

微小 RNA 与心血管疾病的研究进展

王艳^{1,2}综述,李家富^{1△}审校(1. 泸州医学院附属医院心内科,四川泸州 646000; 2. 四川省宜宾市第二人民医院南区心内科 644000)

【关键词】 微小 RNA; 心脏发育; 心血管疾病

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.23.061 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)23-3367-03

随着人类基因组计划的完成,生命科学进入了后基因组时代。关于微小 RNA(miRNA)的研究迅速成为生命科学研究的焦点。miRNA 是一类小的、由基因组编码、非编码蛋白质的内源性单链 RNA,长度约为 21~25 个碱基,在生物进化过程中高度保守。它们通过与靶基因 mRNA 的 3'非翻译区(3'-UTR)互补配对,在转录后水平调控基因的表达。近年来大量研究表明,miRNA 参与器官形成、个体发育、造血、细胞分化增殖与凋亡、肿瘤生成等多种生理病理过程。1993 年 Lee 等在线虫体内发现了调节幼虫发育的 miRNA:lin-4。到 2000 年 Reinhart 等发现了第 2 个调控线虫发育的 miRNA:let-7。近年来发现,miRNA 在心血管疾病发生发展过程中发挥着重要的作用^[1];并在心脏发育、心肌肥厚、心律失常、高血压、心肌梗死等疾病的研究中取得了一系列重要进展,使 miRNA 迅速成为国际心血管研究领域的热点^[2-3]。

1 miRNA 的生成及作用机制

miRNA 基因是由独立的转录单位、多细胞动植物基因组的前体 mRNA 内含子或 miRNA 基因簇编码的。miRNA 首先在 RNA 聚合酶 II(RNA pol II)的作用下形成含有大约有几千碱基对的初级转录物(pri-miRNA,初级 miRNA),随后在 Drosha-DGCR8 聚合物的作用下形成长约 60~75 个核苷酸分子的发夹状前体结构 RNA(pre-miRNA,前体 miRNA)。Pre-miRNA 被 Ras 相关核蛋白 GTP 酶(Ran-GTP)依赖的核穿膜蛋白 Exportin 5 所识别并转运至胞浆,然后被 Dicer 酶剪切,形成约含有 21~25 个核苷酸长度的双链 miRNA,包含了成熟 miRNA 和其互补链 miRNA。最后,双链 miRNA 在 RNA 解螺旋酶的作用下互补链被降解,而成熟的 miRNA 链与靶 mRNA 的 3'-UTR 相结合形成沉默复合物(RISC)。如果 miRNA 与靶 mRNA 序列完全互补,则该靶 mRNA 被裂解;若二者部分互补,则阻断靶 mRNA 的翻译,此时相应靶 mRNA 的水平不变,但不能翻译为蛋白质^[4]。miRNA 通过与靶基因的结合抑制其翻译或使其降解进行基因转录后调控,调节细胞的发育、增殖、分化和组织发育的基因表达。miRNA 在基因表达上有严格的保守性、时空特异性和组织特异性,miRNA 广泛参与很多基因的调控,一个 miRNA 可调控多个靶基因的表达,而多个 miRNA 也可以调控一个靶基因的表达,在生物错综复杂的基因调控方面发挥着重要作用^[5]。

2 miRNA 与心血管疾病

心血管疾病可以严重危害人类健康及导致死亡,且在我国所有疾病中发病率和病死率最高。深入研究心血管疾病的发

病机制,如何预防心血管疾病的发生发展,是心血管疾病研究的热点之一。最近大量研究表明,miRNA 参与了心血管疾病的发生发展过程,发挥着重要的作用。

2.1 miRNA 与心脏发育 随着对 miRNA 的进一步研究,人们发现 miRNA 对心脏的发育起着非常重要的调节作用。近期研究表明,miRNA-1 和 miRNA-133 是体内调节心脏发育的主要 miRNA^[6]。属于同一个 miRNA 基因簇的 miRNA-1 和 miRNA-133 在心肌和骨骼肌细胞中特异性表达,并且在肌细胞的分化和增殖中起重要作用,它们在心脏特定的发育阶段表达,有着相似的转录和表达特征。如果这个表达时序性错误将造成心脏发育的异常,并可能导致生物体的死亡。Takaya 等^[7]研究指出,miRNA-1 和 miRNA-133 可调节胚胎干细胞向心肌细胞的分化,其中 miRNA-1 是促进向心肌细胞分化,而 miRNA-133 则是抑制。miRNA-1 还可以通过作用于其靶基因-调节心脏发育的转录因子 Hand2 抑制心肌细胞的增生,而 miRNA-1-2 表达沉默时可以上调 Hand2 表达以促进心肌细胞增生。miRNA-1 可作用于靶基因肌组织基因转录抑制因子组蛋白脱乙酰基酶-4(HDAC4)而促进成肌细胞分化。而 miRNA-133 则是通过抑制血清反应因子(SRF)的表达而抑制细胞分化。

Zhao 等采用 Cre 同源重组技术获得心脏组织内特异性敲除 Dicer 基因的小鼠,由于缺乏 miRNA 合成过程中所必需的 Dicer,小鼠胚胎早期即可因多种心脏发育缺陷而死亡,说明在心脏发育过程中 miRNA 是必不可少的。且在上述 Dicer 基因敲除小鼠的心脏组织中发现 miRNA-1 较正常心脏组织表达明显升高。为了更深入研究在心脏发育过程中 miRNA-1 的作用,该研究组又建立了 miRNA-1-2 基因敲除的小鼠模型,发现敲除 miRNA-1-2 的小鼠易发生致死性室间隔缺损,进一步说明 miRNA-1 在心脏发育中发挥着重要作用。Liu 等研究发现 miRNA-133a 基因敲除小鼠胚胎心肌细胞异常增生,发生心肌肥厚及纤维化,可死于心力衰竭或猝死。而 miRNA-133a 过表达则可抑制心肌细胞增生,胚胎可死于室间隔缺损。

2.2 miRNA 与心肌肥厚 黄颖和伍伟锋^[8]通过 miRNA 表达谱芯片杂交技术在自发性高血压大鼠肥厚左室心肌组织中发现有 13 种 miRNA 表达差异,其中 miRNA-1、miRNA-21、miRNA-195、miRNA-202 表达上调,而 miRNA-499、miRNA-29、miRNA-30、miRNA-133、miRNA-150、miRNA-142、miRNA-193a、miRNA-208、miRNA-144 表达下降。许旭东等^[9]通过肾上腹主动脉缩窄建立大鼠心肌肥厚模型,发现 1 周后

△ 通讯作者, E-mail:ljf198@126.com。

miRNA-1、miRNA-133 和 miRNA-499 表达显著下降,miRNA-199 表达显著上调。而 4 周后的心肌组织内 miRNA-21、miRNA-24 和 miRNA-214 表达显著升高。提示 miRNA 在心肌肥厚过程中扮演着非常重要的角色。

Cheng 等通过过表达 miRNA-1 抑制可能与心肌细胞肥大有关的靶基因 Ras 蛋白三磷酸鸟苷酶活化蛋白(RasGAP)、细胞周期蛋白依赖激酶 9(CDK9)、脑富集的 Ras 蛋白同源体(Rheb)及纤维连接素的表达,从而抑制心肌细胞肥大的发生。宋晓伟^[10]指出,在体外培养的心肌细胞中过表达 miRNA-1 可通过抑制其靶基因细胞骨架调控蛋白 twinfilin-1(TWF-1)的蛋白表达而抑制心肌细胞肥大,在培养的心肌细胞过表达 miRNA-199 时,能够明显的促进心肌细胞肥大。李青等^[11]研究也发现,miRNA-1 通过作用于其靶基因细胞骨架调控蛋白 TWF-1 而抑制心肌肥厚,TWF-1 具有促进心肌细胞肥大的作用,miRNA-30e 也可以通过抑制其靶基因 TWF-1 的表达而调控心肌肥厚。Care 等研究认为,miRNA-133 的靶基因可能为 Rho-A(一种细胞因子,GDP-GTP 交换蛋白)、细胞分裂周期蛋白 42(Cdc42)以及 Nelf-A/WHSC2(一种核因子,RNA 聚合酶 II 的负调节蛋白),miRNA-133 的表达下调,引起靶基因 mRNA 的表达增加,从而引起心肌细胞肥大的发生。

许旭东^[12]发现,苯肾上腺素或血管紧张素 II 刺激能成功建立大鼠心肌细胞肥大模型,其中 miRNA-22 表达明显增高,过表达 miRNA-22 可通过抑制 PTEN 而促进心肌细胞的肥大。Carrillo 等^[13]发现,给予异丙肾上腺素诱发心肌肥厚的大鼠模型中,miRNA-21 的表达明显升高。另外在多种心肌肥厚动物模型中,如过表达 β 肾上腺素受体的小鼠模型、压力负荷型小鼠模型、过表达激活的 Calcineurin A 的小鼠模型,miRNA-21 的表达均明显上调。Velu 等^[14]发现乳鼠心肌细胞在血管紧张素 II 及苯肾上腺素等作用下可导致心肌细胞肥大,miRNA-21 的表达显著增加。而在用 miRNA-21 的反义寡核苷酸下调 miRNA-21 表达后,可以抑制心肌肥厚及胚胎基因的表达,证明了 miRNA-21 在心肌肥厚病理过程中起着很重要的作用。实验证明,Spry1 和 Spry2 是 miRNA-21 的作用靶点,促进了心肌肥厚^[15-16]。

2.3 miRNA 与心律失常 新近研究表明 miRNA 与心律失常的发生有关。Yang 等发现,在大鼠心肌缺血模型及冠心病患者的心脏中 miRNA-1 的表达均明显升高。进一步研究发现,miRNA-1 引起心律失常的靶基因主要有编码对维持心肌静息膜电位有重要作用的钾离子通道亚基 Kir2.1 的 KCNJ2 和编码负责室内细胞传递的主要心肌缝隙连接通道黏连素 43 的 GJA1。心肌梗死后 miRNA-1 过表达通过抑制其靶基因而降低 Kir2.1 和 CX43 的水平,从而导致心律失常。黄颖和伍伟锋^[17-18]研究发现,抑制 miRNA-1 可使自发性高血压大鼠肥厚左室心肌组织中 Kir2.1 和 CX43 蛋白的水平升高。而 Xiao 等研究发现,在家兔糖尿病性心脏病模型中,miRNA-133 过表达可抑制调控心肌细胞复极的钾通道 ERG 的表达,Ikr 受到抑制,导致心肌细胞 3 期复极延长从而引起心律失常。Lu 等^[19]在房颤犬模型和房颤患者左心房内发现 miRNA-328 表达明显升高,且过表达 miRNA-328 时可诱发房颤,进一步研究证实 miRNA-328 的靶基因是编码 L 型钙离子通道 α_1C 亚单位和 β_1 亚单位的 CACNA1C 基因和 CACNB1 基因。

2.4 miRNA 与高血压 近年来研究表明,miRNA 也参与了高血压的发生发展过程,并有可能成为将来高血压治疗的靶标。有研究发现,miRNA-155 在 SHR 大鼠主动脉的表达随着年龄及血压的增加渐降低,且明显低于同年龄 WKY 大鼠组,并与血压呈负相关,提示 miR-155 可能参与高血压的发生发展。研究进一步发现,miRNA-155 可与靶基因血管紧张素 II-1 型受体(AT1R)基因的 3'-UTR 结合,抑制 AT1R 基因的翻译,降低 AT1R 的表达水平^[20-21]。且该基因上含有与高血压发生密切相关的单核苷酸多态性(SNP)位点 1166A/C。当该等位基因表现为 1166A 时,miRNA-155 可与 AT1R 基因的 3'-UTR 结合而抑制该基因的翻译,此类人群不易患高血压;若该等位基因表现为 1166C,则 miRNA-155 不能与 AT1R 基因结合而不能抑制该基因的翻译,从而提高 AT1R 的水平,此类人群为高血压易患人群。以上表明 miRNA-155 与高血压病的发生和发展有关。Sober 等^[22]研究发现,miRNA-124 和 miRNA-135a 可与其靶基因盐皮质激素受体基因 NR3C2 的 3'-UTR 结合而抑制该基因的翻译,从而降低盐皮质激素受体的水平,以减轻水钠潴留,减弱肾素血管紧张素醛固酮系统的反应,降低血压。

2.5 miRNA 与心肌梗死 研究发现,miRNA 在心肌梗死的发生发展过程中也发挥了重要的作用。miRNA-1、miRNA-206 在梗死的心肌细胞中表达显著增加,通过抑制抗凋亡蛋白 BCL-2 和胰岛素样生长因子 IGF-1 的翻译,使心肌细胞凋亡增加,从而加大梗死面积^[23]。在急性心肌梗死(AMI)初期,梗死心肌组织内 miRNA-21 表达下降,过表达 miRNA-21 可以抑制程序性细胞死亡基因 4(PDCD4)的表达,活化蛋白-1(AP-1)活性增加,从而减少细胞凋亡,保护心肌细胞、减小梗死面积^[24]。Ren 等^[25]发现,小鼠 AMI 后心肌 miRNA-320 表达下调,过表达 miRNA-320 可抑制其靶基因编码,HSP20 的表达,从而促进心肌细胞凋亡,增加梗死面积。Wang 等^[26]研究显示,miRNA-499 可通过作用于其靶点钙调磷酸酶催化亚基 CnA α 及 CnA β 而抑制心肌细胞凋亡,使心肌梗死减少。

Roy 等^[27]研究发现,小鼠缺血/再灌注诱导的心脏重构的成纤维细胞中 miRNA-21 表达明显增加,miRNA-21 可抑制其靶基因同源性磷酸张力蛋白基因(PTEN)的表达,增加基质金属蛋白酶 2(MMP-2)的表达,从而促进心肌梗死后心肌纤维化及心室重构。Van Rooij 等^[28]发现,在心肌梗死区附近 miRNA-29 表达下降,导致其靶 mRNA 编码包括多种胶原蛋白、纤维蛋白原和弹力蛋白等参与纤维化的蛋白质水平增加,从而促进纤维化。

3 展 望

近年来,关于 miRNA 在疾病发生发展过程中的研究迅速增加,其在心血管疾病中的研究虽刚刚起步却立刻成为焦点。同时,一种新型的诊疗路线正在逐步形成。首先,miRNA 可以作为新的诊断疾病的标志物,一旦它们与疾病的相关性明确,就可以成为诊断该疾病的敏感性及特异性指标,如 miRNA-499 可作为早期诊断急性心肌梗死的特异性指标;其次,借助 miRNA mimics 和 antagomirs 技术,miRNA 可能用于治疗多种心血管疾病,如 miRNA-1 治疗先天性心脏病、心律失常,miRNA-122 治疗高血压,miRNA-133 治疗 LQTS;最后,miRNA 可能成为某些疾病是否发生、发展、复发或处于活动期的

预测指标。综上所述,深入研究 miRNA 在心血管系统的功能将丰富对心血管生理和疾病的认识,并将推动和拓展心血管疾病的治疗思路和方法。

参考文献

[1] Callis TE, Wang DZ. Taking microRNAs to heart[J]. Trends Mol Med, 2008, 14(6): 254-260.

[2] Voellenkle C, Van Rooij J, Cappuzzello C, et al. MicroRNA signatures in peripheral blood mononuclear cells of chronic heart failure patients[J]. Physiol Genomics, 2010, 42(3): 420-426.

[3] Li Q, Song XW, Zou J, et al. Attenuation of microRNA-1 derepresses the cytoskeleton regulatory protein twinfilin-1 to provoke cardiac hypertrophy[J]. J Cell Sci, 2010, 123 (Pt 14): 2444-2452.

[4] Fasanaro P, Greco S, Ivan M, et al. microRNA: emerging therapeutic targets in acute ischemic diseases[J]. Pharmacol Ther, 2010, 125(1): 92-104.

[5] 刘玉梅, 李丽丽. MicroRNAs 在心脏发育及心血管疾病中的作用研究进展[J]. 医学综述, 2013, 19(4): 603-606.

[6] Liu N, Olson EN. MicroRNA regulatory networks in cardiovascular development[J]. Dev Cell, 2010, 18(4): 510-525.

[7] Takaya T, Ono K, Kawamura T, et al. MicroRNA-1 and MicroRNA-133 in spontaneous myocardial differentiation of mouse embryonic stem cells[J]. Circ J, 2009, 73(8): 1492-1497.

[8] 黄颖, 伍伟锋. 自发性高血压大鼠肥厚左室心肌组织中微小 RNA 差异表达[J]. 中华高血压杂志, 2010, 18(1): 81-84.

[9] 许旭东, 宋晓伟, 荆清, 等. 大鼠心肌肥厚过程中 microRNAs 的表达变化[J]. 蚌埠医学院学报, 2010, 35(12): 1200-1203.

[10] 宋晓伟. MiR-1 和 miR-199 在心肌肥厚中的功能和机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2009.

[11] 李青, 胡斌, 牛鑫, 等. MiR-30e 调控心肌肥厚的作用机制研究[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(20): 3804-3806.

[12] 许旭东. miR-22 在大鼠心肌细胞肥大中的作用[D]. 上海: 第二军医大学, 2011.

[13] Carrillo ED, Escobar Y, González G, et al. Posttranscriptional regulation of the β_2 -subunit of cardiac L-type Ca^{2+} channels by MicroRNAs during long-term exposure to isoproterenol in rats[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2011, 58(5): 470-478.

[14] Velu CS, Baktula AM, Grimes HL. Gfi1 regulates miR-21 and miR-196b to control myelopoiesis[J]. Blood, 2009, 113(19): 4720-4728.

[15] Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts[J]. Nature, 2008, 456(7224):

980-984.

[16] Sayed D, Rane S, Lypowy J, et al. MicroRNA-21 targets Sprouty2 and promotes cellular outgrowths[J]. Mol Biol Cell, 2008, 19(8): 3272-3282.

[17] 黄颖, 伍伟锋. 微小 RNA-1 调控自发性高血压大鼠肥厚左室心肌组织 Kir2.1 蛋白的表达[J]. 中华高血压杂志, 2011, 19(6): 549-552.

[18] 黄颖, 伍伟锋. 微小 RNA-1 调控自发性高血压大鼠肥厚左室心肌组织连接蛋白 43 的表达[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2012, 26(4): 345-348.

[19] Lu Y, Zhang Y, Wang N, et al. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation[J]. Circulation, 2010, 122(23): 2378-2387.

[20] Zheng L, Xu CC, Chen WD, et al. MicroRNA-155 regulates angiotensin II type 1 receptor expression and phenotypic differentiation in vascular adventitial fibroblasts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 400(4): 483-488.

[21] Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, et al. miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1792(6): 497-505.

[22] Sober S, Laan M, Annilo T. MicroRNAs miR-124 and miR-135a are potential regulators of the mineralocorticoid receptor gene (NR3C2) expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1): 727-732.

[23] Tang Y, Zheng J, Sun Y, et al. MicroRNA-1 regulates cardiomyocyte apoptosis by targeting Bcl-2[J]. Int Heart J, 2009, 50(3): 377-387.

[24] Dong S, Cheng Y, Yang J, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction[J]. J Biol Chem, 2009, 284(43): 29514-29525.

[25] Ren XP, Wu J, Wang X, et al. MicroRNA-320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat-shock protein 20[J]. Circulation, 2009, 119(17): 2357-2366.

[26] Wang JX, Jiao JQ, Li Q, et al. miR-499 regulates mitochondrial dynamics by targeting calcineurin and dynamin-related protein-1[J]. Nat Med, 2011, 17(1): 71-U243.

[27] Roy S, Khanna S, Hussain SR, et al. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue[J]. Cardiovasc Res, 2009, 82(1): 21-29.

[28] Van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(35): 13027-13032.