

长链非编码 RNA 对心血管疾病发展的研究概述

程 涛^{1,2} 张宁坤² 综述 陈 宇^{1,2} 审校

摘要 长链非编码 RNA(lncRNA) 是一种长度 >200 个核苷酸的內源性 lncRNA, 参与 X 染色体的沉默、基因修饰、转录激活或抑制、核內运输等水平的调控。最近研究显示, lncRNA 在心血管病的起始和发展中起到关键作用, 比如, 异常 lncRNA 表达与缺血性心衰的发病机制有关。本文主要对近年来 lncRNA 与心血管疾病发生发展过程中的新发现做阐述。

关键词 长链非编码 RNA; 心脏发育; 心血管疾病

中图分类号 R 363; R 541

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2017)10-1578-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.10.037

现阶段我国心血管疾病的患病率和死亡率正处于上升阶段, 心血管疾病死因占居民死亡构成比的 40% 以上, 成为我国疾病死亡的首要原因^[1]。在过去的十年, 各种新的治疗靶点被用于心血管疾病, 但患者的生存率却没有相应的提高, 长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 具有对细胞自噬、损伤、凋亡、分化和增殖的功能, 这也许可以为治疗心血管疾病提供新的治疗靶点及诊断思路。真核生物的转录过程, 是 DNA 片段的遗传信息向 RNA 的转换, 也是蛋白质合成的第一步, 预计转录过程中有 70% 的 DNA 参与, 但能继续成功翻译为蛋白质的 RNA 仅有 20%^[2]。没有编码蛋白质潜能的 RNA, 称为非编码 RNA, 早期被称为“转录的噪音”和“基因垃圾”^[3]。随着生物科学技术的提高, 非编码 RNA 可能通过多种机制对蛋白的表达进行调控, 因此, 该研究利用非编码 RNA 作为分子标记, 探索着其对疾病死亡诊断和治疗的潜能。非编码 RNA 家族^[4]主要包括微小 RNA (microRNA, miRNA)、小干

扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)、lncRNA, 其中, miRNA 和 siRNA 的长度仅在 20~22 个核苷酸, 与生命过程中发育及疾病有关, 一直是国内外研究的热点; lncRNA 在表观遗传学方面可调控疾病的发生发展, 也逐步成为近年来研究的热点。

1 lncRNA 的概述

lncRNA 是 RNA 聚合酶 II 转录的副产物, 经剪接 5' 端加帽子和 3' 端加多聚 A 尾巴之后, 其结构和 mRNA 相像, 但缺乏开放阅读框架。在 2014 年更新的 lncRNA 数据库中, 共收入了 210 831 种 lncRNA, 对应人类 95 135 种基因^[5]。

1.1 lncRNA 的分类^[3] ① 基因间 lncRNA: 位于两个蛋白编码基因之间, 大部分 lncRNA 属于此类; ② 同义 lncRNA: 来源于同义链的蛋白编码区, 可以与内含子重叠, 可以是外显子的一部分也可以是全部; ③ 反义 lncRNA: 与互补链的外显子基因重叠; ④ 内含子 lncRNA: 来源于另一个编码基因的内含子; ⑤ 双向 lncRNA: 与互补链间距 < 1 000 bp, 转录方向相反的, 编码转录起始点在基因位点上相近; ⑥ 增强子 lncRNA: 一般 < 10 002 bp, 来源于基因的增强子区域。见图 1。

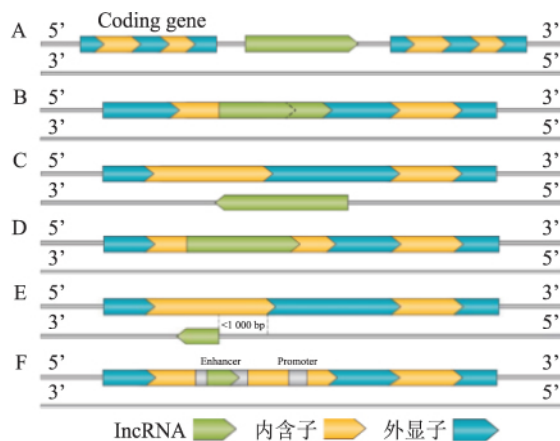


图 1 lncRNA 的分类

A: 基因间 lncRNA; B: 同义 lncRNA; C: 反义 lncRNA; D: 内含子 lncRNA; E: 双向 lncRNA; F: 增强子 lncRNA

2017-04-06 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81370238); 北京市自然科学基金(编号: 7142156)

作者单位: ¹安徽医科大学海军临床学院, 北京 100048

²海军总医院心脏中心, 北京 100048

作者简介: 程 涛, 女, 硕士研究生;

陈 宇, 女, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者,

E-mail: yuchen911@ hotmail.com

1.2 lncRNA 作用机制 相比 mRNA 和 miRNA 转录的高保守性, lncRNA 更具有生物的多样性, 即使直系同源的 lncRNA 基因组序列, 其保守性也相当低, 虽然本研究对 lncRNA 的探索才刚刚开始, 但已证实 lncRNA 参与心脏及其它多个器官的很多生物过程。miRNA 的生物调控是通过与靶基因的不完全互补结合, 抑制翻译, 从而调控基因表达; 而 lncRNA 调控基因表达具有多样性, 主要参与抑制或激活基因表达、核内运输等多种调控过程。在表观遗传性方面, lncRNA 主要存在于细胞核内, 与染色质的核蛋白相互结合, 从而控制基因的表达或沉默。Quinozod et al^[6] 提出了一种 RNA - DNA - 蛋白复合体的模型, 其由在细胞核内的 lncRNA、靶基因及相应的核蛋白组成, lncRNA 通过改变靶基因构象, 进行转录水平调控。研究^[7] 表明, 具有转录后调控功能的 lncRNA, 约占总 lncRNA 的 15%, 存在于细胞质中, 参与调控蛋白质的翻译过程。因此, 如果 lncRNA 表达异常, 将可能导致机体内环境紊乱或疾病发生。

2 lncRNA 与心血管疾病

通过使用高通量的测序技术(如 RNA-seq 测序和 lncRNA 芯片技术), 结果显示 lncRNA 在人类和动物的心脏疾病模型中起重要作用^[8]。已有研究^[9-13] 表明 Bvrt、ANRIL、Fendrr、MIAT-1 和 Mhrt 在心脏疾病中扮演重要角色, 如心肌梗死、冠心病、动脉粥样硬化和心衰; 这里简单介绍近年来新发现的 7 种不同的 lncRNA 与 3 种心血管疾病可能存在的关联。近期, Vausort et al^[14] 通过对心肌梗死的大样本病例对照研究, 发现 lncRNA HIF1A-AS2、ANRIL、KCNQ1OT1、MIAT 和 MALAT1 在 414 例心肌梗死患者体内发生变化, 如 HIF1A-AS2、KCNQ1OT1、MALAT1 表达增高, 急性心肌梗死发作时 ANRIL 降低; 心衰时 lncRNA LIPCAR 增高^[15], 冠心病患者的血清中 lncRNA CoroMarker 增高^[16], 同时发现, ANRIL、HIF1A-AS2、MIAT、MALAT1 还具有很好的鉴别

ST 段抬高型心肌梗死和非 ST 段抬高型心肌梗死的功能^[14]。这些研究结果提示, lncRNA 将成为心血管疾病诊疗的新思路及新靶点。见表 1。

2.1 lncRNA 与心脏发育 越来越多的研究^[17] 表明, lncRNA 与胚胎形成和心脏的发育有关, 调控着干细胞分化和器官形成的整个过程, 在胚胎中胚层细胞向心肌细胞的分化的过程扮演着重要角色。本研究介绍了几个关于心脏发育的 lncRNA 分子: 胚胎期 lncRNA AK143260 激活中胚层细胞向多能心脏祖细胞分化的复杂分子通路, 如果缺失 lncRNA AK143260, 干细胞便不能向心肌细胞分化; lncRNA TERMINATOR 保持多能干细胞分化的特性, 并控制着心血管发育有关的 lncRNA ALIEN 的功能, lncRNA PUNISHER 激活心脏祖细胞向心脏内皮细胞分化^[18]; lncRNA Bvht 调控 Mesp1 的基因表达, Bvht 与介导 H3K27 的甲基化调控的核心蛋白复合体 PRC2 结合, 使 Mesp1 基因沉默, 而 Mesp1 作为脊椎动物胚胎中胚层向心脏祖细胞分化的调节基因, 负责启动心肌分化数百个基因, 缺失 Mesp1 的胚胎, 心脏将无法形成^[19]。lncRNA Fendrr 是胚胎干细胞向心脏室间隔发育的必要因子, 实验显示 Fendrr 控制着许多影响心脏形成的转录因子的表达, 敲除 Fendrr 基因的转基因模型小鼠, 其转录因子 GATA-6、NKX2.5、FOXF1、TBX3、IRX3、PITX2 表达下降, 室间隔变薄, 心肌细胞减少, 最后胚胎死亡^[11]。

2.2 lncRNA 与心肌梗死 Zangrando et al^[20] 在小鼠的心梗模型中, 发现部分 lncRNA 的表达存在差异, 其中有两种 lncRNA 的表达明显增加, 其分别为心肌梗死相关的转录蛋白 Mirt1 和 Mirt2, 通过实时 PCR 显示, 心肌梗死早期 Mirt1 和 Mirt2 达到高峰, 2 d 后恢复基线水平。在心肌梗死早期, Zangrando et al^[20] 对小鼠心肌梗死模型进行原位分子杂交, 发现 lncRNA Mirt1 和 Mirt2 定位于心肌梗死模型的左心室, 当两种 lncRNA 共同表达时左室心肌细胞重塑; 当增加 Mirt1 和 Mirt2 的表达, 心室的射血分数将恢复正常, 心脏的收缩功能恢复正常^[21]。从这个实验

表 1 lncRNA 与心血管疾病

病种	lncRNA	达筛选标准 lncRNA 数	定位	患者分组	意义
心肌梗死 ^[14]	KCNQ1OT1、MIAT、MALAT1、HIF1A-AS2、ANRIL	5	-	274 STEMI/ 140 NSTEMI/86 正常	与心血管患者未来病死率有关
心衰 ^[15]	LIPCAR	V 筛选: 33 045; 有效: 7	血浆	15 LVM/15 无 LVM	与心血管患者未来病死率有关
冠心病 ^[16]	CoroMarker	5	细胞外囊泡, 单核细胞	211 冠心病/1 877 对照组	与其它心血管疾病的 lncRNA 表达相比较

TnI: 肌钙蛋白 I; STEMT: ST 段抬高型心肌梗死; NSTEMT: 非 ST 段抬高型心肌梗死; LVM: 左心室重塑

表2 lncRNA 与心血管疾病(鼠)

lncRNA	分类	染色体区段	疾病	生物功能
MIRT1 ^[20]	基因间 lncRNA	Chr19	心肌梗死	促进炎症细胞在心脏的浸润
MIRT2 ^[20]	未分类	Chr19	心肌梗死	促进炎症细胞在心脏的浸润
APF ^[22]	同义 lncRNA	-	心肌梗死	抑制心肌细胞自噬
Mhrt ^[24]	基因间 lncRNA	14q11.2	心肌肥厚	对 Brg1 和靶 DNA 结合过程竞争性抑制
RP5-833A20.1 ^[25]	未分类	-	动脉粥样硬化	RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA 通路调节胆固醇平衡和减少炎症反应

结果可以推断 ,Mirt1 和 Mrit2 的表达可使缺血梗死的心肌细胞重塑。

青岛大学医学院的研究者^[22]在梗死的心肌中发现一种新型的 lncRNA 称为自噬促进因子(auto-phagy promoting factor ,APF) ,APF 与 miR-188-3p、自噬相关蛋白 7(autophagy-related protein 7 ,ATG7) 组成一种自噬调控模式 ,控制着细胞自噬性死亡和心肌梗死。miR-188-3p 的增加对 ATG7 的表达起负调控作用 ,从而抑制细胞自噬性死亡和心肌梗死; 而 lncRNA AFP 的靶点为 miR-188-3p ,当 APF 增加 ,miR-188-3p 表达增加 ,ATG7 的表达降低。因此 ,当心肌梗死时 ,APF 表达开始增加 ,APF 与 miR-188-3p、ATG7 组成的独特调控模式 ,起到了阻止心肌细胞的凋亡 ,减少梗死心肌细胞的作用。

2.3 lncRNA 与心力衰竭 心脏病理性肥大包括心脏腔室的扩大和心肌细胞的肥大 ,少部分情况下会同时存在 ,导致心脏肥大的原因主要有心脏容量负荷和压力负荷过大。在疾病初期 ,心肌细胞变肥大 ,以增加心肌收缩力 ,从而心腔可以代偿容纳更多的血液; 当心肌肥厚达到代偿极限时 ,心肌收缩力下降 ,心腔逐渐增大 ,室壁变薄 ,此时机体和心脏的血液供需失调引起心衰^[4]。2013 年 ,据美国心脏协会公布的数据表明 ,预计到 2030 年美国将有 800 万的心衰患者 ,心衰将成为成人死亡的主要原因^[23]。

Han et al^[24]发现了可表达心肌收缩有关的蛋白肌球蛋白重链 7(myosin heavy chain 7 ,Myhy7) 的基因 ,其在正常成人心脏内大量存在 ,通过特异性反转录产生 lncRNA 肌球蛋白重链相关的 RNA 转录物。正常心肌细胞中存在一种核染色质重塑因子 Brg1 ,当病理压力负荷存在时 ,Brg1 与附近的蛋白组成的染色体抑制复合物 ,即 Brg1-Hdac-Parp 复合物被激活 ,抑制了 Mhrt 基因的表达。Brg1 在心脏受到病理压力的刺激下表达也会增加 ,结合到周围的裸 DNA 上 ,导致心肌病变。研究^[24]显示 ,Brg1 存在一个可以和 lncRNA Mhrt 结合的双重解螺旋区域 ,当 Mhrt 与 Brg1 结合 ,便阻止了 Brg1 结合到周围的裸 DNA 上 ,起到保护心肌细胞的作用 ,降低了 Brg1 对

心肌的损害。因此 ,Mhrt 有可能成为病理性心脏肥大引起的心衰治疗的探索方向。

2.4 lncRNA 与动脉粥样硬化 动脉粥样硬化形成机制是由于脂质代谢障碍 ,胆固醇、类脂肪沉积于血管内膜 ,刺激内皮细胞发生炎症反应 ,单核细胞向巨噬细胞分化 ,巨噬细胞吞噬脂质形成脂质斑块及血栓 ,造成血管的狭窄 ,引起血流动力学紊乱; 在血管内的斑块被认为是动脉粥样硬化的高危险因素 ,血压过高时斑块易脱落或破裂造成脑卒中 ,威胁患者生命。

最近有研究^[25]表明 ,lncRNA 可能与斑块的形成有关 ,Hu et al 发现 lncRNA RP5-833A20.1 控制着核因子 IA(nuclear factor IA ,NFIA) 的表达 ,NFIA 属于对胶质细胞再生有调控作用的核因子 I 家族。体外实验证明 ,NFIA 对脂肪细胞内脂核的发生早期起调控作用 ,当 NFIA 表达异常增加时 ,脂肪小滴也随之增加 ,且发现 lncRNA RP5-833A20.1 可以通过促进其下游基因 has-miR-382-5p 的表达抑制 NFIA 的表达; 因此 ,通过 RP5-833A20.1/has-miR-382-5p 途径控制 NFIA 低表达 ,可减缓动脉粥样硬化斑块的形成 ,但表达异常增加将促进动脉粥样硬化斑块的形成^[26]。

2.5 lncRNA 与缺血再灌注损伤 Liu et al^[27]通过对小鼠心肌梗死模型缺血早期再灌注时 lncRNA 的表达水平 ,研究了 lncRNA 对心肌缺血再灌注的病理机制。结果显示 ,在检测的 31 423 种 lncRNA 中 ,缺血再灌注后 ,有 64 种 lncRNA 增加 ,87 种 lncRNA 减少; 在缺血梗死区域 ,lncRNA 的异常表达现象比较明显 ,这也许是造成细胞恢复和组织坏死之间不平衡的原因。关于近几年 ,科学家们对于在动物模型中所发现的一些 lncRNA 与心血管疾病的关系做了简单的统计 ,见表 2。

3 结语与展望

综上所述 ,随着对 lncRNA 研究的深入 ,曾经被称为基因噪音的 lncRNA ,成为了近年来疾病研究的新热点。lncRNA 不仅作为真核生物基因表达调控

的重要组成部分,同时也在细胞凋亡、自噬、增殖、分化等过程起到调控作用,在心血管系统中,通过复杂的分子机制参与心脏及心血管疾病的发生发展。目前,人类基因组大约有2万个lncRNA,据lncRNA的疾病数据库显示已阐明与疾病相关的lncRNA甚少,相信随着科学技术的进步,人们会逐步发现和证明更多的lncRNA与人体疾病及心血管疾病发生机制,对提高心血管疾病的治愈和降低死亡率开辟一条新的道路^[28]。

参考文献

- [1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2015》概要[J].中国循环杂志,2016,31(6):521-8.
- [2] Rinn J L, Chang H Y. Genome regulation by long noncoding RNAs[J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 145-66.
- [3] Devaux Y, Zangrando J, Schroen B, et al. Long noncoding RNAs in cardiac development and ageing[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(7): 415-25.
- [4] Ma Y, Ma W, Huang L, et al. Long non-coding RNAs, a new important regulator of cardiovascular physiology and pathology[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 188: 105-10.
- [5] Xie C, Yuan J, Li H, et al. NONCODEv4: exploring the world of long non-coding RNA genes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue): D98-103.
- [6] Quinodoz S, Guttman M. Long noncoding RNAs: an emerging link between gene regulation and nuclear organization[J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(11): 651-63.
- [7] Kapranov P, Cheng J, Dike S, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription[J]. *Science*, 2007, 316(5830): 1484-8.
- [8] Yan L, Yang M, Guo H, et al. Single-cell RNA-Seq profiling of human preimplantation embryos and embryonic stem cells[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20(9): 1131-9.
- [9] Klattenhoff C A, Scheuermann J C, Surface L E, et al. Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment[J]. *Cell*, 2013, 152(3): 570-83.
- [10] Broadbent H M, Peden J F, Lorkowski S, et al. Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(6): 806-14.
- [11] Grote P, Wittler L, Hendrix D, et al. The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse[J]. *Dev Cell*, 2013, 24(2): 206-14.
- [12] Wu C, Arora P. Long noncoding lincRNA: molecular crowbar unravel insights into heart failure treatment. [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2015, 8(1): 213-5.
- [13] Peters T, Hermans-Beijnsberger S, Beqqali A, et al. Long non-coding RNA malat-1 is dispensable during pressure overload-induced cardiac remodeling and failure in mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e150236.
- [14] Vausort M, Wagner D R, Devaux Y. Long noncoding RNAs in patients with acute myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2014, 115(7): 668-77.
- [15] Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure [J]. *Circ Res*, 2014, 114(10): 1569-75.
- [16] Yang Y, Cai Y, Wu G, et al. Plasma long non-coding RNA, CoroMarker, a novel biomarker for diagnosis of coronary artery disease [J]. *Clin Sci(Lond)*, 2015, 129(8): 675-85.
- [17] Fatima R, Akhade V S, Pal D, et al. Long noncoding RNAs in development and cancer: potential biomarkers and therapeutic targets [J]. *Mol Cell Ther*, 2015, 3: 5.
- [18] Kurian L, Aguirre A, Sancho-Martinez I, et al. Identification of novel long noncoding RNAs underlying vertebrate cardiovascular development [J]. *Circulation*, 2015, 131(14): 1278-90.
- [19] Bondue A, Lapouge G, Paulissen C, et al. Mesp1 acts as a master regulator of multipotent cardiovascular progenitor specification [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(1): 69-84.
- [20] Zangrando J, Zhang L, Vausort M, et al. Identification of candidate long non-coding RNAs in response to myocardial infarction [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 460.
- [21] Ounzain S, Pezzuto I, Micheletti R, et al. Functional importance of cardiac enhancer-associated noncoding RNAs in heart development and disease [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 76: 55-70.
- [22] Wang K, Liu C Y, Zhou L Y, et al. APF lncRNA regulates autophagy and myocardial infarction by targeting miR-188-3p [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6779.
- [23] Heidenreich P A, Albert N M, Allen L A, et al. Forecasting the impact of heart failure in the united states a policy statement from the american heart association [J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(3): 606-19.
- [24] Han P, Li W, Lin C, et al. A long noncoding RNA protects the heart from pathological hypertrophy [J]. *Nature*, 2014, 514(7520): 102-6.
- [25] Hu Y W, Zhao J Y, Li S F, et al. RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA-dependent signal transduction pathway contributes to the regulation of cholesterol homeostasis and inflammatory reaction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(1): 87-101.
- [26] Waki H, Nakamura M, Yamauchi T, et al. Global mapping of cell type-specific open chromatin by FAIRE-seq reveals the regulatory role of the NFI family in adipocyte differentiation [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(10): e1002311.
- [27] Liu H, Song G, Zhou L, et al. Compared analysis of lncRNA expression profiling in pdk1 gene knockout mice at two time points [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(5): 1497-508.
- [28] Ruhle F, Stoll M. Long non-coding RNA databases in cardiovascular research [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14(4): 191-9.