

非编码 RNA 在肝脏疾病中的应用前景和现状

赵得武¹ 李一鸣¹ 蔡子为¹ 朱海宏^{2*}

1. 青海大学 青海西宁 810000

2. 青海省人民医院普外科 青海西宁 810000

摘要: 核糖核酸 (RNA) 生物学领域揭示了一系列非编码 RNA (ncRNA), 尤其是环状 RNA (circRNA) 和长非编码 RNA (lncRNA), 它们在肝病发病机制中发挥着至关重要的作用。这篇综述探讨了 circRNA 在肝脏病理学中的各种功能, 包括代谢相关性脂肪肝、肝细胞癌、酒精相关性肝病以及胆管疾病 (如原发性硬化性胆管炎和胆管癌)。我们重点介绍了调控肝脏脂质代谢、炎症、纤维化和肿瘤发生的关键非编码 RNA, 展示了它们的诊断和治疗潜力。新出现的基于 RNA 的疗法, 如 mRNA 疗法、RNA 干扰和反义寡核苷酸, 提供了调节 circRNA 活性和在分子水平上治疗肝病的方法。同时, 测序技术和生物信息学管道的进步也使新型 circRNA 的鉴定和功能表征成为可能, 从而推动了个性化医疗的创新。总之, 本综述强调了 circRNA 作为肝病生物标志物和治疗靶点的潜力, 并强调了进一步研究其调控机制和临床应用的必要性。

关键词: 肝脏疾病; 环状 RNA; 微 RNA; 竞争性内源 RNA

前言

环状 RNA (CircRNA) 是一类非编码 RNA, 可形成共价闭合的连续环状结构。其特征是封闭的连续环状结构, 缺乏 5' 和 3' 末端 [1, 2]。长期以来在很长一段时间里, circRNA 因其含量低而被排除在研究范围之外。它被认为是低丰度 RNA 和剪接错误产物, 没有任何功能。在植物、线虫、果蝇、小鼠和人类等多种生物中, 都有丰富的 circRNA 表达 [3]。人类的大多数 circRNA 是从单个或多个外显子转录的, 称为外显子 circRNA。然而, 许多研究表明, circRNA 的剪接机制错综复杂, 包括反向重复 ALU 对, 反向互补序列和外显子跳转 [4]。CircRNA 可由多种基因结构产生, 而一个基因的同位置可以产生不同类型的循环 RNA。最新研究表明, circRNAs 主要有以下四种功能 (1) 作为 miRNA 海绵发挥作用; (2) 参与转录和翻译调控; (3) circRNA 可抑制 lncRNA 的剪接; (4) circRNA 作为分子的海绵调节基因表达, 如 RNA 结合蛋白成分 [5]。

肝脏是人体最大的实体器官, 具有免疫、解毒、生物合成和新陈代谢的功能。它负责体内脂类、糖类、蛋白质和维生素的代谢, 是名副其实的新陈代谢工厂 [6]。此外, 肝脏是人体中少数具有再生功能的器官, 能形成一个完整的脏器。但即便如此肝脏也很容易受到各种因素的影响, 造成急性或慢性损伤。而慢性肝病会导致肝功能衰竭或肝癌, 严重威胁

人类健康。有很多证据可以解释其中的关系。在此, 我们回顾了 circRNAs 在肝脏中的作用 [7]。

1. 肝脏中环状 RNA 的鉴定

早在 20 世纪 90 年代就有关于 circRNA 存在的报道 [8]。最新的研究通过 RNA-seq 技术对成人和胎儿正常组织的 circRNA 表达: 36.97%-50.04% 的 circRNA 具有器官特异性 [9]。同时, 有 33 种 circRNA 在几乎所有被测组织中普遍表达, 有 668 种 circRNA 在肝脏组织中特异表达 [10]。对调控网络的进一步分析发现 17 种 circRNAs、22 种 miRNAs 和 90 种 mRNA 组成了一个紧密的网络, 形成了 circRNA-miRNA-mRNA 相互作用网络。与不同组织相比, 特定 circRNA 在肝组织中的表达量较高。Lin Li 等人利用 RAISE 在 RNA-seq 数据中检测 circRNA。他们以 RAISE 作为候选 circRNA。最后, 有 8270 种 circRNA 通过了高级分析鉴定、并在肝细胞癌肿瘤组织和邻近的非肿瘤组织中鉴定出 128 个差异表达的 circRNA [11]。尽管描述生理状态下肝脏表达模式的研究不多。不管是在小鼠还是在人体实验, 但 circRNAs 在肝脏中的丰富表达已基本被揭示, 这表明 circRNAs 可能与肝脏功能密切相关。

2. 环状 RNA 在肝脏损伤与修复中的作用

包括药物、酒精和病毒在内的许多致病因素都会导致肝损伤 [12]。由于肝脏本身具有很强的损伤后修复能力, 因

此再生过程可以在致病因子攻击后立即启动。肝脏受损会导致

与损伤有关的疾病。肝脏再生不良或不足，最终会导致肝纤维化、不可逆转的肝硬化，甚至

肝癌，即所谓的慢性肝病。CircRNAs 是一组重要的非编码 RNAs 成员。非编码 RNA，参与了肝脏的损伤和修复过程^[13]。核苷酸的可用性对于 DNA 复制和修复至关重要；然而，体内的协调机制仍不清楚。肝脏中的昼夜节律时钟控制戊糖磷酸途径 (PPP) 的活性，以支持从头核苷酸生物合成以满足 DNA 合成需求^[14]。我们证明，通过基因操作或错误时间喂养破坏肝脏时钟会损害雄性小鼠的 PPP 活性，导致核苷酸失衡。此类缺陷不仅会引发 DNA 复制压力，限制切除后的肝脏再生，还会导致基因毒素诱导的肝细胞衰老和 STING 信号依赖性炎症。从机制上讲，分子钟激活剂 BMAL1 与缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 协同作用，调节 PPP 限速酶葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD) 的转录，该酶在肝脏再生过程中得到增强^[15]。过度表达 G6PD 可恢复 BMAL1 或 HIF-1 α 缺乏的肝脏受损的再生能力。此外，通过基因或术前间歇性禁食提高 G6PD 表达可有效促进正常小鼠的肝脏修复。

3. 非酒精性脂肪肝

非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 是全球最常见的肝病。据估计，美国有 7,500 万至 1 亿人患有非酒精性脂肪肝^[16]。与酒精性肝病和病毒性肝病相似，非酒精性脂肪肝通常也会出现肝脏炎症。非酒精性脂肪肝可导致肝硬化、肝癌，甚至肝衰竭^[17]。非酒精性脂肪肝分为非酒精性脂肪肝和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)，与肝纤维化/肝硬化的组织学特征有关^[18]。脂肪酸的合成和降解、胰岛素抵抗 (IR)、氧化应激和肝纤维化均受肝细胞表观遗传学调控^[19]。非编码 RNA 通过表观遗传学调控在非酒精性脂肪肝中发挥着关键作用。最近的研究非编码 RNA 在非酒精性脂肪肝中发挥着关键作用。2016 年首次确定了非酒精性脂肪肝中 circRNA 的表达谱^[20]。作者使用 MCD 饮食诱导的 NASH 小鼠模型，同时制作了 circRNA 和 mRNA 芯片。发现了 69 个上调和 63 个下调的 circRNAs。同时，同一样本中有 2760 个 mRNA 上调，2465 个 mRNA 下调。他们进一步研究了 miRNA 与 mRNA 变化之间的关系。建立了三条路径，包括 circ_002581-miR-122-Slc1a5, circ_002581-miR-1

22-Plp2, circ_002581-miR-122-Cpeb1 根据下游 miRNAs 分析、通路分析和 PCR 验证。遗憾的是，他们与肝脏疾病代谢之间没有直接联系，但他们认为，一些 miRNA 与 circRNA 之间的广泛相互作用参与了疾病的发生和发展。已发现 circ_0046367 在肝细胞脂肪变性中的功能。结果显示，在 FFA 诱导的肝细胞脂肪变性中，circ_0046367 的表达量减少。为了探索其潜在机制

，他们寻找了调控肝细胞脂肪变性的潜在 miRNA，发现 miR-34a 可与 FFA 诱导的肝细胞脂肪变性结合。从而加强了 circRNA 的介导作用^[21]。

4. 病毒性肝炎 (乙型肝炎和丙型肝炎)

慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是导致肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌的主要原因，肝硬化和肝细胞癌的主要原因之一。干扰素 (IFNs) 用于抗 HBV 治疗中。最近，Zhang 等人发现 hsa_circ_0004812 可以调节 IFNs 的水平，从而调节 IFNs 的浓度从而提高其抗 HBV 的效率^[22]。TGF β 2 对 IL-2 依赖性 T 细胞的生长具有抑制作用，在慢性乙型肝炎患者中显著下调^[23]。Zhou 等人发现与对照组相比，慢性乙型肝炎患者肝活检组织中的 hsa_circ_0000650 与 TGF β 2 呈强正相关。hsa_circ_0000650 与 miR-6873-3p 之间也建立了稳固的负相关关系。丙型肝炎病毒 (HCV) 也是肝炎、肝硬化和 HCC 的重要病原体。HCV 具有肝细胞特异性，部分原因是它依赖于宿主 miR-122，而 miR-122 在肝细胞中异常丰富^[24]。miR-122 被认为能提高病毒 RNA 的丰度，并已被用作抗 HCV 治疗的药物靶点^[25]。他们还发现，这些 circRNA 的结合位点，可用于多种 RNA 结合蛋白。此外，circPSD3 在翻译后阶段抑制病毒 RNA 丰度，从而促进 HCV 感染^[26]。由于 circRNA 比线性 RNA 更稳定，它们可能在病毒感染发病机制中发挥关键作用。有趣的是，肝炎病毒本身的基因组中也存在许多共价闭合状 DNA (cccDNA)。例如，HBV 复制过程中产生的 HBV cccDNA 在慢性阻塞性肺病患者的肝脏中占主导地位，其水平可受 RNA 结合蛋白 DHX9 的调节^[27]。然而，circRNA 是否源于 cccDNA 仍不清楚。

5. 自身免疫性肝病

目前，临床上最常见的自身免疫性肝病是原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC) 和自身免疫性肝炎 (AIH)^[28]。它们的临床表现具有高度异质性，是多种遗传和环境因素相互作用的结果。circRNAs 可导致自

身免疫性疾病的发生,主要是在遗传和环境因素的作用下。它主要通过作为 miRNA 海绵来调控 DNA 甲基化、免疫反应和自身免疫性疾病的发展。miR-522-3p 可能与慢性炎症性疾病有关,而 miR-943 则是 DNA 双链断裂修复的参与者^[29]。Zheng 等人发现,hsa_circ_402458 是 hsa-miR-522-3p 和 miR-943 的海绵 [119]。hsa_circ_402458 在未接受熊去氧胆酸治疗的 PBC 患者中明显高于接受熊去氧胆酸 (UDCA) 治疗的患者。最近, Liu 等人报道, AIH 的发病机制可能涉及 mmu_circ_0001520/mmu-miR-193b3p/MAPK10^[30]。然而,关于 circRNA 在 PSC 中的作用尚未见报道。总体而言,关注 circRNAs 与自身免疫性肝病的研究相对较少。自身免疫性疾病的病因很复杂。在不同的疾病中,易感因素存在明显的重叠。因此, circRNAs 在自身免疫性肝病中的作用可能复杂,需要进一步研究。

6. CircRNA 在肝癌发病中的作用

肝癌是第五大常见癌症,也是全球第三大癌症死因。不同基因编码的蛋白质已被证明在肝癌的发生和发展中发挥作用^[31]。这些基因直接或间接调节细胞周期、细胞凋亡、DNA 损伤反应和细胞存活信号转导^[32]。环状 RNA 在癌症中的功能已在多种癌症中得到证实,包括消化系统恶性肿瘤。circ_100269 通过靶向 miR-630 对胃癌细胞增殖有抑制作用^[33]。肝细胞癌 (HCC) 相关 circRNA 的研究正在进行中。CiRS-7 (又称 CDR1) 是被深入研究的著名 circRNAs 之一,其功能是作为 miR-7 的海绵^[34]。

寻找有效的生物标志物是当前转化医学的重点,也是临床实践中最受关注的话题,尤其是针对癌症^[36]。一方面,外周血和体液中的生物标志物对疾病的早期无创诊断具有重要意义;另一方面,组织学生物标志物的发现对疾病的早期诊断具有重要意义。一方面,外周血和体液中的生物标志物对疾病的早期无创诊断具有重要意义;另一方面,组织学生物标志物的发现对病理分类和预后预测具有重要意义^[35]。丰富、保守和动态表达的 circRNAs 已被多次报道。

这表明 circRNA 是包括 HCC 在内的癌症及相关疾病的新生物标志物。傅丽云等人建立了 HCC 中的表达模式,并探讨了特定 circRNAs 与 HCC 患者特征的关联^[37]。与邻近的非肿瘤组织相比,hsa_circ_0001649 在肝癌中的 AUC 为 0.63 明显下调。此外 HCC 组织 hsa_circ_0001649 的表达与肿瘤直径 ($P = 0.045$)、癌栓 ($P = 0.017$) 和癌栓 ($P = 0.017$)

和转移有关^[38]。

7. 总结与展望

在这篇文献综述中,我们讨论了 circRNAs 在肿瘤慢性肝病中的表观遗传学作用。目前几乎所有的研究都表明, circRNAs 在慢性肝病中的作用是通过 ceRNA 机制实现的,即通过与非肿瘤慢性肝病中的作用一致是通过 ceRNA 机制,与 miRNAs 相互作用,支持 circRNAs 与慢性肝病之间存在某种关联。在肝纤维化中,一些 miRNA 既能与 circRNAs 相互作用,也能与 lncRNAs 相互作用。但在其他慢性肝病中,这类中间 miRNA 尚罕见报道。肝脏疾病是医疗保健的沉重负担,在全球范围内造成巨大损失。临床医生和公共卫生专业人员可能更感兴趣的是如何利用 circRNAs 的特性及其与其他分子的相互联系来诊断和治疗肝病。目前发表的文章仅从基础研究的角度提供了新的理论或观点,距离临床应用还有很长的路要走。因此,全面揭示 circRNAs 的生物学相关性及其潜在的治疗方法是非常有意义的。

参考文献:

- [1] Errichelli L, Dini MS, Laneve P, et al. FUS affects circular RNA expression in murine embryonic stem cell-derived motor neurons. *Nat Commun.* 2017 Mar 30 2017;8:14741.
- [2] Kokot KE, Kneuer JM, John D, et al. Reduction of A-to-I RNA editing in the failing human heart regulates formation of circular RNAs. *Basic Res Cardiol.* 2022 Jun 23 2022;117(1):32.
- [3] Pan T, Sun X, Liu Y, et al. Heat stress alters genome-wide profiles of circular RNAs in Arabidopsis. *Plant Mol Biol.* 2018 Feb 2018;96(3):217-229.
- [4] Liang D, Wilusz JE. Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production. *Genes Dev.* 2014 Oct 15 2014;28(20):2233-2247.
- [5] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, et al. Circ-ZNF609 Is a Circular RNA that Can Be Translated and Functions in Myogenesis. *Mol Cell.* 2017 Apr 6 2017;66(1):22-37.
- [6] Bahadur S, Mukherjee PK, Milan AS, Kar A, Harwansh RK, Pandit S. Metabolism-mediated interaction potential of standardized extract of *Tinospora cordifolia* through rat and human liver microsomes. *Indian J Pharmacol.* 2016 Sep-Oct 2016;48(5):576-581.
- [7] Sayaf K, Gabbia D, Russo FP, De Martin S. The Role of

Sex in Acute and Chronic Liver Damage. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 13 2022;23(18).

[8] Connor F, Wright E, Denny P, Koopman P, Ashworth A. The Sry-related HMG box-containing gene Sox6 is expressed in the adult testis and developing nervous system of the mouse. *Nucleic Acids Res.* 1995 Sep 11 1995;23(17):3365–3372.

[9] Tong Y, Zhang S, Riddle S, Song R, Yue D. Circular RNAs in the Origin of Developmental Lung Disease: Promising Diagnostic and Therapeutic Biomarkers. *Biomolecules.* 2023 Mar 15 2023;13(3).

[10] Gong S, Gaccioli F, Dopierala J, et al. The RNA landscape of the human placenta in health and disease. *Nat Commun.* 2021 May 11 2021;12(1):2639.

[11] Conn VM, Chinnaiyan AM, Conn SJ. Circular RNA in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2024 Sep 2024;24(9):597–613.

[12] Hackstein CP. Liver damage and immune responses. *Z Gastroenterol.* 2025 Jan 2025;63(1):56–64.

[13] Gillman R, Lopes FK, Wankell M, Hebbard L. The role of DNA damage and repair in liver cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021 Jan 2021;1875(1):188493.

[14] Apelt K, White SM, Kim HS, et al. ERCC1 mutations impede DNA damage repair and cause liver and kidney dysfunction in patients. *J Exp Med.* 2021 Mar 1 2021;218(3).

[15] Lin J, Shi J, Guo H, et al. Alterations in DNA Damage Repair Genes in Primary Liver Cancer. *Clin Cancer Res.* 2019 Aug 1 2019;25(15):4701–4711.

[16] Powell EE, Wong VW, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet.* 2021 Jun 5 2021;397(10290):2212–2224.

[17] Lefebvre P, Staels B. Hepatic sexual dimorphism – implications for non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2021 Nov 2021;17(11):662–670.

[18] Mitten EK, Baffy G. Mechanotransduction in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2022 Dec 2022;77(6):1642–1656.

[19] Demir M, Lang S, Hartmann P, et al. The fecal microbiome in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2022 Apr 2022;76(4):788–799.

[20] Guo XY, Chen JN, Sun F, Wang YQ, Pan Q, Fan JG.

circRNA_0046367 Prevents Hepatotoxicity of Lipid Peroxidation: An Inhibitory Role against Hepatic Steatosis. *Oxid Med Cell Longev.* 一月 –01 2017;2017:3960197.

[21] Chen R, Wang SK, Belk JA, et al. Engineering circular RNA for enhanced protein production. *Nat Biotechnol.* 2023 Feb 2023;41(2):262–272.

[22] Zhang L, Wang Z. Circular RNA hsa_circ_0004812 impairs IFN-induced immune response by sponging miR-1287-5p to regulate FSTL1 in chronic hepatitis B. *Viro J.* 2020 Mar 18 2020;17(1):40.

[23] Honda M, Kaneko S, Kawai H, Shiota Y, Kobayashi K. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology.* 2001 Mar 2001;120(4):955–966.

[24] Sarnow P, Sagan SM. Unraveling the Mysterious Interactions Between Hepatitis C Virus RNA and Liver-Specific MicroRNA-122. *Annu Rev Virol.* 2016 Sep 29 2016;3(1):309–332.

[25] Kunden RD, Khan JQ, Ghezelbash S, Wilson JA. The Role of the Liver-Specific microRNA, miRNA-122 in the HCV Replication Cycle. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 7 2020;21(16).

[26] Chen TC, Tallo-Parra M, Cao QM, et al. Host-derived circular RNAs display proviral activities in Hepatitis C virus-infected cells. *PLoS Pathog.* 2020 Aug 2020;16(8):e1008346.

[27] Sekiba K, Otsuka M, Ohno M, et al. DHX9 regulates production of hepatitis B virus-derived circular RNA and viral protein levels. *Oncotarget.* 2018 Apr 20 2018;9(30):20953–20964.

[28] Carbone M, Neuberger JM. Autoimmune liver disease, autoimmunity and liver transplantation. *J Hepatol.* 2014 Jan 2014;60(1):210–223.

[29] Zheng J, Li Z, Wang T, Zhao Y, Wang Y. Microarray Expression Profile of Circular RNAs in Plasma from Primary Biliary Cholangitis Patients. *Cell Physiol Biochem.* 一月 –01 2017;44(4):1271–1281.

[30] Liu Y, Li Z, Hao J, Chen H, Hou T, Hao H. Circular RNAs associated with a mouse model of concanavalin A-induced autoimmune hepatitis: preliminary screening and comprehensive functional analysis. *FEBS Open Bio.* 2020 Nov 2020;10(11):2350–2362.

- [31] Vogel A, Meyer T, Sapisochin G, Salem R, Saborowski A. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2022 Oct 15 2022;400(10360):1345–1362.
- [32] Abitbol S, Dahmani R, Coulouarn C, et al. AXIN deficiency in human and mouse hepatocytes induces hepatocellular carcinoma in the absence of beta-catenin activation. *J Hepatol*. 2018 Jun 2018;68(6):1203–1213.
- [33] Zhang Y, Liu H, Li W, et al. CircRNA_100269 is downregulated in gastric cancer and suppresses tumor cell growth by targeting miR-630. *Aging (Albany NY)*. 2017 Jun 27 2017;9(6):1585–1594.
- [34] Geng HH, Li R, Su YM, et al. The Circular RNA Cdr1as Promotes Myocardial Infarction by Mediating the Regulation of miR-7a on Its Target Genes Expression. *PLoS One*. 一月 -01 2016;11(3):e151753.
- [35] 林培艺, 翁明哲, 汤朝晖. 长链非编码 RNA 在肝脏疾病中的研究进展 [J]. *第二军医大学学报*, 2013,34(03):322–327.
- [36] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer. *Clin Chim Acta*. 2015 Apr 15 2015;444:132–136.
- [37] Fu L, Yao T, Chen Q, Mo X, Hu Y, Guo J. Screening differential circular RNA expression profiles reveals hsa_circ_0004018 is associated with hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2017 Aug 29 2017;8(35):58405–58416.
- [38] Xu Y, Yao Y, Zhong X, et al. Downregulated circular RNA hsa_circ_0001649 regulates proliferation, migration and invasion in cholangiocarcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Feb 5 2018;496(2):455–461.

基金项目:

青海省科学技术厅 (2022-ZJ-747); 2021 年青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”(青人才字〔2021〕13号)