

· 综述 ·

MicroRNAs 在抗结核相关的巨噬细胞及树突状细胞中的研究进展*

向文玉¹ 综述, 徐军发^{1,2} 审校

(1. 广东医学院检验医学研究所, 广东东莞 523808; 2. 广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808)

关键词: MicroRNA; 结核分枝杆菌; 固有免疫细胞; 巨噬细胞; 树突状细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)02-0237-03

固有免疫反应是宿主快速识别病原菌感染的第一道防线, 也是机体适应性免疫的基础。机体固有免疫细胞主要包括单核-巨噬细胞、树突状(DC)细胞、自然杀伤(NK)细胞、粒细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、B-1 细胞及肥大细胞等, 它们通过一系列模式识别受体(PPRs)及相关分子激活后调控固有免疫应答, 从而控制或清除机体病原体感染。相关研究认为 microRNAs(miRNAs)在这个过程中扮演着重要角色, 尤其是病原体感染后固有免疫细胞胞内 miRNAs 的动态变化, 影响着机体抗病原体感染免疫过程^[1]。本文就近年来 miRNAs 在抗结核固有免疫细胞中的研究进展作一综述, 为深入研究 miRNAs 相关抗结核固有免疫反应提供参考。

1 miRNAs 与固有免疫反应

miRNAs 是一类由约 22 个核苷酸组成的非编码小 RNA, 初始 miRNAs 经胞内、外多种酶类加工成熟后, 与 RNA 诱导的沉默复合体(RISC)结合, 通过碱基互补配对原则, 靶向结合 mRNA 的 3'-非转录区(3'-UTR), 直接降解 mRNA 或抑制其翻译, 从而实现对靶基因的转录后调控。miRNAs 参与固有免疫细胞发育及功能调控^[2]。例如: miR-17-92 靶向调控 Runx1 参与单核细胞分化, 同时 Runx1 又能通过与 miR-17-92 启动子结合抑制 miR-17-92 表达。TLRs 信号途径参与多种 miRNAs(miR-155, miR-146a 和 miR-21)的诱导表达^[3-5], 这些研究说明病原体感染或炎性刺激可以影响固有免疫细胞 miRNAs 表达, 反过来 miRNAs 通过靶向降解特定 mRNA 参与固有免疫的激活或抑制。在 miRNAs 介导的抗结核固有免疫反应中, 固有免疫细胞通过 PPRs 识别结核分枝杆菌释放免疫相关分子参与抗结核固有免疫反应, 这些 PPRs 和固有免疫相关分子有: 甘露糖受体(CD206)、树突细胞特异性细胞间黏附分子-3-结合非整合素分子(DC-SIGN 又称 CD209)、树状细胞凝集素-1(Dectin-1)、Toll 样受体(TLRs)、补体受体 3(CR3 又称 CD11b/CD18)、NOD 样受体(NLRs)、CD14、P2X7 受体, 维生素 D 核受体(VDR)、C 型凝集素受体(CLRS), 吞噬细胞细胞因子[如肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-10、IL-12 和 IL-18], 趋化因子[如 IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、活性调节蛋白(RANTES)和干扰素诱导蛋白 10(CXCL10)]和其他固有免疫相关分子(如 iNOS 和 SLC11A1)。因此, PPRs/固有免疫细胞/miRNAs/免疫相关分子途径在抗结核免疫过程中极其重要。

2 巨噬细胞/miRNAs 途径

巨噬细胞是机体抵抗结核分枝杆菌感染至关重要的细胞, 尤其在结核性肉芽肿形成过程中, 是肉芽肿组织中的主要细胞成分。巨噬细胞根据来源可分为单核细胞衍生的巨噬细胞

(MDMs) 和骨髓衍生的巨噬细胞(BMDMs)。常用的巨噬细胞研究细胞系有鼠 RAW 264.7 细胞, 鼠 J774A.1 细胞, 人 U937 细胞和人 THP1 衍生的巨噬细胞。TLRs, CLRs 和 NLRs 是巨噬细胞识别结核分枝杆菌的主要 PPRs^[1]。miRNAs 在 PPRs 介导的巨噬细胞功能发挥中具有重要作用。

2.1 miRNAs 介导巨噬细胞杀伤活性 巨噬细胞、DC 细胞等参与抗结核免疫的固有免疫, 它们所分泌的蛋白质分子干扰素(IFN)- γ 、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 对结核起保护作用。巨噬细胞通过 TLR 受体识别进入机体的结核杆菌, 活化 NF- κ B 信号通路刺激促炎因子的表达, IFN- γ 和 TNF- α 是抗结核感染的主要促炎因子, TNF- α 能通过不同的机制抑制巨噬细胞内结核杆菌的生长, 从而使结核感染停留在潜伏期, IFN- γ 在结核感染的固有免疫阶段和适应性免疫阶段均起着至关重要的作用, IL-6 和 IL-1 β 也能提高宿主的抗结核免疫, 使机体免受结核菌的感染。

结核分枝杆菌有毒株 H37Rv 细胞壁成份脂甘露聚糖(LM)和活性 H37Rv 菌株感染 MDMs 后, 胞内 miR-125b 高表达, 而 miR-155 低表达^[6]。miR-125b 靶向结合 TNF mRNA 3' UTR 序列下调 MDMs 胞内 TNF 产生, miR-155 通过增强 TNF mRNA 半衰期及抑制 PI3K/Akt 信号通路负向调节子含 SH2 结构域的肌醇磷酸酶 1(SHIP1)表达, 增强 MDMs 胞内 TNF 产生^[6]。有趣的是, 结核分枝杆菌细胞壁成分 LM 及活菌感染后, MDMs 胞内 miR-155 却高表达, 而 miR-125b 低表达, 说明结核分枝杆菌通过细胞壁 LM 成分诱导巨噬细胞 miR-125b 表达, 抑制 miR-155 表达逃逸宿主固有免疫监视, miR-155 参与的信号途径可能在胞内菌清除中具有重要作用^[6]。结核分枝杆菌毒力相关分泌蛋白 ESAT-6 和结核分枝杆菌毒力株感染鼠 RAW264.7 巨噬细胞和 BMDMs 后, 巨噬细胞 miR-155 表达明显升高, 抑制胞内血红素加氧酶-1(HO-1)的转录抑制因子 Bach1(Bach1), SHIP1 蛋白, 环氧合酶-2(COX-2)和 IL-6 的表达, 促进胞内菌的繁殖和存活, 抑制巨噬细胞 miR-155 表达, 导致结核分枝杆菌在鼠 RAW264.7 细胞和 BMDMs 中的存活受到影响^[7]。另外, Wang 等^[8]研究发现 H37Rv 感染的小鼠肺组织、半型结核分枝杆菌感染的 RAW264.7、BMDMs 及 H37Ra 感染的 RAW264.7 细胞中 miR-155 表达均明显增高且与感染剂量成正相关, 并发现 miR-155 通过靶向结合脑 Ras 同源蛋白(Rheb), 促进结核分枝杆菌吞噬体的成熟降低胞内结核分枝杆菌的存活, 说明不同菌株感染的不同类型巨噬细胞中 miR-155 表达及功能均存在时序差异。

半型结核分枝杆菌感染 RAW 264.7 和 THP1 衍生的巨

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81273237, 30972779); 广东省科技计划项目(2011B061300098); 广东医学院科技创新团队重点项目(2012KJCX0059)。作者简介: 向文玉, 女, 在读硕士研究生, 主要从事抗结核免疫研究。

巨噬细胞诱导 INF- α 表达激活骨髓生长因子(SHH)信号,上调巨噬细胞 miR-31 和 miR-150 表达^[9]。miR-31 和 miR-150 均靶向调节 MyD88 蛋白表达,从而反馈调节 TLR2 信号,影响固有免疫反应^[9]。在半型结核分枝杆菌感染的巨噬细胞,miR-150 还参与一氧化氮和双功能转录因子蛋白 klappl 样因子 4(KLF4) 表达遗传学修饰 II 类反式激活(CIITA),启动抗结核固有免疫反应^[9]。吞噬溶酶体的形成是巨噬细胞清除胞内结核分枝杆菌的重要环节,然而在结核分枝杆菌毒力株感染的巨噬细胞中此过程受到抑制。Bettencourt 等^[10] 研究发现 H37Rv 感染的小鼠 J774A.1 巨噬细胞和 MDMs 中 miR-142-3p 高表达,且 miR-142-3p 通过靶向调节 actin 结合蛋白 N-Wasp 表达的方式参与结核分枝杆菌吞噬所需溶酶体的形成。Xu 等^[11] 在半型结核分枝杆菌感染的 RAW264.7 巨噬细胞也发现 miR-142-3p 高表达,且靶向调节白介素-受体相关激酶-1(IRAK-1)蛋白表达,负向调节核因子 κ B(NF- κ B)信号及促炎因子 TNF- α 和 IL-6 表达。

最近 Liu 等^[12] 发现痰涂结核菌检测阳性患者肺泡巨噬细胞(AMs)中 miR-146a 表达低于痰涂结核菌检测阴性患者,而在健康人 AMs 中 miR-146a 表达最高,且半型结核分枝杆菌感染以 TNF- α 依赖的方式诱导 miR-146a 靶向调节 IRAK1,肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)和猪前列腺素内过氧化物酶 2(PTGS2),增强巨噬细胞对胞内菌的杀伤作用,同时负向调节 TNF- α 表达。Meng 等^[13] 发现结核菌潜伏相关抗原 Hsp16.3 转染的 U937 巨噬细胞中 miR-424-5, miR-493-5p, miR-296-5p, miR-27b-3p, miR-377-5p, miR-3680-5ph 和 miR-191-5p 高表达,其中 miR-424-5p, miR-27b-3p, miR-377-5p 和 miR-3680-5p 在结核分枝杆菌潜伏感染者外周血单核细胞中的表达也明显增高。

2.2 miRNAs 介导巨噬细胞凋亡 近年来,巨噬细胞凋亡被认为在控制结核菌胞内感染中具有重要作用^[14]。Ghorpade 等^[15] 研究发现半型结核分枝杆菌感染鼠 RAW 264.7 巨噬细胞后触发 TLR2 依赖的 miR-155 表达,miR-155 靶向调节蛋白激酶抑制因子(PKI),激活磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K),蛋白激酶 C(PKC)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)信号通路介导巨噬细胞凋亡。鸟结核分枝杆菌感染人 MDMs 后,胞内 let-7e, miR-29a 和 miR-886-5p 表达明显升高,靶向调控 caspase 3 和 caspase 7 等表达,弱化巨噬细胞凋亡相关信号通路,使鸟结核分枝杆菌逃逸宿主固有免疫反应监视^[16]。此外,Liu 等^[17] 发现 miR-582-5p 在肺结核患者外周血 CD14⁺ 单核细胞中高表达,且靶向调节叉头样蛋白 1(FOXO1)表达抑制单核细胞凋亡。

最近 Das 等^[18] 分别用 H37Rv 和 H37Ra 感染 THP-1 衍生的巨噬细胞发现 miR-30a, miR-30e, miR-155, miR-1275, miR-3665, miR-3178, miR-4484, miR-4668-5p 和 miR-4497 在不同毒力菌株感染之间存在明显差异表达。半型结核分枝杆菌感染 BMDMs 后,胞内 miR-21 表达升高^[19]。一项以肺灌洗中分离的牛 AMs miRNAs 测序分析显示 bta-let-7i, bta-miR-21, bta-miR-27, bta-miR-99b, bta-miR-146, bta-miR-147, bta-miR-155 和 bta-miR-223 高表达,其表达水平均超过 800 000 RPM^[20]。这些 miRNAs 的表达是否介导了巨噬细胞凋亡的发生还有待进一步研究。

3 DC 细胞/miRNAs 途径

DC 细胞在识别和传感外源信号及调节固有免疫和适应性免疫中具有重要作用^[21]。根据功能,DC 细胞可分为未成熟的 DC(IDC),活化的 DC(ADCs)和耐受性的 DC(TDCs)。根

据来源和形态,DC 细胞可分为单核细胞衍生的 DC(MDCs),骨髓衍生的 DC 细胞(BMDCs)和浆细胞样 DC(PDCs)。DC 既可以活化也可以抑制特异性 T 细胞免疫。miRNAs 在这些 DC 功能发挥过程中具有重要作用,且不同 DC 类型中 miRNAs 表达谱各异。如 miR-155 和 miR-146a 直接介导 DC 功能和分化^[22]。Stumpfova 等^[23] 发现 miR-7, miR-9, miR-155 和 miR-182 在 aDCs 成熟过程中持续性过表达,miR-17, miR-133b, miR-203 和 miR-23b 簇在 tDCs 特异性表达。此外还发现 5 个 miRNAs(miR-10a, miR-203, miR-210, miR-30a 和 miR-449b)在 tDCs 和 aDCs 中均高表达,3 个 miRNAs(miR-134, miR-145 和 miR-149)在 tDCs 和 aDCs 中均呈低表达^[23]。miR-10a, miR-132, miR-125b, miR-212 和 miR-511 在 MDCs 中高表达且与 LPS 诱导的 TLRs 信号活化相关^[24]。Hashimi 等^[25] 分离人 MDCs 采用 miRNAs 芯片检测发现 20 余种 miRNAs 与 MDCs 的成熟相关,其中 miR-34a 和 miR-21 均通过靶向调节 JAG1 和 WNT1 蛋白表达参与此次过程。在半型结核分枝杆菌感染的 BMDCs 中胞内 miR-21 表达升高,且 miR-21 靶向调节 Bcl-2 表达促进 DC 细胞凋亡^[23]。结核分枝杆菌有毒株 H37Rv 感染诱导小鼠 DC 细胞 miR-99b 高表达,RNA 拮抗剂"antagomirs"阻断 DC 细胞内 miR-99b 表达,促使胞内 H37Rv 生长受到明显抑制^[24],同样 miR-99b 敲除的 DC 细胞促炎因子 IL-6, IL-12 和 IL-1 β 等明显升高^[25],说明结核分枝杆菌通过诱导 DC 细胞 miR-99b 表达,逃逸 DC 细胞固有免疫防御监视^[26]。此外, Ma 等^[27] 研究发现半型结核分枝杆菌感染可抑制产 IFN 的 NK 细胞 miR-29 表达。

4 展望

综上所述,miRNAs 在参与抗结核固有免疫反应中具有重要作用,但目前有关 miRNAs 在抗结核相关固有免疫细胞中的研究主要集中在巨噬细胞和 DC 细胞,而在 NK 细胞,粒细胞, $\gamma\delta$ T 细胞,B-1 细胞及肥大细胞等固有免疫细胞中的研究还不多,可能与细胞来源及研究手段的局限有关。值得庆幸的是,自从 2010 年 Guo 等^[28] 首次报道人类 miRNAs 可靶向调节结核分枝杆菌内基因后,miRNAs 在结核免疫中的相关研究取得了长足进展,尤其是结核病患者外周血、痰液、胸水、肺泡灌洗液中 miRNAs 的芯片筛选,为结核免疫相关 miRNAs 的研究提供了大量数据资料。近年来,miRNAs 在抗结核固有免疫和适应性免疫中的研究,尤其在以巨噬细胞和 DC 细胞为主的固有免疫过程中的研究显示 miRNAs 甚至同一 miRNA 面对不同的感染环境时,具有双重抗结核免疫作用,且这些作用与菌株的毒性及固有细胞类型有关。另外,结核分枝杆菌如何借助 miRNAs 影响机体的抗结核免疫状态尚不完全清楚,且其参与调控的 miRNAs 之间是否存在协同或者拮抗的关系还有待进一步探究,这些研究将势必为 miRNAs 早日应用到结核病的诊断及治疗中提供有力基础。

参考文献

- [1] Harapan H, Fitra F, Ichsan I, et al. The roles of microRNAs on tuberculosis infection: meaning or myth [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2013, 93(6): 596-605.
- [2] Lee HM, Nguyen DT, Lu LF. Progress and challenge of microRNA research in immunity [J]. *Front Genet*, 2014, 5: 178.
- [3] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, et al. NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(33): 12481-12486.
- [4] O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, et al. MicroRNA-155 is

- induced during the macrophage inflammatory response [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(5): 1604-1609.
- [5] Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ, et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21 [J]. Nat Immunol, 2010, 11(2): 141-147.
- [6] Rajaram MV, Ni B, Morris JD, et al. Mycobacterium tuberculosis lipomannan blocks TNF biosynthesis by regulating macrophage MAPK-activated protein kinase 2 (MK2) and microRNA miR-125b [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(42): 17408-17413.
- [7] Kumar R, Halder P, Sahu SK, et al. Identification of a novel role of ESAT-6-dependent miR-155 induction during infection of macrophages with Mycobacterium tuberculosis [J]. Cell Microbiol, 2012, 14(10): 1620-1631.
- [8] Wang J, Yang K, Zhou L, et al. MicroRNA-155 promotes autophagy to eliminate intracellular mycobacteria by targeting Rheb [J]. PLoS Pathog, 2013, 9(10): 1003697.
- [9] Ghorpade DS, Holla S, Kaveri SV, et al. Sonic hedgehog-dependent induction of microRNA 31 and microRNA 150 regulates Mycobacterium bovis BCG-driven toll-like receptor 2 signaling [J]. Mol Cell Biol, 2013, 33(3): 543-556.
- [10] Bettencourt P, Marion S, Pires D, et al. Actin-binding protein regulation by microRNAs as a novel microbial strategy to modulate phagocytosis by host cells: the case of N-Wasp and miR-142-3p [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2013, 3: 19.
- [11] Xu G, Zhang Z, Wei J, et al. microR-142-3p down-regulates I-RAK-1 in response to Mycobacterium bovis BCG infection in macrophages [J]. Tuberculosis (Edinb), 2013, 93(6): 606-611.
- [12] Liu Y, Jiang J, Wang X, et al. miR-582-5p is upregulated in patients with active tuberculosis and inhibits apoptosis of monocytes by targeting FOXO1 [J]. PLoS One, 2013, 8(10): 78381.
- [13] Meng QL, Liu F, Yang XY, et al. Identification of latent tuberculosis infection-related microRNAs in human U937 macrophages expressing Mycobacterium tuberculosis Hsp16.3 [J]. BMC Microbiol, 2014, 14: 37.
- [14] Gupta A, Pant G, Mitra K, et al. Inhalable particles containing r飞扬ycin for induction of autophagy in macrophages infected with Mycobacterium tuberculosis [J]. Mol Pharm, 2014, 11(4): 1201-1207.
- [15] Ghorpade DS, Leyland R, Kurowska-Stolarska M, et al. MicroRNA-155 is required for Mycobacterium bovis BCG-mediated apoptosis of macrophages [J]. Mol Cell Biol, 2012, 32(12): 2239-2253.
- [16] Sharbati J, Lewin A, Kutz-Lohroff B, et al. Integrated microRNA-mRNA-analysis of human monocyte derived macrophages upon Mycobacterium avium subsp. hominis suis infection [J]. PLoS One, 2011, 6(5): 20258.
- [17] Liu Z, Zhou G, Deng X, et al. Analysis of miRNA expression profiling in human macrophages responding to Mycobacterium infection: induction of the immune regulator miR-146a [J]. J Infect, 2014, 68(6): 553-561.
- [18] Das K, Saikolappan S, Dhandayuthapani S. Differential expression of miRNAs by macrophages infected with virulent and avirulent Mycobacterium tuberculosis [J]. Tuberculosis (Edinb), 2013, 93: 47-50.
- [19] Wu Z, Lu H, Sheng J, et al. Inductive microRNA-21 impairs antimycobacterial responses by targeting IL-12 and Bcl-2 [J]. FEBS Lett, 2012, 586(16): 2459-2567.
- [20] Vegh P, Foroushani AB, Magee DA, et al. Profiling microRNA expression in bovine alveolar macrophages using RNA-seq [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2013, 155(4): 238-244.
- [21] Hedlund S, Persson A, Vujic A, et al. Dendritic cell activation by sensing Mycobacterium tuberculosis-induced apoptotic neutrophils via DC-SIGN [J]. Hum Immunol, 2010, 71(6): 535-540.
- [22] Turner ML, Schnorfeil FM, Brocker T. MicroRNAs regulate dendritic cell differentiation and function [J]. J Immunol, 2011, 187(8): 3911-3917.
- [23] Stumpfova Z, Hezova R, Meli AC, et al. MicroRNA profiling of activated and tolerogenic human dendritic cells [J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014: 259689.
- [24] Tserel L, Runnel T, Kisand K, et al. MicroRNA expression profiles of human blood monocyte-derived dendritic cells and macrophages reveal miR-511 as putative positive regulator of Toll-like receptor 4 [J]. J Biol Chem, 2011, 286(30): 26487-26495.
- [25] Hashimi ST, Fulcher JA, Chang MH, et al. MicroRNA profiling identifies miR-34a and miR-21 and their target genes JAG1 and WNT1 in the coordinate regulation of dendritic cell differentiation [J]. Blood, 2009, 114(2): 404-414.
- [26] Singh Y, Kaul V, Mehra A, et al. Mycobacterium tuberculosis controls microRNA-99b (miR-99b) expression in infected murine dendritic cells to modulate host immunity [J]. J Biol Chem, 2013, 288(7): 5056-5061.
- [27] Ma F, Xu S, Liu X, et al. The microRNA miR-29 controls innate and adaptive immune responses to intracellular bacterial infection by targeting interferon- γ [J]. Nat Immunol, 2011, 12(9): 861-869.
- [28] Guo W, Li JT, Pan X, et al. Candidate Mycobacterium tuberculosis genes targeted by human microRNAs [J]. Protein Cell, 2010, 1(5): 419-421.

(收稿日期:2014-12-18)

• 综述 •

高敏肌钙蛋白检测在心力衰竭患者中的临床应用前景

胡婷 综述, 张秀明 审校

(中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东广州 528403)

关键词: 高敏肌钙蛋白; 前景; 心力衰竭

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)02-0239-04

心力衰竭是各种心血管疾病的严重阶段, 60%~70%心力衰竭是因冠心病引起。随着人口老龄化, 以及临床对急性心肌

梗死的早期有效干预使更多的患者存活, 心力衰竭的发病率日益增高。心肌肌钙蛋白不但在急性冠状动脉综合征的诊断、病