

MicroRNA 及其与心律失常关系的研究进展

曾宪友(综述), 谭毅(审校)

作者单位: 415900 湖南, 汉寿县人民医院内科

作者简介: 曾宪友(1976-), 男, 大学本科, 学士学位, 副主任医师, 研究方向: 心内科疾病的诊治。E-mail: zcl040338@126.com

[摘要] MicroRNA(miRNA)是一类调节基因,是内源性非编码、长度为18~22个核苷酸的小分子RNA,在转录后水平调节基因表达发挥重要的生物学作用。近期研究表明,miRNA表达水平的变化与心律失常密切相关,诸如miR-1、miR-133、miR-328、miR-208、miR-21及miR-15等可通过细胞膜离子通道的功能和异常表达引发心律失常,干预和调控miRNA的表达水平,有望为心律失常的诊疗提供一个新靶点。

[关键词] MicroRNA; 心律失常; 离子通道; 调控

[中图分类号] R 561.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)08-0796-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.08.32

New research progress of microRNA and its cause of related-arrhythmia ZENG Xian-you, TAN Yi. Department of Internal Medicine, the People's Hospital of Hanshou County, Hunan 415900, China

[Abstract] MicroRNA(miRNA) is a kind of regulatory gene with an endogenous small non-coding RNA of 18~22 nucleotides in length and plays an important role in biological process, which participates in regulating expression at post-transcriptional level. Current studies indicate that changes of miRNA expression levels are closely related to the formation of arrhythmia, for example, miR-1, miR-133, miR-328, miR-208, miR-21 and miR-15 can lead to arrhythmia through dysfunctions and abnormal expressions in cell membrane ion channels. Intervene and regulation expression levels of miRNAs may become a novel diagnosis therapeutic target for arrhythmia.

[Key words] MicroRNA; Arrhythmia; Ion channel; Regulation

MicroRNA(miRNA)是一类调控基因,它通过对靶基因mRNA(messenger RNA)行切割或抑制其翻译达到对mRNA的负反馈调控作用^[1]。miRNAs在正常发育、生理病理状态包括肿瘤和心血管疾病方面是非常重要的调节因子^[2]。目前,在人体内发现的miRNAs有500多种,这些miRNAs参与了机体内几乎所有组织小的发育与调控^[3]。新近,Han等^[4]认为,miRNA水平紊乱见于迄今为止所有已知的疾病,这提示miRNA已成为潜在的疾病发病机制。截止2012-04,miRBase数据库(<http://www.mirbase.org/>)公布的成熟miRNAs系列有21 643个,其中人类有1 921个,参与生命过程中一系列重要进程,包括早期发育、细胞增殖、细胞分化及细胞凋亡等^[5]。研究^[6]发现,超过60%的人类蛋白编码基因均有可能与miRNA配对,从而调节基因表达。

1 miRNAs的生物学基础

1.1 miRNAs的生物学特征^[7] (1)miRNA是一类内源性非编码、长度为18~22个核苷酸(nt)的单链

小分子,广泛存在于动植物与病毒的真核细胞中,具有高度保守性,其本身不具有开放阅读框架。(2)在结构上,miRNA为单链结构,在3'端有一碱基长度变化,5'端有一磷酸基团,3'端为羟基。该结构所具有的这种特点,使其与功能RNA的降解片段和大多数寡核苷酸保持区别。(3)miRNA具有较强的同源性,来自不同基因簇的RNA同源性较弱。其表达具有组织特异性和时序特异性。Kato等^[8]认为其组织特异性和细胞特异性又决定了miRNA的组织和功能特异性。

1.2 miRNA的生成与功能 miRNA是独立的转录单位,其生成过程包括转录、加工成熟及功能复合体装配。研究表明,miRNA生成须经历两个阶段:首先,miRNA在真核细胞中由RNA聚合酶II(RNAPol II)转录形成初级miRNA(primary miRNA, pri-miRNA),随后,pri-miRNA由核苷酸酶Drosha和结合蛋白DGCR8的复合体进行切割,形成茎环结构的RNA,称为前体miRNA(precursor miRNA, pre-miRNA)^[9]。

其次, pri-miRNA 同核表面转运蛋白 exportin5 结合被转运出细胞核, 在细胞质中, 经核酸酶 Dicer (属 Rnase III 家族)、旋解酶及聚合酶 III 的共同作用, 将 pri-miRNA 剪切为 21 ~ 23 nt 长度的双链 miRNA, 随后 miRNA 被降解, 其中一条被降解; 另一条 5' 端不稳定的链被结合到核蛋白复合体, 并参与形成由 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC)^[6]。进入 RISC 的 miRNA 直接与 Argonaute (AGO) 家族的蛋白质结合, 作为“向导分子”介入 RISC 剪切靶基因 mRNA 使其降解或结合到靶基因 mRNA 的 3' 非翻译区抑制靶 mRNA 翻译, 从而在生物学过程中发挥多种功能^[9]。目前, 仅有少数 miRNAs 的功能被初步阐明, 主要有个体发育的调控, 参与细胞分化和组织发育, 调控基因表达。

2 miRNAs 与心律失常

心律失常发生的电生理机制主要包括折返、自律性升高和触发。触发机制包括早后除极 (early afterdepolarization, EAD) 和迟后除极 (delayed afterdepolarization, DAD) 等。离子通道表达或功能异常是形成心律失常的病理基础^[5]。心律失常易感因素通过影响钠、钾、钙等离子通道的功能引起离子电流传导紊乱, 进而诱发心律失常。近期的研究^[10]证实, 多种 miRNAs 在心律失常过程中, 通过调节心肌细胞的基因表达来参与电生理/离子通道的重构。Wang 等^[11]经生物信息学分析后认为, 潜在编码心脏离子通道蛋白靶基因为 miR-1、miR-133、miR-208a。

2.1 miR-1 与心律失常

有研究^[12]表明 miR-1 是心脏细胞中最丰富的 miRNA。Yang 等^[13]的研究表明, miRNA 对心律失常具有重要影响, 在实验中 miR-1 不仅表现出抗心律失常作用, 同样也表现出致心律失常作用。二者的平衡控制着心律失常的发生和发展。他们根据 miR-1 的 5' 末端核苷酸序列推测出二个靶基因 GJA1 和 KCNJ2, 分别编码缝隙连接蛋白 43C (CX43) 和钾通道亚单位 Kir2-1, 前者形成细胞间缝隙连接通道 (与细胞间电传导有关), 后者介导内向整流钾电流 (IK1, 调节心肌细胞静息膜电位), miR-1 过表达抑制 GJA1 和 KCNJ2 的表达, 导致心肌细胞电紊乱, 引发心律失常。在实验大鼠的模型中, 将 miR-1 转染到缺血诱导的大鼠心律失常模型, 可明显增加室性心动过速的发生率和心律失常的评分, 剔除或抑制 miR-1 的表达具有抗心律失常的作用, 普萘洛尔可通过抑制 β -肾上腺受体 cAMP-PKA 信号途径和抑制 miR-1 转录因子血清应答因子 (SRF) 的表达, 使 miR-1 表达下调, 从而减少恶性心律失常

的发生^[14]。Girmatsion 等^[15]研究发现, miR-1 水平降低可引起心房颤动的发生, 同时伴发内向整流性钾通道电流表达水平及内向整流钾电流密度升高。

2.2 miR-133 与心律失常

miR-133 家族由 miR-133a-1、miR-133a-2、miR-133b 组成。Zhang 等^[16]在糖尿病兔模型心脏中发现, miR-133a 表达水平上调抑制人类 ether-a-go-go 相关基因 (HERG) 表达。HERG 基因编码快速激活延迟整流钾电流, 其水平抑制可导致快速激活延迟整流钾电流下降, 心脏复极减慢, 从而引发 QT 间期延长, 导致心律失常。新近, Xiao 等^[17]发现, 将外源性 miR-133a 注入糖尿病兔模型可导致长 QT 综合征, 提示其可能与抑制延迟整流钾通道 d 亚基的表达有关, 这表明 miR-133 也参与了心律失常的发生。研究表明, miR-133 还能抑制环核苷酸门控阳离子通道 (HCN) 的表达 (介导起搏电流), 环核苷酸门控阳离子通道基因亚型 1 (HCN1) 为其主要作用靶点, HCN1 的过表达可增加心律失常的风险^[18]。

2.3 miR-1 和 miR-133 与心律失常

研究^[11]表明, miR-1/miR-133 几乎可以调节所有离子通道多数亚基, 除了共同调节超极化、激活 HCN1 外, 彼此还存在互不重叠的离子通道靶基因。Luo 等^[18]在鼠肥厚细胞模型中发现, miR-1/miR-133 均有明显下降, 左心室心肌中 HCN4 通道蛋白升高 3 倍, 环核苷酸门控阳离子通道基因亚型 2 (HCN2) 蛋白升高 1.7 倍, 仅抑制 miR-1/miR-133 并不能逆转 HCN2 基因抑制。表明 HCN2 受 miR-1 和 miR-133 两者共同作用。Bostjancic 等^[19]研究发现, 与健康人相比, 心肌梗死患者梗死区及梗死边缘区 miR-133a/b 表达均下调, 而 miR-1 在梗死边缘的表达较梗死区与健康心肌均显著上调, 该两 miRNAs 表达失衡不仅影响心脏结构重构, 而且影响电重构, 增加了心律失常发生风险。Xu 等^[20]研究比较心肌细胞受到氧化应激时 miR-1 和 miR-133 表达上调, 并发现 miR-1 靶向攻击热休克蛋白 (HSP) 60 和 HSP70 表达, 而 miR-133 则靶向攻击凋亡蛋白半胱天冬酶 (caspase) 9 的表达, 前者是促凋亡, 后者起到抗凋亡作用。对这种 miR-1/miR-133 相互拮抗的现象, 他们认为可能是两者存在于同一染色体的缘故。Matkovich 等^[21]的实验表明, miR-1/miR-133 可抑制 HCN2/HCN4 基因, 提高衰竭心脏心肌细胞的自律性, 使发生恶性心律失常的易感性增加。

2.4 miR-328、miR-208、miR-208a、miR-21 等与心律失常

Lu 等^[22]在兔房颤模型和房颤患者心肌组织

中均发现了 miR-328 水平下调导致小凹蛋白 3 表达降低,而后者有调节心脏多种离子通道的功能。进一步的研究发现,miR-328 表达水平,并确定 L 型钙离子通道 IC 亚单位基因及 I 亚单位基因是其靶基因,miR-328 通过作用于上述两靶基因致使犬发生心房颤动,而下调 miR-328 房颤消失^[23]。另外,miR-208 是目前已知的唯一心脏特异性 miRNA,它是由肌球蛋白重链 α 内含子 27 编码,应激状态下增加肌球蛋白重链 β 的表达,介导心脏肥大与心肌纤维化,影响心脏收缩功能^[24]。Callis 等^[25]动物实验表明,miR-208a 通过靶向作用于 GATA 结合蛋白 4 (GATA4),调节心脏转录因子的表达,进而在心肌肥厚性增长和心脏传导系统中发挥重要调节作用。调控缝隙粘连蛋白 40 和同源异型结构蛋白及 GATA4 转录因子表达水平来调控心脏电传导,过度表达 miR-208a 将导致心肌肥厚和心律失常。心肌纤维化是心脏功能紊乱的重要促进因子。miR-21 是应答各种形式心脏张力中上调最强的 mRNAs^[26]。抑制 miR-21 不仅能阻止胸主动脉缩窄模型的心肌肥大,而且能逆转应激造成的心脏重构^[27]。新近,Hullinger 等^[28]实验表明,猪和小鼠的心肌缺血损伤后,抑制 miR-15 表达可有效保护心脏功能和操控心肌重构。

3 结语

综上所述,miRNAs 诸如 miR-1、miR-133、miR-328、miR-208、miR-21 及 miR-15 等参与了心脏传导、心脏复极、自动节律、心肌重构和纤维化、心肌钙活动等网络调控,它们的异常表达可引发房颤、传导阻滞、室性心律失常等不同的表现形式,这些 miRNAs (包括抗心律失常和致心律失常性 miRNAs) 的平衡控制心律失常的发生。干预和调控 miRNAs 的表达水平有可能成为未来诊断与治疗心律失常的新靶点。

参考文献

- Chua JH, Annugam A, Jeyaseelan K. MicroRNAs: biogenesis, function and applications [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2009, 11(2): 189-199.
- Zhang C. MicroRNAs: role in cardiovascular biology and disease [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2008, 114(12): 699-706.
- Guarnieri DJ, DiLeone RJ. MicroRNAs: a new class of gene regulators [J]. *Ann Med*, 2008, 40(3): 197-208.
- Han M, Toli J, Abdellatif M. MicroRNAs in the cardiovascular system [J]. *Curr Opin Cardiol*, 2011, 26(3): 181-189.
- 杨宝峰. miRNAs 的心律失常调控作用 [J]. *临床心电学杂志*, 2013, 22(1): 1-5.
- Fasanaro P, Greco S, Ivan M, et al. MicroRNA: emerging therapeutic targets in acute ischemic diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 125(1): 92-104.
- 沙龙泽, 曾毅, 王建博, 等. 小 RNA 分子研究进展 [J]. *生物学*

- 通报, 2009, 44(1): 1-5.
- Kato M, Slack FJ. MicroRNA: small molecules with big roles-C. elegans to human cancer [J]. *Biol cell*, 2008, 100(2): 71-81.
- Umbach JL, Kraner MF, Jurak I, et al. MicroRNAs expressed by herpes simplex virus 1 during latent infection regulate viral mRNAs [J]. *Nature*, 2008, 454(7205): 780-783.
- Luo X, Zhang H, Xiao J, et al. Regulation of human cardiac ion channel genes by microRNAs: theoretical perspective and pathophysiological implications [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 25(6): 571-586.
- Wang Z, Luo X, Lu Y, et al. miRNAs at the heart of the matter [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2008, 86(7): 771-783.
- Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology [J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 336-342.
- Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2 [J]. *Nat Med*, 2007, 13(4): 486-491.
- Lu YJ, Zhang Y, Shan H, et al. MicroRNA-1 downregulation by propranolol in a rat model of myocardial infarction: a new mechanism for ischaemic cardioprotection [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(3): 434-441.
- Girmatsion Z, Biliczki P, Bonauer A, et al. Changes in microRNA-1 expression and IK1 up-regulation in human atrial fibrillation [J]. *Heart Rhythm*, 2009, 6(12): 1802-1809.
- Zhang Y, Xiao J, Wang H, et al. Restoring depressed HERG K channel function as a mechanism for insulin treatment of abnormal QT prolongation and associated arrhythmias in diabetic rabbits [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(3): H1446-H1455.
- Xiao J, Luo X, Lin H, et al. MicroRNA miR-133 represses HERG K⁺ channel expression contributing to QT prolongation in diabetic hearts [J]. *Folia Biol Chem*, 2011, 286(32): 28656-28659.
- Luo X, Lin H, Pan Z, et al. Down-regulation of miR-1/miR-133 contributes to reexpression of pacemaker channel genes HCN2 and HCN4 in hypertrophic heart [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(29): 20045-20052.
- Bostjancic E, Zidar N, Stajner D, et al. MicroRNA miR-1 is up-regulated in remote myocardium in patients with myocardial infarction [J]. *Folia Biol (Praha)*, 2010, 56(1): 27-31.
- Xu C, Lu Y, Pan Z, 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(Pt 17): 3045-3052.
- Matkovich SJ, Wang W, Tu Y, 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.
- Lu YJ, Zhang Y, Wang N, et al. The role of miR-328 in atrial fibrillation via repressing caveolin-3 expression [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44(4): 736.
- 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.

- 24 van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance[J]. *Dev Cell*, 2009, 17(5): 662-673.
- 25 Callis TE, Pandya K, Seok HY, et al. MicroRNA-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(9): 2772-2786.
- 26 Ichimura A, Ruike Y, Terasawa K, et al. miRNAs and regulation of cell signaling[J]. *FEBS J*, 2011, 278(10): 1610-1618.
- 27 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.
- 28 Hullinger TG, Montgomery RL, Seto AG, et al. Inhibition of miR-15 protects against cardiac ischemic injury[J]. *Circ Res*, 2012, 110(1): 71-81.
- [收稿日期 2015-02-10][本文编辑 谭毅 吕文娟]

新进展综述

PI3K/AKT 信号通路与辐射抵抗机制的研究概况

秦 俭, 陆合明(综述), 陈甲信(审校)

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(编号: 桂科攻 1140003B-69); 广西自然科学基金资助项目(编号: 2010GXNSFB013081)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院临床肿瘤中心放疗病区

作者简介: 秦 俭(1976-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 恶性肿瘤放射增敏的研究。E-mail: jianusy@126.com

[摘要] 辐射抵抗的三个主要机制为内在辐射敏感性、肿瘤细胞增殖和乏氧。磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路是肿瘤细胞的存活通路之一, 该通路的激活与辐射抵抗密切相关。该文就 PI3K/AKT 信号通路与辐射抵抗机制作一综述。

[关键词] 放射治疗; 磷脂酰肌醇 3 激酶; 蛋白激酶 B; 辐射抵抗

[中图分类号] R 73.33; R 815 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)08-0799-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.08.33

The PI3-K/AKT signaling pathway and radiation resistance mechanisms QIN Jian, LU He-ming, CHEN Jia-xin. Department of Radiation Oncology of Clinical Cancer Center, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] The three major radiation resistance mechanisms are intrinsic radiosensitivity, tumor cell proliferation and hypoxia. The phosphatidylinositol-3-kinase(PI3-K)/protein kinase B(AKT) pathway is one of the survival pathways of tumor cells. Activation of this pathway is closely related to radiation resistance. This review focuses on the PI3K/AKT signal pathway and radiation resistance mechanisms.

[Key words] Radiotherapy; Phosphatidylinositol-3-kinase(PI3-K); Protein kinase B(AKT); Radiation resistance

磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)信号通路对肿瘤的发生、发展和转归起重要作用, 目前也有研究表明它还参与了肿瘤的辐射抵抗和化疗耐药机制^[1]。肿瘤细胞的三个主要辐射抵抗机制为内在辐射敏感性、肿瘤细胞增殖和乏氧。放射治疗可以上调 PI3K/AKT 级联反应^[2]。本文旨在讨论在肿瘤细胞的微环境下 PI3K/AKT 信号通路对放疗后肿瘤细胞乏氧、增殖和 DNA 修复可能产生的影响。

1 PI3K/AKT 信号通路

PI3K 是一种细胞质复合物, 由一个 85 kDa 的调节亚基和一个 110 kDa 的催化亚基(p110 α)组成。酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)受体在配体介导的激活过程中, p85-p110 复合物会被募集到受体中激活受体并产生磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate, PIP3)。PIP3 的作用是作为第二信使并募集 AKT 到细胞膜上通过其同源结构域与细胞膜相连。在细胞膜上, AKT 被