

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.08.008
文章编号: 1005-8982 (2021) 08-0044-05

综述

环状RNA在心力衰竭心肌重构中的作用*

李明明, 姚亚丽, 余飞, 马正科

(兰州大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 环状RNA是一类呈共价闭合结构的非编码RNA, 其具有分布广泛、多样化、不易被核酸酶降解、稳定和高度保守等生物学特点。心力衰竭发生、发展的基本机制是心肌重构。研究表明, 环状RNA可通过影响心肌纤维化、心肌细胞肥大、心肌损伤和凋亡等病理机制来参与心力衰竭的发生、发展, 有望成为心力衰竭新的生物标记物及治疗靶点。该文将从环状RNA的生物学特性、形成机制、生物学功能及在心力衰竭心肌重构中的研究作一综述。

关键词: 心力衰竭; RNA, 环状; 生物学标记

中图分类号: R541.61

文献标识码: A

Research progress of the effects of circular RNA on myocardial remodeling in heart failure*

Ming-ming Li, Ya-li Yao, Fei Yu, Zheng-ke Ma

(The First Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China)

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a kind of non-coding RNA with covalently closed structure, and is characterized as widely distributed, diversified, not easily degraded by nuclease, stable and highly conservative. The researches have shown that circRNA participates in the pathophysiological process of heart failure by influencing myocardial fibrosis, hypertrophy of cardiac cells, myocardial injury and apoptosis. Therefore, it is promising to become a new biomarker and treatment target of heart failure. This paper will review the biological characteristics, formation mechanism and biological function of circRNA and advances on the roles of circRNA in heart failure.

Keywords: circular RNA; heart failure; myocardial fibrosis; biomarker

心力衰竭(以下简称心衰)是多种心血管疾病的严重和终末阶段, 是21世纪严重威胁人类健康的心血管疾病之一, 其死亡率和住院率呈上升趋势。心衰是由心肌病变、心脏负荷异常、心律失常等多种病因导致的心脏结构及舒缩功能受损^[1], 若能早期预防、诊断和治疗便可极大地减少疾病的发生、发展, 相关研究表明, 环状RNA (CircRNA) 参与神经系统疾病、肿瘤、免疫及心血管疾病的发生、发展^[2], CircRNA与心衰关系密切, 有望成为心衰新的生物标志物及治疗靶点。

1 CircRNA

1.1 CircRNA的生物学特性、分类及形成机制

CircRNA最初于1977年在植物病毒中被发现, 其作为一种非经典的RNA剪接产物, 曾被认为是错误剪接的副产品^[2-3]。然而, 随着高通量测序技术的发展, CircRNA被证实其大量、广泛地存在于多种生物细胞中, 具有明显的组织特异性和发育阶段特异性^[4], 并在许多生物过程中发挥作用, 因此CircRNA成为非编码RNA研究领域的热点。

收稿日期: 2020-10-29

* 基金项目: 甘肃省卫生行业科研计划项目 (No: GSWSKY-2015-44)

CircRNA 是一类以共价键形成环状结构的非编码 RNA 分子, 缺乏 5' 端帽子和 3' 端尾巴, 长度 300~500 bp, 不易被核酸外切酶降解, 可阻止胞内 CircRNA 的合成。CircRNA 的半衰期是 mRNA 的 4 倍, 长达 48 h, 在生物体内能够在高度稳定表达^[5]。其通常分为 4 种类型: 衍生自外显子的 CircRNA、衍生自套索内含子的 CircRNA、衍生自具有保留内含子的外显子的 CircRNA 和衍生自基因间 CircRNA^[4,6]。不同种类的 CircRNA 在形成机制方面有所差异, 目前主要有 3 种模型: ① 套索驱动环化和外显子跳跃。当 3' 剪接供体附着到单个外显子的 5' 剪接受体上时, 就会形成衍生自外显子的 CircRNA, 目前许多 CircRNA 属于这一类, 占有所有类型的 80% 以上。② 直接通过反向剪接或内含子配对驱动环化。③ RNA 结合蛋白 (RBP) 驱动环化^[4]。

1.2 CircRNA 的生物学功能

1.2.1 CircRNA 作为 miRNA 的海绵 有研究证实 CircRNA 是一种竞争性内源 RNA。CircRNA 能够通过和 microRNA (miRNA) 多个位点结合, 进而影响靶基因的表达, 这种功能称为 miRNA 的海绵作用^[7]。例如 CircRNA CDR1as 具有 74 个 miRNA-7 结合位点, 可通过 AGO2 蛋白实现竞争性吸附 miRNA-7, 抑制 miR-7 活性, 从而调控靶基因的表达^[8]。最近 HAN 等^[9]报道在心衰患者的外周血中发现 hsa_Circ_0097435 的表达显著上调, 其可能通过海绵化多个 miRNA 在心衰中起作用, hsa_Circ_0097435 过表达促进心肌细胞凋亡。

1.2.2 CircRNA 作为 RBP 海绵 CircRNA 还可通过与多种 RBP 结合, 作为 RBP 海绵发挥生物学作用。CircFndc3b 与 RNA 结合蛋白 FUS 相互作用以调节 VEGF 的表达和信号传导, 同时 CircFNDC3B 过表达可增强新生血管形成和减少心肌梗死区域的纤维化, 从而保护心脏^[10]。因此, 深入理解 CircRNA 背后的机制将为 HF 诊断和治疗提供新的途径。

1.2.3 CircRNA 作为转录和剪接的调节因子 CircRNA 是线性 RNA 转录的关键调节因子, 如 RNA ciankrd52 可以充当 RNA 聚合酶 II 的正调控因子, 以促进锚蛋白重复结构域 52 基因转录^[11]。此外, 在前体 RNA 剪接的过程中, 反向剪接产生的 CircRNA 可以竞争性调节可变剪接。然而, CircRNA 该功能是否参与到心肌重构的发展过程中仍需进一步研究。

1.2.4 CircRNA 作为蛋白质翻译器 传统观点认为 CircRNA 为非编码 RNA, 无法被翻译, 但最近的研究显示, 源自其宿主 ZNF 基因第 2 个外显子的人 CircZNF609 以依赖剪接而不依赖帽的方式翻译, 而且 CircZNF609 能特异性地调节成肌细胞的增殖^[12]。但目前尚未报道 CircRNA 编码蛋白在心衰中的作用机制。

2 CircRNA 在心衰心肌重构中的生物学作用

心衰是一种心脏结构或功能异常所致复杂的临床综合征。心肌重构是心衰发生、发展的基本机制。心肌重构是机体应对心室压力负荷增高或细胞因子及神经体液激素等刺激而发生的适应性调节。如果这些因素持续存在, 这个过程将不可逆且会伴随心肌细胞肥大、间质细胞增殖纤维化、心肌细胞凋亡、电传导异常, 使心肌细胞正常功能丧失, 引起渐进性泵衰竭或猝死。CircRNA 在心衰心肌重构病理变化中具有重要的作用。

2.1 CircRNA 与心肌纤维化

心肌纤维化是指心脏成纤维细胞过度增殖, 成纤维细胞特异性蛋白和胶原大量沉积, 导致心脏重构, 进而引起心功能不全的心脏病理改变。正常内皮细胞被诱导为间充质干细胞的转化过程称为内皮细胞-间质转化。转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 能够驱动内皮细胞-间质转化的进展, 已有研究表明 TGF- β_1 介导的 α -平滑肌肌蛋白 (α -SMA) 表达, 以及血管内皮细胞 VE-钙粘蛋白表达的丢失会导致内皮细胞-间质转化的发生。研究发现在 TGF- β_1 处理的大鼠冠状动脉内皮细胞中, chr5: 90817794|90827570, chr8: 71336875|71337745 和 chr6: 22033342|22038870 显著上调^[13]。ZHOU 等^[14]在血管紧张素 II 处理过的糖尿病小鼠心脏成纤维细胞中, 发现了 43 个异常的 CircRNA, 24 种上调的 CircRNA 和 19 种下调的 CircRNA ($P < 0.05$, 且倍数 > 3), 且体外实验中发现, CircRNA_010567 表达明显上调, 进一步行生物信息学分析, 发现其含有 miR-141 的结合位点, 可以直接靶向 miR-141 并调节 TGF- β_1 的表达, 进而抑制心脏成纤维细胞的纤维化相关蛋白 I 型胶原 (COL I)、COL III 和 α -SMA 表达。

最近 NI 等^[15]研究发现在 Ang II 处理后小鼠心脏成纤维细胞和心脏组织中 CircHIPK3 表达明显增加, CircHIPK3 可以充当 miR-29b-3p 海绵, 其过表达有效地逆转了 miR-29b-3p 诱导的心脏成纤维细胞增殖和迁移抑制, 并改变了 miR-29b-3p 靶向基因 α -SMA、COL1A1、COL3A1 表达, 可作为预防 Ang II 诱导的心脏纤维化的潜在的治疗方法。HUANG 等^[16]发现在人类、大鼠和小鼠的成年心脏中存在大量表达的 CircRNA-CircNFIX, 其是一种可被超级增强子调控并与转录因子 Meis1 结合调节自身表达的 CircRNA。在体外和体内实验中, CircNFIB 过表达可通过 TGF- β 刺激减弱 NIH/3T3 细胞系和心脏成纤维细胞的促增殖作用。相反, CircNFIB 敲除会增加原代心脏成纤维细胞的增殖。CircNFIB 的下调可以降低 MI 后梗塞面积和心肌纤维化, 其机制可能为 CircNFIB 增强 Y 框结合蛋白 1 与 E3 泛素连接酶的相互作用, 并通过泛素化诱导 Y 框结合蛋白 1 降解和抑制细胞周期蛋白的表达。此外, CircNFIB 可作为 miR-214 的海绵发挥作用, 调节心肌细胞的增殖。因此 CircNFIB 也可能是心肌组织损伤后修复及改善心功能的有效治疗策略。

2.2 CircRNA 与心肌肥大

心肌肥大是指心肌长期负荷过重, 引起心肌纤维变粗变长, 心壁变厚, 心脏重量增加。持续的心脏肥大伴适应不良将会导致失代偿性心衰的发生。MENG 等^[17]报道在高水平和正常水平的 D-葡萄糖培养下, 心肌肥大细胞中存在差异表达的 CircRNAs。同时发现 5 个 CircRNAs (CircRNA261、CircRNA26、CircRNA1191、CircRNA4251 和 CircRNA6913) 显著差异表达 ($P < 0.05$, 且倍数 $> 2 \sim < 0.5$), 并具有 60 多个靶 miRNA, 表明这些 CircRNA 可能在心脏肥大中发挥着重要作用, 并有可能作为生物标志物。

LI 等^[18]研究发现 CircRNA_000203 在 Ang II 处理的新生小鼠心室肌细胞的细胞质中上调, 在体外和体内 CircRNA_000203 的过表达均可增加心室肌细胞的细胞体积及增强心房利钠肽和 β -肌球蛋白重链的表达。miR-26b-5p、miR-140-3p 和 Gata4 siRNA 可以逆转 Ang II 诱导的心室肌细胞肥大性生长, 并消除 CircRNA_000203 在心室肌细胞中的促肥大作用。结果表明 CircRNA_000203 通过抑制

miR-26b-5p 和 miR-140-3p 导致 Gata4 水平升高, 从而加剧了心脏肥大心脏功能受损。

miR-133a 是心肌肥大重要的负性调控因子, LIM 等^[19]研究发现来 CircSlc8a1 可以作为心肌细胞中 miR-133a 的内源海绵, 腺病毒-9 在体内介导 CircSlc8a1 干扰敲低后可减轻心脏压力超负荷引起的心肌肥大, 而心肌细胞特异性过表达 CircSlc8a1 可导致心衰的发生。因此 CircSlc8a1 可以作为心脏肥大和心衰的新型治疗靶点。

2.3 CircRNA 与心肌损伤、凋亡

心肌损伤和细胞凋亡与心衰有关。凋亡增加会促进心衰进展, 而凋亡减少则会保护心脏, 抑制心衰的发生。WANG 等^[20]在培养的小鼠心肌细胞中发现 CircRNA MFACR 可以通过下调 miR-652-3p 和促进 MTP18 翻译来增加线粒体的分裂和凋亡, 以及心肌细胞死亡。SHI 等^[21]在脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 处理的 H9c2 细胞 (来自大鼠胚胎心室肌细胞) 模型中发现, LPS 降低了 H9c2 细胞的活力并增加了其凋亡和炎症损伤, 沉默 CircRNA ANKRD36 (si-CircANKRD36) 可减轻 LPS 诱导的细胞凋亡和炎症损伤。结果表明 si-CircANKRD36 通过上调 miR-138 抑制 LPS 激活的 p38MAPK/NF- κ B 通路发挥抗凋亡和抗炎作用。近期有研究发现 Circ_0010729 在氧葡萄糖剥夺诱导的人心肌细胞中增强表达, Circ_0010729 过表达会通过抑制人心肌细胞中的细胞生长和迁移而加剧氧葡萄糖剥夺诱导的损伤, Circ_0010729 敲除可减轻氧葡萄糖剥夺诱导的损伤^[22]。此外, Circ_0010729 可负调控 miR-145-5p 的表达, 沉默 Circ_0010729 通过上调 miR-145-5p 激活 mTOR 和 MEK/ERK 途径, 进而保护人心肌细胞免受氧葡萄糖剥夺诱导的损伤。因此 CircRNA 在心肌损伤和凋亡中扮演着重要角色。

2.4 CircRNA 与心肌电重构

心衰患者具有心律失常易感性, 心衰的程度越严重, 发生心房颤动 (以下简称房颤) 的倾向就越大, 此为心脏电重构所致。已经观察到房颤中有多种 CircRNA 表达的改变。SHANGGUAN 等^[23]通过高通量测序对 12 只犬进行 CircRNA 差异表达分析, 总共检测到犬心房组织中有 15 990 个 CircRNA。在对照组和房颤犬中发现了 146 个差异

表达的CircRNA。进一步行生物信息学分析发现差异表达的CircRNA与AF相关miRNA和mRNA之间存在广泛的相互作用,这为CircRNA在房颤机制中的作用奠定了坚实的基础。近期有研究在房颤患者和健康对照者左右心耳中共检测到14 215个CircRNA,对这些CircRNA的差异表达分析后显示有20个CircRNA上调和3个CircRNA下调,进一步研究表明Circ_0003965与它的亲本基因*TMEM245*呈显著负相关,说明Circ_0003965失调不受其亲本基因的转录调控^[24]。此外,研究发现hsa_Circ_0000075和hsa_Circ_0082096通过TGF- β 信号通路参与房颤的发病机制。这对CircRNA和房颤背后潜在机制的理解具有重要作用。但在房颤中的具体作用机制仍需进一步探究。

3 CircRNA与HF的诊断

CircRNA具有保守性与稳定性,作为心衰的生物标志物可为疾病的诊断提供新的方向。WANG等^[25]通过复制老鼠心衰模型发现一类与心脏相关的CircRNA,作为miR-223的内源性因子直接结合miR-223并抑制其活性,使miR-223对含胱天蛋白酶富集功能域凋亡抑制因子的调控作用减弱,凋亡抑制因子的表达增加,最终抑制心衰而达到保护心脏的作用。SUN等^[26]从3例心衰患者和3例健康对照组患者的血浆样品分析发现心衰患者血浆中有477个CircRNA上调,219个CircRNA下调。在失调的CircRNA中,与健康对照组相比,心衰患者hsa_Circ_0112085, hsa_Circ_0062960, hsa_Circ_0053919和hsa_Circ_0014010表达明显更高。用hsa_Circ_0062960进行心衰诊断的ROC曲线下面积为0.838。相关性分析表明,hsa_Circ_0062960的表达与B型钠尿肽血清水平高度相关,说明CircRNA可能在心衰发病机制中起作用,所以hsa_Circ_0062960具有作为心衰的新型诊断生物标志物的潜质。SALGADO-SOMOZA等^[27]报告了使用MI相关环状RNA(MICRA)来预测AMI患者左室功能衰竭的风险。从472例AMI患者的血液样本中发现射血分数 $\leq 40\%$ 的患者的MICRA表达水平低于射血分数 $> 41\%$ 的患者。MICRA水平较低的患者,射血分数降低的风险也很高,进一步鉴定出MICRA存在于86%的样本中,并验证表明其类似于传统标志物可

以作为心衰预测生物标记物。

4 问题与展望

心衰是目前在全球发病率高、病死率高、病程长的疾病之一,其发生、发展机制尚不明确,并且治疗与预后仍是一个重大挑战,在基因水平上揭示心衰的发生与发展必将对其早期诊断、精准治疗及良好预后提供更加高效的方法。CircRNA作为一种新发现的特殊的非编码RNA,在生物进化过程中具有特殊的生物学特性。越来越多研究证实CircRNA参加多种心血管疾病的发生或出现异常表达,在心血管疾病的诊断和预警中具有潜在临床应用价值,然而目前在心血管疾病研究中仍有许多关于CircRNA的问题亟待解决。比如:①CircRNA在体内的具体降解途径是什么?因此需要对CircRNA的生物发生的分子机制进行深入研究。②CircRNA除了主要作为miRNA分子海绵及蛋白质海绵起作用,是否存在其他作用机制促使心血管疾病发展?③心肌组织中的CircRNA是否会被其他组织吸收引起次级效应仍待明确。④需要对心血管疾病在不同发展阶段的CircRNA表达和血液循环中的CircRNAs全谱的特征描述,这将有助于选择CircRNAs进行未来的生物标志物研究。⑤需要对CircRNAs在心衰发展中如何发挥功能并调节多种生理和病理过程的详细研究,将有助于识别潜在的治疗靶点。⑥需要进一步对CircRNA评估标准化和临床适用诊断方法进行研究。⑦需要具有更大规模的队列的研究来验证CircRNA作为心衰候选生物标志物。因此,这些研究方向将有助于加深CircRNA在心血管疾病中作用的了解,并探讨其作为生物标记物的价值。

参 考 文 献 :

- [1] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.
- [2] LEI K X, BAI H T, WEI Z H, et al. The mechanism and function of Circular RNAs in human diseases[J]. Exp Cell Res, 2018, 368(2): 147-158.
- [3] DANAN M, SCHWARTZ S, EDELHEIT S, et al. Transcriptome-wide discovery of Circular RNAs in archaea[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(7): 3131-3142.

- [4] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats[J]. *RNA*, 2013, 19(3): 426-426.
- [5] 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.
- [6] CONN S J, PILLMAN K A, TOUBIA J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of CircRNAs[J]. *Cell*, 2015, 160(6): 1125-1134.
- [7] KULCHESKI F R, CHRISTOFF A P, MARGIS R. Circular RNAs are miRNA sponges and can be used as a new class of biomarker[J]. *J Biotechnol*, 2016, 238: 42-51.
- [8] GENG H H, LI R, SU Y M, et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating theregulation of miR-7a on its target genes expression[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151753.
- [9] HAN J Q, ZHANG L W, HU L G, et al. Circular RNA-expression profiling reveals a potential role of hsa_Circ_0097435 in heart failure via sponging multiple microRNAs[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 212.
- [10] GARIKIPATI N S, VERMA S K, CHENG Z, et al. Circular RNA CircFndc3b modulates cardiac repair after myocardial infarction via FUS/VEGF-A axis[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 4317.
- [11] ZHANG Y, ZHANG X O, CHEN T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2013, 51(6): 792-806.
- [12] 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.
- [13] HUANG X, CHEN Y, XIAO J, et al. Identification of differentially expressed Circular RNAs during TGF- β -induced endothelial-to-mesenchymal transition in rat coronary artery endothelial cells[J]. *Anatol J Cardiol*, 2018, 19(3): 192-197.
- [14] ZHOU B, YU J W. A novel identified circular RNA, circRNA-010567, promotes myocardial fibrosis via suppressing miR-141 by targeting TGF-beta1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487(4): 769-775.
- [15] NI H, LI W F, ZHUGE Y, et al. Inhibition of CircHIPK3 prevents angiotensin II-induced cardiac fibrosis by sponging miR-29b-3p[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 292: 188-196.
- [16] HUANG S L, LI X Z, ZHENG H, et al. Loss of super-enhancer-regulated CircRNA nfix Induces cardiac regeneration after myocardial infarction in adult mice[J]. *Circulation*, 2019, 139(25): 2857-2876.
- [17] MENG Z Y, CHEN C, CAO H L, et al. Whole transcriptome sequencing reveals biologically significant RNA markers and related regulating biological pathways in cardiomyocyte hypertrophy induced by high glucose[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(1): 1018-1027.
- [18] LI H, XU J D, FANG X H, et al. Circular RNA circRNA_000203 aggravates cardiac hypertrophy via suppressing miR26b-5p and miR-140-3p binding to gata4[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 23(6): 64-67.
- [19] LIM T B, ALIWARGA E, LUU T D H, et al. Targeting the highly abundant circular RNA CircSlc8a1 in cardiomyocytes attenuates pressure overload induced hypertrophy[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(14): 1998-2007.
- [20] WANG K, GAN T Y, 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.
- [21] SHI S W, ZHANG S H, ZHANG H L, et al. Silencing circANKRD36 Protects H9c2 cells against lipopolysaccharide-induced injury via up-regulating miR-138[J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 111: 104300.
- [22] JIN Q F, CHEN Y Y. Silencing circular RNA circ_0010729 protects human cardiomyocytes from oxygen-glucose deprivation-induced injury by up-regulating microRNA-145-5p [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 462 (1/2): 185-194.
- [23] SHANGGUAN W F, LIANG X, SHI W, et al. Identification and characterization of circular RNAs in rapid atrial pacing dog atrial tissue[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(1): 1-6.
- [24] ZHANG P P, SUN J, LI W. Genome-wide profiling reveals atrial fibrillation-related Circular RNAs in atrial appendages[J]. *Gene*, 2020, 728: 144286.
- [25] 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.
- [26] SUN Y Y, JIANG XL, LV Y, et al. Circular RNA expression profiles in plasma from patients with heart failure related to platelet activity[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 187.
- [27] SALGADO-SOMOZA A, ALGADO-SOMOZA A, ZHANG L, et al. The circular RNA MICRA for risk stratification after myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2017, 17(10): 33.

(李科 编辑)

本文引用格式: 李明明, 姚亚丽, 余飞, 等. 环状RNA在心力衰竭心肌重构中的作用[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(8): 44-48.

Cite this article as: LI M M, YAO Y L, YU F, et al. Research progress of the effects of circular RNA on myocardial remodeling in heart failure[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(8): 44-48.