

miR-21在骨关节炎中作用机制的研究进展

周绪昌 陈妍 华蔚中 倪国新*

(北京体育大学运动医学与康复学院, 北京 100084)

摘要 骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种好发于老年人的慢性退行性关节疾病。OA的发病机制复杂,目前尚无有效的治疗手段能够完全逆转OA的病程进展。随着老龄化社会的发展,OA患者逐渐增多,给患者家庭和社会带来的经济压力越来越大。因此,深入阐明OA的发病机制,找到有效的早期分子诊断标志物或潜在的治疗靶点意义重大。miRNA(microRNA)是近几年研究较多的一种非编码RNA。大量研究显示,miR-21在OA软骨降解和关节疼痛的发生中均发挥重要作用。因此,该文通过综述miR-21与OA的相关文献,探究lncRNA、MMPs、GDF-5、FGF和TLR7等分子在miR-21调控OA的过程中可能起到的关键作用,总结miR-21对OA的具体调控机制,以期对OA早期分子诊断标志物和潜在治疗靶点的相关研究提供方向和依据。

关键词 miR-21; 骨关节炎; 软骨细胞; 滑膜细胞

Research Progress on the Mechanism of miR-21 in Osteoarthritis

ZHOU Xuchang, CHEN Yan, HUA Weizhong, NI Guoxin*

(School of Sport Medicine and Rehabilitation, Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

Abstract OA (osteoarthritis) is a chronic degenerative joint disease that occurs in the elderly. There is no effective treatment that can completely reverse the progression of OA due to its complicated pathogenesis. With the aging of the population, the number of OA patients has gradually increased, bringing a heavy economic burden to their family and society. Therefore, it is of great significance to clarify the pathogenesis of OA in depth and find effective early molecular diagnostic markers or potential therapeutic targets. miRNA (microRNA) is a non-coding RNA that has been studied in recent years. A large number of studies have shown that miR-21 plays an important role in both OA cartilage degradation and joint pain. In this article, by consulting the related literatures of miR-21 and OA, the roles of lncRNA, MMPs, GDF-5, FGF and TLR7 in the process of miR-21 regulating OA were explored, and the specific regulation mechanisms of miR-21 on OA were summarized, so as to provide a basis for exploring early molecular diagnostic markers and potential therapeutic targets of OA.

Keywords miR-21; osteoarthritis; chondrocyte; synovocyte

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种受异常的机械应力、关节创伤、性别、年龄、肥胖和遗传等多因素影响,以滑膜炎、软骨退变、骨赘生成、血管侵袭以及软骨下骨重塑等为特征的慢性退行性关节疾病^[1]。OA患者通常会出现关节疼痛、僵硬和功

能障碍等临床症状。晚期OA可引起关节畸形,甚至可能导致患者残疾。随着全球人口老龄化加快,OA这一最常见的关节炎类型正逐渐成为严重的个人健康问题,也给整个社会卫生系统也带来巨大的经济负担。然而,目前OA的临床治疗主要以缓解患者关

收稿日期: 2022-01-04 接受日期: 2022-02-11

国家自然科学基金(批准号: 81871848)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-62989780, E-mail: niguoxin@bsu.edu.cn

Received: January 4, 2022

Accepted: February 11, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81871848)

*Corresponding author. Tel: +86-10-62989780, E-mail: niguoxin@bsu.edu.cn

节疼痛和改善功能障碍为主,尚无有效的治疗方法能够完全逆转该疾病的进程^[2]。此外,目前OA的诊断主要基于磁共振成像和临床症状(如患者疼痛程度和关节功能障碍等)。然而,上述诊断方法缺乏一定的敏感性,有必要根据OA发生早期的病理变化找到特异性较强的分子标记物用于早期诊断,从而精准识别有进展性OA风险的患者,实现早发现、早干预的疾病治疗目标^[3]。因此,需要进一步深入探究OA的发病机制,找到新的早期诊断分子标志物,而新的分子标志物也可能成为有效缓解甚至逆转OA病变的关键治疗靶点。

miRNA(microRNA)由单链非编码小RNA分子组成,在调节生命的各种生理和病理过程(例如细胞的增殖和分化以及血管的生长和侵袭等)中具有关键作用^[4]。近年来,大量研究报道miRNA能够广泛参与OA的发生和发展过程,调控软骨细胞增殖和凋亡、软骨基质重塑以及滑膜炎症等生理病理进程^[5-7]。研究表明miRNA在OA中异常表达,可能与炎症反应和软骨代谢调节有关^[8]。因此,miRNA被认为很有可能作为一种重要的分子标记物用于OA早期诊断,甚至作为一种关键的调控因子用于靶向治疗OA^[9]。有研究报道,具有调控软骨细胞代谢作用的miRNA是miR-21^[10]。该研究显示,过表达miR-21能够显著促进3D培养的软骨细胞的增殖和细胞外基质的合成^[10]。由此推测,miR-21可能参与OA软骨细胞代谢过程。随后,有研究发现白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)诱导的软骨细胞中miR-21-5p的水平显著低于正常软骨细胞^[11]。更重要的是,miR-21-5p表达水平与软骨退变程度呈负相关^[11]。进一步研究表明,在OA软骨细胞中过表达miR-21-5p后,OA软骨细胞的增殖能力显著增强,同时软骨细胞外基质的重塑得到部分逆转^[11]。然而,与之相矛盾的是,在体动物模型中,WANG等^[12]发现条件性敲除软骨中的miR-21-5p能够缓解和抑制自发性手术诱导的OA小鼠病理变化。此外,另有研究显示OA患者软骨组织中的miR-21表达量增加,过表达miR-21可能会促进OA的发生发展^[5-6]。综上所述,部分离体实验研究显示IL-1 β 诱导的软骨细胞中miR-21表达量下降,过表达miR-21能够有效缓解OA样的软骨细胞病变。而在体实验^[12]和临床样本研究^[5-6]显示,OA小鼠和OA患者软骨组织中miR-21表达量上升,敲除miR-21能够显著缓解自发性手术诱导的OA小鼠软骨损伤。造成上述矛盾结果的部分可能原因是离

体实验具有一定的局限性,不能完全替代在体实验,且不同来源的软骨细胞也可能存在一定的表达差异。此外,无论是在体实验还是离体实验,不同的OA模型对应的发病机制不一样,也有可能是因为miR-21在不同的病理模型中的表达水平存在差异,或者在OA的不同时期可能存在差异表达,然而上述猜想都需要进一步的研究来证实。尽管miR-21在OA中的具体调控作用存在争议,但miR-21在OA的发生发展过程中发挥重要的作用,并有可能是诊断和治疗OA的潜在分子靶点。因此,本文通过综述近年来有关miR-21调控OA的研究文献,总结miR-21调控OA的可能机制,以期对OA的早期诊断和治疗靶点相关研究提供理论依据和参考。

1 miR-21概述

miRNA是一种广泛存在于真核生物中,由内源基因编码的长度约为22个核苷酸的单链非编码RNA分子。miRNA可以与特定靶标mRNA的3'非翻译区中的互补核苷酸序列配对,通过竞争性结合抑制翻译或降解作用,从而在转录后水平负调控靶基因的表达^[13]。一种miRNA可以与多种mRNA结合,一种mRNA也可以结合多种miRNA,mRNA和miRNA的相互结合形成复杂的基因调控网络,且这种复杂的基因调控网络在多种生理和病理过程中起着至关重要的作用。大量研究报道,miRNA具有调节软骨细胞凋亡和增殖、细胞外基质代谢以及炎症反应等多种生物学功能,从而参与调控OA病变过程。目前已发表的有关miRNA调控OA的文献报道,有16种miRNA能够抑制OA,14种miRNA能够促进OA^[14]。其中,最早被报道具有OA调控作用的是miR-21^[10]。miR-21也是在人类细胞中最早被发现的miRNA之一,因其在肿瘤进展和转移中的重要性而备受关注。胶质母细胞瘤细胞中miR-21的沉默可导致体外细胞增殖的抑制,并可减少体内肿瘤的形成^[15]。miR-21-5p通过抑制第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)并随后上调低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平诱导肿瘤血管生成^[16]。此外,miR-21-5p还通过PTEN/Akt信号通路在心肌细胞凋亡中发挥保护作用^[17]。因此,miR-21很有可

能成为新的潜在疾病治疗靶点。

2 miR-21通过靶向lncRNA调控OA

长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)是一种长度超过200个核苷酸的非蛋白质编码的RNA转录本。lncRNA可以参与多种分子和细胞功能的调节,例如调控细胞周期和基因转录等^[18]。迄今为止,已在人类基因组中鉴定出5 446个lncRNA基因。大量证据表明,lncRNA与miRNA之间存在负调控作用,即lncRNA能够通过竞争性结合miRNA,减少miRNA与下游靶基因的结合,从而增加miRNA下游基因的转录和表达^[14]。lncRNA GAS5是哺乳动物细胞生长、分化和发育过程中的关键控制元件^[19],能够调控细胞存活,充当肿瘤抑制因子在肿瘤(例如乳腺癌^[20]和白血病^[21]等)抑制中发挥重要作用。ZHANG等^[22]观察到乳腺肿瘤组织中lncRNA GAS5表达下调,同时miR-21表达上调。并且lncRNA GAS5和miR-21表达在几种乳腺癌细胞系中均呈现显著的负相关。在OA的相关研究中,有学者发现与正常的人软骨细胞相比,OA患者来源的软骨细胞中lncRNA GAS5表达显著上调,而miR-21表达下调。过表达lncRNA GAS5后发现,lncRNA GAS5能够作为miR-21的负调节因子,通过下调miR-21的表达促进软骨细胞凋亡。此外,Beclin-1、Atg7和LC3B等细胞自噬相关蛋白表达下降,表明软骨细胞自噬受到抑制^[23]。随后,LIU等^[24]在HCS-2/8细胞系中对lncRNA GAS5和miR-21的相互抑制关系进行了进一步验证。该实验分别对lncRNA GAS5和miR-21进行敲低和过表达,发现两者之间存在显著的负调控关系。敲除lncRNA GAS5或过表达miR-21能够显著促进细胞增殖,抑制细胞凋亡。此外,有学者通过改良Hulth法构建OA动物模型发现,大鼠OA模型中,lncRNA GAS5表达量升高,而miR-21表达量降低。中药汤剂独活寄生汤可能通过调控lncRNA GAS5/miR-21,延缓大鼠软骨基质降解,起到治疗OA的作用^[25]。上述多个研究结果分别从细胞和动物层面证实了在OA中lncRNA GAS5和miR-21之间的靶向调控关系,lncRNA GAS5能够通过直接靶向负调控miR-21抑制软骨细胞增殖,促进软骨基质降解,从而加重OA。表明敲除lncRNA GAS5或过表达miR-21可能是OA的一种潜在而有效的治疗手段。除了lncRNA GAS5以外,lncRNA MEG3也能够直接靶向调控miR-21^[26]。研究显示,lncRNA MEG3可以通过直接靶向miR-21,抑制IL-1 β 诱导的软骨细胞炎症

反应和氧化应激,从而参与调控OA^[27]。

综上所述,lncRNA GAS5和lncRNA MEG3均能通过直接靶向结合miR-21,充当竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)减少miR-21与下游靶基因的互补配对,起到负调控miR-21的作用,从而调控软骨代谢和炎症反应,影响OA的发生发展。值得注意的是,根据miRNA的作用特点,miR-21必然还能够和其他lncRNA相互作用,调控下游靶mRNA的表达。未来还需更多更进一步的研究阐明lncRNA和miR-21及其下游mRNA的网状调控关系,以有效推动OA病理机制的研究进程。

3 miR-21通过MMPs调控OA

关节软骨基质主要由II型胶原(collagen type II, COL-II)和蛋白多糖组成。软骨基质代谢平衡的破坏将导致OA的发生,OA早期的软骨基质降解是可逆的,但是中晚期OA软骨基质的进一步降解则会导致不可逆的软骨损伤^[28]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一种锌依赖性内肽酶家族,几乎可以降解软骨基质中的所有成分,在OA的发生发展中发挥着至关重要的作用。其中,MMP-13是导致OA软骨降解的最主要的蛋白酶,能够双重降解基质中的胶原蛋白和蛋白多糖。MMP-2、MMP-3和MMP-9等其他蛋白酶则主要负责降解软骨中的非胶原基质成分^[29]。以往研究证明miR-21能够通过MMPs调控多种疾病的发生发展。例如miR-21可以通过激活MMP-2和MMP-9信号,促进动脉瘤细胞的增殖和迁移^[30]。在脑缺血^[31]和肾纤维化^[32]动物模型中,miR-21的表达均与MMP-9密切相关。在OA病变中,ZHANG等^[5]发现,当过表达miR-21时,软骨细胞中MMP1、MMP2、MMP3和MMP9的水平显著增加,而在miR-21抑制剂组中上述分解代谢因子的表达水平相应降低。这表明miR-21可能通过调控软骨细胞中多种MMPs的表达而参与OA病变。此外,在OA软骨细胞中,miR-21和MMP-13之间也存在相互作用。在IL-1 β 的诱导下,软骨细胞中MMP-13和miR-21的表达呈正相关^[33]。敲除miR-21能够通过MMP-13促进细胞外基质产生从而对软骨细胞起到保护作用,表明MMP-13并不是OA软骨细胞中miR-21的直接靶标^[6,23]。然而,MMPs的两种主要抑制剂——伴有kazal基序富含半胱氨酸的逆转诱导蛋白(reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal

motifs, RECK)和组织金属蛋白酶抑制因子3(tissue inhibitor of metalloproteinase 3, TIMP3), 已被发现是神经胶质瘤细胞中 miR-21 的靶标^[34]。这提示 miR-21 可能通过靶向 MMP-13 的抑制调节因子间接调控软骨细胞中 MMP-13 的表达, 从而影响 OA 的发生和发展。

综上所述, miR-21 可能通过调控多种关键软骨分解代谢因子 MMPs 参与 OA 软骨基质降解过程。尽管 miR-21 并不是直接靶向 MMPs 调控软骨代谢, 但是 miR-21 很有可能通过靶向 RECK 和 TIMP3 这两种 MMPs 抑制剂从而间接调控 MMPs, 参与 OA 病程进展。未来还需要进一步的研究证实 miR-21 在软骨代谢中的具体调控作用。

4 miR-21通过靶向GDF-5调控OA

软骨形成是软骨细胞聚集、增殖和分化的结果。软骨形成过程失调最终会导致 OA 的发生^[35]。生长分化因子-5(growth differentiation factor-5, GDF-5)又称软骨源性形态发生蛋白-5, 与骨形态发生蛋白家族密切相关, 是转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族的成员。GDF-5 作为软骨形成的关键信号分子起到促进软骨细胞分化的作用, 过表达 GDF-5 能够促进软骨细胞生长和软骨分化^[36]。GDF-5 的 5' 非编码区的功能多态性与 OA 的易感性直接相关^[37]。研究显示, GDF-5 突变可导致软骨骨骺发育不良, 其主要特征是出现短肢畸形, 并且 GDF-5 突变与髌关节和手关节早发性 OA 密切相关^[38]。ZHANG 等^[5]通过使用 TargetScan6.2 进行生物信息学分析预测发现, GDF-5 可能是 miR-21 下游的直接靶标。过表达 miR-21 可以延缓软骨形成过程, 使得 COL-II、COL-X 和 Aggrecan 等软骨形成标记物表达水平下降。随后的荧光素酶活性测定和蛋白质免疫印迹分析证实, miR-21 通过诱导 GDF-5 mRNA 的降解衰减来抑制靶基因 GDF-5 表达。该实验进一步表明, 作为软骨形成过程关键调节剂的 GDF-5 在人 OA 软骨组织中表达下调, 与 miR-21 的表达呈负相关^[5]。上述研究结果表明, miR-21 能够通过靶向抑制 GDF-5 促进 OA 的发生和发展。另有一项关于颞下颌关节炎的研究显示, 抑制 GDF-5 能够显著增加软骨中 MMPs 的表达水平并加速软骨基质降解, 而过表达 GDF-5 导致相反的变化, 表明 GDF-5 可能通过调节 MMPs 的表达来影响软骨基质稳态。作为 GDF-5 的上游负调节剂, 外源性添加 miR-21 的模拟物能够显著抑制软骨细胞中 GDF-5 的表达并促进 OA 相

关基因的表达, 而敲除 miR-21 可以通过上调 GDF-5 改善小鼠颞下颌关节炎的病理改变^[6]。此外, 最近一项实验将炎症刺激活化的滑膜成纤维细胞和正常软骨细胞共培养后发现, 软骨细胞凋亡增加, 同时 GDF-5 和 SOX5 等软骨形成相关因子表达量降低, 核转录因子- κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)和 IL-6 等炎症因子以及 miR-21 表达量升高^[39]。使用 NF- κ B 的小分子抑制剂 SC75741 处理软骨细胞后, miR-21 表达量下降, 而其靶基因 GDF-5 的表达量升高, 同时 NF- κ B 和 IL-6 等炎症因子和分解代谢酶 MMP-9 表达量下降^[39]。这表明 NF- κ B 可能通过 miR-21/GDF-5 介导软骨基质降解。众所周知, 在早期 OA 中, 滑膜炎通过释放 IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等促炎细胞因子, 激活软骨细胞中的 MMPs, 从而促进软骨基质降解^[40]。上述实验从滑膜细胞和软骨细胞之间的生物化学分子串扰的角度出发, 揭示了 NF- κ B/miR-21/GDF-5 信号轴可能参与介导滑膜炎导致的软骨基质降解的过程。

综上所述, 与软骨分化密切相关的 GDF-5 能够与 miR-21 直接结合后被降解, 从而在 OA 软骨组织中表达下调。即 miR-21 能够通过直接靶向抑制 GDF-5 的表达, 激活分解代谢蛋白酶 MMPs 从而促进软骨基质降解, 导致关节软骨退变。因此, 靶向抑制 miR-21 或者过表达 GDF-5 均有可能成为减轻软骨退变, 减缓 OA 病变进程的有效手段和方法。未来尚需进一步的研究来阐明上述分子作为 OA 前瞻性指标和治疗靶点的可能性。

5 miR-21通过靶向FGF调控OA

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)能够通过调节软骨细胞、滑膜细胞和成骨细胞等的增殖分化和稳态, 维持关节的正常生理功能。FGF 信号转导异常会导致发育期小鼠软骨发育不良, 成年期小鼠 FGF 信号转导异常则会出现 OA^[41]。FGF18 是一种重要的软骨合成代谢生长因子。正常生理状态下, FGF18 在小鼠关节软骨的表层区域高表达, 它能够通过上调 TIMP1 的表达, 抑制软骨中糖胺聚糖的释放和消耗, 被认为是保护关节软骨、防止软骨退化的关键因子^[42]。最近研究发现, OA 患者的临床样本中 FGF18 表达量降低, 而 miR-21-5p 的表达量升高。生物信息学分析和荧光素酶报告实验显示, FGF18 是 miR-21-5p 的直接靶基因。随后的离体实验功能验证结果表明, 过表达 FGF18 能够部分逆转

被miR-21-5p模拟物抑制的COL-II和蛋白聚糖的表达,从而促进关节软骨的合成代谢。同时,miR-21-5p模拟物也可以部分逆转被FGF18过表达抑制的MMP13和ADAMTS-5(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-5)表达,从而促进关节软骨的分解代谢^[12]。值得注意的是,该实验还通过临床样本研究发现FGF18表达水平与miR-21-5p水平和改良的Mankin评分均呈负相关^[12]。上述研究结果充分证明了miR-21-5p能够通过靶向负调控*FGF18*的表达促进软骨基质降解,从而加重OA病变程度,并且FGF18和miR-21-5p均有可能作为OA临床诊断的分子标志物。与FGF18保护关节软骨的作用相反,FGF1在软骨细胞中主要起到促进分解代谢的作用,因此可能是一种破坏软骨的分子。研究显示,在OA早期阶段,血清FGF1浓度与膝关节OA的放射学表型呈显著正相关^[43]。此外,FGF1可以在胶原酶注射诱导的OA大鼠模型的关节软骨中高表达,使用FGF1处理能够刺激人软骨细胞系中MMP13的表达并抑制COL-II和蛋白聚糖的表达^[44]。LIU等^[24]通过双荧光素酶报告研究发现,*FGF1*是miR-21的靶基因。*FGF1*与miR-21存在负调控关系,敲除miR-21以后,人软骨肉瘤细胞系中FGF1的表达显著上调,生长板软骨细胞凋亡受到抑制,同时软骨细胞增殖活性增加^[24]。该研究显示miR-21能够通过直接靶向*FGF1*而调节软骨形成和发育。

综上所述,*FGF1*和*FGF18*均是miR-21的直接靶基因。OA发生时,miR-21高表达,而具有软骨保护作用的FGF18呈现低表达,因此过表达FGF18或者抑制miR-21的表达均能够抑制软骨分解代谢,从而缓解软骨退变。尽管在软骨肉瘤细胞系中*FGF1*是miR-21的靶基因,miR-21/FGF1在软骨形成的调控中发挥重要作用,但是OA软骨中*FGF1*和miR-21之间的直接负调控关系还未被证明。实际上,已有实验表明,OA软骨中miR-21和具有软骨破坏作用的FGF1均呈现高表达^[45],提示在OA中,miR-21和*FGF1*可能并不是简单的直接靶向调控关系,也正是这种复杂的调节网络维持了关节软骨的稳态,并且在OA早期能够通过代偿机制维持关节的正常功能。

6 miR-21通过靶向TLR7调控OA

OA患者疼痛的发生率非常高,从7%到19%不等。即使关节放射学改变没有加重,患者关节疼痛也可能加剧。但是如果能够缓解患者疼痛,即使放射

学特征没有改善,患者的痛苦也能大大减轻^[46]。目前认为OA的疼痛主要与骨髓病变、软骨下骨血管侵袭和滑膜炎症反应等密切相关^[47]。Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)是炎症和自身免疫的关键调节因子。研究显示,富含GU的miR-21能够激活内源性TLR7表达,在银屑病性关节炎中发挥关键调控作用^[48]。此外,TLR7似乎也参与介导OA患者滑膜炎症相关的疼痛机制。TLR7在巨噬细胞样和成纤维细胞样滑膜细胞以及支配膝关节的初级感觉神经元中表达。TLR7的激活能够通过诱导伤害性感觉神经元外周末端的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号激活,参与伤害性感觉神经元的蛋白质翻译后修饰,从而诱导疼痛的产生^[49]。HOSHIKAWA等^[50]发现,OA大鼠滑膜组织中上调最显著的miR-21能够通过诱导激活TLR7,上调IL-1 β 和IL-6等炎症因子,活化伤害性感觉神经元使其变得敏感,从而诱导关节疼痛。这种miR-21诱导的OA大鼠膝关节疼痛能够被TLR7拮抗剂所阻断,并且关节内注射缺乏能够被TLR7识别的GUUG序列的突变miR-21未能诱导膝关节疼痛,进一步表明TLR7参与了miR-21诱导的OA关节疼痛。此外,有研究报道,关节腔注射antagomiR-21可以减轻OA小鼠软骨退变^[12]。单次关节内注射修饰过的miR-21抑制剂或TLR7拮抗剂还能够对手术诱导的OA模型大鼠产生长时间的镇痛作用^[50]。上述研究结果显示,TLR7和miR-21很有可能作为OA疼痛治疗的潜在有效靶点。另有研究显示,miR-21-5p还可以通过直接靶向抑制*Spry1*上调颞下颌关节软骨中VEGF的表达,从而促进OA血管生成^[33]。这可能提示了miR-21导致OA疼痛的另外一种机制。即OA软骨下骨重塑导致骨髓腔中的血管突破软骨下骨板向软骨潮线侵袭,这种血管侵袭通常存在感觉和交感神经的伴行,同时血管中疼痛相关的神经生长因子表达上升,从而导致OA患者疼痛发生^[51]。

综上所述,富含GU的miR-21可能通过激活伤害性感觉神经元中TLR7的表达,使得支配膝关节的初级感觉神经元变得敏感,从而导致OA患者关节异常性疼痛的发生。向关节腔直接注射miR-21抑制剂可能是缓解OA患者关节疼痛的潜在治疗手段。

7 小结与展望

miR-21在OA软骨中高表达,可能是OA临床药物治疗的有效靶点。miR-21能够广泛参与调控软骨

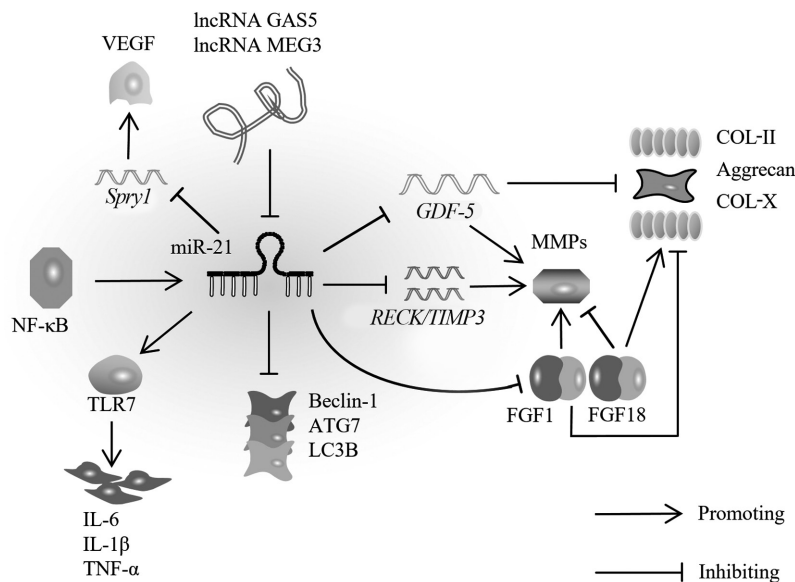


图1 miR-21参与调控骨关节炎的机制示意图

Fig.1 The schematic diagram of miR-21 regulating osteoarthritis

分化、软骨代谢、炎症反应、血管生成和关节疼痛等过程,从而促进OA的发生发展。miR-21调控OA的具体机制复杂,可能与lncRNA、MMPs、GDF-5、FGF和TLR7等关键分子的表达变化密切相关(图1)。抑制miR-21的表达可能有效缓解OA患者的临床症状甚至部分逆转OA的疾病病程。未来还需要进一步的研究探索靶向miR-21治疗OA的可能性。

由于miRNA能够同时直接靶向多个甚至数十个靶基因,这也意味着miRNA疗法可能引发一系列难以预测的后果,从而引起其他功能障碍甚至疾病的发生,这种多靶靶的不可预测性可能是miR-21被真正用于治疗OA最大的研究障碍。近年来研究较为热门的靶向给药可以将药物输送到特定病变部位,避免与健康组织发生不必要的相互作用,能够在一定程度上解决上述问题^[52]。此外,由于miRNA不稳定,需要进行适当的修饰或者找到合适的载体解决可能出现的脱靶效应。值得一提的是,近年来间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)衍生的外泌体(外泌体中包含大量蛋白质、脂质以及miRNA等生物活性分子)在组织修复和再生医学中表现出独特的优势。有研究显示, MSC衍生的外泌体能够参与介导软骨组织修复,从而缓解OA进程^[52]。然而MSC衍生的外泌体在OA中的研究目前仍然处于起步阶段。内含miRNA等生物分子的外泌体能否用于OA的临床治疗,未来仍需要进一步的研究探索。综

上所述,尽管miR-21表现出较大的OA治疗潜力,但是miR-21作为靶点用于OA临床治疗的应用研究尚有许多问题有待克服。

参考文献 (References)

- [1] ZHOU X, CAO H, YUAN Y, et al. Biochemical signals mediate the crosstalk between cartilage and bone in osteoarthritis [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 5720360.
- [2] GOLDRING M B, BERENBAUM F. Emerging targets in osteoarthritis therapy [J]. Curr Opin Pharmacol, 2015, 22: 51-63.
- [3] ATTUR M, KRASNOKUTSKY-SAMUELS S, SAMUELS J, et al. Prognostic biomarkers in osteoarthritis [J]. Curr Opin Rheumatol, 2013, 25(1): 136-44.
- [4] MIYAKI S, ASAHARA H. Macro view of microRNA function in osteoarthritis [J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(9): 543-52.
- [5] ZHANG Y, JIA J, YANG S, et al. MicroRNA-21 controls the development of osteoarthritis by targeting GDF-5 in chondrocytes [J]. Exp Mol Med, 2014, 46(2): e79.
- [6] ZHANG A, MA S, YUAN L, et al. Knockout of miR-21-5p alleviates cartilage matrix degradation by targeting GDF5 in temporomandibular joint osteoarthritis [J]. Bone Joint Res, 2020, 9(10): 689-700.
- [7] FENG X, LU J, WU Y, et al. MiR-18a-3p improves cartilage matrix remodeling and inhibits inflammation in osteoarthritis by suppressing PDP1 [J]. J Physiol Sci, 2022, 72(1): 3.
- [8] SONG J, LEE M, KIM D, et al. MicroRNA-181b regulates articular chondrocytes differentiation and cartilage integrity [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 431(2): 210-4.
- [9] OLIVIERO A, DELLA PORTA G, PERETTI G M, et al. MicroRNA in osteoarthritis: physiopathology, diagnosis and therapeutic challenge [J]. Br Med Bull, 2019, 130(1): 137-47.
- [10] KONGCHAROENSOMBAT W, NAKASA T, ISHIKAWA M, et

- al. The effect of microRNA-21 on proliferation and matrix synthesis of chondrocytes embedded in atelocollagen gel [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2010, 18(12): 1679-84.
- [11] ZHU H, YAN X, ZHANG M, et al. miR-21-5p protects IL-1 β -induced human chondrocytes from degradation [J]. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14(1): 118.
- [12] WANG X B, ZHAO F C, YI L H, et al. MicroRNA-21-5p as a novel therapeutic target for osteoarthritis [J]. *Rheumatology*, 2019, doi: 10.1093/rheumatology/kez102.
- [13] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-97.
- [14] XIE F, LIU Y L, CHEN X Y, et al. Role of microRNA, lncRNA, and exosomes in the progression of osteoarthritis: a review of recent literature [J]. *Orthop Surg*, 2020, 12(3): 708-16.
- [15] YANG C H, YUE J, PFEFFER S R, et al. MicroRNA-21 promotes glioblastoma tumorigenesis by down-regulating insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP3) [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(36): 25079-87.
- [16] LIU L Z, LI C, CHEN Q, et al. MiR-21 induced angiogenesis through AKT and ERK activation and HIF-1 α expression [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19139.
- [17] TU Y, WAN L, FAN Y, et al. Ischemic postconditioning-mediated miRNA-21 protects against cardiac ischemia/reperfusion injury via PTEN/Akt pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e75872.
- [18] ZHOU X, CAO H, WANG M, et al. Moderate-intensity treadmill running relieves motion-induced post-traumatic osteoarthritis mice by up-regulating the expression of lncRNA H19 [J]. *Biomed Eng Online*, 2021, 20(1): 111.
- [19] COCCIA E M, CICALA C, CHARLESWORTH A, et al. Regulation and expression of a growth arrest-specific gene (GAS5) during growth, differentiation, and development [J]. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(8): 3514-21.
- [20] FILIPPOVA E A, FRIDMAN M V, BURDENYYA M, et al. Long noncoding RNA GAS5 in breast cancer: epigenetic mechanisms and biological functions [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6810.
- [21] KETAB F N G, GHARESOURAN J, GHAFOURI-FARD S, et al. Dual biomarkers long non-coding RNA GAS5 and its target, NR3C1, contribute to acute myeloid leukemia [J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 114: 104399.
- [22] ZHANG Z, ZHU Z, WATABE K, et al. Negative regulation of lncRNA GAS5 by miR-21 [J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(11): 1558-68.
- [23] SONG J, AHN C, CHUN C H, et al. A long non-coding RNA, GAS5, plays a critical role in the regulation of miR-21 during osteoarthritis [J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(12): 1628-35.
- [24] LIU X, SHE Y, WU H, et al. Long non-coding RNA Gas5 regulates proliferation and apoptosis in HCS-2/8 cells and growth plate chondrocytes by controlling FGF1 expression via miR-21 regulation [J]. *J Biomed Sci*, 2018, 25(1): 18.
- [25] 郑若曦, 陈俊, 叶锦霞, 等. 基于lncRNA GAS5/miR-21调控软骨基质代谢探讨独活寄生汤干预大鼠膝关节关节炎的作用机制 [J]. *福建中医药 (ZHENG R X, CHEN J, YE J X, et al. Mechanism of *duhuo jisheng decoction* in treating rats with knee osteoarthritis based on lncRNA GAS5/miR-21 regulating metabolism of cartilage extracellular matrix [J]. *Fujian Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 52(1): 46-9.*
- [26] ZHU M, WANG X, GU Y, et al. MEG3 overexpression inhibits the tumorigenesis of breast cancer by downregulating miR-21 through the PI3K/Akt pathway [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 661: 22-30.
- [27] 丁童, 周彦鹏, 冯立平. 长链非编码RNA MEG3靶向下调miR-21对IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡及炎症反应的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志 (DING T, ZHOU Y P, FENG L P. The effects of long non-coding RNA MEG3 on IL-1 β -induced cell apoptosis and inflammatory response of chondrocytes by targeting miR-21 [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2020, 26(4): 515-23.*
- [28] LI N G, SHI Z H, TANG Y P, et al. New hope for the treatment of osteoarthritis through selective inhibition of MMP-13 [J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(7): 977-1001.
- [29] MEHANA E E, KHAFAGA A F, EL-BLEHI S S. The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: an updated review [J]. *Life Sci*, 2019, 234: 116786.
- [30] LI K, CUI M Z, ZHANG K W, et al. Effect of miR-21 on rat thoracic aortic aneurysm model by regulating the expressions of MMP-2 and MMP-9 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(2): 878-84.
- [31] DENG X, ZHONG Y, GU L, et al. MiR-21 involve in ERK-mediated upregulation of MMP9 in the rat hippocampus following cerebral ischemia [J]. *Brain Res Bull*, 2013, 94: 56-62.
- [32] WANG J, GAO Y, MA M, et al. Effect of miR-21 on renal fibrosis by regulating MMP-9 and TIMP1 in kk-ay diabetic nephropathy mice [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2013, 67(2): 537-46.
- [33] MA S, ZHANG A, LI X, et al. MiR-21-5p regulates extracellular matrix degradation and angiogenesis in TMJOA by targeting Spry1 [J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22(1): 99.
- [34] GABRIELY G, WURDINGER T, KESARI S, et al. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(17): 5369-80.
- [35] GOLDRING M B. Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis [J]. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2012, 4(4): 269-85.
- [36] FRANCIS-WEST P H, ABDELFATTAH A, CHEN P, et al. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development [J]. *Development*, 1999, 126(6): 1305-15.
- [37] MIYAMOTO Y, MABUCHI A, SHI D, et al. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(4): 529-33.
- [38] LOUGHLIN J. Genetic indicators and susceptibility to osteoarthritis [J]. *Br J Sports Med*, 2011, 45(4): 278-82.
- [39] WENG P W, YADAV V K, PIKATAN N W, et al. Novel NF κ B inhibitor SC75741 mitigates chondrocyte degradation and prevents activated fibroblast transformation by modulating miR-21/GDF-5/SOX5 signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 11082.
- [40] SELLAM J, BERENBAUM F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2010, 6(11): 625-35.
- [41] ELLMAN M B, YAN D, AHMADINIA K, et al. Fibroblast growth factor control of cartilage homeostasis [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(4): 735-42.
- [42] MORI Y, SAITO T, CHANG S H, et al. Identification of fibroblast growth factor-18 as a molecule to protect adult articular cartilage by gene expression profiling [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(14): 10192-200.
- [43] KISAND K, TAMM A E, LINTROP M, et al. New insights into

- the natural course of knee osteoarthritis: early regulation of cytokines and growth factors, with emphasis on sex-dependent angiogenesis and tissue remodeling. A pilot study [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, 26(8): 1045-54.
- [44] EL-SEOUDI A, ABD EL KADER T, NISHIDA T, et al. Catabolic effects of FGF-1 on chondrocytes and its possible role in osteoarthritis [J]. *J Cell Commun Signal*, 2017, 11(3): 255-63.
- [45] XIE Y, ZINKLE A, CHEN L, et al. Fibroblast growth factor signalling in osteoarthritis and cartilage repair [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(10): 547-64.
- [46] NEOGI T. The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(9): 1145-53.
- [47] O'NEILL T W, FELSON D T. Mechanisms of osteoarthritis (OA) pain [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2018, 16(5): 611-6.
- [48] VAN RAEMDONCK K, UMAR S, PALASIEWICZ K, et al. TLR7 endogenous ligands remodel glycolytic macrophages and trigger skin-to-joint crosstalk in psoriatic arthritis [J]. *Eur J Immunol*, 2021, 51(3): 714-20.
- [49] GOLD M S, GEBHART G F. Nociceptor sensitization in pain pathogenesis [J]. *Nat Med*, 2010, 16(11): 1248-57.
- [50] HOSHIKAWA N, SAKAI A, TAKAI S, et al. Targeting extracellular miR-21-TLR7 signaling provides long-lasting analgesia in osteoarthritis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19: 199-207.
- [51] PECCHI E, PRIAM S, GOSSET M, et al. Induction of nerve growth factor expression and release by mechanical and inflammatory stimuli in chondrocytes: possible involvement in osteoarthritis pain [J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(1): R16.
- [52] ZHANG S, CHENG Z, WANG Y, et al. The risks of miRNA therapeutics: in a drug target perspective [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 721-33.
- [53] BAO C, HE C. The role and therapeutic potential of MSC-derived exosomes in osteoarthritis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 710: 109002.