

lncRNA 在钙化性主动脉瓣疾病中的作用研究新进展

陈子英, 王思颖, 朱东兴

(广州医科大学基础学院基础医学研究中心, 广东省广州市 511436)

[关键词] lncRNA; 瓣膜间质细胞; 成骨样细胞转分化; 钙化性主动脉瓣疾病

[摘要] 钙化性主动脉瓣疾病是老年人群中最常见的一种心脏瓣膜疾病, 目前尚无有效药物逆转或预防其发病过程。钙化性主动脉瓣疾病致病过程高度类似于骨代谢和骨发育, 但其具体致病机制尚不完全清楚。lncRNA 是一种长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA, 具有重要的生物学功能。诸多研究表明 lncRNA 在钙化性主动脉瓣疾病中有表达差异, 并通过不同机制参与钙化性主动脉疾病的发生。本文将综述近年来 lncRNA 与钙化性主动脉瓣疾病的重要进展, 为进一步理解钙化性主动脉瓣疾病发生发展的分子机制提供依据。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Recent advances of lncRNAs in calcific aortic valve disease

CHEN Ziyang, WANG Siying, ZHU Dongxing

(Biomedical Research Center, Basic Medical School, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511436, China)

[KEY WORDS] lncRNAs; valve interstitial cells; osteogenic transition; calcific aortic valve disease

[ABSTRACT] Calcific aortic valve disease is frequently observed in the elderly. Currently, there is no treatment to reverse established calcific aortic valve disease. The responsible underlying molecular mechanisms have yet to be fully elucidated. Previous studies have demonstrated that calcific aortic valve disease shares many similarities to that of bone formation and bone metabolisms. lncRNAs are defined as non-coding transcripts longer than 200 nucleotides, with important biological functions. Emerging data have shown that lncRNAs differentially express in calcified aortic valves compared to normal control, which contribute significantly to the pathogenesis of calcific aortic valve disease through a number of distinct mechanisms. This study reviews here the current progress of lncRNAs and calcific aortic valve disease in recent years. These studies shed new lights on pathogenic mechanisms of calcific aortic valve disease.

随着人类基因组计划的完成, 研究人员发现人类基因组中约有 98% 的转录产物为非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA), 其中长度大于 200 个核苷酸的 ncRNA 被称为长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNA)^[1-2]。起初研究人员认为, lncRNA 是基因转录时产生的副产物, 不参与蛋白质的合成, 因而并不具有生物学功能。但近年来的研究发现, lncRNA 在转录激活、染色质修饰、X 染色体沉默及核内运输等过程中至关重要^[3], 并参与调控个体的生长发育及细胞的分化、增殖、凋亡等重要的生命活动^[4]。随着研究的不断深入, lncRNA 与人

类疾病的关系也逐渐被认知。钙化性主动脉瓣疾病是老年人群中最常见的一种心脏瓣膜疾病。最新研究发现 lncRNA 的异常表达与钙化性主动脉瓣疾病密切相关。lncRNA 调控钙化性主动脉瓣疾病的作用和机制逐渐被阐明。本文对已知的 lncRNA 在钙化性主动脉瓣疾病发生中的作用和机制进行综述。

1 钙化性主动脉瓣疾病

钙化性主动脉瓣疾病常见于老年人群。研究

[收稿日期] 2018-08-06

[修回日期] 2018-09-18

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81800428); 广东省教育厅特色创新项目(2017KTSCX158); 广东省科技创新战略专项资金项目(2018A030310178)

[作者简介] 陈子英, 硕士研究生, 研究方向为钙化性主动脉瓣疾病的发病机制, E-mail 为 15116305227@163.com。通信作者朱东兴, 博士, 副教授, 研究方向为钙化性心血管疾病的发病机制, E-mail 为 dongxing.zhu@gzhmu.edu.cn。

表明,在美国 65 岁以上人群中,钙化性主动脉瓣疾病患病率高达 25%^[5]。钙化性主动脉瓣膜疾病呈进行性发展,早期的主要病理表现为主动脉瓣硬化,后期则逐渐发展成主动脉狭窄。目前尚无有效药物能够预防和逆转钙化性主动脉瓣疾病的发病过程。钙化性主动脉疾病的致病机制十分复杂,曾被认为是衰老过程中被动发生的退行性病变过程。但近年来的研究发现其是一种主动的可调控的细胞介导过程,高度类似于骨发育和骨代谢^[6]。

瓣膜间质细胞(valve interstitial cells, VIC)是主动脉瓣的主要细胞成分,在钙化性主动脉瓣疾病发病过程中发挥着重要作用。在正常生理状态下,瓣膜间质细胞是静止的成纤维细胞样细胞,而在高血磷、炎症等致病因素的刺激下,瓣膜间质细胞被激活并向成骨样细胞转分化,这是钙化性主动脉瓣疾病发生的关键过程^[7]。随着近年来研究的不断深入,一些调控瓣膜间质细胞向成骨样细胞转分化的重要分子及信号通路逐渐被认识,如 Notch1、BMP2/Smad4 信号通路、Wnt 信号通路以及转录因子 Runx2 等^[8]。它们在钙化性主动脉瓣疾病发生过程中发挥着关键作用。

2 lncRNA 的生物学功能及机制

lncRNA 占 ncRNA 的大多数,其长度可达数万至数十万个核苷酸,二级结构较非编码小 RNA 更为复杂。近年来的研究表明,lncRNA 在生物体内广泛参与 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑等重要的生物学过程,并可直接与转录因子、miRNA、染色质修饰复合物等相互作用,在转录水平、转录后水平及表观遗传学上调控下游靶基因的表达^[9]。lncRNA 数量庞大,种类繁多,调控基因表达的方式不尽相同,主要包括以下五类:①与蛋白质相互作用,作为支架分子招募多种蛋白质形成核糖核蛋白复合物对染色质进行修饰并调控基因表达;②与基因组 DNA 调控元件直接相互作用,间接影响基因的转录和表达;③与 mRNA 相互作用影响其剪切、编辑、细胞内定位及稳定性,可作为“海绵体”吸附 miRNA,影响 miRNA 对下游靶基因的调控;④小部分 lncRNA 可编码成具有生物学功能的肽段;⑤可作为催化性 RNA,参与 RNA 的加工和蛋白质合成^[9-10]。通过上述机制,lncRNA 在生命活动中发挥至关重要的作用。

3 lncRNA 在钙化性主动脉瓣疾病中的作用与分子机制

近年来的研究发现 lncRNA 参与钙化性主动脉瓣疾病的发生。HOTAIR 是首个被报道的可能与钙化性主动脉瓣疾病相关的 lncRNA。HOTAIR 位于 HOXC 基因的一个调节区域,共有 6 个外显子组成^[9]。它主要通过招募多梳抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2) 和组蛋白去甲基化酶复合体 (LSD1/REST/CoREST),并介导上述两种复合体结合到特异性基因组位点,对组蛋白进行表观遗传学修饰,进而抑制基因转录^[11-12]。

主动脉瓣二瓣化畸形是钙化性主动脉瓣疾病的重要危险因素,约有 64% 的钙化瓣膜为二叶主动脉瓣^[13]。在心脏跳动时,同正常三叶主动脉瓣相比,二叶主动脉瓣承受着更高的张应力,因而更易发生钙化性主动脉瓣疾病^[14]。Carrión 等^[15]研究发现二叶主动脉瓣中的 HOTAIR 表达量与正常的三叶主动脉瓣相比显著下调。且体外实验表明,周期性张应力可激活瓣膜间质细胞中 Wnt 信号通路,进而抑制 HOTAIR 的表达。siRNA 干扰 HOTAIR 的表达可显著上调瓣膜间质细胞向成骨样细胞转分化标志基因 ALPL 和 BMP2 的表达。然而 HOTAIR 是否直接调控钙化性主动脉瓣疾病仍有待进一步地研究。

继 HOTAIR 之后,H19 是另一个被证实参与钙化性主动脉瓣疾病的 lncRNA。H19 是第一个被发现的印迹基因,长度约 2.3 kb,拥有 35 个开放阅读框却不编码蛋白质,因此 H19 被认为是一个 lncRNA^[16]。H19 由母系等位基因表达,父系印迹。H19 的表达水平主要受其上游 4 kb 处差异性甲基化区(differentially methylated region, DMR)或印迹调控区(imprinting control region, ICR)调控^[17]。Hadjji 等^[18]研究发现 H19 在钙化性主动脉瓣中的表达量显著上升,并且其表达量与钙化性主动脉瓣疾病临床指征呈正相关;在钙化性主动脉瓣膜中,H19 启动子区域的甲基化水平显著降低是导致其表达量显著上升的主要原因。体外细胞实验表明,干扰 H19 的表达能够显著降低瓣膜间质细胞中 BMP2 和 RUNX2 的基因表达,并抑制瓣膜间质细胞钙化。而过表达 H19 可显著促进瓣膜间质细胞的钙化及 BMP2 和 RUNX2 的基因表达^[18]。有研究表明,Notch1 信号通路抑制 RUNX2 和 BMP2 的表达,是瓣膜间质细胞向成骨样细胞转分化的一个重要调

节因子^[19]。此外,研究发现 Notch1 移码突变足以导致钙化性主动脉疾病的发生^[20]。Hadji 等^[18]进一步研究发现 H19 可直接抑制转录因子 p53 结合到 Notch1 的启动子区域,从而降低 Notch1 的表达。因此,H19 通过抑制 Notch1 信号通路,上调钙化促进基因 BMP2 和 RUNX2 的表达,进而促进钙化性主动脉瓣疾病的发生。

近年来,我国科研工作者也开始关注 lncRNA 在钙化性主动脉瓣疾病中的作用及机制,并取得了一些重要进展。Xiao 等^[21]比较了 20 对钙化性主动脉瓣中钙化组织和相邻正常组织的 lncRNA MALAT1 的表达水平,发现 MALAT1 在钙化瓣膜组织中的表达水平显著上升。在瓣膜间质细胞向成骨样细胞转分化过程中,MALAT1 的表达量也显著增加,且与成骨样分化标志基因 ALPL 和 Osteocalcin 的表达水平呈正相关。其研究进一步发现,过表达 MALAT1 显著促进瓣膜间质细胞钙化及向成骨样细胞转分化,而干扰 MALAT1 则抑制成骨样分化标志基因 ALPL 和 Osteocalcin 表达及瓣膜间质细胞钙化。研究还发现 MALAT1 可作为“海绵体”吸附 miR-204,抑制其表达和活性。Smad4 是 miR-204 的直接靶基因。过表达 MALAT1 通过抑制 miR-204 的表达上调 Smad4,进而促进瓣膜间质细胞成骨细胞特异性标志基因 ALPL 和 Osteocalcin 的表达及其钙化。

Yu 等^[22]最新报道了 lncRNA TUG1 在钙化性主动脉瓣疾病中的作用与机制。通过比较 40 对钙化性主动脉瓣膜中正常组织和钙化组织 TUG1 的表达水平,发现 TUG1 在瓣膜钙化组织中的表达量显著上升。体外细胞实验表明,在瓣膜间质细胞钙化过程中 TUG1 的表达量显著上调,并与 ALP、Osteocalcin 等的表达量呈正相关。干扰 TUG1 能够显著抑制瓣膜间质细胞向成骨样细胞转分化及钙化。研究还发现 TUG1 与 miR-204-5p 相互作用并抑制其表达,TUG1 通过调控 miR-204-5p 促进 RUNX2 表达。此外,在 ApoE^{-/-}小鼠模型中证实了 TUG1 对主动脉瓣钙化的调控作用。还发现 GapmeR 介导的 TUG1 沉默可显著减少 ApoE^{-/-}小鼠主动脉瓣的钙化程度。

4 总结与展望

尽管近几年对于 lncRNA 在钙化性主动脉瓣疾病中的研究取得了很多重要的进展,但通过何种机制影响钙化性主动脉瓣疾病的发生、发展和结局尚

不完全清楚。此外,lncRNA 的数量庞大、种类繁多,目前发现的与钙化性主动脉瓣疾病相关的 lncRNA 仅仅是冰山一角。随着技术的进步和研究的深入,将会发现更多的与钙化性主动脉瓣疾病相关的 lncRNA。lncRNA 作为调控钙化性主动脉瓣疾病病理过程的重要调控因子,其作用和机制将会逐渐展现,有助于加强我们对钙化性主动脉瓣疾病发生发展过程的理解,为临床诊断和治疗提供新的思路 and 策略。我们期待今后可以通过检测 lncRNA 的表达水平在临床上辅助诊断钙化性主动脉瓣疾病的进展,甚至可以通过靶向特定的 lncRNA 实现干预钙化性主动脉瓣疾病,改善患者的预后。

【参考文献】

- [1] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long non-coding RNAs[J]. Cell, 2009, 136(4): 629-641.
- [2] 卢耀星, 杨建安, 刘银河. 心血管疾病相关 lncRNA 调控机制的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(5): 537-540.
- [3] Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world[J]. Genes Dev, 2009, 23(13): 1494-1504.
- [4] van Bakel H, Nislow C, Biencowe BJ, et al. Most “dark matter” transcripts are associated with known genes [J]. PLoS Biol, 2010, 8(5): e1000371.
- [5] Coffey S, Cox B, Williams MJ. The prevalence, incidence, progression, and risks of aortic valve sclerosis: a systematic review and meta-analysis[J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63(25): 2852-2861.
- [6] Small A, Kiss D, Giri J, et al. Biomarkers of calcific aortic valve disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017, 37(4): 623-632.
- [7] Mathieu P, Boulanger MC. Basic mechanisms of calcific aortic valve disease[J]. Can J Cardiol, 2014, 30(9): 982-993.
- [8] Towler DA. Molecular and cellular aspects of calcific aortic valve disease[J]. Circ Res, 2013, 113(2): 198-208.
- [9] Hu G, Niu F, Humburg BA, et al. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs and their role in disease pathogenesis[J]. Oncotarget, 2018, 9(26): 18648-18663.
- [10] Li T, Mo X, Fu L, et al. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs on gastric cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(8): 8601-8612.
- [11] Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs[J]. Cell, 2007, 129(7): 1311-1323.

(下转第 1146 页)

综上所述,动脉硬化者心脏表现为室壁增厚,左心室质量增加,收缩功能增强,舒张功能下降,左心室几何构型重构,且收缩功能的改变独立于血压的变化。相比于心脏的变化,动脉硬化者更应预防运动中血压过高。

[参考文献]

- [1] Hu Y, Li L, Shen L, et al. The relationship between arterial wall stiffness and left ventricular dysfunction[J]. *Neth Heart J*, 2013, 21(5): 222-227.
- [2] Kaess BM, Rong J, Larson MG, et al. Relations of Central hemodynamics and aortic stiffness with left ventricular structure and function: The Framingham Heart Study[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(3): e002693.
- [3] 王新房. 超声心动图学[M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2009; 215-216.
- [4] Brady TM. The Role of Obesity in the development of left ventricular hypertrophy among children and adolescents [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2016, 18(1): 3.
- [5] 于雪芳, 王清, 万征, 等. 两种方法标化的左心室质量指数对原发性动脉硬化者左心室肥厚检出率的影响[J]. *中华高血压杂志*, 2012, 20(9): 852-857.
- [6] 孔羽, 李航, 余振球. 难治性高血压肾功能损害与左心室肥厚的关系[J]. *中华高血压杂志*, 2012, 20(8): 761-765.
- [7] 王正珍. ACSM 运动测试与运动处方指南[M]. 第8版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 97.
- [8] Tsuchikura S, Shoji T, Kimoto E, et al. Brachial-ankle pulse wave velocity as an index of central arterial stiffness [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2010, 17(6): 658.
- [9] Sugawara J, Hayashi K, Yokoi T, et al. Brachial-ankle pulse wave velocity: an index of central arterial stiffness? [J]. *J Hum Hypertens*, 2005, 19(5): 401.
- [10] 汪泉, 王小飞, 王蕾. 脉搏波传导速度应用于心血管疾病研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(6): 1720-1722.
- [11] 朱辰蕊, 龚艳君, 洪涛, 等. 心内科住院患者脉搏波传导速度与左心室舒张功能的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(9): 949-953.
- [12] 布热比艳·太来提, 布娃加·吾守尔, 玛依努尔·伊明艾山, 等. 原发性高血压患者踝臂指数、肱踝脉搏波传导速度与心脏结构、功能改变的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(9): 902-906.
- [13] Bell V, McCabe EL, Larson MG, et al. Relations between aortic stiffness and left ventricular mechanical function in the community[J]. *J Am Heart Assoc*, 2017, 6(1): e004903.
- [14] Mentz RJ, Khouri MG. Longitudinal strain in heart failure with preserved ejection fraction: Is there a role for prognostication? [J]. *Circulation*, 2015, 132(5): 368-370.

(此文编辑 曾学清)

(上接第 1118 页)

- [12] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. *Nature*, 2010, 464(7291): 1071-1076.
- [13] Davies MJ, Treasure T, Parker DJ. Demographic characteristics of patients undergoing aortic valve replacement for stenosis: relation to valve morphology[J]. *Heart*, 1996, 75(2): 174-178.
- [14] Szeto K, Pastuszko P, del Alamo JC, et al. Bicuspid aortic valves experience increased strain as compared to tricuspid aortic valves [J]. *World J Pediatr Congenit Heart Surg*, 2013, 4(4): 362-366.
- [15] Carrion K, Dyo J, Patel V, et al. The long non-coding HOTAIR is modulated by cyclic stretch and WNT/beta-CATENIN in human aortic valve cells and is a novel repressor of calcification genes[J]. *PLoS One*, 9(5): e96577.
- [16] Park JY, Lee JE, Park JB, et al. Roles of long non-coding RNAs on tumorigenesis and glioma development[J]. *Brain Tumor Res Treat*, 2014, 2(1): 1-6.
- [17] Matsuzaki H, Okamura E, Takahashi T, et al. De novo DNA methylation through 5'-segment of the H19 ICR maintains its imprint during early embryogenesis[J]. *Development*, 2015, 142(22): 3833-3844.
- [18] Hadji F, Boulanger MC, Guay SP, et al. Altered DNA Methylation of Long noncoding RNA H19 in calcific aortic valve disease promotes mineralization by silencing NOTCH1[J]. *Circulation*, 2016, 134(23): 1848-1862.
- [19] Nigam V, Srivastava D. Notch1 represses osteogenic pathways in aortic valve cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47(6): 828-834.
- [20] Garg V, Muth AN, Ransom JF, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease[J]. *Nature*, 2005, 437(7056): 270-274.
- [21] Xiao X, Zhou T, Guo S, et al. LncRNA MALAT1 sponges miR-204 to promote osteoblast differentiation of human aortic valve interstitial cells through up-regulating Smad4 [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 243: 404-412.
- [22] Yu C, Li L, Xie F, et al. LncRNA TUG1 sponges miR-204-5p to promote osteoblast differentiation through upregulating Runx2 in aortic valve calcification[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(1): 168-179.

(此文编辑 文玉珊)