

miRNA 介导的 TLR4 炎症信号通路在辐射损伤中的研究进展

蒋国凤¹, 颜春鲁^{1,2,3*}, 安方玉^{1,3}, 刘永琦^{1,2,3}, 石瑶¹, 吕栋辉¹, 赵延真¹, 李孟瀚¹, 李朝晖¹, 孟祥睿¹(1.甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2.甘肃省中医药研究中心, 兰州 730000; 3.甘肃省中医药防治慢性疾病重点实验室, 兰州 730000)

摘要: 放疗是目前全球公认的治疗各种肿瘤的主要手段之一, 但放疗过程中产生的各类射线会对辐射周围的正常组织造成炎症性损害, 因此探寻有效治疗靶点以改善辐射造成的炎症性损伤, 提高放疗疗效是当务之急。研究发现, 微小 RNA(microRNA, miRNA)作为一种新型的炎症调节因子, 主要通过 TLR4 介导的NF-κB信号通路来调控辐射诱发的炎症反应。因此, miRNA 与 TLR4 形成的交互网络系统有望成为防辐射损伤药物研发的筛选靶点。本文从 TLR4 介导的炎症相关信号通路对辐射的调控作用、miRNA 对辐射的调控作用、miRNA 对辐射中 TLR4/NF-κB信号通路调控的炎症反应的靶向作用及靶向 miRNA-TLR4 改善辐射后炎症反应的治疗策略 4 个方面进行综述, 以期找到 miRNA 靶向调控 TLR4 介导的NF-κB信号通路的有效靶点, 为辐射损伤的防治研究提供新的思路。

关键词: miRNA; TLR4 信号通路; 辐射损伤

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)11-1495-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.11.016

引用本文: 蒋国凤, 颜春鲁, 安方玉, 等. miRNA 介导的 TLR4 炎症信号通路在辐射损伤中的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(11): 1495-1502.

Advances in miRNA-mediated TLR4 Inflammatory Signaling Pathway in Radiation Injury

JIANG Guofeng¹, YAN Chunlu^{1,2,3*}, AN Fangyu^{1,3}, LIU Yongqi^{1,2,3}, SHI Yao¹, LYU Donghui¹, ZHAO Yanzhen¹, LI Menghan¹, LI Zhaohui¹, MENG Xiangrui¹(1.Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2.Research Center of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 3.Key Laboratory of Chronic Diseases for Prevention and Treatment of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: Radiotherapy is currently recognized as one of the major treatments for various tumors worldwide, but the various types of radiation produced during radiotherapy can cause inflammatory damage to the normal tissues surrounding the radiation. Therefore, it is imperative to explore effective therapeutic targets to improve the inflammatory damage caused by radiation and enhance the efficacy of radiotherapy. It has been found that microRNA(miRNA), a novel inflammatory regulator, regulates radiation-induced inflammatory responses mainly through the TLR4-mediated NF-κB signaling pathway. Therefore, the interactive network system formed by miRNAs and TLR4 is expected to be a screening target for the development of drugs against radiation damage. This review summarizes four aspects, including the regulatory role of TLR4-mediated inflammation-related signaling pathway on radiation, the regulatory role of miRNA on radiation and the targeting role of miRNA on TLR4/NF-κB signaling pathway-regulated inflammatory response in radiation, in order to find effective targets for miRNA-targeted regulation of TLR4-mediated NF-κB signaling pathway and provide new ideas for the prevention and treatment of radiation injury.

KEYWORDS: miRNA; TLR4 signaling pathway; radiation injury

肿瘤放射治疗是通过利用射线打断肿瘤细胞的 DNA 双链, 从而达到抑制肿瘤生长的目的, 是目前治疗肿瘤的主要手段^[1], 但放疗过程中产生的各类射线会对辐射的周围正常组织造成炎症性损害^[2-3], 因此探寻有效治疗靶点以改善辐射造成的

炎症性损伤, 提高放疗疗效是当务之急。

Toll 样受体(Toll-likereceptors, TLR)是一类参与非特异性免疫反应的蛋白质分子家族, TLR4 作为 Toll 基因编码的产物, 通过识别革兰阴性菌脂多糖及热休克蛋白来激活炎症反应, 作用类似于白细

基金项目: 国家自然科学基金项目(81760797); 甘肃省“双一流”科研重点项目(GSSYLXM-05); 甘肃省优秀研究生“创新之星”项目(2021CXZX-746); 甘肃中医药大学科学研究与创新基金(2021KCYB-4)

作者简介: 蒋国凤, 女, 硕士 E-mail: 1391907881@qq.com *通信作者: 颜春鲁, 男, 博士, 副教授 E-mail: yanchl1979@126.com

胞介素受体。研究发现^[4], 辐射作为一种外源性危险信号分子可以激活 TLR4, 激活的 TLR4 通过髓样分化因子(myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖途径进一步激活核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)等转录因子, 最终促进促炎因子白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等的分泌, 促使辐射周围组织发生炎症性损伤。说明 TLR4 作为模式识别受体在放疗引发周围正常组织的炎症反应中起着重要的调控作用。

微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类约含 22~25 个碱基的寡核苷酸, 主要通过其 5'-末端的核酸序列以碱基配对的方式结合靶基因 3'-UTR, 进而在转录后水平抑制基因的靶向表达来发挥调节作用。近年来, 随着研究的深入, miRNA 在辐射损伤中的调控作用逐渐被关注, 尤其关注于 miRNA 对辐射炎症性损伤的分子调控机制研究。研究发现^[5], miRNA 对辐射炎症性损伤的调控可能是通过 NF- κ B 信号通路实现。本文综述 TLR4 介导的炎症相关信号通路对辐射的调控作用、miRNA 对辐射的调控作用、miRNA 对辐射中 TLR4/NF- κ B 信号通路调控的炎症反应的靶向作用及靶向 miRNA-TLR4 改善辐射后炎症反应的治疗策略等, 探寻 miRNA 靶向调控 TLR4 介导的 NF- κ B 信号通路的有效靶点, 为研发作用于 miRNA 的药物进而防治辐射损伤提供新的思路。

1 TLR4 介导的炎症相关信号通路对辐射的调控作用

有研究证实, 在各种细胞类型中广泛表达的 TLR 家族成员主要参与机体的先天免疫反应和适应性免疫, 并由各种内源性和外源性配体激活以识别大量的微生物分子, 如病原体相关分子模式以及危险相关分子模式^[6]。近年来又有研究表明, TLR 的激活不仅对辐射损伤具有保护作用^[7], 同时也有研究证实, TLR 的激活会促进 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌, 促进辐射受损机体的炎症反应, 这可能是其导致辐射损伤不良反应的关键机制^[8-9]。尽管 TLR 在辐射中的机制存在争议, 但是仍有多项研究证明, TLR 主要是参与放疗过程中产生的辐射损伤^[10-13]。而目前 TLR4 在辐射损伤研究中较为突出, 并发现了大量参与 TLR4 信号通路的调控因子, 如 NF- κ B、AP1、CREB 和 IRF 等^[14]。Garcia 等^[15]用 20 Gy X 射线对野生型 C57Bl6 小鼠和 Nampt+/-杂交小鼠进行肺部照射后, 结果发现辐

射暴露会增加肺上皮细胞细胞外及肺组织烟酰胺磷酸核糖转移酶(nicotinamide phosphoribosyl transferase, NAMPT)的表达, 细胞外 NAMPT 作为一种危险相关分子模式, 通过与病原体的连接来识别 TLR4 受体后, 进一步激活 NF- κ B 诱导的炎症级联反应; 同时, 该研究进一步发现, 肺部辐射可以激活肺上皮细胞细胞外及肺组织中的 TLR4/NF- κ B 信号通路, 也能够明显促进其下游炎症因子 IL-6 和 IL-1 β 的分泌, 说明 NAMPT/TLR4/NF- κ B 信号通路参与的肺部炎症反应可能是引发辐射肺损伤的关键机制; 而运用细胞外 NAMPT pAb/mAb 对肺部照射后的野生型 C57Bl6 模型小鼠和 Nampt+/-杂交模型小鼠进行干预后发现, NAMPT pAb/mAb 能够明显减少辐射模型小鼠肺上皮细胞细胞外及肺组织 NAMPT、TLR4、NF- κ B、IL-6 及 IL-1 β 的表达, 从而减轻辐射模型小鼠的肺组织损伤, 进一步证明, 抑制辐射模型小鼠 NAMPT/TLR4/NF- κ B 信号通路的炎症因子分泌可能是辐射防护剂研发的关键靶点。

可见, TLR4 作为一种炎症标志物, 其诱发的炎症反应是造成辐射损伤的主要调节分子, 也可能是造成辐射不良预后的关键诱因。本文主要通过对 TLR4 介导的炎症反应相关信号通路高迁移率族蛋白 1(high mobility group protein1, HMGB1)/TLR4 信号传导途径和 TLR4/MyD88 信号传导途径在放疗过程中产生的辐射损伤机制的总结, 来初步探讨 TLR4 诱发辐射损伤炎症反应或导致辐射不良预后的可能机制, 为辐射损伤防护提供依据。

1.1 HMGB1/TLR4 介导的 NF- κ B 信号传导途径在辐射中的调控作用

HMGB1 是一种主要由单核巨噬细胞分泌的多功能蛋白^[16], 通过与跨膜受体 TLR4 和晚期糖基化终产物受体结合来激活下游的 NF- κ B 和 MAPKs 等信号途径, 诱导机体的早期炎症反应, 进一步加重组织损伤^[17-18]。郑雷等^[19]用含 HMGB1 照射 MLE12 细胞上清液调理的 RAW 264.7 细胞后, 结果发现 TLR4、NF- κ B、JNK 和 ERK1/2 的表达增加, 推测 HMGB1/TLR4 介导的 NF- κ B 信号传导途径在放射性肺损伤(radiation-induced lung injury, RILI)的炎症反应中可能发挥重要调控作用。张晓敏等^[20]的研究结果也证实, HMGB1 和 TLR4 高表达会激活放射性肠炎模型鼠空肠组织促炎因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的大量分泌。进一步说明在放射性炎症损伤中, 炎症反应调控分子

HMGB1 与 TLR4 结合后会激活 NF- κ B 信号通路, 进一步促使 NF- κ B 下游的炎症因子大量分泌和表达, 炎症损伤可能是影响放疗过程中疗效发挥的关键机制。因此, HMGB1 和 TLR4 蛋白或许可以作为调控辐射后炎症反应的切入点, 试图找到调控 HMGB1 和 TLR4 蛋白表达的新靶标分子, 作为辐射损伤防护药物筛选的依据, 为辐射防护提供新的思路。

1.2 TLR4/MyD88 介导的 NF- κ B 信号传导途径在辐射中的调控作用

TLR 是一类在免疫和炎症反应中发挥重要作用的模式识别受体家族, TLR4 作为 TLR 的家族成员, 其介导的信号传导途径主要参与各类神经系统疾病的炎症反应, 尤其是在辐射损伤的炎症反应中发挥关键的调控作用^[12, 21-24]。当 TLR4 受到辐射等因素刺激后, 可通过激活 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号途径触发其下游促炎因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达增加, 从而引发机体的炎症反应^[25]。陆离等^[26]对小鼠全腹进行 24 h X 射线照射后发现, 辐射小鼠的肠黏膜上皮细胞出现了凋亡、坏死和核破裂等明显的病理损伤及肠道菌群的严重失调, 造成这种损伤的可能机制是辐射激活了其肠道 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路, 并进一步促使 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路调控的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 表达水平的显著升高, 导致辐射机体炎症反应的发生。还有研究表明, TLR4 在受到紫外线辐射后会在表皮细胞中表达增加, 并且能够进一步促进免疫信号分子 MAPK 和 NF- κ B 的表达, 而抑制 TLR4 的表达会促进 DNA 修复, 进而减轻了紫外线辐射对小鼠造成的皮肤损伤^[27-28]。说明 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号途径在辐射的炎症反应损伤中发挥重要调控作用, TLR4 和 MyD88 分子可能是调控辐射炎症反应损伤的关键靶点, 抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的 TLR4 和 MyD88 的表达水平可以有效发挥抗辐射炎症反应, 这可能会成为未来辐射防护剂研发的关键依据。

2 miRNA 对辐射的调控作用

miRNA 约有 22 个核苷酸, 是一类在进化上高度保守的内源性的非编码小 RNA, 它们在 mRNA 沉默中发挥作用的同时还参与转录后基因的调控, 尤其是在辐射中 miRNA 可以通过沉默或降解相关靶基因来发挥关键作用^[29-32]。何宇轩等^[33]在 2 Gy 碳离子辐照小鼠睾丸的毒性实验中发现, mmu-let-7a-5p_R1-22L22、mmu-let-7b-5p_R1-22L22、mmu-let-

7c-5p_R1-22L22、mmu-let-7e-5p_R1-22L22、mmu-let-7f-5p_R1-22L22、mmu-let-7i-5p_R4-22L22、miR-34c 和 miR-138 等 miRNA 表达显著上调, 这些差异表达的 miRNA 主要参与了辐射损伤模型鼠的生物代谢、发育和繁殖等过程。随后魏文俊等^[34]在重离子辐射模型鼠血清中也发现了 miR-183-5p、miR-9-3p、miR-200b-5p、miR-342-3p 和 miR-574-5p 等差异表达的 miRNA。以上研究结果表明, miRNA 在辐射中发挥重要生理病理作用, 而 miRNA 对辐射的这种调节作用是通过什么样的分子机制来起作用的, 可能是目前辐射防护研究中的热点。

随着 miRNA 对辐射调控机制认识的不断深入, Jossion 等^[35]在对前列腺癌细胞的放射治疗后发现, 辐射会导致 miR-521 表达下调; 另一项研究^[36]进一步证实, 辐射不仅会上调 let-7d、let-7g、let-7i、miR-26b、miR-663、let-7e、miR-15b、miR-21、miR-768-3p、miR-768-5p 的表达, 同时也会下调 miR-24、let-7a、miR-100、miR-125b、miR-222、let-7b、miR-638 表达, 其中 miR-15b 和参与 DNA 修复作用的细胞周期蛋白依赖性激酶 5、细胞周期蛋白、拓扑异构酶 I、组蛋白 2AX 等蛋白的表达密切相关, miR-24 通过调控细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 I 来参与 DNA 修复过程中细胞周期蛋白的表达, miR-26b 通过调节磷酸酶的活性进一步影响 DNA 的损伤修复; 这一研究充分表明电离辐射会引起 miRNA 表达改变, 这些 miRNA 又会参与电离辐射损伤中的 DNA 修复, 从而对辐射损伤起保护作用。特异性 miRNA 或许可以作为辐射后参与其 DNA 损伤修复的治疗靶标。Simone 等^[36]又用 2, 5, 10 Gy 照射成纤维细胞后的结果表明, 辐射会增加成纤维细胞 ROS 的产生, 而用抗氧化剂半胱氨酸预处理成纤维细胞后可以上调辐射诱导的 let-7a 和 let-7b 的表达并显著抑制其 ROS 的产生。上调辐射损伤的某些 miRNA 可能是调控辐射氧化应激损伤的有效靶点, 这可能是辐射防护机制探讨的另一关键机制。

此外, Rogers 等^[37]用能够导致约 70% 的 C3H 和 C57BL/6 小鼠死亡的辐射剂量对其进行全胸照射后, 暴露 2 周后发现, 与正常对照组小鼠相比, 辐射会导致受照射小鼠的体质量下降, 白细胞计数减少, 导致 52% 的受辐射 C3H 小鼠和 72% 的受辐射 C57BL/6 小鼠发生死亡; 同时该研究测量正常对照组和辐射模型组小鼠血浆的 miRNA 表达水平, 结果发现, 与正常对照组小鼠相比, 辐射 C3H

模型小鼠的肺组织和心脏组织中出现 miR-34a-5p、miR-100-5p 和 miR-150-5p 表达, 并且这些 miRNA 与 NF- κ B 介导的促炎信号通路相关, 而在 C57BL/6 辐射模型小鼠的血浆中检测到 miR-34b-3p、miR-96-5p 和 miR-802-5p 表达, 这些 miRNA 与 TGF- β /Smad 信号介导的肺纤维化相关, 这些 miRNA 与 TGF- β /Smad 信号介导的肺纤维化相关, 说明 miRNA 介导了辐射诱发的局部受照射组织的炎症反应和纤维化的发生; 同时测量正常对照组和辐射模型组小鼠肺组织匀浆液和心脏组织匀浆液的 miRNA 表达水平, 结果发现, 与正常对照组小鼠相比, 辐射 C3H 和 C57BL/6 模型小鼠肺组织中均出现了 miR-7b-5p、miR-10b-5p、miR-21a 和 miR-34a-5p 的高表达, 心脏组织中均出现了 miR-10b-5p 和 miR-21-5p 的高表达, 这些在 2 种小鼠的共差异表达的 miRNA 是否与受辐射模型鼠局部组织的炎症反应和纤维化的发生是否有关, 本研究未做揭示与说明。另一项研究表明, 用 10 Gy X 射线对小鼠进行照射后, 检测到辐射模型小鼠小肠组织出现了 13 个差异表达 miRNA, 其中 miR-34a-5p 的表达是显著升高的, 其上调表达可以进一步促进 Foxp1 的高表达后引起放射性肠炎, 而 miR-34a-5p 的低表达可以抑制 Foxp1 的表达, 从而明显减轻辐射诱发的肠道炎症反应, 这提示在放射性肠炎中 miR-34a-5p 可能是放射防护剂的潜在目标分子^[38]。大量研究发现^[39-43], miR-155、miR-221 和 miR-21 与炎症因子 IL-6、IL-8、IL-10、IL-12a 的表达密切相关, 从而调节机体的炎症反应和免疫反应。Xu 等^[44]用 60~74 Gy 的剂量对 101 名非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者进行肺部照射, 运用实时定量 PCR 法对 101 名 NSCLC 患者在放疗前和放疗第 1~2 周期间血清中 miRNA 的表达变化做了检测, 结果发现在放疗的前 2 周, 重度 NSCLC 患者血清中 miRNA-155、miR-21 和 miR-221 表达水平较高, 放疗后 NSCLC 患者血清中只有 miR-155 和 miR-221 表达升高, 并未检测到 miR-21 的表达, 提示 miR-155 和 miR-221 可能会引发放疗癌症患者的炎症反应, 是影响其预后的关键因素。但是该研究并未深入研究 miR-155 和 miR-221 在放疗的过程中如何参与炎症反应的调控, 其具体的调控机制何在? 这也将成为未来研究的热点。

以上研究结果说明 miRNA 不仅在辐射损伤中发挥重要调节作用, 同时辐射损伤也会引发机体

miRNA 的表达谱发生改变, 从而导致与 miRNA 相关基因和其他调节因子也发生相应改变, miRNA 和辐射之间的这种互动, 进一步加重了受辐射机体的损伤。并且在 miRNA 对辐射损伤的分子机制研究中发现, 各种 miRNA 可以通过靶向信号转导蛋白或直接靶向编码 mRNA 等来促进促炎细胞因子的大量分泌, 进一步促进辐射受损机体炎症反应的发生^[45]。同时有研究发现, 某些 miRNA 可能经由 TLR 信号途径来参与调控辐射受损机体的炎症反应^[46-47]。Szatmári 等^[48]分别用 0.1, 0.25, 2 Gy 的剂量对 C57BL/6 小鼠进行全身 X 射线照射 24 h 后发现, 2 Gy 的照射后小鼠脾脏中 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 B 细胞明显减少, TLR4、NF- κ B 在受 2 Gy 照射的小鼠脾脏中表达增加, 从而诱发了小鼠脾脏中的炎症反应; 同时发现了 mmu-miR-33-3p、mmu-miR-200c-5p、mmu-miR-140-3p、mmu-miR-744-3p 和 mmu-miR-6690-5p 在辐射小鼠脾脏中的表达下调, mmu-miR-152-3p、mmu-miR-199a-5p 和 mmu-miR-375-3p 在辐射小鼠脾脏中的表达上调, 进一步发现 TLR4 在辐射小鼠脾脏的上调与 mmu-miR-152-3p 上调密切相关, 推测在辐射小鼠后造成小鼠脾脏的炎症反应可能通过激活 mmu-miR-152-3p 进一步激活 TLR4/NF- κ B 信号通路来发挥辐射旁效应。提示 TLR4 可能是许多 miRNA 调控辐射受损机体炎症反应的直接靶点或间接靶点, miRNA 或许可以通过介导 TLR4 的表达来调控 TLR4/NF- κ B 信号通路中炎症因子的分泌。为此, miRNA 有望成为未来辐射防护的新靶点, 或许也可能成为未来辐射损伤的生物诊断指示剂而广泛应用于临床。

3 miRNA 对辐射中 TLR4/NF- κ B 信号通路调控的炎症反应的靶向作用

大量研究发现, miRNA 已经成为某些疾病的生物标记物和潜在的治疗靶标^[49-50]。程玉涵等^[51]的研究表明, 辐射会上调肝星状细胞系 LX2 细胞中 TLR4 和 miR-146a-5p 的表达, 而抑制 miR-146a-5p 的表达会下调 TLR4、白介素-1 受体相关激酶 1(interleukin-1 receptor-associated kinase 1, IRAK1)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 和 NF- κ B 的磷酸化水平, 从而抑制受照射细胞中促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达。说明 miR-146a-5p 的表达下调能够通过抑制辐射诱导的 TLR4 信号通路的激活来明显减少炎性细胞因

子的分泌,从而减轻小鼠受辐射诱发的肝损伤。因此,使用 miR-146a-5p 来调节 TLR4 信号途径所代表的整合网络可能有望成为预防放射性肝病的一种有效方法。傅继元等^[52]为了研究 miR-205-3p 对紫外线辐射诱导的角膜损伤的影响,将 HCE 细胞暴露于紫外线下并进行转染后发现,暴露于紫外线辐射时 miR-205-3p 的过表达会升高,同时过表达的 miR-205-3p 提高了 HCE 细胞的活力、增殖,并减弱了 HCE 细胞的凋亡和自噬;miR-205-3p 可以抑制紫外线辐射诱导的 HCE 细胞的炎症和氧化应激,miR-205-3p 又可以直接抑制 TLR4 表达,TLR4 的上调显著逆转了 miR-205-3p 对紫外线辐射诱导的 HCE 细胞表型的影响。也就是说紫外线辐射人角膜细胞后会激活 TLR4/NF- κ B 信号通路引发的炎症反应,而 miR-205-3p 可以直接靶向 TLR4,并通过上调 miR-205-3p 来抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路,从而降低了炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达,保护人角膜上皮细胞免受紫外线辐射造成的炎症损害。

辐射对人体的损害是广泛的,辐射诱发的胸腺淋巴瘤也是辐射致癌的典型表现之一^[53]。Liu 等^[54]的研究进一步探讨了参与电离辐射诱导的胸腺淋巴瘤中 TLR4 的潜在上游因素,其中发现最突出的危险信号 HMGB1 是 TLR4 的重要配体,它可以从辐射诱导的坏死细胞中释放出来,从而激活胸腺淋巴瘤组织中的 TLR4,从而诱导细胞因子 IL-6、基质金属蛋白酶-9 和环氧化酶-2 的释放;该研究还发现,与正常胸腺组织相比,辐射诱导的胸腺淋巴瘤组织中 miR-21、miR-155 和 miR-17-92 的表达均增加,并进一步发现 IL-6 和 miR-21 的表达水平在辐射诱导的胸腺淋巴瘤中显示出最大的差异,这表明 IL-6 和 miR-21 可能在 TLR4 相关的辐射诱导的胸腺淋巴瘤中起关键作用。也就是说通过调控 HMGB1/TLR4/IL-6/miR-21 信号轴可能在辐射诱导的致癌作用中发挥重要保护作用。

Xiao 等^[55]采用 15 Gy 的 γ 射线对雄性小鼠进行全腹部照射后发现,辐射后的小鼠存活率和体质量下降,并且破坏了胃肠道的功能及肠上皮的完整性;微阵列分析表明辐射下调肠上皮细胞中 miR-1968-5p 的表达,提高了 MyD88 的表达,荧光素酶报告基因显示 miR-1968-5p 直接靶向 MyD88 且两者之间呈负调控;此研究还发现辐射上调了 TLR4 的表达,降低了 TLR5 的表达;也就是说辐射通过抑制 miR-1968-5p 的表达来激活 MyD88 的

表达从而造成辐射后的肠道损伤,但是并未阐明 miR-1968-5p 是否和 TLR4、TLR5 之间存在直接联系,这为以后辐射诱导的肠道毒性研究提供了新思路。

以上研究可见,miRNA 对辐射损伤的调控是一把双刃剑,进一步明确 miRNA 介导的信号网络调控分子机制必定会成为未来辐射机制研究的热点。辐射导致的炎症反应是常见的并发症,因此通过探寻 miRNA 与 TLR4/NF- κ B 介导的炎症信号通路之间的关系显得尤为重要。

4 靶向 miRNA-TLR4 改善辐射后炎症反应的治疗策略

近年来,miRNA 在视网膜病、神经退行性疾病、心血管疾病和癌症等疾病中的作用得到广泛研究^[56]。同时,miRNA 在疾病的诊断与治疗中也发挥越来越重要的作用。研究表明,敲除 miR-146a-5p 的表达会下调 TLR4、IRAK1、TRAF6 和 NF- κ B 的磷酸化水平,从而抑制受照射细胞中促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达^[51]。说明通过对 miR-146a-5p 敲除能够抑制辐射诱导的 TLR4 信号通路来明显减少其下游炎性细胞因子的分泌,从而减轻小鼠受辐射诱发的肝损伤。另一研究表明^[55],氘水作为一种抗氧化剂,可以提高辐射模型鼠的存活率和增加其体质量,上调辐射模型鼠 miR-1968-5p 的表达,下调了其 MyD88 和 TLR4 的表达。推测氘水可能通过下调 miR-1968-5p 介导的 TLR4/MyD88 信号通路中 TLR4 和 MyD88 的表达水平来发挥抗辐射的保护作用,为临床上使用氘水改善腹部和盆腔癌放射治疗后的预后提供依据。以上结果说明通过靶向 miRNA-TLR4 相关信号通路可以减轻辐射造成的炎症损伤,通过基因敲除 miRNA 或者以 miRNA 为研究靶点来寻找有效辐射防护剂可能是未来临床治疗辐射损伤的主攻方向,而在未来是否可以找到更多的生物抑制剂(如中药小分子、中药有效提取物等)将是广大研究者深入的重点。

5 结语与展望

综上所述,辐射会刺激 HMGB1 与 TLR4 结合,通过下游的 MyD88 来促进 TRAF6、IRAK1 的表达和 I κ B 与 NF- κ B 的解离,游离的 NF- κ B 从胞液转移到胞核,从而促进下游基因 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子的分泌,进而引发辐射性炎症损伤,而 miR-146a-5p 和 miR-205-3p 可以通过抑制 TLR4 信号通路减轻辐射造成的炎症损伤,见图 1。

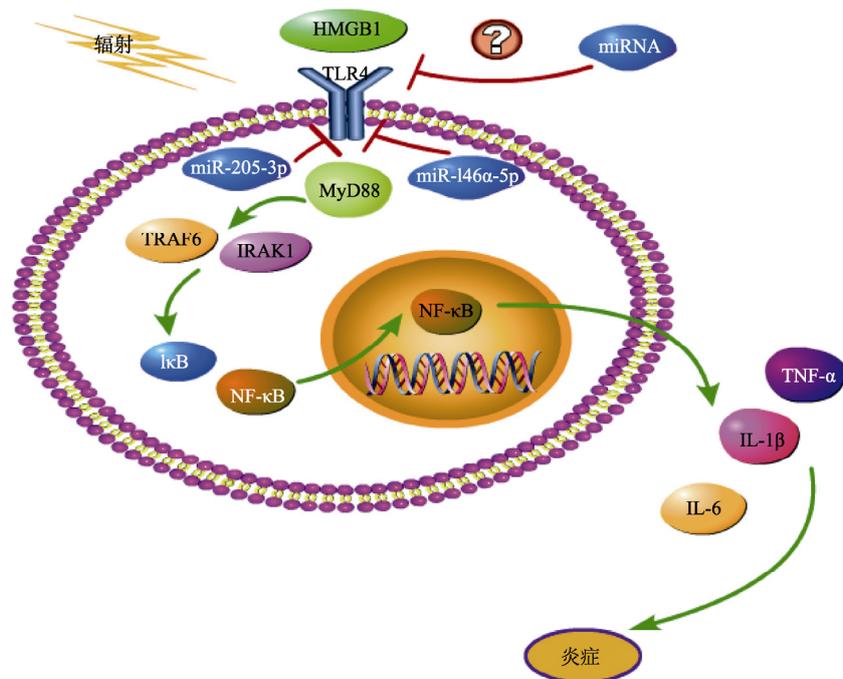


图 1 miRNA 介导的 TLR4 炎症信号通路在放疗中的作用机制

Fig. 1 Mechanism of miRNA-mediated TLR4 inflammatory signaling pathway in radiotherapy

然而炎症反应作为放射性损伤疾病发展至一定阶段的病理表现，其发生机制错综复杂，给临床治疗和预后带来了巨大挑战。近年来，随着对基因疗法的深入研究和研究者们对 miRNA 与 TLR4 形成的交互网络调控分子机制的深入研究，提示 miRNA 有望成为未来辐射防护的新型调节剂和潜在治疗靶点。因而从基因水平上揭示其发生发展可成为放射性损伤的早期诊断、精准治疗和良好的预后的新途径，也是今后放射防护药物研发的一个新方向；然而具体的分子机制仍然不甚清楚，还需要大量的研究进一步探讨辐射后 miRNA 与 TLR4 介导的炎症信号通路的具体发生机制，为寻求有效的生物靶点和有效药物提供理论依据，通过 miRNA 单克隆抗体或多克隆抗体对 miRNA 的调节，其他 RNA 对 miRNA 的调节，或基因敲除、基因筛选特异 miRNA 来研发 miRNA 的有效抑制剂(如中药小分子、中药有效提取物等)可能是将 miRNA 应用于临床疾病治疗的一个新策略。

REFERENCES

[1] TIAN Y T, RAO S, PAN Q, et al. Research progress of miRNAs in regulating radiotherapy resistance of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Anti-Tumor Pharm(肿瘤药)*, 2020, 10(4): 385-390, 415.

[2] CITRIN D E. Recent developments in radiotherapy[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(11): 1065-1075.

[3] DE RUYSSCHER D, NIEDERMANN G, BURNET N G, et al. Radiotherapy toxicity[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 1-20.

[4] QIU J H, XU J, ZHENG Y, et al. High-mobility group box 1 promotes metalloproteinase-9 upregulation through Toll-like receptor 4 after cerebral ischemia[J]. *Stroke*, 2010, 41(9): 2077-2082.

[5] TAN G Y, NIU J X, SHI Y L, et al. NF-κB-dependent MicroRNA-125b up-regulation promotes cell survival by targeting p38α upon ultraviolet radiation[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(39): 33036-33047.

[6] TANG D, KANG R, COYNE C B, et al. PAMPs and DAMPs: Signal 0s that spur autophagy and immunity[J]. *Immunol Rev*, 2012, 249(1): 158-175.

[7] LIU Z, LEI X, LI X, et al. Toll-like receptors and radiation protection[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(1): 31-39.

[8] BURDELYA L G, BRACKETT C M, KOJOUHAROV B, et al. Central role of liver in anticancer and radioprotective activities of Toll-like receptor 5 agonist[J]. *PNAS*, 2013, 110(20): E1857-E1866. Doi: 10.1073/pnas.1222805110.

[9] HUANG L H, PAN X P, GONG K R, et al. Anti-inflammatory effects of three kinds of traditional Mongolian medicine monomer and its combination on LPS-stimulated RAW_{264.7} macrophages[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(5): 950-958.

[10] BURDELYA L G, KRIVOKRYSENKO V I, TALLANT T C, et al. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models[J]. *Science*, 2008,

320(5873): 226-230.

- [11] GAO F, ZHANG C X, ZHOU C F, et al. A critical role of toll-like receptor 2 (TLR2) and its' *in vivo* ligands in radio-resistance[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13004. Doi: 10.1038/srep13004.
- [12] LIU C, ZHANG C, MITCHEL R E, et al. A critical role of toll-like receptor 4 (TLR4) and its' *in vivo* ligands in basal radio-resistance[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e649. DOI: 10.1038/cddis.2013.161.
- [13] ZHANG C, LIN J, CUI J G, et al. Radioprotection of bone marrow hematopoiesis by CpG-oligodeoxynucleotides administered to mice after total-body irradiation[J]. *J Radiat Res*, 2011, 52(6): 828-833.
- [14] SHARAPOV M G, GLUSHKOVA O V, PARFENYUK S B, et al. The role of TLR4/NF- κ B signaling in the radioprotective effects of exogenous Prdx6[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021(702): 108830. Doi: 10.1016/j.abb.2021.108830.
- [15] GARCIA A N, CASANOVA N G, VALERA D G, et al. Involvement of eNAMPT/TLR4 signaling in murine radiation pneumonitis: Protection by eNAMPT neutralization[J]. *Transl Res*, 2021: S1931-S5244(21)00141-9.
- [16] KWAK M S, KIM H S, LEE B, et al. Immunological significance of HMGB1 post-translational modification and redox biology[J]. *Front Immunol*, 2020(11): 1189. Doi: 10.3389/fimmu.2020.01189.
- [17] CHEN X R, WU S K, CHEN C N, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation attenuates microglial-induced inflammation by inhibiting the HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway following experimental traumatic brain injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 143. Doi: 10.1186/s12974-018-1345-8.
- [18] ZHANG Z B, LIU Q Z, LIU M, et al. Upregulation of HMGB1-TLR4 inflammatory pathway in focal cortical dysplasia type II[J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 27. Doi: 10.1186/s12974-018-1078-8.
- [19] ZHENG L, ZHU Q, XU C, et al. Glycyrrhizin mitigates radiation-induced acute lung injury by inhibiting the HMGB1/TLR4 signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 214-226.
- [20] ZHANG X M, HU X, OU J Y, et al. Glycyrrhizin ameliorates radiation enteritis in mice accompanied by the regulation of the HMGB1/TLR4 pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020(2020): 8653783. Doi: 10.1155/2020/8653783.
- [21] VIJAY K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018(59): 391-412.
- [22] PAUDEL Y N, SHAIKH M F, CHAKRABORTI A, et al. HMGB1: A common biomarker and potential target for TBI, neuroinflammation, epilepsy, and cognitive dysfunction[J]. *Front Neurosci*, 2018(12): 628. Doi: 10.3389/fnins.2018.00628.
- [23] LEITNER G R, WENZEL T J, MARSHALL N, et al. Targeting toll-like receptor 4 to modulate neuroinflammation in central nervous system disorders[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(10): 865-882.
- [24] LIU Z, CAO K, LIAO Z B, et al. Monophosphoryl lipid A alleviated radiation-induced testicular injury through TLR4-dependent exosomes[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(7): 3917-3930.
- [25] LI X Q, CAI L M, LIU J, et al. Liquiritin suppresses UVB-induced skin injury through prevention of inflammation, oxidative stress and apoptosis through the TLR4/MyD88/NF- κ B and MAPK/caspase signaling pathways[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(3): 1445-1459.
- [26] LU L, LI W, SUN C, et al. Phycocyanin ameliorates radiation-induced acute intestinal toxicity by regulating the effect of the gut microbiota on the TLR4/Myd88/NF- κ B pathway[J]. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2020, 44(7): 1308-1317.
- [27] LEWIS W, SIMANYI E, LI H, et al. Regulation of ultraviolet radiation induced cutaneous photoimmunosuppression by toll-like receptor-4[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 508(2): 171-177.
- [28] WANG X Y, BI Z G, WANG Y G, et al. Increased MAPK and NF- κ B expression of Langerhans cells is dependent on TLR2 and TLR4, and increased IRF-3 expression is partially dependent on TLR4 following UV exposure[J]. *Mol Med Rep*, 2011, 4(3): 541-546.
- [29] CHEN K, RAJEWSKY N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs[J]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(2): 93-103.
- [30] SUN Y, HAWKINS P G, BI N, et al. Serum microRNA signature predicts response to high-dose radiation therapy in locally advanced non-small cell lung cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2018, 100(1): 107-114.
- [31] HALIMI M, ASGHARI S M, SARIRI R, et al. Cellular response to ionizing radiation: A MicroRNA story[J]. *Int J Mol Cell Med*, 2012, 1(4): 178-184.
- [32] KRAEMER A, ANASTASOV N, ANGERMEIER M, et al. MicroRNA-mediated processes are essential for the cellular radiation response[J]. *Radiat Res*, 2011, 176(5): 575-586.
- [33] HE Y X, ZHANG Y, LI H Y, et al. Comparative profiling of MicroRNAs reveals the underlying toxicological mechanism in mice testis following carbon ion radiation[J]. *Dose Response*, 2018, 16(2): 1559325818778633.
- [34] WEI W J, HE J P, WANG J F, et al. Serum microRNAs as early indicators for estimation of exposure degree in response to ionizing irradiation[J]. *Radiat Res*, 2017, 188(3): 342-354.
- [35] JOSSON S, SUNG S Y, LAO K, et al. Radiation modulation of microRNA in prostate cancer cell lines[J]. *Prostate*, 2008, 68(15): 1599-1606.
- [36] SIMONE N L, SOULE B P, LY D, et al. Ionizing radiation-induced oxidative stress alters miRNA expression[J]. *PLoS One*, 2009, 4(7): e6377.
- [37] ROGERS C J, LUKASZEWICZ A I, YAMADA-HANFF J, et al. Identification of miRNA signatures associated with

- radiation-induced late lung injury in mice[J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0232411. Doi: 10.1371/journal.pone.0232411.
- [38] CHIBA M, UEHARA H, NIYAMA I, et al. Changes in miRNA expressions in the injured small intestine of mice following high-dose radiation exposure[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(6): 2452-2458.
- [39] O'CONNELL R M, TAGANOV K D, BOLDIN M P, et al. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(5): 1604-1609.
- [40] BHATTACHARYYA S, BALAKATHIRESAN N S, DALGARD C, et al. Elevated miR-155 promotes inflammation in cystic fibrosis by driving hyperexpression of interleukin-8[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(13): 11604-11615.
- [41] LU T X, MUNITZ A, ROTHENBERG M E. MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression[J]. *J Immunol*, 2009, 182(8): 4994-5002.
- [42] ZHU N, ZHANG D Z, CHEN S F, et al. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215(2): 286-293.
- [43] URBICH C, KUEHBACHER A, DIMMELER S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(4): 581-588.
- [44] XU T, LIAO Z, O'REILLY M S, et al. Serum inflammatory miRNAs predict radiation esophagitis in patients receiving definitive radiochemotherapy for non-small cell lung cancer[J]. *Radiother Oncol*, 2014, 113(3): 379-384.
- [45] RAO R, NAGARKATTI P, NAGARKATTI M. Role of miRNA in the regulation of inflammatory genes in staphylococcal enterotoxin B-induced acute inflammatory lung injury and mortality[J]. *Toxicol Sci*, 2015, 144(2): 284-297.
- [46] ZHOU Q, XIAO X, WANG C, et al. Decreased microRNA-155 expression in ocular Behcet's disease but not in Vogt Koyanagi Harada syndrome[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(9): 5665-5674.
- [47] SHI M, DENG W, BI E, et al. TRIM30 alpha negatively regulates TLR-mediated NF-kappa B activation by targeting TAB2 and TAB3 for degradation[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(4): 369-377.
- [48] SZATMÁRI T, KIS D, BOGDÁNDI E N, et al. Extracellular vesicles mediate radiation-induced systemic bystander signals in the bone marrow and spleen[J]. *Front Immunol*, 2017(8): 347. Doi: 10.3389/fimmu.2017.00347.
- [49] YAO L, ZHOU Y, SUI Z, et al. HBV-encoded miR-2 functions as an oncogene by downregulating TRIM35 but upregulating RAN in liver cancer cells[J]. *EBioMedicine*, 2019(48): 117-129.
- [50] YU X F, WANG J, OUYANG N, et al. The role of miR-130a-3p and SPOCK₁ in tobacco exposed bronchial epithelial BEAS-2B transformed cells: Comparison to A549 and H1299 lung cancer cell lines[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2019, 82(15): 862-869.
- [51] CHEN Y H, WU Z F, YUAN B Y, et al. MicroRNA-146a-5p attenuates irradiation-induced and LPS-induced hepatic stellate cell activation and hepatocyte apoptosis through inhibition of TLR4 pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 22. Doi: 10.1038/s41419-017-0038-z.
- [52] FU J Y, YU X F, WANG H Q, et al. MiR-205-3p protects human corneal epithelial cells from ultraviolet damage by inhibiting autophagy via targeting TLR4/NF-κB signaling[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(12): 6494-6504.
- [53] LITTLE J B. Radiation carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21(3): 397-404.
- [54] LIU C, GAO F, LI B, et al. TLR4 knockout protects mice from radiation-induced thymic lymphoma by downregulation of IL6 and miR-21[J]. *Leukemia*, 2011, 25(9): 1516-1519.
- [55] XIAO H W, LI Y, LUO D, et al. Hydrogen-water ameliorates radiation-induced gastrointestinal toxicity via MyD88's effects on the gut microbiota[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(1): e433. Doi: 10.1038/emm.2017.246.
- [56] VISHNOI A, RANI S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: An overview[J]. *Methods Mol Biol*, 2017(1509): 1-10.

收稿日期: 2021-05-19
(本文责编: 蔡珊珊)