

微小 RNA 和心房颤动

郝丽娜 贾茹 曲秀芬

【摘要】 心房颤动(房颤)是临床常见的心律失常,可导致动脉栓塞和心力衰竭等并发症,具有较高的致残率和致死率。衰老、肥胖、糖尿病、高血压等是房颤发生的独立危险因素。微小 RNA(miRNA)在心房发育、重构中发挥关键作用,且稳定性佳、易获取,有望成为房颤防治的重要靶点。该文介绍 miRNA 在房颤发病中的作用和在房颤防治中的应用。

【关键词】 微小 RNA;心房颤动;防治

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.03.006

心房颤动(房颤)是临床常见的心律失常,心房电重构、结构重构和自主神经重构是房颤发生发展的主要病理机制。研究发现,微小 RNA(miRNA)可参与调控心房重构,在房颤发生发展中发挥重要作用。此外,miRNA 具有较高的稳定性和组织靶向性,有望成为房颤防治的重要靶点。本文介绍 miRNA 在房颤中的研究进展。

1 miRNA 概述

1993 年, Lee 等^[1]首次在秀丽隐杆线虫中发现 miRNA。miRNA 是由约 22 个核苷酸组成的单链非蛋白编码 RNA,参与转录后基因表达调控^[2]。研究证实,miRNA 在细胞生长、增殖、分化和代谢等过程中发挥重要作用^[3]。miRNA 水平改变参与神经系统、自身免疫系统和心血管系统等多种疾病的发生。此外,miRNA 具有稳定性良好和检测方便等优点。因此,miRNA 有望成为疾病诊断和预后评估的有效生物标记物,甚至可作为疾病的重要防治靶点。

2 miRNA 与心房重构

心房电重构、结构重构、自主神经重构和钙离子稳态失调是心房颤动(房颤)发生的重要病理机制。研究证实,多种 miRNA 参与调控心房重构。miRNA 表达水平改变可增加房颤的发生风险。

2.1 miRNA 与心房电重构

心房电重构是指心房有效不应期及动作电位时程缩短和传导速度减慢等生理学特征改变。目前认为,L 型钙通道电流减少、内向整流钾电流增

加、钙激活钾通道及缝隙连接蛋白通路改变是电重构发生的重要机制。研究发现,miR-1、miR-328 和 miR-499 等与心房电重构的发生密切相关。

2.1.1 miR-1 miR-1 在心肌中表达,且参与调控心脏发育和电活动。miR-1 表达失调可导致心律失常和心力衰竭等心血管疾病^[4]。取冠状动脉旁路移植术患者的右心耳行基因转录组学检测发现,与术后无房颤患者相比,术后新发房颤患者右心耳 miR-1 表达水平显著上调^[5]。文献报道,持续性房颤患者心房 miR-1 水平降低,编码 Kir2.1 亚基的 KCNJ2 基因和 Kir2.1 蛋白表达增加,提示 miR-1 可能通过调控钾离子通道诱导房颤发生^[6]。在心房快速起搏兔模型中,心房 miR-1 过表达使 KCNE1 和 KCNB2 基因下调,导致内向整流钾电流增加,心房有效不应期延长^[7]。此外,有研究证实,抑制心肌 miR-1 可减少心肌细胞凋亡,改善心房结构^[8]。

2.1.2 miR-328 心房 miR-328 水平改变与电重构发生密切相关。对房颤患者和快速起搏房颤犬模型的心房组织行基因芯片分析发现,房颤患者心房 miR-328 升高 3.5 倍,房颤犬心房 miR-328 升高 3.9 倍,且循环 miR-328 水平与房颤发生风险呈正相关。通过腺病毒转染过表达心房 miR-328 后,犬房颤易感性增强,L 型钙通道电流减弱,心房动作电位持续时间缩短;给予 miR-328 拮抗剂可逆转上述改变,且 miR-328 基因敲除小鼠房颤易感性降低^[9]。对心房快速起搏犬模型的心房组织进行检测发现,miR-328 上调使心房 CACNA1C 和 CACNB1 基因(编码 L 型钙通道 α_{1c} 和 β_1 亚基)表达下调,导致 L 型钙通道活性降低,动作电位时程缩短^[10],促进房颤发生。

2.1.3 miR-499 对 4 例窦性心律和 4 例永久性房颤患者心房组织行 miRNA 微阵列分析发现,与窦性心律患者相比,房颤患者 miR-499 表达增加 2.33 倍 ($P<0.01$),而编码小电导钙激活钾通道 3(SK3)蛋白表达下调 46% ($P<0.05$)。使用 miR-499 模拟物转染心房肌细胞后,SK3 蛋白表达显著下调,而给予 miR-499 抑制剂可上调 SK3 蛋白表达。荧光素酶报告分析证实,miR-499 可与编码 SK3 的基因 KCNN3 的 3' 非翻译区结合,增加 miRNA 诱导的沉默复合物中 SK3 mRNA 表达水平,下调 SK3 表达,增加房颤发生风险^[11]。研究发现,与无房颤患者相比,永久性房颤患者心房组织 CACNB2 显著下调 67% ($P<0.05$),而 miR-499 可下调 CACNB2 蛋白表达。荧光素酶报告分析证实 miR-499 与 CACNB2 的 3' 非翻译区结合,靶向调控 CACNB2 表达,与 L 型钙通道重构密切相关^[12]。

2.2 miRNA 与心房结构重构

研究证实,miRNA 可通过调节编码纤维化及抗纤维化相关蛋白的基因表达促进心房纤维化,最终导致心房结构重构。目前认为,与心房结构重构密切相关的 miRNA 主要包括 miR-21、miR-133、miR-29b、miR-150、miR-483-5P、miR-155 和 miR-24 等。

2.2.1 miR-21 研究证实,房颤患者心房 miR-21 水平显著升高。Adam 等^[13]发现,上调大鼠心房 miR-21 可使 Sprouty-1 蛋白水平下调,进而激活丝裂原激活蛋白激酶信号通路,最终导致心房纤维化。研究表明,心房 miR-21 上调使磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)相关信号通路激活,抑制 PTEN 基因表达,导致心房结构重构^[14]。给予房颤小鼠模型 miR-21 拮抗剂后,小鼠心房纤维化显著改善,房颤易感性降低,提示 miR-21 可成为房颤潜在防治靶点。此外,miR-21 上调还可抑制电压门控性钙通道,导致心肌细胞 L 型钙通道电流减少。

2.2.2 miR-133 研究发现,与有窦性心律的健康人群相比,房颤患者循环 miR-133 水平显著降低。犬持续吸入尼古丁后,心房 miR-133 下调,转化生长因子- β (TGF- β)及其相关受体上调,心房胶原沉积^[15]。研究证实,miR-133 可直接作用 TGF- β 及其相关受体促进心房纤维化。此外,miR-133 下调还可增加心肌成纤维细胞外基质。给予外源性 miR-133 可显著改善慢性房颤犬模型的心房结构重构,提示 miR-133 是房颤潜在的治疗靶点^[16]。一项前瞻性研究纳入 42 例行冠状动脉旁路移植术患者,对患者右心耳组织进行 TUNEL 染色,并检测 miR-133a 和凋亡标志物

(caspase-3、Bcl-2 和 Bax)mRNA 的表达水平。结果表明,与术后窦性心律患者相比,术后新发房颤患者循环 miR-133a 降低,右心耳组织凋亡水平增加,且 miR-133a 水平与房颤发生风险呈负相关。进一步进行机制探讨发现,miR-133a 过表达可抑制缺氧诱导的大鼠心肌细胞凋亡和磷酸化前体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Akt)活性,给予 miR-133a 反义寡核苷酸抑制剂或 Akt 抑制剂可防止缺氧诱导的大鼠心肌细胞凋亡^[5]。该研究提示 miR-133a 通过抑制心肌细胞凋亡,参与房颤发生。

2.2.3 miR-29b miR-29b 可通过靶向调控 collagen-1A1、collagen-3A1 及肌原纤维蛋白等基因表达,参与心房结构重构^[17]。既往研究发现,房颤患者血浆及心房 miR-29b 表达水平均显著降低。给予小鼠尾静脉注射腺相关病毒沉默 miR-29b 表达,可导致心房 collagen-1A1 相关 mRNA 表达增加,心房出现明显纤维化。

2.2.4 miR-150 与非房颤人群相比,房颤患者循环 miR-150 水平降低了约 3.2 倍。研究证实,低水平 miR-150 可通过激活炎症反应、干扰血小板功能和促进心房纤维化等,促使房颤发生^[18]。前瞻性研究发现,与射频消融术前相比,房颤患者行射频消融 1 个月后血浆 miR-150 表达水平升高 3 倍。该研究提示循环 miR-150 高表达可潜在预防房颤发生^[19]。另一项研究对 141 例行射频消融术的房颤患者进行分析,发现与无复发患者相比,射频消融术后房颤复发患者血浆 miR-150 水平降低(OR = 0.98, $P<0.039$),提示循环 miR-150 水平与射频消融 1 年后房颤复发风险减少密切相关^[20]。

2.2.5 miR-483-5P miR-483-5P 由胰岛素样生长因子 2 基因转录。胰岛素样生长因子 2 表达上调可使 miR-483-5P 过表达,进而激活白细胞介素-6(IL-6)及核因子 κ B(NF- κ B)相关炎症反应通路,导致心房结构重构。研究发现,miR-483-5P 可用于评估心脏手术后房颤发生风险,术前血清 miR-483-5P 高表达的患者术后房颤发生风险显著增加^[21]。

2.2.6 miR-155 和 miR-24 miR-155 和 miR-24 参与调节一氧化氮合酶(eNOS)表达和一氧化氮产生。研究发现,房颤患者血循环中 miR-155 和 miR-24 上调。与未行射频消融术房颤患者相比,行射频消融组患者 miR-155 和 miR-24 表达显著减低,提示 miR-155 和 miR-24 与房颤密切相关^[22]。

2.3 miRNA 与心房自主神经重构

自主神经通过对迷走神经活性和乙酰胆碱释

放的控制,调节心房生物电活动^[23]。心房生物电活动改变导致动作电位时程缩短,促进房颤发生。研究发现,miR-30 与 miR-206 可调控心房自主神经重构,参与房颤发生发展。

2.3.1 miR-30 研究发现,持续性房颤患者 miR-30 显著上调,miR-30 上调使乙酰胆碱释放减少,乙酰胆碱依赖性钾通道电流下调^[24]。此外,miR-30 还可负性调节结缔组织生长因子表达,导致心肌细胞外基质结构改变。

2.3.2 miR-206 上调犬 miR-206 的表达水平可使犬活性氧水平增加 6 倍。miR-206 能靶向作用于超氧化物歧化酶 1(SOD1),使活性氧产生增加,从而促进心房自主神经重构^[25]。此外,有研究发现,miR-206 下调可作用于三磷酸鸟苷环化水解酶 1(GCH1)基因,导致四氢生物蝶呤生成障碍,引起自主神经重构,心房有效不应期缩短^[26]。

2.4 miRNA 与钙离子稳态失调

细胞内钙离子失衡与房颤发生密切相关。钙离子超负荷可引起延迟后除极,导致房颤发生。研究证实,心肌 miRNA 能通过影响钙离子稳态引起心律失常发生^[27]。通过调控钙离子引起房颤的 miRNA 主要包括 miR-106b-25 及 miR-208 等。

2.4.1 miR-106b-25 研究发现,敲除小鼠 miR-106b-25 基因后,小鼠房颤易感性显著增加。对持续性房颤患者心房组织进行检测发现,miR-106b-25 表达明显下调,这会引起 RyR2 蛋白表达上调,肌质网中钙离子大量释放,最终导致细胞内钙离子失衡^[28]。

2.4.2 miR-208 与窦性心律患者相比,慢性房颤患者 miR-208 表达明显上调^[29]。miR-208 上调引起肌浆网钙 ATP 酶 2(SERCA2)蛋白表达下调,SERCA2 可将钙离子从胞浆运往肌浆网中,从而导致钙离子稳态失调。

3 miRNA 与房颤防治

房颤治疗主要包括药物转复、控制心室率、抗凝、射频消融和左心耳封堵术。药物治疗需长期口服抗凝药物,患者依从性差可导致治疗失败,而射频消融术后房颤复发率较高。目前,房颤仍缺乏有效防治措施。

miRNA 具有稳定性佳、敏感性高和特异性强等优点,因此成为多种疾病早期诊断的生物标志物^[30]。目前房颤尚缺乏有效标记物。miRNA 水平异常是促进房颤发生发展的重要病理机制。临床研究发现,房颤患者血浆及心房组织 miR-150 和

miR-29 等表达水平显著改变,且差异水平与房颤严重程度密切相关。一项对 48 例冠状动脉旁路移植术患者的分析发现,与术后非房颤患者相比,术后新发房颤患者循环 miR-23a 和 miR-26a 水平显著降低,受试者工作特征(ROC)曲线分析发现,miR-23a 和 miR-26a 预测新发房颤的 ROC 曲线下面积分别为 0.63($P=0.02$)和 0.66($P=0.01$),提示 miR-23a 和 miR-26a 可作为预测冠状动脉旁路移植术后房颤发生的生物标志物^[31]。此外,动物实验发现,外源性调控 miRNA 水平可预防房颤发生。这些研究均提示 miRNA 可作为房颤诊断、严重程度评估和治疗的新型生物标记物。目前以 miRNA 为靶点的治疗药物主要包括 miRNA 模拟物和抗 miRNA 反义核苷酸抑制剂,但 miRNA 相关药物的安全性、靶向性和如何在体内有效运输且不被降解等问题尚需进一步研究。

4 展望

与其他生物标记物相比,miRNA 稳定性佳和易获得等特点使其更适用于作为疾病标记物。miRNA 参与心电重构、心房结构重构、自主神经重构及钙离子稳态失调等重要的房颤病理过程。不同类型房颤的发病机制涉及的 miRNA 差异较大,如何准确有效地将 miRNA 用于房颤诊治尚存争议。联合多种 miRNA 检测有助于提高 miRNA 在房颤预测和风险分层中的应用价值,以 miRNA 为靶点的治疗方式有望改善房颤患者预后,未来仍需进一步探讨 miRNA 在房颤诊治中的作用。

参 考 文 献

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, 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.
- [2] An JY, John L, Melanie LL, et al. miRDeep: an integrated application tool for miRNA identification from RNA sequencing data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(2):727-737.
- [3] Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer[J]. *Curr Genomics*, 2010, 11(7):537-561.
- [4] Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(2):228-233.
- [5] Tsoporis JN, Fazio A, Ioannis KR, et al. Increased right atrial appendage apoptosis is associated with differential regulation of candidate MicroRNAs 1 and 133A in patients who developed atrial fibrillation after cardiac surgery[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 121:25-32.
- [6] Liu T, Zhong S, Rao F, et al. Catheter ablation restores

- decreased plasma miR-409-3p and miR-432 in atrial fibrillation patients[J]. *Europace*, 2016, 18(1):92-99.
- [7] Jia X, Zheng S, Xie X, et al. MicroRNA-1 accelerates the shortening of atrial effective refractory period by regulating KCNE1 and KCNB2 expression; an atrial tachypacing rabbit model[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e85639.
- [8] Zhai C, Tang G, Peng L, et al. Inhibition of microRNA-1 attenuates hypoxia/re-oxygenation-induced apoptosis of cardiomyocytes by directly targeting Bcl-2 but not GADD45Beta [J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7 (10): 1952-1962.
- [9] 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.
- [10] Kim GH. MicroRNA regulation of cardiac conduction and arrhythmias[J]. *Transl Res*, 2013, 161(5):381-392.
- [11] Ling TY, Wang XL, Chai Q, et al. Regulation of the SK3 Channel by microRNA-499—potential role in atrial fibrillation[J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(7):1001-1009.
- [12] Ling TY, Wang XL, Chai Q, et al. Regulation of cardiac CACNB2 by microRNA-499: potential role in atrial fibrillation[J]. *BBA Clin*, 2017, 7:78-84.
- [13] Adam O, Löhlfelm B, Thum T, et al. Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis[J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107(5):278.
- [14] Zhang K, Zhao L, Ma Z, et al. Doxycycline attenuates atrial remodeling by interfering with MicroRNA-21 and downstream phosphatase and tensin homolog (PTEN)/phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:5580-5587.
- [15] Shan HL, Yong Z, Lu YJ, et al. Downregulation of miR-133 and miR-590 contributes to nicotine-induced atrial remodelling in canines[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(3):465-472.
- [16] Li H, Li S, Yu B, et al. Expression of miR-133 and miR-30 in chronic atrial fibrillation in canines [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(6):1457-1460.
- [17] Kriegel AJ, Liu Y, Fang Y, et al. The miR-29 family: genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury[J]. *Physiol Genomics*, 2012, 44(4): 237-244.
- [18] Goren Y, Meiri E, Hogan C, et al. Relation of reduced expression of MiR-150 in platelets to atrial fibrillation in patients with chronic systolic heart failure[J]. *Am J Cardiol*, 2014, 113(6):976-981.
- [19] Mcmanus DD, Tanriverdi K, Lin H, et al. Plasma microRNAs are associated with atrial fibrillation and change after catheter ablation (the miRhythm study) [J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(1):3-10.
- [20] Galenko O, Jacobs V, Knight S, et al. The role of microRNAs in the development, regulation, and treatment of atrial fibrillation[J]. *J Interv Card Electrophysiol*, 2019, 55 (3):297-305.
- [21] Harling L, Lambert J, Ashrafian H, et al. Elevated serum microRNA 483-5p levels may predict patients at risk of post-operative atrial fibrillation [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2017, 51(1):73-78.
- [22] Wang MJ, Sun LB, Wei D, et al. Ablation alleviates atrial fibrillation by regulating the signaling pathways of endothelial nitric oxide synthase/nitric oxide via miR-155-5p and miR-24-3p[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3):4451-4462.
- [23] Rao ML. Time-dependent cervical vagus nerve stimulation and frequency-dependent right atrial pacing mediated inducibility of atrial fibrillation[J]. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2018, 20(4):206-212.
- [24] Morishima M, Iwata E, Nakada C, et al. Atrial fibrillation-mediated upregulation of miR-30d regulates myocardial electrical remodeling of the G-protein-gated K(+) channel, IK_{ACh}[J]. *Circ J*, 2016, 80(6):1346-1355.
- [25] Zhang YJ, Zheng SH, Geng Y, et al. MicroRNA profiling of atrial fibrillation in canines: miR-206 modulates intrinsic cardiac autonomic nerve remodeling by regulating SOD1[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0122674.
- [26] Wei JQ, Zhang YJ, Zhan L, et al. GCH1 attenuates cardiac autonomic nervous remodeling in canines with atrial-tachypacing via tetrahydrobiopterin pathway regulated by microRNA-206 [J]. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2018, 41 (5):459-471.
- [27] Harada M, Luo X, Murohara T, et al. MicroRNA regulation and cardiac Calcium signaling: role in cardiac disease and therapeutic potential[J]. *Circ Res*, 2014, 114 (4):689-705.
- [28] Chiang DY, Kongchan N, Beavers DL, et al. Loss of MicroRNA-106b-25 cluster promotes atrial fibrillation by enhancing ryanodine receptor type-2 expression and Calcium release[J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2014, 7(6):1214-1222.
- [29] Cañón S, Caballero R, Herraiz-Martínez A, et al. miR-208b upregulation interferes with calcium handling in HL-1 atrial myocytes: implications in human chronic atrial fibrillation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 99:162-173.
- [29] Cañón S, Caballero R, Herraiz-Martínez A, et al. miR-208b upregulation interferes with calcium handling in HL-1 atrial myocytes: implications in human chronic atrial fibrillation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 99:162-173.
- [30] D'alessandra Y, Devanna P, Limana F, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(22):2765-2773.
- [31] Feldman A, Moreira DAR, Gun C, et al. Analysis of circulating miR-1, miR-23a, and miR-26a in atrial fibrillation patients undergoing coronary bypass artery grafting surgery [J]. *Ann Hum Genet*, 2017, 81(3):99-105.

(收稿:2019-10-10 修回:2020-03-05)

(本文编辑:胡晓静)