

miRNA 与血脂代谢

邢 钰, 赵水平

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] miRNA; 血脂代谢

[摘要] 目的 miRNA 是一类内源性、高保守、大小约 22 个核苷酸的单链非编码 RNA。miRNA 广泛分布于真核细胞内, 它能够通过与对应的靶 mRNA 3' 末端非翻译区 (3' UTR) 特异性结合来直接降解靶 mRNA 或破坏其稳定性, 从而抑制靶 mRNA 的翻译, 对基因进行转录后水平的调控。miRNA 调控着人类基因组中 20% ~ 30% 的基因, 参与生物体的生长发育及多种生理病理学过程, 包括细胞分化、细胞增殖、细胞凋亡, 以及糖尿病、肿瘤形成、心血管疾病、神经功能紊乱、病毒感染等等。本文主要针对参与血脂代谢的 miRNA 作一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

miRNA and Lipid Metabolism

XING Yu and ZHAO Shuiping

(Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] miRNA; Lipid Metabolism

[ABSTRACT] MicroRNAs (miRNAs) are a recently discovered class of approximately 22 nucleotide RNA molecules. They are endogenous, highly conserved, and negatively regulate target mRNAs through binding the 3' end of untranslated region (3' UTR) in post-transcriptional level. miRNAs regulate 20% ~ 30% of the human genome and participate in a variety of physiological pathological processes during growth and development, including cell differentiation, cell proliferation, apoptosis, diabetes, tumor formation, cardiovascular diseases, neurological disorders and viral infections. This overview discusses the relationship between miRNA and lipid metabolism.

miRNA (简称 mRNA) 是一类内源性、高保守、大小约 22 个核苷酸的单链非编码 RNA。miRNA 广泛分布于真核细胞内, 它通过与对应的靶 mRNA 3' 末端非翻译区 (3' UTR) 特异性结合直接降解靶 mRNA 或破坏其稳定性, 从而抑制靶 mRNA 翻译, 对基因进行转录后水平的调控^[1]。

miRNA 调控着人类基因组中 20% ~ 30% 的基因^[2], 参与生物体的生长发育及多种生理病理学过程, 包括细胞分化、细胞增殖、细胞凋亡^[3], 以及临床上多种代谢性和肿瘤性疾病^[4-8]。虽然目前国内针对此方面的文献报道尚不多, 但由于 miRNA 涉及医学多个领域, 其研究前景广阔, 成为多学科近期探讨的热点。本文主要针对在参与调节体内胆固醇水平、胆固醇代谢相关酶、成脂分化及脂肪代谢过程之中的相关 miRNA 展开讨论。

1 miRNA 的发现

早在 1993 年, Lee 等^[9]在研究秀丽新小杆线虫的发育过程中, 用经典的定位克隆的方法发现了 lin-4 基因, 它的转录产物为 22 nt 的 RNA, 此 RNA 不编码任何蛋白质, 却能时

序调控胚胎后期的发育。随后在 2000 年, Reinhart 等^[10]又在线虫 *C. elegans* 中发现了第二个异时性开关基因 let-7, 它也能时序调控线虫的发育进程, 促进幼虫向成虫转变, 它的转录产物是 21 nt 的 RNA 分子。lin-4 和 let-7 的发现改变了人们的看法, 它们可能是一类进化上保守的、在生命中起着重要调控作用的分子。lin-4 和 let-7 所表现出的对转录过程的抑制, 暗示了在发育过程中基因调控的一个新机制, 为理解复杂的基因调节网络开辟了新的空间。

随着生物信息学的发展, 分子克隆技术的改进和模式物种 cDNA 文库的建立, 各国科研人员又相继在真核模式生物和细胞中找到上百个类似的小分子 RNA。于是, 这类含有 21~25 个核苷酸广泛存在于动植物中的非编码蛋白质的小 RNA 被命名为 miRNA。到目前为止, miRNA 数据库 miRBase 中^[11]已有 721 个人类 miRNA 和 579 个小鼠 miRNA, 但这些数字远未达到饱和。

2 miRNA 的产生和作用机制

miRNA 基因通常位于基因间或内含子区域^[12], 在核内, miRNA 经 RNA 聚合酶 III 转录产生具有帽子结构和多聚腺苷酸尾巴的初级 miRNA。初级 miRNA 再经 RNase III 酶 Drosha 和其辅助因子 Pasha 的共同作用下, 被加工成为约含 70 个核苷酸并带有茎环结构的前体 miRNA, 继而在转运蛋白 exportin5 的帮助下由细胞核转移到细胞质

[收稿日期] 2010-03-19 [修回日期] 2010-06-10

[作者简介] 邢钰, 博士研究生, 研究方向血脂与动脉粥样硬化。Email 为 xuxingyu@gmail.com。赵水平, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂代谢异常与冠心病, Email 为 zhaosp@medmail.com.cn。

中。在胞质中, RNase Ⅲ酶 Dicer把前体 microRNA 剪切为约 22个核苷酸长度的 microRNA 双链, 一条链被降解, 另一条则成为成熟的 microRNA 分子, 之后它便在胞浆内结合到 RNA 分子上形成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 而发挥调控作用^[13]。

microRNA 负性调控靶基因的表达有两种机制, 取决于 microRNA 与靶 mRNA 的 3'端非翻译区互补的程度。两者若完全或近乎完全互补可诱发 RNA 干扰, 靶 mRNA 被直接降解; 而多数 microRNA 与靶 mRNA 并不完全互补, 只起到封闭靶 mRNA 的作用, 即抑制翻译过程。

3 血脂代谢中的 microRNA

脂质沉积于血管内皮下是动脉粥样硬化的始动环节, 伴随单核巨噬细胞浸润吞噬, 泡沫细胞的产生以及炎症介质分泌增多, 最终可以导致粥样斑块形成, 血管狭窄引发冠心病。目前, 对游离脂肪酸代谢和细胞内胆固醇稳态的生化分子机制研究并不透彻, 新近展开了不少致力于研究 microRNA 与血脂代谢关系的研究, 结论都表明 microRNA 是脂质代谢的调节子。

3.1 与血脂相关的 microRNA 的发现

2003年, Xu等最早发现 microRNA 与血脂之间存在关联。m R-14沉默组动物表现出甘油三酯和甘油二酯的升高, 而增加 m R-14表达后, 其血脂水平便可恢复正常。由此得出 m R-14调节果蝇体内脂质代谢^[14]。随后对果蝇的能量内环境稳态进行了研究^[15], 发现 m R-278突变组产生胰岛素能力较强, 但血清葡萄糖水平却升高, 这提示该组对胰岛素的应答能力部分缺失。该研究意外发现, m R-278在脂肪组织高表达, 其靶基因是 expanded, 过量表达 m R-278会导致 expanded的 mRNA 减少和功能丧失, 最终引发组织过度增长。由于 m R-278突变组均呈现瘦表型, 因此提示 m R-278很可能参与了脂肪的蓄积与利用。

3.2 microRNA 调节胆固醇代谢相关酶

辅酶 A (CoA) 参与多种代谢途径, 泛酸酰激酶 (PANK) 起着催化辅酶 A 合成过程限速步骤的作用, 是泛酸盐磷酸化的关键酶。因此, PANK 被公认为调节细胞内辅酶 A 的核心因子。新近发现的 m R-103/7 基因簇中, m R-103 基因编码两条成熟 microRNA, m R-103(1) 和 m R-103(2), 与之不同, m R-107 基因仅编码一条单链核苷酸, 即 m R-107。m R-103/7 簇能增加细胞内乙酰辅酶 A 蓄积, 并将它们运输至三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TAC)。

m R-103/7 簇中, 三者基因分别定位于泛酸酰激酶基因的内含子区 PANK3、PANK2、PANK1。生物学模式提示, microRNA 常常与它所在的宿主基因有协同表达关系^[16-18]。也就是说, 在应激等情况下, 细胞代谢中 m R-103/107 水平发生变化, PANK 所编码蛋白亦会呈现一致性改变。因此, m R-103/7 很可能是通过减少细胞脂肪酸的合成及摄取, 增加丙酮酸脱氢酶复合物的活性而与 PANK 途径共同调节乙酰辅酶 A 和血脂代谢。

关于 antagomir 的研究发现, m R-122 能够降低胆固醇合

成酶的表达, 包括 HMG-CoA 在内的 11 个参与胆固醇合成的基因转录产物分别下降至初始水平的 1/4~5/7。不过, 由于生物学靶基因预测显示上述蛋白并非 m R-122 的直接作用靶标, 故 microRNA 参与该过程的机制还需更深入探索。

另外, 针对 HepG2 细胞的最新的体外研究结果表明, m R-370 和 m R-122 影响固醇调节元件结合蛋白 1c (SREBP-1c)、二脂酰甘油酰基转移酶 2 (DGAT2), m R-370 直接作用于肉毒碱棕榈酰基转移酶 1a (Cpt1a), 抑制其表达限制 β 氧化进程^[19], 调节长链脂肪酸生成和甘油三酯的生物合成。

3.3 microRNA 调节体内胆固醇水平

尽管体内所有细胞都合成胆固醇, 但肝细胞胆固醇逆转运途径却在维持体内胆固醇稳态, 包括胆固醇摄入流出的调节, 新生胆固醇的合成及胆固醇经胆汁分泌至小肠等过程中发挥着独一无二的作用。

m R-122 占肝内 microRNA 总量的 70%, 特异性表达于肝脏, 因此, 针对肝细胞中丰度最高的 m R-122 展开系列研究, 发现它是肝脏脂质代谢的重要调节因素。2005 年, 有学者们应用 microRNA 拮抗剂进行动物体内试验^[20]。他们向小鼠静脉内注射一定量的 m R-122 拮抗剂, 发现抑制 m R-122 作用后, 小鼠血浆胆固醇水平降低多达 40%; 他们还检测包括了 11 个参与胆固醇生物合成的基因转录产物, 发现其表达量分别下降, 尤为突出的是在肝组织提取物中 HMG-CoA 活性下降了 45%。2006 年, Esau 研究小组报道^[21]也证实, 在正常小鼠体内, 采用反义寡核苷酸抑制 m R-122 血浆中胆固醇水平也显著降低。而在肥胖小鼠模型中, 抑制 m R-122 不仅降低了血浆胆固醇水平, 还显著改善了肝脏的脂肪变性程度, 提高了磷酸甲羟戊酸激酶活性。故此, 推测 m R-122 是体内胆固醇及脂肪酸代谢的关键性调节因子, 它可导致肝脏中脂肪酸氧化增强, 胆固醇合成减少, 从而间接性调节血清胆固醇水平。

目前, 虽然众多的体内外试验证实 m R-122 调节血脂水平, 但我们推测其作用环节存在多样性和复杂性, 对 microRNA 在体内机制和作用途径的研究并不十分透彻。由于胆固醇合成基因往往并非 microRNA 的直接靶标, 因此我们认为下一步的研究应侧重于 m R-122 或其他 microRNA 是否参与胆固醇逆转运等具体步骤, microRNA 是否通过参与脂蛋白受体、清道夫受体、胆汁酸旁路相关基因的调节而发挥调脂作用。

3.4 microRNA 参与成脂分化和脂肪代谢

众多的体外研究揭示, microRNA 在前体脂肪细胞的脂向分化过程中扮演着重要角色。2004 年, 研究者采用芯片技术分析比较小鼠前体脂肪细胞和分化成熟的脂肪细胞间^[22]的 microRNA 谱, 发现了一系列差异表达的 microRNA, 包括上调表达的 m R-10b, m R-15, m R-26a, m R-34c, m R-98, m R-99a, m R-101, m R-101b, m R-143, m R-152, m R-183, m R-185, m R-224 和 let-7b, 以及在该过程中下调表达的 m R-181a 和 m R-182。

另有学者对人前脂肪细胞的分化进行了深入研究, 发现 m R-143 过表达能够促进成脂分化^[23], 而沉默它则能抑制分

化过程,同时检测 m R-143与分化标志物过氧化体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ)和脂肪酸结合蛋白 (aP2),显示其与后两者的表达密切相关,该研究小组进一步报道了 m R-143很可能是通过其靶基因 ERK5/BMK1而发挥作用的。

脂肪组织是重要的脂质代谢器官。最近, m iRNA 体内功能学研究也逐步展开^[24], R ieko等发现 m R-143是脂肪组织中丰度较高的一种 m iRNA,高脂饮食诱导的肥胖小鼠其体内脂肪组织中 m R-143表达上升,且上升的程度与小鼠体重和肠系膜脂肪重量等呈正相关。因此证实 m iRNA 是脂肪代谢中的重要调节因素之一。

4 展望

近年来发现, m iRNA 可能在基因表达调控领域中起着超乎想象的重要作用。 m iRNA 序列、结构、丰度和表达方式的多样性,使其可能作为蛋白质编码 mRNA 的强有力的调节子。 m iRNA 的发现丰富了人们对蛋白质合成控制的认识,补充了在 RNA 水平对靶 mRNA 分子进行更迅速和有效地调节,展现了细胞内基因表达调控全方位多层次的网络系统。 m iRNA 的研究经历了从个别 m iRNA 被发现,在多个物种中大量发现 m iRNA,在各个物种中进行 m iRNA 芯片进行表达谱测定和靶基因预测,进而对特异性表达的 m iRNA 在体内外的功能学探索,一直到目前的 m iRNA 与各系统疾病关系的研究这样一个全过程。

一方面,各系统疾病常由多个异常的 m iRNA 综合作用导致,同时某一特异 m iRNA 亦可有多个不同的靶 mRNA。因此搜寻探讨 m iRNA 及其靶标的工作需要大量的实验研究以及新的策略和技术。另一方面, m iRNA 在不同组织和细胞的表达动态过程也是一个焦点课题。在相同环境相同刺激下,不同细胞或者细胞分化过程中的不同阶段, m iRNA 的表达谱往往不一致,其生理病理意义也必然是将来探索的重点方向。

m iRNA 是后基因组时代重要的科学问题,血脂代谢相关 m iRNA 的发现让我们重新认识血脂、脂肪组织、脂肪细胞分化等重要问题,为心血管疾病和代谢性疾病提供新的视野。明确这些病理过程中发挥作用的特异 m iRNA,使其成为疾病诊断新的生物学标记,或者药物靶标,或模拟这些分子进行新药开发,将为人类疾病的治疗提供新的手段。

[参考文献]

- [1] Kusenda B, Mraz M, Mayer J, et al. MicroRNA biogenesis: functionality and cancer relevance [J]. *Biomol Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2006; **150** (2): 205-215.
- [2] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets [J]. *Cell*. 2005; **120** (1): 15-20.
- [3] Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis [J]. *Br J Cancer*. 2006; **94** (6): 776-780.
- [4] Lovis P, Roggli E, Laybutt DR, et al. Alterations in microRNA expression contribute to fatty acid-induced pancreatic beta-cell dysfunction [J]. *Diabetes*. 2008; **57** (10): 2728-2736.
- [5] Tavazoie SE, Alarcón C, Oskarsson T, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis [J]. *Nature*. 2008; **451** (7175): 147-152.
- [6] Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts [J]. *Nature*. 2008; **456** (7224): 980-984.
- [7] Saba R, Goodman CD, Huzarewicz RL, et al. A miRNA signature of prion-induced neurodegeneration [J]. *PLoS One*. 2008; **3** (11): e3652.
- [8] Ghosh Z, Mallick B, Chakrabarti J. Cellular versus viral microRNAs in host-virus interaction [J]. *Nucleic Acids Res*. 2009; **37** (4): 1035-1048.
- [9] Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science*. 2001; **294** (5543): 862-864.
- [10] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*. 2000; **403** (6772): 901-906.
- [11] Ambros V, Bartel B, Bartel DP, et al. A uniform system for microRNA annotation [J]. *RNA*. 2003; **9**: 277-279.
- [12] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*. 2004; **116** (2): 281-297.
- [13] Cuellar TL, Maniatis MT. MicroRNAs and endocrine biology [J]. *J Endocrinol*. 2005; **187** (3): 327-332.
- [14] Xu P, Vemoooy SY, Guo M, et al. The *Drosophila* microRNA Mir-14 suppresses cell death and is required for normal fat metabolism [J]. *Curr Biol*. 2003; **13** (9): 790-795.
- [15] Telem AA, Maitra S, Cohen SM. *Drosophila* lacking microRNA miR-278 are defective in energy homeostasis [J]. *Genes Dev*. 2006; **20** (4): 417-422.
- [16] Rodríguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, et al. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units [J]. *Genome Res*. 2004; **14** (10A): 1902-1910.
- [17] Baskerville S, Bartel DP. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring mRNAs and host genes [J]. *RNA*. 2005; **11** (3): 241-247.
- [18] Ying SY, Lin SL. Current perspectives in intronic microRNAs (miRNAs) [J]. *J Biomed Sci*. 2006; **13** (1): 5-15.
- [19] Iliopoulos D, Drosatos K, Hiyama Y, et al. MicroRNA-370 controls the expression of microRNA-122 and Cpt1alpha and affects lipid metabolism [J]. *J Lipid Res*. 2010; **51** (6): 1513-1523.
- [20] Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with antagomirs [J]. *Nature*. 2005; **438** (7068): 685-689.
- [21] Esau C, Davis S, Murray SE, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting [J]. *Cell Metab*. 2006; **3** (2): 87-98.
- [22] Kajimoto K, Naraba H, Iwai N. MicroRNA and 3T3-L1 preadipocyte differentiation [J]. *RNA*. 2006; **12** (9): 1626-1632.
- [23] Esau C, Kang X, Peralta E, et al. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation [J]. *J Biol Chem*. 2004; **279** (50): 52361-52365.
- [24] Takanabe R, Ono K, Abe Y, et al. Up-regulated expression of microRNA-143 in association with obesity in adipose tissue of mice fed high-fat diet [J]. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; **376** (4): 728-732.

(此文编辑 文玉珊)