

microRNA 在心血管系统中的表达和功能

刘媛圆综述 杨新春 蔡 军审校

【摘要】 microRNA (miRNA, miR) 是一类调控基因, 在心血管系统中的角色和功能的相关研究甚多。在生理状态下, miR-1 和 miR-133 调控心肌细胞分化、心脏形态的形成及心肌细胞凋亡。在病理状态下, 心肌肥厚的发生与 miR-1、miR-133、miR-21 下调有关; 一系列 miRNA 参与冠心病多个病理过程, 如 miR-126 表达减少导致内皮炎症反应增强, miR-199 下调促进心肌缺氧, 心肌梗死后抑制 miR-92 可促进血管生成, miR-29、miR-30、miR-133 表达减少以促进心肌纤维化等; miR-1 与 miR-133 可通过改变离子通道进而影响心肌自律性、传导性等多种途径引发相关心律失常; 上调的 miR-1、miR-133、miR-21 对心力衰竭起保护性作用。

【关键词】 microRNA; 细胞分化; 心肌肥厚; 冠心病; 心律失常; 心力衰竭

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2010.02.012

microRNA (miRNA, miR) 是一种内源性非编码 RNA, 在动物种系发生中具有保守序列, 在基因表达的调控中发挥重要作用, 通过识别靶向 mRNA 的 3' 非翻译区 (3' untranslated region, 3' UTR), 调节转录后基因沉默, 促进 mRNA 降解或抑制其转录发挥蛋白水平的调节功能, 从而参与许多重要的生物进程。miRNA 具有组织特异性^[1], 其在心血管系统生理和病理状态下均发挥作用。

1 生理条件下的表达和功能

1.1 心肌细胞分化和心脏形态学

在 miRNA 家族中, miR-1 和 miR-133 被认为具有心肌组织特异性, 可维持分化和增值的平衡、诱导祖细胞向心肌细胞的分化, 而缺失时则可能出现室间隔缺损等形态学异常。miR-1 和 miR-133 可调控胚胎干细胞分化为心肌细胞, miR-1 过度表达可以抑制心室肌细胞增殖, 精密调节心肌细胞和体肌细胞祖细胞分化; miR-133a 对解偶联蛋白 UCP2 的特异性抑制可能是成肌细胞到肌管转变过程中不可缺的步骤^[2-6]。组织学分析发现缺失 miR-1-2 或同时缺失 miR-133a-1 及 miR-133a-2 的突变小鼠有一半在胚胎期发生大型或致死性室间隔缺损 (VSD), 部分生存至成年的小鼠最终死于扩张型心

肌病和心力衰竭^[7,8]。此外, Morton 等^[9]发现 miR-138 也参与心脏形态学的发生。

1.2 细胞凋亡

在细胞凋亡过程中发现 miR-1 和 miR-133 起相反的作用, 前者通过抑制靶基因热休克蛋白 (HSP60) 及 HSP70 发挥促细胞凋亡的功能, 后者则抑制半胱天冬酶-9 (caspase-9) 发挥抗细胞凋亡功能^[10]。另外, 有抗细胞凋亡功能的 miR-21, 对 H₂O₂ 介导的心肌细胞损伤有保护作用, 靶基因为程序性细胞死亡 4 (programmed cell death 4, PDCD4), 其下游信号分子 AP-1 也参与其中^[11]。

2 病理条件下的表达和功能

2.1 心肌肥厚及心肌细胞增生

心肌特异性 miR 在心肌肥厚的实验中发现: miR-1 过表达可抑制心肌细胞生长, 从而抑制心脏肥大, 而抑制 miR-1 可促进心肌肥大, miR-133 和 miR-21 有相似的功能^[12-16]。Zhao 等^[7]发现 miR-1-2 缺失可能造成心肌细胞增殖, 从而使心脏体积、重量增加。有关 miRNA 在逆转心肌肥厚过程中的作用, Wang 等^[17]利用腹主动脉结扎的方法诱发心肌肥厚, 再用异体心脏移植的方法制模, 观察到 293 种 miRNA 发生变化, 而 miR-23a 和 miR-29a 的变化更有意义。

2.2 冠心病

研究表明, miRNA 参与粥样斑块形成中的炎症反应过程。miR-126 调控血管黏附细胞因子 1 (VCAM-1) 黏附至内皮细胞, miR-126 表达减少增

基金项目: 国家自然科学基金 (30770875); 国家自然科学基金重大计划 (90919054)

作者单位: 100020 首都医科大学附属北京朝阳医院心脏中心

通讯作者: 杨新春, Email: yangxc@medmail.com.cn

加了肿瘤坏死因子(TNF) α 刺激的 VCAM-1 表达,从而增加了白细胞在内皮的附着^[18]。最近的研究发现,miR-155 也参与包括单核细胞衍生的树突状细胞炎症因子的下调、血管紧张素 II 1 型受体 + 1166 A/C 多态性、炎症应答和内毒素休克等^[19-22]。

心肌长期缺血、缺氧可受到损伤,损伤后一般都以瘢痕方式修复,过程包括:(1)血管形成;(2)成纤维细胞的增值和迁移;(3)细胞外基质成分聚集和纤维组织重建。在心肌处于低氧状态时 miR-199 表达急剧减少,而其靶点低氧诱导因子-1 α (Hif-1 α)和去乙酰化酶 1 (sirtuin 1)均上调,推断 miR-199 是低氧触发途径的调控因子^[23]。miR-17~19 基因簇在人体内皮细胞中高表达,其中 miR-92a 调控新生血管形成,过表达 miR-92a 抑制血管生成,特异性抑制 miR-92a 则可促进血管生成和缺血区的功能恢复^[24]。在小鼠和人心肌梗死的邻近区域发现 miR-29 下调,而 miR-29 家族的靶向基因编码参与纤维化的蛋白,包括多重胶原蛋白、纤维蛋白原和弹力蛋白。因此 miR-29 下调可使这些蛋白水平增加从而纤维化增强^[25]。Duisters 等^[26]最近的研究发现 miR-133 和 miR-30 直接下调结缔组织生长因子(CTGF,一种关键的促纤维化蛋白),降低胶原水平,从而影响心肌细胞外基质重塑。

冠脉闭塞再通后,会引起缺血-再灌注损伤。小鼠经热休克处理后 miR-1、miR-21 和 miR-24 在心脏中显著增高,将分离出的 miRNA 给非热休克(HS)处理的小鼠注射,促凋亡基因被抑制而抗凋亡基因表达增加,缺血-再灌注损伤后的梗死面积显著减少,说明 miRNA 在缺血-再灌注损伤中发挥保护作用^[27],但并未阐明作用途径和机制。最近的研究发现,miR-21 是通过磷酸酶及张力蛋白同源物(PTEN)途径调控成心肌细胞的基质金属蛋白酶(MMP-2)的表达发挥作用^[28],又有体内活体研究中发现过表达 miR-320 可增强心肌细胞死亡和凋亡,增加梗死面积,此过程以热休克蛋白 20 为靶点^[29]。Yin 等^[30]研究发现缺血预适应(IPC)处理后 miR-1、miR-21 和 miR-24 明显增加,机制类似于延迟缺血预适应,可能是通过上调内皮一氧化氮合酶、HSP 70 以及热休克基因转录因子 1 发挥作用。

2.3 心律失常

心肌细胞内离子通道功能异常导致心脏冲动形成或传导异常,从而诱发心律失常。miR-1 和 miR-133 通过抑制靶基因 HCN2/HCN4 的表达和

功能进而抑制了 f 通道的传导及相关节律的激活,引起心律失常^[31];并且 miR-1 还可能通过下调 KCNJ2 和 GJA1 的表达,减慢心肌细胞传导和复极化^[32],或抑制 PP2A 调节亚基 B56 α ,导致依赖 CaMK II 的 RyR2 过度磷酸化,进而促进肌浆网 Ca²⁺ 释放,导致心律失常^[33]。miRNA 除了作用于 Ca²⁺ 通道以外,对 K⁺ 通道也有作用。Zhao 等^[7]在研究 miR-1-2 的功能时,发现其靶基因 Irx5 对 K⁺ 通道 Kcnd2 发挥关键的抑制作用^[34],故在 miR-1-2^{-/-} 模型小鼠表现为心肌复极化异常,从而描记出异常的心电图(见图 1)。

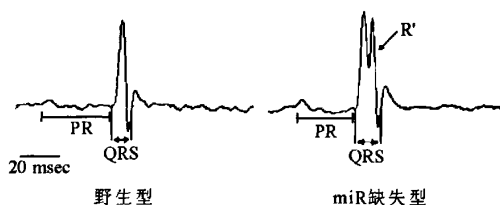


图 1 野生型与 miR-1-2 缺失型小鼠 II 导联平面心电图的比较

与野生型相比,PR 间期缩短,QRS 间期延长。图示 R' 波在 58% 的 miR-1-2^{-/-} 型小鼠中出现,而在野生型小鼠中只有 14% 出现。

利用糖尿病家兔模型对 miR-133 与 QT 间期之间的关系研究,发现心肌过表达 miR-133 可抑制一种长 QT 综合征基因——人体乙酰-a-Go-Go-相关基因(ERG)的表达,而 ERG 编码一种关键 K⁺ 通道 Ikr,后者被抑制后复极化减慢,QT 延长,发生心律失常^[35]。

2.4 心力衰竭

以收缩性心力衰竭为对象研究 miRNA 的功能。众所周知,核糖核酸酶 Dicer 是 miRNA 加工所必须的辅助因子,通过观察 Dicer 的变化可间接了解 miRNA 的作用。Chen 等^[36]即利用此方法,发现敲除 Dicer 的小鼠扩张型心肌病及心力衰竭快速进展,出生后即死亡,更有意义的是,使用左室辅助装置改善心功能后 Dicer 表达增加,从而证明了 Dicer 在心肌收缩性中的重要作用,进而证明了 miRNA 在正常和病理条件下对心功能发挥保护性作用。Schipper 等^[37]则直接观察到了 miR-1、miR-133a 和 miR-133b 的这种保护性作用。

心力衰竭与心肌纤维化密不可分,研究发现 miR-21 选择性地在衰竭心脏的成纤维细胞中升高,抑制 Spry1 表达进而降低 ERK-MAP 激酶活性。此机制调节成心肌细胞的存活和生长因子释放,明显控制间质纤维化的范围^[38]。最近,Suckau 等^[39]

利用腺病毒和腺相关病毒将 RNAi 注入心力衰竭大鼠体内,发现扩大的心脏恢复正常,心脏肥大、心肌细胞直径、心脏纤维化均显著减少,并且在 RNAi 治疗期间没有发现 miRNA 活动异常或肝损害,此研究为从基因水平治疗心力衰竭开启了新思路。

2.5 高血压

miRNA 与高血压的相关研究较少。Naraba 等^[40]对 miRNA 系统在盐敏感性高血压中作用进行研究:分别给予 Dahl 和 Lewis 大鼠正常和高盐饮食,观察肾脏和心室肌中 118 种 miR 的表达,发现

在实验组与对照组中并无显著差异,认为 miRNA 系统在盐敏感性高血压中可能并不发挥作用。

2.6 唐氏综合征

Kuhn 等^[41]发现唐氏综合征患者心脏中 miR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155, miR-802 表达较对照组增多,其中,miR-155 过表达导致的等位基因特异性低表达 AGTR1 或许可解释唐氏综合征低血压现象^[42],此发现为治疗唐氏综合征提供新思路。

miRNA 在心脏中的表达、作用靶基因及其功能,见表 1。

表 1 miRNA 在心脏中的表达和功能

	靶基因	功能	参考文献
miR-1	Cdk9	细胞分化	[3]
	eNOS, HSP70, HSF-1	冠心病缺血预适应	[30]
	Hand2	细胞分化,细胞增殖	[4]
	HCN2, HCN4	心肌肥厚	[13]
	HCN2, HCN4	心律失常	[31]
	HSP60, HSP70	细胞凋亡	[10]
	IGF-1	细胞凋亡	[43]
	Irx5	心律失常	[7]
	KCNJ2, GJA1	心律失常	[32]
	Mef2a, Gata4, 钙调蛋白	心肌肥厚	[12]
miR-21	PP2A 调节亚基 B56α	心律失常	[33]
	eNOS, HSP70, HSF-1	冠心病缺血预适应	[30]
	PDCD4	细胞凋亡	[11]
	PTEN	冠心病缺血-再灌注损伤	[28]
	Spry1	心力衰竭	[38]
miR-24	eNOS, HSP70, HSF-1	冠心病缺血预适应	[30]
miR-30	CTGF	纤维化	[26]
miR-155	AGTR1	唐氏综合征	[42]
miR-126	VCAM-1	炎性反应	[18]
miR-133	caspase-9	细胞凋亡	[10]
	CTGF	纤维化	[26]
	ERG	心律失常	[35]
	HCN2, HCN4	心肌肥厚	[13]
	HCN2, HCN4	心律失常	[31]
miR-133a	RhoA, Cdc42, Nelf-A/WHSC2	心肌肥厚	[14]
	UAP2	细胞分化	[6]
	SRF, cyclin D2	细胞分化,形态学	[8]
miR-199	Hif-1α, Sirtuin1	冠心病,缺氧	[23]
miR-320	HSP20	冠心病缺血-再灌注损伤	[29]
	IGF-1	细胞凋亡	[44]

miR, microRNA; Cdk, 细胞周期依赖性激酶; eNOS, 内皮一氧化氮合酶; HSP, 热休克蛋白; HSF, 热休克基因转录因子; Hand, 心脏神经嵴衍生物及表达; HCN, 超极化激活环核苷酸门控性钾通道; IGF, 胰岛素样生长因子; Irx, 易洛魁同源框; KCNJ, 钾内向整流通道超家族丁成员; GJA, 间隙连接蛋白 α; Mef, 肌细胞特异性增强因子; PP, 蛋白磷酸酶; PDCD, 程序性细胞死亡; PTEN, 磷酸酶及张力蛋白同源物; CTGF, 结缔组织生长因子; ERG, 人体乙醚-α-Go-Go-相关基因; SRF, 血清反应因子; cyclin, 细胞周期蛋白; Hif, 低氧诱导因子; sirtuin, 去乙酰化酶。

3 展望

尽管目前对 miRNA 的研究众多, miRNA 在心血管系统中的生物学行为仍然是一门新的研究领域。同时, 一种新型的诊疗思路正在萌芽。首先, miRNA 可以作为一种诊断疾病的诊断工具, 一旦它们与疾病的相关性确定, 就可以成为诊断该疾病的特异性诊断指标; 其次, miRNA 在疾病中表达异常可以被相关的反义寡核苷酸纠正, 从而达到治疗疾病的目的, 故 miRNA 可以为治疗某些疾病开辟新思路; 最后, miRNA 可以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, miRNA 作为临床诊疗方法的应用, 仍需要不断研究、探索、尝试, 最终才能实现。

参 考 文 献

- [1] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse [J]. *Curr Biol*, 2002, 12(9): 735-739.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis[J]. *Nature*, 2005, 436(7048): 214-220.
- [5] Kwon C, Han Z, Olson EN, et al. MicroRNA1 influences cardiac differentiation in *Drosophila* and regulates Notch signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(52): 18986-18991.
- [6] Chen X, Wang K, Chen J, et al. In vitro evidence suggests that miR-133a-mediated regulation of uncoupling protein 2 (UCP2) is an indispensable step in myogenic differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(8): 5362-5369.
- [7] Zhao Y, Ransom JF, Li A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2[J]. *Cell*, 2007, 129(2): 303-317.
- [8] Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, et al. MicroRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(23): 3242-3254.
- [9] Morton SU, Scherz PJ, Cordes KR, et al. MicroRNA-138 modulates cardiac patterning during embryonic development [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(46): 17830-17835.
- [10] Xu C, Lu Y, Pan Z, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 17): 3045-3052.
- [11] Cheng Y, Liu X, Zhang S, et al. MicroRNA-21 protects against the H₂O₂-induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47(1): 5-14.
- [12] Ikeda S, He A, Kong SW, et al. MicroRNA-1 negatively regulates expression of the hypertrophy-associated calmodulin and Mef2a genes [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(8): 2193-2204.
- [13] Luo X, Lin H, Pan Z, et al. Down-regulation of miR-1/miR-133 contributes to re-expression of pacemaker channel genes HCN2 and HCN4 in hypertrophic heart[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(29): 20045-20052.
- [14] Care A, Catalucci D, Felicetti F, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy [J]. *Nat Med*, 2007, 13(5): 613-618.
- [15] Tatsuguchi M, Seok HY, Callis TE, et al. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(6): 1137-1141.
- [16] Cheng Y, Ji R, Yue J, et al. MicroRNAs are aberrantly expressed in hypertrophic heart; do they play a role in cardiac hypertrophy? [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(6): 1831-1840.
- [17] Wang J, Xu R, Lin F, et al. MicroRNA: novel regulators involved in the remodeling and reverse remodeling of the heart[J]. *Cardiology*, 2009, 113(2): 81-88.
- [18] Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, et al. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(5): 1516-1521.
- [19] Ceppi M, Pereira PM, Dunand-Sauthier I, et al. MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human monocyte-derived dendritic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(8): 2735-2740.
- [20] Martin MM, Buckenberger JA, Jiang J, et al. The human angiotensin II type 1 receptor +1166 A/C polymorphism attenuates microRNA-155 binding [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(33): 24262-24269.
- [21] O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, et al. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(5): 1604-1609.
- [22] Tili E, Michaille JJ, Cimino A, et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF- α stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock [J]. *J Immunol*, 2007, 179(8): 5082-5089.
- [23] Rane S, He M, Sayed D, et al. Downregulation of miR-199a derepresses hypoxia-inducible factor-1 α and Sirtuin 1 and recapitulates hypoxia preconditioning in cardiac myocytes[J]. *Circ Res*, 2009, 104(7): 879-886.
- [24] Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tis-

- sues in mice[J]. Science, 2009, 324(5935): 1710-1713.
- [25] 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.
- [26] Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, et al. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor; implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling[J]. Circ Res, 2009, 104(2): 170-178. 176p following 178.
- [27] Yin C, Wang X, Kukreja RC. Endogenous microRNAs induced by heat-shock reduce myocardial infarction following ischemia-reperfusion in mice[J]. FEBS Lett, 2008, 582(30): 4137-4142.
- [28] Roy S, Khanna S, Hussain SR, et al. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction; miR-21 regulates fibroblast metalloproteinase-2 via phosphatase and tensin homologue[J]. Cardiovasc Res, 2009, 82(1): 21-29.
- [29] 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.
- [30] Yin C, Salloom FN, Kukreja RC. A novel role of microRNA in late preconditioning; upregulation of endothelial nitric oxide synthase and heat shock protein 70[J]. Circ Res, 2009, 104(5): 572-575.
- [31] Xiao J, Yang B, Lin H, et al. Novel approaches for gene-specific interference via manipulating actions of microRNAs; examination on the pacemaker channel genes HCN2 and HCN4[J]. J Cell Physiol, 2007, 212(2): 285-292.
- [32] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2[J]. Nat Med, 2007, 13(4): 486-491.
- [33] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. MiR-1 overexpression enhances Ca^{2+} release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMKII-dependent hyperphosphorylation of RyR2[J]. Circ Res, 2009, 104(4): 514-521.
- [34] Costantini DL, Arruda EP, Agarwal P, et al. The homeodomain transcription factor Irx5 establishes the mouse cardiac ventricular repolarization gradient[J]. Cell, 2005, 123(2): 347-358.
- [35] Xiao J, Luo X, Lin H, et al. MicroRNA miR-133 represses HERG K^{+} channel expression contributing to QT prolongation in diabetic hearts[J]. J Biol Chem, 2007, 282(17): 12363-12367.
- [36] Chen JF, Murchison EP, Tang R, et al. Targeted deletion of Dicer in the heart leads to dilated cardiomyopathy and heart failure[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(6): 2111-2116.
- [37] Schipper ME, van Kuik J, de Jonge N, et al. Changes in regulatory microRNA expression in myocardium of heart failure patients on left ventricular assist device support[J]. J Heart Lung Transplant, 2008, 27(12): 1282-1285.
- [38] Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signaling in fibroblasts[J]. Nature, 2008, 456(7224): 980-984.
- [39] Suckau L, Fechner H, Chemaly E, et al. Long-term cardiac-targeted RNA interference for the treatment of heart failure restores cardiac function and reduces pathological hypertrophy[J]. Circulation, 2009, 119(9): 1241-1252.
- [40] Naraba H, Iwai N. Assessment of the microRNA system in salt-sensitive hypertension[J]. Hypertens Res, 2005, 28(10): 819-826.
- [41] Kuhn DE, Nuovo GJ, Martin MM, et al. Human chromosome 21-derived miRNAs are overexpressed in down syndrome brains and hearts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 370(3): 473-477.
- [42] Sethupathy P, Borel C, Gagnebin M, et al. Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTR1 3' untranslated region; a mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to phenotypes[J]. Am J Hum Genet, 2007, 81(2): 405-413.

(收稿:2009-12-14 修回:2010-02-02)

(本文编辑:金谷英)

欢迎订阅 欢迎来稿 欢迎刊登广告