

• 综述 •

miRNA 与心血管疾病研究进展^{*}李晓怡¹ 综述, 卢忠心^{2△} 审校

(1. 武汉市中心医院检验科, 湖北武汉 430014; 2. 武汉市肿瘤研究所, 湖北武汉 430014)

关键词: miRNA; 心血管疾病; 生物标志

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)21-2912-03

微小 RNA(miRNA)是一类具有转录后调节活性的内源性小分子 RNA, 参与调控多种水平的基因表达, 其调控方式主要是通过降解、翻译抑制目标 mRNA^[1]。生物信息学分析显示, 一个 miRNA 可能有多个靶基因, 说明了 miRNA 生物学功能具有多样性。心血管疾病是威胁人类健康的最常见疾病之一, 包括动脉粥样硬化、心肌肥厚、心肌梗死等多种病理性过程, 近年来的研究证实了 miRNA 广泛参与心血管疾病的发生发展, 尤其是在调控心血管重构和心力衰竭等方面发挥了重要的作用。本综述总结 miRNA 在心血管疾病中的表达水平及可能分子机制, 探讨 miRNA 作为心血管疾病的诊断标志物和治疗靶点的可能性。

1 miRNA 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是血管病中最常见、最重要的一种, 其特点是动脉管壁增厚变硬、失去弹性和管腔缩小。动脉粥样硬化也是一种炎性疾病, 具有慢性炎症反应特征的病理过程, 其发展始终伴随炎症反应。越来越多的研究表明 miRNA 参与动脉粥样硬化的发生发展。

Balderman 等^[2] 将人类冠状动脉平滑肌细胞以骨形成蛋白 2(BMP-2)刺激, 24 h 后发现 Runx2 水平上升。Runx2 是钙化进程中一个重要的转录因子, 它参与了成骨细胞和软骨细胞的分化过程, 在正常血管平滑肌细胞中, Runx2 只表达在基础水平之下, 但在炎症、氧化剂、BMP-2 的刺激下, Runx2 的表达会上调^[3]。在人冠状动脉平滑肌细胞中, BMP-2 通过负性调节 miR-30b 和 miR-30c 来上调 Runx2 的表达水平, 从而使血管钙化加重。Zhu 等^[4] 在动脉粥样硬化大鼠胸主动脉和冠心病患者的血浆中发现 miR-155 明显升高, 并证实 MAP3K10 是 miR-155 的靶基因, miR-155 在动脉粥样硬化的病理过程中能够抑制炎症因子的产生从而延缓动脉粥样硬化的进程。在动脉粥样硬化进程中, 巨噬细胞扮演了非常重要的角色^[5]。Wei 等^[6] 在研究基因工程敲除 ApoE 小鼠时, 发现在早期动脉粥样硬化小鼠巨噬细胞中, miR-155 表达上调, 但 miR-155 的上调会引起一些炎症因子如 Nos2 和 Tnfa 在激活的巨噬细胞中升高, 这些炎症因子进一步加重动脉粥样硬化的程度, 并证实 Akt1 作为 miR-342-5p 的靶基因能够负性调节 miR-155 的表达, 在进一步的研究中证实 miR-342-5p 可通过抑制 Akt1 来上调 miR-155 的表达, 这项研究为治疗炎性动脉粥样硬化提供了新思路。

2 miRNA 与心肌肥厚

成人的心肌细胞无法再进行分裂, 当心脏在应对强负荷时, 心肌细胞会增大, 形成心肌肥厚, 持续的肥厚将导致心室的

重构。研究表明, miR-378 为心肌细胞特异性 miRNA, 能直接靶向作用于 IGF1R 来调节心肌细胞的生长^[7]。Nagalingam 等^[8] 发现在心肌肥厚过程中 miR-378 表达下降, 过表达 miR-378 可以有效抑制心肌肥厚。其可能机制为: 过表达的 miR-378 通过靶向作用于 Grb2 来降低具有促进心肌肥厚作用的 MEK/ERK1/2 和 PI3K-AKT 信号通路, 并同时活化具有抑制心肌肥厚作用的 GSK-3β 的信号转导通路, 从而进一步发挥抑制心肌肥厚的作用。早期研究表明肌肉中特有的 miR-1 可通过下调与钙离子信号通路有关的调钙蛋白 Mef2a 和 Gata4, 从而调节心肌细胞的生长^[9], Karakikes 等^[10] 研究发现 miR-1 可靶向作用于心肌重构相关蛋白 Fbln2 来有效逆转由于压力负荷造成的心肌肥厚, 并进一步阻止心肌不利的重塑。Huang 等^[11] 发现在肥大的心肌细胞中 miR-22 高表达, 并证实 miR-22 通过靶向调节 Sirt1 和 Hdac4 基因表达而参与心肌肥厚的发生, 加入 miR-22 抑制剂能有效抑制由异丙肾上腺素诱导的心肌肥厚。

3 miRNA 与糖尿病性心脏病

糖尿病是当今世界最常见的新代谢紊乱疾病之一, 近年来有研究报道, miRNA 在糖尿病相关心血管疾病的发生发展过程中起到了很大的作用。Horie 等^[12] 提出 GLUT4 是心肌细胞摄入葡萄糖的主要转运者, 而高表达的 miR-133 可以通过靶向作用于 KLF15 来抑制下游靶基因 GLUT4 的表达, 从而降低心肌细胞摄入葡萄糖的能力, 说明了 miR-133 参与并调控了心肌细胞的新陈代谢。Greco 等^[13] 在研究患有糖尿病的心力衰竭患者和不患有糖尿病的心力衰竭患者之间 miRNA 表达谱时, 发现 miR-216a 在所有心力衰竭患者中表达水平明显上升, miR-34b, miR-34c, miR-199b, miR-210, miR-650 和 miR-223 这六个 miRNA 却在患糖尿病的心力衰竭患者和不患糖尿病的心力衰竭患者体内表达不同, 这说明 miRNA 在糖尿病性心力衰竭时表达失调, 利用这些 miRNA 的表达差异可以鉴别诊断糖尿病性和非糖尿病性心力衰竭。

糖尿病与心肌梗死的发生密切相关, 同时也与心肌梗死后血管纤维化有关联, 有研究报道骨髓祖细胞(BMPC)治疗法能在心肌梗死后有效加强心血管生成、减小梗死面积和降低左室的失功能程度, Kishore 等^[14] 研究发现 BMPC 通过释放肝细胞生长因子(HGF) 来抑制 miR-155 介导的纤维化信号转导通路, 从而有效防止心肌纤维化。

4 miRNA 与心肌梗死

心肌梗死是最严重的心血管疾病之一, 其发病率和死亡率很高^[15]。早期诊断和预后的研究对提高心肌梗死患者的生存

* 基金项目: 国家 863 计划资助项目子课题(2011AA02A111); 国家自然科学基金资助项目(81372325); 湖北省自然科学基金资助项目(2012FFB05905)。作者简介: 李晓怡, 女, 硕士研究生, 主要从事 miRNA 参与疾病发生的分子机制研究。△ 通讯作者, E-mail: lzx71@yahoo.com。

率发挥了重要作用^[16]。近年来有报道 miRNA 作为新的标志物对心肌梗死的诊断和预后发挥着重要作用。Devaux 等^[17]认为心肌梗死后进一步发展为心力衰竭的主要原因是由于心室重构,且一些 miRNA 与心肌梗死后的心室重构有关;低水平的 miR-150 与首次 ST 段抬高的急性心肌梗死患者的心肌重构有联系,且 miR-150 比脑钠肽前体 NT-proBNP 有更好的诊断效果。Li 等^[18]研究心肌梗死和心绞痛患者体内 miRNA 表达谱的变化时,发现 miR-1、miR-134、miR-186、miR-208、miR-223 和 miR-499 这六种 miRNA 在心肌梗死患者的血清中均显著升高。在先前的报道中,miR-30a、miR-195 和 let-7b 只在心肌肥厚患者中表达发生显著改变^[19-21],而 Long 等^[22]发现了 miR-30a 和 miR-195 在心肌梗死发病后 8 h 达到高峰值,而 let-7b 表达水平明显下降,这与心肌酶谱中的心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 检测峰值时间相似,说明了将 miRNA 与 cTnI 联合运用诊断心肌梗死效果更加理想。Li 等^[23]在心肌梗死的小鼠心肌细胞中发现 miR-17 升高明显,并证实 miR-17 靶向抑制 TIMP2 和 TIMP1,进而调控参与心肌梗死后心肌重构的 MMP9 活性,从而达到减小梗死面积,增强心脏功能的作用。并提出了 miR-17 → TIMP1/2 → MMP9 通路,使以 miR-17 为靶点治疗心肌梗死成为可能。

5 miRNA 与心力衰竭

心力衰竭是各种心脏结构或功能性疾病导致心室充盈和(或)射血能力受损而引起的一组综合征。心力衰竭已日益成为心血管疾病中最常见、危害最大的疾病之一,并成为众多其它类型心血管疾病殊途同归的终末期表现。近年来研究发现 miRNA 在心力衰竭的诊断、治疗及预后中起着不可替代的作用。

Tijssen 等^[24]在研究 miRNA 能否区别诊断心力衰竭和非心力衰竭性的呼吸困难中发现,除了 miR423-5p 外还有六种 miRNA (miR18b *、miR129-5p、miR1254、miR675、HS-202、1 和 miR622) 在心力衰竭患者的血浆中上升,但只有 miR423-5p 能区别诊断心力衰竭和非心力衰竭性呼吸困难,且比其它心肌标志物有更好的灵敏度和特异度,说明 miR423-5p 是诊断心力衰竭的一种新的标志物。内皮祖细胞(EPCs)在心脑血管疾病发展过程中发挥重要作用,并为缺血性疾病的研究和治疗提供了新思路^[25]。近年来的研究显示,miRNA 通过控制细胞增殖、凋亡,毛细血管生成和促进内皮细胞功能恢复来调节 EPCs 诱发的血管生成^[26]。Qiang 等^[27]在研究缺血性(ICH)和非缺血性(NICM)心肌疾病引起的慢性心力衰竭(CHF)患者 EPCs 内 miRNA 的表达谱之间的区别以及对预后的影响时,发现了 16 种 miRNA 在由 ICH 和 NICM 引起的 CHF 患者体内表达不同,经过两年的随访发现 ICH 组患者 EPCs 中,低表达的 miR-126 对患者的预后不利;而 NICM 组患者 EPCs 中,高表达的 miR-508-5p 显示不利的预后。同时他们应用生物信息学软件预测到 PIK3R2 和 VEGFA 可能是 miR-126 的靶基因,Glut1 和 ARNT 可能是 miR-508-5p 的靶基因。近年来,有研究认为 miRNA 可能作为心力衰竭的治疗靶点,Montgomery 等^[28]研究发现给小鼠持续注射与 miR-208a 互补的 anti-miR-208a,发现 Myh7 表达水平下调,同时发现在心力衰竭的小鼠体内采用基因敲除 miR-208a 能够减少心肌重构,并提高了心脏功能和生存时间,说明在应对压力负荷时,通过基因敲除 miR-208a 从而调节 Myh7 表达水平,能阻止心力衰竭后病理性的心肌重构。从而为治疗心力衰竭提供了新的线索。

6 结语

近年来国内外关于 miRNA 在心血管疾病方面的研究取

得了很大进展,从简单的发现 miRNA 在各种心肌疾病过程中的表达水平不同到开始对 miRNA 在心肌疾病的发生发展中的作用机制的研究,miRNA 在心血管疾病方面的作用越来越被重视,在探索 miRNA 作为心血管疾病的诊断标志物和治疗靶点方面不断有新的突破。但是,大多数关于 miRNA 的分子机制的研究尚处于起步阶段,再加上研究方法上如造模、心肌细胞培养等在心血管疾病的研究中相对困难,使得在特异、高效诊断心血管疾病和 miRNA 的分子水平进行药物设计治疗心血管疾病上还缺乏较为完善的系统研究,故关于 miRNA 通过何种信号转导通路来调控心肌细胞表型的变化和将 miRNA 作为治疗靶点来发现能拮抗 miRNA 的一些小分子物质仍需深入探索。

参考文献

- Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing[J]. Cell, 2008, 132(1): 9-14.
- Balderman JAF, Lee HY, Mahoney CE, et al. Bone morphogenetic protein-2 decreases microRNA-30b and microRNA-30c to promote vascular smooth muscle cell calcification[J]. J Am Heart Assoc, 2012, 1(6): e003905.
- Liu Y, Shanahan CM. Signalling pathways and vascular calcification[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2010, 16(1): 1302-1314.
- Zhu J, Chen T, Yang L, et al. Regulation of microRNA-155 in atherosclerotic inflammatory responses by targeting MAP3K10[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e46551.
- Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Cell, 2011, 145(3): 341-355.
- Wei Y, Nazari-Jahantigh M, Chan L, et al. The microRNA-342-5p fosters inflammatory macrophage activation through an Akt1- and microRNA-155-dependent pathway during atherosclerosis[J]. Circulation, 2013, 127(15): 1609-1619.
- Knezevic I, Patel A, Sundaresan NR, et al. A novel cardiomyocyte-enriched microRNA, miR-378, targets insulin-like growth factor 1 receptor: implications in postnatal cardiac remodeling and cell survival[J]. J Biol Chem, 2012, 287(16): 12913-12926.
- Nagalingam RS, Sundaresan NR, Gupta MP, et al. A cardiac-enriched microRNA, miR-378, blocks cardiac hypertrophy by targeting Ras signaling[J]. J Biol Chem, 2013, 288(16): 11216-11232.
- 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.
- Karakikes I, Chaanine AH, Kang S, et al. Therapeutic cardiac-targeted delivery of miR-1 reverses pressure overload-induced cardiac hypertrophy and attenuates pathological remodeling[J]. J Am Heart Assoc, 2013, 2(2): e000078.
- Huang ZP, Chen J, Seok HY, et al. MicroRNA-22 regulates cardiac hypertrophy and remodeling in response to stress[J]. Circ Res, 2013, 112(9): 1234-1243.
- Horie T, Ono K, Nishi H, et al. MicroRNA-133 regulates the expression of GLUT4 by targeting KLF15 and is involved in metabolic control in cardiac myocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 389(2): 315-320.
- Greco S, Fasanaro P, Castelvecchio S, et al. MicroRNA dysregulation in diabetic ischemic heart failure patients[J]. Diabetes, 2012, 61(6): 1633-1641.
- Kishore R, Verma SK, Mackie AR, et al. Bone marrow progenitor cell therapy-mediated paracrine regulation of cardiac miRNA-155 modulates fibrotic response in diabetic hearts[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54530.

- 2013, 8(4): 60161.
- [15] Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans[J]. Eur Heart, 2010, 31(6): 659-666.
- [16] Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, et al. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure[J]. Circ J, 2011, 75(2): 336-340.
- [17] Devaux Y, Vausort M, McCann GP, et al. MicroRNA-150: a novel marker of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction[J]. Circ Cardiovasc Genet, 2013, 6(3): 290-298.
- [18] Li C, Fang Z, Jiang T, et al. Serum microRNAs profile from genome-wide serves as a fingerprint for diagnosis of acute myocardial infarction and angina pectoris[J]. BMC Med Genomics, 2013, 6: 16.
- [19] Guo R, Hu N, Kandadi MR, et al. Facilitated ethanol metabolism promotes cardiomyocyte contractile dysfunction through autophagy in murine hearts[J]. Autophagy, 2012, 8(4): 593-608.
- [20] van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(48): 18255-18260.
- [21] Fu J, Peng C, Wang W, et al. Let-7g is involved in doxorubicin induced myocardial injury[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2012, 33(2): 312-317.
- [22] Long G, Wang F, Duan Q, et al. Circulating miR-30a, miR-195 and let-7b associated with acute myocardial infarction[J]. PLoS One, 2012, 7(12): 50926.
- [23] Li SH, Guo J, Wu J, et al. miR-17 targets tissue inhibitor of metalloproteinase 1 and 2 to modulate cardiac matrix remodeling[J]. FASEB Journal, 2013, 27(10): 4254-4265.
- [24] Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure[J]. Circ Res, 2010, 106(6): 1035-1039.
- [25] Xu S, Zhu J, Yu L, et al. Endothelial progenitor cells: current development of their paracrine factors in cardiovascular therapy[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2012, 59(4): 387-396.
- [26] Plummer PN, Freeman R, Taft RJ, et al. MicroRNAs regulate tumor angiogenesis modulated by endothelial progenitor cells[J]. Cancer Res, 2013, 73(1): 341-352.
- [27] Qiang L, Hong L, Ningfu W, et al. Expression of miR-126 and miR-508-5p in endothelial progenitor cells is associated with the prognosis of chronic heart failure patients[J]. Int J Cardiol, 2013, 168(3): 2082-2088.
- [28] Montgomery RL, Hullinger TG, Semus HM, et al. Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure[J]. Circulation, 2011, 124(14): 1537-1547.

(收稿日期:2014-04-02)

• 综述 •

组织蛋白酶 S 与疾病相关性研究进展 *

周芳^{1,2}综述, 朱光旭^{1△}, 潘兴华^{1△}审校

(1. 成都军区昆明总医院干细胞与组织工程中心, 云南昆明 650000; 2. 昆明医科大学成都军区昆明总医院临床学院, 云南昆明 650500)

关键词:组织蛋白酶 S; 心血管疾病; 免疫系统疾病; 肿瘤**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.023**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)21-2914-03

组织蛋白酶(Cathepsin)是具有降解正常细胞蛋白质功能的木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶,这些酶过量或被不适当激活常常与一些疾病如肺气肿、关节炎、骨质疏松症、哮喘、肾小球肾炎以及多种癌症的转移等密切相关。人体中的组织蛋白酶主要包括组织蛋白酶 B、C、F、H、K、L、O、S、V、W、X 11 种类型,其中 Cathepsin S 作为组织蛋白酶家族中的一员,具有重要的调节功能,可参与许多疾病的病理过程,并且该蛋白酶还可与许多炎症因子相互作用,参与体内免疫及炎症反应。大量研究表明,Cathepsin S 在心血管疾病、免疫系统疾病以及肿瘤等的发生、发展过程中发挥着重要作用,本文就 Cathepsin S 与临床疾病的相关性研究进展进行简要综述。

1 Cathepsin S 的结构与生物学特性

1.1 Cathepsin S 的发现与结构 1975 年, Kirschkes 首次将 Cathepsin S 从牛淋巴组织和脾脏中分离纯化出来,并将这种半胱氨酸蛋白酶命名为 Cathepsin S。后来因其与 Cathepsin L 相似又将其命名为 Cathepsin L,但是后人对 Cathepsin S 与 Cathepsin L 在生化及免疫方面进行了对比研究,发现其与 Cathepsin L 不同,Cathepsin S 应该从 Cathepsin L 中独立出来,

仍命名为 Cathepsin S。人类 Cathepsin S 则于 1992 年被 Shi 等^[1]首次发现,因其 cDNA 碱基序列与牛 Cathepsin S 高度相似而得名。

自从 1991 年有学者对 Cathepsin B 原子结构进行探索以来,Cathepsin L、K、H 结构相继问世,Cathepsin S 的晶体结构也于 1998 年被 McGrath 等^[2]验证。Cathepsin S 的结构较小,仅为 Cathepsin L 与 Cathepsin H 的 57%,为 Cathepsin B 的 31%,是一个由 217 个氨基酸组成的单链蛋白质,没有糖基化位点,有三个活性残基,包括 L 结构域中的 Cys25 和 R 结构域中的 His159/Asn175。在中性或弱酸性的条件下,His159 残基中的咪唑基能使 Cys25 残基中的巯基激化,从而失去质子,形成 Cys25-S-/His159-ImH⁺ 离子对,其中的 Cys25-S-具有较强的亲和能力,可通过脱氨基作用使其底物肽中含羧基的集团离去,从而发挥水解蛋白质的作用^[3]。

1.2 Cathepsin S 的分布与生物学活性 不同于其他常见的组织蛋白酶,Cathepsin S 在中性、弱碱性的条件下具有较高的稳定性,因此导致 Cathepsin S 在组织分布中具有局限性,主要分布在淋巴组织如脾、淋巴结等。作为组织蛋白酶的一种,Cathepsin

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81170316)。 作者简介:周芳,女,在读硕士研究生,主要从事临床实验诊断研究。 △ 通讯作者, E-mail: 朱光旭, zhgxu2001@126.com; 潘兴华, xinghuapan@aliyun.com。