

· 综述 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.01.034

miRNA 在急性冠脉综合征诊疗中的研究进展

黄梦君^{1,2}, 周亚萍²综述, 伏建峰^{2△}审校

1. 新疆医科大学研究生院, 新疆乌鲁木齐 830000; 2. 新疆军区总医院临床检验诊断中心, 新疆乌鲁木齐 830000

关键词: 急性冠脉综合征; 微小核糖核酸; 心肌梗死; 心肌肌钙蛋白 T

中图分类号: R541.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)01-0132-04

急性冠脉综合征(ACS)是一种以心肌组织缺血引起冠状动脉斑块破裂、血栓形成为特点的常见的心脏急症。世界卫生组织统计数据示,2019 年全球约有 890 万人死于 ACS, 占全球死亡人数的 16%^[1]。ACS 包括不稳定心绞痛(UA)、ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)及非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI)^[2]。第四版《心肌梗死通用定义》建议,在胸痛症状出现后 3 h 内及时进行血运重建治疗以挽救缺血的心肌,降低最终病死率^[2]。因此,早期、快速、有效的诊断是临床处置 ACS 的关键环节。

目前,心肌肌钙蛋白 T(cTnT)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)是临床上诊断心肌梗死的常用标志物,但在灵敏度和特异度方面存在不同程度的局限性。资料显示,在非 ACS(如严重感染、肾衰竭和充血性心力衰竭)患者中也可观察到 cTnT、CK-MB 水平不同程度升高^[1]。cTnT 水平在胸痛症状发生 3~4 h 后开始升高,CK-MB 水平则在心肌损伤发生后 4~6 h 开始升高。高敏肌钙蛋白的灵敏度虽有所提高,但也常伴随着假阳性结果的可能性,尤其是在频繁发生心肌梗死合并症的老年人群中^[1]。临床资料显示,对疑似 ACS 患者早期诊断并进行风险分层和治疗,对患者的预后至关重要。因此,探寻 ACS 早期诊断生物标志物一直是临床检验诊断学关注的焦点和亟待解决的难点。

微小核糖核酸(miRNA)是一类由 20~25 个核苷酸组成的内源性非编码单链 RNA,通过转录后调控其靶基因在多个信号通路中的水平发挥着关键作用^[1],参与细胞增殖、分化和凋亡,是多种疾病潜在的生物标志物。在心血管系统中,miRNA 的变化极为敏感,有可能是反映其病理生理变化的新型生物标志物。

1 miRNA 概述

LEE 等^[3]在 1993 年研究秀丽线虫的 lin-14 时,意外发现了 miRNA。miRNA 的主要功能是微调基因表达,控制组织发育和调节细胞因子的产生^[4]。在细胞核中,miRNA 基因被 RNA 聚合酶 II 转录成了初级 miRNA(pri-miRNA);pri-miRNA 被核糖核酸酶(RNases) III 切割产生成熟的 miRNA^[4]。成熟的

miRNA 与目标 mRNA 的 3' 端非翻译区的不完全互补结合可抑制翻译;而与目标 mRNA 翻译区的完全互补结合则会降解该 mRNA^[4]。细胞分泌的 miRNA 由细胞外载体 Argonaute2 蛋白、核磷蛋白、脂蛋白等靶向运输,进而参与机体病理生理过程;或者包裹在细胞外囊泡中转移到受体细胞内,改变其基因表达^[4]。在运输或转移的过程中,miRNA 与 Argonaute2 蛋白等结合形成高度稳定的复合物,保护 miRNA 不被 RNase 降解,使得 miRNA 在血液循环中稳定表达^[4]。miRNA 作为细胞与组织间交流的桥梁,对心血管系统的正常生理过程和功能维持至关重要,可能在 ACS 早期诊断、治疗等方面具有潜在的生物标志物作用。

2 miRNA 与 ACS 的病理过程

在 ACS 的病理过程中,脂代谢紊乱、内皮功能受损、动脉粥样斑块形成、斑块急性破裂导致心肌缺血以及出现再灌注损伤等均有 miRNA 参与。这一过程涉及多种细胞,包括参与斑块起始、生长和破裂的巨噬细胞,参与构成动脉壁的血管内皮细胞(ECs)和血管平滑肌细胞(VSMCs),梗死后的成纤维细胞等。

2.1 miRNA 与脂质代谢 脂质及脂蛋白代谢紊乱是动脉粥样硬化的高危因素。在血液循环中,低密度脂蛋白(LDL)与极低密度脂蛋白(VLDL)可以通过内皮细胞聚集在动脉壁中,促进粥样硬化斑块的形成。miRNA 可以通过调节肝脏 LDL 受体(LDLR)的表达和 VLDL 的产生进而控制血浆 LDL、VLDL 水平。DONG 等^[5]证实,在高胆固醇血症小鼠模型中,miR-483-5p 可通过抑制前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(PCSK9)的表达,影响胆固醇稳态,增加肝细胞 LDLR 的表达,从而降低血浆胆固醇和 LDL 水平及心血管事件的发生率。同时有研究指出,miR-30c 通过抑制肝脏中微粒体甘油三酯转运蛋白(MTP)的表达,从而抑制 VLDL 的产生,减缓动脉粥样硬化进程^[6]。

高密度脂蛋白(HDL)参与了胆固醇的反向运输,将过剩的胆固醇由外周组织转送至肝脏进行处理与加工。有研究表明,外泌体源性 miR-33a-5p、miR-144 抑制剂,使得三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)与载脂蛋白 AI(ApoAI)介导的胆固醇流出增加,减少

△ 通信作者, E-mail: dxpjf@163.com。

了 VSMCs 和巨噬细胞中的胆固醇累积^[7-8],影响循环 HDL 水平,进而减缓了小鼠的动脉粥样硬化进程。上述研究表明,miRNA 参与 VLDL、LDL 和 HDL 代谢,在动脉粥样硬化过程中起一定的作用,影响 ACS 的发生、发展。

2.2 miRNA 与 ECs 受损 ACS 患者 ECs 受损,导致斑块侵蚀和血栓形成,这是 ACS 形成和发展的关键因素。ECs 通过细胞-细胞连接形成选择性屏障。CAO 等^[9]研究发现,ACS 患者的血清中 miR-101 表达明显升高,miR-101 通过抑制血管内皮钙黏蛋白 5 (CDH5)表达,破坏了 ECs 和细胞连接的完整性,造成屏障功能障碍,促进 ECs 凋亡并抑制其迁移。急性心肌梗死(AMI)会导致内皮损伤以及全身 ECs 活化,促使血管壁通透性增加、白细胞黏附、内皮细胞增殖、过氧化和血栓形成。AMI 患者入院时 miR-126 表达显著上调^[10],有研究发现,在凋亡和活化的 ECs 中,miR-126 介导血清趋化因子 CXC 基元配体 12 (CXCL12)产生,从而促进循环祖细胞动员和内皮修复^[11]。此外,XUE 等^[10]研究表明 miR-126 可以反映 AMI 患者的 ECs 损伤程度和缺血心肌中的血管再生能力。

miRNA 的炎症诱导表达作用也有助于调节 ECs 的炎性反应。ARDERIU 等^[12]研究表明,ACS 患者血清 miR-145 表达显著下调,miR-145 表达与血清中内皮损伤生物标志物、促炎细胞因子的水平呈负相关。与此同时,该研究通过给缺血小鼠注射含有 miR-145 表达下调的脂肪干细胞实验证实,miR-145 可抑制缺血性肌肉中血管形成。以上研究均证实,miRNA 影响 ECs 凋亡、增殖及迁移,从而调控 ACS 的进展过程。

2.3 miRNA 与粥样硬化斑块形成及破裂 VSMCs 是动脉粥样硬化性斑块纤维帽的重要组成部分,在稳定斑块上起重要作用。在动脉粥样硬化的初期阶段,由于损伤或其他条件的刺激,VSMCs 的表型由收缩型变为合成型,表型的改变促进了 VSMCs 增殖,不规则增殖的 VSMCs 从动脉内壁向内膜间隙迁移,进而促进斑块的形成^[13]。有学者证实,在已敲除载脂蛋白 E 基因的小鼠体内,miR-520c-3p 模拟物可促使斑块中胶原蛋白水平降低,调节 VSMCs 转录因子 p65 (RelA)的表达,进而促使动脉粥样硬化斑块缩小^[13]。同时有研究显示,miR-520c-3p、miR-377-3p 可靶向不同的信号路径分子,进而阻碍 VSMCs 向合成型转化,降低收缩相关蛋白的表达,达到抑制动脉粥样硬化斑块形成的目的^[13-14]。

易破裂动脉粥样硬化斑块的成因有炎症细胞水平增加、纤维帽中平滑肌细胞数量减少和斑块内脂质核心面积增加。HE 等^[15]研究发现,巨噬细胞中缺乏 miR-21 会导致动脉粥样硬化、斑块内脂质核心面积增加和血管炎症的加速进展。miR-21 的表达下降还

可以抑制 VSMCs 增殖,加速细胞凋亡,导致缺血损伤时血管重塑受损和纤维帽变薄,破坏动脉粥样硬化斑块的稳定性^[15]。此外,有研究证实主动脉中 miR-29b-3p 的表达与斑块纤维化程度呈正相关,miR-29 在血管系统中可以调节动脉瘤的形成,抑制 VSMCs 和主动脉组织中的基质蛋白沉积^[16],从而导致组织纤维化,使斑块脆性增加,更易发生破裂。以上研究提示,miRNA 参与 VSMCs 凋亡、增殖及迁移过程,破坏动脉粥样硬化斑块的稳定性,从而影响 ACS 的病程发展。

2.4 miRNA 与心肌细胞凋亡、坏死 在 AMI 病程中,心肌细胞死亡的主要原因是细胞的凋亡和坏死。AMI 患者体内三磷酸腺苷明显减少,可介导 B 细胞淋巴瘤 2(BCL-2)蛋白家族启动,促使线粒体坏死,细胞膜通透性降低,抑制细胞的修复功能,最终导致细胞器功能障碍和细胞膜破裂。研究表明 miR-19b 直接抑制促凋亡蛋白 BCL-2 样蛋白 11(Bim)表达^[17],miR-27a 可抑制 BCL2/腺病毒 E1B 相互作用蛋白 3 (BNIP3)表达^[18],从而抑制心肌细胞凋亡。

磷脂酰肌醇-3-激酶和蛋白激酶 B(PI3k/AKT)通路在调控细胞存活和抑制细胞程序性死亡方面发挥重要作用。XING 等^[19]发现,miR-26a-5p 以磷酸酶-张力蛋白基因(PTEN)为靶点,启动 PI3k/AKT 信号通路,减少心肌梗死中的血管炎症和细胞凋亡。在 AMI 病理过程中,细胞坏死、凋亡相关的生物通路由细胞外刺激物激活细胞表面受体触发。坏死性凋亡激活的核心成分是受体相互作用蛋白激酶 1 (RIPK1)、受体相互作用蛋白激酶 3(RIPK3)和混合谱系激酶结构域样激酶(MLKL)组成的信号复合物。SHIN 等^[20]研究证实,miR-105 通过直接下调受体相互作用蛋白激酶(RIPK)可达到预防坏死性凋亡的目的。此外,WANG 等^[21]研究显示,外泌体源性 miR-92a 可促使外泌体囊泡与其受体结合,直接靶向转化生长因子- β (TGF- β)受体后信息分子(SMAD7),抑制 TGF- β 信号传导,促进成纤维细胞的活化。以上研究均证实,在 ACS 的发生、发展进程中,miRNA 存在显著的差异性变化,miRNA 调控心肌细胞凋亡、坏死、炎性反应及纤维化等过程,影响 ACS 的病情发展。

3 miRNA 在 ACS 诊断中的研究进展

miRNA 作为理想的 ACS 诊断生物标志物具有以下优势:(1)分布广泛,取材方便;(2)miRNA 的表达具有组织和疾病特异性;(3)在循环中稳定存在。

研究报道,miR-1、miR-133、miR-208a/b 和 miR-499 表达在 ACS 患者中明显升高,包括其中最初 cTnT 阴性的患者也是如此^[22]。其中 miR-1 可能是心源性休克患者心脏损伤的潜在标志物,miR-133b 可以明显区分 STEMI 患者和非 STEMI 患者。miR-208 对 AMI 的诊断效能明显优于常规生物标志物,且 miR-208 与 AMI 的长期预后有关,其在预测院内主

要心脏不良事件(MACE)和接受初级冠状动脉介入治疗 STEMI 患者的预后方面优于 cTnT^[22]。miR-499 的水平梯度与心肌损伤的程度有关,即心肌损伤越严重,循环中 miR-499 的水平越高^[23]。研究证实,AMI 患者在缺血发作后 1 h 可检测到 miR-122 表达的升高和 miR-22-5p 表达的降低,二者联合检测可提高诊断灵敏度至 98.6%^[24]。另有研究报道,miR-21-5p、miR-30a-3p、miR-30a-5p、miR-155-5p、miR-216a、miR-217 与 AMI 后左心室功能障碍和心力衰竭的发生有关,可以预测左心室重塑的风险^[25]。

以上研究表明,miRNA 可以作为 ACS 早期诊断及预后评估的新型生物标志物。然而,miRNA 的应用仍不同程度地存在一些问题。例如,高效、标准化的 miRNA 提取和纯化方法尚未建立。故 miRNA 在 ACS 诊断中的临床应用有待进一步探索与挖掘。

4 miRNA 在 ACS 治疗中的研究进展

miRNA 对于 ACS 的治疗具有以下优势:(1)单个 miRNA 可以同时调节多种细胞和多个生物信号通路;(2)序列短小,可以快速且高效地设计、合成具有高亲和力和特异性的模拟物或抑制剂;(3)miRNA 不会引起免疫排斥等不良反应。

CHENG 等^[8]给敲除 LDLR 基因的雄性小鼠静脉注射 miR-144 抑制剂,增加循环血 HDL 水平,促进胆固醇反向运输,在动脉粥样硬化的进展和消退模型中重塑了 HDL 颗粒。LI 等^[26]提前 24 h 给小鼠注射 miR-21,然后进行缺血再灌注处理,与对照组相比,实验组小鼠的心肌梗死面积显著缩小。同时,SUN 等^[27]构建了一种载体使得 miR-133 通过静脉在小鼠心肌梗死区域集聚,减少了对心功能的损害、缩小了心肌梗死面积,抑制心肌细胞凋亡、炎症和氧化应激,进而保护心脏。TAN 等^[28]研究发现,在结扎血管后立即静脉注射 miR-145,可以减少心肌缺血再灌注损伤。此外,QIAO 等^[29]证实 miR-24 通过抑制细胞凋亡、纤维化和激活血管生成等过程,改善心功能不全。目前,虽然 miRNA 抑制剂/模拟物的药理学开发取得了很大进展。然而,就其临床应用而言,尚需解决给药时机和给药方式等主要问题,才能为心脏重塑提供新的治疗靶点。miRNA 作为 ACS 靶向治疗的潜在工具,为了进一步确定其临床诊断和治疗价值,也尚需大量的动物实验和临床试验,但这无疑是今后研究的新方向。

5 展 望

miRNA 的相关研究为 ACS 的早期诊断和治疗带来了新的思路和广阔的应用前景,但仍有许多因素影响和制约其临床推广。首先,循环中大多数 miRNA 的表达很低,目前缺少高效、标准化的 miRNA 提取和纯化方法。其次,与 cTnT 等生物标志物检测相比,qPCR 和微阵列技术相对耗时。此外,大量的研究是在动物模型上进行的,样本量普遍较小,必须采用

更大的队列样本,并且需要对 miRNA 的检测方法和参考值进行标准化处理,miRNA 才有可能发展成为 ACS 的生物标志物。

综上所述,miRNA 在 ACS 的发生和发展中发挥着重要的作用,是诊断和治疗 ACS 的潜在有效生物标志物。同时,miRNA 也为研究 ACS 的发病机制提供了新的研究方向。miRNA 在 ACS 领域的研究尚处于起步阶段,尽管动物研究显示出较好的结果,但在将研究转化为临床实践之前,仍有一些实际困难和技术难题需要解决。当这些难题得到解决,miRNA 在 ACS 诊断与治疗中的应用将具有广阔的前景。

参考文献

- [1] SU J,GAO C,WANG R,et al. Genes associated with inflammation and the cell cycle may serve as biomarkers for the diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction in a Chinese population[J]. Mol Med Rep,2018,18(2):1311-1322.
- [2] THYGESEN K,ALPERT J S,JAFFE A S,et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)[J]. Glob Heart,2018,13(4):305-338.
- [3] LEE R C,FEINBAUM R L,AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. Cell,1993,75(5):843-854.
- [4] ZHANG L,DING H,ZHANG Y,et al. Circulating microRNAs;biogenesis and clinical significance in acute myocardial infarction[J]. Front Physiol,2020,11:1088.
- [5] DONG J,HE M,LI J,et al. MicroRNA-483 ameliorates hypercholesterolemia by inhibiting PCSK9 production [J]. JCI Insight,2020,5(23):e143812.
- [6] IRANI S,IQBAL J,ANTONI W J,et al. MicroRNA-30c reduces plasma cholesterol in homozygous familial hypercholesterolemic and type 2 diabetic mouse models[J]. J Lipid Res,2018,59(1):144-154.
- [7] STAMATIKOS A,KNIGHT E,VOJTECH L,et al. Exosome-mediated transfer of anti-miR-33a-5p from transduced endothelial cells enhances macrophage and vascular smooth muscle cell cholesterol efflux[J]. Hum Gene Ther,2020,31(3/4):219-232.
- [8] CHENG J,CHENG A,Clifford B L,et al. MicroRNA-144 silencing protects against atherosclerosis in male, but not female mice[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2020,40(2):412-425.
- [9] CAO S,LI L,GENG X,et al. The upregulation of miR-101 promotes vascular endothelial cell apoptosis and suppresses cell migration in acute coronary syndrome by targeting CDH5[J]. Int J Clin Exp Pathol,2019,12(9):3320-3328.
- [10] XUE S,LIU D,ZHU W,et al. Circulating miR-17-5p, miR-126-5p and miR-145-3p are novel biomarkers for diagnosis of acute myocardial infarction[J]. Front Physiol,

2019,10(1):123-131.

[11] SHAN C, MA Y. MicroRNA-126/stromal cell-derived factor 1/C-X-C chemokine receptor type 7 signaling pathway promotes post-stroke angiogenesis of endothelial progenitor cell transplantation [J]. Mol Med Rep, 2018,17(4):5300-5305.

[12] ARDERIU G, PENA E, ALEDO R, et al. MicroRNA-145 regulates the differentiation of adipose stem cells toward microvascular endothelial cells and promotes angiogenesis [J]. Circ Res, 2019,125(1):74-89.

[13] WANG J, HU X, HU X, et al. MicroRNA-520c-3p targeting of RelA/p65 suppresses atherosclerotic plaque formation [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2021,131:105873.

[14] WANG H, WEI Z, LI H, et al. MiR-377-3p inhibits atherosclerosis-associated vascular smooth muscle cell proliferation and migration via targeting neuropilin2 [J]. Biosci Rep, 2020,40(6):BSR20193425.

[15] HE W, ZHU L, HUANG Y, et al. The relationship of microRNA-21 and plaque stability in acute coronary syndrome [J]. Medicine (Baltimore), 2019,98(47):e18049.

[16] MA Q, ZHANG J, ZHANG M, et al. MicroRNA-29b targeting of cell division cycle 7-related protein kinase (CDC7) regulated vascular smooth muscle cell (VSMC) proliferation and migration [J]. Ann Transl Med, 2020,8(22):1496.

[17] YANG W B, HAN Y X, YANG C D, et al. MicroRNA-19b-1 reverses ischaemia-induced heart failure by inhibiting cardiomyocyte apoptosis and targeting Bcl2 l11/BIM [J]. Heart Vessels, 2019,34(7):1221-1229.

[18] LI Y, REN S, XIA J, et al. EIF4A3-Induced circ-BNIP3 aggravated hypoxia-induced injury of h9c2 cells by targeting miR-27a-3p/BNIP3 [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020,19:533-545.

[19] XING X, GUO S, ZHANG, et al. MiR-26a-5p protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway [J]. Braz J Med Biol Res, 2020,53(2):e9106.

[20] SHIN S, CHOI J W, MOON H, et al. Simultaneous suppression of multiple programmed cell death pathways by

miRNA-105 in cardiac ischemic injury [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2019,14:438-449.

[21] WANG X, MORELLI M B, MATARESE A, et al. Cardiomyocyte-derived exosomal microRNA-92a mediates post-ischemic myofibroblast activation both in vitro and ex vivo [J]. ESC Heart Fail, 2020,7(1):284-288.

[22] REZUS C. Current knowledge of microRNAs (miRNAs) in Acute Coronary Syndrome (ACS): ST-Elevation Myocardial Infarction (STEMI) [J]. Life, 2021,11(10):1057.

[23] HUANG Z, HE Y, LI Q J, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting complement activation and upregulation of miR-499 [J]. Exp Ther Med, 2021,22(1):684.

[24] WANG Y, CHANG W, ZHANG Y, et al. Circulating miR-22-5p and miR-122-5p are promising novel biomarkers for diagnosis of acute myocardial infarction [J]. J Cell Physiol, 2019,234(4):4778-4786.

[25] DING H, WANG Y, HU L, et al. Combined detection of miR-21-5p, miR-30a-3p, miR-30a-5p, miR-155-5p, miR-216a and miR-217 for screening of early heart failure diseases [J]. Biosci Rep, 2020,40(3):BSR20191653.

[26] LI M, TANG X, LIU X, et al. Targeted miR-21 loaded liposomes for acute myocardial infarction [J]. J Mater Chem B, 2020,8(45):10384-10391.

[27] SUN B, LIU S, HAO R, et al. RGD-PEG-PLA Delivers miR-133 to infarct lesions of acute myocardial infarction model rats for cardiac protection [J]. Pharmaceutics, 2020,12(6):575.

[28] TAN L, LIU L, YAO J, et al. miR-145-5p attenuates inflammatory response and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting (NADPH) oxidase homolog 1 [J]. Exp Anim, 2021,70(3):311-321.

[29] QIAO S, ZHANG W, YIN Y, et al. Extracellular vesicles derived from Krüppel-Like Factor 2-overexpressing endothelial cells attenuate myocardial ischemia-reperfusion injury by preventing Ly6C (high) monocyte recruitment [J]. Theranostics, 2020,10(25):11562-11579.

(收稿日期:2022-02-10 修回日期:2022-08-30)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.01.035

肠神经胶质细胞在帕金森病中的作用研究进展

赵孟琪 综述,董 莉[△] 审校

内蒙古医科大学附属医院检验科,内蒙古呼和浩特 010050

关键词:帕金森病; 肠神经胶质细胞; 肠道免疫; 单细胞测序

中图法分类号:R742.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)01-0135-06

帕金森病(PD)是一种黑质致密部多巴胺能神经元退行性变性、死亡,以残存神经元细胞质内 α -突触

核蛋白(α -syn)聚集形成路易小体为主要病理改变的 运动障碍性疾病^[1]。目前 PD 尚无有效的治疗方法,

[△] 通信作者, E-mail: dongsuanzhi@163.com。