

参与负性调控胆固醇逆向转运的 microRNA

蒋波¹, 李丹¹, 刘亚密², 王佐², 马小峰¹

(1. 南华大学附属南华医院, 2. 南华大学心血管疾病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] microRNA; ATP 结合盒转运体 A1; B 类 I 型清道夫受体; 胆固醇逆向转运

[摘要] 加强胆固醇逆向转运(RCT)具有抗动脉粥样硬化作用, microRNA(miRNA)参与多种生物学过程的调控, 研究发现多个 miRNA 参与 RCT 调控, 其通过对 RCT 的关键蛋白 ATP 结合盒转运体 A1(ABCA1)和受体 B 类 I 型清道夫受体(SR-B I)的调控而发挥作用。目前已发现多种 miRNA 可抑制 ABCA1 和 SR-B I 蛋白表达水平, 进而抑制 RCT 和胆固醇流出, 本文拟就负性调控 RCT 的 miRNA 进行综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

MicroRNA that involves the negative regulation of reverse cholesterol transport

JIANG Bo¹, LI Dan¹, LIU Ya-Mi², WANG Zuo², MA Xiao-Feng¹

(1. Affiliated Nanhua Hospital, 2. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] MicroRNA; ATP binding cassette transporter A1; Scavenger receptor class B type I; Reverse cholesterol transport

[ABSTRACT] Strengthening the reverse cholesterol transport (RCT) has the anti-atherosclerotic effect. MicroRNA (miRNA) involves the regulation of many biological processes. Recent studies suggest that miRNA can control the ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) and scavenger receptor class B type I (SR-B I) that belong to the critical protein of RCT. Currently, it has been found that many miRNAs can inhibit the levels of SR-B I and ABCA1 protein expression, and then inhibiting the cholesterol efflux. This paper summarizes the miRNA that involves the negative regulation of RCT.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)属于进行性病变,其中以脂质、纤维元素在大动脉的堆积和炎症反应为其发生发展的两个关键环节^[1],由于人口的老龄化以及像肥胖、糖尿病和高脂血症等心血管疾病危险因素的增加,人们预计心脑血管疾病的发病率在未来的一二十年会呈现出实际上升的趋势^[2]。有研究显示,血清高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)水平与冠心病患病率呈负相关,盘状的 HDL 颗粒由 100~200 个脂质分子组成并且为两个载脂蛋白 A1 (apolipoprotein A1, ApoA1) 所环绕^[3]。相关研究表明, HDL 通过选择性胆固醇酯(cholesteryl ester, CE)通道释放胆固醇酯到细胞, HDL-CE 在进入细胞时并没有相应 HDL 颗粒的摄取和降解。在血浆胆固醇代谢中, HDL-CE 选择性通道在释放 HDL-CE 进入肝脏扮演着重要的角色,

进入肝脏的 HDL-CE 在胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)过程中通过合成胆汁和胆汁酸进行排泄^[4]。常见参与 RCT 过程的蛋白,如 ATP 结合盒转运体 G1(ATP binding cassette transporter G1, ABCG1)可以促进细胞胆固醇流向 HDL₂ 和 HDL₃^[5];研究发现小凹(Caveolae)是细胞胆固醇流出的主要部位,而小凹蛋白(Caveolin)其作用与 Caveolae 调节细胞维持细胞内胆固醇平衡等功能密切相关^[6]。ATP 结合盒转运体 A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)可调控 HDL 的合成,而多种 microRNA(miRNA)均可对 ABCA1 的表达进行调节^[7]。B 型 I 类清道夫受体(scavenger receptor class B type I, SR-B I)是一种多配体受体,能够结合许多不同的配体,其中包括经过修饰的脂蛋白以及天然的脂蛋白如 HDL、LDL、VLDL 和乳糜微

[收稿日期] 2017-09-01

[修回日期] 2017-12-06

[作者简介] 蒋波, 硕士研究生, 研究方向为脂质代谢和动脉粥样硬化, E-mail 为 nhjiang@foxmail.com。通讯作者王佐, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 smt121101@163.com。通讯作者马小峰, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 1607251097@qq.com。

粒^[8]。SR-B I 调控制着 HDL 的代谢和结构^[9], 同样地, 多种 miRNA 也可对 SR-B I 的表达进行调节^[10]。本文拟对调节 SR-B I 和 ABCA1 及 RCT 的 miRNA 进行总结。

1 SR-B I 与细胞胆固醇摄取

SR-B I 属于清道夫受体蛋白家族 B 类成员, 这一类成员还包括 CD36 和 LIMP II (lysosomal integral membrane protein II)^[11]。SR-B I 是一个含有 509 个氨基酸, 分子量为 82 kDa 的糖蛋白, 其两个羧基端和一个氨基端为一个较大的细胞外域所分隔, SR-B I 基因可以从 Var261 细胞(中国仓鼠卵巢细胞系)和人红白血病(human erythroleukemia, HEL)细胞所克隆^[12]。编码 SR-B I 的基因为 SCARB1, 生成类固醇的组织和肝脏呈现出高水平的 SCARB1 转录^[13], SCARB1 mRNA 转录在卵巢和肾上腺这一类能生成类固醇的细胞和组织中能够被精确调节^[14]。人类 SCARB1 定位于 12 号染色体 q24.31, 包含 13 个外显子和 12 个内含子^[15]。SCARB1 转录激活在许多细胞系都已被阐述, 过氧化物酶体增殖物激活型受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) α 、 γ 在单核细胞和巨噬细胞中能够促进 SCARB1 的转录^[16]。SR-B I 作为 HDL 的受体, 可调节胆固醇酯从 HDL 分子到细胞的选择性转运, 这一过程被称为选择性 HDL-CE 摄取^[8], SR-B I 还能够通过促进胆汁胆固醇的分泌, 清除体内过多的胆固醇^[17]。

2 ABCA1 在胆固醇逆向转运中的作用

ABCA1 为 ABC 跨膜转运蛋白超家族成员, 属于膜整合蛋白, 由 12 个跨膜区和 2 个 ATP 结合域组成^[18], 在许多细胞的细胞膜都有表达。人类 ABCA1 基因定位于 9q31, 跨越至少 70 kb, 包含至少 49 个外显子^[19]。ABCA1 基因突变引起的丹吉尔病对于了解 ABCA1 的功能尤为关键^[3], 丹吉尔病以低水平的 HDL 和胆固醇在巨噬细胞的蓄积为特征。ABCA1 调节细胞游离胆固醇和磷脂类分泌到细胞外受体 ApoA1, 从而形成初期的 HDL。虽然 HDL 有抗动脉粥样硬化的特性, 如抗炎、抗氧化和抗细胞凋亡, 但 HDL 的保护作用主要归因于它能够把外周组织过多的胆固醇转运到肝脏并通过胆汁排泄, 这一过程称为 RCT^[20]。胆固醇主要通过 ABCA1 途径从巨噬细胞流出, 胆固醇从巨噬细胞的流出是 RCT

中的一个关键过程^[21]。机体通过 ApoA1/ABCA1 通路实现 RCT 不断将细胞内多余的胆固醇运到细胞外, 并通过肝肠循环排出体外, 维持细胞内胆固醇稳态, 从而阻断泡沫细胞形成, 发挥抗动脉粥样硬化作用。

3 miRNA 与 RCT

人们研究发现, miRNA 对包括 HDL 生物合成、细胞胆固醇流出和胆汁酸分泌等其他胆固醇逆转运方面有着关键的调节作用^[22], 增加 HDL 的合成是 RCT 中关键过程, 研究显示, 在 ApoE 敲除的小鼠中, miR-33 基因敲除能减少动脉粥样斑块的沉积和增加循环 HDL 水平^[23]。在小鼠体内, 过表达 miR-148a 导致循环 LDL 增加和血浆 HDL 减少, 相反, 在 ApoE 敲除的小鼠中, 使用 miR-148a 抑制剂能减少循环 LDL 和增加血浆 HDL 浓度^[24-25]。研究表明, 在巨噬细胞中, miR-302a 抑制剂能增加胆固醇流出, 提高血浆 HDL 水平^[26]。此外, 研究还发现 miR-128-1 和 miR-19b 也能够调节 HDL 的合成^[27]。

4 miRNA 对 ABCA1 和 SR-B I 的调控

miRNA 是非编码小分子 RNA 中的成员^[28], 长度约为 21~24(nt) 个核苷酸, 人们日益认为其在调节基因表达中起着重要的作用^[29]。大多数初级 miRNA 被 RNA 酶 Drosha 加工转录形成前体 miRNA 运送至胞质, 另一种 RNA 酶 Dicer 将其裂解形成成熟的 miRNA^[30]。研究表明, miRNA 通过与靶标 mRNA 的 3'-UTR 互补结合抑制转录和促进 mRNA 降解, 使基因的表达沉默并在转入后水平调节基因的表达^[31]。

4.1 miR-145、miR-26、miR-10b 及 miR-144 对 ABCA1 的调控

Kang 等^[32]在研究 HepG2 和胰岛细胞时发现, miR-145 能够减少 ABCA1 的表达, 并能够减少胆固醇向 ApoA1 流出, miR-145 抑制剂能够增加 ABCA1 的表达并能增加胆固醇流出。Sun 等^[33]在培养 RAW264.7 和 THP-1 细胞时, 表明 miR-26 直接结合于 ABCA1 的 3'-UTR, 过表达 miR-26 抑制 ABCA1 蛋白的表达, 低表达 miR-26 能够增加 ABCA1 蛋白的表达, 并且通过以 ABCA1 为靶点调节胆固醇的代谢。在 HepG2 细胞中, 他们发现 miR-26 也能够以 ABCA1 为靶点调节胆固醇的代谢。经进一步的研

究他们得出结论,过表达 miR-26 减少胆固醇的流出,抑制 miR-26 能够增加胆固醇的流出。Wang 等^[34]发现,miR-10b 能够结合于 ABCA1 3'-UTR,并呈剂量依赖性地抑制 ABCA1 3'-UTR 的活性,并发现在 THP-1 巨噬细胞中,miR-10b 能够明显减少 ABCA1 mRNA 和蛋白的表达,对抗内源性 miR-10b 能够增加它们的表达。进一步的研究表明,miR-10b 能够降低胆固醇从巨噬细胞的流出,过表达 miR-10b 能够逆转其作用。de Augiar Vallim 等^[35]在研究人和鼠的肝细胞时发现,过表达 miR-144 能够降低 ABCA1 蛋白水平,沉默 miR-144 能够增加肝细胞 ABCA1 和血浆 HDL 水平。Ramírez 等^[36]在研究肝细胞和巨噬细胞时发现,过表达 miR-144 能够抑制 ABCA1 的表达,从而减少胆固醇流向 Apo1。相反,在小鼠体内,沉默 miR-144 能够增加 ABCA1 和血浆 HDL 水平,因此 miR-144 在肝脏中能够调节胆固醇流出和 HDL 合成。

4.2 miRNA-125a、miRNA-455、miRNA-185、miRNA-96 及 miRNA-233 对 SR-B I 的调控

许多种类的 miRNA 通过对 SR-B I 的调控参与胆固醇脂的摄取和转运,因此,深入研究 miRNA 对 SR-B I 的调控过程对于了解选择性 HDL-CE 的摄取及今后人工干预、药物合成有着重要意义。Hu 等^[37]用 *in silico* 预测方法表明 miRNA 能够以 SR-B I 为靶点,并指出 miRNA-125a 和 miRNA-455 通过 SR-B I 3'-UTR 抑制 SR-B I 表达。由于 HDL 为 SR-B I 的配体,在培养 MLTC-1 细胞中发现过表达 miRNA-125a 和 miRNA-455 将导致 HDL 依赖的孕酮合成明显减少。进一步研究发现,在小鼠肝细胞中,与 miRNA-455 相比,miRNA-125a 有着较高的表达水平,能显著减少 SR-B I mRNA 和蛋白水平,并能减少 SR-B I 调节的选择性 HDL-CE 摄取。Wang 等^[38]通过培养 HepG2 细胞时发现,miRNA-185、miRNA-96 和 miRNA-223 能够显著降低 SR-B I mRNA 和蛋白的表达,抑制 miR-185、miR-96 和 miR-223 能够显著增加 SR-B I 的表达,并且发现,miRNA-185、miRNA-96 和 miRNA-233 类似物能够减少 HDL 的摄取,抑制 miRNA 能够增加 HDL 的摄取以及 SR-B I 的表达,在 ApoE 基因敲除小鼠和巨噬细胞中能够得到相似的结论。

5 问题与展望

综上所述,由于 miRNA 具有调控 ABCA1 和 SR-B I 转录后水平的作用,使 miRNA 不可避免地

参与脂质转运和代谢过程,这对于与脂质代谢紊乱相关性疾病治疗提供了新的作用靶点,与其他调节胆固醇代谢的基因相比,SR-B I 和 ABCA1 的 3'-UTR 长多了,这增加了多个 miRNA 对 SR-B I 和 ABCA1 转录后调节的可能性。有文献报道在巨噬细胞和 HepG2 细胞中,miR-28-5p 与其他 miRNA 沉默 ABCA1 的表达不同的是,有上调 ABCA1 表达功能^[39]。生物信息学预测显示 SR-B I 和 ABCA1 可被多个以上的 miRNA 调节,因此 miRNA 及其调控的信号通路也将成为脂代谢紊乱性疾病干预的新方向。一种 miRNA 可有多个靶基因,一个基因也可以受到多个 miRNA 的调控,因此,可能找到既能调控 ABCA1 又能调控 SR-B I 的 miRNA,随着研究的深入,将有更多调控 ABCA1 和 SR-B I 的 miRNA 被发现,因此,从 miRNA 途径干预 ABCA1 和 SR-B I 的表达将可能成为促进 RCT 和抗动脉粥样硬化新的希望。

[参考文献]

- [1] Lusisa J. Atherosclerosis[J]. Nature, 2000, 407(6801): 233-241.
- [2] Reimann C, Brangsch J, Colletini F, et al. Molecular imaging of the extracellular matrix in the context of atherosclerosis[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2017, 113: 49-60.
- [3] Koldamov R, Fitzn F, Lefterov I. ATP-binding cassette transporter A1: from metabolism to neurodegeneration[J]. Neurobiol Dis, 2014, 72: 13-21.
- [4] Robins SJ, Fasulo JM. High density lipoproteins, but not other lipoproteins, provide a vehicle for sterol transport to bile[J]. J Clin Invest, 1997, 99: 380-384.
- [5] Haray LM, Frisdal LE, Goff W. Critical role of the human ATP-binding cassette G1 transporter in cardiometabolic diseases[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(9): e1892.
- [6] Qin L, Zhu N, Ao BX, et al. Caveolae and caveolin-1 integrate reverse cholesterol transport and inflammation in atherosclerosis[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(3): 429.
- [7] Moore KJ, Rayner KJ, Suarez Y, et al. The role of microRNAs in cholesterol efflux and hepatic lipid metabolism[J]. Annu Rev Nutr, 2011, 31: 49-63.
- [8] Danilo C, Gutierrez-Pajares JL, Mainieri MA, et al. Scavenger receptor class B type I regulates cellular cholesterol metabolism and cell signaling associated with breast cancer development[J]. 2013, 15(5): R87.
- [9] Kocher O, Yesilaltay A, Cirovic I, et al. Targeted disruption of the PDZK1 gene in mice causes tissue-specific depletion of the high density lipoprotein receptor scavenger receptor class B type I and altered lipoprotein metabolism[J]. J Biol Chem, 2003, 278(52): 52 820-825.
- [10] Canfrán-Duque A, Ramírez CM, Goedeke L, et al. microRNAs and HDL life cycle[J]. Cardiovasc Res, 2014, 103(3): 414-422.
- [11] Calvo D, Dopazo J, Vega, MA. The CD36, CLA-1 (CD36L1),

- and LIMPII (CD36L2) gene family: cellular distribution, chromosomal location, and genetic evolution [J]. *Genomics*, 1995, 25(1): 100-106.
- [12] Rhainds D, Brissette L. The role of scavenger receptor class B type I (SR-B I) in lipid trafficking [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(1): 39-77.
- [13] Cao G, Garcia CK, Wyne KL. Structure and localization of the human gene encoding SR-B I/CLA-I [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(52): 33 068-076.
- [14] Braissat O, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptor- α , - β , and - γ during rat embryonic development [J]. *Endocrinology*, 1998, 139: 2 748-754.
- [15] Gutierrez-Pajares JL, Hassen BC, Chevalier S, et al. SR-B I: Linking cholesterol and lipoprotein metabolism with breast and prostate cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 338.
- [16] Chinetti G, Gbaguidi FG, Griglio S, et al. CLA-I/SR-BI is expressed in atherosclerotic lesion macrophages and regulated by activators of peroxisome proliferator-activated receptors [J]. *Circulation*, 2000, 101(20): 2 411-417.
- [17] Wiersma H, Gatti A, Nijstad N, et al. Scavenger receptor class B type I mediates biliary cholesterol secretion independent of ATP-binding cassette transporter G5/G8 in mice [J]. *Hepatology*, 2009, 50(4): 1 263-272.
- [18] Lee J, Park Y, Koo SI. ATP-binding cassette transporter A1 and HDL metabolism: effects of fatty acids [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(1): 1-7.
- [19] Costet P, Luo Y, Wang N, et al. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(36): 28 240-245.
- [20] Wang SH, Smith JD. ABCA1 and nascent HDL biogenesis [J]. *Biofactors*, 2014, 40(6): 547-554.
- [21] Bechor S, Relezy NZ, Harari A, et al. 9-cis beta-carotene increased cholesterol efflux to HDL in macrophages [J]. *Nutrients*, 2016, 8(7): e435.
- [22] Rottiers V, Naar AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(4): 239-250.
- [23] Horie T, Baba O, Kuwabara Y, et al. MicroRNA-33 deficiency reduces the progression of atherosclerotic plaque in ApoE^{-/-} mice [J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(6): e003376.
- [24] Wagschal A, Najafi-Shoushtari SH, Wang L, et al. Genome-wide identification of microRNAs regulating cholesterol and triglyceride homeostasis [J]. *Nature Medicine*, 2015, 21(11): 1 290-297.
- [25] Goedeke L, Rotllan N, Canfran-Duque A, et al. MicroRNA-148a regulates LDL receptor and ABCA1 expression to control circulating lipoprotein levels [J]. *Nat Med*, 2015, 21(11): 1 280-289.
- [26] Meiler S, Baumer Y, Toulmin E, et al. MicroRNA 302a is a novel modulator of cholesterol homeostasis and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(2): 323-331.
- [27] Aryal B, Singh AK, Rotllan N, et al. MicroRNAs and lipid metabolism [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(3): 273-280.
- [28] Li YJ, Ping C, Tang J, et al. MicroRNA-455 suppresses non-small cell lung cancer through targeting ZEB1 [J]. *Cell Biol Int*, 2016, 40(6): 621-628.
- [29] Gerin I, Clerbaux LA, Haumont O, et al. Expression of miR-33 from an SREBP2 intron inhibits cholesterol export and fatty acid oxidation [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(44): 33 652-661.
- [30] Rooij EV. The art of microRNA research [J]. *Circ Res*, 2011, 108(2): 219-234.
- [31] Behm-Ansmant I, Rehwinkel J, Izaurralde E. MicroRNAs silence gene expression by repressing protein expression and/or by promoting mRNA decay [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2006, 71: 523-530.
- [32] Kang MH, Zhang LH, Wijesekara N, et al. Regulation of ABCA1 protein expression and function in hepatic and pancreatic islet cells by miR-145 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(12): 2 724-732.
- [33] Sun D, Zhang J, Xie J, et al. MiR-26 controls LXR-dependent cholesterol efflux by targeting ABCA1 and ARL7 [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(10): 1 472-479.
- [34] Wang D, Xia M, Yan X, et al. Gut microbiota metabolism of anthocyanin promotes reverse cholesterol transport in mice via repressing miRNA-10b [J]. *Circ Res*, 2012, 111(8): 967-981.
- [35] de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Kim T. MicroRNA-144 regulates hepatic ABCA1 and plasma HDL after activation of the nuclear receptor FXR [J]. *Circ Res*, 2013, 112(12): 1 602-612.
- [36] Ramírez CM, Rotllan N, Vlassov AV, et al. Control of cholesterol metabolism and plasma high-density lipoprotein levels by microRNA-144 [J]. *Circ Res*, 2013, 112(12): 1 592-601.
- [37] Hu Z, Shen WJ, Kraemer FB, et al. MicroRNAs 125a and 455 repress lipoprotein-supported steroidogenesis by targeting scavenger receptor class B type I in steroidogenic cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(24): 5 035-045.
- [38] Wang L, Jia XJ, Jiang HJ, et al. MicroRNAs 185, 96, and 223 repress selective high-density lipoprotein cholesterol uptake through posttranscriptional inhibition [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(10): 1 956-964.
- [39] Liu J, Liu XQ, Liu Y, et al. MicroRNA 28-5p regulates ATP-binding cassette transporter A1 via inhibiting extracellular signal-regulated kinase 2 [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1): 433-440.

(此文编辑 文玉珊)