

microRNA 在骨骼肌发育中的功能及其表达的营养调控

黄志清 陈小玲 余冰 毛湘冰 陈代文*

(四川农业大学动物营养研究所, 教育部动物抗病营养重点实验室, 雅安 625014)

摘要: microRNA(miRNA)是真核生物中一类参与调控基因表达的非编码小分子 RNA,它通过翻译抑制和使靶 mRNA 降解,在基因表达中起着负调控作用,与骨骼肌发育、疾病等密切相关。营养可以调控 miRNA 及其靶基因的表达,这将为更深层次诠释营养素的作用机理提供新的研究方向。本文综述了 miRNA 的结构和作用机制、骨骼肌 miRNA 在不同动物中的表达谱、miRNA 对骨骼肌发育的调控、miRNA 与骨骼肌疾病的关系和 miRNA 表达的营养调控的研究进展。

关键词: microRNA;骨骼肌发育;营养调控

中图分类号: S811.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2011)10-1647-04

microRNA(miRNA)是真核生物中一类约 22 bp 的非编码 RNA,近年来发现它是基因表达重要的调节因子。对 miRNA 功能研究和表达分析在不同物种间已经迅速展开,miRNA 成为了当前生物学领域的研究热点。研究证实,miRNA 在肌肉发育和肌细胞增殖与分化中发挥了关键性的调控作用^[1,2],这为复杂的肌肉生物学研究注入了新的血液。miRNA 的异常表达常见于包括骨骼肌肥大和肌萎缩等肌肉疾病中^[3-4],暗示 miRNA 在肌肉疾病中也扮演着重要的角色。近年来研究表明,营养也可以调控 miRNA 的表达^[5-6],这对营养素作用的分子机制研究提供了新的思路。本文就 miRNA 在骨骼肌发育中的功能及其营养调控作一综述。

1 miRNA 的结构和作用机制

miRNA 为一长约 22 个核苷酸的单链小分子 RNA,由一段具有发夹结构长为 70~80 个核苷酸的前体 RNA(pre-miRNA)经 Dicer 酶剪切后生成^[7],它广泛存在于各种生物中。迄今,miRNA 数据库(<http://www.mirbase.org>)收录了各种生物

的 miRNA 共 15 172 条,其中人 1 048 条,小鼠 672 条,大鼠 408 条,猪 211 条,牛 662 条,绵羊 4 条,鸡 499 条。各物种新的 miRNA 还在不断地被克隆和发现。通过比较发现,多数 miRNA 在不同物种间高度保守。正是 miRNA 的这种广泛存在和进化上的高度保守,暗示着它在生命活动中发挥着关键的调控作用。据预测,大约 1/3 的人类基因受 miRNA 的调控。

miRNA 通过与其靶 mRNA 的 3' 非翻译区(3'-UTR)互补配对,从而在转录后水平发挥基因表达调控功能^[8]。miRNA 调控基因表达的方式主要有靶 mRNA 的降解和靶 mRNA 在细胞质中的翻译受阻这 2 种,前者导致靶 mRNA 数量减少而后者并不改变靶 mRNA 丰度。动物中绝大多数的 miRNA 与其靶 mRNA 形成不完全配对并通过翻译受阻机制发挥作用^[9],但有些 miRNA 也可以在不完全配对的情况下介导靶 mRNA 的降解^[10]。

2 骨骼肌 miRNA 在不同动物中的表达谱

miRNA 的表达具有组织和发育阶段特异性,不同的组织表达不同的 miRNA,不同的发育阶段

收稿日期:2011-04-26

基金项目:国家自然科学基金(30972119);四川省教育厅资助科研项目(00924800)

作者简介:黄志清(1976—),男,江西东乡人,副教授,博士,主要从事分子营养研究。E-mail: z. q. huang@163.com

* 通讯作者:陈代文,教授,博士生导师,E-mail: dwchen@sicau.edu.cn

有不同的 miRNA 表达。Cardinali 等^[11]通过比较处于增殖阶段的成肌细胞和被分化成肌管的 miRNA 表达谱,发现 miR-221 和 miR-222 在禽类和哺乳动物成肌细胞分化过程中显著下调,并证实了 miR-221 和 miR-222 通过其靶基因——细胞周期抑制蛋白基因 (*p27*) 的表达来调控骨骼肌细胞的分化和成熟。McDanel 等^[12]研究了胎猪(妊娠第 60、90 和 105 天)、新生仔猪和肥育猪骨骼肌组织以及猪骨骼肌卫星细胞中的 miRNA 表达丰度,结果表明,miR-206 不存在于骨骼肌卫星细胞,但在其他时期表达丰富;miR-1 在肥育期表达量最高,而在其他时期呈中等表达水平;miR-133 在肥育期中等表达,而在胚胎期和新生仔猪中低表达;miR-432 在妊娠第 60 天时表达水平最高,随后逐渐下降;miR-24 和 miR-27 在骨骼肌卫星细胞和肥育猪中表达量最高,而 miR-368、miR-376 和 miR-423-5p 在新生仔猪中表达量最高。Zhou 等^[13]研究了妊娠第 90 天胎猪和 120 日龄猪背最长肌中 miRNA 表达谱,结果表明,妊娠第 90 天的胎猪中 miR-1826、miR-26a、miR-199b 和 *let-7* 的表达丰富,而 120 日龄猪中 miR-1a、miR-133a、miR-26a 和 miR-1826 的表达丰富。

3 miRNA 对骨骼肌发育的调控

骨骼肌肌生成需要许多事件相互配合,包括细胞退出细胞周期、肌肉特异性蛋白的表达、融合成多核的肌管、装备成有收缩特性的肌纤维。miRNA 被证实参与骨骼肌发育和调控骨骼肌细胞增殖和分化方面发挥了关键性的作用。miR-1 和 miR-133 是肌肉特异的 2 种 miRNA,虽然它们位于染色体的相邻位置且常同时表达,但在调控成肌细胞增值和分化过程中有着不同的功能。miR-1 促进成肌细胞分化,抑制成肌细胞增殖,而 miR-133 则相反^[14]。miR-206 是另一个肌肉特异的 miRNA,它通过下调 DNA 聚合酶 α 水平,导致 DNA 合成受抑制以及成肌细胞增殖停止,因而促进成肌细胞分化^[15]。骨骼肌 miRNA 的表达常受肌细胞生成素 (*MyoD*) 家族和肌细胞增强子因子 2 (*Mef2*) 等肌肉关键转录因子的调控^[16,17]。有研究表明,miR-1 和 miR-133 中含有这些转录因子的结合区域,如 *Mef2* 和 *MyoD* 能与 miR-1 和 miR-133 结合,进而促进这些 miRNA 在骨骼肌中的特异性表达^[18]。

出生后骨骼肌的正常发育和再生修复主要依赖于成体干细胞,即骨骼肌卫星细胞。配对盒基因 7 (*Pax7*) 在骨骼肌卫星细胞存活、自我更新和增殖中发挥了重要作用。Chen 等^[19]研究卫星细胞由增殖向分化转变过程中 *Pax7* 表达变化时,发现 miR-1 和 miR-206 在骨骼肌卫星细胞分化过程中显著上调,通过荧光素酶报告基因分析实验也证实了 *Pax7* 是 miR-1 和 miR-206 的靶基因^[19]。抑制 miR-1 和 miR-206 表达增强了骨骼肌卫星细胞的增殖和增加了 *Pax7* 蛋白水平,相反,持续表达 *Pax7* 降低了 miR-1 和 miR-206 的水平并显著抑制了骨骼肌卫星细胞的分化^[19]。这些结果揭示,miRNA 与其靶基因间的相互作用,允许基因表达程序快速由增殖向分化转变。

除肌肉特异的 miRNA 外,非肌肉特异表达的 miRNA 也参与了骨骼肌发育的调控。miR-181 在小鼠成肌细胞系 C2C12 细胞分化过程中显著上调^[20],提示 miR-181 可能参与成肌细胞分化的调节。进一步研究发现,miR-181 通过下调其靶基因——同源异性盒家族 (*Hox-A11*, 一种成肌细胞分化阻遏物) 基因的表达促进成肌细胞分化^[20]。此外,miR-26a 也被发现通过下调其靶基因——*zeste* 基因增强子同源物基因 (*Ezh2*) 的表达促进成肌细胞分化^[21]。miR-27b 在分化的胚胎肌节和激活的骨骼肌卫星细胞中均有表达。研究发现,在骨骼肌卫星细胞中,miR-27b 通过下调其靶基因——配对盒因子 (*Pax3*) 的表达确保细胞正常进入成肌分化程序^[22]。上述研究表明,肌肉特异的和非肌肉特异表达的 miRNA 在骨骼肌发育中发挥了重要的作用。

4 miRNA 与骨骼肌疾病的关系

骨骼肌功能失调引发的主要疾病包括肌肉萎缩、肌肉肥大、炎性肌病和先天性肌病。这些疾病主要通过临床和病理特征定义,但引起这些疾病的分子机制目前还不清楚。研究认为,骨骼肌疾病如肌肉萎缩可能与 miRNA 的表达异常有关。McCarthy 等^[23]研究了 miRNA 在小鼠骨骼肌中的表达情况,同时考察了小鼠后肢悬挂引起的肌肉萎缩能否改变这些 miRNA 的表达,结果发现,后肢悬挂 2 和 7 d 后,肌肉特异的 miR-1、miR-133 和 miR-206 的表达水平并未改变,而 miR-499 的表达水平显著下调,并推测其机制可能是通过 miR-499

间接调控 β -肌动蛋白重链的抑制子(*Sox6*)表达引起的。另有研究表明,miRNA 与骨骼肌肥大存在直接的遗传学联系^[24]。体内腹腔注射氯胺酮和甲苯噻嗪引起小鼠骨骼肌肥大,采用实时荧光定量 PCR 技术检测体内 miRNA 的表达变化,结果发现骨骼肌特异的 miR-1 和 miR-133a 的表达呈现显著下调^[25],表明骨骼肌特异的 miRNA 可能对骨骼肌肥大也起着调控作用。由此可见,miRNA 可作为骨骼肌疾病治疗的潜在靶标。今后研究需进一步鉴定并挖掘参与发病的 miRNA 以及阐明这些 miRNA 在骨骼肌发病机制中的作用。

5 miRNA 表达的营养调控

近年来研究表明,营养不仅可以调控骨骼肌发育关键基因的表达,还可以调控 miRNA 的表达^[5,6]。肌肉生长抑制素(myostatin)是负调控骨骼肌生长发育关键的细胞因子。Drummond 等^[5]研究了由 8 种必需氨基酸混合剂对人骨骼肌中 miRNA 和 myostatin 等表达的影响,发现 miR-499、miR-208b、miR-23a、miR-1 和 miR-206 的表达量显著增加,而 myostatin 的表达量显著下降^[5]。除必需氨基酸外,也发现不饱和脂肪酸能够调控 miRNA 的表达^[6]。尽管目前关于营养调控 miRNA 表达的研究鲜有报道,但随着国内外营养学领域研究者对 miRNA 的关注,miRNA 也将成为营养学研究的热点。

6 小 结

与新 miRNA 的频频发现相比,miRNA 的功能研究相对缓慢,目前只有一小部分 miRNA 的生物学功能得到阐明。尽管 miRNA 被发现参与了骨骼肌发育的调控,但其作用的分子机理目前还不清楚。营养被证实可以调控 miRNA 及其靶基因的表达,这将为更深层次诠释营养素的作用机理提供新的研究方向。

参考文献:

- [1] CALLIS T E, WANG D Z. Taking microRNAs to heart[J]. Trends in Molecular Medicine, 2008, 14 (3):254-260.
- [2] VAN ROOI J, LIU E N, OLSON E N. MicroRNAs flex their muscles[J]. Trends in Genetics, 2008, 24: 159-166.
- [3] EISENBERG I, ERAN A, NISHINO I, et al. Distinctive patterns of microRNA expression in primary muscular disorders[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104:17016-17021.
- [4] EISENBERG I, ALEXANDER M S, KUNKEL L M. miRNAs in normal and diseased skeletal muscle[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2009, 13(1):2-11.
- [5] DRUMMOND M, GLYNN E L, FRY C S, et al. Essential amino acids increase microRNA-499, -208b, and -23a and downregulate myostatin and myocyte enhancer factor 2C mRNA expression in human skeletal muscle[J]. Journal of Nutrition, 2009, 139(12): 2279-2284.
- [6] DAVIDSON L A, WANG N, SHAH M S, et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids modulate carcinogen-directed non-coding microRNA signatures in rat colon[J]. Carcinogenesis, 2009, 30:2077-2084.
- [7] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [8] HOBERT O. miRNAs play a tune[J]. Cell, 2007, 131:22-24.
- [9] FILIPOWICZ W, BHATTACHARYYA S N, SONENBERG N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? [J]. Nature Reviews Genetics, 2008, 9:102-114.
- [10] ALVAREZ-GARCIA I, MISKA E A. MicroRNA functions in animal development and human disease [J]. Development, 2005, 132:4653-4662.
- [11] CARDINALI B, CASTELLANI L, FASANARO P, et al. MicroRNA-221 and microRNA-222 modulate differentiation and maturation of skeletal muscle cells [J]. PLoS ONE, 2009, 4(10):1-13.
- [12] MCDANELD T G, SMITH T P L, DOUMIT M E, et al. MicroRNA transcriptome profiles during swine skeletal muscle development [J]. BMC Genomics, 2009, 10:77.
- [13] ZHOU B, LIU H L, SHI F X, et al. MicroRNA expression profiles of porcine skeletal muscle [J]. Animal Genetics, 2010, 41(5):499-508.
- [14] CHEN J F, MANDEL E M, THOMSON J M, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation [J]. Nature Genetics, 2006, 38(2):228-233.
- [15] KIM H K, LEE Y S, SIVAPRASAD U, et al. Mus-

- cle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation[J]. *Journal of Cell Biology*, 2006, 174: 677–687.
- [16] ZHAO Y, SAMAL E, SRIVASTAVA D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets *Hand2* during cardiogenesis[J]. *Nature*, 2005, 436:214–220.
- [17] RAO P K, KUMAR R M, FARKHONDEH M, et al. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(23):8721–8726.
- [18] LIU N, WILLIAMS A H, KIM Y, et al. An intragenic MEF2-dependent enhancer directs muscle-specific expression of microRNAs 1 and 133[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(52):20844–20849.
- [19] CHEN J F, TAO Y Z, DENG Z L, et al. MicroRNA-1 and microRNA-206 regulate skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by repressing *Pax7*[J]. *Journal of Cell Biology*, 2010, 190(5):867–879.
- [20] NAGUIBNEVA I, AMEYAR-ZAZOUA M, POLESSKAYA A, et al. The microRNA miR-181 targets the homeobox protein Hox-A11 during mammalian myoblast differentiation[J]. *Nature Cell Biology*, 2006, 8(3):278–284.
- [21] WONG C F, TELLAM R L. MicroRNA-26a targets the histone methyltransferase *Enhancer of Zeste homolog 2* during myogenesis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(15):9836–9843.
- [22] CRIST C G, MONTARRAS D, PALLAFACCHINA G, et al. Muscle stem cell behavior is modified by microRNA-27 regulation of *Pax3* expression[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(32):13383–13387.
- [23] MCCARTHY J J, ESSER K A, PETERSON C A, et al. Evidence of MyomiR network regulation of β -myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy[J]. *Physiological Genomics*, 2009, 39: 219–226.
- [24] CLOP A, MARCQ F, TAKEDA H, et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep[J]. *Nature Genetics*, 2006, 38(7):813–818.
- [25] MCCARTHY J J, ESSER K A. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2007, 102(1):306–313.

MicroRNA: Functions in Skeletal Muscle Development and Nutritional Regulations on Its Expression

HUANG Zhiqing CHEN Xiaoling YU Bing MAO Xiangbing CHEN Daiwen*

(Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of China Ministry of Education, Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are a class of small non-coding RNA that act as regulators of gene expression in eucaryota. They negatively regulate gene expression by translational suppression and target mRNA degradation, and are closely related to skeletal muscle development and muscular diseases. Nutrition can regulate expression of miRNA and its target genes, which may bring a new research direction for mechanisms of nutrients. This paper mainly reviews research advances in structure and mechanism of miRNA, skeletal muscle miRNA expression profiling in different kinds of animals, miRNA regulation of skeletal muscle development, relationship between miRNA and skeletal diseases, as well as nutritional regulation of miRNA expression.

[*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(10):1647-1650]

Key words: microRNA; skeletal muscle development; nutritional regulation