

· 综 述 ·

非编码 RNA 参与颅内动脉瘤病理机制的研究进展

田 杨 综述 史怀璋 审校

【关键词】 颅内动脉瘤;发病机制;非编码 RNA
【文章编号】 1009-153X(2018)10-0701-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 743.9

颅内动脉瘤破裂是造成蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)的主要原因,年发病率为(18~23)/10 万,约 12%的病人在接受治疗前死亡,40%在出血后 1 个月内死亡,存活病人中 1/3 遗留严重神经功能障碍^[1]。目前,颅内动脉瘤的形成和破裂机制并不十分清楚。非编码核糖核酸(non-coding RNA, ncRNA)在颅内动脉瘤形成中具有重要的作用。在基因的转录和翻译过程中,大部分基因(97%~98%)转录为 ncRNA。既往认为 ncRNA 不具有生物表达功能,仅仅参与转录环节。近年来,研究证实 ncRNA 不仅能够与 DNA、蛋白质结合,还能够通过碱基配对与其他 RNA 结合形成复合体,参与基因转录及转录后调控,进而对基因的表达产生影响。本文就 ncRNA 中微小核糖核酸(micro-RNA, miRNA)、小干扰核糖核酸(small interfering RNA, siRNA)、长链非编码核糖核酸(long non-coding RNA, lncRNA)及环状核糖核酸(circular RNA, circRNA)在颅内动脉瘤致病机制中的研究进展进行综述。

1 miRNA 与颅内动脉瘤形成的机制

miRNA 是由 18~25 个核苷酸组成的单排非编码 RNA。成熟 miRNA 通过与靶信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)的 3'-UTR(非翻译区)互补结合,在转录后水平调节基因表达。当 miRNA 与靶 mRNA 的 3'-UTR 完全或近似完全配对时, mRNA 与 RNA 形成诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC),然后进入细胞浆引发靶 mRNA 的降解^[2]。最新的研究发现, miRNA 还能与 mRNA 的编码区作用,提示蛋白翻译过程也可能受 miRNA 调控

^[3]。miRNA 同时也调控细胞的多种生物学过程,包括增殖、分化和凋亡,因此 miRNA 的表达异常可能与多种疾病的发生及发展相关。

大鼠动脉瘤模型研究发现,在颅内动脉瘤形成的后期,14 个 miRNA 表达上调,6 个 miRNA 表达下调;其中,3 个上调 miRNA 和 1 个下调 miRNA 通过抑制颅内动脉瘤血管平滑肌细胞凋亡并促进细胞增殖影响颅内动脉瘤的形成。兔动脉瘤模型研究发现 3 种 miRNA 表达下调,5 种 miRNA 表达上调。临床研究发现 SAH 病人外周血 86 种 miRNA 表达失调。对比颅内动脉瘤的不同阶段,早期动脉瘤 68 个 miRNA 过表达,未破裂动脉瘤 4 个 miRNA 过表达、9 个 miRNA 表达下调,破裂动脉瘤 2 个 miRNA 表达上调、13 个 miRNA 表达下调。研究发现 miR-29 通过转录后机制抑制蛋白表达影响动脉瘤的形成、进展和破裂。有研究对经过筛选的 miRNA 进行生物信息学和功能分析,发现 9 个靶基因与动脉瘤发病相关^[4]。另外,有研究利用综合数据库及生物通路分析软件构建 miRNA-mRNA 网络分析预测靶基因,发现 18 种 miRNA 可以从 mRNA 微阵列中靶向筛选出 681 个基因,其中 11 种 miRNA 和 54 种基因参与吞噬细胞的迁移、平滑肌细胞的移动、血管内皮细胞的死亡、内皮细胞的迁移、内皮细胞的运动、血管内皮细胞的凋亡、平滑肌细胞的增殖和内皮细胞增殖等^[5]。此外, Liu 等^[6]计算机检索 miRNA 靶基因,建立 miRNA-mRNA 相互作用机制,最后结果表明,包括程序性细胞死亡、细胞外基质对氧化应激反应、平滑肌细胞增殖等过程都与这些 miRNA 及其靶基因有关。

2 siRNA 与颅内动脉瘤形成的机制

siRNA 是一种短片段双链 RNA 分子,能够以同源互补序列的 mRNA 为靶目标,降解特定的 mRNA。Elbashir 等^[7]首先报道以体外合成的 siRNA 转染哺乳动物细胞后,可抑制特定基因的表达,不论

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2018.10.021
作者单位:150001 哈尔滨,哈尔滨医科大学第一附属医院神经外科(田 杨、史怀璋)
通讯作者:史怀璋, E-mail: huaizhangshi@163.com

在低等生物还是在高等生物细胞中,均能发挥特异性基因表达抑制功能,而且对体外转导的基因和细胞的内生基因同样有效。可能机制是 siRNA 在腺苷三磷酸(adenosine-triphosphate, ATP)参与下被 RNA 解旋酶解旋成单链,并由其中反义链指导形成 RISC,沉默同源靶基因。

白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)是人体重要的促炎症反应细胞因子,具有多种生物学效应,可促进细胞增殖、激活炎症反应等,对颅内动脉瘤的发生和发展都有促进作用。早期生长反应因子-1(early growth response factor-1, Egr-1)是一种锌指结构转录因子,在正常血管壁中不表达或者低水平表达,而当动脉损伤及其他因素的刺激下会表达上调,诱导平滑肌细胞的分裂、增殖和内膜增生^[8],也对颅内动脉瘤的形成和发展起到一定的促进作用。Liu 等^[9]对烟草烟雾提取物(cigarette smoke extract, CES)刺激大鼠主动脉血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC),观察到 VSMC 的 IL-1 β mRNA 表达上调,转染 Egr-1 siRNA 沉默 VSMC 的 Egr-1 表达,可以在一定程度上抑制 CES 诱导的 IL-1 β mRNA 表达。近年来,基质金属蛋白酶与颅内动脉瘤的关系也引起关注,其中热门当属基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9。有研究对颅内动脉瘤病人 MMP-2 水平进行分析,结果 22 例颅内动脉瘤中有 14 例,7 例对照组中仅 1 例呈 MMP-2 阳性,他们认为 MMP-2 与血管外基质的局部降解有关,可能参与动脉瘤的形成和生长^[10]。另有研究发现激动剂蛋白-1(activator protein-1, AP-1)siRNA 阳性组与未转染组比较,阳性组平滑肌细胞 MMP-2、MMP-9 活性明显降低,而阴性 siRNA 组和未转染组平滑肌细胞 MMP-2、MMP-9 活性变化不大,证实 AP-1 siRNA 能抑制平滑肌细胞的增殖、迁移,促进平滑肌细胞由合成型向收缩型分化,同时抑制平滑肌 MMP-2、MMP-9 的表达^[11]。

3 lncRNA 与颅内动脉瘤形成的机制

lncRNA 也属 ncRNA,通常指长度大于 200 个核苷酸、缺少开放阅读框架的 RNA 转录本,位于细胞核或细胞质中,主要由 RNA 聚合酶 II 转录而来,可被选择性聚腺苷酸化或剪接,也具有启动子结构,并在基因组中广泛表达。在转录调控、转录后调控及蛋白质代谢和染色质重构等方面均发挥重要的作用。lncRNA 可通过多种机制调控基因转录,既可通过调控转录自身的局部基因,又可与蛋白复合体相

结合调控基因表达。同时 lncRNA 也可通过诱捕 miRNA,形成 RNA 降解复合体,降解 miRNA。此外, lncRNA 也可直接与 mRNA 作用调节其转录,调节最终的蛋白表达和终末分化^[12]。

颅内动脉瘤的形成涉及血管内皮细胞功能的障碍,机制源于内皮细胞在血浆促炎性因子的刺激下发育和连接功能的障碍。Li 等^[13]鉴定出针对酪氨酸激酶的一条反义转录本,这种酪氨酸激酶包含表皮生长因子同源域-1(tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains 1, tie-1),在动物标本中, tie-1 的反义 lncRNA 随着靶标出现表达变化,且选择性与 tie-1 mRNA 相结合调控 tie-1 转录水平,导致内皮连接障碍,同时在人类变异的血管组织标本中发现, tie-1 和其反义转录 lncRNA 的比例也发生变化,这提示 lncRNA 参与内皮细胞基因表达后调控,与血管发育密切相关。胸主动脉瘤病人研究发现,染色质重塑复合物核心催化亚基(brahma-related gene 1, BRG1)在主动脉中层出现高表达,这种高表达导致主动脉平滑肌细胞凋亡增加、增殖减慢,而在平滑肌细胞中使用 siRNA 敲除 BRG1 后,缺氧诱导因子-1 α 反义 RNA1 出现低表达,而在过表达 BRG1 平滑肌细胞中,缺氧诱导因子-1 α 反义 RNA1 出现高表达,使用 siRNA 抑制缺氧诱导因子-1 α 反义 RNA1 后,平滑肌细胞出现凋亡减少、增殖增加,表明 BRG1 和缺氧诱导因子-1 α 反义 RNA1 共同调控平滑肌细胞的增殖和凋亡,进而影响胸主动脉瘤的发生^[14]。鉴于 BRG1 和缺氧诱导因子-1 α 反义 RNA1 可以调节平滑肌增殖和调控的动态平衡,这种调控也很可能参与颅内动脉瘤的形成。

4 circRNA 与颅内动脉瘤的形成机制

circRNA 是近几年发现的一种特殊非编码 RNA,与线状 RNA 不同,无 5'“帽子”与 3'多聚腺苷酸“尾巴”,是封闭的环状结构,既可来源于外显子又可来源于内含子。有研究发现,一些 circRNA 在大脑中呈特异性表达^[15]。

一项人腹主动脉瘤的研究发现, circRNA hsa-circ-000595 在腹主动脉瘤的平滑肌细胞中呈高表达,敲除 hsa-circ-000595 会抑制腹主动脉血管平滑肌细胞的凋亡,并且 hsa-circ-000595 可以靶向调节 microRNA-19 的表达,而颅内动脉瘤与腹主动脉瘤的发生机制都存在血管平滑肌细胞的凋亡,因此 circRNA 也有可能参与颅内动脉瘤的形成与发展^[16]。最近的一项研究显示,INK4 基因座中反义非编

码 RNA 基因也可以形成 circRNA,能够竞争性结合核糖体的组装因子,从而减弱血管平滑肌细胞和巨噬细胞中核酸外切酶介导的核糖体 RNA 前体的处理,进而影响核糖体 RNA 的加工成熟及核糖体的合成,导致核仁增多、体积变小并引起 P53 的活化^[17]。而这些都可能影响到颅内动脉瘤形成的进程,同时 circRNA 也可能是对颅内动脉瘤进行药物干预的潜在靶点。

综上所述,ncRNA 在转录、翻译等多个环节参与或影响颅内动脉瘤的发生与发展。作为一个新兴研究领域,展示出来巨大的潜力,在未来可能作为新的标记物用于对颅内动脉瘤的预防、诊断和治疗。相信随着生物科学研究的发展,新的 RNA 检测与追踪技术的发明,基因分析与预测功能的完善,相应的临床实验研究会越来越多,对包括颅内动脉瘤在内的脑血管疾病方面的研究会取得更大的突破。

【参考文献】

[1] Rinkel GJ, Djibuti M, Algra A. Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systematic review [J]. Stroke, 1998, 29: 251-256.

[2] Xiong S, Zheng Y, Jing P, *et al.* MicroRNA-7 inhibits the growth of human non-small cell lung cancer A549 cells through targeting BCL-2 [J]. Bio Sci, 2011, 7(6): 805-814.

[3] Tay Y, Zhang J, Andrew M, *et al.* MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation [J]. Nature, 2008, 455(7216): 1124-1128.

[4] Huang F, Yi J, Zhou T, *et al.* Toward understanding non-coding RNA roles in intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage [J]. Transl Neurosci, 2017, 8: 54-64.

[5] Jiang Y, Zhang M, He H, *et al.* MicroRNA/mRNA profiling and regulatory network of intracranial aneurysm [J]. BMC Med Genomics, 2013, 6: 36.

[6] Liu D, Han L, Wu X, *et al.* Genome-wide microRNA changes in human intracranial aneurysms [J]. BMC Neurol, 2014, 14: 188.

[7] Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, *et al.* Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells [J]. Nature, 2001, 411(6836): 494-498.

[8] 孙晓君. siRNA 对大鼠血管平滑肌细胞 EGR-1 表达的影响[D]. 中国医科大学, 2010.

[9] 刘雪莲. Egr-1 siRNA 对烟草烟雾刺激大鼠主动脉血管平滑肌细胞分泌白细胞介素-1 mRNA 的影响[A]. 第十三次全国心血管病学术会议论文集[C]. 中华医学会心血管病学分会, 2011. 1.

[10] Todor DR, Lewis I, Bruno G, *et al.* Identification of a serum gelatinase associated with the occurrence of cerebral aneurysms as pro-matrix metalloproteinase [J]. Stroke, 1998, 29: 1580-1583.

[11] 张宏伟. Ap-1 基因 siRNA 干扰对血管平滑肌细胞增殖、迁移、分化及细胞外基质的影响[D]. 中国医科大学, 2008.

[12] Kretz M, Siprashvili Z, Chu C, *et al.* Control of somatic tissue differentiation by the long non-coding RNA TINCR [J]. Nature, 2013, 493(7431): 231-235.

[13] Li K, Blum Y, Verma A, *et al.* A noncoding antisense RNA in tie-1 locus regulates tie-1 function in vivo [J]. Blood, 2010, 115(1): 133-139.

[14] Wang S, Zhang X, Yuan Y, *et al.* BRG1 expression is increased in thoracic aortic aneurysms and regulates proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells through the long non-coding RNA HIF1A-AS1 in vitro [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2015, 47(3): 439-446

[15] van Rossum Daniëlle, Verheijen Bert M, Pasterkamp R Jeroen. Circular RNAs: novel regulators of neuronal development [J]. Front Mol Neurosci, 2016, 9: 74

[16] Zheng CF, Niu H, Li M, *et al.* Cyclic RNA hsa-circ-000595 regulates apoptosis of aortic smooth muscle cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(5): 6656-6662.

[17] Holdt LM, Stahnger A, Sass K, *et al.* Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans [J]. Nat Commun, 2016, 7: 12429.

(2018-04-16 收稿, 2018-05-23 修回)