

本文引文格式:郭鹏威,尤燕舞.环状RNA在系统性红斑狼疮中的研究新进展[J].
右江民族医学院学报,2021,43(2):256-259.

【综述与讲座】

环状RNA在系统性红斑狼疮中的研究新进展

郭鹏威,尤燕舞

(右江民族医学院附属医院,广西 百色 533000)

摘要: 环状RNA(circRNA)是一种新近发现和被认知的非编码RNA,在多种疾病中具有生物标志物作用和生物学功能。目前环状RNA在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)的研究有了较大的进展,提示环状RNA有可能成为SLE患者诊断及治疗上有意义的生物标志物,本文基于较新的研究报道,对环状RNA在SLE患者体内表达情况做一综述。

关键词: 环状RNA; 红斑狼疮, 系统性; 新进展

中图分类号: R593.241

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2021)02-0256-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2021.02.022

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种好发于育龄期妇女,可累及肾脏、血液、神经、皮肤等多器官及系统的自身免疫疾病。最近研究表明,环状RNA(circRNA)广泛参与了自身免疫疾病如SLE、类风湿性关节炎等自身免疫疾病的发病过程,在成人SLE患者的血浆、全血、外周血单个核细胞(PBMCs)或肾脏等组织中circRNA表达异常^[1],另外在儿童SLE患者中circRNA表达也异常^[2]。本文将circRNA在SLE患者中表达的研究新进展进行综述。

1 circRNA的功能及分类

circRNA是广泛并稳定存在于真核细胞中的一类不具有5'末端帽子和3'末端poly(A)尾巴,并以共价键形成封闭环状结构的新型内源性非编码RNA分子^[3-4]。这些特性赋予circRNA对核糖核酸酶(RNase)具有抗性,其半衰期超过48h,故其较为稳定^[5]。circRNA主要存在于细胞质中,circRNA的转录主要来自外显子、内含子、未翻译区或基因间区^[6-7]。其通常由2~4个外显子组成,保留或不保留内含子。根据circRNA所包含的序列,circRNA可分为4类:①仅由外显子组成的外显子RNA(ecircRNAs)^[5];②内含子环状RNA(intronic circRNA)^[7];③同时包含外显子和内含子序列的环状RNA(EIciRNAs)^[8];④来源于tRNA的环状RNA(TriRNA)^[9]。circRNA在自身免疫疾病中发挥着微小RNA(miRNA)分子海绵或竞争性内源RNA(ceRNA)、与RNA结合蛋白

(RBP)相互作用、翻译蛋白等生物学功能,影响着免疫细胞的生物学行为,从而促进或抑制自身免疫疾病的发生、发展,有望成为SLE治疗靶点。

2 circRNA在SLE患者外周血单个核细胞(PBMCs)中的表达

Luo Q等^[10]研究表明,对50例新发SLE患者、24例新发类风湿性关节炎(RA)患者、24例新发强直性脊柱炎(AS)患者和45例年龄性别相匹配的健康对照组(HC)的PBMCs的研究结果证实,SLE患者PBMCs的hsa_circ_0000479、hsa_circ_0082688、hsa_circ_0082689升高,而hsa_circ_0000175明显低于RA患者、AS患者和HC。这些已证实的差异表达circRNA的相关分析显示,hsa_circ_0000479与C3水平及处理相关,hsa_circ_0082688与抗dsDNA水平相关,hsa_circ_0082689与抗dsDNA水平、抗核小体频率及处理相关。通过对受试者工作特征曲线分析,hsa_circ_0000479在鉴别SLE与AS、RA、HC有显著价值。hsa_circ_0000479-抗dsDNA组合模型能有效区分SLE组和对照组(RA+AS+HC),敏感性为86.00%(43/50),特异性为100.00%(93/93),准确性为95.10%(136/143),研究结果提示,PBMCs中的hsa_circ_0000479和hsa_circ_0000479-抗dsDNA组合模型可能作为SLE诊断和疗效评估的潜在生物标志物。

Miao Q等^[11]研究提示,circPTPN22的亲本基因为蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22(protein tyrosine

基金项目: 国家自然科学基金项目(H100881860296)

第一作者简介: 郭鹏威(1979-),男,硕士,副主任医师,研究方向:肾小球疾病、血液净化,E-mail:pengwei0709@163.com

通讯作者简介: 尤燕舞(1977-),女,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:肾小球疾病,E-mail:youyanwu@163.com

phosphatase non-receptor type 22, PTPN22), SLE患者 circPTPN22 的下调与 SLE 疾病活动指数 (SLE-DAI) 评分呈强负相关, circPTPN22 与诱发 SLE 的免疫调节相关的 miRNAs 和 mRNA 存在相关性; SLE-DAI 评分较高的患者 circPTPN22 表达水平较低, 长期激素治疗可显著提高 circPTPN22 水平, ROC 分析提示 circPTPN22 对 SLE 具有良好的诊断价值, 该研究提示 SLE 患者的环状 RNA 表达与健康对照组相比存在异常, circPTPN22 可作为 SLE 的诊断和评估病情严重程度指标。

Wang X 等^[12]发现 circIBTK 表达在 SLE 患者中下调, 并与 SLE 患者疾病活动指数 (SLEDAI) 评分、抗双链 DNA 和补体 C3 水平相关。然后 miR-29b 在 SLE 患者中表达上调, 并与 SLE 患者 SLEDAI 评分、anti-dsDNA 和补体 C3 水平相关。该研究表明, miR-29b 可以诱导 DNA 去甲基化并激活 AKT 信号通路, 而 circIBTK 可能通过与 miR-29b 结合逆转 SLE 患者中 miR-29b 诱导的 DNA 去甲基化和 AKT 信号通路的激活。SLE 患者中 circIBTK 下调, 可能通过与 miR-29b 结合调节 DNA 去甲基化和 AKT 信号通路。circIBTK 和 miR-29 也可以作为 SLE 的生物标志物和治疗靶点。

Zhang CZ 等^[13]检测 18 例诊断为 SLE 患者和 10 例健康对照组 PBMCs 中 hsa_circ_0049224、has_circ_0049220 和 DNMT1 的表达。该研究结果发现, hsa_circ_0049224 和 has_circ_0049220 在健康对照组的表达均显著高于未活动和活跃 SLE 患者。DNMT1 的表达量与 hsa_circ_0049224、has_circ_0049220 的表达量呈正相关。此外, SLEDAI 与 hsa_circ_0049224 和 has_circ_0049220 的表达呈负相关。该研究结果还发现这两种环状 RNA 与 SLE 的一些临床特征有关。该研究结论为 hsa_circ_0049224 和 has_circ_0049220 可能参与 SLE 的发病过程, 在诊断 SLE 中具有潜在的临床价值。

3 circRNA 在 SLE 患者血浆中的表达

Li HX 等^[14]研究提示, 在 SLE 组及对照组血浆中, 有 207 个 circRNAs 存在差异表达, 其中有 113 个表达上调, 94 个表达下调。通过验证实验确定了 4 个 circRNA, 分别是: hsa:circ_102584、hsa:circ_400011、hsa:circ_101471 和 hsa:circ_100226, 它们在 SLE 血浆中明确存在着异常调控, 为 SLE 患者提供了潜在的生物标志物。

Zhang MY 等^[15]研究提示, 与健康对照组相比, 112 个 circRNAs 在 SLE 血浆中被鉴定为表达异常; qRT-PCR 结果显示, 与健康对照组相比, SLE 患者血浆和 PBMCs 中 hsa_circRNA_407176 和 hsa_cir-

cRNA_001308 的表达均下降。hsa_circRNA_407176 和 hsa_circRNA_001308 在血浆中的受试者工作特性 (ROC) 曲线下面积分别为 0.599 和 0.662。hsa_circRNA_407176、hsa_circRNA_406567 和 hsa_circRNA_001308 在 PBMCs 的 ROC 曲线下面积分别为 0.806、0.744 和 0.722。该研究表明, 血浆和 PBMCs 中的 hsa_circRNA_407176 和 hsa_circRNA_001308 可能是 SLE 的潜在生物标志物。

Ouyang QQ 等^[16]研究 59 例 SLE 患者 (30 例 LN 患者和 29 例无 LN 患者)、26 例类风湿性关节炎 (RA) 患者和 27 例年龄和性别匹配的对照者中所选 circRNA 的变化。这项研究结果表明, LN 患者的血浆 circRNA_002453 与无 LN 的 SLE 患者、RA 患者和健康对照组相比显著升高。与 RA 患者和健康对照组相比, SLE 患者血浆 circRNA_002453 也被发现上调。在 LN 患者中, 我们检测到血浆 circRNA_002453 与疾病活性 (包括 C3、C4) 和 SLE 疾病活性指数 2000 (SLEDAI-2k) 评分之间无显著相关性。而其表达水平与 24 h 蛋白尿和肾 SLEDAI 评分正相关。ROC 分析显示 circRNA_002453 血浆曲线下面积为 0.906 (95% CI 0.838~0.974, $P < 0.001$), 鉴别 LN 患者与对照组 (无 LN 的 SLE 患者、RA 患者和健康对照组) 的敏感性为 0.900, 特异性为 0.841。约登指数最高为 0.741, 最佳截断值为 0.001。该研究提示, LN 患者血浆 circRNA_002453 水平升高与肾脏受累的严重程度相关, 也可作为 LN 患者诊断的潜在生物标志物。

4 circRNA 在 SLE 患者 T 细胞中的表达

Zhang CZ 等^[17]分离 CD4⁺T 细胞, 利用 circRNA 芯片分析筛选 CD4⁺T 细胞中的候选 circRNA; 转染 hsa_circ_0012919 靶向 siRNA 后, 检测 DNMT1、CD11a 和 CD70 的表达及 CD11a 和 CD70 的甲基化水平; hsa_circ_0012919 的网络分析采用生物信息学方法; 采用荧光素酶报告基因检测和 FISH 荧光原位杂交, 检测筛选哪些 miRNA 可以与 hsa_circ_0012919 结合。结果提示, SLE 患者组有 12 个 circRNA 表达上调, 2 个 circRNA 表达下调, 证实 hsa_circ_0012919 在健康对照人群与 SLE 患者之间存在显著差异, 并与 SLE 特征相关。下调 hsa_circ_0012919, 可以提高 DNMT1 的表达; 降低 CD70、CD11a 的表达, 可以逆转 SLE 患者 CD4⁺T 细胞中 CD11a 和 CD70 的 DNA 低甲基化, 但下调 DNMT1 可以逆转。该研究认为 hsa_circ_0012919 可以被认为是 SLE 的生物标志物, hsa_circ_0012919 是 miR-125a-3p 的竞争性内源性 RNA (ceRNA)。

Li LJ 等^[18]通过人类 circRNA 芯片检测了 SLE 患者和健康对照者 T 细胞中的 circRNA 表达谱, 并在

SLE 患者中鉴定出 127 个差异表达的 circRNA。通过定量 PCR 验证 hsa_circ_0045272 在 SLE 患者 T 细胞中下调。使用特定的慢病毒短发夹 RNA 生成 hsa_circ_0045272 敲除稳定的 Jurkat 细胞,用于功能研究。流式细胞术分析显示,hsa_circ_0045272 基因表达下调显著上调了 Jurkat 细胞的早期凋亡。同时,ELISA 检测结果显示 hsa_circ_0045272 基因沉默显著提高了活化 Jurkat 细胞产生白细胞介素 2。然后,对 hsa_circ_0045272 进行了 ceRNAs 的预测,并验证了两个预测为 ceRNAs 的 mRNAs 的显著下调,即 NM_003466 (PAX8)和 NM_015177 (DTX4),但未验证其对应蛋白。此外,双荧光素酶报告基因检测显示 hsa_circ_0045272 与 hsa_miR-6127 结合。hsa_circ_0045272 等异常 circRNA 在 SLE 中的意义值得进一步研究。

5 circRNA 在 SLE 患者肾组织中的表达

Luan JJ 等^[19]研究提示在狼疮肾炎(LN)患者中,miR-150 与肾脏慢性指数呈正相关。采用 6 例未接受治疗的女性 IV 型 LN 患者的肾组织和 5 例泌尿外科患者的正常肾组织进行 circRNA 测序。与正常对照组相比,LN 组中鉴定出 171 个有 2 倍差异表达的 circRNA。10 个选定的 circRNA 通过 real-time qPCR 进行验证,其中 7 个 circRNAs 与测序结果一样显著增加。circHLA-C 与蛋白尿、肾病理活动性指数、新月体肾小球数量呈正相关。LN 组的肾脏 circHLA-C 较正常对照组升高 2.72 倍,miR-150 下降 66%。生物信息学分析预测 miR-150 受到 circHLA-C 的调控,显示出 circHLA-C 和 miR-150 完全匹配的位点,LN 患者肾脏 miR-150 与 circHLA-C 呈负相关趋势。提示 circHLA-C 可能通过浸润 miR-150 在 LN 发病机制中发挥重要作用。

崔思婉^[20]的研究提示,通过高通量测序,在 LN 肾组织中筛选到 159 个差异表达的 circRNA,包括 73 个表达上调和 86 个表达下调的 circRNA。其中 hsa_circ_0007379、NR4A1 mRNA 显著下调,而 miR-7977 显著上调。通过 KEGG Pathway 分析发现 hsa_circ_0007379/miR-7977/NR4A1 调控网络可能在与 LN 相关的 PI3K-Akt signaling pathway、MAPK signaling pathway 途径上发挥作用。推测低表达的 hsa_circ_0007379 减弱与 miR-7977 的竞争性结合,下调 NR4A1 的表达,通过 PI3K-Akt signaling pathway、MAPK signaling pathway 途径影响 LN 的发病。通过 qRT-PCR 验证 hsa_circ_0007379、miR-7977、NR4A1 mRNA 在结果显示在肾组织中,与对照组相比 hsa_circ_0007379 表达水平下调、NR4A1 mRNA 表达水平下调、miR-7977 表达水平上调;在全血中,与对照组相比 NR4A1 mRNA 表达水平下调、miR-7977

表达水平上调,与肾组织中验证的结果一致。hsa_circ_0007379、miR-7977、NR4A1 mRNA 的表达水平与 24 h 尿总蛋白量、血肌酐、肾小球滤过率、AI、CI、SLE-DAI 评分、ESR 无明显相关性。NR4A1 mRNA 的表达水平与血白细胞、C3 呈正相关。

Tian SY 等^[21]研究应用环状 RNA (circRNA) 芯片检测两组同年龄 NZB/W F1 雌性重症和轻度 LN 小鼠的肾小球中表达差异的 circRNA,并通 RT-qPCR 检测证实。研究提示在重度 LN 中获得 116 个差异表达的 circRNAs,其中 41 个上调,75 个下调,其中 12 个经 RT-qPCR 证实。重度和轻度肾小球 LN 小鼠的 mmu_circRNA_34428 表达差异最大。结果表明,mmu_circRNA_34428 在 LN 的发生过程中起重要作用。

6 circRNA 在 SLE 儿童患者中的表达

Li SP 等^[22]比较 SLE 患儿和健康儿童,发现有 348 个 circRNA 和 1162 个 mRNA 表达差异。通过使用基因 co-expression 网络分析发现 307 对匹配的 circRNA-mRNA 中有 124 对存在差异表达(74 个 circRNA 上调,50 个 circRNA 下调)和 142 个差异表达 mRNA(83 个 mRNA 上调,59 个 mRNA 表达下调)。内源性 RNA(ceRNA)竞争网络包括 42 个差异表达的 circRNA、41 个差异表达的 mRNA 和 71 个预测 miRNA。SLE 患儿中 hsa_circ_0021372 和 hsa_circ_0075699 的水平与 SLE 患儿中 C3 和 C4 水平相关。hsa_circ_0057762 水平与 SLEDAI-2k 评分呈正相关。circRNAs 的 ROC 曲线显示,hsa_circ_0057762 水平和 hsa_circ_0003090 水平可以区分 SLE 患者与健康对照人群。

7 circRNA 在 SLE 患者全血中的表达

罗清等^[22]研究表明,在对比 SLE 与健康对照组和其他自身免疫疾病患者中,结果发现 SLE 患者全血环状 RNA hsa_circ_0002715 表达水平平均高于健康对照者和非 SLE 患者,SLE 患者全血环状 RNA hsa_circ_0002715 表达水平与补体 3、补体 4、白细胞数量、血红蛋白、血小板数量呈负相关,与抗双链 DNA 抗体呈正相关,抗核小体阳性的 SLE 患者其全血环状 RNA hsa_circ_0002715 表达水平高于阴性者。SLE 患者和所有对照者(非 SLE 患者和健康对照者)全血环状 RNA hsa_circ_0002715 AUC 为 0.701,敏感性为 51.32%,特异性为 80.17%。circRNA hsa_circ_0002715 对 SLE 的诊断敏感性高于 anti-dsDNA,且联合环状 RNA hsa_circ_0002715-anti-dsDNA 对 SLE 的诊断效能升高。SLE 患者全血 circRNA hsa_circ_0002715 的表达明显上调,且与 SLE 患者的疾病活动性和血液系统受累严重程度密切相关,联合 hsa_circ_0002715-anti-dsDNA 可作为 SLE 的潜在诊断及鉴别诊断标志

物。

8 小结

在 SLE 患者血浆、PBMCs 或肾脏等组织中的 circRNA 表达异常,另外在儿童 SLE 患者中表达也存在异常,而且某些 circRNA 与 SLE 临床指标相关。因此随着研究的不断深入,相信 SLE 患者体内 circRNA 测定将有可能成为早期诊断及评估狼疮的病情进展及预后的一个新手段,同时为研究新的靶向治疗药物提供依据。但是 SLE 患者体液如尿液、腹水或胸水等是否有合适的诊断相关的 circRNA,尚需要进一步研究,且当前已有的成果仍需深入研究,早日应用于临床,为 SLE 的诊断及治疗提供帮助。

参考文献:

- [1] Li LJ, Huang Q, Pan HF, et al. Circular RNAs and systemic lupus erythematosus[J]. *Exp Cell Res*, 2016, 346(2):248-254.
- [2] Li SP, Zhang JM, Tan XH, et al. Microarray expression profile of circular RNAs and mRNAs in children with systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Rheumatol*, 2019, 38(5):1339-1350.
- [3] Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs Are the Predominant Transcript Isoform from Hundreds of Human Genes in Diverse Cell Types[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30733.
- [4] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis[J]. *RNA Biol*, 2015, 12(4):381-388.
- [5] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19(2):141-157.
- [6] Memczak S, Jens M, Elefanti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. *Nature*, 2013, 495(7441):333-338.
- [7] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular Intronic Long Noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6):792-806.
- [8] Li ZY, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(3):256-264.
- [9] Lu ZP, Filonov GS, Noto JJ, et al. Metazoan tRNA introns generate stable circular RNAs in vivo[J]. *RNA*, 2015, 21(9):1554-1565.
- [10] Luo Q, Zhang L, Fang L, et al. Circular RNAs hsa_circ_0000479 in peripheral blood mononuclear cells as novel biomarkers for systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmunity*, 2020, 53(3):167-176.
- [11] Miao Q, Zhong Z, Jiang Z, et al. RNA-seq of circular

RNAs identified circPTPN22 as a potential new activity indicator in systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2019, 28(4):520-528.

- [12] Wang X, Zhang CZ, Wu ZW, et al. CircIBTK inhibits DNA demethylation and activation of AKT signaling pathway via miR-29b in peripheral blood mononuclear cells in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1):118.
- [13] Zhang CZ, Huang J, Chen Y, et al. Low Expression and Clinical Value of hsa_circ_0049224 and has_circ_0049220 in Systemic Lupus Erythematosus Patients[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:1930-1935.
- [14] Li HX, Li KF, Lai WN, et al. Comprehensive circular RNA profiles in plasma reveals that circular RNAs can be used as novel biomarkers for systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 480:17-25.
- [15] Zhang MY, Wang JB, Zhu ZW, et al. Differentially expressed circular RNAs in systemic lupus erythematosus and their clinical significance[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107:1720-1727.
- [16] Ouyang QQ, Huang Q, Jiang ZL, et al. Using plasma circRNA_002453 as a novel biomarker in the diagnosis of lupus nephritis[J]. *Mol Immunol*, 2018, 101:531-538.
- [17] Zhang CZ, Wang X, Chen Y, et al. The down-regulation of hsa_circ_0012919, the sponge for *miR-125a-3p*, contributes to DNA methylation of CD11a and CD70 in CD4⁺ T cells of systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(21):2285-2298.
- [18] Li LJ, Zhu ZW, Zhao W, et al. Circular RNA expression profile and potential function of hsa_circ_0045272 in systemic lupus erythematosus [J]. *Immunology*, 2018, 155(1):137-149.
- [19] Luan JJ, Jiao CC, Kong WW, et al. circHLA-C Plays an Important Role in Lupus Nephritis by Sponging miR-150 [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 10:245-253.
- [20] 崔思婉. hsa_circ_0007379/miR-7977/NR4A1 在狼疮肾炎中的表达及其临床意义[D]. 郑州:郑州大学, 2019.
- [21] Tian SY, Liu X, Fan QL, et al. Microarray expression and functional analysis of circular RNAs in the glomeruli of NZB/W F1 mice with lupus nephritis [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4):2813-2824.
- [22] 罗清, 黄自坤, 张露, 等. 环状 RNA hsa_circ_0004156 和 hsa_circ_0082626 在系统性红斑狼疮患者全血中的表达及临床意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(20):2500-2505, 2510.

收稿日期:2020-09-30;修回日期:2020-12-23