

miRNA 对血管内皮细胞功能调节的研究进展

李玉媚 综述, 欧和生 审校

(广西医科大学药学院, 广西壮族自治区南宁市 530021)

[关键词] miRNA; 血管内皮细胞; 基因表达

[摘要] miRNA 是一类长约 18~24 个核苷酸的高度保守性的小分子非编码 RNA, 主要通过与其特异性靶基因 miRNA 3'-UTR 区结合来调控基因的表达。miRNA 与细胞增殖、分化、凋亡、胚胎发育、组织器官等形成以及多种疾病的发生发展密切相关。新近研究显示, 内皮型 miRNA 对心血管内皮细胞生理功能具重要的调节作用。本文就 miRNA 对血管内皮细胞功能调节的研究进展作一概述。

[中图分类号] Q752

[文献标识码] A

Advances in miRNA Regulating Function of Human Endothelial Cell

LI Yu-Mei, and OU He-Sheng

(College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

[KEY WORDS] miRNA; Vascular Endothelial Cell; Gene Expression

[ABSTRACT] miRNAs are a class of highly conserved small molecules of about 18~24 nucleotides non-coding RNAs regulating gene expression by binding to the specific target gene mRNA 3'-UTR. It has been shown that miRNAs are related to the process of cell proliferation, differentiation, apoptosis, embryonic development, tissue and organ formation as well as the development of a variety of diseases. Recently, studies have shown that some miRNAs play an important role in regulation function of human endothelial cell. In this review, we focus on discussing miRNAs' role in the regulation function of human endothelial cell.

内皮细胞参与血管发育过程, 表现为高度增殖性。然而, 内皮细胞是一个活跃的内分泌代谢器官, 其生理功能主要体现两个方面: 屏障功能和信息传递功能。通过激活内皮细胞可增加细胞的黏附性, 增强细胞增殖性和主动性。提示, 内皮细胞受损、活化和修复与心血管疾病的发生和发展密切相关。然而, 目前尚未清楚这些细胞涉及的复杂基因调控的作用机制。miRNA 是一类内源性非编码单链 RNA 分子, 它通过与靶基因 miRNA 3'-UTR 区结合来调控基因的表达。研究发现, 人类基因组中超过 700 个 miRNA 已被鉴定, 其中 20%~30% 的基因对人类编码蛋白基因进行调控。最新研究表明, miRNA 在心血管病理生理过程中起着至关重要的调节作用, 它参与心脏发育、心肌重构、高血压、血管病变、糖尿病及炎症等生理病理过程; 某些 miR-

NA 广泛参与内皮细胞功能的调节, 对维持血管内皮功能的稳定性起重要作用; 另外, 部分 miRNA 与血管内皮细胞的增殖、迁移、凋亡、分化的发生发展密切相关。本文就 miRNA 对血管内皮功能调节的研究进展作一综述。

1 miRNA 的发现与生物学功能

1993 年, Lee 等^[1]在秀丽新小杆线虫进行突变体的遗传分析中意外发现第一个 miRNA, 命名为 lin-4, 并发现它可以控制细胞的时序表达。2000 年 Reinhart 等^[2]发现另一种具有转录后调节作用的 miRNA: let-7; 之后不断有新的 miRNA 被发现。迄今为止, 已在动物、植物和微生物等 193 种不同生物体中鉴定出 25141 个成熟的 miRNA。近年来, 越来

[收稿日期] 2014-01-13

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81373403); 广西硕士研究生科研创新项目(YCSZ2013031)

[作者简介] 李玉媚, 硕士研究生, 主要研究方向为心血管分子药理学, E-mail 为 756234795@qq.com。通讯作者欧和生, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管分子药理学, E-mail 为 hsou01@yahoo.com。

越多的证据表明,miRNA 调节细胞生物学功能,其在细胞分化、增殖、迁移和凋亡中扮演重要角色。

2 miRNA 与血管内皮细胞功能调节

血管内皮细胞功能的损伤与心血管疾病、癌症、糖尿病等疾病的病理过程的发生发展密切相关,miRNA 可能参与内皮细胞的增殖和分化的调节。miRNA 是一类非编码小 RNA,通过诱导 miRNA 的降解或转录来调控基因表达,并在维持组织稳态方面扮演重要的角色。此外,越来越多的研究结果显示,miRNA 是多种细胞功能的最重要的调节基因之一。

2.1 miRNA 抑制血管内皮细胞增殖和迁移

在静止或刺激状态下,miR-222-221 簇在内皮细胞中高表达^[3]。一系列 miRNA 芯片杂交实验表明,在血管平滑肌细胞中,miR-222-221 簇通过调节与细胞周期相关靶点 p27 (cdkn1b/Kip1) 和 p57 (Kip2),促进细胞增殖和迁移^[4]。此外,研究表明,miR-222-221 簇促进人类静脉和淋巴管内皮细胞增殖^[5]。最近研究显示,在斑马鱼模型中,miR-222-221 簇通过依赖 NOTCH 及调节 PIK3R1 和 p27 两个靶点促进内皮细胞增殖^[6]。这些资料显示,miR-222-221 簇对血管内皮细胞的增殖、迁移、凋亡发挥至关重要的调节作用。

血管紧张素 II 在血管内皮炎症和心血管疾病中扮演重要角色。血管紧张素 II 通过调节 AT1R 产生生理效应。研究发现,miR-155 通过调节 AT1R 参与许多生物过程,包括造血、炎症和免疫等^[7]。此外,Zhu 等^[8]发现,在人类脐静脉内皮细胞中,过表达 miR-155 调节血管紧张素 II 并诱导内皮炎症和迁移。另外,过表达 miR-155 通过调节 Ets-1 在新生血管、血管重塑和炎症反应中扮演重要角色^[9]。这些研究结果提示,miR-155 通过 AT1R 和 Ets-1 参与血管内皮细胞增殖。

2.2 miRNA 促进血管内皮细胞凋亡

年龄增长是心血管疾病一个独立危险因素。研究发现,血管内皮细胞对动脉血管生理功能具有重要作用。另外,内皮功能障碍主要表现为细胞凋亡及内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 生产的一氧化氮 (nitric oxide, NO) 减少。提示,内皮细胞对维持血管正常功能具有重要意义。

Qin 等^[10]经过生物学信息分析表明,在氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-

LDL) 刺激下,过表达 miR-365 通过调节 Bcl-2 促进内皮细胞凋亡。进一步研究发现,低表达 miR-365 通过部分修复 Bcl-2 的 miRNA 和蛋白表达水平来减少 ox-LDL 介导的人脐静脉内皮细胞凋亡。这些研究提示,miRNA 对 ox-LDL 介导的人脐静脉内皮细胞凋亡具重要调节作用。另外,过表达 miR-365 通过调节 Bcl-2 加强 ox-LDL 诱导内皮细胞凋亡,为治疗心血管疾病提出新的治疗靶点。此外,研究发现,过表达 miR-21 通过减少凋亡及增加 NO 途径影响内皮细胞功能^[11]。这些研究结果提示,miRNA 对血管内皮细胞凋亡具有重要的调节作用。

2.3 miRNA 参与血管内皮细胞衰老

在心血管系统中,miR-34a 通过调节 SIRT1 在细胞衰老和血管生成中起重要作用。研究表明,miR-34a 通过调节 SIRT1 诱导内皮细胞衰老并阻滞细胞周期^[12]。另外,与小龄大鼠相比,miR-34a 高表达于年老大鼠的心脏和脾脏;相反,SIRT1 表达水平随大鼠年龄增长而下降。另一项研究发现,miR-34a 通过诱导细胞衰老及抑制内皮祖细胞来阻滞血管新生,此外,miR-34a 通过调节 SIRT1 下游靶点 FoxO1 来增强细胞衰老水平^[13]。这些结果提示,miR-34a 通过调节 SIRT1 在内皮细胞衰老和血管新生过程中起重要的作用。

miRNA 表达谱一项研究发现,将衰老人类脐静脉内皮细胞与新生内皮细胞进行对比,miR-217 在衰老内皮细胞中显著上调而在新生内皮细胞中显著下降。此外,去乙酰 FoxO1 基因对 miR-217 调控 SIRT1 水平改变有重要作用^[14]。体外研究发现,miR-217 水平与 SIRT1 在人类颈动脉内膜切除术的动脉粥样硬化斑块患者中的表达呈负相关。这些结果提示,miR-217 在内皮细胞衰老过程中起重要作用。

2.4 miRNA 参与血管内皮细胞炎症

研究发现,miR-31 和 miR-17-3P 通过调节肿瘤坏死因子靶点 SELE 和 ICAM-1 促使中性粒细胞向内皮细胞结合。相反地,某些 miRNA 拟态转录降低中性粒细胞黏附内皮细胞^[15]。这些研究资料揭示,诱导 miRNA 构成一个负反馈回路来控制内皮炎症。

研究发现,NF- κ B 参与内皮的炎症反应^[16]。此外,在炎症刺激下,I κ B 激酶被激活并磷酸化,促进炎症基因高表达^[17]。然而,P-选择素、SELE、ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 和 MMP 表达水平与 NF- κ B 调节作用密切相关^[18]。最近研究表明,在体内和体外,miR-10a 通过调节 NF- κ B 参与动脉粥样硬化病理生

理过程^[19]。研究提示,miR-10a 参与血管内皮细胞炎症调节。

2.5 miRNA 参与血管内皮细胞功能相关信号通路调节

miR-23-27-24 簇位于基因组不同位置:miR-23b、miR-27b 位于人染色体 9q22. 32;miR-23a、miR-27a 和 miR-24-2 位于人染色体 19q13. 13;miR-24-1 位于内含子区。研究发现,miR-23-27 基因沉默将阻碍 MAP 和 PI3K-AKT 蛋白激酶信号转导通路,其通过抑制内皮生长因子参与肿瘤血管生成。另外,在刺激情况下,血管内皮生长因子通过抑制 Sprouty2 和 sema6A 两个靶基因来维持 RAC/RAF/ERK 信号通路^[20-22]。新近资料显示,在心肌梗死后,miR-24 通过激活促凋亡信号通路对心功能进行调控,而 GATA2 和 p21 激活的蛋白激酶 Pak1 可能是 miR-24 促凋亡的靶点之一^[23]。

研究发现,miR-126 是调控血管生成的关键信号因子^[24]。新近研究发现,miR-126 通过抑制血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1) 及 VEGF-A 对血管炎症进行调控^[25]。此外,在体内和体外,miR-10a 通过

调节 NF-κB 信号通路参与动脉粥样硬化病理生理过程^[19]。这些研究结果提示,miRNA 参与血管内皮细胞功能相关信号通路调节。

2.6 miRNA 参与氧化应激血管内皮细胞功能调节

氧化应激是引起各种心脑血管疾病的主要原因,包括心肌缺血、缺血再灌注损伤、糖尿病血管病变、动脉粥样硬化及老龄化等^[26]。研究发现,在 200 μmol/L H₂O₂ 氧化应激下,miR-200 族在内皮细胞中显著上调;miR-200c 通过 ZEB1 抑制内皮细胞增殖,促进内皮细胞凋亡和衰老^[27]。此外,miR-200 族诱导另一个重要的自由基,其在调节血管内皮功能中起举足轻重的作用。另外,H₂O₂ 促使增加 p53 表达和增强视网膜母细胞瘤蛋白磷酸化水平,加强 ZEB1 与 miR-200-反馈通路,以上因素引起 miR-200c 上调^[28]。另一项研究发现,在氧化应激下,miR-141、miR-200a、miR-200b、miR-429 等基因在内皮细胞中均显著上调^[29]。以上研究提示,氧化应激下,miRNA 对血管内皮细胞功能具重要调节作用。表 1 简要总结了一些与血管内皮细胞功能特点及心血管疾病相关的 miRNA。

表 1. 与血管内皮细胞功能特性相关的 miRNA
Table 1. Related miRNA of endothelial cell functional characteristics

| miRNA | 表达状态 | 生物学功能特性 | 靶点基因 | 参考文献 |
|-----------|------|-------------|---------------------------|--------|
| miR-222 | 上调 | 促进内皮细胞增殖 | p27 (Kip1)、p57 (Kip2) | [4] |
| miR-221 | 上调 | 促进内皮细胞增殖 | p27 (Kip1)、p57 (Kip2) | [4] |
| miR-155 | 上调 | 促进内皮炎症和迁移 | VCAM-1、MCP-1、FLT1、AT1R | [7] |
| miR-365 | 上调 | 促进内皮细胞凋亡 | Bcl-2 | [10] |
| miR-21 | 上调 | 抑制内皮细胞凋亡 | 内皮型一氧化氮合酶 | [11] |
| miR-200c | 上调 | 促进内皮细胞凋亡和衰老 | ZEB1 | [27] |
| miR-34a | 上调 | 抑制细胞衰老和血管生成 | SIRT1 | [12] |
| miR-217 | 上调 | 促进内皮细胞衰老 | SIRT1 | [14] |
| miR-126 | 上调 | 促进内皮细胞衰老 | VCAM-1 | [25] |
| miR-31 | 上调 | 诱导内皮细胞黏附因子 | SELE、ICAM-1 | [15] |
| miR-17-3P | 上调 | 诱导内皮细胞黏附因子 | SELE、ICAM-1 | [15] |
| miR-10a | 下调 | 促进内皮细胞炎症 | IκB/NF-κB | [19] |
| miR-24 | 上调 | 促内皮细胞凋亡 | Pak1 | [23] |
| miR-126 | 上调 | 调控血管炎症 | VCAM-1 | [24] |

3 内皮型 miRNA 对内皮细胞功能的影响

研究发现,哺乳动物基因组编码的高度保守 miRNA 能调控大约 60% 的蛋白编码基因。miRNA

对心血管疾病和下游蛋白信号的反馈回路具有非常重要的调控作用,这一特性显示,miRNA 已广泛参与心血管系统的调控。研究表明,Dicer 酶对血管生成具有重要作用。Dicer 突变小鼠胚胎和卵黄囊

显示血管生成缺陷^[30];此外,小鼠内皮特异性 Dicer 酶缺失,在出生后表现为对各种刺激产生的血管生成反应缺陷,包括外源性 VEGF、肿瘤、肢体缺血和伤口愈合^[31]。此外,在内皮细胞中,沉默 Drosha 酶能使毛细血管生成降低^[32]。以上研究提示,内皮细胞中特异性基因突变与心血管疾病的病理生理过程密切相关。研究表明,miR-126、miR-17-92、miR-23-27-24、miR-222-221、miR-31 和 miR-17-3P 等基因均在内皮细胞增殖、迁移、凋亡、衰老及炎症等中发挥重要作用。目前,对内皮细胞中保守 miRNA 的研究取得新的进展,称之为内皮型 miRNA。

综上所述,越来越多的证据表明 miRNA 对心血管疾病的病理生理发展具有关键的调节作用^[33,34]。miRNA 在心血管疾病方面的研究已经成为一个新的“热点”。随着研究的深入,可能发现 miRNA 更多潜在的靶点,从而为 miRNA 用于临床治疗心血管疾病提供更坚实的理论基础。

4 问题与展望

最近的研究显示,越来越多的 miRNA 被陆续发现,生物学功能也逐渐得到阐明。miRNA 在调节内皮细胞功能和各种疾病的病理过程中扮演着重要角色,然而 miRNA 在心血管疾病中的功能及其分子作用机制仍有待探讨。其中 miRNA 对内皮细胞功能调节及其与心血管疾病的初步研究为我们解决这一问题提供突破口。但 miRNA 对心血管疾病的一些重要的相关基因的具体调节作用尚不明确,有待鉴别其作用靶点,亟待探明分子作用机制以及作用方式。此外,芯片已被广泛用于探索各种病理生理状态的不同作用。许多基因芯片研究显示,miRNA 可用于疾病的诊断、预后和治疗。最近的研究显示,miRNA 在调节血管内皮细胞和各种病理过程中发挥重要作用,而循环 miRNA 作为诊断生物学具有重要的意义。目前,循环 miRNA 已成为心血管疾病潜在的新型的生物标志物,但其预后的预测作用和治疗反应尚未确定。然而,某些 miRNA 在血管内皮细胞方面的调控功能具有重叠性。因此,鉴定 miRNA 和分析其靶点的功能,可能为调节血管内皮细胞和心血管疾病的病理机制提供新的见解。此外,研究特异性 miRNA 对心血管疾病的病理调控影响和作用机制,并了解 miRNA 和信号转导通路之间复杂的相互作用,有助于从新的领域和视角认识心血管系统相关的生理、病理变化过程,为心血管疾病的病理机制的研究找到新的切入点,为

研发治疗心血管疾病的新药开拓新的思路。

[参考文献]

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 75 (5): 843-854.
- [2] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 2000, 403 (6772): 901-906.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136 (5): 215-233.
- [4] 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 (32): 476-487.
- [5] Chen Y, Banda M, Speyer CL, et al. Regulation of the expression and activity of the antiangiogenic homeobox gene GAX/MEOX2 by ZEB2 and microRNA-221 [J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30 (7): 3 902-913.
- [6] Nicoli S, Knyphausen CP, Zhu LJ, et al. miR-221 is required for endothelial tip cell behaviors during vascular development [J]. *Dev Cell*, 2012, 22 (19): 418-429.
- [7] Martin MM, Lee EJ, Buckenberger JA, et al. miRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblasts [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (27): 18 277-284.
- [8] Zhu N, Zhang D, Chen S, et al. Endothelial enriched miRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215 (2): 286-293.
- [9] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. Circulating miRNAs in patients with coronary artery disease [J]. *Circ Res*, 2010, 107 (5): 677-684.
- [10] Qin B, Xiao B, Liang D, et al. MicroRNAs expression in ox-LDL treated HUVECs: MiR-365 modulates apoptosis and Bcl-2 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410 (1): 127-133.
- [11] Cheng YH, Zhu P, Yang J, et al. Ischaemic preconditioning-regulated miR-21 protects heart against ischaemia/reperfusion injury via anti-apoptosis through its target PD-CD4 [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87 (3): 431-439.
- [12] Ito T, Yagi S, Yamakuchi M. MicroRNA-34a regulation of endothelial senescence [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398 (4): 735-740.
- [13] 黎健. miR-34a 调控内皮祖细胞介导的血管新生 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19 (3): 232-233.
- [14] Menghini R, Casagrande V, Cardellini M, et al. MicroRNA-217 modulates endothelial cell senescence via silent information regulator 1 [J]. *Circulation*, 2009, 120

- (15): 1 524-532.
- [15] Suarez Y, Wang C, Manes TD, 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.
- [16] Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF-kappaB, inflammation, and metabolic disease [J]. *Cell Metab*, 2011, 13 (1): 11-22.
- [17] Winther MP, Kanters E, Kraal G, et al. Nuclear factor kappaB signaling in atherogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25 (5): 904-914.
- [18] Savoia C, Schiffrin EL. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2007, 112 (7): 375-384.
- [19] Fang Y, Shi C, Manduchi E, et al. MicroRNA-10a regulation of proinflammatory phenotype in athero-susceptible endothelium in vivo and in vitro [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107 (30): 13 450-455.
- [20] Fiedler J, Jazbutyte V, Kirchmaier BC, et al. MicroRNA-24 regulates vascularity after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2011, 124 (35): 720-730.
- [21] 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 Nat Acad Sci USA*, 2011, 108 (28): 8 287-292.
- [22] Urbich C, Kaluza D, Fromel T, et al. MicroRNA-27ab controls endothelial cell repulsion and angiogenesis by targeting semaphorin 6A [J]. *Blood*, 2012, 119 (6): 1 607-616.
- [23] Conaco C, Otto S, Han JJ, et al. Reciprocal actions of REST and a microRNA promote neuronal identity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103 (7): 2 422-427.
- [24] Ye P, Liu J, He F, et al. Hypoxia-induced deregulation of miR-126 and its regulative effect on VEGF and MMP-9 expression [J]. *Int J Med Sci*, 2013, 11 (1): 17-23.
- [25] Zhu N, Zhang D, Xie H, et al. Endothelial-specific intron-derived miR-126 is down-regulated in human breast cancer and targets both VEGFA and PIK3R2 [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351 (1-2): 157-164.
- [26] Whaley-Connell A, McCullough PA, Sowers JR. The role of oxidative stress in the metabolic syndrome [J]. *Rev Cardiovasc*, 2011, 12 (1): 21-29.
- [27] Xu S, Zhang R, Niu J, et al. Oxidative stress mediated-alterations of the microRNA expression profile in mouse hippocampal neurons [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 16 945-960.
- [28] Magenta A, Cencioni C, Fasanaro P, et al. miR-200c is upregulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18 (8): 1 628-639.
- [29] Alessandra M, Simona G, Carlo G, et al. Oxidative stress and microRNAs in vascular diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14 (15): 17 319-346.
- [30] Yang WJ, Yang DD, Na S, et al. Dicer is required for embryonic angiogenesis during mouse development [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (10): 9 330-335.
- [31] Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, et al. Dicer dependent miRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells [J]. *Circ Res*, 2007, 100 (8): 1 164-173.
- [32] Kuehnbacher A, Urbich C, Zeiher AM, et al. Role of dicer and drosha for endothelial miRNA expression and angiogenesis [J]. *Circ Res*, 2007, 101 (1): 59-68.
- [33] 徐竟鸥, 欧和生. MicroRNAs 在心血管疾病中作用的研究进展 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2009, 22 (5): 451-455.
- [34] 方石虎, 李志梁, 李锋进, 等. 心肌梗死急诊经皮冠状动脉介入治疗前后全血中 miR-92a 的表达 [J]. *中国现代医学杂志*, 2013, 23 (14): 54-57.

(此文编辑 文玉珊)