

· 综 述 ·

白藜芦醇对炎症反应 microRNA 调节作用

曹 宇^{1,2} 吴 敏¹ 刘龙涛³ 柴欣楼⁴

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是在真核生物中发现的一类可调控基因表达且高度保守的非编码小分子 RNA,由约 22 个核苷酸构成。1993 年,miRNA 在秀丽隐杆线虫内首次被发现,至今已发现的 miRNA 超过 1 000 种。作为一种新的基因表达调控因子,miRNA 主要通过与靶基因 3'端非翻译区(3' Untranslated Regions, 3'-UTR)不完全配对,对 mRNA 进行切割或抑制翻译,促进 mRNA 降解或抑制其转录发挥其蛋白水平的调节功能^[1]。除能够调控宿主细胞内基因表达外,受到刺激的细胞还可以选择性分泌 miRNA,通过微粒体(microvesicles)、外泌体(exosomes)、高密度脂蛋白或 RNA 结合蛋白如 Argonaute2、nucleophosmin 1 在细胞间进行传递,进而影响靶细胞的生物学功能^[2]。

1 miRNA 与炎症 炎症是机体对外来伤害性刺激的一种防御反应,适度的炎症能够帮助机体清除有害物质、修复组织损伤。但如果无特定的内部负调控子进行严格控制,免疫反应将无法及时终止,继而导致多种不同形式的慢性炎症性疾病,如心血管系统疾病、糖尿病、癌症、阿尔茨海默病等。

研究表明 miRNA 直接参与了免疫细胞的分化成熟,通过与炎症相关信号通路发生作用,调节炎症细胞因子的合成及分泌影响免疫反应,因而与炎症反应密切相关。在固有免疫中,单核/巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞通过细胞表面 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)识别不同的病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs),激活细胞内髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor

88, MyD88)、 β 干扰素 Toll/IL-1 受体结构域衔接蛋白(Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon- β , TRIF)、Toll/IL-1 受体域接受子蛋白(Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter protein, TIRAP)介导的炎性通路,启动免疫反应。在此过程中亦可激活多种 miRNA 的表达,其中研究较为充分的是 miR-155、miR-146a 及 miR-21。miR-155 在脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)处理后的 Raw-264 巨噬细胞中显著升高,且 miR-155 基因改造鼠对 LPS 的敏感性增强,更容易发生内毒素休克^[3]。miR-146a 及 miR-21 与 miR-155 促进免疫反应的作用相反,主要参与炎症的负反馈调节从而弱化炎症反应。LPS 处理后的巨噬细胞可以通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路诱导 miR-21 产生,miR-21 可进一步降解 PDCD4 蛋白,从而提高抗炎因子 IL-10 的水平,抑制 NF- κ B 的活性形成负调控环路^[4]。与 miR-21 类似,miR-146a 可以降低 IL-6、TNF- α 等促炎物质水平^[5]。在适应性免疫中,miRNA 可以通过干预 T 细胞、B 细胞分化成熟以及激活后的行为,从而从多个环节对免疫反应进行调节。淋巴细胞成熟过程中,机体主要通过凋亡清除不能行使正常免疫功能的细胞克隆;miR-17-92 簇可以通过抑制前凋亡因子 BIM、PTEN 信号通路阻止 T 细胞阴性、阳性选择过程,诱发淋巴细胞增生性疾病^[6]。淋巴细胞成熟后进入外周循环,接受不同的抗原刺激分化为不同的细胞亚型,产生不同的免疫效应。如 Th1 主要参与细胞内感染及迟发型超敏反应,Th2 则介导体液免疫应答,参与 I 型超敏反应。miR-155 可在活化后的 CD4⁺ T 细胞中表达,降低 miR-155 的表达能够提高细胞内 cMaf 蛋白的水平,使其向 Th2 分化增多,向 Th1、Th17 分化减少^[7];另一种影响 T 细胞分化的 miRNA——miR-326,可以通过靶定抑制 Th17 分化的 Ets1 因子,进而干预自身免疫性疾病进展^[8]。就 B 细胞而言,致敏后的 B-2 细胞若缺乏 miR-155 可导致抗体亲和力降低,抗体分泌减少,这可能与 PU. 1 因子的过表达有关^[9]。

2 白藜芦醇与炎症 白藜芦醇(3,4',5-三羟基芪)是一种生物性很强的天然多酚类物质,又称为

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(No.81102721, No.81202805);国家级大学生创新创业训练计划项目(No. 201310026015)

作者单位:1. 中国中医科学院广安门医院心血管科(北京 100053);2. 北京中医药大学针灸推拿学院(北京 100029);3. 中国中医科学院西苑医院心血管病中心(北京 100091);4. 北京中医药大学基础医学院(北京 100029)

通讯作者:吴敏, Tel: 13671206090, E-mail: wumin19762000@126.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2016. 01. 0125

芪三酚白藜芦醇,其最先被发现能够抑制皮肤癌大鼠模型肿瘤的发生和发展^[10]。白藜芦醇也被用来预防和(或)治疗肥胖和糖尿病。同时,白藜芦醇的毒性很小,即使是在快速更新的组织,如骨髓和消化道也未产生明显的不良反应^[11,12]。白藜芦醇主要通过其 *m*-羟基二苯乙烯(*m*-hydroxyquinone)及 4-羟基苯乙烯基(4-hydroxystyryl)位点发挥对多种酶的抑制效应。这些酶中包括通过水解花生四烯酸产生促炎介质的脂氧合酶、环氧酶、蛋白激酶 C 和 D、受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)、I κ B 激酶(inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase α , IKK α)等^[13]。因此,白藜芦醇在炎症过程及肿瘤发生发展中发挥着巨大的作用。

白藜芦醇之所以能够影响如此之多的细胞因子并发挥如此广泛的保健作用,说明它的调控作用依赖于细胞内某些能够影响整体的物质。另一方面,miRNA 可以潜在地影响上百个目的基因的活性,因此,白藜芦醇可能通过调节 miRNA 组成比例来发挥其广泛的细胞内调节作用。研究证实,白藜芦醇可以降低促炎或促癌的 miRNA 的水平,提高抗炎、抗肿瘤 miRNA 的含量^[14,15]。

3 白藜芦醇通过调节 miRNA 介导炎症反应

3.1 白藜芦醇与 miR-21 miR-21 也叫做 hsa-miR-21,编码基因定位于 17q 23.2。miR-21 与心血管疾病关系十分密切。在动脉硬化中,miR-21 可以通过 TLR4/ NF- κ B 信号通路促进 LPS 处理后的 RAW 264.7 巨噬细胞摄入氧化型低密度脂蛋白(oxidized-low density lipoprotein, ox-LDL),形成充满脂质的泡沫细胞,从而影响粥样斑块的形成和稳定性^[16];miR-21 可以下调 RECK 基因的表达,进而上调基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)使斑块纤维帽变薄,更易破裂^[17];miR-21 也参与了其他心血管疾病的发生发展,如心力衰竭^[18]、球囊损伤后血管平滑细胞的增殖及内膜增厚^[19]等。此外,在多种癌细胞系中均检测到其含量异常,是目前公认的致癌性 miRNA^[20]。已鉴定的 miR-21 调控基因绝大多数为抑癌基因,如 BTG2 基因^[21]、RhoB 基因^[22]、P12/CDK2AP1 信号通路^[23]等。白藜芦醇可降低 miR-21 含量,从而降低 Akt/Bcl-2 通路的活性,促进癌细胞的凋亡^[24]。miR-21 能够抑制 LR-FIP1 蛋白的表达,从而激活 NF- κ B 通路,促进胶质母细胞瘤 U251 的成活和增殖;加入白藜芦醇的 U251 细胞凋亡增加,NF- κ B 通路受到抑制,但先加入 miR-21 则不能观察到白藜芦醇对 I κ B 磷酸化及 NF- κ B 转

录活性的抑制,因此白藜芦醇能够通过降低 miR-21 含量抑制 NF- κ B 活性^[25]。

3.2 白藜芦醇与 miR-663 miR-663 是一种灵长类动物特有的 miRNA,参与了多种重要的生命活动,包括病毒感染、免疫应答及自身免疫性疾病等^[15,26]。在肿瘤疾病中,miR-663 在不同来源的恶性肿瘤表现出不同的作用。在肺癌、鼻咽癌及乳腺癌中,miR-663 为致癌基因并促进肿瘤的恶变^[27,28]。但在胃癌、直肠结肠癌、前列腺癌、急性淋巴细胞型白血病中,miR-663 起抑癌作用^[29,30]。AP-1 蛋白在人肿瘤细胞中高度表达,且在肿瘤侵袭及转移中至关重要^[31]。白藜芦醇可通过 miR-663 依赖的方式降低 AP-1 的活性,抑制 LPS 处理后 miR-155 的升高,进而发挥抗炎、抗肿瘤的作用^[15]。白藜芦醇还可通过 miR-663 抑制 TGF β 1/Smad 信号通路^[14],而 TGF β 通路是人类癌症中常发生突变的信号通路之一^[32]。

此外,血液流变学的改变也会影响 miR-663 的含量。剪切应力为血流与管壁摩擦产生的平行于管壁的切线应力,振荡剪切应力会损伤动脉内皮功能,并与动脉粥样硬化密切相关^[33];暴露于振荡剪切力下的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) miR-633 大量表达,进而调控多种炎症基因如 KLF4 因子(Kruppel-like factor 4, KLF4)、C/EBP β 蛋白并促进单核细胞的粘附从而介导内皮的炎症反应^[34]。一项在同时患有 2 型糖尿病、高血压病及冠心病人群中展开的研究表明,在正常药物治疗的同时服用白藜芦醇,可使患者血清中的 CCL3 促炎因子、IL-1 β 、TNF- α 及外周血单核细胞 miR-663、miR-21、miR-155 的表达显著降低,从而初步证明了白藜芦醇可通过 miRNA 调节人体免疫系统^[35]。

3.3 白藜芦醇和 miR-200c miR-200 家族主要包括包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429,根据基因组定位不同可分为两个基因簇,miR-200a、miR-200b、miR-429 位于 1 号染色体,miR-200c 及 miR-141 位于 12 号染色体^[36]。miR-200 在上皮组织中含量丰富^[37]并与肿瘤的发生密切相关^[38]。较高的血清 miR-200c 水平与结直肠癌淋巴结转移、远端转移之间显著相关,同时亦有助预测 CRC 患者的预后或复发,是一种潜在的高效非侵袭标记物 miRNA^[39]。而白藜芦醇可以通过影响 Argonaute2 的活性,进而影响包括 miR-200c 在内多种 miRNA 含量^[40]。

miRNA 是近年来新的研究热点,几乎参与调节

各种生物学功能(从细胞分化、增殖和凋亡到病理生理状态),有望成为多种疾病的生物标志物及新的药物干预靶点。白藜芦醇及 miRNA 与免疫应答的关系十分密切,近年来,越来越多的资料表明白藜芦醇可以通过影响 miRNA 的表达进而参与到炎症反应之中。但白藜芦醇可同时影响数十甚至上百种 miRNA,明确白藜芦醇调控某种特定 miRNA 的表达以及 miRNA 之间的相互作用显得尤为重要,也是目前研究的热点和难点。因此,随着研究的不断深入,笔者期待更多与白藜芦醇相关的 miRNA 被发现并明确 miRNA 之间相互影响的机制,不仅能够更为深刻地理解 miRNA 与免疫应答网络,也能为慢性炎症相关疾病提供新思路及新靶点。

参 考 文 献

- [1] Bushati N, Cohen SM. microRNA functions [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23: 175–205.
- [2] Kosaka N, Ochiya T. Unraveling the mystery of cancer by secretory microRNA: horizontal microRNA transfer between living cells [J]. *Front Genet*, 2011, 2: 97.
- [3] Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation [J]. *Cell*, 2009, 139(4): 693–706.
- [4] Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ, et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21 [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2): 141–147.
- [5] Boldin MP, Taganov KD, Rao DS, et al. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myelopoiesis, and cancer in mice [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(6): 1189–1201.
- [6] Xiao C, Srinivasan L, Calado DP, et al. Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17 expression in lymphocytes [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(4): 405–414.
- [7] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function [J]. *Science*, 2007, 316(5824): 608–611.
- [8] Du C, Liu C, Kang J, et al. microRNA miR-326 regulates TH-17 differentiation and is associated with the pathogenesis of multiple sclerosis [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(12): 1252–1259.
- [9] Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, et al. microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells [J]. *Immunity*, 2007, 27(6): 847–859.
- [10] Jang M, Cai L, Udeani GO, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes [J]. *Science*, 1997, 275(5297): 218–220.
- [11] Szkudelska K, Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 635(1–3): 1–8.
- [12] Sonnett TE, Levien TL, Gates BJ, et al. Diabetes mellitus, inflammation, obesity: proposed treatment pathways for current and future therapies [J]. *Ann Pharmacother*, 2010, 44(4): 701–711.
- [13] Pirola L, Fröjdö S. Resveratrol: one molecule, many targets [J]. *IUBMB Life*, 2008, 60(5): 323–332.
- [14] Tili E, Michaille JJ, Alder H, et al. Resveratrol modulates the levels of microRNAs targeting genes encoding tumor-suppressors and effectors of TGF β signaling pathway in SW480 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(12): 2057–2065.
- [15] Tili E, Michaille JJ, Adair B, et al. Resveratrol decreases the levels of miR-155 by up-regulating miR-663, a microRNA targeting JunB and JunD [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(9): 1561–1566.
- [16] Feng J, Li A, Deng J, et al. miR-21 attenuates lipopolysaccharide-induced lipid accumulation and inflammatory response: potential role in cerebrovascular disease [J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13: 27.
- [17] Fan X, Wang E, Wang X, et al. MicroRNA-21 is a unique signature associated with coronary plaque instability in humans by regulating matrix metalloproteinase-9 via reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs [J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 96(2): 242–249.
- [18] Dong S, Ma W, Hao B, et al. microRNA-21 promotes cardiac fibrosis and development of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction by up-regulating Bcl-2 [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(2): 565–574.
- [19] Li J, Zhao L, He X, et al. MiR-21 inhibits c-Ski signaling to promote the proliferation of rat vascular smooth muscle cells [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(4): 724–729.
- [20] Tong AW, Nemunaitis J. Modulation of miRNA activity in human cancer: a new paradigm for cancer gene therapy [J]. *Cancer Gene Ther*, 2008, 15(6): 341–355.

- [21] Liu M, Wu H, Liu T, et al. Regulation of the cell cycle gene, BTG2, by miR-21 in human laryngeal carcinoma[J]. Cell Res, 2009, 19(7): 828–837.
- [22] Sabatel C, Malvaux L, Bovy N, et al. MicroRNA-21 exhibits antiangiogenic function by targeting RhoB expression in endothelial cells[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e16979.
- [23] Zheng J, Xue H, Wang T, et al. miR-21 down-regulates the tumor suppressor P12 (CDK2AP1) and stimulates cell proliferation and invasion[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(3): 872–880.
- [24] Zhou C, Ding J, Wu Y. Resveratrol induces apoptosis of bladder cancer cells via miR21 regulation of the Akt/Bcl2 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(4): 1467–1473.
- [25] Li H, Jia Z, Li A, et al. Resveratrol repressed viability of U251 cells by miR-21 inhibiting of NF- κ B pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2013, 382(1–2): 137–143.
- [26] Hu H, Li S, Cui X, et al. The over-expression of hypomethylated miR-663 induces chemotherapy resistance in human breast cancer cells by targeting heparin sulfate proteoglycan 2 (HSPG2)[J]. J Biol Chem, 2013, 288(16): 10973–10985.
- [27] Bohnhorst J, Rasmussen T, Moen SH, et al. Toll-like receptors mediate proliferation and survival of multiple myeloma cells[J]. Leukemia, 2006, 20(6): 1138–1144.
- [28] Huang B, Zhao J, Shen S, et al. Listeria monocytogenes promotes tumor growth via tumor cell Toll-like receptor 2 signaling[J]. Cancer Res, 2007, 7(9): 4346–4352.
- [29] Huang B, Zhao J, Li H, et al. Toll-like receptors on tumor cells facilitate evasion of immune surveillance[J]. Cancer Res, 2005, 65(12): 5009–5014.
- [30] Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow[J]. Lancet, 2001, 357(9255): 539–545.
- [31] Ozanne BW, Spence HJ, McGarry LC, et al. Transcription factors control invasion: AP-1 the first among equals[J]. Oncogene, 2007, 26(1): 1–10.
- [32] Akhurst RJ. TGF β signaling in health and disease[J]. Nat Genet, 2004, 36(8): 790–792.
- [33] Ku DN, Giddens DP, Zarins CK, et al. Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress[J]. Arteriosclerosis, 1985, 5(3): 293–302.
- [34] Ni CW, Qiu H, Jo H. MicroRNA-663 up-regulated by oscillatory shear stress plays a role in inflammatory response of endothelial cells[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(5): H1762–H1769.
- [35] Tomé-Carneiro J, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, et al. One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease[J]. Pharmacol Res, 2013, 72: 69–82.
- [36] Cochrane DR, Spoelstra NS, Howe EN, et al. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents[J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(5): 1055–1066.
- [37] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. microRNA expression profiles classify human cancers[J]. Nature, 2005, 435(7043): 834–838.
- [38] Korpál M, Lee ES, Hu G, et al. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition (EMT) and promotes mesenchymal-epithelial transition (MET) by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2[J]. J Biol Chem, 2008, 283(22): 14910–14914.
- [39] Toiyama Y, Hur K, Tanaka K, et al. Serum miR-200c is a novel prognostic and metastasis-predictive biomarker in patients with colorectal cancer[J]. Ann Surg, 2014, 259(4): 735–743.
- [40] Hagiwara K, Kosaka N, Yoshioka Y, et al. Stilbene derivatives promote Ago2-dependent tumor-suppressive microRNA activity[J]. Sci Rep, 2012, 2: 314.

(收稿:2014-10-21 修回:2015-10-05)