

微小 RNA 对血管重塑的调节作用及研究进展

谭宏伟¹, 许春容^{2,3}, 王刚^{2,3}, 罗茂^{2,3}

(西南医科大学 1. 临床医学院, 2. 药物研究中心, 3. 心血管药理系, 四川省泸州市 646000)

[关键词] 微小 RNA; 血管重塑; 动脉粥样硬化; 巨噬细胞; 平滑肌细胞

[摘要] 血管壁结构的适应性改变称为血管重塑, 这种适应性改变可在动脉高血压、动脉瘤、血管介入术后再狭窄和动脉粥样硬化中出现。微小 RNA (miR) 对参与动脉血管重塑过程中的主要细胞因子有重要调节作用, 其可能会促进或抑制血管壁结构的变化, 调节平滑肌细胞 (SMC) 的表型, 控制内皮细胞和巨噬细胞的炎症反应。不同类型的 miR 分别诱导 SMC 转化为收缩型或合成型; 在动脉重塑过程中主要诱导 SMC 转化为合成型。因此, 通过 miR 靶向重编程 SMC 表型可以调节重塑过程。此外, 诱导内皮细胞重塑的刺激, 如剪应力、血管紧张素 II、氧化低密度脂蛋白和细胞凋亡等, 都是由 miR 介导的。例如, 内皮细胞特异性 miR-126 在凋亡的内皮细胞的微泡中被转移, 并在动脉粥样硬化的形成过程中发挥保护作用; 特别是通过巨噬细胞的固有免疫系统的炎症反应, 其会促进动脉重塑。miR-155 诱导炎症细胞因子的表达; 而 miR-146a 和 miR-147 则参与炎症的消除。然而, 关于 miR 在血管重塑中的作用的数据仍然缺乏, 因为这还需测试目前可获得的、高效的 miR 抑制剂对心血管疾病的治疗潜力。

[中图分类号] R54; R363

[文献标识码] A

Regulation of microRNA on vascular remodeling and its research progress

TAN Hongwei¹, XU Chunrong^{2,3}, WANG Gang^{2,3}, LUO Mao^{2,3}

(1. Clinical Medical College, 2. Drug Research Center, 3. Department of Cardiovascular Pharmacology, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[KEY WORDS] microRNA; vascular remodeling; atherosclerosis; macrophage; smooth muscle cell

[ABSTRACT] Adaptive change in vascular wall structure is known as vascular remodeling, which can occur in arterial hypertension, aneurysms, restenosis after vascular intervention and atherosclerosis. MicroRNAs (miRs) play an important role in regulating the major cytokines involved in arterial remodeling, which may promote or inhibit the changes of vascular wall structure, regulate the phenotype of smooth muscle cells (SMC), and control the inflammatory response of endothelial cells and macrophages. Different types of miRs induce SMC to be contractile or synthetic, respectively; SMC is mainly induced to be synthetic during arterial remodeling. Thus, remodeling process can be regulated by reprogramming SMC phenotypes via targeted miRs. In addition, the stimulations of inducing endothelial cell remodeling, such as shear stress, angiotensin II, oxidized low density lipoprotein and cell apoptosis, are mediated by miRs. For example, endothelial cell-specific miR-126 is transferred in microvesicles of apoptotic endothelial cells and plays a protective role in the formation of atherosclerosis; it promotes arterial remodeling, especially through the inflammatory response of the innate immune system of macrophages. MiR-155 induces the expression of inflammatory cytokines, while miR-146a and miR-147 participate in the elimination of inflammation. However, data on the role of miRs in vascular remodeling are still lacking, because it is necessary to test the therapeutic potential of currently available and highly effective miR inhibitors for cardiovascular diseases.

血管壁的结构与其功能要求密切相关, 因此, 血管壁的结构在循环系统的不同部位具有高度特

异性。血管壁结构的适应性改变称为血管重塑, 这种改变可发生于各种各样的刺激, 如压力、流量、创

[收稿日期] 2019-04-24

[修回日期] 2019-06-25

[基金项目] 国家自然科学基金 (81800434); 大学生创新创业训练计划项目 (201816032155); 四川省科技厅项目 (2019YJ0487); 泸州市科技局项目 (2017LZXNYD-T05, 2016LZXNYD-J24)

[作者简介] 谭宏伟, 学士, 研究方向为临床医学, E-mail 为 616859195@qq.com。通信作者罗茂, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为血管生物学, E-mail 为 luomao20050908@163.com。

伤等,例如,中膜的大小可能因动脉高压而增大,也可因动脉瘤的形成而缩小。此外,类似于在支架植入术后或动脉粥样硬化中,也可能发生新生内膜的损伤^[1-2]。因此,血管壁结构对环境压力的适应性改变可以促进疾病的发展或其自身构成一种医学病症。血管重塑是由所有类型的血管细胞包括内皮细胞和平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)所驱动的并涉及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的重建。此外,炎性细胞的聚集,特别是单核细胞和巨噬细胞,其通过调节 SMC 功能和 ECM 的转换在血管重塑中起关键作用^[3]。微小 RNA(miRNA, miR)是一类内源性的、21~25 个碱基长度的小分子非编码 RNA,它可以通过与靶 mRNA 的 3'-UTR 区互补导致其降解或抑制蛋白翻译,从而在人体生命活动中具有广泛的调控作用。miR 通过翻译抑制或 mRNA 衰变以调节转录后水平的基因表达。这些 miR 的特定序列在决定细胞命运和组织稳态(包括 SMC 和内皮)中起关键作用。因此,miR 主要调节参与血管重塑的细胞的表型。所以,如果能够鉴定出在血管重塑中具有特定功能的 miR,则有望揭示治疗和预防血管疾病的全新一类靶点。在本篇综述中,我们总结了有关 miR 在血管重塑和动脉粥样硬化中作用的现有证据。

1 miRNA 调节血管平滑肌细胞表型变化

虽然单独的表型对血管疾病的具体影响尚不清楚,但 SMC 在各种疾病条件下均表现出显著的可塑性^[4]。合成型 SMC 的特征在于收缩蛋白含量较低,增殖速率增快,细胞外基质蛋白和细胞因子分泌增加。血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)/骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)通路控制 SMC 表型^[5]。尽管 PDGF 信号传导会促进 SMC 增殖并转为合成型,但 TGF- β /BMP 通路的激活有利于它们分化为收缩型 SMC。在动脉粥样硬化病变和新生内膜组织中,大多数 SMC 呈合成型,并且是不同类型的损伤后涉及血管修复的主要细胞类型。

SMC 的发展取决于 miR 的功能表达。在 SMC 发育过程中,miR 加工酶 DICER(Dicer enzyme)的缺失导致晚期胚胎死亡和出血,这极可能是由于 SMC 的增殖和分化受损所致。出生后 DICER 表达缺失的小鼠显示其血管壁中 SMC 数量减少,中膜厚度减小。此外,收缩蛋白的表达在 DICER 缺陷型的 SMC

中受损,这可以为较低的动脉血压作出解释^[6]。

miR-145 是 SMC 中表达最活跃的 miR 之一,研究发现其在体外通过上调 SMC 特异性蛋白(例如钙结合蛋白和平滑肌肌球蛋白重链)来调节 SMC 表型^[7]。此外,miR-145 的引入触发了成纤维细胞和人胚胎干细胞重编程为 SMC。然而 miR-145 的遗传缺失不会损害胚胎发育并且与 SMC 标记物表达减少无关,但它与应激纤维表达受损有关,这表明肌动蛋白细胞骨架动力学受到干扰。值得注意的是,由于 SMC 不足而导致 miR-145 的缺失会降低血管壁的厚度并降低血压。miR-145 在血管损伤、动脉粥样硬化和实验诱发的动脉瘤中表达下调^[7-9]。据研究显示,miR-145 的局部过度表达会提高 SMC 标志物表达并减少新生内膜形成,这表明了 miR-145 在血管重塑中的保护作用。然而,在 miR-145^{-/-}小鼠中完全不存在颈动脉结扎后的新生内膜增生的情况^[8]。这些相互矛盾的结果可以通过在各项研究中使用的血管损伤模型的差异或 miR-145^{-/-}小鼠中所有细胞类型(不仅是 SMC)中 miR-145 的缺乏来解释。现已确定 miR-145 的多个靶点与 SMC 分化和肌动蛋白细胞骨架动力学有关,例如 Krüppel 样因子 5(Krüppel-like factor 5, KLF5)、KLF4、钙调蛋白激酶、肌钙蛋白相关转录因子(myocardin-related transcription factor-B, MRTF-B)、肌钙蛋白和血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)^[7,9]。除表型调节外,miR-145 抑制 PDGF 诱导的体外 SMC 增殖,证明 miR-145 在 SMC 的增殖反应中具有重要作用^[7]。

miR-145 与来自普通双顺反子前体的 miR-143 一起表达,并且两者均由肌钙蛋白、血清反应因子(serum response factor, SRF)和 Nkx2-5 同源盒转录因子转录调节^[10-11]。因此,miR-143 也在肌动脉中高度表达。由不同群组小鼠独立繁殖产生的 3 种不同 miR-143^{-/-}/145^{-/-}品系的小鼠显示其动脉壁变薄和动脉血压降低,此外,在 2 只 miR-143^{-/-}/145^{-/-}品系的小鼠中发现 SMC 特异性蛋白在主动脉中的表达减弱^[11-12]。更有趣的是,即使在没有血管损伤或高脂血症的情况下,年长的 miR-143^{-/-}/145^{-/-}小鼠也会自发产生富含巨噬细胞的新生内膜病变。这种效应可能是由于 miR-143/145 缺陷小鼠中 ACE 的表达增加,使血管壁中血管紧张素 II 的产生增加导致^[12]。选择性敲除 miR-143 基因不会导致血管壁明显变薄,但的确会使颈动脉结扎后新生内膜的形成减少 60%^[11]。这种效应可以通过以下观点来解释:miR-143 的抑制可能通过上调人含 ETS 域

Elk1 蛋白的表达来增加体外 SMC 的增殖速率。此外,在 SMC 中还可通过 SRF 诱导 miR-143 来抑制调节 miR-21 表达的激活蛋白 1 转录因子 Fos 相关抗原 1。miR-143 对激活蛋白 1 转录因子 Fos 相关抗原 1 的下调消除了磷酸酶基因 (phosphatase gene, PTEN) 对 miR-21 依赖性抑制,这导致 SMC 表型增殖减少^[13]。有趣的是,miR-143 和 miR-145 通过微泡从内皮细胞转移到 SMC 中减少了动脉粥样硬化并促进了收缩型的 SMC 增殖^[14]。

miR-1 也在 SMC 分化过程中被诱导,并通过 KLF4 靶点增加 SMC 特异性收缩蛋白的表达^[15]。此外,肌钙蛋白诱导的 miR-1 表达主要参与肌钙蛋白依赖性 SMC 标记物的合成和增殖。在新内膜形成期间,miR-1 被下调,致癌性丝氨酸/苏氨酸激酶 Pim-1 (SMC 中 miR-1 的直接靶点) 的表达增加^[16]。然而,Pim-1 是否介导 miR-1 对 SMC 增殖的影响,以及 miR-1 如何影响新内膜形成尚不清楚。

在脉管系统中另一种高度表达的 miR 是 miR-133,其在血管损伤后和增殖的 SMC 中下调。miR-133 通过抑制转录因子 Sp-1 而损害 SMC 的增殖,并抑制 PDGF 向合成型 SMC 的诱导。因此,受损动脉中 miR-133 的过度表达可减少新生内膜的形成并降低 SMC 的增殖^[17]。

通过血清饥饿法对 SMC 的体外去分化作用可导致多种 miR 的差异调节,包括 miR-26a 的上调。Ser 磷酸化细胞信号转导分子 Smad-1 改变 TGF- β 和 BMP 信号,而 miR-26a 很可能通过抑制 Smad-1 而使 SMC 分化受损^[18]。相反,血清诱导的 SMC 增殖反应是由 miR-146a 的表达增加介导的,抑制 miR-146a 可减少球囊损伤后新生内膜的形成和 SMC 增殖^[19]。

miR-21 在球囊损伤和颈动脉结扎后高度上调并促进新生内膜形成^[20]。抑制 miR-21 可降低 SMC 增殖并增加 SMC 的凋亡。这些作用与 miR-21 通过抑制 PTEN 和上调 Bcl-2 表达而激活 Akt 通路有关。有趣的是,miR-21 是由 BMP4 和 TGF- β 诱导的,并通过抑制 PDCD4 (programmed cell death 4) 以促进 SMC 收缩蛋白的生物合成,这表明 miR-21 在 SMC 分化中的作用。然而,miR-21 的表达在去分化的 SMC 中被上调并且抑制了 SMC 分化标志物。因此,miR-21 在 SMC 分化中的作用是有争议的,需要进一步研究以解释其在 SMC 表型调节中的作用。

此外,miR-221 和 miR-222 是由血管损伤所诱导,并通过靶向肿瘤抑制因子和细胞周期抑制剂 p27 (Kip1)、p57 (Kip2) 促进新生内膜形成,这导致

SMC 的增殖增强^[21]。通过 PDGF 对 SMC 的去分化是由 miR-221 诱导的 c-kit 和 p27 (Kip1) 的抑制介导的。miR-24 也在 PDGF 处理的 SMC 中被诱导,并通过抑制 Tribbles 样蛋白 3 (Trb3) 和 Smad 蛋白破坏 TGF- β /BMP 信号传导。因此,miR-24 可能是 PDGF 和 TGF- β /BMP 信号传导之间串扰的关键调节因子,这对于 PDGF 诱导的表型向合成型 SMC 的转换至关重要。

miR-31 也在 SMC 中大量表达,并在 SMC 增殖和新内膜形成期间上调。通过 Lats2 抑制 miR-31 可减少 SMC 在体外和新生内膜中的增殖^[22]。因此,miR-31、miR-221、miR-222 和 miR-21 构成了促进 SMC 增殖的 miR 网络。总之,miR 网络严格控制 SMC 的增殖和分化,并严重影响 SMC 对血管损伤的反应。

2 miRNA 调节血管内皮细胞的应激反应

内皮细胞位于循环和血管壁之间的交界处。因此,它们处于完美的位置,可以感知重塑诱导的刺激,例如血液动力学应激或高脂血症,以及作为效应细胞触发对这些刺激的血管反应。

miR-126 不仅在内皮细胞中特异性表达,而且也是含量最丰富的内皮 miR 之一^[23]。已经在 miR-126 的启动子区域中发现了一些转录因子的结合位点,例如 E26 转化特异性序列因子和 KLF2,这些转录因子积极调节 miR-126 的表达。有针对性的删除或敲除 miR-126 基因会因 miR-126 靶点和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号传导抑制剂萌芽相关含 EVH1 域的蛋白 1 和磷脂酰肌醇 3-激酶调节亚基 3 的表达增加而导致在胚胎发育和心肌梗死后新生血管形成期间发生血管渗漏。此外,miR-126 通过抑制血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 的表达来减少白细胞与内皮细胞的黏附,这表明其在血管炎症中的重要作用^[24]。

暴露于有害诱因下的内皮细胞发生凋亡在动脉重塑的几种形式里是一个关键事件,例如肺动脉高压和血流紊乱导致的动脉粥样硬化。有趣的是,miR-126 选择性的富集在从凋亡的内皮细胞释放的微泡中。这些凋亡微泡将 miR-126 作为信使信号穿过远端细胞,经 G 蛋白调节因子 16 (regulator of G-protein signalling 16, RGS16) 介导的趋化因子配体 12 (chemokine C-X-C motif ligand 12, CXCL12) 受体趋化因子受体 4 (chemokine receptor 4, CXCR4) 的诱

导,激活自动调节反馈来上调趋化因子 CXCL12。这可能解释了为什么 miR-126 的表达增加会促进更稳定的斑块表型,同时减少巨噬细胞含量的问题,但这增加了祖细胞流入和 SMC 的含量,这与 miR-126 在动脉粥样硬化实验模型中的这种保护作用相一致。研究发现冠状动脉粥样硬化和糖尿病患者的 miR-126 血浆水平降低,这可以通过微泡中 miR-126 的包裹受损来解释。因此,急性冠状动脉综合征患者的 miR-126 水平升高,表明负载 miR-126 的微泡分泌增强。此外,心肌损伤患者在经冠状动脉传导期间 miR-126 水平降低,这可能与增加 miR-126 向病变处的传递有关。因此,微泡可以提供一种重要的穿梭机制,其允许通过递送 miR 在远距离上进行细胞与细胞间的通信^[25]。

然而,在 CXCL12 mRNA 的 3'-UTR 中存在 miR-126 的结合位点,其介导内皮细胞中 miR-126 对 CXCL12 的直接抑制。但 miR-126 的抑制与血管祖细胞的动员增加有关,其可能是通过上调 CXCL12 而实现的。这表明 miR-126 可能对 CXCL12 表达具有相反的作用,这取决于 miR-126 对 RGS16 或 CXCL12 的结合偏好以及这 2 种 miR 靶点的可获得性。

内皮低剪切应力(low shear stress, LSS)促进内皮细胞向促动脉粥样硬化表型激活,并在易发部位如分叉或转弯处形成动脉粥样硬化斑块。LSS 和抗动脉粥样硬化高剪切应力(high shear stress, HSS)均通过调节 miR 的表达而调节内皮细胞的基因表达^[26-27]。miR-10a 在主动脉弓和主动脉分支的动脉粥样硬化区域的内皮细胞中表达下调,其通过增加 miR-10a 靶向丝裂原活化激酶 7 和 β -转导素重复序列基因的表达而导致促炎核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 途径的激活^[28]。此外, HSS 上调 miR-19a,其通过靶向调节细胞周期蛋白 D1 抑制内皮细胞增殖。相反, miR-663 由 LSS 诱导并增强单核细胞的内皮黏附。血流介导的内皮细胞中 miR-21 的调节存在相互矛盾的证据^[28-29]。据报道, HSS 诱导的 miR-21 上调可以促进动脉粥样硬化一氧化氮的产生。然而, LSS 诱导 miR-21 表达,其特征在于通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 α 增强的 VCAM-1 和 CC 趋化因子配体 2 (CC chemokine ligand 2, CCL2) 依赖性单核细胞黏附,具有促炎作用。此外, LSS 转录激活抗血管生成 miR-17-92 簇的表达,包括靶点为 KLF2 的 miR-92a,而 KLF2 是内皮细胞促炎活化的重要抑制剂。因此, miR-92a 可通过抑制 KLF2、内皮型一氧化氮合酶和血栓调节蛋

白来促进紊流状态下的促动脉粥样硬化内皮细胞的表达。此外,由于 KLF2 是 miR-126 的转录激活因子,因此 miR-92a 还可以通过剪切流对 miR-126 进行调控^[24,30-31]。

miR-155 在内皮细胞中的构成性表达也是由 HSS 诱导的,通过血管紧张素受体 I 型、Ets 转录因子家族成员 1 和 miR-155 靶向抑制血管紧张素 II 对内皮细胞的促炎和迁移诱导作用。同样, miR-221 和 miR-222 均在内皮细胞中高度表达并抑制内皮细胞中 Ets 转录因子家族成员 1 介导的炎症反应。因此, miR-155、miR-221 和 miR-222 在限制内皮细胞对血管紧张素 II 刺激的促炎反应中起重要作用^[32]。

氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)触发内皮细胞的促炎活化和凋亡,从而严格调控动脉粥样硬化的形成。在体外, ox-LDL 诱导的内皮细胞凋亡与几种 miR 的上调相关,例如 miR-365 和 miR-142-5p。有趣的是, miR-365 通过抑制抗凋亡因子 Bcl2 介导的 ox-LDL 诱导细胞凋亡。因此, miR-365 靶向降低内皮细胞凋亡可能具有抑制 ox-LDL 的促动脉粥样硬化作用。

总之,人们已经发现了不同功能的 miR 亚组,它们可以调节血管重塑中的内皮反应。无论是如 miR-126 一样构成性表达的 miR,还是由抗动脉粥样硬化刺激(如 miR-10a)诱导的 miR,它们似乎在预防动脉粥样硬化中都很重要。相反, LSS 或 ox-LDL 的促动脉粥样硬化作用部分是由 miR 的上调介导的,例如 miR-663 和 miR-365。

3 miRNA 控制参与动脉重构的巨噬细胞功能

血管壁炎症的特征在于单核细胞和巨噬细胞的渗透,且在动脉重塑中起着因果作用,进而导致动脉高压或肺动脉高压、动脉瘤形成或动脉粥样硬化。针对各种刺激的巨噬细胞炎症反应的特征在于一系列 miR 的上调,例如 miR-155、miR-146、miR-147、miR-21 和 miR-9。ox-LDL 还诱导单核细胞和巨噬细胞中 miR 表达谱发生显著的变化。虽然目前缺乏 miR 对动脉重塑过程中巨噬细胞炎症激活的直接证据,但巨噬细胞中 miR 的许多已知功能可能与该过程相关。

miR-146a 和 miR-146b 仅相差 2 个核苷酸,尽管各基因位于不同的染色体上,但 Toll 样受体 2 (Toll-like receptor 2, TLR2)、TLR4 和 TLR5 的刺激通过激活 NF- κ B 强烈诱导巨噬细胞中的 2 种 miR。miR-146a/b 的上调通过抑制白细胞介素 1 (interleu-

kin-1, IL-1) 受体相关激酶 1 和肿瘤坏死因子 (tumour necrosis factor, TNF) 受体相关因子 6 激活负反馈回路, 并限制了炎症性 Toll 样细胞因子信号的传导, 传递了脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 对单核细胞的耐受性。在初代人单核细胞中用 ox-LDL 刺激后, miR-146a 和 miR-146b 均被上调^[19]。然而, 在巨噬细胞中, ox-LDL 介导的对 miR-146a 的抑制促进了脂质摄取和细胞因子释放, 这很可能是对 miR-146a 的靶点 TLR4 抑制减少导致的。然而, miR-146a 和 miR-146b 都在人动脉粥样硬化斑块中上调^[33]。

与 miR-146 相似, miR-147 也能限制 TLR 刺激后的巨噬细胞炎症反应。与 TLR2 或 TLR3 的刺激相比, TLR4 的激活导致更强烈的 miR-147 诱导。miR-147 启动子区含有 NF- κ B 的功能性结合位点和 LPS 诱导的 miR-147 表达所需的赤霉素调节蛋白元素。TLR4 刺激通过髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 和 β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β , TRIF) 诱导 NF- κ B 和信号转导子和转录激活子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 与 miR-147 启动子的结合。TLR 诱导的 miR-147 抑制巨噬细胞的炎症细胞因子 (例如 TNF- α 和 IL-6) 分泌减少。因此, 冠状动脉疾病患者外周血单核细胞中 miR-147 水平的降低可能会加剧动脉粥样硬化形成过程中的血管炎症。

此外, ox-LDL 上调初代人单核细胞中的 miR-125a-5p, 并且 miR-125a-5p 的抑制增加了脂质积累, 这可能是由于清道夫受体凝集素样氧化低密度脂蛋白受体 1 和 CD68 的表达增强导致的^[34]。此外, miR-125a-5p 的抑制增加了 ox-LDL 处理的单核细胞的 IL-6、TNF- α 、IL-2 和 TGF- β 的分泌。尽管 miR-125a-5p 直接作用于单核细胞和巨噬细胞中的氧化固醇结合蛋白 9, 但其在 ox-LDL 刺激下的单核细胞中的功能仍不清楚。

在巨噬细胞中, miR-155 通过 MyD88 或 TRIF 依赖的信号传导通路激活各种 TLR 而大幅上调。IL-10 可以抑制 TLR4 诱导的 miR-155 表达, 而 ox-LDL 对 miR-155 表达的作用仍有争议^[35]。尽管已在单核细胞和巨噬细胞中发现 ox-LDL 对 miR-155 有上调作用, 但也有报道称其对 miR-155 有抑制作用。这些不一致的结果表明相应 LDL 制剂的特征, 例如氧化程度, 其可能在 miR-155 的调节中起关键作用。轻度氧化的 LDL 优先激活 TLR4, 而深度氧化的 LDL 却无此作用。

然而, 关于 miR-155 在巨噬细胞谱系的炎症活化中的作用存在相互矛盾的证据。在单核细胞衍生的树突状细胞中, miR-155 在 LPS 的刺激下抑制 IL-1 β 的产生, 并通过直接作用于转化生长因子 β 激活激酶 1 (MAP3K7) 结合蛋白 2 来调节 TLR/IL-1 信号级联, 转化生长因子 β 激活激酶 1 (MAP3K7) 结合蛋白 2 是 IL-1 途径的中间体, 同时也可以激活 c-Jun 氨基末端激酶、p38 和 NF- κ B。miR-155 的抑制导致促炎介质如 IL-1 β 、CCL5 和 IL-12 的上调。然而, 具有抗炎功能的分子 [例如 IL-10 和细胞因子信号传导抑制蛋白 3 (suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)] 在 miR-155 抑制后的表达也增加了。ox-LDL 诱导的 miR-155 的沉默增强脂质摄取, 激活 NF- κ B 途径, 增加清道夫受体的表达, 并促进几种促炎细胞因子的分泌, 这均表明了 miR-155 的负反馈调节作用^[35]。

miR-155 的促炎作用的证据包括鉴定 Src 同源 2 域含有肌醇 5 磷酸酶 1, 其作为巨噬细胞中 miR-155 的直接靶点, 是 PI3K/Akt 途径和 TLR4 信号传导的重要负性调节因子^[36]。因此, 通过对 SOCS1、miR-155 的靶向抑制, 降低了 LPS 刺激的巨噬细胞中 TNF- α 、IL-6、IL-17、IL-10 和 CCL2 的表达。有趣的是, 激活 Akt 负面调节 miR-155 表达, 这似乎是体内内毒素耐受所必需的。此外, miR-155 抑制 IL-13 受体 α 1, 导致 IL-13 依赖性基因 (例如 SOCS1、CCL18 和 CD23) 的表达降低, 这些基因参与巨噬细胞中 M2 表型的建立^[37]。巨噬细胞中的 TGF- β 信号通路也受到 miR-155 通过抑制 Smad-2 的影响, 导致 TGF- β 刺激下的 IL-1 β 、基质金属蛋白酶 9、VEGF、细胞间黏附分子 1 和树突细胞表面的特异性细胞间黏附分子 3 结合非整合素分子的表达降低。通过敲除 miR-155, 甚至 IL-1 β 表达的基础水平也降低了。在丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶 1 缺陷型巨噬细胞中, miR-155 表达上调, 且由于 SOCS1 的抑制, 导致 LPS 刺激后 STAT1 活化增加和诱导型一氧化氮合酶基因表达增强。总之, miR-155 集中参与巨噬细胞炎症反应的微调, 尽管其净效应似乎是取决于疾病状况。

有趣的是, 冠心病患者的循环 miR-155 水平显著降低^[25]。此外, 女性相比男性其 miR-155 血浆水平随着年龄增加而下降更明显。微阵列分析显示 miR-155 在人动脉粥样硬化斑块中的表达明显上调。这些研究结果表明 miR-155 主要参与人类动脉粥样硬化的发展^[38]。

类似于内皮细胞, miR 如 miR-150 也可以在用

LPS 或 H_2O_2 刺激后从单核细胞衍生的微泡中富集。微泡中的这种活性分泌物有助于增加 miR-150 血浆水平并导致 miR-150 转移至内皮细胞。外源性 miR-150 靶向作用于原癌基因 c 并增强内皮细胞迁移。此外,患有动脉粥样硬化的患者会使循环微泡中的 miR-150 含量增加。有趣的是,通过胆固醇富集,微泡也会从单核细胞和巨噬细胞释放出,这可能导致高脂血症下循环微泡水平升高^[39]。

miR 网络调节巨噬细胞对炎症和促动脉粥样硬化刺激的反应,并可能在血管重塑过程中的炎症反应中起重要作用。然而,体外研究的一些结果是相互矛盾的,并且需要在动物模型中进一步研究以确定巨噬细胞特异性 miR 在血管重塑和动脉粥样硬化中的功能。

4 展 望

微小 RNA 是作用于动脉重塑和动脉粥样硬化的主要细胞因子。miR 在血管损伤后调节 SMC 表型并控制内皮细胞和巨噬细胞中的炎症反应。但是,关于 miR 在血管重塑中的作用的体内数据仍然缺乏,因为这需要测试目前可获得的、高效的 miR 抑制剂对心血管疾病的治疗潜力。这些 miR 抑制剂是具有不同化学修饰类型的反义寡核苷酸,可增加 miR 在体内的稳定性和细胞通透性。因此,通过涂层支架局部施用 miR 抑制剂和全身施用 miR 抑制剂可能是治疗血管重塑的一种可行的方法。此外,实际上似乎许多 miR 都具有有益的特性,例如 miR-126。然而,如 siRNA 这样的 miR 类似物,在体内应用方面就缺乏抗 miR 的有利特征,并且还需要更精细的传输系统。在这方面,基于内源性微泡的 miR 转移可以作为开发有效 miR 载体的模板。但对于该治疗策略的实施,仍需要更好地理解 miR 的血浆稳定性和细胞靶向传递策略的发展。

[参考文献]

- [1] Welten SMJ, de Jong RCM, Wezel A, et al. Inhibition of 14q32 microRNA miR-495 reduces lesion formation, intimal hyperplasia and plasma cholesterol levels in experimental restenosis[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 261: 26-36.
- [2] Yahagi K, Kolodgie FD, Otsuka F, et al. Pathophysiology of native coronary, vein graft, and in-stent atherosclerosis [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(2): 79.
- [3] Planas-Rigol E, Terrades-Garcia N, Corbera-Bellalta M, et al. Endothelin-1 promotes vascular smooth muscle cell migration across the artery wall; a mechanism contributing to vascular remodelling and intimal hyperplasia in giant-cell arteritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(9): 1624-1634.
- [4] Allahverdian S, Chaabane C, Boukais K, et al. Smooth muscle cell fate and plasticity in atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4): 540-550.
- [5] Song H, Xu J, Lv N, et al. Irisin reverses platelet derived growth factor-BB-induced vascular smooth muscle cells phenotype modulation through STAT3 signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 479(2): 139-145.
- [6] Albinsson S, Skoura A, Yu J, et al. Smooth muscle miRNAs are critical for post-natal regulation of blood pressure and vascular function[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18869.
- [7] Yamaguchi S, Yamahara K, Homma K, et al. The role of microRNA-145 in human embryonic stem cell differentiation into vascular cells [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(2): 468-474.
- [8] Li S, Sun W, Zheng H, et al. microRNA-145 accelerates the inflammatory reaction through activation of NF- κ B signaling in atherosclerosis cells and mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 851-857.
- [9] Lin CM, Wang BW, Pan CM, et al. Effects of flavonoids on microRNA 145 regulation through Klf4 and myocardin in neointimal formation in vitro and in vivo[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 52: 27-35.
- [10] Boucher JM, Peterson SM, Urs S, et al. The miR-143/145 cluster is a novel transcriptional target of Jagged-1/Notch signaling in vascular smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(32): 28312-28321.
- [11] 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): 2166-2178.
- [12] Lam J, van den Bosch M, Wegrzyn J, et al. miR-143/145 differentially regulate hematopoietic stem and progenitor activity through suppression of canonical TGF- β signaling[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2418.
- [13] Horita HN, Simpson PA, Ostriker A, et al. Serum response factor regulates expression of phosphatase and tensin homolog through a microRNA network in vascular smooth muscle cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(12): 2909-2919.
- [14] Sala F, Aranda JF, Rotllan N, et al. MiR-143/145 deficiency attenuates the progression of atherosclerosis in Ldlr^{-/-} mice [J]. *Thromb Haemost*, 2014, 112(10): 796-802.
- [15] Xie C, Huang H, Sun X, et al. MicroRNA-1 regulates smooth muscle cell differentiation by repressing Kruppel-like factor 4[J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 20(2): 205-210.

- [16] Liao XH, Wang N, Zhao DW, et al. NF- κ B (p65) negatively regulates myocardin-induced cardiomyocyte hypertrophy through multiple mechanisms [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(12): 2738-2748.
- [17] Torella D, Iaconetti C, Catalucci D, et al. MicroRNA-133 controls vascular smooth muscle cell phenotypic switch in vitro and vascular remodeling in vivo [J]. *Circ Res*, 2011, 109(8): 880-893.
- [18] Yang X, Dong M, Wen H, et al. MiR-26a contributes to the PDGF-BB-induced phenotypic switch of vascular smooth muscle cells by suppressing Smad1 [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 75844-75853.
- [19] Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Schober A. The role of microRNAs in arterial remodelling [J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(4): 611-618.
- [20] Stein JJ, Iwuchukwu C, Maier KG, et al. Thrombospondin-1-induced vascular smooth muscle cell migration and proliferation are functionally dependent on microRNA-21 [J]. *Surgery*, 2014, 155(2): 228-233.
- [21] Liu X, Cheng Y, Yang J, et al. Cell-specific effects of miR-221/222 in vessels: molecular mechanism and therapeutic application [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 52(1): 245-255.
- [22] Liu X, Cheng Y, Chen X, et al. MicroRNA-31 regulated by the extracellular regulated kinase is involved in vascular smooth muscle cell growth via large tumor suppressor homolog 2 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(49): 42371-42380.
- [23] Nazari-Jahantigh M, Egea V, Schober A, et al. MicroRNA-specific regulatory mechanisms in atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 89(Pt A): 35-41.
- [24] Yuan X, Chen J, Dai M. Paeonol promotes microRNA-126 expression to inhibit monocyte adhesion to ox-LDL-injured vascular endothelial cells and block the activation of the PI3K/Akt/NF- κ B pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(6): 1871-1878.
- [25] Zhu H, Fan GC. Extracellular/circulating microRNAs and their potential role in cardiovascular disease [J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2011, 1(2): 138-149.
- [26] Vozzi F, Campolo J, Cozzi L, et al. Computing of low shear stress-driven endothelial gene network involved in early stages of atherosclerotic process [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 5359830.
- [27] Bourantas CV, Ramasamy A, Karagiannis A, et al. Angiographic derived endothelial shear stress: a new predictor of atherosclerotic disease progression [J]. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2019, 20(3): 314-322.
- [28] Kumar S, Kim CW, Simmons RD, et al. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(10): 2206-2216.
- [29] Neth P, Nazari-Jahantigh M, Schober A, et al. MicroRNAs in flow-dependent vascular remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(2): 294-303.
- [30] Mondadori dos Santos A, Metzinger L, Haddad O, et al. miR-126 is involved in vascular remodeling under laminar shear stress [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 497280.
- [31] Zhou J, Li YS, Nguyen P, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell turnover by endothelial cell-secreted microRNA-126: role of shear stress [J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 40-51.
- [32] Zhu N, Zhang D, Chen S, et al. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215(2): 286-293.
- [33] He L, Zhao X, He L. Abnormally expressed miR-23b in Chinese Mongolian at high cardiovascular risk may contribute to monocyte/macrophage inflammatory reaction in atherosclerosis [J]. *Bioscience Rep*, 2018, 38(6): BSR20180673.
- [34] Zhaolin Z, Jiaojiao C, Peng W, et al. Ox-LDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7475-7491.
- [35] Huang J, Yang Q, He L, et al. Role of TLR4 and miR-155 in peripheral blood mononuclear cell-mediated inflammatory reaction in coronary slow flow and coronary arteriosclerosis patients [J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(2): e22232.
- [36] Schulte LN, Westermann AJ, Vogel J. Differential activation and functional specialization of miR-146 and miR-155 in innate immune sensing [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41(1): 542-553.
- [37] Martinez-Nunez RT, Louafi F, Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor α 1 (IL13R α 1) [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(3): 1786-1794.
- [38] Qiu XK, Ma J. Alteration in microRNA-155 level correspond to severity of coronary heart disease [J]. *Scand J Clin Lab Inv*, 2018, 78(3): 219-223.
- [39] Pfrieger FW, Vitale N. Cholesterol and the journey of extracellular vesicles [J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(12): 2255-2261.

(此文编辑 曾学清)