



非酒精性脂肪性肝炎伴发肝细胞癌的 microRNA-122 调控

鲁梦露¹ 张百灵² 张培培³ (通讯作者)

(1 长沙医学院 410000; 2 湘西土家族苗族自治州人民医院 416000; 3 东协盛医院 410000)

【摘要】目的: 探讨 microRNA-122 对非酒精性脂肪性肝炎伴发肝细胞癌的调控作用。方法: 将小鼠分为观察组与对照组, 将观察组小鼠进行 NASH 伴发 HCC 造模, 对照组正常喂养, 比较两组小鼠在第 6、12、20 周时生化指标、miRNA-122 在肝细胞的表达。结果: 第 20 周时, 对照组小鼠平均体重大于观察组小鼠, 而观察组小鼠肝脏重量大于对照组小鼠, 外周血中 ALT、AST、TG 与 TC 水平高于对照组 ($P<0.05$)。观察组小鼠 HCC 组织中 miRNA-122 表达量低于对照组。结论: miRNA-122 的沉默可能使 NASH 向 HCC 转变。

【关键词】非酒精性, 肝细胞癌, miRNA-122

中图分类号: R256.12

文献标识码: A

文章编号: 1009-5187 (2018) 15-063-02

非酒精性脂肪性肝病 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 成为威胁西方国家的主要健康问题[1-2]。近年来有多项研究工作证实, NASH 与 HCC 患者肝组织与外周血中, 微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 水平都有所改变[3-4], miRNAs 水平被认为可能用来诊断 NASH 与 HCC, 以及判断二者的预后, 甚至成为治疗肝癌的分子靶点。本研究采用相关动物模型探讨这一过程。

1 材料与方法。

采用 24 只 2 日龄 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠, 分为观察组与对照组, 每组各 12 只, 在观察组小鼠腹腔内注入链脲佐菌素, 正常喂养 4 周, 从第 5 周开始连续给予 HFD-32 高脂肪饮食, 对照组正常喂养。采用总 RNA 提取试剂盒 (TRIzol 法) 进行分离与纯化, 用美国 Sigma 公司生产的逆转录试剂盒合成 cDNA, 作为 miRNA 的扩增模板。采用 R₁-PCR 检测观察组小鼠和对照组小鼠肝组织中 miRNA 表达, 采用 Sysmex-180 全自动生化分析仪对小鼠肝细胞进行检测。所有数据均采用 SPSS20.0 软件进行统计, 本研究以 $\bar{x} \pm s$ 来表示计量资料, 双侧 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

对照组小鼠平均体重大于观察组小鼠, 而观察组小鼠肝脏重量大于对照组小鼠, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。第 20 周时, 外周血中 ALT、AST、TC 与 TG 水平在第 20 周时均显著高于第 12 周时, 说明 HCC 已经对肝组织造成了影响。见表 1。

表 1 两组小鼠体重、肝重与与生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	项目	第 6 周	第 12 周	第 20 周
观察组	体重 (g)	17.29 ± 2.26	25.59 ± 4.78	25.26 ± 1.04
	肝重 (g)	1.43 ± 0.06	1.96 ± 0.04*	4.86 ± 0.06*
	ALT (IU/L)	43.79 ± 1.26	36.54 ± 9.85*	368.849 ± 53.生*
	AST (IU/L)	73.62 ± 2.36	92.68 ± 1.64	637.34 ± 3.09*
	TC (mg/dL)	164.39 ± 3.47	147.86 ± 2.53	189.97 ± 2.26*
	TG (mg/dL)	178.39 ± 3.96	98.42 ± 1.33*	473.95 ± 4.59*
	体重 (g)	18.32 ± 4.64	30.42 ± 1.26*	35.54 ± 4.73*
	肝重 (g)	1.37 ± 0.03	1.53 ± 0.09	1.97 ± 0.02
	ALT (IU/L)	11.24 ± 0.07	44.52 ± 3.68*	26.75 ± 3.98*
	AST (IU/L)	22.67 ± 1.92	43.65 ± 1.39*	23.72 ± 2.65*
对照组	TC (mg/dL)	81.76 ± 1.78	78.94 ± 1.78	127.89 ± 2.26

	4.36	2.21*	2.66*
TG (mg/dL)	88.67 ± 4.67	42.58 ± 1.26	38.94 ± 9.93
	67	2.26	93

注*: 与同组同项目前一个时间节点相比差异有统计学意义 $P<0.05$,

2.2 小鼠肝组织中 miRNA 的表达

TaqMan 探针定量 RT-PCR 分析显示第 20 周时, 观察组小鼠 HCC 组织中的 miRNA-122 表达量显著低于对照组小鼠, 见图 3。

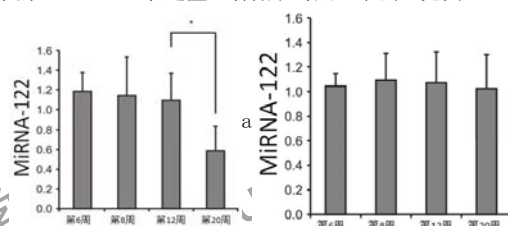


图 3 第 20 周时观察组与对照组小鼠肝癌组织 MiRNA-122 表达

注: a 为观察组, b 为对照组, *表示差异有统计学意义

MiRNA-122 是肝脏中含量最丰富的一类 miRNA, 与多种肝脏疾病都有关联, 如包括 HCV 复制、脂质代谢以及肝癌的发生与发展。其被认为能够促进 HCV 复制, 降低慢性感染患者的 HCV-RNA 水平[5]。另有研究提出 miRNA-122 在脂肪肝、肝炎与 HCC 的发展中起到了一定的作用[6]。本研究仅专注于 miRNA-122, 因为目前多项研究都显示 miRNA-122 具有肝特异性, 能够下调 HCC 靶基因中的细胞周期蛋白 G1[5]。

本研究结果显示, 苏木精伊红染色可见, 在第 6 周时小鼠的肝细胞发生气球样变性。第 20 周时镜下观察小鼠肝脏细胞对病变位置进行切片染色, 经显微镜下观察证实为发生癌变。

MiRNA-122 在观察组小鼠肝脏由正常肝组织逐渐病变过程中, 在第 6 周, NALFD 时, 第八周 NASH 时, 以及第 12 周 LC 时均有所改变, 但无统计学意义, 在第 20 周时, 观察组小鼠肝脏的 miRNA-122 表达水平显著低于第 12 周时。上述结果显示 miRNA-122 在起源于 NASH 的 HCC 中起到抑制作用。MiRNA-122 的表达能降低肝脏脂肪性与 HCC, 也可以说 miRNA-122 的沉默是造成 NASH 向早期 HCC 转变的一个因素。近期也有研究发现过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor-gamma, PPAR-c) 在启动子区域的表现遗传改变, 起到了重要的调控 miRNA-122 表达的作用。有人研究发现[13]在动物实验中进行了建模小鼠 HCC 与非肿瘤 LC 肝组织中 miRNA-122 启动子区域的 DNA 甲基化试验, 通过与其实验中的对照组对比, 提出肝癌发生过程中, miRNA-122 的沉默并非由 DNA 启动子区域超甲基化造成。

参考文献

[1]Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review[J]. JAMA. 2015; 313:2263-73.

(下转第 67 页)



·论 著·

麻痹性斜视有分先天性和后天性两种,后天性的临床特点就是对于视力不产生影响,只是会对注视眼位双眼功能造成一定的破坏,严重时甚至会出现眩晕。造成这种现象的原因分析可得,后天性麻痹性斜视患者成年人较多,双眼已经发育成熟,立体视觉不易受到不良影响。

针对后天性麻痹性斜视的治疗,临床中采用了手术方案,选择时机应该保证在了解病因而且保守治疗没有效果的时候。但是小儿后天性麻痹性斜视应该尽早治疗,避免患儿的双眼视功能遭到不良影响,出现弱视。本研究结果表明,对于后天性麻痹性斜视的治疗,临床中采用手术方案能够起到很好的效果,而且远期疗效也相对较好,说明该治疗方案适合应用在临床中。

结语:

综上所述,对于后天性麻痹性斜视患者,采用手术治疗的方式能够显著改善患者的临床症状,复发率很低,该治疗方案值得在临床中进一步推广研究。

参考文献:

(上接第65页)

选择使用的预防普外科大手术后患者下肢深静脉血栓形成的渐进式压力长袜,施加给患者脚踝部位的压力大约是十八毫米汞柱,由下及上逐渐减小,这与国家上医学压力梯度的标准相符合,经小腿肌肉的收缩来给血管腔施加一个压力值,进而可以使下肢静脉中的血液可以尽快的回流到心脏中,可以很好的在保障手术后发生回流受阻和血液粘稠度的问题;经有效的预防深静脉的扩张性,可以极好的保障血管内膜的完整性,进而起到阻碍释放质因子的作用,最终达成有效预防患者下肢形成深静脉血栓的目的[4]。从本次研究中可以看出,研究组的预防状况明显好于对比组,也就是说对比组的下肢深静脉血栓的发生概率明显比研究组要高得多,可以得出 $P < 0.05$,有显著的统计学差异,总而言之,渐进式压力袜在普外科大手术后下肢深静脉形

(上接第64页)

减少并发症出现,促进患者术后快速恢复[5]。本次研究中,对患者实施腰硬联合麻醉后,患者起效时间、意识恢复时间、苏醒时间明显缩短,认知功能评分也提升。提示腰硬联合麻醉用于老年股骨颈骨折手术患者中麻醉效果理想。

综上所述,与全身麻醉相比,腰硬联合麻醉用于老年股骨颈骨折手术患者中麻醉效果更为理想,起效快,可减少对患者的刺激,使患者快速恢复意识,减少对认知功能的影响,值得临床应用。

参考文献:

[1]刘剑飞.腰硬联合麻醉和全身麻醉在老年股骨颈骨折手术中应用的临床效果对比观察[J].临床合理用药杂志,2014,

(上接第63页)

[2]Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease - meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. Hepatology. 2016; 64:73-84.

[3]Callegari E, Gramantieri L, Domenicali M, D'Abundo L, Sabbioni S, Negrini M. MicroRNAs in liver cancer: a model for investigating pathogenesis and novel therapeutic approaches[J]. Cell Death Differ. 2015; 22:46-57.

[4]Lin XJ, Chong Y, Guo ZW, Xie C, Yang XJ, Zhang Q, Li SP, Xiong Y, Yuan Y, Min J, Jia WH, Jie Y, Chen MS, et al. A serum microRNA

[1]马红霞,赵欣,刘静.针刺联合西药治疗后天性麻痹性斜视临床观察[J].中医杂志,2017,58(17):1487-1490.

[2]王娟,孙卫锋,解世朋.中药辨证论治联合针刺治疗后天性麻痹性斜视疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2017,26(21):2353-2355.

[3]吕明,李敏.复方樟柳碱联合电针穴位针刺治疗后天性麻痹性斜视的临床观察[J].中国斜视与小儿眼科杂志,2015,23(04):32-34.

[4]杨蓉,陈鸣,曾流芝等.靳氏眼三针为主治疗后天性麻痹性斜视临床观察[J].上海针灸杂志,2015,34(10):978-980.

[5]谭翊,刘清国,陈陆泉.针刺结合雷火灸治疗后天性麻痹性斜视临床观察[J].中国中医急症,2014,23(02):342-343.

[6]董小芳,段国平,贺贵云.后天性麻痹性斜视的临床观察[J].湖南师范大学学报(医学版),2013,10(03):39-41.

[7]赵辉.手术治疗后天性麻痹性斜视的疗效观察[J].求医问药(下半月),2012,10(03):471-472.

[8]马天伟,张琴.针药结合治疗后天性麻痹性斜视的临床观察[J].四川中医,2010,28(08):115-116.

成中的应用效果是极好的,值得推广。

参考文献:

[1]陈明霞,杭菲,王君波.渐进式压力长袜在预防普外科大手术后下肢深静脉血栓形成中的应用[J].临床合理用药杂志,2011,04(19):104-105.

[2]李铮,胡雁,薛一帆.渐进式压力长袜预防术后静脉血栓栓塞[J].中华护理杂志,2016,45(5):478-480.

[3]高玉萍.弹力长筒袜护理干预对下肢术后深静脉血栓形成预防作用的临床研究[J].国际医药卫生导报,2017,23(6):901-903.

[4]江红梅.弹力长筒袜护理干预联合低分子肝素对高危普外科患者术后深静脉血栓形成的影响[J].中国生化药物杂志,2017(12):294-295.

7(4):104-105.

[2]蔡国斌,杨晓铭,彭嵘,等.腰硬联合麻醉和全身麻醉在老年患者股骨颈骨折手术的麻醉探讨[J].中国地方病防治杂志,2014,33(s1):106-107.

[3]饶智军.腰硬联合麻醉和全身麻醉在老年患者股骨颈骨折手术的麻醉分析[J].大家健康(学术版),2015,15(4):118-119.

[4]张冰,王玺,顾萍.腰硬联合麻醉和全身麻醉在老年患者股骨颈骨折手术中的麻醉分析[J].中国实用医药,2016,11(5):174-175.

[5]李智海,张忠源,叶桂云.腰硬联合麻醉及全身麻醉在老年患者股骨颈骨折手术的麻醉浅析[J].中外医疗,2017,36(16):93-95.

classifier for early detection of hepatocellular carcinoma: a multicenter, retrospective, longitudinal biomarker identification study with nested case-control study[J]. Lancet Oncol. 2015; 16:804-15.

[5]Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA[J]. N Engl J Med 2013; 368: 1685-94.

作者简介:鲁梦露,女,研究生,初级公卫医师,长沙医学院公共卫生学院教师,主研方向:流行病与统计学。

通讯作者:张培培,女,研究生学历,职称:主管检验师,主研方向:感染与肿瘤免疫。邮箱:294417945@qq.com