

## · 综 述 ·

miR-210 参与心肌缺血损伤修复机制及  
中药调控靶点分析

张 云 刘咏梅 陈恒文 张盈颖 吴广均 王 阶

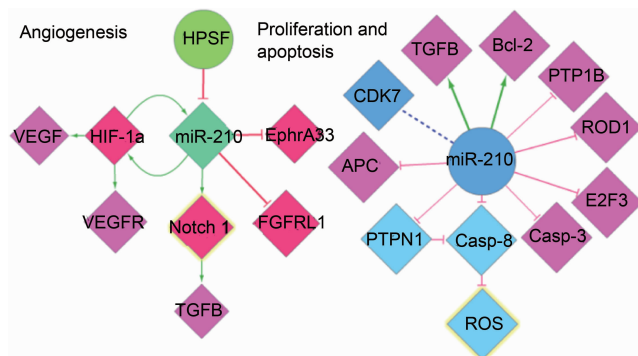
微小 RNA-210 (miR-210) 有两个变体, 即 miR-210-3p 和 miR-210-5p。miR-210-3p 是整合到 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 上的导链, 而 miR-210-5p 是无活性的过渡链。一般说的 miR-210 即是指 miR-210-3p<sup>[1]</sup>。近年来发现 miR-210 与缺血后损伤修复密切相关。中药通过调节 miR-210 能促进心肌梗死边缘区血管新生、抑制心肌细胞凋亡, 改善心肌梗死后的心脏组织形态结构和功能<sup>[2,3]</sup>。因此, 笔者就 miR-210 参与心肌缺血损伤修复及中药调控的分子机制进行概述。

1 心肌缺血状态下 miR-210 正反馈调节缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 水平 缺氧状态下 HIF-1 $\alpha$  是调节 miR-210 表达的主要转录因子。miR-210 启动子上有 HIF-1 $\alpha$  的结合位点<sup>[4]</sup>。miR-210 通过 3-磷酸甘油脱氢酶 1 (Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like protein, GPD1L) 能正反馈调节 HIF-1 $\alpha$  表达。GPD1L 被认为是一个新的 HIF-1 $\alpha$  调节因子<sup>[5]</sup>。GPD1L 增加脯氨酸羟化酶域异构体 (prolyl hydroxylase, PHDs) 的活性, 导致 HIF-1 $\alpha$  脯氨酸羟化, HIF-1 $\alpha$  被蛋白酶降解。GPD1L mRNA 3' 末端有 miR-210 结合位点从而受 miR-210 负向调节。即 HIF-1 $\alpha$  诱导 miR-210 表达, miR-210 抑制性调控 GPD1L 蛋白表达, 从而提高 HIF-1 $\alpha$  的稳定性。该机制包括一个正反馈环路, miR-210 可诱导和维持 HIF-1 $\alpha$  蛋白水平。这种缺氧的环路可通过抑制 miR-210 的表达而终止。

2 HIF-1 $\alpha$ -血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 参与缺血心肌的血管新生 (图 1) 血管生成过程中涉及内皮细胞的迁移、生

长和分化以及内皮细胞和微环境之间的相互作用等。低氧环境下 miR-210-HIF-1 $\alpha$  正反馈分子环路的建立可调节许多促血管生成因子表达, 其中 HIF-1 $\alpha$  的靶基因 VEGF 及其受体 (VEGFR) 最明显。当 miR-210 在人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 中过度表达, 这些细胞表达 VEGF 和形成血管的能力变得更强大<sup>[6]</sup>。中药麝香酮能增加 HIF-1 $\alpha$  和 VEGFR 的表达, 从而促进了缺血心肌组织的血管新生作用<sup>[7]</sup>。因此, 调控血管内皮细胞 HIF-1 $\alpha$  和 VEGFR 的表达可能是调控血管生成的关键分子。除此之外, miR-210 通过抑制成纤维细胞生长因子受体 1 表达促进骨肉瘤血管生成和浸润转移<sup>[8]</sup>。miR-210 抑制性调控肝配蛋白 (EphrinA3, EphA3) 参与心血管系统发育和血管重构的调节。miR-210 的表达及其促血管生成作用能够被硫酸乙酰肝素 (heparin sulfate, HPSF) 所抑制, 为开发调控 miR-210 表达的新药提供了线索<sup>[9]</sup>。

3 miR-210 调控心肌细胞凋亡与增殖, 参与心肌缺血损伤修复 (图 1) miR-210 还参与心肌细胞凋亡和增殖的调控。心肌梗死转染 miR-210 后,  $\beta$ -连环蛋白, Bcl-2, VEGF 表达上调, 而细胞周期抑制蛋白 APC, p16 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase-3, Casp-3) 表达减少。miR-210 还能下调靶基因 EphA3



注: 颜色相同表示生物学功能相似; 箭头表示促进下游靶基因的表达; 钝头表示抑制下游靶基因的表达; 虚线表示双向调节可能

图 1 miRNA-210 参与血管新生和细胞凋亡与增殖调控示意图

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81774168, No. 81673847)

作者单位: 中国中医科学院广安门医院心血管科 (北京 100053)

通讯作者: 王 阶, Tel: 010-88001148, E-mail: bingqian0711@sina.com

DOI: 10.7661/j. cjm. 20191206. 239

和蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (proteintyrosine phosphatase 1B, PTP1B), 抑制心肌细胞凋亡, 减少梗死面积, 提高心脏整体功能<sup>[2,3]</sup>。miR-210 具有在常氧水平下促凋亡, 缺氧条件下抑制凋亡的作用<sup>[10]</sup>。过氧化氢处理的 HUVEC miR-210 水平升高, 通过抑制性调节 Casp-8 通路减少活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生, 促进 HUVEC 生存和抑制凋亡, 发挥血管内皮损伤的保护作用<sup>[11]</sup>。

4 miRNA-210 在心肌细胞再生过程中的可能机制 目前还未关于 miRNA-210 促进心肌细胞再生的报道。已有研究发现体外检测骨髓间充质干细胞能表达 miR-210, miR-210 有明显促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的作用<sup>[12]</sup>。miR-210 通过促进成骨细胞的分化和 VEGF 的表达, 对改善雌激素缺乏导致的绝经后骨质疏松症发挥了重要作用。另有报道轻度认知障碍和阿尔茨海默病患者的脑脊液和血清中 miR-210 和 VEGF 表达水平随着痴呆的严重程度增加而减少<sup>[13]</sup>。miR-210 提高细胞色素 C 氧化酶和乌头酸酶活性水平, 保护线粒体的功能, 增强干细胞培养成活率<sup>[14]</sup>。此外, 由 BMSCs 分泌的外囊泡 (含有 miRNA 结构, 在缺氧状态下, BMSCs 外泌体分泌增加且外泌体 miR-210 含量增加<sup>[15,16]</sup>。近年来, 越来越多的研究打破了神经细胞、心肌细胞不能再生的认识, 如在特定的生物相容性条件下, 可诱导骨骼、神经、肌肉和心肌细胞的再生<sup>[17]</sup>。因此, 推测 miR-210 具有诱导骨髓间充质干细胞分化为心肌细胞的潜能。

5 中药调节 miR-210 表达改善心肌缺血损伤的作用靶点分析 miR-210 及其靶基因在生理或病理条件下的复杂的网络调控可以产生不同的生物功能。miR-210 可以被细胞释放并在体液中循环。大多数研究认为 miR-210 将是药物开发的一个很好的目标。但是 miR-210 对多系统的不同调控效果限制了 miR-210 作为治疗目标的使用。中药对 miR-210 分子网络的调控具有多环节多靶点和双向性。深入研究中医药对 miR-210 分子的调控, 将会在一些重大疑难疾病治疗方面取得新的进展。

单味药方面, 黄芪和丹参在组织器官缺氧损伤或移植存活方面具有促进血管新生、抗纤维化、维持内皮功能、改善微循环、抗过氧化损伤和抗细胞凋亡作用。黄芪和丹参通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ), 拮抗血小板活化因子有抗凝作用<sup>[18]</sup>。PPAR- $\gamma$  还能作为 miR-210 的转录促进因子, 促进 VEGF 的表达。丹参给药 4 周能促进 VEGF 和 CD31 分子的表达, 促进移植物的血管新生<sup>[19]</sup>。黄芪和丹参

在调节细胞增殖和凋亡方面, 能上调 Bcl-2 和下调 Bax 蛋白, 减少炎症和凋亡对脑缺血/再灌注损伤<sup>[20]</sup>。三七总皂苷 (PNS) 上调 VEGF 和激酶结构域受体 (KDR) 的表达水平, 增加毛细血管网形成, 促进大鼠骨髓间充质干细胞血管生成<sup>[21]</sup>。PNS 通过上调 VEGF-A 和抑制 casp-3 活性减少骨破坏保护激素性股骨头坏死<sup>[22]</sup>。

复方研究方面, 活血安心方 (HAR) 是益气活血法治疗冠心病的代表方剂。气虚血瘀证是冠心病的主要中医证候。一项针对 5 099 例冠心病心绞痛文献病例回顾性研究发现冠心病心绞痛证候要素以气虚血瘀证最为常见<sup>[23]</sup>。HAR 药味组成是: 黄芪、丹参、三七、银杏叶提取物等。其中黄芪、丹参益气清心、养血活血, 三七、银杏叶活血生脉。

HAR 能显著缩小急性心肌梗死大鼠的心肌梗死面积, 能缩短左室收缩末期和舒张末期容积 (0.59 vs 0.68), 并能提高心脏射血分数 (69.53 vs 51.94), 明显改善急性心肌梗死大鼠的心功能<sup>[24,25]</sup>。同时 HAR 还能通过调节 iNOS/eNOS 表达失衡来减轻急性心肌梗死大鼠的过氧化损伤<sup>[26]</sup>。最新研究发现 HAR 通过调节 miRNA-210 的表达, 促进心肌梗死边缘区 VEGF 和 CD31 分子的表达, 有显著的促进血管新生的作用<sup>[27]</sup>。HAR 减少 AMI 大鼠心肌梗死面积, 提高心脏射血分数等作用与其调节 miR-210 的表达和促进血管新生, 改善缺血心肌血液供应密切相关。因此, HAR 通过 miR-210 和 VEGF 分子促进血管新生, 通过 Bcl-2、Bax、Smad4 和 casp-3 调节增殖和抑制凋亡。

还有一些作用靶点需要进一步验证。如 NF- $\kappa$ B、Akt、TGF- $\beta$ 、HIF-1 $\alpha$ 、Casp-8 等。NF- $\kappa$ B、Akt 有 miR-210 的结合位点, 可能是 miR-210 的激动剂。但有报道黄芪多糖通过阻断 NF- $\kappa$ B 通路上调凝血酶诱导的大鼠骨髓内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) VEGF 及其受体的表达, 保护内皮祖细胞。黄芪和丹参联用抑制 NF- $\kappa$ B、Akt, 抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号, 抑制 I 和 III 型胶原合成, 抑制基质金属蛋白酶 2 和 9 的表达, 抑制 RAAS 通路, 抑制心、肝、肾等重要组织纤维化、保护心肝肾功能<sup>[28-30]</sup>。另有报道银杏叶能激活 PI3K/Akt 信号通路, 抑制 NF- $\kappa$ B 降低炎性介质 TNF $\alpha$  水平<sup>[31]</sup>。黄芪和丹参能够明显抑制血栓素 A2 的水平, 上调前列腺素 I<sub>2</sub> 内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 和下调内皮素含量保护内皮功能, 通过降低纤维蛋白原含量和延长活化凝血活酶时间改善血液循环<sup>[32]</sup>。黄芪和丹参能激活 ERK 减轻脑梗死和神经行

为缺损<sup>[33]</sup>。三七和银杏叶提取物主要具有促进缺氧状态下血管新生以及抗凋亡和促进细胞再生的作用。三七皂苷通过 HIF-1 $\alpha$  诱导 VEGF 的表达促进血管新生, PI3K/Akt 和 Raf/MEK/ERK 信号转导通路也同时参与<sup>[34]</sup>。其中 HIF-1 $\alpha$  是缺氧状态下 miR-210 正反馈环路的重要分子, 在该环路中 miR-210 和 HIF-1 $\alpha$  谁是启动和关键因子。此外, 在 miR-210 分子网络中, pre-210、Notch1、FGFRL1、EphrA3、PTPN1、PTP1B 和 VEGFR, 这些都是尚未研究的潜在调控靶点。HAR 是否能够上调 VEGFR 表达而发挥 VEGF 一样的促血管新生作用, 尚有待于进一步探索明确。

6 结语 miR-210 分子具有促进缺血心肌组织血管新生、抑制心肌细胞凋亡和促进心肌细胞再生的保护作用。miR-210 分子及其调控的靶基因在心肌缺血后的组织修复、功能提高、预防心肌重塑和心力衰竭等并发症方面发挥着积极的作用。对急性心肌梗死患者来说, 如能促进梗死区和梗死边缘区的血管新生, 减少心肌细胞凋亡促进心肌细胞修复, 对提高心脏功能和改善缺血性心脏病的预后意义重大。因此, 深入研究中医药对 miR-210 分子的调控机制, 将会阐释中医药防治缺血性心脏病的作用机制和科学内涵。

### 参 考 文 献

- [1] Yang X, Shi L, Yi C, et al. MiR-210-3p inhibits the tumor growth and metastasis of bladder cancer via targeting fibroblast growth factor receptor-like 1[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(8): 1738-1753.
- [2] Arif M, Pandey R, Alam P, et al. MicroRNA-210-mediated proliferation, survival, and angiogenesis promote cardiac repair post myocardial infarction in rodents[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2017, 95(12): 1369-1385.
- [3] Barile L, Lionetti V, Cervio E, et al. Extracellular vesicles from human cardiac progenitor cells inhibit cardiomyocyte apoptosis and improve cardiac function after myocardial infarction[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(4): 530-541.
- [4] Merlo A, Bernardo-Castineira C, Sáenz-de-Santa-María I, et al. Role of VHL, HIF1A and SDH on the expression of miR-210: Implications for tumoral pseudo-hypoxic fate[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 6700-6717.
- [5] Kelly TJ, Souza AL, Clish CB, et al. A hypoxia-induced positive feedback loop promotes hypoxia-inducible factor 1alpha stability through miR-210 suppression of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 2696-2706.
- [6] Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, et al. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand ephrin-A3[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 15878-15883.
- [7] Du XQ, Ge YB, Xu ZH, et al. Hypoxia-Inducible factor 1 alpha (hif-1 $\alpha$ )/vascular endothelial growth factor (vegf) pathway participates in angiogenesis of myocardial infarction in muscone-treated mice: preliminary study[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 8870-8877.
- [8] Liu XJ, Zhang CF, Wang CH, et al. miR-210 promotes human osteosarcoma cell migration and invasion by targeting FGFRL1[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 2229-2236.
- [9] Xiao F, Qiu H, Zhou L, et al. WSS25 inhibits Dicer, downregulating microRNA-210, which targets Ephrin-A3, to suppress human microvascular endothelial cell (HMEC-1) tube formation[J]. *Glycobiology*, 2013, 23: 524-535.
- [10] Favaro E, Ramachandran A, McCormick R, et al. MicroRNA-210 regulates mitochondrial free radical response to hypoxia and krebs cycle in cancer cells by targeting iron sulfur cluster protein ISCU[J]. *PLoS One*, 2010, 5: e10345.
- [11] Li T, Song X, Zhang J, et al. Protection of human umbilical vein endothelial cells against oxidative stress by MicroRNA-210[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3565613.
- [12] Neda Minayi, Shaban Alizadeh, Hosein Dargahi, et al. The effect of mir-210 up-regulation on proliferation and survival of mouse bone marrow derived mesenchymal stem cell[J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2014, 8(1): 15-23.
- [13] Zhu Y, Li C, Sun A, et al. Quantification of microRNA-210 in the cerebrospinal fluid and serum: Implications for Alzheimer's disease[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(3): 1013-1017.
- [14] Oloboueva LA, Sun X, Xu L, et al. Distinct effects of miR-210 reduction on neurogenesis: increased neuronal survival of inflammation but reduced proliferation associated with mitochondrial enhancement[J]. *J Neurosci*, 2017, 37: 3072-3084.
- [15] Jung KO, Youn H, Lee CH, et al. Visualization of exosome-mediated miR-210 transfer from hypoxic tumor cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 8: 9899-9910.
- [16] Hsu YL, Hung JY, Chang WA, et al. Hypoxic lung

- cancer-secreted exosomal miR-23a increased angiogenesis and vascular permeability by targeting prolyl hydroxylase and tight junction protein ZO-1 [J]. *Oncogene*, 2017, 36: 4929–4942.
- [17] Ketabat F, Karkhaneh A, Aghdam RM, et al. Injectable conductive collagen/alginate/polypyrrole hydrogels as a biocompatible system for biomedical applications [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2017, 28(8): 794–805.
- [18] Behl T, Kotwani A. Chinese herbal drugs for the treatment of diabetic retinopathy [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2017, 69(3): 223–235.
- [19] Wang WQ, Hong G, Han JM, et al. The effect of crude drugs on the angiogenic property and dynamic viscoelasticity of PEMA-based soft polymer materials [J]. *Dent Mater J*, 2017, 36(6): 770–777.
- [20] Yuan HF, Pan JF, Li S, et al. Protective effects of total saponins of panax notoginseng on steroid-induced avascular necrosis of the femoral head in vivo and in vitro [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 165679.
- [21] Ali M, Khan T, Fatima K, et al. Selected hepatoprotective herbal medicines: Evidence from ethnomedicinal applications, animal models, and possible mechanism of actions [J]. *Phytother Res*, 2017, 19(10): 5950–5959.
- [22] Zheng H, Liu C, Ou Y, et al. Total saponins of Panax notoginseng enhance VEGF and relative receptors signals and promote angiogenesis derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(3): 595–602.
- [23] 李军, 王阶. 冠心病心绞痛证候要素与应证组合的 5099 例文献病例分析 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(12): 927–930.
- [24] 张云, 王阶, 郭丽丽, 等. 活血安心方减轻急性心肌梗死大鼠心肌缺血损伤的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(7): 939–943.
- [25] 张云, 王阶, 蒋跃文, 等. 活血药合用安神药对急性心肌梗死大鼠心肌损伤的保护作用 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(7): 1012–1016.
- [26] 张云, 王阶, 郭丽丽, 等. 活血安心方减轻急性心肌梗死大鼠心肌过氧化损伤的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(10): 1356–1360.
- [27] Wang J, Zhang Y, Liu RM, et al. Huoxue Anxin Recipe promotes myocardium angiogenesis of acute myocardial infarction rats by up-regulating miR-210 and vascular endothelial growth factor [J]. *Chin J Integrat Med*, 2016, 22(9): 685–690.
- [28] Zhang YU, Zhou N, Wang H, et al. Effect of Shengkang granules on the progression of chronic renal failure in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(6): 2034–2042.
- [29] Hong JN, Li WW, Wang LL, et al. Jiangtang decoction ameliorate diabetic nephropathy through the regulation of PI3K/Akt-mediated NF- $\kappa$ B pathways in KK-Ay mice [J]. *Chin Med*, 2017, 19(12): 13.
- [30] Luo J, Zhong Y, Huang S, et al. Ginkgolide B enhances the differentiation of preosteoblastic MC3T3-E1 cells through VEGF: Involvement of the p38 MAPK signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4787–4794.
- [31] Ip FC, Zhao YM, Chan KW, et al. Neuroprotective effect of a novel Chinese herbal decoction on cultured neurons and cerebral ischemic rats [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1): 437.
- [32] Shen K, Ji L, Gong C, et al. Notoginsenoside Ft1 promotes angiogenesis via HIF-1 $\alpha$  mediated VEGF secretion and the regulation of PI3K/AKT and Raf/MEK/ERK signaling pathways [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(6): 784–792.
- [33] Jiang H, Qu P. Effects of Ginkgo biloba leaf extract on local renin-angiotensin system through TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in cardiac myocyte [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(6): 5857–5862.
- [34] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2001, 126(34–35): 932–938.

(收稿: 2018-02-02 在线: 2020-01-07)

责任编辑: 白霞