

自身免疫性疾病中 miRNAs 对免疫耐受的调节作用

林 志 高锡强 霍桂桃 张 颀 杨艳伟 吕建军 李 波 屈 哲

摘 要 自身免疫性疾病的发生、发展与正常的免疫耐受受损密切相关。miRNAs 作为一类细胞生命活动中重要的潜在负调节子,参与调节了多种免疫过程,也包括对中枢免疫耐受和周围免疫耐受的调控。研究证实,自身免疫性疾病中 miRNAs 通过多条信号通路,尤其是 PI_3K 信号通路调节免疫细胞的发育和功能,其调控异常是多种自身免疫性疾病的重要发病机制。本文阐述了 miRNAs 对中枢免疫耐受、周围免疫耐受以及调节性 T 细胞(Treg)的调控作用,这为将来自身免疫性疾病的诊断及治疗提供潜在的分子标志物以及新的治疗靶点。

关键词 自身免疫性疾病 microRNA 免疫耐受 调节性 T 细胞

中图分类号 R593 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.09.005

淋巴细胞发育或成熟过程中的调节异常会导致自身免疫性疾病的发生。在中枢免疫耐受中,胸腺细胞发育成熟的重要调节点是依赖于 T 细胞受体和 B 细胞受体的信号通路。在周围免疫耐受中,自身反应性 B 细胞和 T 细胞的清除则依赖于恰当的信号通路、细胞凋亡和存活因子、转录因子以及效应细胞分化的表观调控等。此外,Treg 细胞的稳态平衡对于限制成熟 B 细胞以及效应 T 细胞的激活至关重要^[1,2]。所有这些耐受机制中最重要的是蛋白级联表达中细微的扰动,而多种表观遗传学机制参与了这种定量控制,包括微小 RNA(miRNAs)的调控^[3]。

miRNAs 是一类内源性的约 21~23 个核苷酸的非编码小分子单链 RNA 分子,它们参与了转录后的基因调控。miRNAs 通过与靶 mRNA 的 3'端非翻译区、编码区或 5'端非翻译区结合,抑制 mRNA 的翻译或引发其降解,从而阻遏基因转录后的翻译过程。已证实 miRNAs 占人类整个基因组的 3%,但是却参与人类基因组中 30% 以上蛋白编码基因的转录,因此被认为是细胞生命活动中重要的负性调控因子。

免疫系统中 miRNAs 的变化非常明显,它们调控了淋巴细胞的发育和成熟。miRNAs 的失调会导致多种自身免疫性疾病的发生和发展。研究证实,在人类众多的自身免疫性疾病,包括红斑狼疮、类风湿关节炎和多发性硬化症中多种 miRNAs 出现明显的改

变。因此,本文主要探讨了 miRNAs 调节淋巴细胞的发育、成熟,其异常导致的免疫耐受失衡,阐明在自身免疫性疾病中 miRNAs 的异常造成对淋巴细胞逃脱免疫耐受的分子机制,为自身免疫性疾病的诊断及治疗提供潜在的分子标志物以及新的治疗靶点。

一、miRNAs 对中枢免疫耐受的调控

miRNAs 是淋巴细胞发育、成熟关键节点的重要调控因子,它们确保中枢免疫系统中淋巴细胞进行正确地重组抗原受体基因,通过 TCR 或 BCR 信号通路选择促使强自身反应细胞发生凋亡。因此,miRNAs 的异常会导致 TCR 或 BCR 信号通路的失调,从而增加自身反应性淋巴细胞的产生,促使自身免疫性疾病的发生。

研究表明,miRNAs 的生物合成途径是早期 B 细胞发育的关键,Dicer 的消失几乎导致祖 B 细胞到前 B 细胞转变的完全阻滞。祖 B 细胞重要功能就是 BCR 基因 V(D)J 重组,形成功能性的抗原受体。尽管 Dicer 不能改变 V(D)J 区重组的基本机制,但是它的确改变了所产生的 BCR 序列,这表明 miRNAs 在调节潜在自身反应性 B 细胞的存活中起着重要的作用。此外,miRNAs17~92 簇也证实在 B 细胞发育中也起着重要的作用。miRNAs17~92 簇是由 6 个 miRNAs 组成,属于 4 个 miRNAs 家族,即 miR-17、miR-18、miR-19、miR-92。BIM 是通过 PI_3K 信号通路诱导,并且直接受 miRNAs17~92 簇靶向调控。一种潜在的 PI_3K 通路的负性调节因子肿瘤抑制因子 PTEN 也是受 miRNAs17~92 簇靶向调控。当 miRNAs17~92 簇从发育中 B 细胞内敲除后,PTEN 和 BIM 表达升高并出现细胞凋亡,导致 B 细胞缺乏。

基金项目:国家科技重大专项基金资助项目(2015ZX09501007);
国家重大新药创制基金资助项目(2015ZX09501004-002)

作者单位:100176 北京,中国食品药品检定研究院国家药物安全
评价监测中心、药物非临床安全性评价研究北京市重点实验室

通讯作者:屈哲,电子信箱:quzhe@nifdc.org.cn

相反,miRNAs17~92簇过表达时,将诱导T细胞或B细胞存活率增高,从而促进淋巴组织增生以及自身免疫性疾病的发生^[4]。

在胸腺T细胞发育的早期阶段,通过新形成的TCR信号为T细胞的发育、成熟提供重要的生存信号,而自身反应性抗原显示强TCR信号则会诱导凋亡。因此,miRNAs通过调节TCR信号的强弱,促使自身反应性T细胞逃脱清除机制。其中,miRNAs181通过靶向作用于多个蛋白的磷酸化而改变TCR信号的强度,包括PTPN22、SHP-2、DUSP5、DUSP6和PTEN^[5]。在胸腺T细胞发育的早期,双阴性胸腺细胞高表达miRNAs181,促使其对前TCR和TCR信号具有高敏感性。当胸腺细胞成熟进入双阳T细胞和单阳性T细胞后,miRNAs181的表达下降,在胸腺细胞的阴性和阳性选择中降低其与TCR结合的敏感度^[6]。miRNAs181的异常会导致正常的自身反应性T细胞逃脱TCR信号介导的凋亡。研究证实,急性期和慢性期多发性硬化以及自身免疫性脑脊髓炎患者脑白质中miRNA181a和miRNA181b表达水平显著性降低^[7]。因此,miRNAs181可能是调节T细胞介导的自身免疫性疾病的发生和发展的关键。

二、miRNAs对周围免疫耐受的调控

外周免疫耐受机制可以严格限制B细胞产生自身抗体以及自身反应性T细胞造成的组织炎症和损伤,而这些机制是受到miRNAs的调控。异常的miRNAs可以导致外周淋巴细胞的激活、存活、增生、分化以及具有效应功能,从而诱导自身免疫性疾病的发生。

未成熟B细胞离开骨髓进入外周后完成自身的发育和选择。耐受缺失以及受体编辑可以消除BCR与外周自身抗原的强烈反应。中度的BCR信号促进边缘区或过渡性B细胞的产生,而弱BCR信号促进滤泡B细胞的产生。相对于边缘区和过渡性B细胞,滤泡B细胞中miRNA182和其他几个miRNAs非常丰富。miRNA185的过度表达可以降低其靶点BCR下游转导信号激酶BTK的表达^[8]。此外,外周B细胞中Dicer的消融也会改变BCR的特征。雌性小鼠成熟B细胞中缺失Dicer会诱发自身抗体的产生以及肾脏免疫复合物的沉积^[9]。

近年来的白血病研究表明与自身免疫性疾病相关的BCR下游PI₃K信号受到miRNAs的调控^[10]。miRNA150的表达与慢性淋巴细胞白血病(CLL)的严重程度呈负相关。miRNA150调控靶点是Gab1基因,该基因依赖于BCR刺激可以促使PI₃K转移至胞

膜^[11]。miRNA34a调控靶点是Foxp1基因,它是PI₃K信号的负反馈调节子,抑制B细胞的发育。PTEN被证实是多种miRNAs作用的靶点,在不同类型的免疫细胞具有不同的效应。与CLL进展相关的成熟B细胞的亚型细胞中miRNA22表达增加,它作用于PTEN靶点,导致PI₃K活性增加并增殖^[12]。研究发现,系统性红斑狼疮患者B细胞中miR22、miR7和miR21的增高可诱导PTEN表达降低,而miR146a和miR155则干扰了Toll样受体7和9下游的细胞内信号转导通路,导致细胞亚群分化异常、B细胞活化以及自身抗体的产生^[13]。

当脾脏和淋巴结中B细胞成熟成为抗体分泌细胞时,T细胞也会分化成为不同的效应细胞,如CD4⁺T辅助细胞(Th1、Th2、Th17)和细胞毒性CD8⁺T细胞。miRNAs参与这些细胞的分化成熟。目前的研究热点集中在Th17细胞,该类细胞被认为参与了多发性硬化以及其他自身免疫性疾病的发生、发展^[14,15]。小鼠缺乏miR155的T细胞不会诱导发生严重的实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE),并且IL-17A显著性地减低,而miRNA-30a则可通过降低IRF4的表达,抑制Th17分化^[16]。miR155缺陷小鼠可以抵制胶原性关节炎的发生,并且通过STAT3信号通路损害Th17细胞的分化。更多的研究证实,miR155诱导Th17细胞分化的确是通过靶向作用于Jarid2基因^[17]。不同于miR155是促进Th17的分化,miR210是限制Th17分泌IL-17,从而参与小鼠炎性肠病模型中的自身免疫性疾病发生机制。老年小鼠中miR210抑制了自身抗体的产生。过表达的miR210可以降低类别转化重组以及调节缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的表达,因此认为其可以限制T细胞和B细胞的自身免疫反应性应答^[18]。

miR17~92簇也通过靶基因Pten和Ikzf4参与了Th17细胞分化 and 功能^[19]。敲除miR17~92簇可抑制Th17细胞的分化,并减少EAE的发病。但是,miR17家族成员miR-20b可以通过靶基因Rorc和Stat3抑制Th17培养细胞分泌IL-17^[20]。T细胞中过表达miR17~92可诱导抗双链DNA自身抗体的产生、多个器官的炎症、脾脏和淋巴结的肿大。这可能与miR17~92促进滤泡中Th细胞(Tfh)分化相关,部分是通过基因Pten和PKB磷酸酶Phlpp2靶向作用^[21]。

三、miRNAs对Treg细胞的调控

miRNAs通过调控Treg细胞的稳态及功能在维持外周免疫耐受中发挥重要作用。FOXP3是Treg细

胞的标志性分子, Foxp3 基因突变能引起严重的自身免疫性疾病。小鼠 FOXP3 表达的细胞中 Dicer 或 Drosha 遗传性消融会诱导致死性系统自身免疫性疾病。研究表明这些小鼠中 Treg 细胞在胸腺可以发育,但是具有 miRNAs 缺陷的 Treg 细胞维持稳态的能力明显降低,不能充分发挥其抑制功能。

Treg 细胞中 miR155 高表达呈 FOXP3 依赖的方式, miR155 的缺失会损害 Treg 细胞的发育和动态平衡。缺失 miR155 的 Treg 细胞中其相应靶基因细胞因子信号 1 抑制因子(suppressor of cytokine signaling 1, Socs1)的表达升高,从而降低对 IL-2 的应答。IL-2 是 Treg 细胞维持稳态的关键调节因子。但是, miR155 并不是 Treg 细胞抑制功能所必须的,因为 miR155 缺失的 Treg 细胞也能预防小鼠的自身免疫性疾病^[15]。

在体外, miR17~92 簇联合 miR17 和 miR19 作用限制 Treg(iTreg)细胞分化。在体内,尽管 miR17~92 簇不是胸腺 Treg 细胞发育和维持稳态所必须的,但却是自身免疫性脑脊髓炎中抗原特异性 Treg 细胞产生了 IL-10 的关键作用因子^[22]。miR10a 通常表达于 Treg 细胞,与小鼠自身免疫性疾病的易感性呈负相关^[23]。高易感性的小鼠其 miR10a 的表达最低,而抵抗性的小鼠中 miR10a 的表达最高。miR10a 稳定 Treg 细胞是通过靶向作用于转录抑制物 Bcl6 和 Ncor2,从而促使 Treg 细胞产生持续高表达的 Foxp3。因此, miR10a 遗传性消融并不能造成 Treg 缺陷或自身免疫。这也证实其他 miRNAs 如 miR10b 或者相关的 miR99/100 家族可能部分参与了 Treg 细胞功能调控。

尽管多个研究证实了特定的 miRNAs 参与了 Treg 细胞功能的调控,但是如何调控 Treg 细胞的信号通路仍然未知。其中 PI₃K 通路受到多种 miRNAs 的调控,是 CD4⁺T 细胞分化成效应 T 细胞或 Treg 细胞的中心节点^[24]。CD4⁺T 细胞 Dicer 消融能增加哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)的活性和对 TCR 刺激的敏感度。mTOR 由 PI₃K 通路活化,是抗原受体、细胞因子受体和 TLRs 的一个关键集成整合分子。小鼠 PI₃K 信号增加导致效应 CD4⁺T 细胞增殖。实际上,增强 PI₃K 信号可以阻断 Treg 细胞中 FOXP3 的表达。PI₃K 信号提前终止会改变 Treg 细胞 FOXP3 的表达以及其相应的功能行为。这表明了 PI₃K 信号的时间周期操控可以导致 Treg 细胞和效应 T 细胞之间平衡的改变。总之,这些通路的负性调节作用促进了 Treg 基因的

表达程序,通过对 PI₃K 通路、NF- κ B 和 MAPK 通路的研究会发现更多的 miRNAs 参与 Treg 细胞的发育和稳态功能作用的调控。

四、展 望

miRNAs 作为一类在动植物及病毒中广泛存在的单链非编码小分子 RNA,近年来已经成为表观遗传学领域研究的热点。越来越多的研究表明 miRNAs 参与了自身免疫性疾病的发生和发展。尽管有很多的文章讨论了不同自身免疫性疾病包括 SLE、MS 和 EAE 中多种 miRNAs 表达的改变以及对疾病发病机制的作用,但是本文着重于机体免疫耐受建立过程中 miRNAs 的调控作用,阐述了 miR17~92、miR181、miR150、miR22、miR155、miR10a 等对于 T 细胞、B 细胞发育成熟以及相关功能的关键性调控作用。这些 miRNAs 表达的异常导致了自身免疫耐受机制的受损,致使自身反应性淋巴细胞的产生或功能活跃,最终促进自身免疫性疾病的发生和发展。总之, miRNAs 是可行的药物靶点,深入认识 miRNAs 在自身免疫性疾病中的病理作用机制,设计序列特异性 miRNAs 抑制剂有望成为治疗自身免疫性疾病的新颖药物。

参考文献

- Plitas G, Rudensky AY. Regulatory T cells: differentiation and function[J]. Cancer Immunol Res, 2016;4(9):721-725
- Soltanzadeh - Yamchi M, Shahbazi M, Aslani S, et al. MicroRNA signature of regulatory T cells in health and autoimmunity[J]. Biomed Pharmacother, 2018,100:316-323
- Simpson LJ, Ansel KM. MicroRNA regulation of lymphocyte tolerance and autoimmunity[J]. J Clin Invest, 2015, 125(6):2242-2249
- Dal Bo M, Bomben R, Hernández L, et al. The MYC/miR-17-92 axis in lymphoproliferative disorders: a common pathway with therapeutic potential[J]. Oncotarget, 2015, 6(23):19381-19392
- Malhotra N, Qi Y, Spidale NA, et al. SOX4 controls invariant NKT cell differentiation by tuning TCR signaling[J]. J Exp Med, 2018, 215(11):2887-2900
- Takada K, Takahama Y. Positive - selection - inducing self - peptides displayed by cortical thymic epithelial cells[J]. Adv Immunol, 2015, 125:87-110
- Ghorbani S, Talebi F, Chan WF, et al. MicroRNA - 181 variants regulate T cell phenotype in the context of autoimmune neuroinflammation[J]. Front Immunol, 2017,8:758
- Hobeika E, Nielsen PJ, Medgyesi D. Signaling mechanisms regulating B - lymphocyte activation and tolerance[J]. J Mol Med (Berl), 2015, 93(2):143-158
- Devasthanam AS, Tomasi TB. Dicer in immune cell development and function[J]. Immunol Invest, 2014, 43(2):182-195
- Di Marco M, Ramassone A, Pagotto S, et al. MicroRNAs in autoimmunity and hematological malignancies[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19

(10):E3139

- 11 Mraz M, Chen L, Rassenti LZ, *et al.* miR - 150 influences B - cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia by regulating expression of GAB1 and FOXP1[J]. *Blood*, 2014, 124(1):84 - 95
- 12 Palacios F, Abreu C, Prieto D, *et al.* Activation of the PI3K/AKT pathway by microRNA - 22 results in CLL B - cell proliferation[J]. *Leukemia*, 2015, 29(1):115 - 125
- 13 Husakova M. MicroRNA in the key events of systemic lupus erythematosus pathogenesis[J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2016, 160(3):327 - 342
- 14 Chen C, Zhou Y, Wang J, *et al.* Dysregulated microRNA involvement in multiple sclerosis by induction of T helper 17 cell differentiation[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1256
- 15 Liu C, Yang H, Shi W, *et al.* MicroRNA - mediated regulation of T helper type 17/regulatory T - cell balance in autoimmune disease[J]. *Immunology*, 2018, 155(4): 427 - 434
- 16 Zhao M, Sun D, Guan Y, *et al.* Disufiram and diphenhydramine hydrochloride upregulate miR - 30a to suppress IL - 17 - associated autoimmune inflammation[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(35):9253 - 9266
- 17 Liu Y, Dong Y, Zhu X, *et al.* Mir - 155 inhibition ameliorates 2, 4, 6 - trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) - induced experimental colitis in rat via influencing the differentiation of Th17 cells by Jarid2[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 64:401 - 410
- 18 Huang Q, Chen SS, Li J, *et al.* miR - 210 expression in PBMCs from patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis

[J]. *Ir J Med Sci*, 2018, 187(1): 243 - 249

- 19 Liu SQ, Jiang S, Li C, *et al.* miR - 17 - 92 cluster targets phosphatase and tensin homology and Ikaros Family Zinc Finger 4 to promote TH17 - mediated inflammation[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(18): 12446 - 12456
- 20 Zhu E, Wang X, Zheng B, *et al.* miR - 20b suppresses Th17 differentiation and the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis by targeting ROR γ t and STAT3[J]. *J Immunol*, 2014, 192(12):5599 - 5609
- 21 Baumjohann D, Heissmeyer V. Posttranscriptional gene regulation of T follicular helper cells by RNA - binding proteins and microRNAs[J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1794
- 22 de Kouchkovsky D, Esensten JH, Rosenthal WL, *et al.* microRNA - 17 - 92 regulates IL - 10 production by regulatory T cells and control of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2013, 191(4):1594 - 1605
- 23 Hippen KL, Loschi M, Nicholls J, *et al.* Effects of microRNA on regulatory T cells and implications for adoptive cellular therapy to ameliorate Graft - versus - host disease[J]. *Front Immunol*, 2018, 31,9: 57
- 24 Marcais A, Blevins R, Graumann J, *et al.* microRNA - mediated regulation of mTOR complex components facilitates discrimination between activation and anergy in CD4 T cells[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(11):2281 - 2295

(收稿日期:2018 - 12 - 14)

(修回日期:2018 - 12 - 28)

(上接第 16 页)

- 13 Lei H, Schmidt - Bleek K, Dienelt A, *et al.* Regulatory T cell - mediated anti - inflammatory effects promote successful tissue repair in both indirect and direct manners[J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 184
- 14 Nosbaum A, Prevel N, Truong HA, *et al.* Cutting edge: regulatory T cells facilitate cutaneous wound healing[J]. *J Immunol*, 2016, 196(5): 2010 - 2014
- 15 Schneider DF, Palmer JL, Tulley JM, *et al.* A novel role for NKT cells in cutaneous wound repair[J]. *J Surg Res*, 2011, 168(2): 325 - 333
- 16 Eming SA, Martin P, Tomic - Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(265): 265s - 266s
- 17 Khanna S, Biswas S, Shang Y, *et al.* Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9539
- 18 Hanses F, Park S, Rich J, *et al.* Reduced neutrophil apoptosis in diabetic mice during staphylococcal infection leads to prolonged Tnf α production and reduced neutrophil clearance[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23633
- 19 Wong SL, Demers M, Martinod K, *et al.* Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing[J]. *Nat Med*, 2015, 21(7): 815 - 819
- 20 Fadini GP, Menegazzo L, Rigato M, *et al.* NETosis delays diabetic wound healing in mice and humans[J]. *Diabetes*, 2016, 65(4): 1061 - 1071

- 21 Delgado - Rizo V, Martinez - Guzman MA, Iniguez - Gutierrez L, *et al.* Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 81
- 22 Snyder RJ, Lantis J, Kirsner RS, *et al.* Macrophages: a review of their role in wound healing and their therapeutic use[J]. *Wound Repair Regen*, 2016, 24(4): 613 - 629
- 23 Okizaki S, Ito Y, Hosono K, *et al.* Suppressed recruitment of alternatively activated macrophages reduces TGF - β 1 and impairs wound healing in streptozotocin - induced diabetic mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 70: 317 - 325
- 24 Stunova A, Vistejnova L. Dermal fibroblasts - A heterogeneous population with regulatory function in wound healing[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, 39: 137 - 150
- 25 Chan YC, Roy S, Khanna S, *et al.* Downregulation of endothelial microRNA - 200b supports cutaneous wound angiogenesis by desilencing GATA binding protein 2 and vascular endothelial growth factor receptor 2[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(6): 1372 - 1382
- 26 Singh K, Pal D, Sinha M, *et al.* Epigenetic modification of microRNA - 200b contributes to diabetic vasculopathy[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(12): 2689 - 2704
- 27 Larouche J, Sheoran S, Maruyama K, *et al.* Immune regulation of skin wound healing: mechanisms and novel therapeutic targets[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2018, 7(7): 209 - 231

(收稿日期:2018 - 12 - 11)

(修回日期:2018 - 12 - 14)