

· 综 述 ·

miRNAs 与骨关节炎关系的研究进展

高宁阳, 丁立, 庞坚, 陈博, 曹月龙, 詹红生, 石印玉

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘 要 骨关节炎以软骨的进行性破坏为病理特征, 是导致老年人慢性肌肉骨骼疼痛和活动障碍的最主要原因。随着对软骨代谢分子机制不断地深入了解, 现认为 miRNAs 具有调节软骨发育及维持软骨代谢平衡的作用, 是治疗骨关节炎的新靶点。同时, 研究发现 miRNAs 可通过对炎性因子及神经细胞中致病因子的调控, 对骨关节炎所致疼痛产生调节作用。本文从 miRNAs 的基本生物学特性与功能, 以及 miRNAs 与关节软骨、滑膜炎症和疼痛的关系等方面的研究进展对 miRNAs 与骨关节炎的关系进行了综述。

关键词 微 RNAs; 骨关节炎; 综述

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 作为关节炎最常见的一种, 主要以侵袭髋关节和膝关节这样的大关节为主, 以关节软骨的进行性破坏为病理特征, 是导致老年人慢性肌肉骨骼疼痛和活动障碍的最主要原因^[1]。我国 60 岁以上人群患 OA 的几率为 50%, 75 岁以上人群患此病的几率可达 80%, 且该病的致残率可达 53%^[2]。虽然, 有关 OA 的相关研究已取得了很大的进展, 但目前关于 OA 的发病及其病理过程的分子机制尚不清楚^[3]。目前治疗 OA 的目的为: 减轻关节疼痛和僵硬, 维持和改善关节活动度, 减少功能障碍和病废, 提高与健康相关的生活质量^[4]。因此, OA 现已成为当代骨伤科学面临的重要医学问题及研究热点。随着对关节软骨代谢分子机制的不断深入了解, 有研究认为, miRNAs 具有调节软骨发育及维持软骨代谢平衡的作用, 是治疗 OA 的新靶点^[5]。现就 miRNAs 与 OA 关系的研究进展综述如下。

1 miRNAs 的基本生物学特性与功能

miRNAs 是一类来源于内源性染色体上的非编码单链 RNA, 长度约为 22 个核苷酸, 几乎所有的多细胞生物中都已发现各种不同种类的 miRNAs^[6-7]。这些微 RNA 在进化上具有高度的保守性, 能够通过与其靶

mRNA 特异性的碱基互补配对, 引起靶 mRNA 降解或抑制其翻译, 从而对基因进行转录后的表达调控, 且近 1/3 的 mRNA 会受 miRNAs 调节^[8]。作为重要的调节分子, miRNAs 参与生命过程中一系列的重要进程, 如细胞分化、增殖和凋亡, 以及器官形成、脂肪代谢、炎症、免疫应答、肿瘤发生等, 对基因表达、细胞周期调控乃至个体发育皆产生重要的影响^[9-12]。

2 miRNAs 与 OA 发生的关系

目前已有越来越多的研究表明 miRNAs 的表达差异与 OA 发生、发展过程中关节软骨破坏、软骨细胞凋亡、滑膜炎症以及疼痛等病理变化关系密切。

2.1 miRNAs 与关节软骨 miR-140 是一种具有高度软骨特异性的仅在软骨组织中表达的 miRNAs^[13-14]。miR-140 作为在软骨中特异性表达的 miRNAs, 其在软骨细胞的表达相比骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 有很大的差异^[15]。但在 MSCs 向软骨形成培养过程中, miR-140 表达的增加, 与 Sox9 和 II 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type II $\alpha 1$, Col2 $\alpha 1$) 的表达上调是平行的。而在 OA 进展期的关节软骨中, miR-140 的表达较正常关节软骨则明显降低。同时, 在对正常软骨细胞使用 IL-1 β 诱导时, 其 miR-140 的表达明显抑制。且当 miR-140 过表达时, 可下调 IL-1 β 诱导的含血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶 5 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS-5) 表达, 并减少对白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 依赖性聚集蛋白聚糖 (Aggrecan) 基因表达的抑制, 而 ADAMTS-5 可以降解 Aggrecan, 是 OA 发病机制中的关键酶^[16]。上述研究初步证实了 miR-140

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81173277、81373665); 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (81302988); 国家科技重大专项项目 (2015ZX09101021); 上海市中医药事业发展三年行动计划项目 (ZYSN XD-CC-ZDYJ047); 上海市中医药事业发展三年行动计划项目 (ZY3-JSFC-2-1035); 上海市科学技术委员会科研计划项目 (13401902502); 上海科学技术委员会资助项目 (13411850500)

通讯作者: 高宁阳 E-mail: sapphire512@163.com

表达与 OA 发病机制有关。在应用删除 miR - 140 基因制造的 miR - 140 - / - 小鼠模型中发现,模型小鼠出现了与年龄相关的 OA 病理改变^[17]。相反,miRNA - 140 的过度表达能保护软骨,避免发生 OA。这些研究进一步表明了 miR - 140 具有调节软骨发育及维持软骨代谢平衡(图 1^[18])的作用,当 miR - 140 缺失时出现与年龄相关的 OA 病理改变,并在 OA 病理过程中 miR - 140 作为靶基因直接调控 ADAMTS - 5 的表达,这直接证实了 miRNA - 140 在 OA 的发病机制中有着重要作用。此外,Dudek 等^[19]在研究中发现,miR - 675 可以调控关节软骨细胞中 II 型胶原的表达。当 Sox9 表达抑制时,II 型胶原分泌明显减少,但 miR - 675 能够逆转上述情况。这意味着在软骨细胞中,miR - 675 具有调节 Sox9 对 Col2 α 1 调控的能力。同时,miR - 145 亦被证实可直接通过 Sox9 来调控 Col2 α 1、ACAN、Comp、Col9 α 2 等软骨基质基因的表达^[20-21]。在软骨细胞中 miR - 146a 的表达通过直接结合 Smad 4 的 3' UTR 导致转化生长因子 - β (transforming growth factor - β , TGF - β) 的减少以及细胞凋亡的增加。在 IL - 1 β 诱导的 OA 大鼠模型中,miR - 146a 的表达会增加^[22]。反之,miR - 146a 也可以通过抑制 IL - 1 β 进而使得软骨细胞中金属基质蛋白酶 13 (matrix metalloproteinases 13, MMP - 13) 与 ADAMTS - 5 的表达下调以及抑制滑膜细胞中的炎症细胞因子^[23]。

另外,有学者发现在 OA 软骨细胞中,miR - 125b 的表达明显低于正常软骨细胞,而 IL - 1 β 诱导的 ADAMTS - 4 上调被 miR - 125b 的过量表达抑制,从而推断出 miR - 125b 在调节人类软骨细胞 ADAMTS - 4 的表达上扮演着关键角色^[24]。

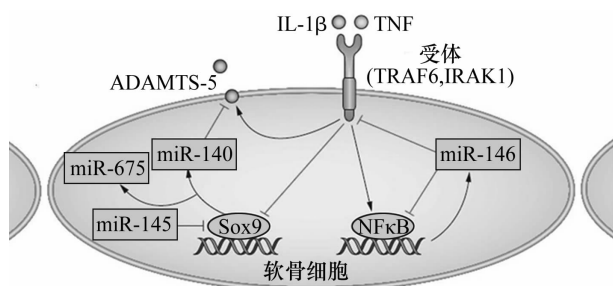


图 1 miRNAs 在维持软骨代谢平衡中的作用

2.2 miRNAs 与滑膜炎 Tardif 等^[25]在通过对 miR - 140、miR - 27 与 MMP - 13、IGF 结合蛋白 5 (IGF binding protein 5, IGFBP - 5) 之间的表达关系进行研究

时发现,miR - 140、miR - 27a 在正常软骨细胞中皆有表达,并且在 OA 软骨细胞中 miR - 140 可以直接降低 IGFBP - 5 的表达,miR - 27a 可以间接降低 IGFBP - 5 和 MMP - 13 的表达,而 IGFBP - 5 和 MMP - 13 在 OA 发病过程中均有着重要作用。也有研究表明^[26],miR - 27b 在正常的软骨细胞和 OA 患者的软骨细胞中均有表达,但相比正常软骨细胞,miR - 27b 在 IL - 1 β 诱导的软骨细胞中表达明显下调,且 MMP - 13 的表达与 miR - 27b 的下调有直接相关性,进而证实 miR - 27b 是 MMP - 13 直接调控的靶基因,对关节软骨中 MMP - 13 表达的调节起着重要作用。

当 OA 患者关节软骨的 Mankin 评分越低时,其软骨中 miR - 146a 的表达越高,而随着 Mankin 评分的升高,软骨破坏的程度加重,miR - 146a 的表达就越低;同时 MMP - 13 的表达也随之升高,并且 IL - 1 β 可以刺激正常软骨细胞的 miR - 146a 表达^[27]。这一结果表明,在 OA 早期的关节软骨中 miR - 146 表达的上调可由 IL - 1 β 引起,并通过负反馈来抑制关节软骨的降解。因此,miR - 146 可能在 OA 软骨细胞的发病机制中起着重要作用。

Jones 等^[28]在对晚期 OA 患者关节软骨分析时,发现有 17 种 miRNAs 为表达异常,其中 miR - 9、miR - 25、miR - 98 表达下调,miR - 146 表达上调;在对这些 miRNAs 靶基因功能通路预测分析后,结果显示,miR - 9、miR - 98、miR - 146 可通过对 IL - 1 β 、TNF - α 、MMP - 13 的表达调控来控制 OA 的关节炎症。另外,5 种 miRNAs (miR - 22、miR - 25、miR - 29a、miR - 103、miR - 337) 的表达与体重指数密切相关^[29],这些也提示 miRNAs 在脂肪代谢与 OA 发病机制有着较为重要的作用。

2.3 miRNAs 与疼痛 疼痛作为引起 OA 患者活动受限的主要原因,是绝大多数 OA 患者的主要临床症状,而缓解或减轻疼痛是目前治疗 OA 的主要目标之一。OA 所致的疼痛多由周围疼痛感受器与中枢感觉系统之间的信号传导聚集所产生^[30]。而 miR - 146a 对如肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor - associated factor 6, TRAF6)、白细胞介素 - 1 受体相关激酶 1 (IL - 1 receptor associated kinase 1, IRAK1) 等炎症相关基因具有明确调节作用的同时,这些基因的亚集基因也参与了神经细胞的分化。因此,miR - 146a 有可能参与了 OA 疼痛的神经

病理过程。Im 等^[31] 研究结果显示, miR - 146a 可通过对炎性因子及神经细胞(中枢和外周神经系统)中致痛因子的调控,而对 OA 所产生的疼痛具有调节作用;这说明 miRNAs 在对 OA 的调节过程中具有止痛的作用。

3 小 结

随着中国人口的老龄化进程的加快,OA 作为一种慢性、退行性关节疾病将严重影响中老年人的生活质量。因此,如何早期诊断以及早期治疗 OA 具有十分重要的临床意义。而 miRNAs 在人类的体液如血液、尿液、关节液以及唾液中可以稳定存在,且有良好的组织特异性和时序性,使得 miRNAs 在 OA 的早期诊断以及早期治疗方面具有无法比拟的优势^[32-33]。Zhang 等^[34] 研究证明,miRNAs 可以预测重度膝或髋关节 OA。miRNAs 还具有调节软骨发育及维持软骨代谢平衡的作用以及通过对炎性因子和神经细胞中致痛因子的调控对 OA 所产生的疼痛具有调节作用,这说明 miRNAs 在 OA 的病变过程中具有关键性的调控作用^[35-37]。

此外,Zhang 等^[38] 研究发现,植物中的 miRNAs 结构与人体 miRNAs 相似但不完全相同,但是一些植物 miRNAs 可以通过消化系统进入人体,并且能够调控组织细胞功能。这一发现提示 miRNAs 可能也是中药的活性成分之一,说明中药 miRNAs 具有直接调节人体 miRNAs 表达的可能。更为特别的是 miRNAs 具有组织特异性^[39],又具有对疾病的特异性^[40],且可以调节多个靶基因^[41],在 OA 发病机制中扮演着重要的角色。对中药及其活性成分调节 miRNAs 的探索,将是今后研究的重点,这将极大地促进中医药治疗 OA 相关机制的研究发展,为 OA 的防治开辟一条新的途径。

4 参考文献

- [1] Buckwalter JA, Martin JA. Osteoarthritis [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(2): 150 - 167.
- [2] 中华医学会骨科学分会. 骨关节炎诊治指南(2007 年版) [J]. *中国矫形外科杂志*, 2014, 27(3): 287 - 288.
- [3] Kawaguchi H. Regulation of osteoarthritis development by wnt - β - catenin signaling through the endochondral ossification process [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2009, 24(1): 8 - 11.
- [4] Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence - based, expert consensus guidelines [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008, 16(2): 137 - 162.
- [5] Alcaraz MJ, Megías J, García - Arandis I, et al. New molecular targets for the treatment of osteoarthritis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(1): 13 - 21.
- [6] Griffiths - Jones S. The microRNA registry [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32: 109 - 111.
- [7] Griffiths - Jones S. miRBase: the microRNA sequence database [J]. *Methods Mol Biol*, 2006, 342: 129 - 138.
- [8] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets [J]. *Cell*, 2005, 120(1): 15 - 20.
- [9] Li W, Ruan K. MicroRNA detection by microarray [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394(4): 1117 - 1124.
- [10] Doron B, Manda W, Aaron G, et al. The microRNA. org resource: targets and expression [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(Database issue): 149 - 53.
- [11] Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division [J]. *Cell*, 2005, 122(1): 6 - 7.
- [12] Stadler BM, Ruohola - Baker H. Small RNAs: keeping stem cells inline [J]. *Cell*, 2008, 132(4): 563 - 566.
- [13] Tuddenham L, Wheeler G, Ntounia - Fousara S, et al. The cartilage specific microRNA - 140 targets histone deacetylase 4 in mouse cells [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(17): 4214 - 4217.
- [14] Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development [J]. *Science*, 2005, 309(5732): 310 - 311.
- [15] Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, et al. MicroRNA - 140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin - 1 responses [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(9): 2723 - 2730.
- [16] Stanton H, Rogerson FM, East CJ, et al. ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro [J]. *Nature*, 2005, 434(7033): 648 - 652.
- [17] Miyaki S, Sato T, Inoue A, et al. MicroRNA - 140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(11): 1173 - 1185.
- [18] Miyaki S, Asahara H. Macro view of microRNA function in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2012, 8(9): 543 - 552.
- [19] Dudek KA, Lafont JE, Martinez - Sanchez A, et al. Type II collagen expression is regulated by tissue - specific miR - 675 in human articular chondrocytes [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(32): 24381 - 24387.
- [20] Yang B, Guo HF, Zhang YL, et al. MicroRNA - 145 regulates chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells

- by targeting Sox9[J]. PLoS One, 2011, 6(7):e21679.
- [21] Martinez - Sanchez A, Dudek KA, Murphy CL. Regulation of human chondrocyte function through direct inhibition of cartilage master regulator SOX9 by MicroRNA - 145 (miRNA - 145) [J]. J Biol Chem, 2012, 287(2):916 - 924.
- [22] Li J, Huang JA, Dai LM, et al. miR - 146a, an IL - 1 β responsive miRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(2):R75.
- [23] 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.
- [24] Matsukawa T, Sakai T, Yonezawa T, et al. MicroRNA - 125b regulates the expression of aggrecanase - 1 (ADAMTS - 4) in human osteoarthritic chondrocytes [J]. Arthritis Res Ther, 2013, 15(1):R28.
- [25] Tardif G, Hum D, Pelletier JP, et al. Regulation of the IGFBP - 5 and MMP - 13 genes by the microRNAs miR - 140 and miR - 27a in human osteoarthritic chondrocytes [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2009, 10:148.
- [26] Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy SA, et al. MicroRNA - 27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(5):1361 - 1371.
- [27] Yamasaki K, Nakasa T, Miyaki S, et al. Expression of MicroRNA - 146a in osteoarthritis cartilage [J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(4):1035 - 1041.
- [28] Jones SW, Watkins G, Le Good N, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF - alpha and MMP13[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2009, 17(4):464 - 472.
- [29] Iliopoulos D, Malizos KN, Oikonomou P, et al. Integrative MicroRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks[J]. PLoS One, 2008, 3(11):e3740.
- [30] 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.
- [31] Im HJ, Kim JS, Li X, et al. Alteration of sensory neurons and spinal response to an experimental osteoarthritis pain model[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(10):2995 - 3005.
- [32] Manne U, Shanmugam C, Bovell L, et al. miRNAs as biomarkers for management of patients with colorectal cancer[J]. Biomark Med, 2010, 4(5):761 - 770.
- [33] Chakraborty S, Baine MJ, Sasson AR, et al. Current status of molecular markers for early detection of sporadic pancreatic cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1815(1):44 - 64.
- [34] Zhang L, Yang M, Marks P, et al. Serum non - coding RNAs as biomarkers for osteoarthritis progression after ACL injury[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2012, 20(12):1631 - 1637.
- [35] Beyer C, Zampetaki A, Lin NY, et al. Signature of circulating microRNAs in osteoarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(2):60 - 61.
- [36] Diaz - Prado S, Cicione C, Muinos - Lopez EA, et al. Characterization of microRNA expression profiles in normal and osteoarthritic human chondrocytes [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2012, 13(13):144.
- [37] Le LT, Swingle TE, Clark IM. Review: the role of microRNAs in osteoarthritis and chondrogenesis [J]. Arthritis Rheum, 2013, 65(8):1963 - 1974.
- [38] Zhang L, Hou D, Chen X, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross - kingdom regulation by microRNA [J]. Cell Res, 2012, 22(1):107 - 126.
- [39] Lagos - Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue - specific microRNAs from mouse [J]. Curr Biol, 2002, 12(9):735 - 739.
- [40] Lu M, Zhang Q, Deng M, et al. An analysis of human microRNA and disease associations [J]. PLoS One, 2008, 3(10):e3420.
- [41] John B, Enright AJ, Aravin A, et al. Human MicroRNA targets[J]. PLoS Biol, 2004, 2(11):e363.

(2015-07-13 收稿 2015-11-11 修回)

(上接第 73 页)

参考文献

- [1] 王兆星,董福慧. 铍针治疗臀中皮神经卡压综合征[J]. 中国骨伤, 2004, 17(2):30 - 31.
- [2] 赵勇,董福慧,张宽. 经筋痹痛的软组织力学变化分析与治疗思路[J]. 北京中医药, 2008, 27(9):705 - 707.
- [3] 段赞,李雪松,夏小军. 从中医学“血浊”理论探讨原发性血小板增多症[J]. 中医研究, 2011, 24(4):8 - 10.
- [4] 郭立中,陈四清,皇玲玲. 周仲瑛从瘀热论治血液系统疾病的临床经验——周仲瑛瘀热论学术思想临证应用之三[J]. 江苏中医药, 2010, 42(5):10 - 12.
- [5] 侯丕华,梁俊俊,严艳,等. 中医血液病病名刍议[J]. 中医杂志, 2015, 56(8):716 - 718.
- [6] 王丽平,边垠,周炜. 针刺对脑梗塞患者血小板线粒体的影响[J]. 中国针灸, 2003, 23(2):103 - 105.
- [7] 张朝晖,王强. 针刺内关神门对冠心病患者血小板活性的影响[J]. 中国针灸, 2000, 20(2):119 - 120.

(2015-09-15 收稿 2015-10-08 修回)