

几种新型小分子核糖核酸与类风湿性关节炎关系的研究进展

任丹阳*,李惠英,韩慧韵,孙建明*(昆明医科大学附属儿童医院,昆明 650034)

中图分类号 R969;R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)29-2774-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.29.30

摘要 目的:为临床治疗类风湿性关节炎(RA)提供思路和参考。方法:以“小分子核糖核酸”“类风湿性关节炎”“microRNAs”“miRNAs”等为关键词,组合查询2006—2013年万方数据库和PubMed数据库中有关小分子核糖核酸(miRNAs或miRNAs)和RA的研究文献,对miRNAs在RA中的研究进展进行综述。结果与结论:共查询到文献130篇,其中有效文献29篇。共有11种miRNAs和RA关系的研究,包括miRNA-221/222、miRNA-323-3p、miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-223、miRNA-24、miRNA-26a、miRNA-125a-5p、miRNA-18a、miRNA-34a、miRNA-203等。其在人RA或动物RA模型的滑膜组织或滑膜细胞中均有不同程度的表达;加强对miRNAs与RA关系的研究,对明确RA的发病机制具有重要意义,同时也可临床提供治疗或诊断的潜在靶点。

关键词 小分子核糖核酸;类风湿性关节炎;免疫系统;成纤维滑膜细胞;治疗靶点

类风湿性关节炎(RA)是一种累及多关节的以关节滑膜炎为主要病变的免疫性疾病,其发病机制至今尚不清楚。RA的特点主要是滑膜组织的激活和增殖以及在与骨和软骨连接处的关节滑膜中形成破坏性的血管翳。近几年来,小分子核糖核酸(miRNAs或miRNAs)与RA的关系被国内外专家所重视,并逐渐成为热点。

miRNAs是一类单链的、长度为18~24碱基的、小的非编码RNA分子,其不能有效使用一种后转录方式调节目标基因的表达,但能与靶向信使核糖核酸(mRNA)的3'-非翻译区(UTR)结合,导致翻译抑制或影响mRNA的稳定^[1]。依靠靶向mRNA和miRNA之间的基本配对,miRNA或分裂mRNA(完全的配对)或抑制翻译(不完全的配对)。尽管一些方法被用来预测潜在的mRNA靶点,但几种miRNAs已被确证指向特定的mRNA。本文以“小分子核糖核酸”“类风湿性关节炎”“microRNAs”“miRNAs”等为关键词,组合查询2006—2013年万方数据库和PubMed数据库中有关miRNAs和RA的研究文献,对miRNAs与RA关系的研究进展进行综述。结果共查询到文献130篇,其中有效29篇,现报道如下。

1 miRNAs与RA的关系

miRNAs已被筛选出多种,但近年来,国内外学者主要对

miRNA-221/222、miRNA-323-3p、miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-223、miRNA-24、miRNA-26a、miRNA-125a-5p、miRNA-18a、miRNA-34a、miRNA-203等与RA的关系进行了研究。

1.1 miRNA-221/222和miRNA-323-3p

滑膜细胞是使人类RA病理发生改变的关键细胞。Pandis I等^[2]研究显示,肿瘤坏死因子(TNF)转基因小鼠模型与正常对照组小鼠比较,转基因小鼠滑膜细胞的病理学发生了完全改变。通过比较鼠和人的关节剖面,专家发现二者有重叠区域,更重要的是明确了miRNA-221/222、miRNA-323-3p与RA滑膜细胞的关系。其中,在人的RA滑膜细胞中,miRNA-323-3p的表达是上调的,这一作用表明miRNA-323-3p和RA关系的密切性居于首位。更明显的是,miRNA-323-3p可加速Wnt通路的激活。此外,miRNA-323-3p的过量表达会导致β-连环蛋白、杆菌肽的负调节基因的表达水平降低,其原因可能是miRNA-323-3p调节钙黏蛋白信号通路。在各种人肿瘤和RA滑膜细胞中,miRNA-221/222是一种明确过量表达的miRNAs集簇,通过促进细胞增殖、抑制凋亡、加速细胞融合,可调节癌细胞的致癌改变^[3-4]。

1.2 miRNA-146a

在胶原诱导的大鼠关节炎模型中,体外外源性双带miR-

[8] Kim SW, Lee DG, Choi SM, et al. Once-daily gentamicin administration for community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in an in vitro pharmacodynamic model: preliminary reports for the advantages for optimizing pharmacodynamic index[J]. *Yonsei Med J*, 2010, 51(5):722.

[9] Louie A, Deziel MR, Liu W, et al. Impact of resistance selection and mutant growth fitness on the relative efficacies of streptomycin and levofloxacin for plague therapy [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(8):2 661.

[10] Gumbo T, Louie A, Deziel MR, et al. Pharmacodynamic evidence that ciprofloxacin failure against tuberculosis is not due to poor microbial kill but to rapid emergence of re-

sistance[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(8): 3 178.

[11] Drusano GL, Sgambati N, Eichas A, et al. Effect of administration of moxifloxacin plus rifampin against *Mycobacterium tuberculosis* for 7 of 7 days versus 5 of 7 days in an in vitro pharmacodynamic system[J]. *MBio*, 2011, doi:10.1128/mBio.00108-11.

[12] Louie A, Heine HS, VanScoy B, et al. Use of an in vitro pharmacodynamic model to derive a moxifloxacin regimen that optimizes kill of *Yersinia pestis* and prevents emergence of resistance[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(2):822.

[13] Louie A, VanScoy BD, Brown DL, et al. Impact of spores on the comparative efficacies of five antibiotics for treatment of *Bacillus anthracis* in an in vitro hollow fiber pharmacodynamic model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(3):1 229.

(收稿日期:2014-04-08 修回日期:2014-05-29)

* 药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0871-63306254。E-mail:rendy007@126.com

副主任药师。研究方向:临床药学、药事管理。电话:0871-63306254。E-mail:sjmz2@163.com

NA-146a 给药后,通过部分抑制骨诱裂的发生会使骨侵蚀率下降^[6]。有专家采用实时荧光聚合酶链反应(RT-PCR)法,对70例RA患者、45例骨关节炎(OA)患者和60例健康对照者的外周血巨噬细胞中miRNA-146a的表达进行了研究。结果表明,miRNA-146a在RA患者中的表达比在OA患者和正常对照组患者中高,且TNF- α 在RA患者中的表达和miRNA-146a的表达同步,其可能是疾病活性的潜在标志^[6]。有专家将RA患者分成活动组、缓解组及健康对照组进行研究,结果表明RA患者外周血中miRNA-146a和miRNA-16表达上调,其表达水平与RA病情活动情况相关。提示miRNA-146a和miRNA-16的检测可作为RA病情活动的判断指标,同时其表达和红细胞沉降率、C反应蛋白有关^[7]。在外周血巨噬细胞^[8]、滑膜细胞液^[9]中,miRNA-146a表达上调,在人RA滑膜细胞被TNF- α 和白细胞介素(IL)-1 β 刺激后,miRNA-146a的表达也升高^[10]。目前已明确,miRNA-146a有两个靶向基因:TNF受体相关因子6(TRAF-6)和IL-1受体相关激酶1(IRAK-1)。其中,IRAK-1上3'端的多态性已被研究和RA易感性有关^[11]。相反,在RA患者和对照组之间,TRAF-6和IRAK-1表达水平相似,抑制TRAF-6和IRAK-1会导致TNF- α 的产生降低86%^[12],通过解除TRAF-6/IRAK-1的表达,提高miRNA-146a的表达会延长TNF- α 的合成。因此,这些发现表明,在RA中miRNA-146a可能是一个生物标记和潜在的治疗靶点。

1.3 miRNA-155

miRNA-155编码于21位染色体,在许多自身免疫性疾病中都有表达,如多发性硬化(MS)症、佐剂性关节炎及系统性红斑狼疮等。而且,其主要是靶向miRNAs免疫细胞的潜在调节者。由于免疫细胞在人自身免疫疾病机制中具有重要作用,因此miRNA-155可能是一个比较好的治疗靶点^[13]。miRNAs可调节免疫炎症反应,因此炎症可能会改变RA患者膝关节中miRNA的表达水平。在炎症期间,上调Toll样受体(TLRs)可能会影响miRNA通路。RT-PCR法和微点阵分析法表明,12种miRNAs中可与之相比较的就包括miRNA-155^[14]。由TNF- α 处理的RA滑膜细胞的微点阵分析表明,同OA相比,miRNA-155的表达大幅度上调。研究也表明,miRNA-155的表达可能是由TNF- α 、IL-1、脂多糖(LPS)、细菌脂蛋白等诱导的。在RA滑膜细胞中,miRNA-155的表达比在OA滑膜细胞中高。Leng RX等^[15]研究发现,如果在RA患者滑膜细胞中miRNA-155高表达,那么其可能会通过TLR的配体和细胞因子抑制基质金属蛋白酶3(MMP-3)和MMP-1,导致关节组织被破坏。而且,另一项研究也发现,RA患者的外周血单核细胞中,miRNA-155的表达比在正常患者的外周血单核细胞中高^[16]。在RA滑膜巨噬细胞中,miRNA-155高表达,前炎性细胞因子IL-6和TNF- α 的表达上调。在敲除miRNA-155的大鼠中,TNF- α 和其他炎症趋化因子低表达,因此在RA中miRNA-155可能是一个较好的治疗靶点。有研究报道,在胶原诱导的关节炎和细胞因子趋化的关节炎中,miRNA-155的表达较高。因此,在RA中,异常的细胞因子表达可能是由于靶向miRNA-155被敲除的原因。体外实验及小鼠RA模型的研究,也证实了抑制miRNA-155可能会有助于治疗RA^[17]。

1.4 miRNA-223

miRNAs不仅参与脊椎动物和无脊椎动物的发育和内环境稳定,而且在人类疾病中也起着重要作用,如肿瘤、白血病和病毒感染等^[18-19]。Sugatani T等^[20]报道,miRNA-223在小鼠单核细胞RAW 264.7中,小鼠骨关节母体细胞系中均有表达,并且在骨关节分化中起重要作用。在该项研究中,miRNA-223的过表达可完全抑制RAW 264.7细胞的骨诱裂发生。还有研究指出,RA中的软骨和骨破坏可能通过调节miRNA-223

受到抑制^[21]。同OA滑膜组织相比较,miRNA-223在RA滑膜组织中高表达,尤其是可能在患有急性严重性滑膜炎和骨破坏患者的滑膜组织中,miRNA-223有更高的表达。

1.5 miRNA-24, miRNA-26a和 miRNA-125a-5p

研究表明,miRNA-24和miRNA-125a-5p与疾病有关,miRNA-26a在前列腺癌、脑出血患者血浆中的表达失调^[22]。经多变量对数回归分析显示,血浆中miRNA-24和miRNA-125a-5p的浓度变化会加大确诊RA的可能性。由此可见,miRNA-24和miRNA-125a-5p是治疗RA潜在的诊断标志物。然而,miRNA-26a在血浆中的浓度变化和RA的关系不紧密,但在急、慢性炎症性疾病患者的血浆中,miRNA-26a的表达水平失调^[23]。

1.6 miRNA-18a

长期以来,miRNA17-92集簇一直被认为是一种致癌的miRNA集簇,其在多数肿瘤疾病中都有研究。miRNA-18a是miRNA17-92集簇的一员,研究表明其可抑制肿瘤细胞的增殖。而RA和肿瘤的发病机制相似,属细胞增殖致病、细胞凋亡治病,因此miRNA-18a和RA可能有一定的相关性。Trenkmann M等^[24]报道表明,用一种细胞核因子(NF)- κ B依赖的方法,TNF- α 可诱导RA成纤维细胞中miRNA17-92的表达。用miRNA17-92中单个成员的母体分子转染RA成纤维细胞,表明其可增大转染的miRNA-18a的表达水平,在NF- κ B通路中,通过一种正反馈回路有助于关节的软骨破坏和慢性炎症。

1.7 miRNA-34a

miRNA-34a已被报道其有抑制细胞增殖的可能性,在调节细胞循环从G₁期到S期转换中扮有重要角色。miRNA-34a也可被p53诱导,导致细胞凋亡或细胞周期停滞。一些研究表明,通过miRNA-34a定向锁定的核苷酸类似物,沉默miRNA-34a可能会导致细胞凋亡^[25]。由此,在体外大鼠OA模型中,通过miRNA-34a定向锁定的核苷酸类似物反义引物,沉默miRNA-34a对IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡有作用^[26]。Fabienne N等^[27]研究表明,miRNA-34a在RA患者滑膜细胞比在OA患者中表达低,其原因可能是该基因对凋亡细胞和明确的X结合的凋亡蛋白抑制剂(XIAP)起的作用。也就是说,成纤维滑膜细胞中miRNA-34a的低表达和XIAP的高表达有关。

1.8 miRNA-203

在多种恶性肿瘤疾病中,已经明确miRNA-203呈现病理学表达。然而,其表达水平比正常组织高,在一些恶性肿瘤中,miRNA-203的表达水平是下调的,这表明其通过肿瘤抑制剂起作用^[28]。基于以上的研究基础,有专家研究了其在RA中的表达情况。在RA成纤维滑膜细胞中,miRNA-203的表达水平比在OA和健康人对照组中的高。miRNA-203的水平并不是依赖于IL-1 β 、TNF- α 和LPS的刺激而改变,而是用含有5-氮胞苷的DNA脱甲基化来增强miRNA-203的表达。更重要的是,通过NF- κ B通路,miRNA-203的高表达会引起MMP-1和IL-6的大量分泌,有助于RA成纤维滑膜细胞表型的激活^[29]。

2 结语

miRNAs是基因表达的微调节者。从RA动物模型实验和RA患者病例的研究中发现,几种miRNAs在RA和其他自身免疫性疾病中均有表达。大量的体外试验研究显示,炎症部位的免疫细胞的变化有助于RA的病理生理学研究。从不同的病理学角度分析,抑制miRNAs过表达或恢复沉默的miRNAs可能是潜在的治疗点。虽然导致miRNAs表达发生变化的机制尚不清楚,但是在RA患者的关节中大量表达的前炎性细胞因子可有效刺激这些miRNAs的表达。由此,滑膜细胞长期接触炎性部位可能会逐渐改变miRNAs的表达,这可能也是临床治疗的一个思路。总之,随着人们对miRNAs及其在RA

中的研究不断深入,未来 miRNAs 必将为临床上 RA 诊断、治疗及预后判断提供新的方法,使 RA 发病机制更加明确,同时也可能为临床提供更有价值的治疗靶点。

参考文献

- [1] Díaz-Prado S, Claudia C, Emma ML, *et al.* Characterization of microRNA expression profiles in normal and osteoarthritic human chondrocytes[J]. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2012, doi:10.1186/1471-2474-13-144.
- [2] Pandis I, Ospelt C, Karagianni N, *et al.* Identification of microRNA-221/222 and microRNA-323-3p association with rheumatoid arthritis via predictions using the human tumour necrosis factor transgenic mouse model[J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71(10):1 716.
- [3] Garofalo M, Di Leva G, Romano G, *et al.* MiR-221&222 regulate TRAIL resistance and enhance tumorigenicity through PTEN and TIMP3 downregulation[J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(6):498.
- [4] Pundt N, Peters MA, Wunrau C, *et al.* Susceptibility of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts to FasL-and TRAIL-induced apoptosis is cell cycle-dependent[J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(1):R16.
- [5] Xu WD, Lu MM, Pan HF, *et al.* Association of MicroRNA-146a with autoimmune diseases[J]. *Inflammation*, 2012, 35(4):1 525.
- [6] Abou-Zeid A, Saad M, Soliman E. MicroRNA 146a expression in rheumatoid arthritis: association with tumor necrosis factor-alpha and disease activity[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2011, 15(11):807.
- [7] 冯知涛,李娟,任洁,等.类风湿关节炎患者外周血 MiR-146a 及 MiR-16 的表达及与病情活动的相关性研究[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(2):320.
- [8] Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, *et al.* MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2010, doi:10.1186/1471-2474-11-209.
- [9] Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, *et al.* Expression of microRNA-146a in rheumatoid arthritis synovial tissue[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(5):1 284.
- [10] Li J, Wan Y, Guo Q, *et al.* Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD4⁺T cells from patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(3):R81.
- [11] Chatzikiriakidou A, Voulgari PV, Georgiou I, *et al.* Apolymorphism in the 3c-UTR of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK1), a target gene of miR-146a, is associated with rheumatoid arthritis susceptibility[J]. *Joint Bone Spine*, 2010, 77(5):411.
- [12] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, *et al.* NF-kappaB dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(33):12 481.
- [13] Blüml S, Binder NB, Niederreiter B, *et al.* Antiinflammatory effects of tumor necrosis factor on hematopoietic cells in a murine model of erosive arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(6):1 608.
- [14] Armaka M, Apostolaki M, Jacques P, *et al.* Mesenchymal cell targeting by TNF as a common pathogenic principle in chronic inflammatory joint and intestinal diseases[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(2):331.
- [15] Leng RX, Pan HF, Qin WZ, *et al.* Role of microRNA-155 in autoimmunity[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011, 22(3):141.
- [16] Xie YF, Shu R, Jiang SY, *et al.* Comparison of microRNA profiles of human periodontal diseased and healthy gingival tissues[J]. *Int J Oral Sci*, 2011, 3(3):125.
- [17] Chang S. MicroRNA-155 (miR-155) [J]. *SciBX*, 2011, 4(39):1 085.
- [18] Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, *et al.* MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2005, 53(17):1 793.
- [19] Lecellier CH, Dunoyer P, Arar K, *et al.* A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells[J]. *Science*, 2005, 308(5 721):557.
- [20] Sugatani T, Hruska KA. MicroRNA-223 is a key factor in osteoclast differentiation[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 101(4):996.
- [21] Shibuya H, Nakasa T, Adachi N, *et al.* Overexpression of microRNA-223 in rheumatoid arthritis synovium controls osteoclast differentiation[J]. *Mod Rheumatol*, 2013, 23(4):674.
- [22] Wu L, Zhou H, Lin H, *et al.* Circulating microRNAs are elevated in plasma from severe preeclamptic pregnancies [J]. *Reproduction*, 2012, 143(3):389.
- [23] Murata K, Furu M, Yoshitomi H, *et al.* Comprehensive microRNA analysis identifies miR-24 and miR-125a-5p as plasma biomarkers for rheumatoid arthritis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):69 118.
- [24] Trenkmann M, Brock M, Gay RE, *et al.* Tumor necrosis factor α -induced microRNA-18a activates rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through a feedback loop in NF- κ B signaling[J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(4):916.
- [25] Raver-Shapira N, Marciano E, Meiri E, *et al.* Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis[J]. *Mol Cell*, 2007, 26(5):731.
- [26] Abouheif MM, Nakasa T, Shibuya H, *et al.* Silencing microRNA-34a inhibits chondrocyte apoptosis in a rat osteoarthritis model in vitro[J]. *Rheumatology: Oxford*, 2010, 49(11):2 054.
- [27] Fabienne N, Michelle T, Caroline O, *et al.* Down-regulation of microRNA-34a in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts promotes apoptosis resistance[J]. *Arthritis Rheumatism*, 2012, 64(6):1 771.
- [28] Greither T, Grochola LF, Udelnow A, *et al.* Elevated expression of microRNAs 155, 203, 210 and 222 in pancreatic tumors is associated with poor survival[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(1):73.
- [29] Joanna S, Caroline O, Emmanuel K, *et al.* Altered expression of microRNA-203 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and its role in fibroblast activation[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(2):373.

(收稿日期:2013-09-02 修回日期:2013-12-06)