

miRNA-133 与冠心病的关系

李达, 彭卫平, 沈莉, 郭媛, 肖乾凤, 许丹焰

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] miRNA-133; 缺血性心律失常; 动脉粥样硬化; 急性冠状动脉综合征

[摘要] microRNAs(微小 RNAs, miRNA)是内源性非编码短的 RNA 分子,以特定顺序方式(与靶 mRNA 互补配对)通过抑制翻译或裂解 RNA 来调控基因表达。miRNA-133 参与多种心血管疾病的发生发展,尤其是心肌重构和心律失常等。目前对 miRNA-133 的作用机制尚未完全明了,本文就近年来国内外关于 miRNA-133 的作用机制与冠心病的关系进行综述,展望其在缺血性心律失常治疗中的应用前景。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Relationship of miRNA-133 and Coronary Heart Disease

LI Da, PENG Wei-Ping, SHEN Li, GUO Yuan, XIAO Qian-Feng, and XU Dan-Yan

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

[KEY WORDS] miRNA-133; Ischemic Arrhythmias; Atherosclerosis; Acute Coronary Syndrome

[ABSTRACT] MicroRNAs (miRNAs) are endogenous short non-coding RNA molecules that regulate gene expression by repressing translation or cleaving RNA transcripts in a sequence-specific manner. MiRNA-133 participate in a variety of development and incidence of cardiovascular disease, especially in myocardial remodeling and cardiac arrhythmia, etc. Now, the mechanism of action of the miRNA-133 has not yet been fully understood. This paper summarizes the domestic and foreign research about the mechanism of action of the miRNA-133 and its relationship with coronary heart disease.

miRNAs 是一大类长度约为 22 个单核苷酸组成的进化过程中高度保守的小分子非编码单链 RNA 的总称。其成熟的 miRNA 通过和靶基因 mRNA 的 3'非编码区(3'-UTR) 碱基配对,通过裂解 mRNA 或抑制翻译下调靶基因的表达。miRNAs 已被证明参与多种心血管疾病发病机理包括动脉粥样硬化、冠状动脉疾病、心肌梗死、心力衰竭和心律失常的调控。miRNA 的表达有较严格的组织细胞特异性和发育阶段时间特异性。Luo 等^[1] 研究发现人类 miRNA 有 220 种在心脏组织中表达;在心脏中特异性表达的 miRNA-133 在心脏发育、心肌细胞凋亡、心肌重构、等方面发挥着重要的调控作用。

1 miRNA-133 的概述与生物学功能

已证实 miRNA-133 分别为 miRNA-133a, b, 其

序列分别为 UUUGGUCCCCUUAACCAGCUG (miRNA-133a) / UUUGGUCCCCUUAACCAGCUA (miRNA-133b) (www.microna.org), 它们在 3' 仅有一个碱基不同。其家族包括 miRNA-133a-1, miRNA-133a-2, miRNA-133b, 其分别与其他 microRNA 簇集存在, miRNA-133a-1/miRNA-1-2、miRNA-133a-2/miRNA-1-1、miRNA-133b/miRNA-206 分别位于人类 18 号染色体 18q11.2 的 MIB1 基因内含子、第 20 号染色体 20q13.33 的 C20orf166 基因内含子、第 6 号染色体 6p12.2 上^[2]。虽上述 miRNAs 丛集位于相同的染色体位点,并且一同转录,但最终转录成两个独立的 miRNA 通过抑制不同的目标基因表现出明显不同生物学功能^[3]。从果蝇到人类都可检测出 miRNA-133, 说明其在进化过程中高度保守。miRNA-133 是肌肉特异性的 miRNA, 在心脏, 其特

[收稿日期] 2014-07-25

[修回日期] 2014-10-03

[基金项目] 国家自然科学基金(81170190, 81372117) 资助

[作者简介] 李达, 硕士研究生, 研究方向为血脂异常与动脉粥样硬化, E-mail 为 lida83203324@163.com。彭卫平, 硕士研究生导师, 研究方向为血脂异常与动脉粥样硬化。沈莉, 博士研究生, 研究方向为血脂异常与动脉粥样硬化, E-mail 为 403385160@qq.com。通讯作者许丹焰, 博士研究生导师, 研究方向为血脂异常与动脉粥样硬化, E-mail 为 xudanyan02@sina.com。

异地表达于心肌细胞^[4]。

有研究证实 miRNA-133 的表达受到肌细胞发育增强因子 2 (myocyte enhancer factor 2, MEF2) MEF2 和血清效应因子 (serum response factor, SRF) SRF 等转录因子的调控^[5], 在心脏, MEF2 通过直接增强内含子促进 miRNA-133 的转录来调控心室肌, SRF 依赖于上游增强子提高 miRNA-133 的转录水平来调控心室肌和心房肌, 过表达的 miRNA-133 可以抑制 SRF 的表达, 即形成了负反馈环调控。

大量研究表明 miRNA-133 参与心肌发育、心肌细胞凋亡及心肌纤维化的调控。miRNA-133 在鼠胚胎心脏发育过程中精密地控制心肌细胞发育增殖。Takaya 等^[6]发现在小鼠心脏胚胎组织中过表达 miRNA-133 对小鼠的胚胎发育有阻碍作用; 通过同源重组后 miRNA-133 缺失的小鼠心脏发育过程易引起致命性的室间隔缺损, 也导致平滑肌异位基因表达和心肌的异常增殖^[7]。miRNA-133 还具有抗凋亡的作用。Xu 等^[8]实验证实 miR-133 通过抑制细胞凋亡蛋白 caspase-9 的表达而抑制心肌细胞的凋亡。这些研究表明, miRNA-133 参与心脏的生长发育调控。Chen 等^[9]证实 miRNA-133a 在糖尿病小鼠心脏中过表达可以预防糖尿病的早期心肌纤维化。有趣的是, miRNA-133 可直接调节胶原蛋白 $\alpha 1$ (I) 链表达, 提示其与心肌纤维化有直接联系^[10]。

2 miRNA-133 与动脉粥样硬化的关系

动脉粥样硬化是血管壁的慢性炎性疾病。miRNA-133 在动脉粥样硬化过程中影响血管平滑肌的转换、增殖及粥样斑块的稳定。血管平滑肌 (smooth muscle cells, SMC) 向动脉内膜下异常增殖迁移, 并由收缩型向增殖型转换参与了动脉粥样硬化的发生。近年研究证实 miRNA-133 参与了 SMC 的表型转换。Torella 等^[11]证实 miRNA-133 通过直接调节转录因子 sp-1 及其下游靶基因 KLF4 来参与抑制 SMC 的由收缩型向增殖型的表型转换; 而且还证实 miRNA-133 可以减少 SMC 的增殖以及明显减少颈动脉球囊损伤。同样 miRNA-133 的表达水平与动脉粥样斑块稳定相关, 影响斑块的进展。Cipollone 等^[12]比较有症状和无症状人群动脉粥样硬化斑块中的 miRNA 样本显示有症状的斑块 (不稳定和破裂斑块) 中 miRNA-133a 和 miRNA-133b 显著上调; 他们在体外培养转染 hsa-mir-133a 的内皮细胞中证实其能够下调纤溶酶原激活物抑制剂及基质

金属蛋白酶 9 (MMP-9) 的靶基因的表达, 促进纤溶酶原激活导致粥样斑块不稳定。

3 miRNA-133 与急性冠状动脉综合征的关系

Eitel 等^[13]的一项研究关于在 ST 段抬高型心肌梗死患者 6 个月内主要心血管不良事件包括死亡、再梗死和充血性心衰为主的临床事件中, 发现主要心血管不良事件更频繁地发生于 miRNA-133 升高的急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者组。这说明 miRNA-133 与 ACS 有密切的关系。

近年有大量研究集中于急性冠状动脉综合征患者血浆中 miRNA 的变化。miRNA-133 是肌肉特异性的 miRNA, 在急性心肌梗死动物模型和心肌梗死患者血浆中心肌特异性 miRNA-133 会显著升高。当 AMI 发生时其大量释放于血液, 因此 miRNA-133 有可能成为 AMI 后心肌损伤标志物。最近一项 Meta 分析显示, miRNA-133a 可能适合作为心肌梗死的诊断标记物^[14]; Peng 等^[15]的研究亦表明 miRNA-133 与 AMI 存在相关性, 并且 miRNA-133 可能作为 AMI 患者的危险分层的生物标志物。检测血浆中 miRNA-133 的变化还可预测 ACS 患者预后。Widera 等^[16]在收集的 444 个 ACS 患者中发现 miRNA-133 等在 ACS 患者血浆中显著升高, 心肌梗死后患者血浆 miRNA-133 水平高于不稳定型心绞痛, 并且追踪 6 个月发现 miRNA-133 水平与 ACS 患者全因死亡率密切相关, 年龄性别校准后的单变量分析提示 miRNA-133 与死亡风险显著相关, 即 miRNA-133 水平高低可能用于帮助诊断和预测 ACS 患者的预后。

此外, 迄今, 尚无血中心肌梗死的标记物。Wang 等^[17]在心脏移植术后监测血循环中 miRNAs 情况发现 miRNA-133b 在血循环中的动态变化能够反映早期心肌损伤, 并且 miRNA-133b 高低可以判断心肌损伤的程度。

Zile 等^[18]展示了在啮齿动物心肌梗死模型中心肌梗死区、缺血区及非缺血区域 miRNAs 表达的变化, 证实心脏梗死缺血区域 miR-133 升高; 但也有研究发现在急性心肌梗死死亡的患者中心脏梗死的区域的 miRNA-133 含量减少^[19]。Yasuhide 等^[20]在小鼠心肌梗死模型中证明 miRNA-133 在心肌梗死区及梗死周边区降低, 而 miRNA-133a 在血浆中

升高,同时证明循环中 miRNA-133a 在不稳定型心绞痛患者中亦有升高,可以作为心肌缺血损伤的标志物。他们研究发现在心肌梗死区 miRNA-133 含量变化相反可能是因为疾病基础状态的不一、梗死区大小程度变化、取样定位及取样时间不同引起,如建立心肌梗死模型时小鼠本身健康状况、大小不一,心肌梗死面积大小不同,取缺血区组织时定位不同,心肌梗死后检测的时间不一致,也可能是心肌梗死后早期死亡心肌释放 miRNA-133 至周边缺血区,早期检测会增高,心肌梗死后晚期 miRNA-133 已释放入血,导致心肌梗死区减少;miRNA-133 在心肌梗死缺血区域的变化,有待进一步实验明确。

4 miRNA-133 与缺血性心律失常的关系

miRNA-133 在心肌缺血、心肌肥厚病理过程中,参与了引起心律失常发生的调控。近年的研究强调 microRNA-133 在心律失常中的作用主要通过调控心肌细胞电生理和心肌重构。

4.1 心肌细胞电生理异常

MiRNA-133 可能通过抑制其靶基因调节钾离子通道而调节心肌细胞电生理。在 Matkovich 等^[21]人的研究发现,通过转基因增加细胞内 miRNA-133 表达水平,可以在在体内试验可记录到小鼠体表心电图出现长 QT 间期,而在体外试验分离的心室肌细胞观察到动作电位延长,并伴随快激活瞬时外向 K1 电流, Ito, f, 在基线水平下降。引人注目的是,同时可以观察到 Kv4-编码的钾通道 Ito, f (KCNIP2) 基因的信使核糖核酸和蛋白质含量下降,此项研究证实 miRNA-133 通过抑制其靶基因调控钾离子通道而导致 QT 间期延长,参与心律失常的发生。

有研究证实,miRNA-133 在心肌缺血时参与调控多种心脏电活动相关蛋白表达,如 KCNQ1 (Iks)、HCN2 (If)、KCNH2 (Ikr) 等。miRNA-133 引起离子通道的功能失调可能是心肌缺血时恶性心律失常发生的基础。还有研究证实过表达 miRN-133 可抑制蛋白磷酸酶 PP2A 的活性,引起 RyR2 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II) 的过磷酸化,增强 RyR2 的活性,促进肌浆网钙离子的释放而引发心律失常^[22]。

4.2 心肌重构

心肌肥厚已被确立为心肌缺血的一个独立危险因素。在心肌梗死后患者左心室重构过程中心肌组织或者血浆中 miRNAs 是否随时间发生特定变化,曾一度成为研究的热点。尤其是 miRNA-133 等

与心肌的增长,纤维化和发育相关的 miRNAs 在心梗后心室重构过程中的变化。Zile 等^[18]发现 miRNA-133a 在 MI 后发生左室心肌重构病人血浆中第 5 天开始增加,直至 90 天时仍升高明显,并伴随着左室重构而升高。其说明 miRNA-133 参与缺血性心肌病理性肥厚及纤维化的调控。Jayawardena 等^[23]证明 miRNA-133 在老鼠心肌缺血时可以直接诱导原位心肌成纤维细胞转化成心肌细胞;Duisters 等^[24]在左室肥厚引起心肌缺血时,miR-133 的水平均下调,同时,结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 表达量会增加,miR-133 能有效抑制 CTGF 的 mRNA 翻译;随后荧光素酶报告基因检测法证实了 CTGF 是 miRNA-133 的作用靶点;该实验提示 miRNA-133 参与心室重构。Matkovich 等^[21]实验证实,外科手术使主动脉横向缩窄 (transverse aortic coarctation, TAC) 引起缺血及心室肥厚处理后过表达 miRNA-133a 的小鼠,可以减少肥厚相关的心肌纤维化和心肌细胞凋亡;心肌重构是许多严重心血管疾病的最后共同通路。其主要通过心室重构影响心脏传导系统,引起心律失常的发生。

5 展望

上述研究表明,miRNA-133 在心律失常的发生、发展中起着至关重要的作用。miRNA-133 可能成为心律失常作用的靶点。能稳定的存在于人血清中的 miRNA-133,有望成为 ACS 诊断的生物标记物^[25]。通过上调 miR-133 的水平来改善病理性心肌肥大,但是高水平的 miR-133 却容易引发心律失常,怎样维持 miRNA-133 动态平衡起到维持心脏健康稳定的作用,需要进一步研究。

现有的四类常用抗心律失常药物治疗效果有限。研究缺血性心律失常发病机制对于发现新的抗缺血性心律失常的药物具有重要意义。目前有关 miRNA-133 在缺血性心律失常中的作用机制尚未阐明,在缺血性心律失常过程中 miRNA-133 存在重要的作用,找到中断 miRNA-133 异常上调或下调的功能方法,可能对其有治疗效用。干预 miRNA-133 在心血管疾病防治中的应用有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Luo X, Zhang H, Xiao J, et al. Regulation of human cardiac ion channel genes by theoretical perspective and pathophysiological implications [J]. Cell Physiol Biochem, 2010, 25(6): 571-586.

- [2] Nijiro Nohata, Toyoyuki Hanazawa, Hideki Enokida, et al. microRNA-1/133a and microRNA-206/133b clusters: Dysregulation and functional roles in human cancers[J]. *Oncotarget*, 2012, 3 (1): 9-21. ([www. impactjournals.com/oncotarget/](http://www.impactjournals.com/oncotarget/)).
- [3] Chen J F, Mandel E M, Thomson J M, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation[J]. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 228-233.
- [4] Townley-Tilson WHD, Callis TE, Wang D. MicroRNAs 1, 133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(8): 1 252-255.
- [5] van Rooij E, Liu N, Olson E N. MicroRNAs flex their muscles[J]. *Trends Genet*, 2008, 24(4): 159-166.
- [6] Takaya T, Ono K, Kawamura T, et al. MicroRNA-1 and MicroRNA-133 in spontaneous myocardial differentiation of mouse embryonic stem cells[J]. *Circ J*, 2009, 73(8): 1 492-497.
- [7] Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, et al. MicroRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(23): 3 242-254.
- [8] Xu CQ, Lu YJ, Pan ZW, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120 (7): 3 045-052.
- [9] Chen S, Pathanveetil P, Teng B, et al. Cardiac miR133a overexpression prevents early cardiac fibrosis in diabetes [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(3): 415-421.
- [10] Castoldi G, Di Gioia CR, Bombardi C. MiR133a regulates collagen 1A1: potential role of miR133a in myocardial fibrosis in angiotensin II dependent hypertension[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(2): 850-856.
- [11] Torella D, Iaconetti C, Catalucci C, et al. MicroRNA-133 Controls Vascular Smooth Muscle Cell Phenotypic Switch In Vitro and Vascular Remodeling In Vivo[J]. *Circ Res*, 2011, 109: 880-893.
- [12] Cipollone F, Felicioni L, Sarzani R, et al. A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans[J]. *Stroke*, 2011, 42(9): 2 556-563.
- [13] Eitel I, Adams V, Dieterich P, et al. Relation of circulating MicroRNA-133a concentrations with myocardial damage and clinical prognosis in ST-elevation myocardial infarction[J]. *Am Heart J*, 2012, 164(5): 706-714.
- [14] Cheng C, Wang Q, You W, et al. MiRNAs as biomarkers of myocardial infarction: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88 566.
- [15] Peng L, Chun-Guang Q, Bei-Fang L, et al. Clinical impact of circulating miR-133, miR-1291 and miR-663b in plasma of patients with acute myocardial infarction[J]. *Diagn Pathol*, 2014, 9(1): 89.
- [16] Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(5): 872-875.
- [17] Wang ES, Nie Y, Zhao Q, et al. Circulating miRNAs reflect early myocardial injury and recovery after heart transplantation[J]. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 2013, 8(1): 165.
- [18] Zile MR, Mehurg SM, Arroyo JE, et al. Relationship Between The Temporal Profile of Plasma microRNA and Left Ventricular Remodeling In Patients Following Myocardial Infarction[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(6): 614-619.
- [19] Bostjancic E, Zidar N, Stajer D, et al. MicroRNA miR-1 is up-regulated in remote myocardium in patients with myocardial infarction[J]. *Folia Biologica*, 2010, 56(1): 27-31.
- [20] Yasuhide Kuwabara, Koh Ono, Takahiro Horie, et al. Increased MicroRNA-1 and MicroRNA-133a Levels in Serum of Patients With Cardiovascular Disease Indicate Myocardial Damage [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(4): 446-454.
- [21] Matkovich S J, Wang Wei, Tu Yizheng, et al. MicroRNA-133a protects against myocardial fibrosis and modulates electrical repolarization without affecting hypertrophy in pressure-overloaded adult hearts[J]. *Circ Res*, 2010, 106(1): 166-175.
- [22] Belevych A E, Sansom S E, Terentyeva R, et al. MicroRNA-1 and -133 increase arrhythmogenesis in heart failure by dissociating phosphatase activity from RyR2 complex[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28 324.
- [23] Jayawardena TM, Egemnazarov B, Finch EA, et al. MicroRNA-mediated in vitro and in vivo direct reprogramming of cardiac fibroblasts to cardiomyocytes [J]. *Circ Res*, 2012, 110(11): 1 465-473.
- [24] Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, et al. MiR-133 and miR-30 Regulate Connective Tissue Growth Factor; Implications for a Role of MicroRNAs in Myocardial Matrix Remodeling[J]. *Circ Res*, 2009, 104(2): 170-178.
- [25] Jin Li A, Jiahong Xu C, Yan Cheng, et al. Circulating microRNAs as mirrors of acute coronary syndromes: MiRacle or quagMire? [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(11): 1 363-370.