

熊去氧胆酸应答不佳原发性胆汁性胆管炎女性患者肝组织lncRNA、mRNA差异表达分析

高丽丽, 张亦瑾, 高学松, 李洪杰, 刘楠, 高萍, 段雪飞 (首都医科大学附属北京地坛医院 综合科, 北京 100015)

摘要: **目的** 筛选熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)应答不佳原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)女性患者肝组织长链非编码RNA(long noncoding ribonucleic acid, lncRNA)、mRNA差异表达基因,并进行生物信息学分析。探讨其在PBC应答不佳中的作用及潜在功能。**方法** 收集2016年7月至2017年7月首都医科大学附属北京地坛医院6例女性PBC患者的肝组织穿刺标本,其中3例对UDCA应答好(对照组),另外3例对UDCA应答不佳(试验组)。通过RNA提取、纯化、扩增及芯片实验,以差异倍数(fold change, FC) ≥ 1.5 倍, $P < 0.05$ 作为筛选条件,利用Illumina高通量测序技术检测6例PBC患者肝组织中lncRNA、mRNA的表达水平,筛选差异表达的lncRNA和mRNA。对差异表达的lncRNA、mRNA进行基因本体(gene ontology, GO)功能分析、信号转导通路富集分析(kyoto encyclopaedia of genes and genomes, KEGG分析)及蛋白互作网络分析,寻找与PBC应答不佳相关的lncRNA。**结果** 共检测到差异表达的mRNA 599个(312个上调,287个下调)、lncRNA 1167个(685个上调,482个下调)。GO与KEGG分析发现,差异表达的mRNA与甘油三酯、长链脂肪酸代谢、胆固醇排出、糖原异生及正向调节血管生成等相关。而这些mRNA与核受体过氧化物酶体增殖激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)信号通路、转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)信号通路、脂肪酸降解通路、细胞因子受体相互作用信号通路等相关。差异表达lncRNA的靶基因与磷代谢、磷酸盐代谢、能量代谢、细胞活化、免疫效应调节、抗原加工和提呈相关。这些靶基因与病毒感染通路、泛素介导的蛋白降解通路、线粒体自噬通路、细胞因子受体相关通路、Wnt信号通路相关。**结论** 本研究是PBC应答不佳相关lncRNA谱的补充,研究发现了一定数量差异表达的lncRNA,并预测其功能靶向基因及涉及信号通路,有望为PBC应答不佳研究提供新的参考依据。

关键词: 原发性胆汁性胆管炎; 应答不佳; 长链非编码RNA

Analysis of differential expression of lncRNA and mRNA in liver tissue of female primary biliary cholangitis patients with poor response to ursodeoxycholic acid

Gao Lili, Zhang Yijin, Gao Xuesong, Li Hongjie, Liu Nan, Gao Ping, Duan Xuefei (Department of General Medicine, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Objective To investigate the expression profile and biological functions of long non-coding RNA (lncRNA) and mRNA in liver tissue of female primary biliary cholangitis

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2023.02.008

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX10715-005); 北京市医管局培育计划(PZ2022030); 北京市医管局青苗计划(QML20231804)

通讯作者: 段雪飞 Email: duanxuefei@ccmu.edu.cn

(PBC) patients with poor response to ursodeoxycholic acid (UDCA). **Methods** Liver biopsy tissues were collected from 6 female patients with PBC in Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University from July 2015 to July 2016, including 3 patients with good response to UDCA (control group) and 3 patients with poor response to UDCA (experimental group). The tissues were subjected to RNA extraction, purification, amplification and microarray experiments. The expression levels of lncRNA and mRNA were detected using illumina high-throughput sequencing technology. Differentially expressed lncRNA and mRNA were screened with fold difference (FC) ≥ 1.5 -fold and $P < 0.05$ as screening conditions. Differentially expressed lncRNA and mRNA were analyzed by gene ontology (GO) functional analysis, signal transduction pathway enrichment (KEGG) analysis and protein interaction network analysis. **Results** A total of 599 differentially expressed mRNA (312 were up-regulated and 287 were downregulated) and 1167 lncRNA (685 were up-regulated and 482 were downregulated) were detected. GO and KEGG analysis revealed that differentially expressed mRNA were associated with triglyceride, long-chain fatty acid metabolism, cholesterol efflux, gluconeogenesis, positive regulation of sprouting angiogenesis and so on. These mRNA are associated with nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) signaling pathway, transforming growth factor beta (TGF- β) signaling pathway, fatty acid degradation pathway, cytokine-cytokine receptor interaction signaling pathway and so on. The target genes of differentially expressed lncRNA are associated with phosphorus metabolism, phosphate metabolism, energy metabolism, cell activation, immune effect regulation, antigen processing and presentation. These target genes are associated with viral infection pathways, mitophagy pathways, cytokine receptor-related pathways and Wnt signaling pathways. **Conclusions** This study is a supplement to the lncRNA profile associated with poor response in PBC. A certain number of differentially expressed lncRNA were found, and their functionally targeted genes and signaling pathways were predicted, which is expected to provide a new reference for the study of poor response in PBC.

Key words: Primary biliary cholangitis; Poor response; Long non-coding RNA

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)是一种慢性进展的自身免疫性肝内胆汁淤积性疾病,好发于中老年女性,可致终末期肝病,病因和具体发病机制尚未明确。其发病率和患病率在全球呈上升趋势,年发病率为0.23/10万~5.31/10万,患病率为1.91/10万~40.2/10万,据一项荟萃分析估算,我国PBC患病率约为20.5/10万^[1,2]。PBC的组织学特征为进行性非化脓性破坏性小胆管炎。对于PBC的治疗,目前认为熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)是唯一安全有效的药物,但约40%的PBC患者对UDCA应答不佳^[3]。对UDCA应答不佳的PBC患者病程进展快,肝移植和死亡的相对危险度高^[4]。而目前UDCA应答不佳患者的治疗尚无相对成熟的治疗方案,各种二线治疗药物有效率不高,不良反应相对较多^[5]。因此针对UDCA应答不佳,尤其对UDCA应答不佳的机制研究意义重大。

长链非编码RNA(long noncoding ribonucleic acid, lncRNA)是分子长度超过200个核苷酸并且没有蛋白质编码能力的内源性转录RNA,可通过多种机制参与各种生物过程的调节^[6]。越来越多的研究提示lncRNA在多种疾病中发挥重要作用^[7-9]。在PBC中的lncRNA研究较少,大部分都集中在PBC的发病机制中。关于PBC应答不佳的lncRNA研究鲜有报道。因此本研究选取3例UDCA应答不佳PBC患者与3例UDCA应答好的PBC患者,利用illumina高通量测序技术,检测两组患者肝组织中的差异lncRNA,为PBC应答不佳的研究提供可能的选择方向。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集2016年7月至2017年7月就诊于首都医科大学附属北京地坛医院的6例女性PBC患者的肝组织穿刺标本,标本收集后即刻存放于液氮中。纳入标准:参照2015年中华医学会肝病学会发布的《原发性胆汁性肝硬化(又名原发性胆汁性胆

管炎)诊断和治疗共识(2015)》^[10],患者需符合PBC的诊断标准。排除标准:合并其他基础及肝脏疾病。将对UDCA应答佳的3例患者作为对照组,对UDCA应答不佳另外3例患者作为试验组。UDCA应答标准:符合巴黎II标准^[11]的被认定为UDCA应答好,不能达到巴黎II标准的被认定为UDCA应答不佳。本研究经医院伦理委员会审查通过,批件文号:京地伦科字(2017)第(055)-01号,所有患者均知情同意。

1.2 材料与试剂 文库构建试剂盒Ribo-off rRNA Depletion Kit、产物纯化磁珠VAHTSTM DNA Clean Beads及VAHTSTM RNA Clean Beads购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。PE150测序试剂NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit购自美国Illumina公司。PE150测序平台(型号:Illumina NovaSeq 6000 platform,美国)。

1.3 研究方法

1.3.1 RNA提取、纯化、扩增、文库质检及测序 采用Trizol试剂提取肝组织RNA,与核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)探针混合后去除rRNA。应用磁珠进一步纯化产物。经过PCR扩增、扩增产物纯化后进行文库质检。质检通过后上机测序。

1.3.2 测序结果的处理和分析 使用百迈客云平台BMKCloud (www.biocloud.net)提供的生物信息学分析流程分析。差异RNA的筛选标准:差异倍数(fold change, FC) ≥ 1.5 且 $P < 0.05$,即UDCA应答不佳组比应答佳组表达变化在1.5倍以上且 $P < 0.05$ 。对筛选出的差异mRNA进行层次聚类分析、基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析、基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)信号通路富集分析。对筛选出的差异lncRNA进行层次聚类分析。并对差异lncRNA的顺式靶基因、反式靶基因进行GO富集分析和KEGG信号转导通路富集分析。

2 结果

2.1 两组差异mRNA的筛选 对照组年龄(48.9 ± 11.23)岁,试验组年龄(50.1 ± 10.2)岁,差异无统计学意义($P > 0.05$)。共筛选到差异mRNA 599个,其中312个表达上调,287个表达下调,见图1、图2。

2.2 两组差异mRNA的分析 GO功能富集分析表明两组间差异mRNA的生物学功能主要涉及甘油三酯代谢、蛋白质寡聚、氧化及级联激活的调节、长链脂肪酸代谢、糖原异生、胆固醇排泄、负向调节细胞间固醇类激素受体信号通路等,排名前20位的

生物学功能见图3。通过KEGG信号通路富集分析发现这些差异的mRNA显著出现的信号通路主要涉及核受体过氧化物酶体增殖激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)信号通路、产热作用信号通路、细胞因子受体相互作用信号通路、转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)信号通路、病毒蛋白与细胞因子相互作用信号通路、脂肪酸降解及代谢通路、维生素A代谢通路、补体和凝血级联通路、脂肪细胞因子信号通路、胆固醇代谢通路、糖酵解及糖异生通路等,排名前20名的信号通路见图4。

2.3 两组差异lncRNA的筛选与分析 两组共筛选到差异的lncRNA 1167个,其中685个表达上调,

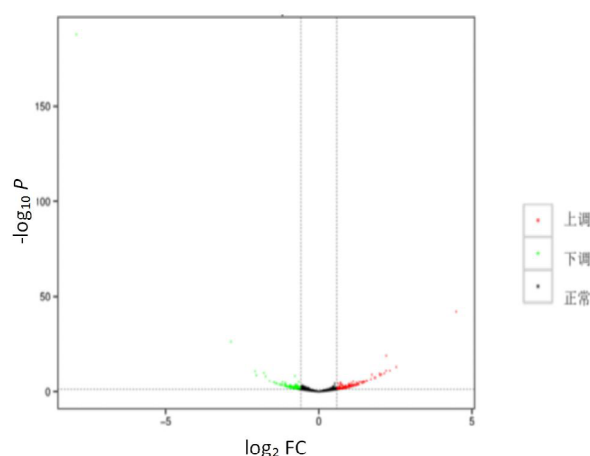


图1 试验组和对照组PBC患者差异mRNA火山图

注:差异表达火山图中的每个点表示一个基因,横坐标表示某个基因在两样品中表达量差异倍数的对数值,纵坐标表示P值的负对数值。横坐标绝对值越大,说明两样品的表达量倍数差异越大,纵坐标值越大,说明差异表达越显著,筛选到的差异表达基因越可靠。图中绿色的点代表下调差异表达基因,红色的点代表上调差异表达基因,黑色的点代表非差异表达基因。

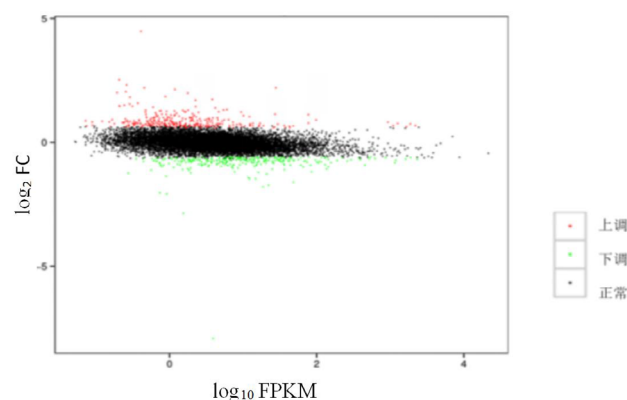


图2 试验组和对照组PBC患者差异mRNA的MA图

注:差异表达基因MA图中每个点代表一个基因。横坐标为A值:log10 FPKM,即量样品中表达量均值的对数值,纵坐标为M值:log2 FC,即量样品间基因表达量差异倍数的绝对值,用于衡量表达量差异的大小。图中绿色的点代表显著下调的基因,红色的点代表显著上调的基因,黑色的点代表表达差异不显著的基因。

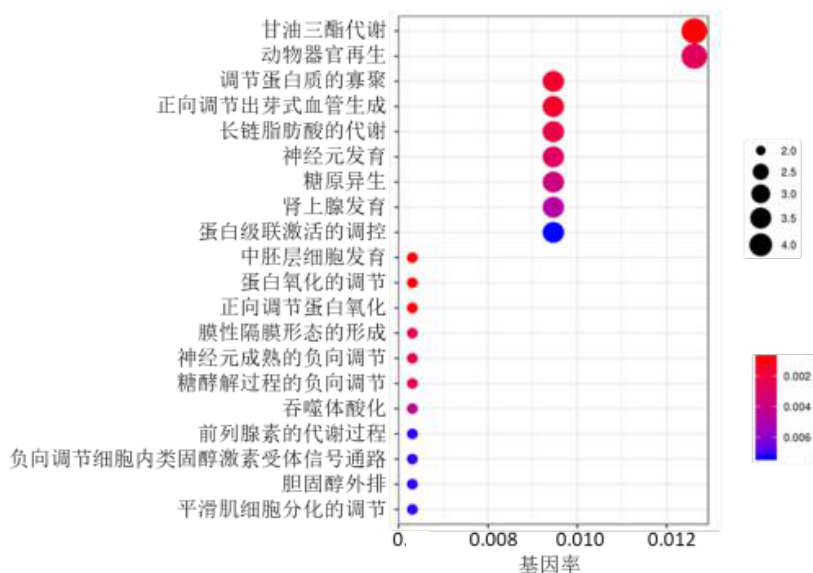


图3 试验组和对照组 PBC 患者差异 mRNA 生物学功能富集气泡图

注：横坐标为基因率即注释在该条目中的感兴趣基因占所有差异基因数的比例；点的大小代表该通路中注释的差异表达基因数，点的颜色代表超几何检验的 P 值。

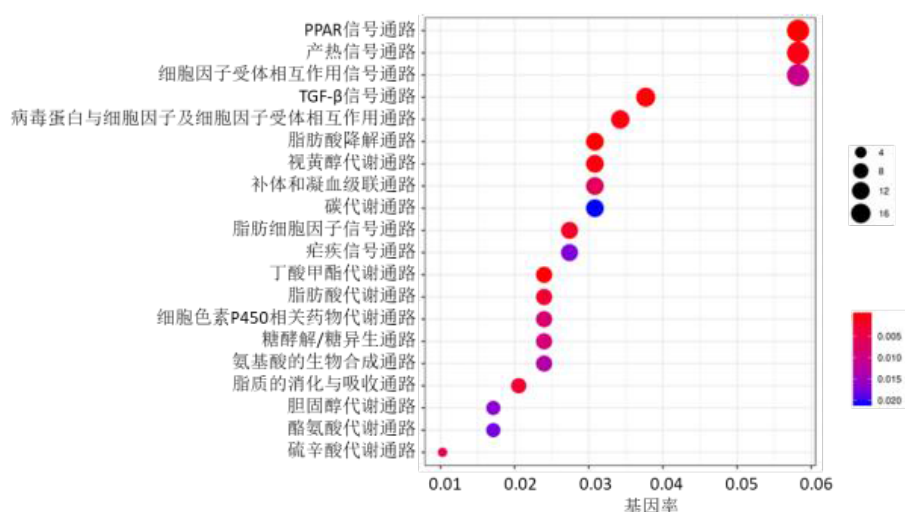


图4 试验组和对照组 PBC 患者差异 mRNA 参与的 KEGG 通路富集气泡图

注：横坐标为基因率即注释在该条目中的感兴趣基因占所有差异基因数的比例；点的大小代表该通路中注释的差异表达基因数，点的颜色代表超几何检验的 P 值。

482个表达下调。对差异lncRNA顺式靶基因及反式靶基因进行GO功能富集分析及KEGG信号通路富集分析，结果表明顺式靶基因的生物学过程主要涉及细胞器组织、细胞间转运、细胞器的定位及装配调节、线粒体转运、抗原加工及提呈、囊泡定位的确定、对外源生物物质的刺激反应、病毒的感染过程、ATP代谢过程等，排名前20位的生物学过程见图5。顺式靶基因显著出现的通路主要有单纯疱疹病毒1感染通路、肌萎缩性脊髓侧索硬化症通路、人乳头瘤病毒感染通路、帕金森病通路、朊病毒病通路、泛素介导的蛋白水解作用通路、吞噬体信号通路、核

糖体信号通路、线粒体自噬信号通路、氧化磷酸化信号通路等，排名前20位的信号通路见图6。反式靶基因涉及的生物学过程主要有磷、磷酸盐代谢过程调节、蛋白磷酸化的调节、细胞活化的调节、对脂多糖的反应、免疫效应的调控、细胞外基质的调节等，排名前20位的生物学过程见图7。反式靶基因显著出现的通路主要有单纯疱疹病毒1感染通路、癌通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用通路、Wnt信号通路、趋化因子信号通路、碳代谢过程通路、补体和凝血级联信号通路等，排名前20位的信号通路见图8。

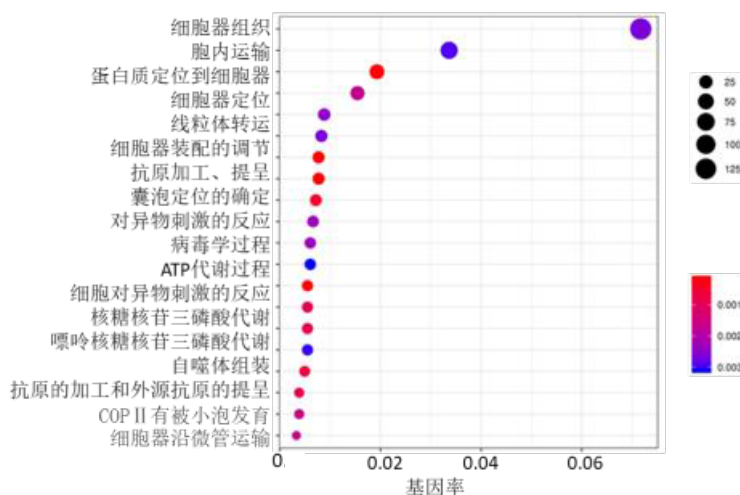


图5 试验组和对照组 PBC 患者差异 lncRNA 顺式调控靶基因生物学功能富集气泡图

注：横坐标为基因率即注释在该条目中的感兴趣基因占所有差异基因数的比例；点的大小代表该通路中注释的差异表达基因数，点的颜色代表超几何检验的 P 值。

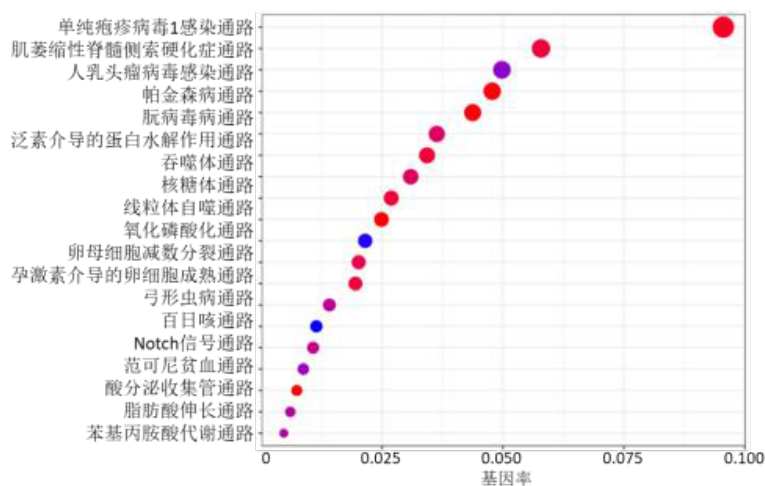


图6 试验组和对照组 PBC 患者差异 lncRNA 顺式调控靶基因参与的 KEGG 通路富集气泡图

注：横坐标为基因率即注释在该条目中的感兴趣基因占所有差异基因数的比例；点的大小代表该通路中注释的差异表达基因数，点的颜色代表超几何检验的 P 值。

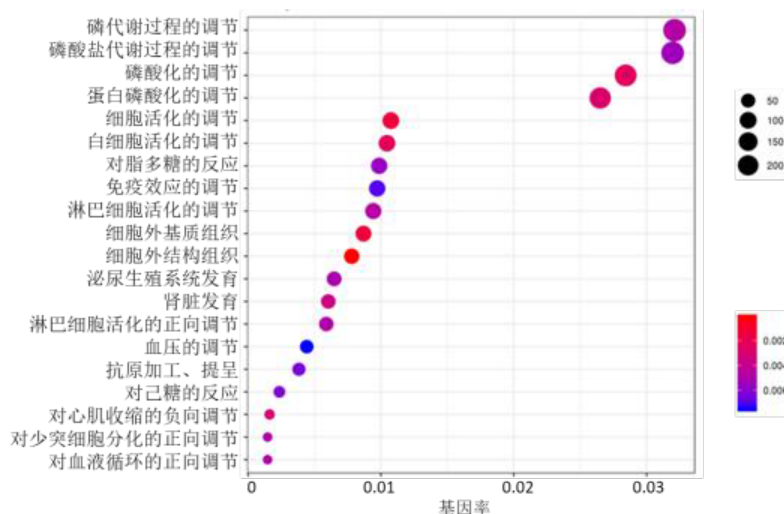


图7 试验组和对照组 PBC 患者差异 lncRNA 反式调控靶基因生物学功能富集气泡图

注：横坐标为基因率即注释在该条目中的感兴趣基因占所有差异基因数的比例；点的大小代表该通路中注释的差异表达基因数，点的颜色代表超几何检验的 P 值。

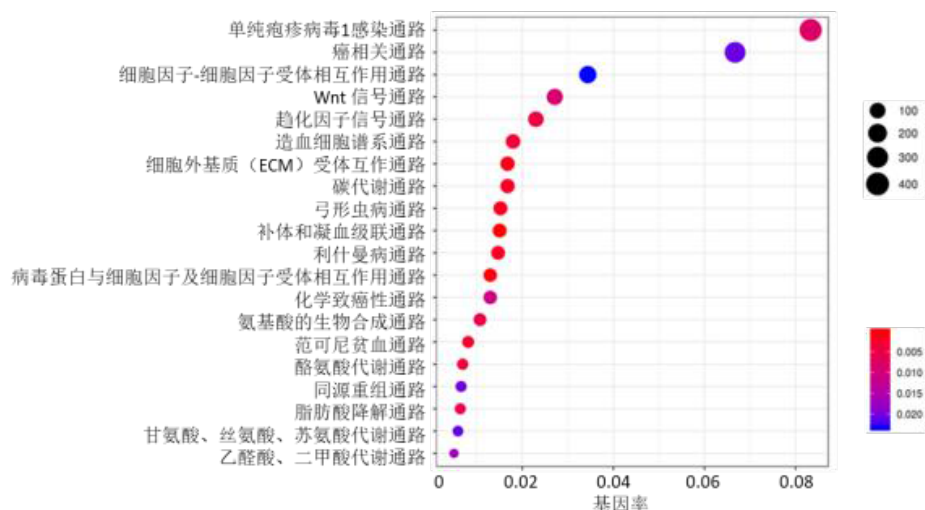


图8 试验组和对照组PBC患者差异lncRNA反式调控靶基因参与的KEGG通路富集气泡图

注:横坐标为基因率即注释在该条目中的感兴趣基因占所有差异基因数的比例;点的大小代表该通路中注释的差异表达基因数,点的颜色代表超几何检验的P值。

3 讨论

PBC发病呈全球性分布^[1],既往都被认为是一种罕见病。但随着诊断技术的提高,发现该病的发病率并不低。我国目前缺乏基于人群的流行病学证据,基于荟萃分析的研究显示,在亚太地区我国PBC发病率仅次于日本,处于第2位^[2]。目前UDCA是治疗PBC的一线用药,因其有效性及安全性均较高^[12,13],只要对UDCA应答佳的患者预后均较好。影响PBC预后的主要问题是患者对UDCA的应答^[14],因此研究UDCA应答不佳的原因意义重大。众多研究发现lncRNA在多种疾病中发挥广泛作用,筛选与PBC应答相关的lncRNA作为预测PBC应答以及PBC应答不佳机制的探索是重要的研究方向。因PBC好发于中年女性,临床收集到的都是女性患者的肝组织穿刺标本。

本研究对UDCA应答不佳和UDCA应答佳的PBC患者肝组织穿刺标本进行差异mRNA及lncRNA的检测分析。结果发现这些差异的mRNA以及lncRNA调节的顺式、反式靶基因主要生物学过程涉及甘油三酯、胆固醇等脂质代谢以及糖代谢、能量代谢较多。涉及的通路也与这些代谢相关,如PPAR信号通路、产热作用信号通路等。这提示糖脂代谢可能是PBC患者UDCA应答不佳的研究方向之一。尤其在PBC治疗的二线用药里也有贝特类降脂药,贝特类降脂药可通过PPAR信号通路抑制胆汁酸的生成,在改善应答不佳患者生物化学指标^[15]、瘙痒症状^[16]以及病死率^[17]和肝移植需求^[18]方面均有显著效果。说明PPAR信号通路调节的脂代谢可作为UDCA治疗外

的补充,与UDCA治疗PBC的机制不同。本研究进一步表明脂代谢,尤其是PPAR信号通路调节的脂代谢可作为PBC应答不佳机制研究的探索方向。

本研究两组间差异lncRNA调控的靶基因涉及磷、磷酸盐代谢以及磷酸化调节的过程较多,尤其是反式调节靶基因。考虑磷代谢有可能与PBC的应答不佳相关。临床上磷代谢主要反映骨代谢和肾功能,PBC患者代谢性骨病的发病率显著高于健康对照^[19,20],而骨质疏松发病风险是健康对照的3.33倍^[21]。这提示代谢性骨病可能与应答不佳相关,可作为研究应答不佳的另一个可能方向。

我们还发现一些涉及病毒感染的过程、病毒蛋白与细胞因子相互作用通路也可能与PBC应答不佳相关。有研究表明特定的环境暴露是PBC发病的关键诱因^[22],包括感染因子、化学毒素等,其可通过分子模拟机制参与发病^[23,24]。而复发的泌尿系感染也与PBC发病相关^[25]。本研究进一步提示病毒感染通过上述机制可能参与了PBC的应答不佳,也可从此方向探索应答不佳的可能机制。

另外一些与免疫相关的通路也在两组间存在差异,免疫异常是PBC进展的主要驱动力^[26,27],UDCA改善PBC的机制中免疫因素也是很重要的一部分^[28,29]。而本研究提示两组间差异lncRNA顺式调控靶基因涉及抗原加工及提呈、对外源生物物质的刺激反应等免疫起始反应相关通路,而差异lncRNA反式调控靶基因也涉及免疫效应的调控通路,说明免疫起始及免疫效应调控可能在PBC应答不佳过程中发挥作用,这也可作为探索PBC应答不佳机制的

一个可能方向。

总之,本研究筛选出了一些可能与PBC应答不佳相关的lncRNA,并分析了可能涉及的信号通路,为PBC应答不佳提供可能的研究方向。后续拟就可能的方向进行深入研究,扩大样本量,进一步验证可能的lncRNA作用机制。

参考文献

- [1] LV T, CHEN S, LI M, et al. Regional variation and temporal trend of primary biliary cholangitis epidemiology: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2021,36(6):1423-1434.
- [2] ZENG N, DUAN W, CHEN S, et al. Epidemiology and clinical course of primary biliary cholangitis in the Asia-Pacific region: a systematic review and meta-analysis[J]. *Hepatol Int*,2019,13(6):788-799.
- [3] 刘晓,刘亚平,高学松,等.原发性胆汁性胆管炎合并血脂异常研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2020,12(3):17-22.
- [4] ÖRNOLFSSON K T, LUND S H, OLAFSSON S, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid among PBC patients: a nationwide population-based study[J]. *Scand J Gastroenterol*,2019,54(5):609-616.
- [5] 帅俊芳,韩子岩.对熊去氧胆酸应答不佳或不耐受的原发性胆汁性胆管炎患者应用奥贝胆酸和贝特类药物治疗的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*,2022,38(4):913-917.
- [6] NOJIMA T, PROUDFOOT N J. Mechanisms of lncRNA biogenesis as revealed by nascent transcriptomics[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2022,23(6):389-406.
- [7] WANG W, MIN L, QIU X, et al. Biological Function of long non-coding RNA (lncRNA) xist[J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:645647.
- [8] JIANG N, ZHANG X, GU X, et al. Progress in understanding the role of lncRNA in programmed cell death[J]. *Cell Death Discov*,2021,7(1):30.
- [9] BRIDGES M C, DAULAGALA A C, KOURTIDIS A. LNCcation: lncRNA localization and function[J]. *J Cell Biol*,2021,220(2):e202009045.
- [10] 中华医学会肝病学分会,中华医学会消化病学分会,中华医学会感染病学分会.原发性胆汁性肝硬化(又名原发性胆汁性胆管炎)诊断和治疗共识(2015)[J]. *中华肝脏病杂志*,2016,24(1):5-13.
- [11] CORPECHOT C, ABENAVOLI L, RABAHI N, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis in primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*,2008,48(3):871-877.
- [12] SCHATTEBERG J M, PARES A, KOWDLEY K V, et al. A randomized placebo-controlled trial of elafibranor in patients with primary biliary cholangitis and incomplete response to UDCA[J]. *J Hepatol*,2021,74(6):1344-1354.
- [13] 中华医学会肝病学分会.原发性胆汁性胆管炎的诊断和治疗指南(2021)[J]. *临床肝胆病杂志*,2022,38(1):35-41.
- [14] TANAKA A. Current understanding of primary biliary cholangitis[J]. *Clin Mol Hepatol*,2021,27(1):1-21.
- [15] HASEGAWA S, YONEDA M, KURITA Y, et al. Cholestatic liver disease: current treatment strategies and new therapeutic agents[J]. *Drugs*,2021,81(10):1181-1192.
- [16] DE VRIES E, BOLIER R, GOET J, et al. Fibrates for Itch (FITCH) in fibrosing cholangiopathies: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial[J]. *Gastroenterology*,2021,160(3):734-743.e6.
- [17] HONDA A, TANAKA A, KANEKO T, et al. Bezafibrate improves GLOBE and UK-PBC scores and long-term outcomes in patients with primary biliary cholangitis[J]. *Hepatology*,2019,70(6):2035-2046.
- [18] TANAKA A, HIROHARA J, NAKANO T, et al. Association of bezafibrate with transplant-free survival in patients with primary biliary cholangitis[J]. *J Hepatol*,2021,75(3):565-571.
- [19] TRIVEDI H D, DANFORD C J, GOYES D, et al. Osteoporosis in primary biliary cholangitis: prevalence, impact and management challenges[J]. *Clin Exp Gastroenterol*,2020,13:17-24.
- [20] SAEKI C, OIKAWA T, KANAI T, et al. Relationship between osteoporosis, sarcopenia, vertebral fracture, and osteosarcopenia in patients with primary biliary cholangitis[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2021,33(5):731-737.
- [21] LIAO C Y, CHUNG C H, CHU P, et al. Increased risk of osteoporosis in patients with primary biliary cirrhosis[J]. *PLoS One*,2018,13(3):e0194418.
- [22] BEUERS U, GERSHWIN M E, GISH R G, et al. Changing nomenclature for PBC: from “cirrhosis” to “cholangitis”[J]. *J Hepatol*,2015,63(5):1285-1287.
- [23] JURAN B D, LAZARIDIS K N. Environmental factors in primary biliary cirrhosis[J]. *Semin Liver Dis*,2014,34(3):265-272.
- [24] LLEO A, LEUNG P, HIRSCHFIELD G M, et al. The pathogenesis of primary biliary cholangitis: a comprehensive review[J]. *Semin Liver Dis*,2020,40(1):34-48.
- [25] MATSUMOTO K, OHFUJI S, ABE M, et al. Environmental factors, medical and family history, and comorbidities associated with primary biliary cholangitis in Japan: a multicenter case-control study[J]. *J Gastroenterol*,2022,57(1):19-29.
- [26] TSUNAYAMA K, BABA H, MORIMOTO Y, et al. Primary biliary cholangitis: its pathological characteristics and immunopathological mechanisms[J]. *J Med Invest*,2017,64(1.2):7-13.
- [27] LLEO A, WANG G Q, GERSHWIN M E, et al. Primary biliary cholangitis[J]. *Lancet*,2020,396(10266):1915-1926.
- [28] NAMISAKI T, FUJINAGA Y, MORIYA K, et al. The association of histological progression with biochemical response to ursodeoxycholic acid in primary biliary cholangitis[J]. *Hepatol Res*,2021,51(1):31-38.
- [29] GULAMHUSEIN A F, HIRSCHFIELD G M. Primary biliary cholangitis: pathogenesis and therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*,2020,17(2):93-110.

收稿日期: 2022-08-22

高丽丽,张亦瑾,高学松,等.熊去氧胆酸应答不佳原发性胆汁性胆管炎女性患者肝组织lncRNA、mRNA差异表达分析[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2023,15(2): 47-53.