

- [7] Dvorak J, Mashiyama ST, Braschi S, et al. Differential use of protease families for invasion by schistosome cercariae[J]. Biochimie, 2008, 90(2): 345-358.
- [8] Zhou Y, Zheng HJ, Chen YY, et al. The Schistosoma japonicum genome reveals features of host-parasite interplay[J]. Nature, 2009, 460(7253): 345-351.
- [9] Steinfelder S, Andersen JF, Cannons JL, et al. The major component in schistosome eggs responsible for conditioning dendritic cells for Th2 polarization is a T2 ribonuclease(omega-1)[J]. J Exp Med, 2009, 206(8): 1681-1690.
- [10] Jannotti-Passos LK, Andrade HM, Caldeira RL, et al. Proteome analysis of the cardiac and pericardial tissue of Biomphalaria tenagophila populations susceptible and resistant to Schistosoma mansoni infection[J]. Acta Trop, 2008, 105(3): 229-234.
- [11] Ferret-Bernard S, Curwen RS, Mountford AP. Proteomic profiling reveals that Th2-inducing dendritic cells stimulated with helminth
- 综述 •
- [12] Abdel-Hafeez EH, Kikuchi M, Watanabe K, et al. Proteome approach for identification of schistosomiasis japonica vaccine candidate antigen[J]. Parasitol Int, 2009, 58(1): 36-44.
- [13] Zhong ZR, Zhou HB, Li XY, et al. Serological proteome-oriented screening and application of antigens for the diagnosis of Schistosomiasis japonica[J]. Acta Trop, 2010, 116(1): 1-8.
- [14] Mutapi F, Bourke C, Harcus Y, et al. Differential recognition patterns of Schistosoma haematobium adult worm antigens by the human antibodies IgA, IgE, IgG1 and IgG4[J]. Parasite Immunol, 2011, 33(3): 181-192.
- [15] Allison D. Targeted proteomics[J]. Nature Methods, 2010, 7(1): 34.

(收稿日期:2011-08-05)

## microRNA 与常见肝脏疾病的研究进展

张广杰 综述, 张莉萍<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

关键词: 肝硬化; 肝肿瘤; miRNA; 病毒性肝炎

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.032

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2011)20-2371-03

miRNA 是一类由内源基因编码的非编码 RNA 分子, 参与转录后基因表达调控; 肝脏是人体最重要的器官之一, 对维持机体的生物学功能至关重要, 而肝病是一类常见的危害性极大的疾病。因此, 研究 miRNA 与肝脏疾病的关系具有重要的意义。

### 1 miRNA 概述

miRNA 是含有茎环结构的 miRNA 前体经过 Dicer 酶加工之后形成的一类非编码单链小分子 RNA, 在动、植物和病毒中均有广泛表达。miRNA 绝大部分定位于基因间隔区, 其转录独立于其他基因, 并不翻译成蛋白质, 而是在体内代谢过程中起调控作用。miRNA 在表达上具有阶段性和组织特异性, 在各物种间的基因位置和序列上具有高度的进化保守性, 这些都与其功能密切相关。

miRNA 与靶基因的配对程度决定其作用方式, 当它与 mRNA 不完全互补配对时, 抑制翻译过程而不影响 mRNA 的稳定性; 当它与 mRNA 完全互补配对时, 切割或降解 mRNA, 导致相应蛋白质合成的缺失或减少, 引起疾病的发生。其次, miRNA 会指导其靶基因的 mRNA 快速脱腺苷化, 进而导致 mRNA 的快速衰减和表达水平的降低。同时, miRNA 还能作用于靶基因的 5'UTR, 促进靶基因的复制。

### 2 miRNA 与肝脏疾病

miRNA 在肝脏的分化及其形态和功能的维持中发挥重要作用, 也与肝脏疾病的发生、发展、治疗及预后密切相关。miRNA 的变化在肝炎病毒的复制、肝纤维化的进展甚至肝癌的发生和转移中有其特殊意义。

**2.1 miRNA 与病毒性肝炎** 在病毒与宿主的相互作用中, 宿主 miRNA 介导的病毒 RNA 沉默效应较为重要。病毒不仅可

对宿主的 miRNA 产生反应而发挥防御效应, 也可编码自身的 miRNA。

**2.1.1 miRNA 与 HBV 感染** HBV 感染机体后造成肝细胞损害、释放氨基转移酶, 临幊上常以检测血中氨基转移酶的水平来观测 HBV 感染者的肝脏功能。但与血中氨基转移酶的升高相比, miRNA 的变化发生得更早, 更具组织特异性和可靠性<sup>[1]</sup>。

miRNA 是 HBV 感染和乙肝进展的重要介质, 有可能成为乙肝治疗的目标分子。miRNA 有的直接作用于 HBV 基因: miR-7、miR-196b、miR-433、miR-511 作用于聚合酶或 S 基因, miR-205 作用于 X 基因, miR-345 作用于前 C 基因调节 HBV 的复制和表达<sup>[2]</sup>; miR-199a-3p 和 miR-210 可分别作用于 S 和前 S 基因抑制 HBV 复制, 减少 HBsAg 的表达而不影响细胞增殖<sup>[3]</sup>。有的则间接通过调节细胞增殖信号通路影响 HBV 的表达: miR-1 可通过调节多个宿主基因的表达间接促进 HBV 的复制和转录、抗原的表达及其产物的分泌<sup>[4]</sup>。郜玉峰等<sup>[5]</sup>发现其能抑制特异性表达于肝细胞膜表面, 可介导 HBV 进入肝细胞的转膜分子去唾液酸糖蛋白 1 表达靶向外源性 miRNA, 可抑制 HBsAg 和 HBeAg 的分泌, 降低 HBV-DNA 的含量, 从而使 HBV 的表达和复制水平降低。

**2.1.2 miRNA 与 HCV 感染** miR-122 是第一个被证明与 HCV 复制相关的 miRNA, 它与 HCV 的 5'UTR 结合可促进其复制, 与 3'UTR 结合则抑制其复制, 说明 miR-122 的调节功能和靶序列的位置有关。沉默 miR-122 可使 HCV 复制降低约 80%。另外, miR-122 还可通过在翻译起始阶段增强核糖体与病毒 RNA 的亲和力促进 HCV 翻译<sup>[6]</sup>。此后, 又陆续发现其他 miRNA 发挥类似于促炎因子和抗炎因子的功能, 在

HCV 感染后的免疫反应、抗原提呈、细胞周期及脂质代谢中发挥重要作用,从而调节 HCV 的潜伏、复制和传播。

目前,主要使用干扰素联合利巴韦林治疗丙肝,但存在只对部分患者有效、费用昂贵、不良反应多等问题。有研究表明,可通过调节 miRNA 的表达来发挥抗病毒作用。Murakami 等<sup>[7]</sup>发现 miR-199a 可独立于干扰素发挥抗 HCV 效应。而 Sarasin-Fillipowicz 等<sup>[8]</sup>发现 miR-122 低的丙肝患者对干扰素无应答,如果在治疗前提高 miR-122 的水平,可使患者的应答率提高。Pedersen 等<sup>[9]</sup>发现  $\beta$  干扰素可诱导有与 HCV RNA 基因组近乎完全互补序列的 miR-196 表达而发挥抗 HCV 作用。Scagnolari 等<sup>[10]</sup>发现 miR-1、miR-30、miR-128、miR-196、miR-296 的表达在正常人和慢性丙肝患者间有差别,且对干扰素治疗的反应有显著差异,提示 miRNA 可作为干扰素治疗丙肝有效性的预测指标。

miRNA 与靶目标不完全互补仍能抑制翻译,可有效避免因 HBV、HCV 变异带来治疗效果降低的缺点,用于抗肝炎病毒治疗更有优势。但由于 miRNA 本身在肝脏有特殊功能,改变其表达是否影响肝脏正常功能还不清楚。除此之外,miRNA 谱的改变可能引起肝细胞癌变。这些问题还有待进一步解决。

**2.2 miRNA 与肝纤维化** 肝纤维化是许多慢性肝脏疾病所致的肝内结缔组织异常增生、肝内弥漫性细胞外基质过度沉淀的病理过程。肝星状细胞(hepatocyte stellate cells, HSC)的活化是肝纤维化发生的主要驱动因素,并伴随 miRNA 的变化<sup>[11]</sup>。Murakami 等<sup>[12]</sup>发现 miR-199a、miR-199a\*、miR-200a 和 miR-200b 的表达水平与肝纤维化的进展有显著相关性,他们的过表达可使 HSC 中的纤维化相关基因的表达明显增加。miR-29 的表达随肝纤维化进展呈进行性下降,且与 HSC 的活化和细胞外基质基因的上调相关<sup>[13]</sup>。miR-150 和 miR-194 可分别作用于 *c-myb* 和 *rac1* 基因抑制 HSC 的活化和细胞外基质的表达<sup>[14]</sup>。miR-27a 和 miR-27b 可通过调节 HSC 中类视黄醇 X 受体发挥逆转 HSC 活化的作用<sup>[15]</sup>。而 miR-15b 和 miR-16 可直接诱导 HSCs 凋亡<sup>[16]</sup>。可见,适当调节 miRNA 的表达可阻断甚至逆转肝纤维化。

**2.3 miRNA 与肝癌** miRNA 参与癌细胞的增殖、侵袭、转移等生物学特性调控,发挥类似于癌基因和抑癌基因的作用。其功能的异常可能早于受其调控基因的改变,是肝癌发生的早期事件,这为肝癌的早期预警和基因治疗提供了新思路。

有致癌作用的 miRNA 在肝癌中的表达升高。原癌基因 MET 通过转录因子 AP-1 来源的肿瘤蛋白 c-Jun 上调 miR-222 的表达。miR-222 可通过抑制抑癌基因 *p27* 的翻译促进细胞生长<sup>[17]</sup>,或以抑癌基因 *PTEN* 和 *TIMP3* 为靶标,诱导肿瘤坏死因子相关凋亡、诱导配体抵抗并通过苏氨酸蛋白激酶途径促进癌细胞生长和转移。Yang 等<sup>[18]</sup>认为 miR-602 通过抑制抑癌基因 *RASSF1A* 在 HBV 相关性肝癌中发挥了类似原癌基因的作用。

有抑癌作用的 miRNA 在肝癌中的表达降低。miR-122 可通过影响抑癌基因 *p53* 蛋白的稳定性和转录活性,调节细胞周期蛋白 G 的表达,从而降低癌细胞的侵袭性<sup>[19]</sup>,其在肝癌细胞中的表达下调可促进癌细胞的分裂,使其具有更强的增殖、侵袭和转移能力<sup>[20]</sup>。Huang 等<sup>[21]</sup>发现,miR-152 在 HBV 相关性肝癌中的表达明显降低,从而增加 DNA 甲基转移酶 1 在 mRNA 和蛋白水平的表达,使总 DNA 甲基化增多,并增加抑癌基因 *GSTP1* 和 *CDH1* 的甲基化水平。提示 miR-152 在

HBV 相关性肝癌中可能发挥抗癌作用。

张明等<sup>[22]</sup>发现 7 种在肝癌中有显著变化的 miRNA,其中 miR-200a 的变化与血清甲胎蛋白(AFP)水平呈正相关,可能成为新的肝癌早期诊断指标。

### 3 小结与展望

miRNA 是人体内最大的一类基因表达的调控因子,它的发现为基因表达调控的机制提供了一个全新的模式和更为复杂的调控网络。随着对 miRNA 功能和作用机制研究的不断深入,研究者发现 miRNA 与其所调控的靶基因之间存在复杂的调控网络,一个 miRNA 分子可能调控多个基因的表达,一个基因也可能接受多个 miRNA 分子的调控,而 miRNA 自身的表达也受多种机制的调控。在细胞内,miRNA 既可通过调控相关基因的表达调控细胞内的信号传导,同时其自身的表达也受细胞内某些信号传导通路的调控,从而形成一个封闭的细胞内信号调控环路。

近年来的研究发现,miRNA 在肝脏生理和病理过程中扮演着重要角色,肩负着维持肝细胞形态、调节胆固醇和脂肪酸的生物合成、影响病毒复制等功能,同时还与肝癌的发生相关,血液循环中存在与机体疾病相关、并能耐受 RNA 酶而稳定存在的 miRNA,因此,通过检测循环 miRNA 来反映机体的状态是可行的。miRNA 介导的 RNAi 作为一种新型的基因治疗技术,具有良好的应用前景,但其要应用于临床,仍有许多问题待解决,如组织的靶向性和表达效率、药代动力学、有效靶序列的选择等。相信随着对循环 miRNA 的深入研究及检测方法的进步,将有助于阐明许多疾病的致病机制,还可为疾病的预防、早期发现、无创诊断以及治疗和预后提供新的分子靶标和视角,为维护机体健康提供一条新的途径。

### 参考文献

- [1] Zhang Y, Jia Y, Zheng R, et al. Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases [J]. Clin Chem, 2010, 56(12): 1830-1838.
- [2] Wu FL, Jin WB, Li JH, et al. Targets for human encoded microRNAs in HBV genes [J]. Virus Genes, 2011, 42(2): 157-161.
- [3] Zhang GL, Li YX, Zheng SQ, et al. Suppression of hepatitis B virus replication by microRNA-199a-3p and microRNA-210 [J]. Antiviral Res, 2010, 88(2): 169-175.
- [4] Zhang X, Zhang E, Ma Z, et al. Modulation of hepatitis B virus replication and hepatocyte differentiation by MicroRNA-1 [J]. Hepatology, 2011, 53(5): 1476-1485.
- [5] 郜玉峰,余莉,李家斌,等.靶向 ASGPR1 的外源性 microRNA 对 HBV 表达和复制的抑制作用 [J].世界华人消化杂志,2009,17(7):699-704.
- [6] Henk JI, Goergen D, Zheng J, et al. microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA [J]. EMBO J, 2008, 27(24): 3300-3310.
- [7] Murakami Y, Aly HH, Tajima A, et al. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a [J]. J Hepatol, 2009, 50(3): 453-460.
- [8] Sarasin-Fillipowicz M, Krol J, Markiewicz I, et al. Decreased levels of microRNA-122 in individuals with hepatitis C responding poorly to interferon therapy [J]. Nat Med, 2009, 15(1): 31-33.
- [9] Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, et al. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism [J]. Nature, 2007, 449(7164): 919-922.
- [10] Scagnolari C, Zingariello P, Vecchiet J, et al. Differential expres-

- sion of interferon-induced microRNAs in patients with chronic hepatitis C virus infection treated with pegylated interferon alpha [J]. Virol J, 2010, (7):311.
- [11] Guo CJ, Pan Q, Cheng T, et al. Changes in microRNAs associated with hepatic stellate cell activation status identify signaling pathways [J]. FEBS J, 2009, 276(18):5163-5176.
- [12] Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, et al. The progression of liver fibrosis is related with overexpression of the miR-199 and 200 families [J]. PLoS One, 2011, 6(1): e16081.
- [13] Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, et al. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis [J]. Hepatology, 2011, 53(1):209-218.
- [14] Venugopal SK, Jiang J, Kim TH, et al. Liver fibrosis causes down-regulation of miRNA-150 and miRNA-194 in hepatic stellate cells, and their overexpression causes decreased stellate cell activation [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 298(1):G101-106.
- [15] Ji J, Zhang J, Huang G, et al. Overexpressed microRNA-27a and 27b influence fat accumulation and cell proliferation during rat hepatic stellate cell activation [J]. FEBS Lett, 2009, 583(4):759-766.
- [16] Guo 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] Yoon SO, Chun SM, Han EH, et al. Deregulated expression of microRNA-221 with the potential for prognostic biomarkers in surgically resected hepatocellular carcinoma [J]. Hum Pathol, 2011, 31(3):6-21.
- [18] Yang L, Ma Z, Wang D, et al. MicroRNA-602 regulating tumor suppressive gene RASSF1A is overexpressed in hepatitis B virus-infected liver and hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Biol Ther, 2010, 9(10):803-808.
- [19] Fomari F, Gramantieri L, Giovannini C, et al. MiR-122/cyclin G1 interaction modulates p53 activity and affects doxomycin sensitivity of human hepatocarcinoma cells [J]. Cancer Res, 2009, 69(14):5761-5167.
- [20] 赵敏, 李贵柱, 邹强, 等. 肝癌组织 miR-122 的表达及其与细胞周期调控的关系 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(5):406-408.
- [21] Huang J, Wang Y, Guo Y, et al. Down-regulated microRNA-152 induces aberrant DNA methylation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma by targeting DNA methyltransferase 1 [J]. Hepatology, 2010, 52(1):60-70.
- [22] 张明, 刘卫辉, 尤楠, 等. 7 种 microRNAs 在原发性肝癌组织和癌旁组织间的差异表达及与血清肿瘤标志物水平的相关性研究 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17(6):562-566.

(收稿日期:2011-08-01)

## • 综述 •

# 梅毒螺旋体的检测方法和临床应用及研究进展

席艳华<sup>1</sup>综述, 刘金涛<sup>2</sup>审校

(1. 内蒙古呼和浩特市 120 医疗急救指挥中心 010031;  
2. 内蒙古呼和浩特市第二医院肝病实验诊断科 010031)

关键词: 梅毒; 梅毒苍白螺旋体; 检测; 进展

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)20-2373-04

梅毒(Syphilis)在中国死灰复燃且迅速蔓延, 其危害仅次于艾滋病, 而先天性梅毒发病率也在升高, 虽然各国家梅毒流行情况差别很大, 但它依旧是十分严重的社会和医学问题, 引起社会学家和医学界的高度重视。因此, 对梅毒的快速、全面、特异检测显得尤为重要。

## 1 梅毒螺旋体生物学特性梅毒

梅毒是由梅毒苍白螺旋体(treponema pallidum, TP)感染而引起生殖器官、附属淋巴结和全身病变的慢性传染病, 是性传播疾病(sexually transmitted diseases, STDs)之一, 是一种社会性疾病, 具有自限性。TP 进入人体后引起复杂免疫反应, 并产生多种多样的症状和体征, 给临床诊断带来一定困难<sup>[1]</sup>, 可侵犯人体全身器官, 既能产生各种各样的症状和体征, 又可多年无症状而呈潜伏状态<sup>[2]</sup>。而人类对其无先天免疫力, 也无疫苗人工免疫方法, 仅在感染后产生感染性免疫。TP 抗原是一种体表蛋白, 为蛋白质多糖复合物, 其有种和型的特异性; 另一种为螺旋体抗原, 是类脂质多糖复合物, 无属和种的特异性, 但具有广泛交叉反应。血清学反应的敏感性是血清反应的灵敏度。I 期梅毒阳性率及血清反应强度是最早期敏感性的代表, I 期梅毒中晚期阳性率可渐高; II 期梅毒是血清反应的高峰阶段, 阳性率约 95% 以上, 滴度也较高。特异性是反应的准确程度, 特异性抗原诱发人体产生特异性抗体, 具有很高敏感性和特异

性。反应素是由类脂质抗原诱发的反应, 有较强敏感性但不具有绝对特异性, 存在生物学真阳性反应、生物学假阳性反应及人工假阳性反应。

## 2 实验室检测

**2.1 病原体检测** 暗视野检查法是一种最可靠、常用方法。是早期非特异抗体和特异抗体还未产生或水平较低时诊断梅毒不可或缺的方法, 但因用药、取材不当等较多因素可影响检查结果, 有一定局限性。镜检时应与雅司螺旋体、齿大螺旋体、齿小螺旋体、软螺旋体、生殖器螺旋体相区别。最近通过羊膜穿刺术获得孕妇的羊水, 以其作暗视野显微镜观察, 对先天性梅毒有诊断价值。免疫荧光检查法是一种可区别病损内螺旋体是梅毒螺旋体或其他非致病螺旋体的方法, 具特异性。银染色法(Levaditi 染色或 Warthin-Starry 染色)是一种可显示内脏器官及皮肤损害中螺旋体的方法, 但腐生螺旋体也可染色, 故为非特异性染色法。

**2.2 血清学检测** 对于早期梅毒有 TP 检查、反应素及特异性梅毒血清反应检查。而晚期梅毒, TP 转阴, 反应素反应也常减退或转阴, 只有特异性血清学反应, 但检验结果要结合临床才能做出完全正确的判断。梅毒几乎可累及所有的器官和系统, 易与其他的疾病混淆。通过暗视野显微镜检查和血清学试验可以正确诊断, 但单靠临床表现不能对本病做出诊断; 对有