织病理变化^[28]、药物性肝损伤^[12]有着密切的关系。同时血清中miR-122表达作为一种肝功能损伤及疾病诊断标志物也越来越引起临床重视,对疾病的预后转归有一定前瞻性^[29]。本研究为血清中miR-122作为HBV-ACLF诊断的生物标志物提供了临床证据,并探讨出血清miR-122在HBV-ACLF疾病临床分期及严重程度方面可能存在的评判价值。本研究为小样本研究,且存在地域性等缺陷,故仍然需更大的健康人群和患者群体以及相应的病例随访对血清miR-122的临床意义进行评估。

综上,HBV-ACLF患者miR-122表达水平增高,并与TBI和PTA水平有一定相关性,可成为HBV-ACLF诊断及评判疾病严重程度的潜在生物学指标。

参 考 文 献

- [1] Asrani SK, Simonetto DA, Kamath PS. Acute-on-chronic liver failure[J]. Clin Gastroenterol Hepatol,2015,13(12):2128-2139.
- [2] Mikolasević I, Radić M, Stimac D, et al. Acute-on-chronic liver failure (ACLF)--a new entity in hepatology?[J]. Lijec Vjesn,2013,135(11-12):322-325.
- [3] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012年版)[J]. 中华临床感染病杂志,2012,5(6):321-327.
- [4] Ambros V. The functions of animal microRNAs[J]. Nature,2004,431(7006):350-355.
- [5] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. Cell,2009,136(2):215-233.
- [6] Chen WX, Ren LH, Shi RH. Implication of miRNAs for inflammatory bowel disease treatment: Systematic review[J]. World J Gastrointest Pathophysiol,2014,5(2):63-70.
- [7] Hu J, Xu Y, Hao J, et al. MiR-122 in hepatic function and liver diseases[J]. Protein Cell,2012,3(5):364-371.
- [8] Szabo G, Bala S. MicroRNAs in liver disease[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2013,10(9):542-552.
- [9] Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases[J]. Expert Opin Biol Ther,2009,9(6):703-711.
- [10] Chen C, Skog J, Hsu C, et al. Microfluidic isolation and transcriptome analysis of serum microvesicles[J]. Lab Chip,2010,10(4):505-511.
- [11] Zhang Y, Jia Y, Zheng R, et al. Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases[J]. Clin Chem,2010,56(12):1830-1838.
- [12] Sharapova T, Devanarayan V, LeRoy B, et al. Evaluation of miR-122 as a serum biomarker for hepatotoxicity in investigative rat toxicology studies[J]. Vet Pathol,2016,53(1):211-221.
- [13] Hornby RJ, Starkey Lewis P, Dear J, et al. MicroRNAs as potential circulating biomarkers of drug-induced liver injury: key current and future issues for translation to humans[J]. Expert Rev Clin Pharmacol,2014,7(3):349-62.
- [14] Ding X, Ding J, Ning J, et al. Circulating microRNA-122 as a potential biomarker for liver injury[J]. Mol Med Rep,2012,5(6):1428-1432.
- [15] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J/CD]. 中华实验与临床感染病杂志(电子版),2015,9(5):570-589.
- [16] Shifeng H, Danni W, Liping Z, et al. Circulating liver-specific miR-122 as a novel potential biomarker for diagnosis of cholestatic liver injury[J]. PLoS One,2013,8(9):e73133.
- [17] 李兰娟, 任红主编. 传染病学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013:29-30.
- [18] 段钟平, 郑素军, 陈鹏. 肝衰竭预后评价新标志物研究进展[J]. 传染病信息,2009,22(5):265-268.
- [19] Thulin P, Hornby RJ, Auli M, et al. A longitudinal assessment of miR-122 and GLDH as biomarkers of drug-induced liver injury in the rat[J]. Biomarkers,2017,22(5):461-469.
- [20] Waidmann O, Bihrer V, Pleli T, et al. Serum microRNA-122 levels in different groups of patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. J Viral Hepat,2012,19(2):e58-e65.
- [21] Wang WJ, Lai RT, Xie Q, et al. Correlation between circulating miR-122 and prognosis of chronic HBV-related liver failure[J]. J Dig Dis,2016,17(5):334-339.
- [22] Lee J, Ji SC, Kim B, et al. Exploration of biomarkers for amoxicillin/clavulanate-induced liver injury: multi-omics approaches[J]. Clin Transl Sci,2017,10(3):163-171.
- [23] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse[J]. Curr Biol,2002,12(9):735-739.
- [24] Cheung O, Puri P, Mirshahi F, et al. Nonalcoholicsteatohepatitis is associated with altered hepatic MicroRNA expression[J]. Hepatology, 2008,48(6):1810-1820.
- [25] Gupta P, Cairns MJ, Saksena NK. Regulation of gene expression by microRNA in HCV infection and HCV-mediated hepatocellular carcinoma[J]. Virol J,2014,11(1):64-78.
- [26] Chen Y, Shen A, Rider PJ, et al. A liver-specific microRNA binds to a highly conserved RNA sequence of hepatitis B virus and negatively regulates viral gene expression and replication[J]. FASEB J, 2011,25(12):4511-4521.
- [27] Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa T. Antitumor function of microRNA-122 against he-patocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol, 2014,49(4):589-593.
- [28] Akuta N, Kawamura Y, Suzuki F, et al. Analysis of association between circulating miR-122 and histopathological features of nonalcoholic fatty liver disease in patients free of hepatocellular carcinoma[J]. BMC Gastroenterol,2016,16(1):141-150.
- [29] Russo MW, Steuerwald N, Norton HJ, et al. Profiles of miRNAs in serum in severe acute drug induced liver injury and their prognostic significance[J]. Liver Int,2017,37(5):757-764.

(收稿日期: 2017-01-18)

(本文编辑: 孙荣华)

刘士军, 郝彦琴, 陈杰, 等. 乙型肝炎相关慢加急性肝功能衰竭患者血清中miR-122的表达及其临床意义[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2017,11(6):539-544.