

microRNA - 122 在乙型肝炎病毒感染及相关疾病中的研究进展

穆茂媛 李 滢 杨方万 肖娟娟 柳启传 林世德

摘 要 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)与宿主肝细胞存在复杂的相互作用并与病毒复制及相关慢性肝病、肝硬化、肝癌的发生\发展有关。microRNA(miRNA) - 122 是肝脏含量最多的特异性 miRNA,大量研究揭示了其在肝细胞脂质代谢、增殖、生物钟调节及丙型肝炎病毒感染过程中的重要性。近几年的研究发现肝细胞 miRNA - 122 与 HBV 复制及 HBV 的致病机制存在密切关联,并与乙型肝炎肝硬化及肝癌的发生及预后相关,基于 miRNA - 122 的诊断及治疗方法的探索也取得了一定的进展。本文综述了 miRNA - 122 与乙型肝炎病毒复制及相关疾病进展的研究现状。

关键词 乙型肝炎病毒 microRNA - 122 肝硬化 肝癌

中图分类号 R4 R5

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.01.046

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是严重威胁人类健康的病毒性疾病之一。在我国慢性 HBV 感染是肝硬化及原发性肝癌(PhC)的主要病因。与 HBV 感染后疾病进展的相关因素尚不清楚,近几年的研究发现 HBV 与宿主肝细胞存在复杂的相互作用,与 HBV 复制及慢性肝病、肝硬化及肝癌的发生、发展及预后有关。

microRNAs(miRNAs)广泛参与了生物体内多种生理、病理过程,在细胞增殖、凋亡、应激和癌变等过程中调节基因表达及细胞内信号传递^[1]。已发现 miRNAs 在多种病毒感染过程中起到了至关重要的作用,多种病毒可以合成自身的 miRNAs,还可在感染过程中引起宿主细胞 miRNAs 表达的改变,对病毒复制、慢性病毒感染的建立及病毒的致病性均有重要影响^[2]。miRNA - 122 是肝脏的组织特异性 miRNA,占肝脏 miRNAs 的 70%,近几年国内外研究者对 miRNA - 122 在 HBV 感染过程中与病毒复制及病情进展的关系进行了广泛的研究,取得了一些进展,本文概述如下。

一、miRNAs 的合成及功能

miRNAs 是大小约 21 ~ 23 个碱基的非编码单链低分子 RNA。miRNAs 首先是在 RNA 聚合酶 II 的作用下在细胞核内进行转录,成为 pri - miRNAs,再进

一步经 RNA 聚合酶 III Drosha 切割成为发夹状的前体 pre - miRNAs,在细胞质中经核糖核酸内切酶 III Dicer 的切割作用下生成成熟双链 miRNAs,这些成熟的 miRNAs 可与其他蛋白质组成 RNA 诱导的沉默复合体(RNA - induced silencing complex, RISC),通过核酸序列互补结合于靶基因 mRNA,发挥阻遏翻译或直接降解靶基因 mRNAs 的作用^[3]。

单个 miRNA 有调节多个靶基因的能力,这种较广泛的基因调节特性,使得 miRNAs 在大多数细胞活动以及疾病发生、发展过程中起到重要的调节作用。发现许多疾病如肝癌、HBV 等病毒感染均存在 miRNAs 表达异常。miRNA - 122 具有高度的肝脏组织特异性,占到肝组织 miRNAs 的约 70%,其他组织不表达。在小鼠胚胎发育过程中肝细胞 miRNA - 122 逐渐增多,至成年平均每个肝细胞含有 miRNA - 122 达 66000 拷贝,而在人类每个肝细胞 miRNA - 122 的含量约为 12500 拷贝,是目前在所有组织细胞中含量最多的 miRNA。因而,miRNA - 122 与肝脏疾病的相关性研究已成为肝脏疾病研究的热点之一^[4]。

二、HBV 感染者外周血及肝细胞 miRNA - 122 的改变

由于肝组织富含 miRNA - 122,miRNA - 122 有很高的组织特异性,有大量的基础及临床研究探讨了不同病因肝脏损伤患者外周血 miRNA - 122 的变化,发现在病毒性肝炎、药物性肝损伤等病理状态下外周血 miRNA - 122 水平均有不同程度的增高,与肝脏炎症程度呈正相关^[5~7]。进一步研究发现,外周血或组

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160067/H0318)

作者单位:563000 遵义医学院研究生院(穆茂媛、杨方万、肖娟娟、柳启传);563000 遵义医学院附属医院(李滢、林世德)

通讯作者:杜世德,电子信箱:Linshide6@hotmail.com

组织中的 miRNAs 表达非常稳定,因而,多数研究者认为 HBV 感染者外周血 miRNA - 122 水平主要反映肝细胞损害程度。

有部分研究探讨了外周血 miRNA - 122 水平与 HBV 复制的相关性,发现外周血 miRNA - 122 水平与 HBV 复制存在一定关联。Arataki 等^[8]通过对 198 例慢性 HBV 感染者血清 miRNA - 122 水平及其与 HBsAg、HBeAg、HBVDNA、ALT、肝脏纤维化及炎症程度的相关性进行研究后发现慢性 HBV 感染者外周血 miRNA - 122 水平明显增高,与 HBsAg、ALT 及 HBVDNA 水平呈正相关,HBeAg 阳性患者中 miRNA - 122 水平明显高于 HBeAg 阴性患者,miRNA - 122 水平与纤维化程度呈负相关。Ji 等^[9]也发现 HBV 感染者血清 miRNA - 122 表达水平上调,在 HBeAg 阳性患者中 miRNA - 122 水平明显高于 HBeAg 阴性患者,另外,还发现 miRNA - 122 水平在慢性乙型肝炎患者或慢加急性肝衰竭患者中与年龄呈负相关。

Waidmann 等^[10]进一步发现,HBV 感染者血清 miRNA - 122 升高,在无症状 HBV 携带者 miRNA - 122 与 HBsAg 水平呈明显正相关,认为 miRNA - 122 水平可以反映无症状 HBV 携带者肝脏炎症程度。但后来的研究发现血浆 miRNA - 122 水平在活动性 HBV 患者中出现明显的升高,而在 HBV 携带者无明显升高^[11]。因而,目前尚不清楚外周血 miRNA - 122 除反映肝细胞损伤程度外是否还受 HBV 复制水平的影响。

虽然 HBV 感染者外周血 miRNA - 122 增高,但关于 HBV 感染后肝细胞 miRNA - 122 表达水平的研究却出现了两种相反的结果,在用肝癌细胞株的体外研究中发现 HBV 感染抑制肝细胞 miRNA - 122 的表达^[12]。但在最近的研究中,Xu 等^[13]在体外用培养的树鼯肝细胞感染 HBV,发现肝细胞内 miRNA - 122 水平明显增高,阻断 miRNA - 122 表达后 HBV 复制不受影响。这些结果差异的原因尚不清楚,可能与 HBV 感染时间、感染方式、病毒复制水平及选择的细胞株不同等因素有关。

在体外研究中对 HBV 抑制 miRNA - 122 表达的机制做了初步探讨。有研究发现 HBx 通过氧化酶活化增生受体 γ (peroxisome proliferator - activated receptor gamma, PPAR γ) 直接抑制 miRNA - 122 转录^[14];另外,还有研究发现 RNA 多聚酶生殖系发育 2 (germline development 2, Gld2) 能通过转录后调节增加一些特定 miRNA 的稳定性而影响细胞内 miRNAs

表达水平,发现肝细胞感染 HBV 后 miRNA - 122 表达明显下调,同时 Gld2 水平下降,增加 Gld2 表达可以阻断 HBV 对 miRNA - 122 表达水平的影响,进一步研究发现 HBx 降低了 Gld2 启动子活性,但对 miRNA - 122 启动子活性无明显作用,提示 HBx 可能通过下调 Gld2 来减少 miRNA - 122 表达^[15]。还有研究发现在表达 HBV 基因组细胞中 Drosha mRNA 及蛋白表达均下降,与 Drosha 基因启动子活性降低有关,运用 RNA 干扰技术使 HBx 基因沉默后能显著恢复 Drosha 表达,提示 HBx 蛋白可能还通过降低 Drosha 酶下调 miRNA - 122 表达^[16]。

三、miRNA - 122 与 HBV 复制

近几年对 miRNAs 在病毒感染过程中的作用进行了广泛的研究。大量的研究表明肝细胞 miRNAs 对 HBV 复制有较大的影响,其中 miRNA - 122 可通过多种途径抑制 HBV 复制。Qiu 等^[17]发现 miRNA - 122 抑制 HBV 复制,同时对血红素氧合酶 1 (heme oxygenase 1, HO - 1) 有下调的作用。HO - 1 可以降低 HBV 核心蛋白的稳定性从而抑制 HBV 的复制,因此 miRNA - 122 对 HO - 1 的调控也部分削弱了 miRNA - 122 对 HBV 的抑制作用。

最近发现肝细胞细胞周期蛋白 G1 是 miRNA - 122 的靶基因,miRNA - 122 能够下调细胞周期蛋白 G1 表达。细胞周期蛋白 G1 能够与 P53 蛋白结合从而降低了 P53 对 HBV 复制的抑制。HBV 患者肝脏 miRNA - 122 的表达下调,因而增加了细胞周期蛋白 G1 并间接促进 HBV 复制。提示 HBV 与 miRNA - 122 存在复杂的相互作用,一方面 HBV 感染下调了肝细胞 miRNA - 122 的表达,但 miRNA - 122 的下调又有利于 HBV 的复制。

四、miRNA - 122 与 HBV 相关疾病

多数研究表明,随着肝脏纤维化程度的增加,肝细胞 miRNA - 122 表达水平下降。最近的研究发现,肝硬化患者外周血 miRNA - 122 表达水平明显降低,以肝硬化失代偿患者下降最为显著,外周血 miRNA - 122 水平显著下降的肝硬化患者近期病死率明显增高,提示外周血 miRNA - 122 可以反映肝硬化程度及肝脏储备功能^[18]。

已证实许多 miRNAs 参与肿瘤发生、发展的各个阶段。miRNA - 122 作为肝脏特有且含量丰富的 miRNA,国内外研究者对其在肝细胞癌发生、发展、转移中的作用做了大量研究,体内和体外研究均发现 HBV 相关肝癌组织 miRNA - 122 表达水平下降,并

与肿瘤的分化程度、肿瘤大小、转移及预后相关^[19]。miRNA - 122 低水平表达增加肝癌发生,其超水平表达可抑制肿瘤细胞生长^[20]。通过检测细胞周期发现,发现 miRNA - 122 阴性表达的肝癌细胞 S 期比例增加,显示其具有更加旺盛的增殖能力。miRNA - 122 基因敲除小鼠首先发生严重的血脂代谢紊乱、进一步发展为脂肪肝及肝癌,导入外源性 miRNA - 122 后可阻止肝癌发生,进一步说明了 miRNA - 122 在肝癌发生过程中的重要性^[21]。

初步研究发现,miRNA - 122 的一些靶基因如垂体肿瘤转化基因 1 (pituitary tumor - transforming gene 1, PTTG1) 等可能与其致癌作用有关。最近的研究发现 HBV 感染导致肝细胞 miRNA - 122 下调,通过增加靶基因 PTTG1 结合因子 (PBF) 表达增加肝癌细胞增殖及侵袭性,相反沉默 PBF 可减少肝癌肿瘤生长^[22]。还有研究发现,在 HBV、HCV 相关性肝癌中 miRNA - 122 表达出现了明显的差异,其原因尚不清楚,可能与 HCV 病毒复制对 miRNA - 122 的依赖程度较高有关。与 HBV 相反,miRNA - 122 可促进 HCV 复制。

五、基于 miRNA - 122 对 HBV 相关疾病治疗、诊断、预后的展望

由于 miRNA - 122 的高度肝脏组织特异性与 HBV 感染的密切相关性,检测外周血中的 miRNAs 对评价 HBV 感染状态、肝脏损伤程度表现出一定的临床价值,有研究发现外周血 miRNA - 122 水平较 ALT 及 AST 能更敏感的反映肝脏损伤,特异性更强。另外,miRNA - 122 可作为潜在的生物学标志物对 HBV 相关的肝癌进行筛查,近期有研究发现检测外周血包括 miRNA - 122 在内的 miRNAs 组合在肝癌的早期诊断上具有较高的应用价值^[23]。

治疗方面,有研究发现干扰素 (IFN - α) 可诱导 miRNA - 122 表达显著减少,并发现 IFN - α 激活因子 NT5C3 是引起 miRNA - 122 下降的主要原因,其 3' - UTR 端通过结合 miRNA - 122 可有效抑制 miRNA - 122 的表达,运用 RNA 干扰技术阻止 NT5C3 mRNA 表达上调可完全消除这种抑制效应。IFN - α 诱导的 miRNA - 122 抑制效应对 IFN - α 抗 HBV 作用产生负面影响,提示通过增加 miRNA - 122 表达可增加 IFN - α 的抗 HBV 活性^[24]。对进一步了解 IFN - α 作用机制及提高干扰素的抗 HBV 疗效提供新的思路。对 miRNA 的研究还有可能开发出新的治疗 HBV 感染及相关疾病的抗病毒药物。在动物实验

中,在肿瘤周围注射 miRNA - 122 可以明显阻止肝癌组织生长,另外还发现 miRNA - 122 与阿霉素、长春新碱、顺铂等抗癌药物合用可调节肿瘤耐药基因的表达、增加肝癌细胞的敏感度^[25]。

总之,现在及未来继续开展关于 miRNA - 122 与 HBV 感染及肝癌发生、发展之间的研究,可以使我们在针对 HBV 感染及其相关疾病的诊断、治疗、预后判断等多个方面取得更多的突破。

参考文献

- 1 Stefani G, Slack FJ, Small non - coding RNAs in animal development [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(3): 219 - 230
- 2 Skalsky RL, Cullen BR. Viruses, microRNAs, and host interactions [J]. *Annu Rev microbiol*, 2010, 64: 123 - 141
- 3 He L, Hannon GJ. microRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(7): 522 - 531
- 4 Jopling C. Liver - specific microRNA - 122: biogenesis and function [J]. *RNA Biol*, 2012, 9(2): 137 - 142
- 5 Zhang Y, Jia Y, Zheng R, *et al.* Plasma microRNA - 122 as a biomarker for viral -, alcohol -, and chemical - related hepatic diseases [J]. *Clin Chem*, 2010, 56(12): 1830 - 1838
- 6 Starkey Lewis PJ, Dear J, Platt V, *et al.* Circulating microRNAs as potential markers of human drug - induced liver injury [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1767 - 1776
- 7 Hoffmann TW, Duverlie G, Bengrine A. microRNAs and hepatitis C virus: toward the end of miR - 122 supremacy [J]. *Virol J*, 2012, 9: 109
- 8 Arataki K, Hayes CN, Akamatsu S, *et al.* Circulating microRNA - 122 correlates with microRNA - 122 and represents viral replication and liver injury in patients with chronic hepatitis B [J]. *J Med Virol*, 2013, 85(5): 789 - 798
- 9 Ji F, Yang B, Peng X, *et al.* Circulating microRNAs in hepatitis B virus - infected patients [J]. *J Viral Hepat*, 2011, 18(7): e242 - 251
- 10 Waidmann O, Bihrer V, Pleli T, *et al.* Serum microRNA - 122 levels in different groups of patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *J Viral Hepat*, 2012, 19(2): e58 - 65
- 11 Zhang X, Zhang Z, Dai F, *et al.* Comparison of circulating, hepatocyte specific messenger RNA and microRNA as biomarkers for chronic hepatitis B and C [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92112
- 12 Wang S, Qiu L, Yan X, *et al.* Loss of microRNA 122 expression in patients with hepatitis B enhances hepatitis B virus replication through cyclin G (1) - modulated P53 activity [J]. *Hepatology*, 2012, 55(3): 730 - 741
- 13 Xu G, Gao Z, He W, *et al.* MicroRNA expression in hepatitis B virus infected primary tree shrew hepatocytes and the independence of intracellular miR - 122 level for de novo HBV infection in culture [J]. *Virol*, 2014, 448(0): 247 - 254
- 14 Song K, Han C, Zhang J, *et al.* Epigenetic regulation of microRNA - 122 by peroxisome proliferator activated receptor - gamma and hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Hepatology*,

- 2013,58(5):1681-1692
- 15 Peng F, Xiao X, Jiang Y, *et al.* HBx down-regulated Gld2 plays a critical role in HBV-related dysregulation of miR-122[J]. PLoS One, 2014,9(3):e92998
 - 16 Ren M, Qin D, Li K, *et al.* Correlation between hepatitis B virus protein and microRNA processor Drosha in cells expressing HBV[J]. Antiviral Res, 2012, 94(3):225-231
 - 17 Qiu L, Fan H, Jin W, *et al.* miR-122-induced down-regulation of HO-1 negatively affects miR-122-mediated suppression of HBV[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010,398(4):771-777
 - 18 Waidmann O, Koberle V, Brunner F, *et al.* Serum microRNA-122 predicts survival in patients with liver cirrhosis[J]. PLoS One, 2012, 7(9):e45652
 - 19 Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa T. Antitumor function of microRNA-122 against hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol, 2014, 49(4):589-593
 - 20 Ma L, Liu J, Shen J, *et al.* Expression of miR-122 mediated by adenoviral vector induces apoptosis and cell cycle arrest of cancer cells[J]. Cancer Biol Ther, 2010,9(7):554-561
 - 21 Tsai WC, Hsu SD, Hsu CS, *et al.* MicroRNA-122 plays a critical role in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis[J]. J Clin Invest, 2012,122(8):2884-2897
 - 22 Li C, Wang Y, Wang S, *et al.* Hepatitis B virus mRNA-mediated miR-122 inhibition upregulates PTTG1-binding protein, which promotes hepatocellular carcinoma tumor growth and cell invasion[J]. J Virol, 2013, 87(4):2193-2205
 - 23 Zhou J, Yu L, Gao X, *et al.* Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2011,29(36):4781-4788
 - 24 Hao J, Jin W, Li X, *et al.* Inhibition of alpha interferon (IFN-alpha)-induced microRNA-122 negatively affects the anti-hepatitis B virus efficiency of IFN-alpha[J]. J Virol, 2013,87(1):137-147
 - 25 Yang F, Zhang L, Wang F, *et al.* Modulation of the unfolded protein response is the core of microRNA-122-involved sensitivity to chemotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. Neoplasia, 2011,13(7):590-600

(收稿日期:2014-06-25)

(修回日期:2014-07-01)

白内障手术治疗的现状与展望

卓楠 徐国兴

摘要 白内障是世界首位致盲眼病,可明显降低患者的视觉及生活质量。自 1967 年 Kelman 首次提出将超声乳化用于白内障摘除术以来,经过 40 多年的发展,超声乳化白内障摘除技术已经成为目前最为风靡的白内障手术方式。同时,随着超声乳化白内障手术技术的成熟及人工晶状体工艺的改进,微切口白内障超声乳化术已逐渐取代传统的同轴超声乳化成为白内障超声手术的主要方式。近年来更新的白内障手术方法——飞秒激光辅助白内障手术开始应用于白内障临床治疗,同超声乳化术相比,其具有角膜切口更稳定,对角膜内皮损伤更轻,能乳化硬核等优点,成为眼科界广为关注的一种最新颖的白内障摘出手术方式。结合近期阅读的相关文献报道,本文主要就微切口白内障超声乳化术的优越性及局限性,飞秒激光在白内障手术中的应用、所面临的问题及展望进行综述。

关键词 白内障手术 超声乳化术 飞秒激光

中图分类号 R77 **文献标识码** A **DOI** 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.01.047

随着超声乳化白内障手术技术的成熟及人工晶状体工艺的改进,微切口白内障超声乳化术已逐渐取代传统的同轴超声乳化成为白内障超声手术的主要方式。近年来更新的白内障手术方法——飞秒激光辅助白内障手术开始应用于白内障临床治疗,已成为眼科界广为关注的一种最新颖的白内障摘出手术方

式。本文就微切口白内障超声乳化术的优越性及局限性,飞秒激光在白内障手术中的应用、所面临的问题及展望综述如下。

微切口白内障超声乳化术(MICS)是指经 2.0mm 或更小的透明角膜手术切口进行的超声乳化手术,目前临床上 MICS 主要分为双手法及同轴法^[1,2],双手 MICS 是指灌注和超声乳化、抽吸分离的双手超声乳化技术,这种操作方式较复杂,学习曲线长、术中前房稳定性较差等弊端,临床应用者逐渐减少^[3]。同轴 MICS 沿袭了传统小切口的手术方式,在此基础上采用了更小的切口,学习曲线减到最小,术中前方稳定

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81070715);福建省创新平台基金资助项目(2010Y2003)

作者单位:350001 福州,福建医科大学附属第一医院、福建省眼科研究所

通讯作者:徐国兴,电子信箱:fjmuxgx@163.com