

miRNA 在自身免疫病中对趋化作用调控的研究进展

金书欣, 陈广洁

(上海交通大学医学院 免疫学与微生物学系, 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要: miRNA 是一类分子长度为 20~24 个核苷酸的微小 RNA, 通常在转录后水平调控靶基因的降解或抑制翻译。趋化因子是具有趋化吸引性的蛋白质, 而免疫细胞可以表达不同的趋化因子受体, 因此趋化因子能够吸引免疫细胞到达炎症部位, 参与自身免疫病的发生和发展。越来越多的证据显示 miRNA 在自身免疫病中发挥重要作用, 文章将对目前已知的 miRNA 在自身免疫病中对趋化作用的调控的研究进展作一综述。

关键词: 微小 RNA; 趋化因子; 自身免疫病

中图分类号: R392.11

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)03-0226-05

1993 年 Lee 在研究秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)时发现了第一个 miRNA lin-4, miRNA lin-4 不编码蛋白, 而是以不完全互补的方式与其靶基因 mRNA lin-14 的 3'端的特定区域相互作用来抑制靶基因的表达, 最终导致 lin-14 蛋白合成减少, 以此调控着线虫的发育。至今, 越来越多的 miRNA 被发现, miRNA 的调控作用也受到更多关注。成熟的 miRNA 是一种长度为 20~24 个核苷酸的微小 RNA, 是进化过程中相对保守的非编码 RNA, 通常在转录后水平调控靶基因的降解或抑制翻译。

自身免疫病是由于自身抗体和(或)自身反应性 T 细胞攻击自身抗原, 进而造成组织和细胞的病理改变和功能障碍。组织局部免疫细胞浸润是自身免疫病的典型病理特征之一, 这一病理现象与趋化因子的作用密切相关。趋化因子能够吸引表达趋化因子受体的免疫细胞, 在炎症部位造成炎症细胞的大量浸润, 进而影响疾病的发生发展。

近年来研究发现 miRNA 影响趋化因子或趋化因子受体的表达, 表明 miRNA 能够对趋化作用进行调控, 从而对自身免疫病的发生发展起到一定的调控作用。

1 miRNA

1.1 miRNA 的合成 成熟的 miRNA 是一种长度

为 20~24 个核苷酸的微小 RNA, 是在进化中相对保守的非编码 RNA。miRNA 主要通过 RNA 聚合酶从内源的 miRNA 基因组 DNA 转录而来, 形成双链的原 miRNA(pri-miRNA), 然后转录形成的 pri-miRNA 在细胞核内被核糖核酸酶 Drosha 和 RNA 结合蛋白 DGCR8 切成长度大约 70 nt 的前体 miRNA(pre-miRNA)。pre-miRNA 再与核输出蛋白 Exportin 5 结合, 然后一起出核进入细胞质中^[1]。在细胞质中, pre-miRNA 被核糖核酸酶 Dicer 切成由正义链和反义链结合在一起的双链 miRNA^[2], 而其中一条链会被 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)催化组分 AGO1 所识别, 并进入由多种蛋白形成的 RISC 中^[3], 成为成熟的 miRNA 并发挥功能。

1.2 miRNA 的作用机制 在与 RISC 结合的成熟 miRNA 的引导下, RISC 会结合到特定的 mRNA 上, 从而使相应蛋白表达水平下降。miRNA 负向调控蛋白表达的机制主要分为两种: 一种是匹配度较低的 miRNA 结合到 mRNA 上, 使 RISC 长期停留在 mRNA 上阻碍核糖体的翻译; 另一种是匹配度较高的 miRNA 结合到 mRNA 上, 加速 mRNA 的脱帽和脱腺苷化, 使 mRNA 迅速被降解^[4]。

2 趋化因子和趋化因子受体

2.1 趋化因子 趋化因子是一组小相对分子质量(8 000~12 000)蛋白质, 属细胞因子家族中唯一作用于 G 蛋白偶联受体超家族的成员。趋化因子直接参与与白细胞特别是吞噬细胞和淋巴细胞的游走和活化, 激活炎症反应并在其中起核心作用。

收稿日期: 2017-09-16

基金项目: 国家自然科学基金(81373208; 81771731)

作者简介: 金书欣(1994—), 女, 硕士生, 主要从事免疫调节与自身免疫病研究

通信作者: 陈广洁(E-mail: guangjie_chen@163.com)

趋化因子的结构中有4个保守的半胱氨酸残基(C)。从N端算起,第1、3个半胱氨酸之间和第2、4个半胱氨酸之间各形成一个二硫键,这有利于空间结构的形成。根据前两个半胱氨酸(第1和第2)在氨基酸序列中的位置,把趋化因子分为4种类型,即CC(β -趋化因子)、CXC(α -趋化因子)、XC(δ -趋化因子)、CX3C(γ -趋化因子)^[5-6]。

2.2 趋化因子受体 趋化因子受体属7次跨膜受体家族,因配体的种类不同而相应地分成4组,即CCR、CXCR、XCR和CX3CR^[5-6]。

3 miRNA在自身免疫病中对趋化作用的调控

自身免疫病的炎症部位常常有大量炎性细胞的浸润,这一现象是免疫细胞受到趋化因子作用的结果。已有多项研究表明,miRNA在多种自身免疫病中均明显表现出对趋化作用的调控^[7]。

3.1 RA RA是以慢性进行性关节滑膜以及关节软骨损坏为特征的炎症性自身免疫性疾病,多种炎性细胞浸润到关节滑膜中是RA的显著病理特点之一。

已有研究发现在RA中,miR-155能够通过调节趋化因子和趋化因子受体的表达来调控单核细胞的迁移^[8]。CCL3、CCL4、CCL5和CCL8对免疫细胞有趋化吸引力,能招募白细胞到炎症部位。CCR2与CCL2结合后特异性介导单核细胞的趋化,参与单核细胞在炎症部位的浸润。CCR7与CCL19、CCL21结合,活化B细胞和T细胞,刺激DC的成熟,参与T细胞到外周淋巴器官的归巢和运输。Elmesmari等^[9]研究指出miR-155在单核细胞中的拷贝数与RA活动度的临床指标之间存在很强的相关性,miR-155在RA患者中表达升高,刺激CCL3、CCL4、CCL5和CCL8的产生,上调CCR7的表达,下调CCR2的表达。因此,miR-155通过控制趋化因子的产生和促炎性趋化因子受体的表达来调控RA患者关节滑膜中炎性细胞的招募和滞留。

miR-23a可调控细胞的新陈代谢和癌症的发展。Hu等^[10]研究发现miR-23a在RA患者的关节软骨组织中表达下调,其表达与IKK- α 的表达呈负相关,进一步研究发现IKK- α 是miR-23a的直接靶基因。miR-23a通过靶向IKK- α 抑制IL-17诱导的NF- κ B的激活和几种促炎症介质的表达,如IL-6、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattrac-

tant protein 1, MCP-1)和基质金属蛋白酶3(matrix metalloproteinase 3, MMP-3),MCP-1也被命名为CCL2,MMP-3则直接破坏紧密连接,可增加血脑屏障、血脊髓屏障的通透性,增加炎症部位浸润的中性粒细胞数量。因此miR-23a可作为RA治疗的一个潜在靶点。

miR-221是一种在肿瘤中调控细胞增殖、侵袭和凋亡的miRNA。Yang等^[11]发现在RA患者的血清和滑膜组织中miR-221的表达比健康人高,下调miR-221的表达可显著抑制趋化因子CXCL16的表达,并且抑制VEGF、MMP-3和MMP-9的表达。CXCL16可趋化T细胞、NK细胞的迁移。MMP-3可能是MMP-9最有效的激活剂,MMP-9可趋化中性粒细胞的迁移。因此,miR-221可通过上述机制来抑制关节滑膜中成纤维样滑膜细胞的增殖和侵袭,可为RA的治疗提供靶点。

目前已知RA患者的滑膜成纤维细胞、外周血中单核细胞和T细胞中表达发生改变的miRNA有miR-155、miR-23a、miR-23b、miR-221、miR-146a、miR-16、miR-203、miR-124a、miR-346、miR-223和miR-34a等^[11]。因此,抑制过表达的miRNA或者通过恢复沉默的miRNA来重构表达可作为RA的治疗策略,miRNA有望为RA的预防、诊断和治疗提供靶点。

3.2 SLE SLE是一种复杂的异质性自身免疫病,以出现多种自身抗体为特征。SLE患者血清中出现的大量自身抗体说明自身反应性B细胞的存在和活化,B细胞的活化和存活有赖于T细胞的调节,自身反应性B细胞的增殖与T细胞的异常激活有关。

在SLE患者中,Zhao等^[12]发现miR-125a的表达降低,其靶基因KLF13的表达升高。将miR-125a导入来自SLE患者的T细胞中能够降低KLF13的表达,从而缓解表达升高的调节活化正常T细胞表达与分化的趋化因子(regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted, RANTES)。RANTES为CC亚家族趋化因子,也被命名为CCL5,它继而减弱对T细胞的激活作用。这一研究结果提示miR-125a参与SLE的发病,并可作为潜在的治疗靶点。

Dominguezgutierrez等^[13]研究发现,与健康人相比,SLE患者的CCL2、CXCL10和STAT1的水平均显著升高,但SLE患者的miR-146a水平与健

康人相比没有显著差异。已有研究发现 IFN- α 在 SLE 的病理机制中有启动和维持作用, 所以只有在 IFN- α 升高的 SLE 患者中 miR-146a 水平才有显著升高。根据 SLE 患者和健康人的 PBMC 中 STAT1 mRNA 表达水平将人群分成高 STAT1 组和低 STAT1 组, 高 STAT1 患者表现出比低 STAT1 患者更高的 CCL2 和 CXCL10 水平。CXCL10 能趋化免疫细胞, 促进 T 细胞对内皮细胞的黏附。该研究还发现 STAT1 在 SLE 发病机制中的新角色, 提示 STAT1 可作为 CCL2 和 CXCL10 的增强子, 另 STAT1 水平升高可能反映了 SLE 患者治疗的耐药性^[14]。

3.3 多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) MS 作为神经炎症性疾病的一种, 目前认为白细胞黏附到血脑屏障的主要成分——大脑内皮细胞, 是参与神经炎症发病机制的关键步骤^[7, 15]。白细胞的黏附主要受到选择素、细胞黏附分子和 TNF- α 、IFN- γ 等促炎因子诱导的趋化因子的介导^[16], 但对这一过程的调控作用尚未完全清楚。

在正常情况下大脑内皮细胞表达 2 种 miRNA, miR-126 和 miR-126*, 它们能调控白细胞稳固黏附到大脑内皮的抗剪切力。Cerutti 等^[17]研究发现在 TNF- α 和 IFN- γ 的作用下 miR-126 和 miR-126* 在人大脑内皮细胞系 hCMEC/D3 中表达下调, 增强了单核细胞和 T 细胞对大脑内皮的黏附, 这可能与 miR-126 和 miR-126* 表达下调增加及黏附相关的 E-选择素、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1) 和 CCL2 的表达有关。VCAM1 介导免疫细胞对血管内皮的黏附, 而 E-选择素招募白细胞到达炎症部位。因此, 大脑内皮细胞的 miR-126 和 miR-126* 有望作为减轻白细胞黏附进而减轻神经炎症的治疗靶点。

角质细胞趋化因子 (keratinocyte chemoattractant, KC), 也被命名为 CXCL1, 能与 CXCR2 结合, 趋化中性粒细胞。已有研究发现 CXCL1 能够缓解 MS 的疾病严重程度, 具有神经保护功能。Zhu 等^[18]研究发现, 在 SLE 患者、RA 患者以及 SLE、RA、MS 小鼠模型的炎症损伤部位均发现 miR-23b 表达的下调及 KC 表达的升高, 另炎症部位浸润的免疫细胞数量增加。miR-23b 通过靶向 TAB2、TAB3 和 IKK- α 抑制促炎细胞因子诱导的 NF- κ B 的激活和炎性细胞因子的表达, 从而抑制

自身免疫性炎症。因此, miR-23b 可作为自身免疫病的一个常见治疗靶点。

3.4 银屑病 银屑病是多基因遗传背景下的自身免疫性疾病, 其发病机制复杂, 组织病理学表现为角质细胞过度增殖、原位自身反应性 T 细胞增加、皮损处炎性细胞浸润以及多种细胞因子表达增加等。目前已知 miR-203、miR-21、miR-155、miR-31、miR-142、miR-223 和 miR-146 在银屑病患者中表达异常^[19]。miRNA 能够通过微调细胞因子、趋化因子、抗菌肽和黏附分子的表达水平来调控角质细胞和免疫细胞之间的交流。

miR-31 在银屑病患者角质细胞中显著过表达, 而特异性地抑制 miR-31 可以抑制人类原代角质细胞中 CXCL1、CXCL5、CXCL8 的相关表达。CXCL1、CXCL5、CXCL8 均与 CXCR2 结合, 趋化和活化中性粒细胞。干扰内源性的 miR-31 可以削弱角质细胞激活内皮细胞和吸引白细胞的能力。miR-31 通过调控 NF- κ B 信号通路和炎性介质的产生来调控皮肤中免疫细胞的招募和滞留。Xu 等^[20]研究发现在角质细胞中丝氨酸/苏氨酸激酶 40 (STK40) 是 miR-31 的直接靶基因。因此, miR-31 有望成为银屑病的潜在治疗靶点。

3.5 重症肌无力 (myasthenia gravis, MG) MG 是一种神经-肌肉接头传递功能障碍的自身免疫性疾病, 其发病与自身抗体、T 细胞异常激活、细胞因子和趋化因子异常表达等因素有关。

Liu 等^[21]研究发现在 MG 患者的 PBMC 中所有的 miR-15 簇 (miR-15a, miR-15b, miR-16) 的表达较健康人均显著降低, 其中 miR-15a 在眼肌型重症肌无力 (ocular myasthenia gravis, oMG) 患者中较全身型重症肌无力 (general myasthenia gravis, gMG) 患者中有显著降低。在 MG 患者中 CXCL10 的表达升高, CXCL10 与 CXCR3 结合, 可趋化免疫细胞, 促进 T 细胞对内皮细胞的黏附。进一步研究发现 CXCL10 是 miR-15a 的一个功能性靶基因, 因此 MG 中低表达的 miR-15a 会异常激活免疫应答, 而提高 miR-15a 的表达能够降低 CXCL10 的蛋白表达水平并且在免疫应答中改善 T 细胞激活的异常状态。在 MG 患者的胸腺中, CXCL10 和它的受体 CXCR3 的 mRNA 表达上调, CXCR3 的水平在 MG 患者的 PBMC 和 CD4⁺ T 细胞中以及在实验性自身免疫性重症肌无力 (experimental autoimmune myasthenia gravis, EAMG)

模型的淋巴结细胞中表达上调,抑制 CXCL10 和 CXCR3 能够抑制 EAMG 的发展。另外在器官特异性的自身免疫病如 1 型糖尿病、甲状腺功能亢进和 SLE 患者的血清或组织中也发现 CXCL10 的表达升高。因此,miR-15a 可作为 MG 及其他疾病治疗的一个潜在靶点。

3.6 CD CD 是 2 种主要炎症性肠病亚型中的一种。在众多致病因素中,结肠组织中趋化因子表达升高、大量炎性细胞浸润到结肠的炎症部位是 CD 的发病机制中非常重要的一个因素。近年来发现 miRNA 的功能紊乱在炎症性肠病的发生发展中起到重要作用。

Huang 等^[22]研究发现,在 CD 患者和结肠炎小鼠的结肠病灶处的上皮细胞中 miR-141 和 CXCL12 β /总 CXCL12 呈负相关,miR-141 水平下调而 CXCL12 表达升高,同时 CXCL12 的受体 CXCR4 的表达升高。CXCL12 与 CXCR4 结合,介导单核细胞和 T 细胞的迁移。进一步研究发现 miR-141 直接调控 CXCL12 β 的表达,而 CXCL12 β 介导白细胞的迁移,上述研究提示 miR-141 靶向 CXCL12 β 的通路是结肠炎症进程中炎性细胞迁移、免疫细胞浸润而参与肠道黏膜炎症的潜在机制。研究还发现 miR-146a 和 miR-139-5p 也能够调控 CXCR4 的表达。

Cheng 等^[23]研究发现在 CD 患者中 miR-19b 显著下调,miR-19b 和细胞因子信号转导抑制因子 3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)的蛋白水平呈负相关,SOCS3 表达升高而巨噬细胞炎性蛋白 3 α (macrophage inflammatory protein 3 α , MIP-3 α)的表达减少。MIP-3 α , 也被命名为 CCL20,与 CCR6 结合,趋化淋巴细胞和中性粒细胞。已知 EAE 中,CCL20 表达升高,趋化 CD4⁺ T 细胞进入中枢神经系统。因此,该研究指明在肠道上皮细胞中 miR-19b 通过抑制 SOCS3 的表达来调控趋化因子的产生进而抑制炎症反应,miR-19b 也可作为 CD 的治疗提供靶点。

3.7 1 型 DM 1 型 DM 是自身免疫反应损伤胰岛 β 细胞所造成的疾病,患者胰岛内有大量淋巴细胞浸润,患者体内可测到抗胰岛素和抗胰岛 β 细胞的自身抗体。

已知 CCR7 涉及免疫耐受的控制,缺乏 CCR7 的小鼠 Treg 显著减少,自身反应性 T 细胞增多。在 1 型 DM 中,外周的自身反应性 CD4⁺ 和 CD8⁺

T 细胞成为胰腺浸润 T 淋巴细胞导致胰岛炎进而损伤胰岛 β 细胞。Fornari 等^[24]研究发现在 NOD 小鼠中,miR-202-3p 表达升高而 CCR7 表达下降,miR-202-3p 靶向调控 CCR7 mRNA。因此,miR-202-3p 可能会是治疗 1 型 DM 的潜在靶点。

4 结语

自发现 miRNA 起,其一直是科学领域的研究焦点,miRNA 作为基因的调控者控制很多信号通路,趋化因子和趋化因子受体在多种疾病的发生发展过程中均起到非常重要的作用,因此研究 miRNA 对趋化作用的调控可以为多种疾病提供潜在的治疗靶点^[25]。随着生物信息学和 miRNA 基因芯片技术的发展,未来的研究将不仅仅局限于 miRNA 本身,更要着眼于 miRNA 靶基因的鉴定和功能分析,以更深入透彻地探究相关分子机制,为疾病的诊断和治疗提供更为可靠的理论基础。

参考文献

- [1] Lund E, Güttinger S, Calado A, *et al.* Nuclear export of microRNA precursors[J]. *Science*, 2004, 303(5654): 95-98.
- [2] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, *et al.* Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference[J]. *Nature*, 2001, 409: 363-366.
- [3] Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, *et al.* Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex[J]. *Cell*, 2003, 115(2): 199-208.
- [4] Ballarín M, Pagano F, Girardi E, *et al.* Coupled RNA processing and transcription of intergenic primary microRNAs[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(20): 5632-5638.
- [5] Cascieri MA, Springer MS. The chemokine/chemokine-receptor family: Potential and progress for therapeutic intervention[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2000, 4(4): 420-427.
- [6] Nd CK, Hromas R. Chemokine regulation of normal and pathologic immune responses[J]. *Stem Cells*, 2001, 19(5): 388-396.
- [7] Gueraudearellano M, Smith KM, Godlewski J, *et al.* MicroRNA dysregulation in multiple sclerosis favours pro-inflammatory T-cell-mediated autoimmunity[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 12): 3578-3589.
- [8] O'Connell RM, Kahn D, Gibson WS, *et al.* MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development[J]. *Immunity*, 2010, 33(4): 607-619.
- [9] Elmesmari A, Fraser AR, Wood C, *et al.* MicroRNA-155 regulates monocyte chemokine and chemokine receptor expression in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2016, 55(11): 2056-2065.
- [10] Hu J, Zhai C, Hu J, *et al.* MiR-23a inhibited IL-17-mediated

- proinflammatory mediators expression via targeting IKK α in articular chondrocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 43: 1-6.
- [11] Yang S, Yang Y. Downregulation of microRNA221 decreases migration and invasion in fibroblast like synoviocytes in rheumatoid arthritis[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2395-2401.
- [12] Zhao X, Tang Y, Qu B, *et al.* MicroRNA-125a contributes to elevated inflammatory chemokine RANTES levels via targeting KLF13 in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(11): 3425-3435.
- [13] Dominguezgutierrez PR, Ceribelli A, Satoh M, *et al.* Elevated signal transducers and activators of transcription 1 correlates with increased C-C motif chemokine ligand 2 and C-X-C motif chemokine 10 levels in peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(1): R20.
- [14] Dominguezgutierrez PR, Ceribelli A, Satoh M, *et al.* Reduced levels of CCL2 and CXCL10 in systemic lupus erythematosus patients under treatment with prednisone, mycophenolate mofetil, or hydroxychloroquine, except in a high STAT1 subset[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(1): R23.
- [15] Cheng W, Chen G. Chemokines and chemokine receptors in multiple sclerosis[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014(23): 659206.
- [16] Fischer HJ, Schweingruber N, Lühder F, *et al.* The potential role of T cell migration and chemotaxis as targets of glucocorticoids in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 380(1-2): 99-107.
- [17] Cerutti C, Edwards LJ, de Vries HE, *et al.* MiR-126 and miR-126* regulate shear-resistant firm leukocyte adhesion to human brain endothelium[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45284.
- [18] Zhu S, Pan W, Song XY, *et al.* The microRNA miR-23b suppresses IL-17-associated autoimmune inflammation by targeting TAB2, TAB3 and IKK- α [J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1077-1086.
- [19] Pivarsci A, Stähle M, Sonkoly E. Genetic polymorphisms altering microRNA activity in psoriasis-a key to solve the puzzle of missing heritability? [J]. *Exp Dermatol*, 2014, 23(9): 620-624.
- [20] Xu N, Meisgen F, Butler LM, *et al.* MicroRNA-31 is over-expressed in psoriasis and modulates inflammatory cytokine and chemokine production in keratinocytes via targeting serine/threonine kinase 40[J]. *J Immunol*, 2013, 190(2): 678-688.
- [21] Liu XF, Wang RQ, Hu B, *et al.* MicroRNA miR-15a contributes abnormal immune response in myasthenia gravis by targeting CXCL10[J]. *Clin Immunol*, 2016, 164: 106-113.
- [22] Huang Z, Shi T, Zhou Q, *et al.* MiR-141 regulates colonic leukocytic trafficking by targeting CXCL12 β during murine colitis and human Crohn's disease[J]. *Gut*, 2014, 63(8): 1247-1257.
- [23] Cheng X, Zhang X, Su J, *et al.* MiR-19b downregulates intestinal SOCS3 to reduce intestinal inflammation in Crohn's disease[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10397.
- [24] Fornari TA, Donate PB, Assis AF, *et al.* Comprehensive survey of miRNA-mRNA interactions reveals that Ccr7 and Cd247 (CD3 zeta) are posttranscriptionally controlled in pancreas infiltrating T lymphocytes of non-obese diabetic (NOD) mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142688.
- [25] Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases[J]. *Transl Res*, 2011, 157(4): 163-179.