

miR-145 在动脉粥样硬化发展中的作用

仲威 综述, 严金川 审校

(江苏大学附属医院心内科, 江苏省镇江市 212001)

[关键词] miR-145; 动脉粥样硬化; 平滑肌细胞; 斑块

[摘要] 动脉粥样硬化(As)是一种由炎症、固有免疫以及脂质浸润等多种因素参与的综合性病变。miRNA 是一类长度约 18~24 nt 的具有调节功能的非编码 RNA, 是基因转录后水平的重要调控者, 能够调节细胞内的反应与功能。研究表明, miRNA 参与了多种血管疾病的进程, 如在 As 的各个阶段中均有 miRNA 的功能异常, 其中, miR-145 能够通过调节下游多种靶基因表达, 从而影响细胞的增殖、迁移以及细胞表型转变, 在 As 的发生、发展中起着重要作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Role of miR-145 in the Development of Atherosclerosis

ZHONG Wei, and YAN Jin-Chuan

(Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] miR-145; Atherosclerosis; Smooth Muscle Cell; Plaque

[ABSTRACT] Atherosclerosis is one of the comprehensive diseases which caused by several factors such as inflammation, innate immunity and lipid infiltration. MiRNA comprise a novel class of endogenous, small RNA of 18~24 nucleotides that regulate the expression of target gene at posttranscriptional level. MiRNAs' dysfunction is involved in all the stages of atherosclerosis. Among these miRNAs, miR-145 can affect the proliferation, migration and phenotype transformation of cells and participate in atherosclerosis, through regulating the target gene downstream.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是由炎症、免疫机制以及脂质浸润等多种因素参与的综合性病变, 能够引起包括冠状动脉、外周动脉在内的多种血管病变, 严重危害人类健康^[1]。

miRNA 被认为是基因和生物通路的微观调控者。不同类型的细胞, 或者同种细胞在不同时期或不同环境下, 其 miRNA 的表达具有差异性。有的 miRNA 可以广泛表达于多种细胞, 而有的则特异性表达于某种细胞, 甚至是只有在特定条件下(如炎症、缺氧、损伤等)才会显著表达^[2]。因此, miRNA 的功能失调与多种疾病相关, 包括 As、代谢综合征、神经类疾病等^[3-5]。miRNA 在生物的发展以及组织、器官的形成中具有重要的调节作用。由于不同的疾病也可能会导致不同的 miRNA 的表达, 加上 miRNA 与 mRNA 不同, 其在血液以及其它体液如尿

液、脑脊液中具有一定程度的稳定性, 不像 mRNA 那样被迅速降解, 因此 miRNA 有望成为某些疾病的诊断或者预测工具。同时 miRNA 表达量可以调节, 它也可以作为药物治疗的靶点^[6]。

近几年, 在心血管领域里 miRNA 的研究也有了较大的进展。研究表明, miRNA 在脂质代谢、细胞增殖分化、心脏的形成、心脏瓣膜形成、正常血管的形成和功能的维持以及 As 性和脆性斑块生成中起着重要的作用^[6-7]。

经协惯量分析(co-inertia analysis, CIA)预测, miR-145 在 As 的发生、发展中具有重要作用^[8]。在多种致病因素的影响下, 血管平滑肌向动脉内膜迁移和增殖, 参与了 As 的进展。而 miR-145 能够通过维持平滑肌细胞表型从而抑制平滑肌细胞的迁移、增殖能力, 阻止内膜新生、减少斑块面积^[9]。除此

[收稿日期] 2014-07-16

[修回日期] 2014-09-24

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81170279、81370409); 江苏省六大人才高峰资助项目(WS074); 镇江市心血管病重点实验室资助项目(SS2012002)

[作者简介] 仲威, 硕士研究生, 主要从事动脉粥样硬化研究。通讯作者严金川, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事急性冠状动脉综合征的基础与临床研究, E-mail 为 yanjinchuan@hotmail.com。

之外,还能够通过影响内皮细胞、单核细胞、巨噬细胞等的生长特性,从而影响血管收缩、钙化、炎症反应等 As 相关病理改变。因此,miR-145 可能成为 As 防治与治疗的新靶点。

1 miR-145 与血管平滑肌细胞

miR-145 是正常血管壁中高表达的几种 miRNA 之一,炎症、缺氧、剪切力等因素造成的血管损伤均能使 miR-145 的表达量明显下降^[10]。在血管壁中,miR-145 主要存在于血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 中,而在内皮细胞里几乎不表达。VSMC 根据其分化程度分为收缩型和合成型两种。在正常的血管中,VSMC 以收缩型为主,能够调控血管弹性以及功能,然而在多种疾病因素的影响下,VSMC 发生去分化,转变为合成型 VSMC^[11]。合成型 VSMC 失去了调节血管弹性以及维持血管张力的功能,而分泌、迁移、增殖能力加强,进而参与了 As 的形成及发展^[12]。研究表明,miR-145 能够调控 VSMC 表型的转换,过表达 miR-145 的 VSMC 中, α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、平滑肌肌球蛋白重链 (smooth muscle myosin heavy chain, SM-MHC)、调宁蛋白、平滑肌 22 α (smooth muscle 22 α , SM22 α) 等收缩表型标志物明显增高^[13],而 miR-145 敲除的小鼠血管平滑肌则表现为一种合成型的未分化状态,下调 VSMC 中的 miR-145 能够引起 VSMC 的去分化,并且促进斑块的形成。miR-145 对 VSMC 表型的调控可能与其下游靶基因 Krüppel 样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF4)、Krüppel 样因子 5 (Krüppel-like factor 5, KLF5)、SLIT-ROBO Rho GTPase-激动蛋白 1 (Srgap1)、SLIT-ROBO Rho GTPase-激动蛋白 2 (Srgap2)、Adducin-3 等功能有关^[14]。

2 miR-145 与单核/巨噬细胞

在 As 的早期阶段,单核细胞能够被多种趋化、集落因子如单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白细胞介素 8 (interleukin-8, IL-8) 等募集并进入血管内皮下。内皮下的单核细胞分化为巨噬细胞,在组织的稳态及修复中起着重要作用。然而随着巨噬细胞吞噬过多的脂蛋白,巨噬细胞逐渐分化为泡沫细胞,并分泌多种炎症因子以及其它活性因子,参与斑块的发生、发展^[15]。单核细胞可以分化为 M1、M2、M4、Mox 等不同表型

的巨噬细胞,其中 M2 型巨噬细胞又可以分为 a、b、c、d 四种亚型。目前认为,M1 型巨噬细胞具有致炎性,而 M2 型则具有抗炎性。研究表明,在小鼠 As 中 M1 型巨噬细胞比例明显增高。单核细胞向巨噬细胞的分化可以引起多种 miRNA 含量的改变。在干扰素 γ 及细菌脂多糖联合诱导形成的 M1 细胞中,miR-145 明显降低^[11],而白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4) 刺激单核细胞诱导产生的 M2 型巨噬细胞中 miR-145 显著升高^[16]。目前认为,miR-145 是一种表型相关的 miRNA,但其对巨噬细胞表型调控的具体机制仍不明确,可能是在不同的因子刺激下,引起下游转录因子,如 NF- κ B、Jun、CEBPB 等升高或降低,从而进一步引起 miRNA 含量的改变。然而,也有报道 miR-145 在外周 M2 型巨噬细胞中下降^[11]。除了对表型的调控外,miR-145 还对巨噬细胞的增殖和凋亡有重要调控作用。有研究表明,过表达 miR-145 能够促进巨噬细胞凋亡,并能够减少其炎症相关因子分泌,从而在 As 斑块中起保护作用。另外,动物实验也发现在注射 miR-145 拮抗剂 miR-145 ASO 的小鼠血清中,多种炎症因子如 E-选择素、干扰素 γ 、白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1)、白细胞介素 2 (interleukin-2, IL-2) 等较对照组明显升高。

3 miR-145 与内皮细胞

内皮细胞的功能障碍是 As 的重要环节,其特点主要有:细胞粘附分子表达增多,细胞内损伤性物质一氧化氮、前列环素、内皮素等升高^[17]。另外,早期的 As 则以低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 向血管壁的浸润为主要特点。LDL 进入内皮下间隙并氧化为氧化型低密度脂蛋白 (oxidized LDL, ox-LDL),而后者能够刺激内皮细胞分泌细胞间粘附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和 MCP-1,增加淋巴细胞向内膜聚集、迁移^[18]。

内皮细胞在 As 中,尤其是在不稳定性斑块的形成中有着重要的作用。在不同的疾病或致病因素的影响下,内皮细胞中 miRNA 含量可发生显著的变化。在正常的内皮细胞中,miR-145 表达量很低^[13]。然而,在损伤因素的刺激下 miR-145 的表达量明显增高。研究表明,在剪切力的作用下,内皮细胞内的腺苷酸活化蛋白激酶 α (AMP-activated protein kinase α , AMPK α) 通路激活,并使得下游 p53

磷酸化,而 p53 能够使多种 miRNA 转录增强,其中就包括 miR-145。miR-145 的增多能够引起血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)分泌减少,进而减轻血管紧张度从而保护内皮细胞^[19]。除此之外,内皮细胞中过量的 miR-145 还能够通过微小颗粒分泌到胞外,作用于 VSMC 并引起 VSMC 功能、表型的一系列改变。

4 miR-145 与钙化

血管钙化是慢性炎症性疾病,具有较高的发病率和致死率。对血管壁以及心脏瓣膜钙化的发生机制目前还了解的很少,但目前普遍接受的是,那些在骨骼重塑中起重要作用并为人熟知的信号通路同样也存在于心血管系统。不管在人还是动物模型中,均发现了血管钙化和骨质疏松之间的相关性,即所谓的钙化悖论^[20]。

已有很多研究发现,平滑肌细胞表型向骨形成细胞表型的转变在血管钙化中起着关键的作用。平滑肌细胞和干细胞向骨形成细胞表型的转变受到骨形态生发蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、炎症、氧化应激、高磷酸水平等因素共同调控,而这些因素最终都会通向一类被认为是骨形成转录因子的特定分子模式^[21]。在中膜钙化中,平滑肌细胞经历了从收缩表型向促粥样硬化的合成表型转变,失去了平滑肌特有的标记基因,同时却获得了骨形成表型的标记以及储存矿质化骨样基质的功能。研究表明,在钙化的 As 内膜斑块中,平滑肌细胞是骨形成细胞最主要的来源。平滑肌细胞的骨形成样分化同样可以表现为传统的一些平滑肌标志性 miRNA 的丢失。如能够促进平滑肌细胞分化,并抑制其增殖,从而维持平滑肌表型的 miR-143/145 簇,同样与血管钙化相关。将平滑肌细胞在含磷的培养基中培养可以导致 miR-143/145 的表达下调^[22]。同时,上述 miRNA 在 20 周龄 ApoE 基因敲除小鼠主动脉中也显著下调。尽管目前还没有实验证明 miR-143/145 簇与血管钙化直接相关,但一些与钙化相关的疾病也为这一假设提供了依据。miR-145 能够通过调控下游 KLF4 来促进平滑肌细胞分化,而 KLF4 同时也介导了高磷酸水平诱导的平滑肌向骨形成细胞的转变。阻断 miR-145 可以促进平滑肌细胞表型由收缩型向合成型的转变,并伴随着平滑肌标记物(α -SMA 等)下调,而这些标记物的下调也见于骨形成型平滑肌细胞。另外, CAD 患者循环 miR-145 水平下降,不稳定性斑块中

miR-145 也呈特异性改变,而微血管钙化往往包含于不稳定性斑块中。

5 miR-145 与血管

As 中的新生血管形成受到多重因素的调控,如机体稳态、炎症、组织生成和重塑等。血管形成的早期阶段包括内皮细胞增殖、迁移、毛细血管形成、毛细血管抽芽并且长入斑块内促进组织再生^[23]。miRNA 也参与了新生血管的形成。有学者通过敲除血管细胞及组织中的 Dicer 基因,从而非特异性地抑制 miRNA 来研究其与血管形成的关系,该研究初步表明 miRNA 在血管形成时能够起导向作用^[24]。Dicer 敲除的胚胎组织新生血管比野生型组织血管壁薄,并且血管功能不佳,这为胚胎发育时期 miRNA 能够维持血管正常生长提供了证据。在 Dicer 基因敲除的体外及体内试验中,均发现了一些与血管形成相关的基因功能异常。血管形成的几个重要进程,如内皮细胞增殖、迁移、形态改变等都能够受到 miRNA 的调控。目前已经在肿瘤领域里证明,miR-145 具有抑制新生血管形成的功能。在过表达 miR-145 的胃癌细胞中,管腔形成能力较对照组明显降低,并且侵袭能力下降^[25],进而肿瘤血管形成减少。同样的,在神经母细胞瘤中过表达 miR-145 能够逆转缺氧诱导因子 2 α (hypoxia inducible factor-2 α , HIF-2 α)所引起的血管形成以及肿瘤细胞侵袭、迁移,这可能与 miR-145 能够直接作用于基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、HIF-2 α 、ETS1 等基因的 3' UTR 端,从而使其表达降低有关^[25-26]。在 As 病程中,miR-145 与血管损伤后的内膜新生以及内膜新生造成的管腔狭窄、阻塞有着重要的关联。新生的内膜其主要成份是去分化型(合成型)的平滑肌细胞,而 miR-145 能够通过阻止正常平滑肌细胞向合成型平滑肌细胞转化,从而抑制内膜新生。miR-145 敲除小鼠血管损伤后内膜新生较正常小鼠明显增厚^[9]。

6 miR-145 与炎症

目前认为,miR-145 在炎症反应中主要起抑制炎症的保护性作用。在 As、糖尿病、溃疡性结肠炎、慢性呼吸道疾病等多种炎症相关的疾病中均能见到 miR-145 的明显下降,而上调 miR-145 可以降低炎症反应^[5,27]。miR-145 的抗炎作用可能是其抑制细胞增殖、迁移、维持表型稳定、下调炎症因子等多

种生物学效应的综合性体现,然而相对于 miR-146、miR-155 等炎症相关 miRNA^[28],miR-145 抗炎作用的具体机制仍有待进一步研究。

7 miR-145 与相关疾病

研究表明,血浆中 miR-145 水平和 As 的严重程度密切相关。CAD 患者外周血中 miRNA 含量与正常对照组存在明显差异^[29]。miRNA 在疾病中扮演了一个什么样的角色? 是一种新的生物指标,亦或是疾病的主要参与者,还是两者均有? 目前尚不明确。临床研究表明,CAD 患者血清和血浆中的 miR-145 含量显著降低。不仅如此,在 CAD 合并糖尿病的患者中,miR-145 水平更低。这说明了 miR-145 与 CAD 和糖尿病之间具有相关性^[30]。除了糖尿病外,研究还发现其它一些冠心病危险因素,例如性别、高血压、吸烟、血脂水平等也能够影响 miR-145 水平。因此,miR-145 水平在将来也许可以作为一个临床诊断或治疗 CAD 的重要手段。

8 结 语

miRNA 作为一种标志物,可能是直接反应血管壁发生病变的产物。miRNA 在细胞内的功能以及其作为一种旁分泌因子作用于周围细胞时的功能仍有待探讨。同时,在体外细胞实验中被预测的与 As 有关的 miRNA 大多也在斑块中得到佐证。miR-145 作为一个在 As 病程中占据重要位置的 miRNA,目前认为其在 As 中主要起着保护性作用。除此之外,血清、血浆中的 miR-145 也可能成为 As 的一个重要临床指标^[31]。As 中的 miRNA 仍然属于一个较新的领域,对 miR-145 功能的研究依然较少,miR-145 在诊断及治疗 As 潜在的临床价值值得深入研究。

[参考文献]

[1] Chavez-Sanchez L, Espinosa-Luna JE, Chavez-Rueda K, et al. Innate immune system cells in atherosclerosis[J]. Arch Med Res, 2014, 45 (1): 1-14.

[2] Shi C, Zhu L, Chen X, et al. IL-6 and TNF-alpha induced obesity-related inflammatory response through transcriptional regulation of miR-146b[J]. J Interferon Cytokine Res, 2014, 34 (5): 342-348.

[3] Menghini R, Stohr R, Federici M. MicroRNAs in vascular aging and atherosclerosis[J]. Ageing Res Rev, 2014, 17:

68-78.

[4] Ge Q, Brichard S, Yi X, et al. MicroRNAs as a new mechanism regulating adipose tissue inflammation in obesity and as a novel therapeutic strategy in the metabolic syndrome[J]. J Immunol Res, 2014, 2014: 1-10.

[5] Bao Y, Guo Y, Li Z, et al. MicroRNA profiling in Muc2 knockout mice of colitis-associated cancer model reveals epigenetic alterations during chronic colitis malignant transformation[J]. PloS one, 2014, 9 (6): e99132.

[6] Raitoharju E, Oksala N, Lehtimäki T. MicroRNAs in the atherosclerotic plaque[J]. Clin Chem, 2013, 59 (12): 1708-721.

[7] Orenes-Pinero E, Montoro-Garcia S, Patel JV, et al. Role of microRNAs in cardiac remodelling: new insights and future perspectives[J]. Int J Cardiol, 2013, 167 (5): 1651-659.

[8] Jovanovic I, Zivkovic M, Jovanovic J, et al. The co-inertia approach in identification of specific microRNA in early and advanced atherosclerosis plaque[J]. Med Hypotheses, 2014, 83 (1): 11-15.

[9] Xin M, Small EM, Sutherland LB, et al. MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury[J]. Genes Dev, 2009, 23 (18): 2166-178.

[10] Boon RA, Hergenreider E, Dimmeler S. Atheroprotective mechanisms of shear stress-regulated microRNAs [J]. Thromb Haemost, 2012, 108 (4): 616-620.

[11] Zhang Y, Zhang M, Zhong M, et al. Expression profiles of miRNAs in polarized macrophages[J]. Int J Mol Med, 2013, 31 (4): 797-802.

[12] 宋翠珠, 郭 韧, 张毕奎. MicroRNA 对动脉粥样硬化发生的调控作用及其临床应用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2013, 29 (1): 13-18.

[13] Cheng Y, Liu X, Yang J, et al. MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation [J]. Circ Res, 2009, 105 (2): 158-166.

[14] Wei Y, Nazari-Jahantigh M, Neth P, et al. MicroRNA-126, -145, and -155: A therapeutic triad in atherosclerosis [J]? Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33 (3): 449-454.

[15] De Paoli F, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. Macrophage phenotypes and their modulation in atherosclerosis [J]. Circ J, 2014, 78 (8): 1775-781.

[16] Freilich RW, Woodbury ME, Ikezu T. Integrated expression profiles of mRNA and miRNA in polarized primary murine microglia[J]. PloS One, 2013, 8 (11): e79416.

[17] Steyers CM, Miller FJ. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15 (7):

- 11 324-349.
- [18] Luo T, Deng Z Y, Li X P, et al. Triolein and trilinolein ameliorate oxidized low-density lipoprotein-induced oxidative stress in endothelial cells [J]. *Lipids*, 2014, 49 (5): 495-504.
- [19] Kohlstedt K, Trouvain C, Boettger T, et al. AMP-activated protein kinase regulates endothelial cell angiotensin-converting enzyme expression via p53 and the post-transcriptional regulation of microRNA-143/145 [J]. *Circ Res*, 2013, 112 (8): 1 150-158.
- [20] Goetsch C, Hutcheson JD, Aikawa E. MicroRNA in cardiovascular calcification; focus on targets and extracellular vesicle delivery mechanisms [J]. *Circ Res*, 2013, 112 (7): 1 073-084.
- [21] Freise C, Querfeld U. Inhibition of vascular calcification by block of intermediate conductance calcium-activated potassium channels with TRAM-34 [J]. *Pharmacol Res*, 2014, 85: 6-14.
- [22] Rangrez AY, M'Baya-Moutoula E, Metzinger-Le Meuth V, et al. Inorganic phosphate accelerates the migration of vascular smooth muscle cells; evidence for the involvement of miR-223 [J]. *PloS One*, 2012, 7 (10): e47807.
- [23] Liu XQ, Mao Y, Wang B, et al. Specific matrix metalloproteinases play different roles in intraplaque angiogenesis and plaque instability in rabbits [J]. *PloS One*, 2014, 9 (9): e107851.
- [24] Cantaluppi V, Biancone L, Figliolini F, et al. Microvesicles derived from endothelial progenitor cells enhance neo-angiogenesis of human pancreatic islets [J]. *Cell Transplant*, 2012, 21 (6): 1 305-320.
- [25] Zheng L, Pu J, Qi T, et al. miRNA-145 targets v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1 to suppress the invasion, metastasis, and angiogenesis of gastric cancer cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 11 (2): 182-193.
- [26] Zhang H, Pu J, Qi T, et al. MicroRNA-145 inhibits the growth, invasion, metastasis and angiogenesis of neuroblastoma cells through targeting hypoxia-inducible factor 2 alpha [J]. *Oncogene*, 2014, 33 (3): 387-397.
- [27] 徐林, 陈静. 血浆 miR-143、miR-145 与冠状动脉粥样硬化程度的关系 [J]. *海南医学院学报*, 2012, 18 (11): 1 526-528.
- [28] 谢玉峰. miRNA 对免疫和炎症反应的调节功能 [J]. *口腔医学研究*, 2011, 27 (6): 539-541.
- [29] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease [J]. *Circ Res*, 2010, 107 (5): 677-684.
- [30] Barutta F, Tricarico M, Corbelli A, et al. Urinary exosomal microRNAs in incipient diabetic nephropathy [J]. *PloS One*, 2013, 8 (11): e73798.
- [31] 贺付成, 赵雪, 高峰. 急性冠状动脉综合征患者血浆 miR-208b 和 miR-145 的表达水平及临床意义 [J]. *第二军医大学学报*, 2013, 34 (1): 109-111.
- (此文编辑 文玉珊)