

环状 RNA 在心血管疾病中的研究现状

徐莹¹, 田江天², 田进伟², 刘星¹

(1. 牡丹江医学院基础医学院, 黑龙江省牡丹江市 157011; 2. 哈尔滨医科大学
附属第二医院心内科, 黑龙江省哈尔滨市 150000)

[关键词] 环状 RNA; 心血管疾病; 生物标志物

[摘要] 随着全基因组分析和 RNA 测序技术的进步, 多种非编码 RNA 逐渐成为研究热点。环状 RNA (circRNA) 具有多种细胞功能, 其表达的改变与多种病理生理过程及疾病的发生发展相关。circRNA 已被证明是心血管疾病方面的重要调节因子, 如高血压、动脉粥样硬化、急性心肌梗死、心力衰竭、心脏纤维化等。因此, circRNA 有望成为心血管疾病的潜在治疗靶点和生物标志物。在这篇综述中, 我们以 circRNA 的生物学机制为基础, 综述了目前有关 circRNA 作为心血管疾病调节因子和生物标志物的研究进展。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

Research status of circular RNA in cardiovascular diseases

XU Ying¹, TIAN Jiangtian², TIAN Jinwei², LIU Xing¹

(1. School of Basic Medical Science, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang, Heilongjiang 157011, China; 2. Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150000, China)

[KEY WORDS] circular RNA; cardiovascular disease; biomarker

[ABSTRACT] With the progress of genome-wide analysis and RNA sequencing technology, a variety of non-coding RNA has gradually become a research hotspot. Circular RNA (circRNA) has many cellular functions, and its expression changes are related to many pathophysiological processes and the occurrence and development of diseases. The circRNA has been proved to be an important regulator of cardiovascular diseases, such as hypertension, atherosclerosis, acute myocardial infarction, heart failure, cardiac fibrosis, etc. Therefore, circRNA is expected to be a potential therapeutic target and biomarker for cardiovascular diseases. In this review, based on the biological mechanism of circRNA, we reviewed the current research progress on circRNA as a regulatory factor and biomarker of cardiovascular diseases.

哺乳动物中的 RNA 可以分为编码 RNA 和非编码 RNA 两种类型, 其中非编码 RNA 占 98% 以上。根据功能、长度和结构不同, 非编码 RNA 分为微小 RNA (micro RNA, miRNA)、小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)、长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 和环状 RNA (circular RNA, circRNA) 等^[1]。pre-mRNA 是 circRNA 的前体, 由 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, RNA Pol II) 产生, 而 circRNA 则是由 pre-mRNA 经历反向剪接形成的。circRNA 与 pre-mRNA 的线性剪接通过竞争来调控亲本基因的转录^[2]。根据 circRNA 在基因组位置的不同, circRNA 分为一个外显子、多个外

显子、内含子、外显子-内含子、基因间和反义 circRNA。circRNA 的表达具有组织和发育阶段特异性, 并且由于其具有闭环结构而相对稳定, 从而阻止它们被 RNA 核酸外切酶降解。circRNA 具有多种细胞功能, 其表达的改变与多种病理生理的发生发展相关^[3]。深入理解这些 circRNA 背后的机制将为在心血管疾病中开发新的诊断和预后的新靶点提供临床新思路。在接下来的部分中, 我们将进一步讨论 circRNA 的功能以及它们如何调节心血管疾病。

[收稿日期] 2019-05-14

[修回日期] 2019-07-13

[基金项目] 黑龙江省普通本科高校青年创新人才培养计划 (UNPYSCT-2016191)

[作者简介] 徐莹, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化与冠心病, E-mail 为 691448373@qq.com。通信作者刘星, 硕士, 教授, 研究方向为动脉粥样硬化与冠心病, E-mail 为 liuxing6407016@163.com。

1 环状 RNA 在高血压中的作用

高血压是一种复杂的多因素疾病,在世界各地的人群中很常见。高血压的发生是成人心血管疾病发病率和死亡率高的主要原因之一^[4]。高血压以动脉压升高为特征,可伴有心、血管、肾和脑等器官的病理改变,环境以及遗传因素对它都有一定的影响。高血压主要分为原发性高血压(essential hypertension, EH)和继发性高血压, EH 是最常见的高血压^[5]。Bao 等^[6]对 200 例 EH 患者进行病例对照研究,高血压患者的 hsa_circ_0037911 不仅在表达水平明显高于健康对照组,而且在性别、体质指数、吸烟和饮酒方面存在明显差异。与此同时 hsa_circ_0037911 的表达水平与血清肌酐浓度呈正相关。Bao 等^[7]的另一项研究中发现上调 hsa_circ_0037909 促进 EH, hsa_circ_0037909 可能通过影响血清肌酐或低密度脂蛋白密度从而导致 EH 的形成。Zheng 等^[8]收集了高血压患者的全血样本进行处理分析与比对,并认为 hsa_circ_0014243 可作为 EH 诊断的生物标志物。利用生物信息学技术并通过 circRNA 芯片筛选血浆 circRNA 表达谱, Wu 等^[9]发现 hsa_circ_0005870 在高血压患者中表现出明显的下调。Liu 研究组通过 circRNA 的微阵列分析等

手段发现 circ_0126991 的高表达和 miR-10a-5p 的低表达是导致高血压的重要危险因素,为高血压的发生机制提供了新的认识^[10]。高血压作为一种复杂的多因素疾病,众多研究揭示了 circRNA 与高血压发病机制的相关性,支持了非编码 RNA 在调控高血压进展中的重要性。

2 环状 RNA 在动脉粥样硬化中的作用

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种慢性炎症性疾病,是导致冠心病和缺血性脑卒中的主要原因。其发生机制复杂且与多种因素有关,包括环境、吸烟、肥胖和高脂血症等。此外,遗传因素也被证实与 As 有关^[11]。As 病变早期是动脉血管系统内皮功能障碍,由动脉壁内皮层下的脂质沉积引起的,以巨噬细胞、树突状细胞和活化 T 细胞的炎性浸润为特征^[12]。而晚期 As 常表现为不稳定粥样斑块及继发性血栓形成。而不稳定粥样斑块又以薄的纤维帽、血管微钙化、较大的坏死核及斑块内脆弱的新生微血管为特征。这些病理改变导致管腔闭塞或管壁破裂出血并引发心肌梗死、脑卒中等严重后果^[13-14]。有关 circRNA 与 As 关系的一些总结见表 1。

表 1. 动脉粥样硬化相关的 circRNA

Table 1. The circRNA associated with atherosclerosis

circRNA	来源及定位	作用及影响	参考文献
circANRIL	人类染色体 9p21	circANRIL 诱导核仁应激 p53 活化,导致凋亡诱导和增殖抑制,保护 As	[15]
circ_SATB2	人主动脉平滑肌细胞	circ_SATB2 通过 miR-939 上调 STIM1 的表达并调节血管平滑肌细胞增殖和分化	[16]
circ_Sirt1	人脐静脉内皮细胞	circ_Sirt1 通过特异性序列相互作用控制核因子 κ B 的活化,并通过与 miR-132/212 结合增强 Sirt1 的表达	[17]
circCHFR	人平滑肌细胞	circCHFR 通过 miR-370/FOXO1/Cyclin D1 途径促进血管平滑肌的增殖和迁移	[18]
hsa_circ_0003575	人脐静脉内皮细胞	环状 RNA hsa_circ_0003575 调节氧化低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞增殖和血管生成	[19]
circ_Amot1l	小鼠模型	circ_Amot1l 可通过与 Stat3 结合,通过调节 Dnmt3a 和 miR-17 功能增加其核转位和创伤修复	[20]
circ_Lrp6	平滑肌细胞	circ_Lrp6 作为调节 miRNA-145 功能的海绵	[21]
hsa_circ_0001879 hsa_circ_0004104	患者外周血	hsa_circ_0001879 和 hsa_circ_0004104 与对照组相比显著上调, hsa_circ_0004104 的过度表达导致 THP-1 源性巨噬细胞 As 相关基因的失调	[22]
hsa_circ_0010729	人类脐静脉内皮细胞	hsa_circ_0010729 通过靶向 miR-186/HIF-1 α 轴调节血管内皮细胞增殖和凋亡	[23]
cZNF609	患者外周血	cZNF609 下调,同时 miR-615-5p 水平明显上调	[24]

3 环状 RNA 在急性心肌损伤中的作用

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是全球高致死率的常见心血管疾病之一。As 引起的冠状动脉管腔闭塞和斑块破裂是 AMI 最常见的原因^[25]。在 AMI 的病理过程中, 心肌细胞坏死和凋亡以及随后的过度浸润是心肌细胞损伤和丢失的主要原因^[26]。Wang 等^[27] 发现了线粒体分裂和凋亡相关的 circRNA (mitochondrial fission and apoptosis-related circRNA, MFACR), 其通过直接靶向和下调 miR-652-3p 来调节心脏中的线粒体分裂和凋亡; 线粒体蛋白 18 (mitochondrial protein 18, MTP18) 缺乏可减少线粒体分裂, 抑制心肌细胞凋亡和心肌梗死; 在体外和体内实验中, miR-652-3p 直接下调 MTP18 并减弱线粒体分裂、心肌细胞凋亡和心肌梗死; MFACR 通过 miR-652-3p 上调 MTP18, 介导心肌细胞死亡; MFACR 表现出了在调节心脏线粒体动力和细胞凋亡中的作用。Huang 等^[28] 则利用

超级增强子区分了心脏再生调控中的关键 circRNA, 命名为 circNfix, 它在人类、大鼠和小鼠的成年心脏中高表达。超级增强子调节的 circNfix 通过抑制 Ybx1 泛素依赖性降解和增加 miR-214 活性, 促进心肌梗死后心脏再生修复和功能恢复。一种被称为自噬相关 circRNA (autophagy related circRNA, ACR) 的 circRNA 通过靶向 Pink1 介导的 FAM65B (是小 G 蛋白 RhoA 的非典型抑制剂) 磷酸化抑制自噬和心肌梗死。ACR 减弱心肌细胞的自噬和细胞死亡, 保护心脏免受缺血再灌注损伤, 减少心肌梗死面积^[29], 这对保护心肌有很大作用。通过构建小鼠心肌损伤模型, 环状 RNA Cdr1as (又名 CiRS-7) 和 miR-7a 被发现高表达。Cdr1as 在体内过表达增加了心肌梗死面积, 而 miR-7a 的过度表达则与之相反。进一步的研究结果揭示了心肌梗死中 Cdr1as/miR-7a 通路的机制, 其中 Cdr1as 通过抑制 miR-7a 对其靶点的调节而起到了 miR-7a 海绵的作用^[30] (表 2)。

表 2. 急性心肌损伤相关的环状 RNA

Table 2. The circRNA associated with acute myocardial injury

circRNA	来源及定位	作用及影响	参考文献
MFACR	小鼠心肌细胞	MFACR 通过 miR-652-3p 依赖的 MTP18 表达上调介导心肌细胞死亡	[27]
circNfix	人类、大鼠和小鼠的成年心脏组织	circNfix 可削弱心脏再生的能力	[28]
ACR	小鼠心肌细胞	ACR 通过调节 Pink1/FAM65B 通路抑制自噬, 减轻心肌缺血再灌注损伤	[29]
Cdr1as 或 CiRS-7	小鼠心肌细胞	Cdr1as 通过介导 miR-7a 对其靶基因表达的调控促进心肌梗死	[30]
circSLC8A1 circCACNA1D circSPHKAP	成人及胎儿组织	表现出心脏选择性表达	[31]
circSLC8A1	成人心脏组织	circSLC8A1 在扩张型心肌病患者的心脏组织中异常增加	[31]
I-band 区中的 circRNA	患者心脏组织	RBM20 调控 Titin 基因产生环状 RNA, RBM20 的缺失会引起扩张型心肌病	[32]
Nex1	小鼠和大鼠心肌组织	Nex1 通过靶向 miR-133a-3p 介导缺血性心肌损伤	[33]
circ_Ttc3	SD 大鼠	circ_Ttc3 可通过海绵结合 miR-15b, 调节下游 Arl2 靶基因的表达, 保护心肌细胞免受凋亡	[34]

4 环状 RNA 在心力衰竭中的作用

心力衰竭是全世界致死的主要原因之一。持续性心脏肥大伴适应性不良的心脏重塑是导致心力衰竭的临床过程中的早期事件。随着年龄的增长, 心脏和血管会受到各种各样的损伤, 导致血液

流动产生阻力。心脏只能在一定程度上补偿这种工作量的增加, 而不会失去其功能架构, 心肌肥厚往往最终会发展成为心力衰竭^[35]。Wang 等^[36] 发现并命名一种心脏相关 circRNA (heart related circRNA, HRCR), 它的发现则是先通过制造小鼠心力衰竭模型, 发现 miR-223 转基因小鼠出现心脏肥大

和心力衰竭,而 miR-223 缺陷小鼠受到保护。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶募集域的凋亡抑制因子(apoptosis repressor with caspase recruitment domain, ARC)是一个 miR-223 下游靶点,是一种凋亡抑制因子,介导心肌肥大的功能;ARC 的过度表达有心脏保护作用。而 HRCR 可以作为 miR-223 的海绵抑制 miR-223 活性的作用,这导致了 ARC 表达的增加。这说明 HRCR 通过靶向 miR-223 保护心脏免受病理性肥大和心力衰竭的影响。

5 环状 RNA 在心脏纤维化中的作用

心脏纤维化是以细胞外基质过度积聚为特征,导致正常心脏结构的损伤和进行性心功能障碍。Zhou 等^[37]采用 circRNA 芯片检测糖尿病 db 小鼠心肌 circRNA 表达谱,发现 43 个 circRNA 异常表达,其中 24 个上调,19 个下调。血管紧张素 II 处理糖尿病小鼠心肌和心脏成纤维细胞时, circRNA_010567 明显上调。生物信息学预测 circRNA_010567 靶向 miR-141,并且 miR-141 直接靶向转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$);双荧光素酶实验进行结合位点确认。功能实验显示,沉默 circRNA_010567 可上调心肌成纤维细胞中 miR-141 和下调 TGF- $\beta 1$ 的表达,纤维化相关蛋白包括 I 型胶原(collagen I, Col I)、III 型胶原(collagen III, Col III)和 α -SMA 也被抑制,表明 circRNA_010567 通过靶向 TGF- $\beta 1$ 抑制 miR-141 促进心肌纤维化^[5,37]。Tang 等^[38]同样发现在糖尿病小鼠心肌和血管紧张素 II 诱导的小鼠心肌纤维细胞中, circRNA_000203 表达上调;研究结果表明, circRNA_000203 参与心脏纤维化,并在其中发挥重要作用。

6 总结与展望

在本文中,我们介绍了 circRNA 在心血管疾病中的作用,对某些 circRNA 可能干预改善心血管疾病做出了总结。circRNA 与血管疾病的关系将为血管疾病治疗提供新方法。目前,血管疾病的早期诊断急需提高,鉴定 circRNA 作为血管疾病生物标志物可能有助于疾病的早期诊断。在过去的 10 年中,虽然一些 circRNA 被报道与血管疾病相关,但用于真正的临床标志物还有相当长一段时间要走。未来, circRNA 会受到更大的关注,相信在不久的将来, circRNA 可以作为心血管疾病诊断的生物标志

物,为临床医师早期诊断心血管疾病提供帮助。

[参考文献]

- [1] Bei Y, Yang T, Wang L, et al. Circular RNAs as potential theranostics in the cardiovascular system [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 13: 407-418.
- [2] Li M, Ding W, Sun T, et al. Biogenesis of circular RNAs and their roles in cardiovascular development and pathology [J]. *FEBS J*, 2018, 285(2): 220-232.
- [3] Bayoumi AS, Aonuma T, Teoh JP, et al. Circular noncoding RNAs as potential therapies and circulating biomarkers for cardiovascular diseases [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(7): 1100-1109.
- [4] Judd E, Calhoun DA. Apparent and true resistant hypertension: definition, prevalence and outcomes [J]. *J Hum Hypertens*, 2014, 28(8): 463-468.
- [5] Zhou Q, Zhang Z, Bei Y, et al. Circular RNAs as novel biomarkers for cardiovascular diseases [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1087: 159-170.
- [6] Bao X, Zheng S, Mao S, et al. A potential risk factor of essential hypertension in case-control study: Circular RNA hsa_circ_0037911 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(4): 789-794.
- [7] Bao X, He X, Zheng S, et al. Up-regulation of circular RNA hsa_circ_0037909 promotes essential hypertension [J]. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(4): e22853.
- [8] Zheng S, Gu T, Bao X, et al. Circular RNA hsa_circ_0014243 may serve as a diagnostic biomarker for essential hypertension [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 1728-1736.
- [9] Wu N, Jin L, Cai J. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in hypertensive patients [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2017, 39(5): 454-459.
- [10] Liu L, Gu T, Bao X, et al. Microarray profiling of circular RNA identifies hsa_circ_0126991 as a potential risk factor for essential hypertension [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2019, 157(4): 203-212.
- [11] Wu MY, Li CJ, Hou MF, et al. New insights into the role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10): E2034.
- [12] Pant S, Deshmukh A, Gurumurthy GS, et al. Inflammation and atherosclerosis--revisited [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2014, 19(2): 170-178.
- [13] Carbone F, Mach F, Montecucco F. Update on the role of neutrophils in atherosclerotic plaque vulnerability [J]. *Curr Drug Targets*, 2015, 16(4): 321-333.
- [14] Pende A, Artom N, Bertolotto M, et al. Role of neutrophils in atherogenesis: an update [J]. *Eur J Clin Invest*, 2016, 46(3): 252-263.

- [15] Holdt LM, Stahringer A, Sass K, et al. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12429.
- [16] Mao YY, Wang JQ, Guo XX, et al. Circ-SATB2 upregulates STIM1 expression and regulates vascular smooth muscle cell proliferation and differentiation through miR-939[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(1): 119-125.
- [17] Kong P, Yu Y, Wang L, et al. Circ-Sirt1 controls NF-kappa B activation via sequence-specific interaction and enhancement of SIRT1 expression by binding to miR-132/212 in vascular smooth muscle cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(7): 3580-3593.
- [18] Yang L, Yang F, Zhao H, et al. Circular RNA circCHFR facilitates the proliferation and migration of vascular smooth muscle via miR-370/FOXO1/cyclin D1 pathway[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 16: 434-441.
- [19] Li CY, Ma L, Yu B. Circular RNA hsa_circ_0003575 regulates oxLDL induced vascular endothelial cells proliferation and angiogenesis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1514-1519.
- [20] Yang ZG, Awan FM, Du W, et al. The circular RNA interacts with STAT3, increasing its nuclear translocation and wound repair by modulating Dnmt3a and miR-17 function[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2062-2074.
- [21] Hall IF, Climent M, Quintavalle M, et al. Circ_Lrp6, a circular RNA enriched in vascular smooth muscle cells, acts as a sponge regulating miRNA-145 function[J]. *Circ Res*, 2019, 124(4): 498-510.
- [22] Wang L, Shen C, Wang Y, et al. Identification of circular RNA hsa_circ_0001879 and hsa_circ_0004104 as novel biomarkers for coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 286: 88-96.
- [23] Dang RY, Liu FL, Li Y. Circular RNA hsa_circ_0010729 regulates vascular endothelial cell proliferation and apoptosis by targeting the miR-186/HIF-1 alpha axis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2): 104-110.
- [24] Liu C, Yao MD, Li CP, et al. Silencing of circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction[J]. *Theranostics*, 2017, 7(11): 2863-2877.
- [25] Fan X, Weng X, Zhao Y, et al. Circular RNAs in cardiovascular disease: An overview[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 5135781.
- [26] Wu HJ, Zhang CY, Zhang S, et al. Microarray expression profile of circular RNAs in heart tissue of mice with myocardial infarction-induced heart failure[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(1): 205-216.
- [27] Wang K, Gan TY, Li N, et al. Circular RNA mediates cardiomyocyte death via miRNA-dependent upregulation of MTP18 expression[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(6): 1111-1120.
- [28] Huang S, Li X, Zheng H, et al. Loss of super-enhancer-regulated circRNA Nfix induces cardiac regeneration after myocardial infarction in adult mice[J]. *Circulation*, 2019, 139(25): 2857-2876.
- [29] Zhou LY, Zhai M, Huang Y, et al. The circular RNA ACR attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via modulation of the Pink1/FAM65B pathway[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(7): 1299-1315.
- [30] Geng HH, Li R, Su YM, et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of miR-7a on its target genes expression[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151753.
- [31] Lei W, Feng T, Fang X, et al. Signature of circular RNAs in human induced pluripotent stem cells and derived cardiomyocytes[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 56.
- [32] Khan MA, Reckman YJ, Aufiero S, et al. RBM20 regulates circular RNA production from the Titin gene[J]. *Circ Res*, 2016, 119(9): 996-1003.
- [33] Li M, Ding W, Tariq MA, et al. A circular transcript of Nex1 gene mediates ischemic myocardial injury by targeting miR-133a-3p[J]. *Theranostics*, 2018, 8(21): 5855-5869.
- [34] Cai L, Qi B, Wu X, et al. Circular RNA Ttc3 regulates cardiac function after myocardial infarction by sponging miR-15b[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 130: 10-22.
- [35] Sadiq S, Crowley TM, Charchar FJ, et al. MicroRNAs in a hypertrophic heart: from foetal life to adulthood[J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2017, 92(3): 1314-1331.
- [36] Wang K, Long B, Liu F, et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(33): 2602-2611.
- [37] Zhou B, Yu JW. A novel identified circular RNA, circRNA_010567, promotes myocardial fibrosis via suppressing miR-141 by targeting TGF-beta1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487(4): 769-775.
- [38] Tang CM, Zhang M, Huang L, et al. CircRNA_000203 enhances the expression of fibrosis-associated genes by derepressing targets of miR-26b-5p, Col1a2 and CTGF, in cardiac fibroblasts[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40342.

(此文编辑 曾学清)