

MicroRNAs在糖尿病慢性创面中的研究进展*

方怡轩, 陈利鸿, 李 艳, 冉兴无[△]

四川大学华西医院 内分泌代谢科 糖尿病足诊治中心 创面修复创新中心(成都 610041)

【摘要】 糖尿病慢性创面是糖尿病患者最严重的慢性并发症之一, 由于其长期难以愈合, 给糖尿病患者、家庭及社会带来了巨大的经济和社会负担。MicroRNAs(miRNAs)在各种生理病理情况下发挥重要作用, 糖尿病慢性创面出现miRNAs的调节异常, 调节糖尿病创面miRNAs的表达是改善创面愈合的重要途径之一, 基于miRNAs治疗的临床转化可能成为糖尿病创面愈合的方向, 但目前基于miRNAs的治疗仍然处于起步阶段, 需要较长的时间才能转化为临床应用。本文就目前miRNAs在糖尿病慢性创面中的研究进展进行综述。

【关键词】 MicroRNAs 糖尿病 创面愈合

Latest Findings on MicroRNAs in Diabetic Chronic Wounds FANG Yi-xuan, CHEN Li-hong, LI Yan, RAN Xing-wu[△].
Innovation Center for Wound Repair, Diabetic Foot Care Center, Department of Endocrinology and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: ranxingwu@163.com

【Abstract】 Diabetic chronic wound is one of the most serious complications of diabetes, imposing enormous socioeconomic burdens on diabetic patients, their families, and society due to its refractory nature. MicroRNAs (miRNAs) have emerged as important regulators of various physiological and pathological processes. Abnormalities arise in the regulatory functions of miRNAs in chronic diabetic wounds. Therefore, the modification of miRNAs expression in diabetic wounds is an important channel for the improvement of wound healing. The clinical translation of miRNA-based therapy may become a prospective direction of diabetic wound healing. However, miRNA-based therapy is still in its early stage of development, and actual translation into clinical application will take a long time. Herein, we summarized the latest research findings on miRNAs in diabetic chronic wounds healing.

【Key words】 MicroRNAs Diabetes Wound healing

2021年, 全球215个国家和地区20~79岁成年人中约有5.366亿人患有糖尿病, 据估计到2045年将达到7.832亿人左右; 其中, 中国是世界上糖尿病患者绝对人数最多的国家, 2021年约1.409亿, 预计到2045年将超过1.74亿^[1]。糖尿病患者因创面愈合能力受损, 容易出现糖尿病性皮肤病, 甚至合并严重感染或者坏疽, 累及下肢则可能会导致截肢。糖尿病足是与下肢神经病变和周围血管疾病相关的踝部以远的组织感染、溃疡和破坏, 是糖尿病患者常见并发症^[2]。糖尿病足溃疡不但是非创伤性下肢截肢的主要原因^[3], 还是导致糖尿病患者高死亡率的危险因素之一, 据统计, 糖尿病足溃疡患者5年死亡率高达49.1%^[4]。因此, 糖尿病慢性创面, 尤其是糖尿病足溃疡, 给患者个人、家庭及社会都带来了巨大的社会、经济负担。

MicroRNAs(miRNAs)是一类真核生物内源性非编码的单链小RNA, 长约21~23 nt, 在动植物中存在多种

miRNAs, 广泛参与生物体内的细胞代谢、增殖、凋亡^[5]。皮肤创面的愈合分为三个有序且相互重叠的阶段, 即炎症期、增殖期与重塑期。研究表明, miRNAs参与创面愈合三个阶段的调节, 有可能成为糖尿病慢性创面治疗的新靶点。本文将miRNAs在糖尿病慢性创面中的研究进展作一个简要综述。

1 miRNAs在创面愈合不同阶段中的作用

皮肤创面的愈合分为炎症期、增殖期与重塑期三个阶段, 研究发现miRNAs在不同的阶段发挥不同的作用, 分别简述如下。

1.1 炎症期

在炎症期, 中性粒细胞、单核细胞、肥大细胞进入创面组织, 清除体内外物质以及死亡细胞等。当清除和吞噬结束之后, 促炎型M1巨噬细胞向抗炎型M2巨噬细胞转化, 分泌抗炎因子, 促进炎症期的缓解, 推动创面顺利进入增殖期^[6]。

* 四川大学华西医院1.3.5工程项目(No. ZYGD18025)资助

[△] 通信作者, E-mail: ranxingwu@163.com

炎症反应与缓解是创面愈合的重要过程。miR-21、miR-132、miR-146a与miR-155在炎症调节中具有重要作用。miR-155可通过影响脂多糖信号转导通路调节点如Fas相关死亡域蛋白(FADD)、受体相互作用蛋白激酶1(RIPK1)上调TNF- α 表达,促进炎症反应发生^[6];miR-146a可通过沉默肿瘤坏死因子受体相关因子(TRAF)6、IL-1受体关联激酶(IRAK1)和IL-2受体关联激酶(IRAK2),抑制IL-8及正常T细胞表达和分泌的活性调节蛋白(RANTES)的释放与调节干扰素 γ (IFN- γ)的产生,发挥抗炎作用^[7];miR-21与miR-132可通过限制促炎因子的过度生成,促进抗炎因子的表达,调节炎症反应,促进炎症期向增殖期过渡^[8-9]。

1.2 增殖期

增殖期是皮肤创面愈合的增殖阶段,表现为新生肉芽组织生成,血管形成以及再上皮化以实现创面的封闭。肉芽组织主要由成纤维细胞及其分泌的细胞外基质、新生毛细血管及巨噬细胞等组成。

血管形成在增殖期至关重要,可以为肉芽组织提供必需的营养物质^[5]。慢性创面组织局部的缺血缺氧微环境,诱导miR-210表达上调,其通过下调靶基因Ephrin-A3的表达,促进血管生成^[10];miR-126通过下调其靶基因Spred1及磷酸肌醇3激酶调节亚基2(PIK3R2),上调血管内皮生长因子(VEGF)的表达发挥血管生成和调节血管稳定性的作用^[11];miR-130a通过抑制GAX、HOXA5基因表达,促进血管生成^[12];而miR-15b、miR-200和miR-205也参与创面血管形成的调节^[13]。

角质形成细胞的增殖、迁移是创面再上皮化的重要环节。多种miRNAs可调节角质形成细胞的增殖与迁移,在创面愈合的再上皮化环节中发挥重要作用。如miR-205可抑制SHIP2表达^[14];miR-21可抑制靶基因组织金属蛋白酶抑制因子3(TIMP3)、程序性细胞死亡4(PDCD4)表达^[15];miR-31可抑制上皮膜蛋白1(EMP-1)表达^[16];miR-203通过控制靶蛋白Ran和RAPH的表达^[17],进而影响角质形成细胞增殖、迁移和再上皮化,在受损皮肤的创面再上皮化和表皮稳态重建中发挥特定的作用。

1.3 重塑期

重塑期的主要特征是胶原沉积。miRNAs通过影响胶原纤维的产生与胶原蛋白的沉积发挥作用,而胶原沉积与创面愈合过程中瘢痕的形成密切相关。

研究表明miR-21参与TGF- β 介导的创面早期收缩和胶原的沉积^[9];miR-29可直接抑制胶原蛋白表达,抑制细胞外基质蛋白,避免过度的瘢痕形成^[18-19];miR-483-3p通过下调靶基因MK2、MK167和Yes相关蛋白1(YAP1),抑

制角质形成细胞的增殖和迁移,从而终止创面再上皮化过程,防止过度上皮化^[20]。

2 糖尿病性慢性创面miRNAs的功能失调

正常皮肤创面愈合是包含炎症期、增殖期、重塑期三个阶段的有序且相互重叠的动态过程,但在糖尿病性慢性创面则出现这一愈合过程的紊乱,而miRNAs调节紊乱在糖尿病性慢性创面的发生发展过程中发挥重要作用,李艳^[21]的研究发现,糖尿病慢性创面miR-21、miR-126、miR-146a以及miR-210低表达,miR-29a和miR-155高表达,可能是其难以愈合的原因。

持续炎症状态是糖尿病慢性创面的特征。miR-132在抑制炎症、促进创面向增殖期过渡上发挥重要作用,研究发现在糖尿病性慢性创面,组织miR-132的表达明显下调,而恢复创面组织miR-132的表达可明显改善创面愈合^[22];此外,糖尿病性慢性创面出现miR-146a的表达下降^[23]与miR-155的表达上调,导致创面呈现持续的炎症状态。过表达miR-146a的间充质干细胞外泌体可减轻炎症反应;miR-155抑制剂装载间充质干细胞来源的外泌体可减轻创面炎症,促进细胞迁移,加速愈合^[24]。在糖尿病慢性创面,组织miR-21表达增加,导致创面呈现持续的炎症状态^[25]。然而,正常创面愈合过程中会出现miR-21水平明显增加,在糖尿病创面却没有这一过程^[26]。miR-21在角质形成细胞迁移、创面再上皮化中具有重要作用。创面愈合过程中miR-21的不足可导致创面愈合延迟。而过表达miR-21可通过激活PI3K/AKT通路,可能促进创面愈合^[26]。

新生血管形成是创面增殖期的标志。糖尿病创面患者外周血miR-126水平明显降低^[27],其下调会明显减弱内皮细胞增殖、迁移与血管生成;而负压创面治疗可明显提高miR-126水平,促进创面愈合^[28];过表达miR-126-3p的间充质干细胞可通过MAPK/ERK、PI3K/AKT通路促进再上皮化与血管形成,促进创面愈合^[29]。miR-26在糖尿病创面出现明显升高,而抑制miR-26表达可通过增加内皮细胞SMAD1表达,促进血管形成与创面愈合^[30]。糖尿病创面miR-200b表达持续升高,抑制其表达可增加VEGF生成,促进创面血管形成^[31]。糖尿病慢性创面组织miR-210表达持续升高^[32],创面周围高水平的miR-210抑制角质形成细胞的增殖与迁移,抑制创面愈合^[33];而抑制miR-210表达,可明显改善角质形成细胞的迁移、增殖与创面的愈合^[34]。

在重塑期miR-29通过胶原沉积调节创面纤维化。糖尿病皮肤出现miR-29a表达的增加,导致创面愈合延迟。

间充质干细胞治疗可以通过抑制miR-29a的表达,纠正创面愈合延迟^[35];而局部使用miR-29b抑制剂则可以调节Ⅲ型胶原与Ⅰ型胶原的比例,减少瘢痕形成^[36]。

3 基于miRNAs的治疗

当前还没有基于miRNAs的治疗获得临床批准。不过,已经有多家医药公司正在开发应用于临床治疗的miRNAs产品^[37]。miRNAs产品主要包括两种类型,miRNAs模拟剂与miRNAs拮抗剂。正如名称所示,miRNAs模拟剂主要用于恢复由于疾病所致的特定miRNAs浓度的下降;而miRNAs拮抗剂则用于抑制特定miRNAs的过表达^[38]。目前为止仅有数个miRNAs产品进入临床研究阶段,且均处于临床Ⅰ~Ⅱ期^[39]。

创面愈合过程中,miR-130a、miR-132、miR-146a、miR-126、miR-210促进创面愈合,而miR-155、miR-26、miR-29a抑制创面的愈合。miR-21则在创面愈合不同时期具有不同的作用,miR-21导致慢性创面的炎症持续,而在后期则促进创面愈合。因此,根据miRNAs的不同可以有针对性地开发miRNAs产品。目前在创面治疗领域,miRagen Therapeutics公司的两个产品正在进行临床试验。miR-29模拟物(remalarsen)在临床前研究中显示可明显降低细胞外基质的胶原沉积,减少瘢痕形成;目前正在有瘢痕形成病史的人群中进行2期临床研究(clinical trials: NCT03601052)评估其有效性与安全性^[18]。另一项研究的目的在于评估miR-92a抑制剂(MRG-110)是否可以通过促进血管形成,改善创面愈合;目前正处于临床Ⅰ期,在正常人群中检验其安全性与药代动力学(clinical trials: NCT03603431)。鉴于miRNAs在大约20年前才被发现,这项技术尚处于起步阶段。虽然miRNAs具有较好的应用前景,目前仍有许多问题需要解决,包括如何正确靶向,避免脱靶效应,如何减少免疫原性反应以及在最大限度减少副作用的同时达到预期效果所需的剂量。因此,miRNAs距离临床应用还有一段较长的距离。

除了基于miRNAs开发相关的治疗,以miRNAs为靶点的治疗显示促进创面愈合的作用,在糖尿病慢性创面可能具有应用前景。搭载利拉鲁肽的纳米纤维材料敷料,通过调节miR-29b-3p水平,调节内皮细胞的功能,促进血管形成,从而促进创面愈合^[40]。梁瑜捷等^[41]的研究发现,芦荟凝胶可通过上调糖尿病慢性创面肉芽组织中miR-21、miR-126、miR-210表达,降低miR-29a、miR-155表达,从而具有改善创面胶原沉积,减轻瘢痕形成,进而缩短创面完全愈合时间,促进创面愈合的作用,提示芦荟凝胶在糖尿病慢性创面治疗领域具有较大的应用前景。

4 展望与前景

综上所述,miRNAs广泛参与皮肤创面愈合的各个阶段,在糖尿病慢性创面愈合过程中发挥重要作用。基于miRNAs的治疗具有广阔的前景,miRNAs的联合或序贯使用可调节创面愈合的不同方面,可为糖尿病慢性创面的治疗带来巨大改变。当然,目前基于miRNAs的治疗仍然处于起步阶段,需要较长的时间才能转化为临床应用。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, *et al.* IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119[2022-09-14]. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会 中华医学会感染病学分会 中华医学会组织修复与再生分会. 中国糖尿病足防治指南(2019版)(Ⅰ). *中华糖尿病杂志*, 2019, 11(2): 92-108.
- [3] LIN C W, ARMSTRONG D G, LIN C H, *et al.* Nationwide trends in the epidemiology of diabetic foot complications and lower-extremity amputation over an 8-year period. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2019, 7(1): e000795[2022-08-08]. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2019-000795>.
- [4] CHEN L, SUN S, GAO Y, *et al.* Global mortality of diabetic foot ulcer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Diabetes Obes Metab*, 2022[2022-08-08]. <https://doi.org/10.1111/dom.14840>.
- [5] RODRIGUES M, KOSARIC N, BONHAM C A, *et al.* Wound healing: A cellular perspective. *Physiol Rev*, 2019, 99(1): 665-706.
- [6] TILI E, CROCE C M, MICHAILLE J J. miR-155: On the crosstalk between inflammation and cancer. *Int Rev Immunol*, 2009, 28(5): 264-284.
- [7] PARK H, HUANG X, LU C, *et al.* MicroRNA-146a and microRNA-146b regulate human dendritic cell apoptosis and cytokine production by targeting TRAF6 and IRAK1 proteins. *J Biol Chem*, 2015, 290(5): 2831-2841.
- [8] LI D, WANG A, LIU X, *et al.* MicroRNA-132 enhances transition from inflammation to proliferation during wound healing. *J Clin Invest*, 2015, 125(8): 3008-3026.
- [9] XIE J, WU W, ZHENG L, *et al.* Roles of microRNA-21 in skin wound healing: A comprehensive review. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 828627[2022-08-08]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.828627>.
- [10] FASANARO P, D'ALESSANDRA Y, DI STEFANO V, *et al.* MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. *J Biol Chem*, 2008, 283(23): 15878-15883.
- [11] NAMMIAN P, RAZBAN V, TABELI S M B, *et al.* MicroRNA-126: Dual

- role in angiogenesis dependent diseases. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(38): 4883–4893.
- [12] CHEN Y, GORSKI D H. Regulation of angiogenesis through a microRNA (miR-130a) that down-regulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5. *Blood*, 2008, 111(3): 1217–1226.
- [13] OZDEMIR D, FEINBERG M W. MicroRNAs in diabetic wound healing: Pathophysiology and therapeutic opportunities. *Trends Cardiovasc Med*, 2019, 29(3): 131–137.
- [14] YU J, PENG H, RUAN Q, *et al*. MicroRNA-205 promotes keratinocyte migration via the lipid phosphatase SHIP2. *FASEB J*, 2010, 24(10): 3950–3959.
- [15] WANG S Y, KIM H, KWAK G, *et al*. Development of microRNA-21 mimic nanocarriers for the treatment of cutaneous wounds. *Theranostics*, 2020, 10(7): 3240–3253.
- [16] SHI J, MA X, SU Y, *et al*. MiR-31 mediates inflammatory signaling to promote re-epithelialization during skin wound healing. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(10): 2253–2263.
- [17] VITICCHIE G, LENA A M, CIANFARANI F, *et al*. MicroRNA-203 contributes to skin re-epithelialization. *Cell Death Dis*, 2012, 3(11): e435[2022-08-08]. <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.174>.
- [18] GALLANT-BEHM C L, PIPER J, LYNCH J M, *et al*. A MicroRNA-29 mimic (remlarsen) represses extracellular matrix expression and fibroplasia in the skin. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(5): 1073–1081.
- [19] ZHU Y, LI Z, WANG Y, *et al*. Overexpression of miR-29b reduces collagen biosynthesis by inhibiting heat shock protein 47 during skin wound healing. *Transl Res*, 2016, 178: 38–53.e6[2022-08-08]. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.07.001>.
- [20] BERTERO T, GASTALDI C, BOURGET-PONZIO I, *et al*. miR-483-3p controls proliferation in wounded epithelial cells. *FASEB J*, 2011, 25(9): 3092–3105.
- [21] 李艳. 糖尿病巴马小型猪的皮肤改变及自体富血小板凝胶治疗糖尿病小型猪慢性皮肤溃疡过程中肉芽组织microRNAs的动态变化. 成都: 四川大学, 2019.
- [22] LI X, LI D, WANG A, *et al*. MicroRNA-132 with therapeutic potential in chronic wounds. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(12): 2630–2638.
- [23] BI X, ZHOU L, LIU Y, *et al*. MicroRNA-146a deficiency delays wound healing in normal and diabetic mice. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2022, 11(1): 19–27.
- [24] GONDALIYA P, SAYYED A A, BHAT P, *et al*. Mesenchymal stem cell-derived exosomes loaded with miR-155 inhibitor ameliorate diabetic wound healing. *Mol Pharm*, 2022, 19(5): 1294–1308.
- [25] LIECHTY C, HU J, ZHANG L, *et al*. Role of microRNA-21 and its underlying mechanisms in inflammatory responses in diabetic wounds. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3328.
- [26] MADHYASTHA R, MADHYASTHA H, NAKAJIMA Y, *et al*. MicroRNA signature in diabetic wound healing: Promotive role of miR-21 in fibroblast migration. *Int Wound J*, 2012, 9(4): 355–361.
- [27] ZHANG J, SUN X J, CHEN J, *et al*. Increasing the miR-126 expression in the peripheral blood of patients with diabetic foot ulcers treated with maggot debridement therapy. *J Diabetes Complications*, 2017, 31(1): 241–244.
- [28] ZHANG D, LI Z, WANG Z, *et al*. MicroRNA-126: A promising biomarker for angiogenesis of diabetic wounds treated with negative pressure wound therapy. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 12: 1685–1696.
- [29] LI M, KE Q F, TAO S C, *et al*. Fabrication of hydroxyapatite/chitosan composite hydrogels loaded with exosomes derived from miR-126-3p overexpressed synovial mesenchymal stem cells for diabetic chronic wound healing. *J Mater Chem B*, 2016, 4(42): 6830–6841.
- [30] ICLI B, NABZDYK C S, LUJAN-HERNANDEZ J, *et al*. Regulation of impaired angiogenesis in diabetic dermal wound healing by microRNA-26a. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 91: 151–159.
- [31] 庄兢, 范筱, 郑胜武, 等. 微小RNA-200b-GATA2-血管内皮生长因子受体2通路在糖尿病创面愈合中的作用及其机制. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(10): 1913–1917.
- [32] PICHU S, VIMALRAJ S, VISWANATHAN V. Impact of microRNA-210 on wound healing among the patients with diabetic foot ulcer. *PLoS One*, 2021, 16(7): e0254921[2022-08-08]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254921>.
- [33] BISWAS S, ROY S, BANERJEE J, *et al*. Hypoxia inducible microRNA 210 attenuates keratinocyte proliferation and impairs closure in a murine model of ischemic wounds. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(15): 6976–6981.
- [34] GHATAK S, LI J, CHAN Y C, *et al*. AntihypoxamiR functionalized gramicidin lipid nanoparticles rescue against ischemic memory improving cutaneous wound healing. *Nanomedicine*, 2016, 12(7): 1827–1831.
- [35] ZGHEIB C, HODGES M, HU J, *et al*. Mechanisms of mesenchymal stem cell correction of the impaired biomechanical properties of diabetic skin: The role of miR-29a. *Wound Repair Regen*, 2016, 24(2): 237–246.
- [36] PETKOVIC M, SØRENSEN A E, LEAL E C, *et al*. Mechanistic actions of microRNAs in diabetic wound healing. *Cells*, 2020, 9(10): 2228.
- [37] ZOGG H, SINGH R, RO S. Current advances in rna therapeutics for human diseases. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2736.
- [38] BONNEAU E, NEVEU B, KOSTANTIN E, *et al*. How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic market. *EJIFCC*, 2019, 30(2): 114–127.
- [39] DIENER C, KELLER A, MEESE E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *Trends Genet*, 2022, 38(6): 613–626.
- [40] YU M, HUANG J, ZHU T, *et al*. Liraglutide-loaded PLGA/gelatin electrospun nanofibrous mats promote angiogenesis to accelerate diabetic wound healing via the modulation of miR-29b-3p. *Biomater Sci*, 2020, 8(15): 4225–4238.
- [41] 梁渝捷, 李艳, 高芸艺, 等. 芦荟凝胶治疗巴马小型猪糖尿病慢性皮肤溃疡的实验研究. *四川大学学报(医学版)*, 2022, 53(6): 953–960.

(2022-09-18收稿, 2022-10-31修回)

编辑 汤 洁