

本文引用: 高慧敏, 耿彬. RNA 剪接和剪接因子在动脉粥样硬化发生中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(2): 93-101. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.02.001.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-02-0093-09

· 专家论坛 ·

## RNA 剪接和剪接因子在动脉粥样硬化发生中的研究进展

高慧敏, 耿彬

北京协和医学院 中国医学科学院阜外医院高血压中心 心血管疾病国家重点实验室 国家心血管病中心, 北京市 102300

[专家简介] 耿彬, 中国医学科学院阜外医院心血管疾病国家重点实验室研究员, 中国病理生理学会生物活性小分子专业委员会常务委员, 抗感染药物评价与管理委员会常务委员, 北京市生理学会常务委员, *Antioxidants & Redox Signaling* 编委, 《中国病理生理杂志》《中国动脉硬化杂志》《基础医学与临床》杂志编委。主要致力于气体信号分子硫化氢、非编码 RNA 以及肠道菌群参与血管疾病的病理生理机制。在 *Circulation*、*Circulation Research*、*Autophagy* 和 *Hepatology* 等杂志发表 SCI 论著 100 余篇, 被引用 5 000 余次。曾获教育部提名国家自然科学奖(自然科学奖一等奖)、高等学校科学研究优秀成果奖(自然科学奖二等奖)、河北省科技进步奖三等奖、湖南省自然科学奖一等奖等。



[摘要] RNA 剪接是真核生物基因表达调控中的关键过程。选择性剪接使得生物体能够从单一转录本中产生多个功能的 RNA 和蛋白质, 从而极大地扩展了遗传信息的应用, 使得少数基因得以表达多种复杂蛋白质成为可能。越来越多的研究表明, 错误的剪接事件与多种疾病如心血管疾病的发生和发展有着密切的关系。本综述概述了 RNA 剪接的定义和机制, 以及选择性剪接在动脉粥样硬化发病机制中的作用。

[关键词] RNA 剪接; 选择性剪接; 剪接因子; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

### The progress of RNA splicing and splicing factors in the atherogenesis

GAO Huimin, GENG Bin

Hypertension Center, State Key Laboratory of Cardiovascular Disease & National Center for Cardiovascular Diseases, Fuwai Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 102300, China

[ABSTRACT] RNA splicing is an important process for eukaryotes to regulate gene expression. Alternative splicing allows organisms to produce multiple functional RNAs and proteins from a single transcript, thereby expanding the application of genetic information. Moreover, alternative splicing makes it a reality that limited numbers genes can express numerous complex proteins. More and more studies reveal that incorrect splicing is closely associated with human diseases including cardiovascular diseases. This review provides an overview of the definition and mechanism of RNA splicing, as well as the role of alternative splicing in the pathogenesis of atherosclerosis.

[KEY WORDS] RNA splicing; alternative splicing; splicing factor; atherosclerosis

自从 1977 年 RNA 剪接(RNA splicing)被首次发现<sup>[1]</sup>, 极大地扩展了人们对遗传学中心法则的认知。从 DNA 到 RNA 的转录过程中还涉及一个称为前体 mRNA(pre-mRNA)的“过渡”阶段, 需要通过

RNA 剪接, 将无效的遗传信息剔除, 其余的有效遗传信息再进行拼接, 成为成熟的 mRNA。

RNA 剪接有两类: 组成型剪接(constitutive splicing)和选择性剪接/可变剪接(alternative splicing)。

[收稿日期] 2024-03-21

[修回日期] 2024-05-31

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82370448)

[作者简介] 高慧敏, 硕士研究生, 研究方向为血管疾病的病理生理机制研究, E-mail: gaohuimin@fuwai.com。通信作者耿彬, 博士, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为气体信号分子硫化氢、非编码 RNA 以及肠道菌群参与血管疾病的病理生理机制, E-mail: gengbin@fuwaihospital.org。

组成型剪接是典型的基因转录产物通过 RNA 剪接依次除去内含子,保留外显子,一般只产生单个成熟的 mRNA。而选择性剪接是外显子和内含子可以通过不同组合方式被保留或删除,从而单个 pre-mRNA 可以产生不同的 mRNA 剪接异构体,丰富了转录组和蛋白多样性。研究发现 7 种基本类型的选择性剪接,包括外显子跳过、互斥外显子、内含子保留、可变 5'剪接位点、可变 3'剪接位点、可变启动子和可变多聚腺苷酸化(alternative polyadenylation, APA)。由于高通量测序技术的快速发展,研究人员已经发现人类中约 95% 的基因转录本存在选择性剪接事件。最近研究更是揭示了选择性剪接网络及其协调在细胞分化、特定组织器官发育和维持组织稳态中的作用,甚至近年来波及全球的新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)的感染、复制也与各种剪接因子和基因剪接相关<sup>[2]</sup>。此外,越来越多的证据表明选择性剪接在心脏发育、动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)等心血管疾病的病理生理学过程中至关重要。因此,本文着重阐述在 As 发生发展过程中,与血管生物学相关的选择性剪接事件的调节机制及功能影响的最新研究进展。

## 1 RNA 剪接的过程和调节

### 1.1 RNA 剪接的过程

RNA 剪接过程是由剪接体(spliceosome)执行的。作为一种大型动态核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)复合物,剪接体由蛋白质和一个或两个小核 RNA(snRNAs: U1, U2, U4/U6 或 U5)组成,它们在 pre-mRNA 上逐步组装并催化剪接反应,最终生成成熟的经过剪接的 mRNA<sup>[3]</sup>。剪接反应起始于通过识别 pre-mRNA 转录本上的关键共识剪接位点而组装形成剪接前体复合物。首先,由 U1 小核核糖核蛋白(small nuclear ribonucleoprotein, snRNP)(识别内含子的 5'端的 CAGGURAGU 共识序列)、剪接因子 1(splicing factor 1, SF1)[也称为分支点结合蛋白(branch point binding protein, BBP)(识别分支点序列 YNYURAC)]、U2 snRNP 辅助因子 2(U2 snRNP auxiliary factor 2, U2AF2)(识别分支点下游多嘧啶序列)、U2AF1(识别 3'剪接位点上的 AG 二核苷酸)以及 U2 snRNP 共同作用形成剪接前体。接下来, U1 和 U2 通过 snRNP U5 和 U4/U6 三聚体结合,形成前催化剪接体。最后通过两步转酯反应完成

RNA 剪接<sup>[4]</sup>。

非编码 RNA(noncoding RNA, ncRNA),如微小 RNA(microRNA, miRNA)和小核仁 RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)的生物合成也依赖于剪接。miRNA 生物合成过程中包括 primary miRNA(pri-miRNA)经过 III 型核糖核酸酶(ribonuclease, RNase) Drosha 的剪接成为前体 miRNA 之后,另一个 RNase Dicer 修饰加工,最终生成成熟 miRNA<sup>[5]</sup>。snoRNA 的形成一般与其亲本基因的选择性剪接有关。因此, RNA 剪接不管是在功能性 RNA 编码还是非编码 RNA 的形成中均发挥了重要作用。

### 1.2 RNA 剪接的调节

顺式作用元件包括外显子剪接增强子(exon splicing enhancer, ESE)、外显子剪接抑制子(exon splicing silencer, ESS)、内含子剪接增强子(intron splicing enhancer, ISE)和内含子剪接抑制子(intron splicing silencer, ISS),它们负责调节 RNA 剪接。通常,增强子可被富含丝氨酸/精氨酸(the serine/arginine-rich, SR)蛋白家族的反式作用因子识别,有助于剪接位点识别和外显子保留;而抑制子通常与其他类型的反式作用因子作用,限制剪接位点识别并促进外显子跳跃。反式作用因子也参与调节 RNA 剪接过程,如对纯化的人类剪接复合体的蛋白质组分分析中有数百种 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)参与了剪接。

依赖于甲基转移酶样 3(methyltransferase-like 3, Mett13)/甲基转移酶样 14(methyltransferase-like 14, Mett14)的 RNA 修饰如 N<sup>6</sup>-甲基腺苷(N<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A)修饰也调节 RNA 剪接。例如,诱导核因子 κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)的激活蛋白(一种 RBP)通过 m<sup>6</sup>A 依赖方式识别剪接位点,募集富含脯氨酸和谷氨酰胺的剪接因子(splicing factor proline- and glutamine-rich, SFPQ),促进溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)mRNA 的剪接和成熟<sup>[6]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰的 pri-miR-19a 与 DGCR8 的结合增强,促进 miR-19a 的剪接和成熟<sup>[7]</sup>。选择性剪接不仅控制 ncRNA 的表达,而且受其影响。ncRNA 肺腺癌转移相关转录子 1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)可以结合许多富含 SR 剪接因子,如丝氨酸/精氨酸剪接因子 1(serine/arginine splicing factor 1, SRSF1 或 ASF/SF2)、丝氨酸/精氨酸剪接因子 2(serine/arginine splicing factor 2, SRSF2),调节 SR 和 SR 相关剪接因子在核小体的分布,进而介导许多 pre-mRNA 如钙/钙调蛋白依赖

蛋白激酶 2 $\beta$  (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II beta, CAMK2 $\beta$ )、周期素依赖性激酶 7 (cyclin-dependent kinase 7, CDK7) 等的选择性剪接。

## 2 动脉粥样硬化发生中的剪接因子和选择性剪接

As 是一种多基因参与的心血管疾病,其特征是大动脉的慢性炎症和脂质积累。越来越多的研究表明, RNA 的选择性剪接、剪接因子或调节因子在 As 的发生中起着非常关键的作用。

### 2.1 内皮功能障碍与基因的选择性剪接

作为天然的血液容器,血管内皮构成心血管系统的连续内层,并维持血管网络中的局部稳态。在健康状态下,血管内皮有助于各种组织和器官的正常发育和功能;在疾病中,内皮功能障碍几乎参与了 As 斑块从形成到破裂的所有过程。

一些关键基因的选择性剪接,如血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)、神经黏附素、成纤维细胞生长因子受体、缺氧诱导因子 1 $\alpha$ 、纤连蛋白、血管生成素等参与了内皮功能调节。VEGF-A 是血管生成的重要刺激因子。VEGF-A mRNA 有 6 种主要的剪接异构体: VEGF-A111、VEGF-A121、VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-A189 和 VEGF-A206。其中,有研究表明 VEGF-A165 是表达最丰富的剪接异构体,而剪接异构体 VEGF-A183 表达较少。此外,还发现了另一个 VEGF-A 亚家族,它们是由外显子 8 的选择性剪接产生的。到目前为止,已经确定了 VEGF-A<sub>xxx</sub>b 的 4 种选择性剪接异构体: VEGF-A165b、VEGF-A121b、VEGF-A189b 和 VEGF-A145b<sup>[8]</sup>。VEGF-A<sub>xxxx</sub>a 促进血管内皮细胞 (endothelial cell, EC) 增殖和血管生成,而 VEGF-A<sub>xxx</sub>b 抑制血管生成,并损害缺血肌肉的血管再生和再灌注恢复。血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 选择性剪接可以产生 6-IgG 结构域的剪接异构体 (VCAM-6D) 或 7-IgG 结构域剪接异构体 (VCAM-7D),从而控制内皮炎症反应<sup>[9]</sup>。

剪接因子 SRSF1,促进了剪接异构体 VEGF165 的产生;相反,SRSF6 (也称为 SRp55)上调了由 TGF- $\beta$  刺激诱导的 VEGF165b 剪接<sup>[8]</sup>。作为信号转导和激活 RNA 家族的一员,Quaking (QKI) 编码多种 RNA 结合蛋白亚型,所有这些蛋白亚型共享一个保守的 KH RNA 结合基序结构域、N 末端 Qua1 和 C 末端 Qua2 结构域。QKI 的三种选择性剪接异构体

蛋白:QKI-5、QKI-6 和 QKI-7 均在血管内皮细胞中表达,QKI-5 的表达最为丰富。QKI-5 基因敲除小鼠具有胚胎致死性,这是由于未成熟的内皮管结构发育而导致的血管缺陷,进而导致卵黄囊血管异常。QKI-5 还可以稳定信号转导和转录激活因子 3 (signal transduction and transcription activator 3, STAT3),促进 VEGFR2 表达以介导诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) 向内皮细胞的分化<sup>[10]</sup>。QKI-5 还可与 VE-钙黏蛋白 (VE-cadherin) 和  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 结合调节内皮细胞-细胞黏附及屏障功能。QKI-6 也在 EC 中表达,并具有与 QKI-5 相似的功能。在平滑肌中,QKI-6 通过直接结合组蛋白去乙酰化酶 7 (histone deacetylase 7, HDAC7) 的内含子 1 中剪接区域来调节 HDAC7 的剪接,导致内含子 57 个碱基对的切除并促进 iPS-SMC 分化<sup>[11]</sup>。QKI-7 对高血糖产生反应,进而促进 RNA 靶标 [如 VE-cadherin、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 刺激的基因 6 (TNF-alpha induced protein 6, TSG6) 和神经连接蛋白 1 (neuroligin 1, NLGN1)] 的 mRNA 降解,导致内皮功能障碍<sup>[12]</sup>。

最近,剪接调节因子神经肿瘤腹侧抗原 2 (neuro-oncology ventral antigen 2, Nova2) 被证明是血管发育和管腔形成的主要调节因子。Nova2 及其类似物 Nova1 是研究最深入的两种哺乳动物组织特异性剪接调节因子 (splicing regulation factor, SRF)。在细胞中,Novas 的活跃会导致多达 700 种不同的剪接事件发生<sup>[13]</sup>。Nova1 和 Nova2 这两种蛋白质都通过 KH 结构域与 RNA 结合,KH 结构域识别靶 pre-mRNA 中的内含子和外显子附近的 YCAY 重复簇。Nova2 是一种神经细胞特异性 SRF,在中枢神经系统中具有重要功能。最近,Giampietro 等<sup>[14]</sup>证明 Nova2 也在血管内皮细胞中表达,并在血管形态发生中发挥作用。Nova2 基因调控分割-缺陷 (the partitioning-defective, Par) 极性复合物的选择性剪接,导致内皮细胞顶端-基底极性建立失败,细胞-细胞连接受损,血管发育失败。Nova2 还促进 PIX- $\alpha$  [细胞分裂周期蛋白 42 (cell division cycle 42, CDC42) 的激活因子] 剪接形成 PIX- $\alpha$ - $\delta$ 17 (特异性缺乏外显子 17),增强 CDC42 的活性,以建立 Par 极性复合物和细胞极性。Nova2 可以控制过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ ) 和 E2F 二聚体伴侣 2 (transcription factor dp-2, Tfdp2) 的选择性剪接,产生不同的 PPAR $\gamma$  或 Tfdp2 亚型调节 EC 功能和血

管发育<sup>[15]</sup>。Nova2 介导的选择性剪接也会产生一种具有血管生成活性的神经细胞黏附分子 1 (L1-cell adhesion molecule, L1CAM) 剪接异构体——L1- $\Delta$ TM。L1- $\Delta$ TM 在内皮细胞中表达,由 Nova2 选择性剪接移除了编码该蛋白质跨膜区的外显子而产生,能够通过自分泌/旁分泌机制刺激血管生成<sup>[16]</sup>。Kim 等<sup>[17]</sup>发现 Nova2 选择性地调节斑马鱼和人内皮细胞中磷蛋白的 pre-mRNA 剪接。Nova2 通过选择性剪接抑制 ERK 信号,并调节 Prox1 以调控血管分化过程中 EC 的命运。最近研究揭示了一种特异性产生于内皮细胞中新的剪接异构体 UNC5B- $\Delta$ 8,由 Nova2 直接诱导 UNC5B 外显子 8 的跳跃产生,发挥促凋亡作用<sup>[18]</sup>。

## 2.2 低剪切应力和紊流引起的选择性剪接

血液流动产生的剪切应力对血管功能有重大影响。动脉分支和弯曲处的低或振荡剪切应力,使血管暴露于复杂的血流状态下,会导致血管功能障碍和 As。

血管细胞也通过 RNA 选择性剪接对剪切应力做出反应,以调节血管功能。剪切应力可以调节人冠状动脉内皮细胞 (human coronary arterial endothelial cell, HCAEC) 中肽酶抑制物 16 (the peptidase inhibitor 16, PI16) mRNA 的四种剪接异构体的表达,这些 PI16 的剪接异构体抑制了炎症刺激下 HCAEC 分泌的基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 的活性<sup>[19]</sup>。同样,剪切应力也增强了血小板活化因子 mRNA 的转录变体 2 的表达,进而调节内皮炎症反应<sup>[20]</sup>。暴露于剪切应力下,内皮细胞内血管性假血友病因子 (von Willebrand factor, vWF) mRNA 可产生剪接变化。vWF mRNA 外显子 33-34 或外显子 38 的跳跃可导致凝血功能障碍,即类血友病 (von Willebrand disease, vWD)<sup>[21]</sup>。在血流紊乱的情况下,内皮细胞可抑制 X-box 结合蛋白 1 (X-box binding protein, XBP1) 剪接来激活抗氧化反应,然后结合组蛋白脱乙酰酶 3,增加血红素加氧酶 1 的表达<sup>[22]</sup>。

RNA 结合基序蛋白 9 (RNA-binding motif 9 protein, RBM9),也称为 RBFox2,是心力衰竭和其他心血管疾病 (如 As 和动脉瘤) 病理机制中的关键剪接调节因子。最近, Murphy 等<sup>[23]</sup>发现,扰动血流诱导的低剪切应力通过 RBFox2 启动选择性剪接反应,促进造血细胞与动脉内皮细胞的黏附。RBFox2 缺失抑制了近 25% 的低剪切应力诱导的跳跃外显子剪接变化,包括编码细胞外基质蛋白 [如纤维连接蛋白 1 (fibronectin 1, FN1)] 和免疫调节蛋白 [如 G 蛋

白偶联受体 116 (G protein-coupled receptor 116, Gpr 116)、癌胚抗原相关黏附分子 1 (Ceacam1)] 的基因<sup>[23]</sup>。RBFox2 突变干扰来自 RhoGTP 酶介导的选择性剪接网络,导致细胞-细胞外基质的黏附、细胞周期缺陷和心内膜-间质转化障碍<sup>[24]</sup>。

低剪切应力和紊流诱导剪接因子多嘧啶结合蛋白 1 (polypyrimidine tract-binding protein 1, PTBP1 或 hnRNPI) 的表达和下游剪接反应,促进动脉内皮细胞的促炎表型,增强血小板黏附。在受体相互作用蛋白激酶 1 (receptor interacting protein kinase 1, Ripk1) 中包含一个保守的选择性外显子,导致 Ripk1 蛋白通过无义介导的 mRNA 衰退 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 而减少,是体内 NF- $\kappa$ B 核易位以及斑块炎症和扩张所必需<sup>[25]</sup>。血小板和巨噬细胞在低剪切应力和紊流区域的重新聚集也增加了 FN 的选择性剪接,改变了动脉壁基质的结构。FN 亚型由三个位点的选择性剪接产生:额外域 B (extra domain B, EDB)、额外域 A (extra domain A, EDA) 和 III 型同源连接片段 (type III connecting segment, III CS)。低剪切应力可诱导 FN 剪接异构体 E III A 的产生,并介导 FBLN1 等蛋白的募集来改变基质组成<sup>[26]</sup>。

## 2.3 选择性剪接介导血管平滑肌细胞表型转换

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的表型转换,即从“收缩”表型 [其特征是几乎没有增殖/迁移能力,并表达特定的收缩基因,如平滑肌 22 $\alpha$  (smooth muscle 22 $\alpha$ , SM22 $\alpha$ )、肌球蛋白重链 11、钙调蛋白] 转变为“合成”表型 [其特征是增殖/迁移能力和细胞外基质分泌 (胶原蛋白、骨桥蛋白) 能力增强,收缩基因表达减少], 是许多心血管疾病 (如 As、损伤后再狭窄和动脉瘤) 发病的早期关键事件。

VSMC 的增殖和去分化与 As 炎症反应相关。肌盲样蛋白 1 (muscle blind-like protein 1, MBNL1) 对 Abelson 相互作用子 1 (abelson interactor 1, ABI1) 基因的剪接,可形成 ABI1- $\Delta$ E10 亚型,参与 As 过程中 VSMC 的巨噬细胞样表型转化。由收缩表型 VSMC 转分化而来的平滑肌细胞源性巨噬细胞 (vascular smooth muscle cell-derived macrophage, VSMC-M) 具有高度增殖能力、吞噬功能增强等特点,与胆固醇聚集和泡沫细胞形成有关<sup>[27]</sup>。具有多个剪接的 RNA 结合蛋白 (RNA binding protein with multiple splicing, RBPMS) 是分化的平滑肌细胞选择性剪接的主要调节因子,在平滑肌细胞去分化过程中 RBPMS 转录下调。RBPMS 的 Thr113 和 Thr118 位

点的磷酸化会降低其剪接活性<sup>[28]</sup>。剪接因子 QKI 和 RBPM5 通过协调心肌素 (myocardin, MYOCD) 的选择性剪接, 导致平滑肌细胞分化和去分化<sup>[29]</sup>。SRSF1 协调  $\Delta 133p53$  转录本的选择性剪接, 促进 VSMC 增殖, 抑制细胞凋亡, 导致新生内膜增生<sup>[30]</sup>。PTBP1 的敲除导致肌动蛋白 1 (actinin 1, Actn1) 和肌球蛋白 1 (tropomyosin 1, Tpm1) 转录物中互斥外显子的改变, 促进了增殖的 VSMC 表型<sup>[31]</sup>。异质核糖核蛋白 A1 (heterogeneous nuclear ribonucleo protein A1, hnRNP A1) 可以受抑制素 2 (prohibitin 2, PHB2) 调控, 介导丙酮酸激酶 M (pyruvate kinase M, PKM) mRNA 的选择性剪接, 抑制丙酮酸激酶 M2 (PKM2) 的表达和糖酵解, 维持平滑肌收缩表型<sup>[32]</sup>。编码 Cav1.2 蛋白的 CACNA1C 基因从外显子 21 转变为外显子 22 的选择性剪接是 As 中 VSMC 转变为病理生理增殖状态的分子标志。此外, RBP 和 RBFox2 也可调节 CACNA1C mRNA 的选择性剪接, 使其包含外显子 9, 排除外显子 33, 导致 Cav1.2 病理重构<sup>[33]</sup>。

选择性剪接在血管钙化中也起着非常重要的作用。XBP1u [XBP1 的剪接变体, 包括 XBP1u (未剪接 XBP1) 和 XBP1s (剪接 XBP1)] 在高磷诱导的 VSMC 中过表达, 通过促进  $\beta$ -catenin 的泛素蛋白酶体降解可显著抑制成骨分化和钙化<sup>[34]</sup>。

#### 2.4 选择性剪接和炎症调节

携带胆固醇的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 在 As 发生过程中会滞留在血管壁中, LDL 直接或修饰后可诱导局部炎症, 单核细胞分化为巨噬细胞, 细胞内胆固醇积累并产生炎症因子。研究发现调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 具有抗 As 作用, 可抑制病理性炎症, 与之相反 Th17 细胞却是促进斑块纤维化。

在 As 中, Treg 细胞发挥作用的机制与选择性剪接相关。Treg 细胞的发育和功能依赖于谱系决定转录因子叉头盒 P3 转录因子 (forkhead box P3, FoxP3)。人类 FoxP3 亚型通过排除外显子 2 和/或外显子 7 产生。缺乏外显子 2 的 FoxP3 (FoxP3 $\delta 2$ ) 和全长 FoxP3 (FoxP3fl) 赋予 Treg 细胞抗 As 的能力, 而缺乏外显子 2 和 7 的 FoxP3 (FoxP3 $\delta 2\delta 7$ ) 以显性负向方式抑制 FoxP3fl 和 FoxP3 $\delta 2$ <sup>[35]</sup>。一些研究表明, T 细胞分化也受到 FoxP3 选择性剪接的调节。外显子 7 的跳跃可以使 T 细胞分化为 Th17 细胞<sup>[36]</sup>。在 As 病变中, RBP QKI 调节单核细胞向巨噬细胞的转化。QKI 作为 pre-mRNA 剪接和表达谱的动态调节因子, 驱动单核细胞活化、黏附和分化

为巨噬细胞, 促进泡沫细胞形成<sup>[37]</sup>。RNA 结合基序蛋白 47 (RNA-binding motif 47 protein, RBM47) 通过调节 B 细胞淋巴瘤相关转录因子 1 (B-cell lymphoma-2-associated transcription factor 1, BCLAF1) 的选择性剪接来影响 As 的炎症状态<sup>[38]</sup>。MBNL1 或许是单核细胞向巨噬细胞分化过程中选择性剪接的主要调节因子。

#### 2.5 选择性剪接和胆固醇调节

胆固醇与 As 相关。许多与胆固醇代谢相关的关键调节因子经历功能相关的选择性剪接。一些剪接因子已被证明可调节脂质代谢相关基因的剪接, 如 PTBP1、转化因子 2 $\alpha$  (transformer-2 $\alpha$ , TRA2 $\alpha$ ) 和转化因子 2 $\beta$  (transformer-2 $\beta$ , TRA2 $\beta$ ) 等。而 PTBP1 又可以调节几个参与胆固醇生物合成和摄取的基因的选择性剪接, 包括低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR) 和前蛋白转换酶枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)。正常情况下, MTA1-S 减少胆固醇合成基因的转录来抑制细胞增殖。在肝癌中, 致死性黄色蛋白同源物 (lethal yellow protein homolog, RALY) 和剪接因子 SF3B3 协同作用, 调节转移相关基因 1 (metastasis associated 1, MTA1) 从 MTA1-S 到 MTA1-L 的剪接转变, 从而发挥肿瘤促进因子的作用<sup>[39]</sup>。HnRNP A1 调节 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMGCR) 的选择性剪接并调控细胞胆固醇代谢<sup>[40]</sup>。此外, RBFox2 通过 B 类 I 型清道夫受体 (scavenger receptor class B type I, SRBI) 的选择性剪接调节胆固醇稳态<sup>[41]</sup>。

As 病变起始的一个主要特征是 LDL 和氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 被吞噬和积累。血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1, LOX-1/OLR1) 可特异性结合并降解 ox-LDL。Tejedor 等<sup>[42]</sup>发现 OLR1 基因内含子 4 中的一个单核苷酸多态性 (single-nucleotide polymorphism, SNP) (rs3736234) 是导致外显子 5 差异剪接的主要因素, 剪接因子 SRSF1 和 SRSF2/HMGA1 通过识别不同的调控基序而相互拮抗, SRSF2 和 HMGA1 结合导致外显子 5 的跳过, SRSF1 与 rs3736234 相邻潜在结合位点的结合可以促进外显子 5 的保留, 抑制 ox-LDL 降解, 从而导致冠状动脉粥样硬化性心脏病 (冠心病)。由于选择性剪接有三种 OLR1 剪接变体: 全长 OLR1、缺乏外显子 4 (OLR1D4) 和缺乏外显子 5 (Loxin), 在人内皮祖细胞 (human endothelial

progenitor cell, hEPC) 中过表达 Loxin 可以保护 hEPC, 抑制 ox-LDL 诱导的凋亡。Loxin 定位于质膜, 阻断了 OLR1 介导的 ox-LDL 摄取, 具有心血管疾病的保护作用。OLR1 在人类 As 斑块中的表达尤其增强, 特别是在血管内膜细胞和人颈动脉斑块巨噬细胞中表达上调。调节内源性 OLR1 的选择性剪接可能是一种潜在的治疗心血管疾病的策略。在家族性高胆固醇血症患者中, 编码 LDLR 的基因没有功能性突变。但 G186G 和 R385R 突变引起了选择性剪接位点的变化。G186G 引起的核苷酸改变导致在外显子 4 中产生新的 3' 剪接位点, R385R 引起 LDLR 基因外显子 9 中产生新的 5' 剪接位点, 从而导致 mRNA 中外显子 4 的 75 个碱基对缺失, 外显子 9 中 31 个碱基对的移码缺失和 NMD<sup>[43]</sup>。

## 2.6 选择性剪接和环状 RNA

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 目前已经被称为 As 诊断和治疗中的新型生物标志物。circRNA 由特殊的剪接形式反向剪接, 通过将外显子的 5' 剪接位点连接到上游外显子的 3' 剪接位点而产生。核定位的 circRNA 被认为通过调节转录或选择性剪接模式来调控基因表达。由于具有相同的剪接位点和剪接体机制, circRNA 分子的环化可能会与 pre-mRNA 的线性剪接相竞争, 进而导致经典蛋白质的产生减少。

研究表明, circRNA 在 As 形成中对 VSMC 的调节起着重要作用, 如有研究表明, CircEsys2 直接与 RNA 剪接因子多聚胞嘧啶结合蛋白 1 (polyC binding protein1, PCBP1) 协同作用, 改变 PCBP1 的细胞内定位。CircEsys2 的沉默显著增强 P53 $\beta$  的剪接, 导致 P53 靶基因的表达改变, 并降低 VSMC 的增殖<sup>[44]</sup>。钙调蛋白 4 (calmodulin 4) 基因的选择性剪接产物 circRNA Circ calm 4 是 miR-337-3p 海绵, 通过影响肌球蛋白 10 (myosin X, Myo10), 在分子水平上通过调节细胞周期促进肺动脉平滑肌细胞增殖<sup>[45]</sup>。选择性剪接因子 Nova1 可能是 VSMC 中产生特定 circRNA 的关键剪接因子。Nova1 介导的 circRNA UVRAG 可影响 VSMC 的迁移和黏附, 与移植静脉内膜增生相关<sup>[46]</sup>。此外, 研究表明 INK4 基因座中反义非编码 RNA (antisense noncoding RNA in the INK4 locus, ANRIL) 结构影响 INK4/ARF 表达和 As 发生。其中新的环状 ANRIL 亚型 (cANRIL) 的表达降低能够减少炎症因子表达和血管内皮细胞凋亡来预防动脉粥样硬化性血管疾病 (atherosclerotic vascular disease, ASVD)<sup>[47]</sup>。此外, circRNA/miRNA/mRNA 网络在 As 中也有重要的调

控作用。circRNA 可以竞争性结合 miRNA 促进单核巨噬细胞增殖、迁移、炎症, 如 circ\_TM7SF3 可直接与 THP-1 来源巨噬细胞中的 miR-206 相互作用, 促进细胞凋亡、炎症等<sup>[48]</sup>。

## 2.7 选择性剪接和剪接位点突变

As 发生中存在剪接位点突变。载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE)、胱硫醚  $\beta$ -合酶 (cystathionine beta synthase, CBS)、LDLR 和脂蛋白脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 等几种与脂质和甲硫氨酸代谢有关的基因的核苷酸变异会导致早发 As 风险。这些基因中有 10% 的单核苷酸替换突变涉及 mRNA 剪接位点<sup>[49]</sup>。

相关剪接位点突变也会引起选择性剪接。磷酸酶和肌动蛋白调节基因 1 (phosphatase and actin regulator 1, PHACTR1) 上的一个变异 (rs9349379) 可以通过调节人冠状动脉 (human coronary artery, hCA) EC 和 VSMC 中 PHACTR1 中间转录物的表达或剪接, 与 As 的发生和发展有关。PHACTR1 的全转录谱分析表明该基因编码 6 个主要转录本, 其中 5 个在 As 斑块形成的 hCA 中表达。全基因组关联研究表明 PHACTR1 基因与 5 种血管疾病的风险相关, rs9349379 还可以对内皮素 1 (endothelin 1, EDN1) 表达进行调节<sup>[50]</sup>。ASVD 相关的 9p21 单核苷酸多态性控制着 INK4/ARF 表达, 并且 INK4/ARF 肿瘤抑制因子表达降低可能促进 ASVD。此外, INT2 在内含子 2 的供体剪接位点存在 G+1 到 C 的突变导致编码起始密码子的外显子 2 跳过, 引起载脂蛋白 C II (apolipoprotein C II, ApoC II) 蛋白缺乏, 患者在新生儿期就表现出严重的高甘油三酯血症<sup>[51]</sup>。LDLR 基因内含子 16 倒数第二个 3' 核苷酸中 A 到 G 转换, 破坏了受体剪接位点, 激活位于原始剪接位点上游的一个隐藏剪接位点, 导致核苷酸阅读框移位<sup>[52]</sup>。

## 3 问题和展望

本文概述了 RNA 剪接的定义和机制, 以及选择性剪接在 As 发病机制中的作用, 旨在说明 RNA 剪接在 As 发生发展中的重要调控作用和研究现状 (图 1)。

RNA 剪接作为 RNA 生物学的新兴领域, 在过去十几年的研究中人类对剪接密码的认识更加深入, 各种关键剪接因子及其功能的揭示, 使人类对疾病的发生机制有了很多新认识。随着研究技术的不断发展, 目前 RNA 剪接调控在临床上展示出良

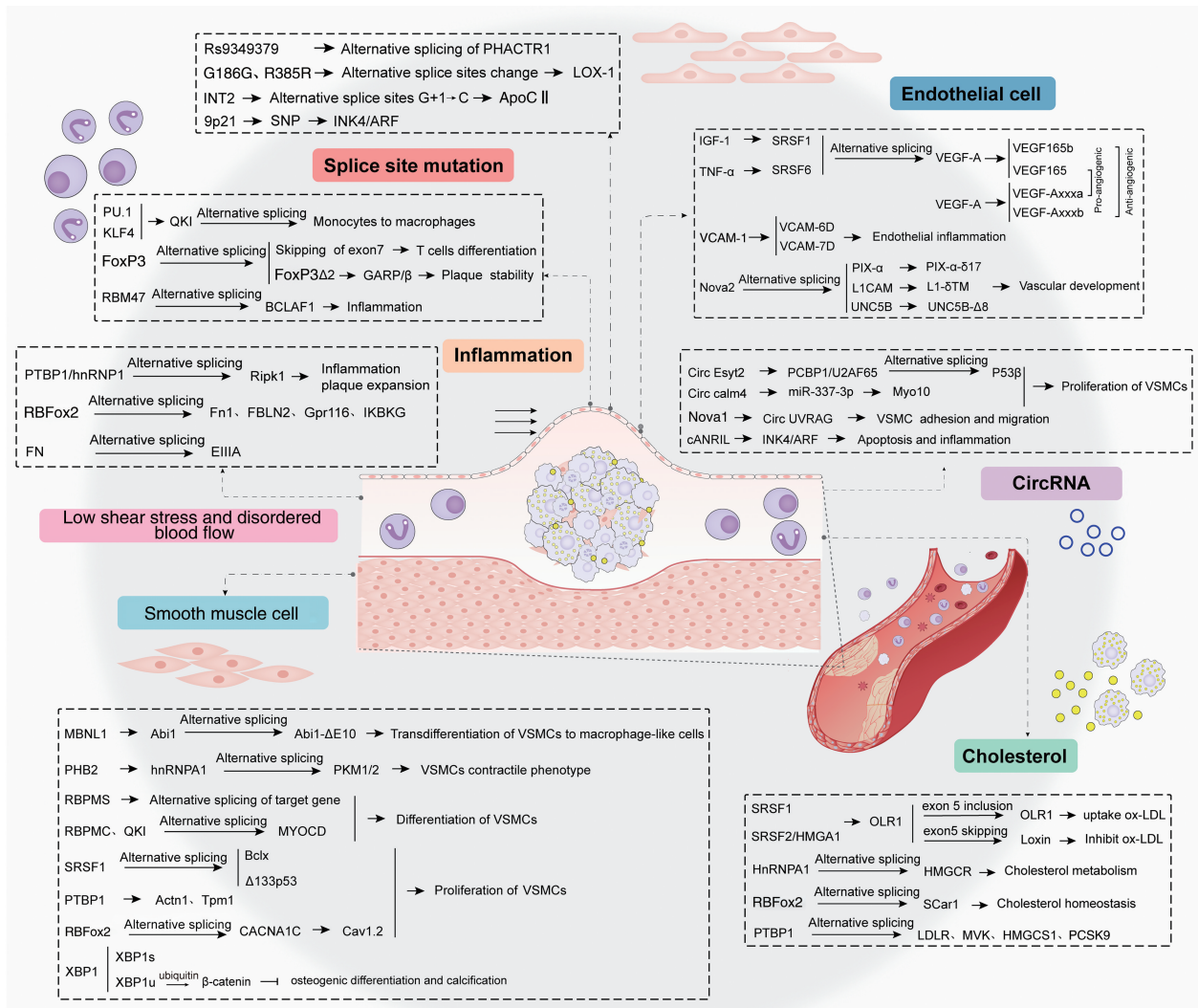


图 1. 动脉粥样硬化形成中的选择性剪接事件  
Figure 1. Alternative splicing in atherosclerosis

好的应用前景。在诊断方面,一种选择性剪接产生的亚型 EH-肌瘤素 (EH-myomesin) 可以作为人类扩张型心肌病标志物的诊断。异质核糖核蛋白 U (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U, HNRN-PU) 可通过选择性剪接调节胃癌进展,并在诊断和预测胃癌预后风险方面表现良好<sup>[53]</sup>。在治疗方面,反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, AON) 重定向剪接,是一种精准的靶向治疗策略。此外,剪接体介导的 RNA 反式剪接 (SMaRT),也已成功应用于杜氏肌营养不良症。值得一提的是, RNA 剪接在助力抗癌方面已有长足的进展。近期进行的大规模转录组和基因组学研究发现,肿瘤细胞中肿瘤抗原的产生来源于 pre-mRNA 的异常剪切。这类异常剪切所产生的多肽通过 MHC I 递呈抗原,并活化 T 细胞,表明改变肿瘤细胞的 RNA 剪切方式或许可以启动抗肿瘤免疫响应<sup>[54]</sup>。研究表明, CDC 样激酶激

动剂 RECTAS 可以通过诱导剪切型肿瘤抗原来促使肿瘤免疫原性变化<sup>[55]</sup>。此外, RNA 剪接因子 XIAP 的缺失或抑制剪接激酶 DYRK 和 CLK 可以增强对 B 淋巴细胞瘤 2 (Bcl-2) 抑制剂维奈托克的反应,提供了一种克服 Bcl-2 抑制剂耐药性的策略<sup>[56]</sup>。

相信随着 RNA 剪接的不断研究,在心血管疾病领域,剪接调控分子以及相关突变也有转化临床治疗的光明前景。在心血管领域除了借鉴在癌症领域的治疗方法外,研究血管细胞分化的潜在机制也许能够操纵处于疾病状态的血管细胞,在揭示支持发育的分子机制的同时也为血管治疗提供新的靶点。选择性剪接起到了关键作用。例如 QKI 的各种异构体在血管发育中起了至关重要的作用。如 QKI-6 通过调控 HDAC7 的剪接,推动 iPS-SMC 分化<sup>[11]</sup>。糖尿病内皮细胞中 RNA 结合蛋白 CUG-BP/hnRNPM 调控失衡导致 QKI-7 上调,引起内皮功能

障碍<sup>[12]</sup>。各种 RNA 结合蛋白在 RNA 转录后修饰中与剪接因子一起作用于选择性剪接,影响着细胞的表型。RBP-RNA 作为生物标志物和靶点,在治疗异常自身免疫性炎症中发挥了重要作用<sup>[57]</sup>。RNA 的转录后修饰很大程度上影响着疾病的表型。一项研究就是靶向含 E1 的冷休克结构域(cold shock domain containing E1, CSDE1)以操纵 LDLR mRNA 的转录后调节以预防心血管疾病<sup>[58]</sup>。

综上所述,对心血管疾病相关的剪接机制和选择性剪接的全面了解,有助于扩展对血管发育和疾病发生动态化和多样化过程的认识,进而为患者精准和个体化治疗提供策略和手段。

#### [参考文献]

- [1] CHOW L T, GELINAS R E, BROKER T R, et al. An amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger RNA [J]. *Cell*, 1977, 12(1): 1-8.
- [2] YANG L, ZENG X T, LUO R H, et al. SARS-CoV-2 NSP12 utilizes various host splicing factors for replication and splicing regulation [J]. *J Med Virol*, 2024, 96(1): e29396.
- [3] VAN DEN HOOGENHOF M M, PINTO Y M, CREEMERS E E. RNA splicing: regulation and dysregulation in the heart [J]. *Circ Res*, 2016, 118(3): 454-468.
- [4] HAACK D B, RUDOLFS B, ZHANG C, et al. Structural basis of branching during RNA splicing [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2024, 31(1): 179-189.
- [5] HAN J, LEE Y, YEOM K H, et al. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(24): 3016-3027.
- [6] SUN S, GAO T, PANG B, et al. RNA binding protein NKAP protects glioblastoma cells from ferroptosis by promoting SLC7A11 mRNA splicing in an m<sup>6</sup>A-dependent manner [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 73.
- [7] ZHANG B Y, HAN L, TANG Y F, et al. METTL14 regulates m<sup>6</sup>A methylation-modified primary miR-19a to promote cardiovascular endothelial cell proliferation and invasion [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(12): 7015-7023.
- [8] PEIRIS-PAGÈS M. The role of VEGF165b in pathophysiology [J]. *Cell Adh Migr*, 2012, 6(6): 561-568.
- [9] VONDERHEIDE R H, SPRINGER T A. Lymphocyte adhesion through very late antigen 4: evidence for a novel binding site in the alternatively spliced domain of vascular cell adhesion molecule 1 and an additional alpha 4 integrin counter-receptor on stimulated endothelium [J]. *J Exp Med*, 1992, 175(6): 1433-1442.
- [10] COCHRANE A, KELAINI S, TSIFAKI M, et al. Quaking is a key regulator of endothelial cell differentiation, neovascularization, and angiogenesis [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(4): 952-966.
- [11] CAINES R, COCHRANE A, KELAINI S, et al. The RNA-binding protein QKI controls alternative splicing in vascular cells, producing an effective model for therapy [J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(16): jcs230276.
- [12] YANG C, ELEFThERiADOU M, KELAINI S, et al. Targeting QKI-7 *in vivo* restores endothelial cell function in diabetes [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3812.
- [13] MELDOLESI J. Alternative splicing by NOVA factors: from gene expression to cell physiology and pathology [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 3941.
- [14] GIAMPIETRO C, DEFLORIAN G, GALLO S, et al. The alternative splicing factor Nova2 regulates vascular development and lumen formation [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8479.
- [15] BELLONI E, DI MATTEO A, PRADELLA D, et al. Gene expression profiles controlled by the alternative splicing factor Nova2 in endothelial cells [J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1498.
- [16] ANGIOLINI F, BELLONI E, GIORDANO M, et al. A novel LICAM isoform with angiogenic activity generated by Nova2-mediated alternative splicing [J]. *Elife*, 2019, 8: e44305.
- [17] KIM H, NGUYEN V P, PETROVA T V, et al. Embryonic vascular endothelial cells are malleable to reprogramming via Prox1 to a lymphatic gene signature [J]. *BMC Dev Biol*, 2010, 10: 72.
- [18] PRADELLA D, DEFLORIAN G, PEZZOTTA A, et al. A ligand-insensitive UNC5B splicing isoform regulates angiogenesis by promoting apoptosis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4872.
- [19] HAZELL G G, PEACHEY A M, TEASDALE J E, et al. PI16 is a shear stress and inflammation-regulated inhibitor of MMP2 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39553.
- [20] OKAHARA K, SUN B, KAWASAKI T, et al. Expression of platelet-activating factor receptor transcript-2 is induced by shear stress in HUVEC [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 1998, 55(5/6): 323-329.
- [21] HAWKE L, BOWMAN M L, POON M C, et al. Characterization of aberrant splicing of von Willebrand factor in von Willebrand disease: an underrecognized mechanism [J]. *Blood*, 2016, 128(4): 584-593.
- [22] MARTIN D, LI Y, YANG J, et al. Unspliced X-box-binding protein 1 (XBPI) protects endothelial cells from oxidative stress through interaction with histone deacetylase 3 [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(44): 30625-30634.
- [23] MURPHY P A, BUTTY V L, BOUTZ P L, et al. Alternative RNA splicing in the endothelium mediated in part by RBFox2 regulates the arterial response to low flow [J]. *Elife*, 2018, 7: e29494.
- [24] VERMA S K, DESHMUKH V, THATCHER K, et al. RBFox2 is required for establishing RNA regulatory networks essential for heart development [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(4): 2270-2286.
- [25] HENSEL J A, NICHOLAS S E, KIMBLE A L, et al. Splice factor polypyrimidine tract-binding protein 1 (Ptbp1) primes endothelial inflammation in atherogenic disturbed flow conditions [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(30): e212227119.
- [26] MURPHY P A, JAILKHANI N, NICHOLAS S A, et al. Alternative splicing of FN (fibronectin) regulates the composition of the arterial wall under low flow [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1): e18-e32.
- [27] LI Y, GUO X, XUE G, et al. RNA splicing of the Abi1 gene by MBNL1 contributes to macrophage-like phenotype modulation of vascular smooth muscle cell during atherogenesis [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(5): e13023.

- [28] BARNHART M D, YANG Y, NAKAGAKI-SILVA E E, et al. Phosphorylation of the smooth muscle master splicing regulator RB-PMS regulates its splicing activity[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(20): 11895-11915.
- [29] VAN DER VEER E P, DE BRUIN R G, KRAAIJEVELD A O, et al. Quaking, an RNA-binding protein, is a critical regulator of vascular smooth muscle cell phenotype[J]. *Circ Res*, 2013, 113(9): 1065-1075.
- [30] XIE N, CHEN M, DAI R, et al. SRSF1 promotes vascular smooth muscle cell proliferation through a  $\Delta 133p53/EGR1/KLF5$  pathway [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 16016.
- [31] LLORIAN M, GOODING C, BELLORA N, et al. The alternative splicing program of differentiated smooth muscle cells involves concerted non-productive splicing of post-transcriptional regulators [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(18): 8933-8950.
- [32] JIA Y, MAO C, MA Z, et al. PHB2 maintains the contractile phenotype of VSMCs by counteracting PKM2 splicing[J]. *Circ Res*, 2022, 131(10): 807-824.
- [33] ZHOU Y, FAN J, ZHU H, et al. Aberrant splicing induced by dysregulated RBFox2 produces enhanced function of CaV1.2 calcium channel and vascular myogenic tone in hypertension[J]. *Hypertension*, 2017, 70(6): 1183-1192.
- [34] YANG L, DAI R, WU H, et al. Unspliced XBP1 counteracts  $\beta$ -Catenin to inhibit vascular calcification[J]. *Circ Res*, 2022, 130(2): 213-229.
- [35] JOLY A L, ANDERSSON J. Alternative splicing, FOXP3 and cardiovascular disease [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(7): 1905-1906.
- [36] MAILER R K, JOLY A L, LIU S, et al. IL-1 $\beta$  promotes Th17 differentiation by inducing alternative splicing of FOXP3 [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14674.
- [37] DE BRUIN R G, SHIUE L, PRINS J, et al. Quaking promotes monocyte differentiation into pro-atherogenic macrophages by controlling pre-mRNA splicing and gene expression[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10846.
- [38] WANG R, XU J, TANG Y, et al. Transcriptome-wide analysis reveals the coregulation of RNA-binding proteins and alternative splicing genes in the development of atherosclerosis [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 1764.
- [39] QIAO Y, SHI Q, YUAN X, et al. RNA binding protein RALY activates the cholesterol synthesis pathway through an MTA1 splicing switch in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2022, 538: 215711.
- [40] YU C Y, THEUSCH E, LO K, et al. HNRNPA1 regulates HMGCR alternative splicing and modulates cellular cholesterol metabolism[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(2): 319-332.
- [41] PATERSON H A B, YU S, ARTIGAS N, et al. Liver RBFox2 regulates cholesterol homeostasis via Scarb1 alternative splicing in mice[J]. *Nat Metab*, 2022, 4(12): 1812-1829.
- [42] TEJEDOR J R, TILGNER H, IANNONE C, et al. Role of six single nucleotide polymorphisms, risk factors in coronary disease, in OLR1 alternative splicing[J]. *RNA*, 2015, 21(6): 1187-1202.
- [43] DEFESCHE J C, SCHUURMAN E J, KLAAIJSEN L N, et al. Silent exonic mutations in the low-density lipoprotein receptor gene that cause familial hypercholesterolemia by affecting mRNA splicing[J]. *Clin Genet*, 2008, 73(6): 573-578.
- [44] GONG X, TIAN M, CAO N, et al. Circular RNA circEys2 regulates vascular smooth muscle cell remodeling via splicing regulation [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(24): e147031.
- [45] ZHANG J, LI Y, QI J, et al. Circ-calm4 serves as an miR-337-3p sponge to regulate Myo10 (Myosin 10) and promote pulmonary artery smooth muscle proliferation [J]. *Hypertension*, 2020, 75(3): 668-679.
- [46] LIU Z, LOU Y, CUI J C, et al. Circular RNA UVRAG mediated by alternative splicing factor Nova1 regulates adhesion and migration of vascular smooth muscle cells[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(3): 418.
- [47] HOLDT L M, 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.
- [48] 郭慧葛, 孙四玉, 林飞, 等. circRNA/miRNA/mRNA 的生物学功能及其对动脉粥样硬化的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(1): 80-87.
- GUO H G, SUN S Y, LIN F, et al. Biological function of circRNA/miRNA/mRNA and the effect on atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(1): 80-87.
- [49] VON KODOLITSCH Y, PYERITZ R E, ROGAN P K. Splice-site mutations in atherosclerosis candidate genes: relating individual information to phenotype[J]. *Circulation*, 1999, 100(7): 693-699.
- [50] GUPTA R M, HADAYA J, TREHAN A, et al. A genetic variant associated with five vascular diseases is a distal regulator of endothelin-1 gene expression [J]. *Cell*, 2017, 170(3): 522-533.
- [51] OKUBO M, HASEGAWA Y, AOYAMA Y, et al. A G+1 to C mutation in a donor splice site of intron 2 in the apolipoprotein (Apo) C-II gene in a patient with Apo C-II deficiency. A possible interaction between Apo C-II deficiency and Apo E4 in a severely hypertriglyceridemic patient[J]. *Atherosclerosis*, 1997, 130(1/2): 153-160.
- [52] LOMBARDI P, HOFFER M J, TOP B, et al. An acceptor splice site mutation in intron 16 of the low density lipoprotein receptor gene leads to an elongated, internalization defective receptor [J]. *Atherosclerosis*, 1993, 104(1/2): 117-128.
- [53] DONG Y Y, WANG M Y, JING J J, et al. Alternative splicing factor heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U as a promising biomarker for gastric cancer risk and prognosis with tumor-promoting properties [J]. *Am J Pathol*, 2024, 194(1): 13-29.
- [54] STERN L J, CLEMENT C, GALLUZZI L, et al. Non-mutational neoantigens in disease [J]. *Nat Immunol*, 2024, 25(1): 29-40.
- [55] MATSUSHIMA S, AJIRO M, IIDA K, et al. Chemical induction of splice-neoantigens attenuates tumor growth in a preclinical model of colorectal cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(673): eabn6056.
- [56] WANG E, PINEDA J M B, KIM W J, et al. Modulation of RNA splicing enhances response to BCL2 inhibition in leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(1): 164-180.
- [57] LIU J, CAO X. RBP-RNA interactions in the control of autoimmunity and autoinflammation [J]. *Cell Res*, 2023, 33(2): 97-115.
- [58] SMITH G A, PADMANABHAN A, LAU B H, et al. Cold shock domain-containing protein E1 is a posttranscriptional regulator of the LDL receptor [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(662): eabj8670.