

# Rola kolistych cząsteczek RNA (circRNA)

## w chorobach alergicznych

Circular RNAs (circRNA) in allergic diseases



Dr n. med.  
Beata Narożna

Pracownia Badań  
Komórkowych  
i Molekularnych Kliniki  
Pneumonologii, Alergologii  
Dziecięcej i Immunologii  
Klinicznej

Kierownik Pracowni:  
Dr hab. n. med.  
Aleksandra  
Szczepankiewicz

Kierownik Kliniki:  
Dr hab. n. med.  
Irena Wojsyk-Banaszak

### S U M M A R Y

Circular RNAs (circRNAs) are noncoding RNA with continuous, closed circular structure. Although first described in the '70, their golden age of discovery has only just started. Not much is known about the circRNAs. One of their most important roles is to modulate miRNA expression by regulating its levels in the cell. This works aims to review the most important discoveries concerning circRNAs in allergic diseases: asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis.

**Koliste cząsteczki RNA (circRNA) to niekodujące RNA o zamkniętej, okrągłej strukturze. Choć opisano je po raz pierwszy w latach 70, dopiero teraz przeżywają złotą erę odkryć. Niewiele wiadomo na ich temat. Jedną z ich głównych funkcji wydaje się być modulacja ekspresji miRNA poprzez kontrolowanie jego ilości w komórce. Niniejsza publikacja stanowi przegląd badań dotyczących circRNA w chorobach alergicznych: astmie, alergicznym nieżyty nosa oraz atopowym zapaleniu skóry.**

Narożna B.: Rola kolistych cząsteczek RNA (circRNA) w chorobach alergicznych. *Alergia*, 2020, 3; 26-27

Choć koliste cząsteczki RNA (circRNA) zostały po raz pierwszy odkryte w latach 70, to z powodu ówczesnych niedoskonałości metod badawczych zostały one opisane jako artefakty - nieistotne pozostałości procesu transkrypcji [1]. Dopiero rozwój technologii sekwencjonowania nowej generacji i zastosowanie zaawansowanych metod bioinformatycznych umożliwiły zweryfikowanie istnienia tych cząsteczek [2]. Nadal niewiele wiadomo jaka jest ich dokładna rola, a w szczególności – czy mogą modyfikować ryzyko zachorowania i przebiegu chorób?

### Budowa i funkcja circRNA

Koliste RNA to zamknięte wiązaniami kowalencyjnymi okręgi powstałe w procesie back-splicing [2]. Są cząsteczkami niekodującymi. Mogą składać się z sekwencji samych intronów, samych eksonów lub obu rodzajów na raz. Występują w dużej ilości u organizmów żywych, są stabilne, konserwatywne i tkanekowo-specyficzne lub charakterystyczne dla konkretnego etapu rozwoju organizmu [3].

Badania wykazały, iż jedną z ich funkcji jest modulacja działania miRNA (niewielkich cząsteczek RNA odpowiedzialnych za post-transkrypcyjną regulację ekspresji genów) [2]. W literaturze to zjawisko określa się często jako „miRNA sponge”, czyli „gąbka na miRNA”. Dzięki wiązaniu miRNA, circRNA kontrolują ich ilość w komórce. Ponadto circRNA pełnią rolę regulatorów transkrypcji genów rodzicielskich w jądrze komórkowym. Są również w stanie magazynować, sortować i transferować białka wiążące RNA, co daje im możliwość regulacji procesów post-transkrypcyjnych. Badania wykazały również, iż circRNA mogą odgrywać rolę w translacji białek, chociaż dokładny mechanizm nie został jeszcze poznany.

Choroby alergiczne, takie jak astma alergiczna, alergiczny nieżyt nosa czy atopowe zapalenie skóry, to jedne z najczęstszych chorób przewlekłych o złożonej patogenezie. Wzrost

zachorowań w ostatnich dekadach skłonił naukowców do przyjrzenia się wpływowi czynników epigenetycznych. Jednym z nich są właśnie circRNA.

### Astma

Do badań circRNA w astmie wykorzystano myszy model astmy wywołanej alergenami roztoczy kurzu domowego. Bao i wsp. wyizolowali RNA z płuc myszy modelowej oraz myszy zdrowej, a następnie poddali go sekwencjonowaniu [4]. W grupie kontrolnej zidentyfikowano 10924 circRNA, a w grupie badanej 9412; 6402 circRNA było wspólne dla obu grup. Większość circRNA było pochodzenia eksonowego (ok. 82%). Wśród nich, 152 circRNA ulegało zwiększonej, a 130 zmniejszonej ekspresji u osobników chorych w porównaniu do grupy kontrolnej. Analiza szlaków sygnałowych wykazała, iż circRNA, które ulegają zmianom ekspresji w mysim modelu astmy biorą m.in. udział w odpowiedziach układu immunologicznego, adhezji komórek, metabolizmie lipidów i endocytozie. Cząsteczki adhezyjne były wielokrotnie powiązane z różnymi chorobami układu immunologicznego (także z astmą) i mogą odpowiadać za regulację funkcji eozynofili [5]. Również fagocytoza makrofagów jest rozregulowana w astmie, a zmieniony metabolizm sfingolipidów został powiązany z fenotypem astmy [6, 7]. Badacze wykazali także, iż 63 circRNA mogło wchodzić w interakcję z ponad 491 miRNA. Dwa circRNA o zwiększonej ekspresji (circ\_0000455 i circ\_0000629) prawdopodobnie regulują miR-29b i miR-15a, opisywane w literaturze w kontekście negatywnej korelacji z wystąpieniem reakcji alergicznej [8, 9]. Natomiast dwa circRNA (circ\_0001454 i circ\_0000723) o zmniejszonej ekspresji mogą kontrolować miR-146b i miR-214, powiązane z astmą [10, 11]. MiR-146b nasila odpowiedź Th2, natomiast gen regulowany przez miR-214 reguluje balans Th1/Th2.

### Alergiczny nieżyt nosa

Zhu i wsp. pobrali nablonek dróg oddechowych od 10 pacjentów chorych na alergiczny nieżyt nosa (ANN), 10 osób

**Słowa kluczowe:**  
circRNA, astma, regulacja epigenetyczna

**Key words:**  
circRNA, allergy, epigenetic regulation



zdrowych oraz od myszy BALB/c, stanowiących model badawczy ANN [12]. Ekspresji ulegały głównie circRNA związane z regulacją układu immunologicznego, m.in. circUIMC1, circPVT1, circTBCD, circSMARCA5 i circHIPK3. Jedynie circHIPK3 ulegał istotnie wyższej ekspresji zarówno u pacjentów z ANN, jak i w mysim modelu w porównaniu do grupy kontrolnej. Wyciszenie genu circHIPK3 u myszy spowodowało zmniejszenie nasilenia objawów ANN u myszy, a badanie histopatologiczne wykazało zmniejszoną odpowiedź zapalną w nabłonku dróg oddechowych. Co więcej, poziom IgE oraz IL-4 w serum i nabłonku dróg oddechowych również uległ zmniejszeniu u myszy z wyciszonym genem circHIPK3. Natomiast nadekspresja genu circHIPK3 promowała różnicowanie limfocytów w kierunku Th2 w ludzkich i mysich komórkach CD4+ T po indukcji albuminą jaja kurzego. Badania funkcjonalne wykazały, iż circHIPK3 może być wiązany przez miR-495, co z kolei powoduje spadek ekspresji tego miR'a i wzrost ekspresji genu GATA-3 (odpowiedzialnego za regulację reakcji zapalnej), w rezultacie promując różnicowanie limfocytów Th2 i nasilenie objawów ANN.

Z kolei badania Liu i wsp. nad mysim modelem badawczym ANN (ekspozycja na alergen albuminy jaja kurzego) wykazały zmniejszoną ekspresję circDdx17 w porównaniu do grupy kontrolnej [13]. Gen circDdx17 został potwierdzony jako regulator ekspresji miR-17-5p. Nadekspresja circDdx17 zmniejszyła natomiast ekspresję miR-17-5p, poziom specyficznego IgE oraz interleukiny 4, 5 oraz TNF- $\alpha$ , a objawy ANN uległy zmniejszeniu. Potwierdza to istotną rolę circRNA w rozwoju i przebiegu ANN.

Badania wstępne na nabłonku górnych dróg oddechowych od 10 pacjentów z ANN i 10 osób zdrowych pozwoliło na identyfikację 30,936 circRNA, z czego 18,560 wykryto po raz pierwszy [14]. Większość z nich była pochodzenia eksonowego. Badacze oznaczyli również ekspresję miRNA i mRNA w badanych próbkach, co pozwoliło im na sprawdzenie interakcji pomiędzy tymi cząsteczkami. Analizy bioinformatyczne wykazały 11 circRNA o innym profilu ekspresji u osób chorych na ANN w porównaniu do grupy kontrolnej, które mogą wiązać się z 17 miRNA (np. hsa-miR-98-5p, którego ekspresja jest zwiększona u pacjentów z astmą i który prawdopodobnie reguluje gen interleukiny 13) i odpowiadać za regulację 29 genów. Geny te są odpowiedzialne za regulację szlaków sygnałowych PI3K-Akt i TLR, wielokrotnie opisywanych w literaturze w kontekście alergicznego nieżytu nosa [15-17].

## Atopowe zapalenie skóry

Od 38 osób zdrowych, 27 pacjentów chorych na atopowe zapalenie skóry (AZS) oraz 28 osób z łuszczycą pobrano próbki naskórka (zarówno objętego zmianami skórnymi jak i bez zmian) [18]. Z materiału wyizolowano RNA, które następnie poddano sekwencjonowaniu, co pozwoliło na identyfikację 39286 circRNA. Materiał pobrany z miejsc dotkniętych zmianami skórnymi wykazał znacznie zmniejszoną ekspresję circRNA w porównaniu do materiału bez zmian lub materiału osób zdrowych. Badacze przypuszczają, że może mieć to związek z globalnym obniżeniem ekspresji w wyniku reakcji na stan zapalny lub problemów z osiągnięciem wyższej ekspresji z powodu zbyt szybkich podziałów keratynocytów. Co ciekawe, profil ekspresji circRNA był podobny między AZS a łuszczycą, ale zupełnie inny od profilu osób zdrowych. Istotnie zmienione były m.in. circRHOBTB3 i circSLC8A1 (o mniejszej ekspresji w porównaniu do grupy kontrolnej) oraz circTNFRSF21 (którego poziom był wyższy u osób chorych). Jedynie kilka circRNA miało inny profil ekspresji pomiędzy dwoma chorobami: u pacjentów z łuszczycą ekspresja ciRS-7 był znacznie obniżona, a circZNRANB1 znacznie podwyższona. Obydwa te circRNA mogą więc stanowić potencjalne biomarkery umożliwiające odróżnienie tych chorób.

## Podsumowanie

Obecne badania na circRNA dopiero nabierają tempa. Ciągłe niewiele wiadomo jak dokładnie powstają, które cząsteczki mogą modulować i na jakie procesy biologiczne mogą wpływać. Intensywny rozwój technologii sekwencjonowania oraz utworzenie licznych baz danych umożliwiają jednak coraz to dokładniejszą identyfikację tych cząsteczek, a liczne modele badawcze z każdą chwilą przybliżają nas do rozwiązania tej zagadki. Szczególnie istotna wydaje się tutaj analiza interakcji pomiędzy circRNA i miRNA, a także miRNA i ich genami docelowymi oraz analiza szlaków sygnałowych.

**Niecodzienna kolista struktura circRNA utrudnia jego zniszczenie przez egzonukleazy, RNazy czy proteazy, co sprawia, iż może on być stabilnym biomarkerem diagnostycznym, umożliwiającym precyzyjną diagnozę [2]. Co więcej, może być ono także potencjalnym czynnikiem modulującym przebieg choroby dzięki regulacji ekspresji miRNA, mRNA i białek, na przykład w terapii genowej.**

**Prace nadesłano  
9.11.2020  
Zaakceptowano do  
druku 15.11.2020**

Konflikt interesów nie występuje. Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

**Piśmiennictwo:** 1. Yang F, Zhu P, Guo J, Liu X, Wang S, Wang G, et al. Circular RNAs in thoracic diseases. *J Thorac Dis.* 2017;9(12):5382-9. 2. Wang J, Zhu M, Pan J, Chen C, Xia S, Song Y. Circular RNAs: a rising star in respiratory diseases. *Respir Res.* 2019;20(1):3. 3. Chen X, Yang T, Wang W, Xi W, Zhang T, Li Q, et al. Circular RNAs in immune responses and immune diseases. *Theranostics.* 2019;9(2):588-607. 4. Hui Bao QZ, Qiujia Li, Mengmeng Niu, Sanfeng Chen, Pingchang Yang, Zhigang Liu. Differentially expressed circular RNAs in a murine asthma model. *Molecular Medicine Reports.* 2020;22(6): 5412-22. 5. Nakagome K, Nagata M. Involvement and Possible Role of Eosinophils in Asthma Exacerbation. *Front Immunol.* 2018;9:2220. 6. Alexis NE, Soukup J, Nierkens S, Becker S. Association between airway hyperreactivity and bronchial macrophage dysfunction in individuals with mild asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001;280(2):L369-75. 7. Kowal K, Zebrowska E, Chabowski A. Altered Sphingolipid Metabolism Is Associated With Asthma Phenotype in House Dust Mite-Allergic Patients. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2019;11(3):330-42. 8. Yan J, Zhang X, Sun S, Yang T, Yang J, Wu G, et al. miR-29b Reverses T helper 1 cells/T helper 2 cells Imbalance and Alleviates Airway Eosinophils Recruitment in OVA-Induced Murine Asthma by Targeting Inducible Co-Stimulator. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019;180(3):182-94. 9. Nakano T, Inoue Y, Shimono N, Yamaide F, Morita Y, Arima T, et al. Lower levels of hsa-miR-15a, which decreases VEGFA, in the CD4+ T cells of pediatric patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(5):1224-7 e12. 10. Feng MJ, Shi F, Qiu C, Peng WK. MicroRNA-181a, -146a and -146b in spleen CD4+ T lymphocytes play proinflammatory roles in a murine model of asthma. *Int Immunopharmacol.* 2012;13(3):347-53. 11. Qiu YY, Zhang YW, Qian XF, Bian T. miR-371, miR-138, miR-544, miR-145, and miR-214 could modulate Th1/Th2 balance in asthma through the combinatorial regulation of Runx3. *Am J Transl Res.* 2017;9(7):3184-99. 12. Zhu X, Wang X, Wang Y, Zhao Y. The regulatory network among CircHIPK3, LncGAS5, and miR-495 promotes Th2 differentiation in allergic rhinitis. *Cell Death Dis.* 2020;11(4):216. 13. Liu J, Cao Z. Protective Effect of Circular RNA (CircRNA) Ddx17 in Ovalbumin (OVA)-Induced Allergic Rhinitis (AR) Mice. *Med Sci Monit.* 2020;26:e919083. 14. Chang-Yu Qiu QY, Mei-Ping Lu, Min Yin, Wan-Yun Xu, Xin-Jie Zhu, Xin-Yan Cui, Lei Cheng. CircRNA expression profile and circRNA-miRNA-mRNA crosstalk in allergic rhinitis. *Authora.* 2020. 15. Xu H, Shu H, Zhu J, Song J. Inhibition of TLR4 inhibits allergic responses in murine allergic rhinitis by regulating the NF-kappaB pathway. *Exp Ther Med.* 2019;18(1):761-8. 16. Renkonen J, Toppila-Salmi S, Joenvaara S, Mattila P, Parviainen V, Hagstrom J, et al. Expression of Toll-like receptors in nasal epithelium in allergic rhinitis. *APMIS.* 2015;123(8):716-25. 17. Zeng Q, Luo X, Tang Y, Liu W, Luo R. Leptin Regulated IL2 Cell through the PI3K/AKT Pathway in Allergic Rhinitis. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:4176082. 18. Moldovan LI, Tsai LC, Ranjitha U, Hager H, Weidinger S, Gudjonsson JE, et al. Characterization of Circular RNA Transcriptomes in Psoriasis and Atopic Dermatitis Reveals Disease-specific Expression Profiles. *Exp Dermatol.* 2020.

**Piśmiennictwo ze str 14:** 1. Sampson HA. Food allergy: past, present and future. *Allergy Int.* 2016;65:363-369. 2. Luyt D, Ball H, Makwana N et al. BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2014;44:642-672. 3. Venter C, Brown T, Meyer R et al. Better recognition, diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy: iMAP-an international interpretation of the MAP (Milk Allergy in Primary Care) guideline. *Clin Transl Allergy* 2017;7:1-9. 4. Cudowska B. Jak długo stosować preparaty aminokwasowe w diagnostyce i leczeniu dzieci z alergią na białka mleka krowiego?. *Standarty Med Pediatry* 2020;2:237-244. 5. Jarocka-Cyryła E, Nowak-Węgrzyn A, Ruszczyński M i wsp. Doustne próby prowokacji w diagnostyce alergii na białka mleka krowiego. *Stanowisko Grupy Roboczej Polskiego Towarzystwa Alergii Pokarmowej Gastroenterologii, Hepatologii i Żywności Dzieci (PTGHZDz).* *Standarty Med. Pediatry* 2015;12:501-516. 6. Fiocchi A, Schunemann HJ, Brozek J et al. Diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA); a summary report. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:1119-1128. 7. Fiocchi A, Brozek J, Schunemann HJ et al. World Allergy Organization (WAO). Diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) Guideline. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21 (Suppl 21): 1-125. 8. Rodriguez del Rio P, Sanchez-Garcia S, Escudero C et al. Allergy to goat's and sheep's milk in a population of cow's milk-allergic children treated with oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:128-132.