

microRNAs——脂质代谢调控新机制*

陈五军^{1, 2)} 尹凯^{1, 3)} 赵国军^{1, 4)} 唐朝克^{1)**}

(¹⁾ 南华大学心血管病研究所, 动脉硬化湖南省重点实验室, 生命科学研究中心, 衡阳 421001; (²⁾ 南华大学药物药理研究所, 衡阳 421001;

(³⁾ 南华大学诊断学教研室, 衡阳 421001; (⁴⁾ 南华大学组织胚胎学教研室, 衡阳 421001)

摘要 综述了近年来 microRNAs, 尤其是 miR-33 在脂质代谢调控方面的功能研究进展。脂质代谢在细胞水平进行有规律的调控, 主要参与者有肝 X 受体(LXRs)和固醇调节元件结合蛋白(SREBPs)等。最近研究发现, 非编码 RNAs 家族成员 microRNAs 在转录后水平调节脂质代谢相关基因表达, 参与胆固醇、甘油三酯和脂肪酸代谢。其中 miR-33 可靶向沉默三磷酸腺苷结合盒(ABC)转运体家族成员 ABCA1 和 ABCG1, 抑制胆固醇流出和高密度脂蛋白(HDL)合成; 通过靶向沉默脂肪酸 β -氧化相关基因, 如 CPT1A、CROT 和 HADHB 表达, 抑制脂肪酸氧化; 还可沉默 AMPK 和 RIP140 的表达, 影响甘油三酯代谢。其他 microRNAs 如 miR-122、miR-370、miR-125a-5p、miR-27、miR-320 等, 也参与调控胆固醇、甘油三酯、脂肪酸代谢及脂肪细胞分化。

关键词 microRNAs, 胆固醇稳态, 脂肪酸氧化, HDL, 甘油三酯代谢

学科分类号 R363

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00072

脂质代谢紊乱, 如胆固醇内稳态失调和脂肪酸过氧化等, 可引起动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)、代谢综合症、肥胖症、II 型糖尿病、冠心病、阿尔茨海默症和脂肪肝等多种代谢相关疾病, 严重威胁人类健康, 尤其在发展中国家, 其发病率正逐年升高, 已成为世界首位人口死亡原因之一^[1]。

microRNA 是一类内生性的、长约 22 个核苷酸、进化上高度保守的单链成熟非编码 RNA, 通常与靶标 mRNA 的 3'非编码区(untranslated region, UTR)互补结合, 在转录后水平直接降解靶标 mRNA 或抑制蛋白质翻译^[2-3]。研究表明, microRNA 参与调控脂质代谢及炎症因子表达, 介导 As 的形成, 其在胆固醇代谢, 尤其是胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)方面的重要作用直到最近才被发现。本文针对 microRNAs 在脂质代谢调控方面尤其是 miR-33 的最新进展做一综述, 以期推动 microRNA 在脂质代谢学方面的应用研究。

1 细胞内的胆固醇和脂肪酸代谢

脂质主要包括甘油三酯、胆固醇和脂肪酸等,

其中胆固醇是脊椎动物细胞膜和血浆脂蛋白的重要组成部分, 调控膜的流动性和通透性, 也是类固醇激素、胆汁酸和维生素 D 的前体物质, 还可以与脂肪酸结合生成酯。大部分的胆固醇主要在肝脏用于合成胆汁酸而被代谢, 少部分经肠道内细菌作用转变为粪固醇随粪便排出体外^[4]。

细胞内的胆固醇主要在胞内生物合成、胞外摄取及胆固醇流出作用下维持动态平衡。当细胞内的胆固醇蓄积过多时, 可刺激肝 X 受体(liver X receptor, LXR)表达上调, 同时抑制固醇调节元件结合蛋白(sterol-regulatory element binding protein, SREBP), 以维持细胞内的胆固醇稳态。LXR 一方面通过激活下游靶基因三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)和三磷酸腺苷结合盒转运体 G1(ATP binding cassette

* 国家自然科学基金资助项目(81070220)和湖南省自然科学基金衡阳联合基金资助项目(10JJ9019)。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8281853, E-mail: tchaoke@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-02-21, 接受日期: 2011-04-19

transporter G, ABCG1)等转运体基因的表达, 促进胆固醇流出及高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)生成^[4-5], 另一方面激活 LXR-IDOL 途径, 抑制低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)等介导的胆固醇内吞^[6], 同时 LXR 还可直接沉默两种胆固醇合成相关酶: 法尼基二磷酸法尼基转移酶 1 (farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1, FDFT1)和羊毛甾醇 14 α -脱甲基酶(lanosterol 14 α -demethylase, CYP51A1)的表达, 抑制胆固醇合成^[7].

SREBP 裂解激活蛋白(security content automation protocol, SCAP)是 SREBPs 的开关基因. 当细胞内

的固醇低于基线水平时, 固醇结合 SCAP, 释放 SREBPs. SREBPs 一方面刺激 LDLR 表达, 促进胞外胆固醇摄取, 另一方面刺激羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, HMGCR)表达, 促进胞内胆固醇合成^[8]. 研究表明, LXR 可刺激 SREBP-1c 表达, 使脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FASN)、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)等表达上调, 促进脂肪酸和甘油三酯合成^[8-9], SREBP-2 也可通过促进 LXR 氧化固醇配基产生, 从而对 ABCA1 进行正性调控^[10], SREBPs 与 LXRs 一起维持细胞内脂质稳态(图 1).

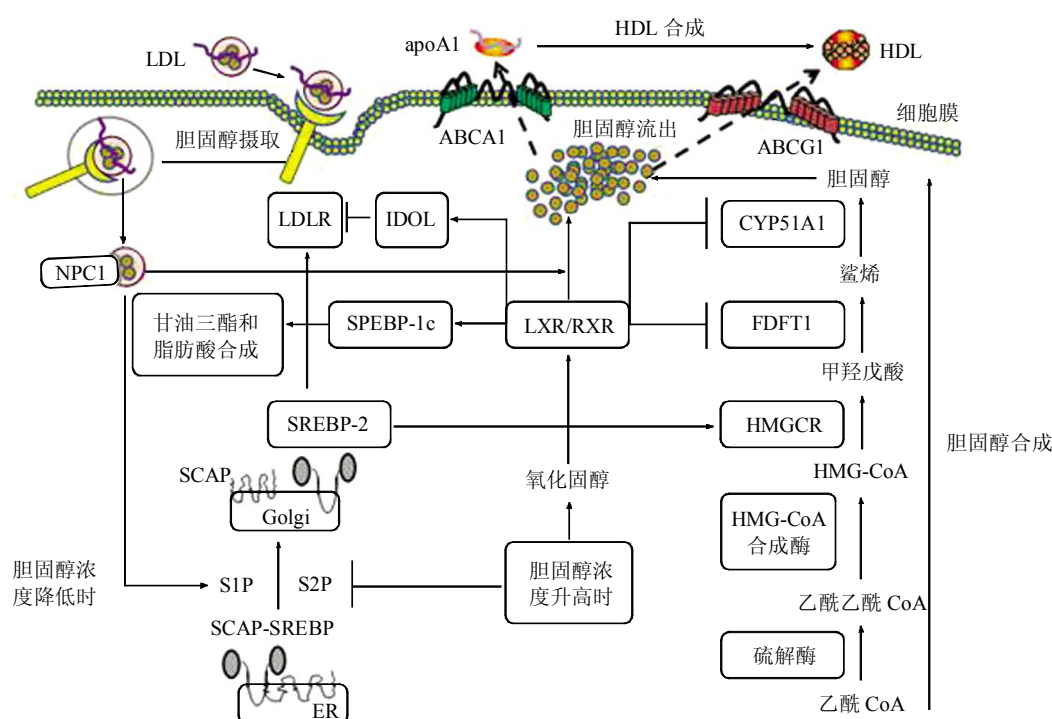


Fig. 1 Regulation of cellular cholesterol and fatty acid metabolism

图 1 胆固醇和脂肪酸代谢示意图

→: 促进作用, ⊥: 抑制作用, LDL: 低密度脂蛋白, apoA-I: 载脂蛋白 A-I, HDL: 高密度脂蛋白, ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1, ABCG1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 G1, LDLR: 低密度脂蛋白受体, IDOL: 诱导型低密度脂蛋白受体降解蛋白, CYP51A1: 羊毛甾醇 14 α -脱甲基酶, NPC1: C 型 1 类尼曼-匹克蛋白, SREBP: 固醇调节元件结合蛋白, LXR: 肝 X 受体, RXR: 视黄醇 X 受体, FDFT1: 法尼基二磷酸法尼基转移酶 1, HMGCR: 羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶, SCAP: 固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白, Golgi: 高尔基体, S1P: 位点 1 蛋白酶, S2P: 位点 2 蛋白酶, ER: 内质网.

2 microRNA 的生物合成与作用机制

microRNAs 在基因组水平大都定位于基因间区域, 也有少部分位于蛋白质编码基因的内含子或

外显子区域^[11]. 细胞核内的 microRNA 先经 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, pol II) 转录产生具有 5' 帽子结构和 3' polyA 的 pri-miRNA^[12], 接着由 RNase III 家族的 Drosha 联合 RNA 结合蛋白

DGCR8/Pasha 及一些辅助因子 (TRBP2、PACT、DEAD 盒解旋酶 p68、DEAD 盒解旋酶 p72 和一些核内核糖核蛋白等)^[13-14], 将 pri-miRNA 加工成长约 70~100nt 具有茎环结构的发夹形前体——pre-miRNA, 然后在转运蛋白 Exportin-5 帮助下经 Ran-GTP-dependent 转运至胞浆^[14-15]. 在细胞浆中, pre-miRNA 经同属 RNase III 家族的 Dicer 或 Ago 蛋白家族的 Ago2 调节蛋白加工修饰, 形成长约 22nt 的 microRNA 双链体(miRNA:miRNA*), Dicer 和

Ago2 继续将双链体剪切成成熟的单链 (guide strand 或 miRNA) 和互补链 (passenger strand 或 microRNA*). 两条链的去向有别, 其中 miRNA 与 Ago 蛋白家族及 GW182/ TNRC6 等其他众多蛋白质组合形成 RNA 诱导的核糖核蛋白沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC), miRNA* 分子因动力学不稳定, 可能由核酸酶或 Ago2 本身的剪切活性所降解^[14-16] (图 2).

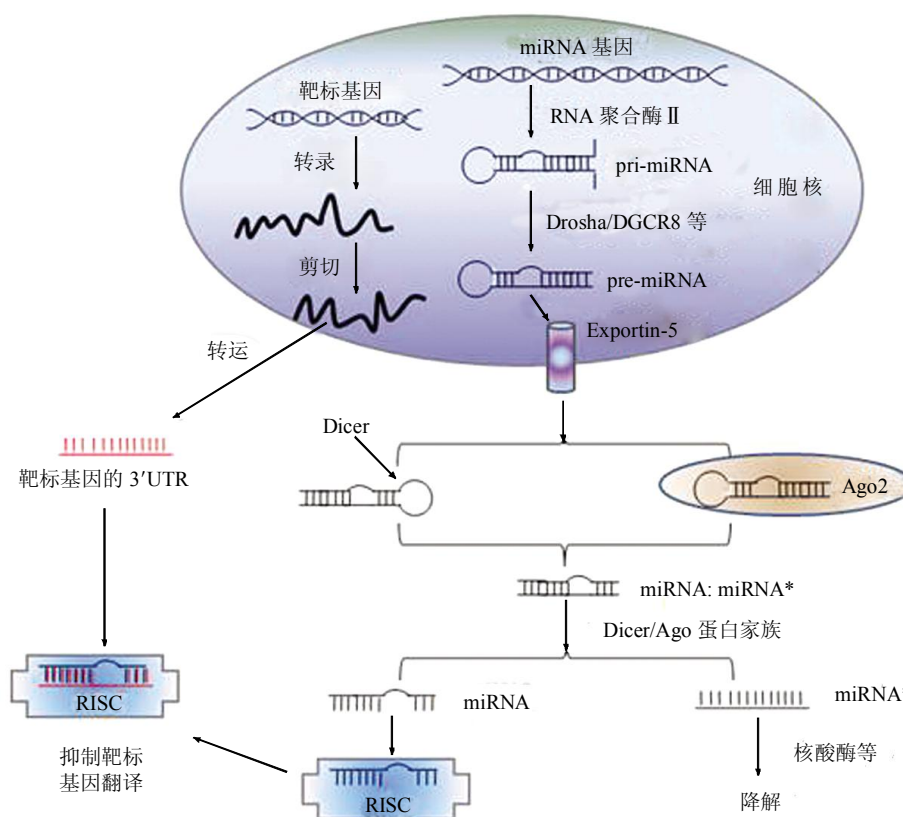


Fig. 2 microRNA biogenesis and negative function

图 2 microRNA 的合成和负调控作用机制

成熟的 microRNA 通过 Watson-Crick 碱基配对交互作用引导 RISC 特异识别并结合靶标 mRNA 的 3' UTR^[16]、5' UTR 或编码蛋白外显子区域^[17-20], 在转录后水平实现对靶基因的表达调控, 其靶结合位点的多样性提示发现新靶标 mRNA 极其困难, 有待分子生物学及靶标预测系统的完善. microRNA 的负调控机制与靶标 mRNA 的 3' UTR 互补程度密切相关, 主要分三种: 第一种两者完全或近乎完全互补, 直接降解靶标 mRNA; 第二种

允许一定的错配, 起封闭靶标 mRNA, 抑制蛋白质翻译的作用^[17]; 第三种比较特殊, 两种方式共同发挥作用^[21]. 有学者发现 microRNA 与靶标 mRNA 的 5' UTR 相结合可活化蛋白质翻译^[18-19, 22], 也发现这一正调控机制与富含腺嘌呤/尿嘧啶序列(AU rich element, ARE)有关^[23-26], 具体机制还不清楚. ARE 序列是一种 mRNA 不稳定元件, 位于 mRNA 的非编码区, 严重影响宿主 mRNA 的稳定性^[26].

3 microRNAs 与脂质代谢

3.1 miR-33——脂质代谢调控的重要元件

3.1.1 miR-33 与宿主基因 SREBPs.

miR-33 包括 miR-33a 和 miR-33b 两个亚基, 位于 SREBPs 内含子区域, 属于内含子 microRNA. miR-33a 定位于 SREBP-2 的 16 号内含子区域, 其宿主基因控制着细胞内的胆固醇合成和摄取^[27]; miR-33b 定位于 SREBP-1c 的 17 号内含子区域, 其宿主基因可选择性调控脂肪酸和甘油三酯合成^[28]. Rayner 等^[29]和 Najafi 等^[30]分别在细胞水平发

现, miR-33a 与其宿主基因 SREBP-2 共转录, 且与胆固醇水平和 ABCA1 表达负相关, 他们在 C57BL6 小鼠、LDLR^{-/-}鼠和 apoE^{-/-}鼠中也发现类似的现象. Horie 等^[31]发现, 激活 SREBP-2 后, miR-33a 表达显著上调, 提示 miR-33a 与其宿主基因 SREBP-2 共转录, 并且受饮食中的胆固醇水平调节. 从哺乳动物到果蝇属, miR-33a 的基因序列和位点高度保守, 提示这种 microRNA 在物种进化上可能发挥重要作用, 进一步研究发现 miR-33a 在胆固醇稳态、脂肪酸氧化、甘油三酯代谢方面发挥重要作用^[32-34] (图 3).

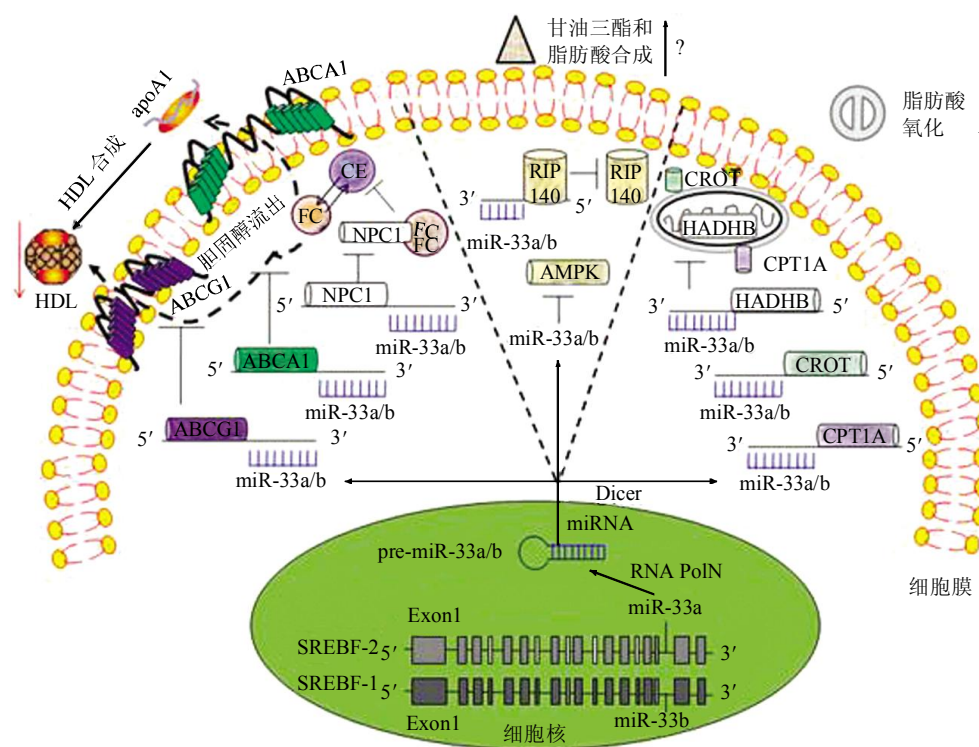


Fig. 3 miR-33 regulate lipid metabolism

图 3 miR-33 调控脂质代谢示意图

CE: 胆固醇酯, FC: 游离胆固醇, apoA-I: 载脂蛋白 A-I, HDL: 高密度脂蛋白, NPC1: C 型 1 类尼曼-匹克蛋白, ABCA1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1, ABCG1: 三磷酸腺苷结合盒转运体 G1, RIP140: 受体相互作用蛋白 140, AMPK: 磷酸腺苷(AMP)激活的蛋白激酶, CROT: 肉碱 O 辛基转移酶, HADHB: 羟烷基辅酶 A 脱氢酶, CPT1A: 肉毒碱棕榈酰转移酶 I, Exon: 外显子, SREBPF 是 SREBP 的编码基因.

miR-33 的另一个亚基 miR-33b, 与 miR-33a 高度同源, 在种子区域外仅有两个核苷酸不同, 两者有许多重叠交错的靶基因, 如 ABCA1、ABCG1 等, 提示 miR-33b 在胆固醇稳态、脂肪酸氧化、甘油三酯合成方面也发挥重要作用, 但低等哺乳动物

(如鼠类)的 miR-33b 缺乏保守性, 如何选择合适的实验动物模型成为下一步研究的重点.

3.1.2 miR-33a 与胆固醇流出.

miR-33a 与 ABCA1 3' UTR 有 3 个高度保守结合位点, 突变任何一个位点, ABCA1 表达上调,

细胞内的胆固醇流出增加, 提示 miR-33a 可沉默 ABCA1 表达^[29-30]. ABCA1 是一种整合膜蛋白, 以 ATP 为能源促进细胞内游离胆固醇和磷脂结合到细胞膜表面贫脂的载脂蛋白 A- I (apolipoprotein A- I, apoA- I), 在 RCT 和 HDL 生成的起始过程中起关键作用, 被称为 RCT 的守门人^[4-5, 10]. 我们的研究显示 ABCA1 在巨噬细胞胆固醇流出过程中发挥重要作用^[35-36]. 在细胞中 miR-33a 靶向结合 ABCA1, 沉默其表达, 抑制 apoA- I 介导的胆固醇流出, 而用反义寡核苷酸干扰 miR-33a 后则出现相反的结果^[32-33].

研究发现, 促进胆固醇流出并形成 HDL 的 ABCG1 也是 miR-33a 的靶标基因, 在大鼠巨噬细胞和肝细胞中, miR-33a 抑制 ABCG1 表达, 减少 HDL 介导的胆固醇流出^[29-30]. ABCG1 主要促进胆固醇从细胞内流出至 HDL-2、HDL-3、成熟 HDL 及其他富脂载脂蛋白, 也包括细胞膜表面非特异性胆固醇受体环糊精, 但不包括 apoA- I^[37]. 我们的研究显示 ABCG1 与 ABCA1 在介导胆固醇流出和 HDL 生成中起协同作用^[38-39].

3.1.3 miR-33a 与胆固醇合成.

C 型 1 类尼曼 - 匹克蛋白 (Niemann-Pick C1 protein, NPC1) 是晚期胞内体 (late endosome, LE)/溶酶体 (lysosome, LSS) 中一个含有固醇感受区域的跨膜糖蛋白^[40-41], 在 SREBP 信号通路中可把 LDL 胆固醇转运到内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 中, 经胆固醇酰基转移酶 (Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase, ACAT) 酯化和被 SCAP 感知, 来调节胆固醇合成^[42]. 同时 NPC1 还可将胆固醇转运至线粒体, 通过刺激固醇 27- 羟化酶 (sterol 27-hydroxylase, CYP27) 表达, 并产生 LXR 天然配体 27- 羟基胆固醇, 进而促进胆固醇流出^[40]. 我们的研究显示 NPC1 与 ABCA1 功能相协调, 促进细胞内的胆固醇流出^[41, 43]. 研究发现, NPC1 也是 miR-33a 的靶标基因^[32-33], 提示当细胞内的胆固醇低于基线水平时, miR-33a 抑制 NPC1 表达, 一方面促使 ER 内的固醇减少, 并释放 SREBP-2, 促进内源性胆固醇合成和胞外摄取, 另一方面抑制 LXR 天然配体 27- 羟基胆固醇, 减少胆固醇流出, 促使细胞内的胆固醇维持动态平衡.

HMGCR 是胆固醇生物合成的限速酶, 生物信息学显示 HMGCR 与 miR-33 也存在结合位点. Rayner 等^[29]发现, miR-33a 与 HMGCR 表达水平呈正相关, 将 miR-33a 转染小鼠体内, 发现 SREBP-2

表达下调, 而其下游靶基因 HMGCR 表达上调, 拮抗剂组则出现相反的变化, ARE 分子数据库 ARED^[26]显示 HMGCR 序列上存在大量 ARE 元件, 提示 miR-33 可能激活 HMGCR, 其具体机制有待进一步探讨.

3.1.4 miR-33 与血浆 HDL 水平.

ABCA1 和 ABCG1 除参与细胞内胆固醇转运外还参与了肝脏内 HDL 合成, 提示 miR-33 对血浆 HDL 水平调控具有重要意义. 研究发现拮抗内源性的 miR-33a 表达后, 小鼠血浆 HDL 水平明显上升^[28, 32-33]. Marquart 等^[27]抑制 miR-33a 表达后, 发现小鼠 ABCA1 表达水平上调 50%, 血浆 HDL 水平上升 25%. Rayner 等^[29]用抗 miR-33a 的慢病毒投递, 拮抗其表达, 发现小鼠血浆 HDL 水平上升约 25%. Najafi 等^[30]在高脂膳食的小鼠动物模型中, 发现 miR-33a 表达水平极低, 但他们利用锁定 miR-33a 的特定核苷酸处理动物后, 依然发现血浆 HDL 水平上调约 35%. Horie 等^[31]用合成抑制剂拮抗 miR-33a, 同样证明了被处理动物血浆 HDL 水平显著上调, 他们还发现 miR-33a^{-/-}鼠中也存在大量的 HDL 颗粒, 提示 miR-33a 沉默 ABCA1 和 ABCG1 的表达作用可能在多种组织细胞中起作用, 进而调控血浆 HDL 水平.

早先研究表明, 胰岛素可降低血浆中的 HDL 水平, 但其具体机制尚未明了. 在肝细胞中, 胰岛素和 LXR 一起刺激 SREBP-1c 转录, 促进脂肪酸和甘油三酯合成^[29], 提示 miR-33b 可能一方面沉默 ABCA1 表达, 抑制 apoA- I 介导的胆固醇流出和新生的 HDL 生成, 另一面沉默 ABCG1 表达, 抑制 HDL 介导的胆固醇流出和成熟 HDL 形成, 进而降低血浆中的 HDL 水平, 引起以血浆甘油三酯和极低密度脂蛋白 (very low-density lipoprotein, VLDL) 水平增加为主要特征的代谢综合征.

3.1.5 miR-33 与脂肪酸 β - 氧化.

SREBPs 不仅调控胆固醇合成, 同时介导脂肪酸及磷脂合成. Gerin 等^[44]研究发现 miR-33 可靶向沉默脂肪酸 β - 氧化相关基因, 如肉毒碱棕榈酰转移酶 I (carnitine palmitoyl transferase 1A, CPT1A)、肉碱 O 辛基转移酶 (carnitine O-octanoyltransferase, CROT) 和羟烷基辅酶 A 脱氢酶 B (hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase/3-ketoacyl-Coenzyme A thiolase/enoyl-Coenzyme A hydratase β -subunit, HADHB) 的表达. CPT1A 位于线粒体外膜上, 是脂肪酸 β - 氧化的限速酶, 可耦合脂酰肉碱辅酶 A,

将中链脂肪酸和长链脂肪酸转入线粒体进行 β 氧化, CROT是一种过氧化物酶, 可以偶联短链脂肪酸转化为肉毒箭进入线粒体基质, 联合CPT1A发挥脂肪酸氧化作用, HADHB又称线粒体三功能蛋白, 其编码的 β 亚基在脂肪酸 β 氧化中发挥重要作用^[33, 44]. 研究者在miR-33a过表达细胞中, 发现HADHB和CPT1A表达水平下调, 脂肪酸 β 氧化受抑制, CROT表达水平也受抑制, 但脂肪酸 β 氧化并不受影响, 具体机制还不清楚. 生物信息学显示鞘氨醇1磷酸酯受体1(S1P receptor 1, S1PR1)也是miR-33a的靶基因, 其接受者S1P与SREBPs及磷脂代谢密切相关, 提示miR-33a可能通过S1PR1调控磷脂代谢.

黑腹果蝇是胆固醇营养缺陷体, 不能合成胆固醇, 其SREBPs仅对棕榈酸酯和磷脂敏感. 生物信息学显示miR-33a与其ABCA1并无结合位点, 而与CPT1A有结合位点且高度保守, 提示黑腹果蝇中的脂质主要经脂肪酸氧化进行降解. 荧光素酶报告基因显示miR-33a可抑制黑腹果蝇CPT1A活性, 进一步明确CPT1A是miR-33a的靶标基因^[44].

miR-33的另一个家族miR-33b是否在脂肪酸 β 氧化中起作用, 目前尚不清楚. 当细胞内的脂肪酸 β 氧化减少时, 胰岛素大量分泌并诱导SREBP-1c表达, miR-33b与其宿主基因SREBP-1c共同转录, 促进脂肪酸合成^[29, 33, 44]. miR-33b与miR-33a仅有两个核苷酸不同, 且这两个核苷酸并不影响与CPT1A、CROT、HADHB的靶结合活性, 提示其可能抑制脂肪酸氧化.

3.1.6 miR-33与甘油三酯合成.

Najafi等^[34]发现miR-33可沉默磷酸腺苷(AMP)激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK). AMPK是一种在细胞内行使能量代谢调节的蛋白激酶, 能够促进脂肪酸 β -氧化和酮的生成, 并可负调控SREBP-1c的表达, 抑制脂肪酸和甘油三酯的合成, 提示miR-33可能通过AMPK促进脂肪酸和甘油三酯的合成, 抑制脂肪酸 β -氧化和酮的生成, 值得注意的是, 生物信息学显示, AMPK的3' UTR与miR-33并无靶向结合基础, 我们推测下一步的研究重点应侧重于AMPK的5' UTR或编码蛋白外显子区域与miR-33是否存在靶向结合基础, 或者是否可通过miR-33种子区域外的11~12个连续的碱基配对来替代种子序列配对^[45], 进而发挥相应的生物学作用. Ho等^[46]研究发现miR-33可靶向沉默受体相互作用蛋白140

(receptor-interacting protein 140, RIP140), 抑制IL-1 β 和TNF- α 等炎症因子的释放. RIP140是一种转录辅抑制因子, 可激活NF- κ B信号通路, 调控炎症因子的表达, 还可以通过与多种核受体结合负向调节靶基因的转录, 如与LXR结合可负调控SREBP-1c、SCD-1等基因, 抑制甘油三酯和脂肪酸的合成, 若被募集到过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptors, PPARs)上, 可调节相关靶基因的转录, 抑制脂肪酸的摄取和氧化^[46-47]. 基因沉默RIP140后, 甘油三酯合成、三羧酸循环、脂肪酸氧化等代谢过程失调, 提示miR-33可能通过RIP140影响多种代谢途径相关基因的表达, 进而调控相关的代谢过程, 其具体机制有待进一步探讨.

众多研究提示, miR-33是脂质代谢调控的重要元件, 它有效地将LXRs和SREBPs联系起来, 为我们探索复杂的调控机制提供了保障, 但其与IDOL介导的低密度脂蛋白受体家族泛素化及降解机制存在着怎样的联系、miR-33激活靶基因的机制以及各调控通路间存在着怎样的联系还不清楚.

3.2 其他microRNAs与脂质代谢

其他microRNA如miR-122被认为是脂质代谢调控的广泛元件. 研究发现, miR-122占肝内microRNA总量的70%, 特异性高表达于肝脏, 能够促进胆固醇和脂肪酸合成, 抑制胆汁酸和脂肪酸氧化等^[32-33, 44, 48], 提示miR-122在脂质代谢调控中发挥广泛作用. 然而生物信息学显示miR-122与其相关基因的3' UTR并无结合位点, 提示其作用环节存在复杂性和多样性. 我们推测, miR-122可能与脂质代谢相关基因的5' UTR或编码蛋白外显子区域有结合位点, 或者通过种子区域外的11~12个连续的碱基配对来替代种子序列配对, 亦或者通过胆汁酸旁路、激素合成等途径影响脂质代谢, 还有可能通过其他microRNA间接调控脂质代谢.

Iliopoulos等^[49]研究发现miR-370可通过miR-122调节脂质代谢相关基因表达, 促进脂肪酸和甘油三酯生物合成. 此外, 他们还发现miR-370可靶向沉默CPT1A表达, 抑制脂肪酸氧化. 有趣的是, miR-122也可沉默CPT1A表达, 但CPT1A并不是miR-122靶标基因, 提示miR-122和miR-370之间存在相互调节的作用. Chen等^[50]研究发现, miR-125a-5p负调控ox-LDL孵育的单核巨噬细胞脂质摄取和炎症因子表达, 起到稳定斑块、抑制As发生发展的作用, 进一步研究发现, miR-125a-5p

明显下调氧化固醇结合蛋白(oxysterol binding protein, OSBP)家族成员之一 ORP9, 提示 miR-125a-5p 负调控脂质摄取, 可能与 miR-125a-5p 沉默 ORP9, 抑制 ORP9 介导的脂质代谢和固醇转运有关, 其具体机制有待进一步探讨. Bowden 等^[51]发现, OSBP 负调控 ABCA1 蛋白水平, 抑制胆固醇流出和 HDL 生成, 提示 miR-125a-5p 可能通过 OSBP 间接影响 ABCA1、ABCG1 等表达, 进而调控胆固醇流出和 HDL 生成. 最近研究显示 miR-27a/b 可靶向沉默过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor, PPAR γ)和视黄醇类核内受体 α (retinoid X receptor- α , RXR α), 抑制脂肪细胞分化^[52-55]. PPAR γ 和 RXR α 可以相互作用形成异二聚体促进 ABCA1 和 ABCG1 表达, 同时还可单独促进 ABCA1 和 ABCG1 表达^[37, 56]. 我们的研究显示 PPAR 在促进 HDL 介导的胆固醇流出中发挥重要作用^[57]. 生物信息学显示, miR-27a/b 与 ABCA1 有结合位点, 提示 miR-27a/b 可能靶向结合 ABCA1, 沉默其表达, 直接调控胆固醇流出和 HDL 生成, 至少可以通过沉默 PPAR γ 和 RXR α , 间接影响 ABCA1 和 ABCG1 等的表达, 进而调控胆固醇流出和 HDL 合成. 我们研究发现 miR-320 在胰岛素抵抗状态下的脂肪细胞中表达上调^[58], 提示 miR-320 可能参与调控脂肪代谢, 具体机制有待深入探讨.

4 问题与展望

尽管脂质代谢中部分 microRNA 的调控功能已经得到证实, 但其在胆固醇代谢尤其是 RCT 方面的应用研究尚处于起步阶段, 仍有大量的 microRNA 功能未知, 其调控的 RCT 可能成为脂质组学中的研究热点. 目前对脂质代谢调控 microRNA 的研究还只是冰山一角, 还有许多问题亟待解决. 如: 如何提高 microRNA 及反义寡核苷酸在实验过程中的转染效率? 表达失调的 microRNA 如何参与脂质代谢, 机制如何, 哪些发挥关键作用? 是否调控高密度脂蛋白受体家族、低密度脂蛋白受体家族、Toll 样受体家族、小凹蛋白家族、载脂蛋白家族、脂质转运蛋白家族、类固醇激素合成等途径, 机制如何? 还有哪些 microRNA 参与调控核受体家族、清道夫受体家族、OSBP 家族、胆汁酸旁路、胆固醇逆向转运、脂肪酸合成和氧化、甘油三酯代谢等途径, 机制如何, 它们之间又存在着怎样的联系? 调控一个基因的 microRNA 间参与哪

些相同的或不同的调控通路, 机制如何? 其介导的负调控机制与 ARE 序列介导的不稳定机制及泛素蛋白酶介导的泛素化及降解机制存在怎样的联系? microRNA 自身又是如何被调节的, 是否可以治疗疾病, 其路程还有多远? 是否大量存在激活靶标 mRNA 和去抑制作用, 机制如何? 对于这些问题的研究将为我们全新了解脂质代谢紊乱及其致病机制提供有益的借鉴作用.

microRNAs 是后基因组时代的前沿科学问题, 推动其在脂质代谢学方面的应用研究将为我们重新认识脂质代谢提供新的视角. 随着研究的深入, 我们必将更加全面、更加准确地了解这种复杂的基因调控网络, 并最终为 As 等心脑血管疾病的临床诊断、预防和治疗提供新的策略和药物靶点.

参 考 文 献

- [1] 廖端芳, 唐朝克. 胆固醇逆向转运基础与临床. 北京: 科技出版社. 2009: 1-26
Liao D F, Tang C K. Reverse Cholesterol Transport Bases and Clinics. Beijing: Science Press, 2009: 1-26
- [2] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, **136**(2): 215-233
- [3] 庞剑会, 任长虹, 李稚锋, 等. 动物体内 microRNAs 与转录因子及剪接因子之间的相互调控. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(2): 151-156
Pang J H, Ren C H, Li Z F, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(2): 151-156
- [4] 周寿红, 杨旭红, 吴树金, 等. 对氧磷降低 RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞 ABCA1 表达和胆固醇流出. *生物化学与生物物理进展*, 2010, **37**(2): 190-199
Zhou T H, Yang X H, Wu S J, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(2): 190-199
- [5] Yin K, Liao D, Tang C K. ATP-binding membrane cassette transporter A1 (ABCA1): A possible link between inflammation and reverse cholesterol transport. *Mol Med*. 2010, **16** (9-10): 438-449
- [6] Zelcer N, Hong C, Boyadjan R, *et al.* LXR regulates cholesterol uptake through idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science*, 2009, **325**(5936): 100-104
- [7] Wang Y, Rogers P M, Su C, *et al.* Regulation of cholesterologenesis by the oxysterol receptor, LXR α . *J Biol Chem*, 2008, **283**(39): 26332-26339
- [8] Horton J D, Goldstein J L, Brown M S, *et al.* SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest*, 2002, **109**(9): 1125-1131
- [9] Repa J J, Liang G, Ou J, *et al.* Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene(SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXR α and LXR β . *Genes Dev*, 2000, **14**(2): 2819-2830
- [10] 胡炎伟, 唐朝克. 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 研究的最新进展. *生物化学与生物物理进展*, 2008, **35**(4): 373-379

- Hu Y W, Tang C K. *Prog Biochem Biophys*, 2008, **35**(5): 373–379
- [11] 黄文涛, 郭向前, 戴甲培, 等. MicroRNA, lncRNA 与神经退行性疾病. *生物化学与生物物理学进展*, 2010, **37**(8): 826–833
- Huang W T, Guo X Q, Dai J P, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(8): 826–833
- [12] Friedman R C, Farth K K, Burge C B, *et al.* Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 2009, **19**(1): 92–105
- [13] Lee Y, Ahn C, Han J, *et al.* The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, **425**(6956): 415–419
- [14] Kim V N, Han J, Siomi M C, *et al.* Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, **10**(2): 126–139
- [15] Cifuentes D, Xue H, Taylor D W, *et al.* A novel miRNA processing pathway independent of Dicer requires Argonaute2 catalytic activity. *Science*, 2010, **328**(5986): 1694–1698
- [16] 付 聪, 林 魁. miRNA 与其靶 mRNA 的相互作用: 绑定位点的质量与数量特征的整合计算分析. *生物化学与生物物理学进展*, 2009, **36**(5): 608–615
- Fu C, Lin K. *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(5): 608–615
- [17] Forman J J, Collier H A. The code within the code: MicroRNAs target coding regions. *Cell Cycle*, 2010, **9**(8): 1533–1541
- [18] Orom U A, Nielsen F C, Lund A H, *et al.* MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. *Mol Cell*, 2008, **30**(4): 460–471
- [19] Lytle J R, Yario T A, Steitz J A, *et al.* Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3'UTR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(23): 9667–9672
- [20] Rigoutsos I. New tricks for animal microRNAs: targeting of amino acid coding regions at conserved and nonconserved sites. *Cancer Res*, 2009, **69**(8): 3245–3248
- [21] Liu J. Control of protein synthesis and mRNA degradation by microRNAs. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, **20**(2): 214–221
- [22] Jopling C L, Yi M, Lancaster A M, *et al.* Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA. *Science*, 2005, **309**(5740): 1577–1581
- [23] Vasudevan S, Tong Y, Steitz J A. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*, 2007, **318**(5858): 1931–1934
- [24] Vasudevan S, Steitz J A. AU-rich-element-mediated up regulation of translation by FXR1 and Argonaute2. *Cell*, 2007, **128**(6): 1105–1118
- [25] Vasudevan S, Tong Y, Steitz J A. Cell-cycle control of microRNA-mediated translation regulation. *Cell Cycle*, 2008, **7**(11): 1545–1549
- [26] von Roretz C, Gallouzi I E. Decoding ARE-mediated decay: is microRNA part of the equation?. *J Cell Biol*, 2008, **181**(2): 189–194
- [27] Marquart T J, Allen R M, Ory D S, *et al.* miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(27): 12228–12232
- [28] Michael S, Brown, Jin Ye, *et al.* Goldstein.HDL miR-ed Down by SREBP Introns. *Science*, 2010, **328**(5985): 1495–1496
- [29] Rayner K J, Suárez Y, Dávalos A, *et al.* MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science*, 2010, **328**(5985): 1570–1573
- [30] Najafi-Shoushtari S H, Kristo F, Li Y, *et al.* MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis. *Science*, 2010, **328**(5985): 1566–1569
- [31] Horie T, Ono K, Horiguchi M, *et al.* MicroRNA-33 encoded by an intron of sterol regulatory element-binding protein 2 (Srebp2) regulates HDL *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(40): 17321–17326
- [32] Moore K J, Rayner K J, Suárez Y, *et al.* microRNAs and cholesterol metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, **21**(12): 699–706
- [33] Fernández-Hernando C, Suárez Y, Rayner K J, *et al.* MicroRNAs in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*, 2011, **22**(2): 86–92
- [34] Najafi-Shoushtari S H. MicroRNAs in cardiometabolic disease. *curr atheroscler rep*, 2011, **13**(3): 202–207
- [35] Hu Y W, Ma X, Li X X, *et al.* Eicosapentaenoic acid reduces ABCA1 serine phosphorylation and impairs ABCA1-dependent cholesterol efflux through cyclic AMP/protein kinase A signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Atherosclerosis*. 2009, **204**(2): e35–e43
- [36] Liu X H, Xiao J, Mo Z C, *et al.* Contribution of D4-F to ABCA1 expression and cholesterol efflux in THP-1 macrophage-derived foam cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, **56**(3): 309–319
- [37] 刘协红, 唐朝克. 三磷酸腺苷结合盒转运体 G1 的研究进展. *生理科学进展*, 2009, **40**(3): 229–233
- Liu X H, Tang C K. *Prog Physiol Sci*, 2009, **40**(3): 229–233
- [38] Chen S G, Xiao J, Liu X H, *et al.* Ibrilipim increases ABCA1/G1 expression by the LXR α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cell. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, **31**(10): 1343–1349
- [39] Hu Y W, Wang Q, Ma X, *et al.* TGF- β 1 Up-regulates expression of ABCA1, ABCG1 and SR-BI through Liver X receptor alpha signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *J Atheroscler Thromb*, 2010, **17**(5): 493–502
- [40] 李晓旭, 唐朝克. ABCA1 与 NPC1 在细胞内胆固醇转运中的作用. *生命的化学*, 2008, **28**(5): 633–636
- Li X Y, Tang C K. *Chemistry of Life*, 2008, **28**(5): 633–636
- [41] 欧 翔, 代小艳, 龙治峰, 等. 肝 X 受体激动剂通过上调 NPC1 基因的表达减轻 apoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化病变程度. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2008, **38**(4): 356–367
- Ou X, Dai X Y, Long Z F, *et al.* *Sci China C Life Sci*, 2008, **38**(4): 356–367
- [42] Jelinek D, Patrick S M, Kitt K N, *et al.* Physiological and coordinate downregulation of the NPC1 and NPC2 genes are associated with the sequestration of LDL-derived cholesterol within endocytic compartments. *J Cell Biochem*, 2009, **108**(5): 1102–1116
- [43] Dai X Y, Ou X, Hao X R, *et al.* The effect of T0901317 on ATP-binding cassette transporter A1 and niemann-pick type C1 in apoE^{-/-} mice. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, **51**(5): 467–475
- [44] Gerin I, Clerbaux L A, Haumont O, *et al.* Expression of miR-33 from an SREBP2 intron inhibits cholesterol export and fatty acid oxidation. *J Biol Chem*, 2010, **285**(44): 33652–33661

- [45] Shin C, Nam J W, Farh K K, *et al.* Expanding the microRNA targeting code: functional sites with centered pairing. *Mol Cell*, 2010, **38**(6): 789–802
- [46] Ho P C, Chang K C, Chuang Y S, *et al.* Cholesterol regulation of receptor-interacting protein 140 *via* microRNA-33 in inflammatory cytokine production. *FASEB J*, 2011, **25**(5): 1758–1766
- [47] Rosell M, Jones M C, Parker M G. Role of nuclear receptor corepressor RIP140 in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta*, 2011, **1812**(8): 919–928
- [48] 邢 钰, 赵水平. microRNA 与血脂代谢. *中国动脉硬化杂志*, 2010, **18**(7): 586–588
- Xing Y, Zhao S P. *Chin J Arterioscler*, 2010, **18**(7): 586–588
- [49] Iliopoulos D, Drosato K, Hiyama Y, *et al.* MicroRNA-370 controls the expression of microRNA-122 and Cpt1alpha and affects lipid metabolism. *J Lipid Res*, 2010, **51**(6): 1513–1523
- [50] Chen T, Huang Z, Wang L. MicroRNA-125a-5p partly regulates the inflammatory response, lipid uptake, and ORP9 expression in oxLDL-stimulated monocyte/macrophages. *Cardiovascular Res*, 2009, **83**(1): 131–139
- [51] Bowden K, Ridgway N D. OSBP negatively regulates ABCA1 protein stability. *J Biol Chem*, 2008, **283**(26): 18210–18217
- [52] 吴宗松, 杨公社. miR-27b 通过靶向于 PPAR γ 触发脂肪细胞分化[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2009
- Wu Z S, Yang G S. microRNA-27b negatively regulate adipocyte differentiation through targetng PPAR γ . *Shanxi Yangling*: Northwest A & F University, 2009
- [53] Karbiener M, Fischer C, Nowitsch S, *et al.* microRNA miR-27b impairs human adipocyte differentiation and targets PPARgamma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **390**(2): 247–251
- [54] Kim S Y, Kim A Y, Lee H W, *et al.* miR-27a is a negative regulator of adipocyte differentiation *via* suppressing PPARgamma expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **392**(3): 323–328
- [55] Ji J, Zhang J, Huang G, *et al.* Over-expressed microRNA-27a and 27b influence fat accumulation and cell proliferation during rat hepatic stellate cell activation. *FEBS Lett*, 2009, **583**(4): 759–766
- [56] 刘美霞, 张文高, 刘龙涛. 中药虎杖和山楂提取物对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠巨噬细胞 PPAR γ 、ABCA1 及 CD36 mRNA 表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2009, **17**(11): 902–906
- Liu M X, Zhang W G, Liu L T. *Chin J Arterioscler*, 2009, **17**(11): 902–906
- [57] 易光辉, 杨永宗, 唐朝克, 等. 过氧化体增殖物激活型受体 γ 和 δ 在高密度脂蛋白介导细胞胆固醇流出中的作用. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11**(4): 325–329
- Yi G H, Yang Y Z, Tang C K, *et al.* *Chin J Arterioscler*, 2003, **11**(4): 325–329
- [58] Ling H Y, Ou H S, Feng S D, *et al.* Changes in microRNA profile and effects of miR-320 in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, **36**: e32–e36

microRNAs: A New Mechanisms for Regulation of Lipid Metabolism*

CHEN Wu-Jun^{1,2)}, YIN Kai^{1,3)}, ZHAO Guo-Jun^{1,4)}, TANG Chao-Ke^{1)**}

⁽¹⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Life Science Research Center, University of South China, Hengyang 421001, China;

²⁾ Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang 421001, China;

³⁾ The Department of Diagnostics, University of South China, Hengyang 421001, China;

⁴⁾ Department of Histology and Embryology, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract Lipid metabolism is tightly regulated at the cellular level, in addition to classic transcriptional regulation of cholesterol metabolism (e.g. by SREBP and LXR). Members of a class of non-coding RNAs termed microRNAs have recently been identified to be potent post-transcriptional regulators of lipid metabolism genes, including metabolisms of cholesterol, triglyceride, and fatty acid. Several reports have recently shown that miR-33 regulates cholesterol efflux and HDL biogenesis by downregulating the expression of the ABC transporters, ABCA1 and ABCG1. Moreover, miR-33 also inhibits the translation of several transcriptional regulating proteins for fatty acid β -oxidation, including CPT1A, CROT, and HADHB, thereby inhibiting fatty acid degradation. In addition, miR-33 may regulates triglyceride metabolism through negatively regulating the activity of AMPK and RIP140. Other microRNAs including miR-122, miR-370, miR-125a-5p, miR-27 and miR-320 have been shown to play important roles in regulating cholesterol homeostasis, triglyceride, fatty acid metabolism and lipogenesis. The current progress of the microRNAs, especially miR-33, in regulating lipid metabolism were summarized.

Key words microRNAs, cholesterol homeostasis, fatty acid oxidation, HDL, triglyceride metabolism

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00072

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81070220) and The Heng Yang Joint Funds of The Hunan Provincial Natural Sciences Foundation of China (10JJ9019).

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8281853, E-mail: tchaoke@yahoo.com.cn

Received: February 21, 2011 Accepted: April 19, 2011