

# HBV相关肝纤维化患者血浆 microRNA的差异表达

马艳华<sup>1</sup>, 韩铭<sup>2</sup>, 冯胜虎<sup>1</sup>, 周利<sup>1</sup>, 刘晓民<sup>3</sup>, 刘聪<sup>3</sup>, 刘顺爱<sup>2</sup>, 成军<sup>1,2,3</sup>, 邢卉春<sup>1,3</sup> (1. 北京大学地坛医院教学医院, 北京 100015; 2. 首都医科大学附属北京地坛医院 传染病研究所/新发突发传染病研究北京市重点实验室, 北京 100015; 3. 首都医科大学附属北京地坛医院 肝病中心, 北京 100015)

**摘要:** 目的 探索microRNA在乙型肝炎肝纤维化患者血浆中的差异表达。方法 收集2013年至2014年本院收治的经肝组织活检诊断为肝纤维化S2~S3期的患者10例、代偿期肝硬化患者8例, 另选取8例健康志愿者作为对照组, 采用IlluminaHiSeq测序技术检测各组血浆miRNA表达, 对差异表达的miRNA进行聚类分析和靶基因预测; 对差异表达miRNA靶基因进行基因本(GO)分析和KEGG通路富集分析。结果 与健康对照组相比, 肝纤维化组筛选出104个差异miRNA, 其中72个表达上调, 32个表达下调; 肝硬化组筛选出102个miRNA, 其中70个表达上调, 32个表达下调。两组中均显著上调的共22个, 均显著下调的共24个, 在上调的miRNA中, 共9个miRNA在肝硬化组表达量高于肝纤维化组; 下调的miRNA在肝纤维化组与肝硬化组的表达无显著差异。结论 肝纤维化患者血浆miRNA表达与健康组有显著差异, 这些差异表达的miRNA在肝纤维化进展中起着重要作用, 其可能参与肝纤维化发生发展过程中某些信号通路的调控, 确切机制尚需进一步深入研究。

**关键词:** 肝炎病毒, 乙型; 肝纤维化; miRNA; 差异表达

## Differential expression of plasma microRNA in patients with HBV-related liver fibrosis

MA Yan-hua<sup>1</sup>, HAN Ming<sup>2</sup>, FENG Sheng-hu<sup>1</sup>, ZHOU Li<sup>1</sup>, LIU Xiao-min<sup>3</sup>, LIU Cong<sup>3</sup>, LIU Shun-ai<sup>3</sup>, CHENG Jun<sup>1,2,3</sup>, XING Hui-chun<sup>1,3</sup> (1. Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 2. Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University / Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Beijing 100015, China; 3. Center of Hepatology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

**Abstract: Objective** To explore the differential expression of plasma miRNA in patients with HBV-related liver fibrosis. **Methods** Total of 10 cases with HBV-related liver fibrosis (S2~S3), 8 cases with compensated liver cirrhosis and 8 healthy controls from 2013 to 2014 in Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University were selected. The expression of plasma miRNA were detected by IlluminaHiSeq sequencing. Cluster analysis and target genes prediction of differential expression miRNA were carried out and gene ontology (GO) enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed for the target genes of differential expression miRNA. **Results** Compared with healthy group, total of 104 miRNA were screened out from liver fibrosis group, of which 72 miRNA were up-regulated and 32 were down-regulated. In liver cirrhosis group, total of 102 miRNA were screened out, of which 70 were up-regulated and 32 were down-regulated. Total of 22 miRNA were up-regulated and 24 miRNA were down-regulated in liver fibrosis group and liver cirrhosis group. Among those up-regulated miRNA, the expression of 9 miRNA in liver cirrhosis group was higher than those in hepatic fibrosis group, while in the down-regulated miRNA, the differences were not significant. **Conclusions** The expression of miRNA in patients with liver fibrosis is significantly different from those of healthy subjects. miRNA have a vital role in the progress of liver fibrosis. Many signal pathways of liver fibrosis may be regulated by miRNA and the exact mechanism needs further study.

**Key words:** Hepatitis B virus; Liver fibrosis; miRNA; Differential expression

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2017.01.005

基金项目: 国家十二五科技重大专项课题(2013ZX10002005, 2014ZX10005001); 国家自然科学基金项目(81470863, 81201160); 北京市医管局项目(ZYLX201402, DFL2015701); 北京市中医药科技项目(JJ2014-25); 重大传染病协同创新中心(2011协同创新中心)项目

通讯作者: 邢卉春 Email: huichunxing@126.com

miRNA是一类长约18~24个核苷酸的内源性非编码单链小RNA,其通过与靶基因的3'端非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)结合进行转录后水平的负性调控,一些miRNA通过调节肝星状细胞的活化、增殖、凋亡以及肝纤维化相关信号转导通路在肝纤维化过程中发挥重要作用<sup>[1-3]</sup>。乙型肝炎病毒感染所致的肝纤维化中也伴随着相关miRNA的改变<sup>[4-6]</sup>。本研究旨在寻找与肝纤维化相关的miRNA,以便进一步探讨其在肝纤维化发生发展中的作用。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 收集2013年至2014年本院收治的经肝组织活检诊断为肝纤维化S2~S3期的患者10例、代偿期肝硬化患者8例。另选取8例健康志愿者作为对照组,留取所有受试者的血样,在血样采集的12小时内进行处理,获得无血细胞的血浆标本。

所有入选者年龄均18~65岁,性别不限,并签署知情同意书。排除合并肝癌、除HBV外其他病毒感染引起的急慢性肝炎(包括HCV、HDV和CMV等)及其他肝病(自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、遗传代谢性肝病、药物或毒物性肝炎和酒精性肝病)或合并不稳定的糖尿病、高血压、甲状腺疾病或其他严重疾病如心、肺、肾脏疾病或合并感染等。慢性乙型肝炎及乙型肝炎肝硬化的诊断需符合《慢性乙型肝炎防治指南2010年更新版》<sup>[7]</sup>中的诊断标准;此外不同组受试者还需分别满足下列入排标准。

**肝纤维化组入选标准:**既往有乙型肝炎病史或HBsAg阳性大于6个月;6个月内未经核苷(酸)类抗病毒治疗,HBV DNA大于500 IU/ml;6个月内至少间隔3个月的2次ALT超过正常值上限的2倍且肝组织活检提示肝纤维化分期> S1。排除标准:6个月内肝组织活检的纤维化评分> S3。肝硬化组入选标准:既往有乙型肝炎病史或HBsAg阳性超过6个月;6个月内未经核苷(酸)类抗病毒治疗,HBV DNA大于500 IU/ml;6个月内肝组织活检肝纤维化评分> S3或影像学检查提示肝硬化;Child-Pugh评分< 7分(A级)。排除标准:失代偿期肝硬化。健康对照组入选标准:符合世界卫生组织对健康的定义(即在身体、精神和社会等方面均处于良好状态),肝功能检测无异常。排除标准:合并HBV感染者或有其他疾病者。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 血浆制备及miRNA的提取** 在肝组织活检前分别采集患者外周血6 ml存放于紫色采血管中,

以4℃ 3500 × g离心15分钟,然后将血浆等分。血浆样本保存于-80℃冰箱中。采用Trizol LS法提取miRNA。

**1.2.2 RNA样品的检测** 对RNA样本的检测主要包括以下3种方法:①Nanodrop检测:检测RNA样本的纯度( $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ ;  $A_{260}/A_{230} \geq 1.0$ );②Qubit 2.0检测:精确定量RNA样本的浓度(总RNA浓度 $\geq 250$  ng/ $\mu$ l);③Agilent 2100 bioanalyzer检测:检测RNA样本的完整性等,以保证使用合格的样品进行测序(总RNA的RIN值 $\geq 8.0$ , 28S/18S  $\geq 1.5$ ;图谱基线无上抬;5S峰正常)。

**1.2.3 文库的构建** 样品检测合格后,以1.5  $\mu$ g作为RNA样本起始量,用无核酶水补充体积至6  $\mu$ l,采用small RNA Sample Pre Kit试剂盒进行文库构建。由于small RNA的5'端有磷酸基团,3'端有羟基,利用T4 RNA Ligase 1和T4 RNA Ligase 2(truncated)分别在small RNA的3'端和5'端连接上接头,反转录合成cDNA,经PCR扩增,采用胶分离技术筛选目的片段,切胶回收得到的片段即为small RNA文库。文库构建严格按照NEB Next Ultra small RNA Sample Library Prep Kit for Illumina试剂盒操作进行,合格的文库进行高通量测序。

**1.2.4 文库质控** 文库构建完成后,使用Qubit 2.0对文库的浓度进行检测,使用Agilent 2100 bioanalyzer对插入片段进行检测,使用Q-PCR法对文库的有效浓度进行准确定量,以保证文库质量。

**1.2.5 上机测序** 库检合格后,采用HiSeq2500进行高通量测序,测序读长单端(single-end, SE)为50 nt。测序得到的原始序列含有接头序列或低质量序列,为保证信息分析的准确性,需对原始数据进行质量控制,得到高质量序列(即clean reads)。原始序列质量控制的标准为:①对于每个样本,将质量值低的序列去掉;②去除未知碱基N(N为无法识别的碱基)含量 $\geq 10\%$ 的序列;③去除无3'接头序列和插入片段的序列;④剪切掉3'接头序列;⑤去除短于18或长于30个核苷酸的序列。

**1.3 统计学处理** 以差异倍数(fold change, FC)表示两样品(组)间表达量的比值。在差异表达miRNA检测过程中,使用 $|\log_2(FC)| \geq 1$ 且FDR  $\leq 0.01$ 作为筛选标准。原有假设得到的显著性P值可表示为表达无差异的概率。由于miRNA的差异表达分析是对大量miRNA表达量进行独立的统计假设检验,会存在假阳性问题,分析过程中有时会采用Benjamini-Hochberg校正方法对原有假设检验得到的P值进行校正。

2 结果

2.1 各组研究对象的临床资料 肝纤维化组、肝硬化组以及健康组的年龄、性别构成及血清学指标见表1。

2.2 差异表达miRNA聚类分析 按照上述筛选标准，将3组中筛选出的差异表达miRNA进行汇总，按照miRNA差异表达倍数（FC）作聚类热图。根据

miRNA聚类结果及靶基因注释结果，对miRNA进行cluster划分和功能富集。将具有相同或相似表达行为的miRNA进行聚类，对其中趋势较明显的两组进行差异表达的miRNA聚类分析（图1、图2）。与健康组相比，肝纤维化组与肝硬化组都明显上调的共22个，明显下调的共24个，其中上调的miRNA分别是miR-100-5p、miR-122-5p、miR-1228-5p、miR-1307-5p、miR-192-5p、miR-193a-5p、miR-193b-

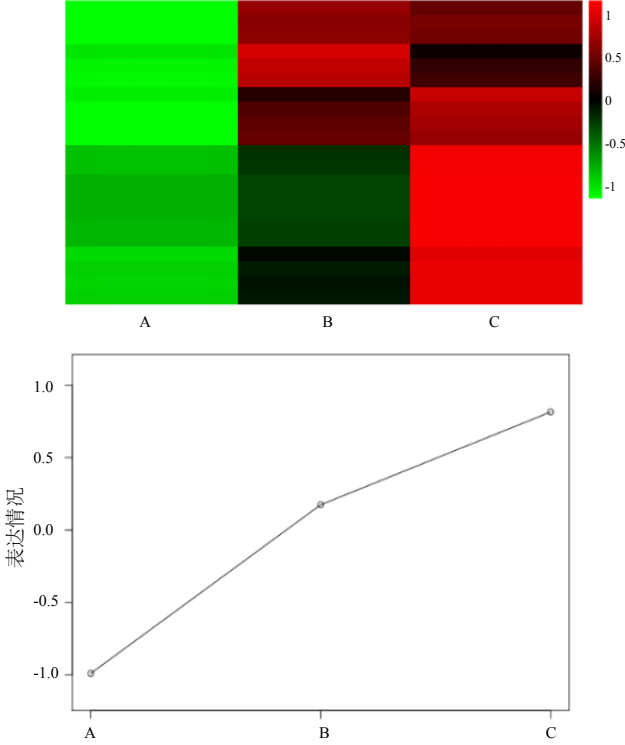


图1 差异表达的miRNA聚类分析

注：列代表不同组别，A组代表健康组、B组代表肝纤维化组、C组代表肝硬化组；行代表不同的miRNA；红色表示高表达的miRNA，绿色表示低表达miRNA

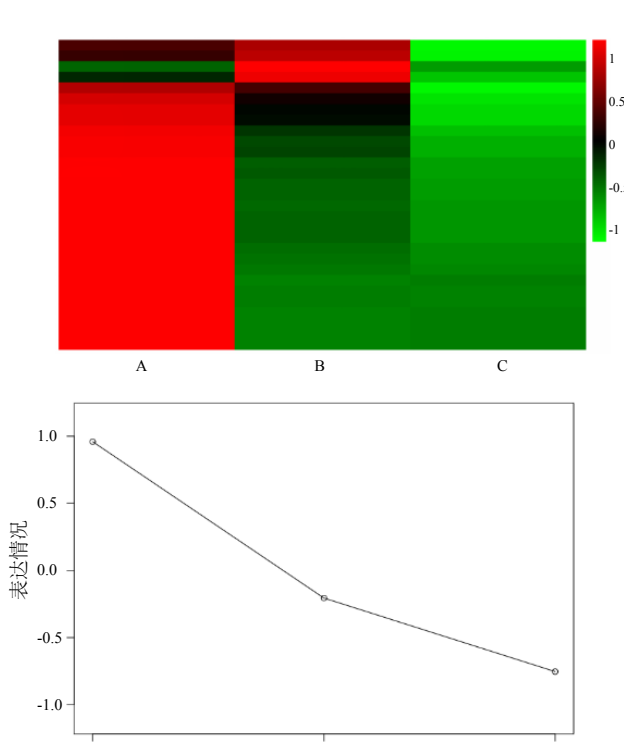


图2 差异表达的miRNA聚类分析

注：列代表不同组别，A组代表健康组、B组代表肝纤维化组、C组代表肝硬化组；行代表不同的miRNA；红色表示高表达的miRNA，绿色表示低表达miRNA

表1 各组研究对象的临床资料

组别	例数	性别（男/女，例）	年龄（岁）	ALT（U/L）
肝纤维化组	10	7/3	37.38 ± 3.30	63.14 ± 46.54
肝硬化组	8	5/3	41.20 ± 3.43	73.40 ± 37.26
健康组	8	5/3	45.42 ± 3.46	11.26 ± 3.59

组别	AST（U/L）	TBil（μmol/L）	DBil（μmol/L）	TP（g/L）
肝纤维化组	36.25（27.83，68.83）	13.4（12.4，18.4）	5.26 ± 1.67	76.04 ± 7.59
肝硬化组	74.54 ± 48.12	15.20 ± 0.57	5.29 ± 4.71	76.08 ± 4.49
健康组	15.06 ± 2.08	11.95（7.68，16.45）	4.65（3.93，7.40）	74.2（71.75，78.45）

组别	ALP（g/L）	GGT（U/L）	HBV DNA（IU/ml）	HBeAg阳性[例（%）]
肝纤维化组	68.05（54.2，102.05）	34.35（19.95，61.58）	2.47 × 10 <sup>5</sup> （3.94 × 10 <sup>4</sup> ，6.78 × 10 <sup>5</sup> ）	5（50）
肝硬化组	99.41 ± 28.63	37.35（17.53，54.83）	1.79 × 10 <sup>6</sup> （5.48 × 10 <sup>3</sup> ，1.38 × 10 <sup>8</sup> ）	6（75）
健康组	-	-	-	-

注：符合正态分布数据用  $\bar{x} \pm s$  表示，不符合正态分布的数据用中位数（P25，P75）表示；“-”为无相关数据

5p、miR-193b-3p、miR-19b-3p、miR-3615、miR-365a-5p、miR-4467、miR-450b-5p、miR-455-5p、miR-483-5p、miR-483-3p、miR-659-5p、miR-6747-3p、miR-885-5p、miR-885-3p、miR-939-5p和miR-99a-5p; 下调的有miR-103a-3p、miR-126-5p、miR-146a-5p、miR-151a-3p、miR-155-5p、miR-16-5p、miR-182-5p、miR-183-5p、miR-191-5p、miR-199a-3p、miR-199b-3p、miR-21-5p、miR-223-3p、miR-224-5p、miR-26a-5p、miR-26b-5p、miR-335-3p、miR-340-3p、miR-340-5p、miR-4433b-5p、miR-98-5p、miR-548j-5p、miR-744-5p和miR-7-5p。在这些差异表达的miRNA中, 肝硬化组与肝纤维化组相比明显上调的miRNA有9个, 分别是miR-100-5p、miR-122-3p、miR-192-5p、miR-193a-5p、miR-13615、miR-483-3p、miR-455-5p、miR-99a-5p和miR-939-5p。

**2.3 miRNA靶基因的GO分类** GO数据库是一个结构化的标准生物学注释系统, 建立了基因及蛋白质研究的标准信息体系。图3是在本研究筛选的miRNA靶基因背景和全部miRNA靶基因背景下GO各二级功能的靶基因富集情况, 差异表达的miRNA所对应的靶基因主要涉及的生物学过程包括细胞的生长、维持和信号转导等; 涉及的细胞组分包括蛋白酶体、细胞膜和细胞外基质等; 涉及的生物分子功能包括催化活性、转运活性及结合活性等。

**2.4 差异表达miRNA靶基因KEGG注释** 生物体内不同基因互相协调而行使生物学功能, 进行差异表达

miRNA靶基因的通路注释分析有助于进一步解读基因功能。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库是代谢通路相关的重要公共数据库。筛选出的miRNA靶基因的通路注释, 发现其参与多条信号通路, 包括Jak-STAT信号通路、Wnt信号通路、Notch信号通路及磷脂酰肌醇信号系统等, 见图4。

**2.5 差异表达miRNA靶基因KEGG注释** 分析差异表达miRNA靶基因在某一通路上是否出现 (over-presentation) 即为差异表达miRNA靶基因的pathway富集分析。利用富集因子 (enrichment factor) 分析通路的富集程度, 并利用Fisher精确检验方法计算富集显著性。图5中展示的是 $q$ 值最小 (即显著性最高) 的前20个KEGG通路。

### 3 讨论

病毒性肝炎是严重危害人们健康的一种重大传染病<sup>[8]</sup>。慢性HBV感染者经数年甚至数十年的免疫耐受期后, 可进入慢性乙型肝炎期, 肝组织就会出现炎症坏死和肝纤维化<sup>[9]</sup>。乙型肝炎纤维化是慢性乙型肝炎逐渐进展至肝硬化的重要阶段, 如不经有效的治疗, 可进一步进展为代偿性肝硬化、失代偿性肝硬化甚至肝癌, 导致患者反复住院, 生活质量严重下降, 病死率升高<sup>[9-11]</sup>。因此亟需确定HBV相关肝纤维化无创诊断的标准和模型, 但目前肝纤维化诊断以及药物疗效判断标准是肝组织活检及病理组织学检查, 该方法存在创伤、标本误差及人工判断偏差等局限性<sup>[12-14]</sup>。近年来, 越来越多的研究集

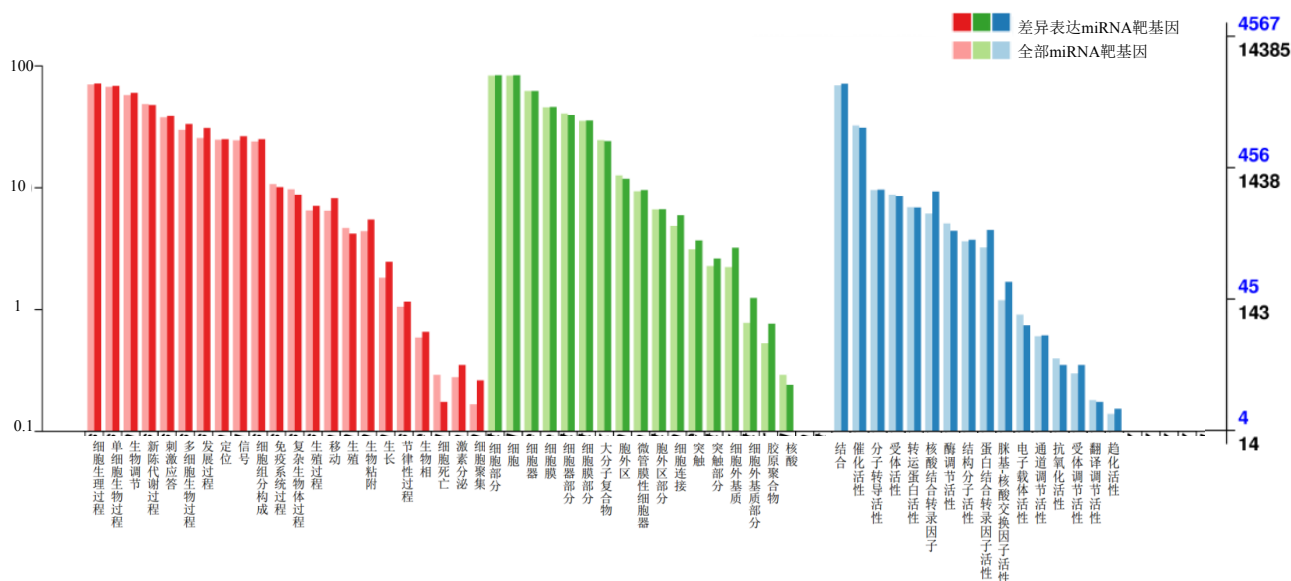


图3 差异表达 miRNA 靶基因 GO 注释分类统计图

注: 横坐标为 GO 分类, 纵坐标左边为基因数目所占比, 右边为基因数目

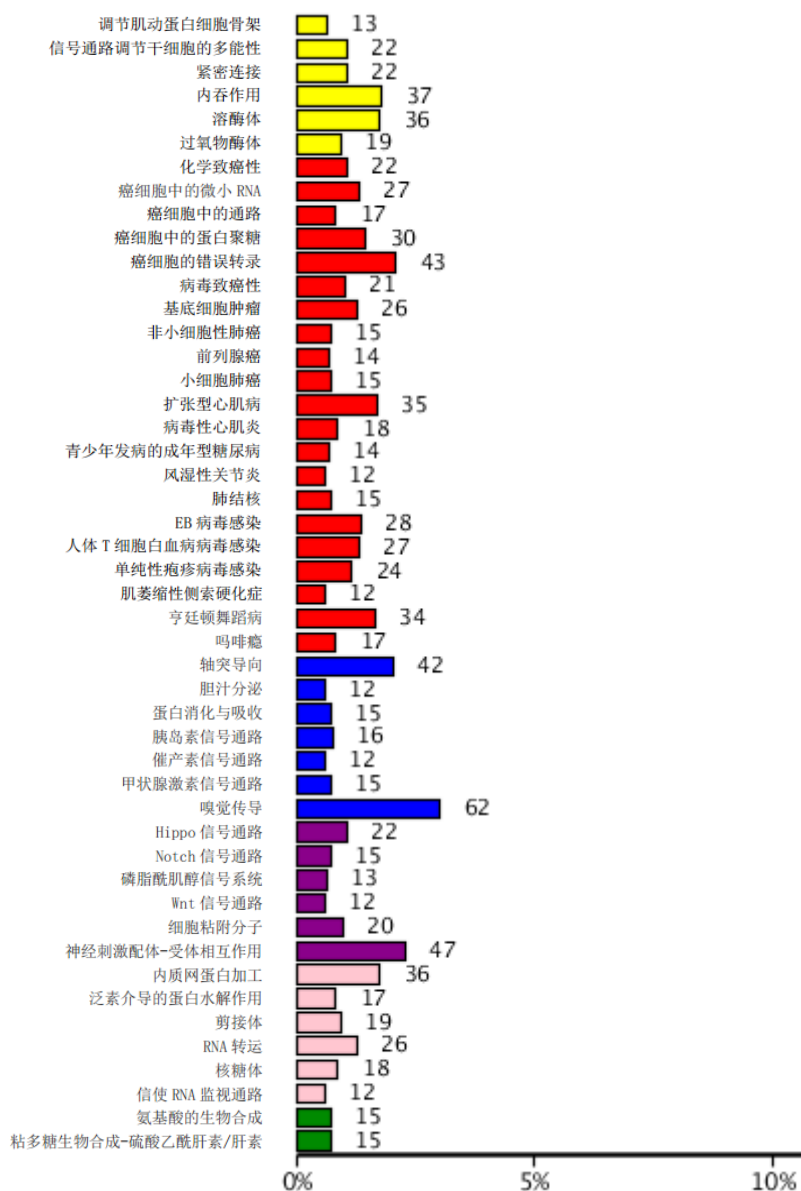


图 4 所筛选差异表达 miRNA 基因 KEGG 分类图

注：纵坐标为 KEGG 代谢通路的名称，横坐标为注释到该通路下的基因个数及其个数占被注释上的基因总数的比例，可见所筛选 miRNA 涉及肝纤维相关的多个通路

中在寻找能够早期诊断肝纤维化的分子标记上，但尚未发现有价值的标志物。曾有研究指出肝纤维化组织中的 miRNA 与正常肝组织中存在明显的表达差异<sup>[15]</sup>，为寻找肝纤维化早期诊断的血浆 miRNA 分子提供了理论支持。本研究所有血浆样品共预测出 1973 个 miRNA，其中已知的 miRNA 有 1389 个，新预测的有 584 个。

差异表达 miRNA 检测过程中，使用  $|\log_2(FC)| \geq 1$  且  $FDR \leq 0.01$  作为筛选标准。与健康对照组相比，肝纤维化组有 72 个 miRNA 表达上调，32 个 miRNA

表达下调；肝硬化组有 70 个 miRNA 表达上调，32 个 miRNA 表达下调。相比于健康组，肝纤维化组和肝硬化组均明显上调的有 22 个，均明显下调的 24 个。在所筛选出的 miRNA 中，共 9 个 miRNA 在 3 组中表达呈上升趋势，分别为 miR-100-5p、miR-122-3p、miR-192-5p、miR-193a-5p、miR-13615、miR-483-3p、miR-455-5p、miR-99a-5p、miR-939-5p。根据 miRNA 整体表达情况以及其在各组间的变化特征对这些 miRNA 进行后续分析，通过对上述 miRNA 靶基因功能进行 GO 分析发现，

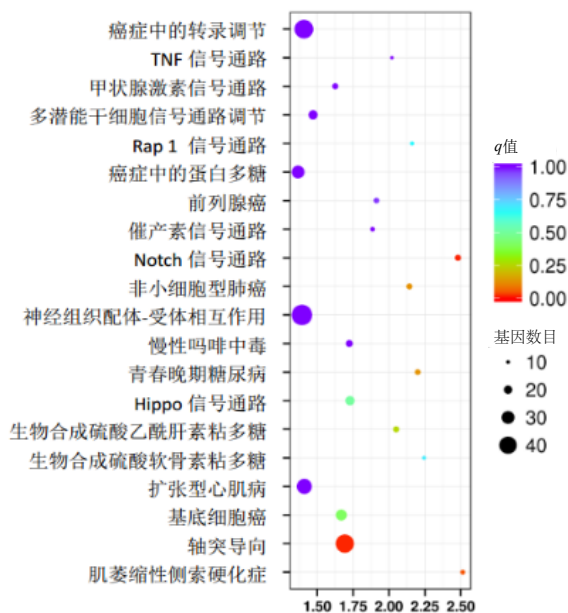


图5 差异表达 miRNA 靶基因 KEGG 通路富集散点图

注: 图中每个点表示一个 KEGG 通路, 纵坐标为通路名, 横坐标为富集因子, 表示注释到某通路的差异表达 miRNA 靶基因数目在所有注释到该通路的基因总数目中所占的比例。点的大小为注释到这个通路的所选 miRNA 的靶基因数目

差异基因主要涉及生物学过程、细胞组分以及分子功能。对这些 miRNA 靶基因 KEGG 的注释结果按照 KEGG 中通路类型进行分类后发现其参与多条显著性信号转导通路, 其中包括已有文献报道的与肝纤维化密切相关的 Jak-STAT 信号转导通路、Wnt 信号转导通路、Notch 信号转导通路以及磷脂酰肌醇信号转导系统等; 此外该结果还提示了一些其他信号转导通路, 包括 Hippo 信号转导通路、胰岛素信号转导通路、趋化因子信号转导通路及 T 细胞信号通路等, 虽然尚无相关研究证实这些信号转导通路与肝纤维化有关联, 但本研究提示差异表达的 miRNA 可能通过这些转导通路参与肝纤维化的发生发展, 但仍需进一步验证。

在上述筛选出的 miRNA 中, 有部分 miRNA 已有相关研究报道, 如 Guo 等<sup>[16]</sup>发现在肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 活化过程中, miR-16-5p 可能通过靶作用 Bcl2 和 caspase 信号转导通路抑制其抗凋亡作用。在转化生长因子 $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 诱导的肝星状细胞活化过程中, miR-146a-5p 的表达量下降, miR-146a-5p 通过靶作用于 Smad4 调节 TGF $\beta$  诱导的 HSC 的分化<sup>[17]</sup>。miR-335-3p 在肝星状细胞活化过程中表达量下调<sup>[18]</sup>。此外 miR-126-3p、miR-483-5p、miR-483-3p 和 miR-122-5p 等也有研究报道其参与肝纤维化的发生发展<sup>[19-21]</sup>。有些筛选出的 miRNA 虽无相关报道证实其参与肝纤维化, 但在

其他器官纤维化过程中发挥重要作用, 如 miR-192-5p 参与心脏纤维化过程<sup>[22]</sup>; miR-199a-5p 在肺纤维化过程中发挥作用<sup>[23]</sup>; miR-26a 在特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 患者的肺组织中表达下调, 试验证实其可逆转肺纤维化<sup>[24]</sup>。而 miR-3651、miR-4467、miR-365a-5p 和 miR-548j-5p 等是否与肝纤维化有关尚未见报道。此外, 与健康组相比, 尚有一部分 miRNA 在肝纤维化组和肝硬化组表现出相反趋势, 但目前尚无文献给予相关阐释, 后续应进一步进行这部分研究。

总之, 肝纤维化机制十分复杂, 本研究初步分析了某些差异表达的 miRNA 可能通过对肝纤维化相关基因进行调控进而影响肝纤维化进程; 并希望进一步鉴定及验证其功能, 为探索肝纤维化的早期诊断与治疗提供新思路, 具有潜在的临床价值。

#### 参考文献

- [1] CHEN X, BA Y, MA L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10):997-1006.
- [2] Arrese M, Eguchi A, Feldstein AE. Circulating microRNAs: emerging biomarkers of liver disease[J]. Semin Liver Dis, 2015, 35(1):43-54.
- [3] 邱历伟, 姚壁福. microRNA 在肝癌发生和发展中的作用及其机制[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(12):958-960.
- [4] ZHANG Q, XU M, QU Y, et al. Analysis of the differential expression of circulating microRNAs during the progression of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Mol Med



- Rep,2015,12(4):5647-5654.
- [5] Kitab B, Alj HS, Ezzikouri S, et al. MicroRNAs as Important Players in Host-hepatitis B Virus Interactions[J]. J Clin Transl Hepatol,2015,3(2):149-161.
- [6] Sarkar N, Chakravarty R. Hepatitis B virus infection, microRNAs and liver disease[J]. Int J Mol Sci,2015,16(8):17746-17762.
- [7] 中华医学会肝病分会, 中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南2010年更新版[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2011,5(1):79-100.
- [8] Nayagam S, Thursz M, Sicuri E, et al. Requirements for global elimination of hepatitis B: a modelling study[J]. Lancet Infect Dis,2016,16(12):1399-1408.
- [9] Ghasemi F, Rostami S, Ghayour-Mobarhan M, et al. Current progress in the development of therapeutic vaccines for chronic hepatitis B virus infection[J]. Iran J Basic Med Sci,2016,19(7):692-704.
- [10] Kim JH, Kim JW, Seo JW, et al. Noninvasive tests for fibrosis predict 5-year mortality and hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B[J]. J Clin Gastroenterol,2016,50(10):882-888.
- [11] Romanelli RG, Stasi C. Recent advancements in diagnosis and therapy of liver cirrhosis[J]. Curr Drug Targets,2016,17(15):1804-1817.
- [12] Mani H, Kleiner DE. Liver biopsy findings in chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2009,49(5 Suppl):S61-S71.
- [13] Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, et al. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies[J]. J Hepatol,1986,2(2):165-173.
- [14] Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, et al. Liver biopsy[J]. Hepatology,2009,49(3):1017-1044.
- [15] JIN BX, ZHANG YH, JIN WJ, et al. MicroRNA panels as disease biomarkers distinguishing hepatitis B virus infection caused hepatitis and liver cirrhosis[J]. Sci Rep,2015,5:15026.
- [16] GOU CJ, PAN Q, LI DG, et al. miR-15b and miR-16 are implicated in activation of the rat hepatic stellate cell: An essential role for apoptosis[J]. J Hepatol,2009,50(4):766-778.
- [17] HE Y, HUANG C, SUN X, et al. MicroRNA-146a modulates TGF-beta1-induced hepatic stellate cell proliferation by targeting SMAD4[J]. Cell Signal,2012,24(10):1923-1930.
- [18] CHEN C, WU CQ, ZHANG ZQ, et al. Loss of expression of miR-335 is implicated in hepatic stellate cell migration and activation[J]. Exp Cell Res,2011,317(12):1714-1725.
- [19] LI F, MA N, ZHAO R, et al. Overexpression of miR-483-5p/3p cooperate to inhibit mouse liver fibrosis by suppressing the TGF-beta stimulated HSCs in transgenic mice[J]. J Cell Mol Med,2014,18(6):966-974.
- [20] FENG X, TAN W, CHENG S, et al. Upregulation of microRNA-126 in hepatic stellate cells may affect pathogenesis of liver fibrosis through the NF-kappaB pathway[J]. DNA Cell Biol,2015,34(7):470-480.
- [21] Waidmann O, Bihrer V, Pleli T, et al. Serum microRNA-122 levels in different groups of patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. J Viral Hepat,2012,19(2):e58-e65.
- [22] Fang L, Ellims AH, Moore XL, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for diffuse myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. J Transl Med,2015,13:314.
- [23] Lino CC, Henaoui IS, Courcot E, et al. miR-199a-5p Is upregulated during fibrogenic response to tissue injury and mediates TGFbeta-induced lung fibroblast activation by targeting caveolin-1[J]. PLoS Genet,2013,9(2):e1003291.
- [24] LIANG H, XU C, PAN Z, et al. The antifibrotic effects and mechanisms of microRNA-26a action in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Mol Ther,2014,22(6):1122-1133.

收稿日期: 2016-10-13

马艳华, 韩铭, 冯胜虎, 等. HBV相关肝纤维化患者血浆microRNA的差异表达[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2017,9(1):20-26.