

· 综述 ·

外泌体非编码 RNA 在肝纤维化中的作用及机制

钱南南¹, 唐露露², 魏涛华^{1,2}, 杨悦¹, 郝文杰¹, 杨文明^{2,3}¹ 安徽中医药大学 研究生院, 合肥 230038; ² 安徽中医药大学第一附属医院 神经内科, 合肥 230031;³ 新安医学教育部重点实验室, 合肥 230038

摘要:肝纤维化是多种慢性肝脏疾病发展为肝硬化的初始阶段,且是一个可逆的过程。外泌体作为能够携带包括蛋白、脂质、核酸等活性物质的一种细胞外囊泡亚群,参与细胞间的信号通讯,近年来备受关注。研究表明,外泌体中非编码 RNA 在肝纤维化的发生发展过程中起着重要作用。在此,探讨了外泌体长链非编码 RNA(包括 MALAT1、H19、GAS5、MEG3、PVT1 和 P21)、外泌体短链非编码 RNA(包括微小 RNA、小核仁 RNA、PIWI-interacting RNA 和小干扰 RNA)、外泌体环状 RNA 在肝纤维化发生发展过程中的作用机制。总结了不同来源(如肝细胞、胆管细胞等)的外泌体携带非编码 RNA 主要通过影响肝星状细胞活化、增殖、迁移、转化等过程发挥作用。未来通过对外泌体非编码 RNA 的深入研究,有望为肝纤维化治疗药物寻找到潜在新靶点。

关键词:肝硬化; 外泌体; RNA, 未翻译

基金项目:国家自然科学基金(81973825); 2019 国家中医药管理局《中医药循证能力建设项目》(2019XZZX-NB001); 安徽中医药大学新安医学教育部重点实验室开放基金(2020xayx12)

中图分类号:R575.2 文献标志码:A 文章编号:1001-5256(2021)10-2429-06

Role and mechanism of exosome non-coding RNA in liver fibrosis

QIAN Nannan¹, TANG Lulu², WEI Taohua^{1,2}, YANG Yue¹, HAO Wenjie¹, YANG Wenming^{2,3}. (1. Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 3. Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230038, China)

Abstract: Liver fibrosis is the initial stage of the development of various chronic liver diseases into liver cirrhosis and is a reversible process. As a subset of extracellular vesicles that can carry active substances such as proteins, lipids, and RNA, exosomes are involved in intercellular signal communication and have attracted more and more attention in recent years. Studies have shown that non-coding RNAs in exosomes play an important role in the development and progression of liver fibrosis. This article discusses the mechanism of action of exosome long non-coding RNAs (including MALAT1, H19, GAS5, MEG3, PVT1, and P21), exosome short non-coding RNAs (including micro-RNA, small nucleolus RNA, PIWI-interacting RNA, and small interference RNA), and exosome circular RNA in the development and progression of liver fibrosis, and it is concluded that exosomes from different sources (such as hepatocytes and cholangiocytes) carrying non-coding RNAs mainly affect the activation, proliferation, migration, and transformation of hepatic stellate cells. In-depth studies of exosome non-coding RNAs in the future are expected to find potential new targets for the treatment of liver fibrosis.

Key words: Liver Cirrhosis; Exosomes; RNA, Untranslated

Research funding: National Natural Science Foundation of China(81973825); National Administration of Traditional Chinese Medicine: 2019 Project of building evidence based practice capacity for TCM(2019XZZX-NB001); Open Fund of the Key Laboratory of Xin'an Medical Education Ministry of Anhui University of Traditional Chinese Medicine(2020xayx12)

肝纤维化是由多种病因(如血吸虫、慢性病毒性肝炎感染、非酒精性脂肪性肝病、酒精性肝病、铜代谢性疾病、胆汁淤积和自身免疫性肝病)引起的慢性肝损伤,可逐渐发展为肝硬化,甚至引起肝癌的发生。近些年研究发现,肝纤维化是一个可逆转的过程,给肝纤维化的临床治疗带来了希望。肝纤维化发展过程中主要是由肝星状细胞(HSC)活化为成纤维细胞,并分泌细胞外基质(ECM)。因此,控制 HSC 的活化过程将是肝纤维化的理想治疗策略。大量研究表明,非编码 RNA(ncRNA)对 HSC

活化、增殖、迁移、转化等过程起着重要作用。ncRNA 主要包括长链非编码 RNA(lncRNA)、短链非编码 RNA 和环状 RNA(circRNA)等几大类,其中与肝纤维化相关的主要有:lncRNA 包括 MALAT1、H19、GAS5、MEG3、PVT1 和 P21 等;短链非编码 RNA 包括微小 RNA(miRNA)、小核仁 RNA(snoRNA)、PIWI-interacting RNA(piRNA)和小干扰 RNA(siRNA)等。细胞外囊泡包括外泌体、微囊泡和凋亡小体,外泌体是由大小为 30~100 nm 的膜囊泡构成。外泌体可以由各种动物的大部分细胞所分泌。在正常和病理情况下,外泌体参与众多的生物学过程。有证据^[1]表明,外泌体内含有蛋白质、脂质、DNA 和各种形式的 RNA(例如 miRNA、lncRNA 等)。现就外泌体 ncRNA 在肝纤维

DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2021.10.036

收稿日期:2021-03-01;修回日期:2021-03-19

通信作者:杨文明,yangwm8810@126.com

化中的作用进行深入探析,以期为肝纤维化治疗药物寻找潜在新靶点。

1 外泌体 lncRNA 与肝纤维化

1.1 外泌体 MALAT1 MALAT1 基因位于人染色体 11q13 和小鼠染色体 19qA 内。MALAT1 与许多蛋白质编码基因(如 β -肌动蛋白、GAPDH)相当甚至具有更高的表达水平。MALAT1 基因在人类中约为 7 kb。先前有研究^[2]发现, MALAT1 可与 miR-101b 竞争来调节 *rac1* 的表达,影响 HSC 的增殖、细胞周期和激活,从而增加 ECM 的沉积。此外, MALAT1 也可能通过介导 SIRT1 的下调,来活化肝星状细胞系 LX-2 细胞,导致肝纤维化的形成^[3]。而 Dai 等^[4]研究发现,使用砷酸盐可诱导肝细胞系 L-02 细胞 MALAT1 的过表达,并且 MALAT1 可以通过外泌体转运到 LX-2 细胞中,并认为 MALAT1 可通过 miR-26b 调节 I 型胶原蛋白 A2 促进 LX-2 细胞的激活。由此可见, MALAT1 可通过多种方式导致肝纤维化的形成。因此,外泌体中 MALAT1 可作为肝纤维化逆转的一个潜在靶点。

1.2 外泌体 H19 H19 是一种 lncRNA,受 H19 和 IGF2 之间的位点甲基化的基因组印记调控,越来越多的研究表明, H19 具有许多不同的生物学功能。包括参与细胞增殖和分化,以及其在癌症中作为癌基因角色和肿瘤抑制剂等。H19 主要在胆管细胞中表达,其能通过外泌体转移至肝细胞中显著下调小分子异二聚体伴侣的表达、调节 S1PR2/SphK2 和 LET-7/HMGA2 介导的途径、增加 G1/S 细胞周期转变促进 HSC 的增殖和激活等途径进而在调节胆管细胞增殖和促进肝纤维化方面发挥重要作用^[5]。此外 H19 还可以作为 miRNAs 的分子海绵(如 let-7 miRNAs),在胆汁性肝硬化的发展过程中发挥作用。

1.3 外泌体 GAS5 GAS5 RNA 基因位于细胞遗传学带 1q25.1, GAS5 基因有 31 个转录本,其中 20 个为保守的内含子,而 11 个为 lncRNA。GAS5 可以结合 DNA 结合结构域,从而使其无法调节靶基因的转录。GAS5 可通过充当 miR-222 的竞争内源 RNA (ceRNA) 而增加 p27 蛋白的水平,从而抑制 HSC 的活化和增殖^[6]。GAS5 可作为 miR-23a 的分子海绵,从而竞争性地降低 miR-23a 的表达水平。miR-23a 与 PTEN 的相互作用以及 PTEN 的降解进一步影响了下游信号通路 PI3K/Akt/mTOR/Snail,导致 E-钙黏蛋白表达水平降低和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、I 型胶原蛋白的表达水平增加,从而导致肝纤维化的发生与发展^[7]。据报道^[8],外泌体 GAS5 的上调参与细胞凋亡过程,另外,有研究^[9]表明, GAS5 可通过外泌体途径调节巨噬细胞和内皮细胞的凋亡,来发挥抗动脉粥样硬化的作用。作为细胞外囊泡,外泌体在细胞间通讯中至关重要,并且可能是 GAS5 的关键载体^[10],因此,推测 GAS5 亦可通过外泌体途径影响上述通路发挥抗纤维化作用。

1.4 外泌体 MEG3 MEG3 基因位于人染色体 14q32.3 区域的印记 DLK1-MEG3 基因座上。MEG3 在正常组织中表达,但在许多人类肿瘤和肿瘤衍生细胞系中丢失或减少。近些年已有研究^[11-13]表明,含有 MEG3 的外泌体在肿瘤积液、宫颈阴道灌洗液、尿液中检测到,并在宫颈癌、高度浆液性癌和 Hunner 型间质性膀胱炎中起到作用。而关于肝纤维化的外泌体 MEG3

暂未有相关报道。有报道^[14]指出, MEG3 的过表达可激活 p53 并介导细胞色素 c 的释放,随后导致 TGF β 1 处理的 LX-2 细胞发生 caspase-3 依赖性的凋亡。这些发现表明, MEG3 可能在 HSC 活化和肝纤维化进展中起重要作用,并作为肝纤维化的新型潜在治疗靶标。此外, MEG3 亦可通过 SMO 蛋白和 miR-212 抑制 Hh 信号通路介导的肝纤维化上皮-间质转化过程^[15]。由此,预测 MEG3 可通过外泌体途径发挥抗肝纤维化作用,但还需要进一步研究。

1.5 外泌体 PVT1 PVT1 是一类 lncRNA,人 PVT1 基因位于 8q24,这是公认的与癌症相关的区域。PVT1 已被证明与肝纤维化相关。有研究^[16]表明,通过 PVT1-miR-152-ATG14 信号通路的自噬诱导有助于缺氧条件下 HSC 的激活。目前还未有外泌体 PVT1 在肝纤维化中的相关研究。但是, Meng 等^[17]报道外泌体介导的 PVT1 通过 miR-93-5p 调节的 HMGB1/TLR4/NF- κ B 通路来调节脂多糖(LPS)诱导的骨关节炎进展。Wu 等^[18]通过实验发现, M2 巨噬细胞来源的外泌体携带的 lncRNA PVT1 共同作用于 miR-21-5p,以上调 SOCS5 并使 JAKs/STAT3 途径失活,从而减少炎症并保护自身免疫性脑脊髓炎小鼠。由此,将外泌体 PVT1 扩展在肝纤维化中,预测亦可发挥相应作用。

1.6 外泌体 P21 P21 基因位于人类染色体 6p21.2 上,位于细胞周期调控基因 p21/Cdkn1a 的上游,首次被描述为小鼠胚胎成纤维细胞 p53 依赖性凋亡的诱导剂。P21 有两种亚型,它们都包含一个外显子和 Alu 反向重复序列。据报道^[19], P21 在 HBV 感染者血清中的水平低于健康对照者,且血清 P21 水平与感染者的肝纤维化阶段呈负相关。Zheng 等^[20]研究发现, P21 的过度表达在体外抑制 HSC 的激活。慢病毒介导的 P21 转移至小鼠体内可降低肝纤维化的严重程度。Tu 等^[21]发现 P21 作为 TGF β 信号的下游效应,通过与 miR-30 相互作用来增强 TGF β 信号并介导其促进肝纤维化的作用。有报道^[22],在非小细胞肺癌患者引流静脉血液及前列腺癌尿液中检测到含有 P21 的外泌体。肝纤维化有关外泌体 P21 尚未有文献报道,有待进一步研究。

2 外泌体短链非编码 RNA 与肝纤维化

2.1 外泌体 miRNA miRNA 是一种由 22 个左右的核苷酸构成的短链非编码 RNA。通过与靶 mRNA 的 3'-非翻译区结合参与转录后基因调控,影响多种细胞过程,包括细胞分化、能量代谢和代谢应激。根据近些年报道,与肝纤维化相关的 miRNA 有近百种,如能促进肝纤维化的有 miR-200c^[23]、miR-942^[24]、miR-302c^[25]、miR-182^[26]、miR-195^[27]等;具有抗肝纤维化作用的包括 miR-30/miR-193^[28]、miR-30^[29]及 miR-326^[30]。有趣的是,一些研究发现 miR-21^[31-32]和 miR-145^[33-34]具有相反作用,既有促进肝纤维化又具有抗纤维化作用,因此具体的机制有待进一步研究。在外泌体 miRNA 相关研究^[35]中发现,肝硬化肝癌患者血清和腹水中外泌体 miR-182、miR-301a 和 miR-373 的表达水平显著增加。有研究^[36]表明, miR-122 和 miR-214 可通过外泌体介导抑制 HSC 的活化,从而达到抗纤维化的作用。此外, miR-181-5p 则可通过

外泌体介导抑制 STAT3/Bcl-2-Beclin 1 途径来增加自噬并减少 TGF β 1 诱导的肝纤维化^[37]。又有报道^[38], miR-199a-5p 可通过外泌体作用于结缔组织生长因子(CCN2), 导致 CCN2 及其下游靶标 α -SMA 和 I 型胶原蛋白 α 1 的表达降低, 从而发挥抗纤维化的作用。miR-223 通过外泌体途径调控 NLRP3 和 caspase-1 发挥保肝作用^[39], 而 miR-103-3p 可通过外泌体介导靶向 Kruppel 样因子 4(KLF4) 促进 HSC 的增殖和激活^[40]。外泌体 miRNA 与肝纤维化的关系总结详见表 1。

2.2 外泌体 snoRNA snoRNA 是一类保守的核 RNA 家族, 在核糖体亚单位成熟过程中参与小核 RNA(snRNA) 或核糖体 RNA(rRNA) 的修饰或加工。snoRNA 越来越多地被证实参与调控新类型的转录后过程, 例如 RNA 乙酰化、剪接模式的调节、mRNA 丰度的控制和翻译效率, 或者它们本身被加工成更短的稳定的 RNA 种类。先前已证实, 在肝硬化患者体内 snoRNA 包括 SNORD115-31、SNORD37、SNORD121B 被下调。一项研究^[41]表明, LPS 可以在小鼠模型、人类受试者及巨噬细胞培养基中刺激 snoRNA U32a(SNORD32a)、U33(SNORD33)、U34(SNORD34) 和 U35a(SNORD35a) 的分泌, 分泌的 snoRNA 和外泌体共同体被受体细胞吸收。在鼠模型中, 证明外泌体 snoRNA 通过循环并在远端的组织中发挥功能。然而关于 snoRNA 在肝纤维化中的研究较少。有研究^[42]表明, 通过抑制 SNHG7(一种 snoRNA) 可以抑制肝纤维化。进一步实验表明, 可能是 SNHG7 充当 ceRNA, 通过与 miR-29b 结合来影响 DNMT3A(miR-29b 的下游靶基因) 的表达, 从而影响 HSC 的活化、自噬和增殖。

2.3 外泌体 piRNA piRNA 是一类小 RNA, 长度为 24~31 个

核苷酸。它们与 PIWI 蛋白缔合, 后者构成 Argonaute 家族的种系特异性亚群, 形成称为 piRNA 诱导的沉默复合物的效应物复合物, 该复合物通过转录或转录后机制抑制转座子并维持种系基因组完整性。除了在转座子沉默中起作用外, 多种生物中的 piRNA 还可以调控细胞基因。越来越多的证据表明, piRNA 在癌症发展中同时具有致癌作用和抑癌作用。但 piRNA 在肝纤维化中的作用研究较少。有研究^[43]表明, 激活的 HSC 中 piR-823 显著上调, 进一步实验表明, 活化的 HSC 可促进 piR-823 的合成, 另一方面 piR-823 上调又可以促进 HSC 的活化。其机制可能为 piR-823 与 EIF3B(真核起始因子 3B) 结合, 并且该复合物进一步募集 TGF β 1 的 mRNA 并产生 TGF β 1, TGF β 1 激活静止的 HSC 所致。先前已有相关报道^[44], 在血清、脑脊髓液、尿液等体液中检测到含有 piRNA 的外泌体。因此, 在肝纤维化中的外泌体 piRNA 需要进一步研究。

2.4 外泌体 siRNA siRNA 是一种由 21~23 个碱基对构成的双链 RNA, 包括两个突出核苷酸的羟基化 3' 末端。与靶 mRNA 具有序列互补性的 siRNA 反义链可诱导序列特异性基因表达沉默, 这被称为 RNA 干扰(RNAi)。RNAi 首先在秀丽隐杆线虫中被发现, 后来在植物、动物和人类细胞中发现。越来越多关于 siRNA 的研究, 其中也涉及到治疗肝纤维化, Toriyabe 等^[45]研究发现 siRNA 可抑制 HSC I 型胶原蛋白 α 1、TGF β 、 α -SMA 的表达。Zhang 等^[46]用 siRNA 可干扰 CTGF、TIMP-1、procol- α 1、PCIII 在肝组织中的蛋白表达水平。Ge 等^[47]则发现, GRB2 siRNA 消除了 HMGB1 诱导的 HSC 增殖以及上调 I 型胶原蛋白 α 1 和 α -SMA 的作用。虽然越来越多关于 siRNA 的应用研究, 但 siRNA 如何到达靶细胞发挥作用从而限制了 siRNA 发展

表 1 外泌体 miRNA 与肝纤维化的关系

基因	表达情况	机制	参考文献
miR-200c	上调	通过下调 FOG2 蛋白表达和上调 PI3K/Akt 信号转导途径激活肝纤维化中的 HSC	[23]
miR-942	上调	通过下调 BAMBI 介导 HSC 活化	[24]
miR-302c	上调	通过抑制 E6AP, 来激活 TGF β 诱导的有丝分裂原活化蛋白激酶信号通路促进肝纤维化	[25]
miR-182	上调	通过激活 PI3K/AKT 信号通路促进 HSC 增殖, 并抑制凋亡	[26]
miR-195	上调	通过靶向 Smad7 激活 HSC	[27]
miR-30 和 miR-193	下调	抑制 TGF β 介导的 HSC 活化	[28]
miR-30	下调	通过抑制 KLF11 表达使 HSC 中的 TGF β /Smad 信号转导减弱, 从而促进活化的 HSC 逆转至静止状态	[29]
miR-326	下调	通过介导 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路抑制 HSC 活化	[30]
miR-21	上调	促进 HSC 的活化及增殖	[31-32]
miR-145	下调	通过靶向 PTEN/PI3K/AKT 途径促进 HSC 增殖并抑制其凋亡	[33-34]
	上调	通过靶向 KLF4 促进 HSC 活化和肝纤维化	
miR-122 和 miR-214	下调	通过 miR-145-ZEB2-p53 调控体系可能参与活化 HSC 的凋亡	[35]
	下调	通过外泌体介导抑制 HSC 的活化, 从而达到抗纤维化的作用	
miR-181-5p	下调	通过外泌体介导抑制 STAT3/Bcl-2-Beclin 1 途径来增加自噬并减少 TGF β 1 诱导的肝纤维化	[37]
miR-199a-5p	下调	通过外泌体作用于 CCN2, 导致 CCN2 及其下游靶标 α -SMA 和 I 型胶原蛋白 α 1 的表达降低, 从而发挥抗纤维化的作用	[38]
miR-223	下调	通过外泌体途径调控 NLRP3 和 caspase-1 发挥保肝作用	[39]
miR-103-3p	上调	通过外泌体介导靶向 KLF4 促进 HSC 的增殖和激活	[40]

的机制仍不明确。目前除了常规局部及血清用药,还有化学修饰、脂质体、病毒载体、纳米颗粒等传递系统。近些年以外泌体为载体的研究越来越多应用于临床中,如神经系统疾病、眼部疾病、肝脏疾病、肾脏疾病等。Pan等^[48]发现从人肝癌细胞释放的外泌体可以使 siRNA 在肝细胞之间穿梭,并抑制小鼠肝细胞中 CD81 的表达,这些结果使基于外泌体的 siRNA 在肝纤维化的治疗领域得到进一步扩展。

3 外泌体 circRNA 与肝纤维化

circRNA 是一种共价闭环环状结构的 RNA,没有 5'端和 3'端之分,主要由前体 mRNA 通过外显子的反向剪接形成。circRNA在肝病中有很多作用机制,包括 microRNA 海绵、蛋白质翻译、RNA 支架、mRNA 制动等。有研究^[49]表明,通过分析 CCl₄ 小鼠肝纤维化模型肝组织中 circRNA 的表达谱,发现肝纤维化模型组和正常对照组之间有 69 个 circRNAs 的差异表达,其中 14 个上调,55 个下调。进一步研究^[50]发现, circ - PW-WP2A 可通过充当 miR - 203 和 miR - 223 的分子海绵促进 HSC 的活化和增殖。Ji 等^[51]研究发现, Hsa_circ_0070963 作为 miR - 223 - 3p 的分子海绵,通过调节 miR - 223 - 3p 和 LEMD3 来抑制 HSC 的激活,从而抑制肝纤维化。Wang 等^[52]研究表明 circMTO1 通过调节 miR - 17 - 5p 和 Smad7 抑制肝纤维化,而 Jin 等^[53]发现 circMTO1 亦可通过 miR - 181b - 5p 介导的 PTEN 表达抑制 HSC 活化。Li 等^[54]发现 hsa_circ_0004018/hsa - miR - 660 - 3p/TEP1 轴有助于 HSC 的增殖和激活。Zhu 等^[55]研究表明,脂肪来源的间充质干细胞分泌的外泌体传递 mmu_circ_0000623,通过激活自噬防止肝纤维化。外泌体 circRNA 研究处于起步阶段,但在寻找治疗肝纤维化药物及新靶点的道路上具有巨大的潜力。

4 小结与展望

部分研究已经证实外泌体中含有多种可调节肝纤维化的 ncRNA,迄今为止,已经发现 ncRNA 可通过多种途径调节肝纤维化,包括 TGF β /Smad、Wnt/ β - catenin、S1PR2/SphK2 和 LET - 7/HMGA2、AKT/mTOR/p27、PTEN/PI3K/Akt/mTOR/Snail、NF - κ B、Notch、Hh、SIRT/P53、STAT3/Bcl - 2 - Beclin 1 和 MAPK 等信号传导途径。并且 ncRNA 调节肝纤维化的中心环节是 HSC。此外,ncRNA 不同种类之间,也会产生相互作用,比如前面提到的 circRNA 充当 miRNA 的分子海绵,lncRNA 作为 miRNA 的 ceRNA 以及 siRNA 对于其他 ncRNA 的干扰作用等。目前对于 ncRNA 之间的关联性研究相对较少,因此,进一步研究不同类型的 ncRNA 之间的串扰和表观遗传网络的复杂级联,可能会突出关于肝纤维化进展的新发现,最终为肝纤维化的治疗提供一些新的策略。然而外泌体和 ncRNA 及其之间的调控机制还需要进一步研究。从而为寻找肝纤维化治疗药物及寻找潜在靶点提供帮助。肝纤维化是一个可逆转的病理过程,因此肝纤维化的早期干预在肝纤维化的治疗过程中显得尤为重要。但由于肝纤维化的发病机制复杂,调控的通路涉及众多,目前西药没有特效药物,且调控单一靶点的药物很难在临床上发挥良好的疗效,因此具有复合成分,多靶点特点的中药显示了独特的优势。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:钱南南负责课题设计,资料分析,撰写论文;唐露露、魏涛华负责课题设计,修改论文;杨悦、郝文杰参与收集数据;杨文明负责拟定写作思路,指导撰写文章并最后定稿。

参考文献:

- [1] SASAKI R, KANDA T, YOKOSUKA O, et al. Exosomes and hepatocellular carcinoma: From bench to bedside [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1406. DOI: 10.3390/ijms20061406.
- [2] YU F, LU Z, CAI J, et al. MALAT1 functions as a competing endogenous RNA to mediate Rac1 expression by sequestering miR - 101b in liver fibrosis [J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(24): 3885 - 3896. DOI: 10.1080/15384101.2015.1120917.
- [3] WU Y, LIU X, ZHOU Q, et al. Silent information regulator 1 (SIRT1) ameliorates liver fibrosis via promoting activated stellate cell apoptosis and reversion [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 289(2): 163 - 176. DOI: 10.1016/j.taap.2015.09.028.
- [4] DAI X, CHEN C, XUE J, et al. Exosomal MALAT1 derived from hepatic cells is involved in the activation of hepatic stellate cells via miRNA - 26b in fibrosis induced by arsenite [J]. *Toxicol Lett*, 2019, 316: 73 - 84. DOI: 10.1016/j.toxlet.2019.09.008.
- [5] XIAO Y, LIU R, LI X, et al. Long noncoding RNA H19 contributes to cholangiocyte proliferation and cholestatic liver fibrosis in biliary atresia [J]. *Hepatology*, 2019, 70(5): 1658 - 1673. DOI: 10.1002/hep.30698.
- [6] YU F, ZHENG J, MAO Y, et al. Long non - coding RNA growth arrest - specific transcript 5 (GAS5) inhibits liver fibrogenesis through a mechanism of competing endogenous RNA [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(47): 28286 - 28298. DOI: 10.1074/jbc.M115.683813.
- [7] DONG Z, LI S, WANG X, et al. lncRNA GAS5 restrains CCl₄ (4) - induced hepatic fibrosis by targeting miR - 23a through the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 316(4): g539 - g550. DOI: 10.1152/ajpgi.00249.2018.
- [8] KOLDEMIR O, ÖZGÜR E, GEZER U. Accumulation of GAS5 in exosomes is a marker of apoptosis induction [J]. *Biomed Rep*, 2017, 6(3): 358 - 362. DOI: 10.3892/br.2017.848.
- [9] CHEN L, YANG W, GUO Y, et al. Exosomal lncRNA GAS5 regulates the apoptosis of macrophages and vascular endothelial cells in atherosclerosis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0185406. DOI: 10.1371/journal.pone.0185406.
- [10] ZHU X, WANG X, WANG Y, et al. Exosomal long non - coding RNA GAS5 suppresses Th1 differentiation and promotes Th2 differentiation via downregulating EZH2 and T - bet in allergic rhinitis [J]. *Mol Immunol*, 2020, 118: 30 - 39. DOI: 10.1016/j.molimm.2019.11.009.
- [11] FILIPPOV -LEVY N, COHEN -SCHUSSHEIM H, TROPÉ CG, et al. Expression and clinical role of long non - coding RNA in high - grade serous carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 148(3): 559 -

566. DOI: 10.1016/j.ygyno.2018.01.004.
- [12] ZHANG J, LIU SC, LUO XH, et al. Exosomal long noncoding RNAs are differentially expressed in the cervicovaginal lavage samples of cervical cancer patients [J]. *J Clin Lab Anal*, 2016, 30(6): 1116–1121. DOI: 10.1002/jcla.21990.
- [13] LIU F, CHEN Y, LIU R, et al. Long noncoding RNA (MEG3) in urinal exosomes functions as a biomarker for the diagnosis of Hunner-type interstitial cystitis (HIC) [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(2): 1227–1237. DOI: 10.1002/jcb.29356.
- [14] HE Y, WU YT, HUANG C, et al. Inhibitory effects of long non-coding RNA MEG3 on hepatic stellate cells activation and liver fibrogenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(11): 2204–2215. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.08.015.
- [15] YU F, GENG W, DONG P, et al. LncRNA-MEG3 inhibits activation of hepatic stellate cells through SMO protein and miR-212 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 1014. DOI: 10.1038/s41419-018-1068-x.
- [16] YU F, DONG B, DONG P, et al. Hypoxia induces the activation of hepatic stellate cells through the PVT1-miR-152-ATG14 signaling pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 465(1–2): 115–123. DOI: 10.1007/s11010-019-03672-y.
- [17] MENG Y, QIU S, SUN L, et al. Knockdown of exosome-mediated lnc-PVT1 alleviates lipopolysaccharide-induced osteoarthritis progression by mediating the HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway via miR-93-5p [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(6): 5313–5325. DOI: 10.3892/mmr.2020.11594.
- [18] WU L, XIA J, LI D, et al. Mechanisms of M2 macrophage-derived exosomal long non-coding RNA PVT1 in regulating Th17 cell response in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1934. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01934.
- [19] YU F, ZHOU G, HUANG K, et al. Serum lincRNA-p21 as a potential biomarker of liver fibrosis in chronic hepatitis B patients [J]. *J Viral Hepat*, 2017, 24(7): 580–588. DOI: 10.1111/jvh.12680.
- [20] ZHENG J, DONG P, MAO Y, et al. lincRNA-p21 inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis via p21 [J]. *FEBS J*, 2015, 282(24): 4810–4821. DOI: 10.1111/febs.13544.
- [21] TU X, ZHANG Y, ZHENG X, et al. TGF- β -induced hepatocyte lincRNA-p21 contributes to liver fibrosis in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2957. DOI: 10.1038/s41598-017-03175-0.
- [22] CASTELLANO JJ, MARRADES RM, MOLINS L, et al. Extracellular vesicle lincRNA-p21 expression in tumor-draining pulmonary vein defines prognosis in NSCLC and modulates endothelial cell behavior [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(3): 734. DOI: 10.3390/cancers12030734.
- [23] MA T, CAI X, WANG Z, et al. miR-200c accelerates hepatic stellate cell-induced liver fibrosis via targeting the FOG2/PI3K pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 2670658. DOI: 10.1155/2017/2670658.
- [24] TAO L, XUE D, SHEN D, et al. MicroRNA-942 mediates hepatic stellate cell activation by regulating BAMBI expression in human liver fibrosis [J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92(9): 2935–2946. DOI: 10.1007/s00204-018-2278-9.
- [25] KIM JY, KIM KM, YANG JH, et al. Induction of E6AP by microRNA-302c dysregulation inhibits TGF- β -dependent fibrogenesis in hepatic stellate cells [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 444. DOI: 10.1038/s41598-019-57322-w.
- [26] HUANG Y, FAN X, TAO R, et al. Effect of miR-182 on hepatic fibrosis induced by Schistosomiasis japonica by targeting FOXO1 through PI3K/AKT signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6693–6704. DOI: 10.1002/jcp.26469.
- [27] SONG LY, MA YT, WU CF, et al. MicroRNA-195 activates hepatic stellate cells in vitro by targeting Smad7 [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1945631. DOI: 10.1155/2017/1945631.
- [28] ROY S, BENZ F, VARGAS CARDENAS D, et al. miR-30c and miR-193 are a part of the TGF- β -dependent regulatory network controlling extracellular matrix genes in liver fibrosis [J]. *J Dig Dis*, 2015, 16(9): 513–524. DOI: 10.1111/1751-2980.12266.
- [29] TU X, ZHENG X, LI H, et al. MicroRNA-30 protects against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by attenuating transforming growth factor beta signaling in hepatic stellate cells [J]. *Toxicol Sci*, 2015, 146(1): 157–169. DOI: 10.1093/toxsci/kfv081.
- [30] LIAO X, ZHAN W, TIAN T, et al. MicroRNA-326 attenuates hepatic stellate cell activation and liver fibrosis by inhibiting TLR4 signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2019. DOI: 10.1002/jcb.29520. [Online ahead of print]
- [31] KENNEDY LL, MENG F, 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.
- [32] HAO XJ, XU CZ, WANG JT, et al. miR-21 promotes proliferation and inhibits apoptosis of hepatic stellate cells through targeting PTEN/PI3K/AKT pathway [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2018, 38(5–6): 455–461. DOI: 10.1080/10799893.2019.1585452.
- [33] YANG J, LU Y, YANG P, et al. MicroRNA-145 induces the senescence of activated hepatic stellate cells through the activation of p53 pathway by ZEB2 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7587–7599. DOI: 10.1002/jcp.27521.
- [34] MEN R, WEN M, ZHAO M, et al. MicroRNA-145 promotes activation of hepatic stellate cells via targeting krüppel-like factor 4 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40468. DOI: 10.1038/srep40468.
- [35] MUHAMMAD YUSUF AN, RAJA ALI RA, MUHAMMAD NAWAWI KN, et al. Potential biomarkers in NASH-induced liver cirrhosis with hepatocellular carcinoma: A preliminary work on roles of exosomal miR-182, miR-301a, and miR-373 [J]. *Malays J Pathol*, 2020, 42(3): 377–384.
- [36] LOU G, YANG Y, LIU F, et al. MiR-122 modification enhances the therapeutic efficacy of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells against liver fibrosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(11): 2963–2973. DOI: 10.1111/jcmm.

- 13208.
- [37] QU Y, ZHANG Q, CAI X, et al. Exosomes derived from miR-181-5p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells prevent liver fibrosis via autophagy activation[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(10): 2491-2502. DOI: 10.1111/jcmm.13170.
- [38] CHEN L, CHEN R, VELAZQUEZ VM, et al. Fibrogenic signaling is suppressed in hepatic stellate cells through targeting of connective tissue growth factor (CCN2) by cellular or exosomal MicroRNA-199a-5p[J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(11): 2921-2933. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.07.011.
- [39] CHEN L, LU FB, CHEN DZ, et al. BMSCs-derived miR-223-containing exosomes contribute to liver protection in experimental autoimmune hepatitis[J]. *Mol Immunol*, 2018, 93: 38-46. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.11.008.
- [40] CHEN L, YAO X, YAO H, et al. Exosomal miR-103-3p from LPS-activated THP-1 macrophage contributes to the activation of hepatic stellate cells[J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5178-5192. DOI: 10.1096/fj.201902307RRR.
- [41] RIMER JM, LEE J, HOLLEY CL, et al. Long-range function of secreted small nucleolar RNAs that direct 2'-O-methylation[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(34): 13284-13296. DOI: 10.1074/jbc.RA118.003410.
- [42] XIE Z, WU Y, LIU S, et al. LncRNA-SNHG7/miR-29b/DNMT3A axis affects activation, autophagy and proliferation of hepatic stellate cells in liver fibrosis[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2021, 45(2): 101469. DOI: 10.1016/j.clinre.2020.05.017.
- [43] TANG X, XIE X, WANG X, et al. The combination of piR-823 and eukaryotic initiation factor 3B (EIF3B) activates hepatic stellate cells via upregulating TGF- β 1 in liver fibrogenesis[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 9151-9165. DOI: 10.12659/MSM.914222.
- [44] ZEUSCHNER P, LINXWEILER J, JUNKER K. Non-coding RNAs as biomarkers in liquid biopsies with a special emphasis on extracellular vesicles in urological malignancies[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2020, 20(2): 151-167. DOI: 10.1080/14737159.2019.1665998.
- [45] TORIYABE N, SAKURAI Y, KATO A, et al. The delivery of small interfering RNA to hepatic stellate cells using a lipid nanoparticle composed of a vitamin A-scaffold lipid-like material[J]. *J Pharm Sci*, 2017, 106(8): 2046-2052. DOI: 10.1016/j.xphs.2017.04.042.
- [46] ZHANG Q, SHU FL, JIANG YF, et al. Influence of expression plasmid of connective tissue growth factor and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 shRNA on hepatic precancerous fibrosis in rats[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(16): 7205-7210. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.16.7205.
- [47] GE S, XIONG Y, WU X, et al. Role of growth factor receptor-bound 2 in CCl(4)-induced hepatic fibrosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92: 942-951. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.05.142.
- [48] PAN Q, RAMAKRISHNAIAH V, HENRY S, et al. Hepatic cell-to-cell transmission of small silencing RNA can extend the therapeutic reach of RNA interference (RNAi)[J]. *Gut*, 2012, 61(9): 1330-1339. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300449.
- [49] ZHOU YP, LV XY, QU H, et al. Differential expression of circular RNAs in hepatic tissue in a model of liver fibrosis and functional analysis of their target genes[J]. *Hepatol Res*, 2019, 49(3): 324-334. DOI: 10.1111/hepr.13284.
- [50] LIU W, FENG R, LI X, et al. TGF- β and lipopolysaccharide-induced upregulation of circular RNA PWWP2A promotes hepatic fibrosis via sponging miR-203 and miR-223[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(21): 9569-9580. DOI: 10.18632/aging.102405.
- [51] JI D, CHEN GF, WANG JC, et al. Hsa_circ_0070963 inhibits liver fibrosis via regulation of miR-223-3p and LEMD3[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(2): 1643-1655. DOI: 10.18632/aging.102705.
- [52] WANG W, DONG R, GUO Y, et al. CircMTO1 inhibits liver fibrosis via regulation of miR-17-5p and Smad7[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8): 5486-5496. DOI: 10.1111/jcmm.14432.
- [53] JIN H, LI C, DONG P, et al. Circular RNA cMTO1 promotes PTEN expression through sponging miR-181b-5p in liver fibrosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 714. DOI: 10.3389/fcell.2020.00714.
- [54] LI S, SONG F, LEI X, et al. hsa_circ_0004018 suppresses the progression of liver fibrosis through regulating the hsa-miR-660-3p/TEP1 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12): 11517-11529. DOI: 10.18632/aging.103257.
- [55] ZHU M, LIU X, LI W, et al. Exosomes derived from mmu_circ_0000623-modified ADSCs prevent liver fibrosis via activating autophagy[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 39(12): 1619-1627. DOI: 10.1177/0960327120931152.

引证本文: QIAN NN, TANG LL, WEI TH, et al. Role and mechanism of exosome non-coding RNA in liver fibrosis[J]. *J Clin Hepatol*, 2021, 37(10): 2429-2434.

钱南南, 唐露露, 魏涛华, 等. 外泌体非编码 RNA 在肝纤维化中的作用及机制[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(10): 2429-2434.

(本文编辑: 王莹)