

DOI: 10.13376/j.cblls/20200

文章编号: 1004-0374(2020)04-0378-09

环状RNA在纤维化疾病中的调控机制 及其应用的研究进展

张志彬¹, 彭亚婷¹, 余凯慧², 杨馨悦¹, 刘藕根^{1*}

(1 南昌大学第二附属医院皮肤科, 南昌 330006; 2 南昌大学医学部研究生院, 南昌 330006)

摘要: 纤维化是指细胞外基质成分的过量沉积, 最终导致器官结构的破坏和功能丧失。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类内源性非编码 RNA, 其特征以共价键形成封闭环状结构。circRNA 在真核生物体内分布广泛, 具有一定的生物稳定性、保守性以及组织特异性。近年来研究表明, circRNA 在纤维化疾病的发生发展中发挥着极其重要的作用, 因此 circRNA 的表达异常可能为纤维化疾病的早期诊断和预后评估提供依据以及为纤维化疾病的治疗提供潜在的靶点。该文总结了 circRNA 的分类、功能、在纤维化疾病中的调控作用及其应用情况。

关键词: 环状 RNA; 纤维化疾病; 调控机制; 应用

中图分类号: Q55; R364.3 **文献标志码:** A

The regulation mechanism and its application of circular RNA in fibrotic diseases

ZHANG Zhi-Bin¹, PENG Ya-Ting¹, YU Kai-Hui², YANG Xin-Yue¹, LIU Ou-Gen^{1*}

(1 Department of Dermatology, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China;

2 Medical Department of Graduate School, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: Fibrosis is the excess deposition of extracellular matrix components, which ultimately leads to the disruption of organ architecture and loss of function. Circular RNA (circRNA) is an endogenous non-coding RNA, characterized by a covalent bond to form a closed circular structure. circRNA is widely distributed in eukaryotes and has certain biological stability, conservation and tissue specificity. In recent years, studies have shown that circRNA plays an extremely important role in the development of fibrotic diseases. Therefore, abnormal expression of circRNA may provide basis for early diagnosis and prognosis assessment of fibrotic diseases and provide a potential target for the treatment of fibrotic diseases. In this review, we summarize the classification, function, regulation of circRNA, and its application in fibrotic diseases.

Key words: circular RNA; fibrotic diseases; regulation mechanism; application

纤维化是以细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 成分过度沉积为特征的一种病理过程, 它主要与 ECM 成分合成及降解失衡有关^[1]。纤维化可使器官组织结构发生改变, 血液供应受到影响, 进而导致器官的功能逐渐减退甚至丧失。肝脏、肾脏、心脏和肺部等含有大量实质细胞的器官最容易发生纤维化^[2-4], 其他器官也可能受到影响。例如, 涉

纤维化将损害运动并降低生活质量^[5-6]。已经鉴定出许多促纤维化介质在纤维化的发展中起重要作用。例如, 转化生长因子 β (transforming growth factor- β ,

收稿日期: 2019-08-23; 修回日期: 2019-10-30

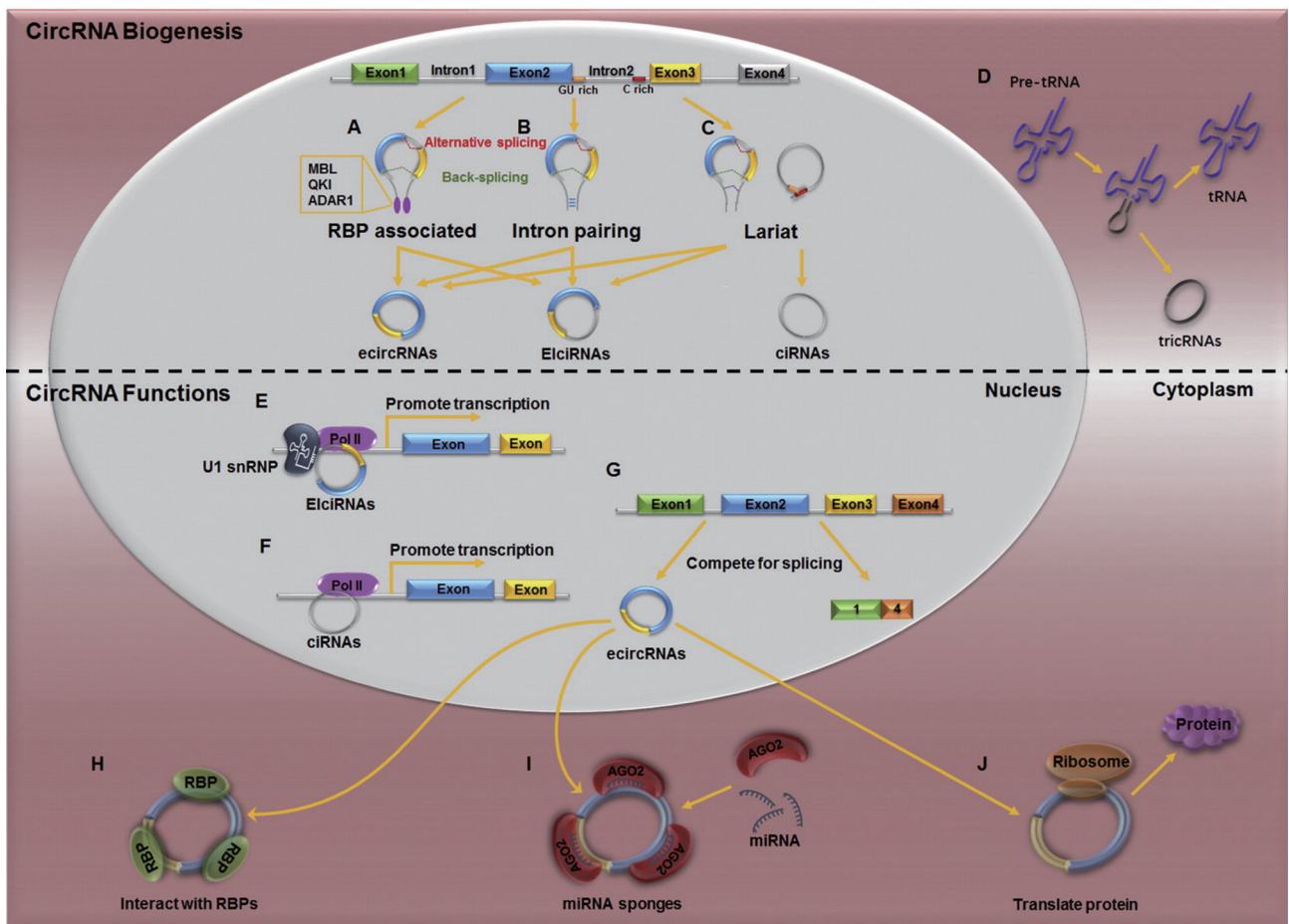
基金项目: 国家自然科学基金项目(81860548); 江西省科技厅项目(20192BAB205123); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ170093)

*通信作者: E-mail: 13576296646@163.com

TGF- β) 被认为是驱动各种组织中纤维化发生的关键促纤维化细胞因子^[7]。在过去的十年中, 非编码RNA, 包括微小RNA (microRNA, miRNA) 和长链非编码RNA (long noncoding RNA, lncRNA), 受到更多的关注, 可通过调节基因表达或者直接参与纤维化疾病的发生和发展^[8-10]。尽管做了一些努力, 纤维化的分子机制仍未完全了解, 目前的纤维化治疗仍然不够有效。环状RNA (circular RNA, circRNA) 于1976年首次在植物中被鉴定出来^[11], 在过去的几年中, 因其在疾病中的重要调节作用而引起人们浓厚的研究兴趣^[12]。2018年, 研究表明 circRNA 参与了纤维化形成的过程^[13]。纤维化是对器官的不可逆损伤, 多年来一直是研究的焦点。circRNA 与相关疾病联系的发现为在不同层面理解这一过程创造了新的途径。本文将总结近年来 circRNA 在多种纤维化疾病中的作用机制以及临床应用情况。

1 circRNA的分类及功能

circRNA 与线性RNA不同, 它们不是由RNA剪接的典型模式产生的, 而是通过连接3'和5'末端以独特的反向拼接形成环状^[14]。基于是否包含来自亲本基因的外显子和内含子的组分, circRNA 可以分为三类: 仅包含外显子反向剪切形成的外显子 circRNA (exonic circular RNA, ecircRNA)、来自内含子的内含子 circRNA (circular intronic RNA, ciRNA)、外显子和内含子环化的外显子-内含子 circRNA (exon-intron circular RNA, EiciRNA)^[15]。在过去的几年中, 已经阐明了 circRNA 的许多功能, 如 miRNA 海绵、与 RNA 结合蛋白相互作用、亲本基因转录调控、蛋白质翻译功能 (图1)^[16]。随着生物技术的发展与研究的深入, 将有更多未知的 circRNA 功能被发现。越来越多的研究表明, circRNA 通过不同



A: RNA结合蛋白(RBP)相关的环化; B: 内含子配对驱动环化; C: 套索驱动环化; D: tRNA内含子环状RNA (tricRNA)的形成; E: EiciRNA与宿主基因启动子区域的转录复合物相互作用调节基因转录; F: ciRNA直接与宿主基因上的转录复合物相互作用以诱导其转录; G: 选择性剪切; H: 与RBP相互作用; I: 充当miRNA海绵; J: 翻译蛋白质

图1 circRNA的生物起源和功能^[16]

的机制在多种纤维化疾病中发挥调控作用。虽然它们调控的确切作用和机制仍有待阐明,但是 circRNA 具有作为疾病生物标志物和新治疗靶标的潜在价值。

2 circRNA在纤维化相关疾病中的调控作用

2.1 circRNA与肺纤维化

肺纤维化是一种潜在的致死性炎症性疾病,其特征是 ECM 成分过度沉积在间质中。Yang 等^[17]分析大鼠正常肺组织和肺纤维化组织(博来霉素诱导)中的 circRNA 表达谱,发现了大量与肺纤维化相关的 circRNA。功能分析提示 chr9:113534327_113546234、chr20:14319170_14326640 和 chr10:57634023_57634588 可能通过调节 TGF- β 和 notch 信号通路参与肺纤维化。此外,有研究发现, circHIPK3 在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型成纤维细胞-肌成纤维细胞转化(fibroblast-to-myofibroblast transition, FMT) 衍生的肌成纤维细胞中显著上调。进一步研究发现, circHIPK3 可通过作为内源性 miR-338-3p 海绵调节 FMT 并抑制 miR-338-3p 活性,从而导致高迁移率族盒蛋白 4 (high mobility group box protein 4, SOX4) 和 I 型胶原 (type I collagen, COL1A1) 表达增加。同时,在特发性肺纤维化患者的临床样品中也检测到失调的 circHIPK3 表达^[18]。因此,这提示干预 circHIPK3 可能是潜在的肺纤维化治疗方法。

矽肺是由于长期大量吸入含有游离二氧化硅 (silicon dioxide, SiO₂) 的粉尘所引起,以肺部广泛结节性纤维化为主的疾病。其特征在于成纤维细胞的异常增殖和 ECM 的沉积。大量的证据显示,上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、内皮-间质转化 (endothelial-mesenchymal transition, EndMT) 在包括矽肺病在内的纤维化疾病中起着关键的作用^[19-20]。SiO₂ 被肺细胞吞噬后,可引起炎症级联反应,导致成纤维细胞增殖和迁移,随后发生纤维化^[21]。Zhou 等^[22]首先报道了 circHECTD1 在 SiO₂ 诱导的巨噬细胞活化和肺纤维化中的作用。该研究团队进一步研究发现,在小鼠肺内皮细胞系中, SiO₂ 促进了间充质标记物 I 型胶原 (type I collagen, COL1A1)、III 型胶原 (type III collagen, COL3A1) 和 α 平滑肌肌动蛋白 (alpha smooth muscle actin, α -SMA) 的表达,但降低了内皮标记物血管内皮钙黏蛋白、血小板内皮细胞黏附分子-1 的表达。同时, SiO₂ 增加 circHECTD1 但抑制 HECTD1 蛋白表达。此外,下调 circHECTD1 可抑制 SiO₂ 诱导的 EndMT 反应,上调 HECTD1 蛋白表达。同时, HECTD1 蛋白的

上调恢复了 SiO₂ 诱导的 EndMT 反应并且增加细胞增殖和迁移。来自 SiO₂ 暴露的小鼠和矽肺患者的肺样品证实了 HECTD1 蛋白的减少^[23]。上述研究提示, circHECTD1/HECTD1 通路具有调节 SiO₂ 诱导的巨噬细胞活化、EndMT 的作用,为矽肺的临床诊疗提供了新的方向。此外,研究人员在 SiO₂ 诱导的小鼠肺纤维化模型中发现, circRNA CDR1 可以与 miR-7 结合以释放 TGFBR2,通过促进 EMT 过程在肺纤维化中起重要作用^[24]。这些结果表明, miR-7 和 circRNA CDR1 之间的相互作用可能在肺纤维化疾病中发挥重要作用,并可能作为肺纤维化疾病的潜在治疗靶点。内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ESR) 可促进暴露于 SiO₂ 的人肺成纤维细胞的迁移和增殖,诱导矽肺病的发展。SiO₂ 诱导的内质网应激与 σ -1 受体 (sigma-1 receptor, σ -1R) 表达增强有关。抑制 σ -1R 可改善内质网应激和 SiO₂ 诱导的成纤维细胞功能变化。同时,研究人员发现 circHIPK2 参与了 σ -1R 对暴露于 SiO₂ 的人肺成纤维细胞的调节^[25],提示 circHIPK2/ σ -1R/ERS 途径可能也是矽肺病的潜在治疗靶点。此外,有研究表明 SiO₂ 可下调 circ-012091 在肺成纤维细胞中的表达,并诱导下游 PPP1R13B 的上调。进一步的研究发现, circ-012091 通过 ERS 和自噬调节 PPP1R13B,进而促进肺成纤维细胞的增殖和迁移^[26]。上述研究提示, circRNA 可以多种方式调节矽肺纤维化的形成。

在特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 患者血浆中,研究人员发现 circRNA_100906、circRNA_102100 和 circRNA_102348 显著上调,而 circRNA_101225、circRNA_104780 和 circRNA_101242 显著下调。同时,荧光素酶报告基因测定证实 circRNA_100906 和 circRNA_102348 分别与 miR-324-5p 和 miR-630 直接相互作用^[27],提示失调的 circRNA 可通过作为 miRNA 海绵或直接调节其宿主基因,进而发挥促纤维化或抗纤维化作用。此外,功能分析发现, circRNA_100906 和 circRNA_102348 可作为 IPF 的血清生物标志物。

2.2 circRNA与心脏纤维化

心脏纤维化定义为 ECM 产生和降解的不平衡导致结缔组织蛋白在间质和血管周围组织中的积累,在心力衰竭的发生和发展中起关键作用^[28]。纤维化是大多数不良心室重构的常见病理特征,例如心肌梗塞、糖尿病性心肌病、肥厚性和扩张性心肌病。临床研究表明,心脏纤维化与心脏病患者的长期死亡率升高密切相关,尤其是心力衰竭患者^[29-30]。

随着近年来对 circRNA 的深入研究, 发现其在心脏纤维化的过程中发挥着重要的作用。研究表明, circRNA_010567、circRNA_000203、circRNA_HIPK3 在用血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 处理的糖尿病小鼠的心脏成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CFs) 中显著上调, 功能实验显示, 沉默 circRNA_010567 可上调 miR-141 并下调 TGF- β 1 表达, 进而抑制 CFs 中纤维化相关蛋白 (Col I、Col III 和 α -SMA)^[31]。circRNA_000203 过表达可消除心脏成纤维细胞中 miR-26b-5p 的抗纤维化作用^[32]。与单独沉默 circHIPK3 或过表达 miR-29b-3p 相比, circHIPK3 沉默和 miR-29b-3p 过表达的组对体内心脏纤维化抑制具有更强的作用^[33]。上述研究提示, circRNA_010567/miR-141/TGF- β 1、circRNA_000203/miR-26b-5p、circHIPK3/miR-29b-3p 轴在糖尿病小鼠心脏纤维化的发病中起重要作用, 同时可能作为心脏纤维化的新型治疗靶点。

此外, 有研究表明, 在心肌梗塞后心脏样本以及用 TGF- β 处理的原代成人心脏成纤维细胞中, circNFIB 的表达明显降低。过表达 circNFIB 可减弱心脏成纤维细胞的增殖, 反之抑制 circNFIB 促进心脏成纤维细胞增殖。同时, circNFIB 可以作为海绵吸附 miR-433 进而介导其在心脏纤维化中的作用^[34]。该研究提示 circNFIB-miR-433 轴可能是治疗心脏纤维化疾病的新型治疗靶点。

2.3 circRNA与肝纤维化

肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 的激活是肝纤维化形成的中心环节^[35]。放射性肝纤维化 (RILF) 被认为是肝癌放射治疗的主要并发症。研究表明, circRNA 的异常表达与 RILF 的形成相关。通过使用 circRNA 微阵列, 在用或不用辐射处理的 HSC 中检测 circRNA 表达谱。结果发现, 与正常 HSC 相比, 照射的 HSC 中 179 个 circRNA 的表达显著增加, 630 个 circRNA 的表达显著减少。生物信息学分析表明, 异常表达的 circRNA 可能参与细胞对辐射的反应和纤维化过程^[36]。进一步研究发现, 抑制 circ_0071410 的表达可增加 miR-9-5p 的表达并减弱辐射诱导的 HSC 活化。

有学者对经典 CCI4 诱导的肝纤维化小鼠模型进行 circRNA 微阵列分析, 结果表明肝纤维化组织中 circRNA 表达谱有显著变化。生物信息学分析表明, 部分差异表达的 circRNA 可能参与肝脏氧化应激损伤、巨噬细胞炎症和肝星状细胞活化相关的肝纤维化^[37]。敲低 HSC 中 circ_34116 的表达可以显著抑

制细胞的活化, 增加 α -SMA 的表达, 提示 circ_34116 可能是抗肝纤维化的有效靶点^[38]。随后, 该课题组研究黄芪总皂苷 (astragalosides, AST) 是否能调节 circRNA 的表达, 结果发现 AST 干预可显著增加 CCI4 纤维化模型小鼠 circ_34116 的表达量, 同时肝组织炎症显著减轻, 胶原表达显著减少^[39]。该研究提示 AST 显著抑制肝纤维化模型的肝纤维化进展, 其机制可能与调节 circ_34116 表达有关。

既往研究认为胸腺素 β 4 (thymosin beta 4, T β 4) 在 HSC 中具有抗纤维化作用^[40]。Zhu 等^[41]研究了 T β 4 是否影响肝纤维化中 circRNA 的表达, 结果发现, 与对照相比, 在 T β 4 耗尽的 HSCs LX-2 细胞中, circRNA_0067835 的表达显著增加。敲除 circRNA_0067835 引起 G₁ 停滞和促进细胞凋亡从而显著降低 LX-2 细胞增殖。生物信息学分析发现, circRNA_0067835 可作为海绵吸附 miR-155 以促进 FOXO3a 的表达, 进而调节肝脏纤维化的进展^[41]。此外, 有研究对 HSC 进行 siRNA-miR-146b 处理, 随后将 siRNA-miR-146b 与 miR-146b 组进行高通量测序、生物信息学分析、qRT-PCR 验证, 结果表明 circRNA-469、circRNA-1138、circRNA-2168 和 circRNA-1907 在 siRNA-miR-146b 组显著减少, 而 circRNA-1984 在 siRNA-miR-146b 组中显著升高。该研究结果提示, miR-146b 可调节 HSC 中的 circRNA 表达进而影响肝纤维化的发生发展^[42]。

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的发生风险随肝纤维化阶段的增加而增加, 研究表明肝硬化与 HCC 之间存在密切关系。既往研究表明, circZKSCAN1 (hsa circ 0001727) 在人肝脏中丰度较高^[43]。与邻近的非肿瘤组织相比, 人类 HCC 样本中 circZKSCAN1 的水平显著下调, 并且在患有不同肿瘤数量的肝硬化患者中有所不同^[43]。与正常对照组相比, 在 HCC 细胞系中 circZKSCAN1 的水平也下调; 并且 circZKSCAN1 的过表达或敲低不影响 ZKSCAN1 mRNA 在 HCC 细胞系中的表达。敲除 circZKSCAN1 加速 HCC 细胞的增殖, 而 circZKSCAN1 的过表达则抑制 HCC 细胞系中的细胞增殖。此外, circZKSCAN1 过表达增加了 TGF- β 1 mRNA 的水平, 降低了 COL3A1 mRNA 的水平, 而敲低 circZKSCAN1 使这一水平升高^[44]。该研究提示 circZKSCAN1 可能参与 HCC 相关的肝纤维化。2019 年的一项研究表明, 慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者血清 circMTO1 显著下调, 并且与纤维化阶段以及肝组织学活动指数 (histological activity

index, HAI) 评分呈负相关。受试者工作特征曲线分析显示, 血清 circMTO1 可作为 CHB 患者肝纤维化的诊断生物标志物^[45]。同时, 该研究表明 circMTO1 可通过调节 miR-17-5p 和 Smad7 抑制肝纤维化。

2.4 circRNA与肾脏纤维化

肾脏纤维化是各种慢性肾脏病进展至终末期肾病的共同途径。糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病患者慢性肾功能衰竭和终末期肾病的最常见原因之一。DN 在病理学上以白蛋白尿、肾小球基质积聚、肾小球肥大和肾纤维化或衰竭为特征。其中一个重要的病理特征是系膜细胞的增殖和 ECM 的积累。circRNA 微阵列分析显示 db/db DN 小鼠中有大量 circRNA 失调, 其中 circRNA_15698 在 db DN 小鼠和暴露于高糖的小鼠系膜细胞 (SV40-MES13) 中显著上调。敲低 circRNA_15698 显著抑制 Col I、Col IV 和纤连蛋白的表达。进一步研究发现证实 circRNA_15698 充当 miR-185 的海绵, 然后正向调节 TGF- β 1 蛋白表达, 促进 ECM 相关的蛋白质合成^[46]。然而, 有关 circRNA 与肾脏纤维化之间调控机制的研究还较为缺乏, 需更多的研究来阐明 circRNA 在肾脏纤维化形成中的作用机制, 从而为肾脏纤维化的治疗提供新的生物靶点。

2.5 circRNA与皮肤纤维化

增生性瘢痕 (hypertrophic scar, HS) 是皮肤真皮深层损伤后组织异常修复的一种病理结果, 可发生于手术、炎症、创伤或烧伤后, 常伴随功能损害、严重的生理和心理问题。Li 等^[47]对 HS 患者进行高通量测序及 RT-PCR 发现 6 个 circRNA 明显差异表达, 其中 circ-Chr17:50187014_50195976_-、circ-Chr17:50189167_50194626_-、circ-Chr17:50189167_50198002_- 和 circ-Chr17:50189858_50195330_- 与抑制素 β A 亚基 (inhibin beta A, INHBA)、SMAD7、COL1A1、TGF β 3 和原癌基因 MYC 相关。COL1A1 和 TGF β 3 与 circ-Chr9:125337017_125337591_+ 和 circ-Chr12:120782654_120784593_- 相关, 提示 circRNA 与增生性瘢痕的形成有关^[47]。此外, 我们课题组在光老化皮肤中研究发现, circCOL3A1-859267 可通过海绵吸附 miR-29c 进而调节 Col I 的表达^[48], 提示 circRNA 可能参与调控胶原合成异常皮肤疾病纤维化的形成。

3 circRNA在纤维化疾病中的临床意义

3.1 circRNA与纤维化疾病的诊断及预后

目前, 组织病理检查是临床上诊断纤维化的金

标准。纤维化初期常无明显症状, 因而大多数患者在最终确诊时病程已至中晚期, 耽误了最佳的治疗时间, 对患者的治疗和预后极为不利。此外, 组织病理活检是一种有创检查, 因而大多数患者在病情早期不太愿意接受。针对现今纤维化诊断的瓶颈, 寻找一种无创、高效、便捷的诊断方法迫在眉睫。因此, 大量的研究人员正在努力探寻一种新的生物学标志物用于纤维化的早期诊断。随着近年来对 circRNA 的大量研究, 已在多种疾病中发现 circRNA 可作为疾病的诊断和预后的重要生物标志物^[49-51]。circRNA 具有更稳定的结构, 并且对核酸酶具有抗性, 且 circRNA 的半衰期可长达 50 h^[52-54]。平均而言, circRNA 的半衰期比线性对应物长约 2.5 倍。此外, 血液中 circRNA 的表达通常比线性 mRNA 更稳定。所有上述优点使 circRNA 成为有吸引力的诊断和预后工具。如来自肺腺癌患者的组织、细胞和血浆中 circ_0013958 的持续上调, 体外研究发现 circ_0013958 可促进癌细胞增殖和侵袭, 并被认为是早期检测和筛查肺腺癌的潜在非侵入性生物标志物^[49]。有学者针对系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 患者血液 circRNA 进行检测, 发现了 circRNA001308 和 circRNA406567, 它们可能是预测 SLE 中全身炎症或疾病严重程度的潜在生物标志物。同时, 该研究表明, circRNA407176 和 circRNA001308 对 SLE 具有潜在的诊断价值^[50,55-56]。此外, circ_002059 在胃癌组织中明显下调并且是其预后的重要标志物, 因为其血浆水平与肿瘤分级和远端转移相关^[51]。另一项研究表明, circPVT1 在胃癌组织中明显上调, 同时发现其可作为胃癌患者总生存期和无病生存期的独立预后标志物^[57]。

2019 年的一项研究表明, CHB 患者血清 circMTO1 显著下调, 并且与纤维化阶段以及 HAI 评分呈负相关。circMTO1 诊断 CHB 患者轻、中、重度纤维化的敏感性分别为 95%、80%、90%, 特异性分别为 65%、95%、97.5%, 提示血清 circMTO1 对 CHB 患者肝纤维化具有较好的诊断价值^[45]。此外, 血清中的 circRNA 100906 和 circRNA 102348 也已被鉴定为特发性肺纤维化的生物标志物^[27]。以上提示 circRNA 在纤维化疾病中具有潜在的诊断和预后价值, 然而, 需扩大临床样本在多种纤维化疾病中进一步研究, 以期找到更多、更高效的诊断和预后生物标志物。

3.2 circRNA与纤维化的治疗

纤维化涉及复杂的发病机制, 临床上对于纤维

化尚无令人满意的的治疗方法。因此, 急需开发新的、高效的药物靶向治疗纤维化。随着对 circRNA 研究的兴起, 更多的注意力转向了 circRNA 的研究。与合成分子相比, circRNA 可能具有较少的副作用。circRNA 的主要功能之一是作为 miRNA 海绵, 其被发现在包括纤维化在内的各种疾病中发挥重要作用^[58]。因此, 可以通过研究内源性 circRNA 海绵结构来设计和开发有效的人工海绵, 以最终调节疾病中的 miRNA 功能。人工海绵构成了靶向 miRNA 的药物开发的新前景。circRNA 疗法的另一个优点是它们具有低的脱靶效应和稳定的结构, 而 miRNA 和 siRNA 由于其长度短而容易产生脱靶效应^[59-61]。实际上, 脱靶效应是限制小分子 RNA 临床应用的重要问题。相反, 由于 circRNA 的特异性和稳定结构, 该问题不会阻碍 circRNA 作为治疗靶点的研究。

鉴于 circRNA 在纤维化的形成中发挥重要作用, 可以考虑开发直接作用于 circRNA 的小分子,

实现靶向治疗纤维化。如周玉平等^[39]对 CCI4 纤维化模型小鼠给予黄芪总皂苷 (astragalosides, AST), 结果发现 AST 干预可显著增加 circ_34116 的表达量, 同时降低丙氨酸转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 水平^[39]。该研究提示 AST 显著阻止肝纤维化模型的肝纤维化进展, 其机制可能与调节 circ_34116 表达有关。

总之, 随着对 circRNA 的深入研究, 将会有更多基于 circRNA 的靶点药物应用于纤维化疾病, 为纤维化疾病的治疗带来新的可能。

4 总结与展望

circRNA 是一类内源性非编码 RNA, 可通过多种机制调节基因的表达。circRNA 的功能如此复杂, 调控机制尚未完全明了。目前的研究主要集中于它们在生理和病理过程中的表达变化。最近的研究表明, circRNA 已经成为了解不同疾病及其进展

表1 异常表达的circRNA在纤维化疾病中的作用

疾病	circRNA	靶标	作用	参考文献
肺纤维化	chr9:113534327_113546234	TGF- β 、notch信号通路	调节	[17]
	chr20:14319170_14326640			
	chr10:57634023_57634588			
	circHIPK3	miR-338-3p/SOX4C、COL1A1	抑制	[18]
	circHECTD1	HECTD1	调节	[22-23]
	circRNACDR1	miR-7/TGFBR2	调节	[24]
	circHIPK2	Sigma-1	促进	[25]
	circ-012091	PPP1R13B	调节	[26]
	hsa_circRNA_100906	miR-324-5p	调节	[27]
	hsa_circRNA_102348	miR-630	调节	[27]
心脏纤维化	circRNA_010567	miR-141/TGF- β 1	促进	[31]
	circRNA_000203	miR-26b-5p	促进	[32]
	circRNA_HIPK3	miR-29b-3p	促进	[33]
	circNFIB	miR-433	抑制	[34]
	circ_0071410	miR-9-5p	抑制	[36]
肝纤维化	circ_34116	miR-22-3P/BMP7	抑制	[37-38]
	circRNA-0067835	miR-155/FOXO3a	调节	[41]
	circRNA-469/circRNA-1138/circRNA-2168/ circRAN-1907/circRNA-1984	miR-146b	调节	[42]
	circZKSCAN1	TGF- β 1/COL3A1	抑制	[44]
	circMTO1	miR-17-5p/Smad7	抑制	[45]
肾纤维化	circRNA_15698	miR-185/TGF- β 1/ECM	促进	[46]
皮肤纤维化	circ-Chr17:50187014_50195976_-、circ-Chr17: 50189167_50194626_-、circ-Chr17:50189167_ 50198002_-、circ-Chr17:50189858_50195330_-	INHBA、SMAD7、COL1A1、 TGF β 3、MYC	调节	[47]
	circ-Chr9:125337017_125337591_+、circ-Chr12: 120782654_120784593_	COL1A1、TGF β 3	调节	[47]
	circCOL3A1-859267	miR-29c/COL1A1	调节	[48]

的新工具, 同时已经开始研究它们在检测疾病状态和基因治疗方面的潜在用途。在器官组织中, circRNA 的功能研究是一个快速发展的领域。目前, 已证明 circRNA 与心脏、肺、肝、肾、皮肤纤维化的病理过程有关(表 1), 但目前对 circRNA 在纤维化疾病的研究大多数局限于动物模型且对于 circRNA 的功能研究以及其详细的作用机制的研究有所缺乏。因此, 未来需进一步研究基于人体标本中 circRNA 在纤维化疾病中的详细作用机制, 以为纤维化疾病的治疗提供更多新的靶点和可能。此外, 血液和尿液中大量的 circRNA 已被鉴定为多种疾病诊断和治疗靶点的生物标志物。重要的是, 血清中的 circMTO1 可作为 CHB 患者肝纤维化的诊断生物标志物, circRNA 100906 和 circRNA 102348 也已被鉴定为特发性肺纤维化的生物标志物。然而, 迄今为止, 纤维化疾病中循环的 circRNA 仍然研究较少。需要做更多的工作来开发临床上可用于纤维化的 circRNA 生物标记物。更重要的是, 研究人员应根据研究的结果进一步设计小分子靶向治疗药物。我们希望未来生物技术和基础研究的发展将发现 circRNA 更多的功能, 并且将制定基于 circRNA 的治疗策略, 最终有助于开发安全有效的药物用于临床, 为纤维化相关疾病的治疗提供更多选择。

[参 考 文 献]

- [1] Jun JI, Lau LF. Resolution of organ fibrosis. *J Clin Invest*, 2018, 128: 97-107
- [2] Zhang SS, Gong ZI, Xiong W, et al. A rat model of oral submucous fibrosis induced by bleomycin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2016, 122: 216-23
- [3] Harwood IR, Greene LM, Kozakowski-Koch JA, et al. New peripherally inserted midline catheter: a better alternative for intravenous antibiotic therapy in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 1992, 12: 233-9
- [4] Jiao LR, Seifalian AM, Habib N, et al. The effect of mechanically enhancing portal venous inflow on hepatic oxygenation, microcirculation, and function in a rabbit model with extensive hepatic fibrosis. *Hepatology*, 1999, 30: 46-52
- [5] Bellemare J, Roberge CJ, Bergeron D, et al. Epidermis promotes dermal fibrosis: role in the pathogenesis of hypertrophic scars. *J Pathol*, 2005, 206: 1-8
- [6] Alcalde O, Cabrera GS, Valles GE, et al. Rheumatoid arthritis with severe atrial fibrosis and multiple atrial arrhythmias: chronic atrial myocarditis? *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 2018, 71: 396-7
- [7] Tang PM, Zhang YY, Lan HY. LncRNAs in TGF- β -driven tissue fibrosis. *Noncoding RNA*, 2018, 4: 26
- [8] Yang C, Zheng SD, Wu HJ, et al. Regulatory mechanisms of the molecular pathways in fibrosis induced by microRNAs. *Chin Med J (Engl)*, 2016, 129: 2365-72
- [9] O'Reilly S. MicroRNAs in fibrosis: opportunities and challenges. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18: 11
- [10] Zhang Y, Luo G, Zhang Y, et al. Critical effects of long non-coding RNA on fibrosis diseases. *Exp Mol Med*, 2018, 50: e428
- [11] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 73: 3852-6
- [12] Li X, Yang L, Chen LL. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs. *Mol Cell*, 2018, 71: 428-42
- [13] Yao J, Dai Q, Liu Z, et al. Circular RNAs in organ fibrosis. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1087: 259-73
- [14] Guo JU, Agarwal V, Guo H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs. *Genome Biol*, 2014, 15: 409
- [15] Zhang Z, Yang T, Xiao J. Circular RNAs: promising biomarkers for human diseases. *EBioMedicine*, 2018, 34: 267-74
- [16] Han B, Chao J, Yao H. Circular RNA and its mechanisms in disease: From the bench to the clinic. *Pharmacol Ther*, 2018, 187: 31-44
- [17] Yang L, Liu X, Zhang N, et al. Investigation of circular RNAs and related genes in pulmonary fibrosis based on bioinformatics analysis. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 11022-32
- [18] Zhang JX, Lu J, Xie H, et al. circHIPK3 regulates lung fibroblast-to-myofibroblast transition by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 182
- [19] Hashimoto N, Phan SH, Imaizumi K, et al. Endothelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43: 161-72
- [20] Willis BC, Liebler JM, Luby-Phelps K, et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor- β 1: potential role in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol*, 2005, 166: 1321-32
- [21] Zhang Z, Shao B, Han G, et al. Location and dynamic changes of inflammation, fibrosis, and expression levels of related genes in SiO₂-induced pulmonary fibrosis in rats *in vivo*. *J Toxicol Pathol*, 2019, 32: 253-60
- [22] Zhou Z, Jiang R, Yang X, et al. circRNA mediates silica-induced macrophage activation via HECTD1/ZC3H12A-dependent ubiquitination. *Theranostics*, 2018, 8: 575-92
- [23] Fang S, Guo H, Cheng Y, et al. circHECTD1 promotes the silica-induced pulmonary endothelial-mesenchymal transition via HECTD1. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 396
- [24] Yao W, Li Y, Han L, et al. The CDR1as/miR-7/TGFBR2 axis modulates EMT in silica-induced pulmonary fibrosis. *Toxicol Sci*, 2018, 166: 465-78
- [25] Cao Z, Xiao Q, Dai X, et al. circHIPK2-mediated sigma-1R promotes endoplasmic reticulum stress in human pulmonary fibroblasts exposed to silica. *Cell Death Dis*, 2017, 8: 3212

- [26] Cheng Y, Luo W, Li Z, et al. CircRNA-012091/PPP1R13B-mediated lung fibrotic response in silicosis via ER stress and autophagy. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 61: 380-91
- [27] Li R, Wang Y, Song X, et al. Potential regulatory role of circular RNA in idiopathic pulmonary fibrosis. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 3256-68
- [28] Weber KT, Sun Y, Bhattacharya SK, et al. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart. *Nat Rev Cardiol*, 2013, 10: 15-26
- [29] Besler C, Lang D, Urban D, et al. Plasma and cardiac galectin-3 in patients with heart failure reflects both inflammation and fibrosis: implications for its use as a biomarker. *Circ Heart Fail*, 2017, 10: e00384
- [30] Bacmeister L, Schwarzl M, Warnke S, et al. Inflammation and fibrosis in murine models of heart failure. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114: 19
- [31] Zhou B, Yu JW. A novel identified circular RNA, circRNA_010567, promotes myocardial fibrosis via suppressing miR-141 by targeting TGF- β 1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487: 769-75
- [32] Tang CM, Zhang M, Huang L, et al. CircRNA_000203 enhances the expression of fibrosis-associated genes by derepressing targets of miR-26b-5p, Col1a2 and CTGF, in cardiac fibroblasts. *Sci Rep*, 2017, 7: 40342
- [33] Ni H, Li W, Zhuge Y, et al. Inhibition of circHIPK3 prevents angiotensin II-induced cardiac fibrosis by sponging miR-29b-3p. *Int J Cardiol*, 2019, 292: 188-96
- [34] Zhu Y, Pan W, Yang T, et al. Upregulation of circular RNA circNFIB attenuates cardiac fibrosis by sponging miR-433. *Front Genet*, 2019, 10: 564
- [35] Seki E, Schwabe RF. Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology*, 2015, 61: 1066-79
- [36] Chen Y, Yuan B, Wu Z, et al. Microarray profiling of circular RNAs and the potential regulatory role of hsa_circ_0071410 in the activated human hepatic stellate cell induced by irradiation. *Gene*, 2017, 629: 35-42
- [37] Zhou Y, Lv X, Qu H, et al. Preliminary screening and functional analysis of circular RNAs associated with hepatic stellate cell activation. *Gene*, 2018, 677: 317-23
- [38] Zhou Y, Lv X, Qu H, et al. Differential expression of circular RNAs in hepatic tissue in a model of liver fibrosis and functional analysis of their target genes. *Hepatol Res*, 2019, 49: 324-34
- [39] 周玉平, 杨萍, 唐春兰, 等. 黄芪总皂苷调节环状RNA34116表达阻止肝纤维化进展. *温州医科大学学报*, 2019, 49: 263-6
- [40] Kim J, Jung Y. Potential role of thymosin β 4 in liver fibrosis. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 10624-35
- [41] Zhu L, Ren T, Zhu Z, et al. Thymosin- β 4 mediates hepatic stellate cell activation by interfering with circRNA-0067835/miR-155/FoxO3 signaling pathway. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51: 1389-98
- [42] Cheng N, Xiao J, Ge S, et al. High-throughput sequencing strategy for miR-146b-regulated circRNA expression in hepatic stellate cells. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 8699-706
- [43] van Dekken H, Tilanus HW, Hop WCJ, et al. Array comparative genomic hybridization, expression array, and protein analysis of critical regions on chromosome arms 1q, 7q, and 8p in adenocarcinomas of the gastroesophageal junction. *Cancer Genet Cytogenet*, 2009, 189: 37-42
- [44] Yao Z, Luo J, Hu K, et al. ZKSCAN1 gene and its related circular RNA (circZKSCAN1) both inhibit hepatocellular carcinoma cell growth, migration, and invasion but through different signaling pathways. *Mol Oncol*, 2017, 11: 422-37
- [45] Wang W, Dong R, Guo Y, et al. CircMTO1 inhibits liver fibrosis via regulation of miR-17-5p and Smad7. *J Cell Mol Med*, 2019, 23: 5486-96
- [46] Hu W, Han Q, Zhao L, et al. Circular RNA circRNA_15698 aggravates the extracellular matrix of diabetic nephropathy mesangial cells via miR-185/TGF- β 1. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 1469-76
- [47] Li M, Wang J, Liu D, et al. Highthroughput sequencing reveals differentially expressed lncRNAs and circRNAs, and their associated functional network, in human hypertrophic scars. *Mol Med Rep*, 2018, 18: 5669-82
- [48] Peng Y, Song X, Zheng Y, et al. circCOL3A1-859267 regulates type I collagen expression by sponging miR-29c in human dermal fibroblasts. *Eur J Dermatol*, 2018, 28: 613-20
- [49] Zhu X, Wang X, Wei S, et al. hsa_circ_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma. *FEBS J*, 2017, 284: 2170-82
- [50] Liu CX, Li X, Nan F, et al. Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity. *Cell*, 2019, 177: 865-80
- [51] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer. *Clin Chim Acta*, 2015, 444: 132-6
- [52] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 453-61
- [53] Suzuki H, Zuo Y, Wang J, et al. Characterization of RNase R-digested cellular RNA source that consists of lariat and circular RNAs from pre-mRNA splicing. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: e63
- [54] Zuo H, Suzuki S, Sotoda M, et al. New technique for visualizing cerebral vessels in MR angiographic images using three-dimensional discrete wavelet transform. *Igaku Butsuri*, 2006, 26: 65-74
- [55] Li LJ, Zhu ZW, Zhao W, et al. Circular RNA expression profile and potential function of hsa_circ_0045272 in systemic lupus erythematosus. *Immunology*, 2018, 155: 137-49
- [56] Zhang MY, Wang JB, Zhu ZW, et al. Differentially expressed circular RNAs in systemic lupus erythematosus and their clinical significance. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1720-7
- [57] Chen J, Li Y, Zheng Q, et al. Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer. *Cancer Lett*, 2017, 388: 208-19
- [58] Jiang X, Ning Q. Circular RNAs as novel regulators, biomarkers and potential therapies in fibrosis. *Epigenomics*,

- 2019, 11: 1107-16
- [59] Kiryu H, Terai G, Imamura O, et al. A detailed investigation of accessibilities around target sites of siRNAs and miRNAs. *Bioinformatics*, 2011, 27: 1788-97
- [60] Scimeca JC, Verron E. The multiple therapeutic applications of miRNAs for bone regenerative medicine. *Drug Discov Today*, 2017, 22: 1084-91
- [61] Samuel P, Pink RC, Brooks SA, et al. miRNAs and ovarian cancer: a miRiad of mechanisms to induce cisplatin drug resistance. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2016, 16: 57-70