

微小 RNA 与动脉粥样硬化的研究进展

刘德军¹, 孙雪林², 叶平¹

(1. 中国人民解放军总医院老年心血管内科, 北京 100853; 2. 北京医院药学部)

[摘要] 微小 RNA(简称 miRNA)作为重要的调节分子广泛存在于真核生物中, 主要通过对血管内皮细胞、血管平滑肌细胞以及单核巨噬细胞等进行调控而参与动脉粥样硬化斑块发生、斑块进展及斑块破裂的过程。筛选动脉粥样硬化相关的异常表达微小 RNA, 研究其对动脉粥样硬化形成过程中相关影响因素的调控, 有助于进一步了解动脉粥样硬化发生发展的分子机制以及发现预防与治疗动脉粥样硬化的新靶点。

[关键词] 动脉粥样硬化; 微 RNAs; 基因表达调控

中图分类号: R543.5 文献标识码: A DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2017.03.034

Research progress of microRNA in atherosclerosis Liu Dejun^{*}, Sun Xunlin, Ye Ping(^{*} Department of Geriatric Cardiology, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

Corresponding author: Ye Ping, Email: yeping@sina.com

[Abstract] Micro RNA as important regulatory molecules widely exist in eukaryotes and participate in the process of atherosclerotic plaque progression and plaque rupture, mainly by regulation of the vascular endothelial cells, vascular smooth muscle cells, monocytes and macrophages. By screening of atherosclerosis related abnormal expression of microRNA this research investigate the formation of influence factors in the process of regulation of atherosclerosis, this may facilitate discovering new targets for the prevention and treatment of atherosclerosis to further understand the molecular mechanism of the occurrence and development of atherosclerosis.

[Key words] Atherosclerosis; MicroRNAs; Gene expression regulation

动脉粥样硬化是冠心病、脑梗死及外周血管病的主要病因;其特点是受累的大、中动脉病变从内膜开始,先有脂质和复合糖类物质积聚,进而纤维组织和平滑肌细胞增生,并有动脉中层的逐渐蜕变及钙化,导致动脉壁增厚变硬乃至血管腔狭窄。动脉粥样硬化是由多种因素、多个环节共同作用引起的系统性病变,其导致的动脉粥样硬化性心脑血管疾病在人群中发病率高、死亡率高、致残率高,一旦发病需要长期用药维持治疗,给人类健康和社会保障带来沉重负担,是目前需要解决的主要慢性病之一^[1-3],但其发病机制至今尚未完全阐明。微小 RNA(简称 miRNA)是一类长 18~22 个核苷酸的内生性单链成熟非编码 RNA,大部分定位于基因间区域,少部分位于蛋白质编码基因的内含子或外显子区域,其内部的 2~8 个核苷酸是连续高度保守的“种子序列”,可以精确匹配、识别靶标序列,对生物

进化起关键作用。目前观点认为微小 RNA 参与了动脉粥样硬化斑块形成、发展和破裂等各个具体阶段的调控。本文综述部分有代表性的微小 RNA 对参与动脉粥样硬化形成过程中斑块发生、发展及破裂所发挥的调控作用^[4-7],为动脉粥样硬化的诊断、预后和基因治疗提供新的思路。

1 微小 RNA 的研究概述

微小 RNA 是一组重要的内源性单链非编码 RNAs,广泛存在于真核生物中,能够调控基因的表达和翻译;并在调节细胞分化方面有着重要的作用。1993 年, Lee 等^[8]发现了第一个微小 RNA lin4;目前,大约有 1000 个 miRNA 被人类基因组编码,其中有超过 400 个已经被克隆和证实^[9]。大量的研究显示微小 RNA 在生物发育和疾病中发挥重要的作用,研究者们也逐渐了解微小 RNA 的生成过程、作用机制、生物学功能及和疾病间的关系。研究发现微小 RNA 通过形成 RNA 诱导沉默复合体(RISC)与靶标 mRNA 的 3'非翻译区(3'UTR)发生不完全或完全配对,进而促进靶标 mRNA 的切割降解和翻译受抑,在转录后水平调控靶标基因的表达^[10-12]。

作者简介:刘德军,主任医师,Email:liudejun6721@126.com
通信作者:叶平,主任医师,教授,博士生导师,Email:yeping@sina.com

成熟的微小 RNA 可以通过上述机制发挥作用,参与各种生理及病理生理活动过程。

2 微小 RNA 与动脉粥样硬化斑块发生的关系

正常动脉血管内皮细胞具有屏障、抗凝、调节血管张力及表达炎性介质等功能。在动脉粥样硬化的发生过程中,首先表现出慢性炎症对血管内皮细胞的损伤,在趋化因子和黏附分子的共同作用,单核细胞及 T 细胞等炎性细胞迁移至动脉内膜下分化为巨噬细胞,促进循环中的单核细胞与内皮细胞粘附、在血管壁中迁移、吞噬脂质,进而衍化为巨噬泡沫细胞甚至粥样病变。多个微小 RNA 参与调控动脉血管内皮细胞慢性炎症反应,影响动脉粥样硬化斑块的发生发展。Wu 等^[13] 研究显示 miR-155 通过对内皮细胞的负反馈调节发挥抗动脉粥样硬化作用;主要机制是 miR-155 能够抑制 TNF α 诱导单核细胞向内皮细胞黏附。miR-125a-5p 通过靶向下调氧化固醇结合蛋白相关蛋白-9 的表达,减少巨噬细胞对氧化型低密度脂蛋白的摄取;并且抑制白细胞介素(IL)-2、IL-6、肿瘤坏死因子 α 和转化生长因子 β 等相关炎症因子的基因表达^[14-18]。此外,血流动力学改变也可引起动脉血管内皮细胞的损伤;高剪切力可抑制动脉粥样硬化斑块的形成而低剪切力和震荡剪切力则可以促进动脉粥样硬化的发生;研究认为血管剪切力与斑块的发生发展密切相关但具体分子机制尚有待进一步研究。在血管分叉处易发生湍流,其产生的低剪切力可诱导 miR-21、miR-92a 及 miR-663 等多个微小 RNA 的表达,使血管分叉处好发动脉粥样硬化;高层流剪切力可诱导动脉内皮细胞表达多种微小 RNA,如 miR-10a、miR-23b 及 miR-101 等,均具有抗炎及抗动脉粥样硬化作用^[19]。

3 微小 RNA 与动脉粥样硬化斑块进展的关系

平滑肌细胞在动脉粥样硬化的进展过程中发挥重要作用。在高血脂、内皮细胞及巨噬细胞释放趋化因子等多种影响因子的调节下,平滑肌细胞由动脉血管中层向内膜层移动;迁移至内膜层及内膜层固有的平滑肌细胞共同作用,导致动脉血管内膜层平滑肌细胞增殖加快,并促使大量细胞外基质分泌增加,使得趋化因子合成增加^[20]。趋化因子进一步促使血管平滑肌细胞向内膜迁移及增殖,导致动脉粥样硬化的持续发展。血管平滑肌细胞表面的低密度脂蛋白受体,可促使平滑肌细胞结合并摄取低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白成为泡沫细胞;导致进入动脉血管中膜的平滑肌细胞发生转变,即由收缩

型成为合成型,分泌大量胶原纤维、弹力纤维、蛋白多糖和糖蛋白等结缔组织基质形成;并进一步合成及释放多种生长因子和细胞因子,如成纤维细胞生长因子(FGF)等。

微小 RNA 在调节平滑肌细胞表型转变、迁移及增殖的过程中发挥着重要的作用,如 miR-143/145 能够促使平滑肌细胞表型由收缩型向合成型转变,miR-21、miR-146a 可刺激平滑肌细胞的增殖加快^[21]。miR-33 通过调节巨噬细胞内胆固醇的代谢,导致巨噬细胞内胆固醇蓄积,形成大量泡沫细胞;miR-155 通过调节巨噬细胞产生促炎和抗炎因子,发挥促动脉粥样硬化或抗动脉粥样硬化的作用;在体外增殖培养大鼠血管平滑肌细胞及动脉粥样硬化大鼠体内动脉的研究中,颈动脉球囊损伤大鼠后 miR-145 表达明显减少,与 pri-miR-145 向 pre-miR-145 转化受损相关,涉及 PI3-K/Akt/p53 信号通路,平滑肌细胞分化标志物 α 肌动蛋白、钙调蛋白等蛋白的表达明显受抑,最终作用的结果是促进平滑肌细胞增殖导致动脉内膜增生^[22-24],因此 miR-143/145 在维持平滑肌细胞的收缩表型中具有重要作用。

4 微小 RNA 与动脉粥样硬化斑块破裂的关系

动脉粥样硬化斑块形成后常常不稳定,斑块破裂发生率较高;由于斑块纤维帽最薄部位的泡沫细胞含量较高,所以破裂的部位主要集中于此。纤维帽是由增生的胶原纤维与平滑肌细胞组成的致密层。纤维帽的厚度、强度及胶原纤维含量对于防止动脉粥样硬化斑块破裂至关重要,而斑块与正常内膜交界部位是纤维帽最薄,也是斑块最易发生破裂之处。纤维帽中的胶原含量最高,胶原以间质胶原为主,主要作用为保持纤维帽的稳定性。生理状态下平滑肌细胞合成并释放胶原,血小板源性生长因子或转化生长因子发生斑块破裂的主要原因是保持斑块整体性的胶原蛋白动态失调,表现为合成减少以及降解增加。miR-133 及 miR-663 等均能够控制平滑肌细胞的增殖及表型转化,从而影响胶原纤维的合成分泌^[25]。

此外,还有 miR-21、miR-24 和 miR-29 等微小 RNA 参与调控胶原合成和纤维化过程^[26-28]。在非钙化斑块中,单核细胞来源的巨噬细胞内 miR-21 的表达水平较钙化斑块显著升高,说明 miR-21 可通过靶向调节促使基质金属蛋白酶 9 表达及活性增加,降低斑块的稳定性^[29-30]。抑制 miR-322 能够引起促

炎性因子 IL-6 的下调及抗炎性因子 IL-10 的上调,提示 miR-322 具有导致动脉粥样硬化斑块不稳定的潜在作用。

5 展望与未来

微小 RNA 对基因表达的调控精细,虽然单个微小 RNA 对某一蛋白质表达水平的影响微乎其微,但调节信号通路中多个靶基因同时作用所产生的效果明显^[31]。不同于传统药物治疗方法,应用微小 RNA 基因治疗可以调控整个基因系统;因此针对其中的关键节点进行靶向治疗将是未来治疗的主要方向。通过研究人类已经发现一些与动脉粥样硬化密切相关的微小 RNA 作用靶点、作用途径等,揭示了微小 RNA 通过调控各种靶标分子表达,发挥着促进或抑制动脉粥样硬化发生发展的作用,其在动脉粥样硬化中的作用呈现为复杂的网络模式,这也体现了其对疾病的强大调控作用。因此,筛选与动脉粥样硬化早期病变相关的微小 RNA 作为动脉粥样硬化相关疾病诊断的分子标志物,从而实现早期诊断与干预治疗,已经成为近年来动脉粥样硬化防治研究的新靶点。

参考文献

- [1] LIU Y, ZHENG L, WANG Q, et al. Emerging roles and mechanisms of long noncoding RNAs in atherosclerosis [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 228: 570-582.
- [2] TIWARI RL, SINGH V, BARTHWAL MK. Macrophages: an elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis [J]. *Med Res Rev*, 2008, 28(4): 483-544.
- [3] LIBBY P, RIDKER PM, HANSSON GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-325.
- [4] LUSCHER TF. Atherosclerosis and CAD [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(8): 457-459.
- [5] SPANN NJ, GARMIRE LX, MCDONALD JG, et al. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses [J]. *Cell*, 2012, 151(1): 138-152.
- [6] LEE-RUECKERT M, ESCOLA-GIL JC, KOVANEN PT. HDL functionality in reverse cholesterol transport-challenges in translating data emerging from mouse models to human disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861(7): 566-583.
- [7] YAKUSHIJI E, AYAORI M, NISHIDA T, et al. Probuco-oxidized products, spiroquinone and diphenquinone, promote reverse cholesterol transport in mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(4): 591-597.
- [8] LEE RC, FEINBAUM RL, AMBROS V. The celegans heterochronic gene lin4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [9] MACKENZIE NC, STAINES KA, ZHU D, et al. miRNA-221 and miRNA-222 synergistically function to promote vascular calcification [J]. *Cell Biochem Funct*, 2014, 32(2): 209-216.
- [10] ZHANG Z, QIN YW, BREWER G, et al. MicroRNA degradation and turnover: regulating the regulators [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2012, 3(4): 593-600.
- [11] HUSSEIN K. Pathobiology of the microRNA system [J]. *Pathologie*, 2012, 33(1): 70-78.
- [12] ZAMPETAKI A, MAYR M. MicroRNAs in vascular and metabolic disease [J]. *Circ Res*, 2012, 110(3): 508-522.
- [13] WU XY, FAN WD, FANG R, et al. Regulation of microRNA-155 in endothelial inflammation by targeting nuclear factor (NF)- κ B P65 [J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(11): 1928-1936.
- [14] LI X, KONG D, CHEN H, et al. miR-155 acts as an anti-inflammatory factor in atherosclerosis-associated foam cell formation by repressing calcium-regulated heat stable protein 1 [J]. *Sci Rep*, 2016: 21789.
- [15] ZHANG X, SHAO S, GENG H, et al. Expression profiles of six circulating microRNAs critical to atherosclerosis in patients with subclinical hypothyroidism: a clinical study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(5): E766-E774.
- [16] HAO L, WANG XG, CHENG JD, et al. The up-regulation of endothelin-1 and down-regulation of miRNA-125a-5p, -155, and -199a/b-3p in human atherosclerotic coronary artery [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2014, 23(4): 217-223.
- [17] YAN H, WANG S, LI Z. Upregulation of miRNA-155 expression by OxLDL in dendritic cells involves JAK1/2 kinase and transcription factors YY1 and MYB [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(5): 1371-1378.
- [18] NETH P, NAZARI-JAHANTIGH M, SCHOBER A, et al. MicroRNAs in flow-dependent vascular remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(2): 294-303.
- [19] TIAN FJ, AN LN, WANG GK, et al. Elevated microRNA-155 promotes foam cell formation by targeting HBPI in atherogenesis [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(1): 100-110.
- [20] KARUNAKARAN D, RAYNER KJ. Macrophage miRNAs in atherosclerosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861(12 Pt B): 2087-2093.
- [21] OWENS GK, KUMAR MS, WAMHOFF BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in