

## · 综述 ·

## 环状 RNA 在非酒精性脂肪肝中作用机制的研究进展

余 贞, 孙 静, 王 妍, 孙 辉

[摘要] 随着肥胖、糖尿病、高血压、高脂血症在全球的流行,非酒精性脂肪肝已经成为全球第一大慢性肝病,其作用机制复杂,至今仍未达成共识。但近年来研究发现,基因调控在其发生发展过程中起着重要作用。环状 RNA 具有稳定性、广泛性、保守性及组织特异性等性质,在基因表达调控中发挥重要作用。因此,研究非酒精性脂肪肝发生发展过程中环状 RNA 的调控作用有助于了解其发病机制并推动其临床治疗的进展。

[关键词] 非酒精性脂肪肝;环状 RNA;基因调控

[中图分类号] R575.5

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2019)06-0369-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2019.06.013

## Advances in the mechanism of circRNA in non-alcoholic fatty liver disease

YU Zhen<sup>1</sup>, SUN Jing<sup>1</sup>, WANG Yan<sup>1</sup>, SUN Hui<sup>2</sup>

(1. Harbin Medical University, Harbin Heilongjiang 150081, China; 2. Pharmaceutical Experiment Center, College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin Heilongjiang 150081, China)

[Abstract] With the prevalence of obesity, diabetes, hypertension and hyperlipidemia in the world, non-alcoholic fatty liver disease has become the world's largest chronic liver disease, and its mechanism is complex, so far no consensus has been reached. But in recent years, it has been found that gene regulation plays an important role in its development. Circular RNA, which is characterized by stability, universality, conservation and tissue specificity, exert an enormous function on gene regulation. Therefore, the study on the regulatory role of circular RNA, in the occurrence and improvement of non-alcoholic fatty liver disease is helpful to understand its pathogenesis and promote its clinical treatment.

[Key words] Non-alcoholic fatty liver disease; Circular RNA; Gene regulation

近几十年,非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率在全世界范围内快速增长,尤其是在亚太地区,已接近西方水平,因此,NAFLD逐渐成为研究的热点。近年来,关于非编码 RNA 与 NAFLD 的研究越来越多,绝大多数研究集中于微小 RNA(microRNA, miRNA)和长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)对于 NAFLD 的发生发展的影响。随着对环状 RNA(circular RNA, circRNA)研究的深入,人们发现 circRNA 参与了许多人类疾病,包括肿瘤,神经系统疾病,糖尿病,动脉粥样硬化,朊病毒病,而 circRNA 与 NAFLD 的研究报道较少,作者对 circRNA 与 NAFLD 关系研究进展作一综述。

## 1 NAFLD

NAFLD 定义为无继发性原因,如使用致脂药物

或饮酒过量(男性>30 g/d,女性>20 g/d)等,而影响肝细胞>5%的脂肪变性。目前,NAFLD 在美国的患病率为 10%~40%,在亚太地区的患病率为 7%~40%,已成为导致慢性肝脏疾病的主要原因,有逐渐超过酒精性肝病和病毒性肝炎发病率的趋势<sup>[1]</sup>。NAFLD 是由肝脏脂肪特异性堆积进而引起肝脏脂肪变性的一种临床综合征,与高血压、糖尿病、胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、脂代谢异常和肥胖等因素密切相关。因此,NAFLD 的治疗也是在纠正糖尿病、肥胖、代谢综合征等病因的基础上进行的,而目前所研究的各种药理学方法都不太有效,了解 NAFLD 的发病机制对其临床研究及治疗的进展变得尤为重要。已有研究表明,miRNA、lncRNA 在 NAFLD 的发病机制、筛查、诊断和分期中都起着至关重要的作用。Nie 等<sup>[2]</sup>通过微阵列发现在 NAFLD 小鼠肝脏组织中有 10 个 miRNA 差异性表达(5 个上升,5 个下降),通过基因本体论数据库分析和京都基因和基因组百科全书数据库分析发现差异表达的 miRNA 主要参与“胃酸分泌”、“心脏肾上腺素能信号通路”、“癌症”、“MAPK 信号通路”、“紧密连

[基金项目] 哈尔滨医科大学创新科学研究基金(2016JCZX55);黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(201710226072)

[作者单位] 150081 黑龙江 哈尔滨,哈尔滨医科大学(余贞,孙静,王妍);150081 黑龙江 哈尔滨,哈尔滨医科大学药学院药理学实验中心(孙辉)

[通讯作者] 孙辉, E-mail: sunhui@hrbmu.edu.cn

接”、“恰加斯氏病”、“细胞粘附分子”、“鞘脂质信号通路”、“神经营养蛋白信号通路”、“丙肝”,说明 miRNA 参与多种过程,包括信号转导、应激反应、增殖、分化和癌症。孙传政等<sup>[3]</sup>采用 lncRNA-mRNA 基因芯片检测发现,与正常样本相比,NAFLD 肝样本内共有 1 735 个 lncRNAs 和 1 485 个 mRNAs 异常表达,其中 535 个 lncRNAs 和 760 个 mRNAs 上调,1 200 个 lncRNAs 和 725 个 mRNAs 下调,这些差异表达的 lncRNA 可能参与了 NAFLD 的发生过程。

## 2 CircRNA

CircRNA 是一类主要由一个以上外显子构成的环形 RNA 分子,大量存在于真核细胞,具有一定的组织、时序和疾病特异性。近年来,随着生物信息学技术的快速发展,circRNA 这一古老且具有保守特征分子的神秘面纱逐渐被揭开<sup>[4]</sup>。Jeck 等<sup>[5]</sup>在人类成纤维细胞中检测到了高达 25 000 多种 circRNA。Salzman 等<sup>[6]</sup>发现了数以百计的与人类基因表达相关联的 circRNA。Memczak 等<sup>[7]</sup>则从 RNA 测序数据中鉴定出 1 950 种人类 circRNA、1 903 种小鼠 circRNA 和 724 种线虫 circRNA。Guo 等<sup>[8]</sup>发现了人类细胞系相关的 39 种生物样本中的 7 112 种 circRNA。目前发现的 circRNA 根据其在基因组中的来源及其构成序列的不同,可以分为 3 类:外显子来源的环形 RNA 分子(exonic circRNA),内含子来源的环形 RNA 分子(intronis circRNA)和由外显子和内含子共同组成的环形 RNA 分子(exon-intron circRNA)。与线性环状 RNA 相比,circRNA 具有更稳定的分子结构,其中一些外显子的 3' 端反向连接其他上游外显子的 5' 端形成封闭分子,由于缺乏游离末端,这些分子能够抵抗核糖核酸外切酶<sup>[9]</sup>。CircRNA 分子功能包括 miRNA 海绵、调控转录基因、作为翻译模板等,在基因调控中发挥着重要作用。研究发现,circRNA 参与了多种疾病包括多种肝脏疾病。在异丙肾上腺素诱导的心肌肥大小鼠中强制表达心脏相关 circRNA 可缓解心肌肥大;circRNA Cdr1as 会影响胰岛素分泌和胰岛 B 细胞的更新;has-circ-001988 在癌组织中减少,与肿瘤细胞分化的程度及预后相关<sup>[10]</sup>;另外,circRNA 还被发现参与了非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝再生、肝细胞肝癌等肝脏疾病,而 circRNA 参与 NAFLD 却鲜有报导。

## 3 CircRNA 参与 NAFLD 的发生过程

NAFLD 的发病机制还尚不明确,目前受青睐的“二次打击理论”较好地阐述了其发病过程。代谢的失衡和非酯化脂肪酸流入肝脏增加,是导致 NAFLD 的主要原因。三酰甘油的积累诱发第二阶

段的发生,包括氧化应激、前炎性因子的释放和内质网应激,进而引发肝脏的炎性反应,导致内皮一氧化氮功能紊乱,诱发 IR,而 IR 和高胰岛素血症又是 NAFLD 的始动因素<sup>[10]</sup>。无可置疑,其发生过程中必然有信号转导通路的改变,而 circRNA 作为内源竞争 RNA 和 miRNA 海绵等参与其中。Li 等<sup>[11]</sup>研究发现,NAFLD 组织中 CircScd1 表达明显低于对照组,此外,过表达 CircScd1 可显著抑制脂滴的形成,通过 Western Blot 分析最后总结出了 CircScd1 的异常表达影响 NAFLD 肝细胞脂质增多的程度,并通过 JAK2/STAT5 通路促进脂肪肝的发生,结果显示 CircScd1 参与了 NAFLD 的发生过程。

3.1 CircRNA 与 IR IR 是导致 NAFLD 发生及发展的根本原因。外周 IR 导致高胰岛素血症和脂质分解增多,产生和提供更多的游离脂肪酸(free fat acid, FFA)到肝细胞,以重新脂化和进行  $\beta$  氧化,促使 FFA 及甘油三酯在肝细胞的蓄积,并可能诱导脂质过氧化,另外 FFA 本身可以进一步阻碍胰岛素信号转导,因此加重 IR。而我们已知,CDR1as(CiRS-7)在糖尿病的诊疗过程中具有重要作用。胰岛 B 细胞受损,胰岛素分泌绝对或相对不足(IR),会使血糖升高,从而引发糖尿病<sup>[12]</sup>。Wang 等<sup>[13]</sup>研究发现,miR-7 能够负调节胰岛 B 细胞增殖,其在胰岛 B 细胞中的过表达会损伤胰岛 B 细胞的去分化功能,并导致胰岛素分泌的下调,从而引起糖尿病。另外,miR-7 通过雷帕霉素靶蛋白信号通路抑制胰岛 B 细胞增殖,而 CDR1as(CiRS-7)能够抑制 miR-7 功能,从而刺激胰岛 B 细胞扩增。因此,CDR1as(CiRS-7)可能影响胰岛 B 细胞的更新,同时也是糖尿病的潜在作用靶点。

3.2 CircRNA 与肝脏脂肪变性 Guo 等<sup>[14]</sup>通过微阵列分析评估,将正常组与肝脂肪变性组进行比较得到肝脏脂肪变性与 357 个 circRNA 有关,包括 154 个上调和 203 个下调的 circRNA。Guo 等<sup>[15]</sup>进一步研究发现,高脂诱导下 circRNA-021412 的表达减少,从而对 miR-1972 的竞争性抑制作用减弱,重新激活的 miR-1972 诱导 LPIN1 表达减少,最后破坏脂肪生成和催化分离的平衡导致肝脏脂肪变性。LPIN1 已被证实在肝细胞中分别作为磷脂酸磷酸酶和转录激活因子发挥双重作用。首先,它通过催化内质网中甘油三酯生成的倒数第二步来抑制脂肪生成,其次,LPIN1 与转录因子(PPAR- $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ )的直接作用,在脂质相关基因表达中放大了肝脏 PGC-1 $\alpha$ /PPAR 信号。与此相关,miR-34a 对 PPAR 的抑制作用表明其是肝细胞脂肪生成的重要诱导因子。Guo 等<sup>[16]</sup>又发现 circRNA-0046367 作为 miR-34a 海

绵和内源竞争 RNA 作用于 PPAR, circRNA-0046366 则被认为是 miR-34a 的 5 种 miRNA 的拮抗剂。当 circRNA-0046367 或 circRNA-0046366 缺失时, miR-34a 激活, 发生 PPAR 抑制, 最后导致肝脏脂肪变性和脂质过氧化。

#### 4 CircRNA 参与 NAFLD 的进展

NAFLD 进展较为缓慢, 一般情况下, NAFLD 无临床症状, 多是在健康体检或检查其他疾病时发现肝功能异常或脂肪肝。但随着病情进展, 会出现单纯性脂肪肝(肝脂肪堆积)、NASH、肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌等一系列疾病<sup>[17-19]</sup>。

4.1 CircRNA 与 NASH NASH 是 NAFLD 的重要分期。Jin 等<sup>[20]</sup>使用基因芯片检测 NASH 小鼠 circRNA 和 mRNA 表达谱的变化, 发现了 69 个上调和 63 个下调的 circRNA 以及 2 760 个上调和 2 465 个下调的 mRNA, 并预测了 4 条经 qRT-PCR 验证的 circRNA-miRNA-mRNA 通路。因此, circRNA 与 NASH 的发生和发展存在一定关联。周玉平等<sup>[21]</sup>采用高通量 circRNA 芯片技术比较正常组与肝纤维化小鼠组的 circRNA 表达谱变化, 显示共有 69 个 circRNA 差异表达(表达差异两倍以上,  $P < 0.05$ ), qRT-PCR 实验证实其中 4 个差异表达有统计学意义, 提示 circRNA 可能与肝纤维化进展有关。

4.2 CircRNA 与肝再生 对于大多数 NAFLD 患者而言, NAFLD 除了会发展成肝硬化、肝细胞癌, 另一个重要的威胁就是肝再生能力受损。临床及实验研究都发现脂肪变性肝脏在损伤、手术、移植后再生功能受损、再生时间延长, 甚至可能诱发肝功能衰竭及机体死亡<sup>[22]</sup>。Li 等<sup>[23]</sup>通过 RNA 测序技术和生物信息学分析获取了在大鼠 70% 肝切除术后肝再生初始阶段中差异表达的 circRNA 及其亲本基因, 并构建了 circRNA-miRNA 网络, 其中包括了 159 个差异表达的 circRNA 及 116 个相应的亲本基因。通过集中验证, 确定了 6 个具有关键调控作用的 circRNA。以上研究提示, circRNA 在肝再生的机制中扮演着重要角色。

4.3 CircRNA 与肝细胞癌 目前, 临床上缺乏除了甲胎蛋白以外的更加有效的肝细胞癌诊断和预后标志物。与线状 RNA 不同, circRNA 通过特定的剪接方式形成共价闭合连续环路结构, 高度保守且性质稳定, 在人体某些组织的表达水平超过其线性异构体的 10 倍<sup>[6]</sup>。Shang 等<sup>[24]</sup>检测了肝癌变组织中 3 个 circRNA (hsa-circ-0000520, has-circ-0005075、has-circ-0066444) 的表达水平, 结果发现 has-circ-0005075 是一个潜在的肝癌标志物。Li 等<sup>[25]</sup>在研究中首次发

现大量肝细胞癌来源的 exonic-circRNA, 经 RNA 检测后, 筛选出超过 1 000 种 exonic circRNA, 揭示了 circRNA 在肝细胞癌检测与诊断方面的应用前景。周英利等<sup>[26]</sup>在研究中发现, circRNA 有可能通过与 Lin28B 相互结合从而抑制 Lin28B 蛋白的表达, 进而抑制 Lin28B 作为癌基因的功能, 影响肿瘤的发生发展。

#### 5 小结

目前, 对 circRNA 的研究还只是刚刚起步的阶段, 尤其是对 circRNA 参与 NAFLD 作用机制的研究少之又少。相信随着分子生物学技术的不断进步, 未来会有大量与 NAFLD 相关的 circRNA 及其功能被发现证实, 并应用于 NAFLD 的发病机制与临床治疗之中。

#### 【参考文献】

- [1] Liu Y, Lu J, Xu M, et al. Association between history of abortion and nonalcoholic fatty liver disease in middle-aged and elderly Chinese women [J]. *Ann Epidemiol*, 2013, 23(3): 119-123.
- [2] Nie J, Li CP, Li JH, et al. Analysis of non-alcoholic fatty liver disease microRNA expression spectra in rat liver tissues [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3): 2669-2680.
- [3] 孙传政, 黄飞舟, 严文广, 等. 非酒精性脂肪肝 NAFLD 病中长链非编码 RNA 的表达谱 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(7): 741-748.
- [4] Wang PL, Bao Y, Yee MC, et al. Circular RNA is expressed across the eukaryotic tree of life [J]. *Plos One*, 2014, 9(6): e90859.
- [5] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141-157.
- [6] Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types [J]. *Plos One*, 2012, 7(2): e30733.
- [7] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 333-338.
- [8] Guo JU, Agarwal V, Guo H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs [J]. *Genome Biol*, 2014, 15(7): 409.
- [9] 刘国旺, 唐克诚. 老年非酒精性脂肪肝 NAFLD 研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(20): 5117-5119.
- [10] 许妍, 赵雪, 堵晶晶, 等. 环状 RNA 研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2017, 37(10): 93-102.
- [11] Li P, Shan K, Liu Y, et al. CircScd1 promotes fatty liver disease via the janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 5 pathway [J]. *Dig Dis Sci*, 2019, 64(1): 113-122.

- [12] Armakola M, Higgins MJ, Figley MD, et al. Inhibition of RNA lariat debranching enzyme suppresses TDP-43 toxicity in ALS disease models [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(12): 1302-1309.
- [13] Wang Y, Liu J, Liu C, et al. MicroRNA-7 regulates the mTOR pathway and proliferation in adult pancreatic beta-cells [J]. *Diabetes*, 2013, 62(3): 887-895.
- [14] Guo XY, He CX, Wang YQ, et al. Circular RNA profiling and bioinformatic modeling identify its regulatory role in hepatic steatosis [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 5936171.
- [15] Guo XY, Chen JN, Sun F, et al. circRNA\_0046367 prevents hepatotoxicity of lipid peroxidation: an inhibitory role against hepatic steatosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017: 3960197.
- [16] Guo XY, Sun F, Chen JN, et al. circRNA\_0046366 inhibits hepatocellular steatosis by normalization of PPAR signaling [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(3): 323-337.
- [17] Amarapurkar DN, Patel ND. Clinical spectrum and natural history of non-alcoholic steatohepatitis with normal alanine aminotransferase values [J]. *Trop Gastroenterol*, 2004, 25(3): 130-134.
- [18] 姜慧卿. 非酒精性脂肪性肝病的临床表现与病理学特点 [J]. *中国全科医学*, 2007, 10(24): 2030-2033.
- [19] 刘娜, 杜爱书, 贾静, 等. 茵栀黄联合二甲双胍治疗非酒精性脂肪肝病临床疗效及对患者血糖、血脂和氧化应激水平的影响 [J]. *解放军预防医学杂志*, 2018, 36(3): 339-342.
- [20] Jin X, Feng CY, Xiang Z, et al. CircRNA expression pattern and circRNA-miRNA-mRNA network in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(41): 66455-66467.
- [21] 周玉平, 吕雪幼, 璩辉, 等. 肝纤维化模型小鼠肝组织环状 RNA 表达谱分析 [J]. *温州医科大学学报*, 2018, 48(8): 563-566.
- [22] Koniaris LG, McKillop IH, Schwartz SI, et al. Liver regeneration [J]. *J Am Coll Surg*, 2003, 197(4): 634-659.
- [23] Li L, Guo J, Chen Y, et al. Comprehensive circRNA expression profile and selection of key circRNAs during priming phase of rat liver regeneration [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 80.
- [24] Shang X, Li G, Hui H, et al. Comprehensive circular RNA profiling reveals that has-circ-0005075, a new circular RNA biomarker, is involved in hepatocellular carcinoma development [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(22): e3811.
- [25] Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis [J]. *Cell Res*, 2015, 25(8): 981-984.
- [26] 周英利, 袁梦求, 胡欣, 等. 环状 RNA 在肝癌中的作用及机制研究 [EB/OL]. [2017-05-31]. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201705-1488>.

(收稿日期: 2018-12-04 本文编辑: 张在文)

(上接第 355 页)

- [2] Gerber JS, Prasad PA, Fiks AG, et al. Durability of benefits of an outpatient antimicrobial stewardship intervention after discontinuation of audit and feedback [J]. *JAMA*, 2014, 312(23): 2569-2570.
- [3] Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship [J]. *Clin Infect Dis*, 2007, 44(2): 159-177.
- [4] 崔梅, 徐建华, 于凡. 我院门诊处方抗菌药物使用点评分析 [J]. *南通大学学报(医学版)*, 2013, 33(1): 68-70.
- [5] 谢斌. 妇科抗菌药物在妇科疾病中临床应用 [J]. *中国社区医师*, 2017, 33(16): 6-7.
- [6] 抗菌药物临床应用指导原则 [J]. *中国中医药远程教育*, 2004, 2(12): 9-12.
- [7] 张苏芬. 门诊抗菌药物应用干预效果 [J]. *中国乡村医药*, 2014, 21(12): 62-63.
- [8] 陈敏. 抗菌药物专项整治前后西安市第一医院抗菌药物的使用情况分析 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(10): 2019-2024.
- [9] 李胜. 医院门诊抗菌药物干预前后效果比较 [J]. *医疗装备*, 2015, 28(10): 159-160.
- [10] 陆路, 宋玫香, 蔡博. 某院门诊抗菌药物干预前后使用情况的分析 [J]. *中国医药指南*, 2014, 12(13): 211-212.
- [11] 刘威, 于龙飞. 妇产科抗菌药物的临床应用 [J]. *中国药物经济学*, 2015, 10(4): 25-26.
- [12] 范利红, 苗彩云, 龚小明. 我院 2012 年抗菌药物专项整治期间抗菌药物的应用分析 [J]. *中国药物应用与监测*, 2013, 10(5): 286-290.
- [13] 邵伟, 李亚丽, 赵妍. HIS 系统中医嘱处理流程的思考与实践 [J]. *中国卫生产业*, 2012, 9(2): 190.
- [14] 胡家朋. 门诊抗菌药物不合理用药的调查及对策分析 [J]. *中国医药指南*, 2018, 16(7): 70.
- [15] 李胜英, 朱燕舞. 药师在临床抗菌药物合理应用中的作用 [J]. *中医药管理杂志*, 2017, 25(15): 80-82.
- [16] 张国钧. 治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的抗菌药物新进展 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(15): 2064-2067.

(收稿日期: 2018-12-25 本文编辑: 冯博)