

竞争性内源性 RNA 在创面愈合中作用的研究进展

廖银友 张丕红

中南大学湘雅医院烧伤整形外科,长沙 410008

通信作者:张丕红,Email:zphong@aliyun.com

【摘要】 创面愈合作为重要的公共卫生问题之一,一直是世界性难题。由于独特的生物创面环境,创面愈合是一个非常复杂的过程,目前治疗周期长、疗效欠佳,患者经济负担重。越来越多的研究表明,非编码 RNA(ncRNA)在创面愈合过程中扮演着重要角色。竞争性内源性 RNA(ceRNA)假说是近些年新提出的一种 RNA 相互调控假说,该假说提出了不同 RNA 之间的一种“交流方式”。ceRNA 调控网络(ceRNET)将蛋白质编码 mRNA 的功能与 ncRNA(如微小 RNA、长链非编码 RNA、假基因和环状 RNA)的功能联系起来。最新的研究表明,ceRNA 在创面愈合过程中发挥重要作用,这可能为创面愈合提供新的有效治疗靶标。本文从 ceRNET 着手,系统综述各种 ceRNA 在创面愈合中的作用研究进展及未来研究的挑战,旨在深入探究 ceRNA 在创面愈合过程中的分子机制及临床意义。

【关键词】 伤口愈合; 反应元件; 竞争性内源性核糖核酸调控网络; 竞争性内源性核糖核酸

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81772084)

Research advances on the role of competing endogenous RNAs in wound healing

Liao Yinyou, Zhang Pihong

Department of Burns and Plastic Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

Corresponding author: Zhang Pihong, Email: zphong@aliyun.com

【Abstract】 Wound healing, as one of the important public health issues, has been a worldwide problem. Due to the unique biological wound environment, wound healing is a very complex process with current treatments requiring long cycles, being poorly effective, and bringing high economic burden to patients. An increasing number of studies have shown that non-coding RNAs (ncRNAs) play important roles in wound healing process. The competing endogenous RNAs (ceRNAs) hypothesis in recent years is a new proposal on the inter-regulation of RNAs, which suggests a "mode of communication" between different RNAs. ceRNA regulatory

network (ceRNET) combines the functions of protein-coding mRNA with ncRNA (e. g., microRNA, long non-coding RNA, pseudogenes, and circular RNA). Recent studies have shown that ceRNAs play important roles in wound healing, which may provide new effective therapeutic targets for wound healing. This paper starting with ceRNET systematically reviewed the research progress on the effects of various ceRNAs in wound healing and the future research challenges, with the aim to deeply explore the molecular mechanisms and clinical significance of ceRNAs in the process of wound healing.

【Key words】 Wound healing; Response elements; Competing endogenous ribonucleic acid regulatory network; Competing endogenous ribonucleic acid

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (81772084)

皮肤是人体最大的器官,其主要功能是保护人体免受有害病原体的侵袭,因此皮肤是最容易受到伤害的器官^[1]。皮肤完整性的破坏会导致创面形成,一般可分为急性创面和慢性创面。人类创面愈合沿着一个级联进行,包括以下阶段:止血、炎症、增殖(形成肉芽组织、血管化、创面闭合)、重塑(可持续数周至数年,包括形成瘢痕、拉伸强度增加和 ECM 重塑)^[2]。创面治疗特别是慢性创面治疗给患者和医疗系统带来了巨大的经济负担,随着人口老龄化的进展,慢性创面患者明显增加,如何促进慢性创面的愈合是近年来的研究热点^[3]。

非编码 RNA(ncRNA)是创面愈合新研究领域,可根据核苷酸的长度分为长链 ncRNA(lncRNA,长度>200 个核苷酸)和短链 ncRNA(长度≤200 个核苷酸),短链 ncRNA 包括在竞争性内源性 RNA 调控网络(ceRNET)中起核心作用的微小 RNA(miRNA)和其他小 RNA,如小干扰 RNA、小核仁 RNA、转运蛋白 RNA、PIWI 相互作用 RNA^[4]。近年来,多个研究小组对 miRNA 产生了浓厚的兴趣,因为它们失调会导致各种病理过程。例如,正常的皮肤发育依赖于表皮和毛囊内 miRNA 和 Dicer 酶的高表达,并且特定 miRNA 在创面愈合不同阶段的表达变化与创面愈合异常有关^[5]。然而,目前的研

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20201125-00498

本文引用格式:廖银友,张丕红.竞争性内源性 RNA 在创面愈合中作用的研究进展[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(1):84-89. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20201125-00498.

Liao YY,Zhang PH.Research advances on the role of competing endogenous RNAs in wound healing[J].Chin J Burns Wounds,2022,38(1):84-89.DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20201125-00498.



究表明,miRNA并不是基因表达的唯一调控者;事实上,有众多ncRNA可直接或间接影响miRNA对基因的调控,其机制是通过ncRNA编码序列中携带的与miRNA互补的序列来影响miRNA的表达,这些互补的序列被称为miRNA反应元件(MRE)^[6]。此外,当多个RNA携带相同的MRE时,就会出现RNA与miRNA竞争性结合,这些RNA被命名为竞争性内源性RNA(ceRNA)。2011年提出的ceRNA假说认为RNA可与具有相同MRE的miRNA靶标竞争性结合miRNA,从而通过miRNA桥梁作用实现2个RNA分子的相互调控作用,因此这种miRNA桥梁作用改变了基因组的表达并允许RNA之间的“交流”,形成称为ceRNET的通信网络^[7]。在创面治疗过程中ceRNET失调将影响创面的愈合,深入研究其机制,可以加深对创面的认识,为创面修复提供更合理的选择。本文在概述ceRNA的基础上,进一步探讨ceRNA在创面愈合中的作用和潜在的临床意义。

1 ceRNET概述

ceRNET的基础是RNA诱导沉默复合体与靶转录本上的MRE结合,从而导致靶转录本沉默或降解,其中6~8个核苷酸长的MRE是这些靶转录本的miRNA结合位点,是RNA相互交流和调控的“语言”^[7]。值得注意的是,miRNA和MRE被认为是ceRNET中的2个重要元素,前者是核心动力,后者是结构基础。以ceRNA为基础的转录调控网络,不仅扩展了现有基因网络的生物途径,丰富了人类基因组的功效,还在人类生长发育和疾病发生发展过程中扮演着重要角色。

2 创面愈合机制及miRNA在创面愈合过程中的作用

创面愈合通常是一个缓慢的过程,在特定条件下需要数周或数月。如果不加以治疗或干预将出现局部血流减少引起的肌肉痉挛、炎症浸润甚至缺血坏死,进一步导致创面愈合不良,创面愈合不良的临床特征是瘢痕形成、色素过度沉着、愈合时间延长、持久的溃疡以及其他形态和功能异常^[2]。许多用来改善创面愈合的方法,如低强度激光、先进的医用敷料、NPWT、电刺激、高压氧和皮肤移植都在文献中报道过,但这些方法治疗效果不太令人满意,在创面愈合方面还需要寻找更加高效经济的治疗方法^[8]。

miRNA在创面愈合的多个阶段发挥作用,例如miRNA-146a可以通过减少小鼠巨噬细胞和嗜中性粒细胞的数量从而结束炎症阶段,miRNA-155却可以促进小鼠单核细胞向巨噬细胞分化从而增强炎症反应^[9]。miRNA-21、miRNA-99、miRNA-184、miRNA-198、miRNA-203、miRNA-205、miRNA-210和miRNA-483-3p可以调节人和小鼠KC的生长、分化和迁移,miRNA-23、miRNA-24、miRNA-26、miRNA-27、miRNA-103、miRNA-107、miRNA-181、miRNA-210和miRNA-213可以通过促进人和小鼠新生血管的生成从而促使创面再上皮化和收缩^[5]。miRNA-200家族通过抑制小鼠背部急性创面锌指E-盒结合同源异形盒蛋白2的翻译来提高E-钙黏蛋白的表达,而E-钙

黏蛋白在重建皮肤屏障完整性中发挥重要作用^[10]。根据ceRNA假说,miRNA还受到其他转录本的复杂调控,理论上,任何具有MRE的转录本都可以作为潜在的ceRNA,包括lncRNA、mRNA、环状RNA(circRNA)和假基因。

2.1 lncRNA作为ceRNA在创面愈合中的作用

lncRNA转录本在非编码转录组中占了很大的比例。lncRNA在不同的组织中表达水平不同,并且在细胞活动中起着重要作用^[11]。有研究证实lncRNA与修饰染色质的蛋白质复合物的基因表达调控有关,在人和大鼠慢性创面中lncRNA5322、*INK*基因4位点反义ncRNA(ANRIL)、lncRNA X染色体失活特异转录因子(XIST)等lncRNA表达增加可以促进创面血管生成、上皮细胞增殖从而加速小鼠急性、人慢性溃疡和人热损伤创面愈合^[12]。

2.1.1 lncRNA5322增强创面收缩及表皮再生能力 有研究证实miRNA-19b-3p在低氧条件下可靶向调控大山雀胚胎Fb中的*MAPK1*基因来适应缺氧环境^[13]。此外有研究证明lncRNA5322可以作为miRNA-19b-3p的ceRNA来促进小鼠精原干细胞增殖^[14]。这些结果表明*MAPK1*基因是miRNA-19b-3p的靶基因,而lncRNA5322可以通过与miRNA-19b-3p竞争性结合来影响*MAPK1*基因的表达。

有学者研究表明lncRNA5322能增强人毛囊干细胞(HFSC)的增殖和分化^[15]。首先用鼠源性Argonaute 2抗体和鼠源性IgG抗体分别处理人HFSC,采用免疫沉淀法检测lncRNA5322的表达情况,结果显示与经IgG抗体处理组相比,Argonaute 2抗体处理组的人HFSC中lncRNA5322明显增多;然后通过反转录定量PCR检测转染miRNA-19b-3p的HFSC中的lncRNA5322表达,结果显示miRNA-19b-3p过表达下调了HFSC中lncRNA5322的表达,而带有miRNA-19b-3p突变结合位点的HFSC中的lncRNA5322表达未受影响,这表明miRNA-19b-3p可以抑制lncRNA5322的表达;最后在小鼠急性创面中验证了lncRNA5322可通过与*MAPK1*基因竞争miRNA-19b-3p来增强*MAPK1*基因的创面收缩及表皮再生能力,从而缩短创面愈合时间^[16]。

2.1.2 ANRIL促进淋巴管内皮细胞的生成 ANRIL由19个外显子组成,位于*Ink4a-ARF-INK4B*基因簇的反义方向,是编码3834个核苷酸的lncRNA,已被证明与糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变、糖尿病足等多种糖尿病并发症有关^[17]。研究者在小鼠糖尿病创面中证实创面愈合过程中ANRIL的表达逐渐减少,转录因子Prox1的表达显著下调,而miRNA-181a的表达水平上调,进一步研究表明ANRIL可通过与Prox1竞争miRNA-181a的MRE来促进小鼠淋巴管内皮细胞的生成,从而促进糖尿病创面愈合^[18]。也有研究证明miRNA-181a可通过结合Prox1的3'非翻译区来负调控Prox1,从而抑制小鼠血管内皮细胞向淋巴管内皮细胞转化^[19]。淋巴管在人慢性溃疡中可接纳富含蛋白质的淋巴液,以维持正常的组织液稳态,以及调节免疫细胞的运输;其生成受损会导致持续性水肿,减缓细胞碎片和炎症细胞的清除,从而抑制慢性溃疡的愈合^[20]。

2.1.3 lncRNA XIST 促进热损伤后的创面修复 有研究表明 miRNA-29b-3p 可减少小鼠 Fb 胶原合成^[21]。众所周知,胶原蛋白 I 是人体皮肤主要的胶原蛋白类型,早期认为胶原蛋白只是为细胞和组织提供支撑和形状,后来观察到胶原蛋白还可以影响细胞的增殖、黏附、迁移、分化和死亡^[22]。Guo 等^[23]研究显示 XIST-短发夹 RNA 转染可以抑制人皮肤 Fb(HSF)的增殖和迁移,miRNA-29a 抑制剂可部分逆转 XIST-短发夹 RNA 对 HSF 增殖和迁移的抑制作用,而 HSF 在热损伤创面愈合及瘢痕形成中有重要作用,进一步研究证实 lncRNA XIST 可以通过抑制 miRNA-29a 来促进 *LIN28a* 基因的表达及 HSF 增殖、迁移和 ECM 合成,为深 II 度烧伤创面可能恢复正常形态和功能的那部分真皮(变性真皮)的转归和烧伤创面修复提供了科学依据^[23]。研究者通过生物信息学分析预测 miRNA-29b-3p 与 lncRNA XIST 或胶原蛋白 1A1(COL1A1)可能存在结合位点,并通过细胞转染验证了 lncRNA XIST 可以通过与 COL1A1 竞争 miRNA-29b-3p 的结合位点来减少 miRNA-29b-3p 对 COL1A1 的抑制作用,从而促进人热损伤创面修复^[24]。

2.1.4 其他 lncRNA 作为 ceRNA 在创面愈合中的作用 有研究显示 lncRNA-H19 可作为 miRNA-140 的 ceRNA 来逆转高糖诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)生长抑制和细胞凋亡^[25]。有研究证明 lncRNA-H19 可作为 ceRNA 来明显改善大鼠糖尿病创面的血供和加速再上皮化来促进创面愈合,并且认为细胞外囊泡有望成为其载体^[26]。众所周知,细胞外囊泡包括外泌体、微囊泡和凋亡小体,近几年外泌体得到了广泛研究。外泌体是一种小脂质双层囊泡,直径为 30~150 nm,含有各种细胞特异性的蛋白质、脂质和核酸,已经成为一种新型生物标志物并且在细胞通讯中起至关重要的作用。外泌体是细胞间重要的信号载体,也可以作为亲代细胞的旁分泌通路。越来越多的证据表明外泌体释放的活性物质(特定的蛋白质、脂质、mRNA、miRNA、DNA 等信号分子)可以通过与靶细胞特异性结合进行物质运输和信号传递,从而调节生物学行为^[27]。

还有学者通过生物信息学分析推测缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)是 miRNA-140-3p 的靶点,lncRNA 小核仁 RNA 宿主基因 1 作为 ceRNA 可通过上调 HIF-1 α /VEGF 信号通路来促进 HUVEC 增殖以及 VEGF、血管内皮细胞钙黏蛋白和基质金属蛋白酶 2 的表达,有望成为慢性创面新的治疗靶点^[28]。这些研究为 lncRNA 作为 ceRNA 在创面愈合中的作用提供了科学的实验基础和理论依据。

2.2 RNA 作为 ceRNA 在创面愈合中的作用

circRNA 是一类非编码单链 RNA,具有共价闭环结构,没有自由的 3'聚(A)尾或 5'帽结构。由于其独特的结构,它们可以抵抗核酸外切酶的活性,并且具有较高的稳定性。此外,circRNA 通常是低丰度的,因此不适合用来研究线性 RNA 的传统方法。随着生化富集方法的发展,特别是高通量 RNA 测序和 circRNA 微阵列,已经有越来越多的 circRNA 被发现。circRNA 具有许多生物学功能,包括调节宿主基因

的剪接和转录、可作为 miRNA 海绵、蛋白海绵以及被诱导翻译而发挥作用^[29]。circRNA 在糖尿病、动脉粥样硬化等疾病中起着重要作用,例如,来源于 17 号染色体、含有 806 个核苷酸的 0003204 可以作为动脉粥样硬化异位内皮细胞失活的新刺激物和脑动脉粥样硬化的潜在生物标志物^[30]。许多研究表明 circRNA 可作为 ceRNA,通过 MRE 与某种 miRNA 竞争性结合减少或解除 miRNA 对靶向基因的抑制,从而调节靶基因的表达。mmu_circRNA_0000250 和 circRNA_Amotl1 不仅参与正常细胞的增殖、分化和衰老,还可通过海绵作用在大鼠糖尿病创面和小鼠急性创面的愈合过程中发挥重要作用^[31]。

2.2.1 mmu_circRNA_0000250 促进糖尿病创面愈合 mmu_circRNA_0000250 是来源于 *Rtn4286* 基因的 2 个外显子,其成熟的剪接序列长度为 2 418 个核苷酸。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性蛋白去乙酰化酶家族(Sirtuin)去乙酰化酶 1~7(SIRT1-7)是一类在哺乳动物中与酵母沉默信息调节因子 2 相对应的蛋白,可以调节多种蛋白的乙酰化修饰和二磷酸腺苷核糖基修饰以及调节细胞核、细胞质和线粒体中的各种蛋白质^[32]。研究表明 Sirtuin 蛋白,特别是 SIRT1,在皮肤应激反应、内稳态和皮肤疾病中起关键作用,是公认的抗衰老蛋白^[33]。表皮特异性的 SIRT1 缺失可减少肉芽组织中的血管生成、炎症细胞的募集、Fb 的迁移和增殖、创面炎症细胞因子的产生及 TGF- β 诱导的 KC 上皮-间充质转化从而导致小鼠皮肤创面愈合延迟^[34]。有研究表明高糖处理可显著下调人视网膜内皮细胞 SIRT1 的表达和上调 miRNA-128-3p 的表达,并证实 *SIRT1* 基因是 miRNA-128-3p 的靶基因^[35]。

有趣的是,miRNA-128-3p 还受到其他 RNA 的调节。最近,有研究显示 mmu_circRNA_0000250 在糖尿病小鼠中的表达异常降低;并通过糖尿病小鼠模型证实高糖条件下内皮祖细胞(EPC)凋亡增加,并抑制血管生成;高表达 mmu_circRNA_0000250 的脂肪间充质干细胞(ADSC)外泌体可以减少小鼠内皮细胞自噬,自噬抑制剂氯喹可逆转这种作用,说明高表达 mmu_circRNA_0000250 的 ADSC 外泌体可能通过减少自噬来恢复 EPC 功能;最后,通过糖尿病小鼠实验表明 mmu_circRNA_0000250 可通过海绵化 miRNA-128-3p 来促进 SIRT1 的表达,从而促进糖尿病小鼠创面愈合^[36]。

2.2.2 circRNA_Amotl1 促进 Fb 的增殖、分化、迁移 信号转导及转录活化因子 3(STAT3)是 IL-6 激活的急性时相反反应因子复合物的一种成分,它在刺激肝脏天然免疫递质的表达方面起着至关重要的作用;此外,STAT3 可介导大鼠肉瘤病毒蛋白或酪氨酸激酶癌蛋白等细胞内蛋白引起的重要信号转导级联反应^[37]。有研究显示美洲大蠊提取物促进小鼠热损伤创面愈合的机制与 STAT3 密切相关^[38]。miRNA17-5p 是 miRNA17-92 簇的成员,是编码 6 个 miRNA 的多顺反子 miRNA 基因。实验研究表明 miRNA17-5p 可以通过靶向调控 STAT3 从而促进心脏缺血再灌注小鼠模型心肌细胞的凋亡来参与心肌缺血/再灌注损伤^[39]。有研究者观察到

circRNA_Amot1 表达质粒转染可明显促进小鼠 Fb 迁移、变形、黏附和增殖,并且在小鼠皮肤全层切除创面注射 circRNA_Amot1 表达质粒后加速创面愈合;进一步实验得出抗 STAT3 抗体可降低 circRNA_Amot1 的表达水平,且 circRNA_Amot1 小干扰 RNA 转染细胞的 STAT3 表达水平降低,这说明 STAT3 和 circRNA_Amot1 之间存在相互作用;于是分别用 miRNA17-5p 表达质粒和突变 miRNA17-5p 表达质粒与含 STAT3 3'非翻译区荧光素酶的人胚胎 293 细胞共转染,结果显示 miRNA17-5p 表达质粒的转染降低了 STAT3 的表达而突变 miRNA17-5p 表达质粒的转染增加了 STAT3 的表达,证明 miRNA17-5p 和 STAT3 通过 3'非翻译区相互作用;最后,研究证实 circRNA_Amot1 可以结合 miRNA17-5p 并降低 STAT3 活性,并且通过增加纤维连接蛋白、DNA 甲基转移酶 3 和 STAT3 的表达来促进小鼠 Fb 的增殖、分化、迁移,从而加快创面愈合速度^[40]。

综上所述,诸多研究证实 circRNA 可通过 ceRNA 机制加速创面愈合。尽管 circRNA 的表达水平较低,但它们大多定位于细胞质中,可更有效地与 miRNA 结合,通过表观遗传调控基因表达来调控众多信号通路,有望成为创面治疗的新手段。

2.3 mRNA 作为 ceRNA 在创面愈合中的作用

到目前为止,人类基因组中的蛋白质编码基因大约有 23 500 个,而且大多数 mRNA 都被 MRE 所覆盖,并可作为 ceRNA,因此 mRNA 在 ceRNA 中起着至关重要的作用^[41]。

对于每个细胞内有限的 miRNA,某个 mRNA 上调会导致 MRE 数量增加,超过其靶向 miRNA 的数量,此时就可抑制 miRNA 与其他 miRNA 靶标结合。最近,一项研究证实 miRNA-203 可与 *Hes1* 基因 3'非翻译区结合,从而抑制小鼠表皮干细胞(ESC)分化为肌 Fb^[42]。ESC 具有强大的增殖和分化潜力,一般存在于表皮的基底层和毛发的毛囊中。在生理条件下,ESC 参与维持皮肤的正常结构和功能,并通过增殖、迁移和分化在创面修复中发挥关键作用,也就是说 *Hes1* 基因可以通过一种依赖 miRNA 的方式来促进创面愈合^[43]。有研究表明 miRNA-219-5p 可与跨膜蛋白 98 基因 3'非翻译区结合来下调跨膜蛋白 98 的表达,从而抑制基质金属蛋白酶 1(MMP-1)的表达,MMP-1 参与了创面愈合过程中的人 Fb 和 KC 的增殖、迁移,并与创面再上皮化密切相关^[44]。mRNA 作为编码 RNA 在创面愈合中的作用得到了广泛的研究,但作为 RNA 调节基因的作用机制仍需进一步探索。

2.4 假基因作为 ceRNA 在创面愈合中的作用

假基因一词最早由 Jacq 等^[45]在 1977 年用来描述一种编码 5S 核糖体 RNA 的基因版本,该基因被截短,但与非洲爪蟾的活性基因同源。根据最新的 GENCODE 版本,人类基因组中有超过 20 000 个假基因,这个非编码转录本受到极大关注,截至目前学者们已观察到假基因与众多癌症的发生、转移、预后有关^[46]。因为假基因最初是蛋白质编码基因,经历了破坏性突变,如点突变、过早终止密码子、插入突变和移码突变阻碍它们被翻译成蛋白质,所以假基因的序列与其编码

蛋白质的亲本基因同源。经历突变的假基因与编码基因 2 个转录本共享 1 个共同的 miRNA 池的 MRE,这为假基因作为 ceRNA 从而调节 mRNA 提供了理论基础^[46]。

一些研究间接证实假基因可以通过 ceRNA 促进创面愈合。近年有研究表明 *HMGAI* 基因的 *HMGAI7* 假基因过表达提高正常和肿瘤乳腺组织 *H19* 基因的表达水平,其机制是 *HMGAI* 基因通过降低 *HMGAI7* 基因的 miRNA (miRNA-15、miRNA-16、miRNA-214 和 miRNA-761) 对 *H19* 基因的抑制,并验证了 *HMGAI7* 假基因和 *H19* 基因可通过 miRNA 中介相互影响,而 *H19* 基因可通过升高结缔组织生长因子和激活 MAPK 信号通路来加速大鼠糖尿病创面愈合^[26,47]。已有研究证实 lncRNA 肾母细胞瘤相关蛋白假基因 1 作为 miRNA-3120-5p 的海绵,通过磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)和自噬途径调节 MMP-1 的表达,从而介导人 EPC 的迁移和血管生成^[48]。而 MMP-1 在创面愈合中起非常重要的作用,PI3K/Akt 通路也能通过促进受损组织的再生、重塑和再上皮化来加速糖尿病创面愈合^[49]。假基因是一类数量庞大且在疾病中发挥重要作用的基因,但在创面愈合中的作用及其机制并不十分清楚,有待进一步探究。

3 总结与展望

正常情况下,由于 ceRNA 转录本的微妙平衡,复杂的细胞活动得以维持,一旦这种平衡被打破,各种非编码和编码 RNA 转录本之间的竞争就会出现,从而影响创面愈合。对 ceRNA 机制的深入研究揭示了以下几点。(1) 尽管一些 miRNA 突变体拥有引人注目的表型,但大多数 miRNA 在生理环境下只是起到微调 mRNA 以及维持 RNA 稳态的作用,在这种情况下,miRNA/ceRNA 微妙的波动不太可能对目标 RNA 水平产生可检测的变化或显著的生物学改变。(2) 当在某些生理状态改变(细胞增殖、分化或肿瘤发生)以及某些细胞类型和亚细胞位置中 miRNA/ceRNA 水平急剧增加或降低时,才能观察到显著的生物学改变,并且这些情况会最大化其生物学效应,从而为合理的药物设计和临床应用提供潜在的分子靶标和治疗策略^[50]。

当然,将 ceRNA 运用于治疗仍有很多问题需要深入研究。首先给定的 ceRNA 要求与整个 miRNA 靶标池竞争 MRE,要想赢得这场“一对多”的战斗,目标 ceRNA 的丰度必须增加到应有的水平。其次 miRNA 和靶标结合受 MRE 特性的影响,ECM 中 MRE 的状态必然影响 ceRNA 的亲和力,这需要更好的实验模型来进一步研究。最后由于脂质膜及细胞内各种酶的存在,如何将目标转录本运送到靶组织并保持表达稳定性也是一大难题,针对以上问题,有学者提出多种方法:与其他亲脂分子形成偶联 RNA 寡核苷酸,静脉注射化学修饰的胆固醇共轭单链寡核苷酸,使用锁核酸修饰寡核苷酸,通过表达载体将 RNA 运送到靶组织,使用细胞外囊泡来包裹核苷酸^[50-52]。包含特定 RNA 的外泌体在创面愈合中的作用得到了一定的验证,如高表达 miRNA-181c、miRNA-21-3P 的人脐带间充质干细胞外泌体,富含

miRNA-125a 的 ADSC 外泌体等在小鼠急性慢性创面的愈合过程中都发挥了重要作用, 这为基因治疗提供了一个相对安全、可靠、不良反应小的手段^[53-54]。随着 ceRNA 在创面愈合中作用的深入研究, 有望为创面治疗提供实验基础和新的视野。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Dąbrowska AK, Spano F, Derler S, et al. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors[J]. *Skin Res Technol*, 2018, 24(2): 165-174. DOI: 10.1111/srt.12424.
- [2] Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, et al. Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts[J]. *Eur Surg Res*, 2017, 58(1/2): 81-94. DOI: 10.1159/000454919.
- [3] Martinengo L, Olsson M, Bajpai R, et al. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *Ann Epidemiol*, 2019, 29: 8-15. DOI: 10.1016/j.annepidem.2018.10.005.
- [4] Zhang PJ, Wu WY, Chen Q, et al. Non-coding RNAs and their integrated networks[J]. *J Integr Bioinform*, 2019, 16(3): 20190027. DOI: 10.1515/jib-2019-0027.
- [5] Fahs F, Bi XL, Yu FS, et al. New insights into microRNAs in skin wound healing[J]. *IUBMB Life*, 2015, 67(12): 889-896. DOI: 10.1002/iub.1449.
- [6] Ala U. Competing endogenous RNAs, non-coding RNAs and diseases: an intertwined story[J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1574. DOI: 10.3390/cells9071574.
- [7] 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.
- [8] Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments[J]. *Adv Ther*, 2017, 34(3): 599-610. DOI: 10.1007/s12325-017-0478-y.
- [9] Specjalski K, Jassem E. MicroRNAs: potential biomarkers and targets of therapy in allergic diseases? [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2019, 67(4): 213-223. DOI: 10.1007/s00005-019-00547-4.
- [10] Suh HN, Han HJ. Sonic hedgehog increases the skin wound-healing ability of mouse embryonic stem cells through the microRNA 200 family[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(3): 815-828. DOI: 10.1111/bph.12947.
- [11] Yao RW, Wang Y, Chen LL. Cellular functions of long noncoding RNAs[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(5): 542-551. DOI: 10.1038/s41556-019-0311-8.
- [12] 王鹏, 尹斌, 苏映军, 等. 长链非编码 RNA 介导慢性难愈性创面愈合的机制研究进展[J]. *中华烧伤杂志*, 2020, 36(8): 758-761. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20190526-00254.
- [13] Chen XM, Qu YH, Cheng YL, et al. MiR-19b-3p regulates MAPK1 expression in embryonic fibroblasts from the great tit (*parus major*) under hypoxic conditions[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(2): 546-560. DOI: 10.1159/000488621.
- [14] Hu K, Zhang J, Liang M. LncRNA AK015322 promotes proliferation of spermatogonial stem cell C18-4 by acting as a decoy for microRNA-19b-3p[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2017, 53(3): 277-284. DOI: 10.1007/s11626-016-0102-5.
- [15] Cai BJ, Zheng YP, Ma SS, et al. Long non-coding RNA regulates hair follicle stem cell proliferation and differentiation through PI3K/AKT signal pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5477-5483. DOI: 10.3892/mmr.2018.8546.
- [16] Cai BJ, Wang XX, Liu HT, et al. Up-regulated lncRNA5322 elevates MAPK1 to enhance proliferation of hair follicle stem cells as a ceRNA of microRNA-19b-3p[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(14): 1588-1600. DOI: 10.1080/15384101.2019.1624111.
- [17] Thomas AA, Feng B, Chakrabarti S. ANRIL regulates production of extracellular matrix proteins and vasoactive factors in diabetic complications[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2018, 314(3): E191-E200. DOI: 10.1152/ajpendo.00268.2017.
- [18] He ZY, Wei TH, Zhang PH, et al. Long noncoding RNA-antisense noncoding RNA in the INK4 locus accelerates wound healing in diabetes by promoting lymphangiogenesis via regulating miR-181a/Prox1 axis[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4627-4640. DOI: 10.1002/jcp.27260.
- [19] Kazenwadel J, Michael MZ, Harvey NL. Prox1 expression is negatively regulated by miR-181 in endothelial cells[J]. *Blood*, 2010, 116(13): 2395-2401. DOI: 10.1182/blood-2009-12-256297.
- [20] Frueh FS, Sanchez-Macedo N, Calcagni M, et al. The crucial role of vascularization and lymphangiogenesis in skin reconstruction [J]. *Eur Surg Res*, 2018, 59(3/4): 242-254. DOI: 10.1159/000492413.
- [21] Fan XM, Gao YY, Zhang XL, et al. A strategic expression method of miR-29b and its anti-fibrotic effect based on RNA-sequencing analysis[J]. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0244065. DOI: 10.1371/journal.pone.0244065.
- [22] Arseni L, Lombardi A, Orioli D. From structure to phenotype: impact of collagen alterations on human health[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): 1407. DOI: 10.3390/ijms19051407.
- [23] Guo L, Huang X, Liang PF, et al. Role of XIST/miR-29a/LIN28A pathway in denatured dermis and human skin fibroblasts (HSFs) after thermal injury[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(2): 1463-1474. DOI: 10.1002/jcb.26307.
- [24] Cao W, Feng YP. LncRNA XIST promotes extracellular matrix synthesis, proliferation and migration by targeting miR-29b-3p/COL1A1 in human skin fibroblasts after thermal injury[J]. *Biol Res*, 2019, 52(1): 52. DOI: 10.1186/s40659-019-0260-5.
- [25] Luo YL, Fang Z, Ling YP, et al. LncRNA-H19 acts as a ceRNA to regulate HE4 expression by sponging miR-140 in human umbilical vein endothelial cells under hyperglycemia with or without α -Mangostin[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109256. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109256.
- [26] Tao SC, Rui BY, Wang QY, et al. Extracellular vesicle-mimetic nanovesicles transport LncRNA-H19 as competing endogenous RNA for the treatment of diabetic wounds[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 241-255. DOI: 10.1080/10717544.2018.1425774.
- [27] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes[J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487-514. DOI: 10.1146/annurev-biochem-013118-111902.
- [28] Liang SC, Ren K, Li BY, et al. LncRNA SNHG1 alleviates hypoxia-reoxygenation-induced vascular endothelial cell injury as a competing endogenous RNA through the HIF-1 α /VEGF signal pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 465(1/2): 1-11. DOI: 10.1007/s11010-019-03662-0.
- [29] 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.
- [30] Zhang SC, Song GX, Yuan J, et al. Circular RNA circ_0003204 inhibits proliferation, migration and tube formation of endothelial cell in atherosclerosis via miR-370-3p/TGF β 2/phospho-SMAD3 axis[J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1): 11. DOI: 10.1186/s12929-019-0595-9.
- [31] Su Q, Lv XW. Revealing new landscape of cardiovascular disease through circular RNA-miRNA-mRNA axis[J]. *Genomics*, 2020,

- 112(2):1680-1685.DOI:10.1016/j.ygeno.2019.10.006.
- [32] Frydzińska Z, Owczarek A, Winiarska K. Sirtuins and their role in metabolism regulation[J]. *Postepy Biochem*, 2019, 65(1): 31-40. DOI:10.18388/pb.2019_254.
- [33] Xu J, Kitada M, Koya D. The impact of mitochondrial quality control by Sirtuins on the treatment of type 2 diabetes and diabetic kidney disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(6):165756. DOI:10.1016/j.bbdis.2020.165756.
- [34] Qiang L, Sample A, Liu H, et al. Epidermal SIRT1 regulates inflammation, cell migration, and wound healing[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):14110. DOI:10.1038/s41598-017-14371-3.
- [35] Yang J, Yang FJ, Wang YG, et al. LncRNA MIR497HG inhibits proliferation and migration of retinal endothelial cells under high-level glucose treatment via miRNA-128-3p/SIRT1 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(11): 5871-5877. DOI: 10.26355/eurrev_202006_21479.
- [36] Shi RF, Jin YP, Hu WW, et al. Exosomes derived from mmu_circ_0000250-modified adipose-derived mesenchymal stem cells promote wound healing in diabetic mice by inducing miR-128-3p/SIRT1-mediated autophagy[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(5): C848-C856. DOI: 10.1152/ajpcell.00041.2020.
- [37] Hillmer EJ, Zhang HY, Li HS, et al. STAT3 signaling in immunity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31: 1-15. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2016.05.001.
- [38] Song Q, Xie YX, Gou QH, et al. JAK/STAT3 and Smad3 activities are required for the wound healing properties of *Periplaneta americana* extracts[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(2): 465-473. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3040.
- [39] Du WJ, Pan ZW, Chen X, et al. By targeting Stat3 microRNA-17-5p promotes cardiomyocyte apoptosis in response to ischemia followed by reperfusion[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34(3):955-965. DOI:10.1159/000366312.
- [40] Yang ZG, Awan FM, Du WW, et al. The circular RNA Interacts with STAT3, increasing its nuclear translocation and wound repair by modulating dnmt3a and mir-17 function[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(9):2062-2074. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.05.022.
- [41] Simkin A, Geissler R, McIntyre ABR, et al. Evolutionary dynamics of microRNA target sites across vertebrate evolution[J]. *PLoS Genet*, 2020, 16(2):e1008285. DOI:10.1371/journal.pgen.1008285.
- [42] Zhou ZH, Shu B, Xu YB, et al. microRNA-203 modulates wound healing and scar formation via suppressing hes1 expression in epidermal stem cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6): 2333-2347. DOI:10.1159/000493834.
- [43] Yang RH, Liu FX, Wang JR, et al. Epidermal stem cells in wound healing and their clinical applications[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):229. DOI:10.1186/s13287-019-1312-z.
- [44] Tang Q, Ran H. MicroRNA-219-5p inhibits wound healing by targeting TMEM98 in keratinocytes under normoxia and hypoxia condition[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(19): 6205-6211. DOI:10.26355/eurrev_201810_16026.
- [45] Jacq C, Miller JR, Brownlee GG. A pseudogene structure in 5S DNA of *Xenopus laevis*[J]. *Cell*, 1977, 12(1): 109-120. DOI: 10.1016/0092-8674(77)90189-1.
- [46] Lou WY, Ding BS, Fu PF. Pseudogene-derived lncRNAs and their miRNA sponging mechanism in human cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:85. DOI:10.3389/fcell.2020.00085.
- [47] De Martino M, Forzati F, Marfella M, et al. HMGA1P7-pseudogene regulates H19 and Igf2 expression by a competitive endogenous RNA mechanism[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37622. DOI: 10.1038/srep37622.
- [48] Li WD, Zhou DM, Sun LL, et al. LncRNA WTAPP1 promotes migration and angiogenesis of endothelial progenitor cells via MMP1 through microRNA 3120 and Akt/PI3K/autophagy pathways [J]. *Stem Cells*, 2018, 36(12):1863-1874. DOI:10.1002/stem.2904.
- [49] Jere SW, Houreld NN, Abrahamse H. Role of the PI3K/AKT (mTOR and GSK3 β) signalling pathway and photobiomodulation in diabetic wound healing[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2019, 50:52-59. DOI:10.1016/j.cytogfr.2019.03.001.
- [50] Broderick JA, Zamore PD. Competitive endogenous RNAs cannot alter microRNA function in vivo[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(5): 711-713. DOI:10.1016/j.molcel.2014.05.023.
- [51] Vadlapudi AD, Vadlapatla RK, Kwatra D, et al. Targeted lipid based drug conjugates: a novel strategy for drug delivery[J]. *Int J Pharm*, 2012, 434(1/2): 315-324. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.05.033.
- [52] Biglino G, Caputo M, Rajakaruna C, et al. Modulating microRNAs in cardiac surgery patients: novel therapeutic opportunities? [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 170: 192-204. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.11.004.
- [53] Qiu H, Liu S, Wu KL, et al. Prospective application of exosomes derived from adipose-derived stem cells in skin wound healing: a review[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2020, 19(3):574-581. DOI:10.1111/jocd.13215.
- [54] Ti DD, Hao HJ, Fu XB, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomal microRNAs contribute to wound inflammation[J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59(12): 1305-1312. DOI: 10.1007/s11427-016-0240-4.

(收稿日期:2020-11-25)