

DOI: 10.13376/j.cblls/2018020

文章编号: 1004-0374(2018)02-0143-08



荆清, 中国科学院上海生命科学研究院研究员, 博士生导师。2012年入选为美国心脏协会 Fellow 会员 (Fellow of American Heart Association, FAHA)。主要研究微小 RNA 等非编码 RNA 在基因表达调控中的作用及其机制, 重点方向是心血管发育 (干细胞定向分化与组织再生) 与疾病 (血管稳态与重构、损伤与修复相关疾病)。以第一作者在 *Cell*、*Circ Res* 和以通讯作者在 *Eur Heart J*、*Circ Res*、*J Cell Biol*、*ATVB* 等国际 SCI 期刊发表论著, 累计他引 3 500 余次, 第一作者论著单篇最高他引超 830 次 (Google Scholar), 通讯作者论著单篇最高他引 900 余次 (Google Scholar)。其中 2010 年以通讯作者发表在 *Eur Heart J* 的研究论文入选 “2010 年中国百篇最具影响国际学术论文”, 并被 WEB OF SCIENCE 标注为 “高被引论文”。

非编码RNA与心血管疾病的研究进展

郭君君, 荆 清*

(中国科学院上海生命科学研究院, 上海 200031)

摘要: 心血管疾病已然成为人类社会的一大困扰, 给患者和家人带来巨大的身心痛苦和经济压力。近些年来, 非编码蛋白质的 RNA 在心血管疾病的诊治方面引起越来越多的关注, 并且取得了可观的研究成果。现主要对 miRNA、lncRNA 和前沿 ncRNA 的研究进展进行剖析, 对 RNA 疗法的局限性及未来发展前景进行展望。

关键词: 心血管疾病; 非编码 RNA; miRNA; lncRNA; RNA 疗法

中图分类号: Q522; R331 **文献标志码:** A

The research progress of non-coding RNA and cardiovascular disease

GUO Jun-Jun, JING Qing*

(Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: Cardiovascular disease has become a big trouble for our society, and brings the great physical and mental pain to patients and economic burden to their family. In recent years, the non-coding RNA draw more and more attention in the diagnosis and treatment of cardiovascular diseases, and also made considerable achievements. This article mainly focuses on the research progress of miRNA, lncRNA and the frontier ncRNA, and also discusses the limitations of RNA therapy and its future prospects.

Key words: cardiovascular disease; non-coding RNA; miRNA; lncRNA; RNA therapy

当前, 我国心血管疾病的发病率不断攀升, 死亡率也是居高不下, 已成为威胁人类健康的主要病因^[1]。因此, 加强心血管疾病的诊治和预防显得尤为重要。

收稿日期: 2017-10-10

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFA0103700); 国家自然科学基金项目(91739301)

*通信作者: E-mail: qjing@sibs.ac.cn

长久以来,蛋白质编码基因被认为是细胞内遗传信息的主要操纵者。然而,基因序列深度分析发现,虽然有75%的基因发生转录,但仅有少于10%的人类基因组负责编码蛋白质的合成^[2]。多种研究已经明确揭示,非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)在细胞内以多种形式广泛存在,并且发挥着不可或缺的作用。基于分子大小、形状和功能将这一群体分为核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)、转运RNA(transfer RNA, tRNA)、小核RNA(small nuclear RNA, snRNA)、微小RNA(micro RNA, miRNA)、循环RNA(circular RNA, circRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)等等^[3]。越来越多的证据表明,ncRNA能够从表观遗传学、转录及转录后调控等多个方面实现对基因表达的调控,由此参与心血管疾病的发生和发展,并且在多科学多领域都具有活跃的功能。

1 微小RNA(miRNA)

1.1 miRNA的结构与作用机制

miRNA是一类内生的、长约22个核苷酸的非编码小RNA^[4],其成熟过程如下^[5-6]:首先,DNA经RNA聚合酶II或III转录成一个长的前体分子(primary miRNA, pri-miRNA);其次,该分子被RNA内切酶III Droscha和辅因子Pasha剪切成60~70个核苷酸的双链发夹结构前体分子(precursor miRNA, pre-miRNA);第三,pre-miRNA由载体蛋白-5(exportin 5, XPO5)-Ran(一种G蛋白)-GTP(guanosine triphosphate, 三磷酸鸟苷)复合物输出到胞浆,与双链RNA结合蛋白TRBP(TAR RNA binding proteins, 反式激活应答RNA结合蛋白)结合的DICER酶将双链RNA剪切成约22个核苷酸大小;最后,双链miRNA被转载进AGO2(Argonaute family protein 2, Argonaute家族蛋白2),形成RNA诱导沉默复合物(RNA induced silencing complex, RISC),其中一条链保存于RISC复合物中,另一条则排出复合物并迅速降解。

早在20世纪90年代,研究者发现一类在转录后水平序列特异性地调控基因表达的RNA,并将其命名为miRNA。1993年, Lee等^[7]和 Ruvkun等^[8]研究秀丽隐杆线虫的胚胎后发育时发现了第一个miRNA——lin-4。随后,他们发现lin-4转录本(22~61个核苷酸)的序列与lin-14mRNA的3'非翻译区(untranslated region, UTR)的一个重复性序列互补,意味着lin-4通过反义RNA-RNA相互作用

的方式调控lin-14的翻译,首次揭示了miRNA的具体调控机制。mRNA(messenger RNA)的3'UTR区中富含AU碱基的区域(AU rich element, ARE)是一个衰退元件,它的降解会引发免疫紊乱和癌症,但同时也调控蛋白翻译和mRNA的出核^[9]。前期研究发现,ARE易被miR-16互补性识别,并通过与Ago/eIF2C家族成员结合形成复合体间接作用于mRNA以介导其降解,这是首次对miRNA与RNA结合蛋白互作调控mRNA半寿期的报道^[10]。随后,越来越多的研究揭示了多细胞生物中miRNA需要与RNA结合蛋白互作以miRNP的形式调控基因表达^[11-12]。对于Ago蛋白介导的转录后基因沉默,2017年, Bridge等^[13]研究报道,miRNA诱导的沉默复合物(miRISC)的形成依赖于一种含LIM(3种转录因子Lin-11、Isl-1、Mec-3首字母缩写)结构域的蛋白的磷酸化机制,称之为“Ago开关”。

1.2 miRNA与心血管疾病

1.2.1 miRNA与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是炎症细胞、基质细胞、细胞因子以及相关酶类相互作用下的慢性炎症性疾病,它表现为局部脂质代谢紊乱、胞外基质的积聚以及体内平衡的破坏,最终导致斑块破裂,血管狭窄,甚至堵塞^[14-15]。血管内皮损伤和炎症细胞的黏附转移是AS的重要因素。Welten等^[16]的综述中阐述了多种miRNA在AS和再狭窄中的调控作用,其中,作用最显著的miRNA有miR-126、miR-155、miRNA基因簇17-92,以及miRNA23/24/27、143/145;同时,miR-126-3p和miR-145-5p的水平和纤维帽的厚度成比例^[17]。

miR-126是一个血管内皮特异性的miRNA,作用于不同的转录因子以控制血管生成、发育和修复^[18-19]。Zou等^[20]研究发现,miR-126的两种同源体miR-126a和miR-126b共同调控血管内皮完整性,并且发现p21激酶1(p21 activated kinase 1, pak1)是miR-126a/b的下游靶点,它们分别与p21激酶1(pak1)3'UTR互补来抑制其基因表达;同时,miR-126也影响血管炎症调控。Harris等^[21]的研究证实,miR-126的表达与血管内皮黏附因子-1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)的表达呈负相关,miR-126与VCAM-1 mRNA 3'UTR的结合,从而抑制单核细胞向内皮层黏附迁移,具有抗AS的作用。动物模型上,也同样证实了miR-126的这一效应,并且有研究表明miR-126通过MAPK(mitogen activated protein kinase, 丝裂原活化蛋白激酶)通路发挥作用,

MAP3K10 是 miR-126 的一个作用靶点^[22]。

miR-155 是一个典型的多功能 miRNA, 最初由 Metzler 等^[23] 发现在 B 淋巴细胞相关性肿瘤中表达上调。随后研究证实, miR-155 参与白细胞生成、炎症反应、免疫反应、癌症和心血管疾病等多种生物学过程^[24]。研究表明, miR-155 对单核/巨噬细胞有多方面的作用。miR-155 在 ox-LDL (oxidized low-density lipoprotein, 氧化型低密度脂蛋白) 诱导的炎症反应中起负性调节作用, 如抑制黏附因子 VCAM-1、ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1, 细胞间黏附因子-1) 和趋化因子的表达, 降低脂质摄取以及单核细胞招募^[25]。但在 AS 中, miR-155 却起到促炎、促 AS 的作用^[26]。Tian 等^[27] 研究发现, 在形成过程中, 高水平表达的 miR-155 通过靶向 HBP1 (HMG-box transcription factor 1, HMG 盒转录因子) 来促进脂质摄取和 ROS (reactive oxygen species, 活性氧自由基) 的产生以调控泡沫细胞的形成。在 AS 斑块中的纤维帽中, miR-155 通过靶向作用于 eNOS (endothelial nitric oxide synthase, 内皮型一氧化氮合酶) 促进了血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 的增殖和迁移, 进而促进 AS 的形成, 再次证实了 miR-155 的促 AS 作用^[28]。miR-155 在炎症、AS 不同时期的作用不同, 具体机制尚未得到定论, 这一局限似乎限制了 miR-155 在 AS 中的诊疗价值。

1.2.2 miRNA与心肌梗死

2008 年, Mitchell 等^[29] 和 Chen 等^[30] 发现, miRNA 同样存在于血液循环中, 包括血浆、血小板、红细胞以及其他的有核血细胞中。血浆中的 miRNA 即使在高温、高 pH、低 pH、长时间室温存放以及多次冻融处理的环境中依然稳定存在^[30]。专家们针对 miRNA 的稳定性也进行了相关研究, 有报告称, miRNA 在外循环中包装成微小颗粒 (如外泌体、微泡、凋亡小体)^[31] 与 RNA 结合蛋白 (如 Argonaute2)^[32] 结合或组装成脂蛋白复合体 (如高密度脂蛋白, HDL)^[33], 以此来防止 miRNA 本身的降解。

大量研究发现, miR-208 仅存在于心肌细胞中, 外循环中检测该指标的存在预示着某些病理性疾病的发生, 可作为心肌损伤的标志物。有研究针对大鼠心梗模型及心梗患者^[34] 血浆中 miRNA 对急性心肌梗死的预测作用。通过受试者工作特征曲线分析, miRNA-208a 对早期诊断急性心肌梗死 (acute myocardia infarction, AMI) 具有很高的敏感性和特异性, 可作为有价值的早期临床诊断心肌梗死的生物标记物。

同样作为一种心肌特异性 miRNA, 临床样本、动物水平以及分子水平的研究逐步证实了 miR-499 在 AMI 中的诊疗价值。Wang 等^[35] 对 1 973 例 AMI 患者和 1 236 例正常对照的临床数据进行了荟萃分析。在亚组分析中发现, miR-499 具有相较于其他 miRNA 更高的诊断准确度, 进一步充实了前期的荟萃分析结果^[36-37]。同样地, 离体、在体动物实验验证了 miR-499 对于条件诱导的心肌梗死严重程度及心肌细胞凋亡的影响, 并揭示了 miR-499 在心肌细胞中的调控机制^[38-39]。2017 年, Dal-Pra 等^[40] 研究发现, 通过组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸三甲基 (H3K27me3) 去甲基化后 miRNA 混合物 (miR-1、miR-133、miR-208 和 miR-499) 可介导心肌成纤维细胞重编程再分化为心肌细胞以修复心肌损伤。

miR-208 和 miR-499 同属于心肌细胞特异性 miRNA 家族, 在心脏发育、心肌梗死、心肌缺血再灌注损伤、心肌肥厚、心力衰竭及机体代谢等病理生理过程中发挥重要作用, 也是很好的生物标志物。通过调控 miR-208 和 miR-499 表达, 减少心肌肥厚和心肌纤维化并抑制心肌细胞凋亡; 同时, 促进心肌细胞再生和定向分化, 成为 AMI 患者的一种新的治疗策略, 但目前大部分研究仍处于初期阶段, miR-208 和 miR-499 的其他作用靶点以及精细调控机制有待进一步研究。

1.2.3 miRNA与心肌纤维化

心肌纤维化是指在正常心肌中胶原纤维过量积聚、心脏组织中胶原浓度明显升高或胶原成分改变。心肌纤维化发生在多种心血管疾病中, 已有明确的报道称 miRNA 调控纤维化发生、参与心肌细胞重塑。miR-21 在肺、乳腺、胃肠、前列腺、结肠、胰腺等组织中表达, 由单个基因编码, 在进化上高度保守^[41]。大量研究表明, miR-21 参与心肌纤维化的发生发展过程。Thum 等^[42] 研究发现, miRNA-21 无论在心力衰竭还是心肌肥厚小鼠模型中都显著上调, 而且选择性地发生在心脏成纤维细胞中; 更加深入的研究发现, miRNA-21 通过靶向抑制心脏成纤维细胞中 SPTY1 (一个潜在的 Ras/MEK/ERK 通路的抑制剂) 来增强 ERK-MAP 激酶活性, 进而调节成纤维细胞的增殖及其相应生长因子的分泌, 从而导致心肌纤维化。2017 年, Yuan 等^[43] 研究报道, miR-21 经由 TGF- β /Smad7 通路参与心梗后心肌成纤维细胞的激活和心肌纤维化。miR-21 在人体组织中广泛表达, 随着检测技术和研究方法的发展, 调节 miR-21 的表达将成为心血管疾病诊疗的新靶点。

长久以来, miR-433 由于能够影响肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭而作为各种肿瘤研究的靶点。然而, Tao 等^[44] 研究心脏纤维化时, 创新性地发现 miR-433 在纤维化心肌中表达丰富, 深入分析发现 miRNA-433 直接靶向 AZIN1 (antizyme inhibitor 1) 和 JNK1 (c-Jun N-terminal kinase, c-Jun 氨基末端激酶) 两个基因导致 Smad3 激活, 影响心脏纤维化。这些研究成果进一步揭示了 miRNA 可作为纤维化疗法中的一个强有力的治疗靶点。

2 长链非编码RNA (lncRNA)

2.1 长链非编码RNA的结构与功能

长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类转录本大于 200 nt 的片段, 由 RNA 聚合酶 II 转录而来, 经选择性剪切以及 5' 端加帽和 3' 端加 polyA 尾巴加工而成熟。相较于 mRNA, lncRNA 缺乏翻译所需的完整阅读框, 不具有生物学功能, 且表达量不高, 其一级结构保守性较差, 但其组织和细胞特异性相对较高, 由于它们在生物过程和人类疾病中所起的重要作用而受到生物学家和临床医生的关注^[45-46]。近年来, 随着遗传学和生物信息学的飞速发展, 越来越多的 lncRNA 被发现, 但对 lncRNA 的分类尚无统一标准, 依据 lncRNA 在基因组上的位置, 可以将其分类为正义 (sense) RNA、反义 (antisense) RNA、增强子 (enhancer) RNA、环状 (circular) RNA、基因间 (intergenic) RNA (lincRNA) 和基因内 (intronic) RNA^[47]。其中, 正义 RNA 与蛋白编码序列的正义链部分重叠或完全将其覆盖; 反义 RNA 与蛋白编码序列的反义链部分重叠或完全将其覆盖, 环状 RNA 位于与蛋白质转录起始位点 >1000 bp 的反义链上, 两者转录方向相反; 基因内 RNA 又叫内含子 lncRNA, RNA 序列完全位于另一个转录本的内含子内, 基因间 lncRNA 位于两编码蛋白之间。此外, lncRNA 在多种组织和细胞中广泛分布, 大多数 lncRNA 分布于细胞核中, 也有一小部分存在于细胞质中^[48]。

lncRNA 的早期研究仅确定了个别功能性的 lncRNA, 如 Xist 和 HOTAIR 等。X 染色体失活 (X chromosome inactivation, Xi) 是哺乳动物雌性个体的一种剂量补偿效应, 通过抑制型表观修饰锁住一条 X 染色体^[49-50]。X 染色体失活特异转录本 (X chromosome inactivation specific transcript, Xist) 是 X 染色体失活中心内鉴定出的第一个 Xi 相关基因, 也是最关键的 Xi 调控基因^[51]。Xist 能顺式包裹 X

染色体, 并募集异染色质修饰蛋白 PRC2 (polycomb-group proteins) 等建立 H3K27me3, 引起转录沉默, 最终导致整条染色体失活, 该过程有 lncRNA RepA (Xist 基因 5' 端腺嘌呤重复区转录本) 协同参与^[52]。HOX 转录反义 RNA (HOX transcript antisense RNA, HOTAIR) 是第一个被发现的具有反式作用的 lncRNA, 是 HOX 反义基因间的 RNA, 它能控制哺乳动物 2 号染色体上的基因表达。随着微阵列和新一代测序等高通量技术的发展, 越来越多的 lncRNA 被发现。lncRNA 参与调控机体的生长发育、细胞凋亡、增殖、分化等过程, 与多种疾病密切相关, 并且已有相关研究报道 lncRNA 在心脏发育、心肌梗死、心力衰竭、心肌肥大和心室重构中发挥一定的调控作用^[53]。进一步的研究发现, lncRNA 能以 RNA 的形式在表观遗传学、基因转录、转录后等方面来调控靶基因的表达^[54]。如果 lncRNA 调节作用发生异常, 则可能会导致机体功能紊乱, 甚至会导致疾病发生。然而, 目前针对 lncRNA 的研究还仅仅局限于基础研究, 且由于 lncRNA 不像 miRNA 那样保守, 作用机制多元, 长度较长, 二级结构难以预测等等, 均是 lncRNA 的研究难点。

2.2 lncRNA与心血管疾病

2.2.1 lncRNA H19

lncRNA H19 是最早发现的长链非编码 RNA 之一, 它是一类由印迹基因编码, 位于人类染色体 11p15.5 的 H19/IGF2 的基因簇上, 转录本约 3 kb 大小, 存在于细胞核和胞浆中, 高表达于胚胎时期和病理状态下, 出生后大多数组织中表达降低^[55-56]。

长久以来, lncRNA 的研究主要集中于肿瘤领域。近年来, 专家们逐渐向各个方向探索。Zhang 等^[57] 对大鼠缺血心脏进行芯片分析, 发现有 331 对 lncRNA 和临近基因有表达差异, 预示着 lncRNA 参与冠心病的病理生理过程, 并且进一步研究发现, 冠心病患者血浆中 lncRNA H19 的表达水平显著升高, 可作为冠心病严重性的独立预测因素。多项研究也已证实, lncRNA H19 高表达于动脉粥样硬化斑块和损伤后的新生内膜中, 但在正常的冠状动脉中却鲜有表达^[58-59]。2017 年, Pan 等^[60] 研究发现, H19 通过 MAPK/NF- κ B 途径促进动脉粥样硬化, 是一个潜在诊疗靶点。Tao 等^[61] 研究表明, lncRNA H19 参与肝脏、肺、肾和心脏的纤维化。Huang 等^[62] 通过生物信息学方法发现, lncRNA H19 与 miR-675 互补性结合以调控心肌纤维化, 并经荧光报告实验证实。

由于心血管疾病的发生发展并不是单因素的, lncRNA H19 的研究还有待于进一步深入探索并和其他影响心血管疾病发生发展的因素相结合。例如 lncRNAH19-miRNA 调控网络的研究、lncRNAH19-甲基化的研究, 以及两种模式之间是否相互关联而组成网络形式发挥更详尽的生物学功能, 进而明确它们之间相互联系的节点, 未来以节点为靶基因的治疗和预防将会产生重要意义。

2.2.2 lncRNA——心肌梗死相关转录本(myocardial infarction-associated transcript, MIAT)

MIAT 也称为视网膜非编码 RNA2 (retinal noncoding RNA 2, RNCR2) 或 Gomafu, 长约 9 kb, 主要在有丝分裂祖细胞和视网膜前体细胞中表达, 该转录本主要位于细胞核中。它在多种物种中是高度保守的, 首次发现于哺乳类及两栖类动物^[63]。其单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 分析显示, 该基因第 5 外显子 SNP 的变异增加 MIAT 的转录, 并且是心肌梗死的敏感位点^[64], 并且心肌梗死小鼠心脏中高水平 MIAT 的表达进一步印证了这一点。也有研究提出 SNP 所引起的 MIAT 表达水平的改变对动脉粥样硬化性心脏病的发生有影响, 但 MIAT 参与动脉粥样硬化的发病机制还不清楚, 需进一步研究来阐明。

在微血管病变性疾病的研究中, Yan 等^[65] 研究发现, 糖尿病视网膜中的 MIAT 表达显著高于非糖尿病视网膜, MIAT 作为基因表达的调控者, 与 VEGF (vascular endothelial growth factor, 血管内皮生长因子) mRNA 竞争 miR-150-5p 的结合位点, 从而干预 miR-150-5p 与 VEGF mRNA 的结合, 进而影响 VEGF 的生成, 最终调控新生血管性疾病的发生发展。

目前, 对于 MIAT 的研究主要集中在神经系统、内分泌系统和心血管系统, 但研究尚不透彻, 需要更加深入细致的研究。而对于 lncRNA-MIAT 在其他系统中的作用以及其在神经系统、内分泌系统和心血管系统中的研究成果与其他系统相关性尚不明确, 因此, 还需要深入细致的研究。

3 环状RNA

近几年, 随着生物信息学的高速发展, 环状 RNA (circular RNA, circRNA) 逐渐引起科研工作者的关注。circRNA 是一类高度稳定、保守、广泛存在的环状非编码 RNA, 其长度在几百到几千个碱基不等^[66-67]。circRNA 的基因调控机制多种多样,

它可以通过与 miRNA 竞争性结合以抑制相应 mRNA 降解^[68]。Weiser-Evans^[69] 报道, circActa2 作为 miRNA 海绵体微调 α -SMA 表达, 参与平滑肌分化调控, 也能够与核内 snRNP 或者 RNA 聚合酶 II 相互作用调节转录。它还能够与转录因子结合, 竞争性调控经典的 RNA 剪接^[70]。目前, circRNA 的研究成果主要集中在神经发育和肿瘤两个方面, 但在心血管领域的研究也是层出不穷。2017 年, Song 等^[71] 在大鼠冠状动脉粥样硬化模型中发现 circRNA ANRIL 的功能, 抑制 circ-ANRIL 表达可降低血管内皮细胞的凋亡及炎症性因子的分泌。在心肌修复方面, Zeng 等^[72] 发现, circ-Amotl1 通过结合 PDK1 和 Akt 促进 Akt 的磷酸化, 并进一步转移入核, 抑制细胞凋亡, 促进心肌修复。随着 circRNA 研究越来越受到关注, 相关研究报道的不断增多, 相信 circRNA 在未来的疾病机理与诊治以及新药研发中将会发挥更大效用。

4 Non-coding RNA在RNA干扰(RNA interference, RNAi)疗法中的应用

既然已经有如此多的 ncRNA 参与心血管疾病的发生与发展, 那么在药物疗法中以此作为作用靶点已成为研究热点, 该疗法是用 ncRNA 的类似物、抑制物、海绵体经修饰后或是直接抑制 ncRNA 的转录本以在 RNA 水平调控相应基因^[73], 其中相应的修饰作用, 包括 2'-O-甲基化、磷酸化、3'端加胆固醇, 由此防止转运物在血液循环中被降解, 增强其在相应部位的吸收效果^[74]。一个 miRNA 能调控多种基因的表达, 研究显示, 大约有一分之一的基因是由 miRNA 调控的, 且大部分调控方式是通过与靶基因 3'UTR 区结合^[75]。

然而, ncRNA 干扰疗法的研究也存在一些局限性。首先, 转运物的低组织亲和性是限制这一疗法的一大缺陷, 但目前已有研究成功通过病毒载体和脂质纳米颗粒成功转运了未修饰寡核苷酸 miRNA 类似物^[76]。2017 年, Huang 等^[77] 在体外恶性胶质瘤细胞和动物上进行了药物纳米颗粒靶向治疗, 这一疗法提高了 RNA 亲和力, 促进肿瘤细胞凋亡, 抑制了肿瘤的增长。在临床试验中, Davis 等^[78] 运用小干扰 RNA 的纳米颗粒成功沉默黑色素瘤患者的靶基因, 首次证明了该项技术在临床应用上的可行性。当然, 也有其他的载体, 如膜融合脂质体、阴离子脂质体、两性脂质复合体、miRNA-共轭适配体正在研究中, 以此来增强转运特异性和组织特

异性^[79]。其次,该疗法中 ncRNA 的脱靶问题也亟待解决。毕竟一种 ncRNA 不只是单一性的存在于一种器官中,如 miR-433 在心脏、肝脏、肾脏和胃中都存在,在心脏重塑中 miR-433 抑制物在不同的组织和细胞中易发生脱靶。最后, RNAi 疗法中对身体内环境的副作用也不可忽视。因此,在应用于临床前, ncRNA 的作用机理需要更加深入的研究,更加可靠的局部转运体系也待研发。

5 结语

ncRNA 在复杂的生命过程中扮演着重要的调控角色,是许多疾病的潜在诊疗靶点。目前 miRNA 和 lncRNA 的研究技术已经足够成熟,但是 circRNA 的研究刚刚起步,有待进一步的探索和完善。随着越来越多 ncRNA 及其相关作用的研究和阐明,我们相信 ncRNA 有潜力成为新的生物学标志物用于疾病的诊断、治疗和预后评估,甚至作为新的靶点为疾病的治疗提供新的途径。

[参 考 文 献]

- [1] Wronska A, Kurkowska-Jastrzebska I, Santulli G. Application of microRNAs in diagnosis and treatment of cardiovascular disease. *Acta Physiol*, 2015, 213: 60-83
- [2] Djebali S, Davis CA, Merkel A, et al. Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 2012, 489: 101-8
- [3] Cech TR, Steitz JA. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones. *Cell*, 2014, 157: 77-94
- [4] Leisegang MS, Schroder K, Brandes RP. Redox-regulation and non-coding RNAs. *Antioxid Redox Sign*, 2017, 1: 1-67
- [5] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281-97
- [6] Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, 294: 862-4
- [7] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*, 1993, 75: 843-54
- [8] Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 1993, 75: 855-62
- [9] Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? *Cytokine Growth FR*, 2002, 13: 135-41
- [10] Jing Q, Huang S, Guth S, et al. Involvement of microRNA in AU-rich element-mediated mRNA instability. *Cell*, 2005, 120: 623-34
- [11] Vasudevan S, Steitz JA. AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell*, 2007, 128: 1105-18
- [12] Montgomery TA, Howell MD, Cuperus JT, et al. Specificity of ARGONAUTE7-miR390 interaction and dual functionality in TAS3 trans-acting siRNA formation. *Cell*, 2008, 133: 128-41
- [13] Bridge KS, Shah KM, Li Y, et al. Argonaute utilization for miRNA silencing is determined by phosphorylation-dependent recruitment of LIM-domain-containing proteins. *Cell Rep*, 2017, 20: 173-87
- [14] Pradhan-Nabzdyk L, Huang C, LoGerfo FW, et al. Current siRNA targets in atherosclerosis and aortic aneurysm. *Discov Med*, 2014, 17: 233-46
- [15] Jones Buie JN, Goodwin AJ, Cook JA, et al. The role of miRNAs in cardiovascular disease risk factors. *Atherosclerosis*, 2016, 254: 271-81
- [16] Welten SM, Goossens EA, Quax PH, et al. The multifactorial nature of microRNAs in vascular remodelling. *Cardiovasc Res*, 2016, 110: 6-22
- [17] Leistner DM, Boeckel JN, Reis SM, et al. Transcoronary gradients of vascular miRNAs and coronary atherosclerotic plaque characteristics. *Eur Heart J*, 2016, 37: 1738-49
- [18] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell*, 2008, 15: 261-71
- [19] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell*, 2008, 15: 272-84
- [20] Zou J, Li WQ, Li Q, et al. Two functional microRNA-126s repress a novel target gene p21-activated kinase 1 to regulate vascular integrity in zebrafish. *Circ Res*, 2011, 108: 201-9
- [21] Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, et al. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 1516-21
- [22] Hao XZ, Fan HM. Identification of miRNAs as atherosclerosis biomarkers and functional role of miR-126 in atherosclerosis progression through MAPK signalling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21: 2725-33
- [23] Metzler M, Wilda M, Busch K, et al. High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004, 39: 167-9
- [24] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*, 2007, 316: 608-11
- [25] Huang RS, Hu GQ, Lin B, et al. MicroRNA-155 silencing enhances inflammatory response and lipid uptake in oxidized low-density lipoprotein-stimulated human THP-1 macrophages. *J Invest Med*, 2010, 58: 961-7
- [26] Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Noels H, et al. MicroRNA-155 promotes atherosclerosis by repressing Bcl6 in macrophages. *J Clin Invest*, 2012, 122: 4190-202
- [27] Tian FJ, An LN, Wang GK, et al. Elevated microRNA-155 promotes foam cell formation by targeting HBP1 in atherogenesis. *Cardiovasc Res*, 2014, 103: 100-10
- [28] Zhang J, Zhao F, Yu X, et al. MicroRNA-155 modulates the proliferation of vascular smooth muscle cells by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Int J Mol Med*,

- 2015, 35: 1708-14
- [29] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 10513-8
- [30] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*, 2008, 18: 997-1006
- [31] Zernecke A, Bidzhikov K, Noels H, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Sci Signal*, 2009, 2: ra81
- [32] Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 5003-8
- [33] Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 423-33
- [34] Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J*, 2010, 31: 659-66
- [35] Wang Q, Ma J, Jiang Z, et al. Identification of microRNAs as diagnostic biomarkers for acute myocardial infarction in Asian populations: a systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 2017, 96: e7173
- [36] Liu X, Fan Z, Zhao T, et al. Plasma miR-1, miR-208, miR-499 as potential predictive biomarkers for acute myocardial infarction: an independent study of Han population. *Exp Gerontol*, 2015, 72: 230-8
- [37] Navickas R, Gal D, Laucevicius A, et al. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease: a systematic review. *Cardiovasc Res*, 2016, 111: 322-37
- [38] Wang JX, Jiao JQ, Li Q, et al. miR-499 regulates mitochondrial dynamics by targeting calcineurin and dynamin-related protein-1. *Nat Med*, 2011, 17: 71-8
- [39] Li Y, Lu J, Bao X, et al. MiR-499-5p protects cardiomyocytes against ischaemic injury via anti-apoptosis by targeting PDCD4. *Oncotarget*, 2016, 7: 35607-17
- [40] Dal-Pra S, Hodgkinson CP, Mirotsov M, et al. Demethylation of H3K27 is essential for the induction of direct cardiac reprogramming by miR combo. *Circ Res*, 2017, 120: 1403-13
- [41] Cavarretta E, Condorelli G. miR-21 and cardiac fibrosis: another brick in the wall? *Eur Heart J*, 2015, 36: 2139-41
- [42] Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature*, 2008, 456: 980-4
- [43] Yuan J, Chen H, Ge D, et al. Mir-21 promotes cardiac fibrosis after myocardial infarction via targeting Smad7. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42: 2207-219
- [44] Tao L, Bei Y, Chen P, et al. Crucial role of miR-433 in regulating cardiac fibrosis. *Theranostics*, 2016, 6: 2068-83
- [45] Boon RA, Jae N, Holdt L, et al. Long noncoding RNAs: From clinical genetics to therapeutic targets? *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67:1214-26
- [46] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*, 2009, 136: 629-641
- [47] Kapranov P, Cheng J, Dike S, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science*, 2007, 316: 1484-8
- [48] Rizki G, Boyer LA. Lncing epigenetic control of transcription to cardiovascular development and disease. *Circ Res*, 2015, 117: 192-206
- [49] Panning B, Jaenisch R. RNA and the epigenetic regulation of X chromosome inactivation. *Cell*, 1998, 93: 305-8
- [50] Gartler SM, Riggs AD. Mammalian X-chromosome inactivation. *Annu Rev Genet*, 1983, 17: 155-90
- [51] Avner P, Heard E. X-chromosome inactivation: counting, choice and initiation. *Nat Rev Genet*, 2001, 2: 59-67
- [52] Brockdorff N, Ashworth A, Kay GF, et al. The product of the mouse *Xist* gene is a 15 kb inactive X-specific transcript containing no conserved ORF and located in the nucleus. *Cell*, 1992, 71: 515-26
- [53] Young RS, Ponting CP. Identification and function of long non-coding RNAs. *Essays Biochem*, 2013, 54:113-26
- [54] Hung T CH. Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms. *RNA Biol*, 2010, 7: 4
- [55] Nordin M, Bergman D, Halje M, et al. Epigenetic regulation of the *Igf2/H19* gene cluster. *Cell Prolif*, 2014, 47: 189-99
- [56] Gabory A, Ripoche MA, Yoshimizu T, et al. The H19 gene: regulation and function of a non-coding RNA. *Cytogenet Genome Res*, 2006, 113:188-93
- [57] 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. *Sci Rep*, 2017, 7: 7491
- [58] Han DK, Khaing ZZ, Pollock RA, et al. H19, a marker of developmental transition, is reexpressed in human atherosclerotic plaques and is regulated by the insulin family of growth factors in cultured rabbit smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1996, 97: 1276-85
- [59] Kim DK, Zhang L, Dzau VJ, et al. H19, a developmentally regulated gene, is reexpressed in rat vascular smooth muscle cells after injury. *J Clin Invest*, 1994, 93: 355-60
- [60] Pan JX. LncRNA H19 promotes atherosclerosis by regulating MAPK and NF- κ B signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21: 322-8
- [61] Tao H, Cao W, Yang JJ, et al. Long noncoding RNA H19 controls DUSP5/ERK1/2 axis in cardiac fibroblast proliferation and fibrosis. *Cardiovasc Pathol*, 2016, 25: 381-9
- [62] Huang ZW, Tian LH, Yang B, et al. Long noncoding RNA H19 acts as a competing endogenous RNA to mediate CTGF expression by sponging miR-455 in cardiac fibrosis. *DNA Cell Biol*, 2017, 36: 759-66
- [63] Tsuiji H, Yoshimoto R, Hasegawa Y, et al. Competition between a noncoding exon and introns: Gomafu contains tandem UACUAAC repeats and associates with splicing factor-1. *Genes Cells*, 2011, 16: 479-90
- [64] Liao J, He Q, Li M, et al. LncRNA MIAT: myocardial infarction associated and more. *Gene*, 2016, 578: 158-61

- [65] Yan B, Yao J, Liu JY, et al. lncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ Res*, 2015, 116: 1143-16
- [66] Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types. *PLoS One*, 2012, 7: e30733
- [67] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, 495: 333-8
- [68] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495: 384-8
- [69] Weiser-Evans MCM. Smooth muscle differentiation control comes full circle: the circular noncoding RNA, circActa2, functions as a miRNA sponge to fine-tune α -SMA expression. *Circ Res*, 2017, 121: 591-3
- [70] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, et al. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. *Mol Cell*, 2014, 56: 55-66
- [71] Song CL, Wang JP, Xue X, et al. Effect of circular ANRIL on the inflammatory response of vascular endothelial cells in a rat model of coronary atherosclerosis. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42: 1202-12
- [72] Zeng Y, Du WW, Wu Y, et al. A circular RNA binds to and activates AKT phosphorylation and nuclear localization reducing apoptosis and enhancing cardiac repair. *Theranostics*, 2017, 7: 3842-55
- [73] Abba ML, Patil N, Leupold JH, et al. MicroRNAs as novel targets and tools in cancer therapy. *Cancer Lett*, 2017, 387: 84-94
- [74] Nabzdyk CS, Pradhan-Nabzdyk L, LoGerfo FW. RNAi therapy to the wall of arteries and veins: anatomical, physiologic, and pharmacological considerations. *J Transl Med*, 2017, 15: 164
- [75] Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. siRNAs can function as miRNAs. *Genes Dev*, 2003, 17: 438-42
- [76] Krutzfeldt J. Strategies to use microRNAs as therapeutic targets. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2016, 30: 551-61
- [77] Huang JL, Jiang G, Song QX, et al. Lipoprotein-biomimetic nanostructure enables efficient targeting delivery of siRNA to Ras-activated glioblastoma cells via macropinocytosis. *Nat Commun*, 2017, 8: 15144
- [78] Davis ME, Zuckerman JE, Choi CH, et al. Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. *Nature*, 2010, 464: 1067-70
- [79] Jin L, Zeng X, Liu M, et al. Current progress in gene delivery technology based on chemical methods and nano-carriers. *Theranostics*, 2014, 4: 240-55