

基础研究

· 综述

微小核糖核酸调控胆固醇稳态的研究进展

张丽 李强

【摘要】 胆固醇稳态受多种因素的密切调节,而胆固醇代谢紊乱与 2 型糖尿病、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪性肝病等多种疾病的发生、发展密切相关。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是脂代谢的转录后调控因子,miRNA-185-5p、miRNA-758-5p、miRNA-33a、miRNA-21、miRNA-122 和 miRNA-370 与胆固醇的合成有关,miRNA-33、miRNA-144、miRNA-26、miRNA-758-3p、miRNA-106b、miRNA-10b、miRNA-302、miRNA-145、miRNA-27a/b 和 miRNA-613 与胆固醇的转运有关,多种 microRNA 共同参与调控胆固醇代谢中关键蛋白的表达,调控胆固醇的稳态平衡。

【关键词】 胆固醇;microRNA;固醇调节元件结合蛋白;ATP 结合盒转运体 A1

基金项目:国家自然科学基金(81170744,813709027)

Recent progress of microRNAs regulating cholesterol homeostasis Zhang Li, Li Qiang. Department of Endocrinology and Metabolism, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China

Corresponding author: Li Qiang, Email: QiangLi26@126.com

【Abstract】 Cholesterol homeostasis is tightly regulated by a series of factors, and perturbations in cholesterol metabolism are associated with diseases such as type 2 diabetes, atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver disease. microRNAs (miRNAs) are identified to be potent post-transcriptional regulators of lipid metabolism. miRNA-185-5p, miRNA-758-5p, miRNA-33a, miRNA-21, miRNA-122 and miRNA-370 have been shown to play important roles in regulating cholesterol synthesis, and miRNA-33, miRNA-144, miRNA-26, miRNA-758-3p, miRNA-106b, miRNA-10b, miRNA-302, miRNA-145, miRNA-27a/b and miRNA-613 have close relationships with cholesterol transport. microRNAs cooperate to regulate cholesterol homeostasis by regulating the expression of critical proteins in cholesterol metabolism.

【Key words】 Cholesterol; microRNA; Sterol regulatory element-binding protein; ATP-binding cassette A1

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81170744, 813709027)

胆固醇是细胞生物膜的必要组成成分,是合成胆汁酸、甾体类激素、维生素 D 的前体物质,胆固醇稳态失衡与 2 型糖尿病、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪性肝病等多种疾病的发生、发展密切相关。因此,维持胆固醇的稳态平衡至关重要。胆固醇稳态的调控由多种因素共同参与。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类由内源性基因编码的、由 20 ~ 22 个核苷酸构成的非编码单链 RNA,广泛分布于真核生物以及某些病毒中,参与转录后基因的表达调

控^[1]。一个 miRNA 可调控多个靶基因,据预测,人体中的 miRNA 可以调控 30% ~ 60% 编码蛋白质的基因。miRNA 参与一系列重要的生理过程,包括早期发育、细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡以及脂代谢等。

miRNA 位于人类基因组的基因间隔区或已知转录本的内含子或外显子区,miRNA 的初级转录本 (pri-miRNA) 长度通常为数千个核苷酸, pri-miRNA 在细胞核内被微加工复合体 (由核糖核酸酶 III Drosha、RNA 结合蛋白 DGCR8/Pasha 及各种各样的辅助因子组成) 加工成长度为 70 ~ 100 个核苷酸的发夹结构的前体 miRNA (pre-miRNA), pre-miRNA 进一步被另一种核糖核酸酶 III Dicer 剪切成为 22 个碱基左右的双链 miRNA 分子, miRNA 双链解散形成成

成熟 miRNA 及其互补链 miRNA*^[2]。

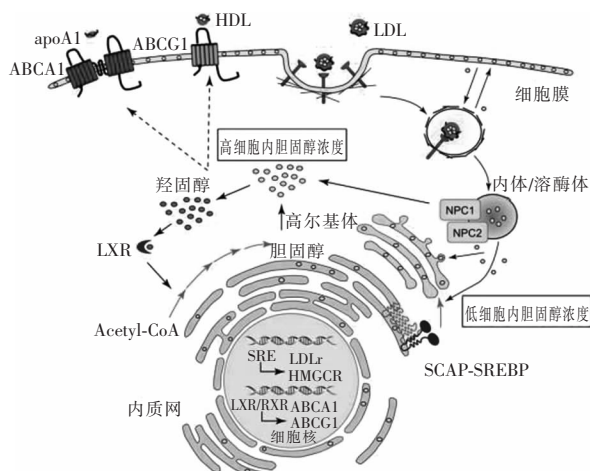
成熟体 miRNA 主要通过不完全碱基配对的方式与 mRNA 的 3' 非翻译区 (3'UTR) 结合, 抑制靶基因的翻译或促进其降解。microRNA 的第 2~8 位碱基序列被称为种子 (seed) 序列, 是 miRNA 与靶位点识别的关键序列^[3]。也有研究表明, 某些 miRNA 能与靶基因的 5' 非翻译区 (5'UTR)、编码区、内含子或外显子区结合, 甚至起到增强靶基因翻译表达的作用^[3]。

miRNA 通过调控胆固醇代谢通路关键蛋白的表达, 在维持胆固醇稳态方面起重要作用。miRNA-185-5p、miRNA-758-5p、miRNA-33a、miRNA-21、miRNA-122 和 miRNA-370 与胆固醇的合成有关, miRNA-33、miRNA-144、miRNA-26、miRNA-758-3p、miRNA-106b、miRNA-10b、miRNA-302、miRNA-145、miRNA-27a/b 和 miRNA-613 与胆固醇的转运有关。

1 与胆固醇合成相关的 miRNA

人体内的胆固醇主要在肝细胞内合成, 以乙酰辅酶 A 为原料, 经过一系列的酶促反应合成 27 个 C 的胆固醇。同时, 细胞还可以通过细胞表面的低密度脂蛋白受体 (LDLR) 摄取循环中的低密度脂蛋白 (LDL) 并在溶酶体中水解为游离胆固醇。胆固醇合成的关键限速酶是 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG CoA) 还原酶 (HMGCR)。当细胞内的胆固醇浓度过高时, HMGCR 的浓度降低, 抑制胆固醇的合成和 LDLR 的表达 (图 1)。

固醇调节元件结合蛋白 (SREBP) 属于碱性螺



注: apoA1: 载脂蛋白 A1; ABCA1: ATP 结合盒转运体 A1; ABCG1: ATP 结合盒转运体 G1; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白; Acetyl-CoA: 乙酰辅酶 A; LXR: 肝 X 受体; NPC1: 尼曼-匹克 C1; NPC2: 尼曼-匹克 C2; SCAP-SREBP: 固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白-固醇调节元件结合蛋白; LDLR: 低密度脂蛋白受体; HMGCR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶; LXR/RXR: 肝 X 受体/视黄醛 X 受体

图 1 胞内胆固醇的调控机制

旋-环-螺旋亮氨酸拉链 (bHLH-zip) 转录因子家族, 包括 SREBP-1a、SREBP-1c、SREBP-2。其中 SREBP-1a 和 SREBP-1c 主要调节脂肪酸、甘油三酯相关基因的表达, SREBP-2 主要调控胆固醇代谢^[4]。当细胞内胆固醇含量下降时, SREBP-2 作为转录因子与 LDLR 启动子或 HMGCR 的基因操纵子结合, 介导 LDL 由血浆向胞内转运并促进细胞内胆固醇的生物合成^[4]。

1.1 miRNA-185-5p miRNA-185-5p 作用于 SREBP-2 mRNA 的 3'UTR, 负向调控 SREBP2 的表达。Li 等^[5]发现, 在转染了基因 1b 型丙型肝炎病毒 (HCV) 核心蛋白的 HepG2 细胞中, HCV 核心蛋白下调 miRNA-185-5p 的表达, 上调 SREBP-2 和 HMGCR mRNA 及蛋白的表达, 增加细胞内的胆固醇水平。

1.2 miRNA-758-5p miRNA-758-5p 通过调节胆固醇的流入, 调控细胞内的胆固醇水平。CD36 是 miRNA-758-5p 的靶基因, 在调控胆固醇的流入方面发挥重要作用^[6]。研究发现, miRNA-758-5p 能够减少 THP-1 巨噬细胞对 Dil 标记氧化型低密度脂蛋白的摄入, 而 miRNA-758-5p 拮抗剂增加 Dil 标记氧化型低密度脂蛋白的流入^[7]。

1.3 miRNA-33a miRNA-33a 位于 SREBP-2 的内含子区, 是调节胆固醇和脂肪酸代谢的主要调节因子。Kostopoulou 等^[8]认为, 在骨关节炎软骨细胞中, miRNA-33a 通过转化生长因子- β 1/蛋白激酶 B (Akt)/SREBP-2 途径调节胆固醇的合成, 与 10 μ g/L 转化生长因子- β 1 单独治疗 6 h 的条件相比, 10 μ g/L 转化生长因子- β 1 治疗 6 h 协同 50 nmol/L miRNA-33a 抑制剂治疗 24 h 的条件下, SREBP-2 的表达明显降低。

1.4 miRNA-21 HMGCR 是 miRNA-21 的直接作用靶点, Sun 等^[9]发现, miRNA-21 调控非酒精性脂肪性肝病中甘油三酯和胆固醇的代谢。在非酒精性脂肪性肝病的体外模型中, miRNA-21 降低甘油三酯、游离胆固醇、总胆固醇的含量, 这一过程是通过抑制 HMGCR 的表达实现的。

1.5 miRNA-122 和 miRNA-370 miRNA-122 是第一个发现的调节脂代谢的 miRNA, 在人类肝脏中高度表达 (达肝脏中总 miRNA 的 70%)。Lanford 等^[10]给黑猩猩连续 12 周体内注射 miRNA-122 拮抗剂, 发现其血浆总胆固醇水平降低 30%。微阵列分析显示, 尽管 miRNA-122 拮抗剂下调 CD36、HMGCR、LDLR、磷酸甲羟戊酸激酶 (PMVK) 的表达, 但只有

PMVK 的变化具有统计学意义。miRNA-370 通过影响 miRNA-122 的表达,间接调控胆固醇代谢。Iliopoulos 等^[11]证实,miRNA-370 转染的人类肝细胞系 HepG2 中 miRNA-122 的表达上调,相应的,抑制 miRNA-370 可下调 miRNA-122 的表达。

2 与胆固醇转运相关的 miRNA

当细胞内的胆固醇浓度过高时,外周细胞通过被动扩散和载体蛋白介导的方式,将胆固醇从细胞内移出,与血中的高密度脂蛋白(HDL)结合,将其逆向转运回肝脏,以防细胞内和血液中的游离胆固醇浓度过高,即胆固醇的逆向转运。

胆固醇流出的载体蛋白通路主要是由 ATP 结合盒转运体(ABC)超家族成员 ABCA1 和 ABCG1 以及载脂蛋白 A-I (ApoA-I)介导的^[12-13]。HDL 主要由肝脏及小肠黏膜细胞合成,初合成的新生 HDL (Pre β -HDL) 含有少量极性脂质,富含 ApoA-I,ABCA1 可以使细胞内过量的胆固醇和磷脂转移到 ApoA-I 上,形成新生盘状的 HDL 颗粒,经卵磷脂胆固醇乙酰基转移酶(LCAT)的胆固醇酯化作用转变为成熟的 HDL 逆向转运回肝脏。ABCG1 协助 ABCA1 介导胞内的胆固醇流出,促进新生 HDL 向成熟的 HDL 转变^[14]。

肝 X 受体(LXR)、视黄醛 X 受体(RXR)以及过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPAR γ) 都是核受体超家族的成员,对脂代谢相关基因的转录调控起重要作用。PPAR γ 是 LXR 的上游基因,ABCA1 是 LXR 的下游基因。LXR 和 RXR 形成二聚体后被羟固醇激活,与 ABCA1 启动子上的 DR4 反应元件结合,诱导 ABCA1 的转录及表达,同时, LXR/RXR 也可以调节 ABCG1 的表达(图 1)。PPAR γ 和 RXR 结合,同样能调控 ABCA1 和 ABCG1 的表达,促进胆固醇的流出。

2.1 miRNA-33 miRNA-33 与宿主基因 SREBP 共表达,通过调节 ABCA1、ABCG1 和 NPC1,调控胞内胆固醇的流出及 HDL 的生成。ABCA1 基因的 3'UTR 含有 3 个高度保守的 miRNA-33 结合位点,当 miRNA-33 过表达时,抑制 ABCA1 的表达,从而抑制 ApoA-I 介导的胆固醇流出,相反,当抑制 miRNA-33 的表达时,ABCA1 的表达增强,细胞内沉积的胆固醇流出增加^[8]。NPC1 调控细胞内游离胆固醇从内体或溶酶体中释放^[15]。人类 NPC1 的 3'UTR 含有两个 miRNA-33 结合位点,miRNA-33 过表达能抑制 NPC1 的翻译和表达,调节胆固醇的代谢。

2.2 miRNA-144 核受体协同 miRNA-144 共同介导

细胞内胆固醇的流出。法尼酯 X 受体作为核受体家族的一员,在肝脏和小肠内高度表达,调控肝内胆固醇和胆汁酸的稳态平衡。Ramírez 等^[16]证实, LXR 激动剂上调 miRNA-144 的转录和表达,抑制 miRNA-144 的靶基因 ABCA1 的表达,从而抑制巨噬细胞内胆固醇流出。de Aguiar Vallim 等^[17]发现,法尼酯 X 受体激动剂上调肝内 miRNA-144 的表达,通过 ABCA1 途径抑制胆固醇的流出。

2.3 miRNA-26 ADP 核糖基化因子-7 (ARL7) 是一种细胞内转运蛋白,参与细胞内胆固醇到细胞膜上的转运。ARL7 和 ABCA1 同为 LXR 的靶点。Sun 等^[18]发现,miRNA-26 上调能够抑制 ABCA1 和 ARL7 的转录和表达, LXR 的激活抑制 miRNA-26 的表达,从而进一步增强 LXR 对 ABCA1 和 ARL7 的上调作用,调控细胞内胆固醇的流出。

2.4 miRNA-758-3p、miRNA-106b、miRNA-10b、miRNA-302、miRNA-145 研究发现,miRNA-758-3p、miRNA-106b、miRNA-10b、miRNA-302、miRNA-145 都能与 ABCA1 靶向结合,在转录后水平抑制 ABCA1 的表达,调节细胞内的胆固醇流出^[19-23]。其中,miRNA-106b 在脑内分布比较丰富,通过介导 ABCA1 与载脂蛋白 E 结合,调控胆固醇的外流。

2.5 miRNA-27a/b 和 miRNA-613 miRNA-27a/b 和 miRNA-613 都可以负向调节 ABCA1 的翻译和表达。此外,miRNA-27a/b 还可以通过靶向沉默 PPAR γ 和 RXR 的表达,间接调控 ABCA1 的表达^[24-25]。miRNA-613 与 LXR α 的 3'UTR 结合,靶向抑制 LXR α 的表达,而在 PPAR γ 诱导的 THP-1 巨噬细胞中 miRNA-613 的表达下调^[26]。

胆固醇进入肝脏后主要以胆汁酸的形式分泌,此外,还可以直接作为胆汁的成分随胆汁分泌入小肠,其余的部分可作为甾体类激素的前体物质用于激素的合成。ABCG5/8 以异质二聚体的形式存在,促进胆固醇转变为胆汁酸。目前尚没有 miRNA 与胆固醇分解代谢的相关研究。

综上所述,多种 miRNA 参与调节人体内的胆固醇稳态平衡,这也为脂代谢紊乱的治疗提供了一个新的思路。2 型糖尿病患者往往伴发脂代谢障碍,主要表现为低密度脂蛋白-胆固醇水平升高,是心血管事件发生的独立危险因素。miRNA 在调节脂代谢的领域具有广泛的前景,能否通过调控 miRNA 的表达干预人体内的胆固醇水平,尚有待进一步的临床试验和研究。

参 考 文 献

- [1] Ono K, Horie T, Nishino T, et al. MicroRNAs and high-density lipoprotein cholesterol metabolism[J]. *Int Heart J*, 2015, 56(4): 365-371. DOI: 10.1536/ihj.15-019.
- [2] Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(8): 509-524. DOI: 10.1038/nrm3838.
- [3] Djuranovic S, Nahvi A, Green R. miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay[J]. *Science*, 2012, 336(6078): 237-240. DOI: 10.1126/science.1215691.
- [4] Norata GD, Sala F, Catapano AL, et al. MicroRNAs and lipoproteins: a connection beyond atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 227(2): 209-215. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.11.019.
- [5] Li M, Wang Q, Liu SA, et al. MicroRNA-185-5p mediates regulation of SREBP2 expression by hepatitis C virus core protein[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(15): 4517-4525. DOI: 10.3748/wjg.v21.i15.4517.
- [6] Wong HS, Jaumouillé V, Freeman SA, et al. Chemokine signaling enhances CD36 responsiveness toward oxidized low-density lipoproteins and accelerates foam cell formation[J]. *Cell Rep*, 2016, 14(12): 2859-2871. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.02.071.
- [7] Li BR, Xia LQ, Liu J, et al. miR-758-5p regulates cholesterol uptake via targeting the CD36 3'UTR[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494(1-2): 384-389. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.09.150.
- [8] Kostopoulou F, Malizos KN, Papatheanasiou I, et al. MicroRNA-33a regulates cholesterol synthesis and cholesterol efflux-related genes in osteoarthritic chondrocytes[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17: 42. DOI: 10.1186/s13075-015-0556-y.
- [9] Sun C, Huang F, Liu X, et al. miR-21 regulates triglyceride and cholesterol metabolism in non-alcoholic fatty liver disease by targeting HMGCR[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(3): 847-853. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2076.
- [10] Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection[J]. *Science*, 2010, 327(5962): 198-201. DOI: 10.1126/science.1178178.
- [11] Iliopoulos D, Drosatos K, Hiyama Y, et al. MicroRNA-370 controls the expression of microRNA-122 and Cpt1alpha and affects lipid metabolism[J]. *J Lipid Res*, 2010, 51(6): 1513-1523. DOI: 10.1194/jlr.M004812.
- [12] Westertorp M, Bochem AE, Yvan-Charvet L, et al. ATP-binding cassette transporters, atherosclerosis, and inflammation[J]. *Circ Res*, 2014, 114(1): 157-170. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300738.
- [13] Abdel-Razek O, Sadananda SN, Li X, et al. Increased prevalence of clinical and subclinical atherosclerosis in patients with damaging mutations in ABCA1 or APOA1[J]. *J Clin Lipidol*, 2018, 12(1): 116-121. DOI: 10.1016/j.jacl.2017.10.010.
- [14] Park Y, Pham TX, Lee J. Lipopolysaccharide represses the expression of ATP-binding cassette transporter G1 and scavenger receptor class B, type I in murine macrophages[J]. *Inflamm Res*, 2012, 61(5): 465-472. DOI: 10.1007/s00011-011-0433-3.
- [15] Stoeck IK, Lee JY, Tabata K, et al. Hepatitis C virus replication depends on endosomal cholesterol homeostasis[J]. *J Virol*, 2017, 92(1): pii: e01196-17. DOI: 10.1128/JVI.01196-17.
- [16] 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): 1592-1601. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.300626.
- [17] de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Kim T, et al. MicroRNA-144 regulates hepatic ATP binding cassette transporter A1 and plasma high-density lipoprotein after activation of the nuclear receptor farnesoid X receptor[J]. *Circ Res*, 2013, 112(12): 1602-1612. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.300648.
- [18] 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): 1472-1479. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.03.068.
- [19] Yao Y, Li Q, Gao P, et al. Glucagon-like peptide-1 contributes to increases ABCA1 expression by downregulating miR-758 to regulate cholesterol homeostasis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497(2): 652-658. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.126.
- [20] Kim J, Yoon H, Ramírez CM, et al. MiR-106b impairs cholesterol efflux and increases Aβ levels by repressing ABCA1 expression[J]. *Exp Neurol*, 2012, 235(2): 476-483. DOI: 10.1016/j.expneurol.2011.11.010.
- [21] 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. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.266502.
- [22] 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. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304878.
- [23] 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): 2724-2732. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.302004.
- [24] Li S, Li J, Fei BY, et al. MiR-27a promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation through suppression of its target gene peroxisome proliferator-activated receptor γ [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(7): 941-947. DOI: 10.4103/0366-6999.154302.
- [25] Yao Y, Xu Y, Wang W, et al. Glucagon-like peptide-1 improves β -cell dysfunction by suppressing the miR-27a-induced downregulation of ATP-binding cassette transporter A1[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 497-502. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.049.
- [26] Zhao R, Feng J, He G. miR-613 regulates cholesterol efflux by targeting LXR α and ABCA1 in PPAR γ activated THP-1 macrophages[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 448(3): 329-334. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.04.052.

(收稿日期: 2018-01-18)