

肝脏特异性基因 miR-129-5p 在肝脏疾病中的研究进展

苟小军 陈连云 朱一冰

摘要 微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 能特异性结合 mRNA 的 3'-非翻译区 (3'-untranslated region, 3'UTR), 诱导目标 mRNA 降解或抑制其翻译。作为肝脏特异性 miRNA 之一的 miR-129-5p, 在乙型或丙型肝炎感染、酒精性肝病、肝纤维化及肝癌的发生、发展中扮演重要的角色, 它能影响细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡。miR-129-5p 在肝脏疾病的诊断和治疗中具有重要的作用, 但作用机制复杂, 有待于开展更深入的研究。

关键词 miR-129-5p 肝疾病 机制研究

中图分类号 R575

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.06.002

微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 是一类内源性含 22~24 个氨基酸的小非编码 RNA, 广泛存在于线虫、动物、植物以及人类机体中^[1,2]。miRNA 能特异性结合 mRNA 的 3'-非翻译区 (3'-untranslated region, 3'UTR), 负向调节 mRNA, 从而降低靶蛋白的含量^[3,4]。大量研究显示, miRNAs 对人体多种生理和病理活动产生影响, 如细胞的生长、分化、凋亡、糖脂代谢以及癌变等^[5,6]。近年来, 关于 miR-129-5p 在各类疾病尤其是肿瘤中的研究受到研究者和专家的青睐, 相关的报道呈增长趋势^[7]。因此, 本文就 miR-129-5p 在肝脏疾病中的作用及相关机制做一综述。

一、miR-129-5p 基本概况

1. miR-129-5p 的生成: miR-129-5p 是 miR-129 的家族成员之一^[8]。哺乳动物中, miR-129 常包含两种前体: miR-129-1 (基因 ID: 406917) 和 miR-129-2 (基因 ID: 406918), 两者均存在“UUUUUGC”序列。分别在 miR-129 前体 miRNA 的 5' 和 3' 端进行剪切, 则形成 miR-129-5p 和 miR-129-3p 两个成熟的 miRNA^[8,9]。研究显示, miR-129-5p 是 miR-129-1 和 miR-129-2 共同转录的产物, 同时是其发挥作用的主要体现者^[10]。

2. miR-129-5p 的表达与调控: 2011 年, Brest

等首次在甲状腺癌细胞中发现 miR-129-5p 参与组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitor, HDACI) 的抗肿瘤活性, 并促进肿瘤细胞的凋亡。此后, Liu 等在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中也发现相似结果。到目前为止, 已证实 miR-129-5p 参与多种实体肿瘤发生、发展过程, 如胃癌、结肠癌、子宫内膜癌等。miR-129-5p 不仅能参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移过程, 还能调控细胞对药物的耐药性^[9~11]。近年来, miR-129-5p 在白血病、类风湿关节炎以及肝脏等相关疾病中也得到研究者的广泛关注^[12]。

与健康的肝细胞比较, HCC 细胞中 hsa-miR-129-2 会发生超甲基化, 其表达显著抑制^[13]。胃癌、子宫内膜癌、骨肉瘤等疾病细胞中, 也发生超甲基化的现象^[14]。若抑制 miR-129-2 基因去甲基化, 则能增加 miR-129-5p 的表达含量。此外, miR-129-5p 的表达还会受其他因素的影响, 如 HepG2 细胞中, Myc、Zeste 增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 和组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3) 等组合成复合体, 与 Pri-miR-129-2 启动子部位相连接, miR-129-5p 的表达受到抑制^[15]。

二、miR-129-5p 在肝脏相关疾病中的研究现状

1. miR-129-5p 参与调控丙型肝炎病毒: 丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 是一种嗜肝性 RNA 病毒, 会导致严重的肝损伤。世界卫生组织统计显示, 全球超过 1.8 亿人感染 HCV, 且每年新发生

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473475)

作者单位: 201999 上海市宝山区中西医结合医院中心实验室 (苟小军、朱一冰); 200032 上海中医药大学附属龙华医院药剂科 (陈连云)

通讯作者: 陈连云, 电子信箱: 598516592@qq.com; 朱一冰, 电子信箱: zhu_yi_bing@hotmail.com

率较高。传统的治疗方案效果欠佳且存在明显的不良反应,而新型的抗病毒药物也存在一定的局限性。近年来,关于 miRNA 与 HCV 关系的研究显示,miR-122a、miR-130a 和 miR-141 会促进 HCV 的复制,而 miR-448、miR-130a、miR-199a 能抑制 HCV 的感染^[16,17]。因此,寻找特异性 miRNA 以及发掘多种 miRNA 之间的关系,对于基因分型较好的 HCV 感染者来说,具有重要的意义。Shaker 等根据 Metavir 分期,将 145 例埃及 HCV 相关慢性肝病(HCV-associated chronic liver disease, HCV-CLD)患者分类,发现在 F3 和 F4 阶段患者血清中的 miR-126、miR-129、miR-203a 和 miR-223 明显上调,其中 miR-129 的 AUC 为 0.643^[18]。由此可见,miR-129 可能是 HCV-CLD 疾病分期的生物学标志物。Renhua 等^[19]通过“变化到变化”的方法集中研究 HCV 患者中正、负调控的 miRNA 和 mRNA。结果显示,miR-129 会与 QKI miRNA 的 3'UTR 处结合,从而下调其翻译。同时,starBase 数据库也显示,has-miR-129-5p 与抑癌药 QKI 存在联系,且具有较高的皮尔逊相关系数。HCV 疾病的发生、发展非单个基因失调表达的结果,而是多个信号途径影响的结果。关于 miR-129-5p 在 HCV 中作用的研究才刚刚开始,未来需要深层次的研究 miR-129-5p 及相关 miRNA 在 HCV 的分子机制,从而寻找到可能应用于 HCV 靶向治疗的新型小分子 miRNAs。

2. miR-129-5p 在乙型肝炎中的作用:乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是常见的通过血液、体液或母婴等方式传播的传染病之一^[20]。鉴于 miR-129-5p 在肝脏中扮演着重要角色,因此,科研工作者研究 miR-129-5p 是否也影响着 HBV 病毒表达和复制。Jian 等^[21]研究发现,HBV 发展过程中,miR-129-2 靶向其 3'UTR,表达下降。进一步研究显示,转染的 miR-129-5p 外源性 miRNA 模拟物 mimics 中,通过下调 YY1 表达含量,上调性别决定区 Y 框蛋白 4(sex-determining region Y box 4, Sox4)的转录,从而促进 HBV 的复制。一方面,HBsAg 与 Sox4 直接相互作用阻止 Sox4 降解,增加其含量;另一方面,具有 DNA 结合能力的 HMG 盒与病毒基因组直接结合,进一步促进 HBV 的复制。由此可见,对于慢性乙型肝炎患者来说,能通过增加 miR-129-5p 表达量来限制 HBV 的复制与增殖。

3. miR-129-5p 参与酒精性肝病:酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是长期酗酒导致的一种

慢性肝脏疾病,其发展包括脂肪变性、脂肪性肝炎、肝硬化,甚至发展成 HCC^[22]。随着人们对 ALD 发病机制的深入研究,其机制除了包括早期经典的以氧化应激(oxidative stress, OS)和脂质过氧化为轴心的“二次打击”学说,尚有线粒体损伤、能量代谢失衡、内质网应激、肝循环障碍、自噬及肠道菌群失调等^[23-25]。基于“肠-肝”轴(gut-liver axis)学说在 ALD 中所扮演的角色,Ren 等采用 PCR 检测了 ALD 患者中乙状结肠活检标本及乙醇诱导分化的 Caco-2 细胞中 miR-129-5p 水平。结果显示 ALD 患者中 miR-129-5p 表达水平升高,同时 miR-129-5p 通过抑制乙醇诱导的肠上皮细胞通透性,抑制跨上皮电阻(transsepithelial electrical resistance, TER)、紧密连接蛋白 occludin 和 ZO-1 蛋白的表达。

4. miR-129-5p 参与调控肝纤维化:肝纤维化是肝脏对各种慢性损伤因素产生的一种修复性应答反应,主要表现为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与降解失衡,从而在肝脏中过度沉积^[26]。众所周知,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)转变为活化态是肝纤维化的中心环节^[26]。受损的肝脏分泌多种细胞因子,促进 HSC 活化转化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB),MFB 合成大量 ECM,从而促进肝纤维化的发展^[26,27]。现已有许多研究证实,miRNAs 是一类基因表达调控因子,参与 HSC 细胞的增殖、活化与凋亡。TargetScan 数据库预测,人 I 型胶原蛋白(COL-1)与 miR-129-5p 存在密切的联系。研究表明,在系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)纤维化中,miR-129-5p 含量降低,同时伴随着结缔组织生长因子和 COL-1 的减少。在 OPN 诱导的 HSC 和纤维化组织中,miR-129-5p 明显下降;若上调其含量,则 COL-1 和 α -SMA 的表达减弱,并且促进 HSC 的增殖。类似地, HSC 中转染 miR-129-5p 模拟物后, COL-1 表达降低;相反地,细胞中转染 AS-miR-129-5p, COL-1 明显增加。此外,荧光素酶报告基因测定也显示 LX-2 细胞中过表达 pre-miR-129-5p,通过抑制其转录后活性直接靶向 COL-1 α 1 mRNA 的 3'-UTR^[27]。以上研究提示,miR-129-5p 能直接与胶原蛋白的 mRNA 直接结合,从而调控 HSC 的增殖、凋亡。

5. miR-129-5p 参与调控 HCC: HCC 是最常见的消化系统肿瘤之一,其术后复发和肝内转移发生率也较高。目前,关于 miR-129-5p 在肝病中的生物学作用及临床治疗的相关研究主要集中在 HCC 中。

微阵列技术报告显示,与正常对照组比较,HCC 组织中 miR - 129 水平会出现失调。Liu 等在肝癌细胞中上调 miR - 129 - 5p,肿瘤细胞的凋亡增加;体内研究也显示,增加其表达,肿瘤的体积会明显缩小,且迁移能力降低。进一步研究显示,miR - 129 - 5p 能与 3' UTR 两个位点相结合,降低含缬酪氨酸蛋白 (valosine - containing proteins, VCP) 的表达,抑制 I κ B α 的降解。I κ B α 是 NF - κ B 的抑制剂,因此,miR - 129 - 5p 可能协同 VCP,通过激活 NF - κ B 信号通路影响癌细胞的生长、凋亡和迁移。此外,HCC 组织和细胞 PCR 检测显示,miR - 129 - 5p 与核富集丰富转录本 1 (nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1) 的表达呈负相关,而过表达 NEAT1 通过调节 VCP/I κ B 抑制 miR - 129 - 5p 的表达,促进 HCC 细胞的增殖。从 TCGA 数据库中筛查出 50 例正常组织和 274 例 HCC 组织,结果显示,钙调蛋白依赖性蛋白激酶 IV (calcium calmodulin - dependent protein kinase IV, CAMK4) 可能是 miR - 129 - 5p 另一种靶基因,且 miR - 129 - 5p 高表达组的生存率高于 miR - 129 - 5p 低表达组。CAMK4 在肝癌组织、HepG2 和 BEL - 7402 细胞中均呈低表达状态,抑制细胞增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡。研究发现,miR - 129 - 5p 通过抑制有丝分裂原激活的蛋白激酶 (mitogen - activated protein kinase, MAPK) 的激活,降低 CAMK4 的转录活性,从而抑制肿瘤。在线靶基因预测发现,高迁移率族蛋白 1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是 miR - 129 - 5p 的靶基因,并有研究证实,HCC 中前列腺癌相关转录本 1 (prostate cancer associated transcript 1, PCAT - 1) 能充当内源性 RNA 直接与 miR - 129 - 5p 结合,并逆转 HMGB1 的表达。PCAT - 1/miR - 129 - 5p/HMGB1 也许是 HCC 诊断和治疗的潜在靶标。这些研究结果使我们对 HCC 的分子机制有了进一步的了解,也使我们意识到 miR - 129 - 5p 在临床应用方面存在巨大潜力。

三、展 望

综上所述,现今对肝脏疾病的研究通过 miRNA 已渐渐深入到基因水平,自发现 miR - 129 - 5p 以来,其在肝病发生、发展中的作用及关键机制正被探索着。本文主要总结了 miR - 129 - 5p 在 HBV、HCV、ALD、肝纤维化以及 HCC 中的表达及调控机制,即 miR - 129 - 5p 能调控细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡等生物学过程,最终调控肝脏疾病的发生与发展。这为肝脏相关疾病的诊断与治疗提供了新的思

路与理论依据。目前,肿瘤药物 QKI 等在肝脏疾病中研究应用,增强了人们开发 miR - 129 - 5p 干预药物的信心。此外,miR - 129 - 5p 激动剂、拮抗剂以及敲基因技术等相继被开发,在肝脏疾病模型中使用研究。

目前人们对 miR - 129 - 5p 认识并不全面。一方面,miR - 129 - 5p 在肝病诊断研究尚处于初期阶段,其相关报道较少,且可能由于研究方法的不同,结果上不一致;另一方面,miR - 129 - 5p 调节肝脏疾病具体的机制仍知之甚少,对 miR - 129 - 5p 的研究主要集中在其调控某一个基因对肝病发生、发展的影响,如 CAMK4、VCP 等,对相关信号通路的研究却相当稀少;如何干预疾病某一环节以更好地诱导其逆转或抑制其发展过程,仍有待于深入研究。除此之外,在调控肝脏生理及病理功能中,miR - 129 - 5p 并非单一的 miRNA,故 miR - 129 - 5p 与多种 miRNAs 之间的相互关系有待于进一步探索与思考。

参考文献

- Moro A, Driscoll TP, Boraas LC, *et al.* MicroRNA - dependent regulation of biomechanical genes establishes tissue stiffness homeostasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(3): 348 - 358
- Zhang T, Wu YC, Mullane P, *et al.* FUS Regulates activity of microRNA - mediated gene silencing [J]. *Mol Cell*, 2018, 69(5): 787 - 801, e8
- Tagliafierro L, Glenn OC, Zamora ME, *et al.* Genetic analysis of α - synuclein 3' untranslated region and its corresponding microRNAs in relation to Parkinson's disease compared to dementia with Lewy bodies [J]. *Alzheimer's Dement*, 2017, 13(11): 1237 - 1250
- Metwally M, Bayoumi A, Romero - Gomez M, *et al.* A polymorphism in the Irisin - encoding gene (FND5) associates with hepatic steatosis by differential miRNA binding to the 3' UTR [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(3): 494 - 500
- Deng Q, Hu H, Yu X, *et al.* Tissue - specific microRNA expression alters cancer susceptibility conferred by a TP53 noncoding variant [J]. *Nat Communi*, 2019, 10(1): 1 - 13
- Li J, Huang L, Xiao X, *et al.* Photoclickable microRNA for the intracellular target identification of MicroRNAs [J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(49): 15943 - 15949
- Wu Z, Chen D, Wang K, *et al.* Long noncoding RNA SNHG12 functions as a competing endogenous RNA to regulate MDM4 expression by sponging miR - 129 - 5p in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1260
- Gao Y, Feng B, Han S, *et al.* MicroRNA - 129 in human cancers: from tumorigenesis to clinical treatment [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(6): 2186 - 2202
- Wang S, Chen Y, Yu X, *et al.* miR - 129 - 5p attenuates cell proliferation and epithelial mesenchymal transition via HMGB1 in gastric cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(4): 676 - 682

- 10 Wu Q, Meng WY, Jie Y, *et al.* LncRNA MALAT1 induces colon cancer development by regulating miR - 129 - 5p/HMGB1 axis[J]. J Cellular Physiology, 2018, 233(9): 6750 - 6757
- 11 Li Q, Shen F, Zhao L. The relationship between lncRNA PCGEM1 and STAT3 during the occurrence and development of endometrial carcinoma[J]. Biomed Pharmacoth, 2018, 107: 918 - 928
- 12 Zhang Y, Yan N, Wang X, *et al.* MiR - 129 - 5p regulates cell proliferation and apoptosis via IGF - 1R/Src/ERK/Egr - 1 pathway in RA - fibroblast - like synoviocytes[J]. Biosci Rep, 2019, 39(12): BSR20192009
- 13 Chen X, Zhang L, Zhang T, *et al.* Methylation - mediated repression of microRNA 129 - 2 enhances oncogenic SOX4 expression in HCC [J]. Liver Int, 2013, 33(3): 476 - 486
- 14 王玉涵, 江小霞. microRNA - 129 生物学功能的研究进展[J]. 军事医学, 2018, 42(5): 68 - 72
- 15 Han H, Sun D, Li W, *et al.* A c - Myc - MicroRNA functional feedback loop affects hepatocarcinogenesis [J]. Hepatology, 2013, 57(6): 2378 - 2389
- 16 El - Ahwany EGE, Mourad L, Zoheiry MMK, *et al.* MicroRNA - 122a as a non - invasive biomarker for HCV genotype 4 - related hepatocellular carcinoma in Egyptian patients[J]. Arch Med Sci, 2019, 15(6): 1454 - 1461
- 17 Ali HEA, Hameed RA, Effat H, *et al.* Circulating microRNAs panel as a diagnostic tool for discrimination of HCV - associated hepatocellular carcinoma[J]. Gastroentérol Clin Biol, 2017, 41(4): e51
- 18 Shaker OG, Senousy MA. Serum microRNAs as predictors for liver fibrosis staging in hepatitis C virus - associated chronic liver disease patients[J]. J Viral Hepat, 2017, 24(8): 636 - 644
- 19 Song R, Liu Q, Liu T, *et al.* Connecting rules from paired miRNA and mRNA expression data sets of HCV patients to detect both inverse and positive regulatory relationships[J]. BMC Genomics, 2015, 16(2 Supplement): S11
- 20 Hao HY, Yang ZQ, Xu XX, *et al.* Relationship between HBeAg from HBsAg positive mothers and regulatory T cells in neonates and its influence on HBV intrauterine transmission[J]. Chinese J Epidemiol, 2017, 38(10): 1410 - 1414
- 21 Shang J, Zheng Y, Guo X, *et al.* Hepatitis B virus replication and sex - determining region Y box 4 production are tightly controlled by a novel positive feedback mechanism[J]. Sci Rep, 2015, 5: 10066
- 22 Goldberg D, Ditah IC, Saeian K, *et al.* Changes in the prevalence of hepatitis C virus infection, nonalcoholic steatohepatitis, and alcoholic liver disease among patients with cirrhosis or liver failure on the wait-list for liver transplantation[J]. Gastroenterology, 2017, 152(5): 1090 - 1099, e1
- 23 Chandra - Kuntal K, Lee J, Singh SV. Critical role for reactive oxygen species in apoptosis induction and cell migration inhibition by diallyl trisulfide, a cancer chemopreventive component of garlic[J]. Breast Cancer Res Treat, 2013, 138(1): 69 - 79
- 24 Ferrere G, Wrzosek L, Cailleux, *et al.* Fecal microbiota manipulation prevents dysbiosis and alcohol - induced liver injury in mice[J]. J Hepatol, 2016, 66(4): 806 - 815
- 25 You Y, Li W Z, Zhang S, *et al.* SNX10 mediates alcohol - induced liver injury and steatosis by regulating the activation of chaperone - mediated autophagy[J]. J Hepatol, 2018, 69(1): 129 - 141
- 26 Moran - Salvador E, Garcia - Macia M, Sivaharan A, *et al.* Fibrogenic activity of MECP2 is regulated by phosphorylation in hepatic stellate cells[J]. Gastroenterology, 2019, 157(5): 1398 - 1412, e9
- 27 Chen Y, Ou Y, Dong J, *et al.* Osteopontin promotes collagen I synthesis in hepatic stellate cells by miRNA - 129 - 5p inhibition[J]. Exp Cell Res, 2018, 362(2): 343 - 348

(收稿日期: 2020 - 01 - 31)

(修回日期: 2020 - 02 - 02)

阻塞性睡眠呼吸暂停相关性高血压与发生心脑血管事件的研究进展

汪 润 姚晓光 李南方 洪 静

摘 要 阻塞性睡眠呼吸暂停相关性高血压是阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)合并高血压,是一种特殊类型的难治性高血压,单独服用降压药物难以控制血压,其特点是夜间频繁发作的呼吸暂停伴血压持续增高,且较普通高血压患者更容易出现心脑血管疾病。目前 OSAS、高血压与心脑血管疾病的关系是众所周知的,治疗中重度 OSAS 也可以降低心脑血管事件的发生率,但是对于轻度 OSAS 相关性高血压能否改善远期预后一直存在争议。因此本文就阻塞性睡眠

基金项目:新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项科研项目(WJWY - 202031)

作者单位:830001 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区人民医院高血压中心、新疆维吾尔自治区高血压研究所、国家卫生健康委高血压诊疗研究重点实验室

通讯作者:李南方,教授,博士生导师,电子信箱:lnanfng2016@sina.com