

环状 RNA 参与调控糖尿病视网膜病变的研究进展

何润西¹, 徐铭超¹, 黎晓冬¹, 武海燕¹, 谢学军²

引用: 何润西, 徐铭超, 黎晓冬, 等. 环状 RNA 参与调控糖尿病视网膜病变的研究进展. 国际眼科杂志 2022;22(1): 49-52

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81473735)

作者单位:¹(610075) 中国四川省成都市, 成都中医药大学;
²(610072) 中国四川省成都市, 成都中医药大学附属医院眼科

作者简介: 何润西, 女, 在读博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 中西医防治眼底疾病的基础和临床研究。

通讯作者: 谢学军, 女, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 中西医结合防治眼底疾病的基础和临床研究. xxj8848@163.com

收稿日期: 2021-03-18 修回日期: 2021-11-30

摘要

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病在眼部的慢性微血管并发症之一, 导致糖尿病患者视觉质量下降甚至失明事件发生率不断提高。然而目前为止, 导致 DR 的病理改变机制十分复杂且未完全阐明, 临床治疗多根据 DR 不同分期采取对症治疗, 如视网膜激光光凝治疗、抗血管内皮因子治疗、玻璃体切割及剥膜手术等, 仍缺乏安全有效的治疗方法, 因此有必要寻找新的诊治靶标。随着分子生物学分析技术的发展, 环状 RNA (circular RNA, circRNA) 成为目前重要的研究热点之一。据报道在多种因素的刺激下, 基因的调节表达——circRNA 通过调节视网膜微血管周细胞、视网膜微血管内皮细胞、视网膜色素上皮细胞等功能, 参与到视网膜基底膜增厚、血管渗漏、细胞凋亡、炎症反应及新生血管增生等病理性过程来调控 DR 发生发展。故本文主要阐述环状 RNA、竞争性内源性 RNA 以及微小 RNA 在 DR 病理改变分子机制、治疗前景中的研究进展, 以期临床及基础研究提供一定的参考。

关键词: 环状 RNA; 基因调控; 糖尿病视网膜病变; 微小 RNA

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2022.1.09

Research progress of circular RNA involved in the regulation of diabetic retinopathy

Run - Xi He¹, Ming - Chao Xu¹, Xiao - Dong Li¹, Hai - Yan Wu¹, Xue - Jun Xie²

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81473735)

¹Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China; ²Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xue - Jun Xie. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. xxj8848@163.com

Received: 2021-03-18 Accepted: 2021-11-30

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the chronic microvascular complications of diabetes mellitus in the eye, leading to an increasing incidence of visual quality loss and even blindness in diabetic patients. However, so far, the mechanism of pathological changes leading to DR is very complex and not completely elucidated, and clinical treatment is mostly based on different stages of DR with symptomatic treatment, such as retinal laser photocoagulation, anti - vascular endothelial factor treatment, vitreous excision and membrane peeling surgery, etc. There is still a lack of safe and effective treatment methods, and it is therefore necessary to find new targets for diagnosis and treatment. With the development of molecular biology analysis technology, circular RNA (circRNA) has become one of the important research hotspots at present. It is reported that under the stimulation of various factors, the regulated expression of genes - circRNA regulates the development of DR by regulating the functions of retinal microvascular pericytes, retinal microvascular endothelial cells, and retinal pigment epithelial cells, which are involved in the pathological processes such as retinal basement membrane thickening, vascular leakage, apoptosis, inflammatory response and neovascularization. Therefore, this paper focuses on the research progress of cyclic RNA, competitive endogenous RNA and microRNA in the molecular mechanism of DR pathological alterations and therapeutic prospects, in order to provide some reference for clinical and basic research.

• KEYWORDS: circular RNA; gene regulation; diabetic retinopathy; microRNA

Citation: He RX, Xu MC, Li XD, et al. Research progress of circular RNA involved in the regulation of diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(1):49-52

0 引言

糖尿病性微血管病变是糖尿病常见慢性并发症之一, 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 属于糖尿病性微血管病变, 是一种影响视力甚至致盲的慢性进行性疾病^[1]。有研究显示, 在 DR 患者视网膜中有 529 个环状 RNA (circular RNA, circRNA) 差异性表达, circRNA 可能参

与DR的发病机制,是DR诊断的潜在生物标志物^[2],目前聚焦在circRNA调控DR的研究甚少。本文拟对circRNA的结构特点与生物学功能及其作为竞争性内源RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)与微小RNA(microRNA, miRNA)共同参与DR发生发展过程中的分子机制、调控作用及其治疗前景进行综述。

1 circRNA 概述

circRNA是一种新型RNA分子、一种特殊的非编码内源性RNA(non coding endogenous RNA, neRNA),其广泛存在于真核生物中,并在不同物种间均有发现^[3]。由于circRNA具有共价封闭的环状结构,因而具有稳定性、且功能复杂,在组织或疾病中具有特异性表达,与多种疾病的发生发展相关。根据circRNA在基因组位置的不同,circRNA可分为一个外显子、多个外显子、内含子、外显子-内含子、基因间和反义circRNA等几种类型^[4]。

circRNA的生物学功能^[5]主要有:(1)因含有miRNA响应元件(miRNA response element, MRE),可作为ceRNA结合miRNA,抑制miRNA与细胞质中信使RNA(messenger RNA, mRNA)结合,从而调控基因表达;(2)调控基因转录;(3)蛋白质吸附;(4)其他:选择性剪切作用,蛋白质翻译等。

2 circRNA 与 DR

2.1 circRNA 在 DR 中的调控作用

血-视网膜屏障(blood-retina barrier, BRB)由内屏障和外屏障组成。视网膜毛细血管内皮及其连接形成血-视网膜内屏障,视网膜毛细血管分布在视网膜内6层,属连续型毛细血管,由内皮细胞、周细胞和基膜构成,周细胞^[6]是沿毛细血管壁和毛细血管后小静脉间隔存在的细胞,位于内皮细胞外侧。周细胞和内皮细胞间相互作用对维持血管稳态至关重要。而视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)位于视网膜外层,形成BRB,RPE细胞除了有选择性通透性外,也能够主动运输。DR的主要病理改变为视网膜微血管基底膜增厚、内皮细胞及周细胞等发生炎症反应甚至凋亡、RPE细胞功能损伤或丢失、微血管通透性增加、病理性新生血管增生等,与内外屏障功能被破坏均有关系。

研究发现,circPWWP2A与DR具有明显相关性,是周细胞内特异性的circRNA分子,糖尿病导致其在周细胞内表达应激性地升高,而在内皮细胞中表达无显著差异^[7]。Liu等^[8]研究显示,circPWWP2A可通过外泌体从周细胞转移到内皮细胞,circPWWP2A摄取异常可导致周细胞-内皮细胞间相互作用异常及视网膜血管功能障碍,提示circPWWP2A可能是DR发病机制的重要调节因子之一。同样也有研究显示,circZNF532在高血糖应激下的周细胞、糖尿病小鼠模型的视网膜血管和糖尿病患者的玻璃体中的表达上调^[9]。circZNF532可维持周细胞功能、促进周细胞的增殖、维持微血管稳态,保护其免受高糖刺激,并延缓视网膜血管功能障碍的进展。Zhou等^[10]研究circ-ITCH在糖尿病RPE细胞中的生物学效应并探讨其潜在作用机制,发现在糖尿病大鼠RPE细胞中circ-ITCH的表达显著低于正常大鼠。糖尿病诱导RPE细胞中与炎症、BRB破坏、新生血管形成相关的因子基质金属蛋白酶-2(Matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)和肿瘤坏死

因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)增加,但体外实验证实过表达circ-ITCH对这些因子产生抑制作用。

2.2 circRNA 与 miRNA 在调控 DR 中的相互作用

circRNA最突出的功能是其作为miRNA海绵通过抑制miRNA活性来调节靶基因表达^[11];circRNA是一种竞争性内源RNA(ceRNA),含有多个MREs,可以与多个miRNA结合;circRNAs竞争性结合(海绵样吸附)miRNA,则可影响miRNA的活性;解除miRNA对其靶基因的抑制作用,从而促进靶基因的表达。circRNA可以拥有多个miRNA的MREs,也可以拥有单个miRNA的多个结合位点。

大多数circRNA存在于细胞质中,在细胞核中可以检测到部分circRNA的存在,这些circRNA可与宿主基因启动子区的RNA聚合酶II反应,调控基因的转录^[12]。并且,circRNA不仅具有miRNA的结合元件,而且还具有蛋白质的结合位点^[13],当circRNA与靶蛋白结合时,也会对此类蛋白加以调控。

miRNA与视网膜微血管病变的关系是目前研究的热点之一。He等^[14]通过RNA测序和生物信息学分析比较了增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)与非糖尿病患者玻璃体中circRNA表达谱的转录水平,结果显示:与对照组相比,PDR组共检测到122个上调的circRNA和9个下调的circRNA,818个上调的miRNA和864个下调的miRNA;进一步对circRNA和miRNA相互作用分析显示,每个circRNA都可以与至少5个miRNA相互作用,其中部分miRNA在DR组中发生下调,其对DR的发生和发展至关重要。

circRNA与miRNA在生物体内的调控平衡一旦被打破,会导致细胞功能紊乱和疾病的发生。circRNA作为竞争性内源RNA在视网膜微血管病变中的主要机制如下。

2.2.1 circRNA 参与调节视网膜周细胞功能

近期研究发现circPWWP2A与视网膜微血管病变具有明显相关性^[7];在体内、外高糖环境下,circPWWP2A的表达水平均显著上调,circPWWP2A通过海绵样吸附miR-579以发挥ceRNA的作用,导致下游靶基因Angiopoietin 1/Occludin/SIRT 1表达的增加,进而参与调控DR周细胞功能及周细胞与内皮细胞间的相互作用。该研究表明,可以通过外源性干预来增加cPWWP2A/抑制miR-579表达,从而达到改善糖尿病性微血管病变对组织的损伤。Jiang等^[9]研究发现circZNF532通过充当miR-29a-3p海绵并诱导神经元胶原抗原(neuron-glia antigen2, NG2)、赖氨酰氧化酶样蛋白2(lysyl oxidase-like 2, LOXL2)和细胞周期蛋白依赖性激酶2(cyclin dependent kinase 2, CDK2)的表达增加来调节视网膜周细胞生物学,改善周细胞变性和血管功能障碍。因此,利用circZNF532诱导或miR-29a-3p拮抗的方法可以治疗DR。

2.2.2 circRNA 参与调节视网膜内皮细胞功能

Zou等^[15]研究表明,通过对沉默circCOL1A2、减少其对miR-29b的海绵样吸附,从而增强miR-29b表达来抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,来抑制高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞(human retinal microvascular endothelial cells, hRMECs)的增殖、迁移、血管通透性增加和新生血管生成,该研究提示靶向调

控 circCOL1A2 可能成为 DR 的治疗手段之一。

Zhu 等^[16] 研究发现糖尿病条件下 miR-20b-5p 上调可促进 hRMECs 的增殖、迁移和管状形成, circDNMI3B 作为 miR-20b-5p 的海绵被下调。过表达 circDNMI3B 可减少糖尿病大鼠视网膜无细胞毛细血管数量, 减轻视觉损伤。该研究揭示了 circDNMI3B 和 miR-20b-5p 在 DR 患者增生性纤维血管膜中的表达变化, 为 DR 提供了一种潜在的治疗策略。

Liu 等^[17] 首次阐明了 circ_0002570 在 DR 发病机制中的分子机制, 在 DR 患者和高糖诱导的 hRMECs 中, miR-1243、circ_0002570 和血管生成素均异常表达。circ_0002570 可通过竞争性结合 miR-1243 抑制其表达从而上调血管生成素, 介导了高糖诱导的 hRMECs 功能障碍。因此可通过调节 circ_0002570-miR-1243-血管生成素轴来治疗 DR。

Zeng 等^[18] 研究表明 circ_0001879 与 miRNA-30-3p 竞争性结合, 抑制其活性, 从而导致视网膜内皮细胞增殖和血管功能障碍。因此可以通过沉默 circ-0001879 靶向 miR-30-3p 来调节 hRMECs 的功能, 抑制高糖条件下 hRMECs 的增殖和迁移, circ-0001879 可能成为 DR 的一种潜在标志物和分子治疗靶点。

2.2.3 circRNA 参与调节视网膜色素上皮细胞功能 Sun 等^[19] 研究发现 hsa_circ_0041795 在高糖诱导的人视网膜色素上皮细胞-19 (adult retinal pigment epithelial cell-19, ARPE-19) 中表达明显上调, 而 miR-646 表达下调; 并发现下调 hsa_circ_0041795 显著抑制了 ARPE-19 细胞中炎症因子, 如 TNF- α 、白细胞介素-1 β (interleukin 1 β , IL-1 β) 和白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6) 的表达。其机制可能是下调 hsa_circ_0041795, 海绵样吸附 miR-646 能力减弱, miR646 的表达显著增加, 促进 ARPE-19 细胞增殖提高屏障功能、改善炎症和细胞凋亡, 因而在 DR 的治疗中显示出新的潜力。

细胞凋亡、炎症和氧化应激是 DR 进展的标志, Li 等^[20] 发现 circRNA_0084043 通过海绵样吸附 miR-140-3p 和诱导 RPE 细胞中转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α) 基因表达来促进 DR 的发展。miR-140-3p 是 circRNA_0084043 的下游靶标, 它可以被 circRNA_0084043 负调控; circRNA_0084043 的缺失显著增加了 ARPE-19 细胞存活率并抑制了高糖诱导的 ARPE-19 细胞损伤及凋亡, 并降低了炎症反应和氧化应激的各项指标。这项研究可能为临床治疗 DR 在血-视网膜外屏障方面提供了新的线索。

总之, circRNA 可以作为关键的竞争性内源 RNA 发挥作用, 它可以海绵样吸附相应的 miRNA 并影响包括 DR 在内的多种疾病的病理发展变化过程。已有研究证实 circRNA 在 DR 中发挥重要作用, 但目前的研究仍显不足, 上述 circRNA 作用机制尚未确切阐明, 还有大量 circRNA 的功能在视网膜微血管病变中未被验证; 但是 circRNA 与 miRNA 在调控 DR 发生发展中的相互作用机制已出现新的端倪。

3 结论与展望

根据国际糖尿病联合会 (international diabetes federation, IDF) 的报告^[21], 2019 年全球有 4.63 亿人患有

糖尿病, 预计到 2040 年这一数字将上升到 6.45 亿。糖尿病及相关并发症的控制必将成为医学界研究的热点。

虽然已发现多种 circRNA 对 DR 病理过程具有调控作用, 但其在多个研究方向尚处于空白, 如 circRNA 对 DR 调控的确切作用靶点、同一 circRNA 在不同条件下其作用不同的原因, 以及在人体不同组织中的作用有何异同等。但有理由相信, 随着科技的发展, circRNA 将成为人类认识疾病的一个创新靶点, circRNA 在人类疾病中的意义将被越来越多的研究诠释。circRNA 作为一种新型的内源性非编码 RNA, 可能在各种眼病^[22-25] 的病变进展中发挥重要作用, 包括翼状胬肉、白内障、青光眼、DR、视网膜母细胞瘤、年龄相关性黄斑变性和同型半胱氨酸血症引起的眼病。Guo 等^[26] 总结多项研究发现 circRNA 在不同眼病中表现出不同的作用和表达模式, 在体内的失调似乎与许多生物学过程有关, 如生存能力、增殖和细胞凋亡等。但是目前用于识别和验证 circRNA 的技术在很大程度上仍处于实验阶段, 方法仍有待标准化。因此, circRNA 靶向干预虽然可能是一种有前途的治疗糖尿病相关性眼病 (包括视网膜微血管病变) 的方法, 但是还需要进一步的深入研究, 期待未来有更多的研究证实 circRNA 在眼病诊治中的作用, 以实现 circRNA 成为眼病诊断和预后评估新的生物标志物、治疗靶标。

参考文献

- 1 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南 (2014 年). 中华眼科杂志 2014;50(11):851-865
- 2 Zhang SJ, Chen X, Li CP, et al. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in diabetes retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(14):6500-6509
- 3 He M, Zhou R, Liu S, et al. Circular RNAs: potential star molecules involved in diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2021;46(3):277-283
- 4 徐莹, 田江天, 田进伟, 等. 环状 RNA 在心血管疾病中的研究现状. *中国动脉硬化杂志* 2020;28(5):456-460
- 5 李琦, 田江天, 田进伟, 等. 环状 RNA 的功能以及调控动脉粥样硬化发生发展的研究进展. *中国病理生理杂志* 2019;35(11):2103-2107,2112
- 6 Attwell D, Mishra A, Hall CN, et al. What is a pericyte? *J Cereb Blood Flow Metab* 2016;36(2):451-455
- 7 葛慧敏. 环状 RNA-PWWP2A 介导的周细胞-内皮细胞 Crosstalk 在糖尿病性视网膜微血管病变中的作用及其机制研究. 南京医科大学 2019
- 8 Liu C, Ge HM, Liu BH, et al. Targeting pericyte-endothelial cell crosstalk by circular RNA-cPWPP2A inhibition aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction. *PNAS* 2019;116(15):7455-7464
- 9 Jiang Q, Liu C, Li CP, et al. Circular RNA-ZNF532 regulates diabetes-induced retinal pericyte degeneration and vascular dysfunction. *J Clin Invest* 2020;130(7):3833-3847
- 10 Zhou L, Li FF, Wang SM. Circ-ITCH restrains the expression of MMP-2, MMP-9 and TNF- α in diabetic retinopathy by inhibiting miR-22. *Exp Mol Pathol* 2021;118:104594
- 11 Yu CY, Kuo HC. The emerging roles and functions of circular RNAs and their generation. *J Biomed Sci* 2019;26(1):29
- 12 Braicu C, Zimta AA, Gulei D, et al. Comprehensive analysis of circular RNAs in pathological states; biogenesis, cellular regulation, and therapeutic relevance. *Cell Mol Life Sci* 2019;76(8):1559-1577
- 13 Hentze MW, Castello A, Schwarzl T, et al. A brave new world of RNA-binding proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018;19(5):327-341

14 He M, Wang W, Yu HH, *et al.* Comparison of expression profiling of circular RNAs in vitreous humour between diabetic retinopathy and non-diabetic mellitus patients. *Acta Diabetol* 2020;57(4):479-489

15 Zou J, Liu KC, Wang WP, *et al.* Circular RNA COL1A2 promotes angiogenesis via regulating miR-29b/VEGF axis in diabetic retinopathy. *Life Sci* 2020;256:117888

16 Zhu K, HuX, Chen H, *et al.* Downregulation of circRNA DMNT3B contributes to diabetic retinal vascular dysfunction through targeting miR-20b-5p and BAMBI. *E Bio Medicine* 2019;49:341-353

17 Liu G, Zhou S, Li X, *et al.* Inhibition of hsa_circ_0002570 suppresses high-glucose-induced angiogenesis and inflammation in retinal microvascular endothelial cells through miR-1243/angiomin axis. *Cell Stress Chaperones* 2020;25(5):767-777

18 Zeng Q, Liu J. Silencing circ_0001879 inhibits the proliferation and migration of human retinal microvascular endothelial cells under high-glucose conditions via modulating miR-30-3p. *Gene* 2020;760:144992

19 Sun H, Kang X. hsa_circ_0041795 contributes to human retinal pigment epithelial cells (ARPE 19) injury induced by high glucose via sponging miR-646 and activating VEGFC. *Gene* 2020;747:144654

20 Li Y, Cheng T, Wan C, *et al.* circRNA_0084043 contributes to the

progression of diabetic retinopathy via sponging miR-140-3p and inducing TGFA gene expression in retinal pigment epithelial cells. *Gene* 2020;747:144653

21 穆金铭,刘悦,张方方,等.环状RNA与2型糖尿病关系及其临床应用.中国药科大学学报 2020;51(3):374-378

22 Wang JJ, Liu C, Shan K, *et al.* Circular RNA-ZNF609 regulates retinal neurodegeneration by acting as miR-615 sponge. *Theranostics* 2018;8(12):3408-3415

23 Moazzeni H, Khani M, Elahi E. Insights into the regulatory molecules involved in glaucoma pathogenesis. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2020;184(3):782-827

24 Wang H, Li M, Cui H, *et al.* CircDHDDS/miR-361-3p/WNT3A axis promotes the development of retinoblastoma by regulating proliferation, cell cycle, migration, and invasion of retinoblastoma cells. *Neurochem Res* 2020;45(11):2691-2702

25 Chen X, Jiang C, Sun RX, *et al.* Circular noncoding RNA NR3C1 Acts as a miR-382-5p sponge to protect RPE functions via regulating PTEN/AKT/mTOR signaling pathway. *Mol Ther* 2020;28(3):929-945

26 Guo N, Liu XF, Pant OP, *et al.* Circular RNAs: novel promising biomarkers in ocular diseases. *Int J Med Sci* 2019;16(4):513-518