

本文引用:文正燕,孙传俊,杨献光.混合谱系激酶结构域样蛋白、caspase-8及受体相互作用蛋白激酶3 mRNA在不同阶段乙型肝炎病毒感染患者中的表达及诊断价值[J].新乡医学院学报,2023,40(7):628-633. DOI:10.7683/xyxyxb.2023.07.005.

【临床研究】

混合谱系激酶结构域样蛋白、caspase-8及受体相互作用蛋白激酶3 mRNA在不同阶段乙型肝炎病毒感染患者中的表达及诊断价值

文正燕¹, 孙传俊², 杨献光³

(1. 新乡市传染病医院肝病科,河南 新乡 453000;2. 新乡市传染病医院检验科,河南 新乡 453000;3. 河南师范大学生命科学学院,河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 探讨混合谱系激酶结构域样蛋白(MLKL)、caspase-8及受体相互作用蛋白激酶3(RIPK3)mRNA在不同阶段乙型肝炎病毒(HBV)感染患者中的表达水平及诊断价值。**方法** 选择2016年11月至2019年11月新乡市传染病医院收治的175例HBV感染患者为研究对象,根据病情程度将患者分为慢性乙型肝炎(CHB)组($n=67$)、肝硬化(LC)组($n=61$)和肝细胞肝癌(HCC)组($n=47$);另选择同期于本院体检的80例体检健康者为对照组。采集各组受试者外周静脉血,应用实时荧光定量聚合酶链反应法检测外周血单个核细胞(PBMC)中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平;采用Pearson相关检验分析HBV感染不同阶段患者PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平的相关性,受试者操作特征曲线下面积(AUC)评估MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平对不同阶段HBV感染患者的鉴别诊断价值。**结果** 4组受试者PBMC中MLKL、RIPK3、caspase-8 mRNA表达水平比较差异有统计学意义($F=1\,019.364, 1\,009.381, 159.407, P<0.05$)。CHB组、LC组、HCC组患者PBMC中MLKL、RIPK3 mRNA表达水平显著高于对照组, caspase-8 mRNA表达水平显著低于对照组($P<0.05$)。LC组、HCC组患者PBMC中MLKL、RIPK3 mRNA表达水平显著高于CHB组, caspase-8 mRNA表达水平显著低于CHB组($P<0.05$)。HCC组患者PBMC中MLKL、RIPK3 mRNA表达水平显著高于LC组, caspase-8 mRNA表达水平显著低于LC组($P<0.05$)。Pearson相关检验结果显示,不同阶段HBV感染组患者PBMC中MLKL mRNA表达与RIPK3 mRNA表达呈正相关($r=0.414, 0.432, 0.449, P<0.01$), MLKL mRNA表达与caspase-8 mRNA表达呈负相关($r=-0.556, -0.378, -0.721, P<0.01$), RIPK3 mRNA表达与caspase-8 mRNA表达呈负相关($r=-0.415, -0.400, -0.416, P<0.01$)。PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平鉴别CHB和HCC的AUC分别为0.918、0.859和0.912,三者联合鉴别CHB和HCC的AUC为0.945。PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平鉴别LC和HCC的AUC分别为0.768、0.834和0.839,三者联合鉴别LC和HCC的AUC为0.895。**结论** HBV感染不同阶段患者PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平显著上升,且三者之间存在显著相关性,MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平可作为鉴别诊断不同阶段HBV感染患者的生物学标志物。

关键词: 乙型肝炎病毒;肝细胞肝癌;混合谱系激酶结构域样蛋白;caspase-8;受体相互作用蛋白激酶3

中图分类号: R512.6⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2023)07-0628-06

Expression and diagnostic value of mixed lineage kinase domain-like protein, caspase-8 and receptor interacting protein kinase 3 mRNA in patients at different stages of hepatitis B virus infection

WEN Zhengyan¹, SUN Chuanjun², YANG Xianguang³

(1. Department of Hepatology, Xinxiang Infectious Disease Hospital, Xinxiang 453000, Henan Province, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Xinxiang Infectious Disease Hospital, Xinxiang 453000, Henan Province, China; 3. School of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453000, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and diagnostic value of mixed lineage kinase domain-like protein (MLKL), caspase-8 and receptor interacting protein kinase 3 (RIPK3) mRNA in patients at different stages of hepatitis B vi-

DOI:10.7683/xyxyxb.2023.07.005

收稿日期:2022-07-28

基金项目:河南省重点科技攻关项目(编号:222102310244)。

作者简介:文正燕(1977-),女,河南新乡人,硕士,副主任医师,研究方向:肝脏损伤修复与再生机制。

通信作者:杨献光(1980-),男,河南新乡人,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:肝脏再生机制与细胞分化调控;E-mail: yangxg@htu.cn

rus(HBV) infection. **Methods** A total of 175 HBV infected patients admitted to Xinxiang Infectious Disease Hospital from November 2016 to November 2019 were selected as the study subjects, and they were divided into chronic hepatitis B(CHB) group($n=67$), liver cirrhosis(LC) group($n=61$) and hepatocellular carcinoma(HCC) group($n=47$) according to the disease severity of patients. Another 80 healthy subjects who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as the control group. Peripheral venous blood was collected from all subjects and the expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in peripheral blood mononuclear cell(PBMC) were detected by quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction. The correlation between the MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA expression levels in PBMC of patients with HBV infection at different stages was analyzed by Pearson correlation test. The differential diagnostic value of expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA on different stages of HBV infection was evaluated by area under the curve(AUC) in receiver operating characteristic curve. **Results** There was significant difference in the expression levels of MLKL, RIPK3 and caspase-8 mRNA in PBMC of subjects among the four groups($F=1\,019.364, 1\,009.381, 159.407; P<0.05$). The expression levels of MLKL and RIPK3 mRNA in PBMC of patients in the CHB, LC and HCC groups were significantly higher than those in the control group, while the expression level of caspase-8 mRNA was significantly lower than that in the control group($P<0.05$). The expression levels of MLKL and RIPK3 mRNA in PBMC of patients in the LC and HCC groups were significantly higher than those in the CHB group, while the expression level of caspase-8 mRNA was significantly lower than that in the CHB group($P<0.05$). The expression levels of MLKL and RIPK3 mRNA in PBMC of patients in the HCC group were significantly higher than those in the LC group, while the expression level of caspase-8 mRNA was significantly lower than that in the LC group($P<0.05$). Pearson correlation test results showed that the expression of MLKL mRNA was positively correlated with the expression RIPK3 mRNA in PBMC of patients with different stages of HBV infection($r=0.414, 0.432, 0.449; P<0.01$); the expression of MLKL mRNA was negatively correlated with the expression of caspase-8 mRNA($r=-0.556, -0.378, -0.721; P<0.01$); and the expression of RIPK3 mRNA was negatively correlated with the expression of caspase-8 mRNA($r=-0.415, -0.400, -0.416; P<0.01$). The AUC of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA expression levels in PBMC in identifying of CHB and HCC was 0.918, 0.859, 0.912, respectively; the AUC of above three indexes in combination in identifying of CHB and HCC was 0.945. The AUC of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA expression levels in PBMC in identifying of LC and HCC was 0.768, 0.834 and 0.839, respectively; the AUC of above three indexes in combination in identifying of LC and HCC was 0.895. **Conclusion** The expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in PBMC of patients at different stages of HBV infection are significantly increased; and there is a significant correlation among the three indicators. The expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA can be used as biological markers for differential diagnosis of patients at different stages of HBV infection.

Key words: hepatitis B virus; hepatocellular carcinoma; mixed lineage kinase domain-like protein; caspase-8; receptor interacting protein kinase 3

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个全球性的重大医学问题,据统计,目前全世界约有3.5亿~4.0亿人长期感染HBV,每年约有100万人死于与HBV感染相关的疾病^[1]。慢性HBV感染可导致慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝硬化(liver cirrhosis, LC),并可能发展成为肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC),而HCC为全球第三大死亡原因^[2]。积极探究HBV感染相关疾病的发生、发展机制并对其进行早期诊断和防治具有重要的意义。研究显示,CD8⁺和CD4⁺T细胞介导的免疫应答在HBV感染所致肝损害中起着重要作用,而程序性细胞坏死又可在一定程度上影响T细胞介导的免疫应答过程^[3],然而,程序性细胞坏死在HBV感染相关疾病的发生、发展中的作用有待进一步明确。受体相互作用蛋白激酶(receptor interacting protein kinase, RIPK)3是程序性细胞坏死

的关键调节因子,当RIPK3及其下游靶分子混合谱系激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)表达上调, caspase-8活性受到抑制时, RIPK3与RIPK1结合并通过磷酸化形成坏死小体,从而导致程序性细胞坏死^[4]。本研究通过分析MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA在不同阶段HBV感染患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中的表达水平,旨在探究MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平对不同阶段HBV感染患者的鉴别价值,并为寻找潜在的治疗靶点提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2016年11月至2019年11月新乡市传染病医院收治的175例HBV感染患者为研究对象。

病例纳入标准:(1)均符合 HBV 感染诊断标准^[5];(2)入组前未接受相关治疗。排除标准:(1)合并其他肝炎病毒感染者;(2)合并其他系统、器官恶性肿瘤者;(3)自身免疫性疾病患者;(4)因酒精、药物等因素导致的肝损伤患者。根据患者的 HBV 感染病情程度^[5]将其分为 CHB 组($n=67$)、LC 组($n=61$)和 HCC 组($n=47$)。另选择同期于新乡市传染病医院体检的 80 例体检健康者为对照组,纳入标准:(1)既往无长期服药或酗酒史;(2)无肝炎病毒感染史;(3)无自身免疫性疾病。CHB 组:男 38 例,女 29 例;年龄 28~63(45.71 ± 8.02)岁。LC 组:男 41 例,女 20 例;年龄 27~62(45.66 ± 7.94)岁。HCC 组:男 33 例,女 14 例;年龄 28~64 岁(45.93 ± 8.16)岁。对照组:男 48 例,女 32 例;年龄 28~65(45.84 ± 7.99)岁。4 组受试者的性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过医院医学伦理委员会审核批准,所有受试者知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 PBMC 的采集

对照组受试者于体检当天采集空腹外周静脉血 5 mL,CHB 组、LC 组、HCC 组患者于入院后 24 h 内采集空腹外周静脉血 5 mL,置于乙二胺四乙酸抗凝管中,采用淋巴细胞分离液分离 PBMC。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction, qRT-PCR) 法检测 PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 的表达

采用 TRIzol 试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司)提取 PBMC 总 RNA,测定总 RNA 浓度,采用反转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司)将 RNA 反转录为 cDNA,然后使用 7500 型荧光定量聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪(美国 ABI 公司),采用 qRT-PCR 法检测 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平。内参基因 β -actin 上游引物序列为 5'-ATGGGTCAGAAGGATTCCTATGTG-3',下游引物序列为 5'-CTTCATGAGGTAGTCAGTCAG-GTC-3';目的基因 MLKL 上游引物序列为 5'-GC-CACTGGAAGATCCCCTT-3',下游引物序列为 5'-CAACAACCTCGGGGCAATCCT-3';caspase-8 上游引物序列为 5'-CAAATGCAAACTGGATGATGAC-3',下游引物序列为 5'-AGCAGGCTCTTGTGATTG-3';RIPK3 上游引物序列为 5'-GAGACTCCCGGCT-TAGAAGG-3',下游引物序列为 5'-TCCTTTACCGTG-GAGACAGC-3'。引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。qRT-PCR 反应体系:2 \times SYBR Green Mix 5 μ L,无 RNase 酶 2 μ L,上游引物 1 μ L,下游引物

1 μ L,cDNA 1 μ L;qRT-PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 30 s 预变性;95 $^{\circ}$ C 5 s 变性,55 $^{\circ}$ C 30 s 退火,72 $^{\circ}$ C 30 s 延伸,45 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 相对表达量。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 26.0 软件进行统计与分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较行单因素方差检验,进一步两两比较采用 SNK- q 检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关检验行相关性分析;绘制受试者操作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线,并根据曲线下面积 (area under the curve, AUC) 评估 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平对不同 HBV 感染阶段的鉴别诊断价值; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组受试者 PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平比较

4 组受试者 PBMC 中 MLKL、RIPK3、caspase-8 mRNA 表达水平比较差异有统计学意义($F=1\,019.364,1\,009.381,159.407, P<0.05$);CHB 组、LC 组、HCC 组患者 PBMC 中 MLKL、RIPK3 mRNA 表达水平显著高于对照组,caspase-8 mRNA 表达水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);LC 组、HCC 组患者 PBMC 中 MLKL、RIPK3 mRNA 表达水平显著高于 CHB 组,caspase-8 mRNA 表达水平显著低于 CHB 组,差异有统计学意义($P<0.05$);HCC 组患者 PBMC 中 MLKL、RIPK3 mRNA 表达水平显著高于 LC 组,caspase-8 mRNA 表达水平显著低于 LC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 4 组受试者 PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平比较

Tab.1 Comparison of expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in PBMC of subjects among the four groups ($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	MLKL mRNA	caspase-8 mRNA	RIPK3 mRNA
对照组	80	1.06 \pm 0.29	0.93 \pm 0.17	1.12 \pm 0.34
CHB 组	67	7.78 \pm 3.30 ^a	0.81 \pm 0.19 ^a	2.66 \pm 0.89 ^a
LC 组	61	11.71 \pm 3.59 ^{ab}	0.70 \pm 0.17 ^{ab}	3.08 \pm 0.91 ^{ab}
HCC 组	47	17.13 \pm 5.35 ^{abc}	0.41 \pm 0.21 ^{abc}	5.14 \pm 1.46 ^{abc}
<i>F</i>		1 019.364	159.407	1 009.381
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较^a $P<0.05$;与 CHB 组比较^b $P<0.05$;与 LC 组比较^c $P<0.05$ 。

2.2 不同阶段 HBV 感染组患者 PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平的相关性

Pearson 相关检验结果显示,不同阶段 HBV 感染组患者 PBMC 中 MLKL mRNA 表达与 RIPK3 mRNA

表达呈正相关($r = 0.414、0.432、0.449, P < 0.01$), MLKL mRNA 表达与 caspase-8 mRNA 表达呈负相关($r = -0.556、-0.378、-0.721, P < 0.01$), RIPK3 mRNA 表达与 caspase-8 mRNA 表达呈负相关($r = -0.415、-0.400、-0.416, P < 0.01$)。结果见表2。

表2 HBV感染不同阶段患者PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平的相关性

Tab.2 Correlation of expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in PBMC among the patients with different stages of HBV infection

组别	MLKL mRNA		caspase-8 mRNA		RIPK3 mRNA	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
CHB组						
MLKL mRNA			-0.556	<0.01	0.414	<0.01
caspase-8 mRNA	-0.556	<0.01			-0.415	<0.01
RIPK3 mRNA	0.414	0.01	-0.415	<0.01		
LC组						
MLKL mRNA			-0.378	<0.01	0.432	<0.01
caspase-8 mRNA	-0.378	<0.01			-0.400	<0.01
RIPK3 mRNA	0.432	<0.01	-0.400	<0.01		
HCC组						
MLKL mRNA			-0.721	<0.01	0.449	<0.01
caspase-8 mRNA	-0.721	<0.01			-0.416	<0.01
RIPK3 mRNA	0.449	<0.01	-0.416	<0.01		

2.3 PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平对HBV感染不同阶段的鉴别诊断价值

PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平鉴别CHB与HCC的AUC分别为0.918、0.859和0.912,三者联合鉴别CHB与HCC的AUC为0.945,三者单独及联合均对CHB与HCC有一定的鉴别诊断价值。PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平鉴别LC与HCC的AUC分别为0.768、0.834和0.839,三者联合鉴别LC与HCC的AUC为0.895,三者单独及联合均对CHB与HCC有一定的鉴别诊断价值。结果见表3、图1和图2。

表3 PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平对HBV感染不同阶段的鉴别诊断价值

Tab.3 Differential diagnostic value of expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in PBMC on different stages of HBV infection

项目	敏感度/%	特异度/%	最佳截数值	AUC	95% 置信区间	
					下限	上限
鉴别 CHB 与 HCC						
MLKL mRNA	83.00	85.10	11.11	0.918	0.869	0.966
caspase-8 mRNA	78.70	92.50	0.51	0.859	0.838	0.952
RIPK3 mRNA	74.50	92.50	4.25	0.912	0.858	0.965
三者联合	91.50	85.10		0.945	0.905	0.986
鉴别 LC 与 HCC						
MLKL mRNA	70.20	85.20	15.44	0.768	0.669	0.866
caspase-8 mRNA	78.70	90.20	0.50	0.834	0.750	0.918
RIPK3 mRNA	72.30	93.40	4.33	0.839	0.751	0.926
三者联合	85.10	83.60		0.895	0.826	0.963

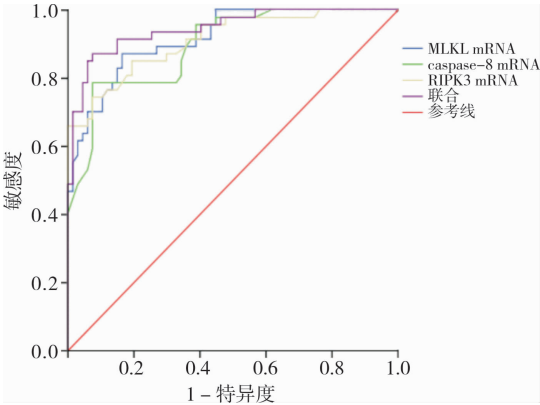


图1 PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平鉴别诊断CHB与HCC的ROC曲线

Fig.1 ROC curve of expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in PBMC in differential diagnosing CHB and HCC

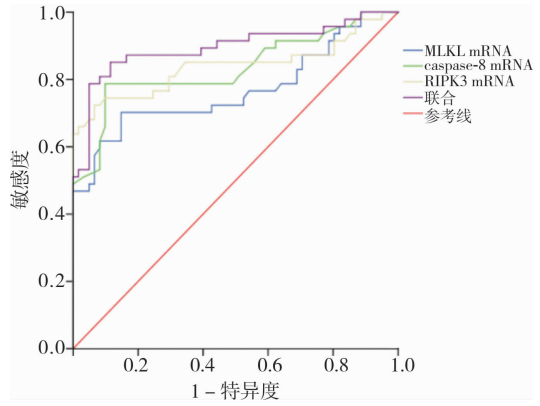


图2 PBMC中MLKL、caspase-8及RIPK3 mRNA表达水平鉴别诊断LC与HCC的ROC曲线

Fig.2 ROC curve of expression levels of MLKL, caspase-8 and RIPK3 mRNA in PBMC in differential diagnosing LC and HCC

3 讨论

HBV感染是一个全球性的公共卫生问题,也是我国CHB的主要病因,更是HCC发生的主要危险因素^[6]。HBV感染所导致的HCC大多数发生在肝纤维化进展之后,但在轻度肝纤维化的病例中仍可能会发生HCC,提示HBV感染引起HCC的发生存在多种途径^[7]。对高危人群进行早期筛查并给予及时有效的干预,可显著改善患者预后。血液具有收集方便、检测周期短以及敏感度高等优点,故血液生物学标志物在HCC早期诊断中具有重要价值。

程序性细胞坏死作为一种非典型的死亡方式,在不同类型的肿瘤中的作用复杂且多样^[8]。RIPK1、RIPK3及MLKL是程序性细胞坏死中的关键调节因子,当程序性细胞坏死被触发后,可进一步激活RIPK1-RIPK3-MLKL信号通路,形成RIPK1-RIPK3-MLKL复合物,造成细胞破裂,并抑制

caspase-8 活性,进而介导程序性细胞坏死的发生^[9]。若 caspase-8 切割位点发生突变,其介导的 RIPK3 引起的程序性细胞坏死则被抑制^[10]。陈少慕等^[11]研究显示,MLKL 在非小细胞肺癌组织中呈低表达,可抑制 RIPK1-RIPK3-MLKL 信号通路,减少细胞死亡。另外,RIPK3 在恶性间皮瘤^[12]、结肠癌^[13]中表达降低,但在胶质瘤^[14]、复发的乳腺癌^[15]中表达升高。尽管已有研究证实了 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 在程序性细胞坏死中的作用^[16],但有关 HBV 感染不同阶段患者中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 表达的研究鲜有报道。本研究通过观察不同阶段 HBV 感染患者 PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 的表达水平,旨在探讨 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平对不同阶段 HBV 感染患者的鉴别诊断价值,并为寻找潜在的治疗靶点提供参考。

有研究报道,程序性细胞死亡中另一个关键的调节因子 RIPK1 在 HCC 中上调表达,并预示 HCC 患者预后不良,表明 RIPK1 可能在 HCC 中激活程序性细胞死亡过程^[17]。而随着对 RIPK3 研究的不断深入,发现 RIPK3 能够通过调控程序性细胞死亡,影响肝脏损伤、病毒感染等进程^[18]。AFONSO 等^[19]研究显示,RIPK3 与人和小鼠非酒精性脂肪性肝病严重程度有关,并在肝脏代谢、损伤、炎症、纤维化以及致癌方面发挥着重要作用,RIPK3 信号通路可作为治疗非酒精性脂肪性肝病的靶点。HAN 等^[20]研究则表明,RIPK3 mRNA 在 CHB、LC 以及 HCC 中表达显著上调,与 RIPK3 相关的细胞因子同样发生了异常改变。本研究结果显示,与对照组相比,CHB 组、LC 组、HCC 组患者 PBMC 中 MLKL、RIPK3 mRNA 表达水平均显著增高,caspase-8 mRNA 表达水平均显著降低,提示 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 可能参与了 HBV 感染过程;同时,LC 组、HCC 组患者 PBMC 中 MLKL、RIPK3 mRNA 表达水平显著高于 CHB 组,caspase-8 mRNA 表达水平显著低于 CHB 组;且 HCC 组患者 PBMC 中 MLKL、RIPK3 mRNA 表达水平显著高于 LC 组,caspase-8 mRNA 表达水平显著低于 LC 组;提示 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 可能参与了 HBV 感染所导致的 CHB、LC 及 HCC 的发展进程。

另外,本研究 Pearson 相关检验结果显示,HBV 感染不同阶段患者 PBMC 中 MLKL mRNA 表达与 RIPK3 mRNA 表达呈正相关,MLKL mRNA 表达与 caspase-8 mRNA 表达呈负相关,RIPK3 mRNA 表达

与 caspase-8 mRNA 表达呈负相关,提示 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 这 3 个关键的程序性细胞坏死调节因子可能在 HBV 感染所导致的 CHB、LC 以及 HCC 进程中相互作用,共同发挥作用,进而推动 HBV 感染的进展,但目前尚缺乏三者在 HBV 感染致病机制中作用的相关报道,有待后续进一步研究。本研究 ROC 曲线显示,PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平联合检测鉴别 CHB 和 HCC 的 AUC 为 0.945,鉴别 LC 和 HCC 的 AUC 为 0.895,提示 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平可作为鉴别诊断 HBV 感染不同阶段的生物学标志物,通过检测 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平,有助于 CHB 与 HCC 及 LC 与 HCC 的鉴别诊断,进而为 HBV 感染相关疾病的治疗提供指导。

4 结论

HBV 感染不同阶段患者 PBMC 中 MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平显著上升,且三者之间存在显著相关性,MLKL、caspase-8 及 RIPK3 mRNA 表达水平可作为鉴别诊断不同阶段 HBV 感染的生物学标志物,这为 HBV 感染相关疾病的诊断及治疗提供指导。

参考文献:

- [1] KASAP B, BURUK C K, KAKLIKAYA N, et al. Comparison of mRNA levels of stimulator of interferon genes (STING) in individuals with natural immunity to hepatitis b virus (HBV), and in those with chronic hepatitis B infection and without HBV [J]. *Mikrobiyol Bul*, 2020, 54(1): 66-78.
- [2] KIM G W, IMAM H, KHAN M, et al. HBV-induced increased N6 methyladenosine modification of PTEN RNA affects innate immunity and contributes to HCC [J]. *Hepatology*, 2021, 73(2): 533-547.
- [3] HOAN N X, HUYEN P T M, BINH M T, et al. Genetic variants of programmed cell death 1 are associated with HBV infection and liver disease progression [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 7772-7781.
- [4] 王诗婧, 彭军. 调节性坏死: 认识和防治损伤相关性疾病的途径 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(2): 153-157.
WANG S J, PENG J. Regulatory necrosis: a novel way to recognize and prevent injury-relevant diseases [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2017, 33(2): 153-157.
- [5] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 (2015 年版) [J]. *实用肝脏病杂志*, 2016, 19(3): 389-400.
CHINESE SOCIETY OF HEPATOLOGY, CHINESE MEDICAL ASSOCIATION, CHINESE SOCIETY OF INFECTIOUS DISEASES, CHINESE MEDICAL ASSOCIATION. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B (2015 version) [J]. *J Pract*

Hepatology,2016,19(3):389-400.

[6] 杨鑫,杨道坤. Toll 样受体在慢性乙型肝炎患者免疫损伤中的作用研究进展[J]. 新乡医学院学报,2022,39(4):392-395.

YANG X,YANG D K. Research progress on the role of Toll like receptor in immunological injury of patients with chronic hepatitis B[J]. *J Xinxiang Med Univ*,2022,39(4):392-395.

[7] HAYASHI S,NAGAOKA K,TANAKA Y. Blood-based biomarkers in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma,including the viral genome and glycosylated proteins[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(20):11051-11067.

[8] LIU S,JOSHI K,DENNING M F,*et al*. RIPK3 signaling and its role in the pathogenesis of cancers[J]. *Cell Mol Life Sci*,2021,78(23):7199-7217.

[9] 肖真,张银妆,匡圆圆,等. 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血浆 RIPK1,RIPK3 及 MLKL 水平变化及其临床预测价值[J]. 中南大学学报(医学版),2020,45(9):1096-1103.

XIAO Z,ZHANG Y Z,KUANG Y Y,*et al*. Changes in plasma levels of RIPK1, RIPK3, and MLKL in patients with coronary atherosclerotic heart disease and its clinical predictive value[J]. *J Cent South Univ(Med Sci)*,2020,45(9):1096-1103.

[10] YANG D,LIANG Y,ZHAO S,*et al*. ZBP1 mediates interferon-induced necroptosis[J]. *Cell Mol Immunol*,2020,17(4):356-368.

[11] 陈少慕,张标,冯军. 混合系列蛋白激酶样结构域蛋白在非小细胞肺癌组织的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2018,35(12):2333-2335.

CHEN S M,ZHANG B,FENG J. Decreased mixed lineage kinase domain-like was an unfavourable prognostic factor in non-small-cell lung carcinoma[J]. *Chin J Exper Surg*,2018,35(12):2333-2335.

[12] TAN Y,SEMENTINO E,CHEUNG M,*et al*. Somatic epigenetic silencing of RIPK3 inactivates necroptosis and contributes to chemoresistance in malignant mesothelioma[J]. *Clin Cancer Res*,2021,27(4):1200-1213.

[13] CONEV N V,DIMITROVA E G,BOGDANOVA M K,*et al*. RIPK3 expression as a potential predictive and prognostic marker in metastatic colon cancer[J]. *Clin Invest Med*,2019,42(1):E31-E38.

[14] VERGARA G A,EUGENIO G C,MALHEIROS S M F,*et al*. RIPK3 is a novel prognostic marker for lower grade glioma and further enriches IDH mutational status subgrouping[J]. *J Neurooncol*,2020,147(3):587-594.

[15] LIN C C,MABE N W,LIN Y T,*et al*. RIPK3 upregulation confers robust proliferation and collateral cystine-dependence on breast cancer recurrence[J]. *Cell Death Differ*,2020,27(7):2234-2247.

[16] FRITSCH M,GÜNTHER S D,SCHWARZER R,*et al*. Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis[J]. *Nature*,2019,575(7784):683-687.

[17] WANG C,YAO B,XU M,*et al*. RIP1 upregulation promoted tumor progression by activating AKT/Bcl-2/BAX signaling and predicted poor postsurgical prognosis in HCC[J]. *Tumour Biol*,2016,37(11):15305-15313.

[18] 李新帅,华钰赞,陈云,等. 受体相互作用蛋白激酶3的病理生理学作用及研究进展[J]. 生理科学进展,2021,52(4):297-302.

LI X S,HUA Y Y,CHEN Y,*et al*. The pathophysiology and perspective of receptor interacting protein kinase 3[J]. *Prog Physiol Sci*,2021,52(4):297-302.

[19] AFONSO M B,RODRIGUES P M,MATEUS-PINHEIRO M,*et al*. RIPK3 acts as a lipid metabolism regulator contributing to inflammation and carcinogenesis in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Gut*,2021,70(12):2359-2372.

[20] HAN L Y,YANG J R,ZHAO Z H,*et al*. RIPK3 mRNA level acts as a diagnostic biomarker in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Pathol Res Pract*,2020,216(10):153147-153152.

(本文编辑:李胜利)

《新乡医学院学报》被 Scopus 数据库收录

近日,接 Elsevier 出版集团邮件通知,经严格评审遴选,《新乡医学院学报》(Journal of Xinxiang Medical University) 正式被 Scopus 数据库收录。《新乡医学院学报》是新乡医学院主管主办的综合性医药卫生类学术期刊,被 Scopus 数据库收录,标志着国际权威数据库对该刊的高度认可,这对提升该刊学术影响力、传播力和显示度有重要意义。

Scopus 数据库是由 Elsevier 出版集团推出的具有科研管理、学术评价功能的数据库,是全球规模最大的同行评议文献(科学期刊、书籍和会议记录)的文摘和引文数据库,覆盖 100% 的 Medline 期刊、100% 的 EI 期刊和约 97% 的 Web of Science 期刊,其学术影响力仅次于 Web of Science(包括 SCI、SSCI 和 A&HCI),被全球诸多重要学术排名机构(如 QS、THE 世界大学排名)作为学科产出及学科发展评估的主要数据来源。

《新乡医学院学报》编辑部衷心感谢各位编委、审稿专家、作者、读者的关心和支持,我们将再接再厉,努力提升办刊水平,积极宣传党和国家的科技政策,推动医学科学研究,促进医学信息交流,为我国医学事业的发展及全人类的健康作出积极贡献。