

• 文献综述 •

[文章编号] 1007-3949(2010)18-08-0662-03

miRNA 与动脉粥样硬化炎症反应

陈妍梅 综述, 李浪 审校

(广西医科大学第一附属医院 心血管内科, 广西壮族自治区南宁市 530021)

[关键词] miRNA 动脉粥样硬化; 炎症细胞; 炎症细胞分子

[摘要] miRNA 的发现是近年来生物学研究上的重要突破之一。随着研究的深入, 证实了 miRNA 参与了免疫介导性疾病的发生发展。动脉粥样硬化是免疫介导性动脉血管壁慢性炎症, 这将使得 miRNA 将可能成为动脉粥样硬化炎症反应研究的热点。本文综述了 miRNA 在调控炎症细胞的发育、分化及功能中的作用, 与炎症细胞因子调控密切相关的 miRNA, 最后综合阐述了 miRNA 与动脉粥样硬化炎症反应的关系。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

MicroRNAs in the Inflammation of Atherosclerosis

CHEN Yan-Mei and LI Lang

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China.)

[KEY WORDS] MicroRNAs Atherosclerosis Inflammatory Cells Inflammatory Molecules

[ABSTRACT] The discovery of microRNAs is a major breakthrough of biological research in recent years. With the rapid progress in the field, microRNAs have been confirmed to be involved in inflammation and immune-mediated disease. Since inflammation is clearly a key event for the initiation and progression of atherosclerosis, microRNAs is becoming the research hotspot on revealing the explicit mechanism of atherosclerosis and developing new therapeutic strategies for vascular diseases. This article described the investigation progress on how microRNAs modulate the inflammatory cells differentiation and function, and then showed the role of specific microRNAs on inflammatory cytokines. In the end, we addressed the contribution of microRNAs for vascular inflammation involved in atherosclerosis.

MicroRNA 又简称 miRNA 是一类长约 21~25 个核苷酸的小分子 RNA, 广泛存在于动物、植物、病毒和单个细胞生物体中。miRNA 存在于基因组的非编码区, 是一类重要的转录后调节基因, 具有调节细胞增殖、分化、凋亡等过程的功能。近年来发现, miRNA 可以调节免疫系统的发育和免疫应答, 并证实其参与了免疫介导性疾病, 如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等^[1,2]。

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是慢性炎症反应性疾病^[3]。脂质代谢紊乱、高血压、糖尿病等刺激因素激活内皮细胞, 使得内皮细胞的通透性增加、表面的粘附分子表达增加, 主要是 E 选择素、细胞间粘附分子 1 (ICAM-1) 和血管细胞粘附分子 1 (VCAM-1), 表面粘附力增强, 循环中的单核细胞易附着并迁移入内膜, 进入内膜后的单核细胞增殖分化为巨噬细胞, 表达清道夫受体并介导摄取脂蛋白而变成泡沫细胞, 产生氧自由基、炎症细胞因子以及蛋白酶等, 介导非特异性免疫反应。另外, 巨噬细胞还能够将外源性抗原提呈给 T 淋巴细胞, 启动特异性免疫应答。上述细胞释放各种蛋白酶、细胞因子、趋化因子及生长因子并相互作用, 促进粥样硬

化的发展。

Zhao 等^[4]首先对 miRNA 在心血管疾病中的作用进行研究。而 miR-126 抑制血管粘附分子 1 (VCAM-1) 的表达的研究首次为 miRNA 调控血管炎症反应提供了证据^[5]。

miRNA 调控 As 炎症反应机制的研究正逐渐成为心血管研究领域的热点。越来越多的研究证实了 miRNA 调控炎症细胞的发育、分化及其功能的执行。参与 As 发生发展的炎症细胞主要有单核/巨噬细胞、淋巴细胞及内皮细胞, 因此对 miRNA 参与调控这些细胞的机制进行深入的研究, 将有可能阐明 miRNA 在 As 发病中的作用。

1 miRNA 的生成及其作用机制

在真核生物中, miRNA 首先在 RNA 聚合酶 ③ (pol ③) 的介导下, 以长的初级 miRNA (prim RNA) 形式从基因组中被转录出来, 然后被 Drosha 样的 RNase ④ 内切酶和 / 或剪接体组分切割成大约 60~70 个核苷酸的 prim miRNA 复合物。随后, prim miRNA 通过 Ran-GTP 及其受体 Exportin-5 转运出细胞核。在细胞质中, Dicer 样内切酶切割 prim miRNA, 形成 18~25 个核苷酸的双链 miRNA。最后, 成熟的 miRNA 转配进核蛋白体 (RNP) 形成 RNA 诱导沉默复合物 (RNA induced silencing complex, RISC), 执行 RNA 相关生物学功能。成熟的 miRNA 在 RISC 的引导下, 与互补靶 mRNA 完全或不完全配对, 降解靶 mRNA 或调控其

[收稿日期] 2010-05-28 [修回日期] 2010-08-10

[基金项目] 国家自然科学基金 (30760262)

[作者简介] 陈妍梅, 硕士研究生, 主要研究方向为冠心病发病机制及其防治, E-mail 为 yame0812@126.com。通讯作者李浪, 博士, 教授, 主要研究方向为冠心病发病机制及其防治, E-mail 为 lilang99@hotmail.com。

转录后翻译。m microRNA与靶基因的序列互补取决于种子区域即 m microRNA的 5'端第 2~8个核苷酸序列。如果 m microRNA与靶 mRNA不完全互补,则只是阻碍翻译而不影响其稳定性;如果是完全互补,则 mRNA可被类似 sRNA的机制降解^[6]。m microRNA参与了广泛的基因调控,同一个 m microRNA可调控多个靶基因,而同一个靶基因也可受多个 m microRNA的调控。

2 参与炎症细胞调控的 m microRNA

2.1 参与调节单核/巨噬细胞系的 m microRNA

目前研究发现, m R-424和 m microRNA s-17-5p-20a-106a参与了调节单核/巨噬细胞的发育、分化。Rosa等^[7]证实 m R-424通过作用于转录因子 PU-1调节人单核细胞/巨噬细胞的分化。在单核细胞分化中,转录因子 PU-1激活 m R-424的转录,从而抑制转录因子 NF- κ B的翻译,而抑制 NF- κ B的翻译反过来使得特异性分化基因 M-CSF受体的激活,调控单核/巨噬细胞的分化。研究发现, m microRNA s-17-5p-20a-106a是通过调控 AML1以及 M-CSF受体而调控单核细胞的生成,它与 AML1的 mRNA 3'UTR结合后, mRNA降解,阻碍了 AML1的翻译^[8]。用 m microRNA s-17-5p-20a-106a转染单核细胞后, AML1蛋白的表达受抑制,导致 M-CSF受体下调,抑制了单核细胞的分化与成熟;这说明单核细胞系是依次通过 m microRNA s-17-5p-20a-106a、AML1和 M-CSF受体通路来调控的。上述研究表明了 m microRNA可通过其靶标以及靶标介导的通路参与调节单核细胞系的发育、分化,进而调控单核细胞参与的炎症反应。

2.2 参与调节 T淋巴细胞的 m microRNA

m R-181a在胸腺有高表达,与 T淋巴细胞的发育与分化有关^[9]。当 m R-181a转染到鼠骨髓细胞内时发现可使循环 T细胞的数量降低 2~3倍, CD8⁺亚群降低 90%。Li等^[10]发现过度表达 m R-181a可使成熟 T细胞对抗原敏感性增加,弱抗原即可有效诱导 TCR信号,敲除 m R-181a则可以降低 TCR信号强度。m R-181a在 T细胞发育和成熟过程中的表达调节是动态的,从双阴 T细胞的高表达至单阳 T细胞低表达是逐渐下调的,抑制不成熟 T细胞的 m R-181a会降低其敏感性和破坏细胞双阳性的选择。m R-181a的这些功能与 m R-181a调节淋巴细胞的多个磷酸酶(胞质蛋白酪氨酸磷酸酶、蛋白酪氨酸磷酸酶非受体、双特异性磷酸酶 5),增强了 TCR信号分子 Ick和 erk的基本活性有关。因此, m R-181a不仅可以影响 T细胞的发育,还可以影响 T细胞的活化。除 m R-181a外, m R-350、m R-92、m R-669c、m R-297、m R-15b、m R-150、m R-24和 m R-27a均参与 T细胞的发育和分化^[9]。此外, m R-155对于 T细胞的功能是必需的,基因敲除 m R-155的小鼠可出现 T细胞功能障碍,其调控机制可能是通过转录因子 c-Maf调节辅助性 T细胞(Th),使其分化偏向 Th2^[11]。

m R-181a、m R-92及 m R-155等不但参与了 T细胞的发育和分化,还影响 T细胞的活化,表明 m microRNA参与介导了特异性免疫反应。

3 与炎症细胞分子相互调控的 m microRNA

3.1 m microRNA-155

m R-155广泛参与调节炎症细胞分子网络。Tili等^[12]发现 m R-155对 TNF- α 的表达有调节作用。小鼠巨噬细胞系 RAW 264.7受到脂多糖 LPS刺激后, m R-155表达上调, TNF- α 的水平明显增加。进一步研究其机制, m R-155能够直接靶向调节 LPS信号通路中的若干分子,包括 FADD(fas-associated death domain protein)、IKK ϵ (IKK kinase ϵ)和 Ripk1(the receptor(TNFR superfamily)-interacting serine-threonine kinase 1),进而在多个环节上参与 TLR及相关凋亡信号通路的活化,促进 TNF- α 的产生。体内实验也证实, B细胞特异性高表达 m R-155的转基因小鼠腹腔注射 LPS后,能够产生高水平的 TNF- α 。反过来, m R-155也可被炎症细胞因子诱导高表达于单核细胞上。研究人员利用微阵列技术检测在 poly(I:C)或 interferon- β (IFN- β)刺激巨噬细胞后 m microRNA表达的情况,发现该两种刺激都会导致 m R-155表达明显上调,且 m R-155是唯一持续升高的 m microRNA^[13]。poly(I:C)引起的 m R-155的持续升高是通过 Toll受体和 MyD88或者 TRIF接头蛋白途径诱导表达的; IFN- β 刺激巨噬细胞后引起 m R-155的上调,是首先增强 TNF- α 的合成,通过 TNF- α 自分泌途径活化自身 JNK(c-Jun NH2-terminal kinase)信号通路,进而刺激 m R-155的产生。这两种途径可能是汇集在调节一种 AP-1转录因子结合位点和一个 JNK有丝分裂原激活蛋白激酶上,抑制对 poly(I:C)或者干扰素的反应。与该研究相一致的是, Tang等^[14]在幽门螺杆菌慢性炎症中发现 m R-155的直接靶标是 MyD-88,其介导的负性调控炎症反应是属于转录后的调节。m R-155的高表达与幽门螺杆菌感染产生的 IL-8的水平呈明显的负相关。

总之, m R-155与炎症细胞因子关系密切,其高表达, TNF- α 的水平明显增加, IL-8的水平明显下降。

3.2 m microRNA-146a

m R-146a在固有免疫中发挥重要作用,目前已证实 m R-146a参与炎症反应。各种细菌成分(如 LPS)、炎症因子(如 IL-1, TNF- α)刺激 THP-1成熟 m R-146表达量迅速上升。Perry等^[15]给予高浓度 IL-1刺激人肺泡上皮癌细胞, m R-146a的表达在短时间内增多,并呈时间和剂量依赖性。过表达 m R-146a负向调节趋化因子 IL-8和 RANTES的释放。反之,抑制 m R-146a的表达出现相反的结果。Taganov分析 m R-146a的靶基因有 TLR和 IL-1受体信号通路中 IL-1受体的相关激酶(RAK1)和 TNF受体相关因子 6(TRAF6)衔接蛋白^[16]。TRAF6是细胞 NF- κ B激活通路中重要的抗原受体。m R-146a启动子区有 NF- κ B的结合位点, LPS、TNF- α 等刺激过表达这一启动子的 293T细胞,发现启动子活性明显增高,而点突变启动子区 NF- κ B的结合位点,再次用同样刺激,启动子活性则无变化。这些都说明了抗细菌感染反应使 m R-146a表达增加是 NF- κ B依赖的,用 m R-146通过 TLR和 IL-1的受体激活途径下调下游途径的 IRAK和 TRAF6基因表达,可以负反馈调节免疫炎症反应。

3.3 m R-126, m R-31和 m R-17-3P

m R-126, m R-31和 m R-17-3P是参与调控粘附分子表达的 microRNA。Harris等^[17]发现减少 m R-126可以增加炎症反应中内皮细胞上的 VCAM-1的表达。他们用寡核苷酸转染内皮细胞后, m R-126表达的减少使得 TNF- α 刺激后的内皮细胞的 VCAM-1的表达增加。反过来, m R-126前体过度表达而增加 m R-126的水平, VCAM-1表达水平减少。此外,减少内源性 m R-126水平,也能增加白细胞粘附于内皮细胞。Suarez等^[18]发现 TNF诱导产生的内皮细胞上的粘附分子的表达增加可被 microRNA 调节。该研究发现 E选择素和 ICAM-1分别是 m R-31和 m R-17-3P的靶标,特异性拮抗这些 TNF诱导产生的 microRNA 可以增加单核细胞附着于血管内皮细胞上。反过来,用这些 microRNA 类似物转染内皮细胞,可以减少粒/单核细胞粘附于内皮细胞上。这些都说明了 microRNA 可以通过调节粘附分子的表达水平从而负性调控炎症反应。

4 microRNA 调控动脉粥样硬化的炎症反应

血管紧张素 Ang^{II} 不但可引起血管收缩,同时还可以激活血管炎症反应。 Ang^{II} 与血管紧张素 AT1R 受体(AT1R)结合后可诱发血管内皮细胞和平滑肌细胞各种炎症因子,促进炎症和动脉粥样硬化的发生发展。最近研究表明, m R-155和 AT1R 共同表达于内皮细胞和血管平滑肌细胞上, m R-155抑制 AT1R的转录^[19]。该研究还证实了人的 AT1R的一个沉默多态性基因(+1166 A/C)与心血管疾病有关,该作用机制可能是通过增加 AT1R的活性来介导的。用转化生长因子- β 刺激成纤维细胞也可减少 m R-155的表达和增加 AT1R的表达^[20]。这些研究证实了 m R-155可以通过负性调控 AT1R的表达来减轻 As的发生、发展。

单核/巨噬细胞通过清道夫受体摄取脂蛋白后演变成泡沫细胞,继而释放大量的炎症细胞因子,介导非特异性免疫反应,促进了 As斑块的发生与发展。Chen等^[21]研究发现 m R-125a-5p参与调控 ox-LDL刺激后的单核/巨噬细胞脂类的摄取和炎症细胞因子的变化,从而起到抑制 As发生、发展和稳定斑块的作用。研究人员用 ox-LDL刺激人原代外周血单核细胞后, m R-125a-5p的表达明显上调。抑制 m R-125a-5p表达后显著提高单核细胞对脂类的摄取能力,并可明显增加相关的清道夫受体的表达。m R-125a-5p同样调控炎症细胞分子的水平,它可使单核细胞(无论是否给予 ox-LDL刺激)分泌炎症细胞因子(IL-6, IL-2, TGF- β , and TNF- α)增加,尤其是 TGF- β 水平明显升高。这说明了 m R-125a-5p参与调控 As的发生发展。

Th1细胞的上调促进了 As的发生发展。Guo等^[22]研究表明,急性冠脉综合征(ACS)患者外周血单个核细胞(PBMC)的 m R-146a表达明显上调, Th1细胞的功能也明显的上调, m R-146a的升高水平与由 Th1分泌的效应分子 IFN- γ 呈显著正相关。体外培养的 ACS患者 T淋巴细胞给予外源性 m R-146a不但可以促进 Th1效应分子 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌,还可以明显增加 Th1的数量,而对 Th2数量无明显影

响,从而影响 Th1/Th2的平衡。给予外源性 m R-146a后同样可以明显增加 MCP-1, NF- κ B p65蛋白的表达,而这些正是 As发展的关键趋化因子和转录因子。给予 m R-146a抑制剂可明显减轻上述现象。

上述研究均说明了 microRNA 可以通过调控各种参与 As的炎症细胞的发育、分化及其功能的执行,诱导各种炎症细胞分子表达增加或者减少,从而影响 As发生、发展和斑块的稳定性。

5 展望

microRNA 可直接或间接参与冠状 As的病理生理过程,通过 microRNA 的各种靶标调控各种参与 As的细胞和各种炎症细胞分子等进而影响到 As的进程。调控 microRNA 的表达,将对延缓 As斑块进展、稳定斑块,进而减少心血管事件的发生具有重要的意义。为了使得 microRNA 成为新的治疗措施,首先必须要完全明确各种 microRNA 的直接靶标以及不同组织中的特异性 microRNA。但目前为止,对于血管特异性 microRNA 的鉴定及其功能知之甚少,只有少数几个研究已经明确表明 microRNA 直接调控 As作用。希望将来能发现更多 microRNA 的靶标及明确其参与调控 As的机制,从而为防治粥样硬化的炎症反应提供新的策略。

[参考文献]

- [1] Pauley KM, Satoh M, Chan AL, et al Upregulated m R-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients [J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10 (4): R101
- [2] Tang Y, Luo X, Cui H, et al MicroRNA-146A contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60 (4): 1065-075
- [3] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease [J]. *Am Heart J* 1999, 138 (5 Pt 2): S419-S420
- [4] Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets H and 2 during cardiogenesis [J]. *Nature*, 2005, 436 (7048): 214-220
- [5] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al m R-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity [J]. *Dev Cell* 2008, 15 (2): 272-284
- [6] Ajay SS, Athey BD, Lee I. Unified translation repression mechanism for microRNAs and upstream AUGs [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 155
- [7] Rosa A, Ballarín M, Sorrentino A, et al The interplay between the master transcription factor PU. 1 and m R-424 regulates human monocyte/macrophage differentiation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104 (50): 19849-854
- [8] Fontana I, Pelosi E, Greco P, et al MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopoiesis through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation [J]. *Nat Cell Biol* 2007, 9 (7): 775-787
- [9] Shivasani RA. MicroRNAs regulators of gene expression and cell differentiation [J]. *Blood*, 2006, 108 (12): 3646-653
- [10] Li Q, Chau J, Ebert PJ, et al m R-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection [J]. *Cell* 2007, 129 (1): 147-161
- [11] Rodríguez A, Vigorito E, Clare S, et al Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function [J]. *Science* 2007, 316 (5824): 608-611
- [12] Tili E, Michaille JJ, Cimino A, et al Modulation of m R-155 and m R-125b levels following lipopolysaccharide/TNF- α stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock [J]. *J Immunol* 2007, 179 (8): 5082-089

(下转第 668 页)

(上接第 664 页)

- [13] 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): 1 604-609
- [14] Tang B, Xiao B, Liu Z, et al. Identification of MyD88 as a novel target of miR-155 involved in negative regulation of Helicobacter pylori-induced inflammation [J]. *FEBS Lett*, 2010, **584** (8): 1 481-486
- [15] Perry MM, Moschos SA, Williams AE, et al. Rapid changes in miR-NA-146a expression negatively regulate the IL-1 β -induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells [J]. *J Immunol*, 2008, **180** (8): 5 689-698
- [16] Taganov KD, Boldin MP, Chang K J, et al. NF- κ B-dependent induction of miR-146: an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, **103** (33): 12 481-486
- [17] Harris TA, Yanakuchi M, Ferlito M, et al. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105** (5): 1 516-521
- [18] Suarez Y, Wang C, Manes T D, et al. Cutting edge: TNF-induced microRNAs regulate TNF-induced expression of E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 on human endothelial cells: feedback control of inflammation [J]. *J Immunol*, 2010, **184** (1): 21-25
- [19] Martin MM, Buckenberger JA, Jiang J, et al. The human angiotensin II type 1 receptor +1166 A/C polymorphism attenuates miR-155 binding [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282** (33): 24 262-269
- [20] Martin MM, Lee EJ, Buckenberger JA, et al. MicroRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblasts [J]. *J Biol Chem*, 2006, **281** (27): 18 277-284
- [21] Chen T, Huang Z, Wang L, et al. MicroRNA-125a-5p partly regulates the inflammatory response, lipid uptake, and ORP9 expression in oxLDL-stimulated monocyte/macrophages [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, **83**: 131-139
- [22] Guo M, Mao X, Ji Q, et al. miR-146a in PBMCs modulates Th1 function in patients with acute coronary syndrome [J]. *Immunol Cell Biol*, 2010, **88** (5): 555-64

(此文编辑 李小玲)