

microRNA 对 ABCA1 调控的研究进展

刘倩¹ 综述, 边云飞², 肖传实³ 审校

(1. 山西医科大学, 2. 山西医科大学第二医院, 3. 山西医科大学第一医院, 山西省太原市 030001)

[关键词] microRNA; ATP 结合盒转运体 A1; 胆固醇流出; 高密度脂蛋白

[摘要] microRNA (miRNA) 对许多生物学过程具有微调作用, ATP 结合盒转运体 A1 (ABCA1) 是调节高密度脂蛋白 (HDL) 代谢和功能的关键蛋白。目前已发现多种 miRNA 可抑制 ABCA1 表达, 进而抑制胆固醇流出, 降低血清 HDL 水平。而沉默 miRNA 或抑制其表达则无法抑制胆固醇流出, 血清 HDL 水平无改变。目前对 miRNA 调控 ABCA1 表达进行了大量研究, 有望带来治疗技术的革新, 在调节脂代谢和抗动脉粥样硬化领域具有广阔前景。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Research Progress About MicroRNA Regulating ABCA1

LIU Qian¹, BIAN Yun-Fei², and XIAO Chuan-Shi³

(1. Shanxi Medical University, 2. The Second Hospital of Shanxi Medical University, 3. The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] MicroRNA; ATP Binding Cassette Transporter A1; Cholesterol Efflux; High Density Lipoprotein

[ABSTRACT] MicroRNA (miRNA) have the fine-tune effect to many biological processes, while ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) is the key protein to regulate high density lipoprotein (HDL) metabolism and function. It has been found that a variety of miRNA can inhibit the expression of ABCA1, thereby inhibit the cholesterol efflux, decrease the serum HDL levels. Silencing or inhibiting miRNA expression can not suppress the cholesterol efflux, neither the serum HDL levels changed. Currently people make a lot of studies on miRNA regulating ABCA1 expression, so it is expected to bring revolutions to the treatment technology, and has broad prospects in the field of lipid-regulation and anti-atherosclerosis.

血清高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 水平与冠心病患病率呈负相关, 低 HDL 水平是冠心病的独立危险因素^[1]。研究表明, ATP 结合盒转运体 A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1) 可调控 HDL 的合成, 而多种 microRNA (miRNA) 均可对 ABCA1 的表达进行调节^[2]。本文旨在通过回顾近年来国内外发表的文献, 总结 miRNA 调节 ABCA1 的规律, 为将 miRNA 应用于调节胆固醇逆转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 和抗动脉粥样硬化等治疗学领域提供参考。

个核苷酸, 最早在 *Caenorhabditis elegans* 体内发现。大多数初级 miRNA 被 RNA 酶 Dasha 共转录加工, 形成前体 miRNA 被运送至胞质, 另一种 RNA 酶 Dicer 将其裂解, 形成成熟的 miRNA。其特性高度保守, 不编码蛋白质, 但可在翻译水平调控基因表达^[3]。研究发现, miRNA 通过形成 RNA 诱导沉默复合体与靶标 mRNA 的 3' 非转录区 (untranslated region, UTR) 互补结合, 在转录后水平直接降解靶标 mRNA 或抑制蛋白质翻译, 对许多生物学过程具有微调作用^[4]。

1 miRNA 概述

miRNA 是一类单链小 RNA, 长度约 20 ~ 22 (nt)

2 ABCA1 的研究进展概述

ABCA1 属于三磷酸腺苷结合盒转运体家族, 是

[收稿日期] 2014-06-09

[修回日期] 2014-08-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助 (81341025)

[作者简介] 刘倩, 硕士研究生, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail 为 ayan551@sina.com。边云飞, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病基础与临床。通讯作者肖传实, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病基础与临床, E-mail 为 ganxi-baozhongxin@163.com。

调节 HDL 代谢和功能的关键蛋白^[5]。ABCA1 的 3' UTR 长度 >3.3 kb,增加了 miRNA 转录后调节的稳定性。ABCA1 表达于肠上皮细胞的基底外侧膜、肝细胞和巨噬细胞,介导了磷脂和胆固醇转运至贫脂载脂蛋白 ApoA I,后者作为 HDL 的前体,可稳定 HDL 颗粒,参与 RCT 的起始及限速阶段。ABCA1 促进初级的 HDL 走向成熟,过表达的 ABCA1 也可升高 HDL 水平^[6]。通过对特异组织敲除 ABCA1 的小鼠进行研究发现,肝和小肠分别控制 80% 和 20% 的 HDL 生成。ABCA1 对于巨噬细胞调节甾醇类的平衡同样重要^[7]。突变的 ABCA1 可引起 Tangier 病,使得胆固醇流出缺乏,胆固醇酯聚集于巨噬细胞,血清 HDL 水平 < 正常的 5%,形成高胆固醇血症和高甘油三酯血症,极大地增加了患动脉粥样硬化的风险^[8]。在中枢神经系统,髓鞘形成、树突细胞分化、突触获得活性都要利用胆固醇,ABCA1 可促进胆固醇流向 ApoE,维持中枢神经系统的胆固醇平衡^[9]。新近研究发现,定位于 16 号染色体长臂 23 ~ 24 位点的包含 WW 域的氧化还原酶(WW domain containing oxidoreductase, WWOX)基因可调节 ABCA1。有研究发现该基因敲除小鼠肝组织 ABCA1 mRNA 和蛋白含量减少,推测该通路是其调节 HDL 和脂代谢的方式之一^[10]。

3 miRNA 对 ABCA1 的调控

许多种类的 miRNA 通过对 ABCA1 的调控参与胆固醇的生成、转运和调节过程。因此,深入研究 miRNA 对 ABCA1 的调控过程对于了解 RCT 的机制及今后人工干预、药物合成大有裨益。

3.1 miR-33 对 ABCA1 的调控

Rayner 等^[11]培养了 THP-1、HepG2 等细胞和 LDLR^{-/-}小鼠,通过细胞水平和在体研究表明,miR-33 通过抑制肝脏 ABCA1 的表达来调控 HDL 的生成和细胞内胆固醇流出,进而使其达到代谢平衡。该团队在另一项研究中发现,对 LDLR^{-/-}动脉粥样硬化模型小鼠抗 miR-33 治疗可以升高包括肝 ABCA1 在内的 miR-33 靶向基因的表达,进而升高 HDL 水平,促进了在体 RCT^[12],从反面证明了 miR-33 的作用机制。Horie 等^[13]检测到 miR-33^{-/-} ApoE^{-/-}小鼠外周血巨噬细胞和肝脏 ABCA1 的 mRNA 及其蛋白表达增加,验证了在体 miRNA 基因缺乏时高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)和胆固醇流出率依然上调,为探

寻 miRNA 基因缺乏的长期效应提供了思路。Rayner 等^[14]通过对非洲绿猴系统输注抗 miR-33 寡核苷酸导致肝 ABCA1 表达升高,肝细胞 ABCA1 蛋白水平增多,血清 HDL 也持续增加。在巨噬细胞富集的脾脏,ABCA1 mRNA 也上调。该实验进一步证明了在非人类的灵长目动物中,抑制 miR-33a/b 同样可升高血清 HDL 水平,为今后在人体验证抗 miR-33 药物疗效开辟了道路。然而 Marquart 等^[15]却发现长期沉默 miR-33 并未升高血清 HDLC 水平,也不能减缓 LDLR^{-/-}小鼠动脉粥样硬化进程。实验中对小鼠进行抗 miR-33 处理,miR-33 水平下降了 75%,而其靶点 ABCA1 的表达却比对照组显著增高。这些小鼠肝 ABCA1 的改变与血清 HDLC 的升高并不平行,说明控制血清 HDL 合成的机制很复杂,也许体内存在代偿机制,或该通路尚有我们未知的环节。目前已知 miR-33 拥有 2 个亚基:miR-33a 和 miR-33b,分别定位于 SREBP2、SREBP1 基因,大多数哺乳动物包含 miR-33a 和 miR-33b,而小鼠和其他啮齿类只有 miR-33a^[16]。基于此,Goedeke 等^[17]证实了 miR-33a* 和 miR-33b* 作为 miR-33a 和 miR-33b 的过路链条,在小鼠、人类及非人类的灵长目动物体内保持稳定水平,与其姐妹链一样,具有相似的脂代谢靶基因,抑制胆固醇流出的关键酶如 ABCA1。王昊^[18]则在人原代肝细胞中,通过高浓度胰岛素干预,SREBP1c 和 miR-33b 基因的表达上调,从而抑制了 ABCA1、ABCG1 mRNA 和蛋白的表达,以及 ApoA I 介导的胆固醇流出。

3.2 miR-758 对 ABCA1 的调控

Ramirez 等^[9]阐明了 miR-758 直接结合于 ABCA1 的 3' UTR,抑制巨噬细胞和肝细胞 ABCA1 蛋白的表达,调节巨噬细胞内胆固醇流出到 ApoA I。miR-758 作用于 ABCA1 使神经细胞内胆固醇得以储存,细胞内 miR-758 水平能够影响神经元中胆固醇的稳态。

3.3 miR-144 对 ABCA1 的调控

同样,Ramirez 等^[19]发现了过表达 miR-144 减少巨噬细胞 ABCA1 的表达和胆固醇流出到 ApoA I。向小鼠体内注射 miR-144 寡核苷酸可减少肝 ABCA1 表达,降低 HDL 水平;而沉默 miR-144 则增加肝 ABCA1 表达,提高血清中 HDL 水平。可知 miR-144 通过抑制 ABCA1 表达来调节胆固醇代谢。

3.4 miR-27a/b 对 ABCA1 的调控

miR-27a/b 也被证实在哺乳动物序列高度保

守,结合在 ABCA1 的 3' UTR,靶向于 ABCA1。在很多种细胞中,miR-27a/b 均可调节 ABCA1,如 HepG2 细胞、THP-1 巨噬细胞和 RAW 264.7 巨噬细胞。miR-27a/b 还可以减少胆固醇流出到 ApoA I 而不影响总胆固醇水平^[20]。

3.5 miR-26 对 ABCA1 的调控

肝 X 受体(liver X receptor, LXR)是一种核激素受体,通过激活如 ABCA1、ABCG1 这样的胆固醇逆转运基因,防止细胞胆固醇超载^[21]。配体活化的 LXR 增加胆固醇从外周组织流出,抑制动脉粥样硬化进程,促进其转归,具有抗动脉粥样硬化的潜力^[22]。在 Sun 等^[23]的实验中,miR-26 也显示出在转录水平特异调节 LXR 的能力。miR-26 保守结合于 ABCA1 的 3' UTR,对其进行抑制,并下调 ABCA1 在被 LXR 活化的巨噬细胞中的表达。miR-26 与被 LXR 活化的巨噬细胞中的 ABCA1 呈负相关关系,控制 LXR 调节的胆固醇流出。

4 利用 miRNA 调控 ABCA1 表达存在的问题

随着对 miRNA 作用机制研究的不断深入,许多利用其特性开发新药的研究也在逐渐展开。miRNA 调控的信号通路也将成为治疗的新方向,miRNA 在体调节效应也许会引发药物治疗学研究的革命^[23]。对比 ABCA1 和其他调节胆固醇代谢的基因,我们发现 ABCA1 的 3' UTR 确实太长了,极大地增加了 miRNA 转录后调节的可能性。不同的预测方法都显示出 ABCA1 可能被 100 个 miRNA 调节^[24]。针对 miRNA 治疗学的手段无非抑制和过表达,而利用反义链这种基因间的化学作用达到抑制效果的方法显然比用模拟物过表达更先进。反义序列需要通过修饰才能实现其稳定性和组织分布浓度。在心血管领域,反义 miRNA 的使用仍处于临床前阶段。只有一种 miRNA 抑制剂,即治疗丙肝病毒感染的抗 miR-122,已经通过 2 期临床试验^[25]。心血管药品仍缺乏大量动物实验和 1 期、2 期临床试验^[26]。现阶段多数实验所用的剂量并不统一,同一种 miRNA 反义链经不同的化学修饰产生的效果也不同。一种 miRNA 可有多个靶点,如何能使其靶向于目的基因? 同时,更多的细节需要我们去思考、提高:如何建立有效的动物模型、怎样使 miRNA 模拟物更精准地调节、拮抗剂应考虑不同个体间年龄、心血管危险因素的差异。

5 展望

近几年,各学科针对 miRNA 的研究十分热门,在心血管领域也成果喜人。miRNA 参与了动脉粥样硬化形成的多个阶段:脂代谢、胆固醇平衡、内皮功能障碍和炎症^[27]。在迅猛推进的研究背景下,miRNA 与 ABCA1 的更多关联将会被阐明,用抑制相关 miRNA 的方法干预 ABCA1 的表达也可为促进 RCT 和抗动脉粥样硬化治疗提供新的希望,具有广阔的治疗前景。

[参考文献]

- [1] 赵水平. 血脂异常[M]. 上海交通大学出版社, 2009.
- [2] Moore KJ, Rayner KJ, Yajaira Suárez, et al. The role of microRNAs in cholesterol efflux and hepatic lipid metabolism[J]. *Annu Rev Nutr*, 2011 (31): 49-63.
- [3] Rooij EV. The art of microRNA research[J]. *Circ Res*, 2011, 108 (2): 219-234.
- [4] Scherr M, Venturini L, Battmer K, et al. Lentivirus-mediated antagomir expression for specific inhibition of miRNA function[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35 (22): e149.
- [5] Van Eck M, Van Berkel TJ. ATP-binding cassette transporter A1 in lipoprotein metabolism and atherosclerosis: a new piece of the complex puzzle[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33 (10): 2 281-283.
- [6] 张晓菲, 谭晓华, 杨磊. ABCA1 在胆固醇逆转运中作用的研究进展[J]. *健康研究*, 2010, 30 (3): 214-217.
- [7] Zhao C, Dahlman-Wright K. Liver X receptor in cholesterol metabolism [J]. *J Endocrinol*, 2010, 204 (3): 233-240.
- [8] Fitzgerald ML, Mujawar Z, Tamehiro N. ABC transporters, atherosclerosis and inflammation[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 211 (2): 361-370.
- [9] Ramirez CM, Dávalosa A, Goedeke L, et al. MicroRNA-758 regulates cholesterol efflux through post-transcriptional repression of ABCA1[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31 (11): 2 707-714.
- [10] Iatan I, Choi HY, Ruel I, et al. The WWOX gene modulates high-density lipoprotein and lipid metabolism[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014, 7 (4): 491-504.
- [11] Rayner KJ, Suárez Y, Dávalos A, et al. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis[J]. *Science*, 2010, 328 (5985): 1 570-573.
- [12] Rayner KJ, Sheedy FJ, Moore KJ. Antagonism of miR-33 in mice promotes reverse cholesterol transport and regression of atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121 (7): 2 921-931.

- [13] Horie T, Horiguchi M, Nakamura T, et al. MicroRNA-33 deficiency reduces the progression of atherosclerotic plaque in ApoE^{-/-} mice[J]. J Am Heart Assoc, 2012, 1 (6): e003376.
- [14] Rayner KJ, Esau CC, Hussain FN, et al. Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides [J]. Nature, 2011, 478 (7 369): 404-407.
- [15] Marquart TJ, Wu J, Lusis AJ, et al. Anti-miR-33 therapy does not alter the progression of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33 (3): 455-458.
- [16] Rayner KJ, Fernández-Hernando C, Moore KJ. MicroRNAs regulating lipid metabolism in atherogenesis [J]. Thromb Haemost, 2012, 107 (4): 642-647.
- [17] Goedeke L, ValesLara FM, Fernández-Hernando C, et al. A regulatory role for microRNA 33* in controlling lipid metabolism gene expression[J]. Mol Cell Biol, 2013, 33 (11): 2 339-352.
- [18] 王昊. microRNA-33 在代谢综合征相关 HDL 异常中的作用及机制探讨[D]. 中南大学, 2012 .
- [19] Ramírez CM, Rotllan N, Vlassov AV, et al. Control of cholesterol metabolism and plasma high-density lipoprotein levels by microRNA-144 [J]. Circ Res, 2013, 112 (12): 1 592-601.
- [20] Zhang M, Wu J, Chen W, et al. MicroRNA-27a/b regulates cellular cholesterol efflux, influx and esterification/hydrolysis in THP-1 macrophages [J]. Atherosclerosis, 2014, 234 (1): 54-64.
- [21] Goedeke L, Fernández-Hernando C. Regulation of cholesterol homeostasis[J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69 (6): 915-930.
- [22] 唐朝克, 杨永宗. LXR 和 ABCA1 对体内胆固醇代谢的调节作用[J]. 生命的化学, 2003, 23 (5): 381-384.
- [23] Sun D, Zhang J, Xie J, et al. MiR-26 controls LXR-dependent cholesterol efflux by targeting ABCA1 and ARL7 [J]. FEBS Lett, 2012, 586 (10): 1 472-479.
- [24] Rooij EV, Purcell AL, Levin AA. Developing microRNA therapeutics[J]. Circ Res, 2012, 110 (3): 483-495.
- [25] Dávalosa A, Fernández-Hernando C. From evolution to revolution: miRNAs as pharmacological targets for modulating cholesterol efflux and reverse cholesterol transport [J]. Pharmacol Res, 2013, 75: 60-72.
- [26] Rooij EV, Olson N. MicroRNA therapeutics for cardiovascular disease: opportunities and obstacles [J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11 (11): 860-872.
- [27] Aryal B, Rotllan N, Fernández-Hernando C. Noncoding RNAs and atherosclerosis [J]. Curr Atheroscler Rep, 2014, 16 (5): 407.
- [28] Condorelli G, Latronico MV, Cavarretta E. microRNAs in cardiovascular diseases: current knowledge and the road ahead [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63 (21): 2 177-187.
- (此文编辑 文玉珊)