

· 综 述 ·

微小 RNA 在肿瘤发生、发展中的作用*

刘 晨, 张 倩 综述, 郑智慧, 赵宝华[△] 审校

(河北师范大学生命科学院微生物学系, 石家庄 050016)

关键词: 微小 RNA; 基因调控; 肿瘤形成; 肿瘤抑制

中图分类号: R730.2; R730.54

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)05-0603-04

微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一类长度为 22 nt 左右的内源性非编码核苷酸构成的单链小 RNA 分子。1993 年 Lee 等在秀丽 (隐杆) 线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 中发现了第 1 个 miRNA 分子 (miRNA-lin-4), 随后许多实验室在植物、多细胞动物以及病毒的基因组中鉴别出了数百个 miRNA。

近年来, 大量研究结果表明, miRNA 在生命过程中起重要的调控作用, 参与了生物发育过程中的细胞分裂、分化、组织发育和基因的表达调控。另外, miRNA 表达和功能异常还与许多疾病的发病密切相关。研究发现, 人类 miRNA 中有一半位于肿瘤相关位点。而且, 几乎所有的 miRNA 分别在不同的肿瘤发生过程中有异常表达, 这表明 miRNA 与肿瘤的发生、诊断、治疗和预后密切相关。因此 miRNA 成为当前肿瘤诊治研究的新热点。

1 miRNA 的特征

miRNAs 广泛存在于真核生物中, 与其他寡核苷酸相比, 主要有以下特征。

1.1 miRNA 的结构特点 miRNA 的一个最基本特征是长度在 22 nt 左右, 在这一长度上的 miRNA 可占总数的 84%; 其本身不具有开放阅读框 (ORF), 不编码蛋白质; 在其 3' 端有 1~2 个碱基长度的变化, 成熟的 miRNA 的 5' 端为磷酸基团, 3' 端为羟基; 其 5' 端第一个碱基对 U 有强烈的倾向性, 但对 G 却具有抗性; 第 2~4 个碱基缺乏 U, 一般除第 4 个碱基外, 其他位置的碱基通常都缺乏 C^[1]。

1.2 miRNA 的保守性 miRNA 在不同的物种之间具有高度的保守性。Bartel、Tuschl 和 Ambrose 3 个研究小组在对果蝇、HeLa 细胞和线虫近 100 种 miRNA 研究分析后, 发现这些生物的基因组中大约 15% 的 miRNA 序列是保守的。

但近期的研究表明, miRNA 家族并非一成不变, 随着物种的进化不断有新的 miRNA 产生, 这些新产生的 miRNA 大部分都能迅速在种群中固定下来并受到很大的选择压力。目前虽然已经有对于个别 miRNA 家族进化研究的报道, 但总体来说, 对于 miRNA 的进化特性仍知之甚少^[2]。

1.3 miRNA 的排列特点 miRNA 基因的排列并不是随机的, 绝大多数位于基因序列的外围。已鉴定的 miRNA 都定位于约 70 nt 茎环结构前体的 3' 末端或 5' 末端, 这种前体成簇存在说明多个 miRNA 基因可共同转录成一个初级 miRNA (pri-miRNA), 之后成熟的 miRNA 会从这个前体上加工而来, 因此簇生排列的基因常常协同表达。例如线虫中一组高度相关的 miRNA 基因——mir-35~mir-41, 集中簇生在 2 号染色体的 1 kb 片段上, 共同转录成 1 个前体 miRNA, 然后加工形成 7 个

成熟的 miRNA。在人类基因组中, 也发现了这种 miRNA 的基因簇集现象, 如人类的 mir-17~mir-20 基因簇。

1.4 miRNA 表达的时序性 大多数已发现的 miRNA 的表达具有时序性。在线虫中, lin-4 只在幼虫的第 1、2 期存在, let-7 只在第 3、4 期和成虫期存在。Landgraf 等^[3] 研究发现人类肝脏表达的 miRNA 有 40 多种, 特异性较高的包括 miR-122、miR-126、miR-424/322、miR-135b、miR-425、miR-93、miR-96 和 miR-374b 等, 而在胚胎期肝脏中则是 miR-92a 和 miR-483 高表达^[4]。

1.5 miRNA 的组织特异性 许多 miRNA 在表达上具有组织特异性。在组织培养的 Schneider-2 细胞中可发现 miR-12, 却无法找到 miR-3~miR-6; 在拟南芥中的 miRNA-171 仅在其花序中高水平表达, 在茎、叶等组织中却无表达迹象。这种基因表达的时序性、表达水平的变化、所在组织和细胞的特异性都暗示了 miRNA 可能参与了复杂的基因表达调控。

2 miRNA 产生机制

miRNA 可能来自于基因组的基因间隔区或者编码基因的内含子中。首先, 细胞核内编码 miRNA 的基因通过 RNA 聚合酶 II 或聚合酶 III 转录成 pri-miRNA。pri-miRNA 5' 端具有甲基化的鸟嘌呤, 3' 端具有多聚腺嘌呤碱基, 接着 pri-miRNA 在 Drosha 酶 (一种 RNase III) 和它的伴侣分子 DGCR8 (双链 RNA 可吸附蛋白) 组成的复合物作用下, 剪切为具有茎环结构的约 70 个核苷酸长度的 miRNA 前体 (pre-miRNA)。miRNA 前体在 Exportin5 的作用下, 从核内运输到胞质中, 此过程需消耗能量^[5]。在胞质中, 通过核糖核酸酶 Dicer (双链 RNA 专一性 RNA 内切酶) 的作用将茎环的二级结构前体加工为成熟的双链 miRNA。随后双链 miRNA 在 RNA 解旋酶作用下解旋, 其中一条链生成成熟的单链 miRNA, 另一条链则很快降解^[6]。成熟的单链 miRNA 进入核糖蛋白复合体 miRNP (也称诱导沉默复合物, RNA induced silencing complex, RISC) 中, 形成非对称 RISC 复合物 (asymmetric RISC assembly), 该复合物可以结合到目标靶 mRNA 上。研究表明, miRNA 的 5' 末端 (1~7 或 2~8 个核苷酸) 在 miRNA 对靶基因的识别和作用过程中起到关键作用^[7]。成熟 miRNA 的靶位点主要是 3' 端的非编码区 (3'-untranslated region UTR, 3'-UTR), 通过与靶 mRNA 部分碱基完全或不完全互补配对发挥调控作用。

3 miRNA 对靶基因的调控机制

miRNA 对靶基因的调控发生在转录后水平, 通过对靶基因转录体的切割或对其翻译抑制等两种机制来下调靶基因的表达。这两种机制的选择取决于它与靶基因转录体序列互补

* 基金项目: 河北省教育厅自然科学基金资助项目 (ZH200816)。 [△] 通讯作者, 电话: 0311-86268364; E-mail: zhaobaohua86178@sohu.com。

的程度。如果 miRNA 与靶基因转录体 mRNA 充分互补, miRNA 将通过切割方式来降解靶基因; 如果 miRNA 与靶基因转录体 mRNA 没有充分互补, 但有多个互补位点, 那么 miRNA 将对靶基因进行翻译抑制^[8]。

3.1 miRNA 切割靶基因的作用机制 对靶基因转录体的切割是大多数植物、病毒和部分动物的 miRNA 调控靶基因的主要方式。miRNA 可以指导对靶基因信使 RNA 的多次切割而自身保持完整。以拟南芥 miRNA-171 为代表, miRNA 作用时与靶基因完全互补结合, 作用方式和功能与小干扰 RNA (siRNA) 非常相似, 最后切割靶 mRNA。miRNA 对基因的调控是通过构成 RISC 来进行的, RISC 是其调控的物质基础, 其组成的核心成分是 miRNA 或 siRNA 以及各种蛋白, 其中 Ago 蛋白是该复合体中的核心蛋白, 具有 2 个保守的结构域: PAZ 结构域和 PIWI 结构域^[9]。PAZ 结构域能识别 miRNA 双链的 3' 端具有 2 个游离核苷酸的特征, PIWI 结构域属于 RNase H 家族的结构域, 具有核酸内切酶的活性, 因此 Ago 蛋白就是 RISC 中对靶基因转录体进行剪切的物质^[10]。在 RISC 中, miRNA 的作用就是指导 RISC 与靶基因的转录体作用。研究发现 miRNA 双链中, 在 5' 端与互补链结合的稳定性较差的一条链将进入 RISC, 行使干扰功能。miRNA 双链的这种不对称的选择性在设计人工 miRNA 时具有重要的意义, 根据这一原理使所需要的 RNA 单链进入 RISC, 从而避免 miRNA 的互补链对干扰效果的影响。另有发现, 在拟南芥中 miR-JAW 和其靶序列不完全配对, 但也能够通过降解 mRNA 来调控转录因子 TCP 家族的 5 个成员。即对靶基因的切割并非只有 miRNA 与靶基因完全互补时才能实现。

3.2 miRNA 抑制靶基因的作用机制 包括人类, 大多数动物的 miRNA 与 mRNA 3' 端非翻译区 (untranslated region, UTR) 是不完全互补配对的, 因而在转录后水平抑制靶基因的表达, 而并不诱导 mRNA 的降解。在这方面的研究对人类更有实际意义, 但其具体抑制机制还不清楚。最早认为, 当 miRNA 与其靶基因 mRNA 不完全配对时, miRNA 会影响蛋白质的产生, 但并不影响 mRNA 的稳定性。近年研究发现 miRNA 对靶基因转录体稳定性有一定影响。如将 miR-1 和 miR-124 分别转染入 HeLa 细胞 12 h 后, 通过芯片检测发现 2 种 miRNA 转染的细胞都有近 100 个靶基因的转录体数量发生下调^[11]。Farh 等^[12]利用鼠类的基因表达图谱来验证具有组织特异性 miRNA 的靶基因的表达情况, 发现那些具有组织特异性 miRNA 的靶基因转录体的表达量在相应组织中明显减少, 说明 miRNA 可以使靶基因转录体失去稳定性而发生降解。Wu 等^[13]研究证实, 转录体的不稳定降解是一种去腺苷化作用的结果, miRNA 可以去除转录体的 poly(A) 从而使转录体降解, 而且并不影响 miRNA 对靶基因未降解转录体翻译的抑制作用。因此, 现在认为 miRNA 可通过影响转录体的稳定性和抑制转录体的翻译两条途径实现对靶基因的抑制。

4 miRNA 在肿瘤发生、发展中的作用

过去肿瘤基因组研究多集中于蛋白编码基因, 近年来学者对非蛋白编码基因 miRNA 的研究显示了其与肿瘤的相关性, 即在正常细胞和癌细胞中 miRNA 的表达不同, 而且几乎所有的肿瘤都存在 miRNA 的表达异常。miRNA 与肿瘤的形成过程密切相关, 功能类似于癌基因或抑癌基因。而引起 miRNA 异常表达的机制包括编码 miRNA 的基因突变、缺失、转录后

调控失衡、启动子区 DNA 甲基化和组蛋白修饰、甲基化结合蛋白异常等^[14]。

4.1 miRNA 的癌基因功能 第 1 个被认定为哺乳动物癌基因的 miRNA 是 miR-17-92, 它定位于 C13orf25 基因的 3 号内含子中, 在 B 细胞淋巴瘤和肺癌中过表达。Hayashita 等发现导入外源 miR-17-92 表达框可显著促进肺癌细胞的生长。在前 B 细胞急性淋巴细胞白血病 (precursor-B-cell acute lymphoblastic leukaemia) 患者体内发现其免疫球蛋白重链中插入了前体 miR-125b-1, 支持了其作为癌基因的观点。miR-372 和 miR-373 可能是睾丸生殖细胞癌的癌基因, 现已证明 miR-372 和 miR-373 通过麻痹 p53 介导的 CDK 抑制途径或者直接抑制抑癌基因 LATS2 的表达, 促进增殖, 从而促使睾丸胚胎细胞肿瘤的形成^[15]。另一个典型的癌基因是 miR-21。Ciafre 等^[16]鉴定了一组 miRNA, 它们在高度恶性的原发性脑组织肿瘤的表达谱中发生了改变, 其中 miR-21 在恶性胶质瘤中的表达水平比正常组织高 5~100 倍。进一步研究发现, 在恶性胶质瘤中 miR-21 上调可以触发 caspases 的激活, 通过抑制凋亡而不影响细胞增殖来控制细胞生长, 提示 miR-21 有致癌作用。Ferracin 等比较了乳腺癌及正常乳房组织 miR-21 的表达, 通过微点阵和 Northern 印迹验证了 miR-21 在乳腺癌组织中的表达上调, 也表明了 miR-21 的癌基因功能。

另外, 对病毒 miRNA 的研究也支持了一些 miRNA 的功能类似于癌基因的观点。目前所鉴定的病毒 miRNA 绝大多数属致肿瘤病毒。病毒 miRNA 分子的序列是针对宿主细胞中肿瘤抑制基因的, 如 EB 病毒 miR-BHRF1-1 具有与肿瘤抑制基因 p53 结合的潜在位点。mRNA 3' 端非编码区与细胞凋亡调节因子 bcl-2 有结合位点, 从而参与调控宿主细胞凋亡和细胞增殖, 这可能会导致宿主抑癌基因功能的丧失和免疫监视功能的失常, 最终引起肿瘤的发生^[17]。以上研究均提示了肿瘤和 miRNA 之间存在着某种关系, 但它们是直接发挥功效还是仅仅在肿瘤中调节分化, 尚需要进一步的研究证实。

4.2 miRNA 的抑癌基因功能 Climmino 等^[18]研究发现 bcl-2 在包括白血病和淋巴瘤等人类多种癌症中过度表达, 而 miR-15a 和 miR-16-1 对其负调控。因而可以认为 miR-15a 和 miR-16-1 的缺失或下调从而导致了 bcl-2 表达增加。之后在 2 例慢性 B 淋巴细胞性白血病 (B-CLL) 患者体内发现 miR-16-1 前体的下游 7 个碱基对中有 1 个 C 突变为 T, 这种突变导致 miR-16-1 表达水平的下调, 进一步证明了其肿瘤抑制基因的作用。尽管 miR-15a 和 miR-16-1 的生物学功能尚未完全清楚, 但有研究显示 miR-16-1 表达优先在各种白血病中下调, 这说明 miR-16-1 主要在免疫系统和 B 细胞分化中发挥作用。亦有研究表明, 超过 65% B-CLL 患者在 13q14 的小于 30 kb 的共同区域存在 miR15a 和 miR-16-1 基因的杂合或纯合型缺失, 在近 50% 的套细胞淋巴瘤、16%~40% 的多发性骨髓瘤、约 60% 的前列腺癌中也检测到此区域的缺失, miR-15a 和 miR-16-1 可能是通过与 bcl-2 的 3' UTR 的结构作用抑制其靶基因抗凋亡的作用而达到启动细胞凋亡, 从而发挥其肿瘤抑制作用^[19]。

在结肠直肠肿瘤中, 成熟 miR-143 和 miR-145 水平显著下降, 说明 miR-143 和 miR-145 低表达与大肠癌的发生有密切关系^[20]。并且这两种基因在乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌和淋巴瘤细胞中, 其表达也是下调的。最近, 对 20 例肝癌的 miRNAs 表达情况的研究发现, 有 146 个 miRNA 存在着明显差异 (fold

change>4.0),其中 80 个低表达,部分 miRNAs 与肿瘤关系密切^[21]。另外,let-7 也被认为是一种抑癌基因。当 let-7 低表达的 DLD-1 人类结肠癌细胞被 let-7a-1 前体转染后,呈现出明显的生长抑制。同样,在肺癌中也发现有 let-7 低表达。其可能的机制是通过 RAS 的负调控形成的。RAS 是一种关键的癌基因,它与 let-7 有多个连接位点。在肺癌中 RAS 基因明显过表达,而 let-7 被抑制,提示 let-7 可能是癌细胞的潜在生长抑制因子。

来自 Cold Spring Harbor 实验室(CSHL)的科学家确认了有些 miRNA 能够控制 p53 的关键肿瘤抑制网络,从而有效对抗癌细胞的生长。p53 可以阻碍并清除肿瘤细胞的生长,因此只要对之前被破坏的 p53 过程进行重新激活,就可以实现癌细胞生长的停止。已有研究证明,在卵巢肿瘤患者的 miR-34b 和 miR-34c 基因上游有进化上保守的 p53 结合位点,当 DNA 损伤或其他刺激激活 p53 后,p53 可使 miR-34b 和 miR-34c 表达明显增加,而 miR-34b 和 miR-34c 具有抑制卵巢肿瘤细胞增殖的作用,从而有效拮抗肿瘤的发生^[22]。有关 p53 肿瘤抑制网络的新发现将有利于科学家们利用 p53 途径抑制肿瘤细胞生长,促进癌细胞死亡。

研究发现有些 miRNA 在一些组织中表达上调而在另一些组织中表达下调,这说明 miRNA 的表达程度可能是由细胞类型决定的,并与靶 mRNA 的表达有关。如果一些 miRNA 的靶基因是抑癌基因,那么当这些 miRNA 上调时,会使靶基因表达减少,此时有可能发生癌症。如果它们的靶基因是癌基因,当 miRNA 的表达下调或缺失时,也可导致癌症发生。

因此,从某种角度来看,有些 miRNA 可以被认为是癌基因,而另外一些则可被认为是抑癌基因。在特定的条件下,这两类 miRNA 的消长影响了肿瘤的发生、发展和转归。最近有研究表明,miRNA 的表达可被 miRNA 基因甲基化所调控,进而影响了复杂的调控网络^[23]。因此,miRNA 实际上是在生物系统的分子网络中同其他生物分子一起参与了肿瘤的发生和发展。

5 展 望

尽管已有数百个 miRNA 通过生化或者是生物信息学的方法被鉴别出来,然而这只不过是 miRNA 家族中的沧海一粟。目前,针对 miRNA 在肿瘤研究领域内的工作主要集中在其表达水平改变是否可诱发肿瘤的发生、发展,而对 miRNA 相关表达调控机制的研究尚处于初级阶段。正因为如此,人们对于其在临床诊断、治疗和预后的研究都只是理论上的,还不能广泛地应用于临床。因此目前主要的工作还是不断寻找肿瘤特异的 miRNA 表达谱并揭示其作用机制,为未来针对 miRNA 的基因治疗研究奠定基础。随着基因芯片技术、RNA 组学(RNomic)和生物信息学的不断发展,可以预见,发现肿瘤中表达特异的 miRNA 以及分析它们对肿瘤的发生、发展的研究将带来对肿瘤诊断和治疗方法的飞跃发展,从而最终实现人类有效控制和治疗癌症的愿望。

参考文献:

- [1] 石夏荣,俞吉安. MicroRNA 特征与功能[J]. 上海交通大学学报,2004,38(5):829.
- [2] Sempere LF, Cole CN, McPeck MA, et al. The phylogenetic distribution of metazoan microRNAs: insights into evolutionary complexity and constraint[J]. Exp Zool B Mol Dev Evol,2006,306(6):575.
- [3] Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing[J]. Cell,2007,129(7):1401.
- [4] Girard M, Jacquemin E, Munnich A, et al. miR2122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver[J]. J Hepatol,2008,48(4):648.
- [5] Wienholds E, Plasterk RH. MicroRNA function in animal development[J]. FEBS Letters,2005,579(26):911.
- [6] Scholzová E, Malik R, Sevcik J, et al. RNA regulation and cancer development[J]. Cancer Lett,2007,246(1-2):12.
- [7] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell,2005,120(1):15.
- [8] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell,2004,116(2):281.
- [9] 高宁. 微小 RNA 调控靶基因作用机制的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志,2008,35(1):35.
- [10] Song JJ, Smith SK, Hannon GJ, et al. Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity[J]. Science,2004,305(5689):1435.
- [11] Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs down regulate large numbers of target mRNAs[J]. Nature,2005,4339(7072):769.
- [12] Farh KK, Grimson A, Jan C, et al. The widespread impact of mammalian microRNAs on mRNA repression and evolution[J]. Science,2005,310(5755):1817.
- [13] Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2006,103(11):4034.
- [14] Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2008,105(36):13556.
- [15] Voorhoeve PM, Sage C, Schrier M, et al. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA373 as oncogenes in testicular germ cell tumors[J]. Cell,2006,124(6):1169.
- [16] Ciafre SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2005,334(4):1351.
- [17] Pfeffer S, Sewer A, Lagos-Quintana M, et al. Identification of microRNAs of the herpesvirus family[J]. Nat Methods,2005,2(4):269.
- [18] Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting bcl-2[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(39):13944.
- [19] 包阿东,刘长青,吴宏梅,等. 微小 RNA 功能与癌症形成的关联分析[J]. 中国畜牧兽医,2008,35(2):49.
- [20] Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T, et al. Let-7 functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells

- [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(5): 903.
- [21] 李琼, 王阁, 王红中, 等. MicroRNA 在 Hep G2 肝癌细胞表达差异谱的研究[J]. 重庆医学, 2007, 36(20): 2024.
- [22] Corney DC, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, et al. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion - independent growth[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8433.
- [23] Guil S, Esteller M. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: tying it all together[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(1): 87.

(收稿日期: 2009-06-03 修回日期: 2009-09-17)

· 综 述 ·

硬化肝脏再生研究进展^{*}

农卡特 综述, 袁晟光 审校

(桂林医学院附属医院肝胆胰外科, 广西 541001)

关键词: 肝硬化; 肝再生

中图分类号: R575.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)05-0606-03

正常肝脏在受损伤或部分切除后具有很强的再生能力, 但临床上肝病患者常常合并有肝硬化, 大量研究表明硬化肝脏再生过程的启动、进展及终止均较正常肝脏有明显的不同, 研究硬化肝脏行部分切除术后再生机制, 促进术后余肝再生及其功能恢复具有重要的临床意义。

1 硬化肝脏再生的特点

大量研究表明, 硬化肝脏部分切除后余肝再生过程的启动、进展及停止均较正常有明显的不同。其特点有: (1) 再生过程慢, 所需时间长, 正常大鼠肝脏 70% 部分切除后, 再生反应迅速启动, 原肝重量恢复仅需 7~10 d; 而肝硬化大鼠肝脏 70% 部分切除后, 则需约 30 d 才能恢复原肝重量; (2) 余肝再生不仅慢, 而且大多数再生肝细胞不能发育成熟, 缺乏正常功能, 甚至部分发生变性、坏死; (3) 硬化余肝再生缓慢是再生相关分子调控机制异常为基础的, 包括细胞因子、转录因子、生长因子及其受体、细胞周期调节相关蛋白以及细胞凋亡相关基因的表达^[1]。

2 硬化肝脏再生的异常

2.1 硬化肝脏再生启动阶段细胞因子及转录因子的异常 目前认为肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 共同启动肝再生^[2]。正常肝脏大部分切除后数小时内的肝再生启动阶段, 肝脏内 mRNA 水平以及血清水平的 TNF- α 、IL-6 迅速升高^[3], 激活包括核因子- κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B)、信号转导及转录激活因子-3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 等转录因子, 肝脏细胞从静止的 G₀ 期进入 G₁ 期, 继而在生长因子如肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α) 等作用下不可逆地进入细胞周期。

肝脏中 TNF- α 主要由 Kupffer 细胞分泌。部分肝切除后, TNF- α 通过与 Kupffer 细胞表面特异的受体 TNF- α I 型受体 (TNFR-I) 结合, 激活有多种转录活性的转录因子 NF- κ B。它可直接上调 IL-6 基因表达, 刺激 IL-6 合成及释放。肝脏 70% 部分切除后, 正常大鼠余肝内 TNF- α mRNA 水平迅速增加, 并于部分肝切除后 6 h 达高峰, 然后缓慢下降, 于术后 3 d 降至术前水平; 而硬化肝脏余肝内 TNF- α mRNA 水平在术后 6~

12 h 都保持相当低的水平, 之后才缓慢上升, 直到术后 24 h 才达高峰, 峰值明显低于正常且下降迅速。

肝脏 IL-6 来源于肝内非实质细胞, 以 Kupffer 细胞为主, 受 TNF- α 调节, 在肝脏再生过程中起着抗凋亡及促进再生的作用。它通过结合 gp130 受体, 激活 STAT3, 调控肝再生反应过程中某些早期即刻基因的表达。肝脏 70% 部分切除后, IL-6 基因表达迅速上调, 正常大鼠余肝内 IL-6 mRNA 于术后 12 h 达高峰, 然后也缓慢下降, 于术后 3 d 降至术前水平; 而硬化肝脏余肝内 IL-6 mRNA 在术后 6~12 h 也都保持相当低的水平, 之后才缓慢上升, 直到术后 72 h 才达高峰, 峰值远远低于正常, 且回降缓慢; 而持续长期且低水平的 IL-6 对肝再生有抑制作用^[4-5]。硬化肝脏部分切除后余肝再生启动阶段, 短期给予外源性 IL-6 可促进硬化余肝再生^[5]。

心肌营养素-1 (cardiotrophin-1, CT-1) 是 IL-6 家族成员之一, 它也能通过结合 gp130 受体而激活 STAT3, 在肝脏中起 IL-6 相似的作用^[6]。最近的研究表明, CT-1 能促进细胞分裂及血管生成, 对硬化肝脏切除后的余肝再生有明显的促进作用^[7]。

STAT3 是信号转导和转录活化因子家族成员之一, 在肝脏部分切除后也被激活。其主要由 IL-6 激活, 使其二聚化后进入核内启动多种基因转录, 引发多种效应, 包括细胞增殖反应、急性炎症反应及抗细胞凋亡等^[8]。肝脏 70% 部分切除后, 正常大鼠肝脏内的 STAT3 在 30 min 内被激活, 术后 3 h 达高峰, 作用持续 46 h; 临床实验证明, 酒精性及 HCV 性肝硬化肝组织中 STAT3 蛋白量及活性均低于健康肝脏^[9]; STAT3 蛋白与 DNA 结合的能力下降可能与其抑制物 Pias3 蛋白 (protein inhibitor of activated STAT3) 有关。研究表明, 酒精性及 HCV 性肝硬化肝组织 Pias3 蛋白表达上调^[10]。

TNF- α 、IL-6、STAT3 等的表达及功能的异常, 导致硬化肝脏切除后余肝再生启动缓慢, 直接影响到后期再生肝细胞对生长因子的反应。

2.2 硬化肝脏再生的过程中相关生长因子及其受体的异常 HGF 是最早被认为在肝脏再生过程中起重要作用的生长因子之一。在肝内主要间质细胞合成分泌。肝脏部分切除后 1 h 内血液及肝组织中 HGF 水平迅速上升, 血清浓度可达正常的

* 基金项目: 广西科学研究与技术开发计划应用基础研究专项资助项目 (桂科基 0575108)。