

- [17] Zhai C, Cheng J, Mujahid H, et al. Selective inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway regulates autophagy of macrophage and vulnerability of atherosclerotic plaque[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90563.
- [18] Kurdi A, de Meyer GR, Martinet W. Potential therapeutic effects of mTOR inhibition in atherosclerosis [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 82(5): 1267-1279.
- [19] Martinet W, de Loof H, de Meyer GR. mTOR inhibition: a promising strategy for stabilization of atherosclerotic plaques [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 233(2): 601-607.
- [20] Matsui Y, Takagi H, Qu X, et al. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and Beclin 1 in mediating autophagy[J]. *Circ Res*, 2007, 100(6): 914-922.
- [21] Ma S, Wang Y, Chen Y, et al. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(2): 271-276.
- [22] Fu S, Chen L, Wu Y, et al. Gastrodin pretreatment alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury through promoting autophagic flux[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(4): 2421-2428.
- [23] Li X, Hu X, Wang J, et al. Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR pathway contributes to the protection of hesperidin against myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(4): 1917-1924.
- [24] Oyabu J, Yamaguchi O, Hikoso S, et al. Autophagy-mediated degradation is necessary for regression of cardiac hypertrophy during ventricular unloading [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441(4): 787-792.
- [25] Li Z, Song Y, Liu L, et al. miR-199a impairs autophagy and induces cardiac hypertrophy through mTOR activation [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(7): 1205-1213.
- [26] Weng LQ, Zhang WB, Ye Y, et al. Aliskiren ameliorates pressure overload-induced heart hypertrophy and fibrosis in mice[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(8): 1005-1014.
- [27] Nakai A, Yamaguchi O, Takeda T, et al. The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress[J]. *Nat Med*, 2007, 13(5): 619-624.
- [28] Guo R, Zhang Y, Turdi S, et al. Adiponectin knockout accentuates high fat diet-induced obesity and cardiac dysfunction: role of autophagy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(8): 1136-1148.
- [29] Yao Q, Ke ZQ, Guo S, et al. Curcumin protects against diabetic cardiomyopathy by promoting autophagy and alleviating apoptosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 124: 26-34.
- [30] Zhang L, Ding WY, Wang ZH, et al. Early administration of trimetazidine attenuates diabetic cardiomyopathy in rats by alleviating fibrosis, reducing apoptosis and enhancing autophagy[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 109.
- [31] Shirakabe A, Ikeda Y, Sciarretta S, et al. Aging and autophagy in the heart[J]. *Circ Res*, 2016, 118(10): 1563-1576.
- [32] Ren J, Zhang Y. Targeting autophagy in aging and aging-related cardiovascular diseases[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39(12): 1064-1076.

收稿日期: 2019-07-16

假基因在心血管疾病中的进展

邱雪¹ 郑静²

(1. 广西医科大学第一临床医学院, 广西 南宁 530021; 2. 广西医科大学第一附属医院心内科 广西心脑血管疾病防治精准医学重点实验室培育基地 广西心脑血管疾病临床医学研究中心, 广西 南宁 530021)

【摘要】 心血管疾病是影响人类寿命的主要疾病, 近年来随着科学技术的发展, 对这一疾病的分子水平认识更为深入, 有研究表明假基因参与心血管疾病的发生发展。假基因是与亲本基因高度同源的非编码基因, 因无蛋白质编码功能, 曾被称为“垃圾基因”, 与亲本基因的高度同源性使两者难以鉴别。随着测序技术的不断发展, 假基因的鉴定技术逐渐成熟, 研究表明假基因与心血管疾病发生、发展密切相关。现通过综述假基因的定义、鉴定、功能及在心血管疾病的作用, 加深心血管疾病研究者在这一领域的认识。

【关键词】 心血管疾病; 假基因; 非编码基因

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.04.010

Role of Pseudogenes in Cardiovascular Diseases

QIU Xue¹, ZHENG Jing²

(1. *The First Clinical Medical School, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China*; 2. *Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Key Laboratory Base of Precision Medicine in Cardio-cerebrovascular Diseases Control and Prevention, Guangxi Clinical Research Center for Cardio-*

基金项目: 广西医科大学第一临床医学院大学生科技创新训练项目 (2019YFYA05)

通讯作者: 郑静, E-mail: 2003jing@aliyun.com

cerebrovascular Diseases, Nanning 530021, Guangxi, China)

【Abstract】 Cardiovascular disease is a major disease that affects human life span. In recent years, with the development of scientific research, the molecular level of this disease has been further understood, and some studies have shown that pseudogenes are involved. Pseudogenes are non-coding genes that are highly homologous with the parent genes. It has been called a “junk gene” because it has no protein-coding function, and its high homology with its parents makes it difficult to identify. With the continuous development of sequencing technology, the identification technology of pseudogenes has gradually become mature. Studies have shown that pseudogenes are closely related to the occurrence and development of cardiovascular diseases. This article reviews the definition, identification and function of pseudogenes and their role in cardiovascular disease to deepen the understanding of cardiovascular disease researchers in this field.

【Key words】 Cardiovascular disease; Pseudogenes; Non-coding genes

目前,中国心血管疾病的发病率不断上升^[1],死亡率居高不下,已成为威胁中国居民健康的主要病因。因此,加深心血管病发生发展的分子机制的研究尤为重要。假基因(pseudogene)最早于1977年由Jacq等^[2]三位科学家定义并使用。如今,假基因一般被认为是蛋白质编码基因的无义或移码突变产生的非功能性DNA序列,与相应的功能基因具有高度同源性,但无编码蛋白质的功能。随着测序技术的不断发展,假基因的鉴定技术逐渐成熟,更有研究表明假基因与心血管疾病密切相关,现就假基因的分类、鉴定和功能,与心血管疾病的关系做一综述。

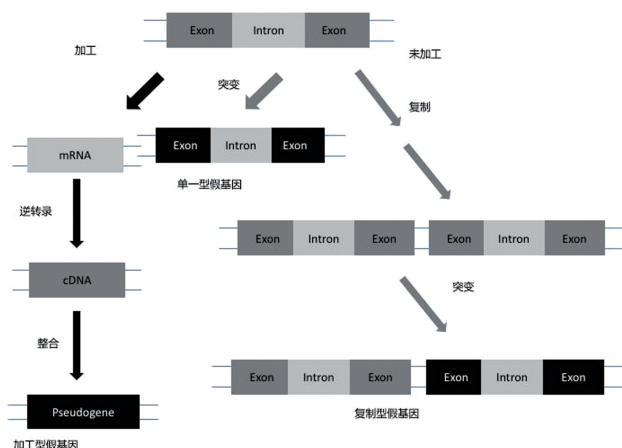
1 假基因定义及分类

假基因被认为是祖先功能基因的非功能性亲属,可能在进化过程中失去了功能^[3]。具有以下两种特征的核苷酸序列称为假基因:一是与功能基因的核苷酸序列具有高度相似性;二是不具有转录功能或转录但不能翻译成蛋白质。根据假基因形成是否由mRNA介导^[4],可将假基因分为加工假基因和未加工假基因(图1):(1)加工型假基因是由mRNA逆转录成cDNA后随机整合到基因组,由于插入位点不合适或序列发生突变而失去正常功能所形成的核苷酸序列。加工的假基因缺乏内含子和5'端启动子序列^[5]。(2)未加工型假基因是直接由DNA序列演化而来,具有内含子-外显子的结构和调控元件,又分为复制型假基因和单一型假基因。复制型假基因是基因组DNA串联复制或染色体不均等交换过程中基因编码区或调控区发生突变,导致复制后的基因失去正常功能而成为假基因^[6]。单一型假基因是原本具有功能的单一拷贝基因在编码或调控区发生自发突变,导致该基因无法转录和翻译而形成^[7]。与加工型假基因不同的是,复制型假基因有望保存其功能副产物的外显子-内含子结构,为假基因的溯源提供依据。而加工型假基因比功能性旁系同源物进化得更快,并且伴有随机突变、缺失和插入突变的遗传特征。已建立的假基因可传

递给下一代,并且可部分复制以产生第二假基因。

2 假基因的鉴定

随着计算机、网络和生物信息学技术,特别是测序技术的快速发展,众多物种的全基因组序列被发表,各研究领域的人员通过序列比对和全基因组转录结合蛋白质序列不断鉴定出假基因。利用RNA测序(RNA-seq)发现新序列,根据基因组、转录组和蛋白质组学信息,能准确评估转录组中存在的所有假基因种类及其相对丰度,是假基因鉴定和定量的金标准。全基因组范围内可使用PseudoPipe、PseudoFinder、RetroFinder和REGEXP等操作流程进行假基因鉴定。其中PseudoPipe可区分假基因的类型,RetroFinder主要用于加工假基因注释,PseudoFinder利用同源性匹配鉴定假基因^[8]。以PseudoPipe为例,PseudoPipe是一种基于同源性搜索全面鉴定假基因的方法,先将待鉴定基因序列与蛋白质基因序列比对,去除已注释的编码基因序列和重复冗余序列,将同一方向得分最高的蛋白序列根据内含子大小特点进行合并,再通过同源性、内含子-外显子结构、提前终止子或移码突变等假基因特征判断序列中造成编码缺陷的突变类型和位置,进而鉴定得到假基因。



注:Exon:外显子;Intron:内含子;cDNA:与mRNA链互补的单链DNA。

图1 假基因的分类

上述鉴定方法虽然依赖于不同的流程,但都需要物种的基因组、转录组以及蛋白组信息,这些流程对于已知生物表达序列标签(expressed sequence tags, EST)及蛋白信息的物种很有效,但对非模式生物的假基因鉴定比较困难。Molineris 等^[9]提出的鉴定加工假基因方法 REGEXP(RETrotransposed Gene EXPlorer),只需 DNA 序列,不依赖 mRNA、EST 或蛋白信息,就可以对转录组注释缺乏的物种的假基因进行鉴定。除了针对生物体内普遍假基因鉴定的方法外, Schwartz 等^[10]指出了一种新的鉴定无功能且无配对祖先基因的单一假基因的方法。随着各种技术的发展,假基因的发现与鉴别越来越完善。

3 假基因功能研究

假基因不能转录翻译为蛋白质,因此被认为是生物体中无功能的“死亡基因”或“垃圾基因”。假基因功能研究由最初的发现鉴定单个假基因,发展为对假基因调控亲本基因的调控方式及机理进行研究。假基因主要是通过其转录物对基因进行调控:(1)假基因反义链,假基因可以转录成为亲本基因反义链 RNA,反义 RNA 与亲本基因的转录本形成 RNA 双链或互补配对,继而影响后者在细胞中的表达,从而抑制其功能^[11];(2)内源性小干扰 RNA,假基因转录本和亲本基因转录本杂合成的双链 RNA,或有重复序列的假基因转录本由核糖核酸内切酶剪切而成,这些小干扰 RNA 通过 RNA 干扰机制来调节亲本基因的表达^[12];(3)通过 ceRNA 机制影响 miRNA 假基因,与 miRNA 竞争与靶基因的结合,进而调控靶基因的表达^[13]。另外,有些假基因还可以编码短肽和蛋白质,从某种层面说明假基因最早的定义并不确切,这些假基因通过祖基因演变的功能基因 mRNA 结合蛋白来调控 RNA 的表达或蛋白的翻译^[14-15]。随着对假基因的深入了解,发现它在生物体内发挥重要功能。

4 假基因与心血管疾病

4.1 假基因与动脉粥样硬化

Kim 等^[16]通过分析辛伐他汀类药物处理后全转录组数据发现,ZNF542P 假基因与他汀类药物诱导的细胞内胆固醇酯变化最相关,辛伐他汀类药物处理后的人肝癌细胞系中,敲低 ZNF542P 假基因会增加细胞内胆固醇酯水平,表明了 ZNF542P 在药物反应中的作用及作为药物反应变异促成因素的潜在重要性。Montasser 等^[17]通过对 1 102 例阿米什人数组的关联

分析,发现位于 5 号染色体上的假基因 APOOP1 的表达增加了低密度脂蛋白胆固醇的水平,促进血管斑块的形成,这可能是一种新的脂质机制。

血清淀粉样白蛋白 A (serum amyloid A, SAA) 与超敏 C 反应蛋白都是急性炎症的敏感指标,与动脉粥样硬化有关, SAA 有三个转录本 SAA1/SAA2/SAA3, 其中 SAA3 是人类的假基因,在小鼠发生急性炎症反应时表达,动物模型表明 SAA3 的过度表达可促进动脉粥样硬化的发展^[18-19]。

4.2 假基因与特发性肺动脉高压

Firth 等^[20]通过聚合酶链式反应检测发现,与对照组相比,特发性肺动脉高压(idiopathic pulmonary arterial hypertension, IPAH)患者肺动脉平滑肌细胞(pulmonary arterial smooth muscle cells, PASMCs)中 Oct-4 假基因 mRNA 水平显著降低,假基因 Oct-4-PSG1 和 Oct-4-PSG5 在 IPAH-PASMC 中表达量显著下降。然而在正常 PASMC 中几乎未检测到 Oct-4 基因表达,但在 IPAH-PASMC 中表达显著增加,这一结果支持 Oct-4 基因的特异性表达,Oct-4A 和/或 B 同种型的上调,提示 Oct-4 假基因可能参与 Oct-4 基因的调控,进而在与 IPAH 发病机制相关血管异常的发生发展中发挥重要作用^[21]。

4.3 假基因与心力衰竭

di Salvo 等^[22]通过 RNA 测序的方法,研究了 22 个需移植的心力衰竭右心室组织和 5 个未使用的供体心脏右心室组织,分别检测出了 1 064 和 793 个转录的假基因,有 27 个假基因表达差异显著,其中包括 14 个加工假基因和 10 个未加工假基因,2 个单一假基因和 1 个未知类型的假基因。一般来说,亲本编码基因的表达量比相对应的假基因表达更丰富,但 FBXO43 假基因的表达量远比亲本基因丰富。FBXO43 假基因产生的内源性 siRNAs 不会靶向影响 FBXO43 转录本,但可能靶向 FBXO43 相关转录本,包括 MAPK1、MDM2、OSMR 和 IRAK3 转录本。另外,NMRAL1 是一种氧化还原转录调控因子^[23],降低 NMRAL1 表达水平可增加 NO 的产生并降低细胞活力。与未使用的供体右心室相比,心力衰竭的右心室中 NMRAL1 假基因的表达量显著下降,NMRAL1 亲本基因的表达量却没有显著差异,也说明了 NMRAL1 假基因参与了右心衰竭过程,这些研究结果可为研究者提供可选择的差异表达的假基因,用于人类心力衰竭机制的研究。

4.4 假基因与其他心血管疾病

越来越多的证据表明,人类 Y 染色体男性特异性区域(the male-specific region, MSY)与男性患者心血管疾病的风险相关,MSY 单核苷酸多态性与血压、低密度脂蛋白胆固醇和心肌梗死等相关^[24]。Bloomer 等^[25]研究发现 Y 染色体单倍群 I 的男性患冠心病的风险与假基因 PRKY 下调有关,但与传统的心血管危险因素如体重指数、血脂、血压和 C 反应蛋白等无关。Williams-Beuren 综合征(WBS)是由于 7q11.23 邻近基因杂合性丢失所致的部分单体性综合征,临床表型包括心血管疾病等。研究表明 NCF1 基因拷贝数变异产生 NCF1 假基因与降低 WBS 患者高血压的发病率显著相关,机制可能是减少血管紧张素和氧化应激^[25],因此 NCF1 拷贝数变异是预防 WBS 高血压的保护因素。

5 总结与展望

随着测序技术的不断发展和应用,越来越多的假基因被发现并研究。假基因可调控基因表达,并且在心血管疾病的发生发展中发挥重要作用。假基因的表达可能成为心血管疾病诊断的标志物和治疗的新靶点,为诊断和治疗提供新的思路,也可从基因水平预测心血管疾病的发生率。尽管关于假基因的报道已很多,但心血管领域处于起步阶段,因此有待进一步研究,揭示假基因在心血管疾病中作用的具体机制,为临床工作提供新思路。

参考文献

- [1] 霍勇,李小鹰. 深化心血管疾病预防理念迎接疾病拐点早日到来[J]. 中华心血管病杂志,2018,46(1):3-6.
- [2] Jacq C, Miller JR, Brownlee GG. A pseudogene structure in 5S DNA of *Xenopus laevis*[J]. Cell, 1977, 12(1):109-120.
- [3] Balakirev ES, Ayala FJ. Pseudogenes: are they "junk" or functional DNA? [J]. Annu Rev Genet, 2003, 37:123-151.
- [4] Xiao J, Sekhwal MK, Li P, et al. Pseudogenes and their genome-wide prediction in plants[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12):1991.
- [5] Maranda V, Sunstrum FG, Drouin G. Both male and female gamete generating cells produce processed pseudogenes in the human genome[J]. Gene, 2019, 684:70-75.
- [6] Camiolo S, Porceddu A. Identification of pseudogenes in brachypodium distachyon chromosomes[J]. Methods Mol Biol, 2018, 1667:149-171.
- [7] Zhang ZD, Frankish A, Hunt T, et al. Identification and analysis of unitary pseudogenes; historic and contemporary gene losses in humans and other primates [J]. Genome Biol, 2010, 11(3):R26.
- [8] 汤静思,杨明耀,李英. 假基因的功能及其在癌症疾病中的重要作用[J]. 遗传, 2015, 37(1):8-16.
- [9] Molineris I, Sales G, Bianchi F, et al. A new approach for the identification of processed pseudogenes[J]. J Comput Biol, 2010, 17(5):755-765.
- [10] Schwartz S, Kent WJ, Smit A, et al. Human-mouse alignments with BLASTZ [J]. Genome Res, 2003, 13(1):103-107.
- [11] Hirotsune S, Yoshida N, Chen A, et al. An expressed pseudogene regulates the messenger-RNA stability of its homologous coding gene[J]. Nature, 2003, 423(6935):91-96.
- [12] Tam OH, Aravin AA, Stein P, et al. Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes [J]. Nature, 2008, 453(7194):534-538.
- [13] Poliseno L, Salmena L, Zhang J, et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology [J]. Nature, 2010, 465(7301):1033-1038.
- [14] Betrán E, Wang W, Jin L, et al. Evolution of the phosphoglycerate mutase processed gene in human and chimpanzee revealing the origin of a new primate gene[J]. Mol Biol Evol, 2002, 19(5):654-663.
- [15] Porter KA, Duffy EB, Nyland P, et al. The CLRX. 1/NOD24(NLRP2P) pseudogene codes a functional negative regulator of NF- κ B, pyrin-only protein 4 [J]. Genes Immun, 2014, 15(6):392-403.
- [16] Kim K, Theusch E, Kuang YL, et al. ZNF542P is a pseudogene associated with LDL response to simvastatin treatment[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):12443.
- [17] Montasser ME, O'Hare EA, Wang X, et al. An APOO pseudogene on chromosome 5q is associated with low-density lipoprotein cholesterol levels [J]. Circulation, 2018, 138(13):1343-1355.
- [18] Johnson BD, Kip KE, Marroquin OC, et al. Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women; the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE)[J]. Circulation, 2004, 109(6):726-732.
- [19] Thompson JC, Wilson PG, Shridas P, et al. Serum amyloid A3 is pro-atherogenic [J]. Atherosclerosis, 2018, 268:32-35.
- [20] Firth AL, Yao W, Remillard CV, et al. Upregulation of Oct-4 isoforms in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 298(4):L548-L557.
- [21] Suo G, Han J, Wang X, et al. Oct4 pseudogenes are transcribed in cancers [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 337(4):1047-1051.
- [22] di Salvo TG, Guo Y, Su YR, et al. Right ventricular long noncoding RNA expression in human heart failure [J]. Pulm Circ, 2015, 5(1):135-161.
- [23] Garcandia A, Suarez T. The NMRA/NMRALI homologue PadA modulates the expression of extracellular cAMP relay genes during aggregation in Dictyostelium discoideum [J]. Dev Biol, 2013, 381(2):411-422.
- [24] Charchar FJ, Bloomer LD, Barnes TA, et al. Inheritance of coronary artery disease in men; an analysis of the role of the Y chromosome [J]. Lancet, 2012, 379(9819):915-922.
- [25] Bloomer LD, Nelson CP, Eales J, et al. Male-specific region of the Y chromosome and cardiovascular risk; phylogenetic analysis and gene expression studies [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(7):1722-1727.

收稿日期:2019-08-27