

非编码 RNA 在血管钙化中的研究进展

吴奇敏, 张新霞

(中山大学附属第八医院心内科, 广东省深圳市 518033)

[关键词] 血管钙化; 血管平滑肌细胞; 微小 RNA; 长链非编码 RNA; 环状 RNA

[摘要] 血管钙化(VC)导致慢性肾脏病、高血压和糖尿病患者心血管事件发生率增加。然而目前为止,导致 VC 的分子机制仍未完全阐明,缺乏有效的治疗方法,因此需要寻找新的治疗靶标。随着分子生物学分析技术的发展,非编码 RNA 成为一个重要的研究热点。据报道,它能在促 VC 因素的刺激下,调节成骨基因或者成骨抑制基因表达,或者调节自噬、衰老等过程来调控 VC。这篇综述主要总结非编码 RNA(微小 RNA、长链非编码 RNA 和环状 RNA)在 VC 中的研究进展。

[中图分类号] R543

[文献标识码] A

Research progress of non-coding RNA in vascular calcification

WU Qimin, ZHANG Xinxia

(Department of Cardiology, the Eighth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

[KEY WORDS] vascular calcification; vascular smooth muscle cell; microRNA; long non-coding RNA; circular RNA

[ABSTRACT] Vascular calcification (VC) increases the incidence of cardiovascular events in patients with chronic kidney disease, hypertension and diabetes mellitus. However, up to now, the molecular mechanism leading to VC has not been fully elucidated, and there is a lack of effective treatment methods, so it is necessary to find new therapeutic targets. With the development of molecular biological analysis technology, non-coding RNA has become an important research hotspot. It has been reported that non-coding RNA can regulate the expressions of osteogenic gene or osteogenic inhibition gene, or regulate autophagy and aging process to regulate VC under the stimulation of VC promoting factors. This review mainly summarizes the research progress of non-coding RNA (microRNA, long non-coding RNA and circular RNA) in VC.

血管钙化(vascular calcification, VC)是指结晶程度较高的羟基磷灰石在血管壁中异常沉积。VC 在动脉硬化、慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)、高血压、糖尿病患者中普遍存在,可引起重大的不良临床影响,包括收缩期高血压、左心室肥大、冠状动脉缺血、充血性心力衰竭以及斑块破裂、血栓形成和心肌梗死,导致严重心血管事件^[1]。然而,到目前为止,VC 的发病机制仍未完全了解,并且缺乏有效预防和治疗的靶标和方法。

人类基因组中编码蛋白质的基因仅占 1% ~ 2%,80% 以上被转录为非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)^[2],ncRNA 包括微小 RNA(microRNA, miRNA)、长链 ncRNA(long ncRNA, lncRNA)以及环

状 RNA(circular RNA, circRNA)和其他类型 ncRNA。越来越多证据显示 ncRNA 在众多生物学过程中具有重要功能,如调控细胞增殖、分化、凋亡等^[3]。重要的是,最近一些研究证明 ncRNA 参与了 VC 过程。促钙化因素刺激血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)后,ncRNA 表达发生了改变,能调控成骨相关基因的表达来影响钙化过程^[4-5]。此外发现有些 ncRNA 可能为预测 VC 进展风险提供依据^[6]。因此本文重点描述 3 种 ncRNA(miRNA、lncRNA 和 circRNA)在 VC 进程中发挥作用的最新研究结果,为 VC 发病机制、诊断、治疗靶标提供一个方向。

[收稿日期] 2020-05-29

[修回日期] 2020-07-26

[基金项目] 深圳市科技计划项目(JCYJ20170307110500976)

[作者简介] 吴奇敏,硕士研究生,研究方向为心脏康复,E-mail 为 wuqm1996@163.com。通信作者张新霞,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为心脏康复等相关研究,E-mail 为 zhangoctober@163.com。

1 血管钙化发病机制概述

VC 有 3 种病理类型,即动脉内膜动脉粥样硬化性钙化、中膜钙化(又称 Mönckeberg 中膜硬化)和尿毒症性小动脉病变。以前一直认为 VC 是一个被动过程,最近发现,它是一种主动的细胞介导过程,与骨形成有许多相似之处^[7]。VSMC 表型从收缩型向成骨/软骨样转化被认为是 VC 的核心机制^[8]。在促钙化刺激下,VSMC 失去收缩表型,平滑肌特异性蛋白如 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)和平滑肌蛋白 22 α (smooth muscle 22 α , SM22 α)的表达降低,获得与成骨细胞和软骨细胞相似的表型,表达成骨转录因子,例如肌节同源盒基因同系物 2(muscle segment homeobox 2, Msx2)、Runt 相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)和锌指转录因子 Sp7。矿物质稳态的失调和磷酸盐水平升高被认为是 CKD 中 VC 的关键决定因素^[9]。即使肾功能正常,血清中磷酸盐的增加也会导致心血管疾病的死亡和冠状动脉钙化^[10]。此外炎症、衰老、氧化应激、自噬、细胞外囊泡也都参与 VC 过程^[11]。ncRNA 能参与上述病理机制中来调控 VC。

2 非编码 RNA 在血管钙化中的作用

2.1 微小 RNA 在血管钙化中的作用

miRNA 是一种小的内源性 ncRNA 分子,大约由 18~24 个核苷酸组成,它们通过与靶基因 mRNA 的 3' 非翻译区域结合来抑制 mRNA 的翻译或者影响 mRNA 的稳定性来促进其降解,从而抑制靶基因的表达^[12]。一个 miRNA 可以有多个靶基因,多个 miRNA 也可以调节同一个靶基因,这种复杂的调控网络表明 miRNA 可以调控各种复杂的功能。目前大量研究已经发现它们能够参与调节大多数生物过程,例如细胞增殖、分化、凋亡等^[13]。目前研究发现一些 miRNA 能沉默成骨相关基因来抑制 VC 或沉默成骨分化抑制基因来促进 VC。

Jiang 等^[14]发现与对照组相比,用维生素 D3 来诱导大鼠钙化模型的动脉组织中 miR-29b-3p 表达下调,基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)表达上调。体外实验表明过表达 miR-29b-3p 导致大鼠 VSMC 中 MMP-2 表达降低,沉默 miR-29b-3p 上调 MMP-2 表达,MMP-2 已在众多研究中被证实在 VC 发病机制中起重要作用,表明 miR-

29b-3p 可能通过靶向 MMP-2 来抑制 VC 过程^[14];但实验未进行过表达或者抑制 miR-29b-3p 后 VC 表型相关的检测。Panizo 等^[15]发现与对照组和正常饮食的尿毒症大鼠相比,高磷饮食的尿毒症大鼠主动脉出现明显钙化,miR-133b 和 miR-211 表达水平较低,其已知的靶基因 Runx2 表达呈时间依赖性增加;miR-29b 表达增加,其靶基因激活素 A 受体 2A 型(activin A receptor type 2A, ACVR2A)、 β 连环蛋白相互作用蛋白 1(catenin beta interacting protein 1, CTNNBIP1)表达呈时间依赖性降低。他们的体外实验证实高磷和尿毒症血清均能通过下调 VSMC 中 miR-133b 和 miR-211 的表达促进其靶基因 Runx2 表达,上调 miR-29b 表达来抑制钙化抑制剂 ACVR2A 和 CTNNBIP1 的表达,最终两种作用都促进了 VSMC 钙化^[15]。Zhang 等^[16]发现在终末期肾脏疾病患者的桡动脉中 miR-29b 下调,Wnt7b/ β -连环蛋白(β -catenin)表达增加。用硫酸吡啶酚处理的钙化的人主动脉 SMC 中出现了相似的表达情况。功能实验验证了 miR-29b 过表达显著抑制了硫酸吡啶酚诱导的 Runx2、骨桥蛋白和 Wnt7b/ β -catenin 的表达,敲减 miR-29b 后结果相反。他们研究表明 miR-29b 表达降低和 Wnt/ β -catenin 信号激活可能是硫酸吡啶酚诱导 CKD 出现 VC 的关键机制^[16]。上述关于 miR-29 家族成员在 VC 过程中作用的研究出现了矛盾的结果,其中可能的一个原因为诱导钙化的方式不同,这也表明了 miRNA 在 VC 发病机制中的复杂作用。

Wen 等^[17]用 β 甘油磷酸(β -glycerophosphoric acid, β -GP)处理的 VSMC 中 miR-125b 的表达下调,机制研究显示 β -GP 下调 miR-125b 表达,上调其靶基因 Ets1(E-twenty-six-1)来促进 VSMC 的钙化。同样地,Chao 等^[6]发现在用高磷酸盐诱导大鼠和人 VSMC 钙化过程中,miR-125b 的表达水平随时间逐渐下降,并且高磷酸盐饮食喂养的 CKD 大鼠模型主动脉和血清 miR-125b 也下调;他们进一步检测了终末期肾脏病患者($n=88$)血清中循环 miR-125b 水平,发现患者 VC 的严重程度与循环 miR-125b 的水平呈负相关;此外血清 miR-125b 水平高的患者在约 2 年的随访中 VC 进展的风险较低;这表明血清 miR-125b 水平与 VC 严重程度相关,并且可能作为预测尿毒症相关钙化进展风险的潜在指标。Chao 等^[18]的另一项研究显示终末期肾脏病患者血清骨保护素、胎球蛋白 A 和成纤维细胞生长因子 23 与血清 miR-125b 水平线性相关,此外较高的年龄、透析时间长和较低的骨保护素水平与低血清 miR-

125b 水平显著相关;协同利用血清骨保护素水平 ≥ 400 ng/L 和血清 miR-125b 水平能增加评估慢性透析患者 VC 风险的准确性;但此项研究为观察性研究,未能提供 miR-125b 水平的变化与这些分子之间的因果关系。

miR-34 家族成员也在很多研究中被发现参与了 VC 发病过程。Badi 等^[19]发现 miR34a 被敲减后的 SMC 增殖增加,衰老和钙沉积程度降低,并且已知能够抑制 VC 的沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, Sirt1) 和 AXL 受体酪氨酸激酶 (AXL receptor tyrosine kinase, AXL) 表达增加;作者认为 miR-34a 可能通过以下途径影响 VSMC 的增殖和衰老从而促进 VC 的产生;首先,它通过下调 AXL 抑制细胞生长,然后通过抑制 Sirt1 促进细胞衰老,这两个事件最终导致 VSMC 向骨/软骨形成表型过渡^[19]。Hao 等^[20]研究表明过表达 miR-34b/c 减轻了醛固酮诱导的 VSMC 钙化,而沉默 miR-34b/c 时结果相反。miR-34b/c 能抑制特异 AT 序列结合蛋白 2 (special AT-rich sequence-binding protein 2, SATB2) 的表达,从而下调 Runx2 表达。因此 miR-34b/c/SATB2/Runx2 途径可能是醛固酮诱导 VSMC 钙化的部分机制。

Xu 等^[21]研究显示经褪黑素处理过的 VSMC 产生携带高表达水平 miR-204/miR-211 的外泌体,减轻了 β -GP 诱导的 VSMC 的成骨分化和衰老以及 5/6 肾切除加高磷酸盐饮食处理的小鼠 VC 和血管衰老。Lin 等^[4]在尿毒症患者钙化的肾动脉、5/6 肾切除小鼠钙化的动脉以及高磷酸盐处理的人 VSMC 中发现 miR-204 表达降低,并且检测发现 miR-204 的 CpG 岛甲基化程度增高,DNA 甲基转移酶 3a (DNA methyltransferase 3a, DNMT3a) 的表达水平也显著增加;此外 DNMT3a 是 miR-204 的一个靶基因,因此 miR-204/DNMT3a 环路可能介导了部分人主动脉 VSMC 钙化。Wang 等^[22]发现接受过动静脉瘘手术的尿毒症患者、高嘌呤喂养大鼠以及体外诱导钙化 VSMC 中的多聚 ADP 核糖聚合酶 1 (poly ADP-ribose polymerase 1, PARP1) 活性增加。PARP1 能通过激活白细胞介素 6/信号传导与转录激活因子 3 通路抑制 miR-204 表达,上调 miR-204 靶基因 Runx2 从而促进钙化。

Cavallari 等^[23]研究发现与健康对照组相比,患有 CKD 接受血液透析的患者血浆细胞外囊泡中的 miR-223 含量会增加,其中接受联机血液透析的患者 mi-223 增加程度低于接受碳酸氢钠血液透析治疗的患者,且接受联机血液透析治疗患者来源的细

胞外囊泡导致 VC 能力减弱。体外细胞实验证明 miR-223 可导致 VSMC 钙化增加。因此 CKD 患者接受联机治疗的有益作用可能部分与细胞外囊泡中 miR-223 含量变化有关^[23]。

miR-30 家族也具有调控 VC 的作用。Balderman 等^[24]研究显示骨形态发生蛋白 2 通过下调 miR-30b 和 miR-30c,以增加 Runx2 表达,促进人 VSMC 钙化。此外 Xu 等^[25]发现 miR-30b 可以通过提高线粒体膜电位以及增强 VSMC 的自噬来减轻 VSMC 成骨分化。

目前已经发现许多 miRNA 能够对 VC 过程进行调控,为 VC 的诊断和治疗提供了思路。还需进一步探索 miRNA 确切作用的靶点,同一 miRNA 在不同的促钙化因素下作用不同的原因,以及在人体组织中的研究等。

2.2 长链非编码 RNA 在血管钙化中的作用

lncRNA 是一类转录本长度超过 200 个核苷酸的 ncRNA。根据相对于蛋白编码基因的位置,lncRNA 可以分为 5 类:正义链 (sense)、反义链 (antisense)、双向 (bidirectional)、内含子间 (intronic)、基因间 (intergenic)^[26]。它们的表达具有较高的时空特异性,但物种间保守性较差^[27]。lncRNA 具有保守的二级结构,使其能够与蛋白质、DNA 和 RNA 相互作用,从而调节各种生物过程^[28]。它们主要功能有:信号,分子诱饵,导向和分子支架,且与其在细胞区室定位有关^[29]。越来越多研究显示 lncRNA 能通过调控靶基因表达来调节 VSMC 成骨分化过程。

多项研究表明,在 VSMC 发生钙化的过程中,lncRNA 存在差异表达,表明它在 VC 发病机制中的潜在作用。Bao 等^[30]比较了高磷酸盐诱导的人主动脉 VSMC 和对照组细胞,发现了 728 个差异表达的 lncRNA (332 个上调,396 个下调)。对差异基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析,发现差异基因尤其与核因子 κ B、丝裂素活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路、VSMC 收缩等相关^[30],这为进一步研究 lncRNA 在 VC 中的作用提供了可能的方向。Jeong 等^[31]在用磷酸盐处理的大鼠 VSMC 中发现数百个显著差异的 lncRNA,按照表达差异程度,lncRNA 基因的基因座在整个基因组中的保守性和相邻基因曾被研究过 3 个标准,选择其中一些 lncRNA 进行进一步研究,发现过表达 Lrrc75a-as1 减轻了高磷诱导的 VSMC 钙化,敲低 Lrrc75a-as1 后加

重了钙沉积,但其具体作用机制不清楚。lncRNA 的功能与它在细胞内的定位有一定关系,Lrrc75a-as1 定位于细胞质,猜测其可能作为 miRNA 的分子海绵来发挥作用。

生长阻滞特异性转录因子 5 (growth arrest special transcript 5, GAS5) 已被发现能调节 VSMC 凋亡、迁移和增殖。Chang 等^[5] 证实在钙化的人 VSMC 中, GAS5 表达下调, 进一步功能验证表明过表达 GAS5 能抑制人 VSMC 的成骨分化, Runx2 表达降低, 碱性磷酸酶活性降低以及钙化结节形成减少; 其机制是 GAS5 充当 miR-26b-5p 的竞争性海绵, 减轻其对磷酸酯酶与张力蛋白同源物的抑制作用, 抑制了人 VSMC 的成骨分化。

lncRNA H19 的多态性与冠状动脉疾病的风险和严重程度有关^[32]。最近 Liu 等^[33] 发现在钙化的 VSMC 中 lncRNA H19 高表达, 敲减 lncRNA H19 后 VSMC 钙化减轻, Runx2 表达下降; 此外发现 lncRNA H19 调节 p38MAPK 与 ERK1/2 通路活性。但这是是否是 lncRNA H19 加剧钙化的确切机制以及是否有其他途径参与尚不确定。

血管衰老和钙化在糖尿病患者中非常普遍。Lin 等^[34] 发现在高糖诱导的钙化/衰老的人 VSMC 中, lncRNA-ES3 上调而 miR-34c-5p 表达降低; 进一步实验表明, lncRNA-ES3 能直接结合 miR-34c-5p 来抑制它的表达, 上调 miR-34c-5p 的靶基因 Bcl-2 蛋白修饰因子表达可促进 VSMC 的钙化和衰老。

此外 lncRNA-ANCR (anti-differentiation ncRNA), 被报道能通过降低 Runx2 表达而抑制成骨细胞的分化。最近 Zhang 等^[35] 研究发现 lncRNA-ANCR 也能调控 VSMC 钙化过程, 过表达 lncRNA-ANCR 时能抑制 β -GP 诱导的 VSMC 的成骨分化以及骨化三醇处理的小鼠动脉钙化程度, 可能的作用机制为 lncRNA-ANCR 增加了 VSMC 的自噬。

总之, 虽然已有部分研究证实 lncRNA 在 VC 中发挥重要作用, 但目前的研究仍然是不足的, 上述 lncRNA 作用机制还没被确切阐明, 还有大量 lncRNA 的功能在 VC 中未被表征。

2.3 环状 RNA 在血管钙化中的作用

circRNA 是一类具有闭合环状结构的 ncRNA 分子, 没有 5' 帽子结构和 3' Poly (A) 结构, 已被证明广泛存在于多种真核生物体内^[36]。随着 RNA 测序技术和生物信息学分析的快速发展, circRNA 的研究成为了一个新兴的热点。circRNA 的形成不是剪接错误的结果, 而是在时间、空间和组织特异性上受到调节的结果。已有许多研究表明 circRNA 表达

的调节与包括心血管疾病在内的许多疾病的发生发展有关^[37], circRNA 通过充当 miRNA 的分子海绵, 与 RNA 结合蛋白结合, 部分编码多肽来行使调控功能^[38]。此外 circRNA 对核酸酶不敏感, 更加稳定, 因此具有成为疾病诊断标志物的潜力。

Ryu 等^[39] 的研究首次分析了在钙化大鼠 VSMC 中 circRNA 表达情况, 结果显示在诱导钙化后, 许多 circRNA 存在差异表达。其中 6 种 circRNA (circSamd4a、circSp140、circSmoc1-1、circSmoc1-2、circMettl9 和 circUxs1) 在钙化的大鼠 VSMC 中大量且差异表达。进一步体外实验验证了当沉默 circSamd4a 时, VSMC 钙化增加, circSamd4a 过表达时 VSMC 钙化减少, 表明 circSamd4a 具有一定抗钙化作用。从机制上, circSamd4a 通过充当 miR-125a-3p 和 miR-483-5p 的分子海绵来调节 Camsap2 (calmodulin-regulated spectrin-associated protein family member 2) 和 Flna (filamin A) 的表达以调控 VC 过程^[39]; 这为理解 VC 的机制提供了新的见解, circRNA 可能作为一种新颖的 VC 治疗靶标。

尽管目前 circRNA 在 VC 中的研究还很少, 但越来越多的研究显示它在癌症、心血管疾病中的重要作用, 我们期待更多研究揭示更多 circRNA 在 VC 中的作用, 为 VC 的治疗提供可能的分子靶标。

3 结论与展望

在本文中, 我们总结了 ncRNA 在 VC 中的调控功能。从这些研究结果中, 我们相信 ncRNA 有作为 VC 治疗靶标和临床诊断生物标志物的潜力。但 ncRNA 在 VC 中的研究还处在萌芽阶段, 特别是 lncRNA、circRNA, 还需要进一步研究阐明在 VC 过程中发挥作用的 ncRNA 及分子机制, 包括发生差异表达的上游信号、作用的靶点、作用的机制。而且 ncRNA 在 VC 中的研究目前还集中在体外和动物模型中, 还需要考虑在人体中的适用性。因此 ncRNA 转化为临床药物还有很多问题需要解决, 例如如何给药, 如何保证药物作用在特异的细胞和特异的分子靶点和安全性等。此外 VC 的诊断主要依赖于成像技术, 目前没有循环生物标志物用于亚临床 VC 的诊断。在各种疾病情况下, 循环 ncRNA 谱随疾病进展发生变化^[40]。期盼未来有更多以及大样本量的研究来鉴定可用的 ncRNA, 使之作为 VC 的诊断标志物和治疗靶点。

[参考文献]

- [1] Wu M, Rementer C, Giachelli CM. Vascular calcification: an update on mechanisms and challenges in treatment[J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 93(4): 365-373.
- [2] Djebali S, Davis CA, Merkel A, et al. Landscape of transcription in human cells[J]. *Nature*, 2012, 489(7414): 101-108.
- [3] Fernandes JCR, Acuna SM, Aoki JI, et al. Long non-coding RNAs in the regulation of gene expression: physiology and disease[J]. *Noncoding RNA*, 2019, 5(1): 17.
- [4] Lin X, Xu F, Cui RR, et al. Arterial calcification is regulated via an miR-204/DNMT3a regulatory circuit both in vitro and in female mice[J]. *Endocrinology*, 2018, 159(8): 2905-2916.
- [5] Chang Z, Yan G, Zheng J, et al. The lncRNA GAS5 inhibits the osteogenic differentiation and calcification of human vascular smooth muscle cells[J]. *Calcif Tissue Int*, 2020, 107(1): 86-95.
- [6] Chao CT, Liu YP, Su SF, et al. Circulating microRNA-125b predicts the presence and progression of uremic vascular calcification [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(7): 1402-1414.
- [7] Doherty TM, Asotra K, Fitzpatrick LA, et al. Calcification in atherosclerosis: bone biology and chronic inflammation at the arterial crossroads [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(20): 11201-11206.
- [8] Leopold JA. Vascular calcification: Mechanisms of vascular smooth muscle cell calcification [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2015, 25(4): 267-274.
- [9] Palioian NJ, Giachelli CM. A current understanding of vascular calcification in CKD [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 307(8): F891-F900.
- [10] Cozzolino M, Ciceri P, Galassi A, et al. The key role of phosphate on vascular calcification[J]. *Toxins (Basel)*, 2019, 11(4): 213.
- [11] Zhang C, Zhang K, Huang F, et al. Exosomes, the message transporters in vascular calcification[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(9): 4024-4033.
- [12] Makeyev EV, Maniatis T. Multilevel regulation of gene expression by microRNAs [J]. *Science*, 2008, 319(5871): 1789-1790.
- [13] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [14] Jiang W, Zhang Z, Yang H, et al. The involvement of miR-29b-3p in arterial calcification by targeting matrix metalloproteinase-2 [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 6713606.
- [15] Panizo S, Naves-Diaz M, Carrillo-Lopez N, et al. MicroRNAs 29b, 133b, and 211 regulate vascular smooth muscle calcification mediated by high phosphorus [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(3): 824-834.
- [16] Zhang H, Chen J, Shen Z, et al. Indoxyl sulfate accelerates vascular smooth muscle cell calcification via microRNA-29b dependent regulation of Wnt/beta-catenin signaling [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 284: 29-36.
- [17] Wen P, Cao H, Fang L, et al. miR-125b/Ets1 axis regulates transdifferentiation and calcification of vascular smooth muscle cells in a high-phosphate environment[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 322(2): 302-312.
- [18] Chao CT, Yuan TH, Yeh HY, et al. Risk factors associated with altered circulating micro RNA-125b and their influences on uremic vascular calcification among patients with end-stage renal disease [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(2): e010805.
- [19] Badi I, Mancinelli L, Polizzotto A, et al. miR-34a promotes vascular smooth muscle cell calcification by down-regulating SIRT1 (sirtuin 1) and Axl (AXL receptor tyrosine kinase) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(9): 2079-2090.
- [20] Hao J, Zhang L, Cong G, et al. MicroRNA-34b/c inhibits aldosterone-induced vascular smooth muscle cell calcification via a SATB2/Runx2 pathway [J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 366(3): 733-746.
- [21] Xu F, Zhong JY, Lin X, et al. Melatonin alleviates vascular calcification and ageing through exosomal miR-204/miR-211 cluster in a paracrine manner [J]. *J Pineal Res*, 2020, 68(3): e12631.
- [22] Wang C, Xu W, An J, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase 1 accelerates vascular calcification by upregulating Runx2 [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1203.
- [23] Cavallari C, Dellepiane S, Fonsato V, et al. Online hemodiafiltration inhibits inflammation-related endothelial dysfunction and vascular calcification of uremic patients modulating miR-223 expression in plasma extracellular vesicles [J]. *J Immunol*, 2019, 202(8): 2372-2383.
- [24] Balderman JA, Lee HY, Mahoney CE, et al. Bone morphogenetic protein-2 decreases microRNA-30b and microRNA-30c to promote vascular smooth muscle cell calcification [J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(6): e003905.
- [25] Xu TH, Qiu XB, Sheng ZT, et al. Restoration of microRNA-30b expression alleviates vascular calcification through the mTOR signaling pathway and autophagy [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 14306-14318.
- [26] Knauss JL, Sun T. Regulatory mechanisms of long non-coding RNAs in vertebrate central nervous system development and function [J]. *Neuroscience*, 2013, 235: 200-214.

- [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2018, 20(8): 882-884.
- [7] 于瑞, 王幼平, 崔琳, 等. 转化生长因子 $\beta 1$ 对心肌成纤维细胞增殖及胶原分泌的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(9): 952-954.
- [8] 刘婷婷, 张淑萍, 覃筱燕, 等. MAPK 信号转导通路神经损伤研究进展[J]. 中国公共卫生, 2016, 32(2): 248-254.
- [9] 郑茜, 张勇, 杨东伟. miR-126 通过 MAPK 信号通路抑制 oxLDL 处理的血管平滑肌细胞增殖和迁移[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(2): 192-198.
- [10] Boilly B, Vercoutter-Edouart AS, Hondemarck H, et al. FGF signals for cell proliferation and migration through different pathways [In Process Citation] [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 11(4): 295-302.
- [11] 邹勇, 曾玉兰. JNK 对 TGF- $\beta 1$ 诱导的人肺上皮-间质转分化的调控作用[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(6): 658-662.
- [12] Jung YS, Lee SO. Apomorphine suppresses TNF- α -induced MMP-9 expression and cell invasion through inhibition of ERK/AP-1 signaling pathway in MCF-7 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 487(4): 903-909.
- [13] Westman PC, Lipinski MJ, Luger D, et al. Inflammation as a driver of adverse leftventricular remodeling after acute myocardial infarction [J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 67(17): 2050-2060.
- [14] Li J, Guo Y, Luan X, et al. Independent roles of monocyte chemoattractant protein-1, regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted and fractalkine in the vulnerability of coronary atherosclerotic plaques [J]. Circ J, 2012, 76(9): 2167-2173.
- [15] Sarawuth P, Ajaree A, Kwanchai B, et al. Stimulation of adenosine A2B receptor inhibits endothelin-1-induced cardiac fibroblast proliferation and α -smooth muscle actin synthesis through the cAMP/Epac/PI3K/Akt-signaling pathway [J]. Front Pharmacol, 2017, 2017(8): 428-428.
- [16] Xiao Y, Ye J, Zhou Y, et al. Baicalin inhibits pressure overload-induced cardiac fibrosis through regulating AMPK/TGF- β /Smads signaling pathway [J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 2018(640): 37-46.
- [17] 刘丹, 田孝祥, 刘美丽, 等. CC 类趋化因子受体 2 对缺氧后小鼠心肌成纤维细胞表型转换的影响[J]. 解放军医学院学报, 2019, 44(1): 1-6.
- (此文编辑 许雪梅)

(上接第 959 页)

- [27] Yao RW, Wang Y, Chen LL. Cellular functions of long noncoding RNAs [J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(5): 542-551.
- [28] Ransohoff JD, Wei Y, Khavari PA. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(3): 143-157.
- [29] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs [J]. Mol Cell, 2011, 43(6): 904-914.
- [30] Bao S, Guo Y, Diao Z, et al. Genome-wide identification of lncRNAs and mRNAs differentially expressed in human vascular smooth muscle cells stimulated by high phosphorus [J]. Ren Fail, 2020, 42(1): 437-446.
- [31] Jeong G, Kwon DH, Shin S, et al. Long noncoding RNAs in vascular smooth muscle cells regulate vascular calcification [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 5848.
- [32] 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.
- [33] Liu F, Yang XC, Chen ML, et al. LncRNA H19/Runx2 axis promotes VSMCs transition via MAPK pathway [J]. Am J Transl Res, 2020, 12(4): 1338-1347.
- [34] Lin X, Zhan JK, Zhong JY, et al. LncRNA-ES3/miR-34c-5p/BMF axis is involved in regulating high-glucose-induced calcification/senescence of VSMCs [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(2): 523-535.
- [35] Zhang X, Chen J, Meng Q, et al. The protective effects of long non-coding RNA-ANCR on arterial calcification [J]. J Bone Miner Metab, 2020, 38(4): 421-431.
- [36] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. Nature, 2013, 495(7441): 333-338.
- [37] 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.
- [38] Zhang Z, Yang T, Xiao J. Circular RNAs: promising biomarkers for human diseases [J]. EBioMedicine, 2018, 34: 267-274.
- [39] Ryu J, Kwon DH, Choe N, et al. Characterization of circular RNAs in vascular smooth muscle cells with vascular calcification [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19: 31-41.
- [40] Mo MH, Chen L, Fu Y, et al. Cell-free circulating miRNA biomarkers in cancer [J]. J Cancer, 2012, 3: 432-448.
- (此文编辑 曾学清)