

miRNA-122 与丙肝病毒感染及肝癌关系的研究进展*

王方平, 张平安, 牛志立 (武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060)

摘要: 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染机体后易发展为肝炎、肝硬化及肝癌。目前,传统治疗方法为聚乙二醇干扰素联合利巴韦林,其效果不佳且副作用大,而新型直接抗病毒药物价格昂贵。因此,寻求廉价而无毒副作用的抗 HCV 感染治疗方法是目前研究的重点。越来越多的证据表明,微小核糖核酸(micro-ribose nucleic acid, miRNAs)在肝脏疾病发展、肝细胞再生和功能调节等方面发挥着重要的作用。该文就 miR-122 与丙肝病毒感染及肝癌关系的研究现状作一综述。

关键词: 微小 RNA-122; 丙肝病毒; 肝癌

中图分类号: R512.63; R735.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)05-157-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.047

Studies About the Relationship between miR-122 and Hepatitis C Virus and Hepatocellular Carcinoma

WANG Fang-ping, ZHANG Ping-an, NIU Zhi-li (Department of Laboratory Science, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Hepatitis C virus (HCV) was easily developed into hepatitis, cirrhosis and liver cancer after infecting human. Currently, the traditional method of treatment of HCV was pegylated interferon and ribavirin program, which was ineffective and had poor side effects, while the new direct antiviral drugs were expensive. Therefore, looking for cheap and non-toxic side effects of treatment was the focus of current research. More and more evidence indicate that micro-Ribose Nucleic Acid (miRNAs) play an important role in the development of liver disease, regeneration and functional regulation. This review studies the relationship between miR-122 and Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma.

Keywords: miR-122; hepatitis C virus; hepatocellular carcinoma

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是一种单股正链嗜肝性 RNA 病毒,主要有 6 种基因型和超过 70 种亚型^[1]。据世界卫生组织估计全球大约有 1.85 亿人感染 HCV,占世界人口的 3.2%,同时每年大约有 300~400 万新发病例^[2]。急性 HCV 感染(acute HCV infections, AHC)大多是无症状的,其中 55%~85% 感染者不能清除该病毒并最终发展为慢性 HCV 感染(chronic HCV infection, CHC)^[3]。经过 20 到 30 年的时间大约有 10%~20% 的 CHC 患者发展为肝硬化,1%~7% 患者发展为肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[4]。传统的治疗方法是聚乙二醇干扰素联合利巴韦林方案,但是抗病毒疗效不佳并且不良反应较大,新型直接抗病毒药物(direct-acting antiviral agents, DAAs)对肝硬化失代偿期和肝癌患者治疗效果不理想,且对于发展中国家经济负担较重。因此,目前迫切需要寻求一种新型的 HCV 感染治疗方法。越来越多的证据表明,微小核糖核酸(micro-ribose nucleic acid, miRNAs)在肝脏疾病发展、肝细胞再生和功能调节方面发挥着重要的作用^[5]。

1 miRNA miRNAs 于 1993 年在秀丽隐感线虫体内发现,是一种 18~23 核苷酸长度进化中高度保守的非编码单链小 RNA。至今在人类体内已经发现了 2 500 多种 miRNAs,每种 miRNA 能调控多种基因^[6],多种 miRNAs 协同调控同一 mRNA 或同一通路中的几种 mRNAs^[7]。在物种进化中 miRNA 相当保守,动植物及真菌中发现的 miRNA 只在特定的组织和发育阶段表达,miRNA 组织特异性和时序性,决定了组织和细胞的功能特异性,因此 miRNA 在调节细胞生长发育的过程中起着不可替代作用。原始 miRNA(primary miRNAs, pri-miRNA)首先被核糖核酸酶切割成前体 miRNA,后者又被核糖核酸酶 Dicer 切割成成熟的单链 miRNA。成熟 miRNA 与 RNA 诱导的沉默复合物(RNA induced silencing complex, RISC)结合识别目标 mRNA,导致目标 mRNA 降解或翻译抑制,从而对基因表达进行转录后调控。

miRNA 是人体复杂调控网络中的一部分,调控机体内几乎所有的生物过程,包括细胞发育分化、细胞衰老凋亡和免疫反应等,如在脊椎动物中 miRNA-124 被认为是神经细胞发育的重要因素,

* 作者简介:王方平(1989-),女,在读研究生,主要从事临床感染及免疫学研究。

通讯作者:张平安, E-mail: zhangpingan@aliyun.com。

体外试验中 miRNA-124 过表达会诱导神经细胞发育,而抑制 miRNA-124 表达会导致神经细胞发育受阻^[8]。miRNA 在心血管中的作用也广泛被研究,其中 miRNA-1 是心肌细胞中含量最丰富,也是最早报道的与心脏发育有关的 miRNA^[9],miRNA-126,miRNA-218,miRNA-143 和 miRNA-145 负责调节血管平滑肌细胞和血细胞发育^[10]。另外,miRNA 在调节固有免疫细胞发育和功能方面也充当着关键的角色,miRNA-155 持续表达会增加体内幼稚粒细胞数目^[11],miRNA-17-5p,miRNA-20a,miRNA-106a 和 miRNA-17-92 家族在造血祖细胞分化为单核细胞时会减少^[12],miRNA-155,miRNA-146,miRNA-147,miRNA-21 和 miRNA-9 则在巨噬细胞参与炎症反应时上调^[13]。

miRNA 表达异常通常会导致某些疾病的发生发展,包括遗传性疾病、传染性疾病和癌症等。有一些疾病的发生是因为调节 miRNA 生物活性的酶的功能发生改变,还有一些是由于 miRNA 表达的改变,或编码 miRNA 基因的遗传学改变,这些最终都会导致 miRNA 靶向调控失败^[14,15],如 miRNA-1 和 miRNA-133 与各种心律失常有关,miRNA-21 和 miRNA-29 与心肌纤维化有关,miRNA-208 和 miRNA-133 与心脏压力超负荷引起的心肌细胞重塑有关,miRNA-33 与心肌细胞代谢紊乱有关^[16],miRNA-21 在许多癌症中都会上调表达^[17],而 miRNA-16-1 与肿瘤抑制有关^[18]。因此,miRNA 未来可能会成为一种高效的应用前景,广阔的新型检测指标或靶标药物。

2 miR-122 与 HCV 感染 HCV 和 miRNA 的相互作用可能对病毒自身产生抑制或促进作用。目前关于 miRNA 与 HCV 关系的文献表明,miR-448,miR-196,miR-21,miR-let-7b,miR-130a 和 miR-199a 能抑制 HCV 感染,而 miR-122,miR-130a 和 miR-141 能促进 HCV 复制^[19]。其中,关于 miR-122 与 HCV 感染及肝癌的研究最多,因为 miR-122 是一种肝脏特异性 miRNA,在肝脏中高表达,占肝脏 miRNA 的 70%,而且对 HCV 复制至关重要。miRNA-122 被编码到基因组中,通过与 RISC 结合识别目标 mRNA,阻止转录物翻译为蛋白质来发挥功能。miRNA-122 利用这种方式调控机体许多正常功能,包括胆固醇、铁代谢以及昼夜节律等^[20]。

HCV 是一种嗜肝性病毒,只能特异性感染肝细胞,这种嗜肝性特点可能是因为肝脏中具有 HCV 复制所需要条件。除了利用宿主原料进行自身复制外,HCV 还能调节细胞内某些 miRNAs 表达以维持自身持续存在,这可能是肝炎慢性化的主

要原因。Jopling 等^[21]人首先提出 miRNA 和 HCV 感染之间的关系,第一次将 miRNA 与疾病感染联系在一起。Li 等^[22]进一步阐述了其相关机制,在 HCV-RNA 5'非编码区有两个位于 HCV 内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)下游保守区的靶点,miR-122 的 3'端悬臂核苷酸与这两个靶点结合,保护 HCV 免受核酸外切酶水解,促进 HCV 的翻译、复制和转染。同时 miR-122 也能抑制乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的复制,不过两者机制不尽相同。P53 作为抑癌基因能抑制 HBV 复制,直接靶向调控细胞周期蛋白 G1, Wnt/ β -环蛋白和 Nmyc 下游调控基因(nmyc downstream-regulated gene, NDRG3)通路。miR-122 通过阻断转录因子-肝细胞核因子(hepatocyte nuclear factors, HNFs)与 HBV 增强子的结合利用 P53 抑制 HBV 复制的作用来发挥抗病毒功效的。2'-O 端甲基化的反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)以及其它一些类似物能抑制 miR-122 和 HCV 的相互作用,显著抑制 HCV 复制。如 Miravirsen 是锁核酸修饰的硫代反义寡核苷酸,可与 miR-122 形成高度稳定的杂交双链,抑制 miR-122 功能。Janssen 等^[23]人利用 miravirsen 治疗 CHC 患者,发现感染 1 型 HCV 的患者体内 HCV-RNA 水平表现出长期剂量依赖性减少,且未出现病毒抵抗。这表明靶向抑制 miR-122 可能是一种新型有效抗 HCV 治疗方法,而且组织和循环内 miRNA 可以作为疾病诊断、治疗和预后判断的靶标。

3 miR-122 与肝细胞癌 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC, 简称肝癌)是世界范围内第 5 大常见肿瘤,在肿瘤相关死亡原因中居第 3 位^[24]。现阶段研究表明,不论原发性肝癌还是各种继发性肝癌中,都有 miRNA 分子异常表达。目前,尽管在对 HCC 的研究中发现了许多的 miRNA 前体和成熟 miRNA 分子,但研究结果不完全相同,这可能与组织标本的处理方法、研究对象的地域和人种的差异等有关。在这些研究结果中,HCC 组织中高表达的有 miR-let-7a, miR-21, miR-221, miR-222, miR-224 和 miR-30 等,而 HCC 组织中呈现低表达的 miRNA 有 miR-122, miR-125a, miR-139, miR-145, miR-150, miR-199a, miR-200b, miR-214 和 miR-223 等^[25],这些异常表达的 miRNA 可能在肝细胞癌变中起重要作用。其中,miR-122 在 HCC 组织和大多数肝癌细胞系中,一致性地表达下调。

肝癌细胞系体外试验揭示 miR-122 在抑制癌细胞转移和侵袭方面发挥了重要作用,它通过靶向

结合转移相关启动子-解整合素样金属酶 17(a disintegrin and metalloprotease 17, ADAM17),抑制肿瘤血管生成、肿瘤细胞转移和侵袭^[26]。同时,miR-122 还能靶向结合包括细胞周期蛋白 G1, ADAM10, IGF1R, SRF 和 Wnt 等信号因子,这些都与肝癌、肝脏上皮细胞间质样变以及新生血管生成密切相关^[27]。miR-122 还参与肝细胞内胆固醇、脂质代谢,在 miR-122 基因敲除小鼠模型中,其体内胆固醇及脂质代谢失调,容易发展为肝细胞脂肪变、炎性变,并最终发展为脂肪肝、肝硬化和肝癌^[28]。在四氯化碳诱导的肝纤维化小鼠模型中,miR-122 表达同样降低,但恢复 miR-122 水平时,肝纤维化会部分逆转^[29]。这些数据表明了 miR-122 在肝脏疾病中抗炎、抗纤维化和肿瘤抑制中具有重要作用。同时,Spaniel 等^[29]研究非炎性肿瘤的小鼠模型,发现 miR-122 同样具有抗肿瘤作用,这表明 miR-122 抗炎和抗肿瘤作用是相互独立的。有研究表明,miR-122 的表达似乎与 HCC 病因相关,在乙型病毒性肝炎相关 HCC 中 miR-122 表达量减少,在 HCV 相关 HCC 中 miR-122 表达量增高^[19]。这可能是因为 miR-122 在这两种病毒生命周期的角色不同,或者这两种病毒导致肝癌的机理不同。由于肝癌的发生并不是单个基因失调表达的结果,而是多信号途径失调共同导致的,未来需要更深一步研究相关 miRNA 在肝癌中的分子机制,以寻求可能应用于肝癌靶向治疗的新型小分子物质。

结语 miRNA 在病毒感染及癌症发生发展中的功能研究是目前的前沿热点。近日,Regulus 制药公司研发出一种治疗丙肝药物 RG-101,它是一种靶向抑制 miR-122 的半乳糖修饰寡核苷酸, RG-101 和其它丙肝药物联用的临床试验中期分析报告显示,用药 4 周治愈率高达 97%,且用药不受限于丙肝基因分型。若 Regulus 公司二期临床试验进展顺利,这类小分子抗病毒药将很快应用于临床。

近几年来细胞生物学、分子生物学等先进技术的应用,在肝炎及肝癌发病机制的研究取得了重大的突破。随着肝癌发病机制深入研究,肝癌的治疗也将会有一个重大的突破,找到一个更为有效的治疗方法作为切入点,进行更为深入地研究,不仅有助于肝癌的攻克而且将会给其他肿瘤的发病机制及治疗提供一些借鉴。因此,分析 miRNA 的表达类型及表达水平对肝癌患者的早期分类和提高临床疗效将是极其重要的。随着现代生物医学技术的发展,对人体进行 miRNA 模拟剂或抑制剂的系统用药将成为可能,小分子 miRNAs 能潜在地引导人们对于肝癌的早期和精确的诊断以及提供一

个新的治疗靶标,为创新发展肝癌的治疗策略展示一个美好的前景。

参考文献:

- [1] Javed F, Manzoor S, Khattak AA, et al. Molecular characterization and fluorescence analysis of HCV non-structural proteins NS3, NS3-4A and NS4A of genotype 3a[J]. *Acta Virol*, 2015, 59(3):284-294.
- [2] Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence[J]. *Hepatology*, 2013, 57(4):1333-1342.
- [3] Aman W, Mousa S, Shiha G, et al. Current status and future directions in the management of chronic hepatitis C[J]. *Virology Journal*, 2012(9):57.
- [4] Lavanchy D. The global burden of hepatitis C[J]. *Liver Int*, 2009, 29(Suppl1):74-81.
- [5] Chen Y, Verfaillie CM. MicroRNAs: the fine modulators of liver development and function[J]. *Liver Int*, 2014, 34(7):976-990.
- [6] Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs[J]. *Genome Res*, 2009, 19(1):92-105.
- [7] Tsang JS, Ebert MS, van Oudenaarden A. Genome-wide dissection of microRNA-A functions and cotargeting networks using gene set signatures[J]. *Mol Cell*, 2010, 38(1):140-153.
- [8] Gao FB. Context-dependent functions of specific microRNAs in neuronal development[J]. *Neural Dev*, 2010(5):25.
- [9] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2[J]. *Nat Med*, 2007, 13(4):486-491.
- [10] Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology[J]. *Nature*, 2011, 469(7330):336-342.
- [11] O'Connell RM, Chaudhuri AA, Rao DS, et al. Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(17):7113-7118.
- [12] O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, et al. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(2):111-122.
- [13] Chiche J, Pommier S, Beneteau M, et al. GAPDH enhances the aggressiveness and the vascularization of non-Hodgkin's B lymphomas via NF- κ B-dependent induction of HIF-1 α [J]. *Leukemia*, 2015, 29(5):1163-1176.
- [14] Bandiera S, Hatem E, Lyonnet S, et al. MicroRNAs in diseases: from candidate to modifier genes[J]. *Clin Genet*, 2010, 77(4):306-313.
- [15] Hrdlickova B, de Almeida RC, Borek Z, et al. Genetic variation in the non-coding genome: involvement of micro-RNAs and long non-coding RNAs in disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(10):1910-1922.

(下转 164 页)

- nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(9):2866-2875.
- [16] Alkhalaf A, Zurbig P, Bakker SJ, et al. Multicentric validation of proteomic biomarkers in urine specific for diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13421.
- [17] Tomino Y, Suzuki S, Azushima C, et al. Asian multi-center trials on urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy[J]. *J Clin Lab Anal*, 2001, 15(4):188-192.
- [18] Morita M, Uchigata Y, Hanai K, et al. Association of urinary type IV collagen with GFR decline in young patients with type 1 diabetes[J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58(6):915-920.
- [19] Araki S, Haneda M, Koya D, et al. Association between urinary type IV collagen level and deterioration of renal function in type 2 diabetic patients without overt proteinuria[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(8):1805-1810.
- [20] Tramonti G, Kanwar YS. Tubular biomarkers to assess progression of diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2011, 79(10):1042-1044.
- [21] Nauta FL, Boertien WE, Bakker SJ, et al. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(4):975-981.
- [22] Otu HH, Can HD, Spentzos D, et al. Prediction of diabetic nephropathy using urine proteomic profiling 10 years prior to development of nephropathy[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(3):638-643.
- [23] Caseiro A, Barros A, Ferreira R, et al. Pursuing type 1 diabetes mellitus and related complications through urinary proteomics[J]. *Transl Res*, 2014, 163(3):188-199.
- [24] Soggiu A, Piras C, Bonizzi L, et al. A discovery-phase urine proteomics investigation in type1 diabetes[J]. *Acta Diabetol*, 2012, 49(6):453-464.
- [25] Good DM, Zurbig P, Argiles A, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(11):2424-2437.
- [26] Rossing K, Mischak H, Dakna M, et al. Urinary proteomics in diabetes and CKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(7):1283-1290.
- [27] Marimuthu A, O'Meally RN, Chaerkady R, et al. A comprehensive map of the human urinary proteome[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(6):2734-2743.
- [28] Sturm T, Leinders-Zufall T, Macek B, et al. Mouse urinary peptides provide a molecular basis for genotype discrimination by nasal sensory neurons[J]. *Nat Commun*, 2013, 4(3):1616.

收稿日期:2016-06-14

修回日期:2016-09-13

(上接 159 页)

- [16] McManus DD, Freedman JE. MicroRNAs in platelet function and cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(12):711-717.
- [17] Feiersinger F, Nolte E, Wach S, et al. MiRNA-21 expression decreases from primary tumors to liver metastases in colorectal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2):e0148580.
- [18] Dong H, Lei J, Ding L, et al. MicroRNA: function, detection, and bioanalysis[J]. *Chem Rev*, 2013, 113(8):6207-6233.
- [19] Gupta P, Cairns MJ, Saksena NK. Regulation of gene expression by microRNA in HCV infection and HCV-mediated hepatocellular carcinoma[J]. *Imperial College London*, 2014, 11(4):1-14.
- [20] Luna JM, Scheel TK, Danino T, et al. Hepatitis C virus RNA functionally sequesters miR-122[J]. *Cell*, 2015, 160(6):1099-1110.
- [21] Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA[J]. *Science (New York, N. Y.)*, 2005, 309(5740):1577-1581.
- [22] Li Y, Masaki T, Shimakami T, et al. hnRNP L and NF90 interact with hepatitis C virus 5'-terminal untranslated RNA and promote efficient replication[J]. *J Virol*, 2014, 88(13):7199-7209.
- [23] Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(18):1685-1694.
- [24] 晋云, 江行, 卿德科, 等. MiR-122 在肝细胞癌中的表达及其与肿瘤表型标志物的相关性研究[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(24):11259-11262.
- Jin Y, Jiang X, Qing DK, et al. Study of correlation between the expression of mir-122 and phenotype marker[J]. *Chin J Clinicians (Electronic Edition)*, 2013, 24(11):11259-11262.
- [25] Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, et al. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5):1571-1582.
- [26] Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa T. Antitumor function of microRNA-122 against hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2014, 49(4):589-593.
- [27] Hsu SH, Wang B, Kota J, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(8):2871-2883.
- [28] Li J, Ghazwani M, Zhang Y, et al. MiR-122 regulates collagen production via targeting hepatic stellate cells and suppressing P4HA1 expression[J]. *J Hepatol*, 2013, 58(3):522-528.
- [29] Spaniel C, Honda M, Selitsky SR, et al. MicroRNA-122 abundance in hepatocellular carcinoma and non-tumor liver tissue from Japanese patients with persistent HCV versus HBV infection[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e76867.

收稿日期:2016-03-10

修回日期:2016-05-17