

mir-23a-3p 及 CXCL12 在艾滋病患者血清中的表达水平及临床意义

黄富强

(湖北省丹江口市第一医院检验科 442700)

摘要:目的 探讨 mir-23a-3p 及 CXCL12 在艾滋病患者血清中的表达水平及临床意义。方法 选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月该院收治的艾滋病患者 70 例为研究组,选取同期健康体检人员 70 例为对照组,对比两组研究对象血清中 mir-23a-3p 及 CXCL12 表达情况。结果 研究组患者 mir-23a-3p 过表达情况显著高于对照组研究对象,差异有统计学意义($P < 0.05$);研究组患者 CXCL12 过表达情况显著高于对照组研究对象,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 艾滋病患者血清当中普遍存在着 mir-23a-3p 及 CXCL12 的过表达,临床上可以作为病情诊断及预后评估的重要指标,需要引起医务人员的重视。

关键词:mir-23a-3p; CXCL12; 艾滋病; 基因检测

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)05-0648-03

Expression of mir-23a-3p and CXCL12 in serum of patients with AIDS and its clinical significance

HUANG Fuqiang

(Department of Clinical Laboratory, The First Hospital of Danjiangkou, Danjiangkou, Hubei 442700, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of mir-23a-3p and CXCL12 in the serum of AIDS patients and its clinical significance. **Methods** A total of 70 cases of AIDS patients admitted in our hospital from January 2015 to December 2016 were selected as the study group. And 70 healthy subjects were selected as the control group. The expression of mir-23a-3p and CXCL12 in the serum of the two groups was compared. **Results** The rate of mir-23a-3p overexpression was significantly higher in the study group than in the control group ($P < 0.05$). At the same time, the rate of CXCL12 overexpression was significantly higher in the study group than in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The overexpression of mir-23a-3p and CXCL12 is prevalent in the serum of AIDS patients. It can be regarded as an important index of disease diagnosis and prognosis evaluation, which needs attention from medical staff.

Key words:mir-23a-3p; CXCL12; acquired immune deficiency syndrome; gene detection

微小核糖核酸(miRNA)属于长度为 20 个左右的核苷酸联合组成的非编码 RNA,主要作用在于调节人体当中神经元细胞及其他细胞的分化及凋亡,同时参与人体的免疫应答及信号传导过程当中的 mRNA 处理。血清当中特定 miRNA 的表达可以作为艾滋病的新型诊断指标。研究人员认为 mir-23a-3p 与艾滋病的发生、发展存在着密切的联系^[1]。CXCL12 作为趋化因子 CXC 家族的一员,主要由骨髓细胞分泌生成,并且分泌的过程是持续不断的,是持续表达的一种趋化因子。人体当中没有病原体侵入的情况下表达较低,艾滋病发病之后表达水平会显著上升^[2]。本研究检测艾滋病患者血清当中的 mir-23a-3p 及 CXCL12 表达,分析其在艾滋病诊断及治疗中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月本院收治的艾滋病患者 70 例为研究组。纳入标准:患

者符合艾滋病相关诊断标准^[3];应用抗病毒治疗方案(AZT+3TC+NVP);未服用其他药物。排除标准:妊娠哺乳期女性患者;合并严重肝、肾功能障碍的患者;合并结核及肿瘤疾病患者。选取同期健康体检人员 70 例为对照组。两组研究对象的一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,一般资料见表 1。本试验参与研究者均知情同意,并经医院医学伦理委员会批准。

表 1 两组研究对象一般资料对比

组别	n	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	男/女	学历水平[n(%)]		
				初中及以下	高中	大学及以上
对照组	70	35.1 ± 1.6	38/32	16(22.9)	19(27.1)	35(50.0)
研究组	70	37.2 ± 1.1	34/36	18(25.7)	22(31.4)	30(42.9)
χ^2/t		1.268	1.025		1.328	
P		>0.05	>0.05		>0.05	

1.2 方法 采集两组研究对象 3 mL 静脉血, 2 000 r/min 持续离心 3 min, 之后收集血清, 以 3 000 r/min 持续离心 5 min, 并应用 EP 管收集血清, 在 -60 °C 条件下保存待检。提取血清 RNA 时, 根据操作说明书取 RNA, 反转录反应 cDNA, 并将 cDNA 储存于 -30 °C 的冰箱待检, 应用实时荧光定量方法进行检测^[4]。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS18.0 分析处理, 计数资料以百分数表示, 两组结果比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象 mir-23a-3p 过表达情况对比 研究组患者过表达水平显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 两组研究对象 mir-23a-3p 过表达水平分析 [n (%)]

组别	n	mir-23a-3p 表达情况	
		过表达	表达正常
研究组	70	48(68.6)	22(31.4)
对照组	70	15(21.4)	55(78.6)

2.2 两组研究对象 CXCL12 过表达对比 研究组患者过表达情况显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 两组研究对象 CXCL12 过表达水平分析 [n (%)]

组别	n	CXCL12 表达情况	
		过表达	表达正常
研究组	70	46(65.7)	24(34.3)
对照组	70	12(17.1)	58(82.9)

3 讨论

miRNA 能够参与到人体神经系统的各项生理过程, 同时调控信号表达, 例如神经细胞的分化、树突棘的生成、神经系统的发育及保护等^[5]。有研究认为, 血清当中的 miRNA 主要来源于人体组织细胞, 在生成分泌之后持续进入到血液循环当中, 血清 miRNA 的表达能够在一定程度体现病变组织中的情况^[6]。研究人员发现, 大鼠艾滋病模型当中的大脑组织及外周血清中的 miRNA 表达, 在变化方面比较一致, 两者之间存在密切的联系^[7-8]。mir-23a-3p 在胶质瘤当中的表达同样存在显著上升的问题, 并且在胶质瘤 III 级患者中的表达水平更高, 这意味着 mir-23a-3p 参与到胶质细胞分化的调节过程当中^[7]。而研究显示, 匹罗卡品诱发的艾滋病大鼠的模型, 在持续 24 h 之后, 大鼠海马当中的 mir-23a-3p 表达会显著升高, 并且大鼠海马当中的突触重建情况比较活跃^[8]。有学者通过分析耐药性艾滋病患者血清当中的 mir-23a-3p 表达水平, 结果显示 mir-23a-3p 能够影响神经细胞的增生、炎性反应及突触重建等, 通过这些途径来参与到

耐药性艾滋病患者病情的发生发展, 为耐药性艾滋病的治疗提供了新的研究途径, 但具体的作用方式还需要后续的深入研究^[7]。

CXCL12 过表达对比方面, 研究组患者过表达情况显著高于对照组研究对象 ($P < 0.05$), 同相关研究的结果相符^[9]。这提示 CXCL12 对艾滋病的发生、发展同样存在重要的影响。趋化因子是起着趋化功能的细胞因子, 由 80 个左右的氨基酸组成, 可以吸引免疫细胞聚集到免疫应答位置, 从而影响免疫调节及人体的免疫反应。截止到目前为止, 国内学者关杨等^[10]报道, 发现的趋化因子种类数量超过 50 种, 是细胞因子中种类数量比较多的一类。CXCL12 最早在小鼠骨髓细胞当中发现, 因其在 β 细胞的分化增生当中有着重要的影响, 而被认为是 β 细胞的刺激因子 (PBSF)。借助于克隆表达的方法, 能够分离得到 cDNA。小鼠及人体当中的 CXCL12 高度雷同, 人体当中的 CXCL12 基因主要在 10 号染色体, 与其他趋化因子主要在 4 号染色体及 17 号染色体。同其他趋化因子不同的是, CXCL12 主要是由人体的基质细胞生成分泌的, 并不受炎性因子的影响。CXCL12 广泛表达在人体的各种组织及细胞当中, 例如心脏、大脑、肝脏、肾脏及免疫细胞等。CXCL12 的生物学轴能够参与人体的白细胞浸润、器官发育及细胞迁移等病理过程及生理过程当中^[11]。相关研究的结果表明, CXCL12 对人体心脏组织及淋巴细胞都有着重要的影响, CXCL12 能够导致神经细胞及内皮细胞的迁移, 说明 CXCL12 可以调节人体当中造血干细胞及巨核细胞的分化。最新研究结果显示, CXCL12 及 CXCR4 可以互相作用而形成反应轴, 在艾滋病的发生、发展过程当中有着重要的影响, 这对于艾滋病的治疗有着重要的临床意义^[12]。

本研究中, 研究组 CXCL12 过表达患者的比例要显著高于对照组 ($P < 0.05$), 这是由于人类免疫缺陷病毒 (HIV) 外壳同靶细胞膜之间的融合, 是病毒侵入细胞的首要步骤。如果能阻断结合的过程, 就能有效控制 HIV 感染靶细胞。当前根据这一作用机制研发得到的抗 HIV 药物包括 AMD3100、T140 及 T22 等。非肽类抑制是 CXCL12 抑制剂的重要组成部分, 特别是双环拉胺类及其衍生物能够有效抑制 CXCL12 活性。研究人员在早在上世纪 80 年代发现 HPA-23 拥有抗 HIV 活性的效果, 而在试验过程当中发现其对人体的胃肠道有着明显的不良影响, 需要借助于非肠道的途径完成吸收^[13]。在此过程中, 化合物在人体当中的滞留会带来不良反应, 同时对艾滋病的治疗效果也不够理想。因此借助于改造结构, 发现通过使用氮原子来替代 HPA-23 当中的氧原子, 连接苯二亚甲基在两个环间, 结果得到抗 HIV 效果更强的 AMD3100。AMD3100 属于小分子 CXCL12 抑制剂的一种, 能够与 CXCL12 外环当中的氨酸残基进行结

合。具体作用机制的试验显示,AMD3100 能够作用于 HIV 感染患者的早期环节,特异性将 CXCL12 作为靶点从而阻断 HIV 进入到人体细胞当中,但是不会作用于其他的受体。因为 AMD3100 分子量及阳离子都影响到分子过膜及吸收,因此口服用药的活性水平比较低,因此应用更小杂环进一步改造结构,改善药物的口服效果。使用吡啶甲胺基来取代 AMD3100 的拉胺环,从而得到单环拉胺 AMD3465,抗 HIV 感染的活性同 AMD3100 比较接近,这提示两个大环并不属于 HIV 的重要结构。近来有研究人员报道新型的 CXCL12 抑制剂 AMD11070,分子量要显著低于 AMD3100,同时有着理想的抗 HIV-1 效果。但临床试验结果显示,AMD11070 的肝毒性比较明显,因此在安全性及实用性方面还需要后续的研究^[14]。因此研究人员进一步改进 AMD11070 结构,使用的其他杂环取代苄基,从而得到新型抑制剂,并且细胞实验结果显示化合物抗 HIV 活性效果理想。从大环带正电 AMD3100 发展到单环 AMD3465 及 AMD11070,研究人员不断降低药物的分子大小及电荷,同时提高药物的口服活性,并且作用于 CXCL12 的位点也各不相同^[15]。

本研究的测序结果表明,研究组艾滋病患者的 mir-23a-3p 过表达及 CXCL12 过表达均显著高于对照组研究对象,差异有统计学意义($P < 0.05$)。本试验持续随访患者的时间为 3 个月,血清在冰箱当中的保存时间比较长,测序结果表明 miRNA 存在一定的降解,因此需要后续改进研究。而血清标本通过及时处理反转录成为 eDNA,检测的结果可信度比较高。

综上所述,艾滋病患者血清中的分子表达特征能够帮助医务人员判断其病情进展。艾滋病患者血清当中普遍存在着 mir-23a-3p 及 CXCL12 的过表达,需要引起医务人员的重视。

参考文献

- [1] 马永岚,李永强,王卓,等. 艾滋病检测实名制和高危人群的强制检查提高了 HIV/AIDS 的监测效果[J]. 检验医学与临床,2016,13(z1):256-257.
- [2] 王利伟,任伟宏. HIV/AIDS 患者 CD8⁺ T 淋巴细胞 CD28、CD38 分子表达及其与疾病的相关性研究[J]. 检验医学与临床,2016,13(3):404-406.
- [3] TADEWOS A, ASSEGU D. Journal of AIDS and HIV research change in serum lipid profiles and glucose after switching from stavudine/lamivudine to zidovudine/lamivudine in non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors based anti-retroviral regimens in southern Ethiopia[J]. J Biol Chem,2015,7(2):18-26.
- [4] 罗亚东,洪国枯,贾鸣,等. 血清 HCVRNA 荧光定量与丙型肝炎诊断意义[J]. 第三军医大学学报,2015,37(23):2329-2333.
- [5] 潘熠健,朱明利,潘克女,等. IL-17、IL-23 在 HIV/AIDS 患者外周血中的表达及其临床意义[J]. 中国卫生检验杂志,2015,2(16):2720-2721.
- [6] OLAWUMI H O, OLATUNJI P O. The value of serum albumin in pretreatment assessment and monitoring of therapy in HIV/AIDS patients[J]. HIV Med, 2006, 7(6):351-355.
- [7] NOU E, LU M T, LOOBY S E, et al. Serum oxidized low-density lipoprotein decreases in response to statin therapy and relates independently to reductions in coronary plaque in patients with HIV[J]. AIDS, 2016, 30(4):583-590.
- [8] 刘莉,李士林,张仁芳,等. 类 1 型-趋化因子配体 3 和趋化因子配体 4 基因与艾滋病患者抗病毒治疗后免疫重建的相关性[J]. 中华传染病杂志,2015,33(2):83-86.
- [9] SHINHA T, MI D, LIU Z, et al. Relationships between renal parameters and serum and urine markers of inflammation in those with and without HIV infection[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2015, 31(4):375-383.
- [10] 关杨,蓝丽娜,陶小华,等. 干扰素调节因子 4 及 Th17 细胞在梅毒血清固定患者外周血中的表达[J]. 中国艾滋病性病,2016,1(11):900-903.
- [11] KIM J E, SCHERZER R, ESTRELLA M M, et al. Tenofovir exposure alters associations of serum bicarbonate with chronic kidney disease risk in HIV-infected veterans[J]. AIDS, 2016, 30(7):1049-1057.
- [12] 程林,唐娴,赵方,等. 抗人 CCR5 多克隆抗体体外阻断 HIV-1 假病毒感染的研究[J]. 中国艾滋病性病,2015,3(11):916-918.
- [13] 王妙婵,徐爱芳,郁文燕,等. 艾滋病患者血清免疫球蛋白水平的变化[J]. 国际流行病学传染病学杂志,2015,42(5):351-352.
- [14] TITTLE V, RAYMENT M, KEELING E, et al. Serum-free light chains in HIV-associated lymphoma: no correlation with histology or prognosis[J]. AIDS, 2015, 29(10):1201.
- [15] 冯润川,黄绍标,覃英梅,等. 高效抗反转录病毒治疗(HAART)对艾滋病患者血清炎性标志物水平影响研究[J]. 医学研究杂志,2016,45(7):156-159.

(收稿日期:2017-08-23 修回日期:2017-10-24)