

miRNA 在早发冠心病中的研究进展

罗亚 综述 许官学 审校

遵义医科大学附属医院心血管内科, 贵州 遵义 563300

【摘要】 miRNA 是一种内源性 RNA, 通过与蛋白质编码基因的 mRNA 配对以指导其转录后抑制, 在动植物中发挥重要的基因调节作用。近来研究发现 miRNA 在肿瘤、炎症和心血管疾病中起着重要的作用。随着冠心病的发病率和病死率逐年上升, 冠心病呈年轻化趋势, 多中心研究数据表明, miRNA 通过直接或间接调控其危险因素进而促进冠心病的发生。本文就 miRNA 在早发冠心病中的研究进展做一综述。

【关键词】 miRNA; 调控; 早发冠心病; 危险因素; 研究进展

【中图分类号】 R541.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)18-2422-04

Research progress of miRNAs in premature coronary heart disease. LUO Ya, XU Guan-xue. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563300, Guizhou, CHINA

【Abstract】 miRNA is an endogenous RNA, which is paired with the mRNA of protein-coding genes to guide its post-transcriptional suppression, and plays an important role in gene regulation in animals and plants. Recent studies have found that miRNA plays an important role in tumors, inflammation, and cardiovascular diseases. With the increase in the incidence and mortality of coronary heart disease year by year, coronary heart disease shows a younger trend. Multi-center research data shows that miRNA promotes the occurrence of coronary heart disease through direct or indirect regulation and with other factors. This article reviews the research progress of miRNA in premature coronary heart disease.

【Key words】 miRNA; Regulation; Premature coronary heart disease; Risk factors; Research progress

目前我国心血管病死亡率占据居民死亡原因第一位, 超过肿瘤及其他疾病, 占居民因病导致死亡原因的 40% 以上。据预测, 现我国心血管病患者人数大约为 2.9 亿, 这部分人群中冠心病(coronary heart disease, CHD)患者超过 1 000 万, 而急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)死亡率上升趋势明显, 且发病年龄逐渐年轻化^[1]。根据美国胆固醇教育计划成人治疗组第三次报告(NECP-ATP III)中把早发冠心病(premature coronary artery disease, PCAD)定义为发生冠心病(coronary heart disease, CHD)时男性患者年龄 ≤ 55 岁, 女性患者 ≤ 65 岁^[2]。这类患者无论是在生活质量、治疗费用、预后情况或是心脏病不良事件发生率均较晚发冠心病患者高。近年来, miRNA (microRNA) 作为心血管疾病的研究热点, 其通过直接或间接调控其危险因素进而促进冠心病的发生。本文就 miRNA 在早发冠心病危险因素中的作用机制及疾病进展进行综述, 为冠心病的预防及治疗提供理论基础。

1 miRNA 简介

miRNA 是从长链 RNA 转录的茎环结构加工而成, 长度约为 22 个核酸的小分子内源性调控 RNA, 可以通过靶向 mRNA 的修饰或翻译阻遏在生物体内发挥重要的调控作用^[3]。它是多细胞生物中数量较多的

一类基因调控分子之一, 可能影响着许多蛋白质编码基因的输出。LEE 等^[4]于 1993 年在线虫中发现 miRNA, 命名为 *Lin-4* 基因, 这种基因不参与翻译蛋白质, 而是通过翻译抑制核蛋白基因的表达调控线虫的发育。REINHART 等^[5]也在线虫中发现另一种 miRNA, 将其命名为 *Let-7* 基因, 也发现其可以通过某种机制调控线虫的发育。miRNA 被认为是存在生物体内并通过多种机制共同调控生物的发育。近年来, 随着人们对 miRNA 的认识及研究方法的不断改进, 越来越多的 miRNA 被发现, 目前为止已知的 miRNA 至少达 1 000 种以上。

miRNA 基因位于除了 Y 染色体的人染色体中, 最初由细胞编码 miRNA 经 RNA 聚合酶 II 转录成为初级 miRNA (pri-miRNA), pri-miRNA 在细胞核中被进一步加工成“发夹结构”, 除小部分通过“miRtron 途径”的 mRNA 剪切机制产生前体 miRNA (pre-miRNA) 外, 另大多数经核糖核酸酶 III Droscha 处理而来。pre-miRNA 长度为 55~80 个核酸, 经核糖核酸酶 III Dicer 处理成长度为 21~22 个核酸的 miRNA/miRNA* 双链结构, 然后在解旋酶的作用下 miRNA/miRNA* 双链结构解旋, 经过加工后获得成熟 miRNA, 被标记为 miRNA* 的链则被降解^[6]。成熟的 miRNA 被结合到 RNA 诱导沉默复合物(RISC)上, 引导 RISC 识别降解或翻译抑

通讯作者: 许官学, 主任医师, E-mail: xuguanxue2008@163.com

制靶向 mRNA,从而干扰翻译过程达到翻译阻遏的目的^[7]。

2 miRNA与早发冠心病关系

大量研究表明,miRNA在冠状动脉斑块形成、血管壁炎症中发挥重要调节作用,血浆 miRNA水平和冠状动脉病变程度有关^[8],循环 miRNA在冠心病的早发中具有早期诊断和预测价值。近年来 miRNA成为冠心病的研究热点之一,希望通过基因水平调控机制预防冠心病发病的年轻化。

2.1 川崎病致早发动脉粥样硬化 川崎病(Kawasaki disease, KD)是一种好发于儿童的急性自身免疫性疾病,通常发病年龄在5岁以下,发病机制目前尚不明确,其病理改变为小儿血管炎,受累血管为中小血管,以冠状动脉为主,可引发冠状动脉粥样硬化狭窄、冠状动脉瘤及冠状动脉扩张等。如果不进行早期干预,则会导致患者CHD发生年龄提前,甚至诱发急性心肌梗死、缺血性心肌病、心源性猝死等^[9]发生。有研究表明, KD患者在治愈多年后血管内皮细胞功能障碍及慢性炎症反应仍然存在^[10]。ROWLEY等^[11]在因KD死亡患儿中分离出冠状动脉,使用改良核酸酶保护定量分析方法检测冠状动脉组织上的miRNAs表达显示在KD患儿冠状动脉有26个miRNAs上调,但没有证据表明上调miRNAs与冠状动脉损害有关。NAKAOKA等^[12]将急性KD患者分为冠状动脉损害组和非冠状动脉损害组,并检测其血浆miRNA水平,结果表明在冠状动脉损害组中有16个miRNAs上调,为确定mRNA冠状动脉损害潜在靶点,对这16个miRNAs进一步分析,在这16个miRNAs中只有miRNA-145-5p、miRNA-320a、miRNA-320b符合标准。miRNA-145-5p在川崎病血浆中高度表达,在冠状动脉损害组血浆水平高于非冠状动脉损害组约1.23倍。他们同时发现冠脉损害组动脉壁中有中性粒细胞浸润,分析发现miRNA-145-5p可与溶酶体跨膜蛋白9B(TMEMP9B)相互作用,刺激白介素-6(IL-6)的表达。miRNA-320a可与骨成型蛋白受体1A(BMPR-1A)相互作用,并通过BMPR-1A细胞内信号转导与肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达有关,这些炎症细胞因子可能相互作用,导致粒细胞集落刺激因子(G-CSF)上调,炎症因子的上调与内皮微粒(EMP)呈正相关。EMP也可以介导单核细胞进入内皮细胞,并释放炎症介质,从而导致血管损伤、血管细胞内皮功能障碍等^[13],并且在急性KD恢复期中,仍能检测出EMP。综上所述,miRNA可以调控KD的发生,引起血管、内皮细胞的损伤,参与冠心病的发生、进展,诱发早发冠心病的发生。

2.2 血管细胞功能 miRNA对血管内皮细胞(VEC)和血管平滑肌(VSMCs)具有调控作用。当miR-

NA失衡,可能会出现VEC、VSMCs衰老,使血管老化,影响血管功能,导致血压升高、动脉粥样硬化等,促进CHD的发生发展^[14-15]。范迎春等^[16]分析CHD组和对照组发现,CHD组患者血浆miRNA-221水平明显高于对照组,且血浆miRNA-221水平与冠状动脉Gensin积分呈正相关,提示miRNA-221可能介导VEC的调节,在冠状动脉病变中发挥作用。MACKENZIE等^[17]在小鼠模型中用miRNA-221和miRNA-222模拟转染VSMCs,发现钙沉积显著增加,当单个miRNA-221和miRNA-222模拟转染VSMCs时与对照组无明显差异,表明miRNA-221和miRNA-222在血管钙化起着协同作用。ZHANG等^[18]测量原发性高血压组及对照组中的血浆miRNA-122,发现原发性高血压组血浆中的miRNA-122明显高于对照组,但阳离子氨基酸转运蛋白-1(CAT-1)表达低于对照组,miRNA-122和CAT-1蛋白的表达呈负相关。原发性高血压组年轻患者血浆中的CAT-1表达水平明显高于40岁年龄组,而miRNA的表达水平偏低,通过分析发现在原发性高血压组患者中,miRNA-122的高表达可抑制CAT-1的表达,导致VEC功能障碍,促进冠状动脉病变形成。从上述研究发现miRNA可调控VSMCs、VEC的增殖、迁移、凋亡等,促进冠状动脉粥样斑块的形成及钙化。

2.3 血小板 血小板是巨核细胞在成熟的过程中脱落的物质,是凝血系统的重要组成部分,参与动脉粥样斑块的形成、破裂等,促进CHD的发生、进展。血小板无细胞核结构,不能从头转录基因,因此依赖miRNA来实现调控其聚集、黏附、分泌等功能,因此血小板miRNA在血小板的生物合成和功能中扮演重要角色。血小板miRNA还能调控血小板在凝血酶的刺激后释放出含有血小板微粒(PMPs)的细胞外囊泡(EVs),PMPs不仅参与止血和血栓的形成,还参与冠状动脉炎症的发生^[19]。李丽等^[20]研究发现与对照组相比,PCAD组血小板计数明显降低,而血小板平均体积升高,经多因素Losisitc回归分析发现,血小板计数是PCAD独立危险因素,并且与冠状动脉病变程度相关。TIAN等^[21]在兔动脉斑块模型中使用PCR法检测血小板miRNA-126和血小板miRNA-223的表达,较正常对照组,动脉斑块硬化组miRNA-126和miRNA-223表达下调,而靶基因血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)和P2Y12的表达上调,提示miRNA-126和miRNA-223的异常表达可能和动脉粥样硬化斑块的发生和进展相关。深入研究发现miRNA-126与冠状动脉狭窄程度有关,促进早期冠状动脉粥样硬化斑块的形成。SONDERMEIJER等^[22]使用逆转录定量PCR方法检测PCAD组与正常对照组中血小板miRNA表达水平,与对照组相比,PCAD组血小板miRNA-340*

和 miRNA624* 显著升高,提示着血小板 miRNA 在早期通过某种机制调控着血小板对血管功能的影响。因而认为,miRNA 可与靶基因结合从而调控血小板对冠状动脉的功能发挥作用,导致冠状动脉血管功能障碍。

2.4 高尿酸血症 随着人类饮食结构和生活方式的改变,高尿酸血症的发病率逐年上升。高尿酸可导致血管内皮功能障碍、冠状动脉内血栓形成、高血压、冠状动脉粥样硬化等,已成为心血管病的独立危险因素,促进冠心病发病年龄提前^[23]。YU 等^[24]使用高浓度尿酸刺激内皮细胞 48 h 后使用微阵列对内皮细胞进行 miRNA 表达谱分析。研究结果显示在高尿酸的刺激下 miRNA-92a 下调,其下调导致 Kruppel 样转录因子 2 (KLF2) 的表达升高,KLF2 能下调血管内皮因子 A (VEGFA) 抑制血管再生。张雪光等^[25]同样以高浓度尿酸刺激内皮细胞 24 h、48 h,然后用实时荧光检测 miRNA-155 的表达,显示 miRNA-155 表达上调,内皮型一氧化氮酶(eNOS)表达下调,致使血浆一氧化氮(NO)含量下降,VEC 功能发生障碍。崔艳等^[26]在男性 CHD 患者中发现不稳定性心绞痛组血尿酸水平明显高于稳定性心绞痛组、急性心肌梗死组,证实了血尿酸对 CHD 的发生及进展有一定影响。周春娟等^[27]对比 CHD 患者冠状动脉病变数量及严重程度,发现其病变血管数量、病变程度与尿酸呈正相关,表明血尿酸水平对冠状动脉病变特点有预测价值。综上,血尿酸可通过 miRNA 调控机制,使得 VEC 功能障碍,加重冠状动脉损害,促进 CHD 的发生。

2.5 同型半胱氨酸 同型半胱氨酸(Hcy)是人体非必需含硫氨基酸,是体内氨基酸循环产生的重要中间产物。大量研究证实,Hcy 血浆水平与心血管疾病的发病风险相关。血浆 Hcy 可导致血管内皮功能紊乱及氧化应激增加,被认为是动脉粥样硬化发展和心血管不良事件发生的独立危险因素^[28]。LI 等^[29]检测 PCAD 患者血浆 Hcy 明显高于对照组,且冠状动脉病变程度明显较对照组严重,其中多支病变及双支病变患者中血浆 Hcy 水平明显高于单支病变患者。LIU 等^[30]在研究高血浆 Hcy 与动脉粥样硬化关系中发现 miRNA-145、miRNA-155、miRNA-133 和 miRNA-217 的表达水平与 Hcy 呈负相关,miRNA-217 在动脉粥样硬化患者的中的表达模式最为特异性,可能有助于预测高血浆 Hcy 患者动脉粥样硬化的进展。DUAN 等^[31]使用 miRNA-217 模拟物和抑制剂转染人和大鼠主动脉平滑肌细胞,在转染 48 h 后再暴露于 Hcy 溶液中,24 h 后检测血管平滑肌细胞的增殖情况,与对照组相比,Hcy 不影响 VSMCs 的活力,经 miRNA-217 模拟物转染的 VSMCs 细胞增殖明显受到抑制,miRNA-217 抑制剂没有改变 Hcy 对 VSMCs 细胞增殖的调节。研究提示 miRNA-217 可以通过 N-甲基-D-天冬氨酸受体的作用来调节 Hcy 对 VSMCs 细胞

的增殖和迁移,该研究通过进一步检测 VSMCs 细胞的迁移,发现 miRNA-217 模拟物明显抑制 VSMCs 细胞的迁移,而 miRNA-217 抑制剂促进 VSMCs 细胞的迁移。

2.6 胆固醇代谢 胆固醇是类固醇激素和胆汁酸的前体,是组成细胞膜结构的重要成分之一,主要由肝脏产生、代谢,对维持细胞膜的正常生理功能有重要作用。血浆胆固醇水平处于动态平衡之中,当失衡导致血浆胆固醇水平含量过高时会出现高胆固醇血症,过高的血浆胆固醇水平则引起动脉粥样硬化,促进冠心病的发生。ZHANG 等^[32]检测动脉粥样硬化组和健康对照组血浆水平中的 miRNA-217,动脉粥样硬化组血浆 miRNA-217 水平明显升高,为进一步检测 miRNA-217 对动脉粥样硬化细胞模型总胆固醇水平的影响,与对照组相比,使用氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)处理的总胆固醇水平明显升高,而 miRNA-217 抑制剂明显降低 ox-LDL 诱导的总胆固醇水平,证实了 miRNA-217 可以调控 ox-LDL 水平影响血浆总胆固醇水平。此外,研究发现 miRNA-98 不仅在肿瘤调控中起着重要作用,而且参与胆固醇的代谢。GENG 等^[33]分析健康对照组与高胆固醇血症患者中 miRNA-98 关系发现高胆固醇血症患者的血清和肝脏 miRNA-98 水平明显降低,而高胆固醇血症患者中胆固醇调节元件结合蛋白-2 mRNA (SREBP-2 mRNA) 水平明显高于对照组,证实在胆固醇代谢中 SREBP-2 mRNA 是 miRNA-98 的靶基因,miRNA-98 可以调控 SREBP-2 水平影响胆固醇的代谢。以上研究证明 miRNA 可以调控胆固醇的代谢,影响血浆总胆固醇水平,从而促进冠心病的发生。

3 结语

近年来 miRNA 被视为可应用于临床的新型生物学标志物,而且越来越多的心脏相关 miRNA 被发现参与冠状动脉粥样硬化的调控,其调控机制与冠心病的发生年龄提前密切相关,可指导冠心病的预防、监测及治疗。目前直接应用于解决临床问题仍然存在许多问题,但随着人类对心脏相关 miRNA 更深入的研究和技术的不断进步,可为早发冠心病的发病机制及预防措施提供新的思路。

参考文献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3): 209-220.
- [2] National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, III) aToHBCiA (TP. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report [J]. Circulation, 2002, 106(25): 3143-3421.
- [3] BARTEL DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.

- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] SUN G, YAN J, NOLTNER K, et al. SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function [J]. *RNA*, 2009, 15(9): 1640-1651.
- [7] YUE SB, TRUJILLO RD, TANG Y, et al. Loop nucleotides control primary and mature miRNA function in target recognition and repression [J]. *RNA Biol*, 2011, 8(6): 1115-1123.
- [8] KUMAR D, NARANG R, SREENIVAS V, et al. Circulatory miR-133b and miR-21 as novel biomarkers in early prediction and diagnosis of coronary artery disease [J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(2): 164.
- [9] 陈永琴. 川崎病发病机制及诊治的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2019, 12(11): 1254-1258.
- [10] 蔡招华, 刘亚黎. 川崎病患者易早发动脉粥样硬化[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(9): 709-712.
- [11] ROWLEY AH, PINK AJ, REINDEL R, et al. A study of cardiovascular miRNA biomarkers for Kawasaki disease [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2014, 33(12): 1296-1299.
- [12] NAKAOKA H, HIRONO K, YAMAMOTO S, et al. MicroRNA-145-5p and microRNA-320a encapsulated in endothelial microparticles contribute to the progression of vasculitis in acute Kawasaki Disease [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1016.
- [13] 孙敏洁, 周静. 内皮微粒与冠心病关系的研究进展[J]. 海南医学, 2016, 27(3): 441-443.
- [14] 沈凤, 陶晓静, 欧和生. miRNA-145对血管平滑肌细胞功能调节与心血管病研究进展[J]. 生理科学进展, 2017, 48(5): 357-361.
- [15] CAO Q, WU J, WANG X, et al. Noncoding RNAs in vascular aging [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 7914957.
- [16] 范迎春, 李锋, 朱孟霞, 等. 血清 25(OH)D₃、miR-221 水平与冠状动脉病变程度、内皮功能的关系 [J]. 重庆医学, 2019, 48(8): 1339-1343.
- [17] MACKENZIE NC, STAINES KA, ZHU D, et al. miRNA-221 and miRNA-222 synergistically function to promote vascular calcification [J]. *Cell Biochem Funct*, 2014, 32(2): 209-216.
- [18] ZHANG HG, ZHANG QJ, LI BW, et al. The circulating level of miR-122 is a potential risk factor for endothelial dysfunction in young patients with essential hypertension [J]. *Hypertens Res*, 2020, 43(6): 511-517.
- [19] PROVOST P. The clinical significance of platelet microparticle-associated microRNAs [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(5): 657-666.
- [20] 李丽, 解杨婧, 王爱玲. 血小板参数在早发冠心病冠脉病变中的临床意义及预测价值[J]. 安徽医药, 2016, 20(3): 484-487.
- [21] TIAN HS, ZHOU QG, SHAO F. Relationship between arterial atherosclerotic plaque morphology and platelet-associated miR-126 and miR-223 expressions [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8(4): 309-314.
- [22] SONDERMEIJER BM, BAKKER A, HALLIANI A, et al. Platelets in patients with premature coronary artery disease exhibit upregulation of miRNA340* and miRNA624* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25946.
- [23] 陈永俊, 郝应禄, 李燕萍. 高尿酸血症与早发冠心病的相关性研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(2): 322-325, 330.
- [24] YU S, HONG Q, WANG Y, et al. High concentrations of uric acid inhibit angiogenesis via regulation of the Krüppel-like factor 2-vascular endothelial growth factor-A axis by miR-92a [J]. *Circ J*, 2015, 79(11): 2487-2498.
- [25] 张雪光, 洪权, 侯凯, 等. 高尿酸通过 miR-155 下调 eNOS 表达而导致内皮细胞功能障碍 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(8): 1141-1145.
- [26] 崔艳, 李艳, 戴雯. 男性冠心病患者血清高敏 C 反应蛋白及尿酸水平的变化及其临床意义 [J]. 海南医学, 2017, 28(6): 912-914.
- [27] 周春娟, 毛文娟, 王瑜硕, 等. 冠心病患者血清脂蛋白、尿酸水平与冠脉狭窄程度的相关性 [J]. 海南医学, 2019, 30(24): 3152-3155.
- [28] KATHARINA S, GRAMMER TANJA B, BOEHM BERNHARD O, et al. Total homocysteine in patients with angiographic coronary artery disease correlates with inflammation markers [J]. *Thromb Haemost*, 2010, 103(5): 926-935.
- [29] LI S, PAN G, CHEN H, et al. Determination of serum homocysteine and hypersensitive C-reactive protein and their correlation with premature coronary heart disease [J]. *Heart Surg Forum*, 2019, 22(3): E215-E217.
- [30] LIU K, XUEKELATI S, ZHOU K, et al. Expression profiles of six atherosclerosis-associated microRNAs that cluster in patients with hyperhomocysteinemia: a clinical study [J]. *DNA Cell Biol*, 2018, 37(3): 189-198.
- [31] DUAN H, LI Y, YAN L, et al. MicroRNA-217 suppresses homocysteine-induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells via N-methyl-D-aspartic acid receptor inhibition [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(10): 967-975.
- [32] ZHANG L, CHEN J, HE Q, et al. MicroRNA-217 is involved in the progression of atherosclerosis through regulating inflammatory responses by targeting sirtuin 1 [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(4): 3182-3190.
- [33] GENG C, DONG T, JIN W, et al. MicroRNA-98 regulates hepatic cholesterol metabolism via targeting sterol regulatory element-binding protein 2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504(2): 422-426.

(收稿日期: 2020-04-20)