

环状RNA在心血管疾病中的发病机制及临床应用

邓聪颖 曹海涛

【摘要】 环状 RNA (circRNA) 在细胞中广泛存在且稳定表达,可作为重要的调控元件充当微小 RNA 和 RNA 结合蛋白的海绵,参与调控转录、翻译、剪切等过程,影响心脏炎症反应信号通路、血管平滑肌细胞功能、心肌细胞肥厚与凋亡、脂质代谢等过程。该文介绍了 circRNA 心血管疾病早期诊断、治疗靶点、风险分层的基本特点。

【关键词】 环状 RNA;心血管疾病;发病机制;临床应用

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.01.006

非编码 RNA (ncRNA) 是一类由 DNA 转录但不合成蛋白质的 RNA,在不同生物学行为中起重要的调控功能。环状 RNA (circRNA) 是在真核细胞中发现的呈现共价闭环状结构的特殊种类 ncRNA^[1],具有稳定、保守、功能多样的特点, circRNA 的表达失调对心血管病发生发展发挥重要作用^[2]。过去认为, circRNA 不参与转录及翻译蛋白质等生物学过程^[3],但近年发现 circRNA 不仅可作为微小 RNA (miRNA) 和 RNA 结合蛋白的海绵,调控上下游靶基因表达^[4-5],还可调节转录,干扰剪切过程^[6-7]。

1 circRNA调控心血管疾病发病机制

1.1 影响血管炎性反应

血管炎性反应可激活动脉粥样硬化,核因子 κ B (NF- κ B) 可启动炎症反应通路, circRNA Sirt1 可以在细胞质和细胞核中与肿瘤坏死因子 (TNF) - α 、miR-132/212 结合,抑制 NF- κ B 活化,减少血管平滑肌细胞 (VSMC) 的炎症反应表型转换,抑制血管新内膜形成^[8]。研究发现,低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导炎症反应时, circ-RELL1 可通过 miR-6873-3p/MyD88 轴正反馈作用于 NF- κ B,介导单核巨噬细胞的粘附和迁移,加重内皮细胞炎症反应和粥样硬化程度^[9]。在高糖环境中抑制内皮细胞中 Hsa_circ_0068087 的表达,可阻断 Toll 样受体 (TLR) 4/NF- κ B/NOD 样受体家族蛋白 (NLRP3) 炎症反应

信号通路,抑制内皮细胞炎症反应,诱导血管的生成及分化。He 等^[10]运用 miRanda 软件预测到 Hsa_circ_0105015 与 miR-637 有结合位点,且两者负向相关,结合后介导炎症介质异常释放和表达,加剧内皮细胞氧化应激进程。

1.2 影响VSCM的功能

VSCM 的增殖和迁移可影响脂质聚集、斑块形成及破裂,改变血管的功能状态。脂蛋白受体 Lrp6 与血管脂质病变进程有关,在血管中高表达, circ_Lrp6 由 Lrp6 选择性剪接产生,可作为海绵与聚合酶 II 相互作用,阻碍 VSMC 迁移、增殖和分化^[11]。Chen 等^[12]发现在高糖环境下,低表达的 circWDR77 可显著抑制 VSMC 的过度增殖和迁移,影响下游靶点 miR-124 和成纤维细胞生长因子 2(FGF-2) 的表达。在缺氧条件下,主动脉瘤中高表达的 Hsa_circ_000595 可与低表达的 miR-19a 结合,加剧 VSCM 凋亡^[13]。circANRIL 可与 Pescadillo 同系物 1 (PES1) 结合影响核糖体 RNA (rRNA) 的成熟,导致核仁压力增高、p53 基因激活,干扰 VSCM 增殖^[13]。在 VSMC 中上调 circ_RUSC2, 可以通过 miR-661/脾脏氨酸激酶信号通路促进 VSMC 的无序增殖,加重冠状动脉粥样硬化的严重程度^[14]。

1.3 调控心肌肥厚

心肌肥厚是影响心血管疾病预后的重要因素,其病理改变受到多种基因的调控。研究发现,过表达 miR-223 基因可加速心肌肥厚进程,而 circHRCR 是抗病理性心脏肥大的关键因子,可作为竞争性内源 RNA (ceRNA) 抑制 miR-233,使带有 caspase 募集域的凋亡抑制因子 (ARC) 蛋白表

基金项目:国家自然科学基金 (8197021000);江苏省江苏省卫生健康委员会 (Z2018031)

作者单位:213000 南京医科大学附属常州市第二人民医院心血管内科

通信作者:曹海涛, E-mail:caohaitao718@sina.com

达量减少^[15]。苏州大学和 Tingsen 团队对多能干细胞(HiPSC)和 HiPSC 衍生的心肌细胞(HiPSC-CM)进行 circRNA 谱分析和定量,发现 circSLC8A1 在心肌组织中含量最高^[16-17],并且在患有肥厚性心脏病的小鼠和人体样本中表达量最高,通过 pull-down 试验发现 miR-133 是其靶向凋亡分子,并在新生小鼠中证实了过表达 circSLC8A1 不仅可诱导心肌纤维化,还能加重因后负荷过重导致的病理性心肌肥厚程度^[17]。

1.4 调控心肌细胞增殖及凋亡

circHpk3 在新生儿心脏中高度表达,可通过乙酰化增加 Notch1 细胞内域(NICD)的稳定性,防止其降解,以刺激心肌细胞的增殖^[6]。Fang 等^[18]发现 circNfix 是心肌细胞增殖的负向调节剂,它可通过以下通路发挥抗再生作用。转录因子 Meis1 可促进 Nfix 转录和环化形成 circNfix, circNfix 可通过泛素化诱导 Y 盒结合蛋白 1(Ybx1)降解,抑制细胞周期进程,影响心肌细胞再生和修复。circNfix 还可直接靶向 miR-214,通过 circNfix/miR-214/Gsk3 β 途径调节心肌细胞中血管内皮生长因子(VEGF)的释放,从而促进心肌细胞的编程性死亡。研究发现,在缺血再灌注损伤中(I/R)中,激活 circNCX1-miR-133a-3p-CDIP1 轴,可增加心肌细胞对活性氧(ROS)的敏感性,加剧心肌凋亡^[19]。在 I/R 中 circSAMD4A 可下调 miR-138-5p,减少缺血再灌注中的心肌细胞死亡^[20]。

1.5 影响脂质代谢和脂质紊乱

circRNAs 可改变脂质相关基因的表达,影响巨噬细胞内脂质和胆固醇的稳态积累,对血管病变进程有重要影响。Hsa_circ_0092317/Hsa_circ_0003546 和 Hsa_circ_0028198/Hsa_circ_0092317 分别通过 miR-326-PDE3B 途径和 miR-543-PDE3B 途径减少脂质细胞的吞噬^[21]。circSAMD4A 是一种成脂因子,通过 miR-138-5p 上调 Zst 同源基因 2 增强子(EZH2)的表达,阻止组蛋白 H3 赖氨酸 27(H3K27me3)与 Wnt 启动子结合,诱导前脂肪细胞分化^[22];CircH19 通过 PTBP1/SREBP1 途径抑制人类脂肪干细胞(hADSCs)的分化^[7]。

2 circRNA 的临床应用

2.1 circRNA 的诊断价值

Wang 等^[20]发现 Hsa_circ_0001879, Hsa_circ_0004104 和 Hsa_circ_0124644 在冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的诊断价值高于

心电图,监测预后价值则与冠状动脉血管成像和 Holter 相似。多项基于高通量测序的研究发现 Hsa_circ_0124644^[23]、Hsa_circ_0001445^[24]、Hsa_circ_0008507^[25] 在冠心病患者中的表达明显上调或下调,能作为冠心病的诊断因子。Sun 等^[26]总结了新型的心力衰竭相关 circRNAs(cFNDC3B, cBPTF, cEXOC6B, cLAMA2-2, cPLCEI 和 cPRDM5)可预测心功失代偿的发生率。Bazan 等^[27]也发现 circRNA-284 可以作为颈动脉斑块破裂和中风的生物标志物。3 项测序研究发现 Hsa_circ_0005870、Hsa_circ_0014243、Hsa_circ_0105015 可作为原发性高血压的早期诊断工具^[10,28-29]。先天性心脏病是导致 5 岁以下儿童死亡的重要原因,Wu 等^[30]通过微阵列测序发现 Hsa_circ_004183、Hsa_circ_079265 和 Hsa_circ_105039 诊断早期先天性心脏病的潜力。Sonnenschein 等^[33]发现血液样本中显著下调的 circDNAJC6、circTMEM56 和 circMBOAT2 可预测和诊断肥厚型心肌病。虽然 circRNA 的诊断价值逐渐得到认可,但 circRNA 在各种细胞和组织中分布广泛,临床检测的特异性并不明显,因此,未来的研究应将 circRNA 与其他诊断方法结合,提高诊断的特异性、敏感度。

2.2 circRNA 的治疗价值

除了临床诊断方面的应用, circRNA 还可作为心血管疾病新的基因治疗靶点。如前所述, circNfix 可以作为改善心肌梗死预后、抑制心肌梗死后心力衰竭潜在治疗靶点^[17]。circRNAMFACR 将作为 miR-652-3p 的海绵,促进线粒体蛋白 18(MTP18)的翻译并促进心肌细胞死亡,可成为心肌梗死、心力衰竭的潜在治疗靶点^[13,32]。Garikipati 等^[33]检测到急性心肌梗死、缺血性心肌病后的心脏组织中 circFndc3b 显著下调,其可与 RNA 结合蛋白 RBPFUS 相互作用,减少急性心肌梗死大鼠模型中的心肌细胞凋亡,增强血管再生能力、改善收缩功能。在心肌细胞中敲除 Hsa_circ_0010729,可激活 miR-27a-3p/TRAF5 轴,减轻低氧诱导的心肌细胞损伤,成为缺血性心肌病治疗新的着入点^[34]。

在小鼠心脏中过度表达 circSlc8a1,可通过 miR-133a 激活 β 1-肾上腺素能受体(β 1-AR),加重钠钾泵负荷,导致心功能减退,因此靶向 circSlc8a1 可延缓心力衰竭的发展^[17]。肾上腺素可以通过转录因子 cAMP 响应元件结合蛋白 1,诱导

circ-HPIK3 的表达, 从而损害心脏功能, 因此基于 circ-HPIK3-miR-17-3p-Adcy6 轴的治疗为改善心功能提供了新的可能^[35]。circWDR77-miR-12/FGF-2 轴可影响 VSMCs 的增殖和迁移, 因此靶向 circWDR77 可以作为抗动脉粥样硬化治疗靶点^[12]。circRNA 的靶向药物针对性及目的性更强, 与目前的替代药物相比, 半衰期延长, 且剂量要求相对更低, 可为心血管病提供一种新颖的治疗方法。

2.3 circRNA 的风险分层作用

冠心病的治疗方案常根据患者的冠状动脉病变程度进行调整, Hsa_circ_0001445 表达水平与冠状动脉粥样硬化程度正相关, 它稳定存在于血浆中, 将 Hsa_circ_0001445 纳入由常规心血管危险因素组成的临床模型中, 可以细化临床分期, 优化治疗方案、改善预后^[24]。心血管病患者终末期常发展为难治性心力衰竭, circ-MICRA 与急性心肌梗死后心力衰竭的进展有关, 可作为心肌梗死后风险分层的标志。Salgado-Somoza 等^[36]根据左室射血分数将 472 例急性心肌梗死患者进行分类, 发现 circ-MICRA 可以将处于临界射血分数的患者 (41%~49%) 明显区分, 对指导抗心力衰竭早期治疗有很大意义。

参 考 文 献

- [1] Wang Y, Liu B. Circular RNA in diseased heart[J]. *Cells*, 2020, 9(5):1240.
- [2] Zang J, Lu D, Xu A. The interaction of circRNAs and RNA binding proteins: an important part of circRNA maintenance and function[J]. *J Neurosci Res*, 2020, 98(1):87-97.
- [3] Zhu L, Li N, Sun L, et al. Non-coding RNAs: the key detectors and regulators in cardiovascular disease[J]. *Genomics*, 2021, 113(1 Pt 2):1233-1246.
- [4] Jiang C, Zeng X, Shan R, et al. The emerging picture of the roles of circRNA-CDR1as in cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:590478.
- [5] 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*, 2017, 38(18):1402-1412.
- [6] Yang Q, Li F, He AT, et al. Circular RNAs: expression, localization, and therapeutic potentials[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(5):1683-1702.
- [7] Kong P, Yu Y, Wang L, et al. circ-Sirt1 controls NF-kappaB activation via sequence-specific interaction and enhancement of SIRT1 expression by binding to miR-132/212 in vascular smooth muscle cells[J]. *Nucleic Acids Res*. 2019, 47(7): 3580-3593.
- [8] Huang HS, Huang XY, Yu HZ, et al. Circular RNA circ-RELL1 regulates inflammatory response by miR-6873-3p/MyD88/NF-kB axis in endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525(2):512-519.
- [9] Cheng J, Liu Q, Hu N, et al. Downregulation of hsa_circ_0068087 ameliorates TLR4/NF-kB/NLRP3 inflammasome-mediated inflammation and endothelial cell dysfunction in high glucose conditioned by sponging miR-197[J]. *Gene*, 2019, 709:1-7.
- [10] He X, Bao X, Tao Z, et al. The microarray identification circular RNA hsa_circ_0105015 up-regulated involving inflammation pathway in essential hypertension[J]. *J Clin Lab Anal*. 2021, 35(2): e23603.
- [11] Hall IF, Climent M, Quintavalle M, et al. Circ_Lrp6, a circular RNA enriched in vascular smooth muscle cells, acts as a sponge regulating miRNA-145 function[J]. *Circ Res*, 2019, 124(4):498-510.
- [12] Chen J, Cui L, Yuan J, et al. Circular RNA WDR77 target FGF-2 to regulate vascular smooth muscle cells proliferation and migration by sponging miR-124[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494(1-2):126-132.
- [13] Fasolo F, Di Gregoli K, Maegdefessel L, et al. Non-coding RNAs in cardiovascular cell biology and atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(12):1732-1756.
- [14] 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.
- [15] Sun J, Zhang Z, Yang S. Circ_RUSC2 upregulates the expression of miR-661 target gene SYK and regulates the function of vascular smooth muscle cells[J]. *Biochem Cell Biol*, 2019, 97(6):709-714.
- [16] Tan WL, Lim BT, Anene-Nzulu CG, et al. A landscape of circular RNA expression in the human heart[J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(3):298-309.
- [17] Lei W, Feng T, Fang X, et al. Signature of circular RNAs in human induced pluripotent stem cells and derived cardiomyocytes[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9 (1):56.
- [18] Fang X, Cai Z, Wang H, et al. Loss of cardiac ferritin H facilitates cardiomyopathy via Slc7a11-mediated ferroptosis[J]. *Circ Res*, 2020, 127(4):486-501.
- [19] Hu X, Ma R, Cao J, et al. CircSAMD4A aggravates H/R-induced cardiomyocyte apoptosis and inflammatory response by sponging miR-138-5p[J]. *J Cell Mol Med*, 2020 Nov 21. [Epub ahead of print].
- [20] Wang L, Zheng Z, Feng X, et al. circRNA/lncRNA-miRNA-mRNA network in oxidized, low-density, lipoprotein-induced foam cells[J]. *DNA Cell Biol*, 2019, 38(12):1499-1511.
- [21] Liu Y, Liu H, Li Y, et al. Circular RNA SAMD4A controls adipogenesis in obesity through the miR-138-5p/EZH2 axis[J]. *Theranostics*, 2020, 10(10):4705-4719.
- [22] Yu G, Yang Z, Peng T, et al. Circular RNAs: rising stars in lipid metabolism and lipid disorders[J]. *J Cell Physiol*. 2021, 236(7):4797-4806.

- [23] Zhao Z, Li X, Gao C, et al. Peripheral blood circular RNA hsa_circ_0124644 can be used as a diagnostic biomarker of coronary artery disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:39918.
- [24] Vilades D, Martínez-Cambor P, Ferrero-Gregori A, et al. Plasma circular RNA hsa_circ_0001445 and coronary artery disease: Performance as a biomarker[J]. *FASEB J*, 2020, 34(3):4403-4414.
- [25] Sun Y, Chen R, Lin S, et al. Association of circular RNAs and environmental risk factors with coronary heart disease[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2019, 19(1):223.
- [26] Sun C, Ni M, Song B, et al. Circulating circular RNAs: novel biomarkers for heart failure[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:560537.
- [27] Bazan HA, Hatfield SA, Brug A, et al. Carotid plaque rupture is accompanied by an increase in the ratio of serum circR-284 to miR-221 levels[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10(4):e001720.
- [28] Wu N, Jin L, Cai J. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in hypertensive patients[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2017, 39(5):454-459.
- [29] Zheng S, Gu T, Bao X, et al. Circular RNA hsa_circ_0014243 may serve as a diagnostic biomarker for essential hypertension[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3):1728-1736.
- [30] Wu J, Li J, Liu H, et al. Circulating plasma circular RNAs as novel diagnostic biomarkers for congenital heart disease in children[J]. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(9):e22998.
- [31] Sonnenschein K, Wilczek AL, de Gonzalo-Calvo D, et al. Serum circular RNAs act as blood-based biomarkers for hypertrophic obstructive cardiomyopathy[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):20350.
- [32] Wang K, Gan TY, Li N, et al. Circular RNA mediates cardiomyocyte death via miRNA-dependent upregulation of MTP18 expression[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(6):1111-1120.
- [33] Garikipati VNS, Verma SK, Cheng Z, et al. Circular RNA circFndc3b modulates cardiac repair after myocardial infarction via FUS/VEGF-A axis[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):4317.
- [34] Lei D, Wang Y, Zhang L, et al. Circ_0010729 regulates hypoxia-induced cardiomyocyte injuries by activating TRAF5 via sponging miR-27a-3p[J]. *Life Sci*, 2020, 262:118511.
- [35] Deng Y, Wang J, Xie G, et al. Circ-HIPK3 strengthens the effects of adrenaline in heart failure by miR-17-3p - ADCY6 axis[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(11):2484-2496.
- [36] Salgado-Somoza A, Zhang L, Vausort M, et al. The circular RNA MICRA for risk stratification after myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2017, 17:33-36.

(收稿:2021-02-10 修回:2021-11-01)

(本文编辑:程雪艳)

=====

(上接第 16 页)

- [32] Marshall JD, Bazan I, Zhang Y, et al. Mitochondrial dysfunction and pulmonary hypertension: cause, effect, or both[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314(5):L782-L796.
- [33] Sun X, Kumar S, Sharma S, et al. Endothelin-1 induces a glycolytic switch in pulmonary arterial endothelial cells via the mitochondrial translocation of endothelial nitric oxide synthase[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50(6):1084-1095.
- [34] Culley MK, Chan SY. Mitochondrial metabolism in pulmonary hypertension: beyond mountains there are mountains[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(9):3704-3715.

(收稿:2021-06-01 修回:2021-07-14)

(本文编辑:王雨婷)