

MicroRNA在肝纤维化中的研究进展

马福财¹, 朱海宏²

¹青海大学研究生院, 青海 西宁

²青海省人民医院, 青海 西宁

收稿日期: 2021年9月18日; 录用日期: 2021年10月11日; 发布日期: 2021年10月21日

摘要

MicroRNA是一类短链非编码RNA, 主要通过与其靶mRNA特异性的碱基配对引起靶mRNA的降解或者抑制其翻译, 从而对基因进行转录后表达的调控。肝星状细胞的活化和信号通路的激活是肝纤维化发生发展的中心环节, miRNA能够通过调控肝星状细胞的活化、凋亡和肝纤维化相关信号通路, 从而在肝纤维化过程中发挥重要的作用。本文就miRNA在肝纤维化过程中的作用进行综述。

关键词

MicroRNA, 肝纤维化, 肝星状细胞, 信号通路

Research Progress of MicroRNA in Liver Fibrosis

Fucai Ma¹, Haihong Zhu²

¹Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

²Qinghai Province People's Hospital, Xining Qinghai

Received: Sep. 18th, 2021; accepted: Oct. 11th, 2021; published: Oct. 21st, 2021

Abstract

MicroRNA is a type of short non-coding RNA, which mainly uses specific base pairing with target mRNA to cause degradation of target mRNA or inhibit its translation, thereby regulating gene expression after transcription. The activation of hepatic stellate cells and the activation of signaling pathways are the central link in the occurrence and development of liver fibrosis. miRNAs can play a role in the process of liver fibrosis by regulating the activation, apoptosis of hepatic stellate

cells and signaling pathways related to liver fibrosis. This article reviews the role of miRNA in the process of liver fibrosis.

Keywords

MicroRNA, Liver Fibrosis, Hepatic Stellate Cells, Signal Pathway

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

肝纤维化是慢性肝病发展为肝硬化的中间阶段。各种因素(如病毒、乙醇、寄生虫、药物等)可导致慢性肝损伤的改变。主要的病理变化是肝组织受到各种刺激后进一步激活肝星状细胞(HSC), HSC 转化为肌成纤维细胞, 并大量分泌转化生长因子- β (TGF- β)、结缔组织生长因子(CTGF)等, 肝脏自身的这种自我修复过程进一步导致细胞外基质(ECM)的产生增加, 其主要由胶原蛋白和粘附蛋白组成, 降解减少, 从而可逆性破坏正常肝组织, 最终形成肝纤维化。miRNA 能够直接参与肝星状细胞的活化和凋亡, 促进或抑制肝纤维化的进程, 也可以通过调控纤维化相关信号通路间接地促进或抑制肝纤维化的发生发展。

2. miRNA 的生物学特性

自 1993 年 Lee 等[1]首次发现并命名 miRNA 以来, 微小 RNA 被陆续发现在植物、动物和病毒的基因表达中发挥着重要的作用, miRNAs 可参与到生命过程中的一系列重要进程, 包括早期胚胎发育、细胞增殖、细胞凋亡、细胞死亡、脂肪代谢, 甚至可通过 mRNAs 途径调节干细胞的分化。

miRNAs (microRNAs, 微小 RNA), 是一类长度在 21~22 个核苷酸的小 RNA 分子, 其主要特点是内源性单链非编码的单链小分子 RNA, 能够通过与其靶 mRNAs 特异性的碱基配对引起靶 mRNA 的降解或者抑制其翻译, 从而对基因进行转录后表达的调控[2]。miRNA 存在多种形式, 可分为初始 miRNA (pri-miRNA)、miRNA 前体(pre-miRNA)和成熟 miRNA (mtmiRNA)共 3 类, miRNA 的初级转录物通常由细胞核内的 RNA 多聚酶 II (PolII)转录成 pri-miRNA, 然后由 RNaseIII 内切酶 Drosha 在核内加工成 pre-miRNA, 并从核内导入胞质, 再经 RNaseIII 内切酶 Dicer 加工成为单链 mt-miRNA [3], 其引导链(成熟 miRNA)与 RNA 诱导沉默复合物(RISC)结合而产生作用。miRNA 由一段长度为 70~80 个核苷酸具有发夹环结构的 miRNA 前体(premiRNA)剪切后生成[4]。它通过与其目标 mRNA 分子的 3'端非编码区域(3'UTR)互补导致该 mRNA 分子的翻译受到抑制。miRNA 基因以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在于基因组中, 且大部分位于基因间区。它们的转录独立于其他基因, 不翻译成蛋白质, 但具有调节其他基因表达的能力、活动, 然后才能参与到生命过程中一系列重要的过程中。肝脏中含有丰富的 miRNA, 它们在由各种原因引起的肝脏损伤引起的肝脏感染性疾病中起着重要作用, 这其中就包括肝炎、肝纤维化和 HCC 等肝脏疾病[5]。除了在肝脏纤维化中表达增高, miRNAs 还在肾纤维化[6]、肺纤维化[7]及心肌纤维化[8]等进程中的表达增高。

3. miRNA 参与 HSCs 的活化、增殖和凋亡

HSCs 的激活是肝纤维化的关键环节, miRNA 可以直接参与对 HSCs 的正向或者逆向的调控, 从而

影响肝纤维化的发生发展。

有研究显示 miR-29b 可通过直接与 HSCs 的 I 型胶原蛋白基因的 3'-UTR 和特异性蛋白 1 基因的 3'-UTR 结合共同抑制 I 型胶原表达[9]。在一项体外研究中, miR-27a 和 miR-27b 的过表达导致 HSCs 的活化表型逆转为更静止的表型, 脂肪积累增加, 增殖减少[10]。miR-27a 和 miR-27b 的作用是通过调节 HSCs 中类视黄醇 X 受体来介导的。Zhang Z 等[11]分别对肝硬化患者和 TAA 或 CCl₄ 诱导的小鼠肝纤维化模型进行研究, 发现 miR-21 表达升高, 下调 miR-21 和 AP-1 的表达后, HSC 的表达明显受抑制, 纤维化程度好转。Yan 等[12]在 HSC 后的前 3 天和 10 天检测到 miR-34a 和转录因子 ACSL1 的表达水平绝对静止, miR-34a 沉默后 HSC 中 ACSL1 的表达显著高于 NC 和 NT 细胞($P < 0.05$), 证实 miR-34a 负向调节 ACSL1 的表达, 进而参与肝纤维化过程。基因微阵列试验后, 肝纤维化中 miR-150 的表达显著降低($P < 0.01$), miR-150 在 LX-2 细胞系中的高表达抑制了细胞增殖, 这意味着 miR-150 正在调节 HSC 细胞凋亡, 抑制肝纤维化中发挥着重要作用[13]。另外, 研究发现 miR-29 在人和小鼠肝纤维化组织和活化的 HSC 中显著下调。miR-29 类似物导入小鼠后可抑制 CCl₄ 诱导的小鼠肝纤维化, 并伴有平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、I 型胶原和金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP-1)的 α -下调。miR-29 在活化的 HSC 中过度表达, 可通过负性调节细胞周期蛋白 D1 (cyclinD1)和 P21 的表达来阻断 G1 期的细胞周期, 从而抑制细胞生长和分化, 抑制 HSC 的活化和诱导凋亡, 最终起到抑制肝纤维化的作用[14]。

4. miRNA 调节肝纤维化相关通路

肝纤维化是不同的病因引起的慢性肝损伤的结果, 包括病毒、自身免疫、药物诱导、胆汁淤积和代谢疾病。纤维化的机制受到多个信号通路的调节, 主要包括 TGF- β 信号通路、Wnt 信号通路、NF- κ B 信号及其他相关信号通路。

4.1. miRNA 通过 TGF- β /Smad 信号通路调控肝纤维化

TGF- β 是一类多功能蛋白, 主要在分子水平上调节细胞的生长和分化。其主要机制是激活 Smads 蛋白与膜受体结合并进入细胞核, 从而调节靶基因的转录并影响肝纤维化的进程。TGF- β /Smad 是肝纤维化的主要途径, 可抑制正常肝细胞的增殖, 刺激 HSCs 的活化, 促进 ECM 的形成和沉积; 该信号通路主要在肝纤维化的炎症和炎症后阶段发挥作用。炎症期 Kupffer 细胞被激活, 大量释放促因子 TGF- β 1、PDGF、EGF 等, 刺激活化的 HSC 转化为肌成纤维细胞; 在炎症后阶段, HSC 和肌成纤维细胞可分泌 TGF- β 1、TNF- α 等因子, 进一步促进自身活化[15]。在肝纤维化中, Smad 蛋白家族中的 Smad3 和 Smad4 蛋白可合体转位到细胞核中参与基因的调控, 具有促纤维化作用; 而 Smad2 和 Smad7 可以终止 TGF- β 的信号转导, 具有保护作用[16]。miR-20a-5p 的下调可降低 TGF- β 2 的活性, 增强 TGF- β 信号传导, 导致激活的巨噬细胞和 HSCs 产生 ECM, 促进肝纤维化的进展; 而 miR-20a-5p 的上调则会抑制细胞因子的释放, 抑制肝纤维化[17]。miR-30 主要对 TGF- β 信号通路靶基因产生阻抑作用, 通过抑制 HSCs 的活性, 来阻止肝纤维化的进展[18]。TGF- β 1 可诱导 miR-33a 的表达, 同时 miR-33a 通过靶作用于 smad7 又可反过来刺激由 TGF- β 1 诱导的 HSCs 的活化[19]。

4.2. miRNA 通过 Wnt 信号通路调控肝纤维化

Wnt 信号通路也在肝纤维化进程中发挥重要作用, 其信号通路成员包括 Wnt 蛋白、Dishevelled 蛋白、特异受体卷曲蛋白、 β -联蛋白以及 T 细胞因子(T cell factor, TCF)转录因子家族等构成。Wnt 是一类分泌型糖蛋白, 在细胞间有旁分泌和自分泌两种分泌方式。在肝纤维化过程中, 主要通过自分泌的方式, 由 HSCs 自分泌的方式释放到细胞外, Wnt 通过结合 HSCs 膜上的相关蛋白调节 HSC 的活化。Yu F 等[20]

在纤维化肝组织和活化的 HSC 中观察到 miR-378a-3p 表达降低。miR-378a-3p 的上调抑制 HSC 活化, 包括细胞增殖、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和胶原蛋白表达。此外, miR-378a-3p 过表达导致 Wnt/ β -catenin 通路失活。肝脏 miR-146a-5p 在纤维化脂肪性肝炎中下调, 但其靶基因 Wnt1 和 Wnt5a 及其随后的效应子 α -SMA 和 Col-1 显著上调。此外, 与静止的原代 HSC 相比, 激活的原代 HSCs 中 miR-146a-5p 下调, 而 Wnt1 和 Wnt5a 上调。miR-146a-5p 在 HSCs 中的过表达抑制了 HSC 的活化和增殖, 伴随着 Wnt1、Wnt5a、 α -SMA 和 Col-1 的表达降低。miR-146a-5p 通过靶向 Wnt1 和 Wnt5a 以及随后的效应子 α -SMA 和 Col-1, 在非酒精性纤维化脂肪性肝炎的进程中抑制 HSCs 的激活和增殖[21]。

4.3. miRNA 通过 NF- κ B 信号通路调控肝纤维化

NF- κ B 是一类核蛋白因子, 由 p50、p52、RelA (P65)、RelB 和 cRel 五个成员组成, 其形成同源二聚体或异二聚体, 是免疫反应、炎症和癌症的关键调节因子。NF- κ B 通过与 NF- κ B 抑制蛋白结合, 使自身处于抑制状态, 可通过降解 I κ Bs 的方式活化 NF- κ B, I κ Bs 可被 I κ Bs 激酶磷酸化, 活化的 NF- κ B 转移到细胞核内与 DNA 结合, 并作为转录因子发挥作用。有研究显示[22], 当 miR-126 在肝脏细胞中过表达时, 可显著抑制 I κ Ba 的表达, 激活 NF- κ B, 同时也使其下游信号分子表达增强。然而当 miR-126 在肝脏细胞中表达受到抑制时, I κ Ba 表达增加, 使 NF- κ B 的表达受到抑制, 进而促进肝纤维化的发生。miR-378a-3p 受 Smo 依赖性 NF- κ B 信号传导调节, 通过直接靶向 GLI 家族锌指蛋白 3 (Gli3), 减少的 Gli3 和促纤维化基因的表达, 抑制 HSC 的活化[23]。

4.4. 其他信号途径调控肝纤维化

除上述信号通路外, 还有其他信号途径如 Hh 信号途径、PI3K/AKT 通路、PDGFR 信号途径等通过不同的方式促进或抑制肝纤维化的发生。在活化的 HSCs 中, miR-378a-3p 的表达水平与 Hh 信号转导途径中锌指转录因子 Gli3 的表达呈负相关, miR-378a-3p 可通过靶向调节 Gli3 的活性, 影响 HSC 的增殖活化[23]。miR-182 在肝脏组织的纤维化进程中表达升高, 其升高与 FOXO1 关系密切, 当 miR-182 的表达增强和表达减弱的 FOXO1 共同通过 PI3K/AKT 信号通路调节肝纤维化细胞, 促进纤维化的发展发生[24]。有研究显示, miR-26b-5p 过表达影响了一系列与纤维化和血管生成相关的基因, miR-26b-5p 负调节 PDGFR- β 表达并减弱肝纤维化和血管生成, 这可能是肝纤维化的有效治疗策略[25]。

5. 结论

随着不断的研究深入, miRNA 在很多疾病的诊断治疗中展示着重要的作用, 但是在各种病因导致的肝纤维化中的研究仍在起始阶段。不同的 miRNA 参与肝纤维化的表达方式不同, 也就导致肝纤维化进展方向的不同。越来越多的研究表明 miRNA 可以用来作为预测、诊断及治疗疾病的标记物, 因此, 筛选出对肝纤维化进展极具影响的 miRNA, 了解其作用机制并针对其作用靶点进行基因层面的预防和治疗, 将对肝纤维化的临床治疗有着重要意义。

参考文献

- [1] Lee, R.C., Feinbaum, R.L. and Ambros, V. (1993) The *C. Elegans* Heterochronic Gene *Lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *Lin-14*. *Cell*, **75**, 843-854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y)
- [2] O'Donnell, K.A., Wentzel, E.A., Zeller, K.L., Dang, C.V. and Mendell, J.T. (2005) c-Myc-Regulated MicroRNAs Modulate E2F1 Expression. *Nature*, **435**, 839-843. <https://doi.org/10.1038/nature03677>
- [3] Hyun, J. and Jung, Y. (2016) MicroRNAs in Liver Fibrosis: Focusing on the Interaction with Hedgehog Signaling. *World Journal of Gastroenterology*, **22**, 6652-6662. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i29.6652>
- [4] Stark, A., Brennecke, J., Bushati, N., Russell, R.B. and Cohen, S.M. (2005) Animal MicroRNAs Confer Robustness to

- Gene Expression and Have a Significant Impact on 3'UTR Evolution. *Cell*, **123**, 1133-1146. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.11.023>
- [5] Boutz, D.R., Collins, P.J., Suresh, U., Lu, M., Ramírez, C.M., Fernández-Hernando, C., Huang, Y., Abreu Rde, S., Le, S.Y., Shapiro, B.A., Liu, A.M., Luk, J.M., Aldred, S.F., Trinklein, N.D., Marcotte, E.M. and Penalva, L.O. (2011) Two-Tiered Approach Identifies a Network of Cancer and Liver Disease-Related Genes Regulated by miR-122. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 18066-18078. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.196451>
- [6] 李羿, 赵洪雯, 申兵冰, 吴雄飞. microRNA 与肾间质纤维化的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(24): 4794-4797
- [7] 陈思, 高俊玲. Micro-RNA 在肺纤维化中的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(52): 66-67+71.
- [8] 谭文鹏. microRNA-133a 在心肌梗死大鼠心肌纤维化中的作用及机制[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [9] Ogawa, T., Iizuka, M., Sekiya, Y., Yoshizato, K., Ikeda, K. and Kawada, N. (2010) Suppression of Type I Collagen Production by MicroRNA-29b in Cultured Human Stellate Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **391**, 316-321. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.11.056>
- [10] Ji, J., Zhang, J., Huang, G., Qian, J., Wang, X. and Mei, S. (2009) Over-Expressed MicroRNA-27a and 27b Influence Fat Accumulation and Cell Proliferation during Rat Hepatic Stellate Cell Activation. *FEBS Letters*, **583**, 759-766. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.01.034>
- [11] Zhang, Z., Zha, Y., Hu, W., Huang, Z., Gao, Z., Zang, Y., Chen, J., Dong, L. and Zhang, J. (2013) The Autoregulatory Feedback Loop of MicroRNA-21/Programmed Cell Death Protein 4/Activation Protein-1 (MiR-21/PDCD4/AP-1) as a Driving Force for Hepatic Fibrosis Development. *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 37082-37093.
- [12] Yan, G., Li, B., Xin, X., Xu, M., Ji, G. and Yu, H. (2015) MicroRNA-34a Promotes Hepatic Stellate Cell Activation via Targeting ACSL1. *Medical Science Monitor*, **21**, 3008-3015. <https://doi.org/10.12659/MSM.894000>
- [13] Zheng, J., Lin, Z., Dong, P., Lu, Z., Gao, S., Chen, X., Wu, C. and Yu, F. (2013) Activation of Hepatic Stellate Cells Is Suppressed by MicroRNA-150. *International Journal of Molecular Medicine*, **32**, 17-24. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1356>
- [14] Wang, J., Chu, E.S., Chen, H.Y., Man, K., Go, M.Y., Huang, X.R., Lan, H.Y., Sung, J.J. and Yu, J. (2015) MicroRNA-29b Prevents Liver Fibrosis by Attenuating Hepatic Stellate Cell Activation and Inducing Apoptosis through Targeting PI3K/AKT Pathway. *Oncotarget*, **6**, 7325-7338. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2621>
- [15] 田甜, 马国珍, 廖志峰, 卢雨蓓. TGF- β -1、PDGF、CTGF 与肝纤维化发病机制的相关性研究进展[J]. 甘肃医药, 2014, 33(10): 740-742.
- [16] 付珍珠, 郑婷, 张永生. TGF- β /Smad 信号转导通路与肝纤维化研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(10): 1189-1195.
- [17] Fu, X., Qie, J., Fu, Q., Chen, J., Jin, Y. and Ding, Z. (2020) miR-20a-5p/TGFBR2 Axis Affects Pro-inflammatory Macrophages and Aggravates Liver Fibrosis. *Frontiers in Oncology*, **10**, Article No. 107. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00107>
- [18] Tu, X., Zheng, X., Li, H., Cao, Z., Chang, H., Luan, S., Zhu, J., Chen, J., Zang, Y. and Zhang, J. (2015) MicroRNA-30 Protects against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis by Attenuating Transforming Growth Factor Beta Signaling in Hepatic Stellate Cells. *Toxicological Sciences*, **146**, 157-169. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv081>
- [19] Huang, C.F., Sun, C.C., Zhao, F., Zhang, Y.D. and Li, D.J. (2015) miR-33a Levels in Hepatic and Serum after Chronic HBV-Induced Fibrosis. *Journal of Gastroenterology*, **50**, 480-490. <https://doi.org/10.1007/s00535-014-0986-3>
- [20] Yu, F., Fan, X., Chen, B., Dong, P. and Zheng, J. (2016) Activation of Hepatic Stellate Cells is Inhibited by MicroRNA-378a-3p via Wnt10a. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **39**, 2409-2420. Erratum in: *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2020, **54**, 1092. <https://doi.org/10.1159/000452509>
- [21] Du, J., Niu, X., Wang, Y., Kong, L., Wang, R., Zhang, Y., Zhao, S. and Nan, Y. (2015) MiR-146a-5p Suppresses Activation and Proliferation of Hepatic Stellate Cells in Nonalcoholic Fibrosing Steatohepatitis through Directly Targeting Wnt1 and Wnt5a. *Scientific Reports*, **5**, Article No. 16163. <https://doi.org/10.1038/srep16163>
- [22] Feng, X., Tan, W., Cheng, S., Wang, H., Ye, S., Yu, C., He, Y., Zeng, J., Cen, J., Hu, J., Zheng, R. and Zhou, Y. (2015) Upregulation of *MicroRNA-126* in Hepatic Stellate Cells May Affect Pathogenesis of Liver Fibrosis through the *NF- κ B* Pathway. *DNA and Cell Biology*, **34**, 470-480. <https://doi.org/10.1089/dna.2014.2760>
- [23] Hyun, J., Wang, S., Kim, J., Rao, K.M., Park, S.Y., Chung, I., Ha, C.S., Kim, S.W., Yun, Y.H. and Jung, Y. (2016) MicroRNA-378 Limits Activation of Hepatic Stellate Cells and Liver Fibrosis by Suppressing Gli3 Expression. *Nature Communications*, **7**, Article No. 10993. <https://doi.org/10.1038/ncomms10993>
- [24] Huang, Y., Fan, X., Tao, R., Song, Q., Wang, L., Zhang, H., Kong, H. and Huang, J. (2018) Effect of miR-182 on Hepatic Fibrosis Induced by Schistosomiasis Japonica by Targeting *FOXO1* through *PI3K/AKT* Signaling Pathway.

Journal of Cellular Physiology, **233**, 6693-6704. <https://doi.org/10.1002/jcp.26469>

- [25] Yang, L., Dong, C., Yang, J., Yang, L., Chang, N., Qi, C. and Li, L. (2019) MicroRNA-26b-5p Inhibits Mouse Liver Fibrogenesis and Angiogenesis by Targeting PDGF Receptor-Beta. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, **16**, 206-217.