

· 综 述 ·

MicroRNA 与心肌梗死研究新进展

张 睿 综述,周建中 审校

(重庆医科大学附属第一医院心内科 400016)

关键词:MicroRNA;心肌梗死;诊断;治疗

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.29.043

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)29-3115-03

MicroRNA(简称 miRNA)是一类生物进化过程中高度保守的非编码小分子 RNA,其并不编码蛋白质,但通过对基因表达、蛋白质翻译及靶 RNA 的稳定性的调控,参与到许多重要的生物过程中。自 2006 年以来,有研究发现 miRNA 在心血管疾病发生、发展过程中起到重要作用,使 miRNA 成为心血管研究领域的热点。其中,miRNA 与心肌梗死关系的研究特别引人注目,现就近年来与心肌梗死相关的 miRNA 进行综述,探讨其在心肌梗死发生、发展过程中的作用机制及应用展望。

1 miRNA 概述

1993 年,有学者在线虫发育调控研究中发现了第 1 个 miRNA,并命名为 Lin-4,但直到 7 年后 let-7 的发现,才拉开了 miRNA 研究序幕。成熟 miRNA 长度约 22 nt 左右,通过与靶 mRNA 的 3'非翻译区(3'UTR)特异性结合,切割或促进 mRNA 降解,或者抑制其翻译,降低编码蛋白质水平,实现对基因转录后的调控,从而参与许多重要的生物进程。

编码 miRNA 的基因有的位于功能基因编码区,有的则位于非编码区,其可能成簇表达或独立表达。miRNA 的生成开始于细胞核内,编码 miRNA 的基因经 RNA 聚合酶 II(或聚合酶 III)作用产生初级 miRNA(pri-miRNA),再经 Drosha-DGCR8 复合体剪切为 70~100 bp 的具有发夹结构的前体 miRNA(pre-miRNA)。这些发夹结构的 RNA 被核输出蛋白 Exportin5 转运至细胞质后,Dicer 酶将其剪切成 21~25 bp 的双链 miRNA。其中一条链与 RNA 诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex,RISC)相结合,成为成熟 miRNA,发挥 miRNA 的功能,另一条则被降解。

miRNA 调控基因是通过降解或沉默特定基因来实现的。这种负性调控靶基因的表达取决于 miRNA 与靶 mRNA 的 3'UTRs 互补的程度。若 RISC 中 miRNAs 与靶 mRNA 匹配完全,形成的复合体可利用 AgO₂ 蛋白降解靶 mRNA;反之,若两者序列呈部分匹配,尤其是 miRNAs 的 5'端 2~8 个被称为种子序列的核苷酸与靶 mRNA 匹配完好,可通过抑制靶 mRNA 翻译来沉默特定基因,此时相应靶 mRNA 的水平不受影响,但不能翻译为蛋白质^[1]。

2 miRNA 与心肌梗死

2.1 miRNA 作为心肌梗死生物学标志物相关研究

2.1.1 miRNA-1 miRNA-1 是肌肉及心肌组织中富含的一种 miRNA。Cheng 等^[2]在 Triton X-100 体外诱导的心肌坏死模型中发现,miRNA-1 能释放入培养液中,且能稳定存在至少 24 h。在大鼠心肌梗死模型中,miRNA-1 在心肌梗死后迅速表达,并在梗死后 6 h 达到高峰,3 d 后降至基线水平。此研究进一步发现,血液中 miRNA-1 水平在心肌梗死患者中获得相似的结果,并与 CK-MB 成正相关。同样地,D'Alessandra 等^[3]的研究发现心肌梗死患者循环中的 miRNA-1 的上调与 cTnI 水平相关,具有相同的峰值时间。以上研究均提示 miRNA-1

可能作为急性心肌梗死(acute myocardial infarction,AMI)新的生化标记物。

2.1.2 miRNA-499 Adachi 等^[4]研究了 miRNA 在急性冠脉综合征和充血性心衰时的变化规律,期望找到新的可用于诊断心肌损伤的标记物。该研究发现,miRNA-499 对心肌有高度的特异性,并仅在 AMI 后表达明显升高,而在充血性心衰和正常心脏中几乎不表达。这意味着 miRNA-499 可预期同 cTnI、CK-MB 一样可对 AMI 做出诊断。

2.1.3 miRNA-208 Ji 等^[5]在异丙肾上腺素诱导的 AMI 大鼠中发现,AMI 后 miRNA-208 在心脏中明显升高,且升高的时间变化规律与 cTnI 相似。Wang 等^[6]通过对 AMI 模型大鼠和 AMI 患者心肌内 miRNA 表达规律的研究,发现相较 miRNA-1、-133、-499,miRNA-208 具有更高的心脏特异性,其在正常心肌中无表达。在 AMI 模型大鼠中,miRNA-208 在 1 h 内即可有高表达,3 h 时出现峰值,6~12 h 后逐渐下降,24 h 后消失。同样在 AMI 患者中,miRNA-208 具有 90.9%敏感性及 100.0%特异性,且在症状出现的最初 4 h 内敏感性更高。上述研究均提示 miRNA-208 可作为更具敏感性及特异性 AMI 的早期诊断的生物学指标。

2.1.4 miRNA-133 和 miRNA-328 Wang 和 Li^[7]对心肌梗死患者的研究发现,miRNA-133 及 miRNA-328 表达较对照组明显增高。且在心肌梗死后 7 d 降至正常水平。并且上述 2 种 miRNAs 在快速型心律失常、缓慢型心律失常及无心律失常的心肌梗死患者中没有明显差异。因此,他们亦可能成为心肌梗死新的标记物。虽然,上述指标之间存在一定差异,但是,miRNA 作为心肌梗死的标志物具有相当强的潜力。

2.2 miRNA 与心肌梗死后心律失常 心律失常是心肌梗死的主要临床并发症,发生率几乎达到 100%,但是目前关于 miRNA 与心肌梗死后心律失常的研究仍主要集中在 miRNA-1 上。

心肌梗死后,miRNA-1 表达明显增高,其作用靶点为间隙连接蛋白 43(connexin 43,GJA1)及钾离子通道亚基 Kir2.1(KCNJ2),通过增强对其转录后抑制作用,减慢电传导促进细胞膜电位去极化,最终增加了心肌梗死后心律失常的易感性^[8]。Lu 等^[9]进一步证明在心肌梗死后心律失常发生过程中,miRNA-1 过表达与 β 肾上腺素能受体-cAMP-蛋白激酶 A(PKA)信号通路及血清反应因子(SRF)过表达相关。该信号通路及 SRF 活性增加,促使 miRNA-1 表达增多;而 β 受体阻断剂普萘洛尔能阻断此信号通路并抑制 SRF 的表达来下调 miRNA-1。从而减少心肌梗死后心律失常的发生。Terentyev 等^[10]也在研究中发现心室肌细胞过表达 miRNA-1 可增加内向钙电流活动,促进肌浆网钙离子释放,细胞内钙稳态环境被破坏,可触发心律失常。Shan 等^[11]则从临床中药入手,发现丹参酮通过抑制 SRF 的表达,间接抑制 miRNA-1 的表达,维持了内向整流钾电流密度和 Kir2.1 蛋白的浓度,从而降低了缺

血性心律失常的发生率。因此,miRNA-1 有望成为心肌梗死后抗心律失常的治疗新靶点。

2.3 miRNA 与心肌梗死后心室重构

2.3.1 miRNA-29 van Rooij 等^[12]最早报道 miRNA-29 参与心肌梗死后纤维化的过程,研究发现小鼠左冠脉闭塞后,在梗死边缘区 miRNA-29 表达下调,较正常心肌低 2 倍左右。利用 miRNA-29b 寡核苷酸体内沉默 miRNA-29 后,多种胶原、原纤维蛋白和弹性蛋白表达明显增高,促进心肌纤维化;反之,体外转染 miRNA-29b 类似物后则明显抑制心肌纤维母细胞中的 mRNA 水平,从而抑制心肌纤维化。

2.3.2 miRNA-21 Roy 等^[13]研究发现,同源重失性磷酸张力蛋白基因(phosphatase and tensin homologue,PTEN)是在小鼠缺血/再灌注诱导的心脏重构的心脏成纤维细胞上的 miRNA-21 的靶基因,通过抑制 PTEN 的表达,促进 Akt 磷酸化,上调基质金属蛋白酶-2(MMP-2)的表达,从而促进心肌纤维化,心室重构。

2.4 miRNA 与心肌梗死后血运重建

2.4.1 miRNA-126 Wang 等^[14]研究表明内皮细胞特异性的 miRNA-126 通过增加血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)等血管生长因子信号,抑制 Spred-1 表达而促进血管形成。若敲除 miRNA-126 基因,新生小鼠血管内皮细胞增殖、迁移受限,导致血管内膜不完整、血管形成障碍。van Solingen 等^[15]的主动脉移植实验进一步验证了 miRNA-126 对缺血诱导下血管新生的重要调控作用。

2.4.2 miRNA-92 Bonauer 等^[16]研究发现,在小鼠心肌梗死及后肢缺血的模型中,miRNA-92 抑制血管形成的作用明显,若抑制其表达则能增加血管形成,改善左室功能、减少梗死面积、减少凋亡细胞数,促进缺血受损组织的功能恢复。

2.4.3 miRNA-21 Ji 等^[17]研究了大鼠颈动脉球囊血管成形术后 miRNAs 的基因表达谱,发现 miRNA-21 明显上调,在培养的平滑肌细胞中敲除 miRNA-21,细胞增殖减少、细胞凋亡增加。表明在平滑肌细胞中 miRNA-21 具有促增殖和抗凋亡的作用。他们进一步证明在血管成形术后,miRNA-21 是通过 PTEN、Bcl-2 介导细胞增殖和凋亡,从而促进和抑制血管壁新生内膜形成。由此可见,miRNA-21 可能会在未来成为抗支架内再狭窄的新靶点。

2.5 miRNA 与缺血再灌注

2.5.1 miRNA-1、miRNA-21 和 miRNA-24 冠脉闭塞再通后,会引起缺血-再灌注损伤。Yin 等^[18]证实了在心肌梗死后,miRNA-1、miRNA-21 和 miRNA-24 表达上调,并有减少梗死灶范围的作用。这种现象可能是通过上调内皮一氧化氮合酶、HSP 70 以及热休克基因转录因子 1 发挥作用^[19]。也有研究发现 miRNA-21 可通过其作用靶点 PDCD4 发挥抗细胞凋亡作用从而保护心脏免于缺血-再灌注损伤^[20]。

2.5.2 miRNA-320 近来在体内外活体研究中发现过表达 miRNA-320 可增强心肌细胞死亡和凋亡,增加梗死面积,缺血再灌注后其表达降低可以通过调控 HSP320 的合成保护受损心肌细胞的作用,包括抑制血小板聚集、释放血管活性物质以及加强心肌收缩功能等^[21]。

2.5.3 miRNA-499 在缺血再灌注损伤模型中,Wang 等^[22]发现 miRNA-499 表达是下调的,calcineurin 催化亚基的 α 、 β 亚型是 miRNA-499 的直接靶目标。miRNA-499 通过抑制 calcineurin 介导的 Drp1 去磷酸化,抑制心肌细胞凋亡。

2.5.4 miRNA-204 Xiao 等^[23]发现,在缺血再灌注模型中,miRNA-204 表达下调,而 LC3-II 表达则明显增高。miRNA-

204 可能通过调控 LC3-II 蛋白的表达实现对心肌细胞自噬作用的调节,以保护心肌避免缺血再灌注损伤。

2.5.5 miRNA-133 He 等^[24]研究中发现缺血再灌注导致 miRNA-133 在心肌细胞中低表达,但经缺血后处理后则表达增加,减少了缺血再灌注损伤所致的左室心肌梗死面积,同时降低了 CK 和 LDH 的水平。将 miRNA-133 类似物或者 AMO-133a 在缺血再灌注之前转入心肌中,前者使 CASP9 表达增加,抑制心肌凋亡的发生;后者反之。研究提示 CASP9 可能是 miRNA-133 在缺血再灌注调控中的潜在靶点。

3 miRNAs 在心肌梗死中的临床应用及展望

3.1 miRNA 作为诊断和预后的生物学指标 在 AMI 时心肌特异性的 miRNA 出现升高或者降低,因此其可以作为心肌损伤新的标志物。如 miRNA-1,-499,-208,-133,-328 等。其中最值得注意的是 miRNA-208,在众多潜在的心肌损伤标志物中,其仅在心肌中表达,具有高度的特异性,和 cTnI 相比,能更快地反应 AMI 的发生,且不受其他非特异性损伤的干扰,也不受肾功能的影响^[5],拥有巨大的应用前景。

3.2 miRNAs 作为新的治疗靶点 miRNAs 作为心肌梗死新的治疗靶点,主要是通过上调或者下调 miRNAs 的表达,调节相应靶基因和蛋白质的表达,减轻缺血性心肌损害,达到治疗目的。上调 miRNA 表达,主要通过 miRNA 模拟技术,采用人工合成的基因特异性 miRNA(miRNA mimics,拟 miRNA),模拟体内 miRNA 的作用方式,对目的基因或信号通路进行封闭抑制,具有较高特异性。如 Roy 等^[13]利用 miRNA-21 模拟技术有效抑制了 PTEN-P13K-Akt-MMP2 信号通路的表达,明显减少了缺血再灌注后心肌梗死的梗死面积。而下调 miRNA 表达,主要通过 antagomirs 技术。其将 antagomirs(与胆固醇偶联的 AMOs)注入小鼠体内,可有效而特异地沉默内源性 miRNA。如 antagomirs 技术通过对 miRNA-29 的干预作用,能明显抑制心肌纤维化。近年来 miRNA 海绵、miRNA 橡皮擦及 miRNA 面纱等新技术的相继出现,部分研究已证实其能有效地降低心肌梗死后相关 miRNA 的表达水平,具有良好的临床应用前景^[25]。

参考文献:

- [1] Fasanaro P,Greco S,Ivan M,et al. MicroRNA:emerging therapeutic targets in acute ischemic diseases[J]. Pharmacol Ther,2010,125(1):92-104.
- [2] Cheng Y,Tan N,Yang J,et al. A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acutemyocardial infarction[J]. Clin Sci(Lond),2010,119:87-95.
- [3] D'Alessandra Y,Devanna P,Limana F,et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction[J]. Eur Heart J,2010,31:2765-2773.
- [4] Adachi T,Nakanishi M,Otsuka Y,et al. Plasma microRNA-499 as a biomarker of acute myocardial infarction[J]. Clin Chem,2010,56(7):1183-1185.
- [5] Ji X,Takahashi R,Hiura Y,et al. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury [J]. Clin Chem,2009,55(11):1944-1949.
- [6] Wang GK,Zhu JQ,Zhang JT,et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans [J]. Eur Heart J,2010,31(6):659-666.
- [7] Wang RR,Li N. Circulating microRNAs are promising

- novel biomarkers of acute myocardial infarction[J]. Internal Medicine, 2011, 50: 1789-1795.
- [8] Zhao Y, Ransom JF, Li A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2[J]. Cell, 2007, 129(2): 303-317.
- [9] Lu YJ, Zhang Y, Shan HL, et al. MicroRNA-1 down regulation by propranolol in a rat model of myocardial infarction; a new mechanism for ischaemic cardioprotection[J]. Cardiovasc Res, 2009, 84(3): 434-441.
- [10] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. MiR-1 overexpression enhances Ca^{2+} release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56 α and causing CaMK II dependent hyperphosphorylation of RyR2[J]. Circ Res, 2009, 104(4): 514-516.
- [11] Shan HL, Li XL, Pan ZW, et al. Tanshinone IIA protects against sudden cardiac death induced by lethal arrhythmias via repression of microRNA-1[J]. Br J Pharmacol, 2009, 158(5): 1227-1235.
- [12] van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of miRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(35): 13027-13032.
- [13] Roy S, Khanna S, Hussain SR, et al. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloproteinase-2 via phosphatase and tensin homologue[J]. Cardiovas Res, 2009, 82(1): 21-29.
- [14] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis[J]. Dev Cell, 2008, 1(2): 261-271.
- [15] van Solingen C, Seghers L, Bijkerk R, et al. Antago miR-mediated silencing of endothelial cell specific microRNA-126 impairs ischemia-induced angiogenesis[J]. J Cell Mol Med, 2009, 13: 1577-1585.
- [16] Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice[J]. Sci, 2009, 324: 1710-1713.
- [17] Ji R, Cheng Y, Rue J, et al. miRNA expression signature and anti-sense-mediated depletion reveal an essential role of miRNA in vascular neointimal lesion formation[J]. Circ Res, 2007, 100: 1579-1588.
- [18] Yin C, Wang X, Kukreja RC. Endogenous microRNAs induced by heat-shock reduce myocardial infarction following ischemia-reperfusion in mice[J]. FEBS Lett, 2008, 582(30): 4137-4142.
- [19] Yin C, Salloum FN, Kukreja RC. A novel role of microRNA in late preconditioning: upregulation of endothelial nitric oxide synthase and heat shock protein 70[J]. Circ Res, 2009, 104(5): 572-575.
- [20] Cheng YH, Zhu P, Yang J. Ischaemic preconditioning-regulated miR-21 protects heart against ischaemia/reperfusion injury via anti-apoptosis through its target PDCD4[J]. Cardio Res, 2010, 87(3): 431-439.
- [21] Ren XP, Wu JH, Wang XH, et al. MicroRNA-320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat-shock protein 20[J]. Circulation, 2009, 119: 2357-2366.
- [22] Wang JX, Jiao JQ, Li Q, et al. miR-499 regulates mitochondrial dynamic by targeting calcineurin and dynamin-related protein-1[J]. Nature Medicine, 2011, 23(1): 71-78.
- [23] Xiao J, Zhu XY, He B, et al. MiR-204 regulates cardiomyocyte autophagy induced by ischemia-reperfusion through LC3-II[J]. J Biomed Sci, 2011, 18(1): 35-37.
- [24] He B, Xiao J, Ren AJ, et al. Role of miR-1 and miR-133a in myocardial ischemic postconditioning[J]. J Biomed Sci, 2011, 18(1): 22-25.
- [25] Fasanaro P, Greco S, Ivan M, et al. microRNA: emerging therapeutic targets in acute ischemic diseases[J]. Pharmacol Ther, 2010, 125(1): 92-104.

(收稿日期: 2012-03-09 修回日期: 2012-04-22)

• 综 述

尿道下裂治疗进展

肖开虎 综述, 林 涛[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科 400014)

关键词: 尿道下裂; 手术方式; 并发症

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.29.044

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)29-3117-04

尿道下裂是一种男性泌尿生殖系统常见的先天畸形, 发病率 0.4%~8.2%, 主要表现为尿道口开口异位, 阴茎下曲和包皮分布异常^[1]。病因至今尚待明确, 影响雄激素的合成可能会导致这种畸形, 并与遗传、环境、内分泌等多种因素有关^[1]。目前, 手术是其惟一的治疗手段, 手术方式多达 300 多种, 但尚无一种效果满意、被所有医师接受的术式, 其主要原因是术后并发症发生率高^[2]。手术治疗的目的主要是重新建立阴茎和尿道正常的解剖关系和生理功能。目前, 国内、外公认的标准是:

(1) 阴茎下曲完全矫正, 成年后能正常的进行性生活; (2) 尿道口位于阴茎头正位, 与正常人一样站立排尿; (3) 改善阴茎外观, 使之尽可能正常^[2-3]。近年来, 手术方式的改进和几种术式的广泛应用, 使尿道下裂手术成功率有了较大提高。本文就尿道下裂治疗的进展作一综述。

1 手术时机

美国儿科学会推荐手术时机为患儿年龄 6~12 个月^[4]。Ziada 等^[3]研究显示, 小年龄患儿组 (6 个月至 2 岁) 的手术成

[△] 通讯作者, Tel: 13983450991; E-mail: lintao272@yahoo.com.cn.