

长链非编码 RNA 在心血管疾病中的研究进展

杜艳丽 蒋金法

【摘要】 长链非编码 RNA(lncRNAs)是指长度>200 个核苷酸的转录物,它可以干扰基因表达及各个阶段的信号转导。该文主要介绍小鼠和人类 lncRNAs 的表达情况,以及 lncRNAs 在心脏发育和心血管疾病中的作用。

【关键词】 长链非编码 RNA;动脉硬化;心肌梗死;心室重构;心力衰竭

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.04.003

长链非编码 RNA(lncRNAs)参与心脏发育、心肌梗死和心力衰竭的过程,对心肌肥大和心室重构有一定的调控作用。

1 lncRNAs 的特点及作用机制

lncRNAs 是长度>200 个核苷酸的非编码 RNA,目前已知的 lncRNAs 数量为 56 018^[1],根据其基因组的定位和特性,可分为正义(sense)RNA、反义(antisense)RNA、增强子(enhancer)RNA、环状(circular)RNA、基因间(intergenic)和基因内(intronic)RNA。

lncRNAs 具有序列保守性,且在表观遗传学、转录控制、转录调节等方面起作用。lncRNAs 在分子功能上主要充当 4 种角色:信号、诱导、引导、支架,通过顺式调控、反式调控等多种方式参与调节基因转录、mRNA 拼接、组蛋白修饰,促进转录因子激活,抑制下游基因表达^[2]。

2 lncRNAs 在心脏发育中的作用

lncRNAs 是心血管发育调节网络中的重要组成部分。其中增强子衍生的 lncRNAs(edRNAs)与心脏发育密切相关。有研究发现 3 种 lncRNAs——TERMINATOR、ALIEN 和 PUNISHER,分别在未分化的多能干细胞、心血管细胞和内皮细胞中特异性表达,并参与脊椎动物和人类的心脏发育。ALIEN 的表达缺乏可导致血管结构损害,抑制心室形成;PUNISHER 可以调节内皮细胞功能,敲除 PUNISHER 可导致人类原始内皮细胞功能严重异常;lncRNAs 可能作为心血管特异性的表观遗传学调节剂^[3]。

lncRNAs 还与心肌细胞分化直接相关。Fendrr 基因在小鼠后胚层及心脏中高度表达,它可以结合多梳蛋白抑制复合体 2(polycomb-repressive complex 2, PRC2)和 TrxG/MLL 复合物,介导主要转录因子在心脏发育过程中的表达,Fendrr 缺乏可导致心脏结构异常,如室间隔缺损等^[4]。Bvht 基因可以促进胚胎干细胞向心肌细胞分化,使心脏表型保持在新生状态,然而遗憾的是迄今为止尚未在人类基因中发现同源基因^[5]。另一种新的超强增强子相关 lncRNA——CARMEN^[6],是心肌细胞分化的重要调节剂,介导成熟心脏前体细胞的分化。CARMEN 通过与 SUZ12 和 EZH2(PRC2 的 2 种组分)的相互作用,介导心脏细胞分化及内环境稳定。

3 lncRNAs 在动脉粥样硬化中的作用

ANRIL 是人 9p21 染色体上 CDKN2A/B 基因丛转录的 lncRNAs,由 RNA 聚合酶 II 转录而来,可被剪接形成至少 20 种线性转录子或环形转录子,这些剪接变异子具有组织特异性,与动脉粥样硬化的易感性和严重程度密切相关^[2]。另外,ANRIL 在内皮细胞、平滑肌细胞和炎症细胞中均有表达,还与颈动脉硬化和其他心血管疾病的风险有关。

3.1 lncRNAs 在内皮细胞中的作用

反义转录物是血管发育中最早被发现的 lncRNAs。非编码反义 RNA(tie-1AS)在斑马鱼、小鼠和人中均可被检测到,具有高度保守性。小鼠的 tie-1AS 与细胞质和细胞核中的 tie-1 mRNA 结合,使 tie-1 mRNA 表达下调,诱导血管内皮细胞间接触连接的破坏^[7]。tie-1AS 在人类内皮细胞中可抑制 tie-1 表达,并抑制人类内皮细胞的管状形态的形成。另外,牛磺酸上调基因 1(lncRNA-TUG1)可

以与微小 RNA(miRNA)-144 结合,通过靶向热激转录因子 2(HSF2)调节血管内皮细胞的紧密连接蛋白表达,使启动子活性增加,并以此来发挥作用^[8]。

低氧诱导因子反义转录物(HIF-1 AS)在血管生成和血管功能中起负调节作用,它通过与凋亡相关蛋白的相互作用,直接影响 mRNA 表达和靶基因的转录。在体外实验中,HIF-1 AS 可以抑制人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)和血管平滑肌细胞(VSMC)的增殖,促进细胞凋亡^[2]。

在缺氧状态下,内皮细胞中的 MALAT1、MEG3 和部分 TUG1 表达上调。研究表明,MALAT1 可以促进内皮细胞增殖,并促进血管生长,抑制 MALAT1 的表达可使内皮细胞形成与血管结构相似的紊乱结构^[9]。母体表达基因 3(maternally expressed gene 3, MEG3)可以通过抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达抑制血管生成。近期还发现 2 种缺氧诱导 lncRNAs,被命名为 LINC00323 和 MIR503GH,在血管丰富的器官中高度富集,对维持血管结构完整及内皮细胞生物学功能具有重要作用^[8]。

3.2 lncRNAs 在平滑肌细胞中的作用

SENCR 是平滑肌细胞和内皮细胞富集、迁移、分化相关的 lncRNAs,可以稳定平滑肌细胞收缩表型,并发挥抗迁移效应。敲除平滑肌细胞中的 SENCER,可使 2 种迁移基因(MDK 和 PTN)表达上调,导致平滑肌细胞迁移增加,并可使平滑肌收缩蛋白表达下调^[10]。

平滑肌细胞中的 lncRNA-P21 被确认为动脉粥样硬化时细胞增殖和凋亡的新型调节剂,可以控制平滑肌细胞的增殖,加速细胞凋亡。lncRNA-P21 还可与 MDM2 相互作用,以减轻 MDM2 对 P53 的降解^[11]。

4 lncRNAs 在心肌梗死、心室重构中的作用

急性心肌梗死易感位点中单核苷酸的多态性表达丰富,可以转录一种心肌梗死相关 lncRNA (MIAT)。为了研究 lncRNAs 在心肌梗死中的作用,Zangrando 等^[12]进行了动物实验,对急性心肌梗死组及对照组小鼠进行微阵列分析,发现心肌梗死相关的 lncRNAs 中有 20 个表达上调,10 个表达下调,其中 MIRT1 和 MIRT2 在急性心肌梗死组分别升高 5 倍和 13 倍,在急性心肌梗死后 24 h 达到

顶峰,48 h 后回落至基线水平。通过 18-氟脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描(18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography, FDG-PET)分析表明,MIRT1 和 MIRT2 的表达与梗死面积呈负相关,与射血分数呈正相关。另外,急性心肌梗死后,MIRT1 和 MIRT2 的表达与重构基因的相关性明显升高,大多数重构基因在急性心肌梗死后 3 d 持续升高,而编码 BNP 的 Nppb 基因在急性心肌梗死时表达升高 4 倍,24 h 达到顶峰,48 h 后回到基线水平,且活跃性与 MIRT1 和 MIRT2 相似。

一项通过转录组测序技术对急性心肌梗死小鼠的研究鉴定了 1 521 个未在 UCSC 基因数据库中登记的小鼠基因组 lncRNAs,其中 73%在人类中表达。急性心肌梗死小鼠模型的 lncRNAs 中 Novlnc6、Novlnc15、Novlnc44、Novlnc76、Novlnc95、Novlnc96 和 Novlnc103 的表达下调,而 Novlnc35 和 Novlnc174 的表达上调,其中 Novlnc6 在心肌细胞质中富集,抑制 Novlnc6 的表达可以诱导心肌细胞中 Bmp10、Nkx2.5 mRNA 表达下调,故 Novlnc6 可以调节心肌细胞的转录^[6]。

在外周血中,LIPCAR 的表达与心肌梗死引起的心室重构相关,故被称为心室重构相关 lncRNA。LIPCAR 是一种来源于线粒体的 lncRNA,其在急性心肌梗死后表达下降,在心力衰竭末期表达增加,故 LIPCAR 可以作为心血管疾病的标志物,预测急性心肌梗死后心室重构和慢性心力衰竭患者的死亡率^[13]。急性心肌梗死后外周血单核细胞的 HIF-1AS、MALAT1、KCNQ1OT1 表达高于健康组,而 ANRIL 转录的 NR_003529 表达下降,且 ANRIL 和 KCNQ1T1 在外周血单核细胞中的最初水平与 4 个月后左心室的功能障碍有关,故这些 lncRNAs 是左心室功能障碍和左室重构的显著预测因子。一种称为尿路上皮癌胚抗原 1(urothelial carcinoma antigen 1, UCA1)的 lncRNA,在成人心脏中特异性表达,血浆 UCA1 水平在心肌梗死过程中是变化的,其水平与 miR-1 的表达呈负相关,循环 UCA1 可能作为一种有前景的新型生物标志物,用于急性心肌梗死的诊断和预后评估^[14]。

在心肌梗死小鼠模型中,随着心功能下降,lncRNAs 可以通过干扰 miRNAs 来控制心肌细胞肥大和凋亡。Wang 等^[15]发现心肌细胞中富集的 lncRNAs 受缺氧调节,缺氧时高表达的 lncRNAs 约有 100 个,而 4 种 lncRNAs (AK029547、

AK041176、AK017121 和 AK018416) 在缺氧时表达下调。其中 AK017121 被称为心肌细胞凋亡相关 lncRNA(CARL), 它通过抑制 miR-539 与 PHB2 结合来抑制细胞凋亡和线粒体分裂, 减轻缺血再灌注损伤。

心肌肥大相关因子 (cardiac hypertrophy related factor, CHRF) 又称为 AK048451, 广泛存在于人心肌细胞中, 在体外细胞培养中可以引起心肌细胞肥大, 在体内引起心肌细胞凋亡, CHRF 通过抑制 miR-489 与髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response gene 88, Myd88) 结合, 促进心肌细胞肥大。肌球蛋白重链相关 RNA 转录物 (Myheart 或 Mhrt) 是由 Myh7 基因编码的 lncRNA, 其在我心肌细胞的细胞核中含量丰富, 且在压力超负荷时表达下调, Mhrt 的过表达可以保护心脏, 减少 Myh7 引起的病态表达^[16]。Brg1 是在应激状态下触发心肌病的染色质重构因子, Mhrt 通过阻止其识别基因组 DNA 靶点, 拮抗 Brg1 的功能。

miR-133 是一种抑制心肌肥大的 miRNA, MALAT1 可以竞争性结合并清除 miR-133, 抑制 miR-133 引起的血清反应因子 (SRF) 分泌下调, SRF 是心肌肥大相关基因 (Nppa、Nppb、Acta1) 的内源性调节因子, 然而遗憾的是并未发现 MALAT1 与心肌肥大的相关性, 其机制尚待进一步研究^[17]。

Zang 等^[18]研究表明, 小鼠行主动脉弓缩窄术后随着心脏负荷的增加, 2 种 lncRNAs 即 2900055J20Rik 和 Gm14005 表达上调; 而在术前对腺苷 A2A 进行过表达, 或者在术后使用 JQ1 保护剂时, 2900055J20Rik 和 Gm14005 的表达下调。另一种下调的 lncRNA 是细胞周期蛋白激酶 Cdk9 抑制剂 7SK, 已被证明参与心脏肥大的发生发展^[19]。

另外, lncRNAs 在干细胞多能性、干细胞分化、谱系规范化及血管形成中发挥动力学作用。lncRNAs 的调节功能有利于提高干细胞的治疗效率^[8]。

5 lncRNAs 在心力衰竭中的作用

Greco 等^[19]关于缺血性心力衰竭的研究发现, 在非终末期心力衰竭患者中, 14 个 lncRNAs 显著下调, 其中 9 个 lncRNAs (CDKN2B-AS1/ANRIL、EGOT、H19、HOTAIR、LOC285194/TUSC7、RMRP、RNY5、SOX2-OT 和 SRA1) 在终末期心力衰竭患者中的表达一致下调。LOC285194 在非终

末期心力衰竭时表达轻度下降, 在终末期心力衰竭时表达明显受抑; RMST 在非终末期心力衰竭患者中表达增加, 在终末期心力衰竭患者中表达明显下降。通过基因组测序技术分析发现 ANRIL、HOTAIR 和 LOC285194 在外周血单核细胞中的变化和心脏组织是一致的, 且外周血容易获得, 故 ANRIL、HOTAIR 和 LOC285194 具有作为心力衰竭生物学标志物的潜力^[19]。

类固醇受体 RNA 激活因子 1 (steroid receptor RNA activator 1, SRA1) 与心肌收缩功能障碍有关, 它作为核受体信号途径的共激活体发挥作用, 可能是心肌病发病的决定因素。SRA1 在斑马鱼心脏发育中具有一定作用, 敲除斑马鱼的 SRA1 基因后其心脏功能明显下降。

H19 可以介导 MAP3K6 mRNA 的调节, 编码 ASK2 蛋白, 诱导心肌梗死后心室重构的发生。研究表明, H19 不仅在终末期和非终末期心力衰竭患者中表达上调, 在心脏肥大小鼠模型中的表达也上调。H19 的多态性与心血管疾病风险因素相关, 如肥胖、出生体质量的升高和高血压等^[20]。H19 的表达在人类和小鼠中具有高度保守性。

6 小结

目前, 在心血管系统中只有少数 lncRNAs 的功能被确定, 许多研究发现 lncRNAs 可能参与心脏发育、心脏疾病过程。lncRNAs 可能成为新的诊断生物学标志物和治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Xie C, Yuan J, Li H, et al. NONCODEv4: exploring the world of long non-coding RNA genes[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Database issue):D98-D103.
- [2] Uchida S, Dimmeler S. Long noncoding RNAs in cardiovascular diseases [J]. Circ Res, 2015, 116 (4): 737-750.
- [3] Kurian L, Aguirre A, Sancho-Martinez I, et al. Identification of novel long noncoding RNAs underlying vertebrate cardiovascular development [J]. Circulation, 2015, 131(14):1278-1290.
- [4] Grote P, Wittler L, Hendrix D, et al. The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse[J]. Dev Cell, 2013, 24(2): 206-214.
- [5] Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, et al. Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment[J]. Cell, 2013, 152(3): 570-583.
- [6] Ounzain S, Pezzuto I, Micheletti R, et al. Functional importance of cardiac enhancer-associated noncoding RNAs in

heart development and disease[J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 76:55-70.

[7] Li K, Blum Y, Verma A, et al. A noncoding antisense RNA in tie-1 locus regulates tie-1 function in vivo. [J]. Blood, 2010, 115(1):133-139.

[8] Hou J, Zhou C, Long H, et al. Long noncoding RNAs: Novel molecules in cardiovascular biology, disease and regeneration[J]. Exp Mol Pathol, 2016, 100(3):493-501.

[9] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth[J]. Circ Res, 2014, 114(9):1389-1397.

[10] 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.

[11] 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.

[12] Zangrando J, Zhang L, Vausort M, et al. Identification of candidate long non-coding RNAs in response to myocardial infarction[J]. BMC Genomics, 2014, 15:460.

[13] Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure[J]. Circ Res, 2014, 114(10):1569-1575.

[14] 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, 2016:8079372.

[15] Wang k, Liu F, Zhou LY, et al. The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489 [J]. Circ Res, 2014, 114(9):1377-1388.

[16] Han P, Li W, Lin CH, et al. A long noncoding RNA protects the heart from pathological hypertrophy[J]. Nature, 2014, 514(7520):102-106.

[17] Peters T, Hermans-Beijnsberger S, Beqqali A, et al. Long non-coding RNA malat-1 is dispensable during pressure overload-induced cardiac remodeling and failure in mice[J]. PLoS One, 2016, 11(2):e0150236.

[18] Zhang L, Hamad EA, Vausort M, et al. Identification of candidate long noncoding RNAs associated with left ventricular hypertrophy[J]. Clin Transl Sci, 2015, 8(2): 100-106.

[19] Greco S, Zaccagnini G, Perfetti A, et al. Long noncoding RNA dysregulation in ischemic heart failure[J]. J Transl Med, 2016, 14(1):183.

[20] Gao W, Zhu M, Wang H, et al. Association of polymorphisms in long non-coding RNA H19 with coronary artery disease risk in a Chinese population[J]. Mutat Res, 2015, 772:15-22.

(收稿:2016-12-05 修回:2017-04-18)

(本文编辑:丁媛媛)

