

微小 RNA 在甲状腺相关性眼病发病过程中的调控作用

陈兰 综述 李凯军 审校

广西医科大学第一附属医院眼科, 南宁 530021

通信作者: 李凯军, Email: lkj_0285@qq.com

【摘要】 微小 RNA(miRNA)是内源性单链非编码 RNA,长度为 18~24 个核苷酸,可通过靶向 mRNA 切割或翻译抑制来发挥重要的调节作用,在转录后水平负调控基因的表达。miRNA 通过降解靶基因或者抑制转录后的翻译水平,进而影响细胞的分化、增生和凋亡,并在生物生长发育以及疾病发生和发展过程中发挥调节作用。近年来研究发现,miRNA 在甲状腺相关性眼病(TAO)的发生和发展进程中同样发挥重要的调控作用。本文就眼眶组织 miRNA 和循环 miRNA 在 TAO 发生和发展过程中的调控作用进行综述,为深入研究 TAO 的发病机制和治疗方向提供新的思路。

【关键词】 微小 RNA; 甲状腺相关性眼病; 调控作用; 研究进展

基金项目: 国家自然科学基金项目(81360152)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.05.015

Recent advances in regulatory effects of microRNA in thyroid-associated ophthalmopathy

Chen Lan, Li Kaijun

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Corresponding author: Li Kaijun, Email: lkj_0285@qq.com

【Abstract】 MicroRNAs (miRNAs) are endogenous, single-stranded, noncoding RNAs with 18 to 24 nucleotides in length. miRNAs play important regulatory roles by targeting mRNAs for cleavage or translational repression. Thus, they negatively regulate gene expression at the post-transcriptional level. miRNA can degrade target mRNA or inhibit the translational level of their target mRNAs, which in turn affects cell differentiation, proliferation and apoptosis, and thus plays an important role in the regulation in the occurrence of diseases and the development of the organism. Recent studies have shown that miRNA also plays an important regulatory role in the development of thyroid-associated ophthalmopathy (TAO). This article reviewed the regulatory effect of miRNA in the development of TAO, providing a new insight in the pathogenesis and treatment of TAO.

【Key words】 Micro RNA; Thyroid-associated ophthalmopathy; Regulatory effect; Recent advances

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81360152)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.05.015

甲状腺相关性眼病(thyroid-associated ophthalmopathy, TAO)亦称 Graves 眼病,是一种器官特异性自身免疫性疾病,多与甲状腺疾病有关,是常见的眶周疾病,临床上 25%~50% 的甲状腺疾病患者会伴发 TAO,女性多见^[1]。TAO 确切的病因和发生机制尚不清楚。研究发现,TAO 的眼眶成纤维细胞通过分泌细胞因子、透明质酸(hyaluronic acid, HA)、化学因子和脂类参与炎症反应,还能分化成肌细胞和脂肪细胞,促进细胞增生^[2]。TAO 的组织学特征是眶周组织淋巴细胞浸润,活化的淋巴细胞、巨噬细胞合成并释放大量的细胞因子到组织中,细胞因子通过刺激成纤维细胞增生和糖胺聚糖释放引起眼眶局部的炎症,导致球后组织及眼外肌的水肿,致眼球突出,引起畏光、溢泪、眼球运动障碍等临床症状。微小 RNA(microRNA, miRNA)是内源性、单链、非编码 RNA,长度为 18~24 个核苷酸,可通过

靶向 mRNA 切割或翻译抑制来发挥重要的调节作用,在转录后水平负调控基因表达^[3-4]。近年来,miRNA 在自身免疫性和炎症性疾病的生理和病理过程调控中的作用得到了广泛深入的研究^[5-6]。据报道,人眼组织中约 90% 的 miRNA 在眼中不同部位有不同程度的表达,且表现出高度的组织特异性^[7]。miRNA 在眼部表达的发育阶段特异性和组织特异性提示其在眼部组织可能发挥独特的作用。本文就 miRNA 在 TAO 发生和发展过程中的调控作用进行综述,为深入研究 TAO 的发病机制和治疗方向提供新的思路。

1 眼眶组织 miRNA 与 TAO

1.1 miR-21 与 TAO

近年来研究表明,miRNA 是免疫和细胞生理学的重要调节剂^[8-11]。使用 miRNA 的抑制剂或拟似剂上调或下调 miRNA 在眼组织中的表达以调控相应的生物学行为是目前的研究热点。

血小板源性生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)-BB/miR-21/程序性细胞死亡因子 4 (programmed cell death 4, PDCD4) 通路可能成为 TAO 治疗干预新的合理方向^[12]。miR-21 是第一个被发现的 miRNA, 并参与多个生理过程, 受到发育研究、肿瘤学、干细胞生物学和老化等多个领域研究人员的关注^[13-14]。miR-21 在癌细胞和其他损伤中高度表达。此前, miR-21 被认为是肿瘤发生和发展的调控因子^[15-16]。Wu 等^[17]研究发现, 在 T 细胞, 特别是效应 T 细胞表达的 miRNA 中, miR-21 数量最多, 其表达水平在 T 细胞的分化过程中呈动态变化, 且 miR-21 的表达下调可能影响机体的免疫状态。PDCD4 作为肿瘤抑制因子, 可以抑制肿瘤的发生、发展及转移^[18]。PDCD4 在正常组织中广泛表达, 但是在多种癌细胞中表达缺乏或抑制^[19]。最近研究认为, PDGF-BB 可通过上调 miR-21 抑制 PDCD4 的表达, 从而促进人类眼眶成纤维细胞的增生^[12]。PDGF-BB 刺激细胞增生是通过 miR-21 的调定使 PDCD4 下调, 从而导致 TAO 的发展^[12]。TAO 患者眼眶成纤维细胞的 miR-21 的表达高于非 TAO 患者。此外, PDCD4 的翻译受到 miRNA 的抑制^[20]。因此, PDGF-BB/miR-21/PDCD4 通路可能成为 TAO 干预治疗的新方向。Tong 等^[21]研究发现, miR-21 能促进 TAO 患者眼眶成纤维细胞的增生和分化, 减少细胞凋亡。miR-21 在 TAO 患者眼眶成纤维细胞中的表达高于非 TAO 患者。该研究还显示, 转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 以时间和剂量依赖性方式诱导 miR-21 表达, miR-21 促进 TGF- β 1 诱导的 I 型胶原 mRNA 的表达和总胶原蛋白的生成。另外, miR-21 在 TGF- β 1 诱导胶原蛋白的产生中充当媒介^[21]。此外, miR-21 通过增强 Smad3 磷酸化从而激活 TGF- β 1/Smad 信号通路。以上研究表明 miR-21 与眼眶肌肉纤维化之间的紧密联系, 为 TAO 的治疗提供了新的靶点。

1.2 miR-155 与 TAO

miR-155 是典型的多功能 miRNA, 根据不同的条件, 参与免疫调节, 细胞增生、分化、凋亡, 细胞外基质代谢和其他生命过程^[22-24]。生物信息学分析结果显示, miR-155 具有多个 mRNA 作用靶点^[25-26]。目前研究发现, miR-155 的表达可被 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路诱导, TLR4/NF- κ B 通路是一种重要的免疫和炎症反应途径^[22]。具体来说, miR-155 可以通过靶向抑制细胞因子信号传导 1 和含 SH2 结构域的肌醇-5-磷酸酶-1 来促进炎症反应, 这是 TLR4/NF- κ B 途径中 2 个重要的负性调节物^[27]。另一方面, 白细胞介素 (interleukin, IL)-1b 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 可通过激活 Graves 眼病眼眶成纤维细胞中的 TLR/NF- κ B 途径诱导炎症反应、HA 产生和脂肪形成^[28-29]。近来有报道称, TLR 基因多态性与 Graves 眼病的敏感性有关^[30]。研究发现, miR-155 在 TAO 患者眼眶组织中高表达^[31]。因此, TAO 患者靶细胞 (CD4⁺ T 细胞和眼眶成纤维细胞) 中 miR-155 的表达增加, 可促进眼眶组织增生, 促进 TAO 的发生和发展。

1.3 miR-146a 与 TAO

miR-146a 位于人体 5 号染色体上的 LOC285628 基因中, 与

人体炎性自身免疫性疾病相关^[32-36]。miR-146a 是典型的多功能 miRNA, miR-146a 的表达可被 TLR4/NF- κ B 通路诱导, TLR4/NF- κ B 通路是一种重要的免疫和炎症反应途径^[22]。miR-146a 被证明在 NF- κ B 级联信号中通过负反馈调节环靶向调节肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 以及 IL-1 受体相关激酶 1 (IL-1 receptor-associated kinase 1, IRAK1) 和 IRAK2, 并作为负调节因子调节相关受体和细胞因子信号传导^[37-38]。Jang 等^[39]研究发现, TAO 患者眼眶脂肪组织中 miR-146a 表达水平明显高于非 TAO 患者; IL-1 β 诱导的 miR-146a 表达呈时间和浓度依赖性增加; NF- κ B、JNK-1/2 和 PI3K 抑制剂对 IL-1 β 诱导的 miR-146a 表达增加具有显著抑制作用; miR-146a 模拟物可以进一步降低 IL-1 β 诱导的 IL-6 蛋白的产生, 这些结果表明眼眶成纤维细胞中的炎性应激反应促使 miR-146a 上调, miR-146a 对 TAO 抗炎过程有积极的影响。miR-146a 可能在调节眼眶成纤维细胞的炎症反应中起积极作用, 并且可能参与 TAO 的发病机制^[40]。另外, 最近 Wang 等^[41]采用 MTT 法和流式细胞术分别评估从眼眶结缔组织分离的成纤维细胞的生存能力和有丝分裂, 发现 miR-146a 的过表达可显著提高眼眶纤维细胞的生存能力, 促进有丝分裂, 抑制细胞凋亡, 从而促进 TAO 的发展及恶化。这与之前的研究结果有所不同, 可能是由于作用靶向不同所致。另外, TAO 活动期眼眶组织免疫细胞数量和种类增多, 含大量巨噬细胞、少量 T 细胞 (CD4⁺ T 细胞为主) 等, 但因其与靶基因的关系复杂, 在不同的细胞中可能有不同影响。目前还缺少 miR-146a 在 TAO 静止期表达情况的研究结果, 但根据差异性表达的这一特性, 研究寻找其原因, 阐明其在发生和发展过程中的作用及影响因素对研究发病机制及从活动期向静止期转变的机制可能具有重要意义, 可能成为新的治疗靶点。

总之, 眼眶组织中 PDGF-BB/miR-21/PDCD4 通路可能成为 TAO 治疗干预的新方向; miR-21 通过增强 Smad3 磷酸化激活 TGF- β 1/Smad 信号通路, 从而促进 TAO 患者眼眶成纤维细胞的增生和分化。miR-155 和 miR-146a 在 TLR4/NF- κ B 途径中具有多个靶基因, 相互调节免疫应答。miR-155 和 miR-146a 可以通过以下调节方式影响 TAO 的发展: (1) TLR4/NF- κ B 途径; (2) CD4⁺ T 细胞 (Th1/Th2/Treg/Th17) 与其相关细胞因子之间的不平衡; (3) 眼眶成纤维细胞的分化和增生。深入研究 miRNA 与 TAO 的关系有望帮助人们从基因水平预防、诊断和治疗 TAO, 为进一步有效治疗 TAO 提供新的可能性。

2 循环 miRNA 与 TAO

循环 miRNA 可以稳定存在于多种体液中。研究表明, 血液中的 miRNA 在恶劣条件下仍能保持稳定^[42]。目前研究认为, 循环 miRNA 可以稳定地存在于体液中的原因是胞外的 miRNA 包含在微囊泡中与 Ago2 蛋白结合, 形成 Ago2 蛋白 miRNA 复合物而免受核糖核酸酶的降解。血清 miRNA 可以作为潜在的生物标志物检测各种癌症和其他疾病。

2.1 miR-146a 与 TAO

近年来已发现 miR-146a 参与了自身免疫性疾病的发病机

制,如系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)、格雷夫斯状病变、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis,RA)和多发性硬化症^[40,43-44]。miR-146a 在 SLE 中表达下调。有趣的是,miR-146a 在 RA 患者的不同细胞类型和组织中是上调的。Chan 等^[45]研究表明,miR-146a 的过表达有助于控制促炎细胞因子的产生,并具有天然免疫细胞的交叉耐受。miR-146a 在 Treg 细胞中的缺乏导致了各种器官中致命的 IFN- γ 依赖性免疫介导的免疫耐受性下降^[46]。有研究发现,在 TAO 患者的外周血单核细胞中,miR-146a 的表达显著降低,促进自身免疫炎症反应和眼眶组织的增生反应^[31]。研究表明,miR-146a 和 IL-17 参与自身免疫性疾病并与疾病活动相关,如 miR-146a 与 RA 患者的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMC)和滑膜中的 IL-17 表达相关^[47]。miR-146a 在 Graves 病的甲状腺组织中表达明显降低^[48]。Niimoto 等^[47]经原位杂交复染后证实,miR-146a 是由分泌 IL-17 的细胞产生;而 IL-17 可引起自身免疫性炎症^[49]。血清中 IL-17 和 miR-146a 的水平与 Graves 眼病患者的临床活动性评分(clinical activity score,CAS)明显相关,且循环 miR-146a 表达与血清 IL-17 水平存在显著负相关^[50]。TAO 患者 miR-146a 的表达下调是否提示 IL-17 参与了 TAO 的发生仍有待进一步研究证实。这些发现表明,循环 miR-146a 和 IL-17 可能是 TAO 活动期潜在的生物学标志,并可能在 TAO 的进展中发挥关键作用。然而,最近 Wang 等^[41]采用实时荧光定量 PCR 检测了血浆中的 miR-146a 和 Notch2 的表达水平,并使用双抗体夹心酶联免疫吸附测定检测血清中 IL-6 水平,结果发现与对照组相比,TAO 患者 miR-146a 的表达量明显增加,而 Notch2 的表达量明显降低,且 Notch2 可以直接作为 miR-146a 的靶向目标。外源性 miR-146a 模拟物可抑制 Notch2 受体的表达,并使 IL-6 含量增加,而 miR-146a 抑制剂则可以促进 Notch2 的表达并降低 IL-6 的含量。这些结果说明,miR-146a 可以通过直接靶向作用于 Notch2 信号通路增加 IL-6 的表达,从而促进 TAO 的发展。最近有研究显示 miR-146a 在活动性 TAO 患者 CD4⁺ T 细胞中下调,并证实 *NUMB* 基因是 miR-146a 的作用靶目标^[51]。这说明 CD4⁺ T 细胞中 miR-146a 通过靶向作用 *NUMB* 而促进活动性 TAO 患者的眼部炎症。这在免疫学方面进一步阐明了 TAO 发展的机制。Yang 等^[52]研究发现,TAO 患者 T 细胞 miR-146a 的表达下调,miR-146a 抑制 Th1 分化过程和 T 淋巴细胞的增生。因此,miR-146a 可有效抑制人 Th1 细胞的分化和增生。miR-146a 的异常调节可导致 TAO 的发生和发展。鉴于 miRNA 作为基因表达的精确调节因子,miR-146a 可能有助于调节体内炎症介质的表达。因此,需要进一步研究,例如 T 细胞亚群的特征和表面标志物的分析,以确定 TAO 调节网络内分子相互作用的重要性。由此推测 miR-146a 的作用靶向不同可能导致 miR-146a 对 TAO 的发展产生不同影响。

2.2 miR-224-5p 与 TAO

近年来,miRNA 用于判断糖皮质激素治疗 TAO 的疗效已有研究。糖皮质激素是活动性中重度 TAO 的一线用药^[53]。然而,患者对糖皮质激素的反应个体差异大,对糖皮质激素治疗不敏感性在临床上较常见,其发生率约为 6.5%^[54],并且糖皮

质激素治疗存在不良反应。因此,预测糖皮质激素治疗效果对筛选患者及个性化治疗具有重要意义。循环 miR-224-5p 可能被 Graves 眼病患者的病理性眼眶成纤维细胞摄取,并介导糖皮质激素反应。前期研究发现,miR224-5p 表达可被 NF- κ B 活化上调^[55]。既往研究发现,糖皮质激素的抗炎作用主要来自 NF- κ B 的糖皮质激素受体的反式阻抑^[56]。近来有研究结果证实,血清 miR-224-5p 水平在克罗恩病患者进行英夫利昔单抗治疗期间显著升高,并且可作为弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中相关治疗的反应预测因子^[57-58]。这些发现表明,miR-224-5p 可能在炎症反应中具有潜在作用。Shen 等^[59]收集 35 例即将进行糖皮质激素治疗患者的血液,待治疗结束后分为糖皮质激素治疗敏感组、糖皮质激素治疗部分敏感组和糖皮质激素治疗不敏感组,利用 MiScript PCR 对相应患者血液的 84 种 miRNA 进行定量分析,结果发现 miR-224-5p 和促甲状腺素受体抗体(thyrotropin receptor antibody,TRAb)与 CAS 呈负相关,通过 Logistic 模型分析发现 miR-224-5p 联合 TRAb 是糖皮质激素治疗不敏感的独立危险因素,认为 miR-224-5p 联合 TRAb 可以有效预测糖皮质激素的治疗效果。miR-224-5p 的体外过度表达导致 Graves 眼病敏感性增加,这可以通过 GSK-3b 阻碍的糖皮质激素受体蛋白降解来解释^[59]。循环 miR-224-5p 和 TRAb 的联合应用可有效预测糖皮质激素治疗 Graves 眼病患者的结果(阳性预测值为 91.67%),该研究利用循环 miRNA 预测糖皮质激素治疗 TAO 的疗效,并为糖皮质激素治疗 TAO 的前瞻性评估提供了有效的血清学信息。未来需要较大样本量的长期随访和前瞻性研究来验证其预测的可靠性。

3 小结

近年来,多个 miRNA 在 TAO 的发生和发展中起重要的调控作用,已成为广泛关注的基因表达调控方式之一。越来越多的研究结果也证实,miRNA 在疾病发生和发展进程中起到重要作用。推测 miRNA 的作用靶向不同可能导致 miRNA 对 TAO 的发生和发展产生不同影响。目前,多数 miRNA 在眼部组织的靶基因和调控通路尚未阐明,不同的 miRNA 通过何种作用机制调控 TAO 的发生和发展目前仍不清楚。因此,深入探究各种 miRNA 在 TAO 发生和发展过程中调控相关因子的表达和相关信号通路的作用机制,明确各种 miRNA 之间的潜在联系,对于阐述 TAO 发生和发展的作用机制、早期干预和治疗具有重要意义。

参考文献

- [1] Bahn RS. Graves' ophthalmopathy [J]. N Engl J Med, 2010, 362(8): 726-738. DOI:10.1056/NEJMr0905750.
- [2] van Steensel L, Paridaens D, van Meurs M, et al. Orbit-infiltrating mast cells, monocytes, and macrophages produce PDGF isoforms that orchestrate orbital fibroblast activation in Graves' ophthalmopathy [J/OL]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(3): E400-408 [2017-08-01]. <https://academic.oup.com/jcem/article/97/3/E400/2536529>. DOI:10.1210/jc.2011-2697.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233. DOI:10.1016/j.cell.2009.01.002.
- [5] Chen JQ, Papp G, Szodoray P, et al. The role of microRNAs in the

- pathogenesis of autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2016, 15(12): 1171–1180. DOI:10.1016/j.autrev.2016.09.003.
- [6] Singh RP, Massachi I, Manickavel S, et al. The role of miRNA in inflammation and autoimmunity [J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(12): 1160–1165. DOI:10.1016/j.autrev.2013.07.003.
- [7] Wang FE, Zhang C, Maminishkis A, et al. MicroRNA-204/211 alters epithelial physiology [J]. *FASEB J*, 2010, 24(5): 1552–1571. DOI:10.1096/fj.08-125856.
- [8] Contreras J, Rao DS. MicroRNAs in inflammation and immune responses [J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 404–413. DOI:10.1038/leu.2011.356.
- [9] Zhang W, Wang T, Su Y, et al. Recombinant adenoviral microRNA-206 induces myogenesis in C2C12 cells [J/OL]. *Med Sci Monit*, 2011, 17(12): BR364–371 [2017-06-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3628140/>.
- [10] Shang C, Lu YM, Meng LR. MicroRNA-125b down-regulation mediates endometrial cancer invasion by targeting ERBB2 [J/OL]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(4): BR149–155 [2017-06-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3560825/>.
- [11] Contreras JR, Palanichamy JK, Tran TM, et al. MicroRNA-146a modulates B-cell oncogenesis by regulating Egr1 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13): 11023–11037. DOI:10.18632/oncotarget.3433.
- [12] Lee JY, Yun M, Paik JS, et al. PDGF-BB enhances the proliferation of cells in human orbital fibroblasts by suppressing PDCD4 expression via up-regulation of microRNA-21 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(3): 908–913. DOI:10.1167/iovs.15-18157.
- [13] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853–858. DOI:10.1126/science.1064921.
- [14] Krichevsky AM, Gabrieli G. miR-21: a small multi-faceted RNA [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(1): 39–53. DOI:10.1111/j.1582-4934.2008.00556.x.
- [15] Si ML, Zhu S, Wu H, et al. miR-21-mediated tumor growth [J]. *Oncogene*, 2007, 26(19): 2799–2803. DOI:10.1038/sj.onc.1210083.
- [16] Dahiya N, Sherman-Baust CA, Wang TL, et al. MicroRNA expression and identification of putative miRNA targets in ovarian cancer [J/OL]. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2436 [2017-07-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2410296/>. DOI:10.1371/journal.pone.0002436.
- [17] Wu H, Neilson JR, Kumar P, et al. miRNA profiling of naive, effector and memory CD8 T cells [J/OL]. *PLoS One*, 2007, 2(10): e1020 [2017-07-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2000354/>. DOI:10.1371/journal.pone.0001020.
- [18] Lankat-Buttgereit B, Göke R. The tumour suppressor Pcdcd4; recent advances in the elucidation of function and regulation [J]. *Biol Cell*, 2009, 101(6): 309–317. DOI:10.1042/BC20080191.
- [19] Mudduluru G, Medved F, Grobholz R, et al. Loss of programmed cell death 4 expression marks adenoma-carcinoma transition, correlates inversely with phosphorylated protein kinase B, and is an independent prognostic factor in resected colorectal cancer [J]. *Cancer*, 2007, 110(8): 1697–1707. DOI:10.1002/cncr.22983.
- [20] Young MR, Santhanam AN, Yoshikawa N, et al. Have tumor suppressor PDCD4 and its counteragent oncogenic miR-21 gone rogue? [J]. *Mol Interv*, 2010, 10(2): 76–79. DOI:10.1124/mi.10.2.5.
- [21] Tong BD, Xiao MY, Zeng JX, et al. MiRNA-21 promotes fibrosis in orbital fibroblasts from thyroid-associated ophthalmopathy [J]. *Mol Vis*, 2015, 21: 324–334.
- [22] Huffaker TB, Hu R, Runtsch MC, et al. Epistasis between microRNAs 155 and 146a during T cell-mediated antitumor immunity [J]. *Cell Rep*, 2012, 2(6): 1697–1709. DOI:10.1016/j.celrep.2012.10.025.
- [23] Schulte LN, Westermann AJ, Vogel J. Differential activation and functional specialization of miR-146 and miR-155 in innate immune sensing [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(1): 542–553. DOI:10.1093/nar/gks1030.
- [24] Xu S, Jin C, Shen X, et al. MicroRNAs as potential novel therapeutic targets and tools for regulating paracrine function of endothelial progenitor cells [J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(7): HY27–31.
- [25] Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs [J]. *Genome Res*, 2009, 19(1): 92–105. DOI:10.1101/gr.082701.108.
- [26] Elton TS, Selemon H, Elton SM, et al. Regulation of the MIR155 host gene in physiological and pathological processes [J]. *Gene*, 2013, 532(1): 1–12. DOI:10.1016/j.gene.2012.12.009.
- [27] Ma X, Becker BLE, Barker JR, et al. MicroRNAs in NF-kappaB signaling [J]. *J Mol Cell Biol*, 2011, 3(3): 159–166. DOI:10.1093/jmcb/mjr007.
- [28] van Steensel L, Dik WA. The orbital fibroblast: a key player and target for therapy in Graves' ophthalmopathy [J]. *Orbit*, 2010, 29(4): 202–206. DOI:10.3109/01676831003668443.
- [29] Yoon JS, Lee HJ, Choi SH, et al. Quercetin inhibits IL-1 β -induced inflammation, hyaluronan production and adipogenesis in orbital fibroblasts from Graves' orbitopathy [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26261 [2017-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3198474/>. DOI:10.1371/journal.pone.0026261.
- [30] Liao WL, Chen RH, Lin HJ, et al. Toll-like receptor gene polymorphisms are associated with susceptibility to Graves' ophthalmopathy in Taiwan males [J/OL]. *BMC Med Genet*, 2010, 11: 154 [2017-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2992489/>. DOI:10.1186/1471-2350-11-154.
- [31] Li K, Du Y, Jiang BL, et al. Increased microRNA-155 and decreased microRNA-146a may promote ocular inflammation and proliferation in Graves' ophthalmopathy [J]. *Med Sci Monit*, 2014, 20: 639–643. DOI:10.12659/MSM.890686.
- [32] Tang Y, Luo X, Cui H, et al. MicroRNA-146A contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(4): 1065–1075. DOI:10.1002/art.24436.
- [33] Dai Y, Huang YS, Tang M, et al. Microarray analysis of microRNA expression in peripheral blood cells of systemic lupus erythematosus patients [J]. *Lupus*, 2007, 16(12): 939–946. DOI:10.1177/0961203307084158.
- [34] Nakata T, Miyaki S, Okubo A, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(5): 1284–1292. DOI:10.1002/art.23429.
- [35] Sonkoly E, Pivaresi A. microRNAs in inflammation [J]. *Int Rev Immunol*, 2009, 28(6): 535–561. DOI:10.3109/08830180903208303.
- [36] Xu WD, Lu MM, Pan HF, et al. Association of MicroRNA-146a with autoimmune diseases [J]. *Inflammation*, 2012, 35(4): 1525–1529. DOI:10.1007/s10753-012-9467-0.
- [37] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, et al. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(33): 12481–12486. DOI:10.1073/pnas.0605298103.
- [38] Jiang W, Kong L, Ni Q, et al. miR-146a ameliorates liver ischemia/reperfusion injury by suppressing IRAK1 and TRAF6 [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101530 [2017-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4079695/>. DOI:10.1371/journal.pone.0101530.
- [39] Jang SY, Chae MK, Lee JH, et al. Role of miR-146a in the regulation of inflammation in an *in vitro* model of Graves' orbitopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(10): 4027–4034. DOI:10.1167/iovs.16-19213.
- [40] Wang J, Xiao Y, Zhang H. Role of miR-146a in the regulation of inflammation in an *in vitro* model of Graves' orbitopathy [J/OL]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(15): 6795 [2017-08-13]. <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2595012>. DOI:10.1167/iovs.16-20559.
- [41] Wang N, Chen FE, Long ZW. Mechanism of microRNA-146a/Notch2 signaling regulating IL-6 in Graves ophthalmopathy [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1285–1297. DOI:10.1159/000464430.
- [42] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases [J]. *Cell Res*, 2008, 18(10): 997–1006. DOI:10.1038/cr.2008.282.
- [43] Pérez-Sánchez C, Aguirre MA, Ruiz-Limón P, et al. Atherothrombosis-associated microRNAs in Antiphospholipid syndrome and Systemic Lupus Erythematosus patients [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31375 [2017-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4977549/>. DOI:10.1038/srep31375.
- [44] Smigielska-Czepiel K, van den Berg A, Jellema P, et al. Comprehensive analysis of miRNA expression in T-cell subsets of rheumatoid arthritis patients reveals defined signatures of naive and memory Tregs [J]. *Genes Immun*, 2014, 15(2): 115–125. DOI:10.1038/gene.2013.69.
- [45] Chan EK, Ceribelli A, Satoh M. MicroRNA-146a in autoimmunity and

- innate immune responses [J/OL]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72 Suppl 2: ii90-95 [2017-08-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4977549/>. DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-202203.
- [46] Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, et al. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses [J]. *Cell*, 2010, 142(6): 914-929. DOI: 10.1016/j.cell.2010.08.012.
- [47] Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, et al. MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients [J/OL]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2010, 11: 209 [2017-08-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2950393/>. DOI: 10.1186/1471-2474-11-209.
- [48] 杨文娟, 班胜利, 何剑峰. 微小 RNA-146 在自身免疫性疾病和眼病中的研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(7): 697-700. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.07.020.
- Yang WJ, Ban SL, He JF. Research progress of microRNA-146 in autoimmunity disease and thyroid associated ophthalmopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(7): 697-700. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.07.020.
- [49] Korn T, Oukka M, Kuchroo V, et al. Th17 cells: effector T cells with inflammatory properties [J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(6): 362-371. DOI: 10.1016/j.smim.2007.10.007.
- [50] Kim SE, Yoon JS, Kim KH, et al. Increased serum interleukin-17 in Graves' ophthalmopathy [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 250(10): 1521-1526. DOI: 10.1007/s00417-012-2092-7.
- [51] Hu ZJ, He JF, Li KJ, et al. Decreased microRNA-146a in CD4+ T cells promote ocular inflammation in thyroid-associated ophthalmopathy by targeting NUBP [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8): 1803-1809.
- [52] Yang WJ, Ma PF, Li SP, et al. MicroRNA-146a contributes to CD4+ T lymphocyte differentiation in patients with thyroid ophthalmopathy [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(4): 1801-1809.
- [53] Bartalena L, Baldeschi L, Dickinson AJ, et al. Consensus statement of the European group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) on management of Graves' orbitopathy [J]. *Thyroid*, 2008, 18(3): 333-346. DOI: 10.1089/thy.2007.0315.
- [54] Zang S, Ponto KA, Kahaly GJ. Clinical review: Intravenous glucocorticoids for Graves' orbitopathy: efficacy and morbidity [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(2): 320-332. DOI: 10.1210/jc.2010-1962.
- [55] Scisciani C, Vossio S, Guerrieri F, et al. Transcriptional regulation of miR-224 upregulated in human HCCs by NFκB inflammatory pathways [J]. *J Hepatol*, 2012, 56(4): 855-861. DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.017.
- [56] Newman NJ. Treatment of hereditary optic neuropathies [J]. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8(10): 545-546. DOI: 10.1038/nrneurol.2012.167.
- [57] Fujioka S, Nakamichi I, Esaki M, et al. Serum microRNA levels in patients with Crohn's disease during induction therapy by infliximab [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(6): 1207-1214. DOI: 10.1111/jgh.12523.
- [58] Song G, Gu L, Li J, et al. Serum microRNA expression profiling predict response to R-CHOP treatment in diffuse large B cell lymphoma patients [J]. *Ann Hematol*, 2014, 93(10): 1735-1743. DOI: 10.1007/s00277-014-2111-3.
- [59] Shen L, Huang F, Ye L, et al. Circulating microRNA predicts insensitivity to glucocorticoid therapy in Graves' ophthalmopathy [J]. *Endocrine*, 2015, 49(2): 445-456. DOI: 10.1007/s12020-014-0487-4.

(收稿日期: 2017-09-25 修回日期: 2019-03-16)

(本文编辑: 刘艳)

读者 · 作者 · 编者

本刊对论文中统计学方法描述的要求

研究论文如有量化测试指标时须有统计学分析的内容,分析并在方法部分提供统计学方法的描述,反应变量为单变量时请提供测量指标数据资料的性质(如定量数据资料及定性数据资料的表达方式)、多个样本定量数据资料正态分布检验的名称及方差齐性检验的名称、实(试)验设计方法及与之相匹配的统计学设计方法(如配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等)、与统计设计相应的统计方法名称(如 t 检验、方差分析)以及检验标准。选择方差分析统计设计时,应根据单因素或多因素设计选择正确的方法,不宜简单套用单因素方差分析。反应变量为双变量时,应根据实(试)验设计正确选择简单直线相关分析、回归分析或其他方法,不宜简单套用直线相关分析。统计学的检验标准请提供为双侧检验或单侧性检验。论文结果部分的统计学分析内容可用相应的图表达。

统计学符号的著录执行 GB/T 3358.1—2009/ISO 3534-1:2006《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体,如样本量用 n ; 样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} ; 中位数用英文大写 M , 标准差用英文小写 s , 样本均数的标准误用英文小写 $\sigma_{\bar{x}}$, t 检验用英文小写 t , F 检验用英文大写 F , 卡方检验用希腊文小写 χ^2 , 相关系数用英文小写 r , 确定系数用 R^2 , 自由度用希腊文小写 ν ; 概率用英文大写 P ; 检验水准用 α 。

统计结果的解释和表达采用对比组或比较对象之间差异有统计学意义的描述方法,而不用对比组之间具有显著性(或非常显著性)差异的描述。论文的统计学分析结果提倡提供统计学量值和 P 值的具体数据,如不能提供 P 值的具体数据时,必须提供统计学量值如 χ^2 值、 t 值、 F 值等。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,请给出 95% 可信区间(CI)。

本刊对基金项目的证明和著录要求

文稿所涉及的课题如为国家级、部级、省级等基金资助项目,请分别用中英文表述并分别列于文章中英文摘要关键词之下,“基金项目:”进行标识,并注明基金项目名称,并在圆括号内注明项目编号。基金项目名称应按国家有关部门规定的正式名称填写,多个基金资助的项目请全部列出,按资助机构的等级顺序排列,并以“;”隔开。如:基金项目:国家自然科学基金项目(30271269);国家重点基础研究发展规划(973计划)(2013CB532002);Fund program: National Natural Science Foundation of China(30271269); National Key Basic Research Program of China(973 Program)(2013CB532002)。获得基金项目资助的论文投稿时请提供基金项目资助证明的复印件或扫描后发至编辑部信箱。

(本刊编辑部)