

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.17.032

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220317.1655.006.html\(2022-03-18\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220317.1655.006.html(2022-03-18))

外周血单个核细胞中 miRNA 在感染性疾病中差异表达的研究进展*

钟婵丽 综述,郑碧英[△],徐军发 审校

(广东医科大学医学技术学院检验医学研究所,广东东莞 523808)

[摘要] 微 RNA(miRNA)是由 20~25 个核苷酸组成的非编码 RNA 分子,其为免疫应答的关键转录后调节因子,参与多种疾病的调控,存在于各种体液中,而在外周血单个核细胞中 miRNA 含量及灵敏度方面更具优势。外周血单个核细胞(PBMCs)是外周血的主要细胞组成成分,包括淋巴细胞、单核细胞和树突状细胞等免疫细胞,是机体对抗感染性疾病的关键屏障。PBMCs 来源方便,提取方法成熟,被广泛应用到医学研究和临床诊断的各个领域。该文总结 PBMCs 中 miRNA 在感染性疾病中差异表达的研究进展,为 miRNA 作为潜在的无创新型诊断标志物和药物治疗靶点提供理论依据。

[关键词] 微 RNA;外周血单个核细胞;标志物;早期诊断;综述

[中图分类号] R446.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)17-3034-07

Advances in the differential expression of miRNA in infectious diseases in peripheral blood mononuclear cells*

ZHONG Chanli,ZHENG Biying[△],XU Junfa

(Institute of Laboratory Medicine, School of Medical Technology, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China)

[Abstract] MicroRNA (miRNA) is a non-coding RNA molecule composed of 20—25 nucleotides, and it is the key post-transcriptional regulator of the immune response, also involved in the regulation of various diseases and exists in all kinds of body fluids. There are more advantages in miRNA content and sensitivity in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). PBMCs is one of the main components of peripheral blood. PBMCs include lymphocytes, mononuclear cells and dendritic cells and other immune cells, which are the body's key barrier against infectious diseases. Because of its convenient source and mature extraction methods, PBMCs has been widely used in various fields of medical research and clinical diagnosis. This study summarizes the advances in the differential expression of miRNA in PBMCs in infectious diseases, so as to provide theoretical basis for miRNA as potential non-invasive new diagnostic markers and therapeutic targets.

[Key words] microRNA; peripheral blood mononuclear cells; marker; early diagnosis; review

微 RNA(microRNA, miRNA/miR)是真核生物中广泛存在的转录本长度为 22~24 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,能够特异性结合编码基因的 mRNA 的 3' UTR 区,阻止基因翻译或促进 mRNA 降解,从而在转录后水平负调控靶基因的表达。它们通过调控基因表达,在先天免疫、细胞周期、生长、增殖、凋亡和新陈代谢等多种细胞生理活动中发挥重要作用^[1]。有研究发现,疾病发展过程或不同疾病亚型中 miRNA 表达水平有明显变化,提示它们与疾病发生、

发展相关,可能是新型的诊断生物标志物和药物治疗靶点^[2-3]。由于外周血获取方便,且外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)提取技术成熟。miRNA 在 PBMCs 中含量丰富,参与调控 PBMCs 的功能,能在一定程度上反映免疫细胞对抗外源细菌、病毒等微生物入侵情况。随着 PBMCs 提取技术日趋成熟及微阵列技术和高通量测序的出现, PBMCs 的 miRNA 检测效率大大提高且成本降低。此外,相比于传统蛋白标志物,miRNA 在 PBMCs 中

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81870016,81570009)。 作者简介:钟婵丽(1991—),在读硕士研究生,主要从事微生物检验研究。

[△] 通信作者, E-mail:469069691@qq.com。

表达稳定,不易降解;且具有准确率高,易于实现多组分同时检测的优越性。因此,本文详述 PBMCs 中的 miRNA 在感染性疾病中差异表达及其可能在临床诊断中扮演的角色,为 PBMCs 中的 miRNA 可能成为新的疾病诊断标志物提供理论依据。

1 miRNA 简介

1.1 miRNA 的生物合成过程及功能

1993 年 AMBROS 等首次在秀丽隐杆线虫中发现非编码蛋白基因 miRNA^[1]。随着越来越多的 miRNA 及其调控靶点和功能的发现,miRNA 逐渐成为表观遗传学范畴的研究热点,是医学和细胞生物学史上的主要突破之一。成熟 miRNA 的产生较为复杂,它们绝大部分定位于基因间隔区,小部分位于蛋白编码基因的内含子,经 RNA 聚合酶 II 转录形成长度为 300~1 000 个碱基的 pri-miRNA, pri-miRNA 在细胞核经过 Drosha 酶酶切,形成 70~90 个碱基的带有茎环结构的 miRNA 前体 (pre-miRNA), pre-miRNA 在 Exportin-5 协助下转运到细胞质,由 Dicer 酶酶切后,成为长 20~24 个核苷酸的 miRNA 双链。随后 miRNA 双链的一条链加载到 RNA 诱导的沉默复合体(RISC)中,结合靶 mRNA 的 3'UTR,诱导靶 mRNA 的降解或翻译抑制。

miRNA 的主要功能是进行转录后调控。miRNA 的表达水平在不同组织和不同发育阶段具有明显差异,其调控人类基因组中 30% 的蛋白编码基因。研究表明,miRNA 与靶 mRNA 并非一对一的特异性结合,每个 miRNA 参与多个 mRNA 的转录后水平调控,特定的 mRNA 序列也受多个 miRNA 调控,从而组成错综复杂的调控网络,在各种生物过程中发挥着重要作用^[4]。

1.2 miRNA 作为潜在的临床诊断辅助标志物的优越性

研究表明,miRNA 参与调控细胞增殖、分化和凋亡等正常生理过程,miRNA 的表达异常会影响细胞功能和正常调控网络^[5],提示它们的表达变化与临床疾病的发生、发展密切相关,可能是潜在的一种辅助诊断标志物。实时荧光定量 PCR 是 miRNA 检测和定量的金标准,它能够检测到 miRNA 之间最小的 1 个核苷酸差异,可从少量血液标本、细胞和组织中进行检测,具有高灵敏度和高精确性。近年来,随着测序技术的高速发展,微阵列技术和高通量测序出现使 miRNA 的检出手段和检测通量进一步提高,大大节省了检测时间和精力^[6]。相比于传统 mRNA 检测,miRNA 体积小且在体液中稳定,能抵抗内源性核糖核酸酶的降解;而相比于蛋白质生物标志物,miRNA 检测分析成本更低,灵敏度和特异度更好,易于实现

多组分同时检测;且具有在外周血中表达稳定,在室温下孵育 ≥ 24 h、反复冻融(可高达 8 个冻融周期)、过酸、过碱,甚至煮沸条件下不易降解等优点,因此,miRNA 被认为是更理想的诊断标志物^[2,7],其作为生物标志物的潜在用途成为当前研究的热点。

2 PBMCs 中的 miRNA

PBMCs 是指从外周血中分离出来的,被鉴定为具有圆形核的血细胞,包括淋巴细胞[T 细胞、B 细胞和自然杀伤(NK)细胞]、单核细胞和树突状细胞等。外周血获取方便,且分离纯化这些细胞的技术成熟^[8]。相较于血清,PBMCs 提取纯化相对较复杂,但在 miRNA 水平及灵敏度方面更具优势^[9-10],因此,它们常作为疾病和科学研究检测的首选标本之一。PBMCs 含 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、单核细胞和树突状细胞等免疫细胞,它们是机体对抗细菌、病毒等入侵的重要屏障。而 miRNA 能调节宿主对病毒、细菌和真菌的防御机制,参与转录后基因表达调控的重要途径,调控免疫细胞增殖、分化和凋亡等生理和病理过程。因此,检测 miRNA 在 PBMCs 中的表达水平变化可作为疾病诊断和预测疾病进展的重要判断。

3 PBMCs 中 miRNA 在感染性疾病中差异表达的研究进展

感染性疾病是由病原微生物感染人体引起的有传染性的疾病,主要包括细菌、病毒和螺旋体等,检出病原体是确诊的重要依据。由于此类疾病严重危害公共卫生健康,快速诊断和早期治疗对于控制传染病扩散尤为重要。本文对几种重要感染性疾病患者 PBMCs 中 miRNA 差异表达的研究进行总结。

3.1 结核病

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的慢性感染性疾病,可侵袭多个器官,以肺部感染最为常见。据估计,90%~95% 结核感染为无症状的潜伏期结核病患者,10% 的潜伏期结核病患者会出现内源性复发,进展为活动性结核病^[11]。快速诊断活动性结核病是预防结核传播的有效措施,痰涂片抗酸染色检测和痰培养出结核分枝杆菌是诊断结核病的金标准,然而痰涂片抗酸染色不能区分结核分枝杆菌还是其他抗酸杆菌,特异度低,痰培养费时较长且阳性率仅为 30%,目前缺乏快速安全的新型临床诊断方法^[9]。

结核分枝杆菌感染后 miRNA 差异表达,调节与炎症、自噬、凋亡和巨噬细胞活化有关的宿主信号通路。实验表明,宿主诱导的 miRNA 增强自噬等抗菌过程,以限制细菌增殖^[12]。PBMCs 是清除毒性结核分枝杆菌的免疫细胞的主要来源,大量研究发现,结核患者的 PBMCs 中 miR-144 *、miR-29a、miR-196b-5p、miR-423-5p、miR-140 表达上调^[13-17], miR-

155-5p、miR-23a-3p 表达下调^[18],其中 miR-23a-3p、miR-144 *、miR-29a、miR-423-5p、miR-155-5p 调节结核病感染宿主细胞的自噬和凋亡,而 miR-223、miR-196b-5p、miR-140 调节炎性细胞因子和趋化因子的产生和刺激调节巨噬细胞的活化,其与菌株的致病性和抗结核病免疫反应有关,这说明 miRNA 可用于结核病的辅助诊断。进一步临床研究证实 miR-125b 和 miR-31 具有单独诊断肺结核的价值,且在结核病患者中 miR-125b 表达下调与痰抗酸杆菌涂片有关^[19]。儿童结核病患者 PBMCs 中 miR-31 表达水平明显低于正常儿童($P < 0.05$),其诊断的灵敏度和特异度均高于 90%^[20]。因此,miR-31 有可能成为儿童结核病患者诊断的标志物。

除肺结核外,miRNA 或许可作为结核性脑膜炎的新型辅助诊断标志物。结核性脑膜炎是中枢神经系统结核病最常见和最严重的形式,目前临床尚缺具有特异性和有效性的诊断方法,因此,很难与其他常见类型的脑膜炎,尤其是病毒性脑膜炎区分^[21]。而 miRNA 则可能具有该功能,研究发现 miR-29a、miR-126-3p、miR-130a-3p、miR-151a-3p 和 miR-199a-5p 可能具有分别诊断结核性脑膜炎的价值(曲线下面积 > 0.7)。特别是 miR-29a,在结核性脑膜炎患者的 PBMCs 中表达上调,诊断的灵敏度和特异度分别为 67.2% 和 88.5%^[15]。此外,miR-126-3p、miR-130a-3p、miR-151a-3p 和 miR-199a-5p 表达下调,它们用于诊断结核性脑膜炎和区分结核性脑膜炎和病毒性脑膜炎的效能最高(曲线下面积 = 0.893),灵敏度和特异度分别为 90.6% 和 86.7%^[21]。

此外,活动性肺结核和结核性脑膜炎的早期鉴别和治疗有益于控制结核病传播和减少后遗症。既往研究发现,活动性结核病患者、潜伏期结核病患者、健康受试者和接种卡介苗受试者的 PBMCs miRNA 表达谱不同,表明 miRNA 还可能用于结核病的分型^[7,22]。活动性结核病、潜伏期结核病患者和健康受试者的 miRNA 微阵列结果显示,3 组间有 17 个 miRNA 差异表达,其中 miR-424 和 miR-365 上调可用于鉴别活动性结核病和潜伏期结核病患者^[23]。目前尚缺乏区分潜伏期结核分枝杆菌是否被根除的诊断标准,难以识别出潜伏期结核病患者中出现结核复发的高风险人群,miRNA 的表达是否能够反映潜伏期不同阶段对结核病感染的反应可能也是未来的研究方向之一。

3.2 病毒性肝炎

病毒性肝炎是由肝炎病毒引起的,以肝脏损害为主要表现的传染病。其中乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染最为常见,通过肝炎病毒学检测确

诊。HBV 相关疾病的严重程度差异很大,宿主免疫应答和病毒复制之间的相互作用决定了 HBV 感染的临床结局,90%~95% 的成年 HBV 感染者能有效清除病毒,5%~10% 发展为慢性感染,约 1% 发展为高致死率的重症乙型肝炎。慢性 HBV 感染可导致严重的肝功能障碍和疾病,高达 20%~30% 的慢性乙型肝炎患者可发展为肝硬化或肝癌。因此,寻找早期诊断肝损伤、预测进展的无创诊断标志物对肝癌和 HBV 相关慢加急性肝衰竭具有重要的临床意义。

丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)是最广泛使用的肝损伤酶学指标,但并不是特异性指标,因为它们在一些其他疾病也会出现升高现象。且在病理学检查中,这两个标志物与组织形态学改变也并不完全一致。因此,开发探索新的辅助诊断方法对于该疾病的诊断具有重大意义。研究发现,PBMCs 中 miRNA 的表达谱与 HBV 相关疾病的严重程度密切相关^[24]。如慢性乙型肝炎患者中 miR-212-3p、miR-155、miR-146a、miR-548 及 miR-4804-5p 表达上调,导致慢性 HBV 感染和肝损伤,因为在慢性乙型肝炎中这些 miRNA 参与调控免疫应答和病毒的免疫逃逸功能^[25-28]。相比于 HBV 复制活跃而 ALT 正常的免疫耐受的慢性乙型肝炎患者,HBV 病毒载量减少但 ALT 升高的免疫激活慢性乙型肝炎患者中 miR-548 和 miR-4804-5p 表达也明显上调^[28],提示可能是识别慢性乙型肝炎患者不同免疫阶段和预测慢性乙型肝炎导致的肝损伤的生物标志物。此外,慢性乙型肝炎患者外周血自然杀伤细胞中表达下调的 miR-146a,在肝癌患者中进一步下降,抑制体内抗肿瘤免疫反应^[24],可用于早期诊断 HBV 相关肝癌。

HBV 相关慢加急性肝衰竭是一种涉及肝功能急性恶化且影响多个器官的综合征,研究发现相对于慢性乙型肝炎患者,miR-21-5p、miR-34c-5p、miR-143-3p、miR-143-5p、miR-374a-3p 和 miR-542-3p 等在 HBV 相关慢加急性肝衰竭患者 PBMCs 中表达上调,提示其可能是诊断和预测 HBV 相关急性肝衰竭进展的指标^[29]。虽然目前对于 HBV 相关疾病的 PBMCs 中 miRNA 的研究已取得一定成绩,但上述 miRNA 研究样本量仍较少,还需在大型队列中进行验证,并比较此类 miRNA 与血清肝损伤酶学指标用于诊断慢性 HBV 患者肝损伤的准确度。此外,目前 HBV 相关肝癌诊断相关的 miRNA 研究标本采集主要在血清、肝组织,血清标本易受红细胞等污染,重复性较差。而 PBMCs 是感染和病毒复制的主要肝外环境,同时也是免疫系统对抗感染和适应入侵者的关键组成部分。因此,未来研究 HBV 相关肝癌诊断生物标志

物, PBMCs 及其 miRNA 可能是更合适的标本库。

3.3 获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)

AIDS 是危害全球的病毒感染性传播疾病, 由人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)引起, 可致机体细胞免疫功能缺陷, 引起各种机会性感染及肿瘤。AIDS 病死率极高, 存活期仅为 12~18 个月。从初始感染 HIV 到终末 AIDS 期是个复杂的过程, 期间潜伏期差异大, 经历数月至数年。但目前对于 AIDS 的诊断还缺乏完善和快速的方法。研究发现, 感染 HIV 后不同阶段的外周血 PBMCs miRNA 表达谱不同, 提示 miRNA 改变可能是预测 HIV 感染患者免疫受损程度的生物标志物和药物治疗的靶点。HIV 感染患者的 PBMCs 中的 miRNA, 如 miR-29a 和 miR-29b 也能体现与病毒载量呈负相关作用^[30], 与病毒载量高的 AIDS 患者相比, 长期无免疫损害进展的 HIV 携带患者的 miR-19b 表达上调^[31]。此外, 研究发现 miR-191-5p 在未经治疗 AIDS 患者、接受抗反转录病毒治疗的 AIDS 患者、健康对照 3 个组逐级表达递减^[32]。HIV 感染患者的 PBMCs 和 CD8⁺ T 细胞中 miR-155 表达上调, 尤其是在未接受治疗和治疗后未能控制病毒复制的患者中明显上调, miR-155 水平升高与 T 细胞分化有关^[33]。表明此类 miRNA 可能是 HIV 感染后免疫反应的潜在生物标志物。

尽管高效抗逆转录病毒治疗能有效抑制大多数 HIV 感染者的病毒复制, 但有部分患者无法重建免疫功能如 CD4⁺ T 细胞的数量未恢复或出现免疫效应异常。研究发现, 相比于健康对照组, 治疗后达到病毒学指标的患者 miR-21 表达仍上调, T 淋巴细胞中 miR-21 的高表达可抑制免疫激活标志物如 CD69、CD25 和细胞因子如白细胞介素-2、 γ 干扰素的表达, 从而诱导 T 细胞过度激活和功能障碍^[34]。因此, 检测 miR-21 水平可能用于评价治疗后免疫恢复效果, 也为治疗 HIV 的免疫损害提供新的靶点。

3.4 梅毒

梅毒是由梅毒螺旋体感染引起的一种危害全球卫生的性传播疾病, 确诊需靠病原体检查, 当前的血清学诊断方法缺乏灵敏度和特异度, 限制了疾病的早期诊断和治疗。梅毒患者经规范治疗后, 大多数患者梅毒快速血浆反应素抗体滴度逐渐下降至消失, 但部分患者快速血浆反应素滴度持续阳性, 并维持在一个较低水平, 称为血清固定。血清学诊断不能区分血清固定和潜伏梅毒, 因此, 识别血清固定状态对于梅毒预防具有重要意义。HUANG 等^[35]首次表明了梅毒感染不同阶段 PBMCs 的 miRNA 表达有明显差异,

其发现 miR-195-5p 在未治疗梅毒和血清固定患者中的表达高于血清学治愈和健康对照, miR-223-3p 和 miR-589-3p 在血清固定患者中的表达高于血清学治愈患者。随后研究发现 Novel-128、Novel-244 在未治疗梅毒和血清固定患者 PBMC 中的表达低于健康对照, miR-338-5p 在血清固定患者的表达高于健康对照, GO 聚类分析结果显示 miR-338-5p 靶基因与 T 细胞受体信号通路、代谢生长密切相关, 提示可能在抗梅毒免疫调节中发挥重要作用, 其可能是识别血清固定和潜伏梅毒的生物标志物^[36]。而 miR-195-5p、Novel-128 和 Novel-244 可能与梅毒螺旋体感染有关, miR-223-3p、miR-589-3p 和 miR-101-3p 可能是诊断梅毒预测治疗后血清学反应的潜在生物标志物^[37-38], 但也需要进一步的功能性分析验证。

3.5 寄生虫感染

寄生虫感染疾病主要由感染动物和人类并影响公共卫生安全的细胞内寄生虫引起, 包括弓形虫、疟原虫、利什曼原虫等。对于寄生虫感染的诊断, 病原学诊断方法是首选, 也是确诊的重要依据。此外, PCR 方法也是诊断寄生虫感染的常用方法, 但由于各实验室采用的检测方法、应用的试剂标准和技术上的差异, 在检测的结果上也存在一定的差别, 从而对寄生虫感染诊断的可靠性。近来研究发现, 寄生虫感染宿主后 miRNA 会发生变化, 表明 miRNA 在寄生虫-宿主间的调节作用, 尤其是它们在调控寄生虫生命周期中的作用^[4]。miR-146 在微生物感染时调节宿主的免疫系统, 如疟原虫、利什曼原虫和弓形虫感染后表达上调^[39]。miR-155 在弓形虫和疟原虫攻击宿主时在单核巨噬细胞、活化的 B 和 T(CD4⁺) 细胞中表达上调^[4]。其次, 研究发现弓形虫感染人类单核巨噬细胞后, 它可通过 STAT3 与 miR-30c-1、miR-125b-2、miR-23b-27b-24-1 和 miR-17~92 基因簇(包括 miR-19a、miR-19b 和 miR-20a)等 miRNA 基因的启动子结合, 进而介导这些 miRNA 的上调, 抑制感染后单核巨噬细胞凋亡^[40]。此外还有研究表明循环中 miR-712-3p、miR-511-5p、miR-217-5p 和 miR-9-2 在人眼弓形虫病上调, 表明可能具有诊断的意义^[41]。利什曼病是由利什曼原虫感染引起的热带性疾病, 巨噬细胞是利什曼原虫在宿主体内复制和逃避抗寄生虫药物的主要场所。近来研究发现其感染后通过调节人巨噬细胞的 miR-21 上调, 进而调节转化生长因子- β 信号通路的蛋白质如 SMAD7 和 TRAF6, 揭示其可能是利什曼病诊断和感染预后的关键生物标志^[42]。

3.6 病毒感染

流行性感冒(流感)是由流感病毒引起的急性呼吸道传染病, 损害呼吸道和肺上皮细胞, 患者出现头

痛、发热、咳嗽、肺炎等症状,严重者甚至死亡。甲型流感病毒是流感的主要病原体,引起了4次大流行及每年季节性流行,危害全球卫生健康并导致巨大的经济损失^[43]。甲型流感病毒感染人树突状细胞、巨噬细胞和NK细胞并在其中复制,因此,PBMCs基因表达谱分析在甲型流感的临床诊断和研究中具有广阔的前景。研究发现 miR-31、miR-29a 和 miR-148a 对甲型流感的危重患者均具有诊断价值,其曲线下面积分别为 0.951、0.895 和 0.881^[44]。此外,miR-324-5p、miR-584-5p、miR-1249 和 miR-3145 通过靶向 H5N1 的编码病毒 RNA 聚合酶亚基 PB1 来抑制 H5N1 复制^[45-46],可能作为诊断标志物和治疗靶点,有助于监测高致病性甲型流感的暴发。

新型冠状病毒肺炎是一种由严重急性呼吸道综合征冠状病毒 2 型(SARS-CoV-2)引发的传染病。最近的研究发现 miRNA 在新型冠状病毒肺炎进展中至关重要,与健康人群相比,新型冠状病毒肺炎患者的 PBMCs 中 miR-16-2-3p、miR-6501-5p、miR-618 上调,而 miR-183-5p、miR-627-5p、miR-144-3p 下调,新型冠状病毒肺炎患者中 miR-6501-5p 和 miR-618 的表达是健康人群的 1.5 倍。同时,miR-627-5p 是下调幅度最大的 miRNA,与健康人群相比,变化幅度为 2.3 倍^[47]。新型冠状病毒肺炎患者中发现的差异 miRNA 表达可能调节病毒感染期间的免疫反应和病毒复制。目前大量的研究致力于 SARS-CoV-2 感染在人类宿主细胞中的致病性的生物学分子机制,以及探索可能用于该疾病的预测因子和治疗靶点的生物标志物。

登革热是由登革病毒引起的由伊蚊传播的急性传染病,登革病毒科分为 4 种血清型(I~IV)。根据其临床表现分为典型、轻型和重型登革热及登革出血热,部分患者还伴有肺部、肝脏的并发症。研究发现登革热患者 PBMC 中 miR-4290、miR-1290、miR-33a 和 let-7e 表达上调,miR-106b、miR-20a、miR-30b 和 miR-3614-5p 下调^[48],miR-3614-5p 通过靶向登革病毒核心蛋白抑制病毒复制^[49]。此外,TAMBIAH 等^[50]研究发现 14 种 miRNA 在登革热和流感患者之间出现相似的表达,12 种 miRNA 仅在急性登革热时发生特异性改变,可能是登革热特异性诊断标志物。且 miR-24-1-5p、miR-512-5p 和 miR-4640-3p 可有效区分轻度登革热患者和伴有并发症的重度登革热患者。随后也有研究表明,与轻度登革热患者相比,重度登革热患者 miR-150 表达水平进一步升高^[51]。此类 miRNA 可能预测患者并发症的发生,并为减轻重症患者过激的免疫反应提供了治疗靶点。

4 结 语

miRNA 可以在不同的组织和细胞类型中广泛表

达,其调控人类基因组中 30% 的蛋白编码基因,参与多系统疾病进展。PBMCs 中 miRNA 水平不仅可用作疾病程度分期或分类的工具,还可预测或监测治疗的临床反应。然而目前关于同一疾病的各项研究数据还很不一致,常涉及一系列 miRNA 表达差异,单独或联合诊断疾病的准确度比较还需大样本量研究来确定。多数研究报道的生物标志物具有广泛的疾病定位,参与多项疾病进程,还有待确定是机体应激结果还是疾病特异的改变。多数研究仅限于生物信息学的分析,还需进一步的功能学研究验证。未来随着研究的不断深入,miRNA 有望成为临床疾病早期诊断、预后预测和治疗反应的新型生物标志物,以指导临床工作。

参考文献

- [1] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [2] NASSAR F J, NASR R, TALHOUK R. MicroRNAs as biomarkers for early breast cancer diagnosis, prognosis and therapy prediction[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 172: 34-49.
- [3] KAHRAMAN M, RÖSKE A, LAUFER T, et al. MicroRNA in diagnosis and therapy monitoring of early-stage triple-negative breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 11584.
- [4] JUDICE C C, BOURGARD C, KAYANO A C, et al. MicroRNAs in the host-apicomplexan parasites interactions: a review of immunopathological aspects[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6: 5.
- [5] PU M, CHEN J, TAO Z, et al. Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(3): 441-451.
- [6] TIAN T, WANG J, ZHOU X. A review: microRNA detection methods [J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(8): 2226-2238.
- [7] PEDERSEN J L, BOKIL N J, SAUNDERS B M. Developing new TB biomarkers, are miRNA the answer? [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2019, 118: 101860.
- [8] POURAHMAD J, SALIMI A. Isolated human peripheral blood mononuclear cell (PBMC), a

- cost effective tool for predicting immunosuppressive effects of drugs and xenobiotics[J]. *I-ran J Pharm Res*, 2015, 14(4):979.
- [9] MONLEAU M, BONNEL S, GOSTAN T, et al. Comparison of different extraction techniques to profile microRNAs from human sera and peripheral blood mononuclear cells [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1):395.
- [10] FOYE C, YAN I K, DAVID W, et al. Comparison of miRNA quantitation by Nanostring in serum and plasma samples [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12):e189165.
- [11] DORHOI A, IANNACCONE M, MAERTZDORF J, et al. Reverse translation in tuberculosis: neutrophils provide clues for understanding development of active disease [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:36.
- [12] TORNESELLO M L, FARAONIO R, BUONAGURO L, et al. The role of microRNAs, long non-coding RNAs, and circular RNAs in cervical cancer [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:150.
- [13] LI X, HUANG S, YU T, et al. MiR-140 modulates the inflammatory responses of mycobacterium tuberculosis-infected macrophages by targeting TRAF6 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8):5642-5653.
- [14] KIM J K, LEE H M, PARK K S, et al. MiR-144 * inhibits antimicrobial responses against Mycobacterium tuberculosis in human monocytes and macrophages by targeting the autophagy protein DRAM2 [J]. *Autophagy*, 2017, 13(2):423-441.
- [15] PAN D, PAN M, XU Y M. MiR-29a expressions in peripheral blood mononuclear cell and cerebrospinal fluid: diagnostic value in patients with pediatric tuberculous meningitis [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 130:231-235.
- [16] YUAN Y, LIN D, FENG L, et al. Upregulation of miR-196b-5p attenuates BCG uptake via targeting SOCS3 and activating STAT3 in macrophages from patients with long-term cigarette smoking-related active pulmonary tuberculosis [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1):284.
- [17] TU H, YANG S, JIANG T, et al. Elevated pulmonary tuberculosis biomarker miR-423-5p plays critical role in the occurrence of active TB by inhibiting autophagosome-lysosome fusion [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8(1):448-460.
- [18] CHEN Y C, LEE C P, HSIAO C C, et al. MicroRNA-23a-3p down-regulation in active pulmonary tuberculosis patients with high bacterial burden inhibits mononuclear cell function and phagocytosis through TLR4/TNF- α /TGF- β 1/IL-10 signaling via targeting IRF1/SP1 [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22):8587.
- [19] SUN X, LIU K, WANG X, et al. Diagnostic value of microRNA-125b in peripheral blood mononuclear cells for pulmonary tuberculosis [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(4):249.
- [20] WANG J X, XU J, HAN Y F, et al. Diagnostic values of microRNA-31 in peripheral blood mononuclear cells for pediatric pulmonary tuberculosis in Chinese patients [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4):17235-17243.
- [21] PAN L, LIU F, ZHANG J, et al. Genome-wide miRNA analysis identifies potential biomarkers in distinguishing tuberculous and viral meningitis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9:323.
- [22] YANG T, GE B. MiRNAs in immune responses to mycobacterium tuberculosis infection [J]. *Cancer Lett*, 2018, 431:22-30.
- [23] LIN Y, ZHANG Y, YU H, et al. Identification of unique key genes and miRNAs in latent tuberculosis infection by network analysis [J]. *Mol Immunol*, 2019, 112:103-114.
- [24] LAMONTAGNE J, STEEL L F, BOUCHARD M J. Hepatitis B virus and microRNAs: complex interactions affecting hepatitis B virus replication and hepatitis B virus-associated diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(24):7375-7399.
- [25] CHEN W, BIAN H, XIE X, et al. Negative feedback loop of ERK/CREB/miR-212-3p inhibits HBeAg-induced macrophage activation [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(18):10935-10945.
- [26] WANG W, BIAN H, LI F, et al. HBeAg induces the expression of macrophage miR-155 to accelerate liver injury via promoting production of inflammatory cytokines [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(14):2627-2641.

- [27] XU D, HAN Q, HOU Z, et al. miR-146a negatively regulates NK cell functions via STAT1 signaling[J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14(8): 712-720.
- [28] ING T J, XU H T, YU W Q, et al. MiRNA-548ah, a potential molecule associated with transition from immune tolerance to immune activation of chronic hepatitis B[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 14411-14426.
- [29] HOU X, LIANG Y, CHEN J, et al. Expression profiling of cellular microRNA in asymptomatic HBsAg carriers and chronic hepatitis B patients[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 6484835.
- [30] PATEL P, ANSARI M Y, BAPAT S, et al. The microRNA miR-29a is associated with human immunodeficiency virus latency[J]. *Retrovirology*, 2014, 11: 108.
- [31] YIN L B, SONG C B, ZHENG J F, et al. Elevated expression of miR-19b enhances CD8(+) T cell function by targeting PTEN in HIV infected long term non-progressors with sustained viral suppression[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 3140.
- [32] ZHENG Y, YANG Z, JIN C, et al. Hsa-miR-191-5p inhibits replication of human immunodeficiency virus type 1 by downregulating the expression of NUP50[J]. *Arch Virol*, 2021, 166(3): 755-766.
- [33] JIN C, CHENG L, HÖXTERMANN S, et al. MicroRNA-155 is a biomarker of T-cell activation and immune dysfunction in HIV-1-infected patients[J]. *HIV Med*, 2017, 18(5): 354-362.
- [34] CARISSIMI C, CARUCCI N, COLOMBO T, et al. MiR-21 is a negative modulator of T-cell activation[J]. *Biochimie*, 2014, 107: 319-326.
- [35] HUANG T, ZHANG J, KE W, et al. MicroRNA expression profiling of peripheral blood mononuclear cells associated with syphilis[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 165.
- [36] IA X, WANG Z, LIU X, et al. Peripheral blood mononuclear cell microRNA profiles in syphilitic patients with serofast status[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(5): 3407-3421.
- [37] YANG J, HUANG T, ZHAO P, et al. MicroRNA-101-3p, microRNA-195-5p, and microRNA-223-3p in peripheral blood mononuclear cells may serve as novel biomarkers for syphilis diagnosis[J]. *Microb Pathog*, 2021, 152: 104769.
- [38] HUANG T, YANG J, ZHANG J, et al. MicroRNA-101-3p downregulates TLR2 expression, leading to reduction in cytokine production by treponema pallidum-stimulated macrophages[J]. *J Invest Dermatol*, 2020, 140(8): 1566-1575.
- [39] DAS S, MUKHERJEE S, ALI N. Super enhancer-mediated transcription of miR146a-5p drives M2 polarization during Leishmania donovani infection[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(2): e1009343.
- [40] CAI Y, CHEN H, MO X, et al. Toxoplasma gondii inhibits apoptosis via a novel STAT3-miR-17-92-Bim pathway in macrophages[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(6): 1204-1212.
- [41] DE FARIA J G, MURATA F, LORENZI H A, et al. The role of microRNAs in the infection by T. gondii in Humans[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 670548.
- [42] GERACI N S, TAN J C, MCDOWELL M A. Characterization of microRNA expression profiles in Leishmania-infected human phagocytes[J]. *Parasite Immunol*, 2015, 37(1): 43-51.
- [43] MA Y, OUYANG J, WEI J, et al. Involvement of host non-coding RNAs in the pathogenesis of the influenza virus[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 18(1): 39.
- [44] SONG H, WANG Q, GUO Y, et al. Microarray analysis of microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of critically ill patients with influenza A (H1N1)[J]. *BMC Infect Dis*, 2013, 13: 257.
- [45] KUMAR A, KUMAR A, INGLE H, et al. MicroRNA hsa-miR-324-5p suppresses H5N1 virus replication by targeting the viral PB1 and host CUEDC2 [J]. *J Virol*, 2018, 92(19): e01057.
- [46] WANG R, ZHANG Y Y, LU J S, et al. The highly pathogenic H5N1 influenza A virus down-regulated several cellular microRNAs which target viral genome[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(11): 3076-3086.

- foraphane inhibits advanced glycation end product-induced pericyte damage by reducing expression of receptor for advanced glycation end products[J]. *Nutr Res*, 2014, 34(9): 807-813.
- [32] 王卓实, 张倩茹, 朱平利, 等. 晶状体内糖基化终末产物含量与糖尿病视网膜病变程度的关联分析[J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35(11): 1030-1034.
- [33] 刘靖芳, 张瑶, 汤旭磊, 等. 葛根素对糖尿病大鼠的视网膜中糖基化修饰蛋白的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(18): 2195-2198.
- [34] 陈放, 刘开扬, 徐珊, 等. 葛根素对 STZ 诱导的糖尿病大鼠视网膜的保护作用及机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(9): 1279-1284.
- [35] 顾杰, 赵东生. 胰激肽原酶治疗糖尿病早期视网膜病变 120 例[J]. *国际眼科杂志*, 2012, 12(6): 1170-1171.
- [36] FEGHHI M, FARRAHI F, ABBASPOUR M, et al. Effect of adding oral calcium dobesilate to laser photocoagulation on the macular thickness in patients with diabetic macular edema: a randomized clinical trial[J]. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4(4): 375-378.
- [37] 常家巍, 高永峰. 抗 VEGF 药物玻璃体腔内注射联合 23G 玻璃体切除术对增殖性糖尿病视网膜病变患者的疗效分析[J]. *实用防盲技术*, 2020, 15(1): 3-5.
- [38] 胡文强, 纪晓萍, 周雪滨, 等. PPV 联合抗 VEGF 治疗增殖性糖尿病性视网膜病变远期疗效的 Meta 分析[J]. *国际眼科杂志*, 2021, 21(6): 1040-1046.
- [39] 张爱鸣, 厉钗微, 高赛赛. 芪参明目汤治疗 2 型糖尿病视网膜病变早期 42 例[J]. *中国中医药科技*, 2020, 27(1): 135-137.
- [40] 周静波, 周雷, 余旭, 等. 黄蜀葵花半浸膏片剂治疗非增殖期 2 型糖尿病视网膜病变的临床研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(8): 901-907.
- [41] 汪恠, 徐洁慧, 李韧. 川芎嗪治疗非增殖期糖尿病视网膜病变的临床疗效及其对血清 HIF-1、VEGF 的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(14): 1393-1395.
- [42] 江蕊, 郑永征, 任秉仪, 等. 银杏叶提取液对糖尿病视网膜病变神经保护的影响[J]. *国际眼科杂志*, 2015, 15(8): 1327-1331.
- [43] EBNETER A, ZINKERNAGEL M S. Novelities in diabetic retinopathy[J]. *Endocr Dev*, 2016, 31: 84-96.
- [44] 王一赛, 柯根杰, 鲁理, 等. 增生性糖尿病视网膜病变玻璃体切割术后再出血(PDVH)的原因及疗效分析[J]. *实用防盲技术*, 2020, 15(2): 47-49.
- [45] 孟凯. 玻璃体腔注射雷珠单抗治疗严重增生型糖尿病视网膜病变的临床疗效观察[J]. *中国实用医药*, 2020, 15(1): 91-92.
- [46] 张军燕, 马凯. 抗血管内皮生长因子药物辅助治疗眼内新生血管性疾病的现状与展望[J/CD]. *中华眼科医学杂志(电子版)*, 2013, 3(2): 67-73.
- [47] 李春杏, 刘桦. 玻璃体腔注射康柏西普治疗 DR 的疗效和安全性的 meta 分析[J]. *国际眼科杂志*, 2018, 18(10): 1796-1802.

(收稿日期: 2021-10-18 修回日期: 2022-03-21)

(上接第 3040 页)

- [47] LI C, HU X, LI L, et al. Differential microRNA expression in the peripheral blood from human patients with COVID-19[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(10): e23590.
- [48] QI Y, LI Y, ZHANG L, et al. microRNA expression profiling and bioinformatic analysis of dengue virus-infected peripheral blood mononuclear cells[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(3): 791-798.
- [49] DIOSA-TORO M, ECHAVARRÍA-CONSUEGRA L, FLIPSE J, et al. MicroRNA profiling of human primary macrophages exposed to dengue virus identifies miRNA-3614-5p as antiviral and regulator of ADAR1 expression[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2017, 11(10): e5981.
- [50] TAMBYAH P A, CHING C S, SEPRAMANI-AM S, et al. MicroRNA expression in blood of dengue patients[J]. *Ann Clin Biochem*, 2016, 53(4): 466-476.
- [51] HAPUGASWATTA H, AMARASENA P, PR EMARATNA R, et al. Differential expression of microRNA, miR-150 and enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) in peripheral blood cells as early prognostic markers of severe forms of dengue[J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1): 25.

(收稿日期: 2021-11-23 修回日期: 2022-03-28)