

MicroRNA 与慢性鼻-鼻窦炎发病机制的研究进展*

叶好¹ 罗庆¹ 余杰情¹ 张剑^{1△}

[关键词] 鼻窦炎; MicroRNA; 发病机制

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.03.021

[中图分类号] R765.4 [文献标志码] A

Research advance of microRNA in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis

Summary Chronic rhinosinusitis (CRS) is a Common disease of otorhinolaryngology head and neck surgery, manifested as nasal-sinus mucosal chronic inflammation. However, the pathogenesis of CRS is not clear. There are studies found that microRNA (miRNA) involved in CRS gene regulation. In this review, we summarize the expression of miRNAs in CRS, with the in-depth study of the role of miRNAs in CRS, and will further elucidate the pathogenesis of CRS.

Key words sinusitis; MicroRNA; pathogenesis

MicroRNA(miRNA)是长度为18~22个核苷酸的非编码单链RNA分子,它广泛存在于真核细胞生物中,其介导靶基因转录后的基因沉默^[1]。慢性鼻-鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)的特征是以鼻和鼻窦黏膜炎症为特征的一组病症,其发病机制仍未完全阐明^[2]。目前有研究发现 miRNA 与炎症性疾病的发生发展相关,其中也参与了 CRS 患者的基因调控作用。本文就 CRS 中 miRNA 的表达和功能做一综述。

1 MiRNA 的合成、作用机制及功能

MicroRNA(miRNA)一般来源于染色体的非编码区域,由大约 70 nt 大小的可形成发夹结构的前体加工而来,通过与靶 mRNA 互补配对而在转录水平上对基因的表达进行负调控,通常结合到 mRNA 分子上导致 mRNA 的翻译抑制或降解,发挥重要的基因调控作用,是在真核生物中发现的一类具有调控功能的非编码 RNA^[3-4]。

成熟 miRNA 有 2 个来源^[5],一个是成熟 miRNAs 来源于前体 miRNA,它们由特定的 miRNA 在基因编码区的 RNA 聚合酶 II 或 III 转录。在细胞核中,初级 miRNA 经 Drosha(RNase III 家族的核酸酶)和其辅助因子 DGCR-8 形成的复合体进行处理, pri-miRNA 去除帽子和尾巴结构,形成一个长约 70 个核苷酸、具有发夹结构的前体 miRNA (pre-miRNA);另外一个就是来源于蛋白质编码基因的内含子,由前体 mRNA 产生,然后在没有 Drosha 参与的情况下剪接酶和套索脱支酶脱支产生前体 miRNAs。无论是哪种来源,前体 miRNAs 均需要转运到胞质由 Dicer 剪切形成成熟的 miR-

NAs,其中成熟的 miRNAs 通过与一种类似 RISC (RNA 诱导沉默复合物)的核糖核蛋白结合形成 miRNP,识别靶基因从而发挥生物功能^[6]。在哺乳动物中,成熟 miRNAs(种子序列)的 5' 端可通过至少 6~8 个核苷酸长的互补序列结合其靶 mRNA 的 3' 非翻译区(3'-UTR)^[6]。这种相互作用能够抑制靶基因表达,通过 mRNA 的降解或翻译起始的抑制,或两者,这取决于互补性的水平^[7]。作为基因表达的微调调节因子,miRNA 表达具有空间和时间上的特异性,是快速而有效的重要调控分子,miRNA 虽然微小,但它在真核生物发育和基因表达中通过与靶 mRNA 形成完全或不完全互补配对从而参与不同的生物过程,包括细胞增殖、凋亡、分裂和分化,器官发育,代谢,应激反应和信号转导等各种过程^[8-9]。

人类各种疾病,如癌症、皮肤炎症、肠道疾病、类风湿性关节炎及哮喘已经显示了 miRNAs 的失调表达^[10]。新的研究证据表明 miRNA 参与上呼吸道炎症的形成^[10]。虽然已经检测 miRNA 在各种疾病中的功能,但是需要更多的研究和信息来更好地了解它们在很大规模上的作用^[11]。各种 miRNA 的表达水平在不同的疾病中不同,miRNA 的表达谱可能更好地用于诊断,正如最近的研究所示,miRNA 也可以用作药物反应的预测因子^[11]。miRNA 的失调通常导致细胞功能的受损以及下游基因的调控,上调或下调某些基因和信号传导级联的干扰,可表明其在发病机制中的作用^[12]。因此 miRNA 分子可以在早期提供一些有价值的疾病信息,预防疾病的发展。

2 CRS 中 miRNA 的相关性研究

2.1 CRS 中相关 miRNA 的表达情况

CRS 可能对 miRNA 调节特别敏感,已经有研究证实了在 CRS 患者的鼻窦黏膜中基因表达的显著变化^[13]。李芳梅等^[14]研究表明,鼻腔黏膜差异

* 基金项目:国家自然科学基金(No:816601170);江西省教育厅青年项目(No:GJJ160247)

¹ 南昌大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科(南昌,330006)

[△] 审校者

通信作者:张剑, E-mail: zhangjian115123@126.com

表达的 miRNA 与不伴息肉的慢性鼻窦炎(CRSsNP)和伴息肉的慢性鼻窦炎(CRSwNP)的炎症相关^[14]。还有研究使用微阵列分析的方法,首先鉴定了 CRSsNP 和嗜酸粒细胞 CRSwNP(Eos CRSwNP)中的 miRNA 表达谱,并发现 CRSsNP 和 Eos CRSwNP 之间的有不同表达谱^[15]。Ma 等^[16]研究表明与正常对照组比较,过敏因素引起的 CRS 患者的树突状细胞(DCs)具有不同的 miRNA 差异表达。因此,不同类型及不同病因引起的 CRS 中 miRNA 表达谱有差异。

2.1.1 CRSsNP 和 CRSwNP 中 miRNA 的表达

根据 2012 年欧洲 CRS 及鼻息肉诊断与治疗指南(EPOS 2012)^[17],依据鼻息肉的存在或不存在,CRS 分为 CRSwNP 和 CRSsNP 两大类。张心浩^[18]通过微阵列分析鉴定的方法,检测出在 CRSsNP 中,有 4 种 miRNA 表达上调,23 种 miRNA 表达下调;鼻息肉组织中,有 7 种 miRNA 表达上调,69 种 miRNA 表达下调;且表明 miRNA-125b 在鼻息肉中表达明显上调,可能与鼻息肉的发生发展有关。Xia 等(2014)研究发现在所有 CRS 患者中,miR-125b、miR-155 和 miR-146a 均升高,而 miR-92a、miR-26b 和 miR-181b 下调,未发现 miR-124 表达水平有显著变化;在鼻息肉患者中 miR-92a、miR-26b、miR-181b 下调,而 miR-146a 和 miR-124 表达谱在鼻息肉标本中没有显著变化。最近研究结果表明^[19],在鼻息肉组中 DCs 的 miR-19a 水平明显上调,miR-17, miR-18a, miR-19b, miR-20a, miR-92a 水平与正常对照组相比差异无统计学意义。Ma 等^[20]研究采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 CRS DCs 中 miR-150-5p 的表达上调。

2.1.2 Eos CRSwNP 和非 Eos CRSwNP 中 miRNA 的表达 为了研究方便,人们根据嗜酸粒细胞浸润程度,将 CRSwNP 分为 Eos CRSwNP 和非 Eos CRSwNP(Non-Eos CRSwNP)。Eos CRSwNP 患者预后较差,手术效果亦欠佳,其发病机制研究显得尤为重要^[17]。Zhang 等^[15]确定了中国成年人 CRSsNP 和 Eos CRSwNP 中不同的 miRNA 表达谱,突出了 miRNA 在 CRS 中的参与,与对照组相比,在 Eos CRSwNP 中 31 种 miRNA(30 个下调和 1 个上调的 miRNA)表达有差异,并鉴定了 CRSsNP 中 4 种差异表达的 miRNA(2 种下调和 2 种上调 miRNA)。选择了在 CRSsNP 和 Eos CRSwNP 中具有不同表达模式的 4 种 miRNA(miR-155, let-7a, miR-26a 和 miR-125b)并通过定量 RT-PCR 检测了同一组鼻窦黏膜样品中的 mRNA 表达水平,通过微阵列分析测定显示,在鼻腔黏膜中几乎检测不到 miR-155 的表达,CRSsNP 和 Eos CRSwNP 中 miR-26a 表达下调,miR-125b 上

调,而 let-7a 仅在 Eos CRSwNP 中下调^[15]。

2.1.3 特应性 CRSwNP 与非特应性 CRSwNP 中 miRNA 的表达 根据 EPOS 2012^[17],CRS 的病因包括过敏、哮喘、阿司匹林不耐受、遗传、微生物、环境因素等。过敏是引起 CRS 的主要的病因,依据病史确认有无过敏、皮肤点刺及血清中变应原特殊 IgE 检测结果,将 CRSwNP 划分为特应性 CRSwNP 与非特应性 CRSwNP。Ma 等^[16]用 miRNA 微阵列分析鉴定的研究方法显示,在 3 组 CRS(CRSsNP,特应性 CRSwNP,非特应性 CRSwNP)患者中共有 31 种常见 miRNA 变化,在这 31 种 miRNA 中,5 种(miR-210-3P, miR-708-5P, miR-126-3P, miR-150-5P 和 miR-125b-5P)miRNA 上调,25 种 miRNA 在所有 3 种类型的 CRS 中都下调,而 MiR-1290 在 CRSsNP 中下调,但在特应性 CRSwNP 和非特应性 CRSwNP 中都上调。综上所述表明不同病因引起的及不同亚型的 CRS 与 miRNA 的表达失调有密切的关系。

2.2 miRNA 在 CRS 中的发病作用研究

Zhang 等^[21]研究发现 miRNA 机制蛋白在不同类型 CRS 中的表达有差异,在对照组、CRSsNP、Eos CRSwNP、Non-Eos CRSwNP 四组中,miRNA 机制相关蛋白(Drosha、Dicer、PACT、TRBP、FXR1、EIF2C2)在人的鼻黏膜中的表达只有 PACT(干扰素诱导双链 RNA 依赖的激活剂)的表达有差异性,与对照组和 CRSsNP 相比,CRSwNP 中 PACT 蛋白表达也有显著上调,Eos CRSwNP 中表达进一步增加,推断 PACT 蛋白表达与疾病严重程度和嗜酸粒细胞浸润相关。miRNA 机制相关蛋白失调引起 miRNAs 的表达和功能异常,可知 miRNA 表达失调与 CRSwNP 之间有密切联系。研究表明^[16]miRNAs 可以调控 DCs 的分化、成熟、抗原表达、细胞因子分泌。DCs 对 CRS 的炎症发生和持续有着至关重要的作用^[22-23]。Shi 等^[22]发现在 CRS 患者的鼻窦黏膜中树突状细胞(dendritic cell, DC)的数量或百分比增加,在不同类型的 CRSwNP 中不同亚型和功能的 DC 可以调控 Th 细胞的分化,比如在 Eos CRSwNP 和 Non-Eos CRSwNP 中发现不同的病变 DCs 亚型,其中 Eos CRSwNP 中的 OX40L/PD-L11LCD DC 可能引发 Th2 细胞,而 Non-Eos CRSwNP 中低 OX40L/PD-L1 表达的损伤性 DCs 主要诱导 Th1/Th17 细胞。Ma 等^[16]已经能够通过调节 DC 来鉴定可能介导 CRS 核心发病机制的候选 miRNAs,这些 miRNA 可以作为 CRS 的潜在治疗靶点。

miRNA-125b 通过介导真核细胞翻译起始因子结合蛋白 1(4EBP1)的表达,在鼻息肉的发病中发挥作用,4EBP1 表达水平能影响 IFN- α/β 产生量,可能对鼻黏膜天然免疫发挥影响,IFN- β 在鼻

黏膜不仅与天然免疫有关,而且与鼻息肉中 TH1/TH2 失衡关系密切^[15,18]。miR-125b 介导的 4E-BP1 的抑制可能在气道抗病毒先天免疫中起关键作用,通过促进 I 型 IFN 的表达,miR-125b-4E-BP1 途径可能有助于 Eos CRSwNP 中的黏膜嗜酸粒细胞增多^[15]。进一步的功能学研究显示 miR-125b 通过调控其靶基因,间接影响 B 细胞活化因子(BAFF),进而参与嗜酸粒细胞活化,这一研究表明 Eos CRSwNP 发病过程中 BAFF 被 miRNA 间接调控^[15]。而 miR-155 的表达主要是通过细菌和病毒产生的细胞因子和干扰素调节,由此可见,当鼻腔鼻窦黏膜发生细菌或病毒感染时,它们可以释放相关的细胞因子及干扰素,从而调节 miR-155 的表达^[24]。CRS 具有黏液高分泌的特点,黏液的主要成分是黏蛋白,其中 MUC5AC 是气道的主要分泌性黏蛋白,有研究表明在下呼吸道的人气道上皮细胞中,miR-146a 能负反馈式的调控中性粒细胞弹性蛋白酶(HNE)引起的 MUC5AC 的表达,其机制主要是抑制 JNK 和 NF- κ B 通路的活化^[25]。Miyata 等^[26]研究发现在人的鼻黏膜上皮细胞中,miR-146a 在维持紧密连接屏障和保护免受入侵病原体的先天免疫防御方面起着至关重要的作用,在上呼吸道疾病中 miR-146a 可能是一个潜在的治疗靶点。TNF- α 诱导的 CD38 表达由 miR-708 调节,其直接结合 3'UTR 并间接调节 JNK,MAPK 和 PI3K/AKT 信号并具有控制气道炎症的潜力^[27]。有助于哮喘病理生理学的基因 RARRES2、CD44 和 ADAM33 的表达在 miR-708 转染的细胞中被抑制,表明 miR-708 对 ASM 细胞的炎症相关基因表达和生物学功能均有不同的作用,靶向这些 miRNA 可以提供一种新的治疗机制来下调哮喘中气道炎症和 ASM 增殖^[28]。另一种上调的 miR-126 调节实验性哮喘中 Th2 细胞的效应功能和过敏性炎症反应^[29]。研究表明^[30],miR-150 可有效预防 CD28/B7 共刺激信号转导,减少炎症细胞因子如 IL-2 和 TNF 的产生。最近又有研究结果表明^[20]miR-150-5p 在 CRS 患者的 DC 中上调,并且该表达通过 DC-Th 轴由早期生长反应 2 表达下调,潜在地为 CRS 治疗提供新的治疗策略。鼻息肉患者的 DCs 中 IL-10 和 miR-19a 的表达呈负相关,miR-19a 水平明显上调,结果表明 miR-19a 可能在外周 DC 中抑制 IL-10 起关键作用,这可能是鼻息肉免疫治疗中的靶标^[21]。

miR-92a 的表达下调,证明 miR-92a 的表达失调与炎症反应有关,具体机制尚不明确^[14]。有研究表明^[31]miR-92a 的抑制可抑制内皮炎症并延缓动脉粥样硬化,miR-92a 过表达会损害内皮功能,并抑制内皮细胞(ECs)中的血红素氧合酶-1(HO-1)的表达。miR-92a 的抑制通过增加 db/db 小鼠

主动脉中的 HO-1 表达和活性来减弱氧化应激并改善内皮功能^[31]。另一种表达下调的是 miR-181b,有研究显示^[32],上皮和血浆 miR-181b-5p 是哮喘气道嗜酸粒细胞增多的潜在生物标志物,miR-181b-5p 可以通过靶向 SPP1 调节促炎细胞因子 IL-13 诱导的 IL-1 β 和 CCL11 表达而参与嗜酸细胞性气道炎症。miR-181b 作为 NF- κ B 的一种下游调节信号,主要是通过 importin- α 3 蛋白,miR-181b 的表达下调可以解除对 importin- α 3 蛋白的抑制,使其表达增加,从而激活 NF- κ B 因子,参与炎症过程^[33]。对于下调的 miR-26a/-26b,研究发现^[34]在体外和体内过敏性炎症伴随着趋化因子如 MIP-2 的表达增加,miR-26a/-26b 负调节趋化因子 MIP-2 的表达。以上研究表明,miRNA 通过不同的方式和途径影响着上呼吸道以及鼻-鼻窦黏膜炎症的发生发展。

3 研究展望

综上所述,CRS 的发病机制是一个多因素参与的发病机制较为复杂的病理生理过程,而其发病机制还有待进一步研究和阐明,多种 miRNAs 被证明与上或下呼吸道的疾病有关,不同亚型 CRS 中这些差异的 miRNA 可能揭示了 CRS 疾病的复杂性。miRNA 在 CRS 患者中表达上调或者下调,可能对 CRS 的诊治有促进作用,这可能作为 CRS 治疗的潜在靶点,为 CRS 的预防、发病机制的明确以及药物的靶向治疗方式带来新的方向。

参考文献

- [1] MEHTA A, BALTIMORE D. MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic[J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16: 279-294.
- [2] LAM K, SCHLEIMER R, KERN R C. The Etiology and Pathogenesis of Chronic Rhinosinusitis: a Review of Current Hypotheses [J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2015, 15: 41-41.
- [3] BARTEL D P. MicroRNA Target Recognition and Regulatory Functions[J]. Cell, 2009, 136: 215-233.
- [4] ZAMORE P D, HALEY B. The big world of small RNAs[J]. Science, 2005, 309: 1519-1524.
- [5] DENLI A M, TOPS B B J, PLASTERK R H A, et al. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex[J]. Nature, 2004, 432: 231-235.
- [6] HUTVÁGNER G, ZAMORE P D. A microRNA in a Multiple-Turnover RNAi Enzyme Complex[J]. Science, 2002, 297: 2056-2060.
- [7] AMBROS V. The functions of animal microRNAs[J]. Nature, 2004, 431: 350-350.
- [8] KAWAJI H, HAYASHIZAKI Y. Exploration of small RNAs[J]. PLoS Genet, 2008, 4: e22.
- [9] BUSHATI N, COHEN S M. microRNA functions[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2007, 23: 175-205.
- [10] ZHANG X H, ZHANG Y N, LIU Z. MicroRNA in

- chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2014, 14: 415–415.
- [11] PAUL P, CHAKRABORTY A, SARKAR D, et al. Interplay between miRNAs and human diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233: 2007–2018.
- [12] COSKUN M, BJERRUM J T, SEIDELIN J B, et al. MicroRNAs in inflammatory bowel disease—pathogenesis, diagnostics and therapeutics [J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18: 4629–4634.
- [13] LIU Z, KIM J, SYPEK J P, et al. Gene expression profiles in human nasal polyp tissues studied by means of DNA microarray [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 114: 783–790.
- [14] 李芳梅, 郑家法. miRNA 在慢性鼻-鼻窦炎中的应用进展 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30(20): 1656–1658.
- [15] ZHANG X H, ZHANG Y N, LI H B, et al. Overexpression of miR-125b, a novel regulator of innate immunity, in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185: 140–151.
- [16] MA Z X, TAN X, SHEN Y, et al. MicroRNA expression profile of mature dendritic cell in chronic rhinosinusitis [J]. *Inflamm Res*, 2015, 64: 885–893.
- [17] FOKKENS W J, LUND V J, MULLOL J, et al. EP-OS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists [J]. *Rhinology*, 2012, 50: 1–1.
- [18] 张心浩. 慢性鼻窦炎和鼻息肉中 miRNAs 的差异化表达及其意义 [D]. 华中科技大学, 2009.
- [19] LUO X Q, SHAO J B, XIE R D, et al. Micro RNA-19a interferes with IL-10 expression in peripheral dendritic cells of patients with nasal polyposis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 48915.
- [20] MA Z, SHEN Y, ZENG Q, et al. MiR-150-5p regulates EGR2 to promote the development of chronic rhinosinusitis via the DC-Thaxis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 54: 188–197.
- [21] ZHANG Y N, CAO P P, ZHANG X H, et al. Expression of microRNA machinery proteins in different types of chronic rhinosinusitis [J]. *Laryngoscope*, 2012, 122: 2621–2627.
- [22] SHI L L, SONG J, XIONG P, et al. Disease-specific T-helper cell polarizing function of lesional dendritic cells in different types of chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190: 628–638.
- [23] KIRSCH H, NIEDERFÜHR A, DEUTSCHLE T, et al. Ratio of myeloid and plasmacytoid dendritic cells and TH2 skew in CRS with nasal polyps [J]. *Allergy*, 2010, 65: 24–31.
- [24] HOESEL B, SCHMID J A. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer [J]. *Molecular Cancer*, 2013, 12: 86–86.
- [25] ZHONG T, PERELMAN J M, KOLOSOV V P, et al. MiR-146a negatively regulates neutrophil elastase-induced MUC5AC secretion from 16HBE human bronchial epithelial cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 358: 249–255.
- [26] MIYATA R, KAKUKI T, NOMURA K, et al. Poly (I: C) induced microRNA-146a regulates epithelial barrier and secretion of proinflammatory cytokines in human nasal epithelial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 761: 375–382.
- [27] DILEEPAN M, JUDE J A, RAO S P, et al. MicroRNA-708 regulates CD38 expression through signaling pathways JNK MAP kinase and PTEN/AKT in human airway smooth muscle cells [J]. *Respir Res*, 2014, 15: 107–107.
- [28] DILEEPAN M, SARVER A E, RAO S P, et al. MicroRNA Mediated Chemokine Responses in Human Airway Smooth Muscle Cells [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0150842.
- [29] LU T X, ROTHENBERG M E. Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132: 3–13.
- [30] SANG W, WANG Y, ZHANG C, et al. MiR-150 impairs inflammatory cytokine production by targeting ARRB-2 after blocking CD28/B7 costimulatory pathway [J]. *Immunol Lett*, 2016, 172: 1–10.
- [31] GOU L, ZHAO L, SONG W, et al. Inhibition of miR-92a Suppresses Oxidative Stress and Improves Endothelial Function by Upregulating Heme Oxygenase-1 in db/db Mice [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28: 358–370.
- [32] HUO X, ZHANG K, YI L, et al. Decreased epithelial and plasma miR-181b-5p expression associates with airway eosinophilic inflammation in asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46: 1281–1290.
- [33] SUN X, ICLI B, WARA A K, et al. MicroRNA-181b regulates NF- κ B-mediated vascular inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122: 1973–1990.
- [34] KWON Y, KIM Y, EOM S, et al. MicroRNA-26a/-26b-COX-2-MIP-2 Loop Regulates Allergic Inflammation and Allergic Inflammation-promoted Enhanced Tumorigenic and Metastatic Potential of Cancer Cells [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 14245–14266.

(收稿日期: 2017-10-29)