



马岚青, 医学博士, 博士生导师, 主任医师。现任昆明医科大学第一附属医院消化内科副主任(主持工作), 昆明医科大学第一附属医院内科住院医师规范化培训基地主任, 昆明医科大学第一附属医院内科教研室主任。美国加州大学圣地亚哥分校医学中心访问学者。中华医学会消化病学分会全国青年委员会委员; 中华医学会消化病学分会肿瘤协助组委员; 中国女医师协会消化病专业分会委员; 云南省医院协会消化内科专业委员会主任委员; 云南女医师协会消化病学分会主任委员; 云南省医师协会消化医师分会副主任委员; 云南省医学会消化病学分会委员; 中国医师协会内镜医师培训学院导师。云南省中青年学术和技术带头人, 云南省“万人计划”名医, 云南省医学学科领军

人才、带头人, 云南省政府特殊津贴专家, 国家自然科学基金评委。擅长消化内镜诊治技术如 EMR/ESD/POEM/STER/EFTR、肝病、幽门螺杆菌感染性疾病及消化系统急、难、危重症诊治。主持 4 项国家自然科学基金及 6 项云南省自然科学基金项目, 以第一作者及通讯作者发表 SCI 论文 20 余篇, 总影响因子 IF > 100, 获国家级发明专利及新型实用专利 5 项, 副主编及编委发表论著 4 部, 获省级自然科学奖、科技进步奖一等奖、三等奖共 5 项。

## miRNA 在非酒精性脂肪性肝病中的研究进展

陈杭<sup>1,2)</sup>, 崔琦<sup>2)</sup>, 黄敏杉<sup>1,2)</sup>, 刘建军<sup>2)</sup>, 马岚青<sup>1)</sup>

(1) 昆明医科大学第一附属医院消化内科, 云南省消化系统疾病研究所, 云南省消化系统疾病临床研究中心, 云南昆明 650032; 2) 昆明医科大学生物医学工程研究院, 云南昆明 650500)

**[摘要]** 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种最常见的慢性肝病, 全球患病率约为 30.05%~32.40%, 并且与多种其他疾病密切相关。近年来, miRNA(microRNA, miRNA)作为无创生物标志物在 NAFLD 的发病机制和诊断中扮演了重要角色。miRNA 是一种小分子 RNA, 通过控制靶基因的转录和翻译来调节基因表达和蛋白质合成。miRNA 在脂肪代谢和胰岛素抵抗中都起着重要作用, 并在 NAFLD 的发病机制中发挥着具体的调控角色。就 miRNA 在脂肪代谢、胰岛素抵抗、NAFLD 发生发展中的作用及机制的作一综述。

**[关键词]** 非酒精性脂肪性肝病; miRNA; 胰岛素抵抗

**[中图分类号]** R575 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)01-0001-07

## Research Progress of miRNA in Non-alcoholic Fatty Liver Disease

CHEN Hang<sup>1,2)</sup>, CUI Qi<sup>2)</sup>, HUANG Minshan<sup>1,2)</sup>, LIU Jianjun<sup>2)</sup>, MA Lanqing<sup>1)</sup>

(1) Dept. of Gastroenterology, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Institute of Digestive Disease, Yunnan Clinical Research Center for Digestive Diseases, Kunming Yunnan 650032; 2) Institute of Biomedical Engineering, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

**[Abstract]** Nonalcoholic fatty liver disease(NAFLD) is the most common chronic liver disease, with a global

**[收稿日期]** 2023-12-20

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(82160117)

**[作者简介]** 陈杭(1994~), 男, 四川宜宾人, 在读博士研究生, 主要从事消化系统、肝病研究工作。崔琦与陈杭对本文有同等贡献。

**[通信作者]** 马岚青, E-mail: malanqing@aliyun.com

prevalence of approximately 30.05% to 32.4%. It is closely associated with various other diseases. In recent years, microRNAs(miRNAs) have played a crucial role as non-invasive biomarkers in understanding the pathogenesis and diagnosis of NAFLD. miRNAs play significant roles in both lipid metabolism and insulin resistance, exerting specific regulatory functions in the development and progression of NAFLD. miRNAs are small RNA molecules that regulate the gene expression and protein synthesis by controlling the transcription and translation of target genes. This article provides a comprehensive overview of the roles and mechanisms of miRNAs in lipid metabolism, insulin resistance, and the occurrence and development of NAFLD.

[ **Key words** ] Nonalcoholic fatty liver disease; miRNA; Insulin Resistance

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指在没有过量饮酒(男性每天 $\geq 30$  g, 女性每天 $\geq 20$  g)或其他原因(药物、饥饿、单基因遗传病等)导致的肝脏脂肪变性的情况下,超过 5% 的肝细胞大泡性脂肪变性的一类疾病总称<sup>[1]</sup>;包括从单纯脂肪变性向进行性脂肪变性转变,进而引发肝纤维化,肝硬化和肝癌<sup>[2-3]</sup>。随着生活水平的提高,NAFLD 已成为最常见的慢性肝病,根据近 2 a 研究显示,NAFLD 全球总患病率约为 30.05%~32.40%<sup>[4-5]</sup>,并且还在持续增加。在亚洲,2019 年 NAFLD 的总患病率为 29.62%,而且呈上升趋势,预计到 2030 年,NAFLD 将成为肝移植的主要原因<sup>[6]</sup>。NAFLD 的发病机制尚未完全清晰,“两次打击”学说已无法全面解释 NAFLD 的发病机制。因此,现在提出“多重打击”学说,即胰岛素抵抗、内质网应激、线粒体功能障碍、肠道菌群失调、遗传因素等共同参与 NAFLD 的发生和发展<sup>[2]</sup>。

miRNA 是在动物、植物以及部分病毒中发现的一类主要的单链非编码的 RNA,长度约为 22 个核苷酸,通过与 mRNA 特异性靶向作用,在转录、转录后和翻译过程中抑制基因的表达,并广泛参与人体生理及病理过程<sup>[7]</sup>。miRNA 的生物合成分为经典途径和非经典途径 2 种方式<sup>[8]</sup>。在经典途径中,miRNA 的基因在细胞核中首先被转录为初级 miRNA(pri-miRNA),之后被进一步加工成为前体 miRNA(pre-miRNA)。Pri-miRNA 和 pre-miRNA 都具有发夹、凸起或内环的折叠结构,能够被核糖核酸酶 III Drosha 和 Dicer 识别和加工,生成成熟的 miRNA<sup>[9]</sup>。成熟 miRNA 通过碱基配对的方式与靶 mRNA 的 3' 端结合,从而促进 mRNA 的甲基化和蛋白质修饰,最终导致 mRNA 失稳和翻译抑制<sup>[10]</sup>。而不同于经典途径,在非经典途径中,miRNA 的生成不依赖于 Drosha、Dicer 这样的微处理器,其余过程和经典途径相同<sup>[8]</sup>。此外,miRNA 之间能够相互作用,以直接结合的

方式调节 miRNA 的生成:第 1 种直接结合方式是 miRNA 的相互作用。通过成熟 miRNA 与未成熟 miRNA 相结合,从而影响成熟 miRNA 的生成;第 2 种则是通过识别,诱导成熟 miRNA 的互补序列相互结合,这种方式可能对 miRNA 的稳定以及防止其降解起着重要作用<sup>[11]</sup>。许多 miRNA 是人体正常发育必须的,参与发育过程和疾病发生<sup>[12]</sup>。研究发现,miRNA 在内质网生化功能和内质体转运过程中发挥着重要作用<sup>[13]</sup>。miRNA 在内质网生化和转运过程中发挥作用,内质网又在脂质代谢过程中发挥作用,miRNA 又是如何参与脂质代谢?本文综述 miRNA 在脂肪代谢、胰岛素抵抗中的机制,为 miRNA 作为非酒精性脂肪性肝病的无创生物标志物诊断和治疗提供参考。

## 1 miRNA 与肝脏脂肪代谢

甘油三酯(tiglyceride, TG)可通过 2 种方式合成。外源性:由食物中摄取的脂肪于肠道内,在胆汁酸、脂酶的作用下被肠黏膜吸收,在肠黏膜上皮细胞内合成甘油三酯;内源性:体内自身合成的甘油三酯主要在肝脏,其次为脂肪组织。甘油三酯可储存在肝细胞,也可以以极低密度脂蛋白分泌到血液中,由于脂质代谢紊乱导致血游离脂肪酸增多,当超过脂肪组织的贮存能力和各组织对血游离脂肪酸的氧化能力时,使更多的血游离脂肪酸转化为甘油三酯在非脂肪组织中过度沉积,会对组织造成损伤。非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)中存在肝脏游离胆固醇积累,游离胆固醇已被证明会破坏线粒体功能,诱导肝细胞死亡,促进 NAFLD 进展<sup>[14]</sup>。在单纯脂肪变性中,过量的脂类,如胆固醇和 TG 在肝细胞中积累,破坏肝细胞内稳态,导致肝损伤。脂质破坏、线粒体功能障碍、内质网应激和活性氧簇已被证明可促发肝细胞损伤,并促进单纯脂肪变性进展为 NASH 并伴发纤维化<sup>[15]</sup>。游

离胆固醇以胆固醇晶体的形式在 Kupffer 细胞中累积,导致免疫激活、氧化应激、炎症和细胞死亡。肝星状细胞对促纤维化介质的反应在肝纤维化发生中起重要作用。细胞内游离胆固醇的积累通过 toll 样受体 4 依赖的信号通路直接诱导肝星状细胞活化并触发肝纤维化<sup>[16]</sup>。甘油三酯和游离胆固醇,对肝脏组织和肝细胞有损伤,并有可能触发肝纤维化,在 NAFLD 的发生发展中发挥作用。

miRNA 在调控肝脏代谢和病理生理过程中发挥着重要作用。首先,miR-122 是研究最广泛的肝脏 miRNA,占据了总 miRNA 的 70%。它参与了肝细胞增殖和成熟,并与多个脂质和胆固醇代谢相关基因相互作用<sup>[17-18]</sup>。在 NAFLD 患者中,循环 miR-122 水平与丙氨酸氨基转移酶水平相关,并且是一个比经典肝功能标志物(包括天冬氨酸氨基转移酶和细胞角蛋白-18)更好的 NAFLD 严重程度指标<sup>[19]</sup>。在小鼠中抑制 miR-122 不仅可减少肝脂肪酸和胆固醇的合成,还可增加肝脂肪酸氧化,从而降低血浆胆固醇水平<sup>[20-21]</sup>。miRNA 还可以和转录因子作用,有研究表明,miR-33a 和 miR-33b 与 SREBP1 和 SREBP2 共转录,SREBP2 是胆固醇生物合成的调节因子;miR-33a 和 miR-33b 的靶基因 ABCA1 还通过调控 ApoA1 和胆固醇结合<sup>[22]</sup>,此过程对 HDL 合成至关重要。

其次,miR-21 在调控脂质生成、葡萄糖代谢和防止脂肪变性等方面扮演着关键角色,其升高会导致脂质积聚。敲低 miR-21 可降低控制脂肪生成基因的表达,从而降低调节脂肪生成的表达,同时也降低代谢调节因子的表达,从而防止葡萄糖耐受不良和脂肪变性<sup>[23]</sup>。Rodrigues 等<sup>[24]</sup>报道,在高脂饮食喂养并补充奥贝胆酸的动物中,miR-21 消除可减少胆固醇蓄积、氧化应激和炎症,发生轻微的脂肪变性。在 NAFLD 中,miR-21 调节甘油三酯、游离胆固醇和总胆固醇水平<sup>[25]</sup>。此外,miR-21 的升高抑制脂肪酸结合蛋白 7,从而显著诱导脂肪酸摄取和脂质积聚<sup>[26]</sup>。miR-21 还靶向磷酸酶和张力蛋白同源物,改变黏着斑激酶磷酸化和基质金属蛋白酶 2 和 9 的表达<sup>[27]</sup>,2 者都是细胞生长,迁移和侵袭的介质,还可减少诱导炎症和纤维化进展的过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  表达。敲低 miR-21 可降低脂肪生成基因的表达,减少胆固醇蓄积、氧化应激和炎症反应,为减轻 NAFLD 患者脂质代谢提供了思路,是否可以特异性干预 miRNA 治疗 NAFLD 患者。

另外 miR-192、miR-23b、miR-26a、miR-34a、miR-451a、miR-378 和 miR-375 等 miRNA

也在 NAFLD 的发展中起到了不可忽视的作用,它们影响着脂质代谢、炎症反应等关键生物过程。研究表明,miR-192 水平的降低与双酚 A 诱导的肝脏脂质蓄积有关<sup>[28]</sup>。miR-23b 能够抑制 NAD 依赖的去乙酰化酶 Sirtuin 1 的表达,导致甘油三酯在细胞质中沉积<sup>[29]</sup>。此外,抑制 miR-26a 可使甘油三酯和胆固醇超载<sup>[30]</sup>;在 NASH 患者和 HFD 喂养的小鼠中,miR-34a 通过与 HNF4 的相互作用促进脂肪变性,从而抑制肝脏 VLDL 分泌<sup>[31]</sup>。在小鼠模型中,一种传统的中药绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*, GP)可降低肝脏甘油三酯和肠道菌群的组成,通过下调 miR-34a 来控制靶基因 HNF4, SIRT1 和 PPAR $\gamma$  的 mRNA 和蛋白水平<sup>[32]</sup>。另一方面,miR-451a 能够调节甲状腺激素反应蛋白 14 的表达,而甲状腺激素反应蛋白 14 对新生脂肪生成具有重要的负调控作用<sup>[33]</sup>;在 Hepa1-6 细胞中,miR-378 可调节脂质代谢<sup>[34]</sup>。抑制 miR-375 可增加脂联素的表达,防止细胞内脂质蓄积,降低瘦素和炎症因子的水平<sup>[35]</sup>,作为负性蛋白调节因子参与 NAFLD 的发展。

miRNA 在脂质代谢和 NAFLD 研究中扮演着至关重要的角色。它们能够精准地调节脂肪酸代谢途径和胆固醇合成,对维持正常的脂质代谢起到关键作用。抑制特定 miRNAs 不仅能够增强胰岛素的敏感性,还有助于促进脂肪酸的氧化代谢,提高高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)的循环水平。这对于改善代谢健康、预防代谢性疾病的发生具有积极的影响。此外,miRNA 作为一种有用的非侵入性生物标志物,正在受到越来越多的关注。通过监测血液或其他组织样本中特定 miRNA 的表达水平,可以及时、准确地评估 NAFLD 的病情进展,为医疗干预提供重要参考。

## 2 miRNA 与胰岛素抵抗

胰岛素信号通路在进食条件下促进合成代谢反应(糖酵解、脂肪生成和糖原合成),并抑制肝脏葡萄糖生成(糖异生和糖原分解)。在空腹状态下的低胰岛素水平会激活糖异生、糖原分解和脂肪酸氧化,从而增加肝脏葡萄糖和酮体的生成。肥胖和 2 型糖尿病与胰岛素抵抗密切相关。肝脏发生“选择性”胰岛素抵抗,胰岛素作用不足可阻断肝脏葡萄糖输出,但活跃的胰岛素介导的脂肪生成可增加脂质沉积。

研究表明,一系列 miRNA 在调控胰岛素抵抗

方面发挥着关键作用,包括 miR-291b-3p、miR-125a-5p、miR-143、miR-96、miR-122、miR-29 家族、miR-33、miR-375,它们在肝脏脂肪生成、脂肪变性、葡萄糖代谢等方面发挥调节作用,为代谢性疾病研究提供了新的视角。在高脂饮食喂养的小鼠中,抑制肝脏 miR-291b-3p 可减少肝脏脂肪生成和脂肪变性,降低空腹血糖水平,抑制肝脏葡萄糖生成,并改善胰岛素信号传导和葡萄糖耐量。在小鼠肝脏中过表达 miR-291b-3p 则会加重肝脏葡萄糖输出和增加胰岛素抵抗<sup>[36]</sup>。在小鼠中过表达 miR-125a-5p 通过增强胰岛素信号传导和抑制下游分子 FOXO1 改善了脂肪变性,降低了脂肪生成基因的表达,并改善了葡萄糖和胰岛素耐受性<sup>[37]</sup>。miRNA-143 在 db/db 和 hfd 喂养的小鼠肝脏中上调。过表达 miR-143 可抑制胰岛素刺激的 AKT 活化,诱导胰岛素抵抗<sup>[38]</sup>。在野生型小鼠中,miR-96 过表达导致了更大的胰岛素抵抗,而抑制 miR-96 则改善了胰岛素敏感性<sup>[39]</sup>。NAFLD 患者血清 miR-122 水平显著高于对照组,且与性别和 NAFLD 严重程度相关,miR-29 家族和 miR-122 通过调节与 NAFLD 相关的胰岛素抵抗,可能和抑制 CYP7A1 功能的作用,引起高胆固醇血症,进而导致肝脏损伤、凋亡和坏死有关<sup>[40]</sup>。此外,在胰岛素抵抗和 NAFLD 患者中,miR-33 通过激活磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶抑制糖异生<sup>[41]</sup>。另一方面,miR-375 调节葡萄糖稳态,并负责胰腺  $\beta$  细胞对胰岛素抵抗的反应<sup>[42]</sup>。miR-93-5p 通过靶向 HGF 增强胰岛素抵抗以调节 HepG2 细胞中的 T2DM 进展<sup>[43]</sup>。在儿童肥胖患者中发现,miR-146-5p、miR-423-3p 和 miR-152-3p 与胰岛素抵抗有关<sup>[44]</sup>。

在笔者前期研究中同样也发现,miRNA-30b 在非酒精性脂肪性肝病大鼠中表达升高,过表达 miRNA-30b 可减轻胰岛素抵抗<sup>[45]</sup>。经过在细胞实验、动物实验和临床实验中的多重验证,明确了 miRNA 与胰岛素抵抗之间的紧密联系。因此,未来有望通过有针对性地调控特定 miRNA 来改善胰岛素抵抗,为代谢性疾病的治疗提供新的思路和方法。

### 3 miRNA 与 NAFLD

miRNA 在 NAFLD 发展各阶段中起着关键作用,其失调与疾病发生密切相关,包括调节脂质代谢、胰岛素抵抗、维生素 D 等,表明其在 NAFLD

发病机制和进展中扮演重要角色<sup>[46]</sup>。有研究表明,多种 miRNA 失调可能与 NAFLD 有关,其中包括 miRNA-103、miRNA-34a、miRNA-21 等上调,miRNA-122、miRNA-375 等下调<sup>[47]</sup>。miRNA-103 可能通过调节脂肪代谢或者诱导胰岛素抵抗,直接或间接参与 NAFLD 的发展。miRNA-122 作为肝脏分泌最多的 miRNA,能够评估 NASH 和 HCC 的风险相关性,在 NAFLD 中明显升高,与肝脏受损的严重程度密切相关<sup>[48]</sup>。此外,miRNA 还能通过调节维生素 D、肠道微生物等,参与 NAFLD 的发展进程。有研究发现,7 种参与调节维生素 D 的 miRNAs(miR-27、miR-125、miR-155、miR-192、miR-223、miR-375 和 miR-378)可能与 NAFLD 发病机制相关<sup>[49]</sup>;miRNA 在人体和肠道微生物之间起着重要作用,丹毒菌类细菌丰度增加和  $\gamma$ -蛋白杆菌水平降低的同时,会伴有多种 miRNA 的改变<sup>[50]</sup>。miRNA 参与肝脏炎症反应并影响 NAFLD 的发展进程,同时 NAFLD 的相关纤维化也和 miRNA 有关。NAFLD 的发生会使得部分肝细胞坏死,同时伴随着部分 miRNA 从死亡肝细胞中释放,说明 miRNA 在 NAFLD 中具有重要的生理学意义,其反应出 NAFLD 的组织学特征和分子事件。

miRNA 在 NAFLD/NASH 疾病阶段可能发生显著变化,其中 miRNA-122 和 miRNA-34a 显示出作为循环标志物的潜力,尤其 miRNA-34a 可能成为有效的生物标志物,为肝脏疾病的诊断和治疗提供了新的研究方向。在诸多检测结果中,miRNA-122 和 miRNA-34a 与相应肝脏损伤、肝脏炎症以及纤维化相关,证实 miRNA-122 和 miRNA-34a 具有作为循环标志物的相关性<sup>[51]</sup>。据报道,在研究人员所观察的 3 种 miRNA 中(miRNA-122、miRNA-99 和 miRNA-34a),miRNA-34a 对 NAFLD 具有中等程度的诊断准确性,其异质性最低,作用最稳定,是诊断 NAFLD 的较有效的生物标志物<sup>[52]</sup>。也有报道称,将 miRNA 与已有的标记物细胞角蛋白 18 或 ALT 和 AST 等相比,miRNA 可能会产生更好的效果<sup>[53]</sup>。据了解,一种抗 miRNA-122 的药物米拉维森已经在开展治疗丙型肝炎病毒感染 II 期实验,并已证实米拉维森能够抑制 miRNA-122,预防丙型肝炎<sup>[54]</sup>。SGLT2 抑制剂恩帕格列嗪也显示出一定的潜力,它可以下调 miRNA-34a-5p 的表达,并靶向 GREM2,从而导致肝星状细胞失活,改善与非酒精性脂肪性肝病相关的纤维化过程<sup>[55]</sup>。熊去氧胆酸被认为是一种潜在的治疗非酒精性脂肪性肝病的药物,

它可以通过降低 miRNA-122 的水平来缓解该病的症状<sup>[56]</sup>。这也意味着 miRNA 靶向治疗肝脏疾病仍具有十分重要的研究意义。

综合而言, miRNA 在非酒精性脂肪性肝病的研究中扮演着重要的角色。它们参与调节 NAFLD 发展的各个阶段, 涵盖了脂质代谢、胰岛素抵抗、维生素 D 等多个方面。NAFLD 患者的血清和肝脏中存在多种 miRNA 的失调, 其中一些 miRNA 已被证实与 NAFLD 的严重程度和病理过程相关。特别是 miRNA-122 和 miRNA-34a 显示出成为循环标志物的潜力, 为 NAFLD 的诊断和治疗提供了新的研究方向。然而, 在基于 miRNA 的治疗方面, 目前仍需解决特异性的缺陷。继续深入研究 miRNA 在 NAFLD 中的作用机制, 将为开展相关治疗策略提供有力的科学依据, 为解决 NAFLD 这一全球性健康问题提供新的思路。

#### 4 小结

非酒精性脂肪性肝病作为当前最常见的慢性肝病之一, 其发病率逐年上升, 已成为全球性健康问题。对于 NAFLD 的研究, miRNA 作为一类具有重要调控功能的 RNA 分子, 在其发病机制和进展中扮演着关键的角色。从调节肝脏脂肪代谢、胰岛素抵抗到影响 NAFLD 的发展阶段, miRNA 通过多个通路参与其中, 呈现出极为复杂的调控网络。特别值得关注的是 miRNA-122 和 miRNA-34a, 它们显示出成为循环标志物的潜力, 为 NAFLD 的诊断和治疗提供了新的研究方向。此外, 其他 miRNA 如 miRNA-291b-3p、miRNA-125a-5p、miRNA-143 等也在 NAFLD 的发展过程中扮演着重要角色, 通过调节脂质代谢、胰岛素抵抗等关键生物过程影响着疾病的进展。然而, 在基于 miRNA 的治疗方面, 仍需解决特异性的缺陷, 需要进一步深入研究 miRNA 的作用机制。同时, 研究 miRNA 与其他因素(如维生素 D、肠道微生物等)的相互作用, 对于全面理解 NAFLD 的发病机制也具有重要意义。随着对 miRNA 与 NAFLD 关系的深入研究, 也为发现新的治疗靶标提供了有力支持。针对特定 miRNA 的药物干预或基因治疗策略可能成为治疗 NAFLD 的新方向, 为患者提供更有效的治疗手段。笔者有望在未来开展更加精准的治疗策略, 为解决 NAFLD 这一全球性健康问题提供新的思路和方法。希望在不久的将来, 能够取得更多关于 NAFLD 治疗的突破, 使

患者能够获得更好的健康状况。

#### [参考文献]

- [1] Rinella M E, Neuschwander-Tetri B A, Siddiqui M S, et al. AASLD practice guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2023, 77(5): 1797-1835.
- [2] Cotter T G, Rinella M. Nonalcoholic fatty liver disease 2020: The state of the disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7): 1851-1864.
- [3] Powell E E, Wong V W, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10290): 2212-2224.
- [4] Younossi Z M, Golabi P, Paik J M, et al. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): A systematic review[J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1335-1347.
- [5] Riazi K, Azhari H, Charette J H, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: A systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(9): 851-861.
- [6] Li J, Zou B, Yeo Y H, et al. Prevalence, incidence, and outcome of non-alcoholic fatty liver disease in Asia, 1999 - 2019: A systematic review and meta-analysis[J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 4(5): 389-398.
- [7] Saliminejad K, Khorram Khorshid H R, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5451-5465.
- [8] Shi Y, Liu Z, Lin Q, et al. MiRNAs and cancer: Key link in diagnosis and therapy[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(8): 1289-1302.
- [9] Feng Y, Li J, Zhang Y. Chemical knockdown of microRNA with small-molecule chimeras[J]. *ChemBiochem*, 2020, 21(22): 3180-3185.
- [10] Chen P S, Lin S C, Tsai S J. Complexity in regulating microRNA biogenesis in cancer[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2020, 245(5): 395-401.
- [11] Hill M, Tran N. miRNA interplay: Mechanisms and consequences in cancer[J]. *Dis Model Mech*, 2021, 14(4): 1-4.
- [12] Bartel D P. Metazoan microRNAs[J]. *Cell*, 2018, 173(1):

- 20–51.
- [13] Jie M, Feng T, Huang W, et al. Subcellular localization of miRNAs and implications in cellular homeostasis[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(6): 856.
- [14] Arguello G, Balboa E, Arrese M, et al. Recent insights on the role of cholesterol in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(9): 1765–1778.
- [15] Pang L, Liu K, Liu D, et al. Differential effects of reticulophagy and mitophagy on nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 90.
- [16] Teratani T, Tomita K, Suzuki T, et al. A high-cholesterol diet exacerbates liver fibrosis in mice via accumulation of free cholesterol in hepatic stellate cells[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 152–164 e10
- [17] Pirola C J, Fernandez Gianotti T, Castano G O, et al. Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis[J]. *Gut*, 2015, 64(5): 800–812.
- [18] Laudadio I, Manfroid I, Achouri Y, et al. A feedback loop between the liver-enriched transcription factor network and miR-122 controls hepatocyte differentiation[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 119–129.
- [19] Becker P P, Rau M, Schmitt J, et al. Performance of serum microRNAs -122, -192 and -21 as biomarkers in Patients with non-alcoholic steatohepatitis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142661.
- [20] Esau C, Davis S, Murray S F, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting[J]. *Cell Metab*, 2006, 3(2): 87–98.
- [21] Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'[J]. *Nature*, 2005, 438(7068): 685–689.
- [22] Vega-Badillo J, Gutierrez-Vidal R, Hernandez-Perez H A, et al. Hepatic miR-33a/miR-144 and their target gene ABCA1 are associated with steatohepatitis in morbidly obese subjects[J]. *Liver Int*, 2016, 36(9): 1383–1391.
- [23] Wu H, Ng R, Chen X, et al. MicroRNA-21 is a potential link between non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma via modulation of the HBP1-p53-Srebp1c pathway[J]. *Gut*, 2016, 65(11): 1850–1860.
- [24] Rodrigues P M, Afonso M B, Simao A L, et al. miR-21 ablation and obeticholic acid ameliorate nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(4): e2748.
- [25] Sun C, Huang F, Liu X, et al. miR-21 regulates triglyceride and cholesterol metabolism in non-alcoholic fatty liver disease by targeting HMGC R[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, 35(3): 847–853.
- [26] Ahn J, Lee H, Jung C H, et al. Lycopene inhibits hepatic steatosis via microRNA-21-induced downregulation of fatty acid-binding protein 7 in mice fed a high-fat diet[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2012, 56(11): 1665–74.
- [27] Yang Y, Guo J X, Shao Z Q. miR-21 targets and inhibits tumor suppressor gene PTEN to promote prostate cancer cell proliferation and invasion: An experimental study[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(1): 87–91.
- [28] Lin Y, Ding D, Huang Q, et al. Downregulation of miR-192 causes hepatic steatosis and lipid accumulation by inducing SREBF1: Novel mechanism for bisphenol A-triggered non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, 1862(9): 869–882.
- [29] Borji M, Nourbakhsh M, Shafiee S M, et al. Down-regulation of SIRT1 expression by mir-23b contributes to lipid accumulation in HepG2 cells[J]. *Biochem Genet*, 2019, 57(4): 507–521.
- [30] Ali O, Darwish H A, Eldeib K M, et al. miR-26a Potentially contributes to the regulation of fatty acid and sterol metabolism in vitro human hepG2 cell model of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018(1): 8515343.
- [31] Xu Y, Zalzal M, Xu J, et al. A metabolic stress-inducible miR-34a-HNF4alpha pathway regulates lipid and lipoprotein metabolism[J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 7466.
- [32] Jia N, Lin X, Ma S, et al. Amelioration of hepatic steatosis is associated with modulation of gut microbiota and suppression of hepatic miR-34a in gynostemma pentaphylla (Thunb. ) makino treated mice[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2018, 15(1): 86.
- [33] Zeng N, Huang R, Li N, et al. MiR-451a attenuates free fatty acids-mediated hepatocyte steatosis by targeting the thyroid hormone responsive spot 14 gene[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 474(1): 260–271.
- [34] Zhang T, Zhao X, Steer C J, et al. A negative feedback loop between microRNA-378 and Nrf1 promotes the development of hepatosteatosis in mice treated with a high fat diet[J]. *Metabolism*, 2018, 85(1): 183–191.

- [35] Lei L, Zhou C, Yang X, et al. Down-regulation of microRNA-375 regulates adipokines and inhibits inflammatory cytokines by targeting AdipoR2 in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(8): 819–831.
- [36] Guo J, Dou L, Meng X, et al. Hepatic miR-291b-3p mediated glucose metabolism by directly targeting p65 to up-regulate PTEN expression[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 39899.
- [37] Xu L, Li Y, Yin L, et al. miR-125a-5p ameliorates hepatic glycolipid metabolism disorder in type 2 diabetes mellitus through targeting of STAT3[J]. *Theranostics*, 2018, 8(20): 5593–5609.
- [38] Jordan S D, Kruger M, Willmes D M, et al. Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(4): 434–446.
- [39] Yang W M, Min K H, Lee W. Induction of miR-96 by dietary saturated fatty acids exacerbates hepatic insulin resistance through the suppression of INSR and IRS-1[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0169039.
- [40] Jampoka K, Muangpaisarn P, Khongnomnan K, et al. Serum miR-29a and miR-122 as potential biomarkers for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Microna*, 2018, 7(3): 215–222.
- [41] Ramirez C M, Goedeke L, Rotllan N, et al. MicroRNA 33 regulates glucose metabolism[J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(15): 2891–2902.
- [42] Garcia-Jacobo R E, Uresti-Rivera E E, Portales-Perez D P, et al. Circulating miR-146a, miR-34a and miR-375 in type 2 diabetes patients, pre-diabetic and normal-glycaemic individuals in relation to beta-cell function, insulin resistance and metabolic parameters[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2019, 46(12): 1092–1100.
- [43] Zhou M, Hou Y, Wu J, et al. miR-93-5p promotes insulin resistance to regulate type 2 diabetes progression in HepG2 cells by targeting HGF[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(5): 329.
- [44] Santos D, Porter-Gill P, Goode G, et al. Circulating microRNA levels differ in the early stages of insulin resistance in prepubertal children with obesity[J]. *Life Sci*, 2023, 312(1): 121246.
- [45] Dai L L, Li S D, Ma Y C, et al. MicroRNA-30b regulates insulin sensitivity by targeting SERCA2b in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Liver Int*, 2019, 39(8): 1504–1513.
- [46] Zhang C, Wang P, Li Y, et al. Role of microRNAs in the development of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2019, 302(2): 193–200.
- [47] Torres J L, Novo-Veleiro I, Manzanedo L, et al. Role of microRNAs in alcohol-induced liver disorders and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(36): 4104–4118.
- [48] Wang X, He Y, Mackowiak B, et al. MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases[J]. *Gut*, 2021, 70(4): 784–795
- [49] Zhang Z, Moon R, Thorne J L, et al. NAFLD and vitamin D: Evidence for intersection of microRNA-regulated pathways[J]. *Nutr Res Rev*, 2021, 36(1): 1–20
- [50] Serino M. Molecular paths linking metabolic diseases, gut microbiota dysbiosis and enterobacteria infections[J]. *J Mol Biol*, 2018, 430(5): 581–590.
- [51] Gjorgjieva M, Sobolewski C, Dolicka D, et al. miRNAs and NAFLD: From pathophysiology to therapy[J]. *Gut*, 2019, 68(11): 2065–2079.
- [52] Xin S, Zhan Q, Chen X, et al. Efficacy of serum miRNA test as a non-invasive method to diagnose nonalcoholic steatohepatitis: A systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Gastroenterol*, 2020, 20(1): 186.
- [53] Jonas W, Schurmann A. Genetic and epigenetic factors determining NAFLD risk[J]. *Mol Metab*, 2021, 50(1): 101111.
- [54] Kiran S, Kumar V, Kumar S, et al. Adipocyte, immune cells, and miRNA crosstalk: A novel regulator of metabolic dysfunction and obesity[J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1004.
- [55] Shen Y, Cheng L, Xu M, et al. SGLT2 inhibitor empagliflozin downregulates miRNA-34a-5p and targets GREM2 to inactivate hepatic stellate cells and ameliorate non-alcoholic fatty liver disease-associated fibrosis[J]. *Metabolism*, 2023, 146(1): 155657.
- [56] Kan Changez M I, Mubeen M, Zehra M, et al. Role of microRNA in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH): A comprehensive review[J]. *J Int Med Res*, 2023, 51(9): 3000605231197058.