

心血管疾病相关 lncRNA 调控机制的研究进展

卢耀星^{1,2} 综述, 杨建安², 刘银河² 审校

(1. 南华大学医学院, 湖南省衡阳市 421001; 2. 深圳市孙逸仙心血管医院, 广东省深圳市 518000)

[关键词] 长链非编码 RNA; 心血管疾病; 调控机制; 信号通路

[摘要] 近年来随着分子生物学技术的发展, 心血管疾病发病的研究进入了基因检测时代。越来越多的研究表明, 长链非编码 RNA(lncRNA) 与心血管疾病有着密切的联系, 在调控心血管疾病的发生发展过程中发挥了关键作用。本文就心血管疾病相关 lncRNA 的调控机制作一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research Progress of Long Non-coding RNA as Regulator in Pathogenesis of Cardiovascular Disease

LU Yao-Xing^{1,2}, YANG Jian-An², and LIU Yin-He²

(1. Medical College of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Sun Yat-sen Cardiovascular Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

[KEY WORDS] Long Non-coding RNA; Cardiovascular Disease; Regulation Mechanism; Signaling Pathway

[ABSTRACT] With the development of molecular biology technology in recent years, cardiovascular disease research entered the era of genetic testing. An increasing number of studies shows that, lncRNA not only has close relationship with cardiovascular disease, but also plays a key role in cardiovascular disease of the regulation mechanism. This review focuses on the association between lncRNA and cardiovascular disease.

经研究发现, 长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 的表达或功能异常与心血管疾病、癌症和神经退行性疾病等多种疾病密切相关^[1]。心血管疾病是导致死亡的首要原因, 严重威胁着人类的健康, 而目前心血管疾病的发病率呈现逐年上升趋势, 虽然医学技术的进步及诊疗水平不断提高, 但其死亡率并没有显著减少^[2]。因此, 心血管疾病相关 lncRNA 的研究也成为了热点。本文着重就 lncRNA 在心血管疾病发生发展过程中可能的调控机制作一综述。

1 lncRNA 概述

lncRNA 是指一类转录本长度大于 200 个核苷酸单位, 不编码蛋白质的非编码 RNA(non-coding

RNA, ncRNA)^[3]。在人类基因组中, 仅有 2% 的基因能编码蛋白质, 而非编码 RNA 占人类基因组中绝大多数(98%)的转录^[4-5]。根据非编码 RNA 片段的长度, 可将它们分为长链非编码 RNA(>200 nt) 和短链非编码 RNA, 其中短链非编码 RNA 包括微小 RNA(microRNA, miRNA)、小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)、Piwi 蛋白相互作用 RNA(Piwi-interacting RNA, piRNA)、核仁小分子 RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)等^[6]。lncRNA 位于细胞核或细胞质中, 主要由 RNA 聚合酶 II 转录而来, 可被选择性剪接或聚腺苷酸化, 也有启动子的结构并在基因组中广泛表达^[7]。lncRNA 在不同生物过程中发挥重要作用, 参与了表观遗传、转录和转录后调控过程, 并与人类的重大疾病密切相关^[8-9]。

[收稿日期] 2016-01-15

[修回日期] 2016-03-24

[作者简介] 卢耀星, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病相关 lncRNA 筛选及调控机制分析, E-mail 为 330384175@qq.com。刘银河, 硕士, 主管技师, 研究方向为大血管相关小 RNA 的基因检测及功能分析, E-mail 为 lansellehe@163.com。通讯作者杨建安, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为大血管疾病相关基因检测及功能研究, E-mail 为 yangjianan@hotmail.com。

2 lncRNA 与心血管疾病

最新研究表明,lncRNA 在调控心血管疾病的发生发展过程中发挥了关键作用,如心力衰竭、动脉瘤、主动脉夹层、动脉粥样硬化、冠心病等疾病^[10-11]。

2.1 lncRNA 调控心力衰竭

lncRNA 的异常表达可能参与了心力衰竭的发病机制,通过调控相关靶基因,主要激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路从而影响心力衰竭的发生与发展,也与心力衰竭患者预后密切相关。

Gao 等^[12]建立缺血性心力衰竭大鼠模型,通过比较实验组和对照组 lncRNA、mRNA 的差异表达,发现有 1197 个 lncRNA 和 2066 个 mRNA 表达上调,而 1403 个 lncRNA 和 2871 个 mRNA 表达下调,并证实了 4 对 lncRNA-mRNA 表达与心力衰竭相关。研究发现 MRAK140148 和 KCND2 均表达下调,MRAK140148 可能促进心力衰竭的发展。MRAK078262 表达明显上调,而细胞周期相关激酶 (cell cycle related kinase, CCRK) 表达下调,MRAK078262 在心力衰竭的进展中可能负调控 CCRK。MRAK018538 表达上调,而柠檬酸合酶 (citrate synthase, CS) 表达明显下调。MRAK053119 和 Corin (丝氨酸蛋白酶) 均表达下调,MRAK053119 在心力衰竭的进展中可能正向调节 Corin。此外,通路分析显示,lncRNA 在缺血性心力衰竭中的差异性表达,主要参与是 MAPK 信号通路。既往研究表明,MAPK 信号通路能调节心肌细胞增殖与凋亡、纤维变性、肥大和心肌重构等^[13],MAPK 信号通路的激活会使缺血再灌注损伤引起的心肌损伤加重,可能导致心力衰竭的发生^[14]。Liu 等^[15]通过丙酮酸脱氢酶激酶 1 (pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1) 基因心肌特异性敲除小鼠心力衰竭模型,在心脏组织的 lncRNA 表达谱中筛选发现了 MKK7,出生后第 8 天 PDK1 基因敲除小鼠 MKK7 在心肌细胞中表达下调,MKK7 可能通过参与 MAPK 信号通路而与心力衰竭相关。

目前在血浆中发现了很多 lncRNA 可作为心力衰竭潜在的新型生物标志物。Kumarswamy 等^[16]研究发现 788 名心力衰竭患者血浆 LIPCAR 在心肌梗死后早期表达下调,但在心肌梗死后第 1 个月、第 3 个月、第 12 个月表达上调,在慢性心力衰竭患者中表达上调。LIPCAR 含量与心血管疾病死亡风险密切相关,且含量越高风险越大,它可能是评估心

力衰竭预后的一种新型生物标志物。另外,Archer 等^[17]发现心力衰竭组与健康人群组血浆中 DGCR5、H19-AS、HOTAIR、RMRP 这 4 种 lncRNA 存在差异表达。心力衰竭相关 lncRNA 调控机制、生物学功能见表 1。

表 1. 与心力衰竭相关的 lncRNA

Table 1. LncRNA associated with heart failure

lncRNA	调控机制、生物学功能
MRAK140148	通过减少 KCND2 基因的表达,促进心力衰竭的发展 ^[12]
MRAK078262	通过负调控 CCRK 进而增加心肌细胞死亡速度,促进心力衰竭的发展 ^[12]
MRAK018538	通过负调控 CS,促进心力衰竭的发展 ^[12]
MRAK053119	通过正向调节 Corin,促进心力衰竭的发展 ^[12]
MKK7	通过 MAPK 信号通路参与心力衰竭的发生发展 ^[15]
LIPCAR	与心血管疾病死亡风险呈正相关,可以评估心力衰竭患者的预后 ^[16]

2.2 lncRNA 调控动脉瘤、主动脉夹层

lncRNA 在动脉瘤方面的研究中取得了一定的进展,但仍需要进一步的验证和功能分析。全基因组关联研究 (GWAS) 确定了 INK4 位点反义非编码 RNA (antisense non-coding RNA in the INK4 locus, ANRIL) 为颅内动脉瘤和腹主动脉瘤的遗传易感性位点,证实了 ANRIL 与颅内动脉瘤的易感性相关^[18-20]。然而,ANRIL 在动脉瘤的调控机制尚不清楚,它可能参与细胞增殖和凋亡过程,也可能参与粥样斑块的形成,还需要功能缺失研究进一步确认。

主动脉壁中膜血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的增殖和凋亡在主动脉夹层的发生、发展过程中扮演重要作用。研究表明,lncRNA 能调控多种细胞的增殖和凋亡^[21]。Wang 等^[22]研究发现胸主动脉夹层组 Brahma 相关基因 1 (Brahma-related gene-1, BRG-1) mRNA 和蛋白的表达水平显著升高,免疫组织化学结果显示 BRG-1 在胸主动脉夹层组 VSMC 中的表达水平高于正常对照组。接着在人类主动脉 VSMC 中进行 BRG-1 基因的过表达实验,过表达的 BRG-1 能促进 VSMC 凋亡进而抑制 VSMC 增殖。该研究继续通过 BRG-1 干扰表达和过表达的实验中筛选表达差异的 lncRNA,发现缺氧诱导因子 1 α 反义 RNA (HIF 1 α -antisense RNA 1, HIF1 α -AS1) 的表达水平变化最为明显,而 HIF1 α -AS1 在 BRG-1 干扰表达和过表达的 VSMC 中分别表达下调和表达上调。进一步通过抑制

HIF1 α -AS1 的表达, VSMC 凋亡明显减少而增殖却增多。总之, BRG-1 和 HIF1 α -AS1 之间的相互作用在 VSMC 凋亡和增殖这一动态平衡中至关重要^[23-24]。这很可能是 lncRNA 参与主动脉夹层发病的机制之一, 为主动脉夹层的病理机制提供了新的研究思路, 但仍需动物实验进一步证明 HIF1 α -AS1 和 BRG-1 相互作用机制。动脉瘤、主动脉夹层的相关 lncRNA 调控机制及生物学功能见表 2。

表 2. 与动脉瘤、主动脉夹层相关的 lncRNA
Table 2. lncRNA associated with aortic aneurysm and aortic dissection

lncRNA	调控机制、生物学功能
ANRIL	动脉瘤的遗传易感性位点, 与动脉瘤的易感性相关 ^[18-20]
HIF1 α -AS1	通过与 BRG-1 之间的相互作用而调控 VSMC 的凋亡和增殖 ^[23-25]

2.3 lncRNA 调控动脉粥样硬化和冠心病

lncRNA 通过调控相关靶基因, 影响 VSMC 和单核巨噬细胞的增殖及凋亡, 调节胆固醇代谢, 从而影响动脉粥样硬化及冠心病的发生和发展。

Wu 等^[25]研究发现在载脂蛋白 E 基因敲除 (apolipoprotein E knockout, ApoE^{-/-}) 小鼠动脉粥样硬化模型中 lincRNA-p21 (基因间 lncRNA) 表达下调, 通过功能缺失和功能获得的体外实验中, lincRNA-p21 抑制了小鼠 VSMC 和单核巨噬细胞的增殖和诱导了细胞凋亡, 在颈动脉损伤体内模型中抑制 lincRNA-p21 会导致血管内膜增生。研究表明 P53 的失活能促进动脉粥样硬化形成, lincRNA-p21 通过 P53 信号通路反馈增强 P53 活性, lincRNA-p21 直接与 E3 泛素蛋白连接酶 MDM2 结合, 导致 P53 被 MDM2 释放而与乙酰转移酶 P300 结合, P300 通过乙酰化 P53 从而增强其活性。进一步结果表明, lincRNA-p21 在冠心病患者中的表达下降。高表达 lincRNA-p21 能够抑制动脉粥样硬化形成, 也为冠心病的基因治疗提供了新思路。

Hu 等^[26]研究发现 RP5-833A20.1 是调控 NFIA 基因的 lncRNA, 它可能通过诱导 has-miR-382-5p 表达来减少 NFIA 的表达。而 NFIA 过表达能增加高密度脂蛋白胆固醇、减少低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白、增加胆固醇的逆转运和抑制动脉粥样硬化形成等。研究表明 RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA 相关的信号转导通路能调节胆固醇稳态和炎症反应。Hu 等^[27]研究还发现 DYN-LRB2-2 是抑制

动脉粥样硬化形成的 lncRNA, 通过 G 蛋白偶联受体 119 依赖的信号途径上调 ATP 结合盒转运蛋白 A1 表达, 促进巨噬细胞胆固醇流出。总之, RP5-833A20.1 和 DYN-LRB2-2 这两种 lncRNA 均能抑制血管动脉粥样硬化发生, 而且还能调节胆固醇平衡。

H19 是印迹基因编码的 lncRNA, 出生后表达降低, 但在动脉粥样硬化患者中重新表达, Gao 等^[28]在中国人群中首次证实了 H19 (rs217727、rs2067051、rs2251375、rs4929984) 的常见多态性与冠心病的发病风险有关。Yang 等^[29]通过微阵列分析冠心病患者和正常人的血浆, 在差异性表达的 lncRNA 中发现 CoroMarker 水平最稳定。应用 Fisher 标准建立诊断模型, 当 CoroMarker 最佳灵敏度从 68.29% 升高到 78.05%, 特异性从 91.89% 下降到 86.49%, 因此提出 CoroMarker 很可能成为诊断冠心病的一种新型的血浆生物标志物。CoroMarker 的研究仅在该医院进行, 可能需要多中心临床研究进一步验证。动脉粥样硬化、冠心病的相关 lncRNA 调控机制、生物学功能见表 3。

表 3. 与动脉粥样硬化、冠心病相关的 lncRNA
Table 3. lncRNA associated with atherosclerosis and coronary heart disease

lncRNA	调控机制、生物学功能
lincRNA-p21	通过 P53 信号通路反馈增强 P53 活性, 从而抑制动脉粥样硬化形成 ^[25]
RP5-833A20.1	参与 RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA 信号通路, 通过诱导 has-miR-382-5p 表达来减少 NFIA 的表达, 从而抑制动脉粥样硬化形成 ^[26]
DYN-LRB2-2	通过 GPR119 依赖的信号途径上调 ABCA1 表达, 抑制动脉粥样硬化形成 ^[27]
H19	在动脉粥样硬化患者中重新表达, 它的常见多态性与冠心病的发病风险有关 ^[28]
CoroMarker	在冠心病患者的血浆中很稳定, 很可能成为诊断冠心病的一种新型血浆生物标志物 ^[29]

3 结语与展望

随着研究的深入, 新的 lncRNA 不断被发现, 注释信息也进一步完善, lncRNA 疾病数据库 (LncRNA-Disease) 不断被更新。lncRNA 与 mRNA 及 miRNA 构成了一个多通路、多层次的复杂基因调控网络, miRNA-mRNA-lncRNA 的相互作用网络, 能够更好的从一个新的视角理解心血管疾病在分子水平上的发病机制。然而对 lncRNA 的研究仍处于起步阶

段,其参与的复杂作用机制及信号通路还需进一步阐明。随着新型的血浆生物标志物越来越多,为心血管疾病提供了更加准确的诊断和预后评价,调控机制及信号通路不断被探索,也为心血管疾病的病因诊断及治疗提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease [J]. Trends Cell Biol, 2011, 21 (6): 354-361.
- [2] 胡春松, 吴清华, 胡大一. 中国心血管现状:挑战与对策[J]. 中华高血压杂志, 2015, 23 (7): 625-626.
- [3] Caley DP, Pink RC, Trujillano D, et al. Long noncoding RNAs, chromatin, and development [J]. ScientificWorld-Journal, 2010, 10: 90-102.
- [4] ENCODE Project Consortium, Birney E, Stamatoyannopoulos JA, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project[J]. Nature, 2007, 447 (7146): 799-816.
- [5] Nagano T, Fraser P. No-nonsense functions for long noncoding RNAs [J]. Cell, 2011, 145 (2): 178-181.
- [6] Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs[J]. RNA Biol, 2013, 10 (6): 925-933.
- [7] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. Nat Rev Genet, 2009, 10 (3): 155-159.
- [8] 连晓清, 王连生. 长链非编码 RNA 的功能及与心血管病的研究进展 [J]. 国际遗传学杂志, 2012, 35 (5): 295-299.
- [9] Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs[J]. Nature, 2012, 482 (7385): 339-346.
- [10] Uchida S, Dimmeler S. Long noncoding RNAs in cardiovascular diseases[J]. Circ Res, 2015, 116 (4): 737-750.
- [11] Thum T, Condorelli G. Long noncoding RNAs and microRNAs in cardiovascular pathophysiology[J]. Circ Res, 2015, 116 (4): 751-762.
- [12] Gao W, Wang ZM, Zhu M, et al. Altered long noncoding RNA expression profiles in the myocardium of rats with ischemic heart failure[J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2015, 16 (7): 473-479.
- [13] Rose BA, Force T, Wang Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale [J]. Physiol Rev, 2010, 90 (4): 1 507-546.
- [14] Portbury AL, Ronnebaum SM, Zungu M, et al. Back to your heart: ubiquitin proteasome system-regulated signal transduction [J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52 (3): 526-537.
- [15] 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): 1 497-508.
- [16] Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, et al. Circulating long noncoding RNA, LPCAR, predicts survival in patients with heart failure[J]. Circ Res, 2014, 114 (10): 1 569-575.
- [17] Archer K, Broskova Z, Bayoumi AS, et al. Long non-coding RNAs as master regulators in cardiovascular diseases[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16 (10): 23 651-667.
- [18] Helgadóttir A, Thorleifsson G, Magnússon KP, et al. The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm [J]. Nat Genet, 2008, 40 (2): 217-224.
- [19] Pasmant E, Sabbagh A, Vidaud M, et al. ANRIL, a long, non-coding RNA, is an unexpected major hotspot in GWAS [J]. FASEB J, 2011, 25 (2): 444-448.
- [20] Foroud T, Koller DL, Lai D, et al. Genome-wide association study of intracranial aneurysms confirms role of Anril and SOX17 in disease risk[J]. Stroke, 2012, 43 (11): 2 846-852.
- [21] Liu Q, Huang J, Zhou N, et al. LncRNA loc285194 is a p53-regulated tumor suppressor[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41 (9): 4 976-987.
- [22] Wang S, Zhang X, Yuan Y, et al. BRG1 expression is increased in thoracic aortic aneurysms and regulates proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells through the long non-coding RNA HIF1A-AS1 in vitro[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2015, 47 (3): 439-446.
- [23] Zhao Y, Feng G, Wang Y, et al. Regulation of apoptosis by long non-coding RNA HIF1A-AS1 in VSMCs: implications for TAA pathogenesis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7 (11): 7 643-652.
- [24] He Q, Tan J, Yu B, et al. Long noncoding RNA HIF1A-AS1A reduces apoptosis of vascular smooth muscle cells: implications for the pathogenesis of thoracoabdominal aorta aneurysm [J]. Pharmazie, 2015, 70 (5): 310-315.
- [25] Wu G, Cai J, Han Y, et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity[J]. Circulation, 2014, 130 (17): 1 452-465.
- [26] Hu YW, Zhao JY, Li SF, 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.
- [27] Hu YW, Yang JY, Ma X, et al. A lincRNA-DYNLRB2-2/GPR119/GLP-1R/ABCA1-dependent signal transduction pathway is essential for the regulation of cholesterol homeostasis[J]. J Lipid Res, 2014, 55 (4): 681-697.
- [28] Gao W, Zhu M, Wang H, et al. Association of polymorphisms in long non-coding RNA H19 with coronary artery disease risk in a Chinese population[J]. Mutat Res, 2015, 772: 15-22.
- [29] 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): 675-685.

(此文编辑 文玉珊)