

# 环状 RNA 与心血管疾病研究进展

廉 瑞 宋春莉 留志贤 杨一波 赵 洋

**【摘要】** 环状 RNA 是一类稳定且广泛存在于真核细胞生物中的闭合环状 RNA。环状 RNA 与动脉粥样硬化、心肌病、心力衰竭、心脏衰老等有关。深入研究环状 RNA 的功能及作用机制可以为预防、诊断、治疗心血管疾病提供新思路。

**【关键词】** 环状 RNA; 微小 RNA; 心血管疾病  
doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.02.009

环状核糖核酸(circular RNA, circRNA)是 1976 年发现的一类内源性非编码双链闭合 RNA<sup>[1]</sup>, 没有 3' 帽子结构和 5' 多聚 A 尾, 不被核糖核酸外切酶降解<sup>[2]</sup>。环状 RNA 曾被认为是错误的剪接产物, 未受到学术界的重视。直到 2012 年, 有研究表明环状 RNA 稳定且广泛地存在于真核细胞生物, 极有可能是转录产物, 对环状 RNA 的研究才逐渐兴起<sup>[3]</sup>。环状 RNA 与肿瘤、阿尔茨海默病、肺纤维化等多种疾病有关<sup>[4-5]</sup>。在心血管领域, 环状 RNA 与动脉粥样硬化、心肌病、心力衰竭等密切相关。

## 1 环状 RNA 的功能

目前普遍认为环状 RNA 可以调控基因的表达, 此功能与微小 RNA(microRNA, miRNA)有关。miRNA 可以与特定的 mRNA 的 3' 端非翻译区碱基互补配对, 抑制其翻译, 甚至可引起靶 mRNA 的降解。环状 RNA 能够与 miRNA 结合, 解除 miRNA 对 mRNA 的抑制, 从而调节多种细胞功能, 因此环状 RNA 又被称为 miRNA 的分子“海绵”<sup>[6]</sup>。

环状 RNA 是前体 mRNA(pre-mRNA)的调节剂。Ashwal-Fluss 等<sup>[7]</sup>发现, 环状 RNA 的形成方式——外显子环化可以与经典的 pre-mRNA 剪接相互竞争, 即环状 RNA 的形成与线性 RNA 的形成呈负相关, 这表明环状 RNA 可以通过与 pre-mRNA 的线性剪接竞争, 调控相关线性 RNA 的形成, 从而

调节基因的表达, 影响蛋白的产生。

环状 RNA 的形成主要是通过外显子环化, 而 Li 等<sup>[8]</sup>发现了外显子中间保留有内含子的环状 RNA, 称为外显子-内含子环状 RNA (exon-intron circRNA, EIciRNA), EIciRNA 主要存在于细胞核, 通过与小细胞核 RNA 的 RNA-RNA 相互作用, 进一步使 RNA 聚合酶 II 聚集, 提高了亲本基因的转录。由于环状 RNA 特殊的结构, 核酸外切酶无法将其降解, 因此它们比多数线性 RNA 稳定, 且数量大、序列高度保守, 具有组织、时间和疾病特异性<sup>[3]</sup>, 有成为疾病诊断标志物的潜质。

环状 RNA 能从 miRNA 分子海绵、调节线性 mRNA 生成、促进亲本基因转录等多种途径发挥生物学功能。

## 2 环状 RNA 与心血管疾病

### 2.1 环状 RNA 与心力衰竭

Wu 等<sup>[9]</sup>在心肌梗死后心力衰竭小鼠的心肌组织中发现大量失调的环状 RNA, 在被检测的 1 163 种环状 RNA 中, 有 29 种基因表达水平上调, 34 种表达下调。其中上调的环状 RNA mmu\_circRNA\_010567 是 miR-141 的分子海绵, 而 miR-141 可降低缺血再灌注对细胞的损伤<sup>[10]</sup>。另外, 环状 RNA mmu\_circRNA\_010567 可能是心肌梗死后心力衰竭发生和发展过程中的重要调控因子。

在心脏压力超负荷引起的心室慢性重构过程中, 心肌细胞数量不变而心肌间质蛋白质合成增加, 肌节致密重组, 导致心脏结构重构以及心功能下降<sup>[11]</sup>。Wang 等<sup>[12]</sup>将一种与心脏相关的环状 RNA 称为 HRCR(heart-related circRNA), 它有内源性 miR-223 的海绵作用, 可以抑制心脏病理性肥

基金项目: 吉林省发展和改革委员会产业技术与开发项目 (2015Y030-3); 吉林省省级产业创新专项资金 (2016C044-2)

作者单位: 130000 长春, 吉林大学第二医院吉林大学研究生院

通信作者: 宋春莉, Email: 2632494613@qq.com

大。敲除 miR-223 的小鼠在病理性肥大的刺激因素下未出现心脏病理性肥大;而转基因 miR-223 小鼠则在相同的刺激下发生心肌肥厚与心力衰竭,提示 miR-223 是心肌肥厚的正向调节因子。研究发现 ARC 是 miR-223 的下游靶基因,miR-223 通过调控 ARC 基因的表达导致心肌肥厚,HRCR 作为内源性的 miRNA 海绵,在细胞质中阻断和抑制 miRNA 的活性,调控 ARC 基因的表达水平。

HRCR、miR-223 和 ARC 基因所组成的调节通路中的各个环节,均可能成为治疗心肌肥厚和心力衰竭的新靶点。尽管目前的研究提示 HRCR 可以调控 miR-223,但并没有排除其他可能参与 miR-223 调控的环状 RNA 或分子。另外,HRCR 是否还可以通过其他途径参与心肌肥厚的调控也有待进一步探讨。

## 2.2 环状 RNA 与动脉粥样硬化

人类全基因组关联分析 (genome-wide association studies, GWAS) 表明,靠近染色体 9p21.3 的 INK4/ARF 基因 (CDKN2a/b) 的单核苷酸多态性与动脉粥样硬化有关。INK4/ARF 基因位点可转录一种反义转录物——ANRIL<sup>[13]</sup> (antisense non-coding RNA in the INK4 locus)。Jarinova 等<sup>[14]</sup>认为 ANRIL 能直接影响周期依赖性激酶抑制剂 p15INK4b,这种激酶抑制剂通过抑制激酶 CDK4,促进血管重构,防止病理性血管内膜增生,延缓动脉粥样硬化的形成。Burd 等<sup>[15]</sup>研究发现,这种非编码 RNA 不仅呈线性,还有部分自发剪接成环状,环状 ANRIL 亚型 (cANRIL) 的表达会削弱对心血管的保护作用,并参与调控动脉粥样硬化的发生。

## 2.3 环状 RNA 与缺血再灌注损伤

小脑变性相关蛋白 1 基因的反义转录环状 RNA——Cdr1as 也被称为 ciRS-7,与 miR-7 至少有 60 个保守结合位点。在小鼠脑中尤其是海马部有共同表达的 Cdr1as 和 miR-7<sup>[16]</sup>。已有研究表明,Cdr1as 是 miR-7 的天然分子海绵,可通过与 miR-7 结合而阻碍其发挥作用<sup>[17]</sup>。

研究发现,miR-7a/b 在小鼠缺血再灌注损伤的心肌细胞中表达上调,通过负性调节细胞凋亡的“执行者”——聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶,起到保护心肌细胞免于凋亡的作用<sup>[18-19]</sup>。在心肌梗死的过程中由于未折叠蛋白反应可上调 miR-7a 表达水平,在心肌缺血的体外实验中也发现 miR-7a 表达

上调<sup>[20]</sup>。miR-7a 在缺血再灌注损伤和心肌梗死中的表达上调与其在应激所致心肌细胞凋亡中的保护作用相矛盾,提示可能存在另一种调控途径。

在心肌梗死和缺血的受损心肌细胞中存在 Cdr1as 和 miR-7a 共同表达,且两者的表达水平随心肌梗死面积的增大而上调。miR-7a 的靶基因 PARP、SP1 可在 Cdr1as 的调控下表达增强,过表达的 Cdr1as 可使 PARP、SP1 的表达上调,心肌梗死面积增大。由此推测尽管心肌梗死损伤可致 miR-7a 的表达,但与其同时表达的 Cdr1as 可以通过海绵作用抑制 miR-7a 的活性,由此导致 miR-7a 的靶基因过度表达,进而促进细胞凋亡<sup>[21]</sup>。

与上述机制相似,环状 RNA SRY 包含了 16 个 miR-138 的结合位点,He 等<sup>[22]</sup>证实了 miR-138 可在缺氧所致的心肌细胞凋亡中保护心肌细胞,而环状 RNA SRY 则可因其海绵作用加重缺氧所致的细胞凋亡。

## 2.4 环状 RNA 与粥样硬化斑块破裂

miR-221 与血管平滑肌细胞的增殖有关,还参与抑制血管平滑肌细胞的凋亡,环状 RNA-16 有 miR-221 的结合位点。Bazan 等<sup>[23-24]</sup>发现,在人急性颈动脉斑块破裂时,环状 RNA-16 及 miR-221 表达水平增高,提示环状 RNA-16/miR-221 轴可能是斑块纤维帽退化破裂、稳定斑块转变为不稳定斑块的重要调控环节。

## 2.5 环状 RNA 与心肌病

目前已发现多种基因编码的环状 RNA 在多种心肌病中起重要作用<sup>[25]</sup>,如 Hectd1、Ppp2r3a、Slc8a1、Dmd、Ttn、Ryr2 基因编码的环状 RNA。Ryr2 基因编码兰尼碱受体 2 (RYR2),这种受体是内质网膜上嵌入的  $\text{Ca}^{2+}$  转运蛋白,在心肌自律细胞收缩产生心搏的过程中起重要作用<sup>[26]</sup>。小鼠心肌细胞中存在 Ryr2 基因编码的环状 RNA——Ryr2 circRNAs,它与致心律失常性右心室心肌病有关<sup>[25]</sup>。

杜氏肌营养不良 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 基因是 X 染色体上编码抗肌营养不良蛋白的基因。DMD 心肌病是由于缺乏抗肌营养不良蛋白导致的从左心室开始受累的特殊心肌病<sup>[27]</sup>。DMD 基因可通过选择性剪接引起的外显子跳跃而产生相应的环状 RNA,这种环状 RNA 的形成方式可以竞争性抑制 mRNA 的形成,使可被翻译的 mRNA 数量减少,导致抗肌营养不良蛋白合成

减少,因此调控生成该环状 RNA 的选择性剪接环节成为治疗 DMD 心肌病的新方法<sup>[28]</sup>。

Ttn 基因与肌细胞的被动弹性有关,在心肌细胞中有重要作用,其编码的 Ttn circRNA 与肥厚型心肌病有关<sup>[26,29]</sup>。

## 2.6 环状 RNA 与心肌细胞衰老

Du 等<sup>[30]</sup>利用分子生物学和细胞生物学的方法进行了体内和体外实验,证明编码 FOXO 蛋白的基因序列还编码一种相应的环状 RNA,并将其命名为 circ-Foxo3。circ-Foxo3 在老年患者和小鼠心脏中高表达,与细胞衰老相关,且异常表达的 circ-Foxo3 可诱导小鼠胚胎成纤维细胞的衰老,被沉默的 circ-Foxo3 可以抑制小鼠胚胎成纤维细胞的衰老。作用机制主要是分布在细胞质中的 circ-Foxo3 与抗衰老 ID-1 蛋白、转录因子 E2F1 以及抗应激蛋白的相互作用,使它们丧失了抗衰老和抗应激功能,从而促进细胞衰老<sup>[30]</sup>。

## 3 问题与展望

环状 RNA 作为一类新型的竞争性内源性 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA),与其他类型的 ceRNA 相比,具有表达量高、稳定性强、与 miRNA 结合位点更多等优点,与 miRNA 的结合和释放也更加快速和稳定,对 miRNA 的竞争性抑制有明显的优越性。目前已有近 10 万种环状 RNA 的测序结果被数据库收录,人工构建环状 RNA、干扰环状 RNA 的方法也不断涌现,为进一步探索环状 RNA 的功能奠定了基础。

然而,仍有许多问题亟需深入研究:(1)环状 RNA 生成涉及哪些剪接信号;(2)环状 RNA 受到哪些因素的影响和调控;(3)环状 RNA 能否翻译蛋白质;(4)目前环状 RNA 的命名尚未统一,应尽快建立统一规范的命名体系。

## 参 考 文 献

- [1] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, 73(11):3852-3856.
- [2] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis[J]. RNA Biol, 2015, 12(4):381-388.
- [3] 付海璐, 迟鑫明, 邵淑娟. 环状 RNA 研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(5):8-11.
- [4] Lukiw WJ. Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD)[J]. Front Genet, 2013, 4:307.
- [5] Bachmayr-Heyda A, Reiner AT, Auer K, et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation-exemplified

- with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues [J]. Sci Rep, 2015, 5 (8057):8057.
- [6] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. Cancer Lett, 2015, 365(2):141-148.
- [7] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. CircRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing[J]. Mol Cell, 2014, 56(1):55-66.
- [8] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22(3):256-264.
- [9] 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.
- [10] Liu RR, Li J, Gong JY, et al. MicroRNA-141 regulates the expression level of ICAM-1 on endothelium to decrease myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2015, 309(8):H1303-1313.
- [11] Meijs MF, de Windt LJ, de Jonge N, et al. Left ventricular hypertrophy: a shift in paradigm[J]. Curr Med Chem, 2007, 14(2):157-171.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] Jarinova O, Stewart AF, Roberts R, et al. Functional analysis of the chromosome 9p21.3 coronary artery disease risk locus[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29 (10):1671-1677.
- [15] Burd CE, Jeck WR, Liu Y, et al. Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk[J]. PLoS Genet, 2010, 6(12):e1001233.
- [16] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013, 495(7441):384-388.
- [17] 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.
- [18] Zhao YJ, Wang JH, Fu B, et al. Effects of 3-aminobenzamide on expressions of poly (ADP ribose) polymerase and apoptosis inducing factor in cardiomyocytes of rats with acute myocardial infarction[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(11):1322-1327.

(下转第 99 页)

- [27] Zhang Q, Timofeyev V, Lu L, et al. Functional roles of a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel in atrioventricular nodes[J]. *Circ Res*, 2008, 102(4):465-471.
- [28] Yu T, Deng C, Wu R, et al. Decreased expression of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels SK1 and SK2 in human chronic atrial fibrillation[J]. *Life Sci*, 2012, 90(5-6): 219-227.
- [29] Ling TY, Wang XL, Chai Q, et al. Regulation of the SK3 channel by microRNA-499—potential role in atrial fibrillation [J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(7):1001-1009.
- [30] Diness JG, Sørensen US, Nissen JD, et al. Inhibition of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels terminates and protects against atrial fibrillation [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2010, 3(4):380.
- [31] Diness JG, Skibsbbye L, Jespersen T, et al. Effects on atrial fibrillation in aged hypertensive rats by  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel inhibition [J]. *Hypertension*, 2011, 57 (6): 1129-1135.
- [32] Skibsbbye L, Diness JG, Sørensen US, et al. The duration of pacing-induced atrial fibrillation is reduced in vivo by inhibition of small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011, 57(6):672-681.
- [33] Wagner S, Maier LS. Small conductance  $\text{Ca}$ -activated  $\text{K}$  channel: small but powerful proarrhythmogenic[J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(6):899-900.
- [34] Nagy N, Szűts V, Horváth Z, et al. Does small-conductance calcium-activated potassium channel contribute to cardiac repolarization?[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47 (5): 656-663.
- [35] Lugenbiel P, Schweizer PA, Katus HA, et al. Antiarrhythmic gene therapy-will biologics replace catheters, drugs and devices?[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791: 264-273.

(收稿:2016-11-13 修回:2017-01-23)

(本文编辑:胡晓静)

(上接第 95 页)

- [19] Li B, Li R, Zhang C, et al. MicroRNA-7a/b protects against cardiac myocyte injury in ischemia/reperfusion by targeting poly (ADP-ribose) polymerase [J]. *PloS One*, 2014, 9 (3):e90096.
- [20] Read DE, Gupta A, Ladilov Y, et al. MiRNA signature of unfolded protein response in H9c2 rat cardiomyoblasts[J]. *Cell Biosci*, 2014, 4(1):56.
- [21] 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.
- [22] He S, Liu P, Jian Z, et al. miR-138 protects cardiomyocytes from hypoxia-induced apoptosis via MLK3/JNK/c-jun pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441(4): 763-769.
- [23] Bazan HA, Lightell D, Sternbergh WC, et al. Abstract 123: Recently ruptured carotid plaques have increased levels of circular RNA-16, which negatively regulates the proliferative and antiapoptotic microRNA-221: a novel mediator of carotid plaque rupture[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34:A123.
- [24] Bazan HA, Lightell D, Sternbergh WC, et al. Increased circularRNA-16 in acutely symptomatic carotid plaques: a novel mediator of carotid plaque rupture[J]. *J Cardiovasc Surg*, 2014, 59(6):84S.
- [25] Jakobi T, Czaja-Hasse LF, Reinhardt R, et al. Profiling and validation of the circular RNA repertoire in adult murine hearts[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14 (4):216-223.
- [26] The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls[J]. *Nature*, 2007, 447(7145): 661-678.
- [27] 史亚飞, 田晓沂. Duchenne 肌营养不良心肌病 1 例[J]. *临床心血管病杂志*, 2011, 27(10):795-796.
- [28] 陈学英, 许萍萍, 代娟娟, 等. 环状 RNA 研究进展[J]. *生命科学*, 2015, 27(9):1125-1132.
- [29] Herman DS, Lam L, Taylor MR, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(7):619-628.
- [30] Du WW, Yang W, Chen Y, et al. Foxo3 circular RNA promotes cardiac senescence by modulating multiple factors associated with stress and senescence responses [J]. *Eur Heart J*, 2016, pii: ehw001. [Epub ahead of print].

(收稿:2016-10-24 修回:2017-01-20)

(本文编辑:丁媛媛)