

# miRNA 在自体细胞移植治疗扩张型心肌病的意义\*

周红,董莉 (内蒙古医科大学附属医院检验科,呼和浩特 010050)

关键词:miRNA;扩张型心肌病;细胞移植;qPCR

中图分类号:R392.4;R542.2 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)05-155-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.05.043

扩张型心肌病是一类以左心室或双心室扩大伴收缩功能障碍为特征的心肌病,本病预后差,患病率约为1/2 500,是心力衰竭的第三位原因,确诊后5年生存率约50%,10年生存率约25%。心脏再同步化治疗(CRT)植入同步化治疗除颤器(CRTD)等治疗手段与单纯药物治疗可有效预防心脏性猝死,降低死亡率,改善心功能,但价格昂贵,不能根本改善预后,基因治疗尚处于研究阶段,难度较大。心脏移植是最有效的根治方法,但因供体短缺、排异反应等无法广泛开展。自体骨髓单核细胞移植治疗可实现心肌细胞再生、改善心功能,进而提高生存率。同时,miRNA与扩张型心肌病的发生转归有相应的影响,本文就miRNA在自体骨髓单核细胞移植治疗扩张型心肌病中意义进行综述。

1 扩张型心肌病 扩张型心肌病主要表现为左心室、右心室扩张,或双心室扩张伴收缩功能不全,常以进行性加重的心力衰竭为就诊的主要症状,且并发心律失常、系统性血栓栓塞。其病因和发病机制尚不完全清楚,可以是特发性、家族或遗传性、病毒感染或免疫性或已知心血管疾病有关<sup>[1]</sup>。在关于扩张型心肌病病理结构的研究中,细胞外基质纤维化是其一大特征性改变。已有研究表明,慢性心力衰竭并发肺动脉高压患者的短期和长期死亡风险均比无肺动脉高压的慢性心力衰竭高,随访66个月时,其死亡率为40.3%<sup>[2]</sup>。认为肺动脉高压是预测慢性心力衰竭预后不良的危险因素。而且,越来越多的研究表明miRNA与扩张型心肌病的进展有关<sup>[3]</sup>。

2 miRNA 微小RNAs(MicroRNAs, miRNA)是一类广泛存在于真核生物中进化保守的内源性非编码单链RNA小分子<sup>[4]</sup>,miRNA参加生物体内几乎所有细胞活动,参与基因转录后的表达调控,作为后转录的枢纽,影响大部分物质的合成<sup>[5]</sup>。对心血管系统,miRNA参与调控不同心血管疾病,发挥病理性或保护性调控作用,并对心肌细胞缺血

缺氧有保护作用<sup>[6]</sup>。现在有2 000多种人类的miRNAs被发现<sup>[7]</sup>。一个miRNA能够调节多个靶基因的表达,多个miRNA也能调节同一个靶基因。因为一个miRNA能与数百个mRNA的靶点发生强或弱的结合,影响mRNA的稳定性和转录,所以miRNA参与许多重要的生物进程<sup>[8]</sup>。虽然我们尚未完全了解到各种miRNA对扩张型心肌病的全部作用机制及其影响途径,但是已经在一些实验中探索出其可能发生的机制,并正在进一步拓展。

2.1 miRNA-185 在miRNA的研究中,我们发现了Na/H交换异构体-1(NHE-1)是一种血浆膜糖蛋白,参与了心肌细胞内主要的Na内流途径,而miRNA-185抑制直接结合识别方法表达NHE-1中的位点,这种抑制作用可能导致内质网压力诱导的心肌细胞凋亡<sup>[9]</sup>。这种心肌细胞的凋亡无疑是加重了原本就心肌纤维化的损伤,造成了扩张型心肌病病情恶化的诱因。

2.2 miRNA-133a miRNA-133a与心内膜炎症和纤维化有关,其通过抑制转化生长因子(TGF- $\beta$ 1)和TGF- $\beta$ II型受体在尼古丁所致心房重构中的表达,以及心肌细胞动作电位结缔组织生长因子(CTGF)和成纤维细胞,miRNA-133a的此作用亦导致长期炎症性心脏病后遗症即扩张型心肌病的形成<sup>[10]</sup>。因此,miRNA-133a可能是一种潜在的炎症性心肌病新的生物标志物及治疗靶点<sup>[11]</sup>。这为miRNA-133a进入临床检验的发展奠定了扎实的理论基础,提高检测的灵敏度和特异性,进而发展成为一种普查、筛查的方法,让患者在体检过程中早期、及时地发现疾病,并进行干预,这也是我们检验技术发展的目的及意义所在。

2.3 miRNA-126 miRNA-126在内皮细胞中表达,并直接针对发芽相关蛋白1(spre-1)表达,负性调节血管内皮生长因子(VEGF)信号通路。其模拟管理改善微血管密度,提高RV功能和减少纤维化,然而,抗肿瘤药物介导的miRNA-126下调

\* 基金项目:内蒙古自治区自然科学基金(2017MS0826);内蒙古自治区科技计划重大课题(2016)。

作者简介:周红(1994—),女,在读硕士研究生,学士学位,专业:心血管疾病检验诊断学,E-mail:1635861433@qq.com。

通讯作者:董莉(1964—),女,主任检验师,硕士研究生导师,E-mail:dongsuanzhi@163.com。

加重 RV 损伤<sup>[12]</sup>。如此相反的两机制为我们指出两种不同的思路进行探索。另外 miRNA-126 通过抑制血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1) 及 VEGF-A 对血管炎症进行调控<sup>[13]</sup>,降低扩张型心肌病的微血管损伤。总的来说,对于 miRNA-126 我们仍有很大的研究空间,至少我们的方向是明确的,需要做的是明确哪条路为我们所走,为研究做出贡献。

2.4 miRNA-30 miRNA-30 家族在心肌细胞中高表达,主要通过作用结缔组织生长因子 (CTGF) mRNA 的 3'UTR 抑制 CTGF 的表达,参与调节心肌纤维化。miRNA-30 过表达降低了 CTGF 的水平,从而引起扩张型心肌病。另外,在培养的心肌细胞和成纤维细胞中发现了 miRNA-30c<sup>[14]</sup>。但是我们尚未了解其过表达的机制,这个疑问可以促进我们发展分子诊断学技术,通过分子诊断介入,干预过表达的形成,进而控制扩张型心肌病的进展。

3 miRNA 与扩张型心肌病治疗 由于扩张型心肌病的病因尚未明确,则目前的治疗大多是对症治疗。首先是生活管理,即控制感染,严格限烟或戒酒,改善营养失衡等;其次针对进行性心力衰竭,左室收缩功能下降,心律失常、传导系统异常,血栓栓塞及猝死等临床表现,实行内科药物治疗。即便扩张型心肌病患者使用了最理想的药物进行治疗,仍会进展出现顽固性心力衰竭,而且临床死亡率还是很高。因此应进一步给予相关外科手术治疗来提高远期生存率。目前手术主要包括心室减容手术、左室辅助装置、心肌成形术、心脏移植等。可以说心脏再同步化治疗是一种恰当的选择心力衰竭患者的有效治疗方法,在其中双心室收缩通常会导致即刻 QRS 波群的狭窄,左心室腔大小的减少,以及改善射血分数<sup>[15]</sup>。有一项对 75 例患者 CRT 术后长期随访研究<sup>[16]</sup>显示:一年随访时心功能 NYHA 分级及 LVEF 明显提高,在 2 年及 3 年随访时仍然持续获益,与其研究结果一致;同时该研究结果还显示:对于扩张型心肌病患者 CRT 术后 LVEF 是呈稳定增加的。随着技术的不断发展,心脏移植术成为终末期心力衰竭治疗的最佳方法<sup>[17]</sup>。此外,一些新技术下的治疗方案不断产生,最新实验证实,骨髓干细胞可有效表达心脏特异性标志物,譬如肌钙蛋白-1 等,多与心脏功能改善相关<sup>[18]</sup>,可见其可影响生物进展过程中的各个方面。另外,很值得一提的是自体细胞移植技术,相对于上述几种治疗方法而言,此研究目前不仅应用于大量的动物模型中,而且已有关于细胞疗法对扩张型心肌病改善其右心室功能的临床试验。Sabina Friljak 根据之

前 Ishigami S 等人得出的在婴儿中,心内膜源性细胞治疗与右心室射血分数的显著提高和脑利钠肽水平降低有关的结论,并结合此次实验结果,发现细胞治疗可能通过改善心肌灌注来实现增强成人慢性心力衰竭人群右心室功能的有效治疗干预。实验结果显示大多数改善的心肌节段为干细胞靶向注射后的,但在远端非靶向区也出现了一些灌注改善,据此可大胆推断此存在旁分泌成分可能发挥重要作用<sup>[19]</sup>。

4 小结 在扩张型心肌病中已经发现了超过 50 个基因突变,包括编码细胞骨架、核骨、线粒体和钙处理蛋白的基因。miRNAs 作为基因的后转译调控因子,调节生理和病理过程。miRNAs 有助于心脏发育、细胞凋亡、肥大、纤维化和心力衰竭<sup>[20]</sup>。miRNAs 不仅在年龄差异的扩张型心肌病患者中存在差异,而且性别同样影响。Bernardo 等<sup>[21]</sup>人研究表明未进行任何处理的雄性和雌性扩张型心肌病小鼠表现出心脏增大、肺充血和心脏应激基因表达增加。Ina-anti-miRNA-34a 对雌性扩张型心肌病小鼠的保护作用大于雄性扩张型心肌病小鼠。Ina-anti-miRNA-34a 治疗的雌性小鼠扩张型心肌病的易损预防特点是心脏增大和肺充血减少,心脏应激基因表达降低<sup>[21]</sup>,这为我们今后的研究提供了思路。扩张型心肌病预后较差,如果我们能及早发现、准确定位、积极治疗,就能减少病患的发生,这也是为何研究 miRNAs 对于扩张型心肌病治疗的原因。不过,现在的研究仍处于探索阶段,有些同一种 miRNAs 的研究发生互斥的结果,这不能单方面得出某方的对错,可能是研究的不同阶段。下一步我们应针对不同的疾病分期、不同性别、不同年龄分组、家庭因素等多方面因素逐一进行研究,尽可能的使研究因素单一化,解决这一疾病。

#### 参考文献

- [1] 张茜,孙爱军,范铮,等.一个扩张型心肌病伴房室传导阻滞家系 SCN5A 基因的突变研究[J].中国分子心脏病学杂志,2009,9(2):65-69.  
Zhang Q, Sun AJ, Fan Z, et al. SCN5A mutations in a Chinese family with atrioventricular block and dilated cardiomyopathy[J]. Molecular Cardiology of China, 2009, 9(2): 65-69.
- [2] Damy T, Goode KM, Kallvikbacka-Bennett A, et al. Determinants and prognostic value of pulmonary arterial pressure in patients with chronic heart failure[J]. Eur Heart J, 2010, 31(18): 2280-2290.
- [3] Fang JC, De Marco T, Givertz MM, et al. World Health Organization pulmonary hypertension group 2: Pulmonary hypertension due to left heart disease in the adult. A summary statement from the Pulmonary Hypertension Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation[J]. Journal of Heart & Lung Transplantation, 2012, 31(9): 913-933.

(下转 160 页)

- [4] 杜银苹,李东野.微小 RNA 在心血管疾病中的研究进展[J].中华临床医师杂志(电子版),2014,8(7):1314-1318.  
Du YP,Li DY. Research advance of miRNAs in cardiovascular diseases[J]. Chin J Clinicians (Electronic Edition),2014,8(7):1314-1318.
- [5] 廖江铨,刘咏梅,王 阶.miRNA 在冠心病诊断和治疗中的研究进展[J].中国科学:生命科学,2015,45(8),748-754.  
Liao JQ,Liu YM,Wang J. Research progress of miRNAs in diagnosis and treatment of cardiovascular diseases[J]. Seience Sinica Vitae,2015,45(8),748-754.
- [6] Kukreja RC, Yin C, Salloum FN. MicroRNAs; new players in cardiac injury and protection[J]. Mol Pharmacol,2011,80(4):558-564.
- [7] Zhu N,Zhang D,Xie H,et al. Endothelial-specific intron-derived miR-126 is down-regulated in human breast cancer and targets both VEGFA and PIK3R2[J]. Mol Cell Biochem,2011,351(1/2):157-164.
- [8] Papoutsidakis N,Devereux S,Kaoukis A,et al. MicroRNAs and the heart;small things do matter[J]. Curr Top Med Chem,2013,13(2):216-230.
- [9] Kin JO,Kwon EJ, Song DW, et al. miR-185 inhibits endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by targeting  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger-1 in the heart[J]. BMB Reports,2016,49(4):208-213.
- [10] Kindermann I,Barth C,Mahfoud F,et al. Update on myocarditis[J]. Journal of the American College of Cardiology,2012,59(9):779-792.
- [11] Besler C,Urbán D,Watzka S,et al. Endomyocardial miR-133a levels correlate with myocardial inflammation,improved left ventricular function,and clinical outcome in patients with inflammatory cardiomyopathy[J]. European Journal of Heart Failure,2016,18(12):1442-1451.
- [12] Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kamiska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease[J]. Adv Clin Exp Med,2017,26(5):865-874.
- [13] Romaine SP, Tomaszewski M, Condorelli G, et al. MicroRNAs in cardiovascular disease an introduction for clinicians[J]. Heart,2015,101(12):921-928.
- [14] Duisters RF,Tijssen AJ,Schroen B,et al. MiR-133 and miRNA-300 regulate connective tissue growth factor:implications for a role of imicroRNAs in myocardial matrix remodeling[J]. Circ Res,2009,104(2):170-178.
- [15] Sunman H,Canpolat U,Yorgun H,et al. Association between reverse electrical remodeling and cardiac fibrosis markers in patients with cardiac resynchronization therapy[J]. Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi,2018,46(2):84-91.
- [16] Isbella K, Paola B, Gabriele B, et al. Long term effects of cardiac resynchronization therapy in chronic heart failure patients[J]. Archives of Cardiovascular Diseases Supplements,2010,2(1):26.
- [17] 武丽萍,刘振良,贾国渠,等.扩张型心肌病发病机制与治疗进展[J].中国乡村医药,2017,24(19):83-84.  
Wu LP,Liu ZL,Jia GQ,et al. Pathogenesis and treatment progress of dilated cardiomyopathy[J]. Chinese Journal of Rural Medicine and Pharmacy,2017,24(19):83-84.
- [18] 然 鋆,宋云虎,胡盛寿,等.163 例肥厚型梗阻性心肌病的外科治疗及疗效评价 [J].中国循环杂志,2013,28(2):136-139.  
Ran J,Song YH,Hu SS,et al. Evaluation of surgical treatment for hypertrophic obstructive cardiomyopathy in 163 patients[J]. Chinese Circulation Journal,2013,28(2):136-139.
- [19] Frljak S,Jaklic M,Zemljic G,et al. CD34<sup>+</sup> cell transplantation improves right ventricular function in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy[J]. Stem Cells Transl Med,2018,7(2):168-172.
- [20] Jiao M, You HZ, Yang XY, et al. Circulating microRNA signature for the diagnosis of childhood dilated cardiomyopathy[J]. Scientific Reports,2018,8(1):724.
- [21] Bernardo B,Ooi J,Tham Y,et al. Differential response of males and females to a miRNA-34a based treatment in a mouse model of dilated cardiomyopathy[J]. Heart, Lung & Circulation,2016,25:S75-S76.