

DOI: 10.13376/j.cblls/2015171

文章编号: 1004-0374(2015)10-1232-05



吕延杰, 哈尔滨医科大学药学院药理教研室教授, 从事心血管系统基础和药理学研究。研究领域: 心律失常、心肌保护、心肌肥大和心肌纤维化的病理生理机制。发表 SCI 文章 60 篇, 主编参编药理学教材 5 部, 获省部级奖励 5 项, 承担国家和省部级课题 8 项。

miRNAs在心律失常中的作用研究进展

蔡本志, 吕延杰*

(哈尔滨医科大学药理教研室, 哈尔滨 150081)

摘要: 心律失常是心脏疾病常见的病症之一, 不仅引起心脏功能障碍还可引起心源性猝死。MicroRNAs (miRNAs) 是一类长度约 22 nt 的单链非编码 RNA。MiRNAs 广泛参与细胞增殖、凋亡、分化、氧化应激等病理生理过程。MiRNAs 不仅与心肌梗死、心肌肥厚及心肌纤维化等疾病发生密切相关, 更与多种心脏病理状态下心脏电重构和心律失常的发生密切相关。近年来越来越多的研究证实 miR-1、miR-328、*let-7*、miR-26、miR-208a 等在心律失常发生发展过程中发挥了重要作用, 并有望成为心律失常预警、诊断和治疗的新靶点。在这里阐述了这些 miRNAs 在心房纤颤、室性心律失常及心肌纤维化发生中的作用及意义。

关键词: miRNAs; 心律失常; 离子通道; 心脏电重构; 心肌纤维化

中图分类号: R541.7 **文献标志码:** A

Role of miRNAs in cardiac arrhythmias

CAI Ben-Zhi, LV Yan-Jie*

(Department of Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract: Cardiac arrhythmia is one of the most common complications of heart disease, and can cause myocardial dysfunction and even sudden cardiac death. MicroRNAs (miRNAs) are the single stranded non-encoding RNAs consisting of about 22 nucleotides. MiRNAs are involved in the physiological and pathological processes of cell proliferation, apoptosis, differentiation and oxidative stress. MiRNAs are not only related to heart diseases such as myocardial infarction, myocardial hypertrophy and myocardial fibrosis, but also associated to electrical remodeling and arrhythmia in many cardiac pathological conditions. In recent years, lots of studies have demonstrated that miR-1, miR-328, *let-7*, miR-26, miR-208a, etc play a vital role in the development of cardiac arrhythmia and might be the potential target for early prediction, diagnosis and treatment of arrhythmia. Here we describe the role and significance of the miRNAs in atrial fibrillation, ventricular arrhythmia and myocardial fibrosis.

Key words: miRNAs; arrhythmias; ion channel; electrical remodeling; cardiac fibrosis

收稿日期: 2014-11-24

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81530010); 国家自然科学基金面上项目(81170219, 81370245)

*通信作者: E-mail: yjlu2008@163.com

MicroRNAs (miRNAs) 是近年来新发现的一类内源性非编码小分子 RNAs, 由长度为 18~26 nt 的单链 RNA 分子所构成。在细胞核中, DNA 通过核糖核酸酶 Droscha 和 DGCR8 的切割作用, 将 pri-miRNAs 剪切成含有 70~80 nt 的 pre-miRNA, 转运蛋白将 pre-miRNA 运输到细胞质^[1-2]。在胞浆中, pre-miRNA 经过核糖核酸酶 Dicer 的进一步切割, 形成非成熟的双链 miRNAs, 之后再解旋形成成熟的单链 miRNAs^[3]。成熟的 miRNA 通过两种不同的机制下调靶基因的表达: (1) 与目标 mRNA 3'UTR 区完全互补配对, 从而降解靶 mRNA; (2) 与目标 mRNA 3'UTR 区不完全互补配对, 从而抑制 mRNA 的蛋白质翻译。1993 年, 科学家在秀丽隐杆线虫中发现了 miRNAs^[4], 但在当时并没有获得足够的重视^[5-7]。到目前为止, 已经确定的人源 miRNAs 有 2 588 种。大量证据表明, miRNAs 在许多生理病理过程中发挥着重要的调节作用, 如增殖、分化、代谢、细胞凋亡、氧化应激、心肌缺血和心律失常等。miRNAs 的异常或缺失与某些疾病密切相关, 使得 miRNAs 有望成为诊断和防治疾病的新手段。最近的研究表明, miRNAs 广泛参与了心脏病理过程, 特别是对心脏电生理功能具有调控作用, 被认为是防治心律失常发生的新靶点。

众所周知, 心脏电活动是由内向电流和外向电流之间有序活动而维持的一个动态平衡过程^[8], 而离子通道的失衡势必会引起心律失常的发生^[9-10]。研究表明, 钾离子通道、钙离子通道、钠离子通道和缝隙连接蛋白在心脏疾病中往往表达异常, 由各种病理因素刺激引起的离子通道和缝隙连接的功能障碍均可导致心律失常的发生^[10-11]。作为一个新的基因表达媒介, miRNAs 参与了病理状态下心脏离子通道和缝隙连接的变化。

1 miRNAs与心房颤动

心房颤动(房颤)是临床上较为常见的一种心律失常, 能够诱发室性心律失常的发生, 还可能加重心衰, 并引起血栓栓塞性疾病^[12]。由于房颤发病机制尚不十分清楚及表现形式的多样性和复杂性, 迄今为止, 临床上对于房颤的治疗措施仍然有限。目前的认识是, 随着房颤的发生, 离子电流随之发生改变, 即离子通道和缝隙连接发生了重构。

Lu 等^[13]发现, miR-328 抑制 L 型钙通道的表达是导致心房电重构的一个独立机制。该课题组首先应用 miRNA 基因芯片分析, 并经过实时定量

PCR 验证发现, 房颤患者及动物房颤模型的心房样本中, miR-328 表达水平显著上调, 高于正常对照组 2 倍以上。通过腺病毒转染 miR-328 和转基因鼠过表达 miR-328, 发现心房组织 I_{Ca-L} 电流密度降低和动作电位时程缩短, 并出现房颤表型, 而转染 miR-328 反义核苷酸序列则消除了上述影响。此外, 敲除内源性 miR-328 也降低房颤易感性。免疫蛋白印记及荧光素酶分析实验证实, 钙通道电压依赖性蛋白 $\alpha 1c$ 亚基基因 (*CACNA1C*) 和钙通道电压依赖性蛋白 $\beta 1$ 亚基基因 (*CACNB1*) 是 miR-328 的靶基因。研究结果证明, miR-328 引起的钙离子通道改变参与了心房电重构过程, 并导致房颤发生。

不仅上调的 miRNAs 可以引起房颤, 下调的 miRNAs 同样参与了房颤的发生。2013 年, Luo 等^[14]研究发现, miR-26 在房颤动物和人心房组织的表达均下调, 并同时伴随着 *KCNJ2/KIR2.1* 的上调, 而过表达 miR-26 又能够抑制 *KCNJ2/KIR2.1* 的表达。敲除、抑制或突变 miR-26 的结合位点, 均能增强 *KCNJ2/KIR2.1* 的表达, 表明 *KCNJ2* 是 miR-26 的靶基因。敲除鼠心脏内源性 miR-26 能增加房颤的易感性并导致房颤, 而腺病毒转染 miR-26 使房颤的易感性下降。在房颤鼠模型中, *Kcnj2* 特异性 miRNA 的屏蔽消除了 miR-26 介导的 *Kcnj2* 增加, 减弱了 miR-26 的保护作用, 而 *Kcnj2* 特异性 miRNA 模拟作用则抑制了 miR-26 敲除导致的房颤发生。因此, miR-26 能调控 *Kcnj2* 的表达, 这是其参与房颤发生调节的重要机制之一。

Girmatsion 等^[15]研究了持续性心房颤动患者左心房组织样本中 miR-1 和内向整流钾电流 (I_{K1}) 钾通道亚基即 *KIR2* 之间相互作用的情况。结果显示, 房颤患者心房肌组织的 I_{K1} 电流和 *KIR2* 蛋白表达均增多; 相反, 接近 86% 的房颤患者心房组织样本中的 miR-1 水平下调。进一步研究证明, miR-1 表达降低会导致 *KIR2.1* 的上调, 从而增加 I_{K1} 电流。由于内向整流电流 I_{K1} 在调节和维持房颤过程中发挥着重要作用, 该研究提示 miR-1 可能通过调节 I_{K1} 电流而参与房颤的发生。

Callis 等^[16]研究发现, 在 miR-208a 敲除的小鼠中, 近 80% 的小鼠发生了房颤。与野生组相比, 过表达 miR-208a 的小鼠 PR 间期明显延长, 并能观察到二度房室传导阻滞, 表明 miR-208a 参与了心脏转导系统的发育和功能的调节以及房颤的发生。进一步研究发现, miR-208a 对缝隙连接蛋白 connexin40 (Cx40) 具有调节作用, 可能是其调控心

脏电传导功能和房颤的原因之一。

2009年, Shan等^[17]研究发现, 尼古丁能够通过降低犬心房组织中 miR-133 和 miR-590 的表达, 促进胶原合成和心房纤维化, 进而导致心房结构重构, 并促进房颤发生。该研究表明, 尼古丁能够上调 TGF- β I 和 TGF- β II 型受体的表达, 而抑制 miR-133 和 miR-590 的表达。将 miR-133 和 miR-590 转染入犬心房纤维组织可以明显降低 TGF- β I 和 TGF- β II 型受体的表达及胶原含量, 在转染 miR-133 和 miR-590 的反义核苷酸序列后, 这一作用被逆转, 说明 TGF- β I 和 TGF- β II 型受体是 miR-133 和 miR-590 的作用靶点。该研究首次证明 miRNA 参与了房颤的结构重构过程。

2 miRNAs与室性心律失常

在心肌梗死 (MI) 和心力衰竭而导致的心源性猝死中, 室性心律失常是一个重要的致死原因, 但其分子机制仍不十分清楚。近期研究表明, miRNAs 能够调节离子通道和缝隙连接等心律失常相关蛋白的表达, 是室性心律失常发生发展的一个重要调控分子。

Yang等^[18]发现, 在患有心肌缺血性疾病的患者心肌细胞中 miR-1 表达升高 (为正常人心肌组织的 2.8 倍)。在结扎大鼠冠状动脉左前降支构建的心肌缺血模型中, miR-1 也有相同表达水平的升高。外源性给予 miR-1 能诱发大鼠心律失常的发生, 而 miR-1 的反义核苷酸则能够对抗其诱发的心律失常。进一步的机制研究表明, miR-1 对编码缝隙连接蛋白 $\alpha 1$ 亚基的 *GJA1* 和编码内向整流钾通道 α 亚单位的 *KCNJ2* 具有调控作用。miR-1 能够抑制 connexin43 和 KIR2.1 的表达, 进而减慢心肌传导和改变细胞膜电位, 最终导致心律失常的发生。以上研究结果表明, 心肌缺血时 miR-1 的上调通过转录后抑制 *GJA1* 和 *KCNJ2* 的表达而参与缺血性心律失常的发生。

Terentyev等^[19]通过电生理学、钙成像和免疫印迹实验检测了大鼠心室肌细胞 miR-1 过表达对兴奋收缩耦联和细胞内 Ca^{2+} 的影响。结果表明, 过表达 miR-1 能明显增加细胞内钙。在异丙肾上腺素存在的情况下, 过表达 miR-1 的心肌细胞出现细胞内钙震荡和自发性心律失常。进一步研究证明, miR-1 的这一作用是通过阻断 PP2A、改变 L 型钙通道和 RyR2 通道的功能而引起。

Danielson等^[20]探讨了 miR-17-92 簇对心脏和

平滑肌组织形态和功能的影响。miR-17-92 呈剂量依赖性诱导扩张型心肌病、肥厚性心肌病和心律失常的发生, 且与早期死亡相关。miR-17-92 的靶基因磷酸酶张力蛋白同源物 (PTEN) 的转录丰度与 miR-17-92 表达水平和心脏大小呈负相关。此外, 荧光素酶检测和表达分析证明, connexin43 (Cx43) 是 miR-19a/b 的作用靶点。以上结果提示, 心脏中异常表达的 miR-17-92 通过直接抑制 PTEN 和 Cx43 而参与心律失常的发生。

Li等^[21]报道, 急性心肌缺血时 $\beta 1$ -AR 表达上调, 而 miRNA *let-7* 家族下调。过表达 *let-7e* 抑制了 $\beta 1$ -AR 的表达, 而将其沉默能增加 $\beta 1$ -AR 的表达。在体实验发现, 过表达 *let-7e* 能够抑制急性心肌缺血时 $\beta 1$ -AR 的上调, 且表现出明显的抗缺血性心律失常的作用, 这一作用与传统的 β 受体阻滞剂心得安和美托洛尔相似。另外, Lu等^[22]和 Shan等^[23]的研究证明, β 受体阻断剂普萘洛尔通过抑制 miR-1 的表达而调节 I_{K1} 和缝隙连接蛋白 Cx43, 是 β 受体阻断剂治疗缺血性心律失常的机制之一。

心肌纤维化是心肌梗死、心肌肥厚和心力衰竭等心脏疾病常见的组织病理变化。心肌纤维化不仅严重影响心肌收缩力, 还可导致心肌组织的病理性重构及各种类型的心律失常。抑制心肌纤维化是改善心脏功能预防心律失常的新策略之一。

2012年, Pan等^[24]的研究探讨了 miR-101 在心肌纤维化中的作用及其机制。结扎大鼠冠状动脉建立心肌梗死模型 4 周后, 梗死区 miR-101a 和 miR-101b 的表达明显下调。过表达 miR-101a 和 miR-101b 能够明显抑制乳鼠心肌成纤维细胞的增殖和胶原增生, 而应用 miR-101a/b 的反义抑制剂能够消除这些作用。实验证明, c-Fos 是 miR-101a 的靶蛋白, 过表达 miR-101a 能够减少 c-Fos 及其下游蛋白 TGF- β I 的表达。通过腺病毒转染 miR-101a 进入患有慢性心肌梗死的大鼠心脏中 4 周, 超声心动图和血流动力学检测表明, 大鼠心功能获得了明显改善, 心肌纤维化也得到缓解, c-Fos 蛋白和 TGF- β I 的表达受到抑制。以上结果表明, miR-101a 能够有效缓解心梗后大鼠的心肌纤维化和心脏功能恶化, 提示 miR-101a 可能成为心肌纤维化疾病的新靶点。

van Rooij等^[25]研究发现, miR-29 家族的靶基因多为参与编码纤维化蛋白质的基因, 包括多重胶原蛋白、原纤维蛋白和弹性蛋白。当下调 miR-29 的表达时, 胶原蛋白生成大量增加; 而过表达 miR-

29时,成纤维细胞的胶原合成受到抑制。miR-21也是调节心肌纤维化的重要miRNA^[26],其在心肌肥大、心衰及心肌梗死中均有促纤维化的作用。进一步的机制研究表明,miR-21通过PTEN途径调控梗死区域的心肌纤维化。

3 展望

miRNAs表达的平衡对维持心脏正常电生理功能起到重要的作用。在病理条件下,miRNAs的平衡被破坏,而影响了它们的目标基因表达,进而导致心脏电生理功能障碍及心律失常的发生^[13,18]。在心脏组织表达的miRNAs中,已经证实miR-1、miR-133、miR-21、miR-101、miR-29、miR-208、miR-320、*let-7*和miR-590等在心脏疾病,特别是在心律失常的发生和发展过程中起重要的作用。此外,研究结果也显示,miRNAs或其反义核苷酸对心肌肥厚、心肌纤维化和心律失常有明显的改善和治疗作用。根据不同靶点在不同心律失常病理过程中的角色,对miRNA的干预方式包括两种:一种为miRNA的过表达,另外一种为miRNA的沉默,从而达到对靶基因表达的调控。miRNA的一个重要生物学特征是它的多靶点作用,即一个mRNA可接受多个miRNA的调节,而一个miRNA也可以调节多个mRNA。究竟应选择一个miRNA还是多个miRNA作为干预靶点,这将依靠于不同的病理变化、不同的miRNA表达谱而决定,也是未来miRNA研究和应用方面的一个挑战。

将miRNAs实际应用于临床治疗心脏疾病仍然受到多方面的限制,如miRNAs的安全性或miRNAs的给药方式等。如何提高miRNAs作用的特异性和安全性,是其临床应用的关键所在。另外,miRNAs能否成为疾病诊断的生物标记物,也引起很大的关注。miR-1、miR-208的表达水平可以被认定为心肌损伤的重要标志之一^[27-28]。以上研究均证实了miRNAs在心血管疾病的病理过程中的重要地位。然而,对于miRNAs在人体中的功能和意义的理解还很有限,只是冰山一角,miRNAs生物功能的全方位探讨和未来应用是这一研究领域的方向。

[参 考 文 献]

- [1] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Droscha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425: 415-9
- [2] Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, et al. The Microproces-

- sor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*, 2004, 432: 235-40
- [3] Kurihara Y, Watanabe Y. *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 12753-8
- [4] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75: 843-54
- [5] Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science*, 2001, 294: 797-9
- [6] Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, et al. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, 294: 858-62
- [7] Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, 294: 862-4
- [8] Zhang Y, Liu Y, Wang T, et al. Resveratrol, a natural ingredient of grape skin: antiarrhythmic efficacy and ionic mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340: 1192-9
- [9] Zhang Y, Han H, Wang J, et al. Impairment of human ether-a-go-go-related gene (HERG) K⁺ channel function by hypoglycemia and hyperglycemia. Similar phenotypes but different mechanisms. *J Biol Chem*, 2003, 278: 10417-26
- [10] Gong D, Zhang Y, Cai B, et al. Characterization and comparison of Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ currents between myocytes from human atrial right appendage and atrial septum. *Cell Physiol Biochem*, 2008, 21: 385-94
- [11] Yue P, Zhang Y, Du Z, et al. Ischemia impairs the association between connexin 43 and M3 subtype of acetylcholine muscarinic receptor (M3-mAChR) in ventricular myocytes. *Cell Physiol Biochem*, 2006, 17: 129-36
- [12] Venkataraman G, Strickberger SA. Atrial fibrillation degenerates into ventricular fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55: 1050
- [13] Lu Y, Zhang Y, Wang N, et al. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation*, 2010, 122: 2378-87
- [14] Luo X, Pan Z, Shan H, et al. MicroRNA-26 governs pro-fibrillatory inward-rectifier potassium current changes in atrial fibrillation. *J Clin Invest*, 2013, 123: 1939-51
- [15] Girmatsion Z, Biliczki P, Bonauer A, et al. Changes in microRNA-1 expression and I_{K1} up-regulation in human atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 2009, 6: 1802-9
- [16] Callis TE, Pandya K, Seok HY, et al. MicroRNA-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice. *J Clin Invest*, 2009, 119: 2772-86
- [17] Shan H, Zhang Y, Lu Y, et al. Downregulation of miR-133 and miR-590 contributes to nicotine-induced atrial remodeling in canines. *Cardiovasc Res*, 2009, 83: 465-72
- [18] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA *miR-1* regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting *GJA1* and *KCNJ2*. *Nat Med*, 2007, 13: 486-91
- [19] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. miR-1 overexpression enhances Ca²⁺ release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56a and causing CaMKII-dependent hyper-phosphorylation

- of RyR2. *Circ Res*, 2009, 104: 514-21
- [20] Danielson LS, Park DS, Rotllan N, et al. Cardiovascular dysregulation of miR-17-92 causes a lethal hypertrophic cardiomyopathy and arrhythmogenesis. *FASEB J*, 2013, 27: 1460-7
- [21] Li X, Wang B, Cui H, et al. *let-7e* replacement yields potent anti-arrhythmic efficacy via targeting β 1-adrenergic receptor in rat heart. *J Cell Mol Med*, 2014, 18: 1334-43
- [22] Lu Y, Zhang Y, Shan H, et al. MicroRNA-1 downregulation by propranolol in a rat model of myocardial infarction: a new mechanism for ischaemic cardioprotection. *Cardiovasc Res*, 2009, 84: 434-41
- [23] Shan H, Li X, Pan Z, et al. Tanshinone IIA protects against sudden cardiac death induced by lethal arrhythmias via repression of microRNA-1. *Br J Pharmacol*, 2009, 158: 1227-35
- [24] Pan Z, Sun X, Shan H, et al. MicroRNA-101 inhibited postinfarct cardiac fibrosis and improved left ventricular compliance via the FBJ osteosarcoma oncogene/transforming growth factor- β 1 pathway. *Circulation*, 2012, 126: 840-50
- [25] van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 13027-32
- [26] Roy S, Khanna S, Hussain SR, et al. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue. *Cardiovasc Res*, 2009, 82: 21-9
- [27] Ai J, Zhang R, Gao X, et al. Overexpression of microRNA-1 impairs cardiac contractile function by damaging sarcomere assembly. *Cardiovasc Res*, 2012, 95: 385-93
- [28] Ji X, Takahashi R, Hiura Y, et al. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem*, 2009, 55: 1944-9