

外泌体源性 miRNAs 在心血管疾病中的研究进展

张伟¹ 木胡牙提^{1,2}

(1. 新疆医科大学第一临床医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学第一附属医院综合心脏内科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】 心血管疾病与相关基因的表达密切相关。外泌体源性 miRNAs 可参与细胞间信息交流并调控基因表达, 是诊断心血管疾病的新型标志物及潜在治疗靶点。现总结外泌体源性 miRNAs 在心血管疾病中的研究热点及进展。

【关键词】 外泌体; miRNAs; 心血管疾病

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.02.002

Exogenous miRNAs in Cardiovascular Diseases

ZHANG Wei¹, Muhuyati^{1,2}

(1. The First Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China; 2. The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

【Abstract】 Cardiovascular disease is closely related to the expression of genes. Exogenous miRNAs take participate in the exchange of information among cells and regulate gene expression. It is a new marker for the diagnosis of cardiovascular diseases and potential therapeutic target. The research hotspots and progress of exogenous miRNAs in cardiovascular diseases were summarized in this paper.

【Key words】 Exosomes; miRNAs; Cardiovascular disease

全球人群心血管疾病的患病率和致死率逐年上升, 严重威胁公众健康, 研究发现相关基因的表达与心血管疾病息息相关。外泌体可参与包含各种生物分子(包括来自分泌细胞的蛋白质)之间信息交换, 因而在疾病中发挥重要作用, 如 microRNA (miRNA)、circularRNA (circRNA)、mRNA、DNA 和脂质等^[1]。其中, miRNAs 可以操控多种基因的表达, 是一种潜在的且高度敏感的生物标志物, 在心血管疾病的早期诊断及治疗中起着不可估量的作用^[2]。外泌体可通过携带 miRNAs 增强子参与细胞间信息转换, 使其成为一种新型的疾病诊断指标和治疗靶点。本文简要回顾外泌体源性 miRNAs 在心血管疾病方面最新研究进展。

1 外泌体源性 miRNAs 简介

外泌体是一类 30 ~ 100 nm 的脂质双层囊泡结构, 其可存在于大多数体液中, 譬如血浆、尿液、脑脊髓液、腹水和唾液等, 也可存在于细胞的培养基中。于 1983 年在哺乳动物成熟的网织红细胞中首次发现, 随后从变形虫原生动物到真菌、植物和动物的真核生物中都发现了外泌体。外泌体由内质网产生, 内质网最初从细胞膜出芽形成一期内涵体, 随后内涵体膜再出芽形成腔内囊泡与胞膜融合, 排泄通过胞吐作用, 至

胞外形成外泌体^[3]。外泌体可依赖表面分子靶向作用于受体细胞, 并且其内容物可被呈递至靶细胞中, 介导内环境细胞间信号传导, 可随生理或病理应激而改变。研究表明, 来自于疾病状态的细胞的外泌体也可进入至循环系统, 这远比传统的病理切片更易获得, 更有利于疾病的诊断。

miRNAs 是一类高度保守的内源性、非编码小的单链 RNA, 由 18 ~ 24 个核苷酸组成。1993 年, Bartel 首次在线虫中发现了 miRNAs, 然而直到最近 10 年人们才开始关注它在疾病中的作用, miRNAs 通过与靶氨基酸端不完全互补结合进而操控转录后基因的表达。根据研究统计, 迄今已发现超过 2 000 种人类 miRNAs, 其可调节至少 60% 的人类蛋白质编码基因^[4]。miRNAs 存在广泛性、多样性及特异性, 调节人体多种生理活动, 如生长发育、细胞增殖、细胞凋亡和分化等。且 miRNAs 与心血管疾病相关, 已经证实 miR-1、miR-126、miR-133a、miR-299、miR-499 和 miR-208 等与心血管疾病的发生发展密切相关。

2 外泌体源性 miRNAs 与心血管疾病

2.1 外泌体源性 miRNAs 与心肌梗死

心肌梗死是冠状动脉粥样斑块破裂引发的急剧

缺血和缺氧性心肌坏死。在心肌梗死后,外周血中 miRNAs 显著增加,并且组分是特异的,预期其将成为心肌梗死指标,同时,已有大量研究发现外泌体参与了心肌细胞的抗凋亡机制。Jakob 等^[5]发现在急性冠脉综合征的发生中,miR-26b-5p 可以预防不良心肌细胞肥大,然而,miR-320a 可以促进心肌细胞凋亡,影响来自于不同病理生理途径的急性冠脉综合征发生。其他研究表明 miR-133a 在急性梗死心肌及梗死心肌周边心肌中的水平非常低,心肌细胞中升高的钙离子浓度促进含有 miRNAs 的外泌体的释放,并且钙离子载体诱导 miR-133a 释放到外周血中,它可以用作心肌细胞损伤的早期诊断标志物。此外,外泌体源性 miR-133a 和 miR-1 的高表达同时也促进血管生成,调节心肌修复,miR-126 和 miR-130 也具有相似作用^[6]。He 等^[7]发现 miR-124 的基因敲除可通过靶向作用于信号传导及转录激活蛋白 3 抑制心肌梗死后的细胞凋亡和改善线粒体功能障碍,进而保护心肌。Zhang 等^[8]证明 miR-298 可通过靶基因抑制细胞色素和切割蛋白的表达而提高心肌梗死后新生血管的形成。最新研究表明移植的干细胞可以释放含有 miR-1 和 miR-126 的外泌体,增加新生大鼠心室肌细胞的存活概率,miR-126 还通过减弱线粒体膜电位而减少细胞的凋亡,进而改善心脏功能^[9]。在心肌梗死后使用再生疗法补充心肌细胞,寻找 miRNAs 相关的增殖关键调节因子,可能成为心肌细胞修复的新型治疗潜在靶点。

2.2 外泌体源性 miRNAs 与心力衰竭

心力衰竭号称各类心血管疾病的“最终战场”,五年生存率甚至低于 50%。以往研究发现,收缩性心力衰竭患者的血清 miR-30a 浓度显著上调,miR-221/222 显著下调。为更好地识别射血分数保留性心力衰竭并对其早期干预,近期有研究发现,多个 miRNAs 与传统标志物脑钠肽的联合使用,在识别非急性射血分数保留性心力衰竭方面具有更高的特异性^[10]。Masson 等^[11]发现在慢性心力衰竭患者中,循环 miR-132 表达水平与心力衰竭严重程度成正比,且 miR-132 表达水平下调将降低心力衰竭患者再入院风险,但在降低心力衰竭患者死亡率方面并不显著。Zhang 等^[12]发现线粒体去乙酰化酶信号传导及转录激活蛋白 3 通过调节线粒体乙酰化体在维持线粒体功能方面起着关键作用,而心力衰竭患者心肌中 miR-195 的表达上调会促进乙酰化进而影响乙酰化酶信号传导及转录激活蛋白 3 及影响心肌的代谢。以往的研究已经证实,miR-22 在小鼠新生心肌细胞及体外细胞衰老中显著上调,并且对 miR-22 的抑制可阻碍衰老心肌细胞的自噬,并抑制细胞肥大,从而改善心力衰竭。Gao 等^[13]发现 miR-19a/19b 抑制了与免疫应答相关的基因,在心肌梗死后向小鼠心肌细胞呈递 miR-19a/19b 以证实 miR-19a/19b 在保护心脏功能方面的治疗潜力,最终

miR-19a/19b 被确立为治疗心力衰竭的靶标。上述研究表明,探索特异 miRNAs 的生物学特性有助于发掘心力衰竭的新型治疗潜在靶点。

2.3 外泌体源性 miRNAs 与心房颤动

心房颤动是由各种心脏疾病引起的心房结构重构及电重构,研究表明,miR-1 的下调促进心房肌电压门控钾离子通道开放增加,并引起心房组织纤维化增加心房结构重构,促进心房颤动发生。Terentyev 等^[14]研究发现心房肌细胞电压门控钙离子通道的开放可通过 miR-1 来调控,当 miR-1 过表达时,钙离子向心房肌细胞内流增加,促进心房颤动。Lu 等^[15]证明 miR-328 作用于 I 型钙离子通道,引起有害的电重构以促进心房颤动,并且敲除 miR-328 可减少心房颤动。Reilly 等^[16]发现心房颤动患者心房肌细胞中 miR-31 的特异性上调可恢复肌营养不良蛋白和神经元型一氧化氮合酶,使动作电位的持续时间及其速率依赖性正常化,反过来又导致心房表型产生心房颤动,因此,miR-31 可能代表心房颤动中的潜在治疗靶标。Shen 等在探讨 miR-125a 多态性与心房颤动消融后复发之间的关系中发现,miR-125a 的表达在心房颤动的晚期复发受试者中显著增加,而白介素-6R mRNA 的水平显著下降。Zhao 等^[17]发现 CACNA1C 是 miR-29a-3p 的直接靶基因,在研究心房颤动发生的分子机制中验证了 miR-29a-3p 和 CACNA1C 之间存在负调控,心房肌细胞中内源性 miR-29a-3p 对心房肌的强直抑制作用,预期 miR-29a-3p 是治疗心房颤动的潜在治疗靶标。

2.4 外泌体源性 miRNAs 和其他心血管疾病

2.4.1 外泌体源性 miRNAs 与高血压

RAAS 系统的激活是促进高血压形成的重要因素之一,Liu 等^[18]证实 miR-19a/b-3p 家族可直接作用于一个新的靶点(PDE5A),通过对血管紧张素 II 诱导进而发挥对高血压心肌肥厚的拮抗作用,也就是说其表达上调有助于改善心肌重构。另有研究发现抑制 miR-23a 的表达有助于高血压的预防。Li 等^[19]发现高血压患者循环 miR-21 水平与血压呈正相关,揭示了 miR-21 在线粒体翻译中可降低血压和减轻心肌肥厚,为开发基于 miRNA 的抗高血压药物提供了新的理论基础。

2.4.2 外泌体源性 miRNAs 与动脉硬化

miRNAs 可直接通过羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶或间接通过调节靶向细胞色素 P450-3A(CYP3A)和枯草杆菌蛋白酶的功能参与脂代谢^[20]。已证实 miR-122 的减少可以使高密度脂蛋白及低密度脂蛋白同时减少,miR-33 作用位点为胆固醇转运蛋白,其高表达可抑制胞内胆固醇向胞外转移。miR-145 对动脉粥样硬化斑块有重要作用^[21],miR-145 表达升高可以使斑块体积缩小并使斑块稳定,还可促进胶原合成抑制损

伤。miR-9 通过作用于酪氨酸激酶及金属蛋白酶,对动脉粥样硬化中的炎症反应产生强的抑制作用^[22], miR-9 表达的上调可预防动脉硬化并成为其治疗的基础。然而 miR-221 和 miR-155 增加巨噬细胞活性,使斑块破裂风险增加。

2.4.3 外泌体源性 miRNAs 与围产期心脏病

围产期心脏病指孕最后 1 个月及分娩后 5 个月内产生的不可逆性心肌细胞损伤,其特点为收缩性心力衰竭^[23]。研究表明,与产后健康女性相比,围产期心脏病患者循环外泌体 miR-146a 明显增加,且在心力衰竭标准化后 miR-146a 减少,推测 miR-146a 有望成为围产期心脏病患者早诊断、早干预及预后评估的生物标志物。

2.4.4 外泌体源性 miRNAs 与肺动脉高压

肺动脉高压病理特征是过度增殖、迁移和凋亡发生在肺动脉平滑肌细胞和肺动脉内皮细胞,研究发现在全身性血管疾病中,通过增加转录因子 Runt 相关转录因子 2 的表达,miR-204 的表达降低促进肺动脉平滑肌细胞的过度增殖,导致肺动脉高压^[24]。Li 等^[25]研究发现 miR-150 过表达抑制缺氧诱导的肺动脉内皮细胞增殖和细胞凋亡,进一步阐明 miR-150 上调可以预防缺氧诱导的肺内血管重塑。

3 展望

与许多临床适用的生物标志物相关的问题尚未得到全面解决,就外泌体源性 miRNAs 而言,它们在心血管疾病中的潜在应用价值可从以下方面切入:(1)发掘更多心血管疾病相关性外泌体 miRNAs 种类;(2)将外泌体 miRNAs 作为中间体,利用基因工程技术从基因和蛋白水平构建模型进一步探索心血管病的发病机制,为靶向治疗心血管疾病提供可行性;(3)将外泌体作为 miRNAs 的转染载体以精确调节靶蛋白的表达水平,探索外泌体纯化及提取的简易方法,将为心血管疾病的早期诊断、早期干预及预后改善开辟道路。

参考文献

- [1] Sahoo S, Losordo DW. Exosomes and cardiac repair after myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2014, 114(2):333-344.
- [2] Barwari T, Joshi A, Mayr M. MicroRNAs in cardiovascular disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(23):2577-2584.
- [3] Barile L, Moccetti T, Marban E, et al. Roles of exosomes in cardioprotection [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(18):1372-1379.
- [4] Hsu SD, Lin FM, Wu WY, et al. miRTarBase: a database curates experimentally validated microRNA-target interactions [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue):D163-D169.
- [5] Jakob P, Kacprowski T, Briand-Schumacher S, et al. Profiling and validation of circulating microRNAs for cardiovascular events in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(7):511-515.
- [6] Jakob P, Doerries C, Briand S, et al. Loss of angiomiR-126 and 130a in angiogenic early outgrowth cells from patients with chronic heart failure: role for impaired in vivo neovascularization and cardiac repair capacity [J]. *Circulation*, 2012, 126(25):2962-2975.
- [7] He F, Liu H, Guo J, et al. Inhibition of microRNA-124 reduces cardiomyocyte apoptosis following myocardial infarction via targeting STAT3 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(1):186-200.
- [8] Zhang Q, Yu N, Yu BT. MicroRNA-298 regulates apoptosis of cardiomyocytes after myocardial infarction [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(2):532-539.
- [9] Wang W, Zheng Y, Wang M, et al. Exosomes derived miR-126 attenuates oxidative stress and apoptosis from ischemia and reperfusion injury by targeting ERRFI1 [J]. *Gene*, 2019, 690:75-80.
- [10] Wong LL, Zou R, Zhou L, et al. Combining circulating microRNA and NT-pro BNP to detect and categorize heart failure subtypes [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(11):1300-1313.
- [11] Masson S, Batkai S, Beermann J, et al. Circulating microRNA-132 levels improve risk prediction for heart failure hospitalization in patients with chronic heart failure [J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(1):78-85.
- [12] Zhang X, Ji R, Liao X, et al. MicroRNA-195 regulates metabolism in failing myocardium via alterations in sirtuin 3 expression and mitochondrial protein acetylation [J]. *Circulation*, 2018, 137(19):2052-2067.
- [13] Gao F, Kataoka M, Liu N, et al. Therapeutic role of miR-19a/19b in cardiac regeneration and protection from myocardial infarction [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1802.
- [14] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. miR-1 overexpression enhances Ca(2+) release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMK II-dependent hyperphosphorylation of RyR2 [J]. *Circ Res*, 2009, 104(4):514-521.
- [15] Lu Y, Zhang Y, Wang N, et al. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation [J]. *Circulation*, 2010, 122(23):2378-2387.
- [16] Reilly SN, Liu X, Carnicer R, et al. Up-regulation of miR-31 in human atrial fibrillation begets the arrhythmia by depleting dystrophin and neuronal nitric oxide synthase [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(340):340-374.
- [17] Zhao Y, Yuan Y, Qiu C. Underexpression of CACNA1C caused by overexpression of microRNA-29a underlies the pathogenesis of atrial fibrillation [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22:2175-2181.
- [18] Liu K, Hao Q, Wei J, et al. MicroRNA-19a/b-3p protect the heart from hypertension-induced pathological cardiac hypertrophy through PDE5A [J]. *J Hypertens*, 2018, 36(9):1847-1857.
- [19] Li H, Zhang X, Wang F, et al. MicroRNA-21 lowers blood pressure in spontaneous hypertensive rats by upregulating mitochondrial translation [J]. *Circulation*, 2016, 134(10):734-751.
- [20] Mohajeri M, Banach M, Atkin S, et al. MicroRNAs: novel molecular targets and response modulators of statin therapy [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39(11):967-981.
- [21] Zhao N, Koenig SN, Trask AJ, et al. MicroRNA miR145 regulates TGFBR2 expression and matrix synthesis in vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2015, 116(1):23-34.
- [22] Wang Y, Han Z, Fan Y, et al. MicroRNA-9 inhibits NLRP3 inflammasome activation in human atherosclerosis inflammation cell models through the JAK1/STAT signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4):1555-1571.
- [23] Gu H, Dai Q, Liu Z, et al. Peripartum cardiomyopathy: do exosomes play a role? [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 998:139-149.
- [24] Ruffenach G, Chabot S, Tanguay V, et al. Role for runt-related transcription factor 2 in proliferative and calcified vascular lesions in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194(10):1273-1285.
- [25] Li Y, Ren W, Wang X, et al. MicroRNA-150 relieves vascular remodeling and fibrosis in hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109:1740-1749.

收稿日期:2019-07-15