

动脉粥样硬化相关循环血长链非编码 RNA 研究进展

刘俊文, 孟凡明

(中南大学基础医学院组织学与胚胎学系, 湖南省长沙市 410013)

[专家简介] 刘俊文, 中南大学基础医学院教授, 博士研究生导师, 2015 年度湖湘青年英才。主要从事动脉粥样硬化与非编码 RNA 研究。主持 3 项国家自然科学基金、5 项省部级科研项目。目前任多家国际权威期刊审稿人、湖南省解剖学会青年委员会主任委员、湖南省青年科协生物与医药专门委员会副主任委员。2011 年至今共发表相关论文 20 余篇, 以第一作者或通信作者发表 7 篇 SCI 论文 (JCR 一区论文 4 篇); 授权国家发明专利 3 项, 实用新型专利 1 项。

[关键词] 动脉粥样硬化; 长链非编码 RNA; 生物标记物; 非介入诊断

[摘要] 动脉粥样硬化 (As) 是最常见的心脑血管疾病病变, 严重影响着现代社会人类的身体健康。在 As 复杂的病理变化过程中寻找潜在的生物标记物, 对于预防和治疗 As 疾病的发生和发展有着重要意义。研究表明长链非编码 RNA (lncRNA) 能够广泛参与到多种细胞活性的调控过程中, 在 As 发生发展的不同阶段发挥作用。lncRNA 可经由外泌体、微囊泡以及凋亡小体的包被, 分泌至胞外后, 进入循环系统。近些年, 陆续有关于循环血 lncRNA 与 As 发生发展相关性的研究, 血液中的 lncRNA 有望成为监测 As 病情进展的新型非介入诊断标记物。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A



Progress in atherosclerotic-related circulating long non-coding RNA

LIU Junwen, MENG Fanming

(Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China)

[KEY WORDS] atherosclerosis; long non-coding RNA; biomarker; non-invasive diagnosis

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) is the most common lesion of cardio-cerebrovascular disease endangering human health in the modern society. Finding the potential biomarkers during the progress of As is significant for the prevention and treatment of As-related diseases. Studies have shown that long non-coding RNA (lncRNA) can be widely involved in many cell activity regulation processes, and play a role in different stages of As development. lncRNA can be secreted into the circulatory system by exosome, micro-vesicle and apoptotic bodies. In the recent years, investigations on the circulating lncRNA in As have been reported more and more. The circulating lncRNA is expected to become the novel non-invasive biomarker to monitor the progress of As.

心血管疾病在世界范围内的影响远超过其他疾病, 用于心血管疾病治疗的开销已给社会和家庭带来了沉重的经济负担。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是最常见的心脑血管系统疾病之一, As 引起的血管病变被认为是心血管疾病的根本原因, 已成为现代社会影响人类健康的头号杀手^[1]。粥样

斑块在血管病变部位的不断积累可导致多种心血管疾病, 如心力衰竭 (heart failure, HF)、冠心病 (coronary artery disease, CAD)、急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 等急性心血管事件^[2-3]。As 的发生发展过程中包含血管壁中多种细胞成分的改变和相互作用, 如内皮细胞的功能紊乱、巨噬细

[收稿日期] 2018-04-04

[修回日期] 2018-07-10

[基金项目] 国家自然科学基金资助 (81770462)

[作者简介] 刘俊文, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化与非编码 RNA 研究, E-mail 为 liujunwen@csu.edu.cn。通信作者孟凡明, 博士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化, E-mail 为 mengfanming1984@163.com。

胞激活以及血管平滑肌细胞的表型改变^[4-5]。在 As 复杂的病理变化过程中寻找潜在的生物标记物 (biomarker), 对于预防和治疗 As 疾病的发生和发展有着重要意义。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度大于 200 个碱基, 没有蛋白质编码潜能的核苷酸序列。在发现之初被认为是基因组的“噪音 (noise)”或“垃圾 (junk)”^[6], 没有实质性功能。随着不断的研究, 人们发现 lncRNA 实际上能够广泛参与到多种细胞活性的调控过程中, 与人类的多种重大疾病都存在密切关系。lncRNA 与其他基因转录本可通过内源性竞争能够靶定结合的 miRNA, 形成竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 作用环, 在 As 发生发展的不同阶段发挥作用^[6]。这些相互作用关系为寻找 As 预防和治疗的潜在生物标记物提供了必要的生理基础。

1 循环血 lncRNA 概述

理想的生物标记物应能采用非介入性检测方法, 同时具有相对稳定性和检测敏感性^[7-8]。但到目前为止, 绝大多数对 lncRNA 的研究都是通过介入性的方法获取病人的病变组织, 再检测其中 lncRNA^[9]。随着检测方法的不断改进, 最近的研究表明 lncRNA 能够稳定的从体液中检测出^[10-12]。对肿瘤的研究发现循环血 lncRNA 能够通过外泌体、微

囊泡以及凋亡小体的包被, 分泌到肿瘤细胞外, 进入循环系统, 成为监测癌症病情进展的新型非介入诊断标记物。As 在发生发展中伴随着多种血管壁内细胞成分的活动和改变, 这为 lncRNA 进入循环系统提供了可能。

血液是人体内最富流动性、分布最广泛的体液, 血液中不同来源的分子物质能够伴随着血流, 运输和散布到不同的器官组织中。血液中某些成分浓度和丰度的动态变化可能与多种疾病状态有着密切联系, 例如癌症、心血管疾病、神经系统疾病等。这样的生物标记物能够为疾病的发生发展提供以下几个方面的信息: (1) 通过单个风险因素指标对病患进行识别并分类; (2) 诊断和监控疾病状态; (3) 指导合适的治疗方案和预后观察^[13]。循环血 lncRNA 最早被报道用做癌症的诊断标志物, 例如用于前列腺癌诊断的 lncRNA PCA3, 以及用于膀胱癌诊断的 lncRNA UCA1, 两者在体液样本中都具有高敏感性, 并且对癌症类型有特殊区分度^[11-14]。后来在胃癌、肺癌以及乳腺癌中都发现了有生物标记物功能的循环血 lncRNA 存在^[15-17]。

As 作为全世界发病率最高的疾病之一, 如能在早期诊断中发现病理改变, 将对疾病的初期治疗、降低发病率和死亡率有重要意义。近些年陆续有关于循环血 lncRNA 与 As 发生发展相关性的研究, 这些具有 As 疾病监测标记潜力的循环血 lncRNA 的概况见表 1。

表 1. As 相关循环血 lncRNA 结构特性、表达特征及功能

Table 1. Structural characteristics, expression characteristics and functions of As related lncRNA in circulating blood

名称	分类	基因组定位	表达趋势	疾病类型	功能
ANRIL	反义	chr9:21,994,790-22,121,093	下调	AMI	脂肪酸、糖代谢以及炎症反应
APPAT	基因间	chr2:97,422,955-97,433,487	下调	AMI	VSMC 表型维持
KCNQ1OT1	反义	chr11:2,608,328-2,699,994	上调	AMI	表观修饰
UCA1	基因间	chr19:15,828,206-15,836,326	下调/上调	AMI	糖代谢、乳酸生成
CoroMarker	基因间	chr11:16,459,683-16,662,365	上调	CAD	降低促炎性因子表达
LncPPARδ	基因间	chr6:35,384,592-35,385,629	上调	CAD	炎症信号通路
MIAT	基因间	chr22:27,053,446-27,072,440	下调	As	VSMC 增殖、凋亡
lncRNA-p21	基因间	chr6:36,635,073-36,632,321	未知	As	抑制 VSMC 增殖, 促凋亡
SENCR	反义	chr11:128,561,567-128,565,918	下调	As	VSMC 增殖
HIF1α-S1	反义	chr14:62,147,759-62,162,536	上调	As	下调透明质酸
LIPCAR	反义	chrM:7,587-15,888	下调/上调	HF	脂类代谢

VSMC: 血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell)。

2 重要 lncRNA 阐释

2.1 ANRIL

ANRIL (antisense noncoding RNA in the INK4) 也被称为 cyclin-dependent kinase inhibitors 2A and 2B (CDKN2BAS), 首次发现于染色体臂的 9p21 位置^[18]。ANRIL 基因包含 19 个外显子, 能够转录成多种剪接体并具有组织表达特异性^[18-19]。全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 显示 9p21 位点上拥有大量与疾病相关的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点, 随后的研究也表明 ANRIL 上的这些 SNP 与冠状动脉粥样硬化、颈动脉粥样硬化以及外周动脉疾病等多种血管疾病有密切关系^[20-21], 并与 As 的疾病程度有相关性^[22]。ANRIL 被发现在多种粥样硬化相关细胞和组织中表达, 例如平滑肌细胞、内皮细胞、单核巨噬细胞以及颈动脉组织, 参与调节脂肪酸、糖代谢以及炎症反应等过程^[23-24]。ANRIL 可以通过反式调节 (trans-regulation) 作用于靶基因, 促进细胞增殖, 增加细胞黏着, 同时抑制细胞凋亡。这种反式调节依赖于 ANRIL 靶基因启动子区域的 Alu 元件, 对 ANRIL 的过表达和敲低能够影响 ANRIL 构成的调节网络, 进而影响 As 的发生发展^[23]。

在新近的一项针对 AMI 患者全血样本进行的测序分析中, 作者选择了 ANRIL 作为分子自标记物进行了检测, 结果显示 ANRIL 在 AMI 患者血液中出现显著下降^[25]; 这是首次关于循环血中 ANRIL 表达水平改变的报道。

2.2 APPAT

新报道的 lncRNA APPAT 也对 As 的病情进展表现出潜在的预测能力。APPAT (atherosclerotic plaque pathogenesis associated transcript) 是一条长度为 669 bp 的基因间长链非编码 RNA, 包含 4 个外显子, 定位于人类 2 号染色体。通过免疫荧光检测发现 APPAT 主要分布在冠状动脉血管壁的中层, 亚细胞结构定位于细胞质区域, 是一种血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 胞浆富集型 lncRNA。

APPAT 首先发现于血液样本中, 通过病例配伍比较发现 APPAT 在心绞痛患者血液中呈现不明显的下降, 但在 AMI 患者血液中显著下调, 整体表现为由正常人向 AMI 患者下降的趋势。进一步在冠状动脉组织中检测发现, 严重狭窄的冠状动脉组织中 APPAT 表达量亦出现了显著下降。这种血液中表达量的变化趋势, 独立于糖尿病和高血压等疾病

因素, 对于预测和监测 As 的发生发展有着潜在的价值^[26]。

2.3 CoroMarker (lncRNA AC100865.1)

在一项针对 CAD 患者和健康人血液样本的分子标记物筛选研究中, 研究人员通过芯片技术对两组病人的血液样本进行了测序。初期检测结果显示两组间存在大量差异表达的 lncRNA 转录本, 因此作者提高了筛选标准, 从 174 条上调的 lncRNA 转录本中进一步筛选出了 5 个候选 lncRNA。而后再通过 qPCR 技术对 5 条候选 lncRNA 在相同血液样本中的表达趋势进行验证, 其中 4 条 lncRNA 与芯片测序结果一致。进一步的 ROC 曲线分析表明 lncRNA AC100865.1 更加符合标记物的要求, 将其命名为 CoroMarker。当采用血液中 CoroMarker 浓度与其他 4 种疾病相关的风险因素进行联合分析时, 能够获得更好的预测效果, 提高了对 CAD 预测的敏感性^[27]。CoroMarker 现已被证实在循环血的囊泡和单核细胞中有分布^[28]。在 THP-1 细胞中敲低 CoroMarker 可以引起白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 以及肿瘤坏死因子 α 的表达水平显著下调, 表明 CoroMarker 可能在 As 的炎症反应过程中发挥重要作用^[28]。

2.4 HIF1 α -S1

HIF1 α -S1 (lncRNA HIF1 α -antisense RNA1) [HIF1 α : 缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α)] 位于 14 号染色体, 首次报道于胸主动脉瘤组织中。研究人员以 Brahma-related gene 1 (BRG1) 为切入点, 首先观察了胸主动脉瘤组织 BRG1 的表达特征。随后通过芯片测序检测 VSMC 中敲低和过表达 BRG1 后 lncRNA 表达量的改变, 最终发现 HIF1 α -S1 的转录水平与 BRG1 有明显相关性。进一步研究表明, BRG1 与 HIF1 α -S1 之间的相互作用在 VSMC 的增殖和凋亡过程中扮演着重要角色, 减低后者在 VSMC 的表达水平能够明显抑制细胞的增殖, 同时促进凋亡^[29]。HIF1 α -S1 在 As 斑块组织中有高表达, 提示可能与斑块中 VSMC 的细胞状态和命运有关。一项针对 AMI 患者血液样本进行的规模筛查研究中发现 HIF1 α -S1 在 AMI 患者血液内也呈上升趋势, 进一步说明 HIF1 α -S1 在组织和血液中具有相同的表达趋势^[25]。

2.5 KCNQ1OT1

lncRNA 在表观遗传水平上对靶基因的转录调控作用是 lncRNA 功能研究中的一个重要方向。已有研究表明 lncRNA 可以通过与染色质相互作用影响染色体功能区内多个基因的转录活动。Kcnq1 位

点在染色体上的跨度超过 1 Mb,定位在人 11 号染色体的短臂上(11p15.5),包含有 8~10 个蛋白质编码基因以及一条 lncRNA KCNQ1OT1^[30]。KCNQ1OT1 能和染色质相互作用,通过募集染色质和 DNA 修饰蛋白,形成复杂的染色质折叠结构,沉默该区域内的多个目的基因^[31]。KCNQ1OT1 可能参与了对心肌细胞的发育和心肌肥大病变的调节。

来自 AMI 患者血液样本的检测发现 KCNQ1OT1 在患者血液内表达量显著升高^[25]。对 2 型糖尿病患者胰腺组织的检测也发现 KCNQ1OT1 的表达呈上升趋势^[32]。最新的一项研究表明 KCNQ1OT1 在 As 粥样斑块中的表达水平与患者年龄呈负相关,这种显著的趋势变化对于进一步揭示患者年龄与粥样斑块的相关性具有重要意义^[33]。

2.6 LncPPAR δ

过氧化物酶体增殖物激活受体 β/δ (peroxisome proliferator activated receptor β/δ , PPAR β/δ) 属于配体诱导转录因子中细胞核受体超基因家族中的一员^[34]。现已证实,激活 PPAR δ 能够增加粥样斑块内巨噬细胞的胆固醇外流作用,降低白细胞或单核细胞向动脉内壁的跨内膜迁移活性,降低粥样斑块的大小^[35]。研究人员从 CAD 患者血浆中分离到一种 lncRNA 转录本 NONHSAT112178,命名为 LncPPAR δ (long noncoding PPAR δ)^[36]。通过生物信息分析发现 LncPPAR δ 位于 PPAR δ 附近,进一步通过在 THP-1 细胞中敲低 LncPPAR δ 后发现 PPAR β/δ 表达量出现了下调,表明 LncPPAR δ 可能参与了 PPAR δ 介导的炎症信号通路,在 CAD 及 As 病情进展中发挥作用^[36]。血浆检测结果显示 LncPPAR δ 在 CAD 患者体内表达呈上升趋势,并且能在血液中稳定存在。当与性别、年龄等因素联合分析时, LncPPAR δ 表现出对 CAD 患者良好的预测能力^[36]。

2.7 lncRNA-p21

lncRNA-p21 最早发现于小鼠体内,位于编码 Cell-cycle regulator p21/Cdkn1a 蛋白的基因附近^[37],被认为是 p53 基因一个直接的转录调控靶点,作为 p53 信号通路中的成分,与 p53 抑制复合物 hnRNP-K 相互作用,影响 p53 下游靶基因的表达。研究表明 lncRNA-p21 在高脂喂养的小鼠 As 斑块中出现了显著下调,并且对受损冠状动脉中细胞的增殖和新内膜的形成有抑制作用,进而影响 As 病情的进展。在人 VSMC 中下调 lncRNA-p21 同样能够抑制细胞增殖,同时促进细胞凋亡^[38]。最新的研究中,利用手术中获取的粥样硬化冠状动脉组织和胸廓主动脉样本进行检测,发现 lncRNA-p21 在患者组

织中表达量下降了 2~7 倍。尽管没有直接的报道表明循环血中 lncRNA-p21 表达量与心血管疾病,尤其是 As 之间存在相关性,但来自脑颈动脉肿瘤和慢性肝炎的循环血检测发现,血液中 lncRNA-p21 的含量对疾病具有良好的预示作用,可以作为潜在的生物标记分子^[39-40]。

2.8 LIPCAR

在一项针对 AMI 后心脏重塑患者与正常人的血液样本转录组测序研究中,研究人员发现一种对心血管疾病死亡率和病后预期有潜在预测价值的线粒体来源的 lncRNA-LIPCAR(uc022bqs.1)。患者血浆中 LIPCAR 表达量在 AMI 事件发生前后呈现相反的表达趋势变化,即在 AMI 发生初期表达量下调,在随后的时间中表达量逐渐提高。随后在病例队列分析中进一步发现,LIPCAR 在缺血性 HF 和非缺血性 HF 患者体内都显著的高表达。这种表达改变与 AMI 患者死亡率之间存在相关性,为疾病的预判提供了重要的生物标记物^[41]。此外,初步研究表明 LIPCAR 含量在慢性 HF 患者循环血中也表现为降低^[42]。一项新的研究中发现血浆中 LIPCAR 含量与高密度脂蛋白胆固醇呈负相关,LIPCAR 表达量的提高可能会导致代谢失衡,进而促进 As 的发展^[43]。但目前尚未有关于 LIPCAR 作用机制的深入研究。

2.9 MIAT

MIAT(myocardial infarction associated transcript) 被发现于基因组上一个可能与 AMI 发病相关的 SNP 富集区内,经验证发现该 lncRNA 编码基因 5 号外显子上单个 SNP 位点的微小改变能够引起其表达水平的上调^[44],而在 ST 段抬升的 AMI 患者血液内 MIAT 的表达量呈显著下降趋势^[25]。在内皮细胞中敲低 MIAT 的表达可以抑制细胞的增殖和迁移。对 As 患者血液样本进行检测发现 MIAT 表达量显著上调,而与之存在靶向作用的 miR-181b 则出现了下调。进一步研究发现,MIAT-miR-181b-STAT3 三者能在主动脉平滑肌细胞中形成 ceRNA 作用环,参与细胞的增殖、凋亡活动,影响 As 的发生发展。以 MIAT 为主的 ceRNA 作用环为 As 的靶向治疗提供了潜在的作用靶点^[45]。

2.10 SENCER

SENCER(smooth muscle and endothelial cell-enriched migration/differentiation-associated long non-coding RNA)首次发现于人冠状动脉平滑肌细胞的高通量测序数据中。这是一条血管壁细胞特异性富集的细胞质 lncRNA,SENCER 是 FLI1 基因的反义

lncRNA,但 SENCER 与 FLI1 之间并不形成 Cis 作用关系。事实上,降低 SENCER 表达能够下调细胞收缩相关基因(Myocd),同时上调迁移相关基因(Mdk/Ptn),进而促进 VSMC 的表型转变和细胞增殖^[46]。SENCER 的这种功能可能对维持 VSMC 的表型有重要意义,影响 VSMC 在 As 形成过程中向新内膜的病理性迁移。从心血管疾病患者血管壁中分离出来的血管内皮细胞中,SENCER 的表达量较正常人显著下调,提示 SENCER 在内皮细胞功能失调和 As 患者体内表达应呈下降趋势^[47]。

最新的一项应用突变阻滞 PCR 扩增系统(ARMS-PCR)对 CAD 和正常人血液样本进行检测的研究发现,SENCER 能够稳定且灵敏的从血液样本中检测出来^[48]。此外,一项应用匹格列酮对 2 型糖尿病治疗效果的大规模人群调查研究发现,患者血液中的 SENCER 表达量与药物治疗后心脏舒张功能的评价相关,其对药物处理效果的指示优于其他现有指标^[49]。

2.11 UCA1

UCA1(urothelial carcinoma associated 1)发现之初被认为是一种高度特异且敏感的膀胱移行细胞癌检测生物标记物,可从患者的尿液中检测出^[14]。UCA1 能够促进膀胱癌细胞的糖代谢和乳酸生成^[34],促进癌细胞的增殖,抑制凋亡^[50]。目前的研究显示 UCA1 仅在心肌组织及成人的脾脏内表达,可能对心脏有重要的保护作用,这一功能是通过抑制 miR-1 的表达,保护心肌细胞免受 H₂O₂ 诱导的凋亡作用实现的^[51]。除了在尿液中可检测外,循环血中也检测到 UCA1 的稳定存在。研究人员发现 AMI 患者发病早期血浆中的 UCA1 表达水平下降,但在随后的过程中逐步上调^[52];这一现象和前述的 LIPCAR 十分相似。

3 讨论与展望

作为 miRNA 研究热潮之后的又一类非编码 RNA,lncRNA 由于其独特的结构特性和作用方式同样引起了学者们的普遍关注,lncRNA 不但广泛分布于各类器官、组织及细胞,并且在多种心血管疾病中发挥着重要作用,如 CAD、AMI、As 等。目前,关于 As 发生发展中相关 lncRNA 的研究主要集中在 lncRNA 对血管壁细胞成分的增殖、凋亡、自噬等细胞活性和细胞代谢合成以及血管壁功能等方面^[6,53]。鉴于 As 在人群中的高发率及影响严重性,

寻找潜在的非介入性诊断方法,为疾病的预防、早期诊断和治疗方法提供可检测的标记物,为预后及跟踪随访提供可靠的参考因子,已经成为迫在眉睫的工作。同时,由于 As 病情进展的特性,为筛选病程不同阶段的标志物也提供了时间上的可能。

然而,到目前为止,关于 As 相关循环血 lncRNA 的研究还十分有限,现有研究也止步于描述其发生及变化特征。当前,应用 lncRNA 作为生物标记物尚存在一些局限,比如对于循环血 lncRNA 的起源和功能了解还不够深入,检测方法有待进一步改进,缺乏标准的研究方法以及人群调查时可利用的样本量过小等问题^[54]。可喜的是我们已经看到类似的工作在癌症相关的临床实践中得以开展,例如 lncRNA-PCA3 作为前列腺癌和膀胱癌的非接入性诊断标记物已经得到广泛认可。这样的工作为寻找 As 疾病相关生物标记物提供了指导和参考。未来研究工作的一个重点就是对循环血 lncRNA 检测技术的标准化,包括标准化的样本提取和处理方法,这将使来自不同研究人员数据的横向比较和参考成为可能。同时,借助高速发展的测序技术,比如最新应用的三代全长转录组测序技术,将为在血液样本中大规模筛选差异表达 lncRNA 转录本,获取测序错误率更低的转录本序列提供更可靠的技术支持。可以预期,在扩大检测样本量的同时,结合标准化的技术流程和更加精准的检测结果,将极大的推动 As 发生发展相关的循环血 lncRNA 生物标记物的筛选和验证研究。

[参考文献]

- [1] Sanada F, Taniyama Y, Muratsu J, et al. Gene-therapeutic strategies targeting angiogenesis in peripheral artery disease [J]. *Medicine (Basel)*, 2018, 5(2): 31.
- [2] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-325.
- [3] Harada K, Harada K, Uetani T, et al. The different association of epicardial fat with coronary plaque in patients with acute coronary syndrome and patients with stable angina pectoris: analysis using integrated backscatter intravascular ultrasound [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 236(2): 301-306.
- [4] 舒刘芳,姜希娟,杨琳,等. 血管平滑肌细胞表型转换对动脉粥样硬化的作用研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(1): 99-102.
- [5] Xi B, Shen Y, Reilly KH, et al. Recapitulation of four hypertension susceptibility genes (CSK, CYP17A1, MTHFR, and FGF5) in East Asians [J]. *Metabolism*, 2013, 62(2):

- 196-203.
- [6] Li H, Zhu H, Ge J. Long noncoding RNA: Recent updates in atherosclerosis [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12 (7): 898-910.
 - [7] Qi P, Zhou XY, Du X. Circulating long non-coding RNAs in cancer: current status and future perspectives [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 39.
 - [8] Shi Q, Yang X. Circulating microRNA and long noncoding RNA as biomarkers of cardiovascular diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(4): 751-755.
 - [9] Roth A, Diederichs S. Long noncoding RNAs in lung cancer [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, 394: 57-110.
 - [10] Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(1): 330-342.
 - [11] Tinzl M, Marberger M, Horvath S, et al. DD3PCA3 RNA analysis in urine--a new perspective for detecting prostate cancer [J]. *Eur Urol*, 2004, 46(2): 182-186, 187.
 - [12] Reis EM, Verjovski-Almeida S. Perspectives of long non-coding RNAs in cancer diagnostics [J]. *Front Genet*, 2012, 3: 32.
 - [13] Heil B, Tang WH. Biomarkers: Their potential in the diagnosis and treatment of heart failure [J]. *Cleve Clin J Med*, 2015, 82(12 Suppl 2): S28-S35.
 - [14] Wang XS, Zhang Z, Wang HC, et al. Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12 (16): 4851-4858.
 - [15] Zhang K, Luo Z, Zhang Y, et al. Circulating lncRNA H19 in plasma as a novel biomarker for breast cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17(2): 187-194.
 - [16] Liang W, Lv T, Shi X, et al. Circulating long noncoding RNA GAS5 is a novel biomarker for the diagnosis of non-small cell lung cancer [J]. *Medicine*, 2016, 95 (37): e4608.
 - [17] Dong L, Qi P, Xu MD, et al. Circulating CUDR, LSINCT-5 and PTENP1 long noncoding RNAs in sera distinguish patients with gastric cancer from healthy controls [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(5): 1128-1135.
 - [18] Pasmant E, Laurendeau I, Heron D, et al. Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(8): 3963-3969.
 - [19] Folkersen L, Kyriakou T, Goel A, et al. Relationship between CAD risk genotype in the chromosome 9p21 locus and gene expression. Identification of eight new ANRIL splice variants [J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7677.
 - [20] Holdt LM, Beutner F, Scholz M, et al. ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(3): 620-627.
 - [21] Congrains A, Kamide K, Oguro R, et al. Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 220(2): 449-455.
 - [22] Holdt LM, Teupser D. Recent studies of the human chromosome 9p21 locus, which is associated with atherosclerosis in human populations [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(2): 196-206.
 - [23] Holdt LM, Hoffmann S, Sass K, et al. Alu elements in ANRIL non-coding RNA at chromosome 9p21 modulate atherogenic cell functions through trans-regulation of gene networks [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(7): e1003588.
 - [24] Bochenek G, Hasler R, El Mokhtari NE, et al. The large non-coding RNA ANRIL, which is associated with atherosclerosis, periodontitis and several forms of cancer, regulates ADIPOR1, VAMP3 and C11ORF10 [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(22): 4516-4527.
 - [25] Vausort M, Wagner DR, Devaux Y. Long noncoding RNAs in patients with acute myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2014, 115(7): 668-677.
 - [26] Meng F, Yan J, Ma Q, et al. Expression status and clinical significance of lncRNA APPAT in the progression of atherosclerosis [J]. *Peer J*, 2018, 6: e4246.
 - [27] 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*, 2015, 129 (8): 675-685.
 - [28] Cai Y, Yang Y, Chen X, et al. Circulating 'lncRNA OT-THUMT00000387022' from monocytes as a novel biomarker for coronary artery disease [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 112(3): 714-724.
 - [29] 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.
 - [30] Paulsen M, Davies KR, Bowden LM, et al. Syntenic organization of the mouse distal chromosome 7 imprinting cluster and the Beckwith-Wiedemann syndrome region in chromosome 11p15.5 [J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7(7): 1149-1159.
 - [31] Kanduri C. Kcnq1ot1: a chromatin regulatory RNA [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(4): 343-350.
 - [32] Moran I, Akerman I, van de Bunt M, et al. Human beta cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tis-

- sue-specific, dynamically regulated, and abnormally expressed in type 2 diabetes [J]. *Cell Metab*, 2012, 16(4): 435-448.
- [33] Arslan S, Berkan O, Lalem T, et al. Long non-coding RNAs in the atherosclerotic plaque[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 266: 176-181.
- [34] Giordano Attianese GM, Desvergne B. Integrative and systemic approaches for evaluating PPARbeta/delta (PPARD) function [J]. *Nucl Recept Signal*, 2015, 13: e001.
- [35] Ehrenborg E, Skogsberg J. Peroxisome proliferator-activated receptor delta and cardiovascular disease [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 231(1): 95-106.
- [36] Cai Y, Yang Y, Chen X, et al. Circulating "lncPPARdelta" from monocytes as a novel biomarker for coronary artery diseases[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(6): e2360.
- [37] Huarte M, Guttman M, Feldser D, et al. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response [J]. *Cell*, 2010, 142(3): 409-419.
- [38] 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): 1452-1465.
- [39] Fayda M, Isin M, Tambas M, et al. Do circulating long non-coding RNAs (lncRNAs) (LincRNA-p21, GAS5, HOTAIR) predict the treatment response in patients with head and neck cancer treated with chemoradiotherapy? [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3969-3978.
- [40] Yu F, Zhou G, Huang K, et al. Serum lincRNA-p21 as a potential biomarker of liver fibrosis in chronic hepatitis B patients[J]. *J Viral Hepat*, 2017, 24(7): 580-588.
- [41] Kumarswamy R, Bauters C, Volkmann I, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure[J]. *Circ Res*, 2014, 114(10): 1569-1575.
- [42] 王蕾, 王学惠, 潘亚婷, 等. LIPCAR 在慢性心力衰竭及合并肾功能不全患者循环中的表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018(4): 384-388.
- [43] Zhang Z, Gao W, Long QQ, et al. Increased plasma levels of lncRNA H19 and LIPCAR are associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 7491.
- [44] Ishii N, Ozaki K, Sato H, et al. Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction[J]. *J Hum Genet*, 2006, 51(12): 1087-1099.
- [45] Zhong X, Ma X, Zhang L, et al. MIAT promotes proliferation and hinders apoptosis by modulating miR-181b/STAT3 axis in ox-LDL-induced atherosclerosis cell models [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 1078-1085.
- [46] Bell RD, Long X, Lin M, et al. Identification and initial functional characterization of a human vascular cell-enriched long noncoding RNA [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(6): 1249-1259.
- [47] Boulberdaa M, Scott E, Ballantyne M, et al. A role for the long noncoding RNA SENCR in commitment and function of endothelial cells [J]. *Mol Ther*, 2016, 24(5): 978-990.
- [48] Shahmoradi N, Nasiri M, Kamfiroozi H, et al. Association of the rs555172 polymorphism in SENCR long non-coding RNA and atherosclerotic coronary artery disease [J]. *J Cardiovasc Thorac Res*, 2017, 9(3): 170-174.
- [49] de Gonzalo-Calvo D, Kenneweg F, Bang C, et al. Circulating long noncoding RNAs in personalized medicine: Response to pioglitazone therapy in type 2 diabetes [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(25): 2914-2916.
- [50] Wang F, Li X, Xie X, et al. UCA1, a non-protein-coding RNA up-regulated in bladder carcinoma and embryo, influencing cell growth and promoting invasion [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(13): 1919-1927.
- [51] Li Z, Li X, Wu S, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes glycolysis by upregulating hexokinase 2 through the mTOR-STAT3/microRNA143 pathway [J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(8): 951-955.
- [52] Yan Y, Zhang B, Liu N, et al. Circulating long noncoding RNA UCA1 as a novel biomarker of acute myocardial infarction[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016(1): 1-7.
- [53] Zhou T, Ding JW, Wang XA, et al. Long noncoding RNAs and atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 248: 51-61.
- [54] Moldovan L, Batte KE, Trgovcich J, et al. Methodological challenges in utilizing miRNAs as circulating biomarkers [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(3): 371-390.
- (此文编辑 曾学清)