

微小核糖核酸在骨关节炎中的研究进展

周荣伟,赵丽珂,王钱,黄慈波

(北京医院风湿免疫科,国家老年医学中心,北京 100730)

[摘要] 骨关节炎(OA)是一种随年龄增长而发生率上升的以关节软骨退变和关节周围骨质增生为病理特征的慢性进行性骨关节疾病,同时软骨细胞表型和软骨内稳态的变化以及软骨下骨的代谢变化是骨关节炎发展过程中密不可分的一部分。微小 RNA(microRNA 或 miRNA)属于内源性非编码蛋白的单链小分子 RNA,主要通过调控基因转录后水平,进而对组织生长和稳态进行控制。本文基于 miRNA 的基因调控机制,从其生物学特性、miRNA 与软骨形成及关节软骨、miRNA 与疼痛及炎性反应等几个方面对两者关系进行综述,为临床治疗提供新的策略。

[关键词] 骨关节炎;微 RNAs;基因表达调控

中图分类号:R684.3 文献标识码:A DOI:10.3969/J.issn.1672-6790.2017.04.040

Research progress of microRNAs in osteoarthritis Zhou Rongwei, Zhao Like, Wang Qian, Huang Cibo (Department of Rheumatology, Beijing Hospital, Beijing 100730, China)

Corresponding author: Huang Cibo, Email: huangcibo1208@139.com

[Abstract] Osteoarthritis (OA) is a chronic progressive osteoarthrosis characterized by articular cartilage degeneration and peri-articular bone hyperplasia, which is associated with an increase in age. Chondrocyte phenotype, cartilage changes in the steady state and subchondral bone metabolism are the inseparable part of the development of osteoarthritis. MicroRNA belongs to the endogenous non-coding protein of single-stranded small RNA, mainly through the regulation of gene transcription level, and then control tissue growth and steady state. Based on the miRNA gene regulation mechanism, this paper reviews the relationship between miRNA and articular cartilage, miRNA and pain, miRNA and inflammatory response, then provides a new strategy for clinical treatment.

[Key words] Osteoarthritis; MicroRNAs; Gene expression regulation

骨关节炎(OA)是一种随年龄增长而发生率上升的以关节软骨退变和关节周围骨质增生为病理特征的慢性进行性骨关节疾病,主要侵害关节软骨、骨和滑膜组织,导致关节疼痛、畸形和功能障碍,是引起中老年人疼痛的最常见原因^[1]。虽然有关 OA 的相关研究已取得很大的进展,但目前关于 OA 的发病及其病理过程的分子机制尚不清楚,临床上还未出现一种有效的治疗方法^[2-3]。近年来,随着微小核糖核酸(miRNA)的深入研究,其在骨关节炎发病机制中的研究已成为焦点。研究表明:在 OA 患者中,可以检测出多种 miRNA 的水平发生改变;并且一些 miRNA 会影响软骨细胞的细胞凋亡和基因表达^[4]。因此,进一步研究其作用靶点和调控因子可能对控制关节炎的破坏和刺激修复具有重要作用,从而带

来新的治疗方法。本文基于 miRNA 的基因调控机制,从其生物学特性、miRNA 与软骨形成及关节软骨、miRNA 与疼痛及衰老、miRNA 与炎性反应等几个方面对两者关系进行综述,为临床治疗提供新的策略。

1 miRNA 的生物合成、生物学特性及功能

miRNA 是一类内源性非编码蛋白的单链小分子 RNA,由内含子和编码基因间隔区的基因编码,长度 20 ~ 24 nt 之间,广泛存在于生物基因组中^[3,5]。自发现 lin-4 以来^[6],越来越多的 miRNA 被发现;据生物信息学预测几乎 30% 的 mRNA 可能受 miRNA 调节,miRNA 相关的靶基因可能不止一个,一个基因也可能受多个 miRNA 调控^[7]。在细胞核中,miRNA 的编码基因在 RNA 聚合酶 II、III 的共同

基金项目:首都卫生发展科研专项(BJ-2014-092)

作者简介:周荣伟,医师,Email:18311208303@139.com

通信作者:黄慈波,主任医师,教授,硕士生导师,Email:huangcibo1208@139.com

作用下转录形成 miRNA 的前体分子 (primary miRNA), primary miRNA 在核糖核酸酶 Drosha 的作用下, 剪切为具有茎环结构的 miRNA 前体 (Pre-miRNA), 大约 70 个核苷酸^[8-9]; Pre-miRNA 被 Exportin-5 转运至细胞质, 经 Dicer 酶处理成为长 21 ~ 24 个核苷酸的成熟 miRNA; 当 miRNA 与靶基因 mRNA 3'端非翻译区序列 (UTR) 的结合位点完全匹配时, 靶 mRNA 降解, 大多数 miRNA 与靶基因的结合为不完全配对, 主要引起 mRNA 翻译抑制, 从而实现靶基因转录后的调控^[10]。

miRNA 是一个发展迅速的领域, 之前被普遍认为是只在非哺乳动物中表达相关功能的小分子 RNA。随着 RNA 干扰的发现, 人们对 miRNA 调控基因表达的能力不断有了新的认识, 目前研究表明 miRNA 参与基因转录后水平的调控, 不仅参与生命过程中一系列的重要进程, 包括生长、发育、分化、增殖和凋亡, 机体代谢及免疫调节^[11], 还参与多种疾病的发生与发展, 如肝癌^[12]、心血管疾病^[13]、银屑病^[14]和类风湿关节炎^[15]等。总之, miRNA 在基因表达调控领域中起着非常重要的作用, 可能会给基因治疗带来新的突破。

2 miRNA 与软骨形成

帽子是 miRNA 形成的一个重要的成分, 它的缺乏会使软骨细胞分化加速和再生减少, 从而导致软骨细胞数量的减少^[16]。目前 miRNA 在软骨形成和软骨内稳态的重要作用已经越来越受关注。

2.1 促进 Zhang 等^[17]研究发现, 在诱导软骨细胞形成前后, 有 12 种 miRNA 差异性表达: miR-193b、miR-199a-3p、miR-455-3p、miR-210、miR-381、miR-92a、miR-320c 和 miR-136 上调表达, 而 miR-490-5p、miR-4287、miR-BART8、miR-US25-1 表达下调。说明在脂肪干细胞分化成软骨细胞的过程中, 这些 miRNA 可能起着很重要的作用。miR-34a 通过直接调节 SIRT1/p53 信号通路减少大鼠软骨细胞的凋亡, 表明其在 OA 的发病机制中具有重要作用^[18]。miR-142-3p 通过抑制 HMGB1 介导的 NF- κ B 信号通路, 从而抑制 OA 中的软骨细胞凋亡^[19]。

2.2 抑制 miR-9 通过过表达原生质体来激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 信号通路和促进凋亡, 从而抑制成软骨细胞和关节软骨细胞的存活^[20]。在大鼠骨关节炎模型中, miR-98 可能通过下调 Bcl-2 的表达来促进软骨细胞凋亡和软骨退化^[21]。MiR-193b 可以通过靶向 TGFB2 和 TGFB3 抑制早

期软骨形成, 并且可以通过抑制炎症软骨细胞中的 TNF- α 表达来调节炎症^[22]。

3 miRNA 与关节软骨

关节软骨为四肢运动提供了一个良好的环境, 这个重要功能是通过细胞外基质实现的。细胞外基质的主要成分为聚集蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白, 同时基质金属蛋白酶 (包括基质降解酶和 ADAMTS) 参与了细胞外基质的降解。目前认为分解代谢和合成代谢之间的平衡对软骨体内自身平衡至关重要, 许多 miRNA 被认为是关节软骨形成、维持和破坏的重要因素之一。

Mao 等^[23]研究发现, miR-92a-3p 可以直接靶向 HDAC2 来调节软骨的发育和自身稳态, 表明其在软骨基质增加中起重要作用。miRNA-138-5p 可以通过靶向 FOXC1 来促进人软骨细胞中的 IL-1 β 诱导的软骨降解, 表明 miR-138 能够促进软骨降解^[24]。Kirilov 等^[25]研究发现在正常和骨关节炎软骨细胞中, 有 7 个 miRNA 差异性表达: miR-483-5p 在 OA 软骨细胞中表达上调; miR-149、miR-582-3p、miR-1227、miR-634、miR-576-5p 和 miR-641 在 OA 软骨细胞中表达下调, 表明这 7 个 miRNA 参与关节软骨的发育和破坏。miR-146a 能够增加 VEGF 的表达量和抑制目的基因 Smad4 的 TGF- β 信号通路, 从而导致软骨的机械损伤和细胞凋亡^[26]。

4 miRNA 与骨关节炎

骨关节炎是一种常见的慢性疾病, 软骨细胞表型和软骨内稳态的变化以及软骨下骨的代谢变化是骨关节炎发展过程中密不可分的一部分^[27]。很多研究表明 miRNA 在 OA 中起着重要的作用。

Borgonio Cuadra 等^[28]利用 TaqMan 低密度阵列方法检测关节软骨受损者的 380 个血浆 miRNA 后发现: 与健康人群相比, 有 12 种 miRNA 差异表达: miR-16、miR-20b、miR-29c、miR-30b、miR-93、miR-126、miR-146a、miR-184、miR-186、miR-195、miR-345 和 miR-885-5p; 特定的 miRNA 在疾病发生与发展的过程中, 可以由于软骨损伤或固有的细胞机制而释放到血浆中, 从而参与调节与疾病发展相关的基因和途径。Liang 等^[29]研究发现, miR-23a-3p 的过表达能够抑制 II 型胶原和聚集蛋白聚糖表达, 同时 SMAD3 基因的敲除可以逆转 miR-23a-3p 抑制剂对 II 型胶原和聚集蛋白聚糖表达的影响, 表明 miR-23a-3p 可通过直接靶向 SMAD3 促进 OA 进展, 为 OA 治疗提供潜在的治疗靶点。

4.1 miRNA 与衰老 年龄是骨关节炎发生的重要危险因素,可引起调节异常、分解合成代谢紊乱和关节损伤。尽管 miRNA 和衰老之间的关系并不十分明确,但许多研究表明:miRNA 与衰老相关。Ukai 等^[30]发现 miR-199a-3p 和 miR-193b 的表达上调与年龄、Ⅱ型胶原蛋白、聚集蛋白聚糖和 SOX9 的下调表达相关;miR-320c 的表达下调与年龄、ADAMTS5 的上调表达相关,表明在软骨的新陈代谢中,miR-199a-3p、miR-193b 和 miR-320c 参与软骨细胞衰老的调控。目前研究表明,miRNA 在年龄相关的肌肉骨骼系统过程中起重要作用,进一步的研究可能有助于提高我们对这些过程在细胞和细胞外水平的认识^[31]。Miyaki 等^[32]研究表明,miR-140 是软骨发育和内稳态的调控者,它的缺失可能导致年龄相关性 OA 的发生与发展。miR-21 也已被证明能够增加软骨的衰老^[33]。

4.2 miRNA 与疼痛 疼痛是引起 OA 患者活动受限的主要原因,缓解或减轻疼痛是目前治疗 OA 的主要目标之一。最近的研究发现,OA 的慢性疼痛多由基因调控的炎性反应引起,miRNA 可能参与疼痛相关的某些通路^[34]。Li 等^[35]研究发现 miR-146a 通过软骨和血浆中与疼痛相关的炎性因子来调控膝关节内稳态和 OA 相关的疼痛。miR-146a 和 miR-183 也被确认与炎症介质和疼痛密切相关,可能是一个有效的治疗疼痛相关 OA 的方式^[36]。这都说明 miRNAs 在 OA 引起的疼痛中有重要作用,但仍需更多的研究来证明。

4.3 miRNA 与炎症 骨关节炎是一种复杂的疾病,炎症在其中扮演了重要作用,参与 OA 的发生发展,如软骨、滑膜释放的细胞因子和前列腺素等。Zhang 等^[37]在大鼠 OA 模型中发现 miR-210 的表达降低,它的过表达可以抑制 NF- κ B 和 DR6 以及细胞因子的产生,表明 miR-210 通过靶向 DR6 和抑制 NF- κ B 信号通路减少 OA 大鼠关节腔的炎症。miRNA-130a 的表达减少与 TNF- α 在骨关节炎的发展中相关^[38]。

5 总结与展望

miRNA 在基因表达领域中起着重要的调控作用,通过与细胞因子的相互影响、改变靶基因的表达,从而影响其生物学特性。检测特异性 miRNA 的表达对骨关节炎的诊断和预后判断可能有重要的作用,对特异性 miRNA 表达的调控可能为骨关节炎的临床靶向分子治疗提供全新的途径。

参考文献

[1] NUGENT M. MicroRNAs: exploring new horizons in osteo-

- arthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 24(4): 573-580.
- [2] STEINBERG J, ZEGGINI E. Functional genomics in osteoarthritis: Past, present, and future [J]. *J Orthop Res*, 2016, 34(7): 1105-1110.
- [3] SWINGLER T E, WHEELER G, CARMONT V, et al. The expression and function of microRNAs in chondrogenesis and osteoarthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2012, 64(6): 1909-1919.
- [4] OKUHARA A, NAKASA T, SHIBUYA H, et al. Changes in microRNA expression in peripheral mononuclear cells according to the progression of osteoarthritis [J]. *Mod Rheumatol*, 2012, 22(3): 446-457.
- [5] MIYAKI S, ASAHARA H. Macro view of microRNA function in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2012, 8(9): 543-552.
- [6] LEE RC, FEINBAUM RL, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 89(6): 1828-1835.
- [7] FRIEDMAN RC, FARH KK, BURGE CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs [J]. *Genome Res*, 2009, 19(1): 92-105.
- [8] LEE Y, KIM M, HAN J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II [J]. *Embo J*, 2004, 23(20): 4051-4060.
- [9] LEE Y, AHN C, HAN J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing [J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-419.
- [10] LYTLE JR, YARIO TA, STEITZ JA. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(23): 9667-9672.
- [11] LE LT, SWINGLER TE, CLARK IM. Review: the role of microRNAs in osteoarthritis and chondrogenesis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2013, 65(8): 1963-1974.
- [12] CHU YH, HSIEH MJ, CHIOU HL, et al. MicroRNA gene polymorphisms and environmental factors increase patient susceptibility to hepatocellular carcinoma [J]. *Plos One*, 2014, 9(2): e89930.
- [13] HE Y, YANG J, KONG D, et al. Association of miR-146a rs2910164 polymorphism with cardio-cerebrovascular diseases: A systematic review and meta-analysis [J]. *Gene*, 2015, 565(2): 171-179.
- [14] XIA P, FANG X, ZHANG ZH, et al. Dysregulation of miRNA146a versus IRAK1 induces IL-17 persistence in the psoriatic skin lesions [J]. *Immunol Lett*, 2012, 148(2): 151-162.
- [15] MAEDA Y, FARINA NH, MATZELLE MM, et al. Synovium-Derived MicroRNAs regulate bone pathways in rheumatoid arthritis [J/OL]. *J Bone Miner Res*, 2016 [2016-

- 11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=SynoviUM+DERived+MicroRNAs+regulate+bone+pathways+in+rheumatoid+arthritis>.
- [16] KANELLOPOULOU C, MULJO SA, KUNG AL, et al. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing[J]. *Gene Dev*, 2005, 19(4): 489-501.
 - [17] ZHANG Z, KANG Y, ZHANG Z, et al. Expression of microRNAs during chondrogenesis of human adipose-derived stem cells[J]. *Osteoarthr Cartilage*, 2012, 20(12): 1638-1646.
 - [18] YAN S, WANG M, ZHAO J, et al. MicroRNA-34a affects chondrocyte apoptosis and proliferation by targeting the SIRT1/p53 signaling pathway during the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 201-209.
 - [19] WANG X, GUO Y, WANG C, et al. MicroRNA-142-3p inhibits chondrocyte apoptosis and inflammation in osteoarthritis by targeting HMGB1[J]. *Inflammation*, 2016, 39(5): 1-11.
 - [20] SONG J, KIM D, CHUN CH, et al. MicroRNA-9 regulates survival of chondroblasts and cartilage integrity by targeting protogenin[J]. *Cell Commun Signal*, 2013, 11(1): 1-13.
 - [21] WANG J, CHEN L, JIN S, et al. MiR-98 promotes chondrocyte apoptosis by decreasing Bcl-2 expression in a rat model of osteoarthritis[J]. *Acta Bioch Bioph Sin*, 2016, 48(10): 923-929.
 - [22] HOU CH, YANG ZB, KANG Y, et al. MiR-193b regulates early chondrogenesis by inhibiting the TGF-beta2 signaling pathway[J]. *FEBS Lett*, 2015, 589(9): 1040-1047.
 - [23] MAO G, ZHANG Z, HUANG Z, et al. MicroRNA-92a-3p regulates the expression of cartilage-specific genes by directly targeting histone deacetylase 2 in chondrogenesis and degradation [J/OL]. *Osteoarthr Cartilage*, 2016 [2016-11-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=MicroRNA-92a-3p+regulates+the+expression+of+cartilage-specific+genes+by+directly+targeting+histone+deacetylase+2+in+chondrogenesis+and+degradation>.
 - [24] YUAN Y, ZHANG GQ, CHAI W, et al. Silencing of microRNA-138-5p promotes IL-1 β -induced cartilage degradation in human chondrocytes by targeting FOXC1: miR-138 promotes cartilage degradation[J]. *Bone Joint Res*, 2016, 5(10): 523-530.
 - [25] KIRILOV N, DIMOV S, DALGALARRONDO M, et al. Characterization of microRNA expression profiles in normal and osteoarthritic human chondrocytes[J]. *Osteoarthr Cartilage*, 2011, 13(1): 144.
 - [26] JIN L, ZHAO J, JING W, et al. Role of miR-146a in human chondrocyte apoptosis in response to mechanical pressure injury in vitro[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(2): 451-463.
 - [27] KWAN TS, LAJEUNESSE D, PELLETIER JP, et al. Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? [J]. *Best Pract Res Cl Rh*, 2010, 24(1): 51-70.
 - [28] BORGONIO CUADRA VM, GONZÁLEZ-HUERTA NC, ROMERO-CÓRDOBA S, et al. Altered expression of circulating microRNA in plasma of patients with primary osteoarthritis and in silico analysis of their pathways[J]. *Plos One*, 2014, 9(6): 1653-1660.
 - [29] LIANG K, CAO Y, YU S, et al. MicroRNA-23a-3p promotes the development of osteoarthritis by directly targeting SMAD3 in chondrocytes[J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2016, 478(1): 467-473.
 - [30] UKAI T, SATO M, AKUTSU H, et al. MicroRNA-199a-3p, microRNA-193b, and microRNA-320c are correlated to aging and regulate human cartilage metabolism[J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(12): 1915-1922.
 - [31] WEILNER S, GRILLARIVOGLAUER R, REDL H, et al. The role of microRNAs in cellular senescence and age-related conditions of cartilage and bone: A review[J]. *Acta Orthop Scand*, 2015, 86(1): 1-8.
 - [32] MIYAKI S, SATO T, INOUE A, et al. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis[J]. *Genes & Development*, 2010, 24(11): 1173-1185.
 - [33] PEEFFERS MJ. Transcriptomic signatures in cartilage ageing[J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 21(4): 1-17.
 - [34] LIU-BRYAN R, TERKELTAUB R. Chondrocyte innate immune myeloid differentiation factor 88-dependent signaling drives procatabolic effects of the endogenous Toll-like receptor 2/Toll-like receptor 4 ligands low molecular weight hyaluronan and high mobility group box chromosomal protein [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2010, 62(7): 2004-2012.
 - [35] LI X, GIBSON G, KIM JS, et al. MicroRNA-146a is linked to pain-related pathophysiology of osteoarthritis [J]. *Gene*, 2011, 480(1/2): 34-41.
 - [36] LI X, KROIN JS, KC R, et al. Altered spinal microRNA-146a and the microRNA-183 cluster contribute to osteoarthritic pain in knee joints[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(12): 2512-2522.
 - [37] ZHANG D, CAO X, LI J, et al. MiR-210 inhibits NF- κ B signaling pathway by targeting DR6 in osteoarthritis[J]. *Sci Rep-UK*, 2015(5): 12775.
 - [38] LI ZC, HAN N, LI X, et al. Decreased expression of microRNA-130a correlates with TNF- α in the development of osteoarthritis[J]. *Int J Clin Exp Path*, 2014, 8(3): 2555-2564.