

## 长链非编码 RNA 的竞争性内源 RNA 调控模式在动脉粥样硬化中的研究进展

韩 爽, 陈 宇, 张伟丽

(中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外医院 心血管疾病国家重点实验室, 北京市 100037)

[栏目主持人介绍] 张伟丽, 研究员, 博士研究生导师, 擅长高血压及其相关疾病的分子遗传学和流行病学研究。中国病理生理学会心血管专业委员会委员、中国病理生理学会转化医学专业委员会委员、国际心脏研究会中国分会 (ISHRC) 执委会委员、北京市生理科学会常务理事、国家卫生健康委海峡两岸医药卫生交流协会高血压专业委员会委员等。《中国分子心脏病学杂志》《中国卒中杂志》《中国医学前沿杂志》《基础医学与临床》等期刊编委。主持国家自然科学基金等国家级项目多项, 成果发表在 *Circulation*、*Stroke*、*Diabetes Care* 等, 获教育部自然科学奖一等奖、北京科学技术奖二等奖等。

[关键词] 长链非编码 RNA; 竞争性内源 RNA; 微小 RNA; 信使 RNA; 动脉粥样硬化

[摘 要] 动脉粥样硬化是一种缓慢进行性的血管炎症性病变。越来越多的研究表明长链非编码 RNA (lncRNA) 作为竞争性内源 RNA (ceRNA) 与微小 RNA (miRNA) 结合, 通过 ceRNA 网络调控靶基因信使 RNA (mRNA) 分子的表达水平和功能, 在动脉粥样硬化的病理生理过程中发挥重要作用。lncRNA、miRNA 和 mRNA 之间的互作调控机制复杂。本文综述了 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络在动脉粥样硬化发病机制中的调控关系, 阐述该调控网络在内皮细胞功能障碍、血管平滑肌细胞表型转化、巨噬细胞激活以及脂质代谢异常等病变中的重要作用, 为动脉粥样硬化临床诊疗提供新思路。

[中图分类号] R5; R394

[文献标识码] A



### The roles of long noncoding RNA as the competitive endogenous RNA in atherosclerosis

HAN Shuang, CHEN Yu, ZHANG Weili

(State Key Laboratory of Cardiovascular Disease & Fuwai Hospital & National Center for Cardiovascular Diseases & Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100037, China)

[KEY WORDS] long noncoding RNA; competitive endogenous RNA; microRNA; messenger RNA; atherosclerosis

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a chronic vascular inflammation process. Emerging studies have shown that long non-coding RNA (lncRNA) can interact with microRNA as the competitive endogenous RNA (ceRNA), and regulate the expression and function of its target genes, which plays an important role in the pathogenesis of atherosclerosis. The novel regulatory mechanisms underlying the crosstalk among lncRNA, microRNA and mRNA are complex. This review comprehensively summarized the regulatory relationship of lncRNA-microRNA-mRNA axis in the pathophysiological processes of atherosclerosis, and highlighted the important role of this axis involved in endothelial cell dysfunction, vascular smooth muscle cell phenotype transformation, macrophage activation and lipid metabolism abnormality, aiming to provide new targets for clinical treatment of atherosclerotic diseases.

[收稿日期] 2020-08-21

[修回日期] 2020-11-04

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助(81873492, 81670338)

[作者简介] 韩爽, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化血管疾病的遗传和表观遗传研究, E-mail 为 941874152@qq.com。通信作者张伟丽, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化血管疾病的遗传和表观遗传研究, E-mail 为 zhangweili1747@yahoo.com。

动脉粥样硬化是一种缓慢进行性的血管炎症性病变,主要表现为内皮功能障碍、炎性细胞浸润、血管平滑肌细胞增殖、血管壁脂质异常沉积,形成含坏死核心的脂质斑块,若斑块破裂则可导致急性心肌梗死、缺血性卒中等并发症。动脉粥样硬化受遗传易感基因、表观遗传修饰以及环境因素的共同影响<sup>[1]</sup>。人类基因组非编码 RNA 如长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 和微小 RNA (microRNA, miRNA) 等在表观遗传调控、转录调控和转录后调控基因表达中的作用受到广泛关注。其中, lncRNA 在内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞,以及相关细胞因子构成的复杂网络中通过调控血管壁功能、脂质代谢和免疫反应,影响动脉粥样硬化进程<sup>[2]</sup>。

近年的实验证据表明 lncRNA 可以通过竞争结合共同的 miRNA 反应元件 (microRNA response elements, MRE) 实现 RNA 分子之间的相互调控,进而调节靶基因信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 的水平和功能,这种全新的基因表达调控模式被称为竞争性内源 RNA (competitive endogenous RNA, ceRNA) 机制<sup>[3]</sup>。本综述系统地介绍 ceRNA 调控网络的组成,并汇总 lncRNA-miRNA-mRNA 之间的 ceRNA 互作网络在动脉粥样硬化发生发展中的研究进展,以期对动脉粥样硬化性心血管疾病的临床诊断与治疗提供新思路。

## 1 ceRNA 网络调控的组成及其作用机制

ceRNA 理论揭示了一种全新的基因表达调控机制,涉及多种 RNA 分子,主要包括 mRNA、miRNA、lncRNA 和环状 RNA。建立在 RNA 组学基础上的 ceRNA 调控网络,使人们对转录组调控的“基因语言”有了更深入的认识。

### 1.1 mRNA

携带遗传信息并编码蛋白质的 mRNA,是 ceRNA 调控网络的关键成员之一。真核生物 mRNA 的 3'端非翻译区 (3'-untranslated region, 3'-UTR) 序列通常包含与 miRNA 种子序列互补的结合域 MRE。通过 MRE,一个 mRNA 可以与多个 miRNA 相互作用进而形成调控网络。

### 1.2 miRNA

miRNA 是一类长度 18~24 个核苷酸的单链非编码小分子 RNA,可与其靶基因 mRNA 的 3'-UTR 互补配对结合,在转录后水平抑制靶基因的翻译或

降低靶基因 mRNA 的稳定性,从而抑制靶基因的表达<sup>[4]</sup>。miRNA 作为“桥梁”,是 ceRNA 调控网络的核心 RNA 分子,一个 miRNA 可以调控多个靶基因,而相同的靶基因亦可以被不同的 miRNA 调控。

### 1.3 lncRNA

lncRNA 是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA,具有组织特异性,物种保守性较低。lncRNA 既可通过其独特的二级结构与蛋白质结合形成 RNA-蛋白质复合物,也能与多个 RNA 相互作用形成复杂的基因表达调控网络<sup>[5]</sup>。lncRNA 作为 ceRNA 分子,通过其 3'-UTR 区域的 MRE 与 miRNA 引导的沉默复合体结合,影响 miRNA 的有效浓度和活性,进而影响 miRNA 对其靶基因 mRNA 的抑制作用<sup>[3]</sup>。

### 1.4 其他 RNA 分子

环状 RNA 是一类特殊的内源性 RNA,结构稳定,组织表达特异性强。迄今为止,在人类细胞中发现了上千种环状 RNA 分子,但其作为 ceRNA 的转录调控机制尚未阐明<sup>[6]</sup>。

## 2 lncRNA 基于 miRNA 的 ceRNA 网络调控影响动脉粥样硬化进程

lncRNA 基于 miRNA 的 ceRNA 调控网络在内皮细胞功能障碍、平滑肌细胞表型转化和巨噬细胞激活等多个环节中影响动脉粥样硬化的进程。

### 2.1 lncRNA 对血管内皮细胞功能的 ceRNA 调控

血管内皮细胞 (endothelial cells, EC) 功能障碍是诱发动脉粥样硬化的始动环节。lncRNA 可诱发 EC 炎症反应,激活核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 信号通路,促进动脉粥样硬化形成。例如,INK4 位点反义非编码 RNA (antisense noncoding RNA in the INK4 locus, ANRIL) 位于冠心病遗传易感的关键位点 9 号染色体 p21.3,在动脉粥样硬化性疾病患者的冠状动脉斑块组织和血浆中高表达。ANRIL 可竞争性结合 miR-181b,激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,诱导 EC 炎症反应和内皮功能障碍<sup>[7]</sup>。lncRNA 肺腺癌转移相关转录本 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript1, MALAT1) 位于人 11 号染色体 q3.1,在不稳定型心绞痛患者的血浆中表达上调。MALAT1 竞争性结合 miR-146,激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,促进肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 的表达,诱导心肌梗死缺血区域细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血管细胞黏

附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 的高表达, 从而促进 EC 炎症反应和功能障碍<sup>[8]</sup>。MALAT1 还可通过 MALAT1/miR-181b 调控轴促进氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 诱导的内皮细胞炎症反应和氧化应激损伤<sup>[9]</sup>。

但不同的研究显示 MALAT1 对 EC 功能有双向调节作用。MALAT1 可通过促进 EC 增殖、生长因子的分泌等方式维持血管功能, 发挥抗动脉粥样硬化的作用。MALAT1 竞争结合 miR-22-3p, 上调靶基因 CXCR2 的表达, CXCR2 激活 Akt 信号通路发挥促进 EC 增殖、抗凋亡、延缓 ox-LDL 诱发的 EC 功能障

碍<sup>[10]</sup>。MALAT1 还可作为 miR-216a-5p 的分子海绵, 解除 miR-216a-5p 对靶基因 Beclin-1 的抑制, 增强 EC 的自噬和存活率<sup>[11]</sup>。在脑微血管内皮细胞实验中进行氧-葡萄糖剥夺研究, 发现 MALAT1 通过靶向结合 miR-145, 促进血管内皮生长因子 A 和血管生成素 2 的高表达, 诱导血管生成<sup>[12]</sup>。MALAT1 可与多个 miRNA 分子互作, 调节 EC 功能的作用机制仍需进一步研究。

越来越多的 lncRNA 被发现可与多个 miRNA 互作, 通过 ceRNA 网络影响靶基因表达, 改变 EC 功能和内环境稳态, 影响动脉粥样硬化的进程。表 1 列出了与 EC 功能密切相关的 lncRNA 及其在动脉粥样硬化中的作用。

表 1. lncRNA 通过 ceRNA 机制调控血管内皮细胞功能及动脉粥样硬化  
Table 1. lncRNA regulate endothelial cell function and atherosclerosis through ceRNA mechanism

lncRNA	miRNA	mRNA	对 EC 功能的影响	促进/延缓 动脉粥样硬化	参考文献
ANRIL	miR-181b	NF-κB	促进 EC 增殖	促进	[7]
MALAT1	miR-146	NF-κB	促进 EC 炎症反应	促进	[8]
	miR-181b	TOX	促进 ox-LDL 诱导的 EC 炎症和氧化应激	促进	[9]
	miR-22-3p	CXCR2	激活 Akt, 抑制 ox-LDL 诱导的 EC 损伤	延缓	[10]
	miR-216a-5p	Beclin-1	促进 EC 自噬和存活率	延缓	[11]
	miR-145	VEGF-A	促进 EC 增殖、迁移和血管生成	延缓	[12]
MEG3	miR-223	NLRP3	促进 EC 焦亡	促进	[13]
	miR-147	ICAM-1	抑制 EC 增殖、迁移和血管生成	促进	[14]
TGFB2-OT1	miR-396;	CERS1	促进 EC 炎症反应	促进	[15]
	miR-448;	NAT8L			
	miR-4459	LARP1			
MIAT	miR-150-5p	-	抑制 EC 增殖、迁移和血管形成	促进	[16]
TUG1	miR-26a	TRPC6	促进 ox-LDL 诱导的 EC 凋亡	促进	[17]
XIST	miR-320	NOD2	促进 ox-LDL 诱导的 EC 凋亡	促进	[18]
TCONS_00024652	miR-21	-	促进 EC 增殖、迁移和血管生成	延缓	[19]
ATB	miR-195	-	促进 EC 增殖、迁移和血管生成	延缓	[20]
LOC100129973	miR-4707-5p	API5	抑制 EC 凋亡	延缓	[21]
	miR-4767	BCL2L12	抑制 EC 凋亡	延缓	[21]
DIGIT	miR-134	Bmi-1	抑制 EC 凋亡, 促进增殖、迁移和血管生成	延缓	[22]

注:“-”表示未获取到。MEG3:母系印记基因 3 (maternally expressed gene 3); TGFB2-OT1:转化生长因子 β2 重叠转录本 1 (transforming growth factor beta 2 overlapping transcript 1); MIAT:心肌梗死相关转录本 (myocardial infarction associated transcript); TUG1:牛磺酸上调基因 1 (taurine upregulated gene 1); XIST:X-非活性特异转录本 (X-inactive specific transcript); ATB:肿瘤生长因子 β (activated by tumor growth factor β); DIGIT:TGF-β 家族信号 (TGF-β family signaling); TOX:胸腺细胞选择相关高迁移率群盒 (thymocyte selection-associated high mobility group box); Beclin-1:酵母自噬基因; VEGF-A:血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A); NLRP3:炎性小体; CERS1:神经酰胺合成酶 1 (ceramide synthase 1); NAT8L:N-乙酰基转移酶 8-类 (N-acetyltransferase 8-like); LARP1:La 核糖核蛋白结构域家族成员 1 (La ribonucleoprotein domain family member 1); TRPC6:瞬时受体电位阳离子通道蛋白 6 (transient receptor potential cation channel protein 6); NOD2:核苷酸结合寡聚结构域 2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2); API5:凋亡抑制因子 5 (apoptosis inhibitor 5); BCL2L12:类 B 淋巴细胞瘤-2 基因 12 (B-cell lymphoma-2 like 12); Bmi-1:原癌基因 Bmi-1 (B-cell-specific moloney murine leukemia virus insertion site 1)。



## 2.2 lncRNA 对血管平滑肌细胞功能的 ceRNA 调控

lncRNA 参与调控血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的增殖、迁移以及由收缩型到合成型的表型转化, lncRNA 可竞争性结合多个 miRNA 分子, 调控不同的靶基因, 进而调节下游多种信号通路, 影响 VSMC 功能。例如, lncRNA ANRIL 不仅与 miR-181b 竞争结合促进 EC 增殖, 还可与 miR-181a 竞争结合调控去乙酰化酶 Sirtuin1 基因表达, 进而抑制 p53、p21 表达, 促进 VSMC 增殖和动脉粥样硬化斑块形成<sup>[23]</sup>。

lncRNA 还可通过改变内皮细胞功能进而影响 VSMC 的增殖、迁移等。EC-VSMC 之间的信号通讯由细胞外小泡介导, 细胞外小泡富含 lncRNA 视网膜非编码 RNA3 (retina noncoding RNA3, RNCR3)。RNCR3 竞争性结合 miR-185-5p, 激活 Kruppel 样转录因子 2 (kruppel like transcription factor 2, KLF2), 高表达的 KLF2 可进一步抑制促炎基因, 诱导 EC 和 VSMC 增殖和迁移, 促进血管内斑块形成<sup>[24]</sup>。

lncRNA 通过与不同的 miRNA 竞争结合, 在 VSMC 功能和动脉粥样硬化形成中发挥着双向调控的重要作用。牛磺酸上调基因 1 (taurine upregulated

gene 1, TUG1) 可作为分子海绵竞争性结合 miR-145-5p, 减弱 miR-145-5p 对其靶基因纤维母细胞生长因子 10 (fibroblast growth factor 10, FGF10) 的抑制作用, 促进 VSMC 增殖和迁移<sup>[25]</sup>。然而, 给予 ox-LDL 刺激 VSMC 时, TUG1 可竞争性结合 miR-148b, 促进胰岛素样生长因子 2 (insulin like growth factor 2, IGF2) 表达, 上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 和增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 表达, 同时下调促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白 (bcl-2-associated X protein, Bax) 表达, 抑制 VSMC 凋亡; 敲除 TUG1 后, 可减轻 ox-LDL 诱导的 VSMC 损伤, 抑制细胞增殖, 进而延缓动脉粥样硬化斑块形成<sup>[26]</sup>。

随着研究的深入, lncRNA 在 VSMC 中的功能逐渐清晰。lncRNA 竞争性减弱 miRNA 对靶基因的抑制作用, 通过促进生长因子、炎症因子、凋亡及细胞周期蛋白表达等机制促进 VSMC 增殖、迁移进入内膜, 由收缩型转变为合成型, 聚集在泡沫细胞周围, 加速动脉粥样硬化斑块的发展。表 2 列出了与 VSMC 功能密切相关的 lncRNA 分子及其对动脉粥样硬化的影响。

表 2. lncRNA 通过 ceRNA 机制调控血管平滑肌细胞功能及动脉粥样硬化

Table 2. lncRNA regulate vascular smooth muscle cell function and atherosclerosis through ceRNA mechanism

lncRNA	miRNA	mRNA	对 VSMC 功能的影响	促进/延缓 动脉粥样硬化	参考文献
ANRIL	miR-181a	Sirtuin1	促进 VSMC 增殖	促进	[23]
RNCR3	miR-185-5p	KLF2	促进 VSMC 增殖和迁移、抑制凋亡	促进	[24]
TUG1	miR-145-5p	FGF10	促进 VSMC 增殖和迁移	促进	[25]
	miR-148b	IGF2	抑制 VSMC 凋亡	促进	[26]
C2dat1	miR-34a	Sirtuin1	促进 VSMC 增殖	促进	[27]
H19	miR-148b	WNT	促进 VSMC 增殖、抑制凋亡	促进	[28]
	let-7a	IL-6	加重 VSMC 炎症反应	促进	[29]
	let-7a	CyclinD1	促进 VSMC 增殖	促进	[30]
FOXC2-AS1	miR-1253	FOXFI	促进 VSMC 增殖、抑制凋亡	促进	[31]
MIAT	miR-181b	STAT3	促进 VSMC 增殖、抑制凋亡	促进	[32]
XR007793	miR-23b	FOXO4	促进 VSMC 增殖和迁移	促进	[33]
SNHG12	miR-199a-5p	HIF-1 $\alpha$	促进 VSMC 增殖和迁移	促进	[34]
LBX2-AS1	miR-4685-5p	LBX2	抑制 VSMC 增殖、促进凋亡	延缓	[35]
UCA1	miR-26a	PTEN	抑制 VSMC 增殖、促进凋亡	延缓	[36]
SENCR	miR-4731-5p	FOXO3a	抑制 VSMC 增殖、迁移	延缓	[37]

注: C2dat1: 钙调素依赖性蛋白激酶 II 型亚单位相关转录因子 (CAMK2D-associated transcript 1); FOXC2-AS1: 叉头盒蛋白 C2 反义 RNA (forkhead box protein C2 antisense RNA 1); MIAT: 心肌梗死相关转录本 (myocardial infarction associated transcript); SNHG12: lncRNA 小核仁 RNA 宿主基因 12 (small nucleolar RNA host gene 12); LBX2-AS1: 瓢虫同源盒 2 反义 RNA1 (ladybird homeobox 2 antisense RNA 1); UCA1: 尿路上皮癌抗原 1 (urothelial cancer associated 1); SENC: 平滑肌和内皮细胞富集的迁移/分化相关 lncRNA (smooth muscle and endothelial cell-enriched migration/differentiation-associated lncRNA); WNT: Wingless/Integrated; Cyclin D1: G1/S-特异性周期蛋白-D1; FOXFI: 叉头盒子 1 (fork head box F1); STAT3: 信号传导与转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription); FOXO4: 叉头样转录因子 O4 (fork head transcription factor O4); HIF-1 $\alpha$ : 低氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor-1); LBX2: 瓢虫同源盒 2 基因 (ladybird homeobox 2); PTEN 基因: 人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因 (gene of phosphatase and tension homology deleted on chromosome 10); FOXO3a: 叉头样转录因子 O3a (fork head transcription factor O3a)。

### 2.3 lncRNA 对单核巨噬细胞功能的 ceRNA 调控

单核细胞激活后进入血管壁,吞噬 ox-LDL, 分化为泡沫细胞,形成斑块的脂质核心。lncRNA 通过 ceRNA 机制调控单核细胞的增殖、分化、黏附与迁移、以及炎症反应等,促进动脉粥样硬化的发展。lncRNA 小核仁 RNA 宿主基因 16 (small nucleolar RNA host gene 16, SNHG16) 在冠心病患者的血清中表达升高,可竞争性结合 miR-17-5p,激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,释放大炎症因子,促进炎症反应,诱导单核细胞浸润至血管壁内,促进巨噬细胞的增殖和炎症反应<sup>[38]</sup>。

lncRNA 心肌梗死相关转录本 (myocardial infarction associated transcript, MIAT) 可与多个 miRNA 结合,不仅通过 MIAT/miR-150/VEGF 信号轴促进 EC 的增殖、迁移和血管生成,加重心肌损伤<sup>[16]</sup>,还

可竞争性结合 miR-149-5p,减弱 miR-149-5p 对靶基因分化簇 47 (cluster of differentiation-47, CD47) 的抑制作用,导致动脉粥样硬化斑块的不稳定增加<sup>[39]</sup>。CD47 可促进巨噬细胞向内皮迁移、黏附形成泡沫细胞,抑制凋亡细胞的清除,造成斑块内坏死细胞累积。在小鼠动物模型的研究中进一步发现,敲除 MIAT 后显著提高了巨噬细胞的吞噬清除率,增加斑块稳定性,延缓动脉粥样硬化的发展。

当前,多项研究证据显示 lncRNA 竞争性结合 miRNA 促进单核细胞迁移和黏附,调控巨噬细胞吞噬脂质形成泡沫细胞、释放炎症因子,从而促进纤维帽形成和斑块核心坏死等多个环节。表 3 列出了调控巨噬细胞增殖、迁移和炎症反应等功能的 lncRNA 分子及其对动脉粥样硬化的影响。

表 3. lncRNA 通过 ceRNA 机制调控巨噬细胞功能及动脉粥样硬化

Table 3. lncRNA regulate macrophage function and atherosclerosis through ceRNA mechanism

lncRNA	miRNA	mRNA	对巨噬细胞功能的影响	促进/延缓 动脉粥样硬化	参考文献
SNHG16	miR-17-5p	NF- $\kappa$ B	促进炎症反应	促进	[38]
MIAT	miR-149-5p	CD47	促进泡沫细胞形成	促进	[39]
UCA1	miR-206	CD36	促进炎症和氧化应激损伤	促进	[40]
RAP1A	miR-183-5p	integrin $\beta$ 1	促进凋亡	促进	[41]
GAS5	miR-221	MMP2、MMP9	促进炎症反应	促进	[42]
NEAT1	miR-128	—	促进炎症反应	促进	[43]
	miR-342-3p	—	促进炎症反应	促进	[44]
HOTAIR	miR-330-5p	—	促进炎症反应和氧化应激损伤	促进	[45]
MEG3	miR-204	CDKN2A	促进炎症反应、抑制细胞增殖	促进	[46]
TUG1	miR-92a	FXR1	促进炎症反应、减少胆固醇外流	促进	[47]
MALAT1	miR-17-5p	ABCA1	促进胆固醇外流、抑制脂质累积	延缓	[48]

注:UCA1:尿路上皮癌抗原 1 (urothelial cancer associated 1);RAP1A:与动脉粥样硬化进展和干预相关的关键性 lncRNA (the pivotal lncRNA associated with the progression and intervention of atherosclerosis);GAS5:生长阻滞特异转录本 5 (growth arrest-specific transcript 5);NEAT1:核丰富转录物 1 (nuclear enriched abundant transcript 1);HOTAIR:HOX 转录反义 RNA (HOX transcription antisense RNA);MEG3:母系印记基因 3 (maternally expressed gene 3);TUG1:牛磺酸上调基因 1 (taurine upregulated gene 1);CD36:整合素相关蛋白 36 (cluster of differentiation-36);integrin  $\beta$ 1:整合素  $\beta$ 1;MMP:基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase);CDKN2A:细胞周期依赖性激酶抑制基因 2A (cell cycle dependent kinase inhibitor gene 2A);FXR1:脆性 X 相关基因 I (fragile X related gene 1);ABCA1:ATP 结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1)。

### 2.4 lncRNA 对脂质代谢的 ceRNA 调控

尽管已有研究表明 lncRNA 作为 ceRNA 分子在脂质代谢中起重要作用,但其在动脉粥样硬化中的机制仍然需要更多的实验证据支持。lncRNA NEAT1 可与多个 miRNA 结合,影响动脉粥样硬化斑块形成。NEAT1 不仅通过竞争性结合 miR-128 和 miR-342-3p,发挥促进巨噬细胞炎症反应的作用<sup>[43-44]</sup>,也参与了脂质代谢的调节。NEAT1 竞争性结合 miR-146a-5p,解除 miR-146a-5p 对 Rho 相关激

酶 (rho-associated kinase, ROCK1) 的抑制;NEAT1 敲除后,miR-146a-5p 表达上调,靶基因 ROCK1 表达受抑制,AMPK 途径被激活,导致脂质积累减少<sup>[49]</sup>。

lncRNA 除了影响脂质生成,还通过调节脂蛋白脂肪酶水平,影响巨噬细胞中胆固醇的累积,促进动脉粥样斑块中泡沫细胞的形成。lncRNA DAPK1 内含子转录本 1 (DAPK1 intronic transcript 1, DAPK1-IT1) 竞争性结合 miR-590-3p,促进脂蛋白脂肪酶表达,导致高密度脂蛋白胆固醇水平减少、低密度脂

蛋白胆固醇和极低密度脂蛋白胆固醇水平增加,释放促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$ ,刺激单核巨噬细胞增殖、聚集、细胞内胆固醇累积形成泡沫细胞;过表达 DAPK1-IT1 后,可加速 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块的形成<sup>[50]</sup>。

脂质浸润在动脉粥样硬化的发生发展过程中发挥着重要作用。上述研究证据显示 lncRNA 可竞争性结合不同 miRNA,通过 ceRNA 调控网络促进脂肪生成,调节巨噬细胞的胆固醇吞噬和流出能力,加速巨噬细胞内脂质累积,影响斑块稳定性,从而调控动脉粥样硬化的进展。

### 3 lncRNA 在动脉粥样硬化性疾病中的临床转化前景

动脉粥样硬化的发生发展伴随着机体内环境稳态的破坏,探讨动脉粥样硬化的关键机制和分子标志物的研究可为动脉粥样硬化性疾病防治提供新思路。一些 lncRNA 分子在冠心病患者血浆以及动脉粥样硬化斑块组织中异常表达,针对 lncRNA 的靶向治疗可能发挥类似他汀类调脂药的效果。例如,lncRNA ANRIL 在冠心病患者血浆以及动脉粥样硬化斑块组织中异常高表达<sup>[7]</sup>,MALAT1 和 H19 在不稳定型心绞痛患者血浆中表达上调<sup>[8,28]</sup>,有望成为急性冠状动脉综合征和动脉粥样硬化发展的预警分子标志物。此外,lncRNA RAPIA 在巨噬细胞中高表达,竞争性结合 miR-183-5p,减弱其对整合素  $\beta 1$  的抑制作用,促进巨噬细胞凋亡;动物实验显示抑制 RAPIA 的效果与阿托伐他汀的治疗作用类似,可减少动脉粥样硬化晚期斑块中的脂质积聚、缩小斑块体积,可能成为抗动脉粥样硬化的新靶点<sup>[41]</sup>。然而,lncRNA 影响靶基因的信号通路机制复杂,同一个 lncRNA 在不同的细胞微环境中,可竞争性结合不同的 miRNA,通过调节内皮细胞功能、平滑肌细胞表型转化和巨噬细胞功能等多个环节,影响动脉粥样硬化的进展。因此,lncRNA 的作用机制仍需深入研究,在临床转化方面,还有很长的路。

### 4 结 语

lncRNA-miRNA-mRNA 之间互作的 ceRNA 网络调控通过 MRE 竞争性结合相同的 miRNA,在基因调控中发挥重要作用。随着全转录组测序技术和高通量芯片技术的发展,通过构建 miRNA 文库和

lncRNA 测序可以获得丰富的 mRNA、miRNA 和 lncRNA 差异表达信息,为进一步分析 RNA 分子之间的相互作用打下基础,有助于明确 ceRNA 和疾病之间的关系。本文总结了动脉粥样硬化相关的 lncRNA 在 EC、VSMC、巨噬细胞以及脂质代谢中的 ceRNA 调控机制,这些研究为动脉粥样硬化性疾病的诊断与治疗提供了新思路。但因 lncRNA 靶点众多且 ceRNA 机制复杂,仍然需要探究每条通路的具体机制。未来的工作应聚焦 ceRNA 网络平衡性,将有可能针对动脉粥样硬化病变过程中差异表达的 lncRNA 进行有效干预,有望为动脉粥样硬化性疾病的早期预警和治疗提供有价值的生物标志物及新的治疗靶点。

#### [参考文献]

- [1] Khyzha N, Alizada A, Wilson MD, et al. Epigenetics of atherosclerosis: emerging mechanisms and methods [J]. Trends Mol Med, 2017, 23(4): 332-347.
- [2] 易明,刘强,柯晓.长链非编码 RNA 在动脉粥样硬化中的研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2020,28(6): 533-543.
- [3] He L, Chen Y, Hao S, et al. Uncovering novel landscape of cardiovascular diseases and therapeutic targets for cardioprotection via long noncoding RNA-miRNA-mRNA axes [J]. Epigenomics, 2018, 10(5): 661-671.
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.
- [5] Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world [J]. Genes Dev, 2009, 23(13): 1494-1504.
- [6] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. Nature, 2013, 495(7441): 384-388.
- [7] Guo F, Tang C, Li Y, et al. The interplay of lncRNA ANRIL and miR-181b on the inflammation-relevant coronary artery disease through mediating NF- $\kappa$ B signalling pathway [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(10): 5062-5075.
- [8] Feng LL, Xin WN, Tian XL. MALAT1 modulates miR-146's protection of microvascular endothelial cells against LPS-induced NF- $\kappa$ B activation and inflammatory injury [J]. Innate Immun, 2019, 25(7): 433-443.
- [9] Wang L, Qi Y, Wang Y, et al. LncRNA MALAT1 suppression protects endothelium against oxLDL-induced inflammation via inhibiting expression of miR-181b target gene TOX [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019: 8245810.
- [10] Tang Y, Jin X, Xiang Y, et al. The lncRNA MALAT1 protects the endothelium against ox-LDL-induced dysfunction via upregulating the expression of the miR-22-3p

- target genes CXCR2 and Akt[J]. FEBS Lett, 2015, 589 (20 Pt B): 3189-3196.
- [11] Wang K, Yang C, Shi J, et al. Ox-LDL-induced lncRNA MALAT1 promotes autophagy in human umbilical vein endothelial cells by sponging miR-216a-5p and regulating Beclin-1 expression[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 858: 172338.
- [12] Ren L, Wei C, Li K, et al. LncRNA MALAT1 up-regulates VEGF-A and ANGPT2 to promote angiogenesis in brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation via targetting miR-145 [J]. Biosci Rep, 2019, 39(3): BSR20180226.
- [13] Zhang Y, Liu X, Bai XE, et al. Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 axis [J]. J Pineal Res, 2018, 64: e12449.
- [14] Xu D, Liu T, He L, et al. LncRNA MEG3 inhibits HMEC-1 cells growth, migration and tube formation via sponging miR-147 [J]. Biol Chem, 2020, 401 (5): 601-615.
- [15] Huang S, Lu W, Ge D, et al. A new microRNA signal pathway regulated by long noncoding RNA TGFB2-OT1 in autophagy and inflammation of vascular endothelial cells [J]. Autophagy, 2015, 11(12): 2172-2183.
- [16] Yan B, Yao J, Jy L, et al. LncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA[J]. Circ Res, 2015, 116(7): 1143-1156.
- [17] Chen C, Cheng GQ, Yang XN, et al. Tanshinol suppresses endothelial cells apoptosis in mice with atherosclerosis via lncRNA TUG1 up-regulating the expression of miR-26a[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(7): 2981-2991.
- [18] Xu X, Ma CM, Liu C, et al. Knockdown of long noncoding RNA XIST alleviates oxidative low-density lipoprotein-mediated endothelial cells injury through modulation of miR-320/NOD2 axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(2): 586-592.
- [19] Halimulati M, Duman B, Nijati J, et al. Long noncoding RNA TCONS\_00024652 regulates vascular endothelial cell proliferation and angiogenesis via microRNA-21 [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(4): 3309-3316.
- [20] Zhu AD, Sun YY, Qi M, et al. LncRNA-ATB promotes viability, migration, and angiogenesis in human microvascular endothelial cells by sponging microRNA-195 [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(9): 14360-14371.
- [21] Lu W, Huang SY, Su L, et al. Long noncoding RNA LOC100129973 suppresses apoptosis by targeting miR-4707-5p and miR-4767 in vascular endothelial cells[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21620.
- [22] Miao C, Cao H, Zhang Y, et al. LncRNA DIGIT accelerates tube formation of vascular endothelial cells by sponging miR-134 [J]. Int Heart J, 2018, 59(5): 1086-1095.
- [23] Tan P, Guo YH, Zhan JK, et al. LncRNA-ANRIL inhibits cell senescence of vascular smooth muscle cells by regulating miR-181a/Sirt1 [J]. Biochem Cell Biol, 2019, 97(5): 571-580.
- [24] Shan K, Jiang Q, Wang XQ, et al. Role of long non-coding RNA-RNCR3 in atherosclerosis-related vascular dysfunction [J]. Cell Death Dis, 2016, 7(6): e2248.
- [25] Shi L, Tian C, Sun L, et al. The lncRNA TUG1/miR-145-5p/FGF10 regulates proliferation and migration in VSMCs of hypertension [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 501(3): 688-695.
- [26] Wu X, Zheng X, Cheng J, et al. LncRNA TUG1 regulates proliferation and apoptosis by regulating miR-148b/IGF2 axis in ox-LDL-stimulated VSMC and HUVEC [J]. Life Sci, 2020, 243: 117287.
- [27] Wang H, Jin Z, Pei T, et al. Long noncoding RNAs C2dat1 enhances vascular smooth muscle cell proliferation and migration by targeting miR-34a-5p [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 3001-3008.
- [28] Zhang L, Cheng H, Yue Y, et al. H19 knockdown suppresses proliferation and induces apoptosis by regulating miR-148b/WNT/ $\beta$ -catenin in ox-LDL-stimulated vascular smooth muscle cells [J]. J Biomed Sci, 2018, 25 (1): 11.
- [29] Sun Y, Zhong L, He X, et al. LncRNA H19 promotes vascular inflammation and abdominal aortic aneurysm formation by functioning as a competing endogenous RNA [J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 131: 66-81.
- [30] Sun WF, Lv JY, Duan LR, et al. Long noncoding RNA H19 promotes vascular remodeling by sponging let-7a to upregulate the expression of cyclin D1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(4): 1038-1042.
- [31] Wang YQ, Xu ZM, Wang XL, et al. LncRNA FOXC2-AS1 regulated proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cell through targeting miR-1253/FOXF1 axis in atherosclerosis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(6): 3302-3314.
- [32] Zhong XM, Ma X, Zhang L, et al. MIAT promotes proliferation and hinders apoptosis by modulating miR-181b/STAT3 axis in ox-LDL-induced atherosclerosis cell models [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97: 1078-1085.
- [33] Wu YX, Zhang SH, Cui J, et al. Long noncoding RNA XR007793 regulates proliferation and migration of vascular smooth muscle cell via suppressing miR-23b [J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 5895-5903.
- [34] Sun Y, Zhao JT, Chi BJ, et al. Long noncoding RNA SNHG12 promotes vascular smooth muscle cell proliferation and migration via regulating miR-199a-5p/HIF-1 $\alpha$  [J].



- Cell Biol Int, 2020, 44(8): 1714-1726.
- [35] Li H, Zhang H, Wang G, et al. LncRNA LBX2-AS1 facilitates abdominal aortic aneurysm through miR-4685-5p/LBX2 feedback loop[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129: 109904.
- [36] Tian S, Yuan Y, Li Z, et al. LncRNA UCA1 sponges miR-26a to regulate the migration and proliferation of vascular smooth muscle cells [J]. Gene, 2018, 673: 159-166.
- [37] Ye F, Zhang J, Zhang Q, et al. Preliminary study on the mechanism of long noncoding RNA SENCN regulating the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(12): 9635-9643.
- [38] An JH, Chen ZY, Ma QL, et al. LncRNA SNHG16 promoted proliferation and inflammatory response of macrophages through miR-17-5p/NF- $\kappa$ B signaling pathway in patients with atherosclerosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(19): 8665-8677.
- [39] Ye ZM, Yang S, Xia YP, et al. LncRNA MIAT sponges miR-149-5p to inhibit efferocytosis in advanced atherosclerosis through CD47 upregulation[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2): 138.
- [40] Hu X, Ma R, Fu W, et al. LncRNA UCA1 sponges miR-206 to exacerbate oxidative stress and apoptosis induced by ox-LDL in human macrophages[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 14154-14160.
- [41] Sun C, Fu YH, Gu X, et al. Macrophage-enriched lncRNA RAPIA: a novel therapeutic target for atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(6): 1464-1478.
- [42] Ye J, Wang C, Wang D, et al. LncRNA GSA5, up-regulated by ox-LDL, aggravates inflammatory response and MMP expression in THP-1 macrophages by acting like a sponge for miR-221[J]. Exp Cell Res, 2018, 369(2): 348-355.
- [43] Chen DD, Hui LL, Zhang XC, et al. NEAT1 contributes to ox-LDL-induced inflammation and oxidative stress in macrophages through inhibiting miR-128[J]. J Cell Biochem, 2018, doi: 10.1002/jcb.27541.
- [44] Wang L, Xia JW, Ke ZP, et al. Blockade of NEAT1 represses inflammation response and lipid uptake via modulating miR-342-3p in human macrophages THP-1 cells [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 5319-5326.
- [45] Liu J, Huang GQ, Ke ZP. Silence of long intergenic non-coding RNA HOTAIR ameliorates oxidative stress and inflammation response in ox-LDL-treated human macrophages by upregulating miR-330-5p[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 5134-5142.
- [46] Yan L, Liu Z, Yin H, et al. Silencing of MEG3 inhibited ox-LDL-induced inflammation and apoptosis in macrophages via modulation of the MEG3/miR-204/CDKN2A regulatory axis[J]. Cell Biol Int, 2019, 43(4): 409-420.
- [47] Yang L, Li T. LncRNA TUG1 regulates ApoM to promote atherosclerosis progression through miR-92a/FXR1 axis [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(15): 8836-8848.
- [48] Liu L, Tan L, Yao J, et al. Long non-coding RNA MAL-AT1 regulates cholesterol accumulation in ox-LDL-induced macrophages via the microRNA-17-5p/ABCA1 axis[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(4): 1761-1770.
- [49] Chen X, Tan XR, Li SJ, et al. LncRNA NEAT1 promotes hepatic lipid accumulation via regulating miR-146a-5p/ROCK1 in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Life Sci, 2019, 235: 116829.
- [50] Zhen Z, Ren S, Ji H, et al. The lncRNA DAPK-IT1 regulates cholesterol metabolism and inflammatory response in macrophages and promotes atherogenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 516(4): 1234-1241.

(此文编辑 秦旭平)