

• 综述 •

微小 RNA 与心房颤动研究进展

薛云星 王东进

房颤(atrial fibrillation)是一种最常见的心律失常疾病,并且随着人群老龄化的趋势,其患病率和发病率也逐年增高^[1]。房颤可增加中风、血栓栓塞、心力衰竭的发生率,并严重影响生活质量,是日常临床工作的重点之一^[2]。一些研究从分子病理的角度对房颤发病机制进行阐释,成为更好地理解房颤和开发房颤治疗新手段的基石^[3,4]。其中,miRNA 作为一类广泛存在于机体各组织系统的调节物质,成为近年来研究的热点,本文将就 miRNA 与房颤的发病关系作一综述。

一、房颤的发生机制

(一)房颤的基本电生理机制

1. 异位起搏(ectopic firing):正常心肌细胞膜电位随着时间呈现典型的变化规律:一定的电位刺激会使得处于负性静息电位(resting potential)的细胞膜除极化(depolarization),经过一系列复极化过程恢复到静息电位(repolarization)水平。拥有自律特性的心肌细胞因为钾离子外流减少或钠、钙离子内流增加,引起自动除极,正常情况下,来自窦房结的冲动抑制了其他起搏点,当异位起搏点占据了冲动发放,即是异位起搏。打破正常静息膜电位内、外离子流平衡的,称为触发活动(trigger activity),也称后除极(afterdepolarization),分为早后除极(early afterdepolarizations, EAD)和晚后除极(delayed afterdepolarizations, DAD)。

EAD 的产生与动作电位时程(action potential duration, APD)延长相关,L型 Ca^{2+} 通道在 APD 延长期内重新开放,内流的 Ca^{2+} 形成了除极电流^[5]。先天性长 QT 间期综合征患者易因 APD 延长产生的 EAD 而增加罹患房颤的概率。肌浆网 Ca^{2+} 异常释放被认为与 DAD 发生相关。在心肌细胞收缩期,胞外 Ca^{2+} 内流会触发胞内肌浆网 Ca^{2+} 外流,扩大心肌细胞收缩信号,肌浆网 Ca^{2+} 外流是通过特殊的 Ca^{2+} 通道-兰尼碱受体(ryanodine receptors, RyR)。一般情况下,RyR 在舒张期处于关闭状态,但是当 RyR 异常或肌浆网 Ca^{2+} 超负荷时,RyR 会开放从而释放 Ca^{2+} 。释放入胞质内 Ca^{2+} 的通过细胞膜上的 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交换体转运出细胞,从而引发胞外 Na^+ 内流,所产生的除极电流导致 DAD 发生^[6]。充血性心力衰竭胞内 Ca^{2+} 超负荷^[7],和 RyR 突变^[8]等所导致的 DAD 都是诱发房颤的主要因素。

2. 折返(reentry):正常情况下,异位起搏点的冲动通过传导路径落入不应期(refractory period)内,心脏激动被窦房结冲动重新夺获。但是异位起搏点的心房存在一定的组织特性,或称作“底物”时,会发生折返的现象,即异位起搏点的冲动经过传导后又重新发放冲动。底物可以是心肌电生理特性改变、先天遗传性等导致的 APD 缩短^[9],或是心房扩大、心肌纤维化引起的结构性折返环增多^[10]。

(二)心房重构

1. 电重构:房颤或其他快速性心律失常,会引发心肌细胞离子通道表达、功能的一系列异常,进一步促发房颤^[11-12]。快速心房律加速了 Ca^{2+} 内流,导致了胞内 Ca^{2+} 超负荷和心肌细胞的自我反馈机制,引起 Ca^{2+} 内流通道失活、 K^+ 外向整流增强,从而缩短了 APD。APD 的缩短进一步增加了折返发生,增加了房颤的持续发生概率。心肌细胞电重构与房颤从阵发性向持续性发展相关,也与一些临床现象有关,如复律后的房颤复发和持续性房颤对药物的不敏感等。

2. 结构重构-心肌纤维化:结构重构以心肌纤维化为主要特征,是大部分房颤的主要发生机制。心肌纤维化一旦形成将很难逆转,因此预防心肌纤维化的形成是治疗房颤的一个新思路^[13]。心肌纤维化与心脏很多生理、病理状态相关,如心肌细胞的程序性凋亡、心功能不全、瓣膜性心脏病、缺血性心脏病等^[14]。凋亡心肌被纤维化取代,心肌纤维化的形成将分隔心肌传导束,促进折返和异位起搏。

心肌纤维化的形成与广泛的机制调控网络相关,集中体现在心肌细胞与成纤维细胞的相互作用上。成纤维细胞能够合成纤维化的胞外基质和心肌调控因子,这些因子会影响心肌细胞表型。同时,心肌细胞分泌的 ROS、TGF- β 、PDGF、结缔组织生长因子(CTGF)等可以调控成纤维细胞的细胞活性和生物功能^[4]。

3. 神经体液重构:自主神经系统同样是影响房颤发生的重要因素之一^[15]。迷走神经兴奋导致乙酰胆碱依赖的 K^+ 通道开放,使得 APD 缩短、折返发生增强。 β -肾上腺素受体的激活会导致 RyR 的高度磷酸化,从而增强了舒张期 Ca^{2+} 渗漏,促进了 DAD 相关的异位起搏的发生。在房颤患者和快速心律失常动物模型中,观察到了心房交感神经的高度支配^[16]。而自主神经系统的重构被认为是促进和维持房颤的一个重要因素^[17]。

(三)其他因素

左右心房的结构特征也是房颤发生的因素之一,其中以肺静脉引流区域功能尤为重要。一方面肺静脉细胞及相关特殊分化的细胞拥有独特的自律特性^[18],另一方面肺静脉引流区域、心耳等组织的特殊纤维环促进了折返的发生^[19],这同样是消融的理论基础。此外,马歇尔韧带、上下腔静脉、右心房界脊等也有相似作用。

二、MicroRNA(miRNA)

1. 生物学功能:miRNA 是一类长度为 18~25 个核苷酸的非编码小 RNA 的总称,它与靶基因 3'UTR 区特异性结合,抑制了靶基因的下游翻译,被认为是基因表达负调控的重要机制之一。目前研究显示 miRNA 广泛存在于机体各组织器官中,参与细胞增殖、分化、凋亡和相关生物学功能的调控。miRNA 在细胞核中有 RNA 聚合酶 II 合成双链原始体,在核糖核酸酶 Droscha 的作用下形成了前体 miRNA,前体 miRNA 在输出蛋白-5 的作用下被转运出核进入细胞质中。在细胞质中前体 miRNA 被 Dicer 酶加工成长为 20~25 个核苷酸的双链 RNA,随后双链 RNA 分化成单链的 miRNA 成熟体。成熟体与 RNA、蛋白形成 RNA 相关

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.10.119

基金项目:国家自然科学基金(81070241)

作者单位:210008 南京医科大学鼓楼临床医学院心胸外科 南京市鼓楼医院心胸外科

通讯作者:王东进,Email:gldjw@163.com

沉默复合体(RISC),成熟体通过其5'端的种子序列发挥作用,与靶基因 mRNA 3'UTR 区特异性结合,抑制了基因的翻译过程^[20]。

研究显示,miRNA 广泛参与心血管系统的功能调控,与很多心脏疾病相关,如心肌梗死、心肌肥厚、心力衰竭和心律失常等^[21-22]。其中,与房颤相关的 miRNA 及表达调控基因、功能等被相关研究揭示^[23]。

2. miR-1: Yang 等^[24]的研究第一次揭示了作为肌肉特异性的 miR-1 在急性心肌缺血心肌中的作用,与正常心肌相比,缺血心肌中 miR-1 显著升高。并且过表达 miR-1 可以增宽 QRS 时限、降低心肌传导能力,同时会影响心肌细胞膜的去极化水平,而特异性敲除 miR-1 则降低了心律失常的发生率,这些被认为与 miR-1 相关的心律失常发生有关。进一步研究发现,miR-1 可调控 GJA1(编码连接蛋白 43)、KCNJ2(编码 IK1 的 Kir2.1 蛋白)基因表达,从而降低心肌传导。另一项研究^[25]通过 miR-1/-2 特异性敲除的小鼠模型,揭示了降低 miR-1 同样会降低心肌传导,从而导致心律失常,说明 miR-1 需要维持在一定水平以维持心肌节律正常。Terentyev 等^[26]的研究揭示了与 miR-1 相关的 Ca²⁺ 调控机制,结果发现上调 miR-1 会显著增加 Ca²⁺ 内流,增加 RyR 的磷酸化程度,从而增加肌浆网 Ca²⁺ 渗漏,促进了与 DAD 相关的房颤发生。与这些研究中选择性上调 miR-1 表达不同的是,另一些研究发现房颤心肌组织中 miR-1 表达下调或是无显著变化。Girmatsion 等的研究^[27]发现,与正常人心肌组织相比,房颤患者心肌细胞中 IK1 浓度显著上升,与之相关的 Kir 2.1 蛋白也显著上升,而其他 Kir 家族亚基则无明显变化。同时,房颤患者左心房心肌中 miR-1 表达也明显下降。说明 miR-1 可通过调控 Kir 2.1 蛋白而上调 IK1 浓度,从而促进了房颤的发生。

3. miR-328: Lu 等^[28]的研究显示 miR-328 可以通过下调 I-CaL 而促进房颤的发生,研究发现 miR-328 在房颤患者和房颤犬模型心肌组织中都有显著升高。在该研究中,通过上调、下调 miR-328 及建立 miR-328 转基因小鼠的方式证明了上调的 miR-328 可以抑制 CACNA1C 和 CACNB1 基因表达,从而下调 I-CaL、缩短 APD,促进房颤的发生。而另一项研究^[29]则显示 miR-328 可以抑制 caveolin-3 的表达,而 caveolin-3 被认为参与了心肌细胞众多离子通道的调控。

4. miR-133/-590: 研究发现另一种心肌特异性的 miRNA——miR-133,同样参与调控心肌细胞离子通道。Xiao 等^[30]的研究发现,在糖尿病兔的实验模型中,异常 QT 间期延长与 miR-133 异常上调相关。通过上调 miR-133 的表达,发现 KCNH2 基因编码的 ERG 表达被抑制,而 ERG 则与心肌细胞复极过程中 IKr 相关。功能异常的 IKr 导致了 QT 间期延长、APD 间期延长^[31]。Luo 的研究^[32]显示另外一个基因, KCNQ1, 同样受到 miR-133 调控。KCNQ1 编码的 KvLQT1 K⁺ 通道 α 亚基与 IKs 相关,是心肌细胞复极过程中另一个重要 K⁺ 流。当用多非利特阻断 IKr 后,发现 IKs 反馈性地升高,同时 miR-133 表达下调^[33]。已被证实 IKs 的功能性异常激活与一种家族性房颤相关^[34]。这些都说明 miR-133 通过调控靶基因可以影响心房电重构,从而促进房颤。

此外,Shan 等的研究^[35]显示 miR-133/-590 可以通过调控 TGF- β 1 的表达参与心房结构重构。研究用尼古丁刺激心肌细胞胶原增多、心肌纤维化形成,进一步促进了房颤。在此模型中,TGF- β 1 和其受体 II (TGFBR II) 表达都相应升高,与此同时 miR-133/-590 表达相应降低。而 miR-133/-590 转染后的心脏成纤维细胞却显示出了 TGF- β 1、TGFBR II 表达下降,胶原沉着减

少。结果说明 miR-133/-590 具有抗纤维化的作用。

5. miR-26/-101: 利用基因芯片和 QRT-PCR 技术,Luo 等^[36]揭示了在房颤动物模型的心肌组织中,miR-26/-101 表达显著降低。利用靶点预测等技术,发现 KCNJ2 编码的 Kir2.1 蛋白是 miR-26/-101 主要靶点。而 Kir2.1 与心肌细胞 IK1 相关,这同样与房颤发生相关。

6. 其他 miRNA: 另外一些与心脏功能关系紧密的 miRNA 被预测也参与了房颤的发生和维持。如具有促纤维化作用的 miR-208 和 miR-21,相关研究显示与心肌肥厚、心力衰竭、心肌梗死等相关^[37-39]以及 miR-29、miR-30、miR-133 和 miR-590 被证实具有抗纤维化作用^[40-42]。

三、总结

作为日益突出的临床重点之一,房颤的发生由一个综合机制调控。从分子机制角度研究房颤,可以更清晰地了解房颤相关的基因、因子调控网络。而 miRNA 作为目前研究热点之一,针对它强大的调控功能,将会为进一步阐释房颤机制和开发新的治疗手段提供基础。

参 考 文 献

- [1] Miyasaka Y, Barnes ME, Gersh BJ, et al. Secular trends in incidence of atrial fibrillation in Olmsted County, Minnesota, 1980 to 2000, and implications on the projections for future prevalence. *Circulation*, 2006, 114: 119-125.
- [2] Lip GY, Tse HF, Lane DA. Atrial fibrillation. *Lancet*, 2012, 379: 648-661.
- [3] Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature*, 2002, 415: 219-226.
- [4] Wakili R, Voigt N, Kaab S, et al. Recent advances in the molecular pathophysiology of atrial fibrillation. *J Clin Invest*, 2011, 121: 2955-2968.
- [5] Johnson JN, Tester DJ, Perry J, et al. Prevalence of early-onset atrial fibrillation in congenital long QT syndrome. *Heart Rhythm*, 2008, 5: 704-709.
- [6] Dobrev D, Voigt N, Wehrens XH. The ryanodine receptor channel as a molecular motif in atrial fibrillation: pathophysiological and therapeutic implications. *Cardiovasc Res*, 2011, 89: 734-743.
- [7] Yeh YH, Wakili R, Qi XY, et al. Calcium-handling abnormalities underlying atrial arrhythmogenesis and contractile dysfunction in dogs with congestive heart failure. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2008, 1: 93-102.
- [8] Pizzale S, Gollob MH, Gow R, et al. Sudden death in a young man with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2008, 19: 1319-1321.
- [9] Watanabe H, Darbar D, Kaiser DW, et al. Mutations in sodium channel beta1- and beta2-subunits associated with atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2009, 2: 268-275.
- [10] Nattel S, Burstein B, Dobrev D. Atrial remodeling and atrial fibrillation: mechanisms and implications. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2008, 1: 62-73.
- [11] Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, et al. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol Rev*, 2011, 91: 265-325.
- [12] Shiroshita-Takeshita A, Mitamura H, Ogawa S, et al. Rate-dependence of atrial tachycardia effects on atrial refractoriness and atrial fibrillation maintenance. *Cardiovasc Res*, 2009, 81: 90-97.
- [13] Burstein B, Nattel S. Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51: 802-809.
- [14] Nishida K, Qi XY, Wakili R, et al. Mechanisms of atrial tachyarrhythmias associated with coronary artery occlusion in a chronic canine model. *Circulation*, 2011, 123: 137-146.

- [15] Chou CC, Chen PS. New concepts in atrial fibrillation: neural mechanisms and calcium dynamics. *Cardiology Clinics*, 2009, 27: 35-43, viii.
- [16] Gassanov N, Brandt MC, Michels G, et al. Angiotensin II-induced changes of calcium sparks and ionic currents in human atrial myocytes: potential role for early remodeling in atrial fibrillation. *Cell Calcium*, 2006, 39: 175-186.
- [17] Lenaerts I, Bito V, Heinzel FR, et al. Ultrastructural and functional remodeling of the coupling between Ca^{2+} influx and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release in right atrial myocytes from experimental persistent atrial fibrillation. *Circ Res*, 2009, 105: 876-885.
- [18] Levin MD, Lu MM, Petrenko NB, et al. Melanocyte-like cells in the heart and pulmonary veins contribute to atrial arrhythmia triggers. *J Clin Invest*, 2009, 119: 3420-3436.
- [19] Hocini M, Ho SY, Kawara T, et al. Electrical conduction in canine pulmonary veins: electrophysiological and anatomic correlation. *Circulation*, 2002, 105: 2442-2448.
- [20] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, 431: 350-355.
- [21] Yang B, Lu Y, Wang Z. Control of cardiac excitability by microRNAs. *Cardiovasc Res*, 2008, 79: 571-580.
- [22] Condorelli G, Latronico MV, Dorn GW. microRNAs in heart disease: putative novel therapeutic targets? *Eur Heart J*, 2010, 31: 649-658.
- [23] Sharma D, Li G, Xu G, et al. Atrial remodeling in atrial fibrillation and some related microRNAs. *Cardiology*, 2011, 120: 111-121.
- [24] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nature medicine*, 2007, 13: 486-491.
- [25] Zhao Y, Ransom JF, Li A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. *Cell*, 2007, 129: 303-317.
- [26] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. miR-1 overexpression enhances Ca^{2+} release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMK II-dependent hyperphosphorylation of RyR2. *Circ Res*, 2009, 104: 514-521.
- [27] Girmatsion Z, Biliczki P, Bonauer A, et al. Changes in microRNA-1 expression and IK1 up-regulation in human atrial fibrillation. *Heart rhythm*, 2009, 6: 1802-1809.
- [28] Lu Y, Zhang Y, Wang N, et al. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation*, 2010, 122: 2378-2387.
- [29] Lu YJ, Zhang Y, Wang N, et al. The role of miR-328 in atrial fibrillation via repressing caveolin-3 expression. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44: 736-736.
- [30] Xiao J, Luo X, Lin H, et al. MicroRNA miR-133 represses HERG K^+ channel expression contributing to QT prolongation in diabetic hearts. *J Biol Chem*, 2007, 282: 12363-12367.
- [31] 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. *Circ Res*, 2010, 106: 166-175.
- [32] Luo X, Xiao J, Lin H, et al. Transcriptional activation by stimulating protein 1 and post-transcriptional repression by muscle-specific microRNAs of IKs-encoding genes and potential implications in regional heterogeneity of their expressions. *J Cell Physiol*, 2007, 212: 358-367.
- [33] Xiao L, Xiao J, Luo X, et al. Feedback remodeling of cardiac potassium current expression: a novel potential mechanism for control of repolarization reserve. *Circulation*, 2008, 118: 983-992.
- [34] Ravn LS, Aizawa Y, Pollevick GD, et al. Gain of function in IKs secondary to a mutation in KCNE5 associated with atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 2008, 5: 427-435.
- [35] 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: 465-472.
- [36] Luo XB, Pan ZW, Xiao JN, et al. Critical Role of microRNAs miR-26 and miR-101 in Atrial Electrical Remodeling in Experimental Atrial Fibrillation. *Circulation*, 2010, 122.
- [37] Luo X, Zhang H, Xiao J, et al. Regulation of human cardiac ion channel genes by microRNAs: theoretical perspective and pathophysiological implications. *Cell physiol biochem*, 2010, 25: 571-586.
- [38] Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature*, 2008, 456: 980-984.
- [39] 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: 21-29.
- [40] 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 U S A*, 2008, 105: 13027-13032.
- [41] Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, et al. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circulation Res*, 2009, 104: 170-178, 176p following 178.
- [42] Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, et al. microRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes & development*, 2008, 22: 3242-3254.

(收稿日期:2013-02-25)

(本文编辑:张岚)