

长链非编码 RNA 与肺动脉高压

汪汉 刘英杰 王燕凤

(成都市第三人民医院心内科 成都市心血管病研究所, 四川 成都 610031)

【摘要】肺动脉高压是一类无特效治疗药物的灾难性疾病。长链非编码 RNA 与 miRNA 结合形成竞争性内源 RNA 对肺动脉高压进行调节是目前常见的模式, 但截至目前, 尚无长链非编码 RNA 诊断、治疗肺动脉高压可信赖的研究, 下一步研究应继续聚焦于长链非编码 RNA 对肺动脉高压发生发展的影响。

【关键词】长链非编码 RNA; 肺动脉高压; 竞争性内源 RNA

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.06.015

Long Non-coding RNA in Pulmonary Arterial Hypertension

WANG Han, LIU Yingjie, WANG Yanfeng

(The Department of Cardiology, The Third People's Hospital of Chengdu, Cardiovascular Disease Research Institute, Chengdu 610031, Sichuan, China)

【Abstract】Pulmonary arterial hypertension is a devastating disease without effective drugs available for its treatment. Long non-coding RNA (lncRNA) often combines with miRNA to form competitive endogenous RNA to regulate pulmonary hypertension, but so far, there is no reliable evidence on diagnosis and treatment of lncRNA for pulmonary hypertension, and the next research should continue to focus on the impact of lncRNA on the occurrence and development of pulmonary hypertension.

【Key words】Long non-coding RNA; Pulmonary arterial hypertension; Connective tissue disease

人类绝大部分常染色体基因组核苷酸均被转录, 约 80% 的基因均有相关功能, 其中有约 2% 的 DNA 编码蛋白, 其余 98% 左右则被转录为非编码 RNA, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是其中一种重要的非编码 RNA, 与 mRNA 功能类似。与已知的 miRNA 不同, lncRNA 功能更复杂, 但在心血管领域的研究才刚刚起步^[1], 特别是在肺动脉高压 (pulmonary artery hypertension, PAH) 这一不易被早期发现、治疗效果不佳、预后较差的疾病, lncRNA 的研究较少。部分研究^[2]显示 lncRNA 在肺血管系统中发挥了关键性的作用, 期待 lncRNA 将来可作为 PAH 的诊断指标及治疗靶标, 现综述近年来 lncRNA 与 PAH 的实验及临床研究。

1 lncRNA 的生物学特性

lncRNA 是指转录本 >200 nt 的不能编码蛋白

的 RNA, 定位于细胞核及细胞浆。与可编码蛋白的 RNA 相比, lncRNA 分子内部含有较保守的二级结构和序列, 可被选择性剪切或聚腺苷酸化, 因此, lncRNA 可能具有很重要的生物学功能。从基因角度来看, lncRNA 可分为正义 lncRNA、反义 lncRNA、双向 lncRNA、基因间 lncRNA 和基因内 lncRNA。

一般认为, lncRNA 数量多、类型多以及作用机制多, 这种“三多”现象决定了 lncRNA 作用的多种性及未知性, 因此备受研究者关注。目前的研究结果发现 lncRNA 可通过表观遗传学调控、转录调控、转录后调控以及调节蛋白质代谢/凋亡等途径参与人类疾病, 在部分心血管疾病中, lncRNA 甚至可作为预期的诊断分子以及治疗靶点^[3]。

2 lncRNA 与 PAH

PAH 是一类致残率和致死率相当高的肺血管疾

病,近 20 年来,人类对 PAH 的认识和对策不断提高,然而,PAH 的具体发病机制、诊断和治疗仍存在困境,PAH 的生存率仍不容乐观。LncRNA 作为一类新的生物调节物在 PAH 中的研究才刚刚起步,实验性和临床的研究都很少,其具体的作用机制、临床作用远未得到阐明。大部分研究^[4-17]主要聚焦于 lncRNA 与肺

血管平滑肌细胞的增殖、迁移以及凋亡领域,后者表达失衡可导致肺血管阻力增加,肺动脉压力升高,进而形成 PAH。因此,关注 lncRNA 与 PAH,可阐释 PAH 发生发展的其他机制,也为 PAH 的诊断提供其他可能,甚至获得 PAH 治疗新的靶点。为此,笔者总结了 lncRNA 对 PAH 的调控作用,见表 1。

表 1 lncRNA 对 PAH 的调控作用

| | lncRNA | 研究对象 | 具体作用 | 可能的位点 |
|------|--------------------------------|---------------------|-------------------|---------------------------|
| 正向作用 | NONRATT015587.2 ^[4] | 野百合碱诱导的模型鼠 | 促进肺血管平滑肌增殖,抑制凋亡 | P53/Hif1 α |
| | H19 ^[5] | 野百合碱诱导的模型鼠 | 促进肺血管平滑肌增殖 | PDGF-BB-H19-let-7b-AT1R |
| | PAXIP1 ^[6] | 人特发性 PAH | 促进肺血管平滑肌增殖、迁移 | 转录组 |
| | UCA1 ^[7] | 人低氧肺动脉平滑肌细胞 | 促进肺血管平滑肌增殖,抑制凋亡 | ING5/hnRNP I |
| | Hoxaas3 ^[8] | 肺动脉平滑肌细胞 | 促进肺血管平滑肌增殖、调节细胞周期 | Homeobox a3 |
| | LnRPT ^[9] | 低氧肺动脉平滑肌细胞 | 促进肺血管平滑肌增殖 | PDGF-BB-LnRPT-Notch/Jag 1 |
| | HypERlnc ^[10] | 人特发性 PAH | 促进肺血管平滑肌增殖、分化 | 细胞周期 |
| | NRON ^[11] | 低氧肺动脉平滑肌细胞 | 调节血管平滑肌增殖 | KPNB1、CSE1L 以及 CUL4B 蛋白 |
| | Ang362 ^[12] | 低氧肺动脉平滑肌细胞 | 调节血管平滑肌增殖 | miR-221 和 miR-222 |
| | NONHSAT073641 ^[13] | 人内皮细胞 | 促血管内皮细胞再生 | 协同 PAFAH1B1 |
| 逆向作用 | CASC2 ^[14] | 低氧诱导的模型鼠 | 抑制肺血管平滑肌增殖、迁移 | α -SMA |
| | Meg3 ^[15] | 人低氧肺动脉平滑肌细胞 | 抑制肺血管平滑肌增殖、迁移 | Meg3-miR 21-PTEN |
| | Meg3 ^[16] | PAH 患者远端肺血管 | 抑制肺血管平滑肌增殖、迁移 | 细胞周期 |
| | TCONS_00034812 ^[17] | 低氧诱导的模型鼠、低氧肺动脉平滑肌细胞 | 抑制肺血管平滑肌增殖、促进凋亡 | MAPK/Stox 1 |

2.1 lncRNA 在 PAH 的差异性表达及定位

根据国际公认规则,PAH 分为以下几类:Ⅰ动脉性 PAH,Ⅱ左心疾病相关性 PAH,Ⅲ肺部疾病/缺氧性 PAH,Ⅳ慢性血栓栓塞性肺疾病,Ⅴ多种不明机制的 PAH。

从现有资料可看到:研究对象的不同,lncRNA 的表达可能不同。笔者把研究对象分为两类:不同类型的 PAH 以及不同类型的受试体(细胞、模型组织、人体组织或血液)。对于前者,特发性 PAH 的 lncRNA 差异性表达数量较多,可至数千^[18],而慢性闭塞性 PAH 数量为数个^[19];对于后者,笔者发现由野百合碱诱导的模型鼠中存在 24 个差异表达的 lncRNA^[4],同样,野百合碱诱导的模型鼠再经炎症诱发急性右心衰竭则存在 169 个差异表达的 lncRNA^[20],而由低氧诱导的模型鼠中则存在 362 个差异表达的 lncRNA^[21]。这些数据体现的是同种生物体表达 lncRNA 的差异性,这在以后选择实验对象中必须注意。

在所有对 lncRNA 与 PAH 关系的研究中,lncRNA 可存在于组织、细胞以及人体血液之中,然而,也存在一些例外,Schlosser 研究团队^[22]多次纯化 RNA、重

复试验,却发现在 PAH 人群中循环 lncRNA 一直难以检测或处于极低量水平,类似的现象也发现在冠心病以及脓毒症休克人群,具体原因未知。

2.2 lncRNA 对 PAH 的意义

lncRNA 的研究主要集中于 lncRNA 在 PAH 发病的病因探讨,而诊断及治疗方面的研究较少,甚至缺如,以后的研究可能需进一步强化转化意识。

2.2.1 lncRNA 与 PAH 的病因学研究

从目前研究来看,lncRNA 在 PAH 中主要与具有相同 miRNA 反应元件的 miRNA 结合作为竞争性内源 RNA (ceRNA),然后通过形式复杂的 ceRNA 网络在疾病的发病和发展中起重要作用。

PAH 发病最关键的因素在于肺血管平滑肌细胞增殖、迁移。目前,关于 lncRNA 与 PAH 的研究也集中于此方面。例如,Sun 等^[4]发现 lncRNA NONRATT015587.2 可促进肺血管平滑肌增殖,其他被发现的 lncRNA 如 H19、PAXIP1、UCA1、Hoxaas3、LnRPT、HypERlnc 等也有类似作用^[5-10],在这些研究中,至少清晰可见两个网络^[5,9]: PDGF-BB-H19-let-7b-AT1R 和 PDGF-BB-LnRPT-Notch/Jag 1,其余的研究也推测了相应

的可能蛋白位点,但对于相应的miRNA却未进一步研究。对于肺血管平滑肌细胞周期/凋亡的调节存在如下lncRNA^[4,8,10]: NONRATT015587.2、Hoxaas3和HypERlnc, 研究者们认为以上lncRNA影响细胞周期/凋亡的主要途径是通过P53/Hif1 α 以及Homeobox a3得以实现。

部分 lncRNA 对于肺血管平滑肌细胞存在抑制作用,已发现的是^[14-17]: CASC2、MEG3 以及 TCONS_00034812。这三个基因在实验对象中表达水平较低,过度表达则可抑制肺血管平滑肌细胞增殖。其中 MEG3 属于人母系表达基因, Sun 等^[16]发现 MEG3 在 PAH 肺组织表达明显较低,敲除该基因可影响肺血管平滑肌细胞增殖及迁移,抑制 MEG3 调整细胞循环,使更多的细胞从 G0/G1 期进入 G2/M+S 期,此过程可能刺激 PCNA 以及 CyclinA 和 CyclinE 的表达(这些均与细胞增殖密切相关)。此外, p53 途径也与 MEG3 诱导的细胞增殖相关。另外的研究^[15]也发现了 MEG3 的其他作用通路,在低氧诱导的人肺血管平滑肌细胞中,抑制 MEG3 则可促进肺血管平滑肌细胞的增殖和迁移,该作用通过 miR-21/PTEN 途径得以实现。miR-21/PTEN 途径研究得较为广泛,最近,国内研究^[23]发现 miR-21 可通过负向调控 PTEN 从而活化 PI3K/Akt 信号通路促进肺血管平滑肌细胞的增殖迁移。

从现有的研究有几个可能的推导,例子之一^[11]是 lncRNA NRON 可与 KPNB1、CSE1L 以及 CUL4B 蛋白结合,然后抑制活化 T 细胞核因子,而后者是一种转录因子,可调节激活血管平滑肌的增殖;另外,与肾素-血管紧张素系统密切相关的 lncRNA Ang362 被发现与 miR-221 和 miR-222 相关^[12],后二者被认为与血管平滑肌增殖密切相关。

内皮细胞增生是 PAH 的另一个关键环节,目前至少已发现 lncRNA NONHSAT073641、MANTIS 与内皮细胞增生相关^[13,24],前者主要通过过表达协同 PAFH1B1 蛋白维持血管壁的稳定。

由此可见, lncRNA 是肺血管重塑的重要调节因子,然而,其具体作用仍然不明,鉴于 PAH 发生发展的重要途径与炎症、免疫相关,因此,从炎症及免疫角度探讨 lncRNA 与 miRNA 共同网络调节炎症分子非常重要^[2]。

2.2.2 lncRNA 与 PAH 的诊断及治疗研究

PAH 的早期诊断是一个难点, lncRNA 诊断 PAH 是一个有临床前景的课题,然而,遗憾的是尚无人群研究判定任何一种 lncRNA 对 PAH 的诊断意义。

关于 lncRNA 在 PAH 中的差异性研究可能提供一些思路。例如 Sun 等^[4]在野百合碱诱导的模型鼠中发现有大量 lncRNA 存在差异性表达,经过验证及生信分析,发现 NONRATT015587.2 可能是一个诊断 PAH 的候选指标。Cao 等^[20]在低氧诱导的模型鼠中发现 lncRNA TCONS_00052110、TCONS_00201718、TCONS_00094247 以及 TCONS_00296056 等在诊断 PAH 伴发急性右心衰竭时可能存在一定意义。在人群中进行的差异性研究进一步揭示了 lncRNA 的诊断意义,如 Han 等^[18]发现特发性 PAH 人群血液中有 2 511 个 lncRNA 存在差异表达,而在慢性闭塞性 PAH 中^[19],少量 lncRNA 有差异表达,其中, NR_036693、NR_027783、NR_033766 和 NR_001284 变化较为明显,推测可作为诊断 PAH 的可能指标。

PAH 药物治疗的三大基石代表是西地那非、波生坦以及一氧化氮。以上三类药物主要基于 PAH 发病中的三个典型分子途径: 前列环素-环磷酸鸟苷途径、内皮素途径以及一氧化氮-可溶性鸟苷酸环化酶-环磷酸鸟苷途径。寻找 lncRNA 靶点是目前亟待解决的问题,然而,由于 lncRNA 在 PAH 中的发病机制尚不完全清楚,该方面进展不多。有研究^[19]认为 NR_036693、NR_027783 两个 lncRNA 分别编码了自然杀伤细胞受体 C 型凝集素家族、乙酰转移酶家族,后两者与 PAH 息息相关,因此,未来的靶点应考虑这两个 lncRNA。

鉴于以上, lncRNA 诊断 PAH 仍非常不成熟,在不同的 PAH 类型中, lncRNA 差异表达数量相差较大,且目前尚无大样本的研究探讨个别 lncRNA 的诊断意义;另外,由于 lncRNA 参与 PAH 的机制尚不明确,针对 PAH 的 lncRNA 治疗靶点仍在推测之中,将来的研究希望能弥补以上缺憾。

参考文献

- [1] 付准,杨毅宁.长链非编码 RNA 与心血管疾病发展关系的研究进展[J].心血管病学进展,2018,39(2):275-278.
- [2] Zhang CY, Liu M, Wan JM, et al. Role of noncoding RNA in pulmonary arterial hypertension and potential drug therapeutic target[J]. *Curr Top Med Chem*, 2018, 18(12):975-986.
- [3] Martens L, Rühle F, Stoll M. lncRNA secondary structure in the cardiovascular system[J]. *Noncoding RNA Res*, 2017, 2(3-4):137-142.
- [4] Sun Z, Liu Y, Yu F. Long non-coding RNA and mRNA profile analysis of metformin to reverse the pulmonary hypertension vascular remodeling induced by monocrotaline[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 115:108933.
- [5] Su H, Xu X, Yan C, et al. lncRNA H19 promotes the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells through AT1R via sponging let-7b in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *Respir Res*, 2018, 19(1):254.

- [6] Jandl K, Thekkekara Puthenparampil H, Marsh LM, et al. Long non-coding RNAs influence the transcriptome in pulmonary arterial hypertension: the role of PAXIP1-AS1[J]. *J Pathol*, 2019, 247(3):357-370.
- [7] Zhu TT, Sun RL, Yin YL, et al. Long noncoding RNA UCA1 promotes the proliferation of hypoxic human pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Pflugers Arch*, 2019, 471(2):347-355.
- [8] Zhang H, Liu Y, Yan L, et al. Long noncoding RNA Hoxaas3 contributes to hypoxia-induced pulmonary artery smooth muscle cell proliferation[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(3):647-657.
- [9] Chen J, Guo J, Cui X, et al. The long noncoding RNA LNRPT is regulated by PDGF-BB and modulates the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58(2):181-193.
- [10] Bischoff FC, Werner A, John D, et al. Identification and functional characterization of hypoxia-induced endoplasmic reticulum stress regulating lncRNA (HyperInc) in pericytes[J]. *Circ Res*, 2017, 121(4):368-375.
- [11] Sharma S, Findlay GM, Bandukwala HS, et al. Dephosphorylation of the nuclear factor of activated T cells (NFAT) transcription factor is regulated by an RNA-protein scaffold complex[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(28):11381-11386.
- [12] Leung A, Trac C, Jin W, et al. Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 2013, 113(3): 266-278.
- [13] Josipovic I, Fork C, Preussner J, et al. PAFAH1B1 and the lncRNA NONHSAT073641 maintain an angiogenic phenotype in human endothelial cells[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2016, 218(1):13-27.
- [14] Gong J, Chen Z, Chen Y, et al. Long non-coding RNA CASC2 suppresses pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and phenotypic switch in hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Respir Res*, 2019, 20(1):53.
- [15] Zhu B, Gong Y, Yan G, et al. Down-regulation of lncRNA MEG3 promotes hypoxia-induced human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration via repressing PTEN by sponging miR-21[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(3):2125-2132.
- [16] Sun Z, Nie X, Sun S, et al. Long non-coding RNA MEG3 downregulation triggers human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration via the p53 signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(6):2569-2581.
- [17] Liu Y, Sun Z, Zhu J, et al. LncRNA-TCONS_00034812 in cell proliferation and apoptosis of pulmonary artery smooth muscle cells and its mechanism[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(6):4801-4814.
- [18] Han B, Bu P, Meng X, et al. Microarray profiling of long non-coding RNAs associated with idiopathic pulmonary arterial hypertension[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(6):2657-2666.
- [19] Gu S, Li G, Zhang X, et al. Aberrant expression of long noncoding RNAs in chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(4):2631-2643.
- [20] Cao Y, Yang Y, Wang L, et al. Analyses of long non-coding RNA and mRNA profiles in right ventricle myocardium of acute right heart failure in pulmonary arterial hypertension rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106:1108-1115.
- [21] Wang X, Yan C, Xu X, et al. Long noncoding RNA expression profiles of hypoxic pulmonary hypertension rat model[J]. *Gene*, 2016, 579(1):23-28.
- [22] Schlosser K, Hanson J, Villeneuve PJ, et al. Assessment of circulating lncRNAs under physiologic and pathologic conditions in humans reveals potential limitations as biomarkers[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:36596.
- [23] 金光军, 周冰之, 张建成. miR-21 降解 PTEN 影响香烟提取物诱导的 PSMCs 的增殖与迁移 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(1):47-51, 73.
- [24] Leisegang MS, Fork C, Josipovic I, et al. Long noncoding RNA MANTIS facilitates endothelial angiogenic function[J]. *Circulation*, 2017, 136(1):65-79.

收稿日期: 2019-06-14

投稿须知

本刊已开通网上投稿, 官方网站地址: <http://xxgbxzz.paperopen.com>

进入“作者投稿”, 在“作者投稿管理平台”中投稿。

近期刊发现一些网站冒用《心血管病学进展》名义征稿, 向《心血管病学进展》杂志投稿, 一定要登录《心血管病学进展》杂志的官方网站。

若有任何问题咨询, 咨询电话: 028-61318656, 18190934621 或 E-mail: xxgbxjzcd@aliyun.com

《心血管病学进展》编辑部