

# 非编码 RNA 在血管新生中的作用

闫文敏 尤艳利 袁影 周爽

【中图分类号】 R543.4 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2017)06-0578-03  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.06.030

随着遗传学与基因学的发展,对基因的研究越来越深入,曾经被认为无用的非编码 RNA(non-coding RNA)逐渐得到人们的重视,关于非编码 RNA 在各种疾病中的机制及所发挥作用的研究也越来越多。近年来有许多关于非编码 RNA 在各种疾病血管新生机制中的研究,作为非编码 RNA 的重要成员的长链非编码 RNA(lncRNA)和微小非编码 RNA(microRNA, miRNA)在血管新生中发挥着怎样的作用,本研究对近年来关于非编码 RNA 在血管新生中的作用作一综述。

人类基因组 DNA 核苷酸序列中约 93% 能被转录为 RNA,其中仅 2% 的转录产物被翻译为蛋白质,其余 98% 均为不能翻译为蛋白质的非编码 RNA<sup>[1]</sup>。非编码 RNA(non-coding RNA)是一类基因组转录过程中产生的具有多种功能而不翻译蛋白质的 RNA,但却可从多种机制影响基因表达的 RNA 分子,比如影响 RNA 的转录或翻译来调控蛋白表达。根据核苷酸序列长度,非编码 RNA 可分为两大类,即短链非编码 RNA(short/small ncRNA)和长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA),其中短链非编码 RNA 包括微小 RNA(microRNA, miRNA)、小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)、Piwi 蛋白相互作用 RNA(Piwi-interacting RNA, piRNA)、核仁小分子 RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)等<sup>[2]</sup>。最近美国人类基因组研究所和欧洲生物信息研究所公布了 DNA 元件百科全书(ENCODE),解码了占人类 98% 的 DNA 的非编码序列,确定了 8800 个 microRNA, 9640 个长非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和 400 万个基因调节开关<sup>[3]</sup>。

## 1 lncRNA 概述

lncRNA 是真核细胞生物中一类转录本长度大于 200nt 的非编码 RNA 分子,是非编码 RNA 的重要组成部分。根据 lncRNA 与编码基因的位置不同常被分为 5 类:(1)正义 lncRNA(sense),其转录方向与邻近蛋白编码基因转录方向相同;(2)反义 lncRNA(antisense),其转录方向与邻近蛋白编码基因转录方向相反;(3)双向 lncRNA(bidirectional), lncRNA 同时从邻近的蛋白编码基因分别向相同和相反 2 个

方向进行转录;(4)基因间 lncRNA(intergenic), lncRNA 从 2 个基因间转录得到;(5)基因内 lncRNA(intronic), lncRNA 从基因的内含子区转录得到<sup>[4-5]</sup>。调节机制可能涉及(1)干扰邻近编码蛋白基因表达;(2)抑制聚合酶 II 活性;(3)参与转录后修饰;(4)与功能性蛋白结合;(5)作为小分子 RNA 的前体物质;(6)与染色体结合,通过信号通路调节<sup>[6]</sup>。其最初被认为是 RNA 聚合酶 II 转录后的副产物,为基因组转录的“噪声”,并且不具备生物学功能。随着研究的深入,人们发现 lncRNA 并非基因组转录的噪音,它能够与蛋白、DNA 及其他 RNA 相互作用,通过在表观遗传调控、转录及转录后水平调节基因表达,参与多种生物学过程,在机体正常生理过程中起重要的调节作用<sup>[7]</sup>。

## 2 miRNA 概述

miRNA 是广泛存在于真核细胞中的一类长度为 21~25nt,参与转录后基因调控的内源性非编码小分子单链 RNA,一般来源于染色体的非编码区。miRNA 按照碱基互补配对原则结合到靶基因的 3'非翻译区(3'-UTR),发挥转录后的基因调节作用。miRNA 既可与靶基因部分结合,抑制转录后翻译过程,也可与靶基因完全互补结合,从而直接降解靶 mRNA 来发挥负性调控作用<sup>[8]</sup>。且特定 miRNA 与血管生成过程密切相关,miRNA 通过调节关键血管生成因子的表达来调节血管生成过程。研究表明 miRNA 的功能失调在多种血管性疾病的发生和发展中发挥极其重要的作用,并阐述了参与触发 miRNA 表达失调的因素,如缺氧诱导因子(HIF)、血管内皮生长因子(VEGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)等<sup>[9]</sup>。

## 3 血管新生概述

血管新生是指在已有的毛细血管和毛细血管后静脉基础上微血管以出芽的方式通过内皮细胞的增殖、发芽和迁移而形成新的血管分支和毛细血管网的复杂过程。人体正常生理情况下血管新生只发生于伤口愈合、感染、子宫经期和胚胎发育期,但病理性血管新生则会在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)、糖尿病视网膜病变、类风湿关节炎以及肿瘤等疾病中发生。血管新生的过程虽然复杂,其中最重要的环节还是内皮细胞功能的变化,由内皮细胞释放的细胞因子在血管新生过程中调节内皮细胞的迁移和分化<sup>[10]</sup>。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是内皮细胞特异性促有丝分裂原和趋化因子,是促进血管新生的重要因子,结合于内皮细胞表面的特异性受

基金项目:国家自然科学基金(NO. 81503647, 81574059);上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划(CC-3-7002)资助

作者单位:201203 上海中医药大学(闫文敏);第二军医大学长海医院中医系[尤艳利 袁影 周爽(通信作者)]

体,激活相关的缺血缺氧转导通路,促进新生血管形成,脑缺血后 VEGF 在不同区域发挥不同作用<sup>[11]</sup>。VEGF 和 Ang-1 调节着血管新生和成熟,而 VEGF 受体(Flk-1)和 Ang-1 受体 Tie-2 均含有酪氨酸激酶亚基,在调节血管新生中发挥重要作用。徐玲等<sup>[12]</sup>发现 VEGF 在子宫内膜异位症(EM)血管新生中起到重要作用,通过影响 VEGF 达到治疗 EM 的目的。血管新生是肿瘤生长和转移的关键步骤,癌细胞通过新生血管提供营养支持、侵袭周围组织以及向远处转移,促血管新生作用最强且特异性最高的因子 VEGF 在肿瘤血管新生中就起到了关键作用<sup>[13]</sup>。郭刚等<sup>[14]</sup>验证了十全大补汤通过直接或间接降低 VEGF 及上调 ES 的水平来减少血管生成,达到抑制转移瘤生长的作用。

#### 4 miRNA 与血管新生

近年来许多研究结果表明非编码 RNA 在各种疾病血管新生中发挥较大的作用,miRNA 通过直接或间接作用于 VEGF 及其信号通路而影响血管新生的进程。Soufizomorod 等<sup>[15]</sup>在人脐静脉血管内皮细胞(Human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)转染 mir-129-1 和 miR-133 为模型的体外研究中证实了 miR-129-1 和 miR-133 可分别直接靶向 VEGFR2 和 FGFR1,并抑制它们的表达,从而抑制 HUVEC 的血管新生。Li 等<sup>[16]</sup>研究证实 miR-107 通过直接下调 Dicer-1(编码处理 miRNA 前体必需的酶)的表达来促使 VEGF mRNA 的翻译减退,从而增加内皮细胞衍生的 VEGF(VEGF165/VEGF164)的表达,进而增强脑卒中后血管的形成和内皮细胞的迁移,以增加体外和体内血管生成。Zeng 等<sup>[17]</sup>在成年雄性 C57BL/6 小鼠立体定向注射携带 miR-210(LV-miR-210)的慢病毒载体的实验中发现,miR-210 是微 RNA 水平上促进血管生成和神经发生的关键因子,而且与局部增加的血管内皮生长因子(VEGF)水平相关。Braza-Boils 等<sup>[18]</sup>观察到用腹膜液诱导治疗子宫内膜异位症可导致与血管生成相关的 miRNA(miR-16,-17-5p,-20a,-125a,-221 和-222)水平降低和 VEGF-A 蛋白水平增加,这 6 种 miRNA 直接或间接调节 VEGF-A 表达,miR-17-5p,miR-20a,miR-125a 及 miR-222 与 VEGF-A 蛋白表达水平的增加之间存在显著的负相关,miR-16-5p 和 miR-424-5p 可调节子宫内膜和子宫内膜异位细胞中的 VEGF-A 蛋白水平,这些结果表明腹膜液通过 miRNA 作用调节子宫内膜和子宫内膜异位基质细胞中的血管生成。Sun 等<sup>[19]</sup>证实,在人多发性骨髓瘤细胞中 miR-15a 和 miR-16 通过靶向 VEGF-A 的异位过表达降低骨髓瘤细胞的促血管生成活性,进而抑制血管新生。Hu 等<sup>[20]</sup>发现在非小细胞肺癌细胞中 miR-128 可以直接抑制 VEGF-C 的表达,间接抑制 VEGF-A、VEGFR-2、VEGFR-3 的表达,同时还可以抑制 ERK、AKT 及 P38 的磷酸化,最终起到抑制血管新生的作用。

miRNA 除了可以通过作用于 VEGF 调控各种疾病中的血管新生外,亦可以通过作用于与血管新生相关的其它血管生成因子来达到促进或抑制血管新生的作用。翁春华等<sup>[21]</sup>发现 miR-1208, miR-196b, miR-296, miR-4093p, miR-

570 和 miR-641 这 6 个 miRNA 可以不同程度地抑制血管生成素的 mRNA 和蛋白质表达水平,其中 miR-196b, miR-296, miR-4093p 和 miR-641 可以直接结合 Ang mRNA 的 3'端非编码区,过表达后可以抑制 HUVEC 的细胞增殖,而 miR-196b, miR-296 和 miR-4093p 可以抑制 HUVEC 的管腔形成,表明细胞内有多数 miRNA 调控血管生成素的表达,它们可能协调调节血管生成或在血管生成的不同阶段发挥作用。戴运等<sup>[22]</sup>研究 miR-372 对新血管生成因子 AGGF1 基因的表达调控的结果显示,miR-372 可通过靶向结合 AGGF1 基因的 3'-UTR 并下调 AGGF1 表达,进而抑制内皮细胞血管生成。艾丽菲热等<sup>[23]</sup>首次证实 miR-106b 在内皮细胞中通过下调信号转导及转录激活因子 3 而非血管内皮生长因子发挥抑制血管新生的功能。Li 等<sup>[24]</sup>在测试由胰腺癌内皮细胞(CEC)调节的微小 RNA(miRNA)表达可调节血管生成的假说时得出 miR-139 和 miR-200c 表达的上调可以增加 CEC 迁移和血管形成,表明这些 miRNA 可以调节胰腺肿瘤血管生成。Mao 等<sup>[25]</sup>的研究结果显示 MiR-494 通过 HIF-1 $\alpha$  介导的转录调节的肿瘤细胞中的缺氧刺激上调,上调的 miR-494 从肿瘤细胞分泌到微环境中,并通过 MVs 递送到内皮细胞中,再下调内皮细胞中的 PTEN 和活化的 Akt/eNOS 通路,最后通过促进血管生成加剧肿瘤发展,在肿瘤内施用 miR-494 拮抗剂可有效地减少血管生成。

#### 5 lncRNA 与血管新生

现在已有很多关于 miRNA 调控血管内皮细胞功能、血管生长和重塑的报道,但人们对 lncRNA 在内皮细胞中的功能知之甚少。张铭等<sup>[26]</sup>发现相对于正常 HUVEC,在 ox-LDL 诱导损伤 HUVEC 表达上调和下调超过 2 倍的 lncRNA 和 mRNA 分别有 139 种和 113 种,lncRNA 上调和下调超过 4 倍的分别有 27 种和 8 种,mRNA 上调和下调超过 4 倍的分别有 21 种和 7 种,损伤血管内皮细胞的 lncRNA 表达谱的变化,提示 lncRNA 在血管内皮细胞损伤中也发挥了一定作用。最近研究发现作为 lncRNA 家族重要成员的 MALAT1 参与调控内皮细胞的血管生成,在血管生成过程中发挥重要作用<sup>[27]</sup>。Michalik 等<sup>[28]</sup>发现了在 HUVEC 高度表达许多 lncRNA,包括在人和小鼠中具有保守性的 lncRNA MALAT1, TUG1, MEG3 和 linc00657 及 MALAT1 对内皮细胞和血管生成的功能性作用,敲除 MALAT1 会抑制基底内皮细胞的细胞周期,损害内皮细胞增殖,阻断体内外的血管新生。朱栋良等<sup>[29]</sup>在结直肠癌细胞株 SW48 中转染质粒过表达 MALAT1(最早在非小细胞肺癌中发现的 lncRNA)的实验结果显示,过表达 MALAT1 的 SW48 细胞培养液上清中的 VEGF 水平明显上升,表明肿瘤细胞通过分泌 VEGF,作用于血管内皮细胞上的 VEGF 受体,促进内皮细胞的增殖和迁移,形成更多的微血管。亦用 Western blot 法证实过表达 MALAT1 可促进 SW48 细胞中 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达,HIF-1 $\alpha$  可以特异性地结合于 VEGF 基因的启动子区域,调控 VEGF 的转录活性,促进血管形成。

Jia 等<sup>[30]</sup>的研究证实 lncRNA H19 通过上调 miR-29a 抑

制胶质瘤诱导的内皮细胞增殖、迁移和血管形成,通过调节胶质瘤血管内皮细胞的生物学行为调节胶质瘤的发生。Liu等<sup>[31]</sup>研究结果显示 lncRNA-Meg3 的过表达明显减少内皮细胞增殖和迁移,抑制缺血性脑卒中后的功能恢复和减少毛细血管密度;lncRNA-Meg3 的沉默增加了内皮细胞增殖、迁移、发芽和血管形成,证明 lncRNA-Meg3 下调可促进缺血性脑卒中后局部缺血后的血管生成,并减轻脑损伤。

## 6 结束语

总之,随着科学技术的发展及对遗传学、基因学研究的深入,关于非编码 RNA 与血管新生之间关系的研究更是层出不穷,血管新生参与多种疾病发生、发展、变化的过程,只有研究清楚非编码 RNA 在各种疾病中血管新生系统各种细胞因子功能和结构的改变,并阐明这种改变受非编码 RAN 调控的机制,才能针对不同疾病中非编码 RNA 对血管新生的不同调控机制制定出预防和治疗的新方案。目前关于 miRNA 与肿瘤细胞血管新生的研究非常多,但是 lncRNA 与血管新生关系的研究相对较少,而且非编码 RNA 在其他疾病如心脑血管疾病新生血管中的作用的研究极其有限,还需要加强对非编码 RNA 在其他疾病血管新生中调控机制的研究。

## 参 考 文 献

- [1] Paralkar VR, Weiss MJ. Long noncoding RNAs in biology and hematopoiesis[J]. *Blood*, 2013, 121(24): 4842-4846.
- [2] Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs[J]. *RNA Biol*, 2013, 10(6): 925-933.
- [3] 王楠, 罗雨虹, 邓嘉成, 等. 长非编码 RNA(lncRNA)与心血管疾病[J]. *生理科学进展*, 2014, 45(3): 172-176.
- [4] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 629-641.
- [5] Kung JT, Colognori D, Lee JT. Long noncoding RNAs: past, present, and future[J]. *Genetics*, 2013, 193(3): 651-669.
- [6] 任婷玉, 郑磊. 长链非编码 RNA 在原发性肝癌中的临床应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2014, 37(9): 665-668.
- [7] Geisler S, Collier J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(11): 699-712.
- [8] 田晓琳, 杨臻, 王建英, 等. 微小 RNA 与肿瘤的关系[J]. *癌症进展*, 2016, 14(1): 22-25.
- [9] 许多, 易斌, 鲁开智. microRNA: 缺氧诱导的血管重塑中的重要调控因子[J]. *医学研究杂志*, 2014, 43(10): 180-182.
- [10] 艾丽菲热·买买提, 杨毅宁, 马依彤. MiRNA 在动脉粥样硬化血管新生中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(6): 39-44.
- [11] 胡强. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  在缺血缺氧脑损伤中的作用研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(3): 258-262.
- [12] 徐玲, 周巧玲, 韩洁, 等. 内异方药物血清对子宫内膜异位症血管生成的影响[J]. *中西医结合学报*, 2012, 10(7): 800-806.
- [13] Tsubaki M, Takeda T, Sakamoto K, et al. Bisphosphonates and statins inhibit expression and secretion of MIP-1 $\alpha$  via suppression of Ras/MEK/ERK/AML-1A and Ras/PI3K/Akt/AML-1A pathways[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(1): 168-179.
- [14] 郭刚, 许建华, 韩建宏, 等. 十全大补汤对荷瘤小鼠结肠癌原发

肿瘤切除术后转移瘤生长及血管生成的影响[J]. *中西医结合学报*, 2012, 10(4): 436-447.

- [15] Soufi-Zomorrod M, Hajifathali A, Kouhkan F, et al. MicroRNAs modulating angiogenesis: miR-129-1 and miR-133 act as angio-miR in HUVECs[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7): 9527-9534.
- [16] Li Y, Mao L, Gao Y, et al. MicroRNA-107 contributes to post-stroke angiogenesis by targeting Dicer-1[J]. *Sci Rep*, 2015, DOI: 10. 1038/srep 13316.
- [17] Zeng L, He X, Wang Y, et al. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain[J]. *Gene Ther*, 2014, 21(1): 37-43.
- [18] Braza-Boils A, Gilabert-Estell s J, Ram n LA, et al. Peritoneal fluid reduces angiogenesis-related microRNA expression in cell cultures of endometrial and endometriotic tissues from women with endometriosis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62370.
- [19] Sun CY, She XM, Qin Y, et al. miR-15a and miR-16 affect the angiogenesis of multiple myeloma by targeting VEGF[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(2): 426-435.
- [20] Hu J, Cheng Y, Li Y, et al. microRNA-128 plays a critical role in human non-small cell lung cancer tumourigenesis, angiogenesis and lymphangiogenesis by directly targeting vascular endothelial growth factor-C[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(13): 2336-2350.
- [21] 翁春华, 董豪杰. 靶向调控血管生成素 miRNA 的筛选和验证[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(12): 1302-1308.
- [22] 戴运, 周必胜. miR-372 调控血管生成因子 AGGF1 的表达并抑制血管生成[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2015, 35(7): 933-937.
- [23] 艾丽菲热·买买提, 陈红, 任景怡. 微小 RNA-106b 参与内皮细胞介导的血管新生作用机制研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2014, 16(6): 633-636.
- [24] Li L, Li B, Chen D, et al. miR-139 and miR-200c regulate pancreatic cancer endothelial cell migration and angiogenesis[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1): 51-58.
- [25] Mao G, Liu Y, Fang X, et al. Tumor-derived microRNA-494 promotes angiogenesis in non-small cell lung cancer[J]. *Angiogenesis*, 2015, 18(3): 373-382.
- [26] 张铭, 纪玉强, 谢梅, 等. 长链非编码 RNA(lncRNA)在氧化型低密度脂蛋白诱导血管内皮细胞损伤中表达谱的变化[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(30): 5816-5820, 5857.
- [27] Thum T, Fiedler J. LINCing MALAT1 and angiogenesis[J]. *Circ Res*, 2014, 114(9): 1366-1368.
- [28] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth[J]. *Circ Res*, 2014, 114(9): 1389-1397.
- [29] 朱栋良, 尹小平, 王芳元. 长链非编码 RNA-MALAT 对结直肠癌细胞介导的血管形成的影响[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, 22(1): 60-63.
- [30] Jia P, Cai H, Liu X, et al. Long non-coding RNA H19 regulates glioma angiogenesis and the biological behavior of glioma-associated endothelial cells by inhibiting microRNA-29a[J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(2): 359-369.
- [31] Liu J, Li Q, Zhang KS, et al. Downregulation of the long Non-Coding RNA meg3 promotes angiogenesis after ischemic brain injury by activating notch signaling[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, DOI 10. 1007/S12035-016-0270-Z.