

· 综述 ·

冠心病相关环状 RNA 调控机制及治疗的研究进展

董艳¹, 朱爽^{1,2}, 冯岚岚³, 刘咏梅¹, 李军¹, 王阶¹

(1. 中国中医科学院广安门医院心血管科, 北京 100053; 2. 北京中医药大学临床医学院, 北京 100029;

3. 贵州中医药大学第一临床医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 环状 RNA (circRNA) 是一种非编码 RNA, 具有靶向调节小 RNA (miRNA) 或信使 RNA (mRNA) 的功能, 参与动脉粥样硬化、免疫反应、血管新生、细胞凋亡、细胞增殖、细胞衰老和细胞自噬等多种冠心病 (CHD) 病理机制。基于 circRNA 构建的 circRNA/miRNA/mRNA 交互网络, 有助于系统地、动态地反映 CHD 的发生发展。同时, 通过药物干预或人工过表达/敲低 circRNA 的异常表达, 以及 circRNA 序列编辑等方法, circRNA 为今后 CHD 的靶向和精准治疗提供了新靶点和新策略。尽管如此, 目前有关 CHD 的 circRNA 调控机制和治疗研究仍处于初级阶段, 明确 CHD circRNA 生物标志物和治疗靶点仍任重道远。

关键词: 环状 RNA; 冠心病; 调控机制; 治疗靶点

中图分类号: R541.4

文献标识码: A

文章编号: 1009-7236(2019)05-0581-07

DOI: 10.12125/j.chj.201905025

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



网络出版地址: <http://www.heartj.cn/article/doi/10.12125/j.chj.201905025>

Research progress in regulatory mechanism and treatment of circular RNA for coronary heart disease

DONG Yan¹, ZHU Shuang^{1,2}, FENG Lan-lan³, LIU Yong-mei¹, LI Jun¹, WANG Jie¹

(1. Department of Cardiology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 2. Clinical Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3. First Clinical Medical College, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, Guizhou, China)

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a non-coding RNA that commonly targets the regulation of small RNA (miRNA) or messenger RNA (mRNA), instead of direct translation of proteins. It participates in several pathological processes of coronary heart disease (CHD) involving atherosclerosis, immune response, angiogenesis, apoptosis, cell proliferation, cellular senescence and autophagy. Moreover, the circRNA/miRNA/mRNA interaction network based on circRNA helps to systematically and dynamically understand the occurrence and development of CHD. Through drug intervention, artificial overexpression/knockdown of circRNA expression, or sequence editing, circRNA also provides some new target and strategy for the precise treatment of CHD. However, current studies about mechanisms and treatment of circRNA for CHD are still in their infancy, and more clear circRNA biomarkers and therapeutic targets still need to be confirmed by further in-depth researches in the future.

Key words: Circular RNA; coronary heart disease; regulatory mechanism; therapeutic target

基金项目: 国家自然科学基金项目资助 (81673847)

通讯作者: 王阶, 主任医师, 主要从事中西医结合防治心血管疾病研究 Email: wangjie0103@126.com

作者简介: 董艳, 博士生 Email: 125676085@qq.com

环状 RNA (circRNA) 是一种非编码 RNA, 一般不直接翻译蛋白质, 而是作为一种功能 RNA 参与调节小 RNA (miRNA) 或信使 RNA (mRNA) 的表达, 从而发挥其生物学功能。随着高通量测序技术的快速发展, 越来越多的 circRNA 被发现参与冠心病 (CHD)

的动脉粥样硬化(AS)、免疫反应、血管新生、细胞凋亡、细胞增殖、细胞衰老和细胞自噬等多种病理机制。这不仅有助于从表观遗传学角度更深入揭示CHD的发病机理和生物标志物,也为明确CHD的治疗靶点和精准医疗提供了可行的方向,尤其是基于circRNA的药物干预或人工基因编辑。有鉴于此,有必要对目前CHD领域的circRNA机制和治疗相关研究进行梳理,以明确当前研究现状和仍然存在的问题,为今后CHD的circRNA生物标志物和治疗靶点研究提供基础和思路。

1 CircRNA 生物合成及功能

20世纪70年代人们首次发现并报道circRNA^[1,2],它作为一种非经典的RNA剪接产物,曾被认为是错误剪接的副产品^[3]。然而,随着高通量测序技术的发展,circRNA被证实存在于人体不同的组织和细胞中,参与机体多种生理病理过程。它具有明显的细胞特异性^[4],其5'端和3'端由共价键反向拼接构成环状结构,因此相比线性RNA,它具有更稳定的结构。CircRNA的生物合成过程主要包括2个经典模式:①外显子跳跃,即在线性mRNA前体的加工过程中形成了包含外显子的套索前体,随后套索前体经环化处理后产生circRNA^[5,6]。②内含子配对驱动环化,该模式下的外显子环化取决于其侧翼内含子的ALU互补序列,且其环化效率受侧翼内含子之间或单个内含子内部的RNA配对的调节。此外,ALU序列的互相配对和相互竞争,使得单个基因能产生多个circRNA,从而促进了环化产物的多样性^[7]。在这种生物合成模式下,circRNA与线性mRNA前体共转录,环状剪接能影响线性mRNA前体的生成,因此二者存在一定竞争关系^[8]。

由于circRNA的生物合成可以与mRNA构成直接的竞争关系,因此circRNA具有调节mRNA表达的作用^[8]。同时,作为一种竞争性内源性非编码RNA(ceRNA),circRNA含有miRNA的结合位点,能竞争性结合miRNA,抑制miRNA对其靶基因mRNA的调控,从而间接抑制或促进mRNA的表达^[9]。目前,基于这种ceRNA特性构建的circRNA/miRNA网络包括CiRS-7/miR-7a^[10]、circRNA 30741/miRNA-21^[11]和circRNA MFACR/miR-652-3p^[12]等。此外,某些circRNA还能直接翻译蛋白,例如circ-ZNF609含有与mRNA类似的开放阅读框,从起始密码子开始,并结束于终止密码子。它与重多核糖体有关,以剪接依赖性和非帽依赖性的方式翻译蛋白质^[13]。而circ-FBXW7则依赖其内部核糖体进入

位点,编码新型蛋白质FBXW7-185aa,从而发挥抗胶质瘤发生的作用^[14]。

2 CHD 相关差异表达 circRNA

CircRNA作为一种具有基因调节功能的新型转录体,已逐渐成为CHD生物标志物和药物治疗靶点的研究热点。目前已有学者报道circATXN10, circSMARCA5, circCDY, circMYOD, circSLC8A1, circATXN7和circPHF21A与心肌细胞分化相关^[15];而circSLC8A1, circCACNA1D, circSPHKAP和circ-ALPK2则具有心脏特异性^[16]。在成熟的心脏组织中, *titin*(*Ttn*)基因经高度复杂的选择性剪接产生多种circRNAs,这些RNA主要集中在细胞质中,与真核翻译起始因子2C2(Ago2)水平相关^[17]。此外,部分circRNA被发现参与了AS病理过程^[18];而更多有关冠状动脉疾病临床患者和心肌缺血模型的动物研究则表明,circRNA普遍存在于CHD的外周血、心脏组织及冠脉内皮细胞中,且这些circRNAs能与miRNA及其下游mRNA构成ceRNA交互网络^[19-23]。其中,hsa_circ_0124644和hsa_circ_0098964在冠状动脉疾病患者中表达上调,具有成为疾病生物标志物的潜能,且二者联合运用能提高冠状动脉疾病的诊断准确率^[24]。而circRNA 30741则在急性ST段抬高型心肌梗死患者中显著上调,其潜在的调控靶点为miRNA-21^[11]。相反,hsa-circRNA11783-2^[25]、circMICRA^[26,27]和circTCF25^[28]则在CHD患者中低表达,与疾病风险及预后相关。

3 CircRNA 调控 CHD 作用机制

3.1 促进心肌细胞凋亡 心肌细胞异常凋亡是CHD发生发展的重要因素。研究显示,心肌缺血缺氧能诱导小鼠心脏组织发生circRNA表达谱的变化,其中CiRS-7表达上调^[29]。进一步机制研究发现,CiRS-7过表达能上调靶基因启动子特异性转录因子(Sp1)和多腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP),促进心肌细胞凋亡;然而,该作用能被上调的miR-7a所逆转。由此可见,CiRS-7可能作为miR-7a海绵体,通过调控miR-7a及其下游靶基因,从而参与心肌缺血损伤的病理过程^[10]。另一项研究结果显示,miR-652-3p能直接下调线粒体蛋白(MTP)18表达,抑制线粒体分裂和心肌细胞凋亡,改善心肌梗死。而circRNA MFACR则下调miR-652-3p表达,阻碍miR-652-3p的心肌保护作用,且该作用可以被circRNA MFACR低表达所逆转。因此,通过靶向调节miR-652-3p/MTP18, circRNA MFACR具有促进

心肌细胞凋亡,加速心肌梗死进展的作用^[12]。此外,活性氧(ROS)能诱导 circNCX1 过表达,而 circNCX1 则具有促进心肌细胞凋亡的作用。其潜在的作用机制为竞争性结合 miR-133a-3p,进而升高促凋亡因子细胞死亡诱导蛋白(CDIP)1 的表达水平。当敲低小鼠心肌细胞和心脏组织中 circNCX1 表达后,CDIP1 表达减少,细胞凋亡受到抑制,心肌缺血再灌注(I/R)损伤得到改善^[30]。由此可见, circNCX1 是心肌缺血的促进因子,介导下游 miR-133a-3p/CDIP1 调控通路,参与心肌 I/R 损伤的细胞凋亡过程。

3.2 促进细胞增殖 在冠状 AS 的发生发展过程中,血管内皮细胞或平滑肌细胞的异常增殖是促进冠脉阻塞或再狭窄的重要病理改变。现代研究发现,这些细胞增殖可能与某些 circRNA 的异常表达相关^[31, 32]。有学者报道, circRNA-0044073 在 AS 患者中高表达,而 miR-107 则表达降低^[31]。CircRNA-0044073 通过激活人血管平滑肌细胞(VSMCs)和人脐静脉内皮细胞(HUVECs)中的 JAK/STAT 信号通路和炎症反应,促进细胞增殖和侵袭,加速 AS 发展。相反, miR-107 过表达则能抑制细胞增殖,表明 miR-107 很可能是 circRNA-0044073 发挥促 AS 的下游调控因子,构成了 circRNA-0044073/miR-107/JAK/STAT 信号通路的调控网络。另一项研究在缺氧诱导的 HUVECs 中发现 36 个差异表达的 circRNAs,其中 14 个下调,22 个上调^[32]。经逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)验证, hsa_circ_0010729 表达上调,与测序结果一致;且 hsa_circ_0010729 与缺氧诱导因子(HIF)-1 α 共表达,而与 miR-186 呈负相关。同时,该研究采用生物信息学预测和荧光素酶测定显示 hsa_circ_0010729 和 HIF-1 α 均与 miR-186 存在靶向调节关系。当敲低 hsa_circ_0010729 时, HUVECs 增殖和迁移能力被抑制, HUVECs 凋亡增强,且该作用能被 miR-186 抑制剂所逆转。由此可见, hsa_circ_0010729 通过靶向调节 miR-186/HIF-1 α 轴,进而影响血管内皮细胞增殖和凋亡过程。此外, circ-Amot1 则通过促进心肌细胞增殖和存活,抑制心肌细胞凋亡,参与心脏修复过程。其潜在的作用机制为结合蛋白激酶 B(AKT)和丙酮酸脱氢酶激酶(PDK),诱导 AKT 磷酸化和 pAKT 核转位,从而抑制化疗药物多柔比星诱导的心肌损伤^[33]。

3.3 调节细胞衰老和周期 细胞衰老参与机体组织器官的功能减退,有关 circ-Foxo3 的研究发现心肌细胞衰老或与细胞周期相关。circ-Foxo3 在老年患者和小鼠的心脏组织中高表达,且主要分布于细胞质中,能与抗衰老蛋白 ID-1、转录因子 E2F1 和抗

应激蛋白 FAK 和 HIF-1 α 相互作用,进而促进心肌细胞衰老。进一步体外实验证实, circ-Foxo3 的异位表达能加重多柔比星诱导的心肌细胞衰老损伤;而沉默内源性 circ-Foxo3 则可以减轻以上损伤作用。此外,通过沉默 circ-Foxo3 表达,小鼠胚胎成纤维细胞的衰老亦受到抑制;相反, circ-Foxo3 的异位表达则能诱导细胞衰老^[34]。另一项研究表明, circ-Foxo3 的促衰老作用,可能与其调节细胞周期有关。Circ-Foxo3 异位表达能与细胞周期蛋白周期依赖性激酶 2(CDK2)和周期依赖性激酶抑制剂 1(p21)结合,形成三元复合物,从而抑制细胞周期进程。相反,当沉默内源性 circ-Foxo3 表达时,细胞增殖能力增强^[35]。

3.4 调节细胞自噬 细胞自噬是指细胞利用内源性溶酶体机制降解胞内已受损的或多余的细胞器和蛋白质等大分子物质,以实现细胞质内成分的循环利用。它是机体生理和疾病过程中的一把双刃剑,可由缺氧缺血、营养缺乏和自噬诱导肽等刺激诱发^[36],具有促进心肌细胞死亡的作用^[37]。当缺氧缺血、营养缺乏等刺激在机体可调控范围之内时,细胞自噬可能是重建体内平衡的主要保护措施;但当自噬出现过度时,心肌细胞死亡(可能是 II 型程序性细胞死亡)就会被触发^[38]。研究发现^[39],在心肌 I/R 损伤模型中, circACR 能抑制细胞自噬和心肌细胞死亡,从而抗 I/R 损伤并减少心肌梗塞面积。其潜在的作用机制为 circACR 直接结合 DNA 甲基转移酶(Dnmt)3B 并阻断 Dnmt3B 介导的重组人 PTEN 基因诱导的假定激酶(Pink)1 启动子的 DNA 甲基化,进而激活 Pink1 表达。而 Pink1 通过促进下游靶点人源全长重组蛋白 P02(FAM65B)的磷酸化,抑制心肌细胞自噬和细胞死亡,从而缩小心肌梗死面积。由此可见, circACR/Pink1/FAM65B 轴是心肌细胞自噬的重要调控网络,或可成为今后抗心肌梗死的治疗靶点。

3.5 调控 AS AS 是 CHD 的基础病理改变,现代研究发现^[40-43]该过程受基因调节和 circRNA 的影响。INK4/ARF 基因位点与冠状动脉疾病相关的 9p21 染色体相邻,且该基因位点受后者基因型的影响。而 circANRIL 为 INK4/ARF 基因位点的反义转录物,故 circANRIL 合成受 9p21 染色体单核苷酸多态性(SNP)的调控,并与 AS 风险程度密切相关^[40, 41],其中尤以 circANRIL4-6 作用最为明显^[42]。CircANRIL 能调节血脂和促进炎症反应,增加血清总胆固醇(CHOL),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白(LDL),以及白细胞介素(IL)-1, IL-6, 基质金属蛋白酶(MMP)-9

和 C 反应蛋白 (CRP) 等炎症因子水平, 进而促进 AS 进程^[43]。然而, 另一项机制研究则显示, circANRIL 具有抗 AS 的作用。它能调节 VSMCs 和巨噬细胞中的核糖体生物发生和成熟, 诱导核仁应激和 p53 活化, 参与 AS 相关通路, 进而促进 VSMCs 和巨噬细胞凋亡和增殖抑制。值得注意的是, 该作用并不依赖 miRNA 介导, 而是一种新的调节机制^[44]。由此可见, circANRIL 被证实参与 AS 过程, 但其扮演的角色尚需进一步明确。此外, circDLGAP4 在 CHD 患者外周血中显著下调, 并与 CHD 的发病风险呈负相关。同时, 它在氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导的 AS 泡沫细胞模型中低表达, 且随着 ox-LDL 处理时间的延长, circDLGAP4 的表达量逐渐减少^[45]。该结果表明, circDLGAP4 是单核巨噬细胞泡沫化进程中的重要保护因子, 具有抗 AS 斑块形成的潜能。

3.6 调节免疫反应 冠状 AS 与机体免疫细胞功能失调和免疫反应相关, 一项对骨髓来源的巨噬细胞在两种不同极化状态 (M1 巨噬细胞和 M2 巨噬细胞) 下的 circRNA 表达谱分析的研究显示, 这两种巨噬细胞存在 189 个差异 circRNAs 表达。其中 circ-003424、circ-013630、circ-001489 和 circ-018127 下调, 而 circ-003780、circ-010056 和 circRNA-010231 则上调, 且 circRNA-010231 与 miR-141-5p、miR-145a-5p、miR-1964-5p、miR-19b-2-5p 和 miR-6950-5p 之间存在相互作用关系^[46]。由此我们可以推测, circRNA 参与巨噬细胞分化和极化过程, 可能通过调节相应的 miRNA 表达, 进而调节免疫反应。另有学者报道^[47], circRasGEF1B 主要存在于小鼠巨噬细胞的细胞质中, 具有细胞特异性^[47]。脂肪酶 LPS 通过激活 Toll-样受体 (TLR) 4, TLR9, TLR3 和 TLR1/TLR2 等 TLR 途径, 能以核因子 (NF)- κ B 依赖性方式诱导 circRasGEF1B 表达。而 circRasGEF1B 过表达则反过来升高 LPS/TLR4 信号通路中细胞间粘附分子 (ICAM)-1 的成熟 mRNA 稳定性, 促进白细胞与内皮细胞结合, 并迁移入组织中, 从而介导免疫反应。当敲除 circRasGEF1B 后, LPS 诱导的 ICAM-1 表达受到抑制^[47], 表明 ICAM-1 是 circRasGEF1B 相关免疫反应的下游调节因子。以上研究结果显示, 巨噬细胞的极化过程及其介导的免疫反应可能受 circRNA 调节, 这为进一步 CHD 的免疫治疗提供了潜在的新靶点。

3.7 调节血管新生 血管新生为 CHD 的治疗开辟了一条新途径, 使得目前的治疗焦点不再仅仅局限于现有血管的再通。现代研究发现, CHD 血管新生

或与 circRNA 相关, 某些 circRNA 具有抑制或促进血管新生的作用, 在 CHD 的治疗中表现出巨大的潜能^[48-50]。有学者报道, ox-LDL 能诱导血管内皮细胞中 943 个差异 circRNA 的表达, 其中 hsa_circ_0003575 上调, 与血管新生和内皮细胞增殖相关^[48]。该研究进一步采用生物信息学分析显示 hsa_circ_0003575 与 miR-199-3p、miR-9-5p、miR-377-3p 和 miR-141-3 表达相关; 且基因功能实验证实, hsa_circ_0003575 表达沉默能促进血管内皮细胞的增殖和血管生成能力。由此可见, hsa_circ_0003575 过表达具有促进 ox-LDL 损伤的作用, 与冠状 AS 发生发展密切相关。另一项研究显示, circZNF609 在冠状动脉疾病患者中低表达^[49]。circZNF609 是一种内源性 miR-615-5p 海绵体, 能抑制 miR-615-5p 活性, 诱导磷酸化肌细胞增强因子 2 (MEF2A) 表达增加。circZNF609 表达沉默能增加内皮细胞迁移和血管新生, 从而保护内皮细胞抵抗氧化应激和缺氧损伤。同时, MEF2A 表达增加能促进 circZNF609 沉默介导的以上血管调节作用; 相反, circZNF609 过表达则能逆转该作用。由此可见, 冠状动脉疾病患者 circZNF609 低表达, 可能是机体促进血管新生和改善内皮功能失调的自我保护反应。此外, 亦有不作为 ceRNA, 不通过 miRNA 海绵体而发挥促血管新生作用的 circRNA。circZNF292 不含 miRNA 结合位点, 在缺氧诱导的 HUVECs 中表达上调, 能通过增强内皮细胞增殖和芽生式血管生成, 促进血管生成。相反, 当沉默 circZNF292 表达时, 内皮细胞的球状发芽和血管新生受到抑制^[50]。

4 CircRNA 在 CHD 治疗中的运用

4.1 药物靶向调节 circRNA 表达 CircRNA 在 CHD 中差异表达, 参与冠脉病变的多种病理机制; 同时, 它还具有可调节性, 已被证实能被多种西药、中药及其活性成分所干预^[51-53]。然而, 作为 CHD 研究领域的新成员, 目前有关 circRNA 的药物干预研究报道较少, 因此以 circRNA 为治疗靶点的 CHD 药物研究和新药研发仍大有可为。一项研究发现, circ-Foxo3 在心衰患者中表达上调, 而口服灵芝孢子油能降低 circ-Foxo3 表达水平, 纠正横向主动脉狭窄模型小鼠的分数缩短, 改善左室射血分数, 降低左心室舒张末期直径, 从而在左心室肥大和心衰的治疗中发挥潜在的治疗作用^[52]。该研究表明, circRNA 能被药物干预所调控, 在心血管疾病中具有可治疗性, 为今后 CHD 的 circRNA 靶向治疗提供了思路和方向。

4.2 CircRNA 敲低或过表达 采用基因过表达或敲低技术,能纠正机体 circRNA 的异常表达,使保护性基因过表达或重建缺失基因;同时,使致病基因表达量降低或纠正异常的基因异构体^[54]。通过 RNA 聚合酶 II 诱导细胞内 DNA 载体表达合成 circRNA,或慢病毒、腺病毒体外转染的方法,能实现保护性 circRNA 的过表达^[13, 54, 55]。为了提高外来 circRNA 对疾病的靶向性,有研究者运用归巢肽、脂肪酸或 AS 斑块定向的脂质载体,或功能化 RNA 的方法,促进 circRNA 对 AS 斑块的靶向治疗^[54, 56-59]。而对于促疾病 circRNA 的敲低技术,目前多使用标准遗传工具,即 RNA 干扰(RNAi)或反义寡核苷酸(ASO)介导的核糖核酸酶(RNase)H 依赖性降解^[60, 61]。它通过短发夹 RNA(shRNA)或小干扰 RNA(siRNA)触发 RNAi^[34, 62],从而达到 circRNA 耗减的目的。此外,为了提高 circRNA 敲低的特异性,人们开始关注染色体易位产生的融合 circRNA(f-circRNAs)。研究显示,f-circRNAs 敲低能促进白血病细胞凋亡,但对正常细胞则无影响^[63],表明 f-circRNAs 很可能是染色体易位相关疾病的特异性治疗靶点,因此 f-circRNAs 敲低能获得比单纯 circRNA 敲低更好的治疗效果。

目前,保护性 circRNA 已经被尝试运用于 CHD 的治疗。有学者采用含有和释放治疗性 RNA 的聚合物和水凝胶涂层支架治疗 AS 局部病变,结果显示它能促进内皮细胞再生,并降低冠脉再狭窄的风险^[64];而对于心脏手术患者,运用转染方法可以实现 circRNA 的传递^[54]。然而,尽管以上人工编辑 circRNA 表达在细胞和动物实验中已取得初步成效,但目前它仅停留在实验阶段,将其运用于临床试验至少存在以下几点问题:首先,人工改变 circRNA 表达量的前提是获得疾病特异性和敏感性高的 circRNA 靶点;其次,如何确定转染媒介,将体外 circRNA 合成物或干扰物高效、无害地转染到机体指定细胞内,并确保不被血液降解或肾脏排泄,是现阶段研究亟待解决的难题;最后, circRNA 的多靶点性,不恰当的 circRNA 传递媒介及其介导的机体免疫反应^[65],都可能是引起 circRNA 过表达或敲低副反应的因素,也是运用该技术需要关注的重要内容。

4.3 circRNA 序列编辑 对于基因序列发生改变的疾病相关 circRNA,采用序列特异性的方法纠正活细胞内核糖核酸的异常序列,将是基于 circRNA 编辑治疗疾病的重大挑战^[54]。一项研究开发了一种 RNA 编辑平台 REPAIR,它没有严格的序列限制,可用于编辑含有致病突变的全长转录物。此外,为了

促进病毒载体传递过程,研究者进一步完善 REPAIR 系统,使其拥有高特异性变体和系统最小化^[66]。该系统能融合催化失活的核酸酶 Cas13 与双链 RNA 特异性腺苷脱氨酶 ADAR,从而在转录物水平上编辑线性 RNA 的序列。尽管目前该技术尚未用于环状 RNA,但它为编辑 RNA 序列提供了可能,也为今后人工纠正 circRNA 的异常序列奠定了基础。

5 问题与展望

越来越多的 circRNA 被发现参与 CHD 的病理机制,其中大部分是通过靶向调节 miRNA 及其下游靶基因从而发挥调控作用,构建了 CiRS-7/miR-7a^[10]、circRNA-30741/miRNA-21^[11]、circRNA MFACR/miR-652-3p/MTP18^[12]、circNCX1/miR-133a-3p/CDIP1^[30]、circRNA-0044073/miR-107/JAK/STAT 信号通路^[31]、hsa_circ_0010729/miR-186/HIF-1 α ^[32]和 circZNF609/miR-615-5p/MEF2A^[49]等多种 ceRNA 交互网络。相比单一的 CHD 生物标志物,这些网络更加系统和立体,能更真实地、动态地反映 CHD 的发生与发展。此外,作为 ceRNA 交互网络中的上游因子, circRNA 也成为了 CHD 治疗的关键靶点。通过药物干预、人工过表达或敲低,以及 circRNA 序列编辑等,或能实现更加精准的 CHD 治疗策略。然而,通过对目前研究现状的系统梳理,我们发现 CHD 相关 circRNA 仍处于初始阶段,在今后的研究中应当至少关注以下三点问题:①针对目前已经筛选出的差异表达 circRNA,需要进一步扩大样本量以明确其作为 CHD 生物标志物的灵敏度和特异性。②基于 circRNA 构建的 ceRNA 交互网络需要更多的基础研究以证实其稳定性。③目前以 circRNA 作为 CHD 治疗靶点的研究较少,如何研发安全有效的 circRNA 靶向治疗药物或人工编辑 circRNA 表达或序列,是今后 CHD 治疗领域的重要挑战。有鉴于此, circRNA 为我们更加深入系统地理解 CHD 病理机制和研发更精准有效的 CHD 治疗药物或策略提供了新的方向,但是现有证据仍显不足,更多深入和大样本量研究亟待开展。

参考文献:

- [1] Hsu MT, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells[J]. *Nature*, 1979, 280(5720): 339 - 340.
- [2] Halbreich A, Pajot P, Foucher M, et al. A pathway of cytochrome b mRNA processing in yeast mitochondria: specific splicing steps and an intron-derived circular RNA[J]. *Cell*, 1980, 19(2): 321 - 329.
- [3] Cocquerelle C, Mascrez B, Hetuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules[J]. *FASEB J*, 1993, 7(1): 155 - 160.

- [4] Salzman J, Chen RE, Olsen MN, *et al.* Cell-type specific features of circular RNA expression[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(9): e1003777.
- [5] Zaphiropoulos PG. Circular RNAs from transcripts of the rat cytochrome P450 2C24 gene: correlation with exon skipping[J]. *Proc Natl AcadSci U S A*, 1996, 93(13): 6536 – 6541.
- [6] Barrett SP, Wang PL, Salzman J. Circular RNA biogenesis can proceed through an exon-containing lariat precursor[J]. *Elife*, 2015, 4: e07540.
- [7] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, *et al.* Complementary sequence-mediated exon circularization[J]. *Cell*, 2014, 159(1): 134 – 147.
- [8] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, *et al.* circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55 – 66.
- [9] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, *et al.* Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384 – 388.
- [10] Geng HH, Li R, Su YM, *et al.* The Circular RNA Cdr1as Promotes Myocardial Infarction by Mediating the Regulation of miR-7a on Its Target Genes Expression[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151753.
- [11] 熊玮, 骆瑜, 刘华东, 等. 急性ST段抬高型心肌梗死患者外周血环状RNA的表达变化[J]. 临床心血管病杂志, 2018, 34(4): 343 – 347.
- [12] Wang K, Gan TY, Li N, *et al.* Circular RNA mediates cardiomyocyte death via miRNA-dependent upregulation of MTP18 expression[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(6): 1111 – 1120.
- [13] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, *et al.* Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis[J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22 – 37, e9.
- [14] Yang Y, Gao X, Zhang M, *et al.* Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(3). doi: 10.1093/jnci/djx166.
- [15] Siede D, Rapti K, Gorska AA, *et al.* Identification of circular RNAs with host gene-independent expression in human model systems for cardiac differentiation and disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 109: 48 – 56.
- [16] Lei W, Feng T, Fang X, *et al.* Signature of circular RNAs in human induced pluripotent stem cells and derived cardiomyocytes[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 56.
- [17] Werfel S, Nothjunge S, Schwarzmayr T, *et al.* Characterization of circular RNAs in human, mouse and rat hearts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 98: 103 – 107.
- [18] Zhang F, Zhang R, Zhang X, *et al.* Comprehensive analysis of circRNA expression pattern and circRNA-miRNA-mRNA network in the pathogenesis of atherosclerosis in rabbits[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(9): 2266 – 2283.
- [19] Pan RY, Liu P, Zhou HT, *et al.* Circular RNAs promote TRPM3 expression by inhibiting hsa-miR-130a-3p in coronary artery disease patients[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(36): 60280 – 60290.
- [20] Jakobi T, Czaja-Hasse LF, Reinhardt R, *et al.* Profiling and Validation of the Circular RNA Repertoire in Adult Murine Hearts[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14(4): 216 – 23.
- [21] Wu HJ, Zhang CY, Zhang S, *et al.* Microarray Expression Profile of Circular RNAs in Heart Tissue of Mice with Myocardial Infarction-Induced Heart Failure[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(1): 205 – 216.
- [22] 林飞, 赵国安, 陈志刚, 等. 急性心肌梗死circRNA-miRNA网络相关性及其可能调控机制分析[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(11): 851 – 854.
- [23] Huang X, Chen Y, Xiao J, *et al.* Identification of differentially expressed circular RNAs during TGF- β 1-induced endothelial-to-mesenchymal transition in rat coronary artery endothelial cells[J]. *Anatol J Cardiol*, 2018, 19(3): 192 – 197.
- [24] Zhao Z, Li X, Gao C, *et al.* Peripheral blood circular RNA hsa_circ_0124644 can be used as a diagnostic biomarker of coronary artery disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39918.
- [25] Li X, Zhao Z, Jian D, *et al.* Hsa-circRNA11783-2 in peripheral blood is correlated with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus[J]. *DiabVasc Dis Res*, 2017, 14(6): 510 – 515.
- [26] Vausort M, Salgado-Somoza A, Zhang L, *et al.* Myocardial Infarction-Associated Circular RNA Predicting Left Ventricular Dysfunction[J]. *J Am CollCardiol*, 2016, 68(11): 1247 – 1248.
- [27] Salgado-Somoza A, Zhang L, Vausort M, *et al.* The circular RNA MICRA for risk stratification after myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2017, 17: 33 – 36.
- [28] 邹天宇, 李琳, 黄建凤, 等. 环状RNA circTCF25在冠心病患者中的表达及临床意义[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2018, 18(3): 2479 – 2483.
- [29] Wu HJ, Zhang CY, Zhang S, *et al.* Microarray Expression Profile of Circular RNAs in Heart Tissue of Mice with Myocardial Infarction-Induced Heart Failure[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(1): 205 – 16.
- [30] Li M, Ding W, Tariq MA, *et al.* A circular transcript of ncx1 gene mediates ischemic myocardial injury by targeting miR-133a-3p[J]. *Theranostics*, 2018, 8(21): 5855 – 5869.
- [31] Shen L, Hu Y, Lou J, *et al.* CircRNA-0044073 is upregulated in atherosclerosis and increases the proliferation and invasion of cells by targeting miR-107[J]. *MolMed Rep*, 2019, 19(5): 3923 – 3932.
- [32] Dang RY, Liu FL, Li Y, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0010729 regulates vascular endothelial cell proliferation and apoptosis by targeting the miR-186/HIF-1 α axis[J]. *BiochemBiophys Res Commun*, 2017, 490(2): 104 – 110.
- [33] Zeng Y, Du WW, Wu Y, *et al.* A Circular RNA Binds To and Activates AKT Phosphorylation and Nuclear Localization Reducing Apoptosis and Enhancing Cardiac Repair[J]. *Theranostics*, 2017, 7(16): 3842 – 3855.
- [34] Du WW, Yang W, Chen Y, *et al.* Foxo3 circular RNA promotes cardiac senescence by modulating multiple factors associated with stress and senescence responses[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(18): 1402 – 1412.
- [35] Du WW, Yang W, Liu E, *et al.* Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846 – 58.
- [36] Liu Y, Shoji-Kawata S, Sumpter RM, *et al.* Autosis is a Na, K-ATPase-regulated form of cell death triggered by Autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia[J]. *P Natl AcadSci USA*, 2013, 110(51): 20364 – 20371.
- [37] Valentim L, Laurence KM, Townsend PA, *et al.* Urocortin inhibits Beclin1-mediated autophagic cell death in cardiac myocytes exposed to ischaemia/reperfusion injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 40(6): 846 – 52.
- [38] 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 – 22.
- [39] Zhou LY, Zhai M, Huang Y, *et al.* The circular RNA ACR attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via modulation of the Pink1/ FAM65B pathway[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(7): 1299 – 1315.
- [40] Holdt LM, Beutner F, Scholz M, *et al.* ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(3): 620 – 627.
- [41] 刘人可, 曾研, 彭道泉. 环状RNA对心血管疾病的影响[J]. 中国心血管杂志, 2019, 24(1): 94 – 97.
- [42] Burd CE, Jeck WR, Liu Y, *et al.* Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA

- correlates with atherosclerosis risk[J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(12): e1001233.
- [43] Song CL, Wang JP, Xue X, *et al*. Effect of Circular ANRIL on the Inflammatory Response of Vascular Endothelial Cells in a Rat Model of Coronary Atherosclerosis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(3): 1202 – 1212.
- [44] Holdt LM, Stahringer A, Sass K, *et al*. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12429.
- [45] 李梦兰, 何思颖, 荣伽玲, 等. 外周血环状RNA circDLGAP4在冠心病中保护的作用[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(02): 109 – 112.
- [46] Zhang Y, Zhang Y, Li X, *et al*. Microarray analysis of circular RNA expression patterns in polarized macrophages[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(2): 373 – 379.
- [47] Ng WL, Marinov GK, Liau ES, *et al*. Inducible RasGEF1B circular RNA is a positive regulator of ICAM-1 in the TLR4/LPS pathway[J]. *RNA Biol*, 2016, 13(9): 861 – 871.
- [48] Li CY, Ma L, Yu B. Circular RNA hsa_circ_0003575 regulates oxLDL induced vascular endothelial cells proliferation and angiogenesis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1514 – 1519.
- [49] Liu C, Yao MD, Li CP, *et al*. Silencing Of Circular RNA-ZNF609 Ameliorates Vascular Endothelial Dysfunction[J]. *Theranostics*, 2017, 7(11): 2863 – 2877.
- [50] Boeckel JN, Jaé N, Heumüller AW, *et al*. Identification and Characterization of Hypoxia-Regulated Endothelial Circular RNA[J]. *Circ Res*, 2015, 117(10): 884 – 90.
- [51] Zheng J, Li Z, Wang T, *et al*. Microarray Expression Profile of Circular RNAs in Plasma from Primary Biliary Cholangitis Patients[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(4): 1271 – 1281.
- [52] Xie YZ, Yang F, Tan W, *et al*. The anti-cancer components of Ganoderma lucidum possesses cardiovascular protective effect by regulating circular RNA expression[J]. *Oncoscience*, 2016, 3(7-8): 203 – 207.
- [53] Tian F, Yu CT, Ye WD, *et al*. Cinnamaldehyde induces cell apoptosis mediated by a novel circular RNA hsa_circ_0043256 in non-small cell lung cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(3): 1260 – 1266.
- [54] Holdt LM, Kohlmaier A, Teupser D. Circular RNAs as Therapeutic Agents and Targets[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1262.
- [55] Xia P, Wang S, Ye B, *et al*. A circular RNA protects dormant hematopoietic stem cells from DNA sensor cGAS-mediated exhaustion[J]. *Immunity*, 2018, 48(4): 688 – 701.
- [56] Hamzah J, Kotamraju VR, Seo JW, *et al*. Specific penetration and accumulation of a homing peptide within atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(17): 7154 – 9.
- [57] Deshpande D, Kethireddy S, Janero DR, *et al*. Therapeutic efficacy of an omega-3-fatty acid-containing 17-beta estradiol nano-delivery system against experimental atherosclerosis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0147337.
- [58] Huang Z, Song Y, Pang Z, *et al*. Fibrin targeting delivery: a novel platform for cardiac regenerative medicine[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(12): 2410 – 2413.
- [59] Zhang J, Zu Y, Dhanasekara CS, *et al*. Detection and treatment of atherosclerosis using nanoparticles[J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, 9(1). doi: 10.1002/wnan. 1412.
- [60] Swarts DC, Makarova K, Wang Y, *et al*. The evolutionary journey of Argonaute proteins[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(9): 743 – 53.
- [61] Khvorova A, Watts JK. The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(3): 238 – 248.
- [62] Wang K, Long B, Liu F, *et al*. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(33): 2602 – 2611.
- [63] Guarnerio J, Bezzi M, Jeong JC, *et al*. Oncogenic role of fusion-circular RNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations[J]. *Cell*, 2016, 166(4): 1055 – 1056.
- [64] Koenig O, Zengerle D, Perle N, *et al*. RNA-eluting surfaces for the modulation of gene expression as a novel stent concept[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2017, 10(1). pii: E23. doi: 10.3390/ph 10010023.
- [65] Umekage S, Kikuchi Y. In vitro and in vivo production and purification of circular RNA aptamer[J]. *J Biotechnol*, 2009, 139(4): 265 – 272.
- [66] Cox DBT, Gootenberg JS, Abudayyeh, O O, *et al*. RNA editing with CRISPR-Cas13[J]. *Science*, 2017, 358(6366): 1019 – 1027.

(收稿日期: 2019-05-09; 接受日期: 2019-08-21)