

# 受剪切应力调控的 microRNAs 在动脉粥样硬化中作用机制的研究进展

刘 静<sup>1</sup>, 王媚媚<sup>2</sup>, 何文智<sup>1</sup>, 文红艳<sup>3</sup>

(1. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南省长沙市 410208; 2. 南华大学附属南华医院儿科, 湖南省衡阳市 421002; 3. 湖南中医药大学医学院, 湖南省长沙市 410208)

[关键词] 剪切应力; microRNAs; 动脉粥样硬化

[摘要] 动脉粥样硬化(As)是心脑血管病的主要病理基础,严重威胁人类的生命和健康。As 好发于异常的剪切应力部位,受剪切应力调控的 microRNAs 被称为“剪切应力敏感性 microRNAs”。剪切应力敏感性 microRNAs 参与 As 发病机制的多个环节,本文主要就剪切应力敏感性 microRNAs 在 As 发生发展过程中作用机制的最新研究进展进行综述。

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

## The research progress of mechanism of microRNAs which regulated by shear stress on atherosclerosis

LIU Jing<sup>1</sup>, WANG Mei-Mei<sup>2</sup>, HE Wen-Zhi<sup>1</sup>, WEN Hong-Yan<sup>3</sup>

(1. Integrative Traditional Chinese and Western Medicine College, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Department of Pediatric, Affiliated Nanhua Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421002, China; 3. Medicine School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[KEY WORDS] Shear stress; microRNAs; Atherosclerosis

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) is the main pathological basis of cardiovascular and cerebrovascular diseases, which seriously threatens human life and health. As occurs in abnormal shear stress sites, and microRNAs regulated by shear stress are called “shear stress sensitive microRNAs”. Shear stress-sensitive microRNAs are involved in many aspects of the pathogenesis of As. This review summarizes the recent advances in the mechanism of shear stress-sensitive microRNAs in the development and progression of As.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是冠心病、心脑血管疾病和血栓栓塞性疾病等缺血性心脑血管病的主要病理基础,严重威胁人类的生命和健康<sup>[1]</sup>。众所周知,As 优先发生在暴露于受干扰血流的动脉树区域,如动脉起始部、颈总动脉、腹主动脉、冠状动脉等血管几何形状发生改变的分叉处和弯曲处<sup>[2]</sup>。而 As 好发区域是剪切应力异常的常见部位。microRNAs(miRs)在转录后水平调控相关靶基因的表达,广泛参与 As 发病机制的多个环节<sup>[3-5]</sup>。本文就 miRs 在剪切应力变化时对 As 发生发展的影响进行简要综述。

### 1 剪切应力敏感性 miRs 与 As

受剪切应力调控的 miRs 称为“剪切应力敏感性 miRs”。剪切应力是指血液在血管内流动时对血管壁产生的切线方向的张力,即血流对动脉血管壁表面产生的平行摩擦力。剪切应力的大小与血液流动的速度、血管的半径、血液的粘滞度密切相关<sup>[6]</sup>。miRs 是一类高度保守的长约~22 个核苷酸具有多种生物学功能的单链非编码小分子 RNA,其通过碱基互补配对原则靶向其靶基因 mRNA 的 3' 端非编码区域,抑制靶 mRNA 的表达和靶蛋白的翻

[收稿日期] 2017-03-12

[修回日期] 2017-10-31

[基金项目] 湖南省教育厅资助项目(15A137);湖南省自然科学基金资助项目(2015JJ4097)

[作者简介] 刘静,硕士研究生,研究方向为心脑血管疾病,E-mail 为 570429747@qq.com。通讯作者文红艳,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向为心脑血管疾病,E-mail 为 340681499@qq.com。

译<sup>[7]</sup>。文献[8-10]报道,有多个 miRs 可以受到剪切应力的调控,如 miR-10a、miR-19a、miR-23b、miR-17~92、miR-21、miR-92a、miR-101、miR-122、miR-126、miR-143/145、miR-146a、miR-155、miR-205 和 miR-663 等。其中,高剪切应力(high shear stress, HSS)通过调节 miR-10a、miR-19a、miR-23b、miR-101 和 miR-143/145 表达起到抗 As 作用,低剪切应力(low shear stress, LowSS)通过调节 miR-21、miR-92a、miR-663 表达起到促 As 作用<sup>[8]</sup>。研究表明,剪切应力敏感性 miRs 通过调控相关靶基因表达,参与多个信号通路的转导,对内皮细胞(endothelial cell, EC)的损伤和功能障碍、炎症应答、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的增殖和迁移、As 斑块形成等 As 发生发展的多个病理生理环节发挥重要的生物学作用<sup>[11]</sup>。

## 2 剪切应力敏感性 miRs 与内皮细胞

内皮细胞损伤和功能障碍是 As 发生发展的始动因素。构成血管壁内层的 EC 具有力学敏感性能感知剪切应力的刺激并将这种刺激转化为生物信号进行传导,调控 EC 内的基因表达,这对维持 EC 的稳态及 As 的发生发展具有重要作用<sup>[12]</sup>。miRs 在剪切应力调控 EC 的作用机制是传递和诱导。研究发现,12±4 dynes/cm<sup>2</sup> 的脉冲剪切应力通过下调 EC 中 miR-92a,上调一个已知在转录水平受剪切应力调控的 kruppel 样转录因子 2(kruppel-like factor -2, KLF-2)表达,发挥生物学效应,以维持 EC 稳态<sup>[13]</sup>。Qin 等<sup>[14]</sup>运用平行平板流动腔装置发现 12 dynes/cm<sup>2</sup> 的层流剪切应力(laminar shear stress, LSS)上调 miR-19a 表达,对人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)中细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)表达产生抑制作用,从而导致 HUVEC 周期停滞。内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)分化对维持血管稳态和血管内膜损伤修复至关重要,血液流动血管壁产生的剪切应力在调控 EPC 分化中扮演重要角色。生理水平的 LSS 促进 EPC 向 EC 分化从而抑制其向 VSMC 分化,miR-34a 通过负调控其靶基因 Forkhead 转录因子 J2(forkhead box j2, Foxj2),参与 LSS 诱导的 EPC 向 EC 分化<sup>[15]</sup>。不同流动条件的剪切应力对 EC 功能的影响也不相同。生理水平的剪切应力通过调控 EC 中抗 As 基因的表达,进而影响下游信号通路上的分子机制,发挥抗 As 的作用。Weber 等<sup>[16]</sup>研

究发现,15 dynes/cm<sup>2</sup>、24 h 单向剪切应力(unidirectional shear stress, USS)上调 HUVEC 中 miR-21 的表达水平,通过激活一氧化氮(NO)途径,增加内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS),减少 HUVEC 凋亡。沉默 miR-21 则起到相反的生物学作用,促进 HUVEC 凋亡。USS 可以扭转沉默 miR-21 所带来的促 HUVEC 凋亡作用,抑制 HUVEC 的凋亡,发挥抗 As 作用。然而,在动脉血管 0~5 dynes/cm<sup>2</sup> 剪切应力的 LowSS 通过上调 EC 中促 As 基因,诱导 EC 凋亡,破坏内皮的屏障保护作用,推动 As 的发生发展进程<sup>[17]</sup>。扰动流产生的振荡剪切应力(oscillatory shear stress, OSS)也能够调控 EC 中基因的表达,使 EC 活化、诱导 EC 细胞凋亡,加速 EC 的周期进程,促进动脉壁重塑,抑制正常血液流动产生的生理水平剪切应力所介导的血管舒张作用,从而发挥促 As 作用<sup>[18]</sup>。miR-101 介导 LSS 对 EC 中 mTOR 表达的抑制作用,其机制可能是 LSS 上调 miR-101,抑制 mTOR 基因的表达,过表达 miR-101 诱导 EC 周期停滞,抑制 EC 增殖。

## 3 剪切应力敏感性 miRs 与炎症反应

As 是一种慢性炎症性疾病,在 As 发生发展的病理进程中从脂质条纹的出现到纤维斑块形成,粥样斑块累积再到病变成易损斑块和最后出现血栓形成引发急性临床事件都离不开炎症细胞和炎症介质的参与<sup>[19]</sup>。As 发生的危险因素如:高脂血症、高血压、糖尿病、高同型半胱氨酸血症等因素长期反复作用于动脉血管壁,产生致炎刺激因子,诱导炎症发生。Chen 等<sup>[10]</sup>对体外共培养的 VSMC 和 HUVEC 施加 12 dynes/cm<sup>2</sup> 生理水平抗 As 剪切应力后,发现 miR-146a、miR-708、miR-451、miR-98 在共培养的 VSMC 和 HUVEC 中表达增加。这 4 个 miRs 通过直接靶向白细胞介素 1 受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK)、核转录因子  $\kappa$ B 激酶亚基  $\gamma$  的抑制剂(inhibitor of NF- $\kappa$ B kinase subunit- $\gamma$ , IKK- $\gamma$ )、白细胞介素-6 受体(interleukin-6 receptor, IL-6R)和保守的螺旋-环-螺旋泛素激酶(conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase, CHUK)抑制核转录因子  $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)通路的信号转导而发挥抗炎作用,延缓 As 的发展进程。由于人体的动脉系统大小分布不均匀,剪切应力的大小和方向会随着动脉几何形状的变化而变化。动脉中剪切应力的异质性出现在差异基因表达的区域<sup>[20]</sup>。不同流动条件的剪切应力对 EC 中炎症基因表达调控的作用也不同,从

而使 EC 呈现促炎或抗炎的状态。HSS 能够上调信号通路上抗炎基因和蛋白的表达,下调促炎基因和蛋白质的表达,使 EC 处于抗炎状态。LowSS 和 OSS 则引起 EC 中促炎基因的表达诱导 EC 产生炎症反应,发挥促 As 作用。研究发现,As 保护性 HSS 阻断内源性 miR-34a 表达,上调 HSS 介导的去乙酰化酶 1 (sirtuin type 1, SIRT1) 的表达水平<sup>[21]</sup>。SIRT1 通过与 NF- $\kappa$ B 的 RelA/p65 亚基直接相互作用并调节其去乙酰化,负反馈 NF- $\kappa$ B 的活性,发挥抗炎作用。OSS 则诱导 miR-34a 表达水平上调,显著减弱了 HSS 介导的 EC 中血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1) 蛋白表达的抑制作用并且下调具有抗炎作用 SIRT1 的表达,激活下游 NF- $\kappa$ B 信号通路,增加炎症标志物在 EC 中的表达水平和 P65 的乙酰化水平,刺激 EC 发生炎症反应,从而起到促 As 作用。Demolli 等<sup>[22]</sup>研究表明,miR-30 通过抑制血管生成素 2 (angiopoietin, Ang-2) 介导剪切应力和 KLF-2 的抗炎作用。其可能的调控机制是 LSS 显著上调 miR-30-5P 家族成员的表达,Klf-2 能够上调 miR-30-5P 对剪切应力刺激的响应。转染 miR-30-5P 进 HUVEC 能够靶向抑制 Ang-2,并且减少肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 诱导的炎症细胞粘附分子 E-选择素、VCAM-1、细胞间粘附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的蛋白表达水平,发挥抗炎活性。然而, OSS 刺激 HUVEC 诱导促炎信号的传导,降低 HUVEC 中 miR-30-5P 家族成员的表达,促使炎症的发生。

#### 4 剪切应力敏感性 miRs 与血管平滑肌细胞

VSMC 的异常增殖和迁移是涉及 As 的关键病理过程。当机体发生 As 时, VSMC 高度增殖的特性被激活,促使动脉壁增厚变硬,加速 As 的发展进程<sup>[23]</sup>。在动脉分支和动脉弯曲处的 EC 经过扰动血流的 LowSS 干扰,刺激中膜介质内的 VSMC 发生增殖和迁移,激活 VSMC 进入到内膜与 EC 紧密接触,使得 VSMC 发生表型转变以导致 As。Zhu 等<sup>[24]</sup>研究发现, 12 dynes/cm<sup>2</sup> 的 As 保护性 LSS 减少了 miR-126-3P 在 EC 中的分泌,抑制 VSMC 的增殖和迁移。然而, 0.5±4.0 dynes/cm<sup>2</sup> OSS 增加了 miR-126-3p 在 EC 中的分泌,激活可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感融合蛋白受体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein receptor, SNARE), 囊泡相关膜蛋白 3 (vesicle-associated membrane protein, VAMP3) 和突触体相关蛋白 23 (synaptosomal-associ-

ated protein 23, SNAP23) 从而增强 OSS 诱导的与 EC 共培养的 VSMC 的增殖和迁移,促进 As 的发展。Zhou 等<sup>[25]</sup>对 miR-126 在 LSS 诱导的 VSMC 增殖的研究发现, LSS 和 miR-126 显著降低共培养的 EC 和 VSMC 中增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 蛋白的表达,使得 VSMC 处于 G0/G1 期,抑制 VSMC 的增殖。马英英等<sup>[26]</sup>研究发现, LowSS 明显上调联合培养的 VSMC 和 EC 中 miR-133b 表达,转染 miR-133b 模拟物组,核糖核酸结合蛋白 1 (polypyrimidine tract binding protein 1, Ptbp1)、N-myc 下游调节基因 1 (N-myc downstream regulated 1, Ndr1) 的 mRNA 和蛋白水平显著降低,并且显著促进 VSMC 增殖。在王聪聪等<sup>[27]</sup>对 LowSS 诱导 VSMC 增殖作用的研究中发现, LowSS 通过上调共培养 VSMC 中的 miR-34a,下调其靶基因 Foxj2 的蛋白水平,促进 VSMC 增殖,加速 As 发展进程。

#### 5 剪切应力敏感性 miRs 与粥样斑块

As 斑块的分布具有局灶性,多分布在动脉分叉处和弯曲处等血流流动异常的区域。该区域的血流流动形式、流动力大小和方向与呈直线分布的动脉血管大有不同。斑块形成区域血液流动产生的剪切应力以扰流和缓慢流动所形成的 OSS 和 LowSS 为主。Brown 等<sup>[28]</sup>研究显示,与 HSS 的动脉区域相比 As 斑块优先形成在受 LowSS 和 OSS 流动的区域。研究发现,炎症和 OSS 可以下调 EC 中成纤维细胞生长因子受体的表达并激活转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 信号通路,诱导更多的 EC 发生内皮间质化,增加纤维连接蛋白沉积,最终加重 As 斑块的形成<sup>[29]</sup>。科技的发展给予 As 新的治疗手段。Wong 等<sup>[30]</sup>利用处于炎症状态的 EC 中过表达的 E-选择素,运用 ESTA-MSV 系统向炎症脉管中定向输送受剪切应力调控的 miR-146a 和 miR-181b 来治疗 As。负载 miR-146a 和 miR-181b 的纳米微粒在疾病病变处结合 EC 表面过表达的 E-选择素然后被释放,再被 EC 内化,显著降低高脂饮食喂养的 Apo-E 基因敲除小鼠主动脉弓和胸主动脉的斑块大小,抑制 As 的发展。

#### 6 总 结

As 好发区域的局灶性分布与该处血管几何形状改变、血流动力学变化、剪切应力异常有关。异常的



剪切应力通过调控基因表达,参与不同的信号通路和分子机制介导 EC 损伤和功能障碍、炎症反应、VSMC 增殖和迁移、As 斑块形成等,影响 As 的发生发展进程。miRs 作为 As 发生发展进程中的重要调控因子之一,受剪切应力的调控 miRs 对 As 的发生发展具有明显作用。将生物力学与生物分子机制有机结合,探讨 miRs 与剪切应力在 As 中的作用及其作用机制,更好地了解 As 发病的病理生理机制,对减缓 As 的发病进程,预防和治疗 As 具有重大意义。

#### [参考文献]

- [1] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(16): 1 685-695.
- [2] Simmons RD, Kumar S, Jo H. The role of endothelial mechanosensitive genes in atherosclerosis and omics approaches [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 591(2): 111-131.
- [3] Tang F, Yang TL, Zhang Z, et al. MicroRNA-21 suppresses ox-LDL-induced human aortic endothelial cells injuries in atherosclerosis through enhancement of autophagic flux; involvement in promotion of lysosomal function[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 359(2): 374-383.
- [4] Eken SM, Jin H, Chernogubova E, et al. MicroRNA-210 enhances fibrous cap stability in advanced atherosclerotic lesions [J]. *Circ Res*, 2017, 120(4): 633-644.
- [5] Cheng HS, Besla R, Li A, et al. Paradoxical suppression of atherosclerosis in the absence of microRNA-146a [J]. *Circ Res*, 2017, 121(4): 354-367.
- [6] Chiu JJ, Chien S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(1): 327-387.
- [7] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- [8] Neth P, Nazari-Jahantigh M, Schober A, et al. MicroRNAs in flow-dependent vascular remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(2): 294-303.
- [9] Marin T, Gongol B, Chen Z, et al. Mechanosensitive microRNAs: role in endothelial responses to shear stress and redox state [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 64(6): 61-68.
- [10] Chen LJ, Chuang L, Huang YH, et al. MicroRNA mediation of endothelial inflammatory response to smooth muscle cells and its inhibition by atheroprotective shear stress [J]. *Circ Res*, 2015, 116(7): 1 157-169.
- [11] Alexy T, James AM, Searles CD. Shear sensitive microRNAs and atherosclerosis [J]. *Biorheology*, 2014, 51(2-3): 147-158.
- [12] Davies PF. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology [J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2009, 6(1): 16-26.
- [13] Kanthi Y, Hyman MC, Liao H, et al. Flow-dependent expression of ectonucleotide tri (di) phosphohydrolase-1 and suppression of atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(8): 3 027-036.
- [14] Qin X, Wang X, Wang Y, et al. MicroRNA-19a mediates the suppressive effect of laminar flow on cyclin D1 expression in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(7): 3 240-244.
- [15] 程彬彬. SIRT1 与 microRNA-34a 在切应力诱导内皮祖细胞分化中的作用及其机制 [D]. 上海交通大学, 2014: 50-51.
- [16] Weber M, Baker MB, Moore JP, et al. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(4): 643-648.
- [17] Chao Y, Ye P, Zhu L, et al. Low shear stress induces endothelial reactive oxygen species via the AT1R/eNOS pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 233(2): 1 384-395.
- [18] Alexy T, James AM, Searles CD. Shear sensitive microRNAs and atherosclerosis [J]. *Biorheology*, 2014, 51(2-3): 147-158.
- [19] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126.
- [20] Nam D, Ni CW, Rezvan A, et al. Partial carotid ligation is a model of acutely induced disturbed flow, leading to rapid endothelial dysfunction and atherosclerosis [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297(4): H1 535-543.
- [21] Fan W, Fang R, Wu X, et al. Shear-sensitive microRNA-34a modulates flow-dependent regulation of endothelial inflammation [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(1): 70-80.
- [22] Demolli S, Doebele C, Doddaballapur A, et al. MicroRNA-30 mediates anti-inflammatory effects of shear stress and KLF2 via repression of angiopoietin 2 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 88(11): 111-119.
- [23] Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5): 812-819.
- [24] Zhu JJ, Liu YF, Zhang YP, et al. VAMP3 and SNAP23 mediate the disturbed flow-induced endothelial microRNA secretion and smooth muscle hyperplasia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(31): 8 271-276.
- [25] Zhou J, Li YS, Nguyen P, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell turnover by endothelial cell-secreted microRNA-126: role of shear stress [J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 40-51.
- [26] 马英英, 王璐, 包晗, 等. microRNA-133b 在低切应力诱导血管内皮细胞影响血管平滑肌细胞增殖中的作用 [J]. *医用生物力学*, 2016, 31(5): 408-415.
- [27] 王聪聪, 姚庆苹, 马英英, 等. microRNA-34a 在低切应力诱导血管平滑肌细胞增殖中的作用 [J]. *医用生物力学*, 2015, 30(4): 339-345.
- [28] Brown A J, Teng Z, Evans PC, et al. Role of biomechanical forces in the natural history of coronary atherosclerosis [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(4): 210-220.
- [29] Chen PY, Qin L, Baeyens N, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition drives atherosclerosis progression [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(12): 4 514-528.
- [30] Wong WT, Ma S, Tian XY, et al. Targeted delivery of shear stress-inducible micromRNAs by nanoparticles to prevent vulnerable atherosclerotic lesions [J]. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2016, 12(3): 152-156.

(此文编辑 朱雯霞)