

lncRNA 与心血管疾病

郝瑞席 白瑞娜 李立志 史大卓

摘 要 非编码 RNA(ncRNA)占哺乳动物 RNA 的 98%,既往认为非编码 RNA 不具备生物学功能,但近些年来的研究发现,非编码 RNA 可从表观遗传学、转录调控及转录后调控等多个层面实现对基因表达的调控,其表达水平的变化与多种疾病密切相关,亦影响到心血管疾病的发病进程。其中,长链非编码 RNA(lncRNA)成为基因组学研究中一颗冉冉升起的新星,其可从转录水平调控疾病相关基因的表达,亦可竞争性结合 microRNA,以影响目的基因的表达和功能。文章从非编码 RNA 的来源、分类、作用机制及 lncRNA 在心血管疾病中的研究进展进行综述。具有细胞和组织特异性的 lncRNA 未来则有望成为一类全新的疾病诊断、判断预后的特异标志物和新药作用靶点,为疾病的临床诊断与治疗提供新思路。

关键词 非编码 RNA 长链非编码 RNA 心血管疾病

中图分类号 R540

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.08.004

近年来,我国冠心病(coronary heart disease, CHD)的发生率和病死率呈迅速上升趋势,每年约有 75 万人新发冠心病,成为严重威胁人类健康与生命的重大慢性病,也是国家巨额财政支出的主要病种之一。尽管心肌梗死经历了溶栓、介入、冠脉搭桥术等进展改善了冠心病患者的生活质量,但其病死率仍高居不下,故寻求冠心病尤其是急性心肌梗死新的治疗靶点和措施具有重要意义。人类基因组计划的完成为探索人体奥秘做出了巨大贡献,但同时也带来了诸多未知的生物学信息有待进一步研究。GWAS 研究发现,哺乳动物基因中超过 98% 转录为非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA),只有不到 2% 的基因转录为蛋白质^[1]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)属于非编码 RNA 的重要组成部分,是指长度 >200nt、无蛋白编码功能的 RNA,可从表观遗传学、转录调控及转录后调控等多个层面实现对基因表达的调控^[2],其表达水平的变化与多种疾病密切相关,亦影响到心血管疾病的发病进程^[3-5]。

一、ncRNA 分类及调控作用

ncRNAs 是一类不可翻译为蛋白质,但却可从多种机制影响基因表达的 RNA 分子,比如影响 RNA 的转录或翻译来调控蛋白表达。ncRNA 按其长度可以分为两种:①非编码小 RNA(<200nt),包括了 mi-

croRNA(miRNA), PIWI interacting RNA(siRNA); ②长链非编码 RNA(lncRNA, >200nt)^[3-5]。

miRNA 是以 RNA 形式发挥生物学功能的单链短分,通过与靶基因 3'-端非翻译区的完全或不完美结合,引起 mRNA 的降解或翻译抑制以发挥负性调控作用。miRNA 可作为一种调节因子参与心脏及血管发育、血管再生等病理生理过程,将作为一种新型生物标志物在冠心病患者的诊断和预后中发挥重要作用,并有望成为冠心病的一个新型治疗靶点^[6]。相对于蛋白编码序列及 miRNA, lncRNA 在心血管疾病中的调控机制仍有待于进一步阐明。lncRNA 通常分为 5 类,即正义、反义、双向、内含子及基因间 lncRNA,其最初被认为是 RNA 聚合酶 II 转录后的副产物,为基因组转录的“噪声”并且不具备生物学功能,但目前大量研究表明 lncRNA 主要从表观遗传学、转录调控及转录后调控等多个层面实现对基因表达的调控,其功能较 miRNA 更为强大,可参与调控机体的生长发育、细胞凋亡、增殖、分化等^[3]。lncRNA 在真核生物基因组中可作为关键调控组件,其表达水平的变化与多种疾病密切相关,亦影响到心血管疾病的发病进程^[4,5]。鉴于 lncRNA 发挥多重潜在的生物学功能,日益成为研究的热点,具有极大的应用潜力,或可作为新的生物学标志物用于诊断、治疗、判断预后,同时亦可作为药物治疗的新靶点,为疾病的诊断和治疗提供新的研究思路。

二、lncRNA 与心血管疾病的关系

lncRNA 作为新兴的明星分子,引起了国内外诸多研究者的关注并探讨了 lncRNA 与疾病的相关性,

基金项目:国家中医药行业科研专项基金资助项目(201007001)

作者单位:100091 北京,中国中医科学院西苑医院心血管病中心、中国中医科学院心血管病研究所

通讯作者:史大卓,研究员,博士生导师,电子信箱:shidazhuo@163.com

如 BANCR 活化后可通过上皮间质转化来促进非小细胞肺癌的转移,提示 BANCR 可作为判断非小细胞肺癌不良预后的生物学标志物^[7]。LINC00152、GHET1 等 lncRNA 均可作为生物学标志物预测胃癌的预后,并通过基因芯片发现多个 lncRNA 的异常表达,或许这些差异表达的 lncRNA 均可作为潜在的生物学标志物和治疗靶点进行深入研究^[8-10]。除此之外,在阿尔茨海默病、自身免疫性甲状腺病、银屑病、神经胶质瘤等疾病中均发现 lncRNA 的差异表达,并且通过生物信息学及基础研究发现了部分 lncRNA 的功能^[11]。目前研究显示 lncRNA 与心脏和血管的功能以及动脉粥样硬化密切相关,但尚未完全揭示 lncRNA 在心血管疾病中的作用,因此 lncRNA 潜在的生物学功能在心血管领域的研究中具有重大意义,差异表达的 lncRNA 或可为心血管疾病的治疗提供潜在的新靶点。

1. lncRNA 参与心脏、血管的生长与分化:在胚胎干细胞基因相关研究中发现,lncRNA 表达量的改变可影响胚胎干细胞状态的维持和分化的特异性^[12]。AK143260 作为一种 lncRNA,其在心脏的发育中起到重要作用,敲除 AK143260 将会导致胚胎干细胞分化中的心肌细胞失去搏动能力,并使心脏关键转录因子(Hand2、Myocardin、Nkx2-5、Gata4、Mef2c 等)失活^[13]。lnc-Ang362 的敲除可抑制血管平滑肌细胞的增殖,从而影响血管相关疾病的进展^[14]。类固醇受体激活物(steroid receptor activator, SRA)基因是一个多功能基因,能同时转录、翻译生成 SRA 蛋白质和类固醇受体 RNA 激活因子 lncRNA(lncRNA-steroid receptor RNA activator, lncRNA-SRA)。lncRNA-SRA 是核受体信号转导的共激活因子,在斑马鱼中敲低 lncRNA-SRA 表达后,能引起心室腔的心肌收缩功能障碍^[15]。这些结果均提示 ncRNA 可作为潜在的治疗靶点。

2. lncRNA 与动脉粥样硬化性心脏病:全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)发现,9p21 染色体区域是一个重要的冠心病易感区域,位于此段基因中的长链非编码 RNA-ANRIL 即 INK4 基因座上的反义非编码 RNA 与冠心病密切相关,并相继在不同研究人群中得到印证^[16-18]。一项大规模的病例对照研究提示 ANRIL 基因携带者较非携带者心肌梗死的患病风险显著增加。此外,ANRIL 在平滑肌细胞、内皮细胞、免疫细胞等多种细胞中均可检测到,并发现其在外周血单核细胞及动脉粥样斑

块中高表达,其转录水平的升高与动脉粥样硬化的严重性直接相关^[18,19]。体外研究提示,染色体 9p21 区域的一个 SNP 位点突变(rs10757278)减少 STAT1 与增强子的结合,结果可导致 ANRIL 表达量降低。而 STAT1 为 γ 干扰素信号通路的重要分子,它参与影响内皮细胞在动脉粥样硬化中的作用。ANRIL 通过连接和募集抑制复合物 PRC1 和 PRC2,从而导致 ANRIL/PRC 介导的 INK4 位点的基因沉默,促进 VSMC 增殖和动脉粥样斑块形成^[20]。因此推测,ANRIL 的变异可影响 VSMC 内 p15 和 p16 的表达,从而影响 VSMC 的增殖和冠心病的发生,故推测 ANRIL 或许可成为动脉粥样硬化新的诊断标志物。

Wu 等通过研究鉴别出 lincRNA-p21 在动脉粥样硬化过程中作为细胞增殖和凋亡的关键调控因子,并在 apoE-/- 小鼠和冠心病患者中均显示其水平的下降,通过 loss 和 gain 体外功能学研究显示 lincRNA-p21 可抑制细胞增殖、诱导平滑肌细胞和单核细胞源性巨噬细胞的凋亡,lincRNA-p21 或可作为动脉粥样硬化治疗的新靶点。

3. lncRNA 与心肌梗死:lncRNA MIAT(myocardial infarction-associated transcript, MIAT)定位于人染色体 22q12.1 区,主要在神经系统中表达,也与视网膜细胞的发育密切相关。该基因第 5 外显子 SNP 的变异改变 MIAT 的转录活性,是心肌梗死的敏感位点并增加患者心肌梗死的风险。这项研究提出 SNP 所引起的 MIAT 表达水平的改变,可影响动脉粥样硬化性心脏病的疾病进程,但 MIAT 的功能目前尚不清楚,需进一步研究来阐明 MIAT 是如何参与动脉硬化性心脏病的发病机制。

Liu 等对心肌梗死缺血再灌注损伤心肌进行基因芯片分析,显示出 64 个 lncRNA 和 50 个 mRNA 的上调,87 个 lncRNA 和 60 个 mRNA 的下调,并通过 Go 分析显示这些差异表达的基因与免疫反应、代谢过程、趋化因子活化等多种生理病理过程相关,Pathway 分析进一步提示 lncRNA、mRNA 的差异表达可引起趋化因子信号通路、信号因子受体相互作用、NOD-样受体信号通路的显著改变,这些信号通路均与心肌缺血再灌注损伤密切相关,lncRNA 在再灌注早期可能起到了关键作用。

4. lncRNA 与心力衰竭:心力衰竭是心血管疾病的终末阶段,其发生率和病死率均较高,因此心力衰竭的早期诊断具有重要意义。对 788 例心力衰竭患者进行研究显示 LIPCAR(lncRNA uc022bqs.1)心肌

梗死后明显下降,但在心室重塑发展为心力衰竭的过程中逐渐上调表达,因此,根据 LIPCAR 的表达水平可识别心室重塑的患者并独立于其他危险因素与心血管的死亡相关,其可作为心室重塑和预测死亡的新分子标志物。在对 PDK1 敲除小鼠的心力衰竭模型进行基因芯片分析显示 lncRNA 表达水平的异常,通过生物学信息和 Pathway 分析显示 lncRNA - mkk7 可能通过 MAPK 信号通路影响到心力衰竭的病理进程,此结果或许对心力衰竭的病理学机制研究提供新的视角。另一项研究为评估心力衰竭模型中 lncRNA 在心脏组织、全血和血浆中特征性表达,显示在心力衰竭进程中 lncRNA 在血浆中可以稳定表达,结果提示 lncRNA 或可作为心力衰竭诊断和治疗的生物学标志物。体外研究显示 lncRNA - CHR1 可内源性结合 miR - 489,降低 miR - 489 对靶基因的调控作用,进而影响 Myd88 的表达和心肌肥厚,为心肌肥大的治疗提供了新的治疗途径。

三、展 望

目前有证据显示 lncRNA 与心血管疾病的发生发展具有相关性,但由于 lncRNA 结构和功能的多样性、物种间的保守性较差等因素,lncRNA 在心血管领域中的作用仍需进一步探索。确定与心血管疾病相关的特异性 lncRNA,并进一步研究差异表达的 lncRNA 分子在心血管疾病发生、发展中所发挥的生物学功能具有重要价值。此外,RNA 之间通过 ceRNA (竞争性内源 RNA) 进行对话,几乎所有类型的 RNA 分子彼此均能竞争性的结合 microRNA,从而进行大规模的网络调控,lncRNA 亦具有 microRNA 的结合位点,从而调控 microRNA 的生物学功能,干扰 ceRNA 及其调控网络均可导致疾病发生。因此,针对 microRNA、mRNA、lncRNA 三者的相互作用关系进行 ceRNA 分析,或可从不同层面阐释疾病进程,并为疾病提供潜在的治疗靶点。随着新一代测序技术及生物信息学的迅猛发展,人们将能更快更高效地发现与心血管疾病相关的功能性 lncRNA,并进一步阐明其影响心血管疾病发生、发展的分子机制,为心血管疾病提供新的诊断依据和防治手段。因此,具有细胞和组织特异性的 lncRNA 未来则有望成为一类全新的疾病诊断、判断预后的特异标志物和新药作用靶点,为疾病的临床诊断与治疗提供新思路。

参考文献

- 1 Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, *et al.* Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot[J]. *Nature*,2007, 447: 799 - 816

- 2 Kapranov P, Cheng J, Dike S, *et al.* RNA maps reveal a new RNA classes and a possible function for pervasive transcription[J]. *Science*, 2007,316: 1484 - 1488
- 3 Qureshi IA, Mehler MF. Emerging roles of noncoding RNAs in brain evolution, development, plasticity and disease[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2012,13:528 - 541
- 4 Mitra SA, Mitra AP, Triche TJ. A central role for long non - coding RNA in cancer[J]. *Frontiers in Genetics*, 2012, 3:17
- 5 Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs [J]. *Molecular Cell*, 2011,43:904 - 914
- 6 Sayed A SM, Xia K, Yang TL, *et al.* Circulating microRNAs: A potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction[J]. *Dis Markers*,2013,35(5): 561 - 566
- 7 Sun M, Liu XH, Wang KM, *et al.* Downregulation of BRAF activated non - coding RNA is associated with poor prognosis for non - small cell lung cancer and promotes metastasis by affecting epithelial - mesenchymal transition[J]. *Mol Cancer*, 2014,13:68
- 8 Pang Q, Ge J, Shao Y, *et al.* Increased expression of long intergenic non - coding RNA LINC00152 in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Tumour Biol*,2014,35(6):5441 - 5447
- 9 Wang Y, Feng X, Jia R, *et al.* Microarray expression profile analysis of long non - coding RNAs of advanced stage human gastric cardia adenocarcinoma[J]. *Mol Genet Genomics*, 2014,289(3):291 - 302
- 10 Yang F, Xue X, Zheng L, *et al.* Long non - coding RNA GHET1 promotes gastric carcinoma cell proliferation by increasing c - Myc mRNA stability[J]. *FEBS J*, 2014,281(3):802 - 813
- 11 Li J, Xuan Z, Liu C. Long non - coding RNAs and complex human diseases[J]. *Int J Mol Sci*,2013,14(9):18790 - 18808
- 12 Guttman M, Donaghey J, Carey BW, *et al.* lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation[J]. *Nature*,2011, 477:295 - 300
- 13 Bondué A, Blanpain C. Mesp1: a key regulator of cardiovascular lineage commitment[J]. *Circ Res*, 2010, 107:1414 - 1427
- 14 Amy L, Candi T, Wen J, *et al.* Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 2013,113:266 - 278
- 15 Cooper C, Vincett D, Yan Y, *et al.* Steroid receptor RNA activator bifaceted genetic system: heads or tails[J]? *Biochimie*, 2011, 93: 1973 - 1980
- 16 Pasmant E, Sabbagh A, Vidaud M, *et al.* ANRIL, a long, noncoding RNA, is an unexpected major hotspot in GWAS[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20: 444 - 448
- 17 Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome - wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3000 shared controls[J]. *Nature*,2007,447(7145): 661 - 678
- 18 Broadbent HM, Peden JF, Lorkowski S, *et al.* Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked, SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p[J]. *Hum Mol Genet*, 2008,17(6): 806 - 814
- 19 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: 620 - 627
- 20 Motterle A, Pu X, Wood H, *et al.* Functional analyses of coronary artery disease associated variation on chromosome 9p21 in vascular smooth muscle cells[J]. *Hum Mol Genet*,2012,21(18): 4021 - 4029

(收稿日期:2014 - 12 - 14)

(修回日期:2015 - 01 - 02)