

microRNA 在气道变应性疾病中的研究进展

滕尧树, 曹晓林, 李 勇

杭州市第一人民医院耳鼻喉科, 杭州 310006

通信作者: 李 勇 电话: 0571-56008888, 电子邮件: Leeyung828@hotmail.com

摘要: microRNAs (miRNAs/miRs) 是一类非编码的、作用于 mRNAs、对蛋白质翻译起调节功能的小片段 RNAs 分子, 在许多疾病 (如变应性疾病、肿瘤及感染等) 的发病中起着十分重要的作用。气道变态反应性疾病是以气道变应性炎症反应及高反应性为特征的一组慢性气道炎症性疾病。近年研究表明, 多种 miRNAs 参与了气道变应性疾病的一系列病理生理过程, 包括炎症细胞浸润、细胞因子分泌、气道高反应性及平滑肌细胞增生和表型变化等。因此, miRNAs 有望成为治疗此类疾病的新靶点。本文总结了 miRNAs 在哮喘和变应性鼻炎中的作用及分子生物学机制。

关键词: microRNA; 哮喘; 变应性鼻炎; 气道炎症

中图分类号: R392.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-503X(2014)01-0114-05

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2014.01.021

Roles of microRNAs in Allergic Airway Diseases

TENG Yao-shu, CAO Xiao-lin, LI Yong

Department of Otorhinolaryngology, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, China

Corresponding author: LI Yong Tel: 0571-56008888, E-mail: Leeyung828@hotmail.com

ABSTRACT: The microRNAs (miRNAs/miRs) are a class of short non-coding RNAs regulating protein translation via mRNAs silencing. Studies have shown that microRNAs play critical roles in allergic diseases, tumors, and infections. The allergic airway diseases are characterized by inflammation and hyperresponsiveness of the respiratory tract. Several miRNAs are found to be involved in a series of pathophysiologic processes in allergic airway diseases including inflammatory cells infiltration, cytokines' expressions, airway hyperresponsiveness, and proliferation and change in phenotype of smooth muscle cells. Therefore, miRNAs may be new therapeutic targets for these allergic diseases. This article reviews the roles of miRNAs in asthma and allergic rhinitis and their molecular biological mechanisms.

Key words: microRNA; asthma; allergic rhinitis; airway inflammation

Acta Acad Med Sin, 2014, 36(1): 114-118

气道变应性疾病主要指上气道变应性鼻炎和下气道支气管哮喘, 是一类以肥大细胞、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞等反应为主, 多种炎性介质参与的慢性变态反应性疾病。目前认为, 变应性鼻炎与支气管哮喘是

常见的联合病, 具有相似的病理生理学机制及病理学表现。miRNAs 作为一类调控性 RNA 小分子, 通过对靶基因转录后的调控机制, 参与生命过程中一系列的重要生理病理进程, 如: 细胞增殖、分化、凋亡、组

基金项目: 浙江省卫生厅医药卫生平台骨干人才计划项目 (2013RCA041) Supported by the Backbone Talents Project from Health Bureau of Zhejiang Province (2013RCA041)

织发育、免疫反应、肿瘤形成和病毒感染,是目前研究的热点之一。本文总结了 miRNAs 在哮喘和变应性鼻炎中的作用及分子生物学机制。

miRNAs 概述

miRNAs 是一类长度大约为 21 ~ 23nt 的非编码小片段 RNAs,进化上高度保守,通过与靶 mRNAs 相互作用后,降低 mRNAs 分子稳定性和/或翻译抑制,参与对靶基因表达的负性调控。在哺乳动物中,miRNAs 主要与靶 mRNA 的 3' 非翻译区 (3' UTR) 发生非完全互补配结合,进而抑制靶基因 mRNA 的翻译过程。此外,mRNA 3' UTR 中的靶点序列亦具有一定的进化保守性,并且 1 条 mRNA 的 3' UTR 可被多个 miRNAs 作用,1 条 miRNA 亦可作用于多条靶 mRNAs,形成 1 个复杂的调控网络。miRNAs 通过上述转录后水平调控基因表达的方式,在免疫应答中发挥着重要的调控功能。Li 等^[1]发现,成熟 T 细胞内 miR-181a 表达升高能增强 T 细胞对肽抗原的敏感性,miR-155 高表达于激活的 B 细胞、T 细胞、巨噬细胞以及树突状细胞中。miR-155 敲除小鼠经抗原刺激后,IgM 表达显著下降,缺乏抗原特异性抗体,脾脏细胞分泌白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 能力降低,树突状细胞的抗原提呈能力下降^[2]。深入研究发现,miR-155 敲除小鼠淋巴生发中心功能下降,T 细胞依赖的抗体反应以及细胞因子分泌下降^[3]。除此之外,miRNAs 还通过调节其他免疫细胞的功能,在变应性疾病发病机制中发挥重要作用。因此,通过筛查对气道变应性疾病起关键作用的 miRNAs,研究该 miRNAs 调控的靶基因及其功能,将有助于在基因调控水平揭示气道变应性疾病发病的病理机制,为该病诊治提供新的思路。

miRNAs 在支气管哮喘中的研究

目前关于 miRNAs 与支气管哮喘的资料表明,支气管哮喘一系列病理生理过程几乎均有 miRNAs 参与,如以嗜酸性粒细胞浸润为主的气道变应性炎症、气道平滑肌细胞高反应性以及气道重塑等过程。此外,在不同严重程度的哮喘患者之间,miRNAs 表达亦存在差异。Tsitsiou 等^[4]通过对重度和非重度哮喘患者外周血 CD8 + T 细胞内 miRNAs 表达谱差异分析发现,激活的外周血 CD8 + T 细胞中,miR-146a/b 和 miR-28-5p 的

表达显著下调,这与重症哮喘发生密切相关。

miRNAs 对气道炎症反应的影响 let-7 家族是支气管哮喘小鼠模型肺组织中,含量最为丰富的 miRNA 分子。有学者发现,let-7a 通过调节 IL-13 表达,在哮喘发病中起促炎作用,下调 let-7a 能有效抑制 IL-13 等多种炎症因子的释放及哮喘表型^[5]。但是,Kumar 等^[6-7]通过体外实验和哮喘小鼠模型均发现,IL-13 表达、分泌均与 let-7 呈负相关,上调 let-7 能直接抑制靶基因 IL-13 表达,进而缓解气道变应性炎症反应、降低气道高反应性及减慢黏膜上皮化生和上皮下组织纤维化进程。鉴于上述 let-7 作用效应的差异,有待于进一步实验加以验证。

为研究 miR-21 在哮喘发病中的作用,Lu 等^[8]采用 IL-13 转基因小鼠哮喘模型进行 miRNAs 微阵列分析,结果发现,与对照组相比,miR-21 在肺组织、巨噬细胞及树突状细胞株中表达明显升高,该现象在其他哮喘小鼠模型中也有类似发现,而且 miR-21 表达升高依赖于 IL 受体 IL-13R α 1 (对于平衡 TH2/TH1 起着重要作用),进而作用于靶基因 IL-12p35mRNA 以抑制 IL-12 表达。深入研究发现,miR-21^{-/-}小鼠经脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 等刺激后,树突状细胞分泌 IL-12 增加,CD4 + T 细胞分泌 IFN- γ 升高,而分泌 IL-4 能力降低,且气道内嗜酸性粒细胞浸润明显减少,甚至可发生明显的 TH1 相关的迟发型皮肤超敏反应^[9]。故他们认为,miR-21 可能通过抑制 IL-12 表达而促进 T 细胞向 TH2 细胞转化,引起过强的 TH2 免疫应答反应,参与调控并促使哮喘的发生。然而,Sheedy 等^[10]研究认为,miR-21 通过抑制程序性细胞死亡因子 4 (programmed cell death 4, PDCD4) 表达而发挥抗炎作用。由此可见,miR-21 作为免疫调节分子,对炎症的发生、发展可能起到双向调节作用。

Mattes 等^[11]发现,哮喘小鼠气道内 miR-126、miR-16 和 miR-21 表达明显升高,而在 Myd88^{-/-}/TLR4^{-/-}小鼠哮喘模型中,气道内 miR-126 表达则未见升高,提示 miR-126 表达上调与 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 或髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, Myd88) 信号通路有关。此外,miR-126 表达下调能从多个角度抑制哮喘的表型,改善 TLR4 诱导的气道炎症反应和降低气道高反应性,同时也能抑制 TH2 细胞释放 IL-5 和 IL-13^[11]。基于以上结果,miR-126 有望成为哮喘药物治疗的理想靶点。对 miR-126 作用机制研究发现,下调 miR-126 表达能激活转录因子 PU.1,从而通过抑制转录因子 GATA 结合蛋白 3

(GATA-binding protein 3, GATA3) 对 TLR4 表达和 TH2 细胞反应起到负性调节作用^[11]。在慢性迁延性哮喘小鼠模型中, 气道内 miR-126 表达显著升高, 在慢性激发期下调 miR-126, 能减轻气道内嗜酸性粒细胞浸润, 但对改善气道长期慢性炎症导致的病理改变, 如气道重塑, 并不发挥作用^[12]。

有研究显示, 在哮喘患者外周血 CD4⁺ T 细胞中, 轻、中、重度哮喘患者 miR-155 表达显著低于正常患者, 重度哮喘患者 miR-155 表达较轻度哮喘患者有明显下降, 而且 CD4⁺ T 细胞向 TH1 或 TH2 分化与 miR-155 表达高低有关, 并由此推断哮喘患者外周血 CD4⁺ T 细胞中 miR-155 的表达水平与哮喘严重程度密切相关, 其通过调控 CD4⁺ T 细胞分化在哮喘中发挥重要作用^[13]。另有研究也发现, miR-155 可通过下调 IL-13R α 1 表达调控 IL-13 信号通路, 进而使 TH1/TH2 平衡和巨噬细胞 M1/M2 平衡分别倾向 TH1 和 M2 方向, 将 miR-155 基因敲除, 小鼠会呈现哮喘样表型^[14]。以上研究表明, miR-155 表达升高有助于缓解哮喘发病。在 miR-155 与 TLR 的关系方面, 有学者发现, miR-155 在 LPS 刺激的免疫反应中扮演着促炎的角色, 其表达升高依赖于核因子 κ B (nuclear factor kappa beta, NF κ B), 提示 miR-155 作为促炎因子参与 TLR4 信号通路^[15]。

与 miR-155 类似, 在固有免疫反应中, miR-146 亦是 NF κ B 依赖的 miRNA 分子, 但其在 TLR4 信号通路中起负反馈调节作用, 防止 LPS 刺激后诱发过强的免疫应答。LPS 刺激后 miR-146 表达上调, 作用于参与 TLR 信号通路的肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 和 IL-1 受体相关激酶 1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1, IRAK1) 靶基因, 部分抑制人气道平滑肌细胞 TRAF6 和 IRAK1 蛋白表达, 从而降低 IL-6 和 IL-8 分泌水平^[16-17]。miR-146a/b 也参与了哮喘的一系列病理生理过程^[18]。Feng 等^[19]发现, 在哮喘小鼠模型中, 脾脏 CD4⁺ T 细胞内 miR-146a/b 表达上调, 与支气管肺泡灌洗液中炎症细胞数量呈正相关, 经治疗后 miR-146a 表达明显下调, 由此提示 miR-146a/b 可能参与了促进哮喘气道炎症反应过程。

关于 miR-145、miR-221 和 miR-485-3p 与哮喘的关系, 目前报道较少。Collison 等^[20]通过哮喘小鼠模型发现, 其气道内 miR-145 表达明显上调, 抑制 miR-145 能减轻气道内杯状细胞增生及嗜酸性粒细胞浸润, 从而抑制 TH2 细胞释放 IL-5 和 IL-13, 发挥类似糖皮质激素的抗炎效应。对于 miR-45 的分子作用机制, 有

学者认为, 其可能类似 miR-126, 作用于靶点 OBF.1。此外, 在哮喘小鼠模型及患者中, miR-221 和 miR-485-3p 出现表达明显上调, 且抑制 miR-221 表达能降低哮喘小鼠气道炎症反应^[21-22]。

miRNAs 对气道平滑肌细胞的影响 Chiba 等^[23-24]通过一系列关于 miR-133a 与支气管平滑肌收缩研究发现, miR-133a 抑制剂能促进 RhoA 蛋白 (支气管平滑肌细胞收缩的重要因子) 表达, 且 IL-13 能通过 STAT6 非依赖机制直接抑制人支气管平滑肌细胞表达 miR-133a。也就是说, IL-13 能通过下调支气管平滑肌细胞 miR-133a 进而促进 RhoA 蛋白表达, 从而引起气道平滑肌收缩。在卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 诱导的哮喘小鼠模型中也得到证实, 其支气管组织内 miR-133a 表达下调而 RhoA 表达上调。因此, 上调 miR-133a 表达可能成为治疗支气管哮喘患者气道高反应性的一种新途径。

为研究气道平滑肌细胞表型与 miRNAs 的关系, Kuhn 等^[25]通过多种细胞因子共同刺激气道平滑肌细胞, 发现包括 miR-25 在内的 11 种 miRNAs 发生表达下调, 而且 miR-25 表达抑制的平滑肌细胞经刺激后, 细胞内多种炎性介质的表达能力降低。由此可见, miR-25 通过多种途径参与对气道平滑肌细胞表型的调节。另有研究发现, 人气道平滑肌细胞经机械牵拉后, 能上调 miR-26a 表达, 抑制其靶基因糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β), 引起平滑肌细胞肥大, 这一发现也许可以解释哮喘患者气道重塑现象^[26]。

miRNAs 在变应性鼻炎中的研究

对变应性鼻炎患者鼻黏膜上皮 miRNAs 表达谱分析发现, 其鼻黏膜组织中 miR-224、miR-187 和 miR-143 出现明显下调, 提示差异表达的 miRNAs 在变应性鼻炎基因调控中起着一定作用^[27]。近年来, 有研究者对新生儿脐带血 IgE 及 157 种 miRNAs 进行测定, 发现在 miR-21 减少的新生儿中, IgE 含量明显升高, 且单核细胞表面转化生长因子- β 受体 2 (transforming growth factor beta receptor 2, TGFBR2) 分子表达升高, 该现象与这些新生儿将来变应性鼻炎的发病密切相关, 这说明, 某些 miRNAs 可作为变应性鼻炎的预报器^[28]。另有学者通过对间歇性变应性鼻炎表型存在差异的同卵双胞胎研究发现, 他们之间变应性鼻炎相关 mRNAs 及蛋白表达存在差异, 但 miRNAs 表达无显著性差异^[29]。这可能与表观遗传学的其他层面参与变应性鼻炎基因的

表达调控有关,如 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和去乙酰化。

综上,关于 miRNAs 在气道变应性疾病病理进程、药物治疗机制及预后判断中的作用目前尚未完全清楚,还有待进一步研究,尤其在变应性鼻炎领域。miRNAs 调控网络极其复杂,除与靶基因 mRNAs 关系密切外,与长链非编码 RNA 相互作用关系研究也刚刚起步。此外,miRNA 表达的启动调控(甲基化及组蛋白修饰等方式)和转录后的加工成熟与其表达水平及功能密切相关,因此,如何顺利调控 miRNAs 基因表达及加工成熟过程,从而实现 miRNAs 上游机制对变应性疾病相关致病基因有效调控,也将是今后研究的一大热点。由此认为,从多个水平和角度出发,阐明 miRNAs 在气道变应性疾病中的复杂调控机制,将有助于揭示这类疾病发生的分子生物学机制,同时也为该疾病的基因治疗提供新的思路和方向。

参 考 文 献

- [1] Li QJ, Chau J, Ebert PJ, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection [J]. *Cell*, 2007, 129(1):147-161.
- [2] Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, et al. miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(6):497-505.
- [3] Thai TH, Calado DP, Casola S, et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155 [J]. *Science*, 2007, 316(5824):604-608.
- [4] Tsitsiou E, Williams AE, Moschos SA, et al. Transcriptome analysis shows activation of circulating CD8 + T cells in patients with severe asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129(1):95-103.
- [5] Polikepahad S, Knight JM, Naghavi AO, et al. Proinflammatory role for let-7 microRNAs in experimental asthma [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(39):30139-30149.
- [6] Kumar M, Mabalirajan U, Agrawal A, et al. Proinflammatory role of let-7 miRNAs in experimental asthma [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(48):1e19-1e20.
- [7] Kumar M, Ahmad T, Sharma A, et al. Let-7 microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(5):1077-1085.
- [8] Lu TX, Munitz A, Rothenberg ME. MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression [J]. *J Immunol*, 2009, 182(8):4994-5002.
- [9] Lu TX, Hartner J, Lim EJ, et al. MicroRNA-21 limits *in vivo* immune response-mediated activation of the IL-12/IFN- γ pathway, Th1 polarization, and the severity of delayed-type hypersensitivity [J]. *J Immunol*, 2011, 187(6):3362-3373.
- [10] Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ, et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21 [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2):141-147.
- [11] Mattes J, Collison A, Plank M, et al. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(44):18704-18709.
- [12] Collison A, Herbert C, Siegle JS, et al. Altered expression of microRNA in the airway wall in chronic asthma: miR-126 as a potential therapeutic target [J]. *BMC Pulm Med*, 2011, 11:29.
- [13] 张莺莺, 钟民, 张梦莹, 等. 过敏性哮喘患者外周血 CD4 + T 细胞中 miR-155 的表达及临床意义 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(5):540-543.
- [14] Martinez-Nunez RT, Louafi F, Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor alpha1 (IL13Ralpha1) [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(3):1786-1794.
- [15] Zheng Y, Xiong S, Jiang P, et al. Glucocorticoids inhibit lipopolysaccharide-mediated inflammatory response by downregulating microRNA-155: a novel anti-inflammation mechanism [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(8):1307-1317.
- [16] 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):12481-12486.
- [17] Larner-Svensson HM, Williams AE, Tsitsiou E, et al. Pharmacological studies of the mechanism and function of interleukin-1beta-induced miRNA-146a expression in primary human airway smooth muscle [J]. *Respir Res*, 2010, 11:68.
- [18] Garbacki N, Di Valentin E, Huynh-Thu VA, et al. MicroRNAs profiling in murine models of acute and chronic asthma: a relationship with mRNAs targets [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1):e16509.
- [19] Feng MJ, Shi F, Qiu C, et al. MicroRNA-181a, -146a and -146b in spleen CD4 + T lymphocytes play proinflammatory roles in a murine model of asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13(3):347-353.
- [20] Collison A, Mattes J, Plank M, et al. Inhibition of house dust mite-induced allergic airways disease by antagonism of microRNA-145 is comparable to glucocorticoid treatment [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(1):160-167.

- [21] Liu F, Qin HB, Xu B, et al. Profiling of miRNAs in pediatric asthma; upregulation of miRNA-221 and miRNA-485-3p [J]. *Mol Med Report*, 2012, 6(5):1178-1182.
- [22] Qin HB, Xu B, Mei JJ, et al. Inhibition of miRNA-221 suppresses the airway inflammation in asthma [J]. *Inflammation*, 2012, 35(4):1595-1599.
- [23] Chiba Y, Tanabe M, Goto K, et al. Down-regulation of miR-133a contributes to up-regulation of Rhoa in bronchial smooth muscle cells [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180(8):713-719.
- [24] Chiba Y, Misawa M. MicroRNAs and their therapeutic potential for human diseases; MiR-133a and bronchial smooth muscle hyperresponsiveness in asthma [J]. *J Pharmacol Sci*, 2010, 114(3):264-268.
- [25] Kuhn AR, Schlauch K, Lao R, et al. MicroRNA expression in human airway smooth muscle cells; role of miR-25 in regulation of airway smooth muscle phenotype [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42(4):506-513.
- [26] Mohamed JS, Lopez MA, Boriek AM. Mechanical stretch up-regulates microRNA-26a and induces human airway smooth muscle hypertrophy by suppressing glycogen synthase kinase-3beta [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(38):29336-29347.
- [27] Shaoqing Y, Ruxin Z, Guojun L, et al. Microarray analysis of differentially expressed microRNAs in allergic rhinitis [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(6):e242-e246.
- [28] Chen RF, Huang HC, Ou CY, et al. MicroRNA-21 expression in neonatal blood associated with antenatal immunoglobulin E production and development of allergic rhinitis [J]. *Clin Exp Allergy*, 2010, 40(10):1482-1490.
- [29] Sjogren AK, Barrenas F, Muraro A, et al. Monozygotic twins discordant for intermittent allergic rhinitis differ in mRNA and protein levels [J]. *Allergy*, 2012, 67(6):831-833.

(收稿日期: 2013-10-14)