

DOI: 10.13376/j.cblls/20210131

文章编号: 1004-0374(2021)09-1188-08

非编码RNA与瘢痕疙瘩的关系及研究进展

王剑巧, 曹先伟, 万川, 郑晓草, 张志彬*

(南昌大学第一附属医院皮肤科, 南昌 330006)

摘要: 瘢痕疙瘩是创伤后胶原纤维异常增生引起的过度纤维化疾病, 病理表现主要是成纤维细胞过度增殖和细胞外基质异常沉积。然而, 因瘢痕疙瘩发病机制尚不完全明确, 且缺乏安全有效的治疗方法和预防策略, 因此, 迫切需要了解其详细的发病机制进而开发全新且安全有效的治疗方法。近年来, 大量研究表明, 非编码 RNA 可通过直接靶向关键基因或间接参与瘢痕疙瘩形成经典信号通路影响成纤维细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移以及胶原蛋白的异常沉积, 进而调控瘢痕疙瘩的进程, 同时有研究发现异常表达的非编码 RNA 可能为瘢痕疙瘩的治疗提供潜在靶点。该文将总结近年来非编码 RNA 在瘢痕疙瘩中的研究进展及未来通过干预相关非编码 RNA 来治疗瘢痕疙瘩的前景及挑战。

关键词: 瘢痕疙瘩; 非编码 RNA; 微小 RNA; 长链非编码 RNA; 环状 RNA

中图分类号: Q522; R619.6 **文献标志码:** A

Relationships between non-coding RNA and keloid

WANG Jian-Qiao, CAO Xian-Wei, WAN Chuan, ZHENG Xiao-Cao, ZHANG Zhi-Bin*

(Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: Keloid is an excessive fibrosis disease caused by abnormal proliferation of collagen fibers after trauma. The main pathological manifestations are excessive proliferation of fibroblasts and abnormal deposition of extracellular matrix. However, the pathogenesis of keloid is not fully clear, and there is a lack of safe and effective treatment and prevention strategies, so it is urgent to understand the detailed pathogenesis of keloid and develop new safe and effective treatment methods. In recent years, a large number of studies have shown that non-coding RNA directly targets key genes or indirectly participates in the classic signaling pathway of keloid formation to affect the proliferation, apoptosis, invasion, migration of fibroblast and abnormal deposition of collagen, thereby regulating the process of keloids. At the same time, studies have found that abnormally expressed non-coding RNA may provide a potential target for the treatment of keloid. This article reviews the recent researches on non-coding RNA in keloid and the future prospects and challenges of treating keloid by targeting related non-coding RNA.

Key words: keloid; non-coding RNA; microRNA; long non-coding RNA; circular RNA

瘢痕疙瘩是一种因创伤愈合过程中纤维细胞过度增殖和细胞外基质异常沉积引起的病理性损害, 其生长特征类似皮肤良性肿瘤, 但生长方式具有恶性肿瘤的倾向, 常向周围组织侵袭, 形成超出原发伤口边界的凸起皮肤表面的斑块、条索状增生物, 其皮损具有以下特点: (1) 病变超过原始皮肤损伤范围; (2) 呈持续性生长; (3) 高起皮肤表面、质硬韧、颜色发红的结节状、条索状或片状肿块。瘢痕疙瘩多发生于胸部、肩部、脸颊、耳垂等部位, 不仅影

响皮肤的外观, 且常伴有瘙痒、疼痛和溃疡, 严重者甚至有重度功能障碍, 更甚者可引起癌变, 给患者造成严重的身心痛苦。目前针对瘢痕疙瘩的治疗手段有多种, 但因效果不佳和易反复发作, 使得治疗非常困难, 因此, 迫切需要明确其发病机制, 来

收稿日期: 2021-04-14; 修回日期: 2021-06-06

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ200230)

*通信作者: E-mail: zzbpf0624@163.com

研发更有效预防和治疗瘢痕疙瘩的方法。随着测序技术及生物信息技术的发展,越来越多的研究表明,非编码RNA (non-coding RNA, ncRNA) 以多种方式参与了瘢痕疙瘩的形成^[1]。同时,有大量研究发现ncRNA可作为瘢痕疙瘩治疗的生物靶点。因此,本文总结了近年来ncRNA在瘢痕疙瘩中的研究进展。

1 ncRNA的分类及功能简介

ncRNA是指不翻译成蛋白质的RNA,主要包括微小RNA (microRNA, miRNA)、长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、环状RNA (circular RNA, circRNA)和其他类型的RNA。其中,miRNA是长度为18~25 nt的单链非编码RNA分子,可通过靶向mRNA的3'非翻译区来抑制靶mRNA转录,从而对疾病发展发挥重要的调控作用。miRNA只在特定的组织和发育阶段表达,具有组织特异性和时序性,因此可作为生物标志物^[2]。lncRNA是一类长度超过200 nt的ncRNA分子,可调节细胞周期和细胞凋亡、蛋白质翻译、染色质修饰、mRNA衰变、基因转录等生物学过程^[3], lncRNA的突变和功能异常被认为与人类许多复杂疾病密切相关。circRNA是由线性前体RNA反向剪切形成的具有共价闭环结构的非编码RNA,这种环状结构能帮助其抵抗RNA外切酶,维持稳定表达,在许多哺乳动物体内有大量表达,具有丰富性和稳定性,使得它们成为很好的生物标志物。目前发现circRNA功能为:通过miRNA海绵作用吸附miRNA抑制其功能、与RNA结合蛋白结合来调节基因的转录、直接编码多肽行使相关功能、亲本基因转录调控等^[4]。

2 ncRNA和瘢痕疙瘩

2.1 miRNA与瘢痕疙瘩的关系

目前,已鉴定出许多在瘢痕疙瘩中注释的miRNA,它们参与调节细胞行为,包括成纤维细胞活化、迁移、凋亡、自噬、细胞周期等。研究发现,与健康皮肤组织相比,瘢痕疙瘩组织中的miRNA存在显著差异表达,并参与瘢痕疙瘩的形成。2011年,Liu等^[5]通过miRNA微阵列分析瘢痕疙瘩组织和正常人皮肤组织,发现在瘢痕疙瘩组织中有23种miRNA表现出较高的表达,而9种miRNA表达水平较低,差异表达的miRNA靶标的功能表明它们在疤痕伤口愈合起重要作用。大量的研究进一步证实miRNA可通过影响成纤维细胞增殖、凋亡以及胶原蛋白沉积进而调控瘢痕疙瘩的进程。

细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 大量沉积是促进瘢痕疙瘩进展的关键因素之一,ECM的成份主要包括胶原蛋白、纤连蛋白、层黏连蛋白、弹性蛋白等。研究表明,miRNA可通过调控ECM的合成来调控瘢痕疙瘩的形成。例如,Chao等^[6]研究发现,在瘢痕疙瘩组织中miRNA-96显著高表达,降低miRNA-96的表达可靶向升高Smad7的表达水平,抑制了I型和III型胶原蛋白生成,抑制瘢痕疙瘩进展,提示miRNA-96可能是治疗瘢痕疙瘩的潜在靶点。另外,Kashiyama等^[7]研究发现,miR-196a的过表达或敲低可分别导致I和III型胶原蛋白分泌水平的降低或升高,表明miR-196a可能是瘢痕疙瘩的新治疗靶标。纤连蛋白(FN)也是ECM的重要部分,Wu等^[8]研究发现,过度表达的miRNA-217可以通过其3'-UTR中的预测结合位点调节FN,从而抑制FN表达,抑制瘢痕疙瘩进展,提示miRNA-217可能为抑制纤维形成提供了治疗策略。此外,研究发现,miRNA-29在许多纤维化器官及组织中表达下调,其模拟物Remlarsen呈剂量递增的方式抑制了皮肤伤口胶原蛋白的表达和纤维增生,提示Remlarsen可能是一种有效的治疗纤维化疾病的方法,未来可将miRNA-29的负向调控纤维化的作用作为研究的重要方向,以发现精准有效的治疗方法^[9]。以上研究提示,miRNA的差异表达可调节相应的靶标来影响ECM的合成进而参与瘢痕疙瘩的形成。

成纤维细胞的大量增殖、迁移、侵袭、凋亡被认为是瘢痕疙瘩形成的重要因素。成纤维细胞周期紊乱会导致过度增殖及凋亡减少,Wu等^[10]研究发现,瘢痕组织中低表达的miRNA-199a-5p可影响成纤维细胞的细胞周期,从而抑制其增殖,提示miRNA可调节成纤维细胞周期从而影响瘢痕疙瘩的进展。另外,Pang等^[11]研究发现,瘢痕疙瘩组织中的miR-152-5p表达明显下降,而过表达miR-152-5p能显著抑制瘢痕疙瘩细胞增殖、迁移、凋亡,从而抑制纤维化的进展。此外,有研究表明miRNA可通调控成纤维细胞相关的凋亡基因来调控成纤维细胞的凋亡。B淋巴细胞瘤-2基因(B cell lymphoma 2, Bcl-2)是细胞凋亡研究中最受重视的癌基因之一,具有明显的抑制凋亡的作用;Bcl-2还可作为磷酸酶,能特异性和有效地终止纤维化。研究发现,与健康皮肤组织相比,瘢痕疙瘩组织中miR-30a-5p的表达明显下调,过表达miR-30a-5p通过直接靶向Bcl-2的3'非翻译区(UTR)对其进行负调控,从而

诱导细胞凋亡并抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞的增殖,说明过表达 miR-30a-5p 可抑制瘢痕疙瘩的进展^[12]。p53 是人体非常重要的一种抑癌基因,其功能之一是促进细胞凋亡。甲磺酸丁二醇酯可通过上调 miR-34a 的表达,诱导成纤维细胞凋亡,抑制成纤维细胞的生长,这被认为是由于 p53 和 miR-34a 之间的强烈相互作用所致^[13]。另外, Wu 等^[14] 研究发现,在人瘢痕疙瘩成纤维细胞中, miR-21 被上调,上调的 miR-21 可减弱细胞线粒体膜电位的下降,抑制了细胞色素 C 向细胞质的释放,随后降低了细胞内 caspase-9 和 caspase-3 的活性,提示线粒体介导的凋亡途径受损。同时,细胞内活性氧种类减少,表明 miR-21 破坏了氧化应激,说明抑制 miR-21 可以诱导瘢痕疙瘩成纤维细胞中线粒体介导的细胞凋亡。此外, Liu 等^[15] 也证明了 miR-21 介导的凋亡:在瘢痕疙瘩中过表达 miR-21 可降低 FasL (凋亡相关因子配体) 的蛋白水平,降低 caspase-8 的活性,抑制线粒体介导的凋亡信号通路,从而抑制成纤维细胞凋亡,再次说明 miR-21 具有调节瘢痕疙瘩皮肤成纤维细胞凋亡的作用。综上所述, miRNA 可通过调控成纤维细胞增殖、凋亡相关基因从而影响瘢痕疙瘩的形成。

大量研究发现, miRNA 可通过影响与瘢痕疙瘩形成密切相关的信号通路来调节瘢痕疙瘩的发生发展。转化生长因子 (transforming growth factor- β , TGF- β)/Smad 信号转导通路是纤维化过程中的主要途径^[16],其持续激活会导致过度纤维化和细胞外基质沉积^[17]。Wu 等^[18] 研究发现, miR-21 在瘢痕组织中显著升高,敲低 miR-21 可以通过 TGF- β /Smad 信号通路使 Smad7 的表达上调,导致 Smad2 和 Smad3 的磷酸化被抑制,使得 I 型和 III 型胶原的表达下降,从而抑制纤维化过程。另外, Yao 等^[19] 研究发现,过表达 miR-1224-5p 可抑制 TGF- β 1/Smad3 信号通路,从而抑制瘢痕成纤维细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡,同时该研究表明单独激活 Smad3 也会促进成纤维细胞增殖、迁移,从而加速瘢痕疙瘩形成。此外,还有研究表明,瘢痕疙瘩组织中 miR-152-5p 的表达明显低于正常组织,过表达 miR-152-5p 能负向调节 Smad3,抑制成纤维细胞的增殖、迁移和诱导凋亡,从而抑制瘢痕疙瘩进展^[20]。Zhang 等^[21] 发现与正常皮肤组织相比,在瘢痕组织中下调的 miR-637 能上调 Smad3 促进增殖和转移。上述研究提示 miRNA 可调控 TGF- β /Smad 多个环节进而影响瘢痕疙瘩的发生和发展。组织中因正常的血管网

络受到破坏以及瘢痕炎症修复过程中高代谢状态导致的耗氧增多,常表现为缺氧状态。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 是介导细胞参与缺氧反应的重要转录调控因子。Lei 等^[22] 研究表明,和正常皮肤组织相比,瘢痕疙瘩中 HIF-1 α 表达水平明显升高, HIF-1 α 可激活 TGF- β /Smad 和 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路,且这两个通路的相互作用可能促进瘢痕疙瘩的形成。Zhang 等^[23] 研究表明,下调的 miRNA-31 通过靶向 HIF-1 的负调节剂 HIF1AN 来抑制成纤维细胞的增殖、诱导细胞凋亡并干扰细胞周期进程,提示 miRNA-31 可能是瘢痕疙瘩潜在的治疗靶标。此外,有研究表明, miRNA 可通过调控 PI3K/Akt 信号通路来影响成纤维细胞的增殖和侵袭能力,从而参与瘢痕疙瘩的形成。Zhu 等^[24] 研究发现,在瘢痕疙瘩成纤维细胞中 miR-188-5p 的表达是降低的,上调其表达可抑制成纤维细胞的增殖、迁移;另外,单独使用 LY294002 (PI3K/Akt 途径抑制剂) 处理成纤维细胞可以减少成纤维细胞增殖和侵袭。然而,在成纤维细胞中用 miR-188-5p 抑制剂和 LY294002 处理并没有进一步降低增殖和侵袭能力,这些结果提示 miR-188-5p 可通过调节 PI3K/Akt 途径来影响成纤维细胞的增殖和侵袭能力。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 有利于血管的高渗透性并持续诱导愈合伤口的肉芽组织形成,在瘢痕疙瘩形成的调节中起着至关重要的作用。An 等^[25] 研究发现,瘢痕组织中的 miR-205-5p 显著下调,上调 miR-205-5p 可抑制 VEGF/PI3K/Akt 的信号途径,从而降低成纤维细胞的侵袭和迁移能力,抑制瘢痕疙瘩的形成。上述研究提示 miRNA 可通过调控瘢痕疙瘩形成密切相关的信号通路,进而影响其发生发展。

随着对 miRNA 作用机制的深入研究,越来越多的研究发现多种药物可通过调控 miRNA 的表达对瘢痕疙瘩发挥治疗作用。Jian 等^[12] 研究发现,曲古抑素 A 可通过上调 miR-30a-5p 进而抑制瘢痕成纤维细胞的增殖及促进成纤维细胞的凋亡。此外,有研究证实甲磺酸丁二醇酯可通过 miR-34a 调节凋亡基因表达,从而达到治疗瘢痕疙瘩的作用^[26]; Tang 等^[27] 研究发现,五倍子瘢痕膏可通过抑制 miR-21 表达而上调 PTEN 表达,进而下调 mTOR 信号通路中 PI3K、Akt、mTOR 表达,从而抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖。Zhu 等^[28] 发现,过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR- γ) 激动剂能够上调 miR-543 表达水平,从而抑制人瘢痕成纤维细胞胶原合成。

上述研究丰富了常见药物治疗瘢痕疙瘩的可能机制, 同时也说明 miRNA 作为靶点设计药物治疗瘢痕疙瘩具有较好的前景。表 1 总结了 miRNA 对瘢痕疙瘩的调控作用。

2.2 lncRNA与瘢痕疙瘩的关系

随着近年来国内外学者对 lncRNA 研究的深入, 发现 lncRNA 在瘢痕疙瘩患者的皮肤、血液中异常表达, 并参与瘢痕疙瘩的形成。2015 年, Liang 等^[29]首次通过微阵列技术筛选了瘢痕疙瘩和正常人皮肤组织中的 lncRNA, 发现瘢痕疙瘩皮肤中有 1 731 个 lncRNA 上调, 782 个下调; 生物信息分析表明, lncRNA CACNA1G-AS1 可能参与了瘢痕疙瘩形成的多个过程。后续 Li 等^[30]发现, lncRNA CACNA1G-AS1 (CAS1) 在瘢痕疙瘩组织中表达较高, 敲低 CAS1 会降低钙通道蛋白和 I 型胶原蛋白的表达, 抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞的侵袭, 提示 CAS1 可能参与了瘢痕疙瘩的发病机制。此外, Zhao 等^[31]进一步研究表明, CACNA1G-AS1 可抑制 miR-205 的表达, 从而促进人瘢痕疙瘩成纤维细胞的增殖和侵袭并抑制其凋亡。低表达 lncRNA DBH-AS1 能够通过调控 miR-138/HIF-1 α 通路促进瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡, 提示 DBH-AS1 可能成为瘢痕疙瘩治疗的一个潜在靶点。上述研究提示, lncRNA 可影响瘢

痕疙瘩形成的多个途径。

lncRNA 可通过调控细胞增殖、凋亡等相关的基因来调节瘢痕疙瘩的形成。Hedgehog (Hh) 信号通路相关基因涉及细胞增殖与分化, 该信号通路被异常激活时, 会影响瘢痕疙瘩的发生与发展。Huang 等^[32]在瘢痕组织中发现了与 Hh 通路相关的 33 个 mRNA 和 30 个 lncRNA 的差异表达, GO 和 KEGG 通路分析表明, mRNA 与细胞增殖、细胞凋亡、组织修复有关, 同时该研究发现 lncRNAAC073257.2 和 lncRNA-HNF1A-AS1 可通过分别结合胶质瘤相关癌基因同源蛋白 2 (glioma-associated oncogene homologue 2, Gli2) 的上游靶基因和邻近的靶基因肝细胞核因子 1 α (hepatocyte nuclear factor 1 α , HNF1 α) 进而影响细胞瘢痕疙瘩的生长和增殖, 提示不同的 lncRNA 可通过影响不同的靶基因而影响该病的发展。既往研究发现, Wnt 信号通路相关基因能够协调皮肤伤口反应和瘢痕疙瘩中的增殖和再生, Sun 等^[33]使用 lncRNA 微阵列筛选了瘢痕疙瘩中异常表达的 116 个 Wnt 靶基因和 69 个 Wnt 相关的 lncRNA, 进一步分析发现 4 个 lncRNA (CACNA1G-AS1、HOXA11-AS、LINC00312 和 RP11-9II11.1) 与之对应的 6 个 Wnt 基因被鉴定为瘢痕疙瘩中与皮肤相关的 lncRNA 基因对。该研究提示在瘢痕疙瘩中, lncRNA 依赖的

表1 miRNA在瘢痕疙瘩中的调控机制

miRNAs分类	表达水平	影响	作用机制	参考文献
miRNA-96	上调	ECM沉积	靶向Smad7抑制I/III型胶原蛋白生成	[6]
miR-196a	下调		直接促进I/III型胶原蛋白分泌	[7]
miRNA-217	下调		调节纤连蛋白	[8]
miRNA-29	下调		抑制纤维和ECM形成相关靶基因的表达	[9]
miRNA-199a-5p	下调	细胞增殖、迁移、凋亡	影响成纤维细胞周期, 抑制其增殖	[10]
miR-152-5p	下调		促进成纤维细胞增殖、迁移、凋亡	[11]
miR-30a-5p	下调		直接靶向Bcl-2, 从而调节成纤维细胞凋亡和增殖	[12]
miR-34a	下调		与p53基因相互作用调节成纤维细胞凋亡	[13]
miR-21	上调		诱导成纤维细胞中线粒体介导的凋亡信号通路	[14-15]
miR-21	上调	信号通路	通过TGF- β /Smad信号通路使Smad7的表达上调, 影响I/III型胶原的表达	[18]
miR-1224-5p	下调		调控TGF- β 1/Smad3信号通路, 影响成纤维细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡	[19]
miR-152-5p	下调		调节Smad3, 影响成纤维细胞的增殖、迁移和诱导凋亡	[20]
miR-637	下调		上调Smad3促进成纤维细胞增殖和迁移	[21]
miRNA-31	上调		激活TGF- β /Smad和TLR4/MyD88/NF- κ B通路, 影响成纤维细胞的增殖、诱导细胞凋亡并干扰细胞周期进程	[23]
miR-188-5p	下调		调节PI3K/Akt途径影响成纤维细胞的增殖和侵袭能力	[24]
miR-205-5p	下调		抑制VEGF/PI3K/Akt的信号途径, 降低成纤维细胞的侵袭和迁移能力	[25]

Wnt 基因调控可能在分化和增殖之间提供独特而微妙的平衡,从而保证细胞良性生长。

大量研究表明, lncRNA 可通过靶向相应的 miRNA 及其下游靶基因来调控成纤维细胞,从而影响瘢痕疙瘩的进展。Wang 等^[34] 研究发现,使用 lncRNAH19 或 miR-29a 抑制剂可增强成纤维细胞的活力、增殖、迁移和侵袭能力,而过表达 miR-29a 则抑制了成纤维细胞上述功能,过表达其下游的 COL1A1 则阻止 miR-29a 对成纤维细胞的影响,该研究提示, lncRNAH19 可能通过修饰下游 miR-29a 和 I 型胶原蛋白加速瘢痕疙瘩的发展。此外, Xu 等^[35] 发现高表达的 lncRNA H19 可通过靶向 miR-769-5p/EIF3A 途径促进瘢痕疙瘩成纤维细胞的增殖、迁移、侵袭以及细胞外基质沉积,并促进其凋亡,表明 lncRNA H19 具有靶向治疗瘢痕疙瘩可能。瘢痕疙瘩组织和成纤维细胞中 TGF- β 1 是高表达的, TGF- β 1 可通过下游 Smad 或 p38 等非 Smad 通路调节成纤维细胞增殖、分化、迁移、凋亡以及胶原蛋白等 ECM 代谢的功能。Zhu 等^[36] 研究证实,瘢痕疙瘩成纤维细胞中 lncRNA-ATB 和 TGF- β 的转录激活因子 ZNF217 显著升高,敲低 lncRNA-ATB 可降低 TGF- β 的分泌和 ZNF217 的表达,但不会上调 miR-200c 的表达。该团队进一步研究发现, lncRNA-ATB 可部分调控 miR-200c 来下调 ZNF217 的表达来控制 TGF- β 的分泌,从而抑制瘢痕疙瘩的进程,这些发现可能为开发诊断和治疗瘢痕疙瘩提供潜在的生物标志物和靶标。此外, Yuan 等^[37] 发现, LINC01116 和 Smad5 在人瘢痕疙瘩组织中表达上调, miR-203 表达下调,敲低 LINC01116 可抑制瘢痕成纤维细胞增殖、迁移、侵袭和 ECM 产生,诱导细胞凋亡,而下调 miR-203 或过表达 Smad5 可逆转敲低产生的对瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡和细胞外基质的影响,该研究提示 LINC01116 可海绵吸附 miR-203 而上调 Smad5 来促进瘢痕疙瘩的形成。另外, Jin 等^[38] 研究发现,高表达的 lncRNA HOXA11-AS 可通过 miR-124-3p/TGF β R1 轴抑制细胞凋亡并促进血管生成,从而加速瘢痕疙瘩的形成和发展。Su 等^[39] 发现, lncRNA HOXA11-AS 可通过靶向 miR-205-5p 来调节 FOXM1 的表达,进而抑制瘢痕成纤维细胞增殖、迁移、侵袭、ECM 积累和糖酵解,加速细胞凋亡。此外,进一步研究发现 lncRNA HOXA11-AS 可海绵吸附 miR-124-3p 激活 Smad5 信号转导来诱导 I 型胶原合成,从而刺激瘢痕疙瘩的形成^[40]。上述研究提示同一个

lncRNA 可调节不同的 miRNA 进而参与瘢痕疙瘩形成的各个途径,再次证明了 lncRNA 在瘢痕疙瘩的形成中具有重要的调节作用(表 2)。

2.3 circRNA与瘢痕疙瘩的关系

由于 circRNA 在真核生物体内分布广泛,且具有一定的生物稳定性、保守性以及组织特异性,吸引大量的学者研究其与人类疾病的关系。2020 年, Chen 等^[41] 认为, circRNA 与人类多种疾病的发生发展密切相关。随着 circRNA 的深入研究,发现 circRNA 在瘢痕疙瘩的形成过程中发挥了重要的作用。2019 年, Wang 等^[41] 首次通过高通量测序在瘢痕组织中鉴定出 154 个差异表达的 circRNA,其中 81 个上调和 73 个下调,通过对差异表达的 circRNA 进行 GO 分析发现它们在疤痕伤口愈合重要的几种信号通路中富集,提示 circRNA 参与了瘢痕愈合的过程。2020 年,本课题组在人瘢痕疙瘩成纤维细胞和正常皮肤成纤维细胞中应用高通量 RNA 测序技术和生物信息学分析发现 411 个差异表达的 circRNA,其中 206 个上调,205 个下调;GO 和 KEGG 途径的富集分析表明,差异表达的 circRNAs 主要参与细胞凋亡、黏着斑粘附、PI3K-Akt 和代谢途径。同时,还发现过表达 circ_0008259 可抑制 I 型和 III 胶原蛋白的表达,提示 circRNA 参与了瘢痕疙瘩的发病机制,其可作为瘢痕疙瘩治疗的靶点^[42]。此外, Yang 等^[43] 研究表明,瘢痕组织中上调的 circ_101238 通过 miR-138-5p/CDK6 轴促进瘢痕疙瘩成纤维细胞的凋亡,表明 circ_101238 提供了研发治疗瘢痕疙瘩有效药物的新思路。Lv 等^[44] 研究发现, circCOL5A1 在瘢痕疙瘩组织和成纤维细胞中表达明显升高,敲低 circCOL5A1 可通过 PI3K/Akt 信号通路抑制增殖、迁移、细胞外基质沉积,从而促进细胞凋亡;荧光素酶报告基因检测证实, circCOL5A1 与 miR-7-5p 之间以及 miR-7-5p 与 Epac1 之间存在确切的结合位点。进一步研究表明, circCOL5A1 通过吸附 miR-7-5p 释放 Epac1 而发挥竞争内源性 RNA 的作用,而 Epac1 通过激活 PI3K/Akt 信号转导途径促进瘢痕疙瘩的病理性增生,该研究提示 circCOL5A1 可以作为一种新的有希望的治疗靶点,并了解瘢痕疙瘩的潜在发病机理提供了一条新途径。2021 年,一项大样本的临床研究表明, circ_0001320 和 circCOL5A1 在瘢痕疙瘩皮肤组织中明显高表达,并且 circ_0001320 与 miR-574-5p 之间存在相互作用^[45]。上述发现对研究 circRNA 与瘢痕疙瘩之间的关系具有重要作用,为以后的研究思路提供重要的依据和方向。表

3 总结了 circRNA 对瘢痕疙瘩的调控作用。

3 总结与展望

随着生物信息学的快速发展, 越来越多的研究发现 ncRNA 与瘢痕疙瘩的形成密切相关。成纤维细胞的增殖、凋亡、迁移、侵袭以及细胞外基质过度沉积是瘢痕疙瘩的主要病理特点。大量研究提示, 瘢痕疙瘩中异常表达的 ncRNA 通过各种途径调控成纤维细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡以及胶原蛋白的合成, 参与瘢痕疙瘩发生发展, 说明 ncRNA 对研究瘢痕疙瘩发病机制具有重要意义。目前已有的研究表明在药物治疗瘢痕疙瘩中 miRNA 发挥了一定的作用, 但离靶向治疗瘢痕疙瘩还相距甚远。然而, 与传统小分子药物相比, 基于 ncRNA 的治疗方法有着重要的优点和挑战。ncRNA 药物是以核

苷酸杂交为基础的, 只需要确定顺序并测试候选疗法的活性, 就很容易接近靶点。对于传统小分子药物, 必须采用更长更费力的筛选或基于结构的设计方法。也有可能设计基于 RNA 的方法, 可以很容易地针对多种 RNA 的组合。尽管有这些优点, RNA 药物的递送方法仍需加以考虑和优化, 这往往是一个具有挑战性的过程。与传统小分子药物相比, 口服制剂对于基于 RNA 的疗法来说也更加困难。同时, 基于 RNA 的药物还存在免疫相关毒性和其他不良事件的问题。在未来的研究中, 为了缓解这些问题, 要对寡核苷酸的化学性质和给药方法进行不断改进。此外, 生产小分子药物的成本比基于 RNA 的药物少得多。虽然目前还没有基于 ncRNA 疗法治疗瘢痕疙瘩的临床试验, 但可以乐观地认为该领域研究的发展前景日渐明朗。深入研究 ncRNA 在

表2 lncRNA在瘢痕疙瘩中的调控机制

lncRNAs分类	表达水平	影响	作用机制	参考文献
lncRNA CACNA1G-AS1 (CAS1)	上调	ECM沉积、成纤维细胞侵袭	影响钙通道蛋白和 I 型胶原蛋白的表达和成纤维细胞的侵袭	[30]
lncRNAAC073257.2/ lncRNA-HNF1A-AS1	上调/下调	细胞增殖	分别结合胶质瘤相关癌基因源蛋白2 (glioma-associated oncogene homologue 2, Gli2) 的上游靶基因和邻近的靶基因肝细胞核因子 1 α (hepatocyte nuclear factor 1 α , HNF1 α), 进而影响成纤维细胞的生长和增殖	[32]
CACNA1G-AS1/HOXA11-AS/ LINC00312/RP11-9II11.1	上调/上调/ 上调/下调	信号通路	影响Wnt信号通路相关基因	[33]
lncRNA CACNA1G-AS1 (CAS1)	上调	miRNA海绵	抑制miR-205的表达, 促进成纤维细胞的增殖和侵袭并抑制其凋亡	[31]
lncRNA DBH-AS1	上调		调控miR-138/HIF-1 α 通路影响瘢痕疙瘩成纤维细胞的凋亡	[31]
lncRNAH19	上调		靶向miR-29a调控 I 型胶原蛋白表达	[34]
lncRNAH19	上调		靶向miR-769-5p/EIF3A途径促进成纤维细胞的增殖、迁移、侵袭、ECM沉积	[35]
lncRNA-ATB	上调		靶向miR-200c/ZNF217/TGF- β 抑制瘢痕疙瘩的进程	[36]
LINC01116	上调		靶向miR-203/Smad5促进瘢痕疙瘩的形成	[37]
LncRNA HOXA11-AS	上调		靶向miR-205-5p/FOXM1抑制成纤维细胞增殖、迁移、侵袭、ECM积累和糖酵解, 加速细胞凋亡	[40]
LncRNA HOXA11-AS	上调		靶向miR-124-3p/Smad5诱导 I 型胶原合成	

表3 circRNA在瘢痕疙瘩中的调控机制

circRNAs分类	表达水平	影响	作用机制	参考文献
circ_0008259	下调	ECM沉积	抑制 I /III 胶原蛋白的表达	[42]
circ_101238	下调	miRNA海绵	靶向miR-138-5p/CDK6促进成纤维细胞的凋亡	[43]
circCOL5A1	上调		靶向miR-7-5p/Epac1调节PI3K/Akt信号通路, 抑制细胞增殖、迁移、ECM沉积	[44]
circ_0001320	上调		与miR-574-5p之间存在相互作用	[45]

瘢痕疙瘩中的作用, 将为未来治疗瘢痕疙瘩这一目前难以治愈的疾病奠定基础。同时, 未来仍应进一步加大临床样本, 精确研究其在瘢痕疙瘩中的作用机制, 进而精准应用于临床。

[参 考 文 献]

- [1] Tsai CH, Ogawa R. Keloid research: current status and future directions. *Scars Burn Heal*, 2019, 5: 2059513-119868659
- [2] Ha MJ, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 509-24
- [3] Chen X, Sun YZ, Guan NN, et al. Computational models for lncRNA function prediction and functional similarity calculation. *Brief Funct Genomics*, 2019, 18: 58-82
- [4] Chen LL. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 475-90
- [5] Liu Y, Yang DP, Xiao ZB, et al. miRNA expression profiles in keloid tissue and corresponding normal skin tissue. *Aesthetic Plast Surg*, 2012, 36: 193-201
- [6] Chao L, Yu ZH, Dong BW, et al. miR-96 promotes collagen deposition in keloids by targeting Smad7. *Exp Ther Med*, 2019, 17: 773-81
- [7] Kashiyama K, Mitsutake N, Matsuse M, et al. miR-196a downregulation increases the expression of type I and III collagens in keloid fibroblasts. *J Invest Dermatol*, 2012, 132: 1597-604
- [8] Wu W, Xie F, Zhang Y, et al. A novel regulatory function for miR-217 targetedly suppressing fibronectin expression in keloid fibrogenesis. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11: 1866-77
- [9] Gallant-Behm CL, Piper J, Lynch JM, et al. A MicroRNA-29 mimic (Remlarsen) represses extracellular matrix expression and fibroplasia in the skin. *J Invest Dermatol*, 2019, 139: 1073-81
- [10] Wu ZY, Liang J, Guo XR, et al. Keloid microRNA expression analysis and the influence of miR-199a-5p on the proliferation of keloid fibroblasts. *Genet Mol Res*, 2014, 13: 2727-38
- [11] Pang QQ, Wang YM, Xu MY, et al. MicroRNA-152-5p inhibits proliferation and migration and promotes apoptosis by regulating expression of Smad3 in human keloid fibroblasts. *BMB Rep*, 2019, 52: 202-7
- [12] Jian XQ, Qu L, Wang YL, et al. Trichostatin A-induced miR30a5p regulates apoptosis and proliferation of keloid fibroblasts via targeting BCL2. *Mol Med Rep*, 2019, 19: 5251-62
- [13] Felice BD, Manfellotto F, Garbi C, et al. miR-34 modulates apoptotic gene expression in Ingenol mebutate treated keloid fibroblasts. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 7081-88
- [14] Wu H, Wang J, Ma H, et al. MicroRNA-21 inhibits mitochondria-mediated apoptosis in keloid. *Oncotarget*, 2017, 8: 92914-25
- [15] Liu Y, Ren LH, Liu WJ, et al. MiR-21 regulates the apoptosis of keloid fibroblasts by caspase-8 and the mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway via targeting FasL. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96: 548-55
- [16] He S, Yang Y, Huang W, et al. Compound *Astragalus* and *Salvia miltiorrhiza* extract inhibits cell proliferation, invasion and collagen synthesis in keloid fibroblasts by mediating transforming growth factor- β /Smad pathway. *Br J Dermatol*, 2012, 166: 564-74
- [17] Lin XH, Wang YM, Jiang Y, et al. Sumoylation enhances the activity of the TGF- β /SMAD and HIF-1 signaling pathways in keloids. *Life Sci*, 2020, 255: 117859
- [18] Wu JL, Fang L, Cen Y, et al. MiR-21 regulates keloid formation by downregulating Smad7 via the TGF- β /Smad signaling pathway. *J Burn Care Res*, 2019, 40: 809-17
- [19] Yao XD, Cui XM, Wu XY, et al. Tumor suppressive role of miR-1224-5p in keloid proliferation, apoptosis and invasion via the TGF- β 1/Smad3 signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495: 713-20
- [20] Pang QQ, Wang YM, Xu MY, et al. MicroRNA-152-5p inhibits proliferation and migration and promotes apoptosis by regulating expression of Smad3 in human keloid fibroblasts. *BMB Rep*, 2019, 52: 202-7
- [21] Zhang Y, Guo BY, Hui Q, et al. Downregulation of miR637 promotes proliferation and metastasis by targeting Smad3 in keloids. *Mol Med Rep*, 2018, 18: 1628-36
- [22] Lei R, Li J, Liu F, et al. HIF-1 α promotes the keloid development through the activation of TGF- β /Smad and TLR4/MyD88/NF- κ B pathways. *Cell Cycle*, 2019, 18: 3239-50
- [23] Zhang J, Xu D, Li N, et al. Downregulation of microRNA-31 inhibits proliferation and induces apoptosis by targeting HIF1AN in human keloid. *Oncotarget*, 2017, 8: 74623-34
- [24] Zhu W, Wu X, Yang B, et al. miR-188-5p regulates proliferation and invasion via PI3K/Akt/MMP-2/9 signaling in keloids. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51: 185-96
- [25] An G, Liang SZ, Sheng CH, et al. Upregulation of microRNA-205 suppresses vascular endothelial growth factor expression-mediated PI3K/Akt signaling transduction in human keloid fibroblasts. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242: 275-85
- [26] De Felice B, Manfellotto F, Garbi C, et al. miR-34 modulates apoptotic gene expression in Ingenol mebutate treated keloid fibroblasts. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 7081-8
- [27] Tang ZM, Ding JC, Zhai XX, et al. MicroRNA-21 may be involved in the therapeutic effects of *Galla chinensis* ointment on keloid. *J Int Med Res*, 2020, 48: 1-15
- [28] Zhu HY, Bai WD, Wang HT, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist inhibits collagen synthesis in human keloid fibroblasts by suppression of early growth response-1 expression through upregulation of miR-543 expression. *Am J Cancer Res*, 2016, 6: 1358-70
- [29] Liang X, Ma L, Long X, et al. LncRNA expression profiles and validation in keloid and normal skin tissue. *Int J Oncol*, 2015, 47: 1829-38
- [30] Li Y, Liang XB, Wang P, et al. Long non-coding RNA CACNA1G-AS1 promotes calcium channel protein

- expression and positively affects human keloid fibroblast migration. *Oncol Lett*, 2018, 16: 891-7
- [31] Zhao X, Jie X, Gao YK, et al. Long non-coding RNA CACNA1G-AS1 promotes proliferation and invasion and inhibits apoptosis by regulating expression of miR-205 in human keloid fibroblasts. *Biosci Rep*, 2020, 40: BSR2019-2839
- [32] Huang H, Fu SF, Liu D. Detection and analysis of the Hedgehog signaling pathway-related long non-coding RNA (lncRNA) expression profiles in keloid. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 9032-44
- [33] Sun XJ, Wang Q, Guo BF, et al. Identification of skin-related lncRNAs as potential biomarkers that involved in Wnt pathways in keloids. *Oncotarget*, 2017, 8: 34236-44
- [34] Wang J, Wu H, Xiao Z, et al. Expression profiles of lncRNAs and circRNAs in keloid. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2019, 7: e2265
- [35] Xu LG, Sun N, Li GS, et al. LncRNA H19 promotes keloid formation through targeting the miR-769-5p/EIF3A pathway. *Mol Cell Biochem*, 2021, 6: 1477-8
- [36] Zhu HY, Bai WD, Li C, et al. Knockdown of lncRNA-ATB suppresses autocrine secretion of TGF- β 2 by targeting ZNF217 via miR-200c in keloid fibroblasts. *Sci Rep*, 2016, 6: 24728
- [37] Yuan WW, Sun H, Yu L. Long non-coding RNA LINC01116 accelerates the progression of keloid formation by regulating miR-203/SMAD5 axis. *Burns*, 2021, 47: 665-75
- [38] Jin J, Jia ZH, Luo XH, et al. Long non-coding RNA HOXA11-AS accelerates the progression of keloid formation via miR-124-3p/TGF β R1 axis. *Cell Cycle*, 2020, 19: 218-32
- [39] Su XG, Ma YH, Wang Q, et al. LncRNA HOXA11-AS aggravates keloid progression by the regulation of HOXA11-AS-miR-205-5p-FOXO1 pathway. *J Surg Res*, 2021, 259: 284-95
- [40] Jin J, Zhai HF, Jia ZH, et al. Long non-coding RNA HOXA11-AS induces type I collagen synthesis to stimulate keloid formation via sponging miR-124-3p and activation of Smad5 signaling. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 317: C1001-10
- [41] Wang J, Wu H, Xiao Z, et al. Expression profiles of lncRNAs and circRNAs in keloid. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2019, 7: e2265
- [42] Zhang ZB, Yu KH, Liu OG, et al. Expression profile and bioinformatics analyses of circular RNAs in keloid and normal dermal fibroblasts. *Exp Cell Res*, 2020, 388: 111799
- [43] Yang D, Li MJ, Na D. Effects of the circ_101238/miR-138-5p/CDK6 axis on proliferation and apoptosis keloid fibroblasts. *Exp Ther Med*, 2020, 20: 1995-2002
- [44] Lv WC, Liu SX, Zhang Q, et al. Circular RNA CircCOL5A1 sponges the MiR-7-5p/Epac1 axis to promote the progression of keloids through regulating PI3K/Akt signaling pathway. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 626027
- [45] Zhang J, Liu NH, Wu XF, et al. Identification of differentially expressed circular RNAs in keloid and normal skin tissue by high-throughput sequencing. *Dermatol Ther*, 2021, 34: e14745