

miR-21在非酒精性脂肪肝病中的研究进展

彭冉, 郭巧, 高韬, 柯大智*

重庆医科大学附属第二医院全科医学科, 重庆

收稿日期: 2022年11月21日; 录用日期: 2022年12月19日; 发布日期: 2022年12月26日

摘要

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是最常见的慢性肝病之一, 早期症状隐匿, 疾病发展后期可严重危害人体健康。微小RNA(miRNA)是一种由少量核苷酸组成的非编码RNA, 在多种生物过程中发挥重要作用。微小RNA-21(miR-21)与NAFLD的发生发展有着紧密联系。目前, NAFLD的发病机制尚不清楚, 临床上缺乏特异性的早期诊断方法。本文就miR-21在NAFLD发生发展中的作用机制进行综述, 并探讨其在NAFLD早期诊断中的价值。

关键词

非酒精性脂肪性肝病, 微小RNA, 发病机制, 早期诊断, 文献综述

Research Progress of miR-21 in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

Ran Peng, Qiao Guo, Tao Gao, Dazhi Ke*

¹Department of General Practice, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Nov. 21st, 2022; accepted: Dec. 19th, 2022; published: Dec. 26th, 2022

Abstract

Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is one of the most common chronic liver diseases in the world. The early symptoms are occult and the later stages of disease development can seriously harm human health. At present, the specific pathogenesis of NAFLD is not clear, and there is a lack of specific clinical early diagnosis methods. MicroRNAs (miRNAs) are non-coding RNAs composed of a small number of nucleotides that play an important role in a variety of biological processes. Previous studies have shown that MicroRNA-21 (miR-21) is closely related to the occurrence and

*通讯作者。

development of NAFLD. This paper reviews the mechanism of miR-21 in the occurrence and development of NAFLD, and discusses its value in the early diagnosis of NAFLD.

Keywords

Nonalcoholic Fatty Liver Disease, miRNA, Pathogenesis, Early Diagnosis, Review

Copyright © 2022 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. 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指由非病毒、非遗传和非酒精因素引起肝脂肪变性的一组疾病,其疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝脏纤维化、相关肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。NAFLD与糖尿病、肥胖、高脂血症和高血压等代谢紊乱密切相关[1]。在西方国家,NAFLD已经超过病毒性肝炎,成为慢性肝病的首位发病原因;而在亚洲地区,非酒精性脂肪性肝病的发病率也有所增加[2]。

NAFLD的发病机制复杂,目前尚未完全阐明,且其早期症状隐匿,多数患者于健康体检时偶然发现。当NAFLD患者出现明显症状时,疾病大多已进展至后期阶段,治疗代价大大增加。目前NAFLD的诊断金标准为肝脏活检,而无创的影像学诊断方法包括超声、核磁共振等在临床应用过程中均存在一定局限性。因此,探索NAFLD的发病机制,寻找新的NAFLD早期诊断指标有着重要意义。

由于通过外周血清标志物检测具有创伤小、操作简单、可重复性强等优点,对于外周血清学标志物的研究,尤其是对于细胞外游离微RNA(microRNA, miRNA)在NAFLD中作用机制的研究成为大家所关注的热点。其中,miR-21已被证实与NAFLD的发生发展有着密切联系。故本文旨在就miR-21对NAFLD发生与发展中的作用机制进行综述,以探讨miR-21在NAFLD的早期诊断的潜在价值。

2. miR-21的结构与功能

miRNA最早于1993年在秀丽隐杆线虫中被发现[3],是一种由约22个核苷酸组成的非编码RNA,通过信使RNA在转录后水平调节基因表达,在肢体发育、细胞分化和细胞炎症反应等多种生物过程中发挥重要作用[4][5][6]。miRNA可以通过与蛋白质复合物结合,由凋亡小体将其整合到脂蛋白复合物中,或与膜蛋白相互作用形成微泡,从分泌体中的细胞中分泌出来,游离的miRNA通过从细胞中自然渗漏或作为坏死细胞的产物进入循环[7]。由于膜囊泡和蛋白质/脂蛋白复合物的存在,miRNA可以在血液中避开细胞外RNA酶的作用,在外周体液环境中稳定存在,是一种相对容易获得的生物标志物。

miR-21是第一个在人类染色体中发现的miRNA[8],其编码基因位于编码跨膜蛋白49的内含子基因TMEM49区域内的染色体17q23.2上[9]。已有研究表明,miR-21广泛表达于包括肝脏在内的各种人体组织中[10]。Loyer等发现,与健康对照组相比,miR-21在NASH患者的肝脏中表达上调[11];Zhang等认为由miR-21介导的miR-21/PDCD4/AP-1自调节反馈环是肝纤维化进展的主要驱动力[12];亦有研究发现miR-21在包括肝细胞癌在内的多种恶性肿瘤中表达升高[13][14][15]。越来越多的证据表明,miR-21在NAFLD的发生发展中发挥着一定作用。

3. miR-21 与 NAFLD 的关系

3.1. miR-21 与肝细胞脂肪化

肝脏中脂肪的过度积累是 NAFLD 的早期特征。既往研究表明, 固醇调节元件结合蛋白(Sterol Regulatory Element-Binding Proteins, SREBPs)的持续激活以及过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome Proliferator-Activated Receptors, PPARs)的表达降低均可刺激线粒体脂肪酸的氧化, 从而促进 NAFLD 的疾病进展[16]。在机制上, HMG 盒转录因子 1 (HMG-box transcription factor 1, HBP1)是 miR-21 的直接作用靶点, 它可激活 p53 的转录从而抑制固醇调节元件结合蛋白-1C (Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1C, SREBP1C)的表达, 进而抑制脂质的生成; miR-21 正是通过抑制 HBP1 的表达, 反向调节 HBP1-p53-Srebp1c 通路, 在一定程度上促进肝脂质积累[17]。Calo 等通过动物实验发现, 肝细胞 miR-21 在正常生理条件下保持非活跃状态, 当通过高脂饲料喂养造成代谢压力时, miR21 被激活, 促进肝脏脂肪变性和胰岛素抵抗的发展, 并阻碍糖异生。敲除 miR-21 可诱导 p53 转录, 调节细胞周期转变的基因表达, 从而降低脂肪生成。该团队在进一步的研究中发现, 肝细胞中的 miR-21 可通过调节叉头盒蛋白 O1 (Forkhead box, Foxo1)、胰岛素诱导基因 2 (Insulin Induced Gene 2, Insig2)、信号转导及转录激活子 3 (Signal Transduction and Activator of Transcription 3, STAT3)和肝细胞核因子 4- α (Hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4- α)来对特定因素的 mRNA 产生抑制作用[18]。此种作用或可预防致肥性饮食小鼠的葡萄糖耐受不良和脂肪变。国内学者在小鼠实验中发现在 NAFLD 的肝组织中 miR-21 对 PPAR- γ 基因表达也有调节作用[19]。Zhang 等在患有 NASH 的小鼠和人类中同样发现 PPAR γ 的水平与 miR-21 的水平负相关, 在进一步研究中, 该团队证实 PPAR γ 作为一种转录因子, 可通过抑制 miR-21-5p 基因启动子的转录活性, 进而增强 SFRP5 基因的表达, 从而抑制肝脏脂肪积聚、肝脏炎症和氧化应激[20]。

3.2. miR-21 与肝纤维化

肝纤维化是肝脏的一种慢性损伤过程, 其特征在于肝星状细胞(Hepatic stellate cells, HSC)的活化、细胞外基质的过度沉积, 肝脏结构以及正常功能被破坏, 最终导致肝硬化[21]。既往文献报道 miR-21 能促进肌肉和各种器官(包括心脏、肾脏、肺和肝脏)的纤维生成[22]。在机制上, miR-21 促进成纤维细胞的激活和细胞外基质蛋白(即胶原和纤维连接蛋白)的沉积, 启动转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/Sma 和 Mad 同源物蛋白(Smad)信号通路, 通过与靶细胞的受体结合, 刺激包括肝脏在内的不同器官的组织纤维化[23] [24]; 经典的 TGF- β 1/Smad 信号通路参与 HSC 活化的每一步[25], TGF- β 1 通过与受体结合形成 T β RII-TGF- β 1-t β 异寡聚物, 启动细胞内信号转导。活化的 T β RI 激活下游分子 Smad2 和 Smad3, 导致 Smad2 和 Smad3 磷酸化。被激活的 Smad2 和 Smad3 与 Smad4 形成寡聚物并转移到细胞核中, 并调节促纤维化基因如缔结组织生长因子(Connective Tissue Growth Factor, CTGF)、基质金属蛋白酶抑制剂-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, TIMP-1)、I 型胶原 α 1 (Collagen type I α 1, COL1A1)和基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的表达[26] [27] [28]。此外, miR-21 还可以通过蛋白酪氨酸磷酸酶(PTEN)/磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路[29]、程序性细胞死亡 4 (programmed cell death 4, PDCD4)/转录因子激活蛋白 1 (AP-1) [11]等促进细胞氧化, 增加胶原蛋白的生成。

Min 等发现在 NAFLD 小鼠的肝脏组织标本中, 盐皮质激素受体(mineralocorticoid receptor, MR)/骨桥蛋白(osteopontin, OPN)/高迁移率族蛋白 1 (high-mobility group box-1, HMGB1)轴显著上调, 同时促纤维化标志物 α -肌动蛋白-2 (actin alpha 2, ACTA2)、TIMP-1、TGF- β 1 和 COL1A1 的表达增强。在 NAFLD 患者的肝组织中也能观察到同样的变化。该团队在进一步的体外实验中发现。MR 在高脂饮食诱导的 HSCs 纤维化过程中起重要作用。同时, MR 作为 OPN 的上游效应介体, 与 OPN 共享下游的 HMGB1 [30]。

Wu 等为研究 miR-21 水平与肝纤维化程度的关系, 分别检测了健康人群与肝硬化患者的 miR-21 水平[31]。结果显示肝硬化患者的 miR-21 水平升高与肝纤维化的严重程度和活性相关。如果能结合临床上肝硬化患者的相关实验室检查指标及相关患者院外随访数据, miR-21 或可作为一个重要的血清标志物来评估肝纤维化程度及其预后。

3.3. miR-21 与肝恶性肿瘤

miR-21 是一种具有致癌基因或肿瘤抑制基因功能的 miRNA, 在人类实体恶性肿瘤中通常处于上调状态。既往有研究发现 miR-21 的上调促进 HCC 的进展[15]。在一项针对超 500 例人实体肿瘤样本(包括肺, 乳腺, 胃, 前列腺, 结肠和胰腺肿瘤样本)的大规模研究中, 研究者们发现 miR-21 的过表达现象, 并认为该 miRNA 与肿瘤有着明显的相关性[32]。Yuan 等发现 miRNA-21 可以通过将 HSCs 转化为癌症相关成纤维细胞(CAFs)促进肿瘤进展: HCC 细胞分泌的 miRNA-21 可直接靶向 PTEN, 激活 HSCs 中丙酮酸脱氢酶激酶 1 (PDK1)/AKT 信号通路, 然后活化的 CAFs 通过分泌血管生成多种细胞因子促进肝细胞癌的进展, 包括血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、金属蛋白酶-9 (MMP-9)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和转化生长因子- β (TGF- β)等[33]。Zhu 等发现 miR-21 可通过 miR-21/程序性细胞死亡 4 (programmed cell death 4, PDCD4)/转录因子激活蛋白 1 (AP-1)反馈环参与肝癌的迁移与侵袭[34]。此外, 也有 miR21 通过抑制 Kruppel 样因子 5 (KLF5)的表达而促进肝细胞癌的细胞迁移和侵袭的报道[35]。

Yoon 等收集约 100 名 HCC 患者的肿瘤与邻近非肿瘤肝组织, 并分析其 miRNAs 的表达, 结果显示 miR-21 在肿瘤组织中表达显著上调且 miR-21 的过表达与肿瘤进程显著相关[36]。考虑到肿瘤组织中 miR-21 的异常表达可以反映血清中 miR-21 的表达情况, miR-21 水平或许与疾病严重程度相关, 血清 miR-21 或可作为 HCC 诊断和预后的一个指标。TWagenaar 等在两个独立的肝癌肿瘤异种移植模型中, 使用特异性的 miR-21 单链寡核苷酸抑制剂(anti-miR-21)抑制肝癌生长。该研究团队认为, miR-21 可能是药物干预肿瘤治疗的突破点之一[37]。

4. miR-21 在 NAFLD 早期阶段的诊断价值

miR-21 在不同类型的肝脏疾病中发挥着重要作用。同时, 其高度稳定、在循环中易于检测等特点[20][38], 都使得 miR-21 具有成为新型生物标志物的潜力。实际上, 很多学者已经在该领域进行了大量研究。

Yamada 等在一项纳入 403 名健康检查人员的横断面研究中, 使用超声扫描评估参与者肝内脂肪, 并通过实时定量 PCR 检测参与者血清中的 miRNA 水平, 发现 NAFLD 患者血清中的 miR-21 水平较无 NAFLD 者更高[39]。Becker 等收集了 137 名 NAFLD 患者在进行治疗之前的血样, 并测定其血清 miRNA 水平, 将之与 61 名健康对照者进行比较, 得到了与 Yamada 等人相似的结果[40]。但是, 也有 miR-21 作为 NAFLD 分期的诊断标志物产生相反结果的报导[41]。这种差异被 Zhang 等人关注, 该团队 2021 年的一项荟萃分析共纳入 14 篇出版物的 1589 名受试者, 通过筛选并结合相关文献, 对 miR-21 在 HCC 早期诊断中的整体诊断价值进行评价。结果表明 miR-21 在 HCC 中具有很高的诊断潜力。其敏感性、特异性、PLR、NLR 和 AUC 分别为 0.83 (0.77~0.88)、0.80 (0.74~0.85)、4.12 (3.04~5.57)、0.21 (0.15~0.30)和 0.88 (0.85~0.91) [42]。

但需值得注意的是, miR-21 并非一种仅在肝脏表达的 miRNA。miR-21 在人体的其他组织中亦有着广泛的表达, 如心脏、肾脏、神经细胞以及免疫细胞等[10]。miR-21 循环水平的升高不仅见于肝脏疾病, 比如 miR21 也被认为是许多其他疾病的生物标志物, 包括恶性肿瘤、肾纤维化以及糖尿病[43]。

综合来看, 血清 miR-21 是有作为 NAFLD 早期诊断的生物标志物的潜力, 但由于缺乏标准统一的检验程序及方法, 此检验手段距离临床应用还有一定的差距。

5. 结语

许多研究已经证实, miR-21 在 NAFLD 发生发展过程中发挥重要作用, 或可成为一种新型生物标志物用于早期诊断 NAFLD。但要广泛应用于临床, 仍需进一步深入研究。

利益冲突

所有作者均申明不存在利益冲突。

基金项目

重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0320), 重庆市渝中区基础研究与前沿探索项目(20190117)。

参考文献

- [1] 中华医学会内分泌学分会. 非酒精性脂肪性肝病与相关代谢紊乱诊疗共识(第二版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(10): 2103-2108.
- [2] Li, J., Zou, B., Yeo, Y.H., Feng, Y., Xie, X., Lee, D.H., *et al.* (2019) Prevalence, Incidence, and Outcome of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Asia, 1999-2019: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, **4**, 389-398. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30039-1](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30039-1)
- [3] 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)
- [4] Iaquina, M.R., Lanzillotti, C., Mazziotta, C., Bononi, I., Frontini, F., Mazzoni, E., *et al.* (2021) The Role of microRNAs in the Osteogenic and Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells and Bone Pathologies. *Theranostics*, **11**, 6573-6591. <https://doi.org/10.7150/thno.55664>
- [5] Nowosad, K., Hordyjewska-Kowalczyk, E. and Tylzanowski, P. (2020) Mutations in Gene Regulatory Elements Linked to Human Limb Malformations. *Journal of Medical Genetics*, **57**, 361-370. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2019-106369>
- [6] Huang, P., He, X.-Y. and Xu, M. (2020) The Role of miRNA-146a and Proinflammatory Cytokines in Carotid Atherosclerosis. *BioMed Research International*, **2020**, Article ID: 6657734. <https://doi.org/10.1155/2020/6657734>
- [7] Kondkar, A.A. and Abu-Amero, K.K. (2015) Utility of Circulating microRNAs as Clinical Biomarkers for Cardiovascular Diseases. *BioMed Research International*, **2015**, Article ID: 821823. <https://doi.org/10.1155/2015/821823>
- [8] Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W. and Tuschl, T. (2001) Identification of Novel Genes Coding for Small Expressed RNAs. *Science*, **294**, 853-858. <https://doi.org/10.1126/science.1064921>
- [9] Surina, S., Fontanella, R.A., Scisciola, L., Marfella, R., Paolisso, G. and Barbieri, M. (2021) miR-21 in Human Cardiomyopathies. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, **8**, Article ID: 767064. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.767064>
- [10] Ludwig, N., Leidinger, P., Becker, K., Backes, C., Fehlmann, T., Pallasch, C., *et al.* (2016) Distribution of miRNA Expression across Human Tissues. *Nucleic Acids Research*, **44**, 3865-3877. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw116>
- [11] Loyer, X., Paradis, V., Héniq, C., Vion, A.-C., Colnot, N., Guerin, C.L., *et al.* (2016) Liver microRNA-21 Is Overexpressed in Non-Alcoholic Steatohepatitis and Contributes to the Disease in Experimental Models by Inhibiting PPAR α Expression. *Gut*, **65**, 1882-1894. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308883>
- [12] Zhang, Z., Zha, Y., Hu, W., Huang, Z., Gao, Z., Zang, Y., *et al.* (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. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.517953>
- [13] Tang, J., Li, X., Cheng, T. and Wu, J. (2021) miR-21-5p/SMAD7 Axis Promotes the Progress of Lung Cancer. *Thoracic Cancer*, **12**, 2307-2313. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.14060>
- [14] Arghiani, N. and Matin, M.M. (2021) miR-21: A Key Small Molecule with Great Effects in Combination Cancer Therapy. *Nucleic Acid Therapeutics*, **31**, 271-283. <https://doi.org/10.1089/nat.2020.0914>
- [15] Hong, Y., Ye, M., Wang, F., Fang, J., Wang, C., Luo, J., *et al.* (2021) MiR-21-3p Promotes Hepatocellular Carcinoma Progression SMAD7/YAP1 Regulation. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 642030. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.642030>

- [16] Parlati, L., Régnier, M., Guillou, H. and Postic, C. (2021) New Targets for NAFLD. *JHEP Reports*, **3**, Article ID: 100346. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100346>
- [17] Wu, H., Ng, R., Chen, X., Steer, C.J. and Song, G. (2016) MicroRNA-21 Is a Potential Link between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma via Modulation of the HBP1-p53-Srebp1c Pathway. *Gut*, **65**, 1850-1860. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308430>
- [18] Calo, N., Ramadori, P., Sobolewski, C., Romero, Y., Maeder, C., Fournier, M., *et al.* (2016) Stress-Activated in Hepatocytes Promotes Lipid and Glucose Metabolic Disorders Associated with High-Fat Diet Consumption. *Gut*, **65**, 1871-1881. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310822>
- [19] 赵晓云, 邵凯. 微小 RNA-21 在胰岛素抵抗和糖尿病伴发非酒精性脂肪肝发病中的作用[J]. 中国医学科学院学报, 2016, 38(2): 144-149.
- [20] Zhang, X., Deng, F., Zhang, Y., Zhang, X., Chen, J. and Jiang, Y. (2021) PPAR γ Attenuates Hepatic Inflammation and Oxidative Stress of Non-Alcoholic Steatohepatitis via Modulating the miR-21-5p/SFRP5 Pathway. *Molecular Medicine Reports*, **24**, Article No. 823. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12463>
- [21] Oh, C.J., Kim, J.-Y., Min, A.-K., Park, K.-G., Harris, R.A., Kim, H.-J., *et al.* (2012) Sulforaphane Attenuates Hepatic Fibrosis via NF-E2-Related Factor 2-Mediated Inhibition of Transforming Growth Factor- β /Smad Signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, **52**, 671-682. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.012>
- [22] Mishra, P.J. and Bertino, J.R. (2009) MicroRNA Polymorphisms: The Future of Pharmacogenomics, Molecular Epidemiology and Individualized Medicine. *Pharmacogenomics*, **10**, 399-416. <https://doi.org/10.2217/14622416.10.3.399>
- [23] Fabregat, I. and Caballero-Díaz, D. (2018) Transforming Growth Factor- β -Induced Cell Plasticity in Liver Fibrosis and Hepatocarcinogenesis. *Frontiers in Oncology*, **8**, Article 357. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00357>
- [24] Zhou, X.-L., Xu, H., Liu, Z.-B., Wu, Q.-C., Zhu, R.-R. and Liu, J.-C. (2018) miR-21 Promotes Cardiac Fibroblast-to-Myofibroblast Transformation and Myocardial Fibrosis by Targeting Jagged1. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **22**, 3816-3824. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13654>
- [25] Friedman, S.L. (2008) Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis. *Gastroenterology*, **134**, 1655-1669. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.003>
- [26] Derynck, R. and Zhang, Y.E. (2003) Smad-Dependent and Smad-Independent Pathways in TGF- β Family Signalling. *Nature*, **425**, 577-584. <https://doi.org/10.1038/nature02006>
- [27] He, X., Xie, J., Zhang, D., Su, Q., Sai, X., Bai, R., *et al.* (2015) Recombinant Adeno-Associated Virus-Mediated Inhibition of microRNA-21 Protects Mice Against the Lethal Schistosome Infection by Repressing Both IL-13 and Transforming Growth Factor Beta 1 Pathways. *Hepatology* (Baltimore, MD), **61**, 2008-2017. <https://doi.org/10.1002/hep.27671>
- [28] Nakao, A., Afrakhte, M., Morén, A., Nakayama, T., Christian, J.L., Heuchel, R., *et al.* (1997) Identification of Smad7, a TGF β -Inducible Antagonist of TGF-Beta Signalling. *Nature*, **389**, 631-635. <https://doi.org/10.1038/39369>
- [29] Jarman, E.J. and Boulter, L. (2020) Targeting the Wnt Signaling Pathway: The Challenge of Reducing Scarring without Affecting Repair. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, **29**, 179-190. <https://doi.org/10.1080/13543784.2020.1718105>
- [30] Tang, M., Jia, H., Chen, S., Yang, B., Patpur, B.K., Song, W., *et al.* (2021) Significance of MR/OPN/HMGB1 Axis in NAFLD-Associated Hepatic Fibrogenesis. *Life Sciences*, **264**, Article ID: 118619. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118619>
- [31] Wu, K., Ye, C., Lin, L., Chu, Y., Ji, M., Dai, W., *et al.* (2016) Inhibiting miR-21 Attenuates Experimental Hepatic Fibrosis by Suppressing Both the ERK1 Pathway in HSC and Hepatocyte EMT. *Clinical Science* (Lond), **130**, 1469-1480. <https://doi.org/10.1042/CS20160334>
- [32] Volinia, S., Calin, G.A., Liu, C.-G., Ambs, S., Cimmino, A., Petrocca, F., *et al.* (2006) A microRNA Expression Signature of Human Solid Tumors Defines Cancer Gene Targets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 2257-2261. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510565103>
- [33] Zhou, Y., Ren, H., Dai, B., Li, J., Shang, L., Huang, J., *et al.* (2018) Hepatocellular Carcinoma-Derived Exosomal miRNA-21 Contributes to Tumor Progression by Converting Hepatocyte Stellate Cells to Cancer-Associated Fibroblasts. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **37**, Article No. 324. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0965-2>
- [34] Zhu, Q., Wang, Z., Hu, Y., Li, J., Li, X., Zhou, L., *et al.* (2012) miR-21 Promotes Migration and Invasion by the miR-21-PDCD4-AP-1 Feedback Loop in Human Hepatocellular Carcinoma. *Oncology Reports*, **27**, 1660-1668. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1682>
- [35] Wang, J., Chu, Y., Xu, M., Zhang, X., Zhou, Y. and Xu, M. (2019) miR-21 Promotes Cell Migration and Invasion of Hepatocellular Carcinoma by Targeting KLF5. *Oncology Letters*, **17**, 2221-2227. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9843>

-
- [36] Yoon, J.S., Kim, G., Lee, Y.R., Park, S.Y., Tak, W.Y., Kweon, Y.-O., *et al.* (2018) Clinical Significance of microRNA-21 Expression in Disease Progression of Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Biomarkers in Medicine*, **12**, 1105-1114. <https://doi.org/10.2217/bmm-2018-0096>
- [37] Wagenaar, T.R., Zabludoff, S., Ahn, S.-M., Allerson, C., Arlt, H., Baffa, R., *et al.* (2015) Anti-miR-21 Suppresses Hepatocellular Carcinoma Growth via Broad Transcriptional Network Deregulation. *Molecular Cancer Research*, **13**, 1009-1021. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-14-0703>
- [38] Arrese, M., Eguchi, A. and Feldstein, A.E. (2015) Circulating microRNAs: Emerging Biomarkers of Liver Disease. *Seminars in Liver Disease*, **35**, 43-54. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1397348>
- [39] Yamada, H., Suzuki, K., Ichino, N., Ando, Y., Sawada, A., Osakabe, K., *et al.* (2013) Associations between Circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and Non-Alcoholic Fatty Liver. *Clinica Chimica Acta*, **424**, 99-103. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.05.021>
- [40] Becker, P.P., Rau, M., Schmitt, J., Malsch, C., Hammer, C., Bantel, H., *et al.* (2015) Performance of Serum microRNAs-122, -192 and -21 as Biomarkers in Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis. *PLOS ONE*, **10**, e0142661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142661>
- [41] Sun, C., Huang, F., Liu, X., Xiao, X., Yang, M., Hu, G., *et al.* (2015) miR-21 Regulates Triglyceride and Cholesterol Metabolism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease by Targeting HMGCR. *International Journal of Molecular Medicine*, **35**, 847-853. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2076>
- [42] Zhang, H., Ding, R. and Chen, D. (2021) Value of miR-21 Levels as Potential Biomarkers in the Early Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis. *Biomarkers*, **26**, 586-597. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2021.1955976>
- [43] Jenike, A.E. and Halushka, M.K. (2021) miR-21: A Non-Specific Biomarker of All Maladies. *Biomarker Research*, **9**, Article No. 18. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00272-1>