

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.04.012

论著·临床

# 慢性乙型肝炎患者血清 $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 表达及其在肝纤维化诊断中的应用价值

孙瑞青, 邓娟, 李丰, 王龙, 王秀芳

作者单位: 710032 西安, 空军军医大学第一附属医院消化内科

通信作者: 王秀芳, E-mail: wxfmm@163.com

**【摘要】目的** 分析  $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)、长链非编码 RNA(lncRNA)KCNQ1OT1 在慢性乙型肝炎患者血清中的表达变化及其在肝纤维化诊断中的应用价值。**方法** 选取 2020 年 1 月—2021 年 1 月空军军医大学第一附属医院消化内科收治慢性乙型肝炎患者 90 例, 根据患者的肝纤维化程度分为无肝纤维化 23 例(S0 组)、轻度肝纤维化 42 例(S1~S2 组)、中重度肝纤维化 25 例(S3~S4 组); 另选取同期医院健康体检者 30 例为健康对照组。比较各组血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 表达水平及肝纤维化指标; 分析  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 表达水平与肝纤维化程度及其指标的相关性; Logistic 回归分析慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的影响因素; 受试者工作特征曲线(ROC)分析血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平对慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的预测价值。**结果** 健康对照组、S0 组、S1-S2 组、S3-S4 组血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平依次升高( $F/P=28.066/<0.001, 25.173/<0.001$ ); 肝纤维化指标透明质酸(HA)、前胶原 N 端肽(PⅢP)、IV 型胶原(CIV)、层黏连蛋白(LN)水平逐次升高( $F/P=79.414/<0.001, 119.630/<0.001, 104.574/<0.001, 96.631/<0.001$ )。血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平均与肝纤维化程度呈显著正相关( $r/P=0.598/0.001, 0.643/0.009$ ), 血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平与肝纤维化指标 HA、PⅢP、CIV、LN 呈显著正相关( $\beta$ -catenin; $r/P=0.483/0.016, 0.456/0.013, 0.641/0.006, 0.519/0.008$ ; lncRNA KCNQ1OT1; $r/P=0.496/0.014, 0.604/0.007, 0.523/0.014, 0.611/0.002$ )。血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1、HA、PⅢP、CIV、LN 升高是慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的危险因素[ $OR(95\%CI)=1.564(1.205\sim 2.030), 2.213(1.449\sim 3.379), 1.816(1.261\sim 2.615), 2.315(1.380\sim 3.884), 1.564(1.161\sim 2.107), 3.013(1.491\sim 6.090)$ ]。血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 及二者联合预测慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的 AUC 为 0.784、0.775、0.857, 二者联合优于各自单独预测( $Z/P=2.617/0.028, 2.897/0.014$ )。**结论** 慢性乙型肝炎患者血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平与肝纤维化程度密切相关, 二者联合检测对慢性乙型肝炎患者是否发生肝纤维化有较好参考价值。

**【关键词】** 乙型肝炎, 慢性; 肝纤维化;  $\beta$ -连环蛋白; 长链非编码 RNA KCNQ1OT1; 诊断**【中图分类号】** R512.6<sup>+</sup>2; R575.2**【文献标识码】** A

**Serum expression of  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 and the application in the diagnosis of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B** Sun Ruiqing, Deng Juan, Li Feng, Wang Long, Wang Xiufang. Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Shaanxi Province, Xi'an 710032, China

Corresponding author: Wang Xiufang, E-mail: wxfmm@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of  $\beta$ -catenin and long chain non coding RNA (lncRNA) KCNQ1OT1 in serum of patients with chronic hepatitis B and their application value in the diagnosis of liver fibrosis. **Methods**

A total of 90 patients with chronic hepatitis B admitted to the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University from January 2020 to January 2021 were selected. According to the degree of liver fibrosis, they were divided into 23 patients without liver fibrosis (S0 group), 42 patients with mild liver fibrosis (S1 - S2 group), and 25 patients with moderate to severe liver fibrosis (S3 - S4 group); In addition, 30 patients undergoing physical examination in the same hospital were selected as the healthy control group. Compare the serum expression levels of  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 and indicators of liver fibrosis; analysis the correlation between the expression levels of  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 and the degree of liver fibrosis and its indicators; Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B; receiver operation characteristic curve (ROC) analysis the predictive value of serum  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 levels in the development of liver fibrosis in patients with

chronic hepatitis B. **Results** Serum  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 levels in healthy control group, S0 group, S1-S2 group, S3-S4 group increased sequentially ( $F/P=28.066/ <0.001, 25.173/ <0.001$ ). The levels of hyaluronic acid (HA), pro-collagen N-terminal peptide (P III P), type IV collagen (C IV), and laminin (LN) were gradually increased ( $F/P=79.414/ <0.001, 119.630/ <0.001, 104.574/ <0.001, 96.631/ <0.001$ ). The levels of serum  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 were significantly and positively correlated with the degree of liver fibrosis ( $r/P=0.598/0.001, 0.643/0.009$ ).  $\beta$ -Catenin and lncRNA KCNQ1OT1 levels were significantly positively correlated with liver fibrosis indicators HA, P III P, C IV, and LN ( $\beta$ -catenin;  $r/P=0.483/0.016, 0.456/0.013, 0.641/0.006, 0.519/0.008$ ; Serum lncRNA KCNQ1OT1:  $r/P=0.496/0.014, 0.604/0.007, 0.523/0.014, 0.611/0.002$ ). Elevated levels of serum  $\beta$ -catenin, lncRNA, KCNQ1OT1, HA, P III P, C IV, and LN are risk factors for liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B [ $OR(95\% CI)=1.564 (1.205 - 2.030), 2.213 (1.449 - 3.379), 1.816 (1.261 - 2.615), 2.315 (1.380 - 3.884), 1.564 (1.161 - 2.107), and 3.013 (1.491 - 6.090)$ ]. The AUC of serum  $\beta$ -catenin, lncRNA, KCNQ1OT1, and their combination in predicting liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B were 0.784, 0.775, and 0.857, respectively. The combination of the two was superior to their respective prediction alone ( $Z/P=2.617/0.028, 2.897/0.014$ ). **Conclusion** The levels of serum  $\beta$ -catenin and lncRNA KCNQ1OT1 from patients with chronic hepatitis B are closely related to the degree of liver fibrosis, and the combined detection of the two has a good reference value for the occurrence of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B.

**【Key words】** Hepatitis B, chronic; Hepatic fibrosis;  $\beta$ -catenin; Long non-coding RNA KCNQ1OT1; Diagnosis

慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 是一种与乙型肝炎病毒感染情况相关的复杂疾病, 通过宿主免疫系统对病毒的反应, 进而影响疾病的进程<sup>[1]</sup>。随着 CHB 病情的发展, 患者可能会出现各种肝脏病变, 其中最为常见的是肝纤维化<sup>[2]</sup>。肝纤维化是肝细胞发生坏死, 纤维结缔组织在肝脏组织中过度沉积引起的慢性组织损伤和炎症反应, 进一步发展会导致正常肝脏结构的破坏, 发展为肝硬化和肝癌, 给患者和社会带来沉重的经济负担<sup>[3]</sup>。研究表明, 肝纤维化是一个可逆的过程, 阻断肝纤维化进程是治疗 CHB 的关键<sup>[4]</sup>。因此, 确定肝纤维化程度, 并积极采取有效措施对 CHB 的临床治疗具有重要意义。 $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 是一种多功能蛋白, 既可以与细胞膜上的黏附分子、黏蛋白结合以调节细胞黏附, 也可以在细胞核内与下游基因结合参与细胞信号转导和转录调控<sup>[5]</sup>。 $\beta$ -catenin 作为 Wnt 经典信号通路的主要成分, 在胚胎发生、慢性炎症反应、器官纤维化、恶性肿瘤等多种生理和病理过程中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。长链非编码 RNA (lncRNA) 是一种没有编码蛋白质能力的新型 RNA, lncRNA 的失调与多种不同疾病的发生发展密切相关, 在宿主免疫系统对病毒响应方面起着重要作用<sup>[7]</sup>。lncRNA KCNQ1OT1 位于 KCNQ1 位点 11p15.5 区域, 能够与 miRNA、RNA 和蛋白质相互作用, 影响基因表达和细胞增殖、迁移、凋亡等各种细胞功能, 在心肌梗死、冠心病、脑卒中、癌症等多种疾病中表达上调<sup>[8]</sup>。然而, 目前  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 在 CHB 患者血清中的表达水平及与肝纤维化的关系, 尚未报道。因此, 现分析 CHB 不同肝纤维化程度患者血

清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 表达水平及其与 CHB 肝纤维化程度的关系, 为 CHB 的有效诊治提供参考依据, 报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 1 月—2021 年 1 月空军军医大学第一附属医院消化内科收治慢性乙型肝炎患者 90 例, 根据慢性乙型肝炎患者的肝纤维化程度, 将患者分为无肝纤维化 23 例 (S0 组)、轻度肝纤维化 42 例 (S1 ~ S2 组)、中重度肝纤维化 25 例 (S3 ~ S4 组)。另选取同期医院健康体检者 30 例为健康对照组。4 组性别、年龄、体质量指数、病程、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病比例比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。4 组间营养风险比较, S3 ~ S4 组  $>$  S1 ~ S2 组  $>$  S0 组  $>$  健康对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准 (KY20192135-1), 受试者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①符合慢性乙型肝炎相关诊断标准<sup>[9]</sup>; ②年龄  $>$  18 岁; ③入院时无肝衰竭。(2) 排除标准: ①既往有肝移植手术史者; ②病例资料不完整患者; ③恶性肿瘤晚期患者; ④自身免疫性疾病患者。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清  $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 水平: 患者入院次日清晨、健康对照组体检当日, 采集肘静脉血 3 ~ 5 ml 于干燥试管, 离心留取血清后, 分装于无菌 EP 管中, 于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存待检。采用 RNA 提取试剂盒 (上海生工生物有限公司) 提取血清样品总 RNA, 使

用逆转录试剂盒(德国 Qiagen 公司)按其说明书逆转录合成 cDNA。实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测血清中  $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 的相对表达量。根据 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)说明书配置反应体系。反应程序为:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 10 s,60°C 退火 1 min,72°C 延伸 30 s,40 个循环。在 ABI 7500 Fast 系统上进行 qRT-PCR。以 GAPDH 作为内参,根据  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算  $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 基因的相对表达量。基因引物经设计软件设计后由上海生工生物工程有限公司合成,基因引物序列见表 2。

1.3.2 肝纤维化指标测定:上述血清,使用  $\gamma$ -放射免疫计数器(DFM-96,合肥众成机电技术开发有限责任公司),采用化学发光免疫分析法检测血清透明质酸(HA)、前胶原 N 端肽(P III P)、IV 型胶原(C IV)、层粘连蛋白(LN)等肝纤维化指标水平。

1.4 肝纤维化程度判定 在 B 型超声引导下对患者进行肝穿活检术,取肝组织标本长度 > 1.0 cm,送病理科待检。由 2 位病理医生独立阅片,根据 Scheuer 评分系统判定肝纤维化程度<sup>[10]</sup>。S0:肝无纤维化;S1:窦周、小叶内纤维化;S2:汇管区周围纤维化,形成纤维间隔;S3:大量纤维间隔,致小叶结构紊乱;S4:肝硬化。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较行 SNK-

q 检验;Spearman 法分析慢性乙型肝炎患者血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平与肝纤维化程度的相关性;Pearson 法分析慢性乙型肝炎患者血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平与肝纤维化指标的相关性;Logistic 回归分析慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的影响因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平对慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的预测价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组血清  $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 表达水平比较 与健康对照组比较,CHB 患者血清  $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 水平随着肝纤维化程度加重依次升高,且两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 健康对照组和 CHB 患者血清  $\beta$ -catenin 和 lncRNA KCNQ1OT1 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab. 3** healthy control group and CHB patient serum  $\beta$ -Comparison of expression levels of Catenin and lncRNA KCNQ1OT1

组 别	例数	$\beta$ -catenin	lncRNA KCNQ1OT1
健康对照组	30	1.02 $\pm$ 0.10	1.05 $\pm$ 0.12
S0 组	23	1.45 $\pm$ 0.14	1.53 $\pm$ 0.23
S1 ~ S2 组	42	1.91 $\pm$ 0.46	2.04 $\pm$ 0.50
S3 ~ S4 组	25	2.39 $\pm$ 1.13	2.48 $\pm$ 1.26
F 值		28.066	25.173
P 值		<0.001	<0.001

表 1 4 组受试人员临床资料比较

**Tab. 1** Clinical Data Comparison of Four Groups of Subjects

组 别	健康对照组(n=30)	S0 组(n=23)	S1 ~ S2 组(n=42)	S3 ~ S4 组(n=25)	F 值	P 值
男/女[例(%)]	15(50.00)/15(50.00)	12(52.17)/11(47.83)	23(54.76)/19(45.24)	13(52.00)/12(48.00)	0.165	0.983
年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	55.58 $\pm$ 5.14	55.61 $\pm$ 5.21	56.34 $\pm$ 5.36	56.21 $\pm$ 5.28	0.177	0.912
体质量指数( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	22.41 $\pm$ 2.65	23.27 $\pm$ 2.83	22.65 $\pm$ 2.16	22.56 $\pm$ 2.33	0.583	0.627
病程( $\bar{x} \pm s$ , 月)	—	11.34 $\pm$ 1.52	11.56 $\pm$ 1.59	11.83 $\pm$ 1.58	0.573	0.566
营养风险[例(%)]	11(36.67)	16(69.57)	33(78.57)	21(84.00)	18.880	<0.001
吸烟史[例(%)]	14(46.67)	10(43.48)	18(42.86)	11(44.00)	0.110	0.991
饮酒史[例(%)]	12(40.00)	9(20.93)	17(40.48)	12(48.00)	0.582	0.912
高血压[例(%)]	13(43.33)	11(47.83)	19(45.24)	11(44.00)	0.119	0.989
糖尿病[例(%)]	11(36.67)	10(43.48)	20(47.62)	10(40.00)	0.941	0.816

表 2 qRT-PCR 基因引物序列

**Tab. 2** qRT-PCR gene primer sequence

基因	上游引物	下游引物
$\beta$ -catenin	5'-AAAGCGGCTGTAGTCACTGG-3'	5'-CGAGTCATTGCATACTGTCCAT-3'
lncRNA KCNQ1OT1	5'-CCCAGAAATCCACACCTCGG-3'	5'-TCCTCAGTGACAGAT-GGAGA-3'
GAPDH	5'-TACATGGCCGAGCAAGATAA-3'	5'-ATAGCCCAGGGAAGT-GAAGGTGTC-3'

2.2 4 组肝纤维化指标比较 健康对照组、S0 组、S1 ~ S2 组、S3 ~ S4 组血清 HA、PⅢP、CⅣ、LN 水平依次升高,且两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 4。

2.3 血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平与肝纤维化程度及相关指标的相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示,血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平均与肝纤维化程度呈显著正相关( $r/P = 0.598/0.001, 0.643/0.009$ )。Pearson 相关性分析结果显示,血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平均与肝纤维化指标 HA、PⅢP、CⅣ、LN 呈正相关( $P < 0.01$  或  $0.05$ ),见表 5。

表 5 CHB 患者血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 水平与肝纤维化指标的相关性

Tab. 5 CHB Patient Serum  $\beta$ -Correlation between the levels of Catenin and lncRNA KCNQ1OT1 and liver fibrosis indicators

指 标	$\beta$ -catenin		lncRNA KCNQ1OT1	
	r 值	P 值	r 值	P 值
HA	0.483	0.016	0.496	0.014
PⅢP	0.456	0.013	0.604	0.007
CⅣ	0.641	0.006	0.523	0.014
LN	0.519	0.008	0.611	0.002

2.4 多因素 Logistic 回归分析 CHB 患者发生肝纤维化的影响因素 以 CHB 患者是否发生肝纤维化为因变量( $S1 \sim S4 = 1, S0 = 0$ ),以血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1、营养风险、HA、PⅢP、CⅣ、LN 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1、HA、PⅢP、CⅣ、LN 升高是 CHB 患者发生肝纤维化的危险因素( $P < 0.01$ ),见表 6。

2.5 血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 对 CHB 患者发生肝纤维化的预测价值 ROC 曲线结果显示,血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 及二者联合预测 CHB 患者发生肝纤维化的曲线下面积曲线(AUC)分别为

0.784、0.775、0.857,二者联合优于各自单独预测效能( $Z = 2.617, 2.897, P = 0.028, 0.014$ ),见表 7、图 1。

表 6 多因素 Logistic 回归分析 CHB 患者发生肝纤维化的影响因素

Tab. 6 Multivariate Logistic Regression Analysis of the Influencing Factors of Liver Fibrosis in CHB Patients

影响因素	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
$\beta$ -catenin 高	0.447	0.133	11.308	<0.001	1.564	1.205 ~ 2.030
KCNQ1OT1 高	0.794	0.216	13.524	<0.001	2.213	1.449 ~ 3.379
营养风险高	0.384	0.249	2.385	0.122	1.469	0.902 ~ 2.393
HA 高	0.597	0.186	10.289	0.001	1.816	1.261 ~ 2.615
PⅢP 高	0.839	0.264	10.110	0.001	2.315	1.380 ~ 3.884
CⅣ高	0.447	0.152	8.656	0.003	1.564	1.161 ~ 2.107
LN 高	1.102	0.359	9.439	0.002	3.013	1.491 ~ 6.090

表 7 血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ1OT1 对 CHB 患者发生肝纤维化的预测价值

Tab. 7 Serum  $\beta$ -The predictive value of Catenin and lncRNA KCNQ1OT1 for liver fibrosis in patients with CHB

变 量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	Youden 指数
$\beta$ -catenin	>1.74	0.784	0.685 ~ 0.864	0.672	0.956	0.628
lncRNA KCNQ1OT1	>1.82	0.775	0.675 ~ 0.856	0.657	0.913	0.570
二者联合		0.857	0.768 ~ 0.922	0.687	0.956	0.643

### 3 讨 论

慢性乙型肝炎病毒感染是一个动态的过程,通过激活肝星状细胞促进肝纤维化,通过降解和释放细胞外基质来解决炎症反应和纤维化,当乙型肝炎病毒复制受到抑制,慢性乙型肝炎患者相关的肝纤维化可以消退<sup>[11]</sup>。肝纤维化的早期诊断、及时有效的治疗,可以延缓或避免肝纤维化向不可逆肝硬化阶段的发展<sup>[12]</sup>。因此,开发一种简单、准确地方法评估慢性乙型肝炎是否发生肝纤维化及肝纤维化程度的方法,对慢性乙型肝炎的临床治疗具有重要意义。

Wnt/ $\beta$ -catenin 通路是高度保守的,通过自分泌或旁分泌途径分泌 Wnt 蛋白,在细胞外与膜受体结合而

表 4 健康对照组和 CHB 患者肝纤维化指标比较 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )

Tab. 4 Comparison of Liver Fibrosis Indexes between Healthy Control Group and CHB Patients

组 别	例数	HA	PⅢP	CⅣ	LN
健康对照组	30	27.54 $\pm$ 2.03	7.65 $\pm$ 1.96	8.06 $\pm$ 2.31	8.98 $\pm$ 2.38
S0 组	23	98.31 $\pm$ 9.64	28.31 $\pm$ 6.64	26.54 $\pm$ 6.43	24.80 $\pm$ 9.61
S1 ~ S2 组	42	98.31 $\pm$ 9.64	42.64 $\pm$ 11.97	39.48 $\pm$ 12.64	37.53 $\pm$ 15.65
S3 ~ S4 组	25	223.97 $\pm$ 82.11	52.43 $\pm$ 12.50	54.99 $\pm$ 14.06	68.21 $\pm$ 18.22
F 值		79.414	119.630	104.574	96.631
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

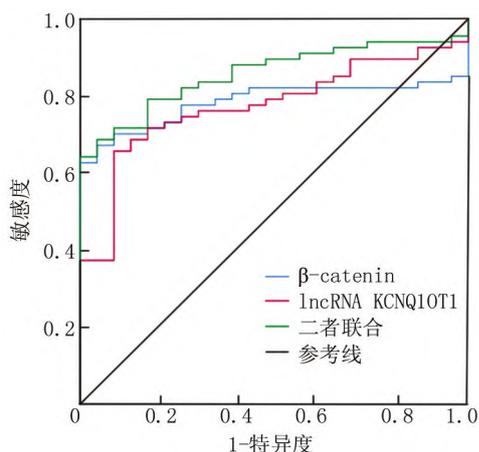


图 1 血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ10T1 水平预测 CHB 患者发生肝纤维化的 ROC 曲线

Fig. 1 Serum  $\beta$ -ROC Curve of Catenin and lncRNA KCNQ10T1 Levels Predicting Liver Fibrosis in Patients with CHB

激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路,诱导  $\beta$ -catenin 的表达并将其转移到细胞核,参与细胞增殖、分化和迁移,在生物体整个生命过程中至关重要<sup>[13]</sup>。Kim 等<sup>[14]</sup>发现  $\beta$ -catenin 的外显子 3 中发生错译致使突变频率升高与肝癌、子宫内膜癌和结直肠癌的发生有关。Feng 等<sup>[15]</sup>发现 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活通过刺激巨噬细胞分化为促炎性经典激活和伤口愈合/促纤维化交替激活表型,来促进肾纤维化。陈清河等<sup>[16]</sup>发现  $\beta$ -catenin 在骨质疏松合并骨关节炎患者血清中水平显著高于骨质疏松患者, $\beta$ -catenin 的表达变化可作为临床骨关节炎患者炎性反应程度和骨质量诊断的参考。范文艳等<sup>[17]</sup>发现肝纤维化的发病受 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的调控。本研究结果显示,健康对照组、S0 组、S1 ~ S2 组、S3 ~ S4 组血清  $\beta$ -catenin 表达水平依次显著升高,与以往研究结果一致,提示血清  $\beta$ -catenin 可能激活慢性乙型肝炎患者炎性因子的分泌,促进肝纤维化,其表达水平对于初步判断慢性乙型肝炎是否发生肝纤维化及肝纤维化程度具有一定的意义。

lncRNA KCNQ10T1 是只表达父源等位基因的印记基因,其异常表达常常引起复杂突变和表型缺陷<sup>[18]</sup>。Yu 等<sup>[19]</sup>发现 lncRNA KCNQ10T1 在短暂性脑缺血发作患者中显著上调,通过加速神经元的自噬,从而加剧急性脑血管疾病的缺血再灌注损伤。李莹等<sup>[20]</sup>发现 lncRNA KCNQ10T1 在 II 型糖尿病和糖尿病肾病中的表达较对照组明显升高,为糖尿病肾病诊断及预后疗效评估提供依据。本研究结果发现,慢性乙型肝炎患者血清 lncRNA KCNQ10T1 表达水平随肝纤

维化程度的加重显著上调,提示血清 lncRNA KCNQ10T1 水平有望成为慢性乙型肝炎患者临床诊断的潜在标志物。HA、PⅢP、CⅣ、LN 是目前临床上反映慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的常用血清学指标<sup>[21]</sup>。研究表明,HA、PⅢP、CⅣ、LN 随肝纤维化程度的加重逐渐上升,多因素 Logistic 回归分析结果显示,HA、PⅢP、CⅣ、LN 是慢性乙型肝炎患者发生肝纤维化的影响因素,提示应密切关注上述因素,以便及时对患者采取干预措施<sup>[22-24]</sup>。穆莉<sup>[25]</sup>研究发现, KCNQ10T1 通过对  $\beta$ -catenin 信号途径的调节,促进骨肉瘤细胞的顺铂耐药性。Gu 等<sup>[26]</sup>发现 lncRNA KCNQ10T1 可以通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路诱导细胞增殖和抑制细胞凋亡,在骨折延迟愈合中起着至关重要的作用。进一步研究显示,血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ10T1 水平与肝纤维化程度、纤维化指标呈显著正相关;ROC 曲线显示,血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ10T1 二者联合预测慢性乙型肝炎发生肝纤维化的效能优于各自单独预测,二者对预测慢性乙型肝炎发生肝纤维化具有重要指导价值。

综上所述,慢性乙型肝炎患者血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ10T1 水平与肝纤维化程度密切相关,二者联合预测慢性乙型肝炎患者是否发生肝纤维化有较好参考价值。然而血清  $\beta$ -catenin、lncRNA KCNQ10T1 参与慢性乙型肝炎肝纤维化发生发展的具体机制仍需进一步探究。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

孙瑞青、邓娟:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李丰:进行统计学分析;王龙:课题设计,论文撰写;王秀芳:提出研究思路,分析试验数据,论文修改、审核

**参考文献**

- [1] Ahmed FA, Bajajfar MS, Ahmed MA, et al. Quantitative HBsAg levels do not identify hepatic fibrosis in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients [J]. Saudi J Gastroenterol, 2019, 25 (5): 286-292. DOI:10.4103/sjg.SJG\_80\_19.
- [2] Xu B, Zhou NM, Cao WT, et al. Evaluation of elastography combined with serological indexes for hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24 (37): 4272-4280. DOI:10.3748/wjg.v24.i37.4272.
- [3] Lefeuvre C, Roux M, Blanchard S, et al. Analysis of hepatic fibrosis markers in the serum of chronic hepatitis B patients according to basal core promoter/precore mutants [J]. Sci Rep, 2022, 12 (1): 1-10. DOI:10.1038/s41598-022-14285-9.
- [4] Sun Y, Wu X, Zhou J, et al. Persistent low level of hepatitis B virus promotes fibrosis progression during therapy [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18 (11): 2582-2591. DOI:10.1016/j.cgh.2020.03.001.
- [5] Duan L, Yang Q, Yang J, et al. Identification of serum  $\beta$ -catenin as a

- biomarker in patients with HBV-related liver diseases [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1):1-11. DOI:10.1186/s12967-018-1645-x.
- [6] Katoh M. Multi-layered prevention and treatment of chronic inflammation, organ fibrosis and cancer associated with canonical WNT/ $\beta$ -catenin signaling activation (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(2):713-725. DOI:10.3892/ijmm.2018.3689.
- [7] Yao J, Lin C, Jiang J, et al. lncRNA-HEIM facilitated liver fibrosis by up-regulating TGF- $\beta$  expression in long-term outcome of chronic hepatitis B [J]. *Front Immunol*, 2021, 12(1):1-11. DOI:10.3389/fimmu.2021.666370.
- [8] Xia F, Wang Y, Xue M, et al. LncRNA KCNQ1OT1: Molecular mechanisms and pathogenic roles in human diseases [J]. *Genes Dis*, 2021, 9(6):1556-1565. DOI:10.1016/j.gendis.2021.07.003.
- [9] Cornberg M, Lok AS, Terrault NA, et al. Guidance for design and endpoints of clinical trials in chronic hepatitis B - Report from the 2019 EA-SL-AASLD HBV Treatment Endpoints Conference [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(3):539-557. DOI:10.1016/j.jhep.2019.11.003.
- [10] Yao QY, Feng YD, Han P, et al. Hepatic microenvironment underlies fibrosis in chronic hepatitis B patients [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(27):3917-3928. DOI:10.3748/wjg.v26.i27.3917.
- [11] Ding R, Zheng J, Huang D, et al. INR-to-platelet ratio (INPR) as a novel noninvasive index for predicting liver fibrosis in chronic hepatitis B [J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(5):1159-1166. DOI:10.7150/ijms.51799.
- [12] Friedman A, Siewe N. Chronic hepatitis B virus and liver fibrosis: A mathematical model [J]. *PLoS One*, 2018, 13(4):e0195037. DOI:10.1371/journal.pone.0195037.
- [13] Liu J, Xiao Q, Xiao J, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1):1-23. DOI:10.1038/s41392-021-00762-6.
- [14] Kim S, Jeong S. Mutation hotspots in the  $\beta$ -catenin gene: Lessons from the Human Cancer Genome Databases [J]. *Mol Cells*, 2019, 42(1):8-16. DOI:10.14348/molcells.
- [15] Feng Y, Ren J, Gui Y, et al. Wnt/ $\beta$ -Catenin-promoted macrophage alternative activation contributes to kidney fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(1):182-193. DOI:10.1681/ASN.2017040391.
- [16] 陈清河, 陈闻佳, 曾维铨. 骨质疏松合并骨关节炎患者血清中 Wnt 通路调节因子研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(12):1721-1724. DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2019.12.011.
- Chen QH, Chen WJ, Zeng WQ. Study on the regulatory factors of Wnt pathway in the combination of osteoporosis and osteoarthritis [J]. *Chin J Osteoporos*, 2019, 25(12):1721-1724. DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2019.12.011.
- [17] 范文艳, 郝君玉, 陈虹秀, 等. 肝纤维化相关信号通路及中药活性成分靶向调节作用机制 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(11):2599-2605. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2022.11.033.
- Fan WY, Hao JY, Chen HX, et al. Research progress on signal pathways in hepatic fibrosis and targeted regulation mechanisms of active ingredients from traditional Chinese medicine [J]. *Journal of Clinical Hepatobiliary Diseases*, 2022, 38(11):2599-2605. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2022.11.033.
- [18] 李攀, 李晓明. LncRNA KCNQ1OT1 在 DLBCL 患者中的表达及其临床意义 [J]. *肿瘤*, 2019, 39(4):298-304. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2019.33.628.
- Li P, Li XM. Expression of LncRNA KCNQ1OT1 in DLBCL patients and its clinical significance [J]. *TUMOR*, 2019, 39(4):298-304. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2019.33.628.
- [19] Yu S, An J, Sun R, et al. LncRNA KCNQ1OT1 predicts further cerebral events in patients with transient ischemic attack [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1):1-9. DOI:10.3389/fphar.2022.961190.
- [20] 李莹, 刘琦, 欧三桃, 等. LncRNA KCNQ1OT1 在糖尿病肾病患者血清中的表达及临床意义 [J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(1):71-74. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2019.01.015.
- Li Y, Liu Q, Ou ST, et al. Expression of LncRNA KCNQ1OT1 in serum of patients with diabetic nephropathy and its clinical significance [J]. *The Journal of Practical Medicine*, 2019, 35(1):71-74. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2019.01.015.
- [21] 壮健, 朱韦文, 张超. 基于 LASSO 回归的慢性乙型肝炎肝硬化无创诊断模型的构建及验证 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(8):1790-1795. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2022.08.014.
- Zhuang J, Zhu WW, Zhang C. Establishment and validation of a non-invasive diagnostic model for chronic hepatitis B liver fibrosis based on LASSO regression [J]. *J Clin Hepato*, 2022, 38(8):1790-1795. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2022.08.014.
- [22] 刘娇, 刘青, 王大明, 等. 慢性乙型肝炎患者血清外泌体 miR-122、miR-146a 表达与 HBV-DNA 载量的相关性 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(10):976-979, 984. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.002.
- Liu J, Liu Q, Wang DM, et al. Correlation between serum exosomal miR-122 and miR-146a expression and HBV-DNA load in patients with chronic hepatitis B [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2020, 19(10):976-979, 984. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.002.
- [23] 王柳青, 李雅静, 薛素娟, 等. 恩替卡韦联合扶正化瘀胶囊治疗 HBV 感染失代偿期肝硬化患者的疗效及对血清炎性因子的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(10):985-989. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.004.
- Wang LQ, Li YJ, Xue SJ, et al. The effect of entecavir combined with Fuzhenghuayu capsule in the treatment of decompensated cirrhosis patients with HBV infection and its influence on serum inflammatory factors [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2020, 19(10):985-989. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.004.
- [24] 张蕾, 贺建勋, 范雪松, 等. 抗凝血酶 III 活性联合 CLIF-C OFs 评分对 HBV 相关慢加急性肝衰竭患者预后的评估价值 [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(1):36-40, 45. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.01.007.
- Zhang L, He JX, Fan XS, et al. Prognostic value of antithrombin III activity combined with CLIF-C OFs score in patients with HBV related chronic plus acute liver failure [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2022, 21(1):36-40, 45. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.01.007.
- [25] 穆莉. KCNQ1OT1 通过 miR-335-5p/ $\beta$ -catenin 轴促进骨肉瘤细胞的顺铂耐药性研究 [D]. 重庆:重庆医科大学, 2021.
- [26] Gu H, Li Z, Lv XF, et al. LncRNA KCNQ1OT1 delayed fracture healing through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(11):4575-4583. DOI:10.26355/eurrev\_201906\_18034.

(收稿日期:2022-12-19)