

• 综 述 •

微小 RNA 与类风湿关节炎*

沈素晶¹综述, 黄宪章^{2△}, 庄俊华²审核

(1. 广东省第二中医院检验科, 广州 510095; 2. 广东省中医院检验医学部, 广州 510120)

关键词:微小 RNA; 类风湿关节炎; 免疫系统疾病

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 20. 034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2711-02

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一种起转录后负调控的分子, 参与生命过程中一系列重要进程, 包括发育进程、造血过程、器官形成、凋亡、细胞增殖和肿瘤的发生。作为一组新的潜在的疾病诊断和治疗的靶分子, 已成为了生物医学研究的前沿热点。生物信息学预测显示, 在哺乳动物中, miRNA 虽然占不到 2% 蛋白编码基因, 却可以调控 1/3 的 mRNAs。miRNA 可以调控人类 60% 的蛋白编码基因, 表明其功能强大^[1]。

1 miRNA 与免疫系统疾病

miRNA 广泛参与调控细胞基本的生物学功能, 在免疫系统也发挥重要调节作用, 它能够调控多种免疫过程, 包括粒细胞生成、T 细胞和 B 细胞的成熟与分化、抗原呈递、Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 信号级联和 T 细胞受体信号等。miRNA-181a 是第一个被发现在免疫细胞生长发育中有调节作用的 miRNA, 它在胸腺中的表达远远高于其他脏器。miRNA-181a 的表达可以促进 CD19⁺ B 细胞的生长而抑制 CD8⁺ T 细胞的生长, 还可以通过调节 T 细胞受体 (TCR) 的信号转导影响 T 细胞对抗原的敏感性。Xiao 等^[2] 研究发现, miRNA-181a 在较成熟的 T 细胞, 尤其是双阳性 T 细胞表达较高, 这些成熟 T 细胞的 miRNA-181a 通过靶向作用于 SHP2、FINN22、DUSP5、DUSP6 等多种磷酸酶从而增强 T 细胞受体的敏感性。在人类 B 细胞淋巴瘤组织有高表达的 miR-155; 在 miR-155 转基因鼠中, B 细胞出现了恶变^[3], 这些均提示 miR-155 可能参与调节了 B 细胞的增殖和分化。对于 miR-155 基因敲除鼠, 因其原始 B 细胞数目减少从而导致无法对原始刺激做出正常的免疫应答。另有研究已经证实, miR-155 对于 CD4⁺ Treg 细胞的增殖分化是必需的。由此可见, miR-155 不仅对 B 细胞的增殖分化起了重要的调节作用, 对 T 细胞也是如此。另有研究表明 miRNA-223 可以调节粒细胞生成^[4], 体内实验也证明了 miRNA 与固有免疫的关系。这些都暗示 miRNA 可能参与炎症或自身免疫病的发病过程。

2 miRNA 与类风湿关节炎

类风湿关节炎是一种滑膜组织的慢性炎症病变, 可导致软骨和骨头的不可逆性的损害。但类风湿关节炎发病机制及其与 miRNA 的关系都没有完全阐明。但已有针对类风湿关节炎发生、发展中 miRNA 变化的研究, 异常表达的几个 miRNA 已经被检测出来。到目前为止已报道了至少 10 种 miRNA 在类风湿关节炎中异常表达 (miRNA-16、miRNA-124a、miRNA-132、miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-203 miRNA-223、miRNA-346、miRNA-363、miRNA-498)。

2.1 miRNA-146a 与类风湿关节炎 miRNA-146 前体经加工

后有两种形式: miR-146a 和 miR-146b。类风湿关节炎患者的滑膜组织的成熟 miRNA-146a 和初 miRNA-146a/b 的表达量明显高于骨关节炎 (OA) 患者和健康人。经原位杂交实验显示, miR-146a 在类风湿关节炎滑膜组织的表面和衬里层表达。同时在体外培养的类风湿关节炎 SFs 中 miR-146a/b 经 TNF- α 和 IL-1 刺激后明显上调。尹志华等^[5] 应用实时定量 PCR 检测发现 miR-146a 在类风湿关节炎患者外周血单个核细胞 (PBMC) 和血浆中的表达水平高于对照组。而 miR-146a 在类风湿关节炎高活动组的 PBMC 和血浆中水平与低活动组相比, 前者无差异而后者明显升高。因此表明, 血浆中 miR-146a 比 PBMC 中能更好地作为类风湿关节炎的生物标记物。肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 和白细胞介素 1 β 受体关联激酶 1 (IRAK-1) 是 miRNA-146a 两个公认的靶分子^[6]。在类风湿关节炎患者外周血中, 类风湿关节炎患者 miRNA-146a 的表达水平是对照组的 2.6 倍, 但两组靶分子 TRAF6 和 IRAK-1 表达水平相近。当人为地抑制 THP-1 细胞系 (急性单核细胞性白血病细胞) 中这两个靶分子时, TNF- α 分泌量减少 86%, 类风湿关节炎患者体内上调的 miRNA-146a 却不能抑制两个靶分子的水平。由此推测, 类风湿关节炎中 miRNA-146a 功能缺陷是导致 TNF- α 在患者体内持续表达的重要原因。

2.2 miRNA-155 与类风湿关节炎 miR-155 位于 bic 基因中, 它是进化上序列保守的非编码 RNA。在正常情况下, miR-155 在人的 T 细胞、B 细胞、单核细胞和内皮细胞中表达, 调控着人体的免疫系统; 在病理状态下和各种癌细胞和肿瘤细胞密切相关。Stanczyk 等^[7] 用 TNF- α 、IL-1、LPS 等刺激体外培养的类风湿关节炎滑膜成纤维细胞 (RASFs), 发现 miR-155 在 RASFs 中的表达量是外周血单核细胞的 4.4 倍, 并且以 TNF- α 刺激效果最强。于萍等^[8] 发现类风湿关节炎患者滑膜成纤维细胞中 miR-155 的表达明显高于 OA 组; 而且 miR-155 可抑制 RASFs MMP-3 的分泌、细胞增殖和侵袭能力。因此认为 miR-155 可以通过减少 MMP-3 的分泌来抑制 RASFs 增殖和降低侵袭能力。还有研究发现 miR-155 还可以通过细胞因子和 TLR 配基减弱 MMP-1 和 MMP-3 的致炎作用。因此可以认为 miR-155 在 RASFs 是个保护性 miRNA。到目前为止, 血管紧张素 II 是 miR-155 唯一一个确定的靶基因, 但它是否直接作用于 MMP-1 和 MMP-3 的转录还需要探讨。因此 miR-155 在类风湿关节炎中均有高表达而且与类风湿关节炎中细胞增殖和侵袭密切相关, 这也为 miR-155 在治疗类风湿关节炎提供了有前景的治疗方向。

2.3 miRNA-124a 与类风湿关节炎 miRNA-124a 是一个进

* 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (S2011010004750)。
作者, E-mail: huangxz020@163.com。

作者简介: 沈素晶, 女, 检验技师, 主要从事生化检验工作。 △ 通讯作

化保守而古老的小分子,它的表达具有严格的组织特异性。在非神经组织中,miRNA-124a 是抑制元素 1-沉默转录因子 (REST) 的靶基因。Nakamachi 等^[9] 研究发现,miRNA-124a 在类风湿关节炎患者的滑膜细胞的表达量是 OA 患者的 1/6,为此推断低水平 miRNA-124a 的对滑膜细胞的增生,趋化因子和血管生成素的分泌有重要的影响。经转染前体 miRNA-124a 到类风湿关节炎患者滑膜细胞,细胞被严重抑制,并停留在细胞周期的 G1 期。他们还发现 miRNA-124a 可以抑制 CDK-2 和 MCP-1 (单核细胞趋化蛋白 1) 的分泌,并确证了 miRNA-124a 是直接结合在 CDK-2 和 MCP-1 的 mRNA 的 3' UTR 发挥抑制作用的。miRNA-124a 是一个与增生紧密相关的 miRNA,并发现很多肿瘤细胞中的 miRNA-124a 是因为甲基化被沉默表达的。因此,进一步研究甲基化的 miRNA-124a 在类风湿关节炎发病中的作用可能为类风湿关节炎的发病机理提供新的思路。

2.4 miRNA-132 与类风湿关节炎 近来已经有学者发现血清 miRNA-132 有望成为类风湿关节炎的诊断标志物。通过对比各种 miRNA 的在类风湿关节炎,OA 和健康组的含量发现,OA 患者滑膜液的 miRNA 主要来自滑膜组织分泌,而类风湿关节炎则来自滑膜组织和渗透进关节腔的细胞。因此组织液 miRNA 含量的变化可以反映关节的受损情况。此外,类风湿关节炎和 OA 患者血清中 miR-132 均低于健康对照组,类风湿关节炎患者血浆 miR-132 以 67.8 pmol/L 为阈值,其诊断的敏感度和特异度分别为 83.8% 和 80.7%,而 OA 患者则以 67.1 pmol/L,其诊断的敏感度和特异度分别为 84.0% 和 81.2%,两者的 ROC 曲线下面积均大于 0.90,具有比较可信的诊断价值。

2.5 miRNA-16 与类风湿关节炎 孙寅^[10] 检测类风湿关节炎中 miRNA-16 在血浆、PBMC 和关节滑液中的表达发现,miRNA-16 的表达水平由高到低分别是血浆,关节滑液和 PBMC。因此推断类风湿关节炎患者血浆和关节滑液中有可能存在不同的 miRNA 表达谱。与 OA 患者相比,miRNA-16 在类风湿关节炎患者关节滑液中的表达水平显著升高。由此可见,类风湿关节炎患者关节滑液 miRNA-16 的过度表达可能与局部炎症刺激有很大关系。检测 miR-16 在关节滑液中的表达可为临床对类风湿关节炎与 OA 进行鉴别诊断以及深入探索类风湿关节炎的发病机制提供了新的思路。

2.6 其他 miRNA 分子与类风湿关节炎 除了上述几种主要的 miRNA 分子外,类风湿关节炎中其他的 miRNA 分子也发挥着相当的作用,Alsaleh 等^[11] 发现 miRNA-346 在类风湿关节炎的成纤维样滑膜细胞中表达增加,并且可以通过负性调节促炎性细胞因子 IL-18 的释放,进而参与类风湿关节炎的发生和发展。Fulci 等^[12] 发现类风湿关节炎患者外周血初始 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-223 呈持续表达状态,而健康人外周血初始 CD4⁺ T 细胞即使在抗 CD3/CD28 抗体刺激下仍不表达 miRNA-223,提示 miRNA-223 的异常与类风湿关节炎发病可能相关,而非 T 细胞激活的结果。Li 等^[13] 研究发现,在类风湿关节炎患者外周血和关节滑液 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-363 表达下调,在关节滑液 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-498 表达上调,但两者对类风湿关节炎中 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、干扰素 γ 和 TNF- α 等细胞因子的产生水平并无相关性。因此,miRNA-363 和 miRNA-498 异常表达在类风湿关节炎中的作用有待进一步研究。

3 结 语

作为新的特异性基因调节小分子,miRNA 不仅有助于阐

明类风湿关节炎的发病机制,在类风湿关节炎的临床诊断和治疗上也无疑将具有重要的应用前景。首先,由于 miRNA 在不同类风湿关节炎中的特异表达模式,将有可能以 miRNA 作为类风湿关节炎的新的生物标记或诊断指标;其次,由于单个 miRNA 具有多个 mRNA 靶点,而多个 miRNA 又可协同调控某一共同的通路,可以针对疾病的某一特定通路寻找更为有效的干预方法。由于 miRNA 数量众多,具有广泛的生物学作用,目前的研究仅是冰山一角。miRNA 在类风湿关节炎中还有很多新的作用尚待发现,明确 miRNA 的靶基因及其对靶基因的作用机制可以帮助人们更加深入地了解类风湿关节炎的发病机制,使其作为新的诊断标志和治疗靶点应用于临床。

参考文献

- [1] Friedman RC, Farh KK, Burge BC, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs[J]. *Genome Res*, 2009, 19(1): 92-105.
- [2] Xiao C, Calado DP, Galler G, et al. MiR-150 controls B cell differentiation by targeting the transcription factor c-Myb[J]. *Cell*, 2007, 131(1): 146-159.
- [3] Fukao T, Fukuda Y, Kiga K, et al. An evolutionarily conserved mechanism for microRNA-223 expression revealed by microRNA gene profiling[J]. *Cell*, 2007, 129(3): 617-631.
- [4] Sonkoly E, Wei T, Janson PC, et al. MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? [J]. *PLoS One*, 2007, 2(7): e610.
- [5] 尹志华,叶志中,孙华麟,等. 类风湿关节炎患者外周血单个核细胞和血浆中 miR-155 和 miR-146a 的表达[J]. *中华风湿病学杂志*, 2012, 16(9): 620-624.
- [6] 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 U S A*, 2006, 103(33): 12481-12486.
- [7] Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4): 1001-1009.
- [8] 于萍,龙丽,王世瑶,等. MiR-155 在类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中的表达及功能研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2010, 14(7): 460-463.
- [9] Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(5): 1294-1304.
- [10] 孙寅. miRNA-16 在类风湿关节炎患者血浆和关节液中的表达及临床意义[D]. 石家庄:河北医科大学, 2012.
- [11] Alsaleh G, Suffert G, Semaan N, et al. Bruton's tyrosine kinase is involved in miR-346-related regulation of IL-18 release by lipopolysaccharide-activated rheumatoid fibroblast-like synoviocytes[J]. *J Immunol*, 2009, 182(8): 5088-5097.
- [12] Fulci V, Scappucci G, Sebastiani GD, et al. miR-223 is overexpressed in t-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis[J]. *Hum Immunol*, 2010, 71(2): 206-211.
- [13] 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.