

微小 RNA 在糖尿病视网膜病变新生血管生成中的研究进展

黄俊 综述 毛新帮 审校

330006 南昌,南昌大学第二附属医院眼科

通信作者:毛新帮,Email:mx730828@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.05.020

【摘要】 微小 RNA(miRNA)是一类内生的、长度约 20~24 个核苷酸的具有组织特异性和高度保守的 RNA,通过与 mRNA 互补配对在转录后水平降解 mRNA 或抑制 mRNA 翻译来负调控靶基因的表达。多项研究已表明 miRNA 的亚型基因 miR-126、miR-31、miR-200b 和 miR-29 等在一定程度上与糖尿病视网膜病变(DR)的新生血管生成有关,通过一系列调控血管内皮生长因子(VEGF)的表达,进而抑制或促进血管新生,而 VEGF 是一种新生血管的主要促进因子,能够特异性的刺激血管内皮细胞的增生及新生血管生成,破坏血-视网膜屏障,加快 DR 的进展。因此,揭示 miRNA 在 DR 新生血管形成中的作用及其机制是未来 DR 机制研究的重要方向,并可为 DR 的防治提供新的策略。现就 miRNA 在 DR 新生血管形成的研究进展作一综述。

【关键词】 微小 RNA; 糖尿病视网膜病变; 新生血管; 血管内皮生长因子

Recent advances of micro RNA in neovascularization formation of diabetic retinopathy Huang Jun, Mao Xinbang

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China

Corresponding author: Mao Xinbang, Email: mx730828@126.com

【Abstract】 MicroRNA (miRNA) is a kind of endogenous and highly conservative RNA, with length of about 20 to 24 nucleotides and tissue specificity. MiRNA regulates the expression of target genes by pairing with complementary mRNA in the transcription level mRNA or inhibiting mRNA translation. Several studies have shown the miRNA subtype genes, such as miR-126, miR-31, miR-200b and miR-29, in a certain related to the formation of new blood vessels in diabetic retinopathy (DR), through a series of regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, thereby inhibiting or promoting angiogenesis. VEGF can stimulate vascular endothelial cell hyperplasia and generate new blood vessels, which damage blood-retinal barrier and accelerate the progress of DR. Therefore, revealing the effect and mechanism of miRNA on the pathogenesis of DR, new blood vessels are the important research direction, which can offer us new strategy for prevention and cure of DR. In this article, we reviewed the research progress of miRNA in neovascularization formation of DR.

【Key words】 MicroRNA; Diabetic retinopathy; Neovascularization; Vascular endothelial growth factor

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见和严重的微血管并发症之一,首次诊断 2 型糖尿病患者 DR 的发生率达 12.4%,病程超过 15 年的糖尿病患者出现 DR 的发生率达 78%^[1]。DR 的基本病理改变是血-视网膜屏障破坏,导致视网膜新生血管生成。微小 RNA (microRNA, miRNA) 至少调控人类 30% 的基因表达,与多种疾病如糖尿病及其相关并发症、肿瘤等的发生和发展密切相关,参与了细胞增生与凋亡、生长发育等一系列生物学过程^[2-8]。目前,对 miRNA 的研究已到分子机制层面,并集中研究其靶基因的预测和对相关遗传因子的调控。以下综述近年来 miRNA 调节 DR 新生血管生成机制的研究进展。

1 miRNA 的结构与功能

miRNA 是一类内生的、长度约 20~24 个核苷酸小分子非

编码 RNA。具有发夹结构的单链 RNA 前体在细胞核中由 RNA 聚合酶(m-Drosha)与辅助因子 DGCR8 加工成单链 miRNA 结构,再通过细胞质中的 RNA 聚合酶加工合成前导链 miRNA 和互补链 miRNA 序列。miRNA 是一种新型的基因表达调控因子,主要在转录后翻译时通过与靶基因 mRNA 的 3' 非编码区(untranslated regions, UTR)通过碱基互补配对结合,抑制靶 mRNA 的表达,引起靶 mRNA 降解或翻译受到抑制^[9]。MiRNA 具有序列高度保守性、组织特异性和表达的时序性 3 个特征,在人体各组织器官分布广泛。

2 miRNA 在视网膜组织中的表达

miRNA 的亚型基因在眼部各组织中的分布具有特异性。Wang 等^[10]研究发现,人眼中约 90% miRNA 在视网膜和脉络

膜中表达,且具有高度选择性。Karali 等^[11]也在小鼠眼组织中发现约 84% miRNA 在视网膜组织中表达。Xu 等^[12]发现至少 78 种 miRNA 在成年小鼠的视网膜中表达,其中 21 种可能为视网膜组织所特有。miRNA 是一种进化相对保守的短 RNA,每个 miRNA 调节至少 1 种蛋白编码基因的表达。研究发现,特定的 miRNA 表达过程对于血管细胞信号和血管结构及功能是极其重要的^[13]。可见,miRNA 在视网膜组织中表达具有特异性,明确 miRNA 在视网膜及眼部组织中特异性表达对于眼部疾病的基因治疗起着关键性的作用。

3 miRNA 在 DR 新生血管生成机制中的作用

miRNA 参与新生血管的形成,通过转录后水平与 VEGF mRNA 的 3'-UTR 结合,阻断 mRNA 翻译或降低 mRNA 稳定性来负调控 VEGF 的表达,进而抑制新生血管生成^[14-15]。DR 增生期有新生血管生成,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是主要的促新生血管生成因子^[16]。Behl 等^[17]研究发现,VEGF 能够特异性的刺激血管内皮细胞的增生并参与新生血管生成,且能破坏血-视网膜屏障,加快视网膜病变的进展。研究表明 miR-126 通过在血管内皮细胞中表达升高促进新生血管生成,而 miR-31、miR-200b 和 miR-29 等主要是抗新生血管生成^[18-21]。Panta 等^[22]研究发现,miR-31、miR-200b 和 miR-126 与视网膜新生血管生成有关,为眼部新生血管疾病尤其是视网膜新生血管性疾病的治疗提供了新途径。Pereira 等^[23]研究认为 miRNA 将成为控制新生血管以及眼部疾病的药物。视网膜在局部组织炎症、细胞缺血、缺氧、微循环障碍等情况下表现出异常新生血管生成,VEGF 通过特异地作用于血管内皮细胞引起新生血管生成和血管的通透性增加。miRNA 通过与 VEGF mRNA 结合后阻断其翻译并降低 mRNA 稳定性来抑制新生血管生成^[14-15]。因此,miRNA 为 DR 的治疗提供了一种有效的方法。

3.1 miR-126 在 DR 新生血管生成中的机制

miR-126 最早由 Lagos-Quintana 等^[24]在小鼠的心脏和小脑中表达并定位在 9 号染色体上。miRNA-126 可在人内皮细胞中表达,并在新生血管生成方面发挥主要作用^[25]。类表皮生长因子域-7 基因在新生血管内皮细胞的移动与定位中起调控作用,在人体类表皮生长因子域-7 基因的 3'-UTR 内含子 6 和 7 中存在 miRNA-126, miR-126 通过与类表皮生长因子域-7 mRNA 碱基配对,影响其转录后的翻译过程。miR-126 和类表皮生长因子域-7 基因转录过程中可被 KLF2 转录因子调控。近来 Nicoli 等^[26]研究发现,激活的 KLF2 可增加 miR-126 的基因表达水平,阻碍 VEGF 通路并由此抑制新生血管生成。

miR-126 在血管生成和维持内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)功能中起重要作用。Meng 等^[27]发现 EPC 可以通过分泌 VEGF 促进血管新生,把表达 miR-126 的病毒载体和含 miR-126 抑制剂的载体转染到 EPC 后,miR-126 抑制剂能够抑制 EPC 增生,促进细胞凋亡,而当糖尿病患者 EPC 中 miR-126 表达恢复时,EPC 增生能力明显增强,凋亡也随之减少,血糖增高时 EPC 数量减少且功能降低,进一步促进糖尿病

血管病变和新生血管生成。在糖尿病患者体内 miR-126 表达下降,进一步减少 EPC 数量及降低正常 EPC 的功能,不利于抑制 VEGF。

miR-126 也可能通过调控 VEGF/PI3K/ATK 通路的活性,从而达到稳定内皮细胞功能的目的^[28]。研究发现,miR-126 还可通过靶标 Spred-1 和 PIK3R2 调控 VEGF 信号通路,负向调节血管新生,降低了血管生成信号^[29]。Bai 等^[18]研究发现,小鼠的视网膜中 miR-126 显著减少,当 miR-126 恢复正常后 VEGF 水平可下降,而在小鼠玻璃体腔内注射 miR-126 可减少模型小鼠视网膜的新生血管数量,可见在新生血管生成方面最引人注目的 miRNA 为 miR-126,它可通过调控血管生长因子来促进新生血管生成。

3.2 miR-200b 在 DR 新生血管生成中的机制

miRNA-200b 通过视网膜内皮细胞(retinal endothelial cells, REC)对 VEGF 的表达进行调控,miR-200b 被定位于内皮细胞中,Feng 等^[20]通过基因干扰技术阻断 miRNA-200b 的表达,可明显降低 VEGF mRNA 和相应蛋白的表达,阻碍糖尿病引起的视网膜血管通透性的增加和新生血管的生成,miR-200b 对糖尿病视网膜新生血管具有显著的促进作用,通过与 VEGF mRNA 结合,抑制基因表达的翻译过程,抑制 VEGF 蛋白表达,新生血管减少。miR-200b 表达下降,VEGF mRNA 和蛋白表达上升,miR-200b 转染内皮细胞或玻璃体内注射均能抑制 VEGF mRNA 及蛋白的表达。相反,转染 miR-200b 拮抗剂则导致 VEGF 表达的升高。本研究中通过糖尿病患者与正常人视网膜对比发现,糖尿病患者 miR-200b 表达升高。Kovacs 等^[30]研究发现,miRNA 在 DR 模型大鼠的视网膜血管内皮细胞中表达升高,这些表达增高的 miRNA 可能是通过对 VEGF 的调控来参与 DR 新生血管生成的病理过程。

3.3 miR-31 在 DR 新生血管生成中的机制。

miRNA 通过视网膜缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1a 和血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)B 抑制 VEGF 表达。Shen 等^[19]研究发现,氧诱导视网膜病变(oxygen-induced retinopathy, OIR)模型小鼠视网膜中 miR-31、miR-150 和 miR-184 表达量显著减少,并通过荧光素酶报告基因检测确认 miR-31 的靶基因为 PDGF-B 和 HIF-1a, miR-150 的靶基因为 VEGF 和 PDGF-B。近年 Kovacs 等^[30]研究发现,早期糖尿病大鼠视网膜及 REC 中 miR-31 表达增加。将 miRNA 前体-31 转染至视网膜色素上皮细胞,可明显降低 VEGF 基因的表达水平,促进血管新生。

3.4 miR-29c、miR-351 在 DR 新生血管生成中的机制

中国吴心池^[31]、Xiong 等^[32]和外国学者 Hirota^[33]发现 DR 患者血清中的 miR-29a(miR-29 亚型)表达明显上调,并推测其与血管新生有关。Xiong 等^[32]研究发现 miR-29c 在链脲佐菌素诱导的糖尿病模型大鼠视网膜组织中的表达明显上调,表达数量随病程发展逐渐增加,miR-29c 可能靶向抑制 VEGF。miR-351 通过调控 VEGF 和促血管生成素-2 的表达在小鼠新生血管性视网膜病变中取得较好疗效。过度表达 miR-351 可导致 VEGF 和促血管生成素-2 的表达显著下降^[34]。

随着对 DR 新生血管生成机制认识的加深,miRNA 治疗学研究的不断深入将促使 DR 新生血管生成的治疗取得进展,但能否准确分离 miRNA 并确定其特异靶点、亚型基因之间是否互有调控作用、如何检测出 DR 新生血管生成中的特异 miRNA 表达谱? 因此开发研制出与之相应的有效药物,运用 miRNA 基因芯片技术将有助于 miRNA 靶基因的预测和糖尿病及其 DR 的基因预防。

参考文献

- [1] Ding J, Zou Y, Liu N, et al. Strategies of digital fundus photography for screening diabetic retinopathy in a diabetic population in urban China [J]. *Ophthalmic Epidemiol*, 2012, 19 (6) : 414-419. DOI: 10. 3109/09286586. 2012. 716895.
- [2] Lopez-Serra P, Esteller M. DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer[J]. *Oncogene*, 2012, 31 (13) : 1609-1622. DOI: 10. 1038/onc. 2011. 354.
- [3] Kantharidis P, Wang B, Carew RM, et al. Diabetes complications: The microRNA perspective[J]. *Diabetes*, 2011, 60 (7) : 1832-1837. DOI: 10. 2337/db11-0082.
- [4] Fernandez-Valverde SL, Taft RJ, Mattick JS. MicroRNAs in β -cell biology, insulin resistance, diabetes and its complications[J]. *Diabetes*, 2011, 60 (7) : 1825-1831. DOI: 10. 2337/db11-0171.
- [5] Lujambio A, Lowe SW. The microcosmos of cancer[J]. *Nature*, 2012, 482 (7385) : 347-355. DOI: 10. 1038/nature10888.
- [6] Yang J, Hao Y, Xi J. Therapeutic application of microRNAs against human cancers[J]. *J Lab Autom*, 2012, 18 (1) : 30-33. DOI: 10. 1177/2211068212453460.
- [7] Tijssen AJ, Pinto YM, Creemers EE. Circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for cardiovascular diseases[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303 (9) : 1085-1095. DOI: 10. 1152/ajpheart. 00191. 2012.
- [8] Wang W, Kwon EJ, Tsai LH. MicroRNAs in learning, memory, and neurological diseases[J]. *Learn Mem*, 2012, 19 (9) : 359-368. DOI: 10. 1101/lm. 026492. 112.
- [9] Yates LA, Norbury CJ, Gilbert RJ. The long and short of microRNA[J]. *Cell*, 2013, 153 (3) : 516-519. DOI: 10. 1016/j. cell. 2013. 04. 003.
- [10] Wang FE, Zhang C, Maminishkis A, et al. MicroRNA-204/211 alters epithelial physiology[J]. *FASEB J*, 2010, 24 (5) : 1552-1571. DOI: 10. 1096/fj. 08-125856.
- [11] Karali M, Peluso I, Gennarino VA, et al. MiRNeve: a microRNA expression atlas of the mouse eye[J/OL]. *BMC Genomics*, 2010, 11 : 715 [2016-11-03]. <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-11-715>. DOI: 10. 1186/1471-2164-11-715.
- [12] Xu S, Witmer PD, Lumayag S, et al. MicroRNA (miRNA) transcriptome of mouse retina and identification of a sensory organ-specific miRNA cluster[J]. *Jol Chem*, 2007, 282 (34) : 25053-25066.
- [13] Agrawal S, Chaqour B. MicroRNA signature and function in retinal neovascularization[J]. *World J Biol Chem*, 2014, 5 (1) : 1-11. DOI: 10. 4331/wjbc. v5. i1. 1.
- [14] Caporali A, Eman C. MicroRNA regulation in an iogenesis[J]. *Vascul Pharmacol*, 2011, 55 (4) : 79-86. DOI: 10. 1016/j. vph. 2011. 06. 006.
- [15] Yamakuchi M. MicroRNAs in vascular biology[J]. *Int J Vasc Med*, 2012, 2012 : 794898. DOI: 10. 1155/2012/794898.
- [16] Shibuga M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases[J]. *J Bio*, 2013, 153 (1) : 13-19. DOI: 10. 1093/jb/mvs136.
- [17] Behl T, Kaur I, Kotwani A. Role of endocannabinoids in the progression of diabetic retinopathy[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2016, 32 (3) : 251-259. DOI: 10. 1002/dmrr. 2710.
- [18] Bai Y, Bai X, Wang Z, et al. Micro RNA-126 inhibits ischemia-induced retinal neovascularization via regulating angiogenic growth factors[J]. *Exp Mol Pathol*, 2011, 91 (1) : 471-477. DOI: 1016/j. yexmp. 2011. 04. 016.
- [19] Shen J, Yang X, Xie B, et al. MicroRNAs regulate ocular neovascularization[J]. *Mol Ther*, 2008, 16 (7) : 1208-1216. DOI: 10. 1038/mt. 2008. 104.
- [20] Feng B, Chen S, McArthur K, et al. miR-146a-Mediated extracellular matrix protein production in chronic diabetes complications [J]. *Diabetes*, 2011, 60 (11) : 2975-2984. DOI: 10. 2337/db11-0478.
- [21] Kriegel AJ, Didier DN, Li P, et al. Mechanisms of cardioprotection resulting from Brown Norway chromosome 16 substitution in the salt-sensitive Dahl rat [J]. *Physiol Genomics*, 2012, 44 (16) : 819-827. DOI: 10. 1152/physiolgenomics. 00175. 2011.
- [22] Panta S, Yamakuchi M, Shimizu T, et al. Low grade inflammation inhibits VEGF induced HUVECs migration in p53 dependent manner [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483 (2) : 803-809. DOI: 10. 1016/j. bbr. 2016. 12. 096.
- [23] Pereira DM, Rodrigues PM, Borralho PM, et al. Delivering the promise of miRNA cancer therapeutics[J]. *Drug Discov Today*, 2013, 18 (5) : 282-289. DOI: 10. 1016/j. drudis. 2012. 10. 002.
- [24] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse[J]. *Curr Biol*, 2002, 12 (9) : 735-739.
- [25] Anand S, Cheresch DA. Emerging role of micro-RNAs in the regulation of angiogenesis[J]. *Genes Cancer*, 2011, 2 (12) : 1134-1138. DOI: 10. 1177/1947601911423032.
- [26] Nicoli S, Standley C, Walker P, et al. MicroRNA-mediated integration of haemodynamics and VEGF signalling during angiogenesis[J]. *Nature*, 2010, 464 (7292) : 1196-1200. DOI: 10. 1038/nature08889.
- [27] Meng S, Cao JT, Zhang B, et al. Downregulation of microRNA-126 in endothelial progenitor cells from diabetes patients, impairs their functional properties, via target gene Spred-1[J]. *Mol Cell Cardiol*, 2012, 53 (1) : 64-72.
- [28] Kuhnert F, Mancuso MR, Hampton J, et al. Attribution of vascular phenotypes of the murine Eglf7 locus to the microRNA miR-126[J]. *Development*, 2008, 135 (24) : 3989-3993.
- [29] Redis RS, Calin S, Yang Y, et al. Cell-to-cell miRNA transfer: from body homeostasis to therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 136 : 169-171. DOI: 1016/j. pharmthera. 2012. 08. 003.
- [30] Kovacs B, Lumayag S, Cowan C, et al. MicroRNAs in early diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 : 4402-4409. DOI: 10. 1167/iov. 10-6879.
- [31] 吴心池, 王尧, 唐伟, 等. 非增殖性糖尿病视网膜膜病变患者血清 miR-29c 的表达及相关分析[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2015, 35 (10) : 1401-1404.
- [32] Xiong F, Du X, Hu J, et al. Altered retinal microRNA expression profiles in early diabetic retinopathy: an in silico analysis[J]. *Curr Eye Res*, 2014, 39 (7) : 720-729. DOI: 10. 3109/02713683. 2013. 872280.
- [33] Inoue M, Itoh Y, Rii T, et al. Macular retinoschisis associated with glaucomatous optic neuropathy in eyes with normal intraocular pressure [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 253 (9) : 1447-1456. DOI: 10. 1007/s00417-014-2830-0.
- [34] Zhao R, Qian L, Jiang L. MiRNA-dependent cross-talk between VEGF and Ang-2 in hypoxia-induced microvascular dysfunction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452 (3) : 428-435. DOI: 10. 1016/j. bbr. 2014. 08. 096.

(收稿日期: 2017-02-09)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

不忘初心,携手同行二十载

中华医学会眼科学分会·参天制药眼科医生奖学金签字仪式在京举行

中华医学会眼科学分会与参天制药(中国)有限公司共同主办的“中华医学会眼科学分会·参天制药眼科医生奖学金”签字仪式于2017年4月6日在北京好苑建国酒店举行。

中华医学会副会长兼秘书长饶克勤教授、中华医学会眼科学分会主任委员姚克教授、参天制药(中国)有限公司总经理刘晔先生共同出席仪式,中华医学会眼科学分会部分常务委员在场见证了本次签字仪式。



“中华医学会眼科学分会·参天制药眼科医生奖学金”设立于1996年,是中华医学会眼科学分会和参天制药的长期合作项目,奖学金每3年为一期,至今已历时21年,资金累计约1850万人民币。本次签署2017年到2019年的参天奖学金共计450万元人民币。该奖学金为培养更多中国眼科人才和提高眼科医生的专业水平提供了丰富多样的学术支持项目,包括支持边远地区眼科医生参加全国年会、支持青年医生ICO考试培训、支持基础眼科学会项目、以及支持基层眼科医生的

教育与培训项目。参天奖学金至今已支持累计约 600 余位西部地区基层医生参加全国眼科学年会,并通过支持多项教育和培训项目,为我国眼科人才的培养做出了极大贡献。

中华医学会副会长兼秘书长饶克勤教授首先在签字仪式上致辞,他肯定了参天制药多年来为中国眼科学发展做出的积极贡献,同时希望其能够继续支持中国眼科事业,支持中华医学会眼科学分会的发展。



中华医学会眼科学分会主任委员姚克教授在发言中提到,“参天奖学金”旨在提升青年眼科医生的专业能力,为眼科领域不断培养人才,对中国眼科事业的发展具有重大意义。与此同时,该奖学金对于基础眼科学会项目和其他教育培训项目的支持也对眼科领域的发展起到了极大的促进作用,感谢参天制药既往为中国眼科医生和眼病患者做出的贡献,希望其能够一如既往地支持中国眼科事业的发展。

参天制药(中国)有限公司总经理刘晔先生谈道,“参天奖学金”自建立至今已有 21 年之久,该项目显示了参天制药和中国眼科界的合作和友谊。1996 年参天制药设立“参天奖学金”的目的就是希望能够不存在任何商业目的地为中国眼科事业的发展尽微薄之力。在这 21 年中,参天制药守住了初心,使“参天奖学金”成为单纯的学术资助项目,希望“参天奖学金”在未来依然能够有幸继续下去,为中国眼科学的发展继续做出贡献。

[参天制药(中国)有限公司]