miR-122: เป้าหมายใหม่ในการวินิจฉัยและการรักษาโรคตับ

อภิรุจ นาวาภัทร[1,*] ธิติยา ลักคุณะประสิทธิ์[1] ปิยะฉัตร ศฤงคาร[2] นิรวิทธ์ เสริมสุจริต[3]

[1] หมวดวิชาเภสัชวิทยา วิทยาลัยเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

[2] หมวดวิชาเภสัชกรรมปฏิบัติเฉพาะทาง วิทยาลัยเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

[3] สถานปฏิบัติการเภสัชกรรมชุมชนร้านมุมยาเภสัช

บทคัดย่อ

ไมโครอาร์เอ็นเอ-122 (miR-122) เป็นโมเลกุล RNA สายเดี่ยวมีความยาวประมาณ 20–22 นิวคลีโอไทด์ พบการแสดงออกมากที่ตับโดยมีบทบาทควบคุมสมดุลการทำงานของตับหลายด้าน ได้แก่ ควบคุมระดับโคเลสเตอรอลและเมแทบอลิซึมไขมัน การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์และพัฒนาการเจริญของตับ รวมถึงยับยั้งเซลล์ก่อมะเร็ง ทั้งนี้พบความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงระดับ miR-122 กับการเกิดโรคหรือพยาธิสภาพที่ตับ เช่น มะเร็งตับจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และภาวะไขมันพอกตับที่ไม่ได้มีสาเหตุจากแอลกอฮอล์ ซึ่งมีการแสดงออกของ miR-122 ลดลง เนื่องจาก miR-122 มีการแสดงออกในตับผู้ใหญ่ในปริมาณสูงโดยตรวจพบได้ทั้งในระบบไหลเวียนเลือดและซีรั่ม และมีความจำเพาะต่อโรคหรือภาวะบางอย่างของตับ เช่น การบาดเจ็บของเซลล์ตับจากพาราเซตามอลที่พบระดับ miR-122 ในเลือดสูงขึ้นอย่างรวดเร็วที่เวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งที่ระยะเวลาดังกล่าวยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อตับและระดับเอนไซม์ alanine transaminase (ALT) และ aspartate transaminase (AST) ตลอดจนค่าบิลิรูบินทั้งหมด (total bilirubin; TBIL) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ miR-122 เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับการวินิจฉัยภาวะตับอักเสบที่เกิดจากยา การติดตามการดำเนินโรค และเป็นเป้าหมายในการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ต่อ miR-122 สำหรับรักษาการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ

คำสำคัญ: มะเร็งตับ ตับอักเสบ การทำงานของตับ ไมโครอาร์เอ็นเอ ไมโครอาร์เอ็นเอ-122 ไวรัสตับอักเสบ

รับบทความ: *25 ตุลาคม 2564* ***แก้ไข:*** *22 ธันวาคม 2564* ***ตอบรับ:*** *24 ธันวาคม 2564*

[*]ผู้รับผิดชอบบทความ

อภิรุจ นาวาภัทร

หมวดวิชาเภสัชวิทยา วิทยาลัยเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

อีเมล: abhiruj.c@rsu.ac.th

miR-122: A New Target for Diagnosis and Treatment of Liver Diseases

Abhiruj Navabhatra[1,*] Thitiya Lukkunaprasit[1] Piyachat Saringkarn[2] Nirawit Sermsutjarit[3]

[1] Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Rangsit University

[2] Department of Specialized Pharmacy Practice, College of Pharmacy, Rangsit University

[3] Mumya Bhesaj Community Pharmacy Laboratories

Abstract

miR-122 is a small single-stranded RNA molecule with approximately 20-22 nucleotides in length. It is well documented that miR-122 is a liver-specific miRNA that is expressed predominantly in liver cells and involved in a plenty of physiological processes of the liver function including the regulations of cholesterol level and fatty acid metabolism, liver cell differentiation and liver development, and suppression of hepatocarcinogenesis. miR-122 plays a crucial role in liver diseases, e.g., hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma and human non-alcoholic steatohepatitis that are associated with reduced miR-122 expression. miR-122 is highly expressed in the adult liver, which can be detected in the circulation and serum. It also serves as a specific biomarker of some forms of liver pathogenesis: miR-122 is a sensitive marker for early detection of paracetamol-induced liver injury at 3 hours when there is neither significant morphological change nor elevation of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) or total bilirubin (TBIL) that could be detected. Thus, miR-122 is a promising biomarker for diagnosis of drug-induced liver injury, prognosis assessment as well as a drug target (i.e., miRNA-based therapeutic approaches) for treatment of viral hepatitis.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, Hepatitis, Liver function, MicroRNA, miR-122, Viral hepatitis

Received: *25 October 2021,* ***Revised:*** *22 December 2021,* ***Accepted:*** *24 December 2021*

[*]Corresponding author

Abhiruj Navabhatra

Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Rangsit University

E-mail: abhiruj.c@rsu.ac.th

บทนำ

ข้อมูลทั่วไปของ microRNA

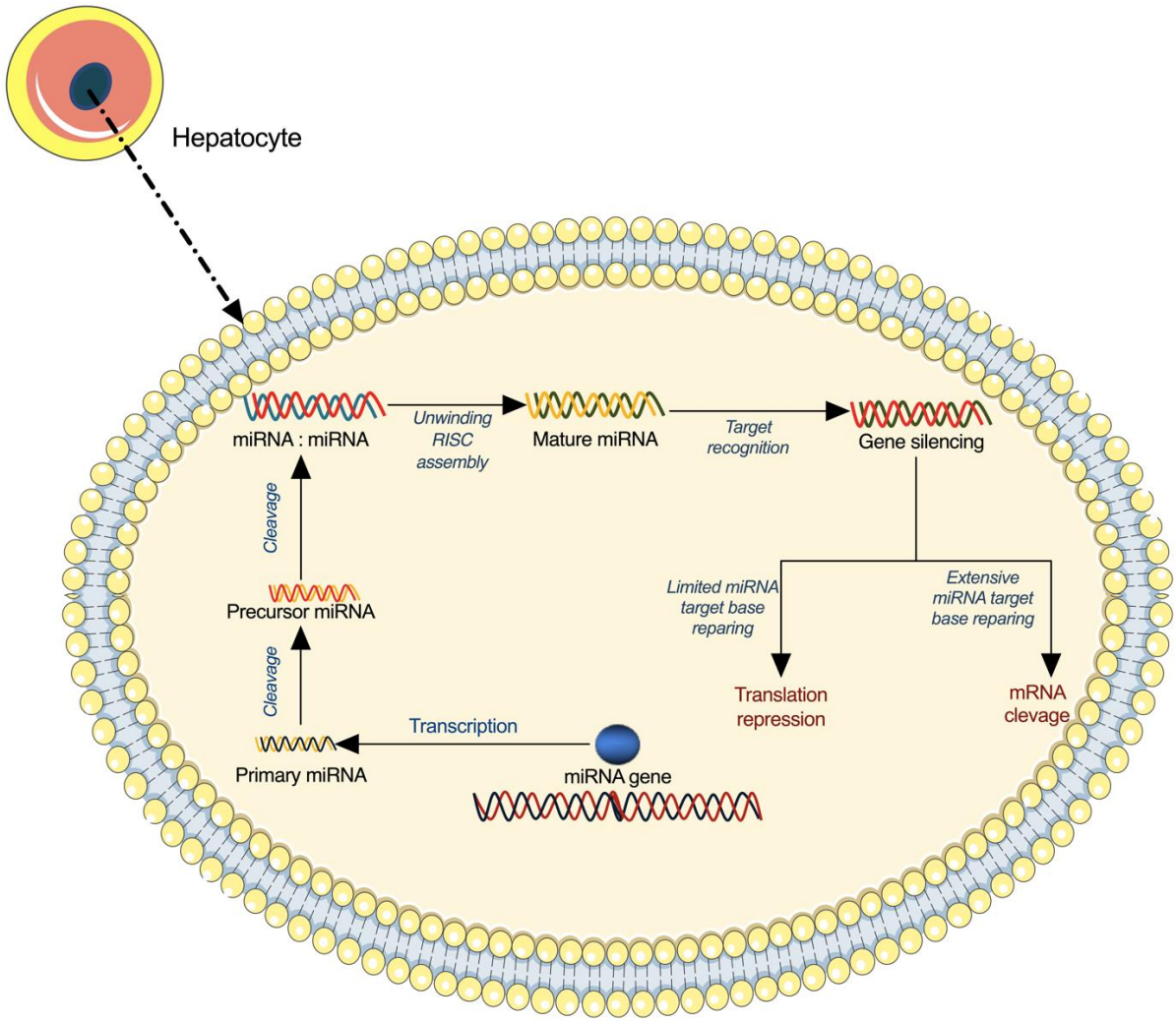
ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA หรือ miRNA หรือ miR) เป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA) มีความยาวประมาณ 20-22 นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ที่มีอยู่ภายในเซลล์และสังเคราะห์ได้จากจีโนมในบริเวณที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน (non-coding region) ตามปกติ[1] โดยมีบทบาทสำคัญต่อพัฒนาการของสิ่งมีชีวิตและควบคุมการทำงานของเซลล์[2] เช่น การเจริญเติบโต (cell growth) การเปลี่ยนแปลงตัวเองของเซลล์ (cell differentiation) การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) การตายของเซลล์ (cell death) กระบวนการเมแทบอลิซึมและการพัฒนาของเซลล์ (cell metabolism and development)[1] (รูปที่ 1) ซึ่งประมาณการกว่าร้อยละ 1-5 ของจีโนมมนุษย์เป็น miRNA และมีบทบาทในการควบคุมการเปลี่ยนรหัสยีนให้เป็นโปรตีนอย่างน้อยร้อยละ 30[3] การแสดงออกของ miRNA ถูกควบคุมด้วยโปรโมเตอร์ (promotor) เดียวกับ messenger Ribonucleic Acid (mRNA) การถอดรหัสเพื่อสร้าง miRNA เริ่มต้นจากเอนไซม์ RNA polymerase II ถอดรหัสสารพันธุกรรม (Deoxy Ribonucleic Acid; DNA) จากจีโนมเป็นโมเลกุล miRNA เริ่มต้นซึ่งมีขนาดใหญ่ เมื่อการถอดรหัสเกิดได้สมบูรณ์แล้ว จะมีการเติม Cap เข้าที่ปลายทางด้าน 5' (5'-Cap) และ Poly-A ที่ปลายด้าน 3' ของโมเลกุล miR ทำให้โมเลกุลของ miR มีลักษณะโค้งที่เรียกว่า primary miRNA (pri-miRNAs) หรือ hairpin precursors ทั้งนี้ pri-miRNA ที่ถูกสร้างขึ้นภายในนิวเคลียสจะถูกโปรตีน Drosha (RNase III type nuclease) และ DiGeorge syndrome critical region 8 (DGCR8) ตัดโมเลกุลของ pri-miRNA ให้มีขนาดเล็กลงได้เป็น precursor miRNA (pre-miRNA) ที่มีความยาวประมาณ 60-70 นิวคลีโอไทด์ซึ่งจะถูกขนส่งออกสู่ไซโทพลาซึม ที่ไซโทพลาสซึม pre-miRNA จะถูกเอนไซม์ endoribonuclease Dicer (RNase III) ซึ่งทำงานร่วมกับ TAR RNA binding protein (TRBP) และ Protein Activator of PKR (PACT) ตัดโมเลกุลของ pre-miRNA ทำให้ได้ miRNA สายคู่ที่นิวคลีโอไทด์ภายในโมเลกุลเข้าคู่กัน อย่างไม่สมบูรณ์ขนาดประมาณ 18-25 นิวคลีโอไทด์ ซึ่ง miRNA สายคู่ที่ได้จะมีเพียง 1 สายเท่านั้นที่เป็น miRNA ที่สมบูรณ์ (mature miRNA) โดยหน้าที่ของ mature miRNA จะควบคุมการทำงานของ mRNA ทั้งผ่านการสลาย mRNA (mRNA degradation) และ/หรือร่วมกับการระงับการแปลรหัสของ mRNA (repress translation) เป็นโปรตีนขั้นตอนในการสังเคราะห์ หรือการแสดงออก และ/หรือร่วมกับการทำงานของ miRNA ที่ผิดปกติมักพบเป็นสาเหตุหรือสัมพันธ์กับการเกิดโรคหรือพยาธิสภาพบางอย่าง เช่น มะเร็ง เนื่องจาก miRNA เป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นได้ทั้งยีนก่อมะเร็ง (oncogenes หรือ oncomirs) และยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes)[2-4] ปัจจุบันมีการจำแนกชนิดของ miRNA ทั้งของมนุษย์และสัตว์สปีชีส์อื่น ๆ โดยในมนุษย์มีการจำแนก miRNA (hsa-mir) กว่า 1,500 ชนิด ในขณะ miRNA ของหนู (mmu-mir) มีการจำแนกได้ถึง 700 ชนิด[5] การแสดงออกของ miRNA ในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ค้นพบครั้งแรกในระหว่างการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของก้อนเนื้องอกที่ตับ และในปี 1989 มีการศึกษา

ที่อธิบายการเรียงลำดับของยีนชนิด *c-myc* ที่ผิดปกติ รวมถึงการถอดรหัสที่ผิดปกติของยีน *hcr* ที่เกิดขึ้นในก้อนเนื้องอกที่ตับ โดยความผิดปกตินี้มีความจำเพาะที่ตับ ทั้งนี้ข้อมูลในปัจจุบันพบว่าการถอดรหัสยีน *hcr* ทำให้ได้ pre-miRNA ที่มีความยาว 66 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งโครงสร้างนี้จะถูกตัดโดยเอนไซม์ Dicer ได้เป็น miR-122[6] การศึกษาในปี 2002 โดยการโคลนนิ่งเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ ของหนูเม้าส์แล้ววิเคราะห์หา miRNA ที่มีความจำเพาะต่ออวัยวะต่าง ๆ พบว่า miR-122 มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อตับในปริมาณสูง[7]

การศึกษาจำแนกลักษณะเพิ่มเติม พบว่า miR-122 เป็น miRNA ที่พบได้คิดเป็นประมาณร้อยละ 70 ของ miRNA ทั้งหมดที่ทำการโคลนนิ่งจากเนื้อเยื่อตับผู้ใหญ่[8] นอกจากนี้ miR-122 ยังพบได้ในเซลล์เพาะเลี้ยงตับชนิดต่างๆ ทั้งเซลล์เพาะเลี้ยงตับปฐมภูมิมนุษย์ (primary human hepatocyte) เซลล์เพาะเลี้ยงตับมนุษย์ชนิด Huh หรือในเซลล์เพาะเลี้ยงตับของหนูเม้าส์[6, 9]

บทบาทของ miRNA สำหรับการวินิจฉัยและการรักษาโรค

มีการศึกษาที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ที่ควบคุมกระบวนการสังเคราะห์ รวมถึงความผิดปกติในการแสดงออกของ miRNA เช่น มีการขาดหายไปหรือเพิ่มจำนวนที่ผิดปกติทั้งจากการถ่ายทอดทางพันธุกรรม โรคติดเชื้อ การแสดงออกของ miRNA ที่แตกต่างกันในแต่ละเนื้อเยื่อ ตลอดจนการพบ miRNA ในระบบไหลเวียนเลือดสัมพันธ์กับการเกิดโรคและพยาธิสภาพต่าง ๆ เช่น ไขมันพอกตับที่ไม่ได้เกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์ (non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) ตับอักเสบ โรคตับแข็ง หรือการบาดเจ็บของเซลล์ตับจากยา เนื่องจาก miR-122 เป็น miRNA ที่พบการแสดงออกในปริมาณสูงในตับผู้ใหญ่ซึ่งตรวจพบได้ทั้งในระบบไหลเวียนเลือดและซีรั่ม[7, 10] ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ miRNA รวมถึง miR-122 จะใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) สำหรับการวินิจฉัย พยากรณ์โรค ตลอดจนเป็นเป้าหมายในการพัฒนาวิธีการรักษาโรคและพยาธิสภาพต่าง ๆ ปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนายาที่มีเป้าหมายการออกฤทธิ์ต่อ miRNA หลายการศึกษา เช่น miravirsen ซึ่งยานี้มีคุณสมบัติเป็น miR-122 inhibitor และ miR-34 mimic เป็น miRNA โมเลกุลแรก ๆ ที่มีการศึกษาและพัฒนาเพื่อใช้ในระดับคลินิกสำหรับการรักษาไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง โดยใช้เป็นการรักษาเสริมที่ให้ร่วมกับสูตรการรักษามาตรฐานที่ใช้ยาต้านไวรัส (direct acting antivirals; DAAs) หรือ interferon (IFN) ในสูตรการรักษา[11] ส่วน miR-34 เป็นโมเลกุลที่ศึกษาและพัฒนาสำหรับรักษามะเร็งตับทั้งในผู้ป่วยระยะแรกที่ไม่สามารถผ่าตัดได้และในระยะลุกลาม ซึ่งในปัจจุบันอยู่ในระหว่างการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1[12] บทความนี้รวบรวมบทบาทของ miR-122 ทั้งทางด้านสรีรวิทยาปกติ และการเกิดพยาธิสภาพที่ตับทั้ง มะเร็งตับ ไวรัสตับอักเสบ ตลอดจนโอกาสในการพัฒนายา หรือ โมเลกุลที่มีเป้าหมายการออกฤทธิ์ต่อ miR-122 สำหรับการรักษาไวรัสตับอักเสบ และโรคตับอื่น ๆ[13-16] (รูปที่ 1)



รูปที่ 1. วิถีสังเคราะห์และบทบาทของ microRNA (ดัดแปลงจาก MacFarlane LA and Murphy PR, 2010)[3]

บทบาทของ miR-122 ต่อสรีรวิทยาการทำงานของตับ

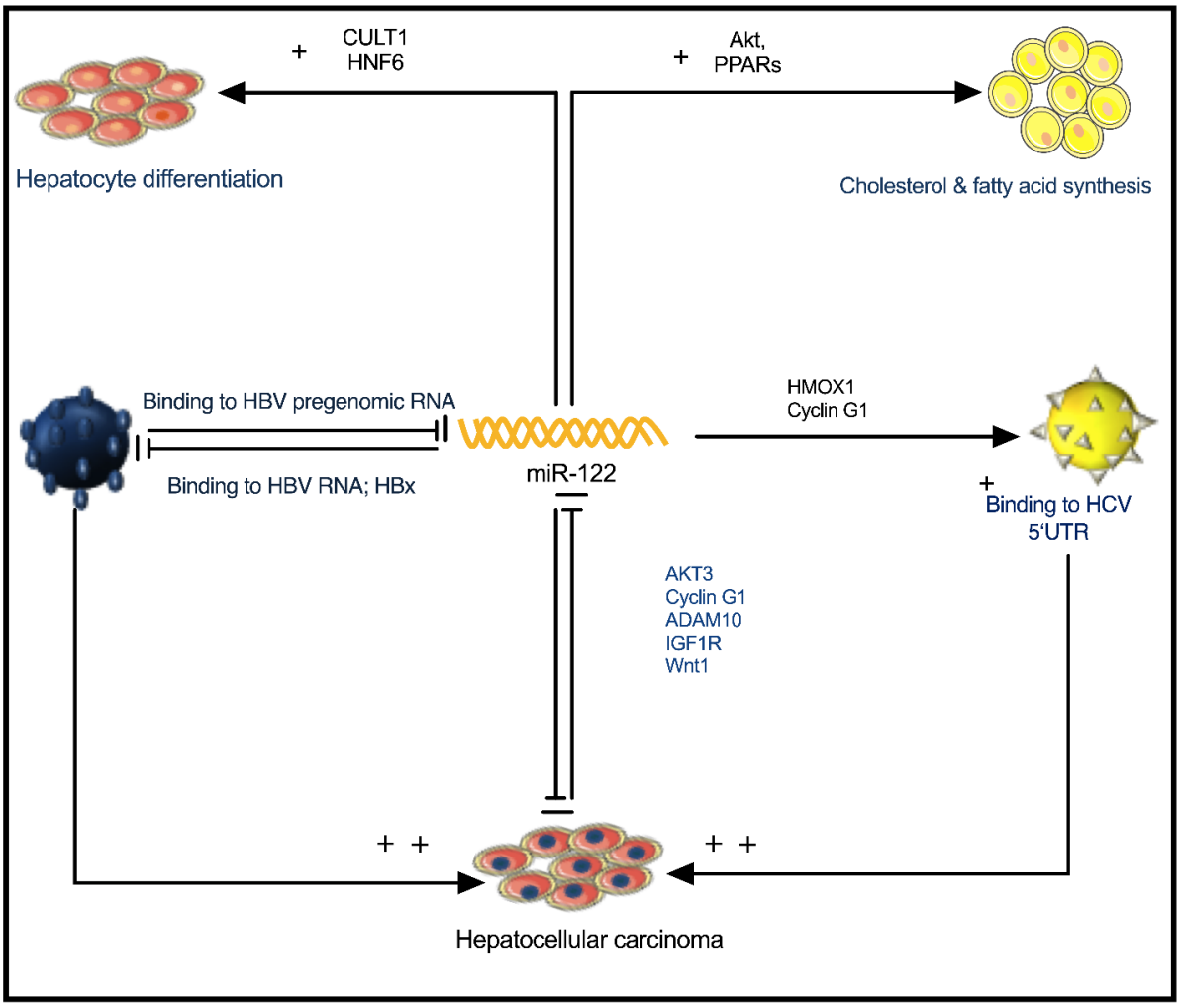
miR-122 เป็น miRNA ที่มีความจำเพาะและมีการแสดงออกปริมาณสูงที่ตับ และเป็น miRNA ที่พบได้มากเป็นสัดส่วนสูงสุดในตับหนู คิดเป็นประมาณร้อยละ 70 และในตับมนุษย์คิดเป็นประมาณร้อยละ 52 เมื่อเทียบกับ miRNA อื่น ๆ ดังนั้น miR-122 จึงมีบทบาทสำคัญในการพัฒนา กำหนดความแตกต่าง ควบคุมสภาวะสมดุลและการทำงานของตับในด้านต่างๆ เช่น รักษาสมดุลระดับโคเลสเตอรอล น้ำตาล และธาตุเหล็ก[17] การแสดงออกของ miR-122 ถูกควบคุมด้วยโปรตีน liver-enriched transcription factors ที่เข้าจับอย่างจำเพาะกับ DNA เพื่อกระตุ้นให้เกิดการจำลองสาย RNA จาก DNA แม่แบบ (transcription) ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โปรตีนดังกล่าวรวมถึง hepatocyte nuclear factor 6 (HNF-6) และ HNF4a มีบทบาทควบคุมปริมาณการแสดงออกของ miR-122 ให้มีระดับที่เหมาะสม ระหว่างกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน ฟื้นฟูและซ่อมแซมเซลล์ตับและเซลล์ท่อทางเดินน้ำดี[18, 19] การควบคุมปริมาณการแสดงออกของ miR-122 มี

ความสำคัญต่อการแยกความต่างระหว่างเซลล์ทั้งสองชนิดและเป็นการรักษาฟีโนไทป์ (phenotype) ที่จำเพาะของเซลล์ตับ การศึกษาในหนูเม้าส์พบว่า miR-122 กดการแสดงออกของยีน homeobox protein cut-like 1 (CULT1) ที่ควบคุมการแสดงออกของโปรตีน homeobox 1 ที่จับกับ DNA ทำให้ยับยั้งกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ตับ (differentiation) ไม่ให้แบ่งตัวเพิ่มจำนวนเร็วเกินไป[19] ในขณะที่การศึกษาโดยการให้ antisense ต่อ miR-122 ในปลาม้าลายพบว่าการยับยั้ง miR-122 มีผลชะลอการพัฒนาของเซลล์ตับ ส่วนการศึกษาในหนูเม้าส์พบว่า miR-122 ทำให้ยีนที่กดการเจริญและพัฒนาเซลล์ตับแสดงออกและทำงานเด่นขึ้น[20] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในเซลล์ตับชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) ที่พบว่าเมื่อยับยั้งการแสดงออกของ miR-122 มีผลกด phenotype ของเซลล์ตับ[21] การศึกษาบทบาทของ miR-122 ที่ตับโดยการวิเคราะห์ด้วย microarray และ antisense พบว่า miR-122 มีบทบาทสำคัญในการควบคุมเมแทบอลิซึมโคเรสเตอรอลและกรดไขมัน[22] ทั้งนี้เมื่อทำการศึกษาในสัตว์ทดลองทั้งหนูและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น ๆ โดยการให้ antisense ที่ยับยั้ง miR-122 พบว่ามีผลลดระดับโคเลสเตอรอลในพลาสมาอย่างเห็นได้ชัด[23, 24] นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์การแสดงออกของ RNA (transcriptomic) ในหนูโดยกดการแสดงออก miR-122 ชั่วคราวพบว่าทำให้ลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเผาผลาญกรดไขมัน และการสังเคราะห์โคเลสเตอรอล เช่น เอนไซม์ 3-hydroxy-3- methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase[22, 24] ถึงแม้กลไกการควบคุมสมดุลเมแทบอลิซึมไขมันโดย miR-122 ในระดับโมเลกุลจะยังไม่เป็นที่เข้าใจแน่ชัด แต่การศึกษาโดยให้ antisense ต่อ miR-122 ในหนูทำให้ระดับของโปรตีน peroxisome proliferator-activatedβ/δ (PPARβ/δ) ซึ่งเป็น nuclear receptor ที่กระตุ้น AMP-activated protein kinase (AMPK) เพิ่มขึ้น ซึ่งการกระตุ้น AMPK มีผลลดการสังเคราะห์กรดไขมันและโคเลสเตอรอลในขณะที่เพิ่มการออกซิเดชันของกรดไขมันที่ตับ[25] (รูปที่ 2)

miR-122 กับเมแทบอลิซึมของไขมัน

การศึกษาในสัตว์ทดลองทั้งหนูเม้าส์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นโดยกดการแสดงออกของ miR-122 ด้วย antisense หรือสารที่จับและระงับ oncogenic ต่อ miR-122 (antagomir) ทำให้ระดับโคเลสเตอรอล low density lipoprotein (LDL) และ high density lipoprotein (HDL) ทั้งในตับและระบบไหลเวียนลดลงและลดการสะสมไขมันที่ตับ ผลดังกล่าวยังสอดคล้องกับการศึกษาในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงและได้รับ antisense ต่อ miR-122 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของไขมันที่ตับต่อเนื่องในระยะยาว โดยยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในขณะที่เร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่ตับทำให้ลดการเกิดภาวะไขมันพอกตับ[23, 26] ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่เป็นไปได้ในการวิจัยและพัฒนายาที่มีเป้าหมายการออกฤทธิ์ต่อ miR-122 สำหรับการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง แต่ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องในระดับโมเลกุลซึ่งจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่ออธิบายต่อไป และเนื่องจากยังไม่มีรายงานการศึกษาที่ระบุถึงยีน

เป้าหมายของ miR-122 ที่สัมพันธ์กับเมแท-บอลิซึมของไขมันจึงมีความเป็นไปได้ว่าบทบาทของ miR-122 ต่อเมแทบอลิซึมของไขมันเกิดโดยอ้อมผ่านการยับยั้งวิถีการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลทางวิถี mevalonate ซึ่งเป็นวิถีสังเคราะห์โคเลสเตอรอลและสารตัวกลางกลุ่ม isoprenoid หลายชนิด อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่พบว่า miR-122 มีผลควบคุมการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน[27, 28]



รูปที่ 2. บทบาทของ miR-122 ต่อการรักษาสมดุลสรีรวิทยาการทำงานและการเกิดพยาธิสภาพที่ตับ ได้แก่ miR-122 เหนี่ยวนำการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ตับ กระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันและโคเรสเตอรอล และ miR-122 มีตำแหน่งเข้าจับทางด้าน 5' UTR ของสาย RNA ของไวรัส HCV ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เป็น upstream ที่มีผลทำให้เพิ่มกระบวนการถอดแบบจำลองไวรัสและเป็นปัจจัยส่งเสริมการเกิดมะเร็งตับ ในขณะที่ miR-122 รบกวนกระบวนการจำลองแบบของไวรัส HBV โดยเกิดผ่านการลดการแสดงออกของ cyclin G1 ซึ่งมีผลยับยั้งการถอดรหัสไวรัส (ดัดแปลงจาก Bandiera et al., 2015)[86]

miR-122 กับเมแทบอลิซึมของไขมัน

การศึกษาในสัตว์ทดลองทั้งหนูเม้าส์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นโดยกดการแสดงออกของ miR-122 ด้วย antisense หรือสารที่จับและระงับ oncogenic ต่อ miR-122 (antagomir) ทำให้ระดับโคเลสเตอรอล low density lipoprotein (LDL) และ high density lipoprotein (HDL) ทั้งในตับและระบบไหลเวียนลดลงและลดการสะสมไขมันที่ตับ ผลดังกล่าวยังสอดคล้องกับการศึกษาในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงและได้รับ antisense ต่อ miR-122 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของไขมันที่ตับต่อเนื่องในระยะยาว โดยยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในขณะที่เร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่ตับทำให้ลดการเกิดภาวะไขมันพอกตับ[23,26] ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่เป็นไปได้ในการวิจัยและพัฒนายาที่มีเป้าหมายการออกฤทธิ์ต่อ miR-122 สำหรับการรักษาภาวะไขมันในเลือดสูง แต่ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องในระดับโมเลกุลซึ่งจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่ออธิบายต่อไป และเนื่องจากยังไม่มีรายงานการศึกษาที่ระบุถึงยีนเป้าหมายของ miR-122 ที่สัมพันธ์กับเมแทบอลิซึมของไขมันจึงมีความเป็นไปได้ว่าบทบาทของ miR-122 ต่อเมแทบอลิซึมของไขมันเกิดโดยอ้อมผ่านการยับยั้งวิถีการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลทางวิถี mevalonate ซึ่งเป็นวิถีสังเคราะห์โคเลสเตอรอลและสารตัวกลางกลุ่ม isoprenoid หลายชนิด อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่พบว่า miR-122 มีผลควบคุมการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน[27,28]

บทบาทของ miR-122 กับพยาธิสภาพที่ตับ

มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการลดการแสดงออกของ miR-122 มีความสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิสภาพต่อตับหลายรูปแบบ การศึกษาในสัตว์ทดลองทั้งในหนูเม้าส์ที่มีการขาดหายไปของ miR-122 ที่ถ่ายทอดตามพันธุกรรม (germline knockout mice) และหนูเม้าส์ที่เหนี่ยวนำให้ไม่มีการแสดงออกของ miR-122 (miR-122 knockout mice; miR-122 KO) พบว่าการขาดหายไปของ miR-122 เป็นปัจจัยสำคัญต่ออุบัติการณ์เกิดโรคหรือพยาธิสภาพที่ตับ[29,30] การขาดหายไปของ miR-122 ไม่เพียงทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ตับของสัตว์ทดลอง แต่ยังส่งผลให้พยาธิสภาพที่ตับมีความรุนแรงทั้งการเมแทบอลิซึมไขมัน พบหยดไขมันสะสมภายในเซลล์ตับ (microsteatosis) กระตุ้นให้เกิดการอักเสบของเซลล์ตับ ลุกลามไปสู่ภาวะไขมันพอกตับ (steatohepatitis) และเกิดพังผืดของเซลล์ตับ (liver fibrosis) ได้[29,30] การศึกษาโดยเหนี่ยวนำให้หนูเกิด liver fibrosis ด้วยคาร์บอนเตตระคลอไรด์พบว่ามีการแสดงออกของ miR-122 ลดลง ในขณะที่เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของ miR-122 ในหนู miR-122 KO พบว่ามีผลลดความรุนแรงของกระบวนการอักเสบที่ตับโดยกลไกที่เกี่ยวข้องเกิดผ่าน miR-122 ลดระดับโปรตีนชนิด monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) ซึ่งมีบทบาทในการเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวและสะสมของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบชนิด $CD11b^{hi}Gr1^{+}$ ในเซลล์ตับ และลดการแสดงออกของ Krüppel-like factor 6 (KLF6) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ (pro-fibrogenic)[30] จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นชัดเจน

ถึงคุณสมบัติของ miR-122 ที่มีผลลดกระบวนการอักเสบและยับยั้งการเกิดพังผืดในตับ และการลดการแสดงออกของ miR-122 ยังสัมพันธ์กับการเกิดภาวะ NAFLD ด้วย

บทบาทของ miR-122 และการเกิดมะเร็งตับ

มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการลดการแสดงออกของ miR-122 สัมพันธ์กับการลุกลามของเซลล์มะเร็งตับและส่งผลต่อการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี เนื่องจากมีโปรตีนเป้าหมายหลายชนิดที่ถูกควบคุมด้วย miR-122 ได้แก่ cyclin G1, ADAM10, IGF1R, SRF, และ Wnt1 เกี่ยวข้องกับการเกิดเนื้องอกและมะเร็งตับ โดยมีผลทำให้เซลล์บุผิว (epithelial cells) เกิดการสูญเสียความมีขั้ว ลดความสามารถในการยึดเกาะกับ basement membrane และลดความสามารถในการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์ (epithelial mesenchymal transition; EMT) ตลอดจนเหนี่ยวนำการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) ดังนั้นคุณสมบัติอีกอย่างของ miR-122 คือมีผลต้านการเกิดมะเร็ง (tumor suppressor) ตับ[31-37] การศึกษาในหนูเม้าส์ชนิด miR-122 KO พบว่าสัตว์ทดลองกลุ่มนี้เกิดก้อนเนื้องอกที่ตับได้เอง และพบการแสดงออกที่ผิดปกติของยีนที่ควบคุมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและการตายของเซลล์ตับ รวมถึงการเกิด EMT ซึ่งเป็นปัจจัยต่อการแพร่กระจายและลุกลามของเซลล์มะเร็ง ในขณะที่เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของ miR-122 ระหว่างที่ก้อนเนื้องอกมีการเจริญและพัฒนามีผลยับยั้งการเจริญของเนื้องอกในสัตว์ทดลอง โดยเนื้องอกที่เกิดขึ้นไม่มีการอักเสบร่วมซึ่งแสดงให้เห็นว่า miR-122 มีผลยับยั้งการเกิดเนื้องอกโดยผลนี้เป็นอิสระไม่เกี่ยวข้องกับผลป้องกันการเกิดโรคตับและเหนี่ยวนำกระบวนการอักเสบ[29,30] การเพิ่มระดับ miR-122 ยังมีผลทำให้เซลล์มะเร็งตับตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดได้ดีขึ้น ดังนั้นในการรักษามะเร็งตับโดยการให้ยาเคมีบำบัดร่วมกับการรักษาระดับ miR-122 อาจมีผลเสริมฤทธิ์ในการรักษามะเร็งตับให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น[31, 33, 38] ดังนั้นจากข้อมูลการศึกษาต่าง ๆ ในปัจจุบันบ่งชี้ว่า miR-122 มีศักยภาพที่จะพัฒนาใช้เป็นเป้าหมายสำหรับการคัดกรอง และรักษาโรคหรือพยาธิสภาพที่ตับในระดับคลินิกต่อไป ในส่วนการรักษามะเร็งปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนายาที่ออกฤทธิ์เลียนแบบการทำงานของ miR-34 ซึ่งการแสดงออกของ miRNA ชนิดนี้มีผลกดการทำงานของ oncogene หลายชนิดและมีผลกดการเกิดก้อนเนื้องอก ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งและเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งตาย โดยเป็นการศึกษาในระดับคลินิกในระยะที่ 1 เพื่อทดสอบประสิทธิผลของยา[12] อย่างไรก็ตามแม้หลายการศึกษาจะแสดงให้เห็นว่า miR-122 มีบทบาทต้านการเกิดเนื้องอกที่ตับ และการลดระดับ miR-122 ยังสัมพันธ์กับการลุกลามและแพร่กระจายของมะเร็งตับทำให้การพยากรณ์โรคเลวลง แต่การเกิดมะเร็งตับยังมีเหตุและปัจจัยกระตุ้นอื่นๆ อีกหลายปัจจัย และการลดการแสดงออกของ miR-122 ยังสัมพันธ์กับการเกิดโรคหรือพยาธิสภาพของตับรูปแบบอื่น ๆ เช่น ตับอักเสบ มะเร็งตับที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus; HBV) ในขณะที่มะเร็งตับที่มีสาเหตุจากไวรัสตับอักเสบซี (Hepatitis C virus; HCV) อาจพบการแสดงออกของ miR-122 มีระดับปกติหรือเพิ่มขึ้นได้ ทั้งนี้อาจเป็นผลจาก

บทบาทของ miR-122 ที่มีต่อวงจรไวรัสแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันและส่งผลต่อการเกิดมะเร็งตับที่มีลักษณะจำเพาะแตกต่างกันด้วย ดังนั้นการศึกษาบทบาทของ miRNA ชนิดต่างๆ รวมถึง miR-122 ในระดับโมเลกุลต่อพยาธิสรีรวิทยาของมะเร็งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เข้าใจกลไกการเกิดโรคและการประยุกต์สำหรับพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองโรคและเป็นเป้าหมายสำหรับการรักษาต่อไป[39, 40]

บทบาทของ miRNA กับอันตรกิริยาระหว่างเซลล์เจ้าบ้านและไวรัส

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBV) หรือซี (HCV) เป็นสาเหตุของการเกิดโรคตับอักเสบเรื้อรังและนำไปสู่การเกิดมะเร็งตับ โดยไวรัสทั้งสองสายพันธุ์มีความจำเพาะกับการเกิดพยาธิสภาพที่ตับเนื่องจากอาศัยปัจจัยต่าง ๆ ภายในเซลล์ตับซึ่งอาจเป็น โปรตีน หรือ RNA ที่ไม่มีการแปลรหัสเป็นโปรตีน (non-protein coding RNA) เช่น miRNA สำหรับการดำเนินวงจรชีวิต โดยไวรัสทั้งสองสายพันธุ์จะใช้ miRNA ของเซลล์เจ้าบ้านสำหรับการเพิ่มจำนวน[41-44] การใช้ miRNA ของเซลล์เจ้าบ้านในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของไวรัสยังส่งผลให้มีการแสดงออกของ miRNA บางชนิดที่แสดงในจีโนมเฉพาะ (miRNome) ที่ส่งเสริมให้เกิดการติดเชื้อไวรัสในเซลล์ตับอย่างเรื้อรังและเป็นปัจจัยต่อการเกิดพยาธิสภาพต่อตับในรูปแบบต่าง ๆ[45, 46] ในความเป็นจริงการแทรก miRNA เข้าไปในสาย RNA ของไวรัสทำให้เกิดผลเสียต่อไวรัส เช่น การแทรก miR-199a เข้าไปในสาย RNA ของ HCV ทำให้ยับยั้งกระบวนการถอดรหัสไวรัส ในทำนองเดียวกันการถอดรหัส HBV ซึ่งในสาย RNA ของไวรัสมีตำแหน่งสำหรับ miR-122, miR-199a และ miR-210 สามารถแทรกเข้าไปได้แล้วมีผลยับยั้งการถอดรหัสของไวรัสเช่นกัน[47-49] (ตารางที่ 1)

บทบาทของ miR-122 ต่อการติดเชื้อและการเกิดมะเร็งตับจาก HBV

HBV เป็นไวรัสชนิด DNA ที่มีลักษณะจีโนมแบบเกลียวคู่คลายตัว (relaxed circular DNA; rcDNA) เมื่อแทรกเข้าไปใน DNA ในนิวเคลียสของเซลล์เจ้าบ้านแล้วจะสร้างโปรตีน covalently closed circular DNA (cccDNA) ซึ่งประกอบด้วยจีโนมของไวรัส ทำให้ไวรัสยังอยู่ในร่างกายของผู้ที่ติดเชื้อตลอดชีวิตแม้จะตรวจไม่พบ DNA ของ HBV ในเลือดก็ตาม บทบาทของ miR-122 ต่อการติดเชื้อ HBV จะต่างจากการติดเชื้อ HCV เนื่องจาก miR-122 จะยับยั้งการถอดรหัสของ HBV[50] ในขณะที่มีผลช่วยในการถอดรหัสของ HCV มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า miR-122 มีตำแหน่งในการเข้าจับในสาย pregenomic RNA ของ HBV ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ควบคุมการถอดรหัสเอนไซม์ polymerase และโปรตีนแกนกลาง (core protein) ของไวรัส[51] ส่วนผลโดยอ้อมพบว่า miR-122 รบกวนกระบวนการจำลองแบบของ HBV โดยเกิดผ่านการลดการแสดงออกของ cyclin G1 ซึ่งมีผลยับยั้งการถอดรหัสไวรัสผ่านการทำงานของโปรตีน p53[52] อย่างไรก็ตามการศึกษาในเซลล์มะเร็งตับมนุษย์พบว่า miR-122 มีผลเพิ่มการจำลองแบบของ HBV โดยอ้อมผ่านการลดการแสดงออกของยีน heme oxygenase 1 (HMOX 1) ซึ่งการลดการแสดงออกของยีนนี้มีผลลดความเสถียรของ core protein ทำให้รบกวนการจำลอง

ตารางที่ 1. บทบาทของ miRNA ต่อการติดเชื้อไวรัสจากการศึกษาใน *in vitro*, *in silico*, ในสัตว์ทดลองและระดับคลินิก (ดัดแปลงจาก Bandiera et al., 2015)[86]

แนวคิด	กลไกที่เกี่ยวข้อง	ตัวอย่าง
➢ miRNA จับกับจีโนมของไวรัส	➢ miRNA จับกับจีโนมของ HCV มีผลเพิ่มการแปลรหัส RNA และการจำลองแบบของไวรัส ➢ miRNA จับกับ mRNA ของ HBV มีผลลดการแปลรหัส RNA และการจำลองแบบของไวรัส	➢ miR-122 จับกับจีโนมของ HCV แล้วมีผลเพิ่มการแปลรหัสและการจำลองแบบของไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด Huh7 ➢ miR-199a และ miR-210 จับกับ HBsAg mRNA และมีผลลดการแสดงออกของ HBsAg ในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HepG2 ที่ติดเชื้อ HBV ➢ miR-122 ลดการจำลองแบบของ HBV ใน peripheral blood mononuclear cells ผู้ป่วย HBV โดยการเข้าจับกับ viral target sequence ในตำแหน่งที่ส่งผลต่อการติดเชื้อ HBV ในตับที่เรื้อรัง
➢ miRNA ควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ของเซลล์เจ้าบ้าน	➢ miRNA มีผลกดการแสดงออกหรือทำลาย mRNA ของเซลล์เจ้าบ้านที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งวงจรชีวิตของไวรัส หรือมีผลต้านไวรัส	➢ miR-196 กดการแสดงออกของยีน BACH1 ซึ่งเป็นยีนที่กดการแสดงออกของ HMOX 1 ใน HCV replicon (Con 1 และ 9-13) ทำให้การแสดงออกของยีน HMOX1 เพิ่มขึ้น ซึ่งยีนนี้มีบทบาทในการขจัดอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบที่เกิดขึ้นในการตอบสนองต่อการติดเชื้อ HCV ➢ miR-141 ยับยั้งการจำลองแบบ HBV ผ่านการกระตุ้น $PPAR_{\alpha}$ ในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HepG2
➢ ไวรัสปรับเปลี่ยนการแสดงออกหรือการทำงาน miRNA ของเซลล์เจ้าบ้าน	➢ การถอดรหัสไวรัสหรือโปรตีนบางอย่างมีผลเปลี่ยนแปลงการแสดงออกโปรตีนทั้งของไวรัสหรือเซลล์เจ้าบ้านซึ่งมีผลต่อวงจรชีวิตไวรัส	➢ HCV เพิ่มการแสดงออกของ miR-130a ทำให้การแสดงออกของยีน IFITM1 ลดลง ซึ่งเป็นปัจจัยส่งเสริมการจำลองแบบของไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด Huh 7 ที่มีการถ่ายโอน HCV genotype 2a ➢ HBV กดการแสดงออกของ miR-15b ทำให้เพิ่มการแสดงออกของ $HNF1_{\alpha}$ และมีผลลดการจำลองแบบ HBV ในระยะที่มีการติดเชื้อ

ตารางที่ 1. บทบาทของ miRNA ต่อการติดเชื้อไวรัสจากการศึกษาใน *in vitro*, *in silico*, ในสัตว์ทดลองและระดับคลินิก (ดัดแปลงจาก Bandiera et al., 2015)[86] (ต่อ)

แนวคิด	กลไกที่เกี่ยวข้อง	ตัวอย่าง
		เฉียบพลันทั้งในเซลล์เพาะเลี้ยงตับชนิด HepG2, Huh 7, QSG7701 และในหนูเม้าส์ ➢ miR-132 ควบคุมการทำงานของระบบ innate immune ที่มีผลต้านไวรัสผ่านการยับยั้งการถอดรหัสโปรตีน p300 ในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด monocyte ที่ติดเชื้อ HSV-1 และ human cytomegalovirus (HCMV) ➢ การศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด T cell ที่ติดเชื้อ *Herpesvirus saimiri* (T cells transformed by *Herpesvirus saimiri* express seven viral U-rich noncoding RNAs; HSURs) แสดงให้เห็นว่าไวรัส Herpes ชนิด saimiri ที่ไม่มีการถอดรหัสโปรตีนจาก RNA ชนิด SUR1 จะเข้าจับกับ miR-27a แล้วมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการย่อยสลายอนุภาคของไวรัสเอง
➢ ไวรัสถอดรหัส miRNA ที่มีผลปรับเปลี่ยนการทำงานของไวรัสหรือเซลล์เจ้าบ้าน	➢ ไวรัสที่ถอดรหัส miRNA จะมีผลปรับเปลี่ยนวงจรชีวิตไวรัสหรือป้องกันการถูกทำลายภายในเซลล์เจ้าบ้าน เช่น ยืดอายุของเซลล์ที่มีการติดเชื้อ หรือยับยั้งการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันทำให้การติดเชื้อไวรัสกระจายได้รวดเร็ว	➢ HSV-1 ถอดรหัส miRNA หลายชนิดที่ควบคุมการแสดงออกของยีน IP0 ของไวรัสทำให้ระยะแฝง (latent phase) ของการติดเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด SY5Y เกิดได้ยาวนาน แต่ลดระยะการกำจัดไวรัสให้สั้นลง ➢ การศึกษาใน *in silico* พบว่า HBV ใช้ vmiRNAs ในการควบคุมการแสดงออกของยีนของไวรัสเอง ➢ ยังไม่มีรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า HBV และ HCV มีการถอดรหัส miRNA

แบบไวรัส[53] ในผู้ที่ติดเชื้อ HBV จะพบการแสดงออกของ miR-122 ลดลงแปรผกผันกับปริมาณไวรัสในเลือด (viral load) โดยกลไกที่เกี่ยวข้องยังไม่ทราบแน่ชัดแต่อาจเป็นผลมาจากในสาย RNA ของไวรัสมีตำแหน่งการจับกับ miR-122 แล้วเก็บกัก miRNA ดังกล่าวไว้ และมีโปรตีนบางชนิดของไวรัสจับและกระตุ้น PPARγ แล้วมีผลยับยั้งการแสดงออกของ miR-122 และโปรตีนนั้นยังลดการแสดงออกของยีน germline development 2 (Gld2) ซึ่งควบคุมการเติมเบสอะดีนีนเข้าไปในสายของ miR-122 ทำให้ลดความคงตัวของ miR-122[54, 55] การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งตับโดยในผู้ที่ติดเชื้อ HBV จะพบการแสดงออกของ miR-122 ลดลง แต่มีการแสดงออกของ tumor promoter *N*-myc downstream regulated gene 3 (NDRG3) และ cyclin G1 เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลกระตุ้นผ่านทาง Akt pathway ทำให้เหนี่ยวนำกระบวนการ EMT การลดการแสดงออกของ miR-122 จาก HBV ยังเพิ่มการแสดงออกของยีน pituitary tumour-transforming gene 1-binding factor (PTTG1) ซึ่งยีนนี้มีบทบาทส่งเสริมการเจริญของเนื้องอกและการลุกลามของเซลล์มะเร็ง ในขณะที่การแสดงออกของ miR-122 ที่เพิ่มขึ้นทำให้คุณสมบัติของเซลล์ตับในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเป็นเนื้องอกและพัฒนาเป็นมะเร็งสูญเสียไป ตลอดจนมีผลป้องกันการเกิดมะเร็งตับได้ ดังนั้นในปัจจุบันมีหลายการศึกษาที่มุ่งเป้าฟื้นฟูหรือรักษาระดับการแสดงออกของ miR-122 เพื่อพัฒนากระบวนการรักษาหรือป้องกันมะเร็งตับที่มีสาเหตุจาก HBV[56-58] (รูปที่ 2)

บทบาทของ miR-122 และเป้าหมายการรักษา HCV

บทบาทของ miR-122 กับการติดเชื้อ HCV ซึ่งเป็นไวรัสชนิด RNA สายเดี่ยว[59] พบว่า miR-122 จะต่างจาก miRNA ชนิดอื่น เนื่องจากมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า miR-122 มีผลเพิ่มกระบวนการถอดรหัสและความคงตัวของจีโนมของไวรัสสายพันธุ์นี้ โดย miRNA ชนิดอื่นจะเข้าจับด้าน 3' UTR ของปลายสาย RNA ของไวรัสแล้วมีผลยับยั้งกระบวนการถอดแบบจำลองไวรัส ในขณะที่ miR-122 จะมีตำแหน่งในการเข้าจับทางด้าน 5' UTR ของสาย RNA ของไวรัสซึ่งเป็นตำแหน่งที่เป็น upstream ที่เริ่มการแปลรหัสโดยตรงภายในลำดับ mRNA จำเพาะ (internal ribosome entry site; IRES) มีผลทำให้เพิ่มกระบวนการถอดแบบจำลองไวรัส[60-62] (รูปที่ 2) นอกจากนี้หลายการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของ miR-122 มีผลเพิ่มอัตราการถอดรหัสจำลอง HCV ในเซลล์ชนิดอื่น ๆ นอกจากเซลล์ตับได้ เช่น การศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HEK-293T หรือเซลล์ HeLa ซึ่งปกติเป็นเซลล์ที่พบการแสดงออกของ miR-122 ในปริมาณน้อยและไม่พบการติดเชื้อหรือมีการถอดแบบจำลอง HCV พบว่าเมื่อเหนี่ยวนำให้เพิ่มการแสดงออกของ miR-122 ทำให้เกิดการจำลองแบบของ HCV ในเซลล์ดังกล่าวโดยการจำลองแบบของไวรัสเป็นสัดส่วนกับระดับการแสดงออกของ miR-122[63-67] นอกจากผลโดยตรงของ miR-122 ที่มีตำแหน่งการเข้าจับกับสาย RNA ของไวรัสแล้ว ผลโดยอ้อมพบว่า miR-122 มีผลควบคุมและลดการแสดงออกของ HMOX1 ซึ่งมีผลยับยั้งกระบวนการจำลองแบบของไวรัส มีการศึกษาที่

แสดงถึงความสัมพันธ์ของการบริโภคแอลกอฮอล์กับระดับ miR-122 โดยเมื่อบ่มเซลล์มะเร็งตับกับแอลกอฮอล์ทำให้มีการแสดงออกของ miR-122 เพิ่มขึ้น แต่ลดการแสดงออกของ cyclin G1 ทำให้เหนี่ยวนำกระบวนการจำลองแบบของ HCV[68, 69] แม้การศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) จะแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มการแสดงออกของ miR-122 ที่ตับทำให้เพิ่มกระบวนการถอดแบบจำลองไวรัส อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์นี้ยังไม่สามารถอธิบายผลทางคลินิกได้อย่างชัดเจนทั้งการแสดงออกของ miR-122 ในตับผู้ป่วยและจำนวนไวรัสในระบบไหลเวียนเลือด[70-73] ทั้งนี้ในผู้ป่วย HCV ที่ได้รับการรักษาด้วย interferon (IFN) พบว่าสารกลุ่มนี้ไม่มีผลลดระดับ miR-122 ในตับ[72] ในขณะที่บางการศึกษาระบุว่าการลดระดับ miR-122 เป็นปัจจัยที่บ่งชี้ถึงประสิทธิผลในการรักษาและสะท้อนถึงการลดความเสียหายที่เกิดต่อเซลล์ตับ[74] ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ miR-122 เป็นดัชนีชี้วัดสำหรับการพยากรณ์โรคหรือประสิทธิผลในการรักษาการติดเชื้อดังกล่าว และเป็นเป้าหมายใหม่ในการพัฒนายาต้านไวรัส การศึกษาในสัตว์ทดลองเพื่อประเมินความปลอดภัยของสารที่เป็นเป้าหมายในการเข้าจับกับ miR-122 พบว่าเมื่อให้ 2'-O-methoxyethyl phosphorothioate antisense oligonucleotide ซึ่งเป็น miR-122 inhibitor แก่หนูเม้าส์เป็นเวลา 4 สัปดาห์สารนี้มีความปลอดภัยไม่เกิดความเป็นพิษต่อตับในสัตว์ทดลองระดับเอนไซม์ตับ ALT และ AST เพิ่มระดับเล็กน้อยและยังมีผลลดระดับโคเลสเตอรอลในพลาสมาได้ต่อเนื่องหลายสัปดาห์ ส่วนการให้ miravirsen ซึ่งเป็น miR-122 antisense ในลิงทางหลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 2 ครั้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า miravirsen มีความปลอดภัยและไม่เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง พบการตายแบบ apoptosis ของเซลล์ตับเล็กน้อยโดยไม่พบความผิดปกติของอวัยวะอื่น[22, 75] จากผลดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ว่า miR-122 จะเป็นเป้าหมายสำหรับการพัฒนายาใหม่ที่ใช้สำหรับลดระดับไขมันในเลือด การศึกษาโดยการให้ miravirsen แก่ลิงชิมแปนซีที่ติดเชื้อ HCV เรื้อรังพบว่ายามีผลลดระดับ RNA ของ HCV ได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการให้ยานี้ในผู้ป่วย HCV ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 สัปดาห์ก็ให้ผลในการลดระดับ RNA ของ HCV และผลการลดระดับ RNA ของ HCV เป็นแบบขึ้นกับขนาดยาที่ให้ โดยในขนาดยาสูงสุดที่ใช้ในการศึกษาคือ 7 มก./กก. มีผลกดระดับ RNA ของไวรัสได้ถึง 3 log และอาจตรวจไม่พบไวรัสในผู้ป่วยบางรายที่ได้รับยานี้ อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่หยุดใช้ miravirsen ไปแล้วประมาณ 10-18 สัปดาห์และไม่ได้รับการรักษาต่อด้วย IFN อาจตรวจพบระดับ RNA ของไวรัสเพิ่มสูงขึ้นได้ประมาณ 1 log แม้จะผ่านจุดที่ระดับ RNA ของไวรัสต่ำ (nadir) จนตรวจไม่พบไปแล้ว[76] การใช้ยานี้ไม่พบอาการไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง และอาการไม่พึงประสงค์ที่พบไม่ขึ้นกับขนาดยา นอกจากผลต่อการลดระดับ RNA ของไวรัสแล้วการใช้ยานี้ยังทำให้ระดับโคเลสเตอรอลในระบบไหลเวียนของผู้ใช้ยาลดลง แต่ผลดังกล่าวผันกลับได้เมื่อหยุดใช้ยา และการใช้ยานี้ไม่พบอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ในตำแหน่งที่เข้าจับระหว่าง miR-122 กับ HCV จึงมีความเป็นไปได้ว่าสารที่มีคุณสมบัติเป็น miR-122 inhibitor จะมีผลในการป้องกันการดื้อยาของไวรัสได้[76] ข้อมูลด้านเภสัชจลนศาสตร์ของ miravirsen แสดงให้เห็นว่ายานี้มีค่าครึ่งชีวิตใน

การขจัดยาค่อนข้างยาว (~ 30 วัน) ดังนั้นผลที่เกิดจากการใช้ยาในระยะยาวจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อประเมินต่อไป ปัจจุบันยานี้อยู่ในระหว่างการศึกษาทางคลินิกในระยะ 2a เพื่อประเมินผลทางชีวภาพและประสิทธิผลของยาในระดับคลินิก อย่างไรก็ตามแม้การรักษา HCV ด้วยยาหรือสารที่มีคุณสมบัติเป็น miR-122 inhibitor จะให้ผลลัพธ์ในการรักษาที่ดีแต่เนื่องจากการให้ยานี้อยู่ในรูปแบบของยาฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำซึ่งไม่สะดวกต่อการบริหารเข้าสู่ร่างกายผู้ป่วยเมื่อเทียบกับยาต้านไวรัสกลุ่ม direct acting antivirals (DAAs) ที่ยังมีประสิทธิผลในการกดระดับของไวรัสทุกสายพันธุ์และมีผลป้องกันการดื้อยาได้สูง ซึ่งบริหารเข้าสู่ร่างกายโดยการรับประทาน จากข้อจำกัดนี้จึงอาจเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนายานี้เพื่อใช้ในระดับคลินิก อย่างไรก็ตามเนื่องจากการติดเชื้อ HCV เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ ดังนั้นข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของ miRNA ต่อสรีรวิทยาการทำงานของเซลล์ตับและพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดมะเร็งตับที่มีสาเหตุจาก HCV จึงมีความสำคัญต่อกระบวนการศึกษาเพื่อพัฒนาเป้าหมายการรักษาโรคติดเชื้อไวรัสตลอดจนมะเร็งตับ[77]

บทบาทของ miR-122 ต่อการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของไวรัสตับอักเสบอี

บทบาทของ miR-122 ต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบอี (Hepatitis E virus; HEV) ซึ่งเป็นไวรัสชนิด RNA สายเดี่ยว พบว่า miR-122 มีผลช่วยในการจำลองแบบของไวรัสสายพันธุ์นี้ การศึกษาในแบบจำลองโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (*in silico*) โดยใช้ลำดับจีโนไทป์ของ HEV 4 จีโนไทป์ ได้แก่ HEV-1, HEV-2, HEV-3 และ HEV-4 พบว่าในจีโนมส่วนใหญ่จะมีตำแหน่งในการเข้าจับของ miR-122 ดังนั้นจึงมีความน่าจะเป็นที่ miR-122 จะมีผลต่อการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ HEV ในเซลล์ตับ ส่วนการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงพบว่าในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2/C3A และ Huh-7) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับพื้นฐานของ miR-122 ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ไวรัสสายพันธุ์นี้ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ miR-122 แต่ในเซลล์ที่ได้รับ hsa–miR-122-5p ซึ่งเป็นสารที่เลียนแบบการทำงานของ miR-122 หรือในเซลล์ที่มีการเหนี่ยวนำให้เพิ่มการแสดงออกของ miR-122 มีผลเพิ่มการจำลองแบบของ HEV ส่วนในเซลล์ที่ได้รับ hsa–miR-122-5p inhibitor ซึ่งยับยั้งการทำงานของ miR-122 มีผลยับยั้งการจำลองแบบของ HEV และจากการศึกษาเพื่อดูอันตรกิริยาระหว่าง miR-122 และ RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) ของ HEV ต่อการเพิ่มการจำลองแบบของไวรัสโดยเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของ RdRp ของ HEV-1 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งดังกล่าวจะมีผลยับยั้งการจำลองแบบของ HEV และเมื่อทำการศึกษาโดยปรับปรุงให้มีตำแหน่งใหม่ในการเข้าจับกับ miR-122 ในจีโนมของ HEV-1 ที่มีการกลายพันธุ์พบว่าทำให้มีการจำลองแบบของ HEV เพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงบทบาทของ miR-122 ที่มีผลต่อการจำลองแบบและเพิ่มปริมาณไวรัสในเซลล์ตับ ดังนั้นยาหรือสารที่มีผลยับยั้ง miR-122 เช่น mirabirsen (SPC3649) ซึ่งเป็นยาที่อยู่ระหว่างการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 2 และให้ผลที่ดีในการ

รักษา HCV จึงเป็นยาที่น่าจะให้ประโยชน์และประสิทธิผลในการรักษา HEV[78]

บทบาทของ miR-122 สำหรับวินิจฉัยภาวะตับอักเสบจากยา

การบาดเจ็บของเซลล์ตับที่เกิดจากยา (Drug induced liver injury; DILI) เป็นเหตุการณ์ที่พบได้ทั่วไปจากการใช้ยาบำบัดรักษาโรค แม้ภาวะนี้จะคิดเป็นสัดส่วนน้อยประมาณร้อยละ 1 ของอาการบาดเจ็บของเซลล์ตับแบบเฉียบพลันแต่เป็นภาวะที่นำไปสู่อันตรายที่รุนแรง คือเกิดภาวะตับวายแบบเฉียบพลันทั้งในสหรัฐอเมริกาและยุโรป โดยในสหรัฐอเมริกาพบผู้ป่วยที่เกิดภาวะตับวายเฉียบพลันกว่าร้อยละ 13 ได้รับการวินิจฉัยว่าเกิดจากยาและเป็นรูปแบบการตอบสนองของร่างกายที่ผิดปกติจากยาโดยไม่สามารถอธิบายสาเหตุได้ ไม่ขึ้นกับขนาดยา (idiosyncratic) และกว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่เกิดภาวะนี้จำเป็นต้องได้รับการรักษาด้วยการเปลี่ยนถ่ายตับ (liver transplantation)[79] DILI เป็นอาการไม่พึงประสงค์จากยาที่รุนแรงที่ส่งผลกระทบต่อทางด้านเศรษฐศาสตร์สาธารณสุขและงบประมาณในการดูแลรักษาผู้ป่วย และภาวะนี้ยังเป็นอุบัติการณ์หลักที่ทำให้เกิดการถอนทะเบียนตำรับยาหรือบริษัทยาต้องระบุคำเตือนถึงผลข้างเคียงที่ร้ายแรงที่สุดที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้ยา (black box warning) ในเอกสารกำกับยา[80] โดยทั่วไปในการประเมินภาวะตับอักเสบหรือการบาดเจ็บของเซลล์ตับที่เกิดจากยาจะพิจารณาจากการเพิ่มระดับของเอนไซม์ตับในระบบไหลเวียน คือ ALT, AST และ TBIL[81] ตามข้อกำหนดขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาที่ใช้กฎของ Hy (Hy's law) ระบุว่าการใช้ยาใดที่ทำให้ระดับเอนไซม์ ALT หรือ AST > 3 เท่า และ TBIL > 2 เท่าของค่าปกติ (upper normal limit) โดยไม่มีโรคอื่น ๆ ในกลุ่ม cholestatic/hepatic co-morbidities ร่วมจะเป็นข้อบ่งชี้ว่ายานั้นทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับ[82] แม้ระดับหรือสมรรถนะเอนไซม์ที่เพิ่มจะช่วยในการวินิจฉัยการเกิดพยาธิสภาพต่อตับ อย่างไรก็ตามระดับหรือสมรรถนะเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นไม่มีความจำเพาะต่อพยาธิสภาพต่าง ๆ และบางครั้งนำไปสู่การวินิจฉัยโรคที่ผิดพลาดได้ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ทั้งสองชนิดไม่จำเพาะเฉพาะที่ตับแต่พบได้ที่เนื้อเยื่อของอวัยวะอื่น ๆ เช่น กล้ามเนื้อ หัวใจ เม็ดเลือด หรือในระบบทางเดินอาหารอื่น[83-85] จากข้อมูลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าระดับของ miR-122 จะพบที่ตับสูงกว่าในระบบไหลเวียนซึ่งเป็นตำแหน่งที่พบ miRNA ชนิดนี้รองจากตับถึง 3,000 เท่า และการแสดงออกของ miR-122 ที่ไขกระดูกซึ่งเป็นต้นกำเนิดของเซลล์ในระบบไหลเวียนมีระดับที่ต่ำมาก ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ระดับ miR-122 ที่ตรวจพบในระบบไหลเวียนจะถูกปลดปล่อยจากตับ การศึกษาในหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะตับอักเสบจาก chlorobromomethane จะตรวจพบ miR-122 ในซีรั่มสูงจากค่าปกติถึง 6,000 เท่า ส่วนในสัตว์ทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ตับด้วยยาพาราเซตามอลแล้วเจาะเลือดวัดระดับเอนไซม์ตับ ALT, AST, TBIL และ miR-122 ที่เวลา 3, 6, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังได้รับยาพาราเซตามอลพบว่าระดับ miR-122 เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ 3 ชั่วโมงหลังการได้รับยา โดยระดับ miR-122 สูงขึ้นมากกว่า 23 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้ผลลบ แม้ที่ระยะเวลาดังกล่าว

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของเนื้อตับยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับที่เปลี่ยนแปลงจะพบได้อย่างชัดเจนที่ 24 ชั่วโมงภายหลังได้รับยาพาราเซตามอลซึ่งพบการตายของเซลล์ตับแบบ centrilobular necrosis และความรุนแรงของพยาธิสภาพต่อเซลล์ตับรุนแรงขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาภายหลังการได้รับยา ในขณะที่ระดับของ ALT, AST และ TBIL ไม่มีการเปลี่ยนแปลงและอยู่ในระดับปกติ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้ miR-122 เป็น biomarker สำหรับวินิจฉัยการบาดเจ็บหรือความเป็นพิษต่อตับที่เกิดจากยา การรักษาความเป็นพิษจากพาราเซตามอลจะใช้ *N*-acetylcysteine เป็นยาต้านพิษ ซึ่งยานี้มีประสิทธิภาพที่ดีในการลดความเป็นพิษจากพาราเซตามอลในช่วง 8-10 ชั่วโมงแรกของการได้รับยาเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นการตรวจพบการเปลี่ยนแปลงระดับของ miR-122 ภายในระยะที่เวลารวดเร็วจะช่วยในการวินิจฉัยและให้การรักษาผู้ที่เกิดความเป็นพิษจากยาได้ประสิทธิผลสูงสุด

สรุป

จากผลการศึกษาทั้งใน *in vitro* สัตว์ทดลองและในระดับคลินิกที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ miRNA ชนิดต่าง ๆ รวมถึง miR-122 ต่อการรักษาสมดุลสรีรวิทยาต่าง ๆ ภายในเซลล์ตับ เช่น ควบคุมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ การสร้างพลังงาน ควบคุมเมแทบอลิซึมของไขมัน ตลอดจนมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดพยาธิสภาพที่ตับทั้งภาวะไขมันพอกตับ การติดเชื้อไวรัส HBV, HCV และ HEV และการเกิดมะเร็งตับ ในกรณีของ HCV มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการให้สารหรือยาที่มีคุณสมบัติเป็น miR-122 inhibitor มีผลลดจำนวนและตรวจไม่พบไวรัสในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HCV เรื้อรังได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่พบอุบัติการณ์การดื้อยา ส่วนในกรณีของ HEV มีการศึกษาที่แสดงให้ถึงบทบาทของ miR-122 ที่มีผลต่อการจำลองแบบของไวรัสสายพันธุ์นี้เช่นเดียวกับ HCV และการให้ยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง miR-122 เช่น mirabirsen มีผลยับยั้งการจำลองแบบของไวรัส ดังนั้นยานี้จึงน่าจะให้ประโยชน์และประสิทธิผลที่ดีในการรักษา HEV เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามการรักษาไวรัสตับอักเสบด้วยการให้ miR-122 inhibitor มีข้อจำกัดในด้านการบริหารยาเข้าสู่ร่างกายด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ในขณะที่การรักษาในปัจจุบันด้วยยากลุ่ม DAAs มีความสะดวกในการบริหารยาเข้าสู่ร่างกายโดยให้ด้วยการรับประทานและเป็นกลุ่มยาที่ยังให้ประสิทธิผลที่ดีทั้งการลดจำนวนไวรัส ป้องกันการกลายพันธุ์และการดื้อยาของไวรัส ดังนั้นการพัฒนา miR-122 เพื่อเป็นเป้าหมายในการรักษา HCV, HEV และมะเร็งตับยังต้องมีการศึกษาเพื่อประเมินความคุ้มค่าและประสิทธิผลต่อไป ส่วนในกรณีของ HBV เนื่องจาก miR-122 มีบทบาทต่อวงจรชีวิตของ HBV โดยยับยั้งกระบวนการถอดแบบจำลองไวรัสซึ่งอาจเกิดผ่านการขจัด cccDNA ดังนั้นยาหรือสารที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มระดับหรือมีคุณสมบัติเป็น miR-122 mimic จึงมีประโยชน์และน่าจะให้ประสิทธิผลในการรักษาการติดเชื้อ HBV ได้ โดยกลไกที่แน่ชัดและประสิทธิผลในระดับคลินิกยังต้องมีการศึกษาเพื่ออธิบายต่อไป ซึ่งในปัจจุบันมี

การศึกษาในระดับคลินิกหลายการศึกษาที่มุ่งเน้นศึกษาประสิทธิผลและประเมินความเป็นไปได้ ที่จะพัฒนายาที่มีเป้าหมายการออกฤทธิ์ต่อ miR-122 ทั้งยาที่มีผลกดหรือเพิ่มการแสดงออก และยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง miR-122 สำหรับโรคหรือพยาธิสภาพที่ตับรูปแบบต่าง ๆ อย่างไรก็ตามข้อมูลการศึกษาในปัจจุบันยังขาดข้อมูลในระดับพรีคลินิกทางด้านการกำหนดขนาดหรือปริมาณที่เหมาะสมของยาหรือโมเลกุลที่มีเป้าหมายการออกฤทธิ์ต่อ miR-122 ที่ให้ประสิทธิผลในการรักษา รวมถึงข้อมูลที่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่อาจเกิดจากผลของยาหรือสารที่เปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของ miR-122 ทั้งการแสดงออกที่มากเกินหรือมีการขาดหายไปซึ่งอาจส่งผลให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาในการรักษาโรคหรือพยาธิสภาพที่ตับ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เพียงพอก่อนที่จะทำการศึกษาในระดับคลินิกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้นิพนธ์ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำในการจัดทำบทความปริทัศน์ครั้งนี้

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้นิพนธ์ขอยืนยันไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนใด ๆ

เอกสารอ้างอิง

1. Panyasai S. MicroRNA : Biosynthesis function and the important role in erythropoiesis. *J Med Tech Phy Ther* 2012; 24(3): 235-43.
2. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, *et al*. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol* 2018; 9: 1-12.
3. MacFarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: Biogenesis, function and role in cancer *Curr Genomics* 2010; 11: 537-61
4. Ha M, Kim NV. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 509-24.
5. miRBase. miRBase: the microRNA database. 2018; Available at https://www.mirbase.org/index.shtml, accessed on September 20, 2021
6. Chang J, Patrick Provost P, Taylor JM. Resistance of human hepatitis delta virus RNAs to Dicer activity. *J Virol* 2003; 77(22): 11910–17.
7. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, *et al*. Identification of tissue-specific micro RNAs from mouse. *Curr Biol* 2002; 12: 735–73.
8. Chang J, Nicolas E, Marks D, *et al*. miR-122, a mammalian liver-specific microRNA, is processed from hcr mRNA and may downregulate the high affinity cationic amino acid transporter CAT-1. *RNA Biol* 2004; 1(2): 106-113.
9. Jopling CL, Yi M, Lancaster AM. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* 2005; 2(309): 1577-81.
10. Girard M, Jacquemin E, Munnich A, *et al*. miR-122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver. *Hepatology* 2008; 48(4): 648-56.
11. Janssen HLA, Reesink HW, Lawitz EJ, *et al*. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med* 2013; 368(18): 1685-94.

12. Agostini M, Knight RA. miR-34: from bench to bedside. *Oncotarget* 2014; 5(4): 872-81.
13. Cermelli S, Ruggieri A, Marrero JA, *et al*. Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty fiver disease. *PLoS ONE* 2011; 6(8): e23937.
14. Sharapova T, Devanarayan V, LeRoy B, *et al*. Evaluation of miR-122 as a serum biomarker for hepatotoxicity in investigative rat toxicology studies. *Vet Pathol* 2016; 53(1): 211-21.
15. Starkey Lewis PJ, Dear J, Platt V, *et al*. Circulating microRNAs as potential markers of human drug-induced liver injury. *Hepatology* 2011; 54(5): 1767-76.
16. van der Meer AJ, Farid WRR, Sonneveld MJ, *et al*. Sensitive detection of hepatocellular injury in chronic hepatitis C patients with circulating hepatocyte-derived microRNA-122. *J Viral Hepat* 2013; 20(3): 158-66.
17. Thakral S, Ghoshal K. miR-122 is a unique molecule with great potential in diagnosis, prognosis of liver disease, and therapy both as miRNA mimic and antimir. *Curr Gene Ther* 2015; 15(2): 142-50.
18. Deng XG, Qiu RL, Wu YH, *et al*. Overexpression of miR-122 promotes the hepatic differentiation and maturation of mouse ESCs through a miR-122/FoxA1/HNF4a-positive feedback loop. *Liver Int* 2014; 34(2): 281-95.
19. Xu H, He JH, Xiao ZD, *et al*. Liver-enriched transcription factors regulate microRNA-122 that targets CUTL1 during liver development. *Hepatology* 2010; 52(4): 1431-42.
20. Laudadio I, Manfroid I, Achouri Y, *et al*. A feedback loop between the liver-enriched transcription factor network and mir-122 controls hepatocyte differentiation. *Gastroenterology* 2012; 142(1): 119-29.
21. Coulouarn C, Factor CVM, Andersen JB, *et al*. Loss of miR-122 expression in liver cancer correlates with suppression of the hepatic phenotype and gain of metastatic properties. *Oncogene* 2009; 28: 3526-36.
22. Esau C, Davis S, Murray SF, *et al*. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by *in vivo* antisense targeting. *Cell Metab* 2006; 3(2): 87-98.
23. Elmén J, Lindow M, Schütz S, *et al*. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature* 2008; 452: 896–99.
24. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, *et al*. Silencing of microRNAs *in vivo* with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438: 685–89.
25. Gatfield D, Martelot GL, Vejnar CE, *et al*. Integration of microRNA miR-122 in hepatic circadian gene expression. *Genes Dev* 2009; 23: 1313-26.
26. Elmén J, Lindow M, Silahtaroglu A, *et al*. Antagonism of microRNA-122 in mice by systemically administered LNA-antimiR leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. *Nucleic Acids Res* 2008; 36(4): 1153–62.
27. Moore KJ, Rayner KJ, Suárez Y, *et al*. microRNAs and cholesterol metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2010; 21(12): 699–706.
28. Norman KL, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance and the isoprenoid biosynthesis pathway by microRNA miR-122 involves distinct mechanisms. *J Virol* 2010; 84(1): 666–70.
29. Hsu SH, Wang B, Kota J, *et al*. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions

of miR-122 in liver. *J Clin Investig* 2012; 122(8): 2871-83.

30. Tsai WC, Hsu SD, Hsu CS, *et al*. MicroRNA-122 plays a critical role in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis. *J Clin Investig* 2012; 122(8): 2884-97.
31. Bai S, Nasser MW, Wang B, *et al*. MicroRNA-122 inhibits tumorigenic properties of hepatocellular carcinoma cells and sensitizes these cells to sorafenib. *J Biol Chem* 2009; 284(46): 32015-27.
32. Coulouarn C, Corlu A, Glaise D, *et al*. Hepatocyte-stellate cell cross-talk in the liver engenders a permissive inflammatory microenvironment that drives progression in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2012; 72(10): 2533-42.
33. Fornari F, Gramantieri L, Giovannini C, *et al*. MiR-122/cyclin G1 interaction modulates p53 activity and affects doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells. *Cancer Res* 2009; 69(14): 5761-67.
34. Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa K. Antitumor function of microRNA-122 against hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2014; 49(4): 589-93.
35. Nassirpour R, Mehta PP, Yin MJ. miR-122 regulates tumorigenesis in hepatocellular carcinoma by targeting AKT3. *PLoS ONE* 2013; 8(11): e79655.
36. Xu J, Zhu X, Wu L, *et al*. MicroRNA-122 suppresses cell proliferation and induces cell apoptosis in hepatocellular carcinoma by directly targeting Wnt/β-catenin pathway. *Liver Int* 2012; 32(5): 752-60.
37. Zeng C, Wang R, Li D, *et al*. A novel GSK-3 beta-C/EBP alpha-miR-122-insulin-like growth factor 1 receptor regulatory circuitry in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 52(5): 1702-12.
38. Xu Y, Xia F, Ma L, *et al*. MicroRNA-122 sensitizes HCC cancer cells to adriamycin and vincristine through modulating expression of MDR and inducing cell cycle arrest. *Cancer Lett* 2011; 310(2): 160-69.
39. Spaniel C, Honda M, Selitsky SR, *et al*. microRNA-122 abundance in hepatocellular carcinoma and non-tumor liver tissue from Japanese patients with persistent HCV versus HBV infection. *PLoS ONE* 2013; 8(10): e76867.
40. Varnholt H, Drebber U, Schulze F, *et al*. MicroRNA gene expression profile of hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47(4): 1223-32.
41. Baumert TF, Meredith L, Ni Y, *et al*. Entry of hepatitis B and C viruses-recent progress and future impact. *Curr Opin Virol* 2014; 4: 58-65.
42. Grimm D, Thimme R, Blum HE. HBV life cycle and novel drug targets. *Hepatol Int* 2011; 5(2): 644-53.
43. Lohmann V. Hepatitis C virus RNA replication. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 167-98.
44. Zeisel MB, Lupberger J, Fofana I. Host-targeting agents for prevention and treatment of chronic hepatitis C - perspectives and challenges. *J Hepatol* 2013; 58(2): 375-84.
45. Liu WH, Yeh SH, Chen PJ. Role of microRNAs in hepatitis B virus replication and pathogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1809(11-12): 678-85.
46. Shrivastava S, Mukherjee A, Ray RB. Hepatitis C virus infection, microRNA and liver disease progression. *World J Hepatol* 2013; 5(9): 479-86.
47. Chen Y, Shen A, Rider PJ, *et al*. A liver-specific microRNA binds to a highly conserved RNA

sequence of hepatitis B virus and negatively regulates viral gene expression and replication. *FASEB J* 2011; 25(12): 4511-21.

48. Murakami Y, Aly HH, Tajima A, *et al*. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a. *J Hepatol* 2009; 50: 453–60.
49. Zhang GL, Li YX, Zheng SQ, *et al*. Suppression of hepatitis B virus replication by microRNA-199a-3p and microRNA-210. *Antiviral Res* 2010; 8(2): 169-75.
50. Trépo C, Chan HYL, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014; 384(9959): 2053-63.
51. Fani M, Zandi M, Rezayi M, *et al*. The role of microRNAs in the viral infections. *Curr Pharm Des* 2018; 24(39): 4659-67.
52. Wang S, Qiu L, Yan X, *et al*. Loss of microRNA 122 expression in patients with hepatitis B enhances hepatitis B virus replication through cyclin G(1)-modulated P53 activity. *Hepatology* 2012; 55(3): 730-41.
53. Qiu L, Fan H, Jin W, *et al*. miR-122-induced down-regulation of HO-1 negatively affects miR-122-mediated suppression of HBV. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 398(4): 771-77.
54. Peng F, Xiao X, Jiang Y, *et al*. HBx down-regulated Gld2 plays a critical role in HBV-related dysregulation of miR-122. *PLoS ONE* 2014; 9(3): e92998.
55. Song K, Han C, Zhang J, *et al*. Epigenetic regulation of MicroRNA-122 by peroxisome proliferator activated receptor-gamma and hepatitis b virus X protein in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 2013; 58(5): 1681-92.
56. Fan CG, Wang CM, Tian C, *et al*. miR-122 inhibits viral replication and cell proliferation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma and targets NDRG3. *Oncol Rep* 2011; 26(5): 1281-86.
57. Li C, Wang Y, Wang S, *et al*. Hepatitis B virus mRNA-mediated miR-122 inhibition upregulates PTTG1 - binding protein, which promotes hepatocellular carcinoma tumor growth and cell invasion. *J Virol* 2013; 87(4): 2193-205.
58. Wen W, Ding J, Sun W, *et al*. Cyclin G1-mediated epithelial-mesenchymal transition via phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling facilitates liver cancer progression. *Hepatology* 2012; 55(6): 1787-98.
59. Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. 5 th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams, and Wilki, 2007: 1101-52.
60. Henke JI, Goergen D, Zheng J, *et al*. microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA. *EMBO J* 2008; 27: 3300–10.
61. Jangra RK, Yi M, Lemon SM. Regulation of hepatitis C virus translation and infectious virus production by the microRNA miR-122. *J Virol* 2010; 84(13): 6615-25.
62. Goergen D, Niepmann M. Stimulation of Hepatitis C Virus RNA translation by microRNA-122 occurs under different conditions *in vivo* and *in vitro*. *Virus Res* 2012; 167(2): 343-52.
63. Chang J, Guo J-T, Jiang D, *et al*. Liver-specific microRNA miR-122 enhances the replication of hepatitis C virus in nonhepatic cells. *J Virol* 2008; 82: 8215–23.
64. Costa DD, Turek M, Felmlee DJ, *et al*. Reconstitution of the entire hepatitis C virus life cycle in nonhepatic cells. *J Virol* 2012; 86: 11919–25.

65. Fukuhara T, Kambara H, Shiokawa M, *et al*. Expression of microRNA miR-122 facilitates an efficient replication in nonhepatic cells upon infection with hepatitis C virus. *J Virol* 2012; 86(15): 7918-33.
66. Hueging K, Doepke M, Vieyres G, *et al*. Apolipoprotein E codetermines tissue tropism of hepatitis C virus and is crucial for viral cell-to-cell transmission by contributing to a postenvelopment step of assembly. *J Virol* 2014; 88: 1433–46.
67. Kambara H, Fukuhara T, Shiokawa M, *et al*. Establishment of a novel permissive cell line for the propagation of hepatitis C virus by expression of microRNA miR122. *J Virol* 2012; 86: 1382–93.
68. Hou W, Bukong TN, Kodys K, *et al*. Alcohol facilitates HCV RNA replication via up-regulation of miR-122 expression and inhibition of cyclin G1 in human hepatoma cells. *Alcohol Clin Exp Res* 2013; 37: 599–608.
69. Shan Y, Zheng J, Lambrecht RW, *et al*. Reciprocal effects of micro-RNA-122 on expression of heme oxygenase-1 and hepatitis C virus genes in human hepatocytes. *Gastroenterology* 2007; 133: 1166–74.
70. Estrabaud E, Lapalus M, Broët P, *et al*. Reduction of microRNA 122 expression in IFNL3 CT/TT carriers and during progression of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Virol* 2014; 88: 6394–402.
71. Kamo Y, Ichikawa T, Miyaaki H, *et al*. Significance of miRNA-122 in chronic hepatitis C patients with serotype 1 on interferon therapy. *Hepatol Res* 2015; 45: 88–96.
72. Sarasin-Filipowicz M, Krol J, Markiewicz I, *et al*. Decreased levels of microRNA miR-122 in individuals with hepatitis C responding poorly to interferon therapy. *Nat Med* 2009; 15: 31-33.
73. Su TH, Liu CH, Liu CJ, *et al*. Serum microRNA-122 level correlates with virologic responses to pegylated interferon therapy in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 7844–49.
74. Köberle V, Waidmann O, Kronenberger B, *et al*. Serum microRNA-122 kinetics in patients with chronic hepatitis C virus infection during antiviral therapy. *J Viral Hepat* 2013; 20: 530-35.
75. Hildebrandt-Eriksen ES, Aarup V, Persson R, *et al*. A locked nucleic acid oligonucleotide targeting microRNA 122 is well-tolerated in cynomolgus monkeys. *Nucleic Acid Ther* 2012; 22: 152-61.
76. Janssen HLA, Reesink HW, Lawitz EJ, *et al*. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med* 2013; 368: 1685–94.
77. Chung RT, Baumert TF. Curing chronic hepatitis C – The arc of a medical triumph. *N Engl J Med* 2014; 370: 1576–78.
78. Haldipur B, Bhukya PL, Arankalle V. Positive regulation of hepatitis E virus replication by microRNA-122. *J Virol* 2018; 92: e01999-17.
79. Liu Y, Li P, Liu L, *et al*. The diagnostic role of miR-122 in drug-induced liver injury. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(49): e13478.
80. Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, *et al*. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut* 2017; 66: 1154–64.
81. Padda MS, Sanchez M, Akhtar AJ, *et al*. Drug-induced cholestasis. *Hepatol* 2011; 53: 1377–87.
82. Re 3rd VL, Haynes K, Forde KA, *et al*. Risk of acute liver failure in patients with drug-induced liver injury: evaluation of Hy's law and a new

prognostic model. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 2360–68.

83. Hayashi PH, Rockey DC, Fontana RJ, *et al*. Death and liver transplantation within 2 years of onset of drug-induced liver injury. *Hepatol* 2017; 66: 1275–85.
84. Nathwani RA, Pais S, Reynolds TB, *et al*. Serum alanine aminotransferase in skeletal muscle diseases. *Hepatol* 2005; 41: 380–82.
85. Church RJ, Watkins PB. The transformation in biomarker detection and management of drug-induced liver injury. *Liver Int* 2017; 37(1582–90).
86. Bandiera S, Pfeffer S, Baumert TF. miR-122 – A key factor and therapeutic target in liver disease. *Hepatology* 2015; 62: 448–57.