

· 综述 ·

环状 RNA 在心血管疾病发病机制中的研究进展

薛拴勤¹, 朱洁¹, 陈丽君¹, 高奋^{2*}

(山西医科大学第二临床医学院, 太原 030001;²山西医科大学第二医院心血管内科, 太原 030001)

【摘要】 环状 RNA (circRNA) 是通过将 RNA 的 3' 末端连接到 5' 末端而环化, 形成没有聚腺苷酸尾巴的共价闭环结构, 具有广泛的分布性, 在不同物种及亚细胞间均能发现。目前发现 circRNA 与心血管疾病、神经系统疾病、癌症等多种疾病的发生与发展密切相关, 其作用机制包括充当 miRNA 海绵、与 RNA 结合蛋白相互作用、调控基因表达及编码蛋白质。本文从 circRNA 的生物发生和功能、circRNA 在心血管疾病中的研究进展等方面进行综述。

【关键词】 核糖核酸, 环状; 生物发生; 功能; 心血管疾病

【中图分类号】 R54

【文献标志码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2022.05.082

Research progress on pathogenesis of circular RNA in cardiovascular diseases

XUE Shuan-Qin¹, ZHU Jie¹, CHEN Li-Jun¹, GAO Fen^{2*}

(¹Second Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²Department of Cardiology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China)

【Abstract】 Circular RNAs (circRNAs) are a novel class of RNA, cyclized by linking the 3' end of the RNA to the 5' end to form a covalently closed ring structure without a polyadenylic acid tail. CircRNAs are widely distributed, and can be found in various species and in different subcellular compartments. It has been found that circRNAs are closely related to the occurrence and development of cardiovascular diseases, neurological diseases, cancer and other diseases. Its mechanisms of action include acting as miRNA sponges, interacting with RNA-binding proteins, regulating gene expression, and encoding proteins. This article reviews the biogenesis and functions of circRNAs, and research progress in cardiovascular diseases.

【Key words】 RNA, circular; biogenesis; function; cardiovascular diseases

This work was supported by the Applied Basic Research Project of Shanxi Province (201801D121321).

Corresponding author: GAO Fen, E-mail: gao55555@sina.com

环状核糖核酸 (circular ribose nucleic acid, circRNA) 作为一种新型的非编码 RNA, 最初是在植物感染的病毒中发现, 它是一种内源性共价闭环环形 RNA 分子。因为它的特殊结构, 使其具备特异性 (细胞类型、组织、发育阶段)、高稳定性和表达丰富性的特点^[1]。研究表明, circRNA 在心肌梗死 (myocardial infarction, MI)^[2]、动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)^[3]、心力衰竭 (heart failure, HF) 等^[4] 心血管疾病的发病过程中扮演重要的角色。本文对 circRNA 在心血管疾病发病机制中的研究进展进行综述。

1 circRNA 的生物发生

剪接机制长期以来被认为是环状 RNA 形成的主要过程。外显子序列的环状 RNA 由反向剪接产

生, 通过反向剪接形成的外显子环状 RNA 包括套索驱动模型和内含子配对驱动两种模型。当外显子 circRNA 从信使 RNA 前体中释放出来并保留内含子序列时, 形成具有内含子序列的 circRNAs (exon-intron circRNA, EICI RNA), 如果未保留内含子序列, 便形成无内含子序列的环状外显子 (exonic circRNA, ecircRNA)。通过规范剪接从内含子套索产生的 circRNA 被称为环状内含子 RNA (circular intronic RNA, ciRNA), 因此最终成熟的 circRNA 分为 EICI RNA、ecircRNA、ciRNA^[5]。

2 circRNA 的功能

(1) 充当 miRNA 海绵: circRNA 是构成竞争性内源性 RNA 的重要组成部分, 并存在信使 RNA 的

收稿日期: 2021-02-20; 接受日期: 2021-05-08

基金项目: 山西省应用基础研究项目 (201801D121321)

通信作者: 高奋, E-mail: gao55555@sina.com

结合位点,因此能够充当 miRNA 的海绵并且抑制其靶基因的活性;(2) circRNA 与 RNA 结合蛋白相互作用:circRNA 是由 RNA 连接蛋白基因产生,并具有与宿主 RNA 连接蛋白保守的结合位点,因此 circRNA 可以与 RNA 结合蛋白相互作用来调控相关蛋白的功能;(3) 调控基因表达:研究表明亲本基因的转录,受细胞核中 EIciRNA 的影响;另外 circRNA 的形成会影响前体信使 RNA 的线性剪接,最终影响信使 RNA 的表达;(4) 编码蛋白质:circRNA 具有内部核糖体进入位点,可以编码蛋白质。

3 环状 RNA 与心血管疾病

3.1 环状 RNA 与心肌梗死

心血管疾病是人类死亡的主要原因。在所有类型的心血管疾病中,MI 死亡率最高。因此,抑制心肌细胞死亡是 MI 治疗的主要策略。circRNA 作为一种新型的非编码 RNA,也被报道与心肌梗死有关。

3.1.1 circRNA-Cdr1as 有研究利用大鼠 MI 模型,发现心肌组织中环状 RNA 小脑退化相关蛋白 1 反义转录物 (circular RNA cerebellar degeneration-related protein 1 antisense, circRNA-Cdr1as) 和微小 RNA-7a (microRNA 7a, miR-7a) 的表达上调,Cdr1as 通过与 miRNA-7a 结合,使其靶基因信使 RNA 编码的刺激蛋白 1 (stimulatory protein 1, SP1) 和多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (polyadenosine diphosphate ribose polymerase, PARP) 表达上调,可以促进细胞的凋亡,从而引发 MI^[2]。

3.1.2 线粒体裂变和细胞凋亡相关的 circRNA 在缺氧/复氧 (anoxia/reoxygenation, A/R) 的心肌细胞中,增加线粒体蛋白 18 (mitochondrial protein 18, MTP18) 可促进 A/R 诱导线粒体裂变和心肌细胞的凋亡及缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 所导致 MI 的面积,还可抑制其靶基因微小 RNA-652-3p (microRNA-652-3p, miR-652-3p), 进而加剧线粒体分裂和细胞凋亡^[6]。为进一步验证调节 miR-652-3p 的 circRNA, 随机筛选了来自 circRNA 数据库中的 circRNA, 最终发现在 A/R 和 I/R 模型中线粒体裂变和细胞凋亡相关的 circRNA (mitochondrial fission and apoptosis-related circRNAs, MFACR) 明显增加^[6]。因此, MFACR 可能充当 miR-652-3p 的海绵, 增加 MTP18 并介导 MI 中线粒体裂变和细胞凋亡。

3.1.3 心肌梗死相关的环状 RNA 一项涉及 642 例急性 MI 患者的研究中发现, 心肌梗死相关的环状 RNA (myocardial infarction-associated circular RNA, MICRA) 可作为心肌梗死患者左心室功能障碍发展的预测指标, 外周血中 MICRA 低表达的患者具有较

高的心室功能障碍风险^[7]。尽管机制尚不清楚, 但 MICRA 提供了一种新颖的方法来预测急性心肌梗死早期的左室功能障碍。

3.1.4 与自噬相关的环状 RNA 自噬是参与各种心脏疾病的公认机制, 自噬细胞死亡的抑制对缺血/再灌注引起的心肌梗死起重要的保护作用。与自噬相关的环状 RNA (circular RNAs associated with autophagy, ACR) 首次作为心肌梗死中的新型调节剂被发现, 它可直接与 DNA 甲基转移酶 3b (DNA methyltransferase 3b, Dnmt3b) 结合, 上调第 10 同源染色体丢失性磷酸酶-张力蛋白基因 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 诱导激酶 1 (PTEN induced putative kinase 1, Pink1) 表达, 并使具有序列相似性的家族 65B 成员 (family with sequence similarity 65 member B, FAM65B) 磷酸化, 从而抑制 MI 心脏的自噬和细胞死亡^[8]。这些表明, ACR/Pink1/FAM65B 信号可能是 MI 的潜在治疗靶标。另外别自东等^[9]研究表明, circ-SEC23A 能通过微小 RNA-30a (microRNA-30a, miR-30a)/程序性死亡受体 1 (programmed cell death-1, Beclin-1) 通路诱导心肌细胞发生自噬而促进心肌细胞损伤。

3.1.5 circ-Ttc3 在缺血和缺氧损伤的心肌细胞中, 环状 RNA 四三肽重复结构域 3 (circRNA Tetratricopeptide repeat domain 3, circ-Ttc3) 的表达明显上调。在 MI 模型中, 过表达 circ-Ttc3 能够充当微小 RNA-15b (microRNA-15b, miR-15b) 海绵并抑制其活性, 导致 Arl2 基因表达增加, 从而起到保护心肌细胞的作用^[10]。可见 circ-Ttc3 在 MI 中起到保护作用, 为其治疗提供了新的靶点。

3.1.6 circ-Nfix 研究表明, 过表达的环状 RNA 核因子 1X 型 (circRNA Nuclear factor 1 X-type, circ-Nfix) 不仅促进 Y 盒结合蛋白 1 (Y-box binding protein 1, Ybx1) 与神经前体细胞表达发育下调基因 4 的相互作用, 并通过泛素化使 Ybx1 降解, 从而抑制细胞周期蛋白 A2 和细胞周期蛋白 B1 的表达。同时它也可充当 miR-214 的海绵, 以促进糖原合酶激酶 3 β 的表达并抑制 β 连环蛋白的活性来促进心肌梗死后的心脏再生修复和功能恢复^[11]。

3.1.7 circFndc3b 对 MI 后小鼠心脏中的 circRNA 进行分析, 发现环状 RNA III 型纤维连接蛋白域 3b (circRNA Fibronectin type III domain-containing protein 3b, circFndc3b) 的表达明显下调。在缺血性心脏病患者的心脏组织中, 人 circFndc3b 同源物表达也受到抑制。在心脏内皮细胞中, 过表达的 circFndc3b 不仅增加了血管内皮生长因子-A 的表达, 还增强了它们的血管生成活性, 最终减少了心肌细胞和内皮细胞的凋亡, 因此 circFndc3b 对 MI 后心脏再生修

复有益处^[12]。

3.2 环状 RNA 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化由脂质沉积在动脉壁的内皮下层开始,以巨噬细胞、树突状细胞和活化 T 细胞的炎症浸润为特征。

3.2.1 环状细胞周期依赖激酶抑制剂 2B 基因的反义非编码基因 环状细胞周期依赖激酶抑制剂 2B 基因的反义非编码基因 (circular antisense noncoding RNA in the INK4 locus, circANRIL) 可以与 60S-核糖体前组装因子雌激素受体共同调节因子抗体同系物 1 结合,导致由核酸外切酶介导的核糖体前 RNA 加工受到影响,进而抑制核糖体的成熟^[3],引起 p53 激活,导致凋亡增加,同时使血管平滑肌细胞和巨噬细胞的增殖减少。因此, circANRIL 可通过抑制动脉粥样硬化斑块中细胞的过度增殖来预防动脉粥样硬化^[3]。

3.2.2 circ-0003204 和 circ-0003575 氧化低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 是引起动脉粥样硬化的常见原因。Li 等^[13] 研究 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 中的 circRNA 表达谱,发现 has-circ-0003575 明显上调,其上调可促进 ox-LDL 诱导的 HUVEC 的凋亡,促进 HUVEC 的增殖和迁移,并抑制 HUVEC 的血管生成能力。这些结果表明 has-circ-0003575 可能通过诱导细胞凋亡促进动脉粥样硬化^[3]。此外,研究表明 circ-0003204 在 ox-LDL 诱导的人主动脉内皮细胞 (human aortic endothelial cells, HAEC) 中上调,其过度表达抑制 HAEC 的增殖、迁移和血管形成。circ-0003204 能够充当 miR-370 海绵来促进转化生长因子 β II 型受体 R2 (transforming growth factor β receptor II, TGF β R2) 及其下游磷酸 SMAD3 的蛋白表达^[3]。因此, circ-0003204 可作为动脉粥样硬化中异位内皮失活的新型刺激剂。

3.2.3 cZNF292 和 has-circ-0010729 Boeckel 等^[14] 研究在缺氧条件下, circRNA 在 HUVECs 中的差异性表达,发现环状锌指结构域的转录因子 292 (circular zinc finger domain transcription factor 292, cZNF292) 是缺氧调节中表达最高的 circRNA。沉默 cZNF292 能够显著抑制球体发芽和管的形成,进而降低内皮细胞的增殖^[3]。Dang 等^[15] 研究缺氧条件下 HUVECs 的表达谱,发现 has-circ-0010729 的表达明显上调,它可能通过靶向 miR-186/HIF-1 α 途径调节血管内皮的增殖和凋亡。以上均表明 cZNF292 和 has-circ-0010729 在缺氧条件下促进内皮细胞的增殖和迁移,从而促进动脉粥样硬化的形成。

3.2.4 circ-0010283 Ding 等^[16] 结果表明,在 ox-LDL 诱导的血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells,

VSMC) 中, circ-0010283 通过 miR-370-3p 调节高迁移率族蛋白 1 (high mobility group protein B1, HMGB1) 的表达。实验表明 circ-0010283 能够充当 miR-370-3p 海绵的作用并抑制其活性,进而对 VSMC 活力和迁移起到抑制作用^[16]。此外,在 ox-LDL 诱导的 VSMC 中,过表达的 HMGB1 对 VSMC 存活和迁移力具有促进作用。总之,在 ox-LDL 诱导的 VSMC 中, circ-0010283 通过 miR-370-3p/HMGB1 轴调节细胞活力和迁移,进而影响了动脉粥样硬化的发生与发展。

3.2.5 环状脂蛋白受体 6 miR-145 是最早发现的富含 VSMC 的微小 RNA,它可控制 VSMC 的功能、血管重塑和 AS。环状脂蛋白受体 6 (circular lipoprotein receptor, circ-Lrp6) 通过充当 miR-145 海绵的作用对血管平滑肌细胞的迁移、增殖、表型转化等进行调控,最终起到抗动脉粥样硬化发生的作用^[17]。

3.2.6 circ-0076981 在胆固醇逆向转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 中,三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 起着至关重要的作用。我们团队在前期实验中发现,在 RAW264.7 源性巨噬细胞中, ABCA1 表达下降时, RCT 受到明显影响,从而引起动脉粥样硬化的发生^[18]。circ-0076981 可通过抑制 miR-33a、上调 ABCA1 的表达,降低细胞内脂质蓄积,从而抑制 AS 的发生^[19]。

3.3 环状 RNA 与心肌纤维化

3.3.1 circRNA-010567 研究发现,糖尿病小鼠和经肾素血管紧张素 II (renin angiotensin II, Ang II) 处理的小鼠心肌中 circRNA-010567 的表达明显增加,它的上调能够抑制 miR-141 的表达,提高转化生长因子 b1 (transforming growth factor b1, TGF-b1) 的表达,同时促进与纤维化相关蛋白的表达 (如胶原蛋白 I、胶原蛋白 III 和 α -平滑肌肌动蛋白),由此可知 circRNA-010567 通过靶向 miR-141/TGF-b1 轴促进心肌纤维化^[20]。

3.3.2 circRNA_000203 circRNA_000203 能够充当 miR-26b-5p 的海绵来促进结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 和 I 型胶原 a2 (type I collagen a2, Colla2) 的表达,从而对心肌成纤维细胞产生纤维化作用^[21]。

3.3.3 circHIPK3 Liu 等^[22] 研究表明在低氧环境下,心脏成纤维细胞中环状同源与结合蛋白激酶 3 (circular homeodomain-interacting protein kinase 3, circHIPK3) 的表达显著上调,作为内源性 miR-152-3p 海绵,它的过表达可促进心脏成纤维细胞增殖、迁移、表型转化和 TGF- β 2 表达的抑制作用。综上所述, circHIPK3 通过靶向 miR-152-3p/TGF- β 2 轴在

心肌纤维化的发生与发展中起关键作用。

3.3.4 circ-100395 研究表明,心房颤动(atrial fibrillation, AF)患者心耳组织中 circRNA-100395 表达明显下调;circRNA-100395 可充当 miR-144-3p 分子的海绵来发挥抑制心肌纤维化的作用^[23]。

3.3.5 circNFIB 有研究报道,发生 MI 后及经 TGF- β 处理的成纤维细胞中 circNFIB 的表达降低,可促进成纤维细胞增殖。circNFIB 的过表达可减弱 miR-433 模拟物诱导的促增殖作用^[24]。因此,circNFIB-miR-433 轴可能代表了一种治疗纤维化疾病的新颖治疗方法。

3.4 环状 RNA 与心脏衰老

心肌细胞属于永久性细胞,它的个体寿命在很大程度上取决于其存活时间。因此随着心肌细胞的衰老人类的寿命也即将终止。

3.4.1 circ-Foxo3 环状蛋白质叉头盒家族中亚类 O 成员 3(circular fork head box O3, circ-Foxo3)在小鼠和老年患者心脏组织中的表达显著上调。研究表明 circ-Foxo3 的高表达伴随着更多的细胞在 DNA 合成前期被保留下来,无法转变为 DNA 合成期,从而抑制细胞增殖和细胞周期进程^[25]。circ-Foxo3 能够通过阻止转录因子抗衰老蛋白分化抑制因子 1(anti-aging protein inhibitor of differentiation 1, ID1)、细胞周期相关性转录因子(cell cycle associated transcription factor, E2F1)、粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF1 α)转移到细胞核来促进心脏衰老^[25]。

3.4.2 circ-ITCH Zhang 等^[26]研究表明,miR-17-5p 是环状 RNA-ITCH(circ-ITCH)的靶基因,在过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)诱导的大鼠心肌 H9C2 细胞中具有较高的表达,它的高表达可抑制细胞的活力,促进凋亡。Wnt/ β -catenin 信号通路的抑制可能启动 H9C2 细胞的损伤过程,可见 circ-ITCH 可通过抑制细胞凋亡来保护心肌细胞免受 H₂O₂ 的伤害,而 miR-17-5p 则起相反作用,通过 Wnt/ β -catenin 信号通路上调细胞凋亡并抑制细胞活力,从而促进心脏衰老^[26]。

3.5 环状 RNA 与心肌病

心肌病是一组异质性心肌疾病,是由不同病因(遗传性病因较多见)引起的心肌病变导致心肌机械和(或)心电功能障碍,常表现为心室肥厚或扩张。

3.5.1 与扩张型心肌病相关的环状 RNA 对人类心脏中缺乏核糖体的 RNA 进行 circRNA 分析,发现来源于肌联蛋白的环状 RNA(titin circular RNA, TTN circRNA)高度表达,这些 TTN circRNA 可以动态调节扩张型心肌病。无 RNA 结合基序蛋白 20(RNA-binding motif-free protein 20, RBM20)的小鼠

中完全缺乏 TTN circRNA,并且在 RBM20 突变的心脏组织中 TTN circRNA 的表达受到严重损害^[27]。因此,RBM20 在扩张型心肌病中起着重要作用。另外,有研究报道在接受心脏移植的扩张型心肌病患者中,环状溶质载体家族 8 成员 A1、环状染色质域解旋酶 DNA 结合蛋白 7、环状失调蛋白 10 的表达升高,而环状热休克蛋白家族成员 C6 的表达降低^[28]。

3.5.2 环状血管动蛋白样基因 1 和 circArhgap12 研究发现,腹腔内注射环状血管动蛋白样基因 1 可减少心肌细胞的凋亡、肥大和纤维化,从而预防阿霉素诱发的心肌病^[29]。Wang 等^[30]研究表明在阿霉素干预下,由 Rho 家族蛋白激活蛋白 12(Rho GTPase activating protein 12, Arhgap12)基因编码的 circRNA 可以海绵化 miR-135a-5p 抑制剂,促进细胞凋亡和氧化应激,可见 circRNA Arhgap12 通过海绵 miR-135a-5p 调节阿霉素引起的心脏毒性。

3.6 环状 RNA 与心肌肥大及心力衰竭

3.6.1 心脏相关的 circRNA miR-223 作为一种内源性调节剂,可诱导心肌肥大和心力衰竭。miR-223 的下游靶基因是含胱冬肽富集功能域的凋亡抑制因子(apoptosis inhibitor with caspase-enriched domain, ARC),Wang 等^[31]验证了心脏相关的 circRNA 可以直接与 miR-223 结合并作为内源性 miR-223 海绵体抑制 miR-223 的活性,从而导致 ARC 表达的增加,进而在心肌细胞肥大和凋亡中起保护作用。

3.6.2 circ-0062389 Zhang 等^[4]研究表明,沉默 circ-0062389 可显著降低转化生长因子 β 1 和 Smad 3(small mother against decapentaplegic 3, Smad3)蛋白的表达,其可通过调节转化生长因子 Smad1/Smad3 信号通路减轻心力衰竭大鼠心肌细胞的凋亡,有望成为治疗心力衰竭的新靶点。

3.6.3 circ-000203 研究表明, circ-000203 可使 miR-26b-5p, miR-140-3p 海绵化以增加转录因子 GATA 结合蛋白 4 的表达,增强心肌肥大^[32]。

3.7 环状 RNA 与心房颤动

Jiang 等^[33]比较了 3 例 AF 患者和 3 例健康人心脏组织中的环状 RNA,发现 537 个上调的环状 RNA 和 199 个下调的环状 RNA,在这些差异性表达的 circRNA 中发现 8 个上调的环状 RNA 和 2 个下调的环状 RNA 能够与房颤患者相关的 miRNA 相互作用,如 has-circRNA-100612 可以与 hsa-miR-892a、hsa-miR-3149、hsa-miR-3171、hsa-miR-892a 及 hsa-miR-133b 相互作用,其中 hsa-miR-113b 的靶基因是钾离子通道相互作用蛋白 1、JPH2 和 β 1 肾上腺样受体。钾离子通道相互作用蛋白 1 与心脏传导有关;JPH2 在肌浆网钙离子处理和调节兰尼碱受体钙离子通道中起重要作用; β 1 肾上腺样受体是心血管

疾病药物治疗的有效靶点。

Zhang 等^[34]比较了正常人和房颤患者心脏中 circRNA 的表达,发现 AF 心房附件中 20 个上调的 circRNA 和 3 个下调的 circRNA,另外竞争性内源性 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)网络分析显示 has-circ-0000075 和 has-circ-0082096 通过 TGF-β 通路参与 AF 的发病机制^[34]。此外 Hu 等^[35]报道 108 种 circRNA 在风湿性心脏病和持续性 AF 患者中差异表达,这些 circRNA 的生物信息学研究揭示了 5 种信号通路与房颤进展相关,包括调节扩张型心肌病的信号通路、肥厚性心肌病的信号通路、调节干细胞多能性的信号通路、河马信号通路和 TGF-β 通路。

3.8 环状 RNA 与高血压

3.8.1 has-circ-0037911 有研究表明,与健康对照组相比,高血压患者 has-circ-0037911 的表达明显更高^[36],然而其调控功能和机制尚未研究。

3.8.2 has-circ-0105015 He 等^[37]研究表明,has-circ-0105015 高表达是原发性高血压的重要危险因素。has-circ-0105015 高表达联合 has-miR-637 低表达提示血管炎症或内皮功能障碍,有可能作为原发性高血压早期诊断的生物标志物。

3.8.3 circ-0001946 刘婉月等^[38]研究表明,过表达 circ-0001946 与超重及焦虑的联合作用可以增加高血压的患病风险。

4 总结

circRNA 在心肌梗死、动脉粥样硬化、心肌纤维化等心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的发展中发挥着重要的作用。心血管疾病在世界上具有最高的残疾率和死亡率,且发病越来越年轻化。迄今为止,各种生物标志物包括脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、心肌肌钙蛋白 T/I(cTnT/I)以及肌酸激酶心肌带同工酶(creatine kinase MB isoenzyme, CK-MB)等已被广泛用于诊断或预测 CVD 的发生风险。血清中环状 RNA 主要来自外泌体,不含外泌体的血清中环状 RNA 含量较低。此外,血小板中含有大量的环状 RNA,不同采血方式会影响环状 RNA 的定量。因此,建立标准化的采血方式是保证心血管疾病诊断标志物准确性的前提,我们迫切需要建立标准化的采血方式,这对 CVD 患者的早期识别和治疗有很大帮助。

【参考文献】

[1] 赵郑波. 环状 RNA circRNA-CER 通过调控 miR136/MMP13 轴减轻氧化低密度脂蛋白诱导的内皮细胞损伤[D]. 重庆:重庆医科大学, 2020: 74-75. DOI: 10. 27674/d. cnki. gcyku. 2020. 000252.
Zhao ZB. Circular RNA circRNA-CER attenuates oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial cell injury by regulating the

miR136/MMP13 axis[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2020: 74-75. DOI: 10. 27674/d. cnki. gcyku. 2020. 000252.
[2] 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. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0151753.
[3] Cao Q, Guo Z, Du S, et al. Circular RNAs in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Life Sci, 2020, 255: 117837. DOI: 10. 1016/j. lfs. 2020. 117837.
[4] Zhang Y, Chen B. Silencing circ_0062389 alleviates cardiomyocyte apoptosis in heart failure rats via modulating TGF-β1/Smad3 signaling pathway[J]. Gene, 2021, 766: 145154. DOI: 10. 1016/j. gene. 2020. 145154.
[5] Li B, Li Y, Hu L, et al. Role of circular RNAs in the pathogenesis of cardiovascular disease[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2020, 13(4): 572-583. DOI: 10. 1007/s12265-019-09912-2.
[6] 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. DOI: 10. 1038/cdd. 2017. 61.
[7] Vausort M, Salgado-Somoza A, Zhang L, et al. Myocardial infarction-associated circular RNA predicting left ventricular dysfunction[J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(11): 1247-1248. DOI: 10. 1016/j. jacc. 2016. 06. 040.
[8] 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. DOI: 10. 1038/s41418-018-0206-4.
[9] 别自东, 郭富英, 穆彬, 等. circ_SEC23A 通过 miR-30a/Beclin-1 通路促进 Ang II 诱导的心肌细胞损伤[J]. 北医学院学报, 2020, 35(6): 957-960, 976.
Bie ZD, Guo FY, Mu B, et al. circ_SEC23A promotes the injury of Ang II -induced cardiomyocytes through miR-30 a/Beclin-1[J]. J North Med Coll, 2020, 35(6): 957-960, 976.
[10] Cai L, Qi B, Wu X, et al. Circular RNA Ttc3 regulates cardiac function after myocardial infarction by sponging miR-15b[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 130: 10-22. DOI: 10. 1016/j. yjmcc. 2019. 03. 007.
[11] Huang S, Li X, 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. DOI: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 118. 038361.
[12] Garikipati VNS, Verma SK, Cheng Z, et al. Author correction: circular RNA circFndc3b modulates cardiac repair after myocardial infarction via FUS/VEGF-A axis[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 2234. DOI: 10. 1038/s41467-020-15382-x.
[13] 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. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2017. 09. 064.
[14] Boeckel JN, Jaé N, Heumüller AW, et al. Identification and characterization of hypoxia-regulated endothelial circular RNA[J]. Circ Res, 2015, 117(10): 884-890. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 115. 306319.

- [15] Dang RY, Liu FL, Li Y. Circular RNA hsa_circ_0010729 regulates vascular endothelial cell proliferation and apoptosis by targeting the miR-186/HIF-1 α axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2): 104–110. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.05.164.
- [16] Ding P, Ding Y, Tian Y, *et al.* Circular RNA circ_0010283 regulates the viability and migration of oxidized low-density lipoprotein-induced vascular smooth muscle cells *via* an miR-370-3p/HMGB1 axis in atherosclerosis [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(4): 1399–1408. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4703.
- [17] Hall IF, Climent M, Quintavalle M, *et al.* Circ_Lrp6, a circular RNA enriched in vascular smooth muscle cells, acts as a sponge regulating miRNA-145 function [J]. *Circ Res*, 2019, 124(4): 498–510. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.314240.
- [18] 代佩, 高奋, 高宏伟, 等. miRNA-33 对 Hcy 干预 RAW264.7 巨噬细胞衍生的泡沫细胞表达 ABCA1/ABCG1 的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(2): 212–217. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2019.02.004.
- Dai P, Gao F, Gao HW, *et al.* Effect of miRNA-33 on ABCA1/ABCG1 expression in RAW264.7 macrophage-derived foam cells after Hcy treatment [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2019, 35(2): 212–217. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2019.02.004.
- [19] 温雯, 张建勋, 高奋. 环状 RNA 调节脂质代谢在动脉粥样硬化中的作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(3): 217–221. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2021.03.005.
- Wen W, Zhang JX, Gao F. The role of circular RNA in regulating lipid metabolism in atherosclerosis [J]. *Chin J Arteriosclerosis*, 2021, 29(3): 217–221. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2021.03.005.
- [20] Zhou B, Yu JW. A novel identified circular RNA, circRNA_010567, promotes myocardial fibrosis *via* suppressing miR-141 by targeting TGF- β 1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487(4): 769–775. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.04.044.
- [21] Tang CM, Zhang M, Huang L, *et al.* CircRNA_000203 enhances the expression of fibrosis-associated genes by derepressing targets of miR-26b-5p, Col1a2 and CTGF, in cardiac fibroblasts [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40342. DOI: 10.1038/srep40342.
- [22] Liu W, Wang Y, Qiu Z, *et al.* CircHIPK3 regulates cardiac fibroblast proliferation, migration and phenotypic switching through the miR-152-3p/TGF- β 2 axis under hypoxia [J]. *PeerJ Comput Sci*, 2020, 8: e9796. DOI: 10.7717/peerj.9796.
- [23] 温艺红, 杨真祯, 张铭, 等. CircRNA_100395 通过结合 miR-144-3p 抑制心肌成纤维细胞中纤维化相关基因的表达 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2020, 41(6): 875–883. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2020.0115.
- Wen YH, Yang ZZ, Zhang M, *et al.* CircRNA_100395 inhibits expression of myocardial fibrosis-related genes in human atrial myofibroblasts *via* sponging miR-144-3p [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci Ed)*, 2020, 41(6): 875–883. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2020.0115.
- [24] Zhu Y, Pan W, Yang T, *et al.* Upregulation of circular RNA circ-NFIB attenuates cardiac fibrosis by sponging miR-433 [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 564. DOI: 10.3389/fgene.2019.00564.
- [25] 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. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw001.
- [26] Zhang N, Wang X. Circular RNA ITCH mediates H₂O₂-induced myocardial cell apoptosis by targeting miR-17-5p *via* wnt/ β -catenin signalling pathway [J]. *J Int J Exp Pathol*, 2020, 102(1): 22–31. DOI: 10.1111/iepp.12367.
- [27] Khan MA, Reckman YJ, Aufiero S, *et al.* RBM20 regulates circular RNA production from the titin gene [J]. *Circ Res*, 2016, 119(9): 996–1003. DOI: 10.1161/circresaha.116.309568.
- [28] 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. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2017.06.015.
- [29] 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. DOI: 10.7150/thno.19764.
- [30] Wang X, Cheng Z, Xu J, *et al.* Circular RNA Arhgap12 modulates doxorubicin-induced cardiotoxicity by sponging miR-135a-5p [J]. *Life Sci*, 2021, 265: 118788. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118788.
- [31] 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. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv713.
- [32] Li H, Xu JD, Fang XH, *et al.* Circular RNA circRNA_000203 aggravates cardiac hypertrophy *via* suppressing miR-26b-5p and miR-140-3p binding to Gata4 [J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(7): 1323–1334. DOI: 10.1093/cvr/cvz215.
- [33] Jiang S, Guo C, Zhang W, *et al.* The integrative regulatory network of circRNA, microRNA, and mRNA in atrial fibrillation [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 526. DOI: 10.3389/fgene.2019.00526.
- [34] Zhang PP, Sun J, Li W. Genome-wide profiling reveals atrial fibrillation-related circular RNAs in atrial appendages [J]. *Gene*, 2020, 728: 144286. DOI: 10.1016/j.gene.2019.144286.
- [35] Hu M, Wei X, Li M, *et al.* Circular RNA expression profile of persistent atrial fibrillation in patients with rheumatic heart disease [J]. *Anatol J Cardiol*, 2019, 21(2): 2–10. DOI: 10.14744/AnatolJ-Cardiol.2018.35902.
- [36] 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. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.059.
- [37] He X, Bao X, Tao Z, *et al.* The microarray identification circular RNA hsa_circ_0105015 up-regulated involving inflammation pathway in essential hypertension [J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 35(2): 23603. DOI: 10.1002/jcla.23603.
- [38] 刘婉月, 孙义, 黄淑娜, 等. 环状 RNA hsa_circ_0001946 和 hsa_circ_0125589 及环境因素与高血压的关联 [J]. *中华高血压杂志*, 2020, 28(1): 53–58. DOI: 10.16439/j.cnki.1673-7245.2020.01.017.
- Liu WY, Sun Y, Huang SN, *et al.* Correlation of circular RNAs hsa_circ_0001946 and hsa_circ_0125589 and environmental factors with hypertension [J]. *Chin J Hypertens*, 2020, 28(1): 53–58. DOI: 10.16439/j.cnki.1673-7245.2020.01.017.