

# 非编码RNA调控心脏纤维化的研究进展

段小旭 原玥 韩雪杰 李悦

**【摘要】** 心脏纤维化与多种心血管疾病密切相关,显著影响患者的临床预后。非编码 RNA (ncRNA) 参与调控心脏纤维化发生发展,在心脏纤维化的诊断和治疗方面具有巨大潜力,有望成为新兴生物标志物和治疗靶标。该文介绍 ncRNA 在心脏纤维化中的作用。

**【关键词】** 非编码 RNA ;心脏纤维化;微小 RNA ;环状 RNA

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.01.008

心脏纤维化与高血压、心律失常、动脉粥样硬化和心肌病等多种临床心血管疾病的病理过程密切相关,但目前尚无有效防治措施。心脏纤维化病理特征是心脏细胞外基质过度积聚,导致心脏组织僵硬和功能受损。大量研究证实,非编码 RNA (ncRNA) 与心脏纤维化的发生、发展密切相关。因此,进一步探索 ncRNA 在心脏纤维化中的作用,寻找心脏纤维化新的诊断和治疗靶点具有重要临床意义。

## 1 心脏纤维化概述

心脏纤维化是继发于各种急性损伤和慢性疾病后的病理改变,其特征是以胶原为主要成分的心肌细胞外基质 (ECM) 过度沉积。心脏纤维化是创伤愈合和组织修复的适应性反应,然而,它的持续激活会导致心脏组织僵硬和功能受损,严重时可导致心力衰竭和死亡。多种细胞类型参与心脏纤维化进程<sup>[1]</sup>,其中心脏成纤维细胞 (CF) 是 ECM 的主要生产者。CF 分化为具有更强增殖、迁移、收缩和产生  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白能力的肌成纤维细胞是发生心脏纤维化的标志。在不同的病理刺激下存在 2 种形式的心脏纤维化:修复性纤维化是指在缺血、局部缺血再灌注、炎症反应和毒性损伤条件下,纤维组织替代坏死的心肌细胞;而反应性纤维化是指不伴有明显心肌细胞丢失的心肌间质和血管周围空间扩张,通常发生于压力或容量超负荷、短暂性反复缺血、衰老和心肌病<sup>[2]</sup>。

## 2 ncRNA概述

ncRNA 是一类不编码蛋白质的 RNA 分子,其数目庞大 (约占基因组转录产物的 98%) 且功能多样,可广泛调控各种生物学过程。根据核苷酸链长度的不同,ncRNA 分为小 ncRNA 和长链非编码 RNA (lncRNA)<sup>[3]</sup>。目前研究最为广泛而深入的小 ncRNA 是微小 RNA (miRNA),它由约 20 个核苷酸组成,可通过与靶标 mRNA 结合,诱导靶基因降解或抑制其翻译,从而发挥负性调控作用。lncRNA 至少包含 200 个核苷酸,在 ncRNA 中数量最多且生物学功能强大,在表观遗传、转录和转录后等多个层面调控蛋白表达水平。与线性 ncRNA 不同,环状 RNA (circRNA) 没有 5' 帽子和 3' 尾巴,是共价闭合连续环,表达稳定且保守。

## 3 ncRNA与心脏纤维化

多项研究表明,ncRNA 与心脏纤维化的发生、发展密切相关,这为心肌纤维化的治疗提供了新的思路 and 有效靶点,也为诊断和预后评估提供了新的生物标志物。

### 3.1 miRNA与心脏纤维化

3.1.1 miR-21 miR-21 在各组织器官中广泛表达,可显著促进心脏纤维化进展<sup>[4]</sup>。研究发现,急性心肌梗死小鼠模型梗死区心肌 miR-21 表达明显增加,过表达 miR-21 可促进转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 诱导的 CF 激活;荧光素酶报告实验证实,Smad7 是 miR-21 的直接靶标,miR-21 可通过 TGF- $\beta$ /Smad7 途径促进心肌梗死后心脏纤维化的发生发展<sup>[5]</sup>。此外,Zhou 等<sup>[6]</sup> 研究发现 miR-21 能够靶向降解 Jagged1 蛋白,促进 CF 增殖和转化。在另一项研究中,左心房局部注射 miR-21 抑制剂可使

基金项目:国家自然科学基金 (81900302)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院心血管内科

通信作者:李悦, E-mail: ly99ly@vip.163.com

心肌梗死诱导的心力衰竭大鼠模型左心房纤维组织含量减少,心房颤动(房颤)持续时间缩短,提示 miR-21 是房颤的潜在治疗靶标<sup>[7]</sup>。

**3.1.2 miR-29** miR-29 家族由 miR-29a, miR-29b 和 miR-29c 组成,与心脏纤维化密切相关。在小鼠模型和人心肌梗死区周围 miR-29 家族均显著下调,下调的 miR-29 通过“去阻遏”CF 内编码胶原蛋白、弹性蛋白和纤维蛋白原的基因,促进 ECM 产生<sup>[8]</sup>。与在 CF 中发挥抗纤维化效应相反,心肌细胞中 miR-29 可通过调节 Wnt 信号途径促进心肌细胞肥大和分泌促纤维化信号分子,从而发挥促心脏重构效应;下调 miR-29 可预防压力超负荷小鼠出现心脏肥大、心脏纤维化和心脏功能障碍<sup>[9]</sup>。研究显示,尾静脉注射外源性 miR-29a 可通过抑制胶原蛋白沉积、TGF- $\beta$  和磷酸化 Smad2/3 表达,改善血管紧张素 II (Ang II) 诱导的小鼠左心室重构,提示 miR-29a 有望成为心脏重构的治疗靶点<sup>[10]</sup>。

**3.1.3 miR-133a** miR-133a 在心脏组织及骨骼肌组织中特异性表达,在进化中高度保守。既往大量研究证实,发生心肌梗死时,miR-133a 可发挥抑制心脏血管生成、抑制炎症反应、减轻心肌肥大和纤维化程度、减少心肌细胞凋亡以及促进心脏重编程等多种积极保护效应,是治疗心肌梗死的潜在靶标<sup>[11]</sup>。Meta 分析显示,循环 miR-133a 可能是识别高危非 ST 抬高型心肌梗死的特异性生物标志物<sup>[12]</sup>。Sang 等<sup>[13]</sup>发现,在慢性心力衰竭患者和冠状动脉结扎术诱导的心力衰竭大鼠的心脏组织中,miR-133a 表达显著下调,过表达 miR-133a 可通过抑制丝氨酸/苏氨酸激酶抑制心脏纤维化进程,改善大鼠心脏功能。

**3.1.4 miR-101** 多项研究表明,miR-101 通过广泛调控 TGF- $\beta$  信号通路参与心脏纤维化进程。Zhao 等<sup>[14]</sup>研究发现,心肌梗死大鼠模型心肌梗死区 miR-101 表达水平显著下调,通过激活 TGF- $\beta$ /TGF- $\beta$  I 型受体 (TGF $\beta$ RI) /Smad 通路,诱导 CF 分化和胶原表达。有文献报道,过表达的 miR-101a 可通过靶向结合 RUNX1,抑制 TGF- $\beta$  信号通路,改善心肌梗死后心脏纤维化和心脏功能<sup>[15]</sup>。此外,间歇性有氧运动时,心肌梗死大鼠模型心脏组织 miR-101a 和 miR-29a 表达显著增加,通过抑制 TGF- $\beta$  信号通路,减轻心肌梗死后心脏纤维化和瘢痕形成,提示 miR-101a 具有治疗潜力<sup>[16]</sup>。

**3.1.5 miR-30** miR-30 家族是心脏中表达最丰富的 miRNA 之一<sup>[17]</sup>。研究发现,腹主动脉缩窄术大鼠模型心房组织 miR-30c 表达显著下调,其直接靶标 TGF- $\beta$  II 型受体 (TGF $\beta$ RII) 表达增加;经下腔静脉注射外源性 miR-30c 可减轻大鼠左心房纤维化程度<sup>[18]</sup>。此外,经尾静脉注射外源性 miR-30c 可通过抑制 Snail/TGF- $\beta$  途径减轻异丙肾上腺素诱导的心脏重构大鼠模型的左心室纤维化程度,提高大鼠存活率,证实了 miR-30c 的抗心脏纤维化作用<sup>[19]</sup>。

**3.1.6 其他 miRNA** 有文献报道,miR-384-5p 靶向 TGF- $\beta$ /Wnt 反式激活回路的关键受体,显著抑制 TGF- $\beta$  诱导的 CF 激活和缺血再灌注诱导的心脏纤维化<sup>[20]</sup>。研究发现,衰老时上调的 miR-1468-3p 可通过增强 TGF- $\beta$ 1/p38 MAPK 信号转导促进原发性心脏纤维化进展<sup>[21]</sup>。目前,探究 miRNA 与心脏纤维化关系的研究较多,除上述 miRNA 以外,已知在心脏纤维化中发挥重要作用的 miRNA 还有 miR-1、miR-208、miR-34、miR-26a 等<sup>[22]</sup>。

## 3.2 lncRNA 与心脏纤维化

**3.2.1 lnc MALAT1** Huang 等<sup>[23]</sup>发现,心肌梗死小鼠心脏组织 lnc MALAT1 表达增加,miR-145 表达减少;左心室注射外源性 lnc MALAT1 后,miR-145 表达上调,梗死面积和胶原蛋白沉积减少,心脏功能改善,提示 lnc MALAT1 可促进心肌梗死后心脏纤维化。进一步研究证实,lnc MALAT1 可靶向结合 miR-145,下调的 miR-145 可通过增加 Furin 表达提高 TGF- $\beta$ 1 活性,促进心脏纤维化进展。

**3.2.2 lnc RNF7** 研究显示,抑制 lnc RNF7 表达可明显减轻异丙肾上腺素诱导的心力衰竭大鼠模型心脏纤维化程度。转染 lnc RNF7 的短发夹 RNA (shRNA) 也可明显缓解异丙肾上腺素诱导的原代大鼠 CF 增殖、ECM 蛋白堆积和 TGF- $\beta$  信号通路的激活;sh-lnc RNF7 与 miR-543 抑制剂共转染可显著抑制上述效应。进一步研究证实,lnc RNF7 作为 miR-543 的竞争性内源 RNA,靶向调节 TSP1 介导的 TGF- $\beta$  激活,进而调控心脏纤维化进程<sup>[24]</sup>。

**3.2.3 lnc Safe** Hao 等<sup>[25]</sup>发现,在心肌梗死小鼠模型心脏组织和 TGF- $\beta$  处理的原代小鼠心室 CF 中,lnc Safe 表达显著上调。向心肌梗死部位注射 Safe-shRNA 后,Safe 邻近基因 *Sfrp2* 表达减少,梗死部位纤维化区域明显缩小,左心室功能改善;而慢病毒介导的 *Sfrp2* 过表达可逆转沉默

Safe 产生的抗心脏纤维化效应。进一步研究证实, lnc Safe 在 CF 的细胞核中富集, 其 3' 端互补结合 *Sfrp2* mRNA 形成的 RNA 双链体可与 RNA 结合蛋白 HuR 结合形成复合体, 保障 *Sfrp2* 蛋白的稳定表达, 促进心脏纤维化进展。

3.2.4 lnc MIAT 有文献报道, 高糖处理 CF 时 lnc MIAT 表达显著上调, 其可通过负向调控 miR-214-3p 对白细胞介素 (IL)-17 生成的抑制作用, 促进促炎性细胞因子 IL-17 表达, 加速心脏纤维化进程; 敲低 *MIAT* 可显著减轻糖尿病小鼠的心脏纤维化程度, 改善心脏功能, 提示 *MIAT* 是糖尿病心肌病的潜在治疗靶点<sup>[26]</sup>。

3.2.5 其他 lncRNA 既往研究证实, 除上述 lncRNA 外, 多种 lncRNA 可以通过不同的机制调控心脏纤维化, 如 lnc Ang362 可靶向结合 Smad7, 抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的上游抑制性信号通路, 促进心肌梗死后心脏纤维化进展<sup>[27]</sup>; lnc SNHG7 通过竞争性结合 miR-34-5p 促进 CF 增殖和转化<sup>[28]</sup>。研究发现, 肺动脉高压患者血浆 lnc H19 表达上调且与患者右心室功能和长期生存率显著相关<sup>[29]</sup>, 提示 lncRNA 有作为诊断、预后生物标志物的潜力。

### 3.3 circRNA 与心脏纤维化

3.3.1 circNCX1 研究发现, 心肌缺血再灌注小鼠模型心脏组织 circNCX1 表达显著增加; 沉默 circNCX1 可显著减轻缺血再灌注区域心肌细胞凋亡和胶原蛋白沉积, 改善心脏功能。进一步研究证实, circNCX1 可通过靶向结合 miR-133a-3p 加重心肌缺血再灌注损伤, 提示 circNCX1 在心肌缺血再灌注后纤维化进展中发挥重要作用<sup>[30]</sup>。

3.3.2 circNFIB Zhu 等<sup>[31]</sup>发现, 心肌梗死小鼠心脏组织和 TGF- $\beta$  诱导的小鼠原代 CF 中 circNFIB 表达显著下调; circNFIB 过表达可抑制 TGF- $\beta$  诱导的小鼠原代 CF 增殖和分化。双荧光素酶报告实验证实, circNFIB 作为 miR-433 的竞争性内源 RNA, 可通过上调 AZIN1 和 JNK1 表达发挥促纤维化效应。

3.3.3 circHIPK3 研究表明, Ang II 诱导的心脏纤维化小鼠模型心脏组织 circHIPK3 表达明显上调, circHIPK3 可靶向结合 miR-29b-3p, 促进 CF 增殖、迁移和 ECM 堆积。与单纯沉默 circHIPK3 或过表达 miR-29b-3p 相比, 同时沉默 circHIPK3 和过表达 miR-29b-3p 可产生更强的抗纤维化作用, 提示沉默 circHIPK3 结合过表达 miR-29b-3p

在治疗 Ang II 诱导的心脏纤维化中具有潜在应用价值<sup>[32]</sup>。

3.3.4 其他 circRNA 此外, circSlc8a1、circACTA2、circNfix 等多种 circRNA 与心脏纤维化进程密切相关, 具有潜在的抗纤维化潜力。在作为疾病诊断的生物标志物方面, circRNA 也具有独特的优势: (1) 表达稳定, 利于检测; (2) 存在于全血, 半衰期长; (3) 在器官、组织细胞中特异性表达<sup>[33]</sup>。

## 4 小结

心脏纤维化的病理生理机制目前仍不完全清楚, 尚无有效的治疗策略。本文介绍了几种 ncRNA 在心脏纤维化中的研究进展, 反映出心脏纤维化中非编码转录本 miRNA、lncRNA 与 circRNA 之间的相互作用。ncRNA 是心脏纤维化过程的关键组成部分, 有望作为新的生物标志物和治疗靶标, 将 ncRNA 疗法靶向、高效、特异、安全地应用到临床实践中是未来的研究目标。

## 参考文献

- [1] Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis: cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities[J]. Mol Aspects Med, 2019, 65:70-99.
- [2] Li L, Zhao Q, Kong W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis[J]. Matrix Biol, 2018, 68-69(SI):490-506.
- [3] Fasolo F, Di GK, Maegdefessel L, et al. Non-coding RNAs in cardiovascular cell biology and atherosclerosis[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(12):1732-1756.
- [4] Kura B, Kalocayova B, Devaux Y, et al. Potential clinical implications of miR-1 and miR-21 in heart disease and cardioprotection[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3):700.
- [5] Yuan JX, Chen HT, Ge DW, et al. Mir-21 promotes cardiac fibrosis after myocardial infarction via targeting Smad7[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(6):2207-2219.
- [6] Zhou XL, Xu H, Liu ZB, et al. miR-21 promotes cardiac fibroblast-to-myofibroblast transformation and myocardial fibrosis by targeting jagged1[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(8):3816-3824.
- [7] Cardin S, Guasch E, Luo XB, et al. Role for MicroRNA-21 in atrial profibrillatory fibrotic remodeling associated with experimental postinfarction heart failure[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2012, 5(5):1027-1035.
- [8] 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.
- [9] Sassi Y, Avramopoulos P, Ramanujam D, et al. Cardiac myocyte miR-29 promotes pathological remodeling of the heart by activating Wnt signaling[J]. Nat Commun, 2017, 8(1):1614.



- [10] Zhang SJ, Yun CJ, Liu J, et al. MicroRNA-29a attenuates angiotensin- II induced-left ventricular remodeling by inhibiting collagen, TGF- $\beta$  and SMAD2/3 expression[J]. J Geriatr Cardiol, 2020, 17(2):96-104.
- [11] Xiao Y, Zhao J, Tuazon JP, et al. MicroRNA-133a and myocardial infarction[J]. Cell Transplant, 2019, 28(7):831-838.
- [12] Wexler Y, Nussinovitch U. The diagnostic value of mir-133a in ST elevation and non-ST elevation myocardial infarction: a meta-analysis[J]. Cells, 2020, 9(4):793.
- [13] Sang HQ, Jiang ZM, Zhao QP, et al. MicroRNA-133a improves the cardiac function and fibrosis through inhibiting Akt in heart failure rats[J]. Biomed Pharmacother, 2015, 71:185-189.
- [14] Zhao X, Wang K, Liao Y, et al. MicroRNA-101a inhibits cardiac fibrosis induced by hypoxia via targeting TGF $\beta$ RI on cardiac fibroblasts[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(1):213-226.
- [15] Li X, Zhang S, Wa M, et al. MicroRNA-101 protects against cardiac remodeling following myocardial infarction via downregulation of runt-related transcription factor 1[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(23):e013112.
- [16] Xiao L, He H, Ma L, et al. Effects of miR-29a and miR-101a expression on myocardial interstitial collagen generation after aerobic exercise in myocardial-infarcted rats[J]. Arch Med Res, 2017, 48(1):27-34.
- [17] Zhang X, Dong S, Jia Q, et al. The microRNA in ventricular remodeling: the miR-30 family[J]. Biosci Rep, 2019, 39(8):BSR20190788.
- [18] Xu J, Wu H, Chen S, et al. MicroRNA-30c suppresses the pro-fibrogenic effects of cardiac fibroblasts induced by TGF- $\beta$ 1 and prevents atrial fibrosis by targeting TGF $\beta$ RII [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(6):3045-3057.
- [19] Zhang W, Chang H, Zhang H, et al. MiR-30e attenuates isoproterenol-induced cardiac fibrosis through suppressing Snail/TGF- $\beta$  signaling[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2017, 70(6):362-368.
- [20] Seo HH, Lee S, Lee CY, et al. Multipoint targeting of TGF- $\beta$ /Wnt transactivation circuit with microRNA 384-5p for cardiac fibrosis[J]. Cell Death Differ, 2019, 26(6):1107-1123.
- [21] Lin R, Rahtu-Korpela L, Magga J, et al. miR-1468-3p promotes aging-related cardiac fibrosis[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 20:589-605.
- [22] Thum T. Noncoding RNAs and myocardial fibrosis[J]. Nat Rev Cardiol, 2014, 11(11):655-663.
- [23] Huang S, Zhang L, Song J, et al. Long noncoding RNA MALAT1 mediates cardiac fibrosis in experimental postinfarct myocardium mice model[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3):2997-3006.
- [24] Ouyang F, Liu X, Liu G, et al. Long non-coding RNA RNF7 promotes the cardiac fibrosis in rat model via miR-543/THBS1 axis and TGF $\beta$ 1 activation[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(1):996-1010.
- [25] Hao K, Lei W, Wu H, et al. LncRNA-Safe contributes to cardiac fibrosis through Safe-Sfrp2-HuR complex in mouse myocardial infarction[J]. Theranostics, 2019, 9(24):7282-7297.
- [26] Qi Y, Wu H, Mai C, et al. LncRNA-MIAT-mediated miR-214-3p silencing is responsible for IL-17 production and cardiac fibrosis in diabetic cardiomyopathy[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8:243.
- [27] Chen G, Huang S, Song F, et al. Lnc-Ang362 is a pro-fibrotic long non-coding RNA promoting cardiac fibrosis after myocardial infarction by suppressing Smad7[J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 685:108354.
- [28] Wang J, Zhang S, Li X, et al. LncRNA SNHG7 promotes cardiac remodeling by upregulating ROCK1 via sponging miR-34-5p[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(11):10441-10456.
- [29] Omura J, Habbout K, Shimauchi T, et al. Identification of the long non-coding RNA H19 as a new biomarker and therapeutic target in right ventricular failure in pulmonary arterial hypertension[J]. Circulation, 2020, 142(15):1464-1484.
- [30] Li M, Ding W, Tariq M, et al. A circular transcript of ncx1 gene mediates ischemic myocardial injury by targeting miR-133a-3p[J]. Theranostics, 2018, 8(21):5855-5869.
- [31] Zhu Y, Pan W, Yang T, et al. Upregulation of circular RNA CircNFIB attenuates cardiac fibrosis by sponging miR-433[J]. Front Genet, 2019, 10:564.
- [32] Ni H, Li W, Zhuge Y, et al. Inhibition of circHIPK3 prevents angiotensin II -induced cardiac fibrosis by sponging miR-29b-3p[J]. Int J Cardiol, 2019, 292:188-196.
- [33] Yousefi F, Soltani BM. Circular RNAs as potential theranostics in the cardiac fibrosis[J]. Heart Fail Rev, 2021, 26(1):195-203.

( 收稿:2021-03-31 修回:2021-11-16 )

( 本文编辑:胡晓静 )