

非编码 RNA 与心脏纤维化的研究进展

李 洋 王国坤 吴 峰 杨 帆 徐志云

【摘要】 心脏的应激状态可激活心脏成纤维细胞,使其产生过多的细胞外基质,形成纤维组织,最终导致心脏结构改变及心脏衰竭。目前心脏纤维化的发生机制还不明确,其过程涉及诸多因素。非编码 RNA 是一类内源性 RNA 分子,主要包括微小 RNA 和长链非编码 RNA 等,参与细胞的生长、增殖和分化,在心血管疾病的发生发展过程中起着重要的调节作用。该文介绍了非编码 RNA 在心脏纤维化中的研究进展。

【关键词】 心脏重构;心脏纤维化;非编码 RNA

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2016.06.008

心脏纤维化是指心肌层的成纤维细胞由于各种原因被激活后,产生过多的细胞外基质,最终形成纤维组织的过程,是心脏发生的结构适应性改变。这种心脏重构是心脏在压力或容量超负荷下的一种病理状态^[1],涉及心肌细胞、内皮细胞和包括心脏成纤维细胞在内的间质细胞等所有心脏细胞^[2]。不同病因引起的心脏重构可分为两种情况:一种以室壁增厚和左心室质量增加为特征,不伴有心室容量和射血分数改变;另一种表现为左心室进行性扩张并伴有射血分数降低和收缩性心力衰竭^[3]。这两种情况都有心脏纤维化的发生。

非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)主要包括微小 RNA(microRNA, miRNA)和长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)。MiRNA 为 ≤ 22 个核苷酸的短链 RNA,参与调节几乎所有与疾病相关的细胞活动,包括心血管疾病^[4-5]。LncRNA 为 >200 个核苷酸的长链 RNA,虽然大多数 lncRNA 没有编码蛋白的功能(一部分 lncRNA 可能会编码具有生物学功能的微小肽^[6]),但在基因调控中发挥重要作用,参与心血管疾病的发生发展。本文主要介绍 ncRNA 在心脏纤维化基因调控和治疗等方面中的作用。

1 MiRNA 在不同类型心脏纤维化中的作用

1.1 衰老相关的心脏纤维化

心脏衰老往往表现为持续增加的心脏纤维化。

某些 miRNA 的表达与年龄增长有较强的相关性,可能参与心脏衰老的表型改变。研究发现,随着心脏的衰老,miR-22 表达逐渐上调;而体外过表达 miR-22 能导致细胞衰老,促进心脏纤维化的发展^[7]。由于老年患者的心脏常高表达 miR-22,因此抑制 miR-22 有望成为这类人群心脏纤维化的新疗法。研究发现,给予 miR-22 基因敲除小鼠去甲肾上腺素治疗,心肌梗大和纤维化的程度减轻^[8]。另一项研究发现,在与年龄密切相关的 miR-17~92 家族中,miR-18 和 miR-19 可调节细胞外基质蛋白,如结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和血小板反应素-1(thrombospondin-1, TSP-1)的表达,进而调节心脏的纤维化过程^[9]。此外,高龄大鼠心脏中 miR-34a 的表达量增加,抑制 miR-34a 能减少心肌梗死后心肌细胞的死亡,进而阻止心脏纤维化的发展^[10]。MiR-34a 及其靶蛋白——丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 1 调节亚基 10,通过调节 DNA 损伤反应和减少端粒的缩短,调节衰老心脏的收缩功能^[10]。综上所述,衰老心脏中存在大量可受调控的 miRNA,可能成为衰老相关的心脏纤维化的治疗靶点。

1.2 缺血再灌注相关的心脏纤维化

缺血再灌注损伤是在缺血一段时间后,血液供应恢复对组织造成的损伤。这种损伤发生后,心肌细胞启动一系列纤维化相关基因的表达,进而引起心脏纤维化。心脏移植能够引起心肌的缺血再灌注损伤。在异位心脏移植的小鼠模型中,缺血再灌注后可引起 59 种 miRNA 表达失调。其他干预方式如体外循环手术,也能引起缺血再灌注损伤并且可能影响心脏中 ncRNA 的表达^[11]。此外,循环中

基金项目:国家自然科学基金(81470592,81400207)

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院心血管外科(李 洋,王国坤,杨 帆,徐志云);313000 湖州,解放军第九八医院心血管内科(吴 峰)

通信作者:王国坤,Email:dearwgk@163.com

存在肌肉特异性 miRNA,其表达水平可评估心脏移植术后心肌损伤的严重程度,如 miR-133a、miR-133b 和 miR-208a 在移植术后都出现动态改变,其中 miR-133b 的变化能反映移植后的早期心肌损伤,且循环中 miR-133b 水平与心功能相关^[12]。这些缺血再灌注损伤后异常表达的 miRNA 可通过调节细胞外基质蛋白的表达参与心脏纤维化的发生发展^[12]。能否通过干预特定的 miRNA 阻断心脏移植物纤维化的发展,进而延长移植物的存活时间仍需进一步探索。

1.3 心肌炎相关的心脏纤维化

病毒性心肌炎是亲心性病毒感染心肌后,引起心肌损害的一种疾病,可引起心脏发生不同程度的纤维化,严重时会导致心衰。目前对于病毒性心肌炎的治疗缺乏特异性。研究发现,在病毒性心肌炎患者和小鼠的心脏中,miR-155、miR-146b 和 miR-21 的表达都显著增加^[13]。抑制 miR-155 能够减少心脏中单核巨噬细胞的浸润,减轻急性心肌炎所致的心肌损伤,进而减缓心脏纤维化的进展^[14]。MiR-155 的靶基因——核转录因子 PU.1 可与富含嘌呤的序列结合,调控炎症基因的表达,抑制 miR-155 所产生的作用可能是通过 PU.1 来发挥的^[14-15]。另外,抑制 miR-21 和 miR-29 也可间接抑制成纤维细胞中纤维化基因的表达^[16-17],但对病毒性心肌炎患者是否有效目前尚不清楚。

1.4 药物相关的心脏纤维化

很多药物可引起心脏不良反应,其中一些不良反应是由 miRNA 介导的。在无替代药物的情况下,减轻药物不良反应具有重要的临床意义。化疗药物多柔比星可导致心肌细胞凋亡和心脏纤维化^[18]。研究发现,多柔比星可使新生大鼠心肌细胞中的 miR-146a 表达明显增加,通过作用于神经调节蛋白 1-表皮生长因子受体信号通路影响心脏功能^[19]。给予大鼠多柔比星后可出现脉压升高,心脏 miRNA 前体 let-7g 表达下降,表明在多柔比星引起的心脏不良反应和纤维化的过程中,let-7g 起着重要作用^[20]。这些结果提示,干预特定的 miRNA 可能是预防药物相关心脏纤维化的有效方法。

1.5 其他类型的心脏纤维化

遗传性肥厚型心肌病是一种心肌纤维化程度很高的心脏病。对这类患者的血浆进行 miRNA 的检测,发现 miR-21 表达水平升高,但 miR-21 的表达与磁共振成像提示的心脏纤维化程度无相关性,

只有 miR-29a 的表达与心脏纤维化程度相关^[21]。MiR-29 家族包括三种 miRNA,其中 miR-29b-1 与 miR-29a 共表达,miR-29b-2 与 miR-29c 共表达。所有 miR-29 具有相同的种子序列,成熟体序列保守,仅有 1 个碱基不同^[17]。研究发现,无论是存在心房纤维化的心房颤动物模型还是有心房纤维化的慢性心房颤动患者,组织和血浆中的 miR-29 表达水平都明显降低^[22]。MiRNA 参与心脏纤维化的具体分子机制,以及是否通过某一共同通路调控纤维化,值得进一步研究。

2 lncRNA 在心脏纤维化中的作用

继 miRNA 之后,又发现了一类同样具有心血管病调节作用的 ncRNA——lncRNA。通过 RNA 测序发现在心脏纤维化患者的左心室中,有 500~700 种 lncRNA 处于动态变化中,其中约有 10% 见于接受左心室辅助装置(LVAD)治疗的患者,提示这些 lncRNA 参与心脏纤维化的调节^[23]。值得关注的是,lncRNA 表达谱可以区分不同病因所致的心脏纤维化,如缺血和非缺血性心肌纤维化等,可用于心肌纤维化的病因诊断^[23]。通过检测心肌梗死动物模型中的 miRNA,研究者发现了与心肌梗死后心脏纤维化相关的一系列 lncRNA^[24]。lncRNA-心肌肥大相关因子(CHRF)可靶向结合 miR-489,调节其功能,而 miR-489 调控髓样分化初级应答基因 88(MYD88)表达,MYD88 表达下调又可导致心肌细胞肥大,心脏纤维化增加^[25]。在内皮细胞中,lncRNA-肺腺癌转移相关转录本 1(MALAT1)可调控内皮功能和血管新生,影响着纤维化的发生发展^[26]。是否存在成纤维细胞来源的 lncRNA 参与调控细胞外基质蛋白和心脏纤维化,还有待后续深入研究。

3 展望

从成纤维细胞的生物学行为和纤维化发生的病理生理学机制上来讲,ncRNA 是一类重要的分子,功能涉及许多方面,包括调控细胞因子的分泌和细胞外基质的合成等。分泌型 ncRNA 可调节细胞间的旁分泌信号,成为治疗心脏纤维化的有效靶点,并且可作为疾病诊断或预后的标志物。目前,大多数研究是通过全身给药的方式来调节目标组织细胞的 miRNA 或 lncRNA,但这会影响到其他组织细胞的 ncRNA 水平^[27]。经冠状动脉灌注治疗性寡核苷酸可以改变心脏特异性 miRNA 的表达而不影响其他组织细胞中 miRNA 的表达,可能比静脉给

药的效果好^[28]。未来还需要开发更有效的给药方式,如以腺病毒、多肽或抗体的形式,将 RNA 药物定向投递到心脏内皮细胞、成纤维细胞或心肌细胞中,实现精准的细胞定位^[29]。许多 miRNA 靶向结合的序列仅略有不同,不同的 miRNA 可能会结合到同一位点上,影响治疗效果,后续研究应该注意这一问题。

参 考 文 献

- [1] 卢景晶,李 秀,刘 巍. 心肌细胞外基质重构与心力衰竭[J]. 国际心血管病杂志,2015,42(4):229-230.
- [2] Heusch G, Libby P, Gersh B, et al. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure[J]. Lancet,2014,383(9932):1933-1943.
- [3] Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity[J]. N Engl J Med, 2008,358(13):1370-1380.
- [4] Moore-Morris T, Guimarães-Camboa N, Banerjee I, et al. Resident fibroblast lineages mediate pressure overload-induced cardiac fibrosis[J]. J Clin Invest,2014,124(7):2921-2934.
- [5] Dangwal S, Thum T. microRNA therapeutics in cardiovascular disease models[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol,2014,54(1):185-203.
- [6] Galindo MI, Pueyo JI, Fouix S, et al. Peptides encoded by short ORFs control development and define a new eukaryotic gene family[J]. PLoS Biol,2007,5(5):e106.
- [7] Jazbutyte V, Fiedler J, Kneitz S, et al. MicroRNA-22 increases senescence and activates cardiac fibroblasts in the aging heart[J]. Age (Dordr),2013,35(3):747-762.
- [8] Huang ZP, Chen J, Seok HY, et al. MicroRNA-22 regulates cardiac hypertrophy and remodeling in response to stress[J]. Circ Res,2013,112(9):1234-1243.
- [9] van Almen GC, Verhesen W, van Leeuwen RE, et al. MicroRNA-18 and microRNA-19 regulate CTGF and TSP-1 expression in age-related heart failure[J]. Aging Cell,2011, 10(5):769-779.
- [10] Boon RA, Iekushi K, Lechner S, et al. MicroRNA-34a regulates cardiac ageing and function[J]. Nature,2013,495 (7439):107-110.
- [11] Holmberg FE, Ottas KA, Andreassen C, et al. Conditioning techniques and ischemic reperfusion injury in relation to on-pump cardiac surgery[J]. Scand Cardiovasc J,2014,48(4):241-248.
- [12] Wang E, Nie Y, Zhao Q, et al. Circulating miRNAs reflect early myocardial injury and recovery after heart transplantation[J]. J Cardiothorac Surg,2013,8:165.
- [13] Sagar S, Liu PP, Cooper LT Jr. Myocarditis[J]. Lancet, 2012,379(9817):738-747.
- [14] Corsten MF, Papageorgiou A, Verhesen W, et al. MicroRNA profiling identifies microRNA-155 as an adverse mediator of cardiac injury and dysfunction during acute viral myocarditis[J]. Circ Res,2012,111(4):415-425.
- [15] Cooper L, Johnson C, Burslem F, et al. Wound healing and inflammation genes revealed by array analysis of macrophageless PU.1 null mice[J]. Genome Biol,2005,6(1):R5.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments: what the cardiologist needs to know[J]. Nat Rev Cardiol,2010,7(10):564-575.
- [19] Horie T, Ono K, Nishi H, et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is associated with miR-146a-induced inhibition of the neuregulin-ErbB pathway[J]. Cardiovasc Res,2010,87(4):656-664.
- [20] Fu J, Peng C, Wang W, et al. Let-7 g is involved in doxorubicin induced myocardial injury[J]. Environ Toxicol Pharmacol,2012,33(2):312-317.
- [21] Roncarati R, Viviani Anselmi C, Losi MA, et al. Circulating miR-29a, among other up-regulated microRNAs, is the only biomarker for both hypertrophy and fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. J Am Coll Cardiol,2014,63 (9):920-927.
- [22] Dawson K, Wakili R, Ordog B, et al. MicroRNA29: a mechanistic contributor and potential biomarker in atrial fibrillation[J]. Circulation,2013,127(14):1466-1475.
- [23] Yang KC, Yamada KA, Patel AY, et al. Deep RNA sequencing reveals dynamic regulation of myocardial noncoding RNAs in failing human heart and remodeling with mechanical circulatory support[J]. Circulation,2014,129(9): 1009-1021.
- [24] Ounzain S, Micheletti R, Beckmann T, et al. Genome-wide profiling of the cardiac transcriptome after myocardial infarction identifies novel heart-specific long non-coding RNAs[J]. Eur Heart J,2015,36(6):353-368a.
- [25] Wang K, Liu F, Zhou LY, et al. The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489[J]. Circ Res,2014,114(9):1377-1388.
- [26] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth[J]. Circ Res,2014,114(9):1389-1397.
- [27] Thum T. MicroRNA therapeutics in cardiovascular medicine[J]. EMBO Mol Med, 2012,4(1):3-14.
- [28] Hinkel R, Penzkofer D, Zuhlke S, et al. Inhibition of microRNA-92a protects against ischemia/reperfusion injury in a large-animal model[J]. Circulation,2013,128(10):1066-1075.
- [29] Quattrocchi M, Crippa S, Montecchiani C, et al. Long-term miR-669a therapy alleviates chronic dilated cardiomyopathy in dystrophic mice[J]. J Am Heart Assoc,2013,2(4):e000284.

(收稿:2016-05-06 修回:2016-06-08)

(本文编辑:胡晓静)