

综述

长链非编码核糖核酸与心血管疾病

于雪婧、邹彤、张恩毅综述，杨杰孚审校

摘要 长链非编码核糖核酸(lncRNA)是一类长度大于 200 nt 的非编码核糖核酸(RNA)，它参与多种细胞生命活动和疾病的进展。由于科学技术的飞速发展，高通量测序以及微阵列技术的成熟，lncRNA 在心血管领域的研究中具有极大潜力。目前，lncRNA 在心肌梗死、心肌缺血再灌注损伤、心力衰竭、高血压等疾病中均有涉及和研究报道。lncRNA 也是一类重要的生物标志物，对于心血管疾病的诊断、治疗及远期预后的评估发挥重要作用。lncRNA 的出现，为心血管疾病的诊疗带来希望。关于 lncRNA 参与心血管疾病的深入机制，还有待进一步研究。

关键词 综述；心血管疾病；长链非编码核糖核酸

长链非编码核糖核酸(long noncoding RNA, lncRNA)是一类长度大于 200 nt 几乎没有翻译功能的核糖核酸(RNA)^[1]。近年发现，lncRNA 参与多种生命活动及疾病的进展，例如细胞的增殖与凋亡、细胞周期、基因印记、细胞分化及排列、真核细胞的生长和发育，肿瘤、心血管疾病、神经退行性病变及代谢性疾病的进展。随着高通量测序技术和微阵列技术的快速发展，lncRNA 的研究正在如火如荼地进行着，它也不断地向人类揭示着其重要的生物学功能。

1 长链非编码核糖核酸的分类及功能

lncRNA 是一个广义的名词，它包含增强子 RNA，小核仁 RNA，基因间转录片段以及正义和反义的转录片段^[2]。由于 lncRNA 种类和功能繁多，大体将其分为五类：顺式 lncRNA、反式 lncRNA、双向 lncRNA、基因间 lncRNA 和内含子 lncRNA。总体来说，lncRNA 的表达低于蛋白编码基因的表达^[3]，但 lncRNA 具有更高的细胞特异性^[4]。lncRNA 的基因座非常类似于信使核糖核酸(mRNA)，但编码 lncRNA 的基因更倾向位于基因内含子中，这样可以减少共转录剪接的效率^[5]。比起进化中传统的重复序列，lncRNA 面临着更高的选择压力，因为启动 lncRNA 表达的启动子面临着很高的选择压力^[6]。lncRNA 可通过顺式或反式作用调控基因的转录。lncRNA 不需要在细胞核和胞浆中穿梭。它可以作为支架(scaffold)结合多种蛋白从而发挥生物学功能^[6]，它还可以形成一个锚定点，通过征集或扣押某些蛋白因子，参与核酸序列的合成和重构，从而调节不同的生命活动^[2]。现有研究证明 lncRNA 还可以作为微小核糖核酸(microRNA)海绵吸附 microRNA，从而调控细胞的生命活动^[7]。

2 长链非编码核糖核酸与心肌梗死

心肌梗死是全世界人口的主要死因之一。根据《中国心血管病报告 2013 概要》的数据显示，目前我国每年新发心肌梗死 250 万例^[8]。现有研究发现，microRNA-539 可以抑制抗增殖蛋白 2(prohibitin 2, PHB2)的功能，PHB2 是一种抑制

线粒体裂变和凋亡的蛋白，在正常心肌细胞中大量表达，并且维持细胞线粒体的稳态。心脏凋亡相关 lncRNA(cardiac apoptosis-related lncRNA, CARL)可作为 microRNA 海绵吸附 microRNA-539，从而解除 microRNA-539 对 PHB2 的抑制作用，为心肌梗死和心肌细胞凋亡的治疗提供了新的方向^[9]。

另有研究显示，用小鼠心肌梗死模型的心肌组织进行 RNA 测序，发现许多差异表达的 lncRNA 主要参与心脏生成和病理性重构，用寡核苷酸诱导的敲减法发现这些差异表达的 lncRNA 主要调控心脏结构蛋白的表达^[10]。氯吡格雷是心肌梗死的常规用药之一，目前许多机制尚不明确。有研究在棕榈酸诱导人脐静脉内皮细胞凋亡的模型中，给予氯吡格雷后可减轻棕榈酸诱导的脐静脉内皮细胞的凋亡。通过运用 RNA 微阵列的方法比较氯吡格雷处理组和对照组 lncRNA 的表达谱发现，HIF1 α 反义核糖核酸-1(HIF1 α -antisense RNA-1, HIF1A-AS1)在氯吡格雷组显著发生变化，通过小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)抑制该 lncRNA 后可减少棕榈酸诱导的细胞凋亡并促进内皮细胞的增殖；研究者还发现，HIF1A-AS1 是通过线粒体凋亡通路引起内皮细胞的凋亡。说明氯吡格雷可以通过抑制 lncRNA HIF1A-AS1 而减少棕榈酸诱导的脐静脉内皮细胞凋亡，这为氯吡格雷治疗心肌梗死又阐述了一条新的机制^[11]。另一研究显示，microRNA-188-3p 可通过调节靶基因自噬相关蛋白 7(autophagy related protein 7, ATG7)抑制细胞自噬和心肌梗死，而 lncRNA 促自噬因子(autophagy promoting factor, APF)可通过调控 microRNA-188-3p 从而影响 ATG7 介导的细胞自噬和心肌梗死，这为心肌梗死的诊断和治疗提供了潜在的靶点^[12]。

3 长链非编码核糖核酸与缺血再灌注损伤

许多研究证明，心肌缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, I/R)会导致心肌细胞的坏死和凋亡^[13, 14]。细胞坏死受到 Fas 相关蛋白死亡结构域(Fas-associated protein with death domain, FADD)的调控。研究发现 FADD 是受体结

基金项目：药品临床试验关键技术及平台的研究(bj-2004-732)

作者单位：100730 北京市，北京大学第五临床医学院(于雪婧、杨杰孚)；北京医院 心血管内科(邹彤)；北京医院老年医学研究所 细胞室(张恩毅)

作者简介：于雪婧 博士研究生 研究方向为心房颤动与非编码核糖核酸 Email: yuxuejing0927@163.com 通讯作者：杨杰孚 Email: yangjiefu2011@126.com

中图分类号：R54 文献标识码：A 文章编号：1000-3614(2017)01-0099-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.01.024

合的丝氨酸苏氨酸激酶 3 (receptor interacting serine/threonine kinase 3, RIP3) 诱导坏死过程的抑制剂。FADD 亦可通过抑制 RIPK1/RIPK3 复合体的形成对细胞坏死起负调节作用。在坏死过程中 FADD 所受的调控依赖于细胞种类和刺激种类^[15]。调控 FADD 的形式多样, 比如磷酸化、泛素化^[16]。

I/R 导致心肌细胞凋亡主要通过外源性细胞凋亡途径和线粒体凋亡途径。FADD 在外源性细胞凋亡中, 通过与细胞凋亡蛋白酶-8 (Caspase-8) 前体结合后, 引发多聚化和自我剪切激活, 活化的 Caspase-8 激活 Caspase-9, 从而启动外源性细胞凋亡。而在线粒体途径中, 低氧、氧化应激均可以导致线粒体外膜释放促凋亡蛋白至胞浆中, 导致细胞色素 C 和凋亡蛋白酶激活因子 1 (apoptotic protease activating factor 1, APAF1) 结合, 导致 Caspase-9 活化, 切割 Caspase-3 和 Caspase-7 前体, 进而引起细胞凋亡^[17]。

一项研究证明, 在 H₂O₂ 处理大鼠 H9C2 胚胎心肌细胞诱导细胞凋亡和坏死的模型中, FADD 表达下调, 而 RIPK1/RIPK3 复合体形成增多; 而当过表达 FADD 时, RIPK1/RIPK3 复合体形成减少。说明 FADD 确实对细胞坏死起到负调控作用。同时该研究证明, microRNA-103/107 可以抑制靶基因 FADD 的表达, 降低 microRNA-103/107 可以减轻心肌坏死程度。lncRNA H19 可以通过降低 microRNA-103/107 的丰度从而抑制心肌细胞的坏死^[15]。可见, lncRNA 在 I/R 中也发挥重要作用。

4 长链非编码核糖核酸与心力衰竭

心力衰竭是心血管疾病的终末阶段, 也是构成世界范围的主要死因之一。在心力衰竭的进展过程中, 一些胎儿型基因表达增加, 一些成人型基因表达降低, 这种基因表达紊乱导致心肌重构^[18]。心肌肥厚是心力衰竭的结构改变, 也是心力衰竭的治疗靶点。目前国内一些学者通过检测脑钠肽和内皮素-1 的浓度预测心力衰竭患者心血管事件的发生^[19]。然而, lncRNA 不仅参与心力衰竭的发展, 它还作为预测心力衰竭患者心血管事件发生的标志物之一。研究表明, 循环中的 lncRNA uc022bqs.1 与心力衰竭患者远期心血管死亡事件具有显著相关性^[20]。另有研究表明, 运用微阵列技术发现, 在血管紧张素 II 刺激的肥大心肌细胞中, microRNA-489 显著降低; 而在心肌细胞中过表达 microRNA-489 可以减轻血管紧张素诱导细胞肥大效应。一种名为心肌肥厚相关因子 (cardiac hypertrophy related factor, CHRF) 的 lncRNA, 可作为 microRNA 海绵结合 microRNA-489 并降低其表达, 从而抑制 microRNA-489 对其靶基因骨髓分化初反应蛋白基因 88 (myeloid differentiation primary response gene 88, Myd88) 的负调控作用, 促进心肌肥厚的进程^[21]。另一项研究通过对 22 例心力衰竭患者和 5 名正常人心肌组织进行高通量测序后发现, 在 84 793 个转录本中, 13 019 个转录本来自于蛋白编码基因, 2 085 个转录本为 lncRNA, 1 064 个转录本是假基因。在这些 lncRNA 中, 48 个 lncRNA 在心力衰竭患者的心肌组织中表达发生了显著变化^[22], 说明 lncRNA 参与了心力衰竭的发展。

5 长链非编码核糖核酸与高血压及肺动脉高压

研究显示, lncRNA 参与高血压相关基因的调控, 这些高血压相关基因包括内收蛋白 (adducin, ADD3), 利尿肽 (natriuretic peptide A, NPPA), 三磷酸腺苷钠钾转运体 α 亚基 (ATPase Na⁺/K⁺ transporting subunit alpha 1, ATP1A1), 利

尿钠肽受体 2 (natriuretic peptide receptor 2, NPR2), 细胞色素 P450 家族 17 亚家族成员 1 (cytochrome P450 family 17 subfamily A member 1, CYP17A1), 乙酰辅酶 A 合成酶中链家族成员 3 (acyl-CoA synthetase medium-chain family member 3, ACSM3), 溶质运载蛋白家族 14 (solute carrier family 14, SLC14A2) 等^[22]。血管紧张素 II 可以促进动脉粥样硬化和高血压的发生。研究发现, 血管紧张素 II 可以调控 lncRNA 的功能, 用小 RNA 干扰技术敲除 lnc-Ang362 后可以减少血管平滑肌细胞的增殖^[23]。慢性血栓栓塞是引起严重肺动脉高压的病因之一。研究显示, 通过微阵列技术发现, 来自于慢性血栓栓塞性肺动脉高压患者肺动脉的内皮细胞和正常人的肺动脉内皮细胞中, 有 185 个 lncRNAs 表达发生显著变化, 进一步分析证实 464 个调节型的启动子样的 lncRNAs, 它们和临近的 mRNA 重叠。lncRNA NR-036693, NR-027783, NR-033766 及 NR-001284 的表达都发生了显著变化。通过差异基因的 GO 分析和信号通路富集分析发现, 这些 lncRNAs 都与内源性刺激引起的炎症反应相关^[24]。另有研究表明, 通过尾静脉将三七参注射到自发性高血压大鼠模型中, 发现三七参可以降低大鼠的收缩压并诱导一氧化氮合酶的生成。通过生物信息学方法的预测, 在自发性高血压大鼠和正常对照的大鼠血管内皮平滑肌细胞中, 运用 lncRNA AK094457 敲除法观察发现, lncRNA AK094457 可以促进一氧化氮合酶的表达和一氧化氮的浓度, 说明三七参可以通过 lncRNA AK094457 诱导一氧化氮合酶的生成而起到降血压的作用^[22]。

6 器械干预心脏疾病后长链非编码核糖核酸的变化

为研究左心室辅助器械装置对心力衰竭患者 lncRNA 表达变化的影响, 有研究选取 8 例非缺血性和缺血性的心力衰竭患者, 在安装左心室辅助器械之前和之后取左心室心肌组织, 运用高通量测序法, 对该组织进行测序。结果发现, 有 37% 的 mRNA 和 71% 的 lncRNA 都是来自于线粒体。和非缺血的左心室组织相比, 缺血性心力衰竭和非缺血性心力衰竭分别有 679 个和 570 个 lncRNA 具有差异性表达, 大约 10% 的上述 lncRNA 可以通过安装左心室辅助器械而恢复正常范围。另外 lncRNA 的表达谱差异也可以用于鉴别缺血性与非缺血性心力衰竭^[22]。

7 小结和展望

由于科学技术的极速发展, 高通量测序为 lncRNA 的研究提供了良好的平台。由于 lncRNA 在心血管疾病发生发展中发挥重要作用, 大量关于心脏疾病与 lncRNA 的研究会接踵而至, 它将为心脏疾病机制的阐述、诊断、治疗和预后评估提供有利的依据和重要的手段。

参考文献

- Anderson DM, Anderson KM, Chang CL, et al. A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance. *Cell*, 2015, 160: 595-606.
- Batista PJ, Chang HY. Long noncoding RNAs: Cellular address codes in development and disease. *Cell*, 2013, 152: 1298-1307.
- Djebali S, Davis CA, Merkel A, et al. Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 2012, 489: 101-108.
- Cabili MN, Trapnell C, Goff L, et al. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes Dev*, 2011, 25: 1915-1927.
- Derrien T, Johnson R, Bussotti G, et al. The gencode v7 catalog

- of human long noncoding RNAs: Analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Res*, 2012, 22: 1775–1789.
- [6] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell*, 2011, 43: 904–914.
- [7] Dey BK, Mueller AC, Dutta A. Long non-coding RNAs as emerging regulators of differentiation, development, and disease. *Transcription*, 2014, 5: e944014.
- [8] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等. 中国心血管病报告 2013 概要. *中国循环杂志*, 2014, 29: 487–491.
- [9] Wang K, Long B, Zhou LY, et al. Carl lncRNA inhibits anoxia-induced mitochondrial fission and apoptosis in cardiomyocytes by impairing mir-539-dependent PHB2 downregulation. *Nat Commun*, 2014, 5: 3596.
- [10] Ounzain S, Micheletti R, Beckmann T, et al. Genome-wide profiling of the cardiac transcriptome after myocardial infarction identifies novel heart-specific long non-coding RNAs. *Eur Heart J*, 2015, 36: 353–368.
- [11] Wang J, Chen L, Li H, et al. Clopidogrel reduces apoptosis and promotes proliferation of human vascular endothelial cells induced by palmitic acid via suppression of the long non-coding RNA HIF1A-AS1 in vitro. *Mol Cell Biochem*, 2015, 404: 203–210.
- [12] Wang K, Liu CY, Zhou LY, et al. Apf lncrna regulates autophagy and myocardial infarction by targeting miR-188-3p. *Nat Commun*, 2015, 6: 6779.
- [13] Whelan RS, Kaplinskiy V, Kitsis RN. Cell death in the pathogenesis of heart disease: Mechanisms and significance. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 19–44.
- [14] Anversa P, Kajstura J. Myocyte cell death in the diseased heart. *Circ Res*, 1998, 82: 1231–1233.
- [15] Wang JX, Zhang XJ, Li Q, et al. MicroRNA-103/107 regulate programmed necrosis and myocardial ischemia/reperfusion injury through targeting FADD. *Circ Res*, 2015, 117: 352–363.
- [16] Lee EW, Kim JH, Ahn YH, et al. Ubiquitination and degradation of the FADD adaptor protein regulate death receptor-mediated apoptosis and necroptosis. *Nat Commun*, 2012, 3: 978.
- [17] Orogo AM, Gustafsson AB. Cell death in the myocardium: My heart won't go on. *IUBMB Life*, 2013, 65: 651–656.
- [18] Papait R, Kunderfranco P, Stirparo GG, et al. Long noncoding RNA: a new player of heart failure?. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6: 876–883.
- [19] 刘宁, 刘昊, 王志军, 等. 脑钠肽与内皮素-1 对心力衰竭患者心血管事件的预测价值. *中国循环杂志*, 2016, 8: 55–58.
- [20] Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res*, 2014, 114: 1569–1575.
- [21] Wang K, Liu F, Zhou LY, et al. The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489. *Circ Res*, 2014, 114: 1377–1388.
- [22] Annilo T, Kepp K, Laan M. Natural antisense transcript of natriuretic peptide precursor a (NPPA): Structural organization and modulation of nppa expression. *BMC Mol Biol*, 2009, 10: 81.
- [23] Leung A, Trac C, Jin W, et al. Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 2013, 113: 266–278.
- [24] Gu S, Li G, Zhang X, et al. Aberrant expression of long noncoding RNAs in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Mol Med Rep*, 2015, 11: 2631–2643.

(收稿日期:2016-05-21)

(编辑: 漆利萍)

综述

携带多形性 CYP2C19 基因与氯吡格雷抵抗研究进展

滕振青综述, 高方明审校

摘要 氯吡格雷是治疗急性冠状动脉综合征(ACS)、预防经皮冠状动脉介入治疗(PCI)后支架内血栓和再发缺血事件的基石药物。细胞色素 CYP2C19 基因对氯吡格雷疗效起一定作用, 携带 CYP2C19*2 和 *3 功能缺失等位基因, 可以解释药物功能减低现象。但不同种族患者的氯吡格雷抵抗(CR)现象, 并非都由细胞色素基因造成, 其他基因变异型也可能与其药物抵抗相关。针对不同种族 ACS 患者, 有必要进一步研究基因型检测联合血小板功能监测, 共同指导临床应用抗血小板药物种类和剂量。

关键词 综述; 血小板聚集抑制剂; 基因

氯吡格雷已成为急性冠状动脉综合征(ACS)患者抗血小板聚集的基石药物^[1-3]。因个体差异造成经皮冠状动脉介入治疗(PCI)患者术后应用氯吡格雷疗效不同^[4, 5], 氯吡格雷不耐受者称为“氯吡格雷抵抗(CR)”, 造成支架内血栓、再发急性心肌梗死、猝死等缺血事件。ACS 患者药物低反应人群中, 大部分携带突变细胞色素 CYP2C19 基因^[6], 该基因可编码体内影响氯吡格雷代谢的酶, 可能造成氯吡格雷临床低反应。尽管美国食品药品监督管理局(FDA)认为携带该基因患者药物低

反应原因很多, 可能与年龄、性别、肥胖、现存疾病或药物和药物之间影响相关, 但临床上 ACS 患者(尤其是 PCI 后)CR 或者低反应具体机制仍不清楚。本文就近几年国内外对于细胞色素 CYP2C19 基因多形性与不同种族 CR 关系研究, 进行简要综述。

1 CR 定义及机制

体内血小板对氯吡格雷缺乏反应或反应性降低, 称为 CR 或氯吡格雷低反应。产生机制可能是细胞色素 CYP2C12

作者单位: 830001 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学(滕振青); 新疆维吾尔自治区人民医院 心内科(高方明)

作者简介: 滕振青 硕士研究生 主要从事心内科方面研究 Email: tengzhenqing234@sina.com 通讯作者: 高方明 Email: gaofangming@sohu.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 01-0101-03 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.01.025