

Progress in Studying Circular RNA and Rheumatoid Arthritis and Interstitial Lung Disease

Yuan Liu^{1,2} Huifang Song^{2*} Juntong Jia^{2,3} Maoye Xu²

1. Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010110, China

2. The People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot, Inner Mongolia, 010017, China

3. Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou Medical College Graduate School, Baotou, Inner Mongolia, 014040, China

Abstract

Rheumatoid arthritis (rheumatoid arthritis, RA) is a chronic, common idiopathic autoimmune disease. Among the complications of RA, interstitial lung disease (interstitial lung disease, ILD) is the most commonly involved extra-articular manifestation, which significantly reduces patient prognosis and quality of life, thus attracting widespread attention. Rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease (rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease, RA-ILD) has obvious clinical symptoms in the early stage, so the early diagnosis and treatment of RA-ILD is extremely important for the prognosis of patients. In recent years, studies have found that circular RNA (circRNA) participates in the development of many diseases, and some circRNA has been shown to participate in the pathogenesis of RA and ILD, which may become a new biomarker for the diagnosis and prognosis of RA and ILD. However, currently no study has confirmed whether circRNA is involved in the pathogenesis of RA-ILD. This paper summarizes the current research progress of circRNA in the pathogenesis of RA and ILD, and explores whether circRNA could bring new research directions in the early diagnosis and treatment of RA-ILD.

Keywords

rheumatoid arthritis; interstitial lung disease; circular RNA; pathogenesis; research progress

环状 RNA 与类风湿关节炎及间质性肺病的研究进展

刘源^{1,2} 宋慧芳^{2*} 贾钧婷^{2,3} 徐毛冶²

1. 内蒙古医科大学研究生院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010110

2. 内蒙古自治区人民医院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010017

3. 内蒙古科技大学包头医学院研究生院, 中国·内蒙古 包头 014040

摘要

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性、常见的特发性自身免疫性疾病。在RA的并发症中, 间质性肺病 (interstitial lung disease, ILD) 是最常受累关节外表现, 可显著降低患者的预后和生活质量, 因此引起广泛关注。类风湿关节炎相关间质性肺病 (rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease, RA-ILD) 早期出现时多无明显的临床症状, 因此RA-ILD的早期诊断及治疗对患者的预后极其重要。近年来研究发现, 环状RNA (circRNA) 参与多种疾病的发生发展过程, 部分circRNA被证明参与RA及ILD的发病过程, 可能成为RA及ILD诊断及预后的新的生物标志物, 但目前尚无研究证实circRNA是否参与RA-ILD的发病机制。论文总结了目前circRNA在RA及ILD发病机制中的研究进展, 探索circRNA是否能为RA-ILD的早期诊断及治疗带来新的研究方向。

关键词

类风湿性关节炎; 间质性肺病; 环状RNA; 发病机制; 研究进展

1 引言

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性、常见的特发性自身免疫性疾病。研究表明, 除累及关节外, 有 50% 的 RA 患者可累及其他脏器, 其中肺脏是受影响最多

且最严重的器官^[1]。肺部受累的主要表现为肺间质纤维化, 统称为间质性肺病 (interstitial lung disease, ILD), 约 30%~60% 的 RA 患者的 CT 显示存在一系列间质性肺病, 合并肺间质病变的患者预后和生活质量将显著降低^[2]。类风湿关节炎相关间质性肺病 (rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease, RA-ILD) 早期出现时多无明显的临床症状, 故若早期未及时发现, 很多 RA-ILD 被发现时已较为严重^[3]。目前, 各种报道显示 RA-ILD 已成为 RA 患者死亡的主要原因, 因此需要探索出更多能够早期诊断 RA-ILD 的检查方法。

随着近些年研究发现, 大量的非编码 RNA (noncoding

【作者简介】刘源 (1996-), 女, 中国河北张家口人, 在读硕士, 医师, 从事呼吸病学研究。

【通讯作者】宋慧芳 (1982-), 女, 蒙古族, 中国内蒙古呼和浩特人, 博士, 副主任医师, 从事间质性肺病、慢性咳嗽、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、胸膜间皮瘤等研究。

RNA, ncRNA)已被证实可在细胞中行使不同的功能,成为近些年的研究热点。由于高通量测序技术和各种生物信息学技术的发展,ncRNA中的circRNA被发现参与自身免疫性疾病的发生发展,并调控与RA及ILD发病相关的基因表达,甚至有望成为RA及ILD诊断及预后的新型生物标志物^[4]。但目前尚无研究证实circRNA是否参与RA-ILD的发病机制。论文总结了目前circRNA在RA及ILD发病机制中的研究进展,探索circRNA是否能为RA-ILD的早期诊断与治疗带来新的研究方向。

2 circRNA 概述

CircRNA是一种新的内源性非编码RNA,广泛分布于真菌、原核生物、鱼类、昆虫、哺乳动物等体内^[5]。CircRNA是通过一种称为反剪接的特殊剪接方式产生的,其中外显子的3'端通过3',5'磷酸二酯键连接到其自身或上游外显子的5'端,形成具有反剪接连接位点的特殊的共价环结构,使其结构稳定、保守表达,具有组织特异性^[6]。目前发现的circRNA根据其来源可以分为3类:外显子来源的circRNA(exonic circRNA);外显子及内含子共同组成的circRNA(exon-intron circRNA,ElciRNA);内含子来源的circRNA(circular intronic RNA,ciRNA)^[7]。目前circRNA已知的生物学功能包括miRNA“分子海绵”、与蛋白质相互作用、形成调控复合物、参与蛋白翻译及参与转录或转录后调控。

3 circRNA 与 RA

3.1 RA 的发病机制

RA是一种以滑膜组织炎症为特征的慢性自身免疫性疾病,伴有关节疼痛和肿胀,严重可导致关节不可逆性损伤,降低患者生活质量^[8]。目前RA的发病机制尚不明确,主要是细胞、炎症细胞因子和信号通路之间的相互作用。成骨细胞和破骨细胞失衡、滑膜细胞过度增殖以及免疫系统紊乱,激活免疫系统释放炎症细胞因子,如肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6、IL-8、IL-17,进而通过核转录因子(NF)- κ B信号通路、Toll样受体信号通路以及Wnt信号通路等引起滑膜的慢性炎症、凋亡、增殖,骨破坏等病理改变^[9]。

3.2 参与 RA 发病机制的 circRNA

近年来,越来越多研究证明RA患者中存在大量表达异常的circRNA,其中部分circRNA与RA的发生及发展有关,有望成为RA诊断和治疗新的分子生物标志物。

AFF2是一种可抑制急性髓性白血病细胞增殖的circRNA,并可作为多发性骨髓瘤诊断的潜在生物标志物。研究发现,circ-AFF2在RA外周血及RA-FLS细胞中均表达升高,并通过circ-AFF2/miR-375/TAB2轴促进RA-FLS细胞的细胞凋亡和炎症形成。

Circ-0000396位于12号染色体,在RA滑膜组织和滑膜成纤维细胞(RASF)中表达降低。RASF是影响滑膜向

健康滑膜转变的关键因素,可诱导关节炎的扩张和远端关节的破坏。RASF的增殖也会激活免疫反应,最终导致关节损伤。circ-0000396过表达可抑制炎症因子IL-6、IL-1 β 、IL-8和TNF- α 的分泌,从而抑制RASF引起的炎症反应。

Circ-0130438位于6号染色体,最新发现表明circ-0130438在RA组织和RA-FLS细胞中显著降低。Circ-0130438作为miR-130a-3p的竞争性内源性RNA(ccRNA),在TNF- α 诱导的MH7A细胞中增强KLF9的表达。Circ-0130438的过表达抑制了TNF- α 诱导的MH7A细胞的增殖和迁移,以及相关促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6和IL-8的产生,表明circ-0130438参与RA炎症反应的过程。

巨噬细胞是通过连接RA的先天免疫和适应性免疫促进全身性自身免疫性疾病和慢性关节炎的必需细胞。研究发现,Circ-09505是RA PBMC中表达量增加最显著的circRNA,circ-09505可以作为miR-6089的分子海绵,通过miR-6089/AKT1/NF- κ B轴促进炎症细胞因子TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-12和IL-1 β 的产生,从而加重巨噬细胞的炎症,表明circ-09505参与RA的炎症发生和关节破坏。

4 circRNA 与 ILD

4.1 ILD 的发病机制

ILD是一类以肺泡间隔增厚、成纤维细胞增生、胶原沉积为特征的异质性疾病。目前关于ILD发病机制的概念涉及遗传易感性和年龄相关因素的结合,以及引发肺泡上皮细胞损伤的触发因素,导致肺泡上皮细胞重复损伤、应激、凋亡,随后发生异常修复和细胞外基质累积,最终导致进行性纤维化并损伤肺功能。与发病机制有关的潜在风险因素包括接触烟草烟雾、胃内容物反流造成的损伤、病毒感染、职业/环境因素(金属、木材和二氧化硅粉尘)以及空气污染。

4.2 RA-ILD 的发病机制

本综述重在探讨circRNA与RA-ILD发病机制的相关性,故重点讨论RA-ILD的发病机制。RA-ILD的发病机制尚不明确,目前已知的抗瓜氨酸抗体(anti-citrullinated peptide antibody, ACPA)、基因突变、吸烟等因素已被报道参与RA-ILD的发病机制。

4.2.1 ACPA

瓜氨酸化通过表观遗传翻译后修饰将精氨酸转化为瓜氨酸的过程可以触发免疫反应,导致ACPA的产生。最近的研究发现瓜氨酸化不仅参与RA关节损伤的发展,而且在RA-ILD和IPF受试者的支气管肺泡灌洗液中也发现瓜氨酸化的表现。基于这些观察结果,提出了两种解释RA-ILD发病机制的可能途径。一种是从关节到肺脏途径,这一过程开始于RA患者的滑膜组织。发生在RA患者滑膜组织处的针对瓜氨酸化肽的免疫反应转移到肺部,在肺部组织发生免疫应答引起ILD发生,肺组织学表现为非特异性间质性肺炎(non-specific interstitial pneumonia, NSIP)模式。另一种是从肺脏到关节途径,这一过程开始于ILD患者的肺部组织。ILD继发了针对瓜氨酸肽的免疫应答,继而扩散至关节,诱

发 RA 相关自身免疫的发生,肺组织学表现为普通型间质性肺炎 (usual interstitial pneumonia, UIP) 模式。

4.2.2 MUC5B 突变

MUC5B 启动子多态性 (rs35705950) 被报道与家族性间质性肺炎和 IPF 相关。在 Juge 等人最近的一项研究中发现, MUC5B rs35705950 启动子变异是 IPF 发展的危险因素,也与 RA 患者中较高的 ILD 风险相关,尤其表现在 RA-ILD 影像学 UIP 模式。然而, MUC5B 启动子变异导致 RA-ILD 发生的确切机制尚不清楚,后续需要更多研究进一步明确。

4.2.3 其他因素

其他因素,如某些人白细胞抗原 (HLA) 等位基因、年龄、性别、吸烟和血清生物标志物等都与 RA-ILD 发病风险增加有关。目前的研究表明,几种 HLA 变异,包括 HLA-B54、HLA-DQB1*0601、HLA-B40 和 HLA-DR4,与 RA 患者 ILD 的发生有关。年龄 ≥ 60 岁或男性 RA 患者发生 ILD 的风险较高。吸烟可引发免疫反应,促进瓜氨酸化诱发炎症和上皮细胞损伤,最终导致 ILD。也有证据支持自身抗体、细胞因子和环境因素与 RA-ILD 发病机制之间的关系。一些研究表明, RA-ILD 患者 IL-33 和 IL-18 水平升高导致 RA 患者发生 ILD。Doyle 等研究发现,基质金属蛋白酶-7 (MMP-7)、肺及活化调节趋化因子 (PARC) 和表面活性蛋白-D (SP-D) 水平的升高与临床 RA-ILD 的存在密切相关。

4.3 参与 ILD 发病机制的 circRNA

由于目前尚未有 RA-ILD 差异表达 circRNA 的相关文献报道,因此我们总结了 ILD (搜索包括肺纤维化、IPF 及肺间质纤维化后出现的相关研究) 中差异表达并参与 RA-ILD 发病机制的 circRNA。

4.3.1 上皮-间充质转化

上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是指上皮细胞失去顶基极性和细胞黏附特性通过特定的过程向间质细胞转化的生物学过程。EMT 不仅促进伤口愈合,还参与病理生理的发生,如癌症和纤维化。研究发现, CircRNA-CDR1as 在 SiO₂ 诱导的 PF 模型的支气管上皮细胞中表达升高,其通过 circ-CDR1as/miR-7/TGF- β R2 轴对 SiO₂ 诱导的 PF 的 EMT 有调节作用。circ-CDR1as 作为 miRNA 分子海绵,抑制 miR-7 对 EMT 及其靶向 TGF- β R2 的抑制作用,从而促进 PF 的发生。

4.3.2 内皮-间充质转化

除了 EMT,内皮细胞也可能是导致肺纤维化中 ECM 失调的间充质细胞的起源。内皮-间充质转化 (Endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT) 是指内皮细胞获得成纤维细胞样表型,是一种通常由 TGF- β 配体家族启动的细胞进程。Fang 等报道了 circRNA HECTD1 在 SiO₂ 诱导的小鼠矽肺模型的 EndMT 中过表达。通过靶向 circHECTD1 的小干扰 RNA (siRNA) 恢复或通过 CRISPR/Cas9 系统可使 HECTD1 过表达,抑制 SiO₂ 诱导的 EndMT 过程。该研究发现 circHECTD1/HECTD1 通路参与了 EndMT,且可能与矽肺患者发生 PF 有关。

4.3.3 巨噬细胞活化

巨噬细胞在纤维化中发挥重要作用。巨噬细胞通过成纤维细胞活化、肌成纤维细胞分化和 ECM 重塑等途径促进纤维化。Yang 等人通过对小鼠硅肺模型和患者肺泡巨噬细胞原代培养以及 RAW264.7 巨噬细胞系的研究,发现 circRNA 通过 circ-ZC3H4/miR-212/ZC3H4 通路参与 SiO₂ 诱导的巨噬细胞活化并促进了纤维化的发生。该研究为应用靶 circRNA/miRNA/蛋白轴治疗硅肺提供了新的思路。

5 展望

RA-ILD 的发病机制目前仍不明确,综上所述,部分 circRNA 参与 RA 及 ILD 的发生发展,表明 circRNA 可能为 RA-ILD 的早期诊断及治疗带来新的研究方向。但 circRNA 的生物学功能十分复杂,现有研究仍无法完全解释其调控途径及靶点,今后仍需进行大量研究,探索 circRNA 是否能成为 RA-ILD 早期诊断和治疗的新型生物标志物。

参考文献

- [1] 周玮.类风湿性关节炎相关肺间质病变差异表达长链非编码RNA的鉴定分析[D].济南:山东大学,2020.
- [2] Gautam M, Masood MJ, Arooj S, Mahmud ME, Mukhtar MU. Rheumatoid arthritis related interstitial lung disease: patterns of high-resolution computed tomography[J]. Cureus 2020(12):e6875.
- [3] Joshua V, Hensvold AH, Reynisdottir G, et al. Association between number and type of different ACPA fine specificities with lung abnormalities in early, untreated rheumatoid arthritis[J]. RMD Open 2020(6):e001278.
- [4] Yurong Huang, Qiuyun Xue, Chenglong Cheng, Yuting Wang, Xiao Wang, Jun Chang, Chenggui Miao; Circular RNA in autoimmune diseases: special emphasis on regulation mechanism in RA and SLE[J]. The Journal of pharmacy and pharmacology 2023 Mar 12;75(3):370-384.
- [5] Westholm JO, Miura P, Olson S, Shenker S, Joseph B, Sanfilippo P, et al. Genome-wide analysis of drosophila circular RNAs reveals their structural and sequence properties and age-dependent neural accumulation[J]. Cell Rep.2014(9):1966-1980.
- [6] Yan Wang, Chunjie Wu, Yu Du, Zhongwei Li, Minle Li, Pingfu Hou, Zhigang Shen, Sufang Chu, Junnian Zheng, Jin Bai; Expanding uncapped translation and emerging function of circular RNA in carcinomas and noncarcinomas[J]. Molecular cancer 2022, 21(1):13.
- [7] Anqing Huang, Haoxiao Zheng, Zhiye Wu, Minsheng Chen, Yuli Huang; Circular RNA-protein interactions: functions, mechanisms, and identification[J]. Theranostics 2020,10(8):3503-3517.
- [8] Jia Liu, Shan Song, et al. The functions and networks of non-coding RNAs in the pathogenesis of Rheumatoid Arthritis[J]. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie 2023 Jul;163:114707.
- [9] 温志华.类风湿性关节炎发病机制的临床研究进展[J].临床医学,2022,42(7):123-125.