

## • 临床研究 •



开放科学  
(资源服务)  
标识码(OSID)

# MiR-485-3p 对 IgA 肾病的诊断价值及其与免疫学指标和 T 淋巴细胞亚群的相关性

陈江秀 莫世松 韩珠

三亚中心医院(海南省第三人民医院)肾内科, 三亚 572000

通信作者: 陈江秀, Email: chen.jx1983072@163.com

**【摘要】** 目的 探讨 miR-485-3p 对 IgA 肾病(IgA nephropathy, IgAN)的诊断价值及其与 IgA/C3、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的相关性。方法 选取 2018 年 1 月至 2020 年 12 月三亚中心医院收治的 IgAN 患者 106 例(IgAN 组)、非 IgAN 原发性肾小球肾炎患者 90 例(非 IgAN 组)和体检健康者 50 名(对照组)。检测各组 miR-485-3p、免疫学指标(IgA、IgG、IgM、C3、C4、IgA/C3)以及 T 淋巴细胞亚群(CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)水平。应用多因素 Logistic 回归分析影响 IgAN 发生的危险因素,绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线分析 miR-485-3p、IgA/C3 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 诊断 IgAN 的价值。采用 Pearson 相关分析 miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgG、IgM、C3、C4、IgA/C3、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的相关性。**结果** IgAN 组 miR-485-3p(0.48±0.06 比 1.20±0.25, 1.96±0.73)、CD4<sup>+</sup> [(31.46±6.82)% 比 (42.15±8.40)% (47.50±9.35)%] 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (1.02±0.46 比 1.50±0.71, 1.63±0.58)水平明显低于非 IgAN 组和对照组( $P<0.001$ )。IgAN 组 IgA [(3.16±1.18)g/L 比 (2.05±0.73)g/L, (1.24±0.46)g/L] 及 IgA/C3 (2.94±1.05 比 1.81±0.86, 1.13±0.52)水平明显高于非 IgAN 组和对照组( $P<0.001$ )。多因素 Logistic 回归分析,结果显示 24 h 尿蛋白定量、IgA/C3 水平高以及估算肾小球滤过率、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、miR-485-3p 水平低是影响 IgAN 发生的危险因素( $P<0.05$ )。ROC 曲线结果显示,血清 miR-485-3p 表达水平诊断 IgAN 的曲线下面积(area under the curve, AUC)为 0.862(95%CI: 0.803~0.922),其联合 IgA/C3 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 诊断 IgAN 的 AUC 高达 0.937(95%CI: 0.878~0.995),敏感度为 96.3%,特异度为 84.2%。相关分析显示, IgAN 组血清 miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgA/C3 呈负相关( $r=-0.753, -0.827, P<0.05$ ),与 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 呈正相关( $r=0.435, 0.692, P<0.05$ )。**结论** miR-485-3p 在 IgAN 患者中呈低表达,与 IgA/C3 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 具有相关性,三项联合诊断 IgAN 的价值较高。

**【关键词】** 肾小球肾炎; IgA; MiR-485-3p; 免疫学指标; T 淋巴细胞亚群; 诊断价值

**基金项目:** 海南省医药卫生科研基金项目(18A200151)

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2022.11.007

## Diagnostic value of miR-485-3p in IgA nephropathy and its correlation with immunological parameters and T lymphocyte subsets

Chen Jiang-xiu, Mo Shi-song, Han Zhu

Department of Nephrology, Hainan Third People's Hospital/Central Municipal Hospital, Sanya 572000, China

Corresponding author: Chen Jiang-xiu, Email: chen.jx19830720@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the diagnostic value of MiR-485-3p in IgA nephropathy (IgAN) and examine its correlation with IgA/C3 and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. **Methods** From January 2018 to December 2020, 106 IgAN patients (IgAN group), 90 non-IgA nephropathy patients with primary glomerulonephritis (non-IgAN group) and 50 normal subjects (control group) were selected. The levels of MiR-485-3p, immunological parameters (IgA, IgG, IgM, C3, C4 & IgA/C3) and T lymphocyte subsets (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> & CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) were measured. Multivariate Logistic regression was em-

ployed for examining the risk factors for IgAN. And receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted for analyzing the diagnostic values of miR-485-3p, IgA/C3 and CD4+/CD8+ for IgAN. The correlations between miR-485-3p expression level and IgA, IgG, IgM, C3, C4, IgA/C3, CD4+, CD8+ and CD4+/CD8+ were analyzed by Pearson's correlation. **Results** IgAN group miR-485-3p ( $0.48 \pm 0.06$  vs  $1.20 \pm 0.25$ ,  $1.96 \pm 0.73$ ), CD4+ [( $31.46 \pm 6.82$ )% vs ( $42.15 \pm 8.40$ )%, ( $47.50 \pm 9.35$ )%] and CD4+/CD8+ ( $1.02 \pm 0.46$  vs  $1.50 \pm 0.71$ ,  $1.63 \pm 0.58$ ) were significantly lower than those in non-IgAN and control groups ( $P < 0.001$ ). Levels of IgA [( $3.16 \pm 1.18$ )g/L vs ( $2.05 \pm 0.73$ )g/L, ( $1.24 \pm 0.46$ )g/L] and IgA/C3 ( $2.94 \pm 1.05$  vs  $1.81 \pm 0.86$ ,  $1.13 \pm 0.52$ ) were significantly higher in IgAN group than those in non-IgAN and control groups ( $P < 0.001$ ). Multivariate Logistic regression analysis revealed that high levels of urinary protein, IgA/C3 and low levels of eGFR, CD4+/CD8+ and miR-485-3p were risk factors for IgAN ( $P < 0.05$ ). ROC curve results indicated that AUC of serum expression level of miR-485-3p in the diagnosis of IgAN was 0.862 (95%CI: 0.803-0.922); AUC of miR-485-3p plus IgA/C3 and CD4+/CD8+ in the diagnosis of IgAN was 0.937 (95%CI: 0.878-0.995), sensitivity 96.3% and specificity 84.2%. Correlation analysis showed that serum expression level of miR-485-3p was correlated negatively with IgA and IgA/C3 ( $r = -0.753$ ,  $-0.827$ ,  $P < 0.05$ ) and positively with CD4+, CD4+/CD8+ ( $r = 0.435$ ,  $0.692$ ,  $P < 0.05$ ) in IgAN group. **Conclusion** The expression of miR-485-3p is low in IgAN patients. It is correlated with IgA/C3 and CD4+/CD8+ and combining three items has a high diagnostic value for IgAN.

**【Key words】** Glomerulonephritis, IgA; MiR-485-3p; Immunology indicators; T-lymphocyte subsets; Diagnostic value

**Fund program:** Healthcare Research Fund Project of Hai'nan Province (18A200151)

DOI:10.3969/j.issn.1671-2390.2022.11.007

IgA 肾病(IgA nephropathy, IgAN)是全球最常见的肾小球疾病,其病理机制复杂、临床表现多样、预后较差,已成为导致终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)的主要病因之一<sup>[1]</sup>。肾活检是诊断 IgAN 的金标准,但其创伤性大、出血率高,有一定的风险和局限性。因此,寻找可靠的非侵入性生物标志物对 IgAN 的早期筛查具有很大的帮助。越来越多的研究表明,CD4+/CD8+ 比例失调、IgA 的沉积及补体免疫系统 IgA/C3 的紊乱在 IgA 发病机制中发挥重要作用<sup>[2-3]</sup>。以往的研究表明,免疫球蛋白 IgA 和补体 C3 主要参与 IgAN 的发生发展,其水平变化可反映机体肾功能损伤情况,计算 IgA/C3 比值对 IgAN 的临床诊断、病情监测具有重要的参考价值<sup>[4]</sup>。小分子核糖核酸(microRNA, miRNA)作为一类小分子非编码调控 RNA,参与调节多种免疫生物学过程,其异常表达与 IgAN 的发生发展、预后判断及疗效监测相关,可为该病的靶向治疗及改善预后提供新的手段<sup>[5]</sup>。近期的研究发现,miR-485-3p 在肾脏疾病中异常表达,其通过调控基因水平表达参与肾脏疾病的发生发展,可能是 IgAN 诊断和治疗的新型潜在标志物<sup>[6]</sup>。然而,关于 miR-485-3p 在 IgAN 中的表达与 IgA/C3、CD4+/CD8+ 比例失衡的关系尚未清楚。因此,本研究通过

检测 IgAN 患者血清 miR-485-3p 的表达情况,分析其与 IgA/C3、CD4+/CD8+ 的关系,初步探讨 miR-485-3p 在 IgAN 诊断及发病中的价值。

## 对象与方法

### 一、研究对象

选取 2018 年 1 月至 2020 年 12 月三亚中心医院收治的 IgAN 患者 106 例,其中男 57 例,女 49 例,年龄范围 19~61 岁,年龄( $34.72 \pm 10.15$ )岁。纳入标准:(1)IgAN 经肾活检病理确诊;(2)年龄  $\geq 18$  岁,实验室及病理资料完整;(3)入组前均未使用免疫抑制剂、肾素-血管紧张素-醛固酮系统、激素及雷公藤等药物治疗。排除标准:(1)合并其他免疫系统疾病、恶性肿瘤、尿路感染、肾移植、紫癜肾炎、乙肝肾炎等其他肾脏疾病者;(2)服用影响肾功能的药物(免疫抑制药、解热镇痛药、利尿药、镇静催眠药、血管收缩药、抗心律失常药、抗肿瘤药及激素类药物等)。另选取非 IgAN 原发性肾小球肾炎患者 90 例(膜性肾病 55 例、微小病变性肾炎 20 例、局灶节段肾小球硬化 15 例)作为非 IgAN 组,男 46 例,女 44 例,年龄范围 21~62 岁,年龄( $35.16 \pm 9.85$ )岁;体检健康者 50 名作为对照组,男 29 例,女 21 例,年龄范围 20~60 岁,年龄

(34.60±8.12)岁。本研究符合三亚中心医院医学伦理委员会审批(批件编号:2018005),患者均知情同意。

## 二、收集资料及研究方法

1. 肾脏病理分级的标准 IgAN患者肾脏病理分级按新版IgAN牛津分型标准<sup>[7]</sup>:(1)系膜细胞增生(M),系膜评分<0.5为M0,系膜评分>0.5为M1;(2)内皮细胞增生(E),无毛细血管内增生为E0,毛细血管内增生为E1;(3)节段性肾小球硬化(S),无节段性肾小球硬化为S0,节段性肾小球硬为S1;(4)肾小管萎缩或间质纤维化(T),肾小管萎缩/间质纤维化≤25%为T0,肾小管萎缩/间质纤维化26%~50%为T1;肾小管萎缩/间质纤维化>50%为T2;(5)新月体病变(C),无细胞/纤维细胞性新月体为C0,细胞/纤维细胞性新月体≥1个肾小球为C1,细胞/纤维细胞性新月体>25%为C2。牛津分型评分(MEST-C)=M+E+S+T+C,范围0~5分。

2. 基本资料的收集 收集所有研究对象的基线资料及实验室指标,包括年龄、性别、病程、体重指数、血压、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、血肌酐(serum creatinine, Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿酸(uric acid, UA)、血清白蛋白(blood serum albumin, Alb)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)及估算肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)。

3. 目的基因的提取 所有研究对象均在未治疗前抽取静脉血5 mL,离心分离血清(离心半径13.5 cm),-70℃保存待检。应用TRIzol法提取PBMNC中的总RNA,按照反转录试剂盒说明书进行cDNA的合成,然后按照实时荧光定量PCR试剂盒说明书进行各目的基因的实时荧光定量,引物序列为:miR-485-3p上游:5'-ACTCTATCTGATACGTGCTA-3',下游:5'-GCTAGATAGTACATCTAGCT-3'。使用荧光定量PCR仪进行检测,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算MiR-485-3p水平。PCR总反应体系为20 μL:1 μL引物及探针 Mix, 10 μL TaqMan通用混合物溶液, 1.33 μL cDNA, 7.67 μL双蒸馏水;扩增条件:95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸60 s,进行40个循环。使用7600型日立全自动生化分析仪检测血清免疫球蛋白IgA、IgG、IgM以及补体C3、C4水平。另采用外周血2 mL置于EDTA抗凝管,FACS Caliber型流式细胞仪进行T淋巴细胞亚群(CD4+、CD8+、CD4+/CD8+)检测,试剂由美国BD公司提供。

## 三、统计学分析

采用SPSS 22.0统计软件分析。符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用SNK-*q*检验;非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验。计数资料的比较采用 $\chi^2$ 检验。应用多因素Logistic回归分析影响IgAN发生的危险因素。绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线分析MiR-485-3p、IgA/C3及CD4+/CD8+诊断IgAN的价值。相关性分析采用Pearson相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、IgAN组、非IgAN组和对照组的临床指标比较

IgAN组Hb、UA、Scr、BUN、Alb、eGFR及24 h尿蛋白定量与非IgAN组和对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );IgAN组Hb、eGFR及24 h尿蛋白定量明显低于非IgAN组,IgAN组Scr、BUN及Alb明显高于非IgAN组( $P < 0.05$ )。(表1)

### 二、IgAN组、非IgAN组和对照组血清miR-485-3p表达水平比较

IgAN组、非IgAN组和对照组血清miR-485-3p表达水平分别为 $0.48 \pm 0.06$ 、 $1.20 \pm 0.25$ 、 $1.96 \pm 0.73$ 。IgAN组血清miR-485-3p表达水平明显低于非IgAN组和对照组( $t=11.418, 15.724, P < 0.001$ ),且非IgAN组血清miR-485-3p表达水平明显低于对照组( $t=10.573, P < 0.001$ )。(图1)

### 三、IgAN组、非IgAN组和对照组免疫学指标比较

IgAN组IgA及IgA/C3水平明显高于非IgAN组和对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.001$ )。(表2)

### 四、IgAN组、非IgAN组和对照组T淋巴细胞亚群比较

IgAN组CD4+及CD4+/CD8+明显低于非IgAN组和对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.001$ )。(表3)

### 五、多因素Logistic回归分析影响IgAN发生的危险因素

以是否发生IgAN为因变量,以所有影响因素为自变量,进行多因素Logistic回归分析,结果显示24 h尿蛋白定量 $\geq 1.30$  g、IgA/C3 $\geq 2.446$ 、eGFR $\leq 82.75$  [ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (1.73\text{m}^2)^{-1}$ ]、CD4+/CD8+ $\leq$

表 1 IgAN 组、非 IgAN 组和对对照组的临床一般指标比较

指标	对照组(n=50)	非 IgAN 组(n=90)	IgAN 组(n=106)	$\chi^2/F/Z$ 值	P 值
男性[例(%)]	29(58.0)	46(51.1)	57(53.8)	0.712	0.409
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$ )	34.60 $\pm$ 8.12	35.16 $\pm$ 9.85	34.72 $\pm$ 10.15	0.926	0.375
病程(月, $\bar{x}\pm s$ )	-	6.20 $\pm$ 1.42	6.50 $\pm$ 1.30	1.513	0.246
体重指数(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x}\pm s$ )	23.85 $\pm$ 2.40	24.18 $\pm$ 2.53	23.64 $\pm$ 2.37	0.508	0.657
收缩压(mmHg, $\bar{x}\pm s$ )	127.35 $\pm$ 15.74	130.52 $\pm$ 18.36	131.28 $\pm$ 17.92	1.806	0.173
舒张压(mmHg, $\bar{x}\pm s$ )	81.62 $\pm$ 7.50	84.65 $\pm$ 9.38	85.70 $\pm$ 10.24	1.316	0.294
牛津分型[例(%)]				-	-
M0	-	-	46(43.4)		
M1	-	-	60(56.6)		
E0	-	-	76(71.7)		
E1	-	-	30(28.3)		
S0	-	-	61(57.5)		
S1	-	-	45(42.5)		
T0	-	-	57(53.8)		
T1+T2	-	-	49(46.2)		
C0	-	-	71(67.0)		
C1+C2	-	-	35(33.0)		
血红蛋白(g/L, $\bar{x}\pm s$ )	143.56 $\pm$ 21.37	137.40 $\pm$ 19.75	126.38 $\pm$ 24.15 <sup>ab</sup>	3.326	0.035
尿酸( $\mu$ mol/L, $\bar{x}\pm s$ )	327.48 $\pm$ 68.52	379.24 $\pm$ 82.46	397.42 $\pm$ 95.30 <sup>a</sup>	3.150	0.041
血肌酐( $\mu$ mol/L, $\bar{x}\pm s$ )	66.47 $\pm$ 7.18	73.35 $\pm$ 13.80	113.92 $\pm$ 45.60 <sup>ab</sup>	5.872	<0.001
血尿素氮(mmol/L, $\bar{x}\pm s$ )	5.12 $\pm$ 1.13	5.65 $\pm$ 1.82	8.14 $\pm$ 4.20 <sup>ab</sup>	5.516	<0.001
白蛋白(g/L, $\bar{x}\pm s$ )	45.38 $\pm$ 3.16	27.46 $\pm$ 5.14 <sup>a</sup>	38.25 $\pm$ 6.12 <sup>ab</sup>	7.183	<0.001
eGFR[mL·min <sup>-1</sup> ·(1.73m <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> , $\bar{x}\pm s$ ]	112.35 $\pm$ 24.68	107.20 $\pm$ 26.38	82.75 $\pm$ 19.60 <sup>ab</sup>	14.356	<0.001
24 h 尿蛋白定量(g)	0.05(0.00,0.08)	2.92(1.05,17.20) <sup>a</sup>	1.30(0.84,10.16) <sup>ab</sup>	13.952	<0.001
三酰甘油(mmol/L, $\bar{x}\pm s$ )	1.20 $\pm$ 0.38	1.65 $\pm$ 0.78	1.41 $\pm$ 0.52	1.924	0.135
总胆固醇(mmol/L, $\bar{x}\pm s$ )	5.13 $\pm$ 0.62	5.79 $\pm$ 0.94	5.58 $\pm$ 0.75	1.480	0.251

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与非 IgAN 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;eGFR 为估算肾小球滤过率;IgAN 为 IgA 肾病;1 mmHg=0.133 kPa。

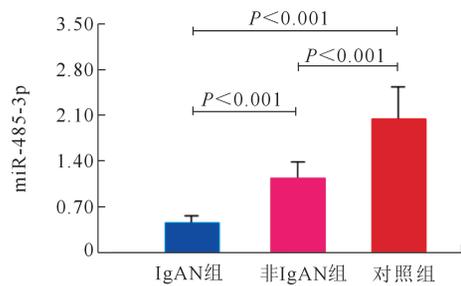


图 1 IgAN 组、非 IgAN 组和对对照组血清 miR-485-3p 表达水平的柱状图

1.21、miR-485-3p $\leq$ 0.78 是影响 IgAN 发生的危险因素( $P<0.05$ )。(表 4)

六、miR-485-3p、IgA/C3 及 CD4+/CD8+ 诊断 IgAN 的价值

以 IgAN 组作为研究对象,非 IgAN 组作为参考线绘制 ROC,结果显示血清 miR-485-3p 表达水平取 0.78 时,miR-485-3p 诊断 IgAN 的 AuC 大于 IgA/C3+eGFR+24 h 尿蛋白定量,miR-485-3p 联合 IgA/C3 及 CD4+/CD8+ 诊断 IgAN 的 AUC 最高。(表 5)

表 2 IgAN 组、非 IgAN 组和对对照组血清 IgA、IgG、IgM、C3、C4 及 IgA/C3 水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)	C3(g/L)	C4(g/L)	IgA/C3
对照组	50	1.24 $\pm$ 0.46	14.70 $\pm$ 2.73	1.30 $\pm$ 0.52	1.12 $\pm$ 0.20	0.25 $\pm$ 0.08	1.13 $\pm$ 0.52
非 IgAN 组	90	2.05 $\pm$ 0.73	12.26 $\pm$ 2.50	1.74 $\pm$ 0.86	1.14 $\pm$ 0.25	0.24 $\pm$ 0.11	1.81 $\pm$ 0.86
IgAN 组	106	3.16 $\pm$ 1.18 <sup>ab</sup>	13.82 $\pm$ 1.75	1.56 $\pm$ 0.37	1.08 $\pm$ 0.21	0.21 $\pm$ 0.07	2.94 $\pm$ 1.05 <sup>ab</sup>
F 值	-	9.415	1.973	0.884	1.453	0.948	12.714
P 值	-	<0.001	0.128	0.392	0.262	0.370	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与非 IgAN 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;IgAN 为 IgA 肾病。

表 3 IgAN 组、非 IgAN 组和对照组 CD4+、CD8+ 及 CD4+/CD8+ 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CD4+(%)	CD8+(%)	CD4+/CD8+
对照组	50	47.50±9.35	30.16±5.94	1.63±0.58
非 IgAN 组	90	42.15±8.40	29.30±6.37	1.50±0.71
IgAN 组	106	31.46±6.82 <sup>ab</sup>	32.95±8.26	1.02±0.46 <sup>ab</sup>
F 值	-	7.382	2.106	10.460
P 值	-	<0.001	0.085	<0.001

注：与对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与非 IgAN 组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ；IgAN 为 IgA 肾病。

七、miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgG、IgM、C3、C4、IgA/C3、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、eGFR 和 24 h 尿蛋白定量的相关性分析

Pearson 相关分析显示，IgAN 组血清 miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgA/C3、24 h 尿蛋白定量呈负相关 ( $r = -0.753, -0.827, -0.442, P < 0.05$ )，与 CD4+、CD4+/CD8+、eGFR 呈正相关 ( $r = 0.435, 0.692, 0.803, P < 0.05$ )。非 IgAN 组血清 miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgG、IgM、C3、C4、IgA/C3、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、eGFR 和 24 h 尿蛋白定量均无明显相关 ( $P > 0.05$ )。(表 6)

### 讨 论

IgAN 是一种以肾小球系膜区 IgA 沉积为主的肾小球疾病，IgA 的早期诊断对于疾病的治疗和控制疾病进展至 ESRD 有着重要作用。目前，IgAN 的具体发病机制尚未明确，但多数学者认为其与氧化

应激、炎症反应、免疫功能调节失衡、T 淋巴细胞表达异常、miRNA 表达失调等有关<sup>[8-9]</sup>。miRNA 是一类长 20~22 nt 的非编码 RNA 分子，可调控细胞增殖、分化、凋亡、信号转导、免疫功能及炎症反应等多种重要的生物学过程，有望成为诊断 IgAN 的潜在标志物<sup>[10]</sup>。miR-485 作为具有调控作用的小分子 RNA，可通过调控相关基因的表达参与肾脏疾病的发病过程<sup>[11]</sup>。Tian 等<sup>[12]</sup>研究发现，在肾炎小鼠肾组织中 miR-485 水平较低，其与疾病的进展和预后有关，在肾炎的发病中起到主要作用。亦有研究认为，miRNA 在 IgAN 中存在差异性表达，并参与 IgAN 的发病机制，具有成为诊断 IgAN 的非侵袭性生物标志物，也为 IgAN 的靶向治疗以及改善预后提供新的研究方向<sup>[13]</sup>。

本研究显示，IgAN 组血清 miR-485-3p 表达水平明显低于非 IgAN 组和对照组，且非 IgAN 组低于对照组，提示 miR-485-3p 低表达与 IgAN 发生有关，其可能通过负性调控基因表达参与 IgAN 发病机制，是一个具有很好潜力的预测指标。Min 等<sup>[14]</sup>研究发现，与健康组比较，IgAN 患者存在 miRNA 差异表达，其与 IgAN 的发病机制和病程进展密切相关，可作为预测 IgAN 发生的有效指标。本研究中 IgAN 组 CD4+ 及 CD4+/CD8+ 水平明显低于非 IgAN 组和对照组，而 IgAN 组 IgA 及 IgA/C3 水平明显高于非 IgAN 组和对照组，提示 IgAN 患者存在 CD4+ T 细胞失调和 IgA/C3 沉积，其可能参与 IgAN 的发病机制。唐余燕等<sup>[15]</sup>研究认为，CD4+ T

表 4 多因素 Logistic 回归分析影响 IgAN 发生的危险因素

因素	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	OR (95%CI)	P 值
eGFR	0.702	0.214	4.837	1.937(1.325~4.106)	0.006
24 h 尿蛋白定量	0.657	0.141	4.502	1.608(1.113~2.685)	0.017
IgA/C3	1.653	0.684	9.873	3.105(2.428~9.163)	<0.001
CD4+/CD8+	0.674	0.182	7.210	1.847(1.295~3.892)	<0.001
miR-485-3p	1.418	0.593	12.608	2.714(1.985~8.240)	<0.001

注：eGFR 为；IgAN 为。

表 5 miR-485-3p、IgA/C3 及 CD4+/CD8+ 诊断 IgAN 的价值

项目	最佳截值	AUC(95%CI)	P 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
miR-485-3p	0.78	0.862(0.803~0.922)	<0.001	86.0	81.5	83.7	84.0
IgA/C3	2.46	0.873(0.815~0.934)	<0.001	83.6	87.3	85.0	86.4
CD4+/CD8+	1.21	0.790(0.732~0.851)	0.005	81.4	76.0	79.3	78.2
IgA/C3+eGFR+24 h 尿蛋白定量	-	0.858(0.797~0.916)	<0.001	88.2	77.4	80.6	85.0
miR-485-3p+ IgA/C3+ CD4+/CD8+	-	0.937(0.878~0.995)	<0.001	96.3	84.2	88.5	92.4

注：IgAN 为；eGFR 为。

**表 6** miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgG、IgM、C3、C4、IgA/C3、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、eGFR 和 24 h 尿蛋白定量的相关性分析

项目	非 IgAN 组		IgAN 组	
	r 值	P 值	r 值	P 值
IgA	0.097	0.218	-0.753	<0.001
IgG	-0.114	0.182	-0.171	0.142
IgM	0.135	0.166	-0.106	0.185
C3	2.247	0.082	2.326	0.074
C4	0.148	0.160	0.164	0.148
IgA/C3	-0.192	0.115	-0.827	<0.001
CD4+	-0.083	0.236	0.435	0.006
CD8+	-0.155	0.153	0.218	0.093
CD4+/CD8+	-2.417	0.068	0.692	<0.001
估算肾小球滤过率	-0.186	0.139	0.803	<0.001
24 h 尿蛋白定量	-2.384	0.061	-0.442	0.004

细胞失调可能导致 B 细胞产生过量的异常 IgA 沉积在肾小球,诱发免疫系统紊乱,最终导致 IgAN 的发生,推测 CD4+ T 细胞在调节 IgAN 的发展中发挥了关键作用。以往的研究表明,IgA/C3 与 IgAN 的发生及疾病严重程度有关,可作为一个鉴别 IgAN 与非 IgAN 简单可行的实验室指标,并优于血清 IgA 指标<sup>[16]</sup>。

本研究多因素 Logistic 回归分析显示,24 h 尿蛋白定量、IgA/C3 水平高以及 eGFR、CD4+/CD8+、miR-485-3p 水平低是影响 IgAN 发生的危险因素。eGFR 和 24 h 尿蛋白定量作为传统的临床肾功能指标,主要用于评估肾脏功能损伤程度,对评估 IgAN 患者病情进展具有重要的参考价值<sup>[17]</sup>。CD4+ 和 CD8+ T 淋巴细胞二者的稳态维持着机体正常的免疫应答,IgAN 患者外周血的 CD4+ 减少,而 CD8+ 增多,引起 CD4+/CD8+ T 淋巴细胞比例失衡,进而造成 IgAN 患者免疫功能的紊乱<sup>[18]</sup>。刘林林等<sup>[19]</sup>研究认为,差异表达的 miRNA 与 IgAN 的肾功能改善和疾病严重程度有关,可能成为治疗 IgAN 的新靶点和监测 IgAN 病情的潜在生物学指标。本研究 ROC 曲线显示,血清 miR-485-3p 表达水平为 0.78 时,其诊断 IgAN 的 AUC 为 0.862,联合 IgA/C3 及 CD4+/CD8+ 诊断 IgAN 的 AUC 高达 0.937,敏感度和特异度均较好,说明 miR-485-3p 有作为诊断 IgAN 的巨大潜力,联合 IgA/C3 及 CD4+/CD8+ 对鉴别诊断 IgAN 和非 IgAN 具有较高的临床应用价值。Szeto 等<sup>[20]</sup>研究发现,miRNA 在 IgAN 患者中存在特异性表达,并与 IgAN 患者的病情进展有关,可作为 IgAN 诊断和病情预测的一种无创性的生物标

志物。谢伟基等<sup>[21]</sup>研究证实,IgA/C3 是 IgAN 发生的独立预测因子,对 IgAN 诊断具有一定价值,可作为 IgAN 诊断的辅助免疫学指标。此外,相关分析显示 IgAN 患者血清 miR-485-3p 表达水平与 IgA、IgA/C3、24 h 尿蛋白定量呈负相关,与 CD4+、CD4+/CD8+、eGFR 呈正相关,提示 miR-485-3p 表达失调可能导致 IgAN 患者肾功能指标、IgA、IgA/C3 免疫学指标及 CD4+、CD4+/CD8+ T 淋巴细胞表达异常,共同参与 IgAN 的发生发展。既往研究表明,miRNA 具有调节 T 淋巴细胞亚群和免疫功能平衡的作用,IgAN 患者外周血 miRNA 的异常表达可导致 T 淋巴细胞亚群和免疫系统失衡,进而加重 IgA1 的异常糖基化,促进 IgAN 的发生发展<sup>[22]</sup>。

综上所述,miR-485-3p 在 IgAN 患者中呈低表达,是影响 IgAN 发生的危险因素,其与 IgA/C3 及 CD4+/CD8+ 联合检测对 IgAN 的早期诊断具有很好的应用前景。但本研究为单中心的临床研究,主要观察治疗前 miR-485-3p 表达水平与 IgAN 患者的关系,无法全面评估 miR-485-3p 在 IgAN 中的长期变化,其研究结果可能存在偏倚,未来仍需多中心、大样本、前瞻性、长期随访研究来进一步深入分析。

**利益冲突** 所有作者均声明没有利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] Rajasekaran A, Julian BA, Rizk DV. IgA nephropathy: an interesting autoimmune kidney disease[J]. Am J Med Sci, 2021, 361(2): 176-194. DOI: 10.1016/j.amjms.2020.10.003.
- [2] Esteve Cols C, Graterol Torres FA, Quirant Sánchez B, et al. Immunological pattern in IgA nephropathy[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(4): 1389. DOI: 10.3390/ijms21041389.
- [3] 裴改琴,秦媛雅,王思清,等.血清 IgA/C3 和病理 C3 沉积对 IgA 肾病患者临床预后的影响[J].中华医学杂志,2020,100(30): 2372-2377. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20200313-00745. Pei GQ, Qin AY, Wang SQ, et al. Effect of serum IgA/C3 and glomerular C3 staining on clinical prognosis in patients with IgA nephropathy[J]. Natl Med J China, 2020, 100(30): 2372-2377. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20200313-00745.
- [4] Stefan G, Stancu S, Boitan B, et al. Is there a role for IgA/C3 ratio in IgA nephropathy prognosis an outcome analysis on a European population[J]. Iran J Kidney Dis, 2020, 14(6): 470-477.
- [5] Yao X, Zhai Y, An H, et al. MicroRNAs in IgA nephropathy[J]. Ren Fail, 2021, 43(1): 1298-1310. DOI: 10.1080/0886022X.2021.1977320.
- [6] Wu J, Lu K, Zhu MY, et al. miR-485 suppresses inflammation and proliferation of mesangial cells in an in vitro model of diabetic nephropathy by targeting NOX5[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521(4): 984-990. DOI: 10.1016/j.

- bbr. 2019. 11. 020.
- [7] Miyabe Y, Karasawa K, Akiyama K, et al. Grading system utilising the total score of Oxford classification for predicting renal prognosis in IgA nephropathy[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 3584. DOI: 10.1038/s41598-021-82967-x.
- [8] Wei SY, Guo S, Feng B, et al. Identification of miRNA-mRNA network and immune-related gene signatures in IgA nephropathy by integrated bioinformatics analysis[J]. *BMC Nephrol*, 2021, 22(1): 392. DOI: 10.1186/s12882-021-02606-5.
- [9] Tang YY, He HD, Hu P, et al. T lymphocytes in IgA nephropathy[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(1): 186-194. DOI: 10.3892/etm.2020.8673.
- [10] Wang ZY, Liao Y, Wang LX, et al. Small RNA deep sequencing reveals novel miRNAs in peripheral blood mononuclear cells from patients with IgA nephropathy[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22: 3378-3386. DOI: 10.3892/mmr.2020.11405.
- [11] Chang WH, Huang HY, Wang PH. The use of serum level of microRNA-485-5P in prediction of renal function in lupus nephritis patients[J]. *J Chin Med Assoc*, 2021, 84(7): 736. DOI: 10.1097/JCMA.0000000000000549.
- [12] Tian Y, Han YX, Guo HF, et al. Upregulated microRNA-485 suppresses apoptosis of renal tubular epithelial cells in mice with lupus nephritis via regulating the TGF- $\beta$ -MAPK signaling pathway by inhibiting RhoA expression[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119: 9154-9167. DOI: 10.1002/jcb.27178.
- [13] Liu L, Yang YZ, Yu DR. Identification of key miRNAs and their targets in peripheral blood mononuclear cells of IgA nephropathy using bioinformatics analysis[J]. *Medicine*, 2021, 100(26): e26495. DOI: 10.1097/MD.00000000000026495.
- [14] Min QH, Chen XM, Zou YQ, et al. Differential expression of urinary exosomal microRNAs in IgA nephropathy[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(2): e22226. DOI: 10.1002/jcla.22226.
- [15] 唐余燕, 贺海东, 孙蔚倩, 等. CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在 IgA 肾病中致病作用机制研究[J]. *临床肾脏病杂志*, 2020, 20(2): 147-153. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2020.02.011.
- Tang YY, He HD, Sun WQ, et al. The pathogenesis of CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in IgA nephropathy[J]. *J Clin Nephrol*, 2020, 20(2): 147-153. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2020.02.011.
- [16] Gong WY, Liu M, Luo D, et al. High serum IgA/C3 ratio better predicts a diagnosis of IgA nephropathy among primary glomerular nephropathy patients with proteinuria  $\leq 1$  g/d: an observational cross-sectional study[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1): 150. DOI: 10.1186/s12882-019-1331-0.
- [17] Han X, Xiao Y, Tang Y, et al. Clinical and pathological features of immunoglobulin A nephropathy patients with nephrotic syndrome[J]. *Clin Exp Med*, 2019, 19(4): 479-486. DOI: 10.1007/s10238-019-00580-9.
- [18] 李仪, 叶伟标, 洗丽英, 等. 免疫球蛋白 A 肾病临床特征及外周血 T 细胞亚群、Th22 变化研究[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(2): 188-189. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2021.02.26.
- Li Y, Ye WB, Xian LY, et al. Clinical characteristics of immunoglobulin A nephropathy and changes of peripheral blood T cell subsets and Th22 [J]. *Clin J Med Off*, 2021, 49(2): 188-189. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2021.02.26.
- [19] 刘林林, 姚丽. 微小 RNA 与 IgA 肾病[J]. *中国实用内科杂志*, 2020, 40(7): 542-545. DOI: 10.19538/j.nk2020070104.
- Liu LL, Yao L. MicroRNA and IgA nephropathy[J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2020, 40(7): 542-545. DOI: 10.19538/j.nk2020070104.
- [20] Szeto CC, Wang G, Ng JKC, et al. Urinary miRNA profile for the diagnosis of IgA nephropathy[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1): 77. DOI: 10.1186/s12882-019-1267-4.
- [21] 谢伟基, 洪桂填, 薛茜, 等. 血清 IgA/C3 对 IgA 肾病诊断及治疗预后的意义[J]. *临床肾脏病杂志*, 2019, 19(5): 311-316, 321. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2019.05.002.
- Xie WJ, Hong GT, Xue Q, et al. Significance of serum IgA/C3 ratio in the diagnosis and prognosis of IgA nephropathy[J]. *J Clin Nephrol*, 2019, 19(5): 311-316, 321. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2019.05.002.
- [22] Yang LC, Zhang XY, Peng W, et al. microRNA-155-induced T lymphocyte subgroup drifting in IgA nephropathy[J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(2): 353-361. DOI: 10.1007/s11255-016-1444-3.

(收稿日期:2022-02-20)