

· 综 述 ·

非编码 RNA 在甲状腺相关眼病中的调控作用

岳子凡 综述 魏锐利 审校

海军军医大学第二附属医院上海长征医院眼科, 上海 200003

岳子凡现在中国人民解放军南部战区海军第二医院眼科, 三亚 572000

通信作者: 魏锐利, Email: ruliwei@126.com

【摘要】 甲状腺相关眼病(TAO)的发病机制与环境、遗传和免疫因素均相关,主要涉及甲状腺和眼外肌的自身免疫反应,但其具体的发病机制尚未明了。非编码 RNA(ncRNAs)是 RNA 的转录产物,主要分为长链非编码 RNA(lncRNA)、环状 RNA(circRNA)和微小 RNA(miRNA),可以在转录及转录前水平对机体以及细胞的分子功能以及生物过程等方面做出调节。近年来不断有研究发现,ncRNA,尤其是 miRNA,在 TAO 患者的发病机制中起着重要的生物调控作用。本文通过阐述 miRNA(如 miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-21 等),lncRNA 以及 circRNA 分别在 TAO 发病过程如炎症介导、脂肪形成及纤维化、细胞增殖中的生物调控作用,希望为今后对于 TAO 发病机制的研究提供新的思路,并阐明 lncRNA 对于 TAO 的靶向干预和早期治疗的重要启发和指导意义。

【关键词】 甲状腺相关眼病; 非编码 RNA; 微小 RNA; 调控作用**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(81770959、81570885)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210309-00155

Regulating effect of non-coding RNAs in thyroid-associated ophthalmopathy

Yue Zifan, Wei Ruili

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Navy Military Medical Hospital, Shanghai 200003, China

Yue Zifan now works at the Second Naval Hospital of Southern Theater Command of PLA, Sanya 572000, China

Corresponding author: Wei Ruili, Email: ruliwei@126.com

【Abstract】 Thyroid-associated ophthalmopathy (TAO) is related to environmental, genetic and immune factors, mainly involving the autoimmune response of the thyroid and extraocular muscles. However, its specific pathogenesis is unclear. Non-coding RNAs (ncRNAs), the transcription products of RNA, are mainly divided into long non-coding RNAs (lncRNAs), circular RNAs (circRNAs) and microRNAs (miRNAs). ncRNAs regulate molecular functions and biological processes in cells and the body at the transcription and pre-transcription levels. Recent studies have found that ncRNAs, especially miRNAs, play an important biological regulatory role in the pathogenesis of TAO. This article explains how miRNAs, such as miRNA-146a, miRNA-155, miRNA-21, etc., lncRNAs and circRNAs are involved in the pathogenesis of TAO, such as inflammation mediation, adipogenesis and fibrosis, and cell proliferation, in order to provide new ideas for future research on the pathogenesis of TAO and clarify the important inspiration and guiding significance of ncRNAs for the targeted intervention and early treatment of TAO.

【Key words】 Thyroid-associated ophthalmopathy; Non-coding RNA; MicroRNA; Regulating effect**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81770959, 81570885)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210309-00155

甲状腺相关眼病(thyroid-associated ophthalmopathy, TAO), 又称 Graves 眼病, 是一种自身免疫性疾病, 常发生于甲状腺功能亢进患者。TAO 最常见的临床特征包括软组织炎症、眼球运动障碍、斜视、眼睑退缩及眼球突出, 病情严重者常伴视力下降和角膜溃疡, 这些症状均会影响患者的生活质量^[1]。TAO 发病机制主要涉及甲状腺和眼外肌的自身交叉免疫反应^[2]。

TAO 具有在眼眶成纤维细胞(orbital fibroblasts, OFs)中特异性表达促甲状腺激素受体(thyrotropin receptor, TSHR)的组织学特征。TAO 患者体内丧失了对 TSHR 的免疫耐受, TSHR 被辅助 T 细胞特异性识别, 从而激活辅助 T 细胞, 辅助 T 细胞分泌大量的细胞因子和炎症因子, 促进脂肪形成和透明质酸的产生, 进而发生结缔组织重构, 导致不同程度的眼眶脂肪膨胀以及眼

外肌增粗^[3],除 TSHR 外,TAO 患者的 OFs 也表达高水平的胰岛素样生长因子 1 受体(insulin-like growth factor 1, IGF-1R)。已有强有力的证据表明 IGF-1R 参与了 TAO 的发病机制,且 TSHR 的信号转导部分依赖于功能性 IGF-1R,靶向人 IGF-1R 的抑制性单克隆抗体替妥单抗(teprotumumab)在 TAO 治疗领域的研究也取得了突破性进展^[4-5]。然而,TAO 的确切发病机制尚未完全阐明,且缺乏可用于早期诊断及评估疾病严重程度和活动程度的生物标志物。因此,如何实现活跃期 TAO 的早期诊断和有效治疗仍是眼科领域的难题。

非编码 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)是 RNA 的转录产物,但其不具有编码蛋白质的功能。ncRNAs 可以在分子功能以及生物过程等多种方面对机体以及细胞做出调节,包括长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA(circular RNA, circRNA)和非编码小 RNA(small non-coding RNA, sncRNA)。ncRNAs 是基因转录和蛋白翻译的重要调控因子,参与维持正常生理功能,亦参与一些主要的慢性疾病,如糖尿病、癌症以及动脉粥样硬化^[6-8]。竞争性内源 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)假说认为,许多非编码 RNA 分子如 lncRNA 及 circRNA 在细胞中可以起到微小 RNA(miRNA, miRNA)海绵吸附体的作用,进而解除 miRNA 对其靶基因的抑制作用,上调靶基因的表达水平^[9]。ncRNAs 可以在各种体液中检测到,其有可能成为诊断 TAO 和其他疾病的新型非侵入性生物标志物^[10]。某些非编码 RNA 在眼部组织中显示了出众的发育阶段特异性以及组织特异性,这表明 ncRNAs 在 TAO 的发生和发展过程中可能具有潜在的作用。本文就 ncRNAs 在 TAO 发病过程中的特异性表达和生物调控作用方面进行综述,以总结当前 ncRNAs 在 TAO 领域的研究进展。

1 lncRNA 在 TAO 发生和发展中的作用

lncRNA 是一种长链的多功能 RNA,其转录本长度超过 200 个 nt,在结构上与信使 RNA(messenger RNA, mRNA)相似,但不编码蛋白质。lncRNA 最初被认为是基因组转录过程中产生的无生物功能的片段,但随着三代测序技术的发展,lncRNA 的功能逐渐明晰。研究表明,lncRNA 与 DNA、RNA 和蛋白质相互作用,具有特殊的生物功能^[11]。研究表明 lncRNA 可以在转录水平及转录后水平调控基因表达,参与转录干扰与激活、核内转运及染色质修饰等重要调控过程,并可作为分子海绵解除 miRNA 对其靶基因的抑制作用,从而上调靶基因的表达水平^[12]。

近年来,lncRNA 在眼部疾病领域的研究日益增多,涉及白内障^[13]、青光眼^[14]及眼部肿瘤^[15]等多种疾病。然而,lncRNA 在 TAO 发病机制中的研究相对较少。因此,深入研究 lncRNA 在 TAO 发生和发展中的作用可以为 TAO 的早期诊断和靶向治疗提供新的思路。Wu 等^[16]通过对 TAO 患者的 OFs 标本进行 lncRNA 高通量测序以及差异表达和相关分析,发现 TAO 患者的 OFs 中,出现了 377 种上调的 lncRNA 和 455 种下调的 lncRNA;并构建了 TAO 患者的 lncRNA 与 mRNA 共表达网络,以解释 lncRNA 如何通过调节 mRNA 参与 TAO 的发病机制。该共表达网络及功能富集分析显示,lncRNA 与细胞外基质相

关基因之间存在 311 种共表达相互作用。lncRNA 与细胞外基质相关 mRNA COL12A1 以及 COL6A3 的表达下调显著相关,而 COL12A1 和 COL6A3 的共表达相互作用可能与 TAO 患者眶内脂肪/结缔组织中细胞外基质的沉积有关。同时,表达上调的 lnc-PTP4A2-3:7 与表达下调的 mRNA TNXB 共表达呈负相关,表达下调的 lncRNA LINC01139:4 与表达上调的 mRNA SPON1 共表达呈负相关,而 TNXB 与细胞黏附及细胞外基质的改变显著相关,而 SPON1 与非神经元组织的代谢有关。根据上述发现,Wu 等^[16]认为差异表达的 lncRNA 与 mRNA 的相互作用提示,lncRNA 可能调节 TAO 患眼眶内脂肪组织的细胞外基质的重构,进而导致细胞外基质异常沉积,从而发生纤维化,导致眼球异常突出,这进一步揭示了 TAO 的生物学过程和发病机制,并对未来制定治疗策略具有重要价值。Wu 等的研究证实了 TAO 患者 OFs 中 lncRNA 与 mRNA 的表达存在相关性,这对进一步验证 TAO 中 ceRNA 机制的假说提供了重要启示。

2 circRNA 在 TAO 发生和发展中的作用

circRNA 是一种具有封闭性环状结构的 RNA 分子,通过反向剪接后 3' 和 5' 端共价结合而形成,因此不受 RNA 外切酶作用,具有组织、时序和结构特异性^[12]。随着三代测序技术的出现和进步,circRNA 的作用被逐渐揭示,其可以像 miRNA 一样参与基因的转录和转录后表达调控,还可以像 RNA 结合蛋白一样与 RNA 结合发挥作用;circRNA 的产生过程本身也可能通过剪接和反剪接的竞争来调控线性 mRNA 的形成^[17],并且可以作为分子海绵解除 miRNA 对其靶基因的抑制作用,从而上调靶基因的表达水平^[18]。

研究发现,circRNA 的表达异常与多种眼科疾病相关,如糖尿病性白内障^[19]、糖尿病视网膜病变^[20]及视网膜神经退行性变^[21]。然而,circRNA 在 TAO 领域的研究少之又少,其在 TAO 发病机制中多有待进一步发掘。Wu 等^[22]通过对 OFs 进行 RNA 高通量测序识别出了差异表达的 mRNA 和 circRNA,并构建了 circRNA-mRNA 共表达和 circRNA-miRNA 相互作用网络来揭示不同 circRNA 在 TAO 发病机制中的作用。差异表达分析显示,共有 163 种 circRNA 存在差异表达(95 种下调,68 种上调),其中 circ_0006633 的表达在 TAO 患者中显著升高,而 circ_000712、circ_0000190、circ_0082096 的表达在 TAO 患者中显著降低。共表达网络显示,circRNA_14940 与 mRNA CCND1 上调、mRNA TNXB 下调均相关,circRNA_10135 与 PTGFR mRNA 表达上调相关,circRNA_14936 与 mRNA TNFRSF19 表达上调相关,circRNA_14936 与 has-miR-10392-3p、circRNA_07438 与 has-miR-10392-3p、circRNA_05002 与 has-miR-6873-3p、circRNA_12367 与 has-miR-1228-3p 分别相互作用。该研究中共表达网络 mRNA 的通路富集分析显示 CCND1 参与了 Wnt 信号通路,而 TAO 患者眼眶脂肪组织基因表达谱显示,Wnt 通路信号异常可能参与 TAO 的发病机制。Ezra 等^[23]根据研究发现推测,circRNA-14940 调节 Wnt 信号通路、PI3K-Akt 信号通路以及细胞外基质-受体反应,进而参与 TAO 的发病机制,这种作用可能通过联合 CCND1 及 TNXB 发挥,且 has-miR-10392-3p

可能通过调控 circRNA_14936 在 TAO 中发挥作用。而 circRNA_10135 可能通过钙信号通路调节 mRNA PTGFR,从而参与 TAO 的脂肪形成,上述发现揭示了差异表达的 circRNA 在 TAO 中与 miRNA 以及 mRNA 可能存在相互作用关系,并为 TAO 中 ceRNA 假说的进一步验证提供了新思路:circRNA 可能通过竞争性结合 miRNA,从而解除 miRNA 对 mRNA 的抑制作用,进而对 mRNA 的表达进行调控。

3 miRNA 在 TAO 发生和发展中的作用

miRNA 是内源性的 sncRNA,现已成为生物信息学领域的研究热点,其长度为 20~25 nt,可通过靶向作用于 mRNA 进行转录后水平的调控,参与细胞的生长、分化、衰老、凋亡等重要生物过程^[24]。miRNA 通常位于其目标 mRNA 的 3' 非编码区内,与各自的目标基因相结合,导致 mRNA 翻译受阻、稳态失衡甚至降解^[25]。miRNA 被认为是基因表达网络的完整参与者,并在许多疾病进程中发挥作用,包括糖尿病、风湿性关节炎、Graves 病以及 TAO^[24,26-28]。在 TAO 研究中,使用 miRNA 抑制剂或拟似物调节其表达水平,以观察其在疾病发病机制中的生物调控作用,已成为近年来的研究热点。

3.1 miRNA-146a

miRNA 146a(miR-146a)是炎症性自身免疫性疾病中研究较多的 miRNA^[29]。一系列研究表明,miR-146a 可能在 TAO 患者 OFs 中起到炎症调节的作用:其在 TAO 患者的 OFs 中受炎症作用应激上调^[12],且通过下调相关靶基因如肿瘤坏死因子受体相关因子 6 以及白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)受体相关激酶(IL-1 receptor-associated kinase, IRAK1)来抑制 NF-KB 通路进而发挥作用,最终实现炎症反应的终止或缓解^[30]。IL-1 β 能够诱导 miR-146a 的表达,这种诱导作用与浓度和时间成正比^[31],然而,经 IL-1 β 刺激后,TAO 患者 OFs 中 miR-146a 的表达上调程度低于非 TAO 患者,这说明 TAO 患者 OFs 控制炎症的能力降低,且该过程需要 JNK 和 PI3K 通路的激活^[12,25];而 M22——一种能活化 TSHR 的人单克隆抗体和 TSH 可以激活 cAMP 独立的级联通路,从而激活 PI3K 通路,增强 OFs 的脂肪形成,这说明 PI3K 通路可能是在 TAO 发病机制中起到核心作用的通路^[24,32]。近年研究进一步证实,在 OFs 中应用 miR-146a 拟似物能够显著抑制 IL-1 β 诱导的炎症因子 IL-6 的分泌,这说明 miR-146a 有着相关的抗炎作用^[12]。因此,通过 miR-146a 拟似物来抑制 TAO 患者的局部炎症反应具有潜在研究价值。

同时,miR-146a 在 TGF- β 诱导的纤维化标志物的产生中发挥负调控作用,TGF- β 可通过 Smad 和 ERK 通路增加 OFs 中 miR-146a 的表达,且这种作用呈现时间和浓度依赖性。而 miR-146a 水平的升高会抑制 TGF- β 诱导的纤维化标志物,如纤连蛋白、胶原蛋白 I α 以及 α 平滑肌肌动蛋白的产生,提示 miR-146a 可能参与调控 TAO 患者 OFs 的纤维化^[33],这为后续研究其与 TAO 患者 OFs 纤维化的关系提供了实验依据。然而,Wang 等^[34]的研究与此前报道存在差异,他们发现 miR-146a 可通过抑制 Notch2 受体蛋白表达来上调 IL-6 水平,从而

促进 TAO 进展;反之,抑制靶基因 Notch2 的表达可下调 miR-146a,提示 Notch2 可作为 TAO 的治疗靶点。同时,Wei 等^[35]发现 TAO 患者血液中 miR-146a 表达水平下降,并与介导炎症的细胞因子 IL-17 水平呈负相关。这 2 项研究结果与既往研究存在差异,可能与实验方法和作用靶点不同有关。在 Hu 等^[36]的实验中,活动期 TAO 患者 CD4⁺T 细胞中的 miR-146a 表达下调,通过作用于靶点 NUMB 蛋白促进 TAO 活动期的眼部炎症,说明 miR-146a 在 TAO 患者不同细胞中的作用可能不同。另外,Woeller 等^[37]发现,TSHR 信号在 TAO 患者 OFs 中通过诱导 miR-146a 表达刺激 OFs 增殖,miR-146a 可能通过下调抑制细胞增殖的靶基因 ZNRF3 表达来增强细胞 TAO 患者 OFs 增殖。以上研究均表明,miR-146a 在 TAO 的炎症调控以及细胞增殖和纤维化过程中起着至关重要的生物调控作用,并可能作为潜在的生物标志物以及治疗靶点。

3.2 miRNA-155

miRNA-155(miR-155)是一种具有免疫调节功能的多功能 RNA,作为与炎症反应相关性最显著的几种 miRNA 之一,其在淋巴系及髓系活化细胞中表达均上调^[38]。在 TLR4/NF- κ B 信号通路中,miR-155 可通过靶向抑制细胞因子信号通路 1(suppressor of cytokine signaling1, SOCS1)和含有 SH2 结构域的肌醇-5-磷酸酶等多个靶基因来对该通路起到负调控作用,而 TAO 患者 OFs 中 TLR4/NF- κ B 通路的激活会诱导炎症、透明质酸的产生和脂肪生成^[39-40]。在 T 细胞中,miR-155 通过抑制 SOCS1 表达影响 Treg 细胞的发育作用及竞争适应度,同时 miR-155 在自身免疫过程中影响 Th17 细胞的发育,而 Treg 细胞和 Th17 细胞均能影响 TAO 的发病过程^[41],这对于后续研究 miR-155 对于 TAO 的炎症及脂肪形成过程中的调控有着重要的指示作用。

此外,miR-155 在纤维组织的形成过程中同样不可或缺,其可通过介导 TGF- β 信号通路驱动胶原合成^[42],而 miR-155 的缺乏则会抑制纤维化^[43]。同时,miR-155 能通过靶向 CCAAT/增强子结合蛋白 β (C/EBP- β)抑制脂肪细胞的分化^[44]。由此看来,miR-155 与 TAO 的发病机制密切相关,常与 miR-146a 做共表达分析,因两者对 TAO 的发病机制具有相反影响,Li 等^[38]发现,在 TAO 患者的 CD4⁺T 细胞和 OFs 中,miR-155 过表达而 miR-146a 表达受抑制。两者可能通过调节 3 个方面影响 TAO 的发生和发展:(1) TLR4/NF- κ B 通路;(2) CD4⁺T 细胞(Th1/Th2/Treg/Th17)及其相关细胞因子;(3)眼眶 OFs 的分化和增殖。这表明在 TAO 中,miR-155 和 miR-146a 存在一种平衡,两者共同调节 TAO 的发病进程;当 miR-155 的表达压制 miR-146a 时,TAO 可能继续进展或恶化,反之,症状可能缓解^[32,37]。Woeller 等^[37]研究推断,miR-155 可能通过促进肌成纤维细胞的形成、炎症信号传导以及细胞增殖,从而促进眼外肌肉的增大,而非先前推测的通过增加脂肪细胞的形成从而导致眶内容积增大。上述研究表明,miR-155 能够通过介导影响通路及相关细胞因子的表达影响 TAO 发病的多个过程。以上发现为之后探索 miR-155 在 TAO 中的生物作用和靶向治疗以及与其他 miRNA 的复合作用打下基础。

3.3 miRNA-21

miRNA-21(miR-21)是一个小型多功能 RNA,参与多个生理过程,其在癌细胞和其他病变组织中高表达,是诊断和预后的重要标志,并在一些疾病中具有潜在治疗靶点价值^[45]。miR-21 在许多疾病的纤维化过程中发挥关键作用,如促进肾纤维化^[46]、介导肺纤维化中肺成纤维细胞的激活^[47]并加速心房纤维化以及促进心房肌结构重塑^[48]。

作为纤维化进程的核心调控因子,转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)能够促进 TAO 患者 OFs 中 miR-21 过表达,这说明 miR-21 有可能参与 OFs 的纤维化过程。miR-21 能够通过诱导抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达增加和促凋亡蛋白 Bax 表达减少来抑制 OFs 的凋亡并且促进其增殖,这种对 OFs 的增殖作用可通过 Ki67 增殖相关抗原的表达增加得到证实;进一步的研究还发现 miR-21 通过激活 Smad3 磷酸化介导 TGF- β /Smad 通路进而促进肌成纤维细胞分化以及胶原合成^[49],从而促进 OFs 的纤维化,这为 TAO 患者 OFs 纤维化机制的研究提供了新的思路。

血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)-BB 通过 miR-21 介导程序性细胞凋亡因子 4(programmed cell death 4, PDCD4)下调,进而刺激 OFs 增殖[参考文献]。PDGF 是一种二聚体蛋白,通过促进肌成纤维细胞的增殖,在组织修复和纤维化疾病中发挥重要作用,而 PDGF-BB 是其中激活 OFs 增殖和产生 IL-6 和透明质酸最有效的异构体 PDCD4 则是 miR-21 的一个起到重要作用的功能性靶点^[50-52]。这条 PDGF-BB/miR-21/PDCD4 通路为 TAO 的靶向治疗提供了合理的方向^[53]。综上所述,miR-21 在 TAO 中同样起着不容忽视的生物调控作用,但其具体的调节作用尚需进一步研究。

3.4 其他 miRNA

除上述 3 个在 TAO 领域被广泛研究的 miRNA 外,近年来许多研究者对其他 miRNA 进行了针对性研究,为 miRNA 对 TAO 的调控作用的阐明提供了引导和启发。miR-96 和 miR-183 在许多自身免疫病如 1 型糖尿病、系统性红斑狼疮和 Graves 病患者的血清以及不同类型的组织和细胞中均存在异常表达现象^[54-56],这表明 miR-96 和 miR-183 在 T 细胞介导的自身免疫中具有效力。而早期生长反应因子 1 是 TAO 患者 OFs 中 miR-183 和 miR-96 的靶点,可以激活负调控因子 PTEN^[57];而 PTEN 是一种特异性的蛋白质,对 PI3K/Akt 通路具有抑制作用,具有脂质磷酸酶功能^[58],能够使 Akt 磷酸化;因此,增强 miR-183 和 miR-96 的表达可以增强 CD4⁺T 细胞中 Akt 的磷酸化,从而促进 CD4⁺T 细胞的激活,导致其在体内的增殖,从而促进 TAO 的发展^[59]。这一发现为治疗包括 TAO 在内的 T 细胞介导的自身免疫性疾病提供了合理方向,并可以作为 TAO 治疗潜在的靶点。

miR-27 参与调节胆固醇和脂肪酸的代谢^[60],通过阻断过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 和 CCAAT/增强子结合蛋白 α 、 β 的表达,抑制脂肪细胞的形成^[61],从而抑制 TAO 的脂肪化;在 TAO 患者的 OFs 中,miR-27a 和 miR-27b 水平在脂肪化后逐渐

降低,从而抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 和增强子结合蛋白的表达,并促进脂肪细胞的增殖^[62],这表明 miR-27a 和 miR-27b 会抑制 TAO 患者 OFs 的脂肪化,这 OFs 脂肪化研究开拓了新方向。Jang 等^[62]通过体外实验进一步发现,miR-27a 的抑制作用强于 miR-27b,提示二者可能作为调控 TAO 脂肪代谢紊乱的潜在治疗靶点。

另外,miRNAs 在 TAO 治疗领域的研究也有进展。糖皮质激素冲击疗法是目前 TAO 活动期最有效的治疗方法,但部分患者对糖皮质激素不敏感,长期激素治疗不仅无效且易引发不良反应。因此,寻找稳定可靠的生物标志物以预测 TAO 患者对糖皮质激素的敏感性尤为重要。Shen 等^[63]研究发现,血清中 miR-224-5p 与 TAO 患者的糖皮质激素敏感性相关,且与促甲状腺素受体抗体(thyroid-stimulating receptor antibody, TRAb)表达水平呈负相关,miR-224-5p 和 TRAb 是与糖皮质激素耐药相关的独立危险因素,两者的平衡可能决定了 TAO 的糖皮质激素敏感性;而且他们发现,体外过表达 miR-224-5p 可恢复耐药细胞模型中的糖皮质激素敏感性,其机制可能为通过靶基因 *GSK-3 β* 阻碍糖皮质激素受体蛋白降解。这表明血清 miR-224-5p 联合 TRAb 可有效预测 TAO 患者糖皮质激素敏感性,Shen 等^[63]还初步探索了 miR-224-5p 调节 TAO 患者糖皮质激素敏感性的机制,为临床决策患者是否应用糖皮质激素冲击疗法提供了潜在的生物标志物,并为恢复糖皮质激素耐药患者的敏感性提供了思路。上述 miRNA 的研究给了我们重要的启发作用,但多数研究处于起步阶段,亟需严谨的多重实验验证及对 miRNA 与 lncRNA、circRNA 等分子相互作用的探索。

总之,miRNA 作为在临床研究中应用较广的一类生物标志物,近年来在 TAO 领域被广泛研究。越来越多的研究也表明,几种特定的 miRNA 在 TAO 的发病机制和病理改变方面有着确切的作用,但具体机制和过程仍未完全阐明,尚待进一步的研究。未来需要通过公认的 TAO 动物实验模型,进一步研究 miRNA 在 TAO 治疗中作为靶点的潜力^[64],特别是对眼球突出畸形患者。这对于 TAO 的靶向干预和早期治疗都有着重要的启发和指导意义。

4 小结

近年来,非编码 RNA 在基因调控领域中的研究欣欣向荣,不但在疾病的早期诊断方面研究广泛,而且也成为了众多药物靶向治疗的潜在靶点。然而在 TAO 领域中对于非编码 RNA 在 TAO 发病机制和病理改变过程中的影响还不是十分明了,需要进一步的研究和发掘,来检验非编码 RNA 作为 TAO 的治疗靶点和生物标志物的潜力,并探寻几种非编码 RNA 如 lncRNA、circRNA 及 miRNA 在 TAO 中相互作用的关系,从而为 TAO 的发病机制提供新的线索,为 TAO 的治疗提供新的策略。

利益冲突 本文所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Marinò M, Ionni I, Lanzolla G, et al. Orbital diseases mimicking graves' orbitopathy: a long-standing challenge in differential diagnosis[J]. J Endocrinol Invest, 2020, 43(4): 401-411. DOI: 10. 1007/s40618-019-

- 01141-3.
- [2] Bahn RS. Current insights into the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy[J]. *Horm Metab Res*, 2015, 47(10): 773-778. DOI: 10.1055/s-0035-1555762.
 - [3] Smith TJ. TSH-receptor-expressing fibrocytes and thyroid-associated ophthalmopathy[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(3): 171-181. DOI:10.1038/nrendo.2014.226.
 - [4] Smith TJ, Kahaly GJ, Ezra DG, et al. Teprotumumab for thyroid-associated ophthalmopathy[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(18): 1748-1761. DOI:10.1056/NEJMoa1614949.
 - [5] Douglas RS, Kahaly GJ, Patel A, et al. Teprotumumab for the treatment of active thyroid eye disease[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(4): 341-352. DOI:10.1056/NEJMoa1910434.
 - [6] Wu G, Cai J, Han Y, et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity[J]. *Circulation*, 2014, 130(17): 1452-1465. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011675.
 - [7] Anastasiadou E, Jacob LS, Slack FJ. Non-coding RNA networks in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(1): 5-18. DOI:10.1038/nrc.2017.99.
 - [8] Roy S, Awasthi A. Emerging roles of noncoding RNAs in T cell differentiation and functions in autoimmune diseases[J]. *Int Rev Immunol*, 2019, 38(5): 232-245. DOI:10.1080/08830185.2019.1648454.
 - [9] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? [J]. *Cell*, 2011, 146(3): 353-358. DOI:10.1016/j.cell.2011.07.014.
 - [10] Coenen-Stass A, Magen I, Brooks T, et al. Evaluation of methodologies for microRNA biomarker detection by next generation sequencing[J]. *RNA Biol*, 2018, 15(8): 1133-1145. DOI:10.1080/15476286.2018.1514236.
 - [11] Wang B, Shao X, Song R, et al. The emerging role of epigenetics in autoimmune thyroid diseases[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 396 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28439272>. DOI:10.3389/fimmu.2017.00396.
 - [12] Yin L, Zeng C, Yao J, et al. Emerging roles for noncoding RNAs in autoimmune thyroid disease[J/OL]. *Endocrinology*, 2020, 161(8): bqaa053 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32270194>. DOI:10.1210/endoqr/bqaa053.
 - [13] Shen Y, Dong LF, Zhou RM, et al. Role of long non-coding RNA MIAT in proliferation, apoptosis and migration of lens epithelial cells: a clinical and *in vitro* study[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(3): 537-548. DOI:10.1111/jcmm.12755.
 - [14] Li HB, You QS, Xu LX, et al. Long non-coding RNA-MALAT1 mediates retinal ganglion cell apoptosis through the PI3K/Akt signaling pathway in rats with glaucoma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(5): 2117-2132. DOI:10.1159/000484231.
 - [15] Xing Y, Wen X, Ding X, et al. CANT1 lncRNA triggers efficient therapeutic efficacy by correcting aberrant lncing cascade in malignant uveal melanoma[J/OL]. *Mol Ther*, 2023, 31(9): 2811 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/37634510>. DOI:10.1016/j.ymthe.2023.08.002.
 - [16] Wu L, Li L, Liang Y, et al. Identification of differentially expressed long non-coding RNAs and mRNAs in orbital adipose/connective tissue of thyroid-associated ophthalmopathy[J]. *Genomics*, 2021, 113(1 Pt 2): 440-449. DOI:10.1016/j.ygeno.2020.09.001.
 - [17] Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted L, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 675-691. DOI:10.1038/s41576-019-0158-7.
 - [18] Cheng Z, Yu C, Cui S, et al. circTP63 functions as a ceRNA to promote lung squamous cell carcinoma progression by upregulating FOXM1[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3200 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31324812>. DOI:10.1038/s41467-019-11162-4.
 - [19] Fan C, Liu X, Li W, et al. Circular RNA circ KMT2E is up-regulated in diabetic cataract lenses and is associated with miR-204-5p sponge function[J]. *Gene*, 2019, 710: 170-177. DOI:10.1016/j.gene.2019.05.054.
 - [20] Shan K, Liu C, Liu BH, et al. Circular noncoding RNA HIPK3 mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus[J]. *Circulation*, 2017, 136(17): 1629-1642. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029004.
 - [21] Wang JJ, Shan K, Liu BH, et al. Targeting circular RNA-ZRANB1 for therapeutic intervention in retinal neurodegeneration[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 540. DOI:10.1038/s41419-018-0597-7.
 - [22] Wu L, Zhou R, Diao J, et al. Differentially expressed circular RNAs in orbital adipose/connective tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy[J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 196: 108036 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32376473>. DOI:10.1016/j.exer.2020.108036.
 - [23] Ezra DG, Krell J, Rose GE, et al. Transcriptome-level microarray expression profiling implicates IGF-1 and Wnt signalling dysregulation in the pathogenesis of thyroid-associated orbitopathy[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(7): 608-613. DOI:10.1136/jclinpath-2012-20719.
 - [24] 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/iov.16-19213.
 - [25] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233. DOI:10.1016/j.cell.2009.01.002.
 - [26] Zhang W, Xu W, Feng Y, et al. Non-coding RNA involvement in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 5859-5867. DOI:10.1111/jcmm.14510.
 - [27] Evangelatos G, Fragoulis GE, Koulouri V, et al. MicroRNAs in rheumatoid arthritis: from pathogenesis to clinical impact[J/OL]. *Autoimmun Rev*, 2019, 18(11): 102391 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31520804>. DOI:10.1016/j.autrev.2019.102391.
 - [28] Martínez-Hernández R, Serrano-Somavilla A, Ramos-Leví A, et al. Integrated miRNA and mRNA expression profiling identifies novel targets and pathological mechanisms in autoimmune thyroid diseases[J]. *EBioMedicine*, 2019, 50: 329-342. DOI:10.1016/j.ebiom.2019.10.061.
 - [29] Sonkoly E, Pivaresi A. microRNAs in inflammation[J]. *Int Rev Immunol*, 2009, 28(6): 535-561. DOI:10.3109/08830180903208303.
 - [30] 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/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(33): 12481-12486 [2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16885212>. DOI:10.1073/pnas.0605298103.
 - [31] Larner-Svensson HM, Williams AE, Tsitsiou E, et al. Pharmacological studies of the mechanism and function of interleukin-1beta-induced miRNA-146a expression in primary human airway smooth muscle[J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 68. DOI:10.1186/1465-9921-11-68.
 - [32] Kumar S, Nadeem S, Stan MN, et al. A stimulatory TSH receptor antibody enhances adipogenesis via phosphoinositide 3-kinase activation in orbital preadipocytes from patients with Graves' ophthalmopathy[J]. *J Mol Endocrinol*, 2011, 46(3): 155-163. DOI:10.1530/JME-11-0006.
 - [33] Jang SY, Park SJ, Chae MK, et al. Role of microRNA-146a in regulation of fibrosis in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy[J]. *Br J Ophthalmol*, 2018, 102(3): 407-414. DOI:10.1136/bjophthalmol-2017-310723.
 - [34] 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.
 - [35] Wei H, Guan M, Qin Y, et al. Circulating levels of miR-146a and IL-17 are significantly correlated with the clinical activity of Graves' ophthalmopathy[J]. *Endocr J*, 2014, 61(11): 1087-1092. DOI:10.1507/endocrj.ej14-0246.
 - [36] Hu ZJ, He JF, Li KJ, et al. Decreased microRNA-146a in CD4⁺T cells promote ocular inflammation in thyroid-associated ophthalmopathy by targeting NUMB[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8): 1507-1514.



- 1803–1809.
- [37] Woeller CF, Roztocil E, Hammond C, et al. TSHR signaling stimulates proliferation through PI3K/Akt and induction of miR-146a and miR-155 in thyroid eye disease orbital fibroblasts[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(13): 4336–4345. DOI: 10.1167/iov.19-27865.
- [38] 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.
- [39] Ma X, Becker Buscaglia LE, Barker JR, et al. MicroRNAs in NF-kappaB signaling[J]. J Mol Cell Biol, 2011, 3(3): 159–166. DOI: 10.1093/jmcb/mjr007.
- [40] 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[2024-09-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22039452>. DOI: 10.1371/journal.pone.0026261.
- [41] Lu LF, Thai TH, Calado DP, et al. Foxp3-dependent microRNA155 confers competitive fitness to regulatory T cells by targeting SOCS1 protein[J]. Immunity, 2009, 30(1): 80–91. DOI: 10.1016/j.immuni.2008.11.010.
- [42] Eissa MG, Artlett CM. The microRNA miR-155 is essential in fibrosis[J]. Noncoding RNA, 2019, 5(1): 23. DOI: 10.3390/nrna5010023.
- [43] He W, Huang H, Xie Q, et al. MiR-155 knockout in fibroblasts improves cardiac remodeling by targeting tumor protein p53-inducible nuclear protein 1[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2016, 21(4): 423–435. DOI: 10.1177/1074248415616188.
- [44] Skårn M, Namløs HM, Noordhuis P, et al. Adipocyte differentiation of human bone marrow-derived stromal cells is modulated by microRNA-155, microRNA-221, and microRNA-222[J]. Stem Cells Dev, 2012, 21(6): 873–883. DOI: 10.1089/scd.2010.0503.
- [45] 孙吉君, 阮庆国, 史伟云. 微小 RNA-21 在眼科疾病发生和发展中的作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2022, 40(10): 986–991. DOI: 10.3760/ema.j.cn115989-20191007-00428.
- Sun JJ, Ruan QG, Shi WY. Role of microRNA-21 in the occurrence and development of ophthalmic diseases[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2022, 40(10): 986–991. DOI: 10.3760/ema.j.cn115989-20191007-00428.
- [46] Zhong X, Chung AC, Chen HY, et al. Smad3-mediated upregulation of miR-21 promotes renal fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(9): 1668–1681. DOI: 10.1681/ASN.2010111168.
- [47] Liu G, Friggeri A, Yang Y, et al. miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis[J]. J Exp Med, 2010, 207(8): 1589–1597. DOI: 10.1084/jem.20100035.
- [48] Adam O, Löffel B, Thum T, et al. Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis[J]. Basic Res Cardiol, 2012, 107(5): 278. DOI: 10.1007/s00395-012-0278-0.
- [49] 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.
- [50] Bonner JC. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(4): 255–273. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2004.03.006.
- [51] 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[2024-09-19]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22238384>. DOI: 10.1210/jc.2011-2697.
- [52] 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(2): 141–147. DOI: 10.1038/ni.1828.
- [53] 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/iov.15-18157.
- [54] Qin Q, Wang X, Yan N, et al. Aberrant expression of miRNA and mRNAs in lesioned tissues of Graves' disease[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(5): 1934–1942. DOI: 10.1159/000374002.
- [55] Martínez-Hernández R, Sampedro-Núñez M, Serrano-Somavilla A, et al. A microRNA signature for evaluation of risk and severity of autoimmune thyroid diseases[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(3): 1139–1150. DOI: 10.1210/jc.2017-02318.
- [56] Dai R, Zhang Y, Khan D, et al. Identification of a common lupus disease-associated microRNA expression pattern in three different murine models of lupus[J/OL]. PLoS One, 2010, 5(12): e14302[2024-09-19]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21170274>. DOI: 10.1371/journal.pone.0014302.
- [57] Virolle T, Adamson ED, Baron V, et al. The Egr-1 transcription factor directly activates PTEN during irradiation-induced signalling[J]. Nat Cell Biol, 2001, 3(12): 1124–1128. DOI: 10.1038/ncb1201-1124.
- [58] Newton RH, Turka LA. Regulation of T cell homeostasis and responses by pten[J]. Front Immunol, 2012, 3: 151. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00151.
- [59] Thiel J, Alter C, Luppuss S, et al. MicroRNA-183 and microRNA-96 are associated with autoimmune responses by regulating T cell activation[J]. J Autoimmun, 2019, 96: 94–103. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.08.010.
- [60] Aryal B, Singh AK, Rotllan N, et al. MicroRNAs and lipid metabolism[J]. Curr Opin Lipidol, 2017, 28(3): 273–280. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000420.
- [61] Kim SY, Kim AY, Lee HW, et al. miR-27a is a negative regulator of adipocyte differentiation via suppressing PPARgamma expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 392(3): 323–328. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.01.012.
- [62] Jang SY, Chae MK, Lee JH, et al. MicroRNA-27 inhibits adipogenic differentiation in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy[J/OL]. PLoS One, 2019, 14(8): e0221077[2024-09-19]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31415657>. DOI: 10.1371/journal.pone.0221077.
- [63] 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.
- [64] Park S, Park DY, Kim J, et al. Enhanced orbital adipogenesis in a mouse model of T-cell-mediated autoimmunity, zymosan A-treated SKG mice; implications for Graves' ophthalmopathy[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 7329. DOI: 10.1038/s41598-020-64402-9.

(收稿日期: 2024-10-19 修回日期: 2025-06-24)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

广告目次

瑞秀复(眼科用生物羊膜) 广州瑞泰生物科技有限公司……封二

沃丽汀(卵磷脂络合碘片) 广东泰恩康医药股份有限公司……封三

中华医学期刊全文数据库 《中华医学杂志》社有限责任公司……封底

中华医学杂志社
Chinese Medical Association Publishing House

版权所有 违者必究