

环状RNA与脑血管疾病关系的研究进展

付雪雯 综述 余素,周敬华 审校

三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院神经内科,湖北 宜昌 443003

【摘要】 环状RNA是真核生物中具有组织特异性和细胞特异性的共价封闭内源性生物分子,其生物特性受特定顺式作用元件和反式作用因子的调控。circRNAs和miRNA在竞争性内源RNA中结合能力最强,在细胞基因表达中起着miRNA分子海绵功能,并通过调控蛋白的翻译与表达等途径来调节多种疾病。circRNAs通过调控血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、血压等对脑血管病发生和发展产生重要作用。为了解circRNAs及其在调节脑血管疾病分子机制方面的研究进展,寻找潜在的药物分子标志物,本文对circRNAs在脑血管疾病进展中的研究进行简要概述,以寻求脑血管病诊疗新思路。

【关键词】 环状RNA;真核生物;竞争性内源RNA;miRNA;分子海绵;脑血管病

【中图分类号】 R743 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2021)02-0236-04

Research progress of the relationship between circRNA and cerebrovascular diseases. FU Xue-wen, YU Su, ZHOU Jing-hua. Department of Neurology, Yichang Central People's Hospital, the First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443003, Hubei, CHINA

[Abstract] circRNA is a covalently enclosed endogenous biomolecule with tissue and cell specificity in eukaryotes. Its biological characteristics are regulated by specific cis-regulatory elements and trans-acting factors. circRNAs and miRNA have the strongest binding ability in competitive endogenous RNA, and play the role of miRNA molecular sponge in cell gene expression, and regulate a variety of diseases by regulating protein translation and expression. circRNAs play an important role in the occurrence and development of cerebrovascular diseases by regulating vascular endothelial cells, vascular smooth muscle cells and blood pressure. In order to systematically understand the research progress of circRNAs and its molecular mechanism in the regulation of cerebrovascular diseases, and to search for potential drug molecular markers, this paper briefly summarizes the research of circRNAs in the progress of cerebrovascular diseases, so as to seek new ideas for the diagnosis and treatment of cerebrovascular diseases.

[Key words] circRNAs; Eukaryotes; Competitive endogenous RNA; miRNA; Molecular sponge; Cerebrovascular disease

环状RNA(circularRNAs, circRNAs)作为非编码RNA,由于其含量丰富、稳定性高、组织特异性强,近年来已成为研究热点。作为竞争性内源RNA,circRNAs在细胞基因表达中起着miRNA“分子海绵”的重要作用,其中大多数在转录或转录后水平上对基因表达起调节作用,少数可编码为多肽。circRNAs与miRNA的结合能力在竞争性内源RNA中最强,被称为“超级海绵”,其重要功能已在各种疾病的研究中被证实,包括肿瘤、心脏病、糖尿病、关节炎和阿尔茨海默病等。目前的研究表明,circRNAs在血管内皮细胞、平滑肌细胞、炎性氧化应激、缺血再灌注和低密度脂蛋白代谢中起着重要的调控作用,这有助于揭示它在脑血管疾病发病机制中的作用。因此,circRNAs有望成为脑血管疾病领域的潜在标志物和药物靶点,为脑血管疾病的发生、发展、诊断、治疗和康复提供新的思路。为了研究circRNAs在脑血管疾病机制中的作用,本文予以综述如下:

1 circRNA的识别

40余年前,有学者通过电子显微镜观察到真核细胞的细胞质中存在环形的RNA^[1]。然而,当时科学界只认为circRNAs是一类由于外显子在转录过程中错误剪接而形成的异常产物^[2],因此很少有人对其进行研究。随着转录测序技术(RNA-seq)和生物信息学的发展,许多之前认为“垃圾”RNA被证实具有重要的生物学功能^[3],如长链非编码RNA、miRNA和细胞内小核RNA(snRNA)。

2013年一篇研究论文指出,在人类成纤维细胞中存在多达25 000个circRNA,并参考人类白细胞数据库,通过RNA序列数据鉴定了1 950个人体circRNAs,使circRNAs成为继miRNA和长链非编码RNA之后RNA研究领域的新热点^[4]。由此可见,circRNAs并不像以前想象的那样罕见,它存在于大量真核细胞中,并于神经系统中高表达,通过对血管内皮细胞、低密度脂蛋白代谢、平滑肌细胞、炎性氧化应

激、缺血再灌注等机制的调节,参与卒中后多个病理生理的变化^[5]。

2 circRNA 的来源和特征

circRNAs 是特殊的非编码 RNA,以闭合环状结构命名,其环状二级结构是由单链线性转录产物以反转录和共价键的形成而产生,其结果是一个封闭的非聚腺苷环状转录产物^[6]。随着生物信息技术的进展,circRNAs 的形成机制和生物学特性越来越被学者所熟知。根据不同的遗传来源,circRNAs 可分为五种类型:(1)从外显子衍生 circRNAs,由外显子正向跳跃式剪切其同源受体和供体而形成;(2)外显子与内含子共同衍生的 circRNAs (exon-intron circRNAs, ElciRNAs),内含子可与环化的外显子互补序列区域配对,主要存在于细胞核中^[7];(3)从内含子衍生的 circRNAs 由内含子的 5' 端供体位点及相邻分支的核苷酸序列形成^[8];(4)依赖于 RNA 结合蛋白(RBPs)模式;(5)依赖于其他环化模式,如编码区、基因间区、反义链、未翻译序列等^[9]。

circRNAs 的主要特征是:(1)广泛存在于各种真核生物中,包括人体的心脏、肝脏、肾脏、骨骼系统、神经组织等^[10],还存在于细胞质、血清外体和人体体液中。研究发现,circRNAs 在古细菌细胞中也很普遍,其含量比线性 RNA 高达 10 倍;(2)具有很强的稳定性,其独特的闭环结构由于没有 5' 端加帽与 3' 端加尾,使核糖核酸酶无结合靶点,而且 circRNAs 不易被降解,因此其稳定性是线性转录本的 2.5~5 倍^[11]。同时,circRNAs 的半衰期比 miRNA 的半衰期长达 48 h 以上;(3)具有时空特异性,在不同时间、不同组织中的表达也有显著差异。例如,circRims2 是小鼠体内的一种 circRNAs,它在大脑中的含量约是其他组织的 20 倍;(4)具有高度保守性,但有些可发生快速的进化;(5)作为竞争性内源 RNA,在细胞中发挥 miRNA 分子海绵的作用;(6)大多数在转录后水平上对基因表达起调控作用,少数在转录水平上发挥作用。

3 circRNA 的功能

circRNAs 的功能主要依靠其独特的生物学性质。首先,可作为 miRNA 功能的调控因子,即分子海绵效应^[12~13],一些 circRNAs 有许多 miRNA 结合位点,可以通过选择性应答调节 miRNA 的表达水平或活性,从而对其靶基因的表达进行间接调控^[14]。其次,circRNAs 还可以通过碱基互补配对直接调控其他 RNA 的表达水平,结合 RBPs 调控蛋白质功能,如结合转录因子抑制基因的转录。目前已发现,脂多糖能诱导巨噬细胞表达 circRNA-RasGEF1B (RasGEF 结构域家族成员 1B),巨噬细胞中 circRNA-RasGEF1B 的敲除导致脂多糖诱导的细胞间黏附分子-1 表达减少,其通过调节细胞间黏附分子-1 的稳定性来实现^[15]。虽然 cir-

cRNAs 属于非编码 RNA,但也有少数 circRNAs 可以编码多肽,从而完成其调控功能。近年来,有学者发现 circRNA circ-znf609 参与肌肉生成过程中的蛋白翻译^[16],并在果蝇大脑中发现大量基于核糖体足迹的 circRNAs 直接翻译蛋白或多肽^[17]。大脑 circRNAs 的基因本体分析显示,突触蛋白承载了 circRNAs 的大部分基因编码,许多脑 circRNAs 在突触体和显微结构的突触神经膜中高度富集,揭示 circRNAs 在中枢神经系统发挥着重要的功能^[18]。

4 circRNA 与脑血管疾病

circRNAs 含量丰富且具有较高的组织特异性,已成为研究热点,在肿瘤、心脏病、糖尿病、阿尔茨海默病等多种疾病中扮演着重要的角色^[19~20],同时也与脑血管疾病的病理生理过程有密切关系。

4.1 circRNA 调控动脉粥样硬化 缺血性脑血管病作为神经科常见的急症,往往缺乏有效的治疗方法,其特点是高发病率、高死亡率以及高致残率^[21]。动脉粥样硬化是缺血性脑血管病的重要危险因素之一,是预防和治疗该病的关键^[22]。9 号染色体短臂的 p21 区(9p21)是与人类动脉粥样硬化相关的重要位点,周期蛋白所依赖的激酶 4 (ink4)基因的反义非编码 RNA (ANRIL)基因位于 p21 区,其表达增加与动脉粥样硬化密切相关,而 ANRIL 能通过自发剪接形成环状 ANRIL (circANRIL)^[23]。此外,ANRIL 也是炎症调节途径的一个组成部分,炎症被认为是动脉粥样硬化的病因之一^[24]。DU 等^[23]研究发现,circRNAs 可竞争性结合核糖体装配因子(PES1),使巨噬细胞外切酶介导的 rRNA 加工成熟,影响核糖体的合成,导致核仁增加、体积减少和活化,从而影响血管内皮细胞的凋亡和炎症因子的产生,降低动脉粥样硬化的风险,因此,circRNAs 可减少动脉粥样硬化的发病率。circRNAs hsa-circ-000595 可以调节血管平滑肌细胞(VSMC)的凋亡,而 VSMC 的凋亡使动脉内斑块变薄、破裂^[25],促进动脉恢复原有弹性。SUN 等^[26]在不同的 VSMC 表型中检测 circRNAs 的表达,发现 circ_RUSC2 可促进 miR661 靶基因 SYK 的表达,从而调节 VSMC 增殖、凋亡、表型调节和迁移。这些发现表明 circRNAs 可抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移和分泌,从而减少动脉粥样硬化的程度及斑块大小,延缓脑血管疾病的进展。

4.2 circRNA 在血管狭窄中的作用 内皮细胞位于血管最内层,产生和分泌生物活性物质,对维持血管张力、调节血压和防止血栓形成具有重要作用,被视为抵御血管疾病的第一道防线。血管内皮细胞增生是大动脉狭窄和血管异常增生的首要因素^[27]。GUOXI 等^[28]在探索 circRNAs 在高葡萄糖诱导的内皮细胞功能障碍中发现,共有 214 种 circRNAs 在高葡萄糖诱导的 HUVEC 中出现差异表达,经全面生物信息

学分析,高葡萄糖诱导HUVEC差异表达的circRNAs在减轻血管内皮功能和血管再生损害中起重要作用。DUAN等^[29]在大脑中动脉阻塞(tMCAO)小鼠模型中建立了一个circRNA-miRNA网络。从6个脑组织中共筛选出14 694个差异表达的circRNAs(DECs),与无血管狭窄的模型相比,其中87个DECs呈显著差异($P<0.05$)。circRNA.17737、circRNA.8828和circRNA.14479表达显著上调,同时,上调的DECs曲线分析显示circRNA.17737可能是大脑中动脉狭窄诊断的潜在生物标志物^[30]。HAN等^[31]在tMCAO小鼠脑卒中模型中发现缺血脑组织中的环状RNA-Hect1(circHect1)水平显著升高,减少circHect1表达可显著降低tMCAO小鼠的梗死面积,减轻神经元损伤。

4.3 circRNA在高血压中的作用 高血压作为脑血管疾病的另一重要危险因素,也是动脉粥样硬化、周围血管疾病等的危险因素。最近研究证明,在高血压患者的各种组织、体液中均可检测到circRNAs。有学者在对100例高血压患者的病例研究中发现多达287个circRNAs存在,其中包括circRNAs的上调转录物及下调转录物^[32]。研究组还发现hsa-circ-0037911与血清肌酐(scr)呈正相关,scr是高血压的已知危险因素^[33]。内皮细胞功能紊乱与高血压密切相关,研究表明circRNAs的异常表达可影响内皮细胞的基因表达,在脑血管疾病的几个主要危险因素中具有调控作用,其中,circRNAs在血压稳态中的作用可能是通过对肾素-血管紧张素-醛固酮系统的影响。此外,还应考虑生活方式、炎症和疾病状态等对circRNAs调节高血压的影响^[34]。大多数研究都集中在循环系统(血浆或血清)中的差异表达,但关于这些RNA在血液中来源的数据有限。因此,了解circRNAs在直接参与组织、器官调节血压中的作用,可以揭示它是如何导致高血压的发生和发展。

4.4 circRNA影响缺血性卒中后的炎症反应 缺血性卒中发生后,血液中的中性粒细胞活化并进入脑组织,分泌炎症因子,包括细胞因子、活性氧以及蛋白酶等,导致血脑屏障(BBB)破坏^[35]。目前已知的中枢神经系统炎症机制包括神经炎症、氧化应激损伤、神经递质系统紊乱、线粒体功能障碍、脂质代谢紊乱和生长因子改变^[36],这些炎症反应导致脑组织水肿,加重神经功能损害。研究发现CircRNA-0044073可激活HUVSMCs和HUVECs的JAK/STAT信号通路^[37],且可能直接调控miR-107,从而导致JAK1/STAT3信号上调。而JAK1是启动许多炎症性疾病的关键因素,诱导IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的产生^[38]。在STAT蛋白中,STAT3是全身炎症基因的激活因子,以激活形式存在于动脉粥样硬化的炎症区域,从而影响卒中后的功能恢复。此外,由核受体辅激活因子2(NcoA2)产生

的circ-015350也可调节转录因子的活性,参与卒中后细胞凋亡和氧化应激等多种生物学过程^[39]。因此,减少CircRNA-0044073和circ-015350对炎症因子的调控,可能减轻卒中后炎症反应,减少神经功能损害程度,为治疗卒中提供新的药物靶点。

5 展望

以上研究表明,不同来源的circRNA在血管内皮细胞、平滑肌细胞、炎性氧化应激及血管狭窄的调控中起着重要作用,有助于揭示circRNAs调控脑血管病发生与发展的分子机制。circRNAs作为一种非编码RNA,以其丰富性、高稳定性和组织特异性成为近年来的研究热点。由于circRNAs在动脉粥样硬化型缺血性卒中患者中的差异表达及病理生理机制研究尚处于早期阶段,许多circRNAs作用的特定通路及机制尚待进一步研究。例如,通过敲除circRNAs的特定表达,以确定circRNAs如何调节细胞通路,明确circRNAs对RNA的修饰是否发生,以及这些特征如何影响circRNAs功能,并开发新的生物信息学方法。对circRNAs的不断探索将有助于研究者们更好地理解大脑功能的异质性和动态性,同时,circRNAs以其独特的优势也有望成为脑血管病领域的潜在标记物和药物分子靶点,为脑血管病的发生、发展、诊断、治疗和康复提供了新的视角。

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] ZHENG Q, BAO C, GUO W, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs [J]. Nat Commun, 2016, 7: 11215.
- [3] FLORIS G, ZHANG L, FOLLESA P, et al. Regulatory role of circular RNAs and neurological disorders [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(7): 5156-5165.
- [4] MEMCZAK S, JENS M, ELEFSINIOTI A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. Nature, 2013, 495(7441): 333-338.
- [5] JECK WR, SORRENTINO JA, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. RNA, 2013, 19(2): 141-157.
- [6] CHEN I, CHEN CY, CHUANG TJ. Biogenesis, identification, and function of exonic circular RNAs [J]. Wiley Interdiscip Rev Rna, 2015, 6(5): 563-579.
- [7] 吕玲双,王建明.环状RNA与人类疾病研究进展[J].医学研究杂志,2017,46(1): 18-21.
- [8] HUANG R, ZHANG Y, HAN B, et al. Circular RNA HIPK2 regulates astrocyte activation via cooperation of autophagy and ER stress by targeting MIR124-2HG [J]. Autophagy, 2017, 13(10): 1722-1741.
- [9] MEMCZAK S, PAPAVASILEIOU P, PETERS O. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in human blood [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0141214.
- [10] CHEN W, SCHUMAN E. Circular RNAs in brain and other tissues: a functional enigma [J]. Trends Neurosci, 2016, 39(9): 597-604.

- [11] ENUKA Y, LAURIOLA M, FELDMAN ME, et al. Circular RNAs are long-lived and display only minimal early alterations in response to a growth factor [J]. Nucleic Acids Res, 44(3): 1370-1383.
- [12] XIE DY, DU XY, ZHANG M, et al. circRNAs: potential targets for the prevention and treatment of cerebrovascular diseases [J]. SN Comprehensive Clinical Medicine, 2019, 1(8): 584-589.
- [13] KRISTENSEN LS, ANDERSEN MS, STAGSTED LVW, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(11): 675-691.
- [14] YANG Y, FAN X, MAO M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N6-methyladenosine [J]. Cell Res, 2017, 27(5): 626-641.
- [15] NG WL, MARINOV GK, CHIN YM, et al. Transcriptomic analysis of the role of RasGEF1B circular RNA in the TLR4/LPS pathway [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12227.
- [16] LEGNINI I, DI TG, 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.
- [17] LI X, YANG L, CHEN LL, et al. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs [J]. Mol Cell, 2018, 71(3): 428-442.
- [18] PATOP IL, WÜST S, KADENER S. Past, present, and future of circRNAs [J]. EMBO J, 2019, 38(16): e100836.
- [19] FANG Y, WANG XX, LI WQ, et al. Screening of circular RNAs and validation of circANKRD36 associated with inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Int. J Mol Med, 42(4): 1865-1874.
- [20] EBBESEN KK, KJEMS J, HANSEN TB. Circular RNAs: identification, biogenesis and function [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1859 (1): 163-168.
- [21] WANG W, JIANG B, SUN H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480687 adults [J]. Circulation, 2017, 135(8): 759-771.
- [22] RUST R, HOFER AS, SCHWAB ME. Stroke promotes systemic endothelial inflammation and atherosclerosis [J]. Trends Mol Med, 2018, 24(7): 593-595.
- [23] 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.
- [24] CHI JS, LI LZ, JIA JJ, et al. Long non-coding RNA ANRIL in gene regulation and its duality in atherosclerosis [J]. J Huazhong Univ Sci Technol (Med Sci), 2017, 37(6): 816-822.
- [25] ZHENG C, NIU H, MING LI, et al. Cyclic RNA has-circ-000595 regulates apoptosis of aortic smooth muscle cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(5): 6656-6662.
- [26] SUN J, ZHANG Z, YANG S. Circ_RUSC2 upregulates the expression of miR-661 target gene SYK and regulates the function of vascular smooth muscle cells [J]. Biochem Cell Biol, 2019, 97(6): 709-714.
- [27] ZHAO M, GAO F, ZHANG D, et al. Altered expression of circular RNAs in Moyamoya disease [J]. J Neurol Sci, 2017, 381(11): 25-31.
- [28] JIN GX, WANG Q, HU XL, et al. Profiling and functional analysis of differentially expressed circular RNAs in high glucose-induced human umbilical vein endothelial cells [J]. FEBS Open Bio, 2019, 9(9): 1640-1651.
- [29] DUAN X, LI L, GAN J, et al. Identification and functional analysis of circular RNAs induced in rats by middle cerebral artery occlusion [J]. Gene, 2019, 701(53): 139-145.
- [30] SHEN Y, SHEN Z, GUO L, et al. MiR-125b-5p is involved in oxygen and glucose deprivation injury in PC-12 cells via CBS/H2S pathway [J]. Nitric Oxide, 2018, 78(1): 11-21.
- [31] HAN B, ZHANG Y, ZHANG Y, et al. Novel insight into circular RNA HECTD1 in astrocyte activation via autophagy by targeting MIR142-TIPARP: implications for cerebral ischemic stroke [J]. Autophagy, 2018, 14(7): 1164-1184.
- [32] BAO X, ZHENG S, MAO S, et al. A potential risk factor of essential hypertension in case-control study: Circular RNA hsa_circ_0037911 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(4): 789-794.
- [33] SANTHANAM P, KHITAN Z, KHTHIR R. Association between serum total bilirubin and serum creatinine and the effect of hypertension [J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2015, 17(1): 61-62.
- [34] ZAIQU M. Circular RNAs in hypertension: challenges and clinical promise [J]. Hypertens Res, 2019, 42(11): 1653-1663.
- [35] COREY S. Circular RNAs and neutrophils: Key factors in tackling asymptomatic moyamoya disease [J]. Brain Circ, 2019, 5(3): 150-155.
- [36] DU SQ, WANG XR, XIAO LY, et al. Molecular mechanisms of vascular dementia: what can be learned from animal models of chronic cerebral hypoperfusion? [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(5): 3670-3682.
- [37] 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]. Mol Med Rep, 2019, 19(5): 3923-3932.
- [38] MASCHALIDI S, SEPULVEDA FE, GARRIGUE A, et al. Therapeutic effect of JAK1/2 blockade on the manifestations of hemophagocytic lymphohistiocytosis in mice [J]. Blood, 2016, 128(1): 60-71.
- [39] MEHTA SL, PANDI G, VEMUGANTI R. Circular RNA expression profiles alter significantly in mouse brain after transient focal ischemia [J]. Stroke, 2017, 48(9): 2541-2548.

(收稿日期:2020-07-21)