

ceRNA 网络在反复种植失败中的研究进展

罗加欢¹ 综述 张若鹏^{2,3} 审校

1.大理大学临床医学院,云南 大理 671000;

2.大理大学第一附属医院生殖医学科,云南 大理 671000;

3.大理大学生殖医学研究所,云南 大理 671000

【摘要】 竞争性内源性RNA (ceRNA)网络是指一类通过与信使RNA (mRNA)竞争性结合微小RNA (miRNA)来调控mRNA水平,由ceRNA-miRNA-mRNA构成的网络系统。ceRNA网络参与了多种疾病的发生发展。反复种植失败(RIF)是女性不孕患者行体外受精(IVF)或胞浆内单精子注射(ICSI)的常见并发症,一直是辅助生殖技术(ART)尚未攻克的难题。对ceRNA网络在RIF中的研究将有助于对RIF的病因、诊断、治疗、预后等方面提供新思路。

【关键词】 竞争性内源性RNA网络;长链非编码RNA;环状RNA;反复种植失败

【中图分类号】 R394 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2021)02—0228—04

Research progress of ceRNA network in recurrent implantation failure. LUO Jia-huan¹, ZHANG Ruo-peng^{2,3}.

1. Clinical Medical College, Dali University, Dali 671000, Yunnan, CHINA; 2. Department of Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, Yunnan, CHINA; 3. Institute of Reproductive Medicine, Dali University, Dali 671000, Yunnan, CHINA

[Abstract] Competitive endogenous RNA (ceRNA) network refers to the network composed of ceRNA-miRNA-mRNA, which regulates the level of messenger RNA (mRNA) by competitively binding microRNA (miRNA) with mRNA. ceRNA network is involved in the occurrence and development of many diseases. Recurrent implantation failure (RIF) is a common complication of *in vitro* fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in female infertility patients, which has always been a difficult problem for assisted reproductive technology (ART). The study of ceRNA network in RIF will help provide new ideas for the etiology, diagnosis, treatment, prognosis and other aspects of RIF.

[Key words] ceRNA network; lncRNA; circRNA; Recurrent implantation failure

反复种植失败(recurrent implantation failure, RIF)是指年龄小于40岁的不孕症患者经历至少3个体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)(包括新鲜胚胎移植和冻融胚胎移植)或胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)周期并移植了4个及以上优质胚胎而未发生胚胎着床或临床妊娠^[1-2]。然而胚胎植入率在新鲜胚胎移植中为53.6%,在冷冻胚胎移植中仅为40.2%^[2],其中RIF占IVF的10%左右^[3]。RIF一直是ART中尚未攻克的难题。RIF的病因尚未阐释明了,近年来随着对基因组学研究的不断深入发现竞争性内源性RNA (competing endogenous RNAs, ceRNA)参与了RIF广泛的生物学过程,现就ceRNA在RIF的研究进展予以综述。

1 CeRNA 及 CeRNA 网络

竞争性内源性RNA (competing endogenous RNAs,

ceRNA)网络是指一类通过与信使RNA (messenger RNA, mRNA)竞争性结合微小RNA (microRNA, miRNA)来调控mRNA的水平,由CeRNA-miRNA-mRNA构成的网络系统^[4]。ceRNA通过miRNA反应元件(miRNA response elements, MRE)与miRNA结合来调节miRNA活性,达到减弱miRNA对靶向mRNA的抑制作用的目的^[4]。ceRNA包括蛋白质编码RNA、转运RNA、核糖体RNA、人工合成miRNA抑制剂及病毒miRNA抑制剂、长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、假基因(pseudogene)及环状RNA (circular RNA, circRNA)^[5]。其中,lncRNA及circRNA在疾病中的研究较多。

1.1 LncRNA LncRNA是一类长度大于200个核苷酸的RNA片段,主要位于细胞核中^[6],也有少部分lncRNA位于细胞质^[7]。LncRNA除通过自分泌作用于

基金项目:国家自然科学基金(编号:81860271);云南省地方本科高校基础研究联合专项项目(编号:2017FH001-078);云南省医学学科带头人培养对象(编号:D-2017020);云南省“万人计划”名医专硕人才(编号:云卫人发[2019]35号);云南省教育厅项目(编号:2020Y0565);大理大学第八批中青年学术带头人后备人才(编号:理大研发[2017]2号);大理大学第一附属医院第二批院级重点学(专)科建设项目(编号:大附院[2016]46号);大理大学生殖医学创新团队(编号:ZKLX2019320)

通讯作者:张若鹏,主任医师,博士,研究生导师,E-mail:zrp263000@163.com

自身外,一些 lncRNA 还可以通过外泌体运输传递到相邻的细胞或血清^[8]。尽管 lncRNA 不具有编码蛋白质或肽的功能,但 lncRNA 独特的二级和三级结构,使其既具有 RNA 功能又具有蛋白质样功能^[9]。lncRNA 通过控制细胞核结构和细胞核中的转录以及调节细胞质中的 mRNA 稳定性,翻译和翻译后修饰而成为基因表达网络中的重要调节因子^[10]。在多种疾病的发生发展中起着重要的作用。

1.2 CircRNA CircRNA 是一类几乎存在于生物体所有细胞的非编码 RNA。CircRNA 的 3' 和 5' 末端共价连接形成闭合环状单链结构,使其能够抵抗核酸外切酶的水解作用,维持 circRNA 的相对稳定性及保守性^[11]。CircRNA 可以作为 miRNA 海绵来抑制 miRNA 功能,参与靶基因的剪接,将基因翻译成蛋白质并与 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)相互作用,包括靶基因的发生、翻译、转录调控和细胞外运输等生物学过程^[12]。

2 CeRNA 网络与反复种植失败

近年来,对 ceRNA 的研究发现 lncRNA 及 circRNA 在多种疾病的发生发展中发挥着作用,对于 ceRNA 在 RIF 中的研究进展尚无文献报道。现就 lncRNA 及 circRNA 作为 ceRNA 在反复种植失败患者的作用及机制进行综述。

2.1 LncRNA 作为 ceRNA 在 RIF 中的作用

2.1.1 H19 H19 是最先发现其能转录成 lncRNA 的基因之一;H19 由母体等位基因表达^[13]。它主要位于细胞质中,长度为 2.3 kb,不产生蛋白质。H19 在胚胎发育和生长控制中高度表达,但在出生后显著下调,除了心脏组织和骨骼肌。研究人员发现,H19 充当结合 let-7 并抑制其功能的“分子海绵”^[14-16]。let-7 调控整合素 $\beta 3$ 基因的表达(let-7 的过表达将抑制整合素 $\beta 3$ 基因的表达)^[17],以此调节子宫内膜容受性和胚胎的植入,意味着在 ceRNA 网络中 H19/let-7 整合素 $\beta 3$ 调节轴对子宫内膜容受性及胚胎植入产生了影响。ZENG 等^[18]的研究发现在 RIF 中 H19 的下调降低整合素 $\beta 3$ 蛋白的表达,随后造成了子宫内膜容受性的损害,最终导致植入失败。也有研究发现 H19 作为 miR-3187-3p 的分子海绵作用于 mRNA MGAT3、mRNA INF2、mRNA MYO9B、mRNA CEP170B、mRNA PIP5K1C 的表达,来调节子宫内膜代谢过程以影响子宫内膜容受性^[19],即通过 H19/miR-3187-3p/MGAT3, H19/miR-3187-3p/INF2, H19/miR-3187-3p/MYO9B 和 H19/miR-3187-3p/PIP5K1C 调节轴来发挥作用。

2.1.2 TRG-AS1 T 细胞受体 γ 基因座反义 RNA 1 (T cell receptor gamma locus antisense RNA 1,

TRG-AS1)与疾病的不良预后呈正相关^[20]。XU 等的研究发现 TRG-AS1 竞争性结合 miR-424-5p,miR-488-3p 和 miR-5480-3p 促进 RIF 患者子宫内膜的 mRNA FASLG、mRNA FGL2、mRNA ITGAL 等免疫相关基因的表达,促进免疫应答^[19],TRG-AS1 作为多个 miRNA 的海绵体影响多个基因的表达,以此构成的 ceRNA 网络促进 RIF 的发生。

2.1.3 SMIM25 SMIM25 又被称为 LINC01272/GCRL1,位于 20 号染色体上。最近的证据表明它参与了肿瘤细胞的增殖和转移。有研究证明 SMIM25 在疾病中具有促炎作用^[21-22]。XU 等^[19]首次在 RIF 患者的子宫内膜的研究中发现 SMIM25 作为海绵吸收 miR-424-5p,参与调节 P3H2,CES1 和 MYD88 的转录或表达,促进子宫内膜炎症的发生,因此在 ceRNA 网络中 SMIM25/miR-424-5p/P3H2、SMIM25/miR-424-5p/CES1、SMIM25/miR-424-5p/MYD88 调节轴在 RIF 发生及发展的炎症学机制中具有重要的作用。SUB-HASH 等^[23]对 SMIM25 的分子功能进行进一步研究发现其参与氧化应激、细胞黏附、整合素信号传导等多种分子生物过程。然而 SMIM25 在 RIF 中是否也参与了类似的生物学过程需进一步的研究。

2.1.4 NEAT1 核富集转录体 1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1, NEAT1) 位于染色体 11q13.1,由 RNA 聚合酶 II (pol II) 转录,广泛表达于各种哺乳动物细胞中^[24]。NEAT1 是旁斑(Paraspeckles)的重要结构成分。旁斑作为细胞核亚结构被置于细胞核染色质区域,通过各种机制参与基因表达的调节,包括 mRNA 保留、mRNA 断裂、A 到 I 编辑和蛋白质捕获^[25-26]。WEST 等^[27]已经表明 NEAT1 附着于人类细胞中的多个基因组位点,主要在活性转录位点附近。那也就意味着 NEAT1 参与了基因表达的调控。IMAMURA 团队^[28]发现 NEAT1 通过与富含脯氨酸/谷氨酰胺的剪接因子结合来调节先天性免疫反应来调节 IL8 转录。ZHANG 等^[29]发现 NEAT1 促进巨噬细胞中炎症小体的活化,最终促进炎症的发生。XU 等^[19]的研究发现 NEAT1 通过 miR-488-3p、miR-211-5p、miR-345-3p 等作用于 mRNA LCP1、mRNA CSF1、mRNA ELK4 等多种免疫相关基因调节子宫内膜容受性而发挥重要作用,上述研究再次验证了 ceRNA 网络在 RIF 疾病的作用。

2.1.5 LncRNA ENST00000433673 LncRNA ENST00000433673 首次被 HUANG 等^[30]发现在多囊卵巢综合征(PCOS)患者的滤泡颗粒细胞中异常(高)表达。生信分析发现 LncRNA ENST00000433673 的靶 mRNAs 与生物黏附有关^[31]。大量研究报道细胞间黏附分子 1 (ICAM1) 是靶 mRNA 整合素亚基 αL (ITGAL)

相互作用的 mRNA, 是胚胎植入的重要调节剂^[32-33]。进一步的研究发现靶标 mRNA ITGAL 和相互作用的 mRNA ICAM1 在 RIF 患者的子宫内膜组织和子宫内膜上皮细胞(endometrial epithelial cells, EECs)中低表达^[31]。表明 lncRNA ENST00000433673 的低表达介导靶 mRNA ITGAL 的低表达, 从而促进相互作用的 mRNA ICAM1 的表达抑制和 EECs 的黏附下降, 从而降低胚胎与母体之间的黏附和植入。在 LI 等^[34]的研究中发现 hsa-miR-125a-3p 的表达将促进 mRNA ITGAL 的表达, 而调控 hsa-miR-125a-3p 表达的 lncRNA 有多种。hsa-miR-125a-3p 在子宫内膜细胞的表达情况尚无报道。故 lncRNA ENST00000433673 是否通过 hsa-miR-125a-3p 来调控靶 mRNA ITGAL 的表达, 尚需进一步的研究确认。

2.2 CircRNA 作为 ceRNA 在 RIF 中的作用 LIU 等^[35]通过对 3 个 RIF 及 3 个对照组的子宫内膜组织活检进行 circRNA 微阵列分析, 并利用 qRT-PCR 进一步验证发现在 RIF 的子宫内膜组织中 hsa_circRNA_070616、hsa_circRNA_103716, hsa_circRNA_104001、hsa_circRNA_104854 的表达较对照组明显上调, hsa_circRNA_004183、hsa_circRNA_044353、hsa_circRNA_404686 的表达下调。Hsa_circRNA_070616 通过竞争性结合 miR-4786-3p 作用于 3'-磷酸腺苷 5'-磷酸硫酸合成酶 1 (3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 1, PAPSS1); hsa_circRNA_103716 通过 miR-769-5p 作用于 PAPSS1 发挥作用^[36]。在 ceRNA 网络中 hsa_circRNA_070616/miR-4786-3p/PAPSS1 和 hsa_circRNA_103716/miR-769-5p/PAPSS1 调节轴作用的靶基因均为 PAPSS1, PAPSS1 是一种合成通用硫酸盐供体 PAPS 的双功能酶^[37-38], 由 NH₂ 末端的 APS 激酶结构域和 COOH 末端的 ATP 硫化酶结构域组成^[37], 主要位于细胞核中, 是哺乳动物硫酸盐代谢的基础, 最近临床发现其与越来越多的人类疾病有关。然而 PAPSS1 在 RIF 中的具体作用机制尚不完全清楚。然而其他几个差异表达的 circRNA 具体竞争的 miRNA 及作用的 mRNA 尚不清楚。

3 展望

RIF 一直是困扰生殖科医师及科研工作者的难题, 近年来随着生物信息技术的应用, ceRNA 逐渐进入了人们的视野, 本课题组前期已利用生物信息技术从 GEO 数据库提取数据并进行分析, 最终获得了 6circRNA, 7miRNA, 56mRNA 并已构建 circRNA-miRNA-mRNA 网络, 通过 cytoscape 软件的 cytohubba 插件发现了 4 个核心基因(hub gene), 分别为 YWHAZ、JAK2、MYH9、RAP2C 基因, 并提出了相关的 circRNA-miRNA-核心基因亚网络假说。课题组将在

试验基础上进一步研究其在 RIF 的作用。总体而言, 对于 ceRNA 在 RIF 患者中的研究相对匮乏, 尚需更多研究深入探讨 ceRNA 假说在 RIF 的存在及具体作用机制, 为 RIF 的病因、诊断、治疗、预后等方面提供新的思路。

参考文献

- 全松, 刘婧. 反复种植失败的定义及影响因素[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(5): 321-324.
- BASHIRI A, HALPER KI, ORVIETO R. Recurrent Implantation failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 121.
- SIMUR A, OZDEMIR S, ACAR H, et al. Repeated in vitro fertilization failure and its relation with thrombophilia [J]. Gynecol Obstet Invest, 2009, 67(2): 109-112.
- 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.
- AN Y, FURBER KL, JI S. Pseudogenes regulate parental gene expression via ceRNA network [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(1): 185-192.
- DERRIEN T, JOHNSON R, BUSSOTTI G, et al. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression [J]. Genome Res, 2012, 22(9): 1775-1789.
- CABILI MN, DUNAGIN MC, MCCLANAHAN PD, et al. Localization and abundance analysis of human lncRNAs at single-cell and single-molecule resolution [J]. Genome Biol, 2015, 16: 20.
- QU L, DING J, CHEN C, et al. Exosome-transmitted lncARSR promotes sunitinib resistance in renal cancer by acting as a competing endogenous RNA [J]. Cancer Cell, 2016, 29(5): 653-668.
- CHI Y, WANG D, WANG J, et al. Long Non-Coding RNA in the Pathogenesis of Cancers [J]. Cells, 2019, 8(9): 1015.
- YAO RW, WANG Y, CHEN LL. Cellular functions of long noncoding RNAs [J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(5): 542-551.
- SHI Y, JIA X, XU J. The new function of circRNA: translation [J]. Clin Transl Oncol, 2020. doi: 10.1007/s12094-020-02371-1.
- ZANG J, LU D, XU A. The interaction of circRNAs and RNA binding proteins: An important part of circRNA maintenance and function [J]. J Neurosci Res, 2020, 98(1): 87-97.
- GABORY A, JAMMES H, DANDOLO L. The H19 locus: role of an imprinted non-coding RNA in growth and development [J]. Bioessays, 2010, 32(6): 473-480.
- GAO Y, WU F, ZHOU J, et al. The H19/let-7 double-negative feedback loop contributes to glucose metabolism in muscle cells [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(22): 13799-13811.
- YAN L, ZHOU J, GAO Y, et al. Regulation of tumor cell migration and invasion by the H19/let-7 axis is antagonized by metformin-induced DNA methylation [J]. Oncogene, 2015, 34(23): 3076-3084.
- KALLEN AN, ZHOU XB, XU J, et al. The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs [J]. Mol Cell, 2013, 52(1): 101-112.
- LIU W, PANG RTK, CHEONG AWY, et al. Involvement of microRNA lethal-7a in the regulation of embryo implantation in mice [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37039.
- ZENG H, FAN X, LIU N. Expression of H19 imprinted gene in pa-

- tients with repeated implantation failure during the window of implantation [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017, 296(4): 835-839.
- [19] XU H, ZHOU M, CAO Y, et al. Genome-wide analysis of long non-coding RNAs, microRNAs, and mRNAs forming a competing endogenous RNA network in repeated implantation failure [J]. Gene, 2019, 720: 144056.
- [20] XIE H, SHI S, CHEN Q, et al. LncRNA TRG-AS1 promotes glioblastoma cell proliferation by competitively binding with miR-877-5p to regulate SUZ12 expression [J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(8): 152476.
- [21] HABERMAN Y, BENSHOSHAN M, DI SEGNI A, et al. Long ncRNA landscape in the ileum of treatment-naive early-onset crohn disease [J]. Inflamm Bowel Dis, 2018, 24(2): 346-360.
- [22] WANG S, HOU Y, CHEN W, et al. KIF9-AS1, LINC01272 and DIO3OS lncRNAs as novel biomarkers for inflammatory bowel disease [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 2195-2202.
- [23] SUBHASH S, KALMBACH N, WEGNER F, et al. Transcriptome-wide profiling of cerebral cavernous malformations patients reveal important long noncoding RNA molecular signatures [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 18203.
- [24] 罗丽芳, 陈秀玮. 长链非编码RNA与宫颈癌相关性研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(3): 171-175.
- [25] LIN Y, SCHMIDT BF, BRUCHEZ MP, et al. Structural analyses of NEAT1 lncRNAs suggest long-range RNA interactions that may contribute to paraspeckle architecture [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46 (7): 3742-3752.
- [26] GHAFOURI-FARD S, TAHERI M. Nuclear enriched abundant transcript 1 (NEAT1): a long non-coding RNA with diverse functions in tumorigenesis [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111: 51-59.
- [27] WEST JA, DAVIS CP, SUNWOO H, et al. The long noncoding RNAs NEAT1 and MALAT1 bind active chromatin sites [J]. Mol Cell, 2014, 55(5): 791-802.
- [28] IMAMURA K, IMAMACHI N, AKIZUKI G, et al. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli [J]. Mol Cell, 2014, 53(3): 393-406.
- [29] ZHANG P, CAO L, ZHOU R, et al. The lncRNA Neat1 promotes activation of inflammasomes in macrophages [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1495.
- [30] HUANG X, HAO C, BAO H, et al. Aberrant expression of long non-coding RNAs in cumulus cells isolated from PCOS patients [J]. J Assist Reprod Genet, 2016, 33(1): 111-121.
- [31] LI D, JIANG W, JIANG Y, et al. Preliminary functional inquiry of lncRNA ENST00000433673 in embryo implantation using bioinformatics analysis [J]. Syst Biol Reprod Med, 2019, 65(2): 164-173.
- [32] VIGANO P, INFANTINO M, LATTUADA D, et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphisms in endometriosis [J]. Mol Hum Reprod, 2003, 9(1): 47-52.
- [33] LECCE L, KANEKO Y, MADAWALA RJ, et al. ICAM1 and fibrinogen-gamma are increased in uterine epithelial cells at the time of implantation in rats [J]. Mol Reprod Dev, 2011, 78(5): 318-327.
- [34] LI S, LIU X, LI H, et al. Integrated analysis of long noncoding RNA-associated competing endogenous RNA network in periodontitis [J]. J Periodontal Res, 2018, 53(4): 495-505.
- [35] LIU L, LI L, MA X, et al. Altered Circular RNA Expression in Patients with Repeated Implantation Failure [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(1): 303-313.
- [36] SCHRODER E, GEBEL L, EREMEEV AA, et al. Human PAPS synthase isoforms are dynamically regulated enzymes with access to nucleus and cytoplasm [J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29559.
- [37] VENKATACHALAM KV. Human 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate (PAPS) synthase: biochemistry, molecular biology and genetic deficiency [J]. IUBMB Life, 2003, 55(1): 1-11.
- [38] LEUNG AW, DRAGOWSKA WH, RICAURTE D, et al. 3'-Phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 1 (PAPSS1) knockdown sensitizes non-small cell lung cancer cells to DNA damaging agents [J]. Oncotarget, 2015, 6(19): 17161-17177.

(收稿日期:2020-07-29)