

[文章编号] 1000-4718(2015)02-313-06

# 药物性肝损伤与免疫性肝损伤肝组织中 lncRNA 表达谱的差异分析<sup>\*</sup>

周 军, 朱 灵, 曹海军, 李善高<sup>△</sup>, 吕 宾  
(浙江中医药大学附属第一医院消化内科, 浙江 杭州 310006)

[摘要] 目的: 研究长链非编码 RNA (lncRNA) 在药物性肝损伤及免疫性肝损伤中表达谱的变化, 并分析二者的差异。方法: 利用 lncRNA 芯片技术分别检测对乙酰氨基酚诱导的小鼠药物性肝损伤及刀豆蛋白 A 诱导的小鼠免疫性肝损伤肝组织的 lncRNA 表达谱, 通过对原始数据进行预处理达到均一化后, 筛选出差异表达 lncRNA 并进行分析。结果: 与正常肝脏组织比较, 变化 1.5 倍以上并且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) 的 lncRNA 被认为是差异表达的 lncRNA; 药物性肝损伤肝组织中变化 1.5 倍以上的共 68 条, 其中升高 1.5 倍以上的共 21 条, 降低 1.5 倍以上的共 47 条; 免疫性肝损伤肝组织中变化 1.5 倍以上的共 60 条, 其中升高 1.5 倍以上的共 17 条, 降低 1.5 倍以上的共 43 条。所有的 lncRNA 中有 8 条 lncRNA 同时在 2 种肝损伤肝组织中上调, 在药物性肝损伤肝组织上调的 lncRNA 中占 38%, 在免疫性肝损伤肝组织中占 47%; 有 28 条 lncRNA 同时在 2 种肝损伤肝组织中下调, 在药物性肝损伤肝组织下调的 lncRNA 中占 59%, 在免疫性肝损伤肝组织中占 65%。结论: 与正常肝脏组织比较, 药物性肝损伤肝组织和免疫性肝损伤肝组织中 lncRNA 表达谱均发生明显变化, 且 2 种不同肝损伤肝组织比较, lncRNA 表达谱也存在差异, 提示 2 种肝损伤肝组织中这些同时上、下调的 lncRNA 可能参与了 2 种肝损伤之间相似或是相同的病理生理过程, 而那些表达不同的 lncRNA 可能参与相对特异的肝损伤机制的发生。

[关键词] lncRNA; lncRNA 芯片; 药物性肝损伤; 免疫性肝损伤

[中图分类号] R393

[文献标志码] A

doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.02.022

## Differential expression profile of long non-coding RNA in hepatic tissue between drug-induced liver injury and immune liver injury

ZHOU Jun, ZHU Ling, CAO Hai-jun, LI Shan-gao, LÜ Bin

(Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China. E-mail: galisga@aliyun.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To analyze the expression profile of long non-coding RNA (lncRNA) in the liver tissues of drug-induced liver injury (DILI) and immune liver injury (ILI). **METHODS:** The technique of lncRNA microarray was used to inspect the lncRNA expression profile in the mouse liver tissues that the liver injury was induced by acetaminophen or concanavalin A. The raw data of lncRNA were pretreated for normalization. **RESULTS:** Compared with normal hepatic tissue, the lncRNA which had more than 1.5-fold variation and significant difference ( $P < 0.05$ ) by statistical analysis were regarded as lncRNA with differential expression. A total of 68 lncRNA with differential expression were found in the hepatic tissues of DILI, with 21 increased more than 1.5 folds and 47 reduced more than 1.5 folds. A total of 60 lncRNA with differential expression in the liver tissues of ILI were observed, with 17 increased more than 1.5 folds and 43 reduced more than 1.5 folds. In all lncRNA, 8 was simultaneously up-regulated in 2 liver injury models, accounting for 38% and 47% respectively, while 28 was simultaneously down-regulated in 2 liver injury models, accounting for 59% and 65% respectively. **CONCLUSION:** lncRNA expression profiles of DILI and ILI change significantly in comparison with normal hepatic tissue, and there are also differences between 2 hepatic damage models. The simultaneous changes of lncRNA may participate in the same or similar pathophysiological process, while the differences may be involved in relatively particular mechanisms.

[KEY WORDS] lncRNA; lncRNA microarray; Drug-induced liver injury; Immune liver injury

[收稿日期] 2014-08-20

[修回日期] 2014-11-14

\* [基金项目] 浙江省自然科学基金资助项目 (No. LY14H030007)

<sup>△</sup>通讯作者 Tel: 0571-86919331; E-mail: galisga@aliyun.com

药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI) 和免疫性肝损伤 (immune liver injury, ILI) 是临床上 2 种常见的肝损伤类型, 是肝纤维化、肝硬化乃至肝脏肿瘤等终末期肝病发生及发展的重要病因, 二者发病机制仍不十分清楚。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 作为一种长度超过 200 nt (核苷酸单位) 的非编码 RNA, 曾被认为是转录过程的副产物, 不具有生物学功能<sup>[1]</sup>, 但进一步的研究发现, 它们能够在多种水平调控基因的表达, 广泛参与机体几乎所有的生理和病理过程<sup>[2]</sup>。本研究试图采用对乙酰氨基酚及刀豆蛋白 A 分别复制的 DILI 及 ILI 动物模型, 运用 lncRNA 芯片技术检测 2 种肝损伤肝组织中 lncRNA 表达谱的变化并比较二者的差异, 旨在为进一步研究 lncRNA 是否参与 2 种肝损伤发生机制的研究提供实验依据。

## 材 料 和 方 法

### 1 动物和试剂

健康 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠, 体质量约 (20 ± 2) g, 由中国科学院上海实验动物中心提供, 饲养于浙江中医药大学实验动物中心, 普通饲料喂养, 自由饮水进食。

对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 由日本梯希爱公司提供, 临用前用无菌生理盐水配制成浓度为 12.5 g/L 溶液; 刀豆蛋白 A (concanavalin A, ConA) 由 Sigma 提供, 临用前用无菌生理盐水配成浓度为 1 g/L 溶液; AST 和 ALT 采用全自动生化分析仪进行检测。选用 Mouse lncRNA 表达阵列, 芯片的选择、探针设计、图像采集和数据分析等由上海欣基生物科技有限公司完成。

### 2 方法

**2.1 模型制备** 雄性 BALB/c 小鼠 40 只, 体质量 (20 ± 2) g 同步饲养, 适应 1 周后, 随机分为药物组 (DILI 组) 及对照组 A (control A)、免疫组 (ILI 组) 及对照组 B (control B), 每组 10 只。DILI 组按对乙酰氨基酚溶液 0.04 mL/g 一次性腹腔注射给药, control A 一次性腹腔注射相当量的无菌生理盐水。ILI 组按刀豆蛋白 A 溶液 0.02 mL/g 一次性尾静脉注射给药, control B 一次性尾静脉注射相当量的无菌生理盐水。

**2.2 样本采集** 于 DILI 组及 control A 给药 24 h 后、ILI 组及 control B 给药 12 h 后分别行小鼠眼球取血, 分离血清用于 AST 和 ALT 检测; 处死后取新鲜肝组织于 -80 °C 保存用于 lncRNA 检测, 另取肝组

织浸泡于 10% 甲醛中, 用于组织病理学检查。

**2.3 血清 ALT 和 AST 活性的检测** 采用全自动生化分析仪测定各组动物血清 ALT 和 AST 水平。

**2.4 肝脏组织的病理学检查** 取浸泡于 10% 甲醛中肝脏组织, 常规石蜡包埋、切片、HE 染色, 光镜下观察肝脏病理组织学变化。

**2.5 芯片选择和探针设计** 利用 Affymetrix 公司的 GeneChip Mouse Gene 2.0 Array, 覆盖目前 RefSeq、Ensemble、FANTOM3 和 lncRNAdb 等多个数据库的 lncRNA。Affymetrix lncRNA 芯片设计探针采用 25 mer 的寡核苷酸。用于芯片杂交中质量评估的外标基因包括 *BioB*、*BioC*、*BioD* 和 *Cre*, 由 Affymetrix 提供, 作为杂交过程的对照。

**2.6 样本总 RNA 的提取与检测** 按照 Trizol 说明书, 分别提取对照组肝组织和 2 种肝损伤肝组织的总 RNA。紫外分光光度计测定吸光度值  $A_{260}$  和  $A_{280}$ , 对总 RNA 进行定量; 并计算  $A_{260}/A_{280}$  值, 结合甲醛变性凝胶电泳, 分析 RNA 质量。

**2.7 芯片实验** 利用 Invitrogen 提供的 ds-cDNA 合成试剂盒, 完成 cDNA 的合成, 利用 GeneChip WT Terminal Labeling and Controls Kit 试剂盒进行完成 cDNA 样品标记和杂交。利用 GeneChip Scanner 3000 7G 扫描仪扫描芯片的荧光强度, 然后将扫描图像输入 Affymetrix GeneChip Operating Software 以进行网格对齐与表达数据分析, 采用 Affymetrix Expression Console 进行数据解析。

**2.8 Real-time PCR 验证** 挑选变化倍数最大的 lncRNA 进行 real-time PCR 验证, 分别以来自药物组、免疫组及相应对照组 cDNA 分子为模板, 采用 Bio-Rad 荧光定量 PCR 仪, SYBR Green 荧光染料 (TaRaKa) 掺入法相对定量。以 GAPDH 为内参照, 计算差异表达的倍数。

### 3 统计学处理

利用 SPSS 17.0 软件分析处理数据, 数据采用均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 血清 AST 与 ALT 的检测结果

小鼠注射对乙酰氨基酚 24 h 及注射刀豆蛋白 A 12 h 后, 肝脏均受到损伤, DILI 组及 ILI 组的血清 ALT 和 AST 活性较相对应空白组均明显增高, 且差异显著 ( $P < 0.01$ ); control A、B 组之间比较 ALT 和 AST 活性无明显差异, 见表 1。

表 1 DILI 和 ILI 小鼠血清 ALT 和 AST 活性的变化

Table 1. Changes of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activity in DILI mice and ILI mice (U/L. Mean  $\pm$ SD.  $n=10$ )

Group	ALT	AST
Control A	36.10 $\pm$ 7.23	120.80 $\pm$ 18.26
DILI	1 477.60 $\pm$ 202.18 **	651.10 $\pm$ 143.14 **
Control B	35.84 $\pm$ 6.98	125.32 $\pm$ 14.38
ILI	1 302.90 $\pm$ 143.24 #	576.40 $\pm$ 140.81 #

\*\* $P<0.01$  vs control A; # $P<0.01$  vs control B.

## 2 组织病理学的改变

肉眼可见 DILI 组及 ILI 组肝脏充血、淤血明显。镜下观: DILI 组肝细胞肿胀、坏死,以实质细胞点状及局灶性坏死明显,肝细胞核崩解,染色质凝集,肝小叶结构不清,有广泛炎症细胞浸润,肝血窦消失,肝窦状隙和中央静脉淤血、出血;ILI 组肝细胞肿胀、细胞浆疏松化,有的呈气球样变,可见点状坏死和灶性坏死,并伴大量炎性细胞浸润,以汇管区为明显,肝窦内可见红细胞瘀积。所对应的 control A 组及 control B 组小鼠肝脏均未见以上改变。

## 3 总 RNA 样本质量分析

每份样品总 RNA 的  $A_{260}/A_{280}$  均在 1.8 ~2.0 之间,总量都在 30  $\mu$ g 到 80  $\mu$ g 之间。总 RNA 经琼脂糖凝胶电泳,可见到 18S 和 28S 两条亮而浓的条带,并且 28S 的密度大约是 18S 的 2 倍。下方有可能观察到一个更小稍微扩散的带,它由低分子量的 RNA (tRNA 和 5S 核糖体 RNA 等)组成,在 28S 和 18S 核糖体带之间一般可以看到一片弥散的 EB 染色物质,可能是由 mRNA 和其它异型 RNA 组成。结果证实获得较高纯度的总 RNA。

## 4 芯片杂交质量的评估

对杂交后小鼠基因芯片的扫描分析显示,芯片的四角点阵和芯片的阵列名标志清晰,芯片中间的“+”符号也清晰可见;从芯片杂交分析的质控数据可见,各组芯片的信号值高于背景值,表示信号值与背景值正常;外加的阳性对照 *BioB*、*BioC*、*BioD* 和 *Cre* 均能检测到,且信号值 (3' /5') 均小于 3。以上说明各组芯片杂交和检测的质量较高,结果可靠。

## 5 芯片杂交结果

对照组小鼠肝组织及肝损伤肝组织芯片杂交后的微点阵图片表明: DILI 组与对照组比较,变化 1.5 倍以上并且差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ) 的 lncRNA 共 68 条,其中升高 1.5 倍以上的共 21 条,降低 1.5 倍以上的共 47 条 (表 2); ILI 组与对照组比较,变化 1.5 倍以上并且差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ) 的 lncRNA 共 60 条,其中升高 1.5 倍以上的共 17 条,降

低 1.5 倍以上的共 43 条 (表 3)。有 8 条 lncRNA 同时在 2 种肝损伤肝组织中上调,在 DILI 肝组织上调的 lncRNA 中占 38%,在 ILI 肝组织中占 47% (表 4); 有 28 条 lncRNA 同时在 2 种肝损伤肝组织中下调,在 DILI 肝组织下调的 lncRNA 中占 59%,在 ILI 肝组织中占 65% (表 5)。2 对照组之间并未发现有变化 1.5 倍以上并且差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ) 的 lncRNA。

表 2 DILI 肝组织中差异表达的 lncRNA

Table 2. The differentially expressed lncRNA (fold change &gt; 1.5) in DILI group

lncRNA	Fold change	Regulation	Chromosome
A130040M12Rik	12.9456455	up	chr11
LOC100861856	4.7942794	up	chr12
Gm19933	2.8400553	up	chr7
1300002E11Rik	2.6689791	up	chr16
LOC100862007	2.5008994	up	chr3
E330011O21Rik	2.2718381	up	chr16
Gm19270	2.1487759	up	chr17
4930515G01Rik	1.8495355	up	chr5
Gm19899	1.7815303	up	chrX
9330133O14Rik	1.7647478	up	chr8
Snhg1	1.7356030	up	chr19
3110070M22Rik	1.7333993	up	chr13
5033406O09Rik	1.6993052	up	chr12
LOC100861804	1.6835960	up	chr10
D930048N14Rik	1.6765587	up	chr11
3300005D01Rik	1.6705209	up	chr17
Gm20024	1.5926100	up	chr15
2610019E17Rik	1.5895022	up	chr17
Gm14379	1.5253074	up	chrX
Raver1-fdx11	1.5214406	up	chr9
4930529L06Rik	1.5153983	up	chr16
C730036E19Rik	7.3272000	down	chr1
Gm19894	5.3630437	down	chr10
1300015D01Rik	4.7058913	down	chr2
9530091C08Rik	3.5841152	down	chr9
2310001H17Rik	3.3024461	down	chr6
LOC100861972	2.7534626	down	chr6
C730027H18Rik	2.7168351	down	chr10
1810008I18Rik	2.7160424	down	chr7
AW011738	2.3551109	down	chr4
0610043K17Rik	2.3416963	down	chr4
AU020206	2.3094111	down	chr7
D130020L05Rik	2.2897245	down	chr12
LOC100503186	2.2886804	down	chr5
B930025P03Rik	2.1941011	down	chr8
0610031O16Rik	1.9058162	down	chr3
Chr17: 35266768-35267368	1.8518484	down	chr17

Table 2. (continued)

lncRNA	Fold change	Regulation	Chromosome
Rian	1.7698769	down	chr12
2900005J15Rik	1.7409985	down	chr5
LOC100505156	1.7356945	down	chr4
2810013P06Rik	1.7098965	down	chr8
E230016M11Rik	1.7075833	down	chr6
LOC628147	1.7048644	down	chr2
Gm19522	1.6808395	down	chr16
Rpph1	1.6629330	down	chr14
4930573O16Rik	1.6619166	down	chr2
Gm19765	1.6485150	down	chr7
Gm19426	1.6434357	down	chr2
Terc	1.6432375	down	chr3
Gm19617	1.6327162	down	chr5
4930581F22Rik	1.6234433	down	chr9
1110050K14Rik	1.6226558	down	chr8
Gm20199	1.6210617	down	chr9
Gm7854	1.6184816	down	chr5
Gm15545	1.6078569	down	chr7
1700025N23Rik	1.5976064	down	chr6
6720401G13Rik	1.5910575	down	chrX
Kcnq1ot1	1.5897281	down	chr7
4831440E17Rik	1.5840128	down	chr5
Scarna6	1.5819489	down	chr1
4931406H21Rik	1.5806314	down	chr14
1700012D14Rik	1.5626471	down	chr7
B130024G19Rik	1.5621457	down	chr7
G630008E18	1.5467146	down	chr5
1700120K04Rik	1.5176183	down	chr7
Gm8883	1.5165152	down	chr1
Gm19263	1.5046438	down	chr19
Gm20264	1.5008866	down	chrX

表3 ILI肝组织中差异表达的 lncRNA

Table 3. The differentially expressed lncRNA (fold change &gt; 1.5) in ILI group

lncRNA	Fold change	Regulation	Chromosome
Al30040Ml2Rik	4.5666081	up	chr11
Gm19585	3.0886813	up	chr17
LOC100862007	2.8573564	up	chr3
Gm19705	2.0408639	up	chr1
Gm19933	1.9066129	up	chr7
Gm11827	1.8000675	up	chr4
Gm19528	1.7730141	up	chrX
Al662270	1.7106362	up	chr11
Gm20024	1.6798786	up	chr15
Gm19763	1.6342356	up	chrX
2810408B13Rik	1.6067595	up	chr13
4930529L06Rik	1.5677809	up	chr16

Table 3. (continued)

lncRNA	Fold change	Regulation	Chromosome
Gm3279	1.5657067	up	chr6
Gm19899	1.5576564	up	chrX
LOC100862033	1.5336306	up	chr2
Gm14379	1.5253074	up	chrX
1300002E11Rik	1.5022376	up	chr16
C730036E19Rik	6.4641649	down	chr1
Gm19894	5.5027317	down	chr10
2310001H17Rik	2.4439521	down	chr6
9530091C08Rik	2.3407194	down	chr9
LOC100503186	2.2215968	down	chr5
0610031O16Rik	2.1814479	down	chr3
Neat1	2.1696600	down	chr19
Gm20199	2.0464962	down	chr9
1110028F11Rik	1.9753866	down	chr11
E230016M11Rik	1.9218637	down	chr6
Kcnq1ot1	1.8478786	down	chr7
Gm19522	1.8275198	down	chr16
Gm20342	1.8271474	down	chr1
B130024G19Rik	1.8132841	down	chr7
Gm19664	1.8083614	down	chr15
Gm16157	1.7858377	down	chr7
LOC100861653	1.7771802	down	chr8
Rpph1	1.7757396	down	chr14
A530065N20	1.7731505	down	chr13
Gm19617	1.7413582	down	chr5
LOC100861972	1.7221657	down	chr6
Gm17066	1.7094557	down	chr14
LOC100505156	1.7054388	down	chr4
4930573O16Rik	1.6875895	down	chr2
1300015D01Rik	1.6874164	down	chr2
Malat1	1.6823525	down	chr19
Gm19765	1.6485150	down	chr7
Gm20264	1.6470656	down	chrX
9530051G07Rik	1.6396569	down	chrX
5730420D15Rik	1.6368578	down	chr10
1110050K14Rik	1.6226558	down	chr8
Gm15545	1.6167773	down	chr7
1700091H14Rik	1.6164513	down	chr14
AW011738	1.6012105	down	chr4
1700025N23Rik	1.5976064	down	chr6
LOC100862607	1.5833970	down	chr6
4931406H21Rik	1.5806314	down	chr14
0610043K17Rik	1.5786343	down	chr4
1700012D14Rik	1.5626471	down	chr7
B930025P03Rik	1.5454157	down	chr8
4930568G15Rik	1.5413762	down	chr1
6720401G13Rik	1.5391971	down	chrX
LOC100503496	1.5143535	down	chr11

表 4 药物性肝损伤肝组织及免疫性肝损伤肝组织中同时上调的 lncRNA

Table 4. The simultaneously up-regulated lncRNA in DILI and ILI groups

lncRNA	Fdd change	
	DILI	ILI
A130040M12Rik	12.9456455	4.5666081
Gm19933	2.8400553	1.9066129
1300002E11Rik	2.6689791	1.5022376
LOC100862007	2.5008994	2.8573564
Gm19899	1.7815303	1.5576564
Gm20024	1.5926099	1.6798786
Gm14379	1.5253074	1.5253074
4930529L06Rik	1.5153983	1.5677809

表 5 药物性肝损伤肝组织及免疫性肝损伤肝组织中同时下调的 lncRNA

Table 5. The simultaneously down-regulated lncRNA in DILI and ILI groups

lncRNA	Fdd change	
	DILI	ILI
C730036E19Rik	7.3272000	6.4641649
Gm19894	5.3630437	5.5027317
1300015D01Rik	4.7058913	1.6874164
9530091C08Rik	3.5841152	2.3407194
2310001H17Rik	3.3024461	2.4439521
LOC100861972	2.7534626	1.7221657
AW011738	2.3551109	1.6012105
0610043K17Rik	2.3416963	1.5786343
LOC100503186	2.2886804	2.2215968
B930025P03Rik	2.1941011	1.5454157
0610031O16Rik	1.9058162	2.1814479
LOC100505156	1.7356945	1.7054388
E230016M11Rik	1.7075833	1.9218637
Gm19522	1.6808395	1.8275198
Rpph1	1.6629330	1.7757396
4930573O16Rik	1.6619166	1.6875895
Gm19765	1.6485150	1.6485150
Gm19617	1.6327162	1.7413582
1110050K14Rik	1.6226558	1.6226558
Gm20199	1.6210617	2.0464962
Gm15545	1.6078569	1.6167773
1700025N23Rik	1.5976064	1.5976064
6720401G13Rik	1.5910575	1.5391971
Kcnq1ot1	1.5897281	1.8478786
4931406H21Rik	1.5840128	1.5806314
1700012D14Rik	1.5626471	1.5626471
B130024G19Rik	1.5621457	1.8132841
Gm20264	1.5008866	1.6470656

## 6 Real-time PCR 结果

采用 real-time PCR 进一步测定 2 种肝损伤小鼠肝组织中同时存在且显著差异的 4 种 lncRNA (A130040M12Rik、LOC100862007、C730036E19Rik 和 Gm19894) 的表达情况。与对照组的肝组织相比, A130040M12Rik 和 LOC100861856 表达上调, C730036E19Rik 和 Gm19894 表达下调, 见图 1, 与芯片检测结果一致。

## 讨 论

现已有的研究表明 lncRNA 广泛参与多种肝脏疾病的发生、发展及预后过程。如 HULC 在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 患者肝癌组织及血液标本中均高表达, 进一步研究发现 HULC 可以下调 miRNA-372, 并抑制其靶基因的表达<sup>[34]</sup>。HO-TAIR 可以促进 HCC 细胞生长及侵袭能力, 敲除 HO-TAIR 可促进 TNF- $\alpha$  介导的细胞凋亡及增加癌细胞对顺铂、多柔比星的化疗敏感性<sup>[5]</sup>。MEG3 可显著抑制 HCC 细胞生长并诱导细胞凋亡<sup>[6]</sup>。H19 可以抑制 HCC 的转移, 并且抑制上皮-间充质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 关键分子的表达<sup>[7]</sup>。lncRNA-LALR (an lncRNA associated with liver regeneration) 可以通过激活 Wnt/ $\beta$  信号通路来抑制 AXIN1, 从而促进细胞周期蛋白 D1 的表达, 通过促进细胞周期过程增强肝细胞的再生, 为肝衰竭及肝移植方面研究提供新的思路<sup>[8]</sup>。在有马洛里小体形成的酒精性肝病及非酒精性肝病的小鼠肝细胞中, 可发现 H19 表达上调, MEG3 表达下调, 喂养 S-腺苷甲硫胺酸能够阻止上述 lncRNA 的改变<sup>[9]</sup>。以上表明 lncRNA 在肝脏多种疾病的发生及发展中均发挥着重要的作用, 但目前这些我们已鉴定功能的 lncRNA 仅仅是依据生物信息学手段所推测数目的冰山一角<sup>[10]</sup>, 而在 DILI 和 ILI 发生过程中 lncRNA 表达谱是否发生变化, lncRNA 是否也发挥重要作用, 目前国内尚无任何文献报道。

DILI 和 ILI 在临床上十分常见, 且由于临床表现类似、自身抗体特异性差及用药和肝损伤之间的因果关系判断困难, 有时难以鉴别。2 种肝损伤发病机制均较复杂, 目前并未完全明确。现有研究表明两者之间也存在许多相同或相似的发病机制, 如药物或其代谢产物的致敏过程, 炎症因子如肿瘤坏死因子、白细胞介素参与的炎症反应, 细胞结构的破坏, 胞膜通透性的改变, 肝组织过氧化损伤, 肝细胞的凋亡或坏死等过程<sup>[11-13]</sup>。因此通过对 DILI 及 ILI 肝组织中 lncRNA 表达谱差异的分析可望有助于更进一步揭示 2 种肝损伤的发病机制以及为两者的鉴别提供可能的线索。

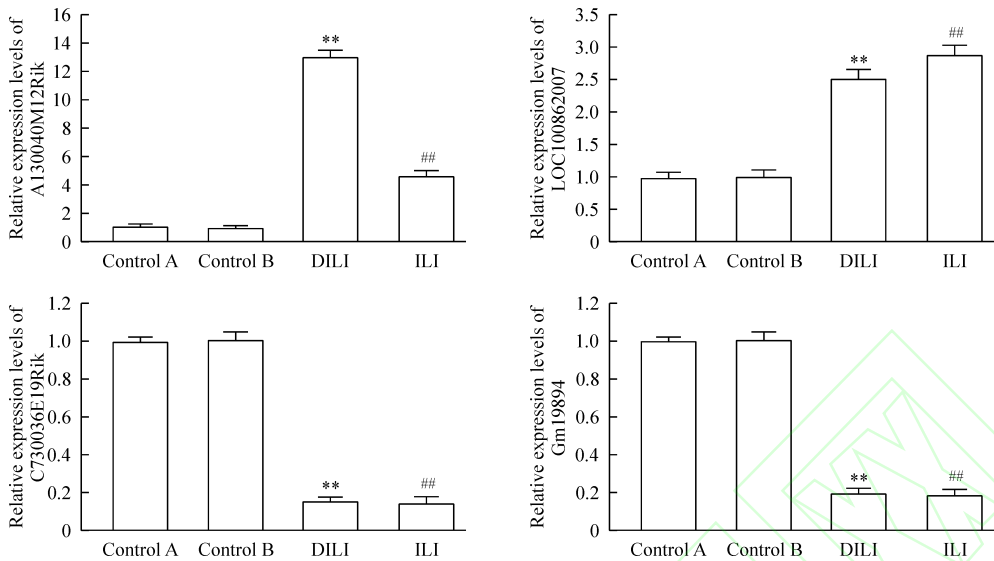


Figure 1. Differentially expressed lncRNA identified by real-time PCR. Mean  $\pm$ SD.  $n=3$ . \*\* $P<0.01$  vs control A; ### $P<0.01$  vs control B.

### 图1 Real-time PCR 检测肝组织差异表达的 lncRNA

本研究分别选用对乙酰氨基酚腹腔注射和刀豆蛋白 A 尾静脉注射成功复制了药物性肝损伤及免疫性肝损伤动物模型,通过 lncRNA 芯片技术对 2 种肝损伤动物模型的肝组织中 lncRNA 表达谱分析,研究表明在 2 种肝损伤中同时上调的 lncRNA 有 8 条,同时下调的有 28 条,这些共 lncRNA 可能同时参与以上 2 种肝损伤共同的病理生理过程,但也不排除在其它的肝损伤,如酒精性肝病、脂肪性肝病或肝硬化中存在类似的差异表达,若进一步实验能证实,则可推断这些 lncRNA 可能固定参与肝组织的损伤。除共同上、下调的 lncRNA 外,在 DILI 中尚有 13 条上调 lncRNA 和 19 条下调 lncRNA 相对于 ILI 较特异,而 ILI 中有 9 条上调的 lncRNA 和 15 条下调的 lncRNA 相对于 DILI 特异,进一步针对性研究这些相对差异的 lncRNA 与某一种肝损伤之间的关系可能为揭示该类 lncRNA 在相应肝损伤中的作用分子机制提供实验依据。

### [参 考 文 献]

[1] Kung JT, Cognigni D, Lee JT. Long noncoding RNAs: past, present, and future[J]. Genetics, 2013, 193(3): 651-669.

[2] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. Cell, 2009, 136(4): 629-641.

[3] Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA[J]. Gastroenterology, 2007, 132(1): 330-342.

[4] Wang J, Liu X, Wu H, et al. CREB up-regulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction

with microRNA-372 in liver cancer [J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(16): 5366-5383.

[5] Yang Z, Zhou L, Wu LM, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation [J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18(5): 1243-1250.

[6] Braconi C, Kogure T, Valeri N, et al. MicroRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer [J]. Oncogene, 2011, 30(47): 4750-4756.

[7] Zhang L, Yang F, Yuan JH, et al. Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma [J]. Carcinogenesis, 2013, 34(3): 577-586.

[8] Xu D, Yang F, Yuan JH, et al. Long noncoding RNAs associated with liver regeneration 1 accelerates hepatocyte proliferation during liver regeneration by activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J]. Hepatology, 2013, 58(2): 739-751.

[9] Oliva J, Bardag-Gorce F, French BA, et al. The regulation of non-coding RNA expression in the liver of mice fed DDC [J]. Exp Mol Pathol, 2009, 87(1): 12-19.

[10] 韩泽平, 何金花, 黎毓光. 长链非编码 RNA 与糖尿病关系的研究进展 [J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(4): 751-756.

[11] 刘平, 宋东眷. 药物性肝损伤的发病机理 [J]. 肝脏, 2001, 16(1): 40.

[12] 李子俊, 谢子钧. 药物性肝损伤的发病机制 [J]. 中华肝脏病杂志, 2012, 20(3): 163-166.

[13] Wang HX, Liu M, Weng SY, et al. Immune mechanisms of concanavalin A model of autoimmune hepatitis [J]. World J gastroenterol, 2012, 18(2): 119-125.