

· 腹部疾病 ·

## miRNA21在溃疡性结肠炎患者中表达的意义\*

北京大学深圳医院消化内科 (广东 深圳 518035)

何兴桢 李 曦

**【摘要】目的** 研究溃疡性结肠炎患者血清miRNA21的水平,并探讨其在溃疡性结肠炎发展中的意义。**方法** 选取溃疡性结肠炎患者25例及正常对照组20例,采用qRT-PCR方法检测血清miRNA21的水平。**结果** 溃疡性结肠炎患者血清miRNA21的水平为 $1.32 \pm 0.24$ ,正常对照组血清miRNA21的水平为 $1.11 \pm 0.17$ 。溃疡性结肠炎组有轻度升高,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 溃疡性结肠炎患者血清miRNA21的表达上调,可能为溃疡性结肠炎的治疗及临床诊断提供新的方向。

**【关键词】** 微小RNA21; 溃疡性结肠炎

**【中图分类号】** R574.1

**【文献标识码】** A

**【基金项目】** 深圳市科技计划项目,编号201302056

**DOI:** 10.3969/j.issn.1009-3257.2016.01.011

### Analyze the Expression of miRNA21 in the Patients with Ulcerative Colitis\*

HE Xing-zhen, LI Xi. Department of Gastroenterology Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518035, Guangdong Province, China

**[Abstract]** **Objective** Analysis of miRNA21 in the patients with ulcerative colitis to investigate the pathogenesis of ulcerative colitis. **Methods** 25 patients with ulcerative colitis and 20 healthy controls were detected. And the expression of miRNA21 was evaluated by using quantitative real-time polymerase chain reaction (QRT-PCR) analysis. **Results** miRNA21 in serum of patients with ulcerative colitis was  $1.32 \pm 0.24$ , higher than that  $1.11 \pm 0.17$  of the healthy control group, the difference had statistical significance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The up-regulated expression of miRNA21 in the patients with ulcerative colitis might provide a new direction of therapy and clinical diagnosis for ulcerative colitis.

**[Key words]** MiRNA21; Ulcerative Colitis

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的一种,病变主要累及结直肠粘膜和粘膜下层,呈连续性弥漫性分布的慢性非特异性炎症。近年来,我国溃疡性结肠炎的发病率呈显著上升趋势<sup>[1]</sup>。2006年一项有关于溃疡性结肠炎住院病例的回顾性分析显示在中国溃疡性结肠炎的患病率大约是11.6/10万<sup>[2]</sup>。目前溃疡性结肠炎的病因和发病机制仍不明确,考虑可能与环境、遗传、感染和免疫等多因素相互作用有关<sup>[3-5]</sup>。有研究认为溃疡性结肠炎与微小RNA(MiRNA)参与基因转录后水平的调控有关<sup>[6]</sup>。MicroRNA-21(miR-21)作为在肿瘤及大多数炎症性疾病中均显著过表达的一种小分子核糖核酸<sup>[7-9]</sup>,本研究通过检测其在溃疡性结肠炎患者血清中的水平,与对照组对比,探讨MicroRNA-21表达在溃疡性结肠炎发病及发展中

的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 一般资料** 收集2013年3月至2014年11月期间我院住院和门诊就诊病人。溃疡性结肠炎患者入组标准:根据中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012广州)制定的标准进行诊断,所有入组患者均能确诊为溃疡性结肠炎(包括临床类型、病情程度、病变范围、病情分期、肠外表现)。选取诊断溃疡性结肠炎(活动期,轻型或中型, E1或E2期)的患者。健康人入组标准:没有严重器质性病变,近期无感染病史的健康人群。

最后共收集符合条件的溃疡性结肠炎组共25例,男性16例,女性9例,平均年龄( $39.0 \pm 11.9$ )岁;正

作者简介:何兴桢,女,消化内科专业,主要研究方向:微小RNA在炎症性肠病患者中差异性表达的机制及临床意义。

通讯作者:李 曦

常对照组共20例, 男性14例, 女性6例, 平均年龄(37.7±9.8)岁。

## 1.2 方法

1.2.1 标本的采集和处理: 取得患者的血液标本之后, 将其放置直到血液凝固后析出血清, 然后吸取上层液体和抗凝血液样本, 5000r/min, 离心半径10cm, 离心15min, 提取上清液

1.2.2 用常规qRT-PCR方法检测方法: 主要包括以下步骤: ①总RNA提取, 根据RNA提取试剂盒完成; ②总RNA纯度和完整性检测; ③逆转录; ④定量PCR。大致具体过程如下: 在采血后的24h内, 分别吸取200 μL血浆, 使用miRcute miRNA提取试剂盒的操作方法, 进行miRNA的提取。完成后, 吸取11 μL的miRNA提取液, 37℃反应1h加多聚腺苷酸, 然后吸取2 μL反应液37℃反应1h进行cDNA的合成。上述完成后, 采用实时定量PCR的方法, 检测miR-21a的表达情况; 采用20 μL的反应体系, 每孔加入5 μL的cDNA, 0.5 μL上游引物和下游引物, 10 μL 2X stbr greenpcr master mix, 6.5 μL的双蒸水。反应条件如下: 94℃反应65s, 94℃反应15s, 60℃反应30s退火, 72℃反应32s延伸, 反应进行42个循环。其中定量PCR用酶(SYBR Green PCR Master Mix)购自TOYOBO公司。

1.3 统计学方法 计量资料按均数±标准差表示, 使用SPSS 16.0软件进行统计学分析, 对两组患者血清miRNA21的水平进行t检验, P<0.05时认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

溃疡性结肠患者血清miRNA21的水平为1.32±0.24, 正常对照组血清miRNA21的水平为1.11±0.17, 溃疡性结肠组miRNA21的水平较正常对照组有轻度升高(t=-3.036, P=0.035)。

## 3 讨论

溃疡性结肠炎在西方国家的发病率较高, 亚洲包括中国在内的地区较西方国家低, 但是近年来发病率呈快速增长趋势<sup>[1]</sup>。由于本病呈慢性过程, 病程较长, 且大部分患者反复发作, 对患者的生活质量造成严重影响, 对家庭和社会造成沉重负担。溃疡性结肠炎的发病机制目前还不明确, 近年来的研究发现其发生可能与炎症损伤、免疫异常、遗传等因素密切相

关。针对遗传因素, 溃疡性结肠炎与微小RNA关系已成为研究其发病机制的热点。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类内源性非蛋白编码的小分子RNA, 长度约为18-25个核苷酸, 经过转录后水平性调节目的基因表达, 从而在细胞增值、分化、生长发育以及凋亡等代谢过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。McKenna LB等<sup>[11]</sup>研究发现Dicer1作为miRNA生成发展进程中的关键酶, 将该基因敲除后, 模型小鼠的肠上皮细胞分化受损, 防御功能受损, 肠上皮细胞有大量中性粒细胞、淋巴细胞浸润, 表明微小RNA在溃疡性结肠炎的发生发展中起了重要的调节作用<sup>[11]</sup>。已发现许多的miRNA参与调节炎症性反应<sup>[12-14]</sup>, 其中包括miR-21<sup>[12]</sup>, Gong等<sup>[14]</sup>揭示了miR-21有助于维持T细胞在正常效应范围, 从而有助于在炎症性反应中发挥重要的调节作用。Wu<sup>[15]</sup>等使用miRNA基因芯片技术以及PCR技术分析炎症性肠病患者和正常对照组患者肠粘膜组织的miRNA表达情况, 发现miR-21在活动期溃疡性结肠炎患者中表达上调明显。Takagi等<sup>[16]</sup>取12名活动期溃疡性结肠炎患者和12名健康对照者的结肠活检标本, 检测miRNA的表达差异, 结果发现miR-15和miR-21的表达有上调。全基因组的关联研究发现8个miRNA在溃疡性结肠炎患者中明显上调, 其中包括参与肠道上皮屏障功能的miRNA-21<sup>[17]</sup>。本实验采用qRT-PCR方法检测溃疡性结肠炎患者和健康对照组外周血的血清miRNA21, 结果显示溃疡性结肠组miRNA21的水平较正常对照组有轻度升高(P<0.05)。这和国内外的众多研究结果相符<sup>[15-17]</sup>。目前对于溃疡性结肠炎患者, 主张采用内科综合治疗的手段<sup>[18]</sup>。探讨miR-21的表达与溃疡性结肠炎发生的关系, 有助于进一步明确溃疡性结肠炎的发病机制, 从而为溃疡性结肠炎的治疗及临床诊断提供新的方向。

## 参考文献

- [1] Ng SC, Tang W, Ching JY, et al. Incidence and Phenotype of Inflammatory Bowel Disease Based on Results From the Asia-Pacific Crohn's and Colitis Epidemiology Study[J]. *Gastroenterology*.2013;145(1):158-165.
- [2] 王玉芳, 欧阳钦. 3100例溃疡性结肠炎住院病例回顾分析[J]. *中华消化杂志*, 2006, 26(6):368-372.
- [3] Fiocchi C. Genes and 'in-vironment': how will our concepts on the pathophysiology of inflammatory bowel disease develop in the future? [J]. *Dig Dis* 2012; 30 (Suppl 3): 2-11.