

terectomy for invasive cervical cancer: 8-year experience of pilot study[J]. *Gynecol Oncol*,2003,91(3):534-539.

16 Berta DF, Antonio GM, Maria A, et al. Sentinel lymph node identification and radical hysterectomy with lymphadenectomy in early stage cervical cancer: laparoscopy versus laparotomy[J]. *J Minim Invasive Gynecol*,2008,15(5):531-537.

17 Hagen B, Eriksson N, Sundset M, et al. Randomised controlled trial of LigaSure versus conventional suture ligation for abdominal hysterectomy[J]. *BJOG*,2005,112(7):968-970.

18 Janssen PF, Brolmann HA, van Kesteren PJ, et al. Perioperative outcomes using LigaSure compared with conventional bipolar instruments in laparoscopic hysterectomy: a randomised Controlled trial [J]. *BJOG*,2011,118(13):1568-1575.

19 邵茵,李明娥,马利国,等. 结扎束血管闭合系统在经腹子宫颈癌根治术中的应用[J]. *黑龙江医学*,2010,34(4):247-248.

20 赵咏梅. 妇科恶性肿瘤手术方法效果分析[J]. *当代医学*,2010,16(16):40-41.

21 韩丽萍,侯娜,高美,等. 盆腔淋巴结清扫术后盆腔淋巴囊肿预防探讨[J]. *国际妇产科学杂志*,2012,39(2):202-205.

22 康宁. 超声刀和单级电刀在宫颈癌盆腔淋巴结切除术中的临床观察[J]. *中国现代药物应用*,2012,6(6):48-49.

23 苏园园,韩燕华,张樱樱,等. LigaSure与超声刀在腹腔镜全子宫切除术中的应用[J]. *中国微创外科杂志*,2009,15(7):614-617.

[收稿日期 2013-10-14][本文编辑 谭毅 黄晓红]

新进展综述

# MicroRNA 及其异常表达在支气管哮喘发生与发展中的作用

彭秋香(综述), 谭毅(审校)

作者单位: 415900 湖南,汉寿县人民医院儿科

作者简介: 彭秋香(1974-),女,大学本科,医学学士,副主任医师,研究方向:儿科临床。E-mail:ZCL040338@126.com

[摘要] MicroRNA(miRNA)是一类内源性高度保守的单链小分子非编码RNA,长度约18~22个核苷酸(nt),具有组织特异性和时序特异性,在转录后水平调控靶基因的翻译或表达。miRNA在细胞生长、增殖、代谢、凋亡等生物学过程中发挥重要作用。研究表明,miRNA与支气管哮喘(哮喘)的发生发展存在密切关系,现已发现,若干miRNA,如Let-7家族、miR-125家族、miR-26家族、miR-155、miR-21、miR-133a、miR-26a、miR-221等的异常表达与哮喘相关。该文综述miRNA在哮喘的病理生理学基础及其以持续气道炎症、气道高反应性和气道重塑为特征的发病机制中的作用。

[关键词] MicroRNA; 支气管哮喘; 气道炎症; 气道重塑

[中图分类号] R 56 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2014)03-0260-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.03.28

**Role of miRNA and their abnormal express in pathogenesis and progression of bronchial asthma** PENG Qiuxiang, TAN Yi. Department of Pediatrics, the People's Hospital of Hanshou County, Hunan 415900, China

[Abstract] MicroRNA(miRNA) are a class of endogenous and small molecule noncoding single-stranded RNAs with highly conserved sequences among different species, about 18~22 nucleotides(nt), and have tissue specificity and time sequences specificity. miRNA can regulate the translation or expression of target miRNA at the post-transcriptional level and play important roles in the biological processes of cell growth, cell proliferation, metabolism, apoptosis and so on. A number of studies have demonstrated that miRNA have a close relationship with pathogenesis and development of bronchial asthma(asthma) which had been found to express abnormally in asthma for some miRNA such as let-7 family, miR-125 family, miR-26 family, miR-155, miR-21, miR-133a, miR-26a, miR-221, etc. Here is to discuss the role of miRNA in foundation of pathology and physiology of asthma and the pathogenesis mainly characterized by persistent airway inflammation, airway hyperresponsiveness and airway remodeling.

[Key words] MicroRNA(miRNA); Bronchial asthma; Airway inflammation; Airway remodeling

支气管哮喘(哮喘)是以持续气道炎症、气道高反应性和气道重塑为特征的慢性呼吸道疾病。哮喘是全球性疾病,发达国家超过3亿人口患病,发病率高达29.1%~32.2%<sup>[1]</sup>。我国城区儿童哮喘患病率为1.97%,2年现患率为1.54%,70%~80%的儿童哮喘发病于5岁以前,儿童哮喘如诊治不及时,随病程的延长可产生气道不可逆性狭窄和气道重塑<sup>[2]</sup>。Bush<sup>[3]</sup>认为,气道重塑可能与炎症并存并导致慢性炎症的发生和持续。近年来,MicroRNA(miRNA)在哮喘发生发展中的作用已日益受到关注。Moschos等<sup>[4]</sup>认为,miRNA主要通过调节免疫细胞参与疾病的发生发展。Tsitsion等<sup>[5]</sup>研究表明,重症哮喘中,其与CD8<sup>+</sup>T细胞激活密切相关,而后者与其细胞中miRNA表达下降相关。miRNA还具有调节气道上皮细胞和平滑肌细胞的功能。Jardim等<sup>[6]</sup>研究发现,中度哮喘患者的气道上皮细胞存在miRNA表达异常。目前,有关miRNA的研究呈指数形式增长。近期的研究<sup>[7,8]</sup>表明,miRNA通过对靶基因(messenger RNA, mRNA)进行转录后的表达调控,在多种生理、病理过程中发挥重要作用。迄今,人类基因组中有超过800种miRNA被克隆(Cloning)和测序(sequencing),预测其可能调控着至少1/3的人类基因组<sup>[9]</sup>。Sanger研究所的数据库miRBase(<http://www.mirbase.org/>)是记录miRNA序列最权威的数据库<sup>[10]</sup>,其所提供的数据显示,迄今人类基因组中已有超过1000种miRNA在线发布,并可查询其相关功能。Tomankova等<sup>[11]</sup>研究表明,miRNA在哮喘、肺癌、肺纤维化等疾病中表达异常,其可通过多条信号转导通路参与气道重塑等病理生理过程。miRNA的研究进展有助于对哮喘获得更多更新的认识。

### 1 miRNA的分子生物学特征<sup>[12]</sup>

(1)miRNA的长度为18~22个核苷酸(nt),在3'端可有1~2个碱基的长度变化。(2)miRNA高度保守,在进化上广泛存在于真核生物基因组中,其本身不具有开放阅读框架,是一组非编码蛋白质的短序RNA。(3)miRNA为单链结构,其5'端有一个磷酸基团,3'端为羟基,这一特点可使其与功能RNA的降解片段和大多数寡核苷酸保持区别。(4)miRNA具有较强的同源性,来自同一个基因簇,其同源性较强。(5)具有组织特异性和时序特异性,并决定组织和细胞的功能特异性。

### 2 miRNA的生物形成和作用机制

miRNA的生物形成已有较为详细的阐明,其生

成过程包括转录、加工成熟及功能复合体装配。研究<sup>[13]</sup>表明,miRNA首先在细胞核中由RNA聚合酶II转录形成初级miRNA(primary miRNA, pri-miRNA);随后pri-miRNA聚合酶III-核酸酶Drosha-结合蛋白DGCR8复合体切割形成长约60~70个nt分子的茎环结构RNA,称为前体miRNA(precursor miRNA, pre-miRNA);pre-miRNA再由转运蛋白Exportin 5(Exp5)从细胞核转运至细胞质中,经另一个核酸酶Dicer(属于Rnase III家族)将其剪切成22~23个nt长度的双链miRNA。最后,双链被降解,其中S'端相对不稳定的一条链被结合到核蛋白复合体并参与形成RNA诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC),而另一条链随即被降解。RISC中的miRNA与靶mRNA的3'端非编码区(3'UTR)不完全互补配对时,该基因的翻译过程受到抑制;完全互补配对时,靶mRNA在核酸内切酶作用下降解<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15]</sup>表明,miRNA在固有免疫、适应性免疫及炎症因子的信号转导过程中发挥重要的调节作用。Hu等<sup>[16]</sup>研究认为,核酸酶Drosha和Dicer是miRNA生物合成过程中的两种关键酶,非特异性地反映并决定了miRNA在生物体内的合成与代谢。

### 3 miRNA与哮喘

miRNA在哮喘的发病过程中的作用已日益受到关注和重视。Williams等<sup>[17]</sup>在检测227种miRNA中发现,miR-92、miR-200c、miR-16、Let-7家族(Let-7a、Let-7b、Let-7c)、miR-125家族(miR-125a、miR-125b)、miR-26家族(miR-26a、miR-26b)及miR-30家族(miR-30a-5p、miR-30b、miR-30c)在健康者及轻度哮喘患者的肺组织中是表达水平最高的miRNA,并推断这些miRNA调控气道及肺组织相关基因表达。

**3.1 Let-7家族** Let-7家族是肺组织中表达含量最多的miRNA之一。Let-7a可调控白介素-13(IL-13)的靶基因,后者在哮喘炎症反应和气道重塑中起重要作用。研究<sup>[18]</sup>表明,体内抑制Let-7后可降低哮喘炎症反应和细胞因子的产生,提示Let-7对哮喘炎症具有正性调节作用。Kumar等<sup>[19]</sup>的研究发现,给予哮喘模型外源性Let-7类似物后IL-13水平降低,气道炎症缓解,黏液产生和上皮纤维化减少,提示其在哮喘中的负性调节作用。上述Let-7在哮喘中的两种不同作用,在肿瘤的形成与抑制中也得到了证实,Let-7是最早被证实与肿瘤形成相关的miRNA;另一方面许多肿瘤往往丢失Let-7的表达调

控作用,故又被视为抑癌基因。近期研究<sup>[20]</sup>表明,在非小细胞肺癌小鼠模型中导入外源性 Let-7, 结果发现 Let-7 可有效抑制肿瘤发展。

**3.2 miR-155** miR-155 在正常免疫系统中起关键作用,是 B 细胞、T 细胞和树突细胞发挥生物学功能所必须的 miRNA。研究<sup>[21]</sup>表明,miR-155 可通过 Kipl 泛素促进复合体 1 (Kipl ubiquitination-promoting complex 1, KPC1) 间接调节 P27 Kipl 表达,促进树突细胞凋亡。miR-155 通过调节细胞分化[如 Th1 (Thelper 1 cells)、调节性 T 细胞 (Treg)] 和分泌细胞因子[如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-6 (IL-6)] 表达上调,而在 miR-155 表达水平下调的小鼠则表现为 T 细胞向 Th1 细胞分化,支气管肺泡内白细胞总数增加和气道重塑形成<sup>[22]</sup>。研究<sup>[23]</sup>发现,miR-155 可调节人类巨噬细胞对 IL-13 的反应,其靶基因为 IL-13R $\alpha$ , miR-155 通过下调后者的表达,使 Th1/Th2 (T helper 2 cells) 平衡向 Th1 方向倾斜。提示 miR-155 表达增加有利于减缓哮喘的发病。在 miR-155 缺陷的哮喘小鼠则表现为 Th2 细胞反应和气道重塑的增加。Pagdin 等<sup>[24]</sup>在对肺疾病的研究中表明,敲除 miR-155 可导致哮喘的炎性细胞浸润和气道重塑。

**3.3 miR-21** Th1/Th2 失衡是哮喘早期的免疫机制之一。Lu 等<sup>[25]</sup>认为,miR-21 在哮喘 Th1/Th2 机制中发挥重要的调节作用。研究<sup>[26]</sup>表明,在三个哮喘模型中,miR-21 均显示在巨噬细胞和树突细胞中大量表达,导致其靶基因 IL-12P35 mRNA 的减少,而白介素-12 (IL-12) 是巨噬细胞和树突细胞产生的,与免疫反应有关的炎症因子,提示 miR-21 可能是调节气道变态反应和炎症相关机制的 miRNA。Sheedy 等<sup>[27]</sup>认为,miR-21 通过调节 IL-12 水平发挥其调控作用,提示抑制 miR-21 表达或降低 IL-12 水平可能有助于控制哮喘的炎症反应。

**3.4 miR-133a** RhoA (ras homolog gene family member A, 一种促收缩蛋白) 可介导细胞外调节蛋白激酶的磷酸化,促进嗜酸粒细胞的趋化及促进气道平滑肌细胞的增殖。研究<sup>[28]</sup>发现,抑制内源性 miR-133a 时,可检测到 RhoA 的高表达,IL-13 经刺激后,人体平滑肌细胞中 miR-133a 水平下降导致 RhoA 大量表达,后者与平滑肌细胞收缩有关,提示 miR-133a 对 RhoA 的表达起负性调节作用,miR-133a 可能与气道高反应性有关。

**3.5 miR-26a 与 miR-221** 气道平滑肌细胞肥大是哮喘气道重塑的重要病理特征之一。肥大细胞在哮

喘嗜酸粒细胞浸润及平滑肌增殖中发挥重要作用。Mohamed 等<sup>[29]</sup>研究发现与细胞肥大相关的 28 种 miRNA 上调,其中 miR-26a 表现为显著上调,他们认为 miR-26a 是人体气道平滑肌增生的特异性 miRNA。miR-26a 抑制剂可减少肥大细胞反应,其过表达可诱导气道平滑肌细胞肥大。miR-26a 的 mRNA 是糖原合成酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ), 后者是抑制人体气道平滑肌增生蛋白。当 miR-26a 表达水平升高时,可调控 GSK-3 $\beta$  的浓度下降,人体气道平滑肌细胞肥大、增生。Leeper 等<sup>[30]</sup>研究表明,抑制 miR-26a 表达可加速平滑肌细胞分化、细胞凋亡并抑制细胞增殖和迁移。Mayoral 等<sup>[31]</sup>研究认为,miR-221 可影响肥大细胞的多种生物学功能,其对肥大细胞可发挥特异性作用,使其脱颗粒、黏附作用和细胞因子的释放显著增加。此外, Vohwinkel 等<sup>[32]</sup>新近发现,在哮喘高碳酸血症时,高二氧化碳水平可使 miR-183 表达水平升高,而 miR-183 可使异柠檬酸脱氢酶 2 的表达下降,从而影响线粒体功能和细胞增殖。

#### 4 结语

综上所述,本文介绍了 miRNA 的生物学特征、调控及其在哮喘发病中的新进展、新认识。目前,有关 miRNA 与哮喘发病机制的研究正在进一步开展。随着基因组学研究的逐步深入,高通量微阵列和生物信息等的广泛应用,miRNA 作为哮喘的早期分子诊断、靶向治疗和预后判断等临床应用具有广阔前景,令人鼓舞。

#### 参考文献

- Bateman ED, Hard SS, Barnes PJ, et al. Global strategy for asthma management and prevention; GINA executive summary [J]. Eur Respir J, 2008, 31(1):143-178.
- 王卫平,毛萌,李廷玉,等. 儿科学[M]. 第8版. 北京:人民卫生出版社,2013:271-277.
- Bush A. How early do airway inflammation and remodeling occur? [J]. Allergol Int, 2008, 57(1):11-19.
- Moschos SA, Williams AE, Perry MM, et al. Expression profiling in vivo demonstrates rapid changes in lung microRNA levels following lipopolysaccharide-induced inflammation but not in the anti-inflammatory action of glucocorticoids [J]. BMC Genomics, 2007, 8:240.
- Tsitsion E, Williams AE, Moschos SA, et al. Transcriptome analysis shows activation of circulating CD8<sup>+</sup> T cells in patients with severe asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129(1):95-103.
- Jardim MJ, Dailey LA, Ren H, et al. Differential microRNA expression between asthmatic and healthy donors [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(18):A3735.
- Brase JC, Wuttig D, Kuner R, et al. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer [J]. Mol Cancer, 2010, 9(2):306.

- 8 Lovat F, Valeri N, Croce CM. MicroRNAs in the pathogenesis of cancer[J]. *Semin Oncol*, 2011, 38(6):724-733.
- 9 Oglesby IK, McElvaney NG, Greene CM. MicroRNAs in inflammatory lung disease master regulators or target practice? [J]. *Respir Res*, 2010, 11(2):148.
- 10 Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, et al. MiRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature [J]. *Nucleic Acid Res*, 2006, 34(Database issue):D140-D144.
- 11 Tomankova T, Petrek M, Kriegove E. Involvement of microRNAs in physiological and pathological processes in the lung [J]. *Respir Res*, 2010, 11(2):159.
- 12 沙龙泽, 曾毅, 王建博, 等. 小RNA分子研究进展[J]. *生物学通报*, 2009, 14(1):1-5.
- 13 Umbach JL, Kramer MF, Jurak I, et al. MicroRNAs expressed by herpes simplex virus I during latent infection regulate viral mRNAs [J]. *Nature*, 2008, 454(7205):780-783.
- 14 Yang H, Dinney CP, Ye Y, et al. Evaluation of genetic variants in microRNA-related genes and risk of bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(7):2530-2537.
- 15 Sonkoly E, Pivarcsi A. Advances in microRNAs: implications for immunity and inflammatory diseases [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(1):24-38.
- 16 Hu H, Gatti RA. MicroRNAs: new players in the DNA damage response [J]. *J Mol Cell Biol*, 2011, 3(3):151-158.
- 17 Williams AE, Larner-svensson H, Perry MM, et al. MicroRNA expression profiling in mild asthmatic human airways and effect of corticosteroid therapy [J]. *PLoS One*, 2009, 4(6):e5889.
- 18 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.
- 19 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(11):1077-1085.
- 20 Landi MT, Zhao Y, Rotunno M, et al. MicroRNA expression differentiates histology and predicts survival of lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2):430-441.
- 21 Lu CM, Huang X, Zhang XX, et al. miR-221 and miR-155 regulate human dendritic cell development, apoptosis, and IL-12 production through targeting of p27kip1, KPC1. *And SOCS-1* [J]. *Blood*, 2011, 117(16):4293-4303.
- 22 Banerjee A, Schambach F, DeJong CS, et al. Micro-RNA-155 inhibits IFN-gamma signaling in CD4<sup>+</sup> T cells [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(1):225-231.
- 23 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 alpha (IL13Ralphal) [J]. *J Biol Chem*, 2011, 285(8):1786-1794.
- 24 Pagdin T, Lavender P. MicroRNAs in lung diseases [J]. *Thorax*, 2012, 67(2):183-184.
- 25 Lu TX, Hartner J, Lim EJ, et al. MicroRNA-21 limits in vivo immune response-mediated activation of the IL-12 IFN-gamma pathway. Th1 polarization. And the severity of delayed-type hypersensitivity [J]. *J Immunol*, 2011, 187(11):3362-3373.
- 26 Lu TX, Munitz A, Rothenberg ME. MicroRNA-21 is upregulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression [J]. *J Immunol*, 2009, 182(8):4994-5002.
- 27 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(1):111-117.
- 28 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.
- 29 Mohamed JS, Lopez MA, Boriek AM. Mechanical stretch up-regulates microRNA-26a and induces human airway smooth muscle hypertrophy by suppressing glycogen synthase kinase-3 $\beta$  [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(2302):29336-29347.
- 30 Leeper NJ, Raiesdana A, Kojima Y, et al. MicroRNA-26a is a novel regulator of vascular smooth muscle cell function [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(6):1035-1043.
- 31 Mayoral RJ, Deho L, Rusca N, et al. MiR-221 influence effector functions and actin cytoskeleton in mast cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e26133.
- 32 Vohwinkel CU, Lecuona E, Sun H, et al. Elevated CO<sub>2</sub> levels cause mitochondrial dysfunction and impair cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(43):37067-37076.

[收稿日期 2013-11-04][本文编辑 谭毅 刘京虹]

## 作者书写统计学符号须知

本刊执行国家标准 GB3358-82《统计学名词及符号》的有关规定,请作者书写统计学符号时注意以下规格:1. 样本的算术平均数用英文小写  $\bar{x}$  表示,不用大写  $\bar{X}$  表示,也不用 *Mean* 或 *M* (中位数仍用 *M*);2. 标准差用英文小写 *s*,不用 *SD*;3. 标准误用英文小写  $s\bar{x}$ ,不用 *SE*,也不用 *SEM*;4. *t* 检验用英文小写 *t*;5. *F* 检验用英文大写 *F*;6. 卡方检验用希腊文小写  $\chi^2$ ;7. 相关系数用英文小写 *r*;8. 自由度用希腊文小写  $\nu$  (钮);9. 样本数用英文小写 *n*;10. 概率用英文大写 *P*;11. 以上符号  $\bar{x}$ 、*s*、 $s\bar{x}$ 、*t*、*F*、 $\chi^2$ 、*r*、 $\nu$ 、*n*、*P* 均用斜体。望作者注意。