

环状 RNA 与矽肺纤维化的研究进展

秦汝男, 王欣

天津市疾病预防控制中心职业健康研究所, 天津 300011



DOI 10.11836/JEOM21407

摘要:

矽肺是一种慢性进行性肺部纤维化疾病,严重危害劳动者职业健康,目前尚无有效治疗措施,亟须寻找有效的治疗靶点,通过分子标志物来靶向干预矽肺纤维化进程。环状 RNA(circRNA)作为一类新型的非编码 RNA,具有结构稳定、半衰期长、高度保守性的特性,且在不同物种、组织、疾病和发育阶段特异性表达,作为生物标志物具有潜在价值和应用前景。近几年, circRNA 在人类疾病发生发展中的调控作用已成为研究热点,部分 circRNA 被发现与矽肺纤维化发病的机制有关。本文简述了 circRNA 的生物学特性与功能,重点讨论已报道的 circRNA 与矽肺纤维化发病机制间的关系,总结当前 circRNA 介导矽肺纤维化发病机制的研究进展,进而提出深入研究靶向 circRNA 诊治矽肺纤维化的方向和建议。

关键词: 环状 RNA; 矽肺; 肺纤维化

Research progress of circRNA in silicosis fibrosis QIN Runan, WANG Xin (Institute for Occupational health, Tianjin Centers for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China)

Abstract:

Silicosis is a chronic progressive pulmonary fibrosis disease that seriously endangers the occupational health of workers. There is no effective treatment at present. It is urgent to find effective therapeutic targets and use molecular markers to intervene the process of silicosis fibrosis. As a new type of non-coding RNA, circular RNA (circRNA) has the characteristics of stable structure, long half-life, high conservation, and is specifically expressed in different species, tissues, diseases, and developmental stages, and has potential value and application prospects as a biomarker. In recent years, the regulatory role of circRNA in the occurrence and development of human diseases has become a research hotspot. Some circRNAs have been found to associate with the pathogenesis of silicosis. This article briefly described the biological characteristics and functions of circRNA, focused on the reported relationship between circRNA and pathogenesis of silicosis, summarized the current research progress of circRNA-mediated pathogenesis of silicosis, and then put forward potential directions and suggestions for further research on targeting circRNA in the diagnosis and treatment of silicotic fibrosis.

Keywords: circular RNA; silicosis; pulmonary fibrosis

尘肺病作为我国最重要的职业病之一^[1],给高危职业人群造成了严重的健康损害和经济负担,其中以矽肺为主,占尘肺病病例数的 90%以上^[2]。矽肺是长期吸入游离二氧化硅粉尘所引起的一类肺部纤维化疾病^[3-4],危害严重且具有不可逆转性,近年来呈现发病低龄化、高死亡率、群发性等新特点,迫切需要寻找新的诊疗与预后分子标志物。

近年来,越来越多的研究发现环状 RNA(circular RNA, circRNA)在肺部疾病发展中具有一定的调控作用^[5], circRNA 与矽肺的相关研究近两年才开始出现,其介导的复杂基因表达调控网络研究尚处于起步阶段,这一新的研究方向或许可为矽肺的诊疗带来新的突破。本文就 circRNA 的生物学功能及其在矽肺纤维化中的调控作用取得的新进展做一综述,以期对矽肺的早期生物筛查和干预治疗带来新的方向。

基金项目

中国疾病预防控制中心化学污染与健康安全重点实验室开放基金(2021CDCKL01);天津市青年医学新锐人才项目(2018);天津市医学重点学科(专科)建设项目(2021)

作者简介

秦汝男(1993—),女,硕士,医师;
E-mail: l_qin219@163.com

通信作者

王欣, E-mail: h_angel@126.com

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-09-05

录用日期 2021-12-09

文章编号 2095-9982(2022)05-0570-04

中图分类号 R13

文献标志码 A

引用

秦汝男,王欣. 环状 RNA 与矽肺纤维化的研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(5): 570-573.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21407

Funding

This study was funded.

Correspondence to

WANG Xin, E-mail: h_angel@126.com

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-09-05

Accepted 2021-12-09

To cite

QIN Runan, WANG Xin. Research progress of circRNA in silicosis fibrosis[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(5): 570-573.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21407

1 circRNA 生物学特性与功能

1.1 circRNA 的生物学特性

circRNA 在真核生物中普遍存在^[6]。与线性 RNA 相比, circRNA 具有结构稳定、半衰期长、高度保守性和表达特异性等特点^[7], 使得 circRNA 成为了 RNA 领域的研究热点。

circRNA 主要由外显子和/或内含子组成, 分为外显子组成的 EcircRNA、内含子组成的 CiRNA、同时含有外显子和内含子的 ElciRNA^[8]。circRNA 独特的封闭环状结构可使其免受核酸外切酶(RNase R)的降解而具有结构稳定性, 这有可能导致 circRNA 的富集^[9]。circRNA 具有细胞外稳定性, 可以在血液非细胞组分中检测到, 这为临床检测提供了有利条件^[10]。研究发现, 在神经元分化、胎儿发育和突触发育等生理过程中, 也可检测到 circRNA 富集, 可能会在其中发挥一定作用^[11]。Xia 等^[12]首次对人和小鼠的组织特异性 circRNA 进行全面研究, 发现了组织特异性 circRNA 和组织发育间的关联性。在病理条件下, circRNA 也可以组织特异性的方式表达。此外, circRNA 还具有高丰度、高度保守性等生物学特性, 说明 circRNA 在病理生理过程中具有重要作用, 在疾病诊疗方面作为生物标志物具有潜在价值^[13]。

转录后修饰是多种病理过程的关键调控因子, 在已发现的 100 余种 RNA 修饰类型中, 最常见的是 N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)修饰, 研究发现 circRNA 也可发生 m6A 修饰, 参与促进 circRNA 核输出, 驱动 circRNA 翻译和促进 circRNA 降解等过程, 进而调控 circRNA 在疾病发生发展中的生物学功能^[14], circRNA 的 m6A 修饰在多种肿瘤发展中被证实具有一定的调控作用^[15]。但有关 circRNA 的 m6A 修饰在矽肺纤维化过程中的调控作用研究较少。

1.2 circRNA 的生物学功能

circRNA 独特且优良的生物学特性赋予了 circRNA 许多潜在功能, 有报道发现 circRNA 可以参与调节细胞增殖、分化和凋亡等过程, 介导心血管疾病、神经系统疾病、癌症等多种疾病的发生发展^[16]。

circRNA 最重要的功能之一就是充当微小 RNA (microRNA, miRNA, miR)“海绵”调节基因表达, 即 circRNA 靶向结合 miRNA 并抑制其活性, 进而激活相应 miRNA 的下游基因, 是可导致 miRNA 功能丧失的一种手段^[17]。2013 年, 首次证实了 circRNA 可能通过“海绵”作用调控 miRNA 靶点的表达, 随后陆续有研究报道 circRNA(例如: circASAP1、circBIRC6、circHIPK2、

circSry 等)的“海绵”作用^[18-20]。

circRNA 还可以与 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)结合, 充当 RBP 的“海绵”来发挥作用^[21]。常利用 RNA 免疫共沉淀结合高通量测序技术(RNA-immunoprecipitation and high-throughput sequencing, RIP-seq)检测与特定 RBP 相互作用的 RNA, 通过甘油密度梯度离心实验寻找 circRNA 与蛋白结合的证据。最先被发现具有 RBP“海绵”作用的 circRNA 是剪接因子盲肌蛋白(muscle blind, MBL)第二个外显子的 circRNA^[22]。Hansen 等^[23]表示, circRNA 还可能参与组装大蛋白复合物支架形成, 而不仅是与单个 RBP 结合。

有报道表示细胞核内的 circRNA(ElciRNAs、CiRNAs), 通过与亲本基因启动子区的 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, Pol II)相互作用来调节亲本基因转录^[5]。近年来, Van Heesch 等^[24]研究人心脏组织的翻译组学时识别出了数百种以前未检测到的由 lncRNA 和 circRNA 表达的微蛋白, 证实 circRNA 具有一定的翻译功能。

2 circRNA 与矽肺纤维化

在 PubMed 上搜索 circRNA 的相关报道, 自 2017 年以来, 关于 circRNA 对呼吸系统疾病调控作用的研究越来越多, 证实 circRNA 与肺癌、肺结核、肺动脉高压、肺纤维化等有关。研究表明, circRNA 在肺纤维化的发病机制中发挥着重要作用, 有关 circRNA 对矽肺纤维化调控作用的机制研究也逐渐深入, 识别出了几个与矽肺纤维化调控有关的差异表达的 circRNA, 并初步研究了各 circRNA 在矽肺纤维化进程中的调控作用, 为理解矽肺纤维化发病机制带来了新的思考。

2.1 circZC3H4

二氧化硅吸入通过刺激肺泡巨噬细胞引起炎症级联反应, 导致成纤维细胞增殖迁移而发生纤维化。据报道, 新型锌指蛋白 ZC3H4 可激活矽肺时肺巨噬细胞的炎症反应^[25], Yang^[26]首次对 circRNA 是否参与矽肺病理生理过程进行了研究, 结果显示 circZC3H4 通过其 miRNA 的“海绵”作用可抑制 miR-212 表达, 进而减弱 miR-212 对 ZC3H4 蛋白的抑制作用, 而暴露于二氧化硅后表达升高的 circZC3H4 和 ZC3H4 可能会对巨噬细胞活化及对成纤维细胞增殖和迁移的下游产生影响, 并且在矽肺患者中证实 ZC3H4 蛋白表达增加, circZC3H4 或许可作为矽肺治疗的潜在靶点。另外, 上皮间质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)与矽肺纤维化密切相关, Jiang 等^[25]对 ZC3H4(circZC3H4)RNA/miR-212 轴

调控表达的 ZC3H4 在 EMT 中的调节作用机制及迁移变化做了进一步研究,结果显示 circZC3H4 参与 ZC3H4 表达和 EMT 调节,ZC3H4 在二氧化硅诱导 EMT 中可能起到一定的调节作用,提示 circZC3H4/ZC3H4 途径可能为矽肺患者的治疗策略提供新的思路。

2.2 circHECTD1

Zhou 等^[27]对 circHECTD1 在巨噬细胞激活中的功能进行了研究,结果显示二氧化硅可降低 circHECTD1 水平,增加 E3 泛素连接酶 HECTD1 蛋白表达,通过 circHECTD1/HECTD1 途径促进成纤维细胞增殖和迁移,通过泛素化参与二氧化硅诱导的巨噬细胞活化,并且在矽肺患者组织样本中证实了 HECTD1 上调。单核细胞趋化蛋白诱导蛋白-1(又名 MCP1/Regnase-1),一个具有内切酶活性的 CCCH 型锌指蛋白,作为一种新的 RBP,在转录后调节和免疫稳态中起关键作用^[28],具有 CCCH 锌指结构域的蛋白质 12A(ZC3H12A)可调节二氧化硅暴露后 circHECTD1 水平的降低和 HECTD1 水平的提高,参与 circHECTD1/HECTD1 介导的巨噬细胞活化作用,推测 HECTD1 和 ZC3H12A 或许可成为矽肺炎症和纤维化的有效诊疗靶点。此外,基于上皮细胞和内皮细胞可分别通过 EMT 和内皮-间质转化参与成纤维细胞的积累,Fang 等^[29]通过实验研究发现二氧化硅暴露后,间充质标志物表达增加,内皮标志物表达降低,提示二氧化硅会诱导内皮-间质转化,且 circHECTD1/HECTD1 参与内皮-间质转化进程,从新的视角揭示了发生矽肺纤维化可能的病理分子机制,通过靶向 circHECTD1/HECTD1 调控抑制内皮-间质转化进程可能也是治疗矽肺纤维化的一个策略。

2.3 circ012091

据报道,二氧化硅活化的巨噬细胞可以通过 p53 介导的自噬途径促进成纤维细胞增殖和迁移^[30],随后 Cheng 等^[31]对 p53 相关蛋白 PPP1R13B(p53 家族凋亡刺激蛋白的主要成员)在肺纤维化中的作用进行了研究,通过慢病毒转染、Western blotting 和荧光原位杂交实验等发现二氧化硅诱导肺成纤维细胞 circ012091 的表达下调,诱导下游的 PPP1R13B 蛋白表达上调, circ012091 调控的 PPP1R13B 通过内质网应激和自噬作用促进肺成纤维细胞的增殖和迁移。circ012091/PPP1R13B 在促进矽肺纤维化发生发展中起着重要的作用,提示通过刺激 circ012091 表达上调以促进与其靶 miRNA 结合,进而下调 PPP1R13B 蛋白表达,可一定程度抑制肺纤维化,今后或许可进一步研究该调控机制。此外,可寻找更多与其他 p53 相关蛋白表达有关

的 circRNA。

2.4 circRNA CDR1as

有研究表示 miR-7 可参与调节 EMT 过程,并与肺泡上皮细胞的功能相关^[32],Yao 等^[4]发现过表达 miR-7 可以抑制转化生长因子- β 1 诱导的肺成纤维细胞的纤维化,此外,miR-7 可通过阻止 EMT 进程发挥其抗肺纤维化作用,且在二氧化硅诱导的小鼠肺纤维化肺组织中发现 miR-7 表达下降。该研究组识别出 circRNA CDR1as 上有一些 miR-7 结合位点,证实通过“海绵”作用, circRNA CDR1as 可阻抑 miR-7 对 EMT 及其靶基因 *TGFBR2* 的抑制作用,进而导致肺纤维化。circRNA CDR1as 和 miR-7 之间的相互作用在矽肺纤维化中发挥重要调节功能。

2.5 其他 circRNA

Li 等^[33]对 circRNA TADA2A 在肺成纤维细胞功能异常中的调控作用进行探讨,发现过表达 circRNA TADA2A 可以通过 miR-526b“海绵”作用,促进窖蛋白 Caveolin 1(Cav-1)表达,抑制肺成纤维细胞活化,通过 miR-203 的“海绵”作用,促进 Cav-2 表达,抑制肺成纤维细胞增殖,从而抑制细胞外基质的过度沉积,缓解肺纤维化进展。circHIPK3 是人类肺组织中最丰富的 circRNA 之一,Zhang 等^[34]在博莱霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中发现 circHIPK3 表达上调,同时在特发性肺纤维化患者临床样本中检测到了 circHIPK3 表达失调。此外, Li 等^[35]还在特发性纤维化患者血浆中鉴定出了 60 余个表达显著失调的 circRNA,其中显著上调的 hsa_circRNA_100906 和 hsa_circRNA_102348 被证实分别与 miR-324-5p 和 miR-630 直接相互作用。这些研究提示可将在特发性纤维化患者血浆中发现的表达失调的 circRNA 作为研究对象,研究其在矽肺纤维化进程中的作用机制。

3 结语及展望

circRNA 凭借着其独特的生物学功能特性和潜在的调控作用,已成为疾病机制研究的重点^[36]。当前关于 circRNA 对矽肺纤维化作用的研究尚处于起步阶段,今后应加大研究力度识别更多相关 circRNA,探讨其在矽肺纤维化进程中的调控机制,并在临床试验中探讨其治疗作用,为寻找有效的矽肺诊疗生物标志物和治疗靶点提供更多的可能性。

参考文献

- [1] ANLAR H G, BACANLI M, İRİTAŞ S, et al. Effects of occupational silica

- exposure on OXIDATIVE stress and immune system parameters in ceramic workers in TURKEY[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2017, 80(13/14/15): 688-696.
- [2] 国家卫健委发布2019年全国职业病报告[EB/OL]. [2021-09-01]. <http://news.zybw.com/xw/rdxw/15365.html>.
National Health Commission releases 2019 National Occupational Disease Report [EB/OL]. [2021-09-01]. <http://news.zybw.com/xw/rdxw/15365.html>.
- [3] MILLERICK-MAY M L, SCHRAUBEN S, REILLY M J, et al. Silicosis and chronic renal disease[J]. *Am J Ind Med*, 2015, 58(7): 730-736.
- [4] YAO W, LI Y, HAN L, et al. The CDR1as/miR-7/TGFBR2 axis modulates EMT in silica-induced pulmonary fibrosis[J]. *Toxicol Sci*, 2018, 166(2): 465-478.
- [5] WANG J, ZHU M, PAN J, et al. Circular RNAs: a rising star in respiratory diseases[J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 3.
- [6] BROADBENT K M, BROADBENT J C, RIBACKE U, et al. Strand-specific RNA sequencing in *Plasmodium falciparum* malaria identifies developmentally regulated long non-coding RNA and circular RNA[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 454.
- [7] SALZMAN J. Circular RNA expression: its potential regulation and function[J]. *Trends Genet*, 2016, 32(5): 309-316.
- [8] MA N, ZHANG W, WAN J. Research progress on circRNA in nervous system diseases[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2020, 17(8): 687-697.
- [9] BARRETT S P, SALZMAN J. Circular RNAs: analysis, expression and potential functions[J]. *Development*, 2016, 143(11): 1838-1847.
- [10] LI Y, ZHENG Q, BAO C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis[J]. *Cell Res*, 2015, 25(8): 981-984.
- [11] HAN B, CHAO J, YAO H. Circular RNA and its mechanisms in disease: from the bench to the clinic[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 187: 31-44.
- [12] XIA S, FENG J, LEI L, et al. Comprehensive characterization of tissue-specific circular RNAs in the human and mouse genomes[J]. *Brief Bioinform*, 2017, 18(6): 984-992.
- [13] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141-157.
- [14] 林红, 龙方懿, 王婷. 环状RNA的m6A修饰在肿瘤中的作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2022, 38(2): 150-158.
LIN H, LONG F Y, W T. The role of m6A modification of circular RNA in tumors[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2022, 38(2): 150-158.
- [15] ZHAO J, LEE E E, KIM J, et al. Transforming activity of an oncoprotein-encoding circular RNA from human papillomavirus[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2300.
- [16] 杨天静, 沈轶. 环状RNA在眼部增生性疾病中的研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2021, 21(6): 1029-1032.
YANG T J, SHEN Y. Research progress of circular RNAs in ocular proliferative diseases[J]. *Int Eye Sci*, 2021, 21(6): 1029-1032.
- [17] 钟琼慧, 林晋, 王小中. circRNA生物学特性及其与肺癌关系的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(40): 111-112.
ZHONG Q H, LIN J, WANG X Z. Research progress on the biological characteristics of circRNA and its relationship with lung cancer[J]. *Shandong Med J*, 2018, 58(40): 111-112.
- [18] HU Z Q, ZHOU S L, LI J, et al. Circular RNA sequencing identifies CircASAP1 as a key regulator in hepatocellular carcinoma metastasis[J]. *Hepatology*, 2020, 72(3): 906-922.
- [19] YANG G, WANG X, LIU B, et al. circ-BIRC6, a circular RNA, promotes hepatocellular carcinoma progression by targeting the miR-3918/Bcl2 axis[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(9): 976-989.
- [20] HUANG R, ZHANG Y, HAN B, et al. Circular RNA *HIPK2* regulates astrocyte activation via cooperation of autophagy and ER stress by targeting *MIR124-2 HG*[J]. *Autophagy*, 2017, 13(10): 1722-1741.
- [21] HUANG X Y, HUANG Z L, HUANG J, et al. Exosomal circRNA-100338 promotes hepatocellular carcinoma metastasis via enhancing invasiveness and angiogenesis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 20.
- [22] ASHWAL-FLUSS R, MEYER M, PAMUDURTI N R, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55-66.
- [23] HANSEN T B, VENØ M T, DAMGAARD C K, et al. Comparison of circular RNA prediction tools[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): e58.
- [24] VAN HEESCH S, WITTE F, SCHNEIDER-LUNITZ V, et al. The translational landscape of the human heart[J]. *Cell*, 2019, 178(1): 242-260.
- [25] JIANG R, ZHOU Z, LIAO Y, et al. The emerging roles of a novel CCCH-type zinc finger protein, ZC3H4, in silica-induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *Toxicol Lett*, 2019, 307: 26-40.
- [26] YANG X, WANG J, ZHOU Z, et al. Silica-induced initiation of circular ZC3H4 RNA/ZC3H4 pathway promotes the pulmonary macrophage activation[J]. *FASEB J*, 2018, 32(6): 3264-3277.
- [27] ZHOU Z, JIANG R, YANG X, et al. circRNA mediates silica-induced macrophage activation via HECTD1/ZC3H12 A-dependent ubiquitination[J]. *Theranostics*, 2018, 8(2): 575-592.
- [28] AHMED I S A, CHAMBERLAIN C, CRAVEN R J. S2R^{Pgrmc1}: the cytochrome-related sigma-2 receptor that regulates lipid and drug metabolism and hormonesignaling[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2012, 8(3): 361-370.
- [29] FANG S, GUO H, CHENG Y, et al. circHECTD1 promotes the silica-induced pulmonary endothelial-mesenchymal transition via HECTD1[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 396.
- [30] LIU H, FANG S, WANG W, et al. Macrophage-derived MCP1P1 mediates silica-induced pulmonary fibrosis via autophagy[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2016, 13(1): 55.
- [31] CHENG Y, LUO W, LI Z, et al. CircRNA-012091/PPP1R13B-mediated lung fibrotic response in silicosis via endoplasmic reticulum stress and autophagy[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 61(3): 380-391.
- [32] PANDIT K V, CORCORAN D, YOUSEF H, et al. Inhibition and role of let-7d in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(2): 220-229.
- [33] LI J, LI P, ZHANG G, et al. CircRNA TADA2A relieves idiopathic pulmonary fibrosis by inhibiting proliferation and activation of fibroblasts[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 553.
- [34] ZHANG J X, LU J, XIE H, et al. circHIPK3 regulates lung fibroblast-to-myofibroblast transition by functioning as a competing endogenous RNA[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 182.
- [35] LI R, WANG Y, SONG X, et al. Potential regulatory role of circular RNA in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(6): 3256-3268.
- [36] SHANG Q, YANG Z, JIA R, et al. The novel roles of circRNAs in human cancer[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 6.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)