

# MicroRNA 与动脉粥样硬化

安丽娜 董斐斐 王国坤 单冬凯 荆 清

**【摘要】** 动脉粥样硬化是心血管系统疾病中最常见的病变,也是众多心、脑血管疾病共同的病理基础,对人类健康造成严重威胁。MicroRNA(miRNA)是一类约由 22 个核苷酸组成内源性非编码小分子 RNAs,通过抑制转录后基因表达或促进靶基因 mRNA 降解发挥重要的调节作用。miRNA 可调节血管内皮细胞功能、调节血管平滑肌细胞的增生、迁移,通过调控靶基因表达来调节巨噬细胞等炎症细胞活动及炎症因子的分泌,而在动脉粥样硬化的发生及发展过程中发挥重要作用。

**【关键词】** MicroRNA;动脉粥样硬化;血管内皮细胞;平滑肌细胞;巨噬细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.04.006

动脉粥样硬化(AS)是由多种原因造成胆固醇等脂质沉积于动脉内膜下,并发平滑肌细胞(SMC)聚积,继而纤维组织增生和钙质沉着、斑块内出血和血栓形成,最终致动脉管壁变硬、管腔狭窄甚至闭塞而引发临床事件。AS 是一个慢性复杂的病变过程,血脂等异常时,血管内皮细胞(VEC)损伤,血小板聚集并释放血小板因子,血液中单核细胞进入内皮下被激活成巨噬细胞,并吞噬氧化修饰的低密度脂蛋白(ox-LDL),血管中层的 SMC 向损伤的内膜迁移、浸润、增殖,使血管内膜增厚、纤维化、粥样斑块形成及管腔狭窄、闭塞<sup>[1-5]</sup>。最终引发心、脑血管事件。因此,VEC、SMC、巨噬细胞及某些细胞因子等都参与了 AS 的发生与发展。

MicroRNA(miRNA)是一类约由 22 个核苷酸组成内源性非编码小分子 RNAs,通过抑制转录后基因表达或促进靶基因 mRNAs 降解发挥重要的调节作用<sup>[6]</sup>。每个 miRNA 都可以调控上百个基因的表达,据推测,人类基因组上约有三分之一的基因都受到 miRNAs 的调控。对 miRNAs 的功能研究发现,miRNAs 参与了包括细胞增殖、分化、凋亡等的各种生理病理过程。研究发现,在 AS 发生、发展过程中,miRNA 可调节 VEC 功能、调节血管 SMC 的增生、迁移,通过调控靶基因表达来调节巨噬细胞等炎症细胞活动及炎症因子的分泌,在 AS 的发生及发展过程中发挥重要作用。

## 1 miRNA 调节血管内皮细胞功能影响 AS 进程

血管内皮损伤、功能失调是 AS 发生和发展的

始动因素。内皮细胞衰老、凋亡、内皮细胞氮氧化物合酶(eNOS)减少及血管内皮炎症都是内皮细胞功能障碍的特征,在 AS 过程中具有重要作用。在衰老的人动脉内皮细胞中,miR-221 及 miR-222 表达增加可致 eNOS 减少且活性降低。小窝蛋白-1 可负性调节 eNOS 的活动,而在衰老的人动脉内皮细胞(EC)中,miR-133a 的表达减少可使小窝蛋白-1 表达增加。miR-126 可抑制炎症反应,miR-125b 则刺激炎症反应。在衰老的人动脉 EC 中 miR-126 减少、miR-125b 增加可致炎症反应性蛋白增加<sup>[7]</sup>。由此可知,miRNA 在维持 EC 功能方面具有重要作用。Fish 等<sup>[8]</sup>发现,小鼠胚胎干细胞来源的 EC 含有 miRNA,其中 miR-126 是 EC 特异性的 miRNA。组织损伤时,趋化因子基质细胞源性因子 12(CXCL12)与其受体 CXCR4 共同抗凋亡并补充祖细胞以抵抗组织损伤。CXCR4 是一种 G 蛋白偶联受体(GPCR),促进自动调节反馈环从而增加 CXCL12 的产生。CXCL12 由 miR-126 介导产生,miR-126 存在于 EC 来源的凋亡小体,并抑制 G 蛋白信号肽 16 的调控剂功能,从而增加 CXCL4 的表达。研究发现,在不同的 AS 小鼠模型中,调整凋亡小体或 miR-126 可限制 AS 的发展<sup>[9]</sup>。

其他 miRNAs 在维持内皮功能及结构等方面也具有重要作用。人 EC 缺氧时 miR-210 表达上调,影响细胞存活、迁移及分化。含氧量正常的内皮细胞,miR-210 过表达会刺激血管再生;miR-210 下调则相反。Ephrin A3 是血管再生及血管内皮生长因子(VEGF)信号的调节剂,是 miR-210 的作用靶点<sup>[10]</sup>。miR-29 家族通过调节细胞外基质蛋白包

括胶原蛋白和弹性蛋白,在维持动脉结构完整性方面有重要作用<sup>[11]</sup>。miR-27a/b 在高度血管化的组织和细胞如肺、心脏及 EC 中高表达。Zhou 等<sup>[12]</sup>发现,miR-27 通过抑制靶 mRNA、上调 MAPK 及 VEGFR2 信号通路促进血管再生。相反,miR-27 功能缺失通过破坏这两条通路而抑制血管再生。miR-27 敲除能抑制体外培养的主动脉 EC 的生长、增殖及迁移。

## 2 miRNA 调节血管平滑肌细胞的迁移、增生

血管 SMC 的增生、迁移对 AS 的形成非常重要。Dicer 酶缺失的 SMC 在生长发育的 16~17d 时会死亡,这意味着 miRNA 对于 SMC 的生长、分化及发挥功能是必需的<sup>[13]</sup>。在研究 miRNA 与 SMC 增殖之间关系中,Liu 等<sup>[14]</sup>研究发现,在小鼠颈动脉管壁受损的 SMC 中,miR-221 和 miR-222 的表达上调。用生长刺激剂培养的 SMC,miR-221 及 miR-222 的表达增加;体外敲除 SMC 中 miR-221 及 miR-222 会减少 SMC 增殖。在活体小鼠颈动脉敲除 miR-221 及 miR-222 会抑制 SMC 的增殖。结果提示,miR-221、miR-222 可调节 SMC 增殖。SMC 的表型调节在增殖性血管病中具有重要作用。另有研究发现,在体外培养的血管 SMC 中,血小板源性生长因子能在转录水平诱导 miR-221 的表达,miR-221 则能调节 SMC 表型转换过程中血小板源性生长因子的活动。将外源性 miR-221 转染入血管 SMC 中可减少 SMC 表面分化标志物的表达,并显著提高 SMC 的迁移、增生,这与体外血小板源性生长因子对血管 SMC 的作用相似<sup>[15]</sup>。

miR-145 大量存在于正常及活体分离的血管 SMC 中,在血管壁新生内膜损伤病变处的 SMC 中 miR-145 表达明显下降。miR-145 前体可上调平滑肌  $\alpha$  肌动蛋白、钙调蛋白及平滑肌主要组织相容性复合物等血管 SMC 分化标志物基因,而 miR-145 前体抑制剂可下调这些分化标志物基因。miR-145 介导的血管 SMC 表型调节是通过靶基因 KLF5 及下游信号分子实现的。他们还发现,用腺病毒表达的 miR-145 使球囊损伤的动脉 miR-145 恢复后可抑制新生血管内膜的生长。由此可知,miR-145 是一种新颖的血管 SMC 表型标志物并能控制血管新生内膜病变的形成<sup>[16]</sup>。体外过表达 miR-145 或 miR-143 可促进 SMC 分化并抑制其增殖,相反,若 miR-145 及 miR-143 不足,SMC 则缺乏血管刺激引起的收缩反应<sup>[17]</sup>。MiR-21 通过作用于骨形态发生蛋

白-4a 和转化生长因子-b 调节 SMC 分化<sup>[18]</sup>。肺动脉高压患者的血管骨形态发生蛋白中 miR-21 水平下降,证实 miR-21 在调节血管 SMC 分化时对 BMP 信号反应具有相关性<sup>[19]</sup>。Chen 等<sup>[20]</sup>发现基质金属蛋白 2 和基质金属蛋白 9 可明显增加 SMC 的迁移,miR-29b 作用于靶基因 3' UTR 调节 DNA 甲基转移酶 3b(DNMT3b)的表达,DNMT3b 又可调节基质金属蛋白水平相联系从而调节 SMC 的迁移。

## 3 miRNA 调节巨噬细胞脂质代谢

在 AS 发生、发展过程中,巨噬细胞通过 Toll 样受体(TLR)吞噬脂质,并通过分泌炎症因子参与 AS 的发展过程。Liu 等<sup>[5]</sup>研究发现,TLR 与 miR-147 之间存在一负反馈环路,即 TLR 可诱导 miR-147 产生,而 miR-147 可抑制过度炎症反应。在脂多糖喂养的小鼠巨噬细胞中可观察到 miR-147 的产生,且由多种 TLR 刺激产生,负性调节 TLR 相关的信号。同其他类型的 TLR 相比,TLR4 能通过转录因子核因子- $\kappa$ B 及干扰素因子 3 诱导产生更多的 miR-147。

巨噬细胞通过表面的 TLR 吞噬 ox-LDL 后,可释放脂质,促进粥样斑块的形成。巨噬细胞中 miR-33 过表达可减少胆固醇流至载脂蛋白 A1,这在高密度脂蛋白(HDL)的产生及逆向胆固醇转运中至关重要。而且,抑制内源性 miR-33 会增加 ATP 结合盒转动蛋白 A1 蛋白的表达及胆固醇流至载脂蛋白 A1<sup>[21,22]</sup>。Rayner 等<sup>[23]</sup>应用激光显微解剖分离动脉粥样硬化小鼠 CD68<sup>+</sup> 巨噬细胞并提取 RNA 分析基因表达,发现抑制 miR-33 后,病变处巨噬细胞 ATP 结合盒转动蛋白 A1 表达较对照组增加 66%。为进一步了解 miR-33 对斑块处巨噬细胞表型的影响,从病变巨噬细胞中分离出 RNA,用基因芯片分析基因表达谱。积累分布函数分析显示,抑制 miR-33 后其靶基因表达明显增加。

## 4 展望

越来越多的证据表明,miRNA 在 AS 的病理生理过程中发挥着重要作用,其调节的机制尚未明确,目前研究已发现 miRNA 可维持血管 EC 的完整,调节血管 SMC 的迁移、增生,调节巨噬细胞、树突状细胞等细胞的活动及分泌功能,从而参与 AS 的发生、发展。但如何在早期检测到 AS 病变并及时给予干预,有待于进一步研究。相信随着对 miRNA 的深入研究,可能发现 AS 早期病变特异性的 miRNA,作为其诊断标志物,并根据 miRNA 在

细胞内的调控机制筛选特异性的治疗靶点,可为临床提供新的诊疗策略。

### 参 考 文 献

- [1] Libby P, Ridker PM, Hansson GK, et al. Inflammation in atherosclerosis: From pathophysiology to practice[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(23): 2129-2138.
- [2] Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: From vascular biology to biomarker discovery and risk prediction [J]. Clin Chem, 2008, 54(1): 24-38.
- [3] Chachaj A, Drozd K, Szuba A. Reverse cholesterol transport processes and their role in atherosclerosis regression[J]. Postepy Biochem, 2008, 54(3): 301-307.
- [4] Niedzwiedzka-Rystwej P, Mekał A, Deptuła W. Cells of the immune system in atherosclerosis—chosen data[J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2010, 64: 417-422.
- [5] Liu G, Friggeri A, Yang Y, et al. mir-147, a microRNA that is induced upon toll-like receptor stimulation, regulates murine macrophage inflammatory responses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(37): 15819-15824.
- [6] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [7] Rippe C, Blimline M, Magerko KA, et al. MicroRNA changes in human arterial endothelial cells with senescence: Relation to apoptosis, enos and inflammation [J]. Exp Gerontol, 2012, 47(1): 45-51.
- [8] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity [J]. Dev Cell, 2008, 15(2): 272-284.
- [9] Zerneck A, Bidzhekov K, Noels H, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces cxcl2-dependent vascular protection[J]. Sci Signal, 2009, 2(100): ra81.
- [10] Fasanaro P, D' Alessandra Y, Di Stefano V, et al. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand ephrin-a3[J]. J Biol Chem, 2008, 283(23): 15878-15883.
- [11] Boon RA, Seeger T, Heydt S, et al. MicroRNA-29 in aortic dilation: Implications for aneurysm formation[J]. Circ Res, 2011, 109(10): 1115-1119.
- [12] Zhou Q, Gallagher R, Ufret-Vincenty R, et al. Regulation of angiogenesis and choroidal neovascularization by members of microRNA-23~27~24 clusters[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(20): 8287-8292.
- [13] Albinsson S, Suarez Y, Skoura A, et al. MicroRNAs are necessary for vascular smooth muscle growth, differentiation, and function[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(6): 1118-1126.
- [14] Liu X, Cheng Y, Zhang S, et al. A necessary role of mir-221 and mir-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia[J]. Circ Res, 2009, 104(4): 476-487.
- [15] Davis BN, Hilyard AC, Nguyen PH, et al. Induction of microRNA-221 by platelet-derived growth factor signaling is critical for modulation of vascular smooth muscle phenotype [J]. J Biol Chem, 2009, 284(6): 3728-3738.
- [16] Cheng Y, Liu X, Yang J, et al. MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation[J]. Circ Res, 2009, 105(2): 158-166.
- [17] Cordes KR, Sheehy NT, White MP, et al. miR-145 and mir-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity [J]. Nature, 2009, 460(7256): 705-710.
- [18] Kang H, Davis-Dusenbery BN, Nguyen PH, et al. Bone morphogenetic protein 4 promotes vascular smooth muscle contractility by activating microRNA-21 (mir-21), which down-regulates expression of family of dedicator of cytokinesis (dock) proteins[J]. J Biol Chem, 2012, 287(6): 3976-3986.
- [19] Caruso P, MacLean MR, Khanin R, et al. Dynamic changes in lung microRNA profiles during the development of pulmonary hypertension due to chronic hypoxia and monocrotaline[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(4): 716-723.
- [20] Chen KC, Wang YS, Hu CY, et al. ox-LDL up-regulates microRNA-29b, leading to epigenetic modifications of mmp-2/ mmp-9 genes: a novel mechanism for cardiovascular diseases [J]. FASEB J, 2011, 25(5): 1718-1728.
- [21] Marquart TJ, Allen RM, Ory DS, et al. miR-33 links srebp-2 induction to repression of sterol transporters[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(27): 12228-12232.
- [22] Rayner KJ, Suarez Y, Davalos A, et al. miR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis [J]. Science, 2010, 328(5985): 1570-1573.
- [23] Rayner KJ, Sheedy FJ, Esau CC, et al. Antagonism of mir-33 in mice promotes reverse cholesterol transport and regression of atherosclerosis[J]. J Clin Invest, 2011, 121(7): 2921-2931.

(收稿: 2013-02-05 修回: 2013-04-01)

(本文编辑: 金谷英)