

· 综述 ·

长非编码 RNA 在心脏中的研究进展

刘艳红 鲁富鸣 张秋芳

随着人类基因组计划的完成和新的基因测序技术的发展,发现在人类全基因组序列中不足 2% 的基因能编码蛋白,而其余绝大部分基因序列也被普遍转录为非编码蛋白 RNA (noncoding RNA, ncRNA), 其中长非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 是指长度 > 200 个核苷酸、缺少特异完整的开放阅读框、无蛋白质编码功能的 RNA。但近年来研究发现,其在 DNA 甲基化,组蛋白修饰, RNA 干扰、染色体重构方面具有重要的作用,并参与心脏疾病的发生与发展,本文就其在心脏功能维持及其与心脏的疾病的关系方面进行综述。

一、lncRNA 的生物学特性及来源

lncRNA 是一组内源性、长度 > 200 个核苷酸、缺少特异完整的开放阅读框和无蛋白编码功能的 RNA,多数由 RNA 聚合酶 II 转录生成(非编码 RNA Alu 和 B2 由聚合酶 III 转录)^[1]。依据全基因组高通量芯片以及 cDNA 文库高通量测序, lncRNA 通常分为 5 类:即正义(sense)、反义(anti-sense)、双向(bidirectional)、基因内(intronic)及基因间(in-tergenic) lncRNA^[2]。与编码蛋白质的基因相比:(1) lncRNA 序列保守性较差,其表达具有组织和时空特异性,可通过多种途径、在多个水平调节基因的表达,仅在 RNA 的二级结构和启动子区有进化保守性。(2) 其具有较长的核苷酸链,这可以形成复杂的空间结构,与蛋白质因子相互作用;也可提供较大的空间位置同时与多个分子结合,共同发挥生物学功能^[3]。

高通量基因测序技术的发展使大量 lncRNA 被发现,目前认为 lncRNA 主要来源于下列途径:(1) 编码蛋白的基因结构在多种因素作用下中断而形成 lncRNA;(2) 染色质重组的过程中,两个分开的区域(两个未转录的基因与另一个独立的基因)紧靠一起而产生的 lncRNA;(3) 由非编码基因复制过程中的反移位产生;(4) 由小非编码 RNA 中的某段序列多次复制产生邻近的非编码 RNA;(5) 转录因子中插入一个转座成分而产生有功能的非编码 RNA。尽管众多的 lncRNA 没有共同的起源,都无编码蛋白质的功能,但研究表明它们在基因表达的调控方面起着相似的作用^[4-5]。

二、lncRNAs 与心脏发生及心脏疾病的关系

近年来越来越多的研究表明, lncRNAs 与心脏的功能的维持紧密相关,还参与了心脏疾病的发生与发展,虽然现在知之甚少,但随着研究的深入,将来有可能作为心脏疾病的治疗新

靶点。

1. lncRNA 在多能性和心肌细胞分化中的作用: lncRNA 在心肌细胞发育期间可促进发育转变和维持其发育状态。lncRNA 是胚胎干细胞基因调控网络中不可或缺的组成部分,改变它们的表达能干扰胚胎干细胞的多能性和特异性分化。有研究发现在小鼠胚胎干细胞分化过程中有 945ncRNA 表达,其中 174 种(如 Dlx1、Dlx4、Gata6、Ecsit 等)与多能性或特异分化相关。且 lncRNA 的表达常与多能性标记物紧紧联系在一起,重要转录因子如 Nanog 和 Oct4 可调节 lncRNA 的表达^[6-7]。

有学者研究发现 lncRNAs 对心脏发育非常重要,用离体实验证实心脏特异性需要一种的 lncRNA (AK143260),这种 lncRNA 的缺失会导致胚胎干细胞在分化过程中搏动心肌细胞减少,不能激活基因特异的关键的转录因子和肌原纤维装配成分。MesP1 是一个胚胎发育中能从最早的心脏细胞群最终发育成心脏所有类型细胞的关键转录因子。MesP1 失活可导致形成心脏二分叉(cardia bifida),无 MesP1 的胚胎,还可致心脏中胚层迁移缺陷和腹侧不能融合^[8-9],而 MesP11 的超表达可以弥补这些缺陷。这些结果提示, lncRNA 是中胚层发育为到多能的心肌祖细胞所必需的^[7,10]。

2. lncRNA 在心肌收缩中的作用:反转录与调节心脏功能基因密切相关,如:心肌肌钙蛋白 I(cTNI),肌球蛋白重链(MHCs)和轻链的基因。cTNI 是成熟的心肌细胞所独有的。cTNI 减少常出现在心脏机械特性损伤的疾病中。在人和大鼠中已发现存在多种多聚腺苷酸 cTNI 天然反义转录物,而且物种不同,大小不一,且能形成正义与反义的 RNA 双联体。从出生到成年, cTNI RNA 的反义/正义的比率不断变化,这表明了反义 RNA 在 cTNI 在表达或翻译起调节作用^[11]。

α -MHC 和 β -MHC 的比例是决定心肌收缩和能量流动的重要因素,高 α -MHC 增强心肌收缩速度,而 β -MHC 增多,收缩减慢,能量利用率高。如糖尿病、压力超负荷、缺氧等病理状态下, MHC 异构体形成比例异常。而这种 MHC 异构体形成比例变化由 α -MHC 和 β -MHC 的天然反义 RNA 调节,如 β -MHC 的天然反义 RNA 负性调节 β -MHC,而 α -MHC 增多^[12]。人类心脏有两种肌球蛋白轻链亚型,心室轻链肌球蛋白(VLC-1)和心房轻链肌球蛋白(ALC-1), ALC-1 在出生后不久从心室中消失,但在心房中仍有。但当心室压力超负荷期的患者, ALC-1 在心室的重新表达,在法洛四联症患者,尽管在心肌 ALC-1 mRNA 的表达很高, ALC-1 蛋白水平仍会很低, ALC-1 反义 RNA 在肥厚性心室中存在,反义和正义 ALC-1 比例增高导致 ALC-1 蛋白水平降低,这说明了天然反义 RNA 在心脏功能调节中起着重要的作用^[13]。

3. 反义长非编码 RNA 变异与冠状动脉粥样硬化的关系:

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.16.040

基金项目:湖北医药学院院基金(2010QDJ12);十堰市科技局项目(ZD2012003);湖北省教育厅重点项目(D20122402)

作者单位:442000 湖北十堰,湖北医药学院附属人民医院中药药理实验室

通讯作者:张秋芳, Email: zqf1112000@163.com

反义长非编码 RNA ANRIL, 也被称为 CDKN2B 反义 RNA (CDK2BAS) 和 P15 反义 RNA (P15AS), 包含了 126.3 kb 基因组区域, 重叠和反义到肿瘤抑制基因 CDKN2B (编码 P15) 的 5'末端^[14]。完整的 ANRIL 转录物(≈3.8 kb)由 20 个外显子组成, 它受到选择性剪切而产生不同变异物, 这也显示出组织特异性表达^[15]。

在平滑肌、血管内皮细胞、免疫细胞中检测到 ANRIL 转录物, 单倍体患者的外周血单核细胞和动脉粥样硬化斑块中 ANRIL 表达增高^[16], 其转录水平与动脉粥样硬化的严重性直接相关^[17]。ANRIL 象聚硫蛋白复合物的骨架, 通过 PRC1 和 PRC2 联系在一起。然而, ANRIL 的高表达可改变了许多基因的表达, 如核调节和染色质结构基因, 提示不同的反式调节效应远超过在 9p21 的顺式效应。在 9p21 基因中发现了 33 种增强子, 与冠状动脉疾病(在 rs10757278 的 G 等位基因)密切相关的 1 个 SNP 变异物定位于其中一个增强子上, 破坏了与 STAT1 转录因子的结合, 从而改变了 ANRIL 的表达^[18]。STAT1 是干扰素- γ 炎症通路上的效应器, 在内皮组织中 STAT1 与动脉粥样硬化的发病机理密切相关^[19]。

4. 长非编码 RNA 类固醇受体 RNA 激活子 (SRA) 和人类扩张性心肌病: SRA 是 1 种多功能基因, 可引起两类固醇受体 RNA 激活子蛋白 (SRAP) 进行编码和非编码转录^[20]。大约 20 种 SRA 非编码转录特性已确定在肝脏、心脏、骨骼肌具有高水平组织特异性表达。不同的 5'和 3'伸展, 点突变, 一个全内含子或内含子的一部分都可影响 SRA 转录子的编码或非编码的潜力^[21]。SRA RNA 有≤11 个结构元件, 功能如核受体信号的激活的配体; SRA 蛋白可结合自身的 RNA, 形成 SRA/SRA 编码转录子作为成肌分化 (MyoD) 的共效应器, 促进肌肉肌原分化^[22]。SRA 也存在于与人扩张性心肌病密切相关的染色体 5q31.2~3 的 600 kb 连锁不平衡模块中。在功能检测实验中, 敲除斑马鱼中的 SRA 基因, 心室腔出现明显收缩紊乱, 这说明 SRA 与人的扩张性心肌病的发生密切相关^[23]。

5. 长非编码 RNA 与心肌梗死的关系: 心肌梗死相关转录基因 Gomafu 或 RNCR2 是 9 kb 的长非编码 RNA, 主要在神经系统中表达, 也与视网膜细胞的发育密切相关^[24]。全基因组 SNP 分析确定心肌梗死相关转录基因 (rs2301523) 基因变异容易发生心肌梗死。一个 SNP (A11741G) 可使心肌梗死相关基因增加 1.3 倍^[25]。尽管这种基因变异的心肌梗死转录基因仍有 mRNA 样特性, 但其不能转移出核和与神经元的亚核区域相连。心肌梗死相关转录基因通过其并行 UACUAAC RNA 与拼接因子紧密结合^[26], 改变拼接因子的核浓度从而影响拼接作用, 但如何导致心肌梗死的易感性的机制还不太清楚。

三、展望

尽管通过研究发现 lncRNA 与心脏的发育及疾病的发生密切相关。但是由于 lncRNA 的结构和功能的多样性, 其在心脏中的作用的研究还处于初级阶段, 研究过程中有一系列困难: 首先由于 lncRNA 种类繁多, 确定哪些因子与心脏疾病密切相关或者哪个基因变异是心脏疾病发生的标志物是研究中面临的难题。其次 lncRNAs 的原始序列包含的信息少, 序列相差很大

的 lncRNA 可能具有相同的功能, 且发挥功能不是通过一个共同的途径, 不同机制间复杂的网络关系也使研究困难。因此, 进一步研究 lncRNAs 对心脏发育和疾病发生的作用, 有助于对心脏疾病的发生发展及诊断治疗、药物干预的新靶点的研究, 并且是心脏疾病研究的一个全新的突破口。lncRNAs 在心脏发育疾病领域有巨大的潜力, 在未来将是一个研究极其活跃的领域。

参 考 文 献

- [1] Brosnan CA, Voinnet O. The long and the short of noncoding RNAs. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21: 416-425.
- [2] Marques AC, Ponting CP. Catalogues of mammalian long noncoding RNAs: modest conservation and incompleteness. *Genome Biol*, 2009, 10: R124.
- [3] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*, 2009, 136: 629-641.
- [4] Kapranov P, Cheng J, Dike S, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science*, 2007, 316: 1484-1488.
- [5] Imanishi T, Itoh T, Suzuki Y, et al. Integrative annotation of 21 037 human genes validated by full-length cDNA clones. *PLoS Biol*, 2004, 2: e162.
- [6] Sheik Mohamed J, Gaughwin PM, Lim B, et al. Conserved long noncoding RNAs transcriptionally regulated by Oct4 and Nanog modulate pluripotency in mouse embryonic stem cells. *RNA*, 2010, 16: 324-337.
- [7] Liu Y, Schwartz RJ. Transient Mesp1 expression: A driver of cardiac cell fate determination. *Transcription*, 2013, 4(3).
- [8] Bondué A, Blanpain C. Mesp1: a key regulator of cardiovascular lineage commitment. *Circ Res*, 2010, 107: 1414-1427.
- [9] Bondué A, Lapouge G, Paulissen C, et al. Mesp1 acts as a master regulator of multipotent cardiovascular progenitor specification. *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 69-84.
- [10] David R, Schwarz F, Rimbach C, et al. Selection of a common multipotent cardiovascular stem cell using the 3.4-kb MesP1 promoter fragment. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108: 312.
- [11] Luther HP. Role of endogenous antisense RNA in cardiac gene regulation. *J Mol Med (Berl)*, 2005, 83: 26-32.
- [12] Ritter O, Haase H, Schulte HD, et al. Remodeling of the hypertrophied human myocardium by cardiac bHLH transcription factors. *J Cell Biochem*, 1999, 74: 551-561.
- [13] Haddad F, Jiang W, Bodell PW, et al. Cardiac myosin heavy chain gene regulation by thyroid hormone involves altered histone modifications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299: H1968-1980.
- [14] Yu W, Gius D, Onyango P, et al. Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA. *Nature*, 2008, 451: 202-206.
- [15] Pasmant E, Sabbagh A, Vidaud M, et al. ANRIL, a long, noncoding RNA, is an unexpected major hotspot in GWAS. *FASEB J*, 2011, 25: 444-448.
- [16] Cunnington MS, Santibanez Koref M, Mayosi BM, et al. Chromosome 9p21 SNPs Associated with Multiple Disease Phenotypes Correlate with ANRIL Expression. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1000899.
- [17] Holdt LM, Beutner F, Scholz M, et al. ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30: 620-627.
- [18] Folkersen L, Kyriakou T, Goel A, et al. Relationship between CAD risk genotype in the chromosome 9p21 locus and gene expression. Identification of eight new ANRIL splice variants. *PLoS One*, 2009, 4: e7677.
- [19] Congrains A, Kamide K, Katsuya T, et al. CVD-associated non-coding RNA, ANRIL, modulates expression of atherogenic pathways in VSMC. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 419: 612-616.

- [20] Xu B, Gerin I, Miao H, et al. Multiple roles for the non-coding RNA SRA in regulation of adipogenesis and insulin sensitivity. PLoS One, 2010, 5: e14199.
- [21] Dillmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. Heart Fail Rev, 2010, 15: 125-132.
- [22] Hube F, Velasco G, Rollin J, et al. Steroid receptor RNA activator protein binds to and counteracts SRA RNA-mediated activation of MyoD and muscle differentiation. Nucleic Acids Res, 2011, 39: 513-525.
- [23] Friedrichs F, Zugck C, Rauch GJ, et al. HBEGF, SRA1, and IK: Three cosegregating genes as determinants of cardiomyopathy. Genome Res, 2009, 19: 395-403.
- [24] Rapicavoli NA, Poth EM, Blackshaw S. The long noncoding RNA RNCR2 directs mouse retinal cell specification. BMC Dev Biol, 2010, 10: 49.
- [25] Ishii N, Ozaki K, Sato H, et al. Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction. J Hum Genet, 2006, 51: 1087-1099.
- [26] Sone M, Hayashi T, Tarui H, et al. The mRNA-like noncoding RNA Gomafu constitutes a novel nuclear domain in a subset of neurons. J Cell Sci, 2007, 120: 2498-2506.

(收稿日期: 2013-06-18)

(本文编辑: 戚红丹)

刘艳红, 鲁富鸣, 张秋芳. 长非编码RNA在心脏中的研究进展 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(16): 7515-7517.

