

· 综述 ·

DOI: 10.12449/JCH251034

微RNA对胆汁淤积的调控作用及其机制

王琳琳^{1,2}, 朱正望^{1,2}, 赵静涵^{1,2}, 马瑞雪¹, 王 兵³, 朱平生¹, 苗明三²

1 河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450046

2 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 郑州 450046

3 上海交通大学医学院附属第六人民医院中医科, 上海 200233

通信作者: 朱平生, zhupingsheng@126.com (ORCID: 0009-0002-1678-392X)

摘要: 微RNA(miRNA)作为一类内源性微小非编码RNA,能够调节基因表达,从而干预心血管疾病、神经退行性疾病、代谢性疾病和自身免疫性疾病等的发生与发展过程。胆汁淤积的发病机制复杂,主要与胆汁酸的代谢和转运、氧化应激、炎症反应及肠道菌群等因素密切相关。目前,临床上治疗胆汁淤积的首选药物为熊去氧胆酸,但其存在不良反应且部分患者疗效不佳。研究发现,miRNA可通过调节胆汁酸代谢与转运、缓解氧化应激、抑制炎症反应、改善胆管细胞增生及调节肠道菌群等多种机制干预胆汁淤积的疾病进程,可作为胆汁淤积的新型生物标志物和作用靶点,具有较高的研究潜力和价值。因此,本文对近年来miRNA参与调控胆汁淤积的作用及相关机制进行整理与归纳,以期为导向miRNA防治胆汁淤积的进一步研究提供参考。

关键词: 胆汁淤积; 微RNAs; 基因表达调控

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82074340); 河南省“双一流”创建学科中医学科学研究专项(HSRP-DFCTCM-2023-1-19, HSRP-DFCTCM-2023-8-31, HSRP-DFCTCM-2023-8-32)

The regulatory role and mechanism of microRNA in cholestasis

WANG Linlin^{1,2}, ZHU Zhengwang^{1,2}, ZHAO Jinghan^{1,2}, MA Ruixue¹, WANG Bing³, ZHU Pingsheng¹, MIAO Mingsan²

1. The First Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Provincial Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Zhengzhou 450046, China; 3. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200233, China

Corresponding author: ZHU Pingsheng, zhupingsheng@126.com (ORCID: 0009-0002-1678-392X)

Abstract: As a type of endogenous small non-coding RNA, microRNA (miRNA) can regulate gene expression and thereby intervene against the development and progression of cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, metabolic diseases, and autoimmune diseases. The pathogenesis of cholestasis is complex and is mainly associated with the metabolism and transport of bile acids, oxidative stress, inflammatory response, and intestinal flora. Currently, ursodeoxycholic acid is the preferred drug for the clinical treatment of cholestasis, but it may cause adverse reactions and exhibit poor efficacy in some patients. Studies have shown that miRNA can intervene in the disease process of cholestasis through multiple mechanisms such as regulating bile acid metabolism and transport, alleviating oxidative stress, inhibiting inflammatory response, improving cholangiocyte proliferation, and regulating intestinal flora. It can be used as a new biomarker and action target for cholestasis, with high research potential and value. Therefore, this article summarizes the role and mechanisms of miRNA in regulating cholestasis in recent years, in order to provide a reference for further research on the prevention and treatment of cholestasis by targeting miRNA.

Key words: Cholestasis; MicroRNAs; Gene Expression Regulation

Research funding: General Project of National Natural Science Foundation of China (82074340); Scientific Research Project of Traditional Chinese Medicine for “Double First-Class” Discipline Establishment in Henan Province (HSRP-DFCTCM-2023-1-19, HSRP-DFCTCM-2023-8-31, HSRP-DFCTCM-2023-8-32)

胆汁淤积是指在多种因素作用下,胆汁的分泌、代谢和排泄出现障碍,致使胆汁在肝内蓄积,无法顺利进入十二指肠,从而进入血液的病理状态。胆汁淤积可损伤肝细胞和胆管细胞,诱发肝脏炎症和胆管细胞增生,最终导致肝纤维化甚至肝硬化。胆汁淤积早期通常无特异性临床表现,多仅表现为血清中ALP和GGT水平升高;疾病后期可能出现乏力、瘙痒、尿色加深和黄疸等症状^[1]。熊去氧胆酸是当前临床治疗胆汁淤积性肝病的一线药物,具有促进胆汁分泌与转运、抗氧化、抗细胞凋亡及免疫调节等药理作用^[2],但临床应用中部分患者应答欠佳,且可能出现腹泻、右上腹疼痛、皮疹、恶心及上呼吸道感染等不良反应^[3],因此亟需探索更有效的胆汁淤积治疗靶点和药物。

微RNA(microRNA, miRNA)是一类内源性微小非编码RNA,可通过抑制蛋白质翻译和促进mRNA降解调控基因表达,在细胞增殖、分化和凋亡等过程中发挥激活或抑制作用^[4]。miRNA表达异常会导致一系列生物过程中的基因表达谱改变,从而引发多种疾病;同时,其在人体液中具有高度稳定性,可作为疾病诊断和干预的理想生物标志物^[5]。研究发现,miRNA可通过调控多种信号通路参与心血管疾病、神经退行性疾病、代谢性疾病及自身免疫性疾病等发生过程^[6-7],还可作为胆汁淤积的生物标志物^[8],并在维持胆汁酸稳态、调节细胞增殖及凋亡、缓解肝纤维化等胆汁淤积相关病理过程中发挥关键作用^[9]。但目前miRNA的靶向治疗研究仍存在诸多不足,且临床转化率较低,有待进一步探索及相关临床诊疗技术的研发。鉴于此,本文总结归纳了目前研究发现的miRNA对胆汁淤积的调控作用及其部分机制,旨在为靶向miRNA防治胆汁淤积的研究提供参考。

1 胆汁淤积的发病机制

胆汁淤积的发病机制复杂,现代研究显示,其发生与胆汁酸代谢及转运、线粒体功能、炎症反应、氧化应激和肠道菌群等因素密切相关,且多伴随胆管细胞增生^[10]。胆汁酸代谢与转运障碍会导致大量毒性胆汁酸在肝脏中蓄积,引发肝细胞和胆道损伤及肝脏炎症反应,增加肝纤维化、肝硬化甚至肝衰竭的发生风险^[11]。肝细胞线粒体中的谷胱甘肽具有抗氧化防御和调节氧

化还原相关信号转导的作用,谷胱甘肽的消耗和线粒体基质的促氧化位移可使活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高,最终引发细胞死亡和组织损伤^[12]。炎症反应和胆汁淤积密切相关,胆汁淤积导致的毒性胆汁酸积聚可直接作为促炎剂,诱导炎症细胞和炎症因子的活化,破坏肝细胞和胆管上皮细胞,刺激促炎和促纤维化介质释放,进而导致胆汁淤积持续存在^[13]。胆管连接肝脏和肠道,胆汁酸在肝脏合成后通过胆道系统释放至肠道,部分胆汁酸进入远端回肠或结肠,参与肠道菌群的代谢过程;有证据表明,肠道菌群是维持胆汁酸稳态的核心,肠道菌群紊乱与胆汁淤积的发生密切相关^[14]。

2 参与调控胆汁淤积的miRNA

miRNA参与调控多种胆汁淤积相关疾病。原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性胆汁淤积性肝病,相关研究显示,PBC患者胆管细胞中miR-506存在过表达,该现象可导致胆管细胞中多种蛋白质失调,且miR-506会增强胆管细胞对毒性胆汁酸诱导的细胞凋亡的敏感性,还可促进PBC淋巴细胞的增殖与活化,从多方面参与PBC的疾病进程,提示miR-506是PBC发病机制中的关键因子,也是潜在的治疗靶点^[15]。洪雷等^[16]临床研究发现,妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)患者血清中miR-155水平高于妊娠期非ICP患者,且重度ICP组miR-155水平高于轻度ICP组,表明miR-155与ICP的发生发展密切相关,可能作为此类患者围产期预后预测的潜在靶点。上述结果表明,miRNA参与多种胆汁淤积相关疾病的病理过程,但其具体作用机制仍需进一步探索。

3 miRNA对胆汁淤积的调控作用及其机制

通过系统检索中国知网、万方、维普、PubMed等文献数据库,整理归纳miRNA参与调控胆汁淤积的作用靶点及相关信号通路的文献后发现,miRNA可通过调节胆汁酸的代谢与转运、缓解氧化应激、抑制炎症反应、改善胆管细胞增生及调节肠道菌群等多种干预机制改善胆汁淤积,具体见表1。

3.1 调节胆汁酸代谢与转运 在肝脏内,胆汁酸通过细胞色素P450酶合成,参与代谢、再生和激素信号传导等

表1 参与调控胆汁淤积的miRNA
Table 1 miRNA involved in the regulation of cholestasis

调控机制	miRNA	靶点/信号通路	参考文献
胆汁酸代谢与转运	miR-let7a-5p ↓	MRP2 ↑	[17]
	miR-378a-5p ↓	MDR3 ↑	[18]
	miR-199a-5p ↓	BSEP ↑	[19]
	miR-210 ↓	MLL4 ↑	[20]
	miR-194 ↓	β-Catenin ↑、CYP7A1 ↓	[21]
氧化应激	miR-21 ↓	MIP-2 ↓	[22]
炎症反应	miR-21 ↓	HMGB1/TLR4 ↓	[23]
胆管细胞增生	miR-21 ↓	PCNA ↓、Ki67 ↓	[24]
	miR-124 ↑	IL-6/STAT3 ↓	[25]
	miR-200c ↑	SESN1 ↓、IL-6/AKT ↓	[26]
肠道菌群	miR-21 ↓	FXR ↑、TGF-β ↑	[27]

注: ↑表达上调; ↓表达下调。

多种生理过程^[28],而胆汁酸滞留始终被视作胆汁淤积性肝损伤发生的主要原因。现代研究表明,可通过调控miRNA干预胆汁酸代谢与转运,进而干预胆汁淤积的疾病进程。

多药耐药相关蛋白2(multidrug resistance-associated protein 2,MRP2)作为外排转运体,在胆汁转运中发挥关键作用,是非胆汁酸依赖性胆汁流的主要驱动力^[29]。相关体内实验显示,与正常组相比,胆总管结扎(bile duct ligation,BDL)小鼠肝脏中miR-let7a-5p的表达上调约4倍,而MRP2的mRNA和蛋白水平显著降低;在体外实验中,人肝癌细胞(Huh-7)转染miR-let7a-5p模拟物抑制剂后,MRP2的mRNA和蛋白水平显著增加。上述结果证实,miR-let7a-5p参与调控胆汁酸转运体MRP2的表达,从而干预胆汁淤积^[17]。多药耐药蛋白3(multiple drug resistance 3,MDR3)作为磷脂转运蛋白,在肝细胞将胆汁酸转运至胆管腔过程中发挥着重要作用,可降低胆汁酸对胆管细胞的毒性^[30-31]。Song等^[18]对人肝癌细胞(HepG2)转染miR-378a-5p模拟物后发现,与对照组(未转染miR-378a-5p模拟物)相比,细胞中MDR3的mRNA和蛋白表达水平明显降低,提示miR-378a-5p可负向调控MDR3的表达;进一步转染miR-378a-5p抑制剂后,细胞中MDR3的mRNA和蛋白表达均显著上调。上述结果表明,通过下调miR-378a-5p可增加MDR3的表达,进而调控胆汁酸转运,干预胆汁淤积相关疾病。

胆盐输出泵(bile salt export pump,BSEP)是位于肝细胞胆小管膜上的ATP依赖性外排转运体,为胆汁酸外排提供主要动力,负责将胆盐从肝细胞输送至胆小管,是胆汁酸从血液向胆汁转运的限速酶^[32]。有研究发现,对C57BL6/J小鼠进行BDL手术造模4d后,与假手术组

相比,BDL组小鼠肝脏中BSEP的mRNA和蛋白表达显著降低,miR-199a-5p的表达则显著升高^[19]。采用法尼醇X受体(farnesoid X receptor,FXR)激动剂奥贝胆酸(obeticholic acid,OCA)^[33]治疗后,BDL小鼠BSEP的mRNA和蛋白表达水平与假手术组相比无明显差异,且miR-199a-5p的表达受到抑制。进一步研究发现,FXR肝细胞特异性敲除小鼠的肝组织中,BSEP的mRNA和蛋白表达水平显著降低,miR-199a-5p的表达显著升高。实验结果表明,OCA可通过激活FXR抑制miR-199a-5p的表达,诱导BSEP的表达,促进胆汁酸外排,进而缓解胆汁淤积性肝损伤。

混合连锁白血因子4(mixed lineage leukemia 4,MLL4)作为一种FXR共激活因子,可诱导小异二聚体配体(small heterodimer partner,SHP)和BSEP的表达,参与胆汁淤积的病理过程^[34]。Kim等^[20]研究发现,miR-210过表达小鼠表现出胆囊体积增大、胆汁酸水平升高、肝细胞水肿及肝组织炎性浸润等病理改变,且其肝脏中与胆汁酸转运相关的SHP和BSEP的mRNA水平显著降低,提示肝脏miR-210过表达可能导致胆汁酸代谢紊乱和胆汁淤积。同时,miR-210过表达小鼠肝脏中MLL4的mRNA和蛋白水平明显下降,而抑制miR-210会特异性增加MLL4的表达,表明MLL4可能是miR-210的直接靶点。进一步研究显示,α-萘异硫氰酸酯(alpha-naphthylisothiocyanate,ANIT)诱导的胆汁淤积小鼠肝脏中miR-210水平升高,MLL4的mRNA水平降低,经OCA干预后,miR-210水平下降的同时MLL4、SHP和BSEP的mRNA表达升高。上述结果表明,在胆汁淤积小鼠中激活FXR可抑制miR-210表达,进而上调MLL4,诱导SHP和BSEP的表达,缓解胆汁酸合成和转运障碍,改善胆汁淤积状况。

胆固醇7 α -羟化酶(cholesterol 7-alpha hydroxylase, CYP7A1)是人体肝脏中胆固醇向胆汁酸转化的经典限速酶,其活性表达可调节机体胆汁酸的合成^[35]。 β -连环蛋白(β -Catenin)相关的Wnt/ β -Catenin信号通路可调节细胞增殖与分化,参与肝脏的生长、代谢、再生等生理及病理过程^[36]。Chen等^[21]对miR-194肝特异性敲除(LKO)小鼠和对照野生型(WT)小鼠进行BDL及ANIT造模诱导肝脏胆汁淤积后发现,在BDL造模2周的模型中,LKO小鼠的死亡率、肝脏病理损伤,以及血清ALT、AST、TBil及胆汁酸水平均显著低于WT小鼠;在ANIT造模48h的模型中,与WT小鼠相比,LKO小鼠肝损伤程度较轻,肝内胆汁酸水平明显降低,且肝内CYP7A1蛋白水平下降。同时,在未经处理的LKO小鼠肝细胞中 β -Catenin的表达上调,且经BDL造模后,LKO小鼠肝细胞中 β -Catenin信号明显被激活。进一步研究表明,miR-194的过表达和 β -Catenin的敲低均可上调CYP7A1的表达,且肝内胆汁淤积可下调miR-194的表达,提示miR-194可能作为胆汁酸的应答基因。上述研究表明,miR-194的表达缺失可能通过激活 β -Catenin信号通路并降低CYP7A1表达,改善胆汁淤积诱导的肝损伤。

3.2 缓解氧化应激 毒性胆汁酸的蓄积会破坏机体的氧化还原平衡,过量的氧自由基及其他ROS物质可激活巨噬细胞和中性粒细胞等免疫细胞,并促使大量炎症介质释放。研究表明,增强线粒体的抗氧化防御能力可显著减轻胆汁淤积动物的肝损伤和肝纤维化表现^[37]。阻塞性胆汁淤积发生后,肝脏长期暴露于疏水性胆汁酸中会加剧氧化应激,导致ROS积累。血红素氧合酶1(heme oxygenase-1, HO-1)作为一种重要的抗氧化酶,在氧化应激和细胞损伤发生后表达上调,可反映机体的氧化损伤程度^[38]。同时,肝内胆汁酸浓度升高会激活肝细胞中的细胞外信号调节蛋白激酶,上调巨噬细胞炎症蛋白-2(macrophage inflammatory protein-2, MIP-2)等促炎细胞因子,加重胆汁淤积引发的肝损伤^[39]。Afonso等^[22]研究发现,对WT小鼠和miR-21缺失(miR-21^{-/-})小鼠进行BDL手术诱导胆汁淤积后,WT小鼠肝组织出现中至重度多灶性坏死,伴有出血和炎症细胞浸润,肝脏中miR-21、ROS的表达上调,且HO-1 mRNA表达显著升高;与WT小鼠相比,miR-21^{-/-}小鼠肝细胞病变减轻,MIP-2和HO-1的mRNA表达下降,且肝脏ROS和脂质过氧化水平显著降低,提示miR-21缺失可缓解BDL小鼠的肝损伤并抑制氧化应激反应。

3.3 抑制炎症反应 胆汁淤积导致的毒性胆汁酸蓄积,会刺激肝细胞和胆管细胞释放大量促炎介质,进而引发肝脏炎症损伤。现代研究表明,miRNA是机体多种炎症性疾病的关键调节因子^[40],且与胆汁淤积过程中的炎症反应密切相关^[41]。高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)是组织损伤中启动炎症反应的关键细胞因子,胆汁淤积发生时,HMGB1可通过激活Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4),诱导核转录因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)、肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)等炎症因子的产生,进而引发炎症反应^[42]。Nabih等^[23]通过对Wistar大鼠实施BDL手术建立胆汁淤积动物模型,并给予瑞舒伐他汀(rosuvastatin, Rvs)灌胃治疗后发现,BDL大鼠血清ALP、GGT、ALT、AST、TBil及DBil水平明显升高,肝脏中miR-21、TLR4和HMGB1的表达上调,同时肝脏炎症标志物NF- κ B、TNF- α 和IL-6的水平升高;经Rvs治疗后,上述指标均显著降低,且HMGB1和miR-21在所有研究组中均具有显著相关性,提示Rvs可通过抑制miR-21表达和HMGB1/TLR4信号通路发挥抗炎作用,改善胆汁淤积引起的肝损伤和炎症反应。

3.4 抑制胆管细胞增生 胆管细胞是PBC和原发性硬化性胆管炎等胆汁淤积性肝病的主要靶细胞,而胆管细胞增生是此类疾病的典型特征^[43]。胆汁淤积时,肝内大量蓄积的胆汁酸可刺激胆管细胞增生以阻止胆道破裂,但过度的胆管增生可能会诱发胆管梗阻和肝纤维化^[44]。

增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)在DNA复制、细胞增殖及细胞周期调控中发挥重要作用,Ki67作为一种增殖细胞相关核蛋白,同样在细胞增殖中发挥关键作用^[45-46]。针对WT小鼠和miR-21^{-/-}小鼠经BDL手术造模的研究显示,与未造模的WT小鼠相比,造模后的WT小鼠肝脏和胆管细胞中miR-21的表达明显上调,肝内PCNA表达增加,胆汁中Ki67表达增强,血清中ALT、ALP水平升高,且肝组织出现门静脉炎症浸润、肝细胞灶性坏死和胆管增生等病理改变;而与造模后的WT小鼠相比,造模后的miR-21^{-/-}小鼠肝损伤明显减轻,PCNA表达显著降低,胆汁中Ki67表达减弱,血清中ALT、ALP水平下降,提示miR-21表达缺失或可改善胆汁淤积所致肝损伤,减少胆管异常增生^[24]。

信号转导及转录激活蛋白3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)可调控肝细胞增殖及向胆管上皮细胞的转分化,进而干预胆汁淤积所致的胆管增生^[47]。Xiao等^[25]进行体内外实验研究后发现,在

体内实验中,将38只SD大鼠分为假手术组、BDL组和BDL+miR-124组,干预后与假手术组相比,BDL组大鼠血清中ALT、AST、GGT、TBil、DBil水平升高,肝组织中IL-6表达增加,miR-124 mRNA水平显著降低;BDL+miR-124组大鼠miR-124高表达,与BDL组相比,肝脏中STAT3、p-STAT3和IL-6R(IL-6受体)的蛋白水平显著降低。在体外实验中,研究者对原代胆管细胞进行miR-124转染后,明显阻断了IL-6诱导的细胞增殖,并显著下调了STAT3和IL-6R的蛋白表达水平。上述实验结果表明,IL-6是正常胆管细胞生长和增殖的重要调节因子,而miR-124可能通过靶向IL-6/STAT3信号通路抑制胆汁淤积导致的胆管细胞过度增生。

Sestrin 1 (SESN1)为进化上保守的应激反应蛋白,参与调节细胞的生长和存活^[48]。PI3K(磷脂酰肌醇3-激酶)/AKT(蛋白激酶B)信号通路在胆管细胞增殖中发挥关键作用,AKT激活是胆汁酸介导的胆管细胞增殖的早期事件,且IL-6可激活PI3K/AKT通路增强细胞增殖^[49-50]。Song等^[26]对WT小鼠和miR-200c敲除(miR-200c^{-/-})小鼠进行BDL造模后发现,BDL造模可使小鼠肝细胞中miR-200c的表达中度升高,但会显著降低胆管细胞中miR-200c的表达;与WT小鼠相比,miR-200c^{-/-}小鼠肝内胆汁淤积面积和PCNA阳性细胞显著增加,同时血清中IL-6水平升高。进一步研究发现,SESN1是miR-200c的直接靶基因,且SESN1可促进IL-6介导的胆管细胞增殖。对SESN1敲除(SESN1^{-/-})小鼠和SESN1未敲除(SESN1^{+/+})小鼠进行BDL造模后发现,SESN1^{-/-}小鼠肝脏内胆管周围纤维化和胆管增生显著减少,p-AKT蛋白表达显著降低,提示SESN1缺失可抑制AKT的激活。上述实验结果表明,BDL诱导的胆汁淤积可导致胆管细胞中miR-200c表达下降及SESN1表达上升,进而激活IL-6/AKT信号通路,加重胆管细胞增生。因此,可通过增强miR-200c表达抑制SESN1水平和IL-6/AKT信号通路,有望干预胆汁淤积引起的胆管增生。

3.5 调节肠道菌群 现代研究发现,分泌到肠道的细胞外miRNA可调节肠道菌群,进而影响胆汁酸稳态,与肝脏疾病的发生关系密切^[51]。研究表明,miR-21的表达增加与肠道炎症相关,而转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)可调节免疫反应和损伤后的肠黏膜再生,保护肠道的屏障功能^[52];FXR可通过CYP7A1调节肝脏中胆汁酸的合成,对BDL诱导的回肠损伤具有保护作用^[53]。Santos等^[27]对WT小鼠和miR-21^{-/-}小鼠进行BDL手术诱导胆汁淤积后发现,与假手术组相比,WT小鼠小肠中FXR

和肝脏中CYP7A1的mRNA水平显著降低;与WT小鼠相比,miR-21^{-/-}小鼠小肠中FXR和肝脏中CYP7A1的mRNA水平明显升高,且miR-21^{-/-}小鼠小肠中TGF- β mRNA水平升高,肠道通透性显著降低,提示miR-21缺失可缓解BDL小鼠的肝损伤,甚至减轻肝纤维化,并维持肠道稳态。BDL手术会导致动物出现与胆汁酸池破坏相关的肠道菌群失调,检测发现,假手术WT小鼠肠道菌群中拟杆菌门大量富集,假手术miR-21^{-/-}小鼠肠道菌群中拟杆菌门和厚壁菌门比例均衡,且乳酸杆菌属相对丰度增加约6倍,表明miR-21的缺失可增加小鼠小肠中乳酸杆菌的丰度。上述实验证实,抑制miR-21表达可通过调节肠道菌群恢复肝脏稳态,干预胆汁淤积的疾病进程。miRNA参与调控胆汁淤积的机制见图1。

4 小结

胆汁淤积的发生受多种复杂因素影响,综合近年来通过调控miRNA干预胆汁淤积的相关研究发现,miRNA可通过调节胆汁酸代谢与转运、缓解氧化应激、抑制炎症反应、减轻胆管细胞增生及恢复肠道菌群稳态等途径发挥干预作用。miRNA有望成为胆汁淤积新型潜在的生物标志物和作用靶点,为相关疾病的防治提供新的思路与方法。但当前研究仍存在一定局限性:首先,胆汁淤积的发病机制复杂且尚未完全明晰,对胆汁淤积相关疾病的临床防治和治疗药物研发造成了显著阻碍,未来需加强对其发病机制的研究,探寻更科学有效的诊疗方法;其次,虽已有研究指出miRNA可作为胆汁淤积的生物标志物和临床诊疗靶点,但目前针对其具体调控作用和机制的研究较为有限,后续需开展大量科学规范的体内外实验加以验证;最后,miRNA对疾病的干预并非仅通过单一信号通路发挥作用,目前关于多个信号通路之间交叉作用的研究较为欠缺。此外,根据ceRNA(竞争性内源RNA)假说^[54],miRNA与mRNA(信使RNA)、lncRNA(长链非编码RNA)、circRNA(环状RNA)等内源性RNA之间存在复杂的调控网络。

经整理归纳发现,miR-21可通过调控FXR、MIP-2、PCNA、HMGB1/TLR4等多个靶点或通路,在胆汁淤积干预中发挥缓解氧化应激、减轻炎症反应、改善胆管细胞增生及调节肠道菌群等多方面作用,表明同一miRNA可通过多种机制调控同一疾病。同时,miR-let7a-5p、miR-378a-5p、miR-199a-5p、miR-210、miR-194等多种miRNA均可通过调节胆汁酸代谢与转运参与胆汁淤积的调控,涉及MRP2、MDR3、BSEP、MLL4、 β -Catenin等多个靶点或通路,表明不同miRNA可通过相同作用机制调控

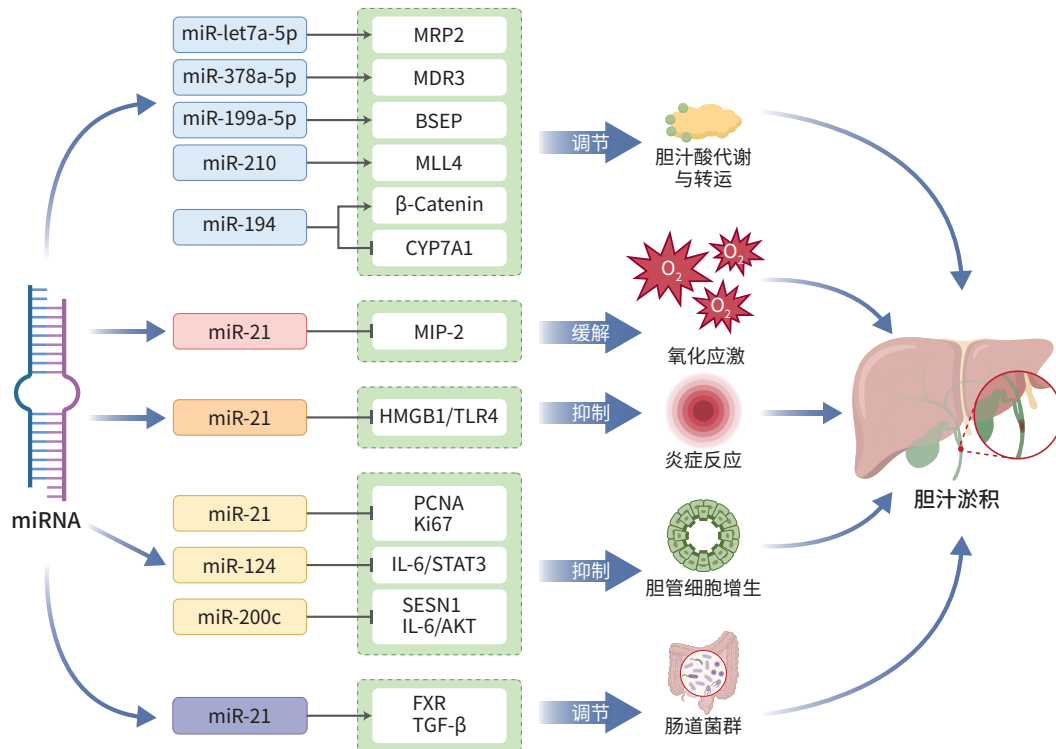


图1 miRNA参与调控胆汁淤积的机制

Figure 1 Mechanism of miRNA involved in the regulation of cholestasis

同一疾病。另有研究针对 miR-221、miR-34a、miR-3614-5p 在 ICP 中的表达及相关性进行分析后发现, ICP 患者外周血单个核细胞和胎盘组织中的上述 3 种 miRNA 的表达均升高, 且重度患者升高更显著, 三者之间呈正相关, 推测其可能协同参与 ICP 的发生与发展^[55]。因此, 未来需深入探索多种 miRNA 之间是否存在交叉、协同、拮抗等相互作用及其对疾病干预的影响。

综上所述, miRNA 显示出作为胆汁淤积相关疾病诊断、治疗及预后评估的新型生物标志物的潜力, 但其仍面临诸多挑战。未来需深入探索 miRNA 的作用机制, 推动 miRNA 作为生物标志物和靶向治疗药物的临床应用开发, 并进行 miRNA 鉴定及开发技术的创新, 实现 miRNA 与基因、蛋白质、代谢等多组学的系统整合, 以提高其安全性和临床转化率。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 王琳琳负责文章选题和论文撰写; 朱正望、赵静涵、马瑞雪参与数据收集和文章修改; 朱平生、苗明三、王兵负责指导文章撰写并最终定稿。

参考文献:

[1] National Center for Clinical Research of Infectious Diseases. Expert con-

sensus on the diagnosis and treatment of intrahepatic cholestasis (2021 edition) [J]. Chin J Clin Infect Dis, 2021, 14(6): 401-412. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2021.06.001.

国家感染性疾病临床医学研究中心. 肝内胆汁淤积症诊治专家共识(2021版) [J]. 中华临床感染病杂志, 2021, 14(6): 401-412. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2021.06.001.

[2] CIFUENTES-SILVA E, CABELLO-VERRUGIO C. Bile acids as signaling molecules: Role of ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease [J]. Curr Protein Pept Sci, 2024, 25(3): 206-214. DOI: 10.2174/1389203724-666230818092800.

[3] SUN XL, HU X, ZHANG YT. Clinical application of ursodeoxycholic acid [J]. Chin J Pharmacovigil, 2022, 19(10): 1149-1153. DOI: 10.19803/j.1672-8629.20210604.

孙雪林, 胡欣, 张亚同. 熊去氧胆酸的临床应用进展 [J]. 中国药物警戒, 2022, 19(10): 1149-1153. DOI: 10.19803/j.1672-8629.20210604.

[4] MA HT, TANG YM. Research advances in exosomes in primary biliary cholangitis [J]. J Clin Hepatol, 2022, 38(8): 1896-1900. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.08.035.

马海涛, 唐映梅. 外泌体在原发性胆汁性胆管炎中作用的研究进展 [J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(8): 1896-1900. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.08.035.

[5] HO PTB, CLARK IM, LE LTT. MicroRNA-based diagnosis and therapy [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7167. DOI: 10.3390/ijms23137167.

[6] SEARLES CD. MicroRNAs and cardiovascular disease risk [J]. Curr Cardiol Rep, 2024, 26(2): 51-60. DOI: 10.1007/s11886-023-02014-1.

[7] VAGHF A, KHANSARINEJAD B, GHAZNAVI-RAD E, et al. The role of microRNAs in diseases and related signaling pathways [J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(7): 6789-6801. DOI: 10.1007/s11033-021-06725-y.

[8] KAGAWA T, SHIRAI Y, ODA S, et al. Identification of specific microRNA biomarkers in early stages of hepatocellular injury, cholestasis, and steatosis in rats [J]. Toxicol Sci, 2018, 166(1): 228-239. DOI: 10.1093/toxsci/kfy200.

[9] MARIN JGG, BUJANDA L, BANALES JM. MicroRNAs and cholest-

- tatic liver diseases[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2014, 30(3): 303-309. DOI: 10.1097/MOG.000000000000051.
- [10] YOKODA RT, RODRIGUEZ EA. Review: Pathogenesis of cholestatic liver diseases[J]. *World J Hepatol*, 2020, 12(8): 423-435. DOI: 10.4254/wjh.v12.i8.423.
- [11] FUCHS CD, TRAUNER M. Role of bile acids and their receptors in gastrointestinal and hepatic pathophysiology[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(7): 432-450. DOI: 10.1038/s41575-021-00566-7.
- [12] GHANBARINEJAD V, OMMATI MM, JIA ZP, et al. Disturbed mitochondrial redox state and tissue energy charge in cholestasis[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(9): e22846. DOI: 10.1002/jbt.22846.
- [13] CHEN J, ZHANG SJ. The role of inflammation in cholestatic liver injury[J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 4527-4540. DOI: 10.2147/JIR.S430730.
- [14] YU LL, LIU YR, WANG SH, et al. Cholestasis: Exploring the triangular relationship of gut microbiota-bile acid-cholestasis and the potential probiotic strategies[J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2181930. DOI: 10.1080/19490976.2023.2181930.
- [15] ERICE O, MUNOZ-GARRIDO P, VAQUERO J, et al. MicroRNA-506 promotes primary biliary cholangitis-like features in cholangiocytes and immune activation[J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1420-1440. DOI: 10.1002/hep.29533.
- [16] HONG L, ZHU XL, HANG C, et al. The diagnostic value of CG, LAP and miR-155 in intrahepatic cholestasis of pregnancy and relationship with disease severity[J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis*, 2023, 33(12): 1069-1072, 1077. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2023.012.004. 洪雷, 朱晓丽, 杭楚, 等. CG、LAP与miR-155对妊娠期肝内胆汁淤积症的诊断价值及与疾病严重程度的关系[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2023, 33(12): 1069-1072, 1077. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2023.012.004.
- [17] BALASUBRAMANIAN N, DEVEREAUX MW, ORLICKY DJ, et al. Up-regulation of miR-let7a-5p leads to decreased expression of ABCB2 in obstructive cholestasis[J]. *Hepatol Commun*, 2019, 3(12): 1674-1686. DOI: 10.1002/hep4.1433.
- [18] SONG CW, QIU W, ZHOU XQ, et al. Elevated hepatic MDR3/ABCB4 is directly mediated by miR-378a-5p in human obstructive cholestasis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(6): 2539-2547. DOI: 10.26355/eurrev_201903_17402.
- [19] BALASUBRAMANIAN N, DEVEREAUX MW, ORLICKY DJ, et al. miR-199a-5p inhibits the expression of ABCB11 in obstructive cholestasis[J]. *J Biol Chem*, 2021, 297(6): 101400. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.101400.
- [20] KIM YC, JUNG H, SEOK S, et al. MicroRNA-210 promotes bile acid-induced cholestatic liver injury by targeting mixed-lineage leukemia-4 methyltransferase in mice[J]. *Hepatology*, 2020, 71(6): 2118-2134. DOI: 10.1002/hep.30966.
- [21] CHEN PC, HSU CP, WANG SY, et al. miR-194 up-regulates cholesterol 7 alpha-hydroxylase expression via β -catenin signaling and aggravates cholestatic liver diseases[J]. *Am J Pathol*, 2023, 193(6): 755-768. DOI: 10.1016/j.ajpath.2023.02.007.
- [22] AFONSO MB, RODRIGUES PM, SIMÃO AL, et al. miRNA-21 ablation protects against liver injury and necroptosis in cholestasis[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(5): 857-872. DOI: 10.1038/s41418-017-0019-x.
- [23] NABIH ES, EL-KHARASHI OA. Targeting HMGB1/TLR4 axis and miR-21 by rosuvastatin: Role in alleviating cholestatic liver injury in a rat model of bile duct ligation[J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2019, 392(1): 37-43. DOI: 10.1007/s00210-018-1560-y.
- [24] KENNEDY LL, MENG FY, VENTER JK, et al. Knockout of microRNA-21 reduces biliary hyperplasia and liver fibrosis in cholestatic bile duct ligated mice[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(12): 1256-1267. DOI: 10.1038/labinvest.2016.112.
- [25] XIAO YT, WANG J, YAN WH, et al. Dysregulated miR-124 and miR-200 expression contribute to cholangiocyte proliferation in the cholestatic liver by targeting IL-6/STAT3 signalling[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(4): 889-896. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.033.
- [26] SONG YF, TRAN M, WANG L, et al. miR-200c-3p targets SESN1 and represses the IL-6/AKT loop to prevent cholangiocyte activation and cholestatic liver fibrosis[J]. *Lab Invest*, 2022, 102(5): 485-493. DOI: 10.1038/s41374-021-00710-6.
- [27] SANTOS AA, AFONSO MB, RAMIRO RS, et al. Host miRNA-21 promotes liver dysfunction by targeting small intestinal *Lactobacillus* in mice[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1-18. DOI: 10.1080/19490976.2020.1840766.
- [28] CHIANG JYL. Bile acid metabolism and signaling[J]. *Compr Physiol*, 2013, 3(3): 1191-1212. DOI: 10.1002/cphy.c120023.
- [29] VITALE G, MATTIACCIO A, CONTI A, et al. Molecular and clinical links between drug-induced cholestasis and familial intrahepatic cholestasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5823. DOI: 10.3390/ijms24065823.
- [30] STÄTTERMAYER AF, HALILBASIC E, WRBA F, et al. Variants in ABCB4 (MDR3) across the spectrum of cholestatic liver diseases in adults[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(3): 651-663. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.04.036.
- [31] NAYAGAM JS, WILLIAMSON C, JOSHI D, et al. Review article: Liver disease in adults with variants in the cholestasis-related genes ABCB11, ABCB4 and ATP8B1[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2020, 52(11-12): 1628-1639. DOI: 10.1111/apt.16118.
- [32] LIU HT, IROBALIEVA RN, KOWAL J, et al. Structural basis of bile salt extrusion and small-molecule inhibition in human BSEP[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 7296. DOI: 10.1038/s41467-023-43109-1.
- [33] WANG K, ZHANG YC, WANG GJ, et al. FXR agonists for MASH therapy: Lessons and perspectives from obeticholic acid[J]. *Med Res Rev*, 2024, 44(2): 568-586. DOI: 10.1002/med.21991.
- [34] ANANTHANARAYANAN M, LI YF, SURAPUREDDI S, et al. Histone H3K4 trimethylation by MLL3 as part of ASCOM complex is critical for NR activation of bile acid transporter genes and is downregulated in cholestasis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 300(5): G771-G781. DOI: 10.1152/ajpgi.00499.2010.
- [35] XU D, YIN MJ, WANG YM, et al. Research progress on the regulation of FXR-CYP7A1 axis in cholestatic liver disease[J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis*, 2021, 31(5): 470-473. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2021.05.025. 徐懂, 尹美君, 王钰铭, 等. FXR-CYP7A1轴在胆汁淤积性肝病中的调控研究进展[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2021, 31(5): 470-473. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2021.05.025.
- [36] CARSON MD, NEJAK-BOWEN K. Wnt/ β -catenin signaling in liver pathobiology[J]. *Annu Rev Pathol*, 2025, 20(1): 59-86. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-111523-023535.
- [37] HEIDARI R, NIKNAHAD H. The role and study of mitochondrial impairment and oxidative stress in cholestasis[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1981: 117-132. DOI: 10.1007/978-1-4939-9420-5_8.
- [38] YANG HJ, LUO FY, WEI Y, et al. TGR5 protects against cholestatic liver disease via suppressing the NF- κ B pathway and activating the Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(14): 1158. DOI: 10.21037/atm-21-2631.
- [39] O'BRIEN KM, ALLEN KM, ROCKWELL CE, et al. IL-17A synergistically enhances bile acid-induced inflammation during obstructive cholestasis[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(5): 1498-1507. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.07.019.
- [40] DAS K, RAO LVM. The role of microRNAs in inflammation[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15479. DOI: 10.3390/ijms232415479.
- [41] ZHANG YD, LIU Y, HUO W, et al. The role of miRNA and long noncoding RNA in cholestatic liver diseases[J]. *Am J Pathol*, 2024, 194(6): 879-893. DOI: 10.1016/j.ajpath.2024.02.006.
- [42] ABDELFATTAH AM, MAHMOUD SS, EL-WAFAEY DI, et al. Diacerein ameliorates cholestasis-induced liver fibrosis in rat via modulating HMGB1/RAGE/NF- κ B/JNK pathway and endoplasmic reticulum stress[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 11455. DOI: 10.1038/s41598-023-38375-4.
- [43] SALAS-SILVA S, SIMONI-NIEVES A, CHÁVEZ-RODRÍGUEZ L, et al. Mechanism of cholangiocellular damage and repair during cholestasis[J]. *Ann Hepatol*, 2021, 26: 100530. DOI: 10.1016/j.aohp.2021.100530.
- [44] WOOLBRIGHT BL, JAESCHKE H. Inflammation and cell death during cholestasis: The evolving role of bile acids[J]. *Gene Expr*,

- 2019, 19(3): 215-228. DOI: 10.3727/105221619X15614873062730.
- [45] DENG DJ, LI L, WANG CT, et al. Effect and mechanism of osthole on proliferation and apoptosis in human intrahepatic cholangiocarcinoma HuCCT1 cells[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(20): 54-60. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20222423.
邓冬杰, 李励, 王楚婷, 等. 蛇床子素对人肝内胆管癌HuCCT1细胞增殖与凋亡的影响及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(20): 54-60. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20222423.
- [46] WANG JZ, LI WX, HUANG JF, et al. Expression of pan-TRK protein in intrahepatic cholangiocarcinoma and its correlation with Ki67[J]. Guangdong Med J, 2023, 44(10): 1250-1253. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20231879.
王见璋, 李炜霞, 黄金凤, 等. pan-TRK蛋白在肝内胆管细胞癌中的表达及其与Ki67的相关性[J]. 广东医学, 2023, 44(10): 1250-1253. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20231879.
- [47] ABE M, YOSHIDA T, AKIBA J, et al. STAT3 deficiency prevents hepatocarcinogenesis and promotes biliary proliferation in thioacetamide-induced liver injury[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(37): 6833-6844. DOI: 10.3748/wjg.v23.i37.6833.
- [48] HAIDUROV A, ZHELTKHIN AO, SNEZHKINA AV, et al. p53-regulated SESN1 and SESN2 regulate cell proliferation and cell death through control of STAT3[J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1): 105. DOI: 10.1186/s12964-025-02104-3.
- [49] ALPINI G, GLASER S, ALVARO D, et al. Bile acid depletion and repletion regulate cholangiocyte growth and secretion by a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway in rats[J]. Gastroenterology, 2002, 123(4): 1226-1237. DOI: 10.1053/gast.2002.36055.
- [50] KAUR S, BANSAL Y, KUMAR R, et al. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2020, 28(5): 115327. DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115327.
- [51] FARDI F, KHASRAGHI LB, SHAHBAKHTI N, et al. An interplay between non-coding RNAs and gut microbiota in human health[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2023, 201: 110739. DOI: 10.1016/j.diabres.2023.110739.
- [52] LIU LS, WANG YL, YU SC, et al. Transforming growth factor beta promotes inflammation and tumorigenesis in Smad4-deficient intestinal epithelium in a YAP-dependent manner[J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(23): e2300708. DOI: 10.1002/advs.202300708.
- [53] JIAN YP, YANG G, ZHANG LH, et al. *Lactobacillus plantarum* alleviates irradiation-induced intestinal injury by activation of FXR-FGF15 signaling in intestinal epithelia[J]. J Cell Physiol, 2022, 237(3): 1845-1856. DOI: 10.1002/jcp.30651.
- [54] XU BL, CHENG Y, WEI Y. The role of competitive endogenous RNA in the development of cholangiocarcinoma[J]. J Clin Hepatol, 2022, 38(11): 2659-2662. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.11.044.
徐宝麟, 成雨, 魏勇. 竞争性内源RNA在胆管细胞癌发生发展中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(11): 2659-2662. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.11.044.
- [55] SHI Y, PAN H. The expression and correlation of microRNA-221, microRNA-34a and microRNA-3614-5p in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Matern Child Health Care China, 2023, 38(12): 2272-2275. DOI: 10.19829/j.zgfybj.issn.1001-4411.2023.12.036.
时艺, 潘华. 微小RNA-221、微小RNA-34a及微小RNA-3614-5p在妊娠期肝内胆汁淤积症中的表达及相关性[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(12): 2272-2275. DOI: 10.19829/j.zgfybj.issn.1001-4411.2023.12.036.

收稿日期: 2025-03-02; 录用日期: 2025-05-09

本文编辑: 葛俊

引证本文: WANG LL, ZHU ZW, ZHAO JH, et al. The regulatory role and mechanism of microRNA in cholestasis [J]. J Clin Hepatol, 2025, 41(10): 2187-2194.
王琳琳, 朱正望, 赵静涵, 等. 微RNA对胆汁淤积的调控作用及其机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(10): 2187-2194.

• 致谢 •

本期审稿专家 Current reviewers

王荣琦 王晓忠 王萍 王维民 戈宏焱 毛靖伟 孔雨佳 孔媛媛 邓宝成 卢明芹 丛敏
成扬 吕洪敏 朱月永 朱风尚 朱立国 朱向高 朱坚胜 朱英 朱磊 华贇鹏 向慧玲
刘全达 刘鸿凌 池晓玲 许红梅 杜顺达 杜奕奇 李文岗 李波 李勇 李鹏 李璐
吴江锋 吴浩 汪安江 张伟 张秋瓚 张野 张颖 陈卫昌 陈平圣 陈闯 陈哲宇
陈煜 武振宇 范文亮 林苏 赵登秋 郝玉霞 段学章 段维佳 姜晶 宫嫚 姚登福
贾建伟 倪明 徐京杭 徐锋 徐翼 殷涛 高海军 唐小平 黄长文 黄成 崔梅花
梁伟斌 彭亮 傅德良 蔡晓波