

• 综 述 •

非酒精性脂肪性肝病中 miRNA 的功能及临床研究进展*

徐 芸, 杨天文 综述, 左 新[△] 审校
重庆市第六人民医院消化内科, 重庆 400060

摘 要: 非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 目前已成为导致慢性肝病的最重要病因, 其致病机制十分复杂。微小核糖核酸 (miRNA) 是分布十分广泛的非编码 RNA, miRNA 在包括 NAFLD 在内的多种慢性肝病的致病及进展中发挥着重要的调控作用, 甚至可能作为肝脏疾病的诊断指标甚至治疗靶点。作为无创生物学指标, 大量的研究数据显示 miRNA 在 NAFLD 的诊断及预后中有重要临床价值。该文针对 miRNA 在 NAFLD 中的致病机制及临床诊疗价值的相关研究进展做一综述。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 微小核糖核酸; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.15.016

中图法分类号: R575.5

文章编号: 1673-4130(2024)15-1883-04

文献标志码: A

Advances in the function and clinical study of miRNA in nonalcoholic fatty liver disease*

XU Yun, YANG Tianwen, ZUO Xin[△]

Department of Gastroenterology, the Sixth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400060, China

Abstract: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become the most important cause of chronic liver disease, and its pathogenic mechanism is very complex. microRNA (miRNA) are widely distributed non-coding RNA. miRNA play an important regulatory role in the pathogenesis and progression of various chronic liver diseases, including NAFLD, and may even be used as diagnostic indicators or even therapeutic targets for liver diseases. As a non-invasive biological indicator, a large number of research data show that miRNA has important clinical value in the diagnosis and prognosis of NAFLD. This article provides a review of the research progress related to the pathogenic mechanism and clinical diagnostic value of miRNA in NAFLD.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease; microRNA; prognosis

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是常见的慢性肝病, 且随着人们经济生活水平的改善及肥胖患者增多, NAFLD 目前已成为导致慢性肝病的最重要病因, 带来了严重的卫生及社会负担^[1]。全世界范围内 NAFLD 的患病率超过 25%, 且肥胖人群中 NAFLD 发病率更高^[2]。随着我国肥胖、代谢综合征及 2 型糖尿病 (T2DM) 人群基数的不断增多, NAFLD 的发病率也呈逐年增高趋势^[3]。NAFLD 主要表现为在无过量饮酒史的情况下出现肝细胞大泡样脂肪变性, 其自然史病程包括单纯性脂肪肝、非酒精脂肪性肝炎 (NASH) 及脂肪性肝纤维化等阶段。在欧美国家, NAFLD 目前也逐渐替代病毒性肝炎, 成为导致肝硬化及肝细胞癌的最重要原因。肝脏组织中的脂肪浸润及其所致的慢性炎症是导致 NAFLD 致病的最核心因素, 但其具体的分子生物学调控机制十分复杂, 目前仍未完全阐明^[4]。微小核糖核酸 (miRNA) 是广泛存在于人体内的不具有编码功能的单链小 RNA, 其主要通过结合靶基因的 3'-非编码区 (3'-UTR), 来

发挥抑制靶基因转录及表达的作用, 参与对人体内各种生理病理过程的调控^[5]。有大量的研究证据显示, miRNA 在包括 NAFLD 在内的多种慢性肝病的致病及进展中发挥着重要的调控作用, 特定 miRNA 的异常表达甚至可能作为肝脏疾病的诊断指标甚至治疗靶点^[6-7]。基于此, 本文针对 miRNA 在 NAFLD 中的致病机制及临床诊疗价值的相关研究进展进行了简要综述, 以求为临床提供参考。

1 miRNA 参与对 NAFLD 致病及进展的调控

NAFLD 是难以治愈的慢性肝病, 其致病及慢性化的机制十分复杂, 肝脏中过量的脂肪浸润及其所导致的慢性炎症损害是影响 NAFLD 发生及发展的关键。而 NAFLD 进展为 NASH、肝纤维及肝硬化等阶段, 则涉及肝脏中多种免疫调控细胞及信号通路的激活^[8]。在这方面, 国内外大量的研究也积累了一定的证据。一方面, 不同的特异性 miRNA 可能通过调节共同的靶基因及信号通路来参与对 NAFLD 致病及进展的调控。Sirt-1 蛋白属于 Sirtuin 蛋白家族, 是一

* 基金项目: 重庆市科卫联合面上项目 (2022MSXM130); 重庆市南岸区科技计划项目 (2020NAKJ04)。

[△] 通信作者, E-mail: zuozuo201007@163.com。

种烟酰胺腺苷二核苷酸依赖性脱乙酰酶,可从许多组蛋白和非组蛋白中去除乙酰基^[9]。大量的研究证据证实,Sirt-1 在调节肝脏内脂类代谢平衡中起着至关重要的作用^[10]。如 YANG 等^[11]的研究发现,NAFLD 患者及相应模型小鼠肝组织中的 miRNA-22 的表达均存在显著升高,同时 Sirt-1 蛋白的表达则显著降低。机制分析显示,miRNA-22 能够靶向结合 SIRT-1 的 3'-UTR,并抑制 SIRT-1 的表达,从而导致肝脏内脂肪代谢紊乱,引起脂肪过量蓄积及相关的炎症。研究结果也提示了 miRNA-22 在 NAFLD 的发生过程中发挥着重要的调控作用。WANG 等^[12]的研究也发现,NAFLD 模型动物的肝脏中也存在 miRNA-34a 表达显著升高,同时伴随有肝细胞内甘油三酯(TG)过度蓄积及 Sirt-1 蛋白水平降低。同时,机制分析显示,miRNA-34a 也可以与 SIRT-1 的 3'-UTR 结合来直接抑制 SIRT-1 的表达,通过沉默 miRNA-34a 则可以增高 SIRT-1 的表达,并改善肝细胞内过量的 TG 蓄积情况。LONG 等^[13]研究也发现,在 NAFLD 患者的肝脏组织及高脂环境培养的 HepG2 细胞系中均存在脂质过量蓄积,同时伴有 miRNA-122 表达升高及 Sirt-1 表达降低。机制分析显示 miRNA-122 可以结合 SIRT-1 的 3-UTR 从而抑制 Sirt-1 的表达,从而经由调节 Sirt-1 的表达来达到调节脂质代谢及引起 NAFLD 的作用。

另一方面,NAFLD 作为难以治愈的慢性肝病,致病机制十分复杂,而特异性 miRNA 也可以通过多种信号通路途径来参与 NAFLD 的致病。如 YANG 等^[14]的研究发现,高脂饮食喂养的小鼠肝脏组织中的 miRNA-29a 存在显著的表达升高,同时糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)蛋白水平及其 mRNA 表达则存在显著降低。GSK-3 β 蛋白是糖原合成过程的关键调控酶之一,在肝脏内糖原代谢方面具有重要调控作用。机制分析显示,miRNA-29a 可以抑制 GSK-3 β 的表达,从而影响肝脏内糖原代谢过程,加重脂肪的蓄积,引起 NAFLD。WANG 等^[15]在 NAFLD 患者、高脂饮食小鼠和游离脂肪酸处理的 HepG2 细胞或小鼠原代肝细胞中发现,miRNA-20a-5p 的表达水平显著降低,而肝细胞中脂质沉积显著增加。机制分析也显示,miRNA-20a-5p 可以通过结合 CD36 的 3'-UTR 来靶向抑制其表达,从而发挥上述作用。CD36 本身是肝细胞表面的脂肪酸受体,其参与了肝细胞对脂肪酸的摄取,在脂质的代谢中有重要的调控作用^[16]。LIU 等^[17]研究显示,在肥胖小鼠模型的肝脏组织中,miRNA-188 的表达水平显著升高,且异常表达的 miRNA-188 还加重了动物模型肝脏的脂肪变性和胰岛素抵抗。机制研究也显示,自噬相关基因 12 (Atg12)是 miRNA-188 的靶向调节基因,Atg12 是细胞自噬过程调控的重要因子,在 NAFLD 相关的肝脏慢性炎症反应中发挥重要的调控作用。如 YU 等^[18]

研究发现,在 NAFLD 模型小鼠的肝脏原位组织中存在 miRNA-665-3p 表达的显著升高,且 miRNA-665-3p 升高程度与肝脏组织的炎症、脂质蓄积及氧化损伤程度具有相关性。机制分析显示,miRNA-665-3p 能够直接结合编码包含 III 型结构域的纤维连接蛋白的基因的 3'-UTR,从而抑制上述蛋白的表达,来促进 NAFLD 炎症及纤维化的进展。

2 miRNA 用于 NAFLD 的临床评估及诊断

肝组织活检仍是诊断包括 NAFLD 在内的多种肝病的金标准,其他包括血清无创指标、影像学、超声弹性成像等也在临床上得到一定的应用,但仍不能完全替代肝组织活检。但是肝组织活检由于其创伤性,患者接受度不高,临床应用受到了极大限制。基于特异性 miRNA 在 NAFLD 相关疾病中重要的调控作用,尝试使用 miRNA 来评估及诊断 NAFLD 具有重要的价值。同时,miRNA 本身是无创指标,检测较为方便,临床应用前景较为广泛。

一方面,特异性 miRNA 在用于 NAFLD 的临床评估时具有较高的临床价值。相关的研究方面,如 GIM 等^[19]的研究纳入了 41 例 NAFLD 患者,并使用微阵列芯片检测了患者外周血清中的 miRNA 表达水平。研究结果显示,分别有 25、11、13 及 14 个 miRNA 与炎症评分、脂肪变性评分、气球样变性评分、非酒精性脂肪性肝病活动度评分存在相关性,研究提示血清 miRNA 可用于评估 NAFLD 的严重程度。同时 ZONG 等^[20]的研究也发现,在校正了年龄、性别及体重指数(BMI)后,NAFLD 患者的血清 miRNA-132 水平与丙氨酸氨基转移酶($P=0.018$)、TG($P=0.015$)、空腹血糖($P=0.036$)、 γ -谷氨酰转氨酶($P=0.047$)、载脂蛋白 E($P=0.017$)等指标均呈正相关,提示了 miRNA-132 可以作为 NAFLD 患者肝功能损害的重要参考指标。ZHANG 等^[21]的研究也尝试对 NAFLD 患者外周循环中的 2 588 种 miRNA 进行筛选,结果显示,与健康者相比,NAFLD 患者存在 30 种表达显著升高 miRNA 及 50 种表达显著降低的 miRNA。通过基因本体论及基因组百科全书分析显著,miRNA-122-5p、miRNA-27a 及 miRNA-335-5p 与 NAFLD 严重程度的相关性最为密切,可能作为 NAFLD 评估诊断潜在无创指标。

另一方面,特异性 miRNA 在实际应用于 NAFLD 的临床诊断方面也积累了一定的研究证据,显示出了较高的价值。相关的研究方面,如 XIN 等^[22]完成的荟萃分析纳入了 27 项临床研究,包含 1 775 例 NAFLD 及 586 例 NASH 患者,筛选了研究证据最多的 3 个 miRNA 指标(miRNA-122、miRNA-99a 及 miRNA-34a)进行分析。研究结果显示,上述指标在用于诊断 NAFLD 时,总体曲线下面积(AUC)可达 0.80,灵敏度及特异度分别为 0.71 及 0.76;在诊断 NASH 时,总体 AUC 可达 0.80,灵敏度及特异

度分别为 0.71 及 0.76。研究也发现,miRNA-34a 在区分 NASH 和单纯脂肪变性时 AUC 可达 0.91,尤其是针对 BMI $\geq$ 30.0 kg/m² 的患者,miRNA-34a 诊断 NAFLD 及 NASH 具有更为优良的临床价值。JIANG 等^[23]的研究也发现,在 NAFLD 患者及相应的动物模型中均存在外周 miR-135a-3p 表达水平降低,受试者工作特征曲线分析显示,外周循环中的 miRNA-135a-3p 诊断 NAFLD 的 AUC 可达 0.849 (95%CI:0.777~0.921, $P<0.0001$),提示了外周循环的 miRNA-135a-3p 具有诊断 NAFLD 的潜在价值。此外,如 KIM 等^[24]通过对 NASH 患者的筛查发现,NASH 患者外周循环中存在表达显著升高的特异性 miRNA。研究者筛选出 4 种 miRNA(miRNA-21-5p、miRNA-151a-3p、miRNA-192-5p 及 miRNA-4449)并评估了诊断 NASH 的临床价值。结果显示,基于上述 miRNA 的联合诊断模型诊断 NASH 的 AUC 可达 0.875(95%CI:0.676~0.973),同时模型在验证队列中的 AUC 为 0.874(95%CI:0.724~0.960),具有较好的一致性。

3 miRNA 用于 NAFLD 的临床治疗

NAFLD 的治疗仍是临床上的难点,包括运动、减轻体重、控制血糖等内在的生活干预是 NAFLD 治疗的基础、但对于肝脏损害更为严重的 NASH,目前临床上仍无有效的特异性药物被批准用于 NASH 的治疗。目前印度率先批准了一种 PPAR α/γ 双重激动剂 saroglitazar[®]用于无肝硬化的 NASH 患者的治疗,但这种药物并未得到国际上的广泛认可及应用^[25]。特异性 miRNA 在 NAFLD 的致病中存在重要的调控作用,因此学者也尝试基于 miRNA 的上述作用来开发针对 NAFLD 的靶向药物。

相关的研究方面,如 ZHANG 等^[26]的研究显示,NAFLD 患者外周循环中的肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素(IL)-6 及 IL-1 β 水平存在显著升高,同时 miRNA-125b 的表达也存在同步升高。给 NAFLD 模型动物注射 miRNA-125b 抑制剂可以显著降低 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 等炎症因子的水平,从而缓解 NAFLD 相关的肝脏炎症。LI 等^[27]的研究也发现,高脂饮食喂养的 NAFLD 模型小鼠中存在 miRNA-199a-5p 表达显著升高,同时脂肪组织还存在 miRNA-199a-5p 的显著富集。机制分析显示,哺乳动物不育系 20 样激酶-1(MST1)是 miRNA-199a 的靶基因,给模型动物注射含有 miRNA-199a-5p 拮抗剂可以通过增强 MST1 的表达来缓解 NAFLD 模型小鼠的肝脏脂肪变性。值得注意的是,研究同时还发现,miRNA-199a-5p 所导致的异常脂质积累甚至可通过升高 MST1 表达来实现逆转,提示了 miRNA-199a-5p 可作为 NAFLD 的重要治疗靶点。LI 等^[28]的研究也显示,与健康组相比,NAFLD 小鼠存在显著的

miRNA-23b 低表达,同时伴有血清 TG 水平升高及肝脏内的脂滴蓄积。通过增强高脂肪饮食 db/db 小鼠的 miRNA-23b 的表达可以显著降低动物血清 TG 水平,减轻肝脏重量并缓解肝脏组织的炎症及纤维化程度,提示了 miRNA-23b 可能作为 NAFLD 的治疗靶点。WANG 等^[29]的研究发现,NAFLD 患者存在 miRNA-30a-3p 的表达升高。同时通过生物信息学分析显示,PPAR- α 是 miRNA-30a-3p 的调控靶点基因。体外实验显示,增强 miRNA-30a-3p 表达可以上调脂质代谢相关蛋白 ACC、p-GSK-3 β 和 FASN 的表达,从而促进肝细胞内 TG 的蓄积及炎症。反之,通过抑制 miRNA-30a-3p 的表达则可以增强 PPAR- α 及其下游相关的信号通路,从而改善肝细胞的脂肪变性并降低 TG 水平。ZHOU 等^[30]的研究也发现,NASH 患者肝脏组织中存在 miRNA-142-5p 表达降低及胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)表达升高。生物信息学分析显示,TSLP 是 miRNA-142-5p 的下游靶标基因。基于模型动物的实验显示,通过增强 miRNA-142-5p 表达,可以抑制 TSLP 表达,从而降低血清丙氨酸氨基转移酶及天门冬氨酸氨基转移酶水平,降低促炎因子水平,并改善肝组织中的肝脂肪变性和纤维化。研究结果也提示 miRNA-142-5p/TSLP 信号通路可能作为 NAFLD 治疗的潜在靶点。

4 展 望

综上所述,特异性 miRNA 在 NAFLD 的致病中发挥着重要的调节作用,且作为无创生物学指标,miRNA 在 NAFLD 的诊断及预后中有重要临床价值,也得到了研究数据的证实。基于特异性 miRNA 的 NAFLD 治疗方法目前仍停留在基础研究层面,但也显示了十分积极的结果,为开发更为有效的 NAFLD 治疗药物提供了重要参考。随着对 NAFLD 中 miRNA 功能的更深入探索研究,相信未来在 NAFLD 的诊断、预后及治疗中将会更广泛的发挥 miRNA 的作用,以求使更多患者从中获益。

参考文献

- [1] YOUNOSSI Z, ANSTEE Q M, MARIETTI M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(1): 11-20.
- [2] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组,中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)[J]. 现代医药卫生, 2018, 34(5): 641-649.
- [3] ZHOU Q, WANG Y, WANG J, et al. Prevalence and risk factor analysis for the nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(10): e24940.
- [4] TILG H, ADOLPH T E, DUDEK M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: the interplay between metabolism, mi-

crobes and immunity[J]. *Nat Metab*, 2021, 3(12):1596-1607.

[5] DEXHEIMER P J, COCHELLA L. microRNAs: from mechanism to organism[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8(1):409.

[6] BABUTA M, SZABO G. Extracellular vesicles in inflammation: focus on the microRNA cargo of EVs in modulation of liver diseases[J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 111(1):75-92.

[7] CAVE M C, PINKSTON C M, RAI S N, et al. Circulating microRNAs, polychlorinated biphenyls, and environmental liver disease in the anniston community health survey [J]. *Environ Health Perspect*, 2022, 130(1):17003.

[8] LOPEZ-SANCHEZ G N, DOMINGUEZ-PEREZ M, URIBE M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and microRNAs expression, how it affects the development and progression of the disease[J]. *Ann Hepatol*, 2021, 21(1):100212.

[9] DENG Z, LI Y, LIU H, et al. The role of sirtuin 1 and its activator, resveratrol in osteoarthritis [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(5):BSR20190189.

[10] QUINONES M, MARTINEZ-GROBAS E, FERNO J, et al. Hypothalamic actions of SIRT1 and SIRT6 on energy balance[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3):1430.

[11] YANG Z, QIN W, HUO J, et al. MiR-22 modulates the expression of lipogenesis-related genes and promotes hepatic steatosis in vitro[J]. *FEBS Open Bio*, 2021, 11(1):322-332.

[12] WANG L, SUN M, CAO Y, et al. miR-34a regulates lipid metabolism by targeting SIRT1 in non-alcoholic fatty liver disease with iron overload[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 695(1):108642.

[13] LONG J K, DAI W, ZHENG Y W, et al. miR-122 promotes hepatic lipogenesis via inhibiting the LKB1/AMPK pathway by targeting Sirt1 in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Mol Med*, 2019, 25(1):26.

[14] YANG Y L, WANG P W, WANG F S, et al. miR-29a modulates GSK3beta/SIRT1-linked mitochondrial proteostatic stress to ameliorate mouse non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18):6884.

[15] WANG X, MA Y, YANG L Y, et al. microRNA-20a-5p ameliorates non-alcoholic fatty liver disease via inhibiting the expression of CD36[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8(1):596329.

[16] ZENG H, QIN H, LIAO M, et al. CD36 promotes de novo lipogenesis in hepatocytes through INSIG2-dependent SREBP1 processing[J]. *Mol Metab*, 2022, 57(1):101428.

[17] LIU Y, ZHOU X, XIAO Y, et al. miR-188 promotes liver steatosis and insulin resistance via the autophagy pathway [J]. *J Endocrinol*, 2020, 245(3):411-423.

[18] YU Y, TIAN T, TAN S, et al. MicroRNA-665-3p exacerbates nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2):2927-2942.

[19] GIM J A, BANG S M, LEE Y S, et al. Evaluation of the severity of nonalcoholic fatty liver disease through analysis of serum exosomal miRNA expression[J]. *PLoS One*, 2021, 16(8):e0255822.

[20] ZONG Y, YAN J, JIN L, et al. Relationship between circulating miR-132 and non-alcoholic fatty liver disease in a Chinese population[J]. *Hereditas*, 2020, 157(1):22.

[21] ZHANG J W, PAN H T. microRNA profiles of serum exosomes derived from children with nonalcoholic fatty liver[J]. *Genes Genomics*, 2021, 44(7):879-888.

[22] XIN S, ZHAN Q, CHEN X, et al. Efficacy of serum miRNA test as a non-invasive method to diagnose nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Gastroenterol*, 2020, 20(1):186.

[23] JIANG H, QIAN Y, SHEN Z, et al. Circulating microRNA135a3p in serum extracellular vesicles as a potential biological marker of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(1):498.

[24] KIM T H, LEE Y, LEE Y S, et al. Circulating miRNA is a useful diagnostic biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):14639.

[25] SHARMA M, PREMKUMAR M, KULKARNI AV, et al. Drugs for non-alcoholic steatohepatitis (NASH): quest for the holy grail[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2021, 9(1):40-50.

[26] ZHANG Q, YU K, CAO Y, et al. miR-125b promotes the NF-kappaB-mediated inflammatory response in NAFLD via directly targeting TNFAIP3 [J]. *Life Sci*, 2021, 270(1):119071.

[27] LI Y, LUAN Y, LI J, et al. Exosomal miR-199a-5p promotes hepatic lipid accumulation by modulating MST1 expression and fatty acid metabolism [J]. *Hepatol Int*, 2020, 14(6):1057-1074.

[28] LI H, LI X, YU S, et al. miR-23b ameliorates nonalcoholic steatohepatitis by targeting Acyl-CoA thioesterases 4 [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 407(1):112787.

[29] WANG D R, WANG B, YANG M, et al. Suppression of miR-30a-3p attenuates hepatic steatosis in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Biochem Genet*, 2020, 58(5):691-704.

[30] ZHOU C, WANG P, LEI L, et al. Overexpression of miR-142-5p inhibits the progression of nonalcoholic steatohepatitis by targeting TSLP and inhibiting JAK-STAT signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(10):9066-9084.